

# 灵芝多糖对哮喘大鼠肺泡巨噬细胞 GITR/GITRL 信号系统表达的影响

阮正英<sup>1a</sup>, 周华斐<sup>2</sup>, 童夏生<sup>1b\*</sup>, 应亚萍<sup>2</sup>, 金小红<sup>2</sup>, 李绍波<sup>2</sup>, 姚泽忠<sup>2</sup> (1.台州市中西医结合医院, a.病理科, b.儿科, 浙江 台州 317523; 2.台州医院儿科, 浙江 台州 317000)

**摘要:** 目的 通过观察灵芝多糖对哮喘大鼠肺泡巨噬细胞糖皮质激素诱导的肿瘤坏死因子受体(GITR)及其配体(GITRL)表达水平的影响, 探讨灵芝多糖治疗哮喘炎症的机制。方法 将 40 只清洁级 SD 大鼠随机分为对照组、哮喘组、地塞米松(DXM)干预组和灵芝多糖干预组 4 组, 分离提纯支气管肺泡灌洗液(BALF)中肺泡巨噬细胞, 分别采用实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(QRT-PCR)及免疫细胞化学方法检测 GITR/GITRL mRNA 及蛋白在肺泡巨噬细胞上的表达。结果 哮喘组 BALF 中肺泡巨噬细胞 GITR/GITRL mRNA 和蛋白的表达水平显著高于对照组( $P<0.05$  或  $P<0.01$ ); 灵芝多糖干预组和 DXM 干预组 GITR/GITRL mRNA 和蛋白的表达水平显著低于哮喘组( $P<0.05$  或  $P<0.01$ ); 灵芝多糖干预组 GITR/GITRL 蛋白的表达水平显著高于 DXM 干预组( $P<0.05$ ), 而 2 组间 GITR/GITRL mRNA 的表达水平差异无统计学意义。灵芝多糖干预组 BALF 中细胞总数计数显著低于哮喘组( $P<0.01$ ), 肺组织炎性病理改变较哮喘组显著减轻。GITR/GITRL mRNA 及蛋白均显著呈直线正相关( $P<0.01$ )。结论 灵芝多糖能下调肺泡巨噬细胞 GITR/GITRL 信号系统的表达、降低 BALF 中细胞总数计数、减轻肺组织炎性病理改变, 起到治疗哮喘的作用, 但此作用弱于 DXM。

**关键词:** 糖皮质激素诱导的肿瘤坏死因子受体; 信号转导; 肺泡巨噬细胞; 哮喘; 灵芝多糖

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2014)11-1317-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2014.11.005

## Effect of Ganoderma Lucidum Polysaccharides on the Expression of GITR/GITRL Signal System at Asthmatic Rat Alveolar Macrophages

RUAN Zhengying<sup>1a</sup>, ZHOU Huafei<sup>2</sup>, TONG Xiasheng<sup>1b\*</sup>, YING Yaping<sup>2</sup>, JIN Xiaohong<sup>2</sup>, LI Shaobo<sup>2</sup>, YAO Zezhong<sup>2</sup> (1. Integrated Chinese and Western Medicine Hospital of Taizhou, a. Department of Pathology, b. Department of Pediatrics, Taizhou 317523, China; 2. Department of Pediatrics, Taizhou Hospital, Taizhou 317000, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To explore the possible therapy mechanisms of ganoderma lucidum polysaccharides on asthma inflammation, the expression of glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor (GITR) and its ligand (GITRL) at asthmatic rat alveolar macrophages were observed. **METHODS** Forty Clean-level SD rats were randomly divided into four groups including asthma group, control group, dexamethasone intervention group (DXM group) and ganoderma lucidum polysaccharides intervention group, alveolar macrophages were separated and purified from the bronchoalveolar lavage fluid (BALF). And the expressions of GITR/GITRL mRNA and protein at alveolar macrophages were detected respectively by Real-time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (QRT-PCR) and immunocytochemistry. **RESULTS** The expressions of GITR/GITRL mRNA and protein in asthma group were significantly higher than those in the control group ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ). Moreover, the expressions of them in ganoderma lucidum polysaccharides intervention group and in DXM group were significantly lower than those in asthma group ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ). Dramatically, the expressions of GITR/GITRL protein in ganoderma lucidum polysaccharides intervention group were significantly higher than those in DXM group (all  $P<0.05$ ). But there was no statistically significant difference of GITR/GITRL mRNA between two groups. Furthermore, in ganoderma lucidum polysaccharides intervention group, the total number of cells calculation in BALF was significantly lower than that in asthma group ( $P<0.01$ ). And the pathological inflammation change in lung tissue were strongly lessened either. And there were significantly positive correlated between GITR and GITRL about mRNA or protein (all  $P<0.01$ ). **CONCLUSION** Ganoderma lucidum polysaccharides can down regulated the GITR/GITRL signal system at alveolar macrophages, and reduces the total number of cells calculation in BALF, and lessened the pathological inflammation in lung tissue. Result shows there are some therapy roles of ganoderma lucidum polysaccharides on asthma. But this function is weaker than dexamethasone.

