PPs在免疫相关肠病中的病理机制及中药多糖的调控作用

蒲秀兰[1]，林美斯[1,2]，罗锐锋[1]，陈其艳[1]，董玲玲[1]，林大胜[1,3*]，高飞[1*]
（1. 成都中医药大学 药学院，省部共建西南特色中药资源国家重点实验室，成都 611137；
2. 四川省针灸学校，成都 611137；3. 成都华神科技集团股份有限公司，成都 611137）

［摘要］ 肠道派氏结(PPs)是肠的局部免疫组织，被认为是肠道黏膜免疫反应的主要诱导部位，与免疫性相关肠病，如溃疡性结肠炎、肠道黏膜损伤等关系密切。近年来越来越多的学者想通过深入研究PPs与肠病的相关性，为临床干预作用非常有限的难治性肠病寻找新的突破口。中药多糖被认为是中药免疫调节的关键成分，现代研究显示中药多糖对PPs的结构和功能具有积极的明显的干预作用，展现出良好的开发前景。据此，本论文聚焦PPs与免疫相关肠病，通过系统介绍PPs的生理结构及其递药机制，梳理PPs与免疫相关肠病作用关系研究进展，分析中药多糖通过调节PPs干预免疫相关肠病及其功能失调现状和前景，旨在通过PPs角度，为免疫相关肠病基础研究和临床治疗提供新策略，为中药多糖干预肠病的基础研究和临床研究提供新思路。

［关键词］ 中药多糖；肠道派氏结；溃疡性结肠炎；作用机制
［中图分类号］ R2-0；R22；R285.5；R289 ［文献标识码］ A ［文章编号］ 1005-9903(2021)04-0216-09
［doi］ 10.13422/j.cnki.syfjx.20202403
［网络出版地址］ https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20201126.1042.004.html
［网络出版日期］ 2020-11-26 13:47

Pathological Mechanism of PPs in Immune-related Enteropathy and Regulatory Effect of Traditional Chinese Medicine Polysaccharides

PU Xiu-lan[1], LIN Mei-si[1,2], LUO Rui-feng[1], CHEN Qi-yan[1], DONG Ling-ling[1],
LIN Da-sheng[1,3*], GAO Fei[1*]
(1. *School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine (TCM), State Key Laboratory of TCM Resources in Southwestern China, Chengdu* 611137, *China*;
2. *Sichuan Provincial Acupuncture School, Chengdu* 611137, *China*;
3. *Chengdu Huashen Technology Group Co. Ltd., Chengdu* 611137, *China*)

［**Abstract**］ Intestinal Peyer's patches (PPs) are local immune tissues of the intestine, which are considered to be the main induction site of the intestinal mucosal immune response, and closely related to immune-related refractory enteropathies, such as ulcerative colitis and Crohn's disease. In recent years, more and more scholars have tried to find a new breakthrough for treating refractory enteropathies with a limited efficacy of clinical interventions through in-depth study of the relationship between PPs and enteropathy. Traditional Chinese medicine (TCM) polysaccharides are considered to be a key component for immune regulation with TCM. Modern studies show that TCM polysaccharides have a significant positive intervention effect on the structure and function of PPs, with good development prospects. Based on this, this paper focuses on PPs and

［收稿日期］ 20200925(009)
［基金项目］ 国家自然科学基金项目(81903811)；中国博士后基金面上项目(2019M653364)；成都市科技局技术创新研发项目(YF05-00267-SN)；成都中医药大学西南特色中药资源重点实验室人才科研提升计划基金项目(2020BSH009，2020QNJS006)
［第一作者］ 蒲秀兰，在读硕士，从事中药干预自身免疫性疾病及其制剂研究，E-mail：1733090177@qq.com
［通信作者］ *高飞，副研究员，从事中药新型制剂干预自身免疫性疾病及其作用机制研究，E-mail：feigao207@yeah.net；
*林大胜，高级工程师，从事中药制剂与质量控制研究，E-mail：hoistlds@vip.sina.com

intestinal-related diseases, and systematically introduces the physiological structure of PPs and their drug delivery mechanism, and summarizes the interactions of PPs with effect on immune-related enteropathies, analyze of current studies and prospects of effect of TCM polysaccharides in intervening intestinal disease and its dysfunction by regulating PPs, with the aim to provide new strategies for basic studies and clinical treatment of immune-related refractory enteropathies from the perspective of PPs, and new ideas for basic studies and clinical studies on effect of TCM polysaccharides in intervening enteropathies.

[**Key words**] traditional Chinese medicine polysaccharides; intestinal Peyer's patches; ulcerative colitis; mechanism

肠道相关疾病主要包括肠道黏膜损伤、溃疡性结肠炎(UC)和克罗恩病(CD)等,这些疾病均与免疫密切相关,研究表明调节免疫功能可对这些免疫相关的肠道疾病进行干预治疗[1]。该类疾病常难治愈,近年来全球发病率持续走高,临床一线药物,比如氨基水杨酸类、激素和免疫抑制剂等,治疗疗效有限且毒副作用明显,严重影响患者的生活质量,给患者带来较大的经济负担大,其根本原因是该病作用机制不清,缺乏针对性治疗药物和方法。近年来,肠道派氏结(PPs)作为肠的局部免疫组织,其与免疫相关肠道疾病的关系逐渐引起了科学家的注意。PPs是肠道黏膜免疫反应的主要诱导部位,是肠道黏膜免疫屏障系统的主要部分,现已成为疫苗口服摄入进而引起全身免疫反应的主要通道。然而,诸多证据显示PPs的数量、性状和PPs内免疫细胞的组成、活性等,与免疫性相关肠病,如肠道黏膜损伤,UC,CD等直接或间接相关,但缺乏系统的综述和总结。从PPs出发,寻找治疗免疫性相关肠病的新机制和新靶点,阐述中药干预免疫性相关肠病的新作用机制,进而寻找有效小分子药物或中药,是一项有意义的研究策略。

