· 综述 ·

灵芝孢子及其活性成分的药理研究

林志彬△,王鹏云
(北京大学基础医学院药理学系,北京 100083)

[关键词] 灵芝 孢子,真菌 药理作用
[中图分类号] R282.71 [文献标识码] A [文章编号] 1671-167X(2006)05-0541-07

灵芝是一种药用真菌,作为药用已有悠久历史。近30余年,我国广泛应用灵芝防治多种疾病(如慢性支气管炎、高血脂症、高血压病、神经衰弱、肝炎、白细胞减少)以及辅助治疗肿瘤等[1]。灵芝孢子粉为灵芝子实体成长过程中散发的孢子聚集而成,近年来随着孢子采集、破壁技术及应用的发展,对灵芝孢子粉的化学成分、药理作用及作用机制的研究逐渐增多。本文结合作者的研究工作对这些研究进行评价。

1 化学成分

灵芝孢子呈淡褐色至黄褐色、内含一油滴,[8.5~11.2(12.1)] μm×(5.2~6.9) μm,卵形,顶端常平截,双层壁,内孢壁淡褐色至黄褐色,有突起的小刺,外孢壁平滑,无色[1]。灵芝孢子的双层壁是由几丁质和葡聚糖构成,且具有同心圆的层网结构,质地坚韧,耐酸碱,极难氧化分解,从而限制了对其化学成分、生物活性成分的提取和研究。近年来,孢子破壁方法的发展促进了对灵芝孢子中生物活性成分的提取及药理作用的研究。灵芝孢子的破壁方法概括起来有5种类型:生物法、化学法、物理法、机械法、综合法[2]。一些学者的研究指出,灵芝孢子经破壁处理后,有利于其活性成分的提取。如原木栽培的灵芝破壁孢子粉(破壁率≥95%)的粗脂肪(6.35%)及水溶性多糖(2.18%)含量分别较未破壁的灵芝孢子粉提高了38.95%和20.83%[3]。采用改良的苯酚-硫酸法比较灵芝破壁与未破壁孢子多糖的释放能力时发现,37 ℃、沸水浴及水煮条件下,破壁比未破壁孢子的多糖释放量分别高118.4%,87.5%和69.6%[4]。分别采用Somogyi铜试剂比色法和Folin酚法比较灵芝破壁孢子与未破壁孢子还原性糖和多肽的含量时发现,无论采用酸提、水提还是水煮的提取方式,破壁孢子粉提取液中还原性糖和多肽的含量均明显高于等量的不破壁孢子粉,且破壁孢子粉中还原性糖和多肽比不破壁孢子粉更易提取[5]。破壁率为85%的孢子粉中检测的4种三萜含量高于未破壁的孢子粉[6]。以乙醇为溶剂对灵芝孢子粉进行振荡浸提,醇提物依次用硅胶柱和高效液相色谱分析,未破壁孢子、60%~80%破壁率及99%破壁率孢子的醇提率分别为5%,25%和33%[7]。

灵芝孢子含有三萜类、多糖类、氨基酸多肽类、甾醇类、生物碱类、脂肪酸类、维生素类、无机离子等化学成分。三萜类化合物包括:灵芝孢子酸A(Ganosporeic acid A)[8]、灵芝酸A,B,C,E,γ,δ,ε,ζ和θ(Ganoderic acid A,B,C,E,γ,δ,ε,ζ,θ)[8,9],Ganoderiol F,Ganodermanontriol[8],Ganodermanondiol,Lucidumol A,Lucidumol B[9],Lucidenic acid SP1[10]等。五环三萜内酯类有赤芝孢子内酯A和B(Ganosporelactone A,B)[11]。灵芝孢子中富含多糖,每100克中二糖、三糖、四糖的含量分别是194、167和250 mg[12]。从灵芝孢子中分离出了具有不同生物活性的多糖,如具有β-(1→3)-D-葡聚糖主链的多糖[13],具有β-(1→6)-D-葡聚糖主链的多糖[14],线性(1-3)-α-D-葡聚糖[15],半乳糖和葡萄糖以β-糖苷键链接的中性杂多糖[16]等。灵芝孢子的蛋白质含量达18%,其中异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、苯丙氨酸等机体必需氨基酸的含量非常丰富,均高达10 g/kg[17]。甾醇类有麦角甾-27,22-二烯-3β-醇(ergosta-7,22-diene-3-ol)和β-谷甾醇[18]。生物碱类有胆碱、甜菜碱[18]和硫组氨酸甲基内胺盐[19]。灵芝孢子中的脂肪酸类有二十四烷酸、硬脂酸、棕榈酸、二十二烷酸等[18]。维生素类主要是维生素E,每100克中的含量超过60 mg,另外也含有少量的维生素C,每100克中约5.6 mg[12]。无机元素有钙、磷、铁、镁、钠、锌、锗、钴、铬、硒等[20]。

2 药理作用

2.1 免疫调节作用

2.1.1 增强单核吞噬细胞系统与自然杀伤(NK)细胞的功能

灵芝孢子粉600 mg/kg灌胃给药30天,可明显增加小鼠腹腔巨噬细胞吞噬指数,给药组为1.05±0.34,明显高于对照组的0.64±0.13($P<0.01$)[21]。分别给小鼠灌胃灵芝孢子粉2 g/kg、0.6 g/kg和0.2 g/kg,共15天,可明显增强小鼠单核-巨噬细胞的碳廓清能力,2 g/kg组吞噬指数为7.34±1.30,与对照组的6.45±0.91比较差异有统计学意义($P<0.05$)[22]。不同破壁率的灵芝孢子粉(300、900和2 700 mg/kg,i.g.)在一定剂量范围内均可显著增强小鼠腹腔巨噬细胞酸性磷酸酶(ACP)活性[23]。给昆明种小鼠皮下注射灵芝孢子水提取物,能明显提高巨噬细胞溶酶体酶活性,使酸性磷酸酶和β-葡萄糖醛酸酶活性增高,并促进H_2O_2的生

△ Corresponding author's e-mail, linzb@public3.bta.net.cn

成,表明灵芝孢子粉提取物可使腹腔巨噬细胞进入激活状态[24]。灵芝孢子粉碱提多糖(LZSBS)可明显激活体外培养的小鼠腹腔巨噬细胞,并呈现浓度依赖关系,500 mg/L 和 200 mg/L 的 LZSBS 对巨噬细胞的激活率分别为 340% 和 90%;LZSBS 还可促进小鼠腹腔巨噬细胞分泌白细胞介素(IL)-1β 和肿瘤坏死因子(TNF)-α 并产生一氧化氮(NO)[25]。

