

网络出版时间:2013-07-18 16:02

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20130718.1602.013.html>

健脾益气汤对免疫抑制型小鼠免疫功能的影响

李慧峰¹, 单明辉², 程淑琴³

(1 河北北方学院 动物科技学院, 河北 张家口 075000; 2 河北廊坊市大厂畜牧兽医局, 河北 廊坊 065300;

3 河北旅游职业学院, 河北 承德 067000)

【摘要】 **【目的】**探讨健脾益气汤对免疫抑制小鼠免疫功能的影响。**【方法】**给小鼠皮下注射环磷酰胺(CTX) 30 mg/(kg·d), 制备免疫抑制模型; 阴性对照组小鼠灌胃生理盐水, 阳性对照组灌胃 0.1 g/(kg·d) 左旋咪唑, 健脾益气汤低剂量给药组(16 g/(kg·d)) 和高剂量给药组(44 g/(kg·d)) 分别灌胃健脾益气汤, 研究健脾益气汤对小鼠体质量、脾脏指数以及血清中 IgG、IL-2、TNF- α 质量浓度和 T 淋巴细胞亚群中 CD⁴⁺、CD⁸⁺ 数量的影响。**【结果】**健脾益气汤低剂量给药组和高剂量给药组均能拮抗由环磷酰胺所导致的体质量下降, 健脾益气汤高剂量组显著降低了免疫抑制小鼠的脾脏指数。健脾益气汤可以明显提高免疫抑制小鼠血清中的 IgG、IL-2 和 TNF- α 质量浓度, 增加免疫抑制小鼠外周血中 T 淋巴细胞 CD⁴⁺ 数量, 降低 CD⁸⁺ 数量, 使 CD⁴⁺/CD⁸⁺ 提高。**【结论】**健脾益气汤能增强免疫抑制小鼠的免疫功能。

【关键词】 健脾益气汤; 小鼠; 免疫功能; T 细胞亚群; 流式细胞术

【中图分类号】 S853.74

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2013)08-0019-05

Immunoregulatory effect of Jianpi Yiqi decoction on immunosuppressive mice

LI Hui-feng¹, SHAN Ming-hui², CHENG Shu-qin³

(1 Department of Animal Medicine, Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei 075000, China;

2 Animal Husbandry and Veterinary Bureau of Dachang County, Langfang, Hebei 065300, China;

3 Hebei Tourism Vocational College, Chengde, Hebei 067000, China)

Abstract: **【Objective】** This study aimed to explore the immunoregulatory effect of Jianpi Yiqi (JPYQ) decoction on immunosuppressive mice. **【Method】** The immunosuppressive mouse model was established by hypodermic injection of cyclophosphamide with concentration of 30 mg/(kg·d). To investigate the effect of JPYQ decoction on weight, spleen index, mass concentrations of IgG, IL-2 and TNF- α in the blood serum, and CD⁴⁺ and CD⁸⁺ in T lymphocyte subgroup of mice, mice with normal saline and levamisole were selected as negative and positive control groups respectively and mice fed with JPYQ decoction of 16 g/(kg·d) and 44 g/(kg·d) were considered as low dose group and high dose group, respectively. **【Result】** High dose of JPYQ decoction could raise spleen index of immunosuppressive mice significantly. Both low and high dose groups could resist the weight decrease caused by cyclophosphamide. It could also raise the concentrations of IgG, IL-2, and TNF- α , and the quantity of CD⁴⁺ but decrease quantity of CD⁸⁺ which resulted in elevated CD⁴⁺/CD⁸⁺. **【Conclusion】** JPYQ decoction had positive effects on immune function of immunosuppressive mice.

Key words: Jianpi Yiqi decoction; mouse; immune function; T cells subgroup; flow cytometry

* [收稿日期] 2012-11-12

[基金项目] 河北省高等学校科学技术研究项目(Z2011117); 张家口市科技攻关计划项目(12110037C-2)

[作者简介] 李慧峰(1978—), 女, 河北张家口人, 讲师, 硕士, 主要从事兽医药理学与毒理学研究。E-mail: lihui Feng0915@163.com

近年来,免疫抑制性疾病的发病率逐年上升,不仅给畜禽养殖业造成了巨大的经济损失,而且也给人类健康带来了潜在的威胁^[1]。免疫抑制性疾病没有特异疗法,但可通过各种免疫增强剂调节动物机体的免疫功能,增强动物免疫应答能力,从而提高疫苗对动物的保护率,延长动物体液中高滴度抗体效价水平的持续时间,对重大动物疫病的预防与控制具有重大意义^[2]。

