

- 22(5): 798-802.
- [8] Bhattacharya R, Xia L, Fan F, et al. Inhibition of intracrine VEGF signaling prevents colorectal cancer cell migration and invasion[J]. Cancer Res, 2016, 76(14): 3255-3255.
- [9] Krcek R, Matschke V, Theis V, et al. Vascular endothelial growth factor, irradiation, and axitinib have diverse effects on motility and proliferation of glioblastoma multiforme cells[J]. Front Oncol, 2017, 7(8): 182.
- [10] 项高波, 邓勇, 鲍凤, 等. IL-24 与 VEGF 在脑胶质瘤中的表达以及与肿瘤微血管密度的关系[J]. 安徽医科大学学报, 2013, 48(7): 810-813.

(责任编辑: 冯天保, 钟志敏)

香菇多糖联合云芝糖肽对 Lewis 肺癌小鼠免疫调节与抗肿瘤作用的研究

艾亮, 王晓东

锦州医科大学附属第一医院胸外科, 辽宁 锦州 121000

[摘要] 目的: 探讨香菇多糖 (Lentinan, LNT) 和云芝糖肽 (Polysaccharopeptide, PSP) 联合使用对免疫抑制小鼠和肺癌小鼠的免疫调节作用和抗肿瘤活性。方法: 以 Lewis 肺癌细胞建立肺癌小鼠模型, 随机分为空白组 (B1 组)、生理盐水组 (N1 组)、PSP+LNT 组 (C1 组) 和阿霉素 (Adriamycin, ADM) 组 (A1 组); 以多柔比星 KM 小鼠建立免疫抑制模型, 随机分为空白组 (B2 组)、生理盐水组 (N2 组) 和 PSP+LNT 组 (C2 组); 2 模型中 B1 组和 B2 组小鼠不行肺癌细胞和 ADM 注射, 2 模型中 N1 组与 N2 组、C1 与 C2 组在建模后连续 20 天分别通过灌胃法注入生理盐水 0.2 mL 和 PSP+LNT 的混合溶液 0.2 mL, A1 组小鼠连续 3 天腹腔内注射 4 mg/(kg·d) ADM。采用自动血细胞分析仪对外周血白细胞 (WBC) 进行计数; 比较各组小鼠胸腺指数、脾脏指数和抑瘤作用; 采用流式细胞术测定外周血中 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 淋巴细胞, 并计算其比值; 用微量样本多指标流式蛋白定量方法 (CBA) 和小鼠 Th1/Th2/Th17 细胞因子 CBA 分析试剂盒测定小鼠血清中白细胞介素-2 (Interleukin-2, IL-2)、肿瘤坏死因子 (Tumor necrosis factor, TNF)、干扰素- γ (Interferon- γ , IFN- γ)、白细胞介素-4 (Interleukin-4, IL-4)、白细胞介素-6 (Interleukin-6, IL-6)、白细胞介素-10 (Interleukin-10, IL-10) 和白细胞介素-17A (Interleukin-17A, IL-17A) 的含量。结果: 肺癌模型中, 与 B1 组比较, N1 组外周 WBC 数量、胸腺指数、脾脏指数、CD4⁺/CD8⁺ T 比值、TNF、IFN- γ 、IL-2 和 IL-17A 均显著降低 ($P < 0.05$), 血清中 IL-10 的含量增高 ($P < 0.05$); 与 N1 组比较, C1 组外周 WBC 数量、胸腺指数、脾脏指数、CD4⁺/CD8⁺ T 比值、TNF、IFN- γ 、IL-2 和 IL-17A 均显著提高 ($P < 0.05$), 血清中 IL-10 的含量降低 ($P < 0.05$), 平均肿瘤重量较低 ($P < 0.05$); 而 A1 组外周 WBC 数量、胸腺指数、脾脏指数、CD4⁺/CD8⁺ T 比值、TNF、IFN- γ 、IL-2 和 IL-17A 明显降低 ($P < 0.05$), 2 组平均肿瘤重量没有差别。免疫抑制模型中, 与 B2 组比较, N2 组外周 WBC 数量、胸腺指数、脾脏指数、CD4⁺/CD8⁺ T 比值、TNF、IFN- γ 、IL-2 和 IL-17A 均显著降低 ($P < 0.05$), 血清中 IL-10 的含量增高 ($P < 0.05$); 与 N2 组比较, C2 组外周 WBC 数量、胸腺指数、脾脏指数、CD4⁺/CD8⁺ T 比值、TNF、IFN- γ 、IL-2 和 IL-17A 均显著提高 ($P < 0.05$), 血清中 IL-10 的含量降低 ($P < 0.05$)。结论: LNT 和 PSP 联合使用对 Lewis 肺癌小鼠有免疫促进作用和抗肿瘤作用。

