

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2020.10.009

女黄扶正颗粒对大鼠体液免疫功能 和抗氧化力的影响

闫志强, 翟少钦, 付文贵, 唐红梅,
郑 华, 朱买勋, 陈春林

重庆市畜牧科学院, 重庆 荣昌 402460

摘要: 为阐明女黄扶正颗粒对大鼠体液免疫功能和抗氧化力的影响, 将 80 只大鼠随机分为空白对照组、女黄扶正颗粒高、中、低剂量组, 每组 20 只, 女黄扶正颗粒高、中、低剂量组分别按照 3 g/kg, 2 g/kg, 1 g/kg 剂量给药, 每天 1 次, 连续灌胃 14 d, 空白对照组给相同剂量的生理盐水。试验结束时, Elisa 法检测大鼠血清免疫球蛋白 IgA, IgM, IgG 和细胞因子 IL-10, IL-6 水平, 同时检测血清中丙二醛(MDA)水平和过氧化物酶(POD)及超氧化物歧化酶(SOD)活力。结果显示: 女黄扶正颗粒中剂量组大鼠血清 IgG, IL-6 质量浓度升高, 与空白对照组相比, 差异有统计学意义($p < 0.01$); 女黄扶正颗粒中剂量组大鼠血清 IL-10 质量浓度升高, 与空白对照组相比, 差异有统计学意义($p < 0.05$); 女黄扶正颗粒各剂量组大鼠血清 SOD, POD 活性及 MDA 浓度与空白对照组相比, 差异无统计学意义($p > 0.05$)。表明一定剂量的女黄扶正颗粒可通过提高机体 IgG, IL-6 及 IL-10 质量浓度从而提高机体的体液免疫功能, 但其抗氧化力不明显。

关键词: 女黄扶正颗粒; 大鼠; 抗氧化能力; 体液免疫功能

中图分类号: R961

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2020)10-0074-05

畜禽疾病不仅造成畜禽产品质量降低, 而且影响养殖业的经济效益。随着养殖规模的日益扩大和日趋集约化, 畜禽疾病的防控显得尤为重要。据报道, 动物机体免疫系统和抗氧化系统与疾病的发生有着密切的关系, 免疫系统和抗氧化系统紊乱可导致多种疾病的发生^[1]。因此, 采取措施以提高机体免疫功能和抗氧化力在畜禽疾病控制方面有着重要的意义。中药是指以中医药理论为指导, 用于预防和治疗疾病的天然药物。研究表明, 中草药可明显增强动物机体的免疫功能和抗氧化能力^[2-3]。本研究的试验药物(女黄扶正颗粒)是依据中兽医理论和临床辨证原则所组成的纯中药复方, 由中药女贞子、黄芪、枸杞子和菟丝子组成, 其主要功能为增强机体的免疫功能。前期研究表明, 女黄扶正颗粒可以改善免疫抑制小鼠脾脏的组织结构, 同时可上调免疫抑制小鼠 $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$ T 淋巴细胞百分率, 提高 IL-2, IL-4, TNF- α , IFN- γ mRNA 的相对表达量, 对免疫抑制小鼠的细胞免疫具有一定的调节作用^[4-5], 但其对大鼠体液免疫功能和抗氧化力的影响尚未可知。本研究通过检测给药后大鼠体液免疫指标: 血清免疫球蛋白(IgG, IgA, IgM)、细胞因子(IL-6, IL-10)和抗氧化指标: 丙二醛(MDA)的质量浓度、过氧化物酶(POD)及超氧化物歧化酶(SOD)活性的变化, 以阐明女黄扶正颗粒对大鼠体液免疫功能和抗氧化力的影响。

收稿日期: 2019-09-16

基金项目: 重庆市自然科学基金项目(cstc2019jcyj-msxmX0382); 重庆市现代山地特色高效农业技术体系、中药材产业体系项目(2018[5]号)。

作者简介: 闫志强(1989-), 男, 助理研究员, 硕士, 主要从事中兽医医药的研究。

通信作者: 陈春林, 副研究员。

1 材 料

1.1 试验药物

女贞子、黄芪、枸杞子和菟丝子等中药材, 均购自重庆荣昌桐君阁大药房, 按照料液比(1:10)提取 3 次, 合并提取液、使用旋转蒸发器浓缩至浸膏状, 并进行湿法制粒, 制成 1 g 女黄扶正颗粒含原生药 1 g.

