

安络小皮伞多糖的提取及其免疫调节作用研究 (摘要)

王惠国 指导教师: 关洪全 教授

(辽宁中医药大学基础医学部, 辽宁 沈阳)

摘要

中医对菌类本草的认识, 是依据中医药的理论体系来阐述的, 由于菌类本草具有独特的调理先天之本“肾”和后天之本“脾”的作用, 所以受到了不少中医药学者的重视与运用。菌类本草中不少药物具有“扶正补虚”的作用, 可广泛运用于精神不振、身倦体乏、咳嗽咳血、气短自汗、畏寒肢冷、久病虚羸、舌淡、脉沉细无力等气虚、阳虚、血虚、阴虚、阴阳俱虚的患者。安络小皮伞是一种分布于我国吉林、辽宁等地的担子菌纲真菌, 是一种长期被民间食用和药用的菌类本草。本研究以安络小皮伞多糖 (*Marasmius androsaceus polysaccharide*, MAP) 粗品为原料, 进行免疫活性多糖的提取、纯化并对分离纯化得到的各个安络小皮伞多糖组分进行了免疫活性评价, 筛选出具有明显免疫活性的安络小皮伞多糖组分MAP₆₀。在此基础上, 就MAP₆₀对免疫抑制小鼠非特异性免疫、特异性免疫功能的影响进行了研究, 并采用分子生物学技术手段研究其免疫调节作用机制。

1 安络小皮伞多糖的提取工艺研究

目的: 安络小皮伞多糖最佳提取条件的确定。

方法: 相关研究表明, 影响多糖提取率的主要因素有乙醇浓度、提取温度、提取时间等。

为确定安络小皮伞水溶性多糖的最佳提取条件, 本实验首先采用乙醇浓度为 60% ~ 100%, 水提温度为 50°C ~ 90°C, 水提时间为 1h ~ 5h, 进行单因素试验, 以确定提取条件范围。根据单因素实验结果, 将醇沉浓度、水提

温度、水提时间三项作为考察因素, 进行响应面分析, 确定最佳提取条件。对提取到的粗多糖继续进行纯化, 再对纯化后多糖进行乙醇分级, 得到 3 个安络小皮伞多糖组分: MAP₄₀、MAP₆₀、MAP₈₀。

结果: 通过单因素试验和响应面分析, 确定了安络小皮伞多糖的最佳提取条件: 醇沉浓度为 90%、水提温度为 80°C、水提时间为 5h。

结论: 当采取最佳的提取条件提取安络小皮伞多糖时, 此时安络小皮伞多糖得率最高, 可以达到 51.44%。

2 安络小皮伞多糖免疫活性组分的筛选

目的: 对安络小皮伞多糖中具有免疫调节作用的组分进行筛选。

方法: 对MAP₄₀、MAP₆₀、MAP₈₀组分进行体外免疫活性测定, 分别检测其对T淋巴细胞、B淋巴细胞、腹腔巨噬细胞增殖能力的影响。

结果: MAP₄₀对T淋巴细胞、B淋巴细胞、腹腔巨噬细胞增殖作用不明显, MAP₆₀、MAP₈₀均具有协同有丝分裂原促进T淋巴细胞增殖并提高腹腔巨噬细胞增殖的功能。

结论: MAP₆₀、MAP₈₀是MAP的免疫活性组分。考虑到提取成本及多糖含量等因素, 选取MAP₆₀组分继续深入研究其免疫活性。

3 MAP₆₀免疫活性研究

目的: 检测MAP₆₀的免疫活性。

方法: 采取皮下注射环磷酰胺的方法诱导免疫抑制模型。用非特异性免疫及体液免疫、细胞免疫的相关指标, 评价MAP₆₀对环磷酰胺诱导的免疫功能低下小鼠免疫功能的影响。

结果：皮下注射环磷酰胺后，小鼠的非特异性免疫、细胞免疫和体液免疫功能均有所抑制。免疫抑制小鼠腹腔注射MAP₆₀后，MAP₆₀可以增强免疫抑制小鼠非特异性免疫功能如提高吞噬细胞的吞噬功能、提高免疫抑制小鼠脾指数、提高免疫抑制小鼠淋巴细胞水平；增强免疫抑制小鼠的细胞免疫功能如提高迟发超敏反应能力和淋巴细胞转化率；增强免疫抑制小鼠的体液免疫功能如提高抗体分泌水平。

结论：MAP₆₀可以提高免疫抑制小鼠的非特异性免疫、细胞免疫、体液免疫功能，能有效拮抗环磷酰胺对小鼠免疫功能的抑制作用。

4 MAP₆₀ 免疫调节作用机制的探讨

目的：从分子和基因水平分析MAP₆₀的作用机制。

方法：采用酶联免疫吸附实验对免疫抑制

小鼠血清及淋巴细胞培养液中IL-1、IL-2、TNF- α 、IFN- γ 的分泌水平进行检测，通过反转录聚合酶链反应检测MAP₆₀对免疫抑制小鼠脾细胞中IL-2 m RNA、IFN- γ m RNA和腹腔巨噬细胞中IL-1 m RNA、TNF- α m RNA表达的影响。

结果：MAP₆₀可以提高IL-1、IL-2、TNF- α 、IFN- γ 在外周血中和免疫细胞培养上清液中的水平，提高腹腔巨噬细胞中IL-1m RNA、TNF- α m RNA的表达，提高小鼠脾细胞中IL-2m RNA、IFN- γ m RNA的表达。

结论：MAP₆₀在转录水平促进细胞因子的分泌和表达可能是其发挥免疫调节作用的部分机制。

关键词：安络小皮伞多糖；提取工艺；MAP免疫活性组分筛选；MAP₆₀免疫活

