

## 灰树花菌丝体胞内多糖对于小鼠的免疫调节作用

朱 晗 何 欣 李长田\*

(吉林农业大学 食药菌教育部工程研究中心,长春 130093)

**摘 要** 为研究灰树花发酵产物提取出的胞内多糖的免疫活性,采用 50 只雄性昆明小鼠,随机分为 5 组,每组 10 只,设 100、200 和 400 mg/(kg·d) 3 个水平处理组,并设阳性对照组(黄芪多糖 400 mg/(kg·d))和阴性对照组(生理盐水),饲养 30 d 后观察多糖对细胞免疫功能的影响。通过流式细胞仪检测脾细胞表面分子的 CD4 和 CD8 及对 T 淋巴细胞增殖的影响;用实时荧光定量 PCR(RT-PCR) 检测其细胞因子 IL-6、IL-8、CRP 和 TNF- $\alpha$  的表达。结果表明:灰树花胞内多糖使小鼠脏器显著增大( $P \leq 0.05$ );并显著增加了脾淋巴细胞的增殖能力( $P \leq 0.05$ );对于 T 淋巴细胞亚群中免疫细胞 CD4/CD8 的比值随着用药量的增加而提升( $P \leq 0.05$ );同时小鼠肠道中的细胞因子 IL-6、IL-8 和 TNF- $\alpha$  的分子表达量起到了上调作用( $P \leq 0.05$ );并且下调了炎症因子 CRP 的分子表达量( $P \leq 0.05$ )。灰树花菌丝体胞内多糖能使小鼠体内免疫器官增大,免疫细胞分泌增多,相关免疫因子表达量增加。

**关键词** 灰树花;胞内多糖;免疫调节;细胞亚群;RT-PCR

中图分类号 R392.12

文章编号 1007-4333(2017)03-0109-07

文献标志码 A

## Regulating effect of intracellular polysaccharide extracted from *Grifola frondosa* fermentation on mice's immune function

ZHU Han, HE Xin, LI Changtian\*

(Engineering Research Center of Chinese Ministry of Education for Edible and Medicinal Fungi,  
Jilin Agricultural University, Changchun 130093, China)

**Abstract** To study the immune activity of extracted from fermentation products of *Grifola frondosa*, fifty male Kunming mice were randomly divided into five groups with ten mice in each. Three groups were treated with intracellular polysaccharide at 100, 200 and 400 mg/(kg·d) levels respectively, a positive control group treated with *Astragalus* polysaccharides at 400 mg/(kg·d) and a negative control group was given normal saline. The effects of polysaccharide on cellular immunity function in mice were observed after 30 days. The effects of CD4 and CD8 on the proliferation of T lymphocytes were detected by flow cytometry. The expression of IL-6, IL-8, CRP and TNF- $\alpha$  was detected by real-time fluorescence quantitative PCR (RT-PCR). *G. frondosa* intracellular polysaccharides enhanced the proliferation of spleen lymphocyte ( $P \leq 0.05$ ). The proportion of T lymphocyte subsets, CD4/CD8 in different treatments, was increased with the dose of intracellular polysaccharide. The expressions of IL-6, IL-8 and TNF- $\alpha$  were up-regulated in intestinal tract ( $P \leq 0.05$ ), and the expression of CRP was decreased ( $P \leq 0.05$ ). In conclusion, the intracellular polysaccharides from the mycelium of *G. frondosa* could enhance the immune organs in mice and increase the secretion of the immune cells and the expression of related factors.

**Keywords** *Grifola frondosa*; polysaccharide; immune intracellular regulation; cell subpopulation; RT-PCR

灰树花(*Grifola frondosa*)属于多孔菌科树花属菌类作物,俗称云蕈、舞茸<sup>[1]</sup>。其主产地位于我国吉林省长白山区、河北、四川、浙江、福建、江西和安

徽等地。从 20 世纪 70 年代日本开始对灰树花进行人工驯化栽培,20 世纪 80 年代初我国开始对其进行人工驯化栽培。作为一种重要的食药菌,灰树

收稿日期:2016-03-30

基金项目:国家科技支撑计划项目(2013BAD16B05);吉林省财政厅科研育种专项资金项目(201305)

