野生蒙古口蘑多糖通过 STAT3 和 HIF-1α 通路对 LPS 诱导的巨噬细胞发挥抗炎调节作用

于传宗[1,2]，张凤兰[1]，慕宗杰[2]，李子钦[2]，孙峰成[2]，郝丽珍[*1]

（1 内蒙古农业大学 园艺与植物保护学院，内蒙古 呼和浩特 010018；2. 内蒙古自治区农牧业科学院，内蒙古 呼和浩特 010031）

摘要：研究蒙古口蘑多糖提取物对脂多糖(LPS)诱导小鼠单核巨噬细胞(RAW264.7 细胞)炎症保护作用的机理。用不同预量质量浓度的蒙古口蘑多糖处理 RAW264.7 细胞，通过 CCK-8 法检测细胞活性；Griess 法测定 NO 的产生量；酶联免疫吸附测定肿瘤坏死因子-a(TNF-α)，白介素 1β(IL-1β)；实时定量检测缺氧诱导因子 1α(HIF-1α)、诱导型一氧化氮和酶(iNOS)、核因子 κB(NF-κB)、信号转导和转录激活因子 3(STAT3)和环氧化酶 2(COX-2)的 mRNA 表达量；免疫印迹检测 HIF-1α、NF-κB、STAT3 和 COX-2 蛋白质的表达量。结果表明，蒙古口蘑多糖提取物作用 RAW264.7 细胞的最大剂量为 100 μg/mL；与 LPS 模型组相比，蒙古口蘑多糖提取物质量浓度 0.01、0.1、1、10 μg/mL 均能有效抑制 NO（抑制率分别是 38.21%、64.17%、58.16%和 79.42%）、TNF-α（抑制率分别为 27.91%、36.31%、36.14%、45.09%）和 IL-1β（抑制率分别为 47.75%、58.47%、60.21%、64.55%）的产生；在质量浓度为 10 μg/mL 的蒙古口蘑多糖提取物作用下，除 NF-κB 外，HIF-1α、STAT3、COX-2 和 iNOS 的 mRNA 的表达量均降低；免疫印迹的结果也显示，除 NF-κB 外，HIF-1α、NF-κB、STAT3 及 COX-2 的蛋白质的表达量均有不同程度的降低。蒙古口蘑多糖提取物对脂多糖(LPS)诱导的 RAW264.7 细胞具有保护作用，其抗炎的机制主要通过 JAK-STAT3 及 HIF-1α 信号通路，而不主要通过 NF-κB 信号通路发挥作用。

关键词：蒙古口蘑多糖提取物；RAW264.7 细胞；脂多糖；缺氧诱导因子 1α；诱导型一氧化氮和酶；核因子 κB；信号转导和转录激活因子 3；环氧化酶 2

中图分类号：S 646　　**文章编号**：1673-1689(2020)06-0093-06　　DOI：10.3969/j.issn. 1673-1689.2020.06.013

Anti-Inflammatory Effect of Wild *Tricholoma mongolicum* Polysaccharides on LPS-Induced RAW264.7 Cells via STAT3 and HIF-1α Pathways

YU Chuanzong[1,2]，*ZHANG Fenglan*[1]，*MU Zongjie*[2]，*LI Ziqin*[2]，*SUN Fengcheng*[2]，*HAO Lizhen*[*1]

（1. College of Hortlculture and Plant Protection，Inner Mongolia Agricultural University，Hohhot，010018，China；2. Inner Mongolia Academy of Agricultural & Animal Husbandry Sciences，Hohhot 010031，China）

Abstract：This article aimed to study the anti-inflammatory mechanism of *Tricholoma mongolicum* polysaccharide extract in LPS-treated RAW264.7 cells. The RAW264.7 cells were first treated with different concentrations of *Tricholoma mongolicum* polysaccharides, and the viability was determined

