

# 海蜇糖蛋白对小鼠脾脏细胞因子mRNA表达的影响

任国艳, 邵 征, 曹 力, 曹 利, 张 凡, 郭金英, 樊金玲, 陈秀金, 赵瑞红  
(河南科技大学食品与生物工程学院, 河南 洛阳 471003)

**摘 要:** 研究海蜇糖蛋白(JGP-III)对BALB/c小鼠脾脏淋巴细胞细胞因子mRNA表达的影响, 探讨JGP-III对小鼠的免疫调节机理。选用54只BALB/c小鼠(18~22g, SPF级), 随机分为6组: 模型对照组、正常对照组、阳性对照组(左旋咪唑25mg/(kg·d), 以体质量计)、低剂量组(JGP-III 10mg/(kg·d))、中剂量组(JGP-III 50mg/(kg·d))和高剂量组(JGP-III 100mg/(kg·d)), 每组9只。饲养21d后, 无菌取脾脏, 分离淋巴细胞, 采用荧光定量RT-PCR法分析其细胞因子IL-2、IL-12、IFN- $\gamma$ 、IL-4、IL-6和IL-10 mRNA的相对表达量。结果显示: 通过3个剂量组和3个对照组中细胞因子mRNA表达水平的对比, 得出海蜇糖蛋白JGP-III能够促进细胞因子IL-2、IL-12、IFN- $\gamma$ 的mRNA表达水平, 而抑制IL-4、IL-6和IL-10 mRNA的表达水平, 且具有剂量依赖关系。进而推测JGP-III可能是通过调节淋巴细胞Th1/Th2细胞因子mRNA的表达水平, 来提高机体免疫能力。

**关键词:** 海蜇; 糖蛋白; 细胞因子; mRNA表达

Effects of A Glycoprotein from Jellyfish (*Rhopilema esculentum*) on Cytokine mRNA Expression in BALB/c Mice

REN Guo-yan, SHAO Zheng, CAO Li, CAO Li, ZHANG Fan, GUO Jin-ying, FAN Jin-ling, CHEN Xiu-jin, ZHAO Rui-hong  
(College of Food and Bioengineering, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, China)

**Abstract:** In a previous study, we isolated a glycoprotein named JGP-III from jellyfish (*Rhopilema esculentum*). The specific aim of the present study was to investigate the roles of JGP-III in the immunoregulatory mechanism in BALB/c mice by investigating its effects on the mRNA expression of the Th1- and Th2-cytokines in the spleen lymphocytes of these mice. A total of 54 healthy BALB/c mice (SPF, 18–22 g) were randomly divided into 6 groups with 9 mice in each group: normal control, model control, positive control, low dose (10 mg/(kg·d)), moderate dose (50 mg/(kg·d)) and high dose (100 mg/(kg·d)) groups, respectively. After 21 days of these treatments, lymphocytes were prepared from the spleen of these mice and total RNA was isolated from their lymphocytes. Fluorescent quantitative real-time polymerase chain reaction (FQ-RT-PCR) technique was used to analyze the relative mRNA expression of Th1-cytokines (IL-2, IL-12 and IFN- $\gamma$ ) and Th2-cytokines (IL-4, IL-6 and IL-10). Our results showed that JGP-III promoted the mRNA expression levels of Th1-cytokines but inhibited the mRNA expression levels of Th2-cytokines. Moreover, our results suggest that JGP-III can improve the body's immune function probably by regulating the mRNA expression levels of Th1-/Th2-cytokines in spleen lymphocytes.

