

# 姬松茸多糖的提取及其对 D-半乳糖诱导衰老小鼠的免疫调节作用

李雨鑫, 盛 瑜\*, 杜培革\*, 安丽萍, 杨莹莹, 郭长春, 王佳琪

(北华大学药学院, 吉林吉林 132013)

**摘 要:**建立姬松茸多糖(*Agaricus blazei* polysaccharides, ABP)的提取方法,并研究姬松茸多糖对 D-半乳糖诱导的衰老小鼠免疫调节作用。采用水提醇沉法提取姬松茸多糖,通过单因素实验和正交试验筛选并优化姬松茸多糖的最佳提取工艺;采用 D-半乳糖(400 mg/kg)构建衰老小鼠模型,将小鼠随机分为 5 组,空白对照组(CON)、模型组(MOD)、姬松茸多糖低剂量组(ABP-L, 200 mg/kg/d)、姬松茸多糖中剂量组(ABP-M, 400 mg/kg/d)、姬松茸多糖高剂量组(ABP-H, 800 mg/kg/d);分别测定各组小鼠胸腺和脾脏指数;CCK-8 法测定 ConA 诱导的小鼠脾淋巴细胞增殖转化;ELISA 法检测血清中 TNF- $\alpha$ 、IL-6 含量。结果表明,姬松茸多糖最佳提取工艺为:提取温度 100  $^{\circ}\text{C}$ ,提取时间 3 h,料液比 1:20 g/mL,提取次数 3 次,此时姬松茸多糖的平均得率为 8.814%  $\pm$  0.109%;与模型组相比,姬松茸多糖高剂量组显著提高小鼠脾脏( $p < 0.01$ )和胸腺指数( $p < 0.05$ ),姬松茸多糖高剂量组极显著促进衰老小鼠脾细胞增殖( $p < 0.01$ ),增加衰老小鼠血清中 TNF- $\alpha$ ( $p < 0.01$ )、IL-6( $p < 0.01$ )含量。姬松茸多糖对 D-半乳糖诱导的衰老小鼠模型具有免疫增强作用。

**关键词:**姬松茸多糖, D-半乳糖, 衰老, 免疫

## Extraction of *Agaricus blazei* Polysaccharides and Its Immunomodulatory Effect on D-galactose-induced Aging Mice

LI Yu-xin, SHENG Yu\*, DU Pei-ge\*, AN Li-ping, YANG Ying-ying, GUO Chang-chun, WANG Jia-qi

(Medical College of Beihua University, Jilin 132013, China)

**Abstract:** To establish the extraction method of *Agaricus blazei* polysaccharides (ABP), and study the immunomodulatory effects of *Agaricus blazei* polysaccharides on D-galactose-induced aging mice. *Agaricus blazei* polysaccharides were extracted by water extraction and alcohol precipitation. The extraction process of *Agaricus blazei* polysaccharides was screened and optimized by single factor experiments and orthogonal experiment. The aging mouse model was constructed by D-galactose (400 mg/kg). The mice were randomly divided into 5 groups: Blank control group (CON), model group (MOD), *Agaricus blazei* polysaccharides low dose group (ABP-L, 200 mg/kg/d), *Agaricus blazei* polysaccharides medium dose group (ABP-M, 400 mg/kg/d), high dose group of *Agaricus blazei* polysaccharides (ABP-H, 800 mg/kg/d). After the experiment, the thymus and spleen index of each group were determined. The proliferation and transformation of mouse spleen lymphocytes induced by ConA were determined by CCK-8 method. The contents of TNF- $\alpha$  and IL-6 in serum were detected by ELISA. The results showed that the optimum extraction process of *Agaricus blazei* polysaccharides was as follows: Extraction temperature 100  $^{\circ}\text{C}$ , extraction time 3 h, ratio of material to liquid 1:20 g/mL, extraction times 3 times, the average yield of *Agaricus blazei* polysaccharides was 8.814%  $\pm$  0.109%. Compared with the model group, *Agaricus blazei* polysaccharides high dose group and ultrafine powder group significantly improved mice spleen ( $p < 0.01$ ) and thymus index ( $p < 0.05$ ), *Agaricus blazei* polysaccharides extremely significantly promoted spleen cell proliferation in aging mice ( $p < 0.01$ ), and increased TNF- $\alpha$  ( $p < 0.01$ ) and IL-6 in serum of aging mice ( $p < 0.01$ ). *Agaricus blazei* polysaccharides had immunomodulatory effect on D-galactose-induced aging mouse model.

**Key words:** *Agaricus blazei* polysaccharides; D-galactose; aging; immunity

中图分类号: TS201.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2019)12-0295-06

收稿日期: 2018-08-28

作者简介: 李雨鑫(1995-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 药物分析学, E-mail: liyuxin419@163.com。

\* 通讯作者: 盛瑜(1984-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 中药质量控制、指纹图谱研究以及动植物多糖研究, E-mail: shengyushirley@163.com。

杜培革(1963-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 蛋白质纯化和结构研究, E-mail: dupeige2001@126.com。

基金项目: 吉林省科技发展规划项目(20170311039YY、20170520033JH); 吉林省教育厅“十三五”科学技术项目(JJKH20170066KJ); 吉林省中医药科技项目(2017084)。

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2019.12.048

引文格式:李雨鑫,盛瑜,杜培革,等.姬松茸多糖的提取及其对 D-半乳糖诱导衰老小鼠的免疫调节作用[J].食品工业科技,2019,40(12):295-299,308.

