

本文引用:覃妮,陆世银,罗文婷,陈家豪,龙嘉怡,黄仁彬. 玉郎伞多糖对 S<sub>180</sub> 荷瘤小鼠氧化应激、免疫调节及血管生成的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2022, 42(11): 1849-1854.

## 玉郎伞多糖对 S<sub>180</sub> 荷瘤小鼠氧化应激、 免疫调节及血管生成的影响

覃妮<sup>1,2</sup>, 陆世银<sup>1</sup>, 罗文婷<sup>2</sup>, 陈家豪<sup>2</sup>, 龙嘉怡<sup>2</sup>, 黄仁彬<sup>2\*</sup>

[1. 柳州市中医医院(柳州市壮医医院)药学部, 广西 柳州 545026; 2. 广西医科大学药学院, 广西 南宁 530021]

**[摘要]** **目的** 探讨玉郎伞多糖(Yulangsan polysaccharides, YLSPS)对 S<sub>180</sub> 荷瘤小鼠的体内抗肿瘤作用及其机制。**方法** 以昆明小鼠建立 S<sub>180</sub> 皮下移植瘤模型, 随机分为模型组、环磷酰胺(cyclophosphamide, CTX 20 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)组、YLSPS 低、中、高剂量(150、300、600 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)组, 连续给药 8 d 后处死小鼠, 检测小鼠瘤体质量、抑瘤率及其脏器指数; 通过 HE 染色观察小鼠移植瘤细胞的形态学特征; 测定血清中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)活性, 丙二醛(malondialdehyde, MDA)及过氧化氢酶(catalase, CAT)的含量; 采用 ELISA 法测定小鼠血清中血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的含量; 免疫组织化学法检测药物对微血管密度(microvascular density, MVD)表达的影响。**结果** 与模型组比较, YLSPS (300、600 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)可显著抑制 S<sub>180</sub> 荷瘤小鼠的肿瘤生长, 提高小鼠脾脏指数和胸腺指数( $P < 0.05$  或  $P < 0.001$ ); 移植瘤 HE 染色表明, 相较于模型组, 经 YLSPS 干预后肿瘤细胞异型性降低, 病理性核分裂减少, 可见散在及融合成片状的坏死灶; 血清生化指标显示 YLSPS (300、600 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)能够明显升高血清 GSH-Px、CAT 和 SOD 水平, 降低血清 MDA 及 VEGF 水平( $P < 0.05$  或  $P < 0.001$ ); ELISA 法与免疫组织化学法表明 YLSPS (300、600 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>)可显著抑制 VEGF、MVD 的表达( $P < 0.05$  或  $P < 0.001$ )。**结论** YLSPS 可抑制荷瘤小鼠肿瘤的生长, 其机制可能与增强小鼠免疫功能、抗氧化作用及抑制 S<sub>180</sub> 肿瘤组织中 VEGF 与 MVD 的表达有关。

**[关键词]** 玉郎伞多糖; S<sub>180</sub> 荷瘤小鼠; 微血管密度; 血管内皮生长因子; 抗氧化

**[中图分类号]**R285.5 **[文献标志码]**A **[文章编号]**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2022.11.013

### Effects of Yulangsan polysaccharide on oxidative stress, immune regulation and angiogenesis in S<sub>180</sub> tumor-bearing mice

QIN Ni<sup>1,2</sup>, LU Shiyin<sup>1</sup>, LUO Wenting<sup>2</sup>, CHEN Jiahao<sup>2</sup>, LONG Jiayi<sup>2</sup>, HUANG Renbin<sup>2\*</sup>

[1. Department of Pharmacy, Liuzhou Hospital of Chinese Medicine (Liuzhou Hospital of Zhuang Medicine), Liuzhou, Guangxi 545026, China; 2. School of Pharmacy, Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi 530021, China]

**[Abstract]** **Objective** To investigate in vivo anti-tumor effects and mechanism of Yulangsan polysaccharide (YLSPS) on S<sub>180</sub> tumor-bearing mice. **Methods** The S<sub>180</sub> subcutaneous transplanted tumor model was established by Kunming mice. All mice were randomly divided into model group, cyclophosphamide (CTX 20 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>) group, YLSPS low, medium and high dosage (150, 300 and 600 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>) groups, and they were sacrificed after 8 d of continuous administration. The tumor weights, tumor inhibition rates and organ indexes were measured; morphological characteristics of transplanted tumor cells were identified by HE staining; the activity of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px), the activity of malondialdehyde (MDA) and catalase (CAT) in

