

白鳞马勃发酵工艺优化及其菌丝对小鼠酒精性胃溃疡的保护作用

李正龙, 张术影, 王 欢*, 王淑敏*

(长春中医药大学药学院药学院, 长春 130117)

摘 要: 目的 优化白鳞马勃发酵条件并探讨白鳞马勃菌丝对乙醇诱导小鼠胃溃疡的保护作用。**方法** 考察碳源、氮源、微量元素对白鳞马勃菌丝干重的影响, 以菌丝干重为评价指标, 通过正交实验优化发酵工艺。小鼠随机分为空白对照组、模型组、奥美拉唑阳性组(0.5 g/kg)、白鳞马勃菌丝高、中、低剂量组(1.0、0.75、0.5 g/kg), 灌胃干预 15 d, 第 15 d 除空白组外, 其余各组采用无水乙醇(0.2 mL/只)建立酒精性胃溃疡模型, 并检测小鼠血清和胃组织中各指标水平变化及血清中保护因子含量变化; HE 染色观察小鼠胃组织病理学改变; Western Blotting 检测胃组织中核因子 κ Bp65 (nuclear factor- κ Bp65, NF- κ Bp65)、磷酸化 NF- κ Bp65 (phospho-NF- κ Bp65, p-NF- κ Bp65)、NF- κ B 抑制因子 α (inhibitor of NF- κ B α , I κ B α)、磷酸化 I κ B α (phospho-I κ B α , p-I κ B α)蛋白表达水平。**结果** 优选白鳞马勃最佳发酵工艺为: 3%蔗糖、2%酵母粉、0.15% MgSO₄+0.15% KH₂PO₄, 菌丝干重可达 0.7411 g/100 mL。白鳞马勃菌丝能显著降低胃溃疡小鼠血清及胃组织中炎症因子含量($P<0.05$ 、 $P<0.01$), 显著降低氧自由基代谢($P<0.05$ 、 $P<0.01$), 显著增加抗氧化能力($P<0.05$ 、 $P<0.01$); 菌丝高剂量组显著减轻胃组织损伤; 白鳞马勃各剂量组均能显著增加 NF- κ Bp65、I κ B α 蛋白含量($P<0.01$)、显著降低 p-NF- κ Bp65、p-I κ B α 蛋白含量($P<0.01$)。**结论** 白鳞马勃发酵工艺稳定可靠, 培养基成本较低。白鳞马勃菌丝能较好的保护小鼠胃组织免受损伤, 其机制推测是通过下调 p-I κ B α 蛋白表达, 上调 I κ B α 蛋白表达, 减少 p-NF- κ Bp65 表达, 上调 NF- κ Bp65 表达增加, 从而抑制炎症蛋白表达, 达到对酒精性胃溃疡的保护作用。

关键词: 白鳞马勃菌丝; 发酵工艺; 酒精性胃溃疡; 核因子 κ B 蛋白

Optimization of the fermentation process of *Lycoperdon mammaeforme* Pers and protective effects of its mycelium on alcoholic gastric ulcer in mice

LI Zheng-Long, ZHANG Shu-Ying, WANG Huan*, WANG Shu-Min *

(School of Pharmacy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

ABSTRACT: Objective To optimize the fermentation conditions of *Lycoperdon mammaeforme* Pers and explore the protective effects of *Lycoperdon mammaeforme* Pers mycelia on ethanol induced gastric ulcer in mice. **Methods** The effects of carbon source, nitrogen source, trace element on the mycelia dry weight were investigated, and the fermentation

基金项目: 国家自然科学基金项目(81274037)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (81274037)

*通信作者: 王 欢, 助理研究员, 主要研究方向为生药(菌物药)资源开发与利用。E-mail: wanghuanmyco@163.com

王淑敏, 博士, 教授, 主要研究方向为药用微生物物质基础与药效学研究。E-mail: wangsm@ccucm.edu.cn

*Corresponding author: WANG Huan, Assistant Professor, School of Pharmacy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China. E-mail: wanghuanmyco@163.com

WANG Shu-Min Ph.D, Professor, School of Pharmacy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China. E-mail: wangsm@ccucm.edu.cn

process was optimized by orthogonal test with mycelium dry weight as evaluation index. The mice were randomly divided into control group, model group, omeprazole positive group (0.5 g/kg), high, medium and low dose groups of *Lycoperdon mammaeforme* Pers mycelia (1.00, 0.75, 0.50 g/kg). After 15 days of gavage, except the control group, the other groups were given absolute ethanol (0.2 mL/piece) to establish alcoholic gastric ulcer model. The levels of various indexes in serum and stomach tissues of mice and the content of protective factors in serum were detected. The gastric histopathological changes were observed by HE staining. The protein expression levels of nuclear factor- κ Bp65 (NF- κ Bp65), phospho-NF- κ Bp65 (p-NF- κ Bp65), inhibitor of NF- κ B ($\text{I}\kappa$ B α), phosphorylated $\text{I}\kappa$ B α (p- $\text{I}\kappa$ B α) were detected by Western Blotting. **Results** The optimum fermentation process of *Lycoperdon mammaeforme* Pers was 3% sucrose, 2% yeast powder, 0.15% $\text{MgSO}_4 + 0.15\%$ KH_2PO_4 , and the dry weight of mycelia could reach 0.7411 g/100 mL. The mycelia of *Lycoperdon mammaeforme* Pers could significantly reduce the content of inflammatory factors in serum and gastric tissue of mice with gastric ulcer ($P < 0.05$, $P < 0.01$), significantly reduce the metabolism of oxygen free radicals ($P < 0.05$, $P < 0.01$), and significantly increase the antioxidant capacity ($P < 0.05$, $P < 0.01$); the high dose of mycelium significantly reduced gastric tissue damage. Each dose group of *Lycoperdon mammaeforme* Pers mycelia could significantly increase NF- κ Bp65, $\text{I}\kappa$ B α protein content ($P < 0.01$), significantly reduce p-NF- κ Bp65, p- $\text{I}\kappa$ B α protein content ($P < 0.01$). **Conclusion** The fermentation process of *Lycoperdon mammaeforme* Pers is stable and reliable, and the cost of the medium is low. The mycelia of *Lycoperdon mammaeforme* Pers can better protect the gastric tissue of mice from damage, and its mechanism is speculated to be through down-regulation of p- $\text{I}\kappa$ B α protein expression, up-regulated $\text{I}\kappa$ B α protein expression, reducing p-NF- κ Bp65 expression, up-regulated NF- κ Bp65 expression, so as to inhibit the expression of inflammatory protein and achieve the protective effect on ethanol induced gastric ulcer.

