

蝉花宝牌蝉花片免疫功能评价

李 成^{1,2}, 彭国杰¹, 金 雷¹, 李春如³, 樊美珍^{2*}, 孙长胜¹

(1. 浙江泛亚生物医药股份有限公司, 平湖 314200; 2. 安徽农业大学林学与园林学院, 合肥 230036;

3. 浙江泛亚生命科学研究院, 平湖 314200)

摘 要: 将蝉花宝牌蝉花片(商品名)设低、中、高3个剂量组,分别相当人体推荐量的5、10、30倍,同时设阴性对照组(1%羧甲基纤维素钠),连续1个月经口给予小鼠不同剂量的样品,进行迟发型超敏反应(DTH)、腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞、抗体生成细胞检测、自然杀伤(NK)细胞杀伤活性和脾淋巴细胞转化等实验,以评估其免疫功能。结果表明,与阴性对照组比较,受试3个剂量组足跖肿胀度极显著增加($P<0.01$);中、高剂量组溶血空斑数和血清溶血素抗体积数值均极显著增加($P<0.01$),腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞的吞噬率、吞噬指数显著增加($P<0.05$, $P<0.01$);高剂量组NK细胞活性显著升高($P<0.05$)。蝉花宝牌蝉花片(商品名)具有显著的免疫调节功能。

关键词: 虫草; 蝉花; 免疫功能; 巨噬细胞吞噬; NK细胞活性

中图分类号: Q939.91

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X(2018)01-0161-05

Evaluating the immunity function of Chanhuaobao tablet

LI Cheng^{1,2}, PENG Guojie¹, JIN Lei¹, LI Chunru³, FAN Meizhen², SUN Changsheng¹

(1. Zhejiang BioAsia Bio-Pharmaceutical Co., Ltd, Pinghu 314200;

2. School of Forestry and Landscape Architecture, Anhui Agricultural University, Hefei 230036;

3. Zhejiang BioAsia Institute of Life Sciences, Pinghu 314200)

Abstract: Mice were divided into one negative group (given 1% sodium carboxymethyl cellulose) and three treatment groups at different doses, i.e., low-dose, middle-dose and high-dose groups. Mice were fed with Chanhuaobao tablets by five, ten and thirty times of the dose recommended to human beings for 4 weeks, respectively. The abilities of natural killer (NK) cells were tested. The delayed type hypersensitivity (DTH) test and splenic lymphocyte proliferation test were carried out thereafter. The results showed that compared to the negative group, the three treatment groups showed significant swelling of mice ($P<0.01$). The level of serum hemolysin ($P<0.01$), hemolytic plaque number ($P<0.01$) as well as the phagocytosis rate and phagocytic index ($P<0.01$) were significantly improved in the middle- and high-dose groups. The killing activity of NK cell was significantly increased in the high-dose group ($P<0.05$). In conclusion, Chanhuaobao tablet could significantly improve the immunological function of mice.

Key words: cordyceps; *Isaria cicadae*; immunological function; macrophage phagocytic activity; NK cell activity

蝉花(*Isaria cicadae* Miquel)是虫草的一种,为我国传统的中草药,可用于小儿惊痫、夜啼,具有较高的安全性。现代药理学研究表明:蝉花因其强大的基因组,可表达16190个蛋白编码基因,远高于其它虫草,为多样的药理活性找到了基因基础,如蝉花及其人工培养物具有免疫调节、脂类代谢调节、抗疲劳抗应激、解热镇痛和镇静催眠等作用^[1-3]。

野生蝉花提取物有明显促进正常小鼠体液免疫功能和提高巨噬细胞吞噬功能作用,且安全无毒^[4]。蝉花子实体能促进脾细胞增殖,增强NK细胞杀伤活性和巨噬细胞吞噬能力,从而增强机体免疫功能^[5]。也有部分文献报道蝉花多糖具有免疫调节功能^[6]。

