

• 药理与临床 •

基于 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 信号通路的山慈菇多糖抗肝细胞癌机制研究

芦艺凡, 谷晨菲[#], 王 宇, 姜婷月, 范文昕, 石晋丽*

北京中医药大学中药学院, 北京 102488

摘要: 目的 分析山慈菇多糖 (*Cremastrae Pseudobulbus Pleiones Pseudobulbus* polysaccharide, CPP) 的化学组成并进行多糖结构表征, 并探究其抗肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 的药效及作用机制。方法 采用苯酚-硫酸法、考马斯亮蓝法检测 CPP 样品的总糖及蛋白含量, 结合紫外光谱法、红外光谱法、扫描电子显微镜分析、PMP 柱前衍生化-HPLC 法、凝胶渗透色谱对 CPP 进行结构表征。雄性 Balb/c 小鼠于右前肢腋下接种 H22 原代细胞, 随机分为模型组、索拉非尼 (30 mg/kg) 组及 CPP 低、中、高剂量 (200、400、800 mg/kg) 组, 每组 10 只, 另取 10 只正常小鼠作为对照组。连续给药 16 d, 计算抑瘤率; 采用苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色法观察小鼠肿瘤组织病理变化; 取模型组和 CPP 中剂量组小鼠肿瘤组织, 利用转录组测序技术分析 CPP 发挥抗 HCC 活性的作用机制, 结合京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)、基因本体 (gene ontology, GO) 富集分析等探究 CPP 抗 HCC 的关键信号靶点及作用通路; 通过 Western blotting、qRT-PCR、ELISA 法进行体内机制验证。结果 CPP 中的总糖质量分数为 95.19%, 蛋白质量分数为 0.33%。结构表征结果显示, CPP 是以 α 构型糖苷键连接的吡喃型糖环, 呈不规则卷曲状, 由甘露糖和葡萄糖 (物质的量比为 2.388:1) 组成, 重均相对分子质量为 1.27×10^5 。动物实验结果显示, CPP 低、中、高剂量组对 H22 荷瘤小鼠模型的抑瘤率分别为 45.13%、48.68%、35.94%, 抗 HCC 最佳剂量为 400 mg/kg; 病理切片显示模型组肿瘤组织病变显著, 各给药组均有所改善, 以 CPP 中剂量组细胞核碎裂更为明显。转录组学结果显示 CPP 可能通过调节 NOD 样受体热蛋白结构域 3 (NOD like receptor family pyrin domain containing 3, NLRP3) 信号通路发挥抗 HCC 作用。Western blotting 结果显示, 与模型组比较, CPP 中剂量组小鼠肿瘤组织中 NLRP3、凋亡相关斑点样蛋白 (apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD, ASC)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-1 (cystein-aspartate protease-1, Caspase-1) 和消皮素 D (gasdermin D, GSDMD) 表达水平显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001); ELISA 结果显示, 与模型组比较, CPP 中剂量组肿瘤组织中白细胞介素- 1β (interleukin 1β , IL- 1β) 和 IL-18 水平显著降低 ($P < 0.001$)。结论 CPP 的抗 HCC 作用可能与抑制 NLRP3 炎症小体的激活, 阻断 Caspase-1/GSDMD 介导的细胞焦亡通路有关。

关键词: 山慈菇多糖; 肝细胞癌; 转录组学; 细胞焦亡; NLRP3 信号通路; 甘露糖; 葡萄糖

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2026)14-5553-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2026.14.017

Mechanism of *Cremastrae Pseudobulbus Pleiones Pseudobulbus* polysaccharide against hepatocellular carcinoma based on NLRP3/Caspase-1/GSDMD signaling pathway

LU Yifan, GU Chenfei, WANG Yu, JIANG Tingyue, FAN Wenxin, SHI Jinli

School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China

Abstract: Objective To analyze the chemical composition and characterize the polysaccharide structure of Shancigu (*Cremastrae Pseudobulbus Pleiones Pseudobulbus*) polysaccharide (CPP), and investigate its anti-hepatocellular carcinoma (HCC) efficacy and mechanism. **Methods** Total sugar and protein contents of CPP samples were determined using phenol-sulfuric acid method and

收稿日期: 2026-01-26

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (82073971)

作者简介: 芦艺凡, 女, 硕士研究生, 从事中药药效物质基础与作用机制研究。E-mail: asd12382022@163.com

[#]共同第一作者: 谷晨菲, 女, 硕士研究生, 从事中药药效物质基础与作用机制研究。E-mail: guchenfei3935@163.com

*通信作者: 石晋丽, 女, 博士生导师, 教授, 从事中药药效物质基础与作用机制研究。E-mail: shijl@vip.sina.com

Coomassie brilliant blue method, respectively. Structural characterization was performed by UV spectroscopy, infrared spectroscopy, scanning electron microscopy, PMP pre-column derivatization-HPLC and gel permeation chromatography. Male Balb/c mice were inoculated with H22 primary cells under the right forelimb axilla, mice were randomly divided into model, sorafenib (30 mg/kg) group and CPP low-, medium-, high-dose (200, 400, 800 mg/kg) groups, with 10 mice per group, another 10 normal mice were selected as the control group. Administration was performed for 16 consecutive days, tumor inhibition rates were calculated. Hematoxylin-eosin (HE) staining was used to observe histopathological changes in tumor tissues. Tumor tissues from model group and CPP medium-dose group were analyzed using transcriptomic sequencing to elucidate the mechanism of CPP's anti-HCC activity. Key signaling targets and pathways of CPP against HCC were investigated through Kyoto encyclopedia of genes and genomes (KEGG) and gene ontology (GO) enrichment analysis. *In vivo* mechanism validation was performed using Western blotting, qRT-PCR and ELISA. **Results** CPP contained 95.19% total sugar and 0.33% protein. The structural characterization results showed that CPP was a pyran sugar ring connected by α -glycosidic bonds, irregularly coiled, composed of mannose and glucose (with a mass ratio of 2.388 : 1), and had a weight average relative molecular weight of 1.27×10^5 . The animal experiment results showed that CPP low-, medium- and high-dose groups had tumor inhibition rates of 45.13%, 48.68% and 35.94% on H22 tumor bearing mouse models, respectively. The optimal dose for anti-HCC was 400 mg/kg. Histopathological sections revealed significant tumor tissue lesions in model group, with improvements observed across all treatment groups, particularly marked nuclear fragmentation in CPP medium-dose group. Transcriptomic analysis suggested CPP may exert its anti-HCC effects by modulating NOD like receptor family pyrin domain containing 3 (NLRP3) signaling pathway. Western blotting results showed that compared with model group, the expression levels of NLRP3, apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD (ASC), cystein-aspartate protease-1 (Caspase-1) and gasdermin D (GSDMD) in tumor tissues of mice in CPP medium-dose group were significantly reduced ($P < 0.05, 0.01, 0.001$). ELISA results showed that compared with model group, the levels of interleukin- 1β (IL- 1β) and IL-18 in tumor tissues of CPP medium-dose group were significantly reduced ($P < 0.001$). **Conclusion** The anti-HCC effect of CPP may be related to the inhibition of NLRP3 inflammasome activation and blockade of Caspase-1/GSDMD mediated cell apoptosis pathway.

