

# 鹿皮胶氨基酸成分及其药食同源组方的免疫增强作用

靳梓微<sup>1</sup>, 张荣华<sup>1</sup>, 赵春娇<sup>1</sup>, 张腾月<sup>2</sup>, 宋岩<sup>2</sup>, 李银清<sup>1\*</sup>

(1. 长春中医药大学药学院, 吉林长春 130117) (2. 长春中医药大学临床学院, 吉林长春 130117)

**摘要:** 该文研究了不同鹿皮胶氨基酸成分及其药食同源组方对免疫抑制小鼠免疫功能的改善作用。采用氨基酸自动分析仪检测不同鹿皮胶的氨基酸成分进行综合评价, 观察不同组别小鼠体重、免疫器官指数、免疫因子水平、迟发型超敏变态反应、血清溶血素、碳廓清实验、腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞实验和空肠病理变化。结果显示, 鹿皮胶中含有 17 种氨基酸, 总量在 68.47~69.82 g/100 g。甘氨酸含量最高 (17~18 g/100 g), 半胱氨酸含量最低 (0.15~0.3 g/100 g), 鹿皮胶样品 3 评分最高。鹿皮胶药食同源方不同剂量 (0.7、1.4、2.8 g/kg) 均显著提高胸腺指数 (2.36、2.47、2.51 mg/g)、脾脏指数 (5.43、5.84、5.94 mg/g)、碳颗粒清除 (5.22、5.30、5.66)、血清溶血素水平 (47.87、50.6、53.4)、巨噬细胞吞噬指数 (0.34、0.35、0.36) 和吞噬率 (43.20%、44.57%、44.87%) 和免疫因子 IgA (133.40、134.34、146.81 pg/mL)、IgG (121.83、129.83、133.58 pg/mL)、IgM (200.44、204.58、214.4 pg/mL)、IFN- $\gamma$  (109.55、110、113.75)、TNF- $\alpha$  (173.80、176.79、179.14 pg/mL)、IL-4 (164.26、172.04、208.85 pg/mL), 耳肿胀度显著下降 (5.91、5.46、5.55 mg), 空肠粘膜屏障损伤被改善。综上, 鹿皮胶具有丰富的氨基酸, 其药食同源组方具有免疫增强作用, 为鹿皮胶开发保健食品提供新思路。

**关键词:** 鹿皮胶; 氨基酸; 药食同源; 免疫功能

文章编号: 1673-9078(2025)01-37-46

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.1.0035

## Amino Acid Composition of Deer Skin Gelatin and the Immune-enhancing Effects of Its Drug-food Homologous Prescription

JIN Ziwei<sup>1</sup>, ZHANG Ronghua<sup>1</sup>, ZHAO Chunjiao<sup>1</sup>, ZHANG Tengyue<sup>2</sup>, SONG Yan<sup>2</sup>, LI Yinqing<sup>1\*</sup>

(1.School of Pharmacy, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

(2.School of Clinic, Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

**Abstract:** Different deer skin gelatin samples of amino acid compositions were investigated and its drug-food homologous prescription was used to study immunomodulatory effects on immune-suppressed mice. Amino acid composition was comprehensively analyzed using an amino acid analyzer. Various parameters, including body weight, immune organ indices, immune factor levels, delayed-type hypersensitivity, serum hemolysin, carbon clearance assay, peritoneal macrophage phagocytosis of chicken red blood cells, and jejunal histopathological changes, were observed in different mouse groups.

引文格式:

靳梓微,张荣华,赵春娇,等.鹿皮胶氨基酸成分及其药食同源组方的免疫增强作用[J].现代食品科技,2025,41(1):37-46.

JIN Ziwei, ZHANG Ronghua, ZHAO Chunjiao, et al. Amino acid composition of deer skin gelatin and the immune-enhancing effects of its drug-food homologous prescription [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(1): 37-46.

收稿日期: 2024-01-09

基金项目: 吉林省科技发展项目 (20210204007YY)

作者简介: 靳梓微 (1999-), 女, 硕士, 研究方向: 中药健康产品研究与开发, E-mail: 1714203336@qq.com

通讯作者: 李银清 (1981-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 中药及分子药理学, E-mail: liagh@foxmail.com

The results revealed that deer skin gelatin contains 17 amino acids, with a total content ranging from 68.47 to 69.82 g/100 g. Glycine had the highest content (17~18 g/100 g), while cysteine had the lowest (0.15~0.3 g/100 g), with sample 3 scoring the highest. Different doses of deer skin gelatin (0.7, 1.4, and 2.8 g/kg) in traditional medicine formulations significantly increased the thymus index (2.36, 2.47, and 2.51 mg/g), spleen index (5.43, 5.84, and 5.94 mg/g), carbon particle clearance (5.22, 5.30, and 5.66), serum hemolysin levels (47.87, 50.6, and 53.4), macrophage phagocytosis index (0.34, 0.35, and 0.36), phagocytosis rate (43.20%, 44.57%, and 44.87%), and immunological factors IgA (133.40, 134.34, and 146.81 pg/mL), IgG (121.83, 129.83, and 133.58 pg/mL), IgM (200.44, 204.58, and 214.4 pg/mL), IFN- $\gamma$  (109.55, 110, and 113.75 pg/mL), TNF- $\alpha$  (173.80, 176.79, 179.14 pg/mL), and IL-4 (164.26, 172.04, and 208.85 pg/mL). Meanwhile, ear swelling degree significantly decreased (5.91, 5.46, and 5.55 mg), and ileal mucosal barrier damage was improved. In conclusion, deer skin gelatin possesses rich amino acid content, and its traditional medicine formulations exhibit immunomodulatory effects, which provides new ideas for the development of healthy food.

