

蒋春茂,陈晓兰,陆广富,等. 不同中药多糖体外对鸡外周血和脾脏淋巴细胞增殖能力的比较[J]. 江苏农业学报, 2015, 31(1): 106-111.
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2015.01.016

不同中药多糖体外对鸡外周血和脾脏淋巴细胞增殖能力的比较

蒋春茂¹, 陈晓兰^{1,2}, 陆广富¹, 陈兴颖², 王德云², 胡元亮², 耿千丽¹

(1. 江苏农牧科技职业学院, 江苏 泰州 225300; 2. 南京农业大学动物医学院, 江苏 南京 210095)

摘要: 为比较玉竹多糖、桑叶多糖、杜仲多糖、商陆多糖、淫羊藿多糖体外增强免疫活性, 采用酶学检测法测定各中药多糖对鸡胚成纤维细胞的安全浓度, 根据安全浓度测定结果, 选择 250.000 $\mu\text{g/ml}$ 、125.000 $\mu\text{g/ml}$ 、62.500 $\mu\text{g/ml}$ 、31.250 $\mu\text{g/ml}$ 、15.625 $\mu\text{g/ml}$ 5 个浓度, 用 MTT 法比较 5 种中药多糖单独和 PHA 协同刺激对外周血 T 淋巴细胞增殖指数的影响, 以及比较 5 种中药多糖单独和 LPS 协同刺激对脾脏 B 淋巴细胞增殖率的影响。结果显示, 玉竹多糖、桑叶多糖、杜仲多糖、商陆多糖、淫羊藿多糖对鸡胚成纤维细胞的安全浓度分别为 1250.0 $\mu\text{g/ml}$ 、625.0 $\mu\text{g/ml}$ 、625.0 $\mu\text{g/ml}$ 、312.5 $\mu\text{g/ml}$ 。玉竹多糖、桑叶多糖、杜仲多糖和淫羊藿多糖无论是单独还是协同 PHA 刺激外周血 T 淋巴细胞, 均不同程度地表现出增强 T 淋巴细胞的活性。桑叶多糖、杜仲多糖和淫羊藿多糖无论是单独还是协同 LPS 刺激脾脏 B 淋巴细胞, 均不同程度地显示出良好的增强 B 淋巴细胞的活性。桑叶多糖和杜仲多糖体外增强免疫效果最佳, 在 62.500 $\mu\text{g/ml}$ 和 125.000 $\mu\text{g/ml}$ 时, 均显示出较强的增强外周血 T 淋巴细胞和脾脏 B 淋巴细胞增殖的能力。

关键词: 中药多糖; 淋巴细胞增殖; 植物血凝素(PHA); 脂多糖(LPS)

中图分类号: S853.74 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2015)01-0106-06

Comparative study on chicken peripheral lymphocyte and spleen lymphocyte proliferation by Chinese herbal medicinal polysaccharides *in vitro*

JIANG Chun-mao¹, CHEN Xiao-lan^{1,2}, LU Guang-fu¹, CHEN Xing-ying², WANG De-yun², HU Yuan-liang², GEN Qian-li¹

(1. Jiangsu Agri-animal Husbandry Vocational College, Taizhou 225300, China; 2. College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: *Polygonatum odoratum* polysaccharide (POP_s), *morus* polysaccharide (MP_s), *eucommia* polysaccharide (EP_s), *pokeweed* polysaccharide (PP_s), and *epimedium* polysaccharide (EPP_s) to chicken embryonic fibroblast (CEF) *in vitro* were determined and showed as follows compared. 1250.0 $\mu\text{g/ml}$, 625.0 $\mu\text{g/ml}$, 625.0 $\mu\text{g/ml}$, 625.0 $\mu\text{g/ml}$, and 312.5 $\mu\text{g/ml}$, respectively. The effects of above five polysaccharides applied solely or co-applied with phytohaema glutinin (PHA) on the proliferation of peripheral blood T lymphocytes and the effects of five polysaccharides applied solely or

