

## “思壮”虫草菌丝体胶囊免疫功能评价\*

樊美珍 李春如 李增智

(安徽农业大学 合肥 230036)

吕中明 石根勇 陈新霞

(江苏省卫生防疫站 南京 210009)

**摘要:** 将“思壮”虫草菌丝体胶囊(商品名)经口给予小鼠,在 45、450(相当于成人每日每公斤推荐摄入量的 10 倍)和 900mg/kg 体重剂量下,在 15~30d 时,通过二硝基氟苯(DNFB)诱导小鼠迟发性变态反应(DTH)、血清溶血素试验和小鼠碳廓清试验,表明中、高剂量“思壮”虫草菌丝体胶囊具有增强小鼠细胞免疫功能,而 3 种剂量均能明显增强小鼠体液免疫功能和单核巨噬细胞吞噬功能,且有剂量-反应关系,由此证明“思壮”虫草菌丝体胶囊有明显的免疫调节作用。

**关键词:** 虫草,菌丝体,免疫功能

**中图分类号:** Q939.91 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654(2000)-01-0019-04

## EVALUATION ON IMMUNITY FUNCTION OF “STRONG” CORDYCEPS MYCELIUM CAPSULES

FAN Mei-Zhen LI Chun-Ru LI Zeng-Zhi

(Anhui Agricultural University, Hefei 230036)

LÜ Zhong-Ming SHI Gen-Yong CHEN Xin-Xia

(Sanitation and Antiepidemic Station of Jiangsu Province, Nanjing 210009)

**Abstract:** Mice were reared with mycelia from STRONG CORDYCEPS MYCELIUM CAPSULES (commercial name) at doses of 45, 450, and 900mg mycelia / kg for 15~30 days for tests of delayed-type hypersensitivity (DTH) induced by 2-dinitro fluoro benzene (DNFB), serum haemolysin, and carbon clearance. The results showed that the medium and high doses enhanced cellular immunity of mice significantly, and all doses enhanced significantly humoral immunity and phagocytosis by uninucleate macrophages with obvious dose dependence. All these results suggests that the capsule are of substantial immunoregulation function.

**Key words:** Cordyceps, Mycelia, Immunity function

虫草是一大类昆虫病原真菌,据清水大典(1994)的统计,全球已报道的虫草种类约 400 种,我国现已记载 80 种左右。国际公认对于虫草认识起源于中国,日本学者小林义雄认为,中国在 3000 年前即可能对虫草就有某种程度的认识<sup>[1,2]</sup>。

在真菌学发展史上,尽管很早就对一些虫

草有了某种程度的认识,但主要集中于标本采集、描述、鉴定以及中药上对少数种作为滋补和治疗药物直接使用。

\* 由安徽省教育委员会重点科研项目和安徽省自然科学基金项目共同资助

收稿日期: 1998-12-28, 修回日期: 1999-5-5

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>

基于虫草类真菌在医药保健方面的作用<sup>[3~5]</sup>,同时,由于一些化学合成药品对人体及环境所造成的污染,因而对虫草的市场需求量愈来愈大。

现代的一些研究表明<sup>[2,6~8]</sup>,虫草人工发酵的菌丝体的主要药理药化成分基本类似于虫草生药。其中虫草多糖为虫草菌丝体的主要有效成份之一,虫草菌丝体中除含有虫草多糖外,还有氨基酸、微量元素、D-甘露醇和麦角甾醇、核苷类、维生素类、硬脂酸等物质。

我国虫草研究多集中于冬虫夏草 [*Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc.] (包括台湾),目前的研究和开发的产品多为其相关种。除冬虫夏草外,还有蝉花 [*C. sobolifera* (Fill.) Ber. et Br.] 及无性型蝉拟青霉 [*Pacelomyces cicadae* (Miq.) Samson], 大团囊虫草 [*C. ophioglossoides* (Ehr.) Fr.], 亚香棒虫草 [*C. hawkesii* (Gray) Cooke], 大蝉草 [*C. cicadae* Shing], 小蝉草 [*C. sobolifera* (Fill.) Ber. et Br.], 蛹虫草 [*C. militaris* (Vuill.) Fr.], 大团囊虫草 [*C. ophioglossoides* (Ehr.) Fr.], 黑槌虫草 [*C. gracilis* Dur. & Mont.], 古尼虫草 [*C. gunnii* (Berk.) Berk.] 等。

大量的研究表明:不同种类的虫草甚至同一虫草上分离出的不同菌株,或同一虫草的不同产地,有效成分常有所不同,其药效或功能也不相同。本文报道利用一种“思壮”虫草菌丝体胶囊所进行的免疫功能测定结果。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试验所用“思壮”虫草菌丝体胶囊,系由一种虫草上分离的地顶孢霉 [*Acremonium terri-cola* (Miller & al.) W. Gams] (新纪录种)人工发酵的菌丝体制成。