**Key words:** deer skin gelatin; amino acids; medicine and food are homologous; immune function

鹿皮胶是被贵州地方药材标准《贵州省中药、民族药饮片标准》收录，用鹿科动物马鹿（*C. elaphus*）和梅花鹿（*C. nippon*）的干燥皮或鲜皮经煎煮浓缩而成的固体胶类<sup>[1,2]</sup>。《北京市中药炮制规范》<sup>[3]</sup>中提到鹿皮胶对补气益血，涩肾虚精，强体健筋有显著的作用。同时，现代研究证明鹿皮胶可治疗物理和化学因素导致的血虚证<sup>[4,5]</sup>，提高小鼠吞噬细胞活性，提高免疫力<sup>[6]</sup>。

氨基酸是维持生命的基本组成，是构成机体蛋白的基本单位，参与许多代谢过程，可以维持健康和预防疾病，广泛应用于食品、医药领域<sup>[7]</sup>。鹿皮胶作为鹿皮加工制成的动物药，其主要成分是蛋白质和氨基酸，具有较高的生物学价值。早在1991年由世界卫生组织和联合国粮食及农业组织联合推出氨基酸评估标准模型起，氨基酸模式表现为人体蛋白质和食物蛋白质模式相似程度和机体对必需氨基酸的利用率，被用于评价食品蛋白质营养价值<sup>[8,9]</sup>。与阿胶相比，鹿皮胶蛋白质含量较高，部分具有药理作用的氨基酸含量高于阿胶<sup>[10]</sup>，从补充机体所需营养物质出发，其也具有一定的开发价值。已有研究分析了鹿皮胶氨基酸成分含量，但大多样品单一，仅检测氨基酸成分，未见氨基酸模式比较分析。

随着社会人口老龄化进程加速，亚健康群体和慢性疾病不断增加，人们对健康方面的需求逐渐提高，使保健食品行业的发展进入一个新的发展期<sup>[11]</sup>。在“健康中国”背景下，以药食同源中药材为原料开发研究保健食品，符合社会健康发展的需求。因此，将鹿皮胶与药食同源药材联合，开发增强免疫功能的保健食品具有重要意义，能够适用于大多数服用人群且不会产生毒副作用。为此，本研究通过分析鹿皮胶氨基酸成分，并对其药食同源组方的免

疫作用进行探究，以期为使用鹿皮胶开发保健食品提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

氨基酸混标（批号：013-08391），和光纯药工业株式会社；鹿皮胶（样品1、2、3，分别采用清水、碱水、小苏打浸泡后煎煮制得）、鹿皮胶药食同源方（党参、黄精和玉竹煎煮过滤药液，加入鹿皮胶样品3混匀融化浓缩制得），实验室自制；鹿皮，长春世鹿鹿业集团有限公司；党参、黄精、玉竹，吉林省北药中药制药集团有限公司；盐酸、柠檬酸钠、氢氧化钠，国药集团化学试剂有限公司；食用麻油；二硝基氟苯（DNFB）、环磷酰胺、 $\phi=2\%$ 鸡红细胞，上海源叶生物科技有限公司；碳酸钠，上海麦克林生化科技有限公司；小牛血清、Hank's、印度墨汁、营养琼脂、吉姆萨染料，索莱宝科技有限公司；2%压积羊红细胞；ELSIA试剂盒，上海酶联生物科技有限公司；丙酮，成都市克隆化学品有限公司。

### 1.2 仪器与设备

LA8080氨基酸自动分析仪，日本株式会社日立高新技术科学；EYEL4 SLI-700恒温培养箱，东京理化器械；UPT-II-10T优普超纯水机，四川优普超纯科技有限公司；TGL16E台式高速冷冻离心机，长沙英泰仪器有限公司；infinite M200 Pro酶标仪，瑞士迪肯公司；电热恒温水浴锅，天津天泰仪器有限公司。

### 1.3 实验动物

健康成年雌性BALB/c小鼠，SPF级，体质量

(20±2) g, 购自长春市亿斯实验动物技术有限责任公司, 生产许可证号: SCXK-(吉)2020-0002。饲料购买于长春市亿斯实验动物技术有限责任公司, 生产许可证号: SCXK-(吉)2020-0001。实验动物使用许可证号: SYXK-(吉)2018-0014。小鼠饲养于无菌动物房中(温度:(23±2)℃, 湿度:50%±5%, 12 h 照明光暗循环)。所有动物可以自由摄取 SPF 级饮用水和饲料。

## 1.4 鹿皮胶氨基酸含量测定

### 1.4.1 标准溶液的制备

精密称量各氨基酸对照品置于 25 mL 容量瓶中, 用柠檬酸钠缓冲液定容, 混匀, 配成一定质量浓度的混合对照品溶液, 4℃保存备用。

### 1.4.2 鹿皮胶样品的制备

称取鹿皮胶 25 mg, 加入体积分数为 50% 盐酸溶液 10 mL, 110℃水解 22 h, 冷却至室温。将水解液过滤, 少量多次水冲洗水解管, 转移至 25 mL 容量瓶中, 定容摇匀。吸取 0.5 mL 滤液移入至 15 mL 试管内, 氮气吹干, 0.02 mol/L 盐酸溶液定容至 10 mL, 振荡混匀后, 过 0.22 μm 微孔滤膜后, 即得。

### 1.4.3 测定条件

参考 GB/T 5009.124 及文献<sup>[12,13]</sup>, 磺酸型阳离子树脂色谱柱, 柱温 57℃, 反应温度 135℃, 泵 1 与泵 2 流速分别为 0.400、0.350 mL/min, 检测波长 570 和 440 nm, 进样量 20 μL。

### 1.4.4 氨基酸营养价值评价

以世界卫生组织(WHO)和联合国粮农组织(FAO)提出的 WHO/FAO 模式为评价标准, 采用氨基酸比值(RAA)系数法按照公式(1)、(2)、(3)计算 RAA、比值系数(RC)和比值系数得分(SRC)对鹿皮胶的氨基酸含量进行综合分析<sup>[14]</sup>。

$$B = \frac{a_n}{A_n} \times 100\% \quad (1)$$

$$D = \frac{B_n}{A_v} \times 100\% \quad (2)$$

$$E = 100 - H \times 100 \quad (3)$$

式中:

$B$ —氨基酸比值系数(RAA);

$a_n$ —样品中某一必需氨基酸含量的质量分数, %;

$A_n$ —FAO/WHO 氨基酸模式中某一氨基酸含量, %;

$D$ —比值系数(RC);

$B_n$ —样品某一必需氨基酸的 RAA 值;

$A_v$ —样品中各必需氨基酸 RAA 平均值;

$E$ —比值系数得分(SRC);

$H$ —RC 的相对标准差(RSD)。

## 1.5 动物实验设计

### 1.5.1 动物分组及受试物给予

将 120 只小鼠随机分成 6 组, 适应性饲养 7 d, 称量并记录小鼠体质量, 随机分为空白组、模型组(环磷酰胺)、鹿皮胶药食同源方高剂量组 2.8 g/(kg·bw) (相当于人体每日服用生药量 0.47 g/kg)、鹿皮胶药食同源方中剂量组 1.4 g/(kg·bw)、鹿皮胶药食同源方低剂量组 0.7 g/(kg·bw)、鹿皮胶阴性对照组 2.4 g/(kg·bw)。每日按照 20 mL/kg 定时灌胃, 给药组分别给与阴性对照组、中、高剂量, 空白组和模型组每天灌胃相同体积的生理盐水, 连续灌胃 30 d。剩余各组在第 28~30 天, 连续腹腔注射 75 mg/(kg·bw) 的环磷酰胺溶液建立小鼠免疫低下模型, 空白组在第 28~30 天注射相同体积的生理盐水, 造模结束后开始后续处理<sup>[15]</sup>。