**[收稿日期]**2022-03-31

**[基金项目]**国家工程中心中药固体制剂制造技术国家工程研究中心——桂林医学院联合开发基金资助项目(JG201507A1); 广西自然科学基金项目(2012GXNSFBA053094)。

**[第一作者]**覃妮,女,硕士研究生,研究方向:抗肿瘤药药理学研究。

**[通信作者]\***黄仁彬,男,博士,教授,E-mail:huangrenbin518@163.com。

serum were checked; the content of vascular endothelial growth factor (VEGF) in mice serum was determined by ELISA; drug effects on microvascular density (MVD) expression were detected by immunohistochemistry. **Results** Compared with the model group, YLSPS (300, 600 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>) significantly inhibited the tumor growth of S<sub>180</sub> tumor-bearing mice and increased the spleen index and thymus index ( $P<0.05$  or  $P<0.001$ ). Compared with the model group, HE staining indicated that tumor cell atypia and pathologic karyokinesis decreased after YLSPS intervention; diffused and flaked necrotic foci were observed. Serum biochemical index showed that YLSPS (300, 600 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>) could significantly increase serum GSH-Px, CAT and SOD levels and decrease serum MDA and VEGF levels ( $P<0.05$  or  $P<0.001$ ); ELISA and immunohistochemistry indicated that YLSPS (300, 600 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>) could significantly inhibit the expression of VEGF and MVD ( $P<0.05$  or  $P<0.001$ ). **Conclusion** YLSPS could inhibit the tumor growth in S<sub>180</sub> tumor-bearing mice, and the mechanism may be related to enhancing immune function and anti-oxidation, and inhibiting the expression of VEGF and MVD in S<sub>180</sub> tumor tissues.

[**Keywords**] Yulangsans polysaccharide; S<sub>180</sub>-bearing mice; microvascular density; vascular endothelial growth factor; anti-oxidation

玉朗伞(Yulangsans, YLS)为蝶形花科植物疏叶崖豆[Millettia pulchra Kurz var-laxior (Dunn) Z. Wei]的块根。玉郎伞多糖(Yulangsans polysaccharides, YLSPS)是从块根中提取的多糖组分,具有祛瘀止痛、消痈排脓、清热解毒等功效<sup>[1-2]</sup>。现代药理研究表明,YLSPS具有提高免疫力、抗肿瘤、抗氧化等多种生物活性<sup>[3-4]</sup>,其抗肿瘤潜力已得到证实<sup>[5-6]</sup>。然而,YLSPS对肿瘤血管生成的影响及作用机制的相关研究报道较少。肿瘤血管形成是肿瘤增殖、侵袭和转移的基础,结合YLSPS具有抗氧化、免疫调节功能的前期研究结果<sup>[7-8]</sup>,本研究通过建立小鼠S<sub>180</sub>移植瘤模型,从肿瘤免疫、氧化应激和血管生成的角度探讨YLSPS的抑瘤作用机制,为其抗肿瘤机制研究提供新的科学依据。

## 1 材料

### 1.1 主要仪器

ACB-4A1型超净工作台(新加坡ESCO公司);XS205DU型电子分析天平(瑞士梅特勒公司);MULTISKAN MK3型酶联免疫检测仪、CKX-41型倒置荧光显微镜(德国奥林巴斯公司);Micro CL17R型高速低温离心机(美国赛默飞世尔科技公司);TDL-5A型台式离心机(上海菲恰尔分析仪器公司);TU-1800型紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器公司);4590型包埋机(日本SAKURA精密技术公司);RM223型5病理组织切片机(德国徕卡公司);SIM-F140AY65-PC型颗粒制冰机(日本松下电器);HH-8型电热恒温水浴锅(上海汗诺仪器公司);CD-UPH-II-20L型超纯水器(成都越纯科技公司)。

