

蛹蟲草發酵產物水萃液對巨噬細胞細胞激素之調節作用

曾心渝¹、沈俞伶¹、鄔欣好¹、賴裕順²、陳淑德²、鄭永祥²

¹國立宜蘭大學動物科技學系 ²國立宜蘭大學生物技術研究所

摘要

蛹蟲草(*Cordyceps militaris*)又名北冬蟲夏草，與冬蟲夏草(*Cordyceps sinensis*)均屬於冬蟲夏草屬。藉由蛹蟲草菌感染鱗翅目，蝙蝠蛾幼蟲或蛹體所形成之子實體，與冬蟲夏草皆為珍貴的傳統藥材之一。本研究之目的，為利用小麥為發酵基質，初始水分含量控制在50%，分別再加入5%不同氮源，包括酵母粉、酵母抽出物、魚粉、豆粉及發酵豆粉，於22°C下進行蛹蟲草固態發酵，分別經0、7、14、21及28天後，利用高壓液相層析儀(HPLC)，進行蟲草素及腺苷的定性及定量分析；並利用酚硫酸法，分析發酵物中蛹蟲草多醣及β-glucan含量。此外，利用蛹蟲草固態發酵所生產之二次代謝產物蟲草素及腺苷，探討發酵物水萃液中蟲草素對巨噬細胞細胞激素分泌之調節作用。藉由蛹蟲草發酵產物熱水萃取液後加以稀釋，調整蟲草素含量分別為0.1 μg/ml與10 μg/ml，在與脂多醣(lipopolysaccharide)共同培養刺激小鼠巨噬細胞株(RAW264.7)經24小時後，利用RT-PCR，半定量方式監測β-actin、TNF-α與COX-2的基因表現量。由結果顯示固態發酵產生之蟲草素可抑制巨噬細胞促發炎細胞激素之表現。

前言

近年來隨著時代的變遷，競爭的壓力越來越大，在努力於自我提升時，往往忽略了自身的健康，導致許多的疾病隨之而來，也因為如此，有越來越多的人開始注重健康，於是保健食品也隨之形成新的主流。蛹蟲草又稱為北冬蟲夏草，含有主要成份蟲草素、腺苷、蛹蟲草多醣等，其化學成份與醫療保健機能的種類與冬蟲夏草相似，故與冬蟲夏草皆為我國珍貴的傳統藥材之一。研究指出北冬蟲夏草內的蟲草素，在生理學上的活性，具有刺激免疫、抗病毒、抗感染及抗癌的效果(Kim et al, 2006)。因此本實驗的目的，要藉由刺激巨噬細胞，來證明蟲草素具有抗發炎的效果，並希望能藉此實驗開發為抗發炎相關之保健食品。

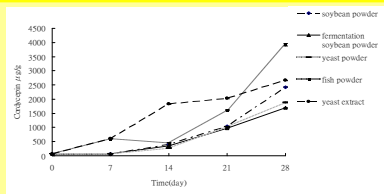


圖1、以不同氮源做為蛹蟲草固態發酵培養基進行發酵0、7、14、21、28天之蟲草素濃度變化。

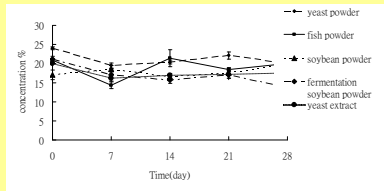


圖2、以不同氮源做為蛹蟲草固態發酵培養基進行發酵0、7、14、21、28天之多醣體濃度變化。

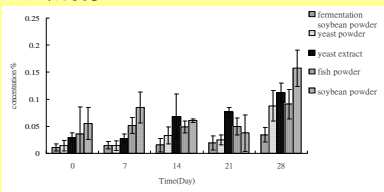


圖3、以不同氮源做為蛹蟲草固態發酵培養基進行發酵0、7、14、21、28天之β-glucan濃度變化。

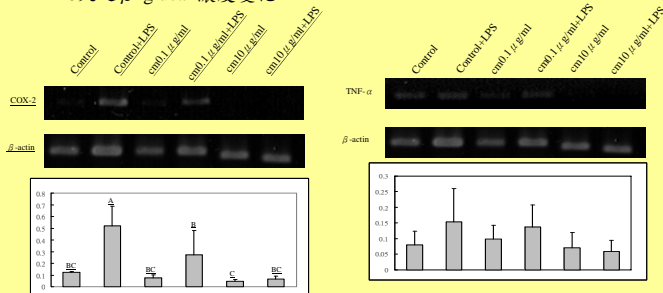


圖4、LPS及蟲草素與RAW264.7共培養24小時後TNF-α與COX-2細胞激素表現

材料與方法



蛹蟲草菌株固態發酵

5%氮源(魚粉、酵母粉、酵母抽出物、豆粉、發酵豆粉)

22°C, 0、7、14、21、28天

離心(5000xg/10min)上清液進行冷凍乾燥

熱水萃取物



代謝物活性成分分析

- 1.HPLC(蟲草素含量)
- 2.多醣濃度
3. β-glucan

巨噬細胞(RAW 264.7)

抗發炎效果

LPS刺激

RNA

RT-PCR

TNF-α

COX-2

結果與討論

圖1發現蟲草素的生成量以魚粉做為氮源時可於發酵第28天達到最高量為3924.44 μg/g。圖2以酵母粉做為氮源發酵21天時多醣濃度為22.11%，為發酵產生多醣的適宜條件。圖3結果得知，豆粉為氮源發酵28天，β-glucan濃度為0.16%，濃度明顯高於其他氮源發酵結果，故如果欲高量獲得β-glucan可使用此發酵條件。圖4顯示由LPS刺激COX-2及TNF-α的表現量甚高，是因為LPS刺激24小時內只造成細胞產生發炎反應；10 μg/ml的蛹蟲草發酵水萃液與LPS共同培養，發現10 μg/ml的蛹蟲草發酵水萃液有抑制LPS產生發炎基因的表現量；而在0.1 μg/ml的蛹蟲草發酵水萃液也同樣有抑制效果，但並沒有10 μg/ml的蛹蟲草發酵水萃液明顯，故可推論隨著蛹蟲草發酵水萃液的劑量升高，可以緩解發炎反應。

結論

使用含0.1 μg/ml及10 μg/ml蟲草素的蛹蟲草水萃液與LPS共同培養24小時後，使用RT-PCR檢測β-actin、TNF-α與COX-2基因表現量，發現含0.1 μg/ml及10 μg/ml蟲草素的蛹蟲草水萃液與LPS分別共培養24小時後，會隨著劑量升高，增強抑制TNF-α與COX-2基因表現量，由此得知蛹蟲草水萃液，經稀釋處理後，具有抑制發炎反應的效果。未來可能開發為抗發炎性疾或廣泛發炎性之自體免疫性疾之應用上。