

## · 实验研究 ·

基于 IKK $\beta$ /NF- $\kappa$ B 通路探究香菇多糖联合顺铂对乳腺癌的干预作用张晶<sup>1,2</sup>, 苏畅<sup>1,2</sup>, 孔凡铭<sup>1,2</sup>, 张丽丽<sup>1,2</sup>, 陈立伟<sup>1,2</sup>, 李小江<sup>1,2</sup>

1. 天津中医药大学第一附属医院 肿瘤科, 天津 300380

2. 国家中医针灸临床医学研究中心, 天津 300380

**摘要:**目的 探究香菇多糖联合顺铂通过调控 I- $\kappa$ B 激酶  $\beta$  (IKK $\beta$ )/核因子- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) 通路对乳腺癌的作用机制。方法 采用完全培养基将香菇多糖胶囊制备成 10、20、40  $\mu$ g/mL 的溶液, 将顺铂制备成 10  $\mu$ mol/L 溶液。选用含有 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养液进行细胞培养, 将其分为模型组、顺铂组 (10  $\mu$ mol/L), 顺铂+香菇多糖组在顺铂组处理的基础上, 分别加 10、20、40  $\mu$ g/mL 香菇多糖, 培养 48 h 用于体外细胞实验, CCK-8 法检测乳腺癌 MCF-7 细胞增殖情况, 计算细胞增殖抑制率; 流式细胞术检测细胞凋亡情况。随机将大鼠分为模型组、顺铂组 (2 mg/kg)、香菇多糖组 (15 mg/kg)、顺铂 (2 mg/kg)+香菇多糖 (15 mg/kg) 组、Prostratin (0.5 mg/kg) 组, 每组 10 只。将培养的乳腺癌细胞依次注射于各组大鼠乳腺垫内进行造模。各组大鼠进行相应的给药处理, 每日 ip 1 次, 模型组大鼠 ip 等剂量的生理盐水, 连续干预 28 d。计算各组大鼠瘤体体积、数量并称重; Western blotting 法检测各组大鼠 NF- $\kappa$ B p65、NF- $\kappa$ B p-p65、IKK $\beta$  表达水平。**结果** 与模型组相比, 顺铂组、顺铂+香菇多糖 (10、20、40  $\mu$ g/mL) 组乳腺癌细胞增殖抑制率、细胞凋亡率显著升高 ( $P < 0.05$ ); 与顺铂组相比, 顺铂+香菇多糖 (10、20、40  $\mu$ g/mL) 乳腺癌细胞增殖抑制率、细胞凋亡率显著升高 ( $P < 0.05$ ), 且呈剂量相关性增长。与模型组相比, 顺铂组、香菇多糖组、顺铂+香菇多糖组大鼠瘤体体积、瘤体质量、瘤体数目、瘤体内 NF- $\kappa$ B p-p65/NF- $\kappa$ B p65、IKK $\beta$  蛋白表达量显著降低 ( $P < 0.05$ ); 与顺铂组、香菇多糖组相比, 顺铂+香菇多糖组大鼠瘤体体积、瘤体质量、瘤体数目、瘤体内 NF- $\kappa$ B p-p65/NF- $\kappa$ B p65、IKK $\beta$  蛋白表达量显著降低 ( $P < 0.05$ ); 与顺铂+香菇多糖组相比, Prostratin 组大鼠瘤体体积、瘤体质量、瘤体数目、瘤体内 NF- $\kappa$ B p-p65/NF- $\kappa$ B p65、IKK $\beta$  蛋白表达量显著升高 ( $P < 0.05$ )。**结论** 顺铂联合香菇多糖可通过调控 IKK $\beta$ /NF- $\kappa$ B 通路, 抑制 IKK $\beta$  表达和 NF- $\kappa$ B 磷酸化, 从而减缓乳腺癌细胞增殖, 加速细胞凋亡, 限制瘤体发育, 从而缓解疾病。

**关键词:** 香菇多糖; 顺铂; 乳腺癌; I- $\kappa$ B 激酶  $\beta$ ; 核因子- $\kappa$ B; 干预作用

中图分类号: R966 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2022)09-1932-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2022.09.006

Explore the intervention effect of lentinan combined with cisplatin on breast cancer based on IKK $\beta$ /NF- $\kappa$ B pathwayZHANG Jing<sup>1,2</sup>, SU Chang<sup>1,2</sup>, KONG Fan-ming<sup>1,2</sup>, ZHANG Li-li<sup>1,2</sup>, CHEN Li-wei<sup>1,2</sup>, LI Xiao-jiang<sup>1,2</sup>

