

玛咖粉对小鼠免疫功能的影响研究

佟长青¹, 翟兴月², 杜影³, 李伟^{1*}

(1. 大连海洋大学食品科学与工程学院, 大连 116023; 2. 大连医科大学附属第二医院临床营养科, 大连 116023;
3. 大连市疾病预防控制中心, 大连 116021)

摘要: **目的** 明确玛咖粉对小鼠免疫功能的调节作用。**方法** 40只小鼠进行玛咖粉抗体生成细胞测定、对小鼠 HC₅₀ 的影响、碳廓清能力以及鸡红细胞吞噬率及吞噬指数的影响实验。实验设4组, 灌胃的玛咖粉分别为0、0.3、0.6、0.9 g/(kg·bw), 连续灌胃30 d后测定各项指标。**结果** 0.3 g/(kg·bw)及0.9 g/(kg·bw)组玛咖粉可以显著促进小鼠 B 细胞分泌抗体的能力($P<0.05$), 0.9 g/(kg·bw)组玛咖粉具有显著增加小鼠半数溶血值(HC₅₀)($P<0.01$), 0.6 g/(kg·bw)及0.9 g/(kg·bw)组可以显著提高小鼠单核-巨噬细胞碳廓清能力($P<0.05$), 0.9 g/(kg·bw)组可以显著提高小鼠腹腔巨噬细胞鸡红细胞吞噬率及吞噬指数($P<0.05$)。**结论** 玛咖粉可以增强小鼠体液免疫功能和单核-巨噬细胞功能的作用。

关键词: 玛咖粉; 小鼠; 免疫作用

Effects of powdered Maca (*Lepidium meyenii*) on immune function in mice

TONG Chang-Qing¹, ZHAI Xing-Yue², DU Ying³, LI Wei^{1*}

(1. College of Food Science and Engineering, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China; 2. Nutrition Department, the Second Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116023, China; 3. Dalian Center for Disease Control and Prevention, Dalian 116021, China)

ABSTRACT: Objective To evaluate the regulation effects of powdered *Lepidium meyenii* (Maca) on immune function in mice. **Methods** Forty mice were used to conduct antibody-producing cell of spleen, total hemolytic complement assay (HC₅₀ assay), clearance of carbon particles, and chicken red blood cell phagocytic rate and phagocytic index assay. The 40 mice were randomly divided into 4 groups ($n=10$): 0, 0.3, 0.6 and 0.9 g/(kg·bw) powdered Maca were orally administered once daily for 30 d. **Results** In comparison with the control group, 0.3 g/(kg·bw) and 0.9 g/(kg·bw) powdered Maca significantly increased the ability of mice B cells secreting antibodies ($P<0.05$), 0.9 g/(kg·bw) powdered Maca significantly increased HC₅₀ value ($P<0.01$), 0.6g/(kg·bw) and 0.9 g/(kg·bw) powdered Maca significantly increased the ability of carbon particles clearance by mice macrophages ($P<0.05$), and 0.9 g/(kg·bw) powdered Maca significantly enhanced the phagocytic rate and phagocytic index of chicken red blood cells in mouse peritoneal macrophages ($P<0.05$). **Conclusion** Powdered Maca can enhance the function of humoral immune and monocyte macrophage in mice.

KEY WORDS: powdered *Lepidium meyenii*; mice; immune function

基金项目: 大连海洋大学引进人才及在职培养博士启动项目(100914262)

Fund: Supported by Doctoral Project of Dalian Ocean University (100914262)

*通讯作者: 李伟, 教授, 主要研究方向为食品科学。E-mail: aisingioro@hotmail.com

*Corresponding author: LI Wei, Professor, College of Food Science and Engineering, Dalian Ocean University, No.52, Heishijiao Street, Shahekou District, Dalian 116023, China. E-mail: aisingioro@hotmail.com

1 引言

玛咖(*Lepidium meyenii* Walpers)是秘鲁安第斯山区的一种十字花科植物^[1]。在秘鲁当地人们把它作为食物及传统药物, 认为它具有抗疲劳、改善性功能以及提高生育能力等多种功效^[2]。近几年, 玛咖被引进到我国云南地区进行栽种, 获得了成功^[3]。因此, 对玛咖功能的研究成了目前的一个热点, 但这些研究主要集中在玛咖的抗疲劳作用方面。刘跃金等^[4]、张静等^[5]、高玉秋等^[6]、陈成等^[7]以及沈维治等^[8]分别对玛咖醇提物、玛咖粉、玛咖片、玛咖提取物等进行抗疲劳作用的研究, 发现玛咖提取物及其制品均有增强小鼠抗疲劳作用。但目前对于玛咖粉提高免疫力的研究还未见报道。本研究考察了玛咖粉对小鼠免疫功能的影响, 以期对玛咖保健食品的开发提供基础数据。