尽管蝉花在免疫功能方面已有少量研究,但多是实验室的初步实验。按照国家保健食品相关法规

收稿日期: 2017-05-23

基金项目: 蝉花宝牌蝉花片(增免)保健食品报批项目资助。

作者简介: 李 成, 硕士研究生。E-mail: cli@bioasia.com.cn

* 通信作者: 樊美珍, 研究员, 博士生导师。E-mail: mzf@bioasia.com.cn

要求, 进行人工蝉花子实体系统功能评估的报道还未见报道。蝉花宝牌蝉花片是蝉花菌经过固液双相发酵培养所得的子实体经压片工艺制成的蝉花纯粉片。

本研究依据保健食品申报需求在指定单位进行了免疫功能评价^[7], 对测定结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

实验所用蝉花宝牌蝉花片(商品名)系人工培养的蝉花子实体纯粉片, 由浙江泛亚生物医药股份有限公司生产提供。

实验设低、中、高3个剂量组, 分别为0.083、0.166、0.50 g·kg⁻¹ BW, 相当于人体推荐摄入量的5、10和30倍及1个阴性对照组。分别取样品1.66、3.32和10.0 g用1%羧甲基纤维素钠配至200 mL, 灌胃给予受试物, 灌胃体积为0.1 mL·10 g⁻¹ BW, 对照组给予等体积的溶剂, 每天灌胃1次, 连续给药1个月。

1.2 实验动物及其环境条件控制

实验用ICR小鼠由浙江省实验动物中心提供, 实验动物生产许可证号: SCXK(浙)2014-0001, SPF级, 雄性, 体重为18~22 g。实验动物使用许可证号: SYXK(浙)2011-0166。实验环境条件: 室温20~25℃, 相对湿度40%~70%。

1.3 实验方法

1.3.1 ConA诱导的小鼠淋巴细胞转化实验(MTT法) 灌胃给予不同样品, 每天1次, 连续灌胃1个月后, 每鼠无菌取脾, 置于盛有适量无菌Hank's液中, 用镊子轻轻撕碎, 制成单细胞悬液, 经过200目筛网过滤、洗涤、计数, 最后用RPMI1640培养液调整细胞浓度为3×10⁶个·mL⁻¹^[8]。将细胞悬液分两孔加入24孔培养板中, 每孔1 mL, 在其中一孔加入75 μL ConA液(相当于7.5 μg·mL⁻¹), 另一孔作为对照, 置37℃、5%CO₂培养箱中培养72 h。培养结束前4 h, 每孔轻轻吸去上清液0.7 mL, 加入不含小牛血清的RPMI1640培养液, 同时加入MTT(5 mg·mL⁻¹)50 μL·孔⁻¹, 继续培养4 h。培养结束后, 每孔加入1 mL酸性异丙醇, 吹打均匀, 使紫色结晶完全溶解。在570 nm波长处测定光密度值(OD)。最后用加ConA孔的光密度值减去不加ConA孔的光密度值代表淋巴细胞的增值能力^[9]。

1.3.2 绵羊红细胞(SRBC)诱导小鼠DTH实验(足跖增厚法) 各组灌胃给予受试物, 每天1次, 连续1个月。在实验结束前5 d, 每只鼠腹腔注射0.2

mL 2%(V/V)压积绵红细胞(SRBC)悬液进行免疫。免疫4 d, 测量左后足跖部厚度, 然后在测量部位皮下注射20%(V/V)SRBC, 每只鼠20 μL(约1×10⁸个SRBC), 于注射后24 h测定左后足跖部厚度, 同一部位测量3次, 取平均值。以攻击前后足跖厚度差值(足跖肿胀度)来表示DTH的程度。

1.3.3 抗体生成细胞检测(Jerne改良玻片法) 给药、SRBC免疫方法同前1.3.2。给药、制单细胞悬液方法同1.3.1, 最后用RPMI1640培养液调整细胞液浓度5×10⁶个·mL⁻¹。将表层培养基(1g琼脂糖加双蒸水100 mL)加热溶解后, 放45℃水浴保温, 与等量两倍浓度的Hank's液混合, 分装在小试管中, 每管0.5 mL, 再向管内加入50 μL 10%SRBC(V/V, 用SA液配制)、20 μL脾细胞悬液(5×10⁶个·mL⁻¹), 迅速混匀, 倾倒入已刷薄层琼脂糖的玻片上, 做平行片, 待琼脂糖凝固后, 将玻片平扣放在玻片架上, 放入二氧化碳培养箱中温育1.5 h, 然后用生理盐水稀释的补体(1:8)加入到玻片凹槽内, 继续温育1.5 h后, 计数溶血空斑数^[10]。

