

贻贝粗多糖对环磷酰胺致小鼠免疫低下及生殖遗传毒性的保护作用

何嘉桃, 苏泽椿, 孙东方, 黄达荣, 王倩文, 陈影聪, 孙力军*

(广东海洋大学食品科技学院, 广东省水产品加工与安全重点实验室, 广东湛江 524088)

摘要 [目的] 研究贻贝粗多糖对免疫抑制小鼠的免疫功能、生殖能力和遗传稳定性的作用效果。[方法] 采用环磷酰胺建立免疫抑制小鼠模型, 同时灌胃木瓜蛋白酶提取的贻贝多糖进行干预, 7 d 后测定体重、器官指数、血常规、骨髓细胞微核率、精子致畸率。[结果] 与对照组相比, 在第 7 天模型组小鼠的体重显著下降, 胸腺指数明显降低 34.6%, 肠指数、心脏指数分别显著升高 73.4%、43.6%, 小鼠的白细胞、红细胞、血小板、红细胞平均体积、红细胞压积下降, 淋巴细胞、中间细胞、中性粒细胞的百分比失衡, 微核率和精子畸变率分别提高了 17.67 千分点和 7.77 百分点。与模型组相比, 低、高剂量组在以上指标均有不同程度的改善。[结论] 一定剂量的贻贝粗多糖能改善环磷酰胺诱导免疫抑制小鼠的免疫功能, 缓解环磷酰胺导致的遗传毒性和生殖毒性。

关键词 贻贝粗多糖; 环磷酰胺; 免疫抑制; 生殖遗传毒性

中图分类号 TS 201.4 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2022)03-0170-04

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2022.03.046



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Protective Effects of Mussel Crude Polysaccharides on Immunodeficiency and Reproductive Genotoxicity Induced by Cyclophosphamide in Mice

HE Jia-tao, SU Ze-chun, SUN Dong-fang et al (College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Product Processing and Safety, Zhanjiang, Guangdong 524088)

Abstract [Objective] To study the effect of immunosuppression, reproductive ability and genetic stability of mussel crude polysaccharides on cyclophosphamide-induced immunosuppression in mice. [Method] Mice were given cyclophosphamide intragastrically to establish immunosuppressive mice model, while polysaccharide from common mussel were extracted by papain was fed with mice by intragastric administration. After 7 days, effects of mussel crude polysaccharides of immunocompromised mice was studied by detecting many indices, such as body weight, organ indices, blood routine index, bone marrow cell micronucleus rate and sperm aberration rate. [Result] Compared with control group, the model group mice significantly reduced the body weight, significantly decreased the thymus index level by 34.6%, significantly increased cardiac index, the index of intestinal level by 73.4%, 43.6%, respectively. The leucocytes, erythrocyte, hemoglobin, platelet, mean corpuscular volume and hematocrit of model group mice were significantly lower than those of control group. The model group mice of the percentage of lymphocytes, intermediate cells and neutrophils was inbalance, the micronucleus rate and sperm aberration rate increased by 17.67 thousandth point, 7.77 percentage point and compared to the control group. Compared with model group, low and high dose groups had different degree of improvement in the above indexes. [Conclusion] A certain dose of mussel crude polysaccharide can improve the immune function of immunosuppressed mice induced by cyclophosphamide, and alleviate the genetic and reproductive toxicity caused by cyclophosphamide.

Key words Mussel crude polysaccharides; Cyclophosphamide; Immunosuppression; Reproductive toxicity and genotoxicity

环磷酰胺广谱抑制癌细胞生长^[1], 且价格低廉、效果显著, 已广泛应用于临床治疗^[2]。但研究发现, 服用环磷酰胺会引起一系列副作用, 如抑制免疫细胞增殖和免疫器官的正常发育^[3], 降低机体的免疫能力; 诱导器官组织氧化应激损伤^[4]; 遗传物质发生改变, 机体内生殖细胞发生突变^[5]。多糖是常用的免疫调节剂^[6]。但目前的研究主要集中在植物多糖对免疫低下小鼠免疫功能的影响, 海洋源多糖类的相关研究相对缺乏。贻贝属双壳软体动物是我国东部沿海地区贝类养殖业中的重要种类^[7]。贻贝产量高, 富含营养物质, 经相关研究表明, 贻贝中的活性多糖具有调节免疫^[8]、降血脂^[9]、抗氧化^[10]等作用, 但普遍应用效率低下。

