

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2019.09.001

非消化寡糖对小鼠免疫调节的影响

Effects of non-digestible oligosaccharides and their combinations on the immunomodulation of mice

王 辉^{1,2} 秦翠丽^{1,2} 官 强^{1,2}WANG Hui^{1,2} QIN Cui-li^{1,2} GONG Qiang^{1,2}牛明福^{1,2} 赵思琪^{1,2} 席振军^{1,2}NIU Ming-fu^{1,2} ZHAO Si-qi^{1,2} XI Zhen-jun^{1,2}

(1. 河南科技大学食品与生物工程学院, 河南 洛阳 471023;

2. 国家级食品加工与安全实验教学示范中心, 河南 洛阳 471023)

(1. National Center for Experimental Teaching of Food processing and Safety, Luoyang, Henan 471023, China;

2. College of Food and Bioengineering, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471023, China)

摘要:为探讨低聚果糖、低聚木糖和低聚半乳糖 3 种非消化寡糖及其组合对小鼠的免疫调节作用,将 140 只雌性 BALB/c 小鼠随机分为 7 组(空白对照组、低聚果糖组、低聚木糖组、低聚半乳糖组、低聚木糖与低聚半乳糖复合组、低聚木糖与低聚果糖复合组、低聚半乳糖与低聚果糖复合组),各组分别以 400 mg/kg 的剂量进行灌胃,每天 1 次,连续 15 d。通过测定免疫器官指数、巨噬细胞吞噬能力、血清溶血素水平、DTH 迟发型变态反应程度、脾淋巴细胞增殖水平等指标,评价不同非消化寡糖及其组合对小鼠的免疫调节作用。结果显示,单一寡糖灌胃组与组合寡糖灌胃组小鼠各项免疫指标均显著($P < 0.05$)或极显著($P < 0.01$)高于对照组;组合寡糖灌胃组小鼠各项免疫指标均高于单一寡糖灌胃组,其中低聚木糖与低聚半乳糖(2:3,质量比)复合灌胃组效果最好。以上研究结果表明,非消化寡糖能够增强小鼠的免疫应答能力且对其进行组合有更好的效果。

关键词:非消化寡糖;组合;小鼠;免疫调节

Abstract: To investigate the immunomodulatory effects of the three non-digestible oligosaccharides, fructooligofructose, xylooligosaccharide and galactooligosaccharide, and their combinations on mice, 140 BALB/c female mice were randomly divided into 7 groups in this experiment, including blank control group, FOS

group, XOS group and GOS group, XOS and GOS group, XOS and FOS group, FOS and GOS group. Each group was intragastrically administered at a dose of 400 mg/kg once a day for 15 days. The immunomodulatory effects of different non-digested oligosaccharides and their combinations on mice were evaluated by measuring immune organ index, macrophage phagocytosis, serum hemolysin level, DTH delayed type hypersensitivity, and spleen lymphocyte proliferation. The results showed that the immunological indexes of the single oligosaccharide-administered group and the combined oligosaccharide-administered group were significantly higher ($P < 0.05$ or $P < 0.01$) than the control group. The immune index of combined oligosaccharide gavage group rats was higher than the single oligosaccharide gavage group, and the combination of xylooligosaccharide and galacto-oligosaccharide (1:1.5) was the best. The above results indicated that non-digestible oligosaccharides could enhance the immune response ability of mice and the combination of them had better effect.

Keywords: non-digestible oligosaccharides; combination; mice; immune regulation

非消化性寡糖(Non-digestible oligosaccharides, NDOs)是一类具有降低血糖、血脂和血清胆固醇及提高动物机体免疫力、增强造血功能、促进矿物质元素吸收、改善消化道菌群结构、提高机体抗氧化等多种生理功能的新功能性低聚糖^[1-5]。研究^[6]发现,非消化寡糖的分解能产生一些抗菌类物质及下调肠道 pH,从而有效抑制大肠杆菌等有害菌的生长,维持肠道健康。

目前关于单一非消化性寡糖的研究报道较多,而将

基金项目:河南省重点攻关项目(编号:172102310327)

