

## SL-益生菌对小白鼠体重及其单核吞噬细胞功能的影响

王 鑫\* 马桂荣 郑宝灿\*\* 田 浩\*\*\*

(山东大学微生物研究所 济南 250100)

**摘 要** 研究了 SL-益生菌 (SL-P) 对小白鼠体重和单核吞噬细胞功能的影响。经急性毒性实验检查, 该益生菌无急性毒性, 无急性致病作用。灌服 SL-P10d 后, 小鼠体重较对照组有明显提高。经过 SL-P 处理后, 小鼠腹腔巨噬细胞 (PM $\phi$ ) 的吞噬率和吞噬指数较对照组有显著提高。灌服 SL-P10d 后, 小鼠单核吞噬细胞的水解酶类: 血清溶菌酶 (血清 LSZ), 腹腔巨噬细胞溶菌酶 (PM $\phi$ LSZ), 腹腔巨噬细胞酸性磷酸酶 (PM $\phi$ ACP) 的活性均有不同程度的提高, 并呈现一定的剂量依赖关系, 表明 SL-P 对小鼠单核吞噬细胞的吞噬和杀菌功能有明显的促进作用。

**关键词** SL-益生菌, 单核细胞吞噬促进作用

近年来, 由于抗生素和化学类促生长剂的应用, 导致了内源性感染和细菌突变体的出现, 促使人们寻找一种新型的天然促生长剂, 从而推动了益生菌的研究和应用<sup>[1]</sup>。益生菌系调节肠道内微生物平衡的一种或多种菌系的微生物, 是一种活菌制剂。它用作饲料添加剂可以促进机体生长发育, 提高机体的非特异性免疫力<sup>[2]</sup>。作者研制出一种 SL-益生菌 (多株乳酸菌混合培养的微生物活菌制剂), 观察了 SL-益生菌对小鼠生长和小鼠单核吞噬细胞功能的影响。

### 1 材料和方法

#### 1.1 实验动物

昆明种小白鼠, 雌雄兼用, 18~22 g, 山东省实验动物中心提供。

#### 1.2 培养液和试剂

**1.2.1** RPMI 1640 培养液: 购自 Gibco 公司, 含 10% 小牛血清, 5~10 u/ml 肝素, 2.5% Heps。

**1.2.2** SL-P 悬液<sup>[3]</sup>: 乳杆菌 A、SA、SB1、SB2451、SB3151、乳链球菌 B 混合培养, 收集菌体, 以 Hank's 液悬浮, 浓度为 2 mg (湿重)/ml。

**1.2.3** 基质液: 2 mg/ml  $\alpha$  萘酚磷酸氢钠, 以 pH5.2 柠檬酸缓冲液配成。

本课题为国家“八五”科技攻关项目。

\* 现在山东医科大学基础部生化教研室工作。

\*\* 现在山东大学生物系工作。

\*\*\* 现在济南进出口商品检验局工作。

本文于 1994 年 8 月 12 日收到。

**1.2.4 显色剂:** 0.2 mg/ml 固红 B 盐, 0.1 mol/L 盐酸配成。

**1.2.5 标准液:** 25  $\mu\text{g/ml}$   $\alpha$  萘酚, 以 85% 乙醇配成。

### 1.3 急性毒性实验

选取健康小鼠 50 只, 雌雄各半, 随机分成 5 组, 按 1.0、2.15、4.64、10.025、21.607 g/kg 的等比剂量按组灌服 SL-P。观察小鼠出现的症状, 并记录死亡时间, 死亡数及小鼠的病理检查。

### 1.4 SL-P 对小鼠体重的影响

小鼠称重后分成 3 组, 10 只/组, 雌雄各半, 记录每只小鼠体重, 分别按组灌服 0.5 ml 生理盐水, 0.5 ml SL-P 悬液, 1 ml SL-P 悬液, 连续 10 d, 称重比较。

### 1.5 小鼠 PM $\phi$ 的制备

小鼠颈椎拉死, 收集腹腔液, 离心收集腹腔细胞, 用 HBSS 溶液洗涤 3 次, 悬浮于 RPMI 1640 培养液中, 37 $^{\circ}\text{C}$ , 贴壁处理 30 min, HBSS 溶液收集贴壁细胞, 调整细胞浓度为  $2\sim5\times10^6/\text{ml}$ , 超声波破碎细胞, 作为待测酶液。

### 1.6 PM $\phi$ 吞噬酵母菌实验

参照文献[4]的方法进行, 酵母菌浓度调整至  $2.9\times10^8/\text{ml}$ 。

### 1.7 血清 LSZ 的活力测定

眼眶采血, 冰箱放置数小时沉淀出血清, 1/15 mol/L PB 溶液 (pH6.24) 对倍稀释, 作为待测酶液, 溶壁微球菌用 PB 溶液悬浮 ( $A_{490}=0.7$ ) 用作底物。3 ml 底物加入 100  $\mu\text{l}$  酶液, 37 $^{\circ}\text{C}$ , 30 min 后测定  $A_{490}$  的变化。以等量 1/15 mol/L PB 溶液作对照。每毫升酶液 30 min 使底物  $A_{490}$  降低 0.1 定为 1 个酶活单位。

