基于 CiteSpace 的灵芝孢子粉研究知识图谱分析

赵建霞[1]，李振宇[2,3]，张国亮[1,3]，徐靖[2,3,4]，王瑛[2,3,4]，李明焱[2,3,4]，李振皓[1,3,4*](1.浙江寿仙谷植物药研究院有限公司，杭州 310000；2.浙江寿仙谷医药股份有限公司，浙江 武义 321200；3.浙江省珍稀植物药工程技术研究中心，浙江 武义 321200；4.寿仙谷珍稀药材产品省级重点农业企业研究院，浙江 武义 321200)

摘要：目的 对灵芝孢子相关研究进行文献计量、可视化分析，探讨并综述其研究热点及发展趋势。**方法** 在中国知网、Pubmed 和 Web of Science 数据库检索灵芝孢子粉相关的文献，并根据文献语言的不同分为中文与英文 2 个部分，应用 CiteSpace 对文献中的国家、机构、关键词和主题词、被引情况进行共现分析，绘制对应知识图谱、时间线视图，进而推断灵芝孢子粉的研究热点及趋势。对灵芝孢子主要研究热点、趋势、临床研究及物质基础等方面的研究进行总结。**结果** 共获得相关文献 1 477 篇，包括 989 篇中文文献、488 篇英文文献，发文量均呈增涨趋势，且国家及机构共现分析表明发文的主要是中国与中国机构，研究热点领域为药理药效方面，主要以抗肿瘤、免疫调节、抗癫痫等药效研究为主。近 5 年新兴的灵芝孢子粉的研究集中在免疫检查点、肠道菌群等前沿领域。**结论** 灵芝孢子粉在抗肿瘤、免疫调节、抗癫痫等方面的药理作用研究广泛，具有良好的应用前景，但物质基础和质量控制研究较为薄弱，有待进一步深化。

关键词：CiteSpace；知识图谱分析；药理药效；物质基础；灵芝孢子粉

中图分类号：R282.7 **文献标志码：**B **文章编号：**1007-7693(2021)12-1416-10

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2021.12.002

引用本文：赵建霞，李振宇，张国亮，等. 基于 CiteSpace 的灵芝孢子粉研究知识图谱分析[J]. 中国现代应用药学，2021，38(12)：1416-1425.

Knowledge Mapping Analysis of *Ganoderma Lucidum* Spore Powder-related Studies Based on CiteSpace Software

ZHAO Jianxia[1], LI Zhenyu[2,3], ZHANG Guoliang[1,3], XU Jing[2,3,4], WANG Ying[2,3,4], LI Mingyan[2,3,4], LI Zhenhao[1,3,4*] (*1.Zhejiang ShouXianGu Botanical Drug Institute Co., Ltd., Hangzhou 310000, China; 2.Zhejiang ShouXianGu Pharmaceutical Co., Ltd., Wuyi 321200, China; 3.Zhejiang Engineering Research Center of Rare Medicinal Plant, Wuyi 321200, China; 4.Zhejiang Key Agricultural Enterprise Institute of ShouXianGu Rare Herb Products, Wuyi 321200, China*)

ABSTRACT: OBJECTIVE To analyze the literature metrology and visualization of the research of *Ganoderma lucidum* spore, to explore and summarize the research hotspots and development trends. **METHODS** Literatures related to *Ganoderma lucidum* spore powder were searched in CNKI, Pubmed and Web of Science databases, according to the different languages of the literature, it was divided into Chinese and English. CiteSpace was applied in the co-occurrence of country, institution, keywords, subject words and co-cited analysis, draw the corresponding knowledge map, the timeline view, and concluded the research hotspot and trend of *Ganoderma lucidum* spore powder. The main research hotspots, trend, clinical research and material basis of *Ganoderma lucidum* spore powder was summarized. **RESULTS** A total of 1 477 related papers were obtained, including 989 Chinese papers, 488 English papers, both showed a trend of rise, and the countries and organizations co-occurrence analysis showed that China and Chinese institutions as the main research unit, the research focus areas were pharmacological efficacy, which was mainly in anti-tumor, immune regulation, anti-epilepsy and other efficacy studies. Nearly five years emerging research focused on immune checkpoints, gut microbes. **CONCLUSION** *Ganoderma lucidum* spore powder has been widely studied in anti-tumor, immune regulation, anti-epilepsy, and has a good application prospect, but the research on material basis and quality control is relatively weak, and needs further study.

KEYWORDS: CiteSpace; knowledge mapping analysis; pharmacological efficacy; material basis; *Ganoderma lucidum* spore powder

灵芝为担子菌纲多孔菌科灵芝属真菌，在中国的使用历史可追溯至 6 800 年前[1]，是中药领域的研究热点之一，每年发表的研究论文>500 篇[2]。自上世纪 80 年代，灵芝的新药用部位——灵芝孢子，逐渐受到了关注，相关研究日益增多。灵芝孢子是灵芝在生长成熟期，从灵芝菌褶中弹射出来的极其微小的卵形生殖细胞。灵芝孢子外层有双层孢壁，质地坚韧，耐酸碱，因而限制了其有

基金项目：国家自然科学基金项目(81803714)；浙江省重点研发计划项目(2017C02011，2019C02100)；浙江省重点农业企业研究院建设项目(2017Y20001)

作者简介：赵建霞，女，硕士 Tel: 15657195620 E-mail: zhaojx@sxgoo.com *通信作者：李振皓，男，博士，副研究员 Tel: (0571)89189897 E-mail: zhenhao6@126.com

效成分的释放。为了提高有效成分的吸收利用，现已发展了各种破壁技术。破壁后有效成分含量显著提高，有利于增强药效作用[3]。此外，笔者团队报道了去壁技术，通过提取、纯化、浓缩等工艺，将壁壳分离，进一步提高有效成分含量及其药效[4]。随着产业的发展以及研究的深入，灵芝孢子粉论文数量逐年上升，其化学成分、生物活性及作用机制等也逐渐得到了研究和阐释。

文献计量学方法结合可视化分析软件，通过检索国内外数据库，研究文献信息的数量变化、结构分布及变化规律，通过可视化分析直观地得到研究的主要机构、热点及趋势等。CiteSpace 软件是由陈超美团队开发的知识图谱绘制工具，可定量、可视化地分析文献，梳理该领域文献的基础知识、研究热点和前沿，预测该领域的演变趋势，是科学文献计量和知识网络分析的重要工具[5]。

本研究应用 CiteSpace 对 1999—2020 年的灵芝孢子粉相关文献进行文献计量学分析，梳理相关研究进展，总结研究的热点、发展趋势和研究前沿，以期为灵芝孢子粉产业发展提供参考。

1 资料与方法

1.1 数据来源

检索中国知网(CNKI)、Pubmed 和 Web of Science(WOS)数据库，检索时间设定为 1999 年 1 月 1 日—2020 年 3 月 10 日。CNKI 上以“灵芝孢子”或“灵芝孢子粉”为主题词检索中文文献。Pubmed 和 WOS 上以“Ganoderma”或“Lingzhi”或“Reishi”加上“Spore”为主题词检索英文文献。删除重复的、与主题无关的、新闻、稿约等文献，最终纳入文献 1 477 条，其中中文文献 989 条，英文文献 488 条。