姬松茸 (*Agaricus blazei* Murill, ABM), 又称巴西蘑菇、小松菇、柏氏蘑菇, 是一种可栽培的名贵食用真菌<sup>[1]</sup>。姬松茸含有多糖、甾醇类物质、核酸、脂质、外源凝集素、维生素等活性物质<sup>[2]</sup>。其中姬松茸多糖 (*Agaricus blazei* polysaccharide, ABP) 是其主要活性成分之一, 具有提高免疫力、抗肿瘤、抗氧化、降低血糖、降低胆固醇、抗炎等功效, 具有较高的药用价值<sup>[3-4]</sup>。据报道, D-半乳糖 (D-gal) 可引发拟衰老反应, 导致免疫功能下降, 对氧自由基代谢的损伤, 造成与人体衰老基本一致的模型<sup>[5]</sup>。目前, 姬松茸多糖对小鼠的免疫调节作用鲜有报道。大量文献表明食用菌多糖一般能够促进动物的脾脏和胸腺的发育<sup>[6-8]</sup>, 尤其对于还没有发育完善或已经受到某种免疫抑制的动物机体的免疫器官作用明显<sup>[9-11]</sup>。据报道, 真菌多糖能够提高脾指数, 促进机体非特异性免疫和淋巴细胞转化, 提高血液循环中细胞因子含量, 起到免疫调节作用<sup>[12-15]</sup>。

因此, 本实验通过观察姬松茸多糖对小鼠胸腺、脾脏指数的影响, 测定脾细胞增殖, 并通过检测免疫细胞因子 TNF- $\alpha$  和 IL-6 含量, 探究姬松茸多糖的免疫调节作用, 为进一步开发姬松茸免疫功能食品提供实验基础和理论依据, 为姬松茸深入开发提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

姬松茸 沈阳聚鑫北虫草菌业有限公司; SPF 级雄性 ICR 小鼠 (4~5 周龄, 体重 (20.0  $\pm$  2.0) g, 40 只, 实验动物许可证编号为 SCXK (吉)-2016-0003)、基础饲料 长春亿斯实验动物技术有限责任公司; 葡萄糖标准品 Solarbio 公司; D-半乳糖、D-Hank's 液、CCK-8 美国 Genview 公司; RPMI-1640 培养基 赛默飞世尔生物化学制品有限公司; 刀豆蛋白 A (ConA) 美国 Sigma 公司; TNF- $\alpha$ 、IL-6 ELISA 试剂盒 Abclonal 公司。

UV-2550 型紫外可见分光光度计 岛津国际贸易有限公司; Infinite M200 型酶标仪 TECAN; 恒温生化培养箱 上海博讯实业有限公司; SW-CJ-2D 型双人净化工作台 上海苏净实业有限公司; LIFE Countess 全自动细胞计数仪 美国 Life Technologies 公司; 低温高速离心机 美国 eppendorf 公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 姬松茸多糖的提取 姬松茸子实体粉碎 $\rightarrow$ 无水乙醇除杂 $\rightarrow$ 滤渣 $\rightarrow$ 烘干至恒重 $\rightarrow$ 水浸提 $\rightarrow$ 过滤 $\rightarrow$ 浓缩 $\rightarrow$ 醇沉 $\rightarrow$ Sevage 法<sup>[16]</sup>除蛋白 $\rightarrow$ 透析 $\rightarrow$ 冷冻干燥 $\rightarrow$ 姬松茸多糖<sup>[17,18]</sup>。

操作要点: 将姬松茸子实体常温粉碎, 过 60 目筛。加入无水乙醇除杂, 采用纱布进行滤渣, 放入烘箱中烘干至恒重, 设定一定的料液比、提取温度、提取时间、提取次数在恒温水浴锅中进行水提, 过滤并收集滤液, 采用旋转蒸发仪进行浓缩; 用 3 倍体积的无水乙醇醇沉过夜; 室温下进行 Sevage 法除去蛋白

并过夜; 用截留分子量为 3500 Da 的透析袋, 于蒸馏水中透析 48 h 以除去小分子物质, -80  $^{\circ}$ C 冷冻干燥 3 d, 得到姬松茸多糖。

