

# 银耳五加参胶囊对小鼠免疫功能的影响

张颖, 陈东亚, 陆罗定, 杨明晶

江苏省疾病预防控制中心毒理与功能评价所, 江苏 南京 210009

**摘要:** **目的** 研究银耳五加参胶囊对小鼠免疫功能的影响, 以为银耳和五加参的开发利用提供实验支持。**方法** 经口灌胃分别给予健康雌性清洁级 ICR 小鼠纯净水(对照组, 5 批, 每批 10 只)、银耳五加参胶囊 87.5 mg/kg(低剂量组, 5 批, 每批 10 只)、175 mg/kg(中剂量组, 5 批, 每批 10 只)、525 mg/kg(高剂量组, 5 批, 每批 10 只), 每日 1 次, 连续 30 d 后, 分别进行小鼠脾淋巴细胞转化试验和自然杀伤(NK)细胞活性测定、二硝基氟苯(DNFB)诱导小鼠迟发性变态反应(DTH)试验、抗体生成细胞检测和血清溶血素测定、小鼠碳廓清试验、小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞试验, 测定小鼠免疫功能。**结果** 低、中、高剂量组小鼠的巨噬细胞吞噬鸡红细胞的能力均高于对照组( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。高剂量组小鼠的 NK 细胞活性和 DNFB 诱导的小鼠 DTH 能力均高于对照组( $P < 0.01$ )。在受试剂量下银耳五加参胶囊对小鼠刀豆蛋白 A 诱导的小鼠脾淋巴细胞转化能力、抗体生成细胞数、半数溶血素值(HC<sub>50</sub>)、小鼠碳廓清能力均无影响( $P$  均  $> 0.05$ )。**结论** 银耳五加参胶囊有增强正常小鼠免疫力的作用。

**关键词:** 银耳; 五加参; 小鼠; 免疫功能实验

**中图分类号:** R 285.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2016)10-1340-03

## Effects of Tremella Acanthopanax capsule on mice immune functions

ZHANG Ying, CHEN Dong-ya, LU Luo-ding, YANG Ming-jing

Toxicology and Function Evaluation Institute, Jiangsu Provincial Center for Disease Control and Prevention, Nanjing, Jiangsu 210009, China

Corresponding author: YANG Ming-jing, E-mail: yangmingjing001@sina.com

**Abstract: Objective** To study effects of Tremella Acanthopanax capsule on mice immune functions to provide experimental support for the exploitation and utilization of Tremella and Acanthopanax. **Methods** A total of 200 female healthy clean grade ICR mice were divided into four groups(5 batch, 10 rats in each batch for each group): control group and three Tremella Acanthopanax capsule groups [low-dose group(87.5 mg/kg), medium-dose group(175 mg/kg), high-dose group(525 mg/kg)], and the purified water, Tremella Acanthopanax capsule of low-, medium-, high-dose were respectively given by gavage administration per oral (one time a day, for 30 days). Then, mouse spleen lymphocyte transformation test, natural killer(NK) cell activity assay, dinitrofluorobenzene(DNFB)-inducing mouse delayed type hypersensitivity(DTH) test, antibody-producing cell detection, determination of serum hemolysin, mouse carbon clearance test and mouse peritoneal macrophage phagocytosis of chicken red blood cell test were used to detect mice's immune function. **Results** The capacities of macrophage phagocytosis of chicken red blood cells in group low-, medium-, high-dose were all significantly higher than those in control group( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). The NK cell activity and the capacity of DNFB-inducing mouse DTH in high-dose group were all significantly higher than those in control group (all  $P < 0.01$ ). Under the trial dose, Tremella Acanthopanax capsule had no effects on concanavalin A (ConA)-inducing mouse spleen lymphocyte transformation ability, antibody-producing cell number, half hemolytic value (HC<sub>50</sub>) and mouse carbon clearance ability (all  $P > 0.05$ ). **Conclusion** Tremella Acanthopanax capsule can enhance the immune functions of normal mice.

