

扛板归多糖对 HepG2 细胞增殖的体外抑制作用评价

韦啟球^{1,2,3}, 王思思^{1,2,3}, 梁柳春^{1,2,3}, 闭爱艳⁴, 裴世成^{1,2,3}, 伍善广^{1,2,3}, 刘雪萍^{1,2,3*}

(1. 广西科技大学 医学部, 广西 柳州 545005; 2. 广西高校医工融合创新研究重点实验室, 广西 柳州 545005; 3. 柳州市桂中特色药用资源开发重点实验室, 广西 柳州 545005; 4. 广西医科大学 药学院, 广西南宁 530021)

摘要: 为评价扛板归多糖体外抗肿瘤活性, 通过细胞计数试剂盒 (cell counting kit-8, CCK-8) 方法测定扛板归多糖对 HepG2 细胞的体外增殖抑制作用。运用 5-乙炔基-2'-脱氧尿嘧啶核苷 (5-ethynyl-2'-deoxyuridine, EdU) 增殖试验、细胞 Hoechst 染色试验、线粒体膜电位检测试验、蛋白质免疫印迹试验探究扛板归多糖对肝癌 HepG2 细胞的抑制作用机制。结果表明: 扛板归多糖可以显著抑制 HepG2 细胞增殖, 并呈一定的剂量依赖性, 半数抑制浓度为 130.81 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。在扛板归多糖作用下, HepG2 细胞细胞核固缩、细胞核碎片增加, 表现出凋亡特征。扛板归多糖使 HepG2 细胞线粒体膜电位显著下降; 电压依赖性阴离子通道 1 (voltage-dependent anion channel 1, VDAC1)、Bax、Caspase-3 蛋白表达显著上调, 而 Bcl-2、Mitofusin2 蛋白表达下调, 均呈现量效相关性。综上, 扛板归多糖能够抑制 HepG2 细胞增殖, 可能与影响线粒体功能促进细胞凋亡有关。

关键词: 扛板归; 多糖; HepG2 细胞; 体外; 抗增殖作用; 抗肿瘤活性

Evaluation of Antiproliferative Activities of Polysaccharides from *Polygonum perfoliatum* L. on HepG2 Cells *in vitro*

WEI Qiqiu^{1,2,3}, WANG Sisi^{1,2,3}, LIANG Liuchun^{1,2,3}, BI Aiyun⁴, PEI Shicheng^{1,2,3},
WU Shanguang^{1,2,3}, LIU Xueping^{1,2,3*}

(1. Health Science Center, Guangxi University of Science and Technology, Liuzhou 545005, Guangxi, China; 2. Guangxi Key Laboratory of Innovative Research on Medical and Engineering Integration in Colleges and Universities, Liuzhou 545005, Guangxi, China; 3. Liuzhou Key Laboratory of Characteristic Medicinal Resources in Central Guangxi, Liuzhou 545005, Guangxi, China; 4. Pharmaceutical College, Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi, China)

Abstract: The antitumor activity *in vitro* of polysaccharides from *Polygonum perfoliatum* L. was evaluated. The inhibitory effect of the polysaccharides on the proliferation of HepG2 cells *in vitro* was evaluated by the cell counting kit-8 (CCK-8) assay. The 5-ethynyl-2'-deoxyuridine (EdU) assay, Hoechst staining, mitochondrial membrane potential assay, and Western blotting were employed to explore the inhibitory mechanism. The results showed that the polysaccharides from *P. perfoliatum* inhibited the proliferation of HepG2 cells in a concentration-dependent manner, with the half maximal inhibitory concentration (IC_{50}) of 130.81 $\mu\text{g}/\text{mL}$. After treatment with the polysaccharides, HepG2 cells showed nuclear pycnosis, increased nuclear fragmentation, and apoptosis. The polysaccharides decreased the mitochondrial membrane potential, up-regulated the expression of voltage-dependent anion channel 1 (VDAC1), Bcl-2-associated X protein (Bax), and cysteinyl aspartate-specific proteinase-3 (Caspase-3), and down-regulated the expression of B-cell lymphoma-2 (Bcl-2) and Mitofusin2 in a concentration-dependent manner. In conclusion, the polysaccharides from *P. perfoliatum* inhibited HepG2 cells by affecting mitochondrial function and promoting cell apoptosis.

基金项目: 国家自然科学基金地区科学基金项目 (82160059); 广西自然科学基金项目 (2020GXNSFAA259025); 广西大学生创新创业训练计划项目 (202410594023, S202410594025)

作者简介: 韦啟球 (1986—), 男 (汉), 讲师, 硕士, 研究方向: 天然产物活性。

*通信作者: 刘雪萍 (1980—), 女 (汉), 教授, 博士, 研究方向: 心血管药理。

Key words: *Polygonum perfoliatum* L.; polysaccharides; HepG2 cell; *in vitro*; antiproliferative activity; antitumor activity

引文格式:

韦啟球,王思思,梁柳春,等. 扛板归多糖对 HepG2 细胞增殖的体外抑制作用评价[J]. 食品研究与开发, 2025, 46(5): 10-15, 37.

