

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

刘海春¹, 胡晨旭^{1*}, 王家明², 刘瑞³, 李敬华⁴

(1. 龙口南山养生谷肿瘤医院, 南山健康产业研究院, 山东龙口 265718)

(2. 天津科技大学生物工程学院, 工业发酵微生物教育部重点实验室, 天津 300457)

(3. 天津小薇生物科技有限公司, 天津 301799) (4. 中国中医科学院中医药信息研究所, 北京 100700)

摘要: 该研究旨在探讨药食同源组方联合益生菌对环磷酰胺 (CTX) 诱导免疫低下小鼠免疫功能的调节作用。除空白对照组用生理盐水灌胃外, 其余各组小鼠腹腔注射环磷酰胺 (CTX) 100 mg/kg (按小鼠体质量计), 连续腹腔注射 4 d。将建模成功体重相近的小鼠随机分为 6 组: 正常对照组、免疫抑制组、药食同源组方 III 号、药食同源改良组 (IV 号)、益生菌组 (V 号) 和 IV 和 V 联用组 (VI 号)。连续灌胃给药 14 d, 观察 III、IV、V 和 VI 对小鼠胸腺指数、脾脏指数、吞噬能力、脾淋巴细胞增殖、NK 细胞活性以及血清中 IgG、IgA 和 IgM 生成水平的影响。结果显示: III、IV、V 和 VI 组均能显著提高模型小鼠胸腺指数 (1.46、1.67、1.50、1.92 g/kg)、脾脏指数 (2.32、2.54、2.52、2.82 g/kg)、吞噬能力 (0.43、0.45、0.44、0.62)、脾淋巴细胞增殖作用 (1.39、1.45、1.42、1.43)、NK 细胞活性 (0.35、0.43、0.36、0.71) ($P < 0.05$); IV、V 和 VI 均能促使 IgG (224.21、163.21、253.35 mg/L)、IgA (34.86、22.09、41.17 mg/L) 和 IgM (84.01、78.23、100.28 mg/L) 生成水平明显提高 ($P < 0.05$)。研究结果表明, 药食同源改良组方与益生菌联用组对环磷酰胺致免疫低下小鼠的免疫能力具有显著增强作用。

关键词: 药食同源组方; 多肽; 益生菌; 免疫功能

文章编号: 1673-9078(2023)02-119-124

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.2.0304

The Immune-enhancing Effect of Drug-food Homologous Prescription Combined with Probiotics on Immunocompromised Mice

LIU Haichun¹, HU Chenxu^{1*}, WANG Jiaming², LIU Rui³, LI Jinghua⁴

(1. Longkou Nanshan Health Valley Cancer Hospital & Nanshan Institute of Health Industry, Longkou, 265718, China)

(2. College of Biotechnology, Tianjin University of Science & Technology & Tianjin Key Laboratory of Industry Microbiology, College of Biotechnology, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

(3. Tianjin Xiaowei Biological Technology Co. Ltd., Tianjin 301799, China) (4. Institute of Information on Traditional Chinese Medicine, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

Abstract: The aim of this study was to investigate the regulatory effect of the combination of drug-food homologous prescription and probiotics on the immune function of immunocompromised mice induced by cyclophosphamide (CTX). Except for the control group gavaged with normal saline, the mice in the other groups were intraperitoneally injected with CTX (100 mg/kg bw, for 4 days). Mice with similar body weights were randomly divided into 6 groups: control group, immunosuppression (model) group, drug-food homologous group III, drug-food homologous improvement group (IV), probiotics group (V), and IV-V combination group (VI). After the administration for 14 days, the effects

引文格式:

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

LIU Haichun, HU Chenxu, WANG Jiaming, et al. The immune-enhancing effect of drug-food homologous prescription combined with probiotics on immunocompromised mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(2): 119-124

收稿日期: 2022-03-18

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81502947); 天津市教委基金项目 (20140219); 龙口南山养生谷肿瘤医院项目 (20210906)

作者简介: 刘海春 (1966-), 男, 主任医师, 研究方向: 心血管内科、临床医学 (肿瘤等), E-mail: liuhaichun@nanshan.com.cn

