

# 果胶与双歧杆菌对 Balb/c 小鼠机体敏感性的影响

孙璐, 王翠燕, 苗静, 周催, 毕源, 宫雪, 车会莲\*

(中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

**摘要:** **目的** 研究果胶是否能够降低 Balb/c 小鼠对 OVA(鸡卵清白蛋白)的过敏反应水平, 以及同时经口给予双歧杆菌是否能够调整小鼠肠道菌群, 从而影响过敏反应的发生和反应强度。 **方法** 连续 40 d 经口给予小鼠 20  $\mu\text{g}/\text{只}$ (低剂量)和 200  $\mu\text{g}/\text{只}$ (高剂量)的果胶溶液或溶有双歧杆菌( $2 \times 10^6$  CFU/只)的果胶溶液, 每 10 d 腹腔注射 OVA 和铝佐剂致敏小鼠, 10 d 后进行大刺激, 采血测定组胺、肥大细胞蛋白酶-1、免疫球蛋白 E 水平, 并对脾脏 T 细胞进行体外刺激, 检测 IFN- $\gamma$  和 IL-4 的水平, 同时取小鼠粪便筛选双歧杆菌培养。 **结果** 果胶处理组小鼠血浆中组胺、肥大细胞蛋白酶-1 水平与 OVA 致敏组相比无显著差异( $P > 0.05$ ); 高剂量处理组小鼠血清总 IgE 水平显著低于 OVA 致敏组( $P < 0.05$ ), 特异性 IgE 及细胞因子水平无显著差异( $P > 0.05$ ); 双歧杆菌筛选培养可以看出, 果胶有增加双歧杆菌数量的作用, 但经口给予双歧杆菌活菌无显著作用。 **结论** 补充果胶不能降低 Balb/c 小鼠的肥大细胞脱颗粒情况、抗体水平以及细胞因子产生水平; 果胶有增加肠道内双歧杆菌的作用, 但经口给予活菌不能增加肠道内双歧杆菌水平。

**关键词:** 果胶; 双歧杆菌; 小鼠; 过敏反应; 肠道菌群

## Research on the effect of pectin and *Bifidobacterium* on organism sensibility in Balb/c mice

SUN Lu, WANG Cui-Yan, MIAO Jing, ZHOU Cui, BI Yuan, GONG Xue, CHE Hui-Lian\*

(College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agriculture University, Beijing 100083, China)

**ABSTRACT: Objective** To study whether pectin can decrease the level of allergic reactions to ovalbumin (OVA) in Balb/c mice, and whether oral administration of bifidobacterium at the same time can adjust the intestinal flora in mice to affect the level of an allergic reaction. **Methods** 20  $\mu\text{g}/\text{mouse}$  (low dose) and 200  $\mu\text{g}/\text{mouse}$  (high dose) soluble pectin solution with/without *Bifidobacterium* ( $2 \times 10^6$  CFU/mouse) was given for 40 d, and OVA added alum adjuvant was intraperitoneally injected every 10 days to sensitize mice, then mice were stimulated with OVA 10 d later. The levels of plasma histamine, mast cells protease-1 and immunoglobulin E were determined by ELISA. Spleen T cells were prepared and stimulated *in vitro* to produce cytokines, and the levels of IFN- $\gamma$  and IL-4 were then measured. Fecal samples were collected to culture *Bifidobacterium*, and compare the differences between groups. **Results** The levels of histamine, mast cells protease-1 level of mice administrated with pectin and mice sensitized by OVA showed no significant difference. Levels of serum total IgE in mice of high dose treatment were significantly lower than mice sensitized by OVA, while

基金项目: 中央高校基本科研业务专项

**Fund:** Supported by Chinese Universities Scientific Program

\*通讯作者: 车会莲, 副教授, 主要研究方向为食品过敏、食品毒理学。E-mail: chehuilian@cau.edu.cn

\*Corresponding author: CHE Hui-Lian, associate professor, College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, No. 17, Qinghua East Road, Haidian District, Beijing, 100083, China. E-mail: chehuilian@cau.edu.cn

the levels of specific IgE and cytokines showed no significant difference. Pectin could increase the number of bifidobacteria, but oral administration of bifidobacterium viable showed no significant effect. **Conclusion** Levels of mast cell degranulation, antibodies and cytokines were not reduced by pectin in Balb/c mice. Pectin increased the number of intestinal *Bifidobacterium*, but it showed no obvious effect by given live bacteria.