1.2 统计分析

应用 Microsoft Excel 2019 统计相关文献数据信息，包括文献类型、发表时间、研究机构、研究主题、关键词等。用 CiteSpace 软件进行主题词及关键词共现分析、共引关系、机构、作者合作网络可视化分析；通过突现检测识别前沿领域，通过构建文献网络定位关键文献，通过时间线视图描述关键词的发展进程和趋势。

2 结果与分析

2.1 期刊发文量趋势

1999 年 1 月 1 日—2020 年 3 月 10 日，总计发表了 1 477 篇灵芝孢子粉相关文献，包括 989 篇中文文献，488 篇英文文献。期刊发文总量自 2005 年突破每年 50 篇，2012 年突破每年 100 篇，之后年平均发文量 85 篇左右，约占所有灵芝研究的 1/5。近 4 年来(2016—2019 年)，英文文献的数量逐渐增加，年发文量超 30 篇，这说明灵芝孢子粉的相关研究逐渐深入，研究水平也逐渐提高。结果见图 1。

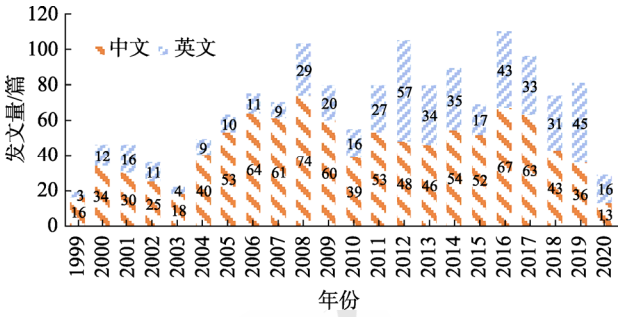

图 1 1999 年 1 月—2020 年 3 月灵芝孢子粉相关研究发文量

Fig. 1 Number of relevant studies on *Ganoderma lucidum* spore powder published during January 1999 to March 2020

2.2 主要研究领域

分别对中文和英文文献的主要研究领域进行分析，结果见图 2。989 篇中文文献主要可归为药理药效、化学成分、加工工艺等研究领域，其中药理药效相关研究占比最高(49.24%)，主要与灵芝孢子粉的药效作用、作用机制等有关；化学成分相关研究占比 17.49%，主要与灵芝孢子粉的成分测定、活性成分筛选、质量控制等有关；加工工艺相关研究占比 16.99%，主要与灵芝孢子粉破壁技术、提取工艺等有关。值得一提的是，有 6.47%的文献与粪检有关，其原因是未破壁的灵芝孢子粉与虫卵相似，在粪检时容易造成误检。这也说明未破壁的灵芝孢子粉在体内难以被消化吸收，通常以原形排出。进一步对 487 条药理药效相关研究进行分类，发现灵芝孢子粉在抗肿瘤、免疫调节、抗癫痫、保肝、保护神经、抗糖尿病等方面的研究较多(图 2B)，与灵芝的研究较为类似[2]。其中，抗肿瘤和免疫调节的相关研究最多，分别占比 18.76%和 15.57%。

英文文献的分类结果与中文文献类似，药理药效研究最多(53.95%)，化学成分研究次之(23.73%)，加工工艺(11.30%)、显微结构(1.41%)等也有较多的文献报道(图 2C)。药理药效研究中，抗肿瘤、免疫调节、抗癫痫、抗氧化等仍是研究热点(图 2D)。

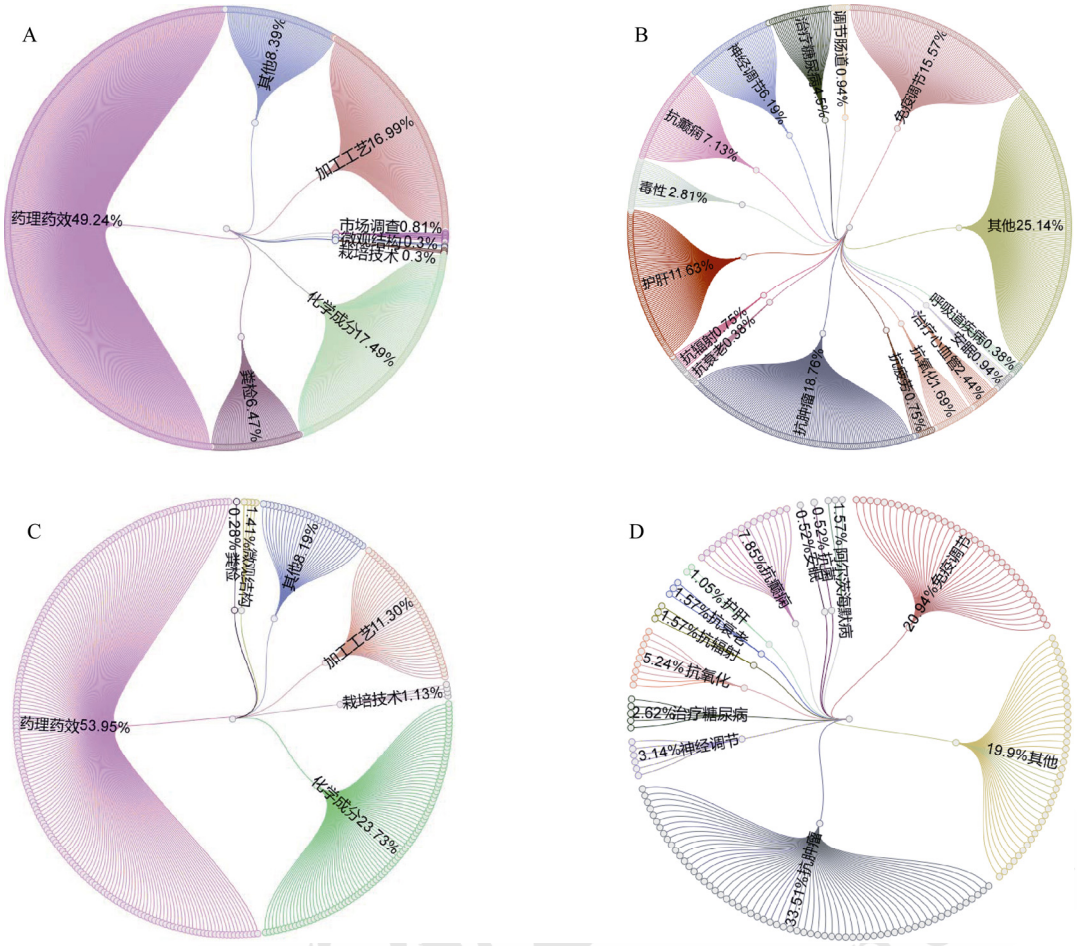

图 2　灵芝孢子粉主要研究领域

A–中文文献主要研究领域占比；B–中文文献中药理药效相关研究占比；C–英文文献主要研究领域占比；D–英文文献中药理药效相关研究占比。

Fig. 2　Main research areas of *Ganoderma lucidum* spore powder

A–proportion of major research areas in Chinese literature; B–proportion of pharmacology and efficacy related studies in Chinese literature; C–proportion of major research areas in English literature; D–proportion of pharmacology and efficacy related studies in English literature.

