

鸡汤和鸡肉及其复配物对小鼠的免疫改善作用

李祖悦, 李小萌, 靳国锋, 蔡朝霞, 黄茜*

(华中农业大学食品科技学院 环境食品学教育部重点实验室 武汉 430000)

摘要 为探究鸡汤、鸡肉和肉汤复配物的免疫调节特性,以两岁龄雌性固始鸡为原料,采用高压炖煮结合喷雾干燥和冷冻干燥工艺分别制备鸡汤粉和鸡肉粉,并测定其氨基酸组成;腹腔注射环磷酰胺建立免疫抑制小鼠模型,分别灌胃鸡汤、鸡肉和肉汤复配物,测定小鼠的体质量、免疫器官指数、细胞因子和免疫球蛋白含量,并进行脾脏免疫组织化学分析,评价小鼠脾脏和回肠的组织变化,从细胞免疫和体液免疫 2 个方面分析鸡汤、鸡肉和肉汤复配物对上述指标的影响。结果表明,鸡汤、鸡肉和肉汤复配物均可以提高免疫抑制小鼠的免疫能力。其中鸡汤显著提高免疫抑制小鼠血液中血红蛋白含量【(133.33±4.07)g/L】、血清 IgA 含量【(341.99±17.89)pg/mL】和血清 IgG 含量【(1 988.75±96.56)pg/mL】。鸡肉较鸡汤显著提高脾脏细胞表面 CD4⁺表达。肉汤复配物能够提高胸腺指数【(1.62±0.47)mg/g】、改善脾脏和回肠组织损伤,刺激干扰素- γ 分泌【(1 355.83±71.73)pg/mL】,且恢复 Th1/Th2 平衡。结论:鸡汤、鸡肉和肉汤复配物都对免疫抑制小鼠的免疫调节功能有一定的改善作用,鸡汤的综合作用效果优于鸡肉。

关键词 鸡汤;鸡肉;免疫;环磷酰胺

文章编号 1009-7848(2023)08-0142-12 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2023.08.016

鸡肉是我国第二大消费肉品,具有高蛋白、低脂肪和低胆固醇等特点,深受广大消费者的喜爱。中医认为,鸡肉性温味甘,有益五脏、补虚亏、健脾胃、强筋骨、活血脉和调月经等作用。我国素有“无鸡不成宴”的传统,鸡肉最常见的烹饪方式是煲汤,在炖煮过程中,鸡肉中的水溶性蛋白质会溶解在水中,并降解成氨基酸和多肽。目前有研究表明鸡汤和鸡肉均具有预防感冒、缓解炎症和提高免疫力等功效作用^[1-2]。

免疫系统是由免疫器官、免疫细胞和免疫分子组成,可以防止病原体入侵,在预防和治疗疾病上具有重要作用^[3]。多肽、多糖和维生素等营养物质可以通过促进脾淋巴细胞增殖,增加巨噬细胞吞噬活力,诱导细胞因子分泌,提高免疫球蛋白含量等多种途径提高机体免疫力^[4]。之前有研究发现,鸡汤中含有的肌肽、鹅肌肽和牛磺酸等小分子物质^[5],可以提高正常小鼠的免疫器官指数、抗氧化能力、巨噬细胞吞噬指数和免疫抗体水平^[6]。鸡肉蛋白质的氨基酸组成与人体需求较为接近,是优质蛋白的来源。此外,人们普遍认为,炖煮后

绝大多数营养物质还保留在肉中,故鸡肉的营养价值比鸡汤高^[7]。然而,目前关于鸡汤和鸡肉对机体免疫调节作用的对比分析鲜有报道。

固始鸡是我国知名的地方鸡种,其饲养期较长,挥发性风味物质较多,肉质紧实,富含氨基酸、牛磺酸和微量元素^[8],主要以炖煮方式食用。本研究以两岁龄雌性固始鸡为原料,采用高压炖煮工艺,结合喷雾干燥和冷冻干燥 2 种方式分别制备鸡汤粉和鸡肉粉,分析对比鸡汤粉和鸡肉粉中的氨基酸组成和含量;以环磷酰胺诱导的免疫抑制小鼠为模型,探究鸡汤、鸡肉和肉汤复配物对免疫抑制小鼠的细胞免疫和体液免疫的影响。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

两岁龄雌性固始鸡,河南省某大型农牧企业提供;环磷酰胺,上海源叶生物科技有限公司;小鼠白介素-2(IL-2)酶联免疫试剂盒、小鼠白介素-6(IL-6)酶联免疫试剂盒、小鼠白介素(IL-10)酶联免疫试剂盒、小鼠肿瘤坏死因子- α (TNF- α)酶联免疫试剂盒、小鼠干扰素- γ (IFN- γ)酶联免疫试剂盒、小鼠免疫球蛋白 A(IgA)酶联免疫试剂盒、小鼠免疫球蛋白 G(IgG)酶联免疫试剂盒,武汉酶免生物科技有限公司;苏木精-伊红染色试剂

收稿日期: 2022-08-22

基金项目: 中央高校基本科研业务费项目(2662020SPPY006)

第一作者: 李祖悦,女,硕士

通信作者: 黄茜 E-mail: huangxi@mail.hzau.edu.cn

盒,江苏世泰实验器材有限公司;其它分析纯级试剂,国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

A300 全自动氨基酸分析仪,德国曼默博尔公司;7BC-2800vet 兽用全自动血液分析仪,迈瑞生物医疗电子股份有限公司;MY-YL50P701 美的 IH 电压力锅,美的集团;3D 病理切片扫描仪,济南丹吉尔电子有限公司;SP-1500 喷雾干燥机,上海顺仪实验设备有限公司;TG16-II 台式高速离心机,湖南平凡科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 样品制备 将鸡和水(质量比 1:3)放入电压力锅,65 kPa 烹制 20 min,然后在 55 kPa 下焖炖 50 min。最后将鸡汤放于 4 °C 冰箱静置 24 h,用纱布过滤后进行喷雾干燥(进口温度为 170 °C,出口温度 55 °C,进料速度为 13 mL/min)制备鸡汤粉;取上述炖煮后的鸡腿肉冷冻干燥,研磨制成鸡肉粉;鸡汤粉与鸡肉粉按照质量比 1:7 混合均匀,

获得肉汤混合物。将其储存于-80 °C 冰箱中备用。

1.3.2 实验动物分组 75 只 6 周龄雌性 BALB/c 小鼠(20~22 g)购买于华中农业大学动物实验中心(动物许可证编号:SYXK 2020-0019),饲养于相对湿度 60%~70%、温度 20~22 °C、12 h 光照循环的无特定病原体环境下。实验期间小鼠自由进食和饮水,每日使用基础饲料喂养。随机将小鼠分成 5 组($n=15$):正常组、模型组、鸡汤组、鸡肉组和肉汤复配物。自由饮水饮食适应性饲 1 周后,除正常组小鼠腹腔注射 0.2 mL 生理盐水外,其它组先连续 3 d 腹腔注射等体积 100 mg/kg bw 环磷酰胺,然后在第 11 天、第 19 天和第 27 天再腹腔注射等体积和等剂量的环磷酰胺。在 4~10,12~18,20~26 d 和 28~31 d,鸡汤组、鸡肉组和肉汤复配物组小鼠分别给予 0.3 mL 鸡汤、鸡肉及肉汤复配物(800 mg/kg bw),正常组和模型组灌胃等体积的生理盐水。小鼠末次灌胃禁食 24 h 后,眼眶取血并断颈处死。