多糖作为中药参与免疫调节的主要活性成分,近年来受到了国内外学者的普遍关注,特别是补益类中药,如黄芪、人参、茯苓和白术等,因其具补阴、补阳、补气或补血等扶正祛邪之功,其多糖常对人体的免疫系统表现出良好的正向调节作用,成为中药干预机体免疫的热点[2]。目前,中药多糖对肿瘤免疫[3]、细胞免疫和体液免疫等机制研究渐渐深入,已成为许多免疫相关疾病的候选药物,如针对艾滋病[4]、各种癌症、肝炎和风湿性关节炎[5]等。其中,随着免疫与肠病作用机制的逐步阐明,中药多糖干预免疫性相关肠病及功能失调等也获得了一定进展。其中,中药多糖通过干预PPs的作用进而对免疫性相关肠病进行治疗已获得部分研究成果,包括复方多糖,比如四君子汤总多糖、玉屏风多糖,单味药多糖,比如黄芪多糖、茯苓多糖、苍术多糖等,可对PPs的数量、大小、细胞种类或细胞因子表达等产生相应的调节作用。

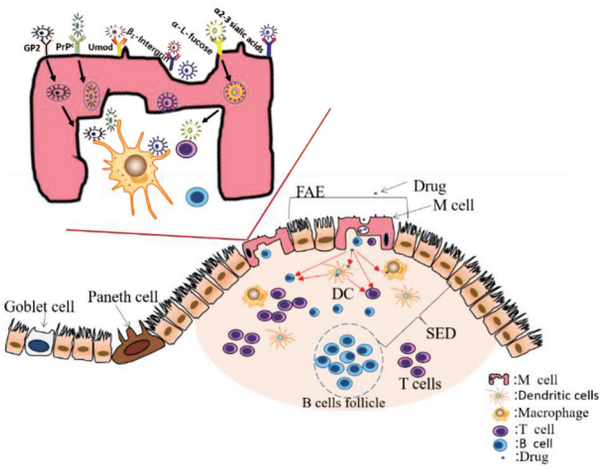
本论文聚焦PPs与免疫相关肠道疾病,通过介绍PPs的生理结构及其摄取递药机制,阐释PPs与UC,CD,肠黏膜损伤,肠道菌群失调相互作用关系和综述中药多糖通过调节PPs干预肠病及其功能失调的研究进展[6],旨在对中药多糖对肠道疾病的基础研究和临床实践提供一定的参考。

1 PPs的结构与功能

PPs由瑞士病理学家PEYER提出[7],主要是存在于小肠中的聚集性淋巴泡[8],由滤泡相关上皮(FAE),上皮穹窿(SED),B淋巴滤泡等几部分组成。PPs是一个局部免疫组织,主要含有各类免疫细胞[9-10],比如小鼠PPs内主要含有60%的B淋巴细胞,25%的T淋巴细胞,10%的树突状细胞和5%以下的巨噬细胞或多形核中性粒细胞[7](图1)。

FAE是小肠物质转运的关键区域之一,该区域不存在杯状细胞和潘氏细胞等肠上皮保护细胞,主要分布有具有良好物质摄取能力的M细胞。M细胞是黏膜相关淋巴组织的特化上皮细胞,具有黏液分泌少、糖萼稀疏、没有致密微绒毛、褶皱丰富、基底质膜薄等特点,为物质或者药物的摄入提供了便利通道,物质或者药物能够相对容易的通过M细胞的直接胞吞作用或者糖蛋白2(GP2),细胞朊病毒蛋白(PrPc)等受体介导的胞吞作用将物质从管腔运输到上皮内的树突状细胞,T淋巴细胞,巨噬细胞等,起到相应的传递和治疗作用[11](图1)。基于这样的特点,已有许多口服靶向M细胞的疫苗研制成功[12-13]。且M细胞也打开了治疗药物进入体循环的门户[14]。更重要的是,近期研究表明,许多中药可以通过PPs进入肠道黏膜,作用于PPs内部的免疫细胞,从而对局部免疫细胞参与的肠道疾病起到治疗效果[15]。因此,通过PPs上的M细胞介导肠腔高效摄取中药有效成分,进而治疗肠道疾病,是一种

有潜力的中药治疗肠道疾病策略(图 1)[16]。



药物通过 FAE 上的 M 细胞上的胞吞作用进入 PPs,在 SED 中,药物直接作用于 T 细胞或 B 细胞,或通过树突状细胞识别和呈递给 T 细胞或 B 细胞从而发挥药物干预作用

图 1　PPs 的结构与 M 细胞转运机制

Fig. 1　Structure of intestinal Peyer's patch and drugs uptake of M cell

PPs 是小肠内诱导免疫应答的重要局部免疫组织,构成了肠道的基本免疫屏障。然而,许多肠道相关疾病或功能失调,如溃疡性结肠炎、克罗恩病、肠道黏膜损伤和肠道菌群失调等,均与免疫调节直接相关。因此,通过 PPs 介导肠道疾病的诊断、预测和治疗是近年的研究热点[17]。

2.1　PPs 与溃疡性结肠炎　UC 是一种慢性反复性的胃肠道疾病,有证据表明,这种疾病发生在基因易感人群中,并由环境因素引发,从而导致了过度的免疫反应[18]。根据《炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2018 年,北京)》[19]和《2019 美国成人溃疡性结肠炎指南》[20],免疫抑制均是 UC 临床治疗的主要策略,特别是针对中重度 UC,临床常用糖皮质激素,环孢素-A,巯基嘌呤,他莫克司等具有明确免疫抑制作用的药物进行干预与治疗。免疫抑制药物可通过防止和阻止免疫性炎症反应和病理性免疫反应的发生,比如通过干扰 T 淋巴细胞的激活、减弱结肠引流系淋巴结中 T 细胞向辅助性 T 细胞 1(Th1)和辅助性 T 细胞 17(Th17)细胞的分化[21],从而干预免疫环节调控免疫反应治疗 UC。值得注意的是,免疫抑制与 UC 治疗的根本机制问题尚缺乏系统证据,但从临床治疗效果可以看出,干预免疫作用在一定程度上对 UC 的治疗具有积极的作用。