收稿日期: 2014-06-20

基金项目: 江苏省自然科学基金面上项目(BK2011537); 江苏省农业三新工程项目[SXGC(2013)291]; 江苏农牧科技职业学院凤凰人才专项(NSFFH1303); 江苏省大学生实践创新项目(201412806016Y); 学院重点项目(NSFZD1404)

作者简介: 蒋春茂(1962-), 男, 江苏靖江人, 博士, 教授, 主要从事新兽药研发。

co-applied with lipopolysaccharide LPS on the proliferation of splenic B lymphocytes were compared. POP_s, MP_s, EP_s and EPP_s could enhance peripheral blood T lymphocytes activity at different levels either stimulated alone or co-stimulated with PHA. MP_s, EP_s and EPP_s could improve splenic B lymphocytes activity at different levels either stimulated alone or co-stimulated with LPS. The im-

mune enhancements of MP_s and EP_s *in vitro* outperformed others at the concentration of 62.5 μg/ml and 125 μg/ml.

Key words: Chinese herbal medicinal polysaccharide; lymphocyte proliferation; phytohaemagglutinin (PHA); lipopolysaccharide (LPS)

动物的病毒性传染病,如高致病性禽流感^[1]、新城疫^[2]、传染性法氏囊病^[3]等,严重危害畜牧业的发展,造成严重的经济损失,一直受到广泛的关注^[4]。然而,单独使用疫苗效果普遍较差,通常都需要配合相应的佐剂才能达到满意的免疫效果。但目前常用的铝盐和矿物油佐剂却存在许多缺点,因此,研发高效低毒的新型免疫佐剂成为当前防控动物传染性疾病的热点。

大量研究结果表明,许多中草药及其有效成分单独或者组成复方配伍使用都具有良好的免疫增强活性^[5],其毒副作用小,残留污染低^[6],来源广泛,便于应用。因此,研发以中草药有效成分为主的新型免疫佐剂将成为今后畜禽免疫增强剂的发展趋势。

诸多研究结果表明,一些药食两用中药多糖具有一定的免疫调节功能,表现出不同程度的免疫增强活性。鉴于此,本研究选择玉竹多糖、桑叶多糖、杜仲多糖、商陆多糖、淫羊藿多糖为研究对象,在测定以上多糖最大细胞安全浓度的基础上,通过单独刺激和协同 PHA (Phytohaemagglutinin) 或 LPS (Lipopolysaccharide) 共同刺激,比较 5 种中药多糖 5 个浓度下对鸡外周血 T 淋巴细胞增殖指数或对脾脏 B 淋巴细胞增殖率的影响,旨在筛选出体外免疫活性最好的中药多糖,为进一步研究其体内免疫增强作用效果奠定基础。

1 材料与方法

1.1 中药成分的制备

选择桑叶、杜仲皮、玉竹、商陆、淫羊藿五种中药原料,分别制备桑叶多糖、杜仲多糖、玉竹多糖、商陆多糖、淫羊藿多糖。各中药多糖均采用水提醇沉法制备,用苯酚-硫酸法进行多糖含量测定,所得多糖的含量为:桑叶多糖 29.83%、杜仲多糖 31.02%、玉竹多糖 96.09%、商陆多糖 45.76%、淫羊藿多糖 66.38%。将各中药成分配成 10 mg/ml 浓度,用于最大细胞安全浓度测定。再根据安全浓度测定结果,用 RPMI 1640 将各中药多糖分别配成 250.000 μg/ml、125.000 μg/ml、62.500 μg/ml、31.250 μg/ml、15.625 μg/ml 系列浓度,用于体外淋巴细胞

增殖试验。

1.2 主要试剂与仪器

小牛血清,杭州四季青生物制品厂生产; RPMI 1640 培养液, Gibco 公司产品; Hank's 液,自制; 四甲基偶氮唑蓝 (MTT), 北京广源恒信科技发展有限公司生产; 植物血凝素 (PHA), 南京奥多福尼生物科技有限公司生产; 脂多糖 (LPS), Sigma 公司生产; 二甲基亚砷 (DMSO) (分析纯), 上海凌峰化学试剂有限公司生产; 磷酸盐缓冲液 (PBS) (pH 7.1~7.3), 自配。

