

长期食用铁皮石斛多糖对正常小鼠的影响

宁晓妹¹, 唐 圆², 邱集慧¹, 谢果珍^{2*}

(1. 湖南中医药大学湘杏学院, 长沙 410208; 2. 湖南中医药大学药学院, 长沙 410208)

摘要: **目的** 考察长期食用铁皮石斛多糖(*Dendrobium officinale* polysaccharides, DOP)对正常小鼠的影响。**方法** 采用水提醇沉法提取铁皮石斛多糖。将16只雄性昆明(Kunming, KM)小鼠分为正常组及铁皮石斛多糖组,适应性喂养1周后,铁皮石斛多糖组小鼠按临床等效剂量灌胃8周,每天1次,每次0.4 mL,正常组小鼠灌胃等量无菌水,观察小鼠的生存情况、一般状况、定期记录体重及摄食量,灌胃结束后检测脏器指数及血脂4项,观察肠黏膜形态。**结果** 与正常组相比,铁皮石斛多糖组小鼠的体重增长率及摄食量下降,但无显著性差异($P>0.05$),脏器指数、肠黏膜形态及血脂4项均无显著变化($P>0.05$)。**结论** 正常小鼠长期食用铁皮石斛多糖是安全的,但功效不明显,可能是由于正常机体的器官及功能处于平衡状态下无法明显地发挥铁皮石斛多糖的调节作用。

关键词: 铁皮石斛多糖; 药食两用; 肠黏膜; 血脂

Effects of long-term consumption of *Dendrobium officinale* polysaccharides on mice

NING Xiao-Mei¹, TANG Yuan², QIU Ji-Hui¹, XIE Guo-Zhen^{2*}

(1. Xiangxing College, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China; 2. School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the effects of long-term consumption of *Dendrobium officinale* polysaccharides (DOP) on normal mice. **Methods** *Dendrobium officinale* polysaccharides was extracted by water extraction and alcohol precipitation. Sixteen mature Kunming (KM) mice were divided into control group and DOP group randomly. DOP group was fed with DOP 0.4 mL per time, once a day for 8 weeks, and the control group was fed with sterile water. General condition, body weight and food intake were observed. After the end of gavage, the visceral index and 4 items of blood lipid were detected, and the morphology of intestinal mucosa was observed. **Results** Compared with the control group, weight gain and food intake of mice in DOP group decreased, but there were no significant difference ($P>0.05$). Moreover, there were no significant changes in organ index, intestinal mucosa morphology and 4 items of blood lipid ($P>0.05$). **Conclusion** DOP was safe but the efficacy was unobvious in mice for long-term consumption. In conclusion, the efficacy of DOP could not be well displayed when the organs and functions of normal organism were in balance.

KEY WORDS: *Dendrobium officinale* polysaccharide; edible Chinese herbal; intestinal mucosa; blood lipid

基金项目: 国家级大学生创新创业训练计划项目(201910541033)

Fund: Supported by the Project of Undergraduate on Innovation and Entrepreneurship (201910541033)

*通信作者: 谢果珍, 讲师, 主要研究方向为中药资源开发与利用。E-mail: 191431657@qq.com

*Corresponding author: XIE Guo-Zhen, Lecturer, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China. E-mail: 191431657@qq.com