当前,国内外在中药免疫调节剂的研究开发方面,研究单味中药及其所含单体成分的报道较多^[3-5],而对复方中药制剂研究较少且不深入,但复方中药制剂有着单味药所不具备的药效整体性和协同互补作用,在实际应用中更具优势。因此本试验根据中医的理论,从维护巩固体内正气、改善和增强机体抵抗力着手,自拟复方中药制剂健脾益气汤,鉴于该方剂在动物临床上治疗免疫抑制性疾病有较好的效果,为进一步探讨其免疫增强作用,用环磷酰胺(CTX)处理小鼠建立免疫抑制模型,研究健脾益气汤对免疫抑制小鼠免疫功能的影响,以期为该方剂的研发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂与仪器 IL-2 和 TNF- α 进口分装 ELISA 试剂盒,晶美生物公司产品;IgG 标准品,批号为 110624,北京博奥森生物技术有限公司生产;环磷酰胺,批号 090404,上海华联制药有限公司生产;左旋咪唑,批号 090320,山西太原药业有限公司生产;溶血素,批号 080507,南昌百特生物高新技术有限公司生产;CD3-FITC、CD4-PE 及 CD8-PE,美国 BD 公司产品。

流式细胞仪,美国 Becton Dickinson 公司生产;紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司生产。

1.1.2 中药水煎液的制备 黄芪、党参、炒白术、黄连、黄柏、金银花、茯苓、地丁等中药材,均购于张家口市华佗大药房。取黄芪 20 g、党参 20 g、炒白术 10 g、黄连 10 g、黄柏 10 g、金银花 10 g、茯苓 10 g、地丁 10 g,用自来水 800 mL 浸泡 2 h,煮沸 1 h,取药液;将药渣加自来水 400 mL 煮沸 30 min,取药液。合并 2 次药液,纱布过滤,水浴蒸发至 100 mL 得健脾益气汤水煎剂(约含生药 1 g/mL)。

1.2 方法

1.2.1 健脾益气汤对小鼠体质量和脾脏指数的影

响 取小鼠 50 只,随机分成模型组、健脾益气汤低剂量给药组、健脾益气汤高剂量给药组、阳性对照组和阴性对照组 5 组,健脾益气汤低剂量给药组和高剂量给药组分别按照 16 和 44 g/(kg·d) 剂量灌胃健脾益气汤(给药量根据健脾益气汤在牛上的用药量确定,以生药计),阳性对照组按 0.1 g/(kg·d) 剂量灌胃左旋咪唑,阴性对照组灌服等体积的生理盐水,除阴性对照组外,其余各组小鼠于给药后第 1,3,5 天皮下注射 CTX 0.03 g/(kg·d) 制作免疫抑制模型,连续给药 7 d,末次给药 1 h 后脱臼处死取脾脏并称其湿质量,并以脾脏指数为判别标准^[6],脾脏指数=脾脏质量 $\times$ 10/体质量。

1.2.2 健脾益气汤对小鼠血清中 IgG 质量浓度的影响 取小鼠 50 只,动物分组及给药同 1.2.1,于试验第 2 天给药后用体积分数 20% 的绵羊红细胞(SRBC)免疫小鼠,腹腔注射 0.2 mL/只,免疫 7 d 后重复 1 次,于第 2 次免疫后开始给药,连续 7 d 末次给药后 1 h 眼静脉丛采血制备血清备用,离心后取上清液在波长 540 nm 处测定 OD_{540} 值,按文献^[7]计算 IgG 质量浓度。

1.2.3 健脾益气汤对小鼠血清中 IL-2 和 TNF- α 质量浓度的影响 取小鼠 50 只,随机分成模型组、健脾益气汤低剂量给药组、健脾益气汤高剂量给药组、阳性对照组和阴性对照组 5 组,健脾益气汤低剂量给药组和高剂量给药组分别按照 16 和 44 g/(kg·d) 剂量灌胃健脾益气汤,阳性对照组按 0.1 g/kg 剂量灌胃左旋咪唑,阴性对照组灌服等体积的生理盐水,给药 1 次/d,连续 15 d。除阴性对照组外,其他各组小鼠在给药后第 8,10,12 天于皮下注射 CTX 0.03 g/kg,制作免疫抑制模型。第 15 天给药后,所有小鼠腹腔注射水合氯醛麻醉,眼静脉丛取血,分离血清,采用双抗夹心 ELISA 法^[8-10]测定 IL-2 和 TNF- α 的质量浓度。

