

东海乌参肽对环磷酰胺致小鼠免疫功能低下 的改善作用

傅诗清¹, 杨旭¹, 王姣燕², 余方苗^{1*}

(1. 浙江海洋大学食品与药学学院, 浙江省海洋生物医用制品工程技术研究中心, 浙江舟山 316022)

(2. 舟山常青海洋食品有限公司, 浙江舟山 316102)

摘要: 环磷酰胺 (Cyclophosphamide, CTX) 作为广谱抗癌药在杀死癌细胞的同时, 也会导致机体的免疫功能低下。因此, 为了探讨东海乌参肽 (*Acaudina leucoprocta* Peptides, ALPs) 对 CTX 致小鼠免疫功能低下的改善作用, 将 60 只 ICR 雄性小鼠随机分为正常组、模型组 (CTX)、ALPs-L (CTX+50 mg/kg ALPs)、ALPs-M (CTX+100 mg/kg ALPs) 和 ALPs-H (CTX+200 mg/kg ALPs) 组。腹腔注射环磷酰胺 5 d 建立小鼠免疫功能低下模型, 给予不同浓度 ALPs 19 d 后检测小鼠的免疫指标变化及免疫器官形态学变化。结果显示, 与模型组相比, ALPs 给药后, 高剂量组小鼠体质量升高至 36.10 g, 与正常组仅相差 0.37 g; 胸腺指数和脾脏指数均显著升高 ($P<0.01$), 脾脏形态趋于正常; 腹腔巨噬细胞一氧化氮 (Nitric Oxide, NO) 合成能力、血清溶血素水平及自然杀伤 (Natural Killer, NK) 细胞活性显著提高 ($P<0.01$); 此外, 给予 ALPs 还能显著提高小鼠血清中细胞因子和免疫球蛋白含量 ($P<0.01$), 其中中、高剂量组的白细胞介素-1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β) 含量分别提高了 1.60 倍和 1.62 倍。综上, ALPs 对 CTX 所致小鼠免疫功能低下具有一定的改善作用, 可以作为一种天然来源的免疫增强剂。

关键词: 东海乌参; 活性肽; 环磷酰胺; 免疫调节

文章编号: 1673-9078(2026)01-9-16

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.1.1528

Enhancing Effect of *Acaudina leucoprocta* Peptide on Cyclophosphamide-induced Immune Hypofunction in Mice

FU Shiqing¹, YANG Xu¹, WANG Jiaoyan², YU Fangmiao^{1*}

(1. College of Food and Pharmacy, Zhejiang Ocean University, Zhejiang Provincial Engineering Research Center of Marine Biomedical Products, Zhoushan 316022, China)(2. Zhoushan Changqing Marine Foods Co. Ltd., Zhoushan 316102, China)

Abstract: Cyclophosphamide (CTX), a broad-spectrum anticancer drug, kills cancer cells but also induces immunocompromise. The ameliorative effects of *Acaudina leucoprocta* peptides (ALPs) on CTX-induced immunocompromise in mice were investigated. Sixty male ICR mice were randomly divided into the normal group, model group (CTX), ALPS-L group (CTX+50 mg/kg ALPs), ALPS-M group (CTX+100 mg/kg ALPs), and ALPS-H group (CTX+200 mg/kg ALPs). An immunocompromised mouse model was established by administering CTX intraperitoneally for 5 days, followed by ALP administration for 19 days, after which the changes in immune indices and morphological changes of immune organs were detected. The results showed that the body weight

引文格式:

傅诗清, 杨旭, 王姣燕, 等. 东海乌参肽对环磷酰胺致小鼠免疫功能低下的改善作用[J]. 现代食品科技, 2026, 42(1): 9-16.

FU Shiqing, YANG Xu, WANG Jiaoyan, et al. Enhancing effect of *Acaudina leucoprocta* peptide on cyclophosphamide-induced immune hypofunction in mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2026, 42(1): 9-16.

收稿日期: 2024-10-15; 修回日期: 2024-12-06; 接受日期: 2024-12-10

基金项目: 浙江省自然科学基金项目 (LGN20D060002)

作者简介: 傅诗清 (2000-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 海洋药物与功能食品, E-mail: 18358590408@163.com

通讯作者: 余方苗 (1983-), 男, 博士, 副研究员, 研究方向: 海洋药物与功能食品, E-mail: fmyu@zjou.edu.cn

of the high-dose ALP group increased to 36.10 g, which was only 0.37 g higher than that of the model group. The thymus and spleen indices were significantly increased ($P<0.01$), and the spleen morphology tended toward normal. The synthesis of nitric oxide (NO) in peritoneal macrophages, the level of serum hemolysin, and the activity of natural killer (NK) cells significantly increased ($P<0.01$). In addition, ALPs significantly increased the levels of cytokines and immunoglobulins in the serum of mice ($P<0.01$), and the levels of interleukin- 1β (IL- 1β) in the medium and high dose groups increased by 1.60 and 1.62 times, respectively. In conclusion, ALPs effectively ameliorated CTX-induced immunocompromise in mice and may serve as a natural source of immune enhancers.

