



分类号: R285.5

学号: 2016110257

重 庆 医 科 大 学

# 硕 士 学 位 论 文

(学术学位)

论 文 题 目

枸杞多糖对辐射所致小鼠骨髓单核细胞凋亡  
的作用机制研究

作 者 姓 名

黄 欢

指导教师姓名 (职称、单位名称)

庞 华 教授

重庆医科大学附属第一医院

一级学科名称

临床医学

二级学科名称

影像医学与核医学

论文答辩年月

2019 年 5 月

# 重庆医科大学

## 研究生学位论文独创性声明

本人申明所提交的论文是我本人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除了文中特别加以标注和致谢的地方外，论文中不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果，也不包含为获得重庆医科大学或其他教育机构的学位或证书而使用过的材料，与我同工作的同志对本研究所做的任何贡献均已在论文中作了明确的说明并表示谢意。

申请学位论文与资料若有不实之处，本人承担一切相关责任。

学位论文作者签名：黄欢 日期：2019.3.5

## 学位论文版权使用授权书

本人完全了解重庆医科大学有关保护知识产权的规定，即：研究生在攻读学位期间论文工作的知识产权单位属重庆医科大学。本人保证毕业离校后，发表论文或使用论文工作成果时署名单位为重庆医科大学。学校有权保留并向国家有关部门或机构送交论文的复印件和磁盘，允许论文被查阅和借阅。学校可以公布学位论文的全部或部分内容（保密内容除外），并编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或其他手段保存论文。保密论文在解密后适用本授权书。

论文作者签名：黄欢  
指导教师签名：阮平  
日期：2019.3.5

# 目 录

英汉缩略语名词对照.....	1
中文摘要.....	3
英文摘要.....	5
论文正文：枸杞多糖对辐射所致小鼠骨髓单核细胞凋亡的作用机制研究.....	7
前 言.....	7
1 材料和方法.....	8
2 结果.....	11
3 讨论.....	17
全文总结.....	19
参考文献.....	20
文献综述：枸杞多糖调节细胞凋亡的研究进展.....	24
致 谢.....	36
攻读学位期间发表的学术论文.....	37

## 英汉缩略语名词对照

英文缩写	英文全称	中文全称
LBP	Lycium barbarum polysaccharide	枸杞多糖
BMNCs	Bone marrow mononuclear cells	骨髓单核细胞
NK	Natural killer cell	自然杀伤细胞
SPF	Specific Pathogen Free	无特定病原体
KM	Kunming	昆明
FBS	Fetal bovine serum	胎牛血清
g	Gravitational acceleration	重力加速度
min	Minute	分钟
°C	°C	摄氏度
CO <sub>2</sub>	Carbon dioxide	二氧化碳
μg	Microgram	微克
ml	Millilitres	毫升
Gy	Grey	戈瑞
cm	Centimeter	厘米
h	Hour	小时
μl	Microliter	微升
nm	Nanometer	纳米
CCK-8	Cell Counting Kit-8	细胞活性检测试剂盒-8
OD	Optical density	光密度
Annexin V	Annexin V	磷脂结合蛋白
PI	Propidium Iodide	碘化丙啶
FITC	fluorescein isothiocyanate	异硫氰酸荧光素
FCM	Flow cytometry	流式细胞术
JC-1	CBIC2(3)	荧光探针
SDS-PAGE	So-diumdodecyl	十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺

	sulfate-polyacrylamide electrophoresis	gel 胺凝胶电泳
PVDF	Poly vinylidene fluoride	聚偏氟乙烯
Cyt C	Cytochrome C	细胞色素 C
Caspase 9	CysteinyI aspartate specific proteinase 9	含半胱氨酸的天冬氨酸蛋 白水解酶 9
Caspase 3	CysteinyI aspartate specific proteinase 3	含半胱氨酸的天冬氨酸蛋 白水解酶 3
PARP	Poly ADP-ribose polymerase	DNA 修复酶
Cox IV	Cytochrome c oxidase	线粒体内参抗体
$\beta$ -actin	$\beta$ -actin	$\beta$ 肌动蛋白
TBST	Tris-buffered saline and Tween	三羟甲基氨基甲烷缓冲盐 水和吐温
IgG	Immunoglobulin G	免疫球蛋白 G
SPSS	Statistical Product and Service Solutions	统计产品与服务解决方案
P	P value	P 值
UVB	Ultraviolet radiation b	户外紫外线
$^{60}\text{Co}$	cobalt-60	钴-60

# 枸杞多糖对辐射所致小鼠骨髓单核细胞凋亡的作用机制研究

## 摘要

### 目的

枸杞是一种中草药，主要活性成分是枸杞多糖(Lycium barbarum polysaccharide, LBP)，有多种药理作用。本研究的目的是探讨枸杞多糖对辐射所致小鼠骨髓单核细胞(Bone marrow mononuclear cells, BMNCs)凋亡的影响，检测不同剂量枸杞多糖对辐射诱导的细胞凋亡的抑制效果并对其作用机制进行初步探究。

### 方法

体外培养小鼠骨髓单核细胞，将其分为 blank 组（未经辐射和 LBP 处理）、control 组（仅辐射）、200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LBP（辐射+200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LBP）、400  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LBP（辐射+400  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LBP）、800  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LBP（辐射+800  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LBP），LBP 处理 24 小时后，用 cck-8 法检测细胞活力、流式细胞术（Flow cytometry, FCM）检测细胞凋亡率、通过 JC-1 检测线粒体膜电位荧光和 Western 印迹检测线粒体途径中凋亡相关蛋白的表达。

### 结果

结果显示，经过 24 小时的 LBP 处理，与辐射对照组相比，400  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LBP 和 800  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LBP 组可显著提高细胞活力（ $P < 0.01$ ），各 LBP 组可降低辐射诱导的 BMNCs 的早期凋亡率（ $P < 0.05$ ）。线粒体膜电

位荧光表明枸杞多糖减轻辐射诱导的线粒体膜电位的下降 ( $P < 0.01$ )。蛋白质印迹分析显示,枸杞多糖抑制细胞色素 C 从线粒体中释放,以及 Caspase9、Caspase3、PARP 的表达 ( $P < 0.05$ )。

### 结论

枸杞多糖能抑制辐射诱导的小鼠 BMNCs 的凋亡,其机制很有可能是通过抑制线粒体凋亡途径来实现。

**关键词:** 枸杞多糖, 辐射, 凋亡, 线粒体途径, 体外

**MECHANISM OF LYCIUM BARBARUM  
POLYSACCHARIDE ON APOPTOSIS OF MOUSE BONE  
MARROW MONONUCLEAR CELLS INDUCED BY  
RADIATION**

**ABSTRACT**

**Objective:**

Lycium barbarum is a Chinese herbal medicine, the main active ingredient of which, Lycium barbarum polysaccharide (LBP), has a variety of pharmacological effects. The purpose of this study was to investigate the effect of Lycium barbarum polysaccharides on apoptosis of mouse bone marrow mononuclear cells (BMNCs) induced by radiation, and to detect the inhibitory effect of different doses of Lycium barbarum polysaccharides on radiation-induced apoptosis and its possible mechanism.

**Methods:**

Mouse bone marrow mononuclear cells were cultured in vitro and divided into blank group (no radiation and LBP treatment), control group (radiation only), 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LBP (radiation + 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LBP), 400  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LBP (radiation + 400  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LBP), 800  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LBP (radiation + 800  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LBP). After 24 hours of LBP treatment, cell viability was detected by cck-8 method, apoptosis rate was examined by flow cytometry (FCM),



mitochondrial membrane potential fluorescence was detected by JC-1, and the expression of mitochondrial pathway-associated protein was measured by Western blotting.

**Results:**

The results showed that cell viability was significantly increased in the groups of 400  $\mu\text{g/mL}$  LBP and 800  $\mu\text{g/mL}$  LBP ( $P<0.01$ ), and the early apoptosis rate of radiation-induced BMNCs was decreased in the groups of LBP ( $P<0.05$ ) compared with the control group after 24 hours of LBP treatment. In a mitochondrial membrane potential fluorescence assay, LBP reduced the radiation-induced decrease in mitochondrial membrane potential( $P<0.01$ ). This was further demonstrated in a western blot analysis, in which LBP inhibited the mitochondrial release of cytochrome C and the expression of caspase 9, caspase 3, and PARP( $P<0.05$ ).

**Conclusion:**

Thus, LBP can inhibit the apoptosis of radiation-exposed mouse BMNCs, and the mechanism is likely to be achieved by inhibiting mitochondrial apoptosis.

**Keywords:** Lycium barbarum polysaccharide, radiation, apoptosis, mitochondrial pathway, in vitro

# 枸杞多糖对辐射所致小鼠骨髓单核细胞凋亡的作用机制研究

## 前言

电离辐射在我们的环境中自然而永久的存在，并被广泛应用于工业、农业和医学研究等。在放射医学和核医学领域，电离辐射作为诊断和放射治疗恶性肿瘤的工具发挥着重要作用<sup>[1]</sup>。虽然辐射技术为我们的社会提供了许多益处，但由于其高电离电位，仍不可避免的对生物体的健康造成危害。

暴露于电离辐射会对各种细胞器和组分造成损害，特别是 DNA，线粒体和细胞膜：辐射可通过直接作用或间接作用使细胞分子产生大量自由基（如羟基·OH、H·、H<sub>2</sub>和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>）<sup>[2]</sup>，这些会破坏 DNA，导致嘌呤和嘧啶碱基的氧化和损失，单链和双链断裂，糖的破坏，DNA-蛋白交联和端粒功能障碍<sup>[3-4]</sup>；线粒体也容易受到电离辐射的攻击，由于线粒体的损伤，电子传递系统中的电子解偶联会损害线粒体膜电位，触发 ATP 的丢失和细胞色素 C 的释放，这将进一步激活 Caspase 介导的细胞凋亡；质膜暴露于电离辐射可增强鞘磷脂酶的活性和神经酰胺的释放，可能引发肿瘤坏死因子- $\alpha$ 介导的细胞凋亡，此外，产生的神经酰胺也可能引发细胞色素 C 介导的细胞凋亡<sup>[5]</sup>。

总之，辐射损伤不仅可使 DNA 和胞内膜系统发生改变，还可产生过量自由基，诱导多种信号分子活化和通路的激活<sup>[6]</sup>，使细胞整体的生物学行为发生改变，最终导致细胞凋亡。如果未进行及时修复或修复错误，可能导致基因组不稳定、突变、细胞死亡和肿瘤转化<sup>[7]</sup>

因此，放射防护的研究十分必要。

目前放射防护药物多为巯基类化合物、细胞因子和激素，但其毒性大、价格昂贵<sup>[8-9]</sup>。枸杞作为一种传统中药，已有数千年的药用历史，具有效果好、价格低廉等特点。枸杞多糖（*Lycium barbarum polysaccharides*, LBP）是枸杞中最重要的活性成分，由阿拉伯糖，葡萄糖，半乳糖，甘露糖，木糖和鼠李糖组成<sup>[10]</sup>。具有抗辐射<sup>[11]</sup>、抗肿瘤<sup>[12]</sup>、调节免疫<sup>[13]</sup>等作用。

