

# 沙棘多糖对环磷酰胺所致小鼠免疫功能低下的缓解作用

江峻峰<sup>1</sup>,包晓玮<sup>1\*</sup>,孙嘉莉<sup>1</sup>,敖羽<sup>1</sup>,宋素琴<sup>2\*</sup>

(1. 新疆农业大学 食品科学与药学院,新疆 乌鲁木齐 830052;2. 新疆农业科学院 微生物应用研究所 新疆特殊环境微生物重点实验室,新疆 乌鲁木齐 830091)

**摘要:** 为评价沙棘多糖(polysaccharide from *Hippophae rhamnoides* L., PHR)对环磷酰胺(cyclophosphamide, CTX)导致免疫抑制小鼠的免疫功能低下的缓解作用,以分离制备的PHR为供试品,将小鼠分为空白组、环磷酰胺模型组、PHR低、中、高(100、200、400 mg/kg)剂量组。利用环磷酰胺建立免疫抑制小鼠模型后,灌胃PHR,利用体质量称量、碳廓清、酶联免疫吸附(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)、甲基噻唑基四唑盐比色法[(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide assay, MTT)]测定各组动物免疫器官指数、吞噬指数、血清免疫球蛋白G(immunoglobulin G, IgG)、免疫球蛋白M(immunoglobulin M, IgM)、肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、 $\gamma$ 干扰素(interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )、白细胞介素6(interleukin-6, IL-6)及脾淋巴细胞增殖能力。结果表明,与空白组比较,模型组免疫器官指数、吞噬指数、血清中IgG、IgM、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-6含量、淋巴细胞增殖能力均极显著降低( $P < 0.01$ ),与模型组比较,PHR各剂量组对以上指标均有所改善,其中PHR中、高剂量组的作用效果显著( $P < 0.05$ )。因此PHR可以缓解环磷酰胺导致的免疫抑制小鼠的免疫功能低下。

**关键词:** 沙棘;多糖;免疫抑制;缓解;免疫功能

## Polysaccharide from *Hippophae rhamnoides* L. Alleviates Immunosuppression Induced by Cyclophosphamide in Mice

JIANG Junfeng<sup>1</sup>, BAO Xiaowei<sup>1\*</sup>, SUN Jiali<sup>1</sup>, AO Yu<sup>1</sup>, SONG Suqin<sup>2\*</sup>

(1. School of Food Science and Pharmacy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, Xinjiang, China;  
2. Xinjiang Key Laboratory of Special Environmental Microorganisms, Institute of Microbiology Application, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Urumqi 830091, Xinjiang, China)

**Abstract:** To evaluate the immunoregulatory effect of polysaccharide from *Hippophae rhamnoides* L. (PHR) on immune dysfunction in cyclophosphamide (CTX)-induced immunosuppressed mice, PHR isolated and prepared from *H. rhamnoides* L. was used as the test sample. Mice were divided into blank group, CTX model group, and low-, medium-, and high-dose PHR groups (100, 200, and 400 mg/kg). The immunosuppressed mouse model was established using CTX, followed by PHR administration via gavage. The immune organ index, phagocytosis index, serum levels of immunoglobulin G (IgG), immunoglobulin M (IgM), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), interleukin-6 (IL-6), and the proliferation ability of spleen lymphocytes in each group were measured using weighing, carbon clearance, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay. The results showed that compared with the blank group, the model group exhibited significantly reduced immune organ index, phagocytosis index, serum levels of IgG, IgM, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-6, and lymphocyte proliferation capacity ( $P < 0.01$ ). Compared with the model group, each dose group of PHR showed improvement in the above indexes, with the medium- and high-dose groups demonstrating significantly greater effects ( $P < 0.05$ ). Therefore, PHR can alleviate immune dysfunction in CTX-induced immunosuppressed mice.

**Key words:** *Hippophae rhamnoides* L.; polysaccharide; immunosuppressed; alleviate; immunologic function

基金项目:自治区重点研发计划项目(2022B02005-4)

作者简介:江峻峰(1996—),男(汉),硕士研究生,研究方向:食品营养与安全。

\*通信作者:包晓玮,女,教授,博士,研究方向:食品营养与安全;宋素琴,研究员,硕士,研究方向:微生物活性产物及作物病害。

引文格式:

江峻峰,包晓玮,孙嘉莉,等.沙棘多糖对环磷酰胺所致小鼠免疫功能低下的缓解作用[J].食品研究与开发,2025,46(4):26-32.

JIANG Junfeng, BAO Xiaowei, SUN Jiali, et al. Polysaccharide from *Hippophae rhamnoides* L. Alleviates Immunosuppression Induced by Cyclophosphamide in Mice[J]. Food Research and Development, 2025, 46(4): 26-32.

