

冠突散囊菌与茶多酚复合物对免疫抑制小鼠的保护作用

Protective effect of *Eurotium cristatum* fermentation broth mixed with tea polyphenols on immunosuppressive mice

彭 颖

PENG Ying

(长沙商贸旅游职业技术学院, 湖南 长沙 410016)

(Changsha Commerce and Tourism College, Changsha, Hunan 410016, China)

摘要:目的:探究冠突散囊菌发酵液与茶多酚复合物对环磷酰胺诱导的免疫功能低下小鼠的影响。方法:用剂量为 80 mg/kg 的环磷酰胺连续 3 d 腹腔注射小鼠以建立免疫抑制模型。用高、中、低剂量的冠突散囊菌发酵液与茶多酚复合,连续灌胃免疫抑制小鼠 15 d,检测小鼠血液指标、脾脏指数、巨噬细胞吞噬系数、半数溶血值、迟发型变态反应、血清中白介素-2(IL-2)及肿瘤坏死因子(TNF- α)质量浓度。结果:冠突散囊菌发酵液与茶多酚复合物能明显提高免疫抑制小鼠白细胞数目、红细胞数目、血红蛋白含量、血清中溶血素水平、IL-2 水平,并增强其脏器指数、吞噬细胞的吞噬指数,改善小鼠迟发型变态反应。结论:冠突散囊菌发酵液与茶多酚复合物对小鼠具有免疫增强的功能。

关键词:冠突散囊菌;发酵液;茶多酚;环磷酰胺;免疫抑制;免疫调节

Abstract: Objective: This study aimed to investigate the effect of *Eurotium Cristatum* fermentation broth mixed with tea polyphenols on the immune indexes of cyclophosphamide immunosuppressive mice. **Methods:** Immunosuppressive model was established by intraperitoneal injection of cyclophosphamide with 80 mg/kg for 3 days. High, middle and low dose *E. Cristatum* fermentation broth mixed with tea polyphenols was administrated to immunosuppressive mice intragastrically for 15 days. The blood index, spleen index, macrophage phagocytic index, half hemolysis value, delayed-type hypersensitivity, the content of IL-2 and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were measured. **Results:** *E. Cristatum* fermentation broth mixed with

tea polyphenols significantly increased the number of white blood cells, red blood cells, hemoglobin, serum hemolysin and IL-2 on immunosuppressive mice, enhanced the spleen index and monocyte-phagocytic index, and improved the delayed type hypersensitivity on mice. **Conclusion:** *E. Cristatum* fermentation broth mixed with tea polyphenols can enhance immunity on mice. **Keywords:** *Eurotium Cristatum*; fermentation broth; tea polyphenols; cyclophosphamide; immunosuppression; immunomodulation

营养不良、药物或化学物质暴露可导致免疫系统异常和免疫抑制,从而影响免疫系统功能,导致身体防御机制下降,并增加过敏性免疫反应、自身免疫性疾病,甚至肿瘤的发生^[1]。临床试验^[2-3]表明,免疫抑制可能与抗体、T 淋巴细胞反应、巨噬细胞的吞噬作用和 NK 细胞活性直接相关。常见的免疫调节剂如盐酸左旋咪唑在治疗免疫功能低下患者过程中,易诱发其他的副作用。近年来,通过饮食调节来提高自身免疫力的相关研究越来越受关注^[4]。尤其是茶饮料的盛行,人们开始关注饮茶以改善身体健康。其中茯砖茶因含有独特的“金花菌”,被广泛关注。

金花菌又名冠突散囊菌(*Eurotium Cristatum*),是茯砖茶中主要的益生菌,在形成过程中通过对茶多酚的生物转化,生成多种生物活性物质,使得茯砖茶具有调节机体免疫、抗氧化、抗菌抗病毒等功效^[5]。吴香兰等^[6]报道了茯砖茶水提取物可通过调节小鼠血清中白介素-2(IL-2)来影响小肠黏膜 sIgA 的分泌,调节肠道菌群平衡以改善小鼠肠道局部的免疫功能;且在一定剂量的茯砖茶水提取物下,能提高巨噬细胞的吞噬功能,增强小鼠的非特异性免疫^[7]。茯砖茶提取液可增强免疫力可能与冠突散囊菌、茶多酚有关。茶多酚具有抗氧化、抗炎作用,可抑制