1. Department of Oncology, First Teaching Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300380, China

2. National Clinical Research Center for Chinese Medicine Acupuncture and Moxibustion, Tianjin 300380, China

**Abstract: Objective** To explore the mechanism of lentinan combined with cisplatin on breast cancer by regulating IKK $\beta$ /NF- $\kappa$ B pathway. **Methods** Lentinan Capsules were prepared into 10, 20, 40  $\mu$ g/mL solutions using complete medium, and cisplatin was prepared into 10  $\mu$ mol/L solution. RPMI-1640 medium containing 10% fetal bovine serum was used for cell culture, and divided into model group, cisplatin group (10  $\mu$ mol/L). Lentinan + cisplatin groups were treated with 10, 20, and 40  $\mu$ g/mL lentinan on the basis of cisplatin group, respectively, and cultured for 48 h for *in vitro* cell experiment. CCK-8 assay was used to detect the proliferation of breast cancer MCF-7 cells, and the inhibition rate of cell proliferation was calculated. Cell apoptosis was detected by flow cytometry. The rats were randomly divided into model group, cisplatin (2 mg/kg) group, lentinan group (15 mg/kg), cisplatin (2 mg/kg) + lentinan

收稿日期: 2022-04-24

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81503392)

作者简介: 张晶, 女, 主治医师, 博士, 研究方向为中西医结合肿瘤、肿瘤免疫。E-mail: zhang.jing.1216@163.com

(15 mg/kg) group, and Prostratin (0.5 mg/kg) group, with 10 rats in each group. The cultured breast cancer cells were successively injected into the mammary pad of each group for modeling. The rats in each group were given corresponding drug treatment, ip once daily, rats in model group were ip normal saline for 28 days. The tumor volume, quantity, and weight of each group were calculated. The expression levels of NF- $\kappa$ B p65, NF- $\kappa$ B p-p65, and IKK $\beta$  were detected by Western blotting. **Results** Compared with the model group, the proliferation inhibition rate and apoptosis rate of breast cancer cells in cisplatin group and cisplatin + lentinan (10, 20, 40  $\mu$ g/mL) groups were significantly increased ( $P < 0.05$ ). Compared with cisplatin group, the proliferation inhibition rate and apoptosis rate of cisplatin + lentinan (10, 20, 40  $\mu$ g/mL) group were significantly increased ( $P < 0.05$ ), and increased in a dose-dependent manner. Compared with the model group, the tumor volume, tumor weight, tumor number, the protein expression of NF- $\kappa$ B p-p65/NF- $\kappa$ B p65 and IKK $\beta$  in the cisplatin group, lentinan group, and cisplatin + lentinan group were significantly decreased ( $P < 0.05$ ). Compared with the cisplatin group and lentinan group, the tumor volume, tumor weight, tumor number, NF- $\kappa$ B P-p65/NF- $\kappa$ B p65, and IKK $\beta$  protein expression in the cisplatin + lentinan group were significantly decreased ( $P < 0.05$ ). Compared with the cisplatin + lentinan group, the tumor volume, tumor weight, tumor number, and protein expression levels of NF- $\kappa$ B P-p65/NF- $\kappa$ B p65 and IKK $\beta$  in Prostratin group were significantly increased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Cisplatin combined with lentinan can inhibit the expression of IKK $\beta$  and phosphorylation of NF- $\kappa$ B by regulating IKK $\beta$ /NF- $\kappa$ B pathway, thereby slowing down the proliferation of breast cancer cells, accelerating cell apoptosis, limiting tumor development and alleviating the disease.

**Key words:** lentinan; cisplatin; IKK $\beta$ ; NF- $\kappa$ B; breast cancer; intervention effect

乳腺癌是一种常见的恶性肿瘤，具有较高的致死率，往往由于前期发病症状不明显且发病迅速，导致明确诊断时癌细胞扩散程度大，对患者造成不可逆的损伤<sup>[1]</sup>。目前该疾病主要通过手术进行治疗，并通过抑制肿瘤发育类药物缓解病情，但该疾病预后效果差，很容易复发再次危害机体<sup>[2]</sup>。因此，急需开发具有针对性的治疗药物干预癌症发育，进一步抑制病情的发展<sup>[3]</sup>。I- $\kappa$ B 激酶  $\beta$  (IKK $\beta$ ) 被证实 在肿瘤发生和发育过程中发挥重要作用<sup>[4]</sup>。此外，IKK $\beta$  对于下游核因子- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) 的激活起到至关重要的作用，而 NF- $\kappa$ B 被认为是启动炎症反应的重要影响因子，也被证实 在多种肿瘤组织中高表达，促进肿瘤的进一步发展<sup>[5]</sup>。近来有研究表明，NF- $\kappa$ B 在乳腺癌组织中特异性高表达，当抑制其激活时，乳腺癌组织病情得到好转，推测 NF- $\kappa$ B 在乳腺癌发育过程中发挥重要作用，而 IKK $\beta$  可能通过影响 NF- $\kappa$ B 表达调控癌症发展<sup>[6]</sup>。

