

太子参茎叶多糖对免疫抑制小鼠免疫功能的影响

檀新珠, 陈语嫣, 陈赛红, 廖吕燕, 黄一帆*, 马玉芳*

福建农林大学 福建省兽医中药与动物保健重点实验室, 福州 350002

摘要: 本试验旨在研究太子参茎叶多糖(RPSLP)对环磷酰胺(CY)所致免疫抑制小鼠免疫功能的影响。将100只小鼠随机分组, 腹腔注射CY复制免疫抑制小鼠模型, 模型小鼠经RPSLP灌胃后, 制备脾淋巴细胞悬液, 测定脾淋巴细胞的增殖; 收集血清, 检测相关免疫指标。结果显示, 与CY模型组相比, RPSLP小鼠脾脏指数极显著降低($P < 0.01$), 胸腺指数、吞噬指数 α 、脾细胞增殖指数SI、免疫球蛋白(IgA、IgG、IgM)、补体(C_3 、 C_4)和细胞因子(IL-2、IL-4、IL-6、IFN- γ)含量均不同程度升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。以上结果提示RPSLP能够提高CY所致免疫抑制小鼠的免疫功能。

关键词: 太子参茎叶; 多糖; 环磷酰胺; 免疫抑制

中图分类号: S852.2

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2017.12.023

Effects of *Radix pseudostellariae* Stem and Leaf Polysaccharide on Immune Function of Immunosuppressed Mice

TAN Xin-zhu, CHEN Yu-yan, CHEN Sai-hong, LIAO Lv-yan, HUANG Yi-fan*, MA Yu-fang*

Key Laboratory of Traditional Chinese Veterinary Medicine and Animal Health in Fujian province, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China

Abstract: This study was designed to elucidate the immuno-enhancement effects of *Radix pseudostellariae* stem and leaf polysaccharide (RPSLP) in immunosuppressed mice induced by cyclophosphamide (CY) treatment. 100 mice were randomly divided, the immunosuppressed mice were given CY via intraperitoneal injection. Then the ratio of splenocytes proliferation in immunosuppressed mice was assayed and the immunological indexes in serum of mice were detected. The results showed that compared with CY model group, the spleen index in RPSLP group of mice was significantly decreased ($P < 0.01$); the thymus index, phagocytic index, splenocyte proliferation, immunoglobulin (IgA, IgG, IgM), complement (C_3 , C_4) and cytokines (IL-2, IL-4, IL-6, IFN- γ) content were significantly increased in different degree ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). In conclusion, RPSLP enhanced the immune function of immunosuppressed mice induced by CY treatment.

Key words: *Radix pseudostellariae* stem and leaf; polysaccharides; cyclophosphamide; immunosuppression

太子参为石竹科植物孩儿参 [*Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax ex Pax et Hoffm.] 的干燥块根, 是治疗脾虚综合症的滋补药物, 在我国主要分布于华中、华东、华南和西北等地, 其中全国最大的太子参产地为福建柘荣县, 其产量占全国总产60%左右, 有“中国太子参之乡”之称^[1]。现代药理学研究表明, 多糖具有增强机体免疫力^[2,3]、抗氧化^[4]、抗疲劳^[5]等药理作用。研究表明太子参主要活性成分是高分子多糖^[6], 太子参多糖具有提高免疫功能^[7]、抗氧化^[8]、抗疲劳^[9]等功效。有报道太子参

茎叶各有效成分含量所占的比重与太子参相似, 其中多糖含量可达5%~10%^[10], 但多数太子参茎叶被遗弃或焚烧, 造成极大浪费和污染。本研究用环磷酰胺建立免疫抑制小鼠模型, 给免疫抑制小鼠胃管灌服太子参茎叶多糖, 通过检测相关的免疫学指标, 探讨太子参茎叶多糖的免疫调节活性, 研究结果既可以丰富太子参茎叶多糖的免疫药理学内容, 亦可为太子参茎叶的进一步深入研究开发提供理论依据和数据借鉴。

1 材料与方方法

1.1 试验材料

太子参茎叶多糖购自陕西藤迈生物科技有限公司(批号: 201510080123), 经福建省兽医中药与动

收稿日期: 2016-10-28 接受日期: 2016-11-30

基金项目: 福建省科技厅产学研专项(2014N5004)

