

程洁,张成香,孙杰,等. 石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊的功效成分测定与其对 CI/F1 小鼠免疫功能的调节作用研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(7): 78-84.

Cheng J, Zhang CX, Sun J, et al. Determination of functional components of Dendrobium-ginseng-paecilomyces batmoth-ginger Capsule and study on its immune function in CI/F1 mice [J]. Chin J Comp Med, 2021, 31(7): 78-84.

doi: 10. 3969/j. issn. 1671-7856. 2021. 07. 012

石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊的功效成分测定与其对 CI/F1 小鼠免疫功能的调节作用研究

程洁², 张成香^{1,2}, 孙杰^{1,2}, 李世芬^{1,2}, 王玉邦^{1,2}, 环飞^{1,2*}

(1.江苏省医药农药兽药安全性评价与研究中心,南京 211166;2.南京医科大学公共卫生学院,南京 211166)

【摘要】 目的 测定石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊中功效成分人参皂甙、多糖和腺苷的含量,研究石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊对 CI/F1 (BALB/c×ICR) 雌性小鼠的免疫调节作用。**方法** 采用比色法测定人参皂甙和多糖,采用液相色谱法 (HPLC) 测定腺苷;采用小鼠经口灌胃分别给予 260、530、1580 mg/kg 的石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊 30 d 后,观察其体重,测定其免疫器官指数、脾淋巴细胞增殖能力、小鼠迟发型变态反应、血清溶血素、自然杀伤细胞 (NK 细胞) 活性、抗体生成细胞水平及腹腔巨噬细胞吞噬功能的变化。**结果** 石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊中功效成分的含量分别为人参皂甙:1.495 g/100 g、多糖:12.90 g/100 g 和腺苷:73.8 mg/100 g;1580 mg/kg 组可增强细胞免疫功能 (脾淋巴细胞增殖能力和小鼠迟发型变态反应增强)、提高抗体生成细胞水平、提高小鼠巨噬细胞吞噬活性。**结论** 在本实验条件下,石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊有增强小鼠免疫功能的作用。

【关键词】 皂甙;多糖;腺苷;免疫功能;小鼠

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2021) 07-0078-07

Determination of functional components of Dendrobium-ginseng-paecilomyces batmoth-ginger Capsule and study on its immune function in CI/F1 mice

CHENG Jie², ZHANG Chengxiang^{1,2}, SUN Jie^{1,2}, LI Shifen^{1,2}, WANG Yubang^{1,2}, HUAN Fei^{1,2*}

(1. the Safety Assessment and Research Center for Drugs of Jiangsu Province, Nanjing 211166, China.

2. School of Public Health Nanjing Medical University, Nanjing 211166)

【Abstract】 Objective The ginsenosides, polysaccharides and adenosine contents in the Dendrobium-ginseng-paecilomyces batmoth-ginger Capsule were determined. To study the immune function effect of Dendrobium-ginseng-paecilomyces batmoth-ginger Capsule in CI/F1 (BALB/c×ICR) female mice. **Methods** Ginsenoside and polysaccharide were determined by colorimetric method and adenosine was determined by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Dendrobium-ginseng-paecilomyces batmoth-ginger Capsule in distilled water was administered by oral gavage to female mice at a dose of 260, 530 or 1580 mg/kg. After 30 d, the bodyweight, immune organ index, spleen lymphocyte proliferation ability, delayed type hypersensitivity, serum hemolysin, natural killer (NK) cell activity, antibody generation cellular level and the changes of macrophage phagocytic function in the abdominal cavity were evaluated for 10 female

[基金项目]江苏高校优势学科建设工程资助项目(苏政办发[2018]87号)。

[作者简介]程洁(1978—),女,硕士,高级实验师,研究方向:卫生毒理学。E-mail: chengjie@njmu.edu.cn

[通信作者]环飞(1977—),男,硕士,高级实验师,研究方向:卫生毒理学。E-mail: huanfei@njmu.edu.cn

animals in each group at the end of the study. **Results** The ginsenoside, polysaccharide and adenosine contents in *Dendrobium-ginseng-paecilomyces batmoth-ginger Capsule* were 1.495 g/100 g, 12.90 g/100 g and 73.8 mg/100 g, respectively. In the 1580 mg/kg group, the cellular immune function (spleen lymphocyte proliferation and delayed type hypersensitivity reaction) in the mice were enhanced, the level of antibody generation was elevated and the macrophage cellular and phagocytic activities were increased. **Conclusions** Under the conditions of this experiment, the *Dendrobium-ginseng-paecilomyces batmoth-ginger Capsule* enhanced the immune function in mice.

