

蝉花水提物及蝉花复方对小鼠免疫功能影响的实验研究

李思迪¹, 盛益华¹, 张忠亮², 王金华¹, 张广平¹, 叶祖光^{1*}, 王玉芹^{2*}

1. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700

2. 浙江泛亚生命科学研究院, 浙江 平湖 314200

摘要: 目的 阐明蝉花水提物及蝉花子实体复方对小鼠免疫功能的影响, 探讨其调节免疫的作用机制。方法 BALB/c 小鼠 70 只随机分为 7 组 ($n=10$): 对照组, 蝉花水提物高、中、低剂量 (0.300、0.150、0.075 g/kg) 组, 蝉花复方高、中、低剂量 (1.2、0.6、0.3 g/kg) 组, ig 给药 15 d 后检测小鼠胸腺指数、脾脏指数, 通过脾淋巴细胞转化实验、溶血空斑实验以及碳廓清实验, 观察淋巴细胞转化率、巨噬细胞吞噬功能和血清溶血素形成情况, 评价蝉花水提物及蝉花子实体复方的免疫调节作用。结果 与对照组比较, 低、中剂量蝉花水提物, 中剂量蝉花子实体复方均能明显增加小鼠免疫器官脾脏、胸腺指数 ($P<0.05$); 低剂量蝉花水提物, 低、中、高剂量蝉花子实体复方均能促进淋巴细胞增殖反应 ($P<0.05$); 低剂量蝉花水提物, 低、中剂量蝉花子实体复方均能提高巨噬细胞吞噬功能 ($P<0.05$)。结论 蝉花水提物及蝉花子实体复方均可明显提高机体免疫力, 且复方在调节免疫功能强度方面较单用蝉花水提物有一定优势, 说明蝉花预防和治疗免疫功能失调相关疾病有较好的应用前景。

关键词: 蝉花; 蝉花子实体; 巨噬细胞; 免疫功能

中图分类号: R285.5, R965 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2020) 04-0636-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2020.04.009

Experimental study on effect of Cicada flower water extract and Cicada flower compound on immune function in mice

LI Sidi¹, SHENG Yihua¹, ZHANG Zhongliang², WANG Jinhua¹, ZHANG Guangping¹, YE Zuguang¹, WANG Yubin²

1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

2. Zhejiang Bioasia Life Science Institute, Pinghu 314200, China

Abstract: Objective To study the effect of Cicada flower water extract (CFWE) and Cicada flower synnema compound (CFSC) on immune function in mice, and explore its mechanism of regulating immunity. **Methods** Seventy BALB/c mice were randomly divided into 7 groups ($n=10$): control group, high, medium, and low doses of CFWE (0.300, 0.150, 0.075 g/kg), high, medium, and low doses of CFSC (1.2, 0.6, 0.3 g/kg). The thymus and spleen index of the mice were measured 15d after ig. The spleen lymphocyte transformation test, hemolytic plaque test, and carbon clearance test were used to observe the lymphocyte transformation rate, macrophage phagocytosis function, and serum hemolysin formation, and fully evaluate immune regulation of CFWE and CFSC. **Results** Compared with the control group, low and middle dosage of CFWE and middle dosage of CFSC could increase thymus and spleen index ($P<0.05$); Low dosage of CFWE and all dosages of CFSC could promote lymphocyte proliferative response ($P<0.05$); Low dosage of CFWE and low and middle dosage of CFSC could improve the phagocytosis function of macrophagocyte ($P<0.05$). **Conclusion** The water extract of Cicada flower and the Cicada flower synnema compound could obviously improve the body's immunity, and the compound has certain advantages in regulating the intensity and dose of the immune function than using the water extract of Cicada flower alone. It shows that Cicada flower has broad application prospects in the prevention and treatment

收稿日期: 2019-12-23

基金项目: 国家科技重大专项(2015ZX09501004)

第一作者: 李思迪(1983—), 男, 博士研究生, 研究方向为中药药理学与毒理学。E-mail: lisidimaa@aliyun.com

*通信作者: 叶祖光, 硕士, 研究员, 研究方向为中药毒理学。E-mail: yezuguang@sina.com

王玉芹(1971—), 女, 博士, 研究方向为中药、天然药物新资源研究与开发。E-mail: wyq@bioasia.com.cn

of diseases related to immune dysfunction.

