

# 金线莲多糖对免疫抑制小鼠脾淋巴细胞体外增殖、分泌 NO 及细胞因子的影响

马玉芳<sup>1</sup>, 郑小香<sup>1</sup>, 衣伟萌<sup>1</sup>, 任 喆<sup>2</sup>, 李 健<sup>2</sup>, 秦 韬<sup>2</sup>, 黄一帆<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> 中西医结合与动物保健福建省高等学校重点实验室;

<sup>2</sup> 福建省兽医中药与动物保健重点实验室(福建农林大学), 福州 350002

**摘要:** 本试验旨在研究金线莲多糖(ARP)对免疫抑制小鼠脾淋巴细胞体外增殖、NO及细胞因子IL-2、IL-6、IFN- $\gamma$ 分泌水平的影响。MTT法检测小鼠脾淋巴细胞体外增殖; Griess法检测NO分泌水平; ELISA法检测细胞因子IL-2、IL-6、IFN- $\gamma$ 的含量。结果显示,与对照组比较,ARP在50~400  $\mu\text{g/mL}$ 可明显促进免疫抑制小鼠脾淋巴细胞体外增殖( $P < 0.01$ ),促进NO分泌( $P < 0.01$ ),促进细胞因子IL-2、IL-6和IFN- $\gamma$ 分泌( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。以上结果提示ARP能提高免疫抑制小鼠脾淋巴细胞体外免疫活性,其作用机制可能与促进免疫抑制小鼠脾淋巴细胞增殖,促进NO产生以及提高IL-2、IL-6、IFN- $\gamma$ 的分泌水平有关。

**关键词:** 金线莲多糖; 免疫抑制小鼠; 脾淋巴细胞增殖; NO; 细胞因子

中图分类号: S852.2

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2018.1.004

## Effects of *Anoectochilus roxburghii* Polysaccharide on Splenic Lymphocytes Proliferation, NO and Cytokine Secretion in Immunosuppressed Mice *in vitro*

MA Yu-fang<sup>1</sup>, ZHENG Xiao-xiang<sup>1</sup>, YI Wei-meng<sup>1</sup>, REN Zhe<sup>2</sup>, LI Jian<sup>2</sup>, QIN Tao<sup>2</sup>, HUANG Yi-fan<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> University Key Laboratory for Integrated Chinese Traditional and Western Veterinary Medicine and Animal Healthcare in Fujian Province; <sup>2</sup> Fujian Key Laboratory of Traditional Chinese Veterinary Medicine and Animal Health

(Fujian Agriculture and Forestry University), Fuzhou 350002, China

**Abstract:** This study was designed to elucidate the effects of *Anoectochilus roxburghii* polysaccharide (ARP) on splenic lymphocytes proliferation, NO and IL-2, IL-6, IFN- $\gamma$  secretion in immunosuppression cyclophosphamide-induced mice *in vitro*. Splenic lymphocytes proliferation were measured by MTT assay, the concentration of NO in supernatant was determined by Griess reaction and content of IL-2, IL-6 and IFN- $\gamma$  in the supernatant was detected by Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The results showed compared with control group, ARP (50-400  $\mu\text{g/mL}$ ) possessed the stimulation effect on murine splenic lymphocytes ( $P < 0.01$ ) in a dose-dependent manner, the production of NO and the level of IL-2, IL-6 and IFN- $\gamma$  were increased ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). It was concluded that ARP can improve the immune activity in immunosuppressed mice *in vitro* via promoting splenocytes proliferation and increasing the secretion of NO and cytokines of IL-2, IL-6, IFN- $\gamma$ .

