

网络出版时间:2018-11-06 16:58

DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2019.05.016

网络出版地址:http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20181106.1657.032.html

# 党参总皂苷纳米乳对小鼠免疫功能的影响

曹发昊,王艳萍

(运城学院 生命科学系,山西 运城 044000)

**[摘要]** **【目的】**研究党参总皂苷纳米乳(total saponins of *Codonopsis pilosula* nanoemulsion, TSCP-NE)对小鼠免疫功能的影响,为 TSCP-NE 作为免疫增强剂用于保健品或药品提供理论依据。**【方法】**将小鼠分为空白对照组、模型对照组、空白纳米乳组、TSCP 水溶液组、TSCP-NE 高中低剂量组,空白对照组和模型对照组小鼠灌胃蒸馏水,空白纳米乳组小鼠灌胃空白纳米乳,TSCP 水溶液组灌胃 200 mg/kg TSCP,TSCP-NE 高中低剂量组分别灌胃 200,100,50 mg/kg TSCP-NE,连续灌胃 14 d(1 次/d),用量 0.01 mL/g。除空白对照组外,其余各组小鼠在给药第 1 天皮下注射氢化可的松(HY),连续注射 7 d,制备免疫抑制小鼠,检测分析免疫抑制小鼠细胞免疫(血清 IL-2 和 IFN- $\gamma$  含量、ConA 诱导脾细胞增殖活性)、体液免疫(血清溶血素水平)和非特异性免疫(NK 细胞杀伤活性、单核巨噬细胞吞噬活性)相关指标。**【结果】**TSCP-NE 为透明淡黄色 O/W 纳米乳,平均粒径为 60.67 nm,粒径多分散值为 0.347,折光率、pH 值、粘度、浊点分别是 1.340 6,6.79,4.38 $\times 10^{-3}$  (Pa $\cdot$ s),60.5 $^{\circ}$ C。50~200 mg/kg TSCP-NE 能显著提高免疫抑制小鼠血清 IL-2 和 IFN- $\gamma$  水平、脾 T 细胞增殖刺激指数、NK 细胞杀伤率、血清溶血素半数溶血值(HC<sub>50</sub>)、单核巨噬细胞廓清指数和吞噬指数;TSCP-NE 免疫增强作用具有量效依赖性,随着给药剂量增加,免疫增强作用明显增大,且其作用显著强于同剂量 TSCP 水溶液。**【结论】**TSCP-NE 能增强 TSCP 对细胞免疫、体液免疫和非特异性免疫的调节功能,可以作为免疫增强剂用于保健品或药品。

**[关键词]** 党参总皂苷;纳米乳;免疫增强;免疫抑制

**[中图分类号]** S859.5<sup>+</sup>3

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1671-9387(2019)05-0125-07

## Effect of total saponins of *Codonopsis pilosula* nanoemulsion on immunologic function of mice

CAO Fahao, WANG Yanping

(Department of Life Sciences, Yuncheng University, Yuncheng, Shanxi 044000, China)

**Abstract:** **【Objective】** This paper studied the effects of total saponins of *Codonopsis pilosula* nanoemulsion (TSCP-NE) on the immunologic function of mice to provide theoretical basis for using TSCP-NE as an immune enhancer in health products or medicines. **【Method】** Mice were divided into blank control group, model control group, blank NE group, TSCP aqueous solution group, as well as high-, medium- and low-dose TSCP-NE groups. All mice were given with drugs by intragastric administration. The mice in blank control group and model control group were given with distilled water. The mice in blank NE group were given with blank NE. The mice in TSCP aqueous solution group were given with TSCP aqueous solution with the dose of 200 mg/kg. The mice in high-, medium- and low-dose TSCP-NE groups were given with TSCP-NE with the dose of 200, 100, and 50 mg/kg, respectively. Each mouse was administrated with drug by gavages for 14 consecutive days (1 times/d) and the given dose was 0.01 mL/g. Except the blank control group, mice in other groups were subcutaneously injected with HY on the first day of administra-

