

暹罗鳄多肽粉对小鼠机体免疫力及抗疲劳效应的增强作用

李华亮^{1,2}, 王碧雪¹, 丁玉梅², 覃彦¹, 张剑¹, 陈清西^{1*}

(1. 厦门大学生命科学学院, 福建 厦门 361102; 2. 福建鼉龙实业有限责任公司, 福建 厦门 361102)

摘要: 为研究暹罗鳄(*Crocodylus siamensis*)多肽粉对小鼠免疫力及抗疲劳效应的影响, 对小鼠的免疫力及相关血清指标、运动能力及相关酶活力指标进行了测定. 实验结果显示: 暹罗鳄多肽粉可以促进小鼠胸腺和脾脏的生长, 增强机体免疫力. 相对于对照组小鼠, 暹罗鳄多肽粉组小鼠血清中的白蛋白、总蛋白、血钙含量升高($p < 0.05$), 谷丙转氨酶活力和血糖浓度下降($p < 0.05$). 小鼠爬杆及负重游泳实验发现服用了暹罗鳄多肽粉的小鼠垂直爬杆时间和负重游泳时间均长于对照组($p < 0.05$). 进一步通过建立小鼠力竭游泳模型研究了暹罗鳄多肽粉的抗疲劳功效, 结果显示与对照组相比, 暹罗鳄多肽粉组小鼠血液中尿素氮和乳酸的含量以及乳酸脱氢酶活力均降低($p < 0.05$), 而超氧化物歧化酶活力升高($p < 0.05$). 综上所述表明暹罗鳄多肽粉可能有保肝降糖、增强机体免疫力及抗疲劳效应的作用.

关键词: 暹罗鳄; 多肽粉; 免疫力; 抗疲劳

中图分类号: Q 514.3

文献标志码: A

文章编号: 0438-0479(2019)05-0707-05

随着近 20 年来国内鳄鱼养殖业的发展, 鳄鱼的食用价值和药用价值逐渐被人们认识. 鳄鱼肉质鲜美, 是高蛋白、低脂肪、低胆固醇并含有多种维生素和微量元素的高级食品和滋补品. 汤四荣等^[1]研究发现鳄鱼肉提取物具有较好的免疫调节作用. 加大对鳄鱼的食用药用保健方面的开发研究可增加鳄鱼的开发附加价值, 拓宽人们对鳄鱼生物医药的认识和了解, 对提升鳄鱼养殖业的发展和产业升级具有重要意义. 然而, 目前国内对鳄鱼肉增强免疫力和抗疲劳效应方面的研究仅限于酶解粗提物的成分和生物功效分析, 尚缺乏对药理方面的研究.

前期研究对暹罗鳄(*Crocodylus siamensis*)多肽粉的营养成分进行了分析, 发现暹罗鳄多肽粉是一种富含小分子多肽的低糖、低脂功能性保健食品, 同时又具有较好的抗氧化、清除自由基、抑制酪氨酸酶活性的生物学功效^[2-3]. 本研究通过进一步分析暹罗鳄多肽粉对增强小鼠机体免疫力及抗疲劳效应的影响, 以期阐明暹罗鳄多肽粉的药效与药理, 为其应用于保

健药品提供科学的理论依据.

1 材料与方法

1.1 材料

暹罗鳄肉由福建鼉龙实业有限责任公司提供; 玻璃游泳缸(80 cm×80 cm×70 cm)购自厦门美成展示设备有限公司; 温度计购自上海双旭电子有限公司; 电子天平(BS210S 型)购自 Sartorius 公司; 多用途电泳槽(DYCZ-21 型)购自北京六一仪器厂; 台式离心机(1-14 型)购自 Sigma 公司; 可见-紫外分光光度计(DU650 型)和全自动生化检测仪(AU480)购自 Beckman 公司; 奶粉购自完达山有限公司; 乳酸脱氢酶(LDH)、超氧化物歧化酶(SOD)、尿素氮(BUN)及乳酸(LA)检测试剂盒购自南京建成生物公司; 所用的蒸馏水为无离子双蒸馏水. 暹罗鳄多肽粉按文献^[4]中的方法酶解制备.

收稿日期: 2018-09-04 录用日期: 2018-11-26

基金项目: 福建省自然科学基金(2016J05105); 广东省自然科学基金(2016A030310374); 厦门大学生命科学学院-福建鼉龙鳄鱼生物制品研发协同创新中心项目(XDHT2017004C)

*通信作者: chenqx@xmu.edu.cn

引文格式: 李华亮, 王碧雪, 丁玉梅, 等. 暹罗鳄多肽粉对小鼠机体免疫力及抗疲劳效应的增强作用[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2019, 58(5): 707-711.