**Key words:** jellyfish; glycoprotein; cytokine; mRNA expression

中图分类号: TS254.9

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)23-0305-04

doi:10.7506/spkx1002-6630-201323061

海蜇(*Rhopilema esculentum*)是一种医食同源的大型水母, 体内含有多种活性物质, 对高血压、支气管炎、淋巴结核、哮喘、矽肺等病均有良好的防治功能<sup>[1-6]</sup>。海蜇糖蛋白的免疫活性国内外均有报道<sup>[7]</sup>, 本实验室通过不同的提取方法, 分离纯化获得两种具有免疫活性的糖蛋白, 分别命名为JGP-III和JGP-III2, 并对JGP-III化学组成和免疫活性做了研究, 结果显示, JGP-III具有促进胸腺

和脾脏等免疫器官的功能、免疫细胞功能和巨噬细胞的吞噬功能; 显著提高荷瘤小鼠血清溶血素含量和抗体形成细胞数; 增强迟发型过敏反应(DTH); 促进巨噬细胞的吞噬能力等<sup>[8]</sup>。通过体外实验, JGP-III能促进脾淋巴细胞的增殖和转化<sup>[9]</sup>。另有报道从海蜇中获得一种糖蛋白, 主要对其结构和其他活性进行研究<sup>[10-12]</sup>。

细胞因子是由活化的免疫细胞和某些基质细胞分泌

收稿日期: 2013-07-15

基金项目: 国家自然科学基金项目(31000765); 河南科技大学青年基金资助项目(2010QN0001)

作者简介: 任国艳(1976—), 女, 副教授, 博士, 研究方向为食品营养与天然产物化学。E-mail: renguoyan@163.com

的,能在细胞间传递信息、具有免疫调节和效应功能的蛋白质或小分子多肽,是非特异性免疫效应物质。机体处于正常状态下,各类细胞因子维持动态平衡,这种平衡一旦被破坏,就会引发一些免疫性疾病的发生<sup>[13-14]</sup>,因此细胞因子mRNA表达量的多少,对阐明免疫调节机理以及对某些疾病的防治和诊断都有积极的作用。

本实验在前期研究的基础上,进一步研究海蜇糖蛋白JGP-III对BALB/c小鼠脾脏淋巴细胞细胞因子IL-2、IL-12、IFN- $\gamma$ 、IL-4、IL-6、IL-10的mRNA表达的影响,从分子水平上探讨海蜇糖蛋白JGP-III对BALB/c小鼠的免疫调节机理。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

海蜇于2012年10月购自青岛市沙子口渔港,速冻后,低温运回实验室, -80℃冰箱保存备用。海蜇糖蛋白(JGP-III)采用参考文献[8]描述的方法分离、纯化得到。

动物4~6周龄BALB/c小鼠, 18~22g SPF级, 购自河南科技大学医学院实验动物中心。

RNAiso Plus(Total RNA 提取试剂)、Primscript® RT reagent kit with gDNA Eraser (Perfect Real Time)、SYBR® Premix Ex Taq™. (Tli RNaseH Plus)、DL 2000 DNA Marker、6× Loading Buffer(核酸专用)、DEPC处理水宝生物工程(大连)有限公司; 小鼠淋巴细胞分离液、氢化可的松、TRIS、RPMI1640培养液 北京索莱宝科技有限公司; 胎牛血清 青岛爱普科生物工程有限公司; 琼脂糖、DEPC、ConA 美国Sigma公司, 异丙醇(优级纯)天津市科密欧化学试剂有限公司; 氯仿(色谱纯) 东方化工厂。

### 1.2 仪器与设备

Mx3000P荧光定量PCR仪 美国Stratagene公司; Eppendorf AG核酸蛋白测定仪 德国Eppendorf公司; DYY-1117B型水平电泳仪 北京市六一仪器厂; D-3752高速冷冻离心机 美国Sigma公司; 凝胶成像系统及凝胶分析软件 美国AlphaInnotech公司; 超低温冰箱日本Nuair公司; DL-CJ-1N型超净工作台 北京东联哈尔仪器制造有限公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 建立免疫低下小鼠模型

##### 1.3.1.1 动物与分组

选用54只雄性BALB/c小鼠, 18~22g SPF级, 随机分为6组, 分别为: 模型对照组、正常对照组、阳性对照组及JGP-III低剂量组、中剂量组、高剂量组, 每组9只。饲养条件为分笼饲养, 每笼9只, 12h光暗交替, 温度为(20±5)℃, 相对湿度为50%左右。