**KEY WORDS:** pectin; *Bifidobacterium*; mice; anaphylaxis; intestinal flora

## 1 引言

膳食纤维是指食物中所有的不能被人体胃肠道消化酶消化吸收的非淀粉类多糖,主要来自植物细胞壁的成分,包括纤维素、半纤维素、果胶和非多糖成分的木质素。它们虽不能被人体吸收,但都是维持身体健康所必需的。膳食纤维分为可溶性和不可溶性膳食纤维。可溶性膳食纤维主要有果胶、树胶、种子胶、琼脂、海带等多糖羧甲基纤维素等,具有调节糖类和脂类代谢的功能,对降低胆固醇、预防心血管疾病有良好的效果;不可溶性膳食纤维主要指纤维素、一些半纤维素和木质素,存在于禾谷类和豆类种子的外皮及植物的茎和叶中,具有吸水性且不溶于水的特性,故可增加食物体积,有良好的预防便秘效果。目前有研究显示膳食纤维能够促进免疫反应<sup>[1]</sup>。Kelly-Quagliana 等<sup>[2]</sup>的实验表明,小鼠在喂养膳食纤维后,自然杀伤细胞活性增强,激起免疫应答。Field 等<sup>[3]</sup>用含有“易发酵纤维”(果肉、果糖聚合物、果胶基的混合物)和一种不发酵纤维原料(木纤维)连续喂养实验动物两周,结果显示可发酵纤维的摄入影响了肠道淋巴组织的T细胞的组成,可导致体内上皮T细胞有丝分裂增加且黏膜组织发生免疫应答。对胃肠术后患者的研究发现膳食纤维能促进肠上皮细胞DNA合成和上皮细胞的更新,从而积极参与小肠的免疫反应<sup>[4]</sup>。Nguyen 等<sup>[5]</sup>采用体外实验证明膳食纤维酵解产生的短链脂肪酸可促进CD4<sup>+</sup>T细胞的增殖,分泌大量的细胞因子,从而增加血管渗透性,导致血管舒张以及炎症因子的聚集<sup>[6]</sup>,发挥免疫刺激功能。Aureilien 等<sup>[7]</sup>给予小鼠高纤维膳食后,发现气道炎症水平有降低,而给予低水平纤维膳食后,促进了炎症水平。

果胶是植物中存在的一种酸性多糖物质,它是一种天然高分子化合物,具有良好的胶凝化和乳化稳定作用,已广泛用于食品、医药、日化及纺织行业,在食品上作胶凝剂、增稠剂、稳定剂、悬浮剂、乳化

剂、增香增效剂等,因此,日常饮食中果胶的摄入量较大。有研究表明<sup>[8]</sup>,果胶的摄入对人体免疫功能可能有一定作用。给予小鼠一定剂量的果胶,再以卵清蛋白(OVA)刺激,发现果胶处理组比对照组的IgE等免疫指标水平有显著性差异<sup>[9]</sup>。Lim 等<sup>[10]</sup>给4周龄的雄性SD大鼠分别饲喂纤维素(水不溶性)、果胶(水溶性),结果显示饲喂果胶的大鼠肠系膜淋巴结中CD4<sup>+</sup>T细胞的数量显著高于饲喂纤维素组,而且膳食果胶显著增加了肠系膜淋巴结中IL-2的受体表达量。果胶对免疫功能的影响与摄入的剂量有关,一定剂量的果胶可抑制过敏反应<sup>[11,12]</sup>,摄入量过高时又可能会促进过敏反应的发生。对于像果胶这样的可溶性膳食纤维来说,能够刺激机体的免疫功能,对于免疫功能正常的人群可以提高机体的防病抗病能力,而对于那些免疫功能过于敏感的慢性过敏人群,则可能达到相反的作用。因此,研究果胶对敏感人体的作用,对于指导这些人群的科学饮食十分必要。

有研究证实双歧杆菌可以以果胶作为碳源进行增殖<sup>[13]</sup>,所以果胶的灌胃处理有可能增加肠道内双歧杆菌的增殖。而双歧杆菌作为肠道内的有益菌,增殖后可将有益菌稳定为优势菌,促进肠道及机体正常功能的行使。而双歧杆菌与果胶同时给予,可以推测双歧杆菌数量增加会比单纯给予果胶多,但也要考虑小鼠自身的肠道菌群情况。因此,本实验研究果胶对OVA引起的过敏反应是否有保护或促进作用,同时给予双歧杆菌处理,来观察肠道菌群是否会得以调节。

## 2 材料与方法

### 2.1 材料试剂

果胶,来自橘皮,美国Sigma公司;卵清蛋白OVA,美国Sigma公司;双歧杆菌粉,活菌数 $>1 \times 10^9$  CFU/g。其他试剂均从美国Sigma公司购得。

## 2.2 实验动物

实验动物选用5~6周龄、从未进食过OVA的雌性BALB/C小鼠,购自于北京维通利华实验动物技术有限公司,体重18~22 g。适应性喂养3 d,自由摄食饮水,饲喂不含OVA的饲料。