Citation: LI H L, WANG B X, DING Y M, et al. Effects of peptide powder from *Crocodylus siamensis* on enhancing immunity of organism and anti-fatigue effect in mice[J]. J Xiamen Univ Nat Sci, 2019, 58(5): 707-711. (in Chinese)



1.2 小鼠分组及免疫能力检测

昆明种雄性小鼠 40 只,每只体质量 20~22 g,由厦门大学实验动物中心提供.随机分为 4 组,每组 10 只,分别为对照组以及暹罗鳄多肽粉低、中、高剂量组,各组灌胃的剂量分别对应为 0,10,20 和 30 mg/(kg·d).饲养条件:室内温度 21~22 °C,湿度 60%~65%,昼夜周期为 12 h 光照/12 h 黑暗.

对照组给予和多肽粉组等体积(0.5 mL)的生理盐水,各组连续灌胃 20 d.于第 21 天称量后禁食 8 h,眼球取血,用全自动生化检测仪进行血清常规生化指标检测,脱臼处死并摘取小鼠肝脏、脾脏和胸腺,分别计算肝脏指数、脾脏指数和胸腺指数(内脏指数=内脏质量/体质量×100%)^[4].所有实验操作严格按照厦门大学实验动物中心制定的动物伦理规章进行.

1.3 小鼠爬杆实验

按 1.2 节中的方法进行饲养、分组及灌胃处理,参考文献[5]中的方法于第 21 天给予受试物 30 min 后,将小鼠放在垂直悬挂的玻璃杆上,使其肌肉处于紧张状态,记录小鼠从玻璃杆上跌落下来的时间.第 3 次跌落时终止实验,累计 3 次的总时间作为爬杆时间.

1.4 小鼠负重游泳实验

按 1.2 节中的方法进行饲养、分组及灌胃处理,参考文献[6]中的方法于第 21 天给予受试物 30 min 后,给小鼠负载其体质量 5% 的重物,将小鼠放入水深不少于 30 cm、水温(25±1) °C 的游泳箱中,记录自游泳开始至头部全部沉入水中 8 s 后不能浮出水面的时间,作为小鼠游泳时间.

1.5 小鼠力竭游泳实验

按 1.2 节中的条件饲养 40 只小鼠.随机分为 4 组,每组 10 只,分别为空白对照组(生理盐水)、奶粉对照组(10 mg/mL)、暹罗鳄多肽粉低剂量组(10 mg/mL)、暹罗鳄多肽粉高剂量组(40 mg/mL),适应性饲养 5 d 后对小鼠进行灌胃实验,每天灌胃一次,每次 0.5 mL,灌胃 20 d,每 5 d 称量一次.于第 21 天将每组小鼠放入(25±1) °C 温水中力竭游泳,然后眼球取血 1 mL,3 000 g 离心 5 min,分装后于-80 °C 保存.利用相应试剂盒测定小鼠血清中 BUN、LA 浓度以及 LDH、SOD 活力.

1.6 统计学分析

数据结果以平均值±标准差表示,用 SPSS 24.0 软件进行 *t*-检验, $p < 0.05$ 表示不同组间存在显著差异, $p < 0.01$ 表示存在极显著差异.

2 结果与分析

2.1 暹罗鳄多肽粉对小鼠免疫效应的影响

血清常规生化指标检测结果显示(表 1):与对照组小鼠相比,多肽粉中、高剂量组小鼠血清中的白蛋白、总蛋白、血钙含量均显著提高($p < 0.05$, $p < 0.01$),而低剂量组中差异不显著;多肽粉不同剂量组小鼠血清中的谷丙转氨酶活力较对照组均显著降低($p < 0.05$, $p < 0.01$),且变化呈现一定的浓度依赖性;此外,多肽粉不同剂量组小鼠的血糖浓度较对照组也有显著降低($p < 0.05$),而其他指标均无显著变化.