[关键词] 云芝多糖 (LNT); 香菇多糖 (PSP); 肺癌; 免疫调节; 抗肿瘤; 动物实验; 小鼠

[中图分类号] R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2019) 01-0012-06

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2019.01.004

Study on Immunomodulatory and Antitumor Effects of Lentinan Combined with Polysaccharopeptide on Lewis Lung Cancer in Mice

AI Liang, WANG Xiaodong

Abstract: Objective: To explore the immunomodulatory effect and antitumor activities of the combined application of

[收稿日期] 2018-06-07

[作者简介] 艾亮 (1982-), 男, 主治医师, 研究方向: 肺癌基础与临床研究。

[通信作者] 王晓东, E-mail: antiy@sina.com。

Lentinan(LNT) and Polysaccharopeptide(PSP) in immunosuppressive mice and lung cancer mice. **Methods:** Made lung cancer models of mice by Lewis lung cancer cell C57, and randomly divided them into the blank group(the group B1), the saline group (the group N1), the PSP+LNT group (the group C1) and the adriamycin (ADM) group (the group A1). Made immunosuppressive models by doxorubicin KM mice, and randomly divided them into the blank group(the group B2), the saline group(the group N2) and the PSP+LNT group(the group C2). In these 2 models, the mice in the group B1 and the group B2 were not injected with lung cancer cells and ADM; the group N1 and the group N2 as well as the group C1 and the group C2 were injected with 0.2 mL of saline and the mixed solution of PSP+LNT by gavage for 20 days after modeling; the mice in the group A1 were given 4 mg/(kg·d) ADM by intrathecal injection for 3 days. Counted peripheral white blood cell count(WBC) by automated blood cell analyzer, compared the thymus indexes, spleen indexes and tumor inhibition in each group, and determined CD4⁺ and CD8⁺T lymphocytes in peripheral blood by flow cytometry and calculated the ratio. Measured the content of interleukin-2 (IL-2), tumor necrosis factor (TNF), interferon- γ (IFN- γ), interleukin-4 (IL-4), interleukin-6 (IL-6), interleukin-10(IL-10) and interleukin-17A(IL-17A) in serum of mice by means of micro-sample and multi-index cytometric bead array(CBA) and mouse Th1/Th2/Th17 cytokine CBA assay kit. **Results:** In the lung cancer models, compared with the group B1, the number of peripheral white blood cell count, thymus index, spleen index, CD4⁺/CD8⁺T ratio, TNF, IFN- γ , IL-2 and IL-17A in the group N1 were all significantly decreased($P < 0.05$), and the serum IL-10 content was increased($P < 0.05$); compared with the group N1, the peripheral white blood cell count, thymus index, spleen index, CD4⁺/CD8⁺T ratio, TNF, IFN- γ , IL-2 and IL-17A in the group C1 were all evidently increased($P < 0.05$), and the serum IL-10 content was decreased($P < 0.05$), and mean tumor mass was decreased($P < 0.05$); while the peripheral white blood cell count, thymus index, spleen index, CD4⁺/CD8⁺T ratio, TNF, IFN- γ , IL-2 and IL-17A in the group A1 were obviously decreased($P < 0.05$), and there was no difference being found in mean tumor mass between the two groups. In the immunosuppressive models, compared with the group B2, the peripheral white blood cell count, thymus index, spleen index, CD4⁺/CD8⁺T ratio, TNF, IFN- γ , IL-2 and IL-17A were clearly declined in the group N2($P < 0.05$), and the serum IL-10 content was increased($P < 0.05$); compared with the group N2, the peripheral white blood cell count, thymus index, spleen index, CD4⁺/CD8⁺T ratio, TNF, IFN- γ , IL-2 and IL-17A in the group C2 were all significantly increased($P < 0.05$), and the serum IL-10 content was decreased($P < 0.05$). **Conclusion:** The combination of LNT and PSP has effects of immunologic enhancement and anti-tumor on mice with Lewis lung cancer.