Key words: *Cremastrae Pseudobulbus Pleiones Pseudobulbus* polysaccharide; hepatocellular carcinoma; transcriptomics; pyroptosis; NLRP3 signaling pathway; mannose; glucose

肝癌是全球第 5 大常见的癌症类型,是中国癌症第 2 大致死病因^[1]。肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 约占原发性肝癌的 90%,其发病隐匿,确诊时常为晚期,临床治疗手段有限,预后较差^[2]。中药具有多靶点、可及性广、不良反应小等优点,在抑制肿瘤生长、预防复发等方面具有明显优势,因此发掘可以有效治疗 HCC 的中药,对拓展 HCC 治疗策略具有重要的临床意义。

肿瘤炎症微环境在 HCC 的发生和发展中扮演重要角色^[3],对 HCC 发生发展的驱动作用日益受到关注。持续慢性炎症在促进 HCC 发展的同时诱导免疫抑制微环境的形成^[4],从而有利于 HCC 的免疫逃逸,促进其发生和发展^[5]。研究表明 NOD 样受体热蛋白结构域 3 (NOD like receptor family pyrin domain containing 3, NLRP3) 炎症小体介导的细胞焦亡是连接炎症与肿瘤的关键机制^[6],NLRP3 炎症小体作为细胞焦亡通路中的重要分子与肝细胞的损伤及炎症反应密切相关,其异常激活与 HCC 进展密切相关^[7-8]。NLRP3 炎症小体的活化在 HCC 微环境中具有双重性:诱导肿瘤细胞焦亡是机体清除

癌细胞的重要防御机制,但细胞焦亡过度激活释放的促炎因子白细胞介素- 1β (interleukin 1β , IL- 1β) 和 IL-18 进一步放大炎症反应,导致细胞大量死亡,造成组织损伤^[9],抑制 NLRP3 的过表达有助于重塑肿瘤微环境,削弱其促癌作用,进而抑制 HCC 细胞的增殖并促进凋亡^[10]。

山慈菇 *Cremastrae Pseudobulbus Pleiones Pseudobulbus* 入肝、脾经,具有清热解毒、化痰散结的功效^[9],临床上常用于肝癌、肺癌、乳腺癌等恶性肿瘤的治疗^[11]。课题组前期研究表明山慈菇多糖 (*Cremastrae Pseudobulbus Pleiones Pseudobulbus* polysaccharide, CPP) 为山慈菇水提物发挥抗 HCC 作用的有效部位^[12],有研究对 CPP 的结构进行了初步分析^[13],但其微观结构、糖苷键类型等核心信息尚未明确,其抗 HCC 作用机制也仅限提高免疫力相关的研究^[13-14],这严重制约了山慈菇的开发利用。综上,本研究旨在分析 CPP 的化学组成并进行多糖结构表征,筛选 CPP 抗 HCC 最优剂量,采用转录组学技术预测 CPP 抗 HCC 作用机制并基于 NLRP3 炎症小体进行体内验证,以期如山慈菇的临床用药、深度开发提供依据。

1 材料

1.1 细胞与动物

小鼠 HCC 细胞系 H22 细胞购自北纳生物有限公司。

SPF 级雄性昆明小鼠 3 只, 许可证号 SCXK (京)2021-0011; SPF 级健康雄性 Balb/c 小鼠 60 只, 许可证号 SCXK (京) 2021-0006, 动物体质量 18~22 g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 实验单位使用许可证编号 SYXK (京) 2023-0011。实验全程于北京中医药大学动物实验中心的标准屏障环境内执行标准化饲养管理 (伦理批准号 BUCM-2024051007-2190), 遵循国际实验动物伦理学要求, 适应性饲养 1 周后用于实验。

1.2 药材

山慈菇 (批号 2106019) 购自北京市双桥燕京中药饮片厂, 经北京中医药大学石晋丽教授鉴定为兰科杜鹃兰属植物杜鹃兰 *Cremastra appendiculata* (D. Don) Makino 的干燥假鳞茎。

1.3 药品与试剂

葡萄糖标准品 (分析纯, 质量分数 $\geq 98.0\%$, 批号 171206) 购自上海融禾医药科技有限公司; 牛血清白蛋白 (批号 H1036) 购自 Biosharp 公司; 甲苯磺酸索拉非尼片 (批号 H20203403) 购自重庆药友制药有限公司; 乌拉坦、RIPA 裂解液及蛋白酶抑制剂、相对分子质量为 $1.1 \times 10^4 \sim 1.8 \times 10^5$ 的彩虹 180 广谱蛋白 Marker (批号分别为 C10821103、R0020、PR1910) 购自北京索莱宝科技有限公司; QIAzol Lysis Reagent (批号 101245) 购自 Qiagen 公司; RNA Purification Kit (批号 G201011) 购自上海美吉生物医药科技有限公司; Biowest 琼脂糖 (批号 H14130) 购自 Biowest 公司; BCA 蛋白浓度测定试剂盒、5 $\times$ 上样缓冲液、ECL Plus 超敏发光液 (批号分别为 P0011、P0015L、P0018M) 购自上海碧云天生物技术股份有限公司; 0.45 μ m Merck Millipore PVDF 膜 (批号 IPVH00010) 购自美国 Millipore 公司; NLRP3、凋亡相关斑点样蛋白 (apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD, ASC)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-1 (cystein-aspartate protease-1, Caspase-1)、消皮素 D (gasdermin D, GSDMD)、 β -actin 一抗 (批号分别为 30109-1-AP、83858-3-RR、22915-1-AP、20770-1-AP、UM4001) 购自武汉三鹰生物技术有限公司; HRP 标记的羊抗兔 IgG 二抗、HRP 标记的羊抗小鼠 IgG 二抗 (批号分别为 S0001、S0002) 购自美国 Affinity 公司;

TRNzol Universal 总 RNA 提取试剂 (批号 DP424) 购自天根生化科技有限公司; RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (批号 K1622) 购自美国 Thermo 公司; 2 $\times$ SYBR Green qPCR Master Mix (批号 B21203) 购自美国 Selleck 公司; 小鼠 IL-1 β 、小鼠 IL-18 ELISA 试剂盒 (批号分别为 20250305B1、20230505E2) 购自江苏酶免实业有限公司。

1.4 仪器

Nano Drop 型紫外分光光度计、Qubit 4.0 型荧光定量仪、Nanodrop 2000 型超微量分光光度计 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); LGJ-10 型冷冻干燥机 (北京利德恒达技术有限公司); ME155DU 型高精度电子天平 (十万分之一, 美国梅特勒-托利多公司); TDZ5-WS 型离心机 (湖南湘仪仪器有限公司); RE-52AA 型旋转蒸发仪 (上海亚荣生物化学仪器厂); UH5300 型分光光度计 (日本日立公司); JSM-IT200 (LV) 型扫描电子显微镜 (日本电子公司); 岛津 LC-20A 型高效液相色谱仪 (日本岛津公司); Zorbax SB-C₁₈ 色谱柱 (250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μ m)、Agilent 1260 Infinity II 型凝胶渗透色谱仪 (美国安捷伦公司); DYY-6C 型电泳仪 (北京市六一仪器厂); T100 Thermal Cycler 型 PCR 仪 (美国 Bio-Rad 公司); NovaSeq 6000 型测序仪 (美国 Illumina 公司); PowerPac HC 型电泳仪、Trans-Blot SD 型转膜仪、ChemiDoc XRS+ 型凝胶成像系统 (美国伯乐公司); Tanon 5200 型全自动化学发光图像分析系统 (上海天能科技有限公司); ABI 型 Real Time PCR 仪 (美国应用生物系统公司); F50 型酶标仪 (瑞士 Sunrise 公司)。

2 方法

2.1 CPP 的提取

采用回流提取法制备山慈菇水提物。取山慈菇粉末适量, 加入 30 倍体积的去离子水浸泡 1.5 h, 回流提取 2 次, 每次 2 h, 合并滤液, 冷却后加入 80%乙醇, 于 4 $^{\circ}$ C 冰箱放置 12 h 后, 4 500 r/min 离心 30 min, 取沉淀复溶于去离子水后, 于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱保存过夜, 冻干即得 CPP, 提取率为 28%。

2.2 CPP 的化学组成分析及初级结构表征

2.2.1 总糖含量测定 采用苯酚-硫酸法测定总糖含量。制备不同质量浓度 (0.01、0.02、0.04、0.06、0.08、0.10 mg/mL) 的葡萄糖标准品溶液, 使用紫外可见分光光度计于 490 nm 波长处测定吸光度 (A) 值。以葡萄糖质量作为横坐标 (x), A 值作为纵坐标 (y), 绘制标准曲线。吸取质量浓度为 0.05 mg/mL

