

蜜蜂巢脾提取物对小鼠免疫调节作用的影响

赵红霞,黄文忠,陈华生,张学锋,罗岳雄*

广东省昆虫研究所 广东省野生动物保护与利用公共实验室 广东省农业害虫综合治理重点实验室,广州 510260

摘要:本研究旨在从体重、脏器/体重比值、体液免疫、细胞免疫和NK细胞活性等研究蜜蜂巢脾提取物对小鼠免疫调节作用的影响。采用160只雄性昆明种小鼠为研究对象,按体重随机分4批,每批4个组别,分别为阴性对照组、蜜蜂巢脾提取物高、中、低剂量组,测定免疫学指标。本研究结果显示,小鼠体重增长正常,各组小鼠脏器/体重比值、胸腺/体重比值无明显变化,均无显著性差异。高、中剂量组的小鼠脾淋巴细胞转化和血清溶血素高于阴性对照组且有显著性差异($P < 0.05$),三个剂量组比阴性对照组的校正廓清指数 α 和NK细胞活性有显著差异($P < 0.05$)。由此可见,蜜蜂巢脾提取物能显著提高小鼠的体液免疫和细胞免疫能力及抗氧化活性。

关键词:蜜蜂巢脾提取物;小鼠;免疫调节;细胞免疫;体液免疫

中图分类号:S896.9

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2016.1.022

Immune Regulation Effect of Honeybee Comb Extracts in Mice

ZHAO Hong-xia, HUANG Wen-zhong, CHEN Hua-sheng, ZHANG Xue-feng, LUO Yue-xiong*

Guangdong Entomological Institute Guangdong Public Laboratory of Wild Animal Conservation and Utilization Guangdong Key Laboratory of Integrated Pest Management in Agriculture, Guangzhou 510260, China

Abstract: The objective of this experiment was to study the effects of honeybee comb extract on immune regulation in mice. 160 mice were randomly divided into four batches, each batch contained four groups: negative control group, low dose, medium dose and high dose honeybee comb extract groups. The body weight, index of immune organs, indexes of spleen lymphocyte transformation, hemolysin value of blood serum, NK cell activity and antibody cell number of spleen were then screened. The results showed that no significant difference of body weight of mice was detected between the negative control group and experimental groups. Ratio of each viscera weight/body weight in mice, the thymus weight/body weight ratio also had no obvious change. In addition, the high and medium dose group of honeybee comb extracts greatly improved hemolysin value of blood serum and indexes of spleen lymphocyte transformation ($P < 0.05$). Compared with negative control group, three experimental groups significantly improved the activity of NK cells in mice ($P < 0.05$). Hence, it was concluded that honeybee comb extract had a promoting effect on immune functions of mice.

Key words: honeybee comb; mice; immune regulation; cellular immunity; humoral immunity

巢脾是指由蜜蜂蜡腺分泌蜡质后建造的双面巢房结构,是蜜蜂栖息繁衍育子、贮存花蜜花粉的场所,含有大量的生物活性成分^[1]。中国是世界第一的养蜂大国,目前生产蜂群750多万群,包括意蜂500多万群和中蜂250多万群。每年生产淘汰的老巢脾有数千万张,然而这一丰富的可再生资源尚未得到合理开发和充分利用。蜜蜂巢脾是我国一种传统的动物中药。近年来研究表明蜜蜂巢脾具有鼻

炎、乙型肝炎、急性乳腺炎等炎症以及抑菌杀菌、攻毒杀虫、祛风镇痛、降血脂、降血压、抗肿瘤、抗氧化(清除自由基)等生物学以及药理学价值^[2-5]。但对于蜜蜂巢脾用于提高免疫力方面的研究报道比较少,因此本文以小鼠作为试验动物,开展蜜蜂巢脾提取物的提高小鼠免疫能力的研究,为巢脾的进一步开发利用提供试验依据。

