

葛根提取物对小鼠免疫功能的影响

蒋单栋¹, 么春艳², 肖鹏¹, 邹莹^{3*}

¹杭州医学院临床医学院, 浙江 杭州

²杭州医学院食品科学与工程学院, 浙江 杭州

³浙江中医药大学附属第二医院, 浙江 杭州

收稿日期: 2022年8月25日; 录用日期: 2022年11月4日; 发布日期: 2022年11月15日

摘要

本文旨在研究不同剂量葛根提取物对正常小鼠免疫功能的影响。小鼠无菌取脾脏、胸腺, 称重后记录脏体比, 检测致敏小鼠血清中IFN- γ 、TNF- α 和IL-6的水平、溶血素指数和迟发型超敏反应, 溶血空斑试验比较脾脏中抗体分P<0.05泌细胞数量。结果显示, 与空白组比较, 高剂量葛根提取物可明显提高小鼠的脾脏体比值(P < 0.05)并且显著提高迟发性变态反应(P < 0.01); 中剂量组可显著提高血清溶血素水平(P < 0.01), 其他剂量组较空白组有所增强但无显著性(P > 0.05); 低、高剂量组都可显著提高小鼠体外溶血空斑指数(P < 0.05), 且高剂量组效果更为显著; 低剂量组IFN- γ 明显升高, 并且较空白组TNF- α 和IL-6的水平显著降低。因此, 葛根提取物能够提高正常小鼠体液免疫和细胞免疫功能。

关键词

葛根, 提取物, 免疫提高, 体液免疫, 细胞免疫

Effect of *Pueraria lobata* Extract on Immune Function in Mice

Shandong Jiang¹, Chunyan Yao², Peng Xiao¹, Ying Zou^{3*}

¹School of Clinical Medicine, Hangzhou Medical College, Hangzhou Zhejiang

²Institute of Food Science and Engineering, Hangzhou Medical University, Hangzhou Zhejiang

³The Second Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou Zhejiang

Received: Aug. 25th, 2022; accepted: Nov. 4th, 2022; published: Nov. 15th, 2022

Abstract

The aim of this study was to investigate the effects of different doses of Pueraria Spray Dry Instant Powder (PSIP) on immune function in normal mice, taking the spleen and thymus gland of mice

*通讯作者。

aseptically, recording the ratio of viscera to body after weighing, and the levels of IFN- γ , TNF- α and IL-6, hemolysin index and delayed type hypersensitivity were detected in the serum of sensitized mice. The results showed that the spleen-body ratio ($P < 0.05$) and delayed allergic reaction ($P < 0.01$) of mice were significantly increased by high dose PSIP compared with control group. The level of serum hemolysin was significantly increased in the middle dose group ($P < 0.01$), but not in the other dose groups ($P < 0.05$), and the plaque index in vitro was significantly increased in the low and high dose groups ($P < 0.05$), IFN- γ in low dose group was significantly higher than that in control group, and the level of TNF- α and IL-6 in low dose group was significantly lower than that in control group. Therefore, Pueraria Montana extract can improve the humoral and cellular immunity of normal mice.

Keywords

Radix Puerariae, Extracts, Immune Enhancement, Humoral Immunity, Cellular Immune

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

免疫力是机体抵抗外来侵袭、维护体内环境稳定性的能力，机体的免疫功能主要表现在免疫预防、免疫稳定和免疫监视三个方面。免疫功能低下或退化会明显增加肿瘤、感染、红斑狼疮等多种疾病的发病率[1]。因此，如何提高机体免疫力，减缓免疫器官退化，成为延长寿命、提高生活质量的研究热点[2]。有研究表明，中药含有的多糖[3]、黄酮[4]、生物碱[4]、有机酸、苷类[5]和挥发油[6]等多种次生代谢产物能使机体自身的免疫功能得到充分发挥，进而达到预防疾病的目的[7]。