#### 1.3.1.2 建立免疫低下小鼠模型

正常饲养小鼠1周后开始灌胃, 正常对照组和模型对照组小鼠灌胃生理盐水, 以消除应激反应造成的影响。阳性对照组为小鼠灌胃左旋咪唑(剂量为25mg/(kg·d), 以体质量计, 下同), 各剂量组灌胃JGP-III, 剂量分别为10、50、100mg/(kg·d)。续灌胃14d后, 除正常对照组外, 其余各组小鼠均在灌胃的同时颈后注射氢化可的松(20mg/(kg·d), 氢化可的松规格为2mL:10mg), 降低小鼠免疫力, 连续注射7d, 末次给药12h后, 将所有小鼠采用颈椎脱臼法处死, 取脾脏待用。

#### 1.3.2 淋巴细胞的采集

处死小鼠, 无菌取脾脏, 研磨, 过200目细胞过滤筛, 加入小鼠淋巴细胞分离液, 2000r/min离心15min, 吸出淋巴细胞层, 加入5倍的Hanks液洗涤两次, 再用2mL的Hanks重悬, 得到小鼠脾脏淋巴细胞悬液。未用完的脾脏, 在液氮中速冻, 并保存于-80℃冰箱中待用。

#### 1.3.3 RNA提取及分析

于约10<sup>7</sup>个淋巴细胞中加入1mL RNAiso Plus, 按试剂盒说明书提取脾脏淋巴细胞中的总RNA。用适量DEPC处理水(无RNA酶)溶解RNA, 采用琼脂糖凝胶电泳和核酸蛋白测定仪检测RNA效果, 以便进行逆转录。

#### 1.3.4 逆转录

按照Primscript® RT reagent kit with gDNA Eraser (Perfect Real Time)试剂盒说明书操作, 将RNA逆转录为cDNA。

#### 1.3.5 荧光定量RT-PCR引物设计与合成

应用Primer5.0软件设计引物。由宝生物工程(大连)有限公司合成, 其引物序列见表1。

表1 荧光定量PCR检测细胞因子的引物序列  
Table 1 Cytokine primer sequences for RT-PCR

细胞因子		序列(5'-3')	GenBank序列号
$\beta$ -actin	F	CAT CCG TAA AGA CCT CTA TGC CAA C	NM_007393.3
	R	ATG GAG CCA CCG ATC CAC A	
IL-4	F	AGC ACC TTG GAA GCC CTA CAG A	NM_021283.2
	R	CCA CTT CAC AAG TCG GAG GCT TA	
IL-6	F	CCA GTT TGG TAG CAT CCA TCA TTT C	NM_031168.1
	R	GTT TAA CCA GAA CGT TGA ATT GCA G	
IL-2	F	CCC AGG ATG CTC ACC TTC A	NM_008366.3
	R	CCG CAG AGG TCC AAG TTC A	
IL-10	F	GCC AGA GCC ACA TGC TCC TA	NM_016971.2
	R	GAT AAG GCT TGG CAA CCC AAG TAA	
IL-12	F	CCG GTC CAG CAT GTG TCA A	NM_001159424.1
	R	CAG GTT TCG GGA CTG GCT AAG A	
INF- $\gamma$	F	CGG CAC AGT CAT TGA AAG CCT A	NM_008337.3
	R	GTT GCT GAT GGC CTG ATT GTC	

#### 1.3.6 荧光定量PCR

应用Stratagene Mx3000P™ 荧光定量PCR仪, 按照

SYBR® Premix Ex Taq™ (Tli RNaseH Plus)试剂盒说明书操作。定量PCR反应条件如下: 预变性, 95℃、2min; 变性, 95℃、30s; 退火, 55℃、1min; 延伸, 72℃、30s; 终延, 72℃、2min。从变性到延伸, 循环40次。反应结束后, 软件将自动进行数据分析, 调整基线, 计算循环Ct值。

