

姬松茸提取物安全性评价及免疫功能研究

田 君

成都肛肠专科医院、药剂科 四川成都 610000

〔摘要〕目的 姬松茸提取物的安全性及免疫功能评价。方法 以姬松茸提取物灌胃小鼠进行急性毒性实验,并以 0.5、1.0、2.0g/kg.bw (相当于人体推荐剂量的 25 倍、50 倍、100 倍) 剂量对大鼠进行 30d 喂养,观察生长发育情况,进行血液学及血液生化指标检测,脏器系数和病理组织学检查。小鼠分别给予 250、166.7、83.3mg/kg.bw 剂量姬松茸提取物及蒸馏水,进行免疫功能指标测定。结果 姬松茸灌胃给药最大耐受剂量 > 15g/kg.bw,无急性毒性作用;30d 喂养实验未见明显毒副作用。姬松茸提取物能提高小鼠脾重、胸腺重、溶血空斑数、耳廓肿胀度、碳廓清吞噬指数及 NK 细胞活性。结论 姬松茸安全无毒,具有增强免疫力功能。

〔关键词〕姬松茸;安全性;急性毒性;30d 喂养;免疫

〔中图分类号〕R123.1 **〔文献标识码〕**A **〔文章编号〕**2095-7165 (2020) 10-106-02

姬松茸 (*Agaricus blazei* Murill, ABM), 又称巴西蘑菇、小松菇、柏氏蘑菇,是一种可栽培的名贵食用真菌^[1]。姬松茸含有多糖、甾醇类物质、核酸、脂质、维生素等活性物质^[2]。其中姬松茸多糖是其活性成分之一,具有提高免疫力、抗肿瘤、抗氧化、降低血糖、降低胆固醇、抗炎等功效,具有较高的药用价值^[3-4]。本实验观察了姬松茸提取物的安全性及其对免疫功能的影响。

1 材料与与方法

1.1 实验动物

清洁级昆明种健康小白鼠,体重为 18~22g; Wistar 大鼠,200±20g,购于成都生物制品研究所实验动物中心 [SCXK(川)2016-08]。

1.2 器材

试剂与仪器:生理盐水、Na₂CO₃ 溶液、甲醇、乳酸脱氢酶、显微镜、离心机、动物天平、恒温水浴锅、分光光度计、酶标仪、全自动血液分析仪、全自动生化分析仪,等。

1.3 受试物

姬松茸提取物:姬松茸子实体经水提浓缩后,加 95% 乙醇至含醇量 75%,醇沉 24h,滤过,沉淀干燥得棕黄色粉末,提取率约 14%。

1.4 安全性评价试验方法

急性毒性:小鼠 20 只随机分成两组,禁食 16h,于 24h 内灌胃给药 3 次,累计给药量 15g/kg。给药后观察 14d 内小鼠的行为活动、精神状态,眼口鼻有无异常分泌物,体重变化及死亡情况。

30 天喂养试验:Wistar 大鼠 60 只,雌雄各半,随机分为姬松茸提取物 0.5、1.0、2.0g/kg.bw (相当于人体推荐剂量的 25 倍、50 倍、100 倍) 3 个剂量组和空白对照组,自由饮食,连续喂养 30d,停药后恢复观察 2w。每天观察并记录动物的外观行为,对体重增长、摄食量、饮水量等进行检测,并分别于灌服 30d 后和 2w 恢复期结束后进行血液学(红细胞计数、血红蛋白含量、白细胞计数、中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞、血小板计数)、血液生化学(谷丙转氨酶、谷草转氨酶、尿素氮、肌酐、总胆固醇、甘油三酯、总蛋白、白蛋白、血糖)检测、脏器系数和病理组织学检查。

1.5 免疫功能实验方法^[5]

120 只小鼠按体重随机分为姬松茸提取物高、中、低(250、166.7、83.3mg/kg) 3 个剂量组及阴性对照组(生理盐水),每组 10 只。各组小鼠灌胃体积为 20ml/kg。每日 1 次,连续 30d。

1.5.1 脾/胸腺重

取完整脏器去掉筋膜及脂肪组织后称重。

1.5.2 迟发型变态反应

致敏、攻击、诱导小鼠产生迟发型变态反应,测定鼠耳肿胀程度。

1.5.3 抗体生成试验

脱纤维绵羊红细胞免疫 5d 处死动物,取脾脏制成脾细胞悬液,按 Jerne 改良玻片法计数溶血空斑数。

1.5.4 碳廓清试验

小鼠尾静脉注射稀释印度墨汁,于 2、10min 时从眼静脉丛取血 20μl,加入 Na₂CO₃ 溶液,在波长 600nm 处测光密度值。以 Na₂CO₃ 溶液作空白对照计算吞噬指数。