**Key words:** Tremella; Acanthopanax senticosi; Mouse; Immunity function test

目前,在我国以传统的食品和中药材为原料开发保健食品是开发的热点。银耳是中国的特产,是著名的美味食用菌之一,它是真菌银耳的子实体。银耳中

富含银耳多糖和多种氨基酸<sup>[1]</sup>。五加参,又名刺五加,为五加科属,与人参同科,在我国分布广泛,其根部和根状茎叶可入药。《实用补养中药》一书中记载,刺五加具有补虚扶弱、滋壮强体、延年益寿的功效,是一种药食两用的中药材<sup>[2]</sup>。本实验选用银耳真菌的子实体和刺五加的根茎,经提取得到银耳和刺五

加的提取物,配以辅料,按比例混合制成银耳五加参胶囊,通过动物实验研究银耳五加参胶囊对小鼠免疫功能的影响,以期对银耳和五加参的开发利用提供实验支持。

### 1 材料与方法

1.1 样品 某品牌银耳五加参胶囊,主要功效成分为刺五加提取物和银耳多糖,由某生物科技有限公司提供,人体推荐摄入量每人每日 1 050 mg。

1.2 实验动物 选用上海斯莱克实验动物有限责任公司提供的 18.0 ~ 22.0 g 健康雌性清洁级 ICR 小鼠,给予灭菌鼠饲料(苏州双狮实验动物饲料科技服务有限公司提供)和灭菌水自由取用。

1.3 剂量设计 设低、中、高 3 个剂量水平,即每日 87.5、175 和 525 mg/kg (分别相当于人体推荐量的 5、10、30 倍),并设溶剂对照(纯净水)。受试物经口灌胃给予小鼠,每日 1 次,连续灌胃 30 d。

1.4 主要仪器与试剂 电子秤、电子天平、二氧化碳培养箱(Thermo Forma 371 型)、分光光度计(UNICO7200)、细胞培养板(Corning)、酶标仪(BIO-RAD680 型);RP-M11640 细胞培养液和 Hank's 液(GIBCO)、YAC-1 细胞(中科院上海细胞库)、刀豆蛋白 A(ConA, SIGMA)、新生牛血清(杭州天杭生物科技)、噻唑蓝(MTT)、硝基氯化四氮唑(INT)、吩嗪二甲酯硫酸盐(PMS)和氧化型辅酶(Biochemika);2,4-二硝基氟苯(DNFB, 东京化成工业)、绵羊红细胞(SRBC)、补体(自备豚鼠血清)、血红蛋白测定试剂盒(上海荣盛生物药业)、印度墨汁(国药集团化学试剂)、SA 缓冲液成分及其他试剂均为国产,分析纯。

1.5 实验方法 将 200 只小鼠分 5 批,每批随机分为 4 组(高、中、低剂量组、对照组),每组 10 只。参照卫生部《保健食品功能学评价程序和检验方法》(2003)增强免疫功能实验中的相关试验方法,分别进行小鼠脾淋巴细胞转化试验和自然杀伤(NK)细胞活性测定;DNFB 诱导小鼠迟发性变态反应(DTH)试验;抗体生成细胞检测和血清溶血素(半数溶血素值)测定;小鼠碳廓清试验;小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞试验。

1.6 统计学分析 采用 SPSS 统计软件处理数据。实验所得数据(其中吞噬率和 NK 细胞活性经平方根反正弦变换)进行单因素方差分析,对  $P < 0.05$  的数据用 LSD-*t* 法进行各剂量组与对照组的两两比较;对非正态或方差不齐的数据进行适当的变量转换或用秩和检验进行统计。检验水准取  $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结果

2.1 银耳五加参胶囊对小鼠体重及免疫器官重量的影响 各剂量组小鼠的初始体重、终末体重、增重差异无统计学意义( $P$  均  $> 0.05$ )。见表 1。

2.2 对小鼠细胞免疫功能的影响 DNFB 诱导小鼠 DTH 试验中,各组小鼠胸腺重量、脾脏重量、胸腺重量/体重比值、脾重量/体重比值相近( $P$  均  $> 0.05$ )。各组小鼠耳廓肿胀度比较差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),高剂量组小鼠耳廓肿胀度明显高于对照组( $P < 0.01$ ),提示高剂量银耳五加参胶囊可增强 DNFB 诱导的小鼠 DTH。见表 2。ConA 诱导的小鼠脾淋巴细胞转化试验中,各组小鼠脾淋巴细胞增殖能力无统计学差异( $P$  均  $> 0.05$ ),提示银耳五加参胶囊无明显增强小鼠脾淋巴细胞增殖能力。见表 3。

2.3 对小鼠体液免疫功能的影响 各组小鼠抗体生成细胞数及血清溶血素水平差异均无统计学意义

表 1 样品对小鼠体重的影响 ( $n = 50, \bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 (mg/kg)	初始体重 (g)	终末体重 (g)	增重 (g)
对照组	0	20.2 ± 1.1	31.5 ± 1.8	11.2 ± 2.0
低剂量组	87.5	20.3 ± 1.2	31.2 ± 1.8	10.9 ± 2.1
中剂量组	175.0	20.2 ± 1.1	31.1 ± 2.1	10.9 ± 2.4
高剂量组	525.0	20.4 ± 1.0	31.4 ± 2.2	11.0 ± 2.2
<i>P</i> 值		$> 0.05$	$> 0.05$	$> 0.05$

