

硫磺菌菌丝体粗多糖对小鼠 Lewis 肺癌的体内抑制

闫梅霞^{1,2}, 关一鸣², 胡清秀^{1*}, 张 瑞², 王英平², 杨元超²

(¹中国农业科学院农业资源与农业区划研究所, 北京 100081 ²中国农业科学院特产研究所, 吉林吉林 132109)

摘 要: 对硫磺菌(*Laetiporus sulphureus*)液体发酵菌丝粗多糖进行体内抗肿瘤研究, 结果表明: 硫磺菌粗多糖对 Lewis 肺癌的体内最大抑制作用为 35.7%, 粗多糖组对胸腺和脾脏的影响显著小于环磷酰胺。

关键词: 液体发酵; 粗多糖; 抗肿瘤

硫磺菌(*Laetiporus sulphureus*)属多孔菌科, 硫磺菌属^[1], 别名硫磺多孔菌、硫色多孔菌、黄芝, 是一种食药兼用大型真菌。目前对硫磺菌的研究报道较少^[2,3], 本研究通过液体发酵培养得到菌丝体, 对菌丝体进行粗多糖提取, 以粗多糖为材料进行小鼠 Lewis 肺癌的体内抑制作用实验, 研究硫磺菌粗多糖对肿瘤的体内抑制作用^[4,5], 为其抗肿瘤研究提供基础。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

硫磺菌(*L. sulphureus*)菌种保存于中国农业科学院农业资源与农业区划研究所食用菌研发中心。

供试小鼠为 C57 纯系小鼠, 雄性, 18~ 22 g, 由北京力科爱达生物技术咨询服务提供, 合格证号 scxk2004-0001。实验瘤株为 Lewis 肺癌瘤株, 购自中国医学科学院动物研究所。

环磷酰胺, 山西普德药业有限公司生产, 批号: 20061102。

液体培养基配方: 葡萄糖 30 g, 豆粉 20 g, 玉米粉 10 g, 酵母提取物 5 g, CaCO₃ 2.0 g, KH₂PO₄ 1.0 g, MgSO₄ 0.5 g, 水 1 000 mL, 用于硫磺菌菌丝液体培养。

1.2 方 法

1.2.1 硫磺菌的液体培养和菌丝体粗多糖提取

保藏的硫磺菌菌种在 PDA 平板上活化后接种于液体培养基中, 200 r/min、24 ℃、黑暗条件

下培养 15 d, 培养物离心(4 100 g, 5 min)后弃上清, 取菌丝体沉淀物冷冻干燥、粉碎, 菌丝体粉经 95 ℃热水(1 g/10 mL)浸提 3 次, 过滤合并浸提液减压浓缩至原体积 1/4, 3 倍乙醇沉淀, 离心(4 100 g, 5 min), 取沉淀物冷冻干燥获得醇沉菌丝体粗多糖粗提取物。

1.2.2 小鼠肿瘤模型建立

将接种 Lewis 肺癌 7 d 后生长良好的 C57 荷瘤小鼠脱颈处死, 无菌条件下选取生长良好的瘤组织, 加生理盐水于细胞研磨器研磨, 稀释成每毫升 2.5×10⁷ 个的细胞悬液, 接种于实验小鼠腋下, 接种量为每只 0.2 mL。

1.2.3 抑瘤实验

接种后的小鼠随机分为 5 组, 每组 10 只, 分别为空白对照组, 阳性对照组, 粗多糖高、中、低剂量组。小鼠接种瘤细胞悬液 24 h 后按每只每日 0.2 mL 的量开始灌胃给药, 连续给药 9 d, 第 10 天脱颈处死小鼠, 分别取瘤结、胸腺、脾脏称重。

CK1 —— 阴性对照组, 生理盐水;

CK2 —— 阳性对照组, 环磷酰胺(30 mg/mL);

C1 —— 硫磺菌粗多糖低剂量组(50 mg/mL);

