

吉林人参低聚肽的免疫调节作用

何丽霞,刘睿,任金威,陈启贺,王军波,张召锋,李勇

北京大学医学部公共卫生学院营养与食品卫生学系,北京 100191

摘要 为研究吉林人参低聚肽(GOP)对小鼠的免疫调节作用,选取280只SPF级雌性BALB/c小鼠,随机分为7组:空白对照组、乳清蛋白组(150 mg/kg)及5个GOP组(37.5、75、150、300、600 mg/kg)。连续灌胃30 d后,进行免疫7项实验测定,观察GOP对小鼠免疫器官相对重量、细胞免疫功能、体液免疫功能、单核-巨噬细胞功能和NK细胞活性的影响。结果表明:GOP显著提高了ConA诱导的小鼠脾淋巴细胞增殖能力、迟发型变态反应能力、抗体生成细胞数、小鼠碳廓清指数、巨噬细胞吞噬率和吞噬指数、NK细胞活性($P<0.05$),且效果优于乳清蛋白。由此可知,GOP可以通过增强细胞免疫功能、体液免疫功能、单核-巨噬细胞吞噬能力和NK细胞活性,起到增强免疫力的作用。

关键词 人参低聚肽;免疫功能;细胞免疫;体液免疫;巨噬细胞吞噬能力;自然杀伤细胞活性

中图分类号 R151.2

文献标志码 A

doi 10.3981/j.issn.1000-7857.2015.18.010

Immunomodulatory effects of *Panax ginseng* oligopeptide of Jilin Province

HE Lixia, LIU Rui, REN Jinwei, CHEN Qihe, WANG Junbo, ZHANG Zhaofeng, LI Yong

Department of Nutrition and Food Hygiene, School of Public Health, Peking University Health Science Center, Beijing 100191, China

Abstract This paper investigates the immunomodulatory effects of *Panax ginseng* oligopeptide of Jilin province. A total of 280 specific pathogen free (SPF) female BALB/c mice are randomly divided into 7 groups: the control group, the whey protein group (whey protein of 150 mg/kg) and five groups of *Panax ginseng* oligopeptide (GOP) at the doses of 37.5, 75, 150, 300 and 600 mg/kg. After 30 days, seven assays are performed to determine the cell-mediated immunity, the humoral immunity, the macrophage phagocytosis and the natural killer (NK) cell activity in the mice, including the splenic lymphocyte proliferation and the delayed-type hypersensitivity assays (for cell-mediated immunity), the IgM antibody response of spleen to SRBC and serum hemolysin level assays (for humoral immunity), the carbon clearance assay and the phagocytic capacity of peritoneal cavity phagocytes assays (for macrophage phagocytosis) and the NK cell activity assays. The results show that the GOP helps significantly to increase the proliferation response of the splenic lymphocyte to the ConA, the delayed-type hypersensitivity to the SRBC, the IgM antibody response of the spleen to the SRBC, the serum hemolysin level, the 37.5 mg/kg macrophage phagocytosis carbon clearance assay, the phagocytic rate (mg/kg) and the phagocytic index, and the NK cell activity (37.5 mg/kg), and the effects are better than those of the whey protein. In conclusion, the GOP could improve the immune functions in mice, by enhancing the functions of the cell-mediated immunity, the humoral immunity, the macrophage phagocytosis and the NK cell activity.

Keywords *Panax ginseng* oligopeptide; immune function; cell-mediated immunity; humoral immunity; macrophage phagocytosis; natural killer cell activity

人体免疫系统是人体抵御病原菌侵犯,保持健康、避免发生各种疾病的防御系统。随着现代生活节奏加快、工作压力加大及工业化生产对环境造成的破坏使人类免疫系统功能降低,各种疾病的发病率呈现上升趋势。而许多疾病的发

收稿日期:2015-05-12;修回日期:2015-07-03

基金项目:国家科技支撑计划项目(2006BAD27B08)

作者简介:何丽霞,博士研究生,研究方向为生物活性肽与健康,电子信箱:helixiapku@163.com;李勇(通信作者),教授,研究方向为营养与疾病,电子信箱:liyong@bjmu.edu.cn

引用格式:何丽霞,刘睿,任金威,等.吉林人参低聚肽的免疫调节作用[J].科技导报,2015,33(18):62-67.