表 2 样品对小鼠免疫器官脏器重量/体重比值以及耳廓肿胀度的影响 ( $n = 10, \bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 (mg/kg)	脾脏重量/体重 比值( $10^{-4}$ )	胸腺重量/体重 比值( $10^{-4}$ )	小鼠耳廓肿胀度(mg)	<i>P</i> 值
对照组	0	20.2 ± 1.1	31.5 ± 1.8	20.50 ± 5.32	-
低剂量组	87.5	20.3 ± 1.2	31.2 ± 1.8	20.80 ± 5.06	0.885 *
中剂量组	175.0	20.2 ± 1.1	31.1 ± 2.1	24.20 ± 4.36	0.080 *
高剂量组	525.0	20.4 ± 1.0	31.4 ± 2.2	26.16 ± 3.37	0.009 *
<i>P</i> 值		$> 0.05$	$> 0.05$	$< 0.01$	

注: \*表示与对照组比较。

表 3 样品对小鼠脾淋巴细胞增殖能力的影响 ( $n = 10, \bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 (mg/kg)	光密度值(OD <sub>570nm</sub> )		
		- ConA	+ ConA	光密度差
对照组	0	0.176 ± 0.019	0.628 ± 0.079	0.452 ± 0.073
低剂量组	87.5	0.191 ± 0.037	0.649 ± 0.161	0.458 ± 0.150
中剂量组	175.0	0.181 ± 0.013	0.692 ± 0.092	0.511 ± 0.094
高剂量组	525.0	0.179 ± 0.011	0.697 ± 0.054	0.518 ± 0.052
<i>P</i> 值		$> 0.05$	$> 0.05$	$> 0.05$

表 4 样品对小鼠体液免疫功能的影响 ( $n = 10, \bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 (mg/kg)	抗体生成细胞数 (空斑数/10 <sup>6</sup> 脾细胞)	半数溶血素值 (HC <sub>50</sub> )
对照组	0	216.3 ± 82.0	200.2 ± 4.68
低剂量组	87.5	216.6 ± 86.6	201.3 ± 2.38
中剂量组	175.0	234.5 ± 117.5	201.1 ± 3.70
高剂量组	525.0	223.6 ± 58.5	200.5 ± 4.36
<i>P</i> 值		$> 0.05$	$> 0.05$

表 5 样品对小鼠 NK 细胞活性以及腹腔巨噬细胞吞噬能力的影响 ( $n=10, \bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 (mg/kg)	NK 细胞活性 (%)	P 值	吞噬率 (%)	P 值	吞噬指数	P 值
对照组	0	32.00 ± 3.32	--	9.80 ± 2.15	--	0.120 ± 0.037	--
低剂量组	87.5	33.46 ± 7.19	0.599 *	15.60 ± 5.68	0.005 *	0.196 ± 0.069	0.025 *
中剂量组	175.0	34.91 ± 6.19	0.270 *	15.90 ± 5.45	0.004 *	0.201 ± 0.085	0.018 *
高剂量组	525.0	50.41 ± 5.70	0.000 *	19.90 ± 5.43	0.000 *	0.289 ± 0.088	0.000 *
P 值		<0.01		<0.01		<0.01	

注: \* 表示与对照组比较。

( $P$  均  $>0.05$ )。提示银耳五加参胶囊无明显增强小鼠体液免疫功能的能力。见表 4。

2.4 对小鼠 NK 细胞活性和单核-巨噬细胞功能的影响 对照组及低、中、高剂量组小鼠碳廓清吞噬指数分别为  $5.586 \pm 0.314$ 、 $5.776 \pm 0.359$ 、 $5.887 \pm 0.349$ 、 $5.894 \pm 0.560$ , 各组比较差异均无统计学意义 ( $P$  均  $>0.05$ )。表 5 可见, 各组小鼠的 NK 细胞活性比较差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 高剂量组明显高于对照组 ( $P < 0.01$ ); 各组小鼠的巨噬细胞吞噬鸡红细胞百分率及吞噬指数比较差异均有统计学意义 ( $P$  均  $< 0.01$ ), 低、中、高剂量组均明显高于对照组 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。提示银耳五加参胶囊能增强小鼠 NK 细胞的活性和小鼠腹腔巨噬细胞吞噬能力。