Key words: Cicada flower; Cicada flower synnema compound; lymphocyte; immune function

蝉花是蝉的若虫被蝉花菌 *Isaria cicadae* Miquel(旧称蝉拟青霉)寄生形成的干燥复合体,中医药理论认为蝉花性味甘寒,具有散风热、定惊镇痉的功效^[1-2]。蝉花与冬虫夏草的无性型同属,均具有较好的调节免疫的作用。已有研究发现蝉花主要含多糖、核苷类、氨基酸等物质,具有调节免疫、影响脂质代谢、解热镇痛、以及镇静催眠等的作用^[3],能治疗多种免疫缺损疾病、自身免疫病和癌症等疾病^[4]。蝉花可应用于医药、大健康产品,是一种应用前景广阔的药用资源菌,但目前还缺乏全面评价其提取物调节正常机体免疫机能的实验研究。一般来说复方的作用强于单方,本研究观察了蝉花、蝉花提取物联合黄芪多糖和壳聚糖组成的复方对正常小鼠脏器湿质量指数、细胞免疫、体液免疫及非特异性免疫功能的影响,以期开发增强免疫功能的新药和大健康产品提供依据。

1 材料

1.1 动物

100只SPF级BALB/c小鼠,体质量(20±2)g,雄性,购于北京维通利华实验动物技术有限公司,实验动物许可证号SCXK(京)2011-0011;动物饲养于中国中医科学院中药研究所屏障设施内,动物使用许可证号SYXK(京)2013-0035。动物实验均按照国际实验室动物伦理行为准则要求进行。

1.2 药物及主要试剂

RPMI1640细胞培养液(美国Gibco公司产品)、小牛血清(杭州四季青生物工程有限公司产品)、2-巯基乙醇(2-ME)、刀豆蛋白A(ConA,美国Sigma公司产品)、MTT(美国Sigma公司产品)、青霉素、链霉素、盐酸、异丙醇、Na₂CO₃、Hank's液、磷酸盐缓冲溶液(PBS, pH=7.2~7.4)、96孔培养板、绵羊红细胞(SRBC)、SA缓冲液、琼脂糖均购于南京建成科技有限公司。黄芪多糖,上海康汀生物科技有限公司产品,批号20130328;壳聚糖,青岛泓海生物技术有限公司产品,批号HL150706X。

蝉花子实体:采用蝉棒束孢菌经固体发酵培养获得的子实体,浙江泛亚生物医药股份有限公司提供,批号20140404。菌种由中国科学院微生物研究所鉴定为蝉棒束孢 *Isaria. cicadae* Miquel,鉴定编号为2012-406。

蝉花水提物:培养的蝉花子实体,加入6倍量水

提取2次,1.5 h/次,过滤,合并滤液,浓缩,干燥,每g相当于原药材蝉花子实体3 g的提取物(含虫草多糖20%)。准确称取1.5 g蝉花水提物,加到100 mL蒸馏水中,混合均匀,实验时稀释成所需浓度。

蝉花子实体复方:将蝉花子实体粉碎,按照蝉花子实体:黄芪多糖:壳聚糖质量比为1:2:1混合而成。准确称取6 g蝉花复方粉末加到100 mL蒸馏水中混合均匀,实验时稀释成所需浓度。

1.3 主要仪器

GENios Pro多功能酶标仪(瑞士TECAN公司产品);Olympus CKX41倒置相差显微镜(日本奥林巴斯公司产品);GS15R高速离心机(美国Beckman公司产品)、AB204-N电子分析天平(德国梅特勒公司产品)。