### 1.5.2 体重和免疫器官指数

适应性饲养 7 d 后, 各组小鼠体质量作为初始体质量, 造模结束后的体质量作为最终体质量, 计算体质量变化。小鼠脱颈处死后, 取胸腺和脾脏称重, 按照式(4)和(5)计算器官指数。

$$T = \frac{m_t}{m} \quad (4)$$

$$S = \frac{m_s}{m} \quad (5)$$

式中:

$T$ —胸腺指数, mg/g;

$m_t$ —胸腺质量, mg;

$S$ —脾脏指数, mg/g;

$m_s$ —脾脏质量, mg/g;

$m$ —小鼠最终体质量, g。

### 1.5.3 肠道组织病理分析

取各组小鼠空肠组织分别于质量分数为 4% 多聚甲醛与卡诺氏固定液中固定, 石蜡包埋、切片, 分别进行 HE 染色及 AB-PAS 染色, 显微镜下进行观察并采集照片, 观察病例变化情况。

### 1.5.4 免疫蛋白及炎症相关因子含量测定

各组小鼠眼眶取血, 室温放置至上层血清析出, 4℃、3 000 r/min 离心 10 min, 获得血清。按照试

剂盒说明书中操作流程, 检测免疫蛋白 IgA、IgG、IgM 及炎症相关因子 IL-4、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  含量。

### 1.5.5 迟发型超敏变态反应

参考张明昊等<sup>[16]</sup>方法略作修改, 称取适量 DNFB, 溶于丙酮麻油溶液(丙酮:麻油=1:1), 配置成质量浓度为 10 mg/mL 的 DNFB 溶液。各组小鼠将腹部剃毛, 涂抹 50  $\mu$ L 的 DNFB 溶液, 5 d 后再次涂抹 10  $\mu$ L 在小鼠右耳两面。24 h 后脱颈处死, 剪下左右耳片, 计算质量之差为肿胀度 (mg)。

### 1.5.6 血清溶血素水平测定

参考马薇薇等<sup>[17]</sup>方法稍作调整。实验前 4 d, 每只小鼠腹腔注射体积分数为 2% 压积羊红细胞 0.2 mL 进行免疫。眼眶取血于离心管内, 静止使上层血清充分析出, 低温离心 (3 000 r/min, 4  $^{\circ}$ C) 10 min, 收集上层。生理盐水稀释血清, 吸取 100  $\mu$ L 稀释后的血清于微量血凝实验板中, 再加入等体积的体积分数为 0.5% 压积羊红细胞悬液, 混匀后装入湿润的平盘内, 加盖, 于 37  $^{\circ}$ C 孵育 3 h。观察血球凝集度, 计算抗体积数。

### 1.5.7 小鼠碳廓清实验

各组小鼠末次给药 24 h 后, 小鼠尾静脉注射 0.1 mL/10 g 印度墨汁 (生理盐水稀释 4 倍), 立即计时, 分别于 2 min ( $T_1$ ) 和 10 min ( $T_2$ ) 时内眦静脉丛各取血 20  $\mu$ L, 与 2 mL 质量分数为 0.1% 碳酸钠溶液混合。在 600 nm 波长下测定 OD 值, 取 2 mL 质量分数为 0.1% 的  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  作空白。采血后颈椎脱位法处死小鼠, 解剖取出小鼠的肝脏、脾脏并称重, 按式 (6)、(7) 计算吞噬指数<sup>[18]</sup>。

$$K = \frac{\lg OD_1 - \lg OD_2}{T_1 - T_2} \quad (6)$$

$$\alpha = \frac{W_0}{W_L + W_S} \times \sqrt[3]{K} \quad (7)$$

式中:

$K$ ——斜率表示吞噬速度;

$\lg OD_1$ —— $T_1$  时小鼠血的 OD 值;

$\lg OD_2$ —— $T_2$  时小鼠血的 OD 值;

$\alpha$ ——吞噬指数;

$W_0$ ——小鼠体质量, g;

$W_L$ ——小鼠肝重, g;

$W_S$ ——小鼠脾重, g;

$T_1$ ——第一次取血时间值;

$T_2$ ——第二次取血时间值。

### 1.5.8 小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞实验

参考赵红先等<sup>[19]</sup>方法进行调整, 实验前 4 d, 每只小鼠腹腔注射体积分数为 2% 压积羊红细胞 0.2 mL 激活巨噬细胞。颈椎脱臼法处死小鼠, 腹腔注射加小牛血清的 Hank's 液 4 mL/只, 轻轻按揉腹部, 腹壁剪口, 吸取腹腔洗液 0.5 mL 加入盛有 0.5 mL 体积分数为 1% 鸡红细胞悬液的试管内, 混匀。吸取 0.5 mL 混合液, 加入玻片的琼脂圈内, 放置孵箱内 37  $^{\circ}$ C 孵育 20 min。结束后迅速用生理盐水漂洗晾干, 于甲醇液中固定, Giemsa 染液染色, 用蒸馏水冲洗, 显微镜下观察, 按式 (8)、(9) 计数吞噬率和吞噬指数。

$$P = \frac{N_1}{N_0} \times 100\% \quad (8)$$

$$I = \frac{N_2}{N_0} \quad (9)$$

式中:

$P$ ——吞噬率, %;

$N_1$ ——吞噬鸡红细胞的巨噬细胞数;

$N_0$ ——计数的巨噬细胞总数;

$I$ ——吞噬指数;

$N_2$ ——被吞噬的鸡红细胞总数。

## 1.6 数据统计与分析

使用 OriginPro 2021 和 SPSS 20.0 进行统计分析。所有的数据以平均值  $\pm$  标准差表示, 采用单因素方差分析 (ANOVA) 分析组间差异,  $P < 0.05$  时结果被认为具有统计显著性。

