

芦荟多糖对衰老小鼠胸腺组织结构的影响

邓阳勇¹, 伍参荣², 杨旭丽¹, 左剑斌¹, 曾宪军¹

(1. 湘潭职业技术学院 检验教研室, 湖南 湘潭 411100; 2. 湖南中医药大学 病原生物学教研室)

摘要: **目的** 通过芦荟多糖对衰老模型小鼠的影响, 观察小鼠胸腺组织结构的变化, 以增进对衰老免疫学机制的了解, 探求芦荟多糖对免疫衰老调节的理论及实验依据。 **方法** 选取 3 周龄健康雌性 NIH (National Institutes of Health) 小鼠 [此种小鼠由美国国家卫生研究院 (NIH, National Institutes of Health) 培育而成, 故名] 4 只, 体重 20 ± 4 g, 按体重随机分为 4 组: 衰老模型组、芦荟多糖组、抗衰老阳性对照组 (灵芝多糖组)、正常对照组。连续灌胃 30 天后, 取小鼠胸腺组织切片 HE 染色观察, 检测小鼠胸腺组织结构的变化。 **结果** 芦荟多糖组胸腺皮质增厚, 皮髓质分界明显, 淋巴细胞密集, 细胞结构清晰, 形态规则, 与正常组、抗衰老阳性对照组 (灵芝多糖组) 比较差异无显著性。证明芦荟多糖可阻止胸腺淋巴细胞的衰老性减少, 抑制胸腺组织的脂肪化。 **结论** 芦荟多糖可通过阻止胸腺的萎缩与退化发挥抗衰老作用。

关键词: 芦荟多糖; 免疫衰老; 胸腺组织

中图分类号: R593

文献标识码: A

文章编号: 2095-1116(2011)06-0626-03

Effect of Aloe Polysaccharide on Thymic Tissue of Senile Mice

DENG Yang-yong, WU Can-rong, YANG Xu-li, et al

(Xiangtan Vocational and Technical College, Xiangtan, Hunan 411100, China)

Abstract: **Objective** By observing the effects of Aloe Polysaccharide on the model of aged mice and the change of thymic tissue so as to gain more insight into immunological mechanism of aging and study the theoretical and experimental evidence for exploring the regulation of Aloe Polysaccharide on aging. **Methods** Forty four three-week and 20 ± 4 g NIH (National Institutes of Health) femal mice were randomly divided into 4 groups: aged model group, Aloe group, antiaging positive control group, normal control group. Aloe polysaccharide was supplemented daily to mice (100 mg/kg body weight per day). After 30 days, The effects of Aloe polysaccharide on thymic tissue of mice were investigated with HE method.

Results The thymic cortex of Aloe group became thick. The thymic cortex and medulla was clearly to mark out. Lymphocytes were highly concentrated. Its shape was nomal and the same as normal control group. It showed that Aloe polysaccharide supplemented daily could inhibit the lower number of thymic lymphocyte because of aging. **Conclusion** Aloe Polysaccharide has antiaging effect by delaying the atrophy of thymus of aged mice.

Key words: aloe polysaccharide; immunosenescence; thymic tissue

衰老是生物随着时间的推移, 机体自然代谢的一个必然阶段, 主要表现为组织结构和机能的衰退, 适应性和抵抗力减弱。在生理学上, 把衰老看作是从受精卵开始一直进行到老年的个体发育史。抵抗衰老, 延长寿命, 提高生命质量是人类最大的梦想。因此,

探索衰老发生的机理既是一个古老的医学研究主题, 又是一个崭新的科研课题。在医学漫长的历史发展过程中, 对衰老机制的研究存在许多假说, 如自由基学说、染色体突变学说、线粒体损伤学说、衰老的端区学说、神经内分泌学说及免疫功能退化学说等等。美

