

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2023.16.006

黄芪多糖基于 PI3K/Akt 通路对食管癌大鼠抑瘤作用及免疫功能的影响 *

陈耀华¹ 豆亚伟¹ 周理乾² 孙孟锐² 樊国峰^{2Δ}

(陕西省人民医院 1 胸外科; 2 放射科 陕西 西安 710068)

摘要 目的:探究黄芪多糖(APS)对食管癌(EPC)模型大鼠的抑瘤作用、免疫功能及磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)/蛋白激酶 B(Akt)信号通路的影响。**方法:**选取 6 周龄 SPF 级健康 SD 大鼠 50 只,随机分为模型组(M 组)、顺铂组(S 组)、黄芪多糖低剂量组(APSL)、黄芪多糖中剂量组(APSM)、黄芪多糖高剂量组(APSH),每组 10 只。通过移植人食管癌 Eca109 细胞建立 EPC 模型,分别给予 3 mg/kg 顺铂和 100、200、400 mg/kg 的 APS 干预。测量各组大鼠肿瘤体积和肿瘤质量,计算肿瘤生长抑制率、胸腺指数和脾指数,HE 染色观察肿瘤组织形态学,采用流式细胞仪检测外周血 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺T 淋巴细胞群,Western blot 测定各组肿瘤组织中 PI3K 和 Akt 蛋白的相对表达。**结果:**经干预后,S 组和各 APS 组大鼠肿瘤体积和肿瘤质量均显著小于 M 组($P<0.05$);S 组和 APSH 组肿瘤体积和肿瘤质量均显著小于 APSM 和 APSL 组 ($P<0.05$);APSM 组大鼠肿瘤体积和肿瘤质量显著小于 APSL 组 ($P<0.05$);APSH、APSM 和 APSL 组的抑瘤率分别为 45.59%、32.35%和 17.65%。S 组大鼠的胸腺指数和脾指数均显著低于 M 组 ($P<0.05$);各 APS 组大鼠的胸腺指数和脾指数均显著高于 S 组($P<0.05$);APSH 和 APSM 组大鼠胸腺指数和脾指数均显著高于 M 组($P<0.05$)。各 APS 组大鼠 CD3⁺、CD4⁺ 和 CD4⁺/CD8⁺ 均显著高于 S 组和 M 组,而 CD8⁺ 均显著低于 S 组和 M 组($P<0.05$);APSH、APSM 和 APSL 组之间两两相比亦均有统计学差异($P<0.05$)。S 组和各 APS 组 PI3K/Akt 信号通路蛋白的相对表达均显著低于 M 组($P<0.05$);APSH、APSM 和 APSL 组之间两两相比亦均有统计学差异($P<0.05$)。**结论:**APS 可通过调控 PI3K/Akt 信号通路和改善免疫功能,发挥对 EPC 的抑制作用,为临床治疗 EPC 提供了新的思路 and 理论依据。

关键词:黄芪多糖;食管癌;抑瘤作用;免疫功能;PI3K/Akt 信号通路

中图分类号:R-33;R735.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2023)16-3032-05

Influences of Astragalus Polysaccharide on Anti-tumor Effect and Immune Function of Esophageal Carcinoma Rats through PI3K/Akt Signal Pathway*

