杨非,姚文环,李慧,等.银耳多糖的急性毒性、遗传毒性和亚慢性毒性研究［J］.中国比较医学杂志, 2022, 32(12): 66-76,102.
Yang F, Yao WH, Li H, et al. Study of acute toxicity, genetic toxicity and subchronic toxicity of *Tremella polysaccharide* [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(12): 66-76,102.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2022.12.009

银耳多糖的急性毒性、遗传毒性和亚慢性毒性研究

杨　非[1],姚文环[1],李　慧[1],张　静[1],唐　慧[1],吕实波[1],郭婕[1],孙劭靖[2],
陆　震[3],程　东[1*]

(1.山东省疾病预防控制中心,济南　250014;2.山东华熙海御生物医药有限公司,济南　250000;
3.华熙生物科技股份有限公司,济南　250000)

【摘要】 **目的**　研究银耳多糖的急性毒性、遗传毒性及亚慢性毒性,为银耳多糖开发利用提供科学数据。**方法**　依据食品安全国家标准,对银耳多糖进行急性经口毒性试验、三项遗传毒性试验和 90 d 经口毒性试验。**结果**　小鼠急性经口 LD_{50}>12.0 g/(kg·bw),属实际无毒级;三项遗传毒性试验结果均为阴性;大鼠 90 d 经口毒性实验中,各剂量组动物生长发育良好,体重、增重、进食量、食物利用率、血液学、血生化、尿常规、脏器湿重及脏/体比等指标与阴性对照组比较均无显著性差异(P>0.05),组织病理学观察未见与试验因素有关的变化,确定该银耳多糖最大未观察到有害作用剂量(NOAEL)为:雄性动物为 7.21 g/(kg·bw),雌性动物为 8.18 g/(kg·bw)。**结论**　在本次条件下,银耳多糖未见急性毒性、遗传毒性及亚慢性毒性。

【关键词】 银耳多糖;急性毒性;遗传毒性;亚慢性毒性
【中图分类号】R-33　【文献标识码】A　【文章编号】1671-7856(2022)12-0066-11

Study of acute toxicity, genetic toxicity and subchronic toxicity of *Tremella polysaccharide*

YANG Fei[1], YAO Wenhuan[1], LI Hui[1], ZHANG Jing[1], TANG Hui[1], LYU Shibo[1], GUO Jie[1], SUN Shaojing[2], LU Zhen[3], CHENG Dong[1*]

(1. Shandong Provential Center for Disease Prevention and Control, Jinan 250014, China.
2. Shandong Huaxi Haiyu Biomedical Co., LTD., Jinan 250000. 3. Huaxi Biotechnology Co., LTD., Jinan 250000)

【**Abstract**】 **Objective**　To study the acute toxicity, genetic toxicity and subchronic toxicity of *Tremella polysaccharide* and to provide scientific bases for its safe application. **Methods**　Acute oral toxicity, genetic toxicity, and 90 days oral toxicity tests were performed following the national standards of food safety. **Results**　The LD_{50} of *Tremella polysaccharide* was more than 12.0 g/(kg·bw), and *Tremella polysaccharide* was a non-toxic substance. The result of the three genotoxicity tests were negative. In the subchronic toxicity test, compared with the negative control group, there were no significant differences (P>0.05) in bw, weight gain, food intake, food utilization rate, hematological indexes, blood biochemical indexes, urine routine, organ weight, or organ coefficients. Histopathological observations showed no changes related to test factors. The no observed adverse effect level (NOAEL) of *Tremella polysaccharide* was 7.21 g/(kg·bw) for males and 8.18 g/(kg·bw) for females. **Conclusions**　No evidence for acute toxicity, genetic toxicity, or subchronic toxicity was observed in this *Tremella polysaccharide* study.

【**Keywords**】 *Tremella polysaccharide*; acute toxicity; genetic toxicity; subchronic toxicity

[作者简介]杨非(1975—),女,主管技师,研究方向:安全性评价与毒理学研究。E-mail:yf2002zhx@163.com
[通信作者]程东(1975—),男,硕士,主任技师,研究方向:安全性评价与毒理学研究。E-mail:sdchd@aliyun.com

银耳为担子菌门真菌银耳的子实体,又称白木耳、雪耳。中国食用银耳历史悠久,可追溯到南北朝时期。银耳多糖(*Tremella polysaccharide*)是银耳的主要组成和活性成分,其种类较多,主要包括酸性、中性杂多糖、胞壁、胞外多糖、酸性低聚糖等五大类。目前,关于银耳多糖的研究主要集中在提取技术、多糖结构种类、保健作用方面,如调节机体免疫力、抗肿瘤,抗氧化、抗辐射、抗衰老、提高记忆力、皮肤保湿等[1-16],而关于银耳多糖的食用安全性的毒理学资料极少。为此我们选用华熙生物科技股份有限公司从银耳孢子经发酵等环节获得的银耳多糖为研究对象,依照食品安全国家标准要求,进行急性经口毒性试验、遗传毒性试验和大鼠 90 d 经口毒性试验[17-21]等毒理学试验,为初步确定银耳多糖的食用安全性,并为其开发利用提供基础毒理学资料。

1　材料和方法

1.1　实验材料

1.1.1　实验动物

本研究均使用 SPF 级动物。90 d 经口毒性试验:SD 大鼠 140 只雌雄各半,体重 63~85 g,急性经口毒性试验:ICR 小鼠 20 只雌雄各半,体重 18.1~22.0 g,均来源于济南朋悦实验动物繁育有限公司[SCXK(鲁)2019-0003];哺乳动物红细胞微核试验:ICR 小鼠 50 只雌雄各半,体重 25.0~35.0 g,小鼠精原细胞染色体畸变试验:ICR 雄性小鼠 30 只,体重 31.0~34.0 g,均来源于北京维通利华实验动物技术有限公司[SCXK(京)2016-0006]。动物均饲养于山东省疾病预防控制中心屏障环境[SYXK(鲁)2018-0014],实验动物饲料来源于北京华阜康生物科技股份有限公司。本次实验经山东省疾病预防控制中心实验动物伦理委员会批准(A20210312-2),并按实验动物使用的 3R 原则给予人道关怀。

1.1.2　菌株

组氨酸缺陷型鼠伤寒沙门氏菌菌株购自上海宝录生物科技有限公司。

1.2　主要试剂与仪器

银耳多糖,黄褐色粉末,由华熙生物科技股份有限公司提供,总糖含量≥61%,蛋白质含量为≥6.2%。

S9 混合液,上海宝录生物科技有限公司提供;血液学试剂,SYSMEX 公司提供;血生化试剂,SIEMENS 公司提供。

CX21 生物显微镜,奥林巴斯公司提供;XN-1000 全自动血细胞分析仪,希思美康公司提供;Dimension Xpandplus 全自动生化分析仪,美国西门子公司提供;CombiScan500 全自动尿液分析仪,Combi 公司提供;Coatron 3000 全自动血凝仪,TECO 公司提供;Multifuge 3plus 离心机,Heraeus 公司提供;病理设备,LEICA 公司提供;检眼镜,兰羚公司提供;电子天平,梅特勒-托勒多公司提供等。

