

油脂营养

鳕鱼肝油软胶囊增强小鼠免疫功能的研究

刘汝萃, 范书琴, 张建全, 肖晶, 张延秀

(山东禹王制药有限公司, 山东 禹城 251200)

摘要:研究了鳕鱼肝油软胶囊增强小鼠的免疫功能。以鳕鱼肝油软胶囊 0.042、0.083、0.250 g/kg 3 个剂量给予小鼠经口灌胃一个月,进行小鼠细胞免疫功能、体液免疫功能、单核-巨噬细胞功能及 NK 细胞活性测定。结果表明:0.250 g/kg 组加 ConA 孔与不加 ConA 孔吸光度的差值、耳壳增重均显著高于对照组(玉米油组,下同)($P < 0.05$);0.250 g/kg 组小鼠溶血空斑数及血清半数溶血值(HC_{50})极显著高于对照组($P < 0.01$);0.250 g/kg 组小鼠吞噬指数 a 极显著高于对照组($P < 0.01$)。研究表明鳕鱼肝油软胶囊具有增强小鼠免疫功能。

关键词:鳕鱼肝油;软胶囊;小鼠;免疫功能

中图分类号:TS254.9;R151

文献标识码:A

文章编号:1003-7969(2018)04-0076-03

Enhancement of immune function of mice by cod liver oil soft capsule

LIU Rucui, FAN Shuqin, ZHANG Jianquan, XIAO Jing, ZHANG Yanxiu

(Shandong Yuwang Pharmaceutical Co., Ltd., Yucheng 251200, Shandong, China)

Abstract: The enhancement of the immune function of mice by cod liver oil soft capsule was studied. The mice were administered for a month with 0.042, 0.083, 0.250 g/kg dose of cod liver oil soft capsule, and the functions of mice cellular immunity, humoral immunity, mononuclear macrophage function and NK cell activity were determined. The results showed that the absorbance difference of 0.250 g/kg dose group with ConA hole or without ConA hole and concha weight gain were significantly higher than control group ($P < 0.05$). The hemolytic plaque number, half hemolytic value (HC_{50}) and phagocytic index were very significantly higher than control group ($P < 0.01$). So cod liver oil soft capsule had the function of enhancing the immune function of mice.

Key words: cod liver oil; soft capsule; mice; immune function

鳕鱼又名鱈鱼,是主要食用鱼类之一。从深海鳕鱼肝脏中提取的鳕鱼肝油主要成分是维生素 A 和维生素 D^[1],还含有丰富的多不饱和脂肪酸^[2]。研究表明,鱼肝油可以明显降低儿童佝偻病,可有效预防维生素 A 和维生素 D 缺乏,增强婴幼儿免疫力、减少呼吸道感染发病率、促进儿童视力正常发育、缓解炎症^[3-8]。鳕鱼肝油在小鼠免疫系统中起着重要作用,与其含有的生物活性成分有关^[9]。研究表明儿童在幼年时期补充维生素 A 和维生素 D

对其成长后一生的免疫力产生积极影响,众多多不饱和脂肪酸营养强化保健品被不断开发出来^[10],对多不饱和脂肪酸生理学营养功能的研究和应用也越来越受到人们的关注^[11]。因此,开发鳕鱼肝油制剂类产品,对提高人们的健康水平具有积极意义。

本文以鳕鱼肝油软胶囊为材料,对鳕鱼肝油软胶囊增强小鼠免疫功能进行了试验研究。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 原料与试剂

鳕鱼肝油软胶囊(含维生素 A 52.8 mg/100 g, 维生素 D 1.56 mg/100 g, DHA 14 mg/100 g, EPA 7.9 mg/100 g),由山东禹王制药有限公司提供。

SPF 级 C1/F1 代健康雌性小鼠 200 只(上海西普尔-必凯实验动物有限公司),体重 19.0~21.9 g,生

收稿日期:2017-08-01;修回日期:2018-01-15

作者简介:刘汝萃(1976),男,高级工程师,硕士,主要从事蛋白、鱼油相关工作(E-mail)1500649367@qq.com。

通信作者:张延秀,助理工程师,硕士(E-mail)rd2002@ywangcn.com。

产许可证号: SCXK(沪)2013-0016, 合格证号: 2008001645884。试验动物饲养环境: 温度 20 ~ 25 °C, 相对湿度 40% ~ 70%。

2,4-二硝基氟苯(DNFB), 绵羊红细胞(SRBC), 豚鼠血清, 印度墨汁, RPMI1640, 刀豆球蛋白 A(ConA), 溴化噻唑蓝四氮唑(MTT), 异丙醇, 水杨酸缓冲液, 都氏试剂, YAC-1 细胞, 乳酸脱氢酶(LDH) 基质液。