**KEY WORDS:** glucocorticoid-induced tumor necrosis factor; signal transduction; alveolar macrophages; asthma; ganoderma lucidum polysaccharides

基金项目: 温岭市科技局科技项目(2011-1-84)

作者简介: 阮正英, 女, 副主任医师 Tel: (0576)86440436  
(0576)86440806 E-mail: xshtzg@163.com

E-mail: xshtzg@163.com

\*通信作者: 童夏生, 男, 硕士, 主任医师

Tel:

哮喘是一种常见的儿童慢性气道炎症性疾病,发病机制十分复杂,目前认为肺泡巨噬细胞作为呼吸道固有免疫的主要作用细胞,其在吞噬凋亡细胞和清除异物的过程中会加剧哮喘气道炎症<sup>[1]</sup>,其机制至今尚未完全阐明。糖皮质激素诱导的肿瘤坏死因子受体(glucocorticoid-induced tumor necrosis factor, GPCR)是肿瘤坏死因子受体超家族第 18 号成员,GPCR 与其配体(GPCR)结合后能加重免疫性疾病。Shin 等<sup>[2]</sup>发现 GPCR/GPCR 信号系统以既定的形式表达在巨噬细胞细胞株和小鼠腹腔巨噬细胞上,而它们在哮喘肺泡巨噬细胞上的表达如何目前鲜见报道。灵芝多糖具有抗肿瘤、免疫调节等作用<sup>[3]</sup>,在糖尿病、免疫性疾病、肿瘤性疾病中有较强的药理活性<sup>[4]</sup>。本研究以地塞米松(DXM)为对照,通过观察灵芝多糖对哮喘大鼠模型肺泡巨噬细胞 GPCR/GPCR mRNA 及蛋白表达的影响,探讨灵芝多糖治疗哮喘的作用及改善哮喘气道炎症可能的分子机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂与仪器

灵芝多糖(上海康舟真菌多糖有限公司,批号:20120220);DXM(泰生医药有限公司,批号:11092010123);GPCR 山羊抗大鼠多克隆抗体(美国 Santa Cruze 公司,批号:sc-34906);GPCR 兔抗大鼠多克隆抗体(美国 Santa Cruze 公司,批号:sc-66907);OVA(美国 Sigma 公司,V 级);逆转录试剂盒(加拿大 Fermentas 公司,批号:K1622);FS Universal SYBR Green Master(ROX)(瑞士 Roche 公司);荧光定量 PCR 引物由上海捷瑞生物公司设计合成;GTVisionIII 抗鼠/兔通用型免疫组化检测试剂盒(基因科技上海有限公司,批号:GK500705)。7300 Real Time PCR System(美国 Applied Biosystems 公司)。

### 1.2 动物及分组

40 只健康♂清洁级 SD 大鼠,由浙江省医学科学院提供,合格证号:SCXK(浙)20080033,4 周龄,体质量 100~110 g,随机分成对照组、哮喘组、灵芝多糖干预组和 DXM 干预组,每组 10 只。大鼠均在室温恒定(20~25 ℃)及灯光昼夜节律控制下清洁喂养,自由进食、进水。

### 1.3 哮喘模型制备

哮喘组在第 0 天和第 7 天腹腔注射 OVA/Al(OH)<sub>3</sub> 混合液 1 mL(内含卵蛋白 1 mg 和

Al(OH)<sub>3</sub> 100 mg)致敏。第 14 天开始 1% OVA 溶液雾化,每天吸入 1 次,时间约 30 min,连续激发 7 d。灵芝多糖干预组在每次激发前 0.5 h 给予腹腔注射灵芝多糖 800 mg·kg<sup>-1</sup>(约 1 mL)灌胃;DXM 干预组在每次激发前 0.5 h 给予腹腔注射 DXM 1 mg·kg<sup>-1</sup>灌胃。对照组致敏和激发均以生理盐水代替 OVA。