近年来研究表明蜜蜂巢脾对鼻炎、急性炎症、抑菌杀菌、攻毒杀虫、抗氧化(清除自由基)功能、降血脂等生物学以及药理学价值。匡邦郁等应用巢脾提取物治疗急性传染性肝炎、慢性肝炎、迁延性肝炎、早期肝硬化214例,同时对各种鼻炎294例,包括慢性鼻炎、慢性副鼻窦炎、过敏性鼻炎、肥大性鼻炎、单

收稿日期:2015-10-16 接受日期:2015-12-23

基金项目:广东省农产品加工重点实验室、农业部功能食品重点实验室开放基金(201505);国家蜂产业技术体系建设专项(CARS-45-SYZ-12);广东省科技计划(2015A020209090,2015A040404035)

* 通讯作者 Tel:86-20-84191724; E-mail:lyxbee@126.com

纯性鼻炎^[6]。褚亚芳等得出巢脾水提物对于对二甲苯致小鼠耳肿胀和角叉菜胶致小鼠足肿胀等急性炎症有显著的抑制作用^[6]；自由基对人体危害极大,必须补充有效的抗氧化物来抑制自由基,所以天然优质的抗氧化物选择非常重要,老蜂巢具有清除自由基的作用^[7]。尤其是,巢脾提取物具有抑菌效果,程茂盛等通过巢脾提取物对试验菌株金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、表皮葡萄球菌、乙型溶血性链球菌、肺炎链球菌抑制有良好的抑制效果^[8,9]。龚蜜等研究表明,巢脾提取物对金黄色葡萄球菌均有抑制作用,并且抑制效果呈浓度依赖效应^[10]。

在目前的蜜蜂巢脾研究中,未见从体液免疫、细胞免疫和NK细胞活性等不同角度研究其免疫功效,难以体现其真正的免疫调节生物学意义,因此本研究就蜜蜂巢脾提取物对小鼠的免疫调节作用展开。本研究通过动物试验,探讨巢脾水溶性提取物对小鼠的免疫调节作用,旨在明确巢脾的免疫调节作用,为巢脾功能食品研发及深加工提供理论依据。

1 材料与仪器

1.1 蜜蜂巢脾提取物制备

首先冷冻破碎2 kg蜜蜂巢脾(购自广东广昆园蜂业有限公司)和1 kg水混匀,煮至完全溶解后过滤,除去蜂蜡再将滤渣和滤液混合,慢火(80~86℃)煮2~3 h,过滤去渣剩余滤液慢火(80~86℃),煮至浓缩为500 g。

1.2 实验动物

雄性昆明小鼠(20±2 g),购自广州中医药大学动物实验中心,许可证号SCXK(粤)2008-0020。

1.3 试剂

刀豆蛋白A(ConA)、噻唑蓝(MTT)、谷氨酰胺、HEPES美国Sigma公司;RPMI-1640培养基、胎牛血清Gibco公司;鸡红细胞、豚鼠血清均为自制;酸性异丙醇(10 g SDS,5 mL异丁醇、0.1 mL浓盐酸,蒸馏水定容至100 mL);其余试剂均为国产分析纯。

1.4 仪器

HEPA CLASS 100 CO₂培养箱、MK3353酶联免疫检测仪Thermo Labsystems公司;超净工作台苏净集团江苏安泰空气技术有限公司;倒置显微镜重庆光电仪器公司;UV-1800型紫外-可见分光光度计日本岛津公司;FA1104分析天平上海天平仪器厂。

2 实验方法

2.1 实验分组

KM雄性小鼠饲喂基础饲料,适应性喂养7 d后;未见异常,按体重随机分为4批,将小鼠随机每批分为高、中、低剂量组和阴性对照组4个组别,每组10只小鼠,根据试验需要,分批次分别灌胃后测定相关指标。小鼠高、中、低剂量分别设为10 g/kg·bw·d,5 g/kg·bw·d,2.5 g/kg·bw·d;剂量参照蜜蜂巢脾物降血脂研究的相关数据^[11]。阴性对照组灌胃生理盐水,连续饲喂7 d,每日一次,每次0.01 mL/g·bw。

