

# 白蜡虫多糖免疫调节与抑制肿瘤活性\*

冯颖, 何钊, 李娴, 陈智勇, 孙龙

(中国林业科学研究院资源昆虫研究所; 国家林业局资源昆虫培育与利用实验室, 云南昆明 650224)

**摘要:**采用环磷酰胺诱导免疫低下小鼠模型,通过测定模型小鼠的炭粒廓清指数、吞噬指数、胸腺指数和脾指数考察白蜡虫多糖的免疫调节能力;对接种 S180 瘤细胞的小鼠采用口服和注射方式提供白蜡虫多糖,以抑瘤率考察白蜡虫多糖体内抑瘤活性;以生长率为指标考察白蜡虫多糖对人白血病细胞株、人肺癌细胞株、人胃癌细胞株及人肝癌细胞株等 4 种肿瘤细胞的抑制作用。结果显示:白蜡虫粗多糖(Cwps)和纯化多糖(Pwps)均能明显增加免疫低下小鼠碳粒廓清指数及吞噬指数,但对胸腺指数和脾指数无改善作用;体内抑瘤试验发现,白蜡虫多糖对小鼠体内 S180 有明显的抑瘤效果,但对离体肿瘤细胞生长却无明显抑制作用。研究结果表明:白蜡虫多糖能增加免疫低下小鼠的非特性免疫能力,具有体内抑制肿瘤作用,但对肿瘤细胞无细胞毒作用,揭示白蜡虫多糖通过提高小鼠免疫能力达到体内抑制肿瘤的功效。

**关键词:**白蜡虫;多糖;免疫调节;肿瘤抑制

中图分类号:S899.1

文献标识码:A

## Immunomodulatory and Antitumor Activities of Polysaccharide from Chinese White Wax Scale

FENG Ying, HE Zhao, LI Xian, CHENG Zhi-yong, SUN Long

(Research Institute of Resources Insects, Chinese Academy of Forestry; Laboratory of Cultivation and Utilization of Resource Insects, State Forestry Administration, Kunming 650224, Yunnan, China)

**Abstract:** The immunomodulatory and antitumor activities of crude polysaccharide (Cwps) and purified polysaccharide (Pwps) extracted from Chinese white wax scale were investigated *in vivo* and *in vitro*. The immunomodulatory effect of Cwps and Pwps were evaluated by carbon particle clearance index, thymus index and spleen index in cyclophosphamide-induced immunosuppressed mice. The inhibition rates of Chinese white wax scale polysaccharide on sarcoma 180 tumor *in vivo* and human leukemia, lung cancer, gastric cancer and hepatoma cell lines *in vitro* were observed. The results showed that both the Cwps and Pwps could increase phagocytic index significantly, but had no influence on thymus index and spleen index. The growth of S180 cell was significantly inhibited by Cwps *in vivo*, but both Cwps and Pwps didn't exhibited direct cytotoxic activities for four kinds tested tumor cells *in vitro*. The result indicated that antitumor properties of Chinese white wax scale polysaccharide might be achieved by improving immune response *in vivo*.

**Key words:** Chinese white wax scale; polysaccharide; immunomodulatory; antitumor

糖是地球上数量最多的有机物,和核酸、蛋白一起构成生物体的 3 种重要生物分子,具有重要的生

物学功能,按其来源可分为植物多糖、动物多糖和真菌多糖等<sup>[1]</sup>,其中,真菌多糖研究较深入,具有降血

收稿日期:2013-12-21

基金项目:中央公益性科研院所基本科研业务费(riricaf2011002M);国家林业局科研项目[林规批字(2011)236]

作者简介:冯颖(1960—),女,云南昆明人,研究员,博士,研究方向为食用药用昆虫。E-mail:yingf@hotmail.com

\* 致谢:动物实验由云南中医学院林青教授协助完成。

糖、降血压、降脂、消炎、抗辐射、抗肿瘤和增强肌体免疫能力等作用<sup>[2]</sup>。植物多糖的研究涉及芦荟多糖<sup>[3]</sup>、茶叶多糖<sup>[4]</sup>以及我国的传统中药白术<sup>[5]</sup>、当归<sup>[6]</sup>、枸杞多糖<sup>[7]</sup>等,研究表明植物多糖同样具有调节免疫能力、抑制肿瘤等多种生物活性<sup>[8]</sup>。动物来源的多糖主要为粘多糖,如肝素、硫酸软骨素等具有抗凝血、降血脂、调节机体免疫力等很强的生理作用和治疗效果<sup>[9]</sup>。相对其它生物多糖,昆虫水溶性多糖的研究很少,现有的研究有蚕蛹多糖<sup>[10-12]</sup>、美洲大蠊<sup>[13]</sup>多糖的提取及免疫活性,黄粉虫多糖提取及抗氧化活性<sup>[14]</sup>,蛇虫多糖类物质延长凝血时间、增加纤溶系统活力等<sup>[15]</sup>,这与昆虫丰富的种类和种群数量极不相符。