收稿日期：2018-03-08

基金项目：内蒙古自治区农牧业科学院青年创新基金项目(2015QNJJN02)。

作者简介：于传宗(1977—)，男，博士，副研究员，主要从事蔬菜种质资源和种质创新研究。E-mail：nmgnmykxy@163.com

* **通信作者**：郝丽珍(1960—)，女，博士，教授，博士研究生导师，主要从事蔬菜种质资源和种质创新研究。E-mail：haolizhen_1960@163.com

by CCK-8. The release of NO was measured by Griess, and TNF-alpha and IL-1 beta were examined by ELISA. The expression levels of HIF-1α, NF-κB, STAT3, COX-2 and iNOS mRNAs and proteins were tested by qPCR and western blot. The results showed that the maximum safety dose of *Tricholoma mongolicum* polysaccharide extract was less than 100 μg/mL. Compared with the LPS model group, *Tricholoma mongolicum* polysaccharide extract at the concentrations of 0.01, 0.1, 1, 10 μg/mL could inhibit the production of NO,TNF-α and IL-1β. The inhibition rates of NO were 38.21%, 64.17%, 58.16%, 79.42%, respectively; the inhibition rates of TNF-α were 27.91%, 36.31%, 36.14%, 45.09%, respectively; the inhibition rates of IL-1β were 47.75%, 58.47%, 60.21%, 64.55%, respectively. *Tricholoma mongolicum* polysaccharide extract at the concentration of 10 μg/mL could down-regulate the mRNAs and proteins expression levels of HIF-1α, iNOS, STAT3 and COX-2. Therefore, anti-inflammatory effect of wild *Tricholoma mongolicum* polysaccharides on LPS-induced RAW264.7 cells may be exerted via STAT3 and HIF-1α pathways.

Keywords: wild *Tricholoma mongolicum* polysaccharides, RAW264.7, LPS, HIF-1α, NF-κB, STAT3, COX-2, iNOS

炎症是人体为保护自身免受外来环境侵害的防御系统[1]。在炎症过程中,巨噬细胞通过释放前列腺素和促炎性细胞因子(TNF-α、IL-6、IL-1α 和 IL-1β)等,对有害物刺激物(如食物、病原体、药物)的侵扰做出反应,这一过程称为吞噬作用[2]。在这个过程中,吞噬细胞会产生具有毒性的副产物,包括活性氧如一氧化氮(NO)、过氧化氢(H_2O_2)、超氧阴离子(O^{2-}),虽然这些炎症介质在机体防御机制中是必不可少的,但是过量的活性氧会对细胞的氧化应激产生压力,引起的慢性炎症会持续地破坏组织。炎症已经被证明与各种疾病的发病机制有关,如糖尿病[3]、老年痴呆症[4]、心血管疾病[5]和癌症[6]。已经有很多抗炎症的药物被开发并在临床获得应用,控制和回复异常的炎症。目前主要的有 2 类抗炎药,最主要且用量最大的非甾体类抗炎药,如阿司匹林、对乙酰氨基酚、吲哚美辛、萘普生、双氯芬酸、布洛芬、尼美舒利、罗非昔布、塞来昔布等;甾体类抗炎药,如泼尼松、地塞米松等。这些抗炎药的使用已被证明会诱发死亡[7],也有研究表明非甾体类抗炎药的使用会引起肝损伤[8]。寻找更有效安全的抗炎药,是研究的一个热点。蒙古口蘑多糖提取物已经被证明具有抗炎症、抗氧化的作用[9],然而其作用机制和作用途径仍然不清楚。细菌内毒素(LPS)通过 Toll 样受体 4(toll-like receptor 4, TLR 4)激活巨噬细胞,是慢性炎症巨噬细胞(RAW 264.5)的强效刺激物之一[10],本实验通过 LPS 诱导 RAW264.7 细胞,选取炎症与氧化应答相关的基因 *Hypoxia-inducible factor 1α* (*HIF-1α*)、*Nuclear factor-κB* (*NF-κB*)、*Signal transducer and activator of transcription 3 protein* (*STAT3*)、*Cyclooxygenase-2* (*COX-2*) 和 *Inducible nitric oxide synthase* (*iNOS*) 检测蒙古口蘑多糖影响细胞炎症反应,发挥抗炎作用的途径。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂及仪器

