

## 小分子阿胶对小鼠免疫功能的影响

邸志权<sup>1</sup>, 姜一朴<sup>1,2</sup>, 王延涛<sup>3</sup>, 安梦培<sup>1</sup>, 胡金芳<sup>1\*</sup>, 申秀萍<sup>1\*</sup>, 张 淹<sup>3</sup>

1. 天津药物研究院新药评价有限公司 天津市新药非临床评价技术工程中心, 天津 300301

2. 安徽医科大学药学院, 安徽 合肥 230032

3. 东阿阿胶股份有限公司 国家胶类中药工程技术研究中心, 山东 聊城 252201

**摘要:** **目的** 研究小分子阿胶对小鼠免疫功能的调节作用。**方法** 将ICR小鼠随机分为对照组、模型组、生血丸3.00 g/kg组和小分子阿胶3.00、1.50、0.75 g/kg组, ig给药14 d, ip环磷酸胺或氢化可的松建立免疫低下模型, 用鸡红细胞诱导小鼠溶血素, 测定小鼠血清溶血素水平, 观察小分子阿胶对体液免疫的影响; 采用二硝基氯苯诱导小鼠耳廓肿胀, 检测小鼠耳廓肿胀度, 观察小分子阿胶对细胞免疫的影响; 利用流式细胞术对小鼠淋巴细胞亚群进行分析, 观察小分子阿胶对小鼠淋巴细胞分型的影响。**结果** 与模型组比较, 小分子阿胶3.00、1.50、0.75 g/kg显著提高免疫功能低下小鼠血清溶血素含量( $P < 0.01$ ); 3.00、1.50 g/kg显著提高小鼠耳廓肿胀度( $P < 0.01$ 、0.05); 3.00 g/kg显著提高小鼠T淋巴细胞(CD3<sup>+</sup>)、辅助性T细胞和迟发超敏性T细胞(CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>)占淋巴细胞的比例( $P < 0.01$ )。**结论** 小分子阿胶能提高小鼠体液免疫和细胞免疫功能, 对免疫功能有正向调节作用。

**关键词:** 小分子阿胶; 免疫功能; 体液免疫; 细胞免疫; 迟发型变态反应; 淋巴细胞亚群

**中图分类号:** R962.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2018)09-1602-04

**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-6376.2018.09.007

## Effects of small molecular *Asini Corii Colla* on immune function in mice

DI Zhiquan<sup>1</sup>, JIANG Yipu<sup>1,2</sup>, WANG Yantao<sup>3</sup>, AN Mengpei<sup>1</sup>, HU Jinfang<sup>1</sup>, SHEN Xiuping<sup>1</sup>, ZHANG Yan<sup>3</sup>

1. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research Drug Assessment Co. Ltd., Tianjin Engineering Research Center of Drug Preclinical Assessment Technology, Tianjin 300301, China

2. School of Pharmacy, Anhui Medical University, Hefei 230032, China

3. Dong'e Ejiao Co., Ltd., National Engineering Research Center for Gelatin-based Traditional Chinese Medicine, Liaocheng, 252201, China

**Abstract:** **Objective** To study the effect of small molecular *Asini Corii Colla* (SMACC) on immune function in mice. **Methods** ICR mice were randomly divided into control group, model group, Shengxue Pills (3.00 g/kg) group, and SMACC (3.00, 1.50, 0.75 g/kg) group, and they were ig administered for 14 d. Immunosuppressive model was established by intraperitoneal injection of cyclophosphamide or hydrocortisone. The use of red blood cells in chicken was to induce the production of hemolysin in mice. The content of serum hemolysin was measured to determine the effect of SMACC on humoral immunity. The ear swelling of mice was induced by two nitrochlorobenzene, and the auricular swelling of mice was detected to observe the effect of SMACC on cell immunity. Lymphocyte subsets in mice were analyzed by flow cytometry to observe the effect of SMACC on lymphocyte subtyping. **Results** Compared with model group, SMACC significantly increased the serum hemolysin content at doses of 3.00, 1.50, and 0.75 g/kg ( $P < 0.01$ ), significantly increased the degree of auricular swelling in mice at doses of 3.00 and 1.50 g/kg ( $P < 0.01$  and 0.05), and significantly promoted the proportion of T lymphocytes (CD3<sup>+</sup>), helper T cells, and delayed hypersensitivity T cells (CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>) at doses of 3.00 g/kg ( $P < 0.01$ ). **Conclusions** SMACC can enhance humoral immunity and cellular immune function in mice and has a positive regulatory effect on immune function in mice.