白蜡虫(*Ericerus pella* Chavanness)属同翅目(Hemiptera)蜡蚧科(Coccidale),是一种资源昆虫,其2龄雄虫分泌的白蜡是我国的传统非木质林特产品,由长链脂肪酸和醇构成的酯类化合物,在机械、化工、医药、食品、农林等领域得到广泛应用,白蜡虫主要分布于我国的南方山区,寄生于女贞(*Ligustrum lucidum* Ait.)等寄主植物上,发展白蜡生产需要大量的寄主植物,可推动绿化造林,具有很好的经济、生态和社会效益。在传统白蜡生产中,雄虫生产白蜡,大量怀卵的雌虫除用于繁殖后代外,未得到充分利用<sup>[16]</sup>。近年来,笔者研究发现,白蜡虫成熟雌成虫含有丰富的蛋白质等成分,营养丰富、食用安全,动物试验表明具有明显的免疫调节和抗突变功能<sup>[17-18]</sup>。对从白蜡虫雌成虫中提取的多糖分析发现,其为葡萄糖、甘露糖、半乳糖组成的杂多糖<sup>[19]</sup>。为了解和评价白蜡虫多糖的活性,本文对其免疫调节功能和抑制肿瘤功能进行了研究,为白蜡虫及其他昆虫多糖的科学利用奠定科学基础,同时为森林资源昆虫白蜡虫的综合利用提供依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 白蜡虫多糖

提取多糖的白蜡虫样品采于4月下旬雌成虫产卵后、幼虫还未孵化前。去杂、水洗净、55℃烘干后粉碎过20目筛,存冰箱低温保存备用。采用水提醇沉法提取粗多糖(Cwps)<sup>[19]</sup>。粗多糖采用离子交换及凝胶层析纯化后得到的纯化多糖(Pwps)。

### 1.2 供试动物与肿瘤细胞株

供试动物:免疫功能的调节试验用小鼠为健康昆明种小鼠(四川省医学科学院实验动物研究所、川

SCXK2004-16),雌雄各半,体质量(20±2)g,清洁级;体内抑制肿瘤试验小鼠为健康雌性昆明种小鼠(昆明医学院实验动物中心,滇实动证第2004010号),体质量18~22g,清洁级。

供试瘤株:小鼠移植性肉瘤S180、人白血病细胞株(HL60)、人肺癌细胞株(A549)、人胃癌细胞株(SGC-7901)、人肝癌细胞株(Bel-7402)。

### 1.3 多糖对环磷酰胺诱导免疫低下小鼠免疫功能调节试验

供试小鼠随机分8组,每组16只,分为正常组、模型组、阳性对照组(1040 mg·kg<sup>-1</sup>(体质量)匹多莫德,太阳石药业,批号070703)、白蜡虫粗多糖(Cwps)高低剂量组(3000、1000 mg·kg<sup>-1</sup>(体质量))、白蜡虫纯化多糖(Pwps)高中低剂量组(219、73及24.3 mg·kg<sup>-1</sup>(体质量))。阳性对照组连续口服给药7d,各剂量组连续口服多糖7d,每天1次,正常组和模型组给予等体积去离子水,第5天除正常组外,其余各组每只小鼠腹腔注射环磷酰胺(江苏恒瑞医药股份有限公司,批号07033021)50 mg·kg<sup>-1</sup>(体质量),诱导免疫低下小鼠模型,连续3d。第8天每只鼠尾静脉注入经稀释的印度墨汁(0.10 mL·(10g)<sup>-1</sup>),2 min(t<sub>1</sub>)和10 min(t<sub>2</sub>)后分别从眼底静脉丛取血40 μL,加到4 mL经离心的0.1% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>溶液中,用分光光度计(752N)在600 nm波长处分别测定其吸光度值OD<sub>1</sub>(2 min取血所测吸光度值)和OD<sub>2</sub>(10 min取血所测吸光度值),以0.1% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>溶液作空白调零。第2次采血后脱颈椎处死小鼠,称体质量,解剖测量胸腺、肝及脾质量。按下式计算胸腺指数、脾指数、碳粒廓清指数K和吞噬指数α:

$$\text{胸腺指数} = \text{胸腺质量} / \text{体质量}$$

$$\text{脾指数} = \text{脾脏质量} / \text{体质量}$$

$$\text{碳粒廓清指数}(K) = (\lg OD_1 - \lg OD_2) / (t_2 - t_1)$$

$$\text{吞噬指数}(\alpha) = k^{1/3} \times \text{体质量} / (\text{肝质量} + \text{脾质量})$$

### 1.4 多糖小鼠体内抑制肿瘤试验

白蜡虫粗多糖(Cwps)研磨成细粉状,用0.8%的NaCl溶解稀释,按灌胃和腹腔注射2种方式分别给药,灌胃给药设50、100和200 mg·kg<sup>-1</sup>(体质量)3个剂量组,按0.2 mL·(10g)<sup>-1</sup>(体质量)的给药体积配制为相应浓度。腹腔注射设25、50和100 mg·kg<sup>-1</sup>(体质量)3个剂量组,按0.01 mL·(10g)<sup>-1</sup>的给药体积配制为相应浓度。取接种7d后生长良好的肿瘤细胞,用生理盐水调成4.0×10<sup>6</sup>·mL<sup>-1</sup>浓

度的细胞悬液接种于小鼠右侧腋部皮下, 0.2 mL · 只<sup>-1</sup>。接种 24 h 后随机分为阴性对照 (0.8% NaCl)、阳性对照 (1 mg · kg<sup>-1</sup> (体质量) 剂量顺铂, 云南个旧生物制药厂, 批号 030601, 按 0.2 mL · 只<sup>-1</sup>小鼠的给药体积腹腔注射给药) 和 Cwps 剂量组, 连续 9 d 给药, 每天 1 次。停药 1 天后处死动物, 分别称体质量、瘤质量, 计算肿瘤生长的抑制率 (抑制率):

$$\text{抑制率} = \frac{(\text{对照组平均瘤质量} - \text{实验组平均瘤质量})}{\text{对照组平均瘤质量}} \times 100\%$$

### 1.5 多糖体外抑制肿瘤试验

白蜡虫多糖用 0.8% 的 NaCl 配成 10 mg · mL<sup>-1</sup> 浓度的溶液, 0.22 μm 滤膜过滤并稀释成 5 个浓度 (Cwps 为 0.024 3、0.243 0、2.430 0、24.300 0 和 243.000 0 μg · mL<sup>-1</sup>; Pwps 为 0.023 2、0.232 0、2.320 0、23.200 0 及 232.000 0 μg · mL<sup>-1</sup>) 备用。将对数生长期各肿瘤细胞调整为适当浓度后加入 96 孔培养板 (90 μL · 孔<sup>-1</sup>)。阴性对照 (等体积培养液)、阳性对照 (顺铂) 及 5 个浓度样品各设 3 个平行孔 (10 μL · 孔<sup>-1</sup>)。悬浮细胞 (HL60) 接种后即加药, 贴壁细胞 (A549, SGC-7901, Bel-7402) 培养 24 h 待其贴壁后加药。加药后置 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养 48 h (悬浮细胞) 或 72 h (贴壁细胞) 后, 加入 MTT (5 mg · mL<sup>-1</sup>、20 μL · 孔<sup>-1</sup>), 继续培养 4 h 后各孔加入 100 μL 三联液 (10% SDS-5% 异丁醇-0.012 mol · L<sup>-1</sup> HCl (W/V/V)), 静置过夜后, 570 nm 下 (Varioskan Flash 美国 Thermo scientific) 测定各孔的吸光值 (OD 值)。计算细胞的生长抑制率:

$$\text{生长抑制率} = (\text{阴性对照 OD} - \text{样品 OD}) / \text{阴性对照 OD} \times 100\%$$

LOGIT 法计算受试药对细胞生长的半数抑制浓度 IC<sub>50</sub>。

### 1.6 数据处理

Microsoft Excel 计算结果, 以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 用 Spss 11.0 统计软件进行单因素方差分析, 对组间方差齐者进行 *t* 检验, 方差不齐者进行 *t'*, 检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 白蜡虫多糖对环磷酰胺诱导免疫低下小鼠免疫功能的调节