第一作者:朱晗,硕士研究生,E-mail:tino0102@163.com

通讯作者:李长田,教授,主要从事免疫调节方面的研究,E-mail:changtianli@126

花具有减少胰岛素抵抗,增强人体对胰岛素的敏感度,增强人体控制血糖的功能,同时还有着抑制脂肪细胞堆积,降血压,增强机体免疫力,抑制艾滋病<sup>[2]</sup>等效果。

绝大多数的食药菌中均富含多糖类成分。多糖的药理活性广泛,并且具有一定的免疫调节活性,是一类非特异性的免疫调节剂<sup>[3]</sup>。多糖不仅可以激活 T、B 淋巴细胞、巨噬细胞(M $\Phi$ )、自然杀伤细胞(NK)、细胞毒 T 淋巴细胞(CTL)、淋巴因子激活的杀伤细胞(LAK)、树突状细胞(DC)等免疫细胞<sup>[4-7]</sup>,还能促进细胞因子生成,激活补体系统,促进抗体产生,对免疫系统发挥多方面的调节作用<sup>[8-9]</sup>。灰树花的多糖组分以  $\beta$ -葡聚糖为主,而其中具有最好的抗癌活性、带有 6 条支链的  $\beta$ -(1,3)-葡聚糖占有相当大的比重,并且其具有很好的调节免疫功能的效用<sup>[10]</sup>。但是目前灰树花的栽培周期较长,栽培要求较高,产量较低,且有效成分含量不稳定,提取不易<sup>[11]</sup>。目前,有关灰树花的子实体的药理作用研究较多,但对于其发酵产物的药理作用研究报道较少。本研究采用提取灰树花发酵产物中的多糖,对小鼠进行灌胃,最后进行检测,从灰树花发酵产物的菌丝体中提取得到胞内多糖,对免疫系统健全的小鼠(SPF 级)进行不同剂量的用药,观察小鼠体内免疫指标的变化及其体内免疫因子的基因表达量差异,旨在为灰树花菌丝体胞内多糖免疫效果的深入研究奠定基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料、试剂

试验用灰树花菌株保存在吉林农业大学食药菌教育部工程研究中心,灰树花发酵采用大型发酵罐,菌丝体胞内多糖的提取方法参照文献<sup>[12]</sup>有关灰树花胞内多糖的提取方法并加以优化。热提取时间为 2.5 h,温度为 90  $^{\circ}\text{C}$ ,乙醇为 85%,后经离心后得到灰树花胞内粗多糖。试验用鼠购自长春高新医学实验动物中心的 4~5 周龄的昆明小鼠。CCK-8、刀豆蛋白 A(美国 MP Biomedicals 生物医药公司);RPMI1640 培养液、PBS 缓冲液(美国 Hyclone 公司);胎牛血清(美国 Gibco 公司)。总 RNA 提取试剂 Trizol(日本 TaKaRa 公司),逆转录试剂盒(中国 Transgene 公司),SYBR Green 荧光染料(日本 TaKaRa 公司);CD4-PE 和 CD8-APC 天津三箭生物试剂有限公司。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 试验动物

50 只雄性昆明小鼠(4~5 周龄,SPF 级),饲养于温度(22 $\pm$ 2)  $^{\circ}\text{C}$ ,相对湿度 50%~60%的环境中的 SPF 级实验室,试验过程中自由饮食。动物适应环境 3 d 后,随机分为 5 组:阳性对照组,阴性对照组,高、中、低 3 个试验组,每组 10 只小鼠。对所有小鼠每隔 24 h 进行 1 次灌胃。阳性对照组以黄芪多糖灌胃,每次剂量为 400 mg/kg,共灌胃 30 d;阴性对照组为生理盐水灌胃;灰树花多糖高、中、低实验组分别以 400、200 和 100 mg/kg 进行灌胃,在最后 1 次灌胃后禁食 24 h,颈椎脱臼处死,摘取小鼠脾脏、胰腺和小肠,小肠放置于-80  $^{\circ}\text{C}$ 保存。

#### 1.2.2 测定脏器指数

取得各组别小鼠的脾脏及胰腺,去除筋膜和脂肪组织后称重,根据公式计算脾指数和胸腺指数(免疫器官指数=免疫器官重(mg)\体重(g))。

#### 1.2.3 脾淋巴细胞增殖测定<sup>[10]</sup>

取各组小鼠脾脏制备脾淋巴细胞悬液(细胞数为  $1\times 10^7$  个/mL),离心稀释吹打成  $4\times 10^4$  /mL,将其加入 96 孔细胞培养板,每孔再加入培养液 100  $\mu\text{L}$ ,每组设置 8 个重复,培养 24 h 后加入 cck-8 溶液 10  $\mu\text{L}$  将其放入 37  $^{\circ}\text{C}$ ,5%CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 4 h 后取出。在 450 nm 波长处测定 OD 值。

