



天津科技大学学报
Journal of Tianjin University of Science & Technology
ISSN 1672-6510, CN 12-1355/N

《天津科技大学学报》网络首发论文

题目：柴胡皂苷 D 改善抗癌药物环磷酰胺诱导的免疫功能低下
作者：陈云曦，刘夫锋
DOI：10.13364/j.issn.1672-6510.20240001
收稿日期：2024-01-02
网络首发日期：2024-07-12
引用格式：陈云曦，刘夫锋. 柴胡皂苷 D 改善抗癌药物环磷酰胺诱导的免疫功能低下 [J/OL]. 天津科技大学学报. <https://doi.org/10.13364/j.issn.1672-6510.20240001>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。



DOI: 10.13364/j.issn.1672-6510.20240001

柴胡皂苷 D 改善抗癌药物环磷酰胺诱导的免疫功能低下

陈云曦, 刘夫锋

(天津科技大学生物工程学院, 天津 300457)

摘要: 为了探究柴胡皂苷 D (SSD) 对免疫低下小鼠的影响, 以环磷酰胺 (CTX) 诱导的免疫低下小鼠为研究对象, 观察不同剂量 SSD 对小鼠胸腺和脾脏指数、血细胞数量、淋巴细胞和巨噬细胞功能、血清 IgG 和 IgM 浓度、脾脏 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞比例和细胞凋亡率、脾脏结构以及 JAK2/STAT3 信号通路的影响。结果表明除红细胞和血小板数量外, CTX 组各项指标均显著降低 ($P < 0.05$), 脾脏结构被破坏且细胞凋亡增多; 各组 SSD 均可明显改善脾脏结构, 提高 CD4⁺ T 细胞比例并降低细胞凋亡率。低剂量组胸腺指数、白细胞数和 p-STAT3 表达显著增加 ($P < 0.05$)。高剂量组体质量、白细胞数、IgG 水平、T 细胞和 B 细胞增殖指数、CD8⁺ T 细胞比例以及 JAK2/STAT3 通路相关蛋白表达均明显上升 ($P < 0.05$)。因此, SSD 可以显著增强 CTX 诱导的免疫低下小鼠的免疫功能, 机制可能与 JAK2/STAT3 通路的激活有关。

关键词: 柴胡皂苷 D; 环磷酰胺; 免疫低下; JAK2/STAT3

中图分类号: R392

文献标志码: A

文章编号: 1672-6510 (0000)00-0000-00

Saikosaponin D Ameliorating Immunosuppression Induced by Cyclophosphamide

CHEN Yunxi, LIU Fufeng

(College of Biotechnology, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: In order to explore the effect of saikosaponin D (SSD) on immunocompromised mice, the immunosuppressed mice induced by cyclophosphamide (CTX) were used to observe the effects of different doses of SSD on thymus and spleen indexes, blood cell counts, lymphocyte proliferation and macrophage function, serum IgG and IgM concentration, the ratio of CD4⁺ and CD8⁺ T cells and spleen cell apoptosis rate, structure of spleen and expression of JAK2/STAT3 signaling pathway. The results showed that except for the number of erythrocyte and thrombocyte, all indexes in CTX group were decreased significantly ($P < 0.05$), spleen structure was destroyed and apoptosis was promoted. SSD could significantly improve the spleen structure, increase the proportion of CD4⁺ T cells and reduce the apoptosis. The thymus index, leukocyte count and p-STAT3 expression were increased significantly in the low-dose SSD group ($P < 0.05$), while the body weight, leukocyte count, IgG level, T cell and B cell proliferation indexes, the ratio of CD8⁺ T cells and JAK2/STAT3 signaling expression were increased significantly in the high-dose SSD group ($P < 0.05$). Therefore, SSD could effectively enhance the immune function of CTX-induced immunocompromised mice, and the mechanism might be associated with the activation of JAK2/STAT3 pathway.

Key words: saikosaponin D; cyclophosphamide; immunocompromise; JAK2/STAT3

化疗作为目前临床治疗肿瘤的主要手段之一, 可有效杀灭肿瘤细胞, 但同时也对正常组织细胞有不同程度的杀伤作用, 这成为限制化疗药物剂量或使用的直接原因。环磷酰胺多年来被广泛用于癌症

治疗, 是目前合成的最成功的化疗药物之一。骨髓抑制是环磷酰胺最常见的毒性副作用, 由此导致的白细胞和中性粒细胞减少会降低免疫功能, 继而引发严重感染危及患者生命^[1]。因此改善化疗所致的免

收稿日期: 2024-01-02; 修回日期: 2024-04-01

基金项目: 天津市自然科学基金项目(18JCZDJC33000)

