

樟芝的药理作用及其培植方式的研究进展

陈清法, 赵宗杰*, 谢海涛, 张向阳, 王鹏亭 (香港中医科学院, 香港 999077)

摘要 樟芝富含多种生物成分, 是一种药用价值极高的药用真菌。在此介绍了樟芝的药理作用及其培植方式的最新的研究进展。

关键词 樟芝; 药理作用; 培植方式; 研究进展

中图分类号 S572 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2014)29-10129-02

Research Progress on the Pharmacological Effects and Cultivation Methods of *Antrodia cinnamomea*

CHEN Qing-fa, ZHAO Zong-jie*, XIE Hai-tao et al (Hong Kong Chinese Medical Science Academy, Hongkong 999077)

Abstract *Antrodia cinnamomea* enriches multiple biological components, and it is a medicinal fungi with prominent medicinal value. This review introduces the recent research progress on the pharmacological effects and cultivation methods of *Antrodia cinnamomea*.

Key words *Antrodia cinnamomea*; Pharmacological effects; Cultivation methods; Research advances

樟芝(*Antrodia cinnamomea*), 又名牛樟芝, 是担子菌纲多孔菌目真菌, 富含多种生物活性成分, 其子实体和菌丝体均可被食用, 是一种药用价值极高的药用真菌。具有抗癌、保肝、抗炎、抗病毒、调节免疫力、抗氧化、降血脂等作用, 是滋补强壮、扶正固本的珍品。笔者在此对樟芝的药理作用及其培植方式的研究进展进行了介绍。

1 樟芝的药理作用机理

1.1 抗肿瘤作用机理 樟芝因其具有抗肿瘤的活性而广受重视, 不论在体外细胞试验或是体内的动物试验中, 都有文献指出樟芝具有良好的抗肿瘤活性。Kuo 等用樟芝子实体的乙醇提取物(EAC)处理人肝癌细胞 Hep3B, 结果发现 EAC 可以减少 Hep3B 细胞的增殖, 达到诱导细胞凋亡的效果^[1]。EAC 能够增加细胞间质 Ca²⁺ 的含量, 以及增加钙蛋白酶和 caspase-12 的表达。Song 等对樟芝发酵菌丝的甲醇提取物(MEM)作用于人肝癌细胞的效果进行了研究, 结果表明 MEM 通过 caspase-3 和 caspase-8 的活化及阻断细胞循环, 实现对肝癌细胞增殖的抑制, 从而达到诱导肝癌细胞 HepG2 的凋亡^[2]。Hseu 等对樟芝诱导人早幼粒细胞白血病 HL-60 细胞的体外凋亡能力进行了研究, 结果显示樟芝可通过诱导细胞凋亡, 而抑制 HL-60 细胞的增殖和生长^[3]。Liu 等研究了樟芝的乙醇提取物(EEAC)对 WEHI-3 细胞的体外增殖和迁移的影响, 结果表明, EEAC 能够减少 WEHI-3 细胞进入肝脏和脾脏的机会, 从而使肿瘤细胞的生长能力降低^[4]。Rao 等证实从樟芝中分离得到的 Antrocin 作用于转移性乳腺癌 MDA-MB-231 细胞(MMCs), 可通过作为 Akt/mTOR 途径的选择性小分子抑制剂而实现对 MDA-MB-231 细胞的抑制作用^[5]。Hseu 等发现樟芝可通过调节 Wnt/ β catenin 信号通路实现对黑色素瘤细胞的肿瘤抑制作用^[6]。

1.2 保肝机理 樟芝具有解毒、抗癌及抗炎作用, 为一本土性很强且非常具有经济效益的中药及保健药。Song 等研究发现樟芝发酵液具有保护大鼠肝脏避免 CCl₄ 诱导的急性氧化伤害的能力, 并初步推测其保肝活性和多糖、多酚及三萜

作者简介 陈清法(1984-), 男, 山东聊城人, 研究员, 博士, 从事樟芝的现代化研究。* 通讯作者, 研究员, 从事樟芝的现代化研究。

收稿日期 2014-09-03

类化合物有关^[7]。Lu 等研究了樟芝深层液体发酵液乙醇提取物(Fr-I)对大鼠肝脏乙醇诱导的急性肝损伤和清除自由基的影响, 结果发现樟芝菌粉高、低剂量均可避免乙醇诱导的天冬氨酸转氨酶以及丙氨酸转氨酶的血清水平的升高, 且可以维持肝组织 MDA 水平, 降低谷胱甘肽的水平, 提高乙醇诱导引起的的肝脏谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)以及谷胱甘肽还原酶(GR)水平的降低, 说明其具有明显的抗脂质过氧化作用, 其作用机制与上调肝脏 GSH 水平以及 GSH 相关酶系 GPx 和 GR 的活性有关^[8]。

