

蛋白与低聚半乳糖复合粉增强免疫功能的 实验研究

夏 玉*, 杨晓惠, 殷光玲, 张旭光

(广东佰腾药业有限公司, 广州 510000)

摘 要: 目的 评价蛋白粉与低聚半乳糖复合粉对小鼠免疫功能的影响。**方法** 按《保健食品检验与评价技术规范》2003 版中增强免疫力功能检验方法, 采取灌胃方式, 按照小鼠 0.83、1.67、5.0 g/(kg·bw) 剂量给予蛋白复合粉 30 d 后, 研究对小鼠细胞免疫、体液免疫、单核-巨噬细胞功能、NK 细胞活性功能的影响。**结果** ConA 诱导的小鼠脾淋巴细胞转化实验及迟发型变态反应实验中, 高剂量组(5.0 g/(kg·bw))与对照组比较, 数据有显著差异($P < 0.05$)。碳廓清实验中, 中剂量组(1.67 g/(kg·bw))、高剂量组(5.0 g/(kg·bw))的吞噬指数 a 比对照组明显增加($P < 0.05$)。NK 细胞活性在中剂量组(1.67 g/(kg·bw))、高剂量组(5.0 g/(kg·bw))与对照组间比较有显著性差异($P < 0.05$)。各剂量组对小鼠体重增长、胸腺指数、脾指数, 血清溶血素水平和抗体生成细胞数均无显著性影响。**结论** 蛋白复合粉能够增强细胞免疫功能、单核巨噬细胞功能, 提高 NK 细胞活性, 说明蛋白复合粉具有增强免疫力的作用。

关键词: 蛋白粉; 低聚半乳糖; 免疫

Experimental study on the enhancement of immune function by complex powder of protein and galactooligosaccharide

XIA Yu*, YANG Xiao-Hui, YIN Guang-Ling, ZHANG Xu-Guang

(Guangdong Besten Pharmaceutical Co., Ltd., Guangzhou 510000, China)

ABSTRACT: Objective To evaluate the effect of a complex powder of protein and galactooligosaccharide (GOS) on the mouse immune function. **Methods** In accordance with methods for the assessment of enhancing immune function in *Technical standards for testing and assessment of health food*, intragastric administration was carried out, and mice were given by gavage with the protein complex powder at 0.83, 1.67, 5.0 g/(kg·bw) doses for 30 d. The effects on cellular immunity, humoral immunity, single nucleus-macrophage function and NK cell activity in mice were studied. **Results** The lymphocyte proliferation ability of mice induced by ConA and delayed-type hypersensitivity response in high-dose group (5.0 g/(kg·bw)) were obviously higher than control group. Compared with the control group, the carbon clearance capacity test in the medium-dose and high-dose groups of 1.67 g/(kg·bw) and 5.0 g/(kg·bw) could remarkably enhance the phagocytic index a ($P < 0.05$). The NK cell activities of mice in the medium-dose and high-dose groups of 1.67 and 5.0 g/(kg·bw) were significantly higher than that of the control group. There were no significant differences between the control group and the experiment groups in the matters of body weight gain, thymus index, spleen index, serum hemolysin level and antibody level. **Conclusion**

*通讯作者: 夏玉, 硕士, 产品研发工程师, 主要研究方向为功能产品开发。E-mail: 179830331@qq.com

*Corresponding author: XIA Yu, Master, Engineer, Guangdong Besten Pharmaceutical Co., Ltd., Guangzhou 510000, China. E-mail: 179830331@qq.com

Protein complex powder can enhance the function of cellular immunity, mononuclear macrophages and NK cells, indicating that it could enhance immunity function.