#### 1.4 数据收集处理和分析

结果采用相对定量法, 荧光定量RT-PCR以 $\beta$ -actin作为内参基因, 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法对目的基因IL-10、IL-2等进行相对定量表达差异的计算, 计算方法为:  $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{(待测样本)} - \Delta Ct_{(校准样本)}$ 。定量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 应用SPSS17.0统计软件进行数据分析。组间差异进行单方差分析,  $P < 0.05$ 表示有差异具有显著性意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 脾淋巴细胞提取RNA质量检测报告

用RNase-free ddH<sub>2</sub>O将5 $\mu$ L RNA稀释400倍, 用紫外分光光度计测定RNA溶液在波长260nm和280nm处的OD值, 测得OD<sub>260nm</sub>/OD<sub>280nm</sub>比值为1.93, 介于1.8~2.0, 表示RNA纯度较好。通过1.5%琼脂糖凝胶电泳检测RNA质量, 结果如图1所示, 28S和18S清晰可见, 5S稍显模糊, 且带与带之间无明显拖尾现象, 表明RNA完整性较好。

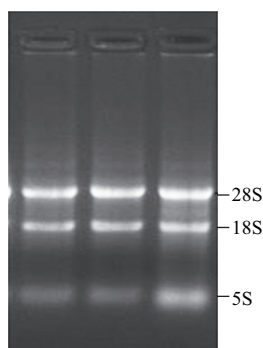


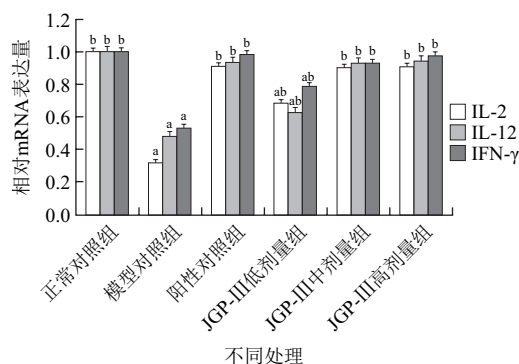
图1 RNA电泳图

Fig.1 Electrophoresis of total RNA on 1.5% agarose gel

### 2.2 海蜇糖蛋白对小鼠淋巴细胞Th1细胞因子mRNA表达水平的影响

由图2可知, 模型对照组的IL-2、IL-12、IFN- $\gamma$  mRNA显著低于正常对照组, 差异性显著; 阳性对照组的IL-2、IL-12、IFN- $\gamma$  mRNA表达虽然低于正常对照组, 但无显著差异; 给药组的IL-2、IL-12、IFN- $\gamma$  mRNA表达随着剂量的增加呈现上升趋势, 低剂量、中剂量和高剂量给药组的IL-2、IL-12、IFN- $\gamma$  mRNA均显著高于模型对照组的; 低剂量给药组的IL-2、IL-12、IFN- $\gamma$  mRNA显著低于正常对照组和阳性对照组, 而中剂量和高剂量给药组的IL-2、IL-12、IFN- $\gamma$  mRNA表达与正常对照组和阳性

对照组的无显著差异。表明氢化可的松显著抑制脾淋巴细胞细胞因子IL-2、IL-12、IFN- $\gamma$  mRNA表达, 而左旋咪唑能拮抗这种抑制作用, 海蜇糖蛋白JGP-III对氢化可的松抑制脾淋巴细胞细胞因子IL-2、IL-12、IFN- $\gamma$  mRNA表达也有拮抗作用, 且表现为剂量依赖关系。



a.与正常对照组比较, 有显著性差异( $P < 0.05$ ); b.与模型对照组比较, 有显著性差异( $P < 0.05$ ). 下同。

图2 JGP-III对小鼠脾淋巴细胞IL-2、IL-12、IFN- $\gamma$ 细胞因子的mRNA表达的影响

Fig.2 Effect of JGP-III on the mRNA expression of IL-2, IL-12 and IFN- $\gamma$ , in mouse spleen lymphocytes