CHEN Yao-hua¹, DOU Ya-wei¹, ZHOU Li-qian², SUN Meng-kun², FAN Guo-feng^{2Δ}

(1 Department of Thoracic Surgery; 2 Department of Radiology, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710068, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the influences of astragalus polysaccharide(APS) on anti-tumor effect and immune function of esophageal carcinoma(EPC) rats through phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B (PI3K/Akt) signal pathway. **Methods:** 50 healthy 6-week-old SPF grade SD rats were randomly divided into model group (group M), cisplatin group (group S), APS low dosage group (group APSL), APS middle dosage group (group APSM) and APS high dosage group (group APSH), with 10 rats in each group. EPC model rats were established by transplantation of Eca109 cells, and 3mg/kg cisplatin and 100, 200, 400 mg/kg APS were given to each rat. Tumor volume and tumor mass were detected, tumor growth inhibition rate, thymus index and spleen index were calculated, histomorphology was observed by HE staining, CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺T lymphocyte population were detected by flow cytometer, the relative expressions of PI3K and Akt protein were detected by Western blot. **Results:** After intervention, tumor volume and tumor mass of group S and group APS were all lower than group M ($P<0.05$); the tumor volume and tumor mass of group S and group APSH were all lower than group APSM and group APSL ($P<0.05$); the tumor growth inhibition rate of each APS group were 45.59%, 32.35% and 17.65%. The thymus index and spleen index of group S were lower than group M($P<0.05$); the thymus index and spleen index of each APS group were all higher than group S ($P<0.05$); while group APSH and APSM were higher than group M ($P<0.05$). The CD3⁺, CD4⁺ and CD4⁺/CD8⁺ of each APS group were higher than group S and group M, while the CD8⁺ was lower ($P<0.05$); group APSH, APSM and APSL also had statistical differences ($P<0.05$). The relative expressions of PI3K/Akt signal pathway protein of group S and each APS group were lower than group M($P<0.05$); group APSH, APSM and APSL also had statistical differences($P<0.05$). **Conclusion:** APS exerts inhibition effect on EPC via regulation of PI3K/Akt signal pathway and immune function, which can provide new thought and theoretical basis for clinical treatment of EPC.

Key words: Astragalus polysaccharide; Esophageal carcinoma; Anti-tumor effect; Immune function; PI3K/Akt signal pathway

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R735.1 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2023)16-3032-05

* 基金项目:陕西省重点研发计划项目(2023-YBSF-021)

作者简介:陈耀华(1985-),男,硕士研究生,主治医师,研究方向:肺癌食管癌疾病的相关研究,E-mail: scxyh1985@163.com

Δ 通讯作者:樊国峰(1984-),男,硕士研究生,主治医师,研究方向:肺癌及乳腺癌的影像诊断,E-mail: scxyh1985@163.com

(收稿日期:2023-03-07 接受日期:2023-03-31)

前言

食管癌(esophageal carcinoma, EPC)是常见的消化道恶性肿瘤之一,在全球范围内恶性肿瘤的发病率排第7位,死亡率排第6位^[1],我国为EPC的高发地区,位居我国恶性肿瘤死亡率的第4位^[2]。EPC恶性程度较高,侵袭性高,外科手术结合放化疗为目前临床上治疗EPC的主要手段,然而由于其对放化疗较为耐受,术后易复发,以及不良反应严重等原因,导致疗效不佳,患者总体预后较差,因此寻找新的治疗靶点和更为安全有效的治疗方法,对于提高疗效和改善EPC患者的预后至关重要^[3]。祖国传统医学在肿瘤治疗领域的研究不断深入,诸多中草药已被广泛应用于包括肺癌、胃癌、肠癌等在内的多种恶性肿瘤的辅助治疗之中,并逐渐凸显出了增效减毒的优势,从传统天然植物中寻找有效的抗肿瘤活性成分成为目前研究的热点之一^[4]。黄芪多糖(astragalus polysaccharide, APS)是提取自中药黄芪的主要有效成分,具有抗炎、抗病毒、抗氧化、抗肿瘤以及增强免疫力等诸多功效,业已证实其在心血管疾病、自身免疫性疾病和一些恶性肿瘤方面具有良好的疗效^[5,6]。既往研究^[7]证实,免疫功能紊乱是恶性肿瘤发生和进展的重要基础之一,提高患者免疫功能已成为防治恶性肿瘤及改善预后的关键因素。受体蛋白酪氨酸激酶(receptor protein tyrosine kinase, RPTKs)家族是参与调节细胞增殖、分化、迁移、代谢等关键生物学过程的重要细胞表面受体蛋白,该蛋白家族调控包括RTK/Ras、VEGF/RTK、磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)/蛋白激酶B(Akt)等在内的多条关键的信号通路^[8,9]。然而目前关于APS治疗EPC的研究报道较少,且其具体机制通路尚不明确。因此,本研究拟通过构建EPC大鼠模型,观察不同剂量的APS对EPC大鼠的肿瘤生长情况、免疫功能及PI3K/Akt信号通路的影响,以期提供思路。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 选取6周龄SPF级健康SD大鼠50只,体质量180-200 g,由我院医学动物中心实验室提供,许可证号SYXK(苏)2023-0023,严格按照实验动物饲养规范,常规饲养于恒温恒湿洁净动物房,实验开始前适应性饲养一周,正常昼夜交替,自由饮食饮水。