通讯作者: 胡晨旭 (1979-), 男, 硕士, 高级工程师, 研究方向: 特医和功能食品研发及产业化, E-mail: 88623863@qq.com

of III, IV, V and VI on the thymus and spleen indices, phagocytic ability, spleen lymphocyte proliferation, NK cell activity and the levels of the formed IgG, IgA and IgM in immunodepressed mice were assessed. The results showed that the thymus index (1.46, 1.67, 1.50 and 1.92 g/kg) and spleen index (2.32, 2.54, 2.52 and 2.82 g/kg), phagocytic ability (1.39, 1.45, 1.42 and 1.43), spleen lymphocyte proliferation (1.39, 1.45, 1.42 and 1.43) and NK cells activity (0.35, 0.43, 0.36 and 0.71) were enhanced significantly ($P < 0.05$) in the group III, IV, V and VI. IV, V and VI all significantly increased the levels of IgG (224.21, 163.21 and 253.35 mg/L), Ig A (34.86, 22.09 and 41.17 mg/L), and IgM (84.01, 78.23 and 100.28 mg/L) ($P < 0.05$). These results suggested that the combination of the modified drug-food homologous prescription and probiotics could enhanced significantly the immune function of the CTX-immunosuppressed mice.

Key words: drug and food homologous prescription; polypeptide; probiotics; immune function

药食同源食品具有功能温和、副作用小和稳定性好等诸多优点, 现已被广泛用于临床预防和康复治疗中。药食同源组方的多靶点作用是通过机体整体调整而发挥出相应的药理活性和免疫作用^[1,2]。肿瘤患者术后身体虚弱、免疫力差、肠道菌群失调, 严重影响患者围手术期的恢复及预后, 药食同源中药在肿瘤病人围手术期恢复及预后上的应用越来越广泛^[3-6]。

人参性温味甘, 大补元气, 复脉固脱, 补脾益肺, 生津, 安神。茯苓性平味甘, 利水渗湿, 健脾, 宁心。黄精性平味甘, 补气养阴, 健脾, 润肺, 益肾。当归性温味甘, 补血活血, 调经止痛, 润肠通便。山药性温味甘, 健脾, 补肺, 固肾, 益精。莲子性平味甘, 补脾止泻, 益肾涩精, 养心安神。海参味甘咸, 补肾经, 益精髓, 抗肿瘤, 增强免疫力。四君子汤(《太平惠民和剂局方》), 九转黄精丹(《太平惠民和剂局方》), 海蛤散(《圣济总录》), 消瘤丹(《洞天奥旨》), 活血散瘀汤(《外科正宗》), 益气清金汤(《金鉴》), 消湿化怪汤(《石室秘录》), 十全散《传信适用方》等古方均频繁使用以上药食同源的中药, 主要用于古代肿瘤及康复治疗。人参和茯苓健脾益气, 温而不燥; 黄精和当归滋阴养血; 山药和莲子增强健脾益气, 安神之功效; 海参则具有增强补血免疫之功效。整个组方作为药食同源III号组方。药食同源IV号则是III号中的海参酶解为小分子海参肽, 更有利于体弱患者肠道吸收, 补充营养, 增强免疫力, 加快康复。

益生菌是以肠道为主要作用靶点来调控预防各类疾病发生的有益活性微生物^[7,8], 益生菌进入肠道后与宿主菌群相互作用, 产生一些特定的代谢产物, 如短链脂肪酸、过氧化氢、双乙酰和细菌素等, 从而抑制病原菌的生长^[9,10]。大量研究报道, 益生菌在肿瘤免疫中发挥着重要作用^[11-15]。本文以药食同源组方与复合益生菌制剂为研究对象, 研究药食同源组方组(III号)、药食同源改良组(IV号)、益生菌组(V号)和IV号与益生菌联用组(VI号)对模型小鼠胸腺指数、脾脏指数、巨噬细胞吞噬能力、脾淋巴细胞增殖和血清中IgG、IgA和IgM生成水平的影响, 为进一步研