KEY WORDS: *Lycoperdon mammaeforme* Pers mycelia; fermentation process; alcoholic gastric ulcer; nuclear factor- κ B protein

0 引言

白鳞马勃(*Lycoperdon mammaeforme* Pers)为马勃科(Lycoperdaceae)马勃属(*Lycoperdon*)食药真菌。子实体较小, 陀螺状, 直径3~5 cm, 高4~8 cm, 不育基部比较发达, 初期纯白色, 后期略带黄褐色(图1), 味辛, 性平, 入肺经, 具有清肺、利咽、止血之功效, 常用于治疗咽喉肿痛、咳嗽失音、吐血、咯血等^[1-2]。我国马勃种类资源丰富, 但研究多限于马勃子实体, 白鳞马勃野生资源储量较少, 作为外生菌根菌, 对环境要求极其苛刻, 人工栽培尚无法取得成功^[3-4]。而食药真菌的菌丝体作为其生活史的一个阶段, 不仅在生物学方面与子实体具有相似性, 同时化学成分及药理作用同样相近^[5]。虽然白鳞马勃菌丝研究同样较少, 但与传统子实体培养相比, 深层发酵技术具有成本低、产量高、质量可控和环境友好等优点^[6], 因此通过生物技术手段分离纯化菌种, 利用液体深层发酵的方法获得大量的



注: A 为白鳞马勃幼嫩子实体; B 为白鳞马勃成熟子实体; C 为白鳞马勃斜面菌丝体; D 为白鳞马勃液体发酵菌丝体。

图1 白鳞马勃子实体和菌丝体

Fig.1 Fruiting body and mycelium of *Lycoperdon mammaeforme* Pers

菌丝体(图1), 替代白鳞马勃子实体进行食用和药用, 是未来发展趋势。采用发酵技术生产其菌丝体并研究其功效, 对保护白鳞马勃野生资源、开发白鳞马勃产品甚至替代传统子实体都具有极其重要的意义。

胃溃疡是一种常见病, 患病率大约占人群的10%, 其形成与胃酸和胃蛋白酶的消化作用有关。在临床上治疗胃炎及胃溃疡的化学合成药物较多, 这些药物虽具有见效快, 疗效确切等优势, 但不良反应明显, 复发率高, 不宜长期服用^[7]。中药在治疗消化性溃疡的同时, 还可调整紊乱的消化功能, 从而提高了溃疡愈合质量, 具有疗效可靠, 复发率低, 不良反应少等优点^[8-9]。马勃作为传统消肿止血药, 在外科止血和修复创伤方面疗效确切, 民间相传食用马勃能够治疗胃溃疡^[10]。目前胃溃疡动物实验模型多采用无水乙醇灌胃, 其形成机制主要是由于乙醇直接损伤胃黏膜引起胃壁血液循环障碍、组织坏死脱落, 导致溃疡而形成^[11-12]。因此, 本研究首先考察影响白鳞马勃发酵菌丝生长的因素, 筛选出最佳发酵工艺, 然后考察白鳞马勃菌丝体对乙醇诱导的小鼠胃溃疡的保护作用, 为白鳞马勃菌丝食药应用开发应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

白鳞马勃发酵菌丝由吉林省菌物药生物技术工程实

验室提供; 麦麸(晨曦有机饲料经营部); 豆饼粉(发酵专用, 青岛海洋生物技术有限公司); 奥美拉唑(纯度 $\geq 95\%$, 批号 H20083815, 辰欣药业股份有限公司)。

葡萄糖(分析纯, 天津市永大化学试剂有限公司); 蔗糖、磷酸二氢钾(分析纯, 天津市大茂化学试剂厂); 麦芽糖、酵母粉(分析纯, 北京奥博星生物技术有限公司); 乳糖(分析纯, 天津福晨化学试剂有限公司); 玉米粉(试剂纯, 上海方哇仪器有限公司); 蛋白胨(分析纯, 安琪酵母股份有限公司); 硝酸铵、硫酸铵(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 磷酸二氢钠(分析纯, 北京化工厂); 硫酸镁(分析纯, 天津市博迪化工有限公司); 维生素 B₁ (vitamin B₁, VB₁)(纯度 $\geq 98\%$, 山西亨瑞达制药有限公司); 无水乙醇(纯度 $\geq 99.7\%$, 吉林省海的科技有限公司); 丙二醛(malondialdehyde, MDA)(No.201405)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD) (No.201405)、一氧化氮(NO) (No.201405)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) (No.201405)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) (No.201405)试剂盒(南京建成生物有限公司); 核因子 κ Bp65 (nuclear factor κ Bp65, NF- κ Bp65)抗体(bs-4513R)、磷酸化 NF- κ Bp65 (phospho-NF- κ Bp65, p-NF- κ Bp65)抗体(bs-0532R)、NF- κ B 抑制因子 α (inhibitor of NF- κ B α , I κ B α) 抗体(bs-3133R)、磷酸化 I κ B α (phospho-I κ B α , p-I κ B α)抗体(bs-2316R)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体(bs-0603R)、辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的羊抗兔免疫球蛋白 G (immunoglobulin G, IgG) (bs-1914R)(分析纯, 北京 Bioss 公司); 4%多聚甲醛(分析纯, 北京酷来搏科技有限公司); 蛋白裂解液(分析纯, 上海碧云天生物技术有限公司); 脱脂奶粉(食品级, 上海源叶生物科技有限公司); 聚偏二氟乙烯膜(polyvinylidene fluoride, PVDF)(美国 Millipore 公司)。

1.2 实验动物

60 只健康昆明小鼠, 体重 22~25 g, 许可证号: SCXK(吉)2011-2013; 合格证编号: NO.20140315511, 购于长春生物制品研究所有限责任公司。实验动物在温度: (23 $\pm$ 1) $^{\circ}$ C, 相对湿度: (55 $\pm$ 5)%, 12 h 明暗循环条件下自由进食、饮水, 所有动物实验严格遵守实验动物使用规定和中国动物福利法的规定, 并获得长春中医药大学实验动物伦理委员会批准(批准号: 2016131)。

1.3 仪器与设备

SPH-2102 恒温培养振荡器(上海世平实验设备有限公司); 101-1A 型数显电热鼓风干燥箱(上海沪南科学仪器联营厂); SW-CJ-ZD 型实用垂直净化工作台(上海苏净实业有限公司); RT-6000 酶标仪(美国 Rayto 公司); FA25 组织匀浆机(上海福鲁克流体机械制造有限公司); TGL16M 台式高

速冷冻离心机(湖南凯达科学仪器有限公司); AUY-220 型万分之一电子天平(日本岛津公司); Min-P4 (1.0 mm)垂直电泳(美国伯乐公司); SZX16 生物显微镜(日本 Olympus 公司); JJ-12J 脱水机、JB-P5 包埋机(武汉俊杰电子有限公司); RM2016 病理切片机(上海徠卡仪器有限公司); MDHG-9140A 烤箱(上海慧泰仪器制造有限公司)。