KEY WORDS: protein powder; galactooligosaccharide; immunity

1 引言

乳清蛋白作为从牛乳中分离提取出来的一种优质蛋白质,具有丰富的营养价值,因其含有乳球蛋白、免疫球蛋白、乳铁蛋白、乳过氧化物酶、溶菌素和多种分解多肽等而具有增强免疫力的功能^[1,2]。大豆分离蛋白中蛋白质含量高于 90%,营养均衡,富含赖氨酸、亮氨酸、苏氨酸、色氨酸等 8 种人体必需的氨基酸,消化利用率达 93%~97%,是优质的植物蛋白来源^[3]。低聚半乳糖是益生元的一种,在母乳中含量比较丰富,具有改善腹泻、调节肠道菌群平衡、促进矿物质吸收、提高免疫力等多种功能^[4],研究表明,低聚半乳糖对小鼠具有免疫增强作用^[5]。乳清蛋白与大豆分离蛋白作为蛋白质的主要来源,广泛应用于各类蛋白粉产品中,提高免疫功能的研究已有报道^[6,7]。将乳清蛋白、大豆分离蛋白、低聚半乳糖粉按一定比例复配组成的复合粉对于免疫功能的研究国内暂未见报道。本研究按照《保健食品检验与评价技术规范》(2003 年版)的评价方法,探讨了乳清蛋白、大豆分离蛋白、低聚半乳糖粉复配粉增强免疫力功能作用,以期开发功能性食品提供理论依据。

2 材料与方法

2.1 受试物

蛋白复合粉为淡黄色粉末,由汤臣倍健股份有限公司提供,每日推荐人体食用量为 10 g/60 kg,由乳清蛋白 7.0 g、大豆分离蛋白 1.5 g、低聚半乳糖粉 1.5 g 组成。

2.2 实验动物

清洁级 ICR(Institute of Cancer Research)种小白鼠 200 只,体重 18~22 g,雌性,由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供。实验动物饲养室温度 20~25 °C,相对湿度为 40%~70%。

2.3 主要仪器与试剂

JEA3001 电子天平(精度 0.1 g,上海浦春计量仪器有限公司);BP110S 型电子天平(精度 0.0001 g,德国 SARTRIUS 公司);Multiskan Go 型全波长酶标仪(美国 Thermo 公司);Z326K 型离心机(德国 Hermle 公司);RX50M 显微镜(东莞市沃德普仪器有限公司)等。

Hank's 液 pH 7.2(上海抚生实业有限公司);RPMI 1640 完全培养液(上海中乔新舟生物科技有限公司);NP40(杭州昊鑫生物科技股份有限公司);刀豆蛋白 A(ConA,美国 Sigma 公司);冰醋酸、异丙醇(分析纯,东莞市斯巴达

化学有限公司)。

2.4 分组与实验方法

将 200 只小鼠按体重随机分成 4 组,分别为对照组、低剂量组、中剂量组、高剂量组,每组 50 只动物,每组再分为 5 个亚组,即免疫一组、免疫二组、免疫三组、免疫四组、免疫五组,每个亚组 10 只动物。具体实验项目分组见表 1。

蛋白复合粉按人体日推荐量的 5 倍(0.83 g/kg)、10 倍(1.67 g/kg)、30 倍(5.00 g/kg)设置小鼠低、中、高 3 个剂量组,分别取样品 0.83、1.67、5.00 g,加蒸馏水至 20 mL,按照 20 mL/(kg·bw)给予灌胃,每日 1 次,连续 30 d,对照组给予相同体积的蒸馏水。均按照规范方法测试各免疫指标^[8]。

2.5 统计方法

采用 SPSS 15.0 统计软件对实验数据进行统计分析,比较各剂量组与对照组间数据是否具有显著性差异。

3 结果与分析

3.1 蛋白复合粉对小鼠体重、胸腺指数、脾指数的影响

由表 2 可见,样品各剂量组的小鼠初始、实验末的体重与增重与对照组相比,均无显著性差异($P > 0.05$);各剂量组的小鼠胸腺指数和脾指数分别与对照组相比,均无显著性差异($P > 0.05$)。

3.2 蛋白复合粉对小鼠细胞免疫、体液免疫功能的影响

由表 3 可见,ConA 诱导的小鼠脾淋巴细胞转化实验中,样品高剂量组(5.00 g/kg)的 OD 差值与对照组相比,有显著性差异;迟发型变态反应实验中,高剂量组(5.00 g/kg)的肿胀度比对照组显著性增加,说明蛋白复合粉对于增强细胞免疫功能具有积极作用。抗体生成细胞检测中,样品各剂量组的空斑数与对照组相比,均无显著性差异($P > 0.05$);血清溶血素实验中,样品各剂量组的抗体体积数与对照组相比,均无显著性差异($P > 0.05$),说明蛋白复合粉对于小鼠体液免疫功能无积极作用。

