

[文章编号] 1671-587X(2026)02-0375-09

DOI:10.13481/j.1671-587X.20260209

人参果胶醇沉组分对小鼠骨髓源性树突状细胞表型及功能的影响

杨如意, 王煜灵, 杨 巍

(北华大学医学技术学院临床免疫学检验教研室, 吉林 吉林 132013)

[摘 要] **目的:** 探讨人参果胶醇沉组分 (WGPA) 对小鼠骨髓源性树突状细胞 (BMDCs) 表型和功能的影响。**方法:** 采用水提、乙醇沉淀和离子交换层析法提取 3 种 WGPA, 分别为 30% 醇沉组分 (WGPA₃₀)、50% 醇沉组分 (WGPA₅₀) 和 70% 醇沉组分 (WGPA₇₀)。原代培养小鼠 BMDCs, 并分为未成熟 BMDCs 和成熟 BMDCs。采用细胞计数试剂盒 8 (CCK-8) 法检测不同浓度 WGPA 作用下成熟 BMDCs 增殖活性, 确定有效 WGPA 及其适宜浓度。对有效醇沉组分进行相对分子质量、红外光谱和单糖组成分析。将未成熟 BMDCs 和成熟 BMDCs 均随机分为对照组、脂多糖 (LPS) 组 (加入 LPS 干预) 和 WGPA 组 (加入有效 WGPA 干预)。采用流式细胞术检测各组成熟 BMDCs 表面 CD80、CD86 和主要组织相容性抗原-II (MHC-II) 表达水平, 荧光微球吞噬实验检测各组未成熟 BMDCs 吞噬效率, 酶联免疫吸附试验 (ELISA) 方法检测各组成熟 BMDCs 培养上清中 IL-6、IL-12 和 TNF- α 水平。**结果:** CCK-8 法, 与对照组比较, 800 和 1 600 mg·L⁻¹ WGPA₃₀ 组细胞增殖活性均明显升高 ($P < 0.01$), WGPA₅₀ 和 WGPA₇₀ 作用下各组细胞增殖活性无明显变化, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 选用 800 mg·L⁻¹ WGPA₃₀ 进行后续实验。结构分析, WGPA₃₀ 相对分子质量约为 24 230, 是由 α -构型糖苷键连接而成的吡喃糖, 主要单糖组成包括葡萄糖醛酸、木糖、葡萄糖和半乳糖。流式细胞术, 与对照组比较, LPS 组和 WGPA₃₀ 组成熟 BMDCs 表面 MHC-II、CD86 及 CD803 表达水平均明显升高 ($P < 0.01$); 与 LPS 组比较, WGPA₃₀ 组成熟 BMDCs 表面 MHC-II、CD86 和 CD803 表达水平均明显降低 ($P < 0.05$)。与对照组比较, LPS 组和 WGPA₃₀ 组未成熟 BMDCs 吞噬活性均明显降低 ($P < 0.05$)。ELISA 法, 与对照组比较, LPS 组和 WGPA₃₀ 组成熟 BMDCs 上清中 IL-6、IL-12 及 TNF- α 水平均明显升高 ($P < 0.01$); 与 LPS 组比较, WGPA₃₀ 组成熟 BMDCs 上清中 IL-12 和 TNF- α 水平明显降低 ($P < 0.01$), IL-6 水平比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。**结论:** WGPA₃₀ 是由 α -构型糖苷键连接而成的吡喃糖, 包含葡萄糖、半乳糖和葡萄糖醛酸等主要活性成分, 相对分子质量约为 24 230。WGPA₃₀ 可通过促进小鼠 BMDCs 增殖和细胞因子 IL-6、IL-12 及 TNF- α 释放, 提高 BMDCs 表面分子 MHC-II、CD86 及 CD80 表达以及降低 BMDCs 吞噬效率等途径, 促进 BMDCs 成熟, 调节 BMDCs 活性。

[关键词] 人参; 人参果胶; 醇沉组分; 骨髓源性树突状细胞; 脂多糖

[中图分类号] R392.12 **[文献标志码]** A

[收稿日期] 2025-05-05 **[录用日期]** 2025-07-14

[基金项目] 吉林省科技厅科技发展计划项目 (YDZJ202301ZYTS181); 吉林省教育厅大学生创新创业项目 (202310201143)

[作者简介] 杨如意 (2000—), 女, 山东省济南市人, 在读硕士研究生, 主要从事天然植物活性成分提取和生物活性方面的研究。

[通信作者] 杨 巍, 教授, 硕士研究生导师 (E-mail: yangwei@beihua.edu.cn)

©《吉林大学学报 (医学版)》编辑部, 开放获取遵循 CC BY-NC-ND 协议。

© Editorial Board of Journal of Jilin University (Medicine Edition). Open access under CC BY-NC-ND license.

Effects of ginseng pectin alcohol-precipitated fraction on phenotype and function of mouse bone marrow-derived dendritic cells

YANG Ruyi, WANG Yuling, YANG Wei

(Department of Laboratory Immunology, School of Medical Technology, Beihua University, Jilin 132013, China)

