

# 不同剂量牛初乳粉对小鼠 免疫调节作用的研究

徐 丽<sup>1,2</sup>, 生庆海<sup>1</sup>, 郭顺堂<sup>2,\*</sup>

(1. 石家庄三鹿集团股份有限公司, 河北 石家庄 050071;

2. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

**摘 要:** 本研究用牛初乳粉对小鼠进行喂养实验, 20d 后测定 NK 细胞杀伤活性、T 淋巴细胞增殖活性、巨噬细胞的吞噬功能, 研究了不同剂量的牛初乳粉对小鼠免疫调节作用效果。结果表明: 剂量在 36.46~1250mg/kg·d 之间的牛初乳粉都能极显著地增强巨噬细胞的吞噬功能, NK 细胞的杀伤活性和 T 淋巴细胞的增殖活性, 其中 78.13~156.25mg/kg·d 之间对小鼠细胞免疫调节作用和巨噬细胞吞噬功能增强作用效果优于其他剂量。

**关键词:** 牛初乳粉; 巨噬细胞; NK 细胞; T 淋巴细胞; 免疫调节

## Study on Immune Modulation Effect of Different Doses Bovine Colostrums Powder on Mice

XU Li<sup>1,2</sup>, SHENG Qing-hai<sup>1</sup>, GOU Shun-tang<sup>2,\*</sup>

(1. Shijiazhuang Sanlu Co. Ltd., Shijiazhuang 050071, China

2. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

**Abstract:** In this study, cytotoxic activity of natural killer cells, T-lymphocyte proliferation and macrophage function were detected after twenty days of mice feeding with different doses bovine colostrums. The results showed that the phagocytosis, cytotoxic activity of natural killer cells, T-lymphocyte proliferation could be enhanced significantly by bovine colostrums powder between 36.46mg/kg·d and 1250mg/kg·d while the doses between 78.13mg/kg·d and 156.25 mg/kg·d were superior to others.

**Key words:** bovine colostrums powder; macrophage; natural killer cells; T-lymphocyte; immune modulation

中图分类号 S879.1

文献标识码 A

文章编号 1002-6630(2005)11-0227-04

牛初乳是母牛产犊最初几天内所分泌的乳汁, 与常乳相比, 牛初乳为黄褐色, 有异臭, 味苦, 粘度大,

表面张力明显小于常乳, 因此被当作一种异常乳<sup>[1]</sup>。但近年来研究, 发现牛初乳中含有许多生理活性免疫因

收稿日期 2004-11-16

\*通讯作者

基金项目: 国家科技部“十五”重大攻关项目(2002BA518A10)

作者简介: 徐丽(1976-), 女, 助理工程师, 在职硕士, 研究方向为乳品加工。

accelerate renewing from fatigue obviously.

### References:

- [1] The MOH of China. Functional assessment procedure and test methods of health food[M]. Beijing, 1996, 53-57.
- [2] Sun Jingfang. Experimental Method in Animal [M]. Beijing: The Renmin health Press, 2002. 154-158, 409-512.

- [3] Chen Rendun. Nutrition and Health Food [M]. Beijing: The China Light Industry Press, 2002. 568-574.
- [4] Hu Yuming, Hu Yixiu, Zang Xuebing, et al. Experimental study of anti-fatigue on eucommia ulmoides's alcohol [J]. Practical Preventive Medicine, 2000, 5(7): 330-331.
- [5] Huang Mei, Chen Liming. Experimental study of anti-fatigue effect of 851 jinyuan tablet [J]. Strait Pharmaceutical Journal, 2000, 2 (12): 17-18.

子, 如免疫球蛋白、乳铁蛋白、溶菌酶、乳过氧化物酶等, 其中免疫球蛋白的含量最高, 对机体免疫具有调节功能。提取牛初乳中的免疫球蛋白, 开发牛初乳粉高端产品, 并作为免疫调节剂添加到乳制品中, 提高乳制品的附加值, 是目前乳制品开发高端产品的发展趋势。

本研究用牛初乳粉进行动物喂养实验, 并测定小鼠NK细胞杀伤活性、ConA诱导T淋巴细胞增殖活性、腹腔巨噬细胞的吞噬功能, 研究了不同剂量的牛初乳粉对小鼠的免疫调节作用效果。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料及主要试剂

1.1.1 实验原料: 经低温喷雾干燥得到的免疫球蛋白含量为16.0%的牛初乳粉, 市场采集。

1.1.2 实验动物: 二级健康BALB/C雄性小鼠, 体重18~22g, 由河北省实验动物中心提供(SCXK(冀)2003-2-003)。

### 1.1.3 主要试剂

鸡红细胞、Yak-1、ConA、MTT、RPMI1640培养基, 小牛血清, Hanks液, 1%NP40, 谷氨酰胺乳酸脱氢酶试剂盒等化学试剂。

### 1.2 主要仪器设备

普通显微镜、紫外可见分光光度仪、倒置显微镜、二氧化碳培养箱、超净工作台、酶联检测仪、细胞培养板及细胞培养常用耗材。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 实验剂量设计