作者简介: 陈云曦(1992—), 女(汉族), 河北保定人, 硕士研究生; 通信作者: 刘夫锋, 教授, fufengliu@tust.edu.cn

疫低下在肿瘤临床治疗中具有重要意义。

柴胡为伞形科植物狭叶柴胡 *Bupleurum scorzonerifolium* Willd.、柴胡 *B. chinense* DC.的干燥根茎, 中医认为其主要功效为疏散退热, 疏肝解郁^[2,3]。现代药理学研究发现柴胡除具有抗肿瘤、抗炎和肝脏保护等作用^[4]外, 还可改善癌症化疗引起的白细胞减少症^[5]。柴胡皂苷是柴胡的主要有效活性成分之一, 根据化学结构分为柴胡皂苷 A、B、C、D 等, 其中柴胡皂苷 D 药理活性作用最强, 可解热镇静, 抗菌消炎^[6], 并能通过调控巨噬细胞极化、淋巴细胞增殖以及树突状细胞功能发挥免疫调节作用^[7,8], 但对化疗药物所致免疫低下小鼠的作用和潜在的机制尚不明确。本实验拟通过环磷酰胺诱导的免疫功能低下小鼠模型探究柴胡皂苷 D 对免疫功能的影响, 以期环磷酰胺所致的免疫低下这一临床问题提供解决方案。

1 材料和方法

1.1 主要试剂

柴胡皂苷 D (Saikosaponin D, SSD) (货号: S114050), 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 注射用环磷酰胺 (Cyclophosphamide, CTX) (产品批号: 22041525), 江苏恒瑞医药有限公司; 小鼠 IgG、IgM ELISA 检测试剂盒 (货号: EY-00M1196、EY-00M1197), 上海一研生物科技有限公司; 脂多糖 (LPS)、刀豆蛋白 A (ConA) (货号: L5293、C5275), 美国 Sigma 公司; CCK-8 试剂盒 (货号: 40203ES), 上海翌圣生物公司; anti-mouse CD4 PerCP-Cy5.5 (货号: 550954)、anti-mouse CD8 PE-Cy7 (货号: 552877), 美国 BD 公司; AnnexinV-FITC/PI 细胞凋亡试剂盒 (货号: SB-Y6002), 上海圣尔生物公司; STAT3 抗体 (货号: 9139S)、p-STAT3 抗体 (货号: 9145S), 美国 Cell Signaling Technology (CST) 公司; JAK2 抗体 (货号: T55287) 和 p-JAK2 抗体 (货号: T56570), 艾比玛特公司。

1.2 主要仪器

SpectraMax M2 酶标仪, 美国 Molecular Devices 公司; 全自动血细胞分析仪, 日本 Sysmex 公司; 白光显微镜, 德国 Leica 公司; 二氧化碳培养箱, 新加坡 Esco 公司; AllegraX-15R 台式冷冻离心机, 美国 Beckman 公司; CytoFLEX 流式细胞仪, 美国 Beckman 公司; MiniChemi 化学发光成像仪, 北京 SINSAGE 公司。

1.3 动物分组及药物处理

雄性 SPF 级 C57BL/6 小鼠共 24 只, 体质量 23 g-25 g, 购自上海杰思捷实验动物有限公司, 合格证号为 SCXK (沪) 2018-0004。本实验经过实验动物伦理委员会审核, 符合动物保护、动物福利和伦理原则, 符合国家实验动物福利伦理的相关规定。小鼠在动物房适应性饲养一周后随机分为对照组 (Control)、模型组 (CTX)、SSD 低剂量组 (SL, 10 mg/kg) 和 SSD 高剂量组 (SH, 20 mg/kg), 每组 6 只。对照组和 CTX 组小鼠灌胃生理盐水, SSD 各组按照上述剂量每天 1 次, 连续灌胃 14 d, 第 12、13 和 14 天除对照组腹腔注射生理盐水外, 其他组小鼠腹腔注射 CTX (50 mg/kg) 诱导小鼠免疫低下。

1.4 体质量及免疫器官指数测定

各组小鼠称量 (质量为 m) 后摘眼球取血, 保留 EDTA-K2 抗凝血和非抗凝血分别用于血常规分析和免疫球蛋白测定 (详见 1.5), 取出胸腺和脾脏称量 (质量分别为 m_t 和 m_s) 并通过式 (1) 和式 (2) 计算胸腺指数 (w_t) 和脾脏指数 (w_s)。

$$w_t = \frac{m_t}{m} \times 100\% \quad (1)$$

$$w_s = \frac{m_s}{m} \times 100\% \quad (2)$$

1.5 血常规及血清 IgG、IgM 水平测定

使用全自动血细胞分析仪对 1.4 中收集到的全血进行血细胞计数; 将小鼠非抗凝血室温静置 2 h 后 3000 r/min 离心 15 min 得到血清, 使用 ELISA 试剂盒检测血清中 IgG、IgM 含量。