由表 1、2 可知: 模型组动物碳粒廓清指数 (*K*) ( $P < 0.05$ )、吞噬指数 ( $\alpha$ ) ( $P < 0.01$ ), 胸腺指数和脾指数 ( $P < 0.01$ ) 均明显低于正常组, 表明环磷酰胺造成了小鼠免疫低下模型; 阳性对照匹多莫德组能明显提高模型小鼠碳粒廓清指数 (*K*) ( $P < 0.05$ ) 及吞噬指数 ( $\alpha$ ) ( $P < 0.01$ ); 各剂量组粗多糖及纯化多糖均能不同程度提高免疫低下模型小鼠碳粒廓清指数 (*K*) 及吞噬指数 ( $\alpha$ ), 但阳性对照与各剂量粗多糖及纯化多糖均不能提高小鼠胸腺指数和脾指数, 对小鼠体液免疫和细胞免疫没有影响。试验结果表明: 白蜡虫多糖可不同程度地提高小鼠非特异免疫功能, 但对小鼠免疫器官胸腺、脾脏指数无明显改善作用。纯化后多糖在低剂量时就能显著提高免疫低下小鼠的非特异性免疫能力, 保留了粗多糖的活性作用。

表 1 白蜡虫粗多糖对环磷酰胺诱导免疫低下小鼠巨噬细胞吞噬功能、胸腺及脾指数的影响

组别	剂量/(mg · kg <sup>-1</sup> )	碳粒廓清指数( <i>K</i> )	吞噬指数( $\alpha$ )	胸腺指数/(mg · g <sup>-1</sup> )	脾指数/(mg · g <sup>-1</sup> )
正常组	-	0.023 0 ± 0.007 2	4.558 ± 0.478	4.88 ± 0.89	4.25 ± 1.20
模型组	-	0.017 2 ± 0.006 7 <sup>△</sup>	3.708 ± 0.708 <sup>△△</sup>	1.56 ± 0.37 <sup>△△△</sup>	2.01 ± 0.44 <sup>△△△</sup>
匹多莫德	1 040	0.026 3 ± 0.007 1*	4.667 ± 0.644**	1.51 ± 0.57	2.43 ± 1.08
Cwps (低)	1 000	0.026 7 ± 0.007 7*	5.138 ± 0.588***	1.56 ± 0.52	1.89 ± 0.43
Cwps (高)	3 000	0.030 2 ± 0.006 3***	5.642 ± 0.743***	1.52 ± 0.30	1.92 ± 0.42

注: 表中数据为均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ); 与正常组相比:  $\Delta P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta P < 0.01$ ; 与模型组相比: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$ ; 下同。

表 2 白蜡虫纯化多糖对环磷酰胺诱导免疫低下小鼠巨噬细胞吞噬功能、胸腺及脾指数的影响

组别	剂量/(mg · kg <sup>-1</sup> )	碳粒廓清指数( <i>K</i> )	吞噬指数( $\alpha$ )	胸腺指数/(mg · g <sup>-1</sup> )	脾指数/(mg · g <sup>-1</sup> )
正常组	-	0.031 1 ± 0.007 5	5.843 ± 0.507	4.71 ± 0.89	4.43 ± 0.88
模型组	-	0.024 9 ± 0.008 0 <sup>△</sup>	5.036 ± 0.593 <sup>△△△</sup>	1.35 ± 0.32 <sup>△△△</sup>	1.69 ± 0.21 <sup>△△△</sup>
匹多莫德	1 040	0.035 9 ± 0.005 8***	5.737 ± 0.669**	1.38 ± 0.36	1.79 ± 0.24
Pwps (低)	24.3	0.032 8 ± 0.005 1**	5.741 ± 0.670**	1.42 ± 0.33	1.68 ± 0.28
Pwps (中)	73.0	0.037 5 ± 0.007 1***	6.103 ± 0.920**	1.42 ± 0.36	1.72 ± 0.35
Pwps (高)	219.0	0.038 2 ± 0.008 5***	5.820 ± 0.901*	1.40 ± 0.28	1.70 ± 0.29

## 2.2 白蜡虫多糖体内抑制肿瘤试验结果

白蜡虫粗多糖动物体内抑制 S180 肿瘤试验结果(表 3)显示:除灌胃给药的中剂量组外,其它各剂量组 S180 的平均瘤质量比对照组均明显减轻,抑瘤率大于 30%,差异显著( $p < 0.01$ )。2 种给药方式在高剂量组条件下,对 S180 的抑瘤率都达到了 50% 以

上,腹腔注射给药抑制肿瘤效果与剂量呈明显的正相关,抑瘤率高于灌胃给药途径,2 种给药方式均未观察到明显的毒性反应。表明在本试验条件下,白蜡虫粗多糖对小鼠移植性肉瘤 S180 的生长有明显的抑制作用。