1.1.2 主要药品及试剂 注射用黄芪多糖:天津赛诺制药有限公司,规格250 mg,国药准字Z0040086;顺铂注射液:江苏豪森药业集团有限公司,规格2 mL:10 mg,国药准字H0040812;RP-MI-1640培养基、胎牛血清、DMEM:美国Gibco公司;青链霉素双抗:美国Sigma公司;4%多聚甲醛溶液、10%水合氯醛溶液、Trizol试剂、RIPA裂解液:上海碧云天生物技术有限公司;MTT、BCA试剂盒:美国Abcam公司;总RNA提取试剂盒、RT-PCR试剂盒:北京索莱宝科技有限公司;兔抗鼠PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt多克隆抗体:美国Invitrogen公司。

1.1.3 主要仪器 细胞培养箱、低温高速离心机、RT-PCR仪:美国Thermo Scientific公司;超净工作台:北京东联哈尔仪器制造有限公司;生物显微镜:奥林巴斯有限公司;多功能酶标仪:

Thermo Fisher公司;流式细胞仪:美国BD公司;石蜡切片机:德国莱卡公司。

1.2 实验方法

1.2.1 分组、造模及给药方案 适应性饲养一周后,将50只大鼠随机分为模型组(M组)、顺铂组(S组)、黄芪多糖低剂量组(APSL)、黄芪多糖中剂量组(APSM)、黄芪多糖高剂量组(APSH),每组10只。所有大鼠均经腋部皮下注射上述细胞悬液0.5 mL建立EPC模型,待肿瘤体积增长至100 mm³即表示造模成功。S组大鼠给予腹腔注射顺铂注射液3 mg/kg,1次/日,连续给药3 d;APSL、APSM和APSH组大鼠分别给予灌喂100、200和400 mg/kg的APS生理盐水溶液,1次/日,连续给药14 d;M组大鼠给予等体积的生理盐水溶液,1次/日,连续14 d。

1.2.2 肿瘤生长情况及抑瘤率 给药结束后断颈处死各只大鼠,以游标卡尺测量瘤体长径(a)和短径(b),计算肿瘤体积(mm³): $V = ab^2\pi/6$;称取瘤体质量,计算肿瘤生长抑制率:抑瘤率 = (M组肿瘤质量 - 各给药组肿瘤质量)/M组肿瘤质量 × 100%。

1.2.3 胸腺指数和脾指数 处死各只大鼠,取其胸腺和脾脏并称重,计算胸腺指数和脾指数,胸腺指数(mg/g) = 胸腺质量(mg)/体质量(g);脾指数(mg/g) = 脾质量(mg)/体质量(g)。

1.2.4 肿瘤组织病理学观察 取部分肿瘤组织,4%多聚甲醛固定,乙醇梯度脱水,石蜡包埋,制作切片,HE染色,显微镜下观察肿瘤组织病理学形态。

1.2.5 免疫功能变化 给药结束后断颈处死各只大鼠,自心尖部采血4 mL,采用流式细胞仪检测CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺T淋巴细胞群。

1.2.6 Western blot 测定 PI3K/Akt 信号通路蛋白的相对表达 取各组大鼠肿瘤组织,研磨,匀浆,裂解提取总蛋白,上样,电泳,封闭,加入抗体孵育、显色,以GAPDH为内参,Image Lab软件处理分析各组PI3K和Akt蛋白的相对表达。

