

玉米蛋白粉中叶黄素和玉米黄素对小鼠巨噬细胞免疫调节活性的研究

孙震, 奚海燕, 陈正行, 姚惠源*

(江南大学 食品科学与安全教育部重点实验室 江苏 无锡 214036)

摘要: 采用体外细胞培养方法, 研究小鼠腹腔巨噬细胞在 LPS 刺激的情况下, 从玉米蛋白粉中提取的叶黄素和玉米黄素对其生成 NO 的影响作用。噻唑蓝 (MTT) 法检测淋巴细胞及巨噬细胞增殖, 比色分析检测巨噬细胞吞噬中性红的能力, 生物法测定肿瘤坏死因子 (TNF- α) 活性, Griess 法测定 NO 含量。结果表明: 叶黄素和玉米黄素对小鼠腹腔巨噬细胞的生长有一定的促进作用, 当叶黄素、玉米黄素分别为 $5\mu\text{mol/L}$ 和 $2.5\mu\text{mol/L}$ 时对小鼠腹腔巨噬细胞产生 NO 表现为抑制作用, 而当叶黄素的浓度在 $10\sim 40\mu\text{mol/L}$ 、玉米黄素的浓度在 $5\sim 30\mu\text{mol/L}$ 时巨噬细胞 NO 的生成水平表现为能显著提高正常小鼠腹腔巨噬细胞产生 NO, 且呈现剂量效应关系。叶黄素在 $20\sim 50\mu\text{mol/L}$ 、玉米黄素在 $10\sim 40\mu\text{mol/L}$ 的浓度范围内, 能够促进巨噬细胞吞噬中性红的能力, 并能诱导其分泌 TNF- α 。

关键词: 叶黄素; 玉米黄素; 一氧化氮; 巨噬细胞; 免疫活性

Effect of Lutein and Zeaxanthin on Nitric Oxide Production in Mouse Peritoneal Macrophages

SUN Zhen, XI Hai-yan, CHEN Zhen-xing, YAO Hui-yuan*

(Key Laboratory of Food Science and Safety, Ministry of Education, Southern Yangtze University, Wuxi, Jiangsu 214036, China)

Abstract: This study aimed at the relationship between lutein and zeaxanthin and NO released by macrophages, the mechanism of the immunomodulating activities of carotenoids. Lymphocyte and peritoneal macrophages proliferation in the presence or absence of lutein and zeaxanthin were detected with MTT assay in vitro. The percentage of phagocytosis of neutral red (NR) was detected with colorimetric assay. TNF- α in the culture supernatants were detected with biology assay. Nitric oxide (NO) production was examined by Griess reaction. The results showed: 1mg/L LPS used as stimulant, the NO release was inhibited by $5\mu\text{mol/L}$ lutein and $2.5\mu\text{mol/L}$ zeaxanthin respectively, while NO release was enhanced when the concentration of lutein and zeaxanthin was exceeded $10\mu\text{mol/L}$ and $5\mu\text{mol/L}$ respectively. The immunomodulating function and antitumor activity of lutein

收稿日期: 2006-06-21

*通讯作者

作者简介: 孙震 (1966-), 女, 副教授, 在职博士, 研究方向为食品营养与安全。

积 (AUC) 为 $23.28\mu\text{g}\cdot\text{h/ml}$; 24h 内经由粪便排泄大豆异黄酮总量平均为 $39.63\mu\text{g}/24\text{h}$ 。在高剂量 20mg/kg bw 口服出现了首过消除现象, 有的观点认为这是大豆异黄酮的低毒性有关^[4], 这是值得进一步探讨的问题, 探明这个问题有助于制定合理的大豆异黄酮参考摄入量, 避免或减少高摄入量产生的负面危险性。大豆异黄酮只有极少部分经由粪便排泄, 因此可以推论异黄酮的排泄主要是经过尿液排泄, 经肝肠循环为次要排泄途径。

参考文献:

