

杏鲍菇菌丝体多肽的免疫活性及抗肿瘤作用

孙亚男, 李文香, 胡欣蕾

(青岛农业大学食品科学与工程学院, 山东省应用真菌重点实验室, 山东青岛 266109)

摘要: 为研究杏鲍菇菌丝体多肽的免疫活性及抗肿瘤作用, 以杏鲍菇菌丝体多肽为原料, 通过对小鼠巨噬细胞 Ana-1 细胞存活率、细胞因子 TNF- α 和 IL-6 分泌量、膜表面蛋白 TLR2 和 TLR4 表达量、吞噬中性红活性以及刺激巨噬细胞产生 NO 和 H₂O₂ 的能力测定来研究杏鲍菇菌丝体多肽的免疫活性; 通过对人体乳腺癌细胞 BT-549 细胞、宫颈癌细胞 Hela-229 和胃癌细胞 HGC-27 细胞增殖的抑制来研究杏鲍菇菌丝体多肽的抗肿瘤作用。实验显示, 多肽浓度在 0.05~2 mg/mL 范围时, 在一定程度上能够促进巨噬细胞的增殖, 提高膜表面蛋白 TLR2、TLR4 表达量, 提高细胞因子 TNF- α 和 IL-6 分泌量, 增强巨噬细胞吞噬中性红活性能力, 并且促进巨噬细胞分泌 NO 和 H₂O₂; 对人体乳腺癌细胞、宫颈癌细胞和胃癌细胞这三种癌细胞具有较强的抑制作用, 表明杏鲍菇菌丝体多肽具有较好的免疫活性和抗肿瘤活性, 且活性与浓度呈现量效关系。

关键词: 杏鲍菇菌丝; 多肽; 免疫活性; 抗肿瘤作用

文章编号: 1673-9078(2017)5-20-26

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.5.004

Immunological and Antitumor Activities of Polypeptides from *Pleurotus eryngii* Mycelium

SUN Ya-nan, LI Wen-xiang, HU Xin-lei

(Food Science and Engineering College, Qingdao Agricultural University, Shandong Provincial Laboratory of Applied Mycology, Qingdao 266109, China)

Abstract: The aim of the present work was to study the immunological and antitumor activities of polypeptides from *Pleurotus eryngii* mycelium, which was used as the raw material. The immunological activities of the polypeptides were investigated by measuring neutral red uptake capacity, the ability to stimulate macrophages to secrete nitric oxide and hydrogen peroxide, the levels of the secreted cytokines tumor necrosis factor- α and interleukin-6, the expression levels of the membrane surface proteins toll-like receptor (TLR)2 and TLR4, and Ana-1 cell survival rate. The antitumor activities of the polypeptides were studied through the inhibition of the proliferation of human breast cancer cells (BT-549), cervical cancer cells (Hela-229), and human gastric cancer cells (HGC-27). The results showed that within a concentration range of 0.05~2 mg/mL, the *Pleurotus eryngii* mycelium polypeptide could, to some extent, promote the proliferation of macrophages, enhance TLR2 and TLR4 expression levels and macrophage neutral red uptake, and increase the secretion of nitric oxide and hydrogen peroxide by macrophages. The polypeptide had strong inhibitory effects on the proliferation of the breast cancer, cervical cancer, and human gastric cancer cells. These results indicate that the polypeptides from *Pleurotus eryngii* mycelium had good immunological and antitumor activities with a concentration-response relationship.

Key words: *Pleurotus eryngii* mycelium; polypeptides; immunological activities; antitumor activities

杏鲍菇(*Pleurotus eryngii*)学名刺芹侧耳, 隶属于真菌门, 担子菌纲, 伞菌目, 侧耳科, 侧耳属^[1,2], 是一种药食皆宜的珍稀真菌, 因其质地脆嫩, 肉质肥厚, 具杏仁的风味和鲍鱼质感, 口感滑爽, 故又有“平菇

收稿日期: 2016-07-02

基金项目: 山东省现代农业产业技术体系建设经费资助项目(SDAIT-07-07)

作者简介: 孙亚男(1990-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 农产品贮藏与加工

通讯作者: 李文香(1963-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 农产品贮藏与加工

王”、“雪茸”的美誉^[3], 深受广大消费者喜爱。它是一种药食兼用真菌, 因味道鲜美、营养丰富、强身健体的优点而备受推崇, 富含多糖、蛋白质、甾醇类、萜类及核苷类等多种活性成分, 具有增强人体免疫活性, 抗癌、抗衰老、润肠胃和美容等功效^[4,5]。近年来, 杏鲍菇作为一种高级保健食品, 其突出的营养价值引起人们的广泛关注。

