

金丝桃苷对免疫抑制小鼠抗氧化能力和免疫功能的影响

胡小艳¹, 李博文² (1. 万邦生化医药股份有限公司, 江苏徐州 221004; 2. 上海海利生物技术股份有限公司, 上海 201403)

摘要 [目的]观察金丝桃苷对小鼠抗氧化能力和免疫功能的影响。[方法]将BALB/c小鼠随机分成5组:空白对照组、免疫抑制组、给药组(包括低剂量给药组和高剂量给药组)和阳性对照组,测定胸腺指数和脾脏指数,机体过氧化物MDA、H₂O₂水平,总抗氧化能力T-AOC及其酶T-SOD,以及MPO、XOD、GSH-PX和POD等与抗氧化能力相关酶的活性。[结果]与空白对照组相比,免疫抑制组的胸腺指数、脾脏指数、T-AOC、T-SOD、MPO、GSH-PX及POD活性显著降低,MDA、H₂O₂和XOD活性显著升高。给予金丝桃苷治疗后,与免疫抑制组相比,胸腺指数、脾脏指数、T-AOC、T-SOD、MPO、GSH-PX及POD的活性显著升高,MDA、H₂O₂和XOD活性显著降低。[结论]金丝桃苷能通过提高免疫抑制小鼠体内胸腺指数、脾脏指数,降低机体过氧化物MDA、H₂O₂,提高T-AOC、T-SOD、GSH-PX及POD活性来清除机体过氧化物,降低XOD活性来减少过氧化物的产生,以此提高小鼠抗氧化能力,增加机体免疫功能。

关键词 金丝桃苷;免疫抑制;抗氧化能力;免疫功能

中图分类号 S567 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2015)34-170-03

Effects of Hyperoside on Antioxidant Capability in Immunosuppressed Mice

HU Xiao-yan¹, LI Bo-wen² (1. Jiangsu Wanbang Biochemical Pharmaceutical Co., Ltd., Xuzhou, Jiangsu 221004; 2. Shanghai Hile Bio-technology Co., Ltd., Shanghai 201403)

Abstract [Objective] To investigate effects of hyperoside on the antioxidant capability and immune function of mice. [Method] The BALB/c mice were randomly divided into 5 groups: blank control group, immunosuppressed group, drug group, positive control group. Then the level of MDA, H₂O₂, thymus index, spleen index, T-AOC, T-SOD, MPO, XOD, GSH-PX and POD were measured. [Result] The expression of thymus index, spleen index, T-AOC, T-SOD, MPO, GSH-PX and POD decreased significantly, and the level of MDA, H₂O₂ and XOD increased significantly compared with blank control group. After treatment with hyperoside, the level of thymus index, spleen index, T-AOC, T-SOD, MPO, GSH-PX and POD increased significantly, while the level of MDA, H₂O₂ and XOD reduced significantly compared with the immunosuppressed group. [Conclusion] Hyperoside could improve the antioxidant capability and immune function by increasing the level of thymus index, spleen index, T-AOC, T-SOD, MPO, GSH-PX and POD and decreasing the level of MDA, H₂O₂, and XOD in immunosuppressed mice.

Key words Hyperoside; Immunosuppression; Antioxidant capability; Immune function

金丝桃苷(Hyperoside)是从藤黄科(Clusiaceae)植物贯叶连翘(*Hypericum perforatum* Linn.)中提取的一种黄酮醇苷类化合物,不仅对神经^[1]和心血管系统^[2]具有保护作用,还具有保护肝脏^[3]、降低血脂的作用^[4]。目前,对金丝桃苷的研究集中在提取、分离及纯化方面,以及对心脑血管、神经系统等药理活性方面,关于对机体抗氧化作用方面的研究很少。笔者将金丝桃苷给予免疫力低下的小鼠,通过测定小鼠脾脏指数和胸腺指数及与自由基产生和清除相关的6种酶活性,来探讨金丝桃苷对免疫抑制小鼠抗氧化能力的影响。该研究将有助于在分子水平阐明药物对机体抗氧化及提高免疫功能的机理,具有重要的理论和实用意义。