### 1.4 标本制备

末次激发 24 h 后,用 10%水合氯醛溶液 0.3 mL·(100 g)<sup>-1</sup>腹腔注射麻醉大鼠,行心脏抽血,在靠近左肺门处结扎左肺组织,经气管行右肺灌洗(生理盐水总量 15 mL),回收肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)(保证回收率 >80%)。BALF 经离心后沉淀用 0.1 mol·L<sup>-1</sup> PBS 重悬,用于细胞计数及肺泡巨噬细胞分离。取左肺组织,经 10%中性福尔马林固定、石蜡包埋、切片、HE 染色,光镜下观察肺组织病理变化。

### 1.5 巨噬细胞分离和培养

BALF 离心后沉淀用 0.1 mol·L<sup>-1</sup> PBS 洗涤 2 次,加入含 10%胎牛血清的 DMEM 培养液,取 100 μL 接种于放有无菌圆形爬片的 6 孔板中,其余细胞接种于细胞培养瓶中,两者均在 37 ℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中孵育 2 h;行肺泡巨噬细胞计数和台盼蓝染色、瑞氏-吉姆萨染色,加入 Trizol 1 mL 裂解细胞后用于细胞总 RNA 的抽提。

### 1.6 QRT-PCR 法测定 GPCR/GPCR 的 mRNA 表达

加入肺泡巨噬细胞经 Trizol 裂解后得到 RNA 沉淀物,逆转录成 cDNA(逆转录酶购自 Fermentas 公司),-80 ℃保存。反应条件如下:42 ℃ 60 min,70 ℃ 5 min。引物由上海捷瑞生物工程公司合成,各基因扩增引物序列如下,GPCR:上游引物 5'-GGGGAGCAGATGGAAGAAA-3',下游引物 5'-AAGGGTATTTCTGGGCAAGT-3',扩增片段大小是 108 bp;GPCR:上游引物 5'-GAGGAAATG CCTTTGAGCGAGT-3',下游引物 5'-CCAAGGT ACAGAACAGCATCAGC-3',扩增片段大小是 106 bp;内参基因肌动蛋白(β-actin):上游引物 5'-AACCCTAAGGCCAACCGTGAAAAG-3',下游引物 5'-TCATGAGGTAGTCTGTCAGGT-3',扩增片段大小是 259 bp。实验步骤参照 SYBR Green 荧光定量 PCR 试剂盒说明书进行,反应条件如下:50 ℃ 2 min,95 ℃ 10 min,95 ℃ 15 s,60 ℃ 1 min (40 cycle),95 ℃ 15 s,60 ℃ 1 min,95 ℃ 15 s(融解曲线)。结果分析采用 ΔCT 值法:ΔCT=

CT<sub>GITR/GITRL</sub>-CT <sub>$\beta$ -actin</sub>。

1.7 免疫细胞化学法检测 GITR/GITRL 蛋白的表达

巨噬细胞贴壁后的玻片用 0.1 mol·L<sup>-1</sup> PBS 洗涤 3 次后, 以 4%多聚甲醛/0.1 mol·L<sup>-1</sup> PBS 液(pH 7.4)固定, SP 法检测。滴加 0.3% Triton-X-100 增加细胞通透性, 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 灭活内源性过氧化物酶, 15% BSA 封闭, 滴加一抗、二抗, DAB 显影, 苏木素复染, 50%甘油-PBS 封片, 以 PBS 代替一抗作为阴性对照, 以试剂公司提供的阳性片作为阳性对照。每张切片高倍镜下(×200 倍)随机选取 5 个视野摄片, 采用 Image-Pro Plus 6.0 图像分析测量其平均光密度值(OD 值)。

1.8 统计学方法

所有数据采用 SPSS 16.0 统计软件分析, 数据以  $\bar{x} \pm s$  表示。样本均数比较采用单因素方差分析, levene 法检验方差齐性。多组间两两比较方差齐时应用 LSD-*t* 检验, 方差不齐时应用 Dunnett T2 检验。两变量的相关分析采用直线相关分析法。*P*<0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 灵芝多糖对大鼠的影响

