

海参寡肽:免疫调节作用及机制研究

何丽霞,陈启贺,刘睿,任金威,孙彬,李林,徐腾,王军波,张召锋,李勇

北京大学公共卫生学院,北京 100191

摘要 为研究海参寡肽对小鼠的免疫调节作用及机制,试验选取250只SPF级雌性BALB/c小鼠,随机分为5组:空白对照组,乳清蛋白组(0.30 g/kg),0.15、0.30、0.60 g/kg海参寡肽组。连续灌胃30 d后,通过测定ConA诱导的小鼠淋巴细胞转化实验、迟发型变态反应、抗体生成细胞、血清溶血素水平、小鼠碳廓清实验、小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞实验、自然杀伤(NK)细胞活性,观察海参寡肽对小鼠细胞免疫、体液免疫、单核-巨噬细胞吞噬和NK细胞活性的影响,并通过流式细胞术对脾脏T淋巴细胞亚群进行分析。结果表明:海参寡肽显著提高了小鼠细胞免疫、体液免疫、单核-巨噬细胞吞噬功能及NK细胞活性($P<0.05$),且效果优于乳清蛋白。通过T淋巴细胞亚群分析表明,海参寡肽显著提高了脾脏CD3⁺百分比和CD4⁺百分比($P<0.05$)。由此可知,海参寡肽可能通过增加T淋巴细胞数和Th细胞比例,介导细胞免疫、体液免疫功能、单核-巨噬细胞吞噬能力和NK细胞活性的增强作用,起到增强免疫功能的效果。

关键词 海参寡肽;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;T淋巴细胞

近年来,生物活性肽对人体健康的影响倍受关注,其在生物体的提取及在人体的应用研究已成为研究者关注的焦点。免疫调节肽已被认为是改善人体免疫功能低下最有潜力的替代传统药物的生物活性肽。海参是属棘皮动物门(Echinodermata)海参纲(Holothuroidea)的海洋棘皮动物,全世界海参约有1100种,中国有140多种,可食用的约20种;其营养与药用价值极高,与人参、燕窝、鱼翅齐名,是世界八大珍品之一^[1]。据《本草纲目拾遗》中记载:海参,味甘咸,补肾,益精髓,摄小便,壮阳疗痿,其性温补,足敌人参,故名海参。干燥的海参体壁中含有许多生物活性物质和营养物质,如有机成分中含有高达90%的蛋白质和多肽,约6%的多(寡)糖和4%脂质^[2],且含有钙、镁、锌、铁等多种微量元素,维生素A、维生素B₁、维生素B₂、烟酸等维生素^[3],是一种高蛋白质、低脂肪、低胆固醇及高维生素和矿物质的优质功能性食品。研究表明海参具有多种生物学活性,可以抗癌、抗炎、抗肿瘤、抗氧化、抗血栓形成、抗菌、免疫调节和促进伤口愈合^[1,3,4]。

以鲜活海参为原料,经海参蛋白酶水解,分离纯化后得到的以小分子肽为主的蛋白质水解产物即为海参寡肽,具有良好的溶解性、稳定性和较低的黏度,有广阔的应用前景。但国内外有关海参寡肽的报道较少,研究也仅停留在海参寡肽的提取工艺上,有关其功能和应用方面的研究很少。本试验旨在研究海参(*Codonopsis pilosula*)寡肽对小鼠的免疫调节

作用,为其进一步应用提供科学基础。

1 材料与方法

1.1 样品

海参寡肽(SOP),利用生物酶解技术从辽参,即党参(*Codonopsis pilosula*),酶解得到的小分子生物活性肽。淡黄色固体粉末,由吉林肽谷生物工程有限责任公司提供,经高效液相色谱纯化后,用质谱仪对其分子量分布进行分析可知,其主要以小分子寡肽为主,相对分子量小于1000的占89.44%。

1.2 试验动物及处理

健康SPF级BALB/c雌性小鼠250只,6~8周龄,体重18~22 g,由北京大学医学部实验动物中心提供。分笼饲养,每笼5只。适应期后按体重随机分为5组:空白对照组、乳清蛋白组(0.30 g/kg)和0.15、0.30、0.60 g/kg SOP组,每个组再随机分为5个亚组(每组10只)。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SOP水溶液。各组小鼠均给以普通饲料,自由饮食、饮水。每天灌胃1次,连续灌胃30 d。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12 h/12 h光暗周期节律。