### 1.2 实验动物

SPF级雌雄各半昆明小鼠,体质量(20±2)g,购自广西医科大学实验动物中心。动物许可证号:SCXK(桂)2020-0002。

### 1.3 细胞株

小鼠肉瘤S<sub>180</sub>细胞株由广西医科大学病理生理学教研室提供,并定期进行腹腔接种传代保株。

### 1.4 药物与试剂

药品YLSPS(批号:YLS20210312619),由广西医科大学药理教研室提供;注射用环磷酰胺(批号:5J078A),购自德国Baxter Oncology GmbH。超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD,批号:20210401)、谷胱甘肽过氧化物(glutathione peroxidase, GSH-PX,批号:20210328)活性,丙二醛(malondialdehyde, MDA,批号:20210401)及过氧化氢酶(catalase, CAT,批号:20210330)的含量、考马斯亮兰(批号:20210219)检测试剂盒为南京建成生物工程研究所产品;VEGF ELISA试剂盒(批号:ab222510)购自欣博盛公司;Anti-CD34 antibody(批号:ab81289),购自美国Abcam公司。

## 2 方法

### 2.1 YLSPS的制备<sup>[9]</sup>

将干燥YLS粉碎后,加8倍量的纯水煎煮,趁热过滤取滤液,离心取上清液,加入95%乙醇适量与所得上清液混合,使乙醇终浓度为80%,再用无水乙醇、丙酮萃取洗涤5次,Sevage法去除蛋白,上清液经透析后浓缩,加5倍无水乙醇,水溶解后再醇析,重复3次,直至280、260nm波长处无杂蛋白和核酸吸收峰为止,过滤,收集沉淀物,真空干燥得多

糖干粉(含生药量  $26.64 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$ )。

## 2.2 S<sub>180</sub> 移植瘤模型的建立与给药

将 S<sub>180</sub> 细胞在无菌条件下接种于健康小鼠腹腔,待腹水生长旺盛时,抽出乳白色腹水,用生理盐水按 1:10 稀释后以台盼蓝拒染法检测存活率>90%,细胞计数,调整细胞浓度至  $1\times 10^7\cdot\text{mL}^{-1}$ 。取 60 只小鼠,每只于右侧腋窝皮下接种 0.2 mL 细胞悬液,隔日观察瘤体生长情况,当皮下移植瘤长至直径约 5 mm 时为造模成功。将造模成功的小鼠随机分为 5 组( $n=10$ ):模型组每天灌胃等体积的生理盐水;CTX 组为阳性对照腹腔注射环磷酰胺(cyclophosphamide, CTX)  $20 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ;YLSPS 低、中、高剂量组灌胃给药依次为  $150, 300, 600 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 。连续给药 8 d。

## 2.3 YLSPS 对 S<sub>180</sub> 荷瘤小鼠体质量、脏器指数及肿瘤生长的影响

观察每组小鼠给药后的体质量、活动情况、精神状态、皮毛色泽等。末次给药 24 h 后,称量小鼠体质量,摘眼球取血,颈椎脱臼处死小鼠,解剖取出 S180 肉瘤、胸腺、脾脏,用滤纸吸干残血后,分别精确称量并记录,并分别计算抑瘤率与脏器指数(脾脏、胸腺)。抑瘤率=(肿瘤模型组的平均瘤重-给药组的平均瘤重)/肿瘤模型组的平均瘤重 $\times 100\%$ 。脏器指数=脏器重量(mg)/体质量(g)。

## 2.4 YLSPS 对 S<sub>180</sub> 荷瘤小鼠血清生化指标水平的影响

将取得的小鼠血液,室温静置后离心(离心半径 10 cm, 3500 r/min, 15 min)取上清液并按试剂盒说明书操作,对血清中 SOD、GSH-PX、CAT、MDA 和 VEGF 含量进行检测。

## 2.5 HE 染色观察 YLSPS 对 S<sub>180</sub> 荷瘤小鼠的病理学的改变

取适量肿瘤组织置于 10% 甲醛固定 24 h,经组织脱水、透明,石蜡包埋制片,3  $\mu\text{m}$  连续切片以二甲苯脱蜡,梯度乙醇浸泡水化后,浸泡于水中,然后进行 HE 染色。在光学显微镜下观察、比较肿瘤细胞