表 3 白蜡虫粗多糖对小鼠体内 S180 生长的影响

组别	剂量/(mg · kg <sup>-1</sup> )	体质量/g( $\bar{x} \pm s$ )		瘤质量/g( $\bar{x} \pm s$ )	抑瘤率/%	P 值
		给药前	给药后			
顺铂	1	20.12 ± 1.91	21.71 ± 3.05	0.62 ± 0.06	69.61	<0.01 *
0.8% 氯化钠		21.93 ± 2.75	28.24 ± 4.28	2.04 ± 0.60	-	-
Cwps 灌胃	50	21.09 ± 1.53	25.83 ± 2.22	1.17 ± 0.67	42.65	<0.01 *
	100	19.25 ± 2.33	25.43 ± 4.16	1.97 ± 0.66	3.43	>0.05 *
	200	19.64 ± 2.09	25.69 ± 2.87	0.97 ± 0.23	52.45	<0.01 *
0.8% 氯化钠		21.21 ± 3.80	26.60 ± 4.19	2.07 ± 0.47	-	-
Cwps 腹腔注射	25	19.58 ± 2.33	25.82 ± 3.19	1.28 ± 0.20	38.16	<0.01 *
	50	19.40 ± 1.33	23.01 ± 0.97	1.14 ± 0.21	44.93	<0.01 *
	100	20.42 ± 1.76	23.42 ± 2.53	0.94 ± 0.40	54.59	<0.01 *

注: \* 与 0.8% 氯化钠对照组比较。体质量与瘤质量为均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )。

## 2.3 白蜡虫多糖体外抗肿瘤试验

白蜡虫多糖对 4 种人体肿瘤细胞体外抑制试验结果(表 4)显示:在供试剂量条件下,对肿瘤细胞生长的半数抑制浓度分别超过了 243  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  和 232  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,表明白蜡虫多糖对 4 种体外培养人体肿瘤细胞生长无抑制作用。

表 4 白蜡虫多糖对 4 种肿瘤细胞的 IC<sub>50</sub>/( $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ )

样品	人白血病细胞 (HL60)	人肺癌细胞 (A549)	人胃癌细胞 (SGC-7901)	人肝癌细胞 (Bel-7402)
Cwps	>243	>243	>243	>243
Pwps	>232	>232	>232	>232
顺铂	0.095	1.60	0.89	2.31

## 3 结论与讨论

白蜡虫粗多糖和纯化多糖均可显著增强免疫低下小鼠炭粒廓清指数(K)及吞噬指数( $\alpha$ ),具有提高小鼠非特异免疫的功能。白蜡虫粗多糖对荷瘤小鼠体内 S180 有明显的抑瘤效果,高剂量组(灌胃 200 mg · kg<sup>-1</sup>和腹腔注射 100 mg · kg<sup>-1</sup>)的抑瘤率均大于 50%,腹腔注射方式给药的抑瘤率与剂量成正相关;但白蜡虫粗多糖和纯化多糖在体外对 4 种肿瘤细胞均无生长抑制作用。研究结果表明,白蜡虫多糖对体外肿瘤细胞无细胞毒作用,多糖通过提高小鼠免疫能力达到体内抑制肿瘤的功效。

多糖对肿瘤细胞抑制主要通过对其免疫功能的影响和直接的细胞毒作用等 2 种方式来实现,其中大部分多糖均是通过增强机体免疫活性间接抑制肿瘤

细胞途径发挥作用<sup>[1, 20]</sup>。对免疫功能的影响主要有增强网状内皮系统、对补体影响、对淋巴细胞和吞噬细胞的作用等方面,细胞诱导性免疫在多糖和多糖蛋白的抗肿瘤活性功能中扮演了重要的作用<sup>[1]</sup>。不同多糖和多糖蛋白通过调节免疫力来抗肿瘤的机制也有不同,如香菇多糖<sup>[21]</sup>由巨噬细胞和淋巴细胞相互作用而产生的细胞诱导免疫应答、抗体诱导的细胞毒 2 种作用导致产生抗肿瘤效果;灵芝多糖<sup>[22]</sup>在正常动物体内无直接的免疫应答效果,但可以使移植肿瘤后小鼠下降的免疫力恢复正常;人参多糖<sup>[23]</sup>、虫草多糖<sup>[24]</sup>、香菇多糖<sup>[21]</sup>具有增强网状内皮系统功能;柴胡多糖<sup>[25]