TS100 型倒置显微镜, Nikon 公司生产; CO₂ 培养箱, America Revco 公司生产; RT-6000 型酶联免疫检测仪, 深圳雷杜生命科学股份有限公司生产; 75-2A 型微量振荡器, 上海医用分析仪器厂生产; 细胞培养板, 德国 Nunclon 公司生产; BS110S 型电子天平, Sartorius 公司生产。

1.3 最大细胞安全浓度测定

选择 10 日龄鸡胚, 调节细胞至适当密度后置入 96 孔细胞培养板中, 在 CO₂ 培养箱中 37℃ 培养 24 h, 弃去细胞生长液, 用 Hanks 液清洗后每孔加入系列浓度的中药多糖 (2 000.000 μg/ml、1 000.000 μg/ml、500.000 μg/ml、250.000 μg/ml、125.000 μg/ml、62.500 μg/ml、31.250 μg/ml、15.625 μg/ml、7.813 μg/ml、3.906 μg/ml) 100 μl, 4 次重复, 设细胞和空白对照。继续培养 72 h, 观察细胞有无病变, 若各重复孔均无病变, 则采用 MTT 法测定各孔 OD 值, 以加药孔 OD 值不显著低于细胞对照孔 OD 值的最高浓度作为最大细胞安全浓度。

1.4 鸡外周血 T 淋巴细胞增殖试验

用 MTT 法比较各中药成分增强免疫活性^[5]。无菌取鸡心脏血液, 分离淋巴细胞于 96 孔细胞培养板中, 设 PHA 和细胞对照组, 除空白孔外每孔加入系列浓度中药多糖 100 μl, 培养 44 h 取出, 每孔分别加入 MTT 30 μl, 继续培养 4 h 后, 加 DMSO 显色并震荡后测定吸光值 (A_{570}), 以及刺激指数 (SI), $SI = \text{试验孔 } A_{570} \text{ 平均值} / \text{对照孔 } A_{570} \text{ 平均值}$, 作为淋巴细胞增殖的指标。刺激指数大于 1 时, 表明有明显的刺激作用。

1.5 鸡脾脏 B 淋巴细胞增殖试验

无菌取出成年健康鸡脾脏,收集脾细胞悬液并稀释至 $1\text{ ml } 5 \times 10^6$ 个,加入至 96 孔细胞培养板中,设 LPS 对照,除细胞对照组外各孔加入系列浓度中药成分 $100\text{ }\mu\text{l}$,4 次重复。培养 44 h 取出,每孔分别加入 MTT $30\text{ }\mu\text{l}$,继续培养 4 h 后,加 DMSO 显色并震荡后测定吸光值(A_{570}),作为 B 淋巴细胞增殖的指标。并按公式计算淋巴细胞增殖率^[8]:增殖率 = (药物组 \bar{A}_{570} - 细胞或 LPS 对照组 \bar{A}_{570} / 细胞或 LPS 对照组 \bar{A}_{570}) $\times 100\%$ (\bar{A} 为平均值)。

表 1 中药多糖对鸡胚成纤维细胞生长的影响

Table 1 The influence of Chinese herbal medicine polysaccharides on the growth of chicken embryonic fibroblast (CEF)

