

# 家蝇幼虫干粉对小鼠血液部分生理生化指标和免疫功能的影响<sup>\*</sup>

魏 洪<sup>1</sup>, 夏冰天<sup>2</sup>, 迟茜文<sup>1</sup>, 文 雪<sup>2</sup>

(1. 贵州医科大学 微生物学教研室 感染与免疫实验室, 贵州 贵阳 550004; 2. 贵州医科大学 临床医学院, 贵州 贵阳 550004)

**[摘 要]** **目的:** 探讨家蝇幼虫干粉对小鼠血液部分生理生化指标及免疫功能的影响。**方法:** 在小鼠基础饲料中添加5%、7.5%、9%家蝇幼虫干粉喂养30 d,同时设立基础饲料喂养的对照组,取血检测小鼠血红蛋白(Hb)、红细胞(RBC)、白细胞(WBC)和血小板(PLT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、尿素氮(BUN)和肌酐(Cr),通过免疫器官指数、碳粒廓清试验、脾细胞介导的SRBC分光光度计定量测定法(QHS),外周血T淋巴细胞ANAE<sup>+</sup>阳性率测定评价小鼠免疫功能。**结果:** 与对照组相比,5%家蝇幼虫干粉组ALT含量提高( $P < 0.05$ ),AST含量降低( $P < 0.05$ );7.5%家蝇幼虫干粉组脾指数高于对照组,5%、9%家蝇幼虫干粉组脾指数低于对照组( $P < 0.05$ ),5%、7.5%和9%家蝇幼虫干粉组胸腺指数均高于对照组( $P < 0.05$ );9%家蝇幼虫干粉组吞噬指数 $\alpha$ 、QHS反应值和ANAE<sup>+</sup>阳性率均显著高于对照组( $P < 0.01$ )。**结论:** 高剂量家蝇幼虫干粉具有增强免疫作用,低剂量可能影响血清生化指标。

**[关键词]** 家蝇; 幼虫; 小鼠; 血液学; 肝功能试验; 肾功能试验; 免疫功能

**[中图分类号]** R384.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2016)10-1193-04

**DOI:** 10.19367/j.cnki.1000-2707.2016.10.017

## Effect of Housefly Larva Powder on Blood Physiological and Biochemical Indexes and Immune Function of Mice

WEI Hong<sup>1</sup>, XIA Bingtian<sup>2</sup>, CHI Qianwen<sup>1</sup>, WEN Xue<sup>2</sup>

(1. Department of Microbiology, Laboratory for Infection and Immunology Experiments, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China; 2. School of Clinical Medicine, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the influence of housefly larva (*Musca domestica* L) powder on blood physiological and biochemical indexes and immune function of mice. **Methods:** Housefly larva powder with the concentration of 5%, 7.5% and 9% was added in basal feed to feed mice for 30 days while the control group received only basal feed. The blood of mice was collected to detect Hb, RBC, WBC, PLT, ALT, AST, creatinine(Cr) and blood urea nitrogen (BUN). The immune organ index, carbon clearance test, spleen cell mediated SRBC spectrophotometry measure (QHS), the positive rate of ANAE<sup>+</sup> in peripheral blood lymphocytes were determined to evaluate the immune function of mice. **Results:** Compared with the control group, the content of ALT increased in the group of 5% concentration of housefly larvae powder ( $P < 0.05$ ) while the content of AST decreased ( $P < 0.05$ ); In the group of 7.5% concentration of housefly larvae powder spleen index was higher than that of the control group, while in the group of 5% and 9% concentration of housefly larvae powder spleen index was lower than that of the control group ( $P < 0.05$ ). In the group of 5%, 7.5% and 9% concentra-

<sup>\*</sup>[基金项目] 地方高校国家级大学生创新创业训练计划项目(201510660010); 贵州省大学生创新创业训练计划项目(201410660019)

网络出版时间:2016-10-17 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20161017.1445.010.html>

tion of housefly larvae powder, thymus index was higher than that of the control group ( $P < 0.05$ ). In the group of 9% concentration of housefly larvae powder group, phagocytic index alpha, QHS response value and ANAE + positive rate were significantly higher than their counterparts of control group ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** High dose of housefly larva powder can promote immunity function of mice, while low dose of powder might affect blood biochemical indexes.

