研究报告

鼠曲草对大鼠生殖激素水平及免疫机能的影响

钟礼云，赵康涛，郑丽红，林蔚，李杨锦，黄宗锈
（福建省人兽共患病研究重点实验室，福建省疾病预防控制中心，福建 福州 350012）

摘 要：目的 探索鼠曲草（PADA）对大鼠生殖激素水平以及免疫机能的影响。**方法** 将PADA按传统食用习惯提取浓缩后，连续30 d经口给予SD大鼠，对六项生殖激素、免疫器官、碳廓清实验、ConA诱导的脾淋巴细胞转化实验、血清溶血素、抗体生成细胞进行检测。**结果** 暴露PADA后的雌性各剂量组大鼠的催乳素升高（$P<0.05$）；雄性100 g/kg体质量剂量组的脾脏重量、雄性50 g/kg体质量剂量组的血清溶血素抗体积数、雌性100 g/kg体质量剂量组的胸腺重量、胸腺指数升高（$P<0.05$）；碳廓清吞噬指数a、淋转OD差值、溶血空斑数、白细胞、球蛋白、白/球比值、免疫器官的生长发育及组织形态等均未观察到明显的不良改变。**结论** PADA能引起雌性25 g/kg体质量剂量以上催乳素升高；未观察到免疫功能有明显受损现象；脾、胸腺重量及胸腺指数升高，提示有一定的免疫增强作用。

关键词：鼠曲草；生殖激素；免疫力
中图分类号：R155 **文献标识码：**A **文章编号：**1004-8456（2024）07-0782-06
DOI:10.13590/j.cjfh.2024.07.003

Study on the effects of Gnaphalium affine D. Don on reproductive hormone levels and immune function in rats

ZHONG Liyun, ZHAO Kangtao, ZHENG Lihong, LIN Wei, LI Yangjin, HUANG Zongxiu
（Fujian Provincial Key Laboratory Zoonosis Research, Fujian Center for Disease Control And Prevention, Fujian Fuzhou 350012, China）

Abstract: Objective To study the effects of Pseudognaphalium affine D. Don Anderberg（PADA）on reproductive hormone levels and immune function in rats. **Methods** PADA was extracted and concentrated according to the traditional eating habit, and given orally to SD rats for 30 consecutive days. Six sex hormones, immune organs, carbon clearance assay, ConA-induced splenic lymphocyte transformation test, determination of serum hemolysin and determination of antibody producing cell were measured. **Results** The prolactin levels was elevated（$P<0.05$）in female rats of all dose groups after exposure to PADA. Spleen weight in the male 100 g/kg. bw dose group, antibody product in the male 50 g/kg·bw dose group and thymus weight and thymus-body ratio in the female 100 g/kg·bw dose group were increased（$P<0.05$）. While no significant adverse changes were observed in the phagocytic index-a, the OD difference value of lymphocyte transformation test, Hemolytic plaques, WBC, globulin, the albumin/globulin ratio, and immune organs. **Conclusion** Prolactin levels can be increased in females at doses above 25 g/kg·bw. No significant impairment of immune function was observed. Spleen weight, thymus weigh, and thymus-body ratio were increased, suggesting a certain immune enhancement effect.

Key words: Pseudognaphalium affine D. Don Anderberg; reproductive hormone; immune function

我国民间素有食用野菜、野蘑菇等野生植物的习惯，东南沿海及西南地区百姓常把一些野生青草植物加工成家常菜，但因食用不当而引起机体损伤甚至死亡事件屡有发生[1-2]，这也引起社会对此类植物食用安全的担忧。临床研究发现，部分野生植物摄入人体后，会在体内蓄积并产生潜在危害，当食用较大剂量或蓄积到一定程度时可对身体器官造成一定程度的损伤[3]，甚至致命。

鼠曲草（Pseudognaphalium affine D. Don Anderberg，PADA）系菊科鼠曲草属植物，又名鼠麴草、菠菠草、鼠耳草等，因多在清明节期间被采集食用，民间又叫清明菜[4-5]。我国PADA资源极为丰富，其在食品和药品领域均具有很大的开发利用价值，有研究表

收稿日期：2023-06-06
基金项目：福建省卫生健康科技计划（2021CXA022）；福建省科技创新平台建设项目（2019Y2001）
作者简介：钟礼云 女 副主任医师 研究方向为卫生毒理学 E-mail：654700686@qq.com
通信作者：黄宗锈 男 主任技师 研究方向为卫生毒理学 E-mail：1624736056@qq.com

