

## 复合食用真菌多糖对荷瘤小鼠 环磷酰胺 抑制小鼠 T 细胞亚群的影响\*

刘长喜 高 芃 钱嘉林 严卫星

(卫生部食品卫生监督检验所, 北京 100021)

**摘 要:** 为研究复合食用真菌多糖对荷瘤和环磷酰胺抑制小鼠 T 细胞亚群的影响, 采用猴头菇、香菇、茯苓 3 种食用真菌的多糖等比混合作为总多糖, 再按一定比例配以葡萄籽多酚和甘草酸, 制成复合食用真菌多糖, 观察其对荷瘤和环磷酰胺免疫抑制小鼠 T 细胞亚群的影响。结果显示, 荷瘤鼠  $L_3T_4$ 、 $Lyt-2$  细胞百分率以及  $L_3T_4/Lyt-2$  比值均明显下降, 给予复合多糖和香菇多糖有明显的改善作用, 其中复合多糖组恢复到正常小鼠水平。CP 能明显降低正常小鼠的  $L_3T_4$  细胞百分率以及  $L_3T_4/Lyt-2$  比值, 对  $Lyt-2$  作用不明显, 但对荷瘤鼠来说, CP 的治疗作用优于对免疫功能的抑制作用。复合多糖和香菇多糖能明显改善 CP 的毒副作用, 并有一定的协同作用, 复合多糖的作用效果优于单味香菇多糖。

**关键词:** 多糖类 香菇多糖 真菌类 肿瘤 小鼠

中图分类号: R15; S865.1<sup>+</sup>3; Q949.32 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2000)05-0003-04

肿瘤化学治疗的迅速发展, 显著提高了肿瘤的疗效, 但是, 几乎所有的抗癌化学药物在杀伤肿瘤细胞的同时, 也杀伤正常的组织细胞, 尤其是增殖旺盛的骨髓造血细胞及胃肠道细胞。其结果一方面限制了抗癌药物

述真菌多糖的药理作用各有其局限性, 有关复合真菌多糖减缓肿瘤放、化疗毒副作用的研究尚未见报道。鉴于此, 本研究选择猴头菇、香菇、茯苓 3 种食用真菌的多糖等比混合作为总多糖, 再按一定比例配以有很强抗氧化作用的葡萄籽多酚和甘草酸制成复合食用真菌多糖(以下简称复合多糖)<sup>[2, 5, 6]</sup> 研究其对荷瘤鼠以及环磷酰胺(CP)免疫抑制小鼠 T 细胞亚群的影响, 旨在探讨其减轻 CP 毒副作用的效果, 观察与 CP 的协同作用, 为进一步开发研究减轻肿瘤化学治疗毒副作用的新药提供参考。

### 1 材料和方法

#### 1.1 材料

1.1.1 动物 C57BL/6 雄性小鼠, 体重  $18 \pm 2$  g, 随机分组, 每组 13 只, 购自中国医学科学院实验动物中心。

1.1.2 复合多糖的制备 猴头菇多糖、香菇多糖、茯苓多糖购自南京百兴生物工程有限公司, 纯度分别为 65%、70%、53%。三种多糖按等比混合后作为总多糖, 葡萄籽多酚为中国科学院华南植物研究所提供, 其白

\* 国家自然科学基金(No 39840016)资助课题的部分内容

花色素含量大于 90%。甘草酸购自内蒙古甘草制品厂,纯度大于 90%,将多糖、多酚、甘草酸按一定的比例混合,制成该复合多糖,密闭避光保存待用。

1.1.3 抗 T 细胞单克隆抗体 L<sub>3</sub>T<sub>4</sub> Lyt- 2 以及 FITC 兔抗鼠 IgG,购自北京医科大学基础医学学院免疫教研室。