研究表明, 杏鲍菇发酵菌丝体与生长成熟期子实体营养成分相比, 蛋白与微量元素含量相近, 多糖含量菌丝体略胜一筹, 因此, 杏鲍菇发酵菌丝体和子实

体都具有较好的营养价值^[6]。但是,从杏鲍菇保健食品的开发上看,发酵菌丝体具有培养周期短,工艺简单,成本低产量大,易控制,便于工业化生产等优点,避免了传统生产子实体栽培周期长,劳动强度大,受气候环境的影响,易造成重金属富集等弊端,因而将利用发酵技术生产的菌丝体及其活性成分制成相应的保健品具有广阔的前景^[7]。目前,国内外对杏鲍菇的研究多集中在对其子实体的研究,研究内容主要为多糖,利用其抗癌活性制备新药或利用其子实体的提取液制备保健饮料、口服液等。

巨噬细胞是生物体抵抗微生物的第一道防线之一,激活的巨噬细胞可以直接杀伤病原微生物,并可通过吞噬中性红活性能以及刺激巨噬细胞产生 NO 及 H₂O₂,分泌 TNF- α 、IL-6 和膜蛋白 TLR2、TLR4 等免疫活性分子,在先天性免疫防御和获得性免疫应答中起不可忽视的作用^[8]。本实验以杏鲍菇菌丝体多肽为原料,选用小鼠巨噬细胞 Ana-1 进行体外实验,通过对细胞存活率、细胞因子 TNF- α 和 IL-6 分泌量、膜表面蛋白 TLR2 和 TLR4 表达量、吞噬中性红活性能以及刺激巨噬细胞产生 NO 和 H₂O₂ 的能力来研究杏鲍菇菌丝体多肽的免疫活性;通过对人体乳腺癌细胞 BT-549 细胞、宫颈癌细胞 Hela-229 和胃癌细胞 HGC-27 细胞增殖的抑制来研究杏鲍菇菌丝体多肽的抗肿瘤活性,以期对杏鲍菇菌丝体多肽功能性食品的研发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料

杏鲍菇菌丝体多肽粗品的制备:将通过液体发酵得到的杏鲍菇菌丝球进行冷冻干燥,粉碎,得到杏鲍菇菌丝体粉末。利用磷酸盐缓冲液法提取杏鲍菇菌丝中的蛋白质,其提取条件为料液比 1:12, pH 为 6.5,浸提 4 h,得粗提液,对其进行理化性质鉴定见下图 1。使用超滤膜对混合蛋白进行分子量分级,收集分子量小于 30 ku 的部分,用 SephadexG-75 凝胶对所提取多肽进行分离纯化,得到两个多肽组分(组分 1,组分 2),分别对其活性进行研究。

乳腺癌细胞 BT-549、宫颈癌细胞 Hela-229、胃癌细胞 HGC-27 和小鼠巨噬细胞 Ana-1 购自中科院上海细胞库

1.1.2 主要试剂

四甲基噻唑蓝(MTT),美国 Sigma 公司产品;胎牛血清(FBS),美国 Gibco 公司产品;RPMI-1640 培养

基、青霉素混合液,美国 Thermo scientific 公司产品;鼠源 TNF- α 、IL-6 Elisa 试剂盒、鼠源 TLR2、TLR4 试剂盒,江苏碧云天生物技术研究产品;NO 试剂盒、H₂O₂ 试剂盒,南京建成有限公司;中性红染色剂,国药集团化学试剂有限公司产品;石油醚、氯仿、乙酸乙酯、甲醇、二甲基亚砷、氯化钠、氯化钾、磷酸二氢钾和磷酸氢二钠均为国产分析纯。

1.1.3 主要仪器

CO₂ 培养箱(MCO-18AIC)日本 Sanyo 公司产品;倒置显微镜(CKX-41)日本 Olympus 公司产品;自动酶标仪(Elx808)美国 Bio-Tek 公司产品;超净工作台,苏州净化设备有限公司产品;冷冻干燥机,德国 Christ 公司产品。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养

将乳腺癌细胞 BT-549、宫颈癌细胞 Hela-229、胃癌细胞 HGC-27 和小鼠巨噬细胞 Ana-1 接种在 RPMI-1640 培养基中(含 10%胎牛血清、100 IU 青霉素和 100 μ g/mL 链霉素),于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 的恒温培养箱中孵育,待细胞浓度达到 10⁷/mL 时,对细胞进行传代培养,保持细胞在指数增生期生长状态。