明，PADA 具有很好的抗氧化活性和抗菌性能等[6-8]。PADA 的民间食法较多，可于早春采集其嫩茎叶炒食，也可以择取茎、叶、花添加各种调味品直接食用，福建等地区的节日食品“清明粿”中就添加有 PADA。国内外已有学者对其进行功效和药理活性研究，并取得了一些进展，但还未曾开展过毒理学方面研究。本研究通过探讨多次暴露 PADA 后对大鼠机体免疫毒性效应，以及对生殖激素水平的影响，为其合理开发利用提供毒理学基础数据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

选用北京华阜康生物科技股份有限公司提供的 4~5 周龄 SPF 级 SD 健康大鼠 160 只，雌雄各半，分组时体质量为 76~97 g，实验动物生产许可证号：SCXK（京）2019—0008；饲养于屏障环境动物实验室内，使用许可证号：SYXK（闽）2022-0001，12 h 光照/12 h 黑暗循环。

1.1.2 受试物

将新鲜采集的 PADA 植株自然阴干，于电热恒温鼓风干燥箱中 60 ℃干燥后粉碎得到 PADA 干粉。取干粉加 20 倍乙醇（70%，V/V）混合，超声波辅助提取 80 min，提取液过滤后经 60 ℃真空浓缩得到黑褐色液体的 PADA 提取液，每 1 mL 提取液相当于 PADA 10 g（湿重），分装于玻璃瓶内，密封-20 ℃保存备用。以提取原液作为高剂量组受试物；高剂量组受试物依次 1/2 倍比递减稀释作为中、低剂量组受试物。

1.1.3 主要仪器与试剂

光栅型多功能酶标仪（INFINITE M200 PRO，奥地利帝肯）、紫外可见分光光度计（UV-1800，日本岛津公司）、通用离心机（2-16K，德国 Sigma）、96 孔培养板、CO_2 培养箱（CO-150，美国 NBS 公司）等。

注射用墨汁（Waldeck GmbH & Co KG）、刀豆蛋白 A（ConA，北京索莱宝科技有限公司）、无水 Na_2CO_3（上海罗恩试剂公司）、MTT 液（厦门泰禾生物技术有限公司）、Hank’s 液（pH=7.2~7.4，国药集团化学试剂有限公司）、RPMI 1640 培养基（赛默飞世尔生物化学品北京有限公司）、台盼兰[阿拉丁试剂（上海）有限公司]、生殖激素 ELISA 试剂盒（江苏酶免实业有限公司）等。

1.2 方法

实验动物按体质量随机分成两大组，第一大组实验动物体质量为 76~95 g，第二大组实验动物体质量为 80~97 g。第一大组开展碳廓清实验、脾淋巴细胞转化实验、生殖激素测定等；第二大组开展血清溶血素、抗体生成细胞的测定。各大组分成 4 小组，每小组雌雄动物各 10 只。参考收集到的人群摄入量水平为 60 g，结合前期急性经口毒性试验（限量法）的结果 LD50>20.36 g/kg 体质量（以 PADA 提取液计，相当于 PADA 湿重 200 g/kg 体质量）、28 d 经口毒性试验中 25~100 g/kg 体质量剂量范围内的异常结果，本研究设 25 g/kg 体质量、50 g/kg 体质量、100 g/kg 体质量 3 个剂量组（以 PADA 湿重计），另设 1 个纯水对照组，以经口灌胃方式给予动物，连续 30 d，给样体积为 10 mL/kg 体质量，期间动物自由进食饮水。

1.2.1 大鼠生殖激素测定

给样 30 d 后，所有大鼠禁食过夜并称重，经麻醉后从眼内眦静脉丛取血，无菌管收集，在室温条件下自然凝固 20 min，以 3 000 r/min 离心 20 min，将上清液转移至另一无菌管内。采用双抗体夹心法用酶标仪在 450 nm 波长下测定大鼠雌二醇（Estradiol，E2）、促黄体生成素（Luteinizing hormone，LH）、促卵泡素（Follicle stimulating hormone，FSH）、催乳素（Prolactin，PRL）、睾酮（Testosterone，T）、孕酮（Progesterone，PROG）的 OD 值，计算大鼠血清中各生殖激素浓度。

1.2.2 碳廓清实验测定

大鼠尾部静脉注入稀释的印度墨汁，分别于 2、10 min 后从眼内眦静脉丛取血 20 μL，立即加入 2 mL 的 0.1% Na_2CO_3 溶液中，600 nm 波长下测定 OD 值，同时以 Na_2CO_3 溶液作为空白对照。大鼠安乐死后无菌条件下取肝脏、脾脏、胸腺称重，计算胸腺指数、脾指数及吞噬指数 a。

