

## 蝙蝠蛾被毛孢虫草菌丝体粉对小鼠免疫调节作用的研究

王彦武, 赵鹏, 李彬, 何励, 覃辉艳, 彭亮, 姚思宇

**摘要:**目的 探讨蝙蝠蛾被毛孢虫草菌丝体粉对小鼠的免疫调节作用。方法 分别以200、400、800mg/kg BW剂量的蝙蝠蛾被毛孢虫草菌丝体粉经口给予小鼠连续灌胃30d后,进行各项免疫指标的测定。结果 蝙蝠蛾被毛孢虫草菌丝体粉剂量组与对照组比较能促进小鼠脾淋巴细胞增殖、转化作用( $P<0.05$ ),促进小鼠的迟发型变态反应( $P<0.05$ ),增强小鼠的单核-腹腔巨噬细胞吞噬能力( $P<0.05$ ),促进小鼠的抗体生成细胞增加及提高小鼠的血清溶血素水平( $P<0.01$ 和 $P<0.05$ ),提高小鼠的NK细胞活性( $P<0.01$ 和 $P<0.05$ )。结论 蝙蝠蛾被毛孢虫草菌丝体粉具有增强免疫力的功能。

**关键词:** 蝙蝠蛾被毛孢虫草菌丝体粉;小鼠;免疫调节

中图分类号 R392.5 文献标识码 A 文章编号:1009-9727(2012)12-1460-03

Study on immunoregulation of mycelium of *Hirsutella hepiali* Chen et Shen in mice. WANG Yan-wu, ZHAO Peng, LI Bin, et al.(Guangxi Zhuang Autonomous Region Center for Disease Control and Prevention, Nanning 530028, Guangxi, P. R.China)

**Abstract:** Objective To explore the effect of Mycelium of *Hirsutella hepiali* Chen et Shen on the function of immunoregulation. Methods The mice were fed with mycelium of *Hirsutella hepiali* Chen et Shen at the doses of 200, 400 and 800mg/kg.Bw for 30 days and then 7 indexes of immune function were measured to judge the effect of mycelium of *Hirsutella hepiali* Chen et Shen on immune system. Results The results of the test groups in comparison with the control group showed that transformation and proliferation of splenic lymphocyte were enhanced( $P<0.05$ ) and the late hairstyle allergy in mice was gearedup( $P<0.05$ );The mononuclear celiac macrophage phagocytic activity was increased( $P<0.05$ ),the quantity of the mice antibody-producing cell and the sheep erythrocyte antibody levels in serum were boosted ( $P<0.01$  and  $P<0.05$ ) and enhanced the activity of NK cells in mice( $P<0.05$ ). Conclusion It is suggested that mycelium of *Hirsutella hepiali* Chen et Shen could enhance immune function.

**Key words:** Mycelium of *Hirsutella hepiali* Chen et Shen; Mice; Immunoregulation

蝙蝠蛾被毛孢虫草菌丝体粉(Mycelium of *Hirsutella hepiali* Chen et Shen)是以生物工程发酵工艺生产而来的冬虫夏草替代品之一<sup>[1]</sup>。冬虫夏草为麦角菌科真菌寄主蝙蝠蛾科昆虫虫草蝙蝠等幼虫尸体的复合体,是一种名贵的中药材。因天然资源枯竭及市场广泛应用,现已通过人工方法成功分离和培育出人工虫草菌丝体来替代冬虫夏草。本实验研究了蝙蝠蛾被毛孢虫草菌丝体粉的免疫调节作用。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

1.1.1 受试物 蝙蝠蛾被毛孢虫草菌丝体粉由兰州某生物医药有限公司提供。人体推荐用量为40mg/kg BW。用蒸馏水配成10.0、20.0、40.0mg/mL 3个浓度溶液供试验用。

1.1.2 实验动物与实验环境 SPF级昆明种雄性小鼠240只,体重(20±2)g,由广东省医学实验动物中心提供(质量合格证号:0051154)。本中心动物使用许可证号:SYXK桂2007-0003。