Cell Counting Kit:购自日本同仁化学-东仁化学科技(上海)有限公司;LPS,S-Methylisothiourea Sulfate(SMT):购自 Sigma-aldrich 公司;细胞 RNA 提取试剂盒:购自北京天根生化科技有限公司;Revert Aid First Strand cDNA Synthesis Kit,Maxima SYBR Green qPCR Master Mix:购自 Thermo Fisher 公司;RPMI 1640 培养基:购自 BI 公司;胎牛血清 FBS:购自北京四季青生物科技有限责任公司;Anti-COX2 antibody:购自 Abcam 公司;HIF1α Rabbit Polyclonal antibody,NF-κB Rabbit Polyclonal antibody,STAT3 Rabbit Polyclonal antibody:购自 Proteintech 公司;Anti-GAPDH Monoclonal Antibody,HRP affinipure Goat Anti-Rabbit igG (H+L),HRP affinipure Goat Anti-Mouse igG(H+L):购自 Earthox 公司;超敏 ECL 化学发光试剂盒:购自上海碧云天生物技术有限公司;Mouse IL-1β ELISA kit(小鼠白细胞介素-1β),Mouse TNF-α ELISA kit (小鼠肿瘤坏死因子-α):购自欣博盛生物科技有限公司;引物:由上海生工生物工程股份有限公司合成。

ND-1000 型微量紫外分光光度计、冻干机、普通 PCR 仪:购自 Thermo Fisher 公司;5430R 低温台式冷冻离心机:购自 Eppendorf 公司;BG-power5000 型稳压稳流电泳仪:购自北京百晶生物技术有限公司;实时定量 PCR 仪:购自 Bio-rad 公司;凝胶成像系统:购自 GE Healthcare 公司等。

1.2 实验对象

蒙古口蘑采摘于内蒙古锡林郭勒草原,切片,在(-50±3) ℃,冻干 48 h,自动匀浆机匀浆后,取粉末 100 g 加入体积分数 80% 1 L 的乙醇,室温 3 d,上清液即为质量浓度 100 g/L 的多糖提取物(*Tricholoma mongolicum* polysaccharide extract,TMPE)[11]。小鼠巨噬细胞(RAW 264.7),培养条件:1640 培养基、10% FBS、37 ℃、体积分数 5% CO_2。

1.3 试验方法

1.3.1 细胞活力实验 取对数期 RAW264.7 细胞悬液接种于 96 孔板,接种密度为 5×10^5 个/mL,每孔 100 μL,12 h 后加入不同质量浓度的 TMPE,TMPE 的质量浓度设定为 0、0.01、0.1、1、10、100 μg/mL,每组 6 个复孔,加入 10 μL CCK-8 进行细胞活力测定。

1.3.2 TMPE 抗炎效果检测实验 取对数期 RAW264.7 细胞悬液接种于 96 孔板,接种密度为 5×10^5 个/mL,每孔 100 μL,12 h 后加入 LPS 刺激,设置空白对照组、LPS(1 μg/mL)组、LPS(1 μg/mL)+SMT(6 μmol/mL)组、LPS(1 μg/mL)+TMPE(0.01 μg/m)组、LPS(1 μg/mL)+TMPE(0.1 μg/mL)组、LPS(1 μg/mL)+TMPE(1 μg/mL)组、LPS(1 μg/mL)+ TMPE(1 μg/mL)组,每组 6 个复孔,作用 24 h 后,收集上清通过 Griess 法测定上清液中的一氧化氮(Nitric oxide,NO)含量[12],Elisa 测定 TNF-α,IL-1β 的含量。

1.3.3 RNA 的提取、反转录及定量 取对数期 RAW264.7 细胞悬液接种于 6 孔板,接种密度为 1×10^6 个/mL,每孔 2 000 μL,12 h 后加入 LPS 刺激,设置空白对照组,作用 12 h 后,收集细胞并提取 RNA 和蛋白质,RNA 的提取按照北京天根生化试剂说明书进行,所提 RNA 通过微量分光光度计测定浓度。并用 1.2 g/dL 琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 的质量,按照 RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kits 说明书进行反转录。按照 Maxima SYBR Green qPCR Master Mix 说明书进行实时定量实验测定 mRNA 表达量,引物退火温度均为 60 ℃,至少 5 个复孔,其他参照说明书,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行数据表达量分析。以 GAPDH 作为管家基因,NCBI 中提供的 mRNA 成熟序列设计实时定量扩增引物。引物序列如表 1。