*通信作者 E-mail: zjhyfang@163.com; myfau850@sohu.com

物保健重点实验室进一步纯化,用苯酚-浓硫酸法测得多糖含量为70%。

1.2 实验试剂

注射用环磷酰胺(CY)(江苏恒瑞制药有限公司);氯化钠注射液(福州海王福药制药有限公司);印度墨汁(上海源叶生物科技有限公司);碳酸钠(国药集团化学试剂有限公司);RPMI 1640培养基、胎牛血清(美国HyClone公司);磷酸盐缓冲液(PBS)(博士德生物工程有限有限公司);红细胞裂解液、刀豆蛋白(Concanavalin A, ConA)、脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)、四甲基偶氮唑盐(Methylthiazolyltetrazole, MTT)(美国Sigma公司);青霉素-链霉素溶液(上海碧云天生物技术有限公司);二甲基亚砜(Dimethyl sulfoxide, DMSO)(北京鼎国昌盛生物技术有限公司);免疫球蛋白(IgA、IgG、IgM)试剂盒、补体(C₃、C₄)试剂盒(浙江伊利康生物技术有限公司);血清细胞因子(IL-2、IL-4、IL-6、IFN- γ) ELISA 试剂盒(上海邦奕生物科技有限公司)。

1.3 仪器

独立送回风净化笼具(IVC)(苏州市苏杭科技器材有限公司);电子分析天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];超纯水系统(Milli-Q);V-1200可见分光光度计(上海美谱达仪器有限公司);SK-1快速混匀器(金坛市科析仪器有限公司);HH-2数显恒温水浴锅(国华电器有限公司);RT-9900半自动生化分析仪(深圳雷杜生命科学股份有限公司);SW-CJ-2G双人单面净化工作台(苏州净化设备有限公司);倒置显微镜(日本Nikon公司);Allegra X-22R冷冻离心机(美国Beckman Coulter公司);CO₂培养箱(美国Thermo公司);TY-80A水平振荡器(金坛市科析仪器有限公司);酶联免疫检测仪(BIO-RAD,美国伯乐公司)。

1.4 实验方法

1.4.1 实验动物分组与处理

100只清洁级昆明小鼠,雄性,6~8周龄,体重(20 \pm 2)g,购自福建医科大学实验动物中心。适应性饲养1周后,随机分为5组,分别为空白对照组、模型组、太子参茎叶多糖低、中、高剂量组,每组20只。第1~3d,除空白组小鼠腹腔注射生理盐水外,其他四组小鼠腹腔注射环磷酰胺(80 mg/kg·d);第4~17d,空白组和模型组小鼠胃管灌服0.2 mL/20 g/d蒸馏水,三个多糖组小鼠分别灌服50、100、200 mg/kg (BW)太子参茎叶多糖,各组均自由采

食、饮水。

1.4.2 样品采集与处理

末次给药后24 h,称重,各组随机挑选5只用于小鼠巨噬细胞吞噬指数的测定,5只用于脾细胞增殖的测定,其余的小鼠摘眼球采血后,颈椎脱臼处死,取脾脏、胸腺,称重;全血3000 rpm离心10 min,吸取上清液,分装于Eppendorf管,-20℃保存,用于检测免疫球蛋白、补体和细胞因子含量等。

1.4.3 实验小鼠体重的变化

分别于实验第1、4、11和18 d对小鼠进行称重,观察小鼠的体重变化和精神状态。

1.4.4 免疫器官指数的测定

根据1.4.2采集的数据,计算小鼠的脾脏、胸腺指数,脾脏(胸腺)指数=脾脏(胸腺)重量(mg)/小鼠体重(g)。

1.4.5 巨噬细胞吞噬指数的测定

巨噬细胞吞噬指数的测定参见文献^[3]。每只小鼠尾静脉注射印度墨汁(用生理盐水稀释5倍)0.1 mL/10 g体重;分别于注射后2 min(T1)和10 min(T2)从眼眶静脉丛采血20 μ L,加入2 mL 0.1% Na₂CO₃溶液中吹打均匀,然后在600 nm处测吸光值,分别用OD1、OD2表示T1、T2的吸光值。颈椎脱臼法处死小鼠,取脾脏、肝脏并称量,根据公式计算廓清指数K,吞噬指数 α 。K=(lgOD1-lgOD2)/(T2-T1),吞噬指数 α =K^{1/3}体重/(肝重+脾重)。

1.4.6 脾淋巴细胞悬液的制备

脾淋巴细胞的制备参见文献^[11]。小鼠颈椎脱臼法处死,750 mL/L乙醇浸泡5 min,无菌取脾后用PBS清洗,玻璃针芯研磨并过200目筛网,获得单细胞悬液,离心弃上清液后加入2 mL红细胞裂解液,静置3 min,离心后弃上清液,RPMI 1640培养液洗涤2次,用RPMI 1640培养液(含10%胎牛血清)重悬细胞,台盼蓝染色计数,调整细胞浓度至5 \times 10⁶/mL,用于脾淋巴细胞增殖的测定。

