

## 灵芝的抗突变作用

何来英 戴寅 卫生部食品卫生监督检验所 (100021)

蔡有余 中国医学科学院实验动物研究所 (100021)

**摘要** 用不同的试验终点对灵芝的抗突变作用进行了检测,结果表明,灵芝水提取液(AEGL)对多种诱变剂所致的突变具有显著的抑制作用。AEGL对环磷酰胺(CP)诱导的小鼠骨髓嗜多染红细胞(PEC)微核效应有显著的抑制作用,并呈剂量反应关系。AEGL剂量为10g/kg时对CP诱导的微核效应抑制率达66.12%。AEGL剂量在6.25~100mg/皿范围内,对诱变剂4-硝基喹啉-N-氧化物(NQNO)和2-氨基芴(2-AF)诱导的鼠伤寒沙门氏菌组氨酸缺陷型回复突变有显著的抑制作用,并呈剂量反应关系。高剂量组(100mg/皿)的回变菌落数接近于自然回变数。1mg/mL的AEGL对丝裂霉素C(MMC)诱导的人外周血淋巴细胞(HPBL)姊妹染色单体交换和染色体畸变的抑制率分别为70.7%和76.5%。

灵芝是一种扶正固本、滋补强壮的中草药,含有多种有效成分,<sup>[1-3]</sup>具有广泛的生物学作用。<sup>[4,5]</sup>早在50年代,日本就有文献报道灵芝能抑制移植性肿瘤的生长,以后又陆续发表了许多有关灵芝抑瘤的论文。<sup>[6,7]</sup>但到目前为止,除了褚方等<sup>[8]</sup>报道紫芝多糖对辐射所致小鼠骨髓有核细胞微核效应具有防护作用外,灵芝对化学物质引起的突变是否有拮抗作用尚未见报道。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

灵芝 赤灵芝子实体,购自北京通县永乐店农场后营村灵芝厂。灵芝样品按传统中药服用方法,即水煮处理,水煮液用尼龙网过滤,收集滤液置60℃水浴,减压后蒸发浓缩至生药为2.5g/mL。分装后置-20℃冰箱备用。本文所用灵芝剂量均指相当于生药量。

NIH纯系小鼠 中国医学科学院实验动物研究所提供,体重18~22g,雌雄各半。

Ames试验菌株 TA<sub>79</sub>、TA<sub>98</sub>、TA<sub>100</sub>和S<sub>9</sub>均由本室提供,经鉴定合格。

人外周血采自健康的年轻人。

#### 1.2 方法

AEGL对CP所致微核效应的影响 NIH纯系小鼠,分组后以不同剂量灵芝液连续灌胃10d,第9天腹腔环磷酰胺50mg/kg 24h后再注射一次。按常规方法取胸骨骨髓涂片,染色。每鼠油镜下计数1000个嗜多染红细胞,计算微核细胞率(%)。第二次试验所用CP剂量为30mg/kg,其余方法同第一次试验。

AEGL对NQNO和2-AF致突变的影响

采用预培养平板掺入法,<sup>[10]</sup>诱变剂剂量选择参照《食品安全性毒理学评价程序》。

AEGL对MMC诱导的人外周血淋巴细胞姊妹染色单体交换和染色体畸变的影响按常规方法<sup>[9]</sup>采人外周血培养,24h后加入BUdR、MMC及不同浓度的AEGL,继续培养至70h收获细胞,收获前2h加入秋水仙素(终浓度为0.05μg/mL)。制片、分

化染色、每组油镜下观察 45 ~ 50 个分化良好的细胞核、记录 SCE 次数 /cell。每组另取 2 张片子常规 Giemsa 染色、分析 100 个分散良好的中期相细胞染色体、记录染色体畸变情况。

