

7.4%, 吞噬指数为 0.37 ± 0.24 , 接近于 8~10 月龄小鼠参考值的下限, 而本实验室对 8~10 月龄小鼠的测定结果正介于 3 月少龄鼠和 18 月老龄鼠之间。说明随着实验动物的衰老, 其胸腺将发生退化, T、B 淋巴细胞功能亦将随之降低, 从而导致对外来抗原的细胞免疫和体液免疫反应降低。因此动物的选择应有年龄要求, 以便进行质量控制。

从本次统计结果中亦发现, 各项免疫指标测定值的相对标准偏差(RSD)有一定差距(表 5)。如脾/体比值、吞噬率、抗体积数, 其 RSD 为 20%~30%, 胸腺/体比值、吞噬指数, 其 RSD 为 30%~40%, 接近于 J. H. Dean 等介绍的免疫功能检测质量控制范围。^[6]而 DTH 测定值和 PFC 数的 RSD 则偏高, 分别为 46.7% 和 53.5%, 其原因除实验动物个体差异外, 实验条件和操作程序是否规范化也会产生一定影响。如: 不同实验室或同一实验室不同批试验中测得的 PFC 结果变化较大, 估计与脾细胞存活率和豚鼠血清补体活性有一定关系。因为在制备脾细胞悬液时, 环境温度、缓冲液 pH 以及细胞保存时间的长短均会影响细胞存活率, 而血清补体由于其性质不稳定,^[7]在各种理化因素影响下, 活性也可降低, 从而导致不同

批试验中小鼠脾脏抗体形成空斑数有一定范围的浮动。因此在进行 PFC 实验时要求各种试剂应经过严格筛选, 人员要经过培训, 某些操作步骤应固定专人来完成。如能将各种试剂和操作程序标准化, 估计实验结果会更理想。究竟采用何种方法进行质量控制, 使各实验室结果有更好的可比性, 需进一步研究探讨。

4 参考文献

- 1 薛彬, 等. 免疫毒性检测与安全性评价. 卫生毒理学杂志, 1989, 3(1): 53~56
- 2 卫生部监督司. 保健食品功能学评价程序和方法, 1996
- 3 雷志明, 等. 单个动物多项免疫功能检测研究. 北京医科大学学报, 1991, 23(5): 399~401
- 4 马玲, 等. 花旗参乳对小鼠的免疫促进作用及抗氧化作用. 中国食品卫生杂志, 1997; 9(6): 4~6
- 5 韩秀坤, 等. 野玫瑰根煎剂对老龄小鼠免疫功能的恢复作用. 佳木斯医学院学报, 1994, 17(3): 1~3
- 6 Dean J H, et al. An introduction to immunotoxicology assessment. Immunotoxicology of drugs and chemicals, 1986, 16
- 7 杨廷彬, 等. 实用免疫学. 长春: 长春出版社

评价保健食品对肺巨噬细胞吞噬功能影响的实验方法

穆效群 姚小曼 北京市卫生防疫站 (100013)
牛铁芹 马 玲

我国传统医学中的某些药食兼用的药物被认为具有润肺功能, 而肺巨噬细胞吞噬功能是一项能较好地反映肺部非特异性免疫功能的指标, 故检测保健食品对肺巨噬细胞的吞噬功能的影响可较好地反映其对肺免疫水平的调节作用。目前评价保健食品对巨噬细胞吞噬功能的影响多采用小鼠腹腔巨噬细胞检测作为调节免疫功能的指标之一。本研究以中医认为具有润肺功能的秋梨膏作为受试物, 将其对大鼠肺巨噬细胞及小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能进行了比较, 旨在建立一种评价保健食品对肺免疫功能影响的实验方法, 作为评价调节免疫功能的补充实验方法。