1.3　实验方法

1.3.1　急性经口毒性试验

按照限量法试验进行。受试物最大灌胃浓度为 100 mg/mL,按 0.4 mL/10 g 体重(bw),一日内 3 次进行经口灌胃(ig),每次间隔 4 h,合并一次剂量为 12.0 g/(kg·bw),观察动物一般表现并记录,持续 14 d。

1.3.2　细菌回复突变试验

考虑受试物对菌株的毒性和溶解度,最高剂量设置为每皿 5 mg,按等比组距原则下设 4 个剂量组(每皿 8、40、200、1000 μg)和 4 个对照组(自发回变、溶剂对照、DMSO 对照组和阳性对照组)。分别在加/不加 S9 条件下用平板掺入法进行两次试验。

1.3.3　哺乳动物红细胞微核试验

受试物最大灌胃浓度为 100 mg/mL,按 0.2 mL/(kg·bw)灌胃,高剂量组为 2.0 g/(kg·bw),按 2 倍组距下设 2 个剂量组[即 1.0、0.5 g/(kg·bw)]。另设纯化水组和环磷酰胺组(40 mg/(kg·bw))。受试物按 0.2 mL/10 (g·bw)间隔 24 h 两次 ig 给予。第二次 ig 后 6 h 采集胸骨骨髓,制片。每只动物至少观察 200 个红细胞(RBC),同时计数嗜多染红细胞(PCE)在总红细胞中的比例。每只动物至少观察 2000 个 PCE,计数有微核的 PCE 频率。

1.3.4　精原细胞染色体畸变试验

受试物最大灌胃浓度为 100 mg/mL,按 0.2 mL/(kg·bw)灌胃,1 日内两次进行 ig(间隔 6 h),高剂量组为 4.0 g/(kg·bw),按 2 倍组距下设 2 个剂量组(即 2.0、1.0 g/(kg·bw))。另设纯化水对照组和环磷酰胺对照组(40 mg/(kg·bw),单次 ip)。高剂量组于末次 ig 后的第 24 h 和第 48 h 处死动物采样,其余各组动物于末次 ig 后第 24 h 处死动物采样。处死动物前 5 h,ip 秋水仙素(4 mg/(kg·bw))。常规制片。每只动物镜检 1000 个细胞以确定精原细胞有丝分裂指数。每只动物计数 100 个

中期分裂相细胞,记录每个中期分裂相细胞的畸变类型和数量,计算染色体畸变细胞率。

1.3.5 90 d 经口毒性试验

(1)剂量选择与受试物给予方式

剂量组:大鼠 100 只,随机分为 5 组,每组 20 只,雌雄各半。根据《食品安全国家标准 90 d 经口毒性试验》要求设计试验剂量:大鼠每日摄食量按体重 8%折算,受试物最高可掺入饲料比例为质量分数 10%,动物摄入剂量可达到 8.00 g/(kg·bw),以此为高剂量组。下设三个剂量,分别为 4.00、2.00、1.00 g/(kg·bw)。所有剂量组调整饲料配方,加酪蛋白使蛋白含量与对照组一致(蛋白含量约 19%)。卫星组:设卫星对照组和卫星 8.00 g/(kg·bw)剂量组,每组 10 只,雌雄各 5 只,卫星对照组给予基础饲料,卫星 8.00 g/(kg·bw)剂量组给予受试物高剂量组饲料。于试验第 45 天(试验中期)和停止给予受试物后(恢复期) 28 d 处死取材。

(2)方法

每天观察大鼠一般表现,每周记录大鼠摄食量、体重。试验前和试验结束时,对高剂量组和对照组大鼠进行眼部检查(角膜、结膜、虹膜和晶状体);试验中期、试验结束、恢复期结束血液学检查、血生化血检查和尿液检查。试验结束,麻醉解剖大鼠,称心脏、肝、肾、脾、胸腺、肾上腺、脑、睾丸、附睾、卵巢和子宫的绝对重量,计算脏/体比值和脏器组织病理学检查。

1.4 统计学方法

统计学处理用 SPSS 22.0 软件进行分析,结果以平均数±标准差($\bar{x}\pm s$)形式表示。计量资料用方差分析、计数资料用卡方检验和 Poisson 分布进行组间比较,以 $P<0.05$ 为显著性差异,$P<0.01$ 为极显著性差异。

2 结果

2.1 急性经口毒性试验

各组小鼠饮水进食正常,未见中毒症状,体重逐日增加,14 d 内无死亡。结果显示雌雄小鼠的 LD_{50} 均大于 12.0 g/(kg·bw),属实际无毒级。

2.2 细菌回复突变试验

两次试验中受试物各剂量组回变菌落数均未大于自发回变菌落数的 2 倍,亦无剂量-反应关系,说明在加与不加 S9 时该受试物对五株试验菌株均未呈现遗传毒性(见表 1、表 2)。

2.3 哺乳动物红细胞微核试验

如表 3 所示,与阴性对照组比较,银耳多糖各剂量组对雌雄小鼠的含微核细胞率无统计学意义($P>0.05$),结果为阴性。

2.4 小鼠精原细胞染色体畸变试验

如表 4、表 5 所示,与阴性对照组比较,银耳多糖各剂量组对小鼠的染色体畸变细胞率无统计学意义($P>0.05$),结果为阴性。

表 1 细菌回复突变试验结果($\bar{x}\pm s$,第一次)

Table 1 Results of bacterial reverse mutation test ($\bar{x}\pm s$,First time)

每皿剂量(μg) Dose	TA97		TA98		TA100		TA102		TA1535	
	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9	-S9	+S9
8	129±13.6	148±13.1	35±5.3	36±3.6	137±13.1	142±17.8	253±7.0	263±11.5	15±3.1	21±3.1
40	134±15.6	129±13.5	32±2.5	33±1.2	141±18.1	137±22.0	253±10.5	264±16.0	16±4.2	26±3.2
200	125±19.5	134±6.4	33±2.0	34±3.1	137±15.0	140±13.1	252±8.1	265±13.8	17±1.2	20±5.5
1000	119±7.9	135±25.0	35±3.6	34±4.0	146±18.4	133±4.5	253±14.0	271±9.5	18±3.8	19±1.5
5000	126±9.3	127±13.8	35±4.7	34±5.9	137±8.4	140±15.4	258±15.1	273±13.7	18±4.6	21±6.2
自发回变 Spontaneous mutation	121±12.5	136±12.2	33±2.0	38±1.5	133±5.5	138±12.3	258±13.1	268±13.5	18±2.1	23±3.8
溶剂对照 Solvent control	139±25.7	129±7.1	34±2.5	34±4.0	140±12.2	139±13.6	262±5.0	272±10.6	19±3.1	19±4.9
二甲基亚砜 DMSO control	126±5.9	127±33.3	33±2.1	35±3.6	146±4.0	141±10.1	260±4.9	257±14.0	19±6.6	22±5.0
阳性对照 Positive control	1953±99.1(1)	950±73.5(2)	1159±74.3(1)	1989±65.0(2)	959±118.9(3)	1020±222.0(2)	1978±24.2(3)	944±95.3(4)	377±40.1(5)	424±71.1(6)

注:(1):敌克松,每皿 50 μg;(2):2-氨基芴,每皿 10 μg;(3):甲基磺酸甲酯,每皿 0.5 μL;(4):1,8-二羟基蒽醌,每皿 50 μg;(5):叠氮钠,每皿 0.25 μg ;(6):2-氨基蒽,每皿 1 μg。

Note.(1), Dioxone, 50 μg per dish. (2), 2-aminofluorene, 10 μg per dish. (3), Methyl sulfonic acid, 0.5 μL per dish. (4), 1, 8-dihydroxyanthraquinone, 50 μg per dish. (5), Sodium azide, 0.25 μg per dish. (6), 2-aminoanthracene, 1 μg per dish.