【Keywords】 saponin; polysaccharide; adenosine; immune function; mouse

铁皮石斛主要成分有大量多糖、生物碱、氨基酸、微量元素等,其主要药理作用有提高免疫力,降血糖、降血脂、降血压、抗肿瘤、抗氧化、延缓衰老、抗疲劳^[1]。蝙蝠蛾拟青霉菌从冬虫夏草中分离纯化后所得麦角菌科蝙蝠蛾拟青霉菌株,研究表明其具有提高免疫活性和抗疲劳作用^[2-3]。人参提取物中的主要功效成分为人参皂甙、多糖,还含有少量黄酮、多肽、甾醇、氨基酸、蛋白质、生物碱、有机酸以及木质素等多种化学成分。人参具有增强免疫力、改善记忆力、改善心血管功能、抗肿瘤和延缓衰老等药理作用^[4-5]。干姜作为传统常用药食同源的中药材,其性热味辛,功效为温中散寒,回阳通脉,温肺化饮^[6],干姜理化作用为解热、镇痛、抗炎、抑菌、改善心血管功能、还具有保护胃黏膜、抗溃疡以及保肝利胆等作用^[7]。

干姜和铁皮石斛作为“药食同源”的中药材,本身食用安全,研究表明铁皮石斛、人参、蝙蝠蛾拟青霉菌及其制剂均未发现毒性、食用安全,可进一步开发利用复配成具保健功能的食品^[8-12]。不同植物多糖对免疫调节功效不同^[13],同时根据健康需求和药性配伍不同的中药材,达到协同作用,提高保健食品的功效,将铁皮石斛和人参提取物,并辅以蝙蝠蛾拟青霉菌粉、干姜提取物为原料配伍制成石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊。本实验对石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊的功效成分测定及其对小鼠免疫系统影响的研究,旨在为进一步开发利用铁皮石斛、人参提取物、蝙蝠蛾拟青霉菌粉、干姜提取物复方的保健功能提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

选择 8~10 周龄(体重为 19.0~21.7 g)的 SPF 级雌性小鼠 200 只,品系为 C1/F1(BALB/c 与 ICR 杂交一代),由上海西普尔-必凯实验动物有限公司[SCXK(沪)2018-0006]提供。动物饲养于南京医科大学卫生分析检测中心屏障系统[SYXK(苏)

2020-0006],并按实验动物使用的 3R 原则给予人道的关怀,伦理审批经南京医科大学卫生分析检测中心实验动物伦理委员会审核通过(GZ01020160063-3)。

1.2 主要试剂与仪器

石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊由某公司提供,主要成分包括铁皮石斛 133 g、人参提取物 45 g、蝙蝠蛾拟青霉菌粉 111 g、干姜提取物 24 g、微晶纤维素 32 g 和二氧化硅 5 g 按比例混后制成胶囊,人体推荐剂量为每人每天 3.15 g。

培养基(RPMI1640, Gibco 公司,美国);刀豆蛋白 A(ConA, Sigma 公司,美国);胎牛血清(浙江天杭生物科技股份有限公司);吩嗪二甲酯硫酸盐(NP40, Fluka 公司,美国);2,4-二硝基氟苯(DNFB,医药集团(上海)化学试剂公司);四甲基偶氮哇(MTT, Amresco 公司,美国);印度墨汁(北京笃信精细制剂厂);无菌脱纤维羊血(SRBC,江苏博达生物工程有限公司);鸡红细胞悬液为实验室自制。

1.3 实验方法

1.3.1 功能成分含量测定

(1) 人参皂甙

供试品采用水超声 30 min,定容后摇匀,放置后吸取上清液备用进行柱层析^[14]。采用 3 cm 的 Amberlite-XAD-2 大孔树脂和 1 cm 中性氧化铝作为层析柱,先后用 70%乙醇与水洗柱,弃去洗脱液,加入 1 mL 已处理好的实验溶液,先用 25 mL 水洗柱,弃去洗脱液,再用 25 mL 70%乙醇洗脱人参皂甙,收集洗脱液,60℃挥干;加入 0.2 mL 5%香草醛冰乙酸溶解,再加 0.8 mL 高氯酸,混匀后 60℃水浴 10 min,冷却后加入冰乙酸 5 mL 摇匀,采用分光光度计于 560 nm 波长处与标准管一起进行比色测定,以人参皂甙 Re 为对照品。