1.1.4 细胞株 S- 180 瘤株由中国医学科学院肿瘤研究所提供。

## 1.2 实验方法

1.2.1 实验分组 本研究设正常对照组、荷瘤模型组(给予等剂量的蒸馏水),复合多糖组(给予 200 mg/kg BW 的复合多糖)以及香菇多糖组(给予 200 mg/kg BW 的单味香菇多糖),同时以上 4 组各另设给予 CP 组。灌胃 3 周后,除正常对照组和正常+ CP 组外,其余 6 组动物的右前腋下接种 5 × 10<sup>6</sup>/mL 0.1 mL S- 180 瘤株,次日开始对正常+ CP、肿瘤+ CP、香菇多糖+ CP、复合多糖+ CP 4 组隔日腹腔注射 50 mg/kg BW 0.1 mL/10 g BW 的 CP,共注射五次,继续灌胃 10 d 后进行检测。

1.2.2 脾脏 T 细胞亚群的检测 采用间接免疫荧光单克隆抗体法。分离脾细胞,用淋巴细胞分层液分离,然后调整细胞浓度为 1 × 10<sup>6</sup> 个/mL,分别加到 3 个试管中,每管 1 mL,其中 1 管为空白对照管,其余两管分别加 100 μL 的 L<sub>3</sub>T<sub>4</sub> Lyt- 2 单克隆抗体,4 °C 孵育 30 min,用 Hanks 液洗 3 遍,加入 100 μL FITC 兔抗鼠 IgG,再放入 4 °C 孵育 30 min,用 Hanks 洗三遍,滴片,在荧光显微镜下计数 200 个荧光细胞,减去空白对照管的该细胞数,求出荧光细胞百分率。

1.2.3 统计分析方法 所有数据均采用 SAS 软件进行方差分析和/或 t 检验处理。

## 2 结果

### 2.1 复合多糖对 L<sub>3</sub>T<sub>4</sub> 细胞百分率的影响(见表 1)

由表 1 可见,荷瘤模型鼠以及 CP 抑制小鼠的 L<sub>3</sub>T<sub>4</sub> 细胞百分率明显下降,复合多糖和香菇多糖均能显著提高两者的 L<sub>3</sub>T<sub>4</sub> 细胞百分率,并与 CP 有一定的协同作用,复合多糖的作用效果明显优于香菇多糖,复合多糖及复合多糖+ CP 组恢复到正常小鼠水平。给予 CP 后荷瘤模型鼠的 L<sub>3</sub>T<sub>4</sub> 细胞百分率明显升高。

### 2.2 复合多糖对 Lyt- 2 细胞百分率的影响(见表 2)

由表 2 可见,荷瘤模型鼠 Lyt- 2 细胞百分率明显下降,给予复合多糖和香菇多糖后均有明显改善,复合多糖以及复合多糖+ CP 组恢复到接近正常小鼠水平。CP 对正常小鼠 Lyt- 2 细胞百分率有抑制的趋势,但无统计学意义。给予 CP 后荷瘤模型鼠的 Lyt- 2 细胞百分率明显升高,但不如复合多糖+ CP 以及香菇多糖+ CP 组明显。复合多糖和香菇多糖与 CP 均有明显的协同作用。

### 2.3 复合多糖对 L<sub>3</sub>T<sub>4</sub>/Lyt- 2 比值的影响(见表 3)

由表 3 可见,荷瘤模型鼠和 CP 免疫抑制小鼠的 L<sub>3</sub>T<sub>4</sub>/Lyt- 2 比值均明显下降,给予复合多糖和香菇多糖后均有明显改善,复合多糖以及复合多糖+ CP 组恢复到正常小鼠水平。复合多糖与 CP 有明显的协同作用。给予 CP 后的荷瘤模型鼠 L<sub>3</sub>T<sub>4</sub>/Lyt- 2 比值有升高的趋势,但是没有统计学意义。

