

唾液腺提取物对小鼠免疫功能及 SOD 活性的影响

程光宇¹, 唐梓进¹, 吴京燕¹, 李焕², 毛伟平¹

(1. 南京师范大学生命科学学院, 南京 210097)

(2. 南京医科大学公共卫生学院, 南京 210029)

[摘要] 以 400 mg/kg 剂量的唾液腺提取物饲喂小鼠 45 d, 研究唾液腺提取物对小鼠免疫调节作用及 SOD 活性的影响。结果表明: 唾液腺提取物能显著提高小鼠细胞免疫功能和巨噬细胞吞噬功能, 并能显著提高红细胞 SOD 活性和降低血清 LPO 含量。

[关键词] 唾液腺提取物; 免疫调节作用; SOD 活性; LPO

[中图分类号] Q592.9; [文献标识码] A; [文章编号] 1001-4616(2001)02-0091-04

唾液腺提取物(SGE)是以猪唾液腺等为原料经分离、提取、冷冻干燥加工而制成, 它含有多种生物活性物质和几十种生长因子, 且有增强体质、提高免疫功能、延缓衰老和防止龋齿等多种保健功能^[1-3], 最近研究还表明唾液中存在一种能杀灭艾滋病病毒的蛋白^[4]。本文通过对实验小鼠免疫调节作用及红细胞 SOD 活性测定, 研究唾液腺提取物对免疫系统及抗氧化酶系的影响。

1 材料与方法

1.1 动物

NIH 小鼠, 雌性, 体重 25 ± 2 g, 由江苏省药品检验所动物实验中心提供, 动物合格证号为苏动质 97024。

1.2 受试物

唾液腺提取物为淡黄色冻干结晶物, 由南京师范大学江苏大自然生物工程公司制备和生产。

1.3 试剂

二硝基氟苯(DNFB)和四乙氧基丙烷(Sigma 公司), 印度墨水(上海长江日用粘合材料厂), SOD 标准品(6000 U/mg, 上海宝安生物技术研究), 血红蛋白测定试剂盒(南京建成生物工程研究所), NBT 和硫代巴比妥酸(上海前进试剂厂)。

1.4 方法

取小鼠 40 只随机分为 2 组, 每组 20 只, 分为实验组(给予唾液腺提取物 400 mg/kg)和对照组(供给等量蒸馏水)。唾液腺提取物用蒸馏水配制, 经口给予, 并每隔 5 d 根据体重增加值调整给药剂量。每组给予普通饲料, 饮食、饮水不限量, 每天观察记录小鼠生长状况, 并每 5 d 记

收稿日期: 2000-01-15

基金项目: 江苏省“九五”科技攻关项目(BE96048)

作者简介: 程光宇, 1954—, 学士, 南京师范大学江苏大自然生物工程公司副总工程师, 从事生物活性物质及保健食品的研究开发工作。

万方数据

录一次体重,实验持续 45 d,分别进行以下实验:

1.4.1 二硝基氟苯诱导小鼠的迟发型变态反应(DTH)

参照国家卫生部公布的《保健食品功能评价程序和检验方法》(第 10 页)进行。

1.4.2 小鼠碳廓清试验^[5]

小鼠按每 10 g 体重 0.1 mL 计算,从尾静脉注入用生理盐水稀释 4 倍的印度墨水,待墨水注入后立即计时,于 2、10、20 min 分别从眼静脉丛取血 20 μ L,加到 2 mL Na₂CO₃ 溶液中,用 722 型分光光度计于 600 nm 波长处测定吸收值。将小鼠处死,取肝脏和脾脏,称重,分别计算吞噬指数 K 和吞噬系数 α [$K = \log C_1 - \log C_2 / (T_2 - T_1)$]; $\alpha = W \cdot K^{1/3} / WLS$ 。式中 C 为血中碳粒浓度, T 为时间, W 为体重, WLS 为肝脾合重, $T_{1/2}$ 为碳粒在血液中消失的 $T_{1/2}$ 。