的 CPP 溶液 1.0 mL, 测定 A 值, 代入标准曲线, 计算 CPP 的总糖含量。

2.2.2 蛋白含量测定 采用考马斯亮蓝染色法测定蛋白含量。以不同质量浓度的牛血清白蛋白溶液作为标准品, 通过紫外-可见分光光度计在 595 nm 波长下检测其 A 值。以牛血清白蛋白质量作为横坐标 (x), A 值作为纵坐标 (y), 绘制标准曲线。吸取质量浓度为 10 mg/mL 的 CPP 溶液 1.0 mL, 测定 A 值, 代入标准曲线, 计算 CPP 的蛋白含量。

2.2.3 紫外光谱法 使用紫外可见分光光度计, 以去离子水为空白对照, 在 200~800 nm 波长下扫描 5 mg/mL 的 CPP 溶液, 测定 A 值。

2.2.4 红外光谱法 采用傅里叶变换红外光谱仪 (FTIR) 的衰减全反射 (ATR) 附件进行 CPP 样品分析, 以空气为背景参照, 光谱分辨率设定为 4 cm^{-1} , 波数为 4 000~400 cm^{-1} , 每张光谱累积扫描 32 次。

2.2.5 扫描电子显微镜分析 将 CPP 样品均匀涂抹于导电胶带, 用纯铂喷金后, 使用扫描电子显微镜分别在 50、100、500、1 000 倍镜下观察并记录图像。

2.2.6 单糖组成分析 采用 PMP 柱前衍生化法对 CPP 样品酸水解后的单糖进行衍生化处理, 经 0.22 μm 微孔滤膜滤过, 以衍生化制备后不同浓度的甘露糖、葡萄糖等混合多糖标准品作为对照品溶液, 采用 Zorbax SB-C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), HPLC 分析单糖组成。流动相为 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲溶液 (pH 6.7, A)-乙腈 (B); 梯度洗脱: 0~45 min, 16%~26% B; 45~50 min, 26%~16% B。进样量 10 μL ; 体积流量 1.0 mL/min; 检测波长 250 nm; 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.2.7 相对分子质量分布测定 采用 Agilent 1260 InfinityII 型凝胶渗透色谱仪, 配备 PL aquagel-0H MIXED-H (300 mm×7.5 mm, 8 μm) 凝胶排阻色谱柱及示差折光检测器, 检测样品的相对分子质量分布。

2.3 H22 荷瘤小鼠模型建立、分组与给药

将 H22 细胞用无血清培养基调整细胞密度至 1×10^7 个/mL。取雄性昆明小鼠, 每只 ip 0.1 mL 细胞悬液, 7 d 后无菌收集腹水并纯化, 获得 H22 原代细胞。将 H22 原代细胞培养 24 h 后调整密度为 1×10^7 个/mL, 取雄性 Balb/c 小鼠, 每只于右前肢腋下 sc 0.1 mL 细胞悬液。

根据预实验确定的最低有效剂量 (200 mg/kg) 及前人研究验证的最大安全且有效剂量 (900

mg/kg) [15-17], 将小鼠随机分为对照组 (未接种 H22 细胞)、模型组、索拉非尼 (30 mg/kg) 组和 CPP 低、中、高剂量 (200、400、800 mg/kg) 组, 每组 10 只。造模 24 h 后, 各给药组 ig 相应药物, 对照组和模型组 ig 等体积的生理盐水 (10 mL/kg), 1 次/d, 连续给药 16 d。每 3 天测量 1 次小鼠体质量, 造模第 4 天时造模小鼠右腋下均可触到大小为 0.3 cm×0.5 cm 左右的肿瘤, 提示造模成功, 成瘤后每 3 天通过测量肿瘤的长短径, 监测其生长状态。

2.4 取材

末次给药 0.5 h 后, 小鼠 ip 20% 乌拉坦 (0.1 mL/只), 麻醉后摘眼球取血, 经 3 500 r/min 离心 15 min, 分离上清液并转移至 -80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱冻存备用。剥离小鼠腋下肿瘤组织, 计算肿瘤抑制率和肿瘤体积, 以评估药物的体内抗肿瘤效果。

肿瘤抑制率 = (模型组瘤质量 - 给药组瘤质量) / 模型组瘤质量

肿瘤体积 = $1/2 \times \text{长直径} \times \text{短直径}^2$

2.5 肿瘤组织病理形态学观察

采用 4% 多聚甲醛固定小鼠肿瘤组织, 经石蜡包埋、切片后进行苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色, 光学显微镜下对各组小鼠的肿瘤进行病理学观察。

2.6 转录组学分析

收集模型组和 CPP 中剂量组小鼠的肿瘤组织进行转录组测序。采用 QIAzol Lysis Reagent 试剂提取小鼠肿瘤组织总 RNA, 并通过 Nanodrop 2000 分光光度计测定 RNA 浓度及纯度, 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 完整性, Agilent 5300 生物分析仪系统分析 RNA 质量指数。采用 Illumina NovaSeq Reagent Kit 方法构建文库, 采用 Qubit 4.0 荧光定量仪进行文库浓度测定, 随后通过 cBot 桥式 PCR 系统进行模板富集与 DNA 簇生成, 最终经 Illumina NovaSeq 6000 测序平台完成高通量测序。利用 fastp 对原始测序数据进行质量控制, 再用 HiSat2 与参比基因组进行比对, 并对结果进行质量评估。使用 RSEM 软件对该基因与转录本的表达量进行定量分析, 得到各样本表达量。通过 DESeq2 软件筛选差异表达基因, 筛选标准为 $|\log_2 \text{差异倍数 (fold change, FC)}| > 1$ 且 $q < 0.01$, 并对所得差异表达基因集进行基因本体 (gene ontology, GO) 及京都基因与基因组百科全书 (Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路富集分析。

2.7 Western blotting 检测蛋白表达

取模型组和 CPP 中剂量组小鼠肿瘤组织 0.1 g, 加入蛋白裂解液提取蛋白, BCA 法测定蛋白浓度。蛋白样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转至 PVDF 膜, 加入 5% 脱脂牛奶于室温封闭 1 h; 加入一抗, 4 ℃ 孵育过夜, TBST 洗涤 5 次, 每次 5 min; 加入二抗, 室温孵育 1 h, TBST 洗涤 5 次, 每次 5 min; 加入 ECL 化学发光试剂显色, 采用 ImageQuant LAS 4000 成像, Gelpro32 软件以 β -actin 为内参分析灰度值。

2.8 qRT-PCR 检测 mRNA 表达

取模型组和 CPP 中剂量组小鼠肿瘤组织, 加入 TRNzol 试剂提取总 RNA, 测定 A 值和浓度, 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测完整性, 反转录合成 cDNA, 作为 PCR 反应模板进行 PCR 扩增。引物序列见表 1。

表 1 引物序列
Table 1 Primer sequences

基因	序列 (5'-3')	片段/bp
NLRP3	F: GCTAAGAAGGACCAGCCAGAGT	127
	R: TACAAATGGAGATGCGGGAGA	
ASC	F: TGAGCAGCTGCAAACGACTA	200
	R: CACGAACTGCCTGGTACTGT	
Caspase-1	F: CAGGCAAGCCAAATCTTTATCAC	161
	R: TTGTTCTGTTCTTCCTTGTCTTCTG	
β -actin	F: AGGTCATCACTATTGGCAACGAG	151
	R: TTGGCATAGAGGTCTTTACGGAT	

2.9 ELISA 法测定小鼠肿瘤组织中 IL-1 β 和 IL-18 水平

按照 ELISA 试剂盒说明书测定小鼠肿瘤组织中 IL-1 β 和 IL-18 水平。

2.10 统计学分析

采用 GraphPad Prism 7.0 软件绘图。采用 SPSS 21.0 软件进行统计学分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。对符合正态性的数据, 若方差齐则两两比较采用 t 检验,