### 3 讨论

银耳是我国传统的补品, 因其富含的银耳多糖, 赋予了它多种保健功能<sup>[3]</sup>。银耳中的多糖多为酸性多糖, 具有抗氧化、抗辐射、降糖等生理活性作用<sup>[4-6]</sup>。刺五加是我国传统的中药材, 《本草纲目》称刺五加“补中益气、久服轻身耐老”, 具有扶正固本、补肾健脾、益智安神的功效, 主治脾肾阳虚、体虚乏力、腰膝酸软、食欲不振<sup>[7]</sup>。多年来, 对刺五加的化学成分及药理作用的大量研究证实, 刺五加的主要功效成分为刺五加皂苷和刺五加多糖, 具有抗疲劳、抗肿瘤、抗氧化、改善血管能力等多种功效<sup>[8-10]</sup>。

本实验中, 受试物在高、中、低剂量时均能增强小鼠巨噬细胞吞噬的能力, 高剂量时能显著增强小鼠 NK 细胞的活性, 增强 DNFB 诱导的小鼠 DTH 能力。根据卫生部保健食品免疫功能评价标准, 可判定该银耳五加参胶囊具有增强免疫力的功能。

巨噬细胞是天然免疫系统重要的效应细胞之一, 具有免疫防御、免疫监视、免疫调节以及抗原呈递等多种免疫功能, 在机体的免疫系统中起重要作用。本实验中受试物在高、中、低剂量时均能显著增强巨噬细胞吞噬的能力, 这和其中的多糖以及刺五加皂苷有关, 与许多文献的报道一致<sup>[11-12]</sup>。

免疫反应是一个复杂的细胞学过程, 调节机体免疫功能的药物可能作用于机体免疫反应的不同环节

或不同细胞。在同等反映细胞免疫功能的两个实验中, 同样的剂量下受试物可增强小鼠 DTH; 在淋巴细胞增殖实验中, 各剂量组 OD 值虽均高于对照组, 但差异无统计学意义, 未观察到受试物对小鼠的淋巴细胞转化能力明显增强, 这可能和受试物的剂量、有效成分的含量有关。另外, 虽已有报道银耳多糖和刺五加提取物能促进体液免疫、增强小鼠淋巴细胞转化能力<sup>[13]</sup>, 但本实验中并未观察到阳性结果, 这可能和功效成分的含量、纯度及因加工工艺原因某些伴随的微量成分丧失有关, 辅料的干扰也不能排除。如何进一步优化成分配比, 充分发挥银耳和刺五加的功效有待深入研究。

### 参考文献

- [1] 陈岗. 银耳多糖的功能特性及其应用[J]. 中国食品添加剂, 2011, (4): 144-148.
- [2] 刘金文, 孔繁东, 刘兆芳, 等. 刺五加的研究与开发应用[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(12): 143-145.
- [3] 暴悦梅, 陈仁绍. 银耳多糖的保健作用及应用前景[J]. 食品研究与开发, 2009, 30(10): 137-138.
- [4] 薄海关, 田春雨, 李继安, 等. 银耳多糖对实验性 2 型糖尿病大鼠胰岛素抵抗的影响[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(8): 1926.
- [5] 李璐, 毕富勇, 吕俊, 等. 银耳多糖诱导肝癌 HepG-2 细胞凋亡的研究[J]. 实用医学杂志, 2009, 25(7): 1033-1035.
- [6] 张泽生, 孙东, 徐梦莹, 等. 银耳多糖抗氧化作用的研究[J]. 食品研究与开发, 2014, 35(18): 10-15.
- [7] 刘蔚, 车玲, 孔华丽, 等. 北豆根及刺五加提取物对正常小鼠血液流变学作用的比较[J]. 中国药师, 2009, 12(5): 559-561.
- [8] 徐峰, 赵江燕, 刘天硕, 等. 刺五加提取物抗疲劳作用的研究[J]. 食品科学, 2005, 26(9): 453-456.
- [9] 宋广侠, 吴江涛. 刺五加提取物对无氧运动训练效果的影响[J]. 华侨大学学报(自然科学版), 2015, 36(5): 558-562.
- [10] 靳祎, 刘超, 范林林, 等. 刺五加多糖对子宫癌 HeLa 细胞体外增殖和凋亡作用的实验研究[J]. 中成药, 2014, 36(1): 162.
- [11] 杨侃侃, 边连全, 刘显军, 等. 刺五加多糖的生理功能及在动物生产上的作用[J]. 中国畜牧兽医, 2013, 40(3): 237-241.
- [12] 刘树民, 张娜. 刺五加多糖的现代研究进展[J]. 中医药信息, 2014, 31(2): 116-119.
- [13] 罗强, 任鸿, 孙黎, 等. 刺五加多糖对小鼠淋巴细胞转化率及外周血淋巴细胞亚群的影响[J]. 河南农业科学, 2013, 42(8): 137-140.