

芒柄花黄素对实验小鼠免疫功能的影响

杨雅静, 裴银辉*, 李琳 (华北理工大学基础医学院, 河北唐山 063210)

摘要 [目的] 研究芒柄花黄素对实验小鼠免疫功能的影响。[方法] 取 SPF 级雄性昆明小鼠 40 只, 随机分为低、中、高剂量芒柄花黄素试验组和对照组, 连续注射芒柄花黄素 4 周后检测各组小鼠巨噬细胞的吞噬功能、小鼠脾细胞凋亡率及转化率、小鼠血清中溶菌酶、IgG、IFN- γ 及 IL-4 的含量。[结果] 中、高剂量芒柄花黄素组小鼠巨噬细胞吞噬率及血清溶菌酶含量高于对照组及低剂量组, 差异显著 ($P < 0.05$)。低、中、高剂量芒柄花黄素组小鼠脾细胞凋亡率低于对照组, 差异显著 ($P < 0.05$)。中、高剂量组小鼠脾细胞转化率高于低剂量组及对照组, 差异显著 ($P < 0.05$)。中、高剂量芒柄花黄素组小鼠血清 IgG 含量高于对照组及低剂量组, 差异显著 ($P < 0.05$)。低、中、高剂量芒柄花黄素组小鼠血清中 IL-4 含量高于对照组, 差异显著 ($P < 0.05$), 而小鼠血清中 IFN- γ 含量在各组间差异不显著 ($P > 0.05$)。[结论] 芒柄花黄素可以提高小鼠的固有免疫功能, 抑制脾细胞凋亡并提高其转化率。

关键词 芒柄花黄素; 脾细胞; 固有免疫

中图分类号 S852.4 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2019)10-0086-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2019.10.025



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Effects of Formononetin on the Immune Functions of Experimental Mice

YANG Ya-jing, PEI Yin-hui, LI Lin (School of Basic Medical Sciences, North China University of Science and Technology, Tangshan, Hebei 063210)

Abstract [Objective] To study the effects of formononetin on the immune functions of mice. [Method] 40 male Kunming mice (SPF class) were divided into 4 groups, including low dose group, middle dose group, high dose group and control group. The phagocytic function of macrophages, the apoptosis rate and conversion rate of spleen cells, the contents of lysozyme, IgG, IFN- γ , IL-4 in the serum of mice were detected after injecting formononetin for four weeks continuously. [Result] The phagocytosis rate of macrophage and serum lysozyme content of mice in the medium-dose group and high-dose group of formononetin were higher than those in the control group and low-dose group, and the difference was significant ($P < 0.05$). The apoptosis rate of mice spleen cells in the low-dose group, medium-dose group and high-dose group of formononetin was lower than that in the control group, and the difference was significant ($P < 0.05$). The transformation rate of spleen cells in the medium-dose group and high-dose group was higher than that in the low-dose group and the control group, and the difference was significant ($P < 0.05$). The serum IgG content of mice in the medium-dose group and high-dose group of formononetin was higher than that in the control group and the low dose group, and the difference was significant ($P < 0.05$). The content of IL-4 in the serum of mice in low-dose group, medium-dose group and high-dose group of formononetin were higher than those of the control group, and the differences were significant ($P < 0.05$), while the content of IFN- γ in the serum of mice were not significant among different groups ($P > 0.05$). [Conclusion] Formononetin can improve the innate immune function, inhibit the apoptosis of spleen cells and improve their transformation rate in mice.

Key words Formononetin; Spleen cell; Innate immune

芒柄花黄素, 又名芒柄花素、刺芒柄花素, 是红三叶草、鸡血藤、黄芪等多种中草药的活性成分之一^[1], 芒柄花黄素因具有异黄酮结构而成为一种典型的植物雌激素^[2]。目前研究表明芒柄花黄素在治疗膀胱癌^[3]、胃癌^[4]等恶性肿瘤方面可以诱导肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤细胞增殖。此外, 芒柄花黄素可以通过减少自由基生成, 增强抗氧化酶活性、调节能量代谢发挥抗疲劳作用^[5]。笔者探讨了芒柄花黄素对实验小鼠免疫功能的影响, 以期为芒柄花黄素的临床应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试剂。芒柄花黄素购自成都瑞芬思生物技术有限公司(纯度>98%), TUNEL 一步法凋亡检测试剂盒、羊抗鼠 IgG 抗体、IL-4 和 IFN- γ 免疫检测试剂盒均购自碧云天生物技术有限公司。

