

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2022.01.013

阿尔祖古丽·阿卜力米提, 李敬双, 金鑫, 等. 苦瓜多糖对小鼠淋巴细胞免疫调节作用的影响[J]. 粮油食品科技, 2022, 30(1): 105-112.
ARZUGUL · A, LI J S, JIN X, et al. Effect of momordica charantia polysaccharide on lymphocyte immune regulation in mice [J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2022, 30(1): 105-112.

苦瓜多糖对小鼠淋巴细胞免疫调节作用的影响

阿尔祖古丽·阿卜力米提¹, 李敬双², 金鑫¹, 于洋¹✉

(1. 锦州医科大学 食品科学与工程学院, 辽宁 锦州 121001;
2. 锦州医科大学 畜牧兽医学院, 辽宁 锦州 121001)

摘要: 以苦瓜多糖 (MCP) 为研究对象, 在细胞和分子水平上探讨其对小鼠脾淋巴细胞的免疫调节作用机制。以空白组和左旋咪唑组为对照, 小鼠脾淋巴细胞经不同质量浓度 (40, 80, 160, 320 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 的 MCP 体外刺激, 检测 MCP 对小鼠脾淋巴细胞增殖的影响, 腹腔巨噬细胞的吞噬活性, 淋巴细胞上清液中 IL-4、IFN- γ 、IL-6 和 IL-12 分泌与 mRNA 表达水平。分析发现, 与空白组相比, 随浓度的升高细胞增殖指数倍数增长 ($P < 0.05$), MCP 能不同程度的促进细胞增殖、不同程度的增强巨噬细胞的吞噬能力 ($P < 0.05$); 与空白组相较, 细胞因子 IL-4、IFN- γ 、IL-6 和 IL-12 的分泌量最大增幅分别为: 42.73%、18%、27.81%、29.42%; IL-4、IFN- γ 、IL-6 和 IL-12 的 mRNA 表达显著上升, 最高表达水平分别为空白组的 9.18、7.53、9.37、8.95 倍, 存在显著性差异 ($P < 0.05$)。结果表明, MCP 能有效提高细胞因子 IL-4、IFN- γ 、IL-6 和 IL-12 的分泌和 mRNA 表达水平, 促进细胞增殖, 增强巨噬细胞的吞噬活性, 从而提高机体免疫功能。

关键词: 苦瓜多糖; 脾淋巴细胞; 细胞增殖; 巨噬细胞; 细胞因子; mRNA

中图分类号: TS255.1 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2022)01-0105-08

网络首发时间: 2022-01-07 20:08:33

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3863.TS.20220107.1519.027.html>

Effect of Momordica Charantia Polysaccharide on Lymphocyte Immune Regulation in Mice

ARZUGUL · Ablimiti¹, LI Jing-shuang², JIN Xin¹, YU Yang¹✉

(1. College of Food Science and Engineering, Jinzhou Medical University, Jinzhou, Liaoning 121001, China;
2. College of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Jinzhou Medical University, Jinzhou, Liaoning 121001, China)

Abstract: This study aims to investigate the immunomodulatory effect of Momordica charantia polysaccharide (MCP) on mice spleen lymphocytes and its potential mechanism at the cellular and molecular levels.

收稿日期: 2021-10-29

基金项目: 辽宁省自然科学基金 (20170540369)

Supported by: Natural Science Foundation of Liaoning, China (No.20170540369)

作者简介: 阿尔祖古丽·阿卜力米提, 女, 1996 年出生, 在读研究生, 研究方向为功能因子与健康的相关性。

E-mail: guzal_arzu@163.com.

通讯作者: 于洋, 男, 1962 年出生, 博士, 教授, 研究方向为功能因子与健康的相关性。E-mail: spyuyang@163.com.

Compared with the blank group and levamisole group, mice spleen lymphocytes are stimulated by MCP with different concentrations (40, 80, 160, 320 $\mu\text{g}/\text{mL}$) in vitro. The effects of MCP on the proliferation of mice spleen lymphocytes, phagocytic activity of peritoneal macrophages, secretion and mRNA expression of IL-4, IFN- γ , IL-6 and IL-12 in lymphocyte supernatant are examined. The results show that compared with the blank group, the cell proliferation index increases exponentially as the concentration ($P < 0.05$) raises, and MCP promotes cell proliferation in different degrees. MCP enhances phagocytosis of macrophages in different degrees ($P < 0.05$). Compared with the blank group, the secretion of cytokines IL-4, IFN- γ , IL-6 and IL-12 all increase, with the largest increase being 42.73%, 18%, 27.81% and 29.42%, respectively. The mRNA expressions of IL-4, IFN- γ , IL-6 and IL-12 increase significantly, and the highest expression levels are 9.18 times, 7.53 times, 9.37 times and 8.95 times of the blank group, respectively, with significant difference ($P < 0.05$). It is understood that MCP can effectively improve the secretion and mRNA expression of cytokines IL-4, IFN- γ , IL-6 and IL-12, and promote cell proliferation, enhance phagocytic activity of macrophages, thus improving the immune function of the body.