1.3 7项免疫试验测定方法

试验主要通过4个方面对SOP的免疫调节作用进行测

收稿日期:2015-09-16;修回日期:2016-02-29

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,陈启贺,刘睿,等.海参寡肽:免疫调节作用及机制研究[J].科技导报,2016,34(11):42-47;doi:10.3981/j.issn.1000-7857.2016.11.007

定:细胞免疫功能、体液免疫功能、单核-巨噬细胞吞噬功能和NK细胞活性,其中包括7项免疫试验,测定方法参照《保健食品检验与评价技术规范(2003年版)》^[9]进行。

1.3.1 小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞实验

取第1亚组每组10只小鼠,腹腔注射20%(体积分数,生理盐水配制)鸡红细胞悬液1 mL。间隔30 min,颈椎脱臼处死,经腹腔注入生理盐水2 mL,轻揉腹部20次后,切开腹壁吸出腹腔洗液1 mL,分滴于2片载玻片上,37℃ CO₂培养箱温育30 min,经漂洗,晾干,固定,染色30 min后,再用蒸馏水漂洗晾干。油镜下计数,每张片计数100个巨噬细胞,计算吞噬百分率和吞噬指数。

吞噬率(%)=吞噬鸡红细胞的巨噬细胞数×100/计数的巨噬细胞数。

吞噬指数=被吞噬的鸡红细胞总数/计数的巨噬细胞数。

1.3.2 迟发型变态反应、血清溶血素的测定、抗体生成细胞检测

取第2亚组每组10只小鼠,腹腔注射0.2 mL 2%(体积分数)绵羊红细胞(SRBC)免疫小鼠,4 d后用游标卡尺测量左后足跖部厚度,然后在测量部位皮下注射20 μL 20%(体积分数)SRBC,注射后24 h测量左后足跖部厚度,差值表示迟发型变态反应能力(足跖增厚法)。摘除眼球采血,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。

1.3.3 小鼠碳廓清实验

取第3亚组每组10只小鼠,按体重从小鼠尾静脉注入稀释的印度墨汁(100 mL/kg),注入墨汁后2、10 min,分别从内眦静脉丛取血20 μL,立即加到2 mL 0.1% Na₂CO₃溶液中。在600 nm波长处测光密度值(OD)。将小鼠处死,取肝脏和脾脏称重。计算吞噬指数(α),来表示小鼠碳廓清的能力。

$$k = (\lg OD_1 - \lg OD_2) / (t_2 - t_1),$$

$$\alpha = \text{体重} \times \sqrt[3]{k} / (\text{肝重} + \text{脾重}).$$

式中,OD₁为注入墨汁2 min后采血测定的OD值,OD₂为注入

墨汁10 min后采血测定的OD, t₁为2 min, t₂为10 min。

1.3.4 ConA诱导的小鼠淋巴细胞转化实验、自然杀伤(NK)细胞活性测定

取第4亚组每组10只小鼠,无菌取脾,磨碎,200目筛网过滤,Hank's液洗2次,悬浮于RPMI 1640完全培养液(含10%小牛血清)中计数。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)。

1.4 流式细胞术测定脾脏T淋巴细胞亚群比例

取第5亚组每组10只小鼠脾脏,按上述方法制备浓度为1×10⁶个/mL的脾细胞悬液。每份样品编2支试管,每管加细胞悬液100 μL,再分别加入CD3、CD4、CD8a不同荧光素标记的抗小鼠单克隆抗体,室温避光孵育20 min进行染色。每管加入1 mL细胞染色缓冲液(cell staining buffer)洗涤2次,加入300 μL cell staining buffer,用流式细胞仪检测CD3⁺T细胞及CD4⁺、CD8⁺T细胞亚群百分比,以对照管作为空白定标,每份样品收集10000个细胞,记录并分析样品各荧光通道的Pi的阳性细胞百分比。使用BDCellQuest软件包收集数据,计算时减去非特异性染色对照,以排除死细胞及碎片。

1.5 统计方法

数据均以平均值±标准差表示。采用SPSS17.0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法对多组平均值进行post-hoc分析,方差不齐者以Dunnett's T3法对多组平均值进行post-hoc分析。以P<0.05为差异显著性标准。

