

破壁灵芝孢子粉对小鼠免疫功能的影响

Effect of Ganoderma lucidum Spore Powder on Immune Function of Mice

李湘激¹ 徐源钢¹ 吴东²

Xianglian Li¹ Yuangang Xu¹ Dong Wu²

1. 江西沐恩堂生物科技有限公司 中国·江西 樟树 331200

2. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心 中国·江西 南昌 330000

1. Jiangxi Muentang Biotechnology Co., Ltd., Zhangshu, Jiangxi, 331200, China

2. National Engineering Research Center of Solid Preparation Manufacturing Technology of Traditional Chinese Medicine, Nanchang, Jiangxi, 330000, China

摘要: 目的: 研究破壁灵芝孢子粉对小鼠免疫功能的影响。方法: 实验期间对小鼠进行破壁灵芝孢子粉灌胃, 每天1次给药, 给药的剂量分别为0.15, 0.30g, 0.60g/(kg·bw), 连续给药30天, 在给药完的最后1小时后, 依次进行ConA诱导的小鼠脾淋巴细胞转化功能实验、迟发型变态反应实验、小鼠抗体生成细胞数实验和溶血素水平等实验。结果: 0.30, 0.60g/(kg·bw)剂量组与对照组相比较小鼠迟发型变态反应能力、抗体生成细胞数、NK细胞活性存在较显著的差异且($P < 0.05$), 各剂量对小鼠体重的增长、胸腺/体重比值、脾脏/体重比值、半数溶血值等均无显著影响($P > 0.05$)。结论: 提示破壁灵芝孢子粉在不影响机体正常代谢的前提下对免疫功能有着一定的提升作用。

Abstract: Objective: To study the effect of Ganoderma lucidum spore powder on immune function in mice. **Methods:** During the experiment, Ganoderma lucidum spore powder was administered intragastric to mice once a day at doses of 0.15, 0.30g, 0.60g/(kg·bw), respectively, for 30 days. After the last hour of administration, Cona-induced mouse splenic lymphocyte transformation function experiment, delayed allergic reaction experiment, antibody producing cell number experiment and hemolysin level experiment were performed successively. **Results:** Compared with the control group, there were significant differences in delayed allergic reaction ability, number of antibody-producing cells and NK cell activity in 0.30 and 0.60g/(kg·bw) dose groups ($P < 0.05$). There were no significant effects on body weight, thymus/body weight ratio, spleen/body weight ratio and median hemolytic value ($P > 0.05$). **Conclusion:** Ganoderma lucidum spore powder can improve the immune function without affecting the normal metabolism of the body.

关键词: 破壁灵芝孢子粉; 免疫功能; 小鼠

Keywords: ganoderma lucidum spore powder; immune function; mouse

DOI: 10.12346/pmr.v5i4.8993

1 引言

灵芝(Ganoderma Lucidum)是担子菌纲(Basid Iomycetes)多孔菌科灵芝属的真菌,其是中医药领域中药用价值极高的中草药^[1]。当灵芝步入成熟期,其菌褶内部将向外弹出灵芝孢子,其属于微小型生殖细胞,可被看作灵芝草药的种子;若开展破壁处理,可对其中超过90%的有效成分实现有效吸

收。所以对灵芝孢子粉进行选用时,必须重点关注其采用的破壁工艺以及配方信息,选择适合的破壁技术的灵芝孢子粉可以保证破壁率。目前,针对几丁质进行破壁处理时,主要通过化学法、物理法以及生物酶解法来实现处理目标^[2]。灵芝孢子粉从灵芝处继承了其所有的活性成分,包括三萜类、多糖类和多肽类物质,现代药理学以及临床应用研究成果均

【作者简介】李湘激(1987-),男,中国江西樟树人,硕士,从事中药功能食品和保健食品研究。

可证实灵芝孢子粉可在护肝治疗、调节血脂治疗,以及免疫调节治疗等方面提供支持^[1]。本实验对灵芝孢子粉进行破壁工艺,并对其免疫功效进行研究,目的是研究破壁灵芝孢子粉是否对小鼠免疫力具有增强作用。验证其功效性。

2 材料与方

2.1 仪器与试剂

紫外—分光光度计、显微镜、恒温水浴锅、酶标仪等。

SRBC、Hank's、RPMI1640 培养液、小牛血清、ConA、MTT、PBS 缓冲液 pH7.2~7.4、补体豚鼠血清、SA 缓冲液、琼脂糖、都氏试剂、YAC-1 细胞、乳酸钠、硝基氯化四氮唑、吩嗪二甲酯硫酸盐、氧化型辅酶 I、0.2mol/L 的 Tris-HCL 缓冲液、2.5%Tritcn、印度墨汁、0.1% 的碳酸钠、鸡红细胞、Giemsa 染液等。