作者简介:王辉,男,河南科技大学在读硕士研究生。

通信作者:秦翠丽(1966—),女,河南科技大学教授,博士。

E-mail: qincuilili308@163.com

收稿日期:2019-03-15

不同寡糖进行组合的研究报道甚少,仅研究组合情况对益生菌发酵的影响^[7],而组合情况对动物机体非特异性免疫机能的研究尚未见报道。为探讨不同非消化性寡糖组合对小鼠免疫调节作用的影响,试验拟将低聚果糖(Fructo oligosaccharide, FOS)、低聚木糖(Xylo oligosaccharide, XOS)和低聚半乳糖(Galactooligosaccharides, GOS)3种非消化寡糖及其不同组合对小鼠进行灌胃试验,通过测定不同免疫指标,研究其对小鼠免疫性能的影响,旨在为非消化害糖的综合应用提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 动物与试剂

小鼠:体重为 18~20 g 雌性 BALB/c 小鼠,河南科技大学实验动物中心;

绵羊红细胞、豚鼠补体:郑州百基生物工程有限公司;

四甲基偶氮唑盐:北京鼎国昌盛生物技术有限公司;

刀豆蛋白 A:北京索莱宝科技有限公司;

二硝基氟苯:98%,上海麦克林生化科技有限公司;

印度墨汁:福州飞净生物科技有限公司;

都氏试剂、低聚木糖、低聚半乳糖、低聚半乳糖:95%,上海源叶生物科技有限公司。

1.2 仪器与设备

分析天平:JA230T 型,渡扬精密仪器(上海)有限公司;

超净工作台:SW-CJ-2D 型,苏州净化设备公司;

紫外分光光度计:755B 型,上海菁华仪器科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 小鼠分组及饲喂 将 140 只雌性 BALB/c 小鼠随机分为 7 组:空白对照组、低聚果糖组、低聚木糖组、低聚半乳糖组、低聚木糖与低聚半乳糖(2:3,质量比)复合组、低聚木糖与低聚果糖(2:1,质量比)复合组、低聚半乳糖与低聚果糖(2:1,质量比)复合组。按 400 mg/kg(以体重计)的剂量分别进行灌胃,每日 1 次,连续 15 d;对照组小鼠正常状态下饲喂。

1.3.2 小鼠免疫器官指数测定 连续灌胃 15 d 后,每组随机选取 5 只小鼠进行小鼠免疫器官指数测定,按式(1)计算小鼠免疫器官指数。

$$c = \frac{m_1}{m_2}, \quad (1)$$

式中:

c ——脾脏或胸腺指数,mg/g;

m_1 ——脾脏或胸腺质量,mg;

m_2 ——小鼠体重,g。

1.3.3 小鼠迟发型变态反应(Delayed type hypersensitivi-

ty, DTH)检测 第 15 天灌胃 2 h 后,参考文献[8-10]方法,每组随机取 5 只小鼠进行检测,按式(2)计算 DTH 反应程度。

$$c = m_1 - m_2, \quad (2)$$

式中:

c ——DTH 反应程度,g;

m_1 ——小鼠右耳质量,g;

m_2 ——小鼠左耳质量,g。

1.3.4 小鼠巨噬细胞吞噬能力测定 参考文献[11-13]方法,每组随机选取 5 只小鼠,按式(3)计算小鼠巨噬细胞吞噬能力。

$$c = \frac{m_1 \times m_4}{(m_2 + m_3) \times 3}, \quad (3)$$

$$m_4 = \frac{m_5 - m_6}{m_7 - m_8}, \quad (4)$$

式中:

c ——小鼠巨噬细胞吞噬能力;

m_1 ——小鼠体重,g;

m_2 ——肝质量,g;

m_3 ——脾质量,g;

m_4 ——未校正的吞噬指数;

m_5 ——2 min 血样光密度值的对数值;

m_6 ——10 min 血样光密度值的对数值;

m_7 ——时间,10 min;

m_8 ——时间,2 min。

1.3.5 小鼠血清溶血素的测定 参考文献[14-15]方法,每组随机选取 5 只小鼠,按式(5)计算小鼠的血清溶血素值(half value of hemolysin, HC_{50})。

$$c = \frac{m_1 \times m_3}{m_2}, \quad (5)$$

式中:

c ——小鼠的血清溶血素值;

m_1 ——样品 OD 值;

m_2 ——绵羊红细胞半数溶血 OD 值;