1.1.2 仪器与设备

打孔器, T1000 型电子天平, JA2003 型电子天平, SG-603 生物安全柜, 多功能酶标仪, 二氧化碳培养箱, JJ-100 电子天平。

1.2 试验方法

1.2.1 剂量选择与受试物给予方式

据人体口服推荐量(每人 0.5 g/d, 以体重 60 kg 计), 鳕鱼肝油软胶囊样品低、中、高剂量分别为 0.042、0.083、0.250 g/kg(分别相当于受试样品人体推荐摄入量的 5、10、30 倍)。分别取鳕鱼肝油软胶囊内容物加玉米油配制成质量浓度分别为 4.2、8.3、25 mg/mL 低、中、高剂量受试样品, 对照组予以等体积的玉米油, 每天给予小鼠经口灌胃 1 次, 灌胃体积为 0.01 mL/g, 连续灌胃一个月后测定各项增

强免疫功能指标。

1.2.2 免疫功能指标测定

将 200 只健康雌性小鼠随机分成 5 组。第 1 组进行小鼠体重和脏体比的测定; 第 2 组进行小鼠细胞免疫功能试验(ConA 诱导的小鼠脾淋巴细胞转化, DNFB 诱导小鼠迟发型变态反应(DTH)); 第 3 组进行小鼠体液免疫功能试验(抗体生成细胞检测, 血清溶血素测定); 第 4 组进行小鼠单核-巨噬细胞功能试验(小鼠碳廓清, 小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞); 第 5 组进行自然杀伤细胞(NK)细胞活性测定。

1.2.3 数据统计分析与结果判定

用 SPSS 10.0 软件对各试验数据进行处理。在细胞免疫功能、体液免疫功能、单核-巨噬细胞功能、NK 细胞活性 4 个方面任两个方面结果阳性, 可判定该受试样品具有增强免疫功能。

2 结果与讨论

2.1 鳕鱼肝油软胶囊对小鼠体重和脏体比的影响(见表 1)

由表 1 可见, 经口给予小鼠不同剂量的鳕鱼肝油软胶囊一个月后, 各剂量组小鼠的体重增长值、胸腺体比和脾脏体比与对照组相比, 均无显著性差异($P > 0.05$)。

表 1 鳕鱼肝油软胶囊对小鼠体重和脏体比的影响

组别	动物数(只)	体重增长值/g	胸腺体比/%	脾脏体比/%
对照组	10	4.42 ± 1.64	0.244 ± 0.021	0.418 ± 0.041
低剂量组	10	5.12 ± 1.28	0.245 ± 0.034	0.436 ± 0.055
中剂量组	10	4.54 ± 1.22	0.230 ± 0.024	0.417 ± 0.030
高剂量组	10	4.43 ± 1.48	0.241 ± 0.033	0.420 ± 0.079

2.2 鳕鱼肝油软胶囊对小鼠脾淋巴细胞转化和 DTH 的影响

经口给予小鼠不同剂量的鳕鱼肝油软胶囊一个月后, 用 MTT 法进行 ConA 诱导的小鼠脾淋巴细胞转化试验, 计算加 ConA 孔与不加 ConA 孔吸光度的差值; 用耳肿胀法进行 DNFB 诱导小鼠 DTH 试验, 计算耳壳增重, 结果见表 2。

表 2 鳕鱼肝油软胶囊对小鼠脾淋巴细胞转化和 DTH 的影响

组别	动物数(只)	加 ConA 孔与不加 ConA 孔吸光度的差值	耳壳增重/mg
对照组	10	0.021 ± 0.004	13.0 ± 3.1
低剂量组	10	0.022 ± 0.008	13.7 ± 1.8
中剂量组	10	0.025 ± 0.009	14.0 ± 2.7
高剂量组	10	0.031 ± 0.010*	15.8 ± 1.6*

注: * 与对照组相比, $P < 0.05$ 。

由表 2 可见, 高剂量组加 ConA 孔与不加 ConA

孔吸光度的差值和耳壳增重均显著高于对照组($P < 0.05$)。

2.3 鳕鱼肝油软胶囊对小鼠抗体生成细胞(溶血空斑数)和血清半数溶血值的影响

经口给予小鼠不同剂量的鳕鱼肝油软胶囊一个月后, 用 Jerne 改良玻片法进行小鼠抗体生成细胞试验, 计算溶血空斑数, 用半数溶血值法测定小鼠的血清半数溶血值(HC_{50}), 结果见表 3。

表 3 鳕鱼肝油软胶囊对小鼠溶血空斑数和血清半数溶血值的影响

组别	动物数(只)	溶血空斑数/(个/ 10^6 脾细胞)	HC_{50}
对照组	10	72 ± 27	70 ± 17
低剂量组	10	65 ± 19	75 ± 24
中剂量组	10	98 ± 27	80 ± 19
高剂量组	10	113 ± 36**	91 ± 10**