2.1.1 免疫器官重量测定

末次灌胃4 h后,称量体重,将小鼠脱臼处死,取出脾脏和胸腺,滤纸吸干表面血污,分别称取重量,计算脾脏/体重、胸腺/体重的数值。

2.1.2 小鼠淋巴细胞转化实验

首先,小鼠脾淋巴细胞悬液的制备,小鼠处死,无菌取出脾脏置于含10%牛血清的营养液,无菌镊子挤压脾脏,分散成脾细胞悬液,将悬液轻轻加于淋巴细胞分离液的上层,离心后取白色淋巴细胞层,用Hank's液洗3次,然后不同浓度的脾淋巴细胞悬液中加入牛血清的完全营养液后,CO₂培养箱培养。随后按照淋巴细胞ELISA试剂盒说明书开展实验。

2.1.3 迟发型变态反应实验

绵羊红细胞诱导小鼠足趾增厚法,绵羊红细胞可刺激T淋巴细胞增殖成致敏淋巴细胞,4 d后,同一部位再次注射绵羊红细胞时,注射后24 h测量足趾部厚度,连续测量三次,取平均值,即可见攻击部位出现迟发型变态反应。

2.1.4 抗体形成细胞数实验

将一定量洗涤过的5% 0.1 mL绵羊红细胞腹腔注射小鼠,注射后4 d处死小鼠取出脾脏,制成脾细胞悬液;取出小鼠心脏,分离血清。将脾细胞、绵羊红细胞及补体混合孵育,肉眼可见的琼脂培养皿内的空斑。

2.1.5 血清溶血素实验

各组小鼠腹腔注射0.2 mL 5% (体积分数)绵羊红细胞致敏,免疫5 d后,摘眼球取血,分离血清。按血清:生理盐水=1:200稀释后,冰浴中各试管依次加入0.5 mL稀释血清、0.25 mL 10%绵羊红细胞、0.5 mL 1:10豚鼠血清(空白对照管以生理盐水代替稀释血清),37℃水浴10 min,冰浴终止反应。离心,取上清液0.5 mL,加都氏液1.5 mL。同时取10%绵羊红细胞0.125 mL,加都氏液1.875 mL,室

温放置 10 min,于 570 nm 处测吸光值 A,测定血清溶血素含量,计算半数溶血值(HC₅₀)。

2.1.6 碳廓清实验

小鼠称重,用印度墨汁,经左眼眼眶后静脉丛注入体内,注射完毕,立即计时(注意注射的深度和力度)。注入墨汁后 3 min 和 15 min 两个时间点用预先肝素处理的毛细管分别从右眼眶取血 20 μL,置于装有 3 mL 0.1% NaCO₃ 溶液的试管中,摇匀后,用 0.5 cm 比色杯在 721 分光光度计 600 nm 波长处测光密度(OD),NaCO₃ 溶液作为空白对照。按照以下公式计算吞噬矫正指数 α[α = 体重/(肝重 + 脾重) × K^{1/3}]。K(未经矫正的吞噬指数) = (lgOD₁-lgOD₂)/(t₂-t₁);OD₁ 为 t₁(3 min)血标本的 OD 值,OD₂ 为 t₂(15 min)血标本的 OD₆₀₀值。

2.1.7 NK 细胞活性测定

首先,制备效应细胞,杀死小鼠后无菌取脾,置于适量无菌 Hank's 液的平皿中,将脾磨碎制成单细胞悬液。再经过过滤、离心后,用 1 mL 含 10% 小

牛血清重悬,再以冰醋酸后计数,并用台酚兰染色计数活细胞数。其次,靶细胞的传代,实验前 24 h 将靶细胞进行传代培养,并以 Hank's 液洗 3 次,调整传代细胞液内的浓度。第三,将靶细胞和效应细胞各 100 μL,加入 U 型 96 孔培养板中,各设三个复孔,于 37 ℃ 50% CO₂ 培养箱中培养 4 h,然后离心取上清后,同时加入 LDH 基质液,反应 3 min 后,每孔加入 HCl,酶标仪 490 nm 处测定光密度值。