- [1] Swatanabe, S, Uesugi, Y, Kikuchi. Isoflavones for prevention of cancer, cardiovascular diseases, gynecological problems and possible immune potentiation[J]. Biomed Pharmacother, 2002, 56: 302-312.
- [2] 葛可佑. 中国营养科学全书[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004. 725-729.
- [3] 莫书荣. 实验生理科学[M]. 北京: 科学出版社, 2003.
- [4] 杨小文. 大豆异黄酮测定方法的研究概况[J]. 中国油脂, 2006, 31(1): 60-62.
- [5] 周四元, 梅其炳, 等. 染料木黄酮在Beagle犬体内代谢动力学的剂量依赖性研究[J]. 药物学报, 2005, 40(6): 553-556.
- [6] 陈新谦, 金有豫. 新编药理学14版[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002. 5-12.

and zeaxanthin may be associated with its effect on NO by macrophage in vitro.

Key words: lutein; zeaxanthin; nitric oxide; macrophage; immunomodulating activity

中图分类号: TS202.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2006)11-0505-05

叶黄素(3,3-二羟基-β-胡萝卜素, lutein)和玉米黄素(3,3-二羟基-β-胡萝卜素 zeaxanthin)是一类具共轭双键萜类化合物,具有多种生物学作用,研究表明叶黄素和玉米黄素有诸多有益的生理功能,如预防老年性白内障与眼睛黄斑退化所致失明,预防肿瘤的发生和发展,减少发生某些心血管病的危险。在西方国家,叶黄素作为营养补充剂已经在食品生产加工中得到开发和利用,有关国家正在致力于开发叶黄素保健食品和饮料,且已经取得了较大的进展。近年来国内外又有大量资料显示叶黄素和玉米黄素对免疫功能,尤其是对于细胞免疫功能和体液免疫功能的具有促进作用^[1,2]。但是到目前为止,关于叶黄素对非特异性免疫功能影响的研究较少,而且得出的结论也不尽相同。赵文恩^[3]等研究发现类胡萝卜素对PMA激活的巨噬细胞在发光素中的化学发光现象有明显的抑制作用,其中角黄素与红木素的抑制作用比β-胡萝卜素和叶黄素更强,并指出这可能与其淬灭巨噬细胞释放的活性氧代谢产物的作用有关。但Hughes^[4]等在一项对健康男性非吸烟人群的观察中没有发现补充叶黄素对血单核细胞表面分子的功能性表达产生显著影响。

为进一步探讨叶黄素和玉米黄素免疫调节功能的机制,也为深度开发利用玉米淀粉生产中的副产物——玉米黄水浆,减少其对环境的污染,我们在体外细胞培养条件下观察了从玉米蛋白粉中提取的叶黄素和玉米黄素对小鼠腹腔巨噬细胞活性的影响以及对淋巴细胞增殖的影响。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

1.1.1 玉米蛋白粉中叶黄素和玉米黄素的制备

玉米蛋白粉 河南驻马店制药厂;叶黄素与玉米黄素 本室制备,(方法见文献[5])经HPLC分析其纯度(450nm)可能为:叶黄素为90%;玉米黄素为84%。

1.1.2 叶黄素和玉米黄素含量测定及实验样品配制

用适量无水乙醇(AR级)溶解样品,以分光光度法以及下列公式测定含量:叶黄素含量(μg) = $(A_{447nm} \times 10.87 - 1.787) \times \text{总体积}(ml) \times \text{稀释倍数}$,玉米黄素含量(μg) = $A_{452nm} \times \text{总体积}(ml) \times \text{稀释倍数} \times 10000 \div 2348$,再将叶黄素和玉米黄素的含量(μg)以分子量568.65为换算单位换算成摩尔浓度。将样品溶解于无水乙醇中,配制成 $2 \times 10^{-2} \text{mol/L}$ 的储备液于-18℃冰箱中保存,2周内使用,使用前将样品用完全培养基调整至适当浓度。