**Key words:** *Anoectochilus formosanus* polysaccharide; immunosuppressed mice; splenic lymphocytes proliferation; NO; cytokines

金线莲(*Anoectochilus roxburghii*, AR)又名金线兰、金丝草等,俗称“金草”、“药王”等,为兰科开唇兰属(*Anoectochilus*)的全草。金线莲在我国主要分布于西南、东南各省,特别是闽、台两省,是民间常用的珍贵中草药。金线莲味甘,性平微寒,归肾、心、肺

三经,具有祛湿解毒、清热凉血、平衡阴阳、调和气血、扶正固本等保健功效<sup>[1]</sup>。药理研究表明,金线莲水提取物具有降血糖<sup>[2]</sup>、抗肿瘤<sup>[3]</sup>、防治骨质流失<sup>[4]</sup>、益生肠道菌群<sup>[5]</sup>、免疫调节<sup>[3]</sup>等作用。金线莲多糖(*Anoectochilus roxburghii* Polysaccharide, ARP)在金线莲全草植物中含量较高,是其主要活性成分之一<sup>[6]</sup>,研究表明ARP具有保肝<sup>[7,8]</sup>、保肾<sup>[9]</sup>、降糖<sup>[10]</sup>、保护血管内皮细胞<sup>[11]</sup>、体外抗氧化<sup>[12]</sup>、抗肿瘤<sup>[13]</sup>等功效。

收稿日期: 2017-08-01 接受日期: 2017-10-09

基金项目: 国家自然科学基金(31372474)

\* 通信作者 E-mail: zjhyfang@163.com

我们前期体外试验表明, ARP 能促进小鼠脾淋巴细胞分泌 NO, 上调 iNOS mRNA 表达<sup>[14]</sup>; 体内试验表明, ARP 通过上调或下调小鼠脾脏细胞因子与转录因子的表达, 调节免疫抑制小鼠的免疫功能<sup>[15]</sup>。但关于金线莲多糖对免疫抑制小鼠体外免疫活性研究鲜见报道。本研究拟通过金线莲多糖(ARP)对免疫抑制小鼠脾淋巴细胞体外增殖、NO 产生量及 IL-2、IL-6、IFN- $\gamma$  分泌水平的影响, 进一步深入探讨金线莲多糖(ARP)增强机体免疫功能的可能作用机制, 既可丰富金线莲多糖的免疫药理学研究内容, 亦可为金线莲多糖的进一步开发利用提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 金线莲多糖(ARP)

金线莲购自福建南靖。金线莲多糖由中西兽医结合与动物保健福建省高等学校重点实验室制备。多糖的含量为 89.2%, 其中糖醛酸的含量为 19.95%, 蛋白的含量为 0.04%。细菌内毒素的含量低于 0.5EU/mL。

#### 1.1.2 试验动物

清洁级雄性 KM 系小鼠, 体重(20 $\pm$ 2)g, 购自福建医科大学实验动物中心。

#### 1.1.3 主要试剂

小鼠外周血淋巴细胞分离液、二甲基亚砜(DMSO)(北京索莱宝科技有限公司); 改良型 RPMI-1640 培养基、胎牛血清(美国 HyClone 公司); 四甲基偶氮唑盐(Methyl thiazolyl tetrazole, MTT)、刀豆蛋白 A (Concanavallin A, ConA)、脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS, 美国 sigma 公司); 青霉素-链霉素溶液(碧云天生物科技研究所); 注射用环磷酰胺(山西普德药业股份有限公司); 一氧化氮测试盒(南京建成生物工程研究所); 细胞因子 IL-2、IL-6、IFN- $\gamma$  ELISA 试剂盒(上海邦奕生物科技有限公司)。

#### 1.1.4 主要仪器

高速冷冻离心机 ALLEGRA X-22R (美国 Beckman 公司); SW-CJ-1F 型双人单面净化工作台(苏州净化设备有限公司); 二氧化碳培养箱(美国 Thermo 公司); 倒置显微镜(日本 Nikon 公司); 酶联免疫检测仪(美国 Bio Rad 公司); 恒温震荡培养箱(上海智诚分析仪器制造有限公司)。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 免疫抑制小鼠模型的建立