浓度 ($\mu\text{g/ml}$)	吸光值(A_{570})				
	玉竹多糖 (POP _s)	桑叶多糖 (MP _s)	杜仲多糖 (EP _s)	商陆多糖 (PP _s)	淫羊藿多糖 (EPP _s)
10 000.000	0.178 \pm 0.003f	0.217 \pm 0.002g	0.199 \pm 0.006h	0.197 \pm 0.002e	0.196 \pm 0.001h
5 000.000	0.203 \pm 0.007e	0.233 \pm 0.006f	0.212 \pm 0.007g	0.204 \pm 0.006e	0.209 \pm 0.003g
2 500.000	0.223 \pm 0.003d	0.239 \pm 0.007f	0.234 \pm 0.004f	0.223 \pm 0.006d	0.217 \pm 0.004fg
1 250.000	0.268 \pm 0.005c	0.249 \pm 0.007e	0.238 \pm 0.004f	0.230 \pm 0.006d	0.221 \pm 0.003f
625.000	0.262 \pm 0.004a	0.258 \pm 0.004d	0.240 \pm 0.005e	0.234 \pm 0.005c	0.239 \pm 0.003e
312.500	0.260 \pm 0.003ab	0.284 \pm 0.004a	0.279 \pm 0.002a	0.259 \pm 0.006a	0.254 \pm 0.003d
156.250	0.258 \pm 0.003ab	0.275 \pm 0.002b	0.281 \pm 0.006a	0.258 \pm 0.005ab	0.278 \pm 0.006a
78.130	0.255 \pm 0.002b	0.274 \pm 0.004b	0.274 \pm 0.006ab	0.252 \pm 0.005abc	0.269 \pm 0.011b
39.060	0.255 \pm 0.002b	0.269 \pm 0.007bc	0.270 \pm 0.004bc	0.251 \pm 0.006abc	0.270 \pm 0.002b
19.530	0.249 \pm 0.006c	0.265 \pm 0.004cd	0.265 \pm 0.003cd	0.249 \pm 0.006bc	0.263 \pm 0.005bc
9.765	0.248 \pm 0.002c	0.264 \pm 0.002cd	0.262 \pm 0.003cd	0.247 \pm 0.005c	0.261 \pm 0.005bcd
细胞对照	0.246 \pm 0.002c	0.263 \pm 0.002cd	0.261 \pm 0.004de	0.246 \pm 0.008c	0.257 \pm 0.007cd

同列数据后不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

2.2 各中药多糖单独刺激外周血 T 淋巴细胞增殖的变化

各中药多糖单独刺激时外周血 T 淋巴细胞刺激指数见表 2。玉竹多糖在 $125.000 \sim 250.000\text{ }\mu\text{g/ml}$ 浓度时,对外周血 T 淋巴细胞刺激指数显著高于低浓度。桑叶多糖在 $62.500 \sim 250.000\text{ }\mu\text{g/ml}$ 浓度时,显著高于低浓度,且 $125.000\text{ }\mu\text{g/ml}$ 浓度时刺激指数最

2 结果

2.1 各中药多糖细胞安全浓度

表 1 显示,玉竹多糖对鸡胚成纤维细胞 (CEF) 的最大安全药物浓度为 $1\text{ }250.000\text{ }\mu\text{g/ml}$,桑叶多糖、杜仲多糖、商陆多糖最大安全药物浓度为 $625.000\text{ }\mu\text{g/ml}$,淫羊藿多糖最大安全药物浓度为 $312.500\text{ }\mu\text{g/ml}$ 。各中药多糖在最大安全浓度以下多个浓度水平均显示出一定的促细胞生长作用。

高。杜仲多糖 $62.500 \sim 125.000\text{ }\mu\text{g/ml}$ 浓度时显著高于其他浓度,且 $62.500\text{ }\mu\text{g/ml}$ 浓度时刺激指数最高。商陆多糖在 $250.000\text{ }\mu\text{g/ml}$ 浓度时刺激指数最高,且显著高于其他浓度,其他 4 个浓度间的刺激指数无显著性差异。淫羊藿多糖在 $31.250 \sim 62.5.000\text{ }\mu\text{g/ml}$ 浓度时显著高于其他浓度,在 $250.000\text{ }\mu\text{g/ml}$ 浓度时表现出较低的刺激指数。

表 2 中药多糖单独刺激时外周血 T 淋巴细胞刺激指数 (SI)

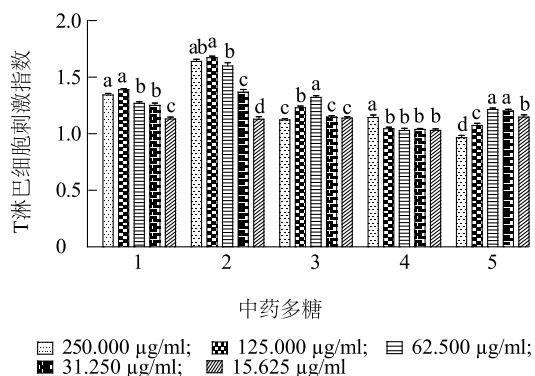
Table 2 T lymphocyte stimulation index (SI) of peripheral blood stimulated alone by Chinese herbal medicine polysaccharides