生、发展与机体免疫系统的功能失调和免疫功能缺陷有密切联系,因此从调节患者免疫功能着手,治疗机体疾病已受到广泛重视。作为中国传统的名贵中草药的人参(*Panax ginseng* C. A. Mey.),所含有的多种活性成分日益受到关注。中国是世界上最大的人参生产国,年产鲜参2.28万t,占世界总产量的48%左右^[1],研究和开发人参的保健作用将为中国产生巨大的经济效益。中国的人参为五加科植物,主要产于吉林省。自2012年9月4日中国卫生部批准人参成为新资源食品后,中国人参产业呈现了新的发展契机,人参的应用将由单一的中药材拓展到食品、饮料等领域。

中国现存最早的药理学专著《神农本草经》如是记载:“人参,味甘微寒,主补五脏,安精神,定魂魄,止惊悸,除邪气,明目,开心益智。久服,轻身延年。”近年来国内外大量研究也证实人参具有增强免疫力、改善记忆力、抗肿瘤、抗氧化、抗衰老、抗辐射、抗疲劳等多种生物活性。这可能源于人参根茎中含有的多种重要的生物活性物质,如人参皂甙、糖类、氨基酸及肽类、挥发油、植物甾醇类、有机酸、含氮物质、维生素和矿物质及某些酶类等^[2]。目前大多数研究集中在人参皂甙,而对人参中的重要成分低聚肽类的研究较少,仅有的也只在其提取^[3]、结构确定^[4-6]和细胞水平^[7,8]的研究上,在动物实验方面的也只在降糖^[9,10]和调节胰岛功能^[11]方面;在免疫调节功能方面尚未见报道。低聚肽在人体内不需消化可直接吸收,比单个氨基酸吸收更有效,可直接参与蛋白质的合成^[12],可避免活性物质的浪费,大大提高其生理调节作用。为明确吉林人参低聚肽(ginseng oligopeptides, GOP)具体的免疫调节作用,本研究拟从特异性免疫和非特异性免疫两方面,探讨GOP对小鼠的免疫调节作用。

1 材料与方法

1.1 样品

吉林人参低聚肽,淡黄色固体粉末,由吉林肽谷生物工程有限责任公司提供,利用生物酶解技术从吉林人参中得到的小分子生物活性肽的混合物。经高效液相色谱纯化后,用质谱仪分析其分子质量分布可知,混合物主要以小分子低聚肽为主,质量分数为95.42%。进一步用高效液相色谱仪分析其中游离氨基酸组成,可知氨基酸总量占3.94%,其中精氨酸、脯氨酸、天门冬氨酸、丙氨酸、谷氨酸较多。

1.2 主要试剂及仪器

主要试剂:刀豆蛋白A(ConA,西格玛试剂)、胎牛血清(Hyclone公司)、RPMI1640(Hyclone公司)、甲基噻唑基四唑(MTT,西格玛试剂)、姬姆萨染液(Giemsa stain,北京雷根生物技术有限公司)、乳酸锂(西格玛试剂)、硝基氯化四氮唑(INT,西格玛试剂)、吩嗪二甲酯硫酸盐(PMS,西格玛试剂)、氧化性辅酶I(NAD,西格玛试剂)、Triton X-100(西格玛试剂)、绵羊红细胞(SRBC,北京大学医学部实验动物中心)、鼠T淋巴瘤细胞系(YAC-1细胞,北京大学毒理学系)。

主要仪器:Eppendorf高速冷冻离心机(德国艾本德股份公司)、Adventurer™通用型分析天平(美国奥豪斯国际贸易有限公司)、Bio-Rad550型酶联免疫检测仪(美国伯乐生命医学产品有限公司)、Sanyo二氧化碳培养箱(日本三洋电机株式会社)、CK40-SL倒置显微镜(奥林巴斯(中国)投资有限公司)。

1.3 实验动物

健康SPF级BALB/c雌性小鼠280只,6~8周龄,体重18~22g,由北京大学医学部实验动物中心提供。分笼饲养,每笼5只,自由饮食、饮水。饲养实验室符合国标清洁级,温度范围(25±1)℃,相对湿度50%~60%,室内照明控制在12h/12h光暗周期节律。