2 材料与方法

2.1 实验材料

玛咖粉, 来自于云南丽江种植基地, 自然晒干后粉碎备用。绵羊红细胞(SRBC)、补体、鸡红细胞、Hank's 液购于北京索莱宝科技有限公司。

都氏试剂购于 Sigma 公司; 印度墨汁来自于上海远慕生物科技有限公司。

清洁级昆明种小鼠, 体质量 18~22 g, 雌性, 购自大连医科大学实验动物研究中心。于 12 h 黑暗, 12 h 光亮的塑料饲养箱内饲养, 室温(23±2) °C, 湿度 40%~60%, 自由采食和饮水。

2.2 抗体生成细胞测定

采用 Jerne 改良玻片法进行抗体生成细胞测定^[9]。40 只小鼠随机分为 4 组: 对照组以及低、中、高 3 个剂量组。玛咖粉悬溶于生理盐水中, 每天定时等体积灌胃 1 次, 灌胃的玛咖粉分别为 0、0.3、0.6、0.9 g/(kg·bw), 连续灌胃 30 d 后, 每只小鼠腹腔注射 2 mL 2%(V:V)绵羊红细胞(SRBC)悬液进行免疫 4 d。4 d 后小鼠颈椎脱臼处死, 取出脾脏, 于无菌 Hank's 液研磨, 并清洗 2 次, 小鼠脾细胞在 RPM1640 培养液中配成 5×10^6 个/mL。在试管中加入与等量 Hank's 液混合培养基 0.5 mL、10%的 SRBC 50 μ L 以及 20 μ L 小鼠脾细胞(5×10^6 个/mL), 迅速混匀后倾倒入玻璃板上的琼脂糖薄层上, 每只小鼠铺 2 个玻璃板, 在

37 °C、5%的 CO₂ 培养箱中孵育 1.5 h 后, 加入稀释好的补体溶液于玻璃片架凹槽中, 再孵育 1.5 h 后弃去补体, 计数空斑数。

2.3 半数溶血值(HC₅₀)测试

按 2.2 方法对小鼠连续灌胃 30 d 后, 每只小鼠腹腔注射 2 mL 2%(V:V)绵羊红细胞(SRBC)悬液进行免疫 4 d。4 d 后摘眼球取血将采集的全血于 37 °C 恒温 30 min, 然后于 4 °C 冰箱中 1 h, 在 2000 r/min 下离心 3 min, 分离血清。用生理盐水稀释血清 200 倍。取稀释血清 1 mL 置于试管内, 加入 0.5 mL 10% SRBC 及 1 mL 补体, 以生理盐水作为对照, 置 37 °C 恒温 30 min, 冰浴终止反应。在 2000 r/min 下离心 3 min, 取上清 1 mL, 加都氏试剂 3 mL, 同时取 0.25 mL 10% SRBC 及 4 mL 都氏试剂于另一试管, 混匀放置 10 min 后于 540 nm 处作为空白对照, 测各管的吸光度^[10]。半数溶血值(HC₅₀)计算如下:

样品 HC₅₀=样品吸光度值/SRBC 半数溶血时的吸光度值×稀释倍数

2.4 小鼠碳廓清实验

按 2.2 方法对小鼠连续灌胃 30 d 后, 按 0.1 mL/10(g·bw)体重尾静脉注射 4 倍稀释的印度墨汁, 墨汁注入后立即计时。注入墨汁后 2 min、10 min 分别从眼内取血 20 μ L, 加入到 2 mL 0.1%Na₂CO₃ 溶液中, 测其 600 nm 处吸光值。取胸腺、肝、脾称重, 校正廓清指数 α 计算如下^[10]:

$$K=(\lg OD_{2 \text{ min}}-\lg OD_{10 \text{ min}})/(10 \text{ min}-2 \text{ min})$$

$$\alpha=\text{体重}/(\text{肝重}+\text{脾重}) \times K^{1/3}$$

式中: K —未经校正的廓清指数;

α —校正廓清指数。

2.5 吞噬功能测定

小鼠分组及给药方法如 2.2。小鼠腹腔注入 20%(V:V)生理盐水配制鸡红细胞悬液 1 mL。30 min 后, 颈椎脱臼处死, 经腹腔注射生理盐水 2 mL, 取腹腔洗液 1 mL 涂片, 置 37 °C 恒温 30 min, 然后漂洗, 晾干, 以 1:1 丙酮甲醇溶液固定, 4%(V:V)Ciemsa-磷酸缓冲液染色 3 min, 光镜下观察^[10]。

