

## 中国毛虾活性肽对免疫抑制小鼠免疫调节作用的影响

杨志艳, 惠婷婷, 祝宝华, 徐晨晨, 李燕, 李晓晖

### **Effects of Peptides from *Acetes chinensis* on Immunoregulation in Immunocompromised Mice**

YANG Zhiyan, HUI Tingting, ZHU Baohua, XU Chenchen, LI Yan, and LI Xiaohui

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022080148>

## 您可能感兴趣的其他文章

### Articles you may be interested in

白玉菇多糖对免疫抑制型小鼠的免疫调节作用

Immunomodulatory Effects of White *Hypsizygus marmoreus* Polysaccharides on Immunosuppressive Mice

食品工业科技. 2020, 41(7): 295-300,308 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.07.049>

山楂黄酮对小鼠脾淋巴细胞的免疫调节作用

Immunoregulatory Effect of Hawthorn Flavonoids on Spleen Lymphocytes in Mice

食品工业科技. 2019, 40(20): 127-132,145 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.20.021>

银杏多糖对小鼠淋巴细胞免疫调节作用的研究

Effects of *Ginkgo biloba* Polysaccharides on Immune Regulation of Lymphocyte in Mice

食品工业科技. 2021, 42(4): 301-306 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020040312>

酵母 $\beta$ -葡聚糖加锌复合配方对免疫抑制幼龄小鼠的免疫调节作用

Immunomodulatory Effects of Yeast  $\beta$ -Glucan and Zinc Compound Formula on Immunosuppressive in Immature Mice

食品工业科技. 2021, 42(8): 313-319 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020060109>

鸿雁雁血多肽的制备及免疫调节作用的初步研究

Preliminary Study on Preparation and Immunomodulatory Effect of *Anser cygnoides* Blood Protein Peptide

食品工业科技. 2020, 41(13): 65-71 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.13.011>

植物乳杆菌KLDS 1.0318对小鼠免疫调节作用初步研究

Preliminary study on the immunomodulatory function of *Lactobacillus plantarum* KLDS 1.0318 in mice

食品工业科技. 2018, 39(7): 303-308 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2018.07.055>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

杨志艳, 惠婷婷, 祝宝华, 等. 中国毛虾活性肽对免疫抑制小鼠免疫调节作用的影响 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(9): 380–386. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022080148

YANG Zhiyan, HUI Tingting, ZHU Baohua, et al. Effects of Peptides from *Acetes chinensis* on Immunoregulation in Immunocompromised Mice[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(9): 380–386. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022080148

· 营养与保健 ·

# 中国毛虾活性肽对免疫抑制小鼠免疫调节作用的影响

杨志艳<sup>1</sup>, 惠婷婷<sup>1</sup>, 祝宝华<sup>1</sup>, 徐晨晨<sup>1</sup>, 李 燕<sup>1,2,3</sup>, 李晓晖<sup>1,2,3,\*</sup>

(1. 上海海洋大学食品学院, 上海 201306;

2. 上海水产品加工及贮藏工程技术研究中心, 上海 201306;

3. 农业部水产品贮藏保鲜质量安全风险评估实验室(上海), 上海 201306)

**摘要:** 本文以毛虾为原料, 采用蛋白酶解获得毛虾活性肽, 通过建立免疫抑制小鼠模型探究了毛虾活性肽对免疫抑制小鼠的免疫调节功能。小鼠随机分为六组: 正常对照组、模型组、阳性对照组以及低、中、高剂量组, 其中剂量组分别灌胃 0.25 g·kg<sup>-1</sup> BW、0.5 g·kg<sup>-1</sup> BW、1.0 g·kg<sup>-1</sup> BW 毛虾活性肽。结果表明, 剂量组免疫抑制小鼠体重明显增加 ( $P<0.05$ ), 免疫器官指数中的胸腺指数显著提高 ( $P<0.05$ ), 此外, 毛虾活性肽还促进了小鼠血清中免疫球蛋白 (IgA、IgG 和 IgM) 以及细胞因子 (IL-2、IL-6 和 TNF- $\alpha$ ) 水平的提升 ( $P<0.05$ ), 外周血白细胞总数基本恢复至正常水平, NK 细胞活性也显著增强 ( $P<0.05$ )。综上, 毛虾活性肽具有改善免疫抑制剂导致的免疫功能损伤, 增强免疫抑制小鼠免疫调节的作用。

**关键词:** 中国毛虾, 酶解, 免疫抑制小鼠, 免疫调节

中图分类号: TS254.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2023)09-0380-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022080148



本文网刊:

## Effects of Peptides from *Acetes chinensis* on Immunoregulation in Immunocompromised Mice

YANG Zhiyan<sup>1</sup>, HUI Tingting<sup>1</sup>, ZHU Baohua<sup>1</sup>, XU Chenchen<sup>1</sup>, LI Yan<sup>1,2,3</sup>, LI Xiaohui<sup>1,2,3,\*</sup>

(1. College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Shanghai Aquatic Product and Processing and Storage Engineering Technology Research Center, Shanghai 201306, China;

3. Laboratory for Risk Assessment of Quality and Safety of Storage and Preservation of Aquatic Products, Ministry of Agriculture, Shanghai 201306, China)