1.1.3 主要仪器与试剂 仪器:洁净工作台、离心机、

恒温水浴箱、二氧化碳培养箱、显微镜、754-紫外可见光分光光度计、全自动酶标仪、冷冻离心机等。试剂:ConA、MTT、绵羊红细胞(SRBC)、补体、RPMI1640、DNFB、印度墨汁、YAC-1细胞、NP40等。

1.2 实验方法 根据人口服推荐用量设200、400、800 mg/kg BW 3个剂量组,另设1个阴性对照组。按0.2mL/10g BW的体积给予动物经口灌胃,阴性对照组给予等体积的蒸馏水,连续30d。具体方法参照《保健食品检验与评价技术规范》<sup>[2]</sup>中的增强免疫力功能检验方法。

1.3 实验数据统计 应用SPSS统计软件13.0进行方差分析统计处理。

## 2 结果

2.1 受试物对小鼠的细胞免疫的影响 从表1可见,经口给予小鼠不同剂量的蝙蝠蛾被毛孢虫草菌丝体粉30d,各剂量组小鼠的淋巴细胞增殖、转化能力均高于阴性对照组,且高剂量组与阴性对照组的差异有统计学意义( $P<0.05$ ),表明该受试物具有促进小鼠的淋巴细胞增殖、转化能力的作用。各剂量组小鼠的左

作者单位 广西壮族自治区疾病预防控制中心 广西 南宁 530028

作者简介 王彦武(1977~),男,广西金秀人,主管医师,从事保健食品毒理与功能学检验。

右耳片重量差值均高于阴性对照组,且高剂量组与阴性对照组的差异有统计学意义( $P<0.05$ ),表明该受试物具有促进小鼠的迟发型变态反应的作用。

**表1 受试物对小鼠脾淋巴细胞转化及迟发型变态反应(DTH)试验结果( $\bar{x}\pm s$ )**

**Table 1 Results of transformations of spleen lymphocyte induced by ConA and delayed hypersensitivity in mice ( $\bar{x}\pm s$ )**

剂量组 Dose group (mg/kg BW)	动物数 Animal number	淋巴细胞增殖能力 Lymphocyte proliferation ability (OD)	左右耳片重量差值(mg) Weight difference of both ears
800	10	0.207±0.058*	16.19±3.44*
400	10	0.184±0.077	15.78±2.94
200	10	0.157±0.066	14.62±2.74
阴性对照 Control	10	0.125±0.072	12.65±2.49

注:\*表示与阴性对照组比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )。Note: compared to negative control, showing significant difference ( $P<0.05$ ).

## 2.2 受试物对小鼠的单核-巨噬细胞吞噬功能的影响

2.2.1 受试物对小鼠的单核-巨噬细胞碳廓清的影响 经口给予小鼠不同剂量的蝙蝠蛾被毛孢虫草菌

丝体粉 30d, 800、400、200 mg/kg BW 剂量组及阴性对照组小鼠的吞噬指数分别为  $8.38\pm 0.95$ ;  $8.17\pm 1.48$ ;  $7.62\pm 1.07$ ;  $6.87\pm 0.83$  经比较高、中剂量组与阴性对照组的差异有统计学意义( $P<0.05$ ),表明该受试物能增强小鼠的单核-巨噬细胞碳廓清功能作用。

2.2.2 受试物对小鼠的腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞能力的影响 从表2可见,经口给予小鼠不同剂量的蝙蝠蛾被毛孢虫草菌丝体粉 30d,受试物各剂量组小鼠的腹腔巨噬细胞对鸡红细胞的吞噬率及吞噬指数均高于阴性对照组,且高剂量的吞噬率及吞噬指数与阴性对照组的差异有统计学意义( $P<0.05$ ),表明该受试物能增强小鼠的腹腔巨噬细胞吞噬功能的作用。