基金项目:湖南省教育厅科学研究项目(编号:22C1455)

作者简介:彭颖(1987—),女,长沙商贸旅游职业技术学院讲师,硕士。E-mail:631362091@qq.com

收稿日期:2022-09-07 改回日期:2023-05-06

小鼠肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 的表达,调节 IL-2、IL-6 等炎症因子的表达与释放,进而促进小鼠受伤后的免疫应答^[8]。课题组^[9]前期研究表明,冠突散囊菌发酵液可通过刺激小鼠 T 淋巴细胞分泌细胞因子 IL-2 来增强小鼠免疫功能。近年来,关于茶多糖、茶多酚等生物活性物质的降脂减肥功效研究较多,但关于金花菌发酵液添加茶多酚在减轻免疫器官损伤和预防被抑制的免疫反应方面的研究尚未见报道。

研究拟采用环磷酰胺诱导建立小鼠免疫功能低下模型,用不同浓度冠突散囊菌发酵液与茶多酚配伍干预 15 d,检测小鼠的血细胞、脾脏指数、IL-2、迟发型变态反应等多个免疫学评价指标,初步探讨此干预方法在小鼠体内发挥的免疫调节作用,旨在为开发保健茶饮提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

茶多酚:含儿茶素>80%,EGCG>50%,长沙飞拓植物制品有限公司;

冠突散囊菌:从湖南省益阳市茶厂茯砖茶中分离,保存于湖南农业大学食品科学技术学院;

环磷酰胺:上海凯洋生物技术有限公司;

绵羊红细胞、豚鼠血清:长沙维尔生物科技有限公司;

印度墨汁:北京索宝来科技有限公司;

小鼠 TNF- α 及 IL-2 ELISA 试剂盒:长沙达尔锋生物科技有限公司;

碳酸钠及其他化学试剂:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

雄性昆明小白鼠:体重(20±1) g,生产许可证号为 SCXK(湘)2019-0004,湖南斯莱克景达实验动物有限公司。

1.2 主要仪器

霉菌培养箱: MJ-150(F)-I 型,上海一恒科技有限公司;

可见分光光度计: 7230G 型,上海佑科仪器仪表有限公司;

电子天平: FA224L 型,上海舜宇恒平科学仪器有限公司;

全自动五分类血液细胞分析仪: BC-6000 型,深圳开立生物医疗科技股份有限公司;

酶标仪: WD-2103A 型,杭州汇尔仪器设备有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 冠突散囊菌发酵液制备 用接种针接种一环冠突散囊菌至 M40Y 液体培养基,28 ℃ 恒温摇床下 150 r/min 培养 10 d,将发酵完成的组织液进行破碎匀浆,即为高剂量冠突散囊菌原液(质量浓度为 21.2 mg/mL)。将原液

用无菌蒸馏水分别稀释 2,4 倍,所得溶液即为中剂量(10.6 mg/mL)和低剂量(5.3 mg/mL)冠突散囊菌发酵液,于 4 ℃ 贮藏备用。

1.3.2 冠突散囊菌与茶多酚混合物制备 确定茶多酚最佳灌胃剂量为 400 mg/kg·BW^[10]。将 600 mg 的茶多酚分别加入 30 mL 低、中、高剂量的冠突散囊菌发酵液中,并用无菌玻璃棒充分搅拌至茶多酚完全溶解,即配成低、中、高剂量冠突散囊菌与茶多酚混合物,于-20 ℃ 贮藏待用。

1.3.3 试验设计 小鼠于(20±2) ℃、湿度 55%~65% 下适应性喂养 1 周,期间可自由摄食和饮水。将 36 只小鼠随机分为 6 组,每组 6 只,分别是正常组(N 组)、模型组(C 组)、茶多酚组(T 组)、低剂量冠突散囊菌+茶多酚组(TL 组)、中剂量冠突散囊菌+茶多酚组(TM 组)、高剂量冠突散囊菌+茶多酚组(TH 组)。试验前 3 d,正常组小鼠每天腹腔注射 0.2 mL 生理盐水,其他组每天腹腔注射 0.2 mL 环磷酰胺(80 mg/kg·BW)以建立免疫低下模型。第 4~18 天,试验组(T 组、TL 组、TM 组、TH 组)每天灌胃 0.4 mL 相应溶液,模型组和正常组每天灌胃等体积无菌蒸馏水,试验期间各组小鼠自由饮水和采食。干预试验结束后,称重,眼球采血于抗凝管,随后颈椎脱颈处死,取出完整的脾脏和肝脏。