## 2 结果与讨论

### 2.1 鹿皮胶中各组氨基酸含量及营养价值评价

鹿皮胶中不同种类氨基酸含量测定结果见表 1, 共检测出 17 种氨基酸, 不同的鹿皮胶样品在氨基酸种类组成上基本一致, 总含量介于 68.47~69.82 g/100 g。包括 7 种必需氨基酸、1 种婴儿必需氨基酸和 9 种非必需氨基酸。其中非必需氨基酸含量大于必需氨基酸, 鹿皮胶样品中总必需氨基酸含量由高到低为样品 3 > 样品 1 > 样品 2, 样品 3 最高为 13.11 g/100 g。甘氨酸含量最高, 半胱氨酸含量最低, 与张磊等<sup>[10]</sup>研究结果一致。3 个样品鹿皮胶中甘氨酸、脯氨酸和丙氨酸含量较多。它们均为胶原蛋白主要组成氨基酸, 胶原蛋白是动物药中特异性蛋白<sup>[12]</sup>, 可作为重要的动物蛋白来源, 侧面证明鹿皮胶与阿

胶相似, 可将胶原蛋白作为主要活性成分<sup>[20]</sup>。总必需氨基酸比总氨基酸含的质量分数(E/T)为18%~20%, 与文献<sup>[10]</sup>中总必需氨基酸质量分数17.65%相比稍高, 总必需氨基酸比总非必需氨基酸的质量分数(E/N)为22%~23%, 鹿皮胶样品3的E/T和E/N值均为最大, 表明不同浸泡方式会对鹿皮胶的氨基酸组成产生影响, 经小苏打浸泡后煎煮得到的鹿皮胶中氨基酸含量最丰富。

使用WHO/FAO标准氨基酸模式对鹿皮胶进行综合评价, 结果表2可以看出, 与WHO/FAO标准模式相比, 各鹿皮胶样品中各类氨基酸均低于标准模式值。表3可知, 3个样品中苏氨酸、赖氨酸和酪氨酸+苯丙氨酸的RC值均大于1, 缬氨酸和亮氨酸的RC接近或等于1, 异亮氨酸、半胱氨酸+蛋氨酸的RC值均小于1。说明鹿皮胶中赖氨酸、

苏氨酸、苯丙氨酸+酪氨酸与标准模式更加接近。苏氨酸可以缓解疲劳和促进生长发育; 苯丙氨酸经过体内苯丙氨酸羟化酶催化后转化为酪氨酸, 也可与酪氨酸一起合成糖代谢和脂肪代谢中重要的神经递质和激素<sup>[14]</sup>; 赖氨酸促进胰岛素的产生, 进而降低人体血糖, 同时合成肉毒碱, 将不饱和脂肪酸转化为能量, 产生甘油三酯参与脂肪代谢过程<sup>[21]</sup>。此外, 3个样本中赖氨酸RC值最大(1.51、1.50、1.42), 半胱氨酸+蛋氨酸RC值最小(0.67、0.57、0.57), 可确定半胱氨酸+蛋氨酸为第一限制氨基酸, 可有针对性的搭配使用蛋氨酸+半胱氨酸含量过剩或赖氨酸缺失的食品, 提高蛋白质的整体生物利用率。说明经过不同浸泡处理后的3个鹿皮胶样品中氨基酸模式评分结果由小到大: 碱水<清水<小苏打, 小苏打浸泡后制得的鹿皮胶最优, SRC值最大为73.74。

表1 鹿皮胶各氨基酸含量结果(g/100g)

Table 1 Results of amino acid content of deer skin glue

氨基酸名称	鹿皮胶 1	鹿皮胶 2	鹿皮胶 3	氨基酸名称	鹿皮胶 1	鹿皮胶 2	鹿皮胶 3
天冬氨酸(Asp)	4.50	4.54	4.62	酪氨酸(Tyr)	0.65	0.65	0.73
苏氨酸(Thr)	1.57	1.57	1.46	苯丙氨酸(Phe)	1.64	1.69	1.78
丝氨酸(Ser)	2.21	2.26	2.20	赖氨酸(Lys)	3.01	2.96	2.82
谷氨酸(Glu)	7.40	7.47	7.61	组氨酸(His)	0.52	0.52	0.54
甘氨酸(Gly)	17.7	17.9	17.3	精氨酸(Arg)	6.05	6.17	5.75
丙氨酸(Ala)	7.46	7.50	7.34	脯氨酸(Pro)	10.4	10.5	10.0
半胱氨酸(Cys)	0.30	0.23	0.17	T	69.25	69.82	68.47
缬氨酸(Val)	1.79	1.79	1.82	E	13.01	12.96	13.11
蛋氨酸(Met)	0.55	0.49	0.55	N	56.24	56.86	55.36
异亮氨酸(Ile)	1.11	1.14	1.20	E/T%	18.79	18.56	19.15
亮氨酸(Leu)	2.39	2.44	2.58	E/N%	23.13	22.79	23.68

注: T为总氨基酸, E为总必需氨基酸, N为总非必需氨基酸, E/T表示总必需氨基酸比总氨基酸的质量分数, E/N为总必需氨基酸比总非必需氨基酸的质量分数。

表2 鹿皮胶中必需氨基酸与WHO/FAO标准模式比较(%)

Table 2 Comparison of essential amino acids in deer skin glue with WHO/FAO standard mode (%)

种类	苏氨酸(Thr)	缬氨酸(Val)	半胱氨酸+蛋氨酸(Cys+Met)	异亮氨酸(Ile)	亮氨酸(Leu)	酪氨酸+苯丙氨酸(Tyr+Phe)	赖氨酸(Lys)
WHO/FAO标准模式	4.0	5.0	3.5	4.0	7.0	6.0	5.5
鹿皮胶样品1	2.27	2.58	1.23	1.60	3.45	3.31	4.35
鹿皮胶样品2	2.25	2.56	1.03	1.63	3.49	3.35	4.24
鹿皮胶样品3	2.13	2.66	1.05	1.75	3.77	3.67	4.12

表 3 鹿皮胶中必需氨基酸的RAA、RC和SRC比较

Table 3 Comparison of RAA, RC, and SRC of essential amino acids in deer skin glue

种类		苏氨酸 (Thr)	缬氨酸 (Val)	半胱氨酸+蛋氨酸 (Cys+Met)	异亮氨酸 (Ile)	亮氨酸 (Leu)	酪氨酸+苯丙氨酸 (Tyr+Phe)	赖氨酸 (Lys)	SRC
鹿皮胶 样品 1	RAA	0.57	0.52	0.35	0.40	0.49	0.55	0.79	73.06
	RC	1.08	0.99	0.67	0.76	0.94	1.05	1.51	
鹿皮胶 样品 2	RAA	0.56	0.51	0.29	0.41	0.50	0.56	0.77	71.45
	RC	1.09	1.00	0.57	0.79	0.97	1.08	1.50	
鹿皮胶 样品 3	RAA	0.53	0.53	0.30	0.44	0.54	0.61	0.75	73.74
	RC	1.01	1.01	0.57	0.83	1.02	1.16	1.42	