1 材料与方

1.1 材料

1.1.1 试验动物。BALB/c小鼠,体重18~22g,雌雄各半,购自徐州医学院实验动物有限公司。

1.1.2 药物及试剂。金丝桃苷(纯度为95.5%),提取于贯叶连翘,临用时配制灭菌水溶液;环磷酰胺,上海华联制药有限公司;黄芪多糖,成都市腾飞动物药业有限公司,临用时配制灭菌水溶液。丙二醛(MDA)试剂盒、过氧化氢(H₂O₂)试剂盒、总超氧化物歧化酶(T-SOD)试剂盒、总抗氧化力(T-AOC)试剂盒、髓过氧化物酶(MPO)试剂盒、黄嘌呤氧化酶(XOD)试剂盒、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)试剂盒、组织过氧化物酶(POD)试剂盒,购于南京建成生物工

程研究所。

1.2 方法

1.2.1 动物分组与处理。将60只BALB/c小鼠随机分成5组,雌雄各半,分笼饲养。I组为空白对照组,分别于第1、3、5天腹腔注射1ml生理盐水。II组为免疫抑制(模型)组,分别于第1、3、5天腹腔注射1ml环磷酰胺。III、IV组为药物组(其中III为低剂量药物组,IV为高剂量药物组),分别于第1、3、5天腹腔注射1ml环磷酰胺,第1~7天分别以150和300mg/kg金丝桃苷混悬液灌胃。V组为阳性对照组,分别于第1、3、5天腹腔注射1ml环磷酰胺,第1~7天以0.2mg/kg黄芪多糖水溶液灌胃。

1.2.2 检测项目及方法。将处理7d后的供试小鼠眼静脉采血,分离血清,按照试剂盒使用说明测定血清中MDA、H₂O₂、NO水平。

颈椎脱臼处死,用生理盐水将所取胸腺和脾脏漂洗并用滤纸滤干,计算脾脏指数和胸腺指数,其方法:

胸腺(或脾脏)指数 = 胸腺(或脾脏)重量/小鼠体重

将小鼠肝脏组织取出,0℃制成匀浆,3000r/min离心15min,收集上清液,按照试剂盒使用说明测定肝脏组织中小鼠体内总抗氧化能力T-AOC及其相关酶T-SOD活性,以及与自由基清除有关的酶MPO、POD、GSH-PX及自由基产生相关酶XOD活性。

2 结果与分析

2.1 金丝桃苷对小鼠脾脏指数和胸腺指数的影响 小鼠注射环磷酰胺进行免疫抑制以及给予药物治疗后,胸腺指数和脾脏指数见表1。

由表 1 可知,小鼠注射环磷酰胺后,与空白对照组相比,免疫抑制模型组胸腺指数和脾脏指数显著降低($P < 0.05$),说明免疫抑制小鼠造模成功。给予免疫抑制小鼠高低 2 个剂量金丝桃苷治疗后,小鼠体内胸腺指数较免疫抑制模型组显著升高,脾脏指数高剂量组较免疫抑制模型组显著升高,高剂量组甚至比空白对照组还高。金丝桃苷对脾脏指数的影响存在剂量依赖关系,高剂量组在提高胸腺指数和脾脏指数作用方面与黄芪多糖的作用相当。

表 1 金丝桃苷对胸腺指数和脾脏指数的影响 mg/g

组别	胸腺指数	脾脏指数
I	3.94 ± 0.44	3.70 ± 0.74
II	2.41 ± 0.34 ^a	2.45 ± 0.38 ^a
III	4.29 ± 0.21 ^b	2.86 ± 0.42 ^a
IV	4.26 ± 0.46 ^b	4.13 ± 0.36 ^b
V	4.32 ± 0.41 ^b	4.17 ± 0.81 ^b

注:a 表示与空白对照组有显著差异($P < 0.05$),b 表示与免疫抑制组有显著差异($P < 0.05$)。

2.2 金丝桃苷对免疫抑制小鼠体内 MDA 及 H₂O₂ 的影响 小鼠注射环磷酰胺进行免疫抑制以及给予药物治疗后,体内过氧化物 MDA 及 H₂O₂ 水平见表 2。

表 2 金丝桃苷对 MDA 及 H₂O₂ 的影响

组别	MDA//nmol/L	H ₂ O ₂ //mmol/L
I	11.53 ± 0.87	10.02 ± 0.23
II	13.45 ± 0.34 ^a	12.95 ± 0.52 ^a
III	11.42 ± 0.91 ^b	10.19 ± 0.41 ^b
IV	11.37 ± 0.27 ^b	9.97 ± 0.29 ^b
V	11.48 ± 0.29 ^b	9.99 ± 0.67 ^b

注:a 表示与空白对照组有显著差异($P < 0.05$),A 表示与空白对照组有极显著差异($P < 0.01$);b 表示与免疫抑制组有显著差异($P < 0.05$),B 表示与免疫抑制组有极显著差异($P < 0.01$)。