表 1 暹罗鳄多肽粉对小鼠血清常规生化指标的影响

Tab. 1 Effect of peptide powder from *C. siamensis* on the serum routine biochemical indexes in mice

组别	ρ (总蛋白)/ (g·L ⁻¹)	ρ (白蛋白)/ (g·L ⁻¹)	ρ (甘油三酯)/ (mmol·L ⁻¹)	<i>c</i> (血钙)/ (mmol·L ⁻¹)	<i>c</i> (血糖)/ (mmol·L ⁻¹)
对照组	61±4	27±6	1.30±0.34	2.24±0.13	7.7±0.2
低剂量组	68±4	32±5	1.51±0.31	2.26±0.11	6.4±0.1*
中剂量组	83±7**	43±5*	1.35±0.57	2.39±0.17*	6.1±0.3*
高剂量组	89±5**	53±6*	1.39±0.31	2.34±0.15*	6.4±0.3*

组别	<i>c</i> (总胆固醇)/ (mmol·L ⁻¹)	<i>c</i> (肌酐)/ (μmol·L ⁻¹)	谷丙转氨酶活力/ (U·L ⁻¹)	谷草转氨酶活力/ (U·L ⁻¹)
对照组	2.5±0.8	17±5	70±5	139±21
低剂量组	2.0±0.6	20±4	52±7*	132±15
中剂量组	1.6±1.1	19±7	36±4**	127±20
高剂量组	2.9±0.9	22±5	24±7**	122±12

注: * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ (下同).

内脏指标检测结果显示(表 2):多肽粉中、高剂量组小鼠的脾脏指数和胸腺指数较对照组均显著升

高($p < 0.05$, $p < 0.01$);而多肽粉不同剂量组小鼠的肝脏指数较对照组略有降低,但差异不显著。

表 2 暹罗鳄多肽粉对小鼠肝脏、胸腺和脾脏指数的影响

Tab. 2 Effects of peptide powder from *C. siamensis* on liver, thymus and spleen indexes of mice

组别	肝脏指数	脾脏指数	胸腺指数
对照组	5.01±0.33	0.54±0.08	0.12±0.03
低剂量组	4.83±0.18	0.59±0.13	0.13±0.02
中剂量组	4.85±0.21	0.66±0.09*	0.16±0.04*
高剂量组	4.90±0.15	0.74±0.11**	0.19±0.03**

表 3 暹罗鳄多肽粉对小鼠垂直爬杆及负重游泳时间的影响

Tab. 3 Effects of peptide powder from *C. siamensis* on the time for vertical climbing pole and load swimming of mice

组别	垂直爬杆时间/min	延长率/%	负重游泳时间/min	延长率/%
对照组	20.12±2.35		23.31±2.50	
低剂量组	23.23±2.69*	15.46	25.95±5.72*	11.33
中剂量组	27.80±4.75**	38.17	29.12±3.62*	24.92
高剂量组	29.23±2.78**	45.28	33.27±2.72**	42.73

2.3 暹罗鳄多肽粉对力竭游泳小鼠抗疲劳效应的影响

如表 4 所示:力竭游泳后奶粉对照组小鼠血清中的 BUN 浓度和 LDH 活力相对于空白对照组均显著降低($p < 0.05$, $p < 0.01$),而血清中的 LA 浓度和 SOD 活力差异不显著;多肽粉高、低剂量组小鼠在力竭游泳后,其血清中的 BUN、LA 浓度以及 LDH 活

力均显著低于空白对照组($p < 0.05$, $p < 0.01$);多肽粉低剂量组小鼠血清中上述指标与奶粉对照组相比差异不显著,而多肽粉高剂量组则显著低于奶粉对照组($p < 0.05$);多肽粉高、低剂量组小鼠血清中的 SOD 活力相对于空白对照组均显著升高($p < 0.05$, $p < 0.01$),其中多肽粉高剂量组较奶粉对照组显著升高($p < 0.05$)。

表 4 暹罗鳄多肽粉对力竭游泳小鼠血清中相关指标的影响

Tab. 4 Effects of peptide powder from *C. siamensis* on serum indexes in exhausted swimming mice

组别	c(BUN)/(mmol·L ⁻¹)	c(LA)/(mmol·L ⁻¹)	LDH 活力/(U·L ⁻¹)	SOD 活力/(U·L ⁻¹)
空白对照组	14.2±0.4	11.1±1.3	7 000±400	140±15
奶粉对照组	12.8±0.5*	10.8±0.6	5 400±300**	150±10
多肽粉低剂量组	12.8±0.7*	10.4±0.5*	5 500±290**	160±12*
多肽粉高剂量组	10.5±0.4**#	10.2±0.4**#	4 900±250**#	185±13**#