WEI Qiqiu, WANG Sisi, LIANG Liuchun, et al. Evaluation of Antiproliferative Activities of Polysaccharides from *Polygonum perfoliatum* L. on HepG2 Cells *in vitro*[J]. Food Research and Development, 2025, 46(5): 10-15, 37.

多糖(polysaccharide, PS)又称多聚糖,是一种由醛糖和(或)酮糖通过脱水形成糖苷键,并由糖苷键线性或者分枝连接组成的链状聚合物,至少由 10 个或者 10 个以上单糖组成。多糖作为一类天然存在的高分子化合物,因其独特的生物活性,在医学和食品工业中应用广泛,多项研究表明其具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤、降血压、护肝和促进刺激免疫力等多种生物活性^[1-5],尤其在抗肿瘤领域的潜力引人注目^[6-7]。近年来,随着抗肿瘤研究的深入,多糖的免疫调节功能、细胞凋亡诱导能力及对肿瘤微环境的影响等特性被逐渐揭示,多糖对肿瘤细胞具有较高选择性,并且对正常细胞表现较低毒性^[8]。这些研究为肿瘤的辅助治疗提供了全新视角。然而,目前关于扛板归多糖抗肿瘤活性的研究较少。

扛板归(*Polygonum perfoliatum* L.)又名蛇不过、犁头刺,系蓼科蓼属植物,其性平,味酸、苦,具有清热解毒、利水消肿及镇咳等功效,多用于治疗水肿、痢疾及百日咳等疾病。此外,扛板归还具有食用价值^[9-10],其嫩叶和果实可以食用,属于药食同源的植物。研究表明,扛板归提取物具有多种生物活性^[11-15],其多糖具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤等活性^[16-19],有可能是中药扛板归潜在活性物质。为进一步发现扛板归对肿瘤的相关作用,本文探究扛板归多糖对肝癌 HepG2 细胞增殖的抑制作用,以期对扛板归多糖的开发和利用奠定试验基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

扛板归多糖:广西科技大学医学部医学科研实验中心刘雪萍博士研究室自制,多糖含量为 82.44%^[16]。

肝癌 HepG2 细胞株:湖南丰晖生物科技有限公司;电压依赖性阴离子通道 1(voltage-dependent anion channel 1, VDAC1)抗体、Mitofusin2 多克隆抗体、Caspase-3 多克隆抗体、Bcl-2 多克隆抗体、Bax 多克隆抗体:美国 CST 公司;细胞计数试剂盒(cell counting kit-8, CCK-8)、Tubulin 抗体、胎牛血清、一抗稀释液、二抗稀释液、青霉素-链霉素溶液、极超敏增强型化学发光试

剂盒、二辛可宁酸蛋白浓度测定试剂盒、十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)快速配制试剂盒、放射免疫沉淀试验(radio immunoprecipitation assay, RIPA)裂解液、辣根过氧化物酶标记山羊抗兔二抗:上海碧云天生物科技股份有限公司;高糖培养基(dulbecco's modified eagle medium, DMEM)、磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffered saline, PBS):美国 Gibco 公司; β -tubulin 单克隆抗体:北京中杉金桥生物科技有限公司;5-乙炔基-2'-脱氧尿嘧啶核苷(5-ethynyl-2'-deoxyuridine, EdU)增殖检测试剂盒:锐博生物科技有限公司;5-氟尿嘧啶(生化试剂):国药集团化学试剂有限公司;甲醇(分析纯):四川西陇科学有限公司;氨丁三醇(生化试剂):广州赛国生物科技有限公司;十二烷基硫酸钠、甘氨酸(均为生化试剂):生工生物工程(上海)股份有限公司。

1.2 仪器与设备

CO₂ 细胞培养箱(3100)、全波长扫描酶标仪(Multiskan GO):赛默飞世尔科技有限公司;倒置荧光显微镜(Ts2R-FL):日本尼康株式会社;稳压稳流电泳仪(Power/Pac300)、转膜仪(Trans-Blot SD):美国 Bio-Rad 公司;凝胶电泳成像分析系统(Image Quant 800):美国 Cytiva 公司。

1.3 方法

1.3.1 体外抑制肿瘤细胞增殖试验

采用 CCK-8 说明书方法测定扛板归多糖对 HepG2 肿瘤细胞增殖的影响。精密称定 10 mg 扛板归多糖,精密量取 0.8 mL 超纯水溶解,0.22 μ m 针孔式微孔滤膜过滤除菌,得 12.5 mg/mL 多糖母液。同法制备无菌超纯水。精密量取 0.2 mL 多糖母液,精密量取 0.3 mL 无菌超纯水加入、混匀,得 5 000 μ g/mL 多糖样品溶液;在该样品质量浓度基础上,通过倍比稀释法分别制备 2 500.0、1 250.0、625.0、312.5 μ g/mL 梯度多糖样品溶液,备用。