**Abstract:** In this paper, the active peptides were obtained from *Acetes chinensis* with protease, and then the immunoregulatory function and mechanism of them on the immunosuppressed mice were explored by establishing an immunosuppressive mouse model. Mice were randomly divided into six groups: Normal control group, model group, positive control group and low, medium and high dose groups, among which, the dose groups were given 0.25 g·kg<sup>-1</sup> BW, 0.5 g·kg<sup>-1</sup> BW, 1.0 g·kg<sup>-1</sup> BW *A. chinensis* active peptide. The results showed that the body weight of the immunosuppressed mice in dose groups was significantly increased ( $P<0.05$ ), and the thymus index of the immune organ indexes were remarkably improved ( $P<0.05$ ) after being stimulated by the active peptides of *Acetes chinensis*. The serum levels of immunoglobulins (IgA, IgG, and IgM) and cytokines (IL-2, IL-6, and TNF- $\alpha$ ) in mice were enhanced ( $P<0.05$ ), and the total number of peripheral blood leukocytes was increased. In addition, NK cells activity was also significantly enhanced ( $P<0.05$ ). To sum up, the active

收稿日期: 2022-08-15

基金项目: 国家重点研发计划(低值水产品副产物高值化利用与新产品创制, 2019YFD0902000)。

作者简介: 杨志艳(1994-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 生物活性肽功能, E-mail: 2447231397@qq.com。

\* 通信作者: 李晓晖(1975-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品微生物, E-mail: xhli@shou.edu.cn。

peptides of *A. chinensis* could improve the immune function damage caused by immunosuppression, and the immunoregulatory function of immunosuppressed mice.

**Key words:** *Acetes chinensis*; enzymatic hydrolysis; immunosuppressed mice; immunoregulation

近年来,慢性疾病发生率增多且往低龄化发展,这可能与压力、不健康的生活方式或微生物感染有关,导致自身免疫力降低,进而引起身体疾病的发生。因此,增强免疫力越来越受到人们的关注。研究表明,食源性蛋白水解物具保护机体免受病原体入侵的重要作用<sup>[1-4]</sup>。海洋生物拥有丰富的蛋白质,已成为免疫活性肽研究的重要资源。有报道,等边浅蛤的酶解产物<sup>[4]</sup>可以促进机体抗体生成,增强 NK 细胞活性;鲍鱼水解肽<sup>[5]</sup>除了具有清除自由基的能力外,还对 NK 细胞活性有影响,可增强 NK 细胞对 T 淋巴细胞的应答,提高机体的非特异性免疫;海参肽<sup>[6]</sup>可以通过对 T 细胞、B 细胞的增殖来提高免疫力低下小鼠的免疫功能;牡蛎多肽<sup>[7]</sup>能促进免疫抑制小鼠细胞因子分泌,刺激机体特异性免疫调节系统,提高 IL-2、IFN- $\gamma$ 、IL-4 等细胞因子的相对 mRNA 水平。此外,有学者分析发现许多海洋生物活性肽含有不寻常结构衍生出空间因子,使其对胃蛋白酶的水解作用具有更强的抵抗力<sup>[8-10]</sup>。食源性活性肽通常比合成药物更安全,免疫原性更低<sup>[11]</sup>,并且具有更强的疗效、更高的选择性和特异性<sup>[12]</sup>。因此,海洋生物免疫调节肽在食品和医药行业有巨大开发潜力,有待更多的发掘。

中国毛虾(*Acetes chinensis*)又名小白虾、苗虾等,是我国特有的毛虾品种,主要分布于中国东部和南部的陆架海。毛虾经济价值低,却富含蛋白质,因此可作为食源性生物活性肽研究的良好原料。已有研究报道,毛虾蛋白水解物中含具有生物活性功能的多肽。如利用芽孢杆菌 SM98011 的粗蛋白酶分解毛虾所得水解液和超滤液具有良好抗氧化活性,此外,其对血管紧张素转换酶(ACE)也有较好的抑制作用<sup>[13]</sup>。曹文红等<sup>[14]</sup>利用十种蛋白酶分别水解毛虾,结果表明酶解产物均具有清除羟自由基的效果,另外,其通过分离纯化从毛虾的胃蛋白酶水解产物中获得了降压肽<sup>[15]</sup>。基于以上研究,推测毛虾的活性肽还可能具备其他潜在功能作用,如免疫调节作用,目前该方面研究未见报道。因此,本文通过建立免疫低下小鼠模型,探讨毛虾活性肽的体内免疫调节作用,以期提高毛虾在食品行业以及医药领域的开发应用价值,并提供一定理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

毛虾 购于浙江舟山;YAC-1 细胞 由武汉普诺塞生命科技有限公司提供;SPF 级 BALB/c 小鼠(雄性) 由上海市计划生育科学研究所实验动物经营部提供,共 72 只,体重  $18 \pm 2$  g,年龄 6~8 周。实验动物合格编号:2018000603362,动物实验伦理审查

批准编号:SHOU-DW-21-079;菠萝蛋白酶(酶活力 77936 U) 购自南宁自东恒华道生物科技有限责任公司;胎牛血清 购自北京莱科百奥生物技术有限公司;RPMI-1640 培养基、青/链霉素双抗 购自维森特生物技术(南京)有限公司;TNF- $\alpha$ 、IL-6 试剂盒 购自上海寰申生物科技有限责任公司;IL-2 购自上海傲益生物科技有限公司;盐酸左旋咪唑(LMS) 购自北京润泽康生物科技有限责任公司;环磷酰胺(CTX) 购自广州市鲁诚生物科技有限责任公司;CCK-8 购自北京酷来搏科技有限公司;小鼠免疫球蛋白(IgA、IgG、IgM)ELISA 试剂盒 购自上海研恬生物科技有限责任公司。