1.2.3 ConA 诱导的脾淋巴细胞转化实验测定

将取出的脾置于盛有无菌 Hank’s 液的平皿中，用镊子轻轻撕碎，经 200 目筛网过滤，制成单细胞悬液，用 Hank’s 液洗涤 2 次，每次以 1 000 r/min 离心 10 min，将细胞悬浮于 1 mL 的完全培养液中，用台酚兰染色计数活细胞数，将细胞浓度调整至 3×10^6 个/mL。将每份细胞悬液分两孔加入 24 孔培养板中，每孔 1 mL，一个孔加 75 μL ConA 液，另一个孔对照，置培养箱中培养 72 h。培养结束前 4 h，每孔吸去上清液 0.7 mL，同时加入 0.7 mL 不含小牛血清的 RPMI 1640 培养液、50 μL 的 MTT，再继续培养 4 h。培养结束后，每孔加入 1 mL 酸性异丙醇，吹打混匀，使紫色结晶完全溶解。分装到 96 孔培养板中，做 3 个平行孔，用酶标仪在 570 nm 波长下测定 OD 值。

1.2.4 血清溶血素的测定

大鼠麻醉后眼内眦静脉丛取血，于2 000 r/min离心10 min分离血清（离心半径：13.5 cm），用生理盐水将血清倍比稀释，将不同稀释度的血清分别置于微量血凝板内，每孔100 μL，再加入100 μL 0.5%（V/V）的SRBC悬液，混匀，装入湿润的平盘内加盖，于37 ℃温箱孵育3 h，观察血球凝集程度。

1.2.5 抗体生成细胞检测

大鼠安乐死后，取脾脏，用玻璃匀浆器磨碎，并通过四层纱布过滤，1 000 r/min离心10 min（离心半径：13.5 cm），用Hank's液洗2次。将脾细胞悬浮于8 mL的Hank's液中。将表层培养基（1 g琼脂糖加双蒸水100 mL）加热溶解后，放入45 ℃水浴保温，与等量的pH 7.2~7.4以及2倍浓度的Hank's液混合，分装小试管，每管0.5 mL，再向管内加入50 μL的10% SRBC、25 μL脾细胞悬液，迅速混匀，倾倒于平皿上，置二氧化碳培养箱中温育1.5 h，加入SA缓冲液稀释的补体（1∶8），继续温育1.5 h后，计数溶血空斑数。

1.2.6 血液学、血液生化指标测定

每只大鼠麻醉后经腹主动脉各采血2.0 mL，放入2.0 mL的EDTA2K抗凝管中，摇匀，测定血红蛋含量（Hemoglobin concentration，HB）、红细胞计数（Erythrocyte Count，RBC）、白细胞计数（white blood cell count，WBC）和白细胞分类，包括淋巴细胞（Lymphocyte，LYMPH）、中性粒细胞（Neutrophil，NEUT）、单核细胞（Monocytes，MONO）、嗜碱性粒细胞（Basophil，BASO）、嗜酸性粒细胞（Eosinophilic granulocyte，EOS）；每只动物另各采血2.0 mL，于37 ℃孵育30 min，2 000 r/min离心10 min，取上清液检测丙氨酸氨基转移酶（Alanine aminotransferase，ALT）、门冬氨酸氨基转移酶（Aspartate aminotransferase，AST）、谷氨酰转肽酶（Glutamyl transpeptidase，GGT）、尿素（Urea，UREA）、肌酐（Creatinine，CR）、白蛋白（Albumin，ALB）、总蛋白（Total protein，TP），并计算球蛋白（Globulin，GLB）和白蛋白/球蛋白比值（A/G）。

1.2.7 组织病理学检查

大鼠安乐死后解剖取胸腺、脾脏、肠系膜淋巴结、肾脏、肝脏等脏器，用福尔马林固定24 h后，经脱水、包埋、切片、苏木精-伊红染色（HE染色）后，在显微镜下进行病理学检查。

1.3 统计学分析

实验数据使用均数±标准差（$\bar{X}\pm S$）表示。用SPSS21.0软件进行单因素方差分析来比较各组间差异，经方差齐性检验，方差齐的实验数据采用LSD法进行统计分析，方差不齐的实验数据进行变量转换，待满足方差齐要求后再进行方差分析，若变量转换后仍未达到方差齐的要求，改用秩和检验进行统计。$P<0.05$表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 对大鼠生殖激素水平的影响