1.3.4 血液检测 小鼠干预结束后,隔日取眼球血于抗凝管,在全自动五分类血液细胞分析仪中检测血液指标,包括红细胞(RBC)、白细胞(WBC)及血小板(PLT)含量。每组 6 个重复。

1.3.5 脾脏指数测定 小鼠处死后,收集脾脏并用生理盐水洗净,用滤纸拭去组织表面多余水分并称重。使用处死时小鼠体重计算其相对重量,每组 6 个重复。并按式(1)计算脾脏指数^[11]。

$$I = \frac{G_1}{G_2}, \quad (1)$$

式中:

I ——脾脏指数,mg/g;

G_1 ——脾脏重量,mg;

G_2 ——体重,g。

1.3.6 碳廓清试验 参照陈汀等^[12]的方法并修改。小鼠末次灌胃 1 h 后,经尾静脉注射 0.1 mL/10 g 的印度墨汁。等待 2,10 min 后,从眼内眦静脉丛取血 20 μ L,并立即将其加入到 2 mL 0.1% 的 Na₂CO₃ 溶液中,每组 6 个重复。用酶标仪测定 OD_{600 nm} 值,以吞噬系数表示小鼠碳廓清能力,按式(2)、式(3)计算相关系数。

$$K = \frac{\lg OD_1 - \lg OD_2}{\Delta t}, \quad (2)$$

$$a = \left(\frac{G_2}{G_1 + G_3} \right) \times K \times \frac{1}{3}, \quad (3)$$

式中:

K ——碳粒廓清指数;

OD_1 、 OD_2 ——等待 2, 10 min 时, 血液样本所测的 $OD_{600\text{ nm}}$ 值;

Δt ——两次取血样的时间差, min;

a ——吞噬系数;

G_3 ——肝脏重量, mg。

1.3.7 半数溶血值测定 小鼠末次灌胃 1 h 后, 经腹腔对每只小鼠注射 0.2 mL 体积分数为 2% 的 SRBC 进行免疫。4 d 后, 摘眼球取血, 室温静置 1 h 后离心 (2 000 r/min 离心 10 min), 收集血清, 每组 6 个重复。按式 (4) 计算小鼠半数溶血值^[13]。

$$HC_{50} = \frac{OD_3 \times n}{OD_4} \quad (4)$$

式中:

HC_{50} ——半数溶血值;

OD_3 ——450 nm 处样本光密度值;

OD_4 ——450 nm 处 SRBC 半溶血时的光密度值;

n ——稀释倍数。

1.3.8 迟发型变态反应 (DTH) 测定 采用足趾增厚法^[14]。小鼠灌胃结束后, 经小鼠腹腔注射 0.2 mL 体积分数为 2% 的 SRBC 致敏 4 d, 取小鼠左后足趾测量其厚度, 重复测 3 次。于同一部位注射 20 μ L 体积分数为 20% 的 SRBC, 24 h 后测量左后足趾厚度, 重复测 3 次。用攻击

前后同一部位足趾厚度差表示迟发型变态反应程度, 每组 6 个重复。

1.3.9 细胞因子测定 采用双抗体夹心 ELISA 法测定血清 IL-2 和 TNF- α 质量浓度, 根据试剂盒说明书进行操作, 每组 6 个重复。

1.3.10 数据分析 结果用平均数 $\pm$ 标准差表示, 采用 SPSS 25.0 软件对多组计量数据进行单因素方差分析, 组间比较采用 t 检验, 字母不同表示组间差异显著 ($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 对小鼠外周血细胞数的影响

由图 1 可知, 与 N 组相比, C 组小鼠在 WBC 水平上显著下降 ($P < 0.05$), 说明环磷酰胺免疫抑制模型建模成功。相对 C 组, TL、TM、TH 组的小鼠白细胞数目显著提高, 但对 RBC、PLT 水平无明显作用。张敏佳等^[15]研究表明, 环磷酰胺致使小鼠外周 WBC 计数显著下降, 但经豌豆脐干干预后可恢复该指标水平。用茶多酚干预免疫低下小鼠仅对白细胞有显著提升 ($P < 0.05$), 而对红细胞及血小板无明显影响, 与肖红艳等^[16]的结果一致。说明茶多酚对血细胞无负面作用, 不影响动物健康, 茶多酚能提高免疫抑制小鼠 WBC 水平恢复, 但与不同浓度的冠突散囊菌之间无协同作用。