以上结果表明，与灵芝类似，灵芝孢子粉的药理作用也较为广泛，其中抗肿瘤和免疫调节的功效最受关注，有大量文献对其进行了研究。尽管灵芝孢子粉的主要活性成分与灵芝子实体相似，但目前缺乏系统的定性定量研究。此外，灵芝子实体和孢子粉的药效作用也缺乏比较研究，有待进一步阐述。

2.3　发文国家与机构

对发文的国家以及机构进行合作网络分析，见图 3~4。图中节点的大小反映了发文量，连线的粗细代表各国家的合作强度，节点和连线的色阶代表相应文献的发表年份。中国在灵芝孢子粉相关研究方面的发文量远超其他国家，发表了 386 篇英文文献，且中心度>1.09，表明大部分国家在灵芝孢子粉研究方面与中国保持着合作关系，结果见图 3。美国、日本、新加坡、英国等也发表了相当数量的文献，但这些国家的中心度较低，互

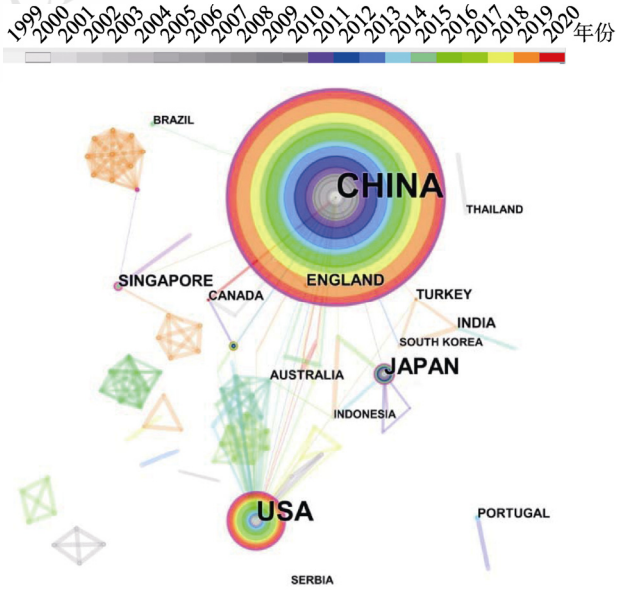

图 3　灵芝孢子粉研究国家合作网络图

Fig. 3　National collaboration network of *Ganoderma lucidum* spore powder research

相合作也相对较少。图 4 显示了不同研究机构的发文及合作情况。灵芝孢子粉中文文献的研究机构见图 4A，其中佳木斯大学、中山大学、福建省疾病预防控制中心、福建仙芝楼生物科技有限公司、广东省微生物研究所、上海市农业科学院、浙江省珍稀植物药工程技术研究中心等发表了较多论文，但各机构的中心度较小，均<0.01，表明研究相对独立，互相合作较少。英文文献的发文机构见图 4B，微生物代谢国家重点实验室、中国科学院、浙江大学、中山大学、莱斯特大学药学院等发表了较多灵芝孢子粉的研究论文。总的来说，发表论文的研究机构，无论是中文文献还是英文文献，都以中国机构为主。

2.4 研究热点与发展趋势

通过分析主题词和名词短语的频次确定灵芝孢子粉研究的研究热点和发展趋势，见图 5。图中节点的大小反映了主题词/短语的出现频次，连线的粗细代表主题词/短语的共线性，节点和连线的色阶代表相应文献的发表年份。中文文献中，出现频次最高的热点词依次为多糖、补气药、免疫、三萜、含量测定、药理作用等(图 5A)。英文文献中，热点词为多糖、细胞凋亡、三萜、抗肿瘤活性、细胞、提取物、(灵芝)酸、氧化应激、抗氧化、细胞毒性等(图 5B)。这些热点词与灵芝孢子粉的研究领域密切相关，也提示了灵芝孢子粉的有效成分——多糖和三萜，可能通过细胞凋亡、免疫等途径发挥抗肿瘤活性。

通过考察热点词的时间分布，将其中批次变化率高的热点词从大量主题词/短语中筛选出来，并依靠词频的变动趋势来确定研究的发展趋势。灵芝酸相关研究在 2009—2011 年迅速增长，其余热点词均在近 5 年内出现明显增长，说明近 5 年灵芝孢子粉的研究集中在氧化应激、细胞凋亡、甾醇、免疫检查点、肠道菌群等领域，这也表明灵芝孢子粉的研究从抗肿瘤、免疫调节等逐渐深入到免疫检查点、肠道菌群等前沿领域，化学成分也从多糖、三萜拓展到甾醇。

图 4 灵芝孢子粉研究机构合作网络图

A–中文文献；B–英文文献。

Fig. 4 Organization collaboration network of *Ganoderma lucidum* spore powder research

A–Chinese literature; B– English literature.

