

## 云南省 7 个县村隐花青鹅膏的毒性差异研究

邱柏宁<sup>1)</sup>, 王跃兵<sup>2)</sup>, 龙武<sup>1)</sup>, 位斯杰<sup>1)</sup>, 王蕊<sup>1)</sup>, 马琳<sup>2)</sup>, 习严梅<sup>2)</sup>, 唐雪<sup>2)</sup>, 雷普平<sup>1)</sup>  
(1)昆明医科大学法医学院, 云南昆明 650500; 2)云南省地方病防治所, 云南大理 671000)

**[摘要]** 目的 对比云南省 7 个县村的隐花青鹅膏对小鼠肝脏和肾脏的毒性差异。方法 将昆明小鼠随机分为 7 组, 每组细分为 6 h、3 d、7 d、14 d, 4 个时间点组, 每个时间组包含 5 只小鼠。采用云南省 7 个县村的隐花青鹅膏进行灌胃实验, 对照组(0 h)使用等量的生理盐水进行灌胃。在每次灌胃后不同时间点抽取眼球进行取血, 检测血清中谷氨酰转氨酶(ALT)、天门冬氨酸转氨酶(AST)、尿酸(UA)水平。同时称量小鼠肝脏和肾脏, 测定其肝脏、肾脏指数, 并利用 HE 染色观察肝、肾组织的情况。结果 牟定县余丁村(MDYD)和禄劝县永翠村(LQYC)组的隐花青鹅膏对小鼠肝脏和肾脏造成急性损伤。在灌胃后 6 h, 小鼠血清生化指标开始上升, 到第 7 天达到峰值, 第 14 天开始下降, 显示出损伤趋于缓解( $P < 0.05$ )。而腾冲市东华村(TCDH)组和禄劝县永翠村(LQYC)组的隐花青鹅膏仅对小鼠肝脏有损害, 在第 14 天后血清中 AST、ALT 和 UA 水平依然呈上升趋势, 表明该地区的隐花青鹅膏对肝脏影响时间较长( $P < 0.05$ )。鹤庆县磨光村(HQMG)组、南涧县德安村(NJDA)组以及牟定县高平村(MDGP)组的隐花青鹅膏对小鼠肝脏和肾脏都造成损伤, 且在第 14 天后血清中 AST、ALT 和 UA 水平呈持续增高趋势( $P < 0.05$ ), 显示出小鼠的肝脏和肾脏损害并未出现改善。结论 云南省不同县村的隐花青鹅膏均存在不同程度的肝脏、肾脏毒性, 对肝肾有潜在危害, 建议在食用隐花青鹅膏时谨慎对待。

**[关键词]** 隐花青鹅膏; 肝毒性; 肾毒性; 云南

**[中图分类号]** R89 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2095 - 610X(2024)08 - 0145 - 09

## Toxicity Differences of Amanita Manginiana in Seven Villages in Yunnan Province

QIU Baining<sup>1)</sup>, WANG Yuebing<sup>2)</sup>, LONG Wu<sup>1)</sup>, WEI Sijie<sup>1)</sup>, WANG Rui<sup>1)</sup>,  
MA Lin<sup>2)</sup>, XI Yanmei<sup>2)</sup>, TANG Xue<sup>2)</sup>, LEI Puping<sup>1)</sup>

(1) Faculty of Forensic Medicine, Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650500;  
2) Yunnan Provincial Endemic Disease Control and Prevention Institute,  
Dali Yunnan 671000, China)

**[Abstract]** **Objective** Compare the toxic effects of Amanita Manginiana from seven different regions in Yunnan Province on the livers and kidneys of mice. **Methods** The Kunming mice were randomly divided into 7 groups, each subgrouped into 6 h, 3 d, 7 d, and 14 d time points, with 5 mice in each time group. The experiment involved gastric lavage using Yunnan's Amanita Manginiana from 7 villages from different counties, with the control group (0 h) receiving an equivalent amount of saline lavage. Blood samples were taken from the eyes at different time points after each lavage to measure levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), and uric acid (UA) in the serum. The mice's liver and kidney weights were measured, their liver and kidney indices determined, and liver and kidney tissues were observed using HE staining. **Results** The

**[收稿日期]** 2024 - 04 - 12

**[基金项目]** 云南省科技厅-昆明医科大学应用基础研究联合专项基金资助项目(202101AY070001-008); 云南省技术创新人才培养对象基金资助项目(202405AD350026)

**[作者简介]** 邱柏宁(1999~), 男, 山东烟台人, 在读硕士研究生, 主要从事猝死的病理机制研究工作。王跃兵与邱柏宁对本文有同等贡献。

**[通信作者]** 雷普平, E-mail: [puping.jacky@qq.com](mailto:puping.jacky@qq.com)

*Amanita Manginiana* from Yuding Village, Mouding County (MDYD), and Yongcui Village, Luquan County (LQYC), caused acute damage to the livers and kidneys of mice. Within 6 hours of gavage, the mice's serum biochemical indicators began to rise, peaking on the 7th day, and started to decline by the 14th day, indicating a trend towards recovery of the damage ( $P < 0.05$ ). However, the *Amanita Manginiana* from Donghua Village, Tengchong City (TCDH), and Yongcui Village, Luquan County (LQYC), only damaged the livers of mice. Even after the 14th day, the levels of AST, ALT, and UA in the serum continued to rise, indicating a longer-lasting impact of the local *Amanita Manginiana* on the liver ( $P < 0.05$ ). The *Amanita Manginiana* from Moguang Village, Heqing County (HQMG), Dean Village, Nanjian County (NJDA), and Gaoping Village, Mouding County (MDGP), caused damage to both the livers and kidneys of mice. After the 14th day, the levels of AST, ALT, and UA in the serum continued to increase ( $P < 0.05$ ), showing that the damage to the mice's liver and kidneys did not improve. **Conclusion** *Amanita Manginiana* from different villages in Yunnan Province contains varying levels of liver and kidney toxicity, posing a potential risk to the liver and kidneys. It is advisable to exercise caution when consuming *Amanita Manginiana*.