以 DMEM(含 1% 青霉素和链霉素、10% 胎牛血清)作为完全培养基,将复苏后的 HepG2 细胞置于环境温度 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂、相对湿度 95% 条件下的细胞培

养箱中培养,细胞融合度达到70%左右进行传代。取对数生长期细胞,将细胞悬液稀释为 1×10^3 个/孔接种于96孔板中(每孔100 μL),培养过夜。待细胞贴壁后,更换培养基,试验组加90 μL 培养基和依次分别加10 μL 梯度质量浓度的多糖溶液,使该阶段生长培养基中扛板归多糖质量浓度依次为31.25、62.50、125.00、250.00、500.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$,每个浓度设3个复孔;正常组加100 μL 培养基;5-氟尿嘧啶作为阳性对照组。培养24 h后,更换培养基,每孔加入CCK-8试剂10 μL 和培养基90 μL ,继续培养1 h,借助酶标仪在450 nm波长条件下扫描测定各组吸光度,按下列公式计算扛板归多糖对HepG2细胞增殖抑制率。

$$D = (1 - \frac{A_1}{A_0}) \times 100$$

式中: D 为细胞增殖抑制率,%; A_1 为试验组吸光度; A_0 为正常组吸光度。

1.3.2 EdU增殖试验

取对数生长期细胞,按 4×10^3 个/孔接种于96孔板中,培养过夜。对照组更换新的DMEM完全培养基,其他各组分别加入终质量浓度为31.25、62.50、125.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的扛板归多糖培养基混合液,每组设3个复孔。配制50 $\mu\text{mol}/\text{L}$ EdU培养基溶液。培养24 h后,弃原培养基,各孔分别加入EdU培养基溶液100 μL 后孵育2 h。用PBS清洗2次。各孔加入4%多聚甲醛溶液50 μL ,孵育0.5 h,弃固定液;各孔加入2 mg/mL 甘氨酸溶液50 μL ,孵育5 min,弃甘氨酸溶液;各孔加入PBS 100 μL ,清洗5 min,弃PBS;每孔加入100 μL 0.3% TritonX-100溶液,孵育10 min;PBS清洗1次。每孔加入100 μL 的1 \times Apollo染色反应液,孵育0.5 h,弃染色反应液;加入100 μL 0.3% TritonX-100溶液,清洗2~3次,弃渗透液。各孔加入1 \times Hoechst 33342反应液100 μL ,孵育0.5 h,弃反应液;各孔用PBS清洗3次;最后各孔加入PBS 100 μL 保存待拍照。用倒置荧光显微镜分别在激发波长为550 nm、发射波长为565 nm和激发波长为350 nm、发射波长为461 nm下获取Apollo和Hoechst 33342图像,通过分析Apollo荧光信号强弱判断各组细胞增殖情况。

1.3.3 细胞Hoechst染色试验

取对数生长期细胞,按 4×10^3 个/孔接种于96孔板中,培养过夜。对照更换为新的DMEM完全培养基,其他各组分别加入终质量浓度为31.25、62.50、125.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的扛板归多糖培养基混合液,每组设3个复孔。各组细胞继续培养24 h后,弃去原培养基,每孔加入100 μL 1 \times Hoechst 33342染色液,避光室温下孵育30 min。弃去染色液,用PBS洗涤3次,倒置荧光显微镜下激发波长为350 nm、发射波长为461 nm获取图像。细胞

核呈现碎片状或者致密浓染为凋亡细胞。

1.3.4 线粒体膜电位检测试验

取对数生长期细胞,按 1×10^4 个/孔接种于24孔板中,培养过夜。对照组更换为新的DMEM完全培养基,其他各组分别加入终质量浓度为31.25、62.50、125.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的扛板归多糖培养基混合液,继续培养24 h。将50 μg Mito-Tracker Red CMXRos粉末加入470 μL 二甲基亚砜中,制成浓度为200 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 备液,临用前用培养基将储备液稀释至终浓度为50 nmol/L 工作液。经过药物处理的各组细胞,弃去培养基,每孔加入经37 $^{\circ}\text{C}$ 预孵育的0.5 mL 50 nmol/L Mito-Tracker Red CMXRos工作液,避光37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育20 min。弃去Mito-Tracker Red CMXRos工作液,加入37 $^{\circ}\text{C}$ 预孵育的新鲜培养基。倒置荧光显微镜激发波长为550 nm、发射波长为565 nm下获取细胞图像,通过荧光强度分析获得线粒体膜电位变化情况。