1.3.4 小鼠血清溶血素测定(血凝法) 给药、SRBC免疫方法同前1.3.2。5 d后, 摘眼球取血清, 用生理盐水将血清倍比稀释, 将不同稀释度的血清放在微量血凝板内, 每孔100 μL, 再加入100 μL 0.5%SRBC悬液, 混匀, 放入湿润的平盘内, 加盖, 37℃温箱孵育3 h, 观察血球凝集程度, 计算抗体积数。

1.3.5 小鼠碳廓清实验 给药方法同前, 另外每鼠尾注入用生理盐水稀释4倍的印度墨汁, 按每10 g体重注射0.1 mL计算, 待墨汁注入后, 立即计时。注入墨汁后2和10 min, 分别从内眦静脉丛取血20 μL, 加入到2 mL 0.1%Na₂CO₃溶液中, 在600 nm波长处测定光密度值(OD)。在第2次采血结束后, 立即处死小鼠, 取肝脏和脾脏, 用滤纸吸干脏器表面血污, 称重, 计算吞噬指数。

1.3.6 小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞实验(滴片法) 给药、SRBC免疫方法同1.3.2。5 d后, 腹腔注射加小牛血清的Hank's液3 mL·只⁻¹, 用颈椎脱臼法处死小鼠, 轻轻揉腹部20次, 以充分洗出腹腔巨噬细胞, 然后将腹壁剪开一个小口, 用胶头吸管吸取腹腔洗液2 mL于试管内。吸取腹腔洗液0.5 mL加入盛有0.5 mL 1%鸡血红细胞悬液的试管内, 混匀。吸取0.5 mL混合液, 加入玻片的琼脂圈内。置孵箱内37℃孵育15 min。孵育结束后迅速用生理盐水将未贴壁细胞冲掉, 于甲醇液中固定1 min, Giemsa液染色15 min, 用蒸馏水冲洗干净、晾干、

镜检, 计数 100 个巨噬细胞, 计算吞噬指数, 吞噬百分率通过 $X = \sin^{-1} P/2$ 进行数据转换。

1.3.7 NK 细胞活性检测 (LDH 测定法) 给药、制单细胞悬液方法同 1.3.1, 最后用 RPMI1640 培养液调整细胞液浓度 2×10^7 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$, 此为效应细胞, 实验前 24 h 将 YAC-1 细胞传代培养, 应用前用 Hank's 液洗 3 次, 用 RPMI1640 完全培养液调整细胞浓度为 4×10^5 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$, 此为靶细胞。取靶细胞和效应细胞各 100 μL (效靶比 50:1), 加入 U 型 96 孔培养板中; 靶细胞自然释放孔加靶细胞和培养液各 100 μL , 靶细胞最大释放孔加靶细胞和 1% NP40 各 100 μL ; 上述各项均设 3 个平行孔, 于 37 $^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 培养箱培养 4 h, 然后将 96 孔培养板以 1 500 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 每孔吸取上清 100 μL 置平底 96 孔培养板中, 同时加入 LDH 基质液 100 μL , 反应 8 min, 每孔加入 1 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 HCl 30 μL , 在酶标仪 490 nm 处测定光密度值 (OD), 计算 NK 细胞活性^[11]。

1.3.8 脏器/体重比值 各组灌胃给予受试物, 每天 1 次, 连续灌胃 1 个月后, 颈椎脱臼法处死动物, 取其胸腺及脾脏, 称重, 计算胸腺/体重和脾脏/体重比值。

1.3.9 数据处理 采用 SPSS 18.0 软件进行统计数据 ($\bar{x} \pm s$) 分析。

2 结果与分析

2.1 不同浓度样品对 ConA 诱导小鼠淋巴细胞增殖能力的影响

由表 1 可知, 各剂量组 ConA 诱导的小鼠淋巴细胞增殖能力与阴性对照组均无显著性差异 ($P > 0.05$), 结果见表 1。

表 1 受试物对 ConA 诱导小鼠淋巴细胞增殖能力影响
Table 1 Effects on mice lymphocyte proliferation induced by ConA

