

桑叶多糖对长期大负荷运动训练小鼠免疫功能的影响

李小兵^{*}
(贵州大学体育学院, 贵阳 550025)

[摘要] 目的:探讨桑叶多糖对大负荷长期运动训练小鼠免疫功能的影响。方法:120 只昆明种小白鼠随机分为安静对照组(C)、运动组(T)、盐水+运动组(S+T)、高剂量桑叶多糖+运动组(HM+T)、中剂量桑叶多糖+运动组(MM+T)、低剂量桑叶多糖+运动组(LM+T),每组 20 只。除安静对照组外,其余各组小鼠进行 4 周负重 5% 游泳训练,6 次/周,50 min/次, HM+T 组、MM+T 组、LM+T 组分别以 150,200,250 mg·kg⁻¹·d⁻¹ 剂量 ig, S+T 组小鼠 ig 等体积生理盐水,连续 4 周。测定各组小鼠血象、体质量、巨噬细胞吞噬功能、脾脏/胸腺指数、血清凝集效价、体外抗体形成细胞的数量。结果:与 S+T 组比较,桑叶多糖可以明显增加小鼠白细胞(WBC)数、淋巴细胞绝对值、中性粒细胞绝对值($P<0.05\sim P<0.01$);桑叶多糖均可不同程度增强小鼠腹腔巨噬细胞吞噬率和吞噬指数,MM+T, HM+T 组吞噬率(35.7±5.17)%, (36.7±4.83)% 显著高于 S+T 组(29.2±4.27)%, 吞噬指数(3.19±1.23, 2.49±1.29)显著高于 S+T 组(3.91±1.29) ($P<0.05$);桑叶多糖能增加小鼠胸腺和脾脏质量($P<0.05$),提高脾脏/胸腺指数,MM+T, HM+T 组脾脏指数(1.53±0.61), (1.73±0.69)mg·g⁻¹ 显著高于 S+T 组(1.09±0.68)mg·g⁻¹, 胸腺指数(1.98±0.59), (2.21±0.63)mg·g⁻¹ 显著高于 S+T 组(1.49±0.51)mg·g⁻¹ ($P<0.05\sim P<0.01$);桑叶多糖可以明显提高血清凝集效价以及体外抗体形成细胞的数量($P<0.05\sim P<0.01$)。结论:桑叶多糖能增强长期大负荷运动小鼠机体免疫功能,调节免疫细胞以及免疫分子。其中桑叶多糖中、高剂量的效果明显。

[关键词] 桑叶多糖; 小鼠; 长期大负荷运动; 免疫调节
[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)24-0269-04

Effect of Mulberry Leaves Polysaccharide on Immune Function in Mice with Long-term Heavy Training

LI Xiao-bing^{*}
(Institute of Physical Education of Guizhou University, Guiyang 550025, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effect of mulberry leaves polysaccharide on the immune function of mice with long-term heavy training. **Method:** One hundred and twenty mice were divided into six groups at random: quiet control group, training group, saline movement group, high dosage mulberry leaves polysaccharide movement group, medium dosage mulberry leaves polysaccharide movement group (250, 200, 150 mg·kg⁻¹·d⁻¹), low dosage mulberry leaves polysaccharide movement group, with 20 mice in every group. In addition to quiet control group, other groups of mice do swimming training with 5% weight for 50 minutes, with 6 times a week. The mice in mulberry leaves polysaccharide movement group were orally given with the dosage of 150, 200, 250 mg·kg⁻¹·d⁻¹ while the mice in saline movement group were given with normal saline for 4 weeks. The hemogram, body weight, phagocytic function of macrophages, index of spleen and thymus. serum agglutination titer, the quantity of plaque-forming cell were tested. **Result:** Compared with the saline movement group, there was a significant increase in WBC, Lym absolute value, absolute value of neutrophilic granulocyte, mulberry leaves polysaccharid could increase phagocytic percentage and phagocytic index of mice peritoneal macrophage, which was significantly higher in phagocytic percentage of mulberry leaves polysaccharid medium high dose group

