

3 种海参的主要活性成分和免疫调节作用的比较研究

赵芹,王静凤,薛勇,王奕,高森,雷敏,薛长湖

(中国海洋大学 食品科学与工程学院, 山东 青岛 266003)

摘要: 采用化学分析和免疫学评价方法, 分析比较了美国肉参 (*Isostichopus badionotus*)、墨西哥刺参 (*Isostichopus fuscus*) 和冰岛刺参 (*Cucumaria frondosa*) 的主要活性成分及其对小鼠免疫功能的调节作用。结果表明, 3 种海参体壁中以冰岛刺参的皂苷含量最高, 墨西哥刺参的黏多糖含量最高。冰岛刺参体壁总氨基酸、药效氨基酸和鲜味氨基酸总量均为最高。对于正常小鼠, 3 种海参均能提高小鼠胸腺 / 体质量比值 (美国肉参, $P < 0.05$)、增加足跖厚度 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$) 和促进巨噬细胞对血液中碳粒的吞噬指数 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。对于免疫机能低下模型小鼠, 3 种海参均能显著提高小鼠胸腺 / 体质量比值 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)、促进小鼠脾淋巴细胞的增殖和转化 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)、提高小鼠血清溶血素含量 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$) 和巨噬细胞对血液中碳粒的吞噬指数 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。提示 3 种海参均具有显著的免疫调节作用。对于正常小鼠, 主要以促进细胞免疫和非特异性免疫途径为主。对于免疫机能低下小鼠, 3 种海参均能提高机体的体液免疫、细胞免疫和非特异性免疫功能。其中, 冰岛刺参在促进体液免疫和非特异性免疫方面的作用更突出, 可能与其含有较高含量的皂苷和免疫活性氨基酸有关。[中国水产科学, 2008, 15(1): 154-159]

关键词: 海参; 活性成分; 免疫调节; 血清溶血素; 碳廓清; 淋巴细胞转化; 迟发性变态反应

中图分类号: R282.7

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2008)01-0154-06

海参为棘皮动物门 (Echinodermata) 海参纲 (Holothuroidea) 楯手目 (Aspidochirota) 动物, 是海洋中重要的食物和药物资源。海参中含有海参多糖、海参皂苷、胶原多肽和脂肪酸等多种生理活性物质^[1-2]。不同种类和来源的海参, 由于生活的海域、环境不同, 所摄食物各异, 其营养价值和功效存有差异。近年来, 市面上海参种类繁多, 且不同种、不同产地海参市场价格差异较大, 给消费者的选择造成了混乱。目前运用现代科学技术对海参品种进行鉴定与分类、对海参生物活性物质进行分离并从中寻找和开发新药, 加工功能性海参食品已经成为海参深度开发利用的重要方向。本研究测定了不同海域 3 种海参的主要活性成分, 并比较研究了其对小鼠免疫机能的调节作用, 旨在建立评价海参的品质与营养价值的统一标准, 正确引导海参消费提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

实验用海参为美国肉参 (*Isostichopus badio-*

notus)、墨西哥刺参 (*Isostichopus fuscus*) 和冰岛刺参 (*Cucumaria frondosa*), 均为干品, 由市场购得。用于成分分析的海参经洗净、剪碎, 体壁烘干, 备用。用于动物实验的海参, 分别制成匀浆, -40°C 贮存, 实验时以蒸馏水配成所需浓度悬浊液; BALB/c 小鼠和 C57BL/6 小鼠, 均为雄性, 体质量 (18 ± 1) g, SPF 级, 由北京市实验动物中心提供; 豚鼠, 雌雄不限, 体质量为 350~400 g, 由山东鲁抗制药有限公司提供。抽取其心血, 制备血清, 作为本实验的补体来源; 健康绵羊, 由中国人民解放军 401 医院提供。取其静脉血, 按常规方法^[3]制备绵羊红细胞 (Sheep red blood cell, SRBC) 悬液。

1.2 方法

1.2.1 主要活性成分的测定 粗蛋白含量, 采用凯氏定氮法测定。

海参皂苷, 采用香草醛冰乙酸比色法^[4]测定。

海参黏多糖, 以岩藻聚糖硫酸酯为标准品, 采用次甲基兰分光光度法^[5]测定。

氨基酸组成: 取洗净烘干备用的海参体壁, 准

收稿日期: 2007-01-29; 修订日期: 2007-04-24.