1.3 统计学方法

应用SPSS 23.0分析。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,比较采用t检验,多组间比较采用ANOVA方差分析,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠一般情况

造模后,各组大鼠进食和饮水量均显著减少;M组大鼠活动减少,反应迟钝,毛发干枯无光泽,身形消瘦,大便呈稀糊状;S组和各APS组大鼠随着治疗的进展,进食进水量均有所增加,活动逐渐自如,体毛逐渐恢复光泽,大便逐渐成形;实验过程中各组大鼠均未出现死亡。

2.2 肿瘤生长情况及抑瘤率

S组和各APS组大鼠肿瘤体积和肿瘤质量均显著小于M组($P < 0.05$);S组和APSH组之间肿瘤体积和肿瘤质量相比无统计学差异($P > 0.05$),且两组均显著小于APSM和APSL组($P < 0.05$);APSM组大鼠肿瘤体积和肿瘤质量显著小于APSL组($P < 0.05$),见表1。

表 1 各组大鼠肿瘤体积、质量及抑瘤率比较($\bar{x} \pm s$, n=10)

Table 1 Comparison of tumor volume, mass, and tumor suppression rate in each group of rats ($\bar{x} \pm s$, n=10)

Groups	Tumor volume (mm ³)	Tumor mass (g)	The tumor suppressor rate was (%)
Group M	1584.45± 105.43	1.36± 0.23	-
Group S	790.12± 89.78*	0.71± 0.11*	47.79
Group APSH	801.23± 93.34*	0.74± 0.15*	45.59
Group APSM	1022.56± 99.88*#	0.92± 0.21*#	32.35
Group APSL	1218.78± 110.44*#	1.12± 0.22*#	17.65
F	109.544	20.667	
P	<0.001	<0.001	

Note: * $P<0.05$ compared with M; # $P<0.05$ compared with S, the same below.

2.3 胸腺指数和脾指数

($P<0.05$); APSH 和 APSM 组大鼠胸腺指数和脾指数均显著

S 组大鼠的胸腺指数和脾指数均显著低于 M 组 ($P<0.05$); 高于 M 组 ($P<0.05$), 而 APSL 组与 M 组无统计学差异 ($P>0.05$); 各 APS 组大鼠的胸腺指数和脾指数均显著高于 S 组 ($P<0.05$), 见表 2。

表 2 各组大鼠胸腺指数和脾指数比较($\bar{x} \pm s$, n=10)

Table 2 Comparison of thymus index and spleen index in rats of each group ($\bar{x} \pm s$, n=10)

Groups	Thymus Index (mg/g)	Spleen Index (mg/g)
Group M	1.85± 0.43	5.16± 1.51
Group S	1.22± 0.48*	4.01± 1.09*
Group APSH	2.23± 0.33*#	7.49± 1.15*#
Group APSM	2.06± 0.18*#	6.12± 1.22*#
Group APSL	1.88± 0.20 [†]	5.22± 1.09 [†]
F	12.284	11.230
P	<0.001	<0.001

2.4 肿瘤组织形态学观察

S 组和 M 组大鼠外周血 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 和 CD4⁺/CD8⁺

HE 染色可见, M 组大鼠肿瘤细胞排列无序, 细胞核大小不一, 核分裂增多, 颜色深染, 鳞状细胞过度增生; 与 M 组相比, S 组和各 APS 组大鼠肿瘤细胞排列较为规则有序, 细胞多数淡染, 核分裂减少, 增生有所减弱。

相比均无统计学差异 ($P>0.05$); 各 APS 组大鼠 CD3⁺、CD4⁺ 和 CD4⁺/CD8⁺ 均显著高于 S 组和 M 组, 而 CD8⁺ 均显著低于 S 组和 M 组 ($P<0.05$); APSH、APSM 和 APSL 组之间两两相比亦均有统计学差异 ($P<0.05$), 见表 3。