2.2 数据处理与统计

本实验数据采用 SPSS17 statistics 统计软件单因子方差分析(one way ANOVA)进行组间差异的比较,组间的两两比较用新复极差法。显著性水平为 P < 0.05,数据表示用平均值 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。

3 实验结果

3.1 实验小鼠体重变化

实验期间对照组及剂量动物组动物体重增长正常,每批各组每周体重无显著性差异(见表 1)。

表 1 各组小鼠的体重变化
Table 1 Body weight of mice in different groups

组别 Group	第 1 批 Batch 1	第 2 批 Batch 2	第 3 批 Batch 3	第 4 批 Batch 4
阴性对照组 Negative control	36.5 ± 1.7	36.4 ± 1.4	36.4 ± 2.7	37.5 ± 2.1
低剂量组 Low dose group	35.8 ± 2.0	36.3 ± 1.8	37.7 ± 2.1	36.8 ± 2.0
中剂量组 Medium dose group	36.4 ± 2.3	37.4 ± 2.0	37.1 ± 2.3	36.3 ± 1.9
高剂量组 High dose group	36.8 ± 1.6	36.7 ± 2.2	37.3 ± 1.8	36.2 ± 2.5

注:表中数据为样品的平均值 ± 标准差,下同;每组 10 只重复样本数。
Note: Data in the table was mean ± standard deviation ($\bar{x} \pm s$), same as below; Each group had 10 repeats.

3.2 蜜蜂巢脾对小鼠脏器/体重比值的影响

各组小鼠脾脏/体比值、胸腺/体比值无明显变化,组间无显著性差异(见表 2)。

表 2 对小鼠脏器/体重比值的测定
Table 2 Results of viscera weight/body weight ratio in mice

组别 Group	动物数 Animal number (n)	脾脏/体 Spleen/body (%)	胸腺/体 Thymus gland/body (%)
阴性对照组 Negative control	10	0.51 ± 0.07	0.31 ± 0.03
低剂量组 Low dose group	10	0.54 ± 0.05	0.32 ± 0.02
中剂量组 Medium dose group	10	0.53 ± 0.04	0.34 ± 0.03
高剂量组 High dose group	10	0.52 ± 0.08	0.31 ± 0.04

3.3 蜜蜂巢脾对小鼠的细胞免疫功能的测定

3.3.1 蜜蜂巢脾对 ConA 诱导的小鼠淋巴细胞转化反应的测定

对 ConA 诱导的小鼠淋巴细胞转化反应,高剂量组

和中剂量组光密度差值高于阴性对照组且具有显著性差异(表 3)。表明蜜蜂巢脾的脾淋巴转化实验结果为阳性。对小鼠的脾淋巴细胞转化有明显促进作用,可通过激活 T 细胞增强小鼠的细胞免疫功能(见表 3)。

表 3 蜜蜂巢脾对 ConA 诱导的小鼠淋巴细胞转化反应的影响

Table 3 Effect of honeybee comb on conversion reaction of lymphocytes in mice induced by ConA

组别 Group	动物数 Animal number (n)	脾淋巴细胞增殖能力(OD 差值) Spleen lymphocyte proliferation ability (OD difference)
阴性对照组 Negative control	10	0.42 ± 0.05a
低剂量组 Low dose group	10	0.44 ± 0.07a
中剂量组 Medium dose group	10	0.50 ± 0.06b
高剂量组 High dose group	10	0.53 ± 0.06b

注:同列数据后不同字母表示数据经邓肯氏新复极差检验在 0.05 水平上差异显著($P < 0.05$)。
Note: Different letters in the same column indicated significant difference by Duncan's test at 0.05 level.