1.4 方 法

1.4.1 斜面菌种培养

马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar, PDA)斜面培养基接种已经选育出的白鳞马勃纯菌种, 25 $^{\circ}$ C 恒温培养观察一周左右, 至菌丝长满斜面, 菌丝洁白、致密粗壮、呈棉絮状、无杂菌污染时, 置 2~4 $^{\circ}$ C 冰箱保存备用。

1.4.2 液体发酵培养

250 mL 三角摇瓶装入 100mL 的液体培养基, 高压蒸汽灭菌 30 min, 室温备用。无菌条件下接种 4 块大小约为 0.25 cm² 的 PDA 斜面菌种, 置于液体培养基中, 静置 24 h, 置培养条件为(28 $\pm$ 1) $^{\circ}$ C、150 r/min 恒温振荡培养器中培养 7 d, 结束发酵。

1.4.3 发酵工艺单因素考察

基础培养基条件为 2%蛋白胨、0.1% KH₂PO₄、0.1% MgSO₄(pH 自然), 以菌丝干重(70 $^{\circ}$ C 烘干 24 h 为菌丝干重标准, 下同)为指标^[13], 考察不同碳源(空白、3%葡萄糖、3%蔗糖、3%玉米粉、3%乳糖及 3%麦芽糖)对液体发酵的影响。

基础培养基条件为 3%蔗糖、0.1% KH₂PO₄、0.1% MgSO₄ (pH 自然), 以菌丝干重为指标, 考察不同氮源(空白、2%蛋白胨、2%酵母粉、4%豆饼粉、2%硝酸铵、4%麦麸汁及 2%硫酸铵)对液体发酵的影响。

基础培养基条件为 3%蔗糖、2%酵母粉(pH 自然), 以菌丝干重为指标, 考察不同微量元素(空白、0.1% KH₂PO₄、0.1% MgSO₄、0.1% KH₂PO₄+0.1% MgSO₄、0.1% CaO 及 0.02% VB₁)对液体发酵的影响。

1.4.4 发酵工艺条件正交实验设计

在碳源、氮源及微量元素单因素考察结果的基础上, 采用 L₉(3³)正交表设计实验, 以菌丝干重为指标, 分别考察碳源添加量(A)、氮源添加量(B)、微量元素添加量(C)对液体发酵的影响, 因素水平如表 1 所示。

表 1 L₉(3³)正交设计因素水平表
Table 1 L₉(3³) orthogonal design factor level table

水平	因素		
	A	B	C
1	2%蔗糖	1%酵母粉	0.1% KH ₂ PO ₄ +0.1% MgSO ₄
2	3%蔗糖	2%酵母粉	0.15% KH ₂ PO ₄ +0.15% MgSO ₄
3	4%蔗糖	3%酵母粉	0.2% KH ₂ PO ₄ +0.2% MgSO ₄

1.4.5 最佳工艺验证

无菌条件下接种 4 块大小约为 0.25 cm² 的 PDA 斜面

菌种,置于优化的最佳液体培养基中,静置 24 h,置培养条件为 $(28\pm 1)^{\circ}\text{C}$ 、150 r/min 恒温振荡培养器中培养 7 d,测定菌丝干重,此工艺设置 6 个平行。

1.4.6 给药与分组

白鳞马勃菌丝粉碎,于烘箱 105°C 烘干,测定水分。依据《中国药典》马勃用法用量 6 g 为高剂量组,根据体表面积换算,去除水分影响,小鼠等效剂量比为 9.1,正常人体按 60 kg 计。60 只健康昆明小鼠,随机分成 6 组:空白组(生理盐水灌胃)、模型组、阳性药组(0.50 g/kg 奥美拉唑灌胃)、白鳞马勃菌丝高剂量组(1.00 g/kg)、中剂量组(0.75 g/kg)、低剂量组(0.50 g/kg),每组 10 只。阳性药组及菌丝各剂量(空白组和模型组每天给予等量生理盐水)灌胃饲养 14 d,每天 1 次,第 15 d 灌胃后 1 h 对各组进行乙醇灌胃造模,以 0.2 mL 无水乙醇灌胃,空白组给予等量生理盐水,造模 1 h 后结束实验,取小鼠血液分离血清及胃组织测定各指标^[14]。

1.4.7 酶联免疫吸附法检测各指标变化

依据试剂盒说明书分别测定血清及胃组织中 SOD、MDA、IL-6 及 TNF- α 含量,同时检测血清中 NO 含量^[15]。

1.4.8 HE 染色检查胃组织病理学变化

切取一小部分胃组织,4%的多聚甲醛固定,常规石蜡包埋,切片,HE 染色,光学显微镜下观察胃组织病理学改变。以黏膜上皮细胞有无变形、坏死,黏膜固有层有无出血,黏膜下层有无充血、水肿、炎细胞浸润为观察指标,病情由轻到重分别评分(1~4 分),无病变记 0 分,计算总分,分值越高病变越严重。

1.4.9 Western Blotting 检测胃组织蛋白表达

将胃组织置于冰冷的裂解液收集裂解物总蛋白,蛋白经十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)并转印至 PVDF 膜;用 5%脱脂奶粉室温封闭 2 h,印迹于一抗(抗体 GAPDH、抗体 p-NF- κ Bp65、抗体 NF- κ Bp65、抗体 p-I κ B α 、抗体 I κ B α) 4°C 孵育过夜,膜经漂洗后,室温再与 HRP 偶联的二抗反应结合 2 h,增强型化学发光法检测条带,灰度成像软件 Image J 测定光密度值,以计算 p-NF- κ Bp65、NF- κ Bp65、p-I κ B α 、I κ B α 与对应 GAPDH 抗体比值^[16-17]。

1.5 数据处理

采用 SPSS21 进行数据分析。结果用平均值 $\pm$ 标准误差表示, $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义, $P<0.01$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 发酵工艺优化结果