1.4 实验分组与处理

BALB/c雌性小鼠280只,适应期后按体重随机分为7组:空白对照组、乳清蛋白组(150mg/kg)及5个GOP组(37.5、75、150、300、600mg/kg),各组小鼠再随机分为4个亚组(每组10只),每个亚组进行不同的实验测定。空白对照组小鼠灌胃蒸馏水,其余各组灌胃相应浓度的乳清蛋白及GOP水溶液。各组小鼠均给以普通饲料,自由进食和饮水。每天灌胃1次,连续灌胃30d,参照《保健食品检验与评价技术规范(2003年版)》^[13]进行测定。

1.5 测定方法

1.5.1 迟发型变态反应、血清溶血素的测定、抗体生成细胞检测

取各组第1亚组10只小鼠,实验26d时腹腔注射0.2mL 2%(体积分数)SRBC进行免疫,30d时测量左后足跖部厚度,然后在测量部位皮下注射20μL 20%(体积分数)SRBC,注射后24h测量左后足跖部厚度,同一部分测3次,取平均值,观察迟发型变态反应能力(足跖增厚法)。之后摘除眼球采血于离心管内,放置约1h,2000r/min离心10min,收集血清,进行血清溶血素(半数溶血值(HC₅₀)法)测定。小鼠颈椎脱臼处死,取出脾脏,采用Jerne改良玻片法进行抗体生成细胞检测。

1.5.2 小鼠碳廓清实验

取各组第2亚组10只小鼠,按体重从小鼠尾静脉注入稀释的印度墨汁(100mL/kg),待墨汁注入立即计时。注入墨汁后2、10min,分别从内眦静脉丛取血20μL,并立即将其加到2mL 0.1% Na₂CO₃溶液中。用721分光光度计在600nm波长处测光密度值(OD),以Na₂CO₃溶液作空白对照。将小鼠处死,取肝脏和脾脏,用滤纸吸干脏器表面血污,分别称重。计算吞噬指数,表示小鼠碳廓清的能力。

1.5.3 小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞实验

取各组第4亚组10只小鼠,每鼠腹腔注射20%鸡红细胞悬液1mL。间隔30min,颈椎脱臼处死动物,经腹腔注入生理盐水2mL,轻揉腹部20次后,切开腹壁吸出腹腔洗液1mL,平均分滴于2片载玻片上,放入垫有湿纱布的搪瓷盒内,

移至37℃ CO₂培养箱温育30 min。孵毕,于生理盐水中漂洗,除去未贴片细胞。晾干,以1:1丙酮甲醇溶液固定,4%(体积分数)Giemsa-磷酸缓冲液染色30 min,再用蒸馏水漂洗晾干。油镜下计数巨噬细胞,每张片计数100个,计算吞噬百分率和吞噬指数。

1.5.4 ConA诱导的小鼠淋巴细胞转化实验及自然杀伤细胞(NK)细胞活性测定

取各组第3亚组10只小鼠,无菌取脾,至于盛有适量无菌Hank's液平皿中,用镊子轻轻将脾磨碎,制成单个细胞悬液。经200目筛网过滤,用Hank's液洗2次(每次1000 r/min离心10 min)。将细胞悬浮于1 mL的RPMI 1640完全培养液(含10%小牛血清)中,用1%冰醋酸稀释后计数(活细胞数应在95%以上),用台盼兰染色计数(活细胞数应在95%以上)。最后用RPMI 1640完全培养液调整细胞浓度为2×10⁷个/mL,采用乳酸脱氢酶法进行NK细胞活性检测;调整细胞浓度为3×10⁶个/mL,采用MTT法进行淋巴细胞增殖能力的检测(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)。

1.6 统计方法

数据均以(平均值±标准差)表示。采用SPSS 17.0软件进行单因素方差分析,差异显著者进行方差齐性检验,方差齐者以LSD法对多组均数进行post-hoc分析,方差不齐者以Dunnett's T3法对多组均数进行post-hoc分析。以P<0.05为差异显著性标准。

2 结果

2.1 GOP对小鼠体重和免疫器官相对重量的影响

由表1可知,各组初始体重和终末体重均无显著差异(P>0.05)。GOP 37.5、300 mg/kg组小鼠脾脏指数显著高于空白对照组(P<0.05),但与乳清蛋白组差异不显著(P>0.05)。GOP 300 g/kg组小鼠胸腺指数显著高于空白对照组和乳清蛋白组(P<0.05),GOP 150 g/kg组小鼠胸腺指数显著高于乳清蛋白组(P<0.05),但与空白对照组差异不显著(P>0.05)。