3.3.2 蜜蜂巢脾对小鼠迟发型变态反应的测定

各剂量组对小鼠足跖增厚程度与阴性对照组比较,无显著性差异。说明该实验结果呈阴性(见表 4)。

3.4 蜜蜂巢脾对小鼠的体液免疫功能的测定

3.4.1 蜜蜂巢脾对小鼠的抗体生成功能的测定

各剂量组与对照组小鼠脾脏 IgM 抗体形成细胞数无显著性差异,说明该实验结果呈阴性(见表 5)。

表 4 蜜蜂巢脾对小鼠迟发型变态反应的影响

Table 4 Effect of honeybee comb on delayed type hypersensitivity in mice

组别 Group	动物数 Animal number (n)	足跖增厚 Plantar thickening (mm)
阴性对照组 Negative control	10	0.37 ± 0.08
低剂量组 Low dose group	10	0.39 ± 0.07
中剂量组 Medium dose group	10	0.42 ± 0.09
高剂量组 High dose group	10	0.4 ± 0.07

表 5 IgM 抗体生成细胞测定

Table 5 Determination results of IgM antibody generating cells

组别 Group	动物数 Animal number (n)	空斑数(个/ 10^6 脾细胞) Plaque number ($/10^6$) of spleen cells
阴性对照组 Negative control	10	418 ± 67
低剂量组 Low dose group	10	452 ± 93
中剂量组 Medium dose group	10	581 ± 124
高剂量组 High dose group	10	566 ± 115

3.4.2 蜜蜂巢脾对小鼠血清溶血值(HC_{50})的测定

中、高剂量组小鼠血清溶血素高于阴性对照组

且有极显著性差异,表明蜜蜂巢脾能增强小鼠的体液免疫功能(见表 6)。

表 6 蜜蜂巢脾对小鼠血清溶血值(HC_{50})的影响

Table 6 Effects of honeybee comb on the hemolysin concentration in mice (HC_{50})

组别 Group	动物数 Animal number (n)	血清溶血素 HC_{50} Serum hemolysin HC_{50}
阴性对照组 Negative control	10	142.1 ± 12.5a
低剂量组 Low dose group	10	144.5 ± 10.3a
中剂量组 Medium dose group	10	156 ± 11.3b
高剂量组 High dose group	10	158 ± 14.5b

注:同列数据后不同字母表示数据经邓肯氏新复极差检验在 0.05 水平上差异显著($P < 0.05$)。
Note: Different letters in the same column indicated significant difference by Duncan's test at 0.05 level.

3.5 蜜蜂巢脾对小鼠的单核-巨噬细胞功能的测定

三个剂量组的校正廓清指数 α 均显著高于空白对照组,表明蜜蜂巢脾能显著增强小鼠单核巨噬细胞的吞噬能力,加速碳粒的清除(见表7)。

表7 蜜蜂巢脾对小鼠碳廓清能力的影响

Table 7 Effect of honeybee comb on the carbon clearance ability of mice

组别 Group	动物数 Animal number (<i>n</i>)	碳廓清指数 Carbon clearance index (<i>a</i>)
阴性对照组 Negative control	10	6.54 ± 0.95a
低剂量组 Low dose group	10	7.95 ± 1.06b
中剂量组 Medium dose group	10	8.22 ± 1.24b
高剂量组 High dose group	10	8.07 ± 1.38b

注:同列数据后不同字母表示数据经邓肯氏新复极差检验在0.05水平上差异显著($P < 0.05$)。
Note: Different letters in the same column indicated significant difference by Duncan's test at 0.05 level.

3.6 蜜蜂巢脾对小鼠 NK 细胞活性的影响

三个剂量组与阴性对照组相比均有显著差异,中剂量组显著高于低剂量组和高剂量组。该结果表明,蜜蜂巢脾均可提高小鼠 NK 细胞活性(见表8)。

表8 蜜蜂巢脾对小鼠 NK 细胞活性的影响

Table 8 Effects of honeybee comb on the activity of NK cells in mice

组别 Group	动物数 Animal number (<i>n</i>)	NK 细胞活性 NK cell activity
阴性对照组 Negative control	10	31.76 ± 8.23a
低剂量组 Low dose group	10	48.12 ± 7.63b
中剂量组 Medium dose group	10	57.67 ± 11.25c
高剂量组 High dose group	10	51.63 ± 10.19b

注:同列数据后不同字母表示数据经邓肯氏新复极差检验在0.05水平上差异显著($P < 0.05$)。
Note: Different letters in the same column indicated significant difference by Duncan's test at 0.05 level.