1.6 T、B 淋巴细胞增殖功能及巨噬细胞吞噬功能检测

将小鼠脾脏置于试管上的尼龙网上, 滴加 PBS 缓冲液后用注射器活塞轻柔研磨, 透过尼龙网而分散的脾细胞被收集到试管中。计数后取小鼠脾细胞均匀铺在 96 孔板中, 每孔约 5000 个细胞, 分别加入 ConA (终浓度为 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 和 LPS (终浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 刺激 T、B 细胞增殖。37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 培养 72 h 后每孔加入 CCK-8 检测试剂, 继续培养 1 h 后在 450 nm 波长处测定吸光度, 刺激指数为刺激组吸光度与对照组吸光度的比值。

末次给药前 2d, 小鼠腹腔注射 6% 无菌淀粉溶液 2 mL, 处死小鼠当日在腹壁开小孔注入生理盐水反复吹吸收集腹腔悬液, 过滤后离心收集细胞铺入 96 孔板。37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养 6 h, 弃上清每孔加入 200 μL 0.1% 中性红溶液, 继续孵育 30 min 后 PBS 缓冲液洗涤 2 次, 加入细胞裂解液 (乙醇: 乙酸 = 1: 1) 室温放置 2 h, 于 550 nm 下测定吸光度, 巨噬细

胞吞噬功能用所测吸光度与对照组吸光度的比值表示。

1.7 脾 CD4 和 CD8 阳性细胞和凋亡细胞检测

取约 1×10^6 个上述获得的脾细胞于流式管,加入 CD4 和 CD8 荧光抗体避光孵育 30 min; 另取等量细胞重悬在凋亡试剂盒的结合缓冲液中,加入 $5 \mu\text{L}$ AnnexinV-FITC、 $10 \mu\text{L}$ PI 避光孵育 15 min, 流式细胞仪分别检测 CD4 和 CD8 阳性细胞占比和脾淋巴细胞凋亡。

1.8 脾脏 HE 染色

将每只小鼠 1/2 脾脏组织固定在 4% 多聚甲醛中,常规经脱水、石蜡包埋、切片后进行 HE 染色,显微镜拍照观察分析脾脏组织结构变化。

1.9 JAK2/STAT3 通路蛋白表达水平检测

取新鲜的小鼠脾脏加入裂解液研磨,12000 r/min 离心 10 min 取上清,BCA 法定量后加入上样缓冲液煮沸 10 min。使用 western blot 法对制备好的蛋白样品进行检测,主要方法为将制备好的蛋白样品加到 SDS-PAGE 凝胶中,设置电压为 100 V 电泳 1.5 h,取出电泳后的凝胶与裁剪好的 PVDF 膜一同置于转印夹中并以 300 mA 电流恒流转印 1 h,迅速将转印后的 PVDF 膜放入封闭液慢摇封闭 1 h,吸取稀释后

一抗 (1:1000) 均匀覆盖在膜上 4°C 反应过夜。第二天使用 TBST 洗膜并加入合适的二抗反应 1 h,再次洗膜,将 ECL 发光液滴加在膜上进行曝光,以 β -actin 作为上样内参照。

1.10 统计学分析

使用 Graphpad Prism 8 软件统计分析数据并作图,组间采用单因素方差分析,Western Blot 结果统计各组 $n=3$,其他数据分析时各组 $n=6$ 。各组数据以“平均值 \pm 标准差”表示,*表示组间具有显著差异 ($P < 0.05$),***表示组间具有极显著差异 ($P < 0.001$)。

2 结果与分析

2.1 SSD 对小鼠体质量和免疫器官指数的影响

如图 1 所示与对照组相比,CTX 模型组体质量、脾脏指数和胸腺指数均显著降低 ($P < 0.001$)。而与 CTX 组相比,SL 组小鼠只有胸腺指数显著增加 ($P < 0.05$),体质量、脾脏指数差异无统计学意义 ($P > 0.05$);SH 组小鼠体质量、脾脏指数和胸腺指数均有所升高,但只有体质量增高具有显著性差异 ($P < 0.05$)。