表 1 实验分组及灌胃处理

Table 1 Experimental group and intragastric treatment

序号	组别	时间/d	
		1~3, 11, 19, 27	4~10, 12~18, 20~26, 28~31
1	正常组	生理盐水	生理盐水
2	模型组	环磷酰胺	生理盐水
3	鸡汤组	环磷酰胺	800 mg/kg 鸡汤
4	鸡肉组	环磷酰胺	800 mg/kg 鸡肉
5	肉汤组	环磷酰胺	800 mg/kg 肉汤复配物

1.3.3 体质量变化 记录小鼠的初始体质量,实验期间每 3 d 记录一次体质量,并且在处死前再次称量体质量。

1.3.4 脾脏指数和胸腺指数 分离小鼠的脾脏和胸腺,并去除多余的筋膜和脂肪组织,然后称重。免疫器官指数按公式(1)计算。

器官指数(mg/g)=器官重量(mg)/体质量(g) (1)

1.3.5 形态学观察 将脾脏和回肠固定在 4%多聚甲醛中。制备 3 μ m 石蜡包埋切片,随后将每张载玻片用苏木精和伊红染色。使用 Case Viewer 软件采集组织学图像对中央区进行组织病理学评估。

1.3.6 血液学分析 采集血液并储存在含有抗凝

剂的离心管中。使用全自动血液分析仪测定小鼠血液中的白细胞、淋巴细胞、中性粒细胞、红细胞和血小板的数量以及血红蛋白含量。

1.3.7 免疫组织化学分析 使用二甲苯、无水乙醚、85%酒精和 75%酒精将脾脏石蜡切片脱蜡。然后将切片放入柠檬酸缓冲液和 EDTA-抗原修复液中加热进行抗原修复。脾脏切片分别与 CD4 抗体,CD8 抗体放于 4 °C 孵育过夜。将小鼠二抗覆盖组织,避光室温孵育 50 min 后,用 DAB 显色试剂盒染色,苏木精复染,用显微镜观察并记录载玻片。每组内每张切片随机挑选 3 个 200 倍视野进行拍照。用 Image-Pro Plus 6.0 软件选取相同的棕黄色作为判断所有照片阳性的统一标准,对每张

照片进行分析得出每张照片阳性的累积光密度值(IOD)。

1.3.8 细胞因子和免疫球蛋白 取小鼠全血,冷藏4 h后3 000 r/min离心10 min,收集上层血清。按生产厂家说明书,用ELISA试剂盒检测IgA、IgG、TNF- α 、IFN- γ 、IL-2、IL-6和IL-10水平。

1.3.9 氨基酸含量及组成测定 取适量样品置于水解瓶中,并加入10 mL盐酸(6 mol/L),氮吹后密封,在110 $^{\circ}$ C的烘箱中水解24 h,冷却后过滤定容至25 mL。取1 mL滤液脱酸至干燥,再加入上样缓冲液,溶液用0.45 μ m滤膜过滤后,用氨基酸自动分析仪进行检测。

1.4 数据处理

使用SPSS对试验数据进行单因素方差分析。应用Duncan's多重比较确定处理之间的差异性,统计学水平定义为 $P < 0.05$ 。采用Origin软件进行作图,试验结果以平均值 \pm 标准差表示。

2 结果与分析

2.1 鸡汤、鸡肉和肉汤复配物对小鼠体质量变化的影响

体质量可以反映小鼠的生长状况。如图1可知,腹腔注射环磷酰胺3 d(1,2,3 d)导致小鼠的体质量显著降低($P < 0.05$),表明造模成功。在实验期间,所有小鼠体质量呈现上升趋势,而鸡汤、鸡肉和肉汤复配物组小鼠的增长速度较模型组快($P < 0.05$),说明鸡汤、鸡肉和肉汤复配物均可以促进小鼠生长。模型组、鸡汤组、鸡肉组和肉汤组小鼠从连续3 d注射环磷酰胺后(3 d)到末次灌胃(33 d)期间,平均体质量分别增加2.50、3.04、2.99 g和4.78 g,肉汤复配物组小鼠体质量增加最多,且显著高于模型组($P < 0.05$),说明肉汤复配物更能缓解环磷酰胺引起的体重降低。Schiffman等^[9]研究表明可以通过改善食物的风味,提高癌症病人的食欲,从而改善其营养状况。黄明远等^[10]研究发现鸡汤含有较多的风味氨基酸,风味浓郁,推测可能是通过鸡汤促进小鼠食欲,增加其对基础饲料的摄入从而导致体质量增加。

2.2 鸡汤、鸡肉和肉汤复配物对小鼠免疫器官指数的影响

胸腺和脾脏是重要的免疫器官,对免疫应答

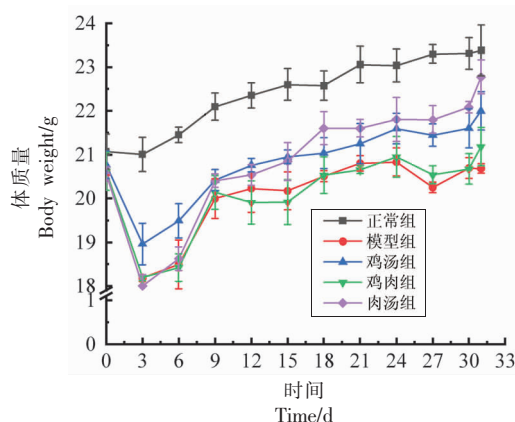
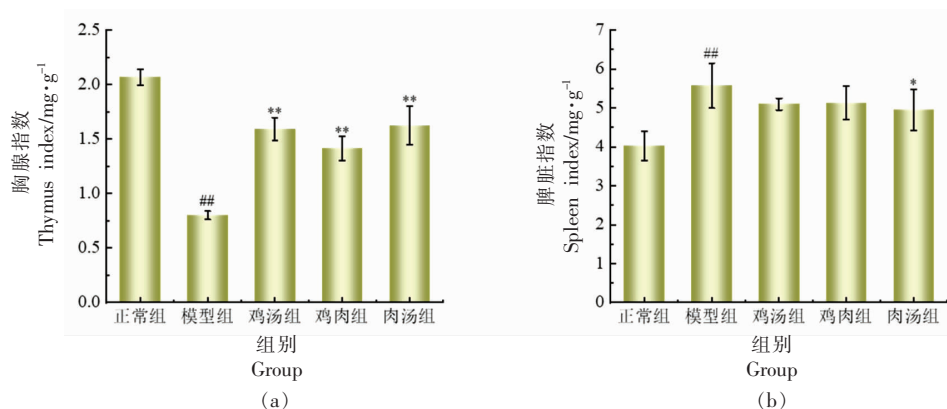


图1 鸡汤、鸡肉和肉汤复配物对小鼠体质量的影响
Fig.1 Effect of chicken soup, chicken meat and their complexes on body weight in mice