1.2.4 健脾益气汤对外周血 T 淋巴细胞亚群的影响 采用流式细胞术双抗标记法^[11]检测。取小鼠 30 只,随机分为 3 组,分别为阴性对照组、模型组、健脾益气汤高剂量给药组,给药 1 次/d,连续 7 d。模型组皮下注射 0.03 g/(kg·d) CTX;健脾益气汤高剂量给药组皮下注射 0.03 g/(kg·d) CTX,制造免疫模型,并灌胃健脾益气汤 44 g/(kg·d);阴性对照组灌胃等体积的生理盐水。模型组和健脾益气汤高剂量给药组小鼠于给药后第 1,3 和 5 天皮下注射 CTX 30 mg/(kg·d)。末次给药后 1 h 眼眶取血约 1 mL,加入提前装有抗凝剂的小试管中,每管对

应取 2 支流式细胞专用管,每支管加入 100 μL 抗凝血;各管加 10 倍稀释的溶血素 2 mL,轻轻摇匀,静置 12 min,1 500 r/min 离心 7 min;弃上清液,将沉淀用 PBS 洗涤 2 次,加 100 μL PBS 稀释,调细胞含量为 $1\times 10^6\ \mu\text{L}^{-1}$;分别加入 CD3-FITC/CD4-PE 及 CD3-FITC/CD8-PE,于室温下避光标记 30 min,加 2 mL PBS 离心(1 500 r/min 7 min),弃去上清液,沉淀中加入 300 μL PBS 混匀,进行流式细胞仪分析,分别计数 10 000 个细胞。

表 1 健脾益气汤对小鼠体质量和脾脏指数的影响($n=10$)

组别 Groups	试验初体质量/($\text{g}\cdot\text{只}^{-1}$) Initial weight	试验末体质量/($\text{g}\cdot\text{只}^{-1}$) Final weight	脾脏指数 Spleen ratio
阴性对照组 Negative control group	20.45 $\pm$ 0.88	26.35 $\pm$ 0.86	7.90 $\pm$ 0.85
模型组 Model group	21.01 $\pm$ 0.56	19.56 $\pm$ 0.92**	11.98 $\pm$ 1.02**
健脾益气汤低剂量给药组 JPYQ decoction low dose group	20.89 $\pm$ 0.45	21.08 $\pm$ 0.88Δ**	10.95 $\pm$ 1.13
健脾益气汤高剂量给药组 JPYQ decoction high dose group	20.55 $\pm$ 0.65	21.03 $\pm$ 0.5Δ**	9.2 $\pm$ 0.86ΔΔ
阳性对照组 Positive control group	20.94 $\pm$ 0.83	21.58 $\pm$ 0.61ΔΔ**	9.31 $\pm$ 0.78ΔΔ

注:“*”、“**”分别表示与阴性对照组差异显著($P<0.05$)或极显著($P<0.01$);“Δ”、“ΔΔ”分别表示与模型组差异显著($P<0.05$)或极显著($P<0.01$)。下表同。
Note:“*” and “**” indicate $P<0.05$ and $P<0.01$ compared to normal control,respectively;“Δ” and “ΔΔ” indicate $P<0.05$ and $P<0.01$ compared to model group. The same below.

由表 1 可以看出,试验初各组小鼠体质量差异不显著;试验末,与阴性对照组相比,其他各组小鼠体质量均极显著降低($P<0.01$),健脾益气汤低剂量和高剂量给药组小鼠体质量显著高于模型组($P<0.05$),阳性对照组小鼠体质量极显著高于模型组($P<0.01$)。说明健脾益气汤能拮抗由 CTX 所导致的体质量下降。健脾益气汤低剂量给药组脾脏指数与模型组和阴性对照组均无显著性差异,健脾益气汤高剂量给药组脾脏指数与模型组差异极显著($P<0.01$),与阴性对照组差异不显著。