由表 2 可知,小鼠注射环磷酰胺后,与空白对照组相比,免疫抑制模型组 MDA 及 H₂O₂ 显著升高($P < 0.05$),说明

免疫抑制小鼠造模成功。给予免疫抑制小鼠高低 2 个剂量金丝桃苷治疗后,小鼠体内 MDA 及 H₂O₂ 较免疫抑制模型组均显著降低。金丝桃苷对 H₂O₂ 的影响存在剂量依赖关系,高剂量组在降低 MDA 和 H₂O₂ 活性作用方面与黄芪多糖的作用相当。

2.3 金丝桃苷对小鼠体内总抗氧化能力 T-AOC 及其相关酶 T-SOD 活性的影响 小鼠注射环磷酰胺进行免疫抑制以及给予药物治疗后,体内 T-SOD 和 T-AOC 活性水平见表 3。

由表 3 可知,小鼠注射环磷酰胺后,与空白对照组相比,免疫抑制模型组总抗氧化能力 T-AOC 及其酶 T-SOD 活性显著降低,说明免疫抑制小鼠造模成功。给予免疫抑制小鼠高低 2 个剂量金丝桃苷治疗后,小鼠体内 T-AOC 和 T-SOD 较免疫抑制模型组均显著升高,高剂量组甚至比空白对照组还高。金丝桃苷对 T-AOC 和 T-SOD 的影响存在剂量依赖关系,高剂量组在提高 T-SOD 活性作用方面与黄芪多糖的作用相当。

表 3 金丝桃苷对小鼠 T-SOD 和 T-AOC 活性的影响 U/ml

组别	T-AOC	T-SOD
I	4.74 ± 0.32	0.78 ± 0.03
II	3.02 ± 0.61 ^a	0.58 ± 0.04 ^A
III	4.21 ± 0.23 ^b	0.77 ± 0.04 ^B
IV	4.92 ± 0.31 ^{ab}	0.85 ± 0.03 ^{AB}
V	5.47 ± 0.56 ^{ab}	0.82 ± 0.07 ^{AB}

注:a 表示与空白对照组有显著差异($P < 0.05$),A 表示与空白对照组有极显著差异($P < 0.01$);b 表示与免疫抑制组有显著差异($P < 0.05$),B 表示与免疫抑制组有极显著差异($P < 0.01$)。

2.4 金丝桃苷对小鼠体内与自由基清除有关的酶 MPO、POD、GSH-PX 及自由基产生相关酶 XOD 活性的影响 小鼠注射环磷酰胺进行免疫抑制以及给予药物治疗后,体内 MPO、XOD、GSH-PX 及 POD 活性水平见表 4。

由表 4 可知,小鼠注射环磷酰胺后,与空白对照组相比,

表 4 金丝桃苷对小鼠 MPO、POD、GSH-PX 及 XOD 活性的影响

组别	MPO//U/L	POD//U/ml	GSH-PX//U/ml	XOD//U/L
I	5.17 ± 0.23	19.93 ± 2.31	4.61 ± 0.46	8.54 ± 0.52
II	3.24 ± 0.54 ^A	10.49 ± 2.27 ^A	2.08 ± 0.25 ^A	10.75 ± 0.08 ^A
III	3.37 ± 0.61 ^A	17.31 ± 0.52 ^B	3.72 ± 0.83 ^{ab}	8.55 ± 0.57 ^B
IV	3.45 ± 0.46 ^A	19.67 ± 2.01 ^B	4.63 ± 0.41 ^B	8.55 ± 0.19 ^B
V	5.21 ± 0.52 ^B	19.97 ± 2.31 ^B	4.71 ± 0.39 ^B	8.56 ± 0.79 ^B

注:a 表示与空白对照组有显著差异($P < 0.05$),A 表示与空白对照组有极显著差异($P < 0.01$);b 表示与免疫抑制组有显著差异($P < 0.05$),B 表示与免疫抑制组有极显著差异($P < 0.01$)。

免疫抑制模型组 MPO、GSH-PX 和 POD 活性极显著降低($P < 0.01$),而 XOD 活性极显著升高($P < 0.01$),说明免疫抑制小鼠造模成功。给予免疫抑制小鼠高低 2 个剂量金丝桃苷治疗后,小鼠体内 XOD 活性较免疫抑制模型组均极显著降低($P < 0.01$),高低 2 个剂量组治疗作用相当,不存在剂量依赖关系,且均与黄芪多糖组的治疗作用相当。相比之下,高低 2 个剂量的金丝桃苷治疗后小鼠体内 GSH-PX 和 POD 活性显著升高,且都存在剂量依赖关系,其治疗作用均与黄芪