沙棘(*Hippophae rhamnoides* L.)是胡颓子科灌木或小乔木,也称为醋柳和酸刺种子<sup>[1-2]</sup>。沙棘广泛分布在欧亚大陆的温带地区,在中国、英国和蒙古国都有种植<sup>[3]</sup>。沙棘油中含有许多有益的化合物,如类黄酮、类胡萝卜素、维生素C、维生素E和维生素K等,其种子油中含有大量的R-亚麻酸、棕榈酸等<sup>[4]</sup>,沙棘已被长期用作药物补充剂和中药使用<sup>[5-6]</sup>。

研究表明沙棘果实提取得到的沙棘多糖,是一种通过糖苷键相互连接的单糖残基聚合物<sup>[7]</sup>,是有多样结构的大分子,同时具有抗肿瘤<sup>[8]</sup>、抗氧化<sup>[9]</sup>、抗衰老<sup>[10]</sup>等生物活性。多糖除具有多种生物活性外,安全无毒及不产生任何耐药性的优势使得其成为药理学和功能性食品领域的研究热点<sup>[11]</sup>。目前国际市场上沙棘深加工产品多为中间产品,目标市场狭窄,附加值较低,在活性成分和功能食品开发方面探索较少。本研究以新疆阿勒泰阿合奇地区的沙棘干果实为原料,制备粗多糖,通过腹腔注射环磷酰胺诱导免疫功能抑制小鼠模型,以评价沙棘多糖(polysaccharide from *Hippophae rhamnoides* L., PHR)对免疫抑制小鼠的免疫调节作用,期为开发沙棘系列产品、促进新疆沙棘产业经济发展提供参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与试剂

沙棘干燥果实:新疆慧华沙棘生物科技有限公司;11种单糖标准品、苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮(phenyl-3-methyl-5-pyrazolone, PMP, 99%)、噻唑蓝 3-(4,5-二甲基噻唑-2-yl)-2,5-二苯四唑溴[(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide assay, MTT)、刀豆素A(concanavalin A, Con-A):美国Sigma公司;印度墨汁:福州飞净生物科技有限公司;环磷酰胺(cyclophosphamide, CTX):上海阿拉丁生化科技股份有限公司;RPMI-1640培养基、胎牛血清(fetal calf serum, FCS):美国格兰岛生物制品公司;免疫球蛋白G(immunoglobulin G, IgG)、免疫球蛋白M(immunoglobulin M, IgM)检测试剂盒:南京建成生物工程研究所;肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、 $\gamma$ 干扰素(interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )、白细胞介素6(interleukin-6, IL-6)检测试剂盒:杭州连克生物技术有限公司。所用化学试剂均为分析纯。

### 1.2 实验动物

150只雄性清洁级KM小鼠:新疆医科大学实验动物中心[生产许可证号SCXK(新)2018003]。

### 1.3 仪器与设备

D2K-K30B真空干燥箱:杭州艾普仪器设备有限公司;DHG-9053A电热恒温鼓风干燥箱:杭州惠仪器有限公司;H1650-W离心机:湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;C18色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5  $\mu$ m):美国Thermo公司;LC-20AT高效液相色谱仪(配二极管阵列检测器):日本岛津公司;AVANCE II 1400 MHz NMR光谱仪:瑞士布鲁克公司;xMark酶标仪:美国BIO-RAD公司;T6可见分光光度计:北京普析通用仪器有限责任公司;Shellab医用CO<sub>2</sub>培养箱:美国希尔顿公司;SW-CJ-2FD双人单面净化工作台:中国苏州净化设备有限公司;AE-31数码倒置显微镜:麦克奥迪公司;RK30振荡器:常州智博瑞仪器制造有限公司。

### 1.4 方法

#### 1.4.1 PHR的制备

以干燥沙棘果实为原料,粉碎后过80目筛,石油醚加热回流脱脂两次,用80%乙醇加热回流脱单糖进行预处理,将预处理样品在超声波辅助下利用水提醇沉浸提,沉淀经无水乙醇、丙酮、乙醚依次洗涤,Sevag法脱蛋白后,进一步抽滤,浓缩,冷冻干燥,即获得沙棘多糖。

#### 1.4.2 PHR成分测定

采用PMP-柱前衍生法<sup>[12]</sup>对PHR进行单糖组成分析,将PHR用2 mol/L三氟乙酸(trifluoroacetic acid, TFA)在110 $^{\circ}$ C下完全水解6 h后,将水解产物干燥以除去过量的TFA。将水解产物和单糖标准品分别溶于100  $\mu$ L水中,添加100  $\mu$ L的0.3 mol/L NaOH和120  $\mu$ L的0.5 mol/L PMP甲醇溶液,然后在50 $^{\circ}$ C下孵育1 h后,将反应混合物用100  $\mu$ L碳酸氢钠中和。室温冷却后,分别用0.3 mol/L HCl和氯仿萃取3次。流动相为17% CH<sub>3</sub>CN溶于0.1 mol/L磷酸盐缓冲溶液(pH6.7),流速为1.0 mL/min,柱温为30 $^{\circ}$ C。采用二极管阵列检测器,检测波长为245 nm。利用苯酚-硫酸法测定总糖含量<sup>[13]</sup>;考马斯亮蓝法测定蛋白质含量<sup>[14]</sup>;尿酸-咪唑法测定糖醛酸含量<sup>[15]</sup>。