**[收稿日期]** 2018-01-27

**[基金项目]** 山西省“131”领军人才工程资助项目(XK-2015015);运城学院院级科研项目(博士启动项目)

**[作者简介]** 曹发昊(1981—),男,河南辉县人,讲师,博士,主要从事纳米药物和天然活性成分研究。E-mail:fahao@163.com

tion and treated for seven days to obtain immunosuppressive mice. The related indexes of cell immunity (contents of serum IL-2 and IFN- $\gamma$ , and proliferation activity of ConA induced splenocyte), humoral immunity (serum hemolysin level) and non specific immunity (killing activity of NK cells and phagocytic activity of mononuclear macrophage) were detected and analyzed. 【Result】 TSCP-NE was a transparent yellowish O/W nanoemulsion with an average particle size of 60.67 nm and a polydispersity of 0.347. Its refractive index, pH value, viscosity, and cloud point were 1.340 6, 6.79,  $4.38 \times 10^{-3}$  (Pa · s), and 60.5  $^{\circ}\text{C}$ , respectively. Doses of 50—200 mg/kg TSCP-NE significantly increased contents of serum IL-2 and IFN- $\gamma$ , proliferation stimulation index of spleen T cells, half hemolysis value of serum hemolysin ( $\text{HC}_{50}$ ), killing rate of NK cells as well as clearance index and phagocytosis index of mononuclear macrophages. The immunoenhancement activities of TSCP-NE were dose-dependent, and the immune enhancement was enhanced significantly with the increase of dosage. The immunoenhancement activities of TSCP-NE were stronger than that of TSCP solution at same dose. 【Conclusion】 TSCP-NE enhanced the immunomodulatory effect of TSCP on cellular immunity, humoral immunity and non-specific immunity, and it can be used as an immunoenhancer for health products or medicines.

**Key words:** total saponins of *Codonopsis pilosula*; nanoemulsion; immunoenhancement; immunosuppression

党参(*Codonopsis pilosula*)是我国的传统补益中药,也是一种药食同源的大宗药材,具有抗缺血、降血脂、抗氧化、增强免疫力等功效,有很高的药用价值和开发前景<sup>[1-7]</sup>。党参总皂苷(TSCP)是党参的一种重要活性成分,由糖链和苷元组成,糖链有亲水性,苷元有不同程度的亲脂性,使皂苷可以作为一种表面活性剂参与纳米乳的形成<sup>[8]</sup>。纳米乳(NE)是由油相和水相在表面活性剂和助表面活性剂作用下形成的透明稳定体系,液滴粒径 10~100 nm,可以作为载体用于输送中药活性成分、西药、生物技术药物和食品功能成分等,达到改善药物稳定性、实现药物共输送、促进药物吸收、增强药物靶向性和疗效、降低药物剂量等功效<sup>[9-11]</sup>。

纳米乳可以通过高能量和低能量两种方法制备<sup>[11]</sup>,本课题组前期利用高能量方法(高压均质法)制备了党参总皂苷纳米乳(TSCP-NE)。为研究 TSCP-NE 对机体免疫功能的影响,本研究采用氢化可的松(HY)建立免疫抑制小鼠,检测分析体液免疫(血清溶血素水平)、细胞免疫(血清 IL-2 和 IFN- $\gamma$  含量、ConA 诱导脾细胞增殖活性)和非特异性免疫(NK 细胞杀伤活性、单核巨噬细胞吞噬活性)等免疫指标,从而为 TSCP-NE 作为免疫增强剂用于保健品或药品提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 试剂与药品 党参总皂苷(TSCP)(含量>

80%,陕西昌泰实业有限公司),氢化可的松(HY)注射液(批号 1411403-A12,国药集团荣生制药有限公司),IL-2 和 IFN- $\gamma$  试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司),刀豆球蛋白 A(ConA)(Sigma 公司),噻唑蓝(MTT)(美国 Sigma 公司),DMEM 培养基(美国 Gibco 公司),胎牛血清(中美合资兰州民海生物工程有限公司),乳酸脱氢酶细胞毒性检测试剂盒(碧云天生物技术研究所),聚氧乙烯醚(40)蓖麻油(Cremophor EL40)(德国 BASF),聚乙二醇 400(PEG400)(上海西唐生物科技有限公司),橄榄油(上海康朗生物科技有限公司)。

1.1.2 仪器 MCO-15AC CO<sub>2</sub> 培养箱(日本 Sanyo 公司),SW-CJ-1F 超净工作台(苏州净化设备有限公司),128C 酶标仪(奥地利 CliniBio 公司),UV-2102 紫外分光光度计(尤尼柯仪器有限公司),ESR-500 高剪切乳化机(上海易勒机电设备有限公司),D-6L 高压均质机(美国 PhD 科技有限公司),JEM1230 透射电镜(日本电子株式会社),Zetasizer Nano ZS 激光粒度分析仪(英国 Malvern Instrument 公司),2WAJ 单目阿贝折光仪(上海光学仪器五厂),奥氏粘度计(上海隆拓仪器设备有限公司),PHS-3C 酸碱计(上海仪电科学仪器有限公司)。