0 引言

铁皮石斛(*Dendrobium officinale* Kimura et Migo)为兰科石斛属植物铁皮石斛的干燥茎,具有益胃生津、滋阴清热的功效^[1],自古以来被视为补益佳品。铁皮石斛集食用、保健及药用价值于一体,目前已作为“按照传统既是食品又是中药材的物质”管理^[2],开发前景广阔。铁皮石斛多糖(*Dendrobium officinale* polysaccharides, DOP)是铁皮石斛的主要成分,由葡萄糖及甘露糖通过 β -(1 \rightarrow 4)糖苷键组成,具有增强免疫、抗氧化、抗肿瘤、调节消化系统及心血管系统等作用^[3-4],可作为潜在的功能因子进行功能性食品开发。以往研究多选用疾病动物模型,侧重于铁皮石斛及其多糖的功能性评价,而对正常机体长期食用的研究较少。鉴于“药食同源”理念深入人心,我国人民更倾向于选用药食两用品及其相关产品进行养生保健,以达到改善机体状态或维持机体健康的目的。另外,铁皮石斛在云南及浙江等地有作为食品原料的食用历史。因此,有必要研究长期食用铁皮石斛及其多糖对正常机体的影响。本研究以正常小鼠为研究对象,探讨了长期食用铁皮石斛多糖对小鼠体重、摄食量、脏器指数、肠黏膜形态及血脂4项的影响,以期对铁皮石斛多糖的开发及应用提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 仪器

202-2AB 型电热恒温干燥箱(天津市泰斯特仪器有限公司);都市主妇全能小钢磨(永康市铂欧五金制品有限公司);HA-600 三用恒温水箱(金坛市神科仪器厂);YD-A 生物组织摊片机(上海珂淮仪器有限公司);RM2235 石蜡切片机(德国徕卡公司);MOTIC BA410 研究型显微镜、MOTIC 6.0 数码医学图像分析系统(厦门麦克奥迪公司);Cobas C702 全自动生化分析仪(瑞士罗氏公司);Nano-drop 2000/2000C 紫外分光光度计(美国赛默飞世尔科技有限公司);Model TGL-16TGL-16M 台式高速冷冻离心机(长沙平凡仪器仪表有限公司);JA50002 型电子天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司)。

1.2 试剂与材料

无水葡萄糖、无水乙醇($\geq 99.7\%$,分析纯)、硫酸($95\% \sim 98\%$)、苯酚($\geq 99\%$)(国药集团化学试剂有限公司);4%多聚甲醛(biosharp)、HE 染液(武汉塞维尔生物科技有限公司)。

新鲜铁皮石斛,购于昆明市螺蛳湾中药材市场,经湖南中医药大学王智讲师鉴定为正品。

1.3 实验动物

SPF 级雄性 KM 小鼠 16 只,体质量为(20 \pm 2) g,购于

湖南斯莱克景达实验动物有限公司[SCXK(湘)2019-0004]。小鼠购回后于室温 20~22 °C,相对湿度 50%~70%环境下分笼饲养,自由取食及饮水。小鼠普通维持饲料由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供。

1.4 实验方法

1.4.1 铁皮石斛多糖的制备

新鲜铁皮石斛洗净后晾干,在 105 °C 鼓风干燥箱中杀青 30 min,然后 60 °C 烘干至恒重,测得平均含水量为 86.65%。将干燥铁皮石斛打粉后加 30 倍量蒸馏水,90 °C 水浴提取 1 h,纱布过滤,重复 3 次,合并滤液,蒸发浓缩,浓缩液冷却后加无水乙醇至乙醇浓度为 75%,搅拌均匀后置于 4 °C 冰箱中过夜,沉淀烘干至恒重,磨成粉末后密封放于干燥器中备用。用苯酚-硫酸法测得铁皮石斛多糖中总糖的质量分数为 62.23%。

1.4.2 动物分组及给药

小鼠随机分成正常组和铁皮石斛多糖组,每组各 8 只,适应性饲养 1 周。参考《中华人民共和国药典》^[1],按成人 9 g/d 的用量计算小鼠临床等效用量为 350 mg/(kg·d)。铁皮石斛多糖组小鼠灌胃铁皮石斛多糖溶液,正常组小鼠灌胃等量无菌水,灌胃量为 0.4 mL/(只·次),每天 1 次,连续 8 周。

1.4.3 指标测定

①一般行为学观察

观察小鼠的毛发、精神状态、饮水量、排泄量等一般情况。

②体重及摄食量的测定

在小鼠购回第 2 d、适应性喂养结束后、取材禁食前称取小鼠体重,分别为初始体重、适应期后体重、终体重,并计算体重变化率。灌胃铁皮石斛多糖期间每天统计各组小鼠的摄食量。