表 1 引物序列

Table 1 Sequences of primers

基因	引物 F(5′—3′)	引物 R(5′—3′)	扩增长度/bp
GAPDH	TGGATTTGGACGCATTGGTC	TTTGCACTGGTACGTGTTGAT	211
NF-κB	ATGGCAGACGATGATCCCTAC	TGTTGACAGTGGTATTTCTGGTG	111
STAT3	CAATACCATTGACCTGCCGAT	GAGCGACTCAAACTGCCCT	109
HIF-1α	GTCCCAGCTACGAAGTTACAGC	CAGTGCAGGATACACAAGGTTT	136
COX-2	TGAGCAACTATTCCAAACCAGC	GCACGTAGTCTTCGATCACTATC	74
iNOS	GTTCTCAGCCCAACAATACAAGA	GTGGACGGGTCGATGTCAC	127

1.3.4 免疫印迹 取对数期 RAW264.7 细胞悬液接种于 6 孔板,接种密度为 1×10^6 个/mL,每孔 2 000 μL,12 h 后加入 LPS 刺激,设置空白对照组,作用 12 h 后,提取蛋白质,采用 BCA 蛋白质定量试剂盒检测总蛋白质的浓度,SDS-PAGE,转膜,封闭,抗体孵育,ECL 显色。

1.4 数据统计分析

用 SPSS19.0 对试验数据进行统计分析,所有试验结果数值均用平均值±标准误差表示。选用单因素方差分析(ANOVA LSD),DUNCAN 多重比较和双变量相关分析。

2 结果与分析

2.1 检测结果

2.1.1 细胞活力检测 在测定 TMPE 的抗炎活性前,先对 TMPE 对细胞的影响进行评估,表 2 显示与未经处理的细胞对照组(0 质量浓度)相比,不同质量浓度的 TMPE 对 RAW264.7 作用不同。在质量浓度 0.01~10 μg/mL 的 TMPE 测试范围内观察到的细胞存活率随着剂量增加而增加,在 TMPE 最大质

量浓度为 100 μg/mL 的时候,细胞存活率与对照组相比会显著降低(p<0.05),该浓度的细胞存活率仅为 62%。在 TMPE 质量浓度为 0.1、1、10 μg/mL 时与对照组相比细胞存活率显着增加(p<0.05),在 10 μg/mL 时 TMPE 显示出最高的存活率(172%)。

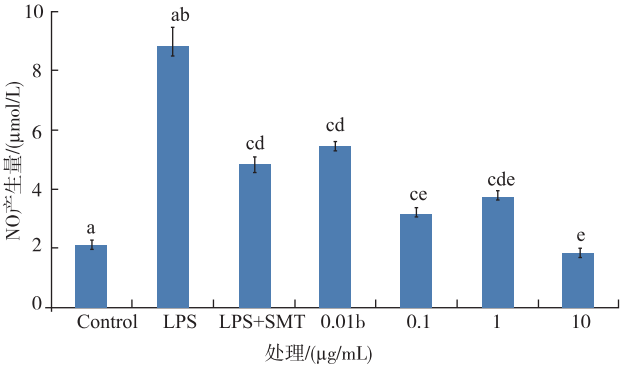
2.1.2 TMPE 对 NO 生成的影响 通过测试 TMPE 对 NO 生成的抑制效果,验证 TMPE 的抗炎活性,结果显示如图 1。从图中可以确定 LPS 诱导的 RAW 264.7 细胞,NO 的生成量相比对照组显著增加 (p<0.05),在 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞模型中加入不同质量浓度的 TMPE (0.01、0.1、1 μg/mL 和 10 μg/mL),NO 的产生量相比 LPS 模型组均显著降低(p<0.05)(抑制率分别是 38.21%、64.17%、58.16%和79.42%)。SMT(强的 iNOS 抑制剂)显著地降低了 LPS 诱导的 RAW264.7 细胞 NO 产量(p<0.05)(抑制率为 45.24%)。

表 2 不同质量浓度下细胞存活率

Table 2 Survival rate of cells at different concentration

质量浓度/(μg/mL)	OD 值(x±s)	抑制率/%
0	0.221±0.032	100[a]
0.01	0.231±0.024	108[a]
0.1	0.246±0.027	121[b]
1	0.257±0.040	131[b]
10	0.307±0.053	172[c]
100	0.176±0.038	62[d]