m_3 ——稀释倍数。

1.3.6 脾淋巴细胞增殖试验 参考文献[16-18]方法,取 1.3.2 无菌采集的 5 只小鼠脾脏进行试验,脾淋巴细胞增殖情况用刺激值(stimulation index, SI)表示,按式(6)进行计算。

$$c = \frac{m_1}{m_2}, \quad (6)$$

式中:

c ——刺激值,用来表示脾淋巴细胞增殖情况;

m_1 ——试验 OD 值;

m_2 ——阴性对照 OD 值。

1.4 数据处理

数据采用 SPSS 21.0 软件进行单因素方差分析, $P <$

0.05 显著性差异,认为具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 对小鼠免疫器官指数的影响

由表 1 可知,3 种非消化寡糖及其组合试验组与对照组小鼠脾脏指数、胸腺指数比较均有所提高,单一寡糖试验组脾脏指数为 4.052~4.294,与对照组相比差异显著($P<0.05$),其中低聚木糖组效果最好,脾脏指数为 4.294,与对照组相比提高了 28.92%;复合寡糖试验组脾脏指数为 4.554~4.814,与对照组相比差异极显著($P<0.01$),其中低聚木糖与低聚半乳糖复合组效果最好,脾脏指数为 4.814,与对照组相比提高了 37.12%。

由表 1 可知,单一寡糖试验组小鼠胸腺指数为 2.200~2.392,与对照组相比差异显著($P<0.05$),其中低聚木糖组效果最好,胸腺指数为 2.392,与对照组相比提高了 17.56%;复合寡糖灌胃组中小鼠胸腺指数为 2.598~2.704,与对照组相比差异极显著($P<0.01$),其中低聚木糖与低聚半乳糖复合组效果最好,胸腺指数为 2.704,与对照组相比提高了 27.07%。

以上数据分析表明,非消化性寡糖的摄入能促进小鼠脾脏和胸腺的发育,可在一定程度上提高小鼠的免疫器官指数,说明非消化性寡糖的摄入能增强小鼠的免疫能力,且组合寡糖效果优于单一寡糖,其中低聚木糖与低聚半乳糖组合效果最好,与王中华等^[19]研究结果类似。

2.2 对小鼠迟发型变态反应(DTH)的影响

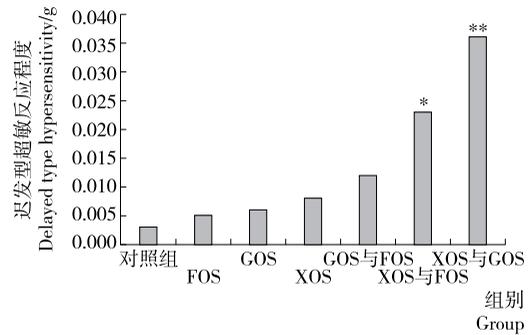
由图 1 可知,单一寡糖试验组 DTH 反应程度为 0.005~0.008,单一寡糖组与对照组相比差异不显著,在统计学上无明显差异;复合寡糖试验组为 0.012~0.036,其中低聚木糖与低聚果糖复合组 DTH 反应程度为 0.023,

表 1 非消化寡糖对小鼠免疫器官指数的影响[†]

Table 1 Effects of NODs on immune organ index in mice

组别	脾脏指数	胸腺指数
对照组	3.734±0.075	1.972±0.076
低聚果糖组	4.052±0.160 *	2.200±0.113 *
低聚半乳糖组	4.206±0.062 *	2.316±0.139 *
低聚木糖组	4.294±0.042 *	2.392±0.141 *
低聚半乳糖与低聚果糖复合组	4.554±0.086 **	2.598±0.131 **
低聚木糖与低聚果糖复合组	4.448±0.104 **	2.686±0.163 **
低聚木糖与低聚半乳糖复合组	4.814±0.069 **	2.704±0.209 **