1.2.2 对细胞存活率的影响

参考谷鸿喜^[9]的方法,并稍做修改,取对数生长期的 BT-549、Hela-229、HGC-27、Ana-1 细胞,以 10⁵/mL 细胞浓度接种于 96 孔细胞培养板中,每孔 100 μ L,置于 CO₂ 恒温培养箱(37 $^{\circ}$ C、5%),培养 24 h 后,实验组每孔添加不同浓度的多肽液 100 μ L,使每孔的终浓度分别为 0.05、0.1、0.2、0.5、1、2 mg/mL,空白对照组每孔添加等体积的完全培养基,每组处理设置 6 个复孔。将培养板置于培养箱中孵育 24 h 后,每孔加入 5 mg/mL MTT 溶液 20 μ L,继续培养 4 h,培养结束。取出培养板弃掉上清液,每孔分别加入 DMSO 150 μ L,振荡 10 min,使沉淀溶解,在酶标仪 490 nm 处检测各孔吸光度值,并计算细胞存活率,见下公式:

$$\text{细胞存活率}(\%) = \frac{A_{\text{试验组}}}{A_{\text{对照组}}} \times 100\%$$

1.2.3 对细胞因子分泌量的影响

以 10⁵/mL 细胞浓度接种于 96 孔培养板中,每孔 100 μ L,置于 CO₂ 恒温培养箱(37 $^{\circ}$ C、5%),培养 24 h 后,实验组每孔添加不同浓度的多肽液 100 μ L,使每孔终浓度分别为 0.05、0.1、0.2、0.5、1、2 mg/mL,空白对照组每孔添加等体积的完全培养基,每组处理设置 6 个复孔。将培养板置于培养箱孵育 24 h 后,培

养结束, 分别收集各组细胞培养液, 1000 r/min 离心 10 min, 按 Elisa 试剂盒上说明进行细胞因子 TNF- α 和 IL-6 含量的检测。

1.2.4 对细胞吞噬活性的影响

参考 Novak^[10]的方法, 并稍做修改, 以 10^5 /mL 细胞浓度接种于 96 孔培养板中, 每孔 100 μ L, 置于 CO₂ 恒温培养箱(37 $^{\circ}$ C、5%), 培养 24 h 后, 实验组每孔添加不同浓度的多肽液 100 μ L, 使每孔终浓度分别为 0.05、0.1、0.2、0.5、1、2 mg/mL, 空白对照组每孔添加等体积的完全培养基, 每组处理设置 6 个复孔。将培养板置于培养箱孵育 24 h 后培养结束, 弃去细胞上清液, 每孔加入 200 μ L、0.1%中性红溶液, 置于 CO₂ 恒温培养箱(37 $^{\circ}$ C、5%)培养 1 h 后, 吸弃细胞上清, 每孔加 200 μ L 预温的磷酸缓冲液(PBS)清洗细胞, 重复操作 3 次, 加入 200 μ L、0.1 mol/L 乙酸-乙醇(1:1)溶解细胞, 酶标仪 490 nm 处检测吸光值。

1.2.5 对促 NO 生成活性测定

参考陈健^[11]的方法, 并稍做修改, 将小鼠巨噬细胞和样品于 96 孔板 (100 μ L/孔) 中培养 24 h 后, 吸取上清液 100 μ L, 加入等体积的 Griess 试剂, 10 min 后于 540 nm 下测量。Griess 法测定 NO₂⁻含量标准曲线的绘制: 制成浓度分别为 0 μ mol/L~100 μ mol/L 的 NaNO₂ 的标准品溶液。取上述配置好的稀释液加入 96 孔板中, 100 μ L/孔, 再加入等体积的 Griess 试剂进行反应。10 min 后, 用酶标仪检测 OD_{540 nm} 的吸光值。

1.2.6 对促 H₂O₂ 生成活性测定

参考陈健^[11]的方法, 并稍做修改, 将小鼠巨噬细胞加入 96 孔板中, 1×10^6 cells/孔。再加入待测样品, 培养 24 h 后吸取细胞培养上清 (100 μ L) 加入 96 孔培养板中, 再并加入等体积的 H₂O₂ 试剂, 反应 10 min 后, 用酶标仪检测 OD_{540 nm} 的吸光值。根据试剂盒所带标准品溶液计算出 H₂O₂ 的产量。

1.2.7 对膜表面蛋白表达量的影响

细胞布板情况及培养条件同上, 培养结束, 分别收集各组细胞培养液, 反复冻融, 高速离心 10 min, 得到细胞裂解液, 按 Elisa 试剂盒上说明进行膜表面蛋白 TLR2 和 TLR4 含量的检测。