#### 1.2.4 T 淋巴细胞亚群测定<sup>[13]</sup>

取小鼠脾脏置于含有 5%胎牛血清 RPMI 1640 培养液中,300 目不锈钢网碾磨滤过洗涤,离心后弃其上清。取 100  $\mu\text{L}$  细胞溶液,分别加入 CD4-PE、CD8-APC 0.25  $\mu\text{L}$ ,4  $^{\circ}\text{C}$  下闭光孵育 1 h 后,离心后弃上清,用清水清洗 3 遍后上机检测。

#### 1.2.5 实时荧光定量 PCR 法<sup>[14]</sup>

剪取小鼠肠道上端无污染物部分,液氮研磨,通过 Trizol 法提取 RNA,并按照试剂盒操作反转录为 cDNA。采用 RT-PCR 两步法进行表达量分析。以  $\beta$ -actin 为内参,cDNA 为模板,Takara 公司生产的 SYBR Green I 作为反应体系,RT-PCR 进行引物拓增。引物序列见表 1。反应体系采用 20  $\mu\text{L}$  体系。试验进行 3 组重复。

### 1.3 统计学处理

数据的统计分析用 SPSS 21.0 版本,采用方差分析,但需按方差分析的程序先进行方差整齐性检验,方差整齐,计算 P 值。各组均数间差异无显著性; $P\leq 0.05$ ,可用多个试验组与一个对照组间均数的两两比较方法进行统计。

表 1 小鼠免疫相关基因的引物名称及序列

Table 1 Primers name and sequence of mouse immune related genes

引物 Primer	正向引物 Forward primer	反向引物 Reverse primer
$\beta$ -actin	CGCCATGGATGATGATATTGC	AAGCCGGCCTTGACAT
CRP	GGCGGGCACTGAACTATAAAG	TCACAGAACAGACCTACAACATC
IL-6	ACCGCTATGAAGTTCCTCTC	CTCTGTGAAGTCTCCTCTCC
IL-8	CTGCTATGAGGATGTAGGTAAC	AGGACGACAGCGAAGATG
TNF- $\alpha$	CGTGGAAGTGGCAGAAGAG	ACAAGCAGGAATGAGAAGAGG

## 2 结 果

### 2.1 脏器指数

由表 2 可知，与阴性对照组相比，阳性对照组和高、中 2 组试验剂量组的脾脏指数和胸腺指

数明显增高，说明黄芪多糖和灰树花高剂量组和中剂量组多糖对于小鼠免疫功能有很好的增强效果 ( $P < 0.05$ )；灰树花低剂量组对于小鼠免疫功能有增加的趋势，但是从统计学来说并无显著性。

表 2 小鼠的脏器指数

Table 2 Organ index of mice

组别 ( $n=10$ ) Group	剂量/(mg/kg) Dose	灌胃后 After irrigation	
		脾 Spleen	胰腺 Pancreas
阳性	400	5.98 ± 1.05 *	2.08 ± 0.42 *
阴性	0	4.49 ± 0.92	1.58 ± 0.62
高剂量	400	6.03 ± 1.30 *	2.21 ± 0.43 *
中剂量	200	5.66 ± 1.34 *	1.98 ± 0.32 *
低剂量	100	5.19 ± 1.26	1.66 ± 0.72

注：\* 表示与对照组差异具有显著性  $P < 0.05$ 。下同。

Note: \* means significant difference at  $P < 0.05$  compared to normal control. The same as below.