2.2 健脾益气汤对小鼠血清中 IgG 质量浓度的影响

阴性对照组、模型组、健脾益气汤低剂量给药组、健脾益气汤高剂量给药组、阳性对照组小鼠血清 IgG 质量浓度分别为(110 $\pm$ 15),(85 $\pm$ 11),(93 $\pm$ 10),(102 $\pm$ 5)和(100 $\pm$ 8) $\mu\text{g/mL}$,模型组和健脾益气汤低剂量给药组与阴性对照组差异分别达极显著

1.3 统计学处理

数据以“平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)”表示,采用 SPSS 17.0 统计分析软件对数据进行处理。

2 结果与分析

2.1 健脾益气汤对小鼠体质量和脾脏指数的影响

健脾益气汤对小鼠体质量和脾脏指数的影响见表 1。

($P<0.01$)和显著水平($P<0.05$),健脾益气汤低剂量给药组和健脾益气汤高剂量给药组与模型组的差异分别达显著($P<0.05$)和极显著水平($P<0.01$)。

2.3 健脾益气汤对小鼠血清中 IL-2 和 TNF- α 质量浓度的影响

健脾益气汤对小鼠血清中 IL-2 和 TNF- α 质量浓度的影响见表 2。由表 2 可见,与阴性对照组相比,模型组小鼠血清中的 IL-2 和 TNF- α 质量浓度均极显著下降($P<0.01$);健脾益气汤低剂量给药组与模型组 IL-2 质量浓度差异显著($P<0.05$),二者之间的 TNF- α 质量浓度无显著性差异;健脾益气汤高剂量给药组与模型组 IL-2 质量浓度差异极显著($P<0.01$),二者之间的 TNF- α 质量浓度差异显著($P<0.05$);与模型组相比,阳性对照组的 IL-2 和 TNF- α 质量浓度均极显著升高($P<0.01$)。

表 2 健脾益气汤对小鼠血清中 IL-2 和 TNF- α 质量浓度的影响($n=10$)

组别 Groups	IL-2	TNF- α
阴性对照组 Negative control group	168.25 $\pm$ 15.65	185.67 $\pm$ 24.87
模型组 Model group	125.24 $\pm$ 24.58**	148.96 $\pm$ 24.62**
健脾益气汤低剂量给药组 JPYQ decoction low dose group	145.88 $\pm$ 19.47*Δ	151.62 $\pm$ 21.69**
健脾益气汤高剂量给药组 JPYQ decoction high dose group	159.35 $\pm$ 18.57ΔΔ	162.45 $\pm$ 20.59Δ
阳性对照组 Positive control group	163.58 $\pm$ 26.84ΔΔ	179.23 $\pm$ 24.85ΔΔ

2.4 健脾益气汤对小鼠外周血 T 淋巴细胞亚群的影响

健脾益气汤对小鼠外周血 T 淋巴细胞亚群的影响如表 3 所示。由表 3 可见,模型组的 CD^{4+} 数量及 CD^{4+}/CD^{8+} 显著低于阴性对照组 ($P<0.05$),模

型组 CD^{8+} 数量与阴性对照组相比显著升高 ($P<0.05$)。健脾益气汤高剂量给药组 CD^{4+} 数量及 CD^{4+}/CD^{8+} 均较模型组有所提高,且与模型组差异显著 ($P<0.05$);健脾益气汤高剂量给药组 CD^{8+} 数量与模型组相比显著降低 ($P<0.05$)。

表 3 健脾益气汤对小鼠外周血 T 淋巴细胞(CD^{4+} 、 CD^{8+})数量及 CD^{4+}/CD^{8+} 的影响 ($n=10$)

Table 3 Effect of JPYQ decoction on the T lymphocyte amount (CD^{4+} and CD^{8+}) and CD^{4+}/CD^{8+} in peripheral blood of mice ($n=10$)

组别 Groups	CD^{4+}	CD^{8+}	CD^{4+}/CD^{8+}
阴性对照组 Negative control group	$0.589\ 5\pm0.051$	$0.201\ 2\pm0.035$	2.89 ± 0.42
模型组 Model group	$0.492\ 6\pm0.048^*$	$0.408\ 7\pm0.034^*$	$1.19\pm0.27^*$
健脾益气汤高剂量给药组 JPYQ decoction high dose group	$0.641\ 5\pm0.059^{*A}$	$0.223\ 5\pm0.042^A$	2.85 ± 0.59^A