免疫抑制小鼠模型的建立参照文献<sup>[16]</sup>, 腹腔注射环磷酰胺(80mg/kgBW), 连续 3d。

#### 1.2.2 小鼠脾淋巴细胞悬液的制备

第 4 d, 免疫抑制小鼠颈椎脱臼法处死, 75% 酒精浸泡 5 min, 无菌分离脾脏, PBS 冲洗, 剥除结缔组织。将脾脏置于 200 目不锈钢筛网上, 玻璃注射器针芯研磨, PBS 冲洗, 收集冲洗液逐滴加入装有等体积小鼠淋巴细胞分离液的玻璃离心管中, 4 $^{\circ}$ C、2000 rpm, 离心 15 min, 收集云雾状淋巴细胞层, PBS 重复洗涤 2 次, RPMI-1640 悬浮细胞, 制成单细胞悬液, 台盼蓝染色计数, 活细胞数大于 95%, 调整细胞浓度为 2 $\times$ 10<sup>6</sup> 个/mL。

#### 1.2.3 MTT 法检测免疫抑制小鼠脾淋巴细胞增殖

按 1.2.2 方法制备小鼠脾淋巴细胞悬液, 加入 96 孔细胞培养板, 每孔 160  $\mu$ L。试验分为空白对照组(每孔加 40  $\mu$ L RPMI-1640); ARP 单独刺激组(各组每孔分别加 RPMI-1640 20  $\mu$ L 及不同浓度的 ARP 20  $\mu$ L, 终浓度分别为 25、50、100、200、400  $\mu$ g/mL); ARP 协同 ConA、LPS 刺激组(各组每孔分别加 ARP 20  $\mu$ L, ConA 或 LPS 20  $\mu$ L, ConA、LPS 终浓度分别为 5  $\mu$ g/mL、10  $\mu$ g/mL), 每组 6 个复孔。于 37 $^{\circ}$ C 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 44 h 后, 每孔加 5 mg/mL 的 MTT 溶液 20  $\mu$ L, 培养箱继续孵育 4 h 后, 1000 rpm, 离心 5 min, 小心吸去上清, 每孔加入 150  $\mu$ L DMSO, 低速震荡 5 min, 酶标仪检测 OD 值, 测试波长 570 nm, 参考波长 630 nm。

#### 1.2.4 Griess 法检测免疫抑制小鼠脾淋巴细胞 NO 产生量

按 1.2.2 方法制备小鼠脾淋巴细胞悬液, 加入 96 孔细胞培养板, 每孔 160  $\mu$ L。试验分为空白对照组(每孔加 RPMI-1640 40  $\mu$ L); ARP 组(各组每孔分别加 RPMI-1640 20  $\mu$ L 及不同浓度的 ARP 20  $\mu$ L, ARP 终浓度分别为 25、50、100、200、400  $\mu$ g/mL), 每组 6 个复孔。于 37 $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 48 h 后, 每孔分别收集 100  $\mu$ L 上清液, 转移至另一 96 孔细胞培养板对应孔, 按照说明书方法, 每孔分别加 Griess 试剂 A 和 Griess 试剂 B 各 50  $\mu$ L, 避光反应 20 min, 于 560 nm 处检测其吸光度, 绘制标准曲线, 计算出各组 NO 分泌水平。

#### 1.2.5 细胞因子 IL-2、IL-6、IFN- $\gamma$ 含量测定

按 1.2.2 方法制备小鼠脾淋巴细胞悬液接种于 24 孔细胞培养板, 每孔 0.8 mL。试验分为空白对照组(每孔加 0.2 mL RPMI-1640), ARP 协同 ConA 组

(每孔加 0.1 mL ConA, 0.1 mL ARP, ARP 终浓度分别为 25、50、100、200、400  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , ConA 终浓度为 5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )。于 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  培养箱中培养 48 h 后, 1000 g 离心 15 min, 收集上清液, 按照 ELISA 试剂盒说明书方法操作, 在酶标仪波长 450 nm 处, 测定 OD 值, 绘制标准曲线, 计算出相应测试样品中的 IL-2、IL-6、IFN- $\gamma$  含量。

### 1.2.6 数据分析

SPSS17.0 软件进行数据分析, 试验数据以平均值  $\pm$  标准差表示, 组间比较采用单因素方差分析, LSD 法进行显著性检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 ARP 对免疫抑制小鼠脾淋巴细胞增殖的影响