葛根是我国常见中药之一，具有悠久的临床使用历史，始载于《神农本草经》。《中华人民共和国药典》(2020年版)[8]规定葛根为豆科植物野葛(*Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi.)的干燥根，习称野葛。性凉，味甘、辛。归脾、胃、肺经。有解肌退热，生津止渴，升阳止泻、通经活络之功[9]。近几十年来，诸多学者从葛根中分离鉴定出100余种化合物，主要包括黄酮类及黄酮苷类化合物[10]、双苯吡酮类等化合物[10]、三萜类及三萜皂苷类化合物[11]、二氢橙酮类、草素类，另还有香豆素、有机酸[12]等。其中黄酮类化合物是其主要活性成分，多属异黄酮类，包括葛根素、大豆甙元、大豆甙、大豆素、葛根醇及异黄酮甙等[13]。葛根素为其特有成分，常用来评价葛根的质量，已被证实具有抗炎[14]、抗氧化[15]、降血糖、降血脂[9]、免疫调节[16]、促进免疫球蛋白合成[17]等多种药理活性。

葛根通过抑制NF- κ B和激活蛋白-1(AP-1)、 β 干扰素TIR结构域衔接蛋白(TRIF)、MAPK通路等途径减少多种炎症因子包括IL-1 β 、TNF- α 、IL-6、NF- κ B抑制蛋白的释放，进而减轻炎症反应，改善机体免疫功能[10]。柏琳等[18]发现葛根总黄酮能够显著下调佐剂性关节炎大鼠致炎因子IL-1 β 、TNF- α 的表达，降低大鼠血清中致炎因子含量，进而改善炎症状态，提高免疫功能。刘云波等[19]发现葛根汤能明显增强小鼠肝、脾巨噬细胞对碳粒摄取功能，提示葛根能显著增强小鼠非特异性免疫功能。Hmja等[20]发现葛花苷和葛花苷元可用于缓解2,4,6-三硝基苯磺酸诱导的小鼠结肠炎，降低小鼠全身炎症反应和炎症因子。

虽然关于葛根提取物不同药理活性的研究众多，但目前尚未见有葛根提取物对免疫系统影响的研究，葛根提取物是否能够直接改善体液免疫和细胞免疫等特异性免疫功能也无从得知。本文主要研究了不同剂量葛根提取物对正常小鼠细胞免疫、体液免疫的调节作用，并进一步探索了葛根提取物对动物免疫的调节作用与炎症因子之间的关系。

2. 材料与方法

2.1. 材料与仪器

葛根喷干速溶粉(Pueraria Spray Dry Instant Powder, PSIP) (葛根素 10%)黄山华绿园生物科技有限公司; HH-4 数显恒温水浴锅, 常州奥华仪器有限公司; 电子分析天平, 舜宇恒平科学仪器有限公司; UV-3802 型紫外分光光度计, 上海尤尼柯仪器有限公司; DWP-9082-II 型电热恒温培养箱, 上海龙跃仪器设备有限公司; TDZ5 型台式低速离心机, 湖南赫西仪器装备有限公司; Multiskan FC 型酶标仪, 上海赛默飞世尔仪器有限公司; 绵羊红细胞(Sheep Red Bloodcell, SRBC)、补体(豚鼠血清), 北京博尔西科技有限公司; RPMI1640 细胞培养液、Hank's 液、PBS 缓冲液(pH 7.2~7.4)、新生小牛血清, 杭州昊天生物技术有限公司; 琼脂糖, 青岛海博生物技术有限公司。

2.2. 实验方法

2.2.1. 实验动物分组与给药

清洁级 ICR 小鼠, 由浙江省实验动物中心提供, 实验动物生产许可证号为 SCXK (浙) 2014-001, SPF 级, 全雄, 体重 18~20 g。实验动物于 SPF 级动物房适应环境 5~7 d, 环境温度 20℃~25℃, 湿度 40%~70%, 明暗交替时间 12 h/12 h, 实验动物使用许可证号为 SYXK(浙)2014-2008。实验动物分 3 批饲养, 每批 40 只, 分别用于: ① 动物体重、脏器系数测定; ② 抗体生成实验、血清溶血素测定; ③ 迟发变态反应。小鼠适应性饲养 1 周, 每批实验动物按照体重随机分为 4 组: 空白对照组、PSIP 高剂量组、中剂量组和低剂量组, 10 只/组。空白对照组灌胃(Intraperitonealinjection, *i.p.*)给予生理盐水、样品组灌胃给予 PSIP 3 g/Kg、1.5 g/Kg 和 0.75 g/Kg, 灌胃体积 0.1 ml/10g, 每天一次, 连续 4 周。