2.5 各组大鼠免疫功能比较

表 3 各组大鼠外周血免疫细胞比较($\bar{x} \pm s$, n=10)

Table 3 Comparison of immune cells in peripheral blood of each group ($\bar{x} \pm s$, n=10)

Groups	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
Group M	27.15± 3.23	12.36± 1.11	18.45± 2.98	0.67± 0.22
Group S	26.84± 2.99	11.89± 1.02	18.67± 2.37	0.64± 0.19
Group APSH	39.22± 4.19*#	19.89± 1.96*#	11.38± 1.73*#	1.74± 0.39*#
Group APSM	34.97± 3.23*#	17.12± 1.72*#	14.89± 2.02*#	1.15± 0.33*#
Group APSL	31.66± 3.89*#	15.09± 1.10*#	16.17± 2.12*#	0.93± 0.27*#
F	22.244	54.330	17.120	24.203
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.6 PI3K/Akt 信号通路蛋白的相对表达比较

PI3K/Akt 信号通路蛋白的相对表达均较高 ($P<0.05$); APSH、

与 M 组相比, S 组和各 APS 组 PI3K/Akt 信号通路蛋白的相对表达均显著降低 ($P<0.05$); 与 S 组相比, 各 APS 组

APSM 和 APSL 组之间两两相比亦均有统计学差异 ($P<0.05$), 见表 4。

表 4 各组大鼠 PI3K/Akt 信号通路蛋白的相对表达比较($\bar{x} \pm s$, n=10)Table 4 Comparison of relative expression of PI3K / Akt signaling pathway in rats ($\bar{x} \pm s$, n=10)

Groups	PI3K	Akt
Group M	1.03± 0.20	1.06± 0.11
Group S	0.45± 0.17*	0.41± 0.09*
Group APSH	0.59± 0.19**	0.57± 0.11**
Group APSM	0.74± 0.21**	0.72± 0.12**
Group APSL	0.91± 0.27**	0.89± 0.19**
F	12.360	39.644
P	<0.001	<0.001

3 讨论

EPC 是临床上恶性程度较高的消化道恶性肿瘤,且早期无明显症状,多数患者确诊时已处于晚期,预后较差,因此早期诊断、早期治疗对于 EPC 患者的预后至关重要^[10]。外科根治术、放化疗是治疗该病治疗的主要手段,但仍有部分患者术后复发,或并发诸多不良反应,甚至不能耐受而放弃治疗,寻找更为安全有效的治疗手段,提升对 EPC 的疗效,减少不良反应及耐药性,改善患者的预后,成为目前亟待解决的难题^[11]。

EPC 在中医属“噎膈”范畴,气机郁滞、瘀血顽痰为其主要病机。《黄帝内经》记载:“正气存内、邪不可干,邪之所凑、其气必虚。”人体脏腑功能正常,体内正气旺盛,气血充盈,卫外固密,邪气就不易侵犯;反之,邪气之所以侵犯人体,必定是由于正气的虚弱^[12]。中药抗肿瘤在临床上已逐步广泛应用,目前研究已发现的具有抗肿瘤活性的中药单体主要有黄酮类、多糖类、萜类、酚类和挥发油类等,具有剂量低、细胞毒性小、靶向性强、见效快等优势,已成为近年来的研究热点^[13,14]。黄芪为豆科植物膜荚黄芪或蒙古黄芪的干燥根,性温、味甘,为我国传统医学中经典的补气药,具有补气固表、托疮生肌、托毒排脓之功效^[15],其含有 APS、黄芪黄酮(astragalus flavonoids, AFS)和黄芪皂苷(astragalus saponins, AST)等多种活性成分,APS 为其中主要的水溶性成分,现代药理学研究表明,其具有抗炎、抗病毒、抗氧化、抗肿瘤以及增强免疫力等多种功效,广泛应用于临床多种疾病的治疗之中^[16]。本研究通过移植建立 EPC 大鼠模型,并给予不同剂量的 APS 干预,结果显示,EPC 模型大鼠经 APS 干预后,肿瘤细胞排列较 M 组明显规则有序,核分裂减少,增生有所减弱;此外,各 APS 组大鼠肿瘤体积和肿瘤质量均显著小于 M 组,提示 APS 对 EPC 具有显著的抑制作用,APSH、APSM 和 APSL 组的抑瘤率分别为 45.59%、32.35%和 17.65%,APS 对肿瘤的抑制作用呈现剂量依赖性。林霄月等^[17]应用注射用黄芪多糖干预 HepG2 荷瘤小鼠,结果显示了良好的抑瘤作用,其机制可能与调控抗原 Ki-67、缺氧诱导因子-1 α 、血管内皮生长因子的表达来实现的。刘艳玲等的研究^[18]同样显示,APS 对 Lewis 肺癌具有明显的抑制作用,APS 高、中、低剂量组对 Lewis 肺癌模型小鼠肿瘤的抑制率分别为 45.00%、38.64%、30.00%,其抑瘤作用呈剂量依赖性。