## 2.3 动物处理

适应性喂养之后,按体重将实验动物随机分为6组,分别为阴性对照组(CK)、OVA致敏组(OVA)、果胶低剂量组(L, 20  $\mu\text{g}/\text{只}$ )、果胶高剂量组(H, 200  $\mu\text{g}/\text{只}$ )、果胶低剂量+双歧杆菌组(L+, 果胶 20  $\mu\text{g}/\text{只}$ +双歧杆菌  $2\times 10^6$  CFU/只)、果胶高剂量+双歧杆菌组(H+, 果胶 200  $\mu\text{g}/\text{只}$ +双歧杆菌  $2\times 10^6$  CFU/只)。CK组和OVA组在第0 d进行腹腔注射大刺激(含25  $\mu\text{g}$  OVA+200  $\mu\text{g}$  Al(OH)<sub>3</sub>的生理盐水0.1 mL);全部动物在第10、20、30 d分别进行OVA腹腔注射致敏(含5  $\mu\text{g}$  OVA+200  $\mu\text{g}$  Al(OH)<sub>3</sub>的生理盐水0.1 mL),10 d后分别进行大刺激(同上),20 min后内眦静脉采血、解剖,取胸腺、脾脏称重。CK组处理时不加OVA,即含200  $\mu\text{g}$  Al(OH)<sub>3</sub>佐剂的生理盐水。

## 2.4 血常规检测

大刺激30 min后采血,加入EDTA·2Na抗凝剂,部分全血利用血细胞计数仪测定血常规指标,即红细胞计数、白细胞计数、嗜碱性粒细胞数、血小板数等。部分全血离心2057 $\times$ g 10 min (Eppendorf, Centrifuge 5804R),收集上层血浆,-80  $^{\circ}\text{C}$ 保存,组胺和小鼠肥大细胞蛋白酶-1待测。

## 2.5 组胺和mMCP-1水平的测定

### 2.5.1 组胺水平的测定

向孔板上加入100  $\mu\text{L}$ 标准液或样品,37  $^{\circ}\text{C}$ 孵育2 h。倒掉孔中液体,不洗。每孔加入100  $\mu\text{L}$ 的生物素标记抗体,37  $^{\circ}\text{C}$ 孵育1 h。200  $\mu\text{L}$ 缓冲液洗板,重复3次,加入100  $\mu\text{L}$ 的过氧化物酶标记的抗生物素抗体,37  $^{\circ}\text{C}$ 孵育1 h。洗板5次。每孔加入90  $\mu\text{L}$ 的TMB底液,37  $^{\circ}\text{C}$ 孵育15~30 min,避光。每孔加入50  $\mu\text{L}$ 终止液,450 nm下测吸光值。

### 2.5.2 mMCP-1水平的测定

每孔加入100  $\mu\text{L}$ 的捕获抗体,4  $^{\circ}\text{C}$ 过夜孵育。260  $\mu\text{L}$ 缓冲液洗板3次,甩净板内液体。加入200  $\mu\text{L}$ 封闭液,室温孵育1 h。洗板至少1次。加入不

同稀释度的标准液,室温孵育2 h。洗板4次。每孔加入100  $\mu\text{L}$ 检测抗体,室温孵育1 h。洗板4次。每孔加入100  $\mu\text{L}$ 过氧化物酶标记的抗生物素抗体,室温孵育30 min。洗板6次。加入100  $\mu\text{L}$ 底液,室温孵育15 min,加入50  $\mu\text{L}$ 终止液。在450 nm处测吸光值。

## 2.6 抗体水平的测定

大刺激后30 min采血,1543 $\times$ g离心15 min得到血清,-80  $^{\circ}\text{C}$ 保存待测抗体。

### 2.6.1 血清总IgE测定,使用ELISA试剂盒法。

加入标准品和样品,37  $^{\circ}\text{C}$ 孵育30 min,洗板5次。每孔加入酶标试剂50  $\mu\text{L}$ ,37  $^{\circ}\text{C}$ 孵育30 min,洗板5次。每孔加入显色底液100  $\mu\text{L}$ ,37  $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育15 min,再加入50  $\mu\text{L}$ 终止液,450 nm处测定吸光值。

### 2.6.2 特异性IgE的测定

包被2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 纯化的大鼠抗小鼠IgE,4  $^{\circ}\text{C}$ 过夜,洗涤后用10%的正常血清+1%BSA+PBS+0.5% Tween-20,37  $^{\circ}\text{C}$ 孵育1 h。洗涤后,加入血清(稀释度为1/10、1/50、1/250、1/500),室温孵育2 h。加生物素化的OVA,37  $^{\circ}\text{C}$ ,1 h。洗涤后,加HRP-链霉亲和素,1 h,37  $^{\circ}\text{C}$ 。加TMB,硫酸终止。450 nm下测定吸光值。