2 结果

2.1 SOP对小鼠体重和免疫器官相对重量的影响

由表1可知,各组小鼠初始体重、终末体重、脾脏指数和胸腺指数均无显著差异(P>0.05)。但SOP 0.15 g/kg组小鼠终末体重有高于乳清蛋白组的趋势(P=0.055)。

表1 SOP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 sea cucumber oligopeptide on relative weight of immune organs of mice ($\bar{x} \pm s$, n=10)

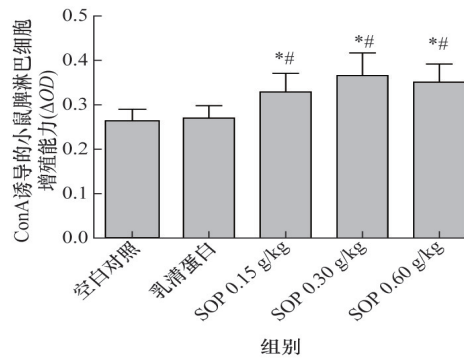
组别	初始体重/g	终末体重/g	脾脏指数/(mg·g ⁻¹)	胸腺指数/(mg·g ⁻¹)
空白对照组	18.80±1.10	20.66±1.44	4.55±0.49	1.71±0.41
乳清蛋白组	18.77±0.81	20.06±1.07	4.50±0.64	1.52±0.38
SOP 0.15 g/kg组	18.81±1.25	21.07±0.58	4.67±0.26	1.79±0.47
SOP 0.30 g/kg组	18.79±0.95	20.21±1.37	4.35±0.36	1.80±0.55
SOP 0.60 g/kg组	18.80±1.17	20.32±1.05	4.67±0.33	1.47±0.43

注:脾脏指数=脾脏/体重;胸腺指数=胸腺/体重。

2.2 SOP对小鼠细胞免疫功能的影响

2.2.1 ConA诱导的小鼠脾淋巴细胞增殖能力

由图1可知, SOP 0.15、0.30、0.60 g/kg组 ConA 诱导的小鼠脾淋巴细胞增殖能力显著高于空白对照组和乳清蛋白组 ($P < 0.05$)。



*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($P < 0.05$)。下同。

图1 SOP对ConA诱导的小鼠脾淋巴细胞增殖能力的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Fig. 1 Effects of sea cucumber oligopeptides on proliferation response of mouse spleen cells to ConA ($\bar{x} \pm s, n=10$)

2.2.2 迟发型变态反应能力

由图2可知,与空白对照组比较,乳清蛋白组、SOP 0.15、0.30、0.60 g/kg组均显著提高了小鼠迟发型变态反应能力 ($P < 0.05$),且SOP 0.30、0.60 g/kg组小鼠迟发型变态反应能力显著优于乳清蛋白组 ($P < 0.05$)。

由图2可知, SOP 0.15、0.30和0.60 g/kg可显著提高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SOP 0.30、0.60 g/kg效果显著优于乳清蛋白。因此可以判定SOP具有促进小鼠细胞免疫功能的作用。

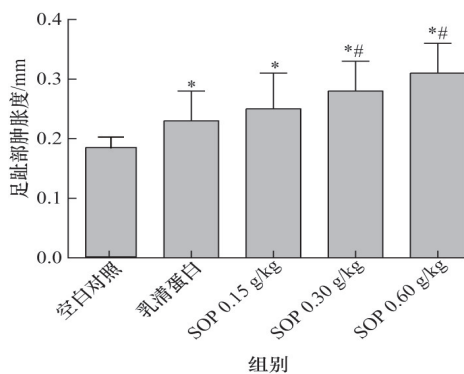


图2 SOP对小鼠迟发型变态反应能力的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Fig. 2 Effects of sea cucumber oligopeptides on delayed-type hypersensitivity of mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

2.3 SOP对小鼠体液免疫功能的影响

本试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SOP在小鼠体液免疫功能中的作用进行了观察,结果见图3和图4。

