

引用格式:

李恒, 李锐, 马景球. TLR4–MyD88 信号转导途径介导仙人掌多糖免疫调节的机制研究[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2021, 47(4): 419–423.

LI H, LI R, MA J Q. The mechanism of *Opuntia dillenii* Haw. polysaccharides regulating immunity via TLR4–MyD88 signal transduction pathway [J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2021, 47(4): 419–423.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



TLR4–MyD88 信号转导途径介导仙人掌多糖免疫调节的机制研究

李恒, 李锐, 马景球

(岭南师范学院食品科学与工程学院, 广东 湛江 524048)

摘要:为研究仙人掌多糖(ODPs)对 Toll 样受体 4(TLR4)及其转导的 MyD88 依赖性信号途径中下游重要元件髓样分化因子 88(*MyD88*)、肿瘤坏死因子受体相关因子 6 (*TRAF6*)、I κ B 激酶 β (*IKK β*) mRNA 和蛋白表达的影响, 体外培养小鼠腹腔单核巨噬细胞(RAW264.7), 用 ODPs 干预 24 h, 收集细胞, 分别采用 RT–PCR 法和蛋白质印迹 Western blot 法检测 *TLR4*、*MyD88*、*TRAF6*、*IKK β* mRNA 及蛋白表达。结果显示:中、高剂量(100、200 μ g/mL)ODPs 显著增强 *TLR4*、*TRAF6* 及 *IKK β* 的基因表达及 TLR4、MyD88、TRAF6 的蛋白表达($P<0.05$), 且具有良好的量效关系; ODPs 也显著降低了 *MyD88* 的基因表达($P<0.05$), 对 *IKK β* 的蛋白表达量增强效果不显著。说明非炎症条件下 ODPs 可促使 TLR4 高表达, 同时激活 TLR4 胞内信号转导的 MyD88 依赖性途径。

关键词:仙人掌多糖; 小鼠腹腔巨噬细胞; MyD88 依赖性信号通路

中图分类号: Q786; R285

文献标志码: A

文章编号: 1007–1032(2021)04–0419–05

The mechanism of *Opuntia dillenii* Haw. polysaccharides regulating immunity via TLR4–MyD88 signal transduction pathway

LI Heng, LI Rui, MA Jingqiu

(College of Food Science and Engineering, Lingnan Normal University, Zhanjiang, Guangdong 524048, China)

Abstract: To study the effect of different concentrations(50, 100, 200 μ g/mL) of *Opuntia dillenii* Haw. polysaccharides (ODPs) on Toll-like receptor 4(TLR4) and MyD88-dependent signaling pathway, mouse macrophage cells(RAW264.7) were cultured in vitro and treated with ODPs for 24 hours first. Then, the cells were collected and real-time fluorescence quantitative RT-PCR was used to detect the gene expression of *TLR4*, *MyD88*, *TRAF6* and *IKK β* . Western blot was used to detect the expression of TLR4, MyD88, TRAF6 and *IKK β* proteins. The results showed that the expression of *TLR4*, *TRAF6* and *IKK β* genes and the expression of TLR4, MyD88, and TRAF6 proteins were significantly increased by medium and high doses(100 and 200 μ g/mL) of ODPs($P<0.05$). They had a good dose-effect relationship. The expression of *MyD88* gene was significantly reduced by different concentrations of ODPs($P<0.05$). But the increase of *IKK β* protein expression was not significant. In summary, ODPs can promote high expression of TLR4 gene and protein and activate the MyD88-dependent pathway of intracellular signal transduction of TLR4 under non-inflammatory conditions, which may be one of the mechanisms that ODPs exert their effects on enhancing immunity.