1.1.3 试验动物与细胞 Balb/c 小鼠(体质量 18~22 g/只),购自第四军医大学实验动物中心;YAC-1 细胞,购自中国科学院昆明细胞库。

### 1.2 TSCP-NE 制备及质量评价

1.2.1 TSCP-NE 制备 按照前期工作确定的

TSCP-NE 组成成分:Cremophor EL40、PEG400、橄榄油、蒸馏水、TSCP(质量比为 28.66 : 14.33 : 8.25 : 48.76 : 4.5),称取各组分。25 ℃ 条件下,将 PEG400、橄榄油、TSCP 依次加入到 Cremophor EL40 中,于高剪切乳化机中 10 000 r/min 乳化 20 min,得到混合油相;将其缓慢加入蒸馏水中,10 000 r/min 高速搅拌 20 min,得到初乳,过滤后转入高压均质机(15 000 psi,3 个循环),即得 TSCP-NE。

1.2.2 TSCP-NE 质量评价 观察 TSCP-NE 颜色、状态及流动性;染色法鉴别纳米乳类型<sup>[12]</sup>;透射电镜观察 TSCP-NE 形态,纳米乳粒度仪测定粒径<sup>[13]</sup>。室温下阿贝折光仪测定折光率、pH 计测定 pH 值、奥氏粘度计测定粘度。水浴加热法测定浊点<sup>[13]</sup>。

1.3 动物分组和处理

将 Balb/c 小鼠随机分为空白对照组、模型对照组、空白纳米乳组(给予空白纳米乳)、TSCP 水溶液组(给予 TSCP 水溶液,剂量 200 mg/kg)、TSCP-NE 组(给予 TSCP-NE,高中低剂量分别为 200, 100,50 mg/kg),每组 10 只,雌雄各半。空白对照组和模型对照组小鼠灌胃蒸馏水,其余各组小鼠灌胃相应的药物,连续用药 14 d(1 次/d),给药量 0.01 mL/g。除空白对照组外,其余各组小鼠在给药第 1 天皮下注射 HY(剂量 20 mg/kg),连续注射 7 d,制备免疫抑制小鼠。

1.3.1 血清 IL-2 和 IFN-γ 含量测定 末次给药 12 h 后,小鼠眼眶采血制备血清,按试剂盒说明分别测定血清中 IL-2 和 IFN-γ 含量。

1.3.2 脾淋巴细胞增殖试验 无菌条件下取小鼠脾脏,制备脾细胞悬液(5×10<sup>6</sup> 个/mL)<sup>[14]</sup>。将脾细胞悬液添加到 96 孔细胞培养板中(100 μL/孔),然后再加入含 ConA 的培养液,使每孔培养液体积为 200 μL,ConA 质量浓度为 5 μg/mL,以不添加 ConA 为阴性对照组,加完样后于 37 ℃、体积分数 5% CO<sub>2</sub> 条件培养 44 h 后,加入 MTT,继续培养 4 h 后,酶标仪测定 OD<sub>490</sub> 值,计算增殖刺激指数(SI)。

$$SI = \frac{\text{加有丝分裂原培养物 OD}_{490}}{\text{不加有丝分裂原培养物 OD}_{490}}$$

1.3.3 NK 细胞活性检测 靶细胞为 YAC-1 细胞(浓度为 1×10<sup>5</sup> 个/mL),效应细胞为 1.3.2 节获得的脾细胞。细胞分组:最大释放孔(加靶细胞悬液和 LDH 释放试剂各 100 μL)、靶细胞自然释放孔(含体积分数 1% 胎牛血清培养液和靶细胞悬液各 100 μL)、试验孔(效应细胞悬液和靶细胞悬液各 100

μL)。同时设无细胞的培养液孔(背景空白对照孔),加完样后,37 ℃、体积分数 5% CO<sub>2</sub> 条件培养,按乳酸脱氢酶细胞毒性检测试剂盒说明书进行操作,酶标仪测定 OD<sub>490</sub> 值,计算杀伤率(测得的各组吸光度均应减去背景空白对照孔吸光度)。

NK 细胞杀伤率(%)=

$$\frac{\text{试验孔 OD}_{490} - \text{自然释放孔 OD}_{490}}{\text{最大释放孔 OD}_{490} - \text{自然释放孔 OD}_{490}} \times 100。$$

1.3.4 碳粒廓清试验 末次给药 12 h 后,尾静脉注射生理盐水稀释的印度墨汁,分别在注射后 2 min(*t*<sub>1</sub>)和 10 min(*t*<sub>2</sub>)眼眶采血,加入 0.1% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 溶液 2 mL 处理后,分光光度法测定 A<sub>600</sub> 值,计算廓清指数 *K* 和吞噬指数 α<sup>[12]</sup>。

1.3.5 血清溶血素测定 给药第 11 天,小鼠腹腔注射 0.2 mL 绵羊红细胞悬液(体积分数 20% SR-BC 悬液),第 14 天给药 12 h 后,眼球采血,制备血清。采用分光光度法<sup>[14]</sup>测定样品 OD<sub>540</sub> 值和 SRBC 半数溶血时 OD<sub>540</sub> 值,血清溶血素水平用半数溶血值 HC<sub>50</sub> 表示。

$$HC_{50} = \frac{\text{样品 OD}_{540}}{\text{SRBC 半数溶血时 OD}_{540}} \times \text{稀释倍数}。$$