2.1.1 样品

破壁灵芝孢子粉由沐恩堂生物技术有限公司提供,产品批号:20220913。

2.1.2 动物

200 只体重在 18g~22gICR 雌性小鼠 (SPF 级),生产许可证号 SCXK (沪) 2022-0003。购置于上海斯莱克景达实验动物有限公司提供。

2.2 方法

2.2.1 分组

利用随机分组法为选中的实验小鼠进行分组,每一大组中设置 40 只实验小鼠,共有 5 大组,通过适应性饲养方法来饲养实验小鼠,饲养时间为 72h,每一大组分别细分成高剂量、低剂量、中剂量与对照组,各剂量组中的小鼠数量均为 10 只。为其实施以下试验操作:碳廓清实验 (I 组);小鼠淋巴细胞转化实验和 NK 细胞的活性测定实验 (II 组);脏器比值测定、半数溶血值 (HC50) 的测定和抗体生成的腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞实验 (III 组);迟发型变态反应实验 (IV 组);小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞实验 (V 组)。

2.2.2 给药

按照口服药品说明书中的推荐量信息给药,以用药剂量为划分标准,对样品进行高剂量、中剂量与低剂量的组别划分,各组剂量按照从大到小分别是 0.60、0.30、0.15g/(kg·bw),每日进行 1 次给药操作,实验推进过程中各给药组 0.2mL/10g·bw,连续灌胃 30d,连续进行 30d 的灌胃给药操作,以相同体积数值的蒸馏水灌胃小鼠设置成为对照组。

2.3 数据统计

采用 SPSS13.0 统计分析软件进行数据处理,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 破壁灵芝孢子粉对小鼠体重的影响

统计各组数据并进行对比分析后发现,各组小鼠在体重

方面并无统计学方面的数值差异 ($P>0.05$);结果表明,样品并不会给小鼠的实际体重带来过多的影响,因此可知晓实验所用样品并未给小鼠带来显著毒副作用,结果见表 1。

表 1 各剂量组实验末期小鼠体重 (n=10)

组别	对照组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
I 组	33.61 ± 3.48	35.34 ± 2.78	33.94 ± 3.21	33.82 ± 3.56
II 组	33.54 ± 3.28	33.82 ± 2.88	35.02 ± 3.15	33.67 ± 2.48
III 组	33.93 ± 2.51	33.69 ± 3.10	34.51 ± 3.37	35.01 ± 2.92
IV 组	34.25 ± 3.15	33.75 ± 3.08	34.81 ± 2.68	34.83 ± 2.97
V 组	34.19 ± 2.94	33.88 ± 2.98	32.97 ± 2.69	33.45 ± 2.89

注:与对照组比较 * $P<0.05$ 。

3.2 破壁灵芝孢子粉对小鼠免疫器官脏器 / 体重比值的影响

对比对照组与各剂量组的数据后发现,小鼠的胸腺与体重之比与脾脏与体重之比未出现统计学方面的数值差异 ($P>0.05$)。根据对比结果可知,实验所使用的样品给实验对象的胸腔与脾脏脏器带去的影响无统计学方向差异,结果见表 2。

表 2 样品对小鼠免疫器官脏器 / 体重比值的影响 (n=10)

组别	脾脏 / 体重 (%)	胸腺 / 体重 (%)
对照组	0.453 ± 0.061	0.332 ± 0.028
低剂量组	0.487 ± 0.057	0.348 ± 0.030
中剂量组	0.527 ± 0.059	0.351 ± 0.025
高剂量组	0.536 ± 0.048	0.362 ± 0.046

注:与对照组比较 * $P<0.05$ 。

3.3 破壁灵芝孢子粉样品对小鼠细胞免疫功能的影响

破壁灵芝孢子粉对小鼠 DTH 的影响:由试验数据分析可知,从小鼠实施注射操作后的 24h 时间的足趾肿胀度角度进行比较,相比于对照组,高剂量组与中剂量组有较大的数值差异 ($P<0.05$)。所以,高剂量组与中剂量组中的样品对于实验对象的 DTH 形成的影响并不相同,以此可知小鼠的免疫系统受到了样品带来的影响,结果见表 3。

表 3 样品对小鼠迟发型变态反应 (DTH) 的影响 (n=10)

