

牛初乳复合细胞营养因子对免疫功能的影响

姚文兵 高向东 郎晓怡¹ 刘 煜

(中国药物大学生物技术研究中心,南京 210009;¹衡阳市药检所,衡阳 421001)

摘要 牛初乳复合细胞营养因子(CHF, 2.5, 5.0, 10.0, 20.0 μg/ml)可促进Con A活化的小鼠脾淋巴细胞DNA生物合成。小剂量(20 mg/kg)口服对2,4,6三硝基氯苯所致小鼠迟发型变态反应(PC-DTH)有增加作用,20和40 mg/kg给药组对氢化泼尼松所致PC-DTH的抑制可使其恢复至正常水平。CHF(20和40 mg/kg口服)对正常小鼠血清溶血素含量有增强作用,对于环磷酰胺所致的抗体产生抑制作用也有一定的恢复作用;大剂量(80 mg/kg)还可增加小鼠的碳粒廓清速率,表明CHF对细胞免疫有促进作用,能减轻或防止糖皮质激素类药物的免疫抑制作用;对体液免疫和巨噬细胞吞噬功能也有促进作用。

关键词 牛初乳;复合细胞营养因子;免疫功能促进剂;DNA合成

从母牛产犊后的初乳中经分离、提取、冷冻干燥,得到牛初乳复合细胞营养因子(CHF),主要含有分泌型免疫球蛋白(SIgA)各种细胞生长因子等。已证实CHF对表皮细胞的生长有促进作用等^[1]。本文进一步研究CHF对免疫功能的影响。

1 实验材料

CHF由本室制备^[1],总蛋白含量为94%,SIgA含量为1%。

小鼠,昆明种,18~22 g,雌雄各半,由本校动物中心提供(苏动质930013);绵羊红细胞(SRBC),购自江苏省卫生防疫站;补体,三只豚鼠的新鲜血清1:5倍稀释;环磷酰胺(cyclophosphamide, Cy),上海第十二制药厂;氢化泼尼松注射液(Pred),上海第九制药厂;2,4,6三硝基氯苯(PC),日本东京化成株式会社。

2 方法与结果

2.1 对小鼠血清溶血素抗体含量的影响

取小鼠随机分成6组,ip 20% (v/v) SRBC 0.2 ml致敏,一组为空白组,一组为Cy对照组,二组致敏前一天po给予CHF 20, 40 mg/kg,另二组在po CHF 20, 40 mg/kg的同时分别ip Cy 10 mg/kg,连续6 d,末次给药后24 h,断头取血,分离血

清,取生理盐水稀释(1:333.3)的血清样品1 ml,加5% SRBC 0.5 ml,置冰浴中再加入1:10生理盐水稀释的豚鼠血清1 ml,37℃温浴20 min,然后置冰浴终止反应,离心,取上清1 ml,加都氏液3 ml,混匀,放置10 min,540 nm处测光密度。同时,另取5% SRBC 0.25 ml加都氏液3.75 ml,同时测定光密度作为SRBC半数溶血吸收值。小鼠血清溶血素抗体含量以样品半数溶血值(HC₅₀)表示,结果见表1 CHF对正常小鼠可增加其血清溶血素抗体的含量,而20和40 mg/kg给药组对因Cy而受到抑制的小鼠血清溶血素抗体含量有恢复作用。

$$HC_{50} = \frac{\text{样品吸收值}}{\text{SRBC半数溶血吸收值}} \times \text{稀释倍数}$$

Tab 1. Effect of CHF on serum hemolysin against SRBC in mice ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Group	Dose(mg/kg)	HC ₅₀
Control		134±9.5
CHF	20	179±10.3
CHF	40	199±7.8 ^{***}
Cy	10	43±4.2
CHF+ Cy	20±10	61±3.1 ^{△△}
CHF+ Cy	40±10	56±2.5 ^{△△}