灵芝孢子粉可明显提高小鼠脾 NK 细胞的杀伤活性。刘克明等[26]灌胃给予昆明种小鼠破壁灵芝孢子粉 20 天,用乳酸脱氢酶法测定小鼠脾 NK 细胞活性,灵芝孢子粉 1 000 mg/kg组 NK 细胞活性为 24.4%,而对照组为 7.9% ($P<0.05$)。灵芝孢子粉(600 mg/kg,1 800 mg/kg)给药 30 天,1 800 mg/kg剂量组的 NK 细胞活性为 23.48% ±3.10%,明显高于对照组(19.99% ±2.63%,$P<0.05$)[21]。为观察破壁或未破壁所提取的灵芝孢子多糖对免疫功能的影响有无不同,我们研究了经破壁提取的灵芝孢子多糖(*Gl*-BSP)和未经破壁提取的灵芝孢子多糖(*Gl*-SP)对小鼠腹腔巨噬细胞以及 NK 细胞活性的影响。结果表明,在最适剂量范围内,两种多糖均可显著增强巨噬细胞吞噬中性红的能力和 NK 细胞的杀伤性,二者并无明显区别[27]。

2.1.2 促进细胞免疫和体液免疫功能

灌胃给药 30 天,灵芝孢子粉可增强小鼠迟发型变态反应(DTH),使足跖厚度增加,灵芝孢子粉 600 mg/kg 组和 1 800 mg/kg组足跖厚度分别为 0.37 ±0.05 和 0.36 ±0.05,明显高于对照组的 0.25 ±0.05($P<0.01$)[21]。给予 NIH 小鼠萌动激活的赤芝孢子粉可明显促进刀豆素 A(Con A)或植物血凝素(PHA)诱导的小鼠脾淋巴细胞转化增殖,促进小鼠脾细胞 IL-2 分泌[28]。

从破壁赤芝孢子粉的碱提粗多糖中分离纯化得到的葡聚糖(LB-NB),结构为 β-D-(1→3)葡聚糖,每 4.4 个糖残基的 6 位接有单一的端基葡萄糖。体外免疫活性筛选表明,当 LB-NB 浓度高于 10 mg/L 能显著促进 Con A 诱导的 T 细胞的增殖,而对脂多糖(LPS)诱导的 B 细胞的增殖无明显作用[13]。从破壁的灵芝孢子粉中分离得到多糖 SP 及其降解片段 SP-1,腹腔注射给药后,SP 及 SP-1 均可促进 Con A 及 LPS 诱导的 ICR 鼠脾淋巴细胞增殖[29],SP 还明显提高血清补体 C3 水平,但二者对血清 IgG 水平无明显的影响。在比较 *Gl*-BSP 和 *Gl*-SP 对免疫功能的影响的研究中,我们还发现,*Gl*-BSP 促进 Con A 诱导的淋巴细胞增殖的作用强于 *Gl*-SP,在一定的剂量范围(0.2 ~12.8 mg/L)内,*Gl*-BSP 在促进混合淋巴细胞培养反应(MLR)及 IL-2、IFN-γ 的分泌方面强于 *Gl*-SP,*Gl*-BSP 增加 T 细胞亚型 $CD4^+$ 和 $CD8^+$ T 细胞的作用比 *Gl*-SP 更为显著[27]。我们初步推测,可能与 *Gl*-BSP 含有更多来自灵芝孢子细胞壁中的多糖有关,这还有待于植化研究进一步证实。灵芝孢子粉破壁后与破壁前相比可明显增强二硝基氟苯诱导的小鼠迟发性变态反应和血清溶血素反应,这亦指出破壁与未破壁的灵芝孢子粉活性不同[30]。灵芝孢子粉灌胃给药 10 天,还可明显促进溶血素抗体生成,灵芝孢子粉 1 g/kg 和 2 g/kg 组半数溶血值(HC_{50})分别为 82.01 ±7.30($P<0.05$),和 82.28 ±6.61($P<0.01$),明显高于对照组(51.71 ±7.70)[31]。

此外,皮下注射灵芝孢子粉水溶液可拮抗糖皮质激素对小鼠产生的免疫抑制状态,并明显拮抗糖皮质激素对小鼠脾脏 DNA 合成的抑制作用,且这种拮抗作用不是通过诱导肝药酶(细胞色素 P-450)活性,而可能是通过促进糖皮质激素的代谢来实现的[24]。

2.1.3 抑制免疫反应

顾欣等[32]发现,给小鼠腹腔注射灵芝孢子粉水提物(S. G.)可明显抑制细胞免疫介导的迟发型皮肤过敏反应。灵芝孢子粉的醇提取物的水溶部分 GLSE(50,100,200 mg/kg,i. p.)可抑制 2,4-二硝基氟苯(DNFB)所致迟发型皮肤过敏反应,抑制率为 28.6%,37.4%,38.7%;高剂量还能抑制异型小鼠脾细胞引起的迟发性过敏反应;对绵羊红细胞的初次抗体应答及鸡红细胞诱导的循环抗体水平也有抑制作用。体外试验,GLSE 可抑制有丝分裂原刺激的小鼠脾淋巴细胞和人扁桃体淋巴细胞的增殖反应,可降低 Con A 诱导的小鼠脾细胞 IL-2 的生成,对混合淋巴细胞培养反应也有抑制作用[33]。一种从灵芝破壁孢子热水提取物中分离纯化获得的多糖组分 PGL 是在 β-(1→6)-D-葡聚糖主链上每隔一个葡萄糖残基,在 C3 或 C4 位连有单糖、双糖、三糖分枝的多糖,PGL(25 mg/kg,50 mg/kg, i. p.)给药 4 天,可明显抑制 Con A,LPS 诱导的小鼠脾细胞增殖反应及抗体产生水平[14]。Min 等[10]在比较从灵芝孢子中提取的 12 种三萜类化合物的活性时发现,Ganoderiol F, Ganodermanonodiol, Ganodermanontriol 对于经典的补体途径具有较强的抗补体活性,其 IC_{50} 值分别为4.8,41.7,17.2 μmol/L。在对其结构与功能的进一步研究中发现,$\triangle^{7(8)}$,$\triangle^{9(11)}$-lanoatandien 型三萜其侧链末端若含有羟基或羟甲基,则有较强的抗补体活性,而 C3 位的羰基是增强其抗补体活性所必须的。灵芝孢子粉及其成分对免疫反应的不同影响可能与提取方法不同所获成分不同有关。

2.2 抗肿瘤作用

2.2.1 体内外抗肿瘤作用

灌胃灵芝孢子粉 5 g/kg 和 1 g/kg 14 天后,可明显抑制昆明种小鼠移植性 S180 肉瘤的生长,抑制率分别为 54.8% 和 46.5% ($P<0.05$),而低剂量(0.2 g/kg)则无抑制作用[34]。腹腔注射灵芝孢子粉 30 天,可明显抑制 BALB/c 小鼠 HAC 肝癌的生长,抑瘤率为 40.1%[35]。利用超临界 CO_2 萃取技术从萌动激活的破壁孢子中提取的脂质成分对 NIH 小鼠移植性肿瘤(肝癌、S180、网状肉瘤 L-Ⅱ)的生长具有明显的抑制作用,抑瘤率可达 80% ~90%,但该作者提出的通过将处于休眠状态的灵芝孢子进行萌动激活而增强其生物活性的说法[36],尚需进一步证明。破壁灵芝孢子对人肿瘤细胞 MDA-MB-231 和 PC-3 细胞的迁移运动及 NF-κB 激活的抑制作用增强[37]。破壁孢子的醇提取物Ⅰ,Ⅲ(在醇提取物Ⅰ的基础上用乙酸乙脂洗脱获得的片段Ⅲ)对体外培养的 HeLa 细胞有明显的抑制作用,培养 48 h,其 IC_{50} 值分别为 4.46 g/L和 0.75 g/L,0 ~4.8 g/L 的未破壁的孢子醇提取物