[ **Key words** ] *Amanita manginiana*; Hepatotoxicity; Renal toxicity; Yunnan

鹅膏菌属 (*Amanita manginiana*) 是真菌门、担子菌亚门、担子菌纲、伞菌目、鹅膏菌科、鹅膏菌属中 1 类真菌的总称, 全世界共大约 600 余种, 是蘑菇目 (Agaricales) 中 1 个广泛分布的大属<sup>[1]</sup>。其中, 有的是著名的食用菌, 有的有一定的毒性但误食并不会致命, 而有的则是剧毒蘑菇, 误食常会危及生命<sup>[2]</sup>。据统计, 误食野生蘑菇的中毒事件中 95% 以上是因食用鹅膏菌所致<sup>[3-4]</sup>。白毒鹅膏菌、拟卵盖鹅膏、异味鹅膏等鹅膏菌被证实对肝、肾有毒性作用<sup>[5-6]</sup>。笔者前期的实验证实鹅膏菌属中的隐花青鹅膏对小鼠的肝、肾存在毒性作用, 但实验中仅通过对小鼠多次灌胃的方式证明了云南禄丰的隐花青鹅膏对于肝、肾的蓄积毒理作用, 并没有对隐花青鹅膏的急性毒性进行研究, 也未对其它县村的隐花青鹅膏毒性进行研究<sup>[7]</sup>。

云南不明原因猝死 (Yunnan sudden unexplained death, YNSUD) 是指发生在云南省中西北部山区或半山区的, 经尸体解剖、组织病理学检查及其它各种辅助检查等现有科学技术手段全面检查后, 仍然不能明确死亡原因的 1 类猝死 (sudden unexpected death, SUD)<sup>[8]</sup>。自 1975 年被首次报导以来, 截止目前先后有 25 个县的 50 多个乡镇报告了 421 例 YNSUD, 在对这些案例进行回访时, 发现有多起案例死者在死亡前曾食用过当地的隐花青鹅膏, 经统计这些案例大多集中在云南 7 个县镇, 用县村名称的拼音首字母对其进行记录, 如鹤庆(县)幸福(村)记录为HQXF, 7 处采集野生菌的地点分别为鹤庆县磨光村(HQMG)、南涧县德安村 NJDA、牟定县余丁村(MDYD)、禄丰县古城

村(LFGC)、腾冲市东华村(TCDH)、禄劝县永翠村(LQYC)和牟定县高平村(MDGP)。本研究用生品隐花青鹅膏 1 次灌胃小鼠后检测不同时间段的肝、肾损伤程度, 同时比较上述 7 个县村的隐花青鹅膏毒性大小, 以提供实验数据来作为判断是否应当禁食隐花青鹅膏的依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验材料

在上述云南省 7 个县村采集隐花青鹅膏(每 1 县村所采的隐花青鹅膏均经真菌学专家进行形态观察鉴定, 并选择 1~3 株提取 DNA 用于种属鉴定, 将野生菌 DNA 序列上传到 BLAST 网站中检索, 比对结果相似度最高且 Per.Ident 值大于 95%)。实验用昆明小鼠体重 25~30 g, 周龄 6~8 周。本研究经昆明医科大学动物实验伦理审查委员会批准(kmmu20230303)。

### 1.2 试剂耗材与仪器设备

电子分析天平(FA1204 湖州 JOANLAB), 生物组织智能脱水机(TZT-12P 武汉 天之瑞), 石蜡包埋机(Histo Core Arcadia 德国 Leica), 切片机(RM-2235 德国 Lrica), 生物组织自动染色机(HD-360B 湖北 慧达), 制冰机(IMS-70 常熟雪科), 恒温摊片烤片机(TK-218 湖北 泰维)。4% 多聚甲醛(武汉赛维尔生物科技有限公司)。天门冬氨酸氨基转移酶(谷草转氨酶/AST/GOT)测试盒(上海酶联生物科技有限公司), 小鼠谷草转氨酶(AST)ELISA 试剂盒(上海酶联生物科技有限公司), 尿酸(UA)测试盒(上海酶联生物科技有限公司)。

### 1.3 实验方法

**1.3.1 实验分组** SPF级昆明小鼠145只, 体重25~30 g。设置7个实验组, 灌胃7个县村生长的隐花青鹅膏, 每组设6 h、3 d、7 d、14 d共4个时间组<sup>[9]</sup>, 每个时间组5只小鼠。

**1.3.2 隐花青鹅膏浸膏制备** 取隐花青鹅膏, 切成薄片后烘干, 烘干至1 h内野生菌重量变化小于1% g为止。用电动打粉机将隐花青鹅膏干品制成粉末, 过120目筛, 得隐花青鹅膏干粉。溶于50%乙醇溶液, 充分混匀, 超声破碎30 min, 10000 r/min离心2 min, 将上清液转移至锥形瓶中, 然后再次向沉淀中加入与此前相同体积的50%乙醇溶液, 重复上述操作, 最终收集上清液于原锥形瓶中, 抽滤上清液并将滤液倒入旋转蒸发仪中, 将溶剂蒸发完全, 制得隐花青鹅膏浸膏。

**1.3.3 浸膏灌胃** 根据Nair等<sup>[10]</sup>和黄娜娜等<sup>[11]</sup>的文章中提到的人和动物间按体表面积折算的等效剂量比值。小鼠灌胃剂量为41 mg/10g, 按最大灌胃0.2 mL/10 g进行灌胃, 浓度为205 mg/mL。用该浓度灌胃1次, 灌胃前12 h禁食不禁水, 灌胃后4 h恢复正常饮食饮水。0 min组小鼠灌等量生理盐水。

**1.3.4 组织提取及检测** 按照上述时间点, 麻醉小鼠后, 剪掉小鼠右侧胡须, 摘除右侧眼球进行取血, 血液收集于1次性分离胶促凝采血管中, 室温静置30 min后, 3000 r/min离心15 min, 吸取上清分装于冻存管中, 置于-80℃冰箱中冻存。

血清从-80℃冰箱中取出, 冰上溶解后, 按照血清谷氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、尿酸(UA)水平试剂盒的说明书进行操作, 用酶标仪测定吸光度(OD值), 通过标准曲线计算样品中小鼠相关指标浓度。

迅速打开腹腔取肝、肾组织, 去除脂肪组织后用预冷的生理盐水清洗2遍后用吸水纸吸干表面的水分, 称重并计算脏器指数(脏器指数 $\% = 100 \times \text{脏器质量} / \text{体重}$ )<sup>[12]</sup>。然后置于4%多聚甲醛PBS溶液中固定, HE染色切片后观察。