2.1.1 单因素结果与分析

由图 2A 可知,以蔗糖为碳源时,菌丝干重最大,玉

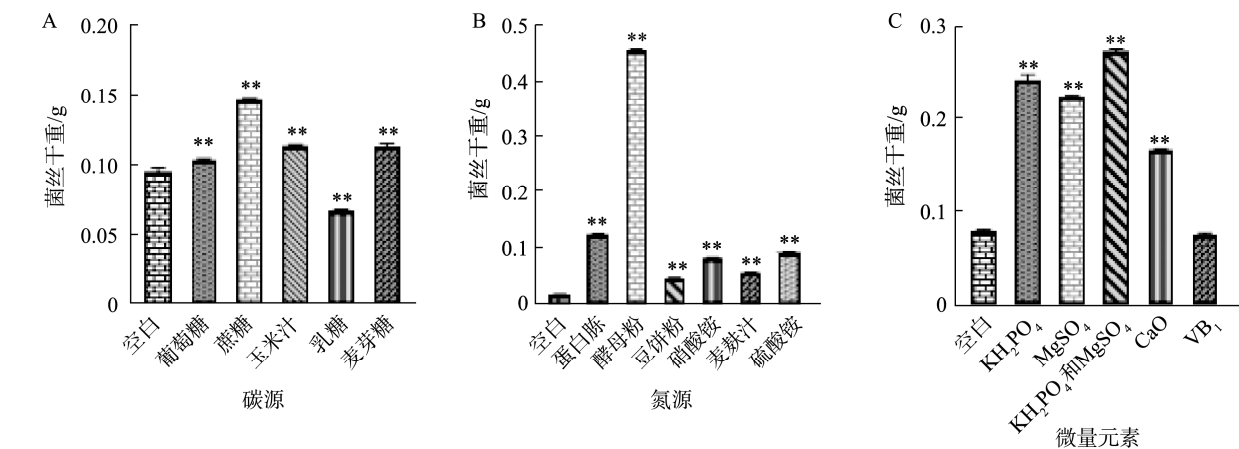
米汁次之,推测其原因可能是蔗糖作为非还原性糖不仅对白鳞马勃菌丝生长提供所需的营养物质,同时也可被白鳞马勃薄壁细胞组织生长所利用^[18],对白鳞马勃菌丝生长具有较大影响。玉米汁中主要糖类成分为淀粉,同样属于非还原性糖类,但玉米粉中淀粉含量为 60%~70%^[19],因此相对于蔗糖非还原性糖较少,对白鳞马勃的影响略小。而麦芽糖、葡萄糖、乳糖等作为还原性糖对白鳞马勃菌丝产生的影响较小,葡萄糖与麦芽糖作为还原性糖,推测在白鳞马勃菌丝生长过程中仅提供了生长所需的营养物质,并不为白鳞马勃菌丝其余组织生长所利用,因此仅略高于空白组。而乳糖效果显著低于空白对照组,推测可能是在以乳糖作为营养底物时,可延长白鳞马勃菌丝适应时间,故在一定的时间内降低了糖类的利用率,延长了白鳞马勃菌丝正常的发酵周期^[20],因此在以 7 d 为培养时间的基础上,菌丝生长率较差。综上,选择 3%蔗糖为碳源进行正交试验。

由图 2B 可知,以酵母粉为氮源时,菌丝干重最大。酵母粉作为一种有机氮源,不仅含有大量的氮元素,同时还含有大量氨基酸、维生素及多种生长因子等^[21],对白鳞马勃菌丝产生的促进作用远高于其他因素。蛋白胨同样含有少量生长因子,因此对白鳞马勃菌丝生长同样起到比较好的效果,而麦麸汁、豆饼粉同样作为有机氮,对白鳞马勃菌丝的生长甚至不如无机氮源硝酸铵、硫酸铵效率高,推测可能是由于二者缺少生长因子,对白鳞马勃菌丝的生长甚至不如可被直接吸收的速效无机氮源^[22]。综上,选择 2%酵母粉为氮源,并在此基础上进行正交试验。

由图 3C 可知, KH_2PO_4 、 MgSO_4 单独微量元素对白鳞马勃菌丝产生的影响也远大于 CaO 和 VB_1 ,推测磷元素、钾元素、镁元素及硫元素对白鳞马勃菌丝生长具有更好的效果^[23]。而组合型微量元素 $\text{KH}_2\text{PO}_4+\text{MgSO}_4$ 对菌丝产生的促进作用优于单独微量元素,推测可能是由于食用菌生长过程具有富集微量元素的特点。例如,通过富集磷元素增加蛋白质合成,可促进菌丝生长的代谢过程;通过富集钾元素,增加白鳞马勃菌丝的呼吸作用,促进菌丝生长所需的糖类物质的合成;通过富集镁元素,活化菌丝细胞内 DNA 与 RNA 合成过程,促进菌丝生长发育,富集硫元素促进菌丝体内腺苷三磷酸等生成,同样具有促进菌丝发育的作用^[24]。因此,多种微量元素对白鳞马勃菌丝的生长具有更好的效果。综上,选择 $\text{KH}_2\text{PO}_4+\text{MgSO}_4$ 作为微量元素进行正交试验。

2.1.2 正交实验结果

正交实验结果如表 2 和表 3 所示。方差分析结果显示酵母粉含量对菌丝干重有显著性影响($P<0.05$),各因素影响大小为:酵母粉>蔗糖>微量元素,结合直观分析,确定最佳发酵工艺为 $B_2A_2C_2$ 或 $B_2A_2C_3$,由于微量元素方差分析结果显示不具备显著性,同时考虑成本问题,因此最终选择 $B_2A_2C_2$,即 3%蔗糖、2%酵母粉、0.15% $\text{MgSO}_4+0.15\%$



注: A 为碳源考察结果; B 为氮源考察结果; C 为微量元素考察结果, 与空白组比较: ** $P<0.01$ 。

图 2 单因素实验结果($n=3$)

Fig.2 Results of the single factor experiment ($n=3$)

表 2 白鳞马勃发酵工艺正交实验结果				
Table 2 Results of orthogonal experiment of the fermentation process of <i>Lycoperdon mammaeforme</i> Pers				
序号	A	B	C	菌丝干重/g
1	1	1	1	0.4108
2	1	2	2	0.6983
3	1	3	3	0.5119
4	2	1	2	0.4838
5	2	2	3	0.7266
6	2	3	1	0.6007
7	3	1	3	0.5269
8	3	2	1	0.6994
9	3	3	2	0.5823
均值 1	0.540	0.474	0.570	
均值 2	0.604	0.708	0.588	
均值 3	0.603	0.565	0.588	
极差	0.064	0.234	0.018	

表 3 白鳞马勃发酵工艺方差分析				
Table 3 Variance analysis of the fermentation process of the <i>Lycoperdon mammaeforme</i> Pers				
因素	偏差平方和	自由度	F	显著性
蔗糖	0.008	2	2.667	
酵母粉	0.084	2	28.000	*
KH ₂ PO ₄ +MgSO ₄	0.001	2	0.333	
误差	0.00	2		

注: $F_{0.05}(2,2)=19.000$; *代表统有计学意义。

KH₂PO₄。在此条件下进行发酵, 6 组菌丝干重平均值为 0.7411 g/100 mL, 相对标准偏差为 0.03%, 其菌丝含量高于同属类型的栓皮马勃[*Mycenastrum corium* (Guers.) Dcsv.]在 100 mL 液体培养环境中以 4 块 0.25 cm² 的 PDA 斜面菌种进行 7 d 培养最终所获得的菌丝含量(0.725 g)^[5], 由此可见, 此条件下的发酵工艺稳定可行。

