

香菇菌发酵液的免疫调节作用

傅颖媛 黄淑云 刘茂林 张成武 王志勤 胡有长

(江西医学院微生物学教研室, 南昌 330006)

摘要 本文报道了香菇菌发酵液对原发性肝癌患者及不同免疫功能状态下的小鼠的免疫调节作用。结果表明, 香菇菌发酵液可增加由环磷酰胺 (CP) 诱导的免疫功能低下的治疗组小鼠的脾细胞数, 增强小鼠抗体形成细胞的功能, 增加溶血素抗体产生, 但其作用对预防组小鼠不明显。香菇菌发酵液能促进 ConA 诱导的脾淋巴细胞转化 (LT), 增加免疫玫瑰花环形成细胞 (IRFC) 率, 提高红细胞 C_3b 受体花环 (RBC- C_3bRR) 结合率。18 例原发性肝癌患者的体外 LT 及 RBC- C_3bRR 结合率实验, 结果与小鼠体内实验相似, 提示, 香菇菌发酵液具有一定的增强和调节机体免疫功能的效应。

关键词 香菇菌发酵液, 免疫调节

近年来对子实体香菇多糖的抗病毒、抗肿瘤、抗衰老等作用^[1-3], 国内外研究颇多, 均视其为当今最强的辅助性 T 细胞活性的恢复剂和巨噬细胞参与的 T 细胞免疫增强剂^[1,4]。但由于价格昂贵, 临床应用受到一定的限制。为此, 本文报道了从担子菌纲伞菌科植物香菇菌

中, 经发酵工艺而制成的类似香菇多糖的有效成份——香菇菌发酵液进行实验, 研究了它对正常小鼠及由 CP 造成的免疫功能低下的小鼠的免疫调节作用, 并对 18 例原发性肝癌患者进

1993-04-27 收稿

行了相同的体外免疫学实验。

1 材料和方法

1.1 主要药品与试剂

(1) 香菇菌发酵液: 由江西大学生物系提供; (2) RDMI-1640: 美国 GIBCO 产品; (3) 刀豆蛋白 (ConA): 美国 Sigma 产品; (4) 氘标记胸腺嘧啶核苷 (^3H -TdR): 中国科学院上海原子能研究所产品; (5) 闪烁液: 上海试剂厂产品; (6) 环磷酸胺 (CP): 上海第十二制药厂产品; (7) 鲜酵母: 上海酵母厂产品。

1.2 实验动物

BALb/C 纯系小鼠: 由江西省实验动物中心提供。

1.3 原发性肝癌患者

均为江西医学院第二附属医院临床确诊的住院病人, 其中男 14 例, 女 4 例, 年龄 24—48 岁, 平均 47 岁。

1.4 实验分组与免疫过程

选用体重 16—22g BALb/C 小鼠, 雌雄兼用, 分别随机分组, 每组 8—11 只。

(1) 治疗组: 首先在每鼠背部皮下注射 CP, 量为 50mg/kg 体重, 造成小鼠免疫功能低下 (外用血中淋巴细胞百分率下降 30% 以上), 3 日后每鼠灌服香菇菌发酵液, 量为 60mg/kg 体重, 连续灌服 5 日。

(2) 预防组: 先给小鼠每日灌服香菇发酵液, 量为 60mg/kg 体重, 连续灌服 5 日, 第 5 日在每鼠背部皮下注射 CP, 量为 50mg/kg 体重。