#### 1.4.3 动物分组及处理

150只雄鼠适应性饲养5 d后,随机分为5组,即空白组、模型组、PHR低(L-PHR)、中(M-PHR)、高剂量

组(H-PHR),每组30只;空白组、模型组灌胃给予生理盐水(0.2 mL/10 g),PHR低、中、高剂量组分别灌胃给予PHR水溶液100、200、400 mg/kg;第6天除空白组腹腔注射同等体积的生理盐水外,其余各组连续3 d腹腔注射环磷酰胺(80 mg/kg)制备免疫抑制模型小鼠,连续灌胃30 d。

#### 1.4.4 小鼠免疫器官脏器指数和吞噬指数的测定

在最后一次灌胃2 h后,将按照体积比1:4稀释的印度墨汁(100 mL/kg)通过小鼠尾静脉进行注射。分别在注射墨汁2 min和10 min后,利用采血毛细管于小鼠眼眶静脉丛取血20  $\mu$ L,并立即与2 mL 0.1%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 溶液混合。其中以 $\text{Na}_2\text{CO}_3$ 溶液作为空白对照,在波长600 nm处测定吸光度,测定碳廓清吞噬指数的方法参考文献[16]。在完成碳清除实验之前,测量小鼠体质量后,解剖摘取小鼠胸腺、肝、脾脏器,剔除各脏器周围脂肪组织,用灭菌生理盐水冲洗脏器后,用干净滤纸吸取脏器表面水分后称质量。小鼠免疫器官指数及碳廓清能力的吞噬指数按下列公式计算。

$$X = \frac{M_T}{M_m}$$

$$Y = \frac{M_S}{M_m}$$

$$K = \frac{\lg A_1 - \lg A_2}{t_2 - t_1}$$

$$\alpha = \frac{M_m}{M_S + M_L} \times \sqrt[3]{K}$$

式中: $X$ 为胸腺指数,mg/g; $Y$ 为脾脏指数,mg/g; $M_T$ 为胸腺质量,mg; $M_m$ 为小鼠体质量,g; $M_S$ 为脾脏质量,mg; $M_L$ 为肝脏质量,g; $K$ 为吞噬速率; $A_1$ 为静脉注射墨汁 $t_1$ (2 min)后静脉血吸光度; $A_2$ 为静脉注射墨汁 $t_2$ (10 min)后静脉血吸光度; $\alpha$ 为吞噬指数。

#### 1.4.5 小鼠脾淋巴细胞增殖能力及血清IgG、IgM、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-6含量的测定

在最后一次灌胃2 h后,采取眼眶采血并分离血清。分离的血清冷冻保存,并尽快按照试剂盒操作说明测定IgG、IgM、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-6含量。

同时,断颈脱臼处死小鼠,并用70%乙醇溶液浸泡消毒处死的小鼠,浸泡10 min后,将消毒后小鼠在无菌操作台内摘取小鼠脾脏,以制备淋巴细胞,将制备的淋巴细胞利用台盼蓝法计数活细胞后,用含10%胎牛血清的RPMI-1640培养基调整细胞浓度为 $1 \times 10^6$ 个/mL,以100  $\mu$ L/孔接种于96孔板(每组设3个复孔),同时用7.5  $\mu$ g/mL ConA刺激(测试孔),以不加ConA作为非刺激孔(空白孔)。置于37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$ 细胞培养箱中培养68 h后,加入5 mg/mL MTT(10  $\mu$ L/孔),继续培养4 h后取出;加入二甲基亚砜溶液150  $\mu$ L,于振荡器振荡数次后,在室温暗处放置15 min,利用酶标仪于570 nm波长处测定各孔吸光度。

$$P = A_{\text{ConA}} - A_{\text{Control}}$$

式中: $P$ 为淋巴细胞增殖能力; $A_{\text{ConA}}$ 为加入刀豆素A刺激孔样本的吸光度; $A_{\text{Control}}$ 为未加入刀豆素A刺激孔样本的吸光度。