1.4.7 脾淋巴细胞增殖的测定

将细胞加入96孔细胞培养板中,每孔100 μ L,空白孔加RPMI 1640培养液100 μ L,实验孔分别加ConA、LPS 100 μ L(ConA、LPS终浓度分别为5 μ g/mL、10 μ g/L)。置于37℃,5% CO₂培养箱培养48h,结束培养前4 h,每孔加入20 μ L MTT溶液(终浓度为5 mg/mL),继续培养4 h,离心弃上清,每孔加入150 μ L DMSO,低速震荡15 min,在酶标仪570 nm处测定OD值。根据公式计算T、B细胞的增殖

能力,用刺激指数 SI 表示。刺激指数 $SI = \text{实验孔 OD 值} / \text{空白孔 OD 值}$ 。

1.4.8 血清免疫球蛋白与补体含量的测定

免疫比浊法测定免疫球蛋白 (IgA、IgG、IgM) 与补体 (C_3 、 C_4) 含量,操作步骤详见试剂盒说明书。

1.4.9 血清细胞因子含量的测定

ELISA 方法测定血清细胞因子 (IL-2、IL-4、IL-6、IFN- γ) 含量,操作步骤详见试剂盒说明书。

1.5 统计方法

所有数据均采用 SPSS Statistics 19.0 软件进行单因素方差分析 (one-way ANOVA),结果用平均值 \pm 标准差表示, LSD 法进行多重比较, $P < 0.05$ 为

差异显著, $P < 0.01$ 为差异极显著。

2 结果与分析

2.1 RPSLP 对免疫抑制小鼠免疫器官指数的影响

RPSLP 对免疫抑制小鼠脾脏和胸腺指数的影响见表 1。由表 1 可知,与空白对照组相比, CY 模型组及 RPSLP 低、中剂量组小鼠脾脏指数极显著升高 ($P < 0.01$), CY 模型组及 RPSLP 低剂量组小鼠胸腺指数极显著降低 ($P < 0.01$); 与 CY 模型组相比, RPSLP 各剂量组小鼠脾脏指数极显著降低 ($P < 0.01$), RPSLP 中、高剂量组小鼠胸腺指数极显著升高 ($P < 0.01$)。

表 1 RPSLP 对免疫抑制小鼠脾脏指数及胸腺指数的影响 ($n = 10$)

Table 1 Effect of RPSLP on spleen index and thymus index in immunosuppressed mice ($n = 10$)

组别 Group	脾脏指数 Spleen index (mg/g)	胸腺指数 Thymus index (mg/g)
空白对照组 Blank	4.0288 \pm 0.4339 ^{Aa}	2.0832 \pm 0.2600 ^{Aa}
CY 模型组 CY model	9.5581 \pm 2.2656 ^{Bb}	1.4405 \pm 0.3503 ^{Bb}
RPSLP 低剂量组 RPSLP-low	6.9128 \pm 0.9775 ^{Cd}	1.5717 \pm 0.0742 ^{Bbc}
RPSLP 中剂量组 RPSLP-medium	6.8339 \pm 1.4550 ^{Cd}	1.7843 \pm 0.0823 ^{ABac}
RPSLP 高剂量组 RPSLP-high	5.7522 \pm 1.6172 ^{ACac}	1.8581 \pm 0.1649 ^{ABac}

注:与空白对照组比较,同列数据肩标不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$);肩标不同大写字母表示差异极显著 ($P < 0.01$);肩标相同字母或无字母标注表示差异不显著 ($P > 0.05$)。下同。

Note: Compared with control, in the same column, values with different small letter superscripts indicated significant difference ($P < 0.05$); with different capital letter superscripts indicated extremely significant difference ($P < 0.01$); While with the same or no letter superscripts indicated no significant difference ($P > 0.05$). Same as below.

2.2 RPSLP 对免疫抑制小鼠巨噬细胞吞噬功能的影响

RPSLP 对免疫抑制小鼠巨噬细胞吞噬功能的影响见表 2。由表 2 可知,与空白对照组相比, CY 模型组及 RPSLP 低、高剂量组小鼠碳廓清指数 K 差异

不显著 ($P > 0.05$), CY 模型组小鼠吞噬指数 α 显著降低 ($P < 0.05$); 与 CY 模型组相比, RPSLP 中剂量组小鼠碳廓清指数 K 显著升高 ($P < 0.05$), RPSLP 低、中剂量组小鼠吞噬指数 α 显著升高 ($P < 0.05$), RPSLP 高剂量组小鼠吞噬指数 α 极显著升高 ($P < 0.01$)。

表 2 RPSLP 对免疫抑制小鼠吞噬功能的影响 ($n = 5$)

Table 2 Effect of RPSLP on phagocytic function in immunosuppressed mice ($n = 5$)