1.3 抗炎症机理 截至目前为止, 研究人员在樟芝中总共鉴定出了 20 几种具有抗炎作用的化合物, 包括琥珀/马来酸衍生物、三萜类化合物、苯环型化合物、苯醌衍生物、多糖和其他化合物。Hseu 等以巨噬细胞 RAW264.7 为研究对象, 观察液态深层发酵法培养的樟芝菌丝体的体外抗炎作用, 结果发现, 樟芝菌丝体在 0~50 μ g/ml 时无明显的细胞毒性, 但能显著抑制 RAW264.7 细胞内由脂多糖 LPS 引起的细胞因子 NO 和 PGE2 的产生, 并降低他们的含量; 进一步研究发现这些变化是由细胞内 iNOS 和 COX2 蛋白表达量减少所致^[9]。iNOS 和 COX2 蛋白是细胞重要抗炎途径之一 NF- κ B 途径的关键蛋白, 二者含量的减少说明樟芝菌丝体可以通过 NF- κ B 途径来发挥体外抗炎作用。Chen 等阐明了樟芝抗炎作用的分子机理, 从樟芝子实体中分离纯化出 5 种三萜类化合物 antcin A、B、C、H、K, 发现在 5 种化合物里面 antcin A 与糖皮质激素可的松(cortisone)和地塞米松(dexamethasone)的化学结构最相似; 由于结构的相似, antcin A 导致了人肺腺癌细胞 A549 中糖皮质激素受体(GR)从细胞质中易位至细胞核; 由于 antcin A 的亲脂性, 很容易扩散通过细胞膜, 接着与细胞质的糖皮质激素受体(GR)结合; 与 antcin A 结合后, GR 与热休克蛋白分离, 然后 GR/antcin A 复合物形成二聚物, 最后易位至细胞核; 在细胞核中 GR/antcin A 与目标基因的糖皮质激素反应元件(GRE)结合, 来调控基因的表达, 如抑制促炎蛋白的表达, 增加抗炎蛋白的表达来发挥抗炎效应^[10]。

1.4 免疫调节作用机理 现代研究发现, 部分中草药具有免疫双向调节功能, 使过高或过低的免疫反应恢复正常。它

们作为免疫调节剂的物质基础是其所含多糖类、甙类、萜类、黄酮类以及挥发油等。孟繁岳等将 H22 瘤株腹水接种于小鼠的背部皮下,建造荷瘤小鼠模型,并喂以樟芝子实体粉末低剂量[40 mg/(kg·bw)]、中剂量[200 mg/(kg·bw)]和高剂量[1 000 mg/(kg·bw)],结果表明,樟芝子实体能够同时从免疫细胞和免疫分子水平提高荷瘤小鼠的抗肿瘤免疫功能,并表现出剂量依赖趋势^[11]。可见,樟芝子实体的抑瘤作用与其改善免疫系统状态、增强机体抗肿瘤能力有关。

1.5 其他作用机理 很多研究证明,樟芝除以上功能之外,还具有抗氧化、降血压、降血脂、抗血小板凝集、保护神经等作用。Hseu 等探索了樟芝菌丝体水提物对 AAPH 诱导下人体红细胞溶血、脂质/蛋白质过氧化反应的抑制作用^[12]。AAPH 是一种水溶性自由基诱导物,它可以刺激体内氧化反应和过氧化氢自由基的生成,进而引发红细胞被自由基损伤而引起一系列的病变。樟芝菌丝体水提物可以抑制 AAPH 所诱导的自由基损伤,有效减弱红细胞的氧化溶血和脂质过氧化作用,且对于胞质抗氧化剂谷胱甘肽有保护作用^[12]。Cheng 等发现樟芝多糖可以通过抑制血管内皮生长因子受体 VEGF 来阻断 VEGF 诱导的内皮细胞迁移和毛细血管样血管形成,并抑制细胞周期蛋白 D1 的表达,从而抑制新血管的生成^[13]。Li 等研究发现樟芝可以减少模型试验鼠颈动脉处新生血管形成外,有效地抑制 PDGF 引起的主动脉平滑肌细胞增殖和迁移,并减少颈动脉结扎引起的新生内膜的形成^[14]。说明樟芝具有很好地治疗血脂异常和动脉粥样硬化的功效。

