维普资讯 http://www.cqvip.com

109~112 双歧杆菌对小鼠免疫细胞的影响

临床微生物学教研室 王 跃* 胡 宏 R392.12

提 要 本文观察了双歧杆菌对小鼠单核吞噬细胞的吞噬功能和脾细胞转化功能的影响。结果表明，双歧杆菌腹腔注射后，使小鼠脾脏重量明显增加，吞噬功能显著加强，血中碳粒廓清速度加快，吞噬指数(K)较对照组明显增高，差异非常显著。淋巴细胞转化试验表明，本菌能在体外直接刺激小鼠脾脏淋巴细胞增殖，并协同增强ConA对淋巴细胞的刺激作用。提示双歧杆菌能非特异性活化巨噬细胞和增强淋巴细胞的转化功能。

关键词 双歧杆菌；吞噬功能；淋巴细胞增殖
中图分类号 Q939.117； R392.12

双歧杆菌作为人类肠道的优势生理菌，在维护宿主健康上所起的重要作用已经得到肯定。本菌除了具有促进消化吸收、调节机体代谢、延缓衰老、抗肠道感染以及控制内毒素血症外，还具有抗移植肿瘤及提高宿主免疫功能的作用[1-4]。为探讨双歧杆菌在增强宿主免疫功能中的作用及其抗肿瘤的机理，本文观察了双歧杆菌对小鼠单核吞噬细胞的吞噬功能及小鼠淋巴细胞转化功能的影响，并初步讨论了双歧杆菌抗肿瘤的机理。

材料与方法

1. 实验动物

封闭群昆明种小鼠：健康、雄性，体重18—25g。

C_{57}BL纯系小鼠：健康、雄性，体重18—25g。

以上动物均由本校实验动物中心提供。

2 菌株

婴儿双歧杆菌(B.infantis)Bif189—3及青春双歧杆菌(B.adolescentis)Bif421均由中国预防医学科学院流行病学微生物学研究所提供。

实验时，将双歧杆菌接种于BL肉汤内，厌氧培养37℃24小时，用无菌PBS洗涤三次，最后用麦氏比浊法调整菌液至所需浓度。

死菌液制备：将培养24小时之菌液隔水煮沸100℃30分钟，用PBS洗涤三次，调整至所需浓度。

3 碳粒廓清试验

取昆明种小鼠参照Out等[5]的方法略加改进。将印度墨汁用生理盐水作1：4稀释后，按0.2ml/20g体重经尾静脉注入小鼠体内，于注入墨汁后2、6、10、15、20、30min分别于眼眶取血25ul，加入到0.1%碳酸钠溶液2ml中。在721分光光度计上测读650nm波长的OD值，计算吞噬指数K。

$$K=\frac{\log OD_1-\log OD_2}{T_2-T_1}$$

* 本系硕士研究生 国家自然科学基金资助项目

维普资讯 http://www.cqvip.com

表1 双歧杆菌腹腔注射对小鼠碳廓清率的影响

组 别	OD(λ=650nm)			
	2′	10′	20′	30′
PBS	0.124±0.0199	0.090±0.023	0.069±0.019	0.054±0.0093
bif421	0.086±0.029＊＊	0.039±0.020＊＊＊	0.025±0.012＊＊＊	0.021±0.0092＊＊＊
bif189—3	0.095±0.038＊	0.041±0.019＊＊＊	0.027±0.011＊＊＊	0.022±0.085＊＊＊

注:1. ＊$P>0.05$ ＊＊$P<0.01$ ＊＊＊$P<0.001$

2. 每组小鼠10只

3. 每(次)天注射细菌10^9/鼠×4天

同时处死小鼠，取脾称重，计算脾重(mg)/体重(g)。

4 淋巴细胞转化试验

取C_{57}BL小鼠，按常规制备脾细胞悬液，用台盼兰拒染法测定细胞活力，调整细胞浓度至8×10^6/ml。取脾细胞悬液0.1ml加入96孔细胞培养板微孔中，再于各孔加入菌悬液50ul和/或ConA50ul(含ConA16ug/ml)。用RPMI1640补充各孔至总体积0.2ml。每份标本设三个重复孔。置5%CO_2，37℃培养箱内培养56小时，再于各孔加入1μci^{3}H—TdR，继续培养至72小时，收集细胞置49型玻纤滤纸上，待干燥后加闪烁液，用Beckman液闪仪测定掺入细胞中的^{3}H cpm值，并计算刺激指数(SI)。

$$SI=\frac{\text{实验组cpm平均值}}{\text{对照组cpm平均值}}$$

结 果

1 双歧杆菌对小鼠碳廓清能力的影响

给昆明种小鼠腹腔注射双歧杆菌后，测定其对碳粒的廓清能力，结果见表1及图1、图2。

如表1所示，小鼠腹腔注射双歧杆菌后，血中碳粒廓清速度明显加快。2分钟时，血中碳粒的滞留量已比对照组减少;20分钟时，碳粒已基本廓清，而对照组到30分钟时，血中碳浓度仍然较高。