(2) 多糖测定

供试品采用水加热回流 2 h^[15],定容,混匀,滤过;取滤液 2 mL,加入无水乙醇定容至 10 mL,摇匀,冷藏 1 h 后离心(4000 r/min, 20 min),弃去上清液,

沉淀加 80%乙醇洗涤 2 次,离心,弃去上清液,沉淀加热水溶解,冷却,定容后待测备用;取 1 mL 待测溶液后加入 5%苯酚溶液 1 mL,摇匀、加硫酸 5 mL 后摇匀、置沸水浴中加热 20 min,冷却后采用分光光度计于 488 nm 波长处与标准管一起进行比色测定,以无水葡萄糖为对照品。

(3)腺苷测定

供试品采用水超声提取 10 min 后^[14],定容混匀后离心(3000 r/min, 3 min),经 0.45 μm 滤膜过滤后采用液相色谱测定,色谱柱为 C18 柱,以 1 mol/L 磷酸二氢钾:甲醇=90:10 为流动相,流量 1.0 mL/min,检测波长为 254 nm。

1.3.2 小鼠调节免疫功能实验

设定小鼠剂量分别为 260 mg/kg、530 mg/kg 和 1580 mg/kg 3 个剂量组^[13],根据体表面积将小鼠剂量换算为人体等效剂量分别为 21.1 mg/kg、43.1 mg/kg、128.4 mg/kg;阴性对照组(0 mg/kg, 无菌水)。200 只小鼠根据初始体重随机分组,先分成 5 个大组,再按受试物给予剂量分成 4 个组,总计 20 组,每组 10 只小鼠。各免疫功能实验分组情况见表 1。

每天同一时间段给予受试物,连续 30 d,各组小鼠按 10 mL/kg 灌胃给予受试物,30 d 后测定调节免疫的各项指标。

(1)体重和免疫器官相对重量

连续给予受试物 30 d 后,取用于小鼠碳廓清实验(第 4 大组)的 40 只小鼠,称量终末体重,颈椎脱臼法处死小鼠,无菌条件下摘取脾和胸腺,并称量脏器重量,按公式:相对重量=脏器绝对重量(mg)/

小鼠体重(g),计算各自免疫器官相对重量。

(2)小鼠淋巴细胞增殖实验(ConA 诱导的脾淋巴细胞转化实验)及 NK 细胞活性测定

连续给予受试物 30 d 后,取第 1 大组的 40 只小鼠,称量终末体重,颈椎脱臼法处死小鼠,无菌条件下摘取脾,研磨脾,无菌细胞筛网过滤,用 Hank's 液洗 2 次,每次离心 10 min(1000 r/min),制成单个细胞悬液,取部分细胞用 RPMI1640 培养液将调整浓度,24 孔培养板加入 1 mL 浓度为每毫升 3×10^6 个细胞悬液,平行两孔,一孔加浓度为 100 μg/mL 的 ConA 溶液 75 μL,另一孔细胞作为对照,置于 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养 72 h。培养结束前 4 h,吸去上清液 0.7 mL,加入 0.7 mL 不含胎牛血清的培养液,每孔加入 50 μL 浓度为 5 mg/mL 的 MTT,继续培养 4 h 后每孔加入 1 mL 酸性异丙醇,混匀,使紫色结晶溶解,将溶解液转移至 96 孔培养板测定各孔光密度值,酶标仪测定波长为 570 nm,按公式:淋巴细胞增殖能力=含有 ConA 的组光密度值-无 ConA 的组光密度值。

取小鼠淋巴细胞增殖实验中制成的单个细胞悬液,离心 10 min(1000 r/min)弃上清后加入灭菌水裂解红细胞 20 s,加入 Hank's 液混匀后离心,弃上清用含 10%胎牛血清完全培养液调整细胞浓度。取浓度为每毫升 2×10^7 个的脾细胞悬液 100 μL 和浓度为每毫升 4×10^5 个的 YAC-1 细胞悬液 100 μL 加入 96 孔培养板(U 型),混匀后置于 5%CO₂、37℃ 的条件下培养 4 h,离心,取上清液 100 μL 转移至 96 孔培养板(平底)中,与 100 μL 的 LDH 基质液反