顺铂是一种具有细胞毒性的治疗药物，可抑制癌细胞 DNA 复制，具有极强的抑癌作用，可显著缓解乳腺癌患者的病情，但在治疗癌症的同时，易产生不良反应，严重损害患者的身体健康，不适合长期高剂量使用，故通过选用其他药物联合治疗成为人们研究的重点<sup>[7]</sup>。随着近年来相关研究的增多，越来越多的中药有效成分被证实参与调控了乳腺癌<sup>[8]</sup>。香菇多糖是一种从香菇中分离提取的葡萄糖，具有良好的抗癌活性<sup>[9-10]</sup>，注射香菇多糖也被证实可参与缓解乳腺癌患者病情<sup>[11]</sup>。本研究推测香菇多糖联合顺铂对乳腺癌具有良好的治疗效果，并通过

体外细胞培养及体内实验，探究香菇多糖联合顺铂对乳腺癌的干预作用，并探讨其作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂与仪器

胎牛血清(货号 BC-SE-FBS01)购于森贝伽(南京)生物科技有限公司; RPMI-1640 培养液(货号 PM150110)购于武汉普诺赛生物科技有限公司; 香菇多糖胶囊(规格: 0.185 g, 批号 97002021162)购于湖北创力药业有限公司; 顺铂(货号 B24462)购于源叶生物科技有限公司; 胰蛋白酶(批号 202106907)购于第一生化(上海)药业有限公司; CCK-8 工作液(货号 ST1007)购于尚宝生物科技有限公司; 凋亡检测试剂盒(货号 abs50001)购于上海爱必信生物科技有限公司; IKK $\beta$  激活剂普罗斯左汀(Prostratin, 货号 sc-203422)购于安诺伦(北京)生物科技有限公司; 甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体(货号 ab9485)、NF- $\kappa$ B p65 抗体(货号 ab207297)、NF- $\kappa$ B p-p65 抗体(货号 ab239882)、IKK $\beta$  抗体(货号 ab124957)购于 Abcam 公司; WD-9413B 凝胶成像系统(济南来宝医疗器械)。

人乳腺癌细胞株 MCF-7 由北京医科大学提供，培养条件: MCF-7 在细胞室培养(5% CO<sub>2</sub>、37 °C)。50 只 SPF 级 SD 雌性大鼠，7 周龄，体质量(200 ± 15) g，购于济南朋悦实验动物繁育有限公司，许可证号 SCXK(鲁)20190003。饲养条件: 动物室饲养(相对湿度 50%、22 °C)。本研究经过天津中医药大学第一附属医院伦理委员会批准(批准号 81503392)。

## 1.2 体外实验

**1.2.1 细胞培养** 根据参考文献方法<sup>[12-13]</sup>和预实验,采用完全培养基将香菇多糖胶囊制备成 10、20、40 μg/mL 的溶液,将顺铂制备成 10 μmol/L 溶液。选用含有 10%胎牛血清的 RPMI-1640 培养液进行 MCF-7 细胞培养,传代培养后选用对数期培养细胞,收集细胞并接种于 6 孔板中,分为模型组、顺铂组 (10 μmol/L)、顺铂 (10 μmol/L) + 香菇多糖低、中、高剂量 (10、20、40 μg/mL) 组,每组设置 6 个复孔,依照组别用不同浓度香菇多糖联合顺铂培养 48 h,用于后续实验。

**1.2.2 CCK-8 法检测细胞增殖** 各组细胞培养 48 h 后,加入 CCK-8 工作液 10 mL,混匀后避光条件下孵育 1 h,通过酶标仪检测波长 450 nm 处吸光度值,计算细胞增殖抑制率。

细胞增殖抑制率 = (对照组吸光度值 - 实验组吸光度值) / 对照组吸光度值

**1.2.3 流式细胞术检测细胞凋亡** 各组细胞培养 48 h 后,离心分离细胞并收集制备细胞悬液,调整浓度为  $1 \times 10^6$  个/mL,按照凋亡检测试剂盒说明书方法进行检测,依次在各组细胞液中添加 Annexin V-FITC、PI,避光条件下孵育 15 min,通过流式细胞仪检测各组细胞凋亡情况,计算细胞凋亡率。