ABSTRACT **Objective:** To investigate the effect of whole ginseng pectin alcohol-precipitated polysaccharide fraction (WGPA) on the phenotype and function of mouse bone marrow-derived dendritic cells (BMDCs). **Methods:** Three WGPA fractions were extracted using water extraction, ethanol precipitation, and ion-exchange chromatography: the 30% ethanol-precipitated fraction (WGPA₃₀), the 50% ethanol-precipitated fraction (WGPA₅₀), and the 70% ethanol-precipitated fraction (WGPA₇₀). The primary mouse BMDCs were cultured and categorized into immature BMDCs and mature BMDCs. Cell counting kit-8 (CCK-8) method was used to detect the proliferation activities of mature BMDCs in various groups treated with different concentrations of WGPA to determine the effective WGPA fraction and its appropriate concentration. The effective alcohol-precipitated fraction was analyzed for relative molecular mass, infrared spectrum, and monosaccharide composition. Both immature and mature BMDCs were randomly divided into control group, lipopolysaccharide (LPS) group (treated with LPS), and WGPA group (treated with effective WGPA). Flow cytometry was used to detect the expression levels of CD80, CD86, and major histocompatibility complex class II (MHC-II) on the surface of mature BMDCs in various groups. Fluorescent microsphere phagocytosis assay was used to detect the phagocytic efficiency of immature BMDCs in various groups; enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the levels of interleukin-6 (IL-6), interleukin-12 (IL-12), and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in the culture supernatants of mature BMDCs in various groups. **Results:** The results of CCK-8 method showed that compared with control group, the proliferation activities of mature BMDCs in 800 and 1 600 mg·L⁻¹ WGPA₃₀ groups were significantly increased ($P < 0.01$), while the proliferation activities of mature BMDCs after treated with WGPA₅₀ or WGPA₇₀ showed no significant change ($P > 0.05$). Therefore, 800 mg·L⁻¹ WGPA₃₀ was selected for subsequent experiments. The structural analysis results revealed that WGPA₃₀ had a relative molecular mass of approximately 24 230, and it was a pyranose connected by α -configuration glycosidic bond whose main monosaccharide composition included glucuronic acid, xylose, glucose, and galactose. The flow cytometry results showed that compared with control group, the expression levels of MHC-II, CD86, and CD80 on the surface of mature BMDCs in LPS group and WGPA₃₀ group were significantly increased ($P < 0.01$). Compared with LPS group, the expression levels of MHC-II, CD86, and CD80 on the surface of mature BMDCs in WGPA₃₀ group were significantly decreased ($P < 0.05$). Compared with control group, the phagocytic activities of immature BMDCs in LPS group and WGPA₃₀ group were significantly decreased ($P < 0.05$). The ELISA results showed that compared with control group, the levels of IL-6, IL-12, and TNF- α in the supernatants of mature BMDCs in LPS group and WGPA₃₀ group were significantly increased ($P < 0.01$). Compared with LPS group, the levels of IL-12 and TNF- α in the supernatant of mature BMDCs in WGPA₃₀ group were significantly decreased ($P < 0.01$), while the level of IL-6 showed no statistically significant difference ($P > 0.05$). **Conclusion:** WGPA₃₀ is a pyranose with α -configuration glycosidic bonds which contains primary active components such as glucose, galactose, and glucuronic acid, and has a relative molecular mass of approximately 24 230. WGPA₃₀ promotes the

maturation and modulates the activity of BMDCs by enhancing their proliferation, stimulating the release of cytokines IL-6, IL-12, and TNF- α , upregulating the expression of surface molecules MHC- II, CD86, and CD80, and decreasing their phagocytic efficiency.

KEYWORDS Ginseng; Ginseng pectin; Alcohol-precipitated fraction; Bone marrow-derived dendritic cell; Lipopolysaccharide

人参为多年生五加科植物,具有补益元气、补脾益肺和生津安神等作用^[1]。人参多糖是一种高分子葡聚糖,主要由人参中性糖和人参酸性糖(即人参果胶)组成,其中人参果胶被认为是其主要药理活性组分^[2]。人参果胶结构复杂,富含半乳糖醛酸。现有研究^[3-4]发现:人参果胶具有抗肿瘤、降血糖、抗辐射及免疫调节等多种药理活性。然而,关于人参果胶对树突状细胞(dendritic cell, DC)功能的影响尚未见报道。DC细胞是机体关键的抗原提呈细胞,在启动适应性免疫应答中发挥关键作用,直接影响机体对外界刺激的免疫反应能力。本研究探讨人参果胶醇沉组分(whole ginseng pectin alcohol-precipitated polysaccharide fraction, WGPA)对DC细胞功能的影响,以期深入阐明人参果胶的药理作用提供实验依据,为开发相关生物制品提供新思路。

1 材料与方法

1.1 实验动物、主要试剂和仪器

SPF级雌性ICR小鼠25只,体质量(22 $\pm$ 2)g,购自吉林省长春市亿斯实验动物技术有限公司,生产许可证号:SCXK(吉)2023-0002。本研究动物实验操作经北华大学医学部伦理委员会审查批准(批准编号:2024122001)。人参购自吉林北芝生物科技有限公司,二乙氨基乙基(diethylaminoethyl, DEAE)纤维素购自北京佰尔瑞森生物科技有限公司,重组小鼠粒细胞/巨噬细胞集落刺激因子(recombinant mouse granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, rmGM-CSF)、重组小鼠白细胞介素(interleukin, IL)-4、IL-10和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)均购自美国ABclonal公司。脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)购自北京生工生物工程股份有限公司。IL-6、IL-12和TNF- α 酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒均购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司生物有限公司。荧光标记的小鼠CD80抗体和CD86抗体均购自美国BioLegend公司。荧光标记小鼠主要组织相容性复

合物II(major histocompatibility complex class II, MHC-II)抗体购自杭州联科生物科技股份有限公司,吞噬作用检测试剂盒购自美国赛默飞世尔公司,细胞计数试剂盒8(cell counting kit-8, CCK-8)试剂购自北京鼎国生物技术有限公司。Waters 1515高效液相色谱仪(美国Waters公司),Waters 2414示差检测器(美国Waters公司),Ohpak SB-806M HQ聚合物基质水溶性分子排阻色谱柱(8 mm $\times$ 300 mm)(日本Shodex公司),Infinite 200 PRO多功能酶标仪(瑞士Tecan公司),CytoFLEX LX流式细胞仪(美国Beckman Coulter公司)。