究药食同源组方与益生菌制剂联合使用, 增强免疫作用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

1.1.1 实验材料与动物

药食同源III号固体冲剂主要由人参、茯苓、黄精、当归、山药、莲子和海参制备而成(简称III号), 药食同源IV号固体冲剂主要由人参、茯苓、黄精、当归、山药、莲子和海参肽制备而成(简称IV号)。海参肽由蛋白酶酶解后获取冻干粉。药材均购自北京同仁堂(天津金元宝商厦店); 新鲜海参购自天津王顶堤水产海鲜商贸市场; 乳双歧杆菌 BR001、植物乳杆菌 LZ010、鼠李糖乳杆菌 GS013 由天津小微生物有限公司提供, 活性 300 亿 CFU/g。实验动物昆明小鼠生产许可证: SCXK(军)2007-004, 合格证号: 00549571。

1.1.2 实验药品

二甲基亚砜(DMSO), 磷酸胺(CTX), 北京索来宝公司; RPMI1640 培养基, Hank's 溶液, 刀豆蛋白(Con A), 海博生物公司; 胎牛血清, 瑞根特公司; 四甲基偶氮唑盐(MTT), 美国 Sigma 公司; 蛋白酶, 西亚公司; IFN- γ 、TNF- α 、IL-2 和 IgG 试剂盒, 上海江莱生物股份有限公司。

1.1.3 实验仪器

TJS-3000 超声波提取浓缩机, 宁波新芝生物科技有限公司; CO₂ 培养箱, 美国赛默飞世尔科技公司; ALPHA1-4 冷冻干燥机, 德国 Marin Christ; MIKRO-220R 冷冻离心机, 德国 Hettich 科学仪器有限公司; RE-2000A 旋转蒸发器, 上海亚荣生化仪器厂; i3x 酶标仪, 美国 MD 公司; PB160Z-S 电子天平, 日本岛津公司。

1.2 实验方法

1.2.1 CTX 模型建立与给药

SPF 级 Balb/c 小鼠 60 只, 雄性, 体质量 18~20 g,

温度 20~25 ℃, 相对湿度 50%±5%, 光照时间 12 h/12 h 环境下饲养一周后, 按国家新药(西药)临床前研究指导原则汇编^[16]的方法建立环磷酰胺(CTX)所致免疫功能损伤模型, 除空白对照组小鼠腹腔注射等体积生理盐水, 其余各组小鼠连续腹腔注射 4 d 环磷酰胺(CTX), 注射量为 100 mg/kg。给药后 4 d, 第 4 天检测眼眶血白细胞数。造模成功标准: CTX 模型组小鼠的白细胞数明显低于空白对照组 ($P<0.01$), 且出现体重下降, 脱毛, 免疫器官组织损伤等现象。造模 1 d 后给药, 每天灌胃 1 次, 连续给药 14 d。空白对照组和模型组每天服用等体积的生理盐水。

1.2.2 免疫器官重量指数测定

各组小鼠 14 d 给药后, 禁食 12 h (不禁水), 称体质量, 颈椎脱臼处死小鼠, 获取胸腺和脾脏, 滤纸去除残血, 记录质量。取眼球血清, 胸腺、脾脏等器官组织, 并保存于零下 80 ℃ 超低温冰箱中。免疫器官重量指数按下列公式计算:

$$S = \frac{m_s}{m} \quad (1)$$

$$T = \frac{m_t}{m} \quad (2)$$

式中:

S —胸腺指数, g/kg;

m —小鼠体质量, kg;

m_s —脾脏质量, g;

T —胸腺指数, g/kg;

m_t —胸腺质量, g。

1.2.3 巨噬细胞吞噬率、吞噬指数的测定

末次给药前 3 d, 每组随机抽取小鼠 10 只, 腹腔注射 1 mL 淀粉肉汤(60 mg/mL); 末次灌胃后第 2 天, 向小鼠腹腔注射 1 mL (5%) 的鸡红细胞生理盐水混悬液, 轻揉小鼠腹部并吸出小鼠腹腔液, 滴 1 滴于洁净的载玻片上, 瑞氏染色 5 min, 油镜下观察。公式如下:

$$P = \frac{n_1}{n_0} \times 100\% \quad (3)$$

$$I = \frac{n_2}{n_0} \quad (4)$$

式中:

P —吞噬百分率, %;

n_1 —吞噬鸡红细胞的巨噬细胞数;

n_0 —巨噬细胞总数;

I —吞噬指数;

n_2 —巨噬细胞吞噬鸡红细胞的总数。

1.2.4 淋巴细胞转化实验

无菌环境下取脾脏, 置于含 Hank's 液的平皿中,

配置成细胞悬液, 用 RPMI 1640 培养液配置细胞浓度每毫升 5×10^6 个, 于 96 孔培养板中培养, 每孔 200 μ L。每个样本设 Con A 液及空白对照孔, 恒湿培养箱中孵育 72 h (37 ℃ 和 5% CO_2)。结束培养前 4 h, 每孔中加入 10 μ L MTT 溶液 (5 mg/mL), 经 4 h 培养后, 每孔中加入 100 μ L DMSO, 振摇 10 min, 待结晶溶解后, 酶标仪读取 OD 值 (570 nm 波长)。

$$SI = \frac{OD_1}{OD_0} \quad (5)$$

式中:

SI —刺激指数;

OD_1 —试验孔 OD_{570} 值;

OD_0 —对照孔 OD_{570} 均值。

1.2.5 NK 细胞活性的测定

采用 MTT 法测定自然杀伤 (NK) 细胞活性, 以小鼠脾淋巴细胞悬液(每毫升 5×10^5 个)为效应细胞。以 YAC-1 (每毫升 5×10^4 个) 细胞为靶细胞。效靶细胞孔加入效应细胞和靶细胞各 100 μ L; 靶细胞孔加入靶细胞和完全培养液各 100 μ L; 效应细胞孔加入靶细胞和完全培养液各 100 μ L, 孵育 48 h (37 ℃, 5% CO_2), 再加入 MTT 溶液 10 μ L (5 mg/mL), 继续培养 4 h, 再将各 100 μ L 上清液加入 96 孔板, 每孔加 100 μ L DMSO, 振摇 10 min。酶标仪读取吸光度 (570 nm)。

$$K = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_3}\right) \times 100\% \quad (6)$$

式中:

K —NK 细胞的杀伤活性, %;

A_1 —效靶细胞吸光度;

A_2 —效应细胞吸光度;

A_3 —靶细胞吸光度。

1.2.6 血清免疫球蛋白的测定

取小鼠血清样本, 检测免疫球蛋白 IgG、IgA 和 IgM 水平 (具体操作流程严格遵循试剂盒说明书)。

1.2.7 统计学分析

用 SPSS 17.0 统计数据, 实验数据用均数±标准差表示, 方差分析组间差异, $P<0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 药食同源组方对免疫功能低下小鼠免疫脏器指数的影响

本文采用经典 CTX 模型, 可通过抑制快速增殖的血细胞 DNA 合成从而广泛抑制机体免疫功能^[17]。

胸腺和脾脏是机体主要的免疫器官,胸腺和脾脏指数是衡量机体非特异性免疫能力的重要指标之一。如下表1数据显示,与空白对照组相比,模型组脾脏指数(2.11 g/kg)和胸腺指数(1.22 g/kg)均明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与模型组相比,III、IV、V和VI号组脾脏指数(2.32、2.54、2.52、2.82 g/kg)和胸腺指数(1.46、1.67、1.50、1.92 g/kg)显著升高,差异有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$);IV与III相比较,胸腺指数明显升高(1.67 g/kg>1.46 g/kg),差异有统计学意义($P<0.01$),说明海参肽起到了积极的免疫作用。VI与IV相比较,脾脏指数明显升高(1.92 g/kg>1.67 g/kg),差异有统计学意义($P<0.01$),说明益生菌具有促进药食同源物质吸收的作用,增加了药食同源的效果;同时益生菌本身也具有促进免疫器官指数增加的作用;因此益生菌组与药食同源改良组结合,具有协同增效作用。但III、IV、V和VI号组与空白组正常小鼠免疫器官相比,均无法达到非造模正常水平,其中VI号组最接近正常小鼠免疫器官水平。张永娟等^[18]研究亦表明海洋缢蛭多肽具有显著提高脾脏和胸腺指数(3.72和1.16)的作用,其中脾脏指数高于组方III~VI;但胸腺指数低于组方