2 樟芝的培育方式

良好的药理研究成果,推升了樟芝的应用。由于资源有限,樟芝的培植技术成为另一个研究重点,现在人工培植的樟芝菌丝体和子实体在技术上均已成熟,且培育出的樟芝在总三萜含量方面可与野生樟芝相媲美。香港中医科学院深圳樟芝实验室所研发的富萜樟芝深层液体发酵等多种樟芝培植技术,使樟芝的人工培育技术得到了很大的突破,为樟芝得以广泛开发应用奠定了坚实的基础。

2.1 感染栽培和人工椴木栽培法 可获得人工子实体,活性成分接近野生樟芝,但赖以生长的牛樟椴木存量稀少,子实体生长过于缓慢,生产成本居高不下,且易于污染黄曲霉毒素、重金属等有害成分,所产樟芝子实体质量不易控制,很难实现标准化及规模化生产。

2.2 固态发酵 也叫太空包培养,固态发酵能明显降低生产成本,生产周期可缩短至3个月左右,在一定程度上可实现自动化、工业化生产,发酵产物为樟芝菌丝体,总三萜含量可达3%~5%,一般对发酵产物粗提后使用,效果不逊色于野生樟芝。但3个月生长周期仍然难以大幅度降低生产成本,大规模生产时难以实现自动化,菌丝体质量参差不齐,品质管理有难度。

2.3 深层液体发酵 是多数药用真菌实现工业化生产的必然方式,具有自动化程度高、生产周期可大幅度缩短、生产成本低廉、质量可控等优点。香港中医科学院^[15-16]、深圳市仁泰生物科技有限公司、江南大学^[17-18]等多个科研单位和生

物技术公司都投入大量财力物力进行樟芝液体发酵产物的研究。目前通过液体发酵方式生产的樟芝总三萜最高可达11.9%,超过了固体发酵和皿培式培植。三萜类化合物是樟芝的核心药理成分,也是判断樟芝原料优劣的最重要指标,实现了高产三萜工艺,为樟芝的深入研究尤其以樟芝为原料生产抗癌药物及抗肝损伤药物奠定了基础,这一研究成果必将极大地促进樟芝产业化进程。

3 展望

樟芝作为台湾的一种珍稀药用真菌,从1990年在台湾正式报道以来,受到研究者的重视也仅仅20年的时间,越来越多的研究从最初的总体提取物的生物学功能鉴定转变为提取物的单一活性成分的特定功能靶点的鉴定^[19]。许多动物模型试验被研究人员用来鉴定樟芝不同组分或活性成分在抗肿瘤、保肝、抗炎症、免疫调节、抗氧化中的生物学活性。体内试验的樟芝的药理作用机理可以应用到未来的临床研究中。

由于樟芝的资源稀少,市场价格十分昂贵,所以为了保护这种珍稀资源以及满足人们日益增长的需要,通过大规模的培养技术获得三萜等有效组分或通过合成获得樟芝的生物学活性组分等方法越来越被重视。尽管认为樟芝在很大程度上可以治疗人类的健康状况,然而目前樟芝只是作为一种食品补充剂而不是药品在市场上流通,将来有望通过应用临床试验方法将樟芝或樟芝中的某些成分转变为药物,从而能够让这种珍贵的菌类物质得到充分利用。