注:abcd 代表与 0 质量浓度相比较差异显著(P<0.05)。

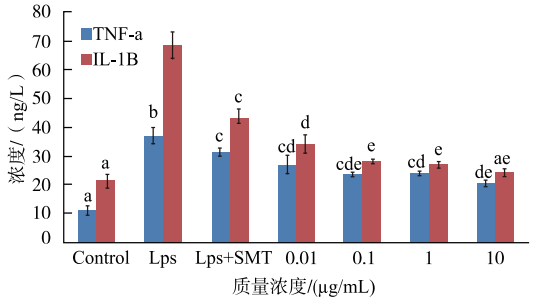


abcde 代表与模型组相比较差异显著(P<0.05)

图 1 不同处理下 NO 的产量

Fig. 1 Production of NO under different treatments

2.1.3 TMPE 对 TNF-α 和 IL-1β 的影响 在 LPS 诱导的 RAW264.7 炎症模型中,检测 TMPE 对炎性因子 *TNF-α* 和 *IL-1β* 生成的抑制效果,结果见图2。由图表明,LPS 诱导的模型组中,*TNF-α* 和 *IL-1β* 的质量浓度均显著高于对照组 (P<0.05),加入 0.01、0.1、1、10 μg/mL 的 TMPE 后均能显著降低 TNF-α (抑制率分别是 27.91%、36.31%、36.14%、45.09%)和 IL-1β 的产生 (抑制率分别是 47.75%、58.47%、60.21%、64.55%)(P<0.05)。综合细胞活力,NO 生成量实验和本实验结果。TMPE 的质量浓度在后续的实验中,确定为在 10 μg/mL。

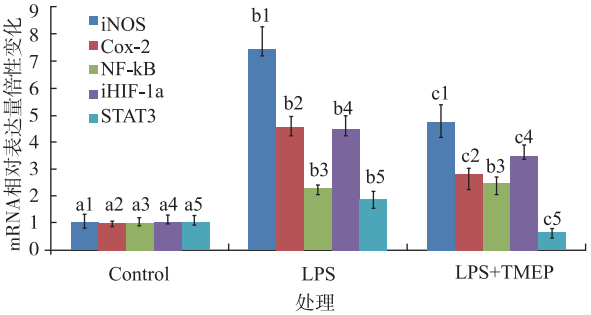


abcde 代表与模型组相比较差异显著(P<0.05)

图 2 不同处理下 TNF-α 和 IL-1β 的质量浓度

Fig. 2 Contents of TNF-alpha and IL-1 beta under different treatments

2.1.4 基因表达量检测 用 10 μg/mL 的 TMPE 处理细胞基因 mRNA 表达量见图 3,与空白组相比较 LPS 模型组,相关炎症基因(*iNOS*、*COX-2*、*NF-κB*、*STAT3*、*HIF-1α*)的表达量均显著提高(P<0.05),在



abc 代表与模型组相比较差异显著(P<0.05)

图 3 mRNA 相对表达量

Fig. 3 Expression levels of genes

LPS+TMPE(10 μg/mL)组中,相关炎症基因的表达量除 *NF-κB* 基因外,其他炎症相关基因(*iNOS*、*COX-2*、*STAT3*、*HIF-1α*)的表达量与 LPS 模型组均显著降低(P<0.05),*iNOS*、*COX-2* 和 *HIF-1α* 基因的表达量仍然显著高于对照组(P<0.05),其中 STAT3 的表达量降低程度比对照组的更低,且差异显著(P<0.05)。

2.1.5 免疫印迹检测结果 用 10 μg/mL 的 TMPE 处理细胞免疫印迹结果见图 4,通过免疫印迹检测 TMPE 对炎症相关蛋白质(COX-2,NF-κB,STAT3,HIF-1α)表达的影响,LPS 模型组与对照组相比炎症相关蛋白质(COX-2、NF-κB、STAT3、HIF-1α)的表达量均有所增加,其中 COX-2 和 STAT3 的蛋白质增加量最多,NF-κB 和 HIF-1α 蛋白质表达量增加次之。LPS+TMPE 组与 LPS 模型组相比,除 NF-κB 蛋白质变化不明显,其他蛋白质(COX-2,STAT3,HIF-1α)的表达量均有降低,特别是 STAT3 蛋白质的表达量。在 LPS+TMPE 组中 STAT3 蛋白质的表达量比对照组都低。