Keywords: Lentinan(LNT); Polysaccharopeptide(PSP); Lung cancer; Immunoregulation; Antitumor; Animal experiment; Mice

肺癌是呼吸系统常见的严重疾病,其死亡率在肿瘤疾病中排第一^[1]。临床上根据肿瘤细胞分化程度、扩散程度和转移情况,把非小细胞肺癌分为腺癌、鳞癌和大细胞癌。由于早期肺癌临床表现不明显,所以伴有症状的肺癌患者多属于中晚期,此期患者常失去手术机会而转向化疗,但传统的化疗存在不同程度的耐药现象,使得化疗疗效不断降低。众所周知,中医药在肺癌中晚期患者的治疗中备受关注和肯定,其中复方治疗是中医最重要的特色之一^[2]。云芝糖肽(Polysaccharopeptide, PSP)是从多孔菌科植物的云芝菌丝体中提取的高分子糖肽聚合物,近年来的研究表明 PSP 在体内和体外均具有抗病毒、抗炎、免疫调节和抗肿瘤作用^[3]。香菇多糖(Lentinan, LNT)是优质香菇子实体中提取的有效活性成分, LNT 具有抗病

毒、抗肿瘤和调节免疫功能等作用^[4]。然而,关于 LNT 和 PSP 在肺癌中的免疫调节作用的研究还很少。本研究以 PSP 和 LNT 为基础,采用比例分配法观察其对小鼠肺癌模型的免疫调节和抗肿瘤作用。

1 材料与方法

1.1 细胞系和实验动物 小鼠 Lewis 肺癌细胞由中国医学科学院肿瘤医院提供。30 只雌性昆明小鼠(KM 小鼠), 4~5 周龄, 体质量(20 ± 2)g, 动物合格证号为 SYXK(辽)2014-0010; 40 只 SPF 级雌性 C57BL/6 纯系小鼠, 4~5 周龄, 体质量(20 ± 2)g, 动物合格证号为 SCXK(辽)2017-0103, 均购于锦州医科大学动物实验中心。

1.2 主要试剂和仪器 阿霉素(Adriamycin, ADM)溶液(50 mg/支, 浙江海正药业股份有限公司); PSP 溶

液(纯度 70%, 江苏华源生物有限公司); LNT 溶液(纯度 80%, 由金陵药业股份有限公司); HyClone 高糖 DMEM 培养基(赛默飞世尔生物化学制品有限公司); 20% EDTA- Na_2 溶液、CD4-FITC 荧光单克隆抗体试剂、0.7 mL PE 标记大鼠抗小鼠 CD8a 单克隆抗体、抗 CD3 鼠标 PerCP-eFluor[®] 710(美国昂飞公司); BDCBA 小鼠 Th1/Th2/Th17 细胞因子试剂盒(美国 BD 公司)。

BD FACSCanto[™] II 流式细胞仪(美国 BD 公司); CW-CY-IF 型医用洁净工作台(苏州安泰空气技术有限公司); 往复式水浴摇床(上海喆图科学仪器有限公司); KOSTER IMC 800Ti 一体化倒置相差显微镜(广州科适特科学仪器有限公司); 全自动血细胞分析仪(深圳市库贝尔生物科技股份有限公司)。