1.2 试剂及仪器

RPMI-1640 Gibco公司;噻唑蓝(MTT) LPS (Ecoli 026:B6) Sigma公司;一氧化氮检测试剂盒 碧云天试剂公司;其余为国产分析纯试剂;昆明种小鼠,雄性,8周龄,体重20~25g,无锡市山禾制药有限公司动物实验中心提供。

CO₂细胞培养箱 Thermo Forma公司;微量移液器 法国Gilson;CKX41落射式荧光显微镜 奥林帕斯公司;MuLiskan MK3全自动酶标分析仪;Unico2000分光光度计。

1.3 方法

1.3.1 实验分组

实验分3个组。(1)溶剂对照组:含有体积分数为1%的无水乙醇;(2)叶黄素组:分别加入终浓度为5、10、20、30、40μmol/L叶黄素提取物;(3)玉米黄素组:分别加入终浓度2.5、5、10、20、30μmol/L玉米黄素提取物。为避免在37℃条件下叶黄素和玉米黄素的氧化降解对实验结果的影响,实验过程中采用避光处理,并且细胞培养过程中每24h更换含有新鲜样品的培养液。

1.3.2 小鼠腹腔巨噬细胞的制备及NO的诱导

取昆明中实验小鼠5只,实验前一天向每只小鼠腹腔内注射5%(体积分数)可溶性淀粉1ml,脱颈椎处死,75%(体积分数)酒精浸泡10min,用2ml PBS收集腹腔洗液,1000r/min,7min,弃去上清,用10%FCS-RPMI 1640培养液,调整细胞浓度至 $2 \times 10^6/ml$ 。将细胞悬液按每孔100μl接种到96孔培养板,置于37℃、5%CO₂的培养箱中贴壁2h。细胞贴壁后弃去上清,用无血清RPMI 1640培养液冲洗3次,洗去未贴壁细胞,每孔分别加入含有1mg/L LPS的100μl完全培养液和100μl不同浓度的叶黄素或玉米黄素,每个浓度6个重复孔,培养24h后,测定NO含量。

1.3.3 小鼠腹腔巨噬细胞NO生成量的测定

取上述培养24h的细胞培养上清液50μl,每组取6孔,按照碧云天试剂公司提供的试剂盒说明书,采用Griess反应^[6]检测上清液的NO₂量间接反映巨噬细胞NO的生成量,在酶标仪上测定570nm的吸光值。用NaNO₂作标准曲线。所有实验重复三次,每个试验剂量组重复4~6实验孔。

1.3.4 小鼠腹腔巨噬细胞活力的测定

采用MTT比色法测定巨噬细胞活力,将上述培养板中剩余的培养液吸去,补充不含血清的RPMI 1640培

养液 200 μl 孔,同时加入 5mg/ml 的 MTT 20 μl / 孔,继续培养 4h 后,弃去上清,加二甲基亚砜 150 μl / 孔,使生成的紫色结晶溶解,在酶联免疫检测仪上测定 570nm 的吸光度。所有实验重复三次,每个试验剂量组重复 4~6 实验孔。

1.3.5 小鼠腹腔巨噬细胞吞噬中性红(NR)实验

按上述方法制备小鼠腹腔巨噬细胞,用 10%FCS-RPMI 1640 培养液,调整细胞浓度,加至 96 孔细胞培养板,每孔加入细胞各 2×10^5 ,培养 2h 洗弃未贴壁细胞,加入不同浓度的叶黄素或玉米黄素并设置溶剂对照组,置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%CO₂(体积分数)的培养箱中培养 24h,弃上清,每孔加入 0.75g/L 的中性红溶液 100 μl 。37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%CO₂ 培养箱中继续培养 1h,取出,弃 NR。用预温的 PBS 清洗 96 孔培养板 3 次,弃上清液。加入细胞裂解液 150 μl ,静置过夜,用酶标仪各组比较时将吸光度按下式转化为 NR 吞噬率:

$$\text{中性红吞噬率} = \frac{\text{实验孔 OD}_{570}}{\text{对照孔 OD}_{570}} \times 100\%$$

1.3.6 腹腔巨噬细胞分泌 TNF- α 的影响

TNF- α 的诱生:常规腹腔灌洗制备小鼠腹腔巨噬细胞,加入 96 孔细胞培养板,每孔加入细胞各 2×10^5 ,培养 2h 洗弃未贴壁细胞,加入不同浓度的叶黄素或玉米黄素并设置溶剂对照组和不加细胞的空白对照组,每孔加入终浓度为 10 $\mu\text{g/ml}$ 的 LPS 以激活巨噬细胞,置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5%CO₂ 的培养箱中培养 48h,收集培养上清液,待测。

TNF- α 生物活性的测定:用 L929 细胞株细胞毒法测定^[7]。将处于对数生长期的小鼠成纤维细胞 L929,与待测上清共培养 48h 后,用 MTT 法测定酶标仪在检测波长 570nm 时各孔吸光度(A)。根据以下细胞毒性(%)表示公式表示 TNF- α 活性:

$$\text{细胞毒性}(\%) = \left(1 - \frac{\text{实验孔 OD}_{570}}{\text{对照孔 OD}_{570}}\right) \times 100$$

1.3.7 数据处理

实验所有数据都以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 Microsoft office excel 2003 分析处理数据,如果数据符合正态分布,统计学方法采用双测 t 检验($\alpha=0.05$)。

2 结果与分析

2.1 LPS 刺激下叶黄素和玉米黄素对巨噬细胞释放 NO 的影响

用 1mg/L 的 LPS 刺激小鼠腹腔巨噬细胞,同时在培养液中添加终浓度为 5、10、20、30、40 $\mu\text{mol/L}$ 叶黄

素提取物和 2.5、5、10、20、30 $\mu\text{mol/L}$ 玉米黄素提取物,24h 后检测培养液中 NO 水平和细胞活力。表 1 显示,玉米蛋白粉中的两种类胡萝卜素提取物叶黄素和玉米黄素均对巨噬细胞释放 NO 均产生了一定的影响,当叶黄素 5 $\mu\text{mol/L}$ 、玉米黄素为 2.5 $\mu\text{mol/L}$ 时对巨噬细胞产生 NO 表现为抑制作用,而当叶黄素的浓度大于 10 $\mu\text{mol/L}$ 、玉米黄素大于 5 $\mu\text{mol/L}$ 时巨噬细胞 NO 的生成水平表现为促进作用,且随着叶黄素和玉米黄素浓度的增大则 NO 生成量呈明显的上升趋势。

2.2 叶黄素和玉米黄素对体外小鼠腹腔巨噬细胞生长代谢的影响

小鼠腹腔巨噬细胞在与添加终浓度为 5、10、20、30、40 $\mu\text{mol/L}$ 叶黄素提取物和 2.5、5、10、20、30 $\mu\text{mol/L}$ 玉米黄素提取物共培养 24h 后,用 MTT 法检测细胞活力。表 1 结果显示,小鼠腹腔巨噬细胞在叶黄素和玉米黄素的作用下都有不同程度的增长,其中叶黄素在 5 $\mu\text{mol/L}$ 剂量时就能促进小鼠腹腔巨噬细胞的显著性增殖($p < 0.05$),而玉米黄素则在 10 $\mu\text{mol/L}$ 浓度时能显著性地($p < 0.05$)促进小鼠腹腔巨噬细胞的显著性增殖,并且这种增殖的趋势随着叶黄素和玉米黄素的浓度的增加而增大。结果表明叶黄素和玉米黄素对小鼠腹腔巨噬细胞的生长有一定的促进作用。

表 1 LPS 刺激下叶黄素和玉米黄素对巨噬细胞释放 NO 的影响(n=6)
Tab.1 Effect of lutein and zeaxanthin on NO production from macrophage *in vitro*