③脏器指数

取材前禁食 12 h,小鼠称重,颈椎脱臼处死,取脾脏、胸腺及肝脏,吸干血液后称重,并计算脏器指数,脏器指数(%)=各脏器重量(g)/小鼠体重(g) \times 100%。

④结肠组织切片制备及观察

取各组小鼠相同部位的结肠 0.5 g,置于 4%多聚甲醛中固定,制备石蜡包埋切片,HE 染色后用显微镜观察结肠形态并拍照。

⑤血脂 4 项检测

小鼠眼眶取血,置于促凝采血管中静置 2 h,4 °C 4500 r/min 离心 10 min,用移液枪将上层血清转移至干净的 EP 管中待测。用全自动生化仪检测总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)、低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)。

1.5 统计学分析

各分组所得计量数据采用平均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 用 SPSS 21.0 软件进行统计分析, 2 组间比较采用独立样本 t 检验, $P < 0.05$ 表示有显著性差异。

2 结果与分析

2.1 长期食用铁皮石斛多糖对小鼠一般行为学的影响

实验期间正常组与铁皮石斛多糖组小鼠的摄食、饮水正常, 皮毛平顺有光泽, 粪便呈黑色、圆柱形、软硬适中, 精神

状态佳, 说明铁皮石斛多糖对小鼠的一般行为无不良影响。

2.2 长期食用铁皮石斛多糖对小鼠体重的影响

体重是反映机体生长发育情况与健康状态的直观指标。从研究结果看(表 1), 2 组小鼠初始平均体重接近, 经 1 周适应性喂养后, 铁皮石斛多糖组的平均体重稍高于正常组, 但灌胃 8 周铁皮石斛多糖后 2 组最终体重接近。从体重增长率来看, 适应期铁皮石斛多糖组小鼠的体重增长率高于正常组, 而在灌胃铁皮石斛多糖后体重增长率低于正常组, 说明铁皮石斛多糖有助于降低体重增长率, 控制体重, 但各时期 2 组的体重及体重增长率均无显著性差异 ($P > 0.05$)。

表 1 长期食用铁皮石斛多糖对小鼠体重的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 1 Effects of long-term consumption of DOP on body weight of mice ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	初始体重/g	适应期后体重/g	终体重/g	体重增长率/%
正常组	22.88±1.26	32.78±0.89	48.28±4.76	47.28±13.47
铁皮石斛多糖组	22.73±0.47	33.32±1.56	48.20±5.06	44.37±9.72

2.3 长期食用铁皮石斛多糖对小鼠摄食量的影响

在灌胃铁皮石斛多糖期间, 铁皮石斛多糖组平均每只小鼠每周的摄食量在第 5 周高于正常组, 其余各周均低于正常组, 各周摄食量无显著性差异 ($P > 0.05$)(图 1)。这一结果说明铁皮石斛多糖可以控制小鼠的摄食量, 而摄食量的减少能控制体重的增长。

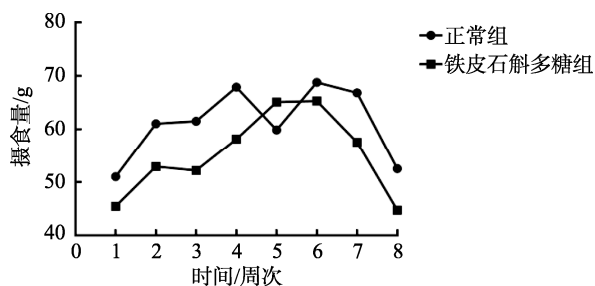


图 1 长期食用铁皮石斛多糖对小鼠摄食量的影响
Fig.1 Effects of long-term consumption of DOP on food intake of mice