Ⅱ对体外培养的 HeLa 细胞无生长抑制作用[38]。最近,我们的研究证明,灌胃 *Gl*-BSP(50～200 mg/kg)对 BALB/c 小鼠的移植性S180肉瘤具有显著抑制作用,但对体外培养的 S180 肉瘤细胞和人肺癌(PG)细胞无直接的细胞毒性作用。经血清药理学试验研究,含 *Gl*-BSP 的血清则可明显抑制这两种细胞增殖。进一步研究指出,含 *Gl*-BSP 的血清在体外抑制肿瘤细胞增殖的作用与其中所含 TNF-α,IFN-γ 显著增加相关,在试验体系中加入抗 TNF-α 抗体和抗 IFN-γ 抗体可阻断含 *Gl*-BSP 血清的抑制肿瘤细胞增殖的作用(资料待发表)。这一结果与我们用灵芝子实体提取的多糖所获结果[39,40]完全一致,提示 *Gl*-BSP 的抗肿瘤作用是通过免疫学机制实现的。

灵芝孢子的醇提物(1 g/L)对一些体外培养的肿瘤细胞系(如人宫颈癌 HeLa 细胞、人肝癌细胞 Hep G2 、人白血病细胞 HL-60 等)有直接的细胞毒作用[41]。灵芝孢子粉醇提物($GLs\text{-}E_tOH$)与水提物($GLs\text{-}H_2O$)相比,对体外培养的 MTC-11 细胞(一种低度恶性人尿道上皮细胞系) 具有更强的生长抑制作用,共同培养 24 h,其 IC_{50} 值分别为 234 mg/L,465 mg/L[42]。Min 等[9]检测了 20 种从灵芝孢子中提取的三萜类化合物对体外培养的 Meth-A 和 LLC 细胞的细胞毒作用,发现 Lucidumols A 和 B, Ganodermanondiol, Ganoderiol F, Ganodermanontriol 对两种细胞系均有较强的细胞毒作用,其中 Lucidumols A 对 LLC 细胞的细胞毒作用最强(EC_{50} 值为 2.3 mg/L),Ganodermanondiol 对 Meth-A 细胞的细胞毒作用最强(EC_{50} 值为 3.4 mg/L),而 Ganoderic acids 类则对两种细胞系均不产生明显的细胞毒作用。

2.2.2　抗肿瘤作用的机制

2.2.2.1　抑制肿瘤细胞周期　Zhu 等[38]观察到,破壁灵芝孢子粉醇提取物Ⅰ和Ⅲ对体外培养的 HeLa 细胞具有明显的抑制作用,将Ⅲ(0.2 g/L 或 0.4 g/L)与 HeLa 细胞体外共同作用 24 h 进行细胞周期分析发现,Ⅲ可阻碍细胞周期中 G_1 向 S 期的移行,且随剂量的增加抑制作用增强。0.2 g/L 和 0.4 g/L 组的醇提取物Ⅲ处理的 HeLa 细胞 G_1 期细胞分别由对照组的 60% 升高到 67% 和 72%,而 S 期细胞则由对照组的 30% 减少到 22% 和 18%。在不产生直接细胞毒作用的浓度(40 mg/L)下,用灵芝孢子粉醇提物($GLs\text{-}E_tOH$)处理的 MTC-11 细胞中处于 G_2M 期的细胞与对照组相比由 17% 增加到 25%[42]。用一种含有灵芝孢子粉的提取物(含 13.5% 多糖和 6% 三萜) 0.5 g/L 处理人高侵袭性乳腺癌细胞系(MDA-MB-231 细胞系),处于 G_0G_1 期的细胞由 38.7%(0 h)增加到 66.5%(24 h)和 63.9%(48 h)[43];而使用该提取物处理人前列腺癌细胞系 PC-3 时发现,该提取物在 G_2M 期对细胞周期产生抑制[44]。灵芝孢子粉及其提取物对肿瘤细胞周期的抑制可能是多种机制作用的结果:(1)破壁灵芝孢子提取液可引起肿瘤细胞内钙离子浓度在短时间内明显降低,使细胞内钙离子浓度的稳态失控[38],胞浆内钙离子水平过低可导致 G_1 期阻滞;(2)通过可逆性的抑制 Akt 在 Ser^{473} 位点的磷酸化而抑制 NF-κB 的连续活化,继而下调周期素 D1 和 cdk4 激酶的表达,而最终在细胞周期的 G_0G_1 期产生抑制[43];(3)下调周期素 B 和 cdk2 的表达和上调 p21 的表达而产生对细胞周期 G_2M 期的抑制[44]。

2.2.2.2　诱导肿瘤细胞凋亡和分化　含有灵芝孢子粉的提取物(含 13.5% 多糖和 6% 三萜)可诱导 PC-3 细胞凋亡,同时伴有与 NF-κB 调节相关的 Bcl-2 和 Bcl-xl 轻度的降低,前凋亡蛋白 Bax 表达明显上调,导致 Bax/Bcl-2 和 Bax/Bcl-xl 的比值升高,而诱导肿瘤细胞凋亡[44]。胞浆内 F/G-肌动蛋白的比值反映了在细胞内肌动蛋白聚合体状态,通常细胞分化伴随着 F/G-肌动蛋白比值升高,而细胞去分化和恶性转变伴随着 F/G-肌动蛋白比值降低。灵芝孢子粉水提物($GLs\text{-}H_2O$)在对体外培养的 MTC-11 细胞不产生直接细胞毒作用的浓度(40～80 mg/L)下,呈剂量依赖性地升高 F/G-肌动蛋白比值[42]。

2.2.2.3　抑制肿瘤细胞的侵袭、转移　肿瘤的侵袭、转移是多种因素作用的过程,包括细胞黏附、组织屏障的蛋白降解、细胞的迁移、新生血管形成等。有研究发现,尽管灵芝孢子粉热水提取物(GS)在 2.5 g/L 时对 MDA-MB-231 或 PC-3 细胞系没有直接的细胞毒作用,但是经 GS 0.5,1.2,2.5 g/L 预处理 4 或 24 h,MDA-MB-231 或 PC-3 细胞的迁移活性却明显降低。进一步的机制研究发现,GS 可抑制 MDA-MB-231 或 PC-3 细胞转录因子 AP-1 和 NF-κB 的连续活化,继而抑制尿激酶型纤维蛋白溶酶原活化因子(uPA)及其受体(uPAR)的表达,抑制 uPA 的分泌,而抑制 MDA-MB-231 或 PC-3 细胞的迁移。破壁灵芝孢子对人肿瘤细胞 MDA-MB-231 和 PC-3 细胞的迁移运动及 NF-κB 激活的抑制作用增强[37,45]。4-氨基联苯(4-ABP)作为一种已知的膀胱癌的致癌物质,可以增强 MTC-11 细胞的迁移运动活性。细胞划痕运动显示,灵芝孢子粉提取物($GLs\text{-}E_tOH$ 或 $GLs\text{-}H_2O$,40～80 mg/L)可抑制 4-ABP 诱导的迁移运动,$GLs\text{-}H_2O$(80 mg/L)几乎可完全对抗 4-ABP 诱导的 MTC-11 细胞运动能力的增强作用。在进一步分析灵芝孢子提取物抑制细胞迁移运动的可能机制时发现,$GLs\text{-}E_tOH$ 或 $GLs\text{-}H_2O$(40 mg/L)可诱导肌动蛋白聚合,增加应力纤维和局部黏附复合物(paxillin)形成,但对与肿瘤侵袭有重要关系的酶[如局部黏附激酶(FAK)和基质金属蛋白酶(MMP-2)]的水平则无显著影响[44]。