的发生起关键作用,其器官指数变化是免疫抑制小鼠的典型症状之一。如图2a所示,与正常组相比,模型组小鼠的胸腺指数显著降低了59.88%($P < 0.01$),与之前研究报道的结果一致^[11]。鸡汤、鸡肉和肉汤组小鼠的胸腺指数相比于模型组都显著升高($P < 0.01$),分别是模型组的1.94倍、1.72倍和1.98倍,可以看出鸡汤、鸡肉和肉汤复配物均对免疫抑制小鼠胸腺损伤有一定的改善作用。类似地,李丹^[6]分别给正常小鼠灌胃固始鸡汤7 d或14 d,发现小鼠的胸腺指数有所提高。脾脏指数会根据环磷酰胺的注射剂量和机体状况而出现不同的变化,一方面环磷酰胺会抑制小鼠的免疫系统,导致免疫器官发生萎缩,从而表现为脾脏指数降低^[12]。另一方面当骨髓造血功能受到抑制时,脾脏等器官会发生髓外造血而增生^[13]或者发生炎症而肿大^[14],表现为脾脏指数升高。本研究中模型组小鼠的脾脏指数显著高于正常组($P < 0.01$,图2b)。类似的结果也出现在侯粉霞等^[15]的研究中,给予环磷酰胺28 d后,大鼠的脾脏指数较正常组显著升高。喂食鸡汤、鸡肉和肉汤复配物后,免疫抑制小鼠的脾脏指数均呈现下降趋势,其中肉汤组小鼠最低,较模型组降低了10.8%($P < 0.05$),说明肉汤对促进小鼠脾脏恢复具有显著作用。因此,鸡汤、鸡肉和肉汤复配物对环磷酰胺所致的小鼠脾脏和胸腺损伤有不同的改善作用,且肉汤复配物的效果优于单一鸡汤和鸡肉。



注:与正常组比较,#. $P < 0.05$, ##. $P < 0.01$;与模型组比较,*. $P < 0.05$, **. $P < 0.01$; $n = 6$ 。

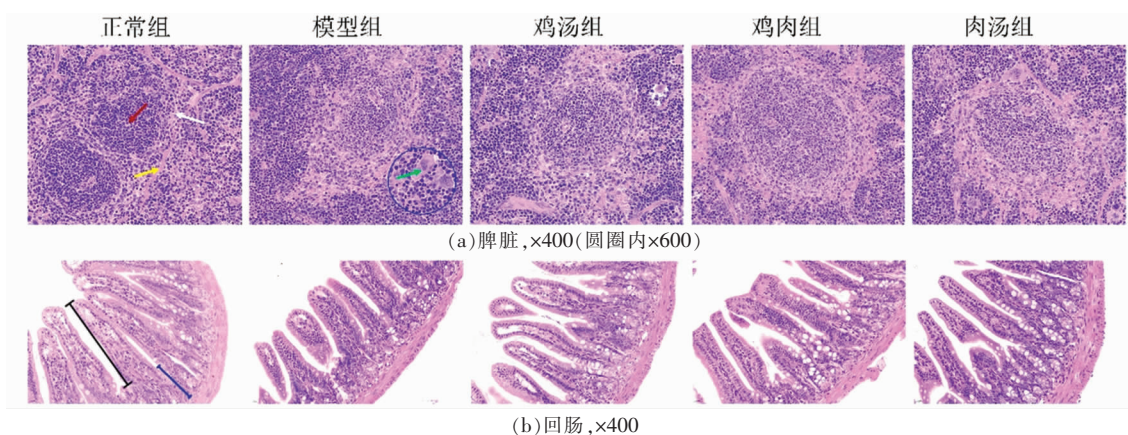
图 2 鸡汤、鸡肉和肉汤复配物对小鼠胸腺指数(a)和脾脏指数(b)的影响

Fig.2 Effect of chicken soup, chicken meat and their complexes on thymus index (a) and spleen index (b) in mice

2.3 鸡汤、鸡肉和肉汤复配物对小鼠脾脏和回肠组织的影响

脾脏富含 B 细胞和浆细胞,是人体最大的抗体产生器官,对调节血清抗体的含量起重要作用。肠道是预防感染和炎症的重要屏障。研究表明环磷酰胺会诱导产生氧化应激,导致脾脏和回肠出现病理变化^[6]。如图 3a 所示,正常组小鼠的脾脏组织结构正常,白髓淋巴细胞排列紧密,红髓淋巴细胞比较松散,淋巴结节明显。模型组小鼠的脾脏结构紊乱,红、白髓边界模糊,巨噬细胞数量增加。在灌胃鸡汤、鸡肉和肉汤复配物后,免疫抑制小鼠的白髓淋巴细胞排列紧密,红髓和白髓之间出现分界,提示鸡汤、鸡肉和肉汤复配物可以缓解环磷酰胺对小鼠脾脏的损伤。回肠切片如图 3b 所示,

正常组小鼠回肠上皮表面结构清晰,绒毛完整且排列整齐。模型组小鼠回肠内有明显的细胞过滤和水肿,绒毛较短且结构疏松,隐窝变浅,说明环磷酰胺对小鼠的回肠有损伤作用。给予鸡汤,鸡肉和肉汤复配物后,小鼠的回肠组织形态恢复较好,绒毛高度和隐窝深度较模型组均增加。肠道绒毛高度和隐窝深度可以反应其消化吸收能力。鸡汤和鸡肉可以促进回肠绒毛生长,从而增加消化吸收面积,有助于提高回肠的消化吸收率。此外,鸡汤和鸡肉还可以刺激肠黏膜细胞增殖,促进细胞的新陈代谢。研究表明多糖可以通过增强机体的抗氧化能力改善组织损伤^[17]。因此,鸡汤和鸡肉可能通过提高抗氧化蛋白和多肽的吸收,从而改善脾脏和回肠的组织损伤,表现出免疫调节功效。



注:红色箭头表示红髓;白色箭头表示白髓;黄色箭头表示淋巴结;绿色箭头表示巨噬细胞;黑色横线表示绒毛高度;蓝色横线表示隐窝深度。

图 3 脾脏和回肠组织病理学观察

Fig.3 Histopathological observation of spleen and ileum

2.4 鸡汤、鸡肉和肉汤复配物对小鼠外周血指标的影响

血常规是临床诊断疾病常用的一种辅助手段,主要通过检测白细胞、血小板、红细胞数量和血红蛋白含量等一些常用的敏感指标来反应机体的病理情况^[18]。白细胞由中性粒细胞、淋巴细胞和单核细胞组成,是免疫激活和感染的生物标志物^[19]。如表2所示,模型组小鼠的白细胞总数、中性粒细胞和淋巴细胞数量相比于正常组显著下降($P<0.01$),分别是正常组的70%,76.79%和81.54%。与模型组相比,鸡汤组、鸡肉组和肉汤组小鼠的白细胞、中性粒细胞和淋巴细胞水平显著提高($P<0.01$)。鸡汤组小鼠的白细胞总数、中性粒细胞和淋巴细胞数量比鸡肉组高,分别是鸡肉组的1.19倍,1.22倍和1.19倍。血红蛋白是氧气的载体,主要负责体内氧气的运输,其含量降低可以反映免疫疾病和神经退行性疾病^[20]。血小板可以控制血栓形成、促进凝血和修复受损的伤口。近年来的研究表明血小板还可预防细菌感染和抑制炎

症^[21]。红细胞在维持氧合和酸碱平衡、识别抗原、清除免疫复合物和促进吞噬作用等方面发挥重要作用。用环磷酰胺处理后,小鼠的血小板数量、血红蛋白含量和红细胞数量显著下降($P<0.05$),分别降低了54.38%,16.55%和15.54%。与模型组相比,鸡汤组、鸡肉组和肉汤组小鼠的血小板数量、血红蛋白含量和红细胞数量呈上升趋势。鸡汤组小鼠的血小板数量和血红蛋白含量显著高于模型组($P<0.05$),分别提高了93.87%和10.19%。鸡肉组小鼠的血小板数量显著高于模型组($P<0.01$),提高了90.90%。因此,鸡汤可以通过提高小鼠的白细胞、血小板和血红蛋白水平,在促进外周血恢复和补血益气方面比鸡肉发挥出更好的效果。研究发现鸡汤中含有较多的血清白蛋白、I型胶原蛋白和II型胶原蛋白^[22],这些蛋白质是阿胶的主要成分^[23]。因此,推测鸡汤在提高免疫力和补血止血与阿胶具有相似的作用,这与鸡汤具有补血益气的传统说法一致。