1.2.8 数据分析

采用 Origin 8.0 绘图及线性回归分析, 采用 SPSS 17.0 统计软件, MTT 法测量细胞存活率, 细胞因子数值分析采用重复测量数据的方差分析。

2 结果与讨论

2.1 杏鲍菇菌丝体紫外扫描鉴定

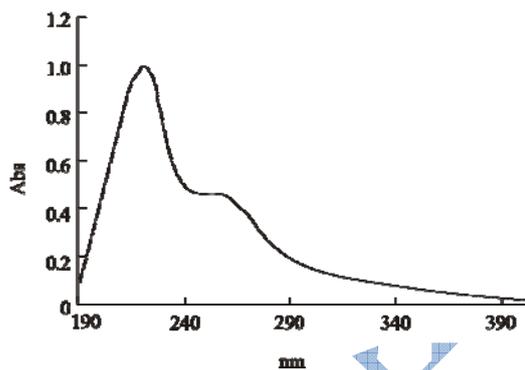


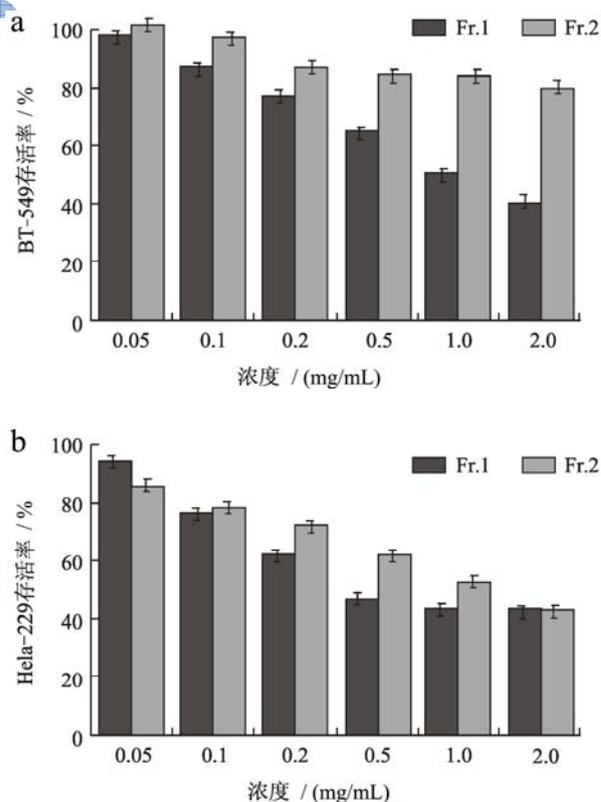
图1 杏鲍菇菌丝体蛋白提取液紫外扫描图

Fig.1 UV spectrum of *Pleurotus eryngii* mycelium polypeptide

如图1所示提取液的最大吸收峰在 220 nm 处, (肽键的吸收波长为 200~220 nm), 且在 260 nm 左右处有特征吸收峰, 表明含有核酸。

2.2 杏鲍菇菌丝体多肽对肿瘤细胞存活率的影响

图2显示的为杏鲍菇菌丝体分离出的两个多肽组分对三种癌细胞存活率的影响结果。由上图可以看出, 在 0.05~2 mg/mL 有效质量浓度范围内, 随着多肽浓度的增加细胞抑制率逐渐增大。多肽组分 1 对三种癌细胞具有显著的抑制作用, 组分 2 对 HeLa-229 有显著的抑制作用($p < 0.05$), 对另外两种癌细胞的抑制作用不显著($p > 0.05$)。



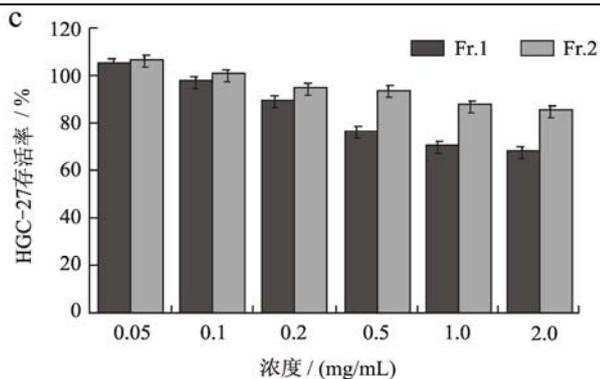


图2 杏鲍菇菌丝体多肽对BT-549 (a)、Hela-229 (b)和HGC-27 (c)存活率的影响

Fig.2 Effect of various concentrations of *Pleurotus eryngii* mycelium polypeptide on the survival rates of BT-549 cells (a), Hela-229 cells (b), and HGC-27 cells (c)

注: 细胞存活率<100%, 表明样品抑制细胞增殖; 细胞存活率>100%, 表明样品促进细胞增殖。

在浓度为2 mg/mL时, 组分1对三种癌细胞的抑制率分别为59.20%、61.40%和32.80%, 组分2对三种癌细胞的抑制率分别为19.92%、58.66%和18.25%。因此, 杏鲍菇菌丝中提取的多肽组分1在低浓度时就具有良好抑制BT-549、Hela-229和HGC-27增殖的活性, 为其以后精深加工提供理论依据。

2.3 杏鲍菇菌丝体多肽对Ana-1存活率的影响

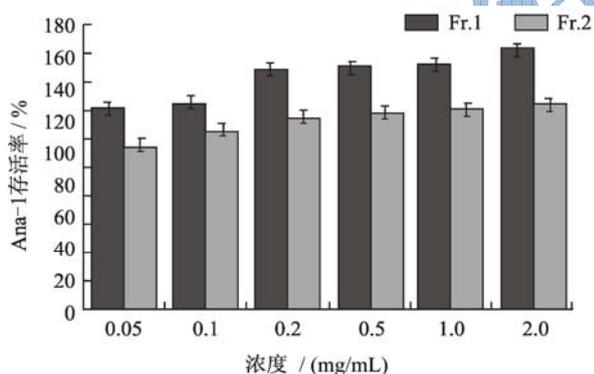


图3 杏鲍菇菌丝体多肽对Ana-1存活率的影响

Fig.3 Effect of various concentrations of *Pleurotus eryngii* mycelium polypeptide on the survival rate of Ana-1 cells