### 2.3 海蜇糖蛋白对小鼠淋巴细胞Th2细胞因子mRNA表达水平的影响

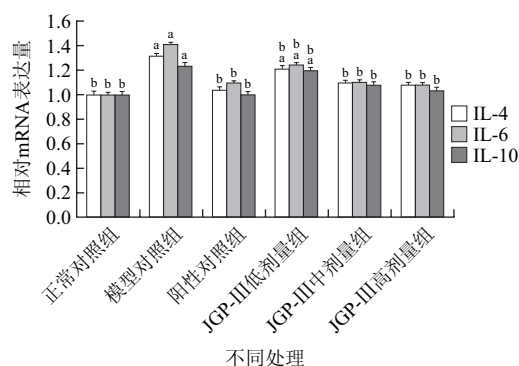


图3 JGP-III对小鼠脾淋巴细胞IL-4、IL-6、IL-10细胞因子的mRNA表达的影响

Fig.3 Effect of JGP-III on the mRNA expression of IL-4, IL-6 and IL-10 in mouse spleen lymphocytes

由图3可知, 模型对照组的IL-4、IL-6、IL-10 mRNA显著高于正常对照组, 差异性显著; 阳性对照组的IL-4、IL-6、IL-10 mRNA表达略高于正常对照组, 无显著差异; 给药组的IL-4、IL-6、IL-10 mRNA表达随着剂量的增加呈现下降趋势, 低剂量、中剂量和高剂量给药组的IL-4、IL-6、IL-10 mRNA表达水平均低于模型对照组的; 低剂量给药组的IL-4、IL-6、IL-10 mRNA显著高于正常对照组和阳性对照组, 而中剂量和高剂量给药组的IL-4、IL-6、IL-10 mRNA表达与正常对照组和阳性对照



组的无显著差异。表明氢化可的松可以促进IL-4、IL-6、IL-10 mRNA表达水平,而左旋咪唑和海蜇糖蛋白JGP-III对这种促进作用起抑制的功效,JGP-III的抑制能力具有剂量依赖关系。

### 3 讨论

免疫系统是机体防止疾病发生和维持自身身体健康的重要防御系统,而T辅助淋巴细胞(Th)则是执行这一防御功能的中心环节。Th细胞可分为Th1、Th2、Th0细胞亚群,由这3种细胞亚群分别产生不同的细胞因子,形成复杂的细胞因子网络来调节机体免疫。其中Th1和Th2细胞功能的正常和相互间保持平衡,是维持机体正常免疫功能的基础,一旦Th1/Th2细胞功能出现异常或失衡,导致Th1或Th2分泌的细胞因子mRNA和蛋白质表达水平升高或降低,就会引发多种免疫性疾病<sup>[15-16]</sup>。如肝癌患者和帕金森症患者均存在Th1/Th2平衡失调,向Th2方向漂移<sup>[17-18]</sup>等。有些免疫抑制剂,也可以引起机体的Th1/Th2平衡失调,如环磷酰胺<sup>[19]</sup>,但有些药物<sup>[20-21]</sup>或生物活性物质对这种漂移起到恢复的作用。黄芪多糖和香菇多糖皆能拮抗环磷酰胺对血清细胞因子mRNA表达水平的抑制作用,但使细胞因子恢复趋势有所不同<sup>[22]</sup>;香青兰总黄酮对支气管哮喘Th1/Th2免疫失衡有一定调节作用,升高IFN- $\gamma$ 水平,减小IL-4/IFN- $\gamma$ 比值<sup>[23]</sup>。