### 2.2 脾淋巴细胞增殖测定

脾淋巴细胞对于生物机体免疫起到了重要的作用，受到抗原激活即分化增殖，产生效应细胞，行使其免疫功能。

由酶标仪测定的 OD 值整理后得出上表所列数据，从中可知相比较于空白组来说，阳性组、高剂量组和中剂量组的 OD 值出现了明显的增强趋势，其测量得到 OD 值均存在显著性差异 ( $P \leq 0.05$ )，但是低剂量组虽然有少量增加的趋势，却不存在显著性差异。证明适量的灰树花胞内多糖对于小鼠体内脾淋巴细胞增殖具有显著的增强作用，而低剂量的则从数据中无法判定是否有影响机体免疫的效果 (图 1)。

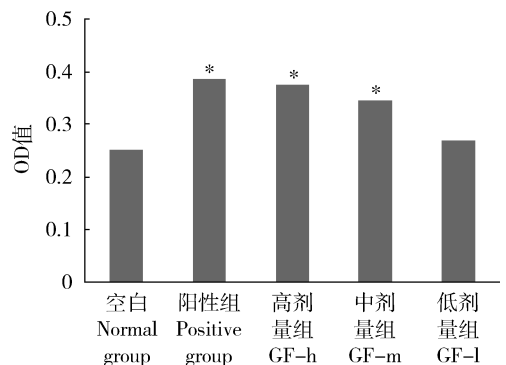


图 1 灰树花多糖对 Con A 诱导的小鼠淋巴细胞转化的影响 ( $x \pm s$ )

Fig. 1 Effect of intracellular polysaccharide on Con A-induced transformation of lymphocyte ( $x \pm s$ )

### 2.3 T淋巴细胞亚群测定

T淋巴细胞是生物体内重要的免疫指标,根据其细胞膜抗原不同,采用单克隆抗体将其区分为若干个细胞亚群。而 $CD4^+$ 、 $CD8^+$  2个细胞亚群可以直接反应生物体的免疫能力。另外,

$CD4^+$ / $CD8^+$ 的比值也被应用于衡量机体免疫平衡水平,对于人体的比值正常值的参考数值:1.00~2.87,高于或低于此数值均为机体免疫失衡的表现<sup>[14]</sup>。