CL-40M 高压灭菌锅 广州市璟骐仪器有限公司;BB 150 CO<sub>2</sub> 培养箱 北京信立方科技发展股份有限公司;DW-86L338 -80 °C 超低温冰箱 北京爱立斯生物科技有限公司;ACE-4A1 超净工作台 益世科(上海)企业发展有限公司;CKX41 倒置显微镜 上海通灏光电科技有限公司;TD3(800B)低速自动平衡离心机 上海霏振仪器设备有限公司;DLK0003002 酶标仪 北京德利卡生物技术有限公司;CHRIST ALPHA1-2 冷冻干燥机 广东中冷制冷科技有限公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 毛虾活性肽的制备 毛虾原料经绞碎制成虾糜,按料液比 1:4 将虾糜与蒸馏水混合,于 90 °C 水浴 15 min 以灭内源酶,灭酶结束待冷却调节 pH8.0,加入菠萝蛋白酶于 55 °C 恒温酶解 3 h,之后终止酶解(90 °C,水浴 15 min),冷却,离心(10000 r/min, 20 min),再经超滤(10 kDa)和冷冻干燥,最后获得毛虾活性肽冻干粉,备用。基于前期制备工艺试验结果,所得毛虾活性肽中蛋白质含量为  $80.72\% \pm 0.48\%$ ,分子量分布测定结果显示 >10 kDa 占 0.33%,5~10 kDa 占 4.22%,3~5 kDa 占 2.49%,1~3 kDa 占 38.19%,<1 kDa 占 54.82%。

1.2.2 小鼠分组及建模 正式实验前适应环境 7 d,环境温度  $25 \pm 1$  °C,昼夜交替 12 h,自由饮食。

利用环磷酰胺诱导建立免疫低下小鼠模型,以给予盐酸左旋咪唑的小鼠为阳性对照组,其它设立正常对照组、低、中、高剂量组。对小鼠进行随机分组,每组 12 只。

在小鼠适应环境 7 d 后,除正常对照组外,其余五组以  $80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  BW CTX 灌胃 3 d 建立免疫低下小鼠模型<sup>[16]</sup>,第 4 d 起,每天按低、中、高剂量即  $0.25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  BW、 $0.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  BW、 $1.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  BW 灌胃受试样品一次,正常对照组和模型组灌以等量的 0.9% g/mL 生理盐水(NS);阳性对照组以  $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$

BW LMS 进行灌胃<sup>[17]</sup>, 给药 15 d。末次给药 24 h 后, 进行处理以及相关指标测定。

1.2.3 体重及免疫器官指数 记录实验室小鼠的建模前、后体重以及最终体重。末次给药 24 h 后, 称重, 摘取小鼠眼球收集血液<sup>[18]</sup>, 然后立即断颈处死, 取其脾脏和胸腺, 清除结缔组织后称重。根据公式(1)计算:

$$\text{胸腺或脾脏指数(mg/g)} = \frac{\text{胸腺或脾脏质量}}{\text{体重}} \quad \text{式(1)}$$

1.2.4 血清中免疫球蛋白含量测定 小鼠眼球血经 4 ℃ 静置 2 h 后, 以 5000 r/min 离心 15 min 制备血清。收集小鼠血清, 根据酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒的操作说明, 测定小鼠血清中 IgA、IgG、IgM 免疫球蛋白的质量浓度。

1.2.5 血清中细胞因子含量测定 按照相应 ELISA 试剂盒操作说明, 测定血清中 TNF- $\alpha$ 、IL-2、IL-6 含量。

1.2.6 NK 细胞活力测定 小鼠断颈处死后浸泡于 75% 酒精中, 随后在无菌条件下分离脾。将脾脏置于装有 RPMI-1640 培养基的培养皿中, 去除结缔组织, 用针头反复敲打脾脏直至脾脏透明, 然后将脾脏单细胞悬液过细胞滤网(70  $\mu\text{m}$ ), 收集滤液, 1100 r/min 离心 5 min, 弃上清, 用 RPMI-1640 完全培养基重悬得到脾细胞悬液, 台盼蓝染色确定细胞存活率大于 95% 方可用于实验。

参考乔石等<sup>[19]</sup>的方法, 稍作改动。RPMI-1640 完全培养基调整脾细胞悬液密度为  $5 \times 10^6$  个/mL, 作为效应细胞。实验组: 96 孔板中加入效应细胞和靶细胞各 100  $\mu\text{L}$ , 且效靶比为 50:1; 靶细胞对照组: 100  $\mu\text{L}$  YAC-1 细胞悬液和 100  $\mu\text{L}$  RPMI-1640 完全培养基; 效应细胞对照组: 100  $\mu\text{L}$  效应细胞悬液和 100  $\mu\text{L}$  RPMI-1640 完全培养基。37 ℃ 孵育 4 h 后向每孔添加 10  $\mu\text{L}$  CCK-8, 37 ℃ 继续孵育 2 h, 用酶标仪于 490 nm 处测 OD 值, NK 细胞杀伤率计算公式(2)如下:

$$\text{NK细胞杀伤率(\%)} = \left(1 - \frac{\text{实验组OD值} - \text{效应细胞组OD值}}{\text{靶细胞组OD值}}\right) \times 100 \quad \text{式(2)}$$

1.2.7 外周血白细胞总数测定 参考文献 [20]。取

小鼠血液, 用 2% 醋酸稀释 20 倍, 充分混合后, 在显微镜下使用计数板计数白细胞数量。

### 1.3 数据处理

数据以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示, 使用 OriginPro 9.0 和 SPSS 软件进行数据处理和显著性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 毛虾活性肽对免疫抑制小鼠体重和免疫器官指数的影响