本实验用氢化可的松作为一种免疫抑制剂<sup>[24]</sup>,建立免疫低下小鼠模型,从实验结果可以看出,氢化可的松显著抑制细胞因子IL-2、IL-12、IFN- $\gamma$  mRNA表达水平,而促进细胞因子IL-4、IL-6、IL-10 mRNA表达,IL-2、IL-12、IFN- $\gamma$ 是由Th1细胞群分泌的细胞因子,而IL-4、IL-6、IL-10是由Th2分泌的细胞因子<sup>[25]</sup>,表明氢化可的松打破小鼠淋巴细胞的Th1/Th2的平衡,并使其向Th2漂移。左旋咪唑是一种免疫调节剂,它可以增强机体功能,从阳性对照组的实验结果可以看出,左旋咪唑能有效拮抗氢化可的松的免疫抑制作用,能促进IL-2、IL-12、IFN- $\gamma$  mRNA表达水平,抑制IL-4、IL-6、IL-10 mRNA表达水平,使机体的Th1/Th2恢复到与正常对照组无显著差异;海蜇糖蛋白JGP-III是从海蜇体内获得的具有免疫活性的糖蛋白,在本实验中,通过给免疫低下模型的小鼠灌胃不同剂量的糖蛋白JGP-III,研究其对小鼠淋巴细胞因子mRNA表达的影响,结果显示,海蜇糖蛋白对IL-2、IL-12、IFN- $\gamma$  mRNA表达水平有促进,而对IL-4、IL-6、IL-10 mRNA表达水平有抑制作用,表明JGP-III对氢化可的松造成的Th1/Th2的漂移有恢复作用,且这种恢复作用有一定的剂量依赖关系,当JGP-III达到中剂量和高剂量时,与正常对照组和阳性对照组细胞因子mRNA表达无显著差异,说明JGP-III的免疫调节效果较好。在前期研究JGP-III体内免疫活性时,显示JGP-III具有促进胸腺和脾脏等免疫器官增长、显著提高荷瘤小鼠血清溶血素含量和抗体形成细胞数、增强迟发型超敏反应

(DTH)、促进巨噬细胞的吞噬能力等免疫活性,结合本实验研究结果,推测海蜇糖蛋白JGP-III可能通过调节Th1和Th2分泌的细胞因子mRNA表达水平来调节机体免疫功能。