## 2 结果

2.1 AEGL 对 CP 所致微核效应有显著的抑制作用、并呈明显的剂量反应关系。当降低 CP 剂量时、AEGL 对微核效应的抑制率明显增高、最适 AEGL 剂量组的微核率更接近于自发微核率、见表 1。高剂量 AEGL 对照组微核率与自发微核率差异无显著性 ( $P > 0.05$ )、说明灵芝本身无致突变性。

表 1 灵芝对 CP 诱导的小鼠骨髓 PEC 微核效应的影响

AEGL (g/kg)	试 验 1			试 验 2		
	CP (mg/kg)	MIN (%)	抑制率 (%)	CP (mg)	MIN (%)	抑制率 (%)
50.0	50	19.0 ± 2.7 <sup>(2)</sup>	46.20	30	8.7 ± 1.5 <sup>(2)</sup>	60.27
10.0	50	25.3 ± 2.2 <sup>(2)</sup>	27.78	30	7.6 ± 1.7 <sup>(2)</sup>	66.12
2.0	50	26.7 ± 5.8 <sup>(1)</sup>	23.68	30	10.4 ± 1.4 <sup>(2)</sup>	50.82
0.4	--	---	--	30	13.8 ± 2.8 <sup>(2)</sup>	35.52
0.0	50	33.7 ± 4.6	--	30	19.7 ± 2.1	--
0.0	0	0.7 ± 0.7	--	0	1.4 ± 1.2	--
50.0	0	0.6 ± 0.5 <sup>(3)</sup>	--	---	---	--

注: (1)  $P < 0.005$  (2)  $P < 0.001$  (3)  $P > 0.5$  (与阴性对照比较)

### 2.2 AEGL 对 NQNO 和 2-AF 致鼠伤寒沙门氏菌突变的影响

AEGL 对不需 S-9 活化的诱变剂 NQNO 诱导的 TA<sub>98</sub> 回变有显著的抑制作用、并呈明显剂量反应关系、最小有效剂量为 12.5mg/ 皿、高剂量组 (100mg/ 皿) 的抑制率为 85.23%、见表 2。AEGL 对需 S-9 活化的诱变剂 2-AF 诱导的 TA<sub>97</sub>、TA<sub>98</sub> 和 TA<sub>100</sub> 回变均有显著的抑制作用、并呈剂量反应关系。100mg/ 皿组对 TA<sub>97</sub> 回变的抑制率达 93.96%、其回变菌落数接近于自然回变数。见表 3。

### 2.3 AEGL 对 MMC 诱导人外周血淋巴细胞姊妹染色单体交换 (SCE) 的影响

各 AEGL 剂量组的 SCE 数均显著低于 MMC 阳性对照组的 SCE ( $P < 0.001$ )、AEGL 为 1mg/mL 时抑制率最高达 70.7%。高剂量 AEGL 对照组 (25mg/ 皿) 的 SCE 数与自发 SCE 数差异无显著性、说明 AEGL 本身无诱变作用。见表 4

表 2 灵芝对 NQNO 诱导 TA<sub>98</sub> 回变的影响

AEGL (μg/ 皿)	NQNO (0.5 μg/ 皿)		NQNO (1.0 μg/ 皿)	
	回变菌落数 <sup>(3)</sup> ( $\bar{x} \pm SD$ )	抑制率 (%)	回变菌落数 <sup>(4)</sup> ( $\bar{x} \pm SD$ )	抑制率 (%)
阳性对照	177 ± 62	--	236	--
6.25	142 ± 66	23.49	205	14.49
12.50	122 ± 4 <sup>(1)</sup>	36.24	--	--
25.00	116 ± 47 <sup>(1)</sup>	40.27	195	19.16
50.00	93 ± 39 <sup>(1)</sup>	55.70	130	49.53 <sup>(1)</sup>
100.00	49 ± 34 <sup>(2)</sup>	85.23	--	--
阴性对照	28 ± 5	--	22	--