2 实验方法

2.1 实验分组及给药

选取雄性BALB/c小鼠70只,体质量(20±2)g,分笼饲养,常规饲养,自由进食饮水,光照时间为自然日照时长,适应环境3 d。实验动物随机分7组:对照组、蝉花水提物高、中、低剂量组;蝉花复方高、中、低剂量组,每组10只。

根据蝉花子实体的人用剂量是3 g/d^[5],换算得到蝉花水提物高、中、低剂量分别为0.300、0.150、0.075 g/kg,蝉花复方高、中、低剂量(分别为1.2、0.6、0.3 g/kg)组。各实验组按0.2 mL/10 g容量ig给药,对照组ig给予等量蒸馏水,连续给药15 d后进行如下实验。

2.2 ConA诱导的小鼠脾淋巴细胞转化实验

2.2.1 试剂配制 完全培养液:RPMI1640培养液过滤除菌,加入10%小牛血清,1%谷氨酰胺,青霉素(100 U/mL),链霉素(100 μg/L)及5×10⁻⁵ mol/L的2-巯基乙醇,用1 mol/L的HCl调pH值至7.0。ConA液:用双蒸水配制成100 μg/mL的溶液,过滤除菌,在-20℃冰箱保存。无菌Hank's液:用3.5%的无菌NaHCO₃调pH值至7.2。酸性异丙醇溶液:96 mL异丙醇中加入4 mL 1 mol/L的HCL。MTT液:将5 mg MTT溶于1 mL pH=7.2~7.4的PBS中。

2.2.2 脾细胞悬液制备 无菌条件下取动物脾脏,平皿中加入适量无菌Hank's液,用镊子轻轻将脾研碎,使成单个脾细胞悬液,再用200目筛网过滤, Hank's液清洗2次,离心1 000 r/min 10 min,然后调

整脾细胞浓度。

2.2.3 淋巴细胞增殖反应 将制备好的每1份脾细胞悬液分两孔加入96孔培养板中,每孔加入1 mL,一孔作为对照,一孔加75 μL ConA液(相当于7.5 $\mu\text{g/mL}$),置于5% CO_2 、37 $^\circ\text{C}$ CO_2 孵箱中培养72 h。培养结束前4 h,每孔轻轻吸去上清液0.7 mL,加入0.7 mL不含小牛血清的RPMI1640培养液,同时加入5 mg/mL MTT 50 μL /孔,随后继续培养4 h。培养结束后,每孔加入1 mL酸性异丙醇,吹打使其混匀,并使紫色结晶能完全溶解,然后分装到96孔培养板中,每个孔作3个平行孔,用酶标仪测定每个孔的吸光度(A)值。

2.3 溶血空斑实验

2.3.1 免疫动物 将SRBC用生理盐水配成体积浓度2%的细胞悬液,每只小鼠ip 0.2 mL。

2.3.2 脾细胞悬液制备 将SRBC免疫5 d后的小鼠颈椎脱臼处死,取出动物脾脏,放在盛有Hank's液的小平皿内,脾细胞悬液制备过程同“2.2.2”。

2.3.3 空斑的测定 将表层培养基(1 g琼脂糖加双蒸水至100 mL)加热溶解后,放入50 $^\circ\text{C}$ 水浴保温,与等量2倍浓度的Hank's液混合,分装小试管,每管0.5 mL,再向管内加50 μL 10%SRBC(用SA缓冲液配置),20 μL 脾细胞悬液(5×10^6 个/mL),测A值。

2.4 碳廓清实验

2.4.1 溶液配制 注射用墨汁:将印度墨汁原液用生理盐水稀释3倍。 Na_2CO_3 溶液:取0.1 g Na_2CO_3 ,加蒸馏水至100 mL。

2.4.2 注射墨汁 按体质量从小鼠尾静脉iv稀释的印度墨汁100 mL/kg,立即计时。

2.4.3 测碳廓清能力 注入墨汁后2、10 min,分别从小鼠内眦静脉丛取血20 μL ,立即将其加到2 mL 0.1%

Na_2CO_3 溶液中,用酶标仪测A值以 Na_2CO_3 溶液作空白对照。将小鼠处死,取肝脏和脾脏,用滤纸吸干脏器表明血污,分别称质量。以吞噬指数表示小鼠碳廓清的能力,按文献[6]方法计算吞噬指数 α ,受试样品组的吞噬指数显著高于对照组的吞噬指数,可判定该项实验结果阳性。