1.2.2 标曲的制作及多糖得率的计算 以葡萄糖为标准品 (0.1 mg/mL), 苯酚-硫酸法<sup>[19]</sup>测定冷冻干燥后固体样品多糖含量, 根据标准曲线计算多糖得率。计算公式为:

$$\text{多糖得率}(\%) = [(C \times D \times V) / (W \times 1000)] \times 100$$

式中: C-冷冻干燥样品多糖浓度 (mg/mL); D-样品稀释倍数; V-样品体积 (mL); W-样品质量 (g)。

### 1.2.3 单因素实验

1.2.3.1 温度对多糖得率的影响 固定反应条件为料液比 1:30 g/mL、提取时间为 3 h、提取次数为 3 次, 考察不同温度 (60、70、80、90、100  $^{\circ}$ C) 对多糖得率的影响。

1.2.3.2 时间对多糖得率的影响 固定条件为料液比 1:30 g/mL、提取温度为 80  $^{\circ}$ C、提取次数为 3 次, 考察不同提取时间 (1、2、3、4、5 h) 对多糖得率的影响。

1.2.3.3 料液比对多糖得率的影响 固定反应条件为提取温度 80  $^{\circ}$ C、提取时间为 3 h、提取次数为 3 次, 考察不同料液比 (1:10、1:20、1:30、1:40、1:50 g/mL) 对多糖得率的影响。

1.2.3.4 提取次数对多糖得率的影响 固定每次反应条件为料液比 1:30 g/mL、提取温度 80  $^{\circ}$ C、提取时间为 3 h, 考察不同提取次数 (1、2、3、4、5 次) 对多糖得率的影响。

1.2.4 正交试验 以单因素实验为基础, 进行正交实验工艺设计, 对姬松茸多糖得率影响的因素有提取温度 (A)、提取时间 (B)、料液比 (C)、提取次数 (D), 详见表 1。

表 1 正交试验因素水平表

Table 1 Level of form factors

| 水平 | 因素                        |               |                 |               |
|----|---------------------------|---------------|-----------------|---------------|
|    | A 提取温度<br>( $^{\circ}$ C) | B 提取时间<br>(h) | C 料液比<br>(g/mL) | D 提取次数<br>(次) |
| 1  | 80                        | 2             | 1:10            | 2             |
| 2  | 90                        | 3             | 1:20            | 3             |
| 3  | 100                       | 4             | 1:30            | 4             |

1.2.5 实验动物模型建立及给药 本实验需雄性 ICR 小鼠 40 只, 小鼠适应性喂养 1 周, 实验期间小鼠自由饮食、饮水, 动物室温度 20.0~22.0  $^{\circ}$ C, 相对湿度 50%~60%, 将小鼠随机分成 5 组, 即空白对照组 (CON)、模型组 (MOD)、姬松茸多糖低剂量组 (ABP-L, 200 mg/kg)、姬松茸多糖中剂量组 (ABP-M, 400 mg/kg)、姬松茸多糖高剂量组 (ABP-H, 800 mg/kg), 每组 8 只。CON 组颈部皮下注射生理盐水, 其他各组均颈部皮下注射 D-半乳糖溶液复制

衰老模型,注射剂量为 400 mg/kg。建立模型的同时灌胃给药,ABP-L、ABP-M、ABP-H 组给予相应剂量姬松茸多糖(采用蒸馏水配制),CON 与 MOD 给予等体积蒸馏水,连续注射及给药 42 d。

1.2.6 测定小鼠脏器指数 末次给药后,禁食不禁水 12 h 后,对小鼠进行称重,使用摘除眼球方法收集血液,并脱颈处死小鼠,取出胸腺及脾脏称重,计算脏器质量与体重的比值(mg/g)。

脏器指数(mg/g) = 脏器质量(mg)/动物体重(g)

1.2.7 刀豆蛋白(ConA)引起的小鼠脾脏淋巴细胞增殖反应 试剂配制:RPMI 培养液加入 10% 胎牛血清配成脾细胞培养液。用 RPMI 培养液配制成 50  $\mu$ g/mL ConA 液,用 0.22  $\mu$ m 的微孔滤膜过滤,分装后-20  $^{\circ}$ C 中存放备用。

脾细胞悬液的制备:实验在无菌操作室内进行,末次给药结束后将小鼠脱颈椎处死,并用 75% 的乙醇对小鼠进行消毒处理。在无菌操作台中解剖小鼠,在玻璃平皿中加入适量 D-Hank's 液,用手术镊子轻轻夹住脾脏,剪掉周围组织,取出后将其放入平皿中。用注射器对脾脏进行研磨使其分散成单个细胞悬液,用移液枪吸取该细胞悬液,经 200 目筛网滤入离心管中,并用 D-Hank's 液冲洗 2 次,1000 r/min 离心 10 min。离心后加入适量配制好的培养基,吹打细胞至均匀,用全自动细胞计数仪计脾细胞数,并调整其浓度为  $1 \times 10^7$  个/mL。

淋巴细胞增殖反应:将脾细胞悬液转移到 96 孔培养板中,其中每个孔各加 90  $\mu$ L 脾细胞悬液,分为两组,一组每孔加入 10  $\mu$ L ConA 液,另一组设对照组,加入 10  $\mu$ L 培养液,置 5% CO<sub>2</sub>、37  $^{\circ}$ C 培养箱中培养 48 h。每孔加入 10  $\mu$ L CCK-8,继续培养 2 h。培养终止,用全自动酶标仪检测 570 nm 处的光密度(OD)值。