如表1所示，连续30 d给予受试物后，雌性各剂量组大鼠的PRL浓度高于对照组，差异有统计学意义（$P<0.05$）；其余各剂量组雌、雄大鼠的E2、LH、FSH、T、PROG及雄性PRL的浓度与对照组比较，差异均无统计学意义（$P>0.05$）。

表1 鼠曲草干粉乙醇提取液对大鼠生殖激素水平的影响（$\bar{x}\pm s$，n=10）

Table 1 Effect of ethanol extraction of PADA dry powder on reproductive hormone levels in rats（$\bar{x}\pm s$，n=10）

性别	剂量/（g/kg体质量）	E2/（ng/L）	LH/（ng/L）	FSH/（IU/L）	PRL/（pg/mL）	T/（nmol/L）	PROG/（pmol/L）
雄性	0	17.62±1.51	5.99±1.18	3.39±0.76	120.60±28.25	30.41±6.01	40.56±8.64
	25	18.29±1.84	6.37±1.12	3.70±1.59	125.69±31.24	25.73±6.40	40.05±6.91
	50	19.98±3.83	5.65±2.33	3.41±0.80	108.82±18.64	29.50±5.30	44.83±7.17
	100	18.76±2.91	6.84±2.07	2.63±0.63	129.07±27.68	27.45±4.83	46.06±10.82
雌性	0	18.15±2.24	7.17±1.54	2.90±1.13	121.67±20.88	25.57±6.95	48.84±9.70
	25	18.69±1.82	6.70±1.72	3.44±0.68	163.06±58.53*	26.51±4.26	48.63±9.44
	50	16.18±2.48	6.80±1.29	4.95±2.25	168.87±47.32*	27.09±7.77	42.79±6.05
	100	17.58±2.50	6.04±1.78	3.52±0.76	166.43±34.24*	27.43±4.74	47.13±9.81

注：*表示与对照组比较，$P<0.05$

2.2 碳廓清实验结果

连续30 d给予受试物后结果如表2所示，受试物各剂量组雌、雄大鼠碳廓清吞噬指数a与对照组比较，差异均无统计学意义（$P>0.05$）。

2.3 ConA诱导的脾淋巴细胞转化实验结果

用加ConA孔的光密度值减去不加ConA孔的光密度值，代表淋巴细胞的增殖能力。连续30 d给予受试物后，各剂量组雌、雄大鼠的淋转OD差值与对照组比较，差异均无统计学意义（$P>0.05$，见表2）。

2.4 血清溶血素的测定结果

连续30 d给予受试物后，雄性50 g/kg体质量剂量组大鼠的抗体积数高于对照组，差异有统计学意义（$P<0.05$），其余各剂量组抗体积数与对照组比较，差异均无统计学意义（$P>0.05$，见表3）。

表2 鼠曲草干粉乙醇提取液对大鼠碳廓清脾淋巴细胞转化的影响($\bar{x}\pm s$，n=10)

Table 2 Effect of ethanol extraction of PADA powder on the carbon clearance assay and splenic lymphocyte transformation test($\bar{x}\pm s$，n=10)

性别	剂量/(g/kg体质量)	吞噬指数a	P	光密度差值	P
雄性	0	5.57±0.69	—	0.128±0.079	—
	25	4.76±1.07	0.136	0.136±0.076	0.850
	50	5.21±1.61	0.514	0.140±0.079	0.782
	100	5.06±1.05	0.343	0.103±0.117	0.524
雌性	0	4.18±0.63	—	0.138±0.081	—
	25	4.13±1.11	0.886	0.159±0.165	0.690
	50	4.77±0.69	0.118	0.108±0.118	0.574
	100	4.35±0.56	0.647	0.144±0.089	0.909

表3 鼠曲草干粉乙醇提取液对大鼠血清溶血素、抗体生成细胞的影响($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Effect of ethanol extraction of PADA powder on the determination of serum hemolysin and determination of antibody producing cell($\bar{x}\pm s$)

性别	剂量/(g/kg体质量)	动物只数(n)	抗体积数	P	溶血空斑数($\times10^3$)	P
雄性	0	10	57.0±9.2	—	76.54±12.61	—
	25	10	57.6±10.0	0.900	79.49±11.92	0.608
	50	8	72.5±13.5*	0.004	87.40±17.79	0.080
	100	10	63.6±9.7	0.171	70.66±7.91	0.307
雌性	0	10	65.2±8.5	—	78.75±12.04	—
	25	10	62.4±8.9	0.535	81.70±16.44	0.647
	50	10	71.2±12.2	0.188	78.75±17.01	1.000
	100	10	59.2±9.9	0.188	75.07±10.29	0.567