III~VI,表明多肽具有增强免疫功能作用,同时不同组方或者多肽对不同免疫器官具有不同程度的修复与促进生长作用。

表1 组方III~VI对免疫力低下模型小鼠免疫器官的影响

Table 1 Effects of III~VI groups on thymus indexes and spleen indexes of immunosuppressive mice ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	给药剂量/(mg/kg)	脾脏指数/(g/kg)	胸腺指数/(g/kg)
对照组		3.46±0.65	2.63±0.41
模型组		2.11±0.39 [△]	1.22±0.31 ^{△△}
III	400	2.32±0.68 [▲]	1.46±0.86 [▲]
IV	400	2.54±0.21 ^{◇◇}	1.67±0.43 [◇]
V	200	2.52±0.66 ^{▲▲}	1.50±0.86 ^{▲▲}
VI	600	2.82±0.62 ^{◆◆}	1.92±0.92 ^{◆◆}

注:与空白对照组比较,△ $P<0.05$,△△ $P<0.01$;与模型组比较,▲ $P<0.05$,▲▲ $P<0.01$;IV与III比较,◇ $P<0.05$,◇◇ $P<0.01$;VI与IV比较,◆ $P<0.05$,◆◆ $P<0.01$ 。下表同。

2.2 药食同源组方对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能及NK细胞活性的影响

表2 组方III~VI各小组小鼠吞噬功能、NK细胞活性与淋巴细胞刺激指数的比较

Table 2 Effects of III~VI groups on the phagocytic rate, phagocytic index, NK cells activity and lymphocytes proliferation of immunosuppressive mice ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	吞噬百分率/%	吞噬指数/%	NK细胞杀伤活性/%	淋巴细胞刺激指数
对照组	66.43±2.12	0.71±0.03	0.72±0.02	2.01±0.08 ^{▲▲}
模型组	46.55±2.54 ^{△△}	0.41±0.02 ^{△△}	0.29±0.01	1.28±0.02
III	47.66±2.35 [▲]	0.43±0.03 ^{▲▲}	0.35±0.02 [▲]	1.39±0.01 [▲]
IV	50.30±3.04 [◇]	0.45±0.03 [◇]	0.43±0.03 [◇]	1.45±0.08 [▲]
V	48.23±2.90	0.44±0.02	0.36±0.02 ^{▲▲}	1.42±0.06 [▲]
VI	58.08±2.42 ^{◆◆}	0.62±0.03 [◆]	0.71±0.02 ^{◆◆}	1.43±0.02 ^{◆◆▲}

如表2所示,模型组小鼠的吞噬百分率(46.55%)和吞噬指数(0.41)均显著降低($P<0.05$),表明建模成功。与模型组比较,III、IV、V、VI组可不同程度提高小鼠腹腔巨噬细胞吞噬指数(0.43、0.45、0.44、0.62)和吞噬百分率(47.66%、50.30%、48.23%、58.08%)($P<0.05$ 或 $P<0.01$),但均未达到空白对照组吞噬百分率(66.43%)和吞噬指数(0.71)水平。其中VI组吞噬能力最强,说明益生菌与药食同源组作用靶点不同,且益生菌能有效促进药食同源组方吸收,可更大程度提高吞噬细胞数量,增强免疫抑制小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能。刘春红等^[19]研究表明植物乳杆菌C88联合人参多糖对巨噬细胞的吞噬指数为0.05,具有一定的吞噬能力,但吞噬指数明显低于III~VI组(0.4~0.6)。