收稿日期: 2018-06-05

基金项目: 国家科技重大专项(2015ZX09501004); 天津市科技计划项目(16PTGCCX00090); 国家中药标准化项目—阿胶标准化建设(ZYBZH-Y-SD-31); 泰山产业领军人才工程专项经费资助

第一作者: 邸志权(1982—), 男, 副研究员, 河北秦皇岛人, 从事药理、毒理学研究。Tel: (022)84845264 E-mail: dizq@tjipr.com

\*通信作者: 胡金芳 Tel: (022)84845248 E-mail: hujf@tjipr.com;

申秀萍 Tel: (022)84845266 E-mail: shenxp@tjipr.com

**Key words:** small molecular *Asini Corii Colla*; immune function; humoral immunity; cellular immunity; delayed-type hypersensitivity; lymphocyte subsets

阿胶为马科动物驴的干皮或鲜皮经煎煮、浓缩而制成的固体胶,具有滋阴润肺、补血止血等功效,与人参、鹿茸并称为“中药三宝”<sup>[1-2]</sup>。阿胶中蛋白质含量占 60%~80%<sup>[3]</sup>,经烱化后口服,大分子蛋白质不能被人体直接吸收,需经过体内各种酶降解为小分子肽及氨基酸后才能得到有效利用<sup>[4]</sup>。现代研究表明,相对分子质量过大很难被机体吸收或生物利用度极低,这或许就是其性滋腻的原因,久服可能会对脾胃的消化功能产生不良影响<sup>[5]</sup>。小分子阿胶 (small molecular *Asini Corii Colla*, SMACC) 是以阿胶为原料,使用生物酶解技术,将传统阿胶酶解成相对分子质量不到传统阿胶 1/10 (仅 200~900),相对分子质量减小使其具有较好的溶解性,克服了由于相对分子质量而影响药效发挥的弊端。为了进一步明确小分子阿胶药效,参考阿胶的药理作用<sup>[3]</sup>,本文拟通过观察小分子阿胶对免疫低下模型小鼠细胞免疫、体液免疫、淋巴细胞亚群比例的影响,探讨和分析小分子阿胶增强免疫力的保健作用。

## 1 材料

### 1.1 动物

SPF 级 ICR 小鼠,雌雄各半,体质量 18~20 g; SPF 级 Hartley 豚鼠,雄性,体质量 280~320 g,均购自北京维通利华实验动物技术有限公司,实验动物生产许可证号 SCXK (京) 2016-0006;动物在恒温 (20~26 °C)、恒湿 (40%~70%)、各 12 h 明暗周期屏障环境中饲养,SPF 级维持饲料喂养,自由进食和饮水。

### 1.2 主要仪器

Varioskan Flash 酶标仪、ST 16R 型离心机 (Thermo Fisher Scientific Inc.); FACS Aria II 型流式细胞仪 (Becton, Dickinson and Company); SHHW21/600A II 型三用电热恒温水箱 (天津市泰斯特仪器有限公司)。

### 1.3 药品和主要试剂

小分子阿胶 (东阿阿胶股份有限公司,批号 1609001); 生血丸 (天津中新药业集团股份有限公司达仁堂制药厂,批号 9880013); 环磷酰胺 (江苏恒瑞医药股份有限公司,批号 16031225); 注射用氢化可的松琥珀酸钠 (天津生物化学制药有限公司,

批号 021511055); 2, 4-二硝基氯苯 (DNCB, 天津市光复精细化工研究所,批号 20120326); 丙酮 (天津市凯信化学工业有限公司,批号 20121107); EDTA-2K (天津市光复精细化工研究所,批号 20100617); 淋巴细胞亚群检测试剂: PE Anti-Mouse CD3e (批号 6054668)、PerCP-Cy5.5 Anti-Mouse CD335 (批号 5324976)、APC Anti-Mouse CD4 (批号 6067772)、APC-Cy7 Anti-Mouse CD19 (批号 6070644)、FITC Anti-Mouse CD8a (批号 6089913),均来自 BD Biosciences。