随着研究深入,免疫疗法已成为既手术和放化疗之外的一

项重要治疗手段,改善患者的免疫功能已成为防治恶性肿瘤的关键^[19]。Chra 等^[20]报道称,肿瘤的发生发展的全过程与宿主免疫状态有密切的关系,自然杀伤(natural killer, NK)细胞和 T 细胞亚群在机体抗肿瘤免疫反应过程中发挥重要的调节作用。Wu 等^[21]在 H22 肝癌异种移植小鼠模型体内的研究显示,APS 对肝癌具有良好的抗肿瘤和免疫调节活性,APS 可通过改善小鼠的胸腺指数和脾指数,提高巨噬细胞吞噬能力,改善免疫应答而发挥抗肿瘤活性。CD3⁺是 T 细胞成熟的标志,可反映 T 细胞的总量;CD4⁺T 细胞为细胞免疫的中枢,可辅助 B 淋巴细胞产生抗体并杀伤肿瘤细胞;CD8⁺T 细胞主要作用为抑制免疫,对细胞免疫进行负调控;CD4⁺/CD8⁺可反映机体免疫功能状态^[22]。胸腺指数和脾指数是衡量机体免疫功能的重要指标^[23]。本研究发现,各 APS 组大鼠的胸腺指数和脾指数均显著高于 S 组,APSH 和 APSM 组大鼠胸腺指数和脾指数均显著高于 M 组;此外各 APS 组大鼠外周血 CD3⁺、CD4⁺和 CD4⁺/CD8⁺均显著高于 S 组和 M 组,而 CD8⁺均显著低于 S 组和 M 组,提示 APS 可显著增强 EPC 大鼠的免疫功能,从而产生抗肿瘤作用。此外,不同剂量 APS 组之间外周血免疫细胞的含量亦有统计学差异,提示 APS 对免疫功能的调节呈剂量依赖性。

既往研究^[24,25]表明,PI3K/Akt 信号通路是调节细胞生长、增殖、分化、代谢和骨架重组的重要转导通路之一,其可影响肿瘤的发生发展。PI3K/Akt 信号通路的活化可促进 VEGF 和血管生成素-1 等内皮活性因分泌,促进内皮细胞增殖,抑制微管蛋白乙酰化,促进上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)来改变自身细胞的特性,而 EMT 是肿瘤细胞浸润与转移的关键环节;此外,PI3K/Akt 信号通路还可上调基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)的表达而促进细胞间质 E-Cad 的降解,提高核转录因子 Slug 和 Snail 的表达水平,从而抑制 E-cad 蛋白表达^[26,27]。在本研究中,各剂量的 APS 干预 EPC 模型大鼠后,其 PI3K/Akt 信号通路蛋白的相对表达均较 M 组显著降低,提示 APS 可通过下调 PI3K/Akt 信号通路来实现对 EPC 的抑制作用和免疫调节作用;此外,APSH、APSM 和 APSL 组之间 PI3K/Akt 信号通路蛋白的相对表达亦有统计学差异,提示 APS 对 PI3K/Akt 信号通路的调控作用呈剂量依赖性。盛杰霞等研究^[28]发现,华蟾素对肿瘤生长具有明显的抑制作用,与环磷酰胺的作用相似,且随着剂量的增加,对肿瘤的抑制率也相应增大,同时肿瘤组织中 p-PI3K 和 p-Akt 蛋白的表达也