表2 鸡汤、鸡肉和肉汤复配物对血常规的影响

Table 2 Effects of chicken soup, chicken meat and their complexes on blood routine in mice

分组	白细胞/ $10^9 \cdot L^{-1}$			血小板/ $10^9 \cdot L^{-1}$	血红蛋白/ $g \cdot L^{-1}$	红细胞/ $10^{12} \cdot L^{-1}$
	总数	淋巴细胞	中性粒细胞			
正常组	3.02 ± 0.28	2.37 ± 0.18	0.65 ± 0.10	726.67 ± 48.19	145.00 ± 4.20	9.70 ± 0.23
模型组	0.67 ± 0.14 ^{###}	0.55 ± 0.10 ^{###}	0.12 ± 0.04 ^{###}	331.50 ± 49.43 ^{###}	121.00 ± 7.90 [#]	8.29 ± 0.54 ^{###}
鸡汤组	1.61 ± 0.20 ^{**}	1.33 ± 0.16 ^{**}	0.28 ± 0.04 ^{**}	642.67 ± 63.18 ^{**}	133.33 ± 4.07 [*]	8.62 ± 0.20
鸡肉组	1.35 ± 0.18 ^{**}	1.12 ± 0.13 ^{**}	0.23 ± 0.05 [*]	632.83 ± 48.20 ^{**}	130.67 ± 6.67	8.50 ± 0.49
肉汤组	1.57 ± 0.22 ^{**}	1.27 ± 0.17 ^{**}	0.30 ± 0.05 ^{**}	606.83 ± 54.94	128.33 ± 7.07	8.41 ± 0.33

注:与正常组比较,#. $P<0.05$,##. $P<0.01$;与模型组比较,*. $P<0.05$,**. $P<0.01$ 。

2.5 鸡汤、鸡肉和肉汤复配物对小鼠血清细胞因子含量的影响

细胞因子是一类由活化的免疫细胞合成和分泌的生物活性分子。它们可以通过介导免疫细胞之间的信息交换和相互调节,参与免疫反应、炎症激活、造血功能和组织修复。IL-2、IL-6、TNF- α 和IFN- γ 被认为是炎症因子,适量释放可以促进免疫细胞的增殖和增强对肿瘤的杀伤力^[24],过量释放则会造成机体损伤。IL-10属于抗炎因子,能够抑制炎症和诱导免疫球蛋白分泌^[25]。由图4a~4e可知,模型组小鼠的IL-2、IL-6、IL-10、TNF- α 和IFN- γ 含量显著低于正常组($P<0.01$),分别下降

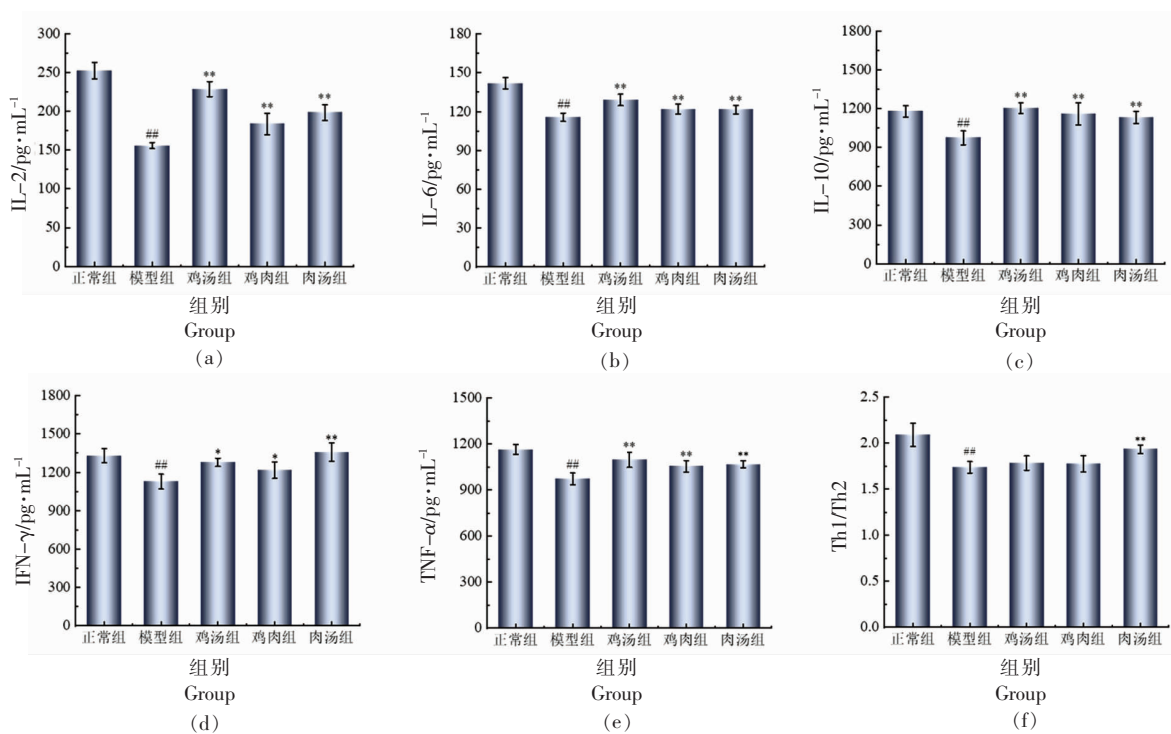
了38.25%,18.55%,17.39%,16.47%和15.28%,进一步说明造模成功。与模型组相比,灌胃鸡汤、鸡肉和肉汤复配物后,免疫抑制小鼠体内IL-2、IL-6、IL-10、TNF- α 和IFN- γ 的含量都显著上升($P<0.05$)。与模型相比,鸡汤组小鼠IL-2、IL-6、IL-10、TNF- α 和IFN- γ 的含量分别提高46.75%,11.63%,19.06%,12.79%和13.3%,鸡肉组小鼠IL-2、IL-6、IL-10、TNF- α 和IFN- γ 的含量分别提高17.8%,5.51%,19.03%,8.41%和7.85%。其中鸡汤组小鼠体内IL-2含量是鸡肉组的1.25倍。IL-2是由活化的CD4⁺T和CD8⁺T细胞产生,可以诱导免疫细胞增殖。因此,鸡汤比鸡肉更能促进外周

血细胞恢复可能与刺激 IL-2 分泌有关。

T 细胞根据它们产生的淋巴因子分化为 Th1、Th2、Th17 和 Treg^[26]。越来越多的研究表明, Th1、Th2、Th17 和 Treg 细胞在调节免疫功能中起着重要作用^[27]。Th1 细胞通过分泌 TNF- α 和 IFN- γ 参与细胞免疫,同时还可以阻断 IgE 合成,抑制速发型超敏反应。Th2 细胞可以分泌 IL-6 和 IL-10 等细胞因子,促进 B 细胞成熟分化从而可以介导体液免疫^[28]。Th1/Th2 平衡破坏会导致免疫系统的调节功能发生异常^[29]。为了研究鸡汤、鸡肉和肉汤调节免疫的机制,选择公式(2)作为 Th1/Th2 平衡指标。

$$\text{Th1/Th2} = (\text{TNF-}\alpha + \text{IFN-}\gamma) / (\text{IL-6} + \text{IL-10}) \quad (2)$$