### 1.4 数据学处理

运用Excel对数据进行整理、SPSS 27.0对数据进行统计, 符合正态分布的计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示, 同一县村不同时间点的组间比较和同一时间点不同县村的组间比较均采用单因素方差分析, 不符合正态分布的计量资料使用非参数检验,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。使用GraphPad Prism 9.5及AI绘图。

## 2 结果

### 2.1 不同县村隐花青鹅膏对肝脏和肾脏脏器指数的影响

使用不同县村的隐花青鹅膏灌胃小鼠后, 小鼠的肝脏脏器指数变化显著, 小鼠灌胃后的6 h内, 所有实验组均表现出不同程度的肝脏脏器指数减小现象, 暗示隐花青鹅膏对小鼠肝功能产生影响。MDYD组的小鼠的肝脏指数在灌胃后的6 h至3 d呈上升趋势( $P < 0.05$ )并于第3天时达到高峰, 在灌胃3 d之后到14 d之间的小鼠脏器指数与对照组比较存在明显差异( $P < 0.05$ )。LFGC组的小鼠的肝脏脏器指数在小鼠灌胃后的6 h即与对照组出现差异( $P < 0.05$ ), 到灌胃后第7天与对照组仍然存在明显差异, 在第14天时与对照组无差异( $P > 0.05$ )。HQMG组的小鼠的脏器指数在灌胃后6 h即出现增加趋势, 7 d后达到高峰( $P < 0.05$ ), 在灌胃14 d后与对照组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。TCDH组和MDGP组小鼠的脏器指数在灌胃后6 h与对照组出现差异, 在3 d后与对照组无明显差异( $P > 0.05$ )。NJDA组和LQYC组小鼠的脏器指数在灌胃后的6 h开始均与对照组相比显著降低且脏器指数均出现上下浮动的现象( $P < 0.05$ ), 不同县村之间的隐花青鹅膏对小鼠的肝脏脏器指数无明显影响, 见表1。

在隐花青鹅膏灌胃后取小鼠肾脏进行称重, 并计算肾脏脏器指数, 灌胃隐花青鹅膏后6 h仅TCDH组的小鼠的肾脏脏器指数出现下降趋势( $P < 0.05$ ), 其余组在6 h时未出现明显变化。HQMG组、NJDA组和LQYC组的小鼠在灌胃3 d到7 d内肾脏脏器指数有上升趋势, 其余组在3 d至7 d时未出现明显变化, 见表2。

### 2.2 不同县村的隐花青鹅膏对肝脏、肾脏功能生化指标的影响

检测各实验组昆明小鼠的血清AST和ALT含量发现, 隐花青鹅膏灌胃后, 不同实验组小鼠的血清AST和ALT均升高( $P < 0.05$ ), 各组之间血清AST和ALT变化趋势存在差异( $P < 0.05$ )。

LFGC组中小鼠ALT水平在灌胃后3 d内呈现不断增高的趋势( $P < 0.05$ ), 在3~14 d内稳步不变( $P > 0.05$ )。小鼠血清的AST水平呈现先增高后降低的趋势, 在灌胃后1 h到3 d内不断增高, 在7 d达到峰值然后出现下降( $P < 0.05$ )。MDYD组的小鼠血清ALT水平在灌胃后1 h到7 d不断升高, 在灌胃后的7 d到14 d有下降趋势, 但第

表 1 隐花青鹅膏灌胃后昆明小鼠肝脏脏器指数( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )Tab. 1 Liver organ index of Kunming mice after intragastric administration of *Amanita manginiana* ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

组别	0 min	6 h	3 d	7 d	14 d	F	P
MDYD	5.04±0.4	4.24±0.73	5.25±0.23*▲	5.55±0.96*	5.09±0.31*	6.623	0.0003*
LFGC	5.04±0.4	4.69±0.63*	5.77±0.62*	5.65±0.49*	5.12±0.31▲	6.269	0.0002*
HQMG	5.04±0.4	4.12±0.49*▲	5.27±0.38▲	6.02±1.05*▲	4.57±0.56	7.270	0.0005*
TCDH	5.04±0.4	3.95±0.24*▲	5.18±0.19▲	5.24±0.28	4.90±0.18	14.04	<0.0001*
MDGP	5.04±0.4	3.89±0.30*▲	4.97±0.29▲	5.02±0.04	4.94±0.26	11.78	<0.0001*
NJDA	5.04±0.4	4.19±0.21*▲	5.04±0.62▲	4.28±0.70*▲	5.05±0.28▲	4.554	0.0067*
LQYC	5.04±0.4	3.86±0.24*▲	4.46±0.29*▲	5.15±0.36▲	4.66±0.32▲	11.13	<0.0001*
F	1.000	2.339	5.991	3.632	2.649		
P	0.4334	0.0508	0.0002*	0.0060*	0.0302*		

\* $P < 0.05$ ; 与 0 min 组比较, \* $P < 0.05$ ; 与同一地点的前一时间点比较, ▲ $P < 0.05$ 。

表 2 隐花青鹅膏灌胃后昆明小鼠肾脏脏器指数( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )Tab. 2 Renal organ index of Kunming mice after intragastric administration of *Amanita manginiana* ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

组别	0 min	6 h	3 d	7 d	14 d	F	P
MDYD	1.09±0.08	1.08±0.09	1.14±0.07	1.13±0.18	1.16±0.07	0.6203	0.6496
LFGC	1.09±0.08	1.17±0.15	1.17±0.13	1.18±0.11*	1.11±0.11	1.666	0.1744
HQMG	1.09±0.08	0.94±0.16	0.96±0.05	1.14±0.22▲	0.90±0.02*▲	3.518	0.0207*
TCDH	1.09±0.08	0.96±0.04*▲	1.00±0.11	0.99±0.06	1.01±0.06	1.526	0.2249
MDGP	1.09±0.08	1.06±0.10	1.00±0.07	1.03±0.03	1.01±0.05	0.8217	0.5237
NJDA	1.09±0.08	0.99±0.07	0.95±0.06*	0.82±0.12*▲	0.94±0.09*▲	6.629	0.0009*
LQYC	1.09±0.08	1.02±0.03	1±0.07	0.92±0.02*▲	0.96±0.02*	5.241	0.0033*
F	1.000	3.868	6.619	5.540	10.87		
P	0.4334	0.0041*	<0.0001*	0.0003*	<0.0001*		

\* $P < 0.05$ ; 与 MDYD 组比较, 与 0 min 组比较, \* $P < 0.05$ ; 与同一地点的前一时间点比较, ▲ $P < 0.05$ 。

