

乙醇对小鼠免疫系统影响的研究

韩春卉 李业鹏 李燕俊 李玉伟 江 涛 赵 熙 钟 凯 张 靖 陈庭君 计 融
(中国疾控中心营养与食品安全所,北京 100021)

摘 要:为给评价声称具有提高免疫的能力的含乙醇保健食品提供依据,观察不同剂量乙醇对小鼠免疫系统的影响。采用 17~20 g 的雄性 BalB/c 小鼠 90 只,随机分为 6 组,每组 15 只,分别以 0、0.67、1.33、3.33、6.08、8.00 g/kg BW 乙醇每天一次灌胃给予,灌胃量为 20 mL/kg BW,连续灌胃 30 d 后,分别测定细胞免疫、体液免疫、单核巨噬细胞及 NK 细胞活性等 7 项指标。结果表明:(1)乙醇可以导致小鼠的免疫系统损伤。(2)8.00 g/kg BW(50%)剂量组在一次灌胃后 20 min 内全部进入昏睡状态,24 h 内全部死亡。(3)6.08 g/kg BW(38%)组小鼠死亡率为 82.2%。存活小鼠碳粒廓清能力低下,至 30 d 时仍未恢复。(4)1.33 g/kg BW(8%)组腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞能力(吞噬率)降低,但对鸡红细胞吞噬指数无显著性影响。(5)0.67 g/kg BW(4%)组 NK 细胞活性降低。(6)3.33 g/kg BW(20%)组小鼠的 7 项免疫指标均无显著性影响。(7)以酒精为载体的保健食品在进行免疫调节作用评价实验时,小鼠灌胃液中酒精的浓度不宜超过 20%。

关键词:乙醇;营养保健品;免疫,细胞;免疫,自然

Study on alcohol damage to immune system in Mice

Han Chunhui, et al.

(National Institute for Nutrition and Food Safety, Chinese CDC, Beijing 100021)

Abstract: To observe the damage to immune system in mice, alcohol of different concentration was administered to 6 groups of male BalB/c mice by gavage in doses of 0, 0.67(4%), 1.33(8%), 3.33(20%), 6.08(38%), 8.00(50%) g/kg BW once a day respectively for 30 days. The functions of the immune system including the cellular immunity, the humoral immunity, the nonspecific immunity, and the NK cell activity were examined. The results showed that: 1) the alcohol can cause damage to the immune system of the mice, 2) all mice of the 8.00 g/kg BW group died within 24 hours after the first gavage; 3) in the 6.08g/kg BW group, the mortality within 30 days was 82%, and the ability to sweep carbon particles off the blood was depressed; 4) the phagocytosis was depressed in the mice of the 1.33g/kg BW group; 5) the NK cell activity was depressed in the mice of the 0.67g/kg BW group; 6) no statistically significant change in the seven immune system functions was observed in the 3.33g/kg BW group; 7) the concentration of alcohol in a health food must lower than 20% when assessing its effect on immunity experimentally with mice.

Key Words: Ethanol; Dietary Supplements; Immunity, Cellular; Immunity, Natural

白酒一般不会直接作为保健食品,一些保健食品以白酒作为某些药食同源物质的载体。乙醇对免疫系统的影响观点不一。本文旨在研究不同的酒精摄入量对小鼠免疫系统的影响,以便解决在以酒精作为载体的保健食品免疫调节功能评价中是否需要设立酒精对照的问题。

1 材料和方法

1.1 乙醇 分析纯。

1.2 实验动物 17~20 g 的 BalB/c,雄性健康小鼠 90 只,由中国人民解放军军事医学科学院动物中心提供(京动许字 99001)。

1.3 分组和喂饲方法 每组 15 只,随机分组,使每组动物体重均衡。灌胃液乙醇浓度为分别为 0%、

基金项目:卫生部保健食品专项基金课题(JB-02-56)
作者简介:韩春卉 女 主管技师

This work was supported by the Special Funds for Health Food of Ministry of Health, China. (BJ-02-56)

4 %、8 %、20 %、38 %、50 % ,灌胃量为 20 mL/kg BW ,即 相 当 于 含 乙 醇 0、0.67、1.33、3.33、6.08、8.00 g/kg BW ,每天 1 次灌胃给予 ,连续灌胃 30 d 后 ,进行指标测定。对照组合给予同剂量的水。

1.4 检测指标 细胞免疫(迟发型变态反应、脾脏 T 淋巴细胞转化实验)、体液免疫(抗体生成细胞实验、血清抗体测定实验)、单核巨噬细胞功能(碳粒廓清实验、腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞实验)、NK 细胞活性(脾脏 NK 细胞活性测定实验)。