研究表明枸杞多糖有较强的免疫调节作用，能促进小鼠树突细胞的表型和功能成熟<sup>[14]</sup>，显著提高人 NK 细胞活性等<sup>[15]</sup>。枸杞多糖具有明显的抗肿瘤活性，可引发细胞周期静止在 S 期，提高胞内  $Ca^{2+}$  浓度<sup>[16]</sup>而诱导肿瘤细胞的凋亡。枸杞多糖有防治电离辐射的功能，可以增加骨髓细胞的增殖活性、减低细胞凋亡率、调节细胞周期蛋白的表达<sup>[17]</sup>，还可清除体内过多的自由基<sup>[18]</sup>。枸杞多糖可减少放射损伤引起的骨髓细胞凋亡，降低小鼠骨髓单核细胞（Bone marrow mononuclear cells, BMNCs）凋亡率和加速细胞周期转换，明显减轻 BMNCs 的损伤<sup>[19]</sup>。

在我们的实验中，进一步研究了枸杞多糖减轻辐射损伤诱导的细胞凋亡的机制。结果表明枸杞多糖对小鼠 BMNCs 凋亡有保护作用，能抑制线粒体膜电位的下降，抑制线粒体通路相关的凋亡蛋白的表达。这些结果对枸杞多糖防治辐射损伤具有重要意义，为其开发为新型辐射防护剂提供有力依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 主要试剂

枸杞多糖	KZ20160812	上海康舟生物技术有限公司
小鼠骨髓单核细胞分离试剂盒	TBD2013CM	中国天津 TBD 公司
RPMI 1640 培养液	8116502	美国 Gibco 公司
CCK-8 试剂盒	C0037	中国北京博奥龙技术有限公司
AnnexinV-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒	C1062	中国上海碧云天生物技术研究 所
线粒体膜电位检测试剂盒	C2006	上海碧云天生物技术研究 所
细胞线粒体分离试剂盒	C3601	上海碧云天生物技术研究 所
BCA 蛋白质测定试剂盒	P0012S	上海碧云天生物技术研究 所
Cytochrome C 抗体	#11940	美国 CST 公司
Caspase9 抗体	#9504	美国 CST 公司
Caspase3 抗体	#9665	美国 CST 公司
PARP 抗体	#9532	美国 CST 公司
Cox IV 抗体	11242-1-AP	中国武汉 Proteintec 公司

$\beta$ -actin 抗体	60008-1-Ig	中国武汉 Proteintec 公司
化学发光液	SC249361	美国 Thermo 公司

## 1.2 主要仪器

直线加速器	美国 Varian 公司
超净台	美国 Baker 公司
电子天平	美国 Mettler Toledo 公司
恒温摇床	上海智城分析仪器有限公司
全自动酶标仪	美国 BioTek Instruments 公司
流式细胞仪	美国 Becton-Dickinson 公司
低温离心机	美国 Thermo Fisher Scientific 公司
荧光显微镜	日本 Nikon 公司
化学发光仪	美国 Bio-Rad 公司
恒温水浴箱	北京长风公司
超纯水系统	日本 Tomy 公司
微量移液器	法国 Eppendorf 公司
高压灭菌锅	长沙湘仪实验室仪器公司
细胞恒温孵育箱	重庆医科大学生命科学院实验公共平台供给
低温冰箱	重庆医科大学生命科学院实验公共平台供给

## 1.3 实验动物

SPF 级 KM 小鼠 30 只，6-8 周龄，雄性，由重庆医科大学实验动物中心提供。涉及动物的实验方案由重庆医科大学的动物护理机构和使用委员会审查和批准。所有动物研究都严格遵循实验动物护理和使用指南。

## 1.4 方法

### 1.4.1 细胞培养和处理

无菌条件下采用水合氯醛麻醉加高浓度二氧化碳窒息后处死小鼠，去除双侧股骨结缔组织以及肌肉后，用 F 液(小鼠骨髓单核细胞分离试剂盒提供, F2013TBD)

迅速冲洗出股骨中的骨髓细胞，500g 离心 15 min，弃上清，用样本稀释液（小鼠骨髓单核细胞分离试剂盒提供,2010C1119），将其悬浮沉淀成细胞悬液。缓慢将骨髓细胞悬液沿离心管壁加在单核细胞分离液（小鼠骨髓单核细胞分离试剂盒提供，TBD2013CM）上，500g 离心 25 min，离心后由上至下分为四层，沿着试管壁边缘小心吸取第二层乳白色 BMNCs 层的细胞，移入另一干净离心管中，加入清洗液（小鼠骨髓单核细胞分离试剂盒提供，2010X1118）清洗 3 次，弃去上清后，加入补充有 10% FBS 和抗生素的 RPMI1640 培养液，并在 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 恒温培养箱中悬浮培养。

随机将细胞分为五组：blank 组（未经辐射和 LBP 处理）、control 组（仅辐射）、200 μg/mL LBP（辐射+200 μg/mL LBP）、400 μg/mL LBP（辐射+400 μg/mL LBP）、800 μg/mL LBP（辐射+800 μg/mL LBP），在室温下用 X 射线照射（直线加速器，照射剂量为 4 Gy，剂量率为 300 cGy/min，皮源距离 100cm，照射野 5cm×10cm，照射时长 1.33min）照射细胞。照射后 LBP 组立即给予含 LBP 的培养基，空白组和对照组给予正常培养基继续培养（辐射剂量和 LBP 浓度范围通过预实验确定，数据结果显示见 2.1）。

#### 1.4.2 细胞活力检测

将细胞接种于 96 孔板内（10<sup>5</sup> 个/孔）。在 LBP 处理 24 小时后，向每个孔中加入 10 μL CCK-8 溶液，继续培养 2 h 后，以空白孔（只含 CCK-8 和培养基）调零，检测 450 nm 处各孔吸光度（optical density, OD）。以（实验组 OD/对照组 OD）值代表细胞活力。实验重复三次。

#### 1.4.3 细胞凋亡率检测

用 LBP 处理 24 h 后，从每组中取 1×10<sup>5</sup> 个细胞，离心后弃上清，加入 195 μL Annexin V-FITC 结合液重悬细胞。再加入 5 μL Annexin V-FITC 和 10 μL PI 到样品中，轻轻混匀，在黑暗中于 25 °C 孵育 15 分钟，通过流式细胞仪双参数分析法检测分析各组细胞的凋亡率。Annexin V 阳性和 PI 阴性细胞代表早期凋亡群体，Annexin V 阳性和 PI 阳性代表出现晚期凋亡或死亡的细胞比例。

#### 1.4.4 线粒体膜电位荧光检测

对于线粒体膜电位的测定, 在 LBP 处理 24 h 后, 每组取  $1 \times 10^5$  个细胞, 重悬与 0.5ml RPMI1640 培养液中。再加入 0.5ml JC-1 染色工作液混匀, 细胞培养箱中孵育 20 min。孵育结束后, 600g  $4^\circ\text{C}$  离心 4 min, 弃上清。用 JC-1 染色缓冲液 (1 $\times$ ) 洗涤 2 次, 并用 JC-1 染色缓冲液 (1 $\times$ ) 200  $\mu\text{L}$  重悬细胞。当线粒体膜电位高时, JC-1 为产生红色荧光的聚合物; 当膜电位低时, JC-1 不能聚集在线粒体基质中, 为产生绿色荧光的单体。由此可通过荧光显微镜观察线粒体膜电位变化, 并用 Image J 软件进行结果的分析。

#### 1.4.5 Western 印迹

用不同浓度的 LBP 处理 24h 后, 测试每组中细胞的蛋白质的表达。细胞线粒体的分离通过细胞线粒体分离试剂盒实现, 通过 BCA 蛋白质测定试剂盒测定蛋白质浓度。将每组细胞进行冰浴裂解, 离心, 然后加载上样缓冲液, 并在  $100^\circ\text{C}$  下煮沸 10 分钟以使蛋白充分变性。各组 30  $\mu\text{g}$  蛋白在 12%或 8%的 (SDS-PAGE) 凝胶上电泳分离, 结束后转移到 PVDF 膜上。在室温下用 5%脱脂奶粉摇床封闭 1.5 h 后, 将膜与 Cytochrome C、Caspase9、Caspase3、PARP、Cox IV、 $\beta$ -actin 抗体 (浓度分别为 1: 1000、1: 1000、1: 1000、1: 1000、1: 5000、1: 10000) 在  $4^\circ\text{C}$  孵育过夜。TBST 洗涤膜 4 次, 每次 8 分钟, 然后在室温下用山羊抗小鼠 (1: 10000) 或山羊抗兔 (1: 4000) IgG 二级抗体孵育 1 小时。TBST 再次洗涤膜 4 次, 每次 8 分钟, 然后加入化学发光溶液用于曝光, 并使用 Image Lab 软件进行条带分析。

### 1.5 统计学方法

实验数据经 SPSS 22.0 软件处理, 值表示为 ( $\bar{x} \pm s$ )。单因素方差分析用于将 LBP 组与对照组进行组间差异比较, 两两比较采用 Dunnett-t 检验, T 检验用于空白组与对照组进行比较,  $P < 0.05$  差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 LBP 浓度及辐射剂量筛选

将小鼠 BMNCs 暴露于 100  $\mu\text{g/mL}$ 、200  $\mu\text{g/mL}$ 、400  $\mu\text{g/mL}$ 、800  $\mu\text{g/mL}$ 、1600  $\mu\text{g/mL}$  LBP 24h 后, 采用 CCK-8 法检测并计算细胞抑制率。结果显示在图 1A 中, 除了 1600  $\mu\text{g/mL}$  LBP 组之外, 在其他 LBP 剂量组中没有明显的抑制, 因此实验选择抑制率更小的 200  $\mu\text{g/mL}$ 、400  $\mu\text{g/mL}$ 、800  $\mu\text{g/mL}$  剂量的 LBP。

给小鼠 BMNCs 分别给予 0 Gy、1 Gy、2 Gy、4 Gy、8 Gy 的射线照射, 24h 后采用 CCK-8 法检测并计算细胞生存分数。结果如图 1B 所示, 与 0 Gy 组相比, 4 Gy、8 Gy 组差异有统计学意义 ( $p < 0.05$ ), 因此选择产生辐射损伤的最少剂量 4 Gy 作为后续实验的辐射剂量。

