

为灵芝有扶正固本作用的理论。

灵芝水提取液的毒性极低,以 50 g/kg BW(相当于生药)的剂量连续灌胃 10 d,未见小鼠死亡,其 $LD_{50} > 50$ g/kg BW。高剂量组小鼠活动量减少,说明灵芝有一定的镇静作用。适量的灵芝还能促进小鼠生长。

本文仅为灵芝水提取液的实验结果,而且有作用剂量(生药 2~50 g/kg BW)比较大,故需要进一步研究水提取液中的有效成份,以应用于实际。

4 参考文献

- 1 高斌,杨贵贞. 树舌多糖的免疫调节效应及其抑瘤作用. 中国免疫学杂志,1989,5(6):363
- 2 何来英,等. 灵芝的抗突变作用. 中国食品卫生杂志,1994,6(2):1
- 3 Richard T Smith, et al. The stimulatory effect of bearing

primary methylcho - lanthrene induced tumours upon the murine lymphoreticular system. Int J Cancer. 1973, 12:577

- 4 Smith, Konda. Effects of tumour - bearing on T and B cell function of mice. Amer J Path. 1972;66:78
- 5 Konda S, et al. Stimulatory effect of tumour - bearing upon the T and B cell subpopulation of the mouse spleen. Cancer Res. 1973,33:2247
- 6 顾立刚,等. 薄盖灵芝对小鼠体内、外免疫反应的实验研究. 上海免疫学杂志,1989,9(3):145
- 7 Shin Hea, et al. Studies on constituents of the higher fungi of Korea, Part XLIII, studies on inorganic composition and immunopentiating activity of Ganoderma Lucidum in Korea shin. (Korea) CA, 1986,105,19874k
- 8 许津,等. 灵芝对小鼠免疫细胞的作用. 中国医学科学院学报,1985;7(4):301

[上接第 6 页]

表中无标记者,表示未进行试验。1~3 号试样进行了两次游泳试验,结果均为阴性,故未继续进行其它试验。从表 8 可见有抗疲劳作用的产品分别是 5、7、8、10 号产品。

4 结论

经过反复验证和对产品功效的检测,证明所建方法稳定、可靠,操作简便,能真实地检测出产品的实际功效。并且,除乳酸测定仪外,无需特殊的仪器设备,可操作性强,一般实验室都能开展实验。可以作为抗疲劳作用的常规检测方法推广应用。

5 参考文献

- 1 冯炜权. 运动性疲劳和疲劳恢复过程研究的新进展. 中国

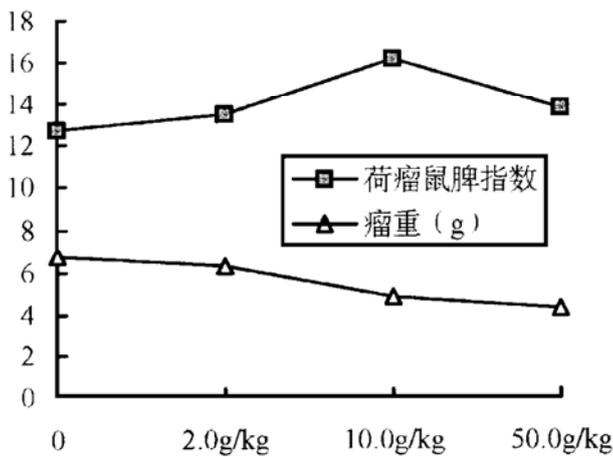
运动医学杂志,1993,12(3):161

- 2 浦钧宗,等. “多耐”运动保健饮料对动物和人体的影响. 中国运动医学杂志,1992,11(4):208
- 3 Nicholas V Carroll, et al. The determination of glycogen in liver and muscle by use of anthrone reagent. Biochem J 1956
- 4 浦钧宗,等. 优秀运动员机能评定手册——国家体委体育科学技术成果专辑. 北京:人民体育出版社,1989
- 5 朱忠勇. 实用医学检验学. 北京:人民军医出版社,1992
- 6 冯炜权. 运动性疲劳和疲劳恢复过程几个理论研究概况和应用. 体育科学,1992,12(3):53
- 7 金宗镰,等. 功能食品评价原理及方法. 北京:北京大学出版社,1995
- 8 Vies J VD. Two methods for the determination of glycogen in liver. Biochem J, 1954, 57:410