3.3 蛋白复合粉对小鼠单核-巨噬细胞吞噬功能及 NK 细胞活性的影响

由表 4 可见,碳廓清实验中,中剂量组(1.67 g/kg)、高剂量组(5.00 g/kg)的吞噬指数比对照组明显增加。小鼠腹腔

巨噬细胞吞噬鸡红细胞实验中,高剂量(5.00 g/kg)吞噬指数与吞噬百分率,与对照组相比,均有显著性差异,说明蛋白复合粉能够提高小鼠免疫器官吞噬指数,提高单核巨

噬细胞功能。NK 细胞活性实验中,中剂量组(1.67 g/kg)、高剂量组(5.00g/kg)与对照组相比,具有显著性差异,表明此蛋白复合粉能够提高 NK 细胞活性。

表 1 实验动物分组
Table 1 Animal experiment grouping design

试验项目	免疫一组	免疫二组	免疫三组	免疫四组	免疫五组
	ConA 诱导的小鼠脾淋巴细胞转化实验	迟发型变态反应	抗体生成细胞检测	碳廓清实验	小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞实验(半体内法)
	NK 细胞活性测定实验	胸腺指数/脾指数	血清溶血素的测定		
对照组	1~10	11~20	21~30	31~40	41~50
低剂量组	1~10	11~20	21~30	31~40	41~50
中剂量组	1~10	11~20	21~30	31~40	41~50
高剂量组	1~10	11~20	21~30	31~40	41~50

表 2 胸腺指数、脾指数的测定结果($n=10$)
Table 2 The results of thymus index and spleen index ($n=10$)

组别/(g/kg)	体重/g			胸腺重量/mg	胸腺指数/%	脾重量/mg	脾指数/%
	初始	实验末	增重				
对照组	20.4±1.2	35.7±1.3	15.3±1.2	73.6±8.09	0.21±0.02	156.7±11.32	0.44±0.04
0.83	20.3±1.1	35.6±1.7	15.3±1.9	72.5±10.94	0.20±0.03	158.4±12.73	0.45±0.04
1.67	20.1±1.6	35.8±1.8	15.7±1.5	77.2±12.54	0.22±0.04	161.2±11.33	0.45±0.03
5.00	19.9±1.7	36.5±1.8	16.6±2.5	81.8±11.74	0.22±0.03	165.7±12.36	0.45±0.04

表 3 ConA 诱导的小鼠脾淋巴细胞转化实验、迟发型变态反应实验、抗体生成细胞检测、血清溶血素的测定结果($n=10$)
Table 3 The results of the lymphocyte proliferation ability of mice induced by ConA, delayed-type hypersensitivity response, antibody level, and serum hemolysin level ($n=10$)

组别/(g/kg)	淋巴细胞增殖能力 OD 差值	肿胀度(右耳-左耳)/mg	溶血空斑数($\times 10^3$ 个/全脾)	抗体积数
对照组	0.037±0.008	4.4±1.8	9.9±1.6	97.9±15.8
0.83	0.039±0.007	4.9±1.7	10.1±2.1	101.4±18.4
1.67	0.043±0.007	5.7±1.9	10.8±2.1	104.3±14.7
5.00	0.054±0.009*	7.7±1.9*	11.6±2.4	109.8±14.7

注: *表示与对照组比较, $P < 0.05$ 。

表 4 小鼠碳廓清实验、腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞、NK 细胞活性的实验结果($n=10$)
Table 4 The results of the carbon granular clearance test, peritoneal macrophage phagocytizing chicken red blood cell test, and activity of NK cells ($n=10$)

组别/(g/kg)	碳廓清吞噬指数 a	腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞		NK 细胞活性/%
		吞噬百分率/%	吞噬指数	
对照组	4.91±1.28	10.0±1.7	0.14±0.03	26.5±3.1
0.83	5.32±1.30	10.7±1.9	0.15±0.02	26.9±2.5
1.67	6.01±0.89*	11.6±2.0	0.16±0.03	32.5±3.2*
5.00	6.03±0.83*	13.4±2.1*	0.20±0.03*	29.2±3.7*