#### 2.1.1 ARP 单独作用对免疫抑制小鼠脾淋巴细胞增殖的影响

ARP 单独作用对免疫抑制小鼠脾淋巴细胞增殖的影响结果见图 1。由图 1 可见, ARP 在体外可促进免疫抑制小鼠脾淋巴细胞增殖。与空白对照组比较, ARP 组 OD 值明显升高, 当 ARP 浓度达到 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时, 差异极显著 ( $P < 0.01$ )。

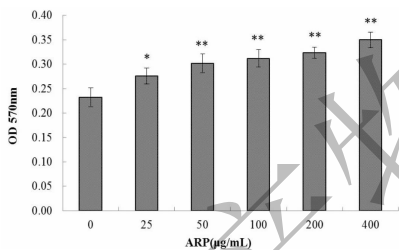


图 1 ARP 对免疫抑制小鼠脾淋巴细胞增殖的影响 ( $n = 6$ )

Fig. 1 Effects of ARP on the proliferation of splenic lymphocytes in immunosuppressive mice ( $n = 6$ )

注: 与对照组比较, \* 表示差异显著 ( $P < 0.05$ ), \*\* 表示差异极显著 ( $P < 0.01$ )。下图同。

Note: Compared with control group, \* means significant difference ( $P < 0.05$ ); \*\* means extremely significant difference ( $P < 0.01$ ).

Same as below.

#### 2.1.2 ARP 协同 ConA 对免疫抑制小鼠脾淋巴细胞增殖的影响

ARP 协同 ConA 对免疫抑制小鼠脾淋巴细胞增殖的影响结果见图 2。由图 2 可见, 不同浓度的 ARP 协同 ConA 作用于免疫抑制小鼠脾淋巴细胞时, 其 OD 值均高于 ConA 单独刺激组, 并呈一定的量-效关系。当 ARP 浓度达到 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时, 与 ConA 单独刺激组比较, 差异极显著 ( $P < 0.01$ ), 说明

不同浓度的 ARP 能协同 ConA 促进免疫抑制小鼠脾淋巴细胞增殖。

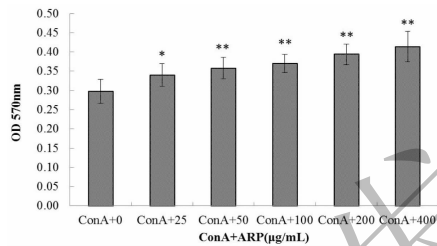


图 2 ARP 协同 ConA 对免疫抑制小鼠脾淋巴细胞增殖的影响 ( $n = 6$ )

Fig. 2 Effects of splenic lymphocytes proliferation in synergistic stimulation of ARP with ConA on immunosuppressive mice ( $n = 6$ )

#### 2.1.3 ARP 协同 LPS 对免疫抑制小鼠脾淋巴细胞增殖的影响

ARP 协同 LPS 对免疫抑制小鼠脾淋巴细胞增殖的影响结果见图 3。由图 3 可见, 不同浓度的 ARP 协同 LPS 作用于免疫抑制小鼠脾淋巴细胞时, 其 OD 值均明显高于 LPS 单独刺激组, 并呈一定的

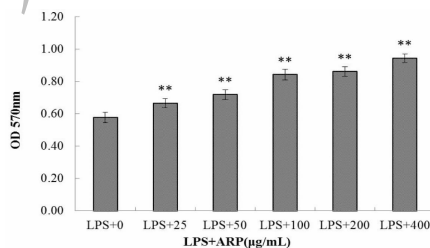


图 3 ARP 协同 LPS 对免疫抑制小鼠脾淋巴细胞增殖的影响 ( $n = 6$ )

Fig. 3 Effects of splenic lymphocytes proliferation in synergistic stimulation of ARP with LPS on immunosuppressive mice ( $n = 6$ )

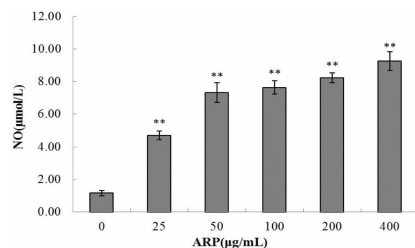


图 4 ARP 对免疫抑制小鼠脾淋巴细胞分泌 NO 的影响 ( $n = 6$ )