如图2可知,在经过流式细胞的检测之后,相比

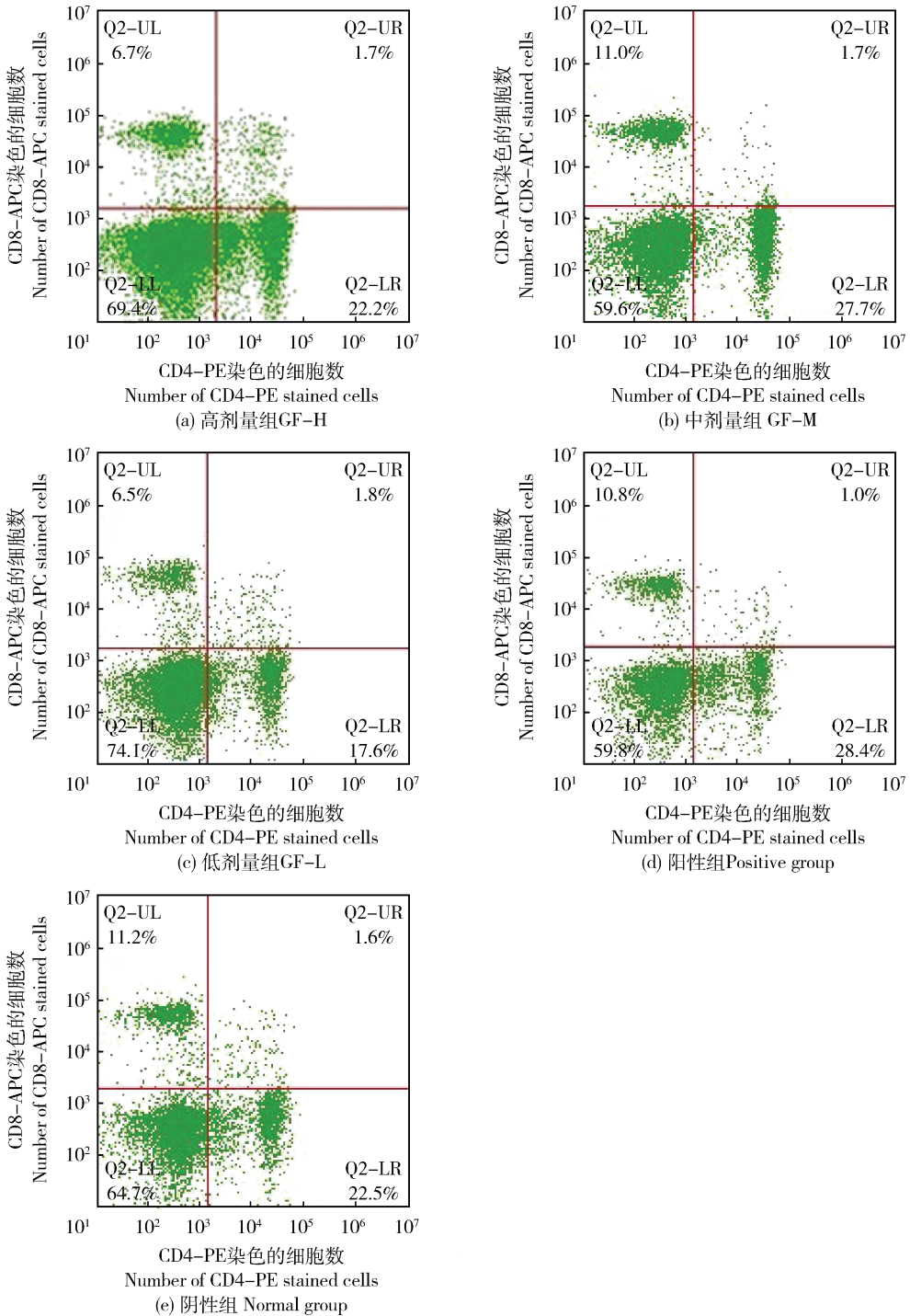


图2 流式细胞仪检测脾脏中 $CD4^+$ 、 $CD8^+$

Fig. 2 Using the flow cytometry to detect the  $CD4^+$  and  $CD8^+$  in the spleen

较于阴性对照组,阳性对照组和高、中、低 3 个灰树花多糖剂量组的 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 的比值均有不同程度的增高,且均具有统计学意义,证明灰树花胞内多糖

对于小鼠体内 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> 免疫细胞的数量有着很大的影响,而且对于其比值有着调控作用,对于机体免疫能力起到了良好的作用(表 3)。

表 3 各组小鼠脾细胞的 CD4<sup>+</sup>,CD8<sup>+</sup> 和 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>  
Table 3 CD4<sup>+</sup>,CD8<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> of spleen cells of mice in each group

组别(n=6) Groups	CD4 <sup>+</sup> -PE	CD8 <sup>+</sup> -APC	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>
阳性	28.7±0.66 <sup>#</sup>	10.8±1.25 <sup>*</sup>	2.67±0.087 <sup>*</sup>
阴性	22.5±0.94	10.5±1.16	2.16±0.055
高剂量	21.7±0.83	7.5±1.20 <sup>*</sup>	2.79±0.095 <sup>*</sup>
中剂量	27.4±1.30 <sup>#</sup>	11.1±0.95 <sup>*</sup>	2.46±0.089 <sup>*</sup>
低剂量	18.3±0.96 <sup>*</sup>	7.5±1.54 <sup>*</sup>	2.44±0.041 <sup>*</sup>

注: # 表示与对照组差异具有显著性 P<0.01。下同。

Note: # means significant difference at P<0.01 compared to normal control.

The same as below.

### 2.4 IL-6,IL-8,TNF-α 和 CRP 基因在小鼠肠道组织中的表达

得到的原始数据经过公式 2<sup>-ΔCT</sup> 的计算后,相比较于阴性组,阳性组,高剂量组,中剂量组和低剂量组的 IL-6,IL-8 和 TNF-α 这 3 个基因的相对表达

量均有明显增高的趋势,且存在统计学意义(P<0.05)(表 4)。而 CRP 作为免疫因子中的炎症因子,相比较于阴性对照组,阳性组,多糖高剂量组和中剂量组则存在着显著轻微下调的趋势(P≤0.05),多糖低剂量组则差异不大,无显著性(P≥0.05)。

表 4 4 个目的基因在肠道中的表达

Table 4 Expression of four genes in intestinal tract

组别 Groups	IL-6	IL-8	TNF-α	CRP
阳性	2.274±0.019 <sup>#</sup>	1.992±0.056 <sup>#</sup>	2.074±0.094 <sup>#</sup>	0.903±0.068 <sup>*</sup>
阴性	1.000±0.005	1.000±0.009	1.000±0.010	1.000±0.017
GF-H	2.028±0.021 <sup>#</sup>	1.789±0.061 <sup>#</sup>	1.607±0.011 <sup>#</sup>	0.923±0.061 <sup>*</sup>
GF-M	2.041±0.045 <sup>#</sup>	1.691±0.121 <sup>#</sup>	1.315±0.083 <sup>*</sup>	0.945±0.030 <sup>*</sup>
GF-L	1.922±0.091 <sup>#</sup>	1.668±0.521 <sup>*</sup>	1.294±0.071 <sup>*</sup>	0.967±0.057

