

裙带菜膳食纤维对小鼠某些免疫功能指标的影响

肖红波¹, 卢向阳², 孙志良¹, 许建平¹, 周可炎¹, 易金娥¹

(1. 湖南农业大学动物医学院, 湖南 长沙 410128)

2. 湖南农业大学生化与发酵工程实验室, 湖南 长沙 410128)

摘要: 用裙带菜膳食纤维饲喂 BALB/C 鼠, 测定其耳片肿胀度、半数溶血值、碳粒廓清指数 K 和吞噬指数 α 、小鼠 T 细胞亚群、淋巴细胞增殖功能、NK 细胞杀伤活性等指标, 发现饲喂裙带菜膳食纤维显著增加了正常小鼠碳粒廓清指数 K 和吞噬指数 α , 提高了免疫低下小鼠的碳粒廓清指数 K 和吞噬指数 α 、HC₅₀、免疫低下小鼠 T 细胞亚群、淋巴细胞增殖功能。这些结果表明, 裙带菜膳食纤维对于免疫功能低下小鼠的免疫功能具有一定恢复作用。

关键词: 裙带菜; 膳食纤维; 免疫功能

Effects of *Undaria pinnatifida* Dietary Fiber on Immune Function of Mice

XIAO Hong-bo¹, LU Xiang-yang², SUN Zhi-liang¹, XU Jian-ping¹, ZHOU Ke-yan¹, YI Jin-e¹

(1. Faculty of Veterinary Medicine, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

2. Laboratory of Biochemistry and Fermentation Engineering, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract: *Undaria pinnatifida* dietary fiber (Up-df) was fed to BALB/C mice. Then the mice were executed and assayed for delayed type hypersensitivity (DTH) induced by 2, 4-dinitrofluorobenzene (DNFB), hemolysin formation, the carbon particle clearance index K, phagocytic index α , T cell subsets, lymphocyte proliferation, natural killer (NK) cell cytotoxicity. It was found that the administration of Up-df enhances the carbon particle clearance index K, and phagocytic index α of normal mice, as well as DTH induced by DNFB, hemolysin formation, the carbon particle clearance index K, phagocytic index α , T cell subsets, lymphocyte proliferation, and NK cell cytotoxicity in immune-deformed mice. It suggested that the intake of Up-df can partly rejuvenate the immune reactivity of the immune-deformed mice.

Key words *Undaria pinnatifida* dietary fiber; immune function

中图分类号: TS235.9

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)04-0324-03

人类社会进入 21 世纪, 生活水平大幅提高, 饮食日趋精细, 导致富贵病(糖尿病、心血管病、肥胖、肠道癌、便秘等)越来越普遍, 临床医学对这些疾病的治疗效果并不理想, 达不到去除病因, 逆转病理或病理生理异常的目的, 膳食纤维(dietary fiber, DF)被人们称为“富贵病”的克星, 它对人体的保健生理功能如: 润便、解除便秘; 调节血糖作用; 降低血胆固醇水平等, 已被国内外大量的研究事实与流行病学调查结果所证实^[1-2]。裙带菜^[3]又名海芥菜, 被人们称为海藻之王。隶属于褐藻门、游孢子纲、海带科、裙带菜属, 裙带菜除含有丰富的褐藻酸、生理活性物质和碘、钾、钙等微量元素, 还含有大量的膳食纤维, 尤其是可溶

性纤维具有较高的比例。裙带菜纤维作为一种优质的待开拓膳食纤维资源并没有得到人们的重视, 本研究通过裙带菜纤维对小鼠某些免疫功能指标的影响进行评价, 以提高人们对藻类膳食纤维的认识。

1 材料与方法

1.1 供试材料

裙带菜膳食纤维(*Undaria pinnatifida* dietary fiber, Up-df), 采用酶-化学分离法进行提取制备, 其大致工艺流程如下: 将裙带菜清洗后切碎煮沸, 加入 α -淀粉酶解, 热水洗涤后置于碱液中加热, 冷却水洗至中性, 烘干后 H₂O₂ 脱色, 盐酸调 pH 至中性, 干燥粉碎即得