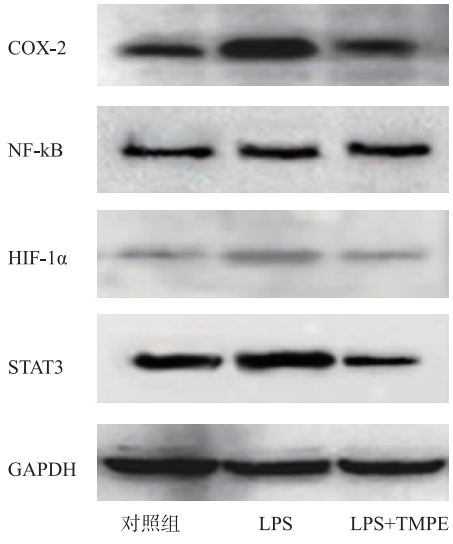


图 4 免疫印迹结果

Fig. 4 Results of western blot

2.2 讨论

食用菌种类繁多,营养丰富,富含各种氨基酸、脂肪酸、多糖等多种营养成分,口味丰美,同时具有增强免疫力、抗肿瘤、降血糖血脂等药用功能[13-14]。野生蒙古口蘑稀有、绿色、纯天然,倍受大家的追捧。研究发现,蘑菇多糖提取物具有抗炎等多种药理活性[15],本实验通过 LPS 诱导 RAW264.7 细胞的炎症模型,质量浓度在 0.01~10 μg/mL 的 TMPE 测试范围内观察到的细胞存活率、NO 生产抑制率及炎性因子 *TNF-α* 和 *IL-1β* 生成的抑制效果随着剂量增加而增加,质量浓度 10 μg/mL 时 TMPE 显示出最高的细胞存活率(172%),NO 的最大抑制效果(45.24%),*TNF-α* 和 *IL-1β* 生成最大的抑制效果(分别为 58.47%、65.86%)。蒙古口蘑多糖提取物有望成为新的抗炎药物。

炎症因子 *TNF-α* 和 *IL-1β* 的产生受转录因子 NF-κB 和 STAT3 的调控[16],NO 是由 iNOS 和 COX-2 催化合成的,研究表明甲醇、乙醇提取不同蘑菇的多糖均可以抑制 NO 的生成[17-18],炎症的发生与 iNOS 和 COX-2 的过表达有关[19],iNOS 和 COX-2的表达受转录因子 *NF-κB*、*STAT3* 及 *HIF-1α* 调控[20],抑制 JAK2-STATs 活性会导致 LPS 诱导的 NO 产生及 iNOS 的表达[21],激活 HIF-1α 通路会增加 NO 的表达[22]。本实验中选择 *HIF-1α*、*NF-κB*、*STAT3*、*COX-2*、*iNOS* 作为研究对象,定量结果显示,TMPE 会导致 iNOS、COX-2、STAT3、HIF-1α 的表达量降低,免疫印迹结果显示,TMPE 会导致 COX-2、STAT3、HIF-1α 蛋白质的表达量降低,而 NF-κB 的 mRNA 表达量及蛋白质质量均变化不明显,因此可以推断 TMPE 的抗炎作用主要通过调节转录因子 *STAT3* 和 *HIF-1α* 的表达进而调节 iNOS 和 COX-2 的表达,而不主要通过转录因子 *NF-κB* 的变化发挥抗炎作用,也就是说 TMPE 通过 JAK-STAT3 及 HIF-1α 信号通路实现抗炎的效果。

3 结 语

通过 LPS 诱导 RAW 264.7 细胞的炎症模型,发现蒙古口蘑多糖提取物在不同浓度下具有不同质量的抗炎活性,通过对 *HIF-1α*、*NF-κB*、*STAT3*、*COX-2*、*iNOS* 基因及蛋白质的表达确定蒙古口蘑多糖提取物主要通过 JAK-STAT3 及 HIF-1α 信号通路,而不主要通过 NF-κB 信号通路,抑制炎症因子 TNF-α、IL-1β 和 NO 的释放,进而发挥抗炎作用。

参考文献:

[1] HQFMERY S A, FORREST S. Proceedings of the 1st Annual Conference on Genetic and Evolutionary Computation-Volume 2 [C]. Morgan Kaufmann Publishers Inc, 1999: 1289-1296.

[2] BÖHMER R H,TRINKLE L S,STANECK J L. Dose effects of LPS on neutrophils-in a whole blood flow cytometric assay of phagocytosis and oxidative burst[J]. **Cytometry Part A**,1992,13(5):525-531.