1.1.2 实验动物。雄性昆明小鼠 40 只, SPF 级, 6~8 周龄, 体重(20.0 \pm 2.0)g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司,

动物许可证编号为 SCXK(京)2017-0001, 动物房许可证号为 SYXK(冀)2015-0038, 相对湿度为(60 \pm 5)%。试验期间自由饮水, 采食标准饲料。

1.1.3 动物分组。实验小鼠适应性喂养 7 d 后, 将小鼠按照体重编号, 采用随机数字法分为 4 组, 分别为低、中、高剂量芒柄花黄素试验组和对照组, 每组 10 只。低、中、高剂量芒柄花黄素试验组分别按照 10、20 和 30 mg/(kg·d) 的剂量肌肉注射芒柄花黄素溶液 0.5 mL, 对照组小鼠肌肉注射等体积生理盐水, 连续注射 4 周。乙醚麻醉后心脏取血, 1 500 r/min 离心 10 min 后分离血清, 备用。

1.2 方法

1.2.1 巨噬细胞吞噬功能的测定。肌肉注射 4 周后, 于每只小鼠腹腔注射 10% 鸡红细胞悬液 1 mL, 30 min 后腹腔注射生理盐水 1 mL, 轻揉腹部, 抽取腹腔液滴于洁净载玻片上。自然干燥后, 10% 甲醇溶液固定 10 min, 瑞氏染色后镜检。每张玻片计数 100 个巨噬细胞, 按以下公式计算巨噬细胞吞噬率: 巨噬细胞吞噬率 = (吞噬鸡红细胞的巨噬细胞个数/100) \times 100%。

1.2.2 血清溶菌酶含量的测定。将溶壁微球菌接种于琼脂培养基上, 37 $^{\circ}$ C 下培养 24 h, 收集菌苔, 备用。将 100 mL 1% 磷酸盐缓冲液琼脂加热融化, 待冷至 55 $^{\circ}$ C 时加入溶壁微球

作者简介 杨雅静(1978—), 女, 河北丰润人, 副主任检验师, 在读硕士, 从事医学免疫学研究。* 通信作者, 教授, 硕士, 从事肿瘤免疫学研究。

收稿日期 2018-11-19

菌液 1 mL (每毫升琼脂内含标准溶壁微球菌 1 mg) 混和均匀, 注入无菌平皿, 琼脂凝固后, 用打孔器在琼脂板打孔, 孔径 5 mm。取 50 μ L 血清加入琼脂孔内, 以标准溶菌酶作为阳性对照, 生理盐水作为阴性对照。将平皿置于 35 $^{\circ}$ C 培养 12 h, 测定琼脂孔周围溶菌环直径, 计算样品血清中溶菌酶活性^[6]。

1.2.3 小鼠脾细胞凋亡的测定。乙醚麻醉小鼠后, 剪开腹腔, 分离脾脏, 去除其周围脂肪组织及筋膜, 放入盛有 PBS 的无菌平皿中, 轻研脾脏, 细胞筛过滤, 使脾细胞分散成细胞悬液, 将脾细胞悬液 1 000 r/min 离心力离心 5 min, 收集沉淀细胞, 加入 1 mL 红细胞裂解液, 充分混匀, 室温放置 1 min, 加入 PBS 缓冲液, 终止红细胞裂解。加入 PBS 缓冲液, 1 000 r/min 离心 5 min, 以 PBS 重悬沉淀细胞涂片, 冰浴孵育 2 min 后用 PBS 洗涤, 4% 多聚甲醛固定 30 min, PBS 洗涤。加入 50 μ L TUNEL 检测液, 37 $^{\circ}$ C 避光孵育 60 min。PBS 洗涤, 封片后荧光显微镜观察并计数。