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30471319); 新世纪优秀人才支持计划项目 (NCET-04-0642); 中国海洋大学海水养殖教育部重点实验室开放课题。

作者简介: 赵芹 (1983-), 女, 硕士生, 研究方向为生物活性物质功能评价. E-mail: candyffff@163.com

通讯作者: 薛长湖. E-mail: xuech@ouc.edu.cn

确称重(精确到 0.000 1 g),经 6 mol/L HCl 水解,用日立 835-50 型氨基酸自动分析仪对其主要氨基酸组成进行分析。

1.2.2 动物分组及模型建立

(1) 对正常小鼠免疫功能的影响

BALB/c(或 C57BL/6)小鼠,随机分为正常对照组和 3 种海参的剂量组,每组 10 只。剂量组分别灌胃海参匀浆(100 mg/kg bw),对照组灌胃生理盐水,灌胃体积为 0.1 mL/10 g bw。1 次/d,连续 28 d。于末次给药后,小鼠禁食不禁水 12 h,进行各免疫指标测定。

(2) 对免疫机能低下模型小鼠免疫功能的影响

BALB/c(或 C57BL/6)小鼠,随机分为正常、模型、阳性对照组和 3 种海参的低、中、高剂量组,每组 10 只。剂量组小鼠分别灌胃不同浓度的 3 种海参匀浆(分别为 25 mg/kg、50 mg/kg 和 100 mg/kg),阳性对照组灌胃左旋咪唑(20 mg/kg),正常和模型对照组灌胃生理盐水,剂量同上。1 次/d,连续 28 d。正常对照组除外,其余各组均于首次给药第 21 天,皮下注射氢化可的松(15 mg/kg bw),1 次/d,连续 6 d,正常小鼠皮下注射等量生理盐水。于末次给药后,小鼠处理方式和免疫测定指标同上。

(3) 脾、胸腺/体质量比值测定

BALB/c 小鼠,于末次给药后 12 h,称重、处死,分别剥离脾脏、胸腺称重。

(4) 血清抗体水平测定

BALB/c 小鼠,于首次给药第 23 天,每只腹腔注射 0.2 mL 4%(体积分数)SRBC 致敏。于末次给药后 12 h,摘眼球收集血液。分离血清,以体积比 1:200 生理盐水稀释。按文献方法^[6]测定小鼠血清溶血素含量,计算半数溶血值(HC₅₀)。

(5) 足跖增厚测定

BALB/c 小鼠,于首次给药第 23 天,每只腹腔注射 0.2 mL 4% SRBC 致敏。末次给药后分别测量每鼠左后足跖厚度,于测量部位皮下再次注射 20 μ L 20%(体积分数)的 SRBC,24 h 后再测量左后足跖厚度,并计算攻击前后足跖的厚度差值。

(6) 脾淋巴细胞转化测定

C57BL/6 小鼠,于末次给药后 12 h,无菌取脾,制备脾淋巴细胞悬液,脾淋巴细胞转化的测定方法参见文献^[7],其中,脾淋巴细胞的接种密度为 5 $\times 10^6$ /mL,ConA 的终质量浓度为 2.5 μ g/mL。于酶

标仪(美国 Bio-Rad 产品)570 nm 处测定吸光值 A, T 淋巴细胞的增殖能力以加或不加 ConA 吸光度的差值表示。

(7) 碳廓清测定

BALB/c 小鼠,于末次给药后 12 h,分别称重,尾静脉注射印度墨汁(0.1 mL/10 g bw),测定方法参见文献^[6],其中,印度墨汁(北京笃信精细制剂厂产品,批号 40823)以生理盐水 1:4(体积比)稀释。

1.3 统计学处理

采用 SPSS11.0 软件进行单因素方差分析,同时进行 LSD 和 SNK 组间比较, $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果与分析

2.1 3 种海参的主要活性成分

实验结果显示,3 种海参的皂苷含量差异较大,美国肉参和墨西哥刺参的分别为 0.38% 和 0.36%,冰岛刺参的最高为 1.11%,约为美国肉参和墨西哥刺参的 3 倍。美国肉参、墨西哥刺参和冰岛刺参黏多糖含量差别较小,分别为 14.88%、19.04% 和 12.11%。