(35.7 ± 5.17)% , (36.7 ± 4.83)% than that in the saline movement group (29.2 ± 4.27)% and was significantly higher in phagocytic index of mulberry leaves polysaccharid medium high dose group (3.19 ± 1.23, 2.49 ± 1.29) than that in the saline movement group (3.91 ± 1.29) ($P < 0.05$). polysaccharid could increase the weight of thymus and spleen significantly ($P < 0.05$), and could increase index of spleen and thymus. Mulberry Leaves polysaccharid could increase serum agglutination titer and the quantity of plaque-forming cell significantly ($P < 0.05$ - $P < 0.01$). **Conclusion:** Mulberry leaves polysaccharides can enhance long-term heavy load exercise mice immune function, regulation of immune cells and immune molecules. The effect in medium and high dose mulberry leaves polysaccharides is more significant.

[**Key words**] mulberry leaves polysaccharides; long-term heavy load exercise; immune regulation

桑叶为国家药典收录的正式中药材,含有丰富的营养物质及生物活性成分。多糖作为桑叶的主要功能性成分之一,具有抗肿瘤和免疫调节等作用^[1]。本文旨在探讨桑叶多糖对进行长时间、大负荷游泳训练小鼠的运动训练小鼠免疫功能的影响。

- 1 材料
- 1.1 动物 SPF 级昆明种小白鼠,雌雄皆用,18 ~ 22 g,由贵州大学实验动物中心提供,许可证号 SCXK(黔)2011-0001。
- 1.2 药品及试剂 桑叶多糖 (mulberry leaves polysaccharide),水提取,纯度 91.3%,由贵州大学生化营养研究所提供(批号 20110709),存于 2 ~ 4 ℃ 的冰箱中备用,使用时采用生理盐水配置成相应的浓度。绵羊红细胞 (SRBC) 购自广州市齐云生物技术有限公司,无菌保存在 Aisever's 溶液中(4 ℃) 备用。
- 1.3 仪器 MK3353 酶联免疫检测仪 (Thermo Labsystems 公司生产),超净工作台 (苏净集团江苏安泰空气技术有限公司生产),Cary 60 紫外-可见分光光度计 (美国安捷伦公司生产),Mythi C₁₈ 全自动三分类血球仪 (瑞士奥菲生产)。
- 2 方法
- 2.1 分组与处理 小鼠适应性喂养 3 d 后,随机分为安静对照组 (C)、运动组 (T)、盐水 + 运动组 (S + T)、高剂量桑叶多糖 + 运动组 (HM + T)、中剂量桑叶多糖 + 运动组 (MM + T)、低剂量桑叶多糖 + 运动组 (LM + T),每组 20 只。实验后期各组小鼠均有死亡,在运动训练和 ig 结束前 4 d,将各组小鼠随机均分为 a,b 2 组,b 组用于血清凝集效价和体外抗体形成细胞 (PFC) 测定,a 组用于其他指标的测定。
- 2.2 运动条件 塑料游泳池规格为 100 cm × 60 cm × 50 cm,水深 40 cm,超过小鼠体长 2 倍,水温 28 ~ 30 ℃。
- 2.3 训练方案 C 组自由活动,其余 5 组进行 4 周
- 负重 5% 游泳训练,每周 6 d,周日休息。第 1 周为适应性训练,训练时间从 25 min·d⁻¹ 开始,逐日递增 5 min·d⁻¹,至 50 min·d⁻¹。若运动时间不足 50 min 力竭的小鼠,迅速捞起,擦干身体,休息 5 min 继续游泳,训练时间达到 50 min 结束,运动结束后,电吹风迅速吹干其身体。
- 2.4 给药方法 从训练的第 2 周开始,训练前 3 h, HM + T 组,MM + T 组,LM + T 组分别以 150,200, 250 mg·kg⁻¹·d⁻¹ 剂量 ig,S + T 组小鼠 ig 等体积生理盐水,连续 3 周。
- 2.5 指标测定
- 2.5.1 血细胞检验 a 组小鼠结束前 3 d,取大鼠尾尖血 20 μL,用于血成分的分析。
- 2.5.2 吞噬率,吞噬指数的测定 a 组小鼠于最后 1 次给药后 1 h,腹腔注射 5% 鸡红细胞混悬液 0.4 mL/只,4 h 后,脱颈椎处死,剖腹吸取腹腔液 0.5 mL 涂片,阴干,瑞氏染液染色 2 min,等量缓冲液 (pH 6.8) 混匀静置 15 min,蒸馏水冲洗后阴干,油镜观察,计算吞噬率,吞噬指数^[2]。
- 吞噬率 = 吞有鸡红细胞的巨噬细胞 / 100 × 100%
- 吞噬指数 = 100 个吞噬细胞中所吞噬的鸡红细胞 / 100
- 2.5.3 免疫器官脾脏 (胸腺) 指数的测定 a 组小鼠剖开胸腔,取出脾脏、胸腺称重。
- 脾脏 (胸腺) 指数 = 脾脏 (胸腺) 质量 (mg) / 小鼠质量 (g)
- 2.5.4 血清凝集效价和体外抗体形成细胞 (PFC) 测定 b 组结束前第 4 天,每只小鼠腹腔注射 5% SRBC 悬液 0.2 mL 致敏,继续 ig 及训练。
- 2.5.4.1 血清凝集效价测定 ig 及训练结束后,断颈采血,血液 37 ℃ 水浴放置 2 h,转入冰箱放置 2 h,分离血清,进行抗体凝集反应,测定血清凝集效价。
- 2.5.4.2 体外抗体形成细胞 (PFC) 测定 b 组小鼠脾脏用生理盐水制成 1 × 10⁷ / mL 脾细胞悬液,取 0.1 mL 脾细胞悬液和 5% SRBC 悬液,保温于 47 ℃ 水浴中的 3.5 mL 0.7% 琼脂糖管内,摇匀倾入铺有