(3) 单纯给药组: 单纯每日灌服香菇菌发酵液, 量为 60mg/kg 体重, 连续灌服 5 日。

(4) 对照组: 上述各实验组均设有相应的对照组。以生理盐水 (NS) 代替相应的香菇菌发酵液作为对照, 其他过程与相应实验组相同。

各组小鼠均在实验第 4 日, 用 5% 绵羊红细胞 (SRBC) 0.4ml 经腹腔免疫, 于第 8 日处死进行实验。

1.5 脾细胞计数

按常规法摘取小鼠脾脏, 洗净, 过 200 目

铜网, 制成单细胞悬液, 用 0.25% 胎盘蓝染色, 计数其活细胞 (>95%) 的数量。

1.6 溶血素测定

按文献 [5] 方法, 测定并计算半数溶血值 HC_{50} , 结果以光密度 OD 值表示。

1.7 抗体形成细胞功能测定

采用脾细胞介导红细胞溶血分光光度计测定法, 分别取单个脾细胞悬液, 调整细胞浓度至 $5 \times 10^8/\text{ml}$, 于每管加脾细胞悬液 1ml, 1:10 豚鼠血清补体 1ml, 0.25% SRBC 1ml, 混匀, 37℃ 水浴 1h, 3000r/min \times 3min, 取上清液于 721 型分光光度计 (上海第三分析仪器厂) 测光密度 (OD), 波长 (λ) 413nm。

1.8 免疫玫瑰花环形成细胞 (IRFC) 试验

主要参照文献 [6] 测定, 观察 100 个有核细胞, 以每个有核细胞结合 5 个以上 SRBC 为一个 IRFC, 结果以百分率表示。

1.9 红细胞 C_3b 受体花环 (RBC- C_3bRR) 试验

参照文献 [7] 方法测定, 结果以阳性花环百分率表示。

1.10 淋巴细胞转化试验

按我室常规方法 8 测定, 结果以脉冲数/分 (CPM) 值和刺激指数 (SI) 表示。

2 结果

2.1 对脾细胞数的影响

表 1 结果说明, 在香菇菌发酵液剂量相同的情况下能明显增加单纯给药组及治疗组小鼠的脾细胞数量, 而对预防组则未显示出相同作用。

表 1 香菇菌发酵液对脾细胞数的影响 ($\bar{X} \pm S$)

组别	动物数 (只)	脾细胞数 ($2 \times 10^7/\text{ml}$)	P 值
生理盐水组	11	3.48 ± 0.89	
单纯给药组	10	4.69 ± 1.00	<0.05
治疗对照组	11	2.61 ± 0.84	
治疗组	10	4.22 ± 0.99	<0.01
预防对照组	10	2.99 ± 1.13	
预防组	8	2.60 ± 0.83	>0.05

* 与相应对照组比较

2.2 对溶血素生成的影响

表2结果说明,香菇菌发酵液能明显促进单纯给药组及治疗小鼠溶血素抗体的生成,并可使治疗组小鼠的溶血素抗体生成能力恢复至正常水平, $P > 0.05$ 。但对预防组则没有显示出促进作用, $P > 0.05$ 。

表2 香菇菌发酵液对溶血素生成的影响 ($\bar{X} \pm S$)

组别	动物数(只)	OD	P值*
生理盐水组	11	0.90 ± 0.45	
单纯给药组	10	1.33 ± 0.23	<0.01
治疗对照组	11	0.43 ± 0.03	
治疗组	10	1.26 ± 0.21	<0.001
预防对照组	10	0.43 ± 0.03	
预防组	8	0.43 ± 0.03	>0.05

* 与相应对照组比较

2.3 对抗体形成细胞功能的影响

表3结果说明,香菇菌发酵液对治疗组小鼠抗体形成细胞功能增强和调节作用,并可使该免疫功能下降的治疗组小鼠抗体形成细胞功能恢复接近正常水平。但对单纯给药组及预防组作用不明显。

表3 香菇菌发酵液对抗体形成细胞功能的影响 ($\bar{X} \pm S$)

组别	动物数(只)	OD	P值*
生理盐水组	11	1.04 ± 0.39	
单纯给药组	10	1.38 ± 0.33	>0.05
治疗对照组	11	0.52 ± 0.03	
治疗组	10	1.30 ± 0.24	<0.01
预防对照组	10	0.53 ± 0.03	
预防组	8	0.59 ± 0.06	>0.05

