

甘草内生菌代谢物的体内外抗炎作用分析

龙静¹, 张文武^{2*}, 石红霞³

¹中国人民解放军联勤保障部队第九八〇医院(邯郸院区) 河北邯郸

²兰州佛慈制药股份有限公司 甘肃兰州

³兰州中检科测试技术有限公司 甘肃兰州

【摘要】目的 探究甘草内生菌代谢物的体内外抗炎作用分析。**方法** 模型组把1 mg·L⁻¹脂多糖(LPS)加入,把巨噬细胞 RAW264.7 接种于96孔板中培养,各受试药物组分别把10, 20, 40 mg·L⁻¹内生菌发酵物或甘草水提液浸膏加入其中,2h时间之后再把LPS1 mg·L⁻¹加入培养,实现对IL-1 β 、PGE₂、NO含量的检测。共72只Wistar大鼠,随机划分成观察组(内生菌代谢物组)及对照组(阳性对照组)各36例,连续灌胃给药5d。比较分析对分泌炎症因子和巨噬细胞RAW264.7存活率的影响,大鼠外周血白细胞计数、炎症相关因子的含量等。**结果** 相较于对照组,观察组的大鼠外周血白细胞数量较高,且JTZB018、JTZB059、JTZB006、JTZB060、JTZB063均高于对照组,显示存在统计学意义(P<0.05);对照组IL-6、TNF- α 均低于观察组,IL-10较高,且JTZB018、JTZB059、JTZB006、JTZB060、JTZB063的IL-6、TNF- α 均高于对照组,显示存在统计学意义(P<0.05)。**结论** 针对LPS诱导的炎症模型,(JTZB006、JTZB060、JTZB063)3株甘草内生菌代谢物,有体外及体内抗炎作用,安全性较高,具有临床应用价值。

【关键词】 抑菌活性;甘草;内生菌;抗炎作用;代谢物

Analysis of anti-inflammatory effects of endophytic bacteria metabolites of licorice in vivo and in vitro

Jing Long¹, Wenwu Zhang^{2*}, Hongxia Shi³

¹Chinese People's Liberation Army Joint Service Support Force 980 Hospital (Handan Campus)
Handan, Hebei

²Lanzhou Foci Pharmaceutical Co., Ltd., Lanzhou, Gansu

³Lanzhou CCIC Testing Technology Co., Ltd., Lanzhou, Gansu

【Abstract】Objective To explore the anti-inflammatory effects of endophytic bacteria metabolites in licorice in vivo and in vitro. **Methods:** 1 mg·L⁻¹ lipopolysaccharide (LPS) was added to the model group, and macrophages RAW264.7 were inoculated in 96-well plates for culture. Each test drug group was treated with 10, 20, 40 mg·L⁻¹. The fermentation product of endophytic bacteria or the aqueous extract of licorice was added, and LPS1 mg·L⁻¹ was added to the culture after 2h to achieve the detection of IL-1 β , PGE₂, and NO content. A total of 72 Wistar rats were randomly divided into an observation group (endophytic metabolite group) and a control group (positive control group) with 36 cases each, and they were given continuous intragastric administration for 5 days. Comparative analysis of the effects on the secretion of inflammatory factors and the survival rate of macrophages RAW264.7, the count of white blood cells in the peripheral blood of rats, and the content of inflammation-related factors. **Results:** Compared with the control group, the number of peripheral blood leukocytes in the observation group was higher, and JTZB018, JTZB059, JTZB006, JTZB060, and JTZB063 were all higher than those in the control group, showing statistical significance (P<0.05); the control group IL -6, TNF- α are lower than the observation group, IL-10 is higher, and the IL-6 and TNF- α of JTZB018, JTZB059, JTZB006, JTZB060, JTZB063 are higher than those of the control group, showing statistical significance (P< 0.05). **Conclusion:** For the

作者简介: 龙静, 1989.3, 女, 汉族, 陕西省咸阳市武功县人, 硕士研究生, 药师, 研究方向: 天然药物化学, 微生物与生化药学。

*通讯作者: 张文武

LPS-induced inflammation model, (JTZB006, JTZB060, JTZB063) 3 strains of licorice endophytic metabolites have anti-inflammatory effects in vitro and in vivo, with high safety and clinical application value.

【Keywords】 Antibacterial Activity; Licorice; Endophytic Bacteria; Anti-Inflammatory Effect; Metabolites

内生菌是一种真菌或细菌^[1]。经对共 72 只 Wistar 大鼠, 分析甘草内生菌代谢物在体内外抗炎情况, 结果如下:

1 资料与方法

选择 SPF 级 Wistar 大鼠, 来自于某中医药大学动物实验中心, 体质量(202±18)g, ♀♂各半, 喂标准饲料, 自由摄食、饮水, 且 SCXK(甘)2015-0002 为合格证号。

上海一恒科学仪器公司的 DHP-927 电热恒温培养箱, 上海捷辰仪器的 MotiC220A 荧光倒置显微镜, 美国伯乐 MODEL680-酶标仪。

小鼠 RAW264.7 单核巨噬细胞株(南京凯基生物公司, 货号: KG240); 上海丰翔生物科技公司的, 批号 201505 的白介素-1 β (IL-1 β)、201601 的白介素-6(IL-6)ELIS、201504 的前列腺素 E2(PGE₂)试剂盒; 批号: NWL0509 胎牛血清(FBS); 脂多糖(LPS, 美国 Sigma); 批号 R160506-121a 的白介素-10(IL-10) ELISA, 以及 R160506-102a 的肿瘤坏死因子- α (TNF- α), 国药集团容生制药的地塞米松。