## 2 方法

### 2.1 动物分组及给药

小鼠随机分为对照组、模型组、生血丸 (阳性药, 3.00 g/kg) 组和小分子阿胶高、中、低剂量 (3.00、1.50、0.75 g/kg) 组,每组 10 只,雌雄各半。连续 ig 给药 14 d,对照及模型组给予去离子水,给药体积均为 20 mL/kg。

### 2.2 对免疫低下小鼠血清溶血素的影响

按照“2.1”项下方法分组和给药,于给药第 9 天时,除对照组外,其余小鼠 ip 环磷酰胺 100 mg/kg,随后全部动物 ip 5%鸡红细胞 0.2 mL 致敏。末次给药 24 h 后,摘眼球取血,分离血清,生理盐水稀释 10 倍。取稀释血清 0.5 mL 与 5%鸡红细胞混悬液 0.25 mL、10%补体血清 (豚鼠) 0.25 mL 混合,37 °C 孵育 30 min 后,置于冰水混合物中终止反应,离心取上清,酶标仪于 540 nm 处测定吸光度 (A) 值。

### 2.3 对免疫低下小鼠迟发型超敏反应的影响

按照“2.1”项下方法分组和给药 (另设空白对照组,给予去离子水),于给药第 1 天时,除空白对照组及对照组外,其余小鼠均 ip 环磷酰胺 100 mg/kg,除空白对照组外,其余小鼠均 sc 20 μL 1% DNCB 丙酮溶液致敏,末次给药后将 1% DNCB 丙酮溶液 20 μL 均匀涂抹于全部小鼠的右耳两面进行攻击。攻击后 24 h,脱颈处死,剪下左右两耳,用打孔器在同一部位取下耳片称质量,计算左右耳差值作为肿胀度。

### 2.4 对免疫低下小鼠淋巴细胞亚群的影响

按照“2.1”项下方法分组和给药,于给药第 6、8、10、12、14 天,除对照组外,其余小鼠 ip 氢化可的松 40 mg/kg,末次给药 24 h 后,眼眶取血,

EDTA 抗凝,用于淋巴细胞表面抗原检测:CD3<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>,统计各阳性细胞占淋巴细胞的百分比,并计算 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>的比值。

## 2.5 数据处理

计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,应用 SPSS 20.0 统计软件分析。首先进行方差齐性检验,方差齐时以单因素方差分析进行整体比较,两两比较采用 Dunnett' *t* 检验;方差不齐采用非参数检验进行整体比较,两两比较采用 Kruskal-Wallis 检验。

## 3 结果

### 3.1 对免疫低下小鼠血清溶血素的影响

一般观察发现,对照组上清液多为血红色,模型组上清液几近无色。*A* 值显示(表1),与对照组比较,模型组小鼠血清溶血素显著降低( $P < 0.01$ );给予 3.00、1.50、0.75 g/kg 小分子阿胶后,小鼠血清溶血素生成显著增加,与模型组比较,差异显著( $P < 0.01$ ),最大改善率可达 293.1%。与模型组比较,生血丸组 *A* 值亦明显升高,差异显著( $P < 0.01$ )。

表1 小分子阿胶对小鼠血清溶血素含量的影响( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

Table 1 Effects of SMACC on hemolysin in mice serum ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

组别	剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )	<i>A</i> 值
对照	—	0.739±0.242
模型	—	0.095±0.027**
生血丸	3.00	0.177±0.102 <sup>#</sup>
小分子阿胶	3.00	0.223±0.076 <sup>##</sup>
	1.50	0.372±0.152 <sup>##</sup>
	0.75	0.205±0.161 <sup>##</sup>

与对照组比较: \*\* $P < 0.01$ ; 与模型组比较: <sup>##</sup> $P < 0.01$

<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$  vs control group; <sup>##</sup> $P < 0.01$  vs model group

表3 小分子阿胶对小鼠淋巴细胞亚群的影响( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

Table 3 Effects of SMACC on lymphocyte subsets in mice ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