Keywords: *Opuntia dillenii* Haw. polysaccharides; mouse peritoneal macrophage; MyD88-dependent signaling pathway

收稿日期: 2021–05–01

修回日期: 2021–06–08

基金项目: 广东省自然科学基金项目(2016A030313669)

作者简介: 李恒(1980—), 女, 广东茂名人, 博士, 讲师, 主要从事天然产物研究及开发, liheng80@126.com

仙人掌(*Opuntia dillenii* Haw.)是一种属于仙人掌科的多浆植物,别名龙舌、火掌、平虑草、佛手刺等,种类繁多,分布广泛,喜阳耐干旱,具有强大的繁殖力^[1]。仙人掌既可食用,也可药用。中医认为,仙人掌味淡性寒,可以清热解毒、安神利尿、行气活血、健胃止痛、散瘀消肿等^[2]。仙人掌多糖(*Opuntia dillenii* Haw. polysaccharides, ODPs)是从仙人掌茎中提取出来的一种水溶性杂多糖,主要由阿拉伯糖、葡萄糖、鼠李糖、果糖、半乳糖、木糖、甘露糖及糖醛酸聚合而成^[3],具有抗氧化、抗癌、抗病毒、降血糖及增强免疫等作用^[4-5]。

研究^[6-8]表明,植物多糖可借助调控免疫细胞及其信号通路的转导激活免疫系统。Toll样受体(TLRs)是一类广泛表达于巨噬细胞表面的跨膜模式识别受体,在目前发现的13种TLRs中,只有TLR2与TLR4能被植物多糖识别结合,并引起一系列信号级联反应,调控下游因子的表达^[9-10]。TLR家族的信号转导方式包括髓样分化因子88(MyD88)介导的依赖性途径和非依赖性途径^[9]。其中,MyD88依赖性信号途径可以激活核因子- κ B(NF- κ B),在固有免疫和适应性免疫中发挥作用^[11-12]。在该信号通路中,细胞表面的TLR4被活化后表达升高,与重要接头蛋白MyD88结合,MyD88再与丝/苏氨酸激酶IRAK结合,结合后的IRAK会进一步补足衔接蛋白,激活肿瘤坏死因子受体相关因子6(TrAF6),激活I κ B激酶复合体IKKc(IKK α /IKK β /IKK γ)。其中I κ B激酶 β (IKK β)被认为是IKKc中介导NF- κ B激活信号途径的1个重要亚基,最终诱导NF- κ B抑制蛋白激酶I κ B磷酸化,进而诱导炎症因子,如TNF- α 、IL-1、IL-6等的转录表达,启动免疫调节作用^[13-14]。研究^[15-16]认为,仙人掌多糖ODPs能从非特异性免疫、体液免疫、细胞免疫方面增强糖尿病小鼠的免疫功能,改善糖尿病症状,推测ODPs也可能通过激活TLR/NF- κ B信号传导通路发挥免疫调节作用。

本研究中,以仙人掌多糖ODPs作用于RAW264.7细胞,探讨ODPs对炎症通路——MyD88依赖性信号通路中各关键因子的影响,以期判断ODPs的免疫调节机制,验证在非炎症条件下ODPs是否对TLR/NF- κ B信号传导通路产生激活作用。

1 材料与方法

1.1 材料

新鲜仙人掌采自广东湛江东海岛附近,经岭南师范学院陈燕鉴定为*Opuntia dillenii* Haw.。

主要药品试剂:小鼠巨噬细胞(RAW264.7)购于中国科学院上海生命科学院细胞库;LPS(脂多糖)购于北京博奥拓达生物科技有限公司;胎牛血清(FBS)购于美国Gibco;总RNA提取试剂盒购于美国Axygen;0.22 μ m PVDF膜购于美国Millipore;PrimeScriptTM RT Master Mix 购于日本Takara;TLR4、MyD88、TRAF6、IKK β 、 β -actin引物购于上海生工生物工程股份有限公司;TLR4、MyD88、TRAF6、IKK β 、 β -actin兔单克隆抗体购于美国Abcam;HRP标记山羊抗兔IgG二抗购于北京中山金桥生物技术有限公司;蛋白酶抑制剂(PMSF)、BCA蛋白含量检测试剂盒购于江苏凯基生物技术有限公司。