从图1及图2可见，实验组碳粒吞噬指数明显高于对照组，差异非常显著。同时，随注射次数及剂量增加，吞噬指数也增大。两株双歧杆菌作用效果基本相同。

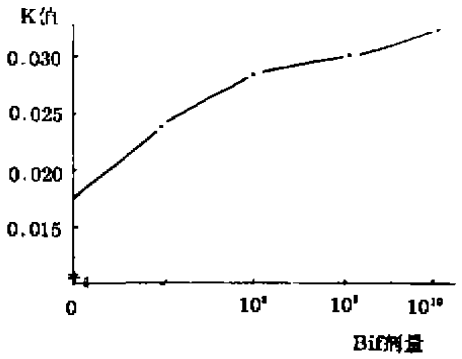


图1 不同剂量Bif421对小鼠吞噬功能的影响

注:1.每组小鼠10只

2.按所示剂量1次/天，连续注射4天

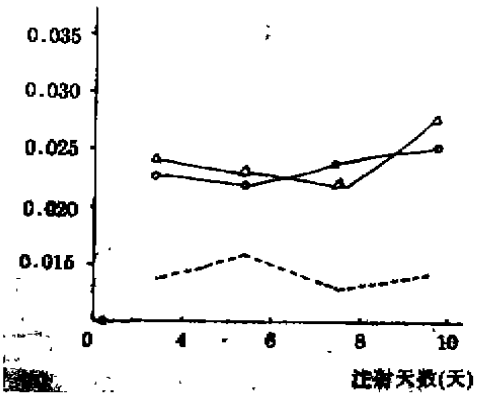


图2 不同时间腹腔注射双歧杆菌对小鼠吞噬功能的影响

注:1.每组小鼠10只

2.每(次)天注射细菌10^9/鼠

2 双歧杆菌对小鼠脾重的影响

小鼠腹腔注射双歧杆菌后，测定小鼠脾

维普资讯 http://www.cqvip.com

重量，计算每克体重所含脾的毫克数。发现双歧杆菌腹腔注射后，小鼠脾重明显增加，并且随注射剂量增大，脾重增加也更加明显。结果如图3所示。

3 双歧杆菌对小鼠淋巴细胞转化的影响

热处理后的死双歧杆菌对小鼠脾脏淋巴细胞转化的影响见图4。

实验结果表明，Bif189—3单独与小鼠脾脏淋巴细胞混合培养，其脾细胞内^3H—TdR掺入量较

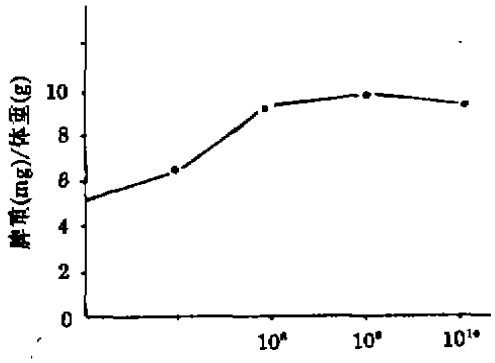


图3 不同剂量Bif421腹腔注射对小鼠脾重的影响 Bif剂量

注:1.每组小鼠10只

2.按所示剂量每天1次连续注射4天，对照组注射PBS0.1ml/次

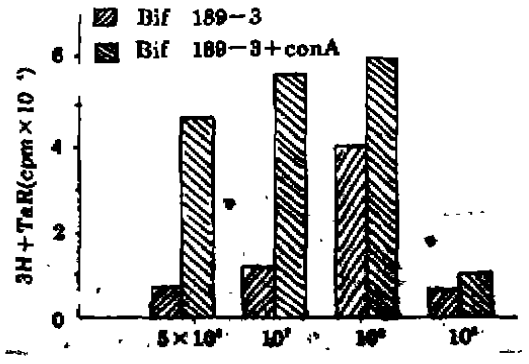


图4 双歧杆菌对小鼠脾细胞转化的影响

对照组明显增加。加入Bif189—3的剂量不同，对脾细胞的刺激程度也不同，其中以菌浓度为10^5/孔的刺激作用最大，刺激指数为73.53±24.94，大于ConA(0.8ug/孔，即最终浓度4ug/ml)的刺激指数(52.78±8.24)。此外，将不同浓度的双歧杆菌和ConA同时与脾细胞混合培养时，脾细胞的刺激指数均大于两者单独应用时的刺激指数。