C2 —— 硫磺菌粗多糖中剂量组(100 mg/mL);

C3 —— 硫磺菌粗多糖高剂量组(200 mg/mL)。

抑瘤率= (C- T)/C × 100%

C: 为空白对照组平均瘤重

T: 为实验组平均瘤重

胸腺或脾脏指数= 胸腺或脾脏质量/ 体重

实验数据用 SPSS11.0 软件进行分析。

收稿日期: 2010-10-27 原稿; 2011-01-12 修改稿

基金项目: 由国家现代食用菌产业技术体系的岗位专家专项经费资助

作者简介: 闫梅霞(1982-), 女, 2008 年毕业于中国农业科学院研究生院, 硕士, 研究实习员, 主要从事中药生物转化方面研究。

* 本文通讯作者 E-mail: qinqinzr@163.com

2 结果与分析

2.1 菌丝体粗多糖对荷瘤小鼠抑瘤率、胸腺指数、脾脏指数的影响

在抑瘤率方面, 效果最好的是阳性对照组, 硫磺菌粗多糖各剂量组抑瘤率均明显高于阴性

对照组, 说明硫磺菌粗多糖对 Lewis 肺癌实体瘤具有显著抑制作用, 其中抑瘤效果最好的是中剂量组(35.7%), 其次是低剂量组(17.7%), 最低的是高剂量组(12.5%); 各剂量组抑瘤率差异显著, 表明硫磺菌粗多糖的抑制作用与剂量有关, 剂量过低或过高均不能达到最佳抑制效果。

表 1 硫磺菌粗多糖对荷瘤鼠各指标影响

Table 1 Effect of *L. sulphureus* crude polysaccharide on Lewis lung cancer mice

组别 Test group	剂量 Dose (mg/mL)	平均瘤重 Tumor weight (g)	抑瘤率 Inhibition rate (%)	胸腺指数 Thymus index (mg/mL)	脾脏指数 Spleen index (mg/mL)
阴性对照* Negative control*	-	2.8±0.8	0 a	0.8±0.2 a	12.5±2.5 a
阳性对照** Positive control**	30	0.3±0.2	87.9 d	0.5±0.1 b	2.0±0.3 b
C1	50	2.3±0.4	17.7 b	0.7±0.2 a	12.3±1.7 a
C2	100	1.8±0.3	35.7 c	0.7±0.2 a	12.1±1.9 a
C3	200	2.5±0.4	12.5 b	0.7±0.3 a	12.4±1.7 a

* 阴性对照为生理盐水; ** 阳性对照为环磷酰胺; 数据代表 10 只小鼠平均值±SD; 不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著

* Physiological saline; ** cyclophosphamide. Values represent the mean of 10 mice ±SD; different lower case letters represents a significant difference at P 0.05

在胸腺和脾脏指数方面, CK1 与 CK2 差异显著; 不同剂量粗多糖组间、粗多糖组与 CK1 间差异不显著, 但与 CK2 之间差异显著, 说明硫磺菌粗多糖对胸腺和脾脏的影响小于阳性对照药物。

2.2 菌丝体粗多糖对小鼠体重变化的影响

从图 1 数据可以看出, 尽管阳性对照用药的抑瘤率很高, 但也会导致小鼠体重持续下降, 对机体损伤较大; 阴性对照在初期(1~6 d)体重稳

定上升, 但之后体重迅速下降, 可能由于肿瘤细胞对机体的影响开始显现; 不同剂量硫磺菌粗多糖处理组的变化趋势一致, 小鼠体重初期(1~3 d)下降, 之后呈稳定上升状态, 说明粗多糖可以改善荷瘤小鼠的体重降低状况。综合比较, 粗多糖组在体重变化上优于空白组和阳性组, 说明粗多糖在抗肿瘤, 抑制肿瘤生长作用的同时, 有效的对抗荷瘤鼠体重的下降, 可以增强荷瘤鼠的体质。