1.2 人参果胶醇沉组分的提取

取1 kg人参饮片,煮沸回流提取3次,每次3 h。合并提取液,60 $^{\circ}$ C减压浓缩至终体积为1.5 L,45 000 r $\cdot$ min⁻¹离心15 min,弃去沉淀。以75%乙醇终浓度醇沉上清液,室温过夜,离心弃上清。向沉淀中加入95%乙醇,充分搅拌直至形成悬浊液,离心弃上清,重复2次。向沉淀中加入无水乙醇,搅拌后离心弃上清,重复2次。将沉淀于60 $^{\circ}$ C水浴中加热蒸除乙醇,得到干燥的人参总多糖。将人参总多糖上样至DEAE-Cellulose离子交换层析柱,分别用蒸馏水和0.5 mol $\cdot$ L⁻¹氯化钠溶液洗脱,收集组分,经透析、浓缩、冻干后,得到WGPA。向WGPA中加入无水乙醇溶解,使乙醇体积分数达到30%,室温放置6 h,离心取沉淀,沉淀复溶冻干得到30%醇沉组分(WGPA₃₀);向上清液中继续加入无水乙醇,使乙醇体积分数达到50%,其余步骤同上,得到50%醇沉组分(WGPA₅₀);以同样的步骤操作,获得70%醇沉组分(WGPA₇₀)。所有组分均冻干保存备用。

1.3 小鼠骨髓源性树突状细胞(bone marrow-derived dendritic cells, BMDCs)的分离和培养

采用颈椎脱臼法处死小鼠,无菌条件下分离双侧股骨和腓骨,剥离肌肉组织,剪开骨两端,反复冲洗骨髓腔,直至变白。收集骨髓冲洗液,1 200 r $\cdot$ min⁻¹离心10 min,弃上清;裂解红细胞,用无血清培养液洗涤、离心后,收集细胞。将收集

的骨髓细胞重悬于含双抗的 RPMI 1640 培养基中(10% 胎牛血清+100 IU·mL⁻¹青霉素+100 mg·L⁻¹链霉素),加入 rmGM-SCF 和 IL-4,使其终浓度均为 20 μg·L⁻¹。培养 3 d 后,将细胞随机分为 2 组:未成熟 BMDCs 组,在 rmGM-SCF 和 IL-4 基础上添加 IL-10 (20 μg·L⁻¹) 抑制成熟;成熟 BMDCs 组,在 rmGM-SCF 和 IL-4 基础上添加 TNF-α (20 μg·L⁻¹) 促进成熟。于第 7 天分别收集 2 组细胞,用于后续实验。

1.4 CCK-8 法检测不同浓度 WGPA 作用下成熟 BMDCs 细胞增殖活性

取成熟 BMDCs 组细胞,调整细胞浓度为 1×10^5 mL⁻¹,接种于 96 孔细胞培养板。分别加入不同浓度(100、200、400、800 和 1 600 mg·L⁻¹)的 3 种 WGPA,并设立仅含完全培养基的对照组。每组设 3 个复孔,培养 48 h。每孔加入 10 μL CCK-8 溶液,孵育 2 h 后,采用酶标仪于 450 nm 波长处测定各孔吸光度(A)值,以 A 值平均值代表各组细胞增殖活性。选择细胞增殖活性最高的 WGPA 组分进行后续实验。

1.5 WGPA 结构分析

1.5.1 相对分子质量测定 采用高效凝胶渗透色谱法(high performance gel permeation chromatography, HPGPC)检测 WGPA 相对分子质量。色谱条件:使用 8 mm×300 mm 串联色谱柱,柱温 40 ℃;样品浓度 5 g·L⁻¹,经 0.22 μm 微孔滤膜过滤后进样,进样量为 30 μL;流速 0.5 mL·min⁻¹,流动相为超纯水。根据不同相对分子质量葡萄糖标准品的出峰时间和相对分子质量的对数绘制标准曲线,计算各 WGPA 组分的相对分子质量。

1.5.2 傅里叶变换红外光谱(Fourier transform infrared spectroscopy, FT-IR)分析 称取干燥 WGPA 样品和溴化钾粉末,研磨至粉末状后压片。使用 FT-IR 仪扫描样品,波长检测范围为 500~4 000 cm⁻¹。校准基线后,根据特征吸收峰推断样品中物质结构和官能团组成。

1.5.3 单糖组成分析 采用 Thermo U3000 液相色谱系统进行分析。色谱柱为 Agilent ZORBAX EclipseXDB-C18 (4.6 mm×250 mm, 5 μm),柱温 30 ℃,流动相为乙腈和磷酸盐缓冲液(体积比为 17:83)等度洗脱,流速为 0.8 mL·min⁻¹,检测波长 250 nm,进样量 10 μL。通过与标准单糖图谱进行比较,分析确定样品中可能的单糖组成。

1.6 流式细胞术检测各组成熟 BMDCs 表面分子表达水平

取成熟 BMDCs 组细胞,调整细胞密度为 1×10^6 mL⁻¹,接种于 6 孔细胞培养板中,每孔 2 mL。实验分为对照组(BMDCs+完全培养基)、LPS 组(BMDCs+含 1 mg·L⁻¹ LPS 培养基)和 WGPA₃₀组(BMDCs+含 WGPA₃₀培养基)。对照组和 LPS 组细胞连续培养 24 h;WGPA₃₀组细胞中加入 800 mg·L⁻¹ WGPA₃₀作用 6 h 后,加入 1 mg·L⁻¹ LPS,继续培养 18 h。培养结束后,收集细胞,加入相应荧光标记的 MHC-II、CD86 和 CD80 和抗体,避光孵育后洗涤。采用流式细胞术检测各组成熟 BMDCs 中 MHC-II、CD86 和 CD80 荧光表达情况,以荧光表达阳性细胞百分率表示各组成熟 BMDCs 表面分子表达水平。