#### 1.5 数据统计与分析

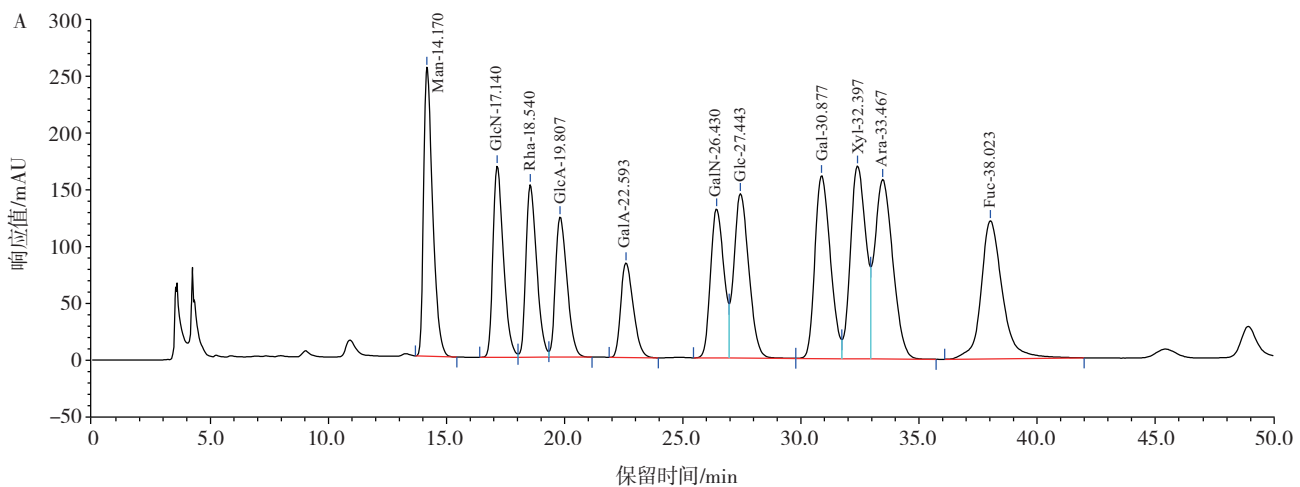
数据以平均值 $\pm$ 标准差表示,用SPSS 22.0软件进行显著性分析,组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 $t$ 检验, $p < 0.05$ 认为具有显著差异。

## 2 结果与分析

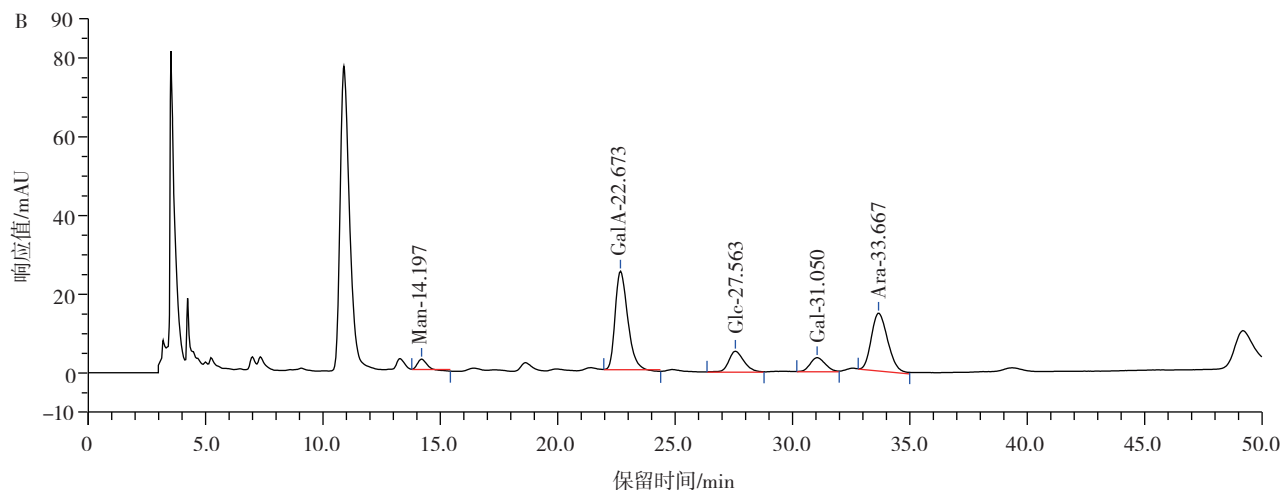
### 2.1 PHR的化学组成

标准品和PHR的单糖组成色谱图见图1。

由图1可以看出,11种单糖的保留时间由短到长分别是甘露糖(Man)、葡萄糖胺(GlcN)、鼠李糖(Rha)、葡萄糖醛酸(GlcA)、半乳糖醛酸(GalA)、氨基半乳糖(GalN)、葡萄糖(Glc)、半乳糖(Gal)、木糖(Xyl)、阿拉伯糖(Ara)、岩藻糖(Fuc)。通过分析,PHR中主要含有GalA和Ara,还含有少量Glc、Gal和Man。PHR的成分组成见表1。







A. 标准品; B. PHR。

图1 标准品和 PHR 的单糖组成色谱图

Fig.1 Chromatogram of standard and monosaccharide composition of PHR

表1 PHR 的化学组成

Table 1 Chemical composition of PHR

总糖含量/%	蛋白质含量/(mg/g)	糖醛酸含量/(mg/g)
89.98±1.83	1.54±0.05	95.63±0.68

由表1可知,利用超声辅助水提醇沉及脱蛋白后的总糖含量为(89.98±1.83)%,蛋白质含量为(1.54±0.05)mg/g;糖醛酸含量为(95.63±0.68)mg/g。PHR 主要由甘露糖、半乳糖醛酸、葡萄糖、半乳糖、阿拉伯糖组成,物质的量比为3.6:55.89:10.1:5.49:25.00。

## 2.2 PHR 对小鼠免疫器官脏器指数和吞噬指数的作用

PHR 对免疫抑制小鼠免疫器官脏器指数和吞噬指数的影响见表2。

表2 PHR 对免疫抑制小鼠免疫器官脏器指数和吞噬指数的影响

Table 2 Effect of PHR on the immune organ index and phagocytosis index of immunosuppressed mice