组别 Group	动物数 Number of animals	光密度差值 Difference of optical density
阴性对照 Negative group	10	0.067 \pm 0.030
低剂量 Low dose	10	0.063 \pm 0.033
中剂量 Middle dose	10	0.062 \pm 0.028
高剂量 High dose	10	0.119 \pm 0.092
<i>F</i>		2.717
<i>P</i>		0.059

2.2 不同浓度样品对绵羊红细胞 (SRBC) 诱导小鼠 DTH 的影响

从表 2 可以看出, 与阴性对照组比较, 受试物 3 个剂量组小鼠左后足跖部 24 h 和 0 h 厚度差值明

显增加, 差异均具有显著性意义 ($P < 0.01$)。

2.3 不同浓度样品对小鼠抗体生成细胞的影响

由表 3 可知, 与阴性对照组比较, 中、高剂量组溶血空斑数增多, 具有显著性差异 ($P < 0.01$)。

表 2 受试物对绵羊红细胞 (SRBC) 诱导小鼠 DTH 影响
Table 2 Effects on mouse DTH induced by sheep red blood cells (SRBC)

组别 Group	动物数 Number of animals	左后足跖部厚度差/cm Difference of left rear foot plantar thickness
阴性对照 Negative group	10	0.026 \pm 0.015
低剂量 Low dose	10	0.083 \pm 0.029**
中剂量 Middle dose	10	0.077 \pm 0.020**
高剂量 High dose	10	0.087 \pm 0.020**
<i>F</i>		17.345
<i>P</i>		<0.001

表 3 受试物对小鼠抗体生成细胞的影响
Table 3 Effect on mice antibody-producing cells of the test substances

组别 Group	动物数 Number of animals	溶血空斑数 Number of hemolytic plaque
阴性对照 Negative group	10	51 \pm 9
低剂量 Low dose	10	54 \pm 4
中剂量 Middle dose	10	62 \pm 3**
高剂量 High dose	10	64 \pm 4**
<i>F</i>		12.564
<i>P</i>		<0.001

注: 与阴性对照组比较, “*” 表示 $P < 0.05$, “**” 表示 $P < 0.01$, 下同。

Note: Compared to the negative group, “*” means $P < 0.05$, “**” means $P < 0.01$. The same below.

2.4 不同浓度样品对小鼠血清溶血素的影响

由表 4 可知, 中、高剂量组血清溶血素抗体积数值均显著高于与阴性对照组 ($P < 0.01$)。

表 4 受试物对小鼠血清溶血素的影响

Table 4 Effects on mice serum hemolysin

组别 Group	动物数 Number of animals	抗体积数值 Value of volume resistance
阴性对照 Negative group	10	126.3 \pm 5.1
低剂量 Low dose	10	132.6 \pm 5.7
中剂量 Middle dose	10	139.5 \pm 12.4**
高剂量 High dose	10	153.8 \pm 10.3**
<i>F</i>		17.495
<i>P</i>		<0.001

表 5 受试物对小鼠碳廓清实验吞噬指数的影响

Table 5 Impact on the carbon clearance test phagocytic index of mice the test substances

组别 Group	动物数 Number of animals	吞噬指数 Phagocytosis index
阴性对照 Negative group	10	7.75±0.75
低剂量 Low dose	10	8.55±0.70
中剂量 Middle dose	10	8.44±0.88
高剂量 High dose	10	8.43±0.85
<i>F</i>		2.079
<i>P</i>		0.120

表 6 受试物对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞的影响

Table 6 Effect on mice peritoneal macrophages swallowing chicken red blood cells the test substances

组别 Group	动物数 Number of animals	吞噬率/% Phagocytic rate	吞噬指数 Phagocytosis index
阴性对照 Negative group	10	24.2±2.4	0.35±0.03
低剂量 Low dose	10	25.2±2.9	0.36±0.03
中剂量 Middle dose	10	29.5±2.3**	0.39±0.02*
高剂量 High dose	10	33.7±3.3**	0.43±0.03**
<i>F</i>		24.951	16.022
<i>P</i>		<0.001	<0.001