* 与相应对照组比较

2.4 对免疫玫瑰花环形成细胞(IRFC)的影响

表4结果说明,香菇菌发酵液能明显提高小鼠IRFC的数量,而且能使治疗组及预防组小鼠IRFC数调节恢复接近正常水平。

表4 香菇菌发酵液对IRFC的影响 ($\bar{X} \pm S$)

组别	动物数(只)	IRFC(%)	P值*
生理盐水组	11	9.47 ± 0.79	
单纯给药组	10	11.49 ± 1.04	<0.001
治疗对照组	11	5.95 ± 1.04	
治疗组	10	9.74 ± 0.39	<0.001
预防对照组	10	5.87 ± 1.06	
预防组	8	7.11 ± 0.44	<0.01

* 与相应对照组比较

2.5 对红细胞C₃b受体花环(RBC-C₃bRR)结合率的影响

表5结果说明,香菇菌发酵液能明显提高

各组小鼠RBC-C₃b受体的粘附功能,使之有助于机体对血中循环复合物的清除。

表5 香菇菌发酵液对RBC-C₃b结合率的影响 ($\bar{X} \pm S$)

组别	动物数(只)	RBC-C ₃ bRR(%)	P值*
生理盐水组	11	1.36 ± 0.67	
单纯给药组	10	3.00 ± 1.41	<0.01
治疗对照组	11	0.90 ± 0.73	
治疗组	10	1.60 ± 0.52	<0.05
预防对照组	10	0.91 ± 0.69	
预防组	8	1.80 ± 2.42	<0.05

* 与相应对照组比较

2.6 对脾淋巴细胞转化的影响

表6结果说明,香菇菌发酵液能明显促进ConA诱导的淋巴细胞转化反应,增强T细胞的免疫功能。

表6 香菇菌发酵液对脾淋巴细胞转化的影响 ($\bar{X} \pm S$)

组别	动物数(只)	SI	P值*
生理盐水组	11	4.23 ± 3.03	
单纯给药组	10	16.42 ± 11.13	<0.001
治疗对照组	11	1.94 ± 1.26	
治疗组	10	3.92 ± 3.39	<0.05
预防对照组	10	1.94 ± 1.12	
预防组	8	5.04 ± 5.24	<0.01

* 与相应对照组比较

2.7 对原发性肝癌患者LT和RBC-C₃bRR的结合率的影响

18例初诊病人于治疗前采外周血,抗凝,按本室常规微量全血³H-TdR掺入法[9]测淋巴细胞转化,其实验组香菇菌发酵液的量为0.045mg/ml。红细胞C₃b受体花环结合率(方法同前),表7结果说明,香菇菌发酵液在体外对原发性肝癌患者LT和RBC-C₃bRR结合率均有显著的促进作用。

表7 香菇菌发酵液对原发性肝癌患者LT和RBC-C₃bRR结合率的影响 ($\bar{X} \pm S$)

组别	LT		C ₃ bRR%
	CPM	SI	
对照组	6790.34 ± 3923.29*	30.25 ± 15.36*	6 ± 4.35**
实验组	9220.20 ± 5432.11	41.48 ± 20.22	10 ± 4.20

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

3 讨论

香菇菌发酵液具有类似生药活性多糖的功

能, 本文作者对此进行了动物实验及原发性肝癌患者的体外免疫学实验。作者先在不同时间及不同免疫功能状态下给小鼠灌服香菇菌发酵液观察其对小鼠的免疫调节作用, 结果表明, 香菇菌发酵液可增加 CP 诱导的免疫功能低下的治疗组小鼠的脾细胞数, 此作用与文献^[10]报道的许多免疫增强剂相似。提示, 香菇菌发酵液有免疫增强剂的作用。香菇菌发酵液能增强治疗组小鼠抗体形成细胞功能和增加溶血素抗体产生, 对正常小鼠溶血素抗体生成也有增加作用。但对预防组小鼠作用不明显, 这主要与应用 CP 的时间有关。与预防组和治疗组各组间小鼠产生抗体的高峰期不同也有关。香菇菌发酵液能促进 ConA 诱导的脾淋巴细胞转化, 尤其对正常小鼠效果明显。还能增加各实验组小鼠 IRFC 数量, 并使 CP 诱导的免疫功能低下的治疗组及预防组小鼠 IRFC 数量恢复接近正常水平。提示, 香菇菌发酵液具有 T 细胞免疫调节作用。其机理可能与其有效成份香菇多糖能提高辅助性 T 细胞的活性, 并在巨噬细胞参与下增强 T 细胞免疫有关^[1,4]。