14 天的血清 ALT 水平仍高于对照组 ( $P < 0.05$ )。AST 水平在灌胃后 1 h 到 6 h 升高, 然后在 6 h 到 3 d 呈现稳定状态, 在 7 d 再次增高至顶峰后开始下降, 14 d 血清 AST 水平仍高于对照组 ( $P < 0.05$ )。HQMG 组小鼠血清 ALT 呈总体上升趋势, 至 14 d 后达到顶峰, AST 水平在灌胃 6 h 后升高, 然后相对于平稳, 在 7 d 小幅度下降后, 14 d 后升高 ( $P < 0.05$ )。TCDH 组小鼠的血清 ALT、AST 水平在灌胃后总体呈现上升趋势, 但灌胃 7 d 后至 14 d 稳定在 1 个高于对照组的水平 ( $P < 0.05$ )。MDGP 组小鼠血清 ALT 水平在灌胃后小幅度增加, 6 h 至 7 d 的时间内处于平稳, 但在灌胃 14 d 后 ALT 水平明显增加; AST 在灌胃 3 d 后才出现上升趋势, 且至 14 d 也没有下降趋势 ( $P < 0.05$ )。NJDA 组小鼠的血清 ALT、AST 水平在灌胃 6 h 至 3 d 均呈现上升趋势, 在第 7 天下降后 (仍高于对照组水

平) 又在 14 d 上升 ( $P < 0.05$ )。LQYC 组小鼠的血清 ALT 水平在灌胃 6 h 后上升, 至 3 d 内趋于平稳, 在 7 d 后又上升, 至 14 d 内保持高水平的平稳; AST 水平在灌胃后 3 d 出现增高趋势, 至 7 d 内保持高水平的平稳, 在 14 d 后又有增高趋势 ( $P < 0.05$ ), 见表 3。

检测各实验组昆明小鼠的血清 UA 含量发现, 隐花青鹅膏灌胃后, 大部分实验组的小鼠血清中 UA 均发生显著升高 ( $P < 0.05$ ), 但是不同实验组之间血清 UA 升高和下降的时间点不同且总体趋势也存在差异 ( $P < 0.05$ ), 其中有 2 组小鼠的 UA 呈小幅度下降趋势 ( $P < 0.05$ )。在 LFGC 组和 MDYD 组中, 小鼠 UA 水平呈现先增高后降低的趋势 ( $P < 0.05$ ), 在第 3 天到第 7 天之间达到峰值后出现下降 ( $P < 0.05$ )。但 MDYD 组在第 14 天已经接近对照组血清 UA 水平, 而 LFGC 组小鼠的

血清 UA 水平仍高于对照组 ( $P < 0.05$ )。在 MDGP 组中发现小鼠血清中的 UA 水平自灌胃干预后持续升高, 灌胃 14 d 后仍未检测到降低, 而 HQMG 组、NJDA 组中昆明小鼠的血清 UA 出现升高-下降-升高的现象, 隐花青鹅膏灌胃后到第 3 天, 可检见血清 UA 增高, 然后在第 3 天到第 7

天呈降低趋势, 并在 7 d 后开始转向升高 ( $P < 0.05$ )。比较特殊的是 TCDH 组和 LQYC 组, 其血清 UA 水平在灌胃后到第 3 天呈下降趋势, 到第 3 天后又上升 ( $P < 0.05$ ), 见表 3。

### 2.3 组织病理学切片观察

取昆明小鼠肝脏组织制作 HE 染色切片, 各

表 3 云南不同县村的隐花青鹅膏灌胃后不同时间点血清 AST、ALT 和 UA 的变化 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

Tab. 3 Changes in serum AST, ALT, and UA at different time points after intragastric administration of Amanita manginiana in different regions of Yunnan ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