表 2　细菌回复突变试验结果($\bar{x}\pm s$,第二次)

Table 2　Results of bacterial reverse mutation test($\bar{x}\pm s$, Second time)

每皿剂量(μg) Dose	TA97		TA98		TA100		TA102		TA1535	
	−S9	+S9	−S9	+S9	−S9	+S9	−S9	+S9	−S9	+S9
8	120±12.0	121±15.3	38±5.8	36±5.6	130±3.5	135±9.8	251±11.2	274±19.5	17±5.0	17±4.7
40	122±15.5	125±8.2	36±5.7	34±6.4	137±11.9	134±9.1	269±19.1	256±17.8	19±5.6	20±9.6
200	128±8.4	138±3.5	35±4.7	38±4.0	132±3.2	138±12.0	260±20.1	268±19.0	17±4.5	16±4.6
1000	114±8.2	111±17.0	36±4.6	37±5.5	132±11.0	140±4.9	256±8.5	266±12.2	21±5.5	19±5.1
5000	106±6.5	133±23.6	36±1.5	36±6.7	127±8.9	132±8.5	266±20.6	286±12.7	18±8.7	21±5.6
自发回变 Spontaneous mutation	115±16.5	140±21.5	36±5.5	35±4.6	133±11.5	137±13.4	267±18.5	265±11.9	18±6.1	18±2.1
溶剂对照 Solvent control	112±12.7	124±9.2	38±1.7	39±2.3	129±4.2	133±8.7	266±19.5	257±17.6	20±5.3	18±7.2
二甲基亚砜 DMSO control	117±22.5	126±21.5	39±5.7	38±3.1	146±27.4	149±9.0	264±21.1	264±11.7	19±3.1	18±2.1
阳性对照 Positive control	1962±115.1(1)	932±107.2(2)	921±36.3(1)	1921±50.0(2)	1054±211.1(3)	982±137.2(2)	1953±69.5(3)	1073±85.9(4)	361±24.2(5)	426±65.2(6)

注:(1):敌克松,每皿 50 μg;(2):2-氨基芴,每皿 10 μg;(3):甲基磺酸甲酯,每皿 0.5 μL;(4):1,8-二羟基蒽醌,每皿 50 μg;(5):叠氮钠,每皿 0.25 μg;(6):2-氨基蒽,每皿 1 μg。

Note. (1), Dioxone, 50 μg per dish. (2), 2-aminofluorene, 10 μg per dish. (3), Methyl sulfonic acid, 0.5 μL per dish. (4), 1, 8-dihydroxyanthraquinone, 50 μg per dish. (5), Sodium azide, 0.25 μg per dish. (6), 2-aminoanthracene, 1 μg per dish.

表 3　小鼠哺乳动物红细胞微核试验($n=5$)

Table 3　Results of mammalian erythrocyte micromucleus test

性别 Sex	剂量(kg·bw) Dose	检查细胞数(个) Number of observed cell(n)	含微核细胞数(个) Number of MN cell(n)	含微核细胞率($\bar{x}\pm s$,‰) Rate	PCE/(PCE+NCE)
雄 Male	0.50	10000	20	2.0±1.27	0.54±0.04
	1.00	10000	22	2.2±0.91	0.55±0.05
	2.00	10000	18	1.8±0.76	0.57±0.05
	阴性对照组 Negative control group	10000	20	2.0±0.79	0.57±0.05
	阳性对照组 Positive control group	10000	232	23.2±3.17**	0.53±0.08
雌 Female	0.50	10000	20	2.0±1.46	0.57±0.05
	1.00	10000	18	1.8±1.20	0.54±0.06
	2.00	10000	20	2.0±0.79	0.58±0.05
	阴性对照组 Negative control group	10000	17	1.7±1.15	0.56±0.03
	阳性对照组 Positive control group	10000	210	21.5±7.25**	0.54±0.08

注:与阴性对照组比较,** $P<0.01$

Note. Compared with the negative control group, ** $P<0.01$.

表 4　小鼠精原细胞染色体畸变试验结果(个,%)

Table 4　Results of mouse spermatogonial chromosomal aberration test(n,%)

剂量(kg·bw) Dose	断裂 Break	断片 Fragment	微小体 Micio body	无着丝点环 Acentric ring	环状染色体 Circular chromosom	双或多着丝点染色体 Double or multiple centromeric chromosom	单体交换 Exchange
1.00(24 h)	14(87.50)	0(0)	1(6.25)	0(0)	0(0)	0(0)	1(6.2)
2.00(24 h)	17(89.47)	1(5.26)	1(5.26)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
4.00(24 h)	15(83.33)	1(5.56)	1(5.56)	0(0)	0(0)	0(0)	1(5.5)
4.00(48 h)	13(81.25)	1(6.25)	1(6.25)	0(0)	0(0)	0(0)	1(6.2)
阴性对照组 Negative control group	13(76.47)	1(5.88)	1(5.88)	1(5.88)	0(0)	0(0)	1(5.88)
阳性对照组 Positive control group	100(85.47)	3(2.56)	3(2.56)	4(3.42)	1(0.85)	2(1.71)	4(3.42)

2.5 90 d 经口毒性试验

2.5.1 动物的一般观察

90 d 试验期间和 28 d 恢复期间,各组动物生长状况良好,体重逐周增长,被毛光滑、皮肤无溃破、眼、黏膜、分泌物和排泄物(大小便)无异常,呼吸、神经系统、自主活动,无实验动物死亡。

2.5.2 对大鼠体重、食物利用率的影响

与阴性对照组比较,银耳多糖各剂量组的每周体重、进食量、食物利用率和体重增重、总进食量、总食物利用率均无统计学意义(P>0.05)(表 6)。

2.5.3 眼部检查

试验前后,8.00 g/(kg·bw)剂量组和对照组大鼠的角膜、晶状体、虹膜和结膜表面光滑,无充血水肿等异常表现。

表 5 小鼠精原细胞染色体畸变试验结果(n=5)

Table 5 Results of mouse spermatogonial chromosomal aberration test

剂量(kg·bw) Dose	受检细胞数(个) Number of observed cell(n)	畸变细胞数(个) Number of aberrant cell(n)	畸变细胞率(%) Rate of aberrant cell	有丝分裂指数(‰) Mitotic index
1.00(24 h)	5×100	16	3.20±0.45	18.00±2.12
2.00(24 h)	5×100	19	3.80±0.84	18.60±1.95
4.00(24 h)	5×100	18	3.60±0.55	18.20±1.92
4.00(48 h)	5×100	15	3.00±1.22	18.80±1.64
阴性对照组 Negative control group	5×100	17	3.40±0.89	18.40±3.21
阳性对照组 Positive control group	5×100	76	15.20±1.79**	17.60±1.82

注:与阴性对照组比较,** P<0.01。

Note. Compared with the negative control group, ** P<0.01.