评定机体免疫力强弱的指标主要有免疫器官指数、白介素的含量、免疫球蛋白的含量、NK 细胞杀伤活性、淋巴细胞活性、血常规等。根据目前已有研究, 贻贝多糖对正常小鼠、致敏小鼠具有免疫增强作用^[8], 通过测定 NK 细胞杀伤活

性、白介素的含量等指标, 确定贻贝粗多糖具有提高环磷酰胺诱导免疫低下小鼠免疫力^[11]的作用。但有关于从免疫细胞的组成和数目(血常规指标)等观察贻贝粗多糖的免疫效果以及贻贝粗多糖对生殖遗传毒性作用的相关研究较少。因此, 该研究利用贻贝粗多糖灌胃小鼠, 对比体重、器官指数、血常规指标、骨髓细胞微核率及精子致畸率的变化, 探讨贻贝粗多糖对免疫低下小鼠免疫细胞含量、组成变化及缓解环磷酰胺对机体的生殖遗传毒效应, 有助于开发化疗患者治疗过程中配套服用的贻贝多糖保健品, 降低环磷酰胺对机体产生的毒副作用, 实现贻贝的高值化利用。

1 材料与方法

1.1 试验材料 贻贝(湛江海鲜市场); 环磷酰胺(深圳安泰生物科技有限公司); 木瓜蛋白酶(上海瑞永生物科技有限公司); HC2200 型血常规分析仪(中国苏州迈瑞公司); CKX41 型光学显微镜(日本奥林巴斯公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 贻贝粗多糖的制备和测定。 去壳取贻贝肉, 匀浆, 冷冻干燥, 磨制成粉。用索氏提取法对贻贝粉进行脱脂, 得去脂贻贝粉, 备用。将去脂贻贝粉过 20 目筛, 按液比(g:mL) 1:15 配制成溶液, 调节温度为 60 °C, pH 为 7, 加入 1% 木瓜蛋白酶, 酶解, 升温到 99 °C 灭酶 20 min。调 pH 为中性,

基金项目 国家级大学生创新创业训练计划项目(CXXL2018007); 广东省科技厅公益研究与能力建设专项资金项目(2014B020204005)。

作者简介 何嘉桃(1998—), 女, 广东佛山人, 硕士研究生, 研究方向: 水产品质量安全与营养功能。* 通信作者, 教授, 博士, 博士生导师, 从事水产品质量安全与营养功能研究。

收稿日期 2021-04-23

4 000 r/min 离心 5 min, 取上清, Sevage 法除蛋白, 浓缩液体, 按体积比 4:1 (乙醇:浓缩液) 加入 95% 乙醇醇沉, 4 ℃ 静置 12 h, 离心, 把沉淀冷冻干燥后可得贻贝粗多糖。利用硫酸-苯酚法测定酶解后的含糖量。

1.2.2 实验动物及分组。15 只 SPF 级别 7 周龄昆明雄性小鼠, 购于济南朋悦实验动物繁育有限公司, 在温度 (24±2) ℃、湿度 (60±10)% 的条件下, 适应性喂养 7 d, 随机平均分为 5 组, 每组 3 只, 分为对照组、模型组、贻贝粗多糖组、低剂量试验组、高剂量试验组。①对照组 [蒸馏水, 20 mL/(d·kg)]; ②模型组 [环磷酰胺 10 mL/(d·kg)+蒸馏水 10 mL/(d·kg)]; ③贻贝粗多糖组 [5.0 mg/mL 贻贝粗多糖 20 mL/(d·kg)]; ④低剂量试验组 [环磷酰胺 10 mL/(d·kg)+2.5 mg/mL 贻贝粗多糖 10 mL/(d·kg)]; ⑤高剂量试验组 [环磷酰胺 10 mL/(d·kg)+10.0 mg/mL 贻贝粗多糖 10 mL/(d·kg)]。连续灌胃 7 d, 试验期间, 小鼠可自由进食进水。