2.3 受试物对小鼠的体液免疫的影响 从表3可见,经口给予小鼠不同剂量的蝙蝠蛾被毛孢虫草菌丝体粉 30d,各剂量组小鼠的抗体生成细胞数均高于阴性对照组,其中的高、中剂量组与阴性对照组的差异有统计学意义(分别  $P<0.01$  和  $P<0.05$ ) 表明该受试物能使小鼠的抗体生成细胞增殖的作用。各剂量组小鼠的抗体水平均高于阴性对照组,其中的高、中剂量组与阴性对照组的差异具有统计学意义(分别  $P<0.01$  和  $P<0.05$ ) 表明该受试物能提高小鼠的血清溶血素水平的作用。

**表2 受试物对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞实验结果( $\bar{x}\pm s$ )**

**Table 2 Results of experiment of phagocytosis of chicken RBC by phagocyte in mice( $\bar{x}\pm s$ )**

剂量组 Dose group(mg/kg BW)	动物数 No.animal	吞噬率 Phagocytic rate(%)	吞噬率数据转换 Data transfer of phagocytic rate	吞噬指数 Phagocytic index
800	10	30.8±1.8	0.588±0.019*	0.827±0.069*
400	10	28.6±2.9	0.564±0.032	0.744±0.094
200	10	29.3±3.2	0.572±0.035	0.788±0.079
阴性对照 Control	10	26.9±4.2	0.544±0.047	0.712±0.123

注:\*表示与阴性对照组比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )。Note: \* compared to control showing significant difference ( $P<0.05$ ).

**表3 受试物对抗体生成细胞检测及溶血素的测定试验结果( $\bar{x}\pm s$ )**

**Table 3 Results of determination of antibody-producing cells and serum hemolysin in mice( $\bar{x}\pm s$ )**

剂量组 Dose group (mg/kg BW)	动物数 Animal number	溶血空斑数 Hemolytic plaque number	抗体水平 antibody level
800	10	229.9±24.8*	178.7±13.9*
400	10	216.3±35.0*	176.1±11.0*
200	10	199.7±35.2	172.6±8.5
阴性对照 Control	10	179.9±28.9	160.8±15.2

注:\*表示与阴性对照组比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )。Note: \* compared to control showing significant difference ( $P<0.05$ ).

2.4 受试物对小鼠的NK细胞活性的影响 从表4可见,经口给予小鼠不同剂量的蝙蝠蛾被毛孢虫草菌

丝体粉 30d,受试物各剂量组小鼠的NK细胞活性均高于阴性对照组,其中的高、中剂量组与阴性对照组的差异有统计学意义(分别  $P<0.01$  和  $P<0.05$ ) 表明该受试物有增高小鼠的NK细胞活性的作用。

**表4 受试物对小鼠NK细胞活性测定结果( $\bar{x}\pm s$ )**

**Table 4 Results of determination of activity of natural killer cell ( $\bar{x}\pm s$ )**

剂量组 Dose group (mg/kg BW)	动物数 No. animal	NK细胞活性 NK cell ctivity (%)	NK细胞活性转换数据 data transfer of NK cell activity
800	10	32.99±5.65	0.611±0.061*
400	10	30.89±4.28	0.589±0.046*
200	10	26.43±5.25	0.538±0.059
阴性对照 Control	10	24.84±3.96	0.521±0.046

注:\*表示与阴性对照组比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )。Note: \* compared to control showing significant difference ( $P<0.05$ ).

### 3 讨论

目前人工虫草菌丝体的工艺十分成熟,国内从事虫草菌丝体的生产的企业也较多,它们采用菌丝体发酵所用的菌种或发酵工艺也有所不同。根据冬虫夏草中获得的菌种来源的不同,目前蝙蝠蛾拟青霉、虫草头孢菌、蝙蝠蛾被孢霉这3种人工虫草菌丝体就为常见。蝙蝠蛾被孢霉虫草菌丝体作为冬虫夏草替代品,对于它的安全性评价,本实验室已对它的毒性及遗传学毒性进行了研究,与查捷报道的一致<sup>[3]</sup>。