注: ** 与对照组相比, $P < 0.01$ 。下同。

由表3可见,高剂量组小鼠溶血空斑数和血清半数溶血值均极显著高于对照组($P < 0.01$)。

2.4 鳕鱼肝油软胶囊对小鼠碳廓清能力、小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞的吞噬率及吞噬指数的影响
经口给予小鼠不同剂量的鳕鱼肝油软胶囊一个月后,进行小鼠碳廓清试验,计算吞噬指数 a;用半

表4 鳕鱼肝油软胶囊对小鼠吞噬指数 a、吞噬率及吞噬指数的影响

组别	动物数(只)	吞噬指数 a	吞噬率/%	吞噬指数
对照组	10	5.16 ± 0.80	23.6 ± 3.3	0.27 ± 0.04
低剂量组	10	5.87 ± 0.94	24.0 ± 3.3	0.27 ± 0.03
中剂量组	10	6.07 ± 0.74	24.6 ± 3.6	0.27 ± 0.03
高剂量组	10	6.60 ± 0.95**	26.0 ± 2.7	0.30 ± 0.03

2.5 鳕鱼肝油软胶囊对小鼠 NK 细胞活性的影响

经口给予小鼠不同剂量的鳕鱼肝油软胶囊一个月后,用乳酸脱氢酶测定法进行小鼠 NK 细胞活性测定,结果见表5。

表5 鳕鱼肝油软胶囊对小鼠 NK 细胞活性的影响

组别	动物数(只)	NK 细胞活性/%
对照组	10	19.7 ± 3.6
低剂量组	10	21.7 ± 6.1
中剂量组	10	21.9 ± 2.8
高剂量组	10	22.4 ± 2.7

由表5可见,各剂量组小鼠的 NK 细胞活性与对照组相比,均无显著差异($P > 0.05$)。

3 结论

鳕鱼肝油软胶囊以 0.042 g/kg(低剂量组)、0.083 g/kg(中剂量组)、0.250 g/kg(高剂量组)连续给予小鼠经口灌胃一个月,对小鼠进行免疫功能测定。结果显示:高剂量组加 ConA 孔与不加 ConA 孔吸光度的差值和耳壳增重均显著高于对照组(玉米油组,下同)($P < 0.05$),高剂量组小鼠溶血空斑数、血清半数溶血值(HC_{50})和吞噬指数 a 均极显著高于对照组($P < 0.01$),各剂量组小鼠的体重增长值、胸腺体比、脾脏体比、吞噬率、吞噬指数和 NK 细胞活性与对照组相比,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

上述结果表明,在本试验条件下鳕鱼肝油软胶囊具有增强小鼠免疫功能。

参考文献:

[1] 李羽. 鳕鱼肝油增强免疫力实验研究[J]. 华南预防医

体内法进行小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞试验,计算吞噬指数及吞噬率,结果见表4。由表4可见,高剂量组小鼠吞噬指数 a 极显著高于对照组($P < 0.01$),各剂量组小鼠的吞噬率、吞噬指数与对照组相比,均无显著差异($P > 0.05$)。

学,2012,38(5):69-72.

- [2] 聂炎,胡余明,易传祝. 鳕鱼肝油对小鼠免疫功能影响的研究[J]. 实用预防医学,2012,19(1):125-127.
- [3] 龚群,俞淑敏,周小建,等. 上海市0~6岁小儿佝偻病的现状调查[J]. 中国组织工程研究与临床康复,2007,11(52):10461-10463.
- [4] LINDAY L A. Cod liver oil, young children, and upper respiratory tract infections[J]. J Am Coll Nutr, 2010, 29(6):59-62.
- [5] LINDAY L A, SHINDLEDECKER D, TAPIA - MENDOZA J, et al. Effect of daily cod liver oil and a multivitamin - mineral supplement with selenium on upper respiratory tract pediatric visits by young, inner - city, Latino children: randomized pediatric sites [J]. Ann Otol Rhino Laryngol, 2004, 113(11):891-901.
- [6] BARTLEY J. Vitamin D innate immunity and upper respiratory tract infection[J]. J Laryng Otol, 2010,124:465-469.
- [7] 周开国,何桂珍. 肠道缺血再灌注时 Toll 样受体 4 的作用及 ω -3 多不饱和脂肪酸的干预[J]. 中华临床营养杂志,2010,18(5):317-320.
- [8] CURTIS C L, HARWOOD J L, DENT C M, et al. Biological basis for the benefit of nutraceutical supplementation in arthritis[J]. Drug Discov Today, 2004, 9(4):165-172.
- [9] 鲍建民. 多不饱和脂肪酸的生理功能及安全性[J]. 中国食物与营养,2006(1):45-46.
- [10] 吴时敏,裘爱泳,吴谋成. 胎儿、婴儿的功能性多不饱和脂肪酸需要概括[J]. 中国乳品工业,2001,29(3):21-23.
- [11] 王萍,张银波,江木兰,等. 多不饱和脂肪酸的研究进展[J]. 中国油脂,2008,33(12):42-46.