2.2 小鼠酒精性胃溃疡的保护作用结果

2.2.1 小鼠血清和胃组织各指标含量结果

由表 4~5 可知, 与空白组相比, 模型组血清及胃组织中 MDA、IL-6、TNF- α 含量均显著升高($P<0.01$), SOD 及血清中 NO 含量均显著降低($P<0.01$), 也即血清及胃组织中氧自由基与炎症因子增加, 说明造模成功^[25-28]。与模型组相比, 阳性药组胃溃疡小鼠血清及胃组织中 MDA、IL-6、TNF- α 含量显著降低($P<0.01$), SOD 及血清中 NO 含量显著增加($P<0.01$), 说明阳性药具有良好的降低氧化自由基含量及减少炎症因子的能力, 对酒精性胃溃疡具有良好的治疗作用。与模型组相比, 白鳞马勃菌丝低、中、高剂量组均能显著降低胃溃疡小鼠血清及胃组织中 MDA、IL-6、TNF- α 含量($P<0.05$ 、 $P<0.01$), 显著增加血清及胃组织中 SOD 及血清 NO 含量($P<0.01$), 推测本研究剂量范围内的白鳞马勃菌丝同样具有通过降低氧化自由基及炎症因子进而治疗胃溃疡小鼠的能力。各白鳞马勃菌丝干预组虽无阳性药组治疗效果明显, 但作为药食同源中药, 具有复发率低等优点, 同时菌丝高剂量组在增加血清 SOD 含量, 降低血清及胃组织 IL-6 含量时与阳性药组具有相近的效果, 同时高剂量组效果均明显优于低剂量组。综上, 白鳞马勃菌丝可通过增加抗氧化能力, 降低胃组织中炎症因子、氧自由基代谢进而对酒精性胃溃疡小鼠的胃组织起到保护作用。

2.2.2 小鼠胃组织病理学变化

光学显微镜观察结果见图 3, 空白对照组小鼠胃黏膜上皮完整, 连续性好, 腺体排列整齐, 黏膜层组织结构层次清楚; 与空白组相比乙醇所致模型组, 胃黏膜损伤未累积及黏膜基层, 可见部分黏膜上皮细胞受损脱落, 灶状糜烂出血(红色箭头), 固有膜毛细血管扩张充血, 腺体肿胀, 结构破坏, 凝固性坏死, 炎性细胞增多(黑色箭头); 与模型组

表 4 血清中各指标含量(n=10)
Table 4 Content of each index in serum (n=10)

组别	剂量/(g/kg)	SOD/(μmol/gprot)	MDA/(nmol/mL)	NO/(pg/mL)	IL-6/(pg/mL)	TNF-α/(pg/mL)
空白组	-	61.96±1.83	8.77±0.32	66.13±9.57	89.69±7.61	75.52±4.78
模型组	-	31.42±1.02 ^{##}	17.28±0.56 ^{##}	36.12±5.82 ^{##}	126.29±13.67 ^{##}	114.85±7.19 ^{##}
阳性药组	0.50	59.64±1.23 ^{**}	10.32±0.88 [*]	61.29±10.13 ^{**}	96.99±10.08 ^{**}	78.41±7.73 ^{**}
菌丝低剂量组	0.50	49.02±1.86 ^{**}	13.01±0.49 [*]	40.51±4.77 ^{**}	116.64±11.66 ^{**}	94.89±2.98 [*]
菌丝中剂量组	0.75	49.91±1.34 ^{**}	13.26±0.51 [*]	43.55±6.13 ^{**}	107.98±9.57 ^{**}	93.81±1.67 [*]
菌丝高剂量组	1.00	56.75±1.04 ^{**}	11.58±0.50 [*]	47.58±5.93 ^{**}	101.96±10.57 ^{**}	91.85±3.23 [*]

注: -表示无此项;与空白组比较: [#]*P*<0.05, ^{##}*P*<0.01;与模型组比较: ^{*}*P*<0.05, ^{**}*P*<0.01, 下同。

表 5 胃组织中各指标含量(n=10)
Table 5 Content of each index in gastric tissue (n=10)

组别	剂量/(g/kg)	SOD/(μmol/L)	MDA/(nmol/gprot)	IL-6/(pg/mL)	TNF-α/(pg/mL)
空白组	-	412.34±5.16	5.64±1.59	89.69±7.61	75.52±4.78
模型组	-	279.79±62.94 ^{##}	11.95±3.53 ^{##}	126.29±13.67 ^{##}	114.85±7.19 ^{##}
阳性药组	0.5	386.17±50.52 ^{**}	6.43±1.66 ^{**}	96.99±10.08 ^{**}	78.41±7.73 ^{**}
菌丝低剂量组	0.5	325±7 ^{**}	8.19±1.23 [*]	116.64±11.66 ^{**}	94.89±2.98 [*]
菌丝中剂量组	0.75	330.81±7 ^{**}	8.05±1.35 [*]	107.98±9.57 ^{**}	93.81±1.67 [*]
菌丝高剂量组	1.0	333.53±6 ^{**}	6.49±1.69 [*]	101.96±10.57 ^{**}	91.85±3.23 [*]

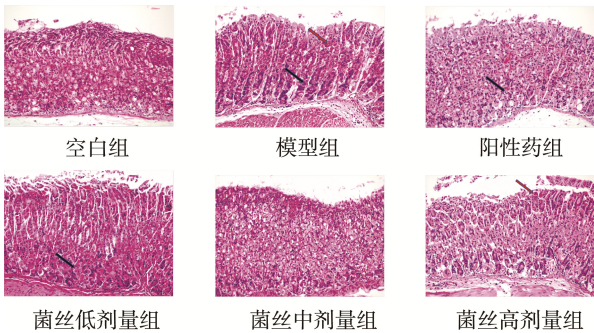


图 3 胃组织病理学变化(200×)

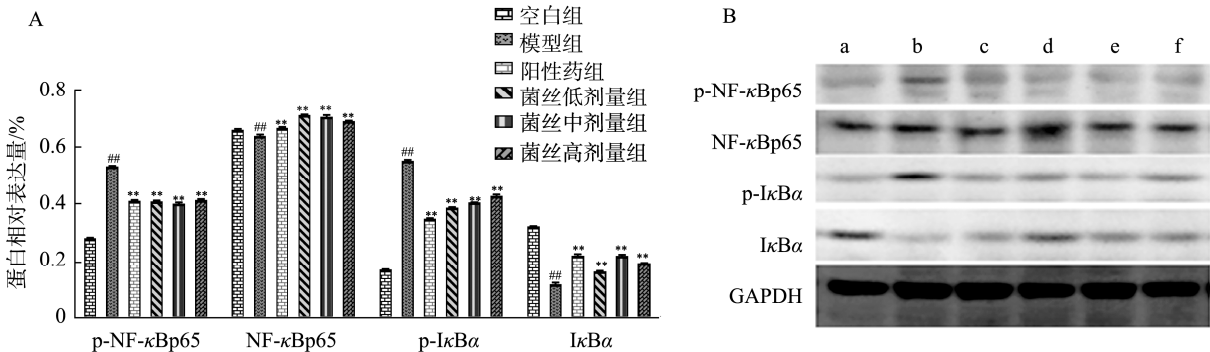
Fig.3 Histopathological changes of stomach (200×)