将BALB/C雄性小鼠随机分为7组, 每组10只。设6个不同剂量组和一个对照组。对照组采用普通奶粉, 各组剂量按每日每千克小鼠体重摄入牛初乳粉量计, 列表如下:

将样品用蒸馏水溶解, 对小鼠灌胃连续20d后测定小鼠的NK细胞活性、巨噬细胞的吞噬功能和T淋巴细胞增殖活性。

#### 1.3.2 免疫球蛋白含量测定<sup>[2]</sup>

试验组号	1	2	3	4	5	6	对照
试验剂量 (mg/kg·d)	36.46	78.13	156.25	312.50	625.00	1250.00	156.25

#### 1.3.3 乳酸脱氢酶法(LDH)测定小鼠NK细胞杀伤活性<sup>[3]</sup>

将传代好的靶细胞(YAC-1)与脾细胞悬液(效应细胞)加入U型96孔培养板中。靶细胞自然释放孔加靶细胞和培养液各100μl, 靶细胞最大释放孔加靶细胞和1%NP40各100μl, 在37℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养4h,

然后将96孔培养板离心, 吸取每孔上清100μl置平底96孔培养板中, 同时加入LDH基质液100μl, 反应3min, 每孔再加入1mol/L的HCl 30μl, 在酶标仪490nm处测定光密度值。按下式计算NK细胞活性。

$$\text{NK细胞活性}\% = \frac{\text{反应孔OD} - \text{自然释放孔OD}}{\text{最大释放孔OD} - \text{自然释放孔OD}} \times 100 \quad (1)$$

#### 1.3.4 小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞功能的测定<sup>[3]</sup>

经20d喂养后, 每只鼠腹腔注射20%鸡红细胞悬液1ml, 间隔30min后颈椎脱臼处死, 将其仰位固定于鼠板上, 正中剪开腹壁皮肤, 经腹腔注入生理盐水2ml, 转动鼠板1min, 然后吸出腹腔洗液1ml, 平均分滴于2片载玻片上, 放入垫有湿纱布的搪瓷盒内, 移置37℃孵育箱中温育30min, 孵毕, 于生理盐水中漂洗, 以除去未贴片细胞, 晾干, 以1:1丙酮甲醇溶液固定, 4%(V/V)Giemsa-磷酸缓冲液染色3min, 再用蒸馏水漂洗晾干。以吞噬百分率或吞噬指数表示小鼠巨噬细胞吞噬能力。油镜下计数巨噬细胞, 每张片计数100个, 按下式计算吞噬百分率和吞噬指数。

$$\text{吞噬}\% = \frac{\text{吞噬鸡红细胞的巨噬细胞数}}{\text{计数的巨噬细胞数}} \times 100 \quad (2)$$

$$\text{吞噬指数} = \frac{\text{被吞噬的鸡红细胞总数}}{\text{计数的巨噬细胞数}} \quad (3)$$

#### 1.3.5 ConA诱导的小鼠脾淋巴细胞增殖反应测定<sup>[3]</sup>

将制备好的脾细胞悬液, 分两孔加入24孔培养板中, 每孔1ml, 一孔加50μl ConA液, 另一孔作为对照, 置5%CO<sub>2</sub>、37℃培养箱中培养72h。培养结束前4h, 每孔轻轻吸去上清液0.7ml, 加入0.7ml不含小牛血清的RPMI1640培养液, 同时加入MTT, 继续培养4h, 培养结束后每孔加入1ml酸性异丙醇, 吹打混匀, 使紫色结晶完全溶解。然后分装到96孔培养板中, 每个孔分装3~6孔作为平行样, 用酶联免疫检测仪, 以570nm波长测定光密度值。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。

#### 1.3.6 数据统计分析

实验数据应用SPSS11.0统计软件分析, 采用方差分析法进行统计学处理。

## 2 结果与分析

### 2.1 牛初乳粉对小鼠NK细胞杀伤活性的影响

经灌胃给予小鼠不同剂量的牛初乳粉20d后, 小鼠NK细胞杀伤活性如下表1所示。

从表1中可见, 各剂量组小鼠NK细胞杀伤活性与

表1 牛初乳粉对小鼠NK细胞杀伤活性的影响( $\bar{X} \pm SD$ )Table 1 The effect of bovine colostrums powder on cytotoxic activity of natural killer cells( $\bar{X} \pm SD$ )

组别	剂量(mg/kg·d)	动物数(只)	NK 细胞杀伤活性
1	36.46	10	0.63±0.09**
2	78.13	10	0.87±0.07**
3	156.25	10	0.82±0.09**
4	312.50	10	0.73±0.10**
5	625.00	10	0.65±0.11**
6	1250.00	10	0.57±0.12*
对照	156.25	10	0.47±0.06