表 7 受试物对小鼠 NK 细胞活性的影响

Table 7 Effect on mice NK cell activity the test substances

组别 Group	动物数 Number of animals	NK 细胞活性/% NK cell activity
阴性对照 Negative group	10	20.5±8.9
低剂量 Low dose	10	28.3±9.8
中剂量 Middle dose	10	31.2±12.4
高剂量 High dose	10	31.6±9.1*
<i>F</i>		2.612
<i>P</i>		0.046

表 8 受试物对小鼠脏器/体重比值的影响

Table 8 Effect on mice visceral organs/BW the test substances

组别 Group	动物数 Number of animals	脾脏/体重 /mg·g ⁻¹ Spleen/BW	胸腺/体重 /mg·g ⁻¹ Thymus/BW
阴性对照 Negative group	10	3.48±0.52	2.24±0.52
低剂量 Low dose	10	3.71±0.67	2.11±0.61
中剂量 Middle dose	10	3.51±0.71	2.12±0.49
高剂量 High dose	10	3.59±0.62	2.17±0.35
<i>F</i>		0.249	0.140
<i>P</i>		0.861	0.935

表 9 ConA 诱导对小鼠体重的影响

Table 9 Effect on mice body weight induced by ConA

组别 Group	动物数 Animal	始重/g Initial weight	中重/g Middle weight	终重/g Final weight
阴性对照 Negative group	12	20.4±0.5	27.8±0.9	33.3±1.4
低剂量 Low dose	12	20.1±1.0	27.5±0.6	33.8±0.6
中剂量 Middle dose	12	20.9±0.8	28.0±0.8	34.0±1.4
高剂量 High dose	12	20.1±1.6	27.2±0.8	33.8±0.7
<i>F</i>		1.378	2.234	0.808
<i>P</i>		0.262	0.098	0.496

表 10 绵羊红细胞对小鼠体重的影响

Table 10 Effect on mice body weight by sheep red blood cells

组别 Group	动物数 Number of animals	始重/g Initial weight	中重/g Middle weight	终重/g Final weight
阴性对照 Negative group	12	21.1±0.7	27.4±0.8	33.8±0.7
低剂量 Low dose	12	20.7±0.8	27.4±0.7	33.6±1.1
中剂量 Middle dose	12	20.7±0.8	27.0±0.9	33.9±0.7
高剂量 High dose	12	21.0±1.1	27.4±0.6	33.7±1.1
<i>F</i>		0.768	0.975	0.145
<i>P</i>		0.518	0.413	0.932

2.5 不同浓度样品对小鼠碳廓清实验吞噬指数影响

从表 5 可以看出, 各剂量组吞噬指数与阴性对照组比较, 均无显著性差异 ($P < 0.05$)。

2.6 不同浓度样品对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞的影响

由表 6 可知, 与阴性对照组比较, 中、高剂量

组小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞的吞噬率、吞噬指数增加, 均具有显著性差异 ($P < 0.01$)。

2.7 不同浓度样品对小鼠 NK 细胞活性的影响

NK 细胞活性通过 $X = \text{Sin}^{-1}P^{1/2}$ 进行数据转换, 转换后的数据符合方差齐性要求 ($P > 0.05$)。由表 7 可知, 高剂量组 NK 细胞活性显著高于与阴性对

表 11 小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞对小鼠体重的影响

Table 11 Effect on mice body weight by peritoneal macrophages swallowing chicken red blood cells

组别 Group	动物数 Number of animals	始重/g Initial weight	中重/g Middle weight	终重/g Final weight
阴性对照 Negative group	12	20.9±1.0	27.6±0.9	33.9±0.7
低剂量 Low dose	12	20.8±0.6	27.7±0.6	34.0±0.4
中剂量 Middle dose	12	21.0±1.5	27.6±0.7	33.7±0.5
高剂量 High dose	12	20.6±1.6	27.7±0.6	34.0±0.5
<i>F</i>		0.175	0.150	1.180
<i>P</i>		0.913	0.929	0.328