1.4 数据处理

采用 SPSS 17.0 软件对试验数据进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 TSCP-NE 质量评价

2.1.1 外观和类型 所制备的 TSCP-NE 为澄清透明的淡黄色液体,光照具有丁达尔效应;染色法表明甲基蓝比苏丹红更易在 TSCP-NE 中扩散,说明 TSCP-NE 为 O/W 纳米乳。

2.1.2 形态和粒径 TSCP-NE 液滴呈球形,粒径小于 100 nm(图 1)。

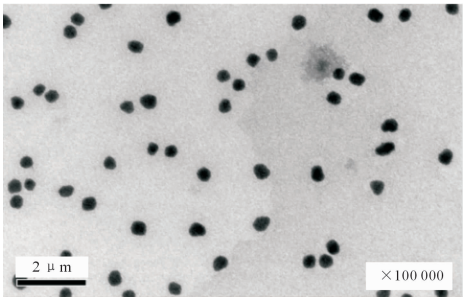


图 1 TSCP-NE 透射电镜照片

Fig. 1 Morphology of TSCP-NE under transmission electron microscope

激光粒度分析仪测得 TSCP-NE 平均粒径为 60.67 nm,粒径多分散值为 0.347。

2.1.3 折光率、pH 值、粘度和浊点 TSCP-NE 的折光率、pH 值、粘度和浊点分别是 1.340 6,6.79,  $4.38\times 10^{-3}$  (Pa·s),60.5℃。

2.2 TSCP-NE 对免疫抑制小鼠血清 IL-2 和 IFN- $\gamma$  含量的影响

由表 1 可以看出,小鼠注射 HY 后,模型对照组小鼠 IL-2 和 IFN- $\gamma$  含量显著低于空白对照组( $P<$

0.05)。空白纳米乳组 IL-2 和 IFN- $\gamma$  含量高于模型对照组,但差异不显著( $P>0.05$ ),这说明作为药物载体的空白纳米乳对 IL-2 和 IFN- $\gamma$  细胞因子产生无明显影响。TSCP-NE 高中低剂量组 IL-2 和 IFN- $\gamma$  含量显著高于模型对照组( $P<0.05$ ),且随着给药剂量的增加而显著增加;TSCP-NE 高剂量组 200 mg/kg IL-2 和 IFN- $\gamma$  含量显著高于同剂量 TSCP 水溶液组( $P<0.05$ )。

表 1 TSCP-NE 对免疫抑制小鼠血清 IL-2 和 IFN- $\gamma$  含量的影响

Table 1 Effect of TSCP-NE on contents of IL-2 and IFN- $\gamma$  in serum of immunosuppressed mice

| 处理 Treatments                          | IL-2/(pg·mL <sup>-1</sup> ) | IFN- $\gamma$ /(ng·mL <sup>-1</sup> ) |
|----------------------------------------|-----------------------------|---------------------------------------|
| 空白对照组 Blank control                    | 13.65±1.03 a                | 98.79±2.19 a                          |
| 模型对照组 Model control                    | 5.56±0.98 d                 | 69.23±1.99 d                          |
| 空白纳米乳组 Blank nanoemulsion group        | 5.92±1.06 d                 | 70.05±3.83 d                          |
| TSCP 水溶液组 TSCP solution group          | 12.07±0.79 b                | 93.17±2.98 b                          |
| TSCP-NE 高剂量组 High-dose TSCP-NE group   | 13.92±1.10 a                | 99.24±3.56 a                          |
| TSCP-NE 中剂量组 Medium-dose TSCP-NE group | 10.44±1.21 b                | 88.76±2.22 b                          |
| TSCP-NE 低剂量组 Low-dose TSCP-NE group    | 7.99±1.34 c                 | 73.31±2.05 c                          |

注:同列数据后标不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ )。下表同。

Note: Different lowercase letters in each column mean significant difference ( $P<0.05$ ). The same below.