小鼠脾淋巴细胞的增殖转化( $\Delta OD_{570}$ ) =  $OD_{ConA} - OD_{无ConA}$

1.2.8 血清中 TNF- $\alpha$ 、IL-6 含量测定 将小鼠摘除眼球取血后,离心取上清液。参照酶联免疫试剂盒说明书的方法测定 TNF- $\alpha$ 、IL-6 的含量。

### 1.3 数据处理

所有值均以平均值  $\pm$  标准差( $\bar{X} \pm SD$ )表示。每组中的样品数目表示“n”。使用 SPSS 软件进行统计分析。以  $p < 0.05$  表示差异显著, $p < 0.01$  表示差异极显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 葡萄糖标准曲线

在 490 nm 波长处测定的吸光度值,以葡萄糖浓度为横坐标(mg/mL),吸光度值为纵坐标,绘制葡萄糖含量与吸光度的标准曲线见图 1,计算得回归方程  $Y = 14.662X - 0.0041$ ,决定系数  $R^2 = 0.9997$ ,线性关系良好。

### 2.2 单因素实验结果

由图 2 可知,随着提取温度的升高,多糖得率呈上升趋势,在 100  $^{\circ}$ C 时多糖得率最高,为了获得高得

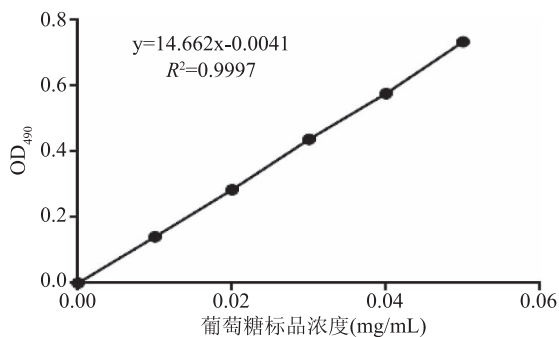


图 1 葡萄糖溶液标准曲线

Fig.1 Glucose standard curve

率的同时降低工业化生产的能耗,本实验选择提取温度 80、90、100  $^{\circ}$ C 三个水平进行正交试验。由图 3 可得,多糖得率随着提取时间的延长而升高,提取时间高于 3 h,多糖得率降低,可能由于提取时间较长会导致植物细胞壁结构破坏,使有效成分流出,造成多糖得率缓慢下降,因此选择临近的 2、3、4 h 三个水平进行正交试验。由图 4 可知,当料液比为 1:20 g/mL 时,多糖得率最高,料液比偏小时,固液相中的有效成分的浓度差较小,会使溶液黏性增大,不利于姬松茸多糖的提取,随着料液比的增大,两相浓度差增大,多糖在溶剂中的量增大,但料液比过高时,浓度差过大,反而不利于多糖的溶出,因此选择 1:10、1:20、1:30 g/mL 进行正交试验。由图 5 可知,当提取次数为 3 次时,多糖得率最高,随着提取次数的增加,消耗的材料和资源也较多,并且得率也受到影响,因此选择 2、3、4 次三个水平进行正交试验。