Key words: *Acaudina leucoprocta*; active peptide; cyclophosphamide; immune regulation

人类先天和适应性免疫系统由产生细胞因子（白细胞介素、干扰素、趋化因子和其他介质）的效应细胞组成^[1]，在防御、监视和体内平衡中发挥了重要作用。然而多种因素可破坏这种平衡并导致免疫功能异常，癌症作为人类免疫系统的首要对手，对生命构成严重威胁^[2]。在临床上，环磷酰胺（Cyclophosphamide, CTX）作为广谱抗癌药被广泛应用，其作用机制主要通过破坏细胞 DNA 结构，阻断复制，诱导细胞死亡来抑制癌细胞的生长^[3]。然而，该药物在杀死癌细胞的同时，也会导致机体的免疫功能低下，增加患者细菌感染的风险。因此，研究和开发天然来源的免疫调节剂成为减轻使用 CTX 治疗癌症时免疫低下副作用的重要手段。目前从食源性蛋白中提取的免疫活性肽已被发现具有一定的免疫调节活性^[4]，如邓志程等^[5]从马氏珠母贝中提取出两种免疫活性肽能促进脾淋巴细胞的增殖与提高巨噬细胞的吞噬能力，具有显著的体外免疫活性；王鹏等^[6]从榛仁中提取分离的免疫活性肽可以提高巨噬细胞吞噬能力和促进刀豆蛋白 A（Concanavalin A, Con A）诱导的淋巴细胞增殖，从而提高小鼠细胞免疫活性，为免疫活性肽研究提供一定参考依据。

海洋来源的生物活性肽因其功能多样、来源广泛、特异性高、副作用小等优点而受到研究人员的广泛关注^[7]，而海参多肽的制备和生物活性，也成为当前研究的热点之一。近期研究表明，海参肽通过抑制 NF- κ B 和 MAPK 活化并诱导巨噬细胞中 HO-1 的表达发挥抗炎功能^[8]；其肠道自溶物中提取的肽可显著缓解乙醇影响下胃组织的病理症状，减少溃疡面积和指数、上皮细胞损失、粘膜下水肿和炎症浸润^[9]；其低分子量肽（ <2 kDa）可以通过使能量代谢正常化以及减轻氧化损伤和炎症反应来发挥抗疲劳作用^[10]；其小分子寡肽有可能通过巨噬细胞吞噬和 NK 细胞活性增加先天免疫反应，并通过细胞介导的免疫和体液免疫增强适应性免疫反应^[11]。其中，东海乌参（*Acaudina leucoprocta*）作为重要的药食两用资源，富含高蛋白质（40.7%~63.3%）和低脂肪（ $<10\%$ ）^[12]，主要分布

于中国东部沿海地区，具有降血脂、护肝、激素调节等功效^[13]。

前人研究了东海乌参肽对小鼠酒精性肝损伤及肠道菌群的调节作用^[14]，但尚未探究东海乌参肽对环磷酰胺诱导的小鼠免疫功能低下是否具有改善作用。本实验通过研究东海乌参肽对小鼠免疫指标变化及免疫器官形态学变化的影响，探讨东海乌参肽（*Acaudina leucoprocta* Peptides, ALPs）对环磷酰胺诱导小鼠的免疫功能低下的改善作用，为东海乌参资源的合理应用提供科学支持。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

东海乌参肽，由舟山市常青海洋食品有限公司提供。根据阙凡迪等^[14]的测定结果，该东海乌参肽（ALPs）中相对分子质量在 1~3 kDa 的活性肽占 63.5%，小于 1 kDa 的活性肽占 36.5%，没有大于 3 kDa 的组分。

CTX，上海阿拉丁生化科技股份有限公司；绵羊红细胞 SRBC，南京森贝伽生物科技有限公司；豚鼠血清，上海源叶生物科技有限公司；SA 缓冲液，北京百奥莱博科技有限公司；NO 试剂盒、CCK-8 试剂盒，上海碧云天生物技术有限公司；肿瘤坏死因子 α （TNF- α ）、白细胞介素 6（IL-6）、白细胞介素 1β （IL- 1β ）和免疫球蛋白（IgG）试剂盒，武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司。

CF16RX II 高速低温离心机、氨基酸自动分析仪，日本 HITACHI 公司；ME-204 电子分析天平，METTLER TOLEDO 国际有限公司；CKX41 倒置显微镜，日本 OLYMPUS 公司；SpectraMax 酶标仪，美国 Bio-Rad 公司；RM2135 切片机，德国 Leica 公司；Forma 3111 CO₂ 培养箱，美国 Thermo 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 氨基酸含量测定

采用氨基酸分析仪测定 ALPs 中的氨基酸含量。

根据 Lin 等^[15]的方法稍作修改。称取一定量样品并加入 10 mL 1:1 盐酸溶液,混合后在 130 °C 下水解 22 h。将水解液定容至 25 mL 后取 0.5 mL 用氮气吹干,加入 0.02 mol/L 盐酸溶液定容至 10 mL。经振荡混匀和 0.22 μm 微孔滤膜过滤后,进行上机测定。氨基酸的含量单位为 g/100 g。

1.2.2 动物分组及给药方法

雄性 ICR 小鼠 (60 只,8 周龄,体质量 24~26 g),购自杭州子源实验动物科技有限公司(生产许可证号:SCXK(浙)2019-0004)。动物实验经浙江海洋大学动物伦理委员会批准(批准号 NO.2023004)。在浙江海洋大学学校动物房饲养,在最适温度和湿度下适应性饲养 7 d 后开始实验,每天按时给予标准饲料和纯水。

实验分组及造模方法参照曾瑜^[16]的研究稍作修改,小鼠平均分成 5 组,每组 12 只。选其中 4 组腹腔注射环磷酰胺 (CTX, 80 mg/kg) 诱导免疫抑制,持续 5 d。剩余一组作为正常组腹腔注射生理盐水。第 6 天起,从免疫抑制小鼠中选取三组给予 ALPs,每天定时灌胃给药 (200 μL),给药浓度分别为低剂量 50 mg/kg (ALPs-L),中剂量 100 mg/kg (ALPs-M),高剂量 200 mg/kg (ALPs-H),正常组及模型组分别给予等量 (200 μL) 的生理盐水,持续 19 d。