组别	样品浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	NO ₂ - 浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	NO 增长率 ($\mu\text{mol/L}$)	MTT OD 值 (%)	细胞增长 率(%)	
阴性对照	—	3.71 \pm 1.14	—	0.135 \pm 0.008	—	
	5	2.9 \pm 1.23	-27.9	0.166 \pm 0.006	22.9*	
	10	3.94 \pm 1.37	6.2	0.173 \pm 0.014	28.1*	
	20	4.23 \pm 1.28	14.0	0.175 \pm 0.023	29.6*	
叶黄素	30	5.08 \pm 2.66	36.9*	0.179 \pm 0.018	32.6*	
	40	5.28 \pm 1.14	42.3*	0.184 \pm 0.012	39.6*	
	阴性对照	—	5.29 \pm 0.828	—	0.201 \pm 0.006	—
		2.5	4.5 \pm 1.97	-14.9	0.217 \pm 0.008	8.0
5		5.43 \pm 1.17	2.65	0.219 \pm 0.007	9.0	
10		5.71 \pm 1.08	7.9	0.236 \pm 0.013	17.4*	
玉米黄素	20	6.14 \pm 0.428	16.1*	0.260 \pm 0.10	29.4*	
	30	6.64 \pm 0.6	25.5*	0.269 \pm 0.005	33.8*	

注:* $p < 0.05$ 。

2.3 对腹腔巨噬细胞吞噬 NR 的影响

小鼠腹腔巨噬细胞与不同浓度的叶黄素或玉米黄素共培养 24h 后,巨噬细胞吞噬中性红的能力见图 1。从图中可见,在 5~40 $\mu\text{mol/L}$ 剂量范围内,叶黄素和玉米黄素均可增强腹腔巨噬细胞吞噬 NR 的能力,吞噬率分别增加了 6.1%~24.3% 和 8.6%~26.3%,但是叶黄素和玉米黄素对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬中性红的能力并非

随着剂量的增高而增大,其中叶黄素浓度在 $30\mu\text{mol/L}$ 和玉米黄素浓度在 $20\mu\text{mol/L}$ 剂量显著性最显著($p < 0.01$),之后,随剂量增加呈下降趋势,叶黄素和玉米黄素二者在对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬中性红能力的差异上无统计学意义。

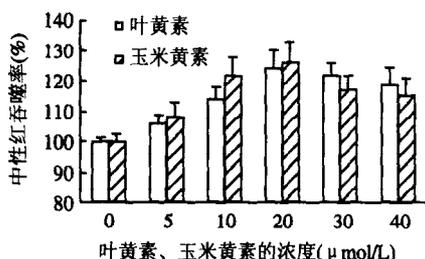


图1 叶黄素和玉米黄素对正常小鼠腹腔巨噬细胞吞噬中性红的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig.1 Effect of lutein and zeaxanthin on the percentage of phagocytosis neutral red from mouse macrophage *in vitro* ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

2.4 对腹腔巨噬细胞分泌 $\text{TNF-}\alpha$ 的影响

小鼠腹腔巨噬细胞与不同浓度的叶黄素或玉米黄素共培养48h后的上清液收集,再与L929细胞培养48h,巨噬细胞分泌的 $\text{TNF-}\alpha$ 可以对L929的生长活性产生影响,其结果见图2。由图2可以看出,2.5~ $40\mu\text{mol/L}$ 叶黄素和玉米黄素可以诱导小鼠腹腔巨噬细胞产生 $\text{TNF-}\alpha$,其细胞毒性分别为5.6%~21.2%和7.5%~20.7%,其中叶黄素和玉米黄素的浓度均为 $30\mu\text{mol/L}$ 时 $\text{TNF-}\alpha$ 的生成量最高 $p < 0.01$,叶黄素和玉米黄素二者在对小鼠腹腔巨噬细胞生成 $\text{TNF-}\alpha$ 的差异上无统计学意义。