国病理学家 Wolford 在二十世纪六十年代首先提出衰老的免疫学假说,认为免疫系统从根本上参与了正常哺乳动物的衰老过程,是衰老过程的主要调节系统之一,随着年龄的增长,免疫器官老化,免疫细胞及细胞因子降低,机体的免疫功能逐渐减弱,感染性疾病、癌症等发病率上升,死亡率逐渐增高。衰老使老年人及实验动物的免疫功能下降^[1],免疫器官如骨髓、脾脏和淋巴结等都表现出不同程度的改变,其中以胸腺功能的退化和结构的改变最为明显,是机体免疫衰老早期的主要表现。本试验通过皮下注射 D-半乳糖致小鼠亚急性衰老模型^[2],用灵芝多糖灌胃作为阳性对照组^[3~5]来检测芦荟多糖对衰老模型小鼠的影响,观察小鼠胸腺与脾脏的改变来探讨衰老的免疫表现及芦荟抗衰老的免疫机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验动物 3 月龄健康雌性 NIH 小鼠(湖南中医药大学动物实验室提供)44 只,体重 20 ± 4 g。

1.1.2 药品与试剂 D-半乳糖,粉剂,由上海试剂二厂生产,用生理盐水配制成 10 g/L 的注射剂。芦荟多糖(库拉索芦荟多糖),含量为 80% 的冷冻干燥制品,白色粉末状,福建东儒高科开发有限公司生产,用生理盐水配制成所需浓度 5 g/L。灵芝多糖,含量为 80% 的冷冻干燥制品,黑色粉末状,辽宁盘锦天然植物提炼厂生产,用生理盐水配制成所需浓度 5 g/L。DAB 显色试剂盒,上海生工,苏木素液,伊红 Y 染色液,盐酸乙醇分化液,上海鼎杰生物有限公司。

1.1.3 试验仪器 三用电热恒温水浴箱(SHH W21),JD200-3 电子天平(沈阳龙腾称量仪器公司),石蜡切片机(Q/TQBT 051997,上海仙申医教仪器厂),光学显微镜及照相系统(日本 Olympus)。

1.2 方法

1.2.1 动物实验 3 月龄健康雌性 NIH 小鼠 44 只,动物购回后在室温($25 \pm 1^\circ\text{C}$,相对湿度 60%)下自由取食喂养 3 天,称重、标记,按体重分层随机分

组,分 4 组:衰老模型组:颈部皮下注射 D-半乳糖 100 mg/kg^[1],与芦荟多糖等量温开水灌胃。芦荟多糖组:颈部皮下注射 D-半乳糖 100 mg/kg,芦荟多糖 100 mg/kg 灌胃^[5]。灵芝多糖组:颈部皮下注射 D-半乳糖 100 mg/kg,灵芝多糖 100 mg/kg 灌胃^[2~4]。正常对照组:颈背部皮下注射与 D-半乳糖等量的生理盐水,与芦荟多糖等量温开水灌胃。各组分笼,每天上午进行试验操作,其余均予同样饲料与水常规饲养,每三天换一次垫料,四天称一次体重,按体重调整药量。第 31 天取胸腺、脾脏:常规处理小鼠,无菌取胸腺与脾脏,用电子天平分别称取重量。胸腺用 10% 中性福尔马林固定 8~12 h,常规石蜡包埋、切片、待检。

1.2.2 胸腺组织结构的形态学观察 胸腺切片 HE 染色方法:石蜡切片粘于载玻片上,烘干;两次二甲苯脱蜡;无水乙醇 $\rightarrow$ 95%乙醇 $\rightarrow$ 80%乙醇 $\rightarrow$ 70%乙醇依次脱水,蒸馏水洗涤;苏木素染色 10 min,蒸馏水洗涤;盐酸乙醇分化 30 s,蒸馏水洗涤;置伊红液染色 2 min,自来水冲洗后,蒸馏水洗涤;95%乙醇 $\rightarrow$ 无水乙醇逐级脱水;冬青油透明,中性树胶封片;镜下观察、摄影。