1.3.5 蛋白质免疫印迹试验

参考文献[20]的方法,取对数生长期的细胞,按 1×10^4 个/皿接种于培养皿(60 mm \times 15 mm)中,设置正常对照组、扛板归多糖(31.25、62.50、125.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$)组。待细胞贴壁后,将扛板归多糖组培养基分别换成含有质量浓度为31.25、62.50、125.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 多糖样品的生长培养基,继续培养24 h。分别收集各组细胞,分别加入一定量RIPA细胞裂解液(含1%磷酸酶抑制剂混合物、1%蛋白酶抑制剂混合物),提取各组细胞总蛋白。测定并计算蛋白浓度后,按比例各管蛋白样品分别加入5 \times 蛋白上样缓冲液,于100 $^{\circ}\text{C}$ 条件下煮沸5 min使蛋白变性,即得蛋白样品。取蛋白样品进行十二烷基-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离并转膜、封闭;洗膜后,分别加入VDAC1抗体、Mitofusin2多克隆抗体、Bcl-2多克隆抗体、Bax多克隆抗体、Caspase-3多克隆抗体、Tubulin抗体(一抗稀释液稀释度均为1:1 000),4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜;洗膜后,加入相应二抗(稀释度均为1:5 000),室温孵育1 h;洗膜后,以增强型化学发光试剂显色并使用凝胶成像系统成像。采用GraphPad Prism 5.0软件分析计算目的蛋白(VDAC1、Mitofusin2、Bcl-2、Bax、Caspase-3)与总蛋白内参Tubulin的灰度值比值,用以表示目的蛋白的相对表达量。

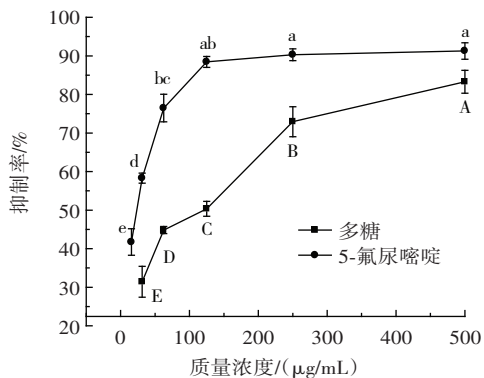
1.4 数据处理和统计分析

所有数据均以平均值 \pm 标准差表示,采用GraphPad Prism 5.0软件进行统计学分析。多个样本间比较采用单因素方差分析进行统计分析,方差齐时用最小显著性差异(least significant difference, LSD)法,方差不齐时用近似 F 检验的Welch法。不配对组间比较采用 t 检验。 $P < 0.05$ 则认为差异有统计学意义。采用GraphPad Prism 5.0软件进行作图。

2 结果与分析

2.1 多糖对 HepG2 细胞毒性作用

能够有效抑制肿瘤细胞生长是抗肿瘤药物的重要特征,采用 CCK-8 法测定扛板归多糖对 HepG2 细胞的毒性,试验结果见图 1。



不同字母表示组内差异显著($P<0.05$)。

图 1 多糖对 HepG2 细胞的抑制作用

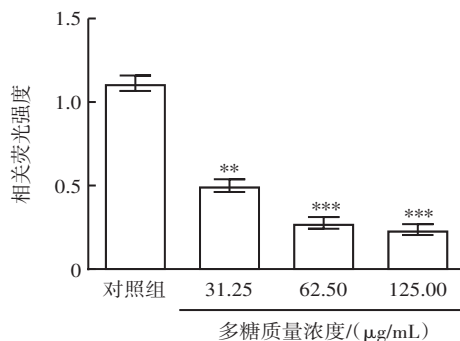
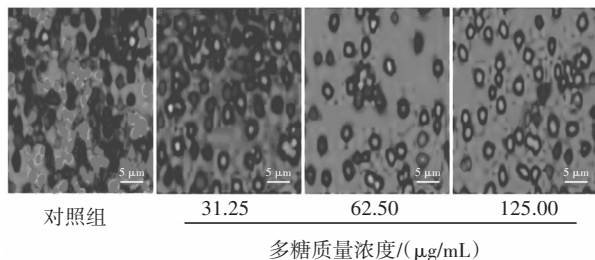
Fig.1 Inhibitory effect of polysaccharides on HepG2 cells

由图 1 可知,不同质量浓度的扛板归多糖与 HepG2 细胞共培养 24 h 后,细胞生长受到了不同程度的抑制,随着给药质量浓度增加,其抑制作用增强,存在一定浓度依赖性。多糖质量浓度为 31.25、62.50、125.00、250.00、500.00 $\mu\text{g/mL}$ 时,细胞增殖抑制率分别为 31.42%、44.83%、50.75%、72.93% 和 83.27%。经计算扛板归多糖和 5-氟尿嘧啶半数抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC_{50})值分别为 130.81 $\mu\text{g/mL}$ 和 17.67 $\mu\text{g/mL}$ 。根据细胞毒性试验结果,选取 0、31.25、62.50、125.00 $\mu\text{g/mL}$ 这 4 个给药质量浓度开展后续试验。

2.2 多糖对 HepG2 细胞增殖影响

增殖能力强是肿瘤细胞的重要特征,生长被抑制后,可表现出较低下的增殖能力。采用 EdU 细胞增殖检测方法进一步验证在扛板归多糖作用下 HepG2 细胞的增殖情况,结果如图 2 所示。

由图 2 可知,对照组细胞呈强荧光,相比之下,与不同浓度扛板归多糖共孵育 24 h 后,各组细胞荧光强度明显减弱,经过荧光强度分析,扛板归多糖各组荧光强度均显著弱于对照组($P<0.01$ 或 $P<0.001$),表明在扛板归多糖作用下细胞增殖受到显著影响,试验结果与细胞毒性结果相一致。



