

菱角提取物对荷瘤小鼠免疫功能的影响

牛凤兰, 董威严, 乔凤娟
(吉林大学公共卫生学院, 吉林 长春 130021)

摘 要:目的: 研究菱角(*Trapa manshurica*)提取物对荷瘤小鼠免疫功能的影响。方法: 采用菱角提取物对肝癌腹水细胞 H₂₂ 进行体内实验, 观察菱角提取物对荷瘤小鼠生长的影响及小鼠体重的变化; 采用 MTT 法测定淋巴细胞增殖率; 将小鼠灌胃给菱角提取物, 给药的第 4d 每只小鼠腹腔注射 5%(V/V) 鸡红细胞悬液(CRBC), 在油镜下观察巨噬细胞吞噬鸡红细胞的情况, 计算吞噬率和吞噬指数。结果: 体内抗肿瘤作用显示, 菱角提取物在 26.25g/kg 时对肿瘤的抑制率为 47%; 菱角提取物对荷瘤小鼠脾淋巴细胞的增殖率为 98.5%, 显著高于阴性对照组; 菱角提取物能增强小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能。结论: 菱角能增强机体免疫功能。

关键词: 菱角; 免疫功能

Effects of *Trapa manshurica* Extract on Immune Function in Tumor-bearing Mice

NIU Feng-lan, DONG Wei-yan, QIAO Feng-juan
(School of Public Health, Jilin University, Changchun 130021, China)

Abstract: Objective: To study the effects of *Trapa manshurica* extract on immune function in tumor-bearing mice. Methods: MTT assay was used to determine the multiplication rate of lymphocytes; *Trapa manshurica* extract was administrated into mice by lavage. Four days after administration, each mouse was given 5% CRBC with intraperitoneal injection. The phagocytosis of lymphocytes was observed by oil immersion. The phagocytic rate and phagocytic index were calculated. Results: the multiplication rate of lymphocytes in tumor-bearing mice treated with *Trapa manshurica* extract is 98.5%, significantly higher than that

收稿日期: 2005-09-29

基金项目: 吉林省科学技术厅项目(200505137)

作者简介: 牛凤兰(1951-), 女, 教授, 主要从事药食同用植物与健康的研究。

泽泻香菇组、凉拌毛笋低、中、高剂量组与高脂对照比较, 血清 GSH-Px 活力均有所提高, 其中中、高剂量组有显著性差异($p < 0.05$ 、 $p < 0.01$); 泽泻香菇组、凉拌毛笋低、中、高剂量组与高脂对照比较, 睾丸 MDA 的含量均有所降低, 其中中、高剂量组有显著性差异($p < 0.05$)。

3 结 论

由实验结果可见, 凉拌毛笋能显著降低血浆中的 TC、TG 水平, 改善高血脂症大鼠的血脂环境, 和阳性对照组泽泻香菇的作用是一致的。本膳含有大量的膳食纤维, 可以减少肠道对脂肪的吸收, 这可能是其具有调节血脂作用的一个重要因素。除了膳食纤维, 是否有其它营养成分也参与对血脂的调节需进一步研究。本次实验结果表明, 凉拌毛笋能提高高脂模

型大鼠的 SOD、GSH-Px 活力, 降低其 MDA 含量, 说明凉拌毛笋有较好的抗氧化能力, 亦与阳性对照组泽泻香菇的作用一致。可以进一步研究其是否延缓衰老的作用。以往的研究多集中于竹笋的煎汁或其提取物的保健作用, 本次实验以直接食用凉拌毛笋的方法进行研究, 以为进行相关人群的营养改良研究提供参考。

参考文献:

- [1] 谢碧霞, 种海雁, 谢涛, 等. 竹笋膳食纤维开发和主要功能性质的研究[J]. 经济林研究, 2000, 18(2): 8-11.
- [2] 舒思洁, 舒慧, 林永生. 雷竹笋汁对糖尿病大鼠治疗作用的实验观察[J]. 浙江中西医结合杂志, 2003, 13(6): 358-359.
- [3] 施洪飞, 项平, 杨立坤, 等. 泽泻香菇调节血脂和抗氧化作用实验研究[J]. 南京中医药大学学报, 2000, 16(2): 93-95.
- [4] 苗明三. 实验动物和动物实验技术[M]. 北京: 中国中医药出版社, 1997, 199-220.

in control group. *Trapa manshurica* extract enhances the phagocytic function of macrophages in mice. Conclusion: *Trapa manshurica* extract can enhance the immune function.