注: 与对照组相比, \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ 。

对照组相比明显增强, 有显著性差异。其中78.13mg/kg·d和156.25mg/kg·d两剂量组间对增强NK细胞杀伤活性无显著性差异; 36.46、625.00和1250.00mg/kg·d三剂量组间对增强NK细胞杀伤活性无显著性差异。由此可进一步得知: 高剂组625.00、1250.00mg/kg·d和低剂量组36.46mg/kg·d对NK细胞杀伤活性增强效果一致; 剂量在78.13~156.25mg/kg·d之间对NK细胞杀伤活性增强效果较其它组好。

## 2.2 牛初乳粉对小鼠巨噬细胞的吞噬功能的影响

经灌胃给予小鼠不同剂量的牛初乳粉20d后, 小鼠巨噬细胞的吞噬功能如表2所示。

表2 牛初乳粉对小鼠巨噬细胞的吞噬功能的影响( $\bar{X} \pm SD$ )Table 2 The effect of bovine colostrums powder on macrophage function( $\bar{X} \pm SD$ )

组别	剂量(mg/kg·d)	动物数(只)	吞噬率	吞噬指数
1	36.46	10	59.3±4.2**	0.89±0.80**
2	78.13	10	61.8±5.6**	1.01±0.09**
3	156.25	10	62.4±1.8**	1.26±0.14**
4	312.50	10	59.6±2.9**	0.89±0.07**
5	625.00	10	57.7±5.0**	0.88±0.09**
6	1250.00	10	53.2±3.8*	0.84±0.14*
对照	156.25	10	48.8±4.1	0.63±0.08

注: 与对照组相比, \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ 。

由表2可见, 各剂量组小鼠巨噬细胞的吞噬功能与对照组相比明显增强, 有显著性差异。其中36.46、312.50、625.00和1250.00mg/kg·d剂量组间对巨噬细胞的吞噬功能增强效果无显著性差异。78.13~156.25mg/kg·d剂量范围对巨噬细胞吞噬功能增强效果优于其它组。

## 2.3 牛初乳粉对小鼠T淋巴细胞增殖活性的影响

经灌胃给予小鼠不同剂量的牛初乳粉20d后, 小鼠T淋巴细胞增殖活性如表3所示。

由表3可见, 各剂量组小鼠T细胞增殖活性与对照组相比明显增强, 有显著性差异。其中剂量78.13mg/kg·d对小鼠T淋巴细胞增殖活性效果优于其它组。剂量再增加时其T淋巴细胞增殖活性效果不再增强, 剂量156.25、312.50、625.00和1250.00mg/kg·d

表3 牛初乳粉对小鼠T淋巴细胞增殖活性的影响( $\bar{X} \pm SD$ )Table 3 The effect of bovine colostrums powder on T lymphocyte proliferation( $\bar{X} \pm SD$ )

组别	剂量(mg/kg·d)	动物数(只)	T 淋巴细胞活性
1	36.46	10	0.13±0.03**
2	78.13	10	0.20±0.03**
3	156.25	10	0.17±0.02**
4	312.50	10	0.16±0.02**
5	625.00	10	0.16±0.02**
6	1250.00	10	0.13±0.02*
对照	156.25	10	0.10±0.02

注: 与对照组相比, \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ 。

和剂量36.46mg/kg·d对T淋巴细胞增殖活性效果基本一样, 无显著性差异。

从以上结果可知, 给小鼠按36.46~1250mg/kg·d牛初乳粉剂量连续灌胃20d后, 均能显著增强小鼠的NK细胞活性、巨噬细胞的吞噬功能和T淋巴细胞增殖活性, 具有调节小鼠细胞免疫和增强巨噬细胞吞噬功能的作用。综合三项指标结果剂量在78.13~156.25mg/kg·d之间对小鼠细胞免疫调节作用和巨噬细胞吞噬功能增强作用效果优于其他剂量。

## 3 讨论

牛初乳的免疫因子虽然来源于产犊后的母牛, 但有许多研究表明, 动物包括人均能极大地受益于初乳的被动免疫、治疗疾病和促进康复等生理活性。初乳中的免疫因子除直接与肠道病原菌发生免疫反应外, 作为异种抗体被摄入后若未完全降解, 可以成为抗原, 被结肠淋巴组织派伊尔结M细胞摄取, 内部的巨噬细胞吞食抗原并将之转移到淋巴细胞, 引起免疫反应<sup>[1]</sup>。