1.1 方法

制备甘草内生菌代谢物: 经预实验初步筛选 JTZB059-63, 以及 JTZB006、014、018、043 共 8 株甘草内生菌, 实施初步形态学鉴定。在 500 mL 锥形瓶中分装 300 mL 营养肉汤培养基, 接种环在双人净化工作台上, 基于 25°C、200r·min⁻¹ 条件下, 在灭菌营养肉汤培养液中接种, 摇床发酵培养 4d, 取上清液, 将其粉末用于体内抗炎试验。另外, 选择含 10% FBS1640 培养基溶解烘干甘草内生菌发酵物粉末, 分别配成甘草内生菌代谢物为 10, 20, 40 mg·L⁻¹。

1.2 观察指标

比较分析对及分泌炎症因子和巨噬细胞 RAW264.7 存活率的影响, 大鼠外周血白细胞计数、炎症相关因子。

1.3 统计学处理

对及分泌炎症因子和巨噬细胞 RAW264.7 存活率的影响, 炎症相关因子的含量用平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, *t* 检验; χ^2 检验、%表示; *P*<0.05,

SPSS22.0 软件。

2 结果

2.1 大鼠外周血白细胞计数: 观察组大鼠外周血白细胞数量高于对照组, 且 JTZB018、JTZB059、JTZB006、JTZB060、JTZB063 均高于对照组 (*P*<0.05), 见表 1。

表 1 大鼠外周血白细胞计数 ($\bar{x} \pm s$)

组别	WBC/ $\times 10^9 \cdot L^{-1}$	剂量/g·kg ⁻¹
对照组	9.41±1.76	0.95
观察组	10.98±1.18	0.95
JTZB063	12.06±2.07	0.95
JTZB059	13.16±2.45	0.95
JTZB006	9.86±1.46	0.95
JTZB060	9.59±1.71	0.95
JTZB018	13.66±2.49	0.95

2.2 大鼠血清中炎症因子含量: 对照组 IL-6、TNF- α 低于观察组, IL-10 较高, 且 JTZB018、JTZB059、JTZB006、JTZB060、JTZB063 的 IL-6、TNF- α 均较高 (*P*<0.05), 见表 2。

表 2 大鼠血清中炎症因子含量 ($\bar{x} \pm s$)

组别	IL-6/pg·mL ⁻¹	TNF- α /pg·m ⁻¹	IL-10/pg·mL ⁻¹
对照组	228.64±34.00	175.43±38.48	726.09±79.15
观察组	270.58±37.82	230.97±33.69	596.77±66.80
JTZB063	294.65±44.86	211.89±51.89	699.71±90.75
JTZB059	338.44±49.05	298.41±48.39	509.58±90.50
JTZB006	273.4±41.22	222.47±34.91	711.35±60.63
JTZB060	246.53±46.43	207.34±36.68	724.92±82.96
JTZB018	315.21±50.79	280.66±45.69	488.34±84.09

3 讨论

内生菌, 生活于健康植物器官和组织中, 在长时间进化和宿主植物共同衍生出一类微生物^[2-3]。在具体的演化过程中, 获得宿主植物基因有多种生理活性, 产生相似或相同于宿主植物的药用活性成分^[4-5]。此次研究中, 相较于对照组, 观察组的大鼠外周血白细胞数量较高, 且 JTZB018、JTZB059、JTZB006、JTZB060、JTZB063 均高于对照组, 显示

存在统计学意义: 对照组 IL-6、TNF- α 均低于观察组, IL-10 较高, 且 JTZB018、JTZB059、JTZB006、JTZB060、JTZB063 的 IL-6、TNF- α 均高于对照组, 显示存在统计学意义。

综上所述, 针对 LPS 诱导的炎症模型, (JTZB006、JTZB060、JTZB063) 3 株甘草内生菌代谢物, 有体外及体内抗炎作用, 安全性较高, 具有临床应用价值。

参考文献

- [1] 杨志军, 邓毅, 曼琼, 等. 甘草内生菌代谢物的抗炎作用[J]. 中国现代应用药学, 2018, 35(5): 633-637.
- [2] 杨志军, 邓毅, 杨秀娟, 等. 反相高效液相色谱法测定甘草内生菌代谢物中甘草酸铵、甘草昔及甘草素的含量[J]. 甘肃中医药大学学报, 2018, 35(4): 30-35.
- [3] 郑雪, 谭佳音, 孔德崑, 等. 甘草内生真菌 HGC6 的鉴定及其抑菌活性代谢物研究[J]. 黑龙江大学自然科学学报, 2017, 34(3): 339-344.

- [4] 郭一婷, 程瑶, 邵云云, 等. 芍药甘草汤主要成分在正常及多囊卵巢综合征大鼠尿液和粪便中的代谢产物分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(6): 103-112.
- [5] 赵田, 邵义明. 载脂蛋白 E 在脓毒症中抗炎作用的体内外实验观察[J]. 山东医药, 2020, 60(8): 38-40.

收稿日期: 2020 年 12 月 28 日

出刊日期: 2021 年 1 月 29 日

引用本文: 龙静, 张文武, 石红霞, 甘草内生菌代谢物的体内外抗炎作用分析[J]. 国际临床研究杂志, 2021, 5(1): 14-16.

DOI: 10.12208/j.ijcr.20210003

检索信息: RCCSE 权威核心学术期刊数据库、中国知网 (CNKI Scholar)、万方数据 (WANFANG DATA)、Google Scholar 等数据库收录期刊

版权声明: ©2021 作者与开放获取期刊研究中心 (OAJRC) 所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。 <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



OPEN ACCESS