组别	生化指标	0 min	6 h	3 d	7 d	14 d	F	P
MDYD	AST(U/L)	102.69±4.14	120.99±4.62 <sup>eg★▲</sup>	123.94±5.51 <sup>d★★▲</sup>	145.43±2.79 <sup>cdefg★</sup>	132.39±3.77 <sup>bd★★▲</sup>	95.05	<0.0001*
	ALT(U/L)	66.8±3.3	76.96±2.63 <sup>★▲</sup>	84.31±2.16 <sup>deg★</sup>	90.66±1.64 <sup>cdefg★</sup>	75.07±3.48 <sup>bcddeg★</sup>	82.19	<0.0001*
	UA(μmol/L)	17.1±0.7	19.43±0.68 <sup>deg★▲</sup>	21.32±0.61 <sup>deg★▲</sup>	21.32±0.68 <sup>cdefg★</sup>	17.99±0.79 <sup>bef★★▲</sup>	50.11	<0.0001*
LFGC	AST(U/L)	102.69±4.14	120.53±5.46 <sup>eg★▲</sup>	131.05±6.07 <sup>cd★</sup>	137.28±3.42 <sup>acdf★★▲</sup>	110.49±3.97 <sup>adeg★★▲</sup>	62.44	<0.0001*
	ALT(U/L)	66.8±3.3	79.33±2.51 <sup>★▲</sup>	85.21±2.79 <sup>deg★▲</sup>	87.43±2.2 <sup>adef★★▲</sup>	85.59±2.91 <sup>adf★★▲</sup>	68.32	<0.0001*
	UA(μmol/L)	17.1±0.7	19.6±0.71 <sup>deg★▲</sup>	21.36±1.02 <sup>deg★▲</sup>	21.58±0.7 <sup>cdefg★</sup>	19.94±0.81 <sup>ag★★▲</sup>	41.54	<0.0001*
HQMG	AST(U/L)	102.69±4.14	114.56±4.35 <sup>eg★▲</sup>	116.85±5.71 <sup>bdf★</sup>	109.17±6.54 <sup>abd★★▲</sup>	122.7±5.68 <sup>de★★▲</sup>	15.34	<0.0001*
	ALT(U/L)	66.8±3.3	77.34±2.85 <sup>★▲</sup>	80.83±3.43 <sup>d★</sup>	86.05±3.23 <sup>def★★▲</sup>	93.01±3.02 <sup>abfg★★▲</sup>	66.90	<0.0001*
	UA(μmol/L)	17.1±0.7	19.62±0.86 <sup>dg★★▲</sup>	21.29±0.68 <sup>deg★▲</sup>	16.73±0.78 <sup>abe▲</sup>	19.2±0.72 <sup>e★★▲</sup>	37.54	<0.0001*
TCDH	AST(U/L)	102.69±4.14	122.62±4.5 <sup>eg★▲</sup>	137.56±2.97 <sup>acgg★★▲</sup>	153.01±4.68 <sup>bcefg★★▲</sup>	150.22±4.32 <sup>abefg★</sup>	182.2	<0.0001*
	ALT(U/L)	66.8±3.3	83.65±4.65 <sup>★▲</sup>	95.93±3.85 <sup>abcefg★★▲</sup>	100.72±1.75 <sup>abcefg★★▲</sup>	99.39±2.23 <sup>abfg★</sup>	139.9	<0.0001*
	UA(μmol/L)	17.1±0.7	16.03±1.13 <sup>abcefg★★▲</sup>	16.39±0.89 <sup>abcef</sup>	17.65±0.85 <sup>abe▲</sup>	17.62±1.02 <sup>ef</sup>	3.378	0.0243*
MDGP	AST(U/L)	102.69±4.14	106.98±4.4 <sup>abdf★</sup>	121.97±5.24 <sup>d★★▲</sup>	128.95±6.49 <sup>cdf★★▲</sup>	141.33±4.07 <sup>befg★★▲</sup>	68.84	<0.0001*
	ALT(U/L)	66.8±3.3	72±4.44 <sup>abcdg▲</sup>	75.42±2.64 <sup>abcd★</sup>	73.52±3.68 <sup>abdg★</sup>	98.22±3.84 <sup>abefg★★▲</sup>	67.13	<0.0001*
	UA(μmol/L)	17.1±0.7	17.34±0.83 <sup>abcdf</sup>	18.32±0.67 <sup>abcdfg★★▲</sup>	20.18±0.38 <sup>gabcdfg★★▲</sup>	21.49±0.77 <sup>acdgg★★▲</sup>	44.35	<0.0001*
NJDA	AST(U/L)	102.69±4.14	126.03±3.99 <sup>abcdf★★▲</sup>	134.46±5.28 <sup>eg★★▲</sup>	109.21±6.03 <sup>abde★★▲</sup>	121.83±4.97 <sup>bde★★▲</sup>	47.70	<0.0001*
	ALT(U/L)	66.8±3.3	75.83±2.68 <sup>★▲</sup>	82.2±1 <sup>abcdg★★▲</sup>	71.8±1.99 <sup>cde★★▲</sup>	78.55±3.45 <sup>abcdrg★★▲</sup>	32.04	<0.0001*
	UA(μmol/L)	17.1±0.7	19.58±0.28 <sup>dg★★▲</sup>	21.69±0.98 <sup>dfig★★▲</sup>	17.24±0.75 <sup>abe▲</sup>	20.87±0.99 <sup>adgg★★▲</sup>	47.66	<0.0001*
LQYC	AST(U/L)	102.69±4.14	102.82±3.61 <sup>abce</sup>	115.86±5.96 <sup>bdf★★▲</sup>	118.42±6.62 <sup>abd★</sup>	125.16±3.84 <sup>bde★★▲</sup>	25.94	<0.0001*
	ALT(U/L)	66.8±3.3	76.82±2.52 <sup>★▲</sup>	77.42±2.76 <sup>df</sup>	81.62±3.73 <sup>acde★★▲</sup>	82.95±2.49 <sup>acdef★</sup>	33.30	<0.0001*
	UA(μmol/L)	17.1±0.7	16.2±0.98 <sup>abcf★★▲</sup>	15.88±0.76 <sup>abcef★</sup>	16.51±0.54 <sup>abe</sup>	17.24±0.8 <sup>bef</sup>	3.411	0.0234*
AST (U/L)	F	1.000	18.62	13.04	71.70	63.30		
	P	0.4334	<0.0001*	<0.0001*	<0.0001*	<0.0001*		
ALT (U/L)	F	1.000	6.697	30.77	65.88	57.98		
	P	0.4334	<0.0001*	<0.0001*	<0.0001*	<0.0001*		
UA (μmol/L)	F	1.000	25.89	54.69	72.43	21.78		
	P	0.4334	<0.0001*	<0.0001*	<0.0001*	<0.0001*		

与MDYD组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; 与LFGC比较, <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与HQMG比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$ ; 与TCDH比较, <sup>d</sup> $P < 0.05$ ; 与MDGP比较, <sup>e</sup> $P < 0.05$ ; 与NJDA比较, <sup>f</sup> $P < 0.05$ ; 与LQYC比较, <sup>g</sup> $P < 0.05$ 。与 0 min 组比较, <sup>\*</sup> $P < 0.05$ ; 与同一地点的前一时间点比较, <sup>▲</sup> $P < 0.05$ ; <sup>\*</sup> $P < 0.05$ 。