哮喘组大鼠经激发后有不同程度的咳嗽、呼吸急促、情绪躁动、腹部肌肉抽搐、全身紫绀、行动迟缓等表现, 灵芝多糖干预组和 DXM 干预组表现较哮喘组减轻。

2.2 灵芝多糖对 BALF 中细胞总数的影响

哮喘组 BALF 中细胞总数显著高于对照组(*P*<0.01); 灵芝多糖干预组、DXM 干预组 BALF 中细胞总数显著低于哮喘组(*P*<0.01); 灵芝多糖干预组和 DXM 干预组 BALF 中细胞总数差异无统计学意义, 结果见表 1。

表 1 BALF 中细胞总数计数(*n*=10,  $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 1 Total number of cells calculation in BALF(*n*=10,  $\bar{x} \pm s$ )

| 组别      | 细胞总数/×10 <sup>7</sup> ·L <sup>-1</sup> |
|---------|----------------------------------------|
| 对照组     | 35.90±7.28                             |
| 哮喘组     | 83.10±7.37 <sup>1)</sup>               |
| DXM 干预组 | 49.50±4.65 <sup>2)</sup>               |
| 灵芝多糖干预组 | 52.80±6.32 <sup>2)</sup>               |

注: 与对照组比较, <sup>1)</sup>*P*<0.01; 与哮喘组比较, <sup>2)</sup>*P*<0.01。

Note: Compared with control group, <sup>1)</sup>*P*<0.01; compared with asthma group, <sup>2)</sup>*P*<0.01.

2.3 肺泡巨噬细胞分离提纯结果

单细胞悬液中肺泡巨噬细胞呈现透亮状, 形状为圆形, 培养 4~50 min 左右, 可观察到巨噬细

胞开始贴壁, 形态呈现多样性, 培养 2 h 后细胞贴满培养瓶底, 部分细胞可观察到伪足或突起。台盼蓝拒染试验计算出其存活率为 96%。瑞氏-吉姆萨染色鉴定细胞形态, 细胞纯度>95%, 见图 1。

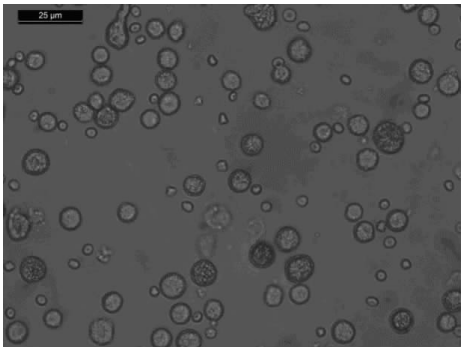


图 1 对照组分离纯化的肺泡巨噬细胞(400×)

Fig. 1 Separated alveolar macrophages in control group(400×)

2.4 肺组织病理变化

2.4.1 灵芝多糖对大体标本的影响 哮喘组大鼠肺脏组织轻度肿胀, 表面可见斑点状的白色缺血坏死区, 局部可见形态不规则的暗红色充血区。灵芝多糖干预组及 DXM 干预组大鼠上述改变轻微。对照组大鼠肺脏表面光滑, 色泽光鲜、粉红色, 未见充血、坏死灶。

2.4.2 灵芝多糖对肺组织的影响 光镜下显示哮喘组见支气管及血管周围、肺间质及肺泡腔内炎性细胞浸润, 支气管黏膜下水肿, 黏液腺增生, 黏膜皱褶增多, 部分黏膜上皮细胞脱落, 可见气道黏液栓。灵芝多糖干预组和 DXM 干预组支气管及血管周围见少量炎性细胞浸润, 气道腔内无明显分泌物, 2 组分别与哮喘组比较炎症现象均明显减轻, 但灵芝多糖干预组和 DXM 干预组之间比较无明显差异。对照组可见肺泡壁结构完整, 肺泡腔内无渗出液, 支气管黏膜上皮、肌层完好, 支气管、血管周围无炎性细胞浸润, 结果见图 2。