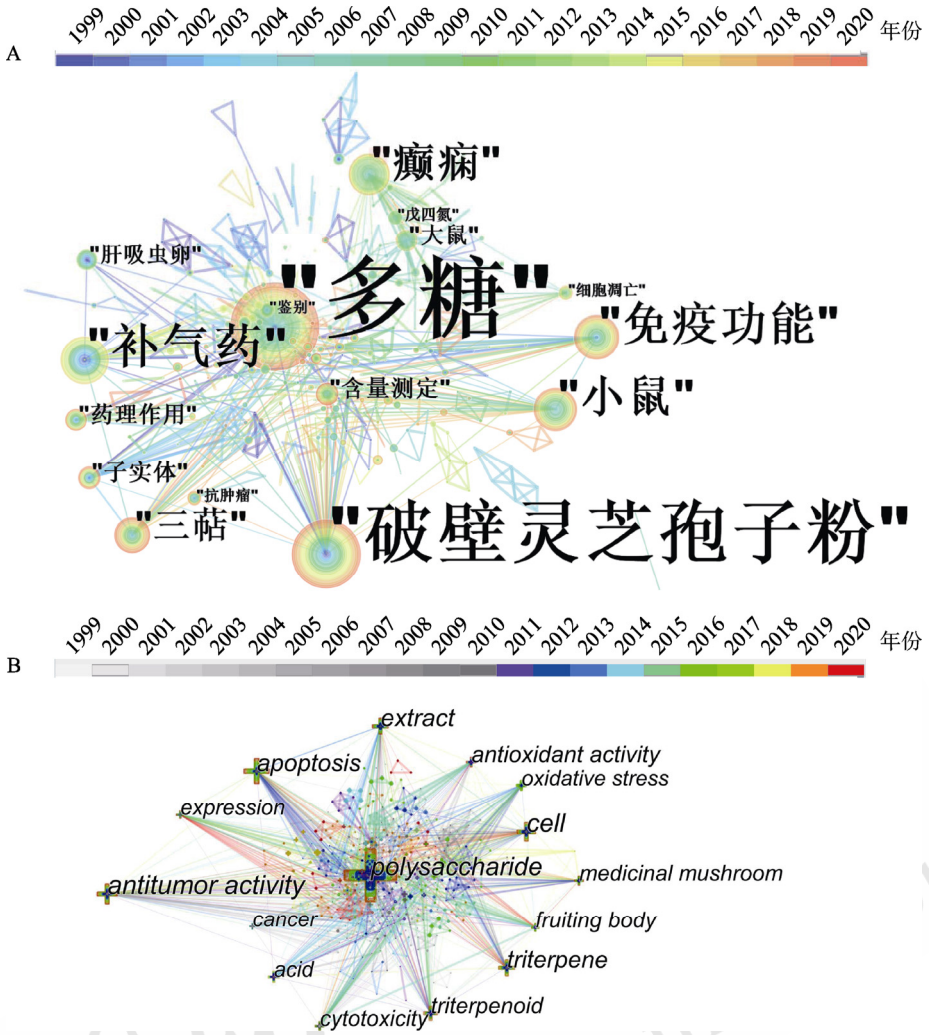

图 5 灵芝孢子粉相关研究热点词网络图

A–中文文献；B–英文文献。

Fig. 5 Network diagram of hot words of *Ganoderma lucidum* spore powder research

A–Chinese literature; B–English literature.

此外，本研究采用共被引网络确定灵芝孢子粉研究的关键文献。被引最多的前 3 篇文章均为灵芝类综述，且均由国外研究团队发表，说明灵芝以及灵芝孢子粉的研究也受到国外团队的追踪和重视。结果见图 6。Na 等[6]发表的研究论文“Anticarcinogenic Effects of Water Extract of Sporoderm-Broken Spores of *Ganoderma lucidum* on Colorectal Cancer *in vitro* and *in vivo*”为目前被引用次数最高的研究性论文，其研究结果表明灵芝孢子粉水提物通过调控细胞增殖、细胞周期和凋亡级联的相关基因来抑制结直肠癌的癌变。且后续也有系列研究证实了灵芝孢子粉水提物/多糖对结肠癌的治疗作用。破壁灵芝孢子多糖通过抑制自噬小体与溶酶体融合、下调溶酶体相关膜蛋白溶酶体关联膜蛋白 2 的表达、抑制溶酶体酸化和抑制溶酶体水解酶溶酶体水解酶 B 和溶酶体水

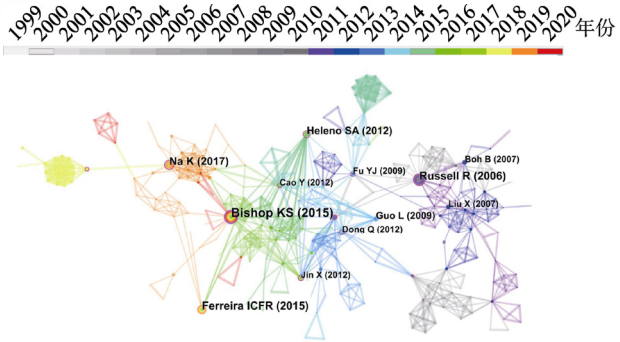

图 6 灵芝孢子粉相关研究共被引论文网络

Fig. 6 Co-citation network of *Ganoderma lucidum* spore powder research

解酶 D 的成熟而抑制自噬流，诱导结肠癌细胞发生 MAPK/ERK 依赖型、mTOR 和 Beclin-1 非依赖型的自噬起始[7]。破壁灵芝孢子水提物抑制了骨肉瘤细胞 G2/M 期的周期进展，增加了凋亡相关蛋白

的表达，促进了细胞凋亡小体和自噬小体的形成，诱导骨肉瘤细胞启动自噬和增加自噬体的积累来阻断自噬流。提示破壁灵芝孢子水提物通过诱导细胞凋亡和阻止自噬而抑制骨肉瘤细胞的增殖和迁移[8]。Wu 等[9]研究发现灵芝多糖可通过非甾体抗炎药活化基因 1 诱导前列腺癌细胞凋亡。这些结果表明灵芝孢子粉是一种有效的自噬抑制剂可能在抗肿瘤治疗中发挥作用，值得进一步研究。

2.5 药理药效研究进展

灵芝孢子粉的药理药效研究主要集中在抗肿瘤、免疫调节、抗癫痫等领域。因此进一步对这 3 个研究方向的文献进行概述。

2.5.1 抗肿瘤作用　研究表明，灵芝孢子粉及其提取物可以通过抑制增殖、诱导凋亡、促进免疫、抑制免疫检查点等多种途径发挥抗肿瘤作用。Chen 等[10]对破壁灵芝孢子粉及其醇提物和醇水提取物的抗肺癌作用进行了研究，发现醇提物在体外对 A549、H441 和 H661 肺癌细胞株的抑制作用均高于醇水提取物，其 IC_{50} 在 150 μg·mL^{-1} 左右。进一步研究发现，醇提物可调控 Akt/mTOR 通路上多个蛋白的磷酸化水平抑制细胞增殖，体内实验也表明，醇提物可显著抑制肺癌实体瘤的生长抑制肿瘤组织中 Ki67 的表达，且效果优于破壁灵芝孢子粉和醇水提取物。Pan 等[7]发现灵芝孢子粉，多糖可呈时间和浓度依赖性抑制结肠癌 HT-29 和 HCT116 细胞增殖，诱导结肠癌细胞发生 ERK 介导的自噬起始，同时抑制自噬小体与溶酶体融合，抑制溶酶体组织水解酶的活性而抑制自噬性降解。体内研究也发现灵芝孢子粉多糖可抑制自噬性降解并诱导结肠癌细胞凋亡。Wang 等[11]发现灵芝孢子粉多糖可通过作用于 NK 细胞、T 细胞和巨噬细胞激活宿主的免疫应答发挥抗肿瘤作用。灵芝孢子粉多糖对小鼠 S180 肉瘤有明显的抑制作用，升高了血清中 IL-2、IFN-γ 和 TNF-α 的水平，同时增强荷瘤小鼠巨噬细胞的吞噬作用，提高 $CD4^+$或 $CD8^+$亚群的比例。Su 等[12]发现灵芝孢子粉提取物能抑制移植瘤小鼠体内 4T1 乳腺癌细胞的生长，增加外周血和肿瘤浸润淋巴细胞中 Tc 细胞亚群和 Tc/Th 的比值，并下调脾脏 PD-1 和肿瘤 CTLA-4 2 个免疫检查点。此外，Su 等[13]还发现紫杉醇和灵芝孢子粉多糖联用可以提高肿瘤抑制效果，通过抑制免疫检查点 PD-1 和 Tim-3 的表达，恢复肿瘤浸润淋巴细胞。He 等[14]发现破壁灵芝孢子水提取物可通过 STAT3 途径抑制体内外骨肉瘤 PD-L1 的表达，抑制骨肉瘤细胞增殖和迁移，诱导其凋亡，进而提高 PD-L1 单抗效率，同时缓解体质量下降、脾萎缩等因单抗治疗导致的不良反应。