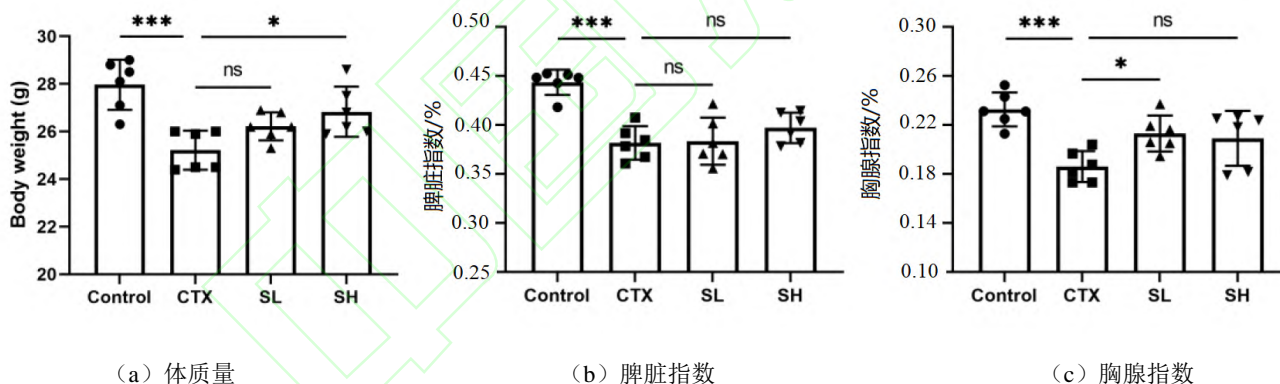


图 1 SSD 对小鼠体质量和免疫器官的影响

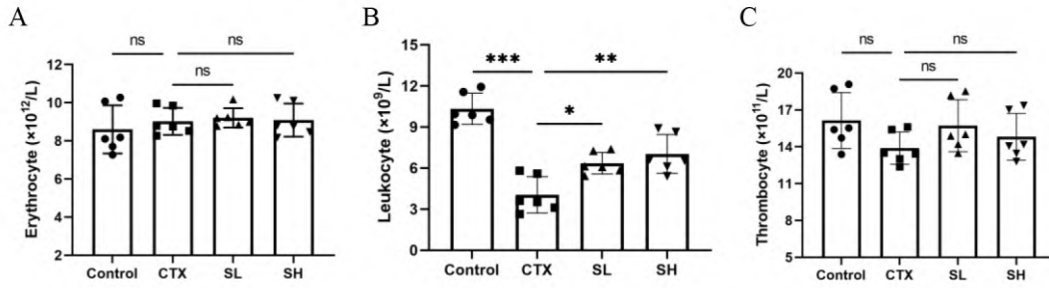
Fig. 1 Effect of SSD on body weight, spleen index and thymus index of mice

2.2 SSD 对小鼠血常规的影响

对各组小鼠血液中的血细胞进行计数后发现 CTX 组白细胞数量明显低于对照组,差异极其显著 ($P < 0.001$),SL 组和 SH 组的白细胞数量较 CTX 组均显著提高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 各组红细胞数量无显著性差异;CTX 组血小板数量较对照组减少,SSD 治疗后数量有所升高,但差异均无统计学意义 ($P > 0.05$),如图 2 所示。

2.3 SSD 对 T、B 淋巴细胞增殖功能以及巨噬细胞吞噬功能的影响

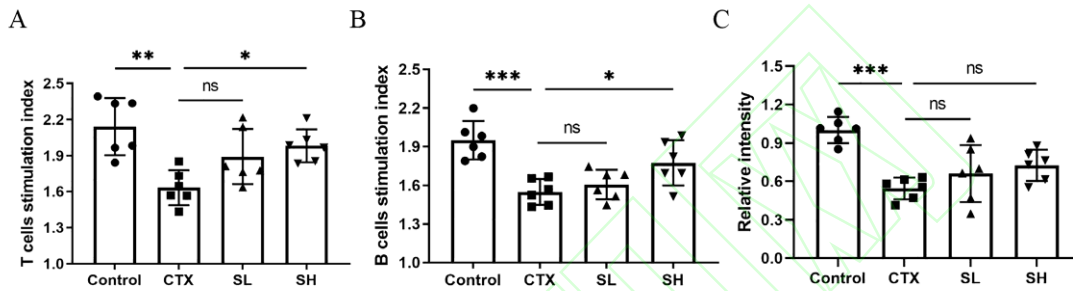
对脾淋巴细胞增殖功能和巨噬细胞吞噬功能进行检测后发现 CTX 组 T、B 细胞刺激指数及巨噬细胞吞噬功能显著低于对照组 ($P < 0.01$, $P < 0.001$),SL 组较 CTX 组虽均有升高但无显著性差异 ($P > 0.05$),SH 组 T、B 细胞刺激指数较 CTX 组有显著性升高 ($P < 0.05$),巨噬细胞吞噬功能的差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见图 3。



A 红细胞计数; B 白细胞计数; C 血小板计数。

图 2 SSD 对小鼠血细胞数量的影响

Fig. 2 Effect of SSD on blood cell counts of mice



A T 细胞刺激指数; B B 细胞刺激指数; C 巨噬细胞吞噬功能

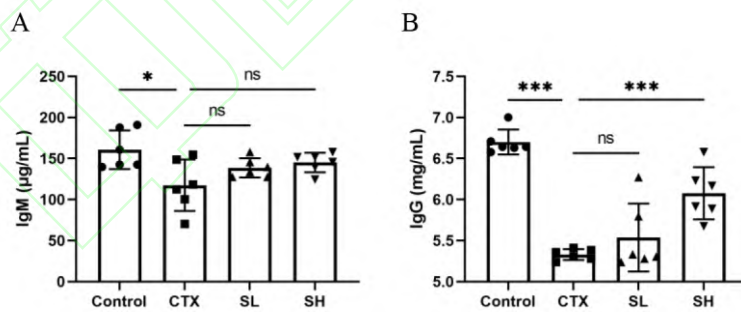
图 3 SSD 对 T、B 淋巴细胞增殖功能和巨噬细胞吞噬功能的影响

Fig. 3 Effect of SSD on proliferation of T and B lymphocytes and phagocytosis of macrophages