2.5 灵芝多糖对肺泡巨噬细胞 GITR/GITRL mRNA 表达水平的影响

目的基因 GITR、GITRL 和内参基因  $\beta$ -actin 的溶解曲线均为单一峰, 各组肺泡巨噬细胞的 GITR/GITRL、 $\beta$ -actin 基因扩增曲线呈标准 S 型。哮喘组肺泡巨噬细胞 GITR/GITRL mRNA 的表达水平显著高于对照组(*P*<0.01), 灵芝多糖干预组、DXM 干预组肺泡巨噬细胞 GITR/GITRL mRNA 的表达水平显著低于哮喘组(*P*<0.05 或 *P*<0.01), 灵芝多糖干预组与 DXM 干预组差异无统计学意义, 结果见表 2。

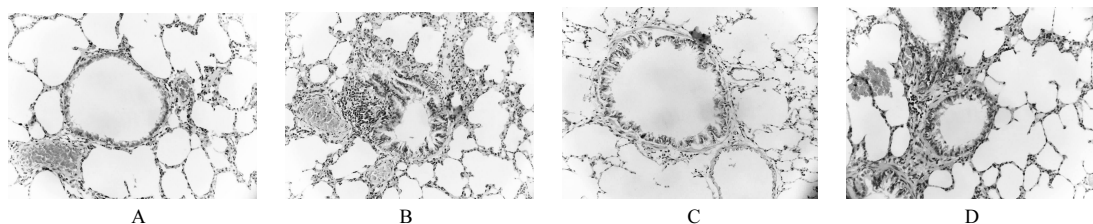


图2 肺组织病理变化(HE, 200×)

A-对照组; B-哮喘组; C-DXM 干预组; D-灵芝多糖干预组。

Fig. 2 pathological changes in lung tissue(HE, 200×)

A-control group; B-asthmatic group; C-DXM treated group; D-ganoderma lucidum polysaccharides treated group.

表2 GITR/GITRL mRNA 在 BALF 肺泡巨噬细胞上的表达( $n=10$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 2 The expression of GITR/GITRL mRNA at alveolar macrophages in BALF( $n=10$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

| 组别      | $\Delta CT$ 值            |                          |
|---------|--------------------------|--------------------------|
|         | GITR mRNA                | GITRL mRNA               |
| 对照组     | 13.31±0.62               | 12.95±0.58               |
| 哮喘组     | 10.06±0.28 <sup>1)</sup> | 9.59±0.32 <sup>1)</sup>  |
| DXM 干预组 | 12.79±0.40 <sup>2)</sup> | 12.31±0.40 <sup>3)</sup> |
| 灵芝多糖干预组 | 11.80±0.42 <sup>2)</sup> | 10.97±0.17 <sup>2)</sup> |

注: 与对照组比较, <sup>1)</sup> $P<0.01$ ; 与哮喘组比较, <sup>2)</sup> $P<0.05$ , <sup>3)</sup> $P<0.01$ 。

Note: Compared with control group, <sup>1)</sup> $P<0.01$ ; compared with asthma group, <sup>2)</sup> $P<0.05$ , <sup>3)</sup> $P<0.01$ .

## 2.6 灵芝多糖对肺泡巨噬细胞 GITR/GITRL 蛋白水平的影响

免疫细胞化学法检测结果显示阳性表达位于肺泡巨噬细胞的细胞膜及细胞浆, 表现为棕黄色, 细胞核染成蓝色。各组肺泡巨噬细胞均有 GITR/GITRL 蛋白表达。阴性对照片无棕黄色颗粒, 仅见复染的细胞核。哮喘组肺泡巨噬细胞

GITR/GITRL 蛋白的表达水平显著高于对照组( $P<0.05$ ); 灵芝多糖干预组、DXM 干预组肺泡巨噬细胞 GITR/GITRL 蛋白的表达水平显著低于哮喘组( $P<0.05$ ); 灵芝多糖干预组 GITR/GITRL 蛋白的表达水平显著高于 DXM 干预组( $P<0.05$ ), 结果见表 3 和图 3~4。

表3 BALF 肺泡巨噬细胞 GITR/GITRL 蛋白平均光密度值( $n=10$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

