

## 山莓叶三萜对大鼠免疫功能的影响

常嵩华, 程天印\*, 董振生

(湖南农业大学 动物医学院, 湖南 长沙 410128)

**摘要:**为探明山莓叶三萜的免疫调节作用,腹腔注射环磷酰胺诱导大鼠免疫低下。将成模后大鼠分别连续灌服生理盐水和 0.25、0.50、1.00 mg/mL 山莓叶三萜精提物(以下简称模型对照组(CK<sub>2</sub>)、低浓度组、中浓度组和高浓度组),每天灌服 1 次,1 mL/次,连续 15 d。试验结果:各模型组大鼠的廓清指数和吞噬指数均随山莓叶三萜精提物浓度的升高呈上升趋势,但廓清指数各组间的差异不显著。中浓度组大鼠血清中的白细胞介素-2 (IL-2)含量显著低于 CK<sub>2</sub>,高浓度组的极显著低于 CK<sub>2</sub>。低浓度组大鼠血清中的 IL-6 含量低于 CK<sub>2</sub>,但二者差异不显著;中浓度组和高浓度组均极显著低于低浓度组和 CK<sub>2</sub>,高浓度组极显著低于除中浓度组外的其他模型组。结果表明,山莓叶三萜具有一定的免疫调节作用(山莓叶三萜提取物能提高大鼠巨噬细胞的吞噬能力;对大鼠 IL-2、IL-6 分泌具有抑制作用)。

**关键词:**山莓叶三萜;非特异性免疫指标;白细胞介素-2;白细胞介素-6

中图分类号:S865.1<sup>+</sup>9

文献标志码:A

文章编号:1007-1032(2012)01-0083-03

## Effect of the triterpene from *Rubus corchorifolius* Leaf (TRL) on mice immune function

CHANG Song-hua, CHENG Tian-yin\*, DONG Zhen-sheng

(College of Veterinary Medicine, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

**Abstract:** To study the immunoregulatory actions of triterpene from *Rubus corchorifolius* Leaf (TRL), the immunodepressive mice model was constructed by intraperitoneal injection of cyclophosphamide (CTX). The model mice were randomly divided into high, middle, low dose groups and CK<sub>2</sub> group which received 0.25, 0.50, 1.00 mg/mL TRL and NaCl daily by gastric gavage respectively for 15 d. The weight of mice, the thymus index, the spleen index, the clearance index, the abdominal cavity macrophage engulfing rates, and the content of IL-2 and IL-6 in the serum were measured. The results showed that the high-dose TRL could improve the clearance index of the model mice. The IL-2 content in the middle dose group was lower than CK<sub>2</sub> ( $P < 0.05$ ), the high dose group was significantly lower than CK<sub>2</sub> ( $P < 0.01$ ). The IL-6 content in the low dose group was lower than CK<sub>2</sub>, but the difference was not significant; the middle dose group and the high dose group were significantly lower than the low dose group and CK<sub>2</sub> ( $P < 0.01$ ), the high dose group was significantly lower than the other groups, except for the middle dose group ( $P < 0.01$ ). The results indicated that TRL had remarkable immunoregulatory actions.

**Key words:** triterpene from *Rubus corchorifolius* Leaf (TRL); index of different groups; IL-2; IL-6

山莓(*Rubus corchorifolius* Leaf (TRL))为蔷薇科悬钩子属落叶小灌木,广泛野生于中国东北、内蒙古、新疆、西藏以外的其他省、市、自治区,长江流域资源尤为丰富。三萜类化合物是山莓叶的重要组

分,含量为 0.331 mg/g<sup>[1]</sup>。由悬钩子属植物提取的三萜类成分具有抗癌、消炎、抑菌、杀虫等效用<sup>[2]</sup>,是否具有免疫调节作用尚无研究。为此,笔者特研究山莓叶三萜对大鼠免疫功能的影响。现将结果报

收稿日期:2011-11-12

基金项目:湖南省博士后资助专项(2007RS4013)

作者简介:常嵩华(1959—),男,湖南衡阳人,副教授,主要从事动物流行病学与兽医公共卫生研究; \*通信作者, cty68@yahoo.cn

导如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

山莓叶采自湖南省吉首市。山莓叶三萜精提物在国家植物功能成分利用工程技术研究中心提取、纯化。

健康昆明种大鼠 150 只, 体质量(219.7±12.8) g, 购自中南大学实验动物中心。

### 1.2 主要试剂及仪器

主要试剂为印度墨汁(北京鼎国生物技术有限公司)、环磷酰胺(江苏恒瑞医药有限公司)、白细胞介素-2(IL-2)和白细胞介素-6(IL-6)放射免疫分析药盒(北京北方生物技术研究所)。