注: (1)  $P < 0.05$  (2)  $P < 0.001$

(3) 结果为 3 次试验平均值、每次 3 个平行皿

(4) 结果为 1 次试验数据

### 2.4 AEGL 对 MMC 诱导人外周血细胞染色体畸变的影响。

AEGL 在 1 ~ 25mg/mL 剂量范围内均使 MMC 引起的畸变细胞显著降低、MMC 对照组的畸变类型主要有裂隙、断裂、粉碎化、还可见到单体互换、内复制、染色体无丝点断片。加入 AEGL 后、畸变类型主要为

断裂和裂隙。AEGL 对照组畸变细胞率不高。见表 5。  
于自发畸变率 ( $P>0.5$ ), AEGL 本身无诱变

表 3 灵芝对 2-AF(+S-9) 诱导的沙门氏菌回变的影响

AEGL (mg/皿)	TA <sub>97</sub>		TA <sub>98</sub>		TA <sub>100</sub>			
	2-AF(4 μg/皿)		2-AF(10 μg/皿)		2-AF(10 μg/皿)		2-AF(4 μg/皿)	
	回变菌数 ( $\bar{x} \pm SD$ )	抑制率 (%)						
6.25	1158 ± 253 <sup>(1)</sup>	26.65	4334 ± 116 <sup>(3)</sup>	15.23	1392 ± 274 <sup>(1)</sup>	36.61	1010 ± 74	5.67
12.50	862 ± 73 <sup>(3)</sup>	49.57	4219 ± 88 <sup>(2)</sup>	17.59	1094 ± 222 <sup>(2)</sup>	49.88	928 ± 219	15.56
25.00	838 ± 73 <sup>(3)</sup>	51.43	3836 ± 65 <sup>(3)</sup>	25.07	1019 ± 110 <sup>(2)</sup>	52.22	895 ± 140 <sup>(1)</sup>	19.54
50.00	538 ± 74 <sup>(3)</sup>	74.83	1944 ± 113 <sup>(3)</sup>	62.46	775 ± 183 <sup>(2)</sup>	65.78	391 ± 25 <sup>(3)</sup>	80.34
100.00	272 ± 20 <sup>(3)</sup>	93.96	-----	---	459 ± 195 <sup>(2)</sup>	83.33	350 ± 25 <sup>(3)</sup>	85.28
0.00	1502 ± 313		5150 ± 157		1992 ± 348		1024 ± 36	
阴性对照	211 ± 12		44 ± 7		159 ± 13		228 ± 11	

注: 1. 用双侧 t 检验 (1)  $P<0.05$  (2)  $P<0.01$  (3)  $P<0.001$

2. 表中数据 TA<sub>100</sub>和 TA<sub>98</sub>均为 1 次试验, TA<sub>97</sub>为 2 次试验, 每次 3 个平行皿。

表 4 灵芝对 MMC 引起的人外周血淋巴细胞 SCE 的影响

AEGL (mg/mL)	MMC (μg/mL)	M II 期 细胞数	SCE 次数 /cell ( $\bar{x} \pm SD$ )	抑制率 (%)
0	0.05	50	36.13 ± 6.04	
25	0.05	45	25.21 ± 5.12 <sup>(1)</sup>	42.44
5	0.05	50	20.08 ± 4.09 <sup>(1)</sup>	62.38
1	0.05	50	17.94 ± 4.26 <sup>(1)</sup>	70.70
25	0.00	45	8.92 ± 3.15 <sup>(2)</sup>	
0	0.00	50	10.40 ± 4.28	

注: 1. 用双侧 t 检验, (1)  $P<0.001$ , (2)  $P>0.2$  (与空白对照组比较)

2. 数据为 2 次试验的平均值。

3. 表中浓度为终浓度。

### 3 讨论

3.1 所用灵芝样品按传统的中药服用方法水煮处理、滤液浓缩后进行试验, 这与实际应用相符。

3.2 用不同的试验材料, 包括哺乳动物、人外周血细胞和原核生物进行试验, 不同的检测方法得到的结果一致, 增加了灵芝有抗突变作用这一结论的可靠性。

3.3 微核试验和 Ames 试验两项结果均显示灵芝的抗突变作用有明显的剂量反应关系。但 SCE 和 CA 两项试验则显示, 虽然灵芝在 1 ~ 25mg/mL 剂量范围内有明显的抑制 SCE