注：*表示与对照组比较，P<0.05

2.5 抗体生成细胞检测结果

连续30 d给予受试物后，各剂量组大鼠的溶血空斑数与对照组比较，差异均无统计学意义(P>0.05，见表3)。

2.6 对血液学、血液生化指标的影响

如表4所示，雌性100 g/kg体质量剂量组EOS低于对照组，差异有统计学意义(P<0.05)，但在正常值范围内，认为无生物学意义，其余各剂量组动物的WBC及其分类、GLB、ALB、A/G与对照组比较，差异均无统计学意义(P>0.05)。

2.7 对大鼠脏器重量及脏体比的影响

连续30 d给予受试物后如表5所示，雄性100 g/kg体质量剂量组大鼠的脾脏重量，以及雌性100 g/kg体质量剂量组大鼠的胸腺重量、胸腺指数均高于对照组，差异有统计学意义(P<0.05)，其余各剂量组禁食后体质量、各脏器重量、胸腺指数、脾指数与对照组比较，差异均无统计学意义(P>0.05)。

表4 鼠曲草干粉乙醇提取液对大鼠部分血常规、血液生化指标的影响($\bar{x}\pm s$，n=10)

Table 4 Effect of ethanol extraction of PADA powder on the hematology and blood biochemical indicators($\bar{x}\pm s$，n=10)

性别	剂量/(g/kg体质量)	WBC($\times10^9$/L)	LYMPH/%	NEUT/%	MONO/%	BASO/%	EOS/%	GLB/(g/L)	ALB/(g/L)	A/G
雄性	0	7.93±3.37	72.0±5.1	16.9±6.0	5.6±1.3	4.9±3.0	0.6±0.3	30.1±4.3	31.1±2.8	1.06±0.24
	25	7.68±2.15	71.2±10.4	14.9±5.6	6.4±2.7	7.0±4.3	0.6±0.2	29.4±2.0	31.3±0.9	1.07±0.10
	50	7.10±2.36	66.0±13.7	20.1±11.5	6.3±2.5	6.4±4.5	1.1±0.8	29.3±1.3	31.6±1.4	1.08±0.09
	100	7.83±2.11	70.9±7.6	15.0±5.7	6.0±1.7	7.3±4.7	0.8±0.5	30.5±0.6	30.6±0.7	1.01±0.03
雌性	0	7.03±2.62	77.5±5.2	12.0±5.0	4.5±1.2	5.2±1.9	0.9±0.6	30.2±0.8	31.3±1.3	1.04±0.05
	25	7.52±3.13	74.1±5.5	14.1±5.7	5.5±1.8	5.7±3.6	0.6±0.4	29.4±1.4	31.8±1.5	1.08±0.10
	50	8.40±3.13	71.9±9.3	18.2±6.7	4.9±1.4	4.3±2.7	0.7±0.3	29.6±1.4	31.3±1.6	1.06±0.09
	100	9.46±4.46	74.0±13.0	16.4±10.9	4.4±1.3	4.7±2.3	0.5±0.2*	30.2±2.2	31.2±1.1	1.04±0.10

注：*表示与对照组比较，P<0.05

2.8 组织病理学检查结果

经大体解剖肉眼观察，各剂量组动物的胸腺、脾脏、肠系膜淋巴结、肾脏、肝脏均未发现有明显的异常。组织病理学检查显示，各组动物的胸腺结构清晰，各型细胞无异常；脾脏被膜完整，脾小梁结构正常，动脉周围淋巴鞘及白髓淋巴滤泡内淋巴细胞正常；肠系膜淋巴结的皮质、髓质各部分界清晰，比例适当，淋巴小结无萎缩、增生、坏死等现象；肾脏被膜光滑、结构清楚，肾小管及肾盂黏膜均未见明显变性、坏死、增生等改变；各组肝小叶结构清晰，肝细胞索排列规整，肝细胞无异常。以上各脏器未见有因受试物引起的组织特异性病理学改变。

3 讨论

许多野生植物是药食两用资源，具有很高的利用价值，但化学成分复杂。一些植物本身含有天然

表5 鼠曲草干粉乙醇提取液对大鼠脏器重量及脏体指数的影响($\bar{x}\pm s$,n=10)

