

- [2] Mukhopadhyay A, Ni J, Zhai Y, *et al.* Identification and characterization of a novel cytokine, THANK, a TNF homologue that activates apoptosis, nuclear factor-kappaB, and c-Jun NH2-terminal kinase[J]. *J Biol Chem*, 1999,274(23):15978-15981.
- [3] Nardelli B, Belvedere O, Roschke V, *et al.* Synthesis and release of B-lymphocyte stimulator from myeloid cells[J]. *Blood*, 2001,97(1):198-204.
- [4] Zhang J, Roschke V, Baker KP, *et al.* Cutting edge: a role for B lymphocyte stimulator in systemic lupus erythematosus[J]. *J Immunol*, 2001,166(1):6-10.
- [5] Mackay F, Browning JL. BAFF: a fundamental survival factor for bcell [J]. *Nat Rev Immunol*, 2002,2(7):465-475.
- [6] Huard B, Schneider P, Mauri D, *et al.* T cell costimulation by the TNF ligand BAFF[J]. *J Immunol*, 2001,167(11):6225-6231.
- [7] Moore PA, Belvedere O, Orr A, *et al.* BLyS: member of the tumor necrosis factor family and B lymphocyte stimulator[J]. *Science*, 1999, 285(5425):260-263.
- [8] Schneider P, MacKay F, Steiner V, *et al.* BAFF, a novel ligand of the tumor necrosis factor family, stimulates B cell growth[J]. *J Exp Med*, 1999,189(11):1747-1756.
- [9] Stohl W. B lymphocyte stimulator protein levels in systemic lupus erythematosus and other diseases[J]. *Curr Rheumatol Rep*, 2002,4(4):345-350.
- [10] Nardelli B, Moore PA, Li Y, *et al.* B lymphocyte stimulator (BLyS): a therapeutic trichotomy for the treatment of B lymphocyte diseases[J]. *Leuk Lymphoma*, 2002,43(7):1367-1373.
- [11] Haseltine WA. Genomics and drug discovery[J]. *J Am Acad Dermatol*, 2001,45(3):473-475.

小球藻生长因子对免疫功能的影响

韩士群, 张振华, 刘海琴

(江苏省农业科学院 农业资源与环境研究中心, 江苏 南京 210014)

摘要:目的 研究小球藻生长因子(CGF)的主要成分、稳定性及其增强小鼠免疫调节的生理活性功能。方法 采用酶解法提取 CGF, 采用 75、150、450 mg/(kg·d)剂量经 30 d 对小鼠喂食, 进行免疫调节试验。结果 CGF 中蛋白质、氨基酸、核苷酸、多糖、维生素含量分别达到 56.6%、42.59%、6.8%、4.8%、1.7%。免疫调节试验表明, 150、450 mg/(kg·d)剂量的 CGF 可以明显增强二硝基氟苯引起的小鼠迟发性超敏反应, 对造血功能受损的小鼠有恢复作用, 并增强小鼠单核巨噬细胞吞噬功能的作用。结论 CGF 可以作为功能食品用于增强机体免疫能力。

关键词: 小球藻生长因子; 免疫功能

中图分类号: R392.33; R979.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-1678(2004)01-0005-03

Effects of chlorella growth factor on physiological function

HAN Shi-qun, ZHANG Zhen-hua, LIU Hai-qin

(Research Center of Agricultural Resource and Environment, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China)

Abstract: Purpose The main components, stability and its stimulating immunity on mice of chlorella growth factor (CGF) were investigated in this study. **Methods** CGF was extracted from cells of chlorella with enzyme. **Results** CGF contained 56.6% protein, 42.59% amino acid, 6.8% nucleoside acid, 4.8% polysaccharide and 1.7% vitamin. Mice were fed with CGF at the rates of 75, 150 and 450 mg/(kg·d) in the experiment of stimulating immunity function. The results showed that applying CGF at the rates of 150 and 450

收稿日期: 2003-01-02; 修回日期: 2003-10-28

基金项目: 江苏省高新技术项目(BG2003321)

作者简介: 韩士群(1966-), 男, 江苏宿迁人, 博士, 副研究员, 主要从事藻类研究, 电话: 025-84390241, E-mail: shqunh@yahoo.com.cn.

mg/(kg·d) could increase allergic reaction induced by dinitrofluorobenzene, enhance the proliferation of immunoinhibited murine splenocytes, and stimulate phagocytic function by macrophages. **Conclusion** CGF could be used for function food to enhance human's immunity.