显著降低,提示华蟾素对肿瘤的抑制作用可能与 PI3K/Akt 信号通路有关。韦燕飞等^[29]报道,多种黄酮类中药单体均具有抗肿瘤作用,其可能是通过下调 PI3K/Akt 信号通路,抑制细胞增殖和 EMT,从而诱导肿瘤细胞自噬和凋亡而实现的。

综上所述,本研究表明,APS 可通过调控 PI3K/Akt 信号通路和改善免疫功能,发挥对 EPC 的抑制作用,为临床治疗 EPC 提供了新的思路 and 理论依据。但本研究尚存一定的不足,未对下游具体的机制通路进行研究,后续仍需进一步的深入探索。

参考文献(References)

- [1] Qin H, Li Y, Zhang H, et al. Prognostic implications and oncogenic roles of MYBL2 protein expression in esophageal squamous-cell carcinoma[J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12(1): 1917-1927
- [2] 陈飞, 王悠清. 1990-2019 年中国食管癌疾病负担及其变化趋势分析[J]. *中国肿瘤*, 2021, 30(6): 401-407
- [3] Wang Z, Liu H, Hu Q, et al. Cardamonin inhibits the progression of oesophageal cancer by inhibiting the PI3K/AKT signalling pathway [J]. *J Cancer*, 2021, 12(12): 3597-3610
- [4] Ebbing EA, van der Zalm AP, Steins A, et al. Stromal-derived interleukin 6 drives epithelial-to-mesenchymal transition and therapy resistance in esophageal adenocarcinoma[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116(6): 2237-2242
- [5] Higashino N, Koma YI, Hosono M, et al. Fibroblast activation protein-positive fibroblasts promote tumor progression through secretion of CCL2 and interleukin-6 in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Lab Invest*, 2019, 99(6): 777-792
- [6] Gu T, Li G, Wu X, et al. Effects of immunopotentiators on biochemical parameters, proinflammatory cytokine, and nonspecific immune responses in Shaoxing ducklings [J]. *Poultry Science*, 2020, 99(11): 5461-5471
- [7] Chen Y, Zhang R, Wang L, et al. Tumor characteristics associated with engraftment of patient-derived non-small cell lung cancer xenografts in immunocompromised mice[J]. *Cancer*, 2019, 125(21): 3738-3748
- [8] Tan AC. Targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway in non-small cell lung cancer (NSCLC)[J]. *Thorac Cancer*, 2020, 11(3): 511-518
- [9] Maphutha J, Twilley D, Lall N. Inhibition of phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) enzyme and human skin carcinoma cell growth by *Combretum apiculatum* Sond [J]. *South Afr J Botany*, 2021, 140(S2): 95-102
- [10] 应江伟, 蔡红卫, 李辉章, 等. 2010-2014 年浙江省肿瘤登记地区食管癌发病与死亡分析[J]. *中国肿瘤*, 2019, 28(2): 88-92
- [11] Wadleigh R G, Salah A, Louis K. Palliative ethanol injections of unresectable advanced esophageal carcinoma combined with chemoradiation[J]. *Am J Med Sci*, 2019, 331(2): 110-112
- [12] 石钢笙, 贺娟.《黄帝内经》"正气"概念内涵辨析[J]. *北京中医药大学学报*, 2020, 43(6): 469-474
- [13] Zheng Y, Ren W, Zhang L, et al. A review of the pharmacological action of astragalus polysaccharide[J]. *Front Pharmacol*, 2020, 11(3): 349
- [14] Wang Y, Zhang Q, Chen Y, et al. Antitumor effects of immunity-enhancing traditional Chinese medicine [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 121(2): 109570