表 6 90 d 经口毒性试验对大鼠总食物利用率的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 6 Results of total food utilization rate of rats in 90 d oral toxicity test

性别 Sex	剂量(kg·bw) Dose	体重增重(g) Weight gain	进食量(g) Food intake	食物利用率(%) Food utilization
雄 Male	/	426.8±22.5	2404.8±129.7	17.76±0.58
	1.00	424.2±28.8	2396.1±120.9	17.70±0.72
	2.00	433.8±27.5	2496.7±114.1	17.37±0.64
	4.00	435.9±27.1	2538.3±111.0	17.19±1.13
	8.00	415.0±28.7	2367.8±164.4	17.54±0.84
雌 Female	/	209.6±22.6	1712.6±35.3	12.23±1.22
	1.00	217.8±20.4	1681.6±84.0	12.95±0.96
	2.00	199.5±17.6	1671.5±144.8	11.96±0.81
	4.00	225.5±20.0	1725.4±116.1	13.08±0.99
	8.00	214.0±18.0	1719.5±92.4	12.45±0.97

表 7 90 d 经口毒性试验中期血液学检查结果($\bar{x}\pm s$)

Table 7 Results of hematological examination for mid-term in 90 d oral toxicity test

性别 Sex	剂量(kg·bw) Dose	白细胞计数 (×10⁹/L)WBC	红细胞计数 (×10¹²/L)RBC	血红蛋白 (g/L)HGB	红细胞压积 (%)HCT	血小板计数 (×10⁹/L)PLC
雄 Male	/	12.07±2.75	8.34±0.20	154.0±4.2	46.0±1.6	1047±107.0
	8.00	10.08±2.96	8.42±0.47	159.8±6.6	48.0±2.4	1101±173.8
雌 Female	/	6.68±1.24	8.37±0.53	154.4±5.6	46.2±2.2	1040±82.6
	8.00	6.03±2.64	8.18±0.53	151.4±10.5	45.4±3.0	1059±73.5

性别 Sex	剂量(kg·bw) Dose	中性粒细胞 百分比(%)NEU	淋巴细胞 百分比(%)LYM	单核细胞 百分比(%)MON	嗜酸细胞 百分比(%)EOS	嗜碱细胞 百分比(%)BASO
雄 Male	/	24.6±5.6	67.6±5.4	6.42±0.79	1.18±0.29	0.14±0.05
	8.00	26.1±7.1	64.5±6.3	7.96±1.68	1.36±0.34	0.10±0.00
雌 Female	/	15.8±4.3	77.0±5.2	6.38±0.76	0.74±0.54	0.06±0.09
	8.00	14.7±3.9	78.5±4.6	6.02±0.72	0.62±0.28	0.16±0.11

性别 Sex	剂量(kg·bw) Dose	网织红细胞总数 (×10¹²/L)RET	网织红百分比(%) Ret percentage	未成熟比率(%) Immature ralio	凝血酶原时间(s) PT	活化部分凝血活酶时间(s)APTT
雄 Male	/	0.24±0.03	2.89±0.43	51.4±4.0	20.2±0.5	13.8±1.7
	8.00	0.22±0.02	2.57±0.09	48.5±3.0	19.2±1.0	14.1±1.4
雌 Female	/	0.24±0.03	2.84±0.39	45.2±4.9	21.1±0.9	14.7±1.0
	8.00	0.23±0.03	2.78±0.45	48.4±4.1	21.3±0.8	14.3±1.4

2.5.4　血液学测定结果

与阴性对照组比较,试验末期雄性 4.00 g/(kg·bw)剂量组白细胞分类嗜酸(%)升高、2.00 g/(kg·bw)剂量组 PT 降低和 8.00 g/(kg·bw)剂量组 PT 降低,雌性 4.00 g/(kg·bw)剂量组白细胞分类中性(%)升高、淋巴(%)降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)(表 7、表 8、表 9)。

2.5.5　血液生化学测定结果

试验中期,雌性实验动物 8.00 g/(kg·bw)剂量组氯离子与对照组比较有显著性差异($P<0.05$),但仍在本研究室正常值范围内,不认为存在生物学意义;试验末期和恢复期,剂量组动物各项指标与对照组比较均无显著性差异($P>0.05$),且其值均在本实验室正常值范围内(表 10、表 11、表 12)。

表 8　90 d 经口毒性试验末期血液学检查结果($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Table 8　Results of hematological examination for final-term in 90 d oral toxicity test

性别 Sex	剂量(kg·bw) Dose	白细胞计数 ($\times10^9$/L) WBC	红细胞计数 ($\times10^{12}$/L) RBC	血红蛋白 (g/L) HGB	红细胞压积 (%) HCT	血小板计数 ($\times10^9$/L) PLC
雄 Male	/	9.46±2.45	8.67±0.91	149.1±13.3	44.4±6.0	934±107.9
	1.00	8.38±1.32	9.09±0.25	153.1±5.3	47.3±1.7	945±77.8
	2.00	9.57±1.85	8.68±0.40	145.8±7.3	45.5±2.0	892±149.6
	4.00	9.38±1.48	8.90±0.71	149.1±13.1	46.9±3.9	958±161.6
	8.00	8.21±2.10	8.75±0.28	149.8±5.3	47.0±1.3	937±115.3
雌 Female	/	5.48±1.95	8.45±0.28	148.6±4.8	44.8±1.3	908±73.7
	1.00	5.22±1.90	8.30±0.46	145.9±8.1	44.0±2.4	896±141.6
	2.00	5.14±1.73	8.20±0.22	145.4±4.0	44.0±1.2	883±109.2
	4.00	5.31±2.01	8.30±0.28	146.3±2.3	44.0±1.1	890±98.4
	8.00	5.36±2.17	8.37±0.47	146.5±7.5	44.3±2.3	909±81.6

性别 Sex	剂量(kg·bw) Dose	中性粒细胞百分比(%) NEU	淋巴细胞百分比(%) LYM	单核细胞百分比(%) MON	嗜酸细胞百分比(%) EOS	嗜碱细胞百分比(%) BASO
雄 Male	/	33.0±9.1	59.3±9.0	6.68±1.07	0.91±0.59	0.12±0.08
	1.00	29.2±8.4	61.1±9.1	8.73±1.85	0.94±0.37	0.12±0.06
	2.00	32.7±4.0	57.2±5.4	8.72±2.10	1.26±0.47	0.20±0.11
	4.00	31.9±7.9	57.6±8.0	8.57±2.45	1.79±0.59**	0.17±0.09
	8.00	38.0±10.5	53.1±9.1	7.31±2.24	1.43±0.90	0.22±0.11
雌 Female	/	19.3±3.9	72.8±4.0	6.68±1.37	1.08±0.76	0.16±0.10
	1.00	25.9±7.7	65.4±8.1	7.34±0.96	1.24±0.46	0.16±0.18
	2.00	23.1±5.9	67.2±6.8	8.23±1.53	1.40±0.72	0.10±0.14
	4.00	29.0±8.6*	62.6±9.9*	8.31±1.14	1.03±0.50	0.13±0.15
	8.00	23.2±6.9	67.8±6.3	7.86±2.15	1.02±0.55	0.11±0.17

