

本文引用:周 辉,刘 畅,刘杨霖,张 琦,游玉宇,欧 慧,徐康平,肖 玲.猴头菌多糖对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠抑瘤作用及其机制研究[J].湖南中医药大学学报,2017,37(12):1320-1322.

# 猴头菌多糖对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠抑瘤作用及其机制研究

周 辉<sup>1</sup>,刘 畅<sup>1,2</sup>,刘杨霖<sup>1,2</sup>,张 琦<sup>1</sup>,游玉宇<sup>1,2</sup>,欧 慧<sup>1,2</sup>,徐康平<sup>3</sup>,肖 玲<sup>4\*</sup>

(1.湖南省肿瘤医院/中南大学湘雅医学院附属肿瘤医院,湖南 长沙 410013;2.南华大学,湖南 衡阳 421001;  
3.中南大学药学院,湖南 长沙 410013;4.中南大学基础医学院组织学与胚胎学系,湖南 长沙 410013)

**【摘要】目的** 探讨猴头菌多糖(HPS)对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠肿瘤抑制作用及其可能机制。**方法** 选取小鼠 50 只均接种 Lewis 肺癌瘤株造模,随机分为 HPS 高、中、低剂量组、环磷酰胺(CTX)组和模型对照组,每组 10 只,HPS 不同剂量组分别给予 HPS 200 mg/(kg·d)、100 mg/(kg·d)、50 mg/(kg·d),连续给药 10 d;CTX 组给予 CTX 40 mg/(kg·d),连续给药 3 d;模型对照组每天给予生理盐水 0.1 mL/10 g。另选取 10 只健康小鼠作为正常对照组。10 d 后对各组小鼠眼球取血,分离血清,ELISA 法测定肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )和白细胞介素-2(IL-2),分离瘤体,称质量并计算抑瘤率。**结果** 与模型对照组相比,CTX 组和 HPS 高、中、低剂量组的瘤重均显著降低( $P<0.05$ ),抑瘤率分别为 73.52%、44.33%、29.65%和 16.58%,各组间差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。与正常对照组相比,模型对照组小鼠 TNF- $\alpha$  显著增高,IL-2 显著降低( $P<0.05$ );与模型对照组相比,CTX 组和 HPS 各剂量组的 TNF- $\alpha$  均显著降低,IL-2 均显著增高( $P<0.05$ ),HPS 各剂量组变化幅度显著小于 CTX 组( $P<0.05$ ),但 HPS 各剂量组间无统计学意义( $P>0.05$ )。**结论** HPS 对小鼠 Lewis 肺癌具有剂量依赖性的抑瘤作用,其机制可能与改善血清 TNF- $\alpha$  和 IL-2 水平,进而改善机体免疫功能有关。

**【关键词】** 猴头菌多糖;Lewis 肺癌;TNF- $\alpha$ ;IL-2

**【中图分类号】**R285.5;R734.2

**【文献标志码】**A

**【文章编号】**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2017.12.006

## Study of the Inhibition and Its Possible Mechanisms of Hericium Polysaccharides on Mice with Lewis Lung Cancer

ZHOU Hui<sup>1</sup>, LIU Chang<sup>1,2</sup>, LIU Yanglin<sup>1,2</sup>, ZHANG Qi<sup>1</sup>, YOU Yuyu<sup>1,2</sup>, OU Hui<sup>1,2</sup>, XU Kangping<sup>3</sup>, XIAO Ling<sup>4\*</sup>

(1. Hunan Cancer Hospital/the Affiliated Cancer Hospital of Xiangya School of Medicine, Central South University, Changsha, Hunan 410013, China; 2. University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China; 3. School of Pharmacy, Central South University, Changsha, Hunan 410013, China; 4. Department of Histology and Embryology, School of Basic Medical Science, Central South University, Changsha, Hunan 410013, China)

**【Abstract】Objective** To study the inhibition and its possible mechanisms of Hericium polysaccharides (HPS) on mice with Lewis lung cancer. **Methods** 50 mice were chosen to establish Lewis lung cancer mice models, and were divided randomly into five groups: HPS high-dose group, HPS middle-dose group, HPS low-dose group, cyclophosphamide (CTX) group and model control group, 10 mice in each group. The mouse in former three groups were given HPS 200 mg/kg, 100 mg/kg and 50 mg/kg daily for 10 days, respectively, while those in CTX group were given CTX 40 mg/kg daily for 3 days, and those in model control group were given physiological saline 0.1mg/10g daily for 10 days. Another 10 healthy mice were chosen as the normal control group. The blood from eyeball of mice were collected, and the blood serum were separated, and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and interleukin-2 (IL-2) were detected by ELISA. The tumor