2.2.2.4　抑制肿瘤血管新生　血管内皮生长因子(VEGF)被认为是最主要的血管生成刺激因子之一,其生物学特性主要表现在增加微血管的通透性并特异性地与血管内皮细胞受体结合,引发一系列信号转导,从而促进血管内皮细胞的分裂和增殖,进而导致新生血管的生成。研究显示,灵芝孢子粉(2.1 g/kg)灌胃给药 21 天,可明显抑制裸鼠移植性人肝肿瘤(HepG2)的生长,抑制率为 57.0%,采用 SP 免疫组织化学法及病理彩色图像定量分析法检测裸鼠肿瘤组织中 VEGF 和微血管密度(MVD)显示,灵芝孢子粉组可明显降低肿瘤组织 VEGF 的表达,MVD 降低。由此推测,灵芝孢子粉可能通过对 VEGF 表达的抑制使肿瘤组织 MVD 降低,发挥抗血管生成的作用而影响肿瘤的生长[46]。Lu 等[47]发现,灵芝孢子醇提取物可抑制体外培养的人脐静脉内皮细胞和 MDA-MB-231 人乳腺癌细胞的增殖,进一步分离获取的乙酸

乙脂洗脱部分在 2 ~ 40 mg/L 范围内对两种细胞系的抑制作用呈现出剂量依赖模式。这一发现提示灵芝孢子的抗肿瘤作用可能与抑制血管新生有关。

2.2.2.5 增强机体抗肿瘤免疫力 腹腔注射灵芝孢子粉水溶液 0.2 mL (0.1 g/L),连续给药 30 天可明显抑制荷 HAC 肝癌 BALB/c 鼠的肿瘤生长,提高荷 HAC 肝癌小鼠 $CD3^+$, $CD4^+$ 及 $CD8^+$ T 细胞的百分率,增强荷瘤小鼠细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)对 HAC 自体肿瘤细胞和 YAC-1,P815 异种肿瘤细胞的杀伤活性。灵芝孢子粉组的杀伤活性分别为 27.3%,23.4% 和 20.0% ,均高于生理盐水组的 23.3%,16.5% 和 17.8% 及环磷酰胺组的 16.2%,11.1% 和 15.5%。这提示灵芝孢子粉能激活和提高特异性杀伤细胞(CTL)和非特异性杀伤细胞(NK,LAK)的抗肿瘤作用,而抑制肿瘤细胞的增殖[35]。最近我们发现,灌胃 *Gl*-BSP 可显著增强荷 S180 小鼠的巨噬细胞吞噬功能和 NK 细胞的杀伤活性,增加 $CD4^+$ 和 $CD8^+$ T 细胞的百分数和二者的比值,提高血清细胞因子(IL-2, IFN-γ 和 TNF-α)和 NO 水平(资料待发表)。这些结果指出,灵芝孢子粉及其所含多糖的抗肿瘤作用与其增强机体的抗肿瘤免疫力密切相关。

2.3 抗艾滋病毒的作用

灵芝孢子甲醇提取物的氯仿可溶部分对 HIV-1 蛋白酶有显著的抑制作用,100 mg/L 时抑制率为 47%。检测从孢子中分离得到的 10 种高度氧化的羊毛甾烷型三萜类物质对 HIV-1 蛋白酶的抑制活性,结果表明:Ganoderic acid β, Lucidumol B, Ganodermanondiol, Ganodermanontriol 和 Ganolucidic acid A 有显著的抑制活性,其 IC_{50} 分别为 20,50,90,70 和 70 mg/L。Ganoderic acid A,Ganoderic acid B 和 Ganoderic C1 有中等的抑制活性,其 IC_{50} 分别为 430,140 和 240 mg/L。对于已分离的物质,其构效关系仍不清楚,但现有研究表明,羊毛甾烷型三萜类骨架的 C-3 或 C-24 和 C-25 上的羟基是必不可少的活性基团[48]。

2.4 对神经系统的作用

小鼠皮下注射灵芝醇提水溶部分可明显延长戊巴比妥和巴比妥引起的睡眠时间,减少小鼠自主活动[49,50]。皮下注射灵芝孢子粉醇提取物的水溶部分增加小鼠腹腔注射阈下剂量戊巴比妥钠 25 mg/kg 引起的睡眠时间。每天一次注射具有镇静作用剂量的灵芝孢子粉醇提取物的水溶部分连续 8 天不产生依赖性,而连续给予对照药安定 8 天后产生依赖性。灵芝孢子粉醇提取物的水溶部分 1 g/kg 减少小鼠自主活动的作用与安定 2 mg/kg 作用相当[51]。然而,灵芝孢子粉醇提取物的水溶部分灌胃给药(剂量是注射给药的 5 倍)不产生镇静催眠作用,其原因可能是其中的镇静催眠成分不能从胃肠道吸收或是被胃肠道中的酶破坏,这需要进一步研究[49]。

魏凌珍等[52]给小鼠灌胃灵芝孢子粉 7 天,末次给药后 1 h,采用热板法、水浴法、化学刺激法观察各项痛反应指标,结果显示灵芝孢子粉组均可明显延长热板法和水浴法引起的痛反应潜伏时间,且痛反应潜伏时间随剂量增加而延长。热板法痛反应潜伏期对照组为(18.2 ± 6.2) s,灵芝孢子粉 20 mg/kg 组和 320 mg/kg 组分别为(23.7 ± 6.3) s($P < 0.05$)和(28.0 ± 4.4) s($P < 0.01$);冰浴法痛反应潜伏期对照组为(23.3 ± 18.6) s,灵芝孢子粉 20 mg/kg 组和 320 mg/kg 组分别为(39.4 ± 21.0) s($P < 0.05$)和(72.3 ± 66.5) s($P < 0.05$);灵芝孢子粉 320 mg/kg 组可明显减少由 0.6% 醋酸(i.p.)引起的小鼠"扭体"次数,小鼠扭体次数为平均每 15 分钟 23.4 ± 17.1 次,与对照组的 36.5 ± 14.9 次比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。上述结果提示灵芝孢子粉具有一定的镇痛作用。