1.3 分组与模型制备 全部小鼠在实验操作前均不注射任何疫苗。40 只 C57 小鼠建立小鼠肺癌模型, 随机分为空白组(B1 组)、生理盐水组(N1 组)、ADM 组(A1 组)和 PSP+LNT 联合组(C1 组)。将 Lewis 细胞稀释至浓度为 1×10^7 个/mL, 然后放入 0.1 mL DMEM 溶液中, 除 B1 组以外, 其余 3 组小鼠右腋下种植 DMEM 细胞溶液。小鼠肺癌模型建立后, A1 组小鼠通过腹膜内注射 4 mg/(kg·d)ADM, 连续 3 天, 其余 3 组接受与免疫抑制小鼠相同的药物。使用 KM 小鼠建立免疫抑制模型, 随机将 30 只免疫抑制小鼠随机分为空白组(B2)、生理盐水组(N2 组)和 LNT+PSP 联合组(C2 组)。除 B2 组以外, N2 组和 C2 组腹膜内注射 4 mg/(kg·d)ADM, 连续 3 天; 然后通过灌胃给予 C2 组小鼠 PSP 和 LNT 的混合溶液 0.2 mL。N2 组同样的方式给予 0.2 mL 生理盐水, 连续给药 20 天。

1.4 观察各组小鼠一般情况及指标检测方法 实验共需 25 天, 每天检查动物并记录其体征(体质量, 饮食状况, 毛发和精神状态)。第 25 天, 采用颈椎脱臼法处死小鼠, 从眼眶采取血样, $3\,000 \times g$ 离心 5 min 获得血清样品。

血细胞分析: 把 200 μL 抗凝血样品加入到离心管中, 用适量的 20% EDTA- Na_2 溶液处理。使用全自动血细胞分析仪检测外周血白细胞(WBC)。

计算胸腺指数、脾脏指数和抑瘤率: 处死小鼠后, 取出肿瘤、脾脏和胸腺组织。根据以下公式计算抑瘤率、胸腺指数和脾指数: 抑瘤率 = $(\text{WN} - \text{WE}) / \text{WN} \times 100\%$, 其中 WN 是 NS 组的平均肿瘤重量,

WE 是 PSP+LNT 组的平均肿瘤重量; 脾指数 = 脾(g)/体质量(g); 胸腺指数 = 胸腺(g)/体质量(g)。

流式细胞学检测: 50 μL 抗凝血、0.3 mL CD4-FITC 荧光单克隆抗体试剂、0.7 mL PE 标记小鼠抗 CD8a 单克隆抗体, 0.73 mL 抗 CD3 鼠标 PerCP-eFluor[®] 710, 将上述溶液加入到微量离心管中, 黑暗中温育 15 min, 加入 250 μL 水后用 BD FACSCanto[™] II 流式细胞仪测定外周血 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 淋巴细胞的百分比, 并计算 CD4⁺/CD8⁺ 比率。

BD CBA 检测: 根据厂家关于 BD CBA 小鼠 Th1/Th2/Th17 细胞因子试剂盒的说明书, 将 50 μL 血清样品和 50 μL 混合溶液加到微型离心管, 黑暗中温育 2 h, 加入 300 μL 水后在 BD FACSCanto[™] II 流式细胞仪测定 Th1(IL-2, TNF 和 IFN- γ), Th2(IL-4, IL-6 和 IL-10)和 Th17(IL-17A)。

1.5 统计学方法 使用 SPSS13.0 软件进行统计分析。计量资料用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 检验分析采用单因素方差分析(ANOVA)和 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 模型各组小鼠一般情况 免疫抑制模型: ADM 注射后的第 3 天, 与空白组比较, 接受免疫抑制的所有小鼠出现包括抑郁, 食欲不振, 嗜睡, 毛发稀疏干燥, 和腹泻(甚至有胃肠道疾病)等特征。肺癌模型: 当肿瘤生长时, 除空白组外, 其余各组小鼠表现出抑郁, 食欲不振, 毛发粗糙, 甚至继发性呼吸系统疾病。与 N1、N2 组比较, 灌胃 25 天后 PSP+LNT 组小鼠的身体条件明显改善。

2.2 2 模型各组小鼠 WBC 检测结果比较 见图 1。肺癌模型中, 与 B1 组比较, N1 组外周 WBC 明显较高($P < 0.05$); 与 N1 组比较, C1 组外周 WBC 明显较高($P < 0.05$), A1 组外周 WBC 明显较低($P < 0.05$)。免疫抑制模型中, 与 B2 组比较, N2 组外周 WBC 明显较低($P < 0.05$); 与 N2 组比较, C2 组外周 WBC 明显较高。