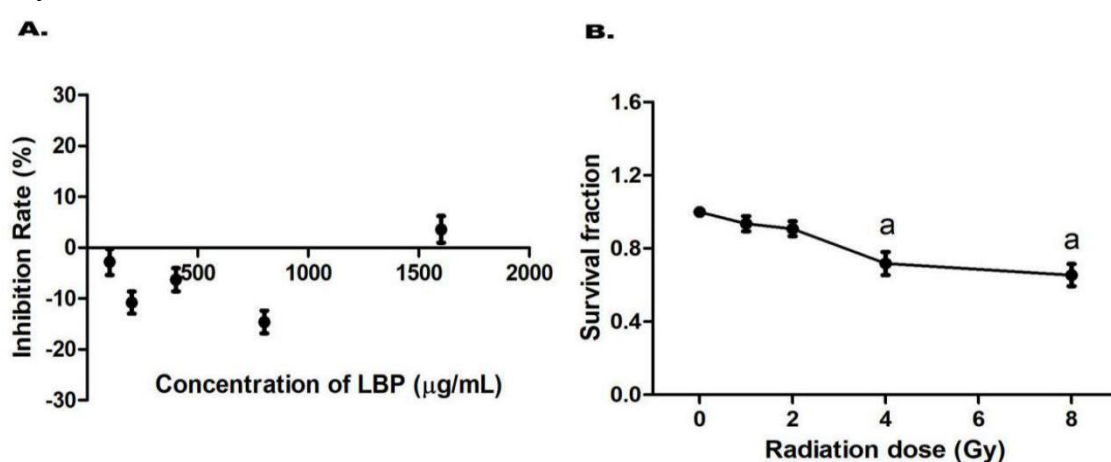


图 1A.LBP 对小鼠 BMNCs 细胞毒性的影响 ( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

图 1B.辐射对小鼠 BMNCs 生存分数的影响 ( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

Figure 1A.The effects of LBP on cytotoxicity of mouse BMNCs ( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

Figure 1B.The effects of radiation on survival fraction of mouse BMNCs ( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

a:  $p < 0.05$  vs 0 Gy group

## 2.2 LBP 对细胞活力的影响

为了观察 LBP 对射线照射细胞活力的影响, 使用 CCK-8 方法检测细胞活力。如图 2 所示, 与 control 组相比, blank 组细胞活力升高 ( $p < 0.05$ )。与 control 组相比, LBP 处理后 BMNCs 细胞活力显著增加 ( $p < 0.01$ ), 结果表明 LBP 可以促进辐射细胞的活力升高, 以 400  $\mu\text{g/mL}$  的剂量最佳。

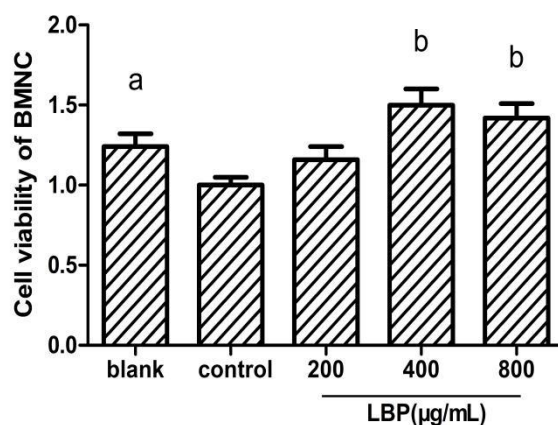


图 2.LBP 对小鼠 BMNCs 辐射损伤后活力的影响 (n=3,  $\bar{x} \pm s$ )

Figure 2.The effects of LBP on the viability of mouse BMNCs after radiation injury (n=3,  $\bar{x} \pm s$ )

a: p < 0.05 vs control; b: p < 0.01 vs control

### 2.3 LBP 对细胞凋亡的影响

为了确定 LBP 抑制辐射诱导的细胞凋亡的能力, 在 LBP 处理 24 小时后, 用流式细胞术分析凋亡细胞的数量。LBP (400  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 通过减少凋亡细胞的量来抑制辐射诱导的损伤 (图 3A)。在 control 中, 辐射诱导的细胞凋亡增加 (图 3B)。与 control 组相比: LBP 处理后 BMNCs 细胞早期凋亡率显著减少 (p < 0.01); 在 400  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LBP 处理后的总凋亡率明显减少 (p < 0.05)。这些结果表明 LBP 可以减弱辐射诱导的细胞凋亡, 尤其是在最佳剂量为 400  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时。



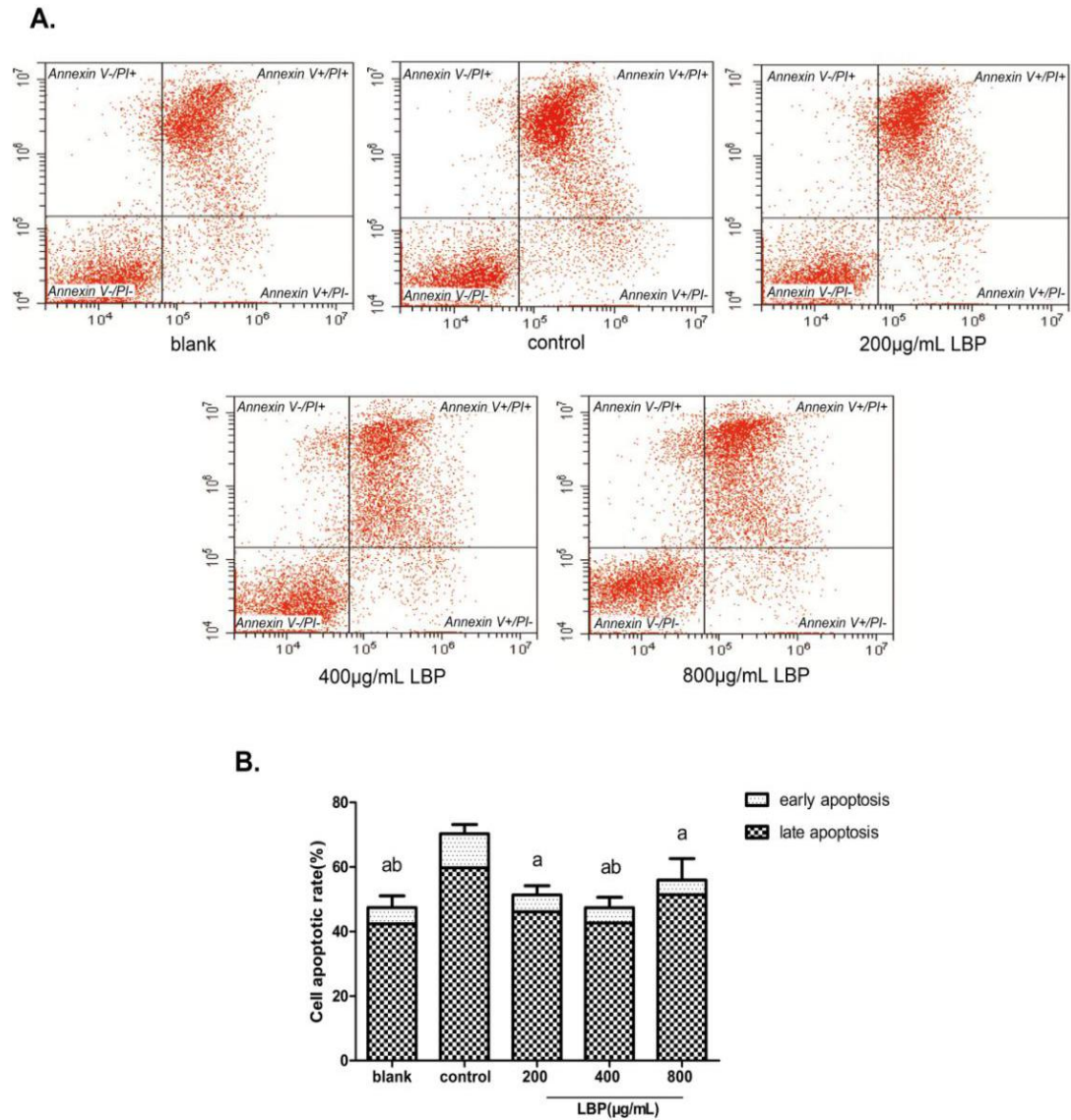


图 3.LBP 对小鼠 BMNCs 辐射损伤后细胞凋亡率的影响 ( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

Figure 3.The effects of LBP on the apoptosis rate of mouse BMNCs after radiation injury  
( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

a:  $p < 0.01$  vs control in early apoptosis; b:  $p < 0.05$  vs control in total apoptosis

## 2.4 LBP 对线粒体膜电位的影响

为了研究 LBP 对辐射诱导细胞线粒体膜电位的影响, 在 LBP 处理 24 小时后, 用荧光显微镜观察 JC-1 红绿色荧光的变化。当线粒体膜电位高时, JC-1 产生红色荧光; 当线粒体膜电位低时, JC-1 产生绿色荧光。在 control 中, 辐射诱导的细胞的红绿色荧光比值降低(图 4A)。与 control 组相比, LBP 处理后细胞红绿色荧光