2.2.2. 小鼠体重变化及免疫器官脏器比测定

各组小鼠每周称重一次, 检测并记录体重变化; 连续灌胃给予各剂量 PSIP 28d, 末次灌胃后, 实验动物称量体重并用 1%戊巴比妥钠麻醉取脾脏和胸腺, 用吸水纸吸干表面水分后立即称重, 并按以下公式计算脾脏系数和胸腺系数:

$$\text{脾脏系数} = \text{脾脏重(mg)} / \text{体重(g)} * 100\%$$

$$\text{胸腺系数} = \text{胸腺重(mg)} / \text{体重(g)} * 100\%$$

2.2.3. 体液免疫功能的测定

1) 抗体生成细胞检测

抗体生成细胞检测采用溶血空斑实验(plaque-forming cell, PFC) [21]各组小鼠在实验结束前 4 天给予 2% SRBC 溶液致敏(*i.p.*), 0.2 ml/只。实验结束当天, 无菌取脾, 置于盛有适量(3~5 ml)无菌 Hank's 液平皿中磨碎制成悬液, 过滤后用 Hank's 液清洗 2 次, 离心 10 min/次(1000 r/min), 用 RPMI1640 完全培养基稀释细胞得到脾细胞悬液($5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 个/mL)。用生理盐水配制 0.5%琼脂糖(w/v)的底层培养基, 倒入六孔板待琼脂凝固备用, 1 ml/孔。用无菌 Hank's 液配制 0.5%琼脂糖(w/v)的顶层培养基, 置于 46℃~50℃ 恒温试管中备用, 0.5 ml/管。新生小牛血清与压积绵羊红细胞混合(v/v, 5:1), 在 4℃吸收反应 30~60 min 后加入不完全培养基 RPMI1640, 制备成含 20%小牛血清的完全培养基。50 μ l 20% SRBC、200 μ l 脾细胞悬液加入 50℃顶层培养基试管中快速混匀后, 倒入底层培养基中并铺平顶层混合液。每个样品做两个平行孔。上述培养板放入 37℃、5% CO₂ 培养箱中孵育 1 h, 随后每孔加入 500 μ l 以完全培养基稀释的补体(v/v, 1:10), 继续孵育 2 h。取平行孔空斑数的平均值为该样本的溶血空斑数值, 以空斑数/10⁶ 脾细胞表示。

2) 血清溶血素测定

血清溶血素采用血凝法进行测定[15] [16]。实验结束前 4 天, 实验动物给予 2% SRBC 溶液致敏(*i.p.*),

0.2 ml/只。实验结束当天摘除眼球取血于离心管内, 3000 r/min 离心 10 min, 收集血清。用生理盐水倍比稀释血清, 将不同稀释度的血清分别置于微量血凝实验板内, 每孔 100 μ l, 再加入 100 μ l 0.5% (v/v) 的 SRBC 悬液, 混匀, 装入湿润的平盘内加盖, 于 37 $^{\circ}$ C 温箱孵育 3 h, 观察血球凝集程度。血清凝集程度一般分为 5 级(0~IV)记录, 按以下公式计算抗体积数: 抗体水平 = (S1 + 2S2 + 3S3, ..., nSn)。受试样品组的抗体积数显著高于对照组的抗体水平, 可判定该项实验结果阳性。其中 1, 2, 3, ..., n 代表对倍稀释的指数, S 代表凝集程度的级别, 抗体积数越大, 表示血清抗体越高。

2.2.4. 细胞免疫功能的测定

细胞免疫功能测定采用 SRBC 诱导小鼠迟发性超敏反应(DTH)——足趾增厚法[15] [16]。具体为: 实验结束前 5 天, 各组实验动物给予 2% SRBC 溶液致敏(*i.p.*), 0.2 ml/只(约 1×10^8 个 SRBC); 4 天后用游标卡尺测量左后足跖部厚度, 然后于测量部位皮下注射 20% SRBC, 20 μ l/只(约 1×10^8 个 SRBC); 24 h 后, 再次测量同一部位足跖部厚度。同一部位测量三次, 取平均值, 以 SRBC 攻击前、后足跖厚度的差值来表示迟发性超敏反应的程度。