主要仪器设备:二氧化碳培养箱(HF90)购于上海力晶科学仪器有限公司;倒置相差显微镜(CMS)购于德国徕卡微系统CMS有限公司;全波长酶标仪(Multiskan GO)购于赛默飞世尔科技实验室;PCR仪(CFX96)、电泳仪(PowerPac Basic)购于美国Bio-Rad;化学发光成像仪(FMB40)购于美国Azure Biosystems。

1.2 方法

1.2.1 仙人掌多糖的提取

称取仙人掌干粉,热水浸提,2900 r/min离心15 min,得上清液。合并上清液,减压浓缩至原体积的1/4~1/3,三氯乙酸法去蛋白(质量浓度为10%三氯乙酸溶液与多糖溶液按体积比1:1混匀,室温静置2 h),8000 r/min离心20 min,取上清液,调pH至中性,3倍体积95%乙醇沉淀,8000 r/min离心20 min,得白色沉淀。将白色沉淀加超纯水复溶,4 $^{\circ}$ C透析3 d(每天换水1次)。透析后,记录透析袋内多糖溶液体积并测定糖含量,减压浓缩至原体积的1/4~1/3,3倍体积95%乙醇醇沉,离心得白色沉淀,无水乙醇洗涤沉淀,冻干,得精制仙人掌多糖干粉ODPs。

1.2.2 细胞的培养

无菌条件下,用含10%胎牛血清(56 $^{\circ}$ C热灭活30 min)和1%双抗的DMEM培养液于37 $^{\circ}$ C、5%CO₂培养箱中培养小鼠巨噬细胞RAW264.7。待细胞长

至满壁的 85%~90%后(3~4 d),使用 0.25%胰酶按一传三的比例传代培养。试验采用第 2~5 代细胞。

1.2.3 细胞分组及干预

RAW264.7 细胞用 0.25%的胰酶消化后均匀接种于 6 孔板内。分成 5 个组,培养 6 h 以上,以使每孔细胞适应新的环境并长满 80%左右,再用 DMEM 培养液饥饿细胞 3~4 h。待细胞形态由梭形变成圆形后,按下列方法分别进行干预:①空白组,细胞培养液;②阳性对照 LPS 组,细胞培养液+LPS(1 μg/mL);③ODPs 低剂量组,细胞培养液+ODPs(50 μg/mL);④ODPs 中剂量组,细胞培养液+ODPs(100 μg/mL);⑤ODPs 高剂量组,细胞培养液+ODPs(200 μg/mL)。各组加入的对应的干预液体积相等。培养 24 h 后,终止细胞干预,收集细胞。

1.2.4 荧光定量 PCR 检测

6 孔板干预细胞 24 h 后,按照 Axygen 试剂盒说明提取总 RNA。对 *TLR4*、*MyD88*、*TRAF6*、*IKKβ* 及其内参基因 *β-actin* 进行扩增,引物序列见表 1。

表 1 实时荧光 RT-PCR 引物序列
Table1 Primer sequences for real-time RT-PCR

基因名称	引物序列(5'—3')	扩增片段/bp
<i>TLR4</i>	F CATGGATCAGAACTCAGCAAAGTC	179
	R CATGCCATGCCTTGCTTCA	
<i>MyD88</i>	F AGAGCTGCTGGCCTTGTTAG	111
	R TTCTCGGACTCCTGGTTCTG	
<i>TRAF6</i>	F TCATTATGATCTGGACTGCCAAC	113
	R TTATGAACAGCCTGGGCCAAC	
<i>IKKβ</i>	F GAGCTCAGCCAAAGAACAG	150
	R AGGTTCTGCATCCCCTCTGG	
<i>β-actin</i>	F CATCCGTAAGACCTCTATGCCAAC	171
	R ATGGAGCCACCGATCCACA	