表3 灵芝对小鼠脾指数的影响

灵芝剂量 g/kg BW	正常 NIH 小鼠			荷瘤昆明小鼠		
	小鼠数	脾指数($\bar{x} \pm SD$)	<i>P</i>	小鼠数	脾指数($\bar{x} \pm SD$)	<i>P</i>
50.0	10	4.99 ± 1.90	<0.05	9	13.76 ± 2.25	>0.05
10.0	10	4.15 ± 0.68	<0.05	10	16.15 ± 2.23	<0.05
2.0	10	4.59 ± 0.90	<0.05	10	13.48 ± 2.87	>0.05
0.4	10	4.10 ± 0.80	<0.05	—	—	—
0.0	10	3.53 ± 0.60		10	12.72 ± 2.00	

用双侧 *t* 检验



灵芝剂量

图1 给予灵芝后荷瘤鼠瘤重与脾指数的关系

2.4 灵芝的急性毒性及其对健康小鼠体重增长的影响

表4 灵芝对健康小鼠体重增长的影响

灵芝剂量 g/kg BW	小鼠数	体重增长 $\bar{x} \pm SD$	<i>P</i>
50.0	20	2.33 ± 1.84	>0.2
10.0	20	2.64 ± 1.83	>0.2
2.0	20	4.11 ± 1.86	<0.02
0.4	20	2.53 ± 1.07	>0.2
0.0	20	2.80 ± 1.61	

用双侧 *t* 检验

体重 20 ~ 22 g 的 NIH 小鼠, 用剂量 2 ~ 50 g/kg BW 的灵芝连续灌胃 10 d, 未见死亡, 其 LD₅₀ > 50 g/kg BW。50 g/kg BW 剂量组小鼠有竖毛, 毛无光泽, 饮水与摄食量减少, 肌肉松弛, 活动量减少的症

状。大量服用灵芝有轻微的副作用。2 g/kg BW 剂量的灵芝灌胃 10 d 后小鼠体重增长明显高于对照组, 结果见表 4。

3 讨论

早期荷瘤鼠因为肿瘤的存在, 其机体处于应急状态, 免疫应答反应比健康鼠显著增强,^[3~5] 本实验结果表明, 用 SRBC 免疫后, 荷瘤鼠的抗体产生量显著高于健康鼠, 脾指数约为健康鼠的 3~4 倍, 均与文献报道一致,^[3~5] 荷瘤鼠单核巨噬细胞系统吞噬功能略高于正常鼠, 但差异无显著性。灵芝对 SRBC 免疫后荷瘤鼠抗体产生量有显著的抑制作用, 与顾立刚等的报道一致。^[6] 各灵芝组荷瘤鼠单核巨噬细胞系统吞噬功能略高于荷瘤鼠对照组, 但无统计学意义。碳粒廓清实验的结果差异无显著性; 如果延长采血的间隔时间, 有可能得到差异有显著性的结果, 此项实验中灵芝各剂量组的瘤重均显著低于对照组, 吞噬功能与瘤重无直线相关关系 ($r = -0.6515, P > 0.05$)。灵芝使健康鼠脾指数明显高于对照组, 而对荷瘤鼠脾指数的影响仅在 10 g/kg BW 剂量组有显著性。有报道, 从赤灵芝提取的糖蛋白腹腔注射可促进腹腔渗出细胞、巨噬细胞、多型核细胞的积累。^[7] 许津等报道, 灵芝液腹腔注射后, 腹腔巨噬细胞吞噬功能显著增强。^[8] 另有报道灵芝对正常鼠和免疫功能衰退的老鼠(14 个月)的空斑形成细胞的作用不一致, 三种灵芝多糖都能显著增加老龄鼠的空斑形成细胞, 而对 2 月龄的正常鼠则只有其中一种多糖的两个剂量组有促进空斑形成的作用。^[9] 以上材料说明, 灵芝对免疫功能的影响并非单纯的促进作用, 而是双向调节作用, 即对抗病的特异性和非特异性免疫功能, 有促进作用, 而对致病因子引起的不利于机体健康的免疫反应亢进有抑制作用, 使机体保持稳态。这符合中医认

每管取上清液 1 mL,加 3 mL 都氏液,混匀。10 min 后用 721 G 型分光光度计测定吸光度,以空白管调零。取 0.2 mL 稀释的 SRBC,加都氏液 4 mL,在波长 540 nm 下比色,测定绵羊红细胞半数溶血时的吸光度,以半数溶血值 HC 表示抗体形成的多少。

$$HC = \frac{\text{试样吸光度}(A)\text{值}}{\text{SRBC 半数溶血时的吸光度}(A)\text{值}} \times \text{稀释倍数}$$