### 3 讨论

1)真菌多糖在 20 世纪 50 年代初期被人们发掘作为药物进行研究,后来又逐渐发现了其增强免疫力的作用。至目前为止,人们发现灰树花多糖除含有 β1,6-支链 β1,3-葡聚糖外,含有大量高度分支化的 β1,3-支链 β1,6-葡聚糖,这种特定的结构使其拥有更强的生物调节活性<sup>[15]</sup>。而对于灰树花多糖的

研究发现,它有着激活机体免疫细胞群,如 T 淋巴细胞、巨噬细胞和自然杀伤细胞的功效,并对于多种细胞因子的分泌有着促进作用,如 IL-2、IL-8、IL-12、INF 和 TNF-α 等,同时对于肿瘤局部免疫反应起到增强作用,从而抑制肿瘤发生和转移<sup>[16]</sup>。通过试验证明了灰树花菌丝体胞内多糖具有着增强机体免疫力,调节机体免疫系统的功效。在喂药期间小鼠的状态均保持良好,取样后的统计结果证明

试验组小鼠相比较于空白对照组小鼠身体机能有着显著的增强,脏器指数增大,淋巴细胞分泌增加,免疫因子表达量增加。

2) T淋巴细胞受有丝分裂原 cck-8 刺激后能发生增殖反应,活细胞特别是增殖细胞中的脱氢酶可将 cck-8 还原为具有高度水溶性的黄色甲瓩产物,生成的甲瓩产物的数量与活细胞的数量成正比,其光密度值可以反应细胞的增殖情况<sup>[14]</sup>。本试验中,多糖可以刺激小鼠 T 淋巴细胞的增殖作用,并且呈现良好的量效关系,其作用机制可能是该多糖对于 IFN、IL2 和 IFN- $\gamma$  等细胞因子的活性产生了影响,而这些细胞因子的变化都能够促进 T 淋巴细胞增殖,从而对于小鼠的免疫功能起到了调节作用。

3) CD4 细胞是生物体免疫系统的一种重要免疫细胞,CD4 主要表达于辅助 T(Th)细胞,是 Th 细胞 TCR 识别抗原的供受体,与 MHC II 类分子的非多肽区结合,参与 Th 细胞 TCR 识别抗原的信号转导<sup>[14]</sup>。CD4 同时也是 HIV 的受体,由于 HIV 病毒的攻击对象是 CD4 细胞,所以其检测结果对艾滋病治疗效果的判断和对患者免疫功能的判断有至关重要的作用。而 CD8 则是通过其表面的 MHC I 分子与 CD4 等其他免疫细胞的 MHC II 分子结合,从而识别其他免疫细胞表面结合的抗原物质,在特异性免疫反应中起着识别和呈递抗原的重要作用,CD4 细胞的绝对计数通常会随生理情况的不同而有较大的波动,而 CD4 和 CD8 的比值则相对比较稳定。所以一般用 CD4/CD8 的比值来衡量机体的免疫能力<sup>[17]</sup>。本试验得到的结果表明,灰树花胞内多糖对于小鼠体内 T 淋巴细胞亚群起到了调控作用,从表中数据可知,相比较于阴性组,阳性组和 3 个试验组在 CD4 和 CD8 的数量上存在着较大数值波动,如若仅从单项数据来看,无法从中分析得到较为有用的数据,所以本研究采用 CD4/CD8 的比值进行分析。从比值上看,相比较于阴性组,阳性组和 3 个试验组在比值上均有所增加,高剂量组最高,阳性组次之,中剂量组和低剂量组则相差无几。证明灰树花菌丝体胞内多糖对于 T 淋巴细胞亚群有着显著的调节作用,中剂量组和低剂量组虽然比值相近,但是中剂量组 CD4 和 CD8 的单项数值均较低剂量组高,所以其免疫调节效果应优于低剂量组。