## 2.7 脾脏T淋巴细胞及其培养上清的制备

小鼠大刺激处死后,无菌条件下解剖取脾脏;无菌PBS(pH 7.4)缓冲液中洗涤3次,将脾组织用注射器针芯挤压制备成脾细胞悬液过200目细胞筛,经771 $\times$ g离心10 min,无菌PBS(pH 7.4)洗3次,771 $\times$ g离心10 min;细胞沉淀中加入3 mL红细胞裂解液,裂解红细胞,771 $\times$ g离心10 min;加入3 mL PBS洗涤后771 $\times$ g离心10 min;调节细胞浓度至 $4\times 10^6$ 个/mL。

## 2.8 细胞因子水平的测定

调好的细胞液2571 $\times$ g离心5 min,弃上清,加1.5 mL含OVA的1640培养基混匀,对照加入含刀豆球蛋白的1640培养基,混匀后,加入96孔板,每孔200  $\mu\text{L}$ ,培养3 d,取上清液,离心,取上清,-80  $^{\circ}\text{C}$ 保存。采用ELISA试剂盒,测定其中IFN- $\gamma$ 、IL-4的水平。

## 2.9 双歧杆菌计数

取小鼠粪便 0.1~0.2 g, 置于带玻璃珠的无菌小瓶内, 按 1:10 的体积比加入适量稀释液, 其成分为: L-烟酸半胱氨酸 0.5 g,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  4.5 g,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  6 g, 吐温-80 0.5 g, 琼脂 1 g, 加水 1000 mL, 115 °C 灭菌 20 min。然后将小瓶置于振荡器上充分振荡 10 min, 使其均质化; 再用稀释液将粪便依次进行 10 倍系列稀释至  $10^{-7}$ 。然后用 25  $\mu\text{L}$  移液器从高稀释度开始滴种于 BBL 双歧杆菌选择性培养基上, 每个平板 3 个稀释度, 每个稀释度滴 3 滴。将平板放入密封袋中, 尽量排出袋内空气, 37 °C 培养 48~72 h 后观察结果, 计数。

## 3 结 果

### 3.1 果胶干预对嗜碱性粒细胞比例的影响

果胶处理 40 d 后取各组小鼠全血进行细胞计数, 低剂量组、高剂量组、高+剂量组均与 CK 组无显著性差异 ( $P>0.05$ ); 低剂量组、高+剂量组与 OVA 组相比, 具有显著差异 ( $P<0.05$ ), 如图 1 所示。增加双歧杆菌处理发现与仅果胶处理在低剂量时有显著差异 ( $P<0.05$ ), 可能是由于双歧杆菌代谢果胶使得产生锻炼脂肪酸从而刺激过敏反应。经过 OVA 致敏的小鼠血液中嗜碱性粒细胞水平降低, 果胶处理使嗜碱性粒细胞水平恢复到正常水平。

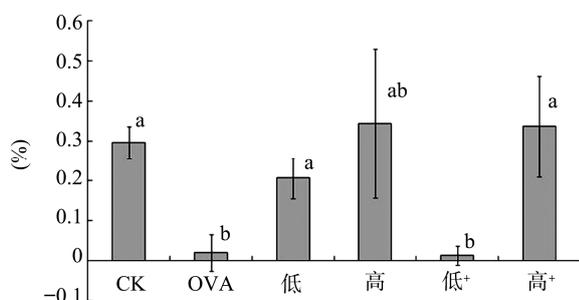


图 1 第 40 天各组小鼠血液中嗜碱性粒细胞数量百分比  
Fig. 1 Percentage of basophils in blood of mice from each group on day 40

注: CK 表示未致敏对照组, OVA 表示致敏组, L 表示果胶低剂量处理组, H 表示果胶高剂量处理组, L+ 表示果胶低剂量+双歧杆菌处理组, H+ 表示果胶高剂量+双歧杆菌处理组。

### 3.2 果胶干预对小鼠脏器指数的影响

第 40 天处理后, 解剖取胸腺、脾脏, 并称重, 计算脏器指数, 用  $\text{mg}/10 \text{ g-wt}$  表示, 如图 2, 各处理组与对照组相比, 胸腺和脾脏的脏器指数均无明显差

异 ( $P>0.05$ )。

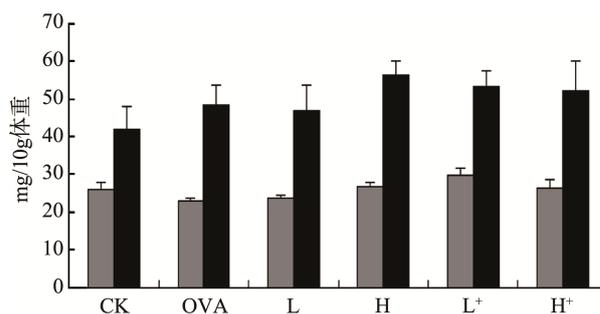


图 2 第 40 天各组小鼠的胸腺和脾脏指数

Fig. 2 Thymus and spleen index of mice from each group on 40 d

注: CK 表示未致敏对照组, OVA 表示致敏组, L 表示果胶低剂量处理组, H 表示果胶高剂量处理组, L+ 表示果胶低剂量+双歧杆菌处理组, H+ 表示果胶高剂量+双歧杆菌处理组。