如图 4f 所示,与正常组相比,模型组小鼠体内 Th1/Th2 的平衡被打破,出现向 Th2 偏移。灌胃肉汤复配物后,免疫抑制小鼠的 Th1/Th2 比例从 1.74 显著提高到 1.93 ($P < 0.01$),接近正常小鼠水平。这与卵转铁蛋白通过调节 Th1/Th2 细胞因子分泌以增强免疫的研究结果一致^[30]。据报道,大麦叶多糖可通过激活 JAK/STAT1/T-bet 和 TLR2/GATA3 信号通路来改善 Th1 和 Th2 的失衡^[31],推测肉汤可能通过激活免疫细胞和信号通路来调节 Th1 和 Th2 平衡。



注:与正常组比较,#. $P < 0.05$,##. $P < 0.01$;与模型组比较,*. $P < 0.05$,**. $P < 0.01$ 。

图 4 鸡汤、鸡肉和肉汤复配物对血清中白介素-2(a)、白介素-6(b)、白介素-10(c)、干扰素- γ (d)、肿瘤坏死因子- α (e)和 Th1/Th2(f)的影响($n=6$)

Fig.4 Effects of chicken soup, chicken meat and their complexes on serum IL-2 (a), IL-6 (b), IL-10 (c), IFN- γ (d), TNF- α (e) and Th1/Th2 (f) in mice ($n=6$)

2.6 鸡汤、鸡肉和肉汤复配物对小鼠脾脏免疫组织化学的影响

T 细胞介导的细胞免疫主要是由 CD4⁺和 CD8⁺两个细胞亚群参与^[32]。表达 CD4⁺的主要是辅助性 T 细胞,该细胞可以分泌细胞因子,使免疫细胞在反应部位聚集。表达 CD8⁺的主要是细胞毒性

T 细胞,可以特异性杀死靶细胞^[33]。先前的研究表明,CD4⁺水平下降、CD8⁺水平升高表示小鼠的免疫功能下降^[34]。采用免疫组织化学检测脾脏表面 T 淋巴细胞亚群组成。如图 5a 所示,阳性细胞为深棕色染色的区域。模型组小鼠脾脏细胞表面 CD4⁺的表达水平显著低于正常组,给予鸡汤、鸡肉和肉

汤后,小鼠脾脏细胞表面 CD4⁺的表达水平均有不同程度的增加。与正常组相比,模型组小鼠脾脏细胞表面 CD8⁺的表达水平显著升高,鸡汤、鸡肉和肉汤组小鼠脾脏细胞表面 CD8⁺的表达水平较模型组降低。使用累积光密度值(IOD)量化免疫组织化学结果。从图 5b~5d 可以看出,免疫抑制小鼠脾脏表面 CD4⁺的 IOD 显著降低了 84.21% ($P<0.01$), CD8⁺的 IOD 显著升高了 102.01% ($P<0.01$), CD4⁺/CD8⁺显著降低了 92.18% ($P<0.01$)。给予鸡汤、鸡肉和肉汤复配物后,小鼠脾脏表面 CD4⁺的 IOD 显

著升高 ($P<0.01$), CD8⁺的 IOD 显著降低 ($P<0.01$), CD4⁺/CD8⁺显著升高 ($P<0.01$)。鸡汤组小鼠脾脏表面 CD8⁺表达水平较模型组下降了 50.34%, 鸡肉组小鼠的脾脏表面 CD4⁺的表达水平是模型组的 4 倍, 肉汤复配物可以将小鼠脾脏细胞表面 CD4⁺/CD8⁺的表达水平比例从 0.16 提高至 1.16。综上, 鸡汤、鸡肉及肉汤复配物均可通过调节脾脏表面 T 细胞分型来可以改善免疫抑制小鼠的细胞免疫功能, 其中肉汤复配物能够有效调节 CD4⁺/CD8⁺的平衡。

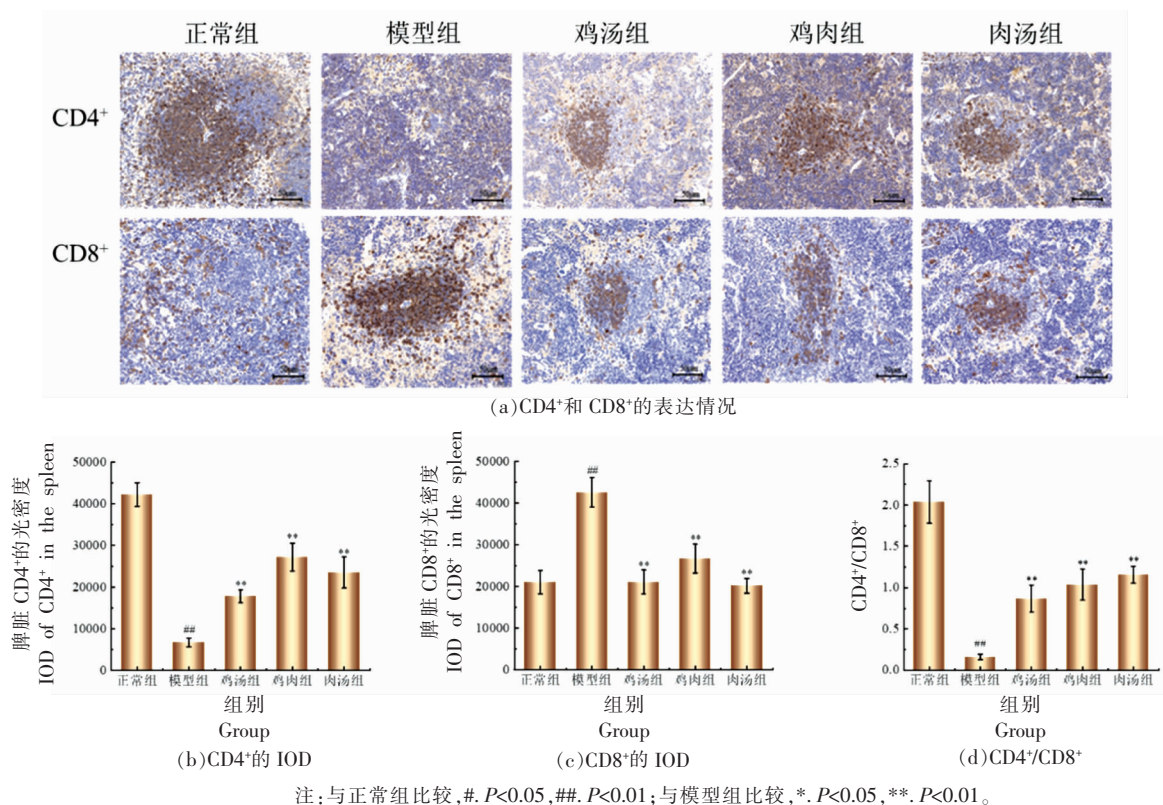


图 5 鸡汤、鸡肉和肉汤复配物对小鼠脾脏中 CD4⁺和 CD8⁺表达 (a)、CD4⁺的 IOD (b)、CD8⁺的 IOD (c)、CD4⁺/CD8⁺ (d) 的影响 ($n=6$)

Fig.5 Effects of chicken broth, chicken and their complexes on the expression of CD4⁺ and CD8⁺ (a), IOD of CD4⁺ (b), IOD of CD8⁺ (c) and CD4⁺/CD8⁺ (d) in the spleen of mice ($n=6$)