## 1.3 体内实验

随机将大鼠分为模型组、顺铂组、香菇多糖组、顺铂 + 香菇多糖组、Prostratin 组,每组 10 只。培养乳腺癌 MCF-7 细胞至融合度 > 80% 时,胰蛋白酶处理,离心后去除上清,调整细胞浓度至  $3 \times 10^6$  个/μL,将细胞依次注射于各组大鼠乳腺垫内,每只  $3 \times 10^6$  个,待细胞在体内生长 10 d,成瘤率 100%,随后进行给药处理。顺铂和香菇多糖胶囊分别溶于生理盐水,制备 0.4 mg/mL 顺铂悬液和 3 mg/mL 香菇多糖悬液。顺铂组大鼠按 5 mL/kg ip 顺铂 2 mg/kg,香菇多糖组大鼠按 5 mL/kg ip 香菇多糖 15 mg/kg,顺铂 + 香菇多糖组大鼠按 5 mL/kg ip 顺铂 2 mg/kg、香菇多糖 15 mg/kg,Prostratin 组大鼠 ip 顺铂 2 mg/kg、香菇多糖 15 mg/kg、IKKβ 激活剂 Prostratin 0.5 mg/kg,模型组大鼠 ip 等剂量的生理盐水,各组大鼠每日注射 1 次,连续干预 28 d。顺铂、香菇多糖的注射剂量依据参考文献方法<sup>[14-15]</sup>和前期预实验确定,IKKβ 激活剂 Prostratin 的剂量依据其购买说明书和前期预实验确定。

**1.3.1 大鼠瘤体指标检测** 各组大鼠末次注射 12 h

后,麻醉并快速处死,手术刀完整分离乳腺癌瘤体,统计瘤体数量,游标卡尺测量瘤体直径,计算瘤体体积。随后称质量,记录各组瘤体质量,并用液氮处理研磨至粉,冻存备用。

**1.3.2 Western blotting 分析** 取出冻存备用的大鼠乳腺癌组织粉末,加入少量蛋白裂解液,充分混匀确保蛋白充分裂解,加入蛋白提取液,充分震荡后静置,离心获取上层蛋白,定量后加入上层缓冲液,混匀加热变性,加入蛋白孔道中,转膜后脱脂牛奶封闭 2 h,加入一抗 (NF-κB p65 抗体、NF-κB p-p65 抗体、IKKβ 抗体, 1 : 1 500), 4 °C 孵育过夜。TBST 清洗液清洗 3 次,加入二抗 (1 : 200),室温孵育 40 min, TBST 清洗液清洗 3 次,混合发光染料,均匀倒于膜上,浸泡 1 min,取出后擦干多余水分,通过 Syngene 光密度扫描系统分析条带灰度。

## 1.4 统计学方法

采用 SPSS 22.0 软件分析,数据用  $\bar{x} \pm s$  表示,组间差异采用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 比较,两两比较采用 SNK-*q* 检验,  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 体外实验

**2.1.1 不同剂量香菇多糖联合顺铂对 MCF-7 细胞增殖的影响** 与模型组相比,顺铂组、顺铂 + 香菇多糖 10、20、40 μg/mL 组 MCF-7 细胞的增殖抑制率显著升高 ( $P < 0.05$ ); 与顺铂组相比,顺铂 + 香菇多糖 10、20、40 μg/mL 组 MCF-7 细胞的增殖抑制率显著升高 ( $P < 0.05$ ),且呈剂量相关性增长,见表 1。

表 1 各组 MCF-7 细胞增殖抑制率检测 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )  
Table 1 Detection of proliferation inhibition rate of MCF-7 cells in each group ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	剂量	细胞增殖抑制率/%
模型	—	0.00 ± 0.00
顺铂	10 μmol·L <sup>-1</sup>	19.26 ± 2.73*
顺铂 + 香菇多糖	10 μmol·L <sup>-1</sup> + 10 μg·mL <sup>-1</sup>	25.28 ± 3.15**
	10 μmol·L <sup>-1</sup> + 20 μg·mL <sup>-1</sup>	33.74 ± 3.46**&
	10 μmol·L <sup>-1</sup> + 40 μg·mL <sup>-1</sup>	47.59 ± 5.62**&@

与模型组比较: \* $P < 0.05$ ; 与顺铂组比较: \*\* $P < 0.05$ ; 与顺铂 + 香菇多糖 10 μg·mL<sup>-1</sup> 组比较: & $P < 0.05$ ; 与顺铂 + 香菇多糖 20 μg·mL<sup>-1</sup> 组比较: @ $P < 0.05$