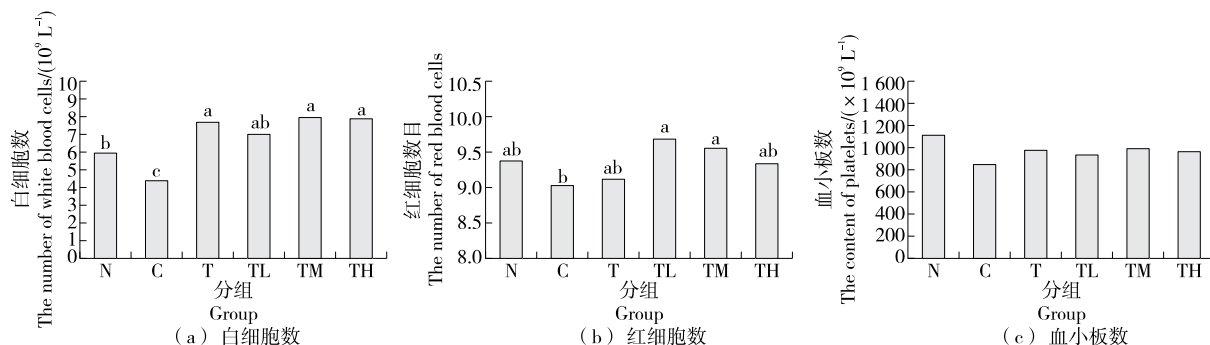


图 1 冠突散囊菌发酵液配伍茶多酚对小鼠外周血细胞计数的影响

Figure 1 Effects of tea polyphenols combined with *E. cristatum* fermentation broth on peripheral blood cell count in mice

2.2 对小鼠脾脏指数的影响

由图 2 可知, 与 N 组相比, C 组及试验组小鼠的脾脏指数均显著升高 ($P < 0.05$)。与 C 组相比, 试验组小鼠的脾脏指数无显著性变化。长期使用环磷酰胺会导致免疫细胞发育受阻, 并对肝、肾等器官造成损伤^[17]。徐光沛等^[18]证实了环磷酰胺对脾脏器官存在生物毒性, 降低了小鼠的脾脏指数。这可能是机体免疫应激的一种表现, 在短时间刺激下, 激化机体的免疫防御反应, 诱导免疫器官产生免疫因子来抵御外来刺激^[19]。也可能是环磷酰胺在给药后期, 小鼠出现免疫亢进现象, 导致免疫指标有回

升现象甚至超过正常水平^[20]。

2.3 对小鼠巨噬细胞吞噬功能的影响

由图 3 可知, 与 N 组相比, C 组小鼠巨噬细胞的吞噬指数显著下降 ($P < 0.05$), 说明环磷酰胺对小鼠的巨噬细胞功能具有抑制作用。T 组小鼠在茶多酚作用下, 提高了巨噬细胞的吞噬指数 ($P < 0.05$), 表明茶多酚能缓解环磷酰胺的免疫毒性。郭春宏等^[21]研究发现, 茶多酚对小鼠巨噬细胞具有显著增殖作用, 证实了茶多酚具有增强免疫的生物活性, 与试验结果一致。与 C 组相比, TL、TM 和 TH 组具有恢复吞噬指数的效果 ($P < 0.05$)。据

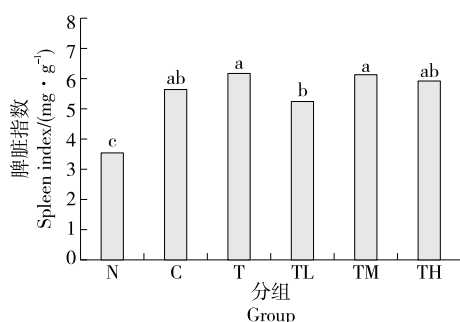


图2 冠突散囊菌发酵液配伍茶多酚对小鼠脾脏指数的影响

Figure 2 Effects of tea polyphenols combined with *E. cristatum* fermentation broth on spleen index in mice