1.5 方法 按照《保健食品功能学评价程序和检验方法》进行。^[1]

1.6 数据处理 实验数据用 Stata 软件 ,多个实验组间比较采用方差分析。

2 结果

2.1 小鼠死亡情况 8.00 g/kg BW 组小鼠在灌胃后 20 min 内全部进入昏睡期 ,24 h 内全部死亡。6.08g/kg BW 组的小鼠共 45 只(包括其他两个实验的同剂量实验组) ,30 d 后只剩下 8 只 ,死亡率为 82 %。该组仅进行了碳粒廓清实验。

2.2 不同剂量组乙醇对小鼠迟发型变态反应(DTH)的影响结果

表 1 不同剂量组乙醇对小鼠迟发型变态反应(DTH)的影响结果

组别 g/kg BW	动物数	足趾肿胀度 mm	P
水对照组	15	0.49 ±0.11	
0.67	14	0.43 ±0.13	0.26
1.33	15	0.41 ±0.17	0.10
3.33	15	0.41 ±0.12	0.11

由表 1 得出 ,0.67、1.33、3.33 g/kg BW 组的足趾肿胀度值均低于对照组的值 ,但与对照组相比 ,差异均无显著性($P > 0.05$)。

2.3 不同剂量组乙醇对小鼠淋巴细胞转化实验的影响

表 2 不同剂量组乙醇对小鼠淋巴细胞转化能力的影响结果

组别 g/kg BW	动物数	淋转能力 A 差值	P
水对照组	13	0.14 ±0.09	
0.67	14	0.14 ±0.07	0.928
1.33	12	0.15 ±0.06	0.820
3.33	13	0.13 ±0.06	0.739

由表 2 得出 ,淋巴细胞转化能力在 0.67、1.33、3.33 g/kg BW 组与对照组间比较 ,差异均无显著性($P > 0.05$)。

2.4 不同剂量组乙醇对小鼠脾抗体生成数实验的影响

由表 3 得出 ,0.67、1.33、3.33 g/kg BW 组的小鼠脾抗体生成数均低于与对照组 ,但与对照组相比 ,差异均无显著性($P > 0.05$)。

表 3 不同剂量组乙醇对小鼠脾抗体生成数的影响结果

组别 g/kg BW	动物数	溶血空斑数 $\times 10^3$ /全脾	P
水对照组	13	141.9 ±81.1	
0.67	12	116.0 ±71.7	0.533
1.33	14	138.9 ±123.5	0.939
3.33	14	131.4 ±120.2	0.791

2.5 不同剂量组乙醇对小鼠半数溶血值实验的影响

表 4 不同剂量组乙醇对小鼠半数溶血值的影响结果

组别 g/kg BW	动物数	半数溶血值	P
水对照组	14	134.7 ±73.4	
0.67	14	155.6 ±94.2	0.512
1.33	13	189.6 ±73.4	0.095
3.33	14	154.7 ±91.4	0.529

由表 4 得出 ,0.67、1.33、3.33 g/kg BW 组的小鼠半数溶血值均高于与对照组 ,但与对照组相比 ,差异均无显著性($P > 0.05$)。

2.6 不同剂量组乙醇对碳粒廓清能力实验的影响

表 5 不同剂量组乙醇对小鼠碳粒廓清能力的影响结果

组别 g/kg BW	动物数	廓清指数 α	P
水对照组	13	4.42 ±0.67	
0.67	15	4.56 ±0.56	0.606
1.33	15	4.48 ±0.61	0.813
3.33	15	4.85 ±0.98	0.122
6.08	8	3.66 ±0.81	0.027

由表 5 得出 ,6.08g/kg BW 组与对照组比较 ,碳粒廓清能力的差异具有显著性($P < 0.05$) ;0.67、1.33、3.33 g/kg BW 组与对照组相比 ,差异均无显著性($P > 0.05$)。

2.7 不同剂量组乙醇对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞能力实验的影响

表 6 不同剂量组乙醇对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞能力的影响结果

组别 g/kg BW	动物数	吞噬率 %	P	吞噬指数	P
水对照组	15	30.8 ±7.7		0.52 ±0.13	
0.67	14	31.1 ±4.9	0.833	0.53 ±0.12	0.751
1.33	15	25.5 ±5.2	0.023	0.49 ±0.13	0.612
3.33	14	29.3 ±5.9	0.535	0.54 ±0.12	0.660

由表 6 得出 ,1.33 g/kg BW 组与对照组比较 ,腹

腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞吞噬率的差异具有显著性 ($P < 0.05$);但剂剂量组吞噬指数与对照组相比,差异无显著性 ($P > 0.05$)。0.67、3.33 g/kg BW 组与对照组比较,腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞吞噬率和吞噬指数的差异均无显著性 ($P > 0.05$)。