相比,阳性药组、菌丝低剂量组炎细胞数量明显减少,菌丝高剂量组中固有层出血明显减轻,炎性细胞数量明显减少;与阳性药组相比,菌丝低剂量组与高剂量组最终分值同阳性药组一样,说明白鳞马勃同样具有良好的保护胃黏膜的功能。结果表明,白鳞马勃菌丝对酒精型胃溃疡损伤

的胃组织具有明显修复作用。

2.2.3 小鼠胃组织蛋白变化

由图 4 可知,与空白组相比,模型组胃组织中 p-NF-κBp65、p-IκBα 蛋白水平显著升高(*P*<0.01), NF-κBp65、IκBα 蛋白水平显著降低(*P*<0.01), NF-κB 炎症通路中各炎症蛋白均已被激活,证明造模成功;与模型组相比,阳性药组胃组织中 p-NF-κBp65、p-IκBα 蛋白水平降低(*P*<0.01), NF-κBp65、IκBα 蛋白水平升高(*P*<0.01),说明阳性药组具有良好的降低炎症的作用;与模型组相比,白鳞马勃菌丝低、中、高剂量组胃组织中 p-NF-κBp65、p-IκBα 蛋白水平降低(*P*<0.01), NF-κBp65、IκBα 蛋白水平升高(*P*<0.01),证明白鳞马勃菌丝具有较好的抑制酒精性胃溃疡小鼠胃组织炎症蛋白的能力,同时白鳞马勃菌丝低、中、高剂量组 p-NF-κBp65、NF-κBp65 效果优于阳性药组。结果表明白鳞马勃菌丝可通过调节 NF-κB 炎症通路,降低炎症反应,进而干预酒精性肝损伤的发展。



注: A 为蛋白相对含量图,与空白组比较: [#]*P*<0.05, ^{##}*P*<0.01;与模型组比较: ^{*}*P*<0.05, ^{**}*P*<0.01; B 为 Western Blotting 结果图, a 为空白组, b 为模型组, c 为阳性药组, d 为菌丝低剂量组(0.5g/kg), e 为菌丝中剂量(0.75 g/kg), f 为菌丝高剂量组(1.0 g/kg)。

图 4 胃组织蛋白相对表达量
Fig.4 Relative expression of gastric tissue protein

3 讨论与结论

本研究优化了白鳞马勃摇瓶发酵工艺,即液体培养基中为3%蔗糖、2%酵母粉、0.15% $\text{MgSO}_4 + 0.15\% \text{KH}_2\text{PO}_4$ 接种后静置24 h,在温度为 $(28 \pm 1)^\circ\text{C}$,转速为150 r/min 恒温振荡培养器中培养7 d,菌丝干重可达0.7411 g/100 mL。通过动物实验证明,白鳞马勃菌丝可以减轻乙醇所致小鼠胃黏膜损伤,修复胃黏膜上皮细胞的受损脱落,对灶状糜烂出血有抑制作用,可有效降低模型动物固有膜毛细血管扩张充血,腺体肿胀,结构破坏,凝固性坏死。

相关研究表明,急性胃黏膜损伤与氧自由基的产生有关,无水乙醇诱发性胃溃疡可导致动物机体抗氧化应激能力下降,自由基形成增多,从而降低胃黏膜保护作用^[29]。氧自由基的大量生成参与了急性胃黏膜受损的发生与发展,清除剂SOD可以减轻胃黏膜的损伤,当SOD活性受到抑制时,出血性胃损伤加重^[30-31]。MDA为氧自由基氧化生物膜多不饱和脂肪酸产生的降解产物,其含量升高反映体内氧自由基代谢产物的增多,过多的氧自由基在体内堆积时可以通过破坏细胞膜和遗传结构,使具有膜结构的内质网、溶酶体及线粒体等结构破坏,从而对细胞产生损害作用^[32-33]。高静等^[34]也报道,消化性溃疡患者血清MDA含量明显升高。白鳞马勃菌丝能显著提高胃溃疡小鼠血清及胃组织中SOD水平,降低血清及胃组织中MDA水平,推测白鳞马勃菌丝可能通过清除氧自由基,抑制脂质的过氧化反应,进而减少自由基生成,最终起到保护胃黏膜作用的。

急性胃黏膜损伤中,NO具有扩张黏膜血管、增加血流量的作用,同时NO对溃疡愈合也有促进作用,是一种重要的胃黏膜保护因子^[35-36]。白鳞马勃菌丝能显著提高胃溃疡小鼠血清中NO水平,可有效的舒张血管,增加胃黏膜血管的血流量,在维持黏膜完整性和黏膜防御中直接发挥作用。TNF- α 作为炎症反应过程中出现的最早、最重要的炎性介质,可诱导IL-6、IL-8等细胞因子的产生,这些促炎因子不仅参与体内发热反应,同时可增加内皮细胞通透性^[37],白鳞马勃菌丝可显著降低血清及胃组织中TNF- α 及IL-6含量,推测白鳞马勃菌丝可能通过减少体内TNF- α 、IL-6含量,减少胃黏膜内皮细胞通透性进而增强胃黏膜防御能力。

NF- κB 作为一种重要的细胞转录因子,几乎存在于所有组织细胞中,由五个亚单位组成,典型的为p50和p65组成的二聚体,其中p65参与基因转录的起始调节^[38-39]。I $\kappa\text{B}\alpha$ 是I κB 家族中的重要一员,在静息状态下,它存在于胞浆中覆盖NF- κB 的核定位序列,与NF- κB 的二聚体组成三聚体,从而阻止NF- κB 进入胞核与目标基因启动区域的特定序列结合,抑制基因转录。当细胞受到外源性刺激时,I κB 发生磷酸化,I $\kappa\text{B}\alpha$ 迅速裂解,NF- κBp65 被激活并从三

聚体中释放出来,借助于暴露出来的核定位信号进入细胞核磷酸化为p-NF- κBp65 与核内DNA分子调控基因中启动子 κB 位点结合,从而引起炎症反应^[40-41]。白鳞马勃菌丝可通过上调I $\kappa\text{B}\alpha$ 蛋白,下调p-I $\kappa\text{B}\alpha$ 蛋白表达,促进p-NF- κBp65 蛋白下调、上调NF- κBp65 蛋白表达,从而降低胃部炎症,进而保护胃组织。

白鳞马勃作为临床与民间常见的食药两用真菌,虽然野生资源有限,但通过生物发酵技术生产期菌丝,亦可代替子实体对疾病起到预防和治疗作用,未来在食品和药品应用领域具有广阔的开发前景^[42-43]。