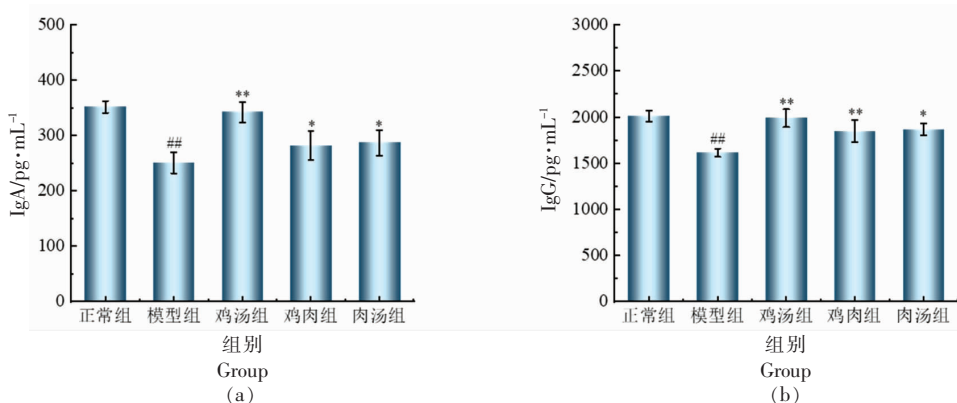
2.7 鸡汤、鸡肉和肉汤复配物对小鼠血清免疫球蛋白含量的影响

免疫球蛋白是一种具有抗体活性的糖蛋白, 可以参与机体内的体液免疫。环磷酰胺可以通过抑制 *Pax5* 和 *Bcl6* 基因的表达, 从而抑制 B 淋巴细胞的分化和增殖, 降低小鼠体内免疫球蛋白含量^[35]。IgA 和 IgG 是体液免疫反应的重要效应物。

IgA 主要由肠系膜淋巴组织中的浆细胞合成, 对诊断疾病具有重要作用^[36]。环磷酰胺处理显著降低了小鼠体内 IgA 的含量, 从 351.52 pg/mL 降至 250.87 pg/mL ($P<0.01$, 图 6a)。与模型组相比, 鸡汤组、鸡肉组和肉汤组小鼠的 IgA 含量分别显著提高了 36.32%, 12.42% 和 14.44% ($P<0.05$)。Xiong 等^[17]研究发现低、中和高剂量的青钱柳多糖可以

提高环磷酰胺诱导小鼠的 IgA 含量,分别为 9.88%, 16.21%和 23.32%,因此在促进 IgA 分泌方面,鸡汤和鸡肉可能和多糖具有相似的效果。IgG 是血液中含有最高和唯一能通过胎盘的抗体,具有参与补体激活、调理和中和毒素等功能^[37]。如图 6b 所示,模型组小鼠血清 IgG 浓度显著低于正常组 ($P<0.01$)。与模型组相比,鸡汤、鸡肉和肉汤组小鼠的 IgG 含量显著增加 ($P<0.05$),其中鸡汤组小鼠 IgG 含量高出模型组 23.24%,基本恢复至正常水平,提示鸡汤、鸡肉和肉汤复配物都可以刺激免

疫球蛋白分泌,恢复小鼠的体液免疫。IL-2 可以激活 JAK/STAT 信号通路,活化 B 细胞,促进免疫球蛋白分泌^[38]。IL-6 有助于 B 细胞转变为成熟的浆细胞,促进 IgM 向其它免疫球蛋白转化^[39]。IL-10 可以促进 B 细胞增殖,表达 MHC II 类分子,分泌 IgA 和 IgG 等抗体。鸡汤组小鼠体内 IL-2、IL-6 和 IL-10 含量分别是鸡肉组的 1.25 倍,1.06 倍和 1.04 倍,因此鸡汤和鸡肉在促进体液免疫恢复上的差异可能与 IL-2、IL-6 和 IL-10 含量有关。



注:与正常组比较, # $P<0.05$, ## $P<0.01$;与模型组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

图 6 鸡汤、鸡肉和肉汤复配物对血清中免疫球蛋白 A(a)和免疫球蛋白(b)含量的影响 ($n=6$)

Fig.6 Effects of chicken soup, chicken meat and their complexes on the content of IgA (a) and IgG (b) in serum ($n=6$)

2.8 鸡汤和鸡肉氨基酸组成

生物活性蛋白和生物活性多肽具有抗氧化、抗癌、抑菌和免疫调节等生物活性,这些生物活性主要受氨基酸组成影响^[40]。如表 3 所示,鸡汤和鸡肉均检测出 17 种氨基酸。脯氨酸作为渗透调节物质,其代谢物可以参与调节发育^[41]。必需氨基酸是指在人体内无法合成,必须通过食物获取的氨基酸,其中某些氨基酸还具有一些生理活性,比如亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸可以清除自由基,保护细胞免受氧化损伤^[42];赖氨酸具有提高新陈代谢,促进机体生长发育和增强免疫等功能^[43];苏氨酸可以刺激机体产生抗体,提高免疫^[44]。鸡汤和鸡肉的必需氨基酸含量分别为 13.32g/100 g 和 27.74 g/100 g,其中鸡肉必需氨基酸含量显著高于鸡汤 ($P<0.05$)。与鸡肉相比,鸡汤中还含有大量的组氨酸 ($P<0.05$),据报道,组氨酸在脱羧酶的作用下形成组胺,从而可以舒张血管,参与变态反应及炎

症^[45]。因此,鸡汤和鸡肉在调节免疫方面的差异可能与其活性蛋白的氨基酸组成有关。此外,高压炖煮会促进鸡肉中的水溶性活性物质溶解在汤中,导致鸡汤主要含有游离氨基酸和水溶性小肽,而鸡肉中可能含有较多未降解以及难溶性的蛋白质或多肽。与蛋白质相比,游离氨基酸和水溶性小肽具有吸收速度快、耗能低、吸收率高等特点,可以提高蛋白质的吸收利用。因此,鸡汤和鸡肉的免疫活性差异也可能与其蛋白质吸收利用率有关。

3 结论

本研究采用环磷酰胺致免疫低下小鼠模型探究鸡汤、鸡肉及肉汤复配物的免疫调节效果,结果显示,鸡汤、鸡肉及肉汤复配物均可以促进小鼠的生长、改善外周血水平、提高 CD4⁺ T 淋巴细胞比例、恢复 Th1/Th2 平衡、刺激细胞因子 IL-2、IL-6、IL-10、TNF- α 和 IFN- γ 分泌、增加免疫球蛋白 I-

表3 鸡汤和鸡肉的氨基酸组成及含量
Table 3 Amino acid composition and content
of chicken broth and chicken