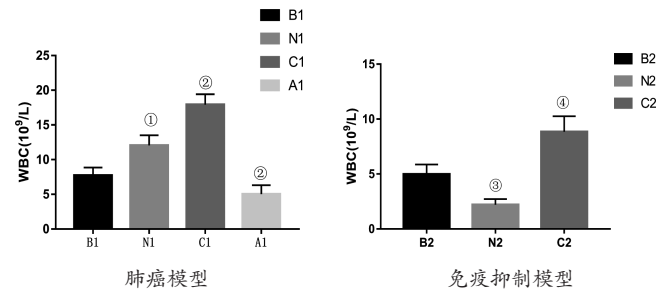
2.3 2 模型各组小鼠脾脏指数和胸腺指数结果比较 见图 2。肺癌模型中, 与 B1 组比较, N1 组脾脏指数、胸腺指数水平较低($P < 0.05$); 与 N1 组比较, C1 组脾脏指数、胸腺指数水平较高($P < 0.05$), A1 组脾脏指数水平较低($P < 0.05$), 胸腺指数水平较高($P < 0.05$)。免疫抑制模型中, 与 B2 组比较, N2 组脾脏

指数、胸腺指数水平较低($P < 0.05$); 与 N2 组比较, C2 组脾脏指数、胸腺指数水平较高($P < 0.05$)。

2.4 2 模型各组小鼠肿瘤重量及 CD4⁺/CD8⁺ 检测结果比较 见图 3。肺癌模型中, 与 N1 组比较, C1 组和 A1 组肿瘤平均重量较低($P < 0.05$); 与 B1 组比较, N1 组 CD4⁺/CD8⁺ 比值明显偏低($P < 0.05$), 与 N1 组比较, C1 组比值明显较高($P < 0.05$)。免疫抑制模型中, 与 B2 组比较, N2 组 CD4⁺/CD8⁺ 比值明显较低($P < 0.05$); 与 N2 组比较, C2 组 CD4⁺/CD8⁺ 比值明显较高($P < 0.05$)。

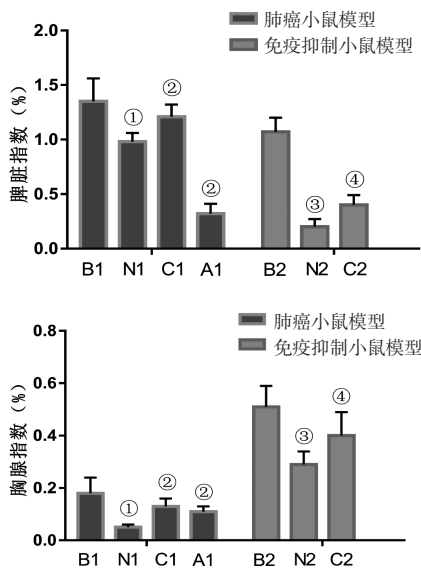
2.5 2 模型各组小鼠各细胞因子检测结果比较 见表 1、表 2。肺癌模型中, 与 B1 组比较, N1 组 IL-2、TNF、IFN- γ 和 IL-17A 含量明显较低($P < 0.05$), IL-10 含量明显较高($P < 0.05$); 与 N1 组比较, C1 组 IL-2、TNF、IFN- γ 和 IL-17A 含量明显较高($P < 0.05$), IL-10 含量明显较低($P < 0.05$), A1 组 IL-2、TNF、IFN- γ 和 IL-17A 含量明显较低($P <$

0.05), IL-10 含量明显较高($P < 0.05$)。免疫抑制模型中, 与 B2 组比较, N2 组 IL-2、TNF、IFN- γ 和 IL-17A 含量明显较低($P < 0.05$), IL-10 含量明显较高($P < 0.05$); 与 N2 组比较, C2 组 IL-2、TNF、IFN- γ 和 IL-17A 含量明显较高($P < 0.05$), IL-10 含量明显较低($P < 0.05$)。



与 B1 组比较, ① $P < 0.05$; 与 N1 组比较, ② $P < 0.05$; 与 B2 组比较, ③ $P < 0.05$; 与 N2 组比较, ④ $P < 0.05$