2.4 长期食用铁皮石斛多糖对小鼠脏器指数的影响

脾脏与胸腺是机体重要的免疫器官, 其脏器指数可反映机体免疫器官发育及免疫细胞的功能状况; 肝脏是机体的解毒器官, 其形态及脏器指数可初步反映机体的肝脏功能正常与否^[5]。与正常组相比, 长期食用铁皮石斛多糖轻微降低了小鼠的脾脏指数和胸腺指数, 提高了小鼠的肝脏指数, 但各脏器指数均无显著性差异 ($P > 0.05$), 说明铁皮石斛多糖对小鼠的脏器无不良影响(表 2)。

表 2 长期食用铁皮石斛多糖对小鼠脏器指数的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 2 Effects of long-term consumption of DOP on organ index of mice ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	脾脏指数/%	胸腺指数/%	肝脏指数/%
正常组	0.2408±0.0408	0.1555±0.0352	4.5685±0.5300
铁皮石斛多糖组	0.2251±0.0453	0.1438±0.0403	4.5915±0.5676

2.5 长期食用铁皮石斛多糖对小鼠结肠黏膜的影响

肠道黏膜是机体抵御外来抗原及病原微生物侵染的主要屏障, 包括机械屏障、化学屏障、生物屏障及免疫屏障。其中, 机械屏障由肠黏膜上皮细胞、细胞间紧密连接、菌膜及黏液层组成, 如果上皮细胞受损脱落, 容易导致肠道通透性增加, 进而加大感染的风险^[6-7]。从显微图像看(图 2), 2 组小鼠的结肠黏膜表面光滑、完整, 细胞境界清楚, 排列紧密, 形态结构正常, 说明长期食用铁皮石斛多糖对结肠黏膜形态无不良影响。

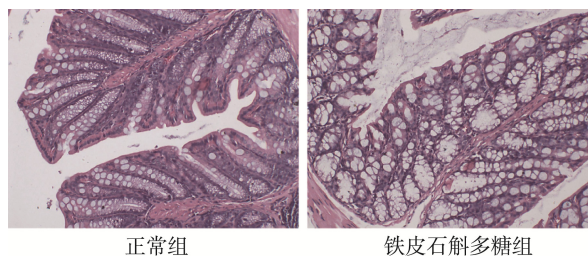


图 2 长期食用铁皮石斛多糖对小鼠结肠黏膜的影响
Fig.2 Effects of long-term consumption of DOP on intestinal mucosa morphology of mice

2.6 长期食用铁皮石斛多糖对小鼠血脂的影响

血脂 4 项可提示机体是否有高脂血症、动脉粥样硬化、血栓等疾病的风险^[8]。从表 3 可见,铁皮石斛多糖降低了小鼠总胆固醇、甘油三酯及高密度脂蛋白胆固醇的含量,升高低密度脂蛋白胆固醇含量,但各血脂指标均无显著性差异($P>0.05$),说明铁皮石斛多糖对小鼠的血脂无明显影响。

3 讨论

3.1 长期食用铁皮石斛多糖对小鼠生存及行为的影响

本研究灌胃铁皮石斛多糖期间无小鼠死亡,且小鼠的毛色、摄食量、饮水量、排便量及精神状态均无明显异常。另外,长期食用铁皮石斛多糖对小鼠的脏器指数、结肠黏膜形态及血脂 4 项均无任何不良影响,可初步判断长期食用铁皮石斛多糖是安全的。

3.2 长期食用铁皮石斛多糖的功能性评价

古籍记载铁皮石斛有“轻身延年”等功效。已有报道天然多糖如冬虫夏草多糖^[9]、灵芝多糖^[10]、苦瓜多糖^[11]、黄芪多糖^[12]等有控制体重的作用。本研究结果显示,长期食用铁皮石斛多糖有利于降低体重增长率,控制体重,这与前期通过短期(7 d)摄入铁皮石斛多糖的实验得出其可控制体重增长的结论一致^[13],说明铁皮石斛多糖可控制体重,防止肥胖。有研究表明,一些不能消化的多糖可使机体产