摄入的 MMC 和 BUdR 剂量增加而使 SCE 率增加。(2)另一种可能原因是: 灵芝液能促进 DNA 修复系统的修复作用, 使 MMC 所致的部分非稳定性染色体畸变得得到修复而保存下来, 低剂量组因修复能力弱而使畸变细胞数减少。<sup>[11]</sup> 这些推测有待进一步研究、证

实。

3.4 微核试验和 Ames 试验结果表明,灵芝的抗突变作用呈剂量反应关系,并且降低诱变剂剂量后,灵芝对诱变作用的抑制率明显提高。一般说来,我们生活环境中存在的诱变剂剂量远远低于实验用量,因此,较低剂量的灵芝就有可能起到保护机体免受诱变剂损害的作用,具有一定的实际意义。

近年来,市场上出现了多种灵芝保健饮料和食品,本研究为进一步开发利用灵芝提供了科学依据。

#### 4 参考文献

- 1 Hiroshi Kohda, et al. The Biologically Active Constituents of *Ganoderma Lucidum* (Fr.). *Karst Chem Pharm Bull* 1985, 33(4):1367
- 2 Shin Hea, et al. Studies on Constituents of The Higher Fungi of Korea. Part. XL III. CA, 1986, 4K:105
- 3 Studies on Ignoganic Composition and Immuno-

- potentiating Activity of *Ganoderma Lucidum* in Korea Shin. CA 1986, 19874k, 105
- 4 Kohsuke Kino, et al. Isolation and Characterization of A New Immunomodulatory Protein, Ling Zhi-8(LZ-8), from *Ganoderma lucidum*. *J. Biol. Chem.* 1989, 264(1): 472 ~ 478
- 5 高斌,等. 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
- 6 Yoshiaki Sone, et al. Structure and Antitumor Activities of The Polysaccharides Isolated from Fruiting Body and The Growing Culture of Mycelium of *Ganoderma Lucidum*. *Agric Biol Chem*, 1985,49(9): 2641
- 7 Toshio Miyazaki, et al. Studies on Fungal Polysaccharides XXV II. Structural Examination of A Water-soluble Antitumor Polysaccharide of *Ganoderma Lucidum*. *Chem Pharm Bull*. 1981. 29(12): 3611
- 8 褚方,等. 紫芝多糖对辐射所致小鼠骨髓有核细胞微核效应的防护作用. *辐射防护*. 1988, 8(1): 16
- 9 吴安. *实验生物学报* 1979, 12:31
- 10 黄幸纡,陈若星. *环境化学物致突变、致畸、癌试验方法*. 第一版,浙江:浙江科学出版社, 1984
- 11 Scott, D. et al. *Nature(London)*, 1979, 178: 2756

## 大连地区举办食品生产经营单位培训班

根据国家各科委农科司和卫生部卫生监督司《关于举办全国乡镇食品工业企业卫生管理与检验技术函授培训班的通知》的精神,1991年~1992年大连市卫生防疫站和大连市食品卫生监督检验所联合发文,组织大连地区10个市、县食品卫生监督检验所对所辖地区的食品生产经营者进行食品卫生管理和食品卫生检验技术培训,共培训学员1300名。学员主要为厂长、经理、车间主任、餐厅主任、食堂管理员、卫生专职干部、化验员。主要学习国家的食品卫生法规、食品卫生生产程序和规范、食品卫生知识、食品卫生管理知识、检验技术和检验操作技能。通过学习提高了学员的食品卫生水平,对推动食品生产经营单位搞好自身食品卫生管理起到了良好的推动作用。

(大连市卫生防疫站 孙殿良 供稿)