1.3 检测指标

1.3.1 小鼠体重变化和器官指数。每天灌胃前, 称重, 观察并记录各组小鼠体重的变化。距离最后一次给药 24 h 后, 摘眼球取血后, 脱颈椎处死小鼠, 迅速解剖, 取出器官, 称重, 计算出器官指数。

器官指数 = 脏器质量 (mg) / 小鼠体重 (g)

1.3.2 小鼠血常规指标和免疫学指标。小鼠处死前, 摘眼球, 取血 200 μL 到 1.5 mL 肝素抗凝离心管中, 于血细胞分析仪上机检测。

1.3.3 小鼠骨髓细胞微核观察。小鼠脱颈椎处死后, 解剖, 取胸椎骨, 剔除肌肉, 用止血钳固定胸椎骨的前端, 剪断骨后端, 挤血到已有小牛血清的载玻片上, 混匀, 推片, 室温晾干; 于甲醇中浸泡 15 min, 取出, 室温晾干; Giemsa 染色 15 min, 冲洗, 室温晾干。于 10 倍镜下选择细胞分布均匀的区域, 100 倍镜下计数每只小鼠 6 000 个嗜多染红细胞 (PCE) 中带微核细胞 (MN) 数, 计算出微核率, 微核率以千分率表示。

微核率 = 微核数 (个) / 观察细胞数 (个) × 1 000%

1.3.4 小鼠精子观察。小鼠脱颈椎处死后, 解剖, 取两侧附睾到生理盐水中, 混匀, 制备精子悬液。吸取精子悬液滴于载玻片上, 推片, 室温晾干; 于甲醇中浸泡 5 min, 室温晾干; 2% 伊红水溶液染色 1 h, 冲洗, 室温晾干。

于 10 倍镜下找到精子重叠少的区域, 100 倍镜下计数。每只小鼠计数 200~500 个精子, 观察畸形精子数, 计算精子畸变率, 以百分率表示。

畸变率 = 畸形精子 (个) / 观察总精子数 (个) × 100%

2 结果与分析

2.1 贻贝粗多糖的含量及对免疫抑制小鼠体重的影响 经硫酸-苯酚法测得的含糖量为 70%。由表 1 可知, 试验第 1 天, 各组间小鼠体重差异不显著。与对照组相比, 灌胃第 7 天模型组小鼠和连续 7 d 服用贻贝粗多糖的正常小鼠 (贻贝粗多糖组) 体重显著下降 ($P < 0.05$)。对比模型组, 低、高剂量组的体重仍显著偏低 ($P < 0.05$)。贻贝多糖降低小鼠体重的现象, 与李孟婕等^[9]的研究结果一致, 其中的机制可能是

多糖能促进肠道蠕动^[12], 加快机体新陈代谢速度, 以及小鼠原本的个体差异, 进食进水、精神状态等^[13]都会对体重产生影响。

表 1 贻贝粗多糖对免疫抑制小鼠体重的影响

Table 1 Effects of mussel crude polysaccharides on body weight in immunosuppression mice

序号 No.	组别 Group	第 1 天 Day 1	第 7 天 Day 7
1	对照组	31.13±0.64 a	31.13±0.58 a
2	模型组	29.73±7.21 a	29.18±1.08 b
3	贻贝粗多糖组	26.13±3.18 a	28.35±1.25 bc
4	低剂量试验组	29.70±3.63 a	25.50±0.80 c
5	高剂量试验组	30.60±0.72 a	25.60±0.60 c

注: 同列不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference ($P < 0.05$)