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞免疫功能试验——二硝基氟苯诱导小鼠迟发性变态反应(DTH):**选取18~22g健康雌性昆明小鼠40只,将小鼠按体重随机分入45、450和900mg/kg 3个剂量组和1个对照组,每组10只动物。将样品按设定的剂量用双蒸

水配制成为所需的浓度,每日经口灌胃,灌胃容积为20mL/kg体重,对照组灌双蒸水。连续灌胃15d后,每只小鼠腹部去毛,范围 $3 \times 3 \text{ cm}^2$ 。用微量注射器取1%二硝基氟苯(DNFB)丙酮麻油溶液50 $\mu\text{L}$ ,均匀涂抹在剃毛区内致敏。致敏后5d,各组小鼠右耳均匀涂抹1%DNFB丙酮麻油溶液10 $\mu\text{L}$ ,左耳均匀涂抹无DNFB丙酮麻油溶液10 $\mu\text{L}$ 作对照,涂抹后,各组小鼠按原样继续灌胃。抗原攻击后24h,颈椎脱臼处死小鼠,剪下左右耳壳,用打孔器于同一部位取下直径8mm的耳片,称重,以小鼠左右耳片重量之差作为肿胀度。同时取小鼠的胸腺及脾脏称重,以每10g小鼠的脾重(mg)和胸腺重(mg)作为脾指数和胸腺指数,计算菌丝体胶囊对DNFB所致的小鼠耳廓超敏反应的影响。

**1.2.2 体液免疫功能试验——血清溶血素试验:**采用半数溶血值( $\text{HC}_{50}$ )测定法,供试动物和处理均同前。连续灌胃15d后,每鼠腹腔注射经生理盐水洗涤过的2%(v/v)压积绵羊红细胞(SRBC)0.2mL致敏。免疫5d后,小鼠摘眼球取血,2000r/min离心10min,收集血清。取血清用SA缓冲液稀释200倍,将稀释后的血清1mL置试管内,依次加入10%(v/v)SRBC0.5mL,补体1mL(用SA缓冲液代替)。置37℃恒温水浴中保温30min后,冰浴终止反应,2000r/min离心10min。然后各管分别取上清液1mL,都氏试剂3mL于试管内;同时另取3支试管,每管加10%(v/v)SRBC0.25mL,加都氏试剂至4mL,充分混匀,放置10min后,于540nm处以对照管作空白,分别测定各管光密度值。按下式计算各鼠的样品 $\text{HC}_{50}$ :

$$\text{HC}_{50} = \frac{\text{样品光密度值}}{\text{SRBC半数溶血时光密度值}} \times 200$$

**1.2.3 单核-巨噬细胞功能试验——小鼠碳廓清试验:**试验动物及处理均同前。连续灌胃15d后,将每只小鼠按每10g体重尾静脉注射1:3稀释的印度墨汁0.1mL,注入后立即计时,并分别于第2和第10min用抗凝过的平口毛细管从小鼠眼眶内眦静脉丛取血0.025mL,加入到盛有2mL 0.1%碳酸钠管中。于波长600nm处测吸光度(OD)值。并用颈椎脱臼处死小鼠,取肝、

脾称重。由于碳颗粒的清除速率与其剂量呈指数函数的关系,即吞噬速度与血碳浓度呈正比,以血碳浓度的对数值为纵坐标,取血时间为横坐标,按公式  $K = (\lg OD1 - \lg OD2) / (t2 - t1)$  求出吞噬速率(K),再用小鼠的肝、脾重量校正

K 值,按公式  $a = \sqrt[3]{k} \times \text{体重} / (\text{肝重} + \text{脾重})$  求出小鼠吞噬指数 a 值。

2 结果与分析

2.1 细胞免疫功能试验——二硝基氟苯诱导

表1 “思壮”虫草菌丝体胶囊对小鼠耳廓迟发性超敏反应的影响

组别	剂量 (mg/kg)	动物数 (只)	肿胀度(mg) ( $\bar{X} \pm SD$ )	脾指数 ( $\bar{X} \pm SD$ )	胸腺指数 ( $\bar{X} \pm SD$ )
对照组	0	10	10.82±2.50	29.38±7.54	30.85±5.59
思壮虫草(菌 丝体)胶囊	45	10	13.30±3.03	29.44±6.21	31.62±3.24
	450	10	16.09±3.53**	28.83±4.43	33.77±7.29
	900	10	16.22±3.87**	31.07±3.54	32.42±7.01

\*\* 与对照组相比  $P < 0.01$

小鼠迟发性变态反应(DTH)