1.5.5 NK 细胞活性测定

取脾脏制成细胞悬液,按乳酸脱氢酶法用酶标仪在 490nm 处测定 OD 值。

1.6 统计方法

数据采用 SPSS 21.0 软件进行处理,数据以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示。

2 结果与分析

2.1 急性毒性

2.3.1 急性毒性试验

试验期间各组动物活动自如,毛色光泽、饮食正常、体重增长正常。未见明显异常反应,无死亡。灌胃给药最大耐受剂量 > 15/kg,无急性毒性作用。

2.3.2 30 天喂养试验

2.3.2.1 一般表现

在 30d 试验期及 2w 恢复期内,各组实验动物活动、行为正常,毛色光泽、饮食正常,体重增长、摄食量、饮水量均无异常,与对照组比较无明显差异 ($P > 0.05$)。

2.3.2.2 血液学及血液生化指标

在 30d 试验期及 2w 恢复期内,各组实验动物的血液学及血液生化指标均在正常参考值范围内,与对照组比较均无明显差异 ($P > 0.05$)。

2.3.2.3 脏器系数及病理组织学检查

在 30d 试验期及 2w 恢复期内,经系统解剖、肉眼观察,各剂量组动物心、肝、肾、胃、脾和睾丸等主要脏器外观形态、色泽、轮廓体积等均未见异常病理改变,各组间未见显著性差异 ($P > 0.05$)。动物组织器官的病理组织学检查也未发现与受试品相关的毒性反应发生。

2.2 免疫功能实验

2.2.1 对脾重、胸腺重量的影响

见表 1,姬松茸提取物各剂量组脾脏重量明显增加,与对照组相比差异具有显著性 ($p < 0.05$ 或 $p < 0.01$);各剂量组胸腺重量均有增加,中、高剂量组与对照组相比差异具有显著性 (p

(下转第 108 页)

/ 体重比值与阴性对照组相比, 经统计学处理, 均无显著性差异 ($P > 0.05$)。

3.3 对小鼠血清溶血素的影响

由表 2 可见, 连续灌胃 30 天后, 人工发酵虫草菌粉复合片三个剂量组动物的抗体积数与阴性对照组相比, 经统计学处理, 中、高剂量组动物有显著性差异 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。人工发酵虫草菌粉复合片对小鼠体液免疫试验结果阳性。

人工发酵虫草菌粉组与阴性对照组相比, 经统计学处理, 无显著性差异 ($P > 0.05$)。

3.4 对小鼠 NK 细胞活性的影响

由表 2 可见, 连续灌胃 30 天后, 人工发酵虫草菌粉复合片三个剂量组动物的 NK 细胞活性与阴性对照组相比, 经统计学处理, 低、高剂量组与人工发酵虫草菌粉组动物有显著性差异 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。人工发酵虫草菌粉复合片与人工发酵虫草菌粉均能提高小鼠 NK 细胞活性。

表 2: 人工发酵虫草菌粉复合片对小鼠血清溶血素的影响
($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	剂量 (mg/kg. BW)	抗体积数	NK 细胞活性 (%)
阴性对照组	0	118.10 ± 14.37	11.99 ± 2.03
虫草菌粉组	160	117.50 ± 20.16	14.18 ± 1.19*
复合片低剂量组	450	133.70 ± 16.86	16.22 ± 3.87**
复合片中剂量组	900	138.40 ± 21.82*	12.07 ± 2.29
复合片高剂量组	1800	143.70 ± 18.60**	17.11 ± 3.08**

与阴性对照组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

4 结论

(上接第 103 页)

[参考文献]

- [1] 贝晶晶, 邱敏华, 吴加满. 早期中心型肺癌诊断中 16 排螺旋 CT 的应用价值 [J]. 中国医药, 2018, 13(6):846-848.
- [2] 陈勇. 双源 CT 低剂量扫描显示磨玻璃结节对早期肺癌诊断的价值分析 [J]. 数理医药学杂志, 2019, 32(4):491-492.

(上接第 106 页)

< 0.05)。

表 1: 姬松茸提取物对脾、胸腺重量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

剂量 (mg/kg. bw)	脾重 (m/mg)	胸腺重 (m/mg)
0	0.0955 ± 0.004	0.0085 ± 0.0014
83.3	0.145 ± 0.007*	0.0113 ± 0.0064
166.7	0.176 ± 0.010**	0.0122 ± 0.0081*
250	0.185 ± 0.017**	0.0129 ± 0.0077*

注: 与对照组相比, * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$

2.2.2 对细胞及体液免疫功能的影响

见表 2。各剂量组小鼠耳廓肿胀度随剂量增加而逐渐增高, 中、高剂量组与对照组相比差异具有显著性 ($p < 0.05$)。各剂量组小鼠溶血空斑数均显著增加, 与阴性对照组相比差异有统计学意义 ($p < 0.05$)。

表 2: 小鼠迟发型变态反应 DTH 和溶血空斑试验结果 ($\bar{x} \pm s$)