比值显著增加 (图 4B,  $P < 0.01$ )。结果表明 LBP 可以抑制辐射诱导细胞的线粒体膜电位的下降。

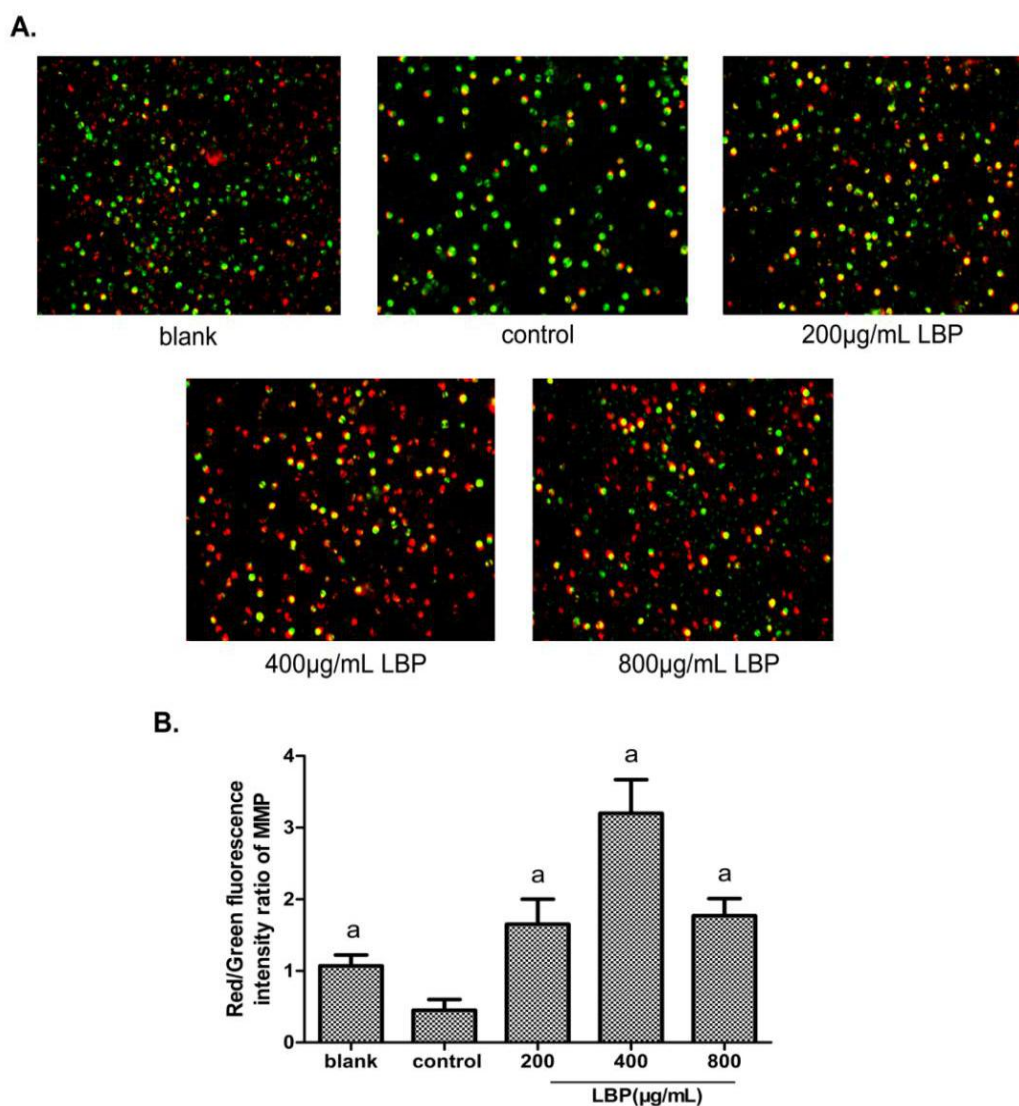


图 4.LBP 对小鼠 BMNCs 辐射损伤后线粒体膜电位的影响 ( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

Figure 4.The effects of LBP on mitochondrial membrane potential of mouse BMNCs after radiation injury ( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

a:  $p < 0.01$  vs control

## 2.5 LBP 对线粒体通路相关蛋白的表达的影响

为了阐明 LBP 对辐射所致的细胞凋亡的分子机制, 使用蛋白质印迹法测定几种凋亡相关蛋白的水平。

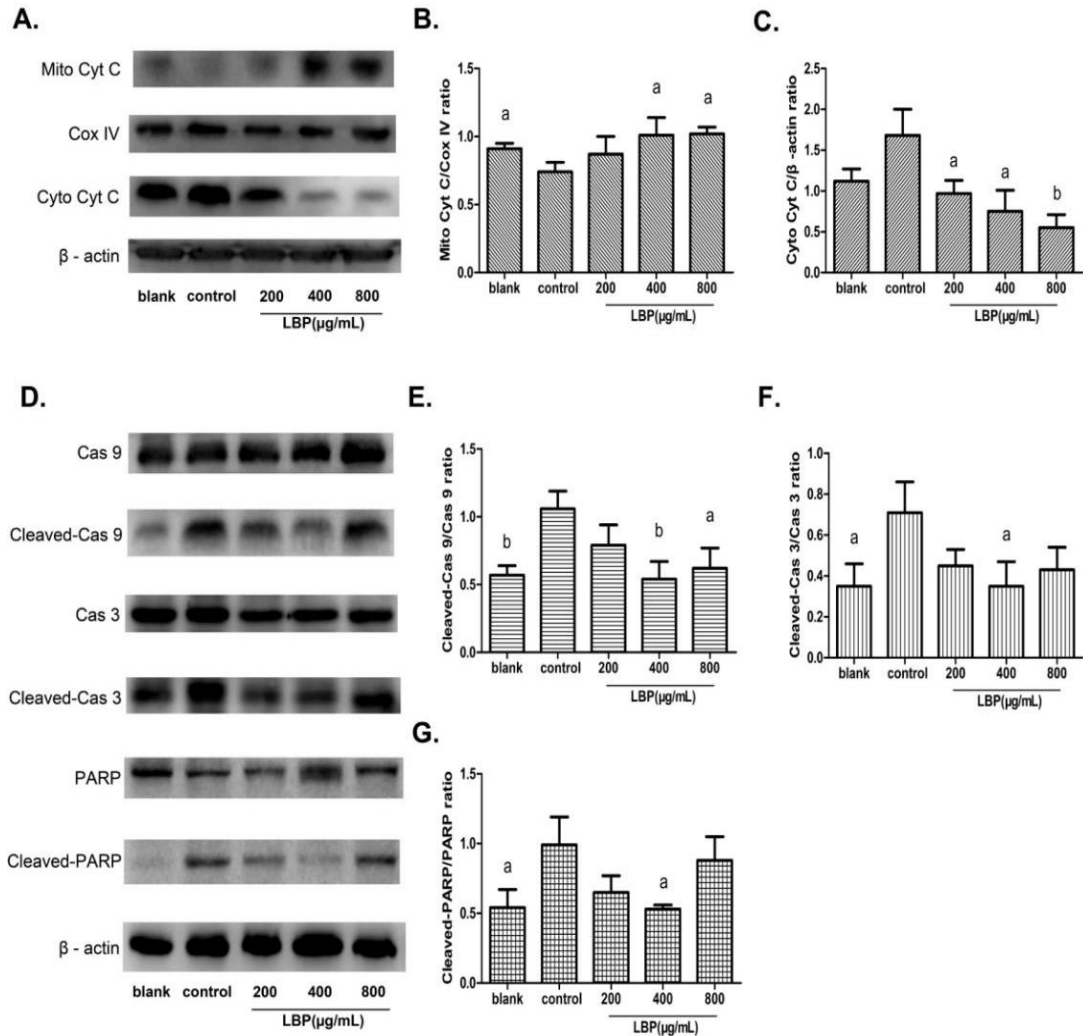


图 5.LBP 对小鼠 BMNCs 辐射损伤后线粒体通路蛋白表达的影响 ( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

Figure 5.The effects of LBP on the expression of mitochondrial pathway protein of mouse BMNCs after radiation injury ( $n=3, \bar{x} \pm s$ )

a:  $p < 0.05$  vs control; b:  $p < 0.01$  vs control

如图 5A 所示，我们发现辐射后线粒体内的 Cyt C 表达水平减少，胞质内的 Cyt C 表达增加。然而，用 LBP 处理后可以促进辐射后线粒体内的 Cyt C 表达（图 5B,  $P < 0.05$ ），并且抑制辐射后胞质内的 Cyt C 表达（图 5C,  $P < 0.05$ ）。此外，我们检测了几种与线粒体凋亡通路有关的 Caspase 的水平，如图 5D 所示。LBP（400  $\mu\text{g/mL}$ ）显著降低 Cleaved-Caspase9 的水平（图 5E,  $P < 0.01$ ），以及降低 Cleaved-Caspase3、Cleaved-PARP 的水平（图 5F、G,  $P < 0.05$ ）。这些结果表明 LBP 抑制辐射后线粒体通路凋亡相关蛋白的表达。

### 3 讨论

大多数合成化合物类的辐射防护剂适用性有限，因为它们在其最佳保护剂量下具有高毒性。近年来，与合成辐射防护剂相比，天然辐射防护剂已被广泛的研究。Xiao-Yong Wang 等发现银杏叶提取物等中药提取物可以减轻 UVB 暴露诱导的真皮成纤维细胞 G1 期生长停滞<sup>[20]</sup>。Magda K 等首次报道了番茄籽油对 $\gamma$ 辐射诱导的成年雄性大鼠的损伤有辐射防护潜力<sup>[21]</sup>。B.Farhood 等认为褪黑激素不仅是简单的抗氧化剂，还具有辐射防护的作用。更为重要的是褪黑激素在人体细胞中的天然代谢，因此具有低毒性的特点<sup>[22]</sup>。

同样被认为具有低毒性的 LBP，在中国已经被用作药物几个世纪<sup>[23]</sup>。Luo Qiong 等发现 LBP 通过修复  $^{60}\text{Co}$  辐射引起的睾丸组织中生精细胞的直接损伤，从而减轻辐射引起的生精能力、精子数量和精子活力的降低<sup>[6]</sup>。Lu 等通过大鼠心肌缺血再灌注模型的建立和 LBP 的干预，发现 LBP 主要通过抑制心肌细胞凋亡来发挥缺血再灌注损伤保护作用<sup>[24]</sup>。Amagase 等发现 LBP 通过调节 ROS 的产生，抗氧化酶和 Bcl-2 蛋白家族的活性，以及通过减轻细胞衰老来保护  $\text{H}_2\text{O}_2$  诱导的人晶状体上皮细胞的损伤<sup>[25]</sup>。最近的研究表明，LBP 对电离辐射诱导的骨髓系统损伤具有保护作用。例如，它被证明可以减少放射损伤引起的骨髓细胞凋亡<sup>[19]</sup>。深入的作用机制仍不清楚。我们假设 LBP 的辐射保护作用与线粒体及相关凋亡通路表达有关，研究结果证实了我们的猜想。

CCK-8 法是一种应用于检测细胞活力和毒性的基本方法，基于此我们进行了药物浓度和辐射剂量的筛选，更进一步的测试了 LBP 对辐射后细胞活力的影响。结果表明，LBP 能促进辐射后细胞活力的恢复。辐射引起的细胞凋亡往往伴随着质膜的特异性改变，膜联蛋白 V 结合试验为检测细胞凋亡提供了可能<sup>[26]</sup>。在各类细胞发生凋亡时，细胞膜内侧的磷脂酰丝氨酸会外翻到表面，而膜联蛋白 V 则会与之特异性结合，采用荧光对膜联蛋白 V 进行染色，即能通过流式细胞仪检测磷脂酰丝氨酸外翻这一凋亡重要特点。因此我们使用流式细胞术和细胞的膜联蛋白 V 染色评估凋亡细胞。研究结果显示，在进行 LBP 处理后，小鼠 BMNCs 细胞凋亡率明显降低。因此，可以认为 LBP 可以减少由辐射引起的凋亡细胞的数量。

在细胞受到辐射时，射线会直接攻击线粒体，导致线粒体膜结构以及通透性

发生变化，从而引起膜电位的降低<sup>[27]</sup>。鉴于线粒体对辐射高度敏感，我们选择检测线粒体膜电位，来探究 LBP 是否通过调节它来抑制辐射后的细胞凋亡。JC-1 是用于检测线粒体膜电位的一种理想的荧光探针，通过 JC-1 染色显示线粒体膜电位降低，是对线粒体介导的细胞凋亡的探索<sup>[28]</sup>。在给予 LBP 干预后，通过 JC-1 染色我们观察到 LBP 组红绿荧光比值明显升高。因此认为 LBP 可以有效改善辐射诱导的线粒体膜电位的降低。