2.2 3 种海参体壁的主要氨基酸组成

由表 1 可见,3 种海参体壁中总氨基酸量、药效氨基酸和鲜味氨基酸总量存有差异:冰岛刺参这 3 项指标分别为 83.04 mg/100 mg、50.79 mg/100 mg 和 47.30 mg/100 mg,美国肉参和墨西哥刺参的相近,均低于冰岛刺参。必需氨基酸含量在 3 种海参体壁中差别较小。由于本测定方法未对半胱氨酸和色氨酸进行保护,所以未测得其含量。

2.3 对正常小鼠免疫功能的影响

2.3.1 对小鼠体质量、脾/体质量和胸腺/体质量比值的影响 3 种海参对正常小鼠体质量增长、脾/体质量比值均无显著性影响,但能提高正常小鼠胸腺/体质量比值。与正常对照组比较,美国肉参的促进作用具有显著性差异($P < 0.05$)(表 2)。

2.3.2 对小鼠血清抗体水平和迟发型变态反应的影响 由表 2 可见,3 种海参均能显著增加正常小鼠足跖厚度($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与正常对照组相比,美国肉参、墨西哥刺参和冰岛刺参组分别增加了 68.00%、38.00% 和 44.00%,说明 3 种海参均能显著促进 Th1 淋巴细胞介导的迟发型变态反应,促进细胞免疫功能。3 种海参对正常小鼠血清溶血素含量均无显著性影响。

表 1 3种海参体壁的主要氨基酸组成比较

Tab. 1 Amino acid composition of the body wall of three kinds of Sea cucumbers

mg/(100 mg)

氨基酸 Amino acid	美国肉参 <i>I. badionotus</i>	墨西哥刺参 <i>I. fuscus</i>	冰岛刺参 <i>C. frondosa</i>
天冬氨酸 (Asp) ^{bc}	6.21	5.99	7.69
苏氨酸 (Thr) ^a	2.89	3.00	3.50
丝氨酸 (Ser)	2.50	2.46	4.58
谷氨酸 (Glu) ^{bc}	8.18	8.56	11.74
甘氨酸 (Gly) ^{bc}	9.11	10.05	14.48
丙氨酸 (Ala) ^b	4.67	5.11	6.52
缬氨酸 (Val) ^a	4.58	4.04	5.37
蛋氨酸 (Met) ^{ac}	0.80	0.81	0.88
异亮氨酸 (Ile) ^a	1.79	1.58	2.27
亮氨酸 (Leu) ^{ac}	2.61	2.57	3.45
酪氨酸 (Tyr) ^c	1.49	1.48	2.07
苯丙氨酸 (Phe) ^{ac}	1.57	1.37	1.80
赖氨酸 (Lys) ^{ac}	1.70	1.58	1.81
组氨酸 (His)	0.56	0.53	0.67
精氨酸 (Arg) ^{bc}	4.54	4.77	6.87
脯氨酸 (Pro)	4.24	4.88	6.06
羟脯氨酸 (Hyp)	3.99	1.80	3.28
必需氨基酸总量 Total essential amino acids	15.94	14.95	19.08
鲜味氨基酸总量 Total delicious amino acids	32.71	34.48	47.30
药效氨基酸总量 Total drug-effective amino acids	36.21	37.18	50.79
总氨基酸量 Total amino acids	61.43	60.58	83.04

注: a: 必需氨基酸; b: 鲜味氨基酸; c: 药效氨基酸。

Note: a: essential amino acids; b: delicious amino acids; c: drug-effective amino acids.