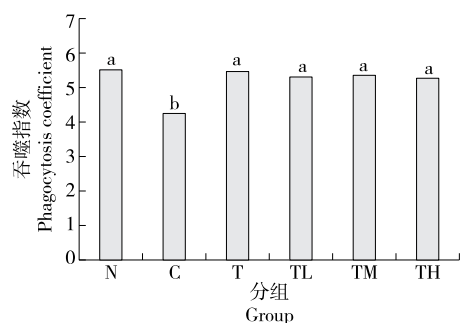


图3 冠突散囊菌发酵液与茶多酚配伍对环磷酰胺处理小鼠巨噬细胞免疫功能的影响

Figure 3 Effects of *E. cristatum* fermentation broth combination with tea polyphenols on the mononuclear macrophage immune function in cyclophosphamide-treated mice

文献^[22]报道,冠突散囊菌发酵液对小鼠巨噬细胞增殖有一定作用,且与木霉混合发酵对巨噬细胞的增殖效果更好。说明冠突散囊菌可提高小鼠的免疫活性,在益生菌或益生元的互作下保护小鼠的免疫功能更为显著。因此,冠突散囊菌与茶多酚互配组、茶多酚组均能明显改善环磷酰胺毒副作用,可提高小鼠的免疫防御作用。

2.4 对小鼠血清溶血素水平的影响

由图4可知,溶血素显著增加,提示机体体液免疫的防御能力增强。环磷酰胺显著降低了小鼠半数溶血值,相比N组下降了26.45% ($P < 0.05$),但T组与C组并无显著差异,可能是茶多酚对小鼠半数溶血值的恢复无明显作用。中、高剂量的冠突散囊菌与茶多酚复合干预后,小鼠能恢复半数溶血值水平,与C组相比,TM、TH组小鼠体内溶血素水平分别提高了21.11%,26.86%。前期研究^[9]表明,中、高剂量的冠突散囊菌发酵液有助于免疫抑制小鼠溶血素水平的恢复。李敏等^[14]研究发现,中、高剂量的茶多酚+灵芝、姬松茸、黄芪多糖复合剂具有升高半数溶血值的作用。综上,环磷酰胺抑制了小鼠血清中的

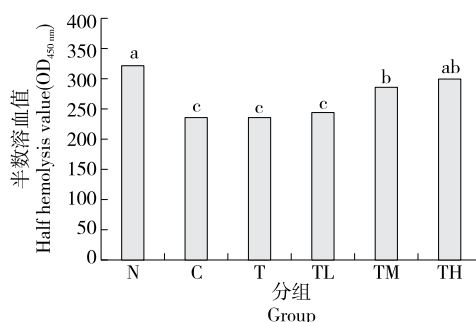


图4 冠突散囊菌与茶多酚配伍对环磷酰胺处理小鼠半数溶血值的影响

Figure 4 Effects of *E. cristatum* fermentation broth combination with tea polyphenols on the hemolysis test in cyclophosphamide-treated mice

溶血素水平,但需要喂食中、高剂量的冠突散囊菌与茶多酚复合物才能协助小鼠恢复溶血素水平,改善小鼠体液免疫功能。

2.5 迟发型变态反应变化

迟发型变态反应是以T细胞介导的超敏反应,通过给小鼠注入SRBC致敏,刺激T淋巴细胞增殖成致敏淋巴细胞,并部分分化成记忆细胞,当再次接受刺激时,记忆细胞增殖迅速,发生以单核细胞浸润为主的炎症反应,表现为小鼠足趾增厚^[23]。由图5可知,通过腹腔注射环磷酰胺后,小鼠的足趾厚度差显著低于正常组,说明注射环磷酰胺的小鼠已失去对抗SRBC的致敏攻击能力,与郑厚胜等^[24]的研究结果一致。采用茶多酚或冠突散囊菌和茶多酚复合物治疗免疫抑制小鼠,对小鼠的迟发型变态反应呈阳性,提示冠突散囊菌和茶多酚能有效对抗环磷酰胺的抑制作用,且高剂量的冠突散囊菌发酵液与茶多酚互配效果最好。茶多酚及其主要单体物质EGCG具有抗氧化、清除自由基、调节机体免疫等作用,可能通过增强宿主抗氧化能力,降低炎症反应而发挥免疫保护作用