底层琼脂糖凝胶的平皿内,铺开,琼脂凝固后,37℃孵育1h。每皿加入1:10稀释的豚鼠血清2mL,37℃孵育30min,室温放置1h,4℃冰箱过夜,次日倾去补体,低倍镜下观察,空斑中央为淋巴细胞,周围为透明区。计数每皿空斑数(个/10⁶脾细胞)^[3]。

2.6 数据处理 采用SPSS 15.0软件对数据进行分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,统计学处理用*t*检验和方差分析,以*P* < 0.05有统计学意义。

表1 桑叶多糖对大负荷运动训练小鼠非特异性免疫功能的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	WBC	淋巴细胞	中性粒细胞
安静对照	—	8.22 ± 2.19 ²⁾	3.41 ± 0.57 ²⁾	3.68 ± 0.78 ²⁾
运动	—	4.87 ± 0.93	2.39 ± 0.46	2.28 ± 0.67
盐水 + 运动	—	4.13 ± 0.57	2.11 ± 0.53	2.08 ± 0.61
桑叶多糖 + 运动	150	6.23 ± 2.38 ¹⁾	2.83 ± 0.51 ¹⁾	2.98 ± 0.51 ¹⁾
	200	6.98 ± 2.41 ¹⁾	2.87 ± 0.47 ¹⁾	3.11 ± 0.45 ¹⁾
	250	7.39 ± 2.57 ²⁾	3.11 ± 0.34 ²⁾	3.45 ± 0.59 ²⁾