PPs 与溃疡性结肠炎密切相关,一方面,PPs 是预测溃疡性结肠炎病程的潜在指标。HIYAMA 等[22]对 63 例年龄在 65 岁以下的 UC 患者于 2009 年 4 月至 2013 年 3 月进行了结肠镜检查,发现 PPs 在放大内窥镜(NBI-ME)窄带成像下显示良好,UC 患者 PPs 的微结构和微血管发生改变;以 PPs 的绒毛指数为指标将患者分为低型和高型 2 种类型,研究结果表明,慢性活动期的患者的绒毛指数高型(100%)比复发缓解型以及首次发作型患者(48%)所占比例高得多,且 PPs 的绒毛指数高型的患者在 6 个月以内的复发率显著更高(64%),PPs 形态改变的溃疡性结肠炎患者表现为慢性活动期和复发性病程,所以应用 NBI-ME 图像观察 PPs 的形态结构可能是预测溃疡性结肠炎临床病程的有效方法。另一方面,诸多证据间接显示抑制 PPs 内免疫细胞数量可起到 UC 治疗作用。如 WANG 等[23]基于葡聚糖硫酸钠(DSS)诱导的结肠炎模型的研究表明,PPs 中 $CD11b^+$ B 细胞诱导显著增加,且该细胞产生的趋化因子 CXCL9 介导的调节性 T 细胞募集,可导致 PPs 中调节性 T 细胞增加,提示 UC 模型 PPs 内免疫细胞数量增加[24]。刘端勇等[25]通过 2,4,6-三硝基苯磺酸(TNBS)/乙醇法诱导的大鼠结肠炎,采用流式细胞仪检测大鼠小肠 PPs 中 T 淋巴细胞亚群的表达水平,模型组 $CD4^+$T 淋巴细胞水平明显升高;采用四神丸治疗后,发现治疗组大鼠小肠 PPs 中 $CD4^+$T 淋巴细胞水平明显降低,研究结果表明四神丸可能是通过调节 PPs 中 T 淋巴细胞亚群改善溃疡性结肠炎。SHIRAKABE 等[26]研究了 2-乙酰基-4-四羟基丁基咪唑(THI)如何影响结肠炎和幼稚 T 淋巴细胞在 PPs 中的迁移。鞘氨醇-1-磷酸(S1P)是一种迁移调节因子,在淋巴细胞从次级淋巴器官如 PPs 和肠系膜淋巴结向淋巴管的迁移中起着至关重要的作用,被认为是 PPs 淋巴细胞迁移的关键调节因子。在此研究中发现 THI 可抑制 S1P 裂解酶(SPL),导致 S1P 梯度消失,从而阻断幼稚 T 淋巴细胞进入 PPs,起到改善溃疡性结肠炎的作用。是否能够直接通过抑制 PPs 内免疫细胞数量对 UC 进行有效治疗,尚需更多直接有力的证据予以佐证。

2.2　PPs 与克罗恩病　CD 是自身免疫性疾病,其本质是自身免疫,活动期都有 Th17/调节性 T 细胞(Treg)和 Th1/Treg 反应失衡。同时有 Treg 细胞数量减少导致的抑制 Th17 细胞功能障碍的缺陷,这一缺陷可导致免疫失耐受[27]。CD 在胃肠道的任何部位均可发生,但好发于回肠末端和右半结肠[28],PPs 主要位于回肠末端[29],由于其独特的结构,可以通过 PPs 及其内部的细胞和细胞因子治疗克罗恩病。研究表明,复发性克罗恩病起源于覆盖 PPs 上的滤泡

相关上皮的小糜烂，SALIM等[30]对克罗恩病患者PPs中树突状细胞的特征进行了研究，共聚焦显微镜结果表明树突状细胞标志物DC-SIGN+在上皮穹隆内的浸润增强，且CD患者FAE组织中的TNF-α的释放增加，这是因为DCs产生大量的TNF-α扰乱了CD患者组织中细胞因子的平衡从而导致了CD的复发。CHASSAING等[31]报道了克罗恩病患者的回肠病变部位被附着性侵袭性大肠埃希菌(AIEC)定殖，在AIEC中存在一个功能性LPF操纵子，其允许AIEC细菌与PPs相互作用并在M细胞上转运，研究发现在胆汁酸盐条件下促进了LPF转录的激活，从而增加AIEC在回肠的定殖导致克罗恩病的复发。由此可见，PPs与克罗恩病的复发密切相关。

2.3 PPs与肠道黏膜损伤　肠道黏膜受损是临床常见现象，可由饮食不当、菌群失调或其他病理因素造成，常常与肠道黏膜免疫系统密切相关，现代研究表明通过调节PPs中的免疫细胞，可对肠道修复起到积极作用[32]。BHAT等[33]的研究表明1-(4-硝基苯磺酰基)-4-丙烯哌嗪可通过增加PPs的大小和数量以及与PPs相邻的再生隐窝的数量来改善肠道黏膜免疫功能，从而减轻胃肠道急性辐射综合征。李斌等[34]采用大鼠小肠缺血45 min再灌注模型造成肠道黏膜损伤，四甲基偶氮唑盐微量酶反应比色法测定PPs中淋巴细胞的增殖活力，结果表明缺血再灌注造成的肠道黏膜损伤后肠黏膜免疫功能下降，PPs内的淋巴细胞增殖活性明显下降。

2.4 PPs与肠道菌群失调　人体的微生物菌群多数定植于肠道，肠道菌群的平衡与失调和消化系统疾病的关系显而易见[35]，肠道菌群失调可造成肠道微生物代谢功能改变，进而简介或者直接的影响到肠道的黏膜免疫系统作用，诱发或者加重免疫相关肠病[36-37]。PPs作为肠道黏膜免疫反应的主要诱导位点，其结构和细胞构成比例不是一成不变的，肠道优势菌群的不同程度失衡会导致PPs内的淋巴细胞种类、数量及细胞因子表达量发生改变，从而影响肠道疾病的发生与发展。高菲[38]研究表明肠道优势菌群失衡会导致PPs内T淋巴细胞比例随着失衡程度的加深不断升高，辅助性T细胞比例较失衡前升高，细胞毒性T细胞和调节性T细胞比例降低，同时导致与体液免疫相关的白细胞介素(IL)-2和干扰素-γ(IFN-γ)表达量升高，与细胞免疫相关的IL-4和IL-10表达量降低，促使免疫反应向体液免疫方向偏移。因此，肠道菌群失调对PPs的影响可能是导致炎症性肠病(IBD)发生的触发点。LUO等[39]研究了肠道菌群失调小鼠体内PPs中淋巴细胞的变化对免疫系统的影响，实验发现小鼠口服头孢曲松钠，诱导其肠道菌群失调，显示肠道菌群失调小鼠PPs内T细胞和B细胞的活化和增殖明显降低，提示肠道菌群通过影响PPs-MLN-脾淋巴细胞的比例和功能，对免疫系统产生影响。不仅肠道菌群失调会影响PPs，反过来PPs中的淋巴细胞也可以调节肠道黏膜共生细菌的增殖。HASHIGUCHI等[40]通过腹腔注射0.5 mg抗-CD90.2 mAb 4次以消耗固有淋巴样细胞，发现单抗处理组小鼠PPs内的好氧细菌系统性的增殖，提示PPs内的固有淋巴样细胞在体内平衡的细菌控制中起着重要的作用。