1.2.4 脾细胞转化率检测。以含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基重悬沉淀脾细胞, 转移至无菌细胞培养瓶, 补充培养液至 10 mL, 加入 1 000 μ g/mL PHA 0.1 mL, 置于 37 $^{\circ}$ C 5% CO₂ 孵箱培养 72 h 后涂片, 自然干燥后甲醇固定 3 min, 吉姆萨染色后镜检。观察 100 个淋巴细胞, 计算淋巴母细胞所占百分率, 即淋巴细胞转化率^[7]。

1.2.5 血清 IgG 含量的测定。将 2 g 琼脂粉加入 100 mL 蒸馏水中, 加热融化, 置于 56 $^{\circ}$ C 水浴箱中保温, 加入羊抗鼠 IgG 抗体 (稀释比例为 1:60), 轻轻混匀后, 取 4 mL 琼脂均匀浇注于洁净载玻片上, 制成厚度约 1.5 mm 的羊抗鼠 IgG 抗体琼脂板, 待琼脂凝胶完全凝固后, 使用打孔器在琼脂板上打孔, 直径 3 mm, 孔距 20 mm。分别于琼脂孔中加入 20 μ L 1:4 稀释的待测血清及标准品, 置于垫有潮湿纱布的托盘内, 加盖, 37 $^{\circ}$ C 温育 18 h, 测量沉淀环直径, 计算沉淀环面积, 根据标准品的沉淀环面积, 绘制标准曲线, 计算样品中 IgG 含量^[8]。

1.2.6 血清 IL-4 和 IFN- γ 含量的测定。取待测血清标本和标准品 50 μ L 分别加入 96 孔板内, 各孔分别加入生物素标记的抗小鼠 IL-4 或 IFN- γ 抗体 50 μ L, 37 $^{\circ}$ C 孵育 60 min, 洗板 5 次, 甩去孔内残留液体; 各孔分别加入 50 μ L HRP 标记亲和素, 37 $^{\circ}$ C 孵育 30 min, 洗板 5 次, 甩去孔内残留液体; 加底物工作液 50 μ L, 37 $^{\circ}$ C 避光孵育 15 min, 加终止液 50 μ L。连续波长酶标仪测定 450 nm 波长的吸光度值, 绘制标准曲线, 测定各组小鼠血清中 IL-4 和 IFN- γ 的含量。

1.3 数据统计与分析 使用 SPSS 22.0 统计软件对试验数据进行统计与分析, 各组间均数比较采用方差分析, 组间两两比较采用 SNK-q 检验, 检验水准取双侧 $\alpha=0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 芒柄花黄素对小鼠巨噬细胞吞噬功能和血清溶菌酶含量的影响 由表 1 可知, 中、高剂量芒柄花黄素组小鼠巨噬细胞吞噬率及血清溶菌酶含量高于对照组及低剂量组, 差异显著 ($P<0.05$); 低剂量芒柄花黄素组与对照组相比差异不显著 ($P>0.05$), 中剂量组与高剂量组相比差异不显著 ($P>$

0.05)。这说明中剂量及高剂量芒柄花黄素可以提高小鼠巨噬细胞吞噬率及血清溶菌酶含量。

表 1 芒柄花黄素对小鼠巨噬细胞吞噬功能和血清中溶菌酶含量的影响
Table 1 Effects of formononetin on the phagocytic function of macrophages and serum lysozyme content in mice

组别 Group	巨噬细胞吞噬率 Phagocytic rate of macrophages//%	溶菌酶含量 Lysozyme content IU/mL
对照组 Control group	35.95 \pm 2.77	17.91 \pm 0.26
低剂量组 Low-dose group	38.81 \pm 1.53	16.38 \pm 0.15
中剂量组 Medium-dose group	41.80 \pm 1.48*	23.62 \pm 0.68*
高剂量组 High-dose group	42.53 \pm 2.09*	25.16 \pm 0.52*

注: * 表示与对照组相比差异显著 ($P<0.05$)

Note: * indicated significant differences compared with control group ($P<0.05$)