2.2 贻贝粗多糖对免疫抑制小鼠器官指数的影响 器官指数能直观反映外源化合物对脏器的影响^[14], 其中胸腺和脾脏指数是评判机体免疫能力的重要指标^[15], 通过对比胸腺指数和脾脏指数, 反映环磷酰胺对机体先天免疫的损伤。由表 2 可知, 与对照组相比, 模型组的胸腺指数显著降低 ($P < 0.05$), 脾脏指数下降但无显著性差异, 肠指数和心脏指数分别显著升高 73.4%、43.6% ($P < 0.05$)。林帅等^[16-18]等研究发现, 同一时期暴露在等浓度的环磷酰胺下, 与脾脏指数相比, 胸腺指数下降幅度更大, 这与该试验结果一致, 可能是由脾脏和胸腺的作用功能、组织结构的差异造成, 短期摄入环磷酰胺对胸腺氧化应激损伤, 导致胸腺萎缩^[19], 器官指数显著下降。模型组小鼠的心脏和肠肿大, 原因可能是环磷酰胺能提高体内炎性因子水平^[20], 出现局部肿胀的现象。对比模型组, 贻贝粗多糖组和低、高剂量组的胸腺指数有所上升, 肠指数下降, 但均无显著差异, 心脏指数显著下降 ($P < 0.05$)。贻贝多糖经证实有抗炎^[21]和抗氧化^[10]的效果, 结合该试验结果, 贻贝粗多糖可能通过降低机体内的炎性因子水平, 缓解心脏、肠器官肿胀; 能减轻氧化应激对胸腺的损伤, 促进胸腺正常生长发育, 但具体机制尚不清楚。

2.3 贻贝粗多糖对免疫抑制小鼠血液常规指标的影响 血液中含有大量的免疫细胞^[22], 测定机体血液内免疫细胞组成和体表变化是评定机体稳态和免疫能力的指标之一。由表 3 可知, 与对照组相比, 模型组小鼠 WBC、PLT、RBC、MCV、HCT 显著降低 ($P < 0.05$), HGB 有所下降, 但差异不显著 ($P > 0.05$), 说明环磷酰胺诱导小鼠的免疫细胞数目显著下降, 免疫能力降低。对比模型组, 灌胃贻贝粗多糖小鼠 WBC、PLT、RBC、HGB、MCV、HCT 的水平提高, 除 WBC 显著升高外 ($P < 0.05$), 其他均无显著差异。2 个剂量组之间的血液常规指标无显著差异 ($P > 0.05$), 但总体上看, 低剂量组提升效果更好。环磷酰胺并不是靶向药, 在攻击肿瘤细胞的过程中, 会对骨髓等其他组织造成一定的损伤^[23]。骨髓是白细胞、红细胞、血红蛋白、血小板发育分化的地方, 当骨髓遭到破坏, 抑制骨髓造血干细胞分化成不同的免疫细胞的进程^[24], 减少机体内免疫细胞的数量, 降低机体的整体免疫能

力。结果表明,贻贝粗多糖能促进免疫细胞的增殖及骨髓抑制状态。

表 2 贻贝粗多糖对免疫抑制小鼠器官指数的影响

Table 2 Effects of mussel crude polysaccharides on immune organ index in immunosuppression mice

序号 No.	组别 Group	脾脏指数 Spleen index	胸腺指数 Thymus index	胃指数 Gastric index	肠指数 Intestinal index	心脏指数 Cardiac index	肝脏指数 Liver index	肾脏指数 Renal index
1	对照组	0.52±0.10 a	1.76±0.23 a	1.81±0.44 ab	7.03±0.50 b	0.55±0.01 bc	5.86±0.47 a	0.35±0.00 ab
2	模型组	0.38±0.16 ab	1.15±0.08 b	2.38±0.52 a	12.19±3.38 a	0.79±0.09 a	5.24±1.68 a	0.38±0.01 a
3	贻贝粗多糖组	0.39±0.05 ab	1.31±0.16 b	1.96±0.50 ab	11.93±2.94 a	0.45±0.05 c	4.86±1.13 a	0.33±0.05 a
4	低剂量试验组	0.31±0.01 b	1.38±0.07 b	1.57±0.25 b	10.06±3.06 ab	0.47±0.05 bc	4.67±0.23 a	0.30±0.01 a
5	高剂量试验组	0.35±0.04 ab	1.37±0.13 b	2.46±0.27 a	11.13±0.88 ab	0.57±0.02 b	4.71±0.33 a	0.22±0.09 b