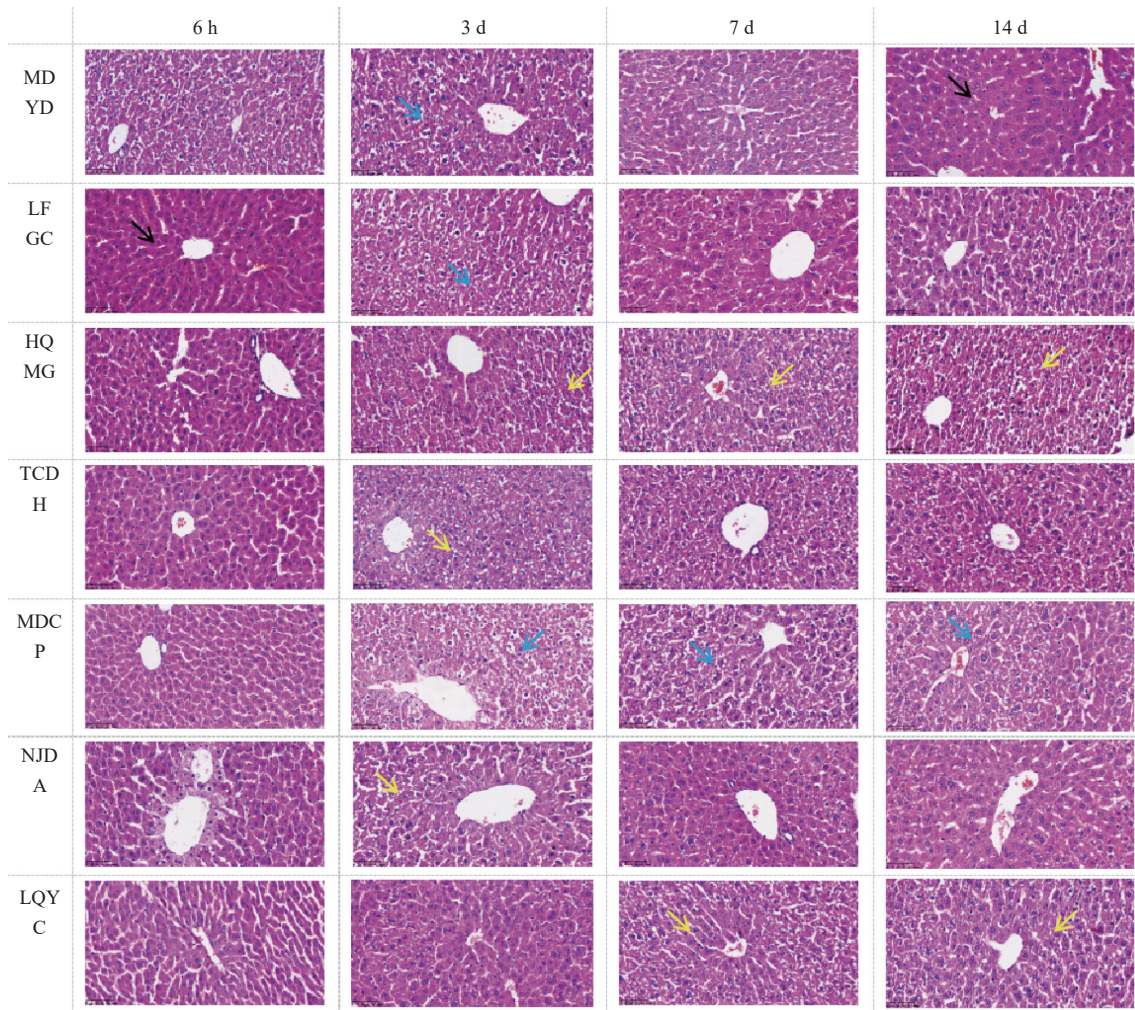


图 1 隐花青鹅膏灌胃后对小鼠肝脏组织的影响(HE 染色,  $\times 400$ )

Fig. 1 Effect of *Amanita manginiana* on liver tissue of mice (HE staining,  $\times 400$ )

黑色箭头显示较正常细胞;黄色箭头显示细胞出现疏松水肿;蓝色箭头显示细胞出现空泡样变。

个实验组小鼠肝脏组织中可检见不同程度的细胞疏松水肿,胞浆肿胀,但各组之间细胞水肿出现的时间点以及水肿程度存在差异。在灌胃 6 h 后,MDYD 组小鼠的肝细胞出现广泛的疏松水肿,NJDA 组小鼠的肝细胞中仅在中央静脉周围出现细胞水肿,其他实验组在灌胃 6 h 后均无明显改变。灌胃 3~7 d 后各组小鼠的肝细胞均出现不同程度的细胞疏松水肿、肝细胞索变窄等现象,以 MDYD 组和 MDGP 组的小鼠的肝细胞改变最为明显,甚至出现气球样变。在灌胃 14 d 后各组小鼠的肝细胞开始恢复,水肿程度均比之前变轻,其中 MDYD 组小鼠的肝细胞已基本恢复,LFGC 组和 MDGP 组小鼠的肝细胞也有部分恢复,见图 1。

不同县村的隐花青鹅膏对小鼠肾脏有不同程度的损伤,但其损伤位置主要集中于肾小球附近的近曲小管上皮细胞,主要表现为细胞肿胀,甚至空泡样变,并且伴有细胞边界、结构不清等现

象,近曲小管管腔内可见蛋白质样物质。灌胃 6 h 后,各组小鼠的肾小管上皮细胞仅部分细胞出现疏松水肿,且程度较轻。灌胃 3~7 d 后,各组小鼠的近曲小管上皮细胞肿胀更加明显,其中 MDGP 组、LFGC 组、NJDA 组中的上皮细胞出现空泡样变。灌胃 14 d 后,各组的小鼠肾小管上皮细胞水肿更加严重,LFGC 组中的肾小管内出现蛋白质样物质,见图 2。

### 3 讨论

#### 3.1 鹅膏菌的重要性和毒性

鹅膏菌广泛分布于世界各大洲,超过 600 种已被描述<sup>[13]</sup>,因其富含多糖<sup>[14]</sup>、氨基酸<sup>[15]</sup>、脂肪酸等营养物质,也有抗氧化、抗肿瘤<sup>[16]</sup>等药理作用,因此可作为营养保健品、抗氧化剂和功能性食品的天然来源。我国的鹅膏菌种类也十分丰