吞噬百分率(%)=(吞噬鸡红细胞的巨噬细胞数/计数的巨噬细胞数)×100

吞噬指数=被吞噬鸡红细胞总数/计数的巨噬细胞数

2.6 统计学处理

用 SPSS 统计软件对实验数据进行处理, 数值以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示。 $P < 0.05$ 为差异显著。

3 结果与分析

3.1 玛咖粉对小鼠体液免疫功能的影响

对小鼠按 2.2 方法对小鼠连续灌胃 30 d 后, 用 Jerne 改良玻片法进行抗体生成细胞测定, 计算溶血空斑数, 玛咖粉对小鼠溶血空斑数影响的结果如表 1。由表 1 可知, 0.3 g/(kg·bw) 及 0.9 g/(kg·bw) 组溶血空斑数高于 0 g/(kg·bw) 组 ($P < 0.05$)。溶血空斑数的多少代表着 B 细胞抗体产生的能力强弱^[11]。实验结果表明 0.3 g/(kg·bw) 及 0.9 g/(kg·bw) 组玛咖粉可以显著促进小鼠 B 细胞分泌抗体的能力 ($P < 0.05$)。

表 1 玛咖粉对小鼠溶血空斑数的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)
Table 1 Effect of powdered Maca on hemolytic plaque in mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

剂量 (g/(kg·bw)/d)	动物数(只)	溶血空斑数 (个/10 ⁶ 脾细胞)	P
0	10	212±55	
0.3	10	267±56	0.031
0.6	10	258±59	0.066
0.9	10	319±49	0.000

抗体生成细胞数和半数溶血值(HC₅₀)体现了体液免疫功能的强度^[11], 玛咖粉对小鼠 HC₅₀ 的影响结果如表 2。表 2 表明, 0.9 g/(kg·bw) 组玛咖粉具有显著增加小鼠半数溶血值(HC₅₀) ($P < 0.01$)。表 1 及表 2 都表明了玛咖粉对小鼠体液免疫功能具有增强作用。

表 2 玛咖粉对小鼠 HC₅₀ 的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)
Table 2 Effect of powdered Maca on HC₅₀ in mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

剂量(g/(kg·bw)/d)	动物数(只)	HC ₅₀	P
0	10	99±21	
0.3	10	105±24	0.622
0.6	10	112±28	0.085
0.9	10	145±31	0.000

3.2 玛咖粉对小鼠单核-巨噬细胞功能的影响

单核-巨噬细胞在调节淋巴细胞和免疫应答上起着重要作用^[12]。玛咖粉对小鼠单核-巨噬细胞碳廓清能力以及鸡红细胞吞噬率及吞噬指数的影响实验结果如表 3 和表 4。0.6 g/(kg·bw) 及 0.9 g/(kg·bw) 组可以显著提高小鼠单核-巨噬细胞碳廓清能力 ($P < 0.05$)。0.9 g/(kg·bw) 组可以显著提高小鼠腹腔巨噬细胞鸡红细胞吞噬率及吞噬指数 ($P < 0.05$)。单核-巨噬细胞在发挥细胞免疫作用中起着重要作用。实验结果表明, 0.9 g/(kg·bw) 组玛咖粉对小鼠单核-巨噬细胞具有显著影响 ($P < 0.05$)。

表 3 玛咖粉对小鼠单核-巨噬细胞碳廓清能力的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 Effect of powdered Maca on the ability of carbon particles clearance by mice macrophages ($\bar{x} \pm s, n=10$)

剂量(g/(kg·bw)/d)	动物数(只)	校正廓清指数 α	P
0	10	4.54±0.65	
0.3	10	5.18±0.62	0.051
0.6	10	5.25±0.84	0.031
0.9	10	5.41±0.68	0.009

表 4 玛咖粉对小鼠腹腔巨噬细胞鸡红细胞吞噬率及吞噬指数的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 4 Effect of powdered Maca on phagocytic rate and phagocytic index of chicken red blood cells in mice peritoneal macrophages ($\bar{x} \pm s, n=10$)

剂量 (g/(kg·bw)/d)	动物数 (只)	吞噬百分率 (%)	P	吞噬指数	P
0	10	20.9±1.8		0.24±0.03	
0.3	10	23.0±2.2	0.044	0.26±0.02	0.195
0.6	10	24.3±2.5	0.002	0.26±0.03	0.110
0.9	10	25.3±2.5	0.000	0.29±0.02	0.000