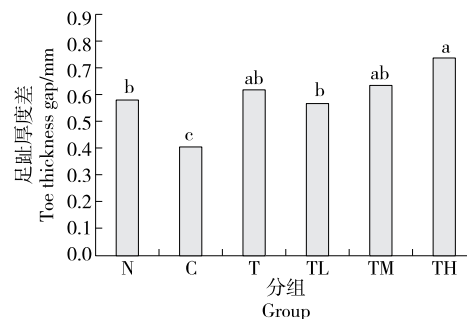


图5 冠突散囊菌发酵液与茶多酚配伍对环磷酰胺处理小鼠DTH的影响

Figure 5 Effects of *E. cristatum* fermentation broth combination with tea polyphenols on DTH in cyclophosphamide-treated mice

用^[14]。从冠突散囊菌发酵液中分离得到一类苯甲醛类衍生物 2-6-H-5-B, 在巨噬细胞体外炎症模型上被发现具有抗炎活性, 且浓度越大, 抗炎效果越好^[25]。因此 TH 组与 TL 组抗炎反应的差异, 可能是由于含有的抗炎物质浓度不同, 提示冠突散囊菌和茶多酚均能有效对抗环磷酰胺的免疫抑制作用。

2.6 对小鼠血清中 IL-2、TNF- α 水平的影响

由图 6 可知, 与 N 组相比, C 组小鼠血清中 IL-2、TNF- α 质量浓度降低, 与乔石等^[26]的结果类似。与 C 组相比, T、TL、TM 及 TH 组小鼠的 IL-2 水平均极显著提高 ($P < 0.05$), 而 T 组与 TL、TM、TH 组间无显著性差异, 说明冠突散囊菌与茶多酚可显著提高免疫低下小鼠的 IL-2 水平。给予小鼠单一茶多酚的治疗, 不能提高 TNF- α 水平, 与 C 组相比, 甚至还降低了其 TNF- α 水平。而冠突散囊菌的添加可缓解茶多酚对 TNF- α 的抑制作用, 使小鼠的 TNF- α 质量浓度提高至正常水平。综上, 冠突散囊菌对提高小鼠细胞免疫的贡献值更大。

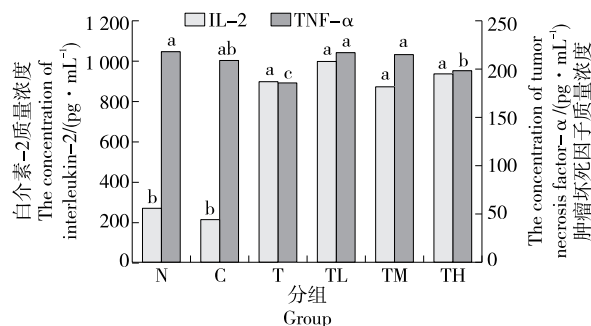


图 6 冠突散囊菌发酵液与茶多酚配伍对环磷酰胺处理小鼠细胞因子(IL-2, TNF- α)的影响

Figure 6 Effects of *E. cristatum* fermentation broth combination with tea polyphenols on cytokines (IL-2, TNF- α) in mice

3 结论

考察了冠突散囊菌与茶多酚复合物对环磷酰胺诱导小鼠免疫低下的影响。结果表明, 喂食各剂量冠突散囊菌发酵液与茶多酚复合物均可显著提高小鼠血液中红细胞、白细胞及血小板含量, 增强免疫抑制小鼠脾脏指数, 对巨噬细胞吞噬能力有促进作用, 表明冠突散囊菌发酵液与茶多酚复合物可以增强小鼠非特异性免疫功能。同时, 该复合物能显著增强免疫低下小鼠的迟发型变态反应及小鼠血清溶素水平, 增加血清中 IL-2 细胞因子水平, 提示冠突散囊菌与茶多酚复合物可提高小鼠的特异性免疫功能。综上, 冠突散囊菌与茶多酚复合物可在非特异性免疫及特异性免疫上均具有增强作用, 可能对于治疗免疫低下的相关疾病具有良好的治疗前景, 但对于其具体的作用机制还需深入研究。

