

# 海王鹿皮胶免疫调节作用研究\*

李会影 康樱樱 王庆 翟英濯 程宪春

吉林省中医药科学院,吉林 长春 130021

**【摘要】** 目的 探讨海王鹿皮胶对小鼠免疫功能的影响,为将海王鹿皮胶开发成为保健食品提供药理学依据。方法 通过腹腔注射环磷酰胺建立小鼠的免疫低下动物模型,观察海王鹿皮胶对免疫低下小鼠的单核-巨噬细胞功能、脾指数、胸腺指数及血清溶血素的影响。结果 与模型对照组比较,海王鹿皮胶高剂量组的廓清指数  $K$  值明显升高,  $P < 0.05$ , 差异具有统计学意义;阿胶对照组的廓清指数  $K$  值无明显变化,  $P > 0.05$ , 差异无统计学意义。海王鹿皮胶高剂量组的胸腺指数明显升高,  $P < 0.001$ , 差异具有极显著的统计学意义;阿胶对照组的胸腺指数明显升高,  $P < 0.001$ , 差异具有极显著的统计学意义。且阿胶对照组和海王鹿皮胶高剂量组的胸腺指数比较,  $P > 0.05$ , 差异无统计学意义。海王鹿皮胶高剂量组的胸腺指数明显升高,  $P < 0.001$ , 差异具有极显著的统计学意义;阿胶对照组的胸腺指数明显升高,  $P < 0.001$ , 差异具有极显著的统计学意义。且阿胶对照组和海王鹿皮胶高剂量组的胸腺指数比较,  $P > 0.05$ , 差异无统计学意义。结论 海王鹿皮胶可明显增强免疫功能低下小鼠的免疫功能,值得进一步开发利用。

**【关键词】** 海王鹿皮胶;免疫;阿胶

动物药作为中药的三大来源之一,在我国具有悠久的历史,丰富的临床经验。目前,常用有六种补胶药材,如阿胶、黄明胶、龟甲胶、鳖甲胶、鹿角胶、鱼鳞胶等,均存在广阔的发展潜力。海王鹿皮胶是由吉林海王健康生物科技有限公司研制的,以养殖鹿鹿皮为原料,经熬胶取汁、浓缩凝胶等工艺制成的符合食品安全国家标准的普通食品<sup>[1,2]</sup>。探讨海王鹿皮胶的免疫调节功能是针对鹿皮胶的全新研究,通过建立免疫低下动物模型,观察海王鹿皮胶与阿胶对免疫低下小鼠的免疫调节作用差异,为将海王鹿皮胶开发成为保健食品提供药理学依据。

## 1 材料

**1.1 鹿皮胶** 鹿皮胶,吉林海王健康生物科技有限公司生产,批号:20180621。以养殖鹿鹿皮为原料,棕色至棕红色的长方形块状固体,味微甜,略腥。配置方法:用少量黄酒中蒸化配置合适浓度的水溶液。

**1.2 阿胶** 阿胶,山东东阿阿胶股份有限公司提供,批号:20180910。

**1.3 实验动物** SPF 级小鼠,昆明种,性别:雄性,体重

18~22g,由辽宁长生生物技术股份有限公司提供,许可证号:SCXK(辽)2020-0001。饲养于清洁级动物室,室温:22-25℃,相对湿度:40%-50%。采用标准饲料喂养,自由饮水,垫料为玉米芯,放射线同位素钴 60 辐照消毒。雌、雄分笼饲养,每笼 10 只。实验前动物适应性喂养 3 天。

## 2 试验方法

**2.1 鹿皮胶对免疫低下小鼠单核-巨噬细胞系统碳粒廓清功能的影响** 取健康昆明种小鼠 60 只,体重 18~22g,雄性,采用随机数字法,将其分为 5 组,正常对照组、阿胶对照组、鹿皮胶高剂量组、鹿皮胶中剂量组、鹿皮胶低剂量组,每组 10 只,各组均连续给样品 30 天。从给药第 27 天开始,正常对照组小鼠腹腔注射生理盐水,其余各组小鼠按剂量 50mg/kg 腹腔注射环磷酰胺,连续 3 天。于末次灌胃后 1 小时,各鼠由尾静脉按剂量(0.1ml/10g 体重)注射印度墨汁,然后在注射 2min 及 12min 时,从小鼠眼静脉丛取血 20ul,加入浓度为 0.1%碳酸钠溶液 2ml 中,摇匀,静置 1h,然后以碳酸钠溶液作空白对照,采用分光光度计测光密度 OD 值<sup>[3]</sup>。最