与对照组相比,**表示差异极显著($P<0.01$),***表示差异非常显著($P<0.001$)。

图 2 多糖对 HepG2 细胞增殖的影响

Fig.2 Effect of polysaccharides on the proliferation of HepG2 cells

2.3 Hoechst 荧光染色结果

促进细胞凋亡是多种抗肿瘤药物抑制肿瘤的经典途径。扛板归多糖能够有效抑制 HepG2 细胞增殖,为进一步了解抑制细胞的途径,利用细胞凋亡时细胞核呈现核固缩并在核膜附近聚集、染色质浓缩等特征,试验采用 Hoechst 33342 荧光染色的方法观察扛板归多糖对细胞凋亡的影响。扛板归多糖作用于 HepG2 细胞 24 h 后 Hoechst 33342 荧光染色结果如图 3 所示。

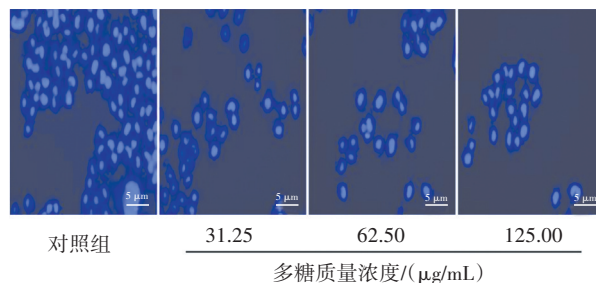


图 3 Hoechst 33342 荧光染色图

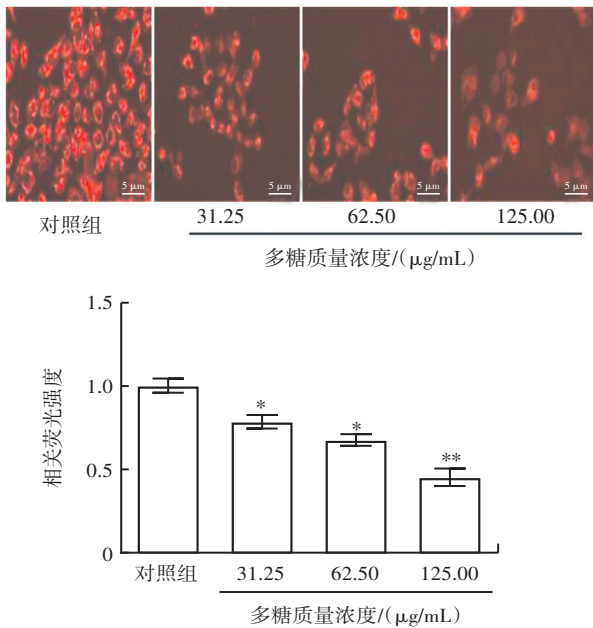
Fig.3 Hoechst 33342 fluorescent staining

从图 3 中可以看出,对照组细胞核未见明显异常,而扛板归多糖处理组细胞核有较明显固缩,细胞 DNA 碎片增多,同时出现一些强度较大的蓝色颗粒状荧光,其中 125.00 $\mu\text{g/mL}$ 剂量组变化最明显。这些结果表明扛板归多糖可诱导 HepG2 细胞出现凋亡现象,这可能是其表现出抑制细胞生长和增殖的原因。细胞凋亡是系列过程的综合结果,多种因素参与其中。后续将进一步对扛板归多糖诱导细胞凋亡的途径进行探索。

2.4 多糖对线粒体膜电位的影响

线粒体是细胞的能量工厂,线粒体膜电位缺失会干扰细胞三磷酸腺苷生成,被认为是细胞通过线粒体途径凋亡的重要标志,因此,线粒体膜电位下降被认为是细胞凋亡过程中较早发生的变化^[21]。Mito-Tracker Red CMXRos 是一种具有细胞通透性的罗丹明衍生物,能够穿越细胞膜,通过探针上的基因识别线粒体,从而

检测其膜电位,对细胞损伤小。通过 Mito-Tracker Red CMXRos 染色考察扛板归多糖对 HepG2 细胞线粒体膜电位的影响,试验结果如图 4 所示。



与对照组相比,*表示差异显著($P<0.05$),**表示差异极显著($P<0.01$)。

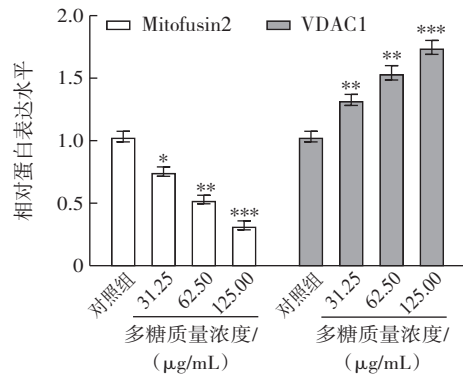
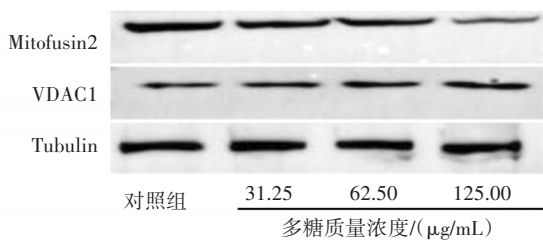
图 4 多糖对 HepG2 细胞线粒体膜电位的影响