Key words: Momordica charantia polysaccharide(MCP); spleen lymphocytes; cell proliferation; macrophage; cytokine; mRNA

苦瓜是葫芦科苦瓜属植物 (*Momordica charantia* L.) 果实, 是传统的药食两用植物, 具有多种药理活性。从苦瓜果实中提取的苦瓜多糖 (*Momordica charantia* polysaccharide, MCP) 是一类杂多糖, 主要含有半乳糖醛酸、半乳糖以及葡萄糖等单糖, 是苦瓜的主要有效成分, 具有提高免疫力、抗肿瘤^[1]、降血糖^[2]、抗疲劳^[3]、抗氧化损伤^[4]等功效。苦瓜中含有多种有益成分, 其中多糖是目前研究的热点之一, 多糖广泛应用于临床、农业、食品领域中。目前对 MCP 活性作用的研究也越来越多, 杜国丰等^[5]对比 MCP 及其铁络合物对四氧嘧啶致高血糖小鼠模型的降血糖作用, 结果表明, MCP 及其铁络合物给药组都能显著降低高血糖模型小鼠的血糖水平, 且 MCP 铁降血糖效果更显著。于志江等^[6]研究 MCP 对一次性力竭运动后小鼠疲劳缓解及氧化损伤影响。结果表明, MCP 具有显著的抗疲劳功效, 可减轻大强度运动后自由基造成的氧化损伤, 促进机体功能恢复。然而, 目前还缺乏对 MCP 的功能作用及各种机制的研究, MCP 的研究方向在降血糖作用和抗氧化功能方面较多, 鲜有关于 MCP 免疫调节作用及其机制方面的报道, 在 MCP 活性研究中还存在待研究的问题。因此, 本实验从细胞增殖、巨噬细胞吞噬能力、细胞因子以及 mRNA 表达方面观察 MCP 对小鼠脾淋巴细胞的影响, 从而阐述

MCP 免疫调节活性及其作用机制, 为 MCP 的开发研究及其在功能食品以及各领域中的广泛利用提供有力的依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

Balb/c 小鼠 SPF 级, 体重 (18 ± 22) g, 6~8 周龄: 锦州医科大学生命科学院 (生产许可证号 SCXK (辽) 2014-0004); 苦瓜多糖 (MCP): 晨光生物技术有限公司提供; 胎牛血清, 无噬菌体、内毒素含量极低, 适合于细胞株的保藏及组织器官培养, 单抗研制: 浙江天杭生物科技有限公司; 甲基噻唑蓝 (MTT)、台盼蓝、RPMI-1640、二甲基亚砷 (DMSO)、PBS 和氯仿: 京索莱宝科技有限公司; Trizol: 碧云天生物技术; 小鼠 IL-4、IL-6、IFN- γ 和 IL-12 细胞因子检测试剂盒: 上海酶联生物科技有限公司。

1.2 仪器与设备

Varioskan FlashT 多功能酶标仪: Thermo Fisher Scientific; SW-CJ-1F 型超净工作台: 苏州净化设备有限公司; CKX41SF 倒置显微镜: 日本 OLYMPUS 公司; TD5A 低速离心机: 湖南赫西仪器装备有限公司; TDL80-2B 96 孔或 24 孔板台式离心机: 上海安亭; CO₂ 培养箱: 美国 SHELLAB; FA2004 型电子天平: 上海精密科学仪器有限公司; 实时荧光定量 PCR 仪: 德国 Eppendorf 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 苦瓜多糖制备

精选原料—原料清洗—浓缩提取—浓缩干燥—粉碎灭菌等步骤，经纯化制取，纯度 $\geq 90\%$ 。

1.3.2 淋巴细胞悬液制备

小鼠用颈部断髓法处死后取脾，无菌分离收集其淋巴细胞于离心管中离心，弃上清，裂解其中红细胞，配置淋巴细胞悬液，进行细胞计数并检测其活力，使细胞活力达95%以上，调整细胞密度为 5×10^6 个/mL。

1.3.3 分组及处理

实验设空白组、左旋咪唑组、MCP处理组，每组均设5个重复，每孔加入淋巴细胞悬液。空白组每孔加入完全培养基，阳性对照组每孔加入含有左旋咪唑（终浓度为 $5 \mu\text{g/mL}$ ）和完全培养基；MCP处理组每孔加入含不同浓度MCP（终浓度为终浓度为40、80、160、320 $\mu\text{g/mL}$ ）和完全培养基。

1.3.4 MTT法检测MCP对淋巴细胞增殖的影响

按1.3.3实验分组及处理各浓度组后，使用96孔细胞培养板， 37°C 、 $5\%\text{CO}_2$ 培养后，加入MTT液，用酶标仪测定 OD_{570} 值，进一步判断小鼠脾淋巴细胞增殖率。

$$PI = \frac{\text{实验组OD值}}{\text{对照组OD值}} \times 100\%$$

1.3.5 检测小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬能力

小鼠断颈处死后，腹腔注射5 mL PBS，轻柔腹部，收集腹腔液，离心后弃上清，用台盼蓝检测细胞活力，用RPMI-1640完全培养基使细胞悬

浮，调整细胞浓度。将调整好的细胞接种于96孔板中， 37°C 、 $5\%\text{CO}_2$ 培养条件下培养4 h，去除未贴壁的细胞，按照1.3.3加入不同浓度的MCP继续培养24 h后，弃上清，每孔加入1%的中性红溶液100 μL ，继续培养1 h，加细胞裂解液V（无水乙醇）：V（冰乙酸）=1：1后 4°C 裂解12 h，用酶标仪540 nm处测定吸光度。