性别 Sex	剂量(kg·bw) Dose	网织红细胞总数 ($\times10^{12}$/L) RET	网织红百分比 (%) Ret percentage	未成熟比率 (%) Immature ralio	凝血酶原时间 (s) PT	活化部分凝血活酶时间(s) APTT
雄 Male	/	0.20±0.03	2.41±0.75	47.0±6.2	21.5±1.0	18.5±1.1
	1.00	0.21±0.03	2.27±0.32	45.2±4.2	21.3±1.1	18.9±1.6
	2.00	0.19±0.02	2.23±0.21	46.1±3.2	19.7±1.5**	19.6±1.5
	4.00	0.19±0.02	2.16±0.46	45.9±5.4	21.1±1.1	17.3±1.9
	8.00	0.18±0.03	2.07±0.32	46.1±6.1	20.0±1.3*	18.4±1.0
雌 Female	/	0.21±0.04	2.47±0.42	38.5±6.4	21.9±1.7	13.4±1.5
	1.00	0.18±0.03	2.23±0.40	40.6±7.7	20.3±1.0	14.7±1.2
	2.00	0.20±0.03	2.42±0.32	41.8±9.3	20.5±0.8	13.4±1.3
	4.00	0.19±0.03	2.32±0.34	43.2±4.0	20.9±1.5	14.7±1.3
	8.00	0.19±0.03	2.24±0.37	40.4±5.4	21.0±1.2	13.0±1.4

注:与对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$。

Note. Compared with the negative control group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$.

2.5.6 尿液检查结果

与对照组比较,试验中期雄性 8.00 g/(kg·bw)剂量组尿蛋白有显著性差异($P<0.05$);试验末期雌性 2.00 g/(kg·bw)剂量组 pH 值有显著性差异($P<0.05$),但均在本研究室正常值范围内,不认为存在生物学意义。其余各剂量组各项指标均无显著性差异。

2.5.7 病理解剖

(1)大体解剖

90 d 经口毒性试验结束后,大体观察各剂量组动物的脑、垂体、甲状腺、胸腺、肺、心脏、肝、脾、肾、肾上腺、胃、十二指肠、空肠、回肠、结肠、直肠、胰腺、肠系膜淋巴结、卵巢、子宫、睾丸、附睾、前列腺和膀胱等组织器官均未见明显异常。

表 9 90 d 经口毒性试验恢复期结束血液学检查结果($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

Table 9 Results of hematological examination for recovery-term in 90 d oral toxicity test

性别 Sex	剂量(kg·bw) Dose	白细胞计数 ($\times10^9$/L) WBC	红细胞计数 ($\times10^{12}$/L) RBC	血红蛋白 (g/L) HGB	红细胞压积 (%) HCT	血小板计数 ($\times10^9$/L) PLC
雄	/	10.89±2.32	8.89±1.09	137.8±16.0	43.5±5.0	801±85.5
Male	8.00	9.55±2.63	9.35±0.76	146.0±7.2	46.7±2.4	879±113.3
雌	/	5.18±1.71	8.64±0.26	150.0±3.5	46.1±1.1	784±46.3
Female	8.00	5.48±1.95	8.49±0.42	149.6±6.5	45.8±2.3	848±101.9

性别 Sex	剂量(kg·bw) Dose	中性粒细胞百分比(%) NEU	淋巴细胞百分比(%) LYM	单核细胞百分比(%) MON	嗜酸细胞百分比(%) EOS	嗜碱细胞百分比(%) BASO
雄	/	24.6±5.6	67.6±5.4	6.42±0.79	1.18±0.29	0.14±0.05
Male	8.00	26.1±7.1	64.5±6.3	7.96±1.68	1.36±0.34	0.10±0.00
雌	/	15.8±4.3	77.0±5.2	6.38±0.76	0.74±0.54	0.06±0.09
Female	8.00	14.7±3.9	78.5±4.6	6.02±0.72	0.62±0.28	0.16±0.11

性别 Sex	剂量(kg·bw) Dose	网织红细胞总数 ($\times10^{12}$/L) RET	网织红百分比 (%) Ret percentage	未成熟比率 (%) Immature ralio	凝血酶原时间 (s) PT	活化部分凝血活酶时间(s) APTT
雄	/	0.24±0.03	2.89±0.43	51.4±4.0	20.2±0.5	13.8±1.7
Male	8.00	0.22±0.02	2.57±0.09	48.5±3.0	19.2±1.0	14.1±1.4
雌	/	0.24±0.03	2.84±0.39	45.2±4.9	21.1±0.9	14.7±1.0
Female	8.00	0.23±0.03	2.78±0.45	48.4±4.1	21.3±0.8	14.3±1.4

表 10 90 d 经口毒性试验中期血液生化结果($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

Table 10 Results of biochemistry examination for mid-term in 90 d oral toxicity test

性别 Sex	剂量(kg·bw) Dose	丙氨酸氨基转移酶 (U/L) ALT	门冬氨酸氨基转移酶 (U/L) AST	尿素(mmol/L) BUN	肌酐(μmol/L) CR	胆固醇(mmol/L) CHO
雄	/	56.6±9.8	173.2±33.9	6.76±0.44	26.98±5.07	1.43±0.18
Male	8.00	51.4±3.8	195.2±33.5	6.30±0.34	26.90±3.87	1.52±0.28
雌	/	49.0±8.9	159.4±18.3	6.51±0.51	29.81±3.01	1.48±0.32
Female	8.00	49.4±8.4	142.2±16.5	6.46±0.63	32.66±4.55	1.80±0.37

性别 Sex	剂量(kg·bw) Dose	甘油三酯(mmol/L) TG	血糖(mmol/L) GLU	总蛋白(g/L) TP	白蛋白(g/L) ALB	白蛋白/球蛋白 ALB/GLB
雄	/	0.56±0.12	7.38±0.88	56.6±1.6	28.4±1.7	1.01±0.07
Male	8.00	0.55±0.10	7.00±0.68	56.0±1.2	29.1±0.5	1.08±0.06
雌	/	0.35±0.11	6.16±0.63	59.0±0.9	29.7±0.9	1.01±0.09
Female	8.00	0.49±0.18	6.05±0.80	58.8±2.1	30.1±2.4	1.06±0.15

性别 Sex	剂量(kg·bw) Dose	碱性磷酸酶(U/L) ALP	谷氨酰转肽酶(U/L) GGT	钾(mmol/L) K^+	钠(μmol/L) Na^+	氯(mmol/L) Cl^-
雄	/	88.6±11.9	2.22±0.34	6.02±0.28	140.2±0.45	104.4±0.55
Male	8.00	90.4±14.1	2.34±0.38	6.30±0.48	140.0±2.00	105.0±2.24
雌	/	50.4±9.0	2.64±0.33	5.96±0.86	139.8±1.92	103.8±0.84
Female	8.00	45.4±9.8	2.30±0.26	6.40±0.54	141.6±1.34	105.6±1.34*

注:与对照组比较,*$P<0.05$。

Note. Compared with the negative control group, *$P<0.05$.