[ **Key words** ] housefly; larva; mice; haematology; liver function test; renal function test; immunity function

家蝇 (*Musca domestica* L) 是近年来国内外研究较多的一种卫生昆虫, 其幼虫是传统清热解毒药五谷虫的来源之一。现代科学研究表明, 家蝇幼虫富含蛋白质、脂肪酸、甲壳素、多种维生素及矿物质等, 其血淋巴中还含有抗菌肽<sup>[1-4]</sup> 及抗肿瘤肽<sup>[5-6]</sup> 等生物活性物质, 因此家蝇幼虫被广泛应用于农业、医药及食品领域。有关家蝇幼虫干粉的安全性、免疫调节功能尚未见系统报道。本研究采用麦麸、药渣混合饲养的家蝇幼虫制成干粉, 研究其对小鼠血液生理生化指标、免疫功能的影响, 为家蝇幼虫的实际应用提供实验数据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 动物** 6~8 周龄昆明种健康小鼠 60 只, 体重( $18 \pm 2$ ) g, 由贵州医科大学实验动物中心提供。实验动物合格证为 SCXK(黔)2002-0001。全部小鼠观察 1 周后, 投入试验。

**1.1.2 试剂** 天门冬氨酸氨基转移酶 (AST) 试剂盒、丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 试剂盒、尿素氮 (BUN) 试剂盒和肌酐 (Cr) 试剂盒均购自中生北控生物科技股份有限公司。

**1.1.3 家蝇幼虫干粉** 前期实验证实, 蓼科植物头花蓼药渣饲养获得的家蝇幼虫营养价值较高, 无重金属污染, 作为饲料具有可行性<sup>[7]</sup>。家蝇成虫以奶粉、白砂糖混合物饲养, 每日更换饮水, 产卵后, 收集接种于饲料 (麦麸: 头花蓼药渣 = 4: 6), 饲料含水量约 60%。饲养条件: 温度 28℃, 湿度 70%~90%, 光照为昼夜 16 h: 8 h。分离 3 日龄幼虫, 洗净, 开水瞬时烫死, 80℃ 烘干, 高速万能粉碎机制成干粉, 备用。

### 1.2 方法

**1.2.1 小鼠喂养试验** 将小鼠随机分成 4 组, 每组 15 只, 在小鼠基础饲料中添加 5%、7.5%、9%

家蝇幼虫干粉, 分别对应低、中、高 3 个剂量组, 另设未添加幼虫干粉的对照组; 按体重的 10% 投喂, 分笼饲养, 自由进食饮水, 连续观察 30 d。

**1.2.2 血细胞分析及血清生化学检查** 实验结束前晚, 各组动物禁食 12 h, 自由饮水, 次日眼眶取血。血细胞分析 1800i- 门全自动血球计数仪 5 分类法检测全血样品, 对血红蛋白 (Hb)、红细胞 (RBC)、白细胞 (WBC) 和血小板 (PLT) 进行测定; 剩余全血 3 500 r/min 离心 10 min 分离血清, Bayer2400 生化仪检测血清天门冬氨酸氨基转移酶 (AST)、丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、尿素氮 (BUN) 和肌酐 (Cr)。