1.3.6 ELISA法检测MCP对淋巴细胞分泌细胞因子的影响

按1.3.3实验分组及处理各浓度组， 37°C 、 $5\%\text{CO}_2$ 培养后，按照小鼠ELISA试剂盒说明书的操作检测上清液中细胞因子IL-4、IFN- γ 、IL-6和IL-12的分泌量。

1.3.7 MCP对IL-4、IFN- γ 、IL-6和IL-12 mRNA表达的影响

按1.3.3实验分组及处理各浓度组， 37°C 、 $5\%\text{CO}_2$ 培养后，用trizol法提取RNA，用核酸蛋白检测仪测定OD值， $\text{OD}_{260}/\text{OD}_{280}$ 的比值在1.8~2.1之间，可鉴别提取的RNA纯度较好，质量较高。按试剂盒的说明操作反转录合成cDNA，根据说明书进行PCR体系和参数设置及下一步进行扩增程序。选用 β -actin作为内参，用相对定量的分析方法 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 分析基因的相对表达量。引物序列及扩增长度见表1。

1.4 数据分析

实验数据用SPSS 20.0软件进行分析，数值以平均数 \pm 标准差（ $\bar{x} \pm s$ ）表示，采用单因素方差分析，以LSD法进行显著性差异分析。

表1 实验中小鼠IL-4、IFN- γ 、IL-6和IL-12和内参ACTB引物序列

Table 1 Mouse IL-4、IFN- γ 、IL-6 and IL-12 and internal reference ACTB primer sequences in the experiment

引物	序列	长度/bp
IL-4F	5'-CCCAGGATGCTCACCTTCA-3	69
IL-4R	5'-CCGCAGAGGTCCAAGTTCA-3	
IFN- γ F	5'-CCACTTCACAAGTCGGAGGCTTA-3	57
IFN- γ R	5'-CCAGTTTGGTAGCATCCATCATTTC-3	
IL-6F	5'-GCCAGAGCCACATGCTCCTA-3'	171
IL-6R	5'-GATAAGGCTTGGCAACCCAAGTAA-3'	
IL-12F	5'-TTCATAAGAGTCAGGTGGTCTTGG-3'	83
IL-12R	5'-CCTTTGGGGAGATGAGATGTG-3'	
β -actin F	5'-GATCCGTAAAGACCTCTATGCCAAC-3'	171
β -actin R	5'-ATGGAGCCACCGATCCACA-3'	

表2 MCP对淋巴细胞增值的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)Table 2 Effect of MPC on lymphocyte proliferation ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

组别	淋巴细胞增殖指数
空白组	1.00±0.00 ^d
左旋咪唑组	2.08±0.08 ^a
40 μg/mL MCP 组	1.26±0.24 ^c
80 μg/mL MCP 组	2.06±0.07 ^a
160 μg/mL MCP 组	1.75±0.17 ^b
320 μg/mL MCP 组	1.45±0.05 ^c

注: 用不同小写字母表示有显著性差异($P<0.05$)。下面的表格用同样方法标注。

Note: Different lower-case letters showed statistical significance ($P<0.05$). The following table is marked in the same way.

2 结果与分析

2.1 MCP对淋巴细胞增殖的影响

MCP对淋巴细胞增殖的影响如表2所示,与空白组相比,作为阳性对照组的左旋咪唑能显著地促进小鼠脾淋巴细胞的增殖($P<0.05$),且比MCP处理组最高浓度组的促进作用大;与空白组相比,不同浓度的MCP淋巴细胞刺激指数显著升高($P<0.05$),说明MCP对淋巴细胞的增殖能力有不同程度的促进作用,淋巴细胞增殖趋势随MCP浓度的升高而升高,两者之间呈良好的量效关系;MCP浓度升到一定程度,淋巴细胞增殖数反而显著下降,呈现出MCP双向调节作用,但相对于空白组仍然有显著增加。与左旋咪唑组相比,MCP各浓度组淋巴细胞刺激指数显著下降($P<0.05$),MCP在80 μg/mL浓度时无统计学意义($P>0.05$)。

2.2 检测小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬能力

MCP对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬能力的影响如图1显示,与正常对照组而言,阳性对照组和MCP处理组巨噬细胞吞噬中性红能力显著增加($P<0.05$),说明MCP能促进巨噬细胞的吞噬能力;与阳性对照组相比,MCP各浓度处理组的小鼠巨噬细胞吞噬能力显著下降($P<0.05$),且在MCP 80 μg/mL时,差异不显著($P>0.05$)。

2.3 MCP对淋巴细胞分泌细胞因子的影响

MCP对淋巴细胞IL-4、IFN- γ 、IL-6和IL-12分泌的影响由表3可知,与空白组相比,左旋咪唑组和MCP处理组淋巴细胞IL-4、IFN- γ 、IL-6和IL-12分泌量均显著升高($P<0.05$),说明左旋