图 1 2 模型各组小鼠 WBC 检测结果比较

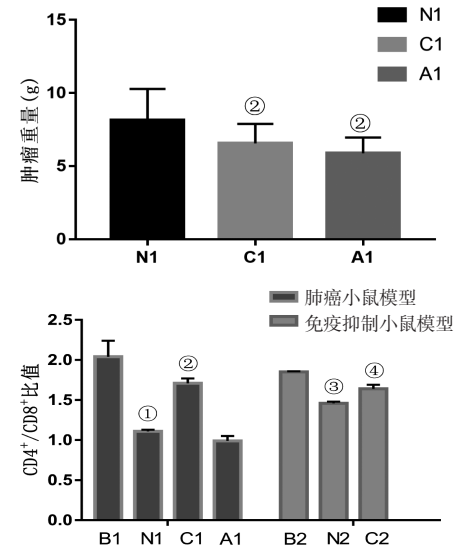


与 B1 组比较, ① $P < 0.05$; 与 N1 组比较, ② $P < 0.05$; 与 B2 组比较, ③ $P < 0.05$; 与 N2 组比较, ④ $P < 0.05$

图 2 2 模型各组小鼠脾脏指数和胸腺指数结果比较

3 讨论

研究表明免疫系统在控制癌症发展中起着至关重要的作用^[5-6]。中药中不同的成分可以产生不同于单一成分的特定治疗效果, 研究证明中药中的多种多糖具有免疫调节作用, LNT 和 PSP 免疫调节作用已基



与 B1 组比较, ① $P < 0.05$; 与 N1 组比较, ② $P < 0.05$; 与 B2 组比较, ③ $P < 0.05$; 与 N2 组比较, ④ $P < 0.05$

图 3 2 模型各组小鼠肿瘤重量及 CD4⁺/CD8⁺ 检测结果比较

本被证实。多柔比星是 1 种蒽环类抗生素, 有抑制肿瘤细胞生长的作用, 常用于各种癌症的治疗^[7]。根据前期的实验摸索, 4 mg/kg 是 ADM 建立免疫抑制模型和治疗癌症的合理剂量。因此, ADM 治疗常被当做阳性对照。

表 1 肺癌模型各组小鼠各细胞因子检测结果比较($\bar{x} \pm s$)

pg/mL

组别	n	IL-2	TNF	IFN- γ	IL-4	IL-6	IL-10	IL-17A
B1 组	10	2.12 $\pm$ 0.22	17.21 $\pm$ 1.65	1.85 $\pm$ 0.37	1.23 $\pm$ 0.12	14.45 $\pm$ 0.65	5.76 $\pm$ 0.34	3.12 $\pm$ 0.13
N1 组	10	1.43 $\pm$ 0.12 ^①	7.28 $\pm$ 0.45 ^①	1.31 $\pm$ 0.08 ^①	1.33 $\pm$ 0.06	14.56 $\pm$ 0.60	14.51 $\pm$ 0.91 ^①	1.19 $\pm$ 0.11 ^①
C1 组	10	1.98 $\pm$ 0.11 ^②	15.99 $\pm$ 0.91 ^②	1.63 $\pm$ 0.22 ^②	1.17 $\pm$ 0.05	13.42 $\pm$ 0.51	6.71 $\pm$ 0.44 ^②	2.46 $\pm$ 0.21 ^②
A1 组	10	0.87 $\pm$ 0.10 ^②	5.45 $\pm$ 0.57 ^②	0.41 $\pm$ 0.21 ^②	1.62 $\pm$ 0.1 ^②	12.87 $\pm$ 0.71	8.01 $\pm$ 0.25 ^②	0.88 $\pm$ 0.11 ^②

与 B1 组比较, ① $P < 0.05$; 与 N1 组比较, ② $P < 0.05$ 表 2 免疫抑制模型各组小鼠各细胞因子检测结果比较($\bar{x} \pm s$)

pg/mL

组别	n	IL-2	TNF	IFN- γ	IL-4	IL-6	IL-10	IL-17A
B2 组	10	4.55 $\pm$ 0.31	20.12 $\pm$ 1.54	6.87 $\pm$ 0.34	2.56 $\pm$ 0.12	6.06 $\pm$ 1.01	3.34 $\pm$ 0.56	4.45 $\pm$ 0.31
N2 组	10	1.65 $\pm$ 0.02 ^①	7.75 $\pm$ 0.53 ^①	1.98 $\pm$ 0.20 ^①	2.85 $\pm$ 0.08	5.95 $\pm$ 0.67	13.63 $\pm$ 1.12 ^①	2.79 $\pm$ 0.21 ^①
C2 组	10	3.57 $\pm$ 0.12 ^②	16.30 $\pm$ 0.28 ^②	5.72 $\pm$ 0.17 ^②	2.48 $\pm$ 0.05	5.47 $\pm$ 0.38	4.43 $\pm$ 0.76 ^②	3.05 $\pm$ 0.12 ^②