表 1 复合多糖对 L<sub>3</sub>T<sub>4</sub> 细胞百分率的影响 %

	对照组	给予 CP 组
正常组	23.46 ± 2.30 <sup>a</sup>	17.34 ± 2.96 <sup>a,*</sup>
荷瘤模型组	12.32 ± 1.84 <sup>b</sup>	16.15 ± 1.27 <sup>a,*</sup>
香菇多糖组	18.39 ± 1.73 <sup>c</sup>	20.09 ± 2.33 <sup>b,*</sup>
复合多糖组	22.17 ± 1.75 <sup>a,d</sup>	22.67 ± 1.52 <sup>c</sup>

注:同列右上角的字母不同,表示两者有显著性差异;

\* 与同组未给予 CP 组比较有显著性差异( $P < 0.05$ ),下同。

表 2 复合多糖对 Lyt- 2 细胞百分率的影响 %

	对照组	给予 CP 组
正常组	15.27 ± 0.99 <sup>a</sup>	14.39 ± 1.02 <sup>a</sup>
荷瘤模型组	12.20 ± 1.48 <sup>b</sup>	13.58 ± 1.27 <sup>a,*</sup>
香菇多糖组	13.63 ± 1.12 <sup>c</sup>	14.06 ± 0.94 <sup>b</sup>
复合多糖组	14.75 ± 1.21 <sup>a,d</sup>	15.02 ± 1.39 <sup>b</sup>

表 3 复合多糖对 L<sub>3</sub>T<sub>4</sub>/Lyt- 2 比值的影响

	对照组	给予 CP 组
正常组	1.54 ± 0.12 <sup>a</sup>	1.21 ± 0.35 <sup>a,*</sup>
荷瘤模型组	1.04 ± 0.15 <sup>b</sup>	1.19 ± 0.14 <sup>a</sup>
香菇多糖组	1.35 ± 0.23 <sup>c</sup>	1.42 ± 0.33 <sup>a</sup>
复合多糖组	1.52 ± 0.19 <sup>a</sup>	1.51 ± 0.32 <sup>b</sup>

### 3 讨论

#### 3.1 对荷瘤鼠 T 细胞亚群的影响

T 细胞是体内重要的免疫调节和效应细胞,而  $T_H$  细胞和  $T_S$  细胞是免疫调节、免疫监视的核心,两者之间处于相互制约的平衡状态, $T_H$  细胞和  $T_S$  细胞的数目或功能发生改变,两者间的平衡受到破坏,免疫监视功能失调,被认为是肿瘤发生的主要免疫学机制。 $T_H/T_S$  比值的改变与肿瘤的发生密切相关,提高  $T_H/T_S$  比值可明显降低肿瘤的发生。<sup>[7,8]</sup>  $L_3T_4$  及  $Lyt-2$  分别相当于  $CD_4$  及  $CD_8$  分子, $CD_4$  和  $CD_8$  分别存在于诱导一辅助性 T 细胞( $T_H/T_H$ )和抑制性 T 细胞及杀伤性 T 细胞( $T_S/T_c$ )表面。<sup>[9]</sup> 文献报道,肿瘤患者外周血中 NK 细胞、B 细胞、T 细胞和巨噬细胞的活性均有不同程度的降低,而针对肿瘤的放、化疗常加重机体免疫功能的损害,本研究发现荷瘤鼠的  $L_3T_4$  和  $Lyt-2$  细胞百分率均明显下降,但是  $Lyt-2$  下降的幅度比  $L_3T_4$  小,因此, $L_3T_4/Lyt-2$  比值亦明显下降,通过给予复合多糖和香菇多糖后  $L_3T_4$  和  $Lyt-2$  细胞百分率均有明显升高, $L_3T_4$  恢复到接近正常小鼠水平(见表 1-2),香菇多糖组的作用效果远远不及复合多糖组,表明各抗肿瘤作用有效成分相互配伍使用,可增强其提高机体免疫力的作用。虽然复合多糖组和香菇多糖组都能提高  $Lyt-2$  细胞百分率,但是幅度不如  $L_3T_4$  明显,因此  $L_3T_4/Lyt-2$  比值明显升高,复合多糖组的  $L_3T_4/Lyt-2$  比值恢复到正常小鼠水平,表明该复合多糖具有良好的增强机体免疫力的功能,其药理作用可在肿瘤治疗中起重要的辅助作用。