细胞凋亡，也称为程序性的细胞死亡<sup>[29]</sup>。细胞凋亡的内在途径的调节通常由线粒体介导。许多物理和化学刺激，比如电离辐射，可引起线粒体功能障碍。它会导致线粒体膜电位去极化，从而使线粒体内的促凋亡蛋白 CytC 被释放到细胞质中，因此 CytC 的释放被认为是线粒体凋亡途径激活的关键<sup>[30]</sup>。同时，释放到胞质中的 CytC 将与凋亡酶激活因子结合，募集 caspase 9 前体，促其自我剪切活化。该步骤是 caspase 级联反应启动的重要步骤。接下来活化的 caspase 9 进一步激活下游的 caspase 3。其作为 caspase 依赖的线粒体凋亡途径的最终执行者，它将切割位于细胞核的与 DNA 修复密切相关的 PARP，进而影响细胞的稳定，最终导致细胞凋亡<sup>[31]</sup>。

为了进一步阐明对 LBP 抑制线粒体介导的细胞凋亡的假设，我们研究了 LBP 的分子机制，选择在线粒体凋亡信号转导过程中起重要作用的 CytC、caspase 9、caspase 3、PARP 这几个关键酶，检测它们释放到线粒体中以及剪切活化后的蛋白表达量。结果我们观察到经 LBP 处理后，CytC 从线粒体向胞质的释放减少，以及下游激活态蛋白 Cleaved-Caspase9、Cleaved-Caspase3、Cleaved-PARP 的相应表达降低。一种可能的机制是 LBP 的辐射防护作用是通过抑制线粒体介导的细胞凋亡途径实现。

线粒体易受各种刺激，对调节细胞存活或死亡至关重要<sup>[32]</sup>。固有的外源性细胞死亡途径也可由细胞线粒体膜损伤激活<sup>[33]</sup>。LBP 是否通过干预与凋亡相关的多条信号通路协同发挥辐射防护作用，仍是我们今后需要探讨的问题。

LBP 通过抑制细胞凋亡和线粒体通路的激活，来保护受到辐射的小鼠 BMNCs。这为 LBP 作为辐射防护剂的开发提供帮助。另外，LBP 是由多种单糖构成，究竟是哪种或哪几种活性成分协同发挥作用仍需进一步研究阐明。

## 全文总结

1.LBP 能够有效减少小鼠 BMNCs 辐射后的凋亡细胞的数量, 表明 LBP 可以减弱辐射诱导的细胞凋亡, 在 400  $\mu\text{g}/\text{mL}$  LBP 的剂量下效果最佳。

2.LBP 通过抑制细胞线粒体膜电位的降低, 有效减轻小鼠 BMNCs 辐射后的细胞凋亡。

3.LBP 使 CytC 从线粒体向胞质的释放减少, Cleaved-Caspase9、Cleaved-Caspase3、Cleaved-PARP 的表达降低。一种可能的机制是 LBP 的辐射防护作用是通过抑制线粒体介导的细胞凋亡途径实现, 但是否有多条信号通路共同参与仍有待探索。

4.本实验为 LBP 减轻辐射所致细胞凋亡的深层分子机制的研究提供了新思路。更深入的考虑是 LBP 含多种单糖及活性成分, 哪种或哪几种协同发挥作用仍需进一步研究阐明。

## 参考文献

- [1] Thompson M A. Maintaining a proper perspective of risk associated with radiation exposure[J]. *J Nucl Med Technol*, 2001, 29(3):137–142.
- [2] Reisz J A, Bansal N, Qian J, et al. Effects of ionizing radiation on biological molecules—mechanisms of damage and emerging methods of detection[J]. *Antioxid. Redox. Signal*, 2014, 21(2):260–292.
- [3] Islam M T. Radiation interactions with biological systems[J]. *Int. J. Radiat. Biol*, 2017, 93(5) :487–493.
- [4] Zhang M, Guo X, Gao Y, et al. Tumor cell-accelerated senescence Is associated with DNA-PKcs Status and telomere dysfunction induced by radiation[J]. *Dose Response*, 2018, 16(2):1559325818771527.
- [5] Kolesnick R, Fuks Z. Radiation and ceramide-induced apoptosis[J]. *Oncogene*, 2003, 22(37):5897–5906.
- [6] Luo Q, Cui X, Yan J, et al. Antagonistic effects of Lycium barbarum polysaccharides on the impaired reproductive system of male rats induced by local subchronic exposure to <sup>60</sup>Co-gamma irradiation[J]. *Phytother Res*, 2011, 25(5):694-701.
- [7] Mirzayans R, Andrais B, Scott A, et al. Ionizing radiation-induced responses in human cells with differing TP53 status[J]. *Int. J. Mol. Sci*, 2013, 14(11):22409–22435.
- [8] Wu H, Guo H, Zhao R. Effect of Lycium barbarum polysaccharide on the improvement of antioxidant ability and DNA damage in NIDDM rats[J]. *Yakugaku Zasshi*, 2006, 126(5):365-71.
- [9] Alonzo F, Hertel-Aas T, Gilek M, et al. Modelling the propagation of effects of chronic exposure to ionising radiation from individuals to populations[J]. *J Environ Radioact*, 2008, 99(9):1464-73.
- [10] Liang B, Peng L, Li R, et al. Lycium barbarum polysaccharide protects HSF cells

- against ultraviolet-induced damage through the activation of Nrf2[J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2018, 23:18.
- [11] Qian L, Yu S. Protective effect of polysaccharides from *Lycium barbarum* on spermatogenesis of mice with impaired reproduction system induced by cyclophosphamide[J]. *Am J Reprod Immunol*, 2016, 76 (5):383-385.
- [12] Mao F, Xiao B, Jiang Z, et al. Anticancer effect of *Lycium barbarum* polysaccharides on colon cancer cells involves G0/G1 phase arrest[J]. *Med Oncol*, 2011, 28 (1):121-6.
- [13] Su C X, Duan X G, Liang L J, et al. *Lycium barbarum* polysaccharides as an adjuvant for recombinant vaccine through enhancement of humoral immunity by activating Tfh cells[J]. *Vet Immunol Immunopathol*, 2014, 158 (1-2):98-104.
- [14] Zhu J, Zhao L H, Zhao X P, et al. *Lycium barbarum* polysaccharides regulate phenotypic and functional maturation of murine dendritic cells[J]. *Cell Biol Int*, 2007, 31 (6):615-9.
- [15] Huyan T, Li Q, Yang H, et al. Protective effect of polysaccharides on simulated microgravity-induced functional inhibition of human NK cells[J]. *Carbohydr Polym*, 2014, 101:819-27.
- [16] Zhang M, Chen H, Huang J, et al. Effect of *lycium barbarum* polysaccharide on human hepatoma QGY7703 cells: inhibition of proliferation and induction of apoptosis[J]. *Life Sci*, 2005, 76 (18):2115-24.
- [17] Gong H, Shen P, Jin L, et al. Therapeutic effects of *Lycium barbarum* polysaccharide (LBP) on irradiation or chemotherapy-induced myelosuppressive mice[J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2005, 20 (2):155-62.
- [18] Li H, Li Z, Peng L, et al. *Lycium barbarum* polysaccharide protects human keratinocytes against UVB-induced photo-damage[J]. *Free Radic Res*, 2017, 51 (2):200-210.
- [19] Zhou J, Pang H, Li W, et al. Effects of *Lycium barbarum* Polysaccharides on Apoptosis, Cellular Adhesion, and Oxidative Damage in Bone Marrow Mononuclear Cells of Mice Exposed to Ionizing Radiation Injury[J]. *Biomed Res*



- Int, 2016, 2016, 4147879.
- [20] Wang X Y, Wang Y G, Wang Y F. Ginsenoside Rb1, Rg1 and three extracts of traditional Chinese medicine attenuate ultraviolet B-induced G1 growth arrest in HaCaT cells and dermal fibroblasts involve down-regulating the expression of p16, p21 and p53[J]. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, 2011, 27 (4):203-12.
- [21] Ezz M K, Ibrahim N K, Farrag M A, et al. The Beneficial Radioprotective Effect of Tomato Seed Oil Against Gamma Radiation-Induced Damage in Male Rats[J]. *J Diet Suppl*, 2018, 15 (6):923-938.
- [22] Farhood B, Goradel N H, Mortezaee K, et al. Melatonin as an adjuvant in radiotherapy for radioprotection and radiosensitization[J]. *Clin Transl Oncol*, 2019, 21 (3):268-279.
- [23] Chang R C, So K F. Use of anti-aging herbal medicine, *Lycium barbarum*, against aging-associated diseases. What do we know so far?[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2008, 28 (5):643-52.
- [24] Lu S P, Zhao P T. Chemical characterization of *Lycium barbarum* polysaccharides and their reducing myocardial injury in ischemia/reperfusion of rat heart[J]. *Int J Biol Macromol*, 2010, 47(5):681–684.
- [25] Amagase H, Sun B, Borek C. *Lycium barbarum* (goji) juice improves in vivo antioxidant biomarkers in serum of healthy adults[J]. *Nutr Res*, 2009, 29:19-25.
- [26] Kim S E, Shin S H, Lee J Y, et al. Resveratrol Induces Mitochondrial Apoptosis and Inhibits Epithelial-Mesenchymal Transition in Oral Squamous Cell Carcinoma Cells[J]. *Nutr Cancer*, 2018, 70 (1):125-135.
- [27] 郭娟. 丹参素对电离辐射损伤的防护作用及机制研究[D/OL]. 西安:第四军医大学, 2012:24[2019-03-05]. <http://kns.cnki.net/KCMS/detail/detail.aspx?dbcode=CDFD&dbname=CDFD1214&filename=1012038758.nh&v=MDIyNjhaT1JuRkNuZ1Ziek5WRjI2SExPN0Z0YkpwNUViUEISOGVYMUx1eFITN0RoMVQzcVRyV00xRnJDVVJMT2Y=>.
- [28] Mujtaba S F, Dwivedi A, Yadav N, et al. Superoxide mediated photomodification and DNA damage induced apoptosis by Benz(a)anthracene via mitochondrial

- mediated pathway[J]. *J Photochem Photobiol B*, 2015, 142:92-102.
- [29] Wang Y, Liu X, Liu G, et al. PIG11 over-expression predicts good prognosis and induces HepG2 cell apoptosis via reactive oxygen species-dependent mitochondrial pathway[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 108:435-442.
- [30] Eskes R, Desagher S, Antonsson B, et al. Bid induces the oligomerization and insertion of Bax into the outer mitochondrial membrane[J]. *Mol Cell Biol*, 2000, 20 (3): 929-935.
- [31] Jing L, He M T, Chang Y, et al. Coenzyme Q10 protects astrocytes from ROS-induced damage through inhibition of mitochondria-mediated cell death pathway[J]. *Int J Biol Sci*, 2015, 11 (1):59-66.
- [32] Tao H, Qian P, Lu J, et al. Autophagy inhibition enhances radiosensitivity of Eca109 cells via the mitochondrial apoptosis pathway[J]. *Int J Oncol*, 2018, 52 (6):1853-1862.
- [33] Wang J P, Huang X Y, Zhang K Y, et al. Involvement of P38 and ERK1/2 in mitochondrial pathways independent cell apoptosis in oviduct magnum epithelial cells of layers challenged with vanadium[J]. *Environ Toxicol*, 2018, 33 (12):1312-1320.