采用 25 μL 反应体系,其中 TB 荧光预混液 12.5 μL,去离子水 9.5 μL,上游引物 0.5 μL,下游引物 0.5 μL,逆转录反应产物 2 μL。*TLR4* 的反应条件:95 °C 预变性 1 min,95 °C 变性 15 s,60 °C 退火 15 s,72 °C 延伸 45 s,40 个循环。*MyD88* 的反应条件:95 °C 预变性 10 min,95 °C 变性 15 s,59.2 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 30 s,40 个循环。*TRAF6* 的反应条件:95 °C 预变性 10 min,95 °C 变性 15 s,57.2 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 30 s,40 个循环。*IKKβ* 的反应条件:95 °C 预变性 10 min,95 °C 变性 15 s,59.2 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 30 s,40 个循环。

采用 2^{-ΔΔCt} 法进行基因表达定量和数据分析,计算各基因相对于内参基因 *β-actin* 的表达量。试

验设阴性对照,每个样品平行 3~5 个复孔。

1.2.5 蛋白表达水平的检测

预冷 PBS 洗涤细胞后,用 RIPA 裂解液裂解蛋白,按照 BCA 蛋白定量试剂盒使用说明提取并测定蛋白浓度。根据每个样品总蛋白量(50~100 μg)计算各样品取样量,并与上样缓冲液按比例混合后煮沸 5 min,取 20 μL 进行 SDS-PAGE 电泳(缩胶电泳电压为 80 V,分离胶电泳电压为 120 V)。待溴酚蓝电泳至胶底部时终止电泳。选用 PVDF 膜,350 mA 电流转膜 30 min,用 5%脱脂牛奶封闭 1 h,用 TBST 洗 3 次,分别加入兔单克隆抗体 *TLR4*(1 500 稀释)、*MyD88*(1 500 稀释)、*TRAF6*(1 1000 稀释)、*IKKβ*(1 3000 稀释)、*β-actin*(1 3000 稀释),4 °C 孵育过夜。用 TBST 洗 3 次后加入二抗(稀释比例 1 5000),室温孵育 1~2 h。孵育结束,用 TBST 洗 3 次,进行 ECL 显色曝光。将曝光后的底片扫描,运用 Gel-Pro analyzer 凝胶定量分析软件进行灰度分析,计算出扫描激光密度值与内参的比值。

1.2.6 数据处理与分析

采用 SPSS statistics 23 进行数据分析;各组数据进行单因素方差分析,组间采用 LSD 法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 ODPs 对 RAW264.7 细胞中 *TLR4*、*MyD88*、*TRAF6*、*IKKβ* mRNA 表达量的影响

不同浓度(50、100、200 μg/mL)仙人掌多糖 ODPs 和阳性对照 LPS 干预 RAW264.7 细胞 24 h 后,各组目的基因表达量水平如表 2 所示。LPS 干预后的 LPS 组 *TLR4*、*TRAF6*、*IKKβ* 基因表达量水平较空白组显著升高,但 *MyD88* 的基因表达量与空白组比较没有统计学差异。ODPs 干预后,高剂

表 2 各组 RAW264.7 细胞中的基因相对表达量

组别	基因相对表达量			
	<i>TLR4</i>	<i>MyD88</i>	<i>TRAF6</i>	<i>IKKβ</i>
空白组	0.88±0.04	1.00±0.07	0.70±0.11	1.00±0.01
LPS 组	1.14±0.01 [△]	0.99±0.05	0.92±0.05 [△]	1.20±0.01 [△]
ODPs 高剂量	1.24±0.07 [△]	0.77±0.06 ^{△▲}	1.19±0.06 ^{△▲}	1.41±0.10 ^{△▲}
ODPs 中剂量	1.39±0.19 ^{△▲}	0.83±0.17 ^{△▲}	1.23±0.17 ^{△▲}	1.43±0.04 ^{△▲}
ODPs 低剂量	0.95±0.01	0.46±0.06 ^{△▲}	1.05±0.06 [△]	1.06±0.07 [▲]