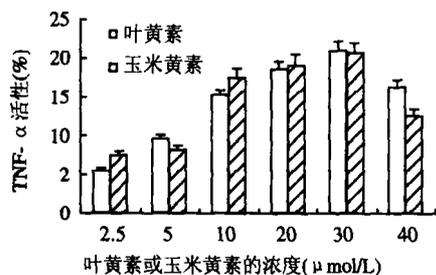


图2 叶黄素和玉米黄素诱导小鼠巨噬细胞产生 $\text{TNF-}\alpha$ 的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Fig.2 Effect of lutein and zeaxanthin on secretion of $\text{TNF-}\alpha$ from mice peritoneal macrophages *in vitro* ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

3 讨论

NO 本身是一种气体自由基,生成后释放到上清液中迅速转变成 NO_2^- ,其性质稳定,可通过测定 NO_2^- 间接反映 NO 的生成量。在酸性环境下, NO_2^- 与对氨基苯磺酰胺起加成反应,其加合产物与 N_2 萘基乙二胺发生Griess重氮化反应,用Griess反应检测上清液的 NO_2^- 量可以间接反映巨噬细胞 NO 的生成量。

巨噬细胞需要双信号的作用才能充分激活^[8]。没有

适当的双信号,不能充分激活巨噬细胞介导的肿瘤细胞毒(MTC)功能,能够激活巨噬细胞双信号很,多如LPS、TNF、IFN-。本文采用体外细胞培养方法,研究小鼠腹腔巨噬细胞在LPS刺激的情况下,从玉米蛋白粉中提取的叶黄素和玉米黄素对其生成 NO 的影响作用。结果表明当叶黄素 $5\mu\text{mol/L}$ 、玉米黄素为 $2.5\mu\text{mol/L}$ 时对小鼠腹腔巨噬细胞产生 NO 表现为抑制作用,而当叶黄素的浓度在 $10\sim 40\mu\text{mol/L}$ 、玉米黄素的浓度在 $5\sim 30\mu\text{mol/L}$ 时巨噬细胞 NO 的生成水平表现为能显著提高正常小鼠腹腔巨噬细胞产生 NO ,且呈现剂量效应关系。

NO 在哺乳动物的各种细胞和组织中广泛存在,是由一氧化氮合成酶(NOS)催化L-精氨酸氧化生成的,正常情况下以适当的强度和节律不断生成。它既是信息分子又是细胞毒性分子,能够参与特异性与非特异性免疫反应,影响淋巴细胞增殖及细胞因子的释放。它的作用可以称得上是一把“双刃刀”,一方面参与多种重要的生理功能和防御机制;另一方面过多的 NO 产生却可造成多种机体损害。

类胡萝卜素的抗氧化能力受到很多因素的影响,诸如浓度、分子结构、作用位点、底物性质、氧压以及膳食抗氧化剂影响。文献报道^[3],当类胡萝卜素剂量较高时,可能引起抗氧化能力的降低,甚至能促进自由基的生成。研究表明^[9], β -胡萝卜素和番茄红素在低浓度时($1\sim 2\mu\text{mol/L}$)可保护细胞DNA免受损伤,当浓度大于 $4\mu\text{mol/L}$ 时这种保护作用开始下降,浓度达到 $10\mu\text{mol/L}$ 时这种保护作用丧失;而当 β -胡萝卜素的水平达 $10\mu\text{mol/L}$ 时不能抑制由 H_2O_2 诱导的HepG2细胞的DNA损伤。刘珊林等^[10]在用 β -胡萝卜素、谷氨酰胺、硒酸酯多糖、云芝多糖等对荷有 H_{22} 肿瘤细胞小鼠的进行抗氧化干预中发现,组织中N-ras基因表达都有所下降,表明肿瘤生长过程中,有自由基介导,并可通过N-ras癌基因进行调节,同时,抑癌明显的实验组 NO 明显升高,非特异性免疫能力提高,在7721人肝癌细胞实验中抗氧化干预也反映 NO 释放增加的同样效果。二羟基类胡萝卜素玉米黄质能保护由黄嘌呤/黄嘌呤氧化酶介导的DNA损伤,并呈剂量依赖关系,但当剂量增加到一定程度时可见其抗氧化能力显著降低^[11]。而且在类胡萝卜素水平较高时可与ROS反应生成氧化性产物。同时,庞宝森^[12]等在用牛磺酸、 β -胡萝卜素对吸烟所致大鼠肺损伤血浆 NO 、肺组织NOS及肺动脉压影响的研究中发现, β -胡萝卜素能显著提高吸烟所致大鼠肺损伤血浆中 NO 含量。以上这些报道都与本文结果一致。