Table 5 Effect of ethanol extraction of PADA powder on the organ weight and visceral index in rats($\bar{x}\pm s$,n=10)

性别	剂量/(g/kg体质量)	初始体质量/g	末体质量/g	肝脏重量/g	胸腺重量/g	脾脏重量/g	胸腺指数/g	脾指数/g
雄性	0	86.4±4.8	334.8±13.8	11.22±0.87	0.78±0.10	0.96±0.07	0.23±0.03	0.29±0.02
	25	86.4±5.3	332.1±8.7	11.38±0.81	0.80±0.07	0.92±0.05	0.24±0.02	0.28±0.01
	50	86.3±4.9	329.6±9.2	10.92±0.81	0.73±0.09	0.91±0.06	0.22±0.03	0.28±0.02
	100	86.5±5.2	336.2±10.6	11.48±0.69	0.77±0.09	1.03±0.09*	0.23±0.03	0.31±0.03
雌性	0	83.5±4.9	218.5±10.8	6.90±0.66	0.67±0.07	0.56±0.08	0.30±0.03	0.25±0.04
	25	83.1±5.4	221.6±6.3	6.96±0.62	0.68±0.10	0.57±0.04	0.31±0.04	0.26±0.02
	50	83.1±4.9	217.8±8.1	7.00±0.81	0.71±0.07	0.52±0.07	0.33±0.04	0.24±0.03
	100	83.4±5.1	222.9±8.2	7.28±0.79	0.75±0.07*	0.59±0.07	0.34±0.03*	0.26±0.03

注:*表示与对照组比较,P<0.05

有毒成分,有些也会在生长和加工过程中富集亚硝酸盐、重金属等有毒化学物质,过量食用就可能引起机体损伤[9]。迄今为止已从PADA中分离得到至少77种次生代谢产物,包括黄酮类、生物碱以及咖啡酸衍生物等[10-12]。黄酮类化合物大约有4 000多种,由于种类繁多,对机体的影响也呈现多样性;而生物碱是一类有着显著生理和药理作用的碱性含氮化合物,许多生物碱对人体具有毒理作用,其中毒机理、表现等因生物碱种类不同而不同[13]。

研究发现,一些含生物碱类、黄酮类等成分的植物药材对机体免疫系统具有双向调节作用。有些生物碱具有抑制细胞免疫和体液免疫功能作用[14-15];一些黄酮类化合物可增强机体特异性免疫功能,而某些黄酮则表现出免疫抑制作用,主要影响到免疫器官、特异性免疫和非特异性免疫等方面,如果过量或不当摄食,也可能会导致人体内激素代谢和内分泌功能的紊乱,产生不良后果[16-17]。PADA中含有的黄酮类化合物、生物碱等化学成分提示其具有潜在的免疫毒性与干扰激素的风险,因此,有必要开展免疫毒性和激素水平影响的研究。

有些外源性化学物能干扰生殖内分泌系统功能,对亲体或其后代产生不良健康效应。这类内分泌干扰化学物可改变激素受体的识别、结合、跨膜信号转导及活化,干扰内源性激素的合成、分泌、代谢和生物利用度,造成不良生殖危害[18]。产生激素的内分泌腺种类很多,有下丘脑、脑垂体、松果体、甲状腺、胸腺、肾上腺等,不同化学物作用于不同的腺体,会影响到不同种类的激素水平,每一种激素只与其靶细胞膜上的专一性受体结合而引起不同的生理效应。在本研究中,连续30 d暴露不同剂量的PADA提取物后,雌性各剂量组大鼠的PRL浓度显著高于对照组(P<0.05),其余各剂量组E2、LH、FSH、T、PROG无异常。PRL是一种由垂体前叶腺嗜酸细胞分泌的蛋白质激素,具有促进乳腺发育生长、刺激并维持泌乳、维持黄体细胞膜的完整性及膜内LH受体数量的功能,PRL可作为第一信使与靶细胞膜中的特异受体结合,通过生成cAMP而作用于机体组织,PRL病理性升高,容易造成性功能障碍、月经不规则、不孕不育等严重后果[19]。本次实验结果显示雌性PRL病理性升高,可能与雌激素刺激垂体催乳素细胞的分泌活动有关,垂体肿瘤、乳腺肿瘤等疾病可引起催乳素分泌的增加[20]。接下来,将在后续的生殖毒性研究中进一步开展脑垂体、乳腺等组织的病理检查。