的形态变化。

## 2.6 免疫组化法检测 YLSPS 对 S<sub>180</sub> 荷瘤小鼠瘤组织内微血管密度的影响

肿瘤组织切片经脱蜡、抗原修复后,按免疫组化试剂盒说明书分别滴加 CD34 鼠抗单克隆抗体和二抗, DAB 显色,苏木素复染,梯度乙醇脱水、二甲苯透明、中性树胶封片、镜下观察。CD34 阳性血管内皮细胞被染成棕色或棕黄色,相互分离的内皮细胞且无显著管腔或由内皮细胞形成管腔,当管腔小于 8 个红细胞面积者即为微血管,先低倍光镜下(100 $\times$ )选择微血管密集的肿瘤区域,然后通过高倍镜下(400 $\times$ )随机计数 3 个视野内所有染色的微血管数,平均值作为微血管密度(microvessel density, MVD)。

## 2.7 数据统计与分析

采用 SPSS 20.0 软件进行数据统计学分析,所有资料均作正态性检验和方差齐性检验,实验数据以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,用单因素方差分析结果。多组间比较采用方差分析, $P<0.05$  表示差异具有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 YLSPS 对 S<sub>180</sub> 荷瘤小鼠生长状态与肿瘤抑制的影响

各组小鼠接种 S<sub>180</sub> 细胞后 1 周肿瘤直径约为 5 mm,小鼠精神萎靡,行动迟缓,毛发干枯蓬松,肿瘤生长迅速,各给药组有不同程度的缓解。如表 1 所示,CTX 组抑瘤率为 73.83%,YLSPS 低、中、高剂量组的抑瘤率分别为 34.75%、47.46% 和 58.78%。与模型组比较,各给药组均可显著抑制肿瘤生长( $P<0.001$ )。此外,CTX 组荷瘤小鼠胸腺指数、脾脏指数明显下降,与模型组比较差异有统计学意义( $P<0.001$ )。YLSPS 各剂量组荷瘤小鼠胸腺指数、脾脏指数与模型组比较均具有增高的趋势,且高、中剂量组尤为显著( $P<0.05, P<0.001$ )。详见表 1。

表 1 YLSPS 对 S<sub>180</sub> 荷瘤小鼠体质量及肿瘤抑制、脾脏指数、胸腺指数的影响( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

| 组别        | 体质量/g            | 胸腺指数/( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) | 脾脏指数/( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) | 瘤重/g               | 抑瘤率/% |
|-----------|------------------|--|--|--------------------|-------|
| 模型组       | 27.78 $\pm$ 0.78 | 2.92 $\pm$ 0.32                        | 4.78 $\pm$ 0.56                        | 1.51 $\pm$ 0.45    | —     |
| CTX 组     | 27.09 $\pm$ 1.11 | 0.97 $\pm$ 0.25***                     | 2.95 $\pm$ 0.49***                     | 0.39 $\pm$ 0.09*** | 73.83 |
| YLSPS 低剂量 | 26.28 $\pm$ 1.03 | 2.99 $\pm$ 0.55                        | 4.87 $\pm$ 0.74                        | 0.98 $\pm$ 0.16*** | 34.75 |
| YLSPS 中剂量 | 26.77 $\pm$ 0.89 | 3.21 $\pm$ 0.78*                       | 5.11 $\pm$ 0.55*                       | 0.79 $\pm$ 0.22*** | 47.46 |
| YLSPS 高剂量 | 28.52 $\pm$ 0.93 | 3.63 $\pm$ 0.45***                     | 5.70 $\pm$ 0.37***                     | 0.67 $\pm$ 0.16*** | 58.78 |