4) IL-6 是活化的 T 细胞和成纤维细胞产生的

淋巴因子。能使 B 细胞前体成为产生抗体的细胞;和集落刺激因子协同,能促进原始骨髓源细胞的生长和分化,增强自然杀伤细胞的裂解功能。IL-8 又称嗜中性粒细胞因子,是炎症性疾病的重要介质,在抗感染、免疫反应调节以及抗肿瘤方面有重要作用。IL-8 对特异性和非特异性的免疫细胞具有强烈的趋化作用,其中主要是对嗜中性粒细胞的趋化和激活作用,对淋巴细胞和嗜碱性粒细胞也有趋化作用。TNF- $\alpha$  是由单核巨噬系统产生的一种肽类激素,是机体炎症与免疫反应的重要调节因子。CRP 由肝细胞合成,与其他炎症因子相关,在急性炎症期能与 T 细胞特异结合并影响其功能。本试验中发现该多糖对于小鼠体内这 4 种免疫因子起到了调节作用,对于表达 IL-6、IL-8 和 TNF- $\alpha$  这 3 种免疫因子的基因的表达量起到了增强作用,并且呈现明显的量效关系。同时,对于炎症因子 CRP 则对其表达起到了轻度的抑制作用,且除了低剂量组外均呈现显著性。其作用机制可能是该多糖促进或抑制了体内相关免疫因子的合成,对于提高机体免疫力的因子起到了促进其表达的作用,对于炎症因子则起到了抑制作用,从而对于小鼠体内的免疫系统起到了良好的调节作用。

综上所述,灰树花发酵产物的胞内多糖在小鼠体内呈现出增强细胞免疫的功能,在机体免疫系统的多个环节均可产生作用,起到了改善机体的免疫功能。按照《保健食品检验与评价技术规范(2003 版)》<sup>①</sup>的第 2 项,可判定灰树花的胞内多糖具有增强免疫力的作用。因此,该多糖可以被视为潜在的免疫调节剂用于疾病的治疗与食品的开发。

## 参考文献 References

- [1] 戴玉成,杨祝良. 中国药用真菌名录及部分名称的修订[J]. 菌物学报,2008,6(12):801-824  
Dai Y C, Yang Z L. A revised checklist of medicinal fungi in China[J]. *Mycosystema*, 2008, 6(12): 801-824 (in Chinese)
- [2] 刘振伟,史秀娟. 灰树花的研究开发现状[J]. 食用菌,2001,23: 4-6  
Liu Z W, Shi X J. Research and development status of *Gri fo la frondosa*[J]. *Edible Fungi*, 2001, 23: 4-6 (in Chinese)
- [3] 黎奔,廖康生,徐方方,陈伟英,焦红,刘博. 宝乐果多糖的体内免疫活性研究[J]. 中国免疫学杂志,2015,31:1342-1346