注:同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference ($P<0.05$)

表 3 贻贝粗多糖对免疫抑制小鼠血液常规指标的影响

Table 3 Effects of mussel crude polysaccharides on the blood routine index in immunosuppression mice

序号 No.	组别 Group	白细胞数目 WBC/ $10^9/L$	血小板计数 PLT/ $10^{11}/L$	红细胞计数 RBC/ $10^{12}/L$	血红蛋白 HGB/ g/L	红细胞平均 体积 MCV/ fL	红细胞 压积 HCT
1	对照组	2.25±0.25 ab	3.25±0.70 a	5.83±0.86 a	158.50±48.50 a	67.50±2.40 a	0.40±0.07 a
2	模型组	0.68±0.08 c	1.00±0.59 b	2.02±1.17 b	88.00±0.00 a	54.63±4.73 b	0.11±0.07 b
3	贻贝粗多糖组	2.48±0.83 a	2.67±1.88 ab	4.20±3.06 ab	92.67±67.69 a	60.57±7.54 ab	0.27±0.21 ab
4	低剂量试验组	1.10±0.70 bc	3.17±0.70 a	4.80±1.54 ab	108.00±64.02 a	63.23±2.70 ab	0.31±0.11 ab
5	高剂量试验组	1.60±0.95 abc	1.77±0.05 ab	4.80±2.36 ab	108.33±72.17 a	61.37±8.48 ab	0.31±0.17 ab

注:同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference ($P<0.05$)

2.4 贻贝粗多糖对免疫抑制小鼠免疫学指标的影响 由表 4 可知,与对照组相比,模型组 LYM 显著提高 25.7% ($P<0.05$),MID、GRAN 显著下降 52.2%、85.7% ($P<0.05$)。对比模型组,低、高剂量组的 MID、GRAN 占比升高,LYM 下降,差异均无统计学意义。低、高剂量组之间的 LYM、MID、GRAN 的百分比无显著差异 ($P>0.05$)。说明贻贝粗多糖可以调节 LYM、MID、GRAN,且三者之间的比例趋于正常水平,能维持机体免疫功能的稳定。

表 4 贻贝粗多糖对免疫抑制小鼠免疫学指标的影响

Table 4 Effects of mussel crude polysaccharides on the immunological index in immunosuppression mice %

序号 No.	组别 Group	淋巴细胞百分比 LYM	中间细胞百分比 MID	中性粒细胞百分比 GRAN
1	对照组	0.70±0.06 b	0.23±0.04 a	0.07±0.01 a
2	模型组	0.88±0.02 a	0.11±0.01 b	0.01±0.01 b
3	贻贝粗多糖组	0.79±0.01 ab	0.16±0.00 ab	0.05±0.00 a
4	低剂量试验组	0.78±0.10 ab	0.14±0.09 ab	0.04±0.01 ab
5	高剂量试验组	0.83±0.10 a	0.13±0.08 b	0.04±0.04 ab

注:同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference ($P<0.05$)

2.5 贻贝粗多糖对免疫抑制小鼠骨髓细胞微核率的影响 比较不同剂量组之间的嗜多染红细胞的微核率,检测灌胃 7 d 环磷酰胺在小鼠体内产生遗传毒性的大小^[25]以及贻贝粗多糖的缓解作用。由表 5 可知,在观察同样的细胞总数中,与对照组相比,模型组的微核率提高近 10 倍。对比模型组,低剂量试验组的微核率降低 6.33 千分点、高剂量试验组降低 10.33 千分点。环磷酰胺是烷基化剂,在机体内转化为次级代谢物,生成烷基化 DNA、RNA 和蛋白质引起 DNA 单