\* $P < 0.05$  vs model group; \*\* $P < 0.05$  vs cisplatin group; & $P < 0.05$  vs cisplatin + lentinan 10 μg·mL<sup>-1</sup> group; @ $P < 0.05$  vs cisplatin + lentinan 20 μg·mL<sup>-1</sup> group

2.1.2 不同剂量香菇多糖联合顺铂对 MCF-7 细胞凋亡的影响 与模型组相比, 顺铂组、顺铂+香菇多糖 10、20、40  $\mu\text{g}/\text{mL}$  组 MCF-7 细胞凋亡率显著

升高 ( $P < 0.05$ ); 与顺铂组相比, 顺铂+香菇多糖 10、20、40  $\mu\text{g}/\text{mL}$  组 MCF-7 细胞凋亡率显著升高 ( $P < 0.05$ ), 且呈剂量相关性增长, 见图 1、表 2。

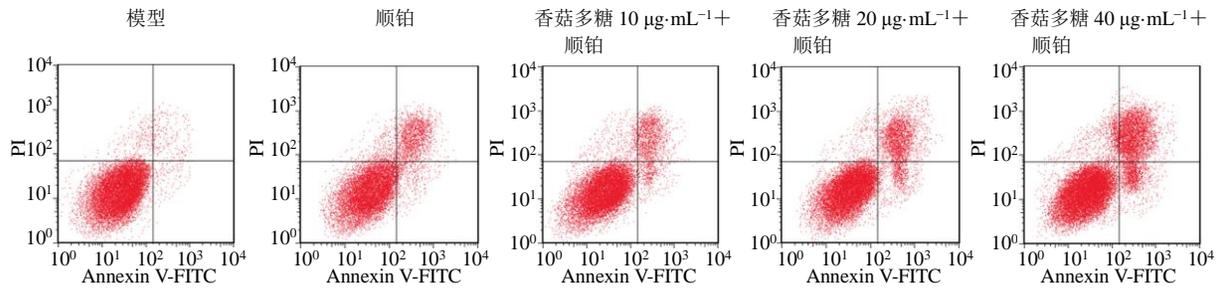


图 1 流式细胞术检测各组 MCF-7 细胞凋亡

Fig. 1 Apoptosis of MCF-7 cells in each group was detected by flow cytometry

表 2 各组 MCF-7 细胞凋亡率检测 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Table 2 Detection of apoptosis rate of MCF-7 cells in each group ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	剂量	细胞凋亡率/%
模型	—	3.73 ± 0.51
顺铂	10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	24.38 ± 1.94*
顺铂+香菇多糖	10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ +10 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	32.62 ± 2.75**
	10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ +20 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	38.16 ± 2.04**&
	10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ +40 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$	45.15 ± 1.32**&@

与模型组比较: \* $P < 0.05$ ; 与顺铂组比较: # $P < 0.05$ ; 与顺铂+香菇多糖 10  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  组比较: & $P < 0.05$ ; 与顺铂+香菇多糖 20  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  组比较: @ $P < 0.05$

\* $P < 0.05$  vs model group; # $P < 0.05$  vs cisplatin group; & $P < 0.05$  vs cisplatin + lentinan 10  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  group; @ $P < 0.05$  vs cisplatin + lentinan 20  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  group

表 3 各组乳腺癌大鼠瘤体体积、瘤体质量、瘤体数目检测 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 3 Detection of tumor volume, tumor weight, and tumor number of breast cancer rats in each group ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	瘤体体积/ $\text{mm}^3$	瘤体质量/g	瘤体数目/个
模型	—	387.26 ± 11.35	0.53 ± 0.04	5.33 ± 0.27
顺铂	2	281.63 ± 8.62*	0.31 ± 0.06*	4.08 ± 0.23*
香菇多糖	15	308.51 ± 7.84**	0.39 ± 0.04**	4.42 ± 0.17**
顺铂+香菇多糖	2+15	217.38 ± 6.42**&	0.22 ± 0.03**&	3.42 ± 0.21**&
Prostratin	0.5	353.15 ± 6.74**&@	0.45 ± 0.05**&@	4.83 ± 0.18**&@

与模型组比较: \* $P < 0.05$ ; 与顺铂组比较: # $P < 0.05$ ; 与香菇多糖组比较: & $P < 0.05$ ; 与顺铂+香菇多糖组比较: @ $P < 0.05$

\* $P < 0.05$  vs model group; # $P < 0.05$  vs cisplatin group; & $P < 0.05$  vs lentinan group; @ $P < 0.05$  vs cisplatin + lentinan group