4 讨论

近年来, 玛咖成为保健食品领域里的一个研究热点, 相关学者对玛咖的营养成分、药用价值及保健功能进行了大量的研究^[13]。冯颖等^[1]对云南栽培玛咖的营养成分进行了分析, 发现云南栽培的玛咖与秘鲁产的玛咖在营养成分方面类似, 其中对人体有益的蛋白质、粗纤维、微量元素及维生素 C 含量较高。

化学成分研究发现^[2,14-16], 玛咖中含有玛咖酰胺、玛咖烯、芥子油苷及其衍生物、固醇等物质。研究表明^[14], 玛咖具有的多种保健作用与它含有的化学成分相关。蛋白质类物质具有增强小鼠免疫功能的研究, 已经有很多报道。例如, 富校轶等^[17]发现了超滤大豆蛋白肽具有增强小鼠体液免疫功能和单核-巨噬细胞吞噬功能; 李成威等^[9]研究了胶原蛋白肽增强小鼠免疫功能的作用, 发现胶原蛋白肽对正常小鼠的细胞免疫及体液免疫均有增强作用。另一方面, 人们对于玛咖具有的抗疲劳作用进行了较多的研究。冯炜权^[18]认为运动疲劳与免疫调节具有密切相关性。这提示人们富含蛋白质成分的玛咖具有潜在的增加免疫功能的作用。因此, 金文闻等^[19]研究了合用玛咖和西洋参皂苷对小鼠免疫功能的影响, 发现合用玛咖和西洋参皂苷能增加小鼠的免疫功能。但单独使用玛咖对小鼠免疫功能影响的研究未见报道。为了研究玛咖粉对小鼠免疫功能调节作用的影响, 以明确玛咖粉的作用, 本文进行了玛咖粉对小鼠抗体生成细胞测定、对小鼠 HC₅₀ 的影响、碳廓清能力以及鸡红细胞吞噬率及吞噬指数的影响实验。实验结果表明, 玛咖粉可以增强小鼠体液免疫功能和单核-巨噬细胞功能的作用。实验结果为开发具有提高免疫作用的玛咖粉保健食品提供了理论基础。

