

· 论 著 ·

海藻多糖对衰老小鼠的免疫调节作用*

黄震¹, 迟秀文², 束振华¹, 孙俊生¹

(1. 深圳市龙岗中心医院, 广东深圳 518116; 2. 广东医学院护理学院, 广东湛江 523808)

摘要:目的 探讨海藻多糖(PSS)对 D-半乳糖(D-gal)所致衰老小鼠的免疫调节作用。方法 腹腔注射 D-gal 制备衰老小鼠模型,同时对衰老小鼠行 PSS 灌胃,收集腹腔巨噬细胞,检测巨噬细胞分泌一氧化氮(NO)、一氧化氮合酶(NOS)的水平和诱导型一氧化氮合酶(iNOS) mRNA 表达水平;计算脾脏指数,观察 PSS 对小鼠脾脏显微结构的影响;流式细胞术检测衰老模型小鼠脾细胞周期的变化。结果 PSS 能促进衰老小鼠巨噬细胞合成 NO、NOS 和上调 iNOS mRNA 表达水平,并使衰老小鼠脾脏指数明显增加,脾脏被膜层明显增生。PSS 能增加衰老小鼠脾 S 期和 G₂/M 期细胞。结论 PSS 能提高 D-gal 所致衰老小鼠的免疫功能,值得进一步研究和开发。

关键词:海藻多糖; 衰老小鼠; 免疫调节

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.13.001

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)13-1801-04

Immunomodulatory effects of seaweed polysaccharide in aged mice*

Huang Zhen¹, Chi Xiuwen², Shu Zhenhua¹, Sun Junsheng¹

(1. Longgang Central Hospital, Shenzhen, Guangdong 518116, China; 2. Nursing College, Guangdong Medical University, Zhanjiang, Guangdong 523808, China)

Abstract: Objective To explore the immunomodulatory effects of seaweed polysaccharide(PSS) in aged mice induced by D-galactose (D-gal). Methods D-gal was injected intraperitoneally to establish the aged mice model, meanwhile the aged mice was intragastrically administrated by PSS. Peritoneal macrophages were collected, and macrophage secretion of nitric oxide (NO), nitric oxide synthase (NOS) levels and expression levels of inducible nitric oxide synthase (iNOS) mRNA were detected. The spleen indexes of the aged mice were calculated, and effects of PSS on spleen microscopic structure of mouse were observed. The changes of spleen cell cycle in aged model mice were detected by flow cytometry assay. Results PSS could enhance macrophage synthesis of NO and NOS of the aged mice and up-regulate the expression of iNOS mRNA levels. And the spleen index of the aged mice increased obviously, the hyperplasia of spleen capsule was obvious. Moreover, PSS could increase the percentage of S phase and G₂/M phase cells of the aged mice spleen. Conclusion PSS could enhance the immune function of aged mice induced by D-gal, which is worthy of further study, which development.

Key words: seaweed polysaccharides; aged mice; immunoregulation

海藻多糖(PSS)是从海藻中分离得到的一种无毒的水溶性天然产物。近年来,已发现多种海藻多糖活性物质,如皂苷、多糖、多肽等,具有抗肿瘤、抗感染、抗心血管疾病等作用^[1]。其不仅能激活 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、巨噬细胞及自然杀伤细胞等免疫细胞,还能促进细胞因子生成,对免疫系统发挥多方面的免疫调节作用且未见不良反应,这些生物活性物质对人体可发挥重要的医疗保健作用^[2],本实验用 D-半乳糖(D-gal)腹腔注射制备小鼠衰老模型,探讨 PSS 的免疫调节作用,旨在为 PSS 的应用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验对象 昆明种小鼠(KM 小鼠),6~8 周龄,体质量 18~22 g,由广东医学院实验动物中心提供。

1.2 材料 PSS 提取参照文献[3],采用三氯乙酸去蛋白法从海藻中提取出的粗多糖,硫酸蒽酮法测定糖水平为 90%以上。

1.3 仪器与试剂 RPMI-1640 培养基购自美国 Gibco 公司;D-gal(批号 H1402368)、刀豆素 A(ConA)、脂多糖(LPS)及四甲基偶氮唑盐(MTT)均购自美国 Sigma 公司;一氧化氮(NO)、一氧化氮合酶(NOS)及诱导型一氧化氮合酶(iNOS)检测试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。ELx8009 酶标仪