IKK $\beta$  蛋白表达量显著降低 ( $P < 0.05$ ); 与顺铂组、香菇多糖组相比, 顺铂+香菇多糖组大鼠瘤体内 NF- $\kappa$ B p-p65/NF- $\kappa$ B p65、IKK $\beta$  蛋白表达量显著降低 ( $P < 0.05$ ); 与顺铂+香菇多糖组相比, Prostratin 组大鼠瘤体内 NF- $\kappa$ B p-p65/NF- $\kappa$ B p65、IKK $\beta$  蛋白表达量显著升高 ( $P < 0.05$ ), 见图 2、表 4。

## 2.2 体内实验

2.2.1 不同剂量香菇多糖联合顺铂对乳腺癌大鼠瘤体发育的影响 与模型组相比, 顺铂组、香菇多糖组、顺铂+香菇多糖组、Prostratin 组大鼠瘤体体积、瘤体质量、瘤体数目显著降低 ( $P < 0.05$ ); 与顺铂组、香菇多糖组相比, 顺铂+香菇多糖组大鼠瘤体体积、瘤体质量、瘤体数目显著降低 ( $P < 0.05$ ); 与顺铂+香菇多糖组相比, Prostratin 组大鼠瘤体体积、瘤体质量、瘤体数目显著升高 ( $P < 0.05$ ), 见表 3。

2.2.2 不同剂量香菇多糖联合顺铂对乳腺癌大鼠 IKK $\beta$ /NF- $\kappa$ B 通路相关蛋白表达的影响 与模型组相比, 顺铂组、香菇多糖组、顺铂+香菇多糖组、Prostratin 组大鼠瘤体内 NF- $\kappa$ B p-p65/NF- $\kappa$ B p65、

## 3 讨论

乳腺癌是女性发病率最高的恶性肿瘤, 可由多种因子调控发生发展, 造成乳腺上皮细胞增殖异常, 导致淋巴结肿大, 严重时癌细胞可扩散至全身多个部位, 造成多个器官的恶化, 严重危害患者的身体健康<sup>[16]</sup>。顺铂具有广谱性抗癌作用, 可有效针

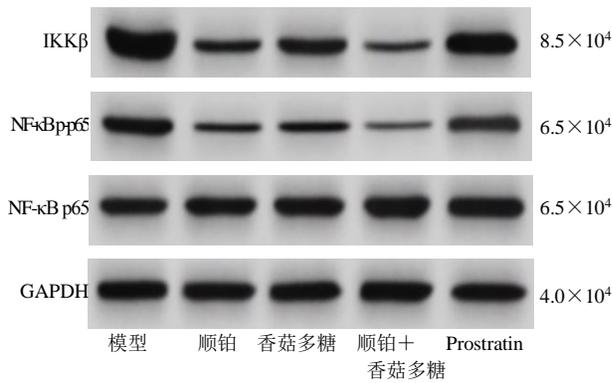


图 2 各组乳腺癌大鼠瘤体内 IKKβ、NF-κB p-p65、NF-κB p65 蛋白表达量

Fig. 2 Expression levels of IKKβ, NF-κB p-p65, and NF-κB p65 protein in breast cancer rats in each group

表 4 各组乳腺癌大鼠瘤体内 IKKβ 蛋白表达量、NF-κB p-p65/NF-κB p65 比较 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 4 Comparison of expression level of IKKβ protein and NF-κB p-p65/NF-κB p65 in breast cancer rats in each group ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	IKKβ/GAPDH	NF-κB p-p65/NF-κB p65
模型	—	1.84 ± 0.17	0.94 ± 0.05
顺铂	2	0.61 ± 0.13*	0.35 ± 0.04*
香菇多糖	15	0.95 ± 0.15*#	0.47 ± 0.07*#
顺铂+香菇多糖	2+15	0.32 ± 0.06*#&	0.23 ± 0.04*#&
Prostratin	0.5	1.53 ± 0.11*#&@	0.82 ± 0.06*#&@

与模型组比较: \*P<0.05; 与顺铂组比较: #P<0.05; 与香菇多糖组比较: &P<0.05; 与顺铂+香菇多糖组比较: @P<0.05

\*P<0.05 vs model group; #P<0.05 vs cisplatin group; &P<0.05 vs lentinan group; @P<0.05 vs cisplatin+lentinan group

增殖抑制率、细胞凋亡率,联合香菇多糖处理效果优于顺铂单独处理。且随着联合香菇多糖浓度的升高,乳腺癌细胞增殖抑制率、细胞凋亡率逐渐升高,表明顺铂联合香菇多糖可进一步提高药效,抑制乳腺癌细胞增殖,加剧细胞凋亡。