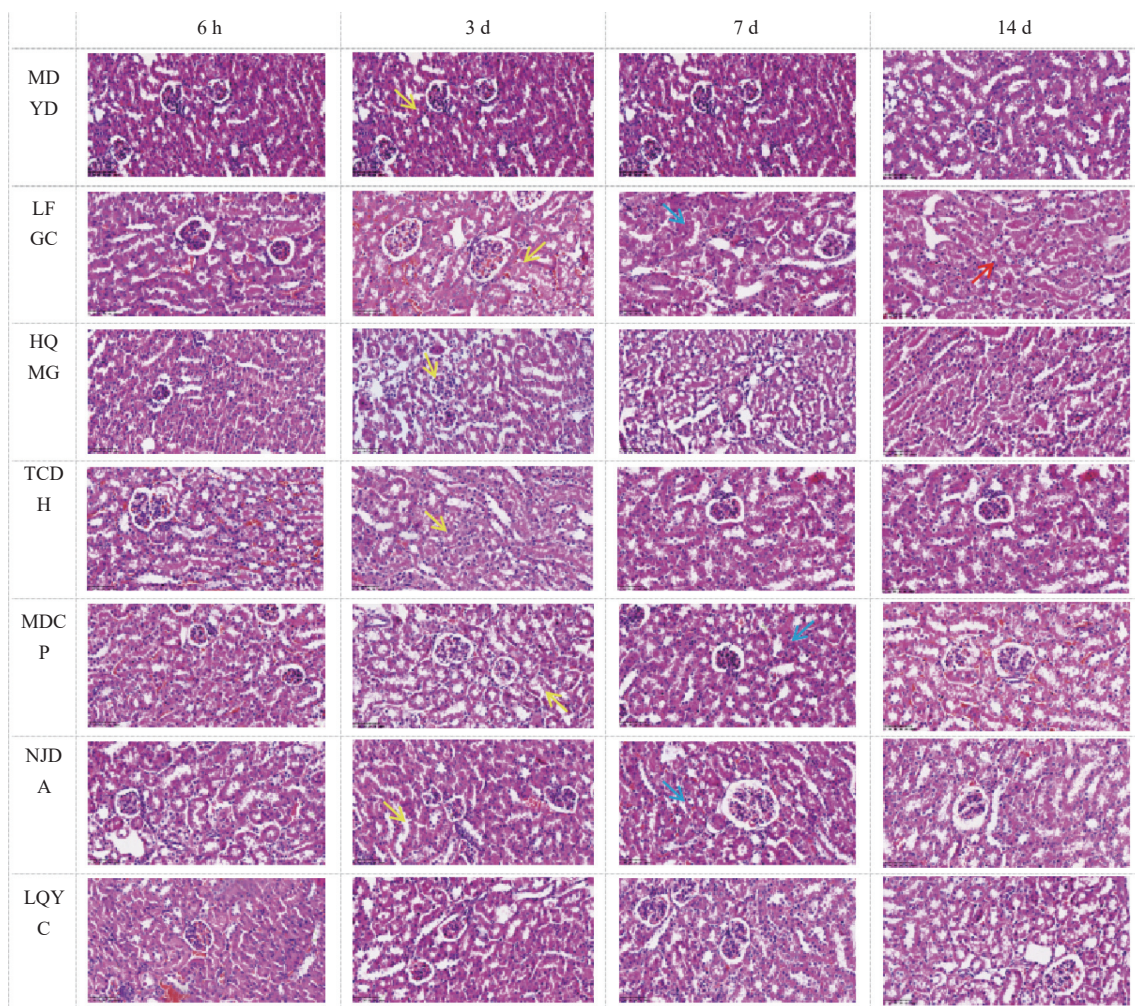


图 2 隐花青鹅膏灌胃后对小鼠肝脏组织的影响(HE 染色,  $\times 400$ )

Fig. 2 Effect of *Amanita manginiana* on kidney tissue of mice (HE staining,  $\times 400$ )

黄色箭头显示细胞出现疏松水肿; 蓝色箭头显示细胞出现空泡样变; 红色箭头显示近曲小管管腔内蛋白质样物质。

富, 自古以来就有食用鹅膏菌的历史。但对我国鹅膏菌属种, 哪些鹅膏菌有毒, 哪些没毒, 通常是人们日常生活中食用后是否出现不适症状或严重不良后果来判断的。虽然, 有时也会检测其中是否含有已知的有毒成分来判断, 但是野生菌成分复杂, 至今尚未被完全认知, 且相同的野生菌由于生长的环境不同, 其成分也会有所不同<sup>[17]</sup>。误食鹅膏菌属中毒粉褶菌、粉红枝瑚菌、宽褶奥德蘑、毛头乳菇等有毒菌类会引起急性肝、肾功能衰竭, 甚至导致死亡的案例也常有发生<sup>[18]</sup>。因此开展野生菌的毒理学实验, 对于提高人们的认知和增强防范意识十分必要, 尤其是对日常生活中无毒但实验却显示有轻微毒性的野生菌开展毒理学实验十分重要。

### 3.2 隐花青鹅膏对小鼠肝脏的影响

脏器指数可以用来评价内脏器官的生理状态, 在正常范围内提高表示体内器官功能增强, 对机

体有益, 同时脏器指数可以反映化学毒物对器官的综合毒性, 不仅可以为组织病理变化提供旁证, 而且还可以作为发现毒物靶器官的重要线索<sup>[19]</sup>

肝脏作为机体重要的代谢器官, 各种摄入的物质几乎都需要经过肝脏来代谢, 肝脏中含有多种酶。临床上通常使用 AST 和 ALT 来评价肝脏的功能和代谢状况。AST(天门冬氨酸氨基转移酶)和 ALT(丙氨酸氨基转移酶)是 2 种常见的肝功能指标。AST 存在于多种组织中, 如心脏、肝脏、肌肉、肾脏和大脑中, 因此当这些组织受损时, AST 会释放入血液中<sup>[20]</sup>。AST 通常在心肌梗死或急性肝细胞损伤时升高, 也可能受到其他疾病或药物的影响。ALT 主要存在于肝脏细胞中, 当肝细胞受损时, ALT 会释放入血液中。ALT 通常用于检测肝功能损害, 如肝炎、脂肪肝、酒精性肝病等。因此, AST 和 ALT 的升高通常表示器官或组织损伤, 特别是肝脏损伤。通过监测 AST 和

ALT 水平,可以帮助诊断疾病,评估肝功能,并监测治疗效果<sup>[21]</sup>。在之前实验中揭示出隐花青鹅膏对于小鼠的肝、肾组织的毒性的蓄积作用,本研究采用 KM 小鼠开展实验,进一步评估了云南 7 个县村的隐花青鹅膏对肝肾组织的急性毒性。本试验的结果显示,不同县村的隐花青鹅膏对小鼠肝脏造成了不同程度的损伤。余丁村和古城村的隐花青鹅膏对小鼠肝脏的损伤呈现为急性损伤,可能在 14 d 内有所缓解,然而余丁村的隐花青鹅膏给小鼠灌胃后 3~7 d 的 HE 染色结果表明小鼠的肝脏细胞出现气球样变,并且其血清生化水平也维持在一个较高水平,这暗示着余丁村的隐花青鹅膏对小鼠肝脏的损伤较为严重。磨光村、德安村、高平村、东华村和永翠村的隐花青鹅膏对小鼠肝脏具有损害且 14 d 内未见好转。这些结果表明不同县村的隐花青鹅膏对小鼠肝脏的毒理作用存在差异。