与 B2 组比较, ① $P < 0.05$; 与 N2 组比较, ② $P < 0.05$

脾脏和胸腺是哺乳动物的主要免疫器官, 它们是免疫防御系统的重要环节, 同时内脏指数可以反映免疫状态。肿瘤患者化疗常导致免疫系统破坏, 胸腺和脾脏发生功能或器质性改变, 表现为 WBC 降低和免疫因子的改变, WBC 减少会极大增加病毒和细菌感染的机会。与 2 模型中生理盐水组比较, PSP 和 LNT 联合应用可显著提高小鼠脾脏和胸腺指数, 表明 PSP+LNT 对体液和细胞免疫都具有强化改善作用。另外免疫抑制模型结果发现联合使用 PSP 和 LNT 可提高小鼠血液系统中 WBC 数目显著增加, 说明 PSP 和 LNT 可抑制化疗引起的 WBC 降低。

肿瘤治疗目前主要从 2 方面入手, 即提高患者的抗肿瘤免疫力和直接抑制肿瘤生长^[8~9]。为了验证 PSP+LNT 是否参与抗肿瘤作用, 本研究分析了肿瘤重量。结果表明, C1 组经 PSP 和 LNT 联合应用治疗后, 小鼠平均肿瘤重量显著低于 N1 组, 表明 PSP 与 LNT 的联合使用具有一定的肿瘤抑制作用。肿瘤的发生、发展病理过程复杂, 肿瘤细胞的生长与各种免疫逃逸机制有关^[10~11], 所以免疫治疗在肿瘤治疗中起关键作用。MHC-I 类分子向 CD8⁺T 细胞递呈抗原, 使 CD8⁺T 细胞具有特异性, 可以直接杀死靶细胞, 从而发挥免疫抑制和细胞毒作用。另一方面, CD4⁺T 细胞只能识别 II 类分子结合的抗原片段, 其参与迟发型超敏反应、巨噬细胞、NK 和 CTL 细胞的活化、以及促进抗体的生成。T 细胞亚群细胞数量的变化可直接反应机体抑制肿瘤生长的能力, CD4⁺/CD8⁺ 比值常作为评估手段, 比值下降程度表示机体免疫功能因肿瘤进展而抑制程度。本研究结果表明, 给予 ADM 和

Lewis 肺癌细胞后, 2 种模型中的 CD4⁺/CD8⁺ 比值均低于空白组水平, 表明 TS 细胞亚群处于免疫抑制状态; 25 天后, PSP+LNT 组的 CD4⁺/CD8⁺ 比值远高于生理盐水组。表明 PSP 和 LNT 可通过增加 TH 细胞亚群数量和降低 TS 细胞亚群数量达到增强小鼠免疫功能的作用, 从而显示出抗肿瘤作用。

Th1、Th2 和 Th17 细胞因子在先天性和适应性免疫肿瘤微环境中具有重要作用。Th1 细胞负责介导的免疫主要表达 IL-2、TNF 和 IFN- γ , 其可以增强免疫细胞的细胞毒性。Th2 细胞分泌的 IL-4, IL-6 和 IL-10 可以参与调节体液免疫应答和促进抗体生成。有研究报道喉癌、Ehrlich 腹水瘤或下咽癌患者的 Th1 反应受到抑制, Th2 反应被激活。本研究中, 2 种模型中 PSP+LNT 组均比生理盐水组具有更高水平的 IL-2、TNF 和 IFN- γ 细胞因子。但是 IL-10 含量却均显著下降。说明 PSP 和 LNT 可通过调节细胞因子含量抑制肿瘤生长。Th17 细胞产生 IL-17A 作为肿瘤生物学领域中的新型 T 细胞子集已经获得广泛关注, 然而其具体功能仍不清楚^[12]。某些研究表明 Th17 细胞对肿瘤生长具有抑制作用; 深入研究证明 IL-17 具有肿瘤促进作用^[13~14]。本研究结果却显示 PSP 与 LNT 联用比空白组具有更高水平的 IL-17A, 在肿瘤微环境中高表达 Th17A 对肺癌小鼠有积极作用。因此, PSP+LNT 通过提高 IL-2, TNF, IFN- γ 和 IL-17A 水和降低 IL-10 发挥免疫调节甚至抗肿瘤作用。