### 3.3 果胶干预对小鼠血浆中组胺、mMCP-1 水平的影响

组胺与肥大细胞蛋白酶-1 都是肥大细胞颗粒中的成分, 通过检测这两者在 OVA 刺激后血浆中的水平, 可以判断果胶的灌胃处理对肥大细胞脱颗粒的影响。第 20、30、40 天 ELISA 法检测各组小鼠的血浆中组胺水平, 发现各个时期处理组与 OVA 致敏组不存在显著差异 ( $P>0.05$ ), 给予果胶或加以双歧杆菌处理的小鼠血浆中肥大细胞蛋白酶-1 水平在 20、30、40 天, 与 OVA 致敏组相比, 也无显著差异 ( $P>0.05$ ), 各组仅与阴性对照组有显著差异 ( $P<0.05$ ), 如图 3。这两个结果说明, 给予 OVA 致敏的小鼠果胶或果胶与双歧杆菌同时处理, 不能使肥大细胞脱颗粒情况恢复到正常水平。

### 3.4 果胶干预对血清总 IgE、特异性 IgE 水平的影响

在第 20 天、30 天, OVA 致敏组、各处理组与 CK 组总 IgE 水平有显著性差异 ( $P<0.05$ ), 各处理组与 OVA 致敏组无显著差异 ( $P>0.05$ ); 第 40 天, 高剂量组总 IgE 水平显著低于 OVA 致敏组 ( $P<0.05$ )。果胶与双歧杆菌处理没有降低各组小鼠各个阶段 OVA 特异性 IgE 的水平, 但相对与 OVA 处理组, 有较微弱的下降趋势, 如图 4。证明在本实验中使用的剂量果胶连续处理, 并没有使 OVA 致敏小鼠特异性抗体水平恢复至正常; 而添加双歧杆菌与果胶共同处理, 也没有改变抗体水平。

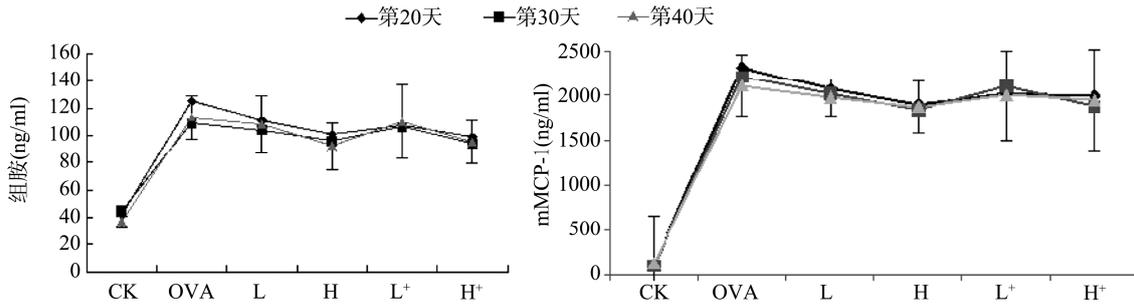


图 3 第 20、30、40 天各组小鼠血浆中组胺和 MCP-1 水平

Fig. 3 Levels of histamine and mMCP-1 in plasma of mice from each group on 20, 30, 40 d

注: CK 表示未致敏对照组, OVA 表示致敏组, L 表示果胶低剂量处理组, H 表示果胶高剂量处理组, L+表示果胶低剂量+双歧杆菌处理组, H+表示果胶高剂量+双歧杆菌处理组。