2 结 果

2.1 芦荟多糖对小鼠胸腺组织结构的影响

胸腺切片 HE 染色光镜下观察:正常组(图 1A),胸腺组织结构可见皮髓质分界清楚,皮质部染色较深的淋巴细胞密集,核呈紫蓝色,胞浆为淡红色,髓质部染色较浅的网状细胞较多;抗衰老阳性对照组(灵芝多糖组、图 1B),淋巴细胞形态规则,细胞分布密集,与正常组比较差异无显著性;而衰老模型组(图 1C)胸腺组织萎缩,淋巴细胞和上皮网状细胞减少,脂肪组织显著增加,皮髓质分界不清,细胞间隔增宽;芦荟多糖组(图 1D),胸腺皮质增厚,皮髓质分界明显,淋巴细胞密集,细胞结构清晰,形态规则,与正常组(图 1A)、与抗衰老阳性对照组(灵芝多糖组)(图 1B)比较差异无显著性。

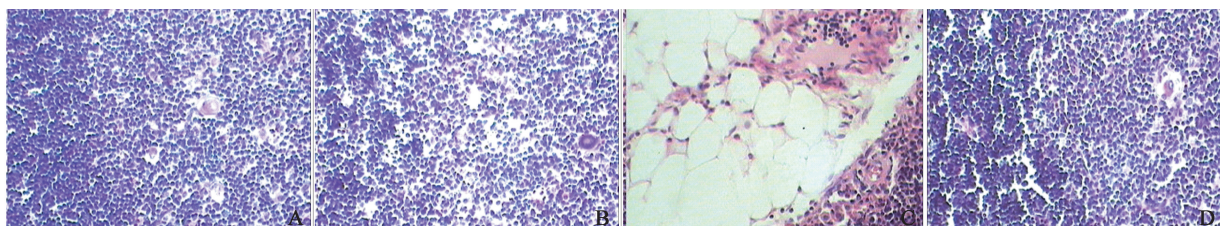


图 1 各组小鼠胸腺组织切片 HE 染色光镜图($\times 250$)

A: 正常对照组;B: 灵芝多糖组;C: 衰老模型组;D: 芦荟多糖组

3 讨 论

芦荟是百合科多年生常绿草本植物。传统的中医学认为,芦荟性寒味苦,归肝、胃、大肠经,有泻下通便、清肝泄热、消痞杀虫之功,用于治疗热结便秘、肝火头痛、目赤惊风、疳热虫积等症。现代科学研究证明,芦荟的应用远远超出传统的认识,具有抗衰老、抗感染、抗肿瘤;降压镇静;促进组织生长,改善细胞的新陈代谢;促进血液循环,排除体内毒素等作用。芦荟的抗衰老作用已由许多研究得到证实。国内医药专家早有研究表明,芦荟多糖可降低内毒素所诱导的高过氧化脂质(Lipid peroxide, LPO)水平^[6]。每天有规律地将芦荟作为补充食物可抑制自由基引起的氧化损害以及与增龄有关的肝脏胆固醇的升高。芦荟可调整机体的氧化状态,降低肝、肺、胃组织中丙二醛(malonyldialdehyde, MAD)的量,提高超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)活性^[7]。表明芦荟在清除自由基,降低胆固醇,延缓机体衰老方面有良好作用。最近国内外多项研究表明芦荟多糖可通过改善免疫器官状态、提高T细胞的数量,调节免疫应答,从而增强机体的免疫力^[8]。近年来有研究认为衰老是人体免疫力逐渐降低导致的结果。免疫系统参与了正常哺乳动物的衰老过程,是衰老的主要调节系统之一。目前,以T细胞为中心的免疫生物学研究相当活跃,尤其揭示了胸腺在T细胞分化与发育方面所起的中心作用,从而引发了对胸腺与衰老关系的研究的重视。有的学说认为,胸腺与寿命长短密切相关,是人体的“寿命时钟”。胸腺增龄性萎缩(退化)被认为是人在老化过程中早期重要的免疫学表现,可能是决定和制约免疫系统衰老的关键环节。有研究表明,随着机体的衰老,胸腺的皮质和髓质均减少,脂肪增多,胸腺上皮细胞有时变成条索状或管状,淋巴细胞减少^[9]。胸腺是T细胞分化、成熟的场所,有90%成熟TCR $\alpha\beta$ T细胞来源于胸腺。胸腺的退化与萎缩意味着T细胞发育场所逐渐减少乃至丧失,致使T细胞分化成熟的数量降低,外周淋巴器官中初始T细胞(naïve cell)减少^[10],这可能是衰老时免疫功能降低的重要原因。本实验结果显示衰老时胸腺发生萎缩,胸腺细胞减少,胸腺脂肪组织增多,明显纤维化,与国内外许多研究相印证。本研究结果显示,与衰老模型组比较,芦荟多糖组胸腺皮质增厚,皮髓质分界明显,淋巴细胞密集,细胞结构清晰,形态规则,说明芦荟多糖具有延缓胸腺的萎缩与退化,提高