咪唑和MCP能够诱导淋巴细胞IL-4、IFN- γ 、IL-6和IL-12的分泌;淋巴细胞IL-4、IFN- γ 、IL-6和IL-12分泌量随MCP浓度的升高而逐渐升高且呈双向调节作用。与左旋咪唑组相比,MCP为80 μg/mL浓度组淋巴细胞IL-4、IFN- γ 、IL-6和IL-12的分泌量差异不显著($P>0.05$),其余各浓度组均有统计学意义($P<0.05$)。

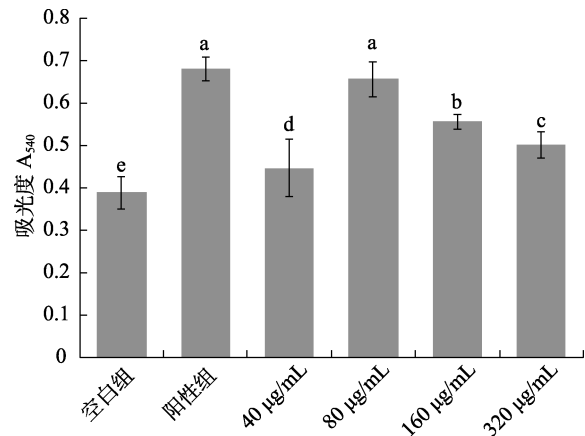


图1 MCP对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬能力的影响

Fig.1 Effect of MCP on phagocytosis of mice macrophages

注: 用不同小写字母表示有显著性差异($P<0.05$)。

Note: Different lower-case letters showed statistical significance ($P<0.05$).

2.4 MCP对淋巴细胞IL-4、IFN- γ 、IL-6和IL-12 mRNA的影响

由表4和图2~5可知,左旋咪唑组和MCP处理组淋巴细胞IL-4、IFN- γ 、IL-6和IL-12 mRNA表达均高于空白组($P<0.05$),由此说明MCP促进IL-4、IFN- γ 、IL-6和IL-12的分泌可能是通过增加IL-4、IFN- γ 、IL-6和IL-12 mRNA表达量来调节的。淋巴细胞IL-4、IFN- γ 、IL-6和IL-12 mRNA表达量随MCP浓度的升高而逐渐升高,当浓度为80 μg/mL时IL-4、IFN- γ 、IL-6和IL-12 mRNA表达量最佳,同左旋咪唑组IL-4、IFN- γ 、IL-6和IL-12 mRNA表达量相当,与左旋咪唑组相比没有显著性差异($P>0.05$);当继续升高浓度至一定程度时淋巴细胞IL-4、IFN- γ 、IL-6和IL-12 mRNA表达有下降的趋势,说明MCP对诱导淋巴细胞IL-4、IFN- γ 、IL-6和IL-12 mRNA表达呈双向调节作用。

3 讨论

3.1 MCP对淋巴细胞增殖的影响

细胞的增殖在生物体生长、发育、繁殖以及

表 3 MCP 对淋巴细胞 IL-4、IFN- γ 、IL-6 和 IL-12 分泌的影响 ($\bar{x} \pm s$, n=5)

Table 3 Effect of MPC on the secretion of IL-4、IFN- γ 、IL-6 和 IL-12 in lymphocytes ($\bar{x} \pm s$, n=5) pg/mL

组别	IL-4 含量	IFN- γ 含量	IL-6 含量	IL-12 含量
空白组	179.86 \pm 0.014 ^e	741.37 \pm 0.03 ^d	133.71 \pm 0.03 ^d	124.02 \pm 0.09 ^e
左旋咪唑组	252.47 \pm 0.04 ^a	861.63 \pm 0.01 ^a	167.17 \pm 0.01 ^a	160.51 \pm 0.07 ^a
40 μ g/mL MCP 组	190.62 \pm 0.01 ^d	750.28 \pm 0.02 ^d	135.05 \pm 0.05 ^d	132.48 \pm 0.09 ^d
80 μ g/mL MCP 组	256.73 \pm 0.03 ^a	874.83 \pm 0.04 ^a	170.90 \pm 0.01 ^a	160.43 \pm 0.05 ^a
160 μ g/mL MC 组	224.08 \pm 0.02 ^b	844.39 \pm 0.01 ^b	158.50 \pm 0.07 ^b	152.38 \pm 0.05 ^b
320 μ g/mL MC 组	206.53 \pm 0.05 ^c	809.83 \pm 0.02 ^c	145.15 \pm 0.13 ^c	140.86 \pm 0.03 ^c

表 4 MCP 对淋巴细胞 IL-4、IFN- γ 、IL-6 和 IL-12 mRNA 的影响 (n=5)

Table 4 Effect of MPC on the secretion of IL-4、IFN- γ 、IL-6 和 IL-12 mRNA in lymphocytes ($\bar{x} \pm s$, n=5)