两组以上比较采用单因素方差分析 (ANOVA), 若方差不齐则两两比较采用 t 检验, 两组以上比较采用 Welch's ANOVA 分析; 对不符合正态性的数据两两比较采用非参数检验的 Whitney 检验, 两组以上比较采用非参数检验的 Kruskal-Wallis 分析。

3 结果

3.1 CPP 的结构表征

苯酚-硫酸法测定多糖含量的葡萄糖标准曲线线性方程为 $y=7.81x-0.0007$ ($R^2=0.9996$), 线性范围为 0.02~0.10 mg/mL, A 值与葡萄糖质量浓度呈现良好的线性关系, 计算得 CPP 中总糖质量分数为 95.19%。考马斯亮蓝法测定蛋白含量标准曲线线性方程为 $y=5.3564x+0.0085$ ($R^2=0.9996$), A 值与蛋白含量呈现良好的线性关系, 计算得 CPP 中蛋白的质量分数为 0.33%。CPP 紫外扫描图谱如图 1-A 所示, 260 nm 处出现 1 个吸收峰, 表明样品中含有少量的核酸成分; 280 nm 处未出现明显吸收峰, 表明 CPP 样品中几乎不含蛋白质, 与含量测定结果一致。通过红外光谱分析样品的官能团信息见图 1-B, 在 1200~1000 cm^{-1} 存在 3 个吸收峰 (1154、1062、1027 cm^{-1}) 可能为 C-O-C 和 C-O-H 的伸缩振动吸收峰, 与多糖类物质中吡喃环结构的特征振动相符合; 876 cm^{-1} 处可能为 α -构型的糖苷键的吸收峰, 表明 CPP 中存在 α 型糖苷键。综合红外光谱表征结果可知, CPP 样品呈现出典型的多糖化合物特征性吸收峰, 其糖环结构为吡喃型, 主要通过 α 型糖苷键连接形成聚糖链。

CPP 样品扫描电子显微镜图谱如图 2 所示, 不同倍镜下观察 CPP 可见其呈不规则卷曲状, 表面光滑, 有少量孔径, 分子交联程度较高, 结构紧密, 可能是热水提取条件下细胞壁快速降解和破裂加速多糖释放。

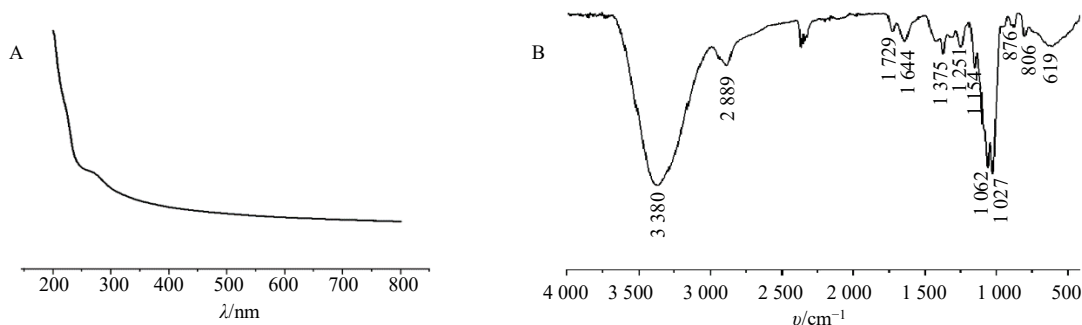


图 1 CPP 紫外扫描图谱 (A) 及红外吸收光谱 (B)

Fig. 1 CPP UV-scanned spectrum (A) and infrared absorption spectrum (B)

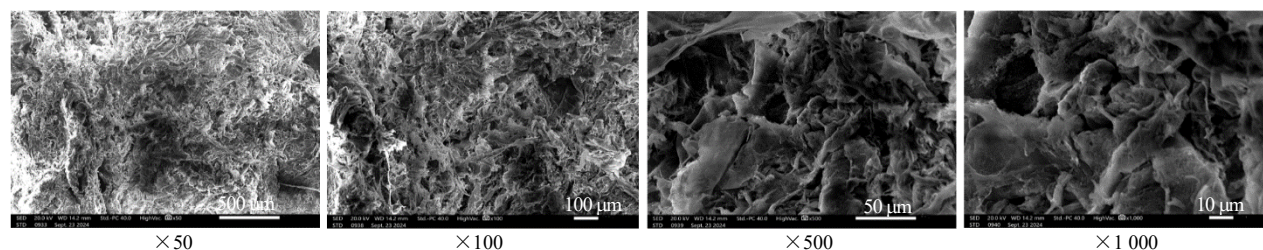
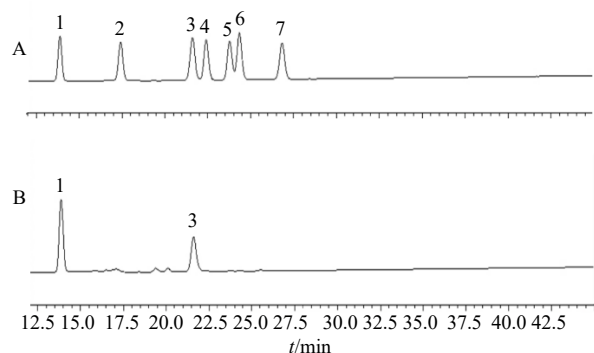


图2 CPP扫描电子显微镜图

Fig. 2 CPP scanning electron microscope image

PMP柱前衍生化-HPLC法对CPP的单糖组成进行分析,混合单糖标准品的PMP衍生物高效液相色谱图如图3-A所示,CPP样品的PMP衍生物高效液相色谱图如图3-B所示,比对得出CPP的单糖组成主要为甘露糖、葡萄糖,保留时间分别为13.875、21.610 min,可知CPP主要是以甘露糖、葡萄糖2种单糖组成的杂多糖,标准曲线法计算得CPP样品中甘露糖、葡萄糖的物质的量比为2.388:1。

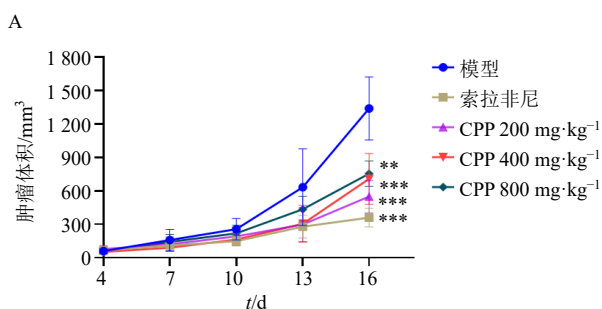


A-混合单糖标准品; B-CPP水解液; 1-甘露糖, 2-鼠李糖, 3-葡萄糖, 4-半乳糖, 5-阿拉伯糖, 6-木糖, 7-岩藻糖。

A-mixture monosaccharide standard; B-CPP hydrolysate; 1-mannose, 2-rhamnose, 3-glucose, 4-galactose, 5-arabinose, 6-xylose, 7-fucose.

图3 CPP单糖组成色谱图

Fig. 3 CPP monosaccharide composition chromatogram



与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$, 图9、10同。

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs model group, same as Figs. 9, 10.