2.5 统计学处理

应用SPSS 19.0软件处理数据,各指标以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用方差分析,先进行方差齐性检验,用各组间均数的两两比较方法LSD进行统计;对非正态或方差不齐的数据进行适当的变量转换,待满足正态或者方差齐要求后,用转换后的数据进行统计;若变量转换后仍未达到正态或方差齐的目的,改用秩和检验进行统计。

3 结果

研究结果表明,蝉花水提取物及蝉花复方均可明显提高机体免疫力,并且蝉花复方相对蝉花单独应用有一定的优势。

3.1 对小鼠脾指数及胸腺指数的影响

蝉花水提取物及蝉花复方对小鼠脾指数及胸腺指数的影响结果见表1。与对照组比较,蝉花水提取物中、低剂量组和蝉花复方中剂量组小鼠脾指数显著增加($P<0.05$),蝉花水提取物高剂量组和复方高、低剂量组小鼠脾指数无显著性差异,提示可能与蝉花水提取物和复方提高动物免疫器官功能水平密切相关。蝉花水提取物中、低剂量组和蝉花复方中、低剂量组小鼠胸腺指数显著增加($P<0.05$),蝉花水提取物高剂量、复方高剂量组小鼠胸腺指数无显著性差异,提示胸腺指数的增加亦可能与蝉花和复方可提高动物免疫器官功能水平密切相关。

表1 蝉花水提取物及蝉花复方对小鼠脾指数及胸腺指数的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 1 Effects of Cicada flower water extract and Cicada flower synnema compound on index of spleen and thymus in mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	脾指数	胸腺指数
对照	—	4.092±0.392 0	1.939±0.124 5
蝉花水提取物	0.075	5.064±0.314 7*	2.536±0.244 2*
	0.150	5.161±0.194 0*	2.519±0.158 0*
	0.300	4.662±0.251 9	2.321±0.286 3
蝉花复方	0.3	4.360±0.056 4	2.304±0.103 3*
	0.6	4.932±0.204 7*	2.247±0.090 7*
	1.2	4.006±0.154 9	2.012±0.215 2

与对照组比较: * $P<0.05$

* $P<0.05$ vs control group

3.2 对小鼠脾淋巴细胞转化能力(细胞免疫能力)的影响

蝉花水提物及蝉花复方对小鼠脾淋巴细胞转化能力的影响结果见表2。蝉花水提物低剂量组和蝉花复方高、中、低剂量组小鼠脾淋巴细胞转化明显高于对照组($P<0.05$),蝉花水提物高、中剂量组小鼠脾淋巴细胞转化与对照组比较,无显著性差异。淋巴细胞转化实验表明,低剂量蝉花水提物可显著提高小鼠脾淋巴细胞转化的功能,提示其可显著增强小鼠机体细胞免疫功能,各剂量蝉花复方均可显著提高小鼠脾淋巴细胞转化的功能,提示其可显著增强小鼠机体细胞免疫功能,且效果优于蝉花水提物。

表2 蝉花水提物及蝉花复方对小鼠脾淋巴细胞转化能力的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Effects of Cicada flower water extract and Cicada flower synnema compound on mouse spleen lymphocyte transformation ability ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	脾淋巴细胞转化/OD
对照	—	0.085 57±0.026 59
蝉花水提物	0.075	0.137 70±0.020 56*
	0.150	0.132 62±0.049 97
	0.300	0.131 60±0.032 82
蝉花复方	0.3	0.162 95±0.029 76*
	0.6	0.177 40±0.047 18*
	1.2	0.152 30±0.031 01*