氨基酸	鸡汤/ g·(100 g) ⁻¹	鸡肉/ g·(100 g) ⁻¹
天冬氨酸(Asp)	3.52 ± 0.03 ^b	6.93 ± 0.07 ^a
谷氨酸(Glu)	6.89 ± 0.06 ^b	9.73 ± 0.14 ^a
甘氨酸(Gly)	9.60 ± 0.05 ^a	4.18 ± 0.08 ^b
丙氨酸(Ala)	3.34 ± 0.05 ^a	3.34 ± 0.41 ^a
酪氨酸(Tyr)	0.60 ± 0.03 ^b	3.60 ± 0.24 ^a
组氨酸(His)	6.44 ± 0.01 ^a	3.17 ± 0.08 ^b
精氨酸(Arg)	3.24 ± 0.02 ^b	5.00 ± 0.02 ^a
脯氨酸(Pro)	9.70 ± 0.18 ^a	8.08 ± 0.09 ^b
丝氨酸(Ser)*	1.9 ± 0.05 ^b	3.00 ± 0.03 ^a
苏氨酸(Thr)*	1.27 ± 0.02 ^b	3.22 ± 0.01 ^a
缬氨酸(Val)*	3.20 ± 0.07 ^b	5.88 ± 0.02 ^a
蛋氨酸(Met)*	0.41 ± 0.04 ^b	0.94 ± 0.05
异亮氨酸(Ile)*	0.29 ± 0.01 ^b	1.05 ± 0.04 ^a
亮氨酸(Leu)*	2.84 ± 0.02 ^b	7.60 ± 0.07 ^a
苯丙氨酸(Phe)*	1.14 ± 0.01 ^b	3.77 ± 0.10 ^a
赖氨酸(Lys)*	2.27 ± 0.02 ^b	5.28 ± 0.04 ^a
鲜味氨基酸(FAA)	23.35 ± 0.19 ^b	24.17 ± 0.69 ^a
必需氨基酸(EAA)	13.32 ± 0.24 ^b	27.74 ± 0.19 ^a
非必需氨基酸(NEAA)	43.51 ± 0.44 ^b	47.01 ± 1.15 ^a
总氨基酸(TAA)	56.83 ± 0.68 ^b	74.75 ± 1.33 ^a

注:同行不同字母表示差异显著($P < 0.05$);*表示必需氨基酸。

gA 和 IgG 含量。鸡汤对外周血和免疫球蛋白的改善作用强于鸡肉,鸡肉对模型小鼠脾脏细胞表面 CD4⁺表达的影响最突出,肉汤对小鼠体内 Th1/Th2 平衡的恢复效果优于单一鸡肉和鸡汤。研究表明鸡汤和鸡肉都可以作为免疫调节剂,同时也为鸡汤和鸡肉的进一步开发利用提供了理论依据。本文仅研究鸡汤、鸡肉及肉汤对免疫抑制小鼠的影响,其免疫调节通路和功能性成分还有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] SAKETHKHO K, JANUSZKIEWICZ A, SACKNER M A. Effects of drinking hot water, cold water, and chicken soup on nasal mucus velocity and nasal airflow resistance[J]. Chest, 1978, 74(4): 408-410.
- [2] 孔慧杰, 陈再智, 李爱华, 等. 鸡水解蛋白对健康小鼠免疫功能的影响[J]. 中国食品卫生杂志, 1996(6): 11-12, 15, 48-49.
KONG H J, CHEN Z Z, LI A H, et al. Effect of chicken hydrolytic protein on immune function of mice[J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 1996(6): 11-12, 15, 48-49.
- [3] RAJ S, GOTHANDAM K M. Immunomodulatory activity of methanolic extract of *Amorphophallus commutatus* var. *wayanadensis* under normal and cyclophosphamide induced immunosuppressive conditions in mice models[J]. Food and Chemical Toxicology, 2015, 81(7): 151-159.
- [4] CHEN S P, LIU C, HUANG X J, et al. Comparison of immunomodulatory effects of three polysaccharide fractions from *Lentinula edodes* water extracts[J]. Journal of Functional Foods, 2020, 66: 103791.
- [5] XIAO Z C, ZHANG W G, YANG H T, et al. ¹H NMR-based water-soluble lower molecule characterization and fatty acid composition of Chinese native chickens and commercial broiler[J]. Food Research International, 2021, 140(2): 110008.
- [6] 李丹. 固始鸡鸡汤对小鼠免疫功能影响的研究[D]. 郑州: 河南农业大学, 2006.
LI D. Study on the effect of Gushi chicken on mice's immunation[D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2006.
- [7] 刘万珍. 鸡汤和鸡肉哪个更有营养[J]. 湖南农业, 2010(8): 28.
LIU W Z. Which is more nutritious, chicken soup or chicken[J]. Hunan Agriculture, 2010(8): 28.
- [8] 张小强, 田亚东, 康相涛, 等. 固始鸡汤主要营养成分分析[J]. 食品工业科技, 2008, 9(1): 268-270.
ZHANG X Q, TIAN Y D, KANG X T, et al. Analysis of primary nutritive compositions in Gushi chicken soup[J]. Science and Technology of Food Industry, 2008, 9(1): 268-270.
- [9] SCHIFFMAN S S, SATTELY-MILLER E A, TAYLOR E L, et al. Combination of flavor enhancement and chemosensory education improves nutritional status in older cancer patients[J]. Journal of Nutrition Health & Aging, 2017, 11(5): 430-454.
- [10] 黄明远, 李潇, 王虎虎, 等. 原料鸡类型对鸡汤煲品质的影响[J]. 核农学报, 2021, 35(2): 406-413.
HUANG M Y, LI X, WANG H H, et al. Effect of

- chicken variety on quality of chicken soup[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2021, 35(2): 406-413.
- [11] LI W F, HU X Y, WANG S P, et al. Characterization and anti-tumor bioactivity of *Astragalus* polysaccharides by immunomodulation[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 145(2): 985-997.
- [12] ZHAO J Y, GONG L M, WU L L, et al. Immunomodulatory effects of fermented fig (*Ficus carica* L.) fruit extracts on cyclophosphamide-treated mice [J]. Journal of Functional Foods, 2020, 75(12): 104219.
- [13] LEE Y Y, IRFAN M, QUAH Y, et al. The increasing hematopoietic effect of the combined treatment of Korean Red Ginseng and *Colla corii asini* on cyclophosphamide-induced immunosuppression in mice[J]. Journal of Ginseng Research, 2021, 45(5): 591-598.
- [14] DING Y, YAN Y M, CHEN D, et al. Modulating effects of polysaccharides from the fruits of *Lycium barbarum* on the immune response and gut microbiota in cyclophosphamide-treated mice[J]. Food & Function, 2019, 10(6): 3671-3683.
- [15] 侯粉霞, 鱼涛, 陈巍. 环磷酰胺 28 d 经口染毒对大鼠的免疫毒性[J]. 毒理学杂志, 2005, 19(4): 303-304.
- HOU F X, YU T, CHEN W. Immunotoxicity of cyclophosphamide in rats after 28 d oral exposure[J]. Journal of Toxicology, 2005, 19(4): 303-304.
- [16] YING M X, YU Q, ZHENG B, et al. Cultured *Cordyceps sinensis* polysaccharides attenuate cyclophosphamide-induced intestinal barrier injury in mice [J]. Journal of Functional Foods, 2019, 62(11): 103523.
- [17] XIONG L, OUYANG K H, CHEN H, et al. Immunomodulatory effect of *Cyclocarya paliurus* polysaccharide in cyclophosphamide induced immunocompromised mice [J]. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre, 2020, 24(10): 100224.
- [18] YANG Y Y, XU S P, XU Q X, et al. Protective effect of dammarane saponin against chemotherapy-induced myelosuppression in mice[J]. Experimental Biology & Medicine, 2011, 236(6): 729-735.
- [19] ZHANG J, ZHOU H C, HE S B, et al. The immunoenhancement effects of sea buckthorn pulp oil in cyclophosphamide-induced immunosuppressed mice [J]. Food Function, 2021, 12(17): 7954-7963.
- [20] RUSSO R, ZUCHELLI S, CODRICH M, et al. Hemoglobin is present as a canonical $\alpha_2\beta_2$ tetramer in dopaminergic neurons[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2013, 1834: 1939-1943.
- [21] HOCHSTRASSER R M. Two-dimensional spectroscopy at infrared and optical frequencies [J]. PNAS, 2007 104(36): 14190-14196.
- [22] 章健. 鸡汤抗氧化蛋白和肽的胞内外抗氧化活性研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2019.
- ZHANG J. Study on intracellular and extracellular antioxidant activities of antioxidant proteins and peptides in chicken soup[D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2019.
- [23] WANG D L, RU W W, XU Y P, et al. Chemical constituents and bioactivities of *Colla corii asini* [J]. Drug Discoveries & Therapeutics, 2014, 8(5): 201-207.
- [24] SUNA X, GAOB R L, XIONG Y K, et al. Antitumor and immunomodulatory effects of a water-soluble polysaccharide from *Lilii Bulbus* in mice[J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 102(15): 543-549.
- [25] ALEXANDER A F, KELSEY I, FORBES H, et al. Single-cell secretion analysis reveals a dual role for IL-10 in restraining and resolving the TLR4-induced inflammatory response [J]. Cell Reports, 2021, 36(12): 109728.
- [26] ZHU J, PAUL W E. Peripheral CD4⁺ T-cell differentiation regulated by networks of cytokines and transcription factors[J]. Immunological Reviews, 2010, 238(1): 247-262.
- [27] CHEN S P, WANG J Q, FANG Q Y, et al. A polysaccharide from natural *Cordyceps sinensis* regulates the intestinal immunity and gut microbiota in mice with cyclophosphamide-induced intestinal injury [J]. Food Function, 2021, 12(14): 6271-6282.
- [28] NEURATH M F, FINOTTO S, GLIMCHER L H. The role of Th1/Th2 polarization in mucosal immunity[J]. Nature Medicine, 2002, 8(6): 567-573.
- [29] NEURATH M F, FINOTTO S, GLIMCHER L H. The role of Th1/Th2 polarization in mucosal immunity[J]. Nature Medicine, 2002, 8(6): 567-573.
- [30] ZHU G X, LUO J, DU H Y, et al. Ovotransferrin enhances intestinal immune response in cyclophosphamide-induced immunosuppressed mice[J]. Interna-