表 1 分组表
Table 1 Grouping table

组别 Groups	免疫调节功能实验 Immune function test	各剂量组动物数 Number of animals in each dose group			
		0 mg/kg	260 mg/kg	530 mg/kg	1580 mg/kg
第 1 大组 1 group	淋巴细胞增殖实验				
	Lymphocyte proliferation test	10 只/雌	10 只/雌	10 只/雌	10 只/雌
	NK 细胞活性实验	10/female	10/female	10/female	10/female
第 2 大组 2 group	NK cell activity test				
	迟发型变态反应实验	10 只/雌	10 只/雌	10 只/雌	10 只/雌
	Delayed type hypersensitivity	10/female	10/female	10/female	10/female
第 3 大组 3 group	抗体生成细胞				
	Antibody generation cellular	10 只/雌	10 只/雌	10 只/雌	10 只/雌
	半数溶血值(HC ₅₀)实验	10/female	10/female	10/female	10/female
第 4 大组 4 group	Serum hemolysin test				
	碳廓清实验	10 只/雌	10 只/雌	10 只/雌	10 只/雌
	Engulfing carbon granula test	10/female	10/female	10/female	10/female
第 5 大组 5 group	腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞实验	10 只/雌	10 只/雌	10 只/雌	10 只/雌
	Phagocytic function of macrophages in abdominal cavity	10/female	10/female	10/female	10/female

应 10 min, 加终止液 30 μ L (1 mol/L 的 HCl) 后测定各孔光密度值, 酶标仪测定波长为 490 nm, 按公式: NK 细胞活性 (%) = (反应孔 OD 值 - 自然释放孔 OD 值) / (最大释放孔 OD 值 - 自然释放孔 OD 值) $\times$ 100, 计算 NK 细胞活性。

(3) DNFB 诱导小鼠迟发型变态反应 (DTH)

连续给予受试物 30 d 后, 取第 2 大组的 40 只小鼠腹部去毛, 范围约 3 cm $\times$ 3 cm, 用浓度 10 mg/mL DNFB 溶液 50 μ L 均匀涂抹诱导致敏, 5 d 后于小鼠右耳双面涂均匀抹 10 μ L 激发, 激发后 24 h 颈椎脱臼法处死小鼠, 左右耳各剪下直径为 8 mm 的圆形耳片, 称重。按公式: 耳重差 (mg) = 右耳重 (mg) - 左耳重 (mg), 计算右耳肿胀程度, 以反映受试物对 DNFB 诱导小鼠迟发型变态反应影响程度。

(4) 抗体生成细胞检测和血清溶血素测定

连续给予受试物 30 d 后, 取第 3 大组的 40 只小鼠腹腔注射 0.2 mL 的 2% 压积 SRBC 悬液, 4 d 后所有小鼠从眼内眦静脉丛采集血液并离心血清备用 (用于溶血素测定)。颈椎脱臼法处死小鼠, 摘取脾, 研磨脾, 无菌细胞筛网过滤, 用 Hank's 液洗 2 次, 每次离心 10 min (1000 r/min), 制成单个细胞悬液备用。将表层培养基加热溶解后与等量 2 倍浓度的 Hank's 液混匀, 按每管 0.5 mL 分装, 再向管内加 50 μ L 的 10% 压积 SRBC, 25 μ L 的脾细胞悬液, 混匀后倒在已刷琼脂糖薄层的玻片上, 5% CO₂、37 $^{\circ}$ C 条件下培养 1.5 h, 然后加入补体, 继续培养 1.5 h 后, 计数溶血形成的空斑数。用缓冲液 1:200 稀释已离心好的血清, 常规方法测定 SRBC 半数溶血时的光密度值, 酶标仪测定波长为 540 nm。按公式: 半数溶血值 HC₅₀ = 样品光密度值 / SRBC 半数溶血时的光密度值 $\times$ 稀释倍数, 计算半数溶血值。

(5) 小鼠碳廓清实验

连续给予受试物 30 d 后, 取第 4 大组的 40 只小鼠尾静脉注入印度墨汁, 2 min 和 10 min 后取血, 用 0.1% Na₂CO₃ 溶液稀释 100 倍, 于 600 nm 波长处测光密度值, 取肝、脾、胸腺并称重, 通过光密度值、肝、脾重量计算吞噬指数 a。公式如下:

$$\text{吞噬指数 } a = \frac{\text{体重}}{\text{肝重} + \text{脾重}} \times K^{1/3} \quad K = \frac{\lg OD_1 - \lg OD_2}{t_2 - t_1}$$