组别	IL-4 mRNA 相对表达量	IFN- γ mRNA 相对表达量	IL-6mRNA 相对表达量	IL-12mRNA 相对表达量
空白组	1.00 \pm 0.00 ^d	1.00 \pm 0.00 ^d	1.00 \pm 0.00 ^e	1.00 \pm 0.00 ^e
左旋咪唑组	8.23 \pm 0.86 ^a	7.53 \pm 0.32 ^a	8.84 \pm 0.43 ^b	8.61 \pm 0.61 ^a
40 μ g/mL MCP 组	2.02 \pm 0.13 ^d	4.35 \pm 0.29 ^e	6.67 \pm 0.31 ^c	6.98 \pm 0.22 ^b
80 μ g/mL MCP 组	9.18 \pm 0.39 ^a	7.17 \pm 0.49 ^a	9.37 \pm 0.73 ^a	8.95 \pm 0.18 ^a
160 μ g/mL MC 组	5.16 \pm 0.47 ^b	5.09 \pm 0.53 ^b	9.10 \pm 0.26 ^a	4.49 \pm 0.30 ^c
320 μ g/mL MC 组	3.97 \pm 0.36 ^c	2.72 \pm 0.34 ^d	4.85 \pm 0.35 ^d	2.30 \pm 0.27 ^d

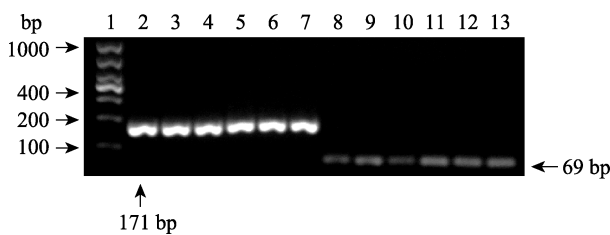


图 2 IL-4 mRNA 电泳图谱
Fig.2 Electrophoresis results of IL-4 mRNA

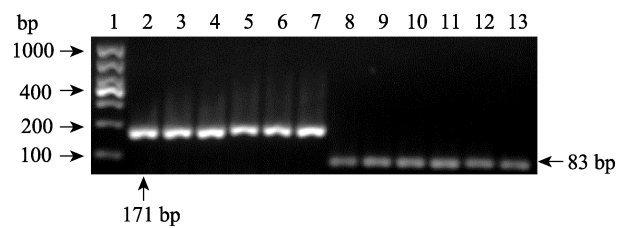


图 5 IL-12 mRNA 电泳图谱
Fig.5 Electrophoresis results of IL-12 mRNA

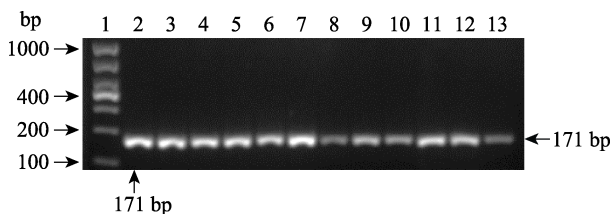


图 3 IL-6 mRNA 电泳图谱
Fig.3 Electrophoresis results of IL-6 mRNA

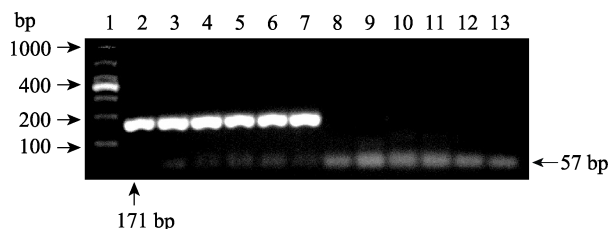


图 4 IFN- γ mRNA 电泳图谱
Fig.4 Electrophoresis results of IFN- γ mRNA

注: β -actin 组: 1. DNAmarker 2. 空白组 3. 左旋咪唑组 4. 40 μ g/mL MCP 组 5. 80 μ g/mL MCP 组 6. 160 μ g/mL MCP 组 7. 320 μ g/mL MCP 组

各细胞因子组: 8. 空白组 9. 左旋咪唑组 10. 40 μ g/mL MCP 组 11. 80 μ g/mL MCP 组 12. 160 μ g/mL MCP 组 13. 320 μ g/mL MCP 组

β -actin group: 1. DNA marker 2. control group 3. positive control group 4. MCP40 μ g/mL 5. MCP80 μ g/mL 6. MCP160 μ g/mL 7. MCP320 μ g/mL

Each cytokine group: 8. control group 9. positive control group 10. MCP40 μ g/mL 11. MCP 80 μ g/mL 12. MCP160 μ g/mL 13. MCP320 μ g/mL

遗传功能上起重要的作用。淋巴细胞的增殖对于维持器官的结构和正常的免疫功能至关重要。细胞增殖伴随着许多基因的转录和许多细胞因子的表达^[7]。鲁振国等^[8]研究表明,玉竹多糖和板蓝根

多糖对环磷酰胺造模形成免疫抑制雏鸡免疫系统具有调节功能,可增强外周淋巴细胞增殖。相关研究中,张逸等^[9]发现 MCP 在 100~500 μ g/mL 浓度范围内,能明显的促进小鼠淋巴细胞增殖,具有显著的免疫增强和肿瘤抑制的活性。袁华等^[10]体外实验证实 MCP 能够抑制人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的增殖及生长以及促进 MDA-MB-231 细胞凋亡,从而实现抑瘤作用,并出现药物浓度依赖性。同样,本次试验以左旋咪唑为阳性对照,观察