(美国 BioTek 公司);Epics-XL 型流式细胞仪(美国 Coulter 公司);二氧化碳(CO₂)细胞培养箱(美国 BD 公司);酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒为晶美公司进口分装;其余试剂为国产分析纯。

1.4 方法

1.4.1 衰老模型制作及实验分组 取昆明小鼠 60 只,随机分为正常对照组,衰老模型组,各 30 只。实验室常规饲养 3 d 后,正常对照组每天腹腔注射生理盐水,衰老模型组按小鼠体质量 200 mg/kg 腹腔注射 D-gal。注射均按无菌操作进行。观察衰老模型组小鼠,与正常对照组小鼠比较,若小鼠活动度降低、毛皮颜色较暗、无光泽等,表明造模成功^[4]。同时对已建模成功的衰老模型组小鼠进行 PSS 给药(PSS 给药组),共 3 个小组,分别按低、中、高剂量,即每天 100、200、400 mg/kg 体质量相应剂量的 PSS 灌胃,所有小鼠连续给药 20 d。

1.4.2 小鼠巨噬细胞悬液的制备 腹腔注射 RPMI-1640 培养液 5 mL,轻揉腹部,使液体在腹腔流动,收集腹腔液,用 RPMI-1640 培养液洗两次,收集腹腔液。再把腹腔液注入离心管中,1 500 r/min 离心 5 min,弃上清,加入含 10%新生小牛血清的 RPMI-1640 培养液,充分振荡,即得巨噬细胞悬液,用 0.4%

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81102450)。 作者简介:黄震,男,副主任检验技师,主要从事临床免疫检验研究。

台盼蓝染色计数巨噬细胞的活细胞率为 95% 以上。

1.4.3 PSS 对衰老小鼠巨噬细胞产生 NO、NOS 和 iNOS mRNA 水平的影响 将巨噬细胞悬液接种于 24 孔培养板, 2×10^5 个/孔, 用 RPMI-1640 培养液洗去未黏附细胞, 加入含 20 $\mu\text{g/mL}$ LPS 的 RPMI-1640 完全培养液 1 mL, 置 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱孵育 24 h, 2 500 r/min 离心 15 min, 取上清, 根据 Griess 反应检测上清液 NO 和 NOS 浓度。将 25、50、100、200、400 $\mu\text{g/mL}$ 的 5 个不同浓度 PSS 和巨噬细胞共同培养 24 h, 检测 iNOS mRNA 水平的表达, iNOS mRNA 实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)体系: 应用 RT-PCR 检测 iNOS mRNA 表达水平, 参照 Takara PrimeScript One Step RT-PCR 试剂盒(Ver. 2)说明书进行 RT-PCR 实验。将 PCR 产物作 2.0% 普通琼脂糖凝胶电泳分析, 紫外灯下观察结果并拍照。

1.4.4 脾脏指数的测定及脾脏组织学检查 PSS 灌胃给药 20 d 后, 将小鼠脱臼处死, 切开腹腔, 摘取小鼠脾脏, 分离结缔组织, 用滤纸吸干残血后, 称重(mg), 计算脾脏与体质量(g)比, 即以每克小鼠体质量含有的脾脏质量(mg)为脾脏指数。计算公式: 脾脏指数=脾脏质量/小鼠体质量; 脾称重后迅速置于 10% 的甲醛溶液固定 4 h。按照免疫组化步骤依次进行取材固定、脱水透明、包埋、切片、染色、镜检观察。