1.2.3 ALPs 对免疫抑制小鼠体质量及免疫器官指数的影响

根据杨杨等^[17]的方法稍作修改,每隔一天在喂食之前称量小鼠体质量,共持续 25 d。处死前一天断食 24 h,随后眼球取血并吸入乙醚后以颈椎脱臼法处死小鼠,迅速取出胸腺和脾脏进行称重并按式 (1) 计算器官指数。实验过程严格按照规定步骤进行,以确保获得准确的实验数据和结果。

$$D = \frac{m_1}{m_0} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

D ——免疫器官指数, %;

m_1 ——免疫器官质量, g;

m_0 ——小鼠体质量, g。

1.2.4 组织病理学观察

根据等 Cleypool 等^[18]的方法进行一些修改,处理摘除的胸腺和脾脏组织。对这些组织进行了固定、脱水、透明和包埋处理,然后进行切片并用苏木精-伊红 (H&E) 染色。最后,在光学显微镜下观察并拍摄。

1.2.5 小鼠腹腔巨噬细胞 NO 合成能力

按照 Yu 等^[19]的方法稍作修改提取小鼠腹腔巨噬细胞。提取方法和步骤包括禁食、脱颈、浸泡、剥离

皮肤、注射生理盐水、吸取液体、离心、洗涤及接种。接种后孵育 4 h。最后按照 NO 试剂盒说明书测定小鼠腹腔巨噬细胞 NO 合成能力。

1.2.6 小鼠血清溶血素水平

根据孔晨先等^[20]所报道的方法测定小鼠血清溶血素水平。因绵羊红细胞腹腔注射后会引小鼠的过敏反应,易对其他测定指标产生影响,故每组随机选取 5 只小鼠进行该实验,不影响其他指标测定。实验过程包括注射稀释的绵羊红细胞到小鼠体内,采集血清并进行稀释,然后加入用豚鼠血清与 SA 以 1:8 稀释得到的补体和 10% (V/V) SRBC,并用 1% (V/V) SRBC 作为对照管一起孵育后按式 (2) 计算半数溶血值 (HC_{50})。

$$HC_{50} = \frac{A_1}{A_0} \times 100\% \quad (2)$$

式中:

A_1 ——样品管在 540 nm 处的吸光度;

A_2 ——对照管在 540 nm 处的吸光度。

1.2.7 小鼠自然杀伤细胞 (NK 细胞) 活性

测定小鼠 NK 细胞活性的方法参考 Jang 等^[21]的研究并稍作修改。先将靶细胞传代并孵育,随后提取小鼠脾淋巴细胞作为效应细胞,以效应细胞:靶细胞=50:1 的比例加入 96 孔板中,并设置对照组及最大释放组。混合后孵育 1 h,使用 CCK-8 试剂盒检测在 96 孔板中进行实验并测定 490 nm 处的吸光度,并按式 (3) 计算 NK 细胞活性。

$$X = \frac{B_1 - B_0}{B_2 - B_0} \times 100\% \quad (3)$$

式中:

X ——NK 细胞活性, %;

B_0 ——对照孔在 490 nm 处的吸光度;

B_1 ——实验孔在 490 nm 处的吸光度;

B_2 ——最大释放孔在 490 nm 处的吸光度。

1.2.8 小鼠血清细胞因子的测定

最后一次 ALPs 给药后,取小鼠眼球血,静置使其充分凝固分层后低温离心收集血清。随后用 ELISA 试剂盒检测血清中细胞因子 (TNF- α 、IL-6、IL-1 β) 的含量。

1.2.9 小鼠血清中免疫球蛋白 IgG 的测定

小鼠眼球血清收集同 1.2.7,然后用 ELISA 试剂盒测定血清中免疫球蛋白 IgG 的含量。

1.2.10 数据处理与统计分析

所有实验均平行三次,并采用 GraphPad Prism 8.3.0

软件进行统计学分析来比较各组之间的差异；图表制作则使用了 Origin 2018 Bit，并以平均值 ± 标准差处理数据。在 $P<0.05$ 时认为不同组之间的结果差异具有显著性。

2 结果与讨论

2.1 ALPs 的氨基酸组成

采用氨基酸分析方法，分析 ALPs 的氨基酸组成。ALPs 中的必需氨基酸决定了肽的质量。由表 1 可知 ALPs 中总氨基酸含量为 72.53 g/100 g，且氨基酸种类丰富，达到 17 种，其中必需氨基酸含量占总氨基酸含量的 33.65%，约占氨基酸总量的 1/3，说明东海乌参肽质量较好，具有较高的营养价值^[22]。而多肽的氨基酸组成和种类也与其免疫调节活性息息相关。有研究表明，多肽的免疫调节活性与带正电荷氨基酸（如精氨酸、赖氨酸、组氨酸等）的含量呈正相关，且多数免疫调节肽含有特定氨基酸组成，如疏水性氨基酸（亮氨酸、脯氨酸、丙氨酸等）和芳香基氨基酸等^[23]。由表 1 可知 ALPs 中精氨酸、脯氨酸、丙氨酸及芳香氨基酸含量较高，表明 ALPs 可能具有较好的免疫调节活性。