巨噬细胞在机体固有免疫与适应性免疫中发挥着复杂的功能, 尤其在对抗感染和损伤的宿主防御中起到重要作用。增殖是免疫细胞分化成多种功能形态并在免疫应答中发挥相应作用的前提和基础, 巨噬细胞的增殖对于其各种免疫应答功能的实现是必需的^[12]。不同浓度杏鲍菇菌丝体多肽溶液对小鼠巨噬细胞Ana-1存活率的影响各不相同, 由图3可以看出, 随着浓度的增加细胞存活率逐渐增大, 且呈现浓度依赖性, 表明组分1和组分2均有促进Ana-1细胞增殖的

作用。其中, 组分1对Ana-1细胞的刺激增殖作用显著高于组分2($p < 0.05$)。在浓度为2 mg/mL时, 组分1有最强的促进增殖作用, Ana-1细胞的存活率达到164.70%; 组分2促进增殖作用稍弱, Ana-1细胞的存活率达到130.20%。

2.4 杏鲍菇菌丝体多肽对Ana-1细胞吞噬活性的影响

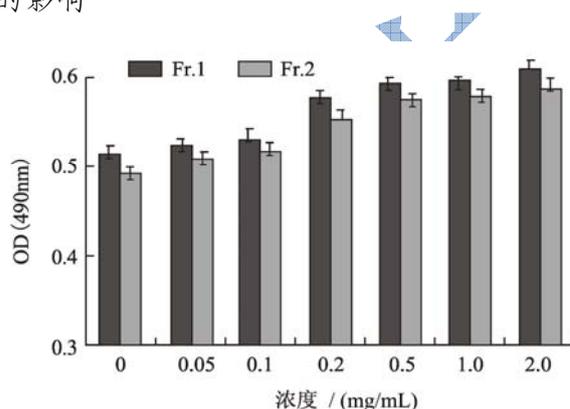


图4 杏鲍菇菌丝体多肽对Ana-1吞噬活性的影响

Fig.4 Effect of various concentrations of *Pleurotus eryngii* mycelium polypeptide on the phagocytic activity of macrophages

巨噬细胞的吞噬作用是通过将各类病原微生物、机体衰老死亡的细胞和肿瘤细胞等大颗粒抗原摄入胞内, 形成吞噬溶酶体, 在多种酶的作用下, 杀灭和消化抗原性异物^[13]。不同浓度的杏鲍菇菌丝体多肽溶液作用于Ana-1细胞, 通过中性红吞噬实验检测细胞的吞噬能力变化如图4。从图4可以看出, 不同浓度的组分1和组分2作用于Ana-1细胞后, 其吞噬活性的变化均呈现出逐渐上升的变化趋势。浓度为0.2~2 mg/mL组分1和组分2的四个处理组吞噬中性红能力均显著高于未刺激组, 其中, 组分1吞噬中性红能力均显著高于组分2, 且浓度为2 mg/mL时均表现出最高的吞噬活性, 组分1与未刺激组相比吞噬活性提高了25.08%; 组分2与未刺激组相比吞噬活性提高了19.26% ($p < 0.05$)。

2.5 杏鲍菇菌丝体多肽对促NO和H₂O₂生成活性的影响

NO和H₂O₂是两种新型的生物活性信息递质, 具有重要的免疫学功能, 在免疫、神经和呼吸等多个系统中均发挥着重要作用, 并且广泛参与到机体的免疫反应、炎症反应等多种生理和病理过程中, 与获得性免疫、细胞因子的分泌以及自身免疫病都密切相关

[14]。不同浓度杏鲍菇菌丝体多肽溶液作用于 Ana-1 细胞后,对促 NO 和 H₂O₂ 生成的变化情况分别如图 5a 和 b。由图 5 可知,组分 1、组分 2 浓度在 0.05~2 mg/mL 范围内均促进小鼠巨噬细胞分泌 NO 和 H₂O₂, 并且在该试验范围内对巨噬细胞的激活作用随着浓度的增大而增大。当浓度大于 0.5 mg/mL 后,组分 1 作用的细胞 NO 和 H₂O₂ 分泌量上升幅度显著高于组分 2 ($p<0.05$)。其中,当浓度为 2 mg/mL 时, Ana-1 均出现了 NO 和 H₂O₂ 的分泌最大值,组分 1 作用的细胞上清液中的 NO 含量达到 1.53 $\mu\text{mol/mL}$, 组分 2 作用的细胞上清液中的 NO 含量达到 1.22 $\mu\text{mol/mL}$, 与未刺激组相比含量分别提高了 59.30%和 32.30%; 组分 1 作用的细胞上清液中的 H₂O₂ 含量达到 38.23 $\mu\text{mol/L}$, 组分 2 作用的细胞上清液中的 H₂O₂ 含量达到 26.55 $\mu\text{mol/L}$, 与未刺激组相比含量分别提高了 69.70%和 40.90%。