#### 3.2 对 CP 免疫抑制小鼠 T 细胞亚群的影响

CP 属于细胞周期非特异性免疫抑制剂,杀伤肿瘤细胞的治疗效果与剂量呈正相关关系,即增加剂量,疗效也增强,但是大剂量给药时毒性也增加;<sup>[1,2]</sup> 而保健食品的特点是可以长期服用、其作用缓慢,不如药物敏感。可见实验中免疫抑制模型的建立既要避免抑制过重,影响小鼠的健康状态,给进一步实验带来困难;又要符合长期服用的特点,并表现出明显的抑制效果。因此,本研究对 CP 的剂量和给药方式进行了系统的研究后,<sup>[10]</sup> 认为给药量以 30~80 mg/kg BW 0.1 mL/10 g BW 较为理想。实验结果显示,本研究所建立的 CP 免疫抑制模型小鼠的  $L_3T_4$  细胞百分率以及  $L_3T_4/Lyt-2$  比值与正常组比较显著下降,小鼠的健康状态良好,表明 CP 免疫抑制模型成立。 $Lyt-2$  细胞百分率虽然有下降的趋势,但无统计学意义,说明 CP 对  $Lyt-2$  细胞不敏感,佐证  $L_3T_4$  细胞在抗肿瘤免疫中是最为关键的效应细胞。<sup>[7,8,11]</sup>

荷瘤鼠经 CP 治疗后, $L_3T_4$  细胞百分率明显升高,与荷瘤模型组比较  $P < 0.05$ ,但与正常+CP 组比较无显著性差异,说明 CP 虽然对小鼠免疫功能有一定的抑制作用,但针对荷瘤鼠的治疗作用却明显大于其毒副作用。复合多糖和单味香菇多糖均能减轻 CP 的毒副作用,而且不影响 CP 的疗效,给予复合多糖+CP 后,荷瘤鼠的  $L_3T_4$  细胞百分率和  $L_3T_4/Lyt-2$  比值均恢复到正常小鼠水平,表明该复合多糖的药理作用可在减轻肿瘤化疗毒副作用方面起良好的辅助作用。香菇多糖虽然也能改善 CP 对小鼠免疫功能的抑制作用,但作用效果不如复合多糖明显,进一步证明了不同来源抗肿瘤作用有效成分相互配伍具有相互协同的作用。

综上所述,复合多糖作为免疫增强剂具有明显提高荷瘤鼠  $L_3T_4$  细胞百分率以及  $L_3T_4/Lyt-2$  比值的作用,能减轻或改善 CP 的毒副作用,并与 CP 有一定的协同作用。不同来源的抗肿瘤作用有效成分配伍使用是开发研究抗肿瘤医药保健品不可忽视的新途径。

#### 参考文献:

- [1] 李振,许德顺,王化洲,等.恶性肿瘤的化学治疗与免疫治疗[M].北京:人民卫生出版社,1994
- [2] 赵长琦,许有玲,王亚洲.抗肿瘤植物药及其有效成分[M].中国中医药出版社,1997,138~146
- [3] 内田浩二.食品成分による发癌预防酵素群の诱导[J].“ガン预防食品の開発”,1995,37~45
- [4] 大泽俊彦.がんを防ぐ52の野菜[M].日本:株式会社法研,1994,21~32
- [5] 大东肇.未知の「がん预防」成分の检索[J].“がん预防食品の開発”,1995,292~299
- [6] 柏洁,蔡定芳.中医药对放化疗免疫抑制的影响[J].中国中西医结合杂志,1999,19(2):124~126
- [7] 杜维霞,刘秀敏,赵乃坤.复方洋参多糖免疫增强剂对荷瘤和辐射小鼠 T 细胞亚群的影响[J].中国实验临床免疫学杂