与对照组比较: * $P<0.05$

* $P<0.05$ vs control group

3.3 对小鼠巨噬细胞吞噬能力(非特异免疫能力)的影响

蝉花水提物及蝉花复方对小鼠非特异免疫能力的影响结果见表3。蝉花水提物低剂量组和蝉花复方低、中剂量组小鼠吞噬指数与对照组比较,明显增大,差异有统计学意义($P<0.05$);蝉花水提物高、中剂量组及蝉花复方高剂量组小鼠吞噬指数与对照组比较,无显著差异。实验结果提示蝉花复方可显著增强小鼠机体非特异性免疫功能,且增强作用优于蝉花水提物。

3.4 对小鼠抗体生成能力(体液免疫能力)的影响

蝉花水提物及蝉花复方对小鼠抗体生成能力的影响结果见表4。蝉花水提物和蝉花复方各剂量组小鼠溶血空斑数值与对照组比较,均无显著性差异,提示蝉花水提物对小鼠B淋巴细胞抗体生成能力无明显的增强作用,蝉花复方对小鼠B淋巴细胞

表3 蝉花水提物及蝉花复方对小鼠巨噬细胞吞噬能力的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 3 Effect of Cicada flower water extract and Cicada flower synnema compound on phagocytic ability of mouse macrophage ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	吞噬指数
对照	—	4.313 0±0.697 5
蝉花水提物	0.075	6.030 8±0.415 8*
	0.150	5.015 2±0.316 5
	0.300	4.942 6±0.663 4
蝉花复方	0.3	7.708 6±1.566 6*
	0.6	7.134 2±1.236 9*
	1.2	4.900 3±0.834 0

与对照组比较: * $P<0.05$

* $P<0.05$ vs control group

表4 蝉花水提物及蝉花复方对小鼠抗体生成能力的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 4 Effect of Cicada flower water extract and Cicada flower synnema compound on mouse antibody production ability ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	溶血空斑数
对照	—	0.293 6±0.010 0
蝉花水提物	0.075	0.298 2±0.006 2
	0.150	0.309 5±0.008 3
	0.300	0.304 0±0.013 7
蝉花复方	0.3	0.304 1±0.022 1
	0.6	0.308 4±0.007 4
	1.2	0.325 9±0.021 7

抗体生成能力有一定的增强作用,但未达到显著程度。

4 讨论

祖国医学认为蝉花性味甘寒具散风热,定惊镇痉作用^[1-2],是一种功效与冬虫夏草近似的珍贵药材,具有多方面的药用价值,包括调节免疫、调节脂质代谢、解热镇痛等。宋捷民等研究显示蝉花水提物可显著提高血清溶血素水平,显著提高巨噬细胞的吞噬活性^[7];表明蝉花在免疫调节和抗肿瘤方面具有潜在的物质基础。蝉花和冬虫夏草均为麦角菌科真菌感染动物幼虫后的复合体,其性状和成分有较多的相似性^[8]。但蝉花资源量并不十分充足,价格也相对较高,因此考虑配伍目前已广泛应用的调节免疫作用肯定并且容易获得、价格低廉的有效成分。

蝉花有效成分包括糖原、多种生物碱、甘露醇、麦角甾醇等,其中多糖占21.73%^[9]。近年来研究发

现蝉花多糖具有较好的调节免疫的生物活性,并成为研发热点,目前对蝉花多糖免疫活性的初步研究已有报道。迟秋阳等^[10]以冬虫夏草多糖为作为阳性对照,通过淋巴转化试验、巨噬细胞吞噬试验及E玫瑰花试验、特异性免疫玫瑰花试验、抗绵羊红细胞抗体效价试验,研究蝉花多糖对小鼠免疫功能的调节作用,结果发现蝉花多糖具有明显提高免疫功能的作用。何晓波等^[11]应用蝉花总多糖观察其体外对细胞免疫和体液免疫的影响,通过MTT法和ELISA法测定小鼠脾细胞增殖和免疫球蛋白IgG抗体的生成水平;同时通过小鼠迟发型超敏反应和血清抗体生成实验进一步观察蝉花总多糖体内对特异性细胞免疫和体液免疫反应的影响。结果提示蝉花总多糖在体内外均能有效促进细胞免疫和体液免疫,并呈现良好的剂量相关。

