

胭脂树低聚糖增强小鼠免疫功能的研究

王 秒 白 玉 李 钢 任 凤 芝

(华北制药新药研究开发中心药理研究室 河北石家庄 050015)

摘要:目的:研究胭脂树低聚糖对小鼠免疫功能的影响。方法:灌胃给予小鼠胭脂树低聚糖,测定体液免疫和单核巨噬细胞吞噬功能。结果:胭脂树低聚糖 0.6 g/kg 剂量组显著增加小鼠的血清溶血素值($P<0.05$);0.2 g/kg 和 0.6 g/kg 剂量组均显著增加小鼠腹腔巨噬细胞吞噬率($P<0.01$)。结论:胭脂树低聚糖能增强小鼠体液免疫和巨噬细胞吞噬功能。

关键词:胭脂树低聚糖;小鼠;免疫功能

中图分类号:R 967

文献标识码:B

doi:10.3969/j.issn.1671-4040.2011.03.060

低聚糖或称寡糖,是由 2~20 个单糖通过糖苷键连接形成的直链或支链的低度聚合糖,有功能性低聚糖和普通性低聚糖两大类。多项文献研究报道显示,功能性低聚糖可以促进肠道内有益菌的增殖,激活机体的体液、细胞免疫系统从而提高动物机体的免疫力^[1-3]。胭脂树低聚糖是由粉碎后的胭脂树种子或提取色素后的胭脂树种子,通过水或乙醇煮提,浓缩,加水稀释,离心,上清液经活性炭和凝胶柱层析处理,得到的低聚糖,其化学结构为 α -D-Gal-(1→3)- α -D-Gal-(1→6)- α -D-Glc-(1→2)- β -D-Fru。本试验拟研究胭脂树低聚糖对小鼠体液免疫和单核巨噬细胞吞噬功能的影响。

1 材料与方法

1.1 药品与仪器 胭脂树低聚糖,华药新药研发中心;蜂胶胶囊,浙大生命药业公司;2100 紫外分光光度计,Amersham Biosciences 公司;BX-51 生物显微镜,Olympus 公司。

1.2 实验动物 清洁级 KM 小鼠,体重 18~22 g,河北医科大学实验动物中心提供。

1.3 实验方法

1.3.1 血清溶血素实验 KM 小鼠 40 只,随机分为四组:阴性对照组(蒸馏水)、胭脂树低聚糖高剂量组(0.6 g/kg)、低聚糖低剂量组(0.2 g/kg)、阳性对照蜂胶组(1.6 g/kg),每组 10 只,雌雄各半。各组小鼠灌胃给药,1 次/d,连续 9 d。于给药第 2 天,小鼠腹腔注射 5%鸡红细胞(CRBC)混悬液 0.2 mL 进行免疫。免疫 7 d 后,小鼠摘眼球取血 1 mL,分离血清,用生理盐水稀释 100 倍,取稀释血清 1 mL 加入 5%CRBC 0.5 mL,每管加入 0.5 mL 生理盐水 1:10 稀释过的豚鼠血清,随即移至 37℃ 恒温水浴中,保温 30 min,即放入冰浴以终止反应,2 000 r/min 离心 10 min,取上清 1 mL,546 nm 处测定吸光度(A)值。

1.3.2 小鼠腹腔巨噬细胞吞噬实验 KM 小鼠 40 只,分组同上。各组小鼠灌胃给药,1 次/d,连续 30 d。末次给药后每只小鼠腹腔注射 10%鸡红细胞混悬液 1 mL,间隔 1 h 颈椎脱臼处死,固定于鼠板上,剪开腹壁皮肤,注射生理盐水 2 mL,转动鼠板 1

min,吸出腹腔洗液 1 mL,分滴于玻片上,置于垫有湿纱布的搪瓷盘内,于 37℃ 孵箱内孵育 30 min,用生理盐水漂洗轻洗,除去未贴牢固的细胞,晾干,以甲醇固定,Giemsa 染色 15 min,再以蒸馏水漂洗晾干,用油镜观察计数,每片计 100 个巨噬细胞,计算吞噬百分率。