### 1.8 PM $\phi$ LSZ 活力测定

方法同上, 以 HBSS 溶液作为对照。

### 1.9 PM $\phi$ ACP 活力测定

参照文献[5]的方法进行。

### 1.10 统计分析

$t$ -检验评价结果的统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 急性毒性实验

50 只小鼠灌服 SL-P10d 后, 持续观察 14 d, 观察期内小鼠无一死亡, 未发现厌食、昏睡、体重下降等异常症状,  $\text{LD}_{50}>15000\text{mg/kg}$ , 证明 SL-P 无急性毒性、无急性致病性作用。

### 2.2 SL-P 对小鼠体重的影响

试验结果(表 1)表明, 灌服 SL-P10d 后, 实验组小鼠体重较对照组有明显提高, 说明 SL-P 确在一定程度上起到了促生长作用。

### 2.3 SL-P 对小鼠 PM $\phi$ 吞噬功能的影响

小鼠于当日灌服不同剂量的 SL-P, 对照组灌服 0.5 ml 生理盐水。由表 2 可以看出, 灌服 SL-P10d 后, 小鼠 PM $\phi$  的吞噬率和吞噬指数有明显的升高, 并显示出一定的

剂量依赖关系,说明 SL-P 对 PM $\phi$  有一定的激活作用,能增强其吞噬功能。

表 1 SL-P 对小鼠体重的影响  
Table 1 Effect of SL-P on the body weight of mice

组 别 Group	小 鼠 体 重 增 量 (g) Increase of mice weight										平均值 <sup>a</sup>
CK	5.5	5.0	4.0	6.0	6.0	4.5	6.5	6.0	5.5	5.5	5.45±0.762
SL-P (0.5ml)	5.0	6.5	5.5	6.5	8.0	9.5	6.5	9.5	8.5	6.0	7.15±1.62 <sup>b</sup>
SL-P (1.0 ml)	5.0	8.0	6.0	8.5	9.0	7.0	9.5	10.0	8.5	8.5	8.00±1.56 <sup>c</sup>

注: a.  $\bar{x}\pm S.D.$  ( $n=10$ ); b.  $P<0.05$ ; c.  $P<0.001$ .  
Note: a. Values are expressed as mean $\pm$ S. D. ( $n=10$ ); b. Significantly different from controls at  $P<0.05$ ; c. Significantly different from controls at  $P<0.001$ .

表 2 SL-P 对小鼠 PM $\phi$  吞噬功能的影响  
Table 2 Effect of SL-P on phagocytic activity of PM $\phi$  in mice

组 别 Group	吞 噬 率* Phagocytic ratio	P	吞 噬 指 数 Phagocytic index	P
CK	20.9±4.26		1.34±0.336	
SL-P (0.5ml)	40.3±7.19	<0.01	3.21±0.720	<0.01
SL-P (1.0ml)	49.8±9.66	<0.01	4.75±0.585	<0.001

\*  $\bar{x}\pm S.D.$  ( $n=6$ )

2.4 SL-P 对小鼠血清 LSZ 和 PM $\phi$ LSZ 的影响

小鼠分别按组灌服 0.5 ml 生理盐水, 0.5 ml SL-P, 1.0 ml SL-P。10 d 后, 测定血清 LSZ 和 PM $\phi$ LSZ 的活性。结果 (表 3) 表明, SL-P 对小鼠血清 LSZ 和 PM $\phi$ LSZ

表 3 SL-P 对血清 LSZ 和 PM $\phi$ LSZ 活力的影响  
Table 3 Effect of SL-P on serum LSZ and PM $\phi$ LSZ activity

组 别 Group	溶 菌 酶 活 力 Lysozyme activity			
	血 清 Serum <sup>a</sup> (u/ml)	P	PM $\phi$ <sup>b</sup> (u/10 <sup>6</sup> cells)	P
CK	23.74±2.84		1.58±0.234	
SL-P (0.5ml)	36.30±3.36	<0.05	2.06±0.124	<0.01
SL-P (1.0ml)	40.90±4.05	<0.01	2.85±0.477	0.01

a.  $\bar{x}\pm S.D.$  ( $n=9$ )  
b.  $\bar{x}\pm S.D.$  ( $n=3,3$  只小鼠 M $\phi$  合并为一个样品)

均有明显刺激作用,统计学分析差别有非常显著意义。随测试剂量的增加,刺激作用相应增强。LSZ 是吞噬细胞杀菌的物质基础,上述结果进一步证明了 SL-P 能激活单核吞噬