† ** 表示与对照组相比差异极显著($P<0.01$);* 表示与对照组相比差异显著($P<0.05$)。



** 表示与对照组相比差异极显著($P<0.01$);* 表示与对照组相比差异显著($P<0.05$)

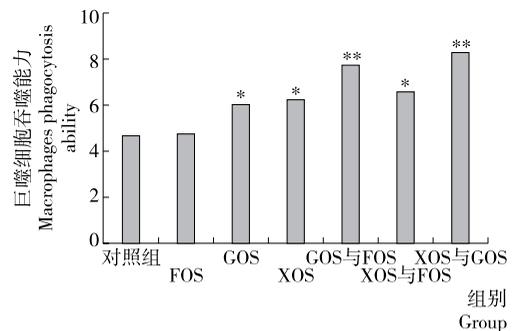
图 1 非消化寡糖对小鼠迟发型变态反应(DTH)的影响

Figure 1 Effect of NDOs on delayed allergic (DTH) in mice

与对照组相比差异显著($P<0.05$),低聚木糖与低聚半乳糖复合组 DTH 反应程度为 0.036,与对照组相比差异极显著($P<0.01$),分别提高了 86.95%,91.67%。结果表明,非消化性寡糖的摄入能提高小鼠机体细胞免疫能力,复合寡糖试验组的效果优于单一寡糖试验组,其中低聚木糖与低聚半乳糖复合组效果最好。

2.3 对小鼠巨噬细胞吞噬能力的影响

由图 2 可知,单一寡糖试验组小鼠巨噬细胞吞噬能力为 4.674~6.016,其中低聚果糖与对照组相比不显著,在统计学上无明显差异,低聚半乳糖组、低聚木糖组与对照组相比差异显著($P<0.05$),分别提高了 22.31%,24.69%;复合寡糖试验组小鼠巨噬细胞吞噬能力为 6.207~8.284,其中低聚木糖与低聚果糖复合组与对照组相比差异显著($P<0.05$),低聚半乳糖与低聚果糖复合组、低聚木糖与低聚半乳糖复合组与对照组相比差异极显著($P<0.01$),分别提高了 28.95%,35.70%,43.58%。



** 表示与对照组相比差异极显著($P<0.01$);* 表示与对照组相比差异显著($P<0.05$)

图 2 非消化寡糖对小鼠巨噬细胞吞噬能力的影响

Figure 2 Effects of NDOs on phagocytosis of mouse macrophages

结果表明,非消化性寡糖的摄入能提高小鼠机体内巨噬细胞的吞噬能力,增强小鼠的非特异性免疫应答能力,且复合寡糖试验组的效果优于单一寡糖试验组,其中低聚木糖与低聚半乳糖组合效果最好。

2.4 非消化寡糖对小鼠血清溶血素的影响

由表 2 可知,单一寡糖试验组半数溶血值为 45.436~48.676,其中低聚果糖组在统计学上无明显差异,其他单一寡糖试验组与对照组相比差异显著($P < 0.05$),低聚木糖组效果最好,半数溶血值为 48.676,提高了 6.65%;复合寡糖试验组半数溶血值为 51.950~64.576,与对照组相比差异极显著($P < 0.01$),其中低聚木糖与低聚半乳糖复合组效果最好,半数溶血值为 64.576,提高了 29.64%。结果表明,非消化性寡糖的摄入能提高小鼠的体液免疫能力;复合寡糖试验组的效果优于单一寡糖试验组,其中低聚木糖与低聚半乳糖复合组效果最好,与李梅等^[20]研究结果相似。

表 2 小鼠血清溶血素的测定结果[†]

Table 2 Determination of serum hemolysin in mice

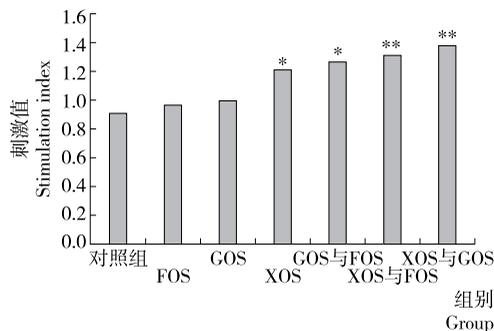
组别	半数溶血值(HC ₅₀)
对照组	45.436±1.541 7
低聚果糖组	47.280±1.494 9
低聚半乳糖组	48.142±0.969 4*
低聚木糖组	48.676±1.085 3*
低聚半乳糖与低聚果糖复合组	51.950±2.449 3**
低聚木糖与低聚果糖复合组	60.536±2.251 3**
低聚木糖与低聚半乳糖复合组	64.576±2.302 2**