Key words: chlorella growth factor; immunity function

世界上没有其它动植物像小球藻那样能够每 20 h 增长 4 倍,这主要是由小球藻的生长因子决定的^[1,2]。小球藻生长因子(chlorella growth factor, CGF),也叫小球藻精,是细胞活性物质,包括氨基酸、核酸、多糖、多肽、蛋白质、酶、维生素、矿物质、“神秘成分”^[3],被称为“类荷尔蒙”^[4]。国外对其生理功能有较多的研究,其生理功能有:能激活淋巴细胞,增强机体免疫能力;活化人体细胞,使儿童生长发育加快,抵抗外来疾病的入侵;促进人体受伤组织修复,有机物、重金属等中毒的人服用后能迅速康复;对胃溃疡、高血压和心血管等疾病也有一定作用^[5-7]。可以预见 CGF 在食品、饮料、保健品、医药等领域有广阔的应用前景。国内研究了 CGF 对酵母菌和乳酸菌的生长及生理活动的影响^[8,9],但对于 CGF 的成分、生理活性以及毒理等的系统研究未见报道。本文报道了 CGF 的主要成分及稳定性、生理功能、毒理等研究结果,为国内 CGF 的产业化生产和应用提供理论依据。

1 材 料

小球藻为粉核小球藻(*Chlorella vulgaris*),藻粉从江苏省农业科学院永康微藻研究开发公司购买,采用酶解方法提取 CGF。

昆明种小鼠 120 只,雌、雄各半,18~22 g,东南大学实验动物中心,动物证号:SCXK(苏)2001-0005。

2 方法与结果

2.1 CGF 的主要成分与稳定性

表 1 中列出了酶解法提取的 CGF 主要成分。蛋白质主要以短链蛋白质、多肽存在;氨基酸有 19 种,其中 7 种为人体必需氨基酸。精氨酸、脯氨酸、

赖氨酸、谷氨酰胺等含量较高,分别达到 2.1%、2.2%、1.5%、1.5%。核苷酸包括腺嘌呤核苷酸、次黄嘌呤核苷酸、胞嘧啶核苷酸、脱氧腺嘌呤核苷酸等。CGF 中的多糖含量为 4.8%,并含有多种维生素,其中包括维生素 A、B 以及生物素等。

表 1 CGF 的主要成分及稳定性

主要成分	成分含量/%			
	实际含量	30 d	60 d	90 d
蛋白质	56.6	55.8	56.0	53.9
氨基酸总和	42.6	42.4	41.8	41.3
核苷酸总和	6.8	6.9	6.8	6.7
多糖	4.8	5.0	4.9	4.8
维生素总和	1.7	1.6	1.7	1.6

高温(37℃~40℃)、高湿(相对湿度 75%)的稳定性试验表明,CGF 经过 30、60、90 d 后其成分组成基本不变,经统计分析在误差范围内。

2.2 CGF 对免疫调节系统功能的影响

2.2.1 二硝基氟苯(DNFB)诱导小鼠迟发型变态反应(DTH) 将小鼠按体重、性别随机分为 450、150 和 75 mg/(kg·d) 3 个剂量组和 1 个对照组,每组 10 只。CGF 供试品用双蒸水配制,每日灌胃,灌胃体积 20 mg/(kg·d),对照组灌双蒸水。25 d 后,用 1% DNFB 丙酮麻油溶液 50 μl 涂抹致敏。致敏后 5 d,小鼠右耳均匀涂抹 DNFB 丙酮麻油溶液 10 μl 进行攻击,左耳涂抹丙酮麻油溶液作为对照,攻击 24 h 后处死小鼠,剪下左右耳,于同一部位取直径 8 mm 的耳片称取重量,左右耳重量之差作为肿胀度。同时取小鼠的胸腺及脾脏,以每 10 g 小鼠的脾质量(mg)、胸腺质量(mg)作为脾脏/体重比值以及胸腺/体重比值,结果见表 2。

表 2 CGF 对小鼠脾脏、耳廓肿胀度的影响(n=10, $\bar{x} \pm s$)

组 别	剂量/[mg/(kg·d)]	体重增加/g	脾脏/体重	胸腺/体重	耳廓肿胀度/mg
对照组	0	14.6±1.3	34.60±4.21	20.04±4.61	8.90±1.26
低剂量组	75	14.8±2.0	35.32±10.42	21.67±4.16	9.94±1.60
中剂量组	150	13.3±2.2	44.34±12.02	23.46±4.74	13.10±2.27 ¹
高剂量组	450	13.4±1.5	40.51±8.49	17.76±4.66	12.79±2.18 ¹

与对照组相比:¹ P<0.01

表 2 显示,小鼠经口摄入 450、150、75 mg/(kg·d) CGF 30 d 后,各剂量组小鼠增重均高于对照组,但无显著性差异;各组小鼠胸腺/体重比值、脾脏/体重比

值与对照组相比较,无显著性差异(P>0.05)。各剂量组小鼠的耳廓肿胀度均高于对照组,经方差分析及两级比较统计学处理,450、150 mg/(kg·d) 两剂

量组与对照组相比有显著差异,说明中、高剂量的 CGF 可以增强 DNFB 引起的小鼠 DTH。

2.2.2 对小鼠血清溶血素水平的影响 血清溶血素测定采用半数溶解值(HC₅₀)法,动物分组、剂量和处理同 2.2.1 项。连续灌胃 25 d 后,每只鼠腹腔注射 2%(体积比)SRBC 0.2 ml 致敏。免疫 5 d 后,摘