免疫器官组织和免疫细胞、免疫分子一起组成了完整的免疫系统,外源性化学物可能诱导免疫抑制或免疫增强,引起全身或局部的异常免疫反应[18]。本研究分别对动物的体质量、免疫器官、细胞免疫功能、单核-巨噬细胞功能等指标进行测定,结果显示:连续染毒30 d后,大鼠吞噬指数a无明显差异,表明巨噬细胞的吞噬功能未受损伤;T淋巴细胞受ConA刺激后淋转OD差值无异常,表明机体相应的细胞免疫水平和功能状态未受影响;免疫相关器官的病理学检查未见异常。但雄性50 g/kg体质量剂量组抗体积数高于对照组(P<0.05),同时雄性100 g/kg体质量剂量组脾脏重量高于对照组(P<0.05),雌性100 g/kg体质量剂量组胸腺重量、胸腺指数也高于对照组(P<0.05)。抗体积数升高,提示PADA对体液免疫功能有增强的可能,胸腺和脾脏等免疫器官与体液免疫和细胞免疫有着密切的联系,能够反映机体免疫功能的变化。胸腺作为淋巴细胞产生、发育和成熟的主要场所,其免疫功能含分泌胸腺激素、胸腺T淋巴细胞等[21]。研究表明PADA可能通过影响胸腺、脾脏等器官,进而影响淋巴细胞的功能和活性,起到调控机体免疫功能的作用。

综上,SD大鼠连续30 d暴露PADA后,雌性各组PRL异常升高;未观察到免疫功能有明显受损现象;高剂量组雄性脾脏、雌性胸腺的重量及胸腺指数升高,雄性中剂量组的抗体积数升高,提示受试物有一定的免疫增强作用。免疫增强可表现为机体免疫应答作用上调,也可能引起细胞因子过度释放、超敏反应,具体影响如何,需要后续进一步深入研究。

参考文献

[1] 李方，马鑫，刘万里，等．一起误食乌头引起的中毒事件调查[J]．疾病预防控制通报，2018，33(4)：50-52.
LI F，MA X，LIU W L，et al. Investigation on a food poisoning caused by wild plants in a County [J]. Bulletin of Disease Control & Prevention，2018，33(4)：50-52.

[2] 张世超，胡兵，袁伟，等．一起误食山野菜引起植物性食物中毒事件的调查报告[J]．中国食品卫生杂志，2015，27(3)：319-321.
ZHANG S C，HU B，YUAN W，et al. Survey of a botanical food poisoning event caused by mistaken eating of poisonous wild plants [J]. Chinese Journal of Food Hygiene，2015，27(3)：319-321.

[3] 陈伯毅，张燕如，赵良成，等．北京市野生有毒植物资源调查研究[J]．北京林业大学学报，2010，32(S1)：23-28.
CHEN B Y，ZHANG Y R，ZHAO L C，et al. Investigation of wild poisonous plant resources in Beijing[J]. Journal of Beijing Forestry University，2010，32(S1)：23-28.

[4] 崔珏，李超，苏颖，等．鼠曲草总黄酮对糖尿病小鼠血脂代谢紊乱改善作用的研究[J]．食品工业科技，2013，34(22)：324-327.
CUI J，LI C，SU Y，et al. Study on effect of the total flavonoids from Gnaphlium affine D.C.on metabolism of glucose and lipids in diabetic mice[J]. Science and Technology of Food Industry，2013，34(22)：324-327.

[5] 黄晓佳，李永金，李静，等．鼠曲草总黄酮抑制疼痛模型小鼠炎症因子产生而致镇痛作用[J]．食品科学，2014，35(21)：240-243.
HUANG X J，LI Y J，LI J，et al. Total flavonoids from *Gnaphalium affine* D.Don exert analgesic effect via inhibiting the production of pro-inflammatory mediators in mouse model of pain [J]. Food Science，2014，35(21)：240-243.

[6] BAKKALI F，AVERBECK S，AVERBECK D，et al. Biological effects of essential oils - A review [J]. Food and Chemical Toxicology，2008，46(2)：446-475.

[7] RAHMAN A，KANG S C. *In vitro* control of food-borne and food spoilage bacteria by essential oil and ethanol extracts of *Lonicera japonica* Thunb[J]. Food Chemistry，2009，116(3)：670-675.

[8] ZENG W C，ZHU R X，JIA L R，et al. Chemical composition，antimicrobial and antioxidant activities of essential oil from *Gnaphlium affine*[J]. Food and Chemical Toxicology，2011，49(6)：1322-1328.