1.4.5 小鼠脾淋巴细胞悬液的制备 无菌条件颈椎脱臼法处死小鼠, 取出脾脏, 剪去脂肪和结缔组织, 用 Hank's 液漂洗; 放入 RPMI-1640 培养液的培养皿内, 用毛玻璃研磨, 使脾细胞悬于 RPMI-1640 培养液中; 用 8 层无菌纱布滤出单细胞悬液, 收集细胞悬液; 离心, 脾细胞悬液悬浮于含 10% 新生小牛血清的 RPMI-1640 完全培养液中; 将收集到的脾细胞置于玻璃培养皿中, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中静置培养 2 h, 0.4% 台盼蓝染色计数脾细胞的活细胞率为 95% 以上。显微镜下计数, 用 RPMI-1640 完全培养液稀释脾细胞悬液, 调整细胞浓度为 2×10^6 cells/mL。

1.4.6 脾细胞细胞周期的检测 将制备的脾细胞悬液, 转速为 1 000 $\times g$ 离心 5 min, 去上清, 用磷酸盐缓冲液(PBS)洗沉淀 3 次, 加入 70% 冷乙醇固定单个脾细胞, 4 $^{\circ}\text{C}$ 放置过夜, 转速为 1 000 $\times g$ 离心 5 min, 去乙醇, 用 PBS 洗沉淀 3 次, 再用震荡器震散细胞, 加入碘化丙啶(PI)染液, 混匀, 15 min 后用流式细胞仪检测。

1.5 统计学处理 采用 SAS8.1 统计学软件进行数据处理与统计分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 先进行方差齐性检验, 然后进行完全随机设计方差分析, 组间差异两两比较采用 q 检验, 与正常对照组样本均数的组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

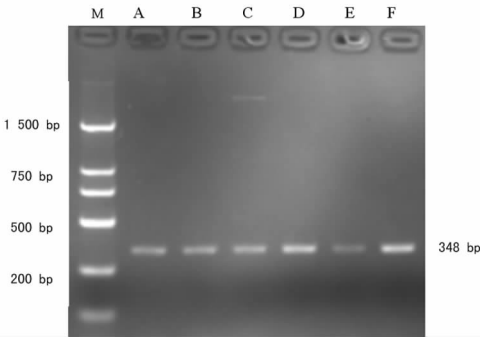
2.1 PSS 对 D-gal 衰老模型巨噬细胞 NO 与 NOS 水平的影响 与正常对照组比较, 衰老模型组巨噬细胞 NO 及 NOS 水平降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 与衰老模型组比较, 各 PSS 给药组 NO、NOS 水平均升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 见表 1。

2.2 PSS 对 D-gal 衰老模型小鼠巨噬细胞 iNOS mRNA 表达水平的影响 本实验将 25~400 $\mu\text{g/mL}$ 的 5 个不同浓度 PSS 和巨噬细胞共同培养 24 h, 检测 iNOS mRNA 水平的表达, 实验结果见图 1。结果表明, PSS 有效地上调了巨噬细胞 iNOS mRNA 的表达水平(348 bp), PSS 浓度为 400 $\mu\text{g/mL}$ 时 iNOS mRNA 表达上调最明显。

表 1 各组小鼠巨噬细胞 NO 与 NOS 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	PSS 剂量 [mg/(kg · d)]	<i>n</i>	NO($\mu\text{mol/L}$)	NOS($\mu\text{mol/L}$)
正常对照组	—	30	29.93 \pm 3.18	61.00 \pm 23.02
衰老模型组	—	30	21.32 \pm 2.97*	49.33 \pm 18.17*
PSS 给药组	100	10	32.51 \pm 3.14#	72.14 \pm 26.90#
	200	10	41.73 \pm 4.21#	82.33 \pm 29.65#
	400	10	57.78 \pm 5.08#	95.66 \pm 31.31#

*: $P < 0.05$, 与正常对照组比较; #: $P < 0.05$, 与衰老模型组比较; —: 无数据。



M: 蛋白标记物; A: 正常对照组; B: 25 $\mu\text{g/mL}$ PSS; C: 50 $\mu\text{g/mL}$ PSS; D: 100 $\mu\text{g/mL}$ PSS; E: 200 $\mu\text{g/mL}$ PSS; F: 400 $\mu\text{g/mL}$ PSS。