收稿日期: 2006-03-24

作者简介: 肖红波(1970-), 男, 副教授, 博士研究生, 主要从事生物化学与药理学方面的研究。

裙带菜纤维, 用酶-重量法测定膳食纤维含量; 抗小鼠 T 细胞表面标志单克隆抗体(mAb) 远泰生物公司; ConA Sigma 公司; 其余试剂均为国产分析纯。

1.2 实验动物

BALB/C 鼠, 全部为雄性, 由湖南农业大学动物科技学院小动物实验室提供, 动物质量合格证号: SCXK(湘 2003-0003)。二级清洁动物, 7~8 周龄, 体重 20 ± 2 g。

1.3 动物分组、造模及给药方法

小鼠腹腔注射环磷酸胺(CY) 80mg/kg·d, 造成免疫低下模型。60 只小鼠按体重随机分为 6 组, 每组 20 只: NS 组, 予生理盐水 25ml/kg; 裙带菜膳食纤维高、低剂量组, 分别予裙带菜膳食纤维 16.0、8.0g/kg; CY 组予 CY 80mg/kg; CY+ 裙带菜膳食纤维低剂量组予 CY 80mg/kg+ 裙带菜膳食纤维 8.0g/kg; CY+ 裙带菜膳食纤维高剂量组予 CY 80mg/kg+ 裙带菜膳食纤维 16.0g/kg。裙带菜膳食纤维为灌胃给药, 连续给药 28d; CY 自实验开始 8d 起给药 80mg/kg, 连续 4d。连续灌胃 28d 后; 部分小鼠颈椎脱臼法处死, 无菌获取脾脏, 再对小鼠脾细胞进行制备和培养。

1.4 免疫指标测定方法^[4-5]

一般免疫指标的测定: 对特异性细胞免疫功能的影响采用小鼠迟发型过敏反应(delay type hypersensitivity, DTH) 法; 对非特异性免疫功能的影响采用碳粒廓清法; 对特异性体液免疫功能的影响采用血清溶血素测定法; 细胞及分子免疫指标的测定: 小鼠脾细胞的制备和培养后, 取小鼠脾细胞悬液进行小鼠 T 细胞的增殖实验, 以液闪计数器(Beckman 公司) 测定每分钟脉冲数(cpm 值) 并计算刺激指数(SI); 用抗小鼠 CD4⁺/CD8⁺ 的单克隆抗体(mAb), 常规直接免疫荧光法及流式细胞术分析检测小鼠 T 细胞的表面标志; 用乳酸脱氢酶法 LDH 释放法检测小鼠 NK 细胞杀伤功能。

1.5 统计学处理

应用 SPSS 10.0 统计分析软件处理。计量数据用均数±标准差表示, 2 组间比较采用 t 检验, 多组间和组内比较采用 ONE-WAY-ANOVA 方差分析。设定

$p < 0.05$ 为差异有统计学显著意义。

2 结果与分析

2.1 裙带菜膳食纤维对小鼠一般免疫指标的影响

结果显示, 与 NS 组小鼠比较, CY 组小鼠的耳肿胀度明显减少($p < 0.05$), 半数溶血值 HC_{50} 明显减少($p < 0.05$), 碳粒廓清指数 K 和吞噬指数 α 显著降低($p < 0.05$), 表明小鼠特异性细胞免疫功能低下模型, 特异性体液免疫功能低下模型复制成功及非特异性免疫功能低下模型复制成功; 裙带菜膳食纤维高剂量组小鼠的碳粒廓清指数 K 和吞噬指数 α 有显著的提高($p < 0.05$), 说明裙带菜膳食纤维对小鼠非特异性免疫有明显的调节作用; 与 CY 组小鼠比较, CY+ 裙带菜膳食纤维高、低剂量组小鼠耳片肿胀度显著($p < 0.01$), 说明裙带菜膳食纤维可提高免疫低下型小鼠特异性细胞免疫功能; CY+ 裙带菜膳食纤维高剂量组小鼠的 HC_{50} 显著增高($p < 0.05$), 这说明裙带菜膳食纤维可提高免疫低下型小鼠特异性体液免疫功能; CY+ 裙带菜膳食纤维高剂量组小鼠的碳粒廓清指数 K 和吞噬指数 α 有一定的提高($p < 0.01$), 这说明裙带菜膳食纤维可提高免疫低下型小鼠非特异性免疫功能, 见表 1。