Fig.4 Effect of polysaccharides on the mitochondrial membrane potential of HepG2 cells

由图 4 可知,对照组细胞红色荧光强度大,相比之下,经过扛板归多糖处理后,各处理组细胞荧光强度均显著下降,表明扛板归多糖使细胞线粒体膜电位下降。扛板归多糖可能通过线粒体途径促进细胞凋亡。

2.5 线粒体相关蛋白检测结果

VDAC1 是线粒体外膜上一种重要的跨膜蛋白,主要功能是调控线粒体通透性和细胞能量代谢,在调节细胞生存、维持细胞内外环境平衡等方面发挥着重要作用,是癌症治疗研究的热门靶点之一。线粒体融合蛋白 Mitofusin2 具有促进线粒体融合、参与调控细胞增殖和分化、保护细胞免于凋亡等多种功能。线粒体的分裂和融合是反映线粒体功能正常的指标之一。观察到线粒体膜电位下降后,可继续通过检测与线粒体膜状态密切相关的 VDAC1 蛋白和线粒体融合蛋白 Mitofusin2 的变化进一步了解线粒体状态,结果如图 5 所示。



与对照组相比,*表示差异显著($P<0.05$),**表示差异极显著($P<0.01$),***表示差异非常显著($P<0.001$)。

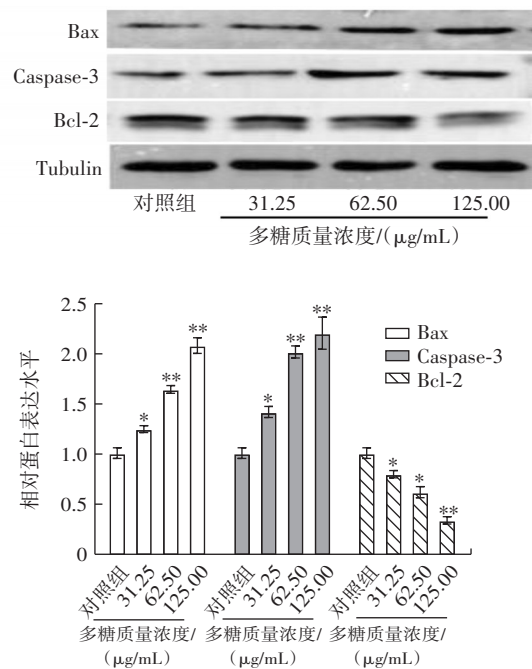
图 5 多糖对线粒体相关蛋白的影响

Fig.5 Effects of polysaccharides on the expression of proteins associated with mitochondria

由图 5 可知,与对照组相比,扛板归多糖各组 Mitofusin2 水平显著下降,VDAC1 水平则显著升高,表明线粒体膜功能异常以及线粒体融合异常,线粒体出现一定程度的功能障碍。

2.6 凋亡相关蛋白检测结果

线粒体功能障碍是触发细胞凋亡的重要途径,多种凋亡蛋白与线粒体有密切关系。通过蛋白质免疫印迹的方法检测凋亡相关蛋白 Bcl-2、Bax、Caspase-3 的表达情况,结果如图 6 所示。



与对照组相比,*表示差异显著($P<0.05$),**表示差异极显著($P<0.01$)。

图 6 多糖对凋亡相关蛋白的影响

Fig.6 Effect of polysaccharides on apoptosis-related proteins

由图 6 可知,与对照组相比,扛板归多糖各处理组

Bax 和 Caspase-3 水平显著升高,而 Bcl-2 水平则显著降低,表明扛板归多糖诱导促凋亡蛋白表达,同时降低了抑制凋亡蛋白的表达。线粒体膜电位改变,能够诱导凋亡蛋白释放到细胞质,促进凋亡的发生,Bcl-2 能够通过抑制凋亡蛋白的释放影响凋亡进程,而 Bax 则可以增强凋亡蛋白的释放促进凋亡过程。基于扛板归多糖导致线粒体膜电位下降,发现促凋亡蛋白 Bax 水平显著升高,而抑制凋亡的蛋白 Bcl-2 水平则显著下调,扛板归多糖在细胞凋亡中增强促进凋亡过程,削弱抑制凋亡过程,使细胞凋亡增加。关键凋亡执行蛋白 Caspase-3 水平的升高也进一步验证了这一点,进一步说明扛板归多糖对线粒体凋亡途径的影响。