1.2 试验动物

80 只 4 周龄 SPF 级大鼠, 雌雄各半, 体质量 60~80 g, 健康状况良好. 由中国人民解放军陆军军医大学实验动物中心提供, 许可证号: SCXK(军)2012-0011. 饲养温度 20~23 °C, 相对湿度 50%~70%, 每天照明 12 h, 试验前进行适应性饲养 3 d, 自由采食和饮水, 灌胃前停食 12 h, 不限饮水.

1.3 试 剂

免疫球蛋白 IgG, IgA, IgM, 细胞因子 IL-6, IL-10 ELISA 检测试剂盒均购自 Wuhan Abebio Science CO., Ltd; 丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)检测试剂盒均购自南京建成生物工程研究所有限公司.

1.4 仪器与设备

Centrifuge 5340R 型高速冷冻离心机, eppendorf; SUBAqual2plus 型水浴锅, Grant; synergicgyMx 型酶标仪, Gene Company Limited; UV-2450 型紫外分光光度计, 日本岛津公司.

2 试验方法

2.1 受试药物的配制

将女黄扶正颗粒置研钵中研细, 过 80 目筛, 药粉用蒸馏水制成浓度分别为 3 g/mL, 2 g/mL, 1 g/mL, 备用, 使用前摇匀.

2.2 动物分组及处理

将 80 只大鼠随机分为女黄扶正颗粒高、中、低剂量组和空白对照组 4 个组, 每组 20 只, 雌雄各 10 只, 女黄扶正颗粒高、中、低剂量组分别以 3 g/kg, 2 g/kg, 1 g/kg 剂量灌胃女黄扶正颗粒药液, 空白对照组灌胃相应剂量的生理盐水, 于早上 9:00 进行灌胃, 每天 1 次, 给药后禁食 2 h 后放回饲料, 连续灌胃 14 d.

2.3 血清体液免疫指标的测定

最后一次给药后 1 h 内对试验大鼠使用乙醚进行麻醉, 眼眶采血, 分离血清, Elisa 法检测大鼠血清 IgA, IgG, IgM 及 IL-6, IL-10, 检测步骤严格按照试剂盒说明书进行.

2.4 血清抗氧化指标的测定

最后一次给药后 1 h 内对试验大鼠使用乙醚进行麻醉, 眼眶采血, 分离血清, 检测血清中 SOD, POD 及 MDA, 检测步骤严格按照试剂盒说明书进行.

2.5 数据分析及处理

试验数据采用 Excell 进行采集, Curve Exert 1.4 制作标准曲线, 使用 SPSS 20.0 中单因素方差分析和 Duncan's 法多重比较进行数据统计分析, 试验结果采用 $M \pm SD$ 表示, $p < 0.05$ 表示差异有统计学意义.

3 结 果

3.1 女黄扶正颗粒对大鼠血清免疫球蛋白质量浓度的影响

结果表明, 女黄扶正颗粒高、中、低剂量组血清 IgA, IgM 质量浓度与空白对照组相比, 差异无统计学意义($p > 0.05$); 女黄扶正颗粒中、高剂量组 IgG 质量浓度升高, 与空白对照组相比, 差异有统计学意义($p < 0.01$)(表 1), 说明女黄扶正颗粒可通过促进免疫系统 IgG 的产生而提高机体的体液免疫, 其中女黄扶正颗粒中、高剂量效果明显.

表 1 女黄扶正颗粒对大鼠血清免疫球蛋白质量浓度的影响

组 别	IgA/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	IgG/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$	IgM/ $(\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1})$
空白对照组	140.23±13.22	1.07±0.02 Bb	7.73±1.53
低剂量组	139.67±15.44	1.07±0.03Bb	7.14±1.13
中剂量组	140.04±12.81	1.14±0.06Aa	7.73±1.18
高剂量组	134.35±12.76	1.15±0.04Aa	7.78±1.89

注:同列数据大写字母不同表示 $p < 0.01$,小写字母不同表示 $p < 0.05$,差异有统计学意义。

3.2 女黄扶正颗粒对大鼠血清细胞因子 IL-6,IL-10 质量浓度的影响

结果表明,女黄扶正颗粒中剂量组血清 IL-6 质量浓度升高,与空白对照组相比,差异有统计学意义($p < 0.01$);女黄扶正颗粒中剂量组血清 IL-10 质量浓度升高,与空白对照组相比,差异有统计学意义($p < 0.05$)(表 2),说明一定剂量的女黄颗粒可促进机体 IL-6 和 IL-10 的产生并发挥免疫调节作用,以女黄颗粒中剂量组效果显著。