组别	脾脏指数/(mg/g)	胸腺指数/(mg/g)	吞噬指数
空白组	6.23±0.92	1.67±0.043	7.21±0.53
模型组	2.52±0.21 <sup>##</sup>	0.96±0.15 <sup>##</sup>	5.34±0.37 <sup>##</sup>
L-PHR	3.73±0.36 <sup>**</sup>	1.13±0.20	5.51±0.53
M-PHR	4.51±0.12 <sup>**</sup>	1.42±0.11 <sup>*</sup>	5.93±0.56
H-PHR	4.86±0.22 <sup>**</sup>	1.48±0.12 <sup>*</sup>	6.48±0.15 <sup>*</sup>

注:模型组与空白组比较,##表示差异极显著( $P<0.01$ );PHR 各组与模型组比较,\*表示差异显著( $P<0.05$ ),\*\*表示差异极显著( $P<0.01$ )。

由表2可以看出,模型组动物的脾脏、胸腺指数均极显著低于空白组( $P<0.01$ ),表明环磷酰胺导致免疫抑制后,小鼠的脾脏、胸腺指数均降低。同时 PHR 低、中、高各组与模型组比较,L-PHR、M-PHR 和 H-PHR 组脾脏指数均极显著升高( $P<0.01$ );对于胸腺指数而言,L-PHR 升高不显著,M-PHR 和 H-PHR 显著升高( $P<0.05$ )。胸腺和脾脏是机体重要的免疫器官,胸腺和脾

脏的发育成熟及退化萎缩可以反映机体免疫功能及免疫调节状态,脾脏和胸腺指数能直观地反映有机体的免疫功能<sup>[17]</sup>,脾脏和胸腺指数常被用作评价药物对动物免疫学研究的初步基础<sup>[18-19]</sup>。本实验结果表明,PHR 能够降低和缓解免疫抑制小鼠引起的胸腺和脾脏指数下降的作用,表明 PHR 对免疫抑制小鼠的胸腺和脾脏发育具有促进作用,可以减缓免疫抑制小鼠胸腺和脾脏的萎缩。

由表2可以看出,模型组动物的吞噬指数极显著低于空白组( $P<0.01$ ),表明环磷酰胺导致免疫抑制后,小鼠的吞噬指数降低。通过给动物灌胃不同剂量的 PHR 后,与模型组比较,L-PHR 组和 M-PHR 组吞噬指数无显著变化,H-PHR 组吞噬指数显著升高( $P<0.05$ )。巨噬细胞(M $\phi$ )是机体内部一种重要的免疫细胞,具有很强的吞噬和杀伤异物及病原微生物能力,在参与机体非特异性免疫防御中具有重要作用<sup>[20]</sup>。小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬能力是非特异性免疫功能的指标之一,利用碳廓清实验能够用来测定小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬功能,吞噬指数可以反映单核巨噬细胞的吞噬能力<sup>[21]</sup>。结果表明,H-PHR 可以显著增强免疫抑制小鼠吞噬指数( $P<0.05$ ),进而说明 PHR 增强了动物的非特异性免疫功能。研究表明,半乳糖、阿拉伯糖、甘露糖以及葡萄糖与小鼠巨噬细胞的免疫活性呈正相关<sup>[22]</sup>,与本研究结果相吻合,另外糖醛酸含量高,能够中和和清除氧化产物,进而增强抗氧化作用,抗氧化作用增强可以促进机体免疫作用的增强<sup>[23]</sup>。本实验结果表明 PHR 具有增强免疫抑制小鼠吞噬指数作用,这种增强作用可能与 PHR 的成分组成中糖醛酸含量较高及单糖组成有关。

## 2.3 PHR 对免疫抑制小鼠 IgG、IgM 含量的作用

PHR 对免疫抑制小鼠血清 IgG、IgM 含量的影响

见表3。

表3 PHR对免疫抑制小鼠血清IgG、IgM含量的影响

Table 3 Effect of PHR on the content of serum immunoglobulin G and immunoglobulin M of immunocompromised mice

组别	IgG 含量/(mg/mL)	IgM 含量/(mg/mL)
空白组	14.60±1.01	7.45±1.01
模型组	8.73±1.72 <sup>##</sup>	3.49±0.93 <sup>##</sup>
L-PHR	9.11±1.015	4.87±1.34
M-PHR	12.48±0.96 <sup>*</sup>	6.03±2.43 <sup>**</sup>
H-PHR	12.63±1.84 <sup>*</sup>	5.64±0.89 <sup>**</sup>

注:模型组与空白组比较,##表示差异极显著( $P<0.01$ );PHR各组与模型组比较,\*表示差异显著( $P<0.05$ ),\*\*表示差异极显著( $P<0.01$ )。