1.4.3 SOD 活性测定

小鼠尾部取血 30 μ L,加到 3 mL 生理盐水(4℃)中,洗涤、离心,收集红细胞,加 0.8 mL 重蒸水溶血,再加入 0.25 mL 氯仿-乙醇混合液(体积比为 2:3)振荡后离心,弃沉淀,上清液即为酶液。酶活性测定按卫生部《保健食品功能学评价程序和检验方法》(第 12 页)进行,以抑制 50% NBT 光化还原的酶量为一个酶单位,酶活性以 U/mL 全血表示,比活性以 U/gHb 表示。

1.4.4 血红蛋白含量测定

采用氰化高铁血红蛋白法测定血红蛋白含量。

1.4.5 脂质过氧化物(LPO)含量的测定

按文献[6]的方法进行。

2 结果

2.1 唾液腺提取物对 DNFB 所致小鼠 DTH 和脏器指数的影响

小鼠被 DNFB 攻击 24 h 后,右耳明显充血肿胀,唾液腺提取物组左右耳片重量之差明显大于对照组,有显著性差异($P < 0.05$)。唾液腺提取物组肝指数、脾指数和胸腺指数均较对照组提高,但统计学上无显著性差异(见表 1)。

表 1 唾液腺提取物对小鼠 DTH 和脏器指数的影响($n = 10, \bar{x} \pm SD$)

组别	耳重/mg			肝指数	胸腺指数	脾指数
	左	右	差值			
对照组	13.46 \pm 0.23	15.96 \pm 0.64	2.55 \pm 0.47	426.8 \pm 12.3	27.8 \pm 5.8	47.7 \pm 10.9
实验组	12.77 \pm 0.44	15.91 \pm 0.61	3.20 \pm 0.40*	469.9 \pm 53.6	30.0 \pm 2.8	52.0 \pm 16.1

与对照组相比: * $P < 0.05$ 。

2.2 唾液腺提取物对小鼠碳粒廓清的影响

小鼠于尾静脉注入印度墨水后于

2 min 和 10 min 分别取血测定 600 nm 吸收值并计算吞噬指数 K 和吞噬系数 α ,同时在 20 min 再取血测定碳粒在血液中消失 $T_{1/2}$,结果见表 2,唾液腺提取物组的吞噬指数 K 和吞噬系数 α 均显著高于对照组($P < 0.05$, P

表 2 唾液腺提取物对小鼠碳廓清的影响($n = 10, \bar{x} \pm SD$)

组别	吞噬指数/ K	吞噬系数/ α	血中半衰期/ $T_{1/2}$
对照组	0.01436 \pm 0.00213	5.091 \pm 0.426	40.2 \pm 11.5
实验组	0.03045 \pm 0.00403 ^③	6.085 \pm 0.617 ^①	28.0 \pm 4.7

与对照组相比: ① $P < 0.05$ ② $P < 0.01$ ③ $P < 0.001$ 。

<0.001) 碳粒在血中消失的 $T_{1/2}$ 也明显短于对照组,表明唾液腺提取物有增强小鼠巨噬细胞吞噬功能作用。

2.3 唾液腺提取物对小鼠红细胞 SOD 活性及血清 LPO 含量的影响

小鼠服用唾液腺提取物后,全血 SOD 活性增高,血清 LPO 含量降低与对照组相比均有显著性差异($P < 0.05$),实验组 SOD 比活性虽高于对照组,但无显著差异(见表 3)。

表 3 唾液腺提取物对小鼠 SOD 活性、LPO 含量的影响($n = 10, \bar{x} \pm SD$)

组别	SOD 活性(U/mL)	SOD 比活性(U/gHb)	血红蛋白(g/L)	LPO 含量($\mu\text{mol/L}$)
对照组	539.1 ± 65.2	3381.1 ± 519.3	159.52 ± 7.14	12.2 ± 1.3
实验组	$619.6 \pm 71.9^*$	3880.0 ± 328.1	157.97 ± 12.17	$7.6 \pm 0.9^*$