表 2 3种海参对正常小鼠免疫功能的影响

Tab. 2 Effects of sea cucumbers on immune function in normal mice

n=10; $\bar{X} \pm SE$

组别 Group	体质量/g Body weight		脾 / 体质量 Spleen/b.w /(mg · g ⁻¹)	胸腺 / 体质量 Thymus/b.w /(mg · g ⁻¹)	半数溶血值 HC ₅₀	足跖增厚值 swelling of hind paws/mm	吞噬指数 Phagocytic index
	初始 Initial	终末 Final					
正常对照 Normal	16.78 ± 1.93	21.35 ± 0.74	6.21 ± 0.49	1.46 ± 0.21	133.76 ± 13.72	0.50 ± 0.16	2.92 ± 0.39
美国肉参 <i>I. badionotus</i>	16.31 ± 1.64	21.49 ± 0.71	5.88 ± 0.33	1.80 ± 0.23 ^a	136.03 ± 5.43	0.84 ± 0.08 ^b	3.61 ± 0.62 ^b
墨西哥刺参 <i>I. fuscus</i>	17.03 ± 1.50	21.44 ± 0.90	5.82 ± 0.30	1.68 ± 0.23	138.49 ± 5.80	0.69 ± 0.07 ^a	3.63 ± 0.39 ^b
冰岛刺参 <i>C. frondosa</i>	16.64 ± 1.39	20.86 ± 0.73	5.87 ± 0.56	1.53 ± 0.23	133.06 ± 6.34	0.72 ± 0.14 ^b	3.42 ± 0.47 ^a

注: a: $P < 0.05$; b: $P < 0.01$, 与正常对照组相比较。Note: a: $P < 0.05$; b: $P < 0.01$, compared with normal control group.

2.3.3 对小鼠巨噬细胞吞噬能力的影响 3种海参均能显著促进巨噬细胞对血液中碳粒的吞噬指数 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 显著促进正常小鼠的非特异性免疫功能 (表 2)。

2.4 对免疫机能低下模型免疫功能的影响

2.4.1 对小鼠体质量、脾 / 体质量和胸腺 / 体质量比值的影响 实验结果见表 3。3种海参和氢化可的松对小鼠体质量和脾 / 体质量比值均无显著性影

响 ($P>0.05$)。氢化可的松显著降低了模型对照组小鼠胸腺 / 体质量比值 ($P<0.01$), 经 28 d 连续海参灌胃, 模型小鼠胸腺 / 体质量比值显著提高 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与模型对照组比较, 美国肉参、墨西哥刺参和冰岛刺参组分别平均提高了 35.12%、36.90% 和 32.74%。

表 3 3 种海参对免疫低下模型小鼠免疫功能的影响
Tab.3 Effects of sea cucumbers on immune function in hypimmune mice n=10; $\bar{X}\pm SE$

组别 Group	体质量 /g Body weight		脾 / 体质量比 Spleen/b.w /(mg/g)	胸腺 / 体质量比 Thymus/b.w /(mg/g)	半数溶血值 HC ₅₀	T- 细胞转化 T-cell transformation	吞噬指数 Phagocytic index
	初始 Initial	终末 Final					
正常对照 Normal	20.67±1.87	22.59±1.77	4.97±0.73	1.41±0.31	93.62±17.48	0.21±0.06	4.85±0.56
模型对照 Model	19.80±1.03	20.92±1.15	3.65±0.30	0.56±0.19 ^b	75.05±16.75 ^a	0.08±0.01 ^b	2.55±0.58 ^b
阳性对照 Positive	19.43±1.01	21.37±0.94	3.80±0.29	0.63±0.16	97.10±14.24 ^d	0.22±0.05 ^d	3.80±0.47 ^d
美国肉参 <i>I. badionotus</i>	19.54±1.09	20.84±1.52	3.94±0.48	0.63±0.17	92.02±15.84 ^c	0.15±0.03	3.32±0.69 ^c
	19.73±1.15	21.22±1.24	3.90±0.33	0.77±0.24 ^c	95.88±15.79 ^c	0.16±0.01 ^c	3.56±0.35 ^d
	19.57±1.08	21.63±1.20	3.91±0.36	0.87±0.14 ^d	92.06±13.67 ^c	0.20±0.04 ^d	3.63±0.42 ^d
墨西哥刺参 <i>I. fuscus</i>	19.40±1.37	21.49±1.12	4.08±0.28	0.72±0.13 ^c	98.36±17.33 ^d	0.14±0.01	3.34±0.35 ^c
	19.48±1.11	20.97±1.35	4.03±0.32	0.83±0.19 ^d	101.73±16.03 ^d	0.24±0.04 ^d	3.68±0.41 ^d
	19.45±1.31	21.42±1.09	3.83±0.31	0.75±0.09 ^c	105.51±11.01 ^d	0.16±0.03 ^c	3.31±0.52 ^c
冰岛刺参 <i>C. frondosa</i>	19.26±0.88	20.55±1.06	3.84±0.27	0.73±0.17 ^c	102.50±9.88 ^d	0.15±0.03	3.88±0.41 ^d
	20.13±1.16	21.32±1.58	3.98±0.18	0.81±0.12 ^d	117.91±13.56 ^d	0.18±0.02 ^d	4.03±0.35 ^d
	19.76±1.26	21.73±1.76	3.78±0.22	0.69±0.09	112.82±13.75 ^d	0.22±0.05 ^d	4.07±0.60 ^d

注: a: $P<0.05$, b: $P<0.01$, 与正常对照组相比较; c: $P<0.05$, d: $P<0.01$, 与模型对照组相比较。
Note: a: $P<0.05$, b: $P<0.01$, compared with normal control group; c: $P<0.05$, d: $P<0.01$, compared with model control group.