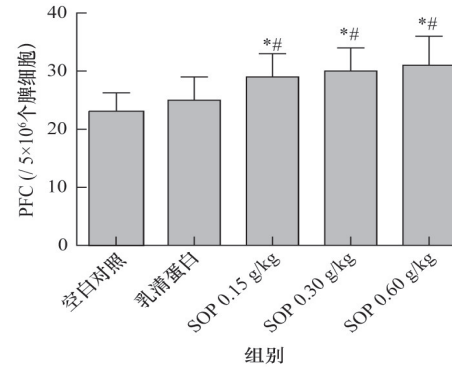


图3 SOP对小鼠抗体生成细胞的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Fig. 3 Effects of sea cucumber oligopeptides on IgM-PFC in mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

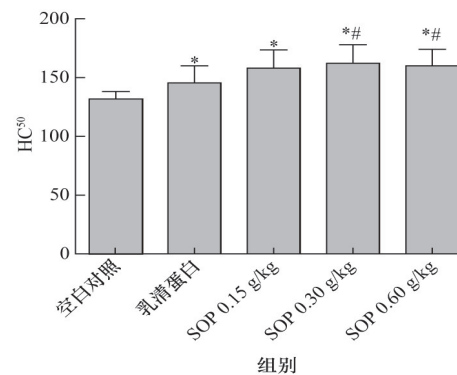


图4 SOP对小鼠血清溶血素含量的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Fig. 4 Effects of sea cucumber oligopeptides on serum HC_{50} in mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

由图3可知,3个SOP剂量组小鼠的抗体生成细胞数(溶血空斑数)均显著高于空白对照组和乳清蛋白组 ($P < 0.05$);乳清蛋白组小鼠的抗体生成细胞数有高于空白对照组的趋势 ($P=0.093$)。

由图4可知,乳清蛋白组和3个SOP剂量组小鼠血清溶血素含量均显著高于空白对照组 ($P < 0.05$),SOP 0.30、0.60 g/kg组显著高于乳清蛋白组 ($P < 0.05$),SOP 0.15 g/kg组有高于乳清蛋白组的趋势 ($P=0.077$)。

由此提示,SOP可显著增强小鼠的体液免疫功能,且效果优于乳清蛋白。

2.4 SOP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SOP对小鼠单核-巨噬细胞吞噬功能的影响,结果见图5。

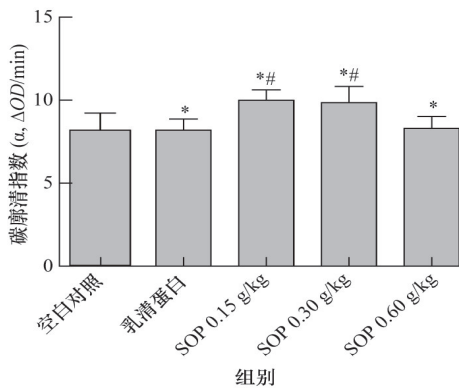
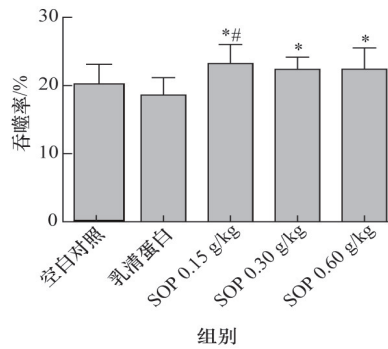
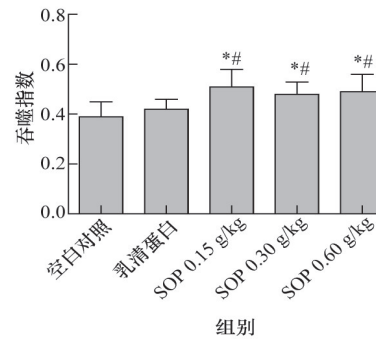


图5 SOP对小鼠碳廓清指数的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Fig.5 Effects of sea cucumber oligopeptides on the index α in carbon clearance assay in mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)



(a) 吞噬率



(b) 吞噬指数

图6 SOP对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Fig. 6 Effects of sea cucumber oligopeptides on peritoneal macrophage phagocytosis in mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

表2 SOP对小鼠NK细胞活性的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Effects of sea cucumber oligopeptides on NK cell activity in mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	NK细胞活性/%
空白对照组	33.29±8.35
乳清蛋白组	44.55±12.07
SOP 0.15 g/kg组	49.71±21.66
SOP 0.30 g/kg组	52.30±14.32*
SOP 0.60 g/kg组	54.34±23.94*