由表 1, 摄入 CTX 后, 小鼠体重下降, 这可能是因为 CTX 诱导免疫抑制小鼠的生长代谢能力发生阻滞, 引起动物食欲下降<sup>[21]</sup>。经给予毛虾活性肽 15 d 后, 小鼠体重逐渐增加。此外, 免疫抑制剂还会引起小鼠脾脏和胸腺组织学病变<sup>[22]</sup>, 如细胞数减少、结构疏散, 从而导致免疫器官质量变化。观察小鼠脾脏和胸腺指数, 与正常对照组相比, 模型组胸腺指数明显降低( $P < 0.05$ ); 相较于模型组, 阳性对照组和剂量组的胸腺指数显著提高( $P < 0.01$ ); 阳性组对照组与剂量组之间的脾脏指数无统计学差异( $P > 0.05$ )。在探究活性肽免疫调节作用的研究中, 免疫低下小鼠表现出免疫器官的质量增加<sup>[7]</sup>。由此可表明毛虾活性肽对改善免疫抑制小鼠体重损失以及免疫器官发育具有潜在能力。

### 2.2 毛虾活性肽对免疫抑制小鼠血清中免疫球蛋白含量的影响

免疫球蛋白是浆细胞分泌的蛋白质, 可与各种病原体结合并促进其消除, 有助于免疫系统内稳态和自我耐受性的维持。主要有 IgM、IgD、IgG、IgA 和 IgE 五种类型, 其中 IgA、IgG 和 IgM 是哺乳动物的主要免疫球蛋白。有研究报道, CTX 会引起小鼠免疫球蛋白 IgA、IgM、IgG 水平降低<sup>[23]</sup>, 而免疫活性肽可提高其水平以增强免疫低下小鼠体液免疫能力<sup>[24]</sup>。由图 1, 与正常对照组相比, 模型组小鼠的血清中 IgA、IgG 和 IgM 水平降低, 组间具有统计学差异( $P < 0.05$ ); 与模型组相比, 剂量组小鼠血清 IgA、IgG 和 IgM 水平呈上升趋势, 说明免疫低下小鼠的免疫球蛋白水平对毛虾活性肽具有剂量依赖性。此外, 阳性对照组与模型组比较不具统计学差异( $P > 0.05$ ), 而高剂量组分别与模型组和阳性对照组比较均具有显著统计学差

表 1 毛虾活性肽对免疫抑制小鼠体重和免疫器官指数的影响

Table 1 Effects of peptides from *A. chinensis* on the body weight and immune organ index in immunosuppressed mice

组别	初体重(g)	建模后体重(g)	终体重(g)	胸腺指数(mg·g <sup>-1</sup> )	脾脏指数(mg·g <sup>-1</sup> )
正常对照组	18.69 $\pm$ 0.95	18.94 $\pm$ 0.78	19.26 $\pm$ 0.79	1.51 $\pm$ 0.24	5.62 $\pm$ 0.28
模型组	18.69 $\pm$ 0.71	17.59 $\pm$ 1.13*	18.97 $\pm$ 0.63	1.31 $\pm$ 0.37*	4.58 $\pm$ 0.22
阳性对照组	18.91 $\pm$ 0.60	17.47 $\pm$ 1.02	19.38 $\pm$ 0.62	1.69 $\pm$ 0.26##	5.44 $\pm$ 0.27
低剂量组	18.95 $\pm$ 0.95	17.72 $\pm$ 1.28	19.75 $\pm$ 0.78	1.67 $\pm$ 0.23##	5.43 $\pm$ 0.47
中剂量组	17.90 $\pm$ 0.53	16.79 $\pm$ 0.83	19.93 $\pm$ 0.37#	1.57 $\pm$ 0.23#	5.17 $\pm$ 0.55
高剂量组	18.32 $\pm$ 0.65	17.21 $\pm$ 1.18	20.32 $\pm$ 0.92#	1.69 $\pm$ 0.44##	5.00 $\pm$ 0.76

注: \*、\*\*、\*\*\*分别表示模型组与正常对照组比较具有统计学差异( $P < 0.05$ )、具有显著统计学差异( $P < 0.01$ )、具有极显著统计学差异( $P < 0.001$ ); #、##、###分别表示阳性对照组和剂量组与模型组比较具有统计学差异( $P < 0.05$ )、具有显著统计学差异( $P < 0.01$ )、具有极显著统计学差异( $P < 0.001$ );  $\Delta$ 、 $\Delta\Delta$ 、 $\Delta\Delta\Delta$ 分别表示阳性与剂量组比较具有统计学差异( $P < 0.05$ )、具有显著统计学差异( $P < 0.01$ )、具有极显著统计学差异( $P < 0.001$ ); 图1~图3、表2同。

异( $P<0.01$ ), 表示剂量组对免疫球蛋白的刺激强度明显优于阳性对照组。由此表明毛虾活性肽可通过提升血清中免疫球蛋白含量刺激免疫抑制小鼠的免疫调节机制。