4 讨论与结论

近年来,关于蜂产品的功能研究备受关注,尤其是降血压、降血糖、免疫调节活性的报道较多,但对于养蜂生产副产物蜜蜂旧巢脾的功能研究相对较少,即使存在相关的研究报道,但未提供实验动物的基础数据,缺乏理论支撑^[12]。

免疫是机体识别自身物质并且排除异己物质的一种保护性生理功能,便于维持自身稳定、免疫监视和防御侵害中发挥着重要作用^[13]。机体免疫系统主要由免疫分子、免疫细胞、免疫组织、及免疫器官等组成。机体免疫功能的高低直接与抗病力存在相关性,诸如与糖尿病、高血压、肿瘤、更年期综合症等免疫性疾病的发生均有密切关系^[14,15]。因此,有必要通过提高机体免疫能力,进而减少病患的发生。

本研究从细胞免疫功能、体液免疫功能、单核-巨噬细胞吞噬功能、NK 细胞活性方面开展巢脾提取物对小鼠免疫功能的研究。淋巴细胞按其功能不同可分为 B 淋巴细胞、T 淋巴细胞和 NK 细胞。T 淋巴细胞主要是调节蛋白质抗原引起的免疫应答,并

具有消除细胞内微生物的效应作用^[16]。非抗原性刺激物如 ConA 等,通称为促有丝分裂原。ConA 诱导 T 细胞增殖^[17],促进细胞内各种细胞因子的分泌量增加。本实验发现,与对照组相比,巢脾提取物各剂量组 T 淋巴细胞转化均显著增强,并呈一定的剂量依赖,说明巢脾提取物能提高脾淋巴细胞转化能力。其次,高、中剂量组小鼠血清溶血素显著性高于阴性对照组,蜜蜂巢脾能增强小鼠的体液免疫功能。第三,巢脾提取物三个剂量组比空白对照组的校正廓清指数 α 有显著差异($P < 0.05$),表明蜜蜂巢脾能显著增强小鼠单核-巨噬细胞的吞噬能力,加速碳粒的清除。第四,三个蜜蜂巢脾提取物剂量组与阴性对照组相比均有显著差异($P < 0.05$),均可提高小鼠 NK 细胞活性。总之,蜜蜂巢脾提取物对小鼠的单核-巨噬细胞功能、体液免疫功能、细胞免疫功能等方面均有显著性影响,说明蜜蜂巢脾提取物具有免疫调节活性。本研究从细胞免疫功能、体液免疫功能、单核-巨噬细胞吞噬功能等方面进一步表明巢脾提取物具有增强机体免疫作用的功效,可为开发相关保健食品提供依据。