关于蝉花免疫调节作用机制的研究,Takano等^[12]从蝉花发酵液中分离出一种促进Th1免疫反应的蛋白多糖能有效增加大鼠淋巴细胞中白介素-2和干扰素- γ 的水平。另有学者观察经蝉花多糖作用后树突状细胞(DC)的形态和数量变化,以及DC表面分子CD80/86、CD11c和MHC-II类分子的表达情况,发现蝉花多糖干预后,DC表面MHC-II类分子和共刺激分子(CD80/86、CD11c)的表达显著增加,提示蝉花多糖能够促进DC成熟,从而增强免疫调节功能^[13]。本研究的研究对象为蝉花水提物和蝉花复方,得出的结论与以往文献报道一致,均发现蝉花具有明显的增强细胞免疫和体液免疫的作用,可见其调节免疫的作用确切,本研究增加了蝉花子实体复方,使其调节免疫作用更全面,以期达到更好的效果。

黄芪多糖是是黄芪中重要的天然有效成分,近年来发现黄芪多糖在增强机体免疫力方面有较强的活性,因而备受关注。蒋瑞雪等^[14]实验研究表明黄芪多糖具有显著的免疫增强作用,可明显促进小鼠脾脏及胸腺细胞增殖,增加小鼠抗体生成器官脾脏及胸腺的质量;能显著增强小鼠巨噬细胞的吞噬功能,提高巨噬细胞的吞噬百分率;能够显著提高正常小鼠免疫后脾细胞溶血空斑数量。卢慧等^[15]的实验结果显示黄芪多糖对雏鸡B淋巴细胞增殖有明显提高作用。以上结果说明黄芪多糖能明显提高正常动物中枢免疫器官的免疫功能。

壳聚糖是天然多糖类阳离子高分子材料,是一种氨基葡萄糖与N-乙酰葡萄糖胺的共聚物^[16],可有效促进局部(特别是黏膜局部)免疫反应,增强抗原递

送系统的功能,具有免疫佐剂和免疫调节效应。壳聚糖具有生物可降解、生物相容性和低毒性等良好的生物学特性,且其易改性制成不同途径给药的载体,对结合的抗原和DNA有保护作用,并可延长药物在黏膜表面的滞留时间,从而可提高免疫作用和治疗效果,进一步提高其生物利用度^[17]。人工培育的蝉花子实体的成分及功效与天然蝉花相近^[2,18],可以增加产量、降低价格。本研究的蝉花复方中使用了人工培育蝉花子实体、黄芪多糖和壳聚糖,以达到增加调节免疫功效、降低成本的目的,从而使蝉花复方在调节免疫领域惠及更多低收入人群。

免疫器官的脏器系数是衡量机体免疫功能的初步指标,蝉花提取物中、低剂量组和蝉花子实体复方中剂量组能增加小鼠的脾指数,蝉花提取物和复方中、低剂量组能增加小鼠的胸腺指数,说明两者均能提高动物免疫器官的功能水平。本实验又通过脾淋巴细胞转化实验、溶血空斑实验以及碳廓清实验较为全面地评价蝉花及其复方的免疫调节功能。低剂量蝉花提取物和高、中、低剂量蝉花复方能显著提高小鼠脾淋巴细胞转化率,低剂量蝉花和中、低剂量复方能显著增加巨噬细胞吞噬指数,提示蝉花提取物能明显增强正常小鼠的细胞免疫和非特异性免疫功能;蝉花复方中以蝉花子实体:黄芪多糖:壳聚糖按照质量1:2:1配伍,发现蝉花复方不仅能明显提高机体免疫能力,并且较单独应用蝉花提取物有一定的优势。