Key words: *Trapa manshurica*; immune function

中图分类号: R967

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2006)07-0233-03

菱角(*Trapa manshurica*)为水生菱科植物, 又称菱、菱实。被中华人民共和国药典收载^[1]。菱角具有清暑解热、除烦止渴、益气健脾的作用, 可治疗疮疥、胃溃疡及疣赘^[2]。文献报道其有一定的抗癌活性, 近年来, 随着中药现代化步伐的加快, 菱的抗肿瘤作用已逐渐引起人们的注意, 我们前期研究中发现, 菱角提取物有较强的抗癌作用^[3, 4], 为进一步探讨该提取物的对免疫功能的影响, 我们开展此项研究。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菱角提取物(LT)

称取 4.0kg 菱皮于提取器内, 以三倍体积的蒸馏水浸泡 8d, 加热煮沸 4h, 过滤再以三倍体积的水重复提取两次, 合并水提液过滤, 蒸发水分至干, 得黑色浸膏。

1.1.2 试剂 RPMI-1640 培养液 Gibco; ConA Sigma, 美国; PI 碘化丙啶 Sigma, 美国; MTT 四甲基偶氮唑蓝 Sigma, 美国; Pancreas 胰酶 Serva, 德国; 淋巴细胞分层液 上海试剂二厂; 小牛血清 吉林博特生物技术有限公司; Giemsa Stain Sigma; Wright 染液 Sigma; 盐酸左旋米唑, 生理盐水, DMSO 上海试剂二厂; 鸡红细胞悬液自制。

1.1.3 实验动物 昆明小鼠体重 18~22g, 雌雄各半, 由吉林大学实验动物中心提供。

1.2 方法

1.2.1 LT 体内抗肿瘤实验

无菌条件下, 抽取接种 7~8d 的肝癌腹水细胞(H₂₂), 用生理盐水洗涤 2 遍, 调细胞数为 $1 \times 10^8/\text{ml}$, 每只小鼠左后肢皮下接种 0.1ml, 接种次日随机分组, 每组 10 只, 每天灌胃给药 1 次(按剂量给药)。经过反复实验后采用中剂量组, 连续给药 10d, 每 3d 称重 1 次, 末次给药后次日脱臼处死小鼠, 称瘤重, 并按下式计算抑瘤率。

$$\text{抑瘤率} = \left(1 - \frac{\text{实验组平均瘤重}}{\text{对照组平均瘤重}}\right) \times 100\%$$

1.2.2 LT 对荷瘤小鼠淋巴细胞增殖功能的测定

将小鼠腹腔接种 $1 \times 10^6/\text{ml}$ 肝癌细胞瘤悬液, 0.2ml/只, 24h 后随机分为 3 组, 每组 10 只动物。LT 组每次灌胃

0.4ml/只(1mg/ml), 每日一次, 连续 10d; 阳性组每日腹腔注射环磷酰胺 0.4mg/只(1mg/ml); 阴性组给无菌生理盐水, 剂量、次数同 LT 组。接种肿瘤后 12d, 小鼠分别脱臼处死后取脾, 用无菌的 PBS 制成脾细胞悬液, 把红细胞裂解液按 3:1 的比例加到脾细胞悬液中, 除去红细胞, 调配脾细胞浓度为 $1 \times 10^7/\text{ml}$, 加入 96 孔板, 每孔 100 μl , 每组实验孔再加 ConA 20 μl (50mg/L), 对照孔加培养液 20 μl 。置 37°C 5% CO₂ 孵箱培养 68h, 离心弃上清, 并加入 100 μl DMSO 混匀, 10min 后于酶标仪波长 570nm 处测定光密度值。按下式计算淋巴细胞增殖率:

$$\text{淋巴细胞增殖率} = \frac{\text{实验孔A值} - \text{对照孔A值}}{\text{对照孔A值}} \times 100\%$$

1.2.3 LT 对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的测定

取小鼠 40 只, 随机分成 4 组, 每组 10 只雌雄各半, 每天灌胃。LT 组的浓度分别为 5g/kg (0.4ml 1.2g/ml)、15g/kg (0.4ml 1.2g/ml); 阳性对照组盐酸左旋米唑(LMS) 0.1g/kg; 阴性对照组给等容量的生理盐水。给药后第四天每鼠腹腔注射 5%(V/V) 鸡红细胞悬液(CRBC) 0.5ml, 12h 后处死动物, 腹腔注射生理盐水 2ml, 吸取腹腔冲洗液滴片, 晾干后用瑞特氏-吉姆莎氏液染色。在油镜下观察, 计算 100 个巨噬细胞吞噬鸡红细胞的情况, 按下式计算吞噬率和吞噬指数:

$$\text{吞噬率} = \frac{\text{吞噬CRBC的巨噬细胞数}}{100\text{个巨噬细胞数(吞噬细胞数+未吞噬细胞数)}} \times 100\%$$