组别 Group	碳廓清指数 K Clearance index	吞噬指数 α Phagocytic index
空白对照组 Blank	0.0189 \pm 0.0092 ^{Aab}	3.9058 \pm 0.0561 ^{ABa}
CY 模型组 CY model	0.0049 \pm 0.0000 ^{Aa}	1.7191 \pm 0.8000 ^{Ab}
RPSLP 低剂量组 RPSLP-low	0.0070 \pm 0.0034 ^{Aab}	3.4976 \pm 0.6263 ^{ABa}
RPSLP 中剂量组 RPSLP-medium	0.0224 \pm 0.0085 ^{Ab}	3.3502 \pm 0.9375 ^{ABa}
RPSLP 高剂量组 RPSLP-high	0.0146 \pm 0.0034 ^{Aab}	3.9674 \pm 0.3152 ^{Ba}

2.3 RPSLP 对免疫抑制小鼠脾淋巴细胞增殖的影响

RPSLP 对免疫抑制小鼠脾淋巴细胞增殖的影响

见表 3。由表 3 可知,与空白对照组相比, CY 模型组及 RPSLP 各剂量组小鼠 T 细胞刺激指数 SI 极显著降低 ($P < 0.01$), CY 模型组及 RPSLP 各剂量组

小鼠 B 细胞刺激指数 SI 极显著降低 ($P < 0.01$); 与 CY 模型组相比, RPSLP 中、高剂量组小鼠 T 细胞刺

激指数 SI 极显著升高 ($P < 0.01$), RPSLP 各剂量组小鼠 B 细胞刺激指数 SI 极显著升高 ($P < 0.01$)。

表 3 RPSLP 对免疫抑制小鼠脾淋巴细胞增殖的影响 ($n = 5$)

Table 3 Effect of RPSLP on spleen lymphocyte proliferation in immunosuppressed mice ($n = 5$)

组别 Group	T 细胞刺激指数 SI	B 细胞刺激指数 SI
空白对照组 Blank	2.8085 ± 0.1836 ^{Aa}	3.1597 ± 0.4155 ^{Aa}
CY 模型组 CY model	1.2747 ± 0.0231 ^{Bb}	1.0981 ± 0.0228 ^{Bb}
RPSLP 低剂量组 RPSLP-low	1.3210 ± 0.0413 ^{Bb}	1.5515 ± 0.0312 ^{Cc}
RPSLP 中剂量组 RPSLP-medium	1.7016 ± 0.0766 ^{Cc}	1.5276 ± 0.0547 ^{Cc}
RPSLP 高剂量组 RPSLP-high	1.6635 ± 0.0385 ^{Cc}	2.4052 ± 0.2038 ^{Dd}

2.4 RPSLP 对免疫抑制小鼠血清免疫球蛋白与补体含量的影响

RPSLP 对免疫抑制小鼠免疫球蛋白 IgA、IgG、IgM 含量的影响见表 4。由表 4 可知,与空白对照组相比, CY 模型组及 RPSLP 各剂量组小鼠 IgA 含量极显著升高 ($P < 0.01$), CY 模型组及 RPSLP 高剂量组小鼠 IgG 含量极显著降低 ($P < 0.01$), CY 模型组小鼠 IgM 含量显著降低 ($P < 0.05$), RPSLP 低剂

量组小鼠 IgM 含量有升高,但差异不显著 ($P > 0.05$);与 CY 模型组相比, RPSLP 各剂量组小鼠 IgA 含量极显著升高 ($P < 0.01$), RPSLP 低、中剂量组小鼠 IgG 含量极显著升高 ($P < 0.01$), RPSLP 高剂量组小鼠 IgG 含量显著升高 ($P < 0.05$), RPSLP 低剂量组小鼠 IgM 含量极显著升高 ($P < 0.01$), RPSLP 中剂量组小鼠 IgM 含量显著升高 ($P < 0.05$)。

表 4 RPSLP 对免疫抑制小鼠免疫球蛋白含量的影响 (mg/L) ($n = 5$)

Table 4 Effect of RPSLP on content of immunoglobulin in immunosuppressed mice (mg/L) ($n = 5$)

组别 Group	IgA	IgG	IgM
空白对照组 Blank	68.17 ± 17.03 ^{Aa}	1383.92 ± 169.09 ^{Aa}	381.48 ± 58.44 ^{ABac}
CY 模型组 CY model	130.48 ± 10.85 ^{Bb}	898.33 ± 127.61 ^{Bb}	294.45 ± 23.13 ^{Ab}
RPSLP 低剂量组 RPSLP-low	201.13 ± 10.51 ^{Cc}	1301.35 ± 162.99 ^{ACa}	431.48 ± 45.25 ^{Bc}
RPSLP 中剂量组 RPSLP-medium	161.29 ± 19.10 ^{Dd}	1385.65 ± 68.47 ^{Aa}	374.44 ± 56.05 ^{ABac}
RPSLP 高剂量组 RPSLP-high	177.13 ± 15.23 ^{CDd}	1113.81 ± 67.50 ^{BCc}	351.11 ± 54.63 ^{ABab}