注:与模型组比较,\* $P<0.05$ ,\*\*\* $P<0.001$ 。

表2 YLSPS对S<sub>180</sub>荷瘤小鼠血清GSH-Px、CAT、SOD、MDA水平的影响( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

| 组别       | MDA/(nmol·mL <sup>-1</sup> ) | SOD/(U·mL <sup>-1</sup> ) | GSH-Px/(U·mL <sup>-1</sup> ) | CAT/(U·mg <sup>-1</sup> ) |
|----------|------------------------------|---------------------------|------------------------------|---------------------------|
| 模型组      | 5.64±0.49                    | 198.17±9.56               | 721.01±11.24                 | 369.69±22.81              |
| CTX组     | 6.78±0.52***                 | 208.55±7.79*              | 633.85±12.26***              | 341.28±14.08*             |
| YLSPS低剂量 | 5.49±0.79                    | 208.25±9.64*              | 734.88±13.03                 | 378.34±16.61              |
| YLSPS中剂量 | 5.26±0.63*                   | 211.12±9.28***            | 746.97±21.78*                | 424.77±16.46***           |
| YLSPS高剂量 | 4.92±0.63***                 | 213.35±8.60***            | 791.54±16.01***              | 517.39±13.15***           |

注:与模型组比较,\* $P<0.05$ ,\*\*\* $P<0.001$ 。

### 3.2 YLSPS对S<sub>180</sub>荷瘤小鼠血清生化指标水平的影响

与模型组比较,YLSPS各剂量组小鼠血清SOD活性显著升高( $P<0.05, P<0.001$ ),YLSPS低剂量组有提高GSH-Px、CAT活性的趋势,但差异无统计学意义( $P>0.05$ ),而中、高剂量组GSH-Px、CAT活性明显增强,差异具有统计学意义( $P<0.05, P<0.001$ )。相较于模型组,YLSPS中、高剂量组中MDA含量显著降低( $P<0.05, P<0.001$ )。与模型组比较,CTX组小鼠血清SOD活性升高( $P<0.05$ ),而GSH-Px、CAT活性呈现明显下调趋势,MDA水平显著升高( $P<0.05, P<0.001$ )。详见表2。

### 3.3 YLSPS对S<sub>180</sub>荷瘤小鼠肿瘤组织病理学的影响

模型组中肿瘤细胞丰富且紊乱分布,细胞结构、形态完整且大小不一,瘤细胞异型性明显,呈现病理性核分裂现象。经药物干预后,各给药组肿瘤细胞及细胞染色质皱缩,异型性降低,病理性核分裂减少,可见散在的与融合成片状的坏死灶。详见图1A。

### 3.4 YLSPS对S<sub>180</sub>荷瘤小鼠移植瘤MVD的影响

模型组肿瘤组织内CD34阳性染色的微血管数量众多,而经药物干预后,CTX组、YLSPS不同剂量组肿瘤组织内CD34阳性染色的微血管数量较模型组均显著减少( $P<0.001$ ),提示YLSPS可减少实体

瘤组织MVD,且YLSPS对MVD抑制作用强度呈剂量依赖性,高剂量组与CTX组作用相当。如表3所示,与模型组相比,CTX组对VEGF表达具有显著抑制作用( $P<0.001$ ),而YLSPS低剂量组有下调VEGF表达的趋势,但差异化未达到显著水平,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),YLSPS中、高剂量组对VEGF表达有明显的抑制作用,差异有统计学意义( $P<0.05, P<0.001$ )。详见表3和图1B。

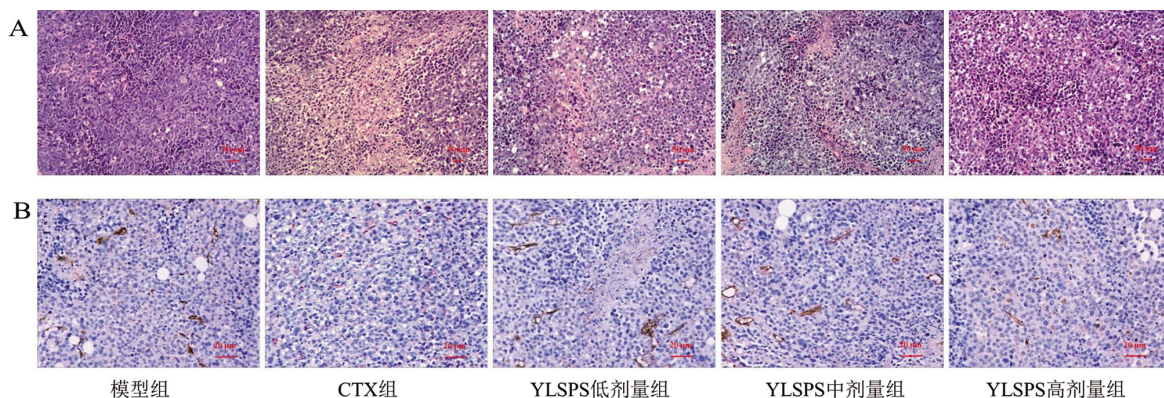
表3 YLSPS对S<sub>180</sub>荷瘤小鼠VEGF表达和MVD的影响( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