谢安木等[53]在采用立体定位仪注入微量 6-羟多巴(6-OHDA)至右侧中脑黑质诱发的帕金森病(PD)动物模型上,发现灵芝孢子粉具有保护黑质神经细胞、减弱神经细胞的损害的作用。经电镜观察发现,PD 组大鼠有较多的凋亡的神经细胞,线粒体嵴不清、内质网扩张;灵芝孢子粉预处理组仅有轻度的线粒体嵴不清、内质网扩张、偶见凋亡的神经细胞。这进一步从形态学上说明灵芝孢子粉具有抑制神经细胞凋亡的作用,可能具有脑保护作用。

王欢等[54]采用戊四氮(PTZ)腹腔注射制作大鼠慢性点燃模型,观察了灵芝孢子粉(150 mg/kg)对此模型大鼠皮质和海马区离子型谷氨酸受体功能单位(NMDAR1)含量及神经元形态学的影响,结果表明灵芝孢子粉可显著降低 NMDAR1 阳性细胞及神经纤维的表达,同时神经元形态学明显好转。提示灵芝孢子粉可能通过对神经递质及其受体水平的调节改善皮质及海马区的神经电生理功能,抑制神经元的高频放电,降低神经系统的兴奋性,减轻对神经细胞的损伤,从而保护神经元。

张伟等[55]发现,灌胃灵芝孢子粉(8 g/kg)可以促进大鼠受损伤的脊髓运动神经元的存活及其轴突再生,并且灵芝孢子治疗组与模型对照组相比,受损脊髓组织中 6 种蛋白质有差异性表达。灵芝孢子治疗组可促进大鼠脊髓组织塌陷反应介导蛋白 2(CRMP-2)的表达,CRMP-2 通过调节神经元微管的生成促进轴突的生长;而纤维型肌动蛋白加帽蛋白 β(FCP-β)的表达则明显降低,FCP-β 可通过给增长中的微管"加帽"从而使其不再延长;灵芝孢子还能促进受损伤脊髓组织表达异柠檬酸脱氢酶 β(IDH-β)、三磷酸腺苷酶(ATPase)和谷氨酸草酰乙酸氨基转移酶 1 (GOT1),并抑制丙酮酸激酶-M2(M2-PK)的表达。由此可见,灵芝孢子可能是通过调控 CRMP-2/FCP-β 的表达水平以促进受损伤脊髓运动神经元的轴突再生;通过提高 IDH-β,ATPase 和 GOT1 的表达水平来促进受损伤脊髓运动神经元线粒体的三羧酸循环,增加其 ATP 的合成;通过降低 M2-PK 表达水平减少糖的无氧酵解,从而使糖原获得高效的利用而促进神经元的存活及其轴突的再生。

刘耕陶等[49]发现,给小鼠皮下注射灵芝孢子醇提水溶部分,可使尼古丁引起的惊厥发生率降低,可明显抑制毛果芸香碱的促进唾液分泌的作用,显示出一定的抗胆碱作用。包天桐等[50]也发现,给小鼠腹腔注射赤芝孢子粉醇提干浸膏可减少烟碱引起的死亡,减少唾液分泌及使正常动物体温下降,且作用随剂量增加而增强。

2.5　保肝作用

灵芝孢子粉(250 mg/kg,500 mg/kg)腹腔注射给药 10 天,可降低由 D-氨基半乳糖所致肝损伤小鼠的死亡率,病理检查提示,灵芝孢子粉组对由 D-氨基半乳糖所致的肝损伤(肝细胞气球样肿胀及点状坏死)具有一定的保护作用,谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)水平趋于正常[56]。萌动激活的破壁赤芝孢子对 D-氨基半乳糖所致的小鼠肝损伤也具有保护作用[57]。预先灌胃给予灵芝孢子油(采用超临界二氧化碳流体萃取技术从破壁的灵芝孢子中萃取得到的油状脂质物) 0.17 g/kg,0.33 g/kg,1 g/kg,共 30 天,对四氯化碳(CCl_4)所致的肝细胞损伤也显示出了明显的保护作用,明显降低 CCl_4 引起的血清 ALT 及 AST 水平的升高,且能减低肝脏的损伤程度[58]。从赤芝孢子粉酯溶部分分离得到的赤芝孢子酸 A 可降低 CCl_4 和 D-氨基半乳糖引起的小鼠转氨酶升高,对丙酸杆菌引起的小鼠免疫性肝损伤也有保护作用[59]。大剂量的消炎痛所致的动物死亡与消炎痛引起消化道溃疡和穿孔有关,灵芝孢子粉溶于醚的部分(SE)对部分肝切除的小鼠具有一定的促进肝细胞再生的作用,且 SE(10 mg/kg, i. p. 或 20 mg/kg, i. g.)可明显降低由消炎痛所致的小鼠死亡率[49]。上述研究提示,灵芝孢子粉有保肝作用,可减轻化学药物(毒物)对肝脏的损伤,加强肝脏代谢药物(毒物)的解毒功能。灵芝孢子的保肝作用可能与化学成分中含有三萜有关。另一项观察破壁灵芝孢子粉(0.5 g/kg, 3 g/kg) 给药 6 周对 CCl_4 所致的慢性肝损害的研究表明,灵芝孢子粉能够明显降低血清 ALT 及 AST 的水平,降低血清透明质酸(HA)、Ⅳ型胶原 (CIV)的水平,因而具有一定的抗肝纤维化作用。HA 产生于肝星状细胞(HSC),在内皮细胞中降解,肝纤维化时其产生增加,其增高程度与病情发展一致。CIV 是血管、胆管基底膜的主要成分,肝纤维化及肝硬化时其合成与沉积增加[60]。灵芝孢子粉的抗肝纤维化作用,可能是通过保护肝细胞,抑制炎症,减少或消除激活 HSC 的始动介质及减少胶原合成、促进胶原的降解及吸收而实现的。

2.6　抑制胃溃疡的形成

用无水酒精灌胃法制备小鼠急性胃溃疡动物模型,观察破壁灵芝孢子粉对小鼠溃疡发生率、溃疡指数及胃黏膜形态的影响,结果显示破壁孢子粉组溃疡发生率为 30%,与对照组的 35.83% ±10.25% 比较差异有统计学意义($P<0.01$),对照组胃组织切片可见大部分区域黏膜上皮细胞大量脱落,胃底腺结构紊乱,黏膜下层增厚,黏膜层及黏膜下层微血管明显扩张。破壁灵芝孢子粉组胃组织切片可见大部分区域结构清晰、无血管扩张和上皮细胞脱落。提示灵芝孢子粉对酒精性急性胃溃疡的形成具有一定的抑制作用[61]。

2.7　降低血糖和血脂作用

灵芝孢子粉醇提取物的水溶部分(Ⅰ) 可降低四氧嘧啶所致糖尿病小鼠升高的血糖,改善糖尿病小鼠的葡萄糖耐量,并减少糖尿病小鼠的饮水量。另外也发现Ⅰ可拮抗正常小鼠因腹腔注射葡萄糖或肾上腺素引起的血糖升高,对正常小鼠的降血糖作用不明显[62]。灵芝孢子粉乙醇提取物的水溶部分(Glse) (相当生药 6 250 mg/kg)对链脲佐菌素(STZ)所致的糖尿病大鼠有明显的降低血糖作用,增强耐糖效应,给药组大鼠血糖值从第 3 天后持续下降,胰岛素水平增高,而生长激素、皮质醇维持较正常水平。其作用机制可能是 Glse 对 STZ 损伤的胰岛 β 细胞有保护作用或恢复部分受损的 β 细胞功能,或促进残存胰岛 β 细胞释放胰岛素[63]。最近有研究表明,灵芝孢子对 STZ 所致的糖尿病模型大鼠有降血糖、增强耐糖效应、促进胰岛素分泌作用,可能是通过减轻胰腺细胞线粒体钙超载、线粒体细胞色素氧化酶 C 的释放,从而减轻胰腺组织的损伤实现的[64]。