MCP 对体外培养小鼠脾淋巴细胞增殖功能的影响, 发现在 40~320 mg/mL 范围内, MCP 能显著提高小鼠脾淋巴细胞体外增殖, 浓度为 80 $\mu\text{g/mL}$ 时效果最为明显, 且与左旋咪唑组差异不显著 ($P>0.05$), MCP 与左旋咪唑均能刺激小鼠脾淋巴细胞的增殖。

3.2 MCP 对小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬能力的影响

免疫系统的吞噬细胞主要由巨噬细胞和中性粒细胞组成。这些细胞代表了非特异性宿主防御和炎症的主要细胞效应。中性粒细胞和巨噬细胞通过吞噬外来物质并释放细胞毒性和促炎介质的能力, 保护机体免受各种病原体和外源性物质的侵袭, 并在宿主对组织损伤的反应中发挥核心作用^[11]。巨噬细胞是免疫必不可少的细胞, 需要建立和调节先天反应。参与吞噬和杀死致病微生物, 清除受损和衰老^[12]。大蒜素对脂多糖诱导小鼠腹腔巨噬细胞的影响这个研究中报道^[13], 大蒜素能提高巨噬细胞的吞噬能力, 能显著抑制 LPS 诱导的小鼠腹腔巨噬细胞的炎症反应, 其机制可能与抑制 NF- κ B 信号通路激活有关。王莹^[14]等研究不同分子量枸杞多糖对 RAW264.7 巨噬细胞的免疫调节作用时, 发现其对巨噬细胞的增殖、吞噬能力和 mRNA 等均有促进作用。本试验中, MCP 不同处理组与阳性对照组对腹腔巨噬细胞吞噬能力均有促进作用, 增强吞噬活性来发挥其免疫调节作用。

3.3 MCP 对淋巴细胞 IL-4、IFN- γ 、IL-6 和 IL-12 分泌及 mRNA 表达的影响

细胞因子 (cytokine, CK) 细胞因子不仅在维持动态平衡方面很重要, 而且是癌症、自身免疫、肥胖和急慢性炎症等一系列疾病过程中的重要介质。体内几乎每一个细胞的生存和活动都受到生长因子的调节。细胞因子的产生是由通过细胞内和细胞外病原体识别受体 (PRRs) 感知危险信号而产生的上游信号驱动的。细胞因子是维持体内平衡以及先天和适应性免疫反应的关键因素, 而调节失调的细胞因子的产生则对个体产生影响。因此, 调节细胞因子的产生, 使特定的细胞群体和机体保持平衡。按细胞因子类型和生物学功能的不同可以分成两类: 一类是促炎症细胞

因子 (如 IL-2, IL-1, IFN- γ , TNF); 二类是/抗炎细胞因子 (如 IL-4, IL-6, IL-10), 这两种细胞因子的比例失衡会造成对机体的一些损害^[15]。类似实验报道, 檀新珠^[16]等研究不同质量浓度的太子参茎叶多糖对小鼠脾细胞增殖及细胞因子的影响, 结果太子参茎叶多糖能刺激淋巴细胞增殖, 能升高细胞因子 IL-2、IL-4、IL-6 和 IFN- γ 的含量, 且有一定的剂量依赖性, 证实太子参茎叶多糖具有提高免疫的能力。崔旻等^[17]对正常小鼠及糖尿病模型小鼠脾脏细胞进行体外培养, ELISA 检测培养上清的细胞因子时发现 MCP 可能通过调节 Th1 和 Th2 细胞亚群之间的平衡, 改善糖尿病模型小鼠 Th1 和 Th2 细胞亚群之间严重的失衡状态。因此, 本试验判断 MCP 对淋巴细胞 IL-4、IFN- γ 、IL-6 和 IL-12 均有不同程度的诱导分泌作用, 调节失调的细胞因子, 维持平衡。

IL-4 由 Th2 细胞分泌并发挥多种功能, 在免疫病理学中的作用不可小觑, IL4 的一个重要特性是其在体外促进 Th2 分化的能力^[18]。IFN- γ 是一种由 Th1 和 NK 细胞响应白介素-12 产生的细胞因子, 可促进 Th1 免疫反应的进行和巨噬细胞的活化, 在许多细胞系统中具有与 Th2 型细胞因子拮抗的生物学功能^[19]。IFN- γ 具有抗病毒^[20]、免疫调节及抗肿瘤特性^[21]。IL-6 是一种由多种免疫细胞和非免疫细胞产生的^[22], 具有多效性和冗余性, IL-6 在多种细胞类型的分化中发挥重要作用, 可以增强免疫反应。IL-6 能抑制 Th1 的分化, IL-6 存在下分化的 Th1 细胞产生的 IFN- γ 会减少。在免疫反应中, IL-12 作为先天免疫系统和适应性免疫系统之间的纽带发挥着核心作用^[23]。因此, 本试验观察 MCP 对这几种细胞因子的分泌和 mRNA 表达的影响判断免疫活性。其他研究也有证实, 猴头菇多糖研究了猴头菇多糖对小鼠体外脾淋巴细胞分泌 Th1、Th2 细胞因子的量及 mRNA 表达量的影响, 结果显示, 猴头菇多糖在 25~400 mg/L 浓度范围内能显著刺激 T 细胞亚群 Th1 细胞因子 (IL-2、IFN- γ 、TNF- α) 和 Th2 细胞因子 (IL-4、IL-6) 的分泌及 mRNA 的表达, 通过调节 Th1/Th2 平衡, 发挥双重免疫调节作用^[24]。朱建飞^[25]等通过 MTT 法检测, 菜籽多糖 WPS-1 对淋巴细胞具有明显的增殖活性, 并表现出明显的剂量-效果关