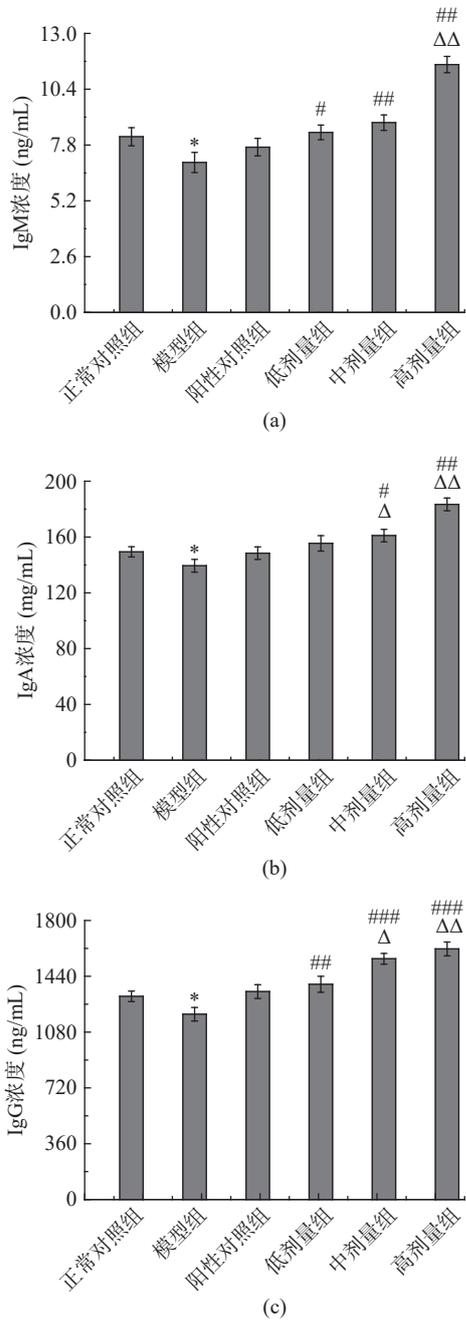


图 1 毛虾活性肽对免疫抑制小鼠分泌免疫球蛋白 IgM(a)、IgA(b)、IgG(c)的影响  
Fig.1 Effects of the active peptide of *A. chinensis* on the secretion of immunoglobulin IgM (a), IgA (b) and IgG (c) in immunosuppressed mice

### 2.3 毛虾活性肽对免疫抑制小鼠血清中细胞因子水平的影响

细胞因子是由免疫细胞产生的在免疫细胞间起到信号传递作用的蛋白质, 其释放会影响周围细胞活动。IL-2 由辅助 T 细胞产生, 可诱导 T 细胞和 B 细胞的生长分化, 能够促进 IgA 分泌<sup>[25]</sup>, 此外, IL-6 也可促进 B 细胞的增殖分化, 研究表明, 免疫活性肽可

通过影响 IL-2、IL-6 的分泌改善机体肠粘膜的免疫功能<sup>[18]</sup>。另外, TNF- $\alpha$  是炎症因子, 具有激活中性粒细胞和淋巴细胞作用, 以及促进其他细胞因子的合成与释放<sup>[8]</sup>。由图 2 可知, 与正常对照组相比, 模型组细胞因子水平显著降低, 组间具有显著统计学差异( $P<0.01$ ); 相较于模型组, 阳性对照组和剂量组小鼠血清中细胞因子含量均有提升, 其中, 中、高剂量对促进小鼠血清的 IL-2、IL-6 分泌作用极其明显, 组间具有极显著统计学差异( $P<0.001$ )。这表明, 毛虾活性肽可刺激免疫细胞和某些非免疫细胞合成和分泌细胞因子, 介导体液免疫调节机制, 参与机体的固有免疫和适应性免疫。

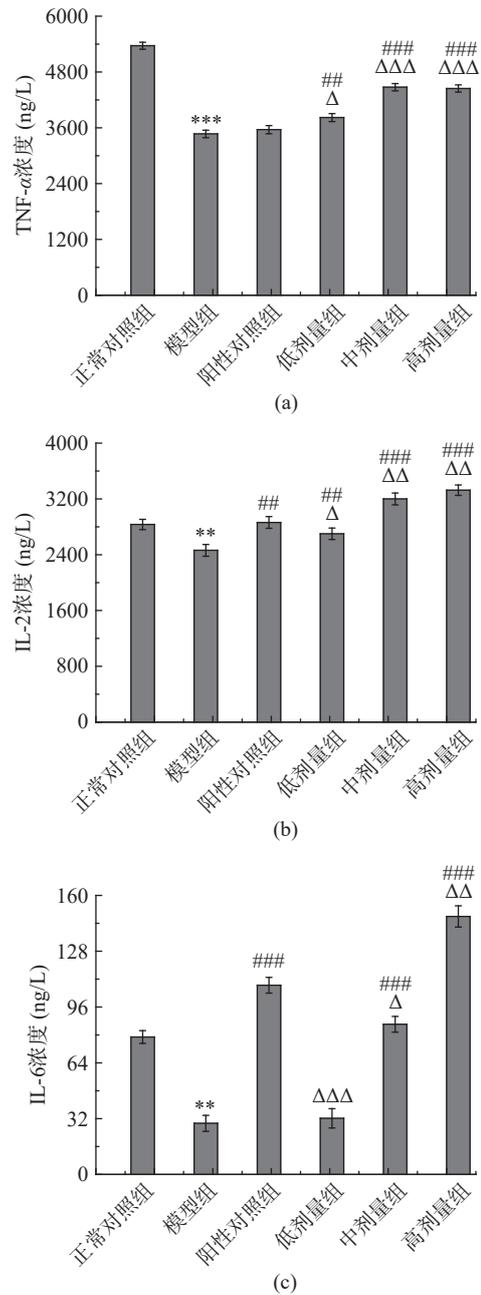


图 2 毛虾活性肽对免疫抑制小鼠分泌免疫球蛋白 TNF- $\alpha$ (a)、IL-2(b)、IL-6(c)的影响  
Fig.2 Effects of the active peptide of *A. chinensis* on the secretion of immunoglobulin TNF- $\alpha$  (a), IL-2 (b) and IL-6 (c) in immunosuppressed mice