3　PPs与中药多糖

PPs是肠道局部免疫器官，与免疫相关肠道疾病密切相关，据此，通过药物干预PPs进而调节机体的免疫功能以治疗免疫相关肠道疾病，是一项可行的研究策略。中药多糖具有良好的免疫调节作用，诸多证据显示其能通过PPs发挥免疫调节作用，常见的具有免疫调节作用的中药多糖包括复方多糖如四君子汤总多糖，以及单味中药多糖如黄芪多糖、香菇多糖和茯苓多糖等。多糖广泛存在于菌类、藻类和根茎类中药材中，其免疫调节作用一直是国际上的研究热点。天然来源的多糖可以通过激活Toll样受体4(TLR4)，Toll样受体2(TLR2)等多种免疫细胞内信号通路，活化转录，促进细胞因子的释放，从而发挥免疫调节作用[41]。

3.1 四君子汤总多糖　四君子汤出自宋代《太平惠民和剂局方》，由人参、白术、茯苓、甘草组成，是补脾益气代表方[42]。四君子汤总多糖具有肠道免疫调节作用，其质量分数可达到13%[43]。研究证实口服四君子汤总多糖可以作用于肠道PPs，具有改善肠道黏膜免疫功能的作用[44]。潘华新等[45]采用流式细胞术检测口服四君子汤总多糖治疗化疗荷瘤小鼠前后的PPs中淋巴细胞亚群，结果显示四君子汤总多糖组肠道PPs中B淋巴细胞活化水平从化疗荷瘤组的(1.60±0.70)%提高到(2.43±0.46)%，提示四君子汤总多糖可以通过提高PPs中B淋巴细胞水平改善化疗所致的肠道黏膜免疫损伤。刘良等[46]通过肉眼计数PPs数目，观察其形态，发现四君子汤复方总多糖可对抗环磷酰胺诱导的小鼠肠道黏膜相关淋巴组织中PPs数目，PPs细胞总数的减少来改善小鼠肠道黏膜免疫系统，类似结论也在其他研究中得以证实。张大鹏等[47]发现四君子汤总多糖通过抵抗肠黏膜PPs细胞的凋亡发挥肠道黏膜免疫调

节功能。杨瑛等[48]和周联等[49]则是通过研究口服四君子汤总多糖前后小鼠PPs内$CD3^+$,$CD19^+$细胞比例的变化,发现口服四君子汤总多糖可以对抗由于注射环磷酰胺引起的$CD3^+$细胞比例的上升和$CD19^+$细胞比例的下降从而调节肠道黏膜免疫功能。CD3是成熟T淋巴细胞所共有的标志,CD19则是B淋巴细胞的重要表面标志,$CD3^+$和$CD19^+$细胞的比例改变会影响机体免疫,如$CD3^+$细胞比例上升和$CD19^+$细胞比例下降则提示机体免疫处于抑制状态。

3.2 黄芪多糖 黄芪多糖(APS)是黄芪中重要的天然有效成分,是一类大分子活性物质,具有抗肿瘤、抗氧化、降血糖、降血脂和心血管保护等药理作用[50]。KIYOHARA等[51]从黄芪中分离得到了由阿拉伯糖3,6-半乳糖组成的黄芪多糖;并对APS对肠道PPs的免疫调节进行了研究,通过小鼠PPs内的细胞产生骨髓细胞增殖因子,评价PPs对免疫活性细胞的免疫调节活性,结果表明黄芪地上部分提取的多糖可以使PPs内的细胞产生的骨髓细胞增殖因子增加,进而对肠道PPs具有免疫调节活性。黄翠兰等[52]研究了APS对严重烫伤大鼠肠道免疫功能的影响,结果显示APS可以使大鼠$CD3^+$,$CD4^+$,$CD8^+$ T淋巴细胞百分比及$CD4^+/CD8^+$增高,提示APS可以通过调节PPs内T淋巴细胞亚群的平衡促进烫伤大鼠肠黏膜屏障的修复。

APS除可通过PPs促进黏膜修复,也可用于结肠炎的治疗。鹿秀云等[53]研究了APS对结肠炎小鼠树突状细胞表面共刺激分子表达的调节作用,通过流式细胞术检测小鼠PPs中树突状细胞CD254,CD265,CD273,CD282,TLR4等表面共刺激分子的表达,这些共刺激分子可影响活化作用和功能发挥,异常活化的树突状细胞可启动异常免疫应答,介导炎性病理损伤,并在结肠炎的发病过程中起到重要作用[54],结果显示APS可以使这些共刺激分子的表达显著降低,从而起到控制过度免疫的作用,有效的治疗溃疡性结肠炎。刘端勇等[55]研究发现APS对结肠炎大鼠小肠PPs中T淋巴细胞亚群的具有调节作用,通过流式细胞术检测T淋巴细胞的水平,APS组可降低$CD4^+$ T淋巴细胞数量、调高$CD8^+$ T淋巴细胞水平,同时明显降低CD4/CD8,说明APS可调节T淋巴细胞亚群的平衡,从而降低异常免疫反应的程度,减轻炎症损伤,从而有效治疗实验性结肠炎。ZHAO等[56]采用TNBS诱导结肠炎,探讨APS对溃疡性结肠炎的治疗效果,结果表明APS通过恢复调节性T细胞的功能状态,抑制PPs中IL-17的表达来治疗实验性结肠炎。