由图5可知,与空白对照组比较,乳清蛋白、SOP 0.15、0.30、0.60 g/kg均可显著提高小鼠碳廓清能力($P<0.05$)。其中SOP 0.15、0.30 g/kg组均显著高于乳清蛋白组($P<0.05$)。

由图6可知,与空白对照组比较,SOP 0.15、0.30、0.60 g/kg均可显著提高巨噬细胞吞噬鸡红细胞的吞噬率和吞噬指数($P<0.05$),其中SOP 0.15 g/kg组显著高于乳清蛋白组($P<0.05$)。SOP 0.30、0.60 g/kg组吞噬指数显著高于乳清蛋白组($P<0.05$)。

由此说明,SOP可显著增强小鼠单核-巨噬细胞吞噬功能,效果优于乳清蛋白。

2.5 SOP对小鼠NK细胞活性的影响

由表2可知,SOP 0.30、0.60 g/kg组小鼠NK细胞活性显著高于空白对照组($P<0.05$),说明SOP可以增强小鼠NK细胞活性。

2.6 SOP对小鼠脾脏T淋巴细胞亚群的影响

由表3可知,SOP 0.30、0.60 g/kg组小鼠脾脏CD3⁺T细胞和CD3⁺CD4⁺T细胞亚群百分比显著高于空白对照组($P<0.05$),且SOP 0.30 g/kg组显著高于乳清蛋白组($P<0.05$)。同时,乳清蛋白组和SOP 0.15 g/kg组小鼠脾脏CD3⁺CD4⁺T细胞亚群百分比有高于空白对照组的趋势($P=0.061, P=0.060$)。各组CD3⁺CD8⁺T细胞亚群百分比无显著差异($P>0.05$)。乳清蛋白组和SOP 0.30 g/kg组CD4⁺/CD8⁺比值显著高于空白对照组($P<0.05$),而SOP 0.15 g/kg组有提高的趋势($P=0.064$)。同时,乳清蛋白组CD4⁺/CD8⁺比值有高于SOP 0.60 g/kg组的趋势($P=0.052$)。

表3 SOP对小鼠脾脏T淋巴细胞亚群的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 Effects of sea cucumber oligopeptides on splenic T lymphocyte subpopulations in mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	CD3 ⁺ /%	CD3 ⁺ CD4 ⁺ /%	CD3 ⁺ CD8 ⁺ /%	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
空白对照组	42.71±2.38	27.81±1.43	15.16±2.55	1.82±0.18
乳清蛋白组	44.15±4.19	29.53±2.32	14.37±2.26	2.08±0.20*
SOP 0.15 g/kg组	44.52±3.14	29.61±1.77	14.03±2.16	2.02±0.22
SOP 0.30 g/kg组	47.74±3.64**	31.55±1.51**	15.45±2.60	2.10±0.36*
SOP 0.60 g/kg组	46.31±3.81*	29.87±2.29*	15.76±2.19	1.87±0.21

3 讨论

相对于蛋白质,生物活性肽相对分子质量小,生物活性高,少量的肽能发挥重要作用;相对于氨基酸,其吸收机制优于氨基酸,且具有肽独有的独特的生理调节功能。研究表明,海洋生物活性肽具有多种生物学功能,如杨睿悦等^[6]研究表明,海洋寡肽可增强小鼠的细胞免疫及体液免疫功能,具有良好的免疫调节功能。作为一种海洋生物活性肽,SOP酶解自具有高营养价值的党参(*Codonopsis pilosula*),主要成分为小分子寡聚肽,其可能具有成为良好的免疫调节剂的潜力。为此,本试验对SOP在免疫方面的调节作用进行了研究。因单纯的蛋白质摄入增加存在影响机体免疫功能的可能性,所以本试验选取了易消化吸收、具有高生物学效价、含多种活性物质、具有抗菌、抗病毒、抗氧化、降血脂、调节免疫等作用的乳清蛋白作为第二对照。乳清蛋白的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。本研究通过将SOP与乳清蛋白进行比较,排除单纯增加蛋白质摄入引起的假阳性结果,获得SOP对于免疫系统的调节作用是否基于寡肽的作用。本研究表明,SOP未对小鼠体重及免疫器官相对重量产生显著影响,说明SOP对小鼠不存在毒副作用。从细胞免疫试验结果看,SOP显著提高了ConA诱导的小鼠脾淋巴细胞增殖能力和迟发变态反应能力,且效果优于乳清蛋白。这说明SOP具有促进小鼠细胞免疫功能的作用,且这种作用的关键在于寡肽。这与杨睿悦等^[6]的研究一致。在体液免疫试验方面,SOP显著提高了抗体生成细胞数和血清溶血素的含量,效果同样优于乳清蛋白,说明SOP同样具有促进小鼠体液免疫功能的作用。这与谢永玲等^[7]的研究结果相似,研究表明灌胃小鼠250 mg/kg海参多肽(含海参多肽>56%,海参多糖>3%,蛋白质>80%)30 d可显著提高小鼠半数溶血值和溶血空斑数。其研究同时显示,83、250 mg/kg海参多肽可显著提高小鼠单核-巨噬细胞吞噬指数、NK细胞活性,与本试验的结果类似。