注: * 和 ** 分别表示与空白对照组相比, $p < 0.05$ 和 $p < 0.01$; # 表示与奶粉对照组相比, $p < 0.05$ 。

3 讨论

通过现代生物酶解技术可将大分子蛋白水解成易吸收、具有生物活性的小分子多肽,这种小分子多肽具有促进脂质代谢、降低胆固醇、促进矿物质吸收

以及增强机体免疫力等生理功效^[7]。前期研究通过酶解工艺将暹罗鳄肉进行充分水解,得到具有抗氧化、清除自由基等显著功效的暹罗鳄多肽,其分子量较小(大部分在 1 000~1 300 u 范围),易吸收,认为该多肽在增强机体免疫力及抗疲劳效应的产品开发方面具有较好的应用前景^[2-3]。

胸腺是重要的免疫器官,在机体免疫系统中居中枢地位,分泌的胸腺素和许多其他激素类物质有助于提高机体免疫力;而脾脏是人体最大的周围淋巴样器官,具有造血和血液过滤功能,同时也是淋巴细胞迁移和接受抗原刺激后发生免疫应答、产生免疫效应分子的重要场所^[7]. 血清中白蛋白和总蛋白与机体的免疫功能有密切的关系^[8]. 本研究中通过给小鼠喂食暹罗鳄多肽粉,发现其脾脏指数和胸腺指数相比于对照小鼠显著提高,表明暹罗鳄多肽粉可促进小鼠胸腺和脾脏的生长发育;同时在中、高剂量暹罗鳄多肽粉饲喂的小鼠血清生化指标中,白蛋白和总蛋白质量浓度相比于对照小鼠均显著提高,表明暹罗鳄多肽粉可提高机体免疫功能.

暹罗鳄多肽粉是一种低糖、富含高支链氨基酸的保健品^[2]. 本研究发现服用暹罗鳄多肽粉的小鼠血清中谷丙转氨酶活力和血糖浓度较对照小鼠均显著降低,表明暹罗鳄多肽粉具有保肝降糖的功效. 已有研究发现谷丙转氨酶活力、谷草转氨酶活力、葡萄糖含量等指标可作为评价疲劳的关键指标^[9-10],结合本研究结果分析,提示暹罗鳄多肽粉可能具有抗疲劳功效.

LA 是体内葡萄糖代谢过程的中间产物,当运动相对过度时,肌肉产生的 LA 不能在短时间内进一步分解,同时氧气供应不足将导致大量 LA 的堆积^[11-12]. 另外,当身体不能从碳水化合物和脂肪中获得维持机体必需的能量时,蛋白质和氨基酸可以作为替代能源,但相关的分解代谢会产生大量的 BUN,并进一步影响肌肉的收缩力,严重时出现疲劳^[6]. 因此,通过测定血液中的 BUN 和 LA 浓度可以评价机体疲劳程度. 剧烈运动易产生过量的自由基,并导致肌细胞产生损伤,部分 LDH 渗入血浆,而 LDH 是参与厌氧糖酵解和糖异生的重要酶,能促进丙酮酸和 LA 之间的氧化还原反应^[13]; SOD 则是机体内清除氧自由基的一种非常重要的抗氧化酶. 因此,研究多肽对小鼠运动后血清中 BUN、LA 浓度及 LDH、SOD 活力的变化,有助于从生化水平上探讨多肽抗疲劳的机制. 本研究发现暹罗鳄多肽粉饲喂的小鼠在力竭游泳后,血清中的 BUN 和 LA 浓度均显著低于空白对照,LDH 活力较空白对照小鼠极显著降低, SOD 活力相对于空白对照小鼠显著升高;低剂量暹罗鳄多肽粉饲喂的小鼠血清中 BUN、LA 浓度以及 LDH 活力与奶粉饲喂的对照小鼠差异不显著,而高剂量暹罗鳄多肽粉饲喂的小鼠则显著降低,同时高剂量暹罗鳄多肽粉饲喂的小鼠血清中 SOD 活力较奶粉饲喂的对照小鼠显著升高. 由此可见,暹罗鳄多肽粉降低了小鼠血液中疲劳

相关指标 BUN 和 LA 的浓度,同时又能明显对抗自由基的产生,有助于防止细胞膜脂质过氧化,从而增强小鼠的运动能力.

综上,暹罗鳄多肽粉具有增强小鼠机体免疫力和抗疲劳效应的作用,可促进小鼠胸腺和脾脏的生长发育,提高游泳小鼠血液中 SOD 活力,降低 LDH 活力及疲劳相关指标 BUN 和 LA 的浓度,增强小鼠的运动能力. 上述结果可为暹罗鳄多肽应用于保健药品提供科学的理论参考.