注: *表示与对照组比较, $P < 0.05$ 。

4 结论与讨论

根据增强免疫力功能判定原则: 在细胞免疫功能、体液免疫功能、单核-巨噬细胞功能、NK 细胞活性 4 个方面, 有任 2 个方面结果阳性, 可判定该受试物具有增强免疫力功能作用。根据此判定原则, 说明此蛋白复合粉具有增强免疫力的功能。实验中, 蛋白复合粉对于体液免疫功能无促进作用, 与谢向良等^[9]研究中复合蛋白组合物具有增强体液免疫功能结论不一致, 可能与蛋白复合粉的具体组成成分相关。

乳清蛋白是从牛奶中分离提取出来的蛋白质, 具有完整的氨基酸群, 高生物价, 低乳糖、低脂低热, 易于被人体吸收, 被誉为“最完美的蛋白质”^[10]。乳清蛋白与大豆分离蛋白中主要物质是蛋白质, 蛋白质中有多种物质参与构成机体非特异性防御屏障, 具有有效的对抗细菌、病毒和免疫调节等作用, 如 α -乳白蛋白、 β -乳球蛋白、免疫球蛋白、乳铁蛋白、乳过氧化物酶及糖巨肽等多种生物活性蛋白。当机体受感染时, 嗜中性粒细胞释放乳铁蛋白, 通过“铁剥夺”机制和“膜渗透”机制抑制微生物对机体的感染, 有研究表明乳铁蛋白是通过 TLR-4 信号通路激活巨噬细胞。免疫球蛋白是牛乳和血浆中天然的抗体成分, 对机体免疫机能具有维持和促进作用, 各种蛋白活性肽对于机体免疫均有积极促进作用^[11]。也有研究报道, 乳清蛋白增强机体免疫力与增加体内谷氨酰胺的合成及提高机体的抗氧化能力有关, 补充乳清蛋白可促进耐力训练期运动员淋巴细胞亚群指标的改善, 减轻免疫应激反应^[12]。大豆分离蛋白与乳清蛋白复配, 主要成分为蛋白质, 动物实验功能证明具有增强免疫功能^[13]。低聚半乳糖对于机体免疫作用主要通过增殖肠道内双歧杆菌和乳酸杆菌等益生菌的数量, 调节肠道菌群, 增强肠道感染抵抗力, 另一方面, 低聚半乳糖能够增强吞噬细胞和自然杀伤细胞活性来提供免疫机能^[14,15]。郑珊等^[5]的研究中, 低聚半乳糖对小鼠巨噬细胞吞噬功能没有明显促进作用, 也不能提高 NK 细胞活性, 在此实验中, 乳清蛋白、大豆分离蛋白复配低聚半乳糖, 能够增强巨噬细胞的吞噬功能, 具有增强免疫力功能, 与产品配方相关, 具体作用机理还需要进一步研究。

参考文献

- [1] 魏华, 杨史良, 徐锋, 等. 乳清蛋白质的生物学特性和保健功能[J]. 天然产物研究与开发, 2007, (19): 161-168.
Wei H, Yang SL, Xu F, *et al.* Biological characteristics and health maintaining functions of whey protein [J]. Nat Prod Res Dev, 2007, 19: 161-168.
- [2] 陈伟, 李强, 杨茂区. 乳清蛋白在运动营养中应用的研究进展[J]. 中国初级卫生保健, 2006, 20(9): 71-72.
Chen W, Li Q, Yang MQ. The development of whey protein in sports nutrition [J]. Chin Primary Health Care, 2006, 20(9): 71-72.