RPSLP 对免疫抑制小鼠补体 C₃、C₄ 含量的影响见表 5。由表 5 可知,与空白对照组相比, RPSLP 各剂量组小鼠 C₃ 含量极显著升高 ($P < 0.01$), RPSLP 各剂量组小鼠 C₄ 含量极显著升高 ($P < 0.01$); 与

CY 模型组相比, RPSLP 各剂量组小鼠 C₃ 含量极显著升高 ($P < 0.01$), RPSLP 各剂量组小鼠 C₄ 含量极显著升高 ($P < 0.01$)。

表 5 RPSLP 对免疫抑制小鼠补体含量的影响 (mg/L) ($n = 5$)

Table 5 Effect of RPSLP on content of complement in immunosuppressed mice (mg/L) ($n = 5$)

组别 Group	C ₃	C ₄
空白对照组 Blank	376.87 ± 46.02 ^{Aa}	52.01 ± 7.36 ^{Aa}
CY 模型组 CY model	366.67 ± 12.85 ^{Aa}	49.23 ± 2.66 ^{Aa}
RPSLP 低剂量组 RPSLP-low	715.85 ± 28.02 ^{Bb}	98.29 ± 6.58 ^{Bb}
RPSLP 中剂量组 RPSLP-medium	526.66 ± 65.52 ^{Cc}	89.74 ± 9.59 ^{Bb}
RPSLP 高剂量组 RPSLP-high	637.01 ± 88.51 ^{Bd}	114.53 ± 0.74 ^{Cc}

2.5 RPSLP 对免疫抑制小鼠血清细胞因子含量的影响

RPSLP 对免疫抑制小鼠血清细胞因子 IL-2、IL-4、IL-6、IFN- γ 含量的影响见表 6。由表 6 可知,与空白对照组相比,CY 模型组小鼠 IL-2 含量极显著降低($P < 0.01$),CY 模型组小鼠 IL-4 含量显著降低($P < 0.05$),RPSLP 高剂量组小鼠 IL-4 含量极显著升高($P < 0.01$),CY 模型组小鼠 IL-6 含量极显著降

低($P < 0.01$),CY 模型组小鼠 IFN- γ 含量极显著降低($P < 0.01$);与 CY 模型组相比,RPSLP 各剂量组小鼠 IL-2 含量极显著升高($P < 0.01$),RPSLP 低剂量组小鼠 IL-4 含量显著升高($P < 0.05$),RPSLP 中、高剂量组小鼠 IL-4 含量极显著升高($P < 0.01$),RPSLP 各剂量组小鼠 IL-6 含量极显著升高($P < 0.01$),RPSLP 各剂量组小鼠 IFN- γ 含量极显著升高($P < 0.01$)。

表 6 RPSLP 对免疫抑制小鼠血清中 IL-2、IL-4、IL-6、IFN- γ 含量的影响($n = 5$)

Table 6 Effect of RPSLP on content of cytokines IL-2、IL-4、IL-6、IFN- γ in serum of immunosuppressed mice ($n = 5$)

组别 Group	IL-2 (pg/mL)	IL-4 (pg/mL)	IL-6 (pg/mL)	IFN- γ (pg/mL)
空白对照组 Blank	289.95 \pm 35.27 ^{Aa}	52.47 \pm 5.66 ^{ABa}	36.75 \pm 2.06 ^{Aac}	453.53 \pm 63.07 ^{Aa}
CY 模型组 CY model	202.29 \pm 31.32 ^{Bb}	45.55 \pm 2.79 ^{ab}	24.82 \pm 2.50 ^{Bb}	243.12 \pm 39.15 ^{Bb}
RPSLP 低剂量组 RPSLP-low	285.17 \pm 20.91 ^{Aa}	58.44 \pm 7.82 ^{ABa}	34.76 \pm 2.98 ^{Aa}	427.72 \pm 26.94 ^{Aa}
RPSLP 中剂量组 RPSLP-medium	313.10 \pm 27.44 ^{Aa}	57.98 \pm 4.41 ^{BCa}	36.01 \pm 3.24 ^{Aac}	423.37 \pm 39.43 ^{Aa}
RPSLP 高剂量组 RPSLP-high	322.79 \pm 34.36 ^{Aa}	65.20 \pm 1.59 ^{Cc}	40.92 \pm 3.30 ^{Ac}	475.00 \pm 39.65 ^{Aa}