表 2 女黄扶正颗粒对大鼠血清 IL-6,IL-10 质量浓度的影响

组 别	IL-6/ $(\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1})$	IL-10/ $(\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1})$
空白对照组	24.03±6.62ABb	20.97±3.07b
低剂量组	26.94±7.34ABab	24.52±5.72ab
中剂量组	32.75±7.48Aa	27.75±8.36a
高剂量组	21.62±6.33Bb	20.68±5.05b

注:同列数据大写字母不同表示 $p < 0.01$,小写字母不同表示 $p < 0.05$,差异有统计学意义。

3.3 女黄扶正颗粒对大鼠抗氧化力的影响

结果表明,给药结束后,女黄扶正颗粒高、中、低剂量组超氧化物歧化酶、过氧化物酶活性和丙二醛浓度与空白对照组相比,差异无统计学意义($p > 0.05$)(表 3),说明女黄扶正颗粒的抗氧化功能效果不明显。

表 3 女黄扶正颗粒对大鼠血清抗氧化酶的影响

组 别	超氧化物歧化酶/ $(\text{U} \cdot \text{mL}^{-1})$	过氧化物酶/ $(\text{U} \cdot \text{mL}^{-1})$	丙二醛/ $(\text{nmol} \cdot \text{mL}^{-1})$
空白对照组	131.84±9.48	17.98±1.20	6.22±0.72
低剂量组	122.82±12.09	15.49±2.82	5.59±1.08
中剂量组	133.84±18.06	14.63±3.70	5.56±1.33
高剂量组	136.53±10.98	17.53±2.74	6.32±1.16

4 讨 论

免疫系统是机体保护自身的防御性系统,主要由淋巴器官、其它器官内的淋巴组织和全身各处的淋巴细胞、抗原呈递细胞等组成,是机体抵抗病原微生物的重要系统。

研究发现,疾病的发生与转归与机体免疫功能的强弱有着密切关系^[6]。动物由于不断进行呼吸、接受放射线照射,机体会产生大量的自由基。研究表明,动物机体存在着抗氧化的防御机制,如包括超氧化物歧化酶、谷胱甘肽的酶系抗氧化系统和包括丙酮酸、胆红素等的非酶系抗氧化系统,正常生理条件下,抗氧化系统会及时清除氧代谢产生的自由基,当机体自由基超过限度时,会造成细胞内脂质、蛋白质和核酸等的破坏,引起动物发生疾病^[7]。

4.1 女黄扶正颗粒对大鼠免疫球蛋白的影响

免疫球蛋白是机体对抗原物质产生免疫应答的重要产物,主要存在于动物血液、淋巴液和组织液中,其质量浓度多少可反应机体的体液免疫情况^[8]。IgG 是动物机体质量浓度最高的一类免疫球蛋白,在机体内存留时间长,主要介导体液免疫,具有较强的抗毒素、抗菌、抗病毒等生物活性^[9]。IgM 主要由脾脏和淋

巴结 B 细胞产生, 是初次体液免疫反应中出现最早的一类免疫球蛋白, 其溶菌、促吞噬、杀菌等作用比 IgG 高. IgA 主要以单体和二聚体的形式存在, 单体主要存在于血清中, 介导吞噬 ADCC 作用^[10]. 本研究结果表明, 女黄扶正颗粒组大鼠血清中 IgM, IgA 质量浓度与空白对照组相比, 差异无统计学意义 ($p > 0.05$), 推测女黄扶正颗粒可能并不能促进免疫系统产生 IgM, IgA 而提高机体体液免疫. 而女黄扶正颗粒组大鼠血清 IgG 质量浓度升高, 与空白对照组相比, 差异有统计学意义 ($p < 0.01$). 推测女黄扶正颗粒可通过提高机体血清 IgG 质量浓度促进体液免疫, 其中女黄扶正颗粒中、高剂量组作用显著.