1.7 荧光微球吞噬实验检测各组未成熟 BMDCs 的吞噬活性和吞噬效率

收集未成熟 BMDCs 组细胞,调整细胞密度为 1×10^6 mL⁻¹后,接种于 96 孔细胞培养板。将细胞随机分为空白对照组(仅含无血清培养液)、对照组(未成熟 BMDCs+无血清培养液)、LPS 组(未成熟 BMDCs+1 mg·L⁻¹ LPS)和 WGPA₃₀组(未成熟 BMDCs+800 mg·L⁻¹ WGPA₃₀)。培养至细胞贴壁后,弃上清,加入荧光标记的大肠杆菌悬液,每孔 100 μL,培养 2 h。弃上清,加入台盼蓝染液,每孔 100 μL,室温放置 1 min。采用多功能酶标仪于 480 nm 激发波长和 520 nm 发射波长下测量各孔荧光强度(单位为 RFU),计算细胞吞噬活性和吞噬效率。吞噬活性=实验组荧光强度-空白对照组荧光强度,吞噬效率=实验组吞噬活性/对照组吞噬活性×100%。

1.8 ELISA 法检测各组成熟 BMDCs 培养上清中细胞因子水平

收集成熟 BMDCs 组细胞,调整细胞密度为 1×10^6 mL⁻¹。将细胞随机分为空白对照组(无血清培养液)、对照组(成熟 BMDCs+无血清培养液)、LPS 组(成熟 BMDCs+1 mg·L⁻¹ LPS)和 WGPA₃₀组(成熟 BMDCs+800 mg·L⁻¹ WGPA₃₀)。培养 24 h 后收集各组培养上清。严格按照 ELISA 试剂盒说明书操作,检测各组成熟 BMDCs 培养上清中 IL-6、IL-12 和 TNF-α 水平。根据试剂盒测量范围和预实验结果,检测 IL-6 和 TNF-α 时需对上清进行 10 倍稀释。根据各细胞因子标准品浓度及

其对应A值绘制标准曲线，根据待测样本A值，计算各组细胞因子水平。每组设3个复孔。

1.9 统计学分析

采用SPSS 25.0软件进行统计学分析。各组细胞增殖活性、成熟BMDCs表面MHC-II、CD86和CD80表达水平、未成熟BMDCs吞噬活性和吞噬效率以及成熟BMDCs培养上清中IL-6、IL-12和TNF-α水平均符合正态分布，以 $\bar{x} \pm s$ 表示，多组间样本均数比较采用单因素方差分析，组间样本均数两两比较采用LSD-*t*检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞增殖情况和WGPA的有效浓度

与对照组比较，浓度为800和1 600 mg·L⁻¹

时，WGPA₃₀组细胞增殖活性均明显升高（ $P < 0.01$ ）；WGPA₅₀和WGPA₇₀组细胞增殖活性无明显变化，差异无统计学意义（ $P > 0.05$ ）。见表1。因此，选择800 mg·L⁻¹ WGPA₃₀处理细胞进行后续实验。

2.2 WGPA的结构分析

2.2.1 WGPA₃₀的相对分子质量 WGPA₃₀在33.8和42.2 min呈现2个吸收峰，其中42.2 min附近为流动相盐峰。表明WGPA₃₀是一种相对分子质量单一且均匀分布的多糖。根据标准品相对分子质量和相应保留时间建立回归方程：Log Mp= -0.213 6t+11.595 7，R²=0.990 1（Mp为相对分子质量，t为时间），计算得到WGPA₃₀的相对分子质量约为24 230。见图1。

表1 不同浓度WGPA作用后各组BMDCs增殖活性

Tab. 1 Proliferation activities of BMDCs in various groups after treated with WGPA at different concentrations ($n=3, \bar{x} \pm s$)

Group	Proliferation activity					
	Concentration (mg•L ⁻¹)	100	200	400	800	1 600
Control		0.45±0.02	0.44±0.01	0.44±0.01	0.45±0.01	0.45±0.01
WGPA ₃₀		0.45±0.01	0.45±0.01	0.46±0.01	0.57±0.03*	0.62±0.02*
WGPA ₅₀		0.44±0.02	0.45±0.02	0.45±0.02	0.43±0.01	0.43±0.02
WGPA ₇₀		0.45±0.01	0.44±0.01	0.45±0.01	0.47±0.03	0.48±0.02
<i>F</i>		0.770	0.440	1.270	35.110	163.800
<i>P</i>		0.520	0.730	0.320	<0.001	<0.001

* $P < 0.01$ vs control group.