3 讨论与结论

脾脏和胸腺是机体重要的免疫器官,它们是免疫细胞生长和增殖的场所。免疫器官的发育状况直接影响机体的免疫功能和抵抗疾病的能力,免疫器官指数反映了免疫器官的发育和免疫功能。有研究表明,多糖能显著升高小鼠免疫器官指数和抑制免疫器官萎缩^[2];Wang 等^[12]研究表明,蛹虫草多糖可以明显升高免疫抑制小鼠的脾脏和胸腺指数,并呈剂量依赖性。本实验结果显示,与 CY 模型组相比,RPSLP 各剂量组小鼠脾脏指数极显著降低($P < 0.01$),RPSLP 中、高剂量组小鼠胸腺指数极显著升高($P < 0.01$),本实验免疫抑制小鼠脾肿大的结果与邓焯等^[13]研究结果一致,分析其原因可能是由于 CY 致使脾脏出现代偿性增生,在恢复过程中,灌胃 200 mg/kg PRSLP 的小鼠脾脏指数与空白对照组相比无差异显著性,说明一定剂量的 RPSLP 可以缓解 CY 所致的脾肿大,促进免疫抑制后脾脏功能的恢复。

巨噬细胞是天然免疫系统的重要组成部分,在对抗宿主感染和肿瘤细胞的杀伤中起着关键作用,巨噬细胞的吞噬功能常用于评价动物的非特异性免疫状态^[14]。本实验结果显示,与 CY 模型组相比,RPSLP 中剂量组小鼠碳廓清指数 K、吞噬指数 α 显

著升高($P < 0.05$),RPSLP 低剂量组小鼠吞噬指数 α 显著升高($P < 0.05$),RPSLP 高剂量组小鼠吞噬指数 α 极显著升高($P < 0.01$)。Wang 等^[15]研究也表明,海胆多糖能够显著修复 CY 所致吞噬指数的下降,增强小鼠巨噬细胞的吞噬功能,维持机体内环境的稳态,提高小鼠的免疫功能,与本实验结果一致。脾淋巴细胞增殖是检测免疫反应的一种有效方法,T 细胞是一类重要的免疫活性细胞,主要负责细胞免疫,B 细胞是体内唯一能产生抗体的细胞,发挥体液免疫的功能。本实验结果显示,与 CY 模型组相比,RPSLP 中、高剂量组小鼠 T、B 细胞刺激指数 SI 极显著升高($P < 0.01$),RPSLP 低剂量组小鼠 B 细胞刺激指数 SI 极显著升高($P < 0.01$),这一结果与佟春玉等^[16]研究的天门冬多糖可缓解 CY 所致的脾细胞增殖的抑制作用相似。因此,RPSLP 可增强免疫抑制小鼠的吞噬功能和促进脾淋巴细胞增殖。

免疫球蛋白是具有抗体活性的蛋白,是由 B 细胞分化成熟为浆细胞后所产生的有免疫功能的球蛋白。有研究表明,多糖可以明显升高免疫抑制小鼠的 IgA、IgG、IgM 含量^[17],本实验中,RPSLP 低、中剂量组均可明显升高免疫抑制小鼠的 IgA、IgG、IgM 含量,RPSLP 高剂量组可明显升高小鼠的 IgA、IgG 含量,但对 IgM 的含量影响则不显著,说明一定剂量的

RPSLP 可以提高血清抗体水平。补体是一组具有酶活性的蛋白质,可与多种免疫细胞相互作用,调节细胞的增殖和分化,还可清除病原微生物,在机体免疫中发挥着重要作用。本实验结果显示,与 CY 模型组相比,RPSLP 低、中、高剂量组均可明显升高免疫抑制小鼠的 C_3 、 C_4 含量,这一结果与许丹妮^[18]研究的金线莲多糖对小鼠免疫调节作用的结果相似,说明 RPSLP 可以激活补体系统,在小鼠免疫抑制的修复中发挥重要作用。

血清细胞因子由免疫细胞分泌,在机体内相互促进或相互抑制,形成复杂的细胞因子调节网络,在免疫应答中发挥着重要作用,细胞因子分泌的高低可反应机体的免疫状态^[2]。本实验主要针对小鼠血清中白细胞介素和 IFN- γ 进行研究,其中 IL-2 由活化的 T 细胞产生,是所有 T 细胞亚群的生长因子,有广谱的免疫增强活性^[19];IL-4 又称 B 细胞生长因子,可促进抗体类型转换成 IgE 和 IgG,也可促进 T 细胞增殖^[20];IL-6 可促进 B 细胞分化,刺激 T 细胞生长与分化^[20];IFN- γ 可增强巨噬细胞和 T 细胞的活力,从而起到免疫调节作用^[21]。有研究表明,多糖可以促进免疫抑制小鼠 IL-2、IL-4、IL-6、IFN- γ 的分泌,从而提高机体的免疫作用^[22,23]。本实验结果显示,RPSLP 低、中、高剂量组均可明显升高免疫抑制小鼠血清细胞因子 IL-2、IL-4、IL-6、IFN- γ 的含量,且呈一定的剂量依赖性。因此,RPSLP 具有提高免疫的能力。