NK细胞对肿瘤细胞、病毒、胞内寄生菌都具有

极强的清除作用,在抗肿瘤及免疫调节方面有重要意义。如表2所示,与模型组(0.29)相比,益生菌组(V:0.36)与药食同源组方组(III:0.35)NK细胞杀伤活性相近,说明益生菌与药食同源组作用相近。而药食同源组方(III:0.35)和(IV:0.43)使小鼠NK细胞活性明显升高($P<0.05$),说明药食同源改良多肽组作用明显;同时益生菌与药食同源联用组(VI:0.71)的NK细胞活性超过其它组,说明益生菌在自身肠道免疫作用基础上,进一步发挥作用,促进药食同源组的物质吸收及代谢,达到协同增效的作用,共同增加NK细胞的杀伤活性,清除作用,共同起到免疫增强作用。刘红萍等^[20]研究发现白芷多糖对免疫抑制小鼠NK细胞杀伤活性具有明显增强作用(0.53),且杀伤活性高于组方III~V,却低于组方VI(VI:0.71),也表

明VI对肠道与机体免疫同时进行调节,促进药食同源组方代谢吸收,因此NK细胞杀伤活性更显著。各组方(III~VI)针对NK细胞活性具有不同程度增强作用,为临床免疫及肿瘤治疗提供有力的理论依据。

2.3 药食同源组方对免疫功能低下小鼠脾淋巴细胞增殖能力的影响

由表2可知,与空白对照组(2.01)相比,模型组小鼠T淋巴细胞增殖反应(1.28)显著下降($P<0.01$)。与模型组相比,VI组小鼠淋巴细胞增殖反应均不同程度提高III、IV、V和VI组小鼠淋巴细胞增殖反应均不同程度提高(1.39、1.45、1.42、1.43)($P<0.05$),但都低于空白对照组。同时四组之间数据(III~VI)差异不显著,尤其益生菌与药食同源联合使用组(VI),未见其水平优于其它三组,说明对脾淋巴细胞增殖并未起到协同增效的作用。将以上实验数据与刘红萍等研究的白芷多糖(2.10)数据相对比^[20],III~VI组刺激指数都低于白芷多糖组,表明不同物质促淋巴细胞增殖能力显著不同,这与药食同源组方的多靶点作用有着一定关系。

2.4 药食同源组方对免疫功能低下小鼠血清免疫球蛋白的影响

免疫球蛋白IgG、IgA和IgM为体内含量最多的免疫球蛋白,反映体液免疫功能^[21]。IgG是血清中含量最高的免疫球蛋白,具有抗菌、抗病毒等免疫活性作用;IgG还可以引起细胞毒作用而杀死肿瘤细胞;IgA在血清中含量仅次于IgG,对经黏膜途径感染的病原体具有免疫抵抗作用;IgM是受抗原刺激后最先产生的抗体,具有较强的杀菌和抗病毒等免疫活性^[22,23]。如表3所示,与空白组(261.21、42.56、103.22 mg/L)相比,模型组小鼠血清IgG、IgA和IgM质量浓度明显降低(126.26、16.65、73.27 mg/L)(均 $P<0.01$)。与模型组相比,III、IV、V和VI组小鼠血清IgG(156.83、224.21、163.21、253.35 mg/L)、IgA(20.04、34.86、22.09、41.17 mg/L)和IgM(77.45、84.01、78.23、100.28 mg/L)质量浓度均不同程度提高($P<0.05$)。其中VI号组方免疫球蛋白提高水平明显优于其余III、IV、V号水平,其中益生菌组V也起到一定促进免疫球蛋白水平增加作用。综上所述说明肠道益生菌通过定植肠道,起到促进免疫球蛋白水平增加作用,同时益生菌促进药食同源组多种有益物质吸收代谢,增强药食同源组免疫作用,共同起到协同增效作用。石惠芳等^[24]