* * * P < 0.01 vs control, △△△ P < 0.01, △△ P < 0.05 vs Cy control

2.2 对PC所致小鼠迟发型免疫反应(PC-DTH)的影响

取小鼠40只,随机分成四组,刮去腹毛,涂以

1% PC的乙醇溶液 $100\mu l$,6 d后在右耳表里涂 1% PC橄榄油溶液 $30\mu l$ 攻击,24 h后,用千分尺测两耳厚度,差值作为DT H反应强度。给药组于致敏前3 d起,分别po CHF 20, 40, 80 mg/kg,连续10 d,对照组给相同体积的生理盐水,结果见表2。结果表明, 20 mg/kg 剂量组有增强PC-DTH反应的趋势($P < 0.05$),其他两组对PC-DTH反应无影响。

Tab 2 Effect of CHF on contact dermatitis induced by PC in mice ($n=10, \bar{x} \pm s$)

Group	Dose(mg/kg)	Ear swelling($\times 10^{-3}$)
Control		103 ± 4.1
CHF	20	$128 \pm 6.3^*$
CHF	40	100 ± 4.7
CHF	80	90 ± 5.7

* * $P < 0.05$ vs control

2.3 对Pred所致PC-DTH抑制作用的影响

取小鼠随机分成4组,二组于致敏前2 d po CHF 20, 40 mg/kg,连续9 d,致敏的当天及以后2 d im Pred 10 mg/kg,一组仅给Pred 10 mg/kg,注射的方式同给药组,对照组给相同体积的生理盐水,结果见表3。结果表明,Pred能使PC-DTH反应强度明显降低,而给药组能使降低的PC-DTH反应恢复正常水平。

Tab 3. Effect of CHF on inhibitory of PC-DTH induced by Pred in mice ($n=10, \bar{x} \pm s$)

Group	Dose(mg/kg)	Ear swelling($\times 10^{-3}$)
Control		188 ± 5.5
CHF+ Pred	20+ 10	$162 \pm 9.5^{\triangle\triangle}$
CHF+ Pred	40+ 10	$170 \pm 9.5^{\triangle\triangle}$
Pred	10	$88 \pm 4.1^{**}$

* * * $P < 0.01$ vs control, $\triangle\triangle P < 0.01$ vs Pred

2.4 对小鼠碳粒廓清的影响

取小鼠30只,随机分为3组,二组分别po CHF 40和 80 mg/kg ,连续6 d,按文献方法^[2]测定小鼠的碳粒廓清速率,结果见表4。结果表明,高剂量CHF组对小鼠碳粒廓清速率有促进作用。

Tab 4. Effect of CHF on the clearance of charcoal particles in mice ($n=10, \bar{x} \pm s$)

Group	Dose(mg/kg)	k value	T value
Control		0.048 ± 0.0103	5.86 ± 1.097
CHF	40	0.044 ± 0.013	5.54 ± 0.880
CHF	80	$0.039 \pm 0.023^*$	$5.12 \pm 1.343^*$

* * $P < 0.05$ vs control

2.5 对小鼠免疫器官重量的影响

取小鼠40只,随机分成4组,分别po CHF 20, 40, 80 mg/kg,连续给药10 d,末次给药后24 h处死,摘取脾脏、胸腺、肾上腺,称重。结果表明,CHF对各器官的重量无明显影响。

2.6 对ConA诱导的小鼠脾淋巴细胞DNA生物合成的影响

按文献方法^[3]制备脾淋巴细胞悬液,用含10%小牛血清的RPMI-1640培养液将脾细胞稀释成 5×10^6 /ml,向稀释的脾细胞悬液加入ConA,使其终浓度 $5\mu\text{g/ml}$,将含ConA的细胞悬液加入16孔培养板中,药物组分别于每孔加入含CHF 1.25, 2.5, 5.0, 10, 20, 40 $\mu\text{g/ml}$ 的RPMI-1640培养液 $100\mu\text{l}$,对照组每孔再加RPMI-1640培养液 $100\mu\text{l}$,每个药物浓度及对照组作平行孔6孔,将培养板放入CO₂孵箱中37℃培养42 h,分别取0.2 ml转移入96孔培养板中,每孔加入³H-TdR 74 kBq,继续培养6 h,收集细胞,用Bacman液体闪烁仪测定样品的放射强度,计算不同浓度RHP及对照组³H-TdR掺入淋巴细胞的CPM,结果见表5。结果表明,CHF能明显促进ConA活化的小鼠脾淋巴细胞DNA生物合成,其最适浓度为5.0 $\mu\text{g/ml}$,在此浓度下的刺激指数为2.01。