综上所述,RPSLP 可以缓解 CY 所致的小鼠免疫抑制作用,对临床具有一定的应用价值,也为太子参茎叶的进一步深入研究开发提供了科学依据。

参考文献

- 1 Wang WK (王文凯), Jia J (贾静), Ding RW (丁仁伟), et al. Recent advances in studies on *Pseudostellariae Radix*. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2011, 12: 264-267.
- 2 Cho CW, Han CJ, Young KR, et al. *Cheonggukjang* polysaccharides enhance immune activities and prevent cyclophosphamide-induced immunosuppression. *Int J Biol Macromol*, 2015, 72: 519-525.
- 3 Ren Z, He CH, Fan YH, et al. Immune-enhancing activity of polysaccharides from *Cyrtomium macrophyllum*. *Int J Biol Macromol*, 2014, 70: 590-595.
- 4 Cheng D, Kong H. The effect of *Lycium barbarum* polysaccharide on alcohol-induced oxidative stress in rats. *Molecules*,

- 2011, 16: 2542-2550.
- 5 Ouyang MZ, Lin LZ, Lv WJ, et al. Effects of the polysaccharides extracted from *Ganoderma lucidum* on chemotherapy-related fatigue in mice. *Int J Biol Macromol*, 2016, 91: 905-910.
- 6 Wang TX, Gong DJ, Xia LY, et al. Study on fingerprint of *Zhe Rong Radix Pseudostellariae* by HPLC. *Adv Mater Res Vols*, 2014, 1010-1012: 160-163.
- 7 Cai J (蔡晶), Li XD (李孝栋), Chen XZ (陈旭征), et al. The immune effects of crude extract of *Pseudostellaria polysaccharide* in mice. *J Fujian Coll Tradit Chin Med* (福建中医药大学学报), 2005, 3: 33-35.
- 8 Chen ZC, Li SS, Wang XQ, et al. Protective effects of *Radix Pseudostellariae* polysaccharides against exercise-induced oxidative stress in male rats. *Exp The Med*, 2013, 5: 1089-1092.
- 9 Sheng R, Xu XX, Tang Q, et al. Polysaccharide of *Radix pseudostellariae* improves chronic fatigue syndrome induced by Poly I: C in mice. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2011, 2011: 840516-840525.
- 10 Zeng LN (曾丽娜), Yuan YH (袁玉虹), Huang SY (黄淑燕), et al. A comparison of effective medicinal ingredients content of *Pseudostellaria heterophylla* in different harvest times and medicinal parts. *Fujian Linye* (福建林业), 2014, 2: 25-26.
- 11 Zheng NZ (郑乃珍), Zheng XX (郑小香), Li P (李萍), et al. Effects of polysaccharides from *Hericium erinaceus* on murine splenic lymphocyte proliferation and the cell cycle *in vitro*. *Chin Veterin Sci* (中国兽医科学), 2015, 45: 837-842.
- 12 Wang M, Meng XY, Yang RL, et al. *Cordyceps militaris* polysaccharides can enhance the immunity and antioxidation activity in immunosuppressed mice. *Carbohydr Polym*, 2012, 89: 461-466.
- 13 Deng Y (邓焯), Yang H (杨鸿), Zhang Z (张兆), et al. Immune restorative effect of YPF-P on immunosuppressive mice influenced by cyclophosphamid. *Chin J Veterin Sci* (中国兽医学报), 2014, 2: 288-292.
- 14 Chen JR, Yang ZQ, Hu TJ, et al. Immunomodulatory activity *in vitro* and *in vivo* of polysaccharide from *Potentilla anserina*. *Fitoterapia*, 2010, 81: 1117-1124.
- 15 Wang H, Wang MY, Chen J, et al. A polysaccharide from *Strongylocentrotus nudus* eggs protects against myelosuppression and immunosuppression in cyclophosphamide-treated mice. *Int Immunopharmacol*, 2011, 11: 1946-1953.
- 16 Tong CY (佟春玉), Sun YC (孙越春), Qin XG (秦学功), et al. Immunoregulatory effects of *Asparagus cochinchinensis* polysaccharide on CTX induced immunosuppression of mice. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开