“思壮”虫草菌丝体胶囊对 DNFB 所致的小鼠耳廓超敏反应(DTH)的影响结果见表 1。

由表 1 结果可知:各剂量组小鼠的耳廓肿胀度均高于阴性对照组,且随剂量增加而增加,结果经方差分析及两两比较统计学处理,与阴性对照组相比,中、高剂量组有显著性统计学差异( $p < 0.01$ )。通过二硝基氟苯(DNFB)诱导小鼠迟发性变态反应(DTH),“思壮”虫草菌丝体胶囊在 45、450(相当于成人每日每公斤体重推荐摄入量的 10 倍)和 900mg/kg 剂量时,各剂量组小鼠的脾指数和胸腺指数与阴性对照组相比无统计学差异( $p < 0.01$ ),并随剂量的增加而增加。提示中、高剂量思壮虫草胶囊有明显增强 DNFB 引起的小鼠迟发性超敏反应作用,表明中、高剂量“思壮”虫草菌丝体胶囊具有增强小鼠细胞免疫功能。

2.2 体液免疫功能试验——血清溶血素试验

“思壮”虫草菌丝体胶囊对小鼠血清溶血素水平的影响结果见表 2。

表2 “思壮”虫草菌丝体胶囊对血清溶血素水平的影响

组别	剂量 (mg/kg)	动物数 (只)	半数溶血值 (HC <sub>50</sub> ) ( $\bar{X} \pm SD$ )
对照组	0	10	127.85±5.24
“思壮”虫草	45	10	132.63±4.86*
菌丝体胶囊	450	10	136.27±3.91**
	900	10	137.42±2.17**

\*, \*\* 与对照组相比  $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$

由表 2 可见,通过血清溶血素试验,“思壮”虫草菌丝体胶囊在 45、450(相当于成人每日每

公斤体重推荐摄入量的 10 倍)和 900mg/kg 体重剂量时,各剂量组小鼠血清半数溶血值(HC<sub>50</sub>)均高于阴性对照组,且随剂量增加而升高;结果经方差分析及两两比较统计学处理,与对照组相比,各剂量组均有显著统计学差异( $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ )。表明“思壮”虫草胶囊有明显增强小鼠血清溶血素反应的作用,即有明显增加小鼠的体液免疫功能。

2.3 单核-巨噬细胞功能试验-小鼠碳廓清试验  
试验结果见表 3

由表 3 可见,通过小鼠碳廓清试验,“思壮”虫草菌丝体胶囊在 45、450(相当于成人每日每公斤体重推荐摄入量的 10 倍)和 900mg/kg 体重剂量时,各剂量组小鼠的单核-巨噬细胞吞噬指数均高于阴性对照组,且有剂量-反应关系,

表3 “思壮”虫草菌丝体胶囊对小鼠碳廓清的影响

组别	剂量 (mg/kg)	动物数 (只)	吞噬指数a ( $\bar{X} \pm SD$ )
对照组	0	10	5.404±0.35
思壮虫草	45	10	6.178±0.35**
(菌丝体)胶囊	450	10	6.237±0.61**
	900	10	6.334±0.22**

\*\* 与对照组相比  $P < 0.01$

结果经方差分析及两两比较统计学处理,与阴性对照组相比,各剂量组均有显著性统计学差异( $p < 0.01$ )。表明“思壮”虫草菌丝体胶囊有明显增强小鼠单核-巨噬细胞吞噬功能。

根据卫生部免疫作用评价标准<sup>[9]</sup>,“思壮”虫草菌丝体胶囊在 3 个方面免疫系统测试中,检测结果均呈阳性,由此判定“思壮”虫草菌丝体胶囊具有明显的免疫调节作用。

## 参 考 文 献

- [1] 清水大典著. 原色冬虫夏草图鉴. 诚文堂新光社, 1994.
- [2] 王国栋主编. 冬虫夏草类生态培植应用. 北京: 科学技术文献出版社, 1995, 8.
- [3] 蒲蛰龙、李增智主编. 昆虫真菌学. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1996. 228~251.
- [4] 梁宗琦. 中国虫生真菌研究与应用(第一卷). 北京: 学术期刊出版社, 1988, 26~35.
- [5] 焦彦朝、梁宗琦、刘爱英. 贵州农业科学, 1990, (3): 53~58.
- [6] Miyazaki T, Oikawa N, Yamada H *et al.* Pharm. Bull, 1977, 25: 3324~3328.
- [7] Kiho T, Tabata H, Ukai S, Hara C *et al.* Carbohydr. Res. 1986, 156: 189~196.
- [8] Cunningham K G, Hutchinson S A, Manson W *et al.* J. Chem. Soc. 1951, 2299~2300.
- [9] 卫生部卫生监督司编. 保健食品管理法规汇编, 长春: 吉林科学技术出版社, 1997, 53~75.