Fig. 4 Effects of ARP on nitric oxide (NO) production of immunosuppressive murine splenic lymphocytes ( $n = 6$ )

量-效关系。当 ARP 浓度为 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时,与 LPS 单独刺激组比较,差异极显著 ( $P < 0.01$ )。说明不同浓度的 ARP 能协同 LPS 促进免疫抑制小鼠脾淋巴细胞增殖。

## 2.2 ARP 对免疫抑制小鼠脾淋巴细胞分泌 NO 的影响

ARP 对免疫抑制小鼠脾淋巴细胞分泌 NO 的影响结果见图 4。由图 4 可见,ARP 组 NO 含量明显高于空白对照组 ( $P < 0.01$ ),并呈一定的量-效关系。说明 ARP 可明显促进免疫抑制小鼠脾细胞产生 NO。

表 1 ARP 对免疫抑制小鼠脾淋巴细胞分泌 IL-2、IL-6、IFN- $\gamma$  的影响 ( $n = 6$ )

Table 1 Effects of ARP on the secretion of IL-2, IL-6, IFN- $\gamma$  of splenic lymphocytes in immunosuppressive mice ( $n = 6$ )

Groups	Concentration ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	IL-2 (pg/mL)	IL-6 (pg/mL)	IFN- $\gamma$ (pg/mL)
Cell Control		86.47 $\pm$ 6.85	16.04 $\pm$ 1.01	83.17 $\pm$ 6.62
ConA group	5	94.13 $\pm$ 5.07	18.62 $\pm$ 1.02*	90.67 $\pm$ 4.36*
ConA + ARP group	5 + 25	100.47 $\pm$ 8.44*	19.12 $\pm$ 0.93**	92.67 $\pm$ 4.25*
	5 + 50	113.80 $\pm$ 8.97*##	20.46 $\pm$ 1.16**	102.25 $\pm$ 6.67*##
	5 + 100	123.13 $\pm$ 9.48*##	20.90 $\pm$ 0.82*##	112.33 $\pm$ 6.33*##
	5 + 200	135.30 $\pm$ 10.52*##	21.96 $\pm$ 1.40*##	119.33 $\pm$ 5.06*##
	5 + 400	151.47 $\pm$ 10.77*##	22.98 $\pm$ 1.57*##	134.17 $\pm$ 9.17*##

注:与对照组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ;与 ConA 组比较,# $P < 0.05$ ,## $P < 0.01$ 。

Note: Compared with control group, \* means significant difference ( $P < 0.05$ ); \*\* means extremely significant difference ( $P < 0.01$ ). Compared with ConA group, # means significant difference ( $P < 0.05$ ); ## means extremely significant difference ( $P < 0.01$ ).

## 3 讨论与结论

环磷酰胺为抗肿瘤药物,也是一种较强的免疫抑制剂,能够抑制免疫细胞的产生,降低浆细胞生成淋巴细胞的比率,造成机体免疫功能低下<sup>[16]</sup>。环磷酰胺造成的免疫抑制小鼠模型主要表现为免疫细胞活性降低,小鼠 T、B 淋巴细胞增殖能力下降,淋巴细胞免疫因子分泌量减少,胸腺、脾脏的免疫指数降低等变化<sup>[17]</sup>。

T、B 淋巴细胞是参与机体免疫应答的主要免疫效应细胞。T、B 淋巴细胞体外增殖转化能力在一定程度上可以反映机体细胞免疫功能,而脾脏是 T、B 淋巴细胞定居的主要场所,因此,脾淋巴细胞体外增殖反应是研究动物机体免疫功能的重要手段和指标。淋巴细胞介导的免疫反应不仅与 T、B 淋巴细胞的增殖能力有关,还与它们分泌的细胞因子有关<sup>[18]</sup>。IL-2 主要由活化的 CD4 + T 细胞产生的具有广泛生物活性的细胞因子,是一种重要的 T 淋巴细胞生长因子,IL-2 可以促进 Th1 细胞及多种免疫