参考文献

- [1] 王淑敏,林喆.长白山药食同源中草药[M].长春:吉林科学技术出版社,2019.
WANG SM, LIN Z. Changbai Mountain medicine food homologous Chinese herbal medicine [M]. Changchun: Jilin Science & Technology Publishing House, 2019.
- [2] 宫诗林,曹玉峰,王淑敏,等.吉林省食药真菌马勃的资源及鉴定研究[J].亚太传统医药,2013,9(12): 4
GONG SL, CAO YF, WANG SM, et al. Study on the resources and identification of edible fungus puffballs in Jilin Province [J]. Asia-Pacific Tradit Med, 2013, 9(12): 4.
- [3] 王晶,郑旋,王万坤,等.药用菌马勃研究概况[J].食品界,2020,(9): 112-113.
WANG J, ZHENG X, WANG WK, et al. A survey of the research on medicinal fungus puffballs [J]. Food Ind, 2020, (9): 112-113.
- [4] 张妍.四种外生菌根菌对中辽1号杨接种效应的研究[D].沈阳:沈阳农业大学,2018.
ZHANG Y. Inoculation effect of four ectomycorrhizal fung I on *Populus × canadensis* cv. 'zhongliao 1' [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2018.
- [5] 李昂.吉林省马勃资源及药效物质基础研究[D].长春:长春中医药大学,2018.
LI ANG. Study on puffballs resources in Jilin Province and material basis of pharmacodynamics [D]. Changchun: Changchun University of Chinese Medicine, 2018.
- [6] 姜宁,朱淑彤,苏浩雨,等.猴头菌菌丝富硒特性及富硒深层发酵的研究[J].天然产物研究与开发,2021,33(5): 810-818, 830.
JIANG N, ZHU ST, SU HY, et al. Selenium enrichment characteristics and selenium-enriched submerged fermentation of *Hericium erinaceus* [J]. Nat Prod Res Dev, 2021, 33(5): 810-818, 830.
- [7] 陈文,何晓晖,徐泽宇,等.双蒲散抗溃疡作用的实验研究[J].中成药,2008,30(5): 654-657.
CHEN W, HE XH, XU ZY, et al. Anti-ulcer actions on Shuangpu powder [J]. Chin Tradit Pat Med, 2008, 30(5): 654-657.
- [8] 李红梅,周爱香,李小芹,等.胃疡宁凝胶对大鼠乙酸烧灼型胃溃疡的影响及其机理探讨[J].中国实验方剂学杂志,2005,11(1): 55-57.
LI HM, ZHOU AIX, LI XQ, et al. Effect of Weiyangning gel on acetic

- acid burning gastric ulcer in rats and its mechanism [J]. Chin J Exp Tradit Med Formulae, 2005, 11(1): 55–57.
- [9] 张海朋, 周霖, 姜丽静. 陈皮苷对乙醇诱导小鼠胃溃疡的保护作用及其机制研究[J]. 世界中西医结合杂志, 2022, 17(7): 1323–1327, 1345.
- ZHANG HP, ZHOU L, JIANG LJ. Mechanism of hesperidin against gastric ulcer by ethanol in mice [J]. World J Integr Tradit Western Med, 2022, 17(7): 1323–1327, 1345.
- [10] 相聪坤, 关胜江, 马娟娟. 大马勃及大口静灰球的抗炎镇痛作用比较研究[J]. 天津中医药, 2016, 33(7): 430–433.
- XAIING CK, GUAN SJ, MA JJ. Comparative study on anti inflammatory and analgesic effects of *Bovistellasinensis lloyd* and *Calyatia gigantea* Lloyd [J]. Tianjin J Tradit Chin Med, 2016, 33(7): 430–433.
- [11] GUSLANDI M. Effects of ethanol on the gastric mucosa [J]. Dig Dis, 1987, 5(1): 21–32.
- [12] ZOU Y, CUI X, XIANG Q, *et al.* Protective effect of against ethanol-induced gastric ulcer and its mechanism [J]. Zhejiang Univ Med Sci, 2021, 50(5): 561–567.
- [13] 杨小方, 薛璟, 徐广忠, 等. 马勃液体培养条件的研究[J]. 包装与食品机械, 2009, 27(5): 106–110.
- YANG XF, XUE J, XU GZ, *et al.* Study on the conditions of submerged culture for puffball [J]. Packag Food Mach, 2009, 27(5): 106–110.
- [14] 黄赛金, 尹爱武, 刘芳玉, 等. 马齿苋抗大鼠乙醇型胃溃疡作用研究[J]. 天然产物研究与开发, 2016, 28(5): 781–785.
- HUANG SJ, YIN AIW, LIU FY, *et al.* Antiulcer activity of *Portulaca oleracea* L. on ethanol-induced gastric ulcer rats [J]. Nat Prod Res Dev, 2016, 28(5): 781–785.
- [15] 穆双双. 紫色马勃的发酵工艺、化学成分及药效学研究[D]. 长春: 长春中医药大学, 2020.
- MU SS. Study on the fermentation technology、chemical constituents and pharmacodynamics of the *Calvatia lilacina* [D]. Changchun: Changchun University of Chinese Medicine, 2020.
- [16] POMA P. NF- κ B and disease [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(23): 9181.
- [17] 宋军民, 刘明华, 李岩. MCP-1 诱导人胃癌细胞 NF- κ B-p65 的表达和核移位[J]. 胃肠病学和肝病杂志, 2013, 22(9): 841–843.
- SONG JM, LIU MH, LI Y. MCP-1 induces expression of NF- κ B-p65 and nuclear translocation in human gastric cancer [J]. Chin J Gastroenterol Hepatol, 2013, 22(9): 841–843.
- [18] 韩洁楠, 王美娟, 赵训超, 等. 玉米粉淀粉含量近红外模型建立与优化[J]. 玉米科学, 2020, 28(6): 81–87.
- HAN HN, WANG MJ, ZHAO XC, *et al.* Establishment and optimization of a near-infrared model of maize starch content [J]. J Maize Sci, 2020, 28(6): 81–87.
- [19] 刘洋, 林希晏, 姚艳丽, 等. 高等植物蔗糖代谢研究进展[J]. 中国农学通报, 2012, 28(6): 145–152.
- LIU Y, LIN XH, YAO YL, *et al.* Sucrose metabolism in higher plants [J]. Chin Agric Sci Bull, 2012, 28(6): 145–152.
- [20] 黄艳燕, 郭铃, 陈东, 等. 酿酒酵母 YBR019C 基因缺失突变体的分析[J]. 广西科学, 2014, 21(2): 108–114.
- HAUNG YY, GUO L, CHEN D, *et al.* Reseach on *saccharomyces cerevisiae* mutant deficient in YBR019C [J]. Guangxi Sci, 2014, 21(2): 108–114.
- [21] 田露露. 酸奶发酵促进剂的研究[J]. 生物化工, 2021, 7(3): 82–86.
- TIAN LL. Research on yoghurt fermentation promoters [J]. Biol Chem Eng, 2021, 7(3): 82–86.
- [22] 杜丽红, 郝亚男, 陈宁, 等. 有机氮源及其在微生物发酵中的应用[J]. 发酵科技通讯, 2019, 48(1): 1–4.
- DU LH, HE YN, CHEN N, *et al.* Organic nitrogen source and their applications in microbial fermentation [J]. Bull Ferment Sci Technol, 2019, 48(1): 1–4.
- [23] 傅真杰, 朱长俊, 高颖, 等. 不同微量元素对平菇代谢及吸收的影响研究[J]. 广州化工, 2019, 47(13): 104–106.
- FU ZJ, ZHU CJ, GAO Y, *et al.* Effects of different trace elements on metabolism and absorption of *Pleurotus edodes* [J]. Guangzhou Chem Ind, 2019, 47(13): 104–106.
- [24] 徐柯. 矿质元素对平菇生理特性的影响[D]. 郑州: 河南农业大学, 2011.
- XU K. Effect of mineral elements on the physiology of mushroom [D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2011.
- [25] CHEN X, ZHAO Y, LIU K, *et al.* Lycopene aggravates acute gastric injury induced by ethanol [J]. Front Nutr, 2021, 8: 697879.
- [26] SRI ISWARI R, DAFIP M, PURWANTOYO E. Malondialdehyde (MDA) production in atherosclerosis supplemented with steamed tomato [J]. Pak J Biol Sci, 2021, 24(3): 319–325.
- [27] 韩婷. 外源性一氧化氮对大鼠慢性胃溃疡的保护作用及其机制[D]. 济南: 山东大学, 2017.
- HAN T. Nitric oxide donor protects against acetic acid-induced gastric ulcer in rats [D]. Jinan: Shandong University, 2017.
- [28] WANG Y, YU Y, YU W, *et al.* IL-35 inhibits cell pyroptosis and attenuates cell injury in TNF- α -induced bronchial epithelial cells via p38 MAPK signaling pathway [J]. Bioengineered, 2022, 13(1): 1758–1766.
- [29] YASUKAWA K. Free radical production and production mechanism in the early and advanced stages of gastrointestinal lesions yakugakuzasshi [J]. 2020, 140(11): 1343–1350.
- [30] PARK HS, SEO CS, BAEK EB, *et al.* Gastroprotective effect of myricetin on ethanol-induced acute gastric injury in rats [J]. Evid-Based Compl Alt Med, 2021, 2021: 9968112.
- [31] 郭锐. 美洲大蠊提取物对急性酒精性胃损伤保护作用的代谢组学初步研究[D]. 大理: 大理大学, 2019.
- GUO R. Preliminary metabolomics study on protective effect of *Periplaneta americana* on acute alcoholic gastric injury [D]. Dalian: Dalian University, 2019.
- [32] 萧璐, 谭春江, 吴岩斌. 心水通胶囊水提取物对缺氧损伤性人主动脉内皮细胞 LDH、MDA 和 SOD 的影响[J]. 中医药学报, 2013, 41(6): 47–50.
- XIAO L, TAN CJ, WU YB. Effects of water extracts of Xinshutong capsule on LDH, MDA and SOD in the human aortic endothelial cells induced by hypoxia [J]. Acta Chin Med Pharmacol, 2013, 41(6): 47–50.
- [33] TSIKAS D, MIKUTEIT M. N-acetyl-L-cysteine in human rheumatoid arthritis and its effects on nitric oxide (NO) and malondialdehyde (MDA):