3.3 香菇多糖 香菇为侧耳科植物香蕈的子实体,又称为香菌、冬菇等,是著名的药食同源菌种,香菇多糖(lentinan, LNT)是从香菇中提取分离得到的结构以β-(1→3)-*D*-葡聚糖残基为主链的成分[57]。现代研究主要通过注射环磷酰胺造成小鼠免疫抑制小鼠模型,研究LNT对小鼠病变肠道免疫系统干预作用。JIANG等[58]观察LNT对免疫抑制小鼠PPs的结构和功能影响,发现LNT可以抵抗由于注射环磷酰胺导致的PPs中$CD3^+CD25^+$和$CD3^+CD69^+$细胞百分比明显降低的免疫抑制状态,达到调节肠道免疫的效果。张立[59]研究LNT对小鼠肠道黏膜免疫系统T细胞亚群的影响,研究结果发现口服香菇多糖可以上调免疫抑制模型下PPs中$\alpha\beta$ T细胞的比例,提示口服LNT对免疫功能的紊乱具有调节和恢复作用。李浩烜[60]研究LNT对小鼠T细胞的功能影响,结果发现PPs中T细胞和B细胞以及活化的T细胞比例均比模型组有所回升,提示口服LNT可以通过影响INF-γ含量来影响T细胞比例及活化表达的变化进而对整体的免疫调节发挥作用。

3.4 茯苓多糖 茯苓是我国传统的药食同源中药,具有利水渗湿、健脾、宁心等功效,现代研究表明茯苓多糖是其重要的有效成分之一,有抗肿瘤、免疫调节、抗炎、抗氧化、抗衰老等药理活性[61]。孙晓雨等[62]研究表明口服茯苓多糖可以改善PPs中$CD3^+$和$CD19^+$的比例和肠黏膜组织中细胞因子的水平,$CD19^+$分子是B细胞的重要标记,参与B细胞的激活,由此提示茯苓多糖可参与体液免疫调节。王青等[63]研究了口服茯苓多糖对环磷酰胺诱导的小鼠淋巴细胞亚群变化的作用,通过流式细胞仪检测小鼠PPs,肠系膜淋巴结(MLNs)和脾脏(SP)细胞,腹腔注射环磷酰胺后,小鼠PPs,MLNs和SP中的$CD3^+$细胞比例上升,$CD19^+$细胞比例下降,口服茯苓多糖能有效对抗这些淋巴细胞亚群的变化,尤其是对PPs作用明显,茯苓多糖可以通过活化PPs中B淋巴细胞调节肠道黏膜免疫系统。茯苓多糖在PPs中的作用,在孙晓雨等[63]的研究中也得到了证实。

3.5 其他多糖 除了上述多糖对肠道疾病有影响,还有许多其他中药多糖对肠道疾病也有很好的疗效。研究表明玉屏风多糖可通过改善免疫抑制引起的PPs面积、体积的减少和数量的降低对肠道黏膜免疫应答和损伤进行调控[64]。陈刚等[65]研究玉屏风多糖对小鼠PPs形态结构的影响,通过环磷酰胺造成小鼠免疫抑制,玉屏风多糖治疗1周后,取小

肠PPs，常规切片HE染色后应用图像分析技术检测PPs形态结构变化；研究发现，与免疫抑制组相比，玉屏风多糖组PPs的面积和体积均增大，数量增多。中药其他多糖通过PPs干预肠病作用机制见表1。

表1 中药其他多糖通过PPs干预肠病及其作用机制

Table 1 Other polysaccharides of traditional Chinese medicine intervene in bowel disease through PPs and its mechanism

多糖名称	模型	机制	体内/体外	参考文献
党参多糖	正常小鼠	①促进PPs中T淋巴细胞体内分化；②提高$CD4^+/CD8^+$	体内	[66]
粗根荨麻多糖	环磷酰胺诱导的免疫抑制模型	①增加PPs中分泌免疫球蛋白A，IFN-γ和IL-4的分泌；②维持PPs中IFN-γ/IL-4和分化簇$CD3^+/CD19^+$细胞平衡；③增加TLR4的表达	体内	[67]
苍术多糖	正常小鼠/RAW264.7细胞	①激活PPs中的T淋巴细胞，促进集落刺激因子的产生；②促进巨噬细胞增殖、吞噬、释放NO和细胞因子	体内/体外	[68]
陈皮多糖	Peyer's patch cells	激活PPs中调节性T淋巴细胞	体外	[69]
铁皮石斛多糖	正常小鼠/RAW246.7细胞	①增加PPs中INF-γ和IL-4含量；②调节Th1/Th2的平衡；③增强巨噬细胞吞噬活性，NO分泌和细胞因子生成	体内/体外	[70]
粗根荨麻多糖	环磷酰胺诱导的免疫抑制模型	使免疫抑制小鼠PPs数目PPs中淋巴细胞的比例及活化水平恢复至正常	体内	[71]
薰衣草多糖	正常小鼠	刺激肠道PPs内的细胞产生骨髓细胞增殖细胞因子	体内	[72]
马齿苋、薰衣草和银莲复合物多糖	正常小鼠	①刺激肠道PPs细胞产生骨髓细胞增殖细胞因子；②诱导PPs中IL-6的产生	体内	[73]
龙须草多糖	正常小鼠	诱导PPs中IL-6的产生，从而有助于刺激骨髓细胞增殖	体内	[74]

4 展望

中药多糖可以通过作用于PPs治疗肠道疾病，其中黄芪多糖通过PPs对肠道疾病的干预作用体现了双向调节的特性，一方面，对于UC等免疫异常过度等肠道疾病可起到免疫抑制作用，通过调节T淋巴细胞亚群的平衡，从而降低异常免疫反应的程度，减轻炎症损伤；另一方面，可以通过调节PPs内T淋巴细胞亚群的平衡促进烫伤大鼠肠黏膜屏障的修复。然而黄芪多糖对肠相关疾病的双向调节作用关系和更深层次的作用机制尚不清楚，特别是同一种多糖在不同的病理状态下表现出两种完全不同的治疗趋势，是一个值得深入解决的基础研究问题；其次虽然其他中药多糖在提高机体免疫方面较为突出，但根据黄芪多糖的研究提示，其它多糖的双向调节作用也是值得深入研究方向之一，且中药多糖通过PPs上的M细胞的转运机制尚不清楚，还值得进一步研究(见表1)。

目前对于这些免疫相关性肠病的治疗药物主要包括氨基水杨酸、激素和免疫抑制剂等，氨基水杨酸类药物主要通过抑制促炎因子前列腺素和炎症介质白三烯的合成，激素类药物主要通过非特异性抗炎和抑制免疫反应，而免疫抑制剂可以主要通过抑制免疫过激。但这些药物长期服用效果有限且会产生一系列的毒副作用，因此寻找更加有效和