### 参考文献:

- [1] FENG Jinhua, YU Huahua, XING Rong, et al. Partial characterization of the hemolytic activity of the nematocyst venom from the jellyfish *Cyanea nozakii* Kishinouye[J]. *Toxicol in Vitro*, 2010, 24(6): 1750-1756.
- [2] LIU Xin, ZHANG Miansong, ZHANG Chao, et al. Angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory, antihypertensive and antihyperlipidaemic activities of protein hydrolysates from *Rhopilema esculentum*[J]. *Food Chem*, 2012, 134(4): 2134-2140.
- [3] YEA M, KUNIHISA I, HIDEHIRO T, et al. Chemical nature of a new antihypertensive peptide derived from jellyfish[J]. *Food Sci Technol Res*, 2010, 16(4): 333-340.
- [4] YU Huahua, LI Cuiping, LI Ronggui, et al. Factors influencing hemolytic activity of venom from the jellyfish *Rhopilema esculentum* Kishinouye[J]. *Food Chem Toxicol*, 2007, 45(7): 1173-1178.
- [5] ZHUANG Yongliang, SUN Liping, ZHANG Yufeng, et al. Antihypertensive effect of long-term oral administration of jellyfish (*Rhopilema esculentum*) collagen peptides on renovascular hypertension[J]. *Mar Drugs*, 2012, 10(2): 417-426.
- [6] YU Huahua, LIU Xiguang, XING Rong, et al. Radical scavenging activity of protein from tentacles of jellyfish *Rhopilema esculentum*[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2005, 15: 2659-2664.
- [7] 任国艳, 李八方, 侯玉泽, 等. 海蜇头糖蛋白基本组成及结构[J]. *食品研究与开发*, 2009, 30(7): 121-125.
- [8] 任国艳. 海蜇头糖蛋白理化性质及免疫活性研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 93-101.
- [9] 任国艳, 梁旺春, 詹永献, 等. 海蜇头糖蛋白分离纯化及免疫活性研究[J]. *食品科学*, 2011, 32(17): 147-150.
- [10] OHTA N, SATO M, USHIDA K, et al. Jellyfish mucin may have potential disease-modifying effects on osteoarthritis[J]. *BMC Biotechnol*, 2009, 9: 98-108.
- [11] MASUDA A, BABA T, DOHMAE N, et al. Mucin (qniumucin), a glycoprotein from jellyfish, and determination of its main chain structure[J]. *J Nat Prod*, 2007, 70: 1089-1092.
- [12] ORAI M, NAKAMURA T, UZAWA J, et al. Structural analysis of O-glycans of mucin from jellyfish (*Aurelia aurita*) containing 2-aminoethylphosphonate[J]. *Carbohydr Res*, 2009, 344(16): 2182-2187.
- [13] GUO Xinhong, ZHAO Fang, SHI Wei, et al. Detection and clinical significance of Th1/Th2 cytokines in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura[J]. *Chinese journal of Cellular and Molecular Immunology*, 2012, 28(11): 1185-1187.
- [14] 孔琦, 朱家胜, 芮景. Th1/Th2偏移与肿瘤免疫研究进展[J]. *现代肿瘤医学*, 2010, 18(8): 1653-1655.
- [15] CHEN J, ZHANG Y D, DENG Z S. Imbalanced shift of cytokine expression between T helper 1 and T helper 2 (Th1/Th2) in intestinal mucosa of patients with post-infectious irritable bowel syndrome[J]. *BMC Gastroenterol*, 2012, 91(12): 2-6.
- [16] JACEK R W. Th1/Th2 cytokines balance yin and yang of reproductive immunology[J]. *Eur J Obstet Gyn R B*, 2005, 122: 136-143.
- [17] 许顺良. 帕金森病患者外周血Th1/Th2类细胞因子mRNA的表达[D]. 济南: 山东大学, 31-33.
- [18] 张鹭, 李国坚, 吴继周, 等. Th1/Th2细胞相关因子对肝癌家族聚集性的影响免疫学研究[J]. *中国微生物学和免疫学杂志*, 2012, 32(11): 1000-1004.
- [19] LIS M, OBMIŃSKA-MRUKOWICZ B. Experimental immunology modulatory effects of bestatin on T and B lymphocyte subsets and the concentration of cytokines released by Th1/Th2 lymphocytes in cyclophosphamide-treated mice[J]. *Cent Eur J Immunol*, 2013(1): 42-53.
- [20] CHUEH W H, LIN J Y. Protective effect of isoquinoline alkaloid berberine on spontaneous inflammation in the spleen, liver and kidney of non-obese diabetic mice through downregulating gene expression ratios of pro-/anti-inflammatory and Th1/Th2 cytokines[J]. *Food Chem*, 2012, 131(4): 1263-1271.
- [21] KU C M, LIN J Y. Anti-inflammatory effects of 27 selected terpenoid compounds tested through modulating Th1/Th2 cytokine secretion profiles using murine primary splenocytes[J]. *Food Chem*, 2013, 141(2): 1104-1113.
- [22] 颜爱, 李波, 李润成, 等. 香菇多糖和黄芪多糖对免疫抑制小鼠免疫功能调节的研究[J]. *中国免疫学杂志*, 2012, 11(28): 999-1001, 1005.
- [23] 闫丽丽, 康小龙, 何承辉, 等. 香青兰总黄酮对支气管哮喘大鼠Th1/Th2免疫失衡的调节作用[J]. *中国医科大学学报*, 2013, 42(1): 8-13.
- [24] OBMIŃSKA-DOMORADZKA B, STEFAŃSKA-JONCA M. The effect of a peat-based preparation on mitogen-induced proliferation of thymocytes in non-treated and hydrocortisone-suppressed mice[J]. *Phytomedicine*, 2011, 8(3): 184-194.
- [25] BERGER S, BALLÓ H, STUTTE H. Distinct antigen-induced cytokine pattern upon stimulation with antibody-complexed antigen consistent with a Th1 > Th2-shift[J]. *Res Virol*, 1996, 147(2/3): 103-108.