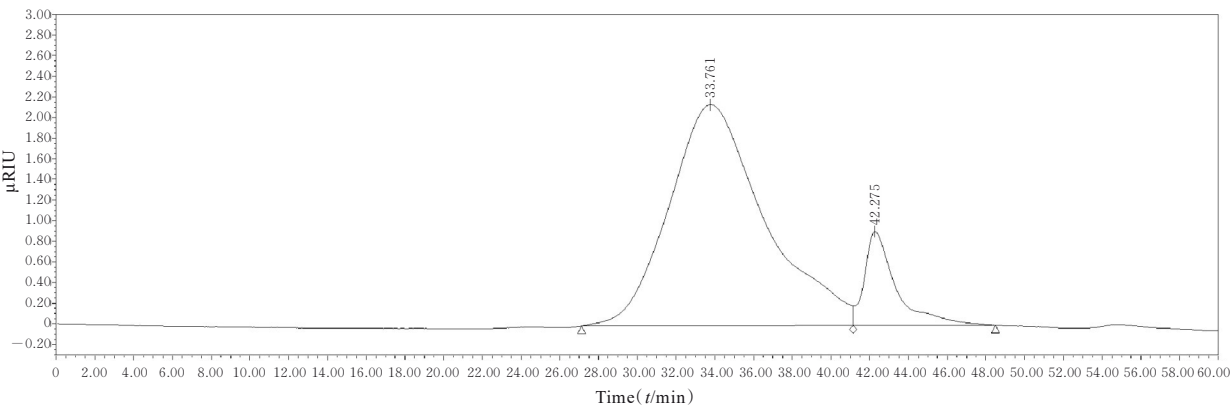


图1 WGPA₃₀的HPGPC色谱图
Fig. 1 HPGPC spectrum of WGPA₃₀

2.2.2 WGPA₃₀红外光谱分析 红外光谱结果显示：样品于3 421、2 922和2 852 cm⁻¹处出现3个吸收峰，分别由O-H和C-H伸缩振动引起，为糖类特

征性吸收峰。2 340 cm⁻¹处吸收峰可能是环境中或仪器光路中残留的CO₂的反对称伸缩振动引起的，不代表任何结构。1 746 cm⁻¹处吸收峰则是糖醛酸

的特征性吸收峰,表明WGPA₃₀含有糖苷键,可能为酸性多糖^[5]。1 617和1 417 cm⁻¹ 2处则由C=O非对称伸缩振动及C-H变角振动导致。1 107、1 080和1 022 cm⁻¹ 3处是由C-O-C及C-O-H伸缩振动引起的吸收峰。835 cm⁻¹处吸收峰一般是由 α -构型糖苷键产生。以上结果提示:WGPA₃₀属于吡喃糖,且由 α -构型糖苷键连接而成^[6],其单糖的相对分子质量约为180.16。见图2。

2.2.3 WGPA₃₀单糖组成 图3A为11种标准单糖的组成气相图,图3B为WGPA₃₀的单糖气相图。对比结果显示:WGPA₃₀主要包含葡萄糖醛酸、木糖、葡萄糖和半乳糖,其摩尔比为2.1:2.3:1.0:1.0。

2.3 各组成成熟BMDCs表面分子表达情况

流式细胞术结果显示:与对照组比较,LPS和WGPA₃₀组成成熟BMDCs表面MHC-II、CD86及CD80表达水平均明显升高($P<0.01$)。与LPS组比较,WGPA₃₀组成成熟BMDCs表面MHC-II、CD86和CD80表达水平均明显降低($P<0.05$)。见图4和表2。

2.4 各组未成熟BMDCs的吞噬活性和吞噬效率

与对照组(30 651 RFU $\pm$ 4 074 RFU)比较,LPS组(19 561 RFU $\pm$ 3 525 RFU)和WGPA₃₀组

(21 595 $\pm$ 1 392 RFU)未成熟BMDCs吞噬活性均明显降低($P<0.05$);LPS组与WGPA₃₀组未成熟BMDCs吞噬活性比较差异无统计学意义($P>0.05$)。LPS组(60.9%)和WGPA₃₀组(70.4%)未成熟BMDCs吞噬效率均低于对照组(100.0%)。

2.5 各组成成熟BMDCs上清中各细胞因子表达水平

ELISA检测结果显示:与对照组比较,LPS组和WGPA₃₀组成成熟BMDCs上清中IL-6、IL-12及TNF- α 水平均明显升高($P<0.01$),且LPS组升高幅度更大。与LPS组比较,WGPA₃₀组成成熟BMDCs上清中IL-12和TNF- α 水平明显降低($P<0.01$);2组成成熟BMDCs上清中IL-6水平比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表3。

3 讨论

DC细胞是体内功能最强的专职抗原提呈细胞,是适应性免疫应答的启动者。根据表型和功能的差异,DC细胞可分为未成熟DC(imature DC, imDC)细胞和成熟DC(mature DC, mDC)细胞。imDC细胞具有较强的吞噬与胞饮能力,可有效摄取抗原,但由于表面MHC-II类分子和共刺激分子表达水平较低,其抗原提呈能力较弱。在LPS或TNF- α 等刺激下,imDC细胞可转化成mDC细胞