表 1 ALPs 的氨基酸组成

Table 1 Amino acid composition of ALPs			
分类	氨基酸	含量/(g/100 g)	占比/%
碱性氨基酸	精氨酸 (Arg)	6.51 ± 0.13	8.98
	赖氨酸 (Lys)*	0.84 ± 0.22	1.16
	组氨酸 (His)	2.07 ± 0.16	2.85
酸性氨基酸	天冬氨酸 (Asp)	1.82 ± 0.05	2.51
	谷氨酸 (Glu)	5.10 ± 0.14	7.03
	甘氨酸 (Gly)	1.96 ± 0.08	2.70
脂肪族类	丙氨酸 (Ala)	9.71 ± 0.23	13.39
	异亮氨酸 (Ile)*	1.35 ± 0.11	1.86
	亮氨酸 (Leu)*	3.60 ± 0.05	4.96
脂肪醇类	缬氨酸 (Val)*	1.44 ± 0.14	1.99
	苏氨酸 (Thr)*	1.28 ± 0.08	1.76
	丝氨酸 (Ser)	1.24 ± 0.32	1.71
亚氨基酸	脯氨酸 (Pro)	8.75 ± 0.24	12.06
含硫氨基酸	蛋氨酸 (Met)*	7.53 ± 0.17	10.38
	半胱氨酸 (Cys)	1.44 ± 0.21	1.99
芳香氨基酸	苯丙氨酸 (Phe)*	8.37 ± 0.09	11.54
	酪氨酸 (Tyr)	9.52 ± 0.18	13.13

注：*：必需氨基酸。

2.2 小鼠体质量及免疫器官指数变化结果

小鼠的体质量变化可以作为一种反映其生理状态

的重要指标。如图 1 所示，ALPs 对小鼠体质量的影响是显著的。在适应性喂养期间，小鼠的体质量基本保持稳定增长，平均体质量为 30.62 g。而经 CTX 造模 5 d 后，小鼠体质量下降至 29.90 g，较正常组显著降低了 3.01 g ($P<0.01$)，这表明 CTX 可能会对小鼠的生物学特征和代谢产生一定的影响。停止造模后，CTX 组小鼠体质量有所回升，但 ALPs 组小鼠体质量上升较之更为明显。在实验后期高剂量组小鼠体质量已达到 36.10 g，与正常组小鼠仅相差 0.37 g。这表明 ALPs 可以有效缓解因 CTX 引起的小鼠体质量下降问题。

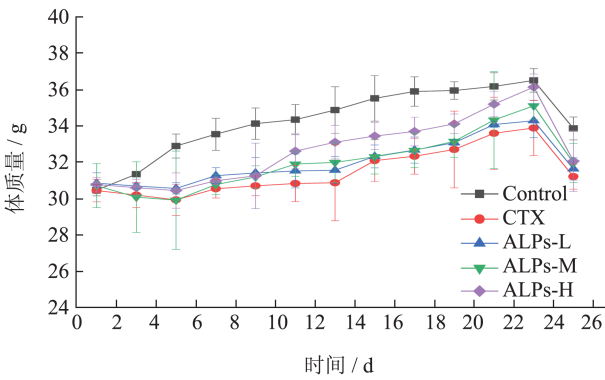


图 1 ALPs 对小鼠体质量的影响

Fig.1 The effect of ALPs on the body weight of mice

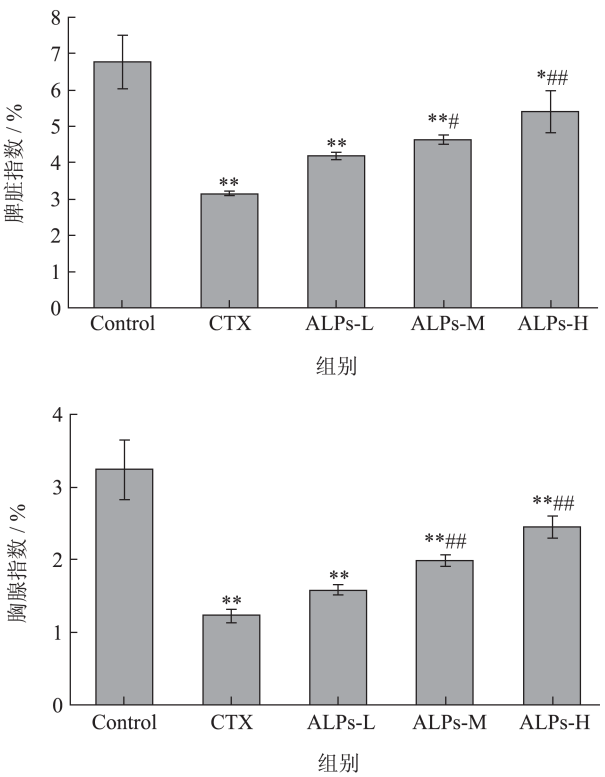


图 2 ALPs 对小鼠免疫器官指数的影响

Fig.2 The effect of ALPs on immune organ index

注：与正常组相比，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ ；与 CTX 组相比，# $P<0.05$ ，### $P<0.01$ 。图 5~9 同。

脾脏和胸腺是非特异性免疫中重要的免疫器官,淋巴细胞在这里分化、成熟并产生免疫反应^[24]。研究发现,脾脏和胸腺的发育状态会直接影响机体的免疫功能和抗病能力,同时免疫器官指数也可以反映免疫器官的整体状态。如图2所示,与正常组相比,CTX组的小鼠免疫器官指数显著降低($P < 0.01$),而高剂量ALPs组的脾脏和胸腺指数较CTX组显著提高了1.6倍和2.0倍。这表明ALPs对环磷酰胺引起的小鼠免疫器官指数下降具有一定的改善作用。