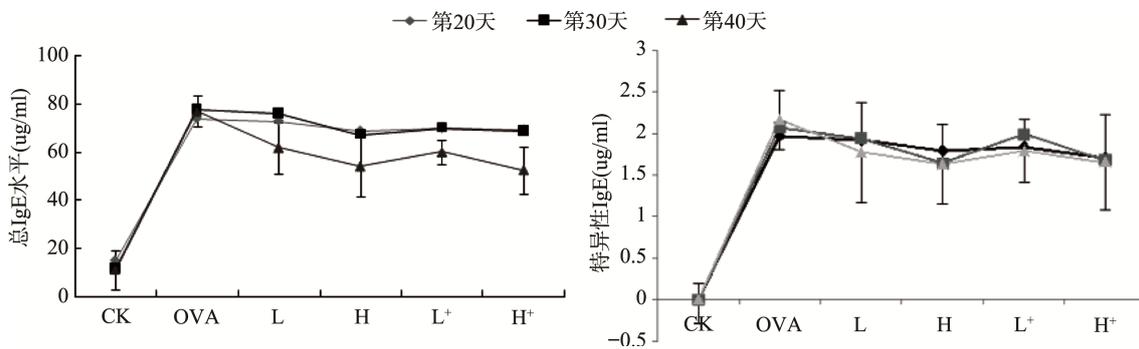


图 4 第 20、30、40 天各组小鼠血清总 IgE、特异性 IgE 水平

Fig. 4 Levels of total IgE and specific IgE in serum of mice from each group on 20, 30, 40 d

注: CK 表示未致敏对照组, OVA 表示致敏组, L 表示果胶低剂量处理组, H 表示果胶高剂量处理组, L+表示果胶低剂量+双歧杆菌处理组, H+表示果胶高剂量+双歧杆菌处理组。

### 3.5 果胶干预对细胞因子水平的影响

脾脏 T 细胞制成单细胞悬液后进行 OVA 体外刺激, 孵育 72 h 后检测上清液两种细胞因子 IFN- $\gamma$  和 IL-4 的水平, 发现果胶处理组与 OVA 致敏组的两种细胞因子水平无显著差异( $P>0.05$ )。说明体内果胶和双歧杆菌的处理没有影响脾脏 T 细胞体外刺激下产生的 IFN- $\gamma$ (Th1 型)、IL-4(Th2 型)水平(如图 5), 这表示果胶或同时给予双歧杆菌灌胃处理对于促进 Th1 型反应、抑制 Th2 型反应没有明显作用。

### 3.6 粪便中双歧杆菌水平

取小鼠新鲜粪便进行稀释、选择性培养, 2 d 后取出平板观察各组菌落情况, 见图 6。可看出各组在  $10^4$  倍处, 菌落数有差异, 果胶处理组的菌落数较阴性对照 CK、阳性对照 OVA 更多。果胶加双歧杆菌组与仅果胶处理组不会有较大的差异, 原因可能是小鼠

肠道菌群环境基本平衡, 双歧杆菌为有益菌, 果胶的处理可能会使肠道内双歧杆菌增殖, 成为优势菌, 但毕竟小鼠处于正常健康状态, 即使是有益菌也不会很大程度地增加, 只是保持菌群在平衡稳定的水平。

## 4 讨论

有研究报道, 果胶处理 Balb/c 小鼠在较低剂量时, 可以抑制小鼠抗体 IgE 和 OVA 特异性 IgE 的产生, 同时体外实验也发现脾细胞产生的 IFN- $\gamma$  水平升高、IL-5 水平降低<sup>[9]</sup>, 从而抑制 Th2 型反应, 降低过敏反应水平; 但给予小鼠较高剂量的果胶, 可能会破坏已经形成的免疫耐受<sup>[14]</sup>, 或者具有致敏佐剂的作用<sup>[12]</sup>, 增强过敏反应的程。因此, 在一定剂量范围内, 果胶处理会降低过敏反应水平, 起到保护作用, 而如果超出某一范围, 则会起到相反的作用, 提高、加强过敏反应。

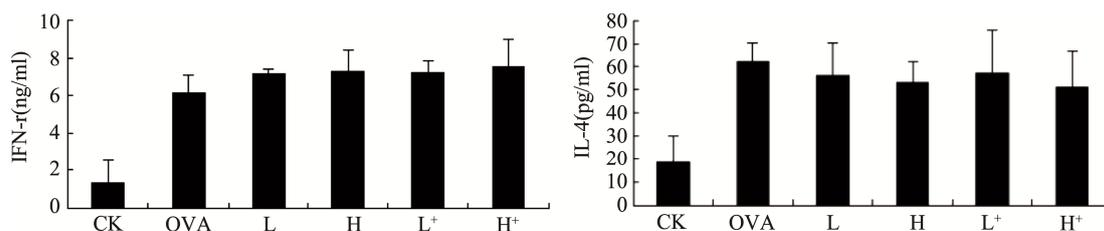


图 5 体外培养脾脏 T 细胞 OVA 刺激下产生的 IFN- $\gamma$ 、IL-4 水平

Fig. 5 Levels of IFN- $\gamma$ 、IL-4 produced by spleen T cells cultured with OVA in vitro

注: CK 表示未致敏对照组, OVA 表示致敏组, L 表示果胶低剂量处理组, H 表示果胶高剂量处理组, L+ 表示果胶低剂量+双歧杆菌处理组, H+ 表示果胶高剂量+双歧杆菌处理组。