红细胞免疫的重要功能是清除体内免疫复合物, 这一作用主要通过 RBC-C₃b 受体实现的^[11]。本实验结果显示, 香菇菌发酵液可明显提高小鼠 RBC-C₃b 受体的免疫粘附功能, 但其作用机理有待进一步研究。

同时作者还对 18 例免疫功能低下的原发性肝癌患者进行了相同的体外 LT 和 RBC-C₃bRR 实验, 得到的结果与小鼠的体内实验结果相似。

综上所述, 香菇菌发酵液既能非特异性增强体液免疫和细胞免疫功能, 又具有免疫调节作用。本实验为其临床应用提供了实验依据, 可望在抗感染、肿瘤及免疫性疾病等的治疗中得到广泛应用。

参 考 文 献

- [1] 千原吴郎. 国外医学中医中药分册, 1989, 11 (5): 16.
- [2] 曾雪瑜, 李友娣, 陈学芬等. 中草药, 1985, 16 (11): 14.
- [3] 邹建华. 国外医学中医中药分册, 1991, 13 (6): 1.
- [4] 曹广文. 免疫学杂志, 1992, 8 (4): 273.
- [5] 徐学瑛, 李元, 许津. 药学报, 1979, 14 (7): 443.
- [6] 李 剑, 万福珠, 叶醒民. 上海免疫学杂志, 1991, 11 (6): 339.
- [7] 张淑华, 强祥文, 王锡九, 等. 中国实验临床免疫学杂志, 1991, 3 (4): 18.
- [8] 傅颖媛, 董发明, 阎燕. 江西医学院学报, 1989, 29 (3): 104.
- [9] 傅颖媛, 胡友长, 张成武. 中国实验临床免疫学杂志, 1993, 5 (4): 28.
- [10] 沈美玲, 翟世德, 罗英德, 等. 中西医结合杂志, 1984, 4 (10): 615.
- [11] Siegel I, Tian Lin Liu. The red-cell immune system. The lancet, 1981, 2 (8246): 556.

THE IMMUNOREGULATION OF FERMENTED CULTURE FLUID OF *LENTINUS EDODES* (BERK) SING

Fu Yingyuan Huang Shuyun Liu Maolin Zhang Chengwu Wang Zhiqin Hu Youchang

(Department of Microbiology, Jiangxi Medical College, Nanchang 330006)

Abstract The paper reported the immunoregulation of Fermented culture fluid of *lentinus edodes* (Berk) sing to patients with Primary Hepatocellular Carcinoma (PHC) and mice at different immune statuses. The results showed that the fermented fluid can increase the number of splenocytes in mice of therapeutic group of hyp immunity induced with cyclophosphamide, improve the function of antibody producing cells and promote production of hemolysin antibodies. But the same results cannot be observed in mice of preventive group; it also promote splenic lymphocyte trnsformation induced with

Con A, increase the rate of immune rosette-forming cells (IRFC) and raise the rate of combination of red cell C₃b receptor rosettes (RBC-C₃bRR). The results have been the same in 18. patients with PHC by LT and RBC-C₃bRR in vitro.

It can be concluded that the fermented fluid has a certain effects of improving and regulating the immune function of the organism.

Key words Fermented culture fluid of lentinus edodes (Berk) Sing, Immunoregulation