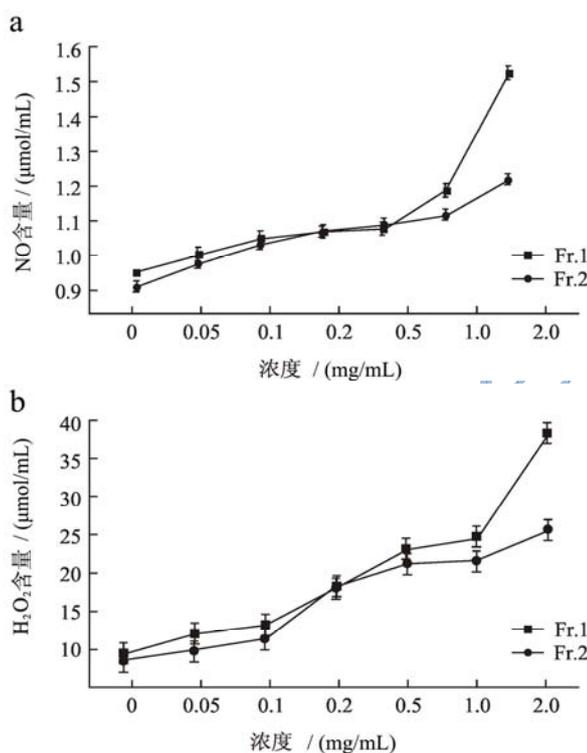


图5 杏鲍菇菌丝体多肽对促 NO (a) 和 H₂O₂ (b) 生成活性的影响

Fig.5 Effect of various concentrations of *Pleurotus eryngii* mycelium polypeptide on the secretion of nitric oxide (a) and hydrogen peroxide (b)

2.6 杏鲍菇菌丝体多肽对 Ana-1 分泌细胞因子

TNF- α 和 IL-6 的影响

巨噬细胞的毒性作用是通过分泌各种免疫活性分子,如 TNF- α 、IL-6 和 IL-10 等,对肿瘤细胞和病原

菌具有直接的毒性^[15]。不同浓度杏鲍菇菌丝体多肽溶液作用于 Ana-1 细胞后,细胞因子 TNF- α 和 IL-6 分泌的变化情况如图 6。由图 5 可以看出, Ana-1 细胞接受两个多肽组分作用后,细胞因子 TNF- α 和 IL-6 分泌的变化均呈现出逐渐上升的变化趋势,有浓度依赖性。当浓度大于 0.1 mg/mL 时,组分 1 作用的细胞 TNF- α 和 IL-6 分泌量上升幅度显著高于组分 2 ($p<0.05$)。其中,当浓度为 2 mg/mL 时, Ana-1 均出现了 TNF- α 和 IL-6 的分泌最大值,组分 1 作用的细胞上清液中的 TNF- α 含量达到 694.25 ng/L, 组分 2 作用的细胞上清液中的 TNF- α 含量达到 549.60 ng/L, 与未刺激组相比含量分别提高了 38.50%和 21.40%; 组分 1 作用的细胞上清液中的 IL-6 含量达到 101.30 ng/L, 组分 2 作用的细胞上清液中的 IL-6 含量达到 85.02 ng/L, 与未刺激组相比含量分别提高了 29.10%和 14.50%。

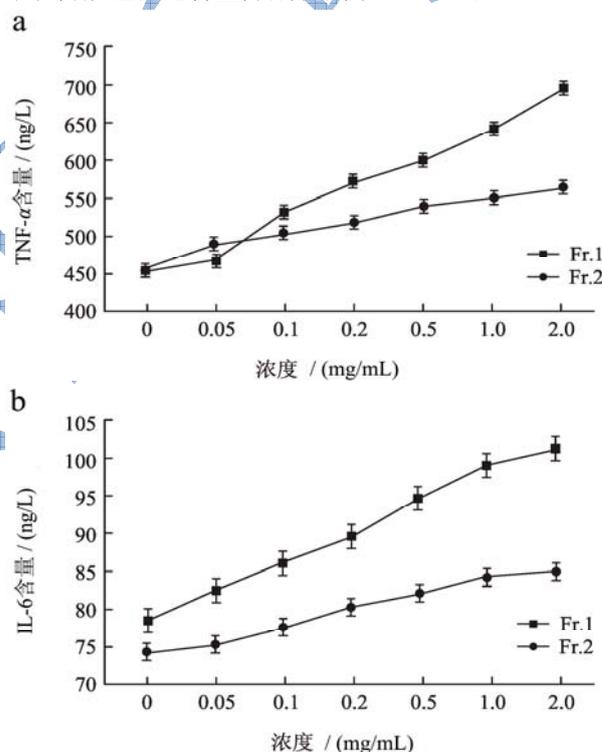


图6 杏鲍菇菌丝体多肽对细胞因子 TNF- α (a) 和 IL-6 (b) 的影响

Fig.6 Effect of various concentrations of *Pleurotus eryngii* mycelium polypeptide on the secretion of cytokines TNF- α (a) and IL-6 (b)