“△”示与空白组比较差异显著(P<0.05);“▲”示与 LPS 组比较差异显著(P<0.05)。

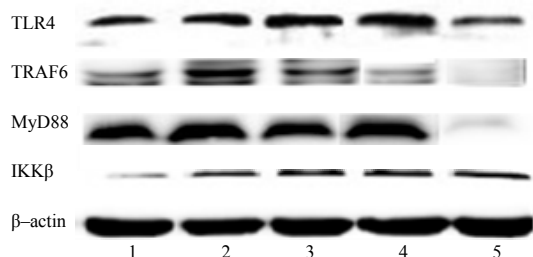
量组、中剂量组 *TLR4*、*TRAF6*、*IKK β* 基因表达水平及低剂量组 *TRAF6* 基因表达水平较空白组的显著升高；中剂量组的 *TLR4* 和高剂量组、中剂量组的 *TRAF6* 及 *IKK β* 基因较 LPS 组基因表达量水平显著增加；但 3 个剂量组 *MyD88* 的基因表达量与空白组及 LPS 组相比较均显著下调。

以上结果说明，一定浓度范围的 ODPs 可以在基因水平上通过激活 *TLR4* 信号传导的 *MyD88* 依赖性途径，从而对 RAW264.7 细胞中 *TLR4*、*TRAF6*、*IKK β* 基因的表达产生激活作用，且三者具有一致的量效关系。中剂量干预时，激活作用最为明显，效果甚至强于阳性对照 LPS 组。但 ODPs 使 *MyD88* 基因的表达水平明显下降，推测可能存在某种影响因素，其原因有待进一步研究。

2.2 ODPs 对 RAW264.7 细胞中 *TLR4*、*MyD88*、*TRAF6*、*IKK β* 蛋白表达量的影响

运用 Gel-Pro analyzer 凝胶定量分析软件对 Western blot 试验结果蛋白条带(图 1)进行灰度分析。结果(表 3)显示：LPS 干预后，*TLR4*、*MyD88*、*TRAF6* 和 *IKK β* 的蛋白表达量比空白组的显著增加。ODPs 干预后，高、中剂量组的 *TLR4*、*MyD88*、*TRAF6* 蛋白表达量较空白组的显著上调，低剂量组的 *MyD88* 蛋白也显著升高；与 LPS 组比较，中剂量组的 *TRAF6* 蛋白显著升高；与空白组相比，3 个 ODPs 剂量组 *IKK β* 的蛋白表达水平均有所升高，但差异均不显著。

这些结果说明，一定浓度范围的 ODPs 可以在蛋白水平上激活 *TLR4* 信号转导的 *MyD88* 依赖性途径，进而对 RAW264.7 细胞中 *TLR4*、*MyD88*、*TRAF6* 蛋白的表达产生激活作用。中剂量干预(浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)时，激活作用最明显。但 ODPs 对 *IKK β* 的激活作用不明显。



1 空白组；2 LPS 组；3 ODPs 高剂量组；4 ODPs 中剂量组；5 ODPs 低剂量组。

图 1 各组 RAW264.7 细胞中蛋白相对表达电泳结果

Fig.1 The result of protein electrophoresis in relative expression of RAW264.7 cells in each group

表 3 各组 RAW264.7 细胞中的蛋白相对表达量

Table 3 Protein relative expression in RAW264.7 cells in each group

组别	蛋白相对表达量			
	<i>TLR4</i>	<i>MyD88</i>	<i>TRAF6</i>	<i>IKKβ</i>
空白组	0.54±0.00	0.55±0.09	0.30±0.10	0.35±0.06
LPS 组	0.70±0.01 [△]	0.83±0.07 [△]	0.42±0.09 [△]	0.50±0.04 [△]
ODPs 高剂量组	0.71±0.02 [△]	0.81±0.10 [△]	0.72±0.08 [△]	0.36±0.10
ODPs 中剂量组	0.78±0.01 [△]	0.94±0.19 [△]	0.82±0.22 ^{△▲}	0.43±0.10
ODPs 低剂量组	0.56±0.01	0.89±0.18 [△]	0.47±0.05	0.39±0.11