2.2.5. TNF- α 、IL-6、IFN- γ 的测定

各组实验动物于实验结束当天眼内眦采血, 3000 r/min 离心 10 min, 分离血清冻存。参照 Elisa 试剂盒说明操作测定小鼠血清 TNF- α 、IL-6、IFN- γ 的含量。

2.3. 统计学处理

采用 SPSS20.0 软件进行分析, 数据资料用均值加减标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 方差齐时采用单因素方差分析, 组间差异显著性采用 LSD 方法进行多重比较检验; 方差不齐时采用秩和检验, 组间差异比较采用 $P < 0.05$, 表示差异有统计学意义。

3. 实验结果

3.1. 各剂量 PSIP 对正常小鼠体重的影响

各剂量 PSIP 灌胃四周小鼠体重增长见表 1。实验结果显示, 不同剂量 PSIP 对小鼠体重的影响略有不同, 但不论何种剂量, 小鼠体重均呈现稳定增长的趋势, 且与空白对照组相比, 各剂量组体重均无显著性差异($P > 0.05$), 说明长期大剂量食用 PSIP 的安全性与可靠性, PSIP 具有成为改善免疫力的功能食品及原料的潜力。各剂量 PSIP 灌胃四周后小鼠脾脏系数、胸腺系数见表 1。实验结果显示, PSIP 能线性增强实验小鼠的脾脏系数, 且高剂量 PSIP 与空白对照组小鼠的脾脏系数具有显著差异($P < 0.05$)。PSIP 对小鼠胸腺系数的影响不明显, 虽然随着 PSIP 剂量的增高, 胸腺系数呈下降趋势, 但各剂量组均未出现显著性差异($P > 0.05$)。

Table 1. Effects of doses of PSIP on body weight, spleen coefficient and thymus coefficient of normal mice (n = 10)

表 1. 各个剂量 PSIP 对正常小鼠体重、脾脏系数、胸腺系数的影响(n = 10)

组别	剂量	第 1 周体重(g)	第 4 周体重(g)	脾脏系数	胸腺系数
空白	0	20.85 \pm 0.783	34.34 \pm 2.91	0.491 \pm 0.072	0.160 \pm 0.027
低剂量	0.75 g/Kg	20.78 \pm 0.993	33.82 \pm 1.91	0.478 \pm 0.052	0.178 \pm 0.033
中剂量	1.5 g/Kg	20.43 \pm 0.543	32.40 \pm 2.73	0.522 \pm 0.124	0.149 \pm 0.025
高剂量	3 g/Kg	20.56 \pm 0.602	33.23 \pm 1.91	0.581 \pm 0.045*	0.098 \pm 0.008

注: 与空白组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

3.2. PSIP 对小鼠体液免疫功能的影响

IgM 和 IgG 是人体含量最高的免疫球蛋白, 同时也是体液免疫的重要组成部分, 免疫球蛋白的高低可以间接反应体液免疫水平。

血清溶血素凝集程度与血清中 IgM 和 IgG 水平成正比, 与计数值成反比。各剂量 PSIP 灌胃四周后血清溶血素水平见表 2。与空白对照组比较, 中剂量 PSIP 组血清溶血素值显著下降($P < 0.01$), 说明中剂量 PSIP 能明显增高小鼠血清中 IgM 和 IgG 水平。低剂量 PSIP 组能够提高 SRBC 致敏后抗体数量, 但较空白对照组没有显著性差异($P > 0.05$)。

脾脏是人体重要的免疫器官, 通过合成免疫球蛋白、补体等免疫物质发挥免疫作用。溶血空斑实验用于检测小鼠脾脏受到 SRBC 致敏后产 IgM、IgG 细胞数目, 各剂量 PSIP 灌胃四周后脾脏抗体生成细胞数目见表 2。与空白组相比, 低、高剂量 PSIP 能够显著增高脾脏中抗体生成细胞数目($P < 0.05$), 尤以高剂量 PSIP 效果最为显著($P < 0.01$)。

Table 2. Effect of PSIP on humoral immune function in mice (n = 10)

表 2. PSIP 对小鼠体液免疫功能的影响(n = 10)