2.5.2 免疫调节作用　研究表明，破壁灵芝孢子粉可以增强小鼠的细胞免疫、体液免疫和非特异性免疫[15-16]。破壁灵芝孢子粉对糖皮质激素诱导的免疫抑制有正调节作用，能够显著提高胸腺指数、脾脏指数和溶血素效价，增加腹腔巨噬细胞和中性粒细胞吞噬功能，对外周血中 T 细胞、B 细胞、NK 细胞的数量、血清总补体活性和主要细胞因子的含量均有一定作用[17]。破壁灵芝孢子粉提取物可以通过 p38 MAPK 通路激活中性粒细胞发挥免疫调节作用[18]。低剂量破壁灵芝孢子粉能升高虚热证与虚寒证小鼠的体质量、免疫脏器指数、血清中 cAMP、cGMP、cAMP/cGMP、IL-2、TNF-α 值，并降低小鼠血清中 IL-4 值[16]。灵芝孢子粉能提高肺癌模型小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬功能和血清 IL-2 水平，并明显提高抑瘤率[19]，也可提高由环磷酰胺诱导的 T 淋巴细胞 $CD69^+$、$CD3^+$低表达现象，并提高 T 淋巴细胞转化能力[20]。此外，Wang 等[21]发现破壁灵芝孢子粉提取物可显著下调 B 淋巴细胞 PD-1 水平，而相应基因的转录水平并未受到影响，趋化因子 CCL5 的表达显著提高。这与 Su 等[12-13]的研究结果较为一致，提示 PD-1 可能是灵芝孢子粉发挥免疫调节作用的一个重要靶点。PD-1/PD-L1 为目前肿瘤免疫治疗的热门靶点。已上市的 PD-1/PD-L1 免疫药主要以大分子抗体类药物为主，而小分子抑制剂具有生产成本低、用药灵活等特点，如开发成功，有望显著降低 PD-1/PD-L1 的治疗成本。因此灵芝孢子粉可作为筛选 PD-1 小分子抑制剂的潜在天然产物。本团队在前期研究中，应用高分辨质谱和分子网络技术，从灵芝孢子共鉴定了 99 个三萜类化合物，9 个新化合物，1 个亚油酸化合物，并发现去壁灵芝孢子粉的免疫调节活性高于破壁灵芝孢子粉，免疫调节活性与三萜含量呈正相关，初步筛选出 20-hydroxylganoderic acid G、elfvingic acid A、ganohainanic acid C 等为潜在的免疫活性化合物[22]。

2.5.3 抗癫痫作用　灵芝孢子粉可通过免疫调节、抗氧化、抗炎、清除自由基、抑制细胞凋亡、促进神经修复等发挥抗癫痫作用。灵芝孢子粉可以显著降低癫痫大鼠血清及脑组织细胞因子炎症因子白细胞介素-10 水平，纠正免疫失调而起到抗癫痫的作用[23]。灵芝孢子粉可降低癫痫大鼠脑组织中白细胞介素-1β 水平，抑制癫痫大鼠脑组织 c-Fos 的表

达，阻断迟反应基因(*LRG*)以起到抗癫痫作用[24]。灵芝孢子粉干预后的癫痫大鼠，脑中 HO-1 阳性细胞数明显低于癫痫模型组，说明灵芝孢子粉可对抗 HO-1 过量对癫痫大鼠脑组织所造成的损伤，减轻脂质过氧化及稳定细胞膜[25]。灵芝孢子粉能降低癫痫大鼠脑中 caspase-3、caspase-9、NF-κB 等蛋白的表达，从而减轻神经细胞的损伤，提高神经元存活率[26-28]。此外，在体外模型中，灵芝孢子粉可增加海马神经元数量，且神经营养因子-4 表达明显增加，钙黏蛋白表达减少[29]。

2.5.4 肠道菌群的调节作用　杨开等[30]运用体外发酵技术，研究了灵芝孢子粉低聚糖对肠道菌群的调节作用，结果发现灵芝孢子粉低聚糖能增加短链脂肪酸的产出，升高双歧杆菌和乳杆菌等有益菌的丰度，降低大肠杆菌等有害菌的丰度。Liu 等[31]探究了灵芝孢子提取物对心脏功能障碍大鼠模型肠道菌群的影响，发现模型组与正常组相比，微生物群落多样性降低，灵芝孢子提取物处理后，微生物多样性得到改善，几乎接近正常组的水平。Sang 等[32]研究发现破壁灵芝孢子粉中多糖成分(BSGLP)能改善高脂饮食诱导的肥胖、高脂血症、炎症和脂肪堆积，改善高脂小鼠肠道菌群失调，增加短链脂肪酸的产生，减轻内毒素血症；粪便菌群移植研究证实，BSGLP 诱导的菌群变化是抑制肥胖的原因之一。值得一提的是，灵芝子实体多糖同样具有抵抗肥胖以及重塑肠道菌群的作用[33]，说明灵芝与灵芝孢子的高分子多糖可能具有相似的结构和功能，均可作为益生元制剂，通过调节炎症，肠道菌群和肠道屏障功能来抑制肥胖和高脂血症。Su 等[13]还发现紫杉醇和灵芝孢子粉多糖联用可以提高肿瘤抑制效果，流式细胞仪分析及 16S rRNA 测序结果表明，联合治疗的临床意义，可能与抑制免疫检查点(PD-1、Tim-3)和恢复肠道菌群失调有关。

2.5.5 临床研究进展　已有不少文献报道了灵芝孢子粉的临床作用。齐元富等[34]报道了 200 例灵芝孢子粉辅助化疗治疗消化系统肿瘤的临床观察，在常规化疗的基础上，分别给予灵芝孢子粉胶囊(试验组)或贞芪扶正冲剂(对照组)，结果表明，试验组患者免疫功能增强，化疗不良反应降低，骨髓造血功能增强，患者体质量和 Karnofsky 评分提高。甄作均等[35]报告了灵芝孢子粉改善肝癌患者术后细胞免疫功能，发现与常规治疗组相比，灵芝孢子粉可升高 $CD4^+$百分比以及 NK 细胞，降低 $CD8^+$百分比，表明灵芝孢子粉可提高细胞免疫功能，有助于维持机体免疫功能。此外，甄作均等[35]还采用随机对照的前瞻性临床研究，评价了灵芝孢子预防原发性肝癌根治术后复发的作用，发现与常规治疗组相比，灵芝孢子粉提高了 2 年无瘤生存率和 2 年总生存率[36]。Wang 等[37]采用随机对照临床试验，对灵芝孢子粉抗阿尔茨海默病的疗效进行了评价，发现与安慰剂相比，6 周灵芝孢子粉治疗对阿尔茨海默病评价量表 ADAS-cog、NPI 没有显著的改善作用，对生存质量测定量表 WHOQOL-BREF 也无明显效果。这可能是因为给药剂量较低(每天 3 g)，且给药周期较短。王跃辉等[38]评价了破壁灵芝孢子粉对非小细胞肺癌患者化疗前后免疫功能的影响，发现破壁灵芝孢子粉可改善非小细胞肺癌化疗患者的 T 细胞亚群指标($CD4^+/CD8^+$)，提升患者的细胞免疫功能。此外，根据中国临床试验注册中心以及 ClinicalTrials 上的数据，灵芝孢子粉用于结肠癌、非小细胞肺癌、大肠癌、骨肉瘤、头颈癌、前列腺癌治疗的多个临床研究也正在开展中。但总得来说，灵芝孢子粉，包括灵芝，还缺少高质量的循证数据证实它们的疗效，有待进一步加强。