讨 论

双歧杆菌作为机体的重要正常菌群之一，在宿主抗感染和抗肿瘤中的重要作用已经得到肯定。而这种抗感染和抗肿瘤作用的机理可能与双歧杆菌对宿主免疫功能的影响有关。Sekine等[6]在研究双歧杆菌的抗肿瘤作用时发现，该菌的抗肿瘤作用不是由于其对肿瘤细胞的直接毒性作用，很可能是刺激了肿瘤生长部位的宿主介导的免疫应答。河口浩也等[7]认为双歧杆菌的抗肿瘤作用可能与其对T细胞及全身免疫系统的影响有关。笔者[8]在实验中也曾观察到双歧杆菌能明显增强肿瘤局部的免疫反应，使肿瘤组织周围出现大量炎症细胞及单核细胞浸润以及纤维组织增生，并形成较厚的包膜，使肿瘤的生长及扩散受到明显限制。为进一步研究双歧杆菌的抗肿瘤机理，本文就其对机体免疫系统的影响进行了初步探讨。实验表明，双歧杆菌腹腔注射后，在免疫系统中起重要作用的脾脏重量明显增加，小鼠单核吞噬细胞吞噬功能明显加强，表现在血中碳粒廓清速度明显加快。这一结果与余晓进等[9]的实验结果相一致，虽然本实验尚未直接证实双歧杆菌对小鼠单核吞噬系统功能的激活与抗肿瘤作用之间的关系，但从巨噬细胞在抗肿瘤中的重要性及其它细菌制剂的抗肿瘤机理中可以推测，双歧杆菌可能通过活化单核吞噬细胞增强宿主的免疫功能而发挥其抗肿瘤作用。

为探讨双歧杆菌对淋巴细胞的作用，本文研究了双歧杆菌在体外对小鼠淋巴细胞转化的影响。结果发现，双歧杆菌能够直接刺激小鼠淋巴细胞增殖，并协同增强ConA对淋巴细胞的刺激作用。由此提示双歧杆菌具有能

维普资讯 http://www.cqvip.com

够刺激淋巴细胞转化的结构。但具体为何种物质尚不清楚。Sekine等[6]认为可能与其细胞壁成份有关。至于双歧杆菌增强脾细胞转化作用是针对T细胞还是B细胞，厚井芳则等[10]认为双歧杆菌具有同LPS相似的活性，能够刺激B淋巴细胞转化。从我们的实验中发现双歧杆菌与ConA联合应用后的刺激指数大于两者单独应用时的刺激指数，提示双歧杆菌可以通过增强ConA对T细胞的刺激而影响T淋巴细胞。

综上所见，双歧杆菌能够增强宿主的非特异性和特异性免疫反应。这种对宿主免疫功能的提高是通过多种途径实现的，包括激活单核吞噬细胞的吞噬功能及消化功能，提高宿主特异的细胞免疫和体液免疫功能。

参 考 文 献

1 Deguchi Y, et al. Agric Biol Chem 1985;49(4)：13
2 神边道雄. New Food Industry 1986;28(8)：41
3 胡宏，等. 中国微生态学杂志 1989;1(1)：66
4 Kohwi Y, et al. Gann 1978;69：613
5 Out AA, et al. Immunology 1977;32：255
6 Sekine K, et al. Cancer Res 1985;45：1300
7 涌口浩也，他. New Food Industry 1987;29(7)：71
8 王跃，等. 中国微生态学杂志 1989;1(1)：21
9 余晓进，等. 中国微生态学杂志 1993;5(3)：45
10 厚井芳则，他. 日细菌志 1977;32(1)：202

(收稿日期 1994—01—20)

EFFECT OF BIFIDOBACTERIA ON MOUSE IMMUNOCYTES

Wang Yue, et al

Dept. of Clinical Microbiology

This report presents the studies on the effect of Bifidobacteria on the phagocytic fuction of mononuclear phagocytes and the proliferation of lymphocytes in mice. The phagocytic function of mononuclear phagocytes was tested by the carbon clearance test, which showed that Bifidobacteria could accelerate the phagocytic activation in mice treated inrtaperitoneally. The lymphocyte transformation test showed that Bifidobacteria could directly induce proliferation response of spleen lymphocytes and synergetically with conA to promote DNA synthesis of mouse splenocytes in vitro.

KEY WORDS **Bifidobacteria; Phagocytic function; Lymphocyte proliferation**