2.2 裙带菜膳食纤维对小鼠 T 细胞亚群, 淋巴细胞增殖功能, NK 细胞杀伤活性的影响

结果显示, 与 NS 组小鼠比较, CY 组小鼠的 L3T4⁺(CD4⁺) 和 Lyt2⁺(CD8⁺) 两个亚群明显下调($p < 0.01$), 刺激指数 SI 明显降低($p < 0.01$), NK 细胞杀伤率明显减小($p < 0.01$), 表明 CY 具有负向免疫调节作用, 可降低小鼠的免疫功能; 各裙带菜膳食纤维组小鼠各项指标无明显变化($p < 0.05$), 表明裙带菜膳食纤维对正常小鼠的 T 细胞亚群, 淋巴细胞增殖功能, NK 细胞杀伤活性无调节作用。与 CY 组小鼠比较, CY+Up-df 高剂量裙带菜膳食纤维对免疫功能低下小鼠 T 细胞亚群的数量均具有上调作用($p < 0.05$), 且呈现一定的剂量依赖关系; 裙带菜膳食纤维组小鼠淋巴细胞的增殖功能有明显上升($p < 0.05$), 表明裙带菜膳食纤维不仅对 CY 的免疫抑制效应具有拮抗作用, 而且具有正向免疫调节作用, 且呈

表 1 裙带菜膳食纤维对 DNFB 致小鼠 DTH, 血清溶血素生成, 碳粒廓清实验的影响($n=10, \bar{x} \pm s$)

Table 1 Effects of *Undaria pinnatifida* dietary fiber on DTH induced by DNFB, hemolysin formation in mice, RES phagocytosis in mice ($n=10, \bar{x} \pm s$)

	耳片肿胀度(mg)	溶血素 HC_{50}	碳粒廓清指数 K	吞噬指数 α
NS	19 ± 3	338 ± 16	0.0402 ± 0.0016	6.16 ± 0.19
Up-df 低剂量	21 ± 2	336 ± 15	0.0512 ± 0.0019	6.84 ± 0.02
Up-df 高剂量	20 ± 2	335 ± 18	$0.0536 \pm 0.0021^{\Delta}$	$7.08 \pm 0.03^{\Delta}$
CY	$9.1 \pm 4.08^{\Delta\Delta}$	$189 \pm 17^{\Delta\Delta}$	$0.0240 \pm 0.0020^{\Delta\Delta}$	$5.07 \pm 0.15^{\Delta\Delta}$
CY +Up-df 低剂量	10 ± 3	215 ± 12	0.0252 ± 0.0025	5.18 ± 0.08
CY +Up-df 高剂量	$15 \pm 2^{**}$	$223 \pm 15^{*}$	$0.0351 \pm 0.0022^{*}$	$5.91 \pm 0.12^{*}$

注: 与正常对照组相比: $\Delta p < 0.05$, $\Delta\Delta p < 0.01$; 与动物模型组比较, $*p < 0.05$, $**p < 0.01$ 。

表2 可溶性裙带菜膳食纤维对小鼠T细胞亚群, 淋巴细胞增殖功能, NK细胞杀伤活性的影响(n=10, $\bar{x} \pm s$)
Table 2 Effects of *Undaria pinnatifida* dietary fiber on mouse T cell subsets, lymphocyte proliferation, NK cell cytotoxicity in mice (n=10, $\bar{x} \pm s$)

	L3T4 ⁺ (CD4 ⁺) 细胞	Lyt2 ⁺ (CD8 ⁺) 细胞	刺激指数SI	杀伤率Cytotoxicity(50:1)%
NS	41.8±3.5	13.0±4.5	14.6±3.0	16.6±6.7
Up-df低剂量	42.0±2.9	14.3±3.8	15.0±3.6	16.8±8.2
Up-df高剂量	40.9±4.2	13.9±4.9	14.2±4.5	17.3±6.5
CY	22.9±5.6 ^{△△}	6.4±1.5 ^{△△}	7.6±2.4 ^{△△}	8.4±4.4 ^{△△}
CY +Up-df低剂量	23.6±4.5	6.9±1.9	8.4±1.7	9.8±3.6
CY +Up-df高剂量	31.9±2.3*	8.2±2.4**	13.0±3.2**	8.6±2.8