综上, LNT 和 PSP 联合使用对 Lewis 肺癌小鼠有免疫促进作用和抗肿瘤作用, 为临床上采用 PSP 和 LNT 联合治疗肺癌提供了基础的实验依据。

[参考文献]

- [1] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- [2] Wang S, Hu Y, Tan W, et al. Compatibility art of traditional Chinese medicine: From the perspective of herb pairs[J]. J Ethnopharmacol, 2012, 143(2): 412.
- [3] Wan JM, Sit WH, Louie JC. Polysaccharopeptide enhances the anticancer activity of doxorubicin and etoposide on human breast cancer cells ZR-75-30[J]. Int J Oncol, 2008, 32(3): 689-699.
- [4] 颜爱, 李波, 李润成, 等. 香菇多糖和黄芪多糖对免疫抑制小鼠免疫功能调节的研究[J]. 中国免疫学杂志, 2012, 28(11): 999-1001.
- [5] Brahmer JR. Harnessing the Immune System for the Treatment of Non-Small-Cell Lung Cancer[J]. J Clin Onco, 2013, 14(4): 580-594.
- [6] Chen C, Shen Y, Qu QX, et al. Induced expression of B7-H3 on the lung cancer cells and macrophages suppresses T-cell mediating anti-tumor immune response[J]. Exp Cell Res, 2013, 319(1): 96-102.
- [7] Wang Z, Liu Z, Zhou L, et al. Immunomodulatory effect of APS and PSP is mediated by Ca^{2+} -cAMP and TLR4/NF- κ B signaling pathway in macrophage[J]. Int J Biol Macromol, 2017, 94(Pt A): 283-289.
- [8] Todoric J, Antonucci L, Karin M. Targeting Inflammation in Cancer Prevention and Therapy[J]. Cancer Prev Res (Phila), 2016, 9(12): 895.
- [9] Iyengar NM, Gucalp A, Dannenberg AJ, et al. Obesity and Cancer Mechanisms: Tumor Microenvironment and Inflammation[J]. J Clin Onco, 2011, 34(35): 4270-4276.
- [10] Simson L, Ellyard JJ, Parish CR. The Role of Th2-Mediated Anti-Tumor Immunity in Tumor Surveillance and Clearance[M]//Penichet ML, Jensen-Jarolim E. Cancer and IgE. Clifton: Humana Press, 2010: 255-275.
- [11] Sumitomo M, Iwase A, Zheng R, et al. Synergy in tumor suppression by direct interaction of Neutral Endopeptidase with PTEN[J]. Cancer Cell, 2004, 5(1): 67.
- [12] Gentile LB, Queiroz-Hazarbassanov N, Massoco CO, et al. Modulation of Cytokines Production by Indomethacin Acute Dose during the Evolution of Ehrlich Ascites Tumor in Mice[J]. Mediators Inflamm, 2015, 2015(5): 924028.
- [13] Xu X, Wang R, Su Q, et al. Expression of Th1-Th2- and Th17-associated cytokines in laryngeal carcinoma[J]. Oncol Lett, 2016, 12(3): 1941-1948.
- [14] Chen X, Wang J, Rui W, et al. Th1-, Th2-, and Th17-associated cytokine expression in hypopharyngeal carcinoma and clinical significance[J]. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2016, 273(2): 431-438.

(责任编辑: 冯天保, 钟志敏)

**欢迎邮购《新中医》合订本, 2012 年、2013 年、
2014 年每年 276 元, 2015 年、2016 年每年 300 元,
2017 年、2018 年每年 360 元。**