组别	剂量	抗体积数	血清凝血素	溶血空斑数	溶血空斑数/ 5×10^6 脾细胞
空白	0	83.80 ± 21.46	83.80 ± 21.46	9.1 ± 4.067	$(1.82 \pm 0.813) \times 10^{-6}$
低剂量	0.75 g/Kg	79.91 ± 12.08	79.91 ± 12.08	11.33 ± 4.031*	$(2.866 \pm 0.806) \times 10^{-6}$ *
中剂量	1.5 g/Kg	61.20 ± 9.19**	61.20 ± 9.19**	7.3 ± 3.917	$(1.46 \pm 0.979) \times 10^{-6}$
高剂量	3 g/Kg	88.73 ± 11.71	88.73 ± 11.71	14.210 ± 5.333*	$(2.242 \pm 1.333) \times 10^{-6}$ *

注: 与空白组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

3.3. PSIP 对小鼠细胞免疫功能的影响

各剂量 PSIP 灌胃四周后迟发性变态反应水平见表 3。与空白对照组相比, 各剂量 PSIP 均能增强迟发型变态反应(delayed type hypersensitivity, DTH)水平, 且存在剂量依赖关系, 其中高剂量 PSIP 显著提高了小鼠的足趾肿胀度($P < 0.01$), 中、低剂量组未见显著性差异($P > 0.05$)。

Table 3. Effect of PSIP on cellular immune function in mice (n = 10)

表 3. PSIP 对小鼠细胞免疫功能的影响(n = 10)

组别	剂量(g/Kg)	足趾肿胀度
空白	0	0.887 ± 0.108
低剂量	0.75 g/Kg	0.876 ± 0.051
中剂量	1.5 g/Kg	0.896 ± 0.112
高剂量	3 g/Kg	1.109 ± 0.080**

注: 与空白组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

3.4. PSIP 对小鼠血清中 TNF- α 、IL-6、IFN- γ 的影响

TNF- α 、IL-6、IFN- γ 是免疫系统中重要的促炎因子, 间接反应机体内免疫水平和免疫状态。各剂量

PSIP 灌胃四周后 TNF- α 、IL-6、IFN- γ 水平变化见表 4。从实验数据可以看出, 各剂量组中, 只有低剂量 PSIP 能够降低血清中肿瘤坏死因子(Tumor necrosis factor- α , TNF- α)和 IL-6 水平, 但与空白对照组相比, 其结果仍不具有显著差异($P > 0.05$); 各剂量 PSIP 组血清中干扰素- γ (Interferon, IFN- γ)较空白对照组皆有所升高, 其中低剂量 PSIP 组 IFN- γ 含量显著升高($P < 0.05$), 中、高剂量 PSIP 组 IFN- γ 含量亦有升高, 但与空白对照组相比未见显著性差异($P > 0.05$)。低剂量组 PSIP 降低 TNF- α 和 IL-6 的水平同时显著升高 IFN- γ , 提示低剂量 PSIP 可能抑制炎症和改善免疫状态的效果最佳。

Table 4. Effects of pueraria root extract on serum TNF- α , IFN- γ , IL-6 (n = 10)

表 4. 葛根提取物对血清中 TNF- α 、IL-6、IFN- γ 的影响(n = 10)

组别	剂量	TNF- α (IU/ml)	IL-6 (IU/ml)	IFN- γ (IU/ml)
空白	0	75.05 \pm 19.82	235.24 \pm 39.28	18.96 \pm 11.88
低剂量	1.25 g/Kg	59.26 \pm 22.22	213.76 \pm 20.54	35.92 \pm 7.11*
中剂量	2.5 g/Kg	77.37 \pm 24.18	232.89 \pm 40.82	28.31 \pm 12.47
高剂量	5 g/Kg	86.17 \pm 23.41	243.91 \pm 78.06	20.37 \pm 10.45

注: 与空白组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

4. 讨论与展望

小鼠体重可以间接反应小鼠的状态和 PSIP 的安全性。从表 1 实验数据可以看出, 高、中、低剂量 PSIP 对小鼠体重无明显影响, 增长趋势与空白组相同, 呈现稳定均匀增长的趋势, 证明 PSIP 长期大剂量食用的安全性与可靠性。