2 实验结果

2.1 对小鼠血清溶血素的影响 与对照组相比,阳性药蜂胶显著增加血清溶血素含量,比对照组提高了 35.6%,差异极显著($P<0.01$);胭脂树低聚糖 0.6 g/kg 显著增加小鼠的血清溶血素含量,比对照组提高了 20.5% ($P<0.05$)。见表 1。

表 1 各组小鼠溶血素值比较 ($\bar{X}\pm S$)	
组别	溶血素值(OD ₅₄₆ 值)
阴性对照	0.073± 0.008
蜂胶(1.6 g/kg)	0.099± 0.021**
胭脂树低聚糖(0.2 g/kg)	0.083± 0.013
胭脂树低聚糖(0.6 g/kg)	0.088± 0.019*

注:与阴性对照组比较,** $P<0.01$,* $P<0.05$ 。

2.2 对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬的影响 与对照组相比,阳性药蜂胶显著增加小鼠腹腔巨噬细胞吞噬率,比对照组提高了 75.4% ($P<0.01$);胭脂树低聚糖 0.2 g/kg 和 0.6 g/kg 均显著增加小鼠腹腔巨噬细胞吞噬率,比对照组分别提高了 36.5%和 47.8% ($P<0.01$)。见表 2。

表 2 各组小鼠腹腔巨噬细胞吞噬率比较 ($\bar{X}\pm S$) %	
组别	巨噬细胞吞噬率
阴性对照	29.3± 11.2
蜂胶(1.6 g/kg)	51.4± 19.2*
胭脂树低聚糖(0.2 g/kg)	40.0± 11.1*
胭脂树低聚糖(0.6 g/kg)	43.3± 12.2*

注:与阴性对照组比较,* $P<0.01$ 。

3 讨论

动物血清溶血素含量的高低是衡量体液免疫的重要指标,当动物血清抗体水平提高的同时血清凝集素水平也会提高^[4]。本研究结果显示灌胃给予小鼠胭脂树低聚糖后,0.6 g/kg 剂量的胭脂树低聚糖可显著增加小鼠的血清溶血素值,说明胭脂树低聚糖可以促进小鼠体液免疫功能。巨噬细胞是由循环血液中的单核细胞衍化而来,在免疫过程中起着重要作用。有研究报道大豆低聚糖是通过增殖的双歧杆菌而激活机体免疫系统中的巨(下转第 91 页)

系^[23-24]。饶丹等^[25]研究发现,中国汉族人群中存在 E-selectin 的 A128C 基因多态性,CHD 患者 CC+AC 基因型频率和 C 等位基因频率较正常对照组显著增高($P<0.01$);而在 CHD 患者中,ACS 患者与稳定型冠心病患者 CC+AC 基因型频率和 C 等位基因频率也有显著性差异($P<0.05$),同时还发现 E-selectin 的 A128C 基因多态性与 CHD 的易患性有相关性,CC+AC 基因型 CHD 患 ACS 的风险约是 AA 基因型的 3.257 倍,CC+AC 基因型患冠心病的风险是 AA 基因型的 5.843 倍。可见 E-selectin 基因 A128C 多态性可能与冠心病的发生、发展及该疾病的严重程度相关,因此通过检测基因型,可以筛查冠心病的易患人群和冠心病患者中的高危人群,这对早发现及时预防有重要意义^[25-26]。曾志为等^[27]分析总体样本中 E-选择素各基因型与血脂水平的关系发现,AC/CC、GT 基因型较 AA 及 GG 基因型血清总胆固醇、三酰甘油、低密度脂蛋白胆固醇水平有增高趋势,但差异无显著性意义($P>0.05$)。胡恒亮等^[28]研究结果显示 E-选择素 S128R 基因多态性与吸烟在冠心病的发生中有交互作用,吸烟且 SR+RR 基因型患冠心病的危险性明显增加。而对于 VCAM-1 基因的多态性国内外很少有相关研究。