2.4.2 对小鼠抗体水平的影响 由表 3 可见, 氢化可的松显著降低了模型对照组小鼠血清溶血素含量 ($P<0.05$)。经 28 d 连续海参灌胃, 美国肉参、墨西哥刺参和冰岛刺参均能显著提高模型小鼠血清溶血素含量 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。表明 3 种海参均能显著提高免疫低下小鼠的抗体水平, 促进体液免疫机能。其中, 美国肉参和墨西哥刺参的促进作用相当, 冰岛刺参的作用较二者更显著 (SNK, $P<0.05$)

2.4.3 对小鼠脾淋巴细胞转化的影响 中、高剂量的美国肉参、墨西哥刺参和冰岛刺参均能显著促进模型小鼠脾淋巴细胞的增殖和转化, 表明 3 种海参均能显著提高免疫低下小鼠的细胞免疫机能 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$) (表 3)。经 SNK 分析, 这种促进作用在 3 种海参之间无显著性差异 ($P>0.05$)。

2.4.4 对小鼠碳廓清能力的影响 由表 3 可见, 模型对照组小鼠的碳廓清能力较正常对照组降低了 47.42%, 经 28 d 连续海参灌胃, 3 种海参均能显著提高模型小鼠对血液中碳粒的吞噬指数 ($P<0.05$ 或

$P<0.01$), 促进免疫低下小鼠的非特异性免疫功能。其中, 冰岛刺参的作用最显著 (SNK, $P<0.05$)。

3 讨论

本研究对美国肉参、墨西哥刺参和冰岛刺参的主要活性成分和免疫调节作用进行了比较研究。实验结果表明, 冰岛刺参总皂苷含量最高, 墨西哥刺参的黏多糖含量最高。3 种海参体壁中均含有 17 种主要氨基酸。其中, 冰岛刺参的总氨基酸含量和药效氨基酸含量最高。美国肉参、墨西哥刺参和冰岛刺参均具有免疫调节作用, 对于正常小鼠, 主要以促进细胞免疫和非特异性免疫途径为主, 且 3 种海参的作用无显著性差异; 对于免疫低下小鼠, 3 种海参均能提高机体的体液免疫、细胞免疫和非特异性免疫功能。其中, 冰岛刺参在促进体液免疫和非特异性免疫方面的作用更突出。提示海参的免疫调节作用与其生物活性成分密切相关。