表1 中药多糖的双向调节作用

Table 1 Bidirectional regulation of Polysaccharides from Traditional Chinese medicine

免疫调节	免疫激活	免疫抑制
多糖总类	党参多糖、黄芪多糖、陈皮多糖、茯苓多糖、香菇多糖、四君子总多糖	黄芪多糖
药理机制	①αβT细胞升高；②$CD3^+$细胞降低，$CD19^+$细胞升高；③维持IFN-γ/IL-4；④$CD3^+$，$CD4^+$，$CD8^+$，$CD4^+/CD8^+$升高；⑤刺激骨髓细胞增殖细胞因子的生成；⑥$CD3^+CD25^+$和$CD3^+CD69^+$细胞升高；⑦调节Th1/Th2的平衡；⑧激活Treg细胞；⑨B细胞升高	①$CD4^+$细胞降低，$CD8^+$细胞升高；②CD254，CD265，CD273，CD282降低；③IL-17降低

毒性作用低的药物，是免疫相关性肠病现代临床和基础研究需要解决的“卡脖子”问题。然而，通过对PPs与免疫性肠病关系的逐渐揭示，以及中药多糖在干预PPs治疗免疫性相关疾病的潜在治疗活性，将中药多糖作为治疗免疫性肠道疾病药物或者一线药物的佐剂，也许是可以克服目前治疗肠道疾病的药物缺点的一种有效的临床治疗策略，但仍需要更加深入的研究，比如多糖的化学成分分析和结构解析，作用机制的进一步探讨以及临床有效性和安全性的评价等。

PPs表面的M细胞由于其独特的生理结构，成

为了肠道许多药物、细菌、抗体和微小颗粒进出的重要门户之一。据此，近年来口服疫苗通过纳米递药系统(1~1 000 nm)M细胞靶向设计，疫苗经M细胞介导进入机体，产生局部黏膜免疫反应或诱导产生全身免疫反应，进而促使人体产生抗体的研究趋紧成熟。然而，通过靶向M细胞进行肠道疾病的研究仍然比较初级的阶段，其主要原因是PPs与免疫相关性肠病的基础研究不够深入，临床实践尚缺大数据临床支撑，导致通过靶向于M细胞，作用于PPs干预免疫相关性肠病的研究较为粗浅，比如有学者通过酵母细胞壁包载药物进行UC的干预，结果推测酵母细胞壁的β-葡聚糖可以靶向M细胞表面的β-葡聚糖受体，协助药物干预UC治疗。因此，加强PPs与免疫相关性肠病的基础研究，同时借助纳米递药科技等手段，设计M细胞的口服治疗药物，可以起到局部治疗和增效减毒的作用。

[参考文献]

[1] 宋亚芳，裴丽霞，赵婷婷，等. 溃疡性结肠炎免疫因素发病机制的研究进展[J]. 医学研究生学报，2019，32(4)：432-436.
[2] 吕小成，张乐帅，王富军. 中药多糖的免疫调节作用及研究进展[J]. 上海中医药大学学报，2016，30(3)：97-101.
[3] 郑昱婧，宋淑亮，梁浩，等. 中药多糖在抗肿瘤免疫中的研究进展[J]. 生命的化学，2016，36(5)：601-606.
[4] 叶妮，马金昀，程晓东. 黄芪多糖对C17.2神经干细胞定向分化的调控作用[J]. 世界中医药，2019，14(6)：2598-2602，2608.
[5] 陈燕，李世刚. 中药多糖防治类风湿性关节炎的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志，2011，17(1)：202-204.
[6] 周欣，付志飞，谢燕，等. 中药多糖对肠道菌群作用的研究进展[J]. 中成药，2019，41(3)：623-627.
[7] JUNG C，HUGOT J P，BARREAU F，et al. Peyer's patches：the immune sensors of the intestine[J]. Int J Inflam，2010，doi：10. 4061/2010/823710.
[8] BRAYDEN D J，JEPSON M A，BAIRD A W，et al. Keynote review：intestinal Peyer's patch M cells and oral vaccine targeting[J]. Drug Discov Today，2005，10(17)：1145-1157.
[9] NAGATA S，MCKENZIE C，PENDER S L，et al. Human Peyer's patch T cells are sensitized to dietary antigen and display a Th cell type 1 cytokine profile[J]. J Immunol，2000，165(9)：5315-5321.
[10] REBOLDI A，CYSTER J G. Peyer's patches：organizing B-cell responses at the intestinal frontier[J]. Immunol Rev，2016，271(1)：230-245.
[11] OHNO H. Intestinal M cells[J]. J Biochem，2016，159(2)：151-160.
[12] CHEN Y，WU J，WANG J，et al. Targeted delivery of antigen to intestinal dendritic cells induces oral tolerance and prevents autoimmune diabetes in NOD mice[J]. Diabetologia，2018，61(6)：1384-1396.
[13] CANO P G，GAMAGE L N，MARCINIUK K，et al. Lambda display phage as a mucosal vaccine delivery vehicle for peptide antigens[J]. Vaccine，2017，35(52)：7256-7263.
[14] XIE Y，HU X，HE H，et al. Tracking translocation of glucan microparticles targeting M cells：implications for oral drug delivery[J]. J Mater Chem B，2016，4(17)：2864-2873.
[15] LI X N，ZHAO Z M，YANG Y H，et al. Novel beta-1，3-d-glucan porous microcapsule enveloped folate-functionalized liposomes as a Trojan horse for facilitated oral tumor-targeted co-delivery of chemotherapeutic drugs and quantum dots[J]. J Mater Chem B，2020，8(11)：2307-2320.
[16] MABBOTT N A，DONALDSON D S，OHNO H，et al. Microfold (M) cells：important immunosurveillance posts in the intestinal epithelium[J]. Mucosal Immunol，2013，6(4)：666-677.
[17] FUNDERBURG N T，LUCIANO A A，JIANG W，et al. Toll-like receptor ligands induce human T cell activation and death，a model for HIV pathogenesis[J]. PLoS One，2008，3(4)：e1915.
[18] GIUFFRIDA P，CORAZZA G R，SABATINO A D，et al. Old and new lymphocyte players in infammatory bowel disease[J]. Dig Dis Sci，2018，63(2)：277-288.
[19] 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2018年·北京)[J]. 中华炎性肠病杂志(中英文)，2018，2(3)：173-190.
[20] RUBIN D T，ANANTHAKRISHANA A N，SIEGEL C A，et al. ACG clinical guideline：ulcerative colitis in adults[J]. Am J Gastroenterol，2019，114(3)：384-413.
[21] PATHAK S，REGMI S，NEPAL M R，et al. Single-dose intraperitoneal delivery of FK506-encapsulated polymeric microspheres for the alleviation of murine colitis[J]. J Ind Eng Chem，2020，91：121-128.
[22] HIYAMA S，LIJIMA H，SHINZAKI S，et al. Mo1572 observation of Peyer's patches using narrow band imaging with magnifying endoscopy is useful in predicting the recurrence of ulcerative colitis[J]. Gastrointest Endosc，2014，79(5)：AB381.
[23] WANG Z，ZHANG H，LIU R，et al. Peyer's patches-