4.2 女黄扶正颗粒对大鼠细胞因子 IL-6, IL-10 的影响

细胞因子是由免疫细胞和某些非免疫细胞合成和分泌的一类高活性多功能蛋白质多肽分子, 主要介导机体细胞免疫和体液免疫, 参与机体抗菌、抗病毒、抗寄生虫功能, 同时, 细胞因子在炎症和抗炎反应中起着重要的调节作用^[11]. 研究发现, IL-6 具有多重免疫调节作用, 一方面可促进 T, B 淋巴细胞的增殖分化, 促进抗体产生, 进而提高机体体液免疫功能, 另一方面可直接或间接作用病原微生物进而维持机体健康^[12]; IL-10 是由多种细胞产生, 具有较强的免疫抑制和抗炎功能, 同时也可促进 B 细胞分化和产生免疫球蛋白, 增强机体体液免疫功能^[13-14]. 本研究结果表明: 女黄扶正颗粒中剂量组试验大鼠血清 IL-6, IL-10 质量浓度升高, 与空白对照组相比, 差异有统计学意义 ($p < 0.05$), 表明女黄扶正颗粒可通过促进 IL-6, IL-10 的分泌从而提高机体的体液免疫功能, 其中女黄扶正颗粒中剂量组效果明显.

4.3 女黄扶正颗粒对大鼠抗氧化力的影响

超氧化物歧化酶是酶系抗氧化系统中的一种, 以氧自由基为底物, 清除机体产生的氧自由基, 同时可阻断羟基自由基的形成, 使 O_2^- 转变为 H_2O_2 , 是机体内重要的抗氧化酶, 其活性高低可提示机体清除氧自由基的能力. 丙二醛是体内脂质过氧化的代谢产物, 其质量浓度的多少可反映机体细胞受自由基攻击的严重程度^[15-16]. 因此, 超氧化物歧化酶和丙二醛水平的高低可反映机体清除自由基、抗氧化应激的能力, 常作为检测体内抗氧化力的重要指标^[17]. 过氧化物酶主要将 SOD 转化生成的 H_2O_2 分解转化为无毒的 H_2O , 间接清除自由基, 达到抗氧化作用^[18]. 本研究结果表明: 各个试验组血清 SOD 和 POD 活性及 MDA 浓度之间差异无统计学意义, 推测女黄扶正颗粒本身抗氧化作用并不明显, 或试验动物为健康动物, 机体氧化和抗氧化过程处于动态平衡状态, 因而未检测出女黄扶正颗粒的抗氧化作用.

5 结 论

女黄扶正颗粒可提高大鼠血清中 IgG, IL-6, IL-10 质量浓度, 而对血清 SOD 和 POD 活性及 MDA 浓度无明显作用, 结果表明: 女黄扶正颗粒具有一定的体液免疫调节作用, 抗氧化作用不明显.

参考文献:

- [1] 李楠. 青钱柳多糖对大鼠抗氧化及脂代谢相关基因表达的研究 [D]. 南昌: 江西农业大学, 2015.
- [2] 靳二辉, 熊宪献, 孙雨豪, 等. 中草药复方制剂对青脚麻鸡法氏囊免疫功能、抗氧化性及增殖凋亡基因表达的影响 [J]. 东北农业大学学报, 2019, 50(3): 66-77.
- [3] 赵文文, 袁文华, 沈军达, 等. 黄芪多糖和丁酸梭菌对蛋雏鸭免疫性能、抗氧化性能以及肠道形态的影响 [J]. 动物营养学报, 2018, 30(10): 4143-4150.
- [4] 闫志强, 郑华, 朱买勋, 等. 女黄扶正颗粒对免疫抑制模型小鼠脾组织病理及细胞周期的影响 [J]. 畜牧兽医学报, 2018, 49(12): 2771-2776.
- [5] 闫志强, 郑华, 付文贵, 等. 女黄扶正颗粒对免疫抑制小鼠外周血 T 淋巴细胞亚群及脾脏细胞因子 mRNA 表达的影响 [J]. 南方农业学报, 2018, 49(10): 2070-2076.
- [6] LEE J S, ABBAS B S N, MOHD F N. Effects of Chalcone Derivatives on Players of the Immune System [J]. Drug Design, Development and Therapy, 2015(9): 4761-4778.
- [7] 杨硕, 徐元庆, 邢媛媛, 等. 植物源黄酮类化合物对动物免疫和抗氧化功能影响的研究进展 [J]. 动物营养学报, 2019, 31(7): 1-7.
- [8] 蔡旭滨, 陈凌锋, 吴晓晴, 等. 太子参茎叶多糖联合枯草芽孢杆菌对断奶仔猪生长性能及免疫功能的影响 [J]. 家畜生态学报, 2017, 38(11): 32-37.