参考文献

- [1] ZAHRA A, NEGAR S, FARNAZ Z, et al. Human neutrophil peptide 1 as immunotherapeutic agent against leishmania infected BALB/c mice [J]. PLoS Neglected Tropical Diseases, 2017, 11 (12): e0006123.
- [2] XU X G, HU J F, MA J X, et al. Essential roles of TIM-1 and TIM-4 homologs in adaptive humoral immunity in a Zebrafish model[J]. Journal of Immunology, 2016, 196(4): 1 686-1 699.
- [3] SEGURA E. Cross-presentation assay for human dendritic cells[J]. Methods in Molecular Biology, 2016, 1 423(2): 189-198.
- [4] CHEN M, ZHANG F, SU Y, et al. Immunomodulatory effects of egg white peptides on immunosuppressed mice and sequence identification of immunomodulatory peptides[J]. Food Bioscience, 2022, 49: 101873.
- [5] XIAO Y, ZHONG K, BAI J, et al. The biochemical characteristics of a novel fermented loose tea by *Eurotium cristatum* (MF800948) and its hypolipidemic activity in a zebrafish model[J]. LWT-Food Science and Technology, 2020, 117: 108629.
- [6] 吴香兰, 刘仲华, 曹丹, 等. 茯砖茶对小鼠肠道免疫功能调节作用的研究[J]. 茶叶科学, 2013, 33(2): 125-130.
- [7] 刘平, 李宗军, 许爱清. 茯砖茶水提物对大肠杆菌感染小鼠的免疫调节作用[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2011, 37 (5): 537-539, 566.
- [8] 赵航晔, 夏琛, 何普明, 等. 茶多酚抗炎和促外伤愈合作用及其机制[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2021, 47(1): 118-126.
- [9] 彭颖. 冠突散囊菌发酵液对免疫抑制小鼠免疫学指标的影响[J]. 食品与机械, 2021, 37(8): 169-173.
- [10] 申开泽, 万庆家, 熊宇, 等. 芦荟复配茶多酚和维生素 C 对小鼠免疫力的影响[J]. 农产品加工, 2022(8): 12-14, 18.
- [11] KIM J W, CHOI J S, SEOL D J, et al. Immunomodulatory effects of kuseonwangdago-based mixed herbal formula extracts on a