由表3可以看出,环磷酰胺导致免疫抑制模型的小鼠IgG、IgM含量均极显著低于空白组( $P<0.01$ )。与模型组比较,M-PHR和H-PHR组的IgG和IgM含量均显著升高( $P<0.05$ )。抗体的产生是主动体液免疫的一种表现<sup>[24]</sup>,对产生抗体水平的测定可以评价机体的主动体液免疫水平。同时血清中的IgG、IgM抗体分别是机体的初次和再次应答中产生的主要抗体,并且分别在机体抗感染早期和晚期发挥作用。本实验中的免疫抑制模型小鼠的血清中IgG、IgM含量均明显降低,通过PHR干预后,显示PHR能够提高免疫抑制小鼠的血清中IgG、IgM含量,该结果表明PHR能够增强免疫抑制小鼠体液免疫功能,同时也提示PHR在机体抵御感染的早期和晚期过程中,通过产生IgM、IgG抗体发挥一定的生物学作用。PHR对免疫抑制小鼠血清TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-6含量的影响见表4。

表4 PHR对免疫抑制小鼠血清TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-6含量的影响  
Table 4 Effect of PHR on the content of serum TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , and IL-6 of immunocompromised mice

组别	TNF- $\alpha$ 含量/(pg/mL)	IFN- $\gamma$ 含量/(pg/mL)	IL-6 含量/(pg/mL)
空白组	45.13±1.12	262.71±2.26	16.71±0.45
模型组	21.12±3.17 <sup>##</sup>	187.56±3.08 <sup>##</sup>	8.19±0.40 <sup>##</sup>
L-PHR	24.06±2.54	201.98±4.36	10.38±0.33
M-PHR	33.17±2.83 <sup>*</sup>	237.17±5.87 <sup>*</sup>	11.49±0.26
H-PHR	36.92±1.48 <sup>*</sup>	241.18±4.15 <sup>*</sup>	13.38±0.04 <sup>*</sup>

注:模型组与空白组比较,##表示差异极显著( $P<0.01$ );PHR各组与模型组比较,\*表示差异显著( $P<0.05$ )。

由表4可以看出,环磷酰胺导致免疫抑制模型的小鼠TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-6含量均极显著低于空白组( $P<0.01$ ),表明免疫抑制小鼠的TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-6细胞因子水平是降低的。与模型组比较,H-PHR组TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 及IL-6细胞因子水平浓度均显著升高( $P<0.05$ )。

研究表明,人体内主要有Th1和Th2辅助性T细胞,Th1主要产生IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-2等细胞因子辅助细胞免疫,Th2主要产生IL-4、IL-5、IL-6、IL-10等细胞

因子辅助体液免疫<sup>[25]</sup>。TNF- $\alpha$ 可选择性杀死肿瘤细胞,并具有免疫调节的作用诱导其他免疫因子的分泌。IFN- $\gamma$ 是生物体内重要的保护因子,具有抗肿瘤、抗病毒及免疫调节作用。IL-6可以诱导B细胞增殖分化产生抗体,参与细胞毒细胞分化过程。本实验发现PHR可以提高免疫抑制小鼠血清中TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 和IL-6的含量,该结果表明PHR通过提高这些细胞因子的水平可以增强免疫抑制小鼠细胞免疫和体液免疫水平。

#### 2.4 PHR对免疫抑制小鼠脾淋巴细胞增殖的作用

PHR对免疫抑制小鼠脾淋巴细胞增殖能力的作用见表5。

表5 PHR对抑制免疫小鼠脾淋巴细胞增殖能力的作用

Table 5 Effect of PHR on lymphocyte proliferation of immunocompromised mice

组别	淋巴细胞增殖能力
空白组	0.23±0.02
模型组	0.08±0.03 <sup>##</sup>
L-PHR	0.13±0.02
M-PHR	0.17±0.06 <sup>*</sup>
H-PHR	0.19±0.04 <sup>*</sup>

注:模型组与空白组比较,##表示差异极显著( $P<0.01$ );PHR各组与模型组比较,\*表示差异显著( $P<0.05$ )。

由表5看出,免疫抑制模型组小鼠的T淋巴细胞增殖能力极显著低于空白组( $P<0.01$ ),表明免疫抑制小鼠T淋巴细胞增殖能力是降低的。与模型组比较,M-PHR和H-PHR组的淋巴细胞增殖能力均显著升高( $P<0.05$ ),表明PHR可以改善有丝分裂原ConA诱导的小鼠脾淋巴细胞的增殖。T、B淋巴细胞主要分布在脾淋巴细胞中,是免疫系统的重要组成部分,同时脾淋巴细胞的增殖和分化是机体在免疫应答过程的一个重要阶段,因此脾淋巴细胞的增殖和分化水平可以考察机体免疫功能作用。有丝分裂原刀豆蛋白A(ConA)刺激T细胞<sup>[26]</sup>增殖分化,本实验利用Con-A诱导的淋巴细胞增殖,可以用于评价T淋巴细胞的增殖和分化,进而用于评价PHR对细胞免疫功能的作用。研究发现不同来源的多糖对T淋巴细胞表现出不同的免疫刺激作用,白术多糖能够促进ConA诱导的T淋巴细胞增殖,灵芝多糖具有刺激T细胞增殖的作用<sup>[27-28]</sup>。本实验结果表明,PHR能够促进ConA刺激的T淋巴细胞增殖,与文献结果相一致。T淋巴细胞是介导机体细胞免疫应答的主要效应细胞<sup>[29]</sup>,PHR通过增强T淋巴细胞的增殖能力可以改善免疫抑制小鼠的细胞免疫功能。