Tab 5. Effect of CHF on DNA synthesis of lymphocytes with ConA stimulation ($n=6$)

Group	Conc. ($\mu\text{g/ml}$)		³ H-TdR uptake CPM, $\bar{x} \pm s$	Stimulation Index
	Con A	CHF		
Control	5		34176 ± 2432	
CHF	5	1.25	$35276 \pm 4672^*$	1.03
	5	2.5	$47919 \pm 4413^{*\circ}$	1.40
	5	5.0	$68693 \pm 3132^{**}$	2.01
	5	10.0	$58962 \pm 5724^{**}$	1.73
	5	20.0	$49576 \pm 5051^{**}$	1.45
	5	40.0	$48179 \pm 2981^{**}$	1.41

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.01$ vs control

3 讨论

1) CHF可促进Con A活化的正常小鼠脾淋巴细胞DNA生物合成,小剂量有增强PC-DTH的作用,对因氢化泼尼松所致PC-DTH的抑制,可使其恢复至正常水平,表明本品对细胞免疫反应有促进作用,能减轻或防止糖皮质激素类药物的免疫抑制作用。CHF对正常小鼠抗SRBC抗体(血清溶血素)含量有增强作用,可拮抗Cy所致的抗体产生抑制作用,表明其能促进机体的体液免疫,而CHF

高剂量对巨噬细胞吞噬功能(碳粒廓清试验)有促进作用,说明对非特异免疫也有一定的促进作用,但CHF对小鼠脾脏、胸腺、肾上腺等器官重量无明显影响。

2) CHF含有一定量的SIgA(分泌型免疫蛋白),国外学者的研究表明,SIgA在初乳中含量高达 $300\mu\text{g/ml}$,且SIgA进入婴儿体内后,在粘膜的上皮细胞处可以粘附细菌,与细菌形成复合物而有利于吞噬细胞的吞噬并能中和病毒和毒素,提高婴儿的免疫功能,并且SIgA经口服,并不被胃、肠道有关消化酶破坏,因此来源于牛初乳的CHF中

的SIgA应当是其促进和提高免疫功能的有效成分,这就提示人们可以将CHF用来作为提高婴幼儿,特别是缺乏母乳的婴幼儿免疫力的食品添加剂。

参 考 文 献

- 1 姚文兵,郎晓怡.牛初乳复合细胞营养因子的制备、分析及生物活性研究.中国药科大学学报,1996,27(10): 628
- 2 姚文兵,陈琼华.大黄的生化学研究X XI、波叶大黄多糖对免疫功能的促进作用.中国药科大学学报,1990,21(2): 99
- 3 吴梧桐,Chaung HT, Richardson A.老化过程中IL-2基因表达的改变.生物化学与生物物理学报,1988,20(1): 21

Effect of Cell Health Factors from Bovine Colostrum on Immune System

Yao Wenbing, Gao Xiangdong, Lang Xiaoyi¹, Liu Yu

Biotechnology Research Center, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009; ¹Hengyang Institute For Drug Control, Hengyang 421001

Abstract The effect of cell health factors(CHF) from bovine colostrum on immune system was studied in this paper. The results showed that at the concentration of 2.5, 5.0, 10.0, 20.0 $\mu\text{g/ml}$, CHF can improve the DNA synthesis of mice spleen lymphocytes with ConA stimulation. With the dose of 20 mg/kg by po, CHF can increase the PC-DTH and recovery the inhibition of PC-DTH by prednisolone. CHF also can increase the production of hemolysins; recover the inhibition of hemolysin production by cyclophosphamidum and increase the clearance rate of carbon particles with the dose of 20, 40, 80 mg/kg. It suggested that CHF has a strong effect on immune system.

Key words Cell health factor; Bovine colostrum; Immuno promoter; DNA synthesis