深入研究这种细胞间及细胞与细胞基质间相互作用的分子机理,有助于进一步明确冠心病的发生、发展机制,利用这一机制研制出针对黏附分子作用的各种制剂,如抗各种黏附分子的单克隆抗体,或进行基因治疗,将在冠心病的诊断、预防和治疗方面具有广泛的临床前景。

参考文献

- [1] Krauss S, Zhang CY, Seorano L, et al. Superoxide-mediated activation of uncoupling protein 2 causes pancreatic beta cell dysfunction[J]. Clin Invest, 2003, 112(12): 1 831-1 842
- [2] Robertson RP, Harmon J, Tran PO, et al. Beta-cell glucose toxicity, lipotoxicity, and chronic oxidative stress in type 2 diabetes [J]. Diabetes, 2004, 53 Suppl 1: S119-S124
- [3] 王瑜, 汤键. 血管细胞粘附分子 1(VCAM-1)的分子生物学[J]. 北京医科大学学报, 1994, 47(S): 216-219
- [4] Matheny HE, Deem TL, Cook-Mills JM. Lymphocyte migration through monolayers of endothelial cell lines involves VCAM-1 signaling via endothelial cell NADPH oxidase 2000 (2) [J]. J Immunol, 2000, 164(2): 6 550-6 559
- [5] Kannagi R, Izawa M, Koike T, et al. Carbohydrate-mediated cell adhesion in cancer metastasis and angiogenesis [J]. Cancer Sci, 2004, 95(5): 377-384
- [6] Kitayama J, Tsuno N, Sunami E, et al. E-selectin can mediate the arrest type of adhesion of colon cancer cells under physiological shear flow [J]. Eur J Cancer, 2000, 36(1): 121-127