综上,蝉花的形成与冬虫夏草一样,是真菌与动物体相互作用的结果,有其内在特异性,并且已有研究证明其在细胞免疫反应和体液免疫反应方面的促进作用,与本研究的结果较为一致。蝉花子实体配伍具有较好免疫调节作用的黄芪多糖和壳聚糖,加之壳聚糖的免疫佐剂作用,使蝉花复方的调节免疫作用明显优于蝉花提取物。以后应进一步研究蝉花复方促进免疫功能的作用靶点及作用机制,期望蝉花复方作为冬虫夏草的代用品,在预防和治疗免疫功能失调相关疾病方面起重要作用。

参考文献

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 2557.
- [2] 刘艳菊, 张忠亮, 董建飞, 等. 不同培养因素对蝉花培养物中麦角甾醇的影响 [J]. 药物评价研究, 2016, 39(4): 608-614.
- [3] 王春雷, 芦柏震, 侯桂兰. 中国蝉花的研究进展 [J]. 中国药理学杂志, 2006, 41(4): 244-247.

- [4] Du G, Ma B, Zhang R, et al. Modulatory effects of compound polysaccharide Erweikang on the immune function of mice [J]. J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci, 2002, 22(3): 221-223.
- [5] 国家食品安全风险评估中心. 新食品原料铁皮石斛原球茎和蝉花子实体(人工培植)公开征求意见 [S/OL]. (2019-11-25) [2019-11-26]. <https://www.cfsa.net.cn/Article/News.aspx?id=5D383325859103CC4D1AB68E907FF2EEC972A185A96A2AB5>.
- [6] 秦光, 景 萧, 王 伟. 墨汁注入途径的不同对小鼠碳廓清实验的影响 [J]. 毒理学杂志, 2007, 21(1): 77-78.
- [7] 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.
- [8] 杨明静, 王伯初, 余佳文, 等. 蝉花中ISP类免疫活性组分含量测定的研究 [J]. 时珍国医国药, 2008, 19(1): 50-52.
- [9] Chen Z A, Liu G Y, Hu S Y. Artificial culture of *paecilomyces cicadae* and its pharomic effect [J]. Mycol Acta, 1993, 12(2): 138-144.
- [10] 迟秋阳, 陈宝骥, 杨晓华, 等. 蝉花多糖的提取及其免疫药理作用的研究 [J]. 军队医药杂志, 1996, 6(5): 44-46.
- [11] 何晓波, 芦柏震, 周俐斐, 等. 蝉花总多糖对细胞免疫和体液免疫反应的促进作用 [J]. 中华中医药学刊, 2010, 28(7): 1465-1468.
- [12] Takano F, Yahagi N, Yahagi R, et al. The liquid culture filtrates of *Paecilomyces tenuipes* (Peck) Samson (= *Isaria japonica* Yasuda) and *Paecilomyces cicadae* (Miquel) Samson (= *Isaria sinclairii* (Berk.) Liond) regulate Th1 and Th2 cytokine response in murine Peyer's patch cells *in vitro* and *in vivo* [J]. Int Immunopharm, 2005, 5(5): 903-916.
- [13] 封 燕. 金蝉花多糖的结构特征及免疫活性初步研究 [D]. 镇江: 江苏大学, 2016.
- [14] 蒋瑞雪, 赵 宪, 孙 艳, 等. 黄芪多糖对小鼠免疫功能的影响 [J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2011, 32(4): 510-511.
- [15] 卢 慧, 谷新利, 孙才华, 等. 中药复方多糖对雏鸡B淋巴细胞免疫功能的影响 [J]. 中兽医医药杂志, 2007, 26(5): 13.
- [16] 张晓艳, 赵 凯, 侯志勇, 等. 壳聚糖及其衍生物作为免疫佐剂的研究进展 [J]. 中国新药杂志, 2012, 21(2): 138-143.
- [17] 朱敏艳, 袁喜英, 宗 莉. 基因疫苗微粒系统黏膜免疫的研究进展 [J]. 药物生物技术, 2008, 15(3): 223-226.
- [18] Wang J H, Zhang Z L, Wang Y Q, et al. Chemical constituents from mycelia and spores of fungus *Cordyceps cicadae* [J]. Chin Herb Med, 2017, 9(2): 188-192.