- tional Journal of Biological Macromolecules, 2018, 120(12): 1–9.
- [31] HUANG L X, SHEN M Y, WU T, et al. *Mesona chinensis* Benth polysaccharides protect against oxidative stress and immunosuppression in cyclophosphamide-treated mice via MAPKs signal transduction pathways[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 152(6): 766–774.
- [32] KIM E, AHN S, RHEE H I, et al. *Coptis chinensis* Franch. extract up-regulate type I helper T-cell cytokine through MAPK activation in MOLT-4 T cell[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2016, 189(2): 126–131.
- [33] RIDDELL S R, MURATA M, BRYANT S, et al. T-Cell therapy of leukemia [J]. Cancer Control, 2002, 9(2): 114–122.
- [34] WANG C, SHEN Z P, LI L Y, et al. Immunomodulatory activity of R-phycoerythrin from *Porphyra haitanensis* via TLR4/NF- κ B-dependent immunocyte differentiation[J]. Food Function, 2020, 11(3): 2173–2185.
- [35] LI M Z, HUANG X J, HU J L, et al. The protective effects against cyclophosphamide (CTX)-induced immunosuppression of three glucomannans [J]. Food Hydrocolloids, 2020, 100(3): 105445.
- [36] MEGHA K B, MOHANAN P V. Role of immunoglobulin and antibodies in disease management [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 169(1): 28–38.
- [37] KARUPIAH G, CHAUDHRI G, et al. Immunology, infection, and immunity[J]. Immunology & Cell Biology, 2004, 82(6): 651651.
- [38] CANTRELL D, SMITH K. The interleukin-2 T-cell system: A new cell growth model[J]. Science, 1984, 224(4655): 1312–1316.
- [39] BARTON B E. IL-6: Insights into novel biological activities[J]. Clinical Immunology & Immunopathology, 1997, 85(1): 16–20.
- [40] WANG G, YANG C M, ZHANG K, et al. Molecular clusters size of *Puerariae thomsonii* radix aqueous decoction and relevance to oral absorption [J]. Molecules, 2015, 20(7): 12376–12388.
- [41] 王翠平, 严莉, 乔改霞, 等. 脯氨酸参与植物开花信号转导途径[J]. 生物资源, 2017, 39(6): 455–463.
- WANG C P, YAN L, QIAO G X, et al. Proline is involved in flowering signal transduction pathway in *arabidopsis*[J]. Biotic Resources, 2017, 39(6): 455–463.
- [42] 王良峡, 刘若颖, 林福鸿, 等. 支链氨基酸在运动中的作用研究进展[J]. 生物资源, 2015, 37(1): 7–12.
- WANG L X, LIU R Y, LIN F H, et al. Research progress in effect of branched-chain amino acids on exercise[J]. Biotic Resources, 2015, 37(1): 7–12.
- [43] 田颖, 时明慧. 赖氨酸生理功能的研究进展[J]. 美食研究, 2014, 31(1): 60–64.
- TIAN Y, SHI M H. The research progress of the physiology function of lysine[J]. Journal of Researches on Dietetic Science and Culture, 2014, 31(1): 60–64.
- [44] 金海霞, 张明礁. 维生素B₆和苏氨酸对动物免疫功能的影响[J]. 饲料工业, 2007, 28(8): 52–54.
- JIN H X, ZHANG M J. Effects of vitamin B₆ and threonine on animal immune function[J]. Feed Industry, 2007, 28(8): 52–54.
- [45] 胡孟, 武书庚, 王晶, 等. 组氨酸的生理功能及在动物生产中的应用[J]. 中国饲料, 2018, 8(7): 38–45.
- HU M, WU S G, WANG J, et al. Physiological function and application of histidine in animal production[J]. China Feed, 2018, 8(7): 38–45.

Improvement of Immunity in Mice by Chicken Broth and Chicken Meat and Their Complexes

Li Zuyue, Li Xiaomeng, Jin Guofeng, Cai Zhaoxia, Huang Xi*

(Key Laboratory of Environment Correlative Dietology, Ministry of Education, College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430000)

Abstract The purpose of this study was to evaluate the immunomodulatory properties of chicken soup, chicken meat and their complexes. Gushi chicken (two year) was used as raw material to prepare chicken soup powder and chicken meat powder, respectively, and their amino acid compositions were determined. Chicken soup, chicken meat and their

complexes were given to immunosuppressive mice induced by intraperitoneal injection of cyclophosphamide. The body weight, immune organ index, cytokines, immunoglobulins, spleen immunohistochemical analysis and histopathology of the mice were measured. The effects of immune chicken meat and their complexes on the above indicators were analyzed from the aspects of cellular immunity and humoral immunity. The results showed that chicken soup, chicken meat and their complexes improved the immune capacity of immunosuppressed mice. Chicken soup significantly increased the blood hemoglobin content [(133.33±4.07) g/L], serum IgA content [(341.99±17.89) pg/mL] and serum IgG content [(1 988.75±96.56) pg/mL] of immunosuppressed mice. Compared with chicken soup, the expression of CD4⁺ on spleen cell surface was significantly increased. Their complex could increase thymus index [(1.62±0.47) mg/g], improve spleen and ileum tissue injury, stimulate interferon- γ secretion [(1 355.83±71.73) pg/mL], and restore Th1/Th2 balance. Conclusion: This study showed that chicken soup, chicken meat and their complexes had an improvement on the immune regulation function of immunosuppressed mice, and the comprehensive effect of chicken soup was better than that of chicken.

Keywords chicken soup; chicken meat; immunity; cyclophosphamide