- [9] 彭密军, 张命龙, 王志宏, 等. 饲料中添加杜仲叶对断奶仔猪生长性能、抗氧化力和免疫功能的影响 [J]. 天然产物研究与开发, 2019, 31(4): 675-681.
- [10] 阳 刚, 白 璐, 殷中琼, 等. 柠檬醛素对麻鸭免疫功能的影响 [J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2018, 49(4): 675-679.
- [11] 陈小英, 曾晏萍, 刘汉儒, 等. 太子参须多糖粗提物对小鼠免疫功能的调节作用 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2020, 42(4): 56-64.
- [12] 白学鹏, 孙 鹏, 沈春秀, 等. 枸杞多糖对免疫抑制小鼠血清中 IL-6, IL-10 和 IL-12/IL23 p40 分泌水平的影响 [J]. 动物医学进展, 2019, 40(7): 49-51.
- [13] 刘明美, 齐 斌, 占今舜, 等. 大豆低丰度蛋白提取物对小鼠免疫功能及抗氧化能力的影响 [J]. 中国农业大学学报, 2018, 23(2): 57-63.
- [14] GANDHI G R, NETA M T S L, SATHIYABAMA R G, et al. Flavonoids as Th1/Th2 Cytokines Immunomodulators: a Systematic Review of Studies on Animal Models [J]. Phytomedicine, 2018, 44: 74-84.
- [15] 张亚辉, 姚万玲, 文艳巧, 等. 郁金散对大肠湿热证大鼠血清免疫球蛋白与抗氧化相关因子的调节作用 [J]. 畜牧兽医学报, 2018, 49(9): 2044-2053.
- [16] LI Y Q, HU Y K, SHI S J, et al. Evaluation of Antioxidant and Immuno-Enhancing Activities of Purslane Polysaccharides in Gastric Cancer Rats [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2014, 68: 113-116.
- [17] 邵 乐, 秦 枫, 潘孝青, 等. 杏鲍菇菌糠对幼兔生长性能、消化率及抗氧化性能的影响 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2019, 41(6): 8-14.
- [18] 宋 暖, 黄振东, 薛志静, 等. 盐酸环丙沙星对家蝇幼虫和蛹体内抗氧化酶活力的影响 [J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2018, 29(5): 448-452.

Effects of Nyuhuang Fuzheng Granule on the Humoral Immunity Function and Antioxidant Capacity of Rat

YAN Zhi-qiang, ZHAI Shao-qin, FU Wen-gui, TANG Hong-mei,
ZHENG Hua, ZHU Mai-xun, CHEN Chun-lin

Chongqing Academy of Animal Sciences, Rongchang Chongqing 402460, China

Abstract: The aim of this study was to investigate the effects of Nyuhuang Fuzheng Granule on humoral immune function and antioxidant capacity in rats. Eighty rats were randomly divided into the blank group and the high, medium and low dose groups of Nyuhuang Fuzheng Granule, with 20 rats in each group. The high, medium and low dose groups of Nyuhuang Fuzheng Granule were administered at a dose of 3 g/kg, 2 g/kg and 1 g/kg, respectively, once a day for 14 days, and the blank group was given the same dose of physiological saline. At the end of the experiment, Elisa method was used to detect serum immunoglobulins IgA, IgM, IgG, IL-10 and IL-6 levels and to determine serum malondialdehyde (MDA) levels and peroxidase (POD) and superoxide dismutase (SOD) activity in the rats. The results showed that compared with the blank control group, serum IgG and IL-6 levels increased highly significantly ($p < 0.01$) and the content of IL-10 was significantly ($p < 0.05$) raised in the middle dose group. No significant difference was observed in serum SOD and POD activity and MDA content between the Nyuhuang Fuzheng Granule rats and the control group ($p > 0.05$). These results indicated that Nyuhuang Fuzheng Granule can improve the body's humoral immune function by increasing the IgG, IL-6 and IL-10 levels in it, and its antioxidant capacity is not obvious.

Key words: Nyuhuang Fuzheng Granule; rat; antioxidant capacity; humoral immune function