采用益生菌发酵胡萝卜水溶多糖(YH)调节小鼠免疫功能,研究结果与联合组VI号比较,IgG质量浓度:VI(253.35 mg/L) $<$ YH(1360 mg/L);IgA质量浓度:VI(41.17 mg/L) $>$ YH(16.94 mg/L);IgM质量浓度:VI(100.28 mg/L) $>$ YH(12.97 mg/L);以上数据说明不同物质作用靶点不同,对不同类型免疫球蛋白生成水平影响亦明显不同,导致免疫功能作用也明显不同。

表3 组方III~VI对免疫力低下模型小鼠血清免疫球蛋白的影响

Table 3 Effects of III~VI groups on IgG, IgA and IgM production of immunosuppressive mice ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	IgG 质量浓度 (mg/L)	IgA 质量浓度 (mg/L)	IgM 质量浓度 (mg/L)
对照组	261.21 \pm 32.53	42.56 \pm 5.82	103.22 \pm 4.34
模型组	126.26 \pm 19.04	16.65 \pm 4.54	73.27 \pm 6.03
III	156.83 \pm 20.32 [▲]	20.04 \pm 6.09 ^{▲▲}	77.45 \pm 9.03 [▲]
IV	224.21 \pm 26.63 [◇]	34.86 \pm 5.42 [◇]	84.01 \pm 3.65 ^{◇◇}
V	163.21 \pm 23.12	22.09 \pm 8.01	78.23 \pm 5.55
VI	253.35 \pm 23.42 ^{◆◆}	41.17 \pm 3.28 [◆]	100.28 \pm 8.87 ^{◆◆}

3 结论

目前实验研究中多用到的免疫抑制模型有辐射损伤模型、免疫抑制剂损伤模型和基因敲除模型;其中免疫抑制剂环磷酰胺(CTX)模型最为常见。本文旨在研究药食同源组方与益生菌联合使用,观察对CTX诱导免疫低下小鼠免疫功能的调节作用。以腹腔注射CTX建立小鼠免疫低下模型,研究组方III、IV、V和VI对小鼠胸腺指数、脾脏指数、吞噬能力、脾淋巴细胞增殖以及血清中IgG、IgA和IgM生成水平的影响。CTX小鼠免疫低下模型中,免疫器官胸腺和脾脏细胞受到损伤,导致模型组小鼠的胸腺指数、脾脏指数、吞噬能力、脾淋巴细胞增殖能力明显低于正常对照组,用组方(III、IV、V和VI)对免疫功能低下小鼠灌胃14d后,小鼠胸腺指数和脾脏指数升高效果显著,NK细胞活性增强,巨噬细胞吞噬功能增强,同时对脾淋巴细胞具有明显增殖作用,促进淋巴细胞免疫效应。脾淋巴细胞增殖能力结果说明,益生菌(V)与药食同源组方(III和IV)相比,统计学无显著差异。免疫球蛋白检测结果显示,药食同源组方III和IV均有显著增强血清中IgG、IgA和IgM的作用;对比III和IV,表明小分子活性肽有利于机体吸收,IV尤其适合体质虚脱机体使用,因此IV作用更明显。益生菌对肠道具有调节作用,可缓解如肿瘤病人长期服用抗生素引起的肠道紊乱,更有利于药食同源组方发挥作用;因此药食同源组方与益生菌联合使用组(VI)提高免疫球蛋白IgG、IgA和IgM效果尤其显著。综上所述,