给高脂模型 SD 大鼠灌胃灵芝孢子粉(每天 125 mg/kg, 250 mg/kg,500 mg/ kg)21 天,观察其对实验性高脂模型大鼠血清总胆固醇(TC)、血清甘油三脂(TG)、血清高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)的影响,结果发现仅灵芝孢子粉 500 mg/kg 组可降低血清 TC、TG,血清 TC 和 TG 值分别为(3.14 ± 0.26) mmol/L和(1.84 ± 0.26) mmol/L,与模型对照组的(3.49 ±0.28) mmol/L 和(2.29 ±0.17) mmol/L 比较差异有统计学意义。各给药组对血清 HDL-C 的升高作用不明显[65]。

2.8　提高机体抗缺氧能力

包天桐等[50]经皮下注射给予昆明种小鼠赤芝孢子粉醇提干浸膏(肌生注射液)后 20 min,观察了肌生注射液对正常小鼠或异丙肾上腺素处理小鼠耐缺氧能力的影响。结果显示,肌生注射液可明显延长正常小鼠在缺氧状态下平均生存时间,与对照组的(46.9 ±4.8) min 相比,肌生注射液低剂量组(相当于生药量 10 g/kg)和高剂量组(相当于生药量 20 g/kg)小鼠的平均生存时间为(71.2 ±8.2) min 和(163.5 ± 26.1) min,差异均有统计学意义($P<0.05$ 和 $P<0.01$)。而对异丙肾上腺素处理的小鼠在缺氧状态下的平均生存时间无明显影响。进一步的研究表明,肌生注射液可明显增加脑组织对^{86}铷(^{86}Rb)的摄取,而对心脏摄取^{86}Rb 无明显影响。这提示,肌生注射液提高机体对缺氧的耐受力可能与增加脑组织血流量有关。

2.9　清除自由基的作用

灵芝孢子粉水提取物可降低 2,4-二氧苯氧乙酸引起的小鼠血清丙二醛(MDA)升高,抑制小鼠肌肉匀浆的自发性脂质过氧化,使 MDA 生成量减少 抑制产生超氧阴离子和羟自由基的 Fe^{2+}/半胱胺酸系统所致的肌浆脂质过氧化,并使黄嘌呤氧化酶/黄嘌呤系统中超氧阴离子的生成减少。说明灵芝孢子粉中的某些成分可能有捕获超氧阴离子的作用。此外,该提取物还可明显提高正常小鼠肝组织中过氧化氢酶的活性,加速活性氧自由基反应中生成的过氧化氢的水解。但灵芝孢子粉对超氧化物歧化酶(SOD)及谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的活性无明显影响[66]。这一结果提示,灵芝孢子粉提取物对 2,4-二氧苯氧乙酸所致的小鼠化学性肌损伤的保护作用可能与其作为活性氧自由基的捕获剂,清除超氧阴离子等自由基有关,这可能是肌生注射液在临床上用于治疗萎缩性肌强直、多发性肌炎及皮肌炎等疾病的药理学基础之一。

在改良的 Euro-Collins 心脏保存液中添加肌生注射液可

明显地改善离体大鼠心脏的心功能,增加冠状动脉流量,冠状动脉流液中乳酸脱氢酶(LDH)和肌酸激酶(CK)活性明显低于对照组,病理损伤较对照组轻,这提示肌生注射液具有一定的心脏保护作用。进一步的研究显示,给药组心肌组织中 SOD 活性显著高于对照组($P<0.05$),MDA 含量明显低于对照组($P<0.05$)。提示灵芝孢子粉提取物对心脏的保护作用可能与其抗氧化作用,防止氧自由基损伤有一定的关系[67]。

3 安全性研究

给予小鼠口服灵芝孢子粉,半数致死量 $LD_{50}>10$ g/kg,属无毒级。鼠伤寒沙门氏菌/哺乳动物微粒体酶试验、骨髓微核试验及小鼠精子畸变试验表明该样品无致突变和致畸变作用。30 天喂养试验结果表明对小鼠最大无毒作用剂量大于 3 g/(kg·d)[68]。给大鼠每日灌胃灵芝孢子粉 2.5 g/kg 或 1.25 g/kg(约为临床用量的 50 或 25 倍),共 60 天,对大鼠一般状况、血液学、血液生化学、尿液及组织病理学指标均无明显影响[69]。皮下注射肌生浸膏产生镇静催眠的有效剂量为 1 g/kg。急性毒性试验时,皮下注射肌生浸膏 15 g/kg 仅可引起部分动物入睡而不引起死亡,但当剂量增至 20 g/kg时,所试小鼠翻正反射全部消失,并于 40 h 内全部死亡[49]。上述实验结果表明,在药效剂量范围内,灵芝孢子粉或其提取物的安全性较大。

4 问题与展望

应用现代科学技术方法对灵芝孢子进行的研究虽然已超过 30 年,但对灵芝孢子的化学和药理作用的研究还不够深入,这与灵芝孢子粉的采集方法、质量控制、破壁技术、提取方法和药理试验方法尚待提高有关。由于灵芝孢子的生物活性取决于灵芝孢子中所含活性成分的浓度,而活性成分的浓度又随着灵芝的产地、栽培和采集时间、提取方法的不同而变化,故一些研究结果不同。如:经检测不同产地的灵芝孢子粉中 4 种三萜的含量差异较大[6];不同来源的灵芝孢子粉对 NF-κB 的抑制作用和对 MDA-MB-231 和 PC-3 细胞迁移的抑制作用的强度不尽相同[37]。现有的体外细胞、分子生物学实验结果,即灵芝孢子粉及其成分的体外抗肿瘤作用及其细胞分子机制尚待体内给药试验的进一步验证,不应过分强调。目前的药理研究着重于研究灵芝孢子的各种药理作用和机制,而较少研究这些作用和机制之间的相互影响,如灵芝孢子的免疫调节作用与抗肿瘤作用的内在联系。对于灵芝栽培、孢子采集、储存等的各个环节应采取标准化控制,对不同来源的产品应进行生物活性检测。目前尽管从灵芝孢子中提取分离到了许多有生物活性的成分,然而仍需进一步的分离、纯化、鉴定有较强药理活性的成分,进而通过模拟、化学合成等途径合成新的药物。