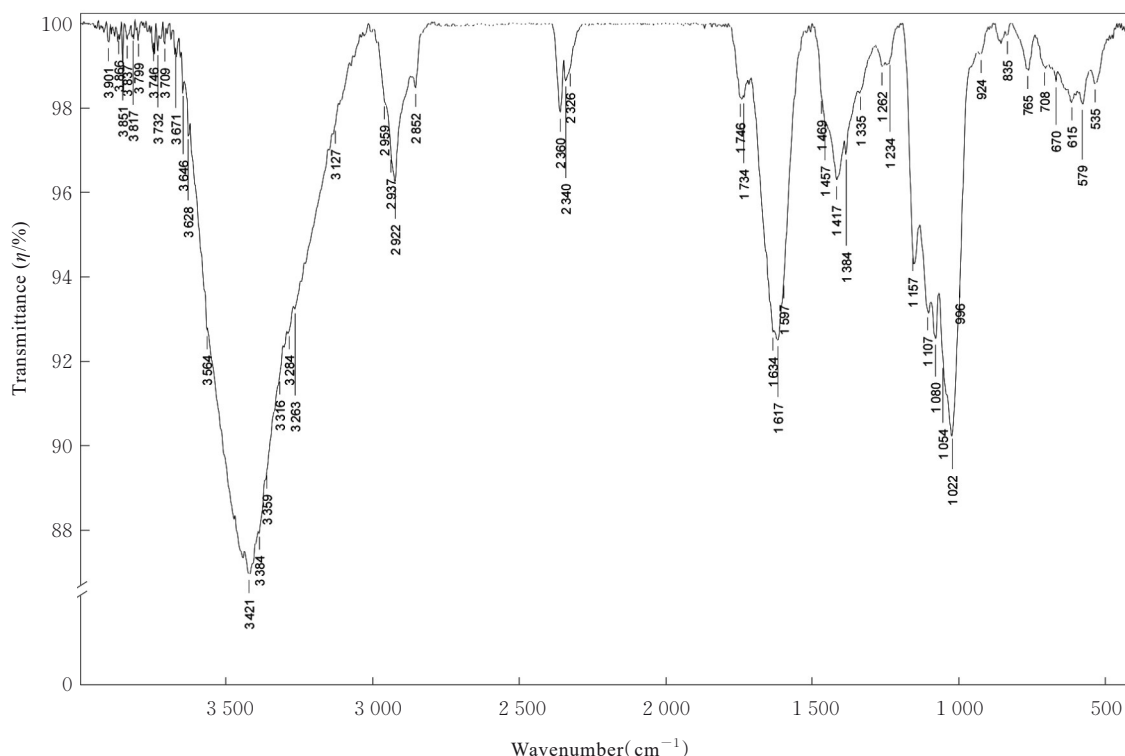
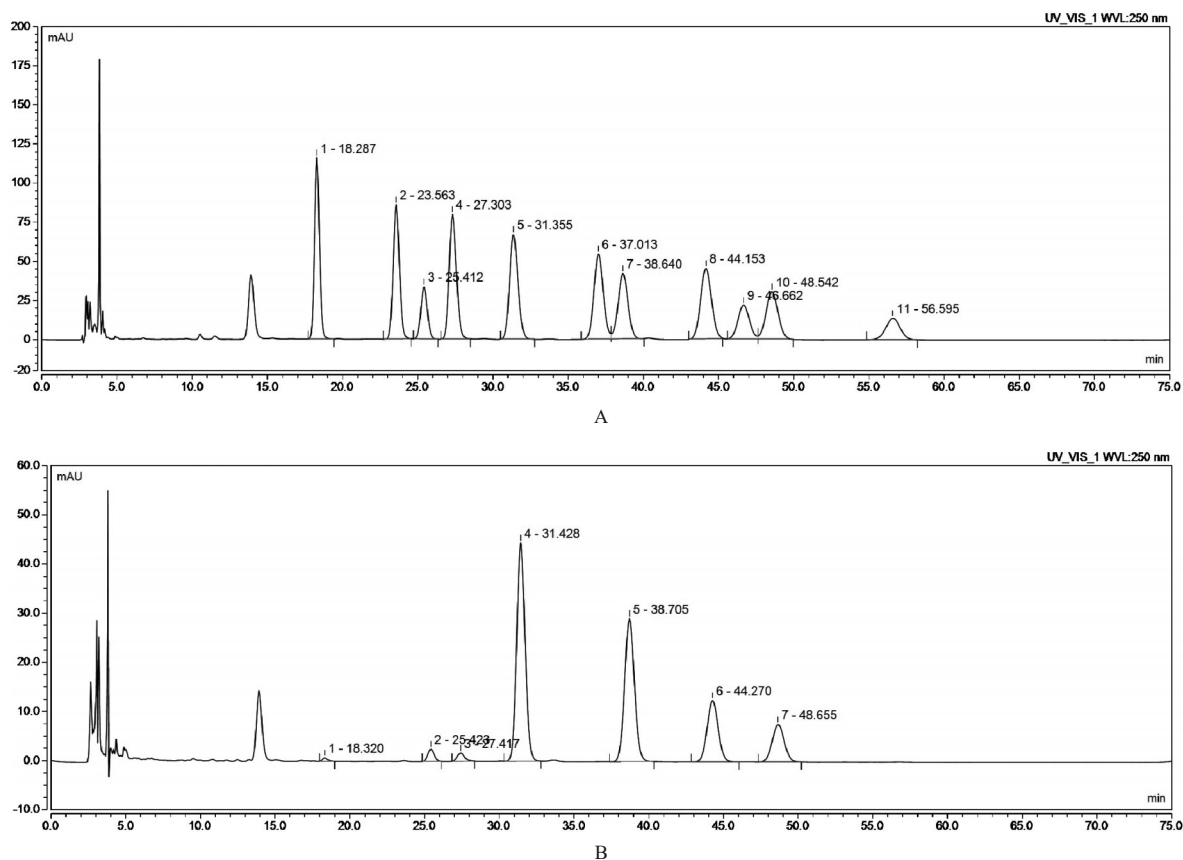


图2 WGPA₃₀ FT-IR光谱图

Fig. 2 FT-IR spectrum of WGPA₃₀

A: 11 kinds of standard monosaccharide; B: WGPA₃₀.图3 WGPA₃₀单糖组成气相图Fig. 3 Gas chromatogram of monosaccharide composition of WGPA₃₀

胞, 其表面 MHC-II 和共刺激分子表达水平升高, 抗原提呈能力增强, 可激活初始 T 细胞^[7]。

尽管人参果胶的免疫调节作用已有报道, 但其对 DC 细胞功能的影响尚不明确。本研究采用离子交换层析法提取 WGPA, 并分别经 30%、50% 和 70% 浓度的乙醇进行分离, 获得 WGPA₃₀、WGPA₅₀ 和 WGPA₇₀ 3 个组分。CCK-8 法结果显示: WGPA₃₀ 可促进 BMDCs 的生长, 而 WGPA₅₀ 和 WGPA₇₀ 对 BMDCs 的促增殖作用并不明显, 这可能与各组分的相对分子质量和活性成分构成差异有关^[8]。本研究结果显示: WGPA₃₀ 为小分子量、由 α -构型糖苷键连接而成的吡喃糖, 包含葡萄糖、半乳糖及葡萄糖醛酸等主要活性成分, 该结果与文献报道^[4] 基本一致。WGPA₅₀ 和 WGPA₇₀ 活性成分较少, 生物学活性较弱^[9-11]。

正常情况下, DC 细胞以未成熟状态存在于机体中, 有利于维持免疫耐受, 防止免疫系统攻击自身抗原^[12]。imDC 细胞具有较强的吞噬功能但抗原提呈能力弱; 当其向 mDC 细胞转化时, 其吞噬功

能逐渐减弱, 而抗原提呈功能逐渐增强^[13]。LPS 是常见的 DC 细胞成熟诱导剂^[14]。本研究结果显示: 当 LPS 和 WGPA₃₀ 作用于未成熟 BMDCs 时, 未成熟 BMDCs 的吞噬率均呈现降低趋势, 但 LPS 导致的降低程度更高, 提示 WGPA₃₀ 可诱导 DC 由不成熟向成熟状态转化。