注: 与正常对照组相比: [△]p < 0.05, ^{△△}p < 0.01; 与动物模型组比较, *p < 0.05, **p < 0.01。

一定的剂量依赖性, 见表2。

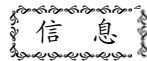
发利用提供初步的实验依据。

3 讨论

CY可损伤机体的免疫器官, 抑制机体的体液免疫和细胞免疫。本实验研究表明, 小鼠经过裙带菜膳食纤维较长时间(28d)灌胃后, 裙带菜膳食纤维能提高正常小鼠的碳粒廓清指数K和吞噬指数 α 有显著的提高, 而对正常小鼠的耳片肿胀度, HC₅₀, 小鼠T细胞亚群, 淋巴细胞增殖功能, NK细胞杀伤活性的均无影响; 裙带菜膳食纤维能提高免疫低下小鼠的碳粒廓清指数K和吞噬指数 α 、HC₅₀, 免疫低下小鼠T细胞亚群, 淋巴细胞增殖功能, 而对NK细胞杀伤活性无影响。提示裙带菜膳食纤维可以提高正常小鼠的非特异性免疫功能, 裙带菜膳食纤维还可以改善免疫功能低下小鼠的免疫功能。此研究的实验结果可以为裙带菜膳食纤维进一步开

参考文献:

[1] LOGAN A C. Dietary fiber, mood, and behavior[J]. Nutrition, 2006, 22 (2): 213-214.
[2] NAKAJI S, SUGAWARA K, SAITO D, et al. Trends in dietary fiber intake in Japan over the last century[J]. European Journal of Nutrition, 2002, 41 (5): 222 - 227.
[3] CURIEL D, GUIDETTI P, BELLEMO G, et al. The introduced alga *Undaria pinnatifida* (Laminariales, Alariaceae) in the lagoon of Venice [J]. Hydrobiologia, 2002, 477 (1/3): 209-219.
[4] 朱正美. 简明免疫学技术[M]. 北京: 科学出版社, 2002.
[5] SANTARELLI L, BRACCI M, MOCCHIGIANI E. *In vitro* and *in vivo* effects of mercuric chloride on thymic endocrine activity, NK and NKT cell cytotoxicity, cytokine profiles (IL-2, IFN- γ , IL-6): role of the nitric oxide-L-arginine pathway[J]. Int Immunopharmacol, 2006, 6 (3): 376-389.



研究发现黑巧克力对动脉有益

一项最新的研究表明, 黑巧克力能够帮助血液流动, 有利于动脉。

在3月25日举行的美国心血管学会大会上, 耶鲁大学研究中心的科学家发表报告, 指出类黄酮——这一类存在于蔬菜水果中的抗氧化剂——对人体健康起重要作用。

他们的研究表明, 食用富含类黄酮的食物, 比如葡萄酒、绿茶、水果和蔬菜, 同对抗心血管病有着强烈的相关性。

而在日常消耗的食品中, 可可与黑巧克力含有类黄酮的浓度是最高的。

耶鲁大学研究中心的科学家们对45位来自康涅狄克州的志愿者进行了研究, 他们被随即地分配到三个小组。三个小组的成员每天分别摄入6盎司的含糖可可粉、不含糖的可可粉和无效对照剂, 实验持续6个星期。

其中, 可可粉在这个实验中作为有效提高内皮功能的媒介。

根据对最终完成实验的39个人的检查结果表明, 在血流介导的血管扩张功能(FMD)的提高上, 食用不含糖可可粉的人(提高2.4%)和含糖可可粉的人(提高1.5%)要明显高于食用无效对照剂的人(提高0.8%)。

领导这个科研小组的Valentine Yanchou Njike说: “这个发现并不是意味着人们应该一次三餐食用巧克力, 而是说明我们应该更加注意黑巧克力等富含类黄酮的食物是怎样对有益于心血管的。”