2.3 TSCP-NE 对免疫抑制小鼠脾淋巴细胞增殖的影响

由表 2 可以看出,模型对照组小鼠 SI 值显著低于空白对照组( $P<0.05$ )。与模型对照组相比,空白纳米乳组 SI 值变化不显著( $P>0.05$ ),说明空白

纳米乳载体对小鼠脾细胞增殖无明显影响。TSCP-NE 高中低剂量组 SI 值显著高于模型对照组( $P<0.05$ ),且随着给药剂量的增加而显著增加;TSCP-NE 高剂量组(200 mg/kg) SI 值显著高于同剂量 TSCP 水溶液组( $P<0.05$ )。

表 2 TSCP-NE 对免疫抑制小鼠脾淋巴细胞增殖和脾脏 NK 细胞杀伤率的影响

Table 2 Effect of TSCP-NE on proliferation activity of spleen cells and killing activity of NK cells in spleen of immunosuppressed mice

| 处理 Treatments                          | SI          | NK 细胞杀伤率/%<br>NK cell killing rate |
|----------------------------------------|-------------|------------------------------------|
| 空白对照组 Blank control                    | 1.79±0.17 a | 35.52±2.56 a                       |
| 模型对照组 Model control                    | 1.06±0.10 d | 19.89±2.13 d                       |
| 空白纳米乳组 Blank nanoemulsion group        | 1.09±0.14 d | 21.09±2.47 d                       |
| TSCP 水溶液组 TSCP solution group          | 1.60±0.19 b | 34.10±1.19 b                       |
| TSCP-NE 高剂量组 High-dose TSCP-NE group   | 1.86±0.20 a | 37.85±2.22 a                       |
| TSCP-NE 中剂量组 Medium-dose TSCP-NE group | 1.44±0.14 b | 31.02±3.10 b                       |
| TSCP-NE 低剂量组 Low-dose TSCP-NE group    | 1.31±0.13 c | 24.37±2.05 c                       |

2.4 TSCP-NE 对免疫抑制小鼠脾脏 NK 细胞活性的影响

由表 2 还可以看出,模型对照组小鼠 NK 细胞杀伤率显著低于空白对照组( $P<0.05$ )。空白纳米乳组 NK 细胞杀伤率大于模型对照组,但差异不显著( $P>0.05$ ),说明空白纳米乳载体对 NK 细胞活性无明显影响。TSCP-NE 高中低剂量组 NK 细胞杀伤率显著高于模型对照组( $P<0.05$ ),且随着给药剂量的增加而增加;TSCP-NE 高剂量组(200 mg/kg)NK 细胞杀伤率显著高于同剂量 TSCP 水

溶液组( $P<0.05$ )。

2.5 TSCP-NE 对免疫抑制小鼠腹腔单核巨噬细胞吞噬功能的影响

由表 3 可以看出,模型对照组 K 值和  $\alpha$  值显著低于空白对照组( $P<0.05$ )。TSCP-NE 高中低剂量组 K 值和  $\alpha$  值显著高于模型对照组( $P<0.05$ ),且随着给药剂量的增加而增加;TSCP-NE 高剂量组(200 mg/kg)K 值和  $\alpha$  值显著高于同剂量 TSCP 水溶液组( $P<0.05$ )。

表 3 TSCP-NE 对免疫抑制小鼠腹腔单核巨噬细胞吞噬功能和血清溶血素含量的影响

Table 3 Effect of TSCP-NE on phagocytic activity of mononuclear macrophage and content of serum hemolysin of immunosuppressed mice

| 处理 Treatment                           | $K(\times 10^{-2})$ | $\alpha$    | HC <sub>50</sub> |
|----------------------------------------|---------------------|-------------|------------------|
| 空白对照组 Blank control                    | 3.99±0.50 a         | 5.92±0.89 a | 101.32±6.89 a    |
| 模型对照组 Model control                    | 2.10±0.42 d         | 3.88±0.67 d | 58.55±3.64 d     |
| 空白纳米乳组 Blank nanoemulsion group        | 2.53±0.39 d         | 4.27±0.55 d | 63.21±5.27 d     |
| TSCP 水溶液组 TSCP solution group          | 3.46±0.47 b         | 5.46±0.34 b | 91.17±4.98 b     |
| TSCP-NE 高剂量组 High-dose TSCP-NE group   | 4.03±0.53 a         | 6.05±0.68 a | 109.62±6.05 a    |
| TSCP-NE 中剂量组 Medium-dose TSCP-NE group | 3.12±0.31 b         | 5.07±0.71 b | 80.34±5.50 b     |
| TSCP-NE 低剂量组 Low-dose TSCP-NE group    | 2.85±0.49 c         | 4.61±0.73 c | 71.58±4.26 c     |

2.6 TSCP-NE 对免疫抑制小鼠血清溶血素含量的影响

由表 3 还可以看出,模型对照组 HC<sub>50</sub> 值显著低于空白对照组 ( $P<0.05$ )。TSCP-NE 高中低剂量组 HC<sub>50</sub> 值显著高于模型对照组 ( $P<0.05$ ),且随着用药剂量的增加而增加;TSCP-NE 高剂量组 (200 mg/kg) HC<sub>50</sub> 值显著高于同剂量 TSCP 水溶液组 ( $P<0.05$ )。