2.5.6 物质基础及质量控制研究　灵芝孢子粉含有多糖、三萜、核苷、甾醇、氨基酸、脂肪酸以及微量元素等多种活性成分，因此质量评价和控制面临着较大挑战。目前，灵芝孢子粉尚未收录至中国药典 2020 年版，浙江、上海、安徽、福建等地已将灵芝孢子粉收录地方炮制规范。浙江、安徽炮制规范中灵芝孢子粉(破壁)的检测指标较为全面，包括水分、灰分、浸出物、破壁率、多糖、甘油三油酸酯、过氧化值、微生物限度、特征图谱等，福建、四川等也对水分、灰分、浸出物等理化指标进行了规定，而四川、黑龙江和上海的标准指标较少，见表 1。

研究表明，灵芝孢子粉的三萜类成分在种类上与灵芝子实体近似，许多最初从子实体分离纯化出来的三萜也可在孢子中找到。本团队前期研究中，分别从孢子粉原料、破壁、去壁孢子粉中鉴定了 20，96，109 个成分，主要为三萜类化合物[22]。杨志空等[39]采用 HPLC 测定了灵芝孢子粉中 13 个灵芝酸的含量，发现灵芝酸 A、灵芝酸 C6、灵芝酸 G、灵芝酸 D、灵芝酸 F 是主要的三萜类成分。宋玮等[40]用 UPLC-QTOF-MS 对灵芝孢子粉中

表 1 灵芝孢子粉(破壁)质量标准

Tab. 1 Quality standard of *Ganoderma lucidum* spore powder(wall-broken)

标准来源	水分/%	灰分/%	浸出物/%	破壁率/%	多糖/%	甘油三油酸酯/%	过氧化值	薄层色谱	特征图谱	微生物限度	重金属
浙江省中药炮制规范(2015 年版)	≤9	≤3	–	≥95	≥0.8	≥3	≤0.2	–	√	√	√
安徽省中药饮片炮制规范(2019 年版)	≤9	≤3	–	≥95	≥1	≥3.5	≤0.2	√	√	√	√
福建省中药饮片炮制规范(2012 年版)	≤9	≤3	≥7	≥95	≥0.9	–	–	–	–	√	–
四川省中药饮片炮制规范(2015 年版)	≤15	≤6	≥5	–	–	–	–	√	–	–	–
黑龙江省中药饮片炮制规范(2012 年版)	–	–	–	–	–	–	–	√	–	√	–
上海市中药饮片炮制规范(2008 年版)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

三萜类化合物进行了分析，共鉴定了 25 个三萜类成分。Yan 等[41]用 UPLC-TQ-MS 建立了灵芝孢子粉中灵芝酸 A 等 10 个三萜类成分的定量分析方法，并用子离子扫描模式鉴定了 22 个三萜。Liu 等[42]建立了灵芝酸 C2，B，A，H，D 等 5 个三萜酸的 LC-MS/MS 定量分析方法，并对灵芝子实体和孢子粉进行了检测，发现不同样品中三萜酸含量差异较大。虽然目前已有研究对灵芝孢子的三萜类成分进行了分析，但不够全面，且成分与药效之间的关系也缺乏系统研究。

现有的标准均未对三萜类成分的含量进行规定，可能的原因为灵芝孢子粉中三萜含量较低，种类多，因此仅通过测定部分三萜类成分的含量，很难全面评价灵芝孢子粉的质量，且里面的油脂类成分也会在香草醛-冰乙酸-高氯酸检测体系中显色，不具备专属性[43]。可通过一标多测法或者生物活性检测等方法，建立更全面的灵芝孢子粉质量评价方法。值得指出的是，灵芝孢子粉在深加工后，如提取、去壁后，三萜含量显著升高，对于这些产品，三萜可以作为质量指标。

多糖是另一类灵芝孢子粉的活性成分，但目前多糖的检测方法仍具有较大的局限性。常用测定总多糖的苯酚-硫酸法或蒽酮-硫酸法的专属性均不强，容易产生误差。另一种方法为水解多糖后测定单糖的组成和比例。于青等[44]用三氟乙酸水解多糖，采用离子色谱法测定灵芝孢子粉中葡萄糖、半乳糖、甘露糖、木糖等 9 种单糖。黄晓兰等[45]采用气相色谱-质谱、高效液相色谱分析灵芝孢子粉多糖的单糖组成，用凝胶渗透色谱分析灵芝孢子粉多糖的相对分子质量及其分布，发现破壁与不破壁的多糖组成完全相同，破壁后多糖含量增加，且增加部分为相对分子质量较小的多糖。除了总多糖、单糖以及多糖相对分子质量外，可以考虑使用 α-淀粉酶处理——一次醇沉[46]、高效凝胶色谱联用多角度激光散射和示差折光仪法[47]等方法测定灵芝或灵芝孢子粉多糖，以提高方法的准确度和专属性。

灵芝孢子常用的破壁方法为物理法，工业生产中常使用振动磨或球磨机进行破壁。由于物料与研磨介质(钢球或钢棒)直接接触，容易引入铬、镍等重金属，造成安全隐患。徐靖等[48]采用微波消解 ICP-MS 建立了 V、Cr、Mn、Fe、Co、Ni 等 16 种元素的定量检测方法，发现破壁后 Cr、Fe、Ni 等元素含量显著升高，其中超音速气流破壁样品中重金属元素含量比振动磨样品低 1.75~48 倍，表明与传统振动磨粉碎相比，超音速气流粉碎不易引入重金属污染，是一种相对更安全的破壁工艺。

3 讨论

本研究首先采用 CiteSpace 对灵芝孢子粉的相关研究进行知识图谱分析，通过突现检测、文献网络和时间线视图等方法，总结了研究的热点、发展趋势和研究前沿，为灵芝孢子粉的深入研究提供数据支撑。分析发现灵芝孢子粉在免疫调节、抗肿瘤、抗癫痫等方面已有较为广泛的研究，并开展了数个临床研究，具有良好的应用前景。对灵芝孢子粉的物质基础和质量控制进行综述，发现灵芝孢子粉的物质基础研究较为薄弱，质量评价方法也存在一定的局限性，可结合色谱指纹图谱、质谱、生物活性检测等方法进一步开展研究[49-51]。此外，灵芝孢子粉化学成分与生物活性之间的关系也缺乏系统研究。因此，有必要加强灵芝孢子粉物质基础和药效学研究，并创新发展质量控制和评价技术，助力转型升级，推动产业高质量发展。

REFERENCES

[1] YUAN Y, WANG Y J, SUN G P, et al. Archaeological evidence suggests earlier use of *Ganoderma* in Neolithic China[J]. Chin Sci Bull(科学通报), 2018, 63(13): 1180-1188.

