

Immunoenhancement Activity of *Cyathulae officinalis* Kuan Polysaccharides in Cyclophosphamide-induced Immunosuppressed Mice

Hongliang LUAN ^{1,3} #, Shujun DAI ^{1,4} #, Yizhen SONG ¹, Yaqin CHEN ⁴,
Tianli SU ⁴, Juan WANG ⁴, Yingying ZHANG ² * & Xu SONG ¹ *

¹ Natural Medicine Research Center, College of Veterinary Medicine,
Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China

² College of Animal Science and Technology, Sichuan Agricultural University,
Chengdu 611130, China

³ Qilu Animal Health Products Co., Ltd, Jinan 250100, China

⁴ Xinjiang Tycoon Group, Changji 831100, China

SUMMARY. Cyclophosphamide (CTX) is a worldwide used antitumor drug for treating various solid tumors and leukemia. The main side effect of CTX is immunosuppression. Therefore, how to recover the immune function during CTX-treatment is important for chemotherapy patients. This study found that *Cyathulae officinalis* Kuan polysaccharides (COKP) could improve cell proliferation and transcriptional levels of IL-2 and IL-6 in RAW264.7 cells, suggesting that COKP had the potential to strengthen immune response. Then, the immunomodulatory effects of COKP on CTX-induced immunosuppressed mice were further performed. The results showed that COKP improved the reduction of spleen and thymus indices in CTX-treated mice, and the contents of IL-2, IL-6, IFN- γ , TNF- α and IgG were increased and the secretion of LPS was inhibited in serum. For intestinal immune function, the transcriptional levels of IL-2, IL-6, IFN- γ and TNF- α and the secretion of sIgA in the jejunum and colon were increased in comparison with CTX-treated mice. CTX induced increased number of *E. coli* and decreased number of lactobacilli in colon, which was antagonized by COKP-treatment. The contents of short-chain fatty acids (acetate, propionate, butyrate, isobutyrate, valeric acid and isovaleric acid) were notably increased in a dose-dependent manner, and colonic histomorphology also showed significant recovery. COKP could also improve intestinal mucosal barrier by increasing the expressions of tight junction proteins (claudin-1, occludin and ZO-1) in the jejunum and colon. COKP could significantly increase the phosphorylation levels of JNK, ERK, and p38 proteins, indicating that COKP activated the MAPK signaling pathway, leading to enhancement of the immune response. In conclusion, COKP could recover the immune function in immunosuppressed mice and is expected to be an immunopotentiator for treated immunosuppression.

RESUMEN. La ciclofosfamida (CTX) es un fármaco antitumoral utilizado en todo el mundo para tratar diversos tumores sólidos y leucemia. El principal efecto secundario de la CTX es la inmunosupresión. Por lo tanto, es importante saber cómo recuperar la función inmunitaria durante el tratamiento con CTX para los pacientes de quimioterapia. Este estudio descubrió que los polisacáridos de *Cyathulae officinalis* Kuan (COKP) podrían mejorar la proliferación celular y los niveles transcripcionales de IL-2 e IL-6 en células RAW264.7, lo que sugiere que la COKP tenía el potencial de fortalecer la respuesta inmunitaria. Luego, se estudiaron más a fondo los efectos inmunomoduladores de la COKP en ratones inmunodeprimidos inducidos por CTX. Los resultados mostraron que la COKP mejoró la reducción de los índices de bazo y timo en ratones tratados con CTX, y los contenidos de IL-2, IL-6, IFN- γ , TNF- α e IgG aumentaron y la secreción de LPS se inhibió en suero. En cuanto a la función inmunitaria intestinal, los niveles transcripcionales de IL-2, IL-6, IFN- γ y TNF- α y la secreción de sIgA en el yeyuno y el colon aumentaron en comparación con los ratones tratados con CTX. CTX indujo un mayor número de *E. coli* y una disminución del número de lactobacilos en el colon, lo que fue antagonizado por el tratamiento con COKP. Los contenidos de ácidos grasos de cadena corta (acetato, propionato, butirato, isobutirato, ácido valérico y ácido isovalérico) aumentaron notablemente de manera dependiente de la dosis, y la histomorfología colónica también mostró una recuperación significativa. COKP también podría mejorar la barrera mucosa intestinal al aumentar las expresiones de proteínas de unión estrecha (claudina-1, ocludina y ZO-1) en el yeyuno y el colon. COKP podría aumentar significativamente los niveles de fosforilación de las proteínas JNK, ERK y p38, lo que indica que COKP activó la vía de señalización MAPK, lo que conduce a una mejora de la respuesta inmunitaria. En conclusión, COKP podría recuperar la función inmune en ratones inmunodeprimidos y se espera que sea un inmunopotenciador para la inmunosupresión tratada.

KEYWORDS: *Cyathulae officinalis* Kuan polysaccharides, cyclophosphamide, immunomodulation mucosal immunity, intestinal microbiota.

* Authors to whom correspondence should be addressed. E-mails: zhangyy@sicau.edu.cn (Y.Z.); songx@sicau.edu.cn (X.S.)

These authors have contributed equally to this work and share the first authorship.