### 3 结论

通过腹腔注射环磷酰胺制备免疫抑制模型,实验结果表明,模型组的动物脏器指数、吞噬指数、血清中

IgG、IgM 含量、血清中细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  和 IL-6 含量及淋巴细胞增殖能力均极显著降低( $P<0.01$ ),表明本实验的免疫抑制模型制备成功。在免疫抑制模型成功的基础上,可以客观地评价灌胃 PHR 后,PHR 对免疫抑制小鼠的免疫抑制的缓解和保护作用。

通过本实验的研究,可以证明 PHR 能够缓解免疫抑制小鼠的免疫低下作用,具体表现为增强免疫器官脏器指数及吞噬指数,提高机体血清中的免疫球蛋白 IgG、IgM 含量,提高血清中细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  和 IL-6 含量,增强淋巴细胞增殖能力。这些综合作用的结果表明 PHR 能够在器官、细胞及分子层面提高免疫抑制小鼠的非特异性免疫水平,以及特异性细胞免疫和体液免疫的水平,其作用具有剂量依赖性。本研究可为 PHR 作为免疫调节剂及功能性食品开发的综合利用提供理论依据。

#### 参考文献:

- [1] HOSSEINIAN F S, BETA T. Saskatoon and wild blueberries have higher anthocyanin contents than other Manitoba berries[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(26): 10832-10838.
- [2] URSACHE F M, GHINEA I O, TURTURICĂ M, et al. Phytochemicals content and antioxidant properties of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) as affected by heat treatment - quantitative spectroscopic and kinetic approaches[J]. Food Chemistry, 2017, 233: 442-449.
- [3] GAO X, OHLANDER M, JEPSSON N, et al. Changes in antioxidant effects and their relationship to phytonutrients in fruits of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) during maturation[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48(5): 1485-1490.
- [4] TIITINEN K M, HAKALA M A, KALLIO H P. Quality components of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) varieties[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(5): 1692-1699.
- [5] ZHAO P, WANG S L, LIANG C, et al. Acute and subchronic toxicity studies of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) oil in rodents [J]. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 2017, 91: 50-57.
- [6] PUTEROVA J, RAZUMOVA O, MARTINEK T, et al. Satellite DNA and transposable elements in seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*), a dioecious plant with small Y and large X chromosomes [J]. Genome Biology and Evolution, 2017, 9(1): 197-212.
- [7] MAHESHWARI D T, YOGENDRA KUMAR M S, VERMA S K, et al. Antioxidant and hepatoprotective activities of phenolic rich fraction of Seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) leaves[J]. Food and Chemical Toxicology, 2011, 49(9): 2422-2428.
- [8] 包晓玮,魏晨业,刘晓祿,等.沙棘多糖对肝癌细胞 Hep-G2 生长、凋亡、迁移和侵袭的影响[J].中国食品学报,2022,22(9):47-54. BAO Xiaowei, WEI Chenye, LIU Xiaolu, et al. Effects of *Hippophae rhamnoides* polysaccharides on the growth, apoptosis, migration and invasion of Hep-G2 cells[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2022, 22(9): 47-54.
- [9] 魏晨业,包晓玮,王娟,等.沙棘多糖分离纯化及抗氧化活性[J].食品科学,2021,42(4):227-232. WEI Chenye, BAO Xiaowei, WANG Juan, et al. Isolation, purification and antioxidant activity of polysaccharides from the fruit of *Hippophae rhamnoides*[J]. Food Science, 2021, 42(4): 227-232.
- [10] RAMASAMY T, VARSHNEYA C, KATOCH V C. Immunoprotective effect of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*) and glucomannan on T-2 toxin-induced immunodepression in poultry[J]. Veterinary Medicine International, 2010, 2010: 149373.
- [11] CHEN G J, RAN C X, LI C F, et al. Comparisons of prebiotic activity of polysaccharides from shoot residues of bamboo (*Chimonobambusa quadrangularis*) via different ethanol concentrations[J]. Journal of Food Biochemistry, 2020, 44(5): e13171.
- [12] SHAN X D, LIU X, HAO J J, et al. *In vitro* and *in vivo* hypoglycemic effects of brown algal fucoidans[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2016, 82: 249-255.
- [13] DUBOIS M, GILLES K A, HAMILTON J K, et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances[J]. Analytical Chemistry, 1956, 28(3): 350-356.
- [14] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72: 248-254.
- [15] BLUMENKRANTZ N, ASBOE-HANSEN G. New method for quantitative determination of uronic acids[J]. Analytical Biochemistry, 1973, 54(2): 484-489.
- [16] 包晓玮,韩海霞,杜光明,等.甜菜红素对小鼠体内抗氧化及免疫调节的作用[J].食品科学,2019,40(17):196-201. BAO Xiaowei, HAN Haixia, DU Guangming, et al. Antioxidant activity and immunomodulatory effect of betalain in mice[J]. Food Science, 2019, 40(17): 196-201.
- [17] 衣伟萌,陈赛红,闵思明,等.太子参须提取物对免疫抑制小鼠免疫保护作用的研究[J].天然产物研究与开发,2020,32(5):837-844. YI Weimeng, CHEN Saihong, MIN Siming, et al. Study on the immunoprotective effects of *Radix Pseudostellariae* fibrous root extraction in immunosuppressed mice[J]. Natural Product Research and Development, 2020, 32(5): 837-844.
- [18] 汤震,顾丽霞,相兴伟,等.硒化低聚氨基多糖对免疫抑制小鼠免疫器官及肠紧密连接蛋白表达的影响[J].食品科学,2019,40(21):171-176. TANG Zhen, GU Lixia, XIANG Xingwei, et al. Effect of low-molecular-mass seleno-aminopolysaccharide on histomorphology and expression of tight junction proteins in immunocompromised mice [J]. Food Science, 2019, 40(21): 171-176.
- [19] YU G P, CHEN G Q, HUANG B, et al. Effect of early enteral nutrition on postoperative nutritional status and immune function in elderly patients with esophageal cancer or cardiac cancer[J]. Chinese Journal of Cancer Research, 2013, 25(3): 299-305.
- [20] 杨明,秦焯,郝俊宇,等.黑蒜粉膳食补充对环磷酸腺苷诱导 BALB/c 小鼠免疫功能的影响[J].食品科学,2019,40(21):163-170. YANG Ming, QIN Ye, HAO Junyu, et al. Dietary supplementation with black garlic powder exerts immunostimulatory activity in cyclophosphamide induced BALB/c mice[J]. Food Science, 2019, 40(21): 163-170.
- [21] BIN-HAFEEZ B, HAQUE R, PARVEZ S, et al. Immunomodulatory effects of fenugreek (*Trigonella foenum graecum* L.) extract in mice[J]. International Immunopharmacology, 2003, 3(2): 257-265.
- [22] 肖颖,吴梦琪,张文清,等.茯苓多糖 HPLC 指纹图谱与免疫活性的相关分析[J].华东理工大学学报(自然科学版),2020,46(5):672-679. XIAO Ying, WU Mengqi, ZHANG Wenqing, et al. Correlation analysis between HPLC fingerprint of polysaccharides from *Poria cocos* and immunological activity[J]. Journal of East China University of Science and Technology, 2020, 46(5): 672-679.
- [23] 王重娟,梁月琴,夏洪颖,等.水龙骨多糖成分及免疫调节活性的初步研究[J].免疫学杂志,2019,35(9):737-743.