图 6 小鼠新鲜粪便双歧杆菌选择性培养结果

Fig. 6 *Bifidobacterium* from fresh fecal for selective cultural

注: 从左到右依次为 CK 组、OVA 组、L 组、H 组、L+ 组和 H+ 组。按稀释倍数标识的-2、-3、-4、-5、-6、-7 分别表示粪便稀释  $10^2$ 、 $10^3$ 、 $10^4$ 、 $10^5$ 、 $10^6$ 、 $10^7$  倍。

事实上, 果胶可以凭借其特殊的化学结构直接与免疫细胞作用, 介导各种免疫相关细胞因子的分泌, 从而发挥免疫刺激效应。Hertzel 等<sup>[15]</sup>研究不同酯化度的果胶对外周血单核细胞分泌的细胞因子的影响, 以及在免疫调节功能的差异。结果显示, 与低甲氧基果胶相比, 高甲氧基果胶促进抗炎因子 IL-1ra、IL-10 的分泌, 减少促炎细胞因子 IL-1b 的分泌。这表明不同酯化度的果胶所发挥的免疫调节功能是有差异的, 这取决于其结构特性。因此, 关于果胶处理对小鼠过敏反应的作用, 还要考虑到果胶的具体结构, 对结构差异的果胶分类实验, 同时需要更进一步的研究来确定果胶影响免疫调节的机制。

实验中处理小鼠使用的两个果胶剂量, 从体内(组胺、肥大细胞蛋白酶-1 及抗体水平)、体外(细胞因子)各指标来看, 都没有抑制 Th2 型反应的作用, 不能发挥降低过敏反应的效果。分析结果与预期不同的原因, 可能是果胶处理的浓度及时间不足, 没有达到抑制 Th2 型反应的剂量。我们与 Lee<sup>[9]</sup>等的致敏强度及果胶处理时间不同, 且他们并没有给出特异性 IgE 的结果。另外, 果胶在生理盐水中的溶解度较低, 在水中形成胶状粘性状态, 进行加热搅拌, 可能导致

部分果胶成分分解或损失, 导致灌胃的果胶量降低。也可能存在一些其他原因, 导致实验中出现的结果, 需要进一步研究以确定果胶对过敏反应的作用以及作用剂量范围。

有文献报道, 膳食纤维可通过选择性刺激内源性特定有益细菌间接促进慢性过敏反应<sup>[16,17]</sup>。膳食纤维在小肠中不能被消化酶水解, 但在大肠中可由肠道微生物部分或全部发酵而降解, 产生大量的短链脂肪酸, 主要包括乙酸、丙酸、丁酸等。这些短链脂肪酸可促进 CD4<sup>+</sup>T 细胞的增殖, 分泌大量的细胞因子, 发挥免疫刺激功能。如果果胶能够通过调整肠道菌群进而调节免疫反应水平, 那么在果胶处理之外加上双歧杆菌的处理, 可能会使肠道内代谢产生的短链脂肪酸数量增加, 从而刺激免疫反应更加明显。但也有类似研究表示, 使用乳酸短杆菌经口或腹腔注射处理可以刺激 CD4<sup>+</sup>T 细胞 IFN- $\gamma$  的分泌, 促进 Th1 型免疫反应的发生, 从而抑制 IgE 的产生, 降低过敏反应水平<sup>[18]</sup>。本实验结果中, 通过对不同稀释浓度的粪便中双歧杆菌筛选培养, 不能够看出双歧杆菌添加组与未添加组的菌落数量区别。对于这种现象, 是在预料之内的, 因为正常健康小鼠的肠道菌群应

该是平衡、稳定的,在添加益生菌的情况下,基本不会打破本就平衡的状态,只有在有益菌、有害菌失衡的情况下,适当的添加活性益生菌,会调整肠道菌群分布及比例。且通过灌胃方式给予活菌,真正到达肠道的活菌数量是很少的,在没有保护成分的情况下,胃酸可能会使活菌无法保持活性进入肠道。而单独给予益生菌,对免疫系统的作用也有待研究,有文献支持益生菌单独处理可以影响肠道免疫反应<sup>[19]</sup>。因此,要研究双歧杆菌等益生菌对于肠道菌群情况及过敏反应的作用,需要更严格的实验来比较细微差别,如建立肠道菌群失衡动物模型,给予双歧杆菌或可以促进双歧杆菌增殖的可代谢成分后,获取腹腔灌洗液,提取总 RNA,反转录后进行 RT-PCR,看菌群的细微变化情况,得出确切的结论。