## 2.4 毛虾活性肽对NK细胞活力的影响

NK细胞是一种自然杀伤细胞,存在于脾脏、肝脏、肺、骨髓和淋巴结中,具有细胞毒性,可分泌细胞因子,在机体内既参与固有免疫又参与适应性免疫调节。研究报道,鲍鱼水解肽可提高NK细胞的活性,增强NK细胞对T淋巴细胞的应答能力<sup>[6]</sup>。由图3可知,与正常组对照相比,模型组NK细胞活力显著降低,组间具有统计学差异( $P<0.01$ );相较于模型组,阳性对照组和剂量组NK细胞活性明显提高,组间具有显著统计学差异( $P<0.01$ ),但剂量组与阳性对照组之间无统计学差异( $P>0.05$ )。上述结果表明毛虾活性肽可能通过提高NK细胞的活性以增强机体的免疫调节能力。

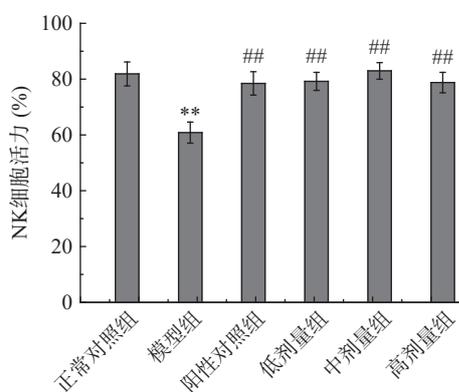


图3 毛虾活性肽对免疫抑制小鼠NK细胞活力的影响  
Fig.3 Effect of peptides from *A. chinensis* on the viability of immunosuppressed mice NK cells

## 2.5 毛虾活性肽对免疫抑制小鼠外周血白细胞总数的影响

白细胞也是免疫系统的重要组成部分,可通过吞噬作用保护机体抵御病原体入侵<sup>[26]</sup>。如表2所示,与正常对照组相比,模型组小鼠因为免疫抑制剂的作用,其体内白细胞数量下降极显著,组间具有极显著统计学差异( $P<0.001$ );相对于模型组,阳性对照组和剂量组小鼠外周血白细胞水平明显提升,组间具有显著统计学差异( $P<0.01$ ),基本都达到正常水平;阳性对照组与剂量组比较无统计学差异( $P>0.05$ )。这表明毛虾活性肽可通过提高白细胞水平增强机体的免疫应答能力,从而改善免疫调节作用。

表2 毛虾活性肽对免疫抑制小鼠外周血白细胞数量的影响  
Table 2 Effect of peptides from *A. chinensis* on the number of peripheral blood leukocytes in immunosuppressed mice

组别	正常对照组	模型组	阳性对照组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
白细胞数量 ( $10^9/L$ )	8.83±0.22	6.56±0.32***	8.28±0.45##	8.59±0.34##	8.8±0.56##	8.69±0.48##

## 3 讨论与结论

动物实验是预防、治愈和治疗各种疾病的关键部分,已成为现代医学研究不可或缺的组成部分。近

些年,通过动物实验,食源性蛋白水解物及多肽分子被证实具有免疫调节作用<sup>[6-7]</sup>。本文采用动物实验,建立免疫低下小鼠模型,考察免疫器官指数、免疫球蛋白和细胞因子水平、NK细胞活性以及白细胞总数等指标,探讨了毛虾活性肽对免疫抑制小鼠免疫调节作用的影响。

李睿珺等<sup>[18]</sup>研究发现,CTX可引起免疫器官结构紊乱,发育迟缓,而鹰嘴豆肽具有保护和修复损伤的作用。本文中,与正常对照组比较,模型组的免疫器官指数明显下降,表明CTX引起了小鼠免疫器官发育异常;与模型组相比,剂量组的胸腺指数有所提高,提示毛虾活性肽可改善小鼠因CTX引起的免疫损伤。免疫球蛋白是一类免疫活性分子,对抗原分子有特异性识别的能力,在体液免疫方面发挥重要作用<sup>[27]</sup>。其中IgG、IgM是由活化的B淋巴细胞产生,可反映机体的体液免疫调节能力<sup>[28]</sup>。本研究结果显示,相较于模型组,剂量组小鼠血清中的IgA、IgG和IgM水平有所提高,提示毛虾活性肽对小鼠的体液免疫机制具有刺激作用。细胞因子可通过与T细胞、B细胞等免疫细胞表面相应的受体结合,而在免疫应答调控方面发挥作用。CD4<sup>+</sup>T细胞可分化成多种效应T细胞亚群,其特征是产生特异性细胞因子,如Th1细胞分泌IFN- $\gamma$ 、IL-2、IL-12和TNF- $\beta/\alpha$ 等,介导巨噬细胞活化,杀伤胞内病原体,在细胞免疫中发挥作用;Th2细胞分泌IL-4、IL-5、IL-6和IL-10等,其功能是刺激B细胞增殖并产生抗体,在体液免疫中发挥作用<sup>[29]</sup>。在本文中,与模型组相比,剂量组对TNF- $\alpha$ 、IL-2、IL-6的影响呈浓度相关性,提示毛虾活性肽可通过刺激免疫低下小鼠的细胞因子分泌介导免疫调节,从而改善免疫系统,该结果与刘淑集等<sup>[30]</sup>的结论相符。此外,相较于模型组,CTX诱导后的小鼠NK细胞在毛虾活性肽的干预下活性增强,提示毛虾活性肽可能具有修复受损的NK细胞的能力,这与王敏等<sup>[6]</sup>的研究结果相一致。另外,活化后的NK细胞能够释放TNF- $\alpha$ ,这也会促使血清中的TNF- $\alpha$ 水平的提高从而增强机体的免疫能力。除此之外,与模型组相比,毛虾活性肽提高了小鼠外周血白细胞水平,提示其具有消除CTX诱导导致白细胞异常的炎症反应。