浓度 ($\mu\text{g/ml}$)	玉竹多糖 (POP _s)	桑叶多糖 (MP _s)	杜仲多糖 (EP _s)	商陆多糖 (PP _s)	淫羊藿多糖 (EPP _s)
250.000	1.422 \pm 0.021a	1.469 \pm 0.031ab	1.136 \pm 0.022c	1.167 \pm 0.024a	0.988 \pm 0.031d
125.000	1.343 \pm 0.021b	1.515 \pm 0.009a	1.250 \pm 0.009b	1.067 \pm 0.029b	1.065 \pm 0.014c
62.500	1.271 \pm 0.021c	1.431 \pm 0.027b	1.342 \pm 0.022a	1.050 \pm 0.029b	1.226 \pm 0.173a
31.250	1.253 \pm 0.024c	1.208 \pm 0.009c	1.136 \pm 0.013c	1.042 \pm 0.019b	1.214 \pm 0.014a
15.625	1.131 \pm 0.021d	0.992 \pm 0.022d	1.114 \pm 0.013c	1.025 \pm 0.024b	1.139 \pm 0.021b

同列数据后不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

2.3 各中药多糖协同 PHA 刺激外周血 T 淋巴细胞增殖的变化

各中药多糖协同 PHA 刺激外周血 T 淋巴细胞时刺激指数见图 1。玉竹多糖在 125.000 ~ 250.000 $\mu\text{g/ml}$ 浓度时,协同 PHA 刺激时外周血 T 淋巴细胞刺激指数显著高于低浓度。桑叶多糖在 62.500 ~ 250.000 $\mu\text{g/ml}$ 浓度时,刺激指数显著高于低浓度,且 125.000 $\mu\text{g/ml}$ 浓度时刺激指数最高。杜仲多糖在 62.500 ~ 125.000 $\mu\text{g/ml}$ 浓度时,刺激指数显著高于其他浓度,且 62.500 $\mu\text{g/ml}$ 浓度时刺激指数最高。商陆多糖在 250.000 $\mu\text{g/ml}$ 浓度时,刺激指数显著高于低浓度,在 15.625 ~ 125.000 $\mu\text{g/ml}$ 浓度时各浓度间无显著性差异。淫羊藿多糖在 31.250 ~ 62.500 $\mu\text{g/ml}$ 浓度时刺激指数最高,且显著高于其他浓度。



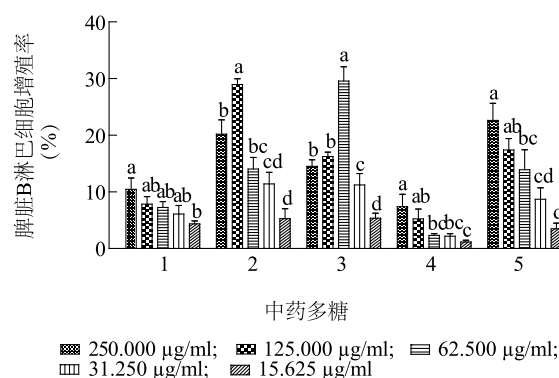
1:玉竹多糖;2:桑叶多糖;3:杜仲多糖;4:商陆多糖;5:淫羊藿多糖。

图1 不同中药多糖协同 PHA 刺激外周血 T 淋巴细胞刺激指数

Fig.1 T lymphocyte stimulation index (SI) of peripheral blood co-stimulated by PHA and Chinese herbal medicine polysaccharides