2.3 小鼠免疫器官组织形态学结果

如图3所示,正常小鼠的脾脏组织结构由白色髓质和红色髓质组成的(a_1),正常小鼠胸腺组织的皮质区较髓质区厚,且皮、髓质边界清晰(b_1)。而CTX不仅会引起小鼠免疫器官的萎缩(图4),还使小鼠脾脏结构异常,红、白髓界限变模糊,白髓明显减少(a_2);其胸腺的皮质区变薄、髓质区增宽,皮髓交织(b_2),这些结果都与胡东^[25]和何雅馨^[26]研究的环磷酰胺对小鼠胸腺和脾脏病理学影响的结果相似。给予ALPs后这些变化均有所改善,小鼠脾脏组织中红、白髓边界变清晰,尤其是高剂量组小鼠的脾脏结构几乎趋于正常组($a_3 \sim a_5$);而胸腺组织皮质区增厚,皮髓质分界变明显($b_3 \sim b_5$)。这些结果表明ALPs对于改善CTX引起的免疫器官萎缩和组织损伤具有一定的作用。

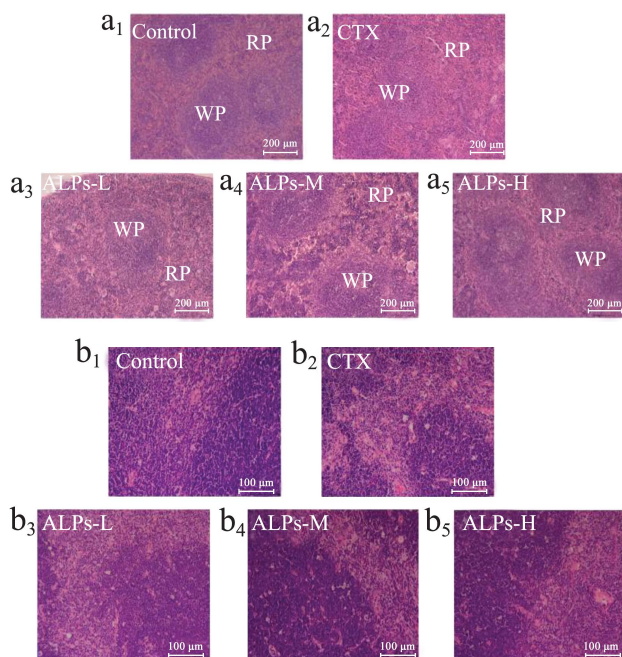


图3 小鼠脾脏、胸腺 H&E 染色结果

Fig.3 H&E staining results of mouse spleen and thymus

注:(a)脾脏 H&E 染色结果(100 $\times$),WP 为白髓,RP 为红髓;(b)胸腺 HE 染色结果(200 $\times$)。

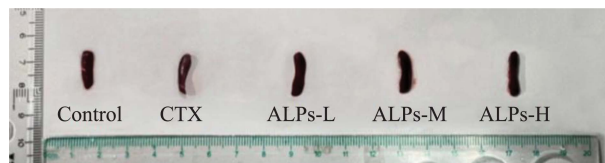


图4 小鼠脾脏形态变化结果

Fig.4 Morphological changes of spleen in mice

2.4 小鼠腹腔巨噬细胞NO合成能力变化

巨噬细胞是先天免疫应答的关键参与者,作为吞噬、杀微生物和杀肿瘤的效应细胞^[27]。受到刺激后,巨噬细胞开始吞噬作用并产生多种效应分子,包括NO等,以保护宿主免受损害^[28]。如图5所示。正常组小鼠NO含量为5.99 $\mu\text{mol/L}$,模型组小鼠细胞的NO合成能力明显下降,低至4.03 $\mu\text{mol/L}$,与正常组相比差异极显著($P < 0.01$)。然而,在给药ALPs后,巨噬细胞的NO合成能力得到显著提高($P < 0.01$),尤其在中、高剂量下效果更显著。因此,ALPs有助于提高巨噬细胞的NO合成能力。

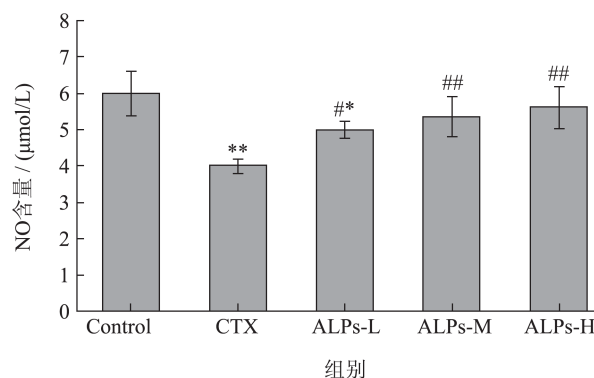


图5 小鼠腹腔巨噬细胞NO合成能力

Fig.5 NO synthesis in mouse peritoneal macrophages

2.5 小鼠血清溶血素水平变化

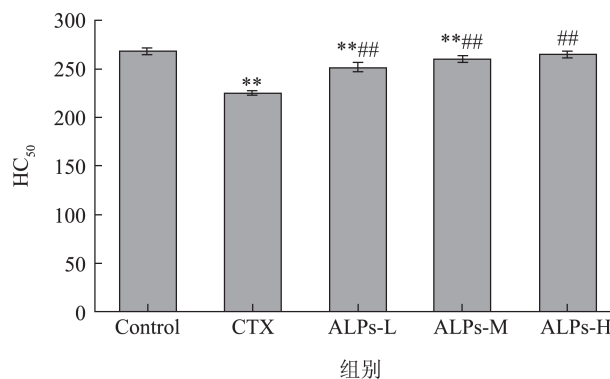


图6 ALPs 对小鼠血清溶血素水平的影响

Fig.6 The effect of ALPs on the level of serum hemolysis in mice

体液免疫对于提供抵抗肿瘤和有毒物质的保护至关重要,而血清溶血素水平能反映体液免疫功能^[29]。如

图 6 所示。与正常组相比, CTX 组小鼠的 HC_{50} 值降至 225.45, 而 ALPs 给药后, HC_{50} 值显著增加 ($P < 0.01$), 且这种影响存在剂量依赖性。秦洪^[30]研究了海参内脏中提取的海参寡肽的增强免疫力活性, 其中对小鼠血清溶血素含量的影响结果中, 高剂量组具有显著差异, 而低、中剂量组无显著差异, 导致该实验结果无统计学意义。相比之下, 本实验结果显示了 ALPs 在低、中、高浓度均具有显著性差异, 表明 ALPs 在一定程度上具有调节 CTX 诱导的小鼠血清溶血素水平, 提高免疫调节能力的作用。