1 材料和方法

受试物 秋梨膏, 由北京某保健食品公司提供。

动物 Wistar 种大鼠, 40 只, 雌性, 8~10 月龄,

体重 300~400g; 昆明种小鼠, 40 只, 雌性, 8~9 月龄, 体重 45~55g, 均由军事医学科学院实验动物中心提供。

实验方法

动物分组及给药

Wistar 大鼠及昆明种小鼠均按体重分别随机分为 4 个组, 每组 10 只, 即阴性对照组和 3 个受试物剂量组, 大鼠分别采取人推荐摄入量的 1 倍、5 倍和 30 倍(即 500 mg/kg BW、2500 mg/kg BW 和 15 000 mg/kg BW); 小鼠分别采取人推荐摄入量的 1 倍、10 倍和 30 倍(即 500 mg/kg BW、5000 mg/kg BW 和 15 000 mg/kg BW), 连续灌胃 28 d。

肺巨噬细胞吞噬功能检测^[1~3]

支气管肺泡原位灌洗(BAL) 于末次给药第二天, 对所有大鼠进行 BAL。具体方法是腹腔注射戊巴

数为 154(79.254)。

2.3 腹腔巨噬细胞吞噬功能

以每只小鼠腹腔巨噬细胞吞噬率和吞噬指数做频数分布(表3)。

表3 小鼠腹腔巨噬细胞吞噬率和吞噬指数频数分布

吞噬率 %	动物数 只	吞噬指数	动物数
10~	5	0.16~	7
16~	11	0.34~	24
22~	11	0.52~	37
28~	20	0.70~	54
34~	35	0.88~	36
40~	44	1.06~	29
46~	38	1.24~	12
52~	28	1.42~	8
58~	12	1.60~	6
64~	8	1.78~	3
70~	5	1.96~	1

由表3可见,小鼠腹腔巨噬细胞吞噬率和吞噬指

数呈正偏态分布,采用百分位数法 $P_{50}(P_{2.5}, P_{97.5})$ 计算其正常值,吞噬率(%)为 43.6(16.2,69.7),吞噬指数为 0.84(0.34,1.74)。

2.4 迟发型变态反应(DTH)

给每只小鼠左后足跖注射 20% 绵羊红细胞,以注射前和注射后 24 h 足跖增厚度做频数分布(见表4)。

表4 小鼠 DTH 测定值频数分布

足跖增厚度	动物数	足跖增厚度	动物数
mm	只	mm	只
0.02~	11	0.37~	25
0.09~	18	0.44~	21
0.16~	35	0.51~	11
0.23~	45	0.58~	5
0.30~	41	0.65~	1

小鼠迟发型变态反应(DTH)测定值呈正偏态分布,采用百分位数法计算其 $P_{50}(P_{2.5}, P_{97.5})$ 为 0.30(0.08,0.59)。

2.5 小鼠免疫功能指标正常值见表5。

表5 小鼠免疫功能指标正常值

指 标	动物数 只	$P_{50}(P_{2.5}, P_{97.5})$	$\bar{x} \pm s$	RSD %
胸腺/体 g/100g BW	256	0.14(0.07,0.25)	0.14±0.05	35.7
脾/体 g/100g BW	256	0.41(0.27,0.61)	0.42±0.09	21.4
抗体积数	239	154(79.254)	165.9±50.6	30.5
PFC 数(空斑数/10 ⁶ 个脾细胞)	200	306(113.747)	353±189	53.5
吞噬率 %	217	43.6(16.2,69.7)	42.8±13.0	30.3
吞噬指数	217	0.84(0.34,1.74)	0.87±0.35	40.2
DTH mm	213	0.30(0.08,0.59)	0.30±0.14	46.7

3 讨论

本实验室测定结果表明,8~10月龄雌性昆明种小鼠各项免疫指标测定值,其频数分布皆属正偏态或近似正偏态,以百分位数确定其均数和95%上、下限参考值为宜,表5报告了本实验室测定结果以供参考。