2.2 GOP对小鼠细胞免疫功能的影响

表1 GOP对小鼠体重和免疫器官相对重量的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 1 Effects of *Panax ginseng* oligopeptide on relative weight of immune organs of mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	初始体重/g	终末体重/g	脾脏指数/(mg·g ⁻¹)	胸腺指数/(mg·g ⁻¹)
空白对照组	0	18.86±0.44	20.17±0.58	4.31±0.16	1.92±0.16
乳清蛋白组	150	19.04±0.39	20.57±0.54	4.46±0.20	1.90±0.16
GOP 1组	37.5	19.03±0.40	20.29±0.50	4.51±0.21*	1.99±0.19
GOP 2组	75	19.05±0.46	20.43±0.44	4.28±0.23	1.88±0.11
GOP 3组	150	19.03±0.31	20.60±0.83	4.46±0.29	2.07±0.19 [#]
GOP 4组	300	18.91±0.45	20.14±0.48	4.52±0.12*	2.09±0.16 [#]
GOP 5组	600	18.88±0.46	20.17±0.60	4.28±0.16	2.03±0.17

注:*表示与空白对照组相比差异显著(P<0.05),[#]表示与乳清蛋白组相比差异显著(P<0.05)。脾脏指数=脾脏/体重;胸腺指数=胸腺/体重。下表同。

2.2.1 ConA诱导的小鼠脾淋巴细胞增殖能力

由表2可知,与空白对照组比较,GOP 150、300 mg/kg显著提高了ConA诱导的小鼠脾淋巴细胞增殖能力(P<0.05),且

表2 GOP对ConA诱导的小鼠脾淋巴细胞增殖能力的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Effects of *Panax ginseng* oligopeptide on proliferation response of mouse spleen cells to ConA ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	ConA诱导的小鼠脾淋巴细胞增殖能力(ΔOD)
空白对照组	0	0.41±0.05
乳清蛋白组	150	0.49±0.11
GOP 1组	37.5	0.43±0.09
GOP 2组	75	0.48±0.07
GOP 3组	150	0.51±0.09*
GOP 4组	300	0.61±0.09 [#]
GOP 5组	600	0.49±0.12

GOP 300 mg/kg显著优于乳清蛋白组(P<0.05)。

2.2.2 迟发型变态反应能力

由图1可知,与空白对照组比较,乳清蛋白组和5个GOP组均显著提高了小鼠迟发型变态反应能力(P<0.05),且GOP 75、150、300、600 mg/kg组小鼠迟发型变态反应能力均显著优

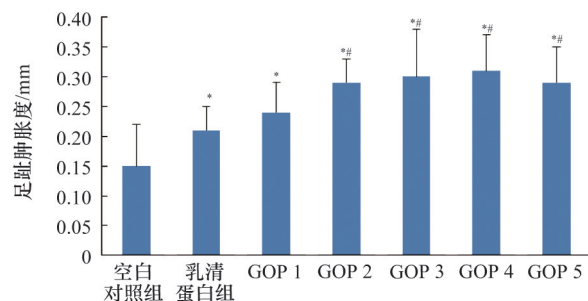


图1 GOP对小鼠迟发型变态反应能力的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Fig. 1 Effects of *Panax ginseng* oligopeptide on delayed-type hypersensitivity of mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

于乳清蛋白组($P<0.05$)。GOP 150和300 mg/kg可显著提高小鼠的ConA诱导的小鼠脾淋巴细胞增殖能力和迟发变态反应能力,且GOP 300 mg/kg效果显著优于乳清蛋白。因此可以判定GOP具有促进小鼠细胞免疫功能的作用。

2.3 GOP对小鼠体液免疫功能的影响

本实验通过抗体生成细胞(IgM-PFC)和血清溶血素(HC_{50})含量的检测对吉林人参低聚肽在小鼠体液免疫功能中的作用进行观察,结果见表3。

由表3可知,GOP 300、600 mg/kg组小鼠的抗体生成细胞数(溶血空斑数)显著高于空白对照组和乳清蛋白组($P<0.05$),GOP 37.5、150 mg/kg组显著高于空白对照组($P<0.05$),而乳清蛋白组与空白对照组差异不显著($P>0.05$)。乳清蛋白组和GOP 37.5 mg/kg组小鼠血清溶血素含量显著高于空白对照组($P<0.05$)。由此提示,GOP可显著增强小鼠的体液免疫功能。