组别	剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )	CD3 <sup>+</sup> /%	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> /%	CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> /%	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>
对照	—	48.9±7.0	37.6±5.9	9.4±2.4	4.2±1.1
模型	—	42.6±6.1*	28.9±4.3**	11.2±2.7	2.7±0.6
生血丸	3.00	49.7±8.1 <sup>#</sup>	33.7±6.3	13.7±2.1 <sup>#</sup>	2.5±0.4
小分子阿胶	3.00	52.4±4.1 <sup>##</sup>	37.2±4.1 <sup>##</sup>	13.0±1.5	2.9±0.5
	1.50	44.0±5.4	29.9±4.7	11.9±1.8	2.6±0.7
	0.75	44.7±6.5	29.3±4.4	13.1±3.0	2.3±0.5

与对照组比较: \* $P < 0.05$  \*\* $P < 0.01$ ; 与模型组比较: <sup>#</sup> $P < 0.05$  <sup>##</sup> $P < 0.01$

<sup>\*</sup> $P < 0.05$  <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$  vs control group; <sup>#</sup> $P < 0.05$  <sup>##</sup> $P < 0.01$  vs model group

### 3.2 对免疫低下小鼠迟发型变态反应的影响

如表2所示,空白对照组小鼠左右两耳质量几无差异,与空白对照组比较,对照组小鼠耳廓肿胀度显著升高( $P < 0.01$ );与对照组比较,模型组小鼠耳廓肿胀度明显降低( $P < 0.01$ );与模型组比较,小分子阿胶 3.00、1.50 g/kg 剂量可显著提高肿胀度( $P < 0.01$ 、0.05),最大改善率可达 180.8%。与模型组比较,生血丸组肿胀度亦明显升高,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

表2 小分子阿胶对小鼠耳廓肿胀度的影响( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

Table 2 Effects of SMACC on auricle swelling in mice ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n = 10$ )

组别	剂量/(g·kg <sup>-1</sup> )	肿胀度/mg
空白对照	—	0±2**
对照	—	9±3
模型	—	3±1**
生血丸	3.00	4±1 <sup>#</sup>
小分子阿胶	3.00	7±2 <sup>##</sup>
	1.50	5±3 <sup>#</sup>
	0.75	4±2

与对照组比较: \*\* $P < 0.01$ ; 与模型组比较: <sup>#</sup> $P < 0.05$  <sup>##</sup> $P < 0.01$

<sup>\*\*</sup> $P < 0.01$  vs control group; <sup>#</sup> $P < 0.05$  <sup>##</sup> $P < 0.01$  vs model group

### 3.3 对免疫低下小鼠淋巴细胞亚群的影响

如表3所示,与对照组比较,模型小鼠 CD3<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>细胞比例显著下降( $P < 0.01$ 、0.05),CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>细胞比例呈上升趋势,CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比值呈下降趋势。与模型组比较,小分子阿胶 3.00 g/kg 显著提高 CD3<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>细胞比例( $P < 0.01$ ),CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>细胞比例、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比值均呈上升趋势。与模型组比较,生血丸组 CD3<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>阳性细胞比例亦明显升高,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

#### 4 讨论

参考阿胶的用法用量(人的日用量按9 g计),人体质量按60 kg计,小鼠体质量按20 g计,依体表面积换算成小鼠的等效剂量为1.70 g/kg,据此进行预实验后,本研究将小分子阿胶的剂量设置为3.00、1.50、0.75 g/kg。

阿胶素有“滋腻碍胃”之说,原因可能为阿胶主含蛋白,其水解需要消耗较多的蛋白酶,一些适应症人群,如患有血虚证的病人,其消化功能往往已经下降,服用阿胶后反而会增重胃肠负担,影响阿胶有效成分吸收而无法充分发挥疗效<sup>[5]</sup>。研究表明,阿胶经酶解得到阿胶低聚肽,其提高免疫力的能力将增强并具有显著的补血升白作用<sup>[6-7]</sup>。小分子阿胶为阿胶水解物,小分子量使其有较好的溶解性,加入预热至80℃左右的去离子水后,可得到澄清溶液,服用后可能更易于机体吸收,利于发挥药效。本研究旨在探讨小分子阿胶对免疫低下小鼠的免疫调节作用,为其用药提供一定的理论依据。生血丸为补益剂,具有补肾健脾,填精养血功效,用于脾肾虚弱所致的面黄肌瘦、体倦乏力;放、化疗后全血细胞减少等,作为阳性对照药,具有一定的提高体液免疫、细胞免疫的作用。