2.2 芒柄花黄素对小鼠脾细胞凋亡及转化率的影响 TUNEL 法检测小鼠脾细胞凋亡结果表明, 低剂量、中剂量与高剂量芒柄花黄素组小鼠脾细胞凋亡率均低于对照组 ($P>0.05$), 中剂量组及高剂量组小鼠脾细胞凋亡率均低于低剂量组 ($P>0.05$), 结果见图 1 及表 2。淋巴细胞转化试验结果表明, 中、高剂量组小鼠脾细胞转化率高于低剂量组及对照组, 差异显著 ($P<0.05$); 芒柄花黄素低剂量组与对照组、中剂量组与高剂量组淋巴细胞转化率差异均不显著 ($P>0.05$) (表 2)。这表明芒柄花黄素可以抑制小鼠脾细胞凋亡并提高其转化率。

表 2 芒柄花黄素对小鼠脾细胞凋亡率及转化率的影响

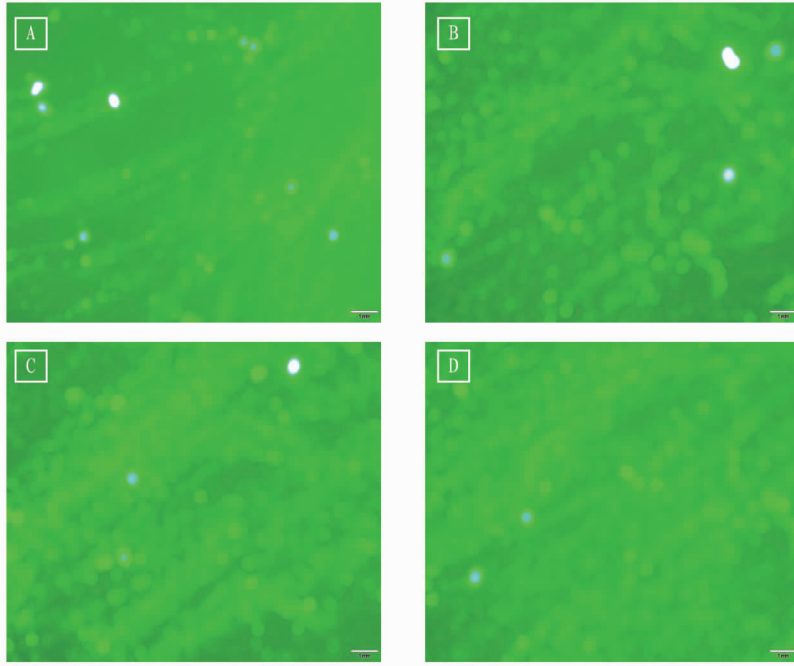
Table 2 Effects of formononetin on apoptosis rate and transformation rate of mouse spleen cells

组别 Group	脾细胞凋亡率 Apoptosis rate of spleen cells	脾细胞转化率 Transformation rate of spleen cells
对照组 Control group	12.38 \pm 6.19	33.91 \pm 3.27
低剂量组 Low-dose group	7.16 \pm 2.38*	36.02 \pm 2.20
中剂量组 Medium-dose group	4.29 \pm 2.62*#	40.41 \pm 2.47*
高剂量组 High-dose group	4.38 \pm 2.52*#	43.27 \pm 3.71*

注: * 表示与对照组相比差异显著 ($P<0.05$); # 表示与低剂量组相比差异显著 ($P<0.05$)

Note: * indicated significant differences compared with control group ($P<0.05$); # indicated significant differences compared with low-dose group ($P<0.05$)

2.3 芒柄花黄素对小鼠血清中 IgG、IL-4 和 IFN- γ 含量的影响 单向琼脂扩散试验结果表明, 中、高剂量芒柄花黄素组小鼠血清 IgG 含量高于对照组及低剂量组, 差异显著 ($P<0.05$); 低剂量芒柄花黄素组与对照组、中剂量组与高剂量组血清 IgG 含量差异均不显著 ($P>0.05$)。ELISA 结果显示, 低、中、高剂量芒柄花黄素组小鼠血清中 IL-4 含量均高于对照组, 差异显著 ($P<0.05$); 中、高剂量芒柄花黄素组小鼠血清中 IL-4 含量均高于低剂量组, 差异显著 ($P<0.05$); 中剂量芒柄花黄素组小鼠血清中 IL-4 含量与高剂量组差异不显著 ($P>0.05$)。小鼠血清中 IFN- γ 含量在各组间差异均不显著 ($P>0.05$), 结果见表 3。研究结果提示芒柄花黄素可以提高小鼠体液免疫功能, 但对细胞免疫功能无影响。