表3 GOP对小鼠体液免疫功能的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 Effects of *Panax ginseng* oligopeptay on humoral immunity of mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/ ($mg \cdot kg^{-1}$)	溶血空斑数($/5 \times 10^6$ 细胞)的对数转换值 (lgPFC)	样品半数溶血值 HC_{50}
空白对照组	0	1.35 \pm 0.07	121.21 \pm 12.62
乳清蛋白组	150	1.39 \pm 0.07	137.28 \pm 4.96*
GOP 1组	37.5	1.44 \pm 0.11*	144.12 \pm 16.09*
GOP 2组	75	1.40 \pm 0.07	131.92 \pm 18.65
GOP 3组	150	1.43 \pm 0.10*	124.04 \pm 14.91
GOP 4组	300	1.50 \pm 0.08**	126.82 \pm 11.62
GOP 5组	600	1.51 \pm 0.09**	133.72 \pm 17.39

2.4 GOP对小鼠单核-巨噬细胞吞噬功能的影响

本研究通过小鼠碳廓清实验和小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞实验观察了吉林人参低聚肽对小鼠单核-巨噬细胞吞噬功能的影响,结果见表4。

由表4可知,与空白对照组比较,乳清蛋白、GOP 75、150、300、600 mg/kg均可显著提高小鼠碳廓清能力($P<0.05$),GOP 37.5 mg/kg也有提高小鼠碳廓清能力的趋势($P=0.083$)。其中,GOP 300、600 mg/kg组显著高于乳清蛋白组($P<0.05$)。

GOP 75、150、300 mg/kg组小鼠巨噬细胞吞噬率显著高于空白对照组和乳清蛋白对照组($P<0.05$)。GOP 75、150、300 mg/kg组小鼠巨噬细胞吞噬指数显著高于空白对照组($P<0.05$),且GOP 75、300 mg/kg组小鼠巨噬细胞吞噬指数显著高于乳清蛋白组($P<0.05$)。

表4 GOP对小鼠单核-巨噬细胞吞噬功能的影响
($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 4 Effects of *Panax ginseng* oligopeptay on macrophage phagocytosis in mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/ ($mg \cdot kg^{-1}$)	碳廓清指数 α	巨噬细胞吞噬鸡红细胞能力	
			吞噬率/%	吞噬指数
空白对照组	0	7.37 \pm 0.57	19.98 \pm 3.37	0.42 \pm 0.06
乳清蛋白组	150	7.84 \pm 0.28*	18.59 \pm 3.89	0.43 \pm 0.10
GOP 1组	37.5	7.76 \pm 0.49	21.40 \pm 3.76	0.44 \pm 0.09
GOP 2组	75	8.06 \pm 0.27*	24.14 \pm 3.51**	0.53 \pm 0.08**
GOP 3组	150	7.89 \pm 0.37*	22.48 \pm 3.85**	0.49 \pm 0.11*
GOP 4组	300	8.27 \pm 0.58**	25.00 \pm 1.93**	0.58 \pm 0.08**
GOP 5组	600	8.58 \pm 0.23**	21.10 \pm 2.57	0.48 \pm 0.06

2.5 GOP对小鼠NK细胞活性的影响

由表5可知,GOP 37.5、75 mg/kg组小鼠NK细胞活性显著高于空白对照组和乳清蛋白组($P<0.05$),GOP 150 mg/kg组小鼠NK细胞活性有高于空白对照组的趋势($P<0.10$),说明GOP可以增强小鼠NK细胞活性。

表5 GOP对小鼠NK细胞活性的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 5 Effects of *Panax ginseng* oligopeptay on NK cell activity in mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/ ($mg \cdot kg^{-1}$)	NK细胞活性/%
空白对照组	0	37.16 \pm 8.10
乳清蛋白组	150	41.02 \pm 13.96
GOP 1组	37.5	57.39 \pm 16.52**
GOP 2组	75	58.36 \pm 14.84**
GOP 3组	150	51.94 \pm 16.89
GOP 4组	300	40.12 \pm 18.78
GOP 5组	600	39.07 \pm 8.17