图5 CPP对H22荷瘤小鼠肿瘤体积(A)和肿瘤质量(B)的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)Fig. 5 Effect of CPP on tumor volume (A) and tumor weight (B) in H22 tumor-bearing mice ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

凝胶渗透色谱法测定CPP相对分子质量,结果如图4所示,CPP相对分子质量色谱图为单一对称峰,表明CPP是一种相对分子质量较为均一的多糖。保留时间为7.55 min,通过计算得出CPP的重均相对分子质量为 1.27×10^5 ,数均相对分子质量为 6.01×10^4 ,多分散性指数(重均相对分子质量/数均相对分子质量)为2.12。

3.2 CPP对H22荷瘤小鼠肿瘤生长的影响

如图5所示,与模型组比较,各给药组小鼠肿瘤体积和肿瘤质量均显著降低($P < 0.05$ 、0.01、0.001)。各组肿瘤组织HE染色结果(图6)显示,

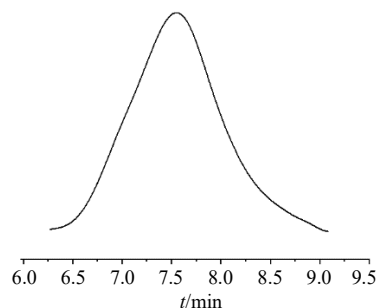
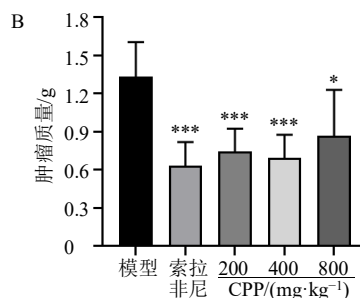
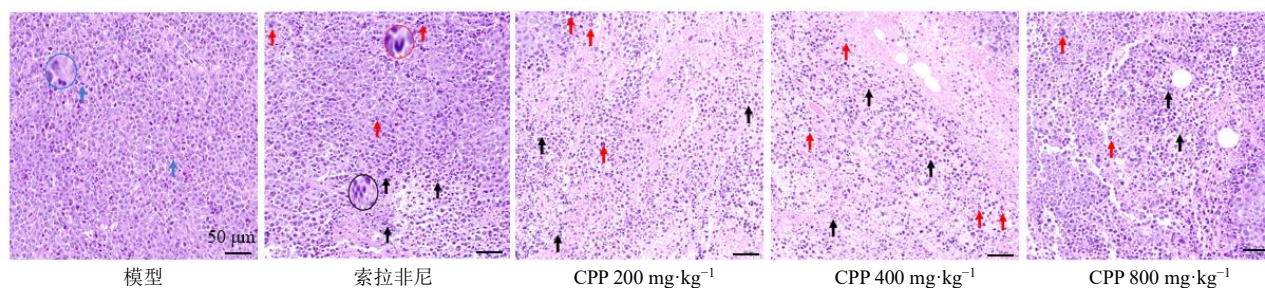


图4 CPP的相对分子质量分布色谱图

Fig. 4 Relative molecular weight distribution chromatogram of CPP





蓝色箭头表示核分裂，黑色箭头表示坏死细胞，红色箭头表示炎症细胞浸润，圆圈表示局部放大。

Blue arrow indicates nuclear mitosis, black arrow indicates necrotic cells, and red arrow indicates inflammatory cell infiltration, circle represents local enlargement.

图 6 CPP 对 H22 荷瘤小鼠肿瘤组织病理形态的影响 (HE, ×200)

Fig. 6 Effect of CPP on pathological morphology of tumor tissue in H22 tumor-bearing mice (HE, ×200)

CPP 对 H22 荷瘤小鼠有抑制细胞分裂，诱导肿瘤组织炎症和坏死的作用，且不呈剂量相关性，CPP 中剂量（400 mg/kg）组作用更为明显。

3.3 各组小鼠肿瘤组织差异表达基因分析

采用 DESeq2 软件分析组间差异基因，获得 2 组间差异表达的基因。如图 7 所示，与模型组比较，中剂量的 CPP 干预后共得到差异表达基因 569 个，其中 205 个基因表达上调，364 个基因表达下调。

3.4 各组小鼠肿瘤组织差异表达基因的富集分析

如图 8-A 所示，与模型组比较，CPP 中剂量组差异表达基因主要涉及病毒-黄病毒、NOD 样受体信号通路、过氧化物酶体增殖物激活受体（peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR）信号通路、胰高血糖素信号通路、胰岛素信号通路、脂肪细胞因子等相关信号通路。对上述差异基因富集通路进行综合分析后，优先锁定显著性更高、包含基因数量较多的 NOD 样受体信号通路开展后续验证。在基因差异表达分析中，发现经 CPP 处理

后肿瘤组织中 *PRR* 基因、*SLC* 家族基因均显著变化，二者均为 NLRP3 信号通路的上游靶标。GO 通路富集分析结果提高了 KEGG 分析结果的可能性。如图 8-B 所示，生物过程（biological process, BP）主要涉及生物过程调控、细胞过程调节、生物调节、代谢过程调节、DNA 模板转录的调控、RNA 生物合成过程的调控、大分子代谢过程的调控等，在 BP 层面，转录调控类条目的富集提示 CPP 可能通过抑制 NLRP3、Caspase-1 等 NLRP3 通路关键基因的转录抑制炎症信号的传递。细胞组分（cellular component, CC）主要涉及细胞外空间、含共生体的液泡膜等，CC 的富集结果中细胞外空间条目富集，提示 CPP 可能通过调控细胞外炎症微环境（如减少 IL-1β、IL-18 释放）抑制 HCC 细胞的增殖与转移。分子功能（molecular function, MF）主要涉及离子结合、金属离子结合、三磷酸鸟苷（guanosine triphosphate, GTP）酶活性、GTP 结合等，MF 的富集结果显示，给药前后肿瘤组织的差异基因主要富

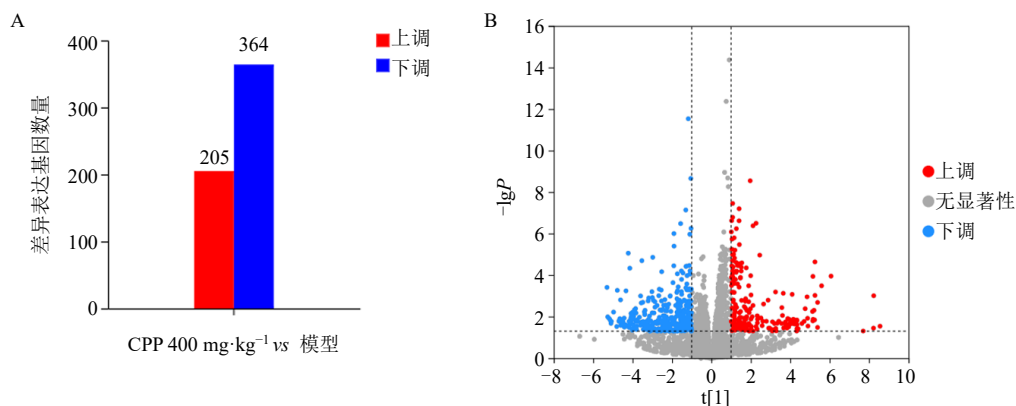


图 7 CPP 中剂量组与模型组肿瘤组织样品基因表达量差异柱形图 (A) 及火山图 (B)

Fig. 7 Bar chart (A) and volcano plot (B) of gene expression differences in tumor tissue samples between CPP medium-dose group and model group