**1.2.3 脾、胸腺指数** 处死小鼠, 剖取脾和胸腺, 称重, 计算其脏器指数。

**1.2.4 碳粒廓清试验** 每只小鼠按 0.1 mL/10 g 体重尾静脉注射印度墨汁 (1: 5 稀释), 分别在注射 2 min 和 10 min 后, 眼球后静脉丛取血 20  $\mu$ L 于 1% NaHCO<sub>3</sub> 2 mL 溶液的试管中, 吹打数次并摇匀, 15 min 后于 650 nm 波长处测定光密度 (OD) 值。2 次取血后, 处死小鼠, 取其肝脏、脾脏称重, 按下式计算吞噬指数  $\alpha$  ( $OD_1$ 、 $OD_2$  分别为 2 和 10 min OD 值,  $t_1 = 2$ ,  $t_2 = 10$ ):

$$\alpha = \sqrt[3]{K} \times \text{体重} / (\text{肝重} + \text{脾重})$$

**1.2.5 脾细胞介导的 SRBC 分光光度计定量测定法 (QHS) 反应值** 实验结束前 6 d, 小鼠腹腔注射 2% 绵羊红细胞 (SRBC) 1 mL 致敏; 实验结束后, 处死小鼠, 取脾制备脾细胞悬液 ( $5 \times 10^6$  个/mL); 取试管加脾细胞悬液、0.2% SRBC 及 1: 10 豚鼠补体各 1 mL, 37℃ 水浴 1 h, 2 000 r/min 离心 5 min, 取上清测 413 nm 的 OD 值, 即 QHS 反应值。

**1.2.6 外周血 T 淋巴细胞 ANAE<sup>+</sup> 阳性率测定** 取肝素抗凝血推片后晾干, 浸入孵育液, 37℃ 孵育 3 h, 取出后冲洗、吸干, 2% 甲基绿溶液染色 10 s、冲洗、吸干。光镜下计数 ANAE 阳性细胞, 凡胞浆内出现大小、数量不等的深红色颗粒为 ANAE 阳

性细胞,计数 200 个淋巴细胞,计算 ANAE 阳性细胞率。

1.3 统计学方法

所有数据用 SPSS 19.0 分析软件进行统计学处理,实验数据用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采用单因素方差分析,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠 Hb、RBC、WBC 及 PLT

各组小鼠各 Hb、RBC、WBC 及 PLT 结果均在正常值范围内波动,两组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 1。

表 1 对 3 组小鼠喂养家蝇幼虫干粉 30 d 时的 Hb、RBC、WBC 及 PLT

Tab. 1 The effect of housefly larva powder on mice's blood cells

组别	<i>n</i>	Hb(g/L)	RBC( $10^{12}/L$ )	WBC( $10^9/L$ )	PLT( $10^9/L$ )
高剂量组	15	151.00 ± 10.54	6.08 ± 1.36	3.56 ± 1.26	426.67 ± 142.42
中剂量组	15	154.47 ± 11.79	6.49 ± 1.44	3.19 ± 2.94	502.94 ± 190.30
低剂量组	15	146.30 ± 12.93	6.63 ± 1.06	4.10 ± 1.91	453.20 ± 131.54
对照组	15	142.80 ± 26.81	6.97 ± 1.90	4.23 ± 1.86	424.00 ± 138.79

2.2 小鼠血清 ALT、AST、BUN、Cr

低剂量组小鼠血清 ALT 低于对照组,AST 高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );中剂量

和高剂量组小鼠血清各项指标均在正常范围内波动,两两比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 2。

表 2 3 组小鼠喂养家蝇幼虫干粉 30 d 时血清 ALT、AST、BUN、Cr

Tab. 2 The effect of housefly larva powder on ALT, AST, BUN and Cr in mice

组别	<i>n</i>	ALT(U/L)	AST(U/L)	BUN(mmol/L)	Cr( $\mu\text{mol/L}$ )
高剂量组	15	31.86 ± 10.17	141.75 ± 29.76	6.74 ± 1.14	68.25 ± 9.75
中剂量组	15	31.00 ± 8.16	142.15 ± 11.92	6.60 ± 1.14	65.42 ± 7.44
低剂量组	15	30.68 ± 5.89 <sup>(1)</sup>	144.13 ± 31.48 <sup>(1)</sup>	6.64 ± 1.08	67.66 ± 5.17
对照组	15	33.75 ± 5.32	126.80 ± 10.96	6.72 ± 1.22	62.56 ± 7.49