图 1 PSS 上调巨噬细胞 iNOS mRNA 的表达

2.3 PSS 对 D-gal 衰老模型小鼠脾脏指数及脾脏显微结构的影响

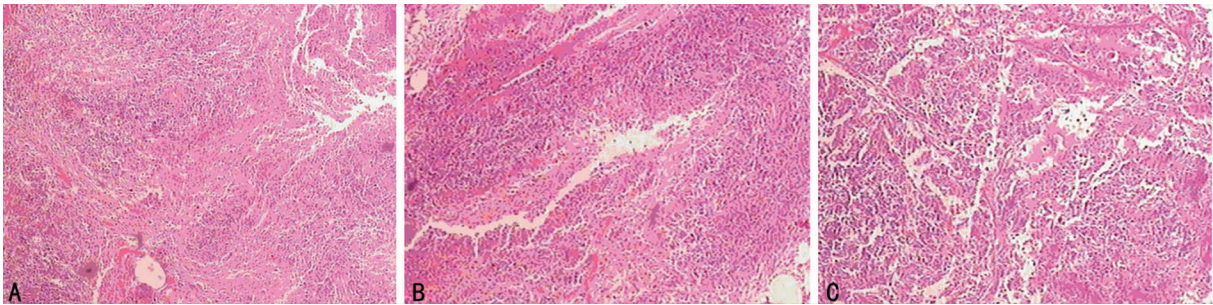
2.3.1 PSS 对 D-gal 衰老模型小鼠脾脏指数的影响 与正常对照组比较, 衰老模型组小鼠脾脏指数降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。与衰老模型组比较, 各 PSS 给药组小鼠脾脏指数明显上升, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 其中以中剂量组作用最明显。见表 2。

表 2 各组小鼠脾脏指数比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	PSS 剂量[mg/(kg · d)]	<i>n</i>	脾脏指数[g/(100 g)]
正常对照组	—	30	0.32 \pm 0.03
衰老模型组	—	30	0.21 \pm 0.01*
PSS 给药组	100	10	0.35 \pm 0.02#
	200	10	0.43 \pm 0.02#
	400	10	0.37 \pm 0.01#

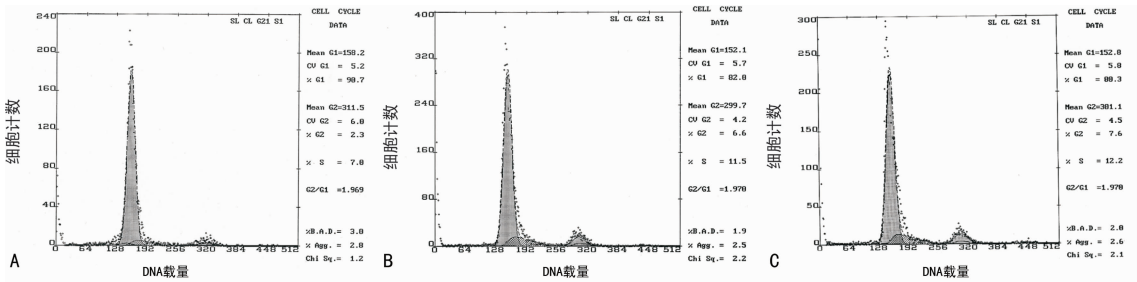
*: $P < 0.05$, 与正常对照组比较; #: $P < 0.05$, 与衰老模型组比较; —: 无数据。

2.3.2 PSS 对小鼠脾脏显微结构的影响 小鼠脾脏做组织切片行免疫组化实验, 光镜下检查发现, 正常对照组小鼠脾脏红髓和白髓结构清晰, 界限明显, 淋巴小结、动脉周围淋巴鞘结构明显; 中、高剂量 PSS 给药组小鼠脾脏淋巴小结明显, 白髓增大, 其单个视野 1 个白髓区, 且白髓区较深染, 推测为有核细胞的增生; 而 D-gal 衰老模型组脾脏红髓和白髓结构不清晰, 界限不明显, 淋巴小结、动脉周围淋巴鞘结构变得更细致、更紧凑。见图 2。