主要仪器为紫外可见分光光度计(UV-9100, 北京瑞利)和 DMF-96 型多管放射免疫计数器(上海安泰仪器有限公司)。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 试验设计

基于预试验结果, 将山莓叶三萜精提物配制成 0.25、0.50、1.00 mg/mL 3 个质量浓度。

随机抽取大鼠 120 只, 按 40.00 mg/kg 剂量于大鼠腹腔注射环磷酰胺注射液, 每天 1 次, 连续 3 d, 构建大鼠免疫低下模型。

将成模的 80 只大鼠随机分为 4 组, 分别灌服生理盐水和 0.25、0.50、1.00 mg/mL 三萜精提物溶液(下称模型对照组(CK<sub>2</sub>)、低浓度组、中浓度组、高浓度组)。上述 4 组和正常对照组(CK<sub>1</sub>)大鼠每天灌服 1 次, 1 mL/次, 连续灌服 15 d。

将上述各组大鼠均分成 2 小组, 一小组用于碳廓清试验和脏器指数测定; 另一组供测定吞噬指数和血清 IL-2、IL-6 含量。

#### 1.3.2 碳廓清试验和脏器指数测定

每鼠尾静脉注射 5 倍稀释的印度墨汁(0.1 mL/(10 g))。于注射后 2 min 及 10 min 时分别取血 20 μL, 加入到 2 mL 0.1% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 溶液中, 测定 OD<sub>600 nm</sub>, 计算廓清指数。

称取各鼠质量后取出脾脏、胸腺, 用滤纸吸干血迹后称取脾脏、胸腺质量, 计算脏器指数。

#### 1.3.3 吞噬指数和血清 IL-2、IL-6 含量测定

眼球采血, 分离血清。腹腔注射生理盐水 2.0 mL, 轻柔大鼠腹部, 切开腹腔皮肤, 吸出腹腔冲洗液, 制片, 染色, 观察, 计算吞噬指数。

按白细胞介素放射免疫分析药盒说明书操作说明, 测定血清 IL-2、IL-6 含量。

### 1.3 数据处理

采用 DPS7.55 软件对试验数据进行统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 山莓叶三萜对大鼠非特异性免疫的影响

由表 1 可知, CK<sub>2</sub> 大鼠的 4 项指标均比 CK<sub>1</sub> 大鼠的低, CK<sub>2</sub> 大鼠的廓清指数极显著低于 CK<sub>1</sub> 大鼠, 吞噬指数显著低于 CK<sub>1</sub> 大鼠。该结果表明, 以环磷酰胺构建免疫抑制模型的效果确实。

各模型组大鼠的脾指数、胸腺指数、廓清指数和吞噬指数 4 项指标中, 廓清指数和吞噬指数均随山莓叶三萜精提物浓度的升高而上升, 但各模型组与 CK<sub>2</sub> 间的差异均不显著。

表 1 各组大鼠的非特异性免疫指标

Table 1 Non-specific immune index of different groups

组别	脾指数/(mg·g <sup>-1</sup> )	胸腺指数/(mg·g <sup>-1</sup> )	廓清指数	吞噬指数
CK <sub>1</sub>	5.296±0.743	1.39±0.41	(0.548±0.023)aA	(0.539±0.140)aA
CK <sub>2</sub>	4.781±1.416	1.11±0.45	(0.213±0.012)bB	(0.170±0.029)bA
低浓度组	5.018±1.222	1.17±0.36	(0.215±0.035)bB	(0.172±0.024)bA
中浓度组	5.239±1.435	1.20±0.52	(0.233±0.031)bAB	(0.220±0.029)bA
高浓度组	4.977±0.899	1.20±0.40	(0.241±0.022)bAB	(0.291±0.094)bA

## 2.2 山莓叶三萜对血清 IL-2 和 IL-6 含量的影响

从测定结果(表 2)看, CK<sub>2</sub> 大鼠的血清 IL-2 和 IL-6 含量均极显著低于 CK<sub>1</sub> 大鼠( $p < 0.01$ ), 表明环磷酰胺发挥了免疫抑制作用。

表 2 各组大鼠血清的 IL-2 和 IL-6 含量  
Table 2 Contents of IL-2 and IL-6 in different groups

组别	IL-2 含量	IL-6 含量
CK <sub>1</sub>	(5.91±0.39)aA	(152.49±7.41)aA
CK <sub>2</sub>	(3.52±0.53)bB	( 84.24±5.28)bB
低浓度组	(3.31±0.58)bcB	( 84.09±9.30)bB
中浓度组	(3.14±0.49)cB	( 21.99±3.17)cC
高浓度组	(2.06±0.42)dC	( 14.66±2.11)cC