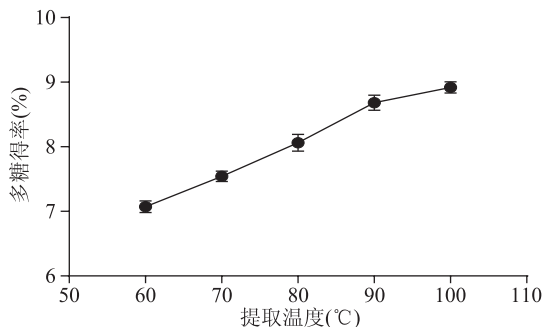


图 2 提取温度对多糖得率的影响

Fig.2 Effect of extraction temperature on polysaccharides yield

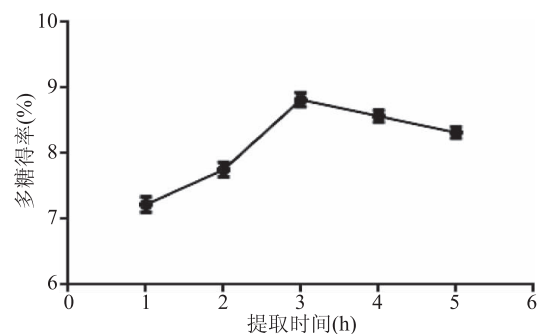


图 3 提取时间对多糖得率的影响

Fig.3 Effect of extraction time on polysaccharides yield

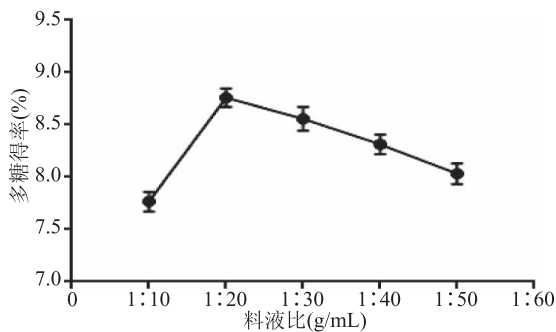


图4 料液比对多糖得率的影响

Fig.4 Effect of material-liquid ratio on polysaccharides yield

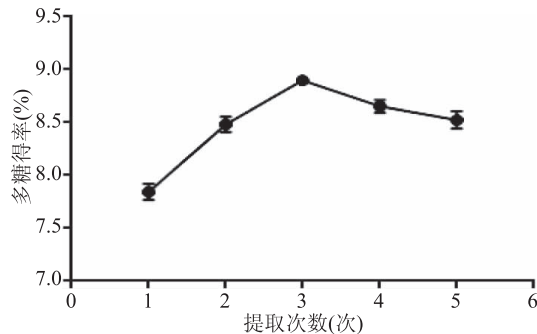


图5 提取次数对多糖得率的影响

Fig.5 Effect of extraction times on polysaccharide yield

2.3 正交试验结果

正交试验结果如表 2。

表 2 正交试验结果及极差分析

Table 2 Results of orthogonal test and range analysis

| 实验号            | 因素    |       |       |       | 考察指标     |
|----------------|-------|-------|-------|-------|----------|
|                | A     | B     | C     | D     | 多糖得率 (%) |
| 1              | 1     | 1     | 1     | 1     | 7.53     |
| 2              | 1     | 2     | 2     | 2     | 8.67     |
| 3              | 1     | 3     | 3     | 3     | 7.64     |
| 4              | 2     | 1     | 2     | 3     | 7.93     |
| 5              | 2     | 2     | 3     | 1     | 8.20     |
| 6              | 2     | 3     | 1     | 2     | 7.78     |
| 7              | 3     | 1     | 3     | 2     | 8.46     |
| 8              | 3     | 2     | 1     | 3     | 8.68     |
| 9              | 3     | 3     | 2     | 1     | 8.51     |
| k <sub>1</sub> | 7.947 | 7.973 | 7.997 | 8.080 |          |
| k <sub>2</sub> | 7.970 | 8.517 | 8.370 | 8.303 |          |
| k <sub>3</sub> | 8.550 | 7.977 | 8.100 | 8.083 |          |
| R              | 0.603 | 0.544 | 0.373 | 0.223 |          |

根据表 1 中正交试验结果及极差分析可知,各因素对姬松茸多糖影响由大到小依次为提取温度>提取时间>料液比>提取次数。最佳因素的水平组合为 A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>D<sub>2</sub>。

根据姬松茸多糖提取最佳条件进行三次平行实验,姬松茸多糖平均得率为 8.814%±0.109%。确定的最佳提取工艺与正交试验中的得率最高组接近,且重复性良好,进一步确定了提取姬松茸多糖的提取工艺 A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>D<sub>2</sub>,即料液比为 1:20 g/mL,100℃水

浴浸提 3 次,每次 3 h。

2.4 姬松茸多糖对小鼠脏器指数的影响

如图 6、图 7 显示,与空白对照组相比,模型组小鼠的胸腺指数和脾脏指数极显著降低( $p < 0.01$ ),说明建立模型成功。与模型组相比,姬松茸多糖低剂量组、中剂量组胸腺指数没有显著差异,而姬松茸多糖中剂量脾脏指数显著升高( $p < 0.05$ ),姬松茸多糖高剂量组胸腺指数显著升高( $p < 0.05$ ),脾脏指数极显著升高( $p < 0.01$ ),说明姬松茸多糖高剂量组可以显著改善脏器指数,由于胸腺与脾脏作为免疫器官,直接能反应动物整体的健康良好状况,因此姬松茸多糖能够调节机体免疫功能。

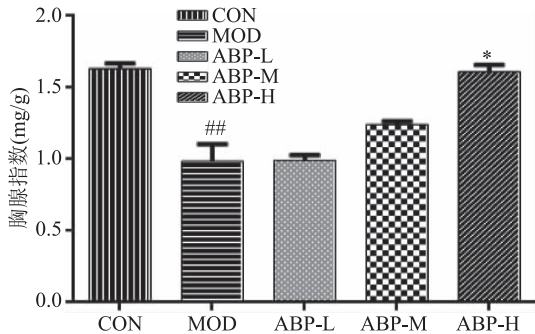


图 6 姬松茸多糖对小鼠胸腺指数的影响(n=8)

Fig.6 Effect of *Agaricus blazei* polysaccharides on the proportion of thymus in mice(n=8)

注:与 CON 相比, #代表差异显著  $p < 0.05$ , ##代表差异极显著  $p < 0.01$ ; 与 MOD 相比, \*代表差异显著  $p < 0.05$ , \*\*代表差异极显著  $p < 0.01$ ;图 7~图 10 同。