## 文献综述

### 枸杞多糖调节细胞凋亡的研究进展

枸杞 (*Lycium barbarum* L.) 是茄科、枸杞属植物, 广泛分布于中国西北部, 东南欧和地中海地区的干旱和半干旱地区<sup>[1]</sup>。枸杞的果实又称枸杞子 (呈橙色或深红色, 梭形或椭圆形, 外观皱缩, 长度为 6-20 毫米, 直径为 3-10 毫米), 是一种有价值的滋补品和著名的中药, 在东亚有 2300 多年的应用历史<sup>[2]</sup>。国内大部分商业化生产的枸杞来自宁夏回族自治区、中部华北地区和西部的新疆维吾尔自治区, 最近它也作为保健食品和药物在西方国家被广泛销售<sup>[3]</sup>。

枸杞子在传统中医中药中的使用最早可以追溯到唐代。据记载枸杞可以治疗各种疾病, 包括视力模糊, 腹痛, 不孕, 干咳, 疲劳, 头晕和头痛等。枸杞子的生物活性成分复杂, 在过去几年中, 从枸杞子提取物中分离出的枸杞多糖 (*Lycium barbarum polysaccharides*, LBP) 已被确定为主要活性成分之一<sup>[4]</sup>。LBP 的分子量范围为 10-2300 kDa, 主要含有 9 种单糖, 即木糖 (Xyl), 葡萄糖 (Glc), 鼠李糖 (Rha), 甘露糖 (Man), 半乳糖 (Gal), 阿拉伯糖 (Ara), 果糖 (Fru), 岩藻糖 (Fuc) 和核糖 (Rib), 同时还含有半乳糖醛酸 (GalA), 葡萄糖醛酸 (GlcA) 等氨基酸<sup>[5]</sup>。

许多关于药理学和植物化学的研究表明, LBP 具有多种生物活性, 如抗氧化<sup>[6-8]</sup>, 免疫调节<sup>[9-13]</sup>, 抗肿瘤<sup>[14-17]</sup>, 神经保护<sup>[18]</sup>, 辐射防护<sup>[19,20]</sup>, 抗糖尿病<sup>[21, 22]</sup>, 肝脏保护<sup>[23,24]</sup>, 抗骨质疏松<sup>[25]</sup>。随着 LBP 药物作用机制研究的深入, 逐渐发现其许多生物活性作用的发挥都与调节细胞凋亡相关。

细胞凋亡是细胞自主有序的死亡, 用于维持稳定的内部环境。细胞凋亡过程中的异常可能直接或间接地与许多疾病的发生息息相关, 例如癌症、自身免疫疾病。细胞凋亡是一个由多个基因、多条信号转导途径控制的过程: 包括线粒体途径、Fas/FasL 介导的死亡受体途径、JNK 途径等; 基因则包括 B 细胞淋巴瘤-2 家族 (Bcl-2 家族), 癌基因 Caspase 家族, P53 肿瘤抑制基因等。本文将对关于 LBP 调节细胞凋亡的相关文献做简单归纳总结, 旨在为 LBP 作用机制研究的深入提供帮助, 为 LBP 作为药品更广泛的开发提供理论依据。

## 1 心血管系统

Lu 和 Zhao 等<sup>[26]</sup>通过建立大鼠心肌缺血再灌注(ischaemia and reperfusion, I/R)模型, 后予以 150mg/kg 或 300mg/kg LBP 治疗, 来研究 LBP 对心肌 I/R 损伤的保护作用。结果表明, LBP 剂量依赖性地降低 Bax 阳性细胞和心肌细胞凋亡率, 并增加 Bcl-2 阳性细胞的比率, 这表明 LBP 通过抑制心肌细胞凋亡来保护大鼠心脏免受缺血再灌注损伤。

## 2 神经系统

### 2.1 缺血性脑卒中

Wang 等<sup>[27]</sup>制作了大脑中动脉闭塞 (Middle cerebral artery occlusion, MCAO) 小鼠模型, 并给予 10 mg/kg、20 mg/kg 和 40 mg/kg LBP 的灌胃处理。结果显示, 施用 20 mg/kg 和 40 mg/kg LBP 可显著降低 MCAO 小鼠的神经功能缺损评分和梗死体积。给予 10-40 mg/kg LBP 也可减少神经元形态学损伤和神经细胞凋亡。40 mg/kg LBP 显著抑制 Bax, 细胞色素 C, caspase-3, caspase-9 和切割的 PARP-1 的过表达, 并降低 MCAO 小鼠中下调的 Bcl-2 的表达。

### 2.2 神经元损伤

$\beta$ -淀粉样蛋白 (Amyloid  $\beta$ -protein, A $\beta$ ) 被认为与阿尔茨海默病 (Alzheimer disease, AD) 中进展性神经元的死亡有关。Yu 等人<sup>[28]</sup>研究了 LBP 对 A $\beta$ 肽诱导的原代大鼠皮层神经元损伤的影响。当暴露于 A $\beta$ 肽时, 原代大鼠皮层神经元发生显著的凋亡和坏死, 原因主要是 A $\beta$ 肽通过磷酸化诱导 c-JNK 的快速活化。LBP 的预处理明显降低了 JNK-1 的磷酸化, 说明 LBP 通过调节 JNK-1 起剂量依赖性的神经保护作用。

Yu 等<sup>[29]</sup>也研究了 LBP 对暴露于 A $\beta$ 肽的大鼠皮层神经元中双链 RNA 依赖性蛋白激酶 (PKR) 磷酸化的影响。PKR 是细胞内应激传感器, 其通过磷酸化翻译起始因子 eIF2 的 $\alpha$ 亚基来阻断蛋白质合成。LBP 的预处理通过降低 caspase-3 和-2 的活性, 有效地保护神经元免受 A $\beta$ 诱导的细胞凋亡。结果表明 LBP 能明显降低 A $\beta$ 诱导的 PKR 磷酸化。

Wu 等<sup>[30]</sup>观察了 LBP 对小鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的保护作用。他们发现接受 LBP 预处理的组神经功能缺损评分明显降低；接受 10、20 和 40mg/kg LBP 预处理的组通过减弱细胞凋亡，呈剂量依赖性的减少神经元损伤；在接受 LBP 预处理的组中，Caspase-3 蛋白活性和 BAX 蛋白表达明显降低，Bcl-2 蛋白表达显著增加。该研究表明 LBP 为小鼠局灶性脑缺血再灌注损伤提供保护。

### 3 消化系统

#### 3.1 酒精性肝病

Xiao 等<sup>[31]</sup>研究了 LBP 对减弱乙醇诱导的大鼠正常肝细胞的损伤是否与硫氧还蛋白互作蛋白 (Thioredoxin-interacting protein, TXNIP) 和 NOD 样受体 3 (NOD-like receptor protein 3, NLRP3) 炎性介质有关。在乙醇培养之前，用 LBP 预处理细胞。监测包括细胞凋亡，炎症和氧化应激在内的肝损伤。该研究结果显示，50 $\mu$ g/mL LBP 预处理可显著抑制乙醇诱导的 TXNIP 过表达和细胞凋亡，抑制 NLRP3 炎性体激活以及 ROS 的产生。这些结果表明 LBP 对肝 TXNIP 的抑制有助于减少细胞凋亡，氧化应激和 NLRP3 炎性体介导的炎症。

#### 3.2 脂肪性肝病

在 Xiao 等人<sup>[32]</sup>进行的一项研究中，对 97 只雌性大鼠给予高脂饮食以诱导脂肪性肝炎，实验组给予每天 1 mg/kg LBP，时长 8 周。结果显示经 LBP 处理的大鼠表现出组织学和游离脂肪酸水平的改善，脂质代谢的再平衡，肝脏促炎介质和趋化因子的产生减少，以及 p53 依赖的内、外源性途径引起的肝细胞凋亡的减少。

### 4 内分泌系统

Wu 等人<sup>[33]</sup>研究了口服 LBP 对实验性糖尿病大鼠的血糖和外周淋巴细胞的影响。给大鼠喂食高脂饮食且腹腔内注射 50mg/kg 链脲佐菌素以建立糖尿病大鼠模型。后实验组予以 10mg/kg/天 LBP 口服，持续 4 周。结果显示与对照组相比，实验组血糖水平降低，血清 MDA 和 NO 水平降低、SOD 水平升高，外周淋巴细胞的 DNA 损伤和凋亡减少。表明 LBP 可以通过抑制糖尿病中的氧化应激以及凋亡

来改善葡萄糖代谢。

## 5 免疫系统

Yuan 等<sup>[34]</sup>检查了枸杞糖肽 3 (LBGP3) 是否影响老年小鼠的 T 细胞凋亡。他们发现用 200mg/mL LBGP3 处理可以增加老年小鼠 T 细胞的凋亡率, 并显示出与年轻 T 细胞相似的 DNA 梯形图。凋亡抗性的逆转涉及 Bcl-2 和 FLIP 表达的下调, 以及 Fas 配体 (FasL) 的上调。这些结果表明 LBGP3 通过调节凋亡相关分子的表达来逆转老年 T 细胞的凋亡抗性。

Huyan 等<sup>[35]</sup>发现 LBP 可诱导 NK 细胞活化。通过模拟微重力条件, NK 细胞受到明显的抑制。LBP 处理后发现 NK 细胞的活性明显提高, 同时 LBP 可以在模拟微重力条件下通过恢复活化受体 NKG2D 的表达, 减少 NK 细胞早期凋亡和晚期凋亡/坏死, 增强 NK 细胞功能。

## 6 造血系统

Zhou 等<sup>[36]</sup>研究了 LBP 对辐射损伤小鼠骨髓单核细胞的影响, 通过建立放射损伤小鼠模型, 实验组每日分别给予 50mg/kg、100mg/kg 和 200mg/kg LBP 的腹腔注射, 在第 1、7 和 14 天取外周血和骨髓, 计数外周血细胞, 检测 SOD 和 MDA 水平, 检测细胞周期和凋亡率。研究结果显示 LBP 能促进放射损伤后造血功能恢复, 提高辐射损伤小鼠 BMNC 的增殖能力, 显著降低 MDA 水平, 明显增加 SOD 的活性, 加速 BMNC 细胞周期转换和降低凋亡率。表明 LBP 可能通过促进骨髓细胞增殖和抑制凋亡来发挥辐射保护作用。