**【收稿日期】**2017-02-23

**【基金项目】**2017 年度湖南省中医药科研计划项目(201768);湖南省财政厅项目[湘财社指(2016)129 号];湖南省自然科学基金项目(2015JJ6058)。

**【作者简介】**周 辉,男,博士,主任医师,研究方向:肿瘤分子生物学。

**【通讯作者】**\*肖 玲,女,博士后,副教授,硕士研究生导师,E-mail:xiaolingcsu@csu.edu.cn。

inhabitation rates were calculated. **Results** Compared with model control group, the tumor weights in CTX group and HPS high-dose, middle-dose and low-dose group all significantly decreased ( $P<0.05$ ) with tumor inhabitation rates 73.52%, 44.33%, 29.65% and 16.58%, which had statistical significance between each group ( $P<0.05$ ). The level of TNF- $\alpha$  was higher and the level of IL-2 in model control group was lower than those in normal control group ( $P<0.05$ ). Compared with model control group, the level of TNF- $\alpha$  significantly increased and the level of IL-2 significantly decreased in CTX group and HPS groups ( $P<0.05$ ). The change trends of CTX group were more obvious than those in HPS groups ( $P<0.05$ ), while there was no significant differences among HPS different dose groups ( $P>0.05$ ). **Conclusion** HPS has dose-dependent inhibitory effect on mice with Lewis lung cancer, which may be associated with improvement of serum TNF- $\alpha$  and IL-2 level, thus improving immune function.

[**Keywords**] Hericium polysaccharide; Lewis lung cancer; TNF- $\alpha$ ; IL-2

猴头菌是一种药食两用的真菌,猴头菌多糖(hericium polysaccharide, HPS)是猴头菌主要活性物质,报道显示其具有抗肿瘤、抗菌、免疫调节、抗氧化、抗凝血、降血脂等功效<sup>[1-5]</sup>。本实验建立 Lewis 肺癌小鼠模型,观察不同剂量 HPS 对 Lewis 肺肿瘤的抑制作用,并观察其肿瘤的发生、发展及转移关系密切的血清细胞因子、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor - $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )和白细胞介素-2(interleukin-2, IL-2)水平的影响,旨在探讨 HPS 的抗肿瘤作用及其可能的作用机制。

## 1 实验材料

### 1.1 实验动物和细胞株

实验小鼠由广东省医学动物实验中心提供,共 60 只,均为 SPF 级,雌雄兼有,6~8 周龄,体质量(20.0 $\pm$ 2.0) g;小鼠 Lewis 肺癌细胞株由中国科学院上海生命科学研究院提供。

### 1.2 主要仪器、试剂和试剂

HPS 由黑龙江中医药大学生物化学教研室制备,质量分数 72.25%,临用前用生理盐水配制并稀释至实验浓度;环磷酰胺(cyclophosphamide, CTX)由江苏恒瑞医药股份有限公司提供,规格 0.2 g/支。小鼠 TNF- $\alpha$  Elisa 试剂盒、小鼠 IL-2 Elisa 试剂盒由博士德生物科技有限公司提供;DNM-9602 酶标仪由北京普朗新技术有限公司提供。

## 2 方法

### 2.1 造模及检测

选取小鼠 50 只均接种 Lewis 肺癌瘤株造模,造模方法为:取传代 Lewis 肺癌荷瘤小鼠的肿瘤细胞,以生理盐水稀释成瘤细胞浓度  $1 \times 10^7$ /mL 的细胞悬液,取 0.2 mL 接种于小鼠右侧腋窝皮下,建立 Lewis 肺癌荷瘤小鼠模型。建模成功后将模型小鼠随机分为 HPS 高、中、低剂量组,环磷酰胺(CTX)组和模型对照组,每组均为 10 只,HPS 高、中、低剂

量组分别给予 HPS 200 mg/(kg·d)、100 mg/(kg·d)、50 mg/(kg·d),连续给药 10 d;CTX 组给予 CTX 40mg/(kg·d),连续给药 3 d;模型对照组每天给予生理盐水 0.1 mL/10 g。另选取 10 只健康小鼠作为正常对照组。10 d 后对各组小鼠眼球取血,分离血清,ELISA 法测定 TNF- $\alpha$  和 IL-2,严格按照说明书方法操作。小鼠脱颈椎处死后,将瘤体分离出,称质量并计算抑瘤率。抑瘤率为与模型对照组相比,各给药组平均瘤重减轻的百分比。

### 2.2 统计学方法

采用 SPSS 19.0 分析数据,计量资料以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示,采用方差分析,组间采用 SNK- $q$  检验进行分析,计数资料以卡方检验分析,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 HPS 对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠肿瘤的抑制作用