由表 2 可见, 低浓度组、中浓度组和高浓度组的 IL-2 含量均低于 CK<sub>2</sub>, 且中浓度组差异显著, 高浓度组差异极显著, 表明山莓叶三萜精提物对大鼠 IL-2 分泌具有抑制作用。

低浓度组大鼠血液中 IL-6 含量低于 CK<sub>2</sub>, 但差异不显著; 中浓度组和高浓度组均极显著低于低浓度组和 CK<sub>2</sub>, 高浓度组极显著低于除中浓度组外的其他模型组, 说明山莓叶三萜提取物对大鼠 IL-6 分泌具有较强的抑制作用。

## 3 结论与讨论

本试验结果表明, 山莓叶三萜提取物能提高大鼠巨噬细胞的吞噬能力。基于预试验效果, 本试验中采用了文献[2]中构建大鼠免疫抑制模型所用环磷酰胺的方法和剂量: 腹腔注射 40 mg/kg, 连续 3 d。环磷酰胺对动物机体免疫系统的影响与给药剂量和给药时间密切相关, 即低剂量时具有免疫增强作用; 高剂量时对机体的造血和免疫系统具有抑制作用。枇杷叶三萜酸可使环磷酰胺诱导的免疫低下小鼠的碳廓清指数和吞噬指数降低<sup>[3-4]</sup>。腹腔注射及皮下注射齐墩果酸可明显提高小鼠单核巨噬细胞吞噬功能<sup>[5]</sup>。山莓叶三萜中齐墩果酸含量为 56.5%<sup>[6]</sup>。笔者认为, 山莓叶三萜能提高腹腔巨噬细胞吞噬指数可能与山莓叶三萜中含有的齐墩果酸有关。

IL-2 主要由 Th 细胞分泌, 分泌能力反映 T 细胞的功能。本试验结果表明, 山莓叶三萜精提物对 IL-2 分泌具有抑制作用。这与文献[7]的结果(直接导入海马的人参皂苷使大鼠脾 T 细胞产生 IL-2 的能力增强)相反。

IL-6 可由 T 细胞、单核细胞、B-细胞等分泌, 它影响 B-细胞的增殖分化和分泌活动。本试验结果显示, 灌服山莓叶三萜提取物对大鼠 IL-6 分泌产生了抑制作用, 且剂量越高作用越明显。这与文献[8]的结果(由木瓜提取的齐墩果酸、桦木酸、熊果酸可显著抑制 LPS 诱导 U937 细胞分泌 IL-6)类似。

戴岳<sup>[9]</sup>认为, 齐墩果酸对 II、III、IV 型变态反应都具有明显的抑制作用。山莓叶三萜是否也具有类似作用有待研究。

### 参考文献:

- [1] 董振生, 山莓叶三萜的提取及其免疫功能的研究[D]. 长沙: 湖南农业大学动物医学院, 2009.
- [2] 董振生, 李丹, 程天印, 等. 山莓叶的药用价值研究现状及前景分析[J]. 现代重要研究与实践, 2008, 22(1): 60-62.
- [3] 赵弋清, 罗霞, 陈东辉, 等. 不同剂量环磷酰胺诱导正常小鼠免疫抑制的对比研究[J]. 免疫学杂志, 2006, 21(3): 122-124.
- [4] 葛金芳, 李俊, 胡成穆, 等. 枇杷叶三萜酸的免疫调节作用研究[J]. 中国药理学通报, 2006, 22(10): 1194-1198.
- [5] 范玉玲, 崔福德, 王小燕, 等. 齐墩果酸与齐酞酸钠对小鼠单核巨噬细胞吞噬功能影响的比较研究[J]. 中药药理与临床, 2001, 17(5): 10-11.
- [6] 董振生, 李孝文, 李丹, 等. 高效液相色谱法测定山莓叶中齐墩果酸含量[J]. 国外畜牧学: 猪与禽, 2009, 29(3): 103-104.
- [7] 吴瑞琼, 杨贵贞. 人参皂甙通过海马增强大鼠脾脏免疫功能的研究[J]. 中国药理学通报, 1992, 8(3): 214-217.
- [8] 毛俊琴, 程晓莉. 木瓜 4 个三萜类化合物对单核细胞产生白介素-6 的影响[J]. 药学实践杂志, 2002, 20(4): 222-224.
- [9] 戴岳. 齐墩果酸对变态反应的抑制作用[J]. 中国药理学报, 1988, 9(6): 562.

责任编辑: 王赛群