$$\text{吞噬指数} = \frac{\text{被吞噬的CRBC总数}}{100\text{个巨噬细胞数}} \times 100\%$$

1.3 统计学方法 用 SPSS 统计软件包作 t 检验, 采用组间 t 检验。

2 结果与分析

2.1 LT 体内抗肿瘤实验

LT 体内抗肿瘤作用显示(表 1), LT 在 26.25g/kg 时对肿瘤的抑制率为 47%, 这说明 LT 具有抗癌活性。

2.2 LT 对荷瘤小鼠淋巴细胞增殖功能的影响

由表 2 给出的实验结果可以看出, LT 能促进淋巴

表1 LT对小鼠H₂₂荷瘤生长的抑制作用
Table 1 Inhibition effect of LT on the H₂₂

组别	剂量(g/kg)	动物数(只)	瘤重(g)	抑瘤率(%)
对照		10/10	1.44±0.31	
LH	26.3	10/10	0.763±0.08	47
5-Fu	0.02	10/10	0.477±0.31	67

表2 LT对荷瘤小鼠淋巴细胞增殖功能的影响
Table 2 Effect of LT on the multiplication function of lymphocytes in tumor-bearing mice

组别	动物数(只)	淋巴细胞增殖率(%)
对照	10	34.0±3.2
LT	10	98.5±19.7*
CTX	10	30.0±7.8

注：*表示 $p < 0.01$ 。

细胞的增殖，其增殖率显著高于盐水组及环磷酰胺组($p < 0.01$)。

2.3 LT对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响

表3 LT对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响
Table 3 Effect of LT on the phagocytic function of macrophages in mice

组别	剂量(g/kg)	动物数(只)	吞噬率(%)	PI
对照		10	34±3.97	0.42±0.03
LT	5	10	48.2±4.59**	0.86±0.05**
	15	10	55.8±4.97**	1.21±0.19**
LSM	0.1	10	57.4±4.55**	1.16±0.81**

注：与盐水组比较 **表示 $p < 0.01$ 。

由表3可知LT对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能增强。

3 讨论

LT在26.25g/kg时对肿瘤的抑制率接近50%。这与文献所报道^[5]的菱角有较好的抗癌作用相吻合。

LT对荷瘤小鼠淋巴细胞增殖功能的影响结果表明，LT能促进荷瘤小鼠脾脏淋巴细胞对ConA的增殖反应，这表明LT有增强机体免疫功能作用。

LT对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能影响结果表明：无论LT剂量大小，经生物统计处理，具极显著性差异($p < 0.01$)。由此可见LT较对照组无论吞噬率、吞噬指数均具显著性，吞噬功能确实增强。现代免疫学研究指出，动物体内的巨噬细胞即能作特异性地吞噬多种病原微生物，也能有效地消除体内损伤、衰老、死亡的细胞，在维持机体自身稳定中起重要作用。

参考文献：

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(2005年版一部)[M]. 北京: 化学工业出版社. 附录III.
- [2] 张延岭. 菱实抗癌活性的研究[J]. 山东医科大学学报, 1996, 34(4):34.
- [3] 牛凤兰, 李晨旭, 董威严, 等. 菱壳水提物对胃癌细胞抑制作用的实验研究[J]. 白求恩医科大学学报, 2001, 27(5): 495-497.
- [4] 牛凤兰, 李晨旭, 董威严, 等. 东北菱提取物对肝癌细胞的体内外抑制作用[J]. 吉林大学学报(医学版), 2004, 30(3): 355-358.
- [5] 赵泽贞, 魏丽珍. 22种可食性中药材的抗突变和致突变同步快速实验报告[J]. 癌变. 畸变. 突变, 2000, 12(2): 87-90.



ÃÀ¿ÆÑŠ¼ÒÀÙÓÃ©,Ë¼üáÉý×³»ÙÒòÝÝ®ÓÑø¼ÙÖµ

据Eurekalert 机构网站2006年3月13日报道,美国弗吉尼生物信息学研究所(VBI)和弗吉尼亚理工学院园艺系的研究人员发明出了一种新方法,利用农杆菌有效将特定的DNA序列转移到林地或高山的野生草莓基因组中。

这一方法利用农杆菌的环形DNA分子(T-DNA)将外源DNA导入植物体中。这种方法不但方便研究人员对大量的草莓基因功能进行研究,从长远来说,对于提高草莓的营养价值十分有用,而且对于草莓中富含对人体有益的抗氧化剂数量的提高也十分有益。

新的试验方法包括,将草莓的植物性组织转移到培养基上自然生长和培育,保持草莓的三个叶片能正常生长。在种子发芽6~7周后,这些叶片就可以使用农杆菌来进行基因转化了。由于转基因草莓用绿色荧光蛋白(GFP)做标记物,转化后的草莓作物很容易通过视觉观察分辨出来。这也是此类研究中第一次使用绿色荧光蛋白作为标记物。