2.6 小鼠NK细胞活性变化

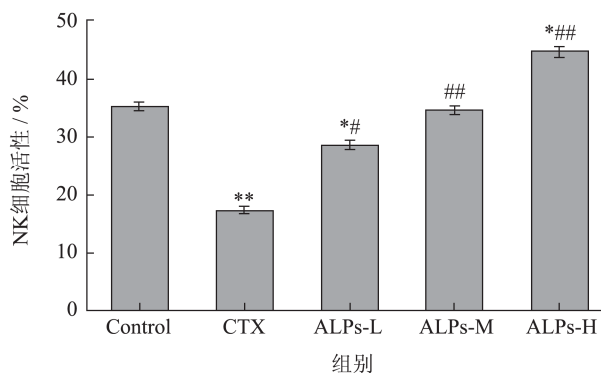


图 7 ALPs 对 NK 细胞活性的影响

Fig.7 The effect of ALPs on NK cell activity

在先天免疫系统中, NK 细胞是一种细胞毒性淋巴细胞, 是先天免疫系统的效应细胞。NK 细胞通过破坏非特异性靶细胞和释放 $IFN-\gamma$ 参与免疫监测。此外, NK 细胞会激活巨噬细胞以消除吞噬化的微生物。如图 7 所示, 在模型组小鼠中, NK 细胞活性明显降低, 而在低、中、高剂量的实验组中, 小鼠 NK 细胞活性均有不同程度的提高。其中, 中、高剂量 ALPs 对小鼠 NK 细胞活性均有显著影响 ($P < 0.01$)。特别是在中剂量组中, NK 细胞活性接近于正常组水平; 而在高剂量组中, NK 细胞活性甚至高于正常组水平。结合 2.5 小鼠 NO 合成能力的变化结果可得, ALPs 能够通过提高小鼠巨噬细胞的 NO 合成能力以及 NK 细胞的活性, 来增强其对靶细胞 YAC-1 的杀伤能力。课题组前期也研究了关于厚壳贻贝多肽对免疫抑制小鼠免疫功能的调节作用, 结果显示厚壳贻贝多肽能够激活 NK 细胞, 增强 NK 细胞活力提高其有效杀伤力^[31]。这些结果表明 ALPs 在一定程度上有助于增强免疫低下小鼠的先天免疫功能, 为进一步探索免疫调节和增强免疫功能的新途径提供了重要参考。

2.7 小鼠血清细胞因子水平变化

巨噬细胞在机体内参与非特异性防卫和特异性防

卫, 通过分泌多种细胞因子来调节其他免疫细胞的活性^[32]。其中, $TNF-\alpha$ 、 $IL-6$ 、 $IL-1\beta$ 是重要的细胞因子, 在巨噬细胞的炎症调节中发挥重要作用, 特别是在对感染、炎症、免疫反应、败血症和癌症的反应中^[33]。如图 8 所示, CTX 组小鼠的各细胞因子水平与正常组相比均有显著降低 ($P < 0.01$), 给予 ALPs 后有所改善。其中 $TNF-\alpha$ 和 $IL-6$ 水平仅在高剂量组有显著增加 ($P < 0.01$); 而 $IL-1\beta$ 水平在低、中、高剂量组中分别达 52.67、62.15 和 62.55 pg/mL , 与模型组相比分别提高了 28.80、38.28 和 38.68 pg/mL 。这表明 ALPs 能够通过调节细胞因子分泌来改善 CTX 对小鼠的免疫抑制作用, 增强巨噬细胞功能。