分组	注射后 24h 足趾肿胀度 /mm
对照组	0.22 ± 0.08
低剂量组	0.29 ± 0.18
中剂量组	0.41 ± 0.12*
高剂量组	0.43 ± 0.11*

注:与对照组比较 * $P<0.05$ 。

3.4 破壁灵芝孢子粉对体液免疫的影响

①针对抗体细胞数的生成量方面的数据进行获取、比较与分析后发现,高剂量组、中剂量组与对照组在溶血空斑数方面的差异具有统计学意义 ($P<0.05$) 因此可知,该灵芝孢子粉可以使抗体生成细胞数量增多,进而强化实验对象的

免疫功能,结果见表4。

表4 样品对小鼠抗体生成细胞数的影响 (n=10)

分组	溶血空斑数 (个/10 ⁶ 个脾细胞)
对照组	109 ± 65
低剂量组	146 ± 52
中剂量组	188 ± 61*
高剂量组	191 ± 70*

注:与对照组比较 *P<0.05。

②分析、对比实验小鼠在NK细胞活性方面的数据后发现,高剂量组小鼠、中剂量组小鼠与对照组小鼠在NK细胞活性平方根反正弦转换值方面的差异有统计学意义(P<0.05)。

因此可以确定该灵芝孢子粉样品可以增强实验对象的NK细胞具有的活性,从而达到提升其机体免疫力的目标,结果见表5。

表5 样品对小鼠NK细胞活性的影响 (n=10)

分组	NK细胞活性	NK细胞活性平方根反正弦转换值
对照组	20.91 ± 8.15	27.58 ± 5.13
低剂量组	24.88 ± 10.76	29.89 ± 8.15
中剂量组	32.57 ± 10.08	34.59 ± 6.12*
高剂量组	37.45 ± 9.94	39.12 ± 6.01*

注:与对照组比较 *P<0.05。

4 讨论

粉剂具有粒径小,比表面积大,起效快的特点,而且制备工艺简单,生产成本低等特点。破壁灵芝孢子粉是沐恩堂生物科技有限公司开发的一款具有增强免疫力的保健食品,该产品是由灵芝孢子经现代化破壁工艺制作而成的养生保健品^[4-6]。根据药理学相关研究报道可确定灵芝孢子对于人体免疫系统的促进性作用,其还可以提供延缓衰老速度、

降低血脂、降低血糖、保护肝肾脏器、抵抗病毒侵袭、抑制癌细胞等多重药用效果^[7]。

本实验通过ConA诱导的小鼠脾淋巴细胞转化功能实验、迟发型变态反应实验、小鼠抗体生成细胞数实验和溶血素水平等实验探讨了破壁灵芝孢子粉对小鼠的免疫系统的影响,并依据《保健食品检验与评价技术规范》(2003版)来完成对实验结果的分析与评定。在诱导小鼠的迟发型变态反应的试验中与对照组相比较受试物中、高剂量组显现出相应的作用;在促进小鼠抗体生成细胞试验中,相比于对照组,高剂量组的药效作用显著;在NK细胞的活性试验中。对比对照组的情况后可知高剂量组与中剂量组的样品都强化了组中实验对象的NK细胞活性。根据《保健食品检验与评价技术规范》(2003版)判定牌破壁灵芝孢子粉产品能够调节与改善实验小鼠的免疫系统与免疫功能。

参考文献

- [1] 国家药典委员会.中国药典·一部[M]北京:中国医药科技出版社,2020.
- [2] 王昕妍,陈国杨,苏洁,等.灵芝孢子粉、破壁灵芝孢子粉对Lewis肺癌小鼠肿瘤生长和VEGF表达的比较研究[J].中药药理与临床,2017,33(2):118-122.
- [3] 吴晓刚,孟令仪,周博宇,等.灵芝孢子粉对小鼠NK细胞活性影响的研究[J].中国卫生工程学,2018,17(6):838-840.
- [4] 王金艳,王晨光,张劲松,等.灵芝孢子粉中核苷类成分分析[J].菌物学报,2016,10(15):77-85.
- [5] 芦笛.晚清报刊所载罕见食药菌史料选录[J].食用菌,2017,39(4):69-71.
- [6] 侯翠英,孙义廷,杨琳,等.灵芝(赤芝孢子粉)化学成分的研究再报[J].植物学报,1988,30(1):66-70.
- [7] 张东.中国产业信息.2019年中国食用菌行业产量及生产模式分析[J].生产模式分析,2020,1(6):10-13.