小鼠眼球采血,取血清测溶血反应,以不加血清(以 SA 缓冲液代替)的对照管为空白,于 540 nm 波长处测定各管吸收值。按下式计算各小鼠供试品 HC₅₀: 供试品 HC₅₀ = 供试品吸收值/SRBC 半数溶血时的吸收值 × 200。结果见表 3。

表 3 CGF 对小鼠血清溶血素水平、碳廓清的影响(n = 10, $\bar{x} \pm s$)

组 别	剂量/ [mg/(kg·d)]	HC ₅₀	K 值	吞噬指数
对照组	0	126.86 ± 10.55	0.031 8 ± 0.009	6.631 ± 0.47
低剂量组	75	134.33 ± 9.67	0.039 0 ± 0.006	7.717 ± 0.62 ¹
中剂量组	150	140.80 ± 7.43 ¹	0.035 4 ± 0.011	7.190 ± 0.79 ¹
高剂量组	450	141.29 ± 9.44 ¹	0.035 0 ± 0.008	7.308 ± 0.78

与对照组相比:¹ P < 0.01

从表 3 可知,用 CGF 连续灌胃 25 d 后,各组小鼠的 HC₅₀ 均高于对照组,且随剂量的增加而升高,经方差分析及两级比较统计学处理,150、450 mg/(kg·d)两组 HC₅₀ 值和对照组比较,达极显著水平,从而说明给小鼠服用中、高剂量的 CGF 具有增强小鼠血清溶血素的反应。

2.2.3 对小鼠吞噬指数的影响 小鼠碳廓清试验中动物分组、剂量和处理同 2.2.1 项。连续灌胃 30 d 后,小鼠每 10 g 体重尾静脉注射 1:3(体积比)稀释的印度墨汁 0.1 ml 后立即计时,并分别于 2、10 min 从内眦静脉丛取血 25 μl,加到 0.1%碳酸钠 2 ml 中,测 A_{600nm}。并取肝、脾称重,按下式计算吞噬指数,吞噬指数 = $K^{-3} \times \text{体质量}/(\text{肝质量} + \text{脾质量})$,式中: $K = (\lg A_1 - \lg A_2)/(t_1 - t_2)$ 。

小鼠连续灌胃 30 d 后,各剂量组小鼠的吞噬指数均高于对照组(见表 3),结果经方差分析及两两统计学处理,75、150 mg/(kg·d) 剂量组达极显著水平(P < 0.01),说明 CGF 具有增强小鼠单核巨噬细胞吞噬功能的作用。

3 讨 论

CGF 中含有氨基酸、核苷酸、多糖、蛋白质、维生素等功能性成分,动物实验表明,可以增强 DNFB 引起的小鼠 DTH,增强小鼠血清溶血素的反应,增强小

鼠单核巨噬细胞吞噬功能的作用,说明 CGF 具有良好的免疫调节功能。CGF 对免疫系统不同环节的作用究竟是某一种成分的作用还是多种成分共同作用的结果,其机理较为复杂,有待进一步研究。从毒理试验结果可知,该提取物没有毒性,因此 CGF 作为保健品、功能食品添加剂等具有广阔的应用前景。

参考文献:

[1] 陈颖,李文彬,孙勇如.小球藻生物技术研究进展及展望[J]. 生物工程进展,1998,18(6):12-16.
[2] Borowitzka MA, Botowitzka LJ. Micro-Algal Biotechnology[M]. Cambridge: Cambridge University Press,1992.254-248.
[3] Yamaguchi K. Recent advance in micro-algal bioscience in Japan[J]. J Appl Phycology, 1997,(8):487-489.
[4] Shelef CJ. Algae Biomass Production and Use[M]. Amsterdam, 1997.103.
[5] 李师翁,李虎乾.植物单细胞蛋白资源——小球藻开发利用研究的现状[J].生物技术,1997,7(3):45.
[6] 曹健,漆丹华,高孔荣.微藻的营养价值及生产应用的开发[J]. 粮食与饲料工业,1997,5:28.
[7] Merchant RE, Rice CE, Young HF. Dietary Chlorella pyrenoidosa for patients with malignant glioma: Effect on immunocompetence, quality of life and survival[J]. Phytotherapy Research,1990,4(6):220-224.
[8] Kitano M, Yoshida T. Degradation of Chlorella cells during composition[J]. Journal of Biotechnology,1998,66:2.
[9] 韩士群,常志州,郑勤.小球藻生长因子对啤酒和乳酸发酵的影响[J]. 食品科学,2001,22(10):54-56.

重 要 通 知

《中国生化药物杂志》自 2004 年起,页码改为 64 页,定价改为 10 元/期,全年邮局订价为 60 元,本部订价 70 元(含邮费)。另本部电话、传真号码现已改为:(025)86262361。

特此通知

《中国生化药物杂志》编辑部