[2] CAO Y, XU X W, LIU S J, et al. *Ganoderma*: A cancer immunotherapy review[J]. Front Pharmacol, 2018(9): 1217. Doi: 10.3389/fphar.2018.01217.

[3] MU H, CAI M, XU J, et al. Comparative analysis of chemical composition and antioxidant activity of sporoderm-removal and sporoderm-broken *Ganoderma lucidum* spore powder[J]. Sci Technol Food Ind(食品工业科技), 2020, 41(10): 32-37, 51.

[4] XU J, LI Z H, LI M Y, et al. Purification process, comprehensive utilization method and application of *Ganoderma lucidum* spores powder: CN104013652A[P]. 2014-09-03.

[5] CHEN C M. CiteSpace II: Detecting and visualizing emerging trends and transient patterns in scientific literature[J]. J Am Soc Inf Sci Technol, 2006, 57(3): 359-377.

[6] NA K, LI K, SANG T T, et al. Anticarcinogenic effects of water extract of sporoderm-broken spores of *Ganoderma lucidum* on colorectal cancer *in vitro* and *in vivo*[J]. Int J Oncol, 2017, 50(5): 1541-1554.

[7] PAN H T, WANG Y J, NA K, et al. Autophagic flux disruption contributes to *Ganoderma lucidum* polysaccharide-induced apoptosis in human colorectal cancer cells via MAPK/ERK activation[J]. Cell Death Dis, 2019, 10(6): 456. Doi: 10.1038/s41419-019-1653-7.

[8] ZHANG W K, LEI Z, MENG J H, et al. Water extract of sporoderm-broken spores of *Ganoderma lucidum* induces osteosarcoma apoptosis and restricts autophagic flux[J]. Onco Targets Ther, 2019(12): 11651-11665.

[9] WU K K, NA K, CHEN D, et al. Effects of non-steroidal anti-inflammatory drug-activated gene-1 on *Ganoderma lucidum* polysaccharides-induced apoptosis of human prostate cancer PC-3 cells[J]. Int J Oncol, 2018, 53(6): 2356-2368.

[10] CHEN Y L, LV J, LI K, et al. Sporoderm-broken spores of *Ganoderma lucidum* inhibit the growth of lung cancer: Involvement of the Akt/mTOR signaling pathway[J]. Nutr Cancer, 2016, 68(7): 1151-1160.

[11] WANG P Y, ZHU X L, LIN Z B. Antitumor and immunomodulatory effects of polysaccharides from broken-spore of *Ganoderma lucidum*[J]. Front Pharmacol, 2012(3): 135. Doi: 10.3389/fphar.2012.00135.

[12] SU J Y, SU L, LI D, et al. Antitumor activity of extract from the sporoderm-breaking spore of *Ganoderma lucidum*: Restoration on exhausted cytotoxic T cell with gut microbiota remodeling[J]. Front Immunol, 2018(9): 1765. Doi: 10.3389/fimmu.2018.01765.

[13] SU J Y, LI D, CHEN Q J, et al. Anti-breast cancer enhancement of a polysaccharide from spore of *Ganoderma lucidum* with paclitaxel: Suppression on tumor metabolism with gut microbiota reshaping[J]. Front Microbiol, 2018(9): 3099. Doi: 10.3389/fmicb.2018.03099.

[14] HE J M, ZHANG W K, DI T Y, et al. Water extract of sporoderm-broken spores of *Ganoderma lucidum* enhanced pd-l1 antibody efficiency through downregulation and relieved complications of pd-l1 monoclonal antibody[J]. Biomed Pharmacother, 2020(131): 110541. Doi: 10.1016/j.biopha.2020.110541.

[15] WANG Y, JIN J, JIN Z H, et al. Study on immune-enhancing effects of *Ganoderma lucidum* spore powder[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2016, 33(5): 544-546.

[16] TANG R Y, ZHANG J J, FEI W T, et al. Effects of sporoderm-broken spores of *Ganoderma lucidum* on cyclic nucleotide levels and immune function of mice with deficiency-heat syndrome and deficiency-cold syndrome[J]. Glob Tradit Chin Med(环球中医药), 2019, 12(7): 982-988.

[17] REN W, ZUO L, ZHONG Z Q. The effect of the *Ganoderma lucidum* spore on the immunoregulation of the immunosuppression mice[J]. Chin J Immunol(中国免疫学杂志), 2007, 23(11): 979-984.

[18] HSU P Y, CHERN J L, CHEN H Y, et al. Extract of sporoderm-broken germinating spores of *Ganoderma lucidum* activates human polymorphonuclear neutrophils via the P38 mitogen-activated protein kinase pathway[J]. Chang Gung Med J, 2012, 35(2): 140-147.

[19] LIU W. Ganaderma lucidium spore powder: Its effects on phagocytic function of lung cancer mice's abdominal macrophage and serum IL-2[J]. Mod Tradit Chin Med(现代中医药), 2010, 30(5): 85-86.

[20] YANG Y, LI Z, HUANG J M, et al. Effect of *Ganoderma lucidum* spore on immunoregulation of immunosuppression mice[J]. Chin J Heal Lab Technol(中国卫生检验杂志), 2010, 20(6): 1286-1288.

[21] WANG G, WANG L, ZHOU J L, et al. The possible role of PD-1 protein in *Ganoderma lucidum*-mediated immunomodulation and cancer treatment[J]. Integr Cancer Ther, 2019(18): 1534735419880275. Doi: 10.1177/1534735419880275.

[22] LI Z H, SHI Y Q, ZHANG X H, et al. Screening immunoactive compounds of *Ganoderma lucidum* spores by mass spectrometry molecular networking combined with *in vivo* zebrafish assays[J]. Front Pharmacol, 2020(11): 287. Doi: 10.3389/fphar.2020.00287.

[23] 李晶, 于海波, 朱玉梅, 等. 灵芝孢子粉对癫痫大鼠脑电图、IL-10 影响的探讨[J]. 黑龙江医药科学, 2008(1): 49-50.

[24] WANG W Q, WANG S Q, LIU Y X, et al. Effect of *Ganoderma lucidum* spores on IL-1β and c-Fos in the brain tissue of epilepsy rats[J]. Chin J Pathophysiol(中国病理生理杂志), 2007, 23(6): 1149-1152.