高表达共刺激分子是 mDC 细胞的重要特征, 这些分子可促进 DC 细胞的抗原提呈能力^[14-16]。为探讨 WGPA₃₀ 对成熟 BMDCs 表型的影响, 本研究采用流式细胞术检测了 LPS 和 WGPA₃₀ 作用后 BMDCs 细胞表面 MHC-II、CD86 及 CD80 的表达情况。结果显示: WGPA₃₀ 作用后, BMDCs 表面 MHC-II、CD86 和 CD80 表达水平平均升高, 但升高幅度低于 LPS 组, 说明 WGPA₃₀ 可促进 BMDCs 表达共刺激分子, 促进 BMDCs 成熟。

本研究结果显示: WGPA₃₀ 与 LPS 均可促进 BMDCs 分泌 IL-12、TNF- α 和 IL-6, 但 WGPA₃₀ 促进作用弱于 LPS。IL-12 能够诱导 Th1 细胞分化, 是免疫应答的重要调节因子, 在协调天然免疫与获

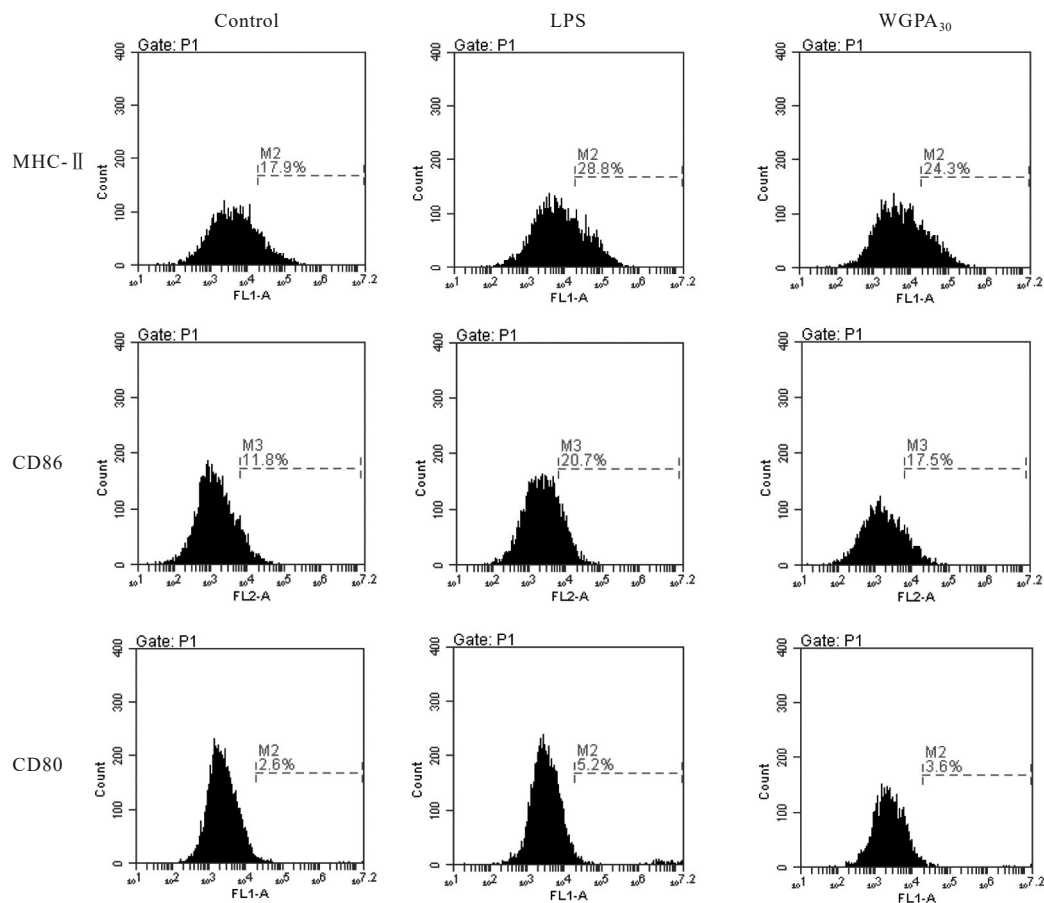


图 4 各组成熟 BMDCs 细胞表面分子表达情况

Fig. 4 Expressions of surface markers on mature BMDCs in various groups

表 2 各组成熟 BMDCs 表面分子表达水平

Tab. 2 Expression levels of surface markers in mature BMDCs in various groups (n=3, η/%)

Group	MHC-II	CD86	CD80
Control	17.67±0.87	11.73±0.60	2.63±0.06
LPS	28.53±0.55*	20.77±1.30*	5.33±0.15*
WGPA ₃₀	24.27±0.45* [△]	17.90±0.87* [△]	3.77±0.15* [△]
F	153.839	61.285	219.318
P	<0.001	<0.001	<0.001

*P<0.01 vs control group; [△]P<0.05 vs LPS group.

表 3 各组成熟 BMDCs 培养上清中细胞因子水平

Tab. 3 Cytokine levels in culture supernatant of mature BMDCs in various groups [n=3, ρ_B/(ng·L⁻¹)]

Group	IL-12	IL-6	TNF-α
Control	18.3±3.1	12.3±3.1	123.3±5.8
LPS	594.3±20.0*	2 861.9±301.1*	1 940.0±20.0*
WGPA ₃₀	448.7±16.8* [△]	2 811.9±86.1*	1 670.0±26.5* [△]
F	3 767.333	917.265	5 635.235
P	<0.01	<0.01	<0.01

*P<0.01 vs control group; [△]P<0.01 vs LPS group.