3 讨论

人参中肽类的研究始于20世纪60年代,当时仅在于提取。1980年Ando等^[9]从人参根水解液中分离出含有14个氨基酸残基的肽类物质后,开始了对提取肽结构的鉴定。1985年张金等^[10]从人参根中分离出了14肽,与Ando等分离出的肽仅一个氨基酸差别。到1990年Wang等^[9,10]使用此14肽按50、100、200 mg/kg的剂量给大鼠一次静脉注射或小鼠多次皮下注射给药的研究表明了,人参多肽有明显降低大鼠和小鼠血糖和肝糖原的作用。2007年金军华等^[11]推测人参和人参多肽的降糖作用可能与胰岛素分泌无关。人参中肽类的研究也仅局限于此,此后至今,国内外的研究也仅集中于人参复方

制剂及水提取物(人参皂甙、人参多糖、人参糖肽、次级代谢产物)等研究上,即便有关人参多肽或寡肽的研究,也仅仅停留在对其的结构鉴定及分离上,有关免疫调节作用的相关研究更是寥寥无几。

但杨睿悦^[14]研究表明,海洋寡肽可以显著提高 ConA 诱导的小鼠脾淋巴细胞增殖能力、抗体生成细胞溶血空斑数、血清溶血素含量及 NK 细胞活性。可见寡肽能在细胞免疫、体液免疫功能和 NK 细胞活性增强方面发挥较好的作用。为此,本实验对人参低聚肽在免疫方面的调节作用进行研究。乳清蛋白是干酪生产过程中产生的副产品乳清经过特殊工艺浓缩精制而成的一类蛋白质,易消化吸收,含有多种活性物质,有很高的生物利用效价和功能特性,如抗菌和抗病毒、调节免疫、抗氧化、降血脂等作用,其主要功能成分为乳球蛋白、乳白蛋白、牛乳血清白蛋白及免疫球蛋白等多种蛋白质成分。单纯的蛋白质摄入增加可能会影响机体的免疫功能,本研究通过设立乳清蛋白组,将 GOP 组与乳清蛋白组进行比较,排除单纯增加蛋白质摄入引起的假阳性结果,获得 GOP 对于免疫系统的调节作用是否基于寡肽的作用。

免疫系统的作用又分为固有免疫和适应性免疫两个方面,其中细胞免疫和体液免疫属于适应性免疫作用,巨噬细胞和 NK 细胞的作用则属于固有免疫功能。在细胞免疫功能方面一般用 2 个实验进行评价:ConA 诱导的小鼠脾淋巴细胞增殖能力和迟发型变态反应能力;体液免疫功能方面则用抗体生成细胞数和血清溶血素含量的检测进行评价;单核-巨噬细胞功能用小鼠碳廓清实验和小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞实验进行评价。

增强免疫力功能的判定是在细胞免疫功能、体液免疫功能、单核-巨噬细胞功能、NK 细胞活性 4 个方面任 2 个方面结果阳性即可判定样品具有增强免疫力功能作用。而前三者其中任意 2 个实验的结果为阳性或任一个实验的 2 个剂量组结果为阳性,可判定在这 3 个功能方面为阳性。NK 细胞活性测定实验中一个以上剂量组结果为阳性则可判定 NK 细胞活性结果阳性^[13]。

本研究显示,GOP 150、300 mg/kg 显著提高了 ConA 诱导的小鼠脾淋巴细胞增殖能力和迟发型变态反应能力,且 GOP 300 mg/kg 显著优于乳清蛋白,说明 GOP 具有促进小鼠细胞免疫功能的作用。在体液免疫功能方面,本研究结果显示,GOP 300、600 mg/kg 组小鼠的抗体生成细胞数显著高于空白对照组和乳清蛋白组。说明 GOP 具有促进小鼠体液免疫功能的作用。这与杨睿悦等^[14、15]的研究结果类似。与适应性免疫相关的 T 淋巴细胞亚群 CD4⁺和 CD8⁺的数量和比例是评价免疫调节稳态的关键指标。CD4⁺T 细胞(Th 细胞)又可分为 Th1 细胞和 Th2 细胞,其中 Th1 细胞可以分泌炎症因子白介素(IL)-2、IL-12、肿瘤坏死因子(TNF)、干扰素- γ (IFN- γ)等,从而诱导细胞免疫反应;Th2 细胞可以分泌 IL-4、-5、-6、-10 等,诱导体液免疫和过敏反应^[16]。从本实验结果来看,细胞免疫和体液免疫功能的增强可能与 CD4⁺T 细胞增加、细胞因子