2.4 SSD 对血清中 IgM、IgG 含量的影响

如图 4, 与对照组相比, CTX 组 IgM、IgG 含量均显著降低 ($P < 0.05$, $P < 0.001$); 与 CTX 模型组相比, SL 组的 IgM、IgG 含量略有上升但无显著性

差异 ($P > 0.05$), SH 组 IgG 含量有显著性升高 ($P < 0.001$), IgM 有所提高但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。



A 血清 IgM 含量; B 血清 IgG 含量。

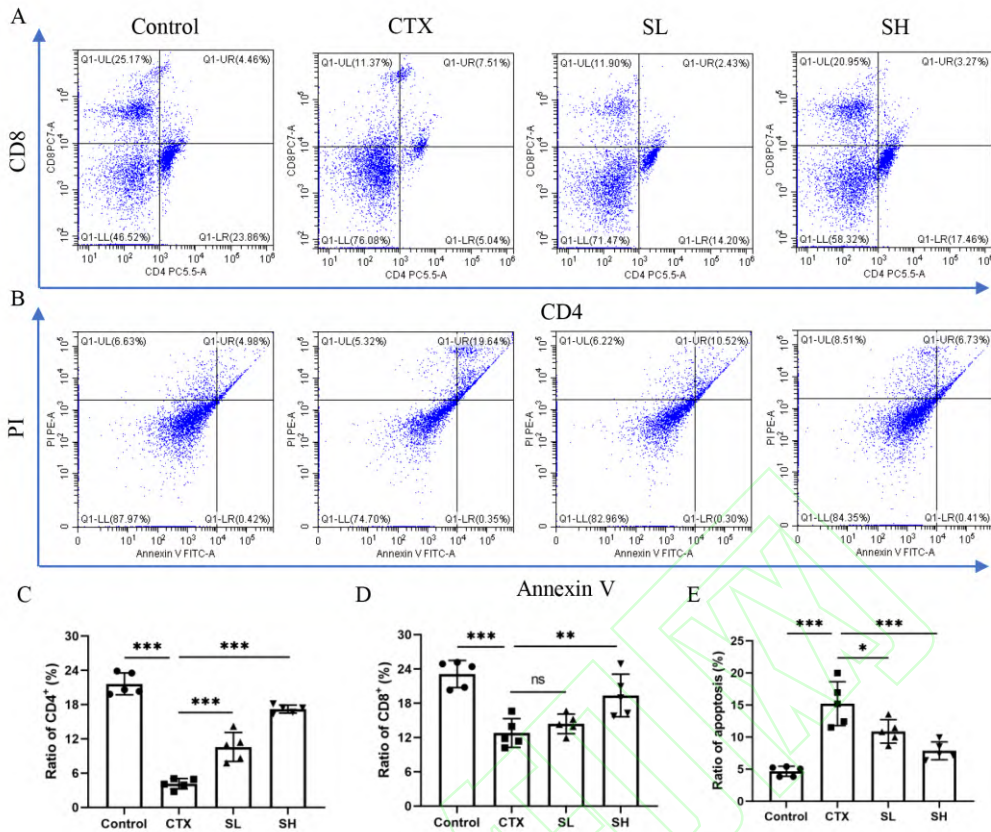
图 4 SSD 对小鼠血清 IgM、IgG 的影响

Fig. 4 Effect of SSD on serum IgM and IgG of mice

2.5 SSD 对 CD4、CD8 阳性 T 细胞比例和脾淋巴细胞凋亡情况的影响

采用流式细胞术对各组脾淋巴细胞进行检测, 结果显示与对照组相比, CTX 处理后 CD4 阳性 T 细胞、CD8 阳性 T 细胞占脾淋巴细胞的百分率均明显降低 ($P < 0.001$), 脾淋巴细胞凋亡率升高 ($P <$

0.001)。经 SSD 治疗后 SL 组 CD4 阳性 T 细胞百分率提高 ($P < 0.001$), 脾淋巴细胞凋亡率降低 ($P < 0.05$), SH 组 CD4 阳性 T 细胞和 CD8 阳性 T 细胞百分率均显著上升 ($P < 0.001$, $P < 0.01$), 脾淋巴细胞凋亡率显著降低 ($P < 0.001$), 如图 5 所示。