“ Δ ”示与空白组比较差异显著($P<0.05$)；“ \blacktriangle ”示与 LPS 组比较差异显著($P<0.05$)。

3 结论与讨论

仙人掌作为一种天然植物资源，具有作用范围广、毒副作用小等优点。仙人掌多糖 ODPs 是仙人掌中的有效成分之一，含量高达 30.6%^[3]。*TLRs* 家族在先天性免疫中发挥着关键作用^[9,17]。其中，*TLR4* 已被确定为巨噬细胞对植物多糖的重要膜受体，也是识别细菌脂多糖 LPS 并介导炎症反应的主要受体，利用转接分子 *MyD88* 传递信号至细胞内，激活下游相关分子，如 *IRAK*、*TRAF6*、*NF- κ B*，从而促进炎症因子的分泌^[18]。*MyD88*、*TRAF6* 和 *IKK β* 作为 *TLR4* 介导的 *MyD88* 依赖性通路上的下游相关分子，在通路中发挥着重要作用。本试验结果表明，中、高剂量(100、200 $\mu\text{g}/\text{mL}$)ODPs 能够显著增强 *TLR4*、*TRAF6* 及 *IKK β* 的基因表达及 *TLR4*、*MyD88*、*TRAF6* 的蛋白表达，对 *TLR4* 介导的 *MyD88* 依赖性通路具有激活作用。

大量研究表明，植物多糖可以通过 *TLR4* 受体介导巨噬细胞激活细胞内信号通路，促进相关细胞因子的释放，发挥其免疫调节功能。如羊栖菜多糖(SFPS)^[19]和蘑菇多糖^[20]均可通过 *TLR4/NF- κ B* 途径激活腹腔巨噬细胞，显著增强其细胞因子的分泌量；大黄多糖(RP)通过 *TLR4/MyD88/NF- κ B* 途径诱导巨噬细胞激活，并产生大量 *IL-1 β* 、*IFN- β* 、*IL-6* 及 *TNF- α* 等细胞因子^[21]；黄芪多糖(APS)通过 *TLR4-MyD88* 信号转导途径对 RAW264.7 小鼠源性巨噬细胞发挥免疫调节作用^[22]。这些研究结果与本试验结果都证实了 *TLR4-MyD88* 信号转导途径是植物多糖发挥免疫调节作用的重要途径之一。

综上所述，一定浓度范围内的 ODPs 在非炎症条件下可促使 *TLR4* 高表达，进而激活 *TLR4* 胞内信号转导的 *MyD88* 依赖性途径，从而活化下游重要蛋白因子 *MyD88*、*TRAF6*、*IKK β* 的表达，使正常巨噬细胞产生炎症反应，发挥增强机体免疫力的