| 组别       | MVD/(CD34)    | VEGF/(pg·mL <sup>-1</sup> ) |
|----------|---------------|-----------------------------|
| 模型组      | 43.02±7.19    | 21.02±1.13                  |
| CTX组     | 16.82±3.52*** | 8.82±0.51***                |
| YLSPS低剂量 | 37.10±6.23*** | 20.10±0.93                  |
| YLSPS中剂量 | 21.14±5.81*** | 18.14±0.85*                 |
| YLSPS高剂量 | 19.98±5.21*** | 16.98±0.98***               |

注:与模型组比较,\* $P<0.05$ ,\*\*\* $P<0.001$ 。

## 4 讨论

在复杂的循环与代谢中,多糖承担着能量储存与来源或结构材料的角色,参与细胞的转化和凋亡、免疫功能调节、抗氧化、细胞间物质运输与信号传导等生物过程,发挥重要的生理功能作用<sup>[10]</sup>。当多

图1 YLSPS对S<sub>180</sub>荷瘤小鼠肿瘤组织病理学与微血管数量的影响

注:A. YLSPS对S<sub>180</sub>荷瘤小鼠肿瘤组织病理学的影响(H&E×100,标尺=50 μm);B.免疫组化染色检测YLSPS对S<sub>180</sub>荷瘤小鼠肿瘤组织MVD表达的影响(×400,标尺=20 μm)。

糖类与免疫细胞的表面多糖受体结合时,可激活细胞的信号转导途径,促使巨噬细胞产生细胞因子,进而诱导和调控免疫反应、抑制肿瘤或癌细胞的生长增殖<sup>[11-12]</sup>。YLSPS可通过抑制肿瘤细胞增殖、侵袭、转移、诱导肿瘤细胞凋亡等途径发挥抗肿瘤作用<sup>[5]</sup>。本研究利用小鼠 S<sub>180</sub> 移植瘤模型探讨 YLSPS对荷瘤小鼠的抑瘤作用,证实了 YLSPS 具有较好的抑制 S<sub>180</sub> 荷瘤小鼠肿瘤生长的作用,展现了较好的应用前景。

机体免疫功能的下降会加剧肿瘤的发生和发展,而肿瘤的出现也往往导致机体免疫器官的萎缩和免疫能力的衰弱<sup>[13]</sup>。其中,胸腺和脾脏是机体重要的免疫器官,其指数可在一定程度上衡量机体的免疫水平<sup>[14]</sup>。本实验结果显示,经 YLSPS 干预后 S<sub>180</sub> 荷瘤小鼠脾脏指数和胸腺指数均具有不同程度地回升,呈现剂量依赖性,表明 YLSPS 具有改善荷瘤小鼠脾脏和胸腺损伤的作用,提示 YLSPS 可能通过提升机体免疫功能发挥抗肿瘤作用。

氧化应激与肿瘤的发生发展密切相关,当机体微环境处于氧化应激状态时,体内自由基代谢紊乱,基因转录、细胞信号转导、酶和生物大分子活性及细胞的增殖、分化、凋亡等生理功能异常,最终导致肿瘤<sup>[15]</sup>。植物多糖具有直接清除活性氧和提高抗氧化酶活性的作用,从而发挥抗氧化功效<sup>[16]</sup>。SOD 作为一种过氧化物分解酶,是机体关键的抗氧化防御物质,体内自由基清除速率随着 SOD 活性的升高而加快。GSH-Px 是体内常见的重要催化氧化酶之一,通过其还原过氧化物的作用,从而阻断了脂质过氧化的链式反应。当机体发生氧化应激时,部分脂肪酸会氧化分解为一系列复杂的化合物,其中就包括 MDA,此时体内的 MDA 水平显示了脂质过氧化水平。正常生理状况下机体拥有由 GSH-Px、CAT、SOD 等抗氧化酶构成的一套完整的抗氧化防御体系,它们在体内保持动态平衡<sup>[17]</sup>,而当抗氧化防御体系失衡出现异常时,致使 MDA 等脂质过氧化产物大量生成并累积,随后造成细胞的氧化损伤,最终导致肿瘤的发生与发展<sup>[18]</sup>。本研究表明,YLSPS 治疗后能明显上调 S<sub>180</sub> 荷瘤小鼠血清中 GSH-Px、CAT 和 SOD 水平,下调 MDA 水平。说明 YLSPS 可通过提高 S<sub>180</sub> 荷瘤小鼠抗氧化酶活性、抑制脂质过氧化反应和清除自由基等方式抑制荷瘤小鼠体内氧化应激,进而抑制肿瘤生长。提示 YLSPS 能通过抑制氧化应