得性免疫中发挥作用^[17]。TNF-α是重要炎症因子，可通过募集白细胞发挥抗肿瘤和杀菌作用，且发挥提高中性粒细胞吞噬功能的作用^[18-19]。IL-6具有促进造血干细胞增殖、抗体分泌和炎症调节等活性^[20]。上述结果提示：WGPA₃₀可通过影响 BMDCs 分泌上述细胞因子，发挥免疫调节作用。

综上所述，WGPA₃₀是由 α-构型糖苷键连接的小分子吡喃糖，相对分子质量约为 24 230，主要包

含葡萄糖、半乳糖及葡萄糖醛酸等主要活性成分。该醇沉组分可促进小鼠 BMDCs 增殖，诱导 IL-6、IL-12 及 TNF-α 细胞因子释放，提高 BMDCs 表面协同刺激分子的表达，以及降低 BMDCs 吞噬效率，从而促进 BMDCs 成熟并调节 BMDCs 活性。未来可开展动物体内实验进一步验证 WGPA 的免疫调节作用。

利益冲突声明:

所有作者声明不存在利益冲突。

作者贡献声明:

杨如意参与研究设计、实验操作和论文撰写, 王煜灵参与实验操作, 杨巍参与研究设计、论文审阅和修改。

[参考文献]

- [1] 高峰, 冯鑫, 张晶莹, 等. 人参、益母草、马鹿胎粉增强免疫功能研究进展[J]. 中国卫生工程学, 2024, 23(6): 856-858.
- [2] GHOSH R, BRYANT D L, FARONE A L. *Panax quinquefolius* (North American Ginseng) polysaccharides as immunomodulators: current research status and future directions[J]. Molecules, 2020, 25(24): 5854.
- [3] 史文婷, 王芳. 人参果胶通过活化TLR4介导的MyD88依赖途径、抑制TRIF依赖途径诱导Th1活化[J]. 中国免疫学杂志, 2021, 37(24): 2972-2975.
- [4] 代可遥. 人参果胶的制备、结构鉴定及其抗肿瘤活性研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2022.
- [5] WANG J L, BAO A J, MENG X H, et al. An efficient approach to prepare sulfated polysaccharide and evaluation of anti-tumor activities *in vitro*[J]. Carbohydr Polym, 2018, 184: 366-375.
- [6] LÓPEZ-LEGARDA X, ROSTRO-ALANIS M, PARRA-SALDIVAR R, et al. Submerged cultivation, characterization and *in vitro* antitumor activity of polysaccharides from *Schizophyllum radiatum*[J]. Int J Biol Macromol, 2021, 186: 919-932.
- [7] 孙彬, 魏玉香, 石炳毅. 树突状细胞分类及调节性树突状细胞获取方式的研究进展[J]. 器官移植, 2019, 10(2): 198-201.
- [8] NIU H, DOU Z M, HOU K K, et al. A critical review of RG-I pectin: sources, extraction methods, structure, and applications[J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2024, 64(24): 8911-8931.
- [9] WANG J Y, ZHOU Y W, YU Y, et al. A ginseng-derived rhamnogalacturonan I (RG-I) pectin promotes longevity *via* TOR signalling in *Caenorhabditis elegans*[J]. Carbohydr Polym, 2023, 312: 120818.
- [10] JIAO Y, CHEN J J, HAO F Q, et al. Ginseng pectin WPGA alleviates exercise-induced fatigue by enhancing gluconeogenesis[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2022, 2022: 7973380.
- [11] AYIVI-TOSUH S M, YANG J L, YANG Y, et al. Structure analysis of a non-esterified homogalacturonan isolated from *Portulaca oleracea* L. and its adjuvant effect in OVA-immunized mice[J]. Int J Biol Macromol, 2021, 177: 422-429.
- [12] DUDEK A M, MARTIN S, GARG A D, et al. Immature, semi-mature, and fully mature dendritic cells: toward a DC-cancer cells interface that augments anticancer immunity[J]. Front Immunol, 2013, 4: 438.
- [13] XU Z, TONG Z, ZHANG H, et al. Effects of major OMPs and LPS of *Brucella* on the control of activation of bone marrow-derived dendritic cells and proliferation of T-lymphocytes in mice[J]. Iran J Vet Res, 2024, 25(3): 224-232.
- [14] DA SILVA C P, SILVA M D S, SANTANA H M, et al. *Bothrops atrox* snake venom decreased MHC-II and CD86 expression in bone marrow-derived dendritic cells[J]. Acta Trop, 2024, 260: 107426.
- [15] NERY N M, SANTANA H M, REGO C M A, et al. *Bothrops jararacussu* snake venom decreases CD1d, CD83, and CD86 expression on bone marrow-derived dendritic cells[J]. Immunol Lett, 2023, 262: 7-17.
- [16] SIM H B, SANG SON J, GUPTA S K, et al. Development of Hsp90 inhibitor to regulate cytokine storms in excessive delayed- and acute inflammation[J]. Int Immunopharmacol, 2024, 137: 112470.
- [17] VIGNALI D A A, KUCHROO V K. IL-12 family cytokines: immunological playmakers[J]. Nat Immunol, 2012, 13(8): 722-728.
- [18] 朱玲玲, 张亚妮, 史婷婷, 等. 肿瘤坏死因子 α 在肝细胞癌发生发展中的作用[J]. 临床肝胆病杂志, 2024, 40(11): 2320-2325.
- [19] VARGAS-BLANCO D A, HEPWORTH O W, BASHAM K J, et al. BTK inhibitor-induced defects in human neutrophil effector activity against *Aspergillus fumigatus* are restored by TNF- α [J]. JCI Insight, 2024, 9(12): e176162.
- [20] 杜林, 杨萍瑞, 周翰林, 等. 三七提取物通过IL-6、CASP3和STAT3调节免疫应激肉鸡炎症反应[J]. 中国兽医学报, 2024, 44(8): 1755-1764.