参考文献

- [1] KUO P L, HSU Y L, CHO C Y, et al. Apoptotic effects of *Antrodia cinnamomea* fruiting bodies extract are mediated through calcium and calpain-dependent pathways in Hep 3B cells[J]. Food and Chemical Toxicology, 2006, 44(8): 1316-1326.
- [2] SONG T Y, HSU S L, YEN G C. Induction of apoptosis in human hepatoma cells by mycelia of *Antrodia camphorata* in submerged culture[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2005, 100(1/2): 158-167.
- [3] HSEU Y C, YANG H L, LAI Y C, et al. Induction of Apoptosis by *Antrodia camphorata* in Human Premyelocytic Leukemia HL-60 Cells[J]. Nutrition and Cancer, 2004, 48(2): 189-197.
- [4] LIU Y M, LIU Y K, LAN K L, et al. Medicinal Fungus *Antrodia cinnamomea* Inhibits Growth and Cancer Stem Cell Characteristics of Hepatocellular Carcinoma[J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2013, 2013: 1-8.
- [5] RAO Y K, WU A T H, GEETHANGILI M, et al. Identification of Antrocin from *Antrodia camphorata* as a Selective and Novel Class of Small Molecule Inhibitor of Akt/mTOR Signaling in Metastatic Breast Cancer MDA-MB-231 Cells[J]. Chemical Research Toxicology, 2011, 24: 238-245.
- [6] HSEU Y C, TSOU H T, KUMAR K J S, et al. The Antitumor Activity of *Antrodia camphorata* in Melanoma Cells; Modulation of Wnt/ β -Catenin Signaling Pathways[J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2012, 2012: 1-14.
- [7] SONG T Y, YEN G C. Protective Effects of Fermented Filtrate from *Antrodia camphorata* in Submerged Culture against CCl₄-Induced Hepatic Toxicity in Rats[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51: 1571-1577.
- [8] LU Z M, TAO W Y, XU H Y, et al. Further studies on the hepatoprotective effect of *Antrodia camphorata* submerged culture on ethanol-induced acute liver injury in rats[J]. Natural Product Research, 2011, 25: 684-695.
- [9] HSEU Y C, WU F Y, WU J J, et al. Anti-inflammatory potential of *Antrodia camphorata* through inhibition of iNOS, COX-2 and cytokines via the NF- κ B pathway[J]. International Immunopharmacology, 2005, 5: 1914-1925.

(下转第 10133 页)

组,1.60 g/(kg·bw·d)组 6 h 肿胀率低于 0 g/(kg·bw·d) 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 4 大鼠足趾肿胀情况

剂量 g/(kg·bw·d)	动物数 只	致炎前足趾 容积/ml	1 h 足趾容积 ml	1 h 肿胀率 %	P 值	2 h 足趾容积 ml	2 h 肿胀率 %	P 值
0	10	1.76 ± 0.18	2.63 ± 0.15	50.4 ± 18.8		2.63 ± 0.19	50.8 ± 20.1	
0.27	10	1.68 ± 0.07	2.29 ± 0.17	36.7 ± 11.2	0.083	2.36 ± 0.22	40.8 ± 14.6	0.321
0.53	10	1.66 ± 0.13	2.01 ± 0.27	21.1 ± 13.0	0.000	2.00 ± 0.21	20.7 ± 9.6	0.000
1.60	10	1.74 ± 0.13	1.98 ± 0.21	14.2 ± 10.9	0.000	2.00 ± 0.27	15.2 ± 13.7	0.000
剂量 g/(kg·bw·d)	动物数 只	4 h 足趾容积 ml	4 h 肿胀率 %	P 值	6 h 足趾容积 ml	6 h 肿胀率 %	P 值	
0	10	2.46 ± 0.14	40.6 ± 14.0		2.23 ± 0.13	27.4 ± 13.0		
0.27	10	2.16 ± 0.23	29.1 ± 16.3	0.163	2.23 ± 0.23	32.9 ± 14.3	0.617	
0.53	10	1.96 ± 0.19	18.7 ± 15.0	0.003	1.93 ± 0.26	16.5 ± 10.7	0.125	
1.60	0	1.92 ± 0.14	10.8 ± 7.0	0.000	1.91 ± 0.17	10.3 ± 9.7	0.008	

2.4 复方霍山石斛含片对小鼠耳肿胀试验的影响 经口给予小鼠不同剂量的复方霍山石斛含片 32 d 后,以二甲苯刺激小鼠右耳后,打下左右两耳片称重,以两耳差为耳廓肿胀值,计算耳廓肿胀率,将耳廓肿胀率进行方差齐性检验,满足方差齐要求,用单因素方差分析方法中多个试验组与一个对照组间均数的两两比较方法进行统计处理。由表 5 可见,1.60 g/(kg·bw·d)组耳廓肿胀率低于 0 g/(kg·bw·d)组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 5 小鼠耳肿胀结果

剂量 g/(kg·bw·d)	动物数 只	耳廓肿胀值 mg	耳廓肿胀率 %	P 值
0	10	4.1 ± 2.1	27.8 ± 14.3	
0.27	10	3.1 ± 2.2	22.6 ± 16.8	0.697
0.53	10	2.1 ± 1.4	14.6 ± 9.3	0.074
1.60	10	1.8 ± 1.4	12.8 ± 10.1	0.037