2.8 不同剂量组乙醇对小鼠脾 NK 细胞活性实验的影响

表 7 不同剂量组乙醇对小鼠脾 NK 细胞活性的影响结果

组别 g/kg BW	动物数	NK 活性 %	P
水对照组	15	32.6 ±17.4	
0.67	13	17.5 ±13.5	0.012
1.33	13	29.7 ±17.3	0.619
3.33	13	28.3 ±11.3	0.459

由表 7 得出,各组的脾 NK 细胞活性值均低于对照组,0.68 g/kg BW 组与对照组比较差异有显著性 ($P < 0.05$);1.33、3.33 g/kg BW 组与对照组比较,差异均无显著性。

3 讨论 本研究结果显示:在给予小鼠 8.00 g/kg BW 乙醇 1 次后,20 min 即全部进入昏睡状态,24 h 内全部死亡,死亡率 100 %。6.08 g/kg BW 组小鼠 30 d 后,45 只小鼠仅剩下了 8 只,死亡率为 82.2 %。

保健食品功能学评价程序和方法要求在评价酒精载体高于 38 %的保健食品的免疫调节功能时,要将酒精浓度调整到 20 %。根据本研究结果,所有使用酒精载体的保健食品,在进行小鼠功能学评价实验时,均应将酒精浓度调整到 20 %以下。

Cook 认为,乙醇慢性中毒可以改变机体的免疫调节作用,导致机体免疫低下和自身免疫疾病。^[2] 本研究结果显示:每天 1 次给予小鼠乙醇 30 d 后,会导致小鼠的免疫系统出现低下状态。其中 6.08 g/kg BW 组小鼠碳粒廓清能力与对照组比较有显著

性的降低 ($P < 0.05$)。1.33 g/kg BW 组鸡红细胞吞噬率与对照组比较有显著性降低 ($P < 0.05$),但吞噬指数无影响 ($P > 0.05$)。0.67 g/kg BW 组 NK 细胞活性与对照组比较有显著性降低 ($P < 0.05$)。

不同的免疫指标对酒精的敏感性不同,出现免疫低下的时间可能不一致,因此在同一时间点检测时,如果进入体内的酒精造成的免疫损伤尚在可逆范围内,较高剂量组首先出现免疫低下状态,但在 30 d 时可以恢复,而这时低剂量组可能刚刚出现免疫低下状态。本实验结果中有的免疫指标仅在低剂量时出现免疫低下状态,而中高剂量组未出现免疫低下状态,就可能有这方面的原因。

本研究结果表明:酒精引起小鼠碳粒廓清能力、鸡红细胞吞噬能力及 NK 细胞活性的下降,表明小鼠的非特异免疫系统对酒精较敏感。张明安等对酒精中毒大鼠的全身性细胞免疫功能进行了测定,结果表明:酒精中毒大鼠的非特异性细胞免疫功能受到明显的抑制。^[3]

本研究结果表明,3.33 g/kg BW 的乙醇,每天 1 次给予小鼠 30 d,对 7 项免疫指标均无显著性影响。我们认为不排除在给予小鼠 3.33 g/kg BW 乙醇 30 d 后,机体恢复了由乙醇造成的各个免疫指标的低下状态,并提高了对乙醇的耐受能力。

参考文献:

[1] 保健食品功能学评价程序和检验方法[Z].
[2] Cook R T. Alcohol abuse, alcoholism, and damage to the immune system—a review[J]. Alcohol Clin Exp Res, 1998, 22(9):1927—1942.
[3] 张明安,罗海琼,邝晓聪,等.酒精中毒大鼠全身性细胞免疫功能的测定[J]. 广西医科大学学报,2000,17(3): 428—429.

[收稿日期:2003-12-14]

中图分类号:R15;TS218 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2004)03-0221-03

欢迎订阅使用《食品卫生培训教材》征订通知

《食品卫生培训教材》是培训各类食品生产、销售及管理人员的实用教材,该书由中国医药科技出版社出版,结合食品卫生法,全面介绍了食品生产管理、消毒、饮食、食品加工、冷饮冷食、副食品卫生的知识及对餐饮业的卫生要求,适合各地培训培训使用,本书最后一章还对企业检验室的条件和要求作了叙述,每节后附有问答题供考核时使用。全书共九章 20 万字,定价:12.00 元,按照 50 %收费每本收费 6 元(含运费)

联系单位:北京市昌平区疾病预防控制中心 邮编:102200
联系电话:(010)89710772 69705192 手机:13901168675
联系人:贾树队 来电来函可先寄样书