3 讨 论

目前建立免疫抑制动物模型常用的方法是免疫抑制剂,如 HY 和环磷酰胺。HY 属于糖皮质激素,环磷酰胺属于烷化剂,它们的免疫抑制作用可能与其使用剂量有关<sup>[15-17]</sup>。本研究对小鼠连续多次注射 HY,其脾 T 淋巴细胞增殖活性、NK 细胞杀伤活性、单核巨噬细胞吞噬能力和血清溶血素水平均显著低于正常小鼠,表明成功建立免疫抑制小鼠模型。

机体免疫系统产生多种细胞因子,这些因子能单独作用或相互诱生,形成细胞因子网络,其中“IL-2-IFN- $\gamma$ -NK 免疫调节网络”是重要网络之一<sup>[18-19]</sup>。IL-2 和 IFN- $\gamma$  主要由 T 细胞产生,其水平可以反映 T 细胞功能,NK 细胞可以反映机体非特异性免疫。本研究考察了 TSCP-NE 对免疫抑制小鼠血清 IL-2 和 IFN- $\gamma$  含量、NK 细胞杀伤活性的影响,结果表明免疫抑制小鼠灌胃 TSCP-NE 后,其血清 IL-2 和 IFN- $\gamma$  水平、NK 细胞杀伤活性显著高于模型对照组,并且高于同剂量 TSCP 水溶液,表明 TSCP-NE 能拮抗 HY 对 T 细胞和 NK 细胞的抑制作用,有助于增强免疫抑制小鼠的免疫功能,并且其作用显著强于 TSCP 水溶液。

ConA 诱导脾淋巴细胞增殖试验可以评价 T 细胞介导的细胞免疫功能<sup>[20]</sup>。本研究结果显示,免疫抑制小鼠灌胃 TSCP-NE 后,其 T 细胞增殖活性明显强于模型对照组,并且高于同剂量 TSCP 水溶液,

表明纳米乳有助于 TSCP 恢复免疫抑制小鼠脾 T 细胞的增殖活性。

碳粒廓清试验可以评价机体的非特异性免疫功能<sup>[21]</sup>。血清溶血素试验可以评价抗体介导的体液免疫功能<sup>[22]</sup>。本研究发现,TSCP-NE 能显著提高免疫抑制小鼠单核巨噬细胞吞噬能力和血清溶血素水平,表明纳米乳有助于 TSCP 增强免疫抑制小鼠单核巨噬细胞的吞噬活性和促进抗体产生,使其向正常水平恢复。

本研究结果表明,TSCP-NE 较游离 TSCP 更能增强机体的细胞免疫、体液免疫和非特异性免疫,这与前人研究结果<sup>[23]</sup>一致。纳米乳能增强 TSCP 的免疫作用,这可能是由于:(1)纳米乳作为药物的储存库,在体内保护药物免于降解,能缓慢释放药物,提高生物利用度<sup>[24-26]</sup>;(2)粒径大小会影响药物体内吸收和分布,TSCP-NE 液滴小,平均粒径为 60.67 nm,有利于细胞对药物的摄取<sup>[27-29]</sup>;(3)纳米乳中表面活性剂具有类似磷脂的结构,有利于纳米乳液滴和细胞膜的融合,增强药物吸收或药物和细胞间作用<sup>[30]</sup>。

4 结 论

本研究发现,TSCP-NE 对机体的细胞免疫、体液免疫以及非特异免疫的增强作用强于游离 TSCP,表明 TSCP-NE 能增强 TSCP 的免疫调节作用,为 TSCP-NE 免疫增强剂用于保健品或药品提供了一定的试验依据。

[参考文献]

[1] 席彩彩,杨碧仙,云雪林. 贵州药食两用植物资源调查 [J]. 贵阳学院学报(自然科学版),2015,10(2):47-54.  
Xi C C, Yang B X, Yun X L. Study on the dual-purpose resources for drug and food in Guizhou [J]. Journal of Guiyang College (Natural Sciences), 2015, 10(2): 47-54.  
[2] Liu C, Chen J, Li E T, et al. The comparison of antioxidative