系。采用半定量 RT-PCR 进一步研究 WPS-1 对淋巴细胞分泌的细胞因子 IL-2、IL-4、IL-6、IFN- γ mRNA 表达的影响。结果显示 WPS-1 可以提高淋巴细胞相关因子 mRNA 表达水平,这是 WPS-1 能提高免疫系统功能的作用机制之一。综上所述,在本试验中不同浓度的 MCP 处理可以在不同程度上促进淋巴细胞 IL-4、IFN- γ 、IL-6 和 IL-12 的分泌和上调 mRNA 表达,进一步调节免疫活性。

4 结论

MCP 可提高小鼠脾淋巴细胞免疫活性,其作用机制可能是通过上调 IL-4、IFN- γ 、IL-6 和 IL-12 mRNA 表达,诱导 IL-4、IL-6、IFN- γ 和 IL-12 细胞因子的分泌,促进细胞增殖,增强巨噬细胞吞噬活性,从而发挥其免疫调节作用提高免疫功能,其作用机制待深入研究,在今后的研究中会更详实地验证和完善。

参考文献:

- [1] 龚斌,申明月,何陵玲,等. MCP 的提取,结构及生物活性研究进展[J]. 食品科学, 2015, 36(21): 279-283.
GONG B, SHEN M Y, HE L L, et al. Recent progress in extraction, chemical structure and bioactive of *Momordica charantia* polysaccharides[J]. Food Science, 2015, 36(21): 279-283.
- [2] 钟正. MCP 研究综述[J]. 广东化工, 2011, 38(2): 91+78.
ZHONG Z. Summary of *Momordica charantia* polysaccharides [J]. Guangdong Chemical Industry, 2011, 38(2): 91+78.
- [3] 吕诗文,叶芳,吴国辉,等. 苦瓜抑菌作用的研究进展[J]. 农产品加工, 2020, (1): 84-86.
LV S W, YE F, WU G H, et al. Research progress on antibacterial effect of *Blas* m gourd[J]. Academic Periodical of Farm Products Processing, 2020, (1): 84-86.
- [4] 陈红漫,李寒雪,阚国仕,等. MCP 的抗氧化活性与降血糖作用相关性研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(18): 349-351+354.
CHEN H M, LI H X, KAN G S, et al. Correlation study between antioxidant activity and lowering blood glucose of *momordica* polysaccharide [J]. Science and Technology of Food Industry, 2012, 33(18): 349-351+354.
- [5] 杜国丰,陈红漫,阚国仕,等. MCP 铁的制备及其对小鼠降血糖活性研究[J]. 食品工业科技, 2017, 38(9): 353-356.
DU G F, CHEN H M, KAN G S, et al. Study on preparation of *Momordica charantia* polysaccharide-iron complex and its hypoglycemic activities in diabetic mice[J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(9): 353-356.
- [6] 于志江. MCP 对运动力竭小鼠疲劳的干预研究[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(17): 186-188+224.
YU Z J. Effects of polysaccharides from *Momordica charantia* L. on fatigue in mice with exhaustive exercise[J]. Food Research and Development, 2017, 38(17): 186-188+224.
- [7] WANG C F, JIN E H, DENG J, et al. GPR30 mediated effects of boron on rat spleen lymphocyte proliferation, apoptosis and immune function[J]. Food and Chemical Toxicology, 2020, 146: 111838-111838.
- [8] 鲁振国,李美娣,武力,等. 玉竹多糖和板蓝根多糖对环磷酰胺致雏鸡免疫抑制的调节作用研究[J]. 中兽医医药杂志, 2021, 40(1): 74-77.
LU Z G, LI M D, WU L, et al. Study on the regulatory effect of *Polygonatum odoratum* polysaccharide and *Isatis indigotica* polysaccharide on the immunosuppression of chickens induced by cyclophosphamide[J]. Journal of Traditional Chinese Veterinary Medicine, 2021, 40(1): 74-77.
- [9] 张逸,王旺,蔡寅,等. MCP 的纯化,结构解析及其免疫调节和抗肿瘤活性研究(英文)[J]. 南京中医药大学学报, 2017, 33(1): 33-39.
ZHANG Y, WANG W, CAI Y, et al. Purification, structural characterization and immunomodulatory and antitumor activities of a polysaccharide isolated from *Momordica Charantia* L.[J]. Journal of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, 2017, 33(1): 33-39.
- [10] 袁华,陈尚锋,李辉. MCP 对人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞生物学行为的影响[J]. 临床和实验医学杂志, 2019, 18(22): 2392-2397.
YUAN H, CHEN S F, LI H. Effect of *momordica* polysaccharide on biological behavior of human breast cancer MDA-MB-231 cells[J]. Journal of Clinical and Experimental Medicine, 2019, 18(22): 2392-2397.
- [11] V N İZGÜT-UYSAL, BURCU G, RUKEN T, Effect of orexin-A on phagocytic activity of peritoneal macrophage in starved rats[J]. Cellular Immunology, 2011, 271(1): 85-88.
- [12] BERNARD M B. Phagocytes and oxidative stress[J]. The American Journal of Medicine, 2000, 109(1): 33-44.
- [13] 李鸿洋,李敬双,高泉,等. 大蒜素对脂多糖诱导腹腔巨噬细胞炎症反应的抑制作用及机制[J]. 食品工业科技, 2020, 41(18): 308-313+323.
LI H Y, LI J S, GAO Q X, et al. Inhibitory effects and mechanism of Allicin on LPS-induced inflammatory response in mouse peritoneal macrophage[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(18): 308-313+323.
- [14] 王莹,金红宇,李耀磊,等. 不同分子量枸杞多糖对 RAW264.7 巨噬细胞的免疫调节作用[J]. 中国新药杂志, 2021, 30(12): 1079-1086.
WANG Y, JIN H Y, LI Y L, et al. Immunomodulatory effect of *lycium barbarum* polysaccharide of different molecular weights on macrophage RAW264.7[J]. Chinese Journal of New Drugs, 2021, 30(12): 1079-1086.
- [15] 谢婵. 牛大力总黄酮对免疫抑制小鼠的免疫调节作用及其机