(6) 小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞实验

连续给予受试物 30 d 后, 取第 5 大组的 40 只小鼠。处死动物前 4 d 给每只小鼠腹腔注射 0.2 mL 的 2% 压积 SRBC, 激活小鼠巨噬细胞。颈椎脱

臼法处死小鼠, 每只小鼠腹腔注射加 4 mL 含胎牛血清的 Hank's 液, 按揉腹部 20 次洗出腹腔巨噬细胞, 吸取腹腔洗液 0.5 mL 与 0.5 mL 1% 鸡红细胞悬液混匀。取 0.5 mL 混合液, 加有玻片的琼脂圈内。放置孵箱内 37 $^{\circ}$ C 孵育 20 min。孵育结束用生理盐清洗, 常规固定与 Giemsa 染色, 镜检。按公式: 吞噬百分率 (%) = 吞噬鸡红细胞的巨噬细胞数 / 计数的巨噬细胞数 $\times$ 100, 吞噬指数 = 被吞噬的鸡红细胞总数 / 计数的巨噬细胞数, 计算数吞噬率和吞噬指数。

1.4 统计学方法

所有实验结果采用 SPSS 22.0 软件计算与分析, 小鼠各周体重、免疫器官相对重量、淋巴细胞增殖能力、耳壳增重、溶血空斑数、血清半数溶血值等指标采用 SPSS 软件对各实验组原始数据进行方差齐性检验, 符合方差齐的要求的数据资料用单因素方差分析方法中多个实验组与一个对照组间均数的两两比较方法进行统计处理; 对方差不齐的数据采用秩和检验进行统计处理; 对并将吞噬百分率和 NK 细胞活性需经 $\sin^{-1} P^{1/2}$ (P 表示为吞噬百分率或 NK 细胞活性, 将百分率转化成小数表示) 转化, 符合方差齐的要求后进行统计处理。检验水准 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 具有统计学意义。

2 结果

2.1 功能成分含量测定

石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊的功效成分人参皂甙、多糖和腺苷的含量测定结果见表 2。

2.2 小鼠调节免疫功能实验

2.2.1 石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊对小鼠各周及终末体重和免疫器官相对重量的影响

石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊各剂量组的小鼠各周及终末体重与阴性对照组比无显著差异; 免疫器官相对重量与阴性对照组比无显著性差异 (表 3)。

表 2 石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊功效成分测定结果

功效成分 Effective components	批次 1 Batch1	批次 2 Batch2	批次 3 Batch3	平均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$)
人参皂甙 (g/100 g) Ginsenoside	1.502	1.488	1.495	1.495 $\pm$ 0.007
多糖 (g/100 g) Polysaccharide	13.00	12.52	13.19	12.90 $\pm$ 0.35
腺苷 (mg/100 g) Adenosine	74.3	74.1	73.0	73.8 $\pm$ 0.7

2.2.2 石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊对小鼠脾淋巴细胞增殖能力、右耳肿胀程度的影响

由表 4 结果可见,1580 mg/(kg·d) 组中含有 ConA 小鼠脾淋巴细胞孔光密度值与无 ConA 孔的差值高于 0 mg/(kg·d) 组,比较有显著差异 ($P < 0.05$),显示石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊对 ConA 诱导的脾淋巴细胞转化有增加作用,提高脾淋巴细胞增殖能力;1580 mg/(kg·d) 组耳重差增高高于 0 mg/(kg·d) 组,比较有显著差异 ($P < 0.05$),显示石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊对 DNFB 诱导小鼠耳肿胀程度明显增强,反映小鼠迟发型变态反应增强。脾淋巴细胞增殖能力增加和迟发型变态反应增强均反映石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊对小鼠细胞免疫功能、特异性免疫功能有增强作用。

2.2.3 石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊对小鼠抗体生成细胞水平和半数溶血值的影响

由表 5 结果可见,1580 mg/(kg·d) 组小鼠溶血形成的空斑数高于 0 mg/(kg·d) 组,比较有显著差异 ($P < 0.05$),显示石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊对促进小鼠抗体生成细胞水平升高。260 mg/(kg·d)、530 mg/(kg·d)、1580 mg/(kg·d) 组小鼠 HC_{50} 与 0 mg/(kg·d) 组比较无显著性差异 ($P < 0.05$)。虽然石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊对 HC_{50} 升高影响没有显著