A: D-gal 衰老模型组; B: 正常对照组; C: 中、高剂量 PSS 给药组。

图 2 各组小鼠脾脏组织切片(苏木精-伊红染色×40)



A: 正常对照组; B: 衰老模型组; C: PSS 给药组。

图 3 各组小鼠脾细胞流式细胞图

2.4 PSS 对 D-gal 衰老模型小鼠脾细胞细胞周期的影响 与正常对照组相比,衰老模型组 G₀/G₁ 期细胞百分比明显上升,差异有统计学意义($P<0.05$);各剂量 PSS 给药组小鼠脾细胞发生 G₀/G₁ 期向 S 期转换,S 期细胞百分比分别为(23.00±0.68)%、(30.07±1.51)%、(29.00±0.83)%,与衰老模型组比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。各组小鼠脾细胞流式细胞图,见图 3。

表 3 各组小鼠脾细胞不同细胞周期细胞百分比比较(±s)

组别	剂量 (μg/mL)	n	G ₀ /G ₁ (%)	S(%)	G ₂ /M(%)
正常对照组	—	30	59.75±0.74	32.83±1.62	8.23±0.45
衰老模型组	—	30	77.98±1.27*	12.28±1.00*	9.03±0.77*
PSS 给药组	100	10	66.82±0.90 [#]	23.00±0.68 [#]	9.58±0.38 [#]
	200	10	60.02±0.53 [#]	30.07±1.51 [#]	10.18±1.30 [#]
	400	10	61.65±0.79 [#]	29.00±0.83 [#]	9.95±0.65 [#]

*: $P<0.05$, 与正常对照组比较; #: $P<0.05$, 与衰老模型组比较, —: 无数据。

3 讨 论

研究者普遍认为多糖是一种免疫调节剂,PSS 中已经分离出甾类糖苷、蛋白酶、氨基酸、生物碱等十几类化学物质,并且其提取物常具有抗癌、抗衰老、抗菌、抗病毒、抗炎等多种药理活性^[5],对海洋药物多糖抗衰老的研究已成为目前药物研究的重点之一。PSS 药理作用的研究也成了当今研究的热点之一^[6]。

连续给动物注射 D-gal,其代谢过程中产生大量的自由基,导致细胞受损,且衰老变化明显,模型稳定。因此,D-gal 衰老模型小鼠在抗衰老研究中被广泛应用。

NO 是一种新发现的能调节细胞多种功能的第二信使

分子,具有抗炎等广泛的生理病理生物学功能。体内大多数细胞在正常的生理条件下,以及在静息的巨噬细胞中,iNOS 的表达水平很低^[7],当巨噬细胞被激活时(如脂多糖刺激),iNOS 可以大量表达,诱发机体产生大量的 NO。NO 对炎症反应具有促进作用,主要表现在:抑制血管扩张,减少血管通透性和渗漏;还可抑制促炎细胞因子的产生,在多种炎症动物模型中,NO 浓度明显增高可使典型的炎症症状得到明显改善。同时,炎症发生时,在致炎因子的刺激下,iNOS 迅速高表达,合成 NO,以促进机体达到抗炎作用^[8]。许多研究认为,从植物或真菌中提取的多糖可以上调 NOS 活性,从而增加 NO 生成量^[9]。巨噬细胞是机体的非特异性免疫细胞,能够主动吞噬、清除外源性异物,直接杀伤病原微生物。本实验结果表明,PSS 能够使 D-gal 衰老小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能明显增强,同时能够促进巨噬细胞分泌 NO,合成 NOS,上调 iNOS 的表达,与衰老模型组相比,差异有统计学意义($P<0.05$)。因此,PSS 对巨噬细胞免疫功能具有调节作用,能够增强巨噬细胞的吞噬功能,辅助刺激 CD4⁺T 淋巴细胞增殖、B 淋巴细胞生长分化、激活自然杀伤细胞,增强巨噬细胞胞内杀菌和胞外细胞毒等作用。因此,推断 PSS 的抗炎作用可能是通过上调 iNOS,从而增加 D-gal 衰老小鼠 NO 合成实现的。