## 2.3 ARP 对免疫抑制小鼠脾淋巴分泌 IL-2、IL-6、IFN- $\gamma$ 含量的影响

ARP 对免疫抑制小鼠脾淋巴细胞分泌 IL-2、IL-6、IFN- $\gamma$  含量的影响结果见表 1。由表 1 可见,ConA 刺激组 IL-2、IL-6、IFN- $\gamma$  分泌水平均高于空白对照组。50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的 ARP 能协同 ConA 促进免疫抑制小鼠脾淋巴细胞分泌 IL-2、IL-6、IFN- $\gamma$ ,其分泌量均高于 ConA 单独刺激组 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),并呈一定的量-效关系,表明 ARP 能协同 ConA 促进免疫抑制小鼠脾细胞分泌 IL-2、IL-6、IFN- $\gamma$ 。

细胞增殖分化,在机体免疫调节方面发挥着重要作用,通过检测小鼠脾淋巴细胞 IL-2 的分泌水平,可以反映细胞免疫功能<sup>[19]</sup>。IFN- $\gamma$  是由活化的 T 淋巴细胞产生的一种具有多种生物活性的细胞因子,是体内重要的免疫调节因子<sup>[20]</sup>。IL-6 是机体内免疫因子的重要组成部分,不仅参与机体炎症反应,还可以促进免疫球蛋白的产生<sup>[21]</sup>。研究表明蕨麻多糖可以促进免疫抑制小鼠 T、B 淋巴细胞增殖,提高免疫抑制小鼠脾淋巴细胞 IL-10、IFN- $\gamma$  分泌水平<sup>[28]</sup>;海胆黄多糖可以协同 ConA、LPS 促进免疫抑制小鼠脾淋巴细胞增殖,促进其分泌 IL-2,升高 CD4/CD8 细胞比率<sup>[23]</sup>;黑灵芝多糖可以上调免疫抑制小鼠 CD4 + T 淋巴细胞水平、CD4 + /CD8 + 比率,并可恢复血清中 IL-2、INF- $\gamma$ 、IL-10 分泌量<sup>[24]</sup>;苦参多糖能够刺激免疫抑制小鼠脾淋巴细胞增殖,促进 IFN- $\gamma$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  分泌<sup>[25]</sup>,本试验研究结果表明,ARP 可明显促进免疫抑制小鼠脾淋巴细胞体外增殖,同时与 ConA、LPS 具有协同作用,ARP 可协同 ConA 促进免疫抑制小鼠脾淋巴细胞分泌 IL-2,

IL-6 和 IFN- $\gamma$ 。

NO 是一种具有细胞毒作用的生物活性物质,用于杀伤病原微生物(如病毒,细菌和真菌)、肿瘤细胞以及寄生虫等,它广泛参与了机体多种生理和病理过程,同时参与机体免疫反应<sup>[26,27]</sup>。因此,测定脾淋巴细胞 NO 产生量,可反映淋巴细胞的功能状态,具有重要的生理学意义。研究表明蕨麻多糖<sup>[28]</sup>和金樱子多糖<sup>[29]</sup>可以促进小鼠脾淋巴细胞分泌 NO;山豆根多糖能诱导和激活小鼠脾脏淋巴细胞产生 NO,通过 NO 信号转导通路影响淋巴细胞的凋亡从而发挥免疫调节作用<sup>[30]</sup>。本试验研究结果表明,ARP 可促进免疫抑制小鼠脾淋巴细胞产生 NO,并呈一定的量-效关系。

本试验结果表明 ARP 能提高免疫抑制小鼠脾淋巴细胞体外免疫活性,其作用机制可能与促进免疫抑制小鼠脾淋巴细胞增殖,促进 NO 产生以及提高 IL-2、IL-6、IFN- $\gamma$  的分泌水平有关。