注:A.对照组;B.低剂量组;C.中剂量组;D.高剂量组

Note:A.Control group;B.Low-dose group;C.Medium-dose group;D. High-dose group

图1 实验小鼠脾细胞 TUNEL 染色结果

Fig.1 TUNEL staining results of spleen cells in experimental mice

表3 芒柄花黄素对小鼠血清中 IgG、IL-4 和 IFN- γ 含量的影响

Table 3 Effects of formononetin on the contents of IgG, IL-4 and IFN- γ in the serum of mice

组别 Group	IgG 含量 IgG content mg/mL	IL-4 含量 IL-4 content pg/mL	IFN- γ 含量 IFN- γ content pg/mL
对照组 Control group	5.21 \pm 0.39	80.95 \pm 8.33	103.48 \pm 9.22
低剂量组 Low-dose group	5.93 \pm 0.57	91.96 \pm 9.99*	98.66 \pm 13.54
中剂量组 Medium-dose group	7.17 \pm 0.68*	107.74 \pm 7.47*#	105.48 \pm 17.26
高剂量组 High-dose group	7.26 \pm 0.53*	112.59 \pm 8.41*#	96.36 \pm 15.55

注: * 表示与对照组相比差异显著($P < 0.05$); # 表示与低剂量组相比差异显著($P < 0.05$)

Note: * indicated significant differences compared with control group($P < 0.05$); # indicated significant differences compared with low-dose group($P < 0.05$)

3 讨论

巨噬细胞处于机体固有免疫的第一道防线,在机体非特异性免疫应答中发挥重要作用^[9]。巨噬细胞主要通过吞噬、抗原提呈和分泌多种细胞因子发挥免疫应答及调节作用。在感染初期,巨噬细胞可通过直接吞噬并杀灭入侵病原体,参与抗感染免疫^[10]。溶菌酶是一种具有溶解 G-细菌能力的水解酶^[11],是巨噬细胞胞外杀菌作用的主要成分。溶菌酶通过水解细菌细胞壁中的肽聚糖,裂解细菌,从而清除入侵体内的病原体。因此,评价巨噬细胞吞噬功能与溶菌酶活性可反映机体固有免疫功能状态^[12]。该研究结果表明,低剂量芒柄花黄素对小鼠巨噬细胞吞噬功能及溶菌酶活性无明显影响,而中、高剂量芒柄花黄素能够提高巨噬细胞吞噬功能及溶菌酶含量,提示中等剂量以上芒柄花黄素可以增强实验小鼠的固有免疫应答功能。

脾脏中淋巴细胞包括 T 细胞与 B 细胞,而 T 细胞与 B 细胞是人体主要的免疫细胞^[13]。脾细胞数量及功能的相对稳定对于维持机体适应性免疫应答发挥重要作用。在一些诱发因素(如射线、药物等)的作用下,可引起细胞凋亡率发生改变。减少病理性凋亡的发生有利于机体免疫系统的抗感染及抗肿瘤能力。此外,淋巴细胞在受到非特异性有丝分裂原(如 PHA、ConA)刺激后,表现为细胞体积增大,代谢旺盛、蛋白质和核酸合成增加,转化为淋巴母细胞。淋巴细胞转化增殖能力越高,机体内效应淋巴细胞数目越多,因此淋巴细胞转化率可反映淋巴细胞的免疫功能状态^[14]。TUNEL 法检测小鼠脾细胞凋亡结果表明,芒柄花黄素作用小鼠后小鼠脾细胞凋亡率降低,并且这种作用呈现剂量依赖性的特点。淋巴细胞转化试验结果表明,中、高剂量芒柄花黄素作用小鼠后小鼠脾细胞转化率增加。研究结果提示芒柄花黄素可以降低小鼠脾细胞凋亡并提高其转化率。