- and hepatoprotective activities of *Codonopsis pilosula* polysaccharide (CP) and sulfated [J]. International Immunopharmacology, 2015, 24(2): 299-305.
- [3] 杨鹏飞, 楚世峰, 陈乃宏. 党参的药理学研究进展及其抗脑缺血再灌注损伤的机制 [J]. 湖南中医药大学学报, 2015, 35(12): 5-10.
- Yang P F, Chu S F, Chen N H. Advances in pharmacological researches of dangshen and the protective mechanisms of dangshen on brain ischemia-reperfusion injury [J]. Journal of Hunan Univ of CM, 2015, 35(12): 5-10.
- [4] Jiang Y P, Liu Y F, Guo Q L, et al. Sesquiterpene glycosides from the roots of *Codonopsis pilosula* [J]. Acta Pharmaceutica Sinica B, 2016, 6(1): 46-54.
- [5] Yang C X, Gou Y Q, Chen J Y, et al. Structural characterization and antitumor activity of a pectic polysaccharide from *Codonopsis pilosula* [J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 98(1): 886-895.
- [6] Ng T B, Liu F, Wang H X. The antioxidant effects of aqueous and organic extracts of *Panax quinquefolium*, *Panax notoginseng*, *Codonopsis pilosula*, *Pseudostellaria heterophylla* and *Glehnia littoralis* [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2004, 93(2/3): 285-288.
- [7] 孙政华, 邵 晶, 郭 玫. 党参化学成分及药理作用研究进展 [J]. 安徽农业科学, 2015, 43(33): 174-176.
- Sun Z H, Shao J, Guo M. Research progress of *Codonopsis pilosula* chemical component and pharmacological effects [J]. Journal of Anhui Agri Sci, 2015, 43(33): 174-176.
- [8] 李 阳, 王 昕, 张珈宇. 人参皂苷在人参药食同源应用中的研究进展 [J]. 食品研究与开发, 2015, 36(15): 159-163.
- Li Y, Wang X, Zhang J N. The research progress of ginsenosides in homology of medicine and food of ginseng applications [J]. Food Research and Development, 2015, 36(15): 159-163.
- [9] Donsi F, Ferrari G. Essential oil nanoemulsions as antimicrobial agents in food [J]. Journal of Biotechnology, 2016, 233: 106-120.
- [10] Goindi S, Kaur A, Kaur R, et al. Nanoemulsions: an emerging technology in the food industry [J]. Emulsions, 2016, 3: 651-688.
- [11] Singh Y, Meher J G, Raval K, et al. Nanoemulsion: concepts, development and applications in drug delivery [J]. Journal of Controlled Release, 2017, 252: 28-49.
- [12] Li J L, Hwang I C, Chen X G, et al. Effects of chitosan coating on curcumin loaded nano-emulsion: study on stability and *in vitro* digestibility [J]. Food Hydrocolloids, 2016, 60: 138-147.
- [13] Moghimi R, Aliahmadi A, McClements D J, et al. Investigations of the effectiveness of nanoemulsions from sage oil as antibacterial agents on some food borne pathogens [J]. LWT-Food Science and Technology, 2016, 71: 69-76.
- [14] 黄世荣, 洪德志, 李晓童, 等. 桑枝多糖对免疫抑制小鼠的免疫调节作用 [J]. 蚕业科学, 2017(3): 467-471.
- Huang S R, Hong D Z, Li X T, et al. The immunoregulation effect of *ramulus mori* polysaccharide on immunosuppressed mice [J]. Science of Sericulture, 2017(3): 467-471.
- [15] 李相玲, 白莎莎, 周 联, 等. 环磷酰胺和地塞米松对小鼠肠道黏膜免疫抑制的比较 [J]. 中国免疫学杂志, 2013(1): 39-47.
- Li X L, Bai S S, Zhou L, et al. Comparison of the immunosuppressive functions induced by cyclophosphamide and dexamethasone in intestinal mucosa in mice [J]. Chinese Journal of Immunology, 2013(1): 39-47.
- [16] Boisseaux P, Noury P, Thomas H. Immune responses in the aquatic gastropod *Lymnaea stagnalis* under short-term exposure to pharmaceuticals of concern for immune systems: diclofenac, cyclophosphamide and cyclosporine A [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2017, 139: 358-366.
- [17] Wang Y J, Qi Q C, Li A, et al. Immuno-enhancement effects of Yifei Tongluo Granules on cyclophosphamide-induced immunosuppression in Balb/c mice [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2016, 194: 72-82.
- [18] Chalamaiah M, Yu W, Wu J. Immunomodulatory and anticancer protein hydrolysates (peptides) from food proteins: a review [J]. Food Chemistry, 2018, 245: 205-222.
- [19] Ghaebi M, Nouri M, Ghasemzadeh A. Immune regulatory network in successful pregnancy and reproductive failures [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2017, 88: 61.
- [20] Dangroo N A, Singh J, Dar A A, et al. Synthesis of  $\alpha$ -santonin derived acetyl santonous acid triazole derivatives and their bioevaluation for T and B-cell proliferation [J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2016, 120: 160-169.
- [21] George A, Chinnappan S, Choudhary Y, et al. Immunomodulatory activity of an aqueous extract of *Polygonum minus* Huds on Swiss albino mice using carbon clearance assay [J]. Asian Pacific Journal of Tropical Disease, 2014, 4(5): 398-400.
- [22] Pellegrino M, Rodriguez N, Vivas A, et al. *Staphylococcus aureus* avirulent mutant vaccine induces humoral and cellular immune responses on pregnant heifers [J]. Vaccine, 2016, 34(29): 3356-3362.
- [23] Fan Y P, Ma L, Zhang W M, et al. Microemulsion can improve the immune-enhancing activity of propolis flavonoid on immunosuppression and immune response [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2014, 63: 126-132.
- [24] Sun Y, Xia Z Y, Zheng J K, et al. Nanoemulsion-based delivery systems for nutraceuticals: influence of carrier oil type on bioavailability of pterostilbene [J]. Journal of Functional Foods, 2015, 13: 61-70.
- [25] Miastkowska M, Sikora E, Ogonowski J, et al. The kinetic study of isotretinoin release from nanoemulsion [J]. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2016, 510: 63-68.
- [26] Yerramilli M, Longmore N, Ghosh S. Improved stabilization of nanoemulsions by partial replacement of sodium caseinate with pea protein isolate [J]. Food Hydrocolloids, 2017, 64: 99-111.
- [27] Majeed H, Antoniou J, Hategekimana J, et al. Influence of carrier oil type, particle size on invitro lipid digestion and eugenol