虫草菌丝体主要功效成分包括:虫草多糖、虫草酸(D-甘露醇)、虫草素(3'-脱氧腺苷)、麦角甾醇类、18种氨基酸、9种微量元素、脂肪酸等。有报道,蝙蝠蛾被孢霉虫草菌丝体粉具有改善睡眠作用、增强免疫力作用<sup>[4-6]</sup>。人工发酵虫草菌丝体干粉可能通过调节PEDF和VEGF的蛋白表达,抑制新生血管形成,发挥其对肾脏的保护作用。尚有降血脂作用、抗疲劳作用、抗氧化作用、抑制肿瘤生长、调节血压及血糖的功能、护肝作用、减轻蛋白尿延缓肾功能减退等作用<sup>[7]</sup>。

本实验通过细胞免疫、单核-巨噬细胞吞噬功能、体液免疫及NK细胞活性等几个方面的探讨,证实了蝙蝠蛾被孢霉虫草菌丝体粉能使小鼠的脾淋巴细胞增殖及促进了小鼠的迟发型变态反应从而提高T-淋巴细胞介导的细胞免疫,使小鼠的巨噬细胞吞噬功能增强,使小鼠的抗体生成细胞增殖及提高小鼠的血清溶血素水平从而提高B-淋巴细胞介导的体液免疫;使小鼠NK细胞活性增高,NK细胞也称自然杀伤细胞,介导天然免疫应答,能直接杀伤靶细胞,也参与移植排斥反应和某些自身免疫病的发生发展。综上所述表明蝙蝠蛾被孢霉虫草菌丝体粉具有增强免疫力的功能。

### 参考文献:

- [1] Wang HS. The preliminary study on artificial rearing *Hepialus* spp[J]. Entomol Know, 2002, 39(2): 144-146. (In Chinese)  
(王宏生. 冬虫夏草蝙蝠蛾人工饲养技术的初步研究[J]. 昆虫知识, 2002, 39(2): 144-146.)
- [2] Technical Standards For Testing & Assessment of Health Food [S]. 2003: 22-34. (In Chinese)  
(保健食品检验与评价技术规范[S]. 2003: 22-34.)
- [3] Zha J, Xiang H, Sun JY, et al. Mycelium of *Hirsutella hepiali* Chen et Shen of acute toxicity and mutagenic action[J]. Zhejiang J Prev Med. 2008, 20(6): 92-93. (In Chinese)  
(查捷, 项华, 孙建荣, 等. 蝙蝠蛾被孢霉虫草菌丝体粉急性毒性和致突变作用[J]. 浙江预防医学, 2008, 20(6): 92-93.)
- [4] Yu P, Xu DZ. Mycelium of *Hirsutella hepiali* Chen et Shen To improve the effect of sleep in mice[J]. Chin Hosp Pharm. 2006, 26(9): 1179-1180. (In Chinese)  
(俞萍, 徐德洲. 蝙蝠蛾被孢霉菌丝体改善小鼠睡眠的作用[J]. 中国医院药学杂志, 2006, 26(9): 1179-1180.)
- [5] Ma WJ, Sun XM, Li BW. The influence of *Hirsutella hepiali* Chen et Shen on the immunologic function of the rat[J]. Chin For Med Res, 2012, 10(2): 3-4. (In Chinese)  
(马文俊, 孙雪梅, 李宝文. 蝙蝠蛾被孢霉对小鼠免疫功能的影响[J]. 中外医学研究, 2012, 10(2): 3-4.)
- [6] Zhou F, Li HT, Yin HP. Effects of Polysaccharide from *Mortierella Hepiali* on Murine Immunocytes in Vitro[J]. Chin Med J Res Prac, 2011, 25(3): 41-44. (In Chinese)  
(周菲, 李海涛, 尹鸿萍. 蝙蝠蛾被孢霉菌丝体多糖对小鼠免疫细胞的影响[J]. 现代中药研究与实践, 2011, 25(3): 41-44.)
- [7] Zhang XQ. The Current Study Situation of Pharmacologic Effects of *Cordyceps Sinensis* and Cultured Mycelium *Cordyceps Sinensis* [J]. Jf Environ Occup Med, 2002, 19(2): 122-123. (In Chinese)  
(张小强. 冬虫夏草及虫草菌丝体的药理作用研究现状[J]. 环境与职业医学, 2002, 19(2): 122-123.)

收稿日期: 2012-08-20 编辑: 吴中菲