志, 1997, 9(4): 58~ 61

- [ 8] 苏燎原, 田海林, 徐映东, 等. 淋巴细胞亚群的 NK 活性及低剂量辐射对其影响[ J]. 癌症, 1997, 16(2): 95~ 97
- [ 9] 大泽俊彦. フードケミカル(食品化学)[ J]. 食品成分的机能判定, 1997, 4(1): 62~ 67
- [ 10] 刘长喜, 钱嘉林, 高 , 等. 保健食品减缓肿瘤放疗毒副作用功能评价方法的建立[ J](待发).
- [ 11] Aggarwal B, Kohr J, Hass E, et al. Human tumor necrosis factor[ J]. J Biol Chem, 1998, 260(4): 2345

**The effects of the compound of edible fungus polysaccharides on T cell groups inhibited by tumor and CP in mice/ Liu Changxi, Gao Peng, Qian Jialin, et al. // Chinese Journal of Food Hygiene. – 2000, 12(5): 3~ 6**

The effects of compounds of edible fungus polysaccharides(CEFP) i. e. *hericium erinaceus*, *lentinus edodes* and *poria cocos* with equal ratio, with procyanidins oligomers and glycyrrhetic acid with certain ratio on mice T cell suppressed by tumour and CP was observed. The results showed that the percentage of  $L_3T_4$ ,  $lyt-2$  and  $L_3T_4/lyt-2$  in S-180 group dropped significantly, which were improved by CEFP and saccharides *lentinus edodes* and the CEFP group recovered to normal control. It also showed that CP decreased the ratio of  $L_3T_4/lyt-2$  and the  $L_3T_4$  level, but had no effects on  $lyt-2$ . It was found that therapy effects of CP on tumor mice was effective except for its immunity inhibition. CEFP and saccharides *lentinus edodes* could resist the negative effects of CP significantly and had concord effects. CEFP effects were better than that of saccharides *lentinus edodes* only, which showed the importance of the compounds of antitumor effective substance.

**Author's address** Liu Changxi, Institute of Food Safety Control and Inspection, Ministry of Health, Beijing 100021 PRC.

**Key words** Polysaccharides Lentinan EUMYCOPHYTA Neoplasms Mice

## 卫生部司(局)文件

卫法监食发[2000]73号

### 卫生部法监司关于立即查处健男胶囊的紧急通知

各省、自治区、直辖市卫生厅(局):

最近,我部在组织保健食品监督检查中,发现生产批号为 990204 的健男胶囊(由辽宁凌海保健品公司申报和生产,批准文号:卫食健字[1997]第 486 号,批准的保健功能:抗疲劳)在其包装及产品说明书中擅自将适宜人群更改为“成年男性,尤适用于性功能减退(阳痿、早泄、遗精等),腰膝酸痛、神疲乏力、心悸失眠等男性人群”,并宣传“具有明显增加和改善性功能”作用等,严重误导和欺骗了消费者,违反了《中华人民共和国食品卫生法》和《保健食品管理办法》的有关规定和《卫生部关于制止保健食品夸大宣传保健功能的紧急通知》(卫机发(99)29 号)的要求。为保证广大群众的健康,规范保健食品生产经营活动,现紧急通知如下:

一、各地卫生行政部门在接到通知后,立即组织对“健男胶囊”进行查处,该产品生产企业所在地卫生行政部门应依照《食品卫生法》四十五条的规定,吊销生产企业的保健食品卫生许可证。各地的查处结果请于 2000 年 7 月 30 日前函报我司。

二、各地卫生行政部门要与新闻和工商管理部门密切配合,坚决制止保健食品的夸大宣传行为。同时要根据《食品卫生法》、《保健食品管理办法》和其他有关规定,加强对保健食品的监督检查工作,促进保健食品行业的健康发展。

卫生部卫生法制与监督司

二 000 年七月六日