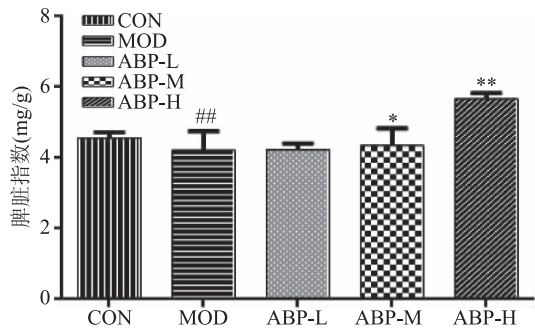


图 7 姬松茸多糖对小鼠脾脏指数的影响(n=8)

Fig.7 Effect of *Agaricus blazei* polysaccharides on spleen specific gravity in mice(n=8)

2.5 刀豆蛋白(ConA)引起的小鼠脾脏淋巴细胞增殖转化结果

如图 8 所示,与空白对照组相比,模型组小鼠 ConA 诱导的淋巴细胞极显著降低( $p < 0.01$ ),表明建模成功。与模型组对比,姬松茸多糖低剂量组小鼠 ConA 诱导的脾淋巴细胞增殖无显著性差异,姬松茸多糖中剂量组小鼠 ConA 诱导的脾淋巴细胞增殖显著提高( $p < 0.05$ ),姬松茸多糖高剂量组小鼠 ConA 诱导的脾淋巴细胞增殖极显著提高( $p < 0.01$ )。说明增加姬松茸多糖剂量促进脾淋巴细胞增殖的作用增强,并显示量效关系,姬松茸多糖能够独立活化小鼠脾淋巴细胞增殖,并且能够协同促进 ConA

刺激的脾细胞增殖,侧面表明姬松茸多糖能够通过促进小鼠脾淋巴细胞的增殖而增强机体的免疫功能。

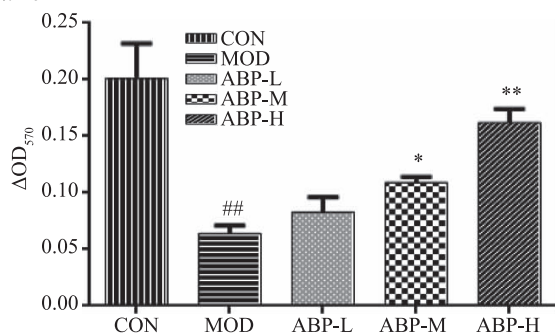


图8 姬松茸多糖对小鼠脾淋巴细胞增殖能力的影响

Fig.8 Effect of *Agaricus blazei* polysaccharides on the proliferation of mouse splenic lymphocytes

## 2.6 血清中 TNF- $\alpha$ 、IL-6 含量测定结果

细胞因子是一类由活化的免疫细胞和相关细胞产生的高活性、具有多种生理功能的蛋白质多肽分子或糖蛋白,是免疫系统的重要组成部分<sup>[20]</sup>,也是免疫系统调节营养代谢的主要介质,细胞因子含量的高低表明了免疫系统的自身代谢状态。TNF- $\alpha$  对免疫反应、机体代谢、炎症反应具有明显的调节和介导作用,可促进淋巴细胞增殖。IL-6 是由单核细胞、激活的淋巴细胞及多种活性细胞分泌的具有生物活性物质,可诱导免疫细胞的增殖、分化,在活化、增殖的 B 细胞分化为浆细胞的过程中起关键作用,对机体的天然免疫和获得性免疫都具有重要的调节作用。

图 9~图 10 显示,与空白对照组相比,模型组小鼠血清中 TNF- $\alpha$ 、IL-6 含量显著 ( $p < 0.05$ ) 减少;与模型组相比,随着姬松茸多糖剂量的增加,可促进血清中 TNF- $\alpha$ 、IL-6 的分泌,并且姬松茸多糖高剂量组能极显著 ( $p < 0.01$ ) 促进衰老小鼠血清中 TNF- $\alpha$ 、IL-6 的分泌,并且 TNF- $\alpha$ 、IL-6 的分泌趋势相近。说明姬松茸多糖可促进细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IL-6 的产生,从而促进淋巴细胞的增殖,有诱导免疫细胞的活化,最终调节机体的免疫功能。

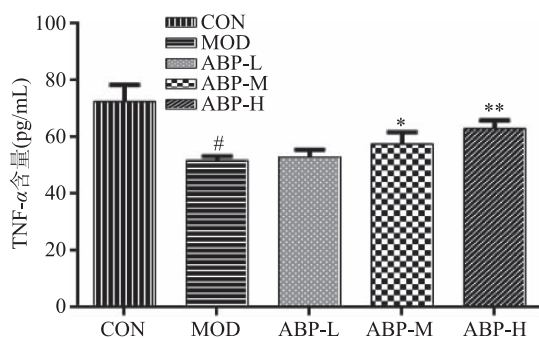


图9 姬松茸多糖对衰老小鼠血清中 TNF- $\alpha$  含量的影响

Fig.9 Effect of *Agaricus blazei* polysaccharides on serum TNF- $\alpha$  in aging mice