## 7 生殖系统

Zhang 等<sup>[37]</sup>研究了 LBP 对双酚 A 引起的小鼠生精损伤的保护作用。给予小鼠 20mg/kg 双酚 A 处理, 连续 7 天皮下注射, 并且实验组每天通过强饲法给予 LBP。结果显示, 与单独使用双酚 A 相比, 不同剂量 LBP 处理后睾丸和附睾的重量均增加, SOD 活性明显增加, 而 MDA 含量逐渐减少。另外 LBP 处理后小鼠 Bcl-2 的表达增加, Bax 的表达下降。研究表明 LBP 可能是保护成年雄性动物免受双酚 A 诱导的生殖损伤的潜在药物。

谭秋慧等<sup>[38]</sup>认为 LBP 可以对热应激 (HS) 诱导的大鼠生殖细胞凋亡提供一定的保护作用。将大鼠随机分为 5 组: 对照组, HS 组, 高剂量、中剂量和低剂量 LBP 组。各 LBP 组通过灌胃给予 LBP。与 HS 组相比, 各 LBP 组细胞凋亡指数、caspase-3 和细胞色素 C 的表达水平均降低。表明 LBP 通过调节线粒体途径来保护生殖细胞免受凋亡。

张卫星等<sup>[39]</sup>探讨了 LBP 对 <sup>60</sup>Co 诱导的小鼠生精紊乱的保护作用, 发现 LBP 几乎能完全恢复生殖内分泌紊乱和生精损伤。Luo 等<sup>[40]</sup>进一步证实了 LBP 对 <sup>60</sup>Co 辐射诱导的大鼠生精损伤的保护作用。在该研究中, 通过检测给药后第 1,7 和 14 天的精子数量和运动性、血清激素水平、性功能、氧化状态和睾丸组织 DNA 损伤的情况, 结果发现 LBP 使精子数量和运动明显增加, 同时也缩短了勃起和射精的潜伏期, 增加了捕获和射精的数目, 并且改善了雄性大鼠的性能力。LBP 促进了血清睾酮水平的恢复, 增加了 SOD 活性, 降低了 MDA 水平, 在促进氧化平衡和挽救睾丸细胞 DNA 损伤和凋亡中也起着重要作用。表明 LBP 对 <sup>60</sup>Co 辐射引起的生精损伤具有显著的保护作用。

## 8 眼视网膜

Li 等<sup>[41]</sup>研究了 LBP 对大脑中动脉闭塞 (MCAO) 诱导的 C57BL/6N 雄性小鼠视网膜损伤的影响。在 MCAO 诱导之前, 小鼠每天一次口服 1mg/kg LBP, 持续 1 周。然后采用 MCAO 方法将视网膜缺血维持 2 小时, 之后拔出细丝以允许再灌注 22 小时。计数中央和周边视网膜的神经节细胞层(GCL)中的活细胞, 并通过测量从内界膜到内核层 (INL) 的内部视网膜厚度来评估视网膜肿胀, 通过免疫组织化学确定小鼠视网膜中胶质纤维酸性蛋白 (GFAP)、水通道蛋白-4 (AQP4)、聚 ADP-核糖聚合酶 (PARP) 和硝基酪氨酸 (NT) 的表达水平。结果示: 与对照组相比, LBP 处理的小鼠中央和周边视网膜中 GCL 活细胞的数量增加, 视网膜厚度明显减少; 在 LBP 处理的 GCL 和 INL 中发现较少的凋亡细胞; LBP 处理的星形胶质细胞中 GFAP、AQP4 的免疫反应性降低。LBP 还减少了 PARP 和 NT 的表达。这些结果表明, 用 LBP 预处理小鼠可以通过减轻视网膜肿胀、降低免疫反应和细胞凋亡有效地保护视网膜。此外, Amagase 等<sup>[42]</sup>发现 LBP 通过调节 ROS 的产生, Bcl-2 蛋白家族和抗氧化酶的活性, 以及通过减弱细胞衰老来保护人晶状体上皮细胞免

受 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导的细胞凋亡。

## 9 恶性肿瘤

### 9.1 宫颈癌

Zhu 和 Zhang<sup>[43]</sup>研究了 LBP 对 HeLa 细胞（人宫颈癌细胞）的抗增殖作用的机制。用 6.25mg/L LBP 孵育 HeLa 细胞 4 天，导致 35% 的细胞生长抑制。当用 6.25-100mg/L LBP 处理 4 天时，观察到细胞凋亡、G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞比例显著下降，流式细胞仪观察到线粒体跨膜电位的损失，激光扫描共聚焦显微镜检测到凋亡细胞内 Ca<sup>2+</sup>浓度剂量依赖性地增加。这些结果表明 LBP 通过诱导线粒体介导的细胞凋亡抑制了 HeLa 细胞的生长。

### 9.2 肝癌

Zhang 等<sup>[44]</sup>报道，100 mg/L LBP 可抑制人肝癌 QGY7703 细胞的增殖，诱导细胞周期阻滞，并显著增加细胞内 Ca<sup>2+</sup>的水平。Chao 等<sup>[45]</sup>发现当大鼠 H-4-II-E 和人肝癌 HA22T/VGH 细胞系与不同浓度的 LBP 一起孵育时，LBP 能抑制细胞增殖、促进 G<sub>2</sub>/M 相位停滞、并刺激 p53 介导的 H-4II-E 和 HA22T/VGH 细胞的凋亡。

Zhang 等<sup>[46]</sup>发现，50-400 mg/L 剂量的 LBP 在 2 天、4 天和 6 天对人肝癌 SMMC-7721 细胞的增殖、细胞周期分布和凋亡有明显影响。LBP-a<sub>4</sub> 在 400 mg/L 剂量下 2 天的抑制活性最高。LBP-a<sub>8</sub>，LBP-a<sub>3</sub>，LBP-a<sub>1</sub> 和 LBP-a<sub>4</sub> 以浓度和时间依赖性方式促进 SMMC-7721 细胞的凋亡。

### 9.3 前列腺癌

Luo 等人<sup>[47]</sup>在体外和体内检测了 LBP 对人前列腺癌细胞生长的影响。LBP 以剂量和时间依赖的方式抑制 PC-3 和 DU-145 细胞的生长，打破他们的 DNA 链并诱导这些细胞的凋亡。LBP 处理后 Bcl-2/Bax 表达的比例也随着剂量-效应关系显著下降。这表明 LBP 调节 Bcl-2 和 Bax 的表达，诱导 PC-3 和 DU-145 细胞凋亡。动物研究表明 LBP 明显抑制裸鼠 PC-3 异种移植物生长，LBP 治疗组肿瘤体积和体重明显减少。



## 9.4 白血病

白血病是白细胞和骨髓的癌症。白血病有四种主要亚型：①急性髓性白血病，②急性淋巴细胞白血病，③慢性粒细胞白血病，④慢性淋巴细胞白血病。甘璐等<sup>[48]</sup>发现大约 20-1000 mg/L LBP 以剂量依赖性方式抑制人早幼粒细胞白血病 HL-60 细胞的生长，还通过 DNA ladder 和末端脱氧核苷酸转移酶（dUTP）缺口末端标记测定试验发现 LBP 能诱导 HL-60 细胞凋亡。

## 10 总结

枸杞作为传统中药是近几年的研究开发热点，在预防和治疗许多慢性疾病方面都取得了明显的效果。最近的研究表明，LBP 具有多种重要的生物活性，如抗氧化，免疫调节，抗肿瘤，神经保护，辐射防护等。因此，LBP 作为营养保健品和药品具有进一步发展的巨大潜力。然而，这些生物活性大多数只是在体外或小鼠模型中进行了研究，尚缺乏这些活性对人类受试者的影响的试验。另外，这些生物活性的发挥除了与调节细胞凋亡相关外，是否还与其他因素有关尚需进一步研究。

## 参考文献

- [1] Amagase H, Farnsworth N R. A review of botanical characteristics, phytochemistry, clinical relevance in efficacy and safety of Lycium barbarum fruit (Goji)[J]. Food Research International, 2011, 44(7):1702–1717.
- [2] Xin Y F, Wan L L, Peng J L, et al. Alleviation of the acute doxorubicin-induced cardiotoxicity by Lycium barbarum polysaccharides through the suppression of oxidative stress[J]. Food and Chemical Toxicology, 2011, 49(1):259–264.
- [3] Potterat O. Goji (Lycium barbarum and L. chinense): Phytochemistry, pharmacology and safety in the perspective of traditional uses and recent popularity[J]. Planta Med, 2010, 76(1): 7-19
- [4] Shan X Z, Zhou J L, Ma T, et al. Lycium barbarum Polysaccharides Reduce Exercise-Induced Oxidative Stress[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2011, 12(2):1081–1088.
- [5] 齐春会, 黄琳娟, 张永祥,等. 枸杞糖缀合物及糖链的化学结构与免疫活性[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2001, 15(3):185-190.
- [6] Cui B K, Liu S, Lin X J, et al. Effects of Lycium Barbarum Aqueous and Ethanol Extracts on High-Fat-Diet Induced Oxidative Stress in Rat Liver Tissue[J]. Molecules, 2011, 16(11):9116–9128.
- [7] He N, Yang X B, Jiao Y D, et al. Characterisation of antioxidant and antiproliferative acidic polysaccharides from Chinese wolfberry fruits[J]. Food Chemistry, 2012, 133(3):978–989.
- [8] Liang B, Jin M L, Liu H B. Water-soluble polysaccharide from dried Lycium barbarum fruits: Isolation, structural features and antioxidant activity[J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 83 (4):1947–1951.
- [9] Chen Z, Tan B K H, Chan S.H. Activation of T lymphocytes by polysaccharide–protein complex from Lycium barbarum L[J]. International Immunopharmacology, 2008, 8(12):1663–1671.