分泌增多有关系。与其不同的是,碳廓清实验显示,乳清蛋白、GOP 75~600 mg/kg 组均显著提高小鼠碳廓清指数,GOP 300、600 mg/kg 效果显著优于乳清蛋白。而巨噬细胞吞噬鸡红细胞能力的实验显示,GOP 75~300 mg/kg 组吞噬率显著高于空白对照组和乳清蛋白组,吞噬指数 GOP 75 和 300 mg/kg 组显著优于空白对照组和乳清蛋白组,由此可判定 GOP 可显著增强小鼠单核-巨噬细胞吞噬能力。

单核-吞噬细胞系统是机体适应性免疫系统的重要组成部分,当颗粒状异物注入人血液循环后,颗粒状异物迅速被单核-巨噬细胞清除,主要被存在于肝脏和脾脏中的巨噬细胞所吞噬。小鼠碳廓清实验中测得的碳廓清指数主要反映网状内皮系统的吞噬功能和单核-巨噬细胞的吞噬能力。而腹腔巨噬细胞是腹腔局部免疫的第一道防线,对防止腹腔感染具有重要作用。此外,巨噬细胞还是一类抗原递呈细胞,能够摄取、加工处理抗原,并将抗原递呈给淋巴细胞,可以辅助和调节 T、B 细胞识别抗原并对抗原产生应答。本研究中单核-巨噬细胞吞噬能力的提高说明 GOP 具有提高机体抗感染的能力。NK 细胞是不同于 T、B 淋巴细胞的第三类淋巴细胞,其不表达特异性抗原识别受体,是反应机体固有免疫功能的重要指标。NK 细胞可直接杀伤肿瘤和病毒感染的靶细胞,在机体免疫监视和早期抗感染免疫过程中起重要作用。NK 细胞活化后,还可以分泌 INF- γ 和 TNF- α 等细胞因子,产生免疫调节作用。与 Yang 等^[17]结果相似,本研究中 GOP 对 NK 细胞活性的影响在较低剂量组效果更好,GOP 37.5、75 mg/kg 组小鼠 NK 细胞活性显著高于空白对照组和乳清蛋白组,GOP 150 mg/kg 组小鼠 NK 细胞活性有高于空白对照组的趋势,由此可以判定 GOP 可增强小鼠 NK 细胞活性。

总之,GOP 能够增强机体的免疫功能,具备作为一种新型免疫力增强制剂的潜力,有关其免疫调节作用机制有待于进一步研究与探讨,从而为进一步开发 GOP 的保健作用提供理论依据。

4 结论

实验表明,GOP 可以通过增强细胞免疫功能和体液免疫功能,提高适应性免疫功能,通过增强单核-巨噬细胞吞噬功能和 NK 细胞活性,提高固有免疫功能,从而起到增强免疫力的作用。

致谢:北京大学医学部公共卫生学院毒理学系魏雪涛副教授在实验室工作和动物处理过程中给予支持与帮助,本课题组熊梦昀、鲍雷、蔡夏夏、李祥、孙彬、李迪、李慧、祝德营、顾娇娇、姜燕飞、毛瑞雪、武欣、王楠、刘灿、孙靖琴同学在动物饲养和处理过程中给予帮助。

参考文献(References)

- [1] 霍卫. 人参国际市场需求保持增长[N]. 中国医药报: 数据时空, 2014-07-24.
Huo Wei. Ginseng international market demand to maintain growth[N]. China Pharmaceutical News: Data Ttemporal, 2014-07-24.