[3] GODFINE A B,SHOELSON S E. Therapeutic approaches targeting inflammation for diabetes and associated cardiovascular risk [J]. **The Journal of clinical investigation**,2017,127(1):83-93.

[4] SPANGENBERG E E,GREEN K N. Inflammation in Alzheimer's disease: lessons learned from microglia-depletion models[J]. **Brain, behavior and immunity**,2017,61:1-11.

[5] AGCA R,HESLINGA S C,ROLLEFSTAD S,et al. EULAR recommendations for cardiovascular disease risk management in patients with rheumatoid arthritis and other forms of inflammatory joint disorders: 2015/2016 update[J]. **Annals of the Rheumatic Diseases**,2017,76(1):17-28.

[6] STEWART B,Wild C. World Cancer Report 2014[M]. International Agency for Research on Cancer,2014.

[7] DAN L,FAUCI A,KASPER D,et al. Harrison's principles of internal medicine, 18th edition[J]. **Jama the Journal of the American Medical Association**,2011,124(2):287-287.

[8] 任启伟,吴晓彤,白晶,等. 蒙古口蘑多糖研究现状[J]. 农产品加工学刊,2011(5): 28-31.

[9] CHOW J C, YOUNG D W, GOLENBOCK D T, et al. Toll-like receptor-4 mediates lipopolysaccharide-induced signal transduction[J]. **Journal of Biological Chemistry**,1999,274(16):10689-10692.

[10] CHAN P M,KANAGASABAPATHY G,TAN Y S,et al. *Amauroderma rugosum* (*Blume & T. Nees*) torrend:nutritional composition and antioxidant and potential anti-inflammatory properties[J]. **Evidence-Based Complementray and Alternative Medicine**,2013,(4):304713.

[11] GREEN L C,WAGNER D A,GLOGOWSKI J,et al. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N] nitrate in biological fluids [J]. **Analytical Biochemistry**,1982,126(1):131-138.

[12] 尚京迎,付海田,邓超,等. 基于巨噬细胞模型的竹荪多糖的免疫功能[J]. 食品与生物技术学报,2016, 35(8): 849-854.

[13] 刘常金,谷文英. 巴西蘑菇多糖的免疫调节作用[J]. 食品与生物技术学报, 2002, 21(2): 167-169.

[14] CHAI Y,WANG G,FAN L,et al. A proteomic analysis of mushroom polysaccharide-treated HepG2 cells[J]. **Scientific Reports**, 2016,10(6):23,565

[15] HOESEL B,SCHMID J A. The complexity of NF-κ B signaling in inflammation and cancer[J]. **Molecular cancer**,2013,12(1):86.

[16] HUR S J,YOUNG CHOI S. In vitro anti-inflammatory activity of *Russula virescens* in the macrophage like cell line RAW 264.7 activated by lipopolysaccharide[J]. **Nutrition & Food Sciences**,2012. 189(3):254-260

[17] KOZARSKI M,KLAUS A,NIKSIC M,et al. Antioxidative and immunomodulating activities of polysaccharide extracts of the medicinal mushrooms *Agaricus bisporus*, *Agaricus brasiliensis*, *Ganoderma lucidum* and *Phellinus linteus*[J]. **Food Chemistry**, 2011,129(4): 1667-1675.

[18] MURAKAMI A,OHIGASHI H. Targeting NOX, INOS and COX-2 in inflammatory cells: chemoprevention using food phytochemicals[J]. **International Journal of Cancer**,2007,121(11):2357-2363.

[19] PARHIZ H,ROOHBAKHSH A,SOLTANI F,et al. Antioxidant and anti-inflammatory properties of the citrus flavonoids hesperidin and hesperetin: an updated review of their molecular mechanisms and experimental models[J]. **Phytotherapy Research**, 2015,29(3):323-331.

[22] ZHU Z G,JIN H,YU P J,et al. Mollugin inhibits the inflammatory response in lipopolysaccharide-stimulated RAW264. 7 macrophages by blocking the Janus kinase-signal transducers and activators of transcription signaling pathway[J]. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**,2013,36(3):399-406.

[21] SUM M,LI Y,BU W,et al. DJC suppresses advanced glycation end products-Induced JAK-STAT signaling and ROS in mesangial cells[J]. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**,2017,1155(10):283-294.