## 参考文献

- Li FH(李付惠). Advances of *Anoectochilus roxburghii*[J]. *Yunnan J Tradit Chin Med Mater Med*, 2016, 37(11): 83-86.
- Cui SC, Yu J, Zhang XH, et al. Antihyperglycemic and antioxidant activity of water extract from *Anoectochilus roxburghii* in experimental diabetes [J]. *Exp Toxicol Pathol*, 2013, 65: 485-488.
- Tseng CC, Shang HF, Wang LF, et al. Antitumor and immunostimulating effects of *Anoectochilus formosanus* Hayata [J]. *Phytomedicine*, 2006, 13: 366-370.
- Yang LC, Wu JB, Lu TJ, et al. The prebiotic effect of *Anoectochilus formosanus* and its consequences on bone health [J]. *Br J Nutr*, 2013, 109: 1779-1788.
- Yang LC, Lin WC, Lu TJ. Characterization and prebiotic activity of aqueous extract and indigestible polysaccharide from *Anoectochilus formosanus*[J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60: 8590-8599.
- Li P(李萍), Pan XL(潘晓丽), Zheng XX(郑小香), et al. Optimization of extraction technology of the polysaccharide from *Anoectochilus roxburghii*[J]. *J Anhui Agric Sci*, 2015, 43: 105-107.
- Zeng BY, Su MH, Chen QX, et al. Protective effect of a polysaccharide from *Anoectochilus roxburghii* against carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice[J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 200: 124-135.
- Yang ZG, Zhang XH, Yang LW, et al. Protective effect of *Anoectochilus roxburghii* polysaccharide against CCl<sub>4</sub>-induced oxidative liver damage in mice[J]. *Int J Biol Macromolecul*, 2017, 96: 442-450.
- Li L, Li YM, Liu ZL, et al. The renal protective effects of *Anoectochilus roxburghii* polysaccharide on diabetic mice induced by high-fat diet and streptozotocin [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 178: 58-65.
- Deng YQ(邓燕群), Li W(李伟), Zhang XH(张晓辉), et al. Effects of polysaccharides from *Anoectochilus roxburghii* on  $\alpha$ -glucosidase activity and blood glucose in diabetic mice [J]. *J Shantou Univ*, 2014, 29(3): 41-45.
- Liu ZL, Zhang JG, Liu Q, et al. The vascular protective effects of *Anoectochilus roxburghii* polysaccharose under high glucose conditions [J]. *J Ethnopharmacol*, 2017, 202: 192-199.
- Huang LH(黄丽华), Li YY(李芸瑛), Shao L(邵玲). Extraction and antioxidative of polysaccharide from *Anoectochilus roxburghii*[J]. *Food Sci Technol*, 2017, 42: 211-214.
- Wang CQ(王常青), Yan CQ(严成其), Wang Y(王勇), et al. Isolation, purification and *in vitro* anti-tumor activities of *Anoectochilus roxburghii* polysaccharide [J]. *Chin J Biochem Pharm*, 2008, 29(2): 93-96.
- Ma YF(马玉芳), Zheng NZ(郑乃珍), Zheng XX(郑小香), et al. Effects of *Anoectochilus roxburghii* polysaccharide (ARP) on the production of nitric oxide (NO) in murine splenic lymphocytes *in vitro* [J]. *Chin J Veterin Sci*, 2017, 37: 287-290.
- Ma YF(马玉芳), Li P(李萍), Pan XL(潘晓丽), et al. Effects of *Anoectochilus roxburghii* polysaccharide (ARP) on mRNA expression of cytokines and regulatory factors in immunosuppressed mice [J]. *Chin J Veterin Sci*, 2017, 37: 1322-1326.
- Zhao YQ(赵弋清), Luo X(罗霞), Chen DH(陈东辉), et al. Comparison of immunosuppression induced by different doses of cyclophosphamide in normal mice [J]. *Immunol J*, 2005, 21: 122-123.
- Yang XY(杨宪勇). Establishing a C57BL/6J mouse immunosuppressive model induced by cyclophosphamide [J]. *Chin J Tissue Eng Res*, 2012, 16: 7486-7490.
- Liao W, Lin JX, Wang L, et al. IL-2 family cytokines: new insights into the complex roles of IL-2 as a broad regulator of T helper cell differentiation [J]. *Curr Opin Immunol*, 2011, 23: 598-604.
- Malek TR. T helper cells, IL-2 and the generation of cytotoxic T-cell responses [J]. *Trends Immunol*, 2002, 23: 465-467.
- Manjunatha AM, Xu SL, Andrew F, et al. CD4 + Th2 cells function alike effector Tr1 and Th1 cells through the deletion of a single cytokine IL-6 and IL-10 gene [J]. *Molecul Immunol*