近年来, 对巨噬细胞活性及其调节的研究已进入分子水平, 成为免疫学研究中相当活跃的领域之一<sup>[4]</sup>。自然杀伤细胞(natural killer cell, NK细胞)是固有免疫系统中一类十分重要的淋巴细胞, 约占淋巴细胞总数的15%。NK细胞通过发挥细胞毒作用和分泌细胞因子, 在机体抗感染、抗肿瘤、免疫调节和造血调控等方面发挥着重要的免疫功能<sup>[5]</sup>。T淋巴细胞是机体细胞免疫功能的承担者, 它分泌各种介质并作用于其他淋巴细胞或巨噬细胞, 行使信息传递、识别、效应等功能, 是机体免疫反应的重要调节细胞<sup>[6]</sup>。

本研究以巨噬细胞的吞噬功能、NK细胞的杀伤活性和T淋巴细胞的增殖活性作为反映牛初乳粉免疫调节功能的重要指标, 结果表明, 剂量在36.46~1250mg/kg·d之间的牛初乳粉与对照组相比都能极显著地增高小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬率及吞噬指数, 提高巨噬细胞的吞噬功能, 增强NK细胞的杀伤活性和T淋巴细胞的增殖活性。但低剂量与高剂量作用效果无显著性差异。剂量

# 海藻糖提高动物热耐受性的研究

葛宇<sup>1</sup>, 宫衡<sup>2</sup>, 刘玲<sup>2</sup>, 赖承兴<sup>2</sup>, 袁勤生<sup>2</sup>

(1. 上海市质量监督检验技术研究院, 上海 200233; 2. 华东理工大学生物工程学院, 上海 200237)

**摘 要:** 目的: 探讨海藻糖提高热耐受能力的作用, 为研制耐热型保健饮料提供依据。方法: 以小鼠为模型, 考察不同成分饮用水(水、蔗糖和海藻糖)饲喂的小鼠热暴露的存活时间和衰竭游泳时间。并比较了高温适应前后以及高温处理前后小鼠的一些生理生化指标如体重、血清中钾离子浓度、血糖含量和血红蛋白含量。结果: 海藻糖能显著延长小鼠的热暴露存活时间。生理生化指标表明海藻糖具有抗脱水, 能够在高温环境中维持细胞中钾离子浓度, 有效维持血红蛋白含量。并且有一定储能作用。结论: 海藻糖可以提高动物热耐受性, 很有希望成为一种耐热保健饮料的成分。

**关键词:** 海藻糖; 热耐受性; 动物实验

## Study on Heat Endurance Effect of Trehalose Drinks on Mice

GE Yu<sup>1</sup>, GONG Heng<sup>2</sup>, LIU Ling<sup>2</sup>, LAI Cheng-xing<sup>2</sup>, YUAN Qin-sheng<sup>2</sup>

(1. Shanghai Academe of Testing Technology on Quality Supervision, Shanghai 200233, China  
2. Institute of Bioengineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China)

**Abstract:** Objective: To study the effect of trehalose drinks on heat endurance of mice, so as to provide basis for developing a new heat endurance functional beverage. Methods: Using mouse which were fed by different drinks(water, sucrose water and trehalose water) respectively as testing animals which were exposed to 30℃ habitat. The surviving time upon heat exposure and the swimming time were examined and the physiologic and biochemical changes such as body weight, potassium concentration, blood sugar, hemoglobin were compared before and after heat exposure. Results: Trehalose could significantly improve the surviving time upon heat exposure, effectively sustain the hemoglobin level, and keep the potassium concentration in blood serum to protect cells from damage. Likewise it could increase the blood sugar level and reserve energy. Conclusion: Trehalose could improve the heat endurance of the animal. So trehalose could be a good ingredient in heat endurance drink.

收稿日期: 2004-12-07

作者简介: 葛宇(1971-), 女, 博士, 研究方向为食品检测。

在 78.13~156.25mg/kg·d 时, 对巨噬细胞的吞噬功能和 NK 细胞杀伤活性的增强效果最强, 剂量为 78.13mg/kg·d 时, 对 T 淋巴细胞增殖活性效果最强, 说明牛初乳粉发挥最佳免疫调节作用的最佳剂量为 78.13mg/kg·d, 为牛初乳粉的应用开发提供了理论依据。

参考文献:

[1] 曹劲松. 初乳功能性食品[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2000.

[2] 徐丽. 牛初乳制品功能性成分的分析[J]. 中国乳品工业, 2004, 32(4): 18-20.

[3] 黄雨三. 保健食品的功能学评价程序和检验方法[M]. 北京: 清华电子同方出版社, 2001.

[4] 王玉俊. 口蘑多糖对小白鼠免疫功能的影响[J]. 张家口医学院学报, 1996, 13(1): 17-18.

[5] 庄然. 人类NK细胞的亚群及其特征[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2002, 18(3): 645-648.

[6] 谢红. 运动对T淋巴细胞的影响及其免疫调节机制[J]. 西安体育学院学报, 1999, 16(4): 81-85.