2.4 中药多糖单独刺激对脾脏 B 淋巴细胞增殖率的影响

中药多糖单独刺激脾脏 B 淋巴细胞增殖率见图 2。玉竹多糖在 31.250 ~ 250.000 $\mu\text{g/ml}$ 浓度时,显著高于 15.625 $\mu\text{g/ml}$ 浓度。桑叶多糖在 125.000 $\mu\text{g/ml}$ 浓度时增殖率最高,显著高于其他各浓度。杜仲多糖在 62.500 $\mu\text{g/ml}$ 浓度时显著高于其他各浓度,在 125.000 ~ 250.000 $\mu\text{g/ml}$ 浓度时亦显著高于 15.625 $\mu\text{g/ml}$ 和 31.250 $\mu\text{g/ml}$ 2 个浓度。商陆多糖和淫羊藿多糖在 250.000 $\mu\text{g/ml}$ 浓度时显著高于 15.625 ~ 61.250 $\mu\text{g/ml}$ 3 个浓度。



1:玉竹多糖;2:桑叶多糖;3:杜仲多糖;4:商陆多糖;5:淫羊藿多糖。

图2 中药多糖单独刺激脾脏 B 淋巴细胞增殖率

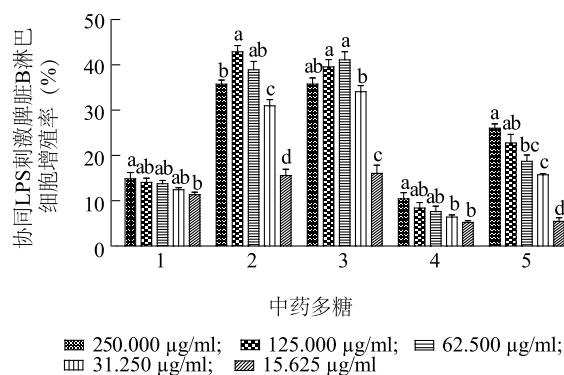
Fig.2 Splenic B lymphocyte proliferation rate stimulated alone by Chinese herbal medicine polysaccharides

2.5 中药多糖协同 LPS 刺激对脾脏 B 淋巴细胞增殖率的影响

中药多糖协同 LPS 刺激脾脏 B 淋巴细胞增殖率见图 3。玉竹多糖在 250.000 $\mu\text{g/ml}$ 浓度时,脾脏 B 淋巴细胞增殖率显著高于 15.625 $\mu\text{g/ml}$ 浓度。桑叶多糖在 31.250 ~ 250.000 $\mu\text{g/ml}$ 浓度时均显示出较高的增殖率,显著高于 15.625 $\mu\text{g/ml}$ 浓度,且在 125.000 $\mu\text{g/ml}$ 浓度时最高。杜仲多糖在 31.250 ~ 250.000 $\mu\text{g/ml}$ 浓度时脾脏 B 淋巴细胞增殖率显著高于 15.625 $\mu\text{g/ml}$ 浓度。商陆多糖在 250 $\mu\text{g/ml}$ 浓度时脾脏 B 淋巴细胞增殖率显著高于 31.250 $\mu\text{g/ml}$ 和 15.625 $\mu\text{g/ml}$ 2 个浓度。淫羊藿多糖在 250.000 $\mu\text{g/ml}$ 浓度时脾脏 B 淋巴细胞增殖率显著高于 15.625 $\mu\text{g/ml}$ 、31.250 $\mu\text{g/ml}$ 和 62.500 $\mu\text{g/ml}$ 3 个浓度。

3 讨论

酶学比色法是目前细胞免疫学检测中的一种常用方法。用该法检测药物对免疫细胞活性的影响,不仅操作简单、安全,而且客观准确,容易定量^[7]。本试验选择鸡胚成纤维细胞 (CEF) 作为免疫细胞,测定 5 种中药多糖对 CEF 的最大安全浓度。结果显示,桑叶多糖、杜仲多糖、商陆多糖具有相同的安全浓度,为 625 $\mu\text{g/ml}$,玉竹多糖安全浓度最大,而淫羊藿多糖安全浓度最低。各中药多糖在最大安全浓度以下多个浓度水平均显示出一定的促细胞生长作用。