链断裂^[26],遗传物质损伤出现微核异常现象^[27]。试验结果表明,贻贝粗多糖可能有效抑制环磷酰胺诱导的致突变作用。

表 5 贻贝粗多糖对免疫抑制小鼠骨髓细胞微核率的影响

Table 5 Effects of mussel crude polysaccharides on micronucleus of bone marrow in immunosuppression mice

序号 No.	组别 Group	微核数 Micronucleus number/个	微核率 Micronucl- eus rate/%
1	对照组	11	1.83
2	模型组	117	19.50
3	贻贝粗多糖组	14	2.33
4	低剂量试验组	79	13.17
5	高剂量试验组	55	9.17

2.6 贻贝粗多糖对免疫抑制小鼠精子的影响 统计畸形精子的数目,检测短期灌胃环磷酰胺引起生殖细胞遗传损伤^[28]以及贻贝粗多糖的缓解作用。由表 6 可知,与对照组相比,模型组的精子畸变率升高 7.77 百分点,贻贝粗多糖组下降 0.55 百分点。经过贻贝粗多糖干预后,对比模型组,低、高剂量试验组分别降低精子畸变率 2.85、6.68 百分点。服用环磷酰胺等化疗药物,会导致性腺功能出现障碍,改变精子的染色体结构,使精子外形异常^[29]。该试验结果说明,贻贝粗多糖能降低环磷酰胺对精子的损伤,且高剂量的保护作用效果优于低剂量。

3 结论

该试验研究木瓜蛋白酶提取的贻贝多糖对免疫抑制小鼠的免疫功能、生殖能力和遗传稳定性的作用效果。结果表明,环磷酰胺诱导小鼠白细胞、红细胞等免疫细胞数量显著下降,导致淋巴细胞百分比明显偏高,中性粒细胞百分比明显偏低,说明小鼠体内的免疫平衡紊乱,抑制小鼠固有免疫、细胞免疫能力,提示环磷酰胺不仅对胸腺、脾脏造成损伤,还

对生长、发育、分化免疫细胞的器官产生毒作用。服用贻贝粗多糖能降低免疫抑制小鼠心脏、肠器官指数,升高胸腺指数,增加白细胞、红细胞、血红蛋白、血小板的含量,使淋巴细胞、中间细胞、中性粒细胞的百分比趋于正常,表明贻贝粗多糖可能通过抗炎作用抑制部分器官肿胀,还通过修复环磷酰胺对免疫器官损伤,增强细胞免疫的作用。环磷酰胺诱导精子畸变和微核率升高,补充高剂量的贻贝粗多糖能降低微核率和精子致畸率,说明贻贝粗多糖能缓解环磷酰胺导致的遗传毒性和生殖毒性。该研究探明了贻贝粗多糖对免疫抑制小鼠免疫功能的作用,为开发贻贝粗多糖免疫调节剂提供了理论参考。

表 6 贻贝粗多糖对免疫抑制小鼠畸变精子的影响

Table 6 Effects of mussel crude polysaccharides on the sperm aberration rate in immunosuppression mice

序号 No.	组别 Group	畸变精子数 Aberrant sperm count 个	精子总数 Total sperm count//个	畸变率 Distortion rate//%
1	对照组	17	232	7.32
2	模型组	48	318	15.09
3	贻贝粗多糖组	13	192	6.77
4	低剂量试验组	35	286	12.24
5	高剂量试验组	19	226	8.41