- [2] Hou J P. The chemical constituents of ginseng plants[J]. Comparative Medicine East and West, 1977, 5(2): 123-145.
- [3] Ando T, Muraoka T, Yamasaki N, et al. Preparation of anti-lipolytic substance from *Panax ginseng*[J]. Planta Medica, 1980, 38(1): 18-23.
- [4] 张今, 赵宗健. 人参中氨基酸及多肽的研究[J]. 高等学校化学学报, 1985, 6(4): 376-377.
Zhang Jin, Zhao Zongjian. A study on amino acids and peptides in Ginseng[J]. Chemical Journal of Chinese Universities, 1985, 6(4): 376-377.
- [5] 张今, 杜文媛, 张红缨, 等. 胰岛素样人参肽的氨基酸序列测定[J]. 吉林大学自然科学学报, 1988(4): 75-78.
Zhang Jin, Du Wen'ai, Zhang Hongying, et al. The assay of amino acid sequence of ginseng insulin-like peptide[J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Jilinensis, 1988(4): 75-78.
- [6] 张今, 杜文媛, 张红缨, 等. 人参多肽的提纯与氨基酸序列测定[J]. 科学通报, 1988(12): 952-954.
Zhang Jin, Du Wenyuan, Zhang Hongying, et al. The purification of ginseng polypeptides and their amino acid sequence determination[J]. Chinese Science Bulletin, 1988(12): 952-954.
- [7] Kajiwara H, Hemmings A M, Hirano H. Evidence of metal binding activities of pentadecapeptide from *Panax ginseng*[J]. Journal of Chromatography B: Biomedical Applications, 1996, 687(2): 443-448.
- [8] Yagi A, Akita K, Ueda T, et al. Effect of a peptide from *Panax ginseng* on the proliferation of baby hamster kidney-21 cells[J]. Planta Medica, 1994, 60(2): 171-174.
- [9] Wang B X, Yang M, Jin Y L, et al. Studies on the hypoglycemic effect of ginseng polypeptide[J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 1990, 25(6): 401-405.
- [10] Wang B X, Yang M, Jin Y L, et al. Studies on the mechanism of ginseng polypeptide induced hypoglycemia[J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 1990, 25(10): 727-731.
- [11] 金军华, 张延, 李怡, 等. 人参、人参多肽及降糖4号对大鼠胰岛功能的影响[J]. 中国老年保健医学, 2007, 5(1): 10-11.
Jin Junhua, Zhang Yan, Li Yi, et al. Effects of ginseng, ginseng polypeptides and hypoglycemic No. 4 on islet function in rats[J]. Chinese Journal of Geriatric Care, 2007, 5(1): 10-11.
- [12] 李勇. 肽临床营养学[M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2012.
Li Yong. Peptide clinical nutrition[M]. Beijing: Peking University Medical Press, 2012.
- [13] 中华人民共和国卫生部. 保健食品检验与评价技术规范[S]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 2003.
People's Republic of China Ministry of Health. Technical standards for testing & assessment of health food[S]. Beijing: People's Republic of China Ministry of Health, 2003.
- [14] 杨睿悦. 海洋寡肽及其配伍的免疫调节作用和机制研究[D]. 北京: 北京大学, 2009.
Yang Ruiyue. Effects of marine oligopeptide and its combination on immune function and the possible mechanisms[D]. Beijing: Peking University, 2009.
- [15] 杨睿悦, 张佳丽, 王楠, 等. 海洋蛋白肽和核苷酸配伍对小鼠免疫调节作用[J]. 中华预防医学杂志, 2010, 26(1): 89-91.
Yang Ruiyue, Zhang Jiali, Wang Nan, et al. Immunomodulatory effect of marine protein peptides combined with nucleotides in mice[J]. China Journal of Public Health, 2010, 26(1): 89-91.
- [16] Constant S L, Bottomly K. Induction of Th1 and Th2 CD⁴⁺ T cell responses: The alternative approaches[J]. Annual Review of Immunology, 1997, 15(1): 297-322.
- [17] Yang R Y, Zhang Z F, Pei X R, et al. Immunomodulatory effects of marine oligopeptide preparation from Chum Salmon (*Oncorhynchus keta*) in mice[J]. Food Chemistry, 2009, 113(2): 464-470.

(编辑 田恬)

·学术动态·



中国科学技术协会

中国科协第2期青年科技创新沙龙在北京召开

2015年8月8日,由中国科协常委会青年工作专委会、中国科协组织人事部主办,主题为“围绕脑科学与认知科学,推动学科交叉与协同创新”的中国科协第2期青年科技创新沙龙在中国科技馆举办,中国青年科技奖获得者、中国科学院数学与系统科学研究院研究员吕金虎主持沙龙,40余名一线科研人员与会交流。

围绕沙龙主题,中国人工智能学会理事长、中国工程院院士李德毅作“脑认知的形式化”特邀报告,中国科技法学会会长段瑞春作“产学研协同创新战略思考”特邀报告。北京航空航天大学计算机学院教授陈小武作“数据驱动的可视内容智能计算”互动报告,中国科学院生物物理研究所副所长刘力作“小果蝇,大乾坤”互动报告,中国科学院微电子研究所研究员刘明作“新型存储器技术”互动报告。

详见中国科协网 <http://www.cast.org.cn/n35081/n35473/n35518/16598166.html>。