(2)组织病理学检查

对照组和高剂量组大鼠各脏器病理切片检查发现对照组和高剂量组有少数动物出现肝、肺和肾轻微病理改变:雄性对照组和雌性高剂量组、对照组各 1 只大鼠可观察到肝小叶内点状的炎症灶,灶内炎细胞浸润,个别肝细胞坏死,雄性高剂量组、对照组各 1 只内可见汇管区内点状的炎症灶;雄性高剂量组 1 只大鼠可观察到肺气肿,部分肺泡腔融合成肺大泡,雄性对照组和雌性高剂量组、对照组各有 1 只可观察到肺间质炎,肺泡上皮增生,肺泡壁变厚,肺泡腔和肺泡壁有炎细胞浸润;雄性高剂量组、对照组各 1 只大鼠可观察肾小管变性,小管上皮细胞肿胀,嗜碱性染色增强,胞浆内出现透明空泡样区,胞核疏松淡染,小管管腔变窄。

(3)脏器系数测定结果

试验末期及恢复期,脑、心脏、胸腺、肾上腺、肝、脾、肾、睾丸、附睾、子宫、卵巢等脏器的重量和脏器系数与对照组比较均无显著性差异($P>0.05$)(表 13~表 16)。

表 11　90 d 经口毒性试验末期血液生化结果($\bar{x}\pm s$,$n=10$)

Table 11　Results of biochemistry examination for final-term in 90 d oral toxicity test

性别 Sex	剂量(kg·bw) Dose	丙氨酸氨基转移酶 (U/L) ALT	门冬氨酸氨基转移酶 (U/L) AST	尿素(mmol/L) BUN	肌酐(μmol/L) CR	胆固醇(mmol/L) CHO
雄 Male	/	51.4±10.0	150.4±23.0	5.53±0.29	37.35±6.15	1.37±0.23
	1.00	52.0±10.4	149.8±22.4	5.45±0.57	36.57±5.97	1.26±0.27
	2.00	56.3±8.4	161.6±20.2	5.99±0.69	40.28±6.65	1.30±0.22
	4.00	56.1±9.6	173.5±30.0	5.66±0.41	39.83±5.24	1.38±0.22
	8.00	51.2±6.1	174.5±29.5	5.64±0.56	35.68±6.03	1.24±0.23
雌 Female	/	48.6±7.5	168.8±23.4	6.79±0.51	47.62±7.25	1.56±0.26
	1.00	47.2±7.5	176.3±30.1	6.12±0.70	52.60±7.05	1.55±0.31
	2.00	50.7±7.3	167.8±19.0	6.20±0.63	43.98±5.38	1.66±0.26
	4.00	45.4±7.1	163.3±19.1	6.33±0.54	43.22±7.86	1.65±0.32
	8.00	50.4±6.7	160.9±16.4	6.35±0.82	44.69±5.38	1.58±0.30

性别 Sex	剂量(kg·bw) Dose	甘油三酯(mmol/L) TG	血糖(mmol/L) GLU	总蛋白(g/L) TP	白蛋白(g/L) ALB	白蛋白/球蛋白 ALB/GLB
雄 Male	/	0.50±0.11	7.58±1.02	56.4±3.7	25.7±2.2	0.84±0.07
	1.00	0.50±0.15	7.41±1.02	56.7±3.5	26.3±2.7	0.87±0.09
	2.00	0.43±0.16	7.82±0.87	59.4±4.0	26.9±2.3	0.83±0.09
	4.00	0.51±0.20	7.81±1.11	55.4±3.7	25.5±2.2	0.86±0.09
	8.00	0.45±0.17	7.91±0.71	57.8±3.9	26.7±2.0	0.86±0.07
雌 Female	/	0.47±0.14	7.26±1.00	64.3±3.7	33.1±1.3	1.07±0.09
	1.00	0.42±0.14	6.87±0.94	63.6±3.2	32.9±2.6	1.08±0.10
	2.00	0.51±0.14	6.66±1.00	65.0±3.2	34.2±1.8	1.11±0.09
	4.00	0.45±0.14	6.90±0.93	64.8±3.6	34.1±2.4	1.11±0.09
	8.00	0.48±0.16	6.67±0.94	63.7±5.4	33.4±2.1	1.11±0.09

性别 Sex	剂量(kg·bw) Dose	碱性磷酸酶 (U/L) ALP	谷氨酰转肽酶 (U/L) GGT	钾(mmol/L) K^+	钠(μmol/L) Na^+	氯(mmol/L) Cl^-
雄 Male	/	56.4±10.1	2.68±0.32	5.84±0.66	142.2±3.91	105.6±2.5
	1.00	56.7±11.7	2.70±0.36	5.62±0.46	139.5±5.80	104.2±6.5
	2.00	53.2±11.8	2.64±0.37	5.99±0.69	142.6±3.06	106.6±2.7
	4.00	50.2±10.3	2.41±0.45	5.40±0.46	138.8±3.7	103.3±2.3
	8.00	54.7±9.8	2.45±0.35	5.50±0.49	142.4±2.8	105.7±2.2
雌 Female	/	31.2±5.9	2.34±0.37	5.70±0.67	142.9±1.5	105.1±2.4
	1.00	28.9±4.3	2.37±0.42	5.27±0.66	143.1±1.7	105.3±2.1
	2.00	29.5±4.6	2.29±0.35	5.61±0.67	142.6±1.0	105.5±1.2
	4.00	28.1±4.6	2.15±0.31	5.50±0.80	142.4±1.0	105.3±1.5
	8.00	29.9±4.5	2.31±0.44	5.79±0.42	142.5±1.0	105.8±1.5

表 12 90 d 经口毒性试验恢复期结束血液生化结果($\bar{x}\pm s$, $n=5$)

Table 12 Results of biochemistry examination for recovery-term in 90 d oral toxicity test

性别 Sex	剂量(kg·bw) Dose	丙氨酸氨基转移酶(U/L) ALT	门冬氨酸氨基转移酶(U/L) AST	尿素(mmol/L) BUN	肌酐(μmol/L) CR	胆固醇(mmol/L) CHO
雄 Male	/	63.8±11.3	203.2±38.8	5.79±0.62	51.40±6.53	1.28±0.14
	8.00	57.4±9.2	174.0±29.3	5.64±0.82	50.92±7.70	1.35±0.19
雌 Female	/	41.4±6.5	128.2±17.7	6.28±0.86	48.74±8.67	1.63±0.18
	8.00	41.0±4.8	131.8±18.1	5.77±0.68	51.74±8.11	1.75±0.26

性别 Sex	剂量(kg·bw) Dose	甘油三酯(mmol/L) TG	血糖(mmol/L) GLU	总蛋白(g/L) TP	白蛋白(g/L) ALB	白蛋白/球蛋白 ALB/GLB
雄 Male	/	0.73±0.14	9.65±1.80	61.0±3.2	30.4±2.3	1.00±0.08
	8.00	0.70±0.12	9.56±1.45	59.0±3.0	28.5±2.3	0.93±0.08
雌 Female	/	0.56±0.16	9.01±0.33	67.1±4.0	33.8±3.0	1.02±0.09
	8.00	0.55±0.17	8.87±0.85	67.7±4.6	33.8±2.2	1.00±0.10

性别 Sex	剂量(kg·bw) Dose	碱性磷酸酶(U/L) ALP	谷氨酰转肽酶(U/L) GGT	钾(mmol/L) K^+	钠(μmol/L) Na^+	氯(mmol/L) Cl^-
雄 Male	/	63.4±9.9	2.58±0.55	5.72±0.50	142.2±7.9	106.0±3.5
	8.00	59.6±9.1	2.42±0.20	5.38±0.53	141.6±4.3	105.2±2.5
雌 Female	/	24.0±4.4	3.38±0.56	5.76±0.99	140.0±4.1	104.4±2.6
	8.00	22.4±3.6	2.87±0.41	5.60±0.92	143.6±5.2	106.4±2.8