3 小结

复方霍山石斛含片以 0.27、0.53、1.60 g/(kg·bw·d)的剂量连续灌胃大、小鼠 32 d 后,结果可见,大鼠棉球植入试验,1.60 g/(kg·bw·d)组肉芽肿净量低于 0 g/(kg·bw·d)组,

差异有统计学意义($P < 0.05$),此项试验结果阳性;大鼠足趾肿胀试验,0.53、1.60 g/(kg·bw·d)组 1、2、4 h 肿胀率均低于 0 g/(kg·bw·d)组,1.60 g/(kg·bw·d)组 6 h 肿胀率低于 0 g/(kg·bw·d)组,差异有统计学意义($P < 0.05$),此项试验结果阳性;小鼠耳肿胀试验,1.60 g/(kg·bw·d)组耳廓肿胀率低于 0 g/(kg·bw·d)组,差异有统计学意义($P < 0.05$),此项试验结果阳性。根据国食药监保化[2012]107 号中清咽功能动物试验的结果判定,在该试验条件下复方霍山石斛含片具有清咽功能。

参考文献

- [1] 查学强,王军辉,潘利华,等. 石斛多糖体外抗氧化活性的研究[J]. 食品科学,2007,28(10):90-93.
- [2] 宁慧,李会宁,杨培君. 玉竹多糖的抗氧化作用研究[J]. 陕西理工学院学报:自然科学版,2013,29(6):59-65.
- [3] 李新华,弥曼,李汾,等. 百合多糖免疫调节作用的实验研究[J]. 现代预防医学,2010,37(14):2708-2709.
- [4] 钟礼云,林蔚,林健. 石斛清咽功能实验研究[J]. 中国卫生检验杂志,2014,24(6):814-815.
- [5] 王瑞国,郑良朴,林久茂,等. 余甘子抗大鼠棉球肉芽肿形成及其机制的实验研究[J]. 福建中医学院学报,2007,17(4):22-24.
- [6] 郭淑芳,杨彤. 用鼠耳肿胀法研究抗炎药实验方法的改进[J]. 实验动物科学与管理,2003,20(3):42-43.
- [7] 贺元川,赵宗杰,何开泽,等. 均匀设计法优化樟芝产三萜液体发酵条件[J]. 应用与环境生物学报,2011,17(6):901-906.
- [8] HE Y C, ZHAO Z J, PU Q, et al. Optimization of Cultivating Conditions for Triterpenoids Production from *Antrodia cinnamomea*[J]. *Indian J Microbiol*, 2012.
- [9] LU Z M, LEI J Y, XU H Y, et al. Optimization of fermentation medium for triterpenoid production from *Antrodia camphorata* ATCC 200183 using artificial intelligence-based techniques [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2011, 92:371-379.
- [10] LU Z M, TAO W Y, XU H Y, et al. Analysis of volatile compounds of *Antrodia camphorata* submerged culture using headspace solid-phase microextraction[J]. *Food Chemistry*, 2011, 127:662-668.
- [11] LIU M C, EL-SHAZLY M, WU T Y, et al. Recent research and development of *Antrodia cinnamomea*[J]. *Pharmacology & Therapeutics*, 2013, 1-32.
- [12] CHEN Y C, LIU Y L, LI F Y, et al. Antcin A, a steroid-like compound from *Antrodia camphorata*, exerts anti-inflammatory effect via mimicking glucocorticoids[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2011, 32:904-911.
- [13] 孟繁岳,车会莲,杜杰,等. 樟芝抑瘤作用及对荷瘤小鼠免疫功能的影响[J]. 中国公共卫生,2005,21(10):1224-1225.
- [14] HSEU Y C, CHEN S C, YECH Y J, et al. Antioxidant activity of *Antrodia camphorata* on free radical-induced endothelial cell damage[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2008, 118:237-245.
- [15] CHENG J J, HUANG N K, CHANG T T, et al. Study for anti-angiogenic activities of polysaccharides isolated from *antrodia cinnamomea* in endothelial cells[J]. *Life Sciences*, 2005, 76:3029-3042.
- [16] LI Y H, CHUNG H C, LIU S L, et al. A novel inhibitory effect of *Antrodia camphorata* extract on vascular smooth muscle cell migration and neointima formation in mice[J]. *Int Heart J*, 2009, 50:207-220.

(上接第 10130 页)