参考文献

[1] 林志彬,编. 灵芝的现代研究[M]. 第2版. 北京:北京医科大学出版社, 2001. 284-304.
[2] 张守勤,朱俊洁,王长征,等. 灵芝孢子食用方法与破壁技术研究进展[J]. 农业机械学报, 2004,35(1):160-162.
[3] 陈体强,朱培根,蔡 云,等. 原木灵芝孢子研究(Ⅳ)未破壁孢子与破壁孢子的比较[J]. 食用菌学报, 1999,6(2):21-26.
[4] 鲍幸峰,方积年. 赤芝孢子粉破壁前后多糖释放能力比较研究[J]. 中国中药杂志,2001,26(5):326-328.
[5] 杨新林,朱鹤孙,赵东旭,等. 灵芝破壁孢子与不破壁孢子的显微镜观察与生化测定比较研究[J]. 中草药,1997,28(7):721-723.
[6] 马 林,吴 丰,陈若芸. 灵芝三萜成分分析[J]. 药学学报, 2003,38(1):50-52.
[7] 赵东旭,杨新林,陈 霖,等. 灵芝孢子中抗肿瘤成分的提取与分离[J]. 中国中药杂志, 2000,25(4):288-290.
[8] 陈若芸,于德泉. 赤芝孢子粉三萜化学成分研究[J]. 药学学报,1991,26(4):267-273.
[9] Min BS, Gao JJ, Nakamura N, et al. Triterpenes from the spores of Ganoderma lucidum and their cytotoxicity against meth-A and LLC tumor cells[J]. Chem Pharm Bull (Tokyo), 2000,48(7):1026-1033.
[10] Min BS, Gao JJ, Hattori M, et al. Anticomplement activity of terpenoids from the spores of Ganoderma lucidum[J]. Planta Med, 2001,67(8):811-814.
[11] 陈若芸,于德泉. 用二维核磁共振技术研究赤芝孢子内酯 A 和 B 的结构[J]. 药学学报,1991,26(6):430-436.
[12] 张能荣,张秀云. 灵芝孢子粉中维生素和多糖的分析[J]. 中国生化药物杂志,1997,18(1):37-38.
[13] Bao XF, Dong Q, Fang JN. Structure and Conformation Behavior of a Glucan from Spores of Ganoderma lucidum (Fr.) Karst. Sheng Wu Hua Xue Yu Sheng Wu Wu Li Xue Bao (Shanghai). 2000,32(6):557-561.
[14] Bao X, Fang J, Li X. Structural characterization and immunomodulating activity of a complex glucan from spores of Ganoderma lucidum[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2001,65(11):2384-2391.
[15] Bao X, Duan J, Fang X, et al. Chemical modifications of the (1-->3)-alpha-D-glucan from spores of Ganoderma lucidum and investigation of their physicochemical properties and immunological activity[J]. Carbohydr Res, 2001,336(2):127-140.
[16] 张丽霞,赵桂梅,吴明江,等. 灵芝未破壁孢子粉水溶性多糖的分离与鉴定[J]. 中国药学杂志, 2006,41(3):230-232.
[17] 陈建国. 灵芝孢子化学成分研究[J]. 浙江省医学科学院学报, 1996,7(1):17-19.
[18] 侯翠英,孙义廷,杨 琳. 灵芝(赤芝孢子)化学成分的研究再报[J]. 植物学报,1988,30(6):666-669.
[19] 李虹奇,于德泉,柳雪枚,等. 赤芝孢子粉化学成分研究[J]. 中草药,1993,24(9):516.
[20] 罗志明. 灵芝孢子的微量元素含量和药理应用分析[J]. 广东微量元素科学, 2003,10(12):42-48.
[21] 仝国辉,马 玲,王红梅. 灵芝孢子粉的免疫调节及辐射防护作用研究[J]. 中国食品卫生杂志, 2004,16(1):132-134.
[22] 王 云,杨晋明,王 洋. 灵芝孢子粉免疫调节作用研究[J]. 中国食用菌, 2002,21(3):33-34.
[23] 李铁民,朱继红,刘 冲,等. 灵芝干膏和灵芝孢子粉对小鼠腹腔巨噬细胞酸性磷酸酶活性的影响[J]. 食用菌学报, 2004,11(3):30-33.
[24] 顾 欣,王芷源,刘耕陶. 灵芝孢子粉的药理研究 3. 对免疫系统的作用[J]. 中药药理与临床, 1993,9(1):11-13.
[25] 唐庆九,张劲松,潘迎捷,等. 灵芝孢子粉碱提多糖对小鼠巨噬细胞的免疫调节作用[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2004,20(2):142-144.
[26] 刘克明,李怡岚,张明月,等. 破壳灵芝孢子粉对昆明小鼠免疫功能的影响[J]. 医学动物防制, 1999,15(2):74-76.
[27] 王鹏云,王赛贞,林树钱,等. 灵芝孢子和破壁孢子多糖对体外培养的小鼠脾淋巴细胞及腹腔巨噬细胞免疫调节活性的比较[J]. 北京大学学报(医学版), 2005,37(5):569-574.
[28] 陈小君,冯翠萍,梅承恩,等. 萌动激活赤灵芝孢子粉对小鼠脾细胞 IL-2 的分泌和脾淋巴细胞转化增殖的影响[J]. 氨基酸和生物资源, 2001,23(2):45-47.
[29] Bao XF, Liu CP, Fang JN, et al. Structural and immunological studies of a major polysaccharide from spores of *Ganoderma lucidum* (Fr.) Karst[J]. Carbohydr Res, 2001,332(1):67-74.
[30] 吴明忠,沈爱光,熊晓辉,等. 灵芝孢子粉破壁前后对小鼠免疫功能影响试验[J]. 食用菌,2001,(3):36-37.
[31] 余素清,吴树勋,刘京生,等. 灵芝孢子粉对小鼠免疫功能的影响及^{60}Co 辐射效应[J]. 中国中药杂志, 1997,22(10):625-627.
[32] 顾 欣,王芷源,刘耕陶. 灵芝孢子粉的药理研究 1. 对动物化学性和过敏性肌炎的保护作用[J]. 中药药理与临床, 1993,9(2):23-26.
[33] 章灵华,王会贤,王立为,等. 灵芝孢子粉提取物在体内外的免疫效应[J]. 中国免疫学杂志, 1994,10(3):169-72.