多糖组相当。而金丝桃苷对 MPO 活性无显著影响。

3 结论与讨论

3.1 金丝桃苷对小鼠脾脏指数和胸腺指数的影响 小鼠注射环磷酰胺后,体内脾脏指数和胸腺指数显著降低,给予金丝桃苷治疗后,小鼠体内脾脏指数和胸腺指数显著升高。脾脏和胸腺均是机体内的免疫器官,脾脏含有大量的淋巴细胞及巨噬细胞,是细胞免疫及体液免疫的中心,胸腺则具有能够调节机体免疫的功能,是重要的中枢免疫器官。在该研究

中,小鼠处于免疫低下(免疫抑制)时,体内脾脏指数和胸腺指数显著降低,给予金丝桃苷治疗后,二者均升高,表明金丝桃苷能提高脾脏指数和胸腺指数。

3.2 金丝桃苷对免疫抑制小鼠体内MDA及H₂O₂的影响 小鼠注射环磷酰胺后,体内MDA及H₂O₂显著升高,给予金丝桃苷治疗后,小鼠体内MDA及H₂O₂显著降低。MDA和H₂O₂均是机体内的过氧化物,MDA为脂质过氧化物,它能够引起细胞损伤,其量的多少能够间接反映出细胞受损伤的程度。MDA还可能诱发癌症或是自身免疫疾病的基础^[5]。而H₂O₂对心肌细胞具有损伤作用^[6]。在该研究中,小鼠处于免疫低下(免疫抑制)时,体内MDA及H₂O₂显著升高,给予金丝桃苷治疗后,二者活性均降低,表明金丝桃苷能够通过降低机体内的过氧化物,增加机体免疫功能。

3.3 金丝桃苷对小鼠体内总抗氧化能力T-AOC及其相关酶T-SOD活性的影响 小鼠注射环磷酰胺后,体内T-AOC和T-SOD活性显著降低。给予金丝桃苷进行治疗后,免疫抑制小鼠体内T-AOC和T-SOD活性显著升高。T-AOC表明体内总抗氧化能力的强弱。而SOD能够调节体内活性氧和NO的水平^[7],平衡机体的氧化与抗氧化作用,是体内最重要的抗氧化酶。在该研究中,小鼠处于免疫低下(免疫抑制)时,体内T-AOC和T-SOD活性降低,给予金丝桃苷治疗后,二者活性均升高,表明机体抗氧化能力增强。表明金丝桃苷能够通过提高机体抗氧化能力而增加机体免疫功能。

3.4 金丝桃苷对小鼠体内与自由基清除有关的酶MPO、POD、GSH-PX及自由基产生相关酶XOD活性的影响 小鼠注射环磷酰胺后,体内MPO、GSH-PX和POD活性显著降

低,XOD活性显著升高。MPO能消耗过氧化氢,同时将氯化物离子催化为次氯酸。XOD可以催化次黄嘌呤和黄嘌呤生成尿酸,同时传递电子产生大量活性氧和H₂O₂^[8]。机体的自由基可损伤机体细胞,致使细胞老化,降低细胞合成酶活力,导致各种疾病的发生,而GSH-PX能协同SOD清除体内自由基,分解H₂O₂,阻断脂质过氧化反应,保护细胞膜结构和功能的完整性。POD能够催化H₂O₂反应,清除体内过多的H₂O₂,保护机体免受损伤。该研究中,经金丝桃苷治疗后,XOD活性降低,减少了过氧化物的产生。与此同时,GSH-PX和POD活性升高,则有利于机体内过氧化物的清除。