3 结论

扛板归多糖可以显著抑制 HepG2 细胞增殖,并呈一定的剂量依赖性,半数抑制浓度为 130.81 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。在扛板归多糖作用下,HepG2 细胞细胞核固缩、细胞核碎片增加,表现出凋亡特征。扛板归多糖导致 HepG2 细胞线粒体膜电位显著下降,同时线粒体相关蛋白 Mitofusin2 显著降低,而 VDAC1 水平显著升高。扛板归多糖升高促凋亡蛋白 Bax、Caspase-3 表达水平,降低抑制凋亡蛋白 Bcl-2 表达水平。扛板归多糖抑制 HepG2 细胞增殖机制,可能与影响 HepG2 细胞线粒体功能促进细胞凋亡有关。在后期的研究中,将完善扛板归多糖分离纯化,分析单糖的连接方式,进一步探索抑制肿瘤细胞增殖的机制,为扛板归多糖的进一步开发和研究提供参考。

参考文献:

- [1] 陈晓乐,李文文,陈锵,等.牛蒡中性多糖结构分析与抗炎活性评价[J].食品工业科技,2023,44(12):45-54.
CHEN Xiaole, LI Wenwen, CHEN Qiang, et al. Structure analysis and anti-inflammatory activity evaluation of neutral polysaccharides from *Arctium lappa* L.[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(12): 45-54.
- [2] 赵婷婷,戴映笛,舒昉,等.灵芝菌丝体多糖提取工艺优化及其对慢性酒精肝损伤的保护作用[J].食品工业科技,2023,44(5):388-396.
ZHAO Tingting, DAI Yingdi, SHU Fang, et al. Optimization of extraction technology of polysaccharides from *Ganoderma lingzhi* mycelium and its protective effect on alcoholic liver injury[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(5): 388-396.
- [3] 许继隆,李中原,于子豪,等.多糖的降血压作用及其机制研究进展[J].食品工业科技,2023,44(3):461-469.
XU Jilong, LI Zhongyuan, YU Zihao, et al. Research progress on antihypertensive effect of polysaccharide and its mechanism[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(3): 461-469.
- [4] 关玉婷,温思萌,冯雪,等.茯苓渣多糖组成分析及体外抗癌、免疫活性研究[J].食品工业科技,2022,43(21):381-387.
GUAN Yuting, WEN Simeng, FENG Xue, et al. Composition analysis, anticancer and immune activities of polysaccharides from *Poria cocos* residues *in vitro*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(21): 381-387.
- [5] ZHAO P, LI X, WANG Y, et al. Comparative studies on characterization, saccharide mapping and antiglycation activity of polysaccharides from different *Polygonatum* spp[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2020, 186: 113243.
- [6] CUI F J, TAO W Y, XU Z H, et al. Structural analysis of anti-tumor heteropolysaccharide GFPS1b from the cultured mycelia of *Grifola frondosa* GF9801[J]. Bioresource Technology, 2007, 98(2): 395-401.
- [7] LIU X C, ZHU Z Y, LIU Y L, et al. Comparisons of the anti-tumor activity of polysaccharides from fermented mycelia and cultivated fruiting bodies of *Cordyceps militaris in vitro*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 130: 307-314.
- [8] 廖文镇.竹荪多糖的化学结构、生物活性及其功能化抗肿瘤药物的研究[D].广州:华南理工大学,2015.
LIAO Wenzhen. Structure characterization and bioactivity evaluation of polysaccharides from *Dictyophora indusiata* and its application in functionalization of anticancer drugs[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2015.
- [9] 吴曼,龚云,彭颖,等.铜胁迫下两种生态型扛板归形态生理的差异性[J].湖北师范大学学报(自然科学版),2020,40(1):5-9.
WU Man, GONG Yun, PENG Ying, et al. The difference of morphology and physiology between the two ecotypes of *Polygonum perfoliatum* L. under copper stress[J]. Journal of Hubei Normal University (Natural Science), 2020, 40(1): 5-9.
- [10] 曾宪锋,邱贺媛.潮汕地区6种野菜中硝酸盐、亚硝酸盐及V_C的含量分析[J].惠州学院学报,2005,25(3):12-14.
ZENG Xianfeng, QIU Heyuan. The contents of nitrate, nitrite and vitamin C in 6 edible wild vegetables from Chaoshan district[J]. Journal of Huizhou University, 2005, 25(3): 12-14.
- [11] TIAN L, ZHAO Y, ZHOU X, et al. Studies on chromatographic fingerprint and fingerprinting profile-efficacy relationship of *Polygoni perfoliati* herba[J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2013, 2013: 693439.
- [12] XU L Y, HUANG G K, GUO X B, et al. Total flavonoids, extracted from *Polygonum knotweed* L. exert beneficial hepatoprotection against liver injury[J]. Journal of Cellular Biochemistry, 2019, 120(8): 12677-12683.
- [13] LI Q L, FU X X, GE X Y, et al. Antitumor effects and related mechanisms of ethyl acetate extracts of *Polygonum perfoliatum* L. [J]. Frontiers in Oncology, 2019, 9: 578.
- [14] PENG L, CHEN H G, ZHOU X. Lipidomic investigation of the protective effects of *Polygonum perfoliatum* against chemical liver injury in mice[J]. Journal of Integrative Medicine, 2023, 21(3): 289-301.
- [15] LIU J Y, ZENG Y L, SUN G J, et al. *Polygonum perfoliatum* L., an excellent herbal medicine widely used in China: A review[J]. Frontiers in Pharmacology, 2020, 11: 581266.
- [16] 韦敏球,黄敏怡,农秋冬,等.扛板归粗多糖抗氧化、抗炎、镇痛和抑菌活性研究[J].食品工业科技,2024,45(17):57-64.
WEI Qiqiu, HUANG Minyi, NONG Qiudong, et al. Antioxidant, anti-inflammatory, analgesic and antimicrobial activities of crude polysaccharides from *Polygonum perfoliatum* L. [J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(17): 57-64.
- [17] LAI X H, LI Y P. Antitumor effect and mechanism of action of polysaccharides extracted from *Polygonum perfoliatum* L. whole plant in human lung carcinoma A549 cell line[J]. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 2016, 15(6): 1243-1249.