有研究指出,乳腺癌在患者体内增殖的过程中可产生多个瘤体,瘤体随着细胞的不断增生逐渐增大,对身体造成严重危害,因此检测瘤体形态变化是判断病情的重要依据<sup>[21]</sup>。为进一步验证顺铂联合香菇多糖的抗肿瘤效果,明确其药效,本研究依据参考文献方法<sup>[22]</sup>,选取大鼠构建乳腺癌模型进行干预,发现顺铂、香菇多糖单独处理和顺铂联合香菇多糖处理均可以显著减小瘤体体积、瘤体质量、瘤体数目,联合香菇多糖处理效果优于两者单独处理,进一步证实顺铂联合香菇多糖可加强药效,缓解乳腺癌疾病,但其内在机理有待进一步验证。

有文献指出,IKKβ 可显著增强乳腺癌细胞活性,加速细胞迁移,导致乳腺癌进一步扩散<sup>[23]</sup>。IKKβ 还可通过激活下游 NF-κB,进一步诱导细胞增殖。七氟醚可通过调控相关通路,降低 IKKβ 的表达同

对多种癌症细胞的增殖,但其自身具有一定的生物毒性,长期服用会导致肾衰竭、神经损伤<sup>[17]</sup>。目前研究的重点在于选用药物联合顺铂治疗疾病,提高药效的同时缓解顺铂对身体造成的副作用<sup>[18]</sup>。因此,具有抗癌活性且药性温和的中药成分成为人们关注的重点试验对象。香菇多糖是菌菇中分离获取的多糖,具有良好的免疫激活作用,被证实对于多数疾病的治疗具有良好的效果<sup>[19]</sup>。有研究指出,香菇多糖可联合多种药物缓解乳腺癌的病情,增强机体免疫力的同时抑制疾病复发<sup>[20]</sup>。本研究推测香菇多糖联合顺铂对于乳腺癌同样具有良好的治疗效果,通过体外培养乳腺癌细胞,发现顺铂单独处理和联合香菇多糖处理均可以显著提高乳腺癌细胞

时抑制 NF-κB 激活,从而缓解乳腺癌疾病的发作,被认为是调控乳腺癌疾病的潜在治疗靶点<sup>[24]</sup>。香菇多糖被证实可通过增强免疫功能抑制乳腺癌组织多种炎症相关因子的表达水平,很可能参与调控 NF-κB<sup>[25]</sup>。本研究推测香菇多糖可通过调控 IKKβ/NF-κB 通路,抑制乳腺癌,通过实验发现,顺铂、香菇多糖单独处理和顺铂联合香菇多糖处理均可以显著降低瘤体内 IKKβ 的表达量和 NF-κB 磷酸化水平,初步验证相关猜想。为进一步证实,本研究在顺铂联合香菇多糖处理的同时激活 IKKβ,发现大鼠瘤体内 IKKβ 的表达量和 NF-κB 磷酸化水平显著升高,同时大鼠瘤体体积、瘤体质量、瘤体数目显著升高,进一步验证相关猜想。

综上所述,香菇多糖联合顺铂可通过调控 IKKβ/NF-κB 通路,抑制 IKKβ 表达和 NF-κB 磷酸化,从而减缓乳腺癌细胞增殖,加速细胞凋亡,限制瘤体发育,从而缓解疾病。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