细胞,促进其杀菌功能。

2.5 SL-P 对小鼠 PM $\phi$ ACP 活力的影响

按 2.4 方法处理小鼠,10 d 后,测定 ACP 活性。由表 4 可看出,灌服 SL-P 的组别其 PM $\phi$ ACP 活性明显高于对照组,并显示一定的剂量依赖关系,随所用剂量的增大,ACP 活力进一步提高。ACP 是 PM $\phi$  溶酶体中有代表性的水解酶,其活性的提高说明 SL-P 能激活 PM $\phi$ ,溶酶体大量合成并释放水解性 ACP。

表 4 SL-P 对小鼠 PM $\phi$ ACP 活力的影响  
Table 4 Effect of SL-P on PM $\phi$  ACP activity

组 别 Group	CK	SL-P (0.5ml)	SL-P (1.0ml)
PM $\phi$ ACP <sup>a</sup> (u/10 <sup>4</sup> cells)	0.714 $\pm$ 0.189	1.21 $\pm$ 0.160	1.58 $\pm$ 0.384
P		<0.05	<0.05

a.  $\bar{x}\pm S.D.$ (n = 3, 3 只小鼠的 M $\phi$  合并为一个样品)

3 讨 论

益生菌作为一种新型的天然促生长剂较抗生素有显著的优越性,它既能替代抗生素起到促生长的作用,又克服了抗生素应用带来的弊端<sup>[1]</sup>。实验证明,作者研制出的 SL-P 确能起到促生长的作用,并通过激活机体单核巨噬细胞来提高机体的非特异性免疫吞噬功能。SL-P 对单核吞噬细胞的激活作用主要体现在以下几个方面。

首先是提高 PM $\phi$  的吞噬功能。巨噬细胞作为一种非常活跃的非特异性防御细胞,担负着机体的非特异性免疫功能。正常条件下,巨噬细胞处于静息状态,一经激活,在形态、代谢、功能上均可出现显著变化。吞噬率和吞噬指数反映了巨噬细胞吞噬功能的大小,SL-P 能显著提高 PM $\phi$  对酵母菌的吞噬率和吞噬指数,说明 SL-P 能激活 PM $\phi$ ,提高其非特异性防御功能。

其次,能提高 LSZ 和 ACP 的活力。LSZ 是单核吞噬细胞合成并释放的,是其杀菌和清除异物的物质基础,可以作为评价单核吞噬功能的专一标志酶。ACP 是 PM $\phi$  溶酶体内有代表性的水解酶类,也可作为评价 PM $\phi$  是否处于激活状态的代表酶。作者观察了 SL-P 对血清 LSZ,PM $\phi$ LSZ, PM $\phi$ ACP 的活性均有明显的刺激作用,在所测试剂量范围内,随所用剂量的增加,激活作用增强。证实了 SL-P 能激活单核吞噬细胞的另一重要机制是促进其溶酶体、水解酶的合成与释放,从而为吞噬功能提供物质基础。

早有大量文献报道<sup>[6~8]</sup>,巨噬细胞的激活是与抗肿瘤、抗感染作用密切相关的。SL-P 能激活巨噬细胞,促进起吞噬和杀菌功能这一研究结果不仅为 SL-P 用作饲料添加剂提供了理论依据,也为细菌制品药物方面的研究提供了有益的参考。

参 考 文 献

- [1] Lyons T P. *News and Information*, 1987, 8(2):157~160.
- [2] Fuller R. *Journal of Applied Bacteriology*, 1989, 66:365~378.

- [3] 王 鑫,马桂荣,孔 健. 生物技术. 1994,4(1): 37~39.
- [4] 林清华. 微生物学通报, 1988,15(2): 127~129.
- [5] 徐勤惠,杨平平,荣康泰. 中国免疫学杂志, 1991,7(3): 161~163.
- [6] Ghaffar A, Cullen R T, Dunbar N. *J Cancer*, 1974, 29:199~205.
- [7] Moranhan P S, Edelson P J, Gass K. *J Immunol*, 1980, 125:1312~1317.
- [8] Sato K, Saito H, Tomioka H. *Microbiol Immunol*, 1988, 32 (7):689~698.

## EFFECTS OF SL-PROBIOTIC PREPARATION ON THE BODY WEIGHT AND PHAGOCYTOSIS OF WHITE MICE

Wang Xin    Ma Guirong    Zheng Baocan    Tian Hao

(*Institute of Microbiology Shandong University, Jinan 250100*)

**Abstract**    Effects of SL-probiotic preparation on the body weight and the phagocytic functions in white mice were studied. Bioassay of its toxicity showed SL-P was non-toxic. Body weight of the treated mice increased significantly as compared with that of controls 10 days after treatment with SL-probiotic preparation. Phagocytic activity, acid phosphatase activity, lysozyme activity of the peritoneal macrophages of the tested mice were enhanced significantly as compared with those of normal controls. The same results were obtained with respect to serum lysozyme activity. These observations showed that SL-probiotic preparation could activate macrophage function in mice and hence enhancement of non-specific immunity.

**Key words**    SL-probiotic preparation, Enhancement of macrophage function