环磷酸胺是一种烷化类的免疫抑制剂,可杀伤淋巴细胞,抑制免疫反应<sup>[8]</sup>。血清中溶血素是B细胞受到红细胞刺激后产生的一种抗体,能够反映机体体液免疫的水平<sup>[9]</sup>。研究显示,小鼠给予环磷酸胺后,血清溶血素显著降低,说明其体液免疫功能下降,小分子阿胶可显著逆转免疫低下造成的溶血素水平下降,具有增强体液免疫的能力。

迟发型变态反应是T细胞介导的一种超敏反应,用变应原(DNCB)刺激小鼠时T淋巴细胞会增殖成致敏淋巴细胞,部分还会分化成记忆细胞,当再次用同种变应原刺激时,记忆细胞会迅速增殖,发生以单核细胞浸润为主的炎症反应,是检测细胞免疫功能的常用方法之一<sup>[10-11]</sup>。本研究中,经DNCB致敏过的小鼠耳部再次接触DNCB时引起耳廓肿胀,耳廓肿胀度与细胞免疫功能呈正相关,模型及给药组小鼠给予环磷酸胺破坏了机体正常的免疫功能,模型组小鼠耳肿胀度显著低于对照组,小分子阿胶却显著增强小鼠的耳肿胀度,提示小分子阿胶对免疫低下小鼠的细胞免疫具有增强作用。

CD3<sup>+</sup>是成熟T细胞所共有的标志,成熟的外周血T细胞分为CD4<sup>+</sup>辅助性、迟发超敏性T细胞和

CD8<sup>+</sup>抑制性、杀伤性T细胞两个亚群。T淋巴细胞亚群的稳定是维持机体正常免疫功能所必需的,是临床上评估机体免疫功能的重要指标,当CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比例增大时,正向免疫调节占主导作用,反之,则负向免疫调节占主导作用<sup>[12-14]</sup>。实验结果显示,模型组小鼠CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>T细胞阳性细胞比例与对照组比较显著下降,CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比例下降,虽无统计学差异,这可能与氢化可的松造模剂量、频率等因素有关,导致造模过轻。小分子阿胶可使CD3<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T细胞阳性细胞比例均明显升高,CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比值也有一定程度的提高,进一步佐证了小分子阿胶具有提高免疫力的作用。

此外,本实验室还进行了碳粒廓清实验检测腹腔巨噬细胞吞噬能力,结果显示小分子阿胶对小鼠单核巨噬细胞的吞噬功能几无作用,文中未做展示,说明小分子阿胶可能对非特异性免疫的影响不大。

小分子阿胶仍具有提高体液免疫、细胞免疫的作用,将阿胶水解制得小分子阿胶的工艺改进具有可行性。

#### 参考文献

- [1] 中国药典[S]. 2015. 一部.
- [2] 吴海燕, 孙佳明, 张辉. 阿胶的研究进展[J]. 吉林中医药, 2016, 36(1): 57-60.
- [3] 伊娜, 杨铎, 武勇, 等. 阿胶药理药效研究进展[J]. 世界最新医学信息文摘, 2017, 17(54): 12-15.
- [4] 庞萌萌, 李敏, 田晨颖, 等. 阿胶酶解液相对分子质量分布及其补血升白作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(12): 13-17.
- [5] 付英杰. 阿胶低肽及其制剂的研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2010.
- [6] 刘元涛, 张惠惠, 王升光, 等. 阿胶仿生酶解前后提高免疫力作用对比研究[J]. 时珍国医国药, 2016, 27(9): 2158-2160.
- [7] 李敏, 庞萌萌, 田晨颖, 等. 不同阿胶酶解液相对分子质量分布及补血升白作用对比研究[J]. 中国食品添加剂, 2017, 6: 105-111.
- [8] 周娅红. 人参总皂苷对免疫低下小鼠免疫功能的影响[J]. 中国中医急症, 2010, 19(9): 1559-1561.
- [9] 曾永君, 胡金芳, 万梅绪, 等. 注射用益气复脉(冻干)对辐射所致小鼠免疫低下的改善作用[J]. 药物评价研究, 2018, 41(3): 386-390.
- [10] 钟建春, 张艳, 丁振涛, 等. 人工冬虫夏草多糖提取物对小鼠免疫功能的影响[J]. 中山大学学报, 2011, 50(6): 99-102.