激发挥其抗肿瘤作用。

前期研究发现,YLSPS 可抗血管生成<sup>[5]</sup>,故推测 YLSPS 可能通过抑制血管生成发挥抗肿瘤作用。MVD 是当前公认评价肿瘤血管生成程度的重要指标,可通过检测 MVD 探讨药物对肿瘤血管生成的调控作用<sup>[19]</sup>。本实验以免疫组化法测定小鼠肿瘤组织血管内皮细胞 CD34 的阳性水平,计算微血管密度,结果表明 YLSPS 各剂量组均能显著降低实体瘤组织的 MVD,从而抑制 S<sub>180</sub> 荷瘤血管的生成。此外,VEGF 为至今公认作用最强、专属性最好的促血管内皮细胞增殖和促血管生成因子,其表达水平高低可衡量血管形成能力的大小,在实体瘤血管新生过程中具有举足轻重的作用<sup>[20]</sup>。研究证实,体内肿瘤由于微环境的变化与癌基因的激活表达促使肿瘤细胞大量生成 VEGF<sup>[21]</sup>。VEGF 对肿瘤血管内皮细胞上的 VEGF 受体具有高度选择性,从而介导内皮细胞增殖、分裂、迁移;其次可提高微小血管的通透性,致使血浆大分子外渗沉积在血管外的基质中,加速了肿瘤细胞的生长和新生血管网的形成,同时也为肿瘤细胞的远处侵袭提供通道<sup>[22]</sup>。新生血管促进肿瘤持续发展,而肿瘤发展又诱导 VEGF 快速大量累积,使肿瘤发展形成一种恶性循环。因此,针对 VEGF 及其受体的靶向干预手段可改善肿瘤内新生血管生成,有助于抑制肿瘤的生长、侵袭和扩散。本研究通过 ELISA 法检测了 S<sub>180</sub> 荷瘤小鼠肿瘤组织中 VEGF 蛋白的表达,结果表明 YLSPS 中、高剂量可显著抑制 VEGF 蛋白的表达。

综上所述,YLSPS 具有调节小鼠免疫功能、抑制氧化应激及抗 S<sub>180</sub> 荷瘤小鼠肿瘤生长的作用,并能降低肿瘤组织中 VEGF 的表达及 MVD,提示 YLSPS 抗肿瘤机制与改善免疫功能、抗氧化及抑制肿瘤血管的生成有关。

## 参考文献

- [1] DOAN V M, CHEN C X, LIN X, et al. Correction: Yulansan polysaccharide improves redox homeostasis and immune impairment in d-galactose-induced mimetic aging[J]. *Food & Function*, 2021, 12(12): 5668.
- [2] YE F X, HE J H, WU X M, et al. The regulatory mechanisms of Yulansan MHBFC reversing cardiac remodeling in rats based on eNOS-NO signaling pathway[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2019, 117: 109141.