† **表示与对照组相比差异极显著($P < 0.01$),*表示与对照组相比差异显著($P < 0.05$)。

2.5 对小鼠淋巴细胞增殖情况的影响

由图 3 可知,单一寡糖试验组 SI 值为 0.994 0~1.214 6,与对照组相比差异显著($P < 0.05$),其中低聚木糖组效果最好,SI 值为 1.214 0,提高了 24.99%;复合寡糖试验组 SI 值为 1.268 0~1.406 0,低聚半乳糖与低聚果糖复合组、低聚木糖与低聚果糖复合组与对照组相比差异显著($P < 0.05$),低聚木糖与低聚半乳糖复合组与对照组相比差异极显著($P < 0.01$),其中低聚木糖与低聚半乳糖复合效果最好,SI 值为 1.406 2,提高了 35.23%。结果表明,非消化性寡糖的摄入能提高小鼠细胞免疫能力;复合寡糖试验组效果优于单一寡糖试验组,其中低聚木糖与低聚半乳糖复合组效果最好,与李敬双等^[21]研究结果类似。

综上所述试验结果表明,复合寡糖试验组效果优于单一寡糖试验组,可能是在低聚木糖与低聚半乳糖被肠道益



**表示与对照组相比差异极显著($P < 0.01$);*表示与对照组相比差异显著($P < 0.05$)

图 3 小鼠淋巴细胞增殖情况

Figure 3 Lymphocyte proliferation in mice

生菌代谢过程中产生了一些能促进双歧杆菌增殖的物质,改善了小鼠肠道菌群环境,刺激了小鼠免疫系统,进而增强了小鼠的免疫机能。

3 结论

通过测定不同免疫指标,研究了低聚果糖、低聚木糖和低聚半乳糖 3 种非消化寡糖及其不同组合对小鼠免疫性能的影响。结果表明,非消化性寡糖的摄入能提高小鼠机体非特异性免疫能力;复合寡糖试验组提高小鼠机体非特异性免疫的能力优于单一寡糖试验组,其中低聚木糖与低聚半乳糖(2:3,质量比)复合组效果最好。试验尚未对非消化寡糖的结构以及复合寡糖的用量对增强小鼠机体非特异性免疫能力的原因进行深入研究,后续将侧重于研究非消化寡糖的结构以及复合寡糖的用量对小鼠非特异性免疫能力的影响。

参考文献

- [1] RENNATE A, MARIJKE M F, PAUL D V. Non-digestible carbohydrates in infant formula as substitution for human milk oligosaccharide functions: Effects on microbiota and gut maturation[J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2018, 59(3): 1-12.
- [2] BUDDINGTON R K, KELLY-QUAGLIANA K, BUDDINGTON K K, et al. Non-digestible oligosaccharides and defense functions: Lessons learned from animal models[J]. British Journal of Nutrition, 2002, 87(S2): 9.
- [3] PANESAR P S, KAUR R, SINGH RAM S, et al. Biocatalytic strategies in the production of galacto-oligosaccharides and its global status[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 111(4): 667-679.
- [4] 闫冰雪, 霍样样, 刘璐璐, 等. 非消化寡糖的生理功能研究进展及其应用[J]. 动物营养学报, 2013, 25(8): 1 689-1 694.
- [5] 胡晓伟, 上官静波, 黎中宝, 等. 饲料中添加壳寡糖对花鲈(Lateolabrax japonicus)幼鱼的生长、消化和血清生化指标