参考文献

- [1] WU F F, HUANG H H. Surface morphology and protective effect of *Hericium erinaceus* polysaccharide on cyclophosphamide-induced immunosuppression in mice [J/OL]. Carbohydrate polymers, 2021, 251 [2020-11-15]. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116930>.
- [2] MARKEY K A, KUNS R D, BROWNE D J, et al. *In vivo* expansion of recipient DC leads to deletion of donor alloreactive CD8⁺ T cells and is an alternative to post-transplant cyclophosphamide for the prevention of graft-versus-host disease after BMT [J/OL]. Blood, 2017, 130 [2020-11-17]. https://doi.org/10.1182/blood.V130.Suppl_1.4443.4443.
- [3] XIE J, NIE S, YU Q, et al. Lactobacillus plantarum NCU116 attenuates cyclophosphamide-induced immunosuppression and regulates Th17/Treg cell immune responses in mice [J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2016, 64(6): 1291-1297.
- [4] WEI X J, HU T J, CHEN J R, et al. Inhibitory effect of carboxymethyl- γ -glucan on cyclophosphamide-induced oxidative stress in mice [J]. International journal of biological macromolecules, 2011, 49(4): 801-805.
- [5] 张曦文, 李乐乐, 江素鑫, 等. 环磷酰胺生殖毒性的研究进展 [J]. 中国研究型医院, 2018, 5(1): 27-32.
- [6] 李喜泉, 杨巍巍, 李淑珍. 食物中活性成分对机体的免疫调节作用研究进展 [J]. 沈阳医学院学报, 2020, 22(3): 277-280, 288.
- [7] 侯重文, 朱梓昂, 张金华, 等. 高效凝胶色谱法测定贻贝多糖含量及分子量 [J]. 中国生化药物杂志, 2016, 36(11): 9-12.
- [8] 姚莹, 魏江洲, 王俊, 等. 厚壳贻贝多糖的提取和免疫学活性研究 [J].

(上接第 167 页)

- [12] 邹琦. 植物生理学实验指导 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2003.
- [13] 任轶, 李瑞霞, 艾昊, 等. 减施肥条件下木霉 SQR-T037 微生物肥对黄瓜产量、品质及养分利用效率的影响 [J]. 江苏农业科学, 2014, 42(2): 143-146.
- [14] 王东升, 戎茸, 吴旭东, 等. 不同施肥处理对黄瓜生长及产量的影响 [J]. 中国瓜菜, 2019, 32(11): 37-42.
- [15] 何梅琳, 田雪, 江杰, 等. 基于海带渣制备的叶面肥对彩椒和茭白生长和品质的影响 [J]. 江苏农业学报, 2020, 36(3): 675-680.
- [16] 沈虹, 王磊, 苗艳, 等. 海藻渣对菠菜生长和品质的影响 [J]. 江苏农业科学, 2016, 44(10): 196-200.
- [17] 韦增辉, 潘运舟, 王雨阳, 等. 不同原料商品有机肥对土壤肥力性状及