参考文献

- 1 Kuang BY(匡邦郁),Kuang HO(匡海鸥). Honeybee Biology(蜜蜂生物学). Kunming:Yunnan Science Technology Publish House,2003. 140-141.
 - 2 Li JZ(李金枝),He GY(何光源). Honeycomb preliminary study for the treatment of allergic rhinitis. *Apicul China*(中国蜂业),2008,59(2):33.
 - 3 Yu LS(余林生),Liu ZF(刘在芳),Ju DW(据大伟),*et al.* The old process and its development and utilization of the honeybee comb. *Apicul China*(中国蜂业),2010,61(6):39-47.
 - 4 Hu FL(胡福良),Li YH(李英华),Chen ML(陈民利),*et al.* Study on the effect of propolis extracted by ethanol or water on acute inflammation in animals based on model tests. *J Zhejiang Univ, Agric Life Sci*(浙江大学学报:农业与生命科学版),2003,29:444-448.
 - 5 Yan YM(闫亚美). Study on the honeybee comb volatile oil and its pharmacodynamics to AR. Fuzhou:Fujian Agriculture and Forestry University(福建农林大学),MSc. 2006.
 - 6 Chu YF(褚亚芳),Hu FL(胡福良). Anti-inflammatory activities of water extract from honey-comb. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发),2011,23:726-729.
 - 7 Yang XP(杨晓萍),Luo ZY(罗祖友),Wu MC(吴谋成). Study on preparation of rape pollen polysaccharide and its effect on tumor-bearing mice. *Food Sci*(食品科学),2005,26:202-204.
 - 8 Cheng MS(程茂盛),Yin L(尹玲),Ji T(吉挺),*et al.* Comparison of antioxidant activity of honey-comb water and alcohol extracts. *J Anhui Agric Sci*(中国蜂业中旬刊),2011,62(1):45-47.
 - 9 Cheng MS(程茂盛). The study of honeycomb biological activity and preparation compound recipe propolis products using microcapsule embedding technology. Hefei:Anhui Agricultural University(安徽农业大学),MSc. 2012.
 - 10 Gong M(龚蜜),Xu BL(徐冰璐). Study on the inhibitory effect of the dark comb water extracts from Chinese honeybee and Italian honeybee hives on staphylococcus aureus. *Apicul China*(中国蜂业),2008,59(11):11-12.
 - 11 Zhao HX(赵红霞),Huang WZ(黄文忠),Zou YX(邹宇晓),*et al.* Study on the hypocholesterolaemic effect of honeybee comb extracts. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发),2015,27:1042-1046.
 - 12 Zhang QS(张青山). The natural honeybeecomb. *Apicul China*(中国蜂业),2011,6:41-43.
 - 13 Zhang SY(张守忠)Translation. Immune system how to resist invasion. *Science*(科学),2007,1:58-63.
 - 14 Wang JQ(王君巧),Nie SP(聂少平),Yu Q(余强),*et al.* Immune modulation and antioxidation activity of polysaccharides from ganoderma atrum in immunosuppressed mice. *Food Sci*(食品科学),2012,33:274-277.
 - 15 Su DX(苏东晓),Zhang MW(张名位),Liao ST(廖森泰),*et al.* Effects of water soluble extracts from longan on immune regulation in normal mice. *Sci Agric Sin*(中国农业科学),2010,43:1919-1925.
 - 16 Lei LS, Lin ZB. Effect of ganoderma polysaccharides on T cell subpopulations and production of interleukin 2 in mixed lymphocyteresponse. *Acta Pharm Sin*,1992,27:331-335.
 - 17 Han B, Kim YH, Lee CW,*et al.* Characteristic immunostimulation by angelan isolated from *Angelica gigas Nakai*. *Immunopharmacology*,1998,40(1):39-48.
-
- (上接第 45 页)
- 7 Zhu LN, Qiang W, Shi JY,*et al.* Study on antioxidant activity of juice powder from *Nitraria tangutorun* Bobr. *Chin Wild Plant Res*,2010,29(2):41-43.
 - 8 Liu JH, Ren HL, Guan B,*et al.* The response surface methodology to optimize the extraction process of polysaccharide of *Atractylodes macrocephala* koidz. *Chin Tradit Pat Med*,2008,30:667-670.
 - 9 Wang LJ, Zhang F, Miao YJ. Study on the scavenging of hydroxyl free radical and polysaccharide extraction of coral fungus. *Food Ind*,2012,45:224-226.
 - 10 Xu HS, Jiang JP, Xu P,*et al.* Antioxidant activity of polysaccharide from *Radix Ginseng Rubra*. *J Zhejiang Chin Med Univ*,2011,35:909-912.
 - 11 Zhang CM, Song H, Wei SL. Study on the extraction and ferric reducing antioxidant power of polysaccharide of *Lyophyllum decastes*. *Edible Fungi Chin*,2012,31(6):44-48.
 - 12 Ker YB, Chen KC, Chyau CC,*et al.* Antioxidant capability of polysaccharides fractionated from submerge-cultured *Agaricus blazei* Mycelia. *J Agric Food Chem*,2005,53:7052-7058.