脾脏指数的改变能够反映机体免疫功能的状态。进一步通过小鼠脾脏显微结构镜检观察,在中、高剂量 PSS 实验组刺激 20 d 后小鼠脾脏明显增大、重量增加,低倍镜下切片显示靠近被膜处有紧密排列的白髓,清晰可见白髓区域大量的增生细胞,且有向被膜延伸的趋势,被膜层出现了许多细胞增生点灶。油镜下显示其增生细胞多为单个核细胞。中、高剂量 PSS 刺激使得免疫细胞的增殖明显上升,提示有免疫原性的物质存在,选择性地促使免疫细胞的增生。结果表明,中、高剂量 PSS 对小鼠的脾脏指数具有明显增高作用。因此,中、高剂量 PSS 中可能存在能激活自然杀伤 T 细胞(NKT 细胞)的活性物质,而具体刺激 NKT 细胞活化的活性物质尚需(下转第 1806 页)

下等,同时结合手术本身也会致使患者免疫功能低下^[7]。因此,对消化道恶性肿瘤患者术后给予适当的营养支持能够提高患者免疫功能,改善患者内环境紊乱等。研究报道显示,患者术后 2 h 小肠的蠕动功能与肠鸣音即开始恢复,因此,采取早期肠内营养尤为重要。并且肠内营养更符合生理要求,有助于维持肠道正常通透性及绒毛的高度,从而保护肠道黏膜屏障^[8]。同时,采用早期肠内营养能够减少患者高分解代谢,刺激免疫球蛋白及胃肠激素分泌,提供均衡的营养,故可改善患者术后营养状态。

谷氨酰胺是一种含谷氨酸的酰胺,能够为机体提供氮源,从而促进肌细胞内蛋白质合成,并且具有维持淋巴细胞分泌、增殖功能,以及调节机体免疫的作用^[9]。谷氨酰胺是胃肠道黏膜细胞中一种必不可少的成分,并且具有维持肠道黏膜上皮结构完整性的作用。老年消化道恶性肿瘤患者在应激状态下,会使肠道黏膜上皮细胞内的谷氨酰胺大量消耗。肠道缺乏谷氨酰胺、消化液刺激及缺乏食物时,胃肠黏膜通透性增加,致使肠道免疫功能受损^[10]。本文研究结果表明,术后 9 d 观察组患者 CD4⁺ 细胞百分比、CD4/CD8 比值高于对照组,CD8⁺ 细胞百分比低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$);术后 9 d 观察组患者 IgA 水平高于对照组($P<0.05$);术后 9 d 观察组患者 TG 和 LDL-C 水平高于对照组,而 TC 水平低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$),提示含谷氨酰胺的肠内营养能够明显改善患者血脂水平和提高免疫功能。

综上所述,含谷氨酰胺的肠内营养可明显改善老年消化道恶性肿瘤患者血脂及免疫功能,具有重要临床研究价值,值得进一步推广应用。

参考文献

[1] 陈翠霞,谢可.艾迪注射液治疗老年消化道恶性肿瘤的疗效评价

(上接第 1803 页)
进一步的深入研究。

脾脏与胸腺是机体重要的免疫器官,是淋巴细胞成熟分化和再循环的重要场所^[10]。本研究显示,与正常对照组比较,衰老模型组小鼠脾脏指数降低($P<0.05$)。与衰老模型组比较,各 PSS 给药组小鼠脾脏指数明显升高($P<0.05$),其中以中剂量组作用最明显。本实验运用流式细胞术检测 D-gal 衰老模型小鼠脾细胞细胞周期,结果表明皮下注射 D-gal 能够引起小鼠细胞周期发生 G₀/G₁ 期阻滞。阻滞活化细胞进入 S 期,抑制淋巴细胞增殖。PSS 各剂量组能够减少处于 G₀/G₁ 期的脾细胞,增加小鼠 S 期和 G₂/M 期的脾细胞,表明 PSS 可通过调节免疫细胞的细胞周期进程,提高机体免疫功能而发挥免疫调节作用。

综上所述,通过 PSS 增强小鼠巨噬细胞合成 NO、NOS 和上调 iNOS mRNA 水平的表达,增加衰老小鼠脾脏指数,调节免疫细胞的细胞周期进程这 3 个方面验证了 PSS 对衰老小鼠的抗衰老作用。因此 PSS 作为一种新型的免疫调节药物,具有广阔的应用前景,本研究为下一步研究其免疫药理作用和临床应用提供了初步实验依据和研究基础。

参考文献

[1] 李婷菲,叶斌.药用海洋活性物质的研究进展[J].海峡药学,2009,21(11):12-16.