[9] 牟光福，覃勇荣，黄冬阳，等．广西野菜资源开发利用的现状及展望[J]．天津农业科学，2016，22(4)：129-133.
MOU G F，QIN Y R，HUANG D Y，et al. Present situation and prospect of wild vegetable resources development and utilization in Guangxi [J]. Tianjin Agricultural Sciences，2016，22(4)：129-133.

[10] 张伟，范思洋，吴春珍．鼠麴草化学成分及药理活性研究进展[J]．中国医药工业杂志，2016，47(8)：1057-1064.
ZHANG W，FAN S Y，WU C Z. Review on chemical constituents and pharmacological activities of *Gnaphalium affine* D.Don[J]. Chinese Journal of Pharmaceuticals，2016，47(8)：1057-1064.

[11] 石青浩，李荣，姜子涛．大孔树脂纯化鼠曲草总黄酮的研究[J]．中国食品添加剂，2012，106(3)：93-98.
SHI Q H，LI R，JIANG Z T. Study on the techniques of purification flavones from Gnaphlium affine by macroporous resins[J]. China Food Additives，2012，106(3)：93-98.

[12] 韦少宣，夏爱军，廖厚知．HPLC测定鼠曲草中槲皮素的含量[J]．药学实践杂志，2012，30(6)：451-453.
WEI S X，XIA A J，LIAO H Z. Determination of quercetin in *Gnaphalium affine*[J]. Journal of Pharmaceutical Practice，2012，30(6)：451-453.

[13] 胡增美，黄露，侯佳华，等．中药中生物碱类化学成分的毒性作用研究进展[J]．中南药学，2022，20(3)：633-641.
HU Z M，HUANG L，HOU J H，et al. Research progress in toxicity of alkaloids in traditional Chinese medicine[J]. Central South Pharmacy，2022，20(3)：633-641.

[14] 王嘉乐，魏丽，鲍红琴．骆驼蓬生物碱抗炎和免疫调节的药理作用机制研究进展[J]．上海中医药杂志，2019，53(2)：97-100.
WANG J L，WEI L，BAO H Q. Pharmacological mechanism of anti-inflammatory and immunomodulatory effects of alkaloids from Peganum harmala：Research advances[J]. Shanghai Journal of Traditional Chinese Medicine，2019，53(2)：97-100.

[15] 周刘华，姚涛，郭爱灵，等．近十年中药免疫双向调节研究进展[J]．中国中医基础医学杂志，2020，26(7)：1016-1020.
ZHOU L H，YAO T，GUO A L，et al. Progress in the study of two-way immune regulation of traditional Chinese medicine in recent ten years[J]. Journal of Basic Chinese Medicine，2020，26(7)：1016-1020.

[16] 杨杰，沙金丹，高翔，等．黄酮类化合物的免疫调节作用及机制[J]．动物营养学报，2017，29(12)：4295-4300.
YANG J，SHA J D，GAO X，et al. Immune regulation function of flavonoids and its mechanisms[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition，2017，29(12)：4295-4300.

[17] 汪何雅，赵显峰，王茵，等．黄酮类化合物的潜在毒性[J]．卫生研究，2007，36(5)：640-642.
WANG H Y，ZHAO X F，WANG Y，et al. Potential toxicities of flavonoids[J]. Journal of Hygiene Research，2007，36(5)：640-642.

[18] 孙志伟．毒理学基础[M]．7版．北京：人民卫生出版社，2017：321-345.
SUN Z W. Fundamentals of toxicology [M]. 7th ed. Beijing：People's Health Publishing House，2017：321-345.

[19] 杨栋．抗精神病药物引起高泌乳素血症的相关研究及临床管理策略[J]．现代医药卫生，2018，34(10)：1505-1508.
YANG D. Related research and clinical management strategy of hyperprolactinemia caused by antipsychotic drugs[J]. Journal of Modern Medicine & Health，2018，34(10)：1505-1508.

[20] 韩慧，王亮，巴音吉日嘎拉．催乳素及其受体的研究进展[J]．黑龙江畜牧兽医，2010，21(11)：19-20.
HAN H，WANG L，BAYIN J R G L. Study on the progress of prolactin and its receptor[J]. Heilongjiang Animal science and veterinary Medicine，2010，21(11)：19-20.

[21] 吴敏毓，刘恭植．医学免疫学[M]．7版．中国科学技术大学出版社，1999：45-46.
LIU M Y，LIU G Z. Medical Immunology[M]. 7th ed. Press of University of Science and Technology of China，1999：45-46.