综上所述,毛虾活性肽可通过刺激细胞和体液免疫系统提高CTX诱导的免疫抑制小鼠的免疫力,为利用毛虾活性肽开发增强免疫功能的产品提供了研究基础。但本文的毛虾活性肽尚待进一步纯化和肽序列测定,以探究多肽的结构与活性之间的构效关系及其具体作用机制。

### 参考文献

- [1] LOZANO-OJALVO D, MOLINA E, LÓPEZ-FANDIÑO R. Hydrolysates of egg white proteins modulate T- and B-cell responses in mitogen-stimulated murine cells[J]. *Food Funct*, 2016, 7(2): 1048-1056.
- [2] MA J J, MAO X Y, WANG Q, et al. Effect of spray drying

- and freeze drying on the immunomodulatory activity, bitter taste and hygroscopicity of hydrolysate derived from whey protein concentrate[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2014, 56(2): 296–302.
- [ 3 ] KARNJANAPRATUM S, O'CALLAGHAN Y C, BENJAKUL S, et al. Antioxidant, immunomodulatory and antiproliferative effects of gelatin hydrolysate from unicorn leatherjacket skin [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2016, 96(9): 3220–3226.
- [ 4 ] CAI B N, PAN J Y, WU Y T, et al. Immune functional impacts of oyster peptide-based enteral nutrition formula (OPENF) on mice: a pilot study[J]. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 2013, 31(4): 813–820.
- [ 5 ] 丁霁希, 章超桦, 高加龙, 等. 等边浅蛤肉酶解产物超滤组分免疫调节作用[J]. *广东海洋大学学报*, 2020, 40(3): 114–121. [ DING P X, ZHANG C H, GAO J L, et al. Immunomodulatory effects of the ultrafiltration fractions of enzymatic hydrolysates from the edible part of *Gomphina aequilatera*[J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2020, 40(3): 114–121. ]
- [ 6 ] 王敏, 卢赛, 张曾亮, 等. 鲍鱼水解肽的抗氧化、抗炎及免疫调节作用[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(5): 282–288. [ WANG M, LU S, ZHANG Z L, et al. Antioxidant, anti-inflammatory and immunomodulatory effects of abalone hydrolytic peptide[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2021, 42(5): 282–288. ]
- [ 7 ] 乐卿清, 廖翼江, 汤桂秋, 等. 海参肽提高免疫力的功效评价[J]. *现代食品*, 2021(10): 111–114. [ LE Q Q, LIAO Y J, TANG G J, et al. Evaluation of the efficacy of sea cucumber peptides in improving immunity[J]. *Modern Food*, 2021(10): 111–114. ]
- [ 8 ] 许丹, 林峰, 朱小语, 等. 牡蛎肽对免疫抑制小鼠免疫功能的影响[J]. *北京大学学报(医学版)*, 2016, 48(3): 392–397. [ XU D, LIN F, ZHU X Y, et al. Immunomodulatory effect of oyster peptide on immunosuppressed mice[J]. *Journal of Peking University(Health Sciences)*, 2016, 48(3): 392–397. ]
- [ 9 ] SHINNAR A E, BUTLER K L, PARK H J. CATHELICIDIN family of antimicrobial peptides: Proteolytic processing and protease resistance[J]. *Bioorganic Chemistry*, 2003, 31(6): 425–436.
- [ 10 ] PHYO Y Z, RIBEIRO J, FERNANDES C, et al. Marine natural peptides: Determination of absolute configuration using liquid chromatography methods and evaluation of bioactivities[J]. *Molecules*, 2018, 23: 306.
- [ 11 ] VLIEGHE P, IISOWSKI V, MARTINEZ J, et al. Synthetic therapeutic peptides: Science and market[J]. *Drug Discovery Today*, 2009, 15(1-2): 40–56.
- [ 12 ] FOSGERAU K, HOFFMANN T. Peptide therapeutics: Current status and future directions[J]. *Drug Discovery Today*, 2015, 20(1): 122–128.
- [ 13 ] HE H, CHEN X, SUN C, et al. Preparation and functional evaluation of oligopeptide-riched hydrolysate from shrimp (*Acetes chinensis*) treated with crude protease from *Bacillus* sp. SM98011 [J]. *Bioresource Technology*, 2006, 97(3): 385–390.
- [ 14 ] 曹文红, 章超桦, 吉宏武, 等. 酶解中国毛虾制备清除羟自由基活性产物的研究[J]. *食品工业科技*, 2007(12): 110–113. [ CAO W H, ZHANG C H, JI H W, et al. Study on the preparation of hydroxyl radical scavenging active products by enzymatic hydrolysis of *Acetes chinensis*[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2007(12): 110–113. ]
- [ 15 ] JIANG Z, TIAN R, BRODKORB R, et al. Production, analysis and *in vivo* evaluation of novel angiotensin-I-converting enzyme inhibitory peptides from bovine casein[J]. *Food Chemistry*, 2010, 123(3): 779–786.
- [ 16 ] MENG M, GUO M Z, FENG C C, et al. Watersoluble polysaccharides from *Grifola frondosa* fruiting bodies protect against immunosuppression in cyclophosphamide-induced mice via JAK2/STAT3/SOCS signal transduction pathways[J]. *Food & Function*, 2019, 10(8): 4998–5007.
- [ 17 ] 叶雪丹, 徐彤彤, 陆园园, 等. 盐酸左旋咪唑对免疫低下小鼠免疫功能的影响[J]. *中国临床药理学杂志*, 2019, 35(6): 550–552, 570. [ YE X D, XU D D, LU Y Y, et al. Effect of levamisole hydrochloride on the immune function in immunosuppressed mice[J]. *The Chinese Journal of Clinical Pharmacology*, 2019, 35(6): 550–552, 570. ]
- [ 18 ] 李睿璐, 秦勇, 周雅琳, 等. 鹰嘴豆肽对免疫低下小鼠免疫功能的影响[J]. *食品科学*, 2020, 41(21): 133–139. [ LI R J, QIN Y, ZHOU Y L, et al. Effect of chickpea peptide on immune function of immunocompromised mice[J]. *Food Science*, 2020, 41(21): 133–139. ]
- [ 19 ] 乔石, 闵思明, 甘思言, 等. 太子参参须多糖对免疫抑制小鼠脾脏损伤的修复作用研究[J]. *中国预防兽医学报*, 2021, 43(9): 991–997. [ QIAO S, MIN S M, GAN S Y, et al. Repairing effect of *Radix Pseudostellariae* fibrous root polysaccharides on spleen injury in immunosuppressed mice[J]. *Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine*, 2021, 43(9): 991–997. ]
- [ 20 ] 王蓉, 李胜男, 陈春, 等. 沙棘多糖对巨噬细胞和免疫抑制小鼠的免疫调节作用研究[J]. *中南药学*, 2020, 18(3): 384–388. [ WANG R, LI S N, CHEN C, et al. Immunomodulatory effect of *hippophae rhamnoides* polysaccharide on the macrophages and cyclophosphamide-induced immunocompromised mice[J]. *Central South Pharmacy*, 2020, 18(3): 384–388. ]
- [ 21 ] 伍维高, 钟金凤. 环磷酰胺构建动物免疫抑制模型的研究进展[J]. *中国兽医杂志*, 2019, 55(2): 87–89. [ WU W G, ZHONG J F. Research progress on the establishment of animal immunosuppression model with cyclophosphamide[J]. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2019, 55(2): 87–89. ]
- [ 22 ] 王亚非, 于森森, 于悦, 等. 鹰嘴豆多肽的免疫活性研究[J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2021, 49(12): 127–136. [ WANG Y F, YU M M, YU Y, et al. Immunological activity of chickpea polypeptides[J]. *Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition)*, 2021, 49(12): 127–136. ]
- [ 23 ] 宋雁, 贾旭东, 崔文明, 等. 不同途径和剂量环磷酰胺建立小鼠免疫抑制模型的对比研究[J]. *中国食品卫生杂志*, 2013, 25(3): 218–225. [ SONG Y, JIA X D, CUI W M, et al. Comparison research of immunosuppression models induced by different ways and doses of cyclophosphamide in mice[J]. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2013, 25(3): 218–225. ]
- [ 24 ] 胡旭阳. 日本黄姑鱼肉活性肽的制备及其免疫调节作用研究[D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2019. [ HU X Y. Study on the prepa-