同一品系小鼠由于年龄的不同,其免疫指标测定值可呈一定范围的变化。本实验室以往检测中已发现三月龄成年小鼠某些免疫指标高于8~10月龄小

鼠,^[4]如胸腺/体比值为 0.30±0.05(g/100g BW),脾/体比值为 0.64±0.15(g/100g BW),抗体积数为 194.0±60.2, PFC 数为 477±195(空斑数/10⁶个脾细胞), DTH 测定值为 0.38±0.05(mm)等,其均值偏向于8~10月龄小鼠参考值的上限。而韩秀坤等^[5]对18月龄老龄鼠进行检测,其测定值低于8~10月龄小鼠,如胸腺/体比值为 0.024±0.004(g/100g BW),脾/体比值为 0.203±0.005(g/100g BW),腹腔巨噬细胞吞噬率为 21.9%±

小鼠免疫功能指标正常值的探讨

马 玲 刘春光

姚小曼

北京市卫生防疫站 (100013)

对具有免疫调节作用的保健食品进行动物实验,为其功能学评价提供科学依据是近年来营养与食品卫生领域研究的内容之一。国外曾有推荐化学物质对啮齿动物的免疫毒性检测方案,^[1]在我国《保健食品功能学评价程序和检测方法》中也明确规定:^[2]选择一组能够全面反映免疫系统功能的试验,至少应包括细胞免疫、体液免疫和单核-巨噬细胞功能三方面。根据这一原则,本实验室选择了小鼠免疫器官重量、迟发型变态反应、抗体形成细胞数、血清抗体积数及腹腔巨噬细胞吞噬功能(吞噬率、吞噬指数)等七项指标,对8~10月龄昆明种小鼠进行了20余次检测,现对其正常值进行分析、探讨,以便为实验室质量控制、科研和功能学评价提供参考。

1 材料和方法

1.1 动物

选用8~10月龄昆明种小鼠473只,雌性,体重40~50g,由军事医学科学院实验动物中心提供。

1.2 方法

免疫器官重量测定 颈椎脱臼处死小鼠后,取胸腺、脾脏称重,计算脏/体比值。

迟发型变态反应(DTH)测定 采用足跖厚度测量法。

抗体形成细胞(PFC)测定 采用Jerne改良玻片法。^[3]

血清溶血素测定 采用血凝集法。

腹腔巨噬细胞吞噬功能测定 采用巨噬细胞吞噬鸡红细胞实验,计算吞噬率和吞噬指数。

2 结果

2.1 免疫器官重量

分别以每只小鼠胸腺/体比值、脾/体比值作频数分布(表1)。

由表1可见,小鼠胸腺/体比值、脾/体比值呈正偏态分布,采用百分位数法即 $P_{50}(P_{2.5}, P_{97.5})$ 确定胸腺/体比正常值为0.14(0.07~0.25);脾/体比正常值为0.41(0.27~0.61)。

表1 小鼠免疫器官脏/体比值频数分布

胸腺/体 g/100g BW	动物数 只	脾/体 g/100g BW	动物数 只
0.04~	7	0.16~	2
0.07~	42	0.21~	2
0.10~	59	0.26~	23
0.13~	70	0.31~	31
0.16~	41	0.36~	70
0.19~	21	0.41~	47
0.22~	9	0.46~	40
0.25~	6	0.51~	24
0.28~	1	0.56~	10
		0.61~	7

表2 小鼠抗体形成细胞数和血清溶血素频数分布

PFC 空斑数/10 ⁶ 个脾细胞	动物数 只	溶血素 抗体积数	动物数 只
100~	44	47~	2
173~	32	72~	15
246~	29	97~	35
319~	15	122~	44
392~	19	147~	30
465~	23	172~	40
538~	14	197~	42
611~	13	222~	18
684~	7	247~	7
757~	3	272~	5
830~	1	297~	1

2.2 抗体形成细胞数和血清溶血素

分别以每只小鼠脾脏抗体形成细胞数(PFC)和血清抗体积数作频数分布(表2)。

由表2可见,小鼠脾脏PFC数和血清抗体积数呈近似正偏态分布,采用百分位数法 $P_{50}(P_{2.5}, P_{97.5})$ 计算其正常值,PFC数为306(113~747),血清抗体积