与对照组相比: * $P < 0.05$ 。

3 讨论

本实验以 400 mg/kg 剂量的唾液腺提取物进行小鼠细胞免疫功能和巨噬细胞吞噬功能及红细胞 SOD 活性和血清 LPO 含量测定。结果表明唾液腺提取物具有增强 DNFB 引起的迟发性变态反应作用,能增强小鼠巨噬细胞吞噬功能,提示唾液腺提取物对小鼠细胞免疫和非特异性免疫功能都有一定促进作用。小鼠的胸腺和脾指数虽高于对照组,但无显著性差异,可能与实验时间短有关,唾液腺提取物能否提高免疫脏器指数还有待进一步证实。SOD 是目前已知能有效清除机体内超氧自由基的酶类,实验已证实一些严重危害人类生命的疾病如心脑血管和肿瘤等疾病的发生和发展与自由基代谢紊乱密切相关^[7],自由基会攻击细胞膜和细胞器,生成脂质过氧化产物,这些物质亦会损伤细胞的结构和功能,加速细胞的衰老和死亡。唾液腺提取物能在 SOD 比活性无显著性差异的情况下,显著提高 SOD 活性,提示唾液腺提取物能有效促进 SOD 酶蛋白的合成过程,增强了机体清除自由基的能力,防止了自由基对细胞的损伤,同时,可降低血清 LPO 含量,从而延缓了细胞衰老进程。

唾液腺提取物中含有大量的生物活性物质、活性蛋白和生长因子等物质^[1,2],由于采用冷冻干燥工艺,这些物质的生物活性被保留而未遭破坏,从而发挥了正常的生理功能,表现出了很好的免疫学和生物学特性。此外,我们还观察到唾液腺提取物能促进豚鼠齿龈炎和烫伤愈合、促进大鼠胃溃疡愈合、防止龋齿和抗衰老等多项保健作用(待发表)。

[参考文献]

- [1] Tibor Barke. Biologically active polypeptides in submandibular glands[J]. The Journal of Histochemistry and Cytochemistry, 1980, 28(8): 836.
- [2] 樊明文,主编.口腔生物学[M].北京:人民卫生出版社,1996.44—52.
- [3] 贺红.唾液素类物质的防龋作用[J].国外医学,口腔医学分册,1993,20(3):135.
- [4] 杨甦.美国科学家发现唾液中含有抑制爱滋病毒的蛋白[J].科学,1995,6:80.
- [5] 陈奇,主编.中药药理研究方法学[M].人参对小鼠网状内皮系统对血流中中性碳粒的吞噬廓清能力的影响.北京:人民卫生出版社,1993.757.
- [6] 张秀明,严丽娟,柴建开,等.改良硫代巴比妥酸荧光法测定血清过氧化脂质[J].生物化学与生物物理进展,1996,23(2):176.
- [7] 方允中,李文杰,主编.自由基与酶[M].北京:科学出版社,1989.

Effects of Salivary Gland Extract on Immunoregulatory Function and SOD Activity of Mice

Cheng Guangyu¹, Tang Zijing¹, Wu Jingyan¹, Li Huan², Mao Weiping¹

(1. College of Life Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, PRC)

(2. College of Public Health, Nanjing Medical University, Nanjing 210029, PRC)

Abstract This paper was designed to study the effects of salivary gland extract (SGE) on immunoregulatory function and SOD activity of mice, by feeding SGE at a dosage of 400mg/kg for 45 days. The results showed that the SGE can remarkably increase the cellular immunity function and the phagocytosis of macrophage function, and it also can remarkably advance the SOD activity of erythrocyte and reduce the LPO content of blood serum in mice.

Key words salivary gland extract; immunoregulatory; SOD activity; LPO

[责任编辑 孙德泉]