(下转第1667页)



- failure in a confirmatory, multicenter, randomized, controlled study [J]. *Circ J*, 2015, 79(5): 981-990.
- [5] Mcdonagh T, Macdougall I C. Iron therapy for the treatment of iron deficiency in chronic heart failure: intravenous or oral? [J]. *Eur J Heart Fail*, 2015, 17(3): 248-262.
- [6] Li H, Fan J, Yin Z, et al. Identification of cardiac-related circulating microRNA profile in human chronic heart failure [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(1):33-45.
- [7] 中华心血管病杂志编辑委员会. 中国心力衰竭诊断和治疗指南 2014 [J]. *中国实用乡村医生杂志*, 2014, 42(24): 3-10.
- [8] 中华医学会心血管病学分会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 慢性心力衰竭诊断治疗指南 [J]. *中华心血管病杂志*, 2007, 35(12): 1072-7094.
- [9] Pani L, Pecorelli S, Rosano G, et al. Steps forward in regulatory pathways for acute and chronic heart failure [J]. *Eur J Heart Fail*, 2015, 17(1): 3-8.
- [10] Askevold E T, Gullestad L, Nymo S, et al. Secreted frizzled related protein 3 in chronic heart failure: Analysis from the Controlled Rosuvastatin Multinational Trial in Heart Failure (CORONA) [J]. *Plos One*, 2015, 10(8): e0133970.
- [11] Krueger K, Botermann L, Schorr S G, et al. Age-related medication adherence in patients with chronic heart failure: A systematic literature review [J]. *Int J Cardiol*, 2015, 184(1): 728-738.
- [12] 崔艳红, 马翠芳. 不同剂量阿托伐他汀治疗冠心病慢性心力衰竭的疗效观察 [J]. *实用心脑血管病杂志*, 2015, 22(1): 59-61.
- [13] Ren Y L, Xu J L, Yu J, et al. Effects of benazepril and irbesartan on myocardial collagen in chronic heart failure rats and mechanisms [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2015, 31(7): 1009-1014.
- [14] King J N, Hirakawa A, Sonobe J, et al. Evaluation of a fixed dose combination of benazepril and pimobendan in dogs with congestive heart failure; a randomized non-inferiority clinical trial [J]. *J Vet Sci*, 2017, 2017(6): 8137078.
- [15] 方玲, 李冠兰, 李云, 等. 贝那普利联合阿托伐他汀治疗慢性心力衰竭的临床疗效 [J]. *现代生物医学进展*, 2017, 17(11): 2102-2105.
- [16] Shepherd J, Breazna A, Deedwania P C, et al. Relation between change in renal function and cardiovascular outcomes in atorvastatin-treated patients (from the Treating to New Targets [TNT] Study) [J]. *Am J Cardiol*, 2016, 117(8): 1199-1205.

---

(上接第1605页)

- [10] 李覃, 陈虹, 白淑芳, 等. 青蒿琥酯对迟发型超敏反应小鼠脾脏T淋巴细胞的免疫调节作用 [J]. *中国组织工程研究*, 2012, 16(5): 843-846.
- [11] 安梦培, 张守元, 张淹, 等. 阿胶对免疫低下模型小鼠免疫功能的影响 [J]. *药物评价研究*, 2018, 41(4): 567-571.
- [12] Bellissimo F, Pinzone M R, Celesia B M, et al. Baseline CD4/CD8 T-cell ratio predicts prompt immune restoration upon cART initiation [J]. *Curr HIV Res*, 2016, 14(6): 491-496.
- [13] 朱孝娟, 孙玉薇, 宋柏捷. 大豆皂苷对荷瘤小鼠化疗疗效及T淋巴细胞亚群的影响 [J]. *实用预防医学*, 2015, 22(3): 292-295.