免疫器官重量是反映机体非特异性免疫功能的重要指标, 胸腺和脾脏都是重要的免疫器官, 器官脏体比可反映机体特异性免疫的功能状况[22], 胸腺是 T 淋巴细胞分化成熟的场所, 脾脏的免疫细胞以 B 淋巴细胞为主, 而 T、B 淋巴细胞分别是参与细胞免疫和体液免疫的主要细胞[23]。表 1 结果显示 PSIP 可有效提高小鼠胸腺、脾脏指数。其中高剂量 PSIP 较空白组显著提高脾脏指数($P < 0.05$), 说明 PSIP 能增强小鼠体液免疫功能, 提高免疫力; 胸腺指数虽有提高, 但差异无统计学意义。

IgM 是体液免疫应答中最早出现的抗体, 是机体抗击感染的“先头部队”; IgG 是血清中含量最高的免疫球蛋白(Immunoglobulin, Ig), 是机体抗感染的“主力军”。作为体液免疫的重要组成部分, IgM、IgG 水平的高低可以间接反应机体的体液免疫水平。血清溶血素及脾细胞溶血空斑实验是评价体液免疫功能最常用的指标之一[23]。从表 2 的实验数据可以看出, 高剂量 PSIP 能够提高正常小鼠的血清抗体水平($P > 0.05$), 同时, 低、高剂量组 PSIP 能够显著增高脾脏中抗体生成细胞数目($P < 0.05$), 尤以高剂量组效果最为显著($P < 0.01$)。这一实验结果说明高剂量 PSIP 可显著提高小鼠的体液免疫功能, 且这一实验结果与脾脏系数的实验其趋势相一致。中剂量组 PSIP 溶血空斑数较空白对照组显著降低, 而血清溶血素提示中剂量组显著增加外周血中 IgM 和 IgG 水平, 推测可能由于大量成熟的 IgG、IgM 释放入血导致空斑数量减少。相反的是低、高剂量组 PSIP 抗体生成细胞数目较空白对照组显著增加, 外周血成熟的 IgG、IgM 增加不显著, 推测可能由于脾脏抗体生成细胞(主要是浆细胞)未完全将胞内抗体出胞分泌入血, 这提示不同浓度 PSIP 对小鼠体液免疫的作用效应不同, 有待进一步探索。

SRBC 诱导小鼠足跖增厚的迟发型变态反应亦称 IV 型变态反应, 是 T 淋巴细胞介导的超敏反应, 以再次接触抗原 48~72 小时后出现单核细胞浸润和细胞变性、坏死为特征[23], 故 DTH 的强弱可以反应机体细胞免疫水平。表 3 的实验数据显示高剂量 PSIP 能显著增强小鼠迟发型变态反应($P < 0.05$), 低、中剂

量组较空白对照组虽未具有显著性,但呈量效性提高。

正常生理状态下,辅助性 T 淋巴细胞亚群 Th1/Th2 细胞处于平衡状态。Th1/Th2 平衡失调并向 Th1 或 Th2 状态转化的趋势称为 Th1/Th2 漂移, Th1/Th2 平衡失调与肿瘤逃逸、自身免疫性疾病(类风湿性关节炎、I 型糖尿病)、感染性疾病(结核)等密切相关[24]。Th1 细胞主要产生 Th1 类细胞因子 TNF- α 、IFN- γ 等, Th2 细胞主要产生 IL-6 等[25]。TNF 是重要的炎症因子,参与某些自身免疫病的病理损伤,具有多种生物学的作用[26]。IL-6 受 TNF 诱导产生,能促进 B 细胞前体转换为浆细胞,与集落刺激因子(colony stimulating factor, CSF)协同,能促进原始骨髓源细胞的生长和分化,增强自然杀伤细胞的裂解功能。TNF 和 IL-6 的增高常提示巨噬细胞活化和抗体分泌,机体处于炎症状态。过度激活释放的 TNF 会持续刺激多核巨噬细胞浸润并最终导致全身炎症反应,甚至多器官功能衰竭[27]。干扰素(Interferon, IFN)因其具有干扰病毒感染和复制的能力而得名,主要由活化的 T 细胞和 NK 细胞产生,促进 Th1 细胞自身增殖分化,且具有直接促进 T/B 细胞分化成熟的作用,从而促进机体免疫应答[28]。表 4 的实验结果显示低剂量 PSIP 能降低 TNF- α 、IL-6 水平,同时显著提高机体 IFN- γ 浓度,说明 PSIP 能够降低小鼠炎症水平,改善小鼠免疫状态。综上,PSIP 能够提高小鼠脾脏内淋巴细胞数量和体液免疫功能,降低 TNF- α 、IL-6 水平并提高 IFN- γ 浓度,协同调节体液免疫功能,防止机体因免疫亢进导致损伤。