生饱腹感、降低食欲达到减重的效果^[14]。在本研究中,发现食用铁皮石斛多糖的小鼠平均摄食量有所下降,或可说明铁皮石斛多糖对体重增长的控制或与减少摄食量有关。

铁皮石斛还可“补五脏虚劳羸弱”“久服厚肠胃”。前期发现短时间食用铁皮石斛多糖显著提高了正常小鼠的脾脏指数及胸腺指数,但本次研究发现长期食用对脾脏指数、胸腺指数及肠道黏膜的影响都较小。另外,以往研究多有报道铁皮石斛多糖具有降脂作用,可降低疾病动物血清中的 TC、TG、LDL 的含量,提高 HDL 含量^[15-16],但在本研究中并未发现铁皮石斛多糖对正常小鼠产生明显的降血脂作用。这可能因为正常小鼠处于中医所强调的“和”的状态,各器官的结构及功能正常,铁皮石斛多糖“祛邪扶正”的功能在正常机体中并未发挥出来。隋代杨上善在《黄帝内经太素·调食》^[17]中提到药食两用品的功能依照服用对象和服用目的不同而有侧重,即“空腹食之为食物,患者食之为药物”。药食两用品在正常、亚健康及患病机体的不同反应,或可成为科学认识药食两用品及功能食品的有力参考。

4 结论

本研究考察了长期食用铁皮石斛多糖对健康小鼠的影响,发现长期摄入铁皮石斛多糖是安全的,并有助于控制摄食量及体重增长,但未表现出降血脂的功能,说明在正常机体中铁皮石斛多糖可视为食品成分而非功能性成分,从另一角度证明了铁皮石斛作为药食两用品的合理性。

表 3 长期食用铁皮石斛多糖对小鼠血脂的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 3 Effects of long-term consumption of DOP on blood lipid of mice ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	总胆固醇/(mmol/L)	甘油三酯/(mmol/L)	高密度脂蛋白胆固醇/(mmol/L)	低密度脂蛋白胆固醇/(mmol/L)
正常组	4.69±0.52	1.33±0.27	3.40±0.34	0.79±0.24
铁皮石斛多糖组	4.43±0.99	1.20±0.33	3.05±0.17	1.36±0.63

参考文献

- [1] 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (No. 1) [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2020.
- [2] 国家市场监督管理总局. 关于对党参等 9 种物质开展按照传统既是食品又是中药材的物质管理试点工作的通知 [EB/OL]. [2019-11-25]. <http://www.cfda.com.cn/NewsDetail.aspx?id=130851>.
State Administration of Market Supervision. Notice on the pilot work of material management for 9 kinds of substances such as *Codonopsis pilosula*, which are both food and traditional Chinese medicine according to tradition [EB/OL]. [2019-11-25]. <http://www.cfda.com.cn/NewsDetail.aspx?id=130851>.
- [3] 奚航献, 刘晨, 刘京晶, 等. 铁皮石斛化学成分、药理作用及其质量标志物(Q-marker)的预测分析[J]. 中草药, 2020, 51(11): 3097-3109.
XI HX, LIU C, LIU JJ, et al. Chemical components and pharmacological action for *Dendrobium officinale* and its prediction analysis on Q-marker [J]. Chin Tradit Herb Drug, 2020, 51(11): 3097-3109.
- [4] 聂少平, 唐炜, 殷军艺, 等. 食源性多糖结构和生理功能研究概述[J]. 中国食品学报, 2018, 18(12): 1-12.
NIE SP, TANG W, YIN JY, et al. Research progress on structure and functional activities of food-derived polysaccharides [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2018, 18(12): 1-12.
- [5] 吴忠坤, 赵紫薇, 王远亮, 等. 鲜槟榔 3 种不同使用方式对小鼠免疫功能的影响[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(7): 40-46.
WU ZK, ZHAO ZW, WANG YL, et al. Effects of three different ways of eating fresh betel nut on immune function in mice [J]. Food Res Dev, 2019, 40(7): 40-46.