Tab. 3 The expression of GITR/GITRL protein at alveolar macrophages in BALF( $n=10$ ,  $\bar{x} \pm s$ )

| 组别      | OD 值                      |                           |
|---------|---------------------------|---------------------------|
|         | GITR                      | GITRL                     |
| 对照组     | 0.37±0.03                 | 0.36±0.02                 |
| 哮喘组     | 0.63±0.03 <sup>1)</sup>   | 0.64±0.03 <sup>1)</sup>   |
| DXM 干预组 | 0.41±0.02 <sup>2)</sup>   | 0.42±0.01 <sup>2)</sup>   |
| 灵芝多糖干预组 | 0.54±0.01 <sup>2)3)</sup> | 0.52±0.02 <sup>2)3)</sup> |

注: 与对照组比较, <sup>1)</sup> $P<0.05$ ; 与哮喘组比较, <sup>2)</sup> $P<0.05$ ; 与 DXM 干预组比较, <sup>3)</sup> $P<0.05$ 。

Note: Compared with control group, <sup>1)</sup> $P<0.05$ ; compared with asthma group, <sup>2)</sup> $P<0.05$ ; compared with DXM treated group, <sup>3)</sup> $P<0.05$ .

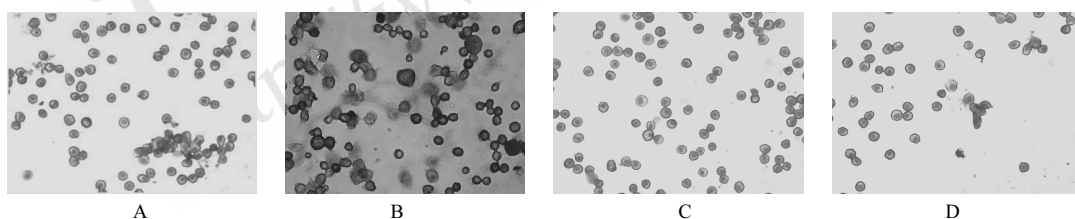


图3 肺泡巨噬细胞 GITR 蛋白的表达(DAB 显色, 400×)

A-对照组; B-哮喘组; C-DXM 干预组; D-灵芝多糖干预组。

Fig. 3 The expression of GITR protein at alveolar macrophages (400×)

A-control group; B-asthmatic group; C-DXM treated group; D-ganoderma lucidum polysaccharides treated group.

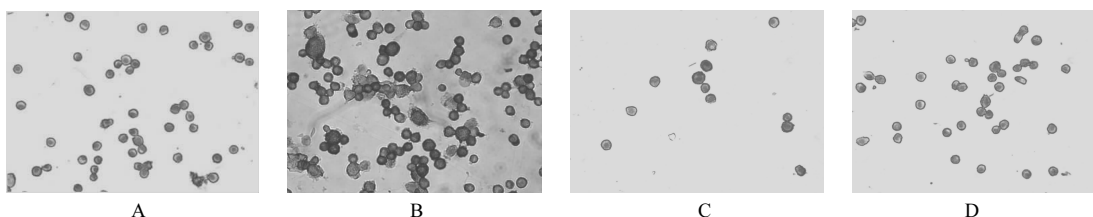


图4 肺泡巨噬细胞 GITRL 蛋白的表达(DAB 显色, 400×)

A-对照组; B-哮喘组; C-DXM 干预组; D-灵芝多糖干预组。

Fig. 4 The expression of GITRL protein at alveolar macrophages(400×)

A-control group; B-asthmatic group; C-DXM treated group; D-ganoderma lucidum polysaccharides treated group.

## 2.7 GITR/GITRL 表达水平的相关性

GITR/GITRL 基因及蛋白的表达水平均呈直线正相关(依次为  $r=0.856$ ,  $0.804$ ,  $n=40$ ,  $P<0.01$ )。

## 3 讨论

GITR 是一个由 228 个氨基酸构成的富含半胱氨酸的糖蛋白,属于 I 型跨膜蛋白;其配体为 GITRL,属于 II 型跨膜蛋白。GITR 主要在  $CD4^+CD25^+$  调节性 T 细胞上呈高表达,具有抑制 Treg、促进 T 效应细胞增生的功能<sup>[5]</sup>。此外,它还能在巨噬细胞、中性粒细胞、B 细胞、NK 细胞和其他的抗原提呈细胞上表达。GITRL 在专业及非专业的抗原提呈细胞上均有表达,包括未刺激的骨髓树突状细胞(DC)、浆细胞 DC 的前体、B 细胞和单核细胞<sup>[6]</sup>。GITR/GITRL 在组织中的分布目前尚未有一致的结论。GITR/GITRL 信号系统能依赖其胞浆内结构域传递信号、促进 T 细胞增殖、分泌细胞因子、激活 MAPKs 及抑制  $CD4^+CD25^+$  Treg 细胞的功能等途径,增强效应性 T 细胞功能,发挥抑制肿瘤、抗病毒感染作用。