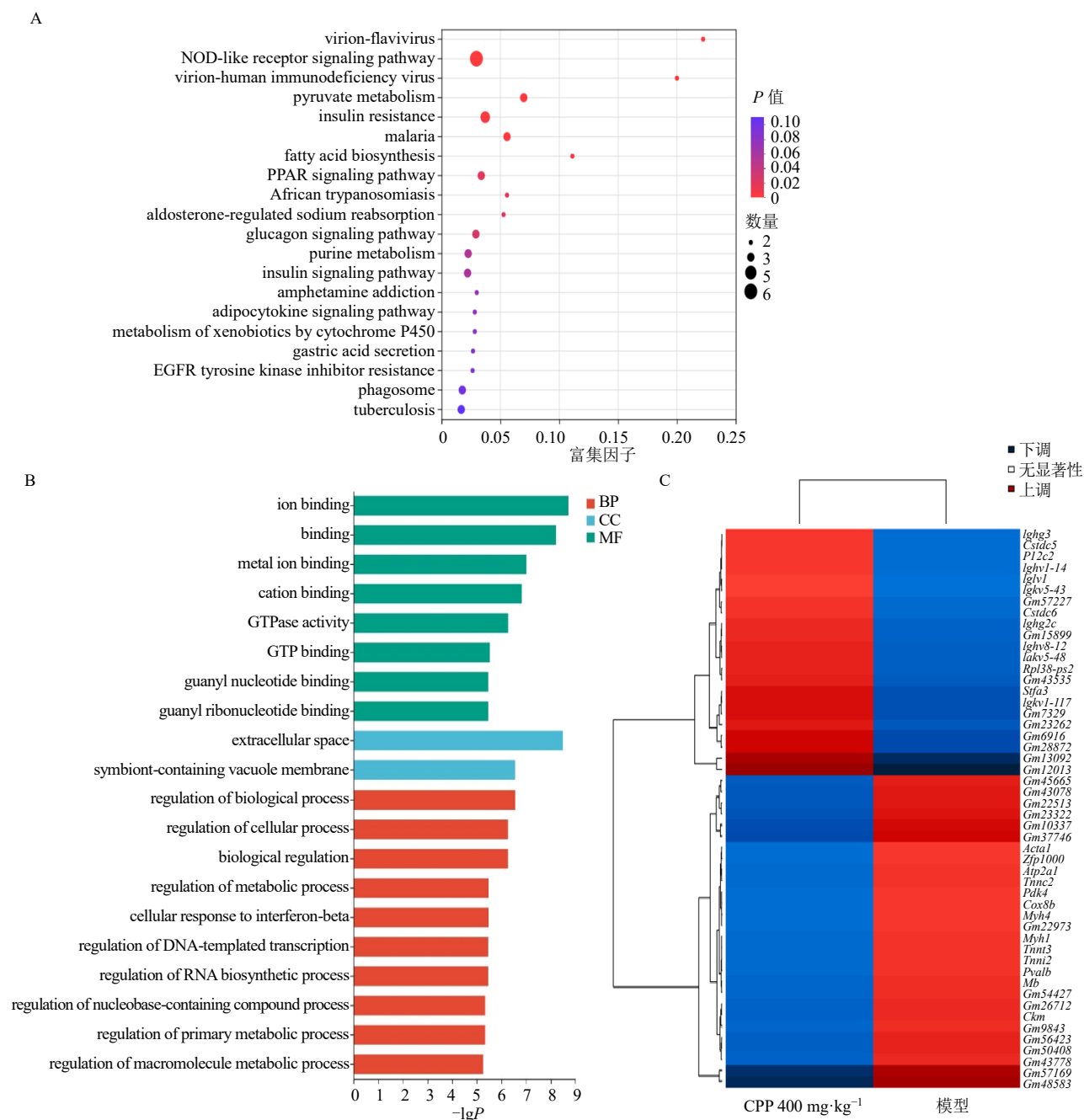


图 8 CPP 中剂量组与模型组肿瘤组织样品差异基因 KEGG 富集气泡图 (A)、GO 富集柱形图 (B) 及热图 (C)

Fig. 8 KEGG enrichment bubble plot (A), GO enrichment bar chart (B) and heatmap (C) of differentially expressed genes in tumor tissue samples between CPP medium-dose group and model group

集于离子结合、金属离子结合、GTP 酶活性、GTP 结合等条目,提示 CPP 可能通过影响离子浓度和 GTP 酶活性,从上游抑制 NLRP3 炎症小体的激活。

如图 8-C 所示, CPP 中剂量组与模型组肿瘤组织前 50 差异表达基因呈现明显聚类特征,2 组基因表达模式差异显著,提示 CPP 干预可显著重塑肿瘤组织基因表达谱。差异基因中 CPP 组上调、模型组下调的基因包含免疫球蛋白重链恒定区 $\gamma 3$

(immunoglobulin heavy constant gamma 3, Ighg3)、冷休克结构域蛋白 C2(cold shock domain-containing protein C2, Csd2)、过氧化物还原酶 2(peroxiredoxin 2, Prdx2)、免疫球蛋白重链可变区 1-14 (immunoglobulin heavy variable 1-14, Ighv1-14) 等免疫球蛋白超家族基因,主要富集于 B 细胞受体信号通路、体液免疫应答及抗氧化应激通路,提示 CPP 可能通过增强机体抗肿瘤免疫应答、清除活性氧来

发挥抑癌作用；CPP 组下调、模型组上调的基因包括 α -骨骼肌肌动蛋白 1 (actin alpha 1 skeletal muscle, Acta1)、肌质/内质网钙 ATP 酶 1 (ATPase sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca^{2+} transporting 1, Atp2a1)、快缩骨骼肌肌钙蛋白 C2 (troponin C2 fast skeletal type, Tnnc2)、肌球蛋白轻链 4 (myosin light chain 4, Myl4) 等肌肉收缩与细胞骨架相关基因，主要富集于肌收缩通路、细胞运动及肿瘤侵袭转移通路，提示 CPP 可能通过抑制肿瘤细胞的运动与侵袭能力，从而阻碍肿瘤进展。NLRP3 炎症小体是一种蛋白复合体，由 NLRP3、ASC 及 Caspase-1 前体组成^[18]，因此将基于 NLRP3、ASC 及 Caspase-

1 表达的变化验证 CPP 通过 NLRP3 信号通路改善 HCC 的可能性。

3.5 CPP 对 H22 荷瘤小鼠肿瘤组织中 NLRP3 信号通路相关蛋白及 mRNA 表达的影响

Western blotting 结果如图 9-A、B 所示，与模型组比较，CPP 中剂量组小鼠肿瘤组织中 NLRP3、ASC、Caspase-1 和 GSDMD 蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.01$)。qRT-PCR 结果如图 9-C 所示，与模型组比较，CPP 中剂量组小鼠肿瘤组织中 NLRP3、ASC 和 Caspase-1 mRNA 表达水平显著降低 ($P < 0.05$ 、0.01、0.001)。表明 CPP 可能通过调控 NLRP3 信号通路发挥抗 HCC 作用。

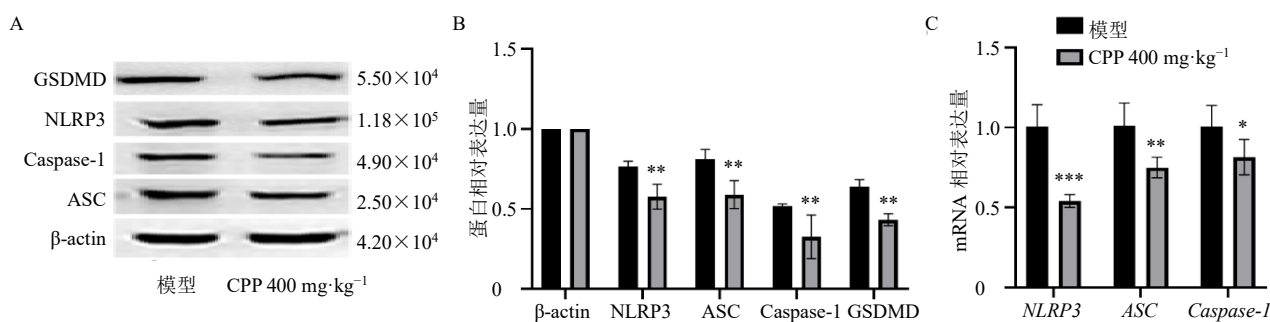


图 9 CPP 对 H22 荷瘤小鼠肿瘤组织中 NLRP3 信号通路相关蛋白 (A、B) 及 mRNA (C) 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 9$)

Fig. 9 Effect of CPP on expressions of NLRP3 signaling pathway-related protein (A, B) and mRNA (C) in tumor tissue of H22 tumor-bearing mice ($\bar{x} \pm s, n = 9$)

3.6 CPP 对 H22 荷瘤小鼠肿瘤组织中炎症因子水平的影响

如图 10 所示，与模型组比较，CPP 中剂量组小鼠肿瘤组织中 IL-1 β 和 IL-18 水平显著降低 ($P < 0.001$)。提示 CPP 可能通过抑制焦亡相关炎症反应，减少促肿瘤炎症因子的释放，从而缓解肿瘤微环境的免疫抑制，最终发挥抗 HCC 作用。