海参的体壁是海参的主要食 (药) 用部位, 其

主要成分为胶原蛋白、酸性黏多糖和海参皂苷。有关海参酸性黏多糖的药效学已进行了深入研究,证明海参酸性黏多糖是一种较强的免疫增强剂^[8-9],能显著提高机体单核-巨噬系统的吞噬功能和细胞免疫机能,且不同来源的海参酸性黏多糖生物学活性相似^[10]。人参皂苷具有显著的免疫调节作用^[11],王庭富等^[12]报道,人参皂苷 Rg3 能明显提高小鼠血清溶血素含量、脾淋巴细胞转化和巨噬细胞碳粒廓清速度,全面提高小鼠非特异性和特异性免疫功能。海参皂苷和人参皂苷同属于三萜皂苷类化合物,但在母核结构上存有差异^[13]。Aminin 等^[14-15]证明,从光参(*C.japonica*)中得到的海参皂苷能促进单核细胞的吞噬作用以及细胞因子 TNF- α 和 IL6 的释放,提高小鼠抗体细胞生成数,但对于 Th1 的细胞因子,例如, IL12 和 IFN- γ 的释放无显著影响,且对 Th1 细胞介导的迟发型变态反应也无明显影响,提示海参皂苷能促进机体的体液免疫和非特异性免疫机能。海参体壁蛋白主要为胶原蛋白^[16],体壁的药效氨基酸中 Gly、Glu 和 Arg 含量高,且具有免疫活性。Glu 是肌肉合成谷氨酰胺的前体物,而谷氨酰胺能通过参与淋巴细胞的代谢,影响多种激素以及细胞因子的分泌等对机体免疫应答发挥调节作用。例如,谷氨酰胺能提高 IL2 的产生率和 T 细胞受体表达率而调节 T 淋巴细胞增殖^[17],显著促进 B 细胞抗体的合成和分泌^[18],提高巨噬细胞分泌细胞因子的能力以及巨噬细胞、中性粒细胞和单核细胞的吞噬能力^[19]。另外, Glu 和 Gly 也是细胞合成谷胱甘肽的重要原料,谷胱甘肽在机体的抗氧化机制中起重要作用,尤其是还原型谷胱甘肽能促进 NK 细胞的活化与增殖,提高机体的防御能力^[20]。Arg 能促进 T 细胞的增殖、分化和成熟,提高 T 淋巴细胞介导的细胞免疫功能,增强单核细胞和巨噬细胞的吞噬活性^[21],提示海参体壁的活性氨基酸能促进机体的细胞免疫、体液免疫和非特异性免疫机能。

综上所述,美国肉参、墨西哥刺参和冰岛刺参中均含有全面的免疫活性物质,从而能全面促进免疫低下小鼠的细胞免疫、体液免疫和非特异性免疫机能。冰岛刺参在促进体液免疫和非特异性免疫方面的突出作用,可能与其含有较高含量的皂苷和免疫活性氨基酸有关。

参考文献:

- [1] 姜健,杨宝灵,邵阳. 海参资源及其生物活性物质的研究[J]. 生物技术通讯,2004,15(5): 537-540.
- [2] 沈鸣. 海参的化学成分和药理研究进展[J]. 中成药,2001,23(10): 758-761.
- [3] 陈奇主编. 中药药理研究方法学[M],北京: 人民卫生出版社,2003: 315-316.
- [4] 高丽萍,刘华,封云芳. 人参总皂苷的含量测定[J]. 浙江工程学院学报,2002,19(3): 25-28.
- [5] 刘红英,薛长湖,李兆杰,等. 海带岩藻聚糖硫酸酯测定方法的研究[J]. 青岛海洋大学学报,2002,32(2): 236-240.
- [6] 卫生部卫生法制与监督司. 保健食品检测与评价技术规范(2003年版)[S]. 北京: 人民卫生出版社 2003: 27-29.
- [7] 王静凤,王奕,赵林,等. 日本刺参的抗肿瘤及免疫调节作用研究[J]. 中国海洋大学学报,2007,1.
- [8] Bulgakov A A, Petroval Y, Eliseikina M B, et al. Properties of mannan-binding lectin from the coelomic fluid of the sea cucumber *Stichopus japonicus*[J]. Biol Morya,1999,25(2): 91-93.
- [9] Lory K L, Darah I, Ibrahim C. Structural and morphological alterations of *Candida albicans* cells after treatment with atratoxin B1 from *Holothuria atra*[J]. Nat Prod Sci,1998,4(3): 136-142.
- [10] 王曼玲,徐建民. 海参糖胺聚糖研究现状[J]. 中国处方药,2005,39: 67-69.
- [11] Lee YS, Chung I S, Lee I R, et al. Activation of multiple effector pathways of immune system by the antineoplastic immunostimulator acidic polysaccharide ginsan isolated from panax ginseng [J]. Anticancer Res,1997,17: 1A,323.
- [12] 王庭富,孟正木. 人参皂苷 Rg3 对免疫功能的影响[J]. 中国药科大学学报,1999,30(2): 133-135.
- [13] 闫冰,李玲,易杨华,等. 糙海参中三萜皂苷活性成分的研究[J]. 第二军医大学学报,2005,26(6): 626-631.
- [14] Aminin D L, Agafonova I G, Berdyshev E V, et al. Immunomodulatory properties of cucumariosides from the edible far-eastern holothurians *Cucumaria japonica* [J]. J Med Food,2001,4(3): 127-135.
- [15] Aminin D L, Pinegin B V, Pichugina L V, et al. Immunomodulatory properties of Cumaside[J]. Internat Immunopharmacol,2006,6: 1 070-1 082.
- [16] 崔凤霞,薛长湖,李兆杰,等. 仿刺参胶原蛋白的提取及理化性质[J]. 水产学报,2006,30(4): 549-553.
- [17] Yaqoob P, Calder P C. Glutamine requirement of proliferating T