参考文献

- [1] 冯颖, 何钊, 徐珑峰, 等. 云南栽培玛咖的营养成分分析与评价[J]. 林业科学研究, 2009, 22(5): 696-700.
Feng Y, He Z, Xu LF, et al. Nutritive elements analysis and evaluation of Maca (*Lepidiummeyerii*) cultivated in Yunnan [J]. Forest Res, 2009, 22(5): 696-700.
- [2] Wang Y, Wang Y, McNeil B, et al. Maca: An Andean crop with multi-pharmacological functions [J]. Food Res Int, 2007, 40(7):783-792.
- [3] 杜萍, 单云, 孙卉, 等. 云南玛卡营养成分分析[J]. 食品科学, 2010, 31(24): 345-347.
Du P, Shan Y, Sun H, et al. Nutritional compositions in fruit of Maca (*Lepidiummeyerii* Walp.) cultivated in Yunnan [J]. Food Sci, 2010, 31(24): 345-347.
- [4] 刘跃金, 王钰楠, 冯鸿雁, 等. N-苄基十六碳酰胺与玛卡醇提取物小鼠抗疲劳作用[J]. 中国公共卫生, 2015, 31(1): 92-93.
Liu YJ, Wang YN, Feng HY, et al. Anti-fatigue effects of N-benzylhexadecanamide and Maca extract in mice [J]. Chin J Public Health, 2015, 31(1): 92-93.
- [5] 张静, 李慧, 周雯, 等. 玛咖粉对小鼠的抗疲劳作用及其机制研究[J]. 卫生研究, 2013, 42(6): 1046-1049.
Zhang J, Li H, Zhou W, et al. Study on anti-fatigue effect of powderedMaca in mice and its mechanism [J]. J Hyg Res, 2013, 42(6): 1046-1049.
- [6] 高玉秋, 李彬, 王彦武, 等. 玛咖片缓解体力疲劳功能的实验研究[J]. 中国食物与营养, 2015, 20(8): 76-78.
Gao YQ, Li B, Wang YW, et al. Experimental research on alleviating physical fatigue function of Maca Tablets[J]. Food Nutr China, 2015, 20(8): 76-78.
- [7] 陈成, 邱明鸿, 马云淑, 等. 玛咖提取物对小鼠运动性疲劳的作用研究[J]. 云南中医中药杂志, 2014, 35(9): 63-66.
Chen C, Qiu MH, Ma YS, et al. Study on the effect of Maca extract on exercise-induced fatigue of mice [J]. Yunnan J Tradit Chin Med Mater Med, 2014, 35(9): 63-66.
- [8] 沈维治, 邹宇晓, 林光月, 等. 玛咖抗疲劳作用及活性组分研究[J]. 食品生物技术学报, 2014, 33(7): 721-726.
Shen WZ, Zhou YX, Lin GY, et al. Bioactive constituents and anti-fatigue effects *in vivo* of *Lepidiummeyerii* (Maca) [J]. J Food Biotech, 2014, 33(7): 721-726.
- [9] 李成威, 马淑霞, 王春敏, 等. 胶原蛋白肽增强小鼠免疫力的实验研究[J]. 中国微生态学杂志[J], 2013, 25(4): 387-389.
Li CW, Ma SX, Wang CM, et al. Collagen peptide enhances immunity in mice [J]. Chin J Microecol, 2013, 25(4): 387-389.
- [10] 付俊鹤, 余亩, 胡居吾, 等. 精制蜂胶对小鼠免疫功能的影响[J]. 食品科学, 2009, 30(19): 286-290.
Fu JH, Yu Z, Hu JW, et al. Effects of refined propolis on immune function in mice [J]. Food Sci, 2009, 30(19): 286-290.
- [11] 邱瑾丽, 李引乾, 周广辉, 等. “畜禽用多种微量元素注射液”对小鼠免疫功能的影响[J]. 西北农业学报, 2010, 19(2): 25-28.
Qiu JL, Li YQ, Zhou GH, et al. Effect of “injection of trace elements for livestock and poultry” on the immune function of the mice [J].Acta Agric Boreali-Occidentalis Sin, 2010, 19(2): 25-28.
- [12] 赵晓燕, 张超, 马越, 等. 紫玉米花色苷对小鼠免疫功能的影响[J]. 湖北农业科学, 2010, 49(8): 1933-1936.
Zhao XY, Zhang C, Ma Y, et al. Effect of purple corn anthocyanins on the immunological function of mice [J]. Hubei Agric Sci, 2010, 49(8): 1933-1936.
- [13] 许敏, 徐丽, 宋晖, 等. 玛咖的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(7): 2775-2782.
Xu M, Xu L, Song H, et al. Research advances on Maca [J]. J Food Saf Qual, 2015, 6(7): 2775-2782.
- [14] 余龙江, 金文闻. 国际良种-药食两用植物 MACA [M]. 武汉:

- 华中科技大学出版社, 2003.
- Yu LJ, Jin WW. International improved varieties of MACA—a plant with medicine and food function [M]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology Press, 2003.
- [15] Ganzera M, Zhao J, Muhammad I, *et al.* Chemical profiling and standardization of *Lepidiummeyenii* (Maca) by reversed phase high performance liquid chromatography [J]. Chem Pharm Bull (Tokyo), 2002, 50(7): 988–991.
- [16] Mccollom MM, Villinski JR, Mcphail KL, *et al.* Anysis of macamides in samples of Maca (*Lepidiummeyenii*) by HPLC-UV-MS/MS [J]. Phytochem Anal, 2005, 16(6): 463–469.
- [17] 富校轶, 李博群, 张时莹, 等. 超滤大豆蛋白肽对小鼠免疫功能的影响[J]. 食品工业科技, 2012, 33(7): 375–378.
- Fu XY, Li BQ, Zhang SY, *et al.* Effect of ultrafiltration soybean peptide on immune function of mice [J]. Sci Technol Food Ind, 2012, 33(7): 375–378.
- [18] 冯炜权. 对运动疲劳机理的再认识[J]. 北京体育大学学报, 2003, 26(4): 433–437, 443.
- Feng WQ. Recognition of mechanism of sports fatigue [J]. J Beijing Univ Phys Educ, 2003, 26(4): 433–437, 443.
- [19] 金文闻, 张永忠, 敖明章, 等. 玛咖和西洋参皂苷合用对小鼠免疫功能的影响[J]. 中国新药杂志, 2007, 16(1): 45–48
- Jin WW, Zhang YZ, Ao MZ, *et al.* Improvement of mice immune function with compounds of powdered Maca (*Lepidiummeyenii*) and ginsenosides [J]. Chin J New Drugs, 2007, 16(1): 45–48.

(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



佟长青, 博士, 副教授, 主要研究方向为食品科学。

E-mail: changqingtong@dlou.edu.cn



李伟, 博士, 教授, 主要研究方向为食品科学。

E-mail: aisingioro@hotmail.com