本实验对葛根提取物的免疫调节作用进行了研究,从免疫器官和特异性免疫的角度初步探讨了其作用机制。结果表明,高剂量 PSIP 可以显著提高小鼠脾脏比($P < 0.01$),低、高剂量显著提高血清溶血素、溶血空斑、DTH ($P < 0.05$)。低剂量 PSIP 能降低 TNF- α 、IL-6 水平同时显著提高 IFN- γ 浓度($P > 0.05$)。综上所述,PSIP 对免疫系统的多个环节都有一定的保护或增强作用,能够提高小鼠的体液免疫和细胞免疫功能。本实验为研究开发新型葛根保健食品提供了理论基础,为进一步探索葛根提取物改善免疫功能的作用机制提供了实验依据。但关于葛根提取物改善免疫功能的具体机制尚未明确,肖嫩群等[29]发现葛根芩连汤可促进肠道湿热证泄泻小鼠肠道乳杆菌和双歧杆菌增生,提高双歧杆菌与肠杆菌的数量比值(B/E 值),从而抑制病原菌的黏附、定植和入侵,提高机体对病原微生物的免疫防御能力。葛根是否通过改变肠道微生物菌群而介导改善免疫功能有待后续进一步探索。

基金项目

国家级创新创业训练项目(202113023003);浙江省大学生科技创新活动计划(新苗人才计划)项目(2021R424006);浙江省自然科学基金(LQY18H280001);浙江中医药大学中青年科研创新基金(KC201942);浙江中医药大学校级科研基金(2019ZZ03);浙江省医药卫生科技计划(2021447171)。

参考文献

- [1] 李永柏,梁芳芳.自身炎症性疾病与自身免疫性疾病[J].中华实用儿科临床杂志,2013,28(9):641-643.
- [2] 张桂如.老年免疫器官退化和老年疾病(文献综述)[J].国外医学(老年医学分册),1981(2):73-77.
- [3] 白宇,杨丽霞,贺云,等.当归多糖通过 TLR4/NF- κ B 信号通路对糖尿病肾病大鼠的影响[J].中成药,2021,43(3):755-760.
- [4] 邓立萍,谢孟君,祝子喻,等.葛根总黄酮提取物对糖尿病大鼠视网膜病变的影响分析[J].中药药理与临床,2021,37(2):54-59.
- [5] 杜小燕,覃华,田雯,等.绞股蓝多糖对糖尿病肾病大鼠肾功能的保护作用及其机制研究[J].现代生物医学进展,2016,16(22):4247-4250+4259.
- [6] 夏佳,杨雨,张世洋,等.白术配伍人参前后挥发油调控慢性萎缩性胃炎大鼠 AQP3、4 表达的比较研究[J].天然产物研究与开发,2022,34(1):33-41.
- [7] 包立红.中药及有效成分提高免疫力的研究进展[J].大家健康:现代医学研究,2013,7(19):208.
- [8] 祝玲,刘诗翔.失眠症的神经递质研究[J].神经病学与神经康复学杂志,2011,8(1):51-53.