[34] 杨星昊,方放治. 灵芝孢子粉对小鼠实验性突变和移植性肿瘤的影响[J]. 第一军医大学学报,2000,20:245-246.
[35] 陈雪华,朱正纲,马安伦,等. 灵芝孢子粉对荷HAC肝癌小鼠抗肿瘤的实验性研究[J]. 上海免疫学杂志,2000,20:101-103.
[36] Liu X, Yuan JP, Chung CK, et al. Antitumor activity of the sporoderm-broken germinating spores of Ganoderma lucidum[J]. Cancer Lett, 2002,182:155-161.
[37] Sliva D, Sedlak M, Slivova V, et al. Biologic activity of spores and dried powder from Ganoderma lucidum for the inhibition of highly invasive human breast and prostate cancer cells[J]. J Altern Complement Med, 2003,9:491-497.
[38] Zhu HS, Yang XL, Wang LB, et al. Effects of extracts from sporoderm-broken spores of Ganoderma lucidum on HeLa cells[J]. Cell Biol Toxicol, 2000,16:201-206.
[39] 张群豪,林志彬. 灵芝多糖GL-B的抑瘤作用和机制研究[J]. 中国中西医结合杂志,1999,19:544-547.
[40] Zhang QH, Lin ZB. The antitumor activity of Ganoderma Lucidum (Curt. :Fr) P. Karst. (LingZhi) (Aphyllophormycetideae) polysaccharides is related to tumor necrosis factor-αand interferon-γ[J]. International Journal of Medicinal Mushrooms, 1999,1:207-215.
[41] Yang XL, Zhu HS, Xu JL, et al. Antitumor activity of the Ganoderma Lucidum spore alcohol extract *in vitro*[J]. Journal of Beijing Institute of Technology ,1997,6:336-340.
[42] Lu QY, Jin YS, Zhang Q, et al. Ganoderma lucidum extracts inhibit growth and induce actin polymerization in bladder cancer cells *in vitro*[J]. Cancer Lett, 2004,216:9-20.
[43] Jiang J, Slivova V, Harvey K, et al. Ganoderma lucidum suppresses growth of breast cancer cells through the inhibition of Akt/NF-kappaB signaling[J]. Nutr Cancer, 2004,49:209-216.
[44] Jiang J, Slivova V, Valachovicova T, et al. Ganoderma lucidum inhibits proliferation and induces apoptosis in human prostate cancer cells PC-3[J]. Int J Oncol, 2004,24:1093-1099.
[45] Sliva D, Labarrere C, Slivova V, et al. Ganoderma lucidum suppresses motility of highly invasive breast and prostate cancer cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2002,298:603-612.
[46] 王筱婧,徐江平,程玉芳. 灵芝孢子粉对裸鼠移植性人肝肿瘤血管生成的抑制作用[J]. 徐州医学院学报,2006,26:115-119.
[47] Lu QY, Sartippour MR, Brooks MN, et al. Ganoderma lucidum spore extract inhibits endothelial and breast cancer cells *in vitro*[J]. Oncol Rep, 2004,12:659-662.
[48] Min BS, Nakamura N, Miyashiro H, et al. Triterpenes from the spores of Ganoderma lucidum and their inhibitory activity against HIV-1 protease[J]. Chem Pharm Bull (Tokyo), 1998,46:1607-1612.
[49] Liu GT, Bao TT, Niu XY, et al. Some pharamacological actions of the spores of ganoderma lucidum and the mycelium of ganoderma capense teng cultivated by submerged fermentation[J]. Chinese Medical Journal, 1979,92:496-500.
[50] 包天桐,杨甲禄,王桂芬. 赤芝孢子粉(肌生注射液)的药理作用[J]. 中药药理与临床,1988,4:16-17.
[51] 魏怀玲,余凌虹,刘耕陶. 赤灵芝孢子粉水溶性提取物(肌生注射液)对小鼠的催眠镇静作用[J]. 中药药理与临床,2000,16:12-14.
[52] 魏凌珍,徐德祥,王家骥,等. 灵芝孢子粉镇痛和抗突变作用的实验研究[J]. 中国公共卫生,2000,16:700-701.
[53] 谢安木,刘焯霖,陈　玲,等. 实验性帕金森病黑质的超微结构变化及灵芝孢子粉的影响研究[J]. 中国神经精神疾病杂志,2004,30:11-13.
[54] 王　欢,王淑秋. 灵芝孢子粉对癫痫大鼠皮质和海马区NMDAR1免疫反应影响的研究[J]. 黑龙江医药科学,2006,29:11-13.
[55] 张　伟,曾园山,汪　洋,等. 灵芝孢子促进大鼠受损伤脊髓运动神经元存活及其轴突再生相关蛋白质组学的初步研究[J]. 中西医结合学报,2006,4:298-302.
[56] 张庆萍,胡显亚. 灵芝孢子粉对肝脏保护作用的药理试验研究[J]. 基层中药杂志,1997,11:40-41.
[57] 刘　昕,袁剑刚,黄晓霓,等. 灵芝孢子对小鼠肝癌的抑制及其对肝脏的保护作用[J]. 中西医结合肝病杂志,2000,10:31-32.
[58] 李　晔,肖志勇,毛景华,等. 灵芝孢子油对化学性肝损伤保护作用的研究[J]. 广西中医药,2006,29:50-51.
[59] Chen RY, Yu DQ. Studies on the triterpenoid constituents of the spores from Ganoderma Lucidum Karst[J]. J Chinese Pharmaceutical Sciences,1993,2:91-96.
[60] 赵红宇,李文斌,李洪源,等. 破壁灵芝孢子粉对肝纤维化的影响研究[J]. 黑龙江医药科学,2006,29:96.
[61] 郭家松,沈志勇,詹朝双,等. 灵芝孢子粉及灵芝孢子蜂胶对急性胃溃疡形成的影响[J]. 第一军医大学分校学报,2004,27:21-22.
[62] 章灵华,肖培根. 灵芝孢子粉提取物对实验性糖尿病的防治作用[J]. 中草药,1993,24:246-247.
[63] 梁容能,彭　康. 灵芝孢子粉提取物降血糖作用及机制的实验研究[J]. 中药药理与临床,1998,14:17-19.
[64] 齐淑芳,王淑秋,王柏欣,等. 灵芝孢子对2型糖尿病模型大鼠胰腺细胞色素C、线粒体Ca^{2+}的影响[J]. 中国老年学杂志,2006,26:679-680.
[65] 张卫明,孙晓明,吴素玲,等. 灵芝孢子粉调节血脂作用研究[J]. 中国野生植物资源,2001,20:14-16.
[66] 顾　欣,王芷源,刘耕陶. 灵芝孢子粉的药理研究2. 对骨骼肌细胞膜脂质过氧化和超氧阴离子生产的作用[J]. 中药药理与临床,1993,9:9-12.
[67] 张素清,施雪筠. 肌生注射液心脏保护及抗氧化作用的实验研究[J]. 中国中西医结合杂志,2003,23:455-457.
[68] 孙晓明,张卫明,吴素玲,等. 灵芝孢子粉食品毒理学安全性评价[J]. 中国野生植物资源,2000,19:7-9.
[69] 王伟洁,雷红莉,王海英. 灵芝孢子粉胶囊动物长期毒性试验资料[J]. 医学信息,2000,13:626-627.

(2006-08-30 收稿)
(本文编辑:任英慧)

The pharmacological study of Ganoderma spores and their active components

LIN Zhi-bin△, WANG Peng-yun
(Department of Pharmacology, Peking University School of Basic Medical Sciences, Beijing 100083, China)

SUMMARY Recently, the pharmacological study of Ganoderma spores and active components has become a focus of attention in the world. The present review is based on the auctorial research on *Ganoderma* spores. It involves pharmacological effects of *Ganoderma* spores and its active components, including immunomodulating effect, antitumor activity and its mechanism *in vivo* and *in vitro*, liver-protective effect, gastric ulcer preventing effect, serum glucose and blood fat depressing effects, anti-hypoxia and scavenging free redical, etc. The possible problems and their solutions in this research area are also discussed.

KEY WORDS Ganoderma; Spores, fungal; Pharmacologic actions