release in emulsion and nanoemulsions [J]. Food Hydrocolloids,2016,52;415-422.

[28] Gao Y N,Qi X J,Zheng Y P,et al. Nanoemulsion enhances  $\alpha$ -tocopherol succinate bioavailability in rats [J]. International Journal of Pharmaceutics,2016,515(1/2);506-514.

[29] Kwasigroch B,Escibano E,Morán M D. Oil-in-water nanoemulsions are suitable for carrying hydrophobic compounds;in-domethacin as a model of anti-inflammatory drug [J]. International Journal of Pharmaceutics,2016,515(1/2);749-756.

[30] Akhter S,Anwar M,Siddiqui M A. Improving the topical ocular pharmacokinetics of an immunosuppressant agent with mucoadhesive nanoemulsions; formulation development, *in-vitro* and *in-vivo* studies [J]. Colloids & Surfaces B Biointerfaces,2016,148;19-29.

.....

(上接第 117 页)

[29] Zhao X,Shi Y,Liu Y,et al. Osmotic adjustment of soil bio-crust mosses in response to desiccation stress [J]. Pedosphere,2015,25(3);459-467.

[30] 陈文佳,张楠,杭璐璐,等. 干旱胁迫与复水过程中遮光对细叶小羽藓的生理生化影响 [J]. 应用生态学报,2013,24(1):57-62.

Chen W J,Zhang N, Hang L L, et al. Influence of shading during the processes of drought stress and re-watering on the physiological and biochemical characteristics of *Haplodadium microphyllum* [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2013,24(1);57-62.

[31] Oliver M J. Influence of protoplasmic water-loss on the control of protein-synthesis in the desiccation-tolerant moss *Tortula ruralis*; ramifications for a repair-based mechanism of desiccation tolerance [J]. Plant Physiology, 1991, 97; 1501-1511.

[32] 回嵘,李新荣,陈翠云,等. UV-B 辐射增强对土生对齿藓 (*Didymodon vinealis*) 结皮生理代谢及光系统相关蛋白表达的影响 [J]. 生态学杂志,2013,32(3);583-590.

Hui R,Li X R,Chen C Y,et al. Effects of enhanced UV-B radiation on physiological metabolism and photosystem-related protein expression of *Didymodon vinealis* (Brid.) Zand crust [J]. Chinese Journal of Ecology,2013,32(3);583-590.

[33] Bewley J D,Black M. The control of dormancy [M]//Bewley J D,Black M. Physiology and biochemistry of seeds in relation to germination. Berlin;Springer-Verlag,1978;199-269.

[34] Chadoeuf-Hannel R,Taylorson R B. Changes in lipid fatty acids associated with dormancy breaking in *Amaranthus albus* seeds [J]. Journal of Seed Technology,1987,11;15-22.

[35] Hendricks S B,Taylorson R B. Reversal by pressure of seed germination promoted by anesthetics [J]. Planta,1980,149;108-111.

[36] Kendrick R E,Spruit C J P, Frankland B. Phytochrome in seeds of *Amaranthus caudatus* [J]. Planta,1969,88;293-302.

[37] Pressel S,Ligrone R,Duckett J G. Effects of de- and rehydration on food-conducting cells in the moss *Polytrichum formosum*; a cytological study [J]. Annals of Botany,2006,98(1);67-76.

[38] Mansour K S,Hallet J N. Effect of desiccation on DNA synthesis and the cell cycle of the moss *Polytrichum formosum* [J]. New Phytologist,1981,87;315-324.