但是吴江等^[13]用 1mg/L 的内毒素脂多糖刺激巨噬细胞时, $0.2\mu\text{mol/L}$ 和 $0.02\mu\text{mol/L}$ 的虾青素使巨噬细胞释放 NO 分别下降77%和43%;而浓度相同 β -胡萝卜素仅使巨噬细胞释放 NO 分别下降28%和8%。本文研究结

果表明当叶黄素 $5\mu\text{mol/L}$ 、玉米黄素为 $2.5\mu\text{mol/L}$ 时使巨噬细胞产生 NO 分别下降 27.9% 和 17.9%。

巨噬细胞产生的 NO 与其抗微生物活性和肿瘤杀伤活性密切相关, 即 NO 的细胞毒作用在宿主防御中起着重要作用。并认为它是一种免疫调节因子, 从而更广泛地影响着机体的免疫功能。目前有些报道表明叶黄素可以选择性地减少免疫细胞的凋亡而增加肿瘤细胞的凋亡。Brown 等^[14]报道叶黄素可以抑制乳腺癌小鼠淋巴瘤细胞的凋亡, 同时诱导肿瘤细胞凋亡, 使小鼠保持一种高的免疫状态。Sumantran 等^[15]在体外实验中也发现叶黄素的这种选择性诱导细胞凋亡的作用仅在变异的乳腺细胞中存在, 而对于人类正常乳腺细胞没有影响。我们在相关的研究中发现玉米蛋白粉中的叶黄素 ($20\sim 60\mu\text{mol/L}$) 和玉米黄素 ($10\sim 40\mu\text{mol/L}$) 在一定浓度下具有诱导大鼠乳腺癌 SHZ 细胞^[16] 口腔癌 KB 细胞^[17] 凋亡的功能, 而能促进 ConA 刺激下的正常人外周血淋巴细胞的转化, 对 ConA 刺激下的小鼠脾淋巴细胞没有影响。说明叶黄素和玉米黄素对机体正常细胞没有毒性效应。

我们首次在细胞培养的条件下进行了叶黄素和玉米黄素对巨噬细胞释放 NO 影响的研究并探讨了叶黄素和玉米黄素抗肿瘤与 NO 的关系。根据以上报道并结合本实验的结果, 可以推论叶黄素和玉米黄素在 LPS 的刺激下, 在低浓度时能抑制巨噬细胞释放 NO, 发挥清除自由基的功能进而表现为促进宿主的非特异性免疫; 而在高浓度下则促进过多的 NO 生成, 促进肿瘤细胞的凋亡。因此, 叶黄素和玉米黄素对于预防和治疗病毒性感染、胞内微生物感染以及恶性肿瘤等疾病是有益的, 在使用叶黄素和玉米黄素时, 应选择合理的剂量范围。

参考文献:

- [1] Chew B P. Importance of antioxidant vitamins in immunity and health in animals[J]. Anim Feed Sci Technol, 1996, 59: 103-114.
- [2] Kim H W, Chew B P, Wong T S. Dietary lutein stimulates immune response in the canine[J]. Veterinary Immunology and Immunopathology,