机体免疫功能的作用。

芦荟多糖具有多种药理作用,尤其近几年来,在芦荟多糖提高机体免疫机能,延缓衰老的研究方面,国内外均有诸多报导。现在许多发达国家为寻找抗衰老药物不惜花费大量的人力和财力。中草药是祖国医学的宝贵遗产,具有巨大的开发潜力。本课题研究的对象是粗芦荟多糖,它其中的成分众多。如在本次实验早期,芦荟多糖组小鼠出现轻度腹泻,体重增长比正常对照组慢一些,综合分析,这可能与芦荟多糖中含有芦荟大黄素(Aloe-emodin)有关。一周后慢慢停止腹泻,体重逐渐恢复正常增长,可能与小鼠生理性适应有关。

参考文献:

- [1] Blackman MA, Woodland DL. The narrowing of the CD8 T cell repertoire in old age[J]. Curr Opin Immunol. 2011, 23(4):537-542.
- [2] 徐 智, 吴国明, 钱桂生. 大鼠衰老模型的建立[J]. 第三军医大学学报, 2003, 25(4):312-315.
- [3] 李荣芷, 何庆云. 灵芝抗衰老机理与活性成分灵芝多糖的化学与构效研究[J]. 北京医科大学学报, 1991, 23(6):473.
- [4] 雷林生, 林志彬. 灵芝多糖对老年小鼠脾细胞DNA多聚酶 α 活性及免疫功能的影响[J]. 药科学报, 1993, 28(8):577-578.
- [5] Zhang QH, Lin ZB. The antitumor activity of Ganoderma lucidum (Curt. Fr.) P. Karst. (Ling Zhi) (Aphyllophoromycetideae) Polysaccharides is related to tumor necrosis factor and interferon- γ [J]. Int J Med Mushroom, 1999, 1: 207-215.
- [6] 王 莉, 包 旭. 巴巴多斯芦荟多糖对内毒素化大鼠和正常高龄大鼠血清及肝组织过氧化脂质的影响[J]. 华西药杂志, 2002, 17(1):21-22.
- [7] Saada HN, Ussams ZS, Mahdy AM. Effectiveness of Aloe vera on the antioxidant status of different tissues in irradiate rats[J]. Pharmazine, 2003, 58(12):929-931.
- [8] Leung MY, Liu C, Koon JC, et al. Polysaccharide biological response modifiers [J]. Immunol Lett. 2006, 105(2): 101-114.
- [9] Bliss Tvp, Lmo T. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the unanesthetized rabbit following stimulation of the perforant path[J]. J physiol, 1993, 232:331.
- [10] Mu XY, Thoman ML. Aging affects the regeneration of the CD8 + T cell compartment in bone marrow [J]. Transplanted Mice, Mech Ageing Dev, 2000, 112: 113-124.

(此文编辑 蒋湘莲)