derived CD11b+ B cells recruit regulatory T cells through CXCL9 in dextran sulphate sodium - induced colitis[J]. Nat Rev Immunol, 2018, 155(3): 356-366.

[24] 宋亚芳, 裴丽霞, 赵婷婷, 等. 溃疡性结肠炎免疫因素发病机制的研究进展[J]. 医学研究生学报, 2019, 32(4): 432-436.

[25] 刘端勇, 徐荣, 黄敏芳, 等. 四神丸调节结肠炎大鼠PP结T细胞亚群及Treg/Th17间平衡的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(3): 107-111.

[26] SHIRAKABE K, HIGASHIYAMA M, FURUHASHI H, et al. Amelioration of colitis through blocking lymphocytes entry to Peyer's patches by sphingosine-1-phosphate lyase inhibitor[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2018, 33(9): 1608-1616.

[27] 巫协宁, 吴坚炯. 克罗恩病和自身免疫[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2018, 27(10): 1081-1085.

[28] 张国兴, 石荣, 陈昌捷, 等. 间充质干细胞治疗克罗恩病肛瘘的研究进展[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2019, 25(5): 846-850.

[29] AHLUWALIA B, MAGNUSSON M K, OHMAN L, et al. Mucosal immune system of the gastrointestinal tract: maintaining balance between the good and the bad[J]. Scand J Gastroenterol, 2017, 52(11): 1185-1193.

[30] SALIM S Y, SILVA M A, KEITA A V, et al. $CD83^{+}CCR7^{-}$ dendritic cells accumulate in the subepithelial dome and internalize translocated escherichia coli HB101 in the Peyer's patches of ileal Crohn's disease[J]. Am J Pathol, 2009, 174(1): 82-90.

[31] CHASSAING B, ETIENNE-MESMIN L, BONNET R, et al. Bile salts induce long polar fimbriae expression favouring Crohn's disease - associated adherent - invasive Escherichia coli interaction with Peyer's patches[J]. Environ Microbiol, 2013, 15(2): 355-371.

[32] NAKASAKI H, TAJIMA T, MITOMI T, et al. Countermeasures for hypofunction of gut associated lymphoid tissue during TPN in rats [J]. Nihon Shokakibyo Gakkai Zasshi, 1996, 93(11): 806-812.

[33] BHAT K, DUHACHEKMUGGY S, RAMANATHAN R, et al. 1-[(4-Nitrophenyl) sulfonyl]-4-phenylpiperazine increases the number of Peyer's patch-associated regenerating crypts in the small intestines after radiation injury[J]. Radiother Oncol, 2019, 132: 8-15.

[34] 李斌, 文亮, 郭毅斌, 等. 大鼠肠缺血再灌注损伤后肠黏膜免疫功能的变化与意义[J]. 实用医学杂志, 2004, 20(11): 1220-1221.

[35] GHAISAS S, MAHER J, KANTHASAMY A, et al. Gut microbiome in health and disease: linking the microbiome-gut-brain axis and environmental factors in the pathogenesis of systemic and neurodegenerative diseases[J]. Pharmacol Ther, 2016, 158: 52-62.

[36] MATSUOKA K, KANAI T. The gut microbiota and inflammatory bowel disease[J]. Semin Immunopathol, 2015, 37(1): 47-55.

[37] JAMES S L, CHRISTOPHERSEN C T, BIRD A R, et al. Abnormal fibre usage in UC in remission[J]. Gut, 2015, 64(4): 562-570.

[38] 高菲. 肠道菌群失衡前后小鼠派氏结内T淋巴细胞亚群分析及功能变化的研究[D]. 辽宁: 大连医科大学, 2012.

[39] LUO X, PAN Z, LUO S, et al. Effects of ceftriaxone-induced intestinal dysbacteriosis on regulatory T cells validated by anaphylactic mice [J]. Int Immunopharmacol, 2018, 60: 221-227.

[40] HASHIGUCHI M, KASHIWAKURA Y, KOJIMA H, et al. Peyer's patch innate lymphoid cells regulate commensal bacteria expansion [J]. Immunol Lett, 2015, 165(1): 1-9.

[41] 邵力成, 尹登科, 高向东. 天然多糖免疫细胞受体的研究进展[J]. 药物生物技术, 2006, 13(5): 389-392.

[42] 王科, 刘培, 张莉丹, 等. 基于指纹图谱和6种成分含量测定的四君子汤质量控制研究[J]. 中药材, 2020, 43(5): 1172-1177.

[43] 周帅飞, 刘玉红. 四君子汤复方多糖超声提取及脱蛋白工艺优化[J]. 山东中医杂志, 2015, 34(2): 134-136.

[44] 高蓓蓓, 彭颖, 李晓波. 四君子汤复方多糖肠道免疫调节作用及其机制研究进展[J]. 中草药, 2018, 49(2): 462-467.

[45] 潘华新, 王丽虹, 罗霞, 等. 四君子汤总多糖对化疗荷瘤小鼠脾脏和派氏结及肠系膜淋巴细胞的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2012, 23(4): 438-440, 496.

[46] 刘良, 周华, 王培训, 等. 四君子汤复方总多糖对小鼠肠道粘膜相关淋巴组织的影响[J]. 中国免疫学杂志, 2001, 17(4): 204-206, 224.