表 13 90 d 经口毒性试验末期脏器重量($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Table 13 Organ weight for final-term in 90 d oral toxicity test

性别 Sex	剂量(kg·bw) Dose	脑(g) Brain	心脏(g) Heart	胸腺(g) Thymus	肾上腺(g) Adrenal gland	肝(g) Liver
雄 Male	/	1.914±0.185	1.342±0.141	0.474±0.117	0.061±0.008	13.034±1.303
	1.00	1.918±0.047	1.349±0.180	0.484±0.100	0.061±0.006	12.269±1.070
	2.00	1.824±0.152	1.296±0.084	0.505±0.102	0.064±0.013	12.789±1.412
	4.00	1.859±0.145	1.341±0.145	0.451±0.094	0.060±0.005	12.629±0.966
	8.00	1.933±0.140	1.251±0.125	0.433±0.099	0.064±0.015	12.239±1.407
雌 Female	/	1.766±0.068	0.841±0.098	0.382±0.089	0.086±0.018	6.908±0.953
	1.00	1.722±0.069	0.828±0.096	0.380±0.053	0.079±0.022	6.897±0.628
	2.00	1.746±0.065	0.831±0.100	0.354±0.075	0.075±0.004	6.413±0.260
	4.00	1.787±0.073	0.848±0.074	0.386±0.060	0.080±0.016	6.713±0.828
	8.00	1.757±0.097	0.846±0.078	0.383±0.076	0.078±0.013	6.859±0.582

性别 Sex	剂量(kg·bw) Dose	肾(g) Kidney	脾(g) Spleen	睾丸/子宫(g) Testis/Uterus	附睾/卵巢(g) Epididymis/Ovary
雄 Male	/	3.247±0.314	0.922±0.135	3.124±0.290	1.317±0.115
	1.00	3.270±0.272	0.850±0.042	3.135±0.275	1.381±0.171
	2.00	3.183±0.294	0.864±0.100	2.984±0.200	1.350±0.181
	4.00	3.196±0.222	0.851±0.083	2.898±0.466	1.259±0.158
	8.00	3.056±0.354	0.838±0.102	2.917±0.130	1.274±0.143
雌 Female	/	1.787±0.179	0.576±0.049	0.682±0.119	0.175±0.028
	1.00	1.749±0.165	0.555±0.055	0.685±0.126	0.171±0.019
	2.00	1.636±0.177	0.526±0.043	0.701±0.160	0.172±0.036
	4.00	1.645±0.164	0.553±0.059	0.774±0.210	0.188±0.032
	8.00	1.692±0.170	0.561±0.058	0.754±0.272	0.177±0.037

表 14　90 d 经口毒性试验末期脏器系数($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Table 14　Organ coefficient for final-term in 90 d oral toxicity test

性别 Sex	剂量(kg·bw) Dose	空腹体重(g) Fasting weight	脑/体重(%) Brain/bw(%)	心/体重(%) Heart/bw(%)	胸腺/体重(%) Thymus/bw(%)	肾上腺/体重(%) Adrenal gland/bw(%)
雄 Male	/	479.3±22.1	0.40±0.04	0.28±0.02	0.10±0.03	0.013±0.001
	1.00	475.3±27.8	0.40±0.03	0.28±0.04	0.10±0.02	0.013±0.002
	2.00	482.8±27.2	0.38±0.04	0.27±0.02	0.10±0.02	0.013±0.003
	4.00	488.9±27.6	0.38±0.04	0.27±0.02	0.09±0.02	0.012±0.001
	8.00	472.7±27.7	0.41±0.04	0.26±0.02	0.09±0.02	0.014±0.003
雌 Female	/	269.1±18.3	0.66±0.03	0.31±0.03	0.14±0.03	0.032±0.007
	1.00	275.2±17.1	0.65±0.05	0.30±0.03	0.14±0.02	0.029±0.008
	2.00	254.3±18.6	0.69±0.05	0.33±0.04	0.14±0.03	0.030±0.003
	4.00	272.7±15.2	0.66±0.05	0.31±0.03	0.14±0.02	0.029±0.005
	8.00	269.9±18.2	0.65±0.04	0.31±0.03	0.14±0.02	0.029±0.006

性别 Sex	剂量(kg·bw) Dose	肝/体重(%) Liver/bw(%)	肾/体重(%) Kidney/bw(%)	脾/体重(%) Spleen/bw(%)	睾丸(子宫)/体重(%) Testis(Uterus)/bw(%)	附睾(卵巢)/体重(%) Epididymis (Ovary)/bw(%)
雄 Male	/	2.72±0.23	0.68±0.07	0.19±0.02	0.65±0.05	0.31±0.03
	1.00	2.58±0.15	0.69±0.05	0.18±0.01	0.66±0.05	0.33±0.03
	2.00	2.65±0.23	0.66±0.05	0.18±0.02	0.62±0.07	0.31±0.04
	4.00	2.58±0.14	0.65±0.05	0.17±0.02	0.59±0.09	0.29±0.03
	8.00	2.58±0.20	0.65±0.06	0.18±0.02	0.62±0.04	0.31±0.04
雌 Female	/	2.56±0.20	0.66±0.05	0.21±0.02	0.25±0.04	0.08±0.01
	1.00	2.51±0.15	0.64±0.06	0.20±0.01	0.25±0.05	0.08±0.01
	2.00	2.53±0.12	0.65±0.07	0.21±0.02	0.28±0.06	0.09±0.02
	4.00	2.46±0.22	0.60±0.05	0.20±0.02	0.28±0.07	0.08±0.01
	8.00	2.54±0.15	0.63±0.05	0.21±0.02	0.28±0.10	0.08±0.01

表 15　90 d 经口毒性试验恢复期结束脏器重量($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Table 15　Organ coefficient for recovery-term in 90 d oral toxicity test

性别 Sex	剂量(kg·bw) Dose	脑(g) Brain	心脏(g) Heart	胸腺(g) Thymus	肾上腺(g) Adrenal gland	肝(g) Liver
雄 Male	/	101.965±0.102	1.338±0.186	0.486±0.130	0.052±0.011	12.407±1.717
	8.00	101.934±0.085	1.317±0.095	0.435±0.099	0.057±0.010	11.955±1.138
雌 Female	/	101.720±0.046	0.823±0.116	0.350±0.049	0.075±0.019	7.072±0.561
	8.00	101.677±0.146	0.858±0.095	0.357±0.067	0.075±0.006	6.936±0.667

性别 Sex	剂量(kg·bw) Dose	肾(g) Kidney	脾(g) Spleen	睾丸/子宫(g) Testis/Uterus	附睾/卵巢(g) Epididymis/Ovary
雄 Male	/	103.041±0.442	0.781±0.125	3.130±0.226	1.312±0.317
	8.00	102.917±0.195	0.814±0.115	2.891±0.207	1.358±0.164
雌 Female	/	101.741±0.142	0.562±0.058	0.726±0.164	0.169±0.028
	8.00	101.716±0.102	0.567±0.079	0.679±0.098	0.163±0.015

表 16　90 d 经口毒性试验恢复期结束脏器系数($\bar{x}\pm s$, $n=10$)