\* 基金项目:吉林省卫生健康科技创新自筹经费项目;项目名称:基于动物源性保健食品的开发探讨鹿皮胶的免疫调节作用;项目编号:2019ZC016

后,颈椎脱臼处死动物,剖取肝脏、脾脏称重,计算廓清指数 K 值、吞噬指数  $\alpha$  值。结果见表 1。

$$\text{廓清指数 } K = \frac{\lg OD_1 - \lg OD_2}{t_2 - t_1}$$

$$\text{吞噬指数 } \alpha = \frac{3\sqrt{K} \times \text{体重(g)}}{\text{肝重(g)} + \text{脾重(g)}}$$

**2.2 鹿皮胶对免疫低下小鼠免疫器官重量的影响** 取 60 只健康昆明种小鼠,性别为雄性。体重为 18~22g,分组给药方式如 2-1。阿胶对照组和鹿皮胶高剂量组、鹿皮胶中剂量组、鹿皮胶低剂量组按以上所示剂量。从给药第 27 天开始,正常对照组小鼠腹腔注射生理盐水,其余各组小鼠按剂量 50mg/kg 腹腔注射环磷酰胺,连续 3 天。建立免疫机能低下小鼠模型,正常对照组注射等量生理盐水。各组小鼠于末次给药后,禁食不禁水 12h,称重,脱颈椎处死,仔细剥离脾脏、胸腺后称重,并计算脾指数及胸腺指数<sup>[4]</sup>。

**2.3 鹿皮胶对免疫低下小鼠血清溶血素的影响** 取 60 只健康昆明种小鼠,性别为雄性。体重为 18~22g,分组给药方式如 2-1。阿胶对照组和鹿皮胶高剂量组、鹿皮胶中剂量组、鹿皮胶低剂量组按以上所示剂量。从给药第 27 天开始,正常对照组小鼠腹腔注射生理盐水,其余各组小鼠按剂量 50mg/kg 腹腔注射环磷酰胺,连续 3 天。建立免疫机能低下小鼠模型,正常对照组注射等量生理盐水。①SRBC:于绵羊颈静脉取血,将羊血放入有玻璃珠的灭菌锥形瓶中摇动脱纤维,4℃冰箱保存。②制备补体:采集多只豚鼠血分离血清,将 1ml 压积的

SRBC 加入到 5ml 豚鼠血清中,放 4℃冰箱 30min,经常震荡,离心取上清,用时以 SA 液按 1:8 稀释。③免疫动物 取羊血,用生理盐水洗涤 3 次,2000r/min 每次离心 10min。将 SRBC 配成 2%(v/v)的生理盐水细胞悬液,每只鼠腹腔注射 0.2ml 进行免疫,5d 后,摘眼球取血至离心管中,放置 1h,使血清充分析出,2000r/min 离心 10min,收集血清。④溶血反应:将血清:SA 缓冲液 = 1:200(V/V) 稀释后,冰浴中各试管依次加入 0.5mL 稀释血清、0.25mL 10% SRBC、0.5ml 补体(用 SA 液按 1:8 稀释),另设不加血清的对照管(以 SA 缓冲液代替)。置 37℃ 恒温水浴中保温 10~15min,冰浴终止反应。2000r/min 离心 10min,取上清液 0.5mL,加都氏液 1.5mL。同时取 10% SRBC 0.125mL,加都氏液 1.875mL,充分混匀,室温放置 10min,于 570nm 处以对照管做空白,分别测血清溶血素含量,计算半数溶血值(HC50)<sup>[5]</sup>。

### 3 试验结果

#### 3.1 海王鹿皮胶对小鼠单核-巨噬细胞功能的影响

表 1 结果表明:与正常对照组比较,模型对照组小鼠的廓清指数明显降低, $P < 0.001$ ,差异极显著的统计学意义;吞噬指数略降低, $P < 0.05$ ,差异具有统计学意义,说明免疫低下小鼠模型复制成功。与模型对照组比较,海王鹿皮胶高剂量组的廓清指数 K 值明显升高, $P < 0.05$ ,差异具有统计学意义;阿胶对照组的廓清指数 K 值无明显变化, $P > 0.05$ ,差异无统计学意义。

表 1 海王鹿皮胶对小鼠单核-巨噬细胞功能的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数(只)	剂量(g/kg)	廓清指数 K 值	吞噬指数 $\alpha$ 值
正常对照组	10	--	0.060 ± 0.016	6.617 ± 0.474
模型对照组	10		0.016 ± 0.010 <sup>###</sup>	5.240 ± 1.556 <sup>#</sup>
阿胶对照组	10	0.39	0.024 ± 0.015	5.595 ± 0.994
海王鹿皮胶组	10	1.04	0.027 ± 0.007 <sup>*</sup>	6.042 ± 0.673
海王鹿皮胶组	10	0.52	0.021 ± 0.004	5.587 ± 0.454
海王鹿皮胶组	10	0.26	0.023 ± 0.011	5.963 ± 1.183

注:与空白对照组比较,<sup>#</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>###</sup>  $P < 0.001$ ,与模型对照组比较,<sup>\*</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>\*\*</sup>  $P < 0.001$ ,差异具有统计学意义。