参考文献:

- [1] 汤四荣,周靖宇,吴松青. 鳄鱼肉提取物增强免疫力的实验研究[J]. 中国医药指南,2012,30(10):456-458.
- [2] 李华亮,张剑,覃彦,等. 暹罗鳄多肽粉的营养成分分析[J]. 厦门大学学报(自然科学版),2011,50(5):934-937.
- [3] 李华亮,张剑,林齐帆,等. 暹罗鳄多肽粉的生物效应研究[J]. 厦门大学学报(自然科学版),2011,50(6):1076-1079.
- [4] 刘剑利,曹向宇,李其久,等. 小米多肽对小鼠免疫调节作用[J]. 中国公共卫生,2012,28(1):44-45.
- [5] 代春敏,李晶,林嘉宾. 高山红景天对昆明种小鼠抗疲劳作用的研究[J]. 安徽农业科学,2010,38(30):16850-16852,16859.
- [6] 曹晶晶,杨卫杰,曹轶. 刺梨多糖的抗氧化和抗疲劳研究[J]. 中国中医基础医学杂志,2018,24(4):474-481.
- [7] 缪福俊,熊智,吴本行,等. 驴骨蛋白多肽对小白鼠抗疲劳作用的研究[J]. 食品工业科技,2011,32(11):411-414.
- [8] 林秋敏,赖宝色,林伯全,等. 复方中草药和替米考星对仔猪免疫功能的影响[J]. 福建农业学报,2015,30(11):1041-1045.
- [9] 刘静波,林松毅,程胜. 主成分分析方法综合评价功能食品抗疲劳和耐缺氧功效特性[J]. 中国食品学报,2006,6(1):212-217.
- [10] 林松毅,刘静波,程胜,等. 抗疲劳功能食品的综合评价方法研究[J]. 沈阳农业大学学报,2007,38(2):178-181.
- [11] CHEN Y M, TSAI Y H, TSAI T Y, et al. Fucoidan supplementation improves exercise performance and exhibits anti-fatigue action in mice [J]. Nutrients,2014,7(1):239-252.
- [12] ROCKER L, HINZ K, HOLLAND K, et al. Influence of endurance exercise (triathlon) on circulating transferrin receptors and other indicators of iron status in female athletes[J]. Clin Lab,2002,48(5/6):307-312.
- [13] KOH J H, KIM K M, KIM J M, et al. Antifatigue and antistress effect of the hot-water fraction from mycelia of *Cordyceps sinensis* [J]. Biol Pharm Bull,2003,26(5):691-694.

Effects of peptide powder from *Crocodylus siamensis* on enhancing immunity of organism and anti-fatigue effect in mice

LI Hualiang^{1,2}, WANG Bixue¹, DING Yumei², QIN Yan¹, ZHANG Jian¹, CHEN Qingxi^{1*}

(1. School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361102, China;

2. Fujian TuoLong Industrial Co., Ltd., Xiamen 361102, China)

Abstract: In order to study the immunity and anti-fatigue effects of the peptide powder from *Crocodylus siamensis* on mice, the immunity and related serum indexes, and the exercise ability and related enzyme activities of mice were studied using the mouse model. The results showed that the growth of thymus and spleen of mice was promoted with the *C. siamensis* peptide powder and the immunity of organism was improved. In the *C. siamensis* peptide powder groups, compared with the control group, the levels of serum albumin, total protein, and calcium in mice increased ($p < 0.05$), while the activity of alanine transaminase (ALT) and the concentration of blood glucose decreased ($p < 0.05$). In addition, the results of climbing rope experiment and load swimming experiment showed that the time for vertical climbing rope and load swimming of mice in the *C. siamensis* peptide powder groups, were significantly longer than those in the control group ($p < 0.05$). Then the anti-fatigue effect of the *C. siamensis* was analyzed by establishing exhaustive swimming mouse model, and results showed that the contents of urea nitrogen (BUN) and lactic acid (LA) in the blood reduced ($p < 0.05$), the lactic dehydrogenase (LDH) activity decreased and the superoxide dismutase (SOD) activity increased ($p < 0.05$). These results suggest that the peptide powder from *C. siamensis* might have the function of protecting liver, reducing blood glucose, improving the immunity of organism and anti-fatigue effect.

Keywords: *Crocodylus siamensis*; peptide powder; immunity; anti-fatigue