- [6] VANCAMELBEKE M, VERMEIRE S. The intestinal barrier: A fundamental role in health and disease [J]. *Expert Rev Gastroent Hepat*, 2017, 11(9): 821–834.
- [7] CAMILLERI M, MADSEN K, SPILLER R, *et al.* Intestinal barrier function in health and gastrointestinal disease [J]. *Neurogastroenterol Motil*, 2012, 24(6): 503–512.
- [8] 林玲, 刘芷君, 雷郑延, 等. 茶籽皂苷对高脂血症大鼠肠道菌群的影响研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2020, 32: 173–181.
LIN L, LIU ZJ, LEI ZY, *et al.* Study on the effect of tea seed *Saponins onintestinal* microflora in rats with hyperlipidemia [J]. *Nat Prod Res Dev*, 2020, 32: 173–181.
- [9] CHEN L, ZHANG LY, WANG WD, *et al.* Polysaccharides isolated from *Cordyceps sinensis* contribute to the progression of NASH by modifying the gut microbiota in mice fed a high-fat diet [J]. *PLoS One*, 2020, 15(6): e0232972.
- [10] LIANG ZGN, YUAN ZH, LI GY, *et al.* Hypolipidemic, antioxidant, and antiapoptotic effects of polysaccharides extracted from Reishi mushroom, *Ganoderma lucidum* (Leysser: Fr) karst, in mice fed a high-fat diet [J]. *J Med Food*, 2018, 21(12): 1218–1227.
- [11] WEN JJ, GAO H, HU JL, *et al.* Polysaccharides from fermented *Momordica charantia* ameliorate obesity in high-fat induced obese rats [J]. *Food Funct*, 2019, 10(1): 448–457.
- [12] HUANG YC, TSAY HJ, LU MK, *et al.* Astragalus membranaceus-polysaccharides ameliorates obesity, hepatic steatosis, neuroinflammation and cognition impairment without affecting amyloid deposition in metabolically stressed APP swe/PS1dE9 mice [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(12): 2746.
- [13] 谢果珍, 惠华英, 于子真, 等. 铁皮石斛多糖对肠道微生态的影响研究 [J]. *时珍国医国药*, 2019, 30(11): 2603–2605.
XIE GZ, HUI HY, YU ZZ, *et al.* Effects of *Dendrobium officinale* polysaccharides on intestinal microecology in mice [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2019, 30(11): 2603–2605.
- [14] SHEN J, OBIN MS, ZHAO LP. The gut microbiota, obesity and insulin resistance [J]. *Mol Aspects Med*, 2013, 34(1): 39–58.
- [15] 樊溢. 铁皮石斛多糖体内外降糖降脂功能初探[D]. 太原: 山西大学, 2018.
FAN Y. Preliminary study on the function of hypoglycemic and hypolipidemic of *Dendrobium officinale* polysaccharides *in vivo* and *in vitro* [D]. Taiyuan: University of Shanxi, 2018.
- [16] 王云威, 王景雪. 铁皮石斛多糖对 2 型糖尿病小鼠降糖降脂的作用[J]. *食品科学*, 2020, 41(21): 127–132.
WANG YW, WANG JX. Effect of *Dendrobium officinale* polysaccharide on hypoglycemic and lipid-lowering effects in type 2 diabetic mice [J]. *Food Sci*, 2020, 41(21): 127–132.
- [17] 杨上善. 黄帝内经太素·调食[Z].
YANG SS. *Huangdi Neijing Taisu-Tiaoshi* [Z].

(责任编辑: 于梦娇)

作者简介

宁晓妹, 主要研究方向为中药学。
E-mail: 1974761902@qq.com

谢果珍, 讲师, 主要研究方向为中药资源开发与利用。
E-mail: 191431657@qq.com