- 2000, 74(5): 315-327.
- [3] 赵文恩. 类胡萝卜素抗氧化性质的研究[J]. 郑州大学学报(工学版), 2003, 124(11): 38-46.
- [4] Hughes D A, Wright A J A, Finglas P M, et al. Effects of lycopene and lutein supplementation on the expression of functionally associated surface molecules on blood monocytes from healthy male nonsmokers[J]. The Journal of Infectious Diseases, 2000, 182: 11-15.
- [5] 孙震, 奚海燕, 李博, 等. 叶黄素和玉米黄素抑制口腔上皮细胞增殖的实验研究[J]. 食品科学, 2006, 27(6): 207-211.
- [6] Shindo T, Ikeda U, Ohkawa F, et al. Nitric oxide synthesis in cardiac myocytes fibroblates by inflammatory cytokines[J]. J Cardiorasec Res, 1995, 29(6): 813-819.
- [7] Ferrari M, Fomasiero M C, Isetta A M. MTT colorimetric assay for testing macrophage cytotoxic activity in vitro[J]. J Immunol Methods, 1990, 131: 165-172.
- [8] 周滨, 姜志尧, 张桂梅, 等. 体内 IFN- γ 基因转染小鼠腹腔巨噬细胞抗肿瘤作用的研究[J]. 中国免疫学杂志, 1998, 14(1): 22-25.
- [9] Woods J A, Bilton R F, Young A J. β -Carotene enhances hydrogen peroxide-induced DNA damage in human hepato cellular HepG2 cells[J]. FEBS Lett, 1999, 449: 255-258.
- [10] 刘珊林, 施冬云, 潘喜华, 等. 抗氧化干预对肝癌细胞增殖及 N-ras 基因表达的作用[J]. 生物化学与生物物理学报, 2001, 33 (4): 463-466.
- [11] Palozza P. Prooxidant action of carotenoids in biological systems[J]. Nutr Rev, 1998, 56: 257-265.
- [12] 庞宝森, 王辰, 翁心植. 牛磺酸-胡萝卜素对吸烟所致大鼠肺损伤血浆 NO 肺组织 NOS 及肺动脉压影响的研究[J]. 心肺血管病杂志, 2002, 21(5): 120-121.
- [13] 吴江, 林晓霞, 刘子贻. 类胡萝卜素对小鼠腹腔巨噬细胞释放一氧化氮的影响[J]. 浙江大学学报(医学版), 2001, 30(5): 211-214.
- [14] Brown E D, Blakely S R, Babu U, et al. Vegetable concentrates interact with canthaxanthin to affect carotenoid bioavailability and superoxide dismutase activity but not immune response in rats[J]. Nutrition Research, 1997, 17(6): 989-998.
- [15] Sumantran V N, Lee D S, Baker V V, et al. A Bcl-xS adenovirus demonstrates therapeutic efficacy in an ascites model of human breast cancer[J]. Journal of the Society for Gynecologic Investigation, 2000, (7): 184-189.
- [16] 孙震, 苏宇杰, 姚惠源. 玉米蛋白粉中黄体素、玉米黄素对乳腺癌细胞增殖的影响[J]. 食品与机械, 2005, 21(2): 6-9.
- [17] 孙震, 姚惠源. 玉米蛋白粉中玉米黄素对口腔鳞癌细胞株 KB 增殖的抑制[J]. 食品与生物技术, 2005, 24(6): 34-37.



韩国生物技术产业 1994 年以来增长 14 倍

韩国科学技术部称, 由于政府对生物技术产业投资强劲, 韩国生物技术产业产值 2005 年达到 2.6 万亿韩元(946 韩元约合 1 美元), 为 1994 年的 14 倍多。生物技术产值 1994 年为 1730 亿韩元。自 1994 年以来, 韩国政府已将 4.3 万亿韩元投入该产业, 这促进了生物技术产业的迅猛发展。

据韩通社报道, 1994 年, 政府对生物技术产业投资 536 亿韩元, 之后每年以 23% 的速度增长。另外, 2002 年到 2005 年, 韩国生物技术产业在美国获得的专利高达 207 项, 而在 1994 年到 1997 年间仅为 47 项。

韩国科学技术部表示, 到 2016 年在基础设施和人力资源方面将额外投资 19 万亿韩元, 助推韩国成为世界第七大生物技术强国。