1: 玉竹多糖; 2: 桑叶多糖; 3: 杜仲多糖; 4: 商陆多糖; 5: 淫羊藿多糖。

图3 不同中药多糖协同 LPS 共同刺激脾脏 B 淋巴细胞增殖率
Fig. 3 Spleenic B lymphocyte proliferation rate co-stimulated by LPS and Chinese herbal medicine polysaccharides

淋巴细胞增殖是反应机体细胞免疫最直接的指标^[8]。T 细胞具有介导细胞免疫及调节免疫的双重功能,其能识别和提呈抗原,特别是 TH 细胞核 TS 细胞能调节 B 淋巴细胞增殖和分化^[9]。因此,监测 T 细胞增殖的变化是研究药物活性和作用机制的最好的方法。PHA 作为有丝分裂原,在体外可以刺激 T 淋巴细胞的活化分裂增殖。通常将药物单独刺激和 PHA 协同刺激 T 淋巴细胞增殖作为判定中药体外对细胞免疫的调节功能的基本指标。各中药多糖单独和协同 PHA 刺激外周血 T 淋巴细胞增殖指数结果显示,5 种中药多糖无论是单独还是协同 PHA 刺激外周血 T 淋巴细胞,除了桑叶多糖和淫羊藿多糖出现过刺激指数小于 1,其余均大于 1,说明 5 种多糖体外均不同程度地表现出增强 T 淋巴细胞的活性。各中药多糖单独和协同 PHA 刺激外周血 T 淋巴细胞增殖指数结果显示,在 62.500 ~ 125.000 µg/ml 时,玉竹多糖、桑叶多糖和杜仲多糖刺激指数高于其它多糖,且桑叶的效果最好。250.000 µg/ml 时,玉竹多糖和桑叶多糖刺激指数最大,而杜仲高浓度时增殖指数较小,可能高浓度对细胞产生了抑制作用。而商陆多糖在不同浓度其增殖指数较小,说明其对 T 淋巴细胞无显著的刺激增殖能力。类似的研究结果也有报道,桑叶多糖可极显著提高巨噬细胞吞噬百分率、吞噬指数和 T、B 淋巴细胞功能 ($P < 0.01$)^[10]。

脾脏是鸡重要的免疫器官,脾脏中 B 淋巴细胞约占脾内淋巴细胞总数 55%。B 淋巴细胞是机体

中参与免疫应答的重要细胞类群,主要参与体液免疫^[11]。监测脾脏中 B 细胞增殖的变化亦是研究药物活性的常用方法之一。而有丝分裂原 LPS 能刺激 B 淋巴细胞的活化分裂增殖,通常将药物单独刺激和 LPS 协同刺激脾 B 淋巴细胞增殖作为判定中药体外对细胞免疫调节功能的基本指标^[12]。本研究结果显示,5 种中药多糖中,桑叶多糖、杜仲多糖、淫羊藿多糖单独刺激时脾脏 B 淋巴细胞增殖率显著高于玉竹多糖和商陆多糖。桑叶多糖在 125.000 µg/ml 时脾脏 B 淋巴细胞增殖率显著高于其他浓度,高浓度时呈现一定的抑制作用。杜仲多糖在 62.500 µg/ml 时增殖率显著高于其他浓度,浓度升高也呈现明显的抑制作用。而淫羊藿多糖在 250.000 µg/ml 时增殖率最大,呈现一定的剂量依赖关系。LPS 与中药多糖共同刺激脾 B 淋巴细胞增殖率结果显示,经 LPS 诱导后,各中药多糖刺激淋巴细胞增殖率明显增高。桑叶多糖和杜仲多糖在 62.500 µg/ml、125.000 µg/ml 时,经 LPS 协同作用显示出很强的促进脾脏 B 淋巴细胞增殖的能力,淫羊藿多糖次之,而玉竹和商陆多糖较弱。有类似的研究报道称桑叶多糖与刀豆蛋白 A (ConA) 协同作用,诱导小鼠脾淋巴细胞转化能力,具有增强小鼠免疫功能的作用^[13]。而与王洪斌^[14]报道的商陆多糖体外能显著促进小鼠脾淋巴细胞增殖,促进丝裂原诱导的淋巴细胞转化及双向混合淋巴细胞反应结果不一致。