<sup>(1)</sup>与对照组比较, $P < 0.05$

2.3 免疫功能变化

脾指数测定结果提示,中剂量组高于对照组,高低剂量组低于对照组,均有统计学意义( $P < 0.05$ );胸腺指数检测结果提示,5%、高中低剂量组均高于对照组( $P < 0.05$ );碳粒廓清试验结果提示,中低剂量组吞噬指数  $\alpha$  低于对照组( $P <$

0.05),高剂量组  $\alpha$  显著高于对照组( $P < 0.01$ );QHS 结果提示,高剂量组 QHS 反应值明显高于对照组( $P < 0.01$ ),差异有统计学意义;外周血 T 淋巴细胞 ANAE<sup>+</sup> 阳性率测定结果提示,高剂量组 ANAE<sup>+</sup> 阳性率明显高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),见表 3。

表 3 家蝇幼虫干粉对小鼠免疫功能的影响

Tab. 3 The detection of immune function

组别	<i>n</i>	免疫脏器指数		吞噬指数 $\alpha$	QHS	ANAE <sup>+</sup> 阳性率(%)
		脾指数	胸腺指数			
高剂量组	15	0.20 ± 0.71 <sup>(1)</sup>	0.23 ± 0.10 <sup>(1)</sup>	4.823 ± 0.146 <sup>(2)</sup>	1.341 ± 0.497 <sup>(2)</sup>	67.76 ± 11.55 <sup>(2)</sup>
中剂量组	15	0.23 ± 0.08 <sup>(1)</sup>	0.23 ± 0.09 <sup>(1)</sup>	2.263 ± 0.231 <sup>(1)</sup>	0.899 ± 0.053	52.80 ± 4.16
低剂量组	15	0.19 ± 0.09 <sup>(1)</sup>	0.27 ± 0.12 <sup>(1)</sup>	2.369 ± 0.668 <sup>(1)</sup>	0.501 ± 0.042 <sup>(1)</sup>	50.18 ± 1.09
对照组	15	0.21 ± 0.11	0.21 ± 0.09	3.248 ± 0.220	0.891 ± 0.414	48.26 ± 2.39

与对照组相比,<sup>(1)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>(2)</sup> $P < 0.01$

### 3 讨论

近年来研究报道,家蝇蛆粉对动物无急性毒性、致突变性<sup>[8]</sup>、胚胎毒性和致畸性<sup>[9]</sup>,其对于机体长期的安全性尚需进一步的研究。本实验发现各实验组小鼠血细胞分析指标与对照组相比差异无统计学意义( $P>0.05$ ),提示家蝇幼虫干粉对小鼠血液生理无明显影响;低剂量组 ALT 低于对照组( $P<0.05$ ),AST 高于对照组( $P<0.05$ ),ALT 主要分布在肝脏,其次是骨骼肌、肾脏、心肌等组织中,AST 主要分布在心肌,其次在肝脏、骨骼肌和肾脏组织中,ALT 评价肝功能更具有参考价值,低剂量组 ALT 偏低,一般意义较小,可能与机体营养、免疫功能等有关,AST 增高可能与其他脏器组织的损伤、细胞膜通透性的改变等有关,需要进一步研究。此外,实验组饲料中添加幼虫干粉,与传统饲料蛋白适口性不同,属于动物喂养试验的不确定因素,统计学的差异也可能源于饲料的组成、适口性不同。