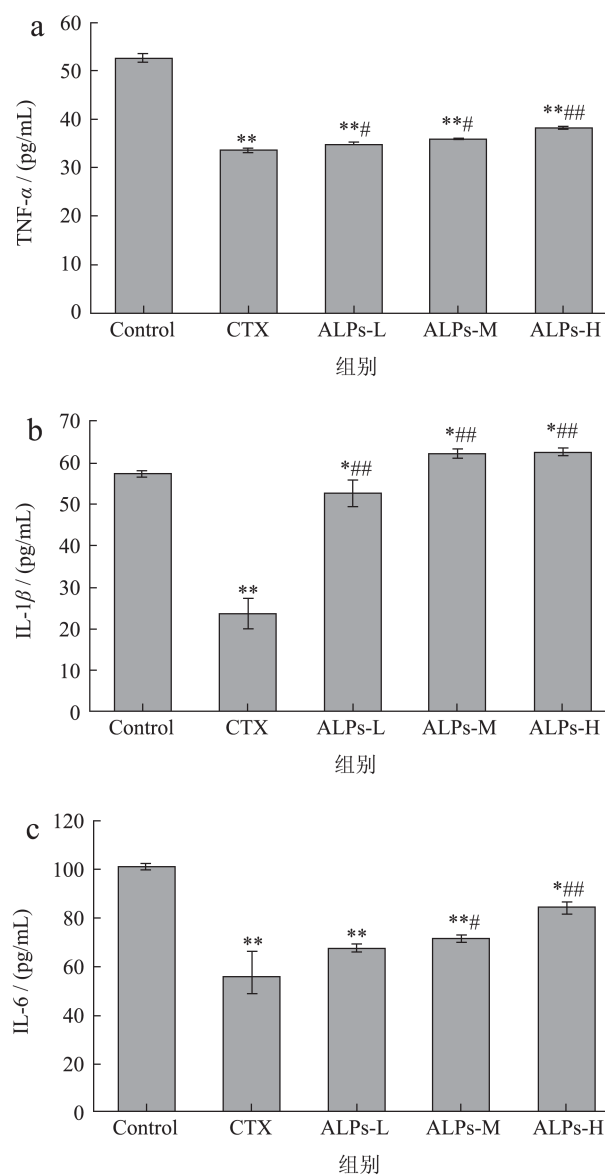


图 8 ALPs 对小鼠血清中 $TNF-\alpha$ 、 $IL-1\beta$ 和 $IL-6$ 含量的影响

Fig.8 The effect of ALPs on the content of $TNF-\alpha$, $IL-1\beta$ and $IL-6$ in serum

注: a 为 $TNF-\alpha$ 含量; b 为 $IL-1\beta$ 含量; c 为 $IL-6$ 含量。

2.8 小鼠血清免疫球蛋白水平变化

血液中多种免疫球蛋白具有中和细菌、病毒和毒素的功能^[34]。而免疫球蛋白 IgG 在人体内主要起到抗病毒、抗菌和免疫调节作用,因此实验通过测定 IgG 水平来反映小鼠的体液免疫强度。如图 9 所示,经腹腔注射 CTX 后,小鼠血清中的 IgG 水平显著降低 ($P < 0.01$),但 ALPs 治疗能显著提升血清中的 IgG 含量。尤其是在中、高剂量组,小鼠血清中的 IgG 含量达 82.77 和 85.51 ng/mL,与正常组相比均无显著差异。毛晶^[35]研究了海参肽对环磷酰胺诱导的免疫抑制小鼠免疫调节能力的影响,发现海参肽各剂量组小鼠血清中 IgG 水平均显著升高 ($P < 0.01$)。本实验结果与该研究结果一致,这表明给予 ALPs 能改善 CTX 导致的免疫球蛋白水平降低,在一定程度上能有效增强小鼠的体液免疫功能,并可能使机体的免疫紊乱恢复正常状态。

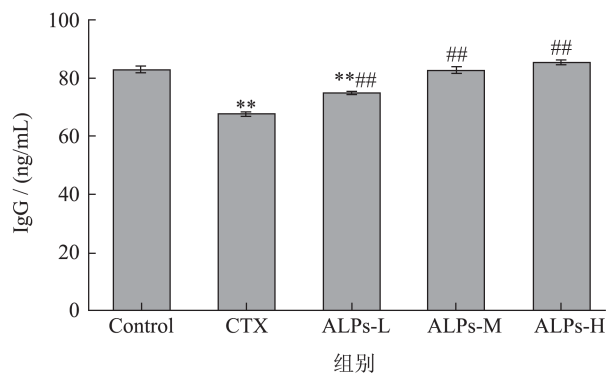


图 9 ALPs 对小鼠血清中 IgG 水平的影响

Fig.9 The effect of ALPs on serum levels of IgG

3 结论

本研究通过腹腔注射 80 mg/kg 剂量的 CTX 来建立免疫低下小鼠模型,并研究不同浓度的 ALPs 对免疫低下小鼠免疫功能的改善作用。通过与正常对照组相比,CTX 组体质量、免疫器官指数、细胞因子分泌水平等免疫反应相关指标均明显降低,表明免疫低下小鼠模型建立成功。实验结果显示,ALPs 能够通过提高小鼠体内 NO 合成能力、血清溶血素水平、NK 细胞活性、细胞因子水平和免疫球蛋白水平,增强了小鼠细胞免疫和体液免疫,减轻了 CTX 所致的免疫器官损伤,进而改善小鼠的免疫功能低下。综上所述,本研究为 ALPs 有可能成为用来减轻使用 CTX 治疗癌症时的免疫低下副作用的天然来源免疫调节剂提供了实验基础。后续将进一步研究 ALPs 对改善小鼠免疫功能的具体作用机制及在免疫调节领域的应用,为东海乌参资源的合理应用提供更多科学支持。