- 的影响[J]. 海洋学报, 2018, 40(2): 69-76.
- [6] 易中华, 马秋刚, 王晓霞, 等. 大豆寡糖对肉仔鸡肠黏膜免疫球蛋白含量的影响[J]. 饲料工业, 2009, 30(20): 39-41.
- [7] 王晓晴, 王榆元, 周春宏, 等. 添加小球藻和几种低聚糖对益生菌增殖和酸奶品质的影响[J]. 食品科学, 2012, 33(7): 158-162.
- [8] 丛欢, 刘吉成, 崔红霞, 等. 白鲜皮水提物对小鼠迟发型变态反应的影响[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2016, 37(30): 3 741-3 742.
- [9] 孟莉, 向绍杰, 刘小虎, 等. 化胃舒颗粒对 DNCB 致小鼠迟发型超敏反应模型的影响[J]. 中国医药科学, 2018, 8(13): 49-53.
- [10] 田刚, 黄琳惠, 宋晓华, 等. 壳寡糖对氧化应激仔猪生长性能、抗氧化能力及空肠养分消化和转运能力的影响[J]. 动物营养学报, 2018, 30(7): 2 652-2 661.
- [11] 赵峰, 陆娟娟, 夏中生, 等. 果寡糖、枯草芽孢杆菌和金霉素对奥尼罗非鱼生长性能、血清生化指标和肠道菌群的影响[J]. 饲料研究, 2019, 42(4): 123-128.
- [12] 高丽松, 曾凡潘, 宁榴贤, 等. 磁处理党参药液对小白鼠碳粒廓清功能影响的研究[J]. 现代生物医学进展, 2004, 4(4): 1-4.
- [13] 张南南, 李兰兰, 张晓昀, 等. 壳寡糖对小鼠生长性能、血清免疫和抗氧化指标的影响[J]. 动物营养学报, 2018, 30(4): 1 538-1 546.
- [14] 孙镇平, 于瑞奎, 林琳, 等. 玉米源异麦芽寡糖菌质粉对黄羽肉鸡生长性能和激素分泌的影响[J]. 动物营养学报, 2012, 24(5): 918-925.
- [15] 朱科学, 聂少平, 李文娟, 等. 黑灵芝多糖对小鼠脾淋巴细胞增殖及诱生细胞因子的影响[J]. 食品科学, 2010, 31(19): 351-354.
- [16] 马玉芳, 郑小香, 衣伟萌, 等. 金线莲多糖对免疫抑制小鼠脾淋巴细胞体外增殖、分泌 NO 及细胞因子的影响[J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(1): 21-26.
- [17] 皮冰冰, 赵晓, 吕萍萍, 等. 不同来源乳铁蛋白及乳铁蛋白素对小鼠脾淋巴细胞增殖影响的比较[J]. 食品科学, 2018, 39(13): 184-189.
- [18] CATHERINE J W, MATTHEW B, JENNIFER Y, et al. Sublethal red tide toxin exposure in free-ranging manatees (*Trichechus manatus*) affects the immune system through reduced lymphocyte proliferation responses, inflammation, and oxidative stress[J]. Aquatic Toxicology, 2015, 161(5): 73-84.
- [19] 王中华, 黄修奇. 大枣低聚糖对肉仔鸡生长性能、免疫功能和肠道菌群的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2012, 48(17): 59-61.
- [20] 李梅, 刘文利, 赵桂英, 等. 不同寡糖对仔猪免疫力和生产性能的影响研究[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(28): 15 655-15 657.
- [21] 李敬双, 冯慧慧, 王萌, 等. 桔梗皂苷 D 对小鼠淋巴细胞和巨噬细胞免疫的影响[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2019, 47(1): 39-44.

信息窗

“腊八蒜”里发现三种新型活性肽

日前,天津大学陈海霞教授的天然药物化学团队从中国传统美食“腊八蒜”中首次发现 3 种新型活性肽,这些活性肽具有显著抑菌性,有望成为抗生素替代品。相关成果已作为国际科学期刊《食品功能》封面文章发表。

抗生素的发现和运用是人类医学史上的一大革命。但随着临床广泛使用,在很多国家都存在着滥用、误用抗生素的现状。药物滥用使细菌迅速适应了抗生素环境,各种“超级细菌”相继诞生,严重危害人们健康。寻找安全有效的抗生素替代品是解决“细菌耐药性”这一全球医疗问题的有效途径之一。

活性肽被称为动植物体内的“化学信使”,调节着

机体生长、发育、繁殖、代谢和行为等生命过程。此次,陈海霞教授团队在中国传统食品“腊八蒜”中发现并鉴定出 3 种全新的活性肽,研究表明,这些活性肽作用于细菌时,能够以“桶状孔道模型”和“地毯模型”的作用机制,在细菌细胞表面形成孔道,破坏细菌细胞膜,造成细胞内容物泄露,从而达到抑菌的目的。新型活性肽不仅抑菌活性较好,且具有低毒性、不易产生耐药菌的特点,有望成为适合人体的安全有效的抗生素替代品,相关研究成果为进一步开发、应用天然抗菌肽药物提供了理论依据。目前该项研究得到国家自然科学基金、天津市科学技术基金等多项基金的支持。

(来源:科技日报)