- 第二军医大学学报, 2005, 26(8): 896-899.
- [9] 李孟婕, 范秀萍, 吴红棉, 等. 翡翠贻贝粗多糖降血脂作用的研究 [J]. 食品科学, 2012, 33(1): 257-261.
- [10] 李季桐. 基于“肠道菌群-肠-肝轴”探究贻贝多糖对 NAFLD 的药效及作用机理 [D]. 济南: 山东大学, 2019.
- [11] 张旭, 费红军, 杨立峰, 等. 紫贻贝粗多糖提取物对小鼠免疫相关因子的影响 [J]. 营养学报, 2011, 33(5): 497-501.
- [12] 吴雅清, 许瑞安. 降血脂多糖的研究进展 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(17): 3451-3459.
- [13] 张慧娟, 黄连燕, 尹梦, 等. 燕麦多肽降血糖功能的研究 [J]. 食品工业科技, 2017, 38(10): 360-363, 384.
- [14] 王润东, 孙力军, 王雅玲, 等. 副溶血性弧菌 ATCC33847 在五种食品中代谢产物的溶血活性及对小鼠脏器的毒性差异 [J]. 现代食品科技, 2016, 32(8): 48-53.
- [15] 谢俊华, 聂少平, 丁翹, 等. 植物乳杆菌 NCU116 发酵胡萝卜浆对免疫抑制小鼠肠道黏膜免疫的影响 [J]. 食品科学, 2015, 36(21): 201-206.
- [16] 林帅, 陈孟毅, 刘冰, 等. 环磷酰胺对不同年龄小鼠免疫细胞损伤及修复作用的影响 [J]. 中国医药导报, 2016, 13(36): 8-13, 35.
- [17] 谷巍, 孙明杰, 王丽荣, 等. 4 味常见中药对免疫抑制小鼠免疫功能及肠道菌群的影响 [J]. 中国畜牧兽医, 2019, 46(1): 147-156.
- [18] 张乔, 姜苏洋, 吕航, 等. 参苓水煎液对免疫抑制小鼠免疫调节作用的研究 [J]. 中医药信息, 2018, 35(6): 8-11.
- [19] ZHANG H H, YU R J, LIU X F, et al. The expression of PAC1 increases in the degenerative thymus and low dose PACAP protects female mice from cyclophosphamide induced thymus atrophy [J]. Peptides, 2012, 38(2): 337-343.
- [20] LIU B, YANG Z F, BO L, et al. Cytotoxic effects, inflammatory response and apoptosis induction of cyclophosphamide in the peripheral blood leukocyte of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) [J]. Fish & shellfish immunology, 2019, 93: 174-182.
- [21] 姚丽文, 周宇芳, 孙继刚, 等. 厚壳贻贝多糖对葡萄糖硫酸钠诱导的结肠炎改善作用研究 [J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(7): 109-115.
- [22] 张立春, 李兆华, 孙福亮, 等. 长白山野杂猪、民猪和大白猪血常规及免疫学指标比较分析 [J]. 中国兽医学报, 2018, 38(1): 171-176.
- [23] 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.
- [24] 相雪莲, 许丹宁, 曹楠, 等. 白术多糖对环磷酰胺诱导的免疫抑制小鼠白细胞数量及功能的修复作用 [J]. 中国兽医杂志, 2020, 56(7): 36-41.
- [25] 付少华, 夏莹, 田洁. 环磷酰胺给予剂量及方式对小鼠骨髓微核率的影响 [J]. 卫生研究, 2016, 45(6): 1018-1019.
- [26] MELEK F R, ALY F A, KASSEM I A A, et al. Three further triterpenoid saponins from *Gleditsia caspica* fruits and protective effect of the total saponin fraction on cyclophosphamide-induced genotoxicity in mice [J]. Zeitschrift für naturforschung C, 2015, 70(1/2): 31-37.
- [27] 贾庆军, 刘天鹏, 郭魁亮, 等. 环磷酰胺对小鼠遗传和生殖毒性影响的研究 (2)——对雄性小鼠生殖细胞的影响 [J]. 白求恩医学院学报, 2006, 4(2): 70-71.
- [28] 史宗勇, 路超, 唐中伟, 等. 转 CP4-EPSPS 基因大豆对大鼠的致突变研究 [J]. 江苏农业科学, 2016, 44(10): 286-288.
- [29] ÇERİBAŞI A O, TÜRK G, SÖNMEZ M, et al. Toxic effect of cyclophosphamide on sperm morphology, testicular histology and blood oxidant-antioxidant balance, and protective roles of lycopene and ellagic acid [J]. Basic & clinical pharmacology & toxicology, 2010, 107(3): 730-736.
- 冬瓜产量的影响 [J]. 热带作物学报, 2019, 40(2): 232-237.
- [18] 黄振瑞, 陈迪文, 吴庚福, 等. 海藻渣对植烟土壤理化性质和烟草生长的影响 [J]. 广东农业科学, 2021, 48(2): 67-74.
- [19] 陆晓民, 孙锦, 郭世荣, 等. 低氧胁迫下 2,4-表油菜素内酯对黄瓜幼苗叶片光合特性及多胺含量的影响 [J]. 应用生态学报, 2012, 23(1): 140-146.
- [20] FARQUHAR G D, SHARKEY T D. Stomatal conductance and photosynthesis [J]. Annual review of plant physiology, 1982, 33(1): 317-345.
- [21] 张有富, 张爱萍, 马正龙, 等. 沼肥对设施红地球葡萄光合特性及品质的影响 [J]. 经济林研究, 2017, 35(3): 140-146.
- [22] 姚建刚, 牟晓璐, 李涛, 等. 鸡粪发酵提取液对黄瓜生长及品质的影响 [J]. 北方园艺, 2019(14): 48-52.