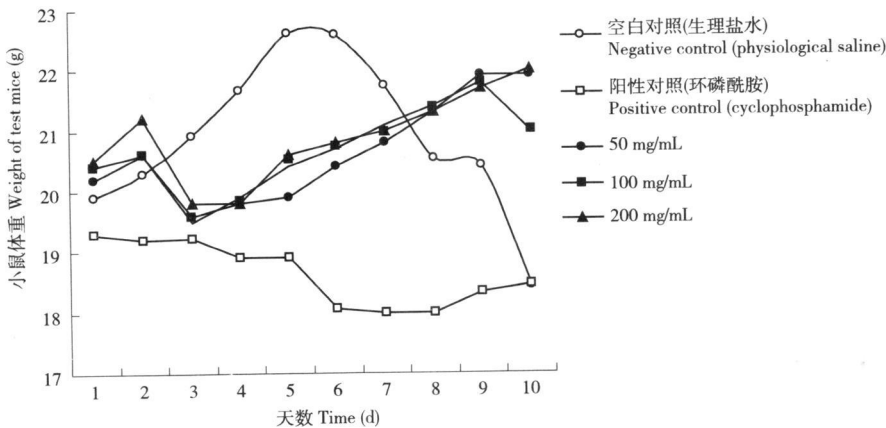


图 1 不同粗多糖处理小鼠的体重变化

Fig. 1 Weight changes in Lewis lung cancer mice administered different doses of *L. sulphureus* crude polysaccharide

3 小结

硫磺菌目前主要是野外采集,得到的子实体数量有限,质量参差不齐,且驯化困难,采用液体发酵技术进行研究不受季节、地区等限制,又可得到质量稳定的产物,可以加快硫磺菌的开发利用速度。

本研究表明硫磺菌粗多糖对 Lewis 肺癌实体瘤具有抑制作用,抑瘤率从高到低依次是中剂量组> 低剂量组> 高剂量组,表明抑制作用与剂量密切相关;此外,硫磺菌粗多糖可以保护小鼠胸腺和脾脏,且有助于减轻荷瘤小鼠的体重降低,在一定程度上增强小鼠体质。

参考文献

- [1] 卯晓岚. 中国大型真菌[M]. 郑州: 河南科学技术出版社, 2000.
- [2] 卢东升, 贾晓, 罗春芳. 硫磺菌生物学特性研究[J]. 中国食用菌, 2009, 28(5): 10-11.
- [3] 吴锡鹏. 硫磺菌驯化初报[J]. 中国食用菌, 1993, 12(1): 14.
- [4] 莫开菊, 谢笔钧, 龚晨睿. 葛仙米多糖体内抑瘤及对免疫的影响[J]. 食品科学, 2008, 29(4): 392-396.
- [5] 白晨, 王淑珍, 杨家峰. 灵芝- 松茸共效多糖抗肿瘤活性实验的比较研究[J]. 微生物学通报, 2004, 31(5): 76-80.

Antitumor Activity of Crude Polysaccharide from *Laetiporus sulphureus*

YAN Meixia^{1,2}, GUAN Yiming², HU Qingxiu^{1*}, ZHANG Rui²,
WANG Yingping², YANG Yuanchao²

(¹Institute of Agricultural Resources and Regional Planning, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China; ²Institute of Special Wild Economic Animal and Plant Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Jilin, Jilin 132109, China)

Abstract: The antitumor activity of crude polysaccharide from *Laetiporus sulphureus* mycelium grown in submerged culture was determined using Lewis lung cancer-bearing mice as the test model. Inhibitory effects on tumor growth were highest (35.7%) in mice administered 100 mg/mL of crude polysaccharide. However, spleen and thymus indices and animal weights were significantly higher in polysaccharide-treated mice compared to positive control mice administered cyclophosphamide.

Key words: Submerged culture; crude polysaccharide; antitumor activity

[本文编辑] 曹 晖