- [3] 左巧云,陶丽群,农志欢,等.玉郎伞多糖抑制 HepG 2.2.15 细胞 HBV 的复制和表达的研究[J].今日药学,2021,31(5):349-352.
- [4] CHEN C X, NONG Z H, LIANG X M, et al. Effect of Yulangsans polysaccharide on the reinstatement of morphine-induced conditioned place preference in sprague-dawley rats[J]. *Neurochemical Research*, 2018, 43(4): 918-929.
- [5] QIN N, LU S Y, CHEN N, et al. Yulangsans polysaccharide inhibits 4T1 breast cancer cell proliferation and induces apoptosis in vitro and in vivo[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 121: 971-980.
- [6] CAI W, CHEN X, PAN Q, et al. Antitumor activity of Yulangsans polysaccharides in mice bearing S180 sarcoma tumors[J]. *Molecular and Clinical Oncology*, 2017, 7(4): 716-720.
- [7] GUO Y, LIANG X, MENG M, et al. Hepatoprotective effects of Yulangsans flavone against carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>)-induced hepatic fibrosis in rats[J]. *Phytomedicine*, 2017, 33: 28-35.
- [8] HUANG J C, NGUYEN V, TANG X J, et al. Protection from diclofenac-induced liver injury by Yulangsans polysaccharide in a mouse model[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2016, 193(4): 207-213.
- [9] 覃妮,陈宁,何俊慧,等.玉郎伞多糖及其联用环磷酰胺对小鼠的急性毒性[J].中国临床药理学杂志,2017,33(22):2287-2290.
- [10] 杨雪帆,吴小南,陈洁,等.慈菇多糖对 S180 荷瘤小鼠的抑瘤作用[J].海峡预防医学杂志,2020,26(2):37-39.
- [11] YU S S, YU J, DONG X D, et al. Structural characteristics and anti-tumor/-oxidant activity in vitro of an acidic polysaccharide from *Gynostemma pentaphyllum*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 161(10): 721-728.
- [12] ZHENG J L, ZHANG T T, FAN J, et al. Protective effects of a polysaccharide from *Boletus aereus* on S180 tumor-bearing mice and its structural characteristics[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 188(10): 1-10.
- [13] THAKUR A, KONDADASULA S V, JI K, et al. Anti-tumor and immune modulating activity of T cell induced tumor-targeting effectors (TITE)[J]. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 2021, 70(3): 633-656.
- [14] YAO F, JIANG G R, LIANG G Q, et al. The antitumor effect of the combination of aconitine and crude monkshood polysaccharide on hepatocellular carcinoma [J]. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2021, 34(3): 971-979.
- [15] SONG Q, ZHOU Z JING C, et al. Oxidative stress links the tumour suppressor p53 with cell apoptosis induced by cigarette smoke[J]. *International Journal of Environmental Health Research*, 2022, 32(8): 1745-1755.
- [16] WANG W, LI S, SONG M. Polygonatum sibiricum polysaccharide inhibits high glucose-induced oxidative stress, inflammatory response, and apoptosis in RPE cells[J]. *Journal of Receptors and Signal Transduction*, 2022, 42(2): 189-196.
- [17] 吴丽珍,曹性玲,李欢,等.佛甲草对 S180 荷瘤小鼠氧化应激和肿瘤免疫的影响[J].重庆医学,2015,44(19):2613-2615.
- [18] CHI X P, LIU Z G, WEI W, et al. Selenium-rich royal jelly inhibits hepatocellular carcinoma through PI3K/AKT and VEGF pathways in H22 tumor-bearing mice[J]. *Food & Function*, 2021, 12(19): 9111-9127.
- [19] KIMURA M, MIYAHARA K, YAMASAKI M, et al. Comparison of vascular endothelial growth factor/vascular endothelial growth factor receptor 2 expression and its relationship to tumor cell proliferation in canine epithelial and mesenchymal tumors[J]. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 2022, 84(1): 133-141.
- [20] LI H, CHEN P, WANG M, et al. Liposome quercetin enhances the ablation effects of microwave ablation in treating the rabbit VX2 liver tumor model[J]. *International Journal of Hyperthermia*, 2022, 39(1): 162-172.
- [21] KEIL V C, GIELEN G H, PINTEA B, et al. DCE-MRI in glioma, infiltration zone and healthy brain to assess angiogenesis: A biopsy study[J]. *Clinical Neuroradiology*, 2021, 31(4): 1049-1058.
- [22] MA D J, ZHOU X Y, QIN Y Z, et al. miR-22-3p Expression is down-regulated in lung adenocarcinoma[J]. *Acta Biochimica Polonica*, 2021, 68(4): 667-672.

(本文编辑 苏维)