2.7 杏鲍菇菌丝体多肽对细胞膜蛋白 TLR2 和

TLR4 表达的影响

Toll 样受体(Toll-like receptors, TLRs)是巨噬细胞、树突状细胞等抗原呈递细胞表面识别多种病原体及内源性物质的跨膜蛋白^[16], TLRs 可以通过各自不同的

配基识别相应的病原相关分子模式(PAMPs), 激活一系列的信号通路启动宿主抵抗病原微生物的天然免疫, 并对特异性免疫应答进行调控^[17]。巨噬细胞在接受外界刺激后, 通过 TLRs 产生激活信号, 激活转录因子 NF- κ B, 进而激活一系列免疫反应, 如增强吞噬活性和分泌细胞因子等。

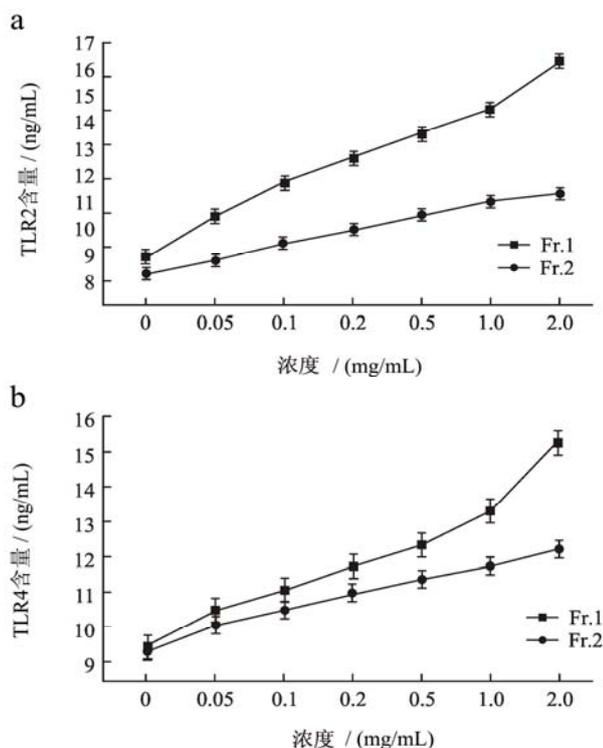


图7 杏鲍菇菌丝体多肽对 TLR2 (a) 和 TLR4 (b) 表达的影响

Fig.7 Effect of various concentrations of *Pleurotus eryngii* mycelium polypeptide on TLR2 (a) and TLR4 (b) expression

不同浓度杏鲍菇菌丝体多肽溶液作用于 Ana-1 细胞后, 细胞膜蛋白 Toll 样受体 TLR2 和 TLR4 表达量的变化情况如图 7。由图 7 可以看出, Ana-1 细胞在加入组分 1、组分 2 后 TLR2 和 TLR4 的表达量显著升高, 均呈现逐渐上升的变化趋势, 有浓度依赖性, 组分 1 作用的细胞膜蛋白 TLR2 和 TLR4 表达量上升幅度显著高于组分 2 ($p < 0.05$)。其中, 当浓度为 2 mg/mL 时, TLR2 和 TLR4 表达量均为最高值, 组分 1 作用的细胞膜蛋白 TLR2 表达量达到 16.21 ng/mL, 组分 2 作用的细胞膜蛋白 TLR2 表达量达到 11.36 ng/mL, 与未刺激组相比表达量分别提高了 44.40% 和 25.80%; 组分 1 作用的细胞膜蛋白 TLR4 表达量达到 14.96 ng/mL, 组分 2 作用的细胞膜蛋白 TLR4 表达量达到 12.03 ng/mL, 与未刺激组相比表达量分别提高了 36.91% 和 22.41%。这表明巨噬细胞免疫应答中的 NF- κ B 通路能够被激活, 而在本研究中观察到的 Ana-1 细胞增殖、细胞因子分泌量升高、吞噬活性增加等现象可能与 NF- κ B 通路的激活有关。