Table 16　Organ coefficient for recovery-term in 90 d oral toxicity test

性别 Sex	剂量(kg·bw) Dose	空腹体重(g) Fasting weight	脑/体重(%) Brain/bw	心/体重(%) Heart/bw	胸腺/体重(%) Thymus/bw	肾上腺/体重(%) Adrenal gland/bw
雄 Male	/	10468.2±22.6	0.42±0.03	0.29±0.03	0.10±0.03	0.011±0.002
	8.00	10464.0±17.9	0.42±0.02	0.29±0.01	0.09±0.02	0.012±0.002
雌 Female	/	10267.8±22.0	0.65±0.06	0.31±0.05	0.13±0.03	0.028±0.007
	8.00	10263.2±14.0	0.64±0.04	0.33±0.03	0.14±0.03	0.029±0.003

性别 Sex	剂量(kg·bw) Dose	肝/体重(%) Liver/bw	肾/体重(%) Kidney/bw	脾/体重(%) Spleen/bw	睾丸(子宫)/体重(%) Testis(Uterus)/bw	附睾(卵巢)/体重(%) Epididymis(Ovary)/bw
雄 Male	/	102.64±0.26	0.65±0.08	0.17±0.02	0.67±0.02	0.28±0.06
	8.00	102.59±0.24	0.63±0.04	0.18±0.02	0.63±0.06	0.30±0.04
雌 Female	/	102.65±0.26	0.65±0.08	0.21±0.02	0.27±0.06	0.06±0.01
	8.00	102.64±0.23	0.65±0.06	0.22±0.04	0.26±0.03	0.06±0.01

3 讨论

银耳多糖生理活性广泛,具有广阔的市场价值,但作为食品原料开发利用还缺乏充分的毒理安全评价资料。现仅查阅到贾汉卿等[22-25]报道的关于银耳多糖 J 的小鼠急性毒性、慢性毒性、生殖毒性、致癌试验文章,其采用的试验方法参考文献为 1978 年人民卫生出版社出版的《食品毒理》。报道未对受试物银耳多糖来源、性状等作出说明,实验动物选用小鼠,未标明小鼠品系、来源、饲养环境等,在慢性毒性试验中,未提供每周体重、进食量、食物利用率、血液学、血生化学、尿液检查、脏器湿重、脏体比等多项指标数据,也未设置卫星组,研究不够深入系统。本次研究依据最新的食品安全国家标准[17-21]对华熙生物科技股份有限公司生产的银耳多糖开展毒理学试验,初步研究银耳多糖的食用安全性。急性毒性试验采用限量法[17],24 h 内经口累积给予小鼠 12.0 g/(kg · bw)的银耳多糖,小鼠无一死亡,无明显的毒性症状,可见银耳多糖属实际无毒级。在遗传毒性试验中,无论原核细胞试验还是真核细胞试验,无论体内试验还是体外试验,结果均为阴性,初步判断该银耳多糖没有遗传毒性。在 90 d 经口毒性试验中,各剂量组动物每周体重、体重增重、进食量、总进食量、食物利用率和总食物利用率与对照组比较均无统计学意义,可见银耳多糖对大鼠生长发育、进食、营养吸收没有不良影响。血液学、血生化、尿液检查中,个别剂量白细胞分类嗜酸、中性、淋巴、PT,氯离子、尿蛋白、尿 PH 值等与对照组比较出现统计学差异,但没有剂量反应关系,时间没有连续性,与性别无关,且其值均在本研究室正常值范围内,不认为有生物学意义和毒理学意义,可能与动物个体差异有关。组织病理学检查对照组和高剂量组少数动物的标本出现病理改变,但这些病理改变程度较轻且无组间特异性分布,考虑与动物质量有关,不认为与银耳多糖作用有关。

综合以上结果,在本次条件下,本次所研究的银耳多糖属于实际无毒级物质,未见遗传毒性效应,根据银耳多糖的实际摄入剂量初步确定该样品最大未观察到有害作用剂量(NOAEL)为:雄性动物为 7.21 g/(kg · bw),雌性动物为 8.18 g/(kg · bw)。本次对华熙生物科技股份有限公司生产的银耳多糖开展的毒理学安全研究为银耳多糖开发利用提供了科学数据,为进行下一步的毒理学试验提供了剂量参考依据。

参考文献:

[1] Ge X, Huang W, Xu X, et al. Production, structure, and bioactivity of polysaccharide isolated from *Tremella fuciformis* XY [J]. Int J Biol Macromol, 2020, 148: 173-181.

[2] Wu YJ, Wei ZX, Zhang FM, et al. Structure, bioactivities and applications of the polysaccharides from *Tremella fuciformis* mushroom: a review [J]. Int J Biol Macromol, 2019, 121: 1005-1010.

[3] 薛蔚. 银耳多糖提取纯化技术及功能性质探究 [J]. 南方农业, 2020, 14(21): 141-142.

[4] 史振伟, 许焱, 李晓璐, 等. 银耳多糖改善脓毒症小鼠调节性 T 细胞的免疫活性 [J]. 中国免疫学杂志, 2016, 32(3): 313-317.

[5] 李玮, 刘庆阳, 彭浩. 银耳多糖干预后脓毒症小鼠脾脏 DCregs 对 CD_4^+ T 细胞分泌功能的影响 [J]. 山东医药, 2015, 55(27): 24-26.

[6] 宋思媛, 王欣, 王泽旭, 等. 银耳多糖对免疫抑制小鼠肠道菌群的保护作用 [J]. 中国微生态学杂志, 2020, 32(7): 772-776.

[7] 苏巧玲, 李秀敏. 银耳多糖抗 B16 黑色素瘤肺转移的作用及机理研究 [J]. 药学与临床研究, 2021, 29(5): 331-335.

[8] 李璐, 毕富勇, 吕俊. 银耳多糖诱导肝癌 HepG-2 细胞凋亡的研究 [J]. 实用医学杂志, 2009, 25(7): 1033-1035.

[9] 解方为, 欧阳学农, 彭永海, 等. 银耳孢多糖对小鼠大肠癌的抑制作用及机理研究 [J]. 中药药理与临床, 2009, 25(2): 54-56.

[10] 蔡东联, 沈卫, 曲丹, 等. 银耳多糖对 D-半乳糖致衰老模型小鼠抗氧化能力的影响 [J]. 氨基酸和生物资源, 2008, 30(4): 52-54.

[11] Li M, Ma F, Li R, et al. Degradation of *Tremella fuciformis* polysaccharide by a combined ultrasound and hydrogen peroxide treatment: process parameters, structural characteristics, and antioxidant activities [J]. Int J Biol Macromol, 2020, 160: 979-990.

[12] Zhang Z, Wang X, Zhao M, et al. Free-radical degradation by $Fe^{2+}/Vc/H_2O_2$ and antioxidant activity of polysaccharide from *Tremella fuciformis* [J]. Carbohydr Polym, 2014, 112: 578-582.

[13] Shen T, Duan C, Chen B, et al. *Tremella fuciformis* polysaccharide suppresses hydrogen peroxide-triggered injury of human skin fibroblasts via upregulation of SIRT1 [J]. Mol Med Rep, 2017, 16(2): 1340-1346.

[14] 王靖雅, 常刘杨, 贾艺悦, 等. 真菌多糖的辐射防护作用研究 [J]. 食品与药品, 2019, 21(3): 235-238.

(下转第 102 页)