灵芝小鼠脾指数(脾脏/体重比值)的影响

实验分两大组 一大组用体重 20~24 g 的健康 NIH 小鼠,雌雄各半,每剂量组 10 只,分别用不同剂量的灵芝液(50、10、2、0.4、0 g/kg BW)连续灌胃 10 d,停药 24 h 处死。另一实验组用体重 20~24 g 的雌性昆明鼠,每鼠接种 S₁₈₀ 实体瘤细胞 0.2 mL (2.8 × 10⁶/mL,活细胞率 96%)后分组,每剂量组 10 只分别用 50、10、2、0 g/kg BW 不同剂量的灵芝液连续灌胃 10 d,停药后观察 25 d 处死。称体重、脾重及肿瘤重。

灵芝对健康小鼠体重增长的影响及其急性毒性
体重 20~22 g 的 NIH 小鼠,随机分为 5 个剂量组,每组 20 只,雌雄各半,分别用剂量为 50、10、2、0.4、0 g/kg 的灵芝液连续灌胃 10 d,称重。第 11 天的体重减去第 1 天的体重为体重增长值。同时观察小鼠的反应及死亡情况。

2 结果

2.1 灵芝对荷瘤鼠单核巨噬细胞系统吞噬功能的影响

灵芝液在 2~50 g/kg BW 剂量范围内,连续灌胃 10 d,荷瘤鼠吞噬功能有所增强,但无统计学意义。荷瘤鼠的吞噬功能比健康鼠强,但差异无显著性。各灵芝剂量组瘤重均明显低于荷瘤鼠对照组,瘤重与吞噬功能成负相关, $r = -0.6515$,但无统计学意义 ($P > 0.05$)。结果见表 1。

表 1 灵芝液对小鼠单核巨噬细胞系统吞噬功能及瘤重的影响

灵芝 g/kg BW	小鼠数	A 值($\bar{x} \pm SD$)	P	瘤重 g	P
50 荷瘤鼠	9	0.1007 ± 0.0372	>0.05	0.74 ± 0.40	<0.05
10 荷瘤鼠	10	0.0839 ± 0.0256	>0.5	0.75 ± 0.30	<0.05
2 荷瘤鼠	10	0.0990 ± 0.0325	>0.2	0.66 ± 0.34	<0.05
0 荷瘤鼠	10	0.0832 ± 0.0214	—	1.18 ± 0.64	
0 健康鼠	10	0.0783 ± 0.0309	>0.5		

用单侧 *t* 检验。A 值与瘤重相关系数 $r = -0.6515$, $P > 0.05$ 。

2.2 灵芝对荷瘤鼠抗体形成量的影响

由表 2 可见,用 SRBC 免疫后,荷瘤鼠产生的抗体量显著高于正常鼠,不同剂量的灵芝液连续灌胃 8 d 对荷瘤鼠抗体产生有明显的抑制作用 ($P < 0.05$ 或 0.01)。结果见表 2。

表 2 灵芝对荷瘤鼠抗体产生量的影响

剂量 g/kg BW	小鼠数	HC ($\bar{x} \pm SD$)	P
50 (荷瘤鼠)	9	7.59 ± 2.72	<0.05
10 (荷瘤鼠)	10	7.59 ± 2.44	<0.05
2 (荷瘤鼠)	10	7.24 ± 1.80	<0.05
0 (荷瘤鼠)	10	9.89 ± 2.18	—
0 (正常鼠)	10	6.78 ± 0.85	<0.01

用双侧 *t* 检验

2.3 灵芝对小鼠脾指数的影响及其与抑瘤率的关系

用 2~50 g/kg BW 剂量的灵芝液连续灌胃健康小鼠 10 d,停药 24 h 处死。其脾指数均明显高于对照组 ($P < 0.05$),说明灵芝有提高正常鼠免疫功能的作用。0.4~50 g/kg BW 剂量的灵芝液连续灌胃荷瘤鼠 10 d,停药后 25 d 处死,灵芝剂量为 10 g/kg BW 时,脾指数明显高于对照组 ($P < 0.05$),其余两组差别无显著性,说明灵芝对荷瘤鼠免疫功能的影响不如对正常鼠明显。对这两个实验进行比较,可见荷瘤鼠的脾指数为正常鼠脾指数的 3~4 倍,说明荷瘤鼠的免疫功能活跃,处于应急状态(结果见表 3)。剖取肿瘤称重,观察脾指数与瘤重的关系。由图可见,随灵芝剂量的增加,脾指数成增加的趋势,而瘤重成下降的趋势,但无统计学意义(见图 1)。

灵芝水提取液对小鼠免疫功能的影响及其毒性

何来英 戴寅 卫生部食品卫生监督检验所 (100021)
蔡有余 鞠丽梅 马耀文 中国医学科学院实验动物研究所 (100021)