[47] 张大鹏, 周联, 张志敏, 等. 四君子汤复方总多糖对肠黏膜Peyer's结细胞凋亡的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2009, 20(6): 529-532.

[48] 杨瑛, 王青, 周联, 等. 小鼠PP、MLN和ILN中CD3~+、CD19~+细胞组成差异及四君子汤总多糖对其影响[J]. 现代免疫学, 2008, 28(5): 390-393.

[49] 周联, 王青, 王培训, 等. 四君子汤多糖对环磷酰胺免疫抑制小鼠淋巴细胞亚群变化的影响[C]//中国免疫学会. 第六届全国免疫学学术大会论文集. 北京: 中

国免疫学会,2008.
[50] 盛耀光,刘少静,马秀,等. 黄芪多糖的药理作用及剂型研究进展[J]. 广州化工,2019,47(15):28-30.
[51] KIYOHARA H, UCHIDA T, TAKAKIWA M, et al. Different contributions of side-chains in β-D-(1 → 3, 6) -galactans on intestinal Peyer's patch-immunomodulation by polysaccharides from Astragalus mongholics Bunge [J]. Phytochem Rev, 2010,71(2/3):280-293.
[52] 黄翠兰,詹剑华,罗锦花. 黄芪多糖对严重烫伤大鼠肠道免疫功能的影响[J]. 中华烧伤杂志,2015,31(1):30-36.
[53] 鹿秀云,岳海洋,刘億,等. 黄芪多糖对结肠炎小鼠树突状细胞表面共刺激分子表达的调节作用[J]. 中成药,2018,40(10):2296-2298.
[54] 宋佳,尹月,王丹,等. 树突状细胞在自身免疫性疾病中的作用[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2015,31(5):708-712.
[55] 刘端勇,黄敏芳,徐荣,等. 黄芪多糖对结肠炎大鼠小肠PP结中T淋巴细胞亚群的调节作用[J]. 中国药理学通报,2015,31(9):1328-1329.
[56] ZHAO H, WANG Y, HUANG X, et al. Astragalus polysaccharide attenuates rat experimental colitis by inducing regulatory T cells in intestinal Peyer's patches [J]. World J Gastroenterol,2016,22(11):3175-3185.
[57] 万茜淋,任雨贺,刘淑莹. 香菇多糖的药理活性研究进展[J]. 中国药房,2018,29(8):1140-1144.
[58] JIANG Y, LI X, WU Y, et al. Effect of Lentinan on Peyer's patch structure and function in an immunosuppressed mouse model [J]. Int J Biol Macromol,2019,137:169-176.
[59] 张立. 香菇多糖对小鼠肠道粘膜免疫系统T细胞亚群的影响[D]. 广州:广州中医药大学,2012.
[60] 李浩烜. 香菇多糖对小鼠T细胞功能的影响[D]. 广州:广州中医药大学,2011.
[61] 邓桃妹,彭代银,俞年军,等. 茯苓化学成分和药理作用研究进展及质量标志物的预测分析[J]. 中草药,2020,51(10):2703-2717.
[62] 孙晓雨,崔子寅,张明亮,等. 枸杞多糖和茯苓多糖对免疫抑制小鼠免疫增强及对肠道黏膜的免疫调节作用[J]. 中国兽医学报,2015,35(3):450-455.
[63] 王青,胡明华,董燕,等. 茯苓多糖对免疫抑制小鼠粘膜淋巴组织及脾脏中CD3~+和CD19~+细胞变化的影响[J]. 中国免疫学杂志,2011,27(3):228-231.
[64] 邓桦,杨鸿,蒋焱平,等. 玉屏风多糖对小鼠肠黏膜免疫应答和免疫损伤的调控作用[J]. 中国兽药杂志,2018,52(12):43-48.
[65] 陈刚,周兆海,梁浩钊,等. 玉屏风多糖对小鼠派氏结形态结构及其T细胞亚群的影响[J]. 中国畜牧兽医,2019,46(1):313-319.
[66] ZOU Y, ZHANG Y, FU Y, et al. A polysaccharide isolated from *Codonopsis pilosula* with immunomodulation effects both *in vitro* and *in vivo* [J]. Macromolecules,2019,24(20):3632.
[67] WANG Z, LI Y, WANG C, et al. Oral administration of *Urtica macrorrhiza* Hand. Mazz. polysaccharides to protect against cyclophosphamideinduced intestinal immunosuppression[J]. Exp Ther Med, 2019, 18(3): 2178-2186.
[68] QIN J, WANG H, ZHUANG D, et al. Structural characterization and immunoregulatory activity of two polysaccharides from the rhizomes of *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC[J]. Int J Biol Macromol, 2019, 136:341-351.
[69] TIAN C, XU H, LI J, et al. Characteristics and intestinal immunomodulating activities of water-soluble pectic polysaccharides from Chenpi with different storage periods[J]. J Sci Food Agric, 2018, 98(10):3752-3757.
[70] XIE S, LIU B, ZHANG D, et al. Intestinal immunomodulating activity and structural characterization of a new polysaccharide from stems of *Dendrobium officinale*[J]. Food Funct, 2016, 7(6): 2789-2799.
[71] 李燕华,梁月琴,王崇静,等. 粗根荨麻多糖对环磷酰胺诱导的免疫抑制小鼠肠道派氏结细胞表型及TLR4的影响[J]. 中成药,2017,39(6):1272-1276.
[72] GEORGIEV Y N, PAULSEN B S, KIYOHARA H, et al. The common lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) pectic polysaccharides modulate phagocytic leukocytes and intestinal Peyer's patch cells [J]. Carbohydr Polym, 2017, 174:948-959.
[73] GEORGIEV Y N, OGNYANOV M, KIYOHARA H, et al. Acidic polysaccharide complexes from purslane, silver linden and lavender stimulate Peyer's patch immune cells through innate and adaptive mechanisms [J]. Int J Biol Macromol, 2017, 105:730-740.
[74] GRONHAUG T E, KIYOHARA H, SVEAASS A, et al. Beta-d-(1→4)-galactan-containing side chains in RG-I regions of pectic polysaccharides from *Biophytum petersianum* Klotzsch. contribute to expression of immunomodulating activity against intestinal Peyer's patch cells and macrophages [J]. Phytochem Rev, 2011, 72(17):2139-2147.

[责任编辑 周冰冰]