[1] Zhe Y, Slobodan B. Embryonic barcoding of equipotent

- mammary progenitors functionally identifies breast cancer drivers [J]. *Cell Stem Cell*, 2020, 26(3): 403-419.
- [2] 冯凯, 吴梓政, 韦丽光, 等. 改良乳腺癌根治术联合表柔比星治疗乳腺癌的疗效及对血清抵抗素、脂联素水平的影响 [J]. 现代生物医学进展, 2021, 21(5): 977-981.
- [3] Siewierska K, Malicka I, Kobierzycki C, *et al.* Effect of physical training on the levels of sex hormones and the expression of their receptors in rats with induced mammary cancer in secondary prevention model-preliminary study [J]. *In Vivo*, 2020, 34(2): 495-501.
- [4] Zhang X, Liu S, Zhu Y. A-kinase-interacting protein 1 promotes EMT and metastasis via PI3K/Akt/IKK $\beta$  pathway in cervical cancer [J]. *Cell Biochem Funct*, 2020, 38(6): 782-791.
- [5] Tong H, Huang Z, Chen H, *et al.* Emodin reverses gemcitabine resistance of pancreatic cancer cell lines through inhibition of IKK $\beta$ /NF- $\kappa$ B signaling pathway [J]. *OncoTargets Ther*, 2020, 13: 9839-9848.
- [6] 张硕稳, 杨微, 王新乐, 等. 乳腺癌组织中 MTDH、I $\kappa$ B、NF- $\kappa$ BP65 的表达及其临床意义 [J]. 实用癌症杂志, 2016, 31(10): 1578-1581.
- [7] Zhang Y, Chen J, Che Z, *et al.* JP3 enhances the toxicity of cisplatin on drug-resistant gastric cancer cells while reducing the damage to normal cells [J]. *J Cancer*, 2021, 12(7): 1894-1906.
- [8] 向莹, 潘博. 中药抗人乳腺癌 MCF-7 细胞的作用及机制研究现状 [J]. 中医药导报, 2020, 26(13): 171-175.
- [9] Gu S, Xu J, Teng W, *et al.* Local delivery of biocompatible lentinan/chitosan composite for prolonged inhibition of postoperative breast cancer recurrence [J]. *Int J Biol Macromol*, 2022, 194: 233-245.
- [10] 苏畅, 李小江, 贾英杰, 等. 香菇多糖的抗肿瘤作用机制研究进展 [J]. 中草药, 2019, 50(6): 1499-1504.
- [11] 鲁海燕, 张喜平. 香菇多糖对新辅助化疗后乳腺癌患者免疫功能及淋巴细胞的影响 [J]. 安徽医药, 2018, 22(12): 2427-2431.
- [12] 黄哲, 李云泽, 赵文嫣, 等. 香菇多糖联合吉西他滨对人胰腺癌细胞 ASPC-1 生物学行为的影响 [J]. 中国医科大学学报, 2020, 49(3): 215-219.
- [13] 蒋国君, 刘亚明, 王道鑫, 等. 黄芩素联合顺铂对乳腺癌细胞 MCF-7 增殖和凋亡的影响 [J]. 山西医科大学学报, 2018, 49(8): 927-931.
- [14] 陈巧玲, 白亦光, 别俊, 等. 色素上皮衍生因子联合顺铂对卵巢癌的抑制作用 [J]. 山西医科大学学报, 2021, 52(5): 546-551.
- [15] 苏畅, 贾英杰, 李小江, 等. 香菇多糖联合 AdIRF3 通过刺激 IFN- $\beta$  表达抑制乳腺癌生长 [J]. 中草药, 2019, 50(5): 1145-1150.
- [16] Taurin S, Alkhalifa H. Breast cancers, mammary stem cells, and cancer stem cells, characteristics, and hypotheses [J]. *Neoplasia*, 2020, 22(12): 663-678.
- [17] 尹连红, 张一萌, 彭金咏. 顺铂诱导肾毒性的分子机制及中药干预研究进展 [J]. 中国药理学通报, 2020, 36(1): 13-18.
- [18] 祝连明, 黄楠, 孙爱华. 维生素 C 与顺铂联合用药对人乳腺癌细胞 MCF-7 的杀伤作用及机制研究 [J]. 医学综述, 2020, 26(3): 602-606.
- [19] 李勤, 张嫒, 孟祥珍. 香菇多糖注射液结合吉非替尼对非小细胞肺癌疗效、肺功能、不良反应影响研究 [J]. 中华中医药学刊, 2021, 39(4): 163-166.
- [20] 李小江, 赵阳, 牟睿宇, 等. 注射用香菇多糖联合 AC 方案和紫杉醇治疗晚期三阴性乳腺癌的临床研究 [J]. 现代药物与临床, 2020, 35(1): 26-31.
- [21] 全细云, 李明, 朱建思, 等. 人绒毛膜促性腺激素对乳腺癌大鼠肿瘤生长及相关基因表达的影响 [J]. 现代医学, 2020, 48(3): 303-307.
- [22] 夏青, 乔炜超, 白夜. 金花茶提取物诱导细胞自噬增强紫杉醇抗大鼠乳腺癌的干预作用及其机制研究 [J]. 世界中西医结合杂志, 2021, 16(6): 1026-1030.
- [23] 黄器伟, 黄涛, 牛美兰, 等. 蒙花苷通过调控 IKK/NF- $\kappa$ B 信号通路抑制人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的迁移和侵袭 [J]. 中国病理生理杂志, 2019, 35(12): 2194-2200.
- [24] 姚立勇, 陈敏, 梁豪, 等. 七氟醚对乳腺癌细胞 NF- $\kappa$ B 活性及 MMP-2、MMP-9 表达的影响 [J]. 中国妇幼保健, 2019, 34(1): 177-181.
- [25] 徐文琴, 吴艳红, 余方流, 等. 香菇多糖抑制乳腺癌 4T1 细胞小鼠移植瘤增殖机制研究 [J]. 中华肿瘤防治杂志, 2021, 28(2): 111-116.

[责任编辑 高源]