组方Ⅲ、Ⅳ、Ⅴ和Ⅵ可提高免疫低下小鼠的非特异性和特异性免疫功能,本研究可为药食同源组方与益生菌免疫增强剂的开发提供理论依据。

参考文献

- [1] 李晶,王胜奇,王能,等.中医药在肿瘤免疫治疗中的研究进展[J].中华中医药学刊,2021,39(8):86-91
- [2] 周文君,池建伟,易阳,等.龙眼、枸杞和红枣多糖的理化性质及其协同益生活性[J].现代食品科技,2021,37(11):58-67
- [3] 梁燕凯,路夷平.人參大黃湯促進胃癌術後患者胃腸功能恢復的臨床觀察[J].北京中醫藥,2021,40(6):664-666
- [4] 高文正.補中益氣湯加減對胃癌術後氣虛血瘀證胃腸功能恢復的影響[J].天津藥學,2019,31(2):37-38
- [5] FENG Shihan, ZHAO Bin, ZHAN Xue, et al. DangguiBuxueDecoction in the treatment of metastatic colon cancer: Network pharmacology analysis and experimental validation [J]. Drug Design, Development and Therapy, 2021, 15: 705-720
- [6] SUN Xiyan, XU Xin, CHEN Yanfei, et al. DangguiBuxue Decoction sensitizes the response of non-small-cell lung cancer to gemcitabine via regulating deoxycytidine kinase and p-glycoprotein [J]. Molecules, 2019, 24(10): 1-14
- [7] Hill C, Guarner F, Reid G, et al. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2014, 11(8): 506-514
- [8] Fukuda S, Toh H, Hase K, et al. Bifidobacteria can protect from enteropathogenic infection through production of acetate [J]. Nature, 2011, 469(7331): 543-537
- [9] Mart Nez L A R. Structure and properties of the metastable bacteriocin Lcn972 from *Lactococcus lactis* [J]. J Mol Struct, 2013, 1031(16): 207-210
- [10] 姜帅铭,张家超.益生菌在肿瘤免疫治疗中的研究进展[J].肿瘤代谢与营养电子杂志,2021,8(2):128-134
- [11] Salgia N J, Bergerot P G, Maia M C, et al. Stool microbiome profiling of patients with metastatic renal cell carcinoma receiving Anti-PD-1 immune checkpoint inhibitors [J]. European Urology, 2020, 78(4): 498-502
- [12] Jin Y, Dong H, Xia L, et al. The diversity of gut microbiome is associated with favorable responses to anti programmed death immunotherapy in Chinese patients with NSCLC [J]. J Thorac Oncol, 2019, 14(8): 1378-1389
- [13] Tomita Y, Ikeda T, Sakata S, et al. Association of probiotic clostridium butyricum therapy with survival and response to immune checkpoint blockade in patients with lung cancer [J]. Cancer Immunol Res, 2020, 8(10): 1236-1242
- [14] Mcquade J L, Daniel C R, Helmink B A, et al. Modulating the microbiome to improve therapeutic response in cancer [J]. Lancet Oncol, 2019, 20(2): 77-91
- [15] Finlay B B, Goldszmid R, Honda K, et al. Can we harness the microbiota to enhance the efficacy of cancer immunotherapy? [J]. Nat Rev Immunol, 2020, 20(9): 522-528
- [16] 中华人民共和国卫生部.国家新药(西药)临床前研究指导原则汇编[M].中国:中华人民共和国卫生部药政局,1993: 202-203
- [17] 孟祥乐,薛磊,张振巍,等.马齿苋多糖对环磷酰胺模型小鼠免疫功能的影响[J].中国新药杂志,2017,26(11):1296-1300
- [18] 张永娟,吕学军,张大勇.缙蛭多肽对免疫抑制小鼠免疫功能的影响[J].食品研究与开发,2010,31(11):48-50
- [19] 刘春红,王晓慧,高磊.植物乳杆菌 C88 联合人參多糖的免疫调节作用[J].食品科学,2016,37(11):202-208
- [20] 刘红萍,吴江,王芬,等.白芷多糖对免疫低下模型小鼠免疫调节作用的研究[J].四川医学,2010,41(11):1126-1132
- [21] 梁金强,王园园,胡明华,等.复合多糖对 CTX 致免疫低下小鼠的免疫增强作用[J].中药材,2017,40(4):953-957
- [22] Cho C, Han C, Rhee Y, et al. Immunostimulatory effects of polysaccharides isolated from Makgeolli (traditional Korean rice wine) [J]. Molecules, 2014, 19(4): 5266-5277
- [23] SUN Yichun. Biological activities and potential health benefits of polysaccharides from Poriacocos and their derivatives [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2014, 68: 131-134
- [24] 石惠方,殷军艺,黄晓君,等.益生菌发酵对胡萝卜水溶性多糖调节小鼠免疫功能的影响[J].南昌大学学报,2019,43(1): 53-60