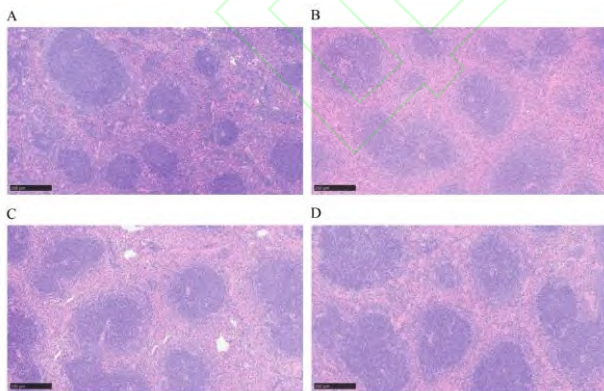


A CD4⁺和 CD8⁺ T 细胞流式图; B 脾淋巴细胞凋亡流式图; C-E CD4⁺和 CD8⁺ T 细胞百分率统计图以及脾淋巴细胞凋亡率统计图。

图 5 SSD 对 CD4⁺、CD8⁺ 阳性 T 细胞比例和脾淋巴细胞凋亡情况的影响
 Fig. 5 Effect of SSD on CD4⁺, CD8⁺ cells and apoptosis in spleen lymphocytes

2.6 SSD 对小鼠脾脏结构的影响

对各组小鼠脾脏进行 HE 染色观察组织病理变化, 结果见图 6。



A 对照组; B CTX 组; C SL 组; D SH 组。

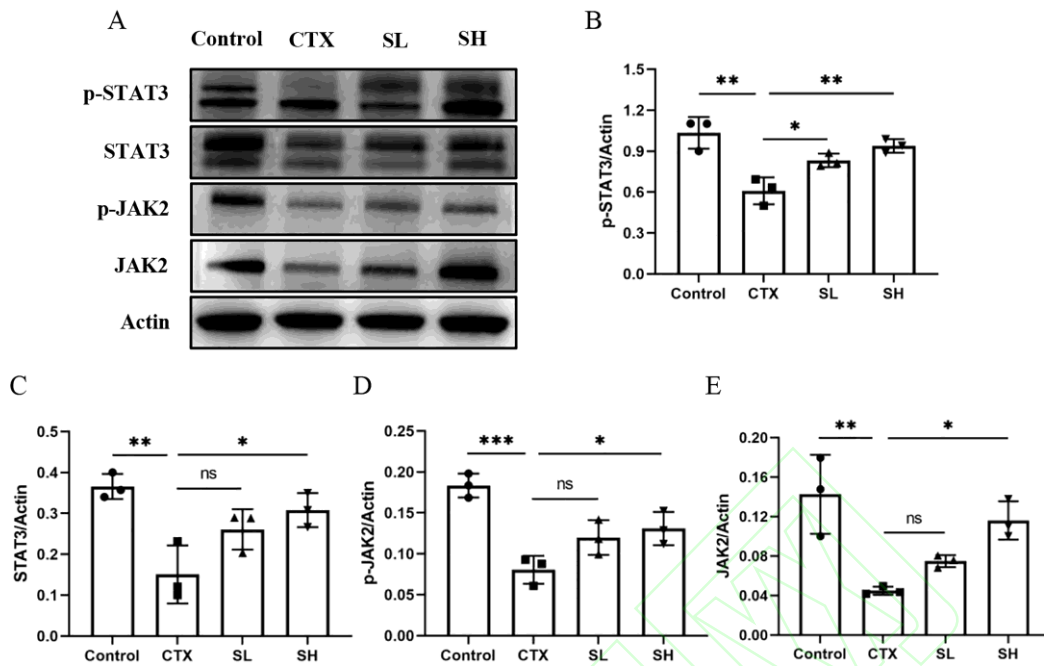
图 6 SSD 对小鼠脾脏组织结构的影响 (100×)

Fig. 6 Effect of SSD on pathomorphology of spleen in mice (100×)

对照组小鼠脾脏组织结构完整, 红髓、白髓分布均匀且界限清晰; CTX 组脾脏红髓和白髓界限模糊不清, 细胞稀疏且排列杂乱; SL 组脾脏结构形态有所改善, 红髓和白髓边界较模型组明显清晰; SH 组较 SL 组恢复更好, 界限更明确, 细胞数增多。

2.7 SSD 对脾脏中 JAK2/STAT3 通路蛋白表达的影响

Western blot 检测各组小鼠脾脏中 JAK2/STAT3 通路蛋白的含量, 结果显示 CTX 组的 JAK2、p-JAK2、STAT3 和 p-STAT3 表达量比对照组均显著降低 ($P < 0.01$), SSD 治疗后均有所升高。与 CTX 组相比, SL 组只有 p-STAT3 的升高具有统计学意义 ($P < 0.05$); SH 组 JAK2、p-JAK2、STAT3 和 p-STAT3 表达均显著上调 ($P < 0.05, P < 0.01$), 见图 7。