综上所述,玉竹多糖、桑叶多糖、杜仲多糖具有较高的安全浓度,在 62.500 ~ 125.000 µg/ml 时,与 15.625 µg/ml 比较,无论是单独刺激还是协同 PHA 均能显著地诱导外周血 T 淋巴细胞增殖,产生较高的刺激指数。桑叶多糖、杜仲多糖在 62.500 ~ 250.000 µg/ml 时,与 15.625 µg/ml 比较,无论是单独刺激还是协同 LPS 均能显著地提高脾脏 B 淋巴细胞增殖率,且桑叶多糖在 125.000 µg/ml 时,杜仲多糖在 62.500 µg/ml 时,具有最强的促进脾脏 B 淋巴细胞增殖的能力。

参考文献:

- [1] KINGSTAD-BAKKE B, BREWOO J N, MAI L Q, et al. Effects of route and coadministration of recombinant raccoon poxviruses on immune responses and protection against highly pathogenic avian influenza in mice[J]. Vaccine, 2012, 30(45): 6402-6408.
- [2] DORTMANS JC, PEETERS BP, KOCH G. Newcastle disease vi-

- rus outbreaks; vaccine mismatch or inadequate application? [J]. Vet Microbiol, 2012, 160(1-2):17-22.
- [3] KIM S J, SUNG H W, HAN J H, et al. Protection against very virulent infectious bursal disease virus in chickens immunized with DNA vaccines[J]. Vet Microbiol, 2004, 101(1):39-51.
- [4] KONG X, HU Y, RUI R, et al. Effects of Chinese herbal medicinal ingredients on peripheral lymphocyte proliferation and serum antibody titer after vaccination in chicken[J]. Int Immunopharmacol, 2004, 4(7):975-982.
- [5] FAN Y, HU Y, WANG D, et al. Epimedium polysaccharide and propolis flavone can synergistically stimulate lymphocyte proliferation in vitro and enhance the immune responses to ND vaccine in chickens[J]. Int J Biol Macromol, 2010, 47(2):87-92.
- [6] 吴群彬, 薛家宾, 林树育. 中草药免疫佐剂的研究应用概况[J]. 养禽与禽病防治, 2011(10): 4-5.
- [7] 刘家国, 胡元亮, 陈玉库, 等. 几种中药粗提物对鸡胚成纤维细胞生长的影响[J]. 江苏农业学报, 2002, 18(4):228-232.
- [8] 潘维华, 刘晓颖, 王英平, 等. 人参皂苷对小鼠脾淋巴细胞和腹腔巨噬细胞免疫活性的影响[J], 特产研究, 2011(1):16-19.
- [9] KAKAWAMI S, NOMURA K, TSUCHIDA H, et al. An exo β -1, 3 glucanase synthesized de novo degrades lentinan during storage of Lentinula edodes and diminishes immunomodulating activity of the mushroom[J]. Carbohydr Polym, 2004, 56: 279-286.
- [10] 黄剑林, 周 秦, 王剑波. 桑叶多糖的提取分离及其对小鼠免疫功能的影响[J]. 第四军医大学学报, 2009, 30(16):1494-1497.
- [11] 周光炎. 免疫学原理[M]. 上海:上海科学技术出版社, 2007: 37-39.
- [12] 毛 平, 马 骏, 陈艳艳, 等. 不同药性补气中药对小鼠脾淋巴细胞增殖及细胞因子分泌的影响[J]. 上海中医药大学学报, 2006, 20(3):49-51.
- [13] 侯瑞宏, 廖森泰, 刘 凡, 等. 桑叶多糖对小鼠免疫调节作用的影响[J]. 食品科学, 2011, 32(11):280-283.
- [14] 王洪斌, 郑钦岳, 鞠佃文, 等. 商陆多糖 I 对小鼠脾淋巴细胞增殖及脾淋巴细胞巨噬细胞分泌细胞因子的影响[J]. 药学报, 1993, 28(10):732.

(责任编辑:陈海霞)