## 3 结论

采用水提醇沉法提取姬松茸多糖,通过单因素实验和正交实验筛选并优化姬松茸最佳提取工艺为:提

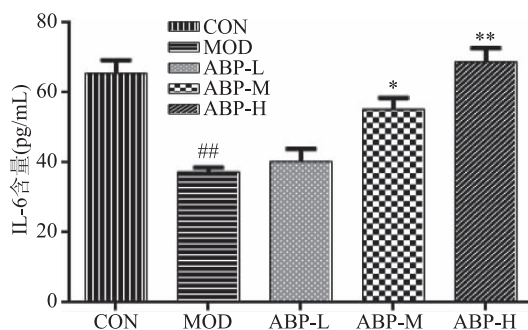


图10 姬松茸多糖对衰老小鼠血清中 IL-6 含量的影响

Fig.10 Effect of *Agaricus blazei* polysaccharides on serum IL-6 in aging mice

取温度 100  $^{\circ}\text{C}$ ,提取时间 3 h,料液比 1:20 g/mL,提取次数 3 次,此时姬松茸多糖平均得率为  $8.814\% \pm 0.109\%$ 。小鼠注射 D-半乳糖后,与空白对照组小鼠相比,胸腺指数和脾脏指数均极显著下降,经 ConA 刺激的模型组小鼠脾细胞增殖也同时受到抑制,说明 D-半乳糖导致小鼠免疫力下降模型建立成功。与模型组相比,姬松茸多糖高剂量组极显著提高小鼠脾脏 ( $p < 0.01$ ),显著提高胸腺指数 ( $p < 0.05$ ),姬松茸多糖高剂量组极显著促进衰老小鼠脾细胞增殖 ( $p < 0.01$ ),极显著增加衰老小鼠血清中 TNF- $\alpha$ 、IL-6 ( $p < 0.01$ ) 含量。

本实验研究中姬松茸多糖能显著增加小鼠胸腺指数,并促进脾细胞增殖转化,促进小鼠血清中 TNF- $\alpha$ 、IL-6 的分泌来调节免疫功能。因此姬松茸多糖对 D-半乳糖诱导的衰老小鼠具有免疫调节作用,为开发姬松茸系列产品奠定理论和实践基础。

## 参考文献

- [1] 王丽娟,张彦青,王勇,等.姬松茸多糖增强免疫作用及急性毒性研究[J].食品科学,2014,35(13):258-261.
- [2] 张卉,刘长江.姬松茸 (*Agaricus blazei* Murill) 生理活性物质的研究进展[J].沈阳农业大学学报,2003(1):59-62.
- [3] 李晶,魏健.姬松茸多糖增强免疫功能及抗疲劳作用的研究[J].食品研究与开发,2017,38(5):201-204.
- [4] 张蓉娇,吴天祥.姬松茸多糖及其生物活性研究进展[J].贵州农业科学,2009,37(6):108-110.
- [5] 雷红,孙汉巨,姜绍通.莱籽饼粕多糖对 D-半乳糖衰老小鼠的抗氧化及免疫调节作用[J].食品科学,2010,31(13):283-286.
- [6] 瞿俊勇,田梦,贺建华,等.白花蛇舌草多糖体外免疫活性研究[J].中兽医医药杂志,2015,34(3):17-20.
- [7] 张芮琪,陈正礼,罗启慧.黄芪多糖干预环磷酰胺所致免疫抑制小鼠的免疫功能[J].中国实验动物学报,2015,23(4):389-394.
- [8] 瞿俊勇.白花蛇舌草多糖提取工艺及免疫调节作用研究[D].长沙:湖南农业大学,2015.
- [9] Ruonan B, Yaqin S, Shuzhen Z, et al. Simple nanoliposomes encapsulating *Lycium barbarum* polysaccharides as adjuvants improve humoral and cellular immunity in mice[J]. International Journal of Nanomedicine, 2017, 173(12):6289-6301.

(下转第 308 页)

of the rat colon reveals proximal-distal differences in histone modifications and proto-oncogene expression [J]. *Physiological Genomics*, 2013, 45 (24): 1229-43.

[27] 薛晨. 原料级别和贮藏时间对普洱茶品质及其生物活性影响的研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2013.

[28] 龚淑英, 周树红. 普洱茶贮藏过程中主要化学成分含量及感官品质变化的研究[J]. *茶叶科学*, 2002, 22 (1): 51-56.

[29] 文镜, 贺素华, 杨育颖, 等. 保健食品清除自由基作用的体外测定方法和原理[J]. *食品科学*, 2004, 25 (1): 190-195.

[30] Norhaiza M, Maziah M, Hakiman M. Antioxidative properties of leaf extracts of a popular Malaysian herb, *Labisia pumila* [J]. *Journal of Plant Research*, 2009, 3 (4): 217-223.

[31] Kim D O, Lee K W, Lee H J, et al. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2002, 50 (13): 3713-3717.