## 2.2 鹿皮胶药食同源方对体质量、免疫器官指数的影响

表 4 各实验组小鼠体质量变化表

Table 4 Changes in body weight of mice in each experimental group

处理	动物数 /只	始重 /g	终重 /g	增重 /g
正常组	20	20.42 ± 0.87	20.55 ± 0.79	0.13 ± 0.18
模型组	20	20.13 ± 0.54	20.38 ± 0.42	-0.25 ± 0.29
低剂量组	20	20.95 ± 0.50	21.27 ± 0.65	0.32 ± 0.36
中剂量组	20	20.92 ± 0.69	21.57 ± 0.78	0.65 ± 0.82
高剂量组	20	20.42 ± 0.93	21.12 ± 0.53	0.7 ± 0.81
阴性对照组	20	19.85 ± 0.65	20.22 ± 1.03	0.36 ± 0.5

由表 4 可知，各剂量组与模型组 (-0.25 g) 比较，小鼠增重量 (0.32、0.65、0.7、0.36 g) 均无显著性差异 ( $P>0.05$ )，即鹿皮胶药食同源方对小鼠体重无显著影响。胸腺和脾脏是主要的免疫器官，免疫指数与免疫力呈正相关，由图 1 可见，模型组与正常组相比 2 项脏器指数 (1.74、4.74 mg/g) 显著下降 ( $P<0.01$ )。与模型组相比，阴性对照组胸腺指数 (2.24 mg/g) 显著上升 ( $P<0.05$ )，脾脏指数 (5.23 mg/g) 上升但无显著差异，鹿皮胶药食同源方不同剂量组胸腺指数 (2.36、2.47、2.51 mg/g) 和脾脏指数 (5.43、5.84、5.94 mg/g) 均显著上升 ( $P<0.01$ )。张行等<sup>[22]</sup>研究结果也表明鹿皮胶具有显著提高胸腺和脾脏指数 (2.53、5.46 mg/g) 的作用，胸腺指数略高于药食同源组方中高剂量组，脾脏指数低于药食同源组方不同剂量组。表明鹿皮胶药食同源组方可以帮助免疫器官的生长和发育，体现药食同源组方的优势。

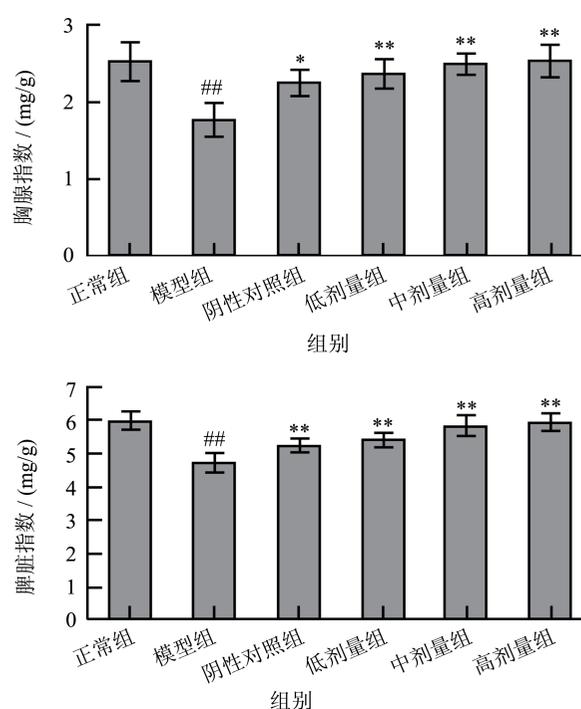


图 1 不同剂量组对小鼠器官指数的影响

Fig.1 Effect of different dose groups on mouse organ index

注：与正常组相比，#表示  $P<0.05$ ，##表示  $P<0.01$ ；与模型组相比，\*表示  $P<0.05$ ，\*\*表示  $P<0.01$ 。（下同）。

## 2.3 鹿皮胶药食同源方对肠道粘膜屏障的影响

肠道作为免疫系统不可缺少的一部分，由黏液层、上皮屏障和肠道血管屏障构成，其粘膜屏障可以起到提供营养和抵御病毒、环境毒素的作用<sup>[23]</sup>。各组空肠组织染色情况，见图 2。HE 染色结果表明正常组小鼠的空肠组织结构形态完整，绒毛紧密且排列整齐，无明显病变；模型组小鼠的空肠组织结构明显损伤，绒毛稀疏、萎缩变短甚至断裂，肠壁损伤。经过不同给药组灌胃后，肠道粘膜绒毛长度明显恢复、排列整齐，肠壁组织修复，结构趋于完

整。AB-PAS 染色结果显示相较于正常组，模型组小鼠的杯状细胞数量明显减少，肠道组织疏松损伤；不同给药组与模型组相比，肠道组织损伤改善，杯状细胞数量增多。由病理切片结果可知，鹿皮胶药