参考文献

- [1] HASS J S, STOLZ E D, BETTI A H. The anti-immobility effect of hyperoside on the force swimming test in rats is mediated by the D2-like receptors activation[J]. *Planta Med*, 2011, 77(4): 334-338.
- [2] 王启海, 陈志武. 金丝桃苷对离体大鼠腹主动脉的舒张作用及其机制研究[J]. *中草药*, 2010, 41(5): 766-770.
- [3] CHOI J H, KIM D W, YUN N. Protective effects of hyperoside against carbon tetrachloride-induced liver damage in mice[J]. *J Nat Prod*, 2011, 74(5): 1055-1059.
- [4] 周长征. 黄酮类化合物的降血脂作用研究进展[J]. *北方药学*, 2012, 9(4): 100-101.
- [5] 张强, 李通. 脂质过氧化对小鼠淋巴细胞功能的影响[J]. *中国实验临床免疫学杂志*, 1994, 6(3): 4-7.
- [6] 曹纯章, 卜丽莎, 高申, 等. 过氧化氢对培养心肌细胞损伤作用的研究[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2005, 27(6): 628-632.
- [7] JEFFEREY D P, LEONORE A H, KRISTINE V, et al. Glutathione level in antigen-presenting cells modulate Th1 versus Th2 response patterns[J]. *Immunology*, 1998, 95: 3071-3076.
- [8] ROGER H. Structure and function of xanthine oxidoreductase: Where are we now? [J]. *Free radical biology and medicine*, 2002, 33(6): 774-797.

(上接第100页)

以矿产资源开发区的植被恢复应坚持长期治理。

表8 大杨树煤矿复垦农田调查结果

立地类型	恢复种	治理年限	高度	生物量	与对照生物量	病虫害	枯梢、黄叶	冻害	生境条件	配置
		a	cm	g/m ²	相比//%					
塌陷区	大豆	10	84.7	642.3	81.0	无	无	无	符合	合理
对照区	大豆	-	90.7	847.6	-	轻	无	无	-	-

表9 大杨树煤矿植被恢复综合评价结果

植被类型	评价指标得分				综合评分	评价等级
	适应性	经济价值	配置结构	恢复效果		
乔木	2.2	2	1	3	2.08	II
灌丛	2.7	3	1	2	2.28	II
复垦农田	3.0	3	1	3	2.60	I

(2)选择符合生境条件的树种,并进行合理搭配,尽量避免层次结构单一,只有层次结构丰富,恢复效果才能更好。

(3)尽量选择经济价值高、用途广的恢复种,使利用价值达到最大。

(4)农作物复垦适应性最强,经济价值较大,矿产资源开发区的植被恢复可多用农作物进行复垦。

参考文献

- [1] 陈来红, 马万里. 霍林河露天煤矿排土场植被恢复与重建技术探讨[J]. *中国水土保持科学*, 2011, 9(4): 117-120.
- [2] 唐小明, 黄长生, 李长安, 等. 区域地质调查中的灾害地质调查内容与

- 方法[J]. *江西地质*, 1999, 13(2): 127-130.
- [3] 牛星, 蒙仲举, 高永, 等. 伊敏露天煤矿排土场自然恢复植被群落特征研究[J]. *水土保持通报*, 2001(1): 216-218.
- [4] 张铁亮, 刘凤枝, 李玉浸, 等. 农村环境监测与评价指标体系研究[J]. *环境监测管理与技术*, 2009, 21(6): 1-3, 101.
- [5] 林振山, 王国祥. 矿区塌陷地改造与构造湿地建设——以徐州煤矿矿区塌陷地改造为例[J]. *自然资源学报*, 2005, 20(5): 790-795.
- [6] 王宝山, 牛海鹏, 陈国平. 浅议土地利用总体规划与矿区可持续发展[J]. *矿山测量*, 1999(2): 59-60.
- [7] 郝容, 白中科, 赵景逵, 等. 黄土区大型露天煤矿废弃地植被恢复过程中的植被动态[J]. *生态学报*, 2003, 23(8): 1472-1473.
- [8] 陈玉平. 我国矿区塌陷地复垦模式研究[J]. *安徽科技*, 2012(6): 45-46.
- [9] 杨亮平. 内蒙古自治区煤矿地面塌陷地质环境类型及其恢复治理研究[D]. 北京: 中国地质科学院, 2009.
- [10] 尚洁, 蓝登明, 赵一阳, 等. 内蒙古大兴安岭林区不同采煤方式对植物多样性的影响[J]. *安徽农业科学*, 2015, 43(15): 209-213, 215.
- [11] 王同孝, 朱建国. 矿区沉陷与土地复垦[J]. *矿山测量*, 1999(3): 33-35.
- [12] 刘志斌, 陈建平, 范军富. 黑岱沟露天煤矿土地复垦中的几个关键问题[J]. *辽宁工程技术大学学报*, 2003, 22(S1): 44-45.
- [13] 张伟敏, 李秀峰, 王熠青, 等. 浅议霍林河露天煤矿土地复垦[J]. *内蒙古林业科技*, 2009, 35(3): 60-62.