3 结论

对从杏鲍菇菌丝体中提取的两个多肽成分免疫活性及抗肿瘤作用分析表明: Ana-1 细胞在不同浓度多肽的刺激作用下, 组分 1 对 Ana-1 细胞促进增殖效果明显, 在浓度为 2 mg/mL 时, Ana-1 细胞的存活率达到 164.70%; TNF- α 和 IL-6 两种细胞因子均出现了分泌最大值; 中性红吞噬活性试验结果显示, 该多肽能显著增强 Ana-1 的吞噬活性且促进巨噬细胞分泌 NO 和 H₂O₂ 能力; 多肽作用于巨噬细胞可显著上调膜蛋白 TLR2、TLR4 的表达量 ($p < 0.05$); 对 BT-549、Hela-229 和 HGC-27 三种癌细胞的增殖具有显著的抑制作用 ($p < 0.05$)。具有免疫活性及抗肿瘤作用的杏鲍菇菌丝体多肽是一种极具开发价值的原料, 有待于在功能性食品方面开发研究。

参考文献

- [1] 陈君琛, 杨艺龙, 翁敏劫, 等. 即食杏鲍菇热风-真空联合干燥工艺优化[J]. 农业工程学报, 2014, 30(14): 331-338
CHEN Jun-chen, YANG Yi-long, WENG Min-jie, et al. Optimization of combined hot-air and vacuum drying technology for instant *Pleurotus Eeryngii* [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2014, 30(14): 331-338
- [2] 田平平, 王杰, 秦晓艺, 等. 采后处理对杏鲍菇贮藏品质及抗氧化酶系统的影响[J]. 中国农业科学, 2015, 48(5): 941-951
TIAN Ping-ping, WANG Jie, QIN Xiao-yi, et al. Effect of postharvest treatment on the storage quality and antioxidant enzyme system of *Pleurotus eryngii* [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2015, 48(5): 941-951
- [3] Urbanelli S, Della Rosa V, Punelli F, et al. DNA-fingerprinting (AFLP and RFLP) for genotypic identification in species of the *Pleurotus eryngii* complex [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2007, 74(3): 592-600
- [4] Lewinsohn D, Wasser S P, Reshetnikov S V, et al. The *Pleurotus eryngii* species-complex in Israel: distribution and morphological description of a new taxon [J]. Mycotaxon, 2002, 81: 51-67
- [5] Zervakis G I, Venturella G, Papadopoulou K. Genetic polymorphism and taxonomic infrastructure of the *Pleurotus eryngii* species-complex as determined by RAPD analysis, isozyme profiles and ecomorphological characters [J]. Microbiology, 2001, 147(11): 3183-3194
- [6] Gordon S, Martinez F O. Alternative activation of

- macrophages: mechanism and functions [J]. *Immunity*, 2010, 32(5): 593-604
- [7] Sandra N, Lester K L. Toll-like receptors in antiviral innate immunity [J]. *Journal of Molecular Biology*, 2014, 426(6): 1246-1264
- [8] Kumar H, Kawai T, Akira S. Toll-like receptors and innate immunity [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2009, 388: 621-625
- [9] 谷鸿喜,张凤民,凌虹.细胞培养技术[M].北京:北京大学医学出版社,2012
GU Hong-xi, ZHANG Feng-min, LING Hong. Cell culture technology [M]. Beijing: Peking University Medical Press, 2012
- [10] Novak M, Vetvicka V. Beta-glucans, history, and the present: immuomodulatory aspects and mechanisms of action [J]. *Journal of Immunotoxicology*, 2008, 5: 47-57
- [11] 陈健,向莹.滑子菇多糖的免疫活性及抗肿瘤作用[J].现代食品科技,2013,29(8):1800-1804
CHEN Jian, XIANG Ying. Immunological and antitumor activities of the polysaccharides from *Pholiota Nameko* [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2013, 29(8): 1800-1804
- [12] 陈永生,扶雄,周林,等.亮叶杨桐叶中酚类物质抗氧化和抗HepG2 细胞增殖作用[J].现代食品科技,2016,32(8):14-20
CHEN Yong-sheng, FU Xiong, ZHOU Lin, et al. Phenolics profiles, antioxidant activity and antiproliferation of *adinandra nitida* leaves from different seasons [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2016, 32(8): 14-20
- [13] Chan G C, Chan W K, Sze D M Y. The effects of β -glucan on human immune and cancer cells [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2009, 2: 25
- [14] Yang Z, Xu J, Fu Q, et al. Antitumor activity of a polysaccharide from *Pleurotus eryngii* on mice bearing renal cancer [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2013, 95: 615-620
- [15] Zhao L, Dong Y, Chen Q, et al. Extraction, purification, characterization and antitumor activity of polysaccharides from *Ganoderma lucidum* [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2010, 80(3): 783-789
- [16] Han E H, Hwang Y P, Kim H G. Inhibitory effect of *Pleurotus eryngii* extracts on the activities of allergic mediators in antigen-stimulated mast cells [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2011, 49(6): 1416-1425
- [17] Nicole G R, Mc Donagh D L, Borel C O, et al. Adenosine-induced transient asystole for intracranial aneurysm surgery: a retrospective review [J]. *Journal of Neurosurgical Anesthesiology*, 2011, 23(1): 35-40