[32] Lintle M, Aj V D W. Glycoproteins from Russian wheat aphid infested wheat induce defence responses [J]. *Zeitschrift Fur Naturforschung C A Journal of Biosciences*, 2002, 57 (9-10): 867-873.

[33] 谢贞建, 赵超群, 邹联柱, 等. 普洱茶多酚的提取及抗氧化作用研究[J]. *食品与机械*, 2009, 25 (1): 64-67.

[34] 曹艳妮, 刘通讯. 多种普洱茶水浸提物体外抗氧化性质研究[J]. *现代食品科技*, 2010, 26 (9): 944-947.

[35] 宁鸿珍, 李清钊, 刘英莉, 等. 茶多酚对肥胖大鼠体重的影响及其与瘦素、血脂水平的关系[J]. *食品科学*, 2008, 29 (4): 358-360.

[36] 揭国良. 普洱茶抗氧化作用及减肥作用的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2008.

[37] Kuo K L, Weng M S, Chiang C T, et al. Comparative studies on the hypolipidemic and growth suppressive effects of oolong,

black, pu-erh, and green tea leaves in rats [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53 (2): 480-489.

[38] Yi R, Wang R, Sun P, et al. Antioxidant-mediated preventative effect of Dragon-pearl tea crude polyphenol extract on reserpine-induced gastric ulcers [J]. *Experimental & Therapeutic Medicine*, 2015, 10 (1): 338.

[39] Wong J Y, Abdulla M A, Raman J, et al. Gastroprotective effects of Lion's Mane Mushroom *Hericium erinaceus* (Bull.: Fr.) Pers. (Aphyllophoromycetideae) extract against ethanol-induced ulcer in rats [J]. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, (2013-11-5), 2013, 2013 (3): 492976.

[40] Pillai S, Oresajo C, Hayward J. Ultraviolet radiation and skin aging: roles of reactive oxygen species, inflammation and protease activation, and strategies for prevention of inflammation-induced matrix degradation-a review [J]. *International Journal of Cosmet Science*, 2010, 27 (1): 17-34.

[41] 邱红梅, 赖舒, 尚京川, 等. 石榴皮鞣质对大鼠乙醇性胃黏膜损伤的保护作用研究[J]. *中国药房*, 2012 (27): 2509-2512.

[42] Abe F, Donkor M K, Scholar E M, et al. Chemoprevention by cyclooxygenase-2 inhibition in FVB transgenic mice for Her2/neu induced mammary cancer is associated with reduced myeloid derived suppressor cells [J]. *International Immunopharmacology*, 2009.

[43] 刘男, 廉丽花, 张颖丽, 等. 关苍术超临界提取物对乙醇致大鼠胃黏膜损伤保护作用的研究[J]. *中国药房*, 2012, 23 (3): 215-217.

[44] 张璐. 类固醇致胃黏膜损伤大鼠胃黏膜 COX-2, iNOS 水平变化及其意义 [C]// 杭州: 浙江省医学会消化病学分会, 2005: 1.

(上接第 299 页)

[10] 周意, 栾洁, 蒋静娴, 等. 玛咖多糖对 D-半乳糖衰老模型小鼠免疫器官的保护作用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2016, 22 (19): 121-125.

[11] 单颖, 姜东, 潘兴瑜, 等. 玉竹多糖对衰老模型鼠免疫功能的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2007 (1): 20-22.

[12] 赵波, 张玉玲, 咚继铭. 赤苡果多糖对免疫抑制小鼠免疫功能的影响[J]. *时珍国医国药*, 2010, 21 (7): 1627-1629.

[13] Jinzhu M A, Baifen S, Hongsheng R, et al. Effect of berberine hydrochloride on the proliferation, apoptosis and cytokine secretion of splenocytes in mice [J]. *Chinese Journal of Cellular and Molecular Immunology*, 2013, 29 (8): 802-804.

[14] 王思芦, 汪开毓, 陈德芳. 食用真菌多糖免疫调节作用及其机制研究进展[J]. *动物医学进展*, 2012, 33 (11): 104-108.

[15] 王柳萍, 沈茂杰, 杨斌, 等. 牛大力多糖对小鼠脾细胞增

殖及分泌细胞因子的影响[J]. *医药导报*, 2017, 36 (5): 480-483.

[16] 陈婉. 蛹虫草抗氧化活性多糖制备技术研究[D]. 温州: 温州大学, 2016.

[17] 王夏梅. 姬松茸子实体多糖分离纯化、结构表征和免疫活性分析[D]. 无锡: 江南大学, 2016.

[18] 周国海, 张泳, 赵力超, 等. 蛹虫草多糖提取纯化工艺研究[J]. *食品与机械*, 2014, 30 (5): 220-224.

[19] 彭勇胜. 姬松茸多糖的制备及其抗氧化、保肝作用研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2011.

[20] Huang C, Song K, Ma W, et al. Immunomodulatory mechanism of bushen huoxue recipe alleviates cyclophosphamide-induced diminished ovarian reserve in mouse model [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2017, 208: 44-56.

欢迎光临我们的网站

www.spgykj.com