- 制研究[D]. 广西医科大学, 2016.
- XIE C. The regulatory effects and mechanisms of the total flavonoids of radix millettia speciosa on immune system in mice[D]. Guang Xi Medical University, 2016.
- [16] 檀新珠, 陈语嫣, 陈赛红, 等. 太子参茎叶多糖对免疫抑制小鼠免疫功能的影响[J]. 天然产物研究与开发, 2017, 29(12): 2134-2140.
- TAN X Z, CHEN Y Y, CHEN S H, et al. Effects of Radix pseudostellariae stem and leaf polysaccharide on immune function of immunosuppressed mice[J]. Natural Product Research and Development, 2017, 29(12): 2134-2140.
- [17] 崔旻, 安利国, 尹苗, 等. MCP 对 Th1 和 Th2 细胞亚群的免疫调节及其降糖作用研究[C]. 中国细胞生物学学会第八届会员代表大会暨学术大会论文摘要集. 中国细胞生物学学会, 2003: 1.
- CUI M, AN L G, YIN M, et al. Study on immune regulation and hypoglycemic effect of MCP on Th1 and Th2 cell subsets[C]. Abstracts of The 8th Member Congress and Academic Conference of Chinese Society of Cell Biology. Chinese Society of Cell Biology, 2003: 1
- [18] MEENU R P, MARK B. Evolution of IL4 and pathogen antagonism[J]. Growth Factors, 2011, 29(4): 153-160.
- [19] FUKAO T M S, KOYASU S. Synergistic effects of IL-4 and IL-18 on IL -12-dependent IFN-gamma production by dendritic cells[J]. Journal of Immunology, 2019, 164(1): 64-71.
- [20] HENGEL H A. Cytomegaloviral protein reveals a dual role for STAT2 in IFN- γ signaling and antiviral responses[J]. Journal of Experimental Medicine, 2005, 201(10): 1543.
- [21] GESSANI S, BELARDELLI F. IFN- γ expression in macrophages and its possible biological significance[J]. Cytokine & Growth Factor Reviews, 1998, 9(2): 117-123.
- [22] SEAN D, JUAN A, ANGELIKA H, et al. Inhibition of Th1 differentiation by IL-6 Is mediated by SOCS1[J]. Immunity, 2000, 13(6): 805-815.
- [23] LANGRISH C L, MCKENZIE B S, WILSON N J, et al. IL-12 and IL-23: master regulators of innate and adaptive immunity[J]. Immunological Reviews, 2010, 202(1): 96-105.
- [24] 郑乃珍, 郑小香, 潘晓丽, 等. 猴头菇多糖协同 ConA 对小鼠脾细胞分泌 Th1, Th2 细胞因子及基因表达的影响[J]. 中国兽医学报, 2016, 36(5): 795-800.
- ZHENG N Z, ZHENG X X, PAN X L, et al. The effects of synergistical stimulation of Hericium erinaceus polysaccharide with ConA on secretion and mRNA expression of Th1 and Th2 type cytokines of murine splenic lymphocyte[J]. Chinese Journal of Veterinary Science, 2016, 36(5): 795-800.
- [25] 朱建飞, 唐春红, 吴谋成. 菜籽多糖 WPS-1 对小鼠脾淋巴细胞的免疫作用[J]. 食品工业科技, 2011(8): 380-383, 488.
- ZHU J F, TANG C H, WU M C. Immunomodulating effects of rapeseed polysaccharide WPS-1 on mouse spleen lymphocyte[J]. Science and Technology of Food Industry, 2011, 488(8): 380-383. 完
- 备注: 本文的彩色图表可从本刊官网 (<http://lyspkj.ijournal.cn>)、中国知网、万方、维普、超星等数据库下载获取。