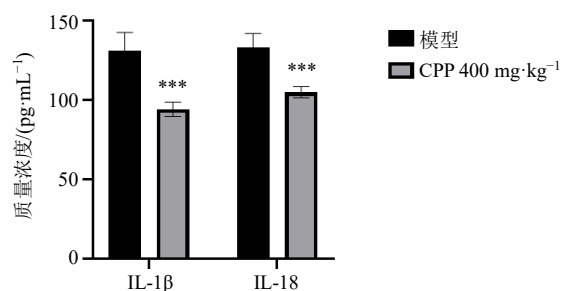


图 10 CPP 对 H22 荷瘤小鼠肿瘤组织中炎症因子水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 9$)

Fig. 10 Effect of CPP on levels of inflammatory factors in tumor tissue of H22 tumor-bearing mice ($\bar{x} \pm s, n = 9$)

4 讨论

肝癌在中医理论体系中被归属为“肝积”“肝胀”等范畴^[19]，其主要病因包括七情内伤、饮食失节、正气不足，对应病机如肝郁气滞、湿热内生、脾虚气虚^[20]。现代人多饮食失节，偏食肥甘厚味，久则湿热内生而内结为瘤^[21]，山慈菇归肝、脾经，味甘、微辛，性凉，具有清热解毒、化痰散结的功效，契合肝癌的病机，且有研究表明 CPP 具有抗肝癌的作用^[13,22]。但对 CPP 的微观结构、糖苷键类型等核心结构信息、最优剂量及其抗肝癌机制尚不明确，因此本研究将对 CPP 进行结构表征并探究其抗肝癌的最优剂量及其作用机制。

CPP 作为生物大分子，结构复杂，探究其化学结构可为预测其生物活性和作用机制提供科学依据。有研究提示，多糖的生物活性与其糖苷键类型密切相关。含有 α -糖苷键的多糖，因其特定的空间构象，往往能更有效地与受体结合，从而表现出更强的生物活性^[23]，如南方红豆杉中的多糖 CPTC-2 和桑黄菌丝体中的多糖 PIP-1 均有较好的抗肿瘤活

性^[24]。CPP 在不同倍镜下呈不规则卷曲状,有密集的形态,表面较为光滑,有少量孔径,分子交联程度较高,结构较为紧密,这些特征使得其空间位阻较小且内部旋转自由度较高,因此其接近免疫细胞时的空间阻碍较小,更易激活其免疫活性^[25]。研究表明,葡甘露聚糖是具有免疫活性的多糖之一^[26],相对分子质量为 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ 的多糖抗肿瘤效果较好^[27]。本研究对 CPP 进行含量测定和结构表征,结果显示, CPP 为一种高纯度的杂多糖,总糖质量分数达 95.19%,主要由甘露糖和葡萄糖组成,通过 α -吡喃型糖苷键连接,重均相对分子质量为 1.27×10^5 ,数均相对分子质量为 6.01×10^4 ,表明其属于中等偏大相对分子质量的多糖,结构交联紧密也与此相对分子质量特征一致。

为了明确 CPP 抗肿瘤最佳剂量从而在此基础上探究其作用机制,本研究建立 H22 荷瘤小鼠模型,发现 CPP 能有效抑制肿瘤生长,具体表现为显著降低肿瘤体积和质量,并抑制细胞分裂、促进肿瘤坏死及炎症反应,且作用不呈剂量相关性,在 400 mg/kg 给药剂量下抗肿瘤效果最好。该现象的原因可能与 NLRP3 炎症小体对肿瘤细胞作用的双重性有关:适度抑制 NLRP3 的过表达可改善肿瘤炎症微环境,减少组织损伤;过度抑制则可能影响细胞焦亡的防御机制,影响抑瘤效果。另外,多糖类物质普遍存在双向免疫调节特性,且高剂量 CPP 的黏度较高,可能影响小鼠吸收、体内扩散与分布,导致药效降低。

细胞焦亡是一种新近发现的程序性细胞死亡方式,其特征为细胞膜穿孔、细胞肿胀破裂并释放大促炎因子,如 IL-1 β 和 IL-18^[28]。NLRP3 是 NOD 样受体家族的重要成员^[29]。由 NLRP3、ASC 和 Caspase-1 前体组成的 NLRP3 炎症小体是介导经典细胞焦亡通路的核心复合物,其被激活后剪切活化 Caspase-1。Caspase-1 切割 GSDMD 蛋白,使其在细胞膜上形成孔道,诱导细胞膜穿孔及细胞焦亡^[30]。Caspase-1 同时参与 IL-1 β 和 IL-18 的加工、分泌,诱导细胞炎症或凋亡^[31]。NLRP3 炎症小体与 HCC 的进展密切相关,其参与肝脏炎症和纤维化的发展^[32],且其过度激活产生的促炎因子 IL-1 β 、IL-18 形成利于肿瘤细胞发生和发展的微环境,促进 HCC 细胞的增殖和转移^[33],且有研究表明,NLRP3 炎症小体的下调与肿瘤的分期和分化呈负相关^[34]。因此,本研究采用转录组学分析模型组和 CPP 中剂

量组小鼠的差异表达基因,结果发现,可能参与 CPP 抗 HCC 作用调控的差异表达基因共 569 个。KEGG 通路富集分析发现,NOD 样受体信号通路是 CPP 干预 HCC 的核心靶标,提示 CPP 可能通过调控其核心成员 NLRP3 炎症小体相关通路发挥抗 HCC 作用。此外,还涉及代谢相关通路(如 PPAR、胰岛素信号通路),提示 CPP 可能通过调节肿瘤代谢微环境协同抑制 HCC 进展。离子浓度是激活 NLRP3 炎症小体的上游信号^[35],GTP 酶活性也与 NLRP3 炎症小体的激活密切相关^[36]。GO 通路富集分析结果提示 CPP 可能通过影响离子浓度和 GTP 酶活性,从上游抑制 NLRP3 炎症小体的激活、通过调控细胞外炎症微环境(如减少 IL-1 β 、IL-18 释放)抑制 HCC 细胞的增殖与转移、通过抑制 NLRP3、Caspase-1 等 NLRP3 通路关键基因的转录抑制炎症信号的传递。转录组学热图显示 CPP 中剂量组与模型组肿瘤组织 Top 50 差异表达基因聚类清晰,2 组基因表达模式差异明显,这些差异表达基因主要涉及离子通道与转运、GTP 酶及核苷酸结合、免疫调控等相关类别,与 GO 富集分析中离子结合、GTP 结合、GTP 酶活性等分子功能条目结果一致,提示 CPP 干预可能影响肿瘤免疫微环境。Western blotting、qRT-PCR 及 ELISA 实验结果一致显示, CPP 可显著下调 NLRP3、ASC、Caspase-1 蛋白及 mRNA 表达水平,抑制 GSDMD 蛋白的活化,并减少肿瘤组织中 IL-1 β 与 IL-18 等促炎因子的释放。上述结果表明, CPP 可能通过抑制 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 信号轴,阻断细胞焦亡的过度激活,从而减轻肿瘤微环境中的慢性炎症反应,最终发挥抗 HCC 作用。

本研究明确了 CPP 以 α -吡喃型糖苷键连接的甘露聚糖结构特征,完善了其结构信息的空白,为山慈菇和 CPP 的开发应用提供了参考,首次从细胞焦亡角度揭示其抑制 NLRP3 炎症小体的异常活化,在增强对肿瘤细胞的清除能力的同时避免了过度炎症造成的组织损伤,体现了中医药“扶正祛邪”的整体调控优势。NLRP3 炎症小体既可以通过促进炎症反应而促进 HCC 发展,又能通过活化 Caspase-1 从而调控细胞焦亡而抑制 HCC 进展,有研究提示 NLRP3 炎症小体在 HCC 进展中的作用与肿瘤分期、细胞环境和促炎与抗炎细胞因子之间的平衡有关^[37],其具体机制尚不清晰,未来可通过不同时期的实体肿瘤探究 CPP 药效。本研究仅通过通