- [15] Tsao S M, Wu T C, Chen J Z, et al. Astragalus Polysaccharide Injection (PG2)Normalizes the Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio in Patients with Advanced Lung Cancer Receiving Immunotherapy [J]. *Integr Cancer Ther*, 2021, 20(2): 1-7
- [16] Huang WC, Kuo KT, Bamodu OA, et al. Astragalus polysaccharide (PG2) ameliorates cancer symptom clusters, as well as improves quality of life in patients with metastatic disease, through modulation of the inflammatory cascade[J]. *Cancers(Basel)*, 2019, 11(8): 1054
- [17] 林霄月, 宋高臣. 注射液黄芪多糖对 HepG2 荷小鼠化疗过程中 Ki-67、HIF-1 α 、VEGF 表达的影响研究 [J]. *北方药学*, 2020, 17(8): 71-72
- [18] 刘艳玲, 袁娟, 郭敏, 等. 基于 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路探讨黄芪多糖对肺癌小鼠免疫功能的影响及对 Th1/Th2 的调节作用 [J]. *中国免疫学杂志*, 2021, 37(6): 676-682
- [19] Zhao X, Liu J, Ge S, et al. Saikosaponin A inhibits breast cancer by regulating Th1/Th2 balance[J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 624
- [20] Chra D, Naim A, Olive D, et al. Tlymphocyte subsets in cancer immunity: Friends or foes[J]. *J Leukoc Biol*, 2019, 105(2): 243-255
- [21] Wu TH, Yeh KY, Wang CH, et al. The combination of astragalus membranaceus and angelica sinensis inhibits lung cancer and cachexia through its immunomodulatory function [J]. *J Oncol*, 2019, 2019(4): 9206951
- [22] Nguyen QP, Deng TZ, Witherden DA, et al. Origins of CD4⁺ circulating and tissue-resident memory T-cells[J]. *Immunology*, 2019, 157(1): 3-12
- [23] Thapa P, Farber DL. The Role of the Thymus in the Immune Response[J]. *Thorac Surg Clin*, 2019, 29(2): 123-131
- [24] Bamodu OA, Kuo KT, Wang CH, et al. Astragalus polysaccharides (PG2) Enhances the M1 Polarization of Macrophages, Functional Maturation of Dendritic Cells, and T Cell-Mediated Anticancer Immune Responses in Patients with Lung Cancer[J]. *Nutrients*, 2019, 11(10): 2264
- [25] Liu G, Sun B Y, Sun J, et al. BRG1 regulates lipid metabolism in hepatocellular carcinoma through the PIK3AP1/PI3K/AKT pathway by mediating GLMP expression [J]. *Dig Liver Dis*, 2022, 54 (5): 692-700
- [26] Fisher L. Retraction: Daphnetin inhibits proliferation and glycolysis in colorectal cancer cells by regulating the PI3K/Akt signaling pathway[J]. *RSC Advances*, 2021, 11(9): 5023
- [27] Wanigasooriya K, Tyler R, Barros-Silva JD, et al. Radiosensitising Cancer Using Phosphatidylinositol-3-Kinase (PI3K), Protein Kinase B (AKT) or Mammalian Target of Rapamycin (mTOR) Inhibitors [J]. *Cancers (Basel)*, 2020, 12(5): 1278
- [28] 盛杰霞, 邓旭, 包军, 等. 华蟾酥毒基通过 FAK/PI3K/Akt 通路抑制食管癌 Kyse-520 细胞迁移和侵袭 [J]. *中国药理学通报*, 2019, 35 (1): 139-145
- [29] 韦燕飞, 刘莎莎, 金丽杰, 等. 黄酮类中药单体通过 PI3K/Akt 信号通路抑制肿瘤的研究进展[J]. *中华中医药学刊*, 2021, 39(10): 6-10, 后插 1