- 发), 2013, 25:1112-1114.
- 17 Huang F, Zhang RF, Liu Y, *et al.* Dietary litchi pulp polysaccharides could enhance immunomodulatory and antioxidant effects in mice. *Int J Biol Macromol*, 2016, 92:1067-1073.
 - 18 Xu DN (许丹妮). Studies of *Anoectochilusformosanus* polysaccharides on immune function of mice. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University (福建农林大学), MSc. 2011.
 - 19 Liao W, Lin JX, Warren JL. IL-2 family cytokines: new insights into the complex roles of IL-2 as a broad regulator of T helper cell differentiation. *Curr Opin Immunol*, 2011, 23:598-604.
 - 20 Manjunatha AM, Xu SL, Andrew F, *et al.* CD4⁺ Th2 cells function alike effector Tr1 and Th1 cells through the deletion of a single cytokine IL-6 and IL-10 gene. *Mol Immunol*, 2012, 51:143-149.
 - 21 Ren HY, Li YH, Jiang H, *et al.* *Porphyromonasgingivalis* induces IL-8 and IFN-gamma secretion and apoptosis in human extravillous trophoblast derived HTR8/SVneo cells via activation of ERK1/2 and p38 signaling pathways. *Placenta*, 2016, 45:8-15.
 - 22 Chen XM, Nie WJ, Fan JF, *et al.* A polysaccharide from *Sargassumfusiforme* protects against immunosuppression in cyclophosphamide-treated mice. *Carbohydr Polym*, 2012, 90:1114-1119.
 - 23 Feng HB, Fan J, Song ZH, *et al.* Characterization and immunoenhancement activities of *Eucommialbmodoides* polysaccharides. *Carbohydr Polym*, 2016, 136:803-811.
-
- (上接第 2133 页)
- 2 Sha YS (沙永生), Sun QQ (孔轻轻). Advances in the treatment of adverse reactions in lung cancer. *J Nurse (护士进修杂志)*, 2016, 31:420-423.
 - 3 Lu XY (陆雪莹), Li YH (李艳红), Xiao XW (肖向文), *et al.* Inhibitory effect of luteolin on human gastric cancer xenografts in nude mice and its mechanism. *Chin Med J (中华医学杂志)*, 2013, 93:142-146.
 - 4 Fang Y (方悦), Huang F (黄芳), Zheng Q (郑琦), *et al.* Study on the effect of luteolin on tumor. *Zhejiang J Integr Tradit Chin Western Med (浙江中西医结合杂志)*, 2013, 7:596-597.
 - 5 Hu CP (胡春萍), Cai XT (蔡雪婷), Hu TT (胡婷婷), *et al.* Apoptosis and G2 cycle arrest of non-small cell lung cancer cell line A549 induced by luteolin. *Chin J Tradit Chin Med (中国中药杂志)*, 2012, 37:1259-1264.
 - 6 Johnston MR, Mullen JBM, Pagura ME, *et al.* Validation of an orthotopic model of human lung cancer with regional and systemic metastases. *Annals Thoracic Surgery*, 2001, 71:1120-1125.
 - 7 Zhao JZ (赵敬柱), Zheng XQ (郑向前), Gao M (高明), *et al.* Research progress of tumor suppressor gene PTEN. *Chin J Otorhinolaryngol Head Neck Surgery (中华耳鼻咽喉头颈外科杂志)*, 2016, 51:797-800.
 - 8 Wu HC (吴惠春), Li M (李曼), Zhou ZH (周振华), *et al.* The role of PI3K/PKB signaling pathway in the expression of osteopontin in human hepatic stellate cells induced by TGF- β 1. *Chin J Pathophysiol (中国病理生理杂志)*, 2015, 12:93-97.
 - 9 Zhang W, Yu H, Zou W, *et al.* Cbl-b and PI3K/Akt pathway are differently involved in oxygen-glucose deprivation preconditioning in PC12 cells. *Chin J Med Sci*, 2013, 126:4132-4138.
 - 10 Guo K (郭凯), Wang XD (王晓东). Effects of EMT-related protein expression in lung cancer and its significance. *Shandong Med (山东医药)*, 2012, 52(2):70-71.
 - 11 Guo Y (郭芽), Han J (韩晶), Li JQ (李建钦), *et al.* Effect of epidermal growth factor on the expression of Survivin in human small cell lung cancer cells and its mechanism. *Chin J Exp Surgery (中华实验外科杂志)*, 2012, 29:693-695.
 - 12 Zhao ZC, Zheng SS, Chen WL, *et al.* Suppressing progress of pancreatitis through selective inhibition of NF- κ B activation by using NAC. *J Zhejiang Univ*, 2004, 5:477-482.
 - 13 Zhang WJ (张文静), Huang QL (黄启来), Hua ZC (华子春). Luteolin inhibits the motility of human lung adenocarcinoma cell line A549 and its related mechanism. *J Southeast Univ, Med Sci (东南大学学报, 医学版)*, 2012, 31:415-418.