- [10]Chen Z S, Lu J H, Srinivasan N, et al. Polysaccharide-Protein Complex from Lycium barbarum L. Is a Novel Stimulus of Dendritic Cell Immunogenicity[J]. Journal of Immunology, 2009, 182(6):3503–3509.
- [11]Chen Z S, Soo M Y, Srinivasan N, et al. Activation of macrophages by polysaccharide–protein complex from Lycium barbarum L.[J]. Phytotherapy Research, 2009, 23(8):1116–1122.
- [12]Zhang X R, Zhou W X, Zhang Y X, et al. Macrophages, rather than T and B cells are principal immunostimulatory target cells of Lycium barbarum L. polysaccharide LBPF4-OL[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2011, 136 (3):465–472.
- [13]Zhu J, Zhao L H, Zhao X P, et al. Lycium barbarum polysaccharides regulate phenotypic and functional maturation of murine dendritic cells[J]. Cell Biology International, 2007, 31(6):615–619.
- [14]Huang X, Zhang Q Y, Jiang Q Y, et al. Polysaccharides derived from Lycium barbarum suppress IGF-1-induced angiogenesis via PI3K/HIF-1 $\alpha$ /VEGF signalling pathways in MCF-7 cells[J]. Food Chemistry, 2012, 131(4):1479–1484.
- [15]Ke M, Zhang X J, Han Z H, et al. Extraction, purification of Lycium barbarum polysaccharides and bioactivity of purified fraction[J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 86(1):136–141.
- [16]Mao F, Xiao B X, Jiang Z, et al. Anticancer effect of Lycium barbarum polysaccharides on colon cancer cells involves G0/G1 phase arrest[J]. Medical Oncology, 2011, 28(1):121–126.
- [17]Miao Y, Xiao B X, Jiang Z, et al. Growth inhibition and cell-cycle arrest of human gastric cancer cells by Lycium barbarum polysaccharide[J]. Medical Oncology, 2010, 27(3):785–790.
- [18]Lau B W M, Lee J C D, Li Y, et al. Polysaccharides from Wolfberry Prevents Corticosterone-Induced Inhibition of Sexual Behavior and Increases Neurogenesis[J]. PLoS ONE, 2012, 7:e33374.
- [19]Gong H Y, Shen P, Jin L, et al. Therapeutic Effects of Lycium barbarum Polysaccharide (LBP) on Irradiation or Chemotherapy-Induced Myelosuppressive

- Mice[J]. *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals*, 2005, 20(2):155–162.
- [20] Luo Q, Cui X Y, Yan J, et al. Antagonistic effects of Lycium barbarum polysaccharides on the impaired reproductive system of male rats induced by local subchronic exposure to  $^{60}\text{Co}$  -  $\gamma$  irradiation[J]. *Phytotherapy Research*, 2011, 25(5):694–701.
- [21] Zhao R, Li Q W, Li J, et al. Protective effect of Lycium barbarum polysaccharide 4 on kidneys in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 2009, 87(9):711–719.
- [22] Zou S, Zhang X, Yao W B, et al. Structure characterization and hypoglycemic activity of a polysaccharide isolated from the fruit of Lycium barbarum L.[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2010, 80(4):1161–1167.
- [23] Cheng D, Kong H, The Effect of Lycium Barbarum Polysaccharide on Alcohol-Induced Oxidative Stress in Rats[J]. *Molecules*, 2011, 16(3):2542–2550.
- [24] Xiao J, Liang E C, Ching Y P, et al. Lycium barbarum polysaccharides protect mice liver from carbon tetrachloride-induced oxidative stress and necroinflammation[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2012, 139(2):462–470.
- [25] Zhu M Y, Mo J G, He C S, et al. Extraction, characterization of polysaccharides from lycium barbarum and its effect on bone gene expression in rats[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2010, 80(3):672–676.
- [26] Lu S P, Zhao P T. Chemical characterization of Lycium barbarum polysaccharides and their reducing myocardial injury in ischemia/reperfusion of rat heart[J]. *Int J Biol Macromol*, 2010, 47(5):681–684.
- [27] Wang T, Li Y, Wang Y, et al. Lycium barbarum polysaccharide pre-vents focal cerebral ischemic injury by inhibiting neuronal apoptosis in mice[J]. *PLoS One*. 2014, 9(3):e90780.
- [28] Yu M S, Leung S K, Lai S W, et al. Neuroprotective effects of anti-aging oriental medicine Lycium barbarum against b-amyloid peptide neurotoxicity[J]. *Exp Gerontol*, 2005, 40(8–9):716–727.
- [29] Yu M S, Lai C S, Ho Y S, et al. Characterization of the effects of anti-aging

- medicine Fructus lycii on  $\beta$ -amyloid peptide neurotoxicity[J]. *Int J Mol Med*, 2007, 20(2):261–268.
- [30]Wu C X, Wang T F, Yu J Q. Lycium barbarum Polysaccharide Pretreatment Attenuates Cerebral Ischemic Reperfusion Injury by Inhibiting Apoptosis in Mice[J]. *Zhong Yao Cai*, 2015,38: 1454-1459
- [31]Xiao J, Zhu Y, Liu Y, et al. Lycium barbarum polysaccharide attenuates alcoholic cellular injury through TXNIP-NLRP3 inflammasome pathway[J]. *Int J Biol Macromol*, 2014, 69:73–78.
- [32]Xiao J, Liong E C, Ching Y P, et al. Lycium barbarum polysaccharides protect rat liver from non-alcoholic steatohepatitis-induced injury[J]. *Nutr Diabetes*, 2013, 3:e81.
- [33]Wu H, Guo H, Zhao R. Effect of Lycium barbarum polysaccharide on the improvement of antioxidant ability and DNA damage in NIDDM rats[J]. *Yakugaku Zasshi*, 2006, 126(5):365–371.
- [34]Yuan L G, Deng H B, Chen L H, et al. Reversal of apoptotic resistance by Lycium barbarum glycopeptide 3 in aged T cells[J]. *Biomed Environ Sci*, 2008, 21: 212-217.
- [35]Huyan T, Li Q, Yang H, et al. Protective effect of polysaccharides on simulated microgravity-induced functional inhibition of human NK cells[J]. *Carbohydr Polym*, 2014, 101: 819-827.
- [36]Zhou J, Pang H, Li W B, et al. Effects of Lycium barbarum Polysaccharides on Apoptosis, Cellular Adhesion, and Oxidative Damage in Bone Marrow Mononuclear Cells of Mice Exposed to Ionizing Radiation Injury[J]. *BioMed research international*, 2016, 2016:4147879.
- [37]Zhang C, Wang A, Sun X, et al. Protective effects of Lycium barbarum polysaccharides on testis spermatogenic injury induced by bisphenol A in mice[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013, 2013:690808.
- [38]谭秋慧, 安长新, 萧云,等. 枸杞多糖对热应激大鼠生精细胞凋亡的保护作用及其机制研究[J]. *中华男科学杂志*, 2012, 18(1):88–92.

- [39]张卫星, 王华礼, 王瑞,等. 中药单体及其组方对  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$ 致小鼠生精功能障碍的治疗 [J]. 中华男科学杂志, 2010, 16(5):474–479.
- [40]Luo Q, Cui X, Yan J, et al. Antagonistic effects of *Lycium barbarum* polysaccharides on the impaired reproductive system of male rats induced by local subchronic exposure to  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  irradiation[J]. *Phytother Res*, 2011, 25(5):694–701.
- [41]Li SY, Yang D, Yeung CM, et al. *Lycium barbarum* polysaccharides reduce neuronal damage, blood–retinal barrier disruption and oxidative stress in retinal ischemia/reperfusion injury[J]. *PLoS One*, 2011, 6(1):e16380.
- [42]Amagase H, Sun B, Borek C. *Lycium barbarum* (goji) juice improves in vivo antioxidant biomarkers in serum of healthy adults[J]. *Nutr Res*, 2009, 29:19-25.
- [43]Zhu C P, Zhang S H. *Lycium barbarum* polysaccharide inhibits the proliferation of HeLa cells by inducing apoptosis[J]. *J Sci Food Agric*, 2013, 93(1):149–156.
- [44]Zhang M, Chen H, Huang J, et al. Effect of *Lycium barbarum* polysaccharide on human hepatoma QGY7703 cells: inhibition of proliferation and induction of apoptosis[J]. *Life Sci*, 2005, 76(18):2115–2124.
- [45]Chao J C, Chiang S W, Wang C C, et al. Hot water-extracted *Lycium barbarum* and *Rehmannia glutinosa* inhibit proliferation and induce apoptosis of hepatocellular carcinoma cells[J]. *World J Gastroenterol*, 2006, 12(28):4478–4484.
- [46]Zhang M, Tang X, Wang F, et al. Characterization of *Lycium barbarum* polysaccharide and its effect on human hepatoma cells[J]. *Int J Biol Macromol*, 2013, 61:270–275.
- [47]Luo Q, Li Z, Yan J, et al. *Lycium barbarum* polysaccharides induce apoptosis in human prostate cancer cells and inhibits prostate cancer growth in a xenograft mouse model of human prostate cancer[J]. *J Med Food*, 2009, 12(4):695–703.
- [48]甘璐, 王建华, 张声华,等. 枸杞多糖抑制人白血病细胞生长的研究[J]. 卫生研究, 2001, 30(6):333–335.

## 致 谢

人生不过寥寥数十载，很感恩我最青春洋溢、最激情奋斗的时光在重庆医科大学学习和生活中度过。还记得初入校园的紧张与期待，记得第一次进行文献汇报的忐忑与慌乱，仍能回想起每次实验取得阶段性成果的欢呼雀跃，也难以忘却实验过程的艰难不易。科研工作教会我的是吃苦耐劳、坚韧不拔、严谨求实，而临床工作带给我另一番感悟——对病人要关怀、对生命需敬畏。这些将成为我未来工作和生活乃至影响整个人生的不竭动力。

在过去的三年里，有很多人帮助过我，首先我想衷心的感谢我的导师庞华教授，感谢她在研究生期间给予我学习和工作中的指导，培养我的科研思路及方法，毫无保留的教授我临床诊断经验及医患沟通技巧；感谢她在生活上对我无微不至的关怀和照顾。在此，要向我的老师庞华教授表示衷心的感谢！

特别想感谢的是我的父母，从小父母就特别支持我学习，为了给我提供好的学习条件付出了许多心血和时间。研究生期间，每当遇到困难挫折的时候，父母总是给予我鼓励和支持，也在我取得成绩时告诉我要戒骄戒躁，感恩他们在我人生路上的陪伴，才能有现在的自己。

另外我想衷心感谢生命科学学院的杨兴凤老师、赵怡老师、袁兰老师对我实验的帮助，衷心感谢核医学基础实验室的彭志平教授对我实验的指导及点评。真诚的感谢敬兴果、段东、程刚、李小放等几位教授的帮助及指导，让我在科室轮转期间学到了许多临床知识。真诚的感谢管丽丽老师、王洁老师、李欢欢老师、胡凤琼护士长等，让我学习到了核医学的基本技能操作以及核医学影像报告的书写及诊断。感谢王英，我的同门、我的战友，感谢她在这三年期间与我并肩作战，齐心协力完成实验及临床工作。感谢王政杰、许璐、李文波、周静、刘倩、刘影、张磊、李佳等师兄师姐们，在我学习生活中提供的帮助和关心。

感谢重庆医科大学生命科学院公共实验平台、重庆医科大学动物实验中心和重医附一院肿瘤科放疗中心，你们提供的条件是我完成实验的坚实基础。

最后，由衷的感谢参与论文评审和答辩的各位专家教授！

## 攻读学位期间发表的学术论文

1. 黄欢, 庞华\*, 王英等, 枸杞多糖对电离辐射所致小鼠骨髓单核细胞凋亡的抑制作用[J]. 环境与职业医学, 2018, 35 (10) :933-937.
2. 王英, 庞华\*, 黄欢等, 沉默 CITED1 基因对甲状腺乳头状癌 K1 细胞的生物形态学影响[J]. 肿瘤, 2018, 38 (09) : 840-846,900.