3 讨 论

淋巴细胞是机体免疫细胞的重要成员,也是构成免疫器官的基本单位,在免疫应答过程中起着核心作用。B 淋巴细胞是体内惟一能产生抗体免疫球蛋白分子的细胞,成熟的 B 淋巴细胞可分泌抗体,发挥体液免疫功能,因此体内 IgG 可反映机体的体液免疫功能。本试验较全面地从特异性免疫和非特异性免疫 2 方面对健脾益气汤进行了研究,结果显示,健脾益气汤能显著提高免疫抑制小鼠体内的 IgG 质量浓度,从而发挥体液免疫功能。T 细胞也是构成机体免疫防御系统的重要因素。成熟 T 淋巴细胞中,根据 CD^{4+} 和 CD^{8+} 分子的表达情况可以分为 CD^{4+} 和 CD^{8+} 2 个主要亚群,这 2 类细胞相互变化调节,可以维持机体内的免疫平衡, CD^{4+} 作为辅助 T 细胞的表型,可以调节免疫反应活性,主要介导与细胞毒和局部炎症有关的免疫应答,参与细胞免疫及迟发型超敏性炎症的发生,辅助 B 淋巴细胞产生抗体分泌细胞因子;而 CD^{8+} 则有免疫和抑制细胞毒性的作用。本试验通过流式细胞术双抗标记法分析了健脾益气汤对细胞免疫的影响,结果显示,健脾益气汤能显著提高免疫抑制小鼠 CD^{4+}/CD^{8+} ,表明健脾益气汤对机体的细胞免疫功能具有调节作用。

细胞因子能介导和调节免疫应答及炎症反应,密切反映机体的免疫状态。IL-2 是一种重要的 T 细胞生长因子,它可以促进 B 淋巴细胞活化,增加免疫球蛋白生成^[12],增强自然杀伤细胞的细胞毒活性,还可以活化巨噬细胞,增强其杀伤和吞噬病原体的能力,因此本研究将 IL-2 作为评价机体免疫状态的指标之一^[13-15]。将 IL-2 和 TNF- α 质量浓度控制在适当范围内,即可正向调控加速免疫应答。本试验中,健脾益气汤能明显提高免疫抑制模型中小鼠

血清中 IL-2 和 TNF- α 的质量浓度,提示健脾益气汤能提高免疫抑制小鼠的非特异性免疫功能。中兽医理论认为,所谓“正气”即动物机体内在的抗病能力,免疫抑制性疾病主要是由于“外邪”的侵袭,使动物机体的免疫功能下降,因此在治疗学上,中兽医常用“扶正”的中草药来扶持动物机体的“正气”,增强动物机体的免疫功能,从而抵御“外邪”的侵袭,即“扶正祛邪”。临床上常见的动物脾虚、湿浊不化、气化失司、免疫力低下等病症,可能是由于邪气侵体,邪气入里化热,热与湿相合,造成湿热、湿毒所致,表现为精神沉郁、食欲废绝、体温升高、痢肿疔毒等。复方中黄芪、党参、白术补脾益气为君药,黄连、黄柏、茯苓清热燥湿为臣药,金银花、地丁清热解毒为佐药,配伍后理论上可扶正祛邪。本试验结果显示,健脾益气汤增强了免疫抑制小鼠的特异性免疫和非特异性免疫功能,为其临床开发应用提供了理论依据。

[参考文献]

[1] 刘明成. 家禽病毒性免疫抑制病的危害和防控 [J]. 安徽农业科学, 2009, 37(28): 3626-3627.
Liu M C. Hazard and control of poultry immunosuppressive diseases caused by virus [J]. Anhui Agricultural Sciences, 2009, 37(28): 3626-3627. (in Chinese)

[2] 陈悦, 刘兴友. 鸡病毒性免疫抑制病的流行病学研究进展 [J]. 中国畜牧兽医, 2010, 37(2): 192-194.
Chen Y, Liu X Y. Epidemiological research of chicken viral immunosuppression [J]. China Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2010, 37(2): 192-194. (in Chinese)

[3] 谢陶吟, 赵虎, 高向东. 多糖单克隆抗体的研究进展 [J]. 药学进展, 2005, 29(9): 391-397.
Xie T Y, Zhao H, Gao X D. Advances in the research on the monoclonal antibody against polysaccharides [J]. Progress in Pharmaceutical Sciences, 2005, 29(9): 391-397. (in Chinese)