① 中华人民共和国卫生部. 保健食品检验与评价技术规范:2003 版. 2003

- Li B, Liao K S, Xu F F, Chen W Y, Jiao H, Liu B. Studies on immune-enhancing activity of polysaccharides from *Borojia sorbilis cuter*[J]. *Chinese Journal of Immunology*, 2015, 31: 1342-1346 (in Chinese)
- [4] Zhou H B, Liu G Q, Huang F R, Wu X T, Yang H L. Improved production, purification and bioactivity of a polysaccharide from submerged cultured *Ganoderma lucidum* [J]. *Archives of Pharmacal Research*, 2014, 37(12): 1530-1537
- [5] Cho C W, Han C J, Rhee Y K, Lee Y C, Shin K S, Shin J S, Lee K T, Hong H D. *Cheonggukjang* polysaccharides enhance immune activities and prevent cyclophosphamide induced immunosuppression[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2015, 72: 519-525
- [6] Wang N, Yang J Y, Lu J G, Qiao Q, Wu T, Du X L, Bao G Q, He X L. A polysaccharide from *Salvia miltiorrhiza Bunge* improves immune function in gastric cancer rat [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2014, 111: 47-55
- [7] Zhu X L, Lin Z B. Effects of *Ganoderma lucidum* polysaccharides on proliferation and cytotoxicity of cytokine-induced killer cells[J]. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2005, 26(9): 1130-1137
- [8] Habjanic J, Berovic M, Boh B, Plankl M, Wraber B. Submerged cultivation of *Ganoderma lucidum* and the effects of its polysaccharides on the production of human cytokines TNF- $\alpha$ , IL12, IFN- $\gamma$ , IL2, IL4, IL10 and IL17 [J]. *New Biotechnology*, 2015, 32(1): 85-95
- [9] Flamm D, Blaschek W. A sulfated cyanobacterial polysaccharide proven as a strong inhibitor of human complement activity in an in vitro assay[J]. *Planta Medica*, 2014, 80(12): 1009-1016
- [10] 黄佩珍. 灰树花  $\beta$  多糖协同化疗药物抗肿瘤作用及其分子机理初探[J]. *海峡药学*, 2006, 18(4): 175-177  
Huang P J. Beta of *Grifola frondosa* polysaccharide synergistic antitumor effect of chemotherapeutic drugs and its molecular mechanism [J]. *Channel Pharmacy*, 2006, 18(4): 175-177 (in Chinese)
- [11] 侯晓梅, 陈敏青, 张慧蕾, 杨海龙. 中药提取物对灰树花深层发酵的影响[J]. *食品科技*, 2013(9): 85-188  
Hou X M, Chen M Q, Zhang H L, Yang H L. Effects of extracts from Chinese medicines on the submerged fermentation of *Grifola frondosa* [J]. *Food Science and Technology*, 2013(9): 85-188 (in Chinese)
- [12] 卢兆双, 王光远, 赵晨, 宋爱荣, 马洪锁. 灰树花胞内粗多糖提取条件的优化及其提取物的抑瘤作用[J]. *食用菌学报*, 2009, 16(1): 51-54  
Lu Z S, Wang G Y, Zhao C, Song A R, Ma H S. Extraction of intracellular polysaccharides from *grifola frondosa* and its anti-tumor effects of extraction [J]. *Acta Edulis Fungi*, 2009, 16(1): 51-54 (in Chinese)
- [13] Huang F, Kao C Y, Wachi S, Thai P, Ryu J S, Wu R. Requirement for both JAK-mediated PI3K signaling and ACT1/TRAF6/TAK1-dependent NF- $\kappa$ B activation by IL17A in enhancing cytokine expression in human airway epithelial cells [J]. *The Journal of Immunology*, 2007, 179(10): 6504-6513
- [14] 王艳霞. 类风湿性关节炎滑膜淋巴细胞 CD3、CD4、CD8 的表达及意义[D]. 天津: 天津医科大学, 2012  
Wang Y X. Expression and biological significance of CD3, CD4, and CD8 in lymphocyte of rheumatoid arthritis' synovium [D]. Tianjin: Tianjin Medical University, 2012 (in Chinese)
- [15] 冯慧琴, 杨庆尧, 杨晓彤, 糜可, 祝凌云. 灰树花子实体多糖和菌丝体多糖的比较分析[J]. *华东师范大学学报: 自然科学版*, 2001, 9(3): 92-96  
Feng H Q, Yang Q Y, Yang X T, Mi K, Zhu L Y. Analysis of polysaccharide isolated from the fruit bodies and mycelia of *Grifola frondosa* [J]. *Journal of East China Normal University: Natural Science*, 2001, 9(3): 92-96 (in Chinese)
- [16] 边杉, 叶波平, 奚涛, 韩兆青, 吴梧桐. 灰树花多糖的研究进展[J]. *药物生物技术*, 2004, 11(1): 60-63  
Bian S, Ye B P, Xi T, Han Z Q, Wu W T. Progress on the studies of grifolan from *Grifola frondosa* [J]. *Pharmaceutical Biotechnology*, 2004, 11(1): 60-63 (in Chinese)
- [17] 吴姗姗, 赵雪, 张子宁, 刘静, 丁海波, 韩晓旭, 楚振兴, 徐俊杰, 姜拥军, 尚红. HIV 感染后 CD4<sup>+</sup> T 细胞表面 NK 相关受体表达的变化[J]. *免疫学杂志*, 2012, 12(28): 1045-1050  
Wu S S, Zhao X, Zhang Z N, Liu J, Ding H B, Han X X, Chu Z X, Xu J J, Jiang Y J, Shang H. Expressions of natural killer cell receptors on CD4<sup>+</sup> T cells of HIV-infected individuals [J]. *Immunological Journal*, 2012, 12(28): 1045-1050 (in Chinese)

责任编辑: 苏燕