A Western blot 结果; B p-STAT3 结果统计; C STAT3 结果统计; D p-JAK2 结果统计; E JAK2 结果统计。

图 7 SSD 对小鼠脾脏 JAK2/STAT3 通路蛋白表达的影响

Fig. 7 Effect of SSD on JAK2/STAT3 signaling pathway in spleen of mice

3 讨论

环磷酰胺通过干扰癌细胞的 DNA 合成和修复抑制其增殖被广泛用于抗癌治疗,但同时其毒副作用造成的外周血细胞减少而抑制正常免疫功能的问题亟待解决。我国中药资源丰富,已发现可增强机体免疫力的中药达 200 余种,其中起作用的成分主要为多糖类、苷类和生物碱类等^[9]。许多皂苷类物质如人参皂苷、三七皂苷和绞股蓝皂苷均能通过提升免疫细胞数量和功能增强免疫低下小鼠的免疫反应^[10-12]。柴胡是一味解表药,具有疏肝升阳的功效,柴胡类方剂在临床上被广泛用于治疗消化系统疾病、心血管疾病和内分泌疾病等^[13]。有研究发现小柴胡汤可提高外周血细胞数量,具有补血效应^[14];柴胡生血方可用于缓解辐照后小鼠的骨髓造血抑制^[15],说明柴胡对免疫系统有一定作用。柴胡皂苷 D 是柴胡的主要生物活性成分之一,依赖多种分子途径发挥抗炎、抗肿瘤和免疫调节活性,近年来多次被发现能缓解化疗副作用,如减轻蒽环类药物诱导的心脏毒性和顺铂引起的肾毒性^[16,17]。此外, Qi 等^[18]报道了柴胡皂苷 D 通过激活 CBL 依赖性 ERK 通路促进中性粒细胞分化,有助于改善癌症化疗诱导的中性粒细胞减少症。然而,柴胡皂苷 D 是否对环磷酰胺诱导的免疫低下具有作用尚不清楚。

本研究以环磷酰胺构建的免疫低下小鼠为模型灌胃不同剂量柴胡皂苷 D 后,小鼠体质量、胸腺指数、外周血白细胞数量以及 IgG 含量均有所升高, T、B 细胞增殖功能增强,流式检测脾淋巴细胞 CD4⁺和 CD8⁺T 细胞比例升高,细胞凋亡减少,脾脏结构改善,表明柴胡皂苷 D 可有效缓解环磷酰胺诱导的免疫抑制,且实验发现与 10 mg/kg 的剂量相比, 20 mg/kg 的柴胡皂苷 D 治疗效果更好。

此外,本研究还对相关作用机制做了初步探究。信号转导及转录激活因子(STAT)家族是多种信号通路的重要组成部分,参与调节细胞生长、分化、免疫及炎症反应。有研究表明五红汤可能通过提高 STAT3 的磷酸化水平增强免疫低下小鼠的免疫功能^[19]。此外,有报道称肿瘤诱导的胸腺细胞凋亡可能被 JAK/STAT 通路的激活所抑制,从而使癌症晚期因胸腺退化导致的免疫功能下调得到改善^[20]。胸腺是 T 细胞成熟、增殖和分化的主要场所, JAK/STAT 通路可能与胸腺的保护以及免疫功能的调节相关。另有研究指出 STAT3 的激活对 B 细胞分化至浆细胞以及浆细胞的整个成熟阶段至关重要^[21],其在免疫抑制中的作用也有报道,如在骨髓抑制模型中促进造血因子分泌的增加和造血功能的恢复^[22]。狗脊水提取物可促进巨核细胞和血小板生成,在临床上具有治疗放射性血小板减少症的潜力,其机制可能也

与 JAK2/STAT3 信号通路激活有关^[23]。而本研究结果显示经柴胡皂苷 D 治疗后的小鼠 T、B 细胞增殖功能增强,脾组织 JAK2/STAT3 通路蛋白表达显著升高,提示柴胡皂苷 D 可能通过此通路发挥对免疫低下的改善作用。

综上所述,本研究发现柴胡皂苷 D 能缓解环磷酰胺诱导的小鼠免疫功能低下,且作用机制可能与上调 JAK2/STAT3 信号通路有关。本研究发掘了柴胡皂苷 D 辅助化疗,提高患者免疫力的临床治疗潜力,填补了此领域的研究空白,并为相关药物的临床应用提供了实验依据。

参考文献:

- [1] EMADI A, JONES R J, BRODSKY R A. Cyclophosphamide and cancer: golden anniversary [J]. *Nature reviews clinical oncology*, 2009, 6(11): 638-647.
- [2] 武娜, 马潇, 杨玲霞, 等. 柴胡药用植物资源研究进展[J]. *中国民族民间医药*, 2023, 32(21): 61-70.
- [3] 阳强, 于欢, 龚千峰. 柴胡炮制历史沿革及现代研究[J]. *江西中医药大学学报*, 2017, 29(04): 121-124.
- [4] 林飞武, 王自善, 戎珍, 等. 柴胡的药理作用、化学成分及开发利用研究[J]. *亚太传统医药*, 2020, 16(10): 202-205.
- [5] 姜涛, 王巧利, 刘建. 柴胡生血方和逍遥散对辐照后骨髓抑制小鼠造血的影响[J]. *中药药理与临床*, 2015, 31(02): 150-151.
- [6] 颜美玲, 杨柳, 侯阿娇, 等. 柴胡化学成分及药理作用研究进展[J]. *中医药信息*, 2018, 35(05): 103-109.
- [7] XU X, CUI L, ZHANG L, et al. Saikosaponin d modulates the polarization of tumor-associated macrophages by deactivating the PI3K/AKT/mTOR pathway in murine models of pancreatic cancer[J]. *International immunopharmacology*, 2023, 122: 110579.
- [8] YING Z L, LI X J, DANG H, et al. Saikosaponin-d affects the differentiation, maturation and function of monocyte-derived dendritic cells[J]. *Experimental and therapeutic medicine*, 2014, 7(5): 1354-1358.
- [9] 王翹楚, 郑亮. 中药制剂对免疫低下动物模型作用的研究概况[J]. *中医药导报*, 2017, 23(24): 115-118.
- [10] QI Z, CHEN L, LI Z, et al. Immunomodulatory Effects of (24R)-Pseudo-Ginsenoside HQ and (24S)-Pseudo-Ginsenoside HQ on Cyclophosphamide-Induced Immunosuppression and Their Anti-Tumor Effects Study[J]. *International journal of molecular sciences*, 2019, 20(4): 836-852.
- [11] 张旭. 比较三七总皂苷发酵前后成分变化和对环磷酰胺诱导免疫低下大鼠的治疗作用[D]. 长春: 长春中医药大学, 2022.
- [12] 聃宝, 李龙昱, 何均, 等. 绞股蓝皂苷调节环磷酰胺诱导免疫功能低下小鼠的免疫调节作用[J]. *西北药学杂志*, 2020, 35(05): 680-684.
- [13] 王海强, 周千瑶, 李冰琪, 等. 柴胡化学成分及药理作用研究进展[J]. *吉林中医药*, 2024, 44(01): 96-100.
- [14] 杨芳艳. 基于《内经》肝“生血气”理论探讨调肝生血法对复合病因贫血小鼠的补血效应[D]. 成都: 成都中医药大学, 2016.
- [15] 姜涛, 王巧利, 刘建. 柴胡生血方和逍遥散对辐照后骨髓抑制小鼠造血的影响[J]. *中药药理与临床*, 2015, 31(02): 150-151.
- [16] QU P R, JIANG Z L, SONG P P, et al. Saponins and their derivatives: Potential candidates to alleviate anthracycline-induced cardiotoxicity and multidrug resistance[J]. *Pharmacological research*, 2022, 182: 106352.
- [17] ZHANG D, LUO G, JIN K, et al. The underlying mechanisms of cisplatin-induced nephrotoxicity and its therapeutic intervention using natural compounds[J]. *Naunyn-schmiedeberg's archives of pharmacology*, 2023, 396(11): 2925-2941.
- [18] QI X, FAN M, HUANG N, et al. Saikosaponin d contributed to cancer chemotherapy induced neutropenia therapy by promoting neutrophil differentiation via activation CBL-dependent ERK pathway[J]. *Pharmacological research*, 2020, 160: 105149.
- [19] 王雨, 晏群, 田艳, 等. 五红汤对环磷酰胺所致免疫低下小鼠免疫功能的影响[J]. *中医药学报*, 2023, 51(03): 30-34.
- [20] MANDAL D, LAHIRY L, BHATTACHARYYA A, et al. Tumor-induced thymic involution via inhibition of IL-7R alpha and its JAK-STAT signaling pathway: protection by black tea[J]. *International immunopharmacology*, 2006, 6(3): 433-444.
- [21] RODRIGUEZ-BAYONA B, RAMOS-AMAYA A, LOPEZ-BLANCO R, et al. STAT-3 activation by differential cytokines is critical for human in vivo-generated plasma cell survival and Ig secretion[J]. *Journal of immunology*, 2013, 191(10): 4996-5004.
- [22] DING L, TAN Y, XU L, et al. Shengxuening Extracted from Silkworm Excrement Mitigates Myelosuppression via SCF-Mediated JAK2/STAT3 Signaling[J]. *Chemistry &*

biodiversity, 2021, 18(6): e2100139.

[23]CHEN W, ZHU L, WANG L, et al. A Novel Antithrombocytopenia agent, *Rhizoma cibotii*, promotes megakaryopoiesis and thrombopoiesis through the

PI3K/AKT, MEK/ERK, and JAK2/STAT3 signaling pathways[J]. International journal of molecular sciences, 2022, 23(22): 14060.