- [3] 王欣, 乔玲. 大豆分离蛋白的营养、功能特性及应用研究[J]. 农业科技与装备, 2013, (5): 55-56.
Wang X, Qiao L. Study on the nutrition, functional properties and application of soy protein isolate [J]. Agric Sci Technol Equip, 2013, (5): 55-56.
- [4] 宋玉民, 王金伟, 李发财, 等. 低聚半乳糖对几种人群肠道菌群改善及机体免疫调节的功能研究[J]. 精细与专用化学品, 2013, 21(10): 19-22.
Song YM, Wang JW, Li FC, *et al.* The study in improving the intestine flora and enhancing immune function of galactooligosaccharides [J]. Fine Special Chem, 2013, 21(10): 19-22.
- [5] 郑珊, 杜宏举, 马玲, 等. 低聚半乳糖对小鼠免疫功能的影响[J]. 首都公共卫生, 2013, 7(4): 163-165.
Zhen S, Du HJ, Ma L, *et al.* Effects of galacto-oligosaccharides on immune function in mice [J]. Capital J Public Health, 2013, 7(4): 163-165.
- [6] 陈垚, 吕志敏, 高景芳, 等. 某蛋白粉增强免疫功能的研究[J]. 预防医学论坛, 2017, 23(2): 146-149.
Chen Y, Lv ZM, Gao JF, *et al.* Study on function of a protein powder in enhancing immunity [J]. Prev Med Trib, 2017, 23(2): 146-149.
- [7] 胡雄飞, 余晓巍, 吴军, 等. 一种儿童型蛋白质粉增强免疫力功能实验研究[J]. 医学动物防制, 2019, 35(2): 149-151.
Hu XF, Yu XW, Wu J, *et al.* Experimental study of protein powder on enhancing immunity function for children [J]. J Med Pest Control, 2019, 35(2): 149-151.
- [8] 中华人民共和国卫生部. 保健食品检验与评价技术规范[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003
The Ministry of Health of PRC. Technical standards for testing and assessment of health food [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2003.
- [9] 谢向良, 卢静雅, 薛雅琪, 等. 复合蛋白组合物增强免疫力的功效[J]. 临床医学研究与实践, 2018, (9): 6-8.
Xie XL, Lu JY, Xue YQ, *et al.* Effect of composite protein composition on enhancing immunity [J]. Clin Res Pract, 2018, (9): 6-8.
- [10] 王一民, 周勇, 熊勃. 补充乳清蛋白对少年武术运动员免疫机能的影响观察[J]. 辽宁体育科技, 2009, 31(4): 23-24.
Wang YM, Zhou Y, Xiong B. A study on the impact of supplementary whey protein upon the immune function of teenager Wushu players [J]. Liaoning Sport Sci Technol, 2009, 31(4): 23-24.
- [11] 包晓宇, 陈美霞, 王加启, 等. 牛乳中活性蛋白生物学功能研究进展[J]. 食品科学, 2017, 38(19): 315-321.
Bao XY, Chen MX, Wang JQ, *et al.* Advances in bioactive functions of milk proteins [J]. Food Sci, 2017, 38(19): 315-321.
- [12] 黄园, 官凌霄, 陈志庆. 乳清蛋白对强化耐力训练期运动员免疫功能的影响[J]. 中国食品学报, 2007, 7(4): 13-19.
Huang Y, Guan LJ, Chen ZQ. The effect of whey protein administration on the immune function of athletes in the intensive endurance training [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2007, 7(4): 13-19.
- [13] 杨鸿武, 王晓丹, 赵翠霞, 等. 蛋白粉对小鼠免疫功能的调节作用[J]. 中国卫生检验杂志, 2010, 20(4): 777-778.
Yang HW, Wang XD, Zhao CX, *et al.* Modulating effect of protein powder on mouse immune functions [J]. Chin J Health Lab Technol, 2010, 20(4): 777-778.
- [14] 宋玉民, 王金伟, 李发财, 等. 低聚半乳糖对几种人群肠道菌群改善及

机体免疫调节的功能研究[J]. 精细与专业化学品, 2013, 21(10): 19-22.
Song YM, Wang JW, Li FC, *et al.* The study in improving the intestine flora and enhancing immune function of galactooligosaccharides [J]. Fine Special Chem, 2013, 21(10): 19-22.

- [15] 张冬洁, 陈云, 赵树平, 等. 低聚半乳糖增强免疫力功能研究[J]. 中国食品添加剂, 2012, (4): 141-146.
Zhang DJ, Chen Y, Zhao SP, *et al.* The study of enhancing immune function on Galacto-Oligosaccharides [J]. China Food Addit, 2012, (4): 141-146.

(责任编辑: 武英华)

作者简介



夏玉, 硕士, 产品研发工程师, 主要研究方向为功能产品开发。

E-mail: 179830331@qq.com