T淋巴细胞能够协调免疫反应过程,并在细胞免疫反应中起关键作用^[8]。CD3⁺ T淋巴细胞主要包含两个淋巴细胞亚群:辅助性T细胞(Th细胞,CD4⁺)和抑制性/细胞毒性T细胞(Tc细胞,CD8⁺)。CD4⁺/CD8⁺是评价免疫系统稳态的关键性指标,比值降低反映免疫系统功能被破坏。CD4⁺T细胞又能被分为两种不同的效应细胞:Th1和Th2。其中Th1细胞分泌炎症性细胞因子,如白介素(IL)-2、IL-12、干扰素- γ (IFN- γ)、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)和肿瘤坏死因子(TNF),激活巨噬细胞、NK细胞,介导细胞免疫反应;Th2细胞分泌IL-4、IL-5、IL-6和IL-10等细胞因子,介导体液免疫或过敏反应^[9-14]。因此,在本试验中,SOP对CD3⁺T、CD4⁺T淋巴细胞亚群的百分比及CD4⁺/CD8⁺的增加,使Th1和Th2细胞增加,引起相应细胞因子分泌增加,从而诱导细胞免疫反应和体液免疫反应功能增强。而乳清蛋白对CD4⁺T淋巴细胞亚群百分比的升高趋势及对CD4⁺/CD8⁺的显著增加,同样贡

献于其对迟发变态反应能力和血清溶血素的显著提高,但其作用效果差于SOP。显著增加的Th1细胞分泌较高水平的细胞因子,从而对巨噬细胞和NK细胞的激活起到较强烈的作用,使得SOP对小鼠巨噬细胞吞噬能力和NK细胞活性显著增强,而乳清蛋白对CD4⁺T淋巴细胞亚群百分比的升高趋势及对CD4⁺/CD8⁺的显著增加仅显著增加了小鼠的碳廓清能力,在腹腔巨噬细胞吞噬功能和NK细胞活性的提高上未表现出明显作用。

由此可知,SOP能够显著增强机体的免疫功能,作为一种新型免疫增强剂具有良好的应用前景,有关其免疫调节作用机制有待于进一步研究与探讨。

4 结论

本试验研究表明,SOP可能通过增加T淋巴细胞数和Th细胞比例,介导细胞免疫功能、体液免疫功能、单核-巨噬细胞吞噬能力和NK细胞活性的增强作用,从而起到增强免疫功能的效果。

参考文献(References)