食同源方可以对环磷酰胺造成的肠道粘膜屏障损伤起到一定修复作用，与不含鹿皮胶的阴性对照组相比，效果更加明显。

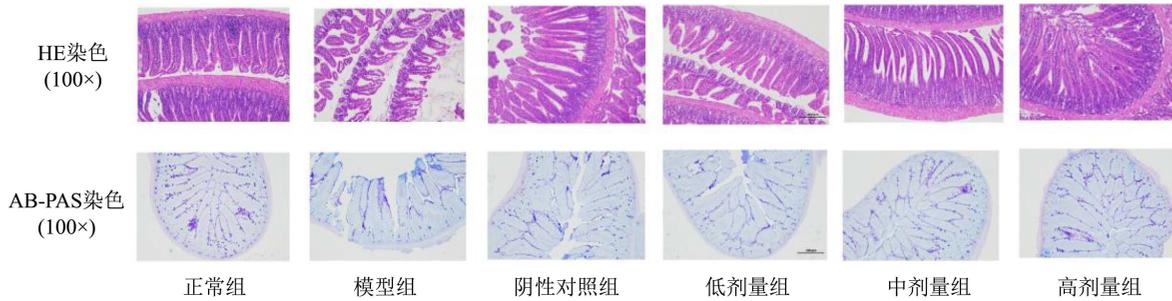


图 2 不同剂量组对肠道粘膜屏障的影响

Fig.2 Effect of different dose groups on the intestinal mucus barrier

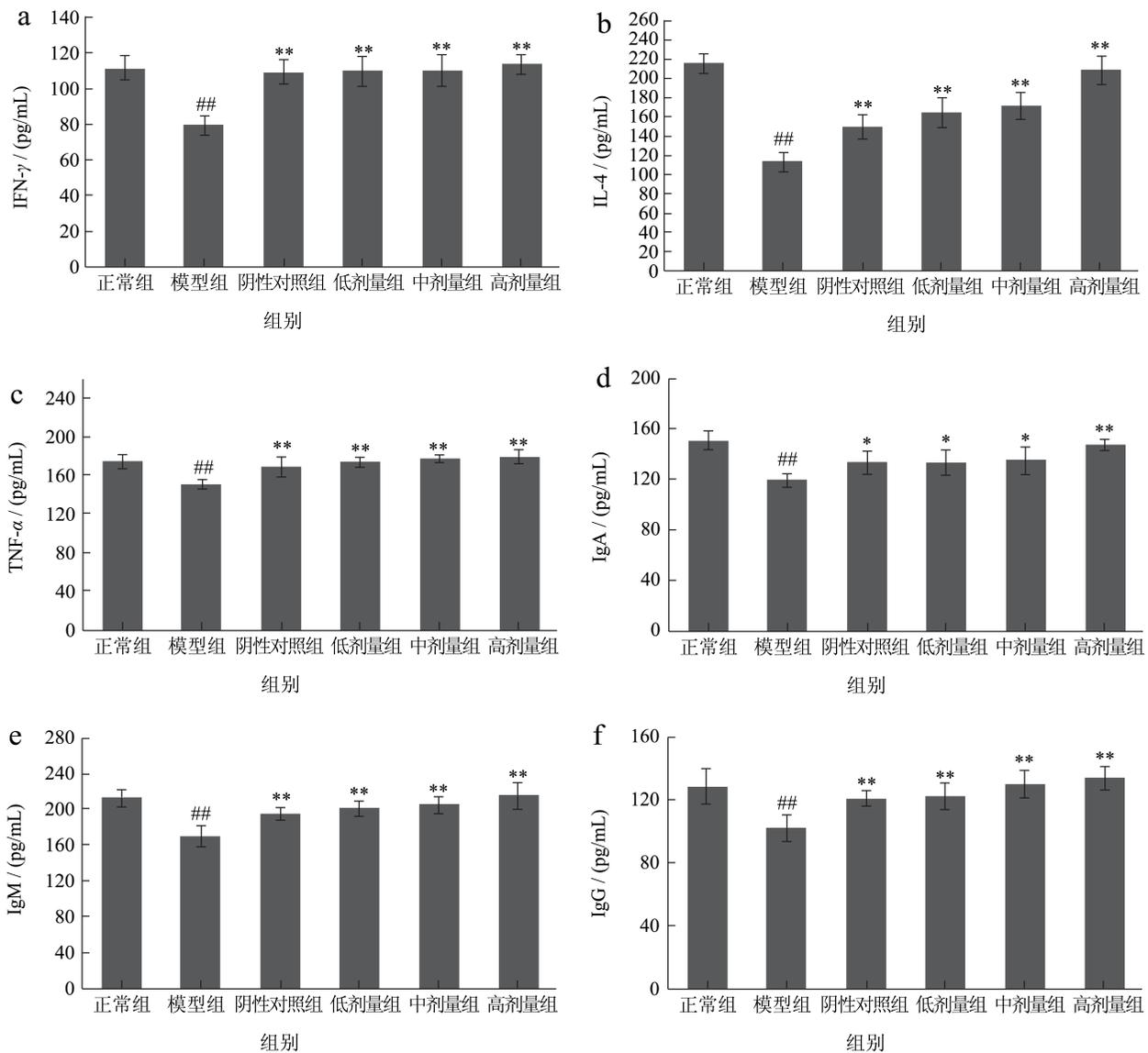


图 3 不同剂量组对免疫蛋白及炎症相关因子的影响

Fig.3 Effects of different dose groups on immune proteins and inflammation-related factors

## 2.4 鹿皮胶药食同源方对免疫蛋白及炎症相关因子的影响

TNF- $\alpha$  和 IFN- $\gamma$  参与细胞免疫应答, IL-4、IgA、IgG 和 IgM 与机体体液免疫功能密切相关。它们均由 Th1/Th2 细胞分泌产生, 在人体免疫系统中发挥不同的作用, 维持机体 Th1/Th2 处于相对平衡的状态, 避免 Th1/Th2 失调导致肿瘤、自身免疫疾病等<sup>[24,25]</sup>。图 3 与文献报道一致<sup>[26]</sup>, 环磷酸腺苷造模后小鼠的 IL-4、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IgM、IgA 和 IgG 水平 (114.24、79.35、150.57、169.53、118.87、113.62 pg/mL) 均显著下降 ( $P<0.01$ )。阴性对照组、药食同源组各剂量组与模型组比较, 对 IL-4 (149.64、164.26、172.04、208.85 pg/mL)、IFN- $\gamma$  (109.06、109.55、110.00、113.75 pg/mL)、TNF- $\alpha$  (169.10、173.80、176.79、179.14 pg/mL)、IgM (194.74、200.44、204.58、214.40 pg/mL) 和 IgG (120.33、121.83、129.83、133.58 pg/mL) 水平均有不同程度升高, 具有显著差异 ( $P<0.01$ ); 阴性对照组和鹿皮胶药食同源方低中剂量组对 IgA (133.37、133.40、134.34 pg/mL) 水平显著提升 ( $P<0.05$ ), 尤其高剂量组 (146.81 pg/mL) 效果更加明显 ( $P<0.01$ )。与张行等<sup>[22]</sup>研究 IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-4 水平 (127.45、121.58、18.39 pg/mL) 相比药食同源组方更优, 说明与单独服用鹿皮胶比较, 鹿皮胶药食同源方在增强机体发挥细胞免疫和体液免疫方面的作用更加明显。