- lymphocytes [J]. Nutrition, 1997, 13: 646-651.
- [18] Crawford J, Cohen H J. The essential role of glutamine in lymphocyte differentiation in vitro [J]. J Cell Physiol, 1995, 24: 275-282.
- [19] Furukawa S, Saito H, Inoue T, et al. Supplemental glutamine augments phagocytosis and reactive oxygen intermediate production by neutrophils and monocytes from postoperative patients in vivo [J]. Nutrition, 2000, 16: 323-329.
- [20] Field, Catherine J, Johnson, et al. Glutamine and arginine: immunonutrients for improved health [J]. American College of Sports Medicine, 2000, 32 (7): S377-S388.
- [21] 彭曦, 尤忠义, 汪仕良. 精氨酸对机体免疫功能的影响及临床应用研究进展 [J]. 中国临床营养杂志, 2005, 13 (6): 388-390.

Comparative study on the bioactive components and immune function of three species of sea cucumber

ZHAO Qin, WANG Jing-feng, XUE Yong, WANG Yi, GAO Sen, LEI Min, XUE Chang-hu

(Food Science and Engineering College, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: Sea cucumber has been proved as a source of substance rich in nutritional components and biological activity. Sea cucumber saponins and triterpene glycosides, commonly known as holothurins, have drawn attention because of their wide spectrum of biological effects such as antifungal, cytotoxic, hemolytic, cytostatic and immunomodulatory activities. In this study, the bioactive components of *Isostichopus badionotus*, *Isostichopus fuscus* and *Cucumaria frondosa* and their function on immune regulation were determined by chemical analysis and immunological methods. The contents of polysaccharide, triterpene glycosides and amino acids in body wall were measured and compared, and their immune regulation were investigated with the model mice in normal and in immunodepression induced by hydrocortisone. The results showed that *I. fuscus* had the highest content of polysaccharide in the body wall among these three species of sea cucumber. The contents of triterpene glycosides, total amino acids, drug-effective amino acids and delicious amino acids are higher in *C. frondosa* than in the others. In normal mice, all three kinds of sea cucumber could increase thymus/body weight value, heighten delayed hypersensitivity level ($P < 0.05$ or $P < 0.01$) and the ability of macrophages for carbon particle clearance ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). In hypimmune mice, they all could antagonize the decline of thymus/body weight value induced by hydrocortisone ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), increase hemolysin content (HC_{50}) ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), spleen lymphocyte transformation ($P < 0.05$ or $P < 0.01$) and the ability of macrophages for carbon particle clearance ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). *C. frondosa* had the most remarkable effects in HC_{50} and phagocytic index (SNK, $P < 0.05$). Triterpene glycoside from another kind of sea cucumber *C. japonica* was found to stimulate phagocytosis and production of IL6 and TNF- α , and increase the number of antibody producing cells. At the same time, the preparation did not affect the delayed-type hypersensitivity and cytokine IL12 and IFN- γ release. This suggests triterpene glycoside in sea cucumber could promote humoral immunity and non-specific immunity. Sea cucumbers have high content of Gly, Glu and Arg in body wall. Gly can stimulate production and release of IL-2 and B cell antibody, and enhance phagocytosis. Gly and Glu are essential materials for cell to synthesize glutathione which can stimulate activation and proliferation of NK cell. Arg can enhance cell immunity by promoting activation and proliferation of T-cell. It is suggested that these three species of sea cucumbers all have remarkable function in immune regulation. They can both promote immune function by cell immunity and non-specific immunity in normal mice and promote immune function by cell immunity, humoral immunity and non-specific immunity in immunodepression mice. The significant effect on immune regulation of *C. frondosa* correlated to its higher contents of triterpene glycoside and active amino acids in all probability. [Journal of Fishery Sciences of China, 2008, 15 (1): 154-159]

Key words: sea cucumber; bioactive component; immune function; hemolysin; carbon clearance; lymphocyte proliferation; delayed type hypersensitivity

Corresponding author: XUE Chang-hu. E-mail: xuech@ouc.edu.cn