剂量 (mg/kg. bw)	耳廓肿胀度 mg	溶血空斑数 ($\times 10^3$ /全脾)
0	7.6 ± 1.8	107.23 ± 14.60
83.3	8.9 ± 1.9	116.57 ± 15.71*
166.7	10.4 ± 2.2*	118.67 ± 16.55*
250	11.7 ± 2.4*	120.45 ± 18.62*

2.2.3 对巨噬细胞及 NK 细胞活性的影响

见表 3, 小鼠碳廓清吞噬指数随剂量增加而增加, 中、高剂量组吞噬指数有显著差异 ($p < 0.05$); NK 细胞活性随剂量而增加,

急性毒理试验主要是测定药物的 MTD, 是确认和研究药物对机体毒效的第一步, 为全面毒理学评价打基础。本实验结果表明, 人工发酵虫草菌粉复合片对大、小鼠急性经口毒性试验结果 MTD 值均 $> 15000\text{mg/kg. BW}$, 属无毒级。

人工发酵虫草菌粉复合片连续灌胃小鼠 30 天后, 能极显著提高小鼠的抗体积数和 NK 细胞活性。可初步判定, 人工发酵虫草菌粉与党参、灰树花配伍对动物具有增强免疫力的功能, 且功效较单用更加明显。

[参考文献]

- [1] 张传开, 袁盛榕. 冬虫夏草及其人工菌丝的免疫药理学研究进展 [J]. 首都医科大学学报, 1997, 18(3): 287-290.
- [2] 仲伟强, 张小强, 浦跃朴, 等. 冬虫夏草与人工虫草菌丝体无机元素含量的比较 [J]. 环境与职业医学, 2004, 21(4): 330-331.
- [3] 姜雪, 王春月, 李兰洲, 等. 蝙蝠蛾拟青霉及蛹虫草与野生冬虫夏草活性比较 [J]. 长春中医药大学学报, 2017, 33(4): 544-547.
- [4] 张雅君, 梁忠岩, 张丽霞. 党参粗多糖的组成及其免疫活性研究 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2012, 40(7): 199-202.
- [5] 晏永新, 张丽, 贾海芳, 等. 党参多糖口服液对小鼠免疫功能的影响 [J]. 中国兽药杂志, 2013, 47(3): 18-20.
- [6] 孙雨薇, 朱丽, 李家娣, 等. 党参水煎剂对 D- 半乳糖所致衰老模型小鼠免疫功能的影响研究 [J]. 中外女性健康研究, 2017, (1): 41-42.
- [7] 田君琪, 韩晓伟. 灰树花对免疫系统的影响 [J]. 2018, 38(10): 1203-1205.
- [3] 黄建胤. X 线检查在肺癌临床诊断中的应用效果观察 [J]. 影像研究与医学应用, 2019, 3(4):226-227.
- [4] 杨永海. 普通 CT 扫描和低剂量螺旋 CT 扫描应用于早期肺癌诊断的价值比较 [J]. 影像研究与医学应用, 2017, 1(14):21-22.
- [5] 刘爱荣, 寿雅琨. 早期周围型肺癌的 CT 表现及动态观察分析 [J]. 现代医用影像学, 2017, 26(6):1745-1746.

高剂量组活性增加显著 ($p < 0.05$)。

表 3: 小鼠碳廓清实验、NK 细胞活性测定结果 ($\bar{x} \pm s$)

剂量 (mg/kg. bw)	碳廓清吞噬指数	NK 细胞活性
0	0.23 ± 0.08	27.23 ± 4.69
83.3	0.39 ± 0.19	29.47 ± 5.74
166.7	0.42 ± 0.12*	31.64 ± 6.57
250	0.57 ± 0.14*	35.95 ± 6.62*

3 结论

本实验结果表明, 姬松茸提取物灌胃给药最大耐受剂量 $> 15\text{g/kg}$, 无急性毒性作用; 30d 喂养实验未见明显毒副作用。姬松茸提取物能提高小鼠脾重、胸腺重、溶血空斑数、耳廓肿胀度、碳廓清吞噬指数及 NK 细胞活性, 提示姬松茸安全无毒并具有增强免疫力功能。

[参考文献]

- [1] 王丽娟, 张彦青, 王勇, 等. 姬松茸多糖增强免疫作用及急性毒性研究 [J]. 食品科学, 2014, 35(13): 258-261.
- [2] 张卉, 刘长江. 姬松茸生理活性物质的研究进展 [J]. 沈阳农业大学学报, 2003(1): 59-62.
- [3] 岳丽玲, 张巍, 刘丹, 等. 姬松茸药用价值研究进展 [J]. 中国药房, 2011, 22(44):4116-4117.
- [4] 张蓉娇, 吴天祥. 姬松茸多糖及其生物活性研究进展 [J]. 贵州农业科学, 2009, 37(6): 108-110.
- [5] 卫生部卫生法制与监督司. 保健食品检验与评价技术规范 (2003 年版) [S]. 北京: 人民卫生出版社, 2003.