本研究发现,每组肺泡巨噬细胞均有 GITR/GITRL mRNA 及蛋白的表达,且哮喘组高于对照组,提示肺泡巨噬细胞可能通过 GITR/GITRL 信号系统起作用。本研究还发现,使用 DXM 干预后,肺泡巨噬细胞 GITR/GITRL 表达有所下降,推测 DXM 可能通过下调肺泡巨噬细胞 GITR/GITRL 的表达水平从而发挥治疗哮喘的作用。这与王琼艳等<sup>[7]</sup>的研究不一致,他们发现 DXM 能显著增强小鼠肺组织 GITR/GITRL 的表达。推测 GITR/GITRL 信号系统的表达水平与不同种属、组织、细胞等有关。

虽然目前控制哮喘炎症的最佳药物仍然是糖皮质激素,但它存在一定的不良反应,影响机体免疫系统、骨骼系统及内分泌系统等。而中草药对哮喘也有一定的治疗作用,能抑制哮喘气道炎症和气道高反应<sup>[8]</sup>。灵芝多糖是灵芝中最有效的成分之一,其具有广泛的药理活性,能消除自由基,

抑制肿瘤,抗辐射,提高组织合成 DNA、RNA、蛋白质能力,对心血管疾病、气喘、过敏、神经衰弱、胃热等有显著效果。本实验通过比较观察灵芝多糖与 DXM 对哮喘大鼠模型肺泡巨噬细胞 GITR/GITRL mRNA 和蛋白表达的影响,结果发现灵芝多糖对哮喘大鼠有一定的治疗作用,它能下调肺泡巨噬细胞 GITR/GITRL mRNA 和蛋白的表达水平,但此作用弱于 DXM,通过下调 GITR/GITRL 信号系统可能是灵芝多糖减轻哮喘炎症的机制之一。本研究还发现,灵芝多糖能降低 BALF 中细胞总数计数、减轻肺组织炎性病理改变,起到治疗哮喘的作用。

## REFERENCES

- [1] AZUMA M. Role of the glucocorticoid-induced TNFR-related protein (GITR)-GITR ligand pathway in innate and adaptive immunity [J]. Crit Rev Immunol, 2010, 30(6): 547-557.
- [2] SHIN H H, LEE M H, KIM S G, et al. Recombinant glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor (rGITR) induces NOS in murine macrophage [J]. FEBS Lett, 2002, 514(2/3): 275-280.
- [3] MA C, GUAN S H, YANG M, et al. Differential protein expression in mouse splenic mononuclear cells treated with polysaccharides from spores of *Ganoderma lucidum* [J]. Phytomedicine, 2008, 15(4): 268-276.
- [4] CAO HUI, GUO X Z. Therapeutic effects of ganoderma polysaccharide on type 2 diabetes in rats [J]. Prog Mod Biomed, 2010, 10(12): 2256-2258.
- [5] KIM W J, BAE E M, KANG Y J, et al. Glucocorticoid-induced tumour necrosis factor receptor family related protein (GITR) mediates inflammatory activation of macrophages that can destabilize atherosclerotic plaques [J]. Immunology, 2006, 119(3): 421-429.
- [6] BORREGO L M, ARROZ M J, VIDEIRA P, et al. Regulatory cells, cytokine pattern and clinical risk factors for asthma in infants and young children with recurrent wheeze [J]. Clin Exp Allergy, 2009, 39(8): 1160-1169.
- [7] WANG Q Y, LI M R, WANG Y, et al. Effects of CpGODN on the expressions of GITR/GITRL in lung tissue of asthma mouse [J]. J Med Res(医学研究杂志), 2013, 42(7): 121-125.
- [8] WANG S L, DU F F, WANG L L, et al. Effects of cordyceps polysaccharide on the OVA-induced airway inflammation and hyperresponsiveness in a murine asthmatic model [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2011, 28(12): 1090-1094.

收稿日期: 2014-02-24