- WANG Chongjuan, LIANG Yueqin, XIA Hongying, et al. The composition and immunomodulatory activity of polysaccharide from *Rhizoma polypodioidis nipponicae*[J]. China Industrial Economics, 2019, 35(9): 737-743.
- [24] NASIM F, JAVEED A, ASHRAF M, et al. Evaluation of immunomodulatory activity of tenoxicam in mice[J]. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 2018, 17(9): 1811.
- [25] WANG Y Q, MAO J B, ZHOU M Q, et al. Polysaccharide from *Phellinus igniarius* activates TLR4-mediated signaling pathways in macrophages and shows immune adjuvant activity in mice[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 123: 157-166.
- [26] 时佳, 刘宛宁, 付余, 等. 酪蛋白糖基化对其胰蛋白酶消化物在免疫低下模型小鼠中免疫活性的影响[J]. 食品科学, 2020, 41(5): 122-127.
- SHI Jia, LIU Wanning, FU Yu, et al. Effect of casein glycation on immunoenhancing activity of tryptic caseinate digest in immunosuppressed mice[J]. Food Science, 2020, 41(5): 122-127.
- [27] 黄青, 李丽媛, 刘晴晴, 等. 灵芝多糖和猪苓多糖及其复方的免疫调节作用研究进展[J]. 食品科学, 2020, 41(17): 275-282.
- HUANG Qing, LI Liyuan, LIU Qingqing, et al. Advances in immunoregulation effects of *Ganoderma lucidum* polysaccharide and/or *Polyporus umbellatus* polysaccharide[J]. Food Science, 2020, 41(17): 275-282.
- [28] 徐伟, 方思佳, 关然, 等. 白术多糖对小鼠淋巴细胞的免疫调节作用[J]. 中国免疫学杂志, 2020, 36(13): 1573-1577.
- XU Wei, FANG Sijia, GUAN Ran, et al. Immunomodulatory effect of *Atractylodes macrocephalae* Koidz. polysaccharides on mouse lymphocytes[J]. Chinese Journal of Immunology, 2020, 36(13): 1573-1577.
- [29] XING J, XIAO Y E, TANG X Q, et al. Inhibition of Cyclosporine A or rapamycin on T lymphocyte counts and the influence on the immune responses of B lymphocytes in flounder (*Paralichthys olivaceus*)[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2017, 66: 78-85.

责任编辑:冯娜  
收稿日期:2023-08-20