## 2.5 鹿皮胶药食同源方对迟发型超敏变态反应的影响

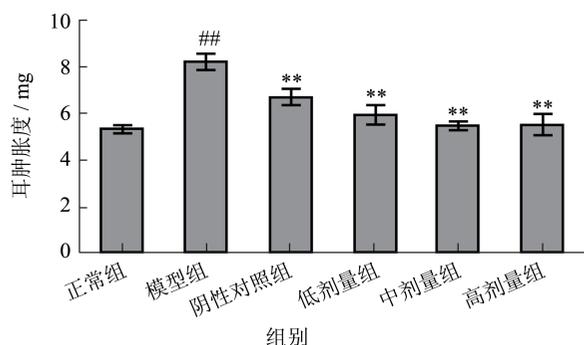


图 4 不同剂量组对迟发型超敏变态反应的影响

Fig.4 Effect of different dose groups on delayed-type hypersensitivity allergies

小鼠耳廓涂抹部位均出现明显损伤、表皮粗糙、厚度增加、伴随结痂和肿胀。不同剂量组对小鼠耳

肿胀度的影响结果见图 4, 与正常组相比, 模型组小鼠的耳肿胀度 (8.22 mg) 明显升高 ( $P<0.01$ )。阴性对照组和各剂量组对小鼠耳廓损伤情况 (6.68、5.91、5.46、5.55 mg) 有不同程度改善作用, 与模型组比较, 表现出明显差异 ( $P<0.01$ )。因此, 鹿皮胶药食同源方可以通过调节特异性免疫有效防止外界刺激对免疫低下小鼠的攻击, 发挥抗炎和增强免疫功能作用。

## 2.6 鹿皮胶药食同源方对血清溶血素水平的影响

血清溶血素是体液免疫过程中, 机体收到外界抗原刺激而产生的特异性抗体, 通过与抗原结合增强免疫功能, 是常用于评价机体免疫功能的一项重要指标, 其水平高低体现了机体生成特异抗体的能力<sup>[27]</sup>。根据图 5 结果可知, 与正常组相比模型组血清溶血素水平 (32.80) 明显降低 ( $P<0.01$ ), 给药后, 阴性对照组和各剂量组血清溶血素水平 (40.87、47.87、50.60、53.40) 均表现出明显增加 ( $P<0.01$ )。说明鹿皮胶药食同源方相较于阴性对照可以更有效刺激机体溶血素生成, 增强体液免疫功能。

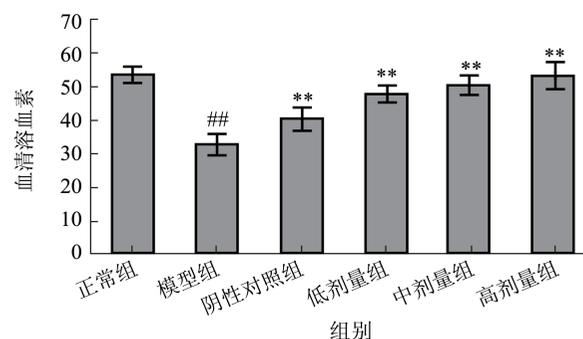


图 5 不同剂量组对血清溶血素的影响

Fig.5 Effect of different dose groups on serum hemolysin

## 2.7 鹿皮胶药食同源方对小鼠碳廓清实验的影响

根据图 6 结果显示与空白组相比模型组吞噬指数 (3.44) 降低, 表明小鼠清除能力显著下降 ( $P<0.01$ ), 与模型组相比, 阴性对照组及鹿皮胶药食同源方各剂量组 (4.35、5.22、5.30、5.67) 均有不同程度增加, 可以显著提高其吞噬指数 ( $P<0.01$ ), 说明鹿皮胶药食同源方比阴性对照在小鼠的清除碳颗粒的能力上表现出较大的优势。

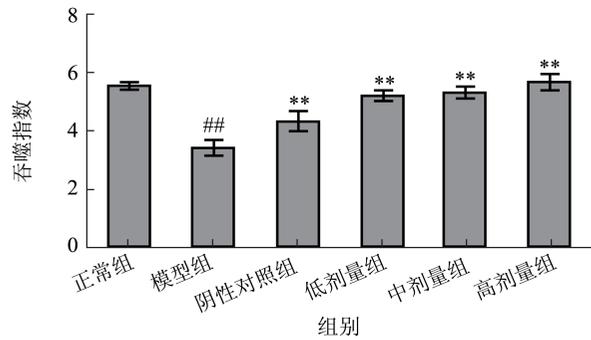


图6 不同剂量组对小鼠碳廓清功能的影响

Fig.6 Effect of different dosage groups on carbon clearance function in mice

2.8 鹿皮胶药食同源方对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞实验的影响

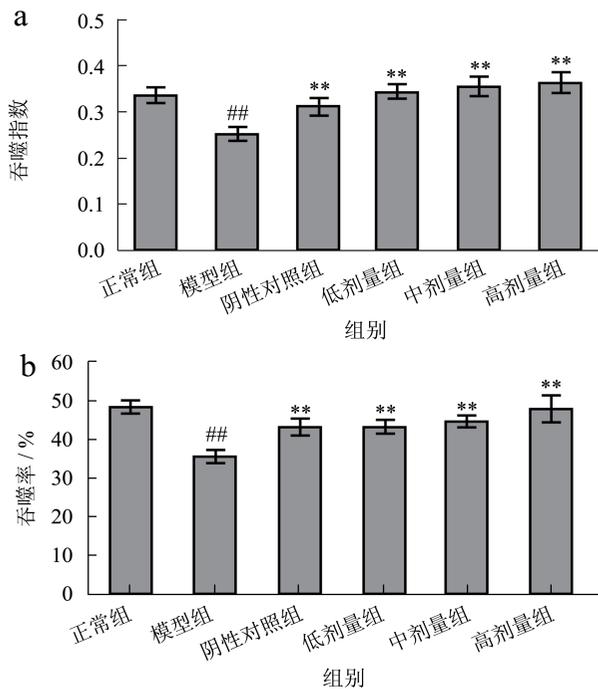


图7 不同剂量组对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞功能的影响

Fig.7 Effects of different dosage groups on the phagocytic function of mouse peritoneal macrophages on chicken red blood cells

巨噬细胞是参与胞葬作用的主要细胞之一，存在于整个生命周期，也是免疫系统中的重要成分，参与清除体内的病原体 and 废物，作为维持免疫功能的重要环节<sup>[28,29]</sup>。由图 7a 可知，与正常组相比，模型组吞噬指数 (0.25) 显著降低 ( $P<0.01$ )，与模型组相比，鹿皮胶药食同源方各剂量组及阴性对照组吞噬指数 (0.34、0.35、0.36、0.31) 均显著增强 ( $P<0.01$ )；由图 7b 可知，与正常组相比，模型