- [9] 尹乐斌, 夏秋良, 赵良忠, 等. 葛根药理作用研究进展[J]. 现代农业科技, 2016(4): 68-69+75.
- [10] 史晨旭, 杜佳蓉, 吴威, 等. 葛根化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国现代中药, 2021, 23(12): 2177-2199.
- [11] Chen, H.B., Lv, T.X., Zhang, M., *et al.* (2018) Two New Compounds from the Roots of *Pueraria peduncularis* and Their Molluscicidal Effects on *Pomacea canaliculata*. *Journal of Asian Natural Products Research*, **22**, 144-152. <https://doi.org/10.1080/10286020.2018.1540597>
- [12] Wei, S., Li, Y., Xue, Q., *et al.* (2014) Chemistry of the Chinese Herbal Medicine *Puerariae Radix*(Ge-Gen): A Review. *Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences*, **23**, 347-360. <http://www.jcps.ac.cn>
<https://doi.org/10.5246/jcps.2014.06.048>
- [13] 迟霁菲, 张国刚, 李萍, 等. 安徽产葛根的化学成分研究[J]. 中国药物化学杂志, 2007, 17(1): 47-49.
- [14] Hu, W., Zhang, Q., Yang, X., Wang, Y. and Sun, L. (2010) Puerarin Inhibits Adhesion Molecule Expression in Tnf- α -Stimulated Human Endothelial Cells via Modulation of the Nuclear Factor κ B Pathway. *Pharmacology*, **85**, 27-35. <https://doi.org/10.1159/000264938>
- [15] 王友川, 李津. 葛根提取物对糖尿病模型大鼠氧化应激影响的实验研究[J]. 中国生化药物杂志, 2014(8): 16047-16055.
- [16] Wang, J., Zhang, T., Ma, C. and Wang, S. (2015) Puerarin Attenuates Airway Inflammation by Regulation of Eotaxin-3. *Immunology Letters*, **163**, 173-178. <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2014.12.002>
- [17] 杨俊超, 姚远文, 颖娟. 葛根及其复方对重症肌无力大鼠肌力恢复和 IL-4 的影响[J]. 陕西中医药大学学报, 2014, 37(6): 85-87.
- [18] 柏琳, 邹天琪, 张成义. 葛根总黄酮对佐剂性关节炎大鼠免疫器官指数、IL-1 β 及 TNF- α 的影响分析[J]. 吉林医学, 2021, 42(6): 1298-1300.
- [19] 刘云波, 邱世翠, 邸大琳, 等. 葛根对小白鼠免疫功能的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2002(15): 62-63.
- [20] Jang, H.-M., Park, T.-T., Noh, H.-D., Lee, S.-H. and Kim, D.-H. (2019) Kakkalide and Irisolidone Alleviate 2,4,6-Trinitrobenzenesulfonic Acid-Induced Colitis in Mice by Inhibiting Lipopolysaccharide Binding to Toll-Like Receptor-4 and Proteobacteria Population. *International Immunopharmacology*, **73**, 246-253. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2019.05.008>
- [21] 马钊. 洋葱多糖提取及其提高免疫力和降血脂功能性质研究[D]: [硕士学位论文]. 北京: 中国农业大学, 2005.
- [22] 龙珍, 龙腾云, 黄仁彬, 等. 玉郎伞多糖对环磷酰胺所致的免疫抑制小鼠免疫功能的影响[J]. 天然产物研究与开发, 2014, 26(5): 666-670.
- [23] 胡成穆, 陈琳, 李荣, 等. 豹皮樟总黄酮对免疫低下小鼠免疫功能的影响[J]. 中国药理学通报, 2007(6): 804-808.
- [24] Zhu, C. and Yang, M.Q. (2010) Effects of the Secondary Metabolites of *Rhizotonia leguminicola* on Immune functions of Immunosuppressed Mice. *Chinese Journal of Immunology*, **26**, 392-395. (In Chinese)
- [25] 姚金晶, 陈宜涛. Th1/Th2 平衡调节与疾病发生的研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2009, 9(13): 2597-2600.
- [26] 申冬冬, 袁飞, 侯江红. 黄芪多糖对幼鼠肠缺血再灌注损伤肠组织 TNF- α 、ICAM-1、IL-6 及免疫功能的影响[J]. 中华中医药学刊, 2017, 35(6): 1528-1532.
- [27] Zhang, R., He, G.-Z., Wang, Y.-K., Zhou, K.-G. and Ma, E.L. (2015) Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids Inhibit the Increase in Cytokines and Chemotactic Factors Induced in Vitro by Lymph Fluid from an Intestinal Ischemia-Reperfusion Injury Model. *Nutrition*, **31**, 508-514. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2014.10.015>
- [28] 胡天惠, 林超, 项媛媛, 等. 潞党参口服液对免疫抑制小鼠的免疫调节作用[J]. 药学与临床研究, 2019, 27(3): 171-174+186.
- [29] 肖嫩群, 何云山, 张晨阳, 等. 葛根芩连汤对肠道湿热证泄泻小鼠肠道微生物的影响[J]. 中国微生态学杂志, 2020, 32(10): 1140-1144.