[4] 张群, 雷林生, 吴曙光. 多糖类药物作用的受体及信号转导机

- 制的研究进展 [J]. 中草药, 2005, 36(4): 614-616.
- Zhang Q, Lei L S, Wu S G. Receptor and signal transduction mechanism involved in biological effects of polysaccharides [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2005, 36(4): 614-616. (in Chinese)
- [5] Nestler G. Traditional Chinese medicine [J]. Med Clin North Am, 2002, 86: 63-73.
- [6] 刘丽娜, 何东平, 张声华, 等. 花生多肽对小鼠免疫功能影响的研究 [J]. 中国粮油学报, 2011, 26(1): 79-82.
- Liu L N, He D P, Zhang S H, et al. Effects of peptides on immune function of mice [J]. Chinese Cereals and Oils Association, 2011, 26(1): 79-82. (in Chinese)
- [7] 臧星星, 钱伯初. 溶血素类型和含量的分光光度测定法 [J]. 药理学学报, 1987, 22(4): 301-304.
- Zang X X, Qian B C. Spectrophotometric determination of Hemolys in types and concentration [J]. Acta Pharmaceutica Sinica, 1987, 22(4): 301-304. (in Chinese)
- [8] 毕 莲, 吴晓勇, 陈 育, 等. 益气养血补肾方对低免疫力大鼠免疫功能影响的实验研究 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2008, 10(9): 157-158.
- Bi L, Wu X Y, Chen Y, et al. Effect of immunologic function of benefiting qi nourishing blood invigorating kidney decoction on low immunity rats experimental study [J]. Liaoning University of Traditionnal Chinese Medicine, 2008, 10(9): 157-158. (in Chinese)
- [9] 李 媛, 宋媛媛, 张洪泉. 松果菊苷对衰老小鼠免疫功能和线粒体 DNA 相对含量的影响 [J]. 中国药理学通报, 2010, 26(6): 810-813.
- Li Y, Song Y Y, Zhang H Q. Effects of echinacoside on immune function and mitochondrial DNA relative content of aging mice [J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2010, 26(6): 810-813. (in Chinese)
- [10] 李际君, 周计春, 张盛君, 等. 中药启膈散免疫调节作用的体外实验研究 [J]. 中国医药导报, 2009, 6(18): 17-19.
- Li J J, Zhou J C, Zhang S J, et al. In vitro experiment of TCM Qige powder on immune regulation [J]. China Medical Herald, 2009, 6(18): 17-19. (in Chinese)
- [11] 李瑞琴, 鲁光华, 李 伟, 等. 大黄蛰虫丸抗大鼠肺纤维化的作用及对外周血 T 淋巴细胞亚群的影响 [J]. 中国药理学通报, 2009, 25(9): 1258-1259.
- Li R Q, Lu G H, Li W, et al. The function of dahuangzhechong pill in fighting pulmonary fibrosis of rats and the effect on peripheral blood lymphocyte subpopulation [J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2009, 25(9): 1258-1259. (in Chinese)
- [12] 王 欢, 乔 模. 清热抗感冲剂对免疫功能影响的实验研究 [J]. 上海中医药大学学报, 2005, 19(4): 42-44.
- Wang H, Qiao M. Effect of Qingre Kanggan granule on immune function [J]. Universitatis Traditionis Medicalis Sinensis Pharmacologiaeque Shanghai, 2005, 19(4): 42-44. (in Chinese)
- [13] 郑海兴, 周忠光, 何 倜. 伸筋草煎剂对小鼠免疫功能影响的实验研究 [J]. 中医学报, 2005, 33(4): 36-37.
- Zheng H X, Zhou Z G, He T. Experimental study on the impact of lycopodii decoction on immune function [J]. Chinese Medicine and Pharmacology, 2005, 33(4): 36-37. (in Chinese)
- [14] 罗 克. 动物的免疫器官、免疫细胞与免疫分子 [J]. 福建畜牧兽医, 2005, 27(2): 62-70.
- Luo K. Animal immune organs, immune cells and immune molecules [J]. Fujian Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2005, 27(2): 62-70. (in Chinese)
- [15] Bonafe M, Valensin S, Ginanni W, et al. The unexpected contribution of immunosenescence to the leveling off of cancer incidence and mortality in the oldest old [J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2001, 39(5): 227-233.