摘要 为检测灵芝对小鼠免疫功能的影响,测定了灵芝水提取液对荷瘤鼠的抗体形成量,单核巨噬细胞系统吞噬功能和对正常鼠和荷瘤鼠脾指数的影响。灵芝水提取液在 0.4~50 g/kg BW (相当于生药剂量,下同)剂量范围内均有提高健康小鼠脾指数的作用;剂量为 10 g/kg BW 时有提高荷瘤鼠脾指数的作用。以 2~50 g/kg BW 的剂量连续灌胃 8 d,对荷瘤鼠绵羊红细胞抗体产生明显的抑制作用。但对荷瘤鼠单核巨噬细胞系统的吞噬功能影响不明显。用剂量为 2 g/kg 的灵芝水提取液连续灌胃小鼠 10 d,能明显促进健康小鼠体重增长。灵芝的 $LD_{50} > 50$ g/kg BW。

关键词 灵芝 免疫系统 小鼠 肿瘤

灵芝有抑制肿瘤生长、调节免疫功能等作用,并有学者认为灵芝的抑瘤作用是通过调节免疫功能介导的。^[1]本文用荷瘤鼠研究灵芝的免疫调节作用,并从免疫学角度探讨其抑瘤作用的机制。

1 材料和方法

1.1 材料

赤灵芝子实体及其处理^[2] 灵芝子实体购自北京通县后营村灵芝厂。切碎、用蒸馏水煮沸 1 h,经 200 目尼纶筛网过滤,重复提取 1 次。将两次滤液合并,于 60℃ 减压蒸发浓缩,保存于 4℃ 冰箱备用。文中灵芝的剂量为相当于灵芝生药的量。

昆明种和 ICR 小鼠 购自中国医学科学院实验动物研究所。

NIH 小鼠 购自卫生部药品生物制品检定所实验动物繁育场。

S_{180} 细胞 由中国医学科学院实验动物研究所欧阳绰志赠送。

都氏液 碳酸氢钠 1.0 mg,氰化钾 0.05 mg,高铁氰化钾 0.2 mg,溶于 1000 mL 蒸馏水,4℃ 保存备用。

Alsever 液 葡萄糖 2.05 g,柠檬酸钠 0.80 mg,氯化钠 0.42 mg,溶于双蒸水 100 mL,G-6 漏斗过滤除菌,4℃ 保存。

绵羊红细胞(SRBC)制备 从绵羊颈动脉取血,置 1000 mL 装有玻璃珠的三角瓶内,不断摇动以去除纤维蛋白,然后用 2 倍羊血体积的 Alsever 液稀释,4℃ 保存。使用前将上述 SRBC 用生理盐水洗 3 遍,以 2000 r/min 的速度离心 5 min,倒掉上清液。用时

SRBC:生理盐水为 3:5。

1.2 方法

灵芝对荷瘤鼠单核巨噬细胞系统吞噬功能及瘤重的影响

体重 20~24 g 的雌性 ICR 小鼠 60 只,将其中 48 只小鼠腋下接种 S_{180} 实体瘤细胞,每鼠 0.2 mL (2.8×10^6 /mL,活细胞率 96%),另 12 只不接种瘤细胞。接种后随机分为 4 组,其中 3 组分别为 50、10 和 2 g/kg 剂量的灵芝组,另一组为荷瘤鼠对照组,未接种 S_{180} 的 12 只为正常对照组。接种 S_{180} 细胞 24 h 后开始灌胃灵芝液,每天一次,连续 12 d。停药 24 h 后尾静脉注射印度墨汁(用生理盐水稀释 5 倍),每鼠 0.2 mL。注射后第 2 分钟、7 分钟各眼眶取血 20 μ L,加入 2 mL 0.1% 的碳酸钠中,混匀。于 721G 型分光光度计测定光密度(A 值)。以第 2 分钟与 7 分钟 A 值的差值表示吞噬功能。同时剖取肿瘤并称重。

灵芝对荷瘤鼠抗体形成量的影响——溶血素测定

雌性昆明鼠 50 只,分组同上,其中 40 只鼠每只鼠接种 S_{180} 细胞 0.2 mL (2.8×10^6 /mL,活细胞率 96%),分别连续灌胃 50、10 和 2 g/kg BW 的灵芝 8 d。第 6 天用以生理盐水稀释的绵羊红细胞(SRBC:生理盐水 = 3:5)腹腔注射,每鼠 0.2 mL。于免疫后 72 h 摘眼球取血。将血液置 4℃ 冰箱 4 h,凝固后离心取血清。用生理盐水将血清稀释 200 倍,取稀释血清 1 mL(空白对照取生理盐水 1 mL)置小试管内,加入稀释的 SRBC 0.5 mL 后全部置冰浴,每管加 1 mL 补体(稀释 10 倍的豚鼠血清),充分混匀后置 37℃ 恒温水浴保温 10 min,以 2000 r/min 速度离心 10 min,