**3.2 海王鹿皮胶对小鼠脾指数、胸腺指数的影响** 表 2 结果表明:与正常对照组比较,模型对照组小鼠的脾指数和胸腺指数明显降低, $P < 0.001$ ,差异具有极显著的统计学意义,说明免疫低下小鼠模型复制成功。与模型对照组比较,海王鹿皮胶高剂量组的胸腺指数

明显升高, $P < 0.001$ ,差异具有极显著的统计学意义;阿胶对照组的胸腺指数明显升高, $P < 0.001$ ,差异具有极显著的统计学意义。且阿胶对照组和海王鹿皮胶高剂量组的胸腺指数比较, $P > 0.05$ ,差异无统计学意义。

表 2 海王鹿皮胶对小鼠脾指数、胸腺指数的影响( n = 10,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数(只)	剂量(g/kg)	脾指数(mg/g)	胸腺指数(mg/g)
正常对照组	10	—	3.346±0.316	1.127±0.364
模型对照组	10	—	1.951±0.302###	0.330±0.256###
阿胶对照组	10	0.39	2.191±0.595	1.015±0.286***
海王鹿皮胶组	10	1.04	2.272±0.493	0.865±0.296***
海王鹿皮胶组	10	0.52	1.823±0.387	0.574±0.372
海王鹿皮胶组	10	0.26	1.771±0.371	0.311±0.162

注:与空白对照组比较,### P<0.001,与模型对照组比较,\*\*\* P<0.001,差异具有统计学意义。

### 3.3 海王鹿皮胶对免疫低下小鼠血清溶血素的影响

表 3 结果表明:与正常对照组比较,模型对照组小鼠的半数溶血值显著降低, P<0.001,差异具有极显著的统计学意义,说明免疫低下小鼠模型复制成功。与模型对照组比较,海王鹿皮胶高剂量组、海王鹿皮胶中剂量组的半数溶血值明显升高, P<0.001,差异具有极显著的统计学意义;阿胶对照组的半数溶血值明显升高, P<0.001,差异具有极显著的统计学意义。阿胶对照组和海王鹿皮胶高剂量组的半数溶血值比较, P>0.05,差异无统计学意义。

表 3 海王鹿皮胶对免疫低下小鼠血清溶血素的影响

组别	动物数(只)	剂量(g/kg)	半数溶血值(HC50)
正常对照组	10	—	335.000±11.9706
模型对照组	10	—	130.658±9.1066###
阿胶对照组	10	0.39	217.237±5.2796***
海王鹿皮胶组	10	1.04	225.066±3.5012***
海王鹿皮胶组	10	0.52	208.882±14.8193***
海王鹿皮胶组	10	0.26	139.211±11.8996

注:与空白对照组比较,### P<0.001,与模型对照组比较,\* P<0.05,\*\*\* P<0.001,差异具有统计学意义。

## 3 讨 论

鹿产业是吉林省重要优势产业,发展潜力大、后劲足,鹿皮胶保健食品的开发将有利于带动我省鹿业产品又快又好的提升。由于传统驴皮胶(阿胶)具有补血、止血、抗氧化、抗休克的作用,尤其是在机体免疫功能的调节方面得到广泛的证实。人们也日益重视鹿皮胶能否

在增强机体免疫力方面发挥与驴皮胶同样的功效,为此,深入研究鹿皮胶与驴皮胶在增强机体免疫力方面的作用差异,为鹿皮胶保健食品的开发提供理论支持。本组试验研究表明,与模型对照组比较,海王鹿皮胶高剂量组的廓清指数 K 值明显升高, P<0.05,差异具有统计学意义;海王鹿皮胶高剂量组的胸腺指数明显升高, P<0.001,差异具有极显著的统计学意义;海王鹿皮胶高剂量组的胸腺指数明显升高, P<0.001,差异具有极显著的统计学意义。说明海王鹿皮胶与阿胶在提高免疫功能方面作用相当。综上所述,海王鹿皮胶可明显增强免疫功能低下小鼠的免疫功能,值得进一步开发利用。

### 参考文献

- [1] 张珣,王静凤,李冰,等.阿胶对小鼠免疫功能的影响[J].食品工业科技,2011,32(11):400—402.
- [2] 李冬,李宏宇,黄晓巍,等.鹿皮胶对环磷酰胺所致血虚动物模型影响的实验研究[J].长春中医药大学学报,2010,26(5):652—653.
- [3] 谭晓虹.鹿皮胶的制备及功能研究[D].济南:山东师范大学,2012.
- [4] 苏琛,彭鑫,张毅.中医药对免疫低下动物模型作用的研究进展[J].2016,34(12):217—219.
- [5] 陈慧慧,冯明建,朱海芳,等.阿胶药理研究进展[J].中国药物评价,2014,31(1):23—26.