[25] WANG S Q, ZHANG J H, WANG S X, et al. Effects of *Garoderma lucidum* spores on contents of HO-1, cAMP, cGMP in epilepsy rat brain tissue and NSE in serum[J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2012, 23(4): 791-793.

[26] ZHANG J B, SONG H J, LIU S, et al. Study of expression of caspase-9 in pentylenetetrazol activation of hippocampal neurons by *Ganoderma lucidum* spores[J]. Prog Mod Biomed(现代生物医学进展), 2016, 16(10): 1850-1853.

[27] 李晶, 于海波, 于海涛, 等. 灵芝孢子粉对戊四氮致痫大鼠 Caspase-3、NO、NOS 的影响[J]. 中成药, 2012, 34(10): 2007-2008.

[28] ZHAO S, KANG Y M, ZHANG S C, et al. Effect of *Ganoderma lucidum* spores powder on the expression of IGF-1, NF-κB and apoptosis of nerve cells in the brain from epileptic rat[J]. Chin J Pathophysiol(中国病理生理杂志), 2007, 23(6): 1153-1156.

[29] WANG S Q, LI X J, ZHOU S B, et al. Intervention effects of *Ganoderma lucidum* spores on epileptiform discharge hippocampal neurons and expression of neurotrophin-4 and N-cadherin[J]. PLoS One, 2013, 8(4): e61687. Doi: 10.1371/

journal.pone.0061687.
[30] YANG K, ZHANG Y J, ZHANG S, et al. Preparation of *Ganoderma lucidum* spore oligosaccharide and its regulation on gut microbiota[J]. Food Ferment Ind(食品与发酵工业), 2020, 46(9): 37-42.
[31] LIU Y D, LAI G X, GUO Y R, et al. Protective effect of *Ganoderma lucidum* spore extract in trimethylamine-*N*-oxide-induced cardiac dysfunction in rats[J]. J Food Sci, 2021, 86(2): 546-562.
[32] SANG T T, GUO C J, GUO D D, et al. Suppression of obesity and inflammation by polysaccharide from sporoderm-broken spore of *Ganoderma lucidum* via gut microbiota regulation[J]. Carbohydr Polym, 2021(256): 117594. Doi: 10.1016/j.carbpol.2020.117594.
[33] CHANG C J, LIN C S, LU C C, et al. *Ganoderma lucidum* reduces obesity in mice by modulating the composition of the gut microbiota[J]. Nat Commun, 2015(6): 7489. Doi: 10.1038/ncomms8489.
[34] 齐元富, 李秀荣, 阎明, 等. 灵芝孢子粉辅助化疗治疗消化系统肿瘤的临床观察[J]. 中国中西医结合杂志, 1999, 19(9): 554-555.
[35] ZHEN Z J, WANG F J, FAN G Y, et al. Effect of *Ganoderma lucidum* spore to the immunological function of patients with hepatocellular carcinoma after operation[J]. Chin J Hepatic Surg: Elec Ed(中华肝脏外科手术学电子杂志), 2013, 2(3): 171-174.
[36] ZHEN Z J, CHEN Y J, JI Y, et al. Inhibitory efficacy of *Ganoderma lucidium* spore on recurrence after curative resection of hepatocellular carcinoma[J]. J Dig Oncol: Elec Ver(消化肿瘤杂志: 电子版), 2012, 4(1): 40-43.
[37] WANG G H, WANG L H, WANG C, et al. Spore powder of *Ganoderma lucidum* for the treatment of Alzheimer disease: A pilot study[J]. Medicine (Baltimore), 2018, 97(19): e0636. Doi: 10.1097/MD.0000000000010636.
[38] WANG Y H, QU Z H, ZHAO Z Y. Effect of *Ganoderma lucidum* spores on immune function in patients with non small cell lung cancer during chemotherapy[J]. China Pract Med(中国实用医药), 2014, 9(23): 20-21.
[39] YANG Z K, HAN W, FENG N, et al. Determination of triterpenoids in *Ganoderma lingzhi* spore powder by HPLC[J]. Mycosystema(菌物学报), 2020, 39(1): 184-192.
[40] SONG W, QIAN Q L, JIANG H, et al. Analysis on triterpenoids in *Ganoderma lucidum* spore powder by UPLC-Q-TOF-MS[J]. J Ningxia Univ: Nat Sci Ed(宁夏大学学报: 自然科学版), 2019, 40(1): 37-40.
[41] YAN Z, XIA B, QIU M H, et al. Fast analysis of triterpenoids in *Ganoderma lucidum* spores by ultra-performance liquid chromatography coupled with triple quadrupole mass spectrometry[J]. Biomed Chromatogr, 2013, 27(11): 1560-1567.
[42] LIU Y L, LIU Y P, QIU F, et al. Sensitive and selective liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the determination of five ganoderic acids in *Ganoderma lucidum* and its related species[J]. J Pharm Biomed Anal, 2011, 54(4): 717-721.
[43] 李菁, 曾荣华, 陈文俊, 等. 灵芝孢子油的总三萜测定研究及 HPLC 鉴别[J]. 中药材, 2011, 34(10): 1621-1623.
[44] YU Q, SHANG S, FENG Y L, et al. Determination of monosaccharide composition of polysaccharide in *Ganoderma lucidum* spore by ion chromatography[J]. Chin Pharm J(中国药学杂志), 2014, 49(4): 344-347.
[45] HUANG X L, WU H Q, HUANG F, et al. Analysis of polysaccharide from broken cellular wall and unbroken spore of *Ganoderma lucidum*[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2006, 37(6): 813-816.
[46] LI Y, LIU J J, ZHANG X F, et al. Study on quantification method of non-starch polysaccharides in *Dendrobium catenatum*[J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2019, 44(15): 3221-3225.
[47] HAN B X, CHEN L X, DENG Y, et al. Characterization and comparison of specific polysaccharides in *Dendrobium officinale* by using saccharide mapping and chromatographic methods[J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2018, 38(1): 41-49.
[48] XU J, LIU Z F, WANG Y, et al. Determination of inorganic elements in *Ganoderma lucidum* spore powder with different treatments of wall-broken methods by microwave digestion-ICP-MS[J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药学), 2014, 31(7): 813-817.
[49] LI Z H, ZHANG X H, LIAO J, et al. An ultra-robust fingerprinting method for quality assessment of traditional Chinese medicine using multiple reaction monitoring mass spectrometry[J]. J Pharm Anal, 2021, 11(1): 88-95.
[50] LI Z H, WANG Y, CHENG Y Y. Mass spectrometry-sensitive probes coupled with direct analysis in real time for simultaneous sensing of chemical and biological properties of botanical drugs[J]. Anal Chem, 2019, 91(14): 9001-9009.
[51] LI Z H, AI N, YU L X, et al. A multiple biomarker assay for quality assessment of botanical drugs using a versatile microfluidic chip[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 12243. Doi: 10.1038/s41598-017-12453-w.

收稿日期：2020-09-14
(本文责编：沈倩)