### 3.3 隐花青鹅膏对肾脏的影响

尿酸是人体代谢产物之一,它是由嘌呤代谢而来的终产物。嘌呤是一种存在于食物中的有机化合物,人体会将其分解为尿酸。肾脏损伤导致血液中尿酸(UA)过高的原因主要由于尿酸排泄减少和尿酸生成增加两个方面。通常情况下,肾脏通过滤过和分泌的方式将大部分尿酸排出体外,维持血液尿酸水平在稳定范围内。然而,当肾功能受损,尤其是肾小球滤过率下降,肾脏对尿酸的排泄功能可能减弱,导致血液中尿酸浓度升高<sup>[22]</sup>。此外,肾脏损伤也可能导致体内尿酸生成增加。由于肾功能减弱,可能影响尿酸的正常代谢和清除过程,促使尿酸生成量增加。因此,肾脏损伤对血液中尿酸平衡产生负面影响,导致血液中尿酸浓度增加<sup>[23]</sup>。根据结合 HE 染色的结果显示,不同县村的隐花青鹅膏对小鼠肾脏的损伤程度各不相同。余丁村和古城村的隐花青鹅膏对小鼠肝脏造成急性损伤,可能在 14 d 内有所缓解,但其血清生化水平明显高于对照组,特别是古城村的隐花青鹅膏灌胃后小鼠肾脏的 HE 染色显示,肾小管中存在蛋白质样沉淀,暗示肾脏损伤较为严重。而磨光村、德安村、高平村、东华村和永翠村的隐花青鹅膏也对小鼠肝脏造成损害,且在 14 d 内没有出现好转迹象。这些结果充分说明隐花青鹅膏对小鼠肝脏毒理作用存在差异。

虽然本实验仅仅对小鼠进行了隐花青鹅膏生品的灌胃实验,但是结合笔者之前的实验表明熬煮、酶解以及熬煮加酶解等处理可以降解隐花青

鹅膏的毒性,而不能完全解毒<sup>[24]</sup>。由于不同的动物种属对同一野生菌的毒性反应不一,不同县村的隐花青鹅膏的毒性大小也不一,且野生菌成分比较复杂,所以在食用隐花青鹅膏时应十分谨慎。

### [参考文献]

- [1] 杨祝良. 试谈我国鹅膏菌的分类研究 [J]. 菌物系统, 2000, 19(3): 435-440.
- [2] 杨祝良. 我国的几种剧毒鹅膏菌 [J]. 中国食用菌, 2002, 21(3): 17-18.
- [3] Berger K J, Guss D A. Mycotoxins revisited: Part II [J]. *J Emerg Med*, 2005, 28(2): 175-183.
- [4] 董国日, 张志光, 陈作红. 鹅膏菌毒素及其毒理研究进展 [J]. *生物学杂志*, 2000, 17(3): 1-3.
- [5] 颜芝闻, 吴晓旻, 裴红兵, 等. 武汉市一起毒蘑菇中毒事件现场调查和鉴定 [J]. *中国食品卫生杂志*, 2020, 32(5): 566-569.
- [6] 李海蛟, 章轶哲, 刘志涛, 等. 云南蘑菇中毒事件中的毒蘑菇物种多样性 [J]. *菌物学报*, 2022, 41(9): 1416-1429.
- [7] 杜进良, 瞿鹏飞, 李玉华, 等. 云南不明原因猝死地区隐花青鹅膏的毒性研究 [J]. *中国法医学杂志*, 2022, 37(1): 54-59.
- [8] 何永旺, 赵祥月, 贾彭林, 等. 云南不明原因猝死研究进展 [J]. *法医学杂志*, 2017, 33(5): 470-475.
- [9] 陈丽, 邢琴, 周忠志, 等. 复方 ANBP 对小鼠创面组织学变化的实验研究 [J]. *湖南中医药大学学报*, 2019, 39(6): 699-703.
- [10] Nair A, Morsy M A, Jacob S. Dose translation between laboratory animals and human in preclinical and clinical phases of drug development [J]. *Drug Dev Res*, 2018, 79(8): 373-382.
- [11] 黄娜娜, 郭欣, 蔡涛涛, 等. 决明子不同提取物单次给药对小鼠肝、肾“量-时-毒”关系研究 [J]. *中国药物警戒*, 2017, 14(10): 594-598.
- [12] Ming L, Qi B, Hao S, et al. Camel milk ameliorates inflammatory mechanisms in an alcohol-induced liver injury mouse model [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 22811.
- [13] 陈瑜鑫, 李瑶, 高海云, 等. 鹅膏菌毒性成分中毒特征及

- 开发应用研究进展 [J]. 中国药物警戒, 2024, 21(5): 496–501.
- [14] Hu W, Li Z, Wang W, et al. Structural characterization of polysaccharide purified from *Amanita caesarea* and its pharmacological basis for application in Alzheimer's disease: Endoplasmic reticulum stress [J]. *Food Funct*, 2021, 12(21): 11009–11023.
- [15] Sun L, Liu Q, Bao C, et al. Comparison of free total amino acid compositions and their functional classifications in 13 wild edible mushrooms [J]. *Molecules*, 2017, 22(3): 350
- [16] Surayot U, Wangtueai S, You S, et al. Sulphation and hydrolysis improvements of bioactivities, and immuno-modulatory properties of edible *amanita hemibapha* subspecies *javanica* (corner and bas) mucilage polysaccharide as a potential in personalized functional foods [J]. *J Fungi (Basel)*, 2021, 7(10): 847.
- [17] 张慧, 陈蕊, 陈霞, 等. 世界野生食用菌产业经济发展研究概述 [J]. *经济研究导刊*, 2014(28): 59–61, 75.
- [18] 卯晓岚. 中国毒菌物种多样性及其毒素 [J]. *菌物学报*, 2006, 25(3): 345–363.
- [19] 母华强, 陈艳. 珠海城区臭鼬身体大小和脏器指数的性别及季节差异 [J]. *野生动物学报*, 2022, 43(2): 386–393.
- [20] 王磊, 赵鹏. 拉米夫定联合恩替卡韦对乙型肝炎患者肝功能及 Th1/Th2 类细胞因子的影响 [J]. *检验医学与临床*, 2019, 16(15): 2226–2228.
- [21] 王如萍, 刘梦姣, 田梦新, 等. 败酱草对小鼠急性酒精性肝损伤作用的研究 [J]. *中医临床研究*, 2023, 15(20): 137–142.
- [22] 苗志敏, 赵世华, 王颜刚, 等. 山东沿海居民高尿酸血症及痛风的流行病学调查 [J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2006, 22(5): 421–425.
- [23] Danese E, Montagnana M. An historical approach to the diagnostic biomarkers of acute coronary syndrome [J]. *Ann Transl Med*, 2016, 4(10): 194.
- [24] 龙武, 瞿鹏飞, 马琳, 等. 一起云南不明原因猝死案件中 4 种野生菌的细胞毒性 [J]. *法医学杂志*, 2023, 39(2): 121–128.