作用。该机制也可能是 ODPs 发挥抗肿瘤、降血糖等其他生物活性的基础, 但有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1999.
Editorial Board of Flora of China, Chinese Academy of Sciences. Flora of China[M]. Beijing: Science and Technology Press, 1999.
- [2] 周立刚, 杨成宗, 吴建勇. 仙人掌属药用植物的研究进展[J]. 中草药, 2004, 35(1): 103-105.
ZHOU L G, YANG C Z, WU J Y. Research progress in medicinal plants of *Opuntia* Mill[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2004, 35(1): 103-105
- [3] LI H, YUAN Q X, ZHOU X J, et al. Extraction of *Opuntia dillenii* Haw. polysaccharides and their antioxidant activities[J]. Molecules, 2016, 21(12): 1612.
- [4] ZHAO L Y, LAN Q J, HUANG Z C, et al. Antidiabetic effect of a newly identified component of *Opuntia dillenii* polysaccharides[J]. Phytomedicine, 2011, 18(8/9): 661-668.
- [5] ZHAO L Y, HUANG W, YUAN Q X, et al. Hypolipidaemic effects and mechanisms of the main component of *Opuntia dillenii* Haw. polysaccharides in high-fat emulsion-induced hyperlipidaemic rats[J]. Food Chemistry, 2012, 134(2): 964-971.
- [6] WANG Y Q, MAO J B, ZHOU M Q, et al. Polysaccharide from *Phellinus igniarius* activates TLR4-mediated signaling pathways in macrophages and shows immune adjuvant activity in mice[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 123: 157-166.
- [7] GUO M Z, MENG M, ZHAO J H, et al. Immunomodulatory effects of the polysaccharide from *Craterellus cornucopioides* via activating the TLR4-NFκB signaling pathway in peritoneal macrophages of BALB/c mice[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 160: 871-879.
- [8] ZHOU L J, LIU Z J, WANG Z X, et al. *Astragalus* polysaccharides exerts immunomodulatory effects via TLR4-mediated MyD88-dependent signaling pathway *in vitro* and *in vivo*[J]. Scientific Reports, 2017, 7: 44822.
- [9] BEUTLER B A. TLRs and innate immunity[J]. Blood, 2009, 113(7): 1399-1407.
- [10] HALLY K, FAUTEUX-DANIEL S, HAMZEH-COGNASSE H, et al. Revisiting platelets and Toll-like receptors (TLRs): at the interface of vascular immunity and thrombosis[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(17): 6150.
- [11] YAMAMOTO M, SATO S, HEMMI H, et al. Role of adaptor TRIF in the MyD88-independent Toll-like receptor signaling pathway[J]. Science, 2003, 301(5633): 640-643.
- [12] KALAHE HEWAGE IRESHA NADEEKA MADUSHANI HERATH, KIM H J, LEE J H, et al. *Sargassum horneri*(Turner) C. Agardh containing polyphenols attenuates particulate matter-induced inflammatory response by blocking TLR-mediated MYD88-dependent MAPK signaling pathway in MLE-12 cells[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2021, 265: 113340.
- [13] YANG H Y, SONG X S, WEI Z M, et al. TLR4/MyD88/NF-κB signaling in the rostral ventrolateral medulla is involved in the depressor effect of candesartan in stress-induced hypertensive rats[J]. ACS Chemical Neuroscience, 2020, 11(19): 2978-2988.
- [14] HAN X Z, MA R, CHEN Q, et al. Anti-inflammatory action of *Athyrium multidentatum* extract suppresses the LPS-induced TLR4 signaling pathway[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2018, 217: 220-227.
- [15] 张松莲. 仙人掌多糖免疫调节作用的研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2007.
ZHANG S L. Study on immunomodulation of *Opuntia dillenii* Haw. polysaccharides[D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2007.
- [16] 陶美华, 曾富华, 卢向阳, 等. 仙人掌多糖的降血糖作用[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2005, 31(6): 612-615.
TAO M H, ZENG F H, LU X Y, et al. Hypoglycemic activity of *Opuntia dillenii* polysaccharides[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2005, 31(6): 612-615.
- [17] LI F H, XIANG J H. Signaling pathways regulating innate immune responses in shrimp[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2013, 34(4): 973-980.
- [18] LEE S G, JUNG J Y, SHIN J S, et al. Immunostimulatory polysaccharide isolated from the leaves of *Diospyros kaki* Thumb modulate macrophage via TLR2[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2015, 79: 971-982.
- [19] CHEN X M, YU G Q, FAN S R, et al. *Sargassum fusiforme* polysaccharide activates nuclear factor kappa-B (NF-κB) and induces cytokine production via Toll-like receptors[J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 105: 113-120.
- [20] GHOSH S, KHATUA S, ACHARYA K. Crude polysaccharide from a wild mushroom enhances immune response in murine macrophage cells by TLR/NF-κB pathway[J]. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2019, 71(8): 1311-1323.
- [21] ZHANG X L, WANG J, XU Z Z, et al. The impact of rhubarb polysaccharides on Toll-like receptor 4-mediated activation of macrophages[J]. International Immunopharmacology, 2013, 17(4): 1116-1119.
- [22] DONG N, LI X R, XUE C Y, et al. *Astragalus polysaccharides* attenuated inflammation and balanced the gut microflora in mice challenged with *Salmonella typhimurium*[J]. International Immunopharmacology, 2019, 74: 105681.

责任编辑: 毛友纯

英文编辑: 柳正