- Analytical and clinical considerations [J]. *Amino Acids*, 2022, 54(9): 1251–1260.
- [34] 高静, 杨泽兰. 消化性溃疡患者血中MDA、SOD及GSH-PX的变化[J]. 中华实用中西医杂志, 2005, 18(23): 1781.
- GAO J, YANG ZL. Peptic ulcer sufferer hem in MDA、SOD and GSH-PX of variety [J]. *Chin J Pract Chin Mod Med*, 2005, 18(23): 1781.
- [35] LIANG TY, DENG RM, LI X, *et al.* The role of nitric oxide in peptic ulcer: A narrative review [J]. *Med Gas Res*, 2021, 11(1): 42–45.
- [36] KANDHWAL M, BEHL T, KUMAR A, *et al.* Understanding the potential role and delivery approaches of nitric oxide in chronic wound healing management [J]. *Curr Pharm Des*, 2021, 27(17): 1999–2014.
- [37] 余荣荣. 益气活血通络方对气虚血瘀型萎缩性胃炎患者胃粘膜 PTEN 及血清 IL-6、TNF- α 的影响[D]. 南京: 南京中医药大学, 2021.
- SHE RR. Effect of Yiqi Huoxue Tongluo recipe on gastric mucosal PTEN and serum IL-6 and TNF- α in patients with atrophic gastritis of qi deficiency and blood stasis type [D]. Nanjing: Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, 2021.
- [38] LAWRENCE T. The nuclear factor NF-kappa B pathway in inflammation [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2009, 1(6): a001651.
- [39] YU H, LIN L, ZHANG Z, *et al.* Targeting NF- κ B pathway for the therapy of diseases: Mechanism and clinical study [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, 5(1): 209.
- [40] CARRA G, ERMONTI G, RIGANTI C, *et al.* IkBa targeting promotes oxidative stress-dependent cell death [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2021, 40(1): 136.
- [41] ALI FF, MOKHEMER SA, ELROBY ADM. Administration of hemin ameliorates ovarian ischemia reperfusion injury via modulation of heme oxygenase-1 and p-JNK/p-NF- κ Bp65/iNOS signaling pathway [J]. *Life Sci*, 2022, 296: 120431.
- [42] 戴必胜, 陶佳喜, 张颖. 香菇菌丝体培养新工艺及在食品中的应用初探[J]. 食品科技, 1999, (4): 21–22.
- DAI BS, TAO JX, ZHANG Y. New technology of *Lentinus edodes* mycelium culture and its application in food [J]. *Food Sci Technol*, 1999, (4): 21–22.
- [43] 贺颖, 吴添伟, 金泽彬, 等. 微生物发酵技术在食品领域中的应用[J]. 吉林医药学院学报, 2021, 42(6): 453–455.
- HE Y, WU TW, JIN ZB, *et al.* Application of microbial fermentation technology in food field [J]. *J Jilin Univ Med Ed*, 2021, 42(6): 453–455.

(责任编辑: 郑 丽 黄周梅)

作者简介



李正龙, 硕士研究生, 主要研究方向为中药炮制学。

E-mail: lzl1744592799@163.com



王 欢, 助理研究员, 主要研究方向为生药(菌物药)资源开发与利用。

E-mail: wanghuanmyco@163.com



王淑敏, 博士, 教授, 主要研究方向为药用微生物物质基础与药效学研究。

E-mail: wangsm@ccucm.edu.cn