抗体是参与机体体液免疫的主要分子,其中 IgG 类抗体是血清中抗体的主要成分,占血清免疫球蛋白总量的 75%~80%,具有抗病毒、抗菌、调理吞噬、抗毒素等作用,检测 IgG 类抗体含量可反映机体的体液免疫功能状态^[15]。IL-4 是一种重要的 Th2 型细胞因子,能够促进 B 细胞增殖、活化、分化并合成免疫球蛋白^[16],在机体体液免疫反应中发挥重要作用正向调节作用^[17]。IFN- γ 主要是由 Th1 细胞分泌的细胞因子^[18],能够干扰病毒复制,在机体细胞免疫应答中发挥重要调节作用^[19]。该研究结果表明芒柄花黄素可以提高小鼠血清中 IgG 类抗体和 IL-4 含量,而芒柄花黄素对小鼠血清

(下转第 100 页)

DNA 中的 RNA 杂质。简化了试验操作过程,缩短试验时间,减少了试验过程中 DNA 降解的可能性也在一定程度上提高了试验效率。SRAP 作为一种针对功能序列扩增的分子标记技术,具有简便、稳定、中等产率、易于获得选择条带序列的特点。每个采样种群中均选择一个基因组 DNA 质量较高的样品 DNA,并利用 150 个引物进行筛选,最终确定:2×EsTaq-MasterMix(含染料) 12.5 μL,40 ng/μLDNA 模板 1 μL,10 pmol/μL引物各 0.5 μL,ddH₂O 10.5 μL 的反应体系,筛选出 11 对多态性较好的引物组合,其中多态性最好的为 ME4~EM11,多态性高达 93.33%,多态性最差的为 ME6~EM12,多态性仅为 43.75%。

该研究表明,新一代改良的 CTAB 提取方法在针对多糖多酚多杂质的植物基因组 DNA 的提取上具有良好可行性;SRAP 分子标记引物筛选试验研究结果表明,SRAP 分子标记在柃木属植物遗传多样性分析研究中效果较好,为山东柃木甚至柃木属的分子学研究奠定良好基础。

参考文献

[1] 杨海平,张锋,姚树建,等.山东柃木光合特性的研究[J].山东林业科技,2017,47(4):44-46,54.

[2] 屈素青.珍稀树种山东柃木和野生玫瑰种质资源调查与评价[D].泰安:山东农业大学,2013.

[3] 林榕燕,钟淮钦,黄敏玲,等.文心兰 EST-SSR 标记的开发及其在遗传多样性分析中的应用[J].分子植物育种,2016,14(11):3113-3119.

[4] LI G, QUIROS C F. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: Its application to mapping and gene tagging in *Brassica* [J]. Theoretical and applied genetics, 2001, 103(2/3): 455-461.

[5] AGARWAL M, SHRIVASTAVA N, PADH H. Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences [J]. Plant cell reports, 2008, 27(4): 617-631.

[6] 杨迎花,李先信,曾柏全,等.新型分子标记 SRAP 的原理及其研究进展[J].湖南农业科学,2009(5):15-17,20.

[7] 林忠旭,张献龙,聂以春,等.棉花 SRAP 遗传连锁图构建[J].科学通报,2003,48(15):1676-1679.

[8] 李严,张春庆.西瓜杂交种遗传多态性的 SRAP 标记分析[J].园艺学报,2005,32(4):643-647.

[9] 李丽,郑晓鹰,柳李旺.用 SRAP 标记分析黄瓜品种遗传多样性及鉴定品种[J].分子植物育种,2006,4(5):702-708.

[10] 李仁伟,王晨,戴思兰,等.菊花品种表型性状与 SRAP 分子标记的关联分析[J].中国农业科学,2012,45(7):1355-1364.

[11] 闫玖英,马长青,常博,等.改良 CTAB 法用于苹果果实基因组 DNA 的提取[J].分子植物育种,2017,15(9):3610-3615.

[12] 许超,曲勤凤,顾文佳,等.几种提取转基因木瓜 DNA 方法的比较[J].食品安全质量检测学报,2016,7(4):1531-1534.