路蛋白表达和炎症因子水平变化间接推断 CPP 的焦亡抑制作用, 后续研究将补充流式细胞术或透射电镜以检测焦亡典型形态学特征与细胞焦亡比例, 为焦亡抑制提供更直接的证据, 完善机制验证实验。此外, 在后续的系统研究中, 将增加 NLRP3 基因敲除或特异性抑制剂对照组以明确 CPP 抑制 NLRP3 炎症小体激活的作用特异性。同时本研究未涉及 Caspase-1 参与 IL-1 β 和 IL-18 加工、分泌并诱导细胞炎症或凋亡的具体机制, 后期可靶向此路径分析 NLRP3 炎症小体影响 HCC 的双重作用, 并探索 CPP 与其他化疗药物的协同作用潜力, 推动其向临床转化应用迈进。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 林杭娟, 余亚楠, 李明辉, 等. 中医药防治肝细胞癌研究进展 [J]. 光明中医, 2025, 40(6): 1232-1235.
- [2] 张弛, 杨良俊, 李菁, 等. 基于网络药理学的白芍-柴胡药对治疗肝细胞癌作用机制探析 [J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(2): 175-179.
- [3] 韩军军, 於伟明, 赵文妍, 等. 泛素特异性蛋白酶 36 调控 Caspase-8 抑制肝癌细胞凋亡 [J]. 中国细胞生物学学报, 2025, 47(8): 1877-1888.
- [4] Baglieri J, Brenner D A, Kisseleva T. The role of fibrosis and liver-associated fibroblasts in the pathogenesis of hepatocellular carcinoma [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(7): 1723.
- [5] 黄晓龙. TGF β R1 在肝癌进展及索拉非尼治疗响应中的作用研究 [D]. 淮南: 安徽理工大学, 2025.
- [6] Rao Z P, Zhu Y T, Yang P, *et al.* Pyroptosis in inflammatory diseases and cancer [J]. *Theranostics*, 2022, 12(9): 4310-4329.
- [7] Lu C, Rong D W, Zhang B, *et al.* Current perspectives on the immunosuppressive tumor microenvironment in hepatocellular carcinoma: Challenges and opportunities [J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 130.
- [8] 丁洪基, 赵长江, 孙鹏飞, 等. 细胞焦亡与癌症的关系研究进展 [J]. 诊断病理学杂志, 2024, 31(9): 904-907.
- [9] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 23
- [10] 张海涛, 马超. 黄柏碱通过调控炎症小体影响肝癌细胞的增殖和凋亡 [J]. 中国肝脏病杂志: 电子版, 2025, 17(2): 1-8.
- [11] 季漪, 吴勉华. 山慈菇化学成分及其抗肿瘤作用机制研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(3): 596-598.
- [12] 芦艺凡, 王宇, 姜婷月, 等. 山慈菇水提物抗肝癌有效部位筛选及其对肝癌小鼠肿瘤血管生成的影响 [J]. 中草药, 2025, 56(5): 1607-1616.
- [13] 房宇坤. 山慈菇多糖的提取及其对荷瘤小鼠 (H22) 体内和体外的作用机制的初步研究 [D]. 大连: 大连医科大学, 2018.
- [14] 姜爽, 徐婧瑶, 苏鑫, 等. 山慈菇多糖的免疫调节作用及对小鼠骨肉瘤细胞 S180 体内生长抑制作用 [J]. 食品科学, 2018, 39(13): 216-221.
- [15] 修朋程, 李腾, 李雅林, 等. 泰山山慈菇对小鼠肝癌的治疗作用及相关免疫机制研究 [J]. 医学信息, 2018, 31(9): 8-11.
- [16] 徐小娟, 蔡懿鑫, 毛宇, 等. 山慈菇多糖对荷 H22 肝癌小鼠的抗肿瘤机制研究 [J]. 食品研究与开发, 2015, 36(7): 23-25.
- [17] 徐小娟. 山慈菇多糖、牛膝多糖对 H22 小鼠肝癌抑制作用及其抗肿瘤机制研究 [D]. 长沙: 湖南农业大学, 2015.
- [18] 曹丽丽, 额尔德木图, 莲花, 等. NLRP3 炎症小体在肝脏疾病中的研究进展 [J]. 生命科学, 2025, 37(3): 304-312.
- [19] 张格松, 蒋士卿. 基于 MAPK 信号通路探讨中医药治疗肝癌的研究进展 [J]. 环球中医药, 2024, 17(4): 728-733.
- [20] 李鹏飞, 汪华阳. 中药药对治疗常见肿瘤经验总结 [J]. 光明中医, 2025, 40(19): 4281-4284.
- [21] 尹畅. 中华猕猴桃根抗肝癌的生物学功能和代谢学研究 [D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2025.
- [22] 司函瑞. 山慈菇的化学成分及抗肝癌作用的研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2022.
- [23] 孙念梓, 孙象军. 橙皮苷靶向 β -catenin 抑制肝癌细胞干性并增强索拉非尼敏感性 [J]. 中草药, 2025, 56(9): 3187-3196.
- [24] Yuan Q X, Zhao L Y, Li Z H, *et al.* Physicochemical analysis, structural elucidation and bioactivities of a high-molecular-weight polysaccharide from *Phellinus igniarius* mycelia [J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 120: 1855-1864.
- [25] 任萍. 雷公菌多糖的结构解析及对 RAW264.7 巨噬细胞的免疫作用研究 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2024.
- [26] Chen Z G, Zhang D N, Zhu Q, *et al.* Purification, preliminary characterization and *in vitro* immunomodulatory activity of tiger lily polysaccharide [J]. *Carbohydr Polym*, 2014, 106: 217-222.
- [27] 李珺铭, 刘富饶, 李波, 等. 基于分子量探究人参多糖免疫活性构效关系 [J]. 中成药, 2021, 43(11): 3088-3092.
- [28] 易俊芳, 刘鹏, 胡宏迪, 等. 基于细胞焦亡的关节炎发病机制研究进展 [J]. 中国现代应用药学, 2025, 42(19): 3463-3472.
- [29] 赵冠宇, 辛蕊华, 仇正英, 等. 基于 NLRP3/Caspase-1/GSDMD 信号通路研究乌梅丸对溃疡性结肠炎小鼠结

- 肠上皮细胞焦亡的作用机制 [J]. 中草药, 2023, 54(24): 8086-8093.
- [30] Zhen Y, Zhang H. NLRP3 inflammasome and inflammatory bowel disease [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 276.
- [31] Akahoshi T. Pathological mechanisms of gouty arthritis [J]. *Nihon Rinsho*, 2008, 66(4): 705-710.
- [32] 曹丽丽. 红花清肝十三味丸通过 RASD1 抑制 NLRP3 激活减轻肝损伤的机制研究 [D]. 呼和浩特: 内蒙古医科大学, 2025.
- [33] 靳媛媛, 丁一, 张亚亭, 等. 中药活性成分干预 NLRP3 炎症小体防治自身免疫性肝炎的研究进展 [J]. 中西医结合肝病杂志, 2025, 35(5): 645-650.
- [34] Lu L Q, Zhang Y, Tan X M, *et al.* Emerging mechanisms of pyroptosis and its therapeutic strategy in cancer [J]. *Cell Death Discov*, 2022, 8: 338.
- [35] 杨金伟, 周毅, 肖凡, 等. 基于 miR-223/NLRP3 信号通路研究左归降糖舒心方调控糖尿病动脉粥样硬化小鼠炎症反应的作用机制 [J]. 中国中医药信息杂志, 2026, 33(6): 67-74.
- [36] 周永婷, 叶菜英, 朱蕾. NLRP3 炎症小体激活调控机制及抑制剂研究新进展 [J]. 基础医学与临床, 2020, 40(8): 1113-1118.
- [37] Wang B, Li H, Wang X C, *et al.* The association of aberrant expression of NLRP3 and p-S6K1 in colorectal cancer [J]. *Pathol Res Pract*, 2020, 216(1): 152737.

[责任编辑 李亚楠]