- nol*, 2012, 51:143-149.
- 21 Choudhary N, Ahlawat RS. Interleukin-6 and C-reactive protein in pathogenesis of diabetic nephropathy: new evidence linking inflammation, glycemic control, and microalbuminuria [J]. *Iran J Kidney Dis*, 2008, 2(2):72-79.
- 22 Chen JR, Yang ZQ, Hu TJ, et al. Immunomodulatory activity *in vitro* and *in vivo* of polysaccharide from *Potentilla anserine* [J]. *Fitoterapia*, 2010, 81:1117-1124.
- 23 Wang H, Wang MY, Chen J, et al. A polysaccharide from *Strongylocentrotus nudus* eggs protects against myelosuppression and immunosuppression in cyclophosphamide-treated mice [J]. *Int Immunopharmacol*, 2011, 11:1946-1953.
- 24 Yu Q, Nie SP, Wang JQ, et al. Chemoprotective effects of *Ganoderma atrum* polysaccharide in cyclophosphamide-induced mice [J]. *Int J Biol Macromolecul*, 2014, 64:395-401.
- 25 Shuai XH, Hu TJ, Liu HL, et al. Immunomodulatory effect of a *Sophora subprostrate* polysaccharide in mice [J]. *Int J Biol Macromolecul*, 2010, 46:79-84.
- 26 Monacada S, Higgs DA. The L-arginine-nitric oxide pathway [J]. *New England J Med*, 1993, 329:2002-2012.
- 27 Moncada S, Palmer RM, Higgs DA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology [J]. *Pharmacol Rev*, 1991, 43:109-142.
- 28 Chen JR(陈昊然), Hu TJ(胡庭俊), Cheng FS(程富胜), et al. Effect of *Potentilla anserine* polysaccharide of splenic lymphocytes and production of nitric oxide in mice [J]. *Chin J Veterin Sci Technol*, 2005, 35:735-738.
- 29 Hu TJ(胡庭俊), Kang L(康乐), Shuai XH(帅学宏), et al. The effect of *Sophora subprostrate* polysaccharide on proliferation and nitric release of splenic lymphocytes from mice [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med*, 2009, 29(5):70-72.
- 30 Pi JH(皮建辉), Tan J(谭娟), Hu CT(胡朝瞰). Study on *in vitro* immune activity of *Rosa laevigata* polysaccharide [J]. *West China J Pharm Sci*, 2014, 29:149-151.

## 《天然产物研究与开发》青年编委会

### 青年编委(以姓氏笔划为序)

#### Members

丁克	王红兵	戈惠明	尹文兵	尹胜	吕兆林
DING Ke	WANG Hongbing	GE Huiming	YIN Wenbing	YIN Sheng	LV Zhaolin
伍婉卿	刘相国	孙昊鹏	孙桂波	孙黔云	李芸霞
WU Wanqing	LIU Xiangguo	SUN Haopeng	SUN Guibo	SUN Qianyun	LI Yunxia
李良成	李国友	邱莉	汪海波	沐万孟	张炳火
LI Liangcheng	LI Guoyou	QIU Li	WANG Haibo	MU Wanmeng	ZHANG Binghuo
陈益华	林茂祥	林昌俊	欧阳杰	易华西	罗应刚
CHEN Yihua	LIN Maoxiang	LIN Changjun	OU Yangjie	YI Huaxi	LUO Yinggang
周文	胡友财	袁涛	夏永刚	高慧敏	唐金山
ZHOU Wen	HU Youcai	YUAN Tao	XIA Yonggang	GAO Huimin	TANG Jinshan
黄胜雄	韩淑燕	蓝蔚青	廖晨钟	潘卫东	薛永波
HUANG Shengxiong	HAN Shuyan	LAN Weiqing	LIAO Chenzhong	PAN Weidong	XUE Yongbo