模型对照组、CTX 组、HPS 高、中、低剂量组的瘤重和抑瘤率如表 1 所示,与模型对照组相比,CTX 组和 HPS 各剂量组的瘤质量均显著降低,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。与 CTX 组相比,HPS 各剂量组瘤重均大于 CTX 组,抑瘤率均小于 CTX 组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。HPS 各剂量组间相比,高剂量组瘤质量最小,抑瘤率最大,中剂量组次之,低剂量组瘤质量最大,抑瘤率最小,各组间差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。

表 1 不同组别对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠肿瘤的抑制作用比较

组别	瘤质量/g	抑瘤率/%
模型对照组	1.59 $\pm$ 0.33	-
CTX 组	0.42 $\pm$ 0.25 <sup>a</sup>	73.52
高剂量组[200 mg/(kg·d)]	0.88 $\pm$ 0.22 <sup>ab</sup>	44.33 <sup>b</sup>
HPS 组 中剂量组[100 mg/(kg·d)]	1.12 $\pm$ 0.24 <sup>abc</sup>	29.65 <sup>bc</sup>
低剂量组[50 mg/(kg·d)]	1.33 $\pm$ 0.25 <sup>bcd</sup>	16.58 <sup>cd</sup>

注:与模型对照组相比,a $P<0.05$ ;与 CTX 组相比,b $P<0.05$ ;与高剂量组相比,c $P<0.05$ ;与中剂量组相比,d $P<0.05$ 。

### 3.2 猴头菌多糖对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠 TNF- $\alpha$ 和 IL-2 的影响

各组小鼠 TNF- $\alpha$  和 IL-2 水平如表 2 所示。与正常对照组相比,模型对照组的 TNF- $\alpha$  显著增高,IL-2 显著降低,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );与模型对照组相比,CTX 组和 HPS 各剂量组的 TNF- $\alpha$  均显著降低,IL-2 均显著增高,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );与 CTX 组相比,HPS 各剂量组 TNF- $\alpha$  均高于 CTX 组,IL-2 均低于 CTX 组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );但 HPS 各剂量组间相比,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

表 2 不同组别对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠 TNF- $\alpha$  和 IL-2 的影响

组别	TNF- $\alpha$ /pg·mL <sup>-1</sup>	IL-2/pg·mL <sup>-1</sup>
正常对照组	25.21±6.30	19.33±6.88
模型对照组	53.24±11.45 <sup>a</sup>	12.73±5.21 <sup>a</sup>
CTX 组	27.32±9.44 <sup>b</sup>	61.33±10.68 <sup>b</sup>
高剂量组[200 mg/(kg·d)]	35.54±9.98 <sup>bc</sup>	35.96±7.85 <sup>bc</sup>
HPS 组 中剂量组[100 mg/(kg·d)]	38.33±10.39 <sup>bc</sup>	32.33±8.68 <sup>bc</sup>
低剂量组[50 mg/(kg·d)]	39.66±10.09 <sup>bc</sup>	30.25±8.12 <sup>bc</sup>

注:与正常对照组相比,<sup>a</sup> $P<0.05$ ;与模型对照组相比,<sup>b</sup> $P<0.05$ ;与 CTX 组相比,<sup>c</sup> $P<0.05$ 。

## 4 讨论

临床上有云芝多糖(PSK)、水飞蓟素胶囊和鸦胆子油乳等多种用于治疗恶性肿瘤的清热解毒类制剂。近年来,植物提取物抗肿瘤的研究日益深入;传统中药白花蛇舌草提取物抑制大肠癌耐药裸鼠移植瘤<sup>[6]</sup>,树舌多糖 GF、香菇多糖等多种多糖已被证实具有直接抑制肿瘤细胞生成的作用,也可以间接通过对免疫功能调节等发挥抗肿瘤作用<sup>[7-8]</sup>。HPS 的抗肿瘤作用目前已有研究报道。Kim 等<sup>[9-10]</sup>的动物实验研究显示,HPS 提取物具有抗肿瘤作用,并能抑制肺癌细胞的转移。国内孙力等<sup>[11-12]</sup>也报道 HPS 可抑制 S180 荷瘤小鼠肿瘤生长。但 HPS 抗肿瘤机制目前尚无定论。聂继盛等<sup>[13]</sup>报道 HPS 发挥抗肿瘤作用与增强 NK 细胞活性有关,夏松柏<sup>[12]</sup>报道 HPS 可提高血清 IFN- $\gamma$  和 IL-2 水平,可能通过免疫调节作用发挥抗肿瘤作用。TNF- $\alpha$  是具有促肿瘤作用的细胞因子,IL-2 是参与免疫调节的重要细胞因子之一,在抑制肿瘤生长等方面具有重要作用,二者相互作用可发挥一系列的免疫作用,均与恶性肿瘤的发生、发展密切相关,其表达水平可间接反映机体免疫功能状态和肿瘤进展情况<sup>[14-15]</sup>。本实验研究不同剂量的 HPS 对 Lewis 肺癌荷瘤小鼠肿瘤的抑制作用及对 TNF- $\alpha$  和 IL-2 水平的影响,并与 CTX 对比,以