性差异,结合溶血空斑数的升高,表明石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊可在一定程度上增强小鼠的体液免疫功能。

2.2.4 石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊对小鼠单核/巨噬细胞吞噬能力的影响

由表 6 结果可见,1580 mg/(kg·d) 组的吞噬指数 a 高于 0 mg/(kg·d) 组,比较有显著差异 ($P < 0.05$);1580 mg/(kg·d) 组的吞噬百分率及吞噬指数均高于 0 mg/(kg·d) 组,比较有显著差异 ($P < 0.05$);吞噬指数 a 升高表明石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊对小鼠单核细胞吞噬能力(即碳廓清的能力)有增强作用,吞噬百分率及吞噬指数的升高表明石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊对增强小鼠巨噬细胞吞噬能力有增强作用,单核/巨噬细胞吞噬能力增强反映石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊具有增强小鼠非特异性免疫功能。

2.2.5 石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊对小鼠 NK 细胞活性的影响

由表 7 结果可见,260 mg/(kg·d)、530 mg/(kg·d)、1580 mg/(kg·d) 组小鼠 NK 细胞活性与 0 mg/(kg·d) 组比较无显著性差异 ($P > 0.05$)。表明石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊对 NK 细胞活性没有调节作用。

表 3 石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊对小鼠胸腺和脾相对重量的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 3 Effects of Dendrobium-ginseng-paecilomyces batmoth-ginger Capsule on relative weight of thymus and spleen in mice

剂量 (mg/kg) Dose	胸腺/体重 (%) Thymus gland/body weight	脾/体重 (%) Spleen/body weight
0	0.192±0.021	0.385±0.025
260	0.197±0.020	0.390±0.038
530	0.208±0.032	0.396±0.039
1580	0.191±0.021	0.381±0.018

表 5 石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊对小鼠抗体生成细胞水平和半数溶血值的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 5 Effects of Dendrobium-ginseng-paecilomyces batmoth-ginger Capsule on antibody producing cells and half hemolytic value of mice

剂量 (mg/kg) Dose	溶血空斑数 (10^3 个/全脾细胞) Number of hemolytic plaque (10^3 /whole spleen cells)	HC_{50}
0	11.8±1.6	78±19
260	12.9±1.5	78±27
530	13.7±2.7	77±15
1580	14.8±2.2*	91±20

表 4 石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊对脾淋巴细胞增殖能力、右耳肿胀程度的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 4 Effects of Dendrobium-ginseng-paecilomyces batmoth-ginger Capsule on spleen lymphocyte proliferation and right ear swelling

剂量 (mg/kg) Dose	加 ConA 孔与不加 ConA 孔吸光度的差值 Difference of absorbance between hole with and without ConA	耳重差 (mg) Ear weight difference
0	0.095±0.039	10.9±1.7
260	0.109±0.031	11.6±3.2
530	0.117±0.041	13.0±2.2
1580	0.148±0.066*	13.7±1.3*

注:与对照组比较,* $P < 0.05$ 。下同。

Note. Compared with the control group, * $P < 0.05$. The same as below.

表 6 石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊对小鼠单核-巨噬功能的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Table 6 Effects of Dendrobium-ginseng-paecilomyces batmoth-ginger Capsule on mononuclear and megaphagocytic function in mice

剂量 (mg/kg) Group	吞噬指数 a Phagocytic index a	吞噬百分率 (%) Phagocytosis percentage	吞噬指数 Phagocytic index
0	5.68±0.74	22.5±3.5	0.28±0.04
260	5.58±0.84	24.7±4.1	0.30±0.04
530	5.61±1.03	24.7±4.1	0.31±0.05
1580	6.70±0.92*	26.5±2.4*	0.33±0.05*

表 7 石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊对小鼠 NK 细胞活性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)
Table 7 Effects of Dendrobium-ginseng-paecilomyces batmoth-ginger Capsule on NK cell activity in mice

剂量 (mg/kg) Group	NK 细胞活性 (%) NK cell activity
0	32.9 ± 7.6
260	31.0 ± 5.9
530	37.6 ± 8.4
1580	27.5 ± 5.0