参考文献

- [1] JARCZAK D, NIERHAUS A. Cytokine storm-definition, causes, and implications [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(19): 11740.
- [2] STRONCEK D F, BUTTERFIELD L H, CANNARILE M A, et al. Systematic evaluation of immune regulation and modulation [J]. Journal for ImmunoTherapy of Cancer, 2017, 5(1): 21.
- [3] HUGHES E, SCURR M, CAMPBELL E, et al. T-cell modulation by cyclophosphamide for tumour therapy [J]. Immunology, 2018, 154(1): 62-68.
- [4] 李浩然,高丹丹,陈桂芳,等.食源性免疫活性肽的研究进展[J].食品工业科技,2018,39(22):304-308.
- [5] 邓志程,张迪,吉宏武,等.马氏珠母贝免疫活性肽的纯化与鉴定[J].广东海洋大学学报,2017,37(4):78-86.
- [6] 王鹏,王明爽,刘春雷,等.榛仁免疫活性肽分离纯化及结构鉴定[J].食品科学,2018,39(3):200-205.
- [7] WANG Q, SHI J, ZHONG H, et al. High-degree hydrolysis sea cucumber peptides improve exercise performance and exert antifatigue effect via activating the NRF2 and AMPK signaling pathways in mice [J]. Journal of Functional Foods, 2021, 86: 104677.
- [8] SONG J, LI T, CHENG X, et al. Sea cucumber peptides exert anti-inflammatory activity through suppressing NF- κ B and MAPK and inducing HO-1 in RAW264.7 macrophages [J]. Food & Function, 2016, 7(6): 2773-2779.
- [9] ZHENG Z, SHEN S, SUN A, et al. Potential mechanism of sea cucumber gut peptides in protecting ethanol-induced gastric mucosal injury [J]. Food Bioscience, 2024, 61: 104594.
- [10] YE J, SHEN C, HUANG Y, et al. Anti-fatigue activity of sea cucumber peptides prepared from stichopus japonicus in an endurance swimming rat model [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2017, 97(13): 4548-4556.
- [11] HE L X, ZHANG Z F, SUN B, et al. Sea cucumber (*Codonopsis pilosula*) oligopeptides: immunomodulatory effects based on stimulating Th cells, cytokine secretion and antibody production [J]. Food & Function, 2016, 7(2): 1208-1216.
- [12] LU Z, SUN N, DONG L, et al. Production of bioactive peptides from sea cucumber and its potential health benefits: a comprehensive review [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2022, 70(25): 7607-7625.
- [13] ZHAO Y C, XUE C H, ZHANG T T, et al. Saponins from sea cucumber and their biological activities [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(28): 7222-7237.
- [14] 阙凡迪,王娇燕,王琼芬,等.东海乌参活性肽对小鼠酒精性肝损伤及肠道菌群的调节作用[J].食品科学,2023,44(7):29-38.
- [15] LIN H, YU X, FANG J, et al. Flavor compounds in pixian broad-bean paste: non-volatile organic acids and amino acids [J]. Molecules, 2018, 23(6): 1299.
- [16] 曾瑜.厚壳贻贝活性肽的分离纯化,表征及其免疫调节作用的研究[D].舟山:浙江海洋大学,2022.
- [17] 杨杨,李根,马婧威,等.四种环磷酰胺诱导免疫抑制小鼠模型的对比研究[J].实验动物科学,2023,40(2):1-9.
- [18] CLEYPOL C G J, MACKAAIJ C, VERLINDE-SHELLEKENS

- S A M W, et al. A comparative anatomical and histological study on the presence of an apical splenic nerve in mice and humans [J]. Journal of Anatomy, 2022, 240(2): 296-304.
- [19] YU F, HE K, DONG X, et al. Immunomodulatory activity of low molecular-weight peptides from *Nibea japonica* skin in cyclophosphamide-induced immunosuppressed mice [J]. Journal of Functional Foods, 2020, 68: 103888.
- [20] 孔晨先,肖波,柳全文,等.山药多糖对动物机体免疫调节作用的Meta分析[J].食品研究与开发,2021,19:206-213.
- [21] JANG S H, OH M S, BAEK H I, et al. Silk peptide treatment potentiates natural killer cell activity *in vitro* and induces natural killer cell maturation and activation in mouse splenocytes [J]. Pharmaceutical Biology, 2019, 57(1): 369-379.
- [22] 王婷婷.海参肽对II型糖尿病大鼠血糖活性调节作用及其机制研究[D].南宁:广西大学2021.
- [23] 李富强,张廷新,朱丽萍,等.食物蛋白源免疫调节肽研究进展[J].食品与发酵工业,2022,48(1):308-314.
- [24] WANG Y, QI Q, LI A, et al. Immuno-enhancement effects of Yifei Tongluo granules on cyclophosphamide-induced immunosuppression in Balb/c mice [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2016, 194: 72-82.
- [25] 胡东.环磷酰胺对小鼠胸腺病理学影响的研究[D].雅安:四川农业大学,2015.
- [26] 何雅馨.环磷酰胺对小鼠脾脏的病理学影响[D].雅安:四川农业大学,2015.
- [27] BONAFINI C, MARZOTTO M, BELLAVITE P. *In vitro* effects of Zinc in soluble and homeopathic formulations on macrophages and astrocytes [J]. Homeopathy, 2017, 106(2): 103-113.
- [28] KOVACEVIC Z, SAHNI S, LOK H, et al. Regulation and control of nitric oxide (NO) in macrophages: protecting the “professional killer cell” from its own cytotoxic arsenal via MRP1 and GSTP1 [J]. Biochim Biophys Acta, 2017, 1861(5): 995-999.
- [29] 代佳佳,周玉燕,欧静,等.混改魔芋多糖对环磷酰胺诱导的免疫低下小鼠的免疫调节[J].沈阳医学院学报,2024,26(5):474-479.
- [30] 秦洪.海参(*Stichopus japonicus*)内脏多肽和多糖提取纯化及活性研究[D].泉州:华侨大学,2016.
- [31] 田恒群,何康,郑平安,等.厚壳贻贝低分子量肽对免疫抑制小鼠免疫调节作用[J].广东海洋大学学报,2022,2:112-119.
- [32] ZHENG S, ZHENG H, ZHANG R, et al. Immunomodulatory effect of ginsenoside Rb2 against cyclophosphamide-induced immunosuppression in mice [J]. Frontiers in Pharmacology, 2022, 13: 927087.
- [33] SUN J, ZHANG L, ZHANG J, et al. Protective effects of ginsenoside Rg1 on splenocytes and thymocytes in an aging rat model induced by d-galactose [J]. International Immunopharmacology, 2018, 58: 94-102.
- [34] LI W, GUO S, XU D, et al. Polysaccharide of *Atractylodes macrocephala* koidz (PAMK) relieves immunosuppression in cyclophosphamide-treated geese by maintaining a humoral and cellular immune balance [J]. Molecules, 2018, 23(4): 932.
- [35] 毛晶.海参肽对免疫、肠炎和肿瘤的影响及机理研究[D].天津:天津科技大学,2023.