- [1] 何丽霞,李勇. 海参寡肽生物学功能研究进展[J]. 食品科学, 2015(9): 215-218.
He Lixia, Li Yong. Biological functions and applications of sea cucumber peptide[J]. Food Science, 2015(9): 215-218.
- [2] Olivera-Castillo L, Perez-Vega J, Gomez-Ruiz J, et al. Release of bioactive peptides by simulated gastrointestinal digestion of sea cucumber protein (*Isostichopus Badionotus*)[J]. Annals of Nutrition and Metabolism, 2011, 58: 121.
- [3] Bordbar S, Anwar F, Saari N. High-value components and bioactives from sea cucumbers for functional foods—a review[J]. Mar Drugs, 2011, 9(10): 1761-1805.
- [4] Perez-Vega J A, Olivera-Castillo L, Gomez-Ruiz J A, et al. Release of multifunctional peptides by gastrointestinal digestion of sea cucumber (*Isostichopus badionotus*)[J]. Journal of Functional Foods, 2013, 5(2): 869-877.
- [5] 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.
- [6] Yang R, Zhang Z, Pei X, et al. Immunomodulatory effects of marine oligopeptide preparation from Chum Salmon (*Oncorhynchus keta*) in mice [J]. Food Chemistry, 2009, 113: 464-470.
- [7] 谢永玲,张明月,张静,等. 海参寡肽对小鼠的免疫调节作用[J]. 中国海洋药物, 2009(4): 43-45.
Xie Yongling, Zhang Mingyue, Zhang Jing, et al. Immunomodulation of lower polypeptide from sea cucumber in mice[J]. Chinese Journal Marine Drugs, 2009, 113: 464-470.
- [8] Ahmed A, Saha B, Patwardhan A, et al. The major players in adaptive immunity: 2. Cell-mediated immunity[J]. Resonance, 2009, 14(5): 610-621.
- [9] Constant S L, Bottomly K. Induction of Th1 and Th2 CD4⁺ T cell responses: the alternative approaches[J]. Annual Review Immunology,

- 1997, 15: 297-322.
- [10] Raphael I, Nalawade S, Eagar T N, et al. T cell subsets and their signature cytokines in autoimmune and inflammatory diseases[J]. Cytokine, 2015, 74(1): 5-17.
- [11] Romagnani S. The Th1/Th2 paradigm[J]. Immunology Today, 1997, 18(6): 263-266.
- [12] Kobayashi M, Fitz L, Ryan M, et al. Identification and purification of natural killer cell stimulatory factor (NKSf), a cytokine with multiple biologic effects on human lymphocytes[J]. Journal of Experimental Medicine, 1989, 170(3): 827-845.
- [13] Rossol S, Marinos G, Carucci P, et al. Interleukin-12 induction of Th1 cytokines is important for viral clearance in chronic hepatitis B [J]. Journal of Clinical Investigation, 1997, 99(12): 3025-3033.
- [14] Gately M K, Wolitzky A G, Quinn P M, et al. Regulation of human cytolytic lymphocyte responses by interleukin-12[J]. Cell Immunology, 1992, 143(1): 127-142.

Sea cucumber oligopeptides: Immunomodulatory effects and its mechanism

HE Lixia, CHEN Qihe, LIU Rui, REN Jinwei, SUN Bin, LI Lin, XU Teng, WANG Junbo, ZHANG Zhaofeng, LI Yong

School of Public Health, Peking University, Beijing 100191, China

Abstract To investigate the immunomodulatory effects of sea cucumber oligopeptides and their mechanisms, a total of 250 specific pathogen free (SPF) female BALB/c mice are randomly divided into 5 groups: the control group, the whey protein group (with 0.30 g/kg of whey protein) and the groups with 0.15, 0.30 and 0.60 g/kg of sea cucumber oligopeptides. The experiment takes 30 days. To determine the cell-mediated immunity, the humoral immunity, the macrophage phagocytosis and the natural killer (NK) cell activity in mice, the splenic lymphocyte proliferation and the delayed-type hypersensitivity assays (for the cell-mediated immunity), the IgM antibody response of spleen to sheep red blood cells (SRBC) and the serum hemolysin level assays (for the humoral immunity), the carbon clearance assay and the phagocytic capacity of peritoneal cavity phagocytes assays (for the macrophage phagocytosis) and the NK cell activity assays are performed. Furthermore, the flow cytometry is used to determine the T lymphocyte subsets. The results showed that the sea cucumber oligopeptides significantly increase the cell-mediated immunity, the humoral immunity, the macrophage phagocytosis and the NK cell activity in mice ($P < 0.05$), and the effects are better than those of the whey protein. From the flow cytometry, it is observed that the sea cucumber oligopeptides significantly enhance the percentages of CD3⁺ and CD4⁺ ($P < 0.05$). In conclusion, the sea cucumber oligopeptides could increase the T lymphocyte cell number and the Th cell proportion to enhance the functions of the cell-mediated immunity, the humoral immunity, the macrophage phagocytosis and the NK cell activity, and furthermore to improve the immune functions in mice.

Keywords sea cucumber oligopeptides; immune function; cell-mediated immunity; humoral immunity; macrophage phagocytosis; natural killer cell activity; T lymphocyte

(编辑 田恬)