- KU812 cells[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(20): 5729-5734.
- [14] 潘增烽, 周园, 阮岩, 等. 儿茶素抑制 NF- κ B-TSLP 通路缓解过敏性哮喘小鼠炎症反应[J]. 中国药理学通报, 2018, 2: 207-212.
PAN Zengfeng, ZHOU Yuan, RUAN Yan, et al. Catechin remits the inflammation in allergic asthma mice by suppressing NF- κ B-TSLP signal pathway[J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2018, 2: 207-212.
- [15] ZHANG X N, LI S N, SHAO X Q, et al. Probing the conjugation of epigallocatechin gallate with β -lactoglobulin and its *in vivo* desensitization efficiency[J]. Food & Function, 2021, 12(22): 11343 - 11350.
- [16] QIE X J, CHEN Y, QUAN W, et al. Analysis of β -lactoglobulin-epigallocatechin gallate interactions: The antioxidant capacity and effects of polyphenols under different heating conditions in polyphenolic-protein interactions[J]. Food & Function, 2020, 11(5): 3867-3878.
- [17] VACCARO J, CANZIANI K E, GUZMÁN L, et al. Type-2 cytokines promote the secretion of the eosinophil-attractant CCL26 by intestinal epithelial cells in food-sensitized patients[J]. Frontiers in Immunology, 2022, 13: 909896.
- [18] YU Y A, LI J X, LIU C Y. Oxytocin suppresses epithelial cell-derived cytokines production and alleviates intestinal inflammation in food allergy[J]. Biochemical Pharmacology, 2022, 195: 114867.
- [19] KASHIWAKURA J I, YOSHIHARA M, SAITOH K, et al. Propolis suppresses cytokine production in activated basophils and basophil-mediated skin and intestinal allergic inflammation in mice[J]. Allergology International, 2021, 70(3): 360-367.
- [20] SPERTINI F. Metabolomics and allergy: Opening Pandora's box[J]. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2020, 145(3): 782-784.
- 责任编辑:王艳
收稿日期:2023-11-07

(上接第 15 页)

- [18] 王庆, 薛天乐, 丁锐. 杠板归多糖的纤维素酶提取工艺及体外抗氧化作用[J]. 宜宾学院学报, 2017, 17(6): 103-107.
WANG Qing, XUE Tianle, DING Rui. The cellulase extraction technology and antioxidant activity of *Polygonum perfoliatum* L. polysaccharide[J]. Journal of Yibin University, 2017, 17(6): 103-107.
- [19] 梁珊珊, 魏晴, 薛娟, 等. 杠板归多糖提取工艺优化及其体外抗氧化活性研究[J]. 广州化工, 2021, 49(17): 94-97.
LIANG Shanshan, WEI Qing, XUE Juan, et al. Extraction technology of polysaccharides and *in vitro* antioxidant activities from *Polygonum perfoliatum* L[J]. Guangzhou Chemical Industry, 2021, 49(17): 94-97.
- [20] 刘芸如, 赵范范, 叶慧敏, 等. 白藜芦醇对内质网应激介导的原代神经元细胞作用机制[J]. 食品科学, 2022, 43(21): 180-190.
LIU Yunru, ZHAO Fanfan, YE Huimin, et al. Mechanism of action of resveratrol in attenuating endoplasmic reticulum stress induced by tunicamycin in primary neurons[J]. Food Science, 2022, 43(21): 180-190.
- [21] 孙大伟, 冯丽莎, 高青. 丹参素调节 FoxO1 与稳定缺血再灌注损伤大鼠心肌细胞线粒体膜电位的实验研究[J]. 吉林中医药, 2019, 39(2): 237-241.
SUN Dawei, FENG Lisha, GAO Qing. Danshensu regulating FoxO1 and stabilizing mitochondrial membrane potential of cardiomyocyte in ischemia - reperfusion injury rats[J]. Jilin Journal of Chinese Medicine, 2019, 39(2): 237-241.
- 责任编辑:王艳
收稿日期:2024-08-29