昆虫制品能增强动物免疫功能<sup>[9-12]</sup>。本文发现中剂量组脾指数高于对照组( $P<0.05$ ),低、高剂量组脾指数低于对照组( $P<0.05$ );各实验组胸腺指数均高于对照组( $P<0.05$ );低、中剂量组  $\alpha$  低于对照组( $P<0.05$ ),高剂量组  $\alpha$  显著高于对照组( $P<0.01$ ),结果提示高剂量幼虫干粉可上调机体非特异性免疫(尤其是单核吞噬系统)水平,而覃容贵等<sup>[12]</sup>报道,酒糟饲养家蝇的蛆蛋白粉对正常小鼠吞噬功能无影响,考虑其结果差异可能与家蝇来源、制备工艺、给药途径等因素有关。另一方面,QHS 反应值反应脾细胞中抗体形成细胞数量及其所分泌的抗体量,高剂量组 QHS 值显著大于对照组( $P<0.01$ ),低剂量组 QHS 值小于对照组( $P<0.05$ ),结果显示,高剂量幼虫干粉可增强体液免疫;ANAE 法检测血液 T 淋巴细胞及其亚群,广泛应用于细胞免疫功能观察,高剂量组 ANAE<sup>+</sup> 阳性率明显高于对照组( $P<0.01$ ),结果提示,高剂量幼虫干粉可显著增强机体细胞免疫功能。实验表明,家蝇幼虫干粉对小鼠特异性免疫和非特异性免疫功能均有调节作用,其对小鼠血液生理生化、免疫功能的影响可能存在交叉,具体机制

有待进一步的深入研究。系统、全面地评价家蝇幼虫制品的安全性及免疫调节作用,将为其广泛、深入利用提供理论支持。

### 4 参考文献

- [1] Lu X, Shen J, Jin X, et al. Bactericidal activity of *Musca domestica* cecropin (Mdc) on multidrug-resistant clinical isolate of *Escherichia coli* [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2012 (4):939-945.
- [2] 国果,吴建伟,付萍,等. 家蝇幼虫分泌型抗菌肽对细菌感染小鼠的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012 (2):165-168.
- [3] 黄健,莫非. 家蝇幼虫抗菌肽对幽门螺杆菌抗菌作用分析[J]. *中国人兽共患病学报*, 2013 (10):981-985.
- [4] Gui S, Li R, Feng Y, et al. Transmission electron microscopic morphological study and flow cytometric viability assessment of *Acinetobacter baumannii* susceptible to *Musca domestica* cecropin [J]. *Scientific World Journal*, 2014(1):657536.
- [5] Jin XB, Wang YJ, Liang LL, et al. Cecropin suppresses human hepatocellular carcinoma BEL-7402 cell growth and survival *in vivo* without side-toxicity [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014(13):5433-5436.
- [6] 魏洪,吴建伟,国果,等. 家蝇幼虫血淋巴蛋白 MAC-1 诱导人宫颈癌细胞凋亡的实验 [J]. *肿瘤防治研究*, 2012(3):260-263.
- [7] 夏冰天,魏洪,梁文惠,等. 药渣饲养家蝇幼虫的营养成分研究[J]. *贵阳医学院报*, 2016(1):60-62.
- [8] 黎运西,朱家勇,金小宝,等. 家蝇蛆粉对小鼠急性毒性及致突变性作用[J]. *中国公共卫生*, 2010 (11):1416-1417.
- [9] 黎运西,朱家勇,金小宝,等. 家蝇蛆粉的临床前致畸性研究[J]. *中国热带医学*, 2011(10):1259-1260.
- [10] 唐庆峰,戴银,刘雪兰. 地鳖虫对小鼠免疫功能的调节作用[J]. *应用昆虫学报*, 2011(1):156-159.
- [11] 李奕冉,姜玉新,李朝品,等. 黄粉虫蛋白对小鼠免疫影响的试验研究[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2010 (15):87-89.
- [12] 覃容贵,傅平,吴建伟,等. 蝇蛆蛋白粉对小鼠免疫功能的影响[J]. *中药材*, 2007(6):635-637.

(2016-08-20 收稿,2016-09-30 修回)

中文编辑:周 凌;英文编辑:刘 华