[J]. 四川医学,2012,33(8):1346-1347.
[2] 魏柏,熊枝繁,陈景三.肠内联合肠外营养支持用于老年晚期消化道恶性肿瘤化疗患者的观察[J].中华临床营养杂志,2013,21(2):72-76.
[3] 熊峰,朱春荣,朱彦博,等.外源性糖皮质激素对老年消化道恶性肿瘤患者内源性皮质醇水平的影响[J].中国老年学杂志,2013,33(21):5286-5288.
[4] 范素荣,杨静,王健,等.老年消化系统疾病患者的营养风险评估及综合护理[J].实用临床医药杂志,2013,17(12):165-167.
[5] 韩维嘉,孙建琴,韩瑞平,等.含不同剂量谷氨酰胺肠内营养在老年危重患者营养支持中的应用[J].中华临床营养杂志,2014,22(3):149-153.
[6] 方玉,杨锐,王艳莉,等.消化系统恶性肿瘤病人围手术期营养支持现况调查[J].肠外与肠内营养,2012,19(1):16-20.
[7] 韩维嘉,孙建琴,王一倩,等.含不同剂量谷氨酰胺肠内营养对老年危重患者氧化应激状态的影响[J].老年医学与保健,2013,19(5):303-305.
[8] 常军.早期肠内营养联合肠外营养在老年上消化道恶性肿瘤术后的应用价值[J].黑龙江医药,2014,13(6):1390-1391.
[9] 韩维嘉,孙建琴,王一倩,等.含谷氨酰胺的肠内营养改善老年危重症病人的营养与免疫功能的研究[J].肠外与肠内营养,2014,21(1):4-7.
[10] 陈爱华.含谷氨酰胺的肠内营养对肠癌患者术后营养状况和免疫功能的影响[J].广西医学,2014,36(2):207-212.

(收稿日期:2015-02-14)

[2] 崔叶洁,胡滨.螺旋藻多糖的生理功能及其修饰改性研究[J].食品工业科技,2010,31(4):405-407.
[3] 钱志刚.螺旋藻多糖提取新工艺研究[J].淮海工学院学报,2000,9(2):50-52.
[4] 秦红兵,杨朝晖,范忆江,等.D-半乳糖诱导衰老小鼠模型的建立与评价[J].中国组织工程研究与临床康复,2009,13(7):1275-1277.
[5] 李海芳,陈瑶,杨梦甦,等.棘皮动物天然产物的研究进展[J].中国海洋药物,2008,27(4):52-59.
[6] Kishk YFM, Al-Sayed HMA. Free-radical scavenging and antioxidative activities of some polysaccharides in emulsions[J]. J Food Sci Technol, 2007, 40(2): 270-277.
[7] Morbidelli L, Donnini S, Ziche M. Role of nitric oxide in the modulation of angiogenesis[J]. Curr Pharm Des, 2003, 9(7): 521-530.
[8] Bian K, Ke Y, Kamisaki Y, et al. Proteomic modification by nitric oxide[J]. J Pharmacol Sci, 2006, 101(4): 271-279.
[9] Ye YN, Liu ES, Li Y, et al. Protective effect of polysaccharides-enriched fraction from angelica sinensis on hepatic injury[J]. Life Sci, 2001, 69(6): 637-646.
[10] 王思芦,汪开毓,赵玲,等.鸡枞菌多糖对免疫抑制小鼠免疫功能的影响[J].中国药理学通报,2013,29(1):59-63.

(收稿日期:2015-04-25)