- [7] Charles JD, Leyla D, Natalia T, et al. Identification of leukocyte E-selectin ligands, P-selectin glycoprotein ligand-1 and E-selectin ligand-1, on human metastatic prostate tumor cells [J]. Cancer Res, 2005, 65(13): 5 750-5 760
- [8] Alexander Z, Clare LA, Matthias H. PSGL-1 engagement by E-selectin signals through Src kinase Fgr and ITAM adapters DAP12 and FcRγ to induce slow leukocyte rolling [J]. J Exp Med, 2008, 205(10): 2 339-2 347
- [9] Robert CF, Sandra LK, Robert S. CD43 is a ligand for E-selectin on CLA+human T cells[J]. Blood, 2006, 107: 1 421-1 426
- [10] Cybulsky MI, Kaeko Iiyama, Li HM, et al. A major role for VCAM-1, but not ICAM-1, in early atherosclerosis [J]. J Clin Invest, 2001, 107: 255-262
- [11] Mulvihill NT, Foley JB, Walsh MA, et al. Relationship between intracoronary and peripheral expression of soluble cell adhesion molecules[J]. Int J Cardiol, 2001, 77(2-3): 223-229
- [12] Mizia-Stec K, Zahorska-Markiewicz B, Mandecki T, et al. Serum levels of selected adhesion molecules in patients with coronary artery disease[J]. Int J Cardiol, 2002, 83(2): 143-150
- [13] 田敏, 刘安丽, 魏玉静, 等. 冠心病患者外周可溶性细胞间粘附分子-1、血管细胞粘附分子-1、CD18 及 P-选择素检查[J]. 郑州大学学报(医学版), 2005, 40(5): 900-901
- [14] 胡东达, 谢玉才. 冠心病患者血清细胞粘附分子的变化[J]. 心脑血管病防治, 2005, 5(5): 52-53
- [15] Blankenberg S, Rupprecht HJ, Bickel C, et al. Circulating cell adhesion molecules and death in patients with coronary artery disease [J]. Circulation, 2001, 104(12): 1 336-1 342
- [16] 高敏. E-选择素与心血管疾病[J]. 医学综述, 2006, 12(9): 60-62
- [17] 田乃亮, 陈绍良, 马玉玲, 等. 血清 E-选择素在冠心病中的变化及意义[J]. 中国综合临床, 2005, 21(10): 876-878
- [18] 杨大春, 朱峻, 周文兴, 等. 冠心病炎症标志物检测意义[J]. 临床心血管病杂志, 2004, 20(1): 1-3
- [19] 吕邵华. 血清可溶性 E-选择素在冠心病不同临床表现时的水平比较[J]. 临床医学, 2007, 27(1): 88-89
- [20] 孙丽, 郭晓玲. 冠心病患者血清 E-选择素和 Ox-LDL 的测定及意义[J]. 包头医学院学报, 2008, 24(6): 580-582
- [21] Rauchhaus M, Gross M, Schulz S, et al. The E-selectin SER128ARG gene polymorphism and restenosis after successful coronary angioplasty[J]. Int J Cardiol, 2002, 83(3): 249-257
- [22] Kilickap M, Tutar E, Aydinoglu O, et al. Increase in soluble E-selectin level after PTCA and stent implantation: a potential marker of restenosis[J]. Int J Cardiol, 2004, 93(1): 13-18
- [23] 田乃亮, 陈清枝, 李东野, 等. 血清 E-选择素和白细胞 CD11b/CD18 在冠心病中的意义[J]. 临床心血管病杂志, 2004, 20(1): 7-9
- [24] 黄斌, 匡希斌, 氯沙坦和尼群地平对高血压病患者 E-选择素、冯维布兰德因子等活性的影响[J]. 中国心血管病研究杂志, 2004, 2(9): 685-688
- [25] 饶丹, 姜红, 曾秋棠, 等. 黏附分子 E-选择素 A128C 基因多态性与冠心病的关系[J]. 心脏杂志, 2007, 19(5): 547-555
- [26] 姜红, 杜明, 饶丹, 等. E-选择素基因 A128C 多态性对冠心病的影响[J]. 临床医学, 2006, 13(2): 161-163
- [27] 曾志为, 许德星, 宋芸, 等. 中国部分汉族人群 E-选择素 +G98T 和 +A561C 基因多态性与冠心病以及血脂水平的相关性[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2008, 12(20): 3 980-3 983
- [28] 胡恒亮, 程龙献, 苏方成, 等. E-选择素 S128R 基因多态性与吸烟在冠心病发生中的交互作用 [J]. 华中科技大学学报(医学版), 2006, 35(1): 115-118

(收稿日期: 2011-01-25)

(上接第 88 页) 噬细胞, 提高其吞噬能力^[5]。本研究结果显示灌胃给予小鼠 0.2 g/kg 和 0.6 g/kg 剂量的胭脂树低聚糖 30 d 后, 可显著增加小鼠腹腔巨噬细胞吞噬率, 说明胭脂树低聚糖可以明显促进小鼠单核巨噬细胞吞噬能力。综上所述, 胭脂树低聚糖能增强小鼠体液免疫功能和巨噬细胞的吞噬功能, 具有一定的增强免疫作用。

参考文献

- [1] 张树清, 李小成, 孙玉华. 大豆低聚糖对小鼠体液免疫功能的影响试验研究[J]. 微生物学杂志, 2007, 27(2): 97-99
- [2] 徐超斗, 梁爱君, 祝业, 等. 大豆低聚糖对免疫功能的促进作用[J]. 解放军药学报, 2005, 21(1): 37-39
- [3] 杭锋, 伍剑锋, 龚广予, 等. 不同剂量蔗果低聚糖对小鼠免疫调节的研究[J]. 食品工业科技, 2010, 31(10): 359-363
- [4] 江振友, 林晨, 刘小澄, 等. 灵芝多糖对小鼠体液免疫功能的影响[J]. 暨南大学学报, 2003, 24(2): 51-53
- [5] 王立生, 朱惠明, 杨林, 等. 双歧杆菌的完整肽聚糖对巨噬细胞产生 IL-18 的影响[J]. 中国微生物学杂志, 2004, 16(4): 195-196

(收稿日期: 2011-03-27)