- ration and immunomodulatory effect of active peptide from *Nibea japonica*[D]. Zhoushan: Zhejiang Ocean University, 2019. ]
- [ 25 ] 谢天宇, 胡红莲, 高民. 肠黏膜免疫屏障及其保护措施[J]. *动物营养学报*, 2014, 26(5): 1157-1163. [ XIE T Y, HU H L, GAO M. Gut mucosal immune barrier and the protective measures[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2014, 26(5): 1157-1163. ]
- [ 26 ] 王煜, 李芹, 王玉海, 等. 金线莲液在改善环磷酰胺致免疫抑制小鼠免疫功能中的作用研究[J]. *医学理论与实践*, 2017, 30(22): 3293-3295, 3304. [ WANG Y, LI Q, WANG Y H, et al. Study on Effect of *Anoectochilus roborghii* on improving immune function in mice immunized by cyclophosphamide[J]. *The Journal of Medical Theory and Practice*, 2017, 30(22): 3293-3295, 3304. ]
- [ 27 ] 穆杨, 周恩民. 抗独特型抗体研究进展[J]. *中国免疫学杂志*, 2016, 32(11): 1691-1698. [ MU Y, ZHOU E M. Advances in research of anti-idiotypic antibody[J]. *Chinese Journal of Immunology*, 2016, 32(11): 1691-1698. ]
- [ 28 ] 孟菲, 宗雯雯, 王纯, 等. 日本虫草子实体多糖抗氧化及免疫调节作用[J]. *菌物学报*, 2020, 39(7): 1391-1399. [ MENG F, ZONG W W, WANG C, et al. Antioxidant activities and immunomodulatory effects of the polysaccharides from fruiting bodies of *Cordyceps japonica*[J]. *Mycosystema*, 2020, 39(7): 1391-1399. ]
- [ 29 ] 淮文英, 杨福权, 唐玉琴, 等. 表观遗传学调控 Th 细胞分化发育的研究进展[J]. *生物学杂志*, 2016, 33(4): 70-72. [ HUAI W Y, YANG F Q, TANG Y Q, et al. The research progress of epigenetic regulation of T helper cell differentiation[J]. *Journal of Biology*, 2016, 33(4): 70-72. ]
- [ 30 ] 刘淑集, 许旻, 苏永昌, 等. 牡蛎寡肽对免疫低下小鼠模型免疫功能的影响[J]. *华南师范大学学报(自然科学版)*, 2018, 50(2): 70-76. [ LIU S J, XU M, SU Y C, et al. Effect of oyster oligopeptide on immunologic function in immunosuppressive mice[J]. *Journal of South China Normal University(Natural Science Edition)*, 2018, 50(2): 70-76. ]