注:与盐水 + 运动组比较¹⁾*P* < 0.05, ²⁾*P* < 0.01(表2~4同)。

3.2 对大负荷运动训练小鼠腹腔巨噬细胞吞噬能力的影响 4周负重5%游泳训练后,S + T组小鼠腹腔巨噬细胞吞噬率、吞噬指数较C组明显降低(*P* < 0.01);与S + T组比较,HM、MM + 运动组小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬率明显高于S + T组和LM + T组(*P* < 0.05)。见表2。

表2 桑叶多糖对大负荷运动训练小鼠腹腔巨噬细胞吞噬能力的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	吞噬率/%	吞噬指数
安静对照	—	38.9 ± 1.29 ²⁾	3.91 ± 1.29 ²⁾
运动	—	31.2 ± 4.38	2.53 ± 1.13
盐水 + 运动	—	29.2 ± 4.27	2.49 ± 1.29
桑叶多糖 + 运动	150	31.8 ± 4.89	2.68 ± 1.18
	200	35.7 ± 5.17 ¹⁾	3.19 ± 1.23 ¹⁾
	250	36.7 ± 4.83 ¹⁾	3.71 ± 1.46 ¹⁾

3.3 对大负荷运动训练小鼠脾脏和胸腺指数的影响 经过4周负重5%游泳训练后,S + T组小鼠体质量明显低于C组,胸腺指数较低,脾脏指数次之(*P* < 0.01)。与S + T组比较,治疗组小鼠小鼠体质量得以恢复(*P* < 0.05),HM、MM + 运动组小鼠胸腺指数和脾脏指数显著高于S + T组,尤其HM + 运动组明显(*P* < 0.01)。见表3。

3 结果

3.1 对大负荷运动训练小鼠非特异性免疫功能的影响 经过4周负重5%游泳训练后,S + T组小鼠外周血液中白细胞(WBC)、淋巴细胞绝对值、中性粒细胞绝对值明显低于C组(*P* < 0.01);与S + T组比较,治疗组外周血象指标均明显高于S + T组,尤其HM + T组效果最好(*P* < 0.01),MM + T组和LM + T组次之(*P* < 0.05),见表1。

表3 桑叶多糖对大负荷运动训练小鼠脾脏和胸腺指数的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	体重/g	脾脏指数/mg·g ⁻¹	胸腺指数/mg·g ⁻¹
安静对照	—	37.13 ± 6.38 ²⁾	1.67 ± 0.89 ²⁾	2.28 ± 0.67 ²⁾
运动	—	31.85 ± 6.29	1.12 ± 0.73	1.51 ± 0.49
盐水 + 运动	—	26.39 ± 5.87	1.09 ± 0.68	1.49 ± 0.51
桑叶多糖 + 运动	150	30.80 ± 2.17 ¹⁾	1.33 ± 0.78	1.52 ± 0.68
	200	31.20 ± 2.38 ¹⁾	1.53 ± 0.61 ¹⁾	1.98 ± 0.59 ¹⁾
	250	31.29 ± 3.15 ¹⁾	1.73 ± 0.69 ²⁾	2.21 ± 0.63 ²⁾

3.4 对大负荷运动训练小鼠小鼠血清凝集效价、体外抗体形成的影响 经过4周负重5%游泳训练后,S + T组血清凝集效价、体外抗体形成细胞数较C组明显降低;经过治疗后,与S + T组比较,LM、MM、HM + 运动组小鼠血清凝集效价均明显高于S + T组,MM、HM + 运动组小鼠体外抗体形成细胞数明显高于S + T组(*P* < 0.05)。见表4。

4 讨论

一般而言,急性短时中等强度运动激活免疫系统并提高免疫功能,力竭运动会产生非常明显的运动性免疫抑制现象,降低各种感染性疾病的抵抗能力^[4]。力竭运动降低增殖能力,减少淋巴细胞、白细胞和中性粒细胞数量,抑制合成与分泌IgG、IgA、IgM等免疫球蛋白的细胞功能,同时降低鼻腔、呼吸道黏膜的中性粒细胞吞噬作用,抑制腹膜巨噬细胞