### 参考文献

- [1] Jiménez-Saiz R, López-Expósito I, Molina E, *et al.* IgE-binding and in vitro gastrointestinal digestibility of egg allergens in the presence of polysaccharides[J]. *Food Hydrocolloids*, 2013, 30(2): 597–605.
- [2] Kelly-Quagliana KA, Nelson PD, Buddington RK. Dietary oligofructose and inulin modulate immune functions in mice[J]. *Nutr Res*, 2003, 23(2): 257–267.
- [3] Schley PD, Field CJ. The immune-enhancing effects of dietary fibres and prebiotics[J]. *Brit J Nutr*, 2002, 87(S2): S221–S230.
- [4] 唐朝晖, 胡元龙. 术后早期肠内营养支持对胃肠癌病人的机体营养状况和细胞免疫功能的影响[J]. *临床外科杂志*, 2002, 10(1): 14–16.  
Tang CH, Hu YL. The effect of postoperative early enteral nutrition on cellular immunity and nutritional status for the patients with gastrointestinal carcinoma[J]. *J Clin Surg*, 2002, 10(1): 14–16.
- [5] Nguyen KA, Cao Y, Chen JR, *et al.* Dietary fiber enhances a tumor suppressor signaling pathway in the gut[J]. *J Ann Surg*, 2006, 243 (5): 619–625.
- [6] Descotes J. *An Introduction to Immunotoxicology*[M]. London: CRC Press, 1999, 235–243.
- [7] Popov S V, Ovodov Y S. Polypotency of the immunomodulatory effect of pectins[J]. *Biochem (Moscow)*, 2013, 78(7): 823–835.
- [8] Trompette A, Gollwitzer E S, Yadava K, *et al.* Gut microbiota metabolism of dietary fiber influences allergic airway disease and hematopoiesis[J]. *Nat Med*, 2014.
- [9] Lee JC, Pak SC, Lee SH, *et al.* Asian pear pectin administration during presensitization inhibits allergic response to ovalbumin in BALB/c mice[J]. *J Altern Complement Med*, 2004, 10: 527–534.
- [10] Lim BO, Choue RW, Park DK, *et al.* Effect of dietary Level of Pectin on Immunoglobulin and Cytokine Production by Mesenteric Lymph Node Lymphocytes and Interleukin-2 Receptor in Rats[J]. *J Food Sci Technol Res*, 2002, 8(1): 14–16.
- [11] Kobayashi M, Matsushita H, Yoshida K, *et al.* In vitro and in vivo anti-allergic activity of soy sauce[J]. *J Int J Mol Med*, 2004, 14: 879–884.
- [12] Popov SV, Golovchenko VV, Ovodova RG, *et al.* Characterization of the oral adjuvant effect of lemnian, a pectic polysaccharide of *Lemna minor* L[J]. *J Vaccine*, 2006, 24: 5413–5419.
- [13] 庞秋芳, 林震宇, 彭喜春, 等. 直肠菌群对两种植物胶的体外发酵特性研究[J]. *营养学报*, 2010, 4: 023.  
Pang QF, Lin ZY, Peng XC, *et al.* In vitro study on the characteristics of plant gum fermented by rectal microflora[J]. *Acta Nutr Sinica*, 2010, 4: 023.
- [14] Khranova DS, Popov SV, Golovchenko VV, *et al.* Abrogation of the oral tolerance to ovalbumin in mice by citrus pectin[J]. *Nutrition*, 2009, 25(2): 226–232.
- [15] Hertz S, Michael B, Meir D, *et al.* Citrus pectin affects cytokine production by human peripheral blood mononuclear cells[J]. *J Biomed Pharma*, 2008, 62: 579–582.
- [16] 张洪, 鲍波. 浅谈国内 BALB/c 小鼠及 KM 小鼠的基本生物学特性[J]. *中国实用医药*, 2010, (3): 252–254.  
Zhang H, Bao B. The biological characters of BALB/c mice and KM mice in china[J]. *China Prac Med*, 2010, (3): 252–254.
- [17] 冯仁田, 潘宏志. Balb/C 小鼠免疫系统结构与功能的增龄性变化[J]. *中华老年医学杂志*, 2000, 19(3): 174–178.  
Feng RT, Pan HZ. The structural and functional changes of immune system in Balb/C mice as a result of aging[J]. *Chin J Geriatr*, 2000, 19(3): 174–178.
- [18] Segawa S, Nakakita Y, Takata Y, *et al.* Effect of oral administration of heat-killed *Lactobacillus brevis* SBC8803 on total and ovalbumin-specific immunoglobulin E production through the improvement of Th1/Th2 balance[J]. *Int J Food Microbiol*, 2008, 121(1): 1–10.
- [19] Gourbeyre P, Denery S, Bodinier M. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: impact on the gut immune system and allergic reactions[J]. *J Leukocyte Biol*, 2011, 89(5): 685–695.

(责任编辑: 邓伟)

### 作者简介



孙璐, 硕士, 主要研究方向为食物过敏及机制。  
E-mail: lolo6274@163.com



车会莲, 副教授, 主要研究方向为食物过敏及机制。  
E-mail: chehuilian@cau.edu.cn