组吞噬率 (34.85%) 显著降低 ( $P<0.01$ )，与模型组相比，各剂量组及阴性对照组吞噬率 (43.20%、44.57%、47.87%、42.88%) 均呈现上升趋势，且效果显著 ( $P<0.01$ )。说明鹿皮胶药食同源方效果优于阴性对照，可以增强巨噬细胞的吞噬能力，从而提高了免疫系统的清除能力。

3 结论

综上所述，鹿皮胶中含有丰富的氨基酸，与胶原蛋白组成相关氨基酸含量更高，第一限制氨基酸为蛋氨酸+半胱氨酸，必需氨基酸中赖氨酸、苏氨酸和苯丙氨酸+酪氨酸更接近标准氨基酸模式。鹿皮胶开发的药食同源组方不仅可以改善环磷酰胺诱导的免疫抑制小鼠肠道粘膜屏障损伤，还可以提高免疫器官指数、调节免疫蛋白及炎症相关因子水平、刺激血清溶血素生成、增强巨噬细胞吞噬能力。且在以上实验的阴性对照组与鹿皮胶药食同源组方比较，更加证明了鹿皮胶与药食同源组方配伍后，进一步增强了免疫功能，体现了鹿皮胶在改善免疫力方面的优势。为鹿皮胶及药食同源组方开发保健食品提供了理论基础。

参考文献

- [1] 贵州省药品监督管理局.贵州省中药、民族药饮片标准[S].
- [2] 吴孟华,黄勇,徐浩坤,等.鹿胶的本草考证[J].中国中药杂志,2020,45(5):1188-1193.
- [3] 北京市卫生局.北京市中药炮制规范[S].
- [4] 郭骏骐,黄晓巍,张永和.鹿皮胶对血虚模型小鼠造血功能及免疫功能的影响[J].中国老年学杂志,2010,30(1):67-68.
- [5] 陆施婷.血虚证实验动物造模及其证候的检测与评价[J].中国中医药信息杂志,2015,22(3):127-131.
- [6] 姜岚,孔欠文,黄冰沁,等.《本草纲目》药食两用的动物药再整理[J].中药材,2019,42(4):945-948.
- [7] KELLY B, PEARCE E L. Amino assets: how amino acids support immunity [J]. Cell Metabolism, 2020, 32(2): 154-175.
- [8] 王艳,王燕萍,崔方,等.3种党参药材氨基酸组成与营养评价分析及品种分类研究[J].时珍国医国药,2021,32(10):2421-2425.
- [9] SUGA H, MURAKAMI K, SASAKI S. Development of an amino acid composition database and estimation of amino acid intake in Japanese adults [J]. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition, 2013, 22(2): 188-199.
- [10] 张磊,王燕华,刘畅,等.驴皮胶及鹿皮胶的化学品质分析

- 与评价[J]. 食品科学,2018,39(22):57-63.
- [11] 齐晓甜,赵春媛,张家祥,等. 中药类保健食品增强免疫力功能评价现状和研究策略[J]. 中国中药杂志,2019,44(5):875-879.
- [12] 宫瑞泽,张磊,刘畅,等. 《中华人民共和国药典》收载的鹿源药材中胶原蛋白对比分析[J]. 药物分析杂志,2020,40(2):373-381.
- [13] GB 5009.124-2016,食品安全国家标准 食品中氨基酸的测定[S].
- [14] 卢柏山,董会,赵久然,等. 不同鲜食玉米品种适采期氨基酸含量分析[J]. 中国农业科技导报,2023,25 (11):132-142.
- [15] 李丹,王文千,李明亮,等. 蜂王浆对免疫功能低下小鼠免疫功能的影响[J]. 食品与发酵工业,2022,48(1):139-145.
- [16] 张明昊,王珍,高一盈,等. 白芍总苷对雷公藤多苷治疗湿疹的增效减毒作用及机制[J]. 中国药房,2023,34(4):444-449,456.
- [17] 马微微,李玟玟,马青,等. 乳双歧杆菌XLTG11对小鼠免疫功能的影响[J]. 食品与发酵工业,2022,48(13):103-107.
- [18] 杨妮,李莹,朱嘉文,等. 不同剂量的枸杞沙棘配伍对小鼠免疫功能的影响[J]. 食品与发酵工业,2023,49(2):159-165.
- [19] 赵红先,杨自军,杜伯强,等. 钼对体外小鼠腹腔巨噬细胞吞噬、分泌、NO代谢、抗氧化功能的影响[J]. 中国兽医学报,2016,36(2):287-291,297.
- [20] 杨帅,鲁婷婷,周祖英,等. 阿胶化学成分和药理作用及质量控制研究进展[J]. 中国新药杂志,2023,32(8):806-816.
- [21] 钟明彬,经宏鑫,袁景成,等. 补喂赖氨酸和苏氨酸对放牧条件下泌乳母马血液生化指标的影响[J]. 畜牧与兽医,2024,56(1):20-25.
- [22] 张行,韩冬,李星辰,等. 鹿皮胶制备工艺及增免活性研究[J/OL]. 吉林农业大学学报,1-11.
- [23] 刘海春,胡晨旭,王家明,等. 药食同源组方联合益生菌对免疫低下小鼠的免疫增强作用[J]. 现代食品科技,2023,39(2):119-124.
- [24] ALLAM-NDOUL B, CSATONGUAY-PARADIS S, VEILLEUX A. Gut microbiota and intestinal trans-epithelial permeability [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(17): 6402.
- [25] SHANG Q H, YU X Y, SUN Q, et al. Polysaccharides regulate th1/th2 balance: a new strategy for tumor immunotherapy [J]. Biomed Pharmacother, 2024, 170: 115976.
- [26] ROMAGNANI S. Th1/Th2 cells [J]. Inflammatory Bowel Diseases, 1999, 5(4): 285-294.
- [27] KHAN A I, REHMAN A U, FAROOQUI N A, et al. Effects of shrimp peptide hydrolysate on intestinal microbiota restoration and immune modulation in cyclophosphamide-treated mice [J]. Molecules, 2022, 27(5): 1720.
- [28] 陈昕,韩玲玲,韦芊含,等. 茶树油提取物粉对大鼠免疫功能的影响[J]. 中国兽医杂志,2020,56(9):74-77.
- [29] WANG Y, JIN H Y, YU J D, et al. Quality control and immunological activity of lentinan samples produced in China [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 159: 129-136.
- [30] MEHROTRA P, RAVICHANDRAN K S. Drugging the efferocytosis process: concepts and opportunities [J]. Nature Reviews Drug Discovery, 2022, 21(8): 601-620.