表 12 小鼠碳廓清实验对小鼠体重的影响

Table 12 Effect on mice body weight using the carbon clearance test

组别 Group	动物数 (n) Animal	始重/g Initial weight	中重/g Middle weight	终重/g Final weight
阴性对照 Negative group	12	20.6±0.7	27.4±0.5	33.6±0.8
低剂量 Low dose	12	20.8±0.9	27.0±1.0	33.7±0.5
中剂量 Middle dose	12	20.8±1.3	27.6±1.6	33.5±0.7
高剂量 High dose	12	21.0±1.1	27.3±0.6	33.4±0.7
<i>F</i>		0.321	1.429	0.245
<i>P</i>		0.810	0.247	0.864

对照组 ($P < 0.05$)。

2.8 不同浓度样品对小鼠脏器/体重比值的影响

与阴性对照组比较, 各剂量组小鼠胸腺/体重比值及脾脏/体重比值的差异均无显著性意义 ($P > 0.05$) (见表 8)。

2.9 不同浓度样品对小鼠体重的影响

表 9 显示 ConA 诱导的小鼠脾淋巴细胞转化实验、抗体生成细胞检测和 NK 细胞活性测定 3 项实验小鼠体重的变化; 绵羊红细胞 (SRBC) 诱导小鼠 DTH、小鼠血清溶血素测定和脏器/体重比值测定 3 项实验小鼠体重结果见表 10; 小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞实验小鼠体重见表 11; 小鼠碳廓清实验对小鼠体重的影响见表 12。3 个剂量组小鼠体重在实验的初期、中期及终期分别与阴性对照组比较, 差异均无显著性意义 ($P > 0.05$)。

3 结论

按照中华人民共和国卫生部《保健食品检验与评价技术规范 (2003 年版)》^[7]对免疫功能的结果判定规则, “在细胞免疫功能、体液免疫功能、单核巨噬细胞功能、及 NK 细胞活性 4 个方面任两个方面结果阳性, 可判定该受试样品具有增强免疫力功能作用”。本实验证实蝉花宝牌蝉花片可增强单核巨噬细胞功能和 NK 细胞活性, 故具有免疫调节功能。

参考文献:

- [1] 李增智, 陈祝安, 陈以平. 国宝虫草金蝉花[M]. 合肥: 合肥工业大学出版社, 2014.
- [2] WENG S C, CHOU C J, LIN L C, et al. Immunomodulatory functions of extracts from the Chinese medicinal fungus *Cordyceps cicadae*[J]. J Ethnopharmacol, 2002, 83(1): 79-85.
- [3] LU M Y, CHEN C C, LEE L Y, et al. N^6 -(2-Hydroxyethyl) adenosine in the medicinal mushroom *Cordyceps cicadae* attenuates lipopolysaccharide-stimulated pro-inflammatory responses by suppressing TLR4-Mediated NF- κ B signaling pathways[J]. J Nat Prod, 2015, 78(10): 2452-2460.
- [4] 宋捷民, 陈玲, 陈玮, 等. 蝉花对免疫功能影响的实验研究[J]. 中国中医药科技, 2007, 14(1): 37-38.
- [5] 杜金沙, 吕中明, 王民生. 蝉花子实体对小鼠免疫功能的影响[J]. 江苏医药, 2013, 39(18): 2117-2119.
- [6] KIM H S, KIM Y J, LEE H K, et al. Activation of macrophages by polysaccharide isolated from *Paecilomyces cicadae* through toll-like receptor 4[J]. Food and Chemical Toxicology, 2012, 50(9): 3190-3197.
- [7] 中华人民共和国卫生部. 保健食品检验与评价技术规范[M]. 北京: 卫生部卫生法制与监督司, 2003.
- [8] 瞿飘飘. 保健食品紫皮石斛洋参的功能和毒理学研究[D]. 杭州: 浙江工业大学, 2015.
- [9] 吴学谦, 吴学良, 楼利明, 等. 原木灵芝破壁孢子粉对小鼠免疫功能的影响[J]. 中国食用菌, 2014, 33(1): 51-54.
- [10] 陆胤. 中草药猫人参的活性评价及其功能性产品的开发[D]. 杭州: 浙江大学, 2007.
- [11] 程俊文, 吴学谦, 孙培虎, 等. 灵芝多糖提取物胶囊对小鼠免疫功能的影响[J]. 中国食用菌, 2009 (6): 41-44.