- cyclophosphamide-induced immunosuppression mouse model [J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2018, 2018: 1-14.
- [12] 陈汀, 成旭东, 胡芳, 等. 扶正胶囊提取物对环磷酰胺诱导的免疫低下小鼠免疫调节作用研究[J]. 天津中医药大学学报, 2022, 41(4): 451-456.
- CHEN T, CHENG X D, HU F, et al. Study on immunomodulatory effect of fuzheng capsule extract on immunocompromised mice induced by cyclophosphamide[J]. Journal of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, 2022, 41(4): 451-456.
- [13] 赵雯, 刘伟贤, 张海斌, 等. 乳双歧杆菌 BL-99 以及副干酪乳酪杆菌 ET-22 增强小鼠免疫功能的研究[J]. 中国乳品工业, 2021, 49(11): 13-18.
- ZHAO W, LIU W X, ZHANG H B, et al. Effects of *Bifidobacterium Lactis* BL-99 and *Lactobacillus Paracasei* (*Lacticasei* *Bacillus* *Paracasei*) ET-22 on regulating immune function in mice[J]. China Dairy Industry, 2021, 49(11): 13-18.
- [14] 李敏, 王昶, 赵谋明. 灵芝、姬松茸、黄芪混合多糖配伍茶多酚复合剂免疫增强作用的研究[J]. 现代食品科技, 2009, 25(8): 885-888, 880.
- LI M, WANG J, ZHAO M M. Effects of a compound agent of *ganoderma lucidum*, *agaricus blazei*, tea polyphenols and *astragalus* on immune enhancement of mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2009, 25(8): 885-888, 880.
- [15] 张敏佳, 刘文颖, 贾福怀, 等. 豌豆肽对环磷酰胺致免疫抑制小鼠免疫功能的影响[J]. 食品与发酵工业, 2018, 44(8): 135-140.
- ZHANG M J, LIU W H, JIA F H, et al. Effect of pea peptide on immune function in immunosuppressed mice induced by cyclophosphamide[J]. Food and Fermentation Industries, 2018, 44(8): 135-140.
- [16] 肖红艳, 屈金涛, 凌浩, 等. 茶多酚对奶山羊生产性能、血液指标和抗氧化功能的影响[J]. 动物营养学报, 2021, 33(8): 4 533-4 540.
- XIAO H Y, QU J T, LIN H, et al. Effects of tea polyphenols on performance, blood indexes and antioxidant function of dairy goats [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2021, 33(8): 4 533-4 540.
- [17] 赵培培, 嵯映辰, 赵雪, 等. 环磷酰胺在节律性化疗中的研究进展[J]. 中国医院药学杂志, 2018, 38(1): 104-108.
- ZHAO P P, ZHUO Y C, ZHAO X, et al. Research progress of cyclophosphamide in metronomic chemotherapy [J]. Chinese Journal of Hospital Pharmacy, 2018, 38(1): 104-108.
- [18] 徐光沛, 蒋平, 何燕飞, 等. 构树叶粗多糖对环磷酰胺诱导免疫抑制小鼠免疫功能的影响[J]. 西北农业学报, 2022(7): 1-8.
- XU G P, JIANG P, HE Y F, et al. Effects of crude polysaccharide from leaves of a tree on immune function in immunosuppressive mice induced by cyclophosphamide[J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2022(7): 1-8.
- [19] 李波. 香菇多糖和黄芪多糖对小鼠免疫平衡影响的研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2011: 22-24.
- LI B. The lentinan and astragalus polysaccharides influenced the immunologic balance in mice model [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2011: 22-24.
- [20] 龚蕾, 郎茜, 马莎, 等. 单次大剂量和多次小剂量环磷酰胺腹腔注射对小鼠免疫抑制模型的影响[J]. 中国畜牧兽医, 2021, 48(10): 3 787-3 794.
- GONG L, LANG X, MA S, et al. Effect of single high dose and multiple low dose cyclophosphamide abdominal injection on immunosuppressive model in mice[J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2021, 48(10): 3 787-3 794.
- [21] 郭春宏, 李正翔. 茶多酚免疫药理作用研究[J]. 天津医科大学学报, 2009, 15(1): 102-104.
- GUO C H, LI Z X. Study of the immunopharmacological effects of teapolyphenols[J]. Journal of Tianjin Medical University, 2009, 15(1): 102-104.
- [22] 范冬月, 李倩, 邹先伟, 等. 冠突散囊菌与木霉混合发酵液醇提物对小鼠巨噬细胞 RAW264.7 免疫调节的影响[J]. 中国酿造, 2021, 40(5): 37-42.
- FAN D Y, LI Q, ZOU X W, et al. Effect of ethanol extracts from co-fermentation liquid of *Eurotium cristatum* and *Trichoderma* sp. on immunoregulation of mouse macrophages RAW264.7 [J]. China Brewing, 2021, 40(5): 37-42.
- [23] 谷仿丽, 黄仁术, 刘玉曼. 金荞麦多糖对环磷酰胺致免疫低下小鼠免疫功能的影响[J]. 中药材, 2015, 38(2): 370-372.
- GU F L, HUANG R H, LIU Y M. Effect of buckwheat polysaccharide on immune function of immunocompromised mice induced by cyclophosphamide [J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2015, 38(2): 370-372.
- [24] 郑厚胜, 郑斯文, 王英平, 等. 人参皂苷 Rg3 对环磷酰胺致免疫功能低下小鼠的免疫调节作用[J]. 中成药, 2021, 43(11): 3 202-3 206.
- ZHEN H S, ZHEN S W, WANG Y P, et al. Immunomodulatory effect of ginsenoside Rg3 on immunocompromised mice induced by cyclophosphamide [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2021, 43(11): 3 202-3 206.
- [25] 徐艳明, 黄壹敏, 石杰, 等. 冠突散囊菌来源的 2-6-H-5-B 化合物的抗炎作用及机制研究[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(2): 161-167.
- XU Y M, HUANG Y M, SHI J, et al. Study on anti-inflammatory activity and mechanism of compound 2-6-H-5-B from *Eurotium cristatum* [J]. Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy, 2022, 39(2): 161-167.
- [26] 乔石, 闵思明, 胡惠宇, 等. 太子参参须多糖对免疫抑制小鼠的保护作用[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2022, 51(5): 697-704.
- QIAO S, MIN S M, HU H Y, et al. Protective effect of *radix pseudostellariae* fibrous root polysaccharide on immunosuppressive mice [J]. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition), 2022, 51(5): 697-704.