表 4 桑叶多糖对大负荷运动训练小鼠
血清凝集效价、体外抗体形成的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	血清凝集效价	PFC 数 /个/10 ⁶ 脾细胞
安静对照	—	5 315 ± 1 129 ²⁾	46. 9 ± 5. 87 ¹⁾
运动	—	813 ± 438	39. 2 ± 5. 39
盐水 + 运动	—	787 ± 329	37. 2 ± 7. 29
桑叶多糖 + 运动	150	2 387 ± 2 039 ²⁾	38. 7 ± 6. 13
	200	3 529 ± 2 013 ²⁾	43. 7 ± 6. 25 ¹⁾
	250	5 038 ± 2 537 ²⁾	45. 2 ± 5. 38 ¹⁾

MHCⅡ的表达,进而影响巨噬细胞的抗原呈递作用,抑制巨噬细胞的功能。胸腺和脾脏是人体最重要的中枢和外周免疫器官之一,胸腺指数和脾脏指数能反映二者的发育和功能状况,间接反映了机体的免疫水平^[5]。本实验结果显示,运动组小鼠血液中白细胞(WBC)、淋巴细胞绝对值、中性粒细胞绝对值、腹腔巨噬细胞的吞噬率、吞噬指数、血清凝集效价、体外抗体形成细胞数量均明显低于对照组,同时胸腺和脾脏指数也受到影响,表明长期大负荷运动小鼠已经产生应激,免疫抑制类信息物生成增加,抑制交感神经兴奋、副交感神经,产生运动性免疫抑制。

桑叶多糖具有免疫增强作用,能激活巨噬细胞和淋巴细胞,可使免疫异常小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬功能,刺激大量的B细胞活化、增殖,使脾脏基质细胞大量增生,使免疫器官质量增加^[6]。T细胞增殖及抗体分泌趋于正常,提示其对受损的整

体免疫功能有一定修复作用。本研究结果显示,补充中、高剂量桑叶多糖均可使长期大负荷运动小鼠的免疫功能得以适当的修复,提高小鼠血液中白细胞(WBC)、淋巴细胞绝对值、中性粒细胞绝对值。腹腔巨噬细胞吞噬率明显提高,可明显提高长期大负荷运动小鼠血清凝集效价、体外抗体形成细胞数量。胸腺和脾脏的发育和功能状况得以恢复,维持机体内环境生理平衡,促进细胞免疫和体液免疫。

综上所述,桑叶多糖通过调节免疫细胞以及免疫分子等多方面发挥其免疫调节作用,增强长期大负荷运动小鼠机体免疫功能,在医药和保健品等方面具有一定的开发潜力和应用前景。

[参考文献]

[1] 侯瑞宏,廖森泰,刘凡,等. 桑叶多糖对小鼠免疫调节作用的影响[J]. 食品科学,2011,32(13):280.

[2] 高旭,李丽芬,刘斌钰. 黄芪多糖对小鼠免疫功能影响的实验研究[J]. 山西大同大学学报:自然科学版,2010,26(4):42.

[3] 史亚丽,蔡德华,王晓洁,等. 补充香菇多糖对长期大负荷运动小鼠免疫调节作用[J]. 中国运动医学杂志,2010,29(2):212.

[4] 胡晓燕,郝选明. 黄芪多糖对运动性免疫抑制的调理[J]. 广州体育学院学报,2011,31(1):85.

[5] 陈利平,吴整军,全战旗,等. 疲劳中药对小鼠抗疲劳及调节免疫作用的研究[J]. 中医医学刊,2012,30(3):493.

[6] 黄剑林,周秦,王剑波. 桑叶多糖的提取分离及其对小鼠免疫功能的影响[J]. 第四军医大学学报,2009,30(16):1494.

[责任编辑 聂淑琴]