探讨 HPS 的抗肿瘤作用及可能机制。

结果表明 HPS 可显著抑制 Lewis 肺癌荷瘤小鼠肿瘤体生长,改善血清 TNF- $\alpha$  和 IL-2 水平,提示 HPS 具有抗肿瘤作用,其机制可能与纠正调节细胞因子水平以改善机体免疫功能有关。同时,研究中也发现 HPS 对小鼠 Lewis 肺肿瘤的抑制作用呈现明显的剂量依赖性,随着剂量增大,肿瘤抑制作用随之增强,但其对细胞因子的改善程度未见明显差异。这与夏松柏<sup>[12]</sup>以 S180 荷瘤小鼠模型研究得出的 HPS 中剂量抗肿瘤作用优于高、低剂量的结果不同,可能与实验采用的肿瘤模型不同以及 HPS 来源不同等因素有关,仍有待进一步深入研究。

## 参考文献:

- [1] 陈庆榆,缪成贵,何华奇.人工栽培猴头菌多糖提取工艺及抑菌作用研究[J].生物学杂志,2012,29(4):89-91.
- [2] 吴美媛,余甜女,王喜周.猴头菇多糖对 D-半乳糖小鼠体内抗氧化作用的研究[J].食品研究与开发,2016,37(10):55-57.
- [3] 李玉,李巧珍,吴迪,等.不同品种猴头菌子实体粗多糖含量及体外免疫活性比较[J].食用菌学报,2014,21(2):54-56.
- [4] 孟俊龙,田敏,冯翠萍,等.珊瑚状猴头菌营养成分及其多糖对小鼠免疫功能的影响[J].中国食品学报,2016,16(2):50-55.
- [5] 陈慧.猴头菌化学成分及药理活性的研究进展[J].食用菌,2016,38(6):6-9.
- [6] 严兆坤,赖子君,靳祎祎,等.白花蛇舌草抑制大肠癌耐药裸鼠移植瘤多条信号通路的活化[J].肿瘤药学,2016,6(4):256-260.
- [7] 于英君,韩松洋,姜颖,等.基于肝癌 CDK2 基因敲减对 CyclinE 表达及树舌多糖 GF 对其影响的研究[J].现代生物医学进展,2016,16(23):4434-4437.
- [8] 王容容,蒋益兰.香菇多糖胸腔灌注联合全身化疗治疗晚期非小细胞肺癌伴恶性胸腔积液临床观察[J].湖南中医药大学学报,2014,34(12):37-40.
- [9] Kim SP, Kang MY, Kim JH, et al. Composition and mechanism of antitumor effects of Hericium erinaceus mushroom extracts in tumor-bearing mice[J]. J Agric Food Chem, 2011, 59(18): 9861-9869.
- [10] Kim SP, Nam SH, Friedman M. Hericium erinaceus (Lion's Mane) mushroom extracts inhibit metastasis of cancer cells to the lung in CT-26 colon cancer-transplanted mice[J]. J Agric Food Chem, 2013, 61(20):4898-4904.
- [11] 孙力,于子雯.猴头多糖对 S180 荷瘤小鼠的抗肿瘤作用研究[J].中国医药指南,2013,11(23):64.
- [12] 夏松柏.猴头菌多糖对 S180 荷瘤小鼠的抑瘤作用及对血清细胞因子水平的影响[J].实用药物与临床,2014,17(1):5-8.
- [13] 聂继盛,祝寿芬.猴头多糖抗肿瘤及对免疫功能的影响[J].山西医药杂志,2003,32(2):107-108.
- [14] 付强,王冬,刘现兵,等.IL-2、IL-21 诱导人外周血单个核细胞及其抗肿瘤作用[J].山东医药,2011,51(11):23-25.
- [15] Alokail MS, Al-Daghri NM, Mohammed AK, et al. Increased TNF- $\alpha$ , IL-6 and ErbB2 mRNA expression in peripheral blood leukocytes from breast cancer patients[J]. Med Oncol, 2014, 31(8):38.

(本文编辑 李杰)