[13] 魏明钰,王博,侯殿雅,等.四种不同提取方法提取大豆基因组的比较[J].农业开发与装备,2018(4):97,164.

(上接第 88 页)

中 IFN- γ 含量无明显影响。这提示芒柄花黄素可以增强机体体液免疫应答能力,而这种调节作用可能是通过上调 Th2 型细胞因子 IL-4 的分泌,从而增加脾细胞 IgG 类抗体的合成而实现的,而芒柄花黄素对实验小鼠细胞免疫无影响。

综上所述,芒柄花黄素可以提高实验小鼠巨噬细胞的吞噬功能,促进溶菌酶的合成与分泌,增强小鼠的固有免疫功能。同时,芒柄花黄素还可以通过抑制脾细胞凋亡、增强脾细胞转化增殖能力,提高 Th1 型细胞因子 IL-4 的分泌水平,从而促进 B 细胞 IgG 类抗体的合成,提高机体的体液免疫功能。然而,芒柄花黄素对机体细胞免疫功能无明显影响。

参考文献

[1] 姜慈静,吴秋慧,任倩瑶,等.芒柄花黄素对大鼠局部脑缺血再灌注损伤保护作用的初步研究[J].中国医药导报,2017,14(32):8-10,14.

[2] PARK S, BAZER F W, LIM W, et al. The O-methylated isoflavone, formononetin, inhibits human ovarian cancer cell proliferation by sub G0/G1 cell phase arrest through PI3K/AKT and ERK1/2 inactivation [J]. J Cell Biochem, 2018, 119(9):7377-7387.

[3] 张幸,梁梅花,黄文君,等.芒柄花黄素诱导膀胱癌细胞凋亡作用[J].中国公共卫生,2015,31(3):314-317.

[4] 董陈斌,钟漓,张广钰,等.芒柄花黄素对人胃癌细胞 MKN-45 荷瘤裸鼠

模型的抑制作用及机制研究[J].重庆医学,2016,45(32):4482-4483,4486.

[5] 梁馨元,韦珊珊,李礼顺,等.芒柄花黄素对小鼠体内 SOD、MDA、GSH-Px 和 BUN 的影响[J].湖北科技学院学报(医学版),2017,31(3):188-190.

[6] 王昌明,刘婷,李鹤,等.铁箍散乳膏对大鼠皮肤疮疡的药效学研究[J].中南药学,2015,13(2):136-140.

[7] 田强,冯香芝,杨雨敏,等.鹅脾混合多肽对小鼠非特异性免疫功能的影响[J].医药导报,2015,34(2):158-161.

[8] 杨朝晖,秦红兵,成海龙,等.麋鹿角醇提液对衰老小鼠行为及免疫功能的影响[J].中华中医药杂志,2010,25(2):221-225.

[13] 华慧,张波,李向阳,等.华支睾吸虫脂肪酸结合蛋白 CsFABP 对巨噬细胞免疫功能的影响[J].中国病原生物学杂志,2017,12(11):1058-1061,1065.

[14] 吴婷,周武雄.肿瘤微环境中肿瘤相关巨噬细胞的研究进展[J].细胞与分子免疫学杂志,2016,32(2):265-267,271.

[15] 沈芄.溶菌酶抗菌作用及其在防控医院感染中的应用[J].中国消毒学杂志,2014,31(10):1089-1091.

[16] 沙爱龙,孟庆艳,郝海燕.小雁塔花水提物对小鼠镇静催眠及免疫功能的影响[J].现代食品科技,2016,32(5):22-26,39.

[17] 张振宇,黄衍松,李伟冰,等.慢性乙型肝炎中医证型与患者细胞免疫功能关系研究[J].中西医结合肝病杂志,2018,28(1):8-10.

[18] 蔡琨,王晓敏,张波,等.仙茅多糖对环磷酰胺所致免疫低下小鼠免疫功能的影响[J].中华中医药杂志,2016,31(12):5030-5034.

[19] 阿孜古丽·阿布都热合曼,韩玉明.肝癌患者血清 Th1/Th2 相关因子与免疫功能的相关性研究[J].国际检验医学杂志,2018,39(6):737-741.