

金钗石斛与枸杞子提取物复方对免疫功能和胃黏膜影响的研究

于佳玉, 李杰

幸福驿栈(广州)科技发展有限公司, 广东广州

摘要: 为了研究金钗石斛与枸杞子提取物复方对免疫功能和胃黏膜的影响; 并采用Con A诱导小鼠淋巴细胞转化试验及溶血实验等测试其免疫功能; 用小鼠腹腔巨噬细胞对鸡红血球进行吞噬实验, 检测其对机体的免疫功能。经过研究发现, 金钗石斛和枸杞复合物能显著增加小鼠脾脏中的淋巴细胞增殖能力、溶血空斑数量、小鼠抗体生成量, 并使巨噬细胞吞噬红细胞能力增强。金钗石斛与枸杞子提取物复方对正常小鼠的免疫功能有明显的增强作用。结果还表明, 与空白对照组比较, 金钗石斛与枸杞子提取物复方高剂量组和低剂量组都能够明显降低胃黏膜损伤指数, 金钗石斛与枸杞子提取物复方具有显著的胃黏膜保护作用。

关键词: 金钗石斛; 枸杞子; 复方; 免疫; 胃黏膜

Study on the Effects of Dendrobium and Wolfberry Extract Compound on Immune Function and Gastric Mucosa

Jiayu Yu, Jie Li

Xingfu Yizhan (Guangzhou) Science and Technology Development Co., Ltd., Guangzhou, Guangdong

Abstract: The aim is to study the effects of dendrobium and wolfberry extract on immune function and gastric mucosa. The immune function was tested by Con A-induced mouse lymphocyte transformation test and hemolysis test. Mouse peritoneal macrophages were used to test the phagocytic function of chicken erythrocytes. It was found that Dendrobium and wolfberry complexes could significantly increase the proliferation of lymphocytes, the number of hemolytic plaques, the production of antibodies in mice, and enhance the ability of macrophages to phagocytically phagocyte erythrocytes. The combination of Dendrobium autrinale and wolfberry extract had a significant effect on the immune function of normal mice. The results also showed that compared with the blank control group, both the high-dose and low-dose groups of Dendrobium australis and wolfberry extract could significantly reduce the gastric mucosal damage index, and the combination of Dendrobium goldenium and wolfberry extract had a significant protective effect on the gastric mucosa.

Keywords: Dendrobium nobile Lindl; Goji berries; Compound; Immunity; Gastric mucosa

金钗石斛 (*Dendrobium nobile* Lindl) 又名: 万丈须、金钗石、扁金钗、扁黄草、扁草, 为多年生草本, 因形像古代头上的发钗而得名。茎丛生, 上部稍扁而稍弯曲上升, 高10~60厘米, 粗达1.4厘米。喜在温暖, 潮湿, 半阴半阳的环境生长。石斛原产地主要分布于亚洲热带和亚热带, 澳大利亚和太平洋岛屿, 石斛兰属是兰科植物中最大的一个属, 全世界约有1000多种石斛。中国约有76种, 其中大部分分布于西南、华南、台湾等地。金钗石斛是我国传统的名贵中药, 在“神农本草经”中列为上品^[1]。中医医理及现代医学的研究显示, 石斛具有增强机体免疫力, 延缓衰老, 抑制肿瘤, 补五脏虚劳, 降血脂, 降血压等功效^[2, 3]。枸杞又名苟起子、枸杞红实、甜菜子等, 是茄科枸杞属落叶灌木植物, 果实称枸杞子, 嫩叶称枸杞头, 是商品枸杞子、宁夏枸杞、中华枸杞等属下物种的统称。主要分布于我国河南、东北、河北、山西、陕西、宁夏、甘肃南部、青海东部以及西北、西南、华中、华南和华东各省区; 朝鲜, 日本, 欧洲有栽培或逸为野生。常生于山坡、荒地、丘陵地、盐碱地、路旁及村边宅旁。我国枸杞著名产地为宁夏及青海。在我国除普遍野生外, 各地也有作药用、蔬菜或绿化栽培。枸杞味甘、性凉, 含有大量多糖和其他活性化合物, 对人体多有裨益: 延缓衰老、壮阳、美白养颜、养肝明目、补虚生精、抑癌防癌。大量体外及动物实验研究表明枸杞子具有显著的免疫增强和胃黏膜保护作用。枸杞性甘、平, 归肝肾经, 常与熟地、菊花、山药、山萸肉、等药同用。金钗石斛与枸杞合用, 能更好地发挥防治作用。本研究的目的在于观察中药复方对小鼠免疫功能及胃黏膜损害的作用。

1 材料和方法

1.1 主要试剂

RPMI1640培养液, HyClone; 琼脂糖, GENE COMPANY LTD; 刀豆蛋白 (ConA), aladdin。小牛血清, Gibco; 2%绵羊红细胞 (SRBC), 平睿生物科技 (北京) 有限公司; SRBC, 南

京茂捷微生物科技有限公司;

1.2 主要仪器

XDS-1B显微镜, 重庆光电仪器有限公司; HERA cell 150i CO₂培养箱, 美国Thermo Electron公司; NU-430-400E超净工作台, 美国NUAIRE; LD5-2A离心机, 北京医用离心机厂; UV1750分光光度计, 日本岛津。

1.3 实验动物

Wistar大鼠, 体重200-220g, 雄性; BALB/c小鼠, SPF级, 初始体重18-20g, 雌性; 二者皆由南京市江宁区青龙山动物繁殖场获得。

1.4 免疫实验的动物分组与给药方法

30只小鼠被随机分为3个组, 即阴性对照组和高、低剂量组^[4]。课题组经前期研究得到了复合制剂最优配比, 即按照5:3的比例混合金钗石斛水提取物与枸杞子水提取物。根据成年人每天建议摄入量, 分别以高剂量 (0.4g/kg) 和低剂量 (0.2g/kg) 灌胃小鼠, 每剂量10只, 给药体积均为0.1mL/10g BW。以等量蒸馏水为阴性对照组, 每组给予对应用药, 每日一次, 共30天。

1.5 免疫实验方法

(1) Con A诱导的小鼠脾淋巴细胞转化试验——MTT法

按照中国卫生部颁布的《保健食品检验与评价技术规范 (2003年版)》 (以下简称《规范》) 中的“脾脏悬液”、“淋巴细胞增生反应”等内容, 开展了一项新的研究。OD值最后用570nm的UV分光光度计方法测定。

(2) 抗体生成细胞检测试验——Jerne改良玻片法

按《规范》要求, 将薄层琼脂糖涂于洁净的玻片上, 干燥后可作长时间贮存。制备脾脏悬液, 计算溶血空斑的数量^[5]。

(3) 血清溶血素的测定试验——血凝法

按《规范》的要求, 将血清的分离和凝集反应

分为两个步骤。将0.2mL的2% (v/v) 压积的SRBC细胞悬浮液注入小鼠腹腔内进行免疫。4天后，将眼内的血挖出，用离心管分离，待血清完全沉淀后，采集血清。以此探讨小鼠血清血球在不同稀释度下的聚集情况。

(4) 小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞试验——滴片法

每张片计数100个巨噬细胞，吞噬率的意义是每100个巨噬细胞中，吞噬鸡红细胞的巨噬细胞所占的百分率；吞噬指数为平均每个巨噬细胞吞噬鸡红细胞的个数。(按照《规范》的要求，在试验开始4天前，将0.2mL的压积绵羊血红细胞注入小鼠腹腔内。取干净的玻片进行编号，在40×光镜下计算小鼠的吞噬率及吞噬指数，每一份玻片记录100个巨噬细胞。计算公式如下。

$$\text{吞噬百分率}(\%) = \frac{\text{吞噬鸡红细胞的巨噬细胞数}}{\text{吞噬鸡红细胞的巨噬细胞数}} \times 100$$

$$\text{吞噬指数} = \frac{\text{被吞噬的鸡红细胞总数}}{\text{计数的巨噬细胞数}}$$

1.6 提取物复合物对乙醇诱导大鼠胃损伤保护作用的研究

本次实验的胃黏膜损伤模型按照原先报道的文献方法即纯乙醇诱导法进行[6]。随机将Wistar大鼠分为4组，各组8只。分为对照组、模型组、石斛-枸杞提取物复合物实验治疗组(300mg/kg、150mg/kg)。治疗组大鼠每天1次，连续灌胃30天。第31天(不含空白对照组)禁食24小时后，将乙醇给予大鼠(1mL/只)得到胃黏膜损伤大鼠模型。模型组与对照组大鼠在灌胃期间给予生理盐水。1小时后用乙醚麻醉大鼠。为了对胃部进行病理检查，对大鼠进行安乐死，在较短时间内取出胃后沿着大弯部位切开，并用冷盐水冲洗，之后进行病理检查、拍照。为了进行生物化学检测，从取出的胃上切下一块并浸入生理盐水。-80℃贮存，待用。

实验中对于各组大鼠胃黏膜损伤程度的鉴定采用肉眼观察法，对于大鼠胃组织损伤条带横纵的确定采用游标卡尺测量法[7]，计算损伤指数(UI)。计算规则为：1个出血点计1分；不同范围的出血长度计不同

的分数，1~5mm计1分，6~10mm计2分，10~15mm计3分，大于15mm计4分；不同范围的出血宽度计不同的分数1~2mm计1分，大于2 mm计2分。总分=出血点得分+出血长度得分+(出血宽度得分×2)。

1.7 实验数据统计方法

采用SPSS statistics24.0软件进行单因素方差分析(ANOVA)和回归方程分析[8]，结果以平均值±标准偏差表示，显著水平为P<0.05。

2 结果与讨论

2.1 提取物复方对小鼠ConA诱导的小鼠脾淋巴细胞转化的影响

该复方提取物对ConA所致小鼠脾脏内淋巴细胞转化作用如表1所示；结果显示，复方高、低剂量组均能显著增强小鼠脾脏中的淋巴细胞的增殖活性，可判定为阳性(P<0.01)

表1. 对小鼠脾淋巴细胞增殖能力的影响 ($\bar{X} \pm S$, n=10)

组别	剂量 (g/kg)	光密度差
阴性对照组	蒸馏水	0.118±0.039
高剂量组	0.4	0.397±0.051**
低剂量组	0.2	0.318±0.053**

注：与阴性对照组比较，**P<0.01。

2.2 提取物复方对小鼠抗体生成细胞的影响

提取复方对小鼠抗体生成细胞的影响见表2，溶血空斑是由补体介导的透明溶血区域，通过溶解周围SRBC形成，是反映体液免疫机能的一个经典试验。金钗石斛复合制剂高、低剂量组均可使小鼠溶血空斑数量显著增加(P<0.01)，并可判断为阳性。

表2. 对小鼠溶血空斑数的影响 ($\bar{X} \pm S$, n=10)

组别	剂量 (g/kg)	溶血空斑数 (空斑数/全脾细胞数)
阴性对照组	蒸馏水	41±4
高剂量组	0.4	58±2**
低剂量组	0.2	57±4**

注：与阴性对照组比较，**P<0.01。

2.3 提取物复方对小鼠血清溶血素的影响

提取物复方小鼠血清溶血素实验结果见表3，结果显示，各提取物组的高、低剂量组都能增加抗

体产物的含量 ($P<0.01$)。因为抗体产品值较大表示其血清中的抗体含量较高,所以,如果试验样本群中的抗体含量比对照样本中的要高,就可以判断为阳性。

表3. 对小鼠抗体积数的影响 ($\bar{X}\pm S$, $n=10$)

组别	剂量 (g/kg)	抗体积数值
阴性对照组	蒸馏水	100.3±6.1
高剂量组	0.4	118.1±5.3**
低剂量组	0.2	116.3±6.1**

注: 与阴性对照组比较, ** $P<0.01$ 。

2.4 提取物复方对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞的影响

巨噬细胞的活性和功能是机体免疫机能的一个重要表现和标志,将巨噬细胞、鸡红细胞共同培养孵育,观察到的结果可反映机体的免疫能力。复方小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞试验结果见表4,经数据分析表明,与阴性对照组比较,金钗石斛复方高剂量组和金钗石斛复方低剂量组皆表现出对小鼠巨噬细胞吞噬鸡红细胞能力的提升[9],统计结果有差异性 ($P<0.01$)。

表4. 对小鼠巨噬细胞吞噬鸡红细胞的吞噬能力的影响
($\bar{X}\pm S$, $n=10$)

组别	剂量 (g/kg)	吞噬率 (%)	吞噬指数
阴性对照组	蒸馏水	25.8±2.7	0.33±0.04
高剂量组	0.4	31.9±2.3	0.44±0.03
低剂量组	0.2	33.8±3.0**	0.43±0.06**

注: 与阴性对照组比较, ** $P<0.01$ 。

2.5 提取物复方对大鼠胃黏膜的作用

本研究以大鼠为模型,建立乙醇致胃黏膜损伤模型,考察了中药提取物对大鼠胃黏膜损伤的影响,观察两种中药的配比规律。结果显示,空白对照组大鼠的胃黏膜颜色呈淡红色,表面平滑而富有弹性,未见明显损害。经乙醇灌胃后的大鼠腹腔镜下可见明显的粘膜糜烂、线状出血带、水肿和暗棕色条索状溃疡。经比较,复方提取物处理组的大鼠其胃黏膜损伤情况远低于模型对照组,同时复方提取物也降低了胃组织的出血条带

和出血点的数量。

由表5可知,复方提取物对大鼠胃黏膜的保护效果优于模型组。本课题组通过对大鼠胃黏膜进行UI分析,发现中药复方高、低剂量组均能明显减轻乙醇诱导的胃黏膜损伤,且两者均有显著性 ($P<0.05$)。

表5. 各组大鼠胃黏膜损伤指数

分组	损伤指数UI
复方提取物低剂量组	22.7
复方提取物高剂量组	19.3
模型组	33.8

3 小结

金钗石斛-枸杞复合物高剂量组和低剂量组均能显著促进小鼠脾脏内淋巴细胞的增殖,并与正常对照组相比,具有显著性 ($P<0.01$),从而判断其细胞免疫结果为阳性。在抗体生成细胞检测(Jerne改良玻片法)试验中,复合物的低、高剂量组均对小鼠溶血性空斑量有一定程度的提高,具有显著性 ($P<0.01$);复方高、低剂量组能使小鼠产生的抗体产物明显增加,具有显著性 ($P<0.01$),可判定体液免疫功能测定结果阳性。在小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞实验中,复方高、低剂量组均能对小鼠巨噬细胞吞噬鸡红细胞产生明显增益作用,且两者之间存在显著差异 ($P<0.01$)。单核-巨噬细胞的功能试验可作为阳性的判断标准。综上,金钗石斛-枸杞复合物可以有效增强巨噬细胞功能,提高机体的免疫功能,增强体液免疫。动物实验结果表明,金钗石斛-枸杞复合物对大鼠的胃黏膜有较好的保护效果,但其机制尚不明确。

本研究对金钗石斛-枸杞复合物的有益影响进行了初步探讨,取得了一定的成果。然而,由于时间和资源的限制,本研究还存在一些局限性。在未来的研究中,我们可以进一步拓展样本规模,采用更多样化的研究方法,以更全面地揭示金钗石斛-枸杞复合物的药理作用机制。金钗石斛和枸杞作为中药材,各自具有独特的药理作用,而它们的复合物在人体内可能会产生一系列有益的影响,本研究已经证实金钗石斛和枸杞的结合可以对人体的免疫以

及胃黏膜产生有益影响，在后续的研究中可以从以下方面展开：

研究金钗石斛与枸杞复合物对人体免疫能力提高的机理，以及对胃黏膜的保护机制；

金钗石斛与枸杞对于人体还有很多其他有益作用，探究二者复合对人体的其他益处：（1）抗氧化与抗衰老：金钗石斛和枸杞都富含抗氧化物质，如多糖、黄酮类化合物等，这些物质有助于清除体内的自由基，减少氧化应激反应，从而起到抗氧化和抗衰老的作用。金钗石斛-枸杞复合物可能在这一方面发挥更加显著的效果，帮助人们保持年轻态，延缓衰老过程；（2）降血糖与调节血脂：金钗石斛具有降血糖的作用，而枸杞也被认为对调节血糖和血脂有一定的帮助。因此，金钗石斛-枸杞复合物可能通过综合调节糖代谢和脂代谢，改善糖尿病和高血脂等代谢性疾病的症状，降低相关并发症的风险；（3）护肝明目：金钗石斛具有滋阴清热、润肺明目的功效，而枸杞则被认为具有补肝肾、明目的作用。因此，金钗石斛-枸杞复合物可能有助于保护肝脏功能，改善眼部健康，缓解视疲劳等问题。此外，我们还可以探索该复合物在其他领域的应用潜力，如食品、保健品等。通过跨学科合作和深入研究，我们有望为金钗石斛-枸杞复合物的应用和开发提供更多的理论依据和实践指导。

参考文献

- [1] Luo, A., et al., Purification, composition analysis and antioxidant activity of the polysaccharides from *Dendrobium nobile* Lindl. *Carbohydrate Polymers*, 2010, 79(4): 1014-1019.
- [2] Li, J.-L., et al., Influence of light intensity and water content of medium on total dendrobine of *Dendrobium nobile* Lindl. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 2017, 10(11): 1095-1100.
- [3] Zhang, Y., et al., Protective effects of polysaccharide from *Dendrobium nobile* against ethanol-induced gastric damage in rats. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 107: 230-235.
- [4] Cao, J., et al., Effect of dehydroepiandrosterone on the immune function of mice in vivo and in vitro. *Molecular Immunology*, 2019, 112: 283-290.
- [5] Jahanian, E., et al., Effect of dietary supplementation of mannanoligosaccharides on hepatic gene expressions and humoral and cellular immune responses in aflatoxin-contaminated broiler chicks. *Preventive Veterinary Medicine*, 2019, 168: 9-18.
- [6] Ishida, K., et al., Effects of artichoke leaf extract on acute gastric mucosal injury in rats. *Biol Pharm Bull*, 2010, 33(2): 223-9.
- [7] Zejun, P., et al., Development of a compound oral liquid containing herbal extracts and its effect on immunity and gastric mucosa. *Journal of Food Science*, 2021, 86(6): 2684-2699.
- [8] Murcia-Belmonte, A., et al., Effect of progesterone on the vaccination and immune response against *Chlamydia abortus* in sheep. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2019, 213: 109887.
- [9] Jankowski, J., et al., The effect of the dietary inclusion levels and sources of zinc on the performance, metabolism, redox and immune status of turkeys. *Animal Feed Science and Technology*, 2019, 252: 103-114.