3 讨论

雄性小鼠好动,群养时的好斗习性容易影响实验结果,本研究仅选用雌性小鼠,符合保健食品检验与评价技术规范(2003 年版)单一性别的要求,同时也满足了 3R 原则。本实验观察石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊对小鼠细胞免疫、体液免疫、单核-巨噬细胞功能三个方面均有明显作用。细胞免疫方面:石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊 1580 mg/kg 组可增强脾淋巴细胞增殖能力和增强 DNFB 诱导小鼠迟发型变态反应,均提示其具有明显的细胞免疫的功能;单核-巨噬细胞功能方面:石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊 1580 mg/kg 组小鼠碳廓清吞噬指数 a、小鼠腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞的吞噬百分率及吞噬指数均有显著性增加,提示其具有增强单核巨噬细胞的吞噬能力;而且细胞免疫、单核巨噬细胞的吞噬能力是衡量机体非特异性免疫功能的重要标准,石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊具有明显的增加机体非特异性免疫功能;体液免疫方面:石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊 1580 mg/kg 组的小鼠组抗体生成细胞水平有明显提高,该胶囊可在一定程度上调节小鼠体液免疫功能,属于特异性免疫功能增强。

石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊是铁皮石斛、人参提取物、蝙蝠蛾拟青霉菌粉、干姜提取物为主要原料所制成,调节免疫功能作用的功效成分主要为人参皂甙、多糖和腺苷,以上实验结果与文献报道一致,陈星星等^[16]研究表明铁皮石斛能有效协同脂多糖(LPS)和刀豆蛋白(ConA)水平促进免疫制型小鼠脾 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞增殖;Liu 等^[17]对 BALB/c 小鼠口服不同剂量的铁皮石斛及其多糖对巨噬细胞的吞噬能力有显著增强;滕伟卓^[3]研究表明蝙蝠蛾拟青霉菌粉可增强小鼠机体非特异性免疫功能和使迟发型超敏反应加剧,使淋巴细胞转化率增加;人参皂苷 Rg1 及其代谢产物可在体内直接激活 T 细胞增殖、抑制活化状态的 T 细胞,并提高

巨噬细胞吞噬及释放 NO 的能力^[18];王华庆等^[19]研究发现人参皂苷 Rg3 不仅能明显促进淋巴细胞的增殖,还可以提高自然杀伤细胞活性和 T 细胞亚群的活性水平^[16];人参多糖能够促进 T、B 淋巴细胞增殖,激活脾细胞^[20];有研究表明人参多糖除了能促进淋巴细胞增殖速度还能增强巨噬细胞的吞噬能力^[21];铁皮石斛、人参等复合配方产品的研究表明,其可提高机体的特异性和非特异性免疫功能^[22-23]。

综上所述,石斛人参蝙蝠蛾姜胶囊具有免疫调节功能,主要功效与人参和铁皮石斛中的各种植物多糖、人参中皂甙、蝙蝠蛾拟青霉菌粉中腺苷有关。本次实验结果可为以后人参、铁皮石斛等中药材的开发和配方优化提供部分数据。

参考文献:

- [1] 肖开心,朱滢嘉,陈瑞,等.田维毅铁皮石斛药理作用研究进展[J].河南中医,2020,40(5):788-792.
- [2] 许宇辉,梁慧春,杨征.蝙蝠蛾拟青霉菌丝体抗小鼠力竭疲劳作用[J].中国药理学与毒理学杂志,2014,28(3):351-357.
- [3] 滕伟卓.蝙蝠蛾拟青霉菌株发酵工艺优化、菌粉质量标准及免疫活性研究[D].吉林:吉林大学,2015.
- [4] 宋齐.人参化学成分和药理作用研究进展[J].人参研究,2017,29(2):47-54.
- [5] 黄容容,钱颖,向明.人参皂苷 Rh2 免疫调节作用研究进展[J].中国免疫学杂志,2019,35(23):2936-2939.
- [6] 中华人民共和国药典委员会.中华人民共和国药典[M].北京:中国医药科技出版,2015.
- [7] 元雪,张颖颖.干姜的化学、药理研究进展[J].山东化工,2018,47(14):41-42.
- [8] 钟礼云,林健,林蔚,等.铁皮石斛西洋参软胶囊的遗传毒性研究[J].海峡预防医学杂志,2018,24(5):63-65.
- [9] 李志,黄俊明,杨颖,等.人工虫草子实体醇提物遗传毒性分析[J].中国公共卫生,2010,26(9):1168-1169.
- [10] 周博宇,孙兰,隋自洁,等.蝙蝠蛾参鹿片亚急性毒性安全性评价[J].医学动物防制,2019,35(4):331-334,338.
- [11] 周雯,唐慧,陈敏.关于蝙蝠蛾拟青霉菌丝体安全性的实验研究[J].中国卫生检验杂志,2009,19(2):420-421,424.
- [12] 陈秀锦,黄佳宁,林蔚,等.林云石斛西洋参含片的毒理学安全性研究[J].海峡药学,2018,30(4):34-37.
- [13] 孟庆龙,金莎,刘雅婧,等.植物多糖药理功效研究进展[J].食品工业科技,2020,41(11):335-341.
- [14] 保健食品检验与评价技术规范(2003 年版)[M].北京:中华人民共和国药典委员会,2003.
- [15] 中华人民共和国药典委员会.中华人民共和国药典[M].北京:中国医药科技出版,2015.
- [16] 陈星星,李焰,杨小燕,等.铁皮石斛对免疫抑制模型小鼠脾脏淋巴细胞体外增殖的影响[J].中国兽医杂志,2018,54(4):100-103.

[17] Liu XF, Zhu J, Ge SY, et al. Orally administered Dendrobium officinale and its polysaccharides enhance immune functions in BALB/c mice [J]. Nat Prod Commun, 2011, 6(6): 867-870.

[18] 王毅, 姜艳, 王本祥. 人参皂苷 Rg1 及其肠内菌代谢产物 Rh1 对小鼠免疫细胞功能的影响 [J]. 药学报, 2002, 37(12): 927-929.

[19] 王华庆, 张会来, 姚智, 等. 人参皂苷 Rg2 促进自体外周血干细胞移植后免疫重建的临床观察 [J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2006, 26(6): 508-509.

[20] Zhang SD, Yin YX, WEI Q. Immunopotential on murine spleen lymphocytes induced by polysaccharide fraction of Panax ginseng via upregulating calcineurin activity [J]. APMIS, 2010, 118 (4): 288-296.

[21] Ni W, Zhang X, Wang B, et al. Antitumor activities and immunomodulatory effects of ginseng neutral polysaccharides in combination with 5-fluorouracil [J]. J Med Food, 2010, 13(2): 270-277.

[22] 邹思颖, 郑华, 黄聘和, 等. 铁皮石斛西洋参灵芝膏的免疫功能研究 [J]. 医学动物防制, 2018, 34(6): 527-530.

[23] 赵铮蓉, 吴月国, 滕士元, 等. 铁皮石斛复方制剂免疫调节作用的研究 [J]. 海峡药学, 2017, 29(3): 47-48.

[收稿日期] 2020-09-15

勘误声明

本刊对下述论文进行勘误：

出版信息	2021 年 31 卷 6 期, 页码为 83-89
论文标题	神曲消食口服液对功能性消化不良小鼠胃肠运动的影响及机制
稿次	☐ 录用定稿 ☐ 排版定稿 ☐ 整期定稿 ☒ 印刷版 ☐ 其它
作者	张丛敏, 朱晓静, 魏金铠, 李红亚, 李彩霞, 唐卉, 靳晨晨, 赵永才
DOI	10. 3969/ j. issn. 1671-7856. 2021. 06. 013
勘误内容	文章引用处 原为： 张丛敏, 朱晓静, 魏金铠, 等. 神曲消食口服液对功能性消化不良小鼠胃肠运动的影响及机制 [J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(6): 83-89. Zhang CM, Zhu XJ, Wei JK, et al. Effects and mechanism of Shenqu Xiaoshi oral liquid on gastrointestinal motility in mice with functional dyspepsia [J]. Chin J Comp Med, 2021, 31(6): 83-89. 更改为： 张丛敏, 朱晓静, 魏金铠, 等. 神曲消食口服液对功能性消化不良小鼠胃肠运动的影响及机制 [J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(6): 83-88. Zhang CM, Zhu XJ, Wei JK, et al. Effects and mechanism of Shenqu Xiaoshi oral liquid on gastrointestinal motility in mice with functional dyspepsia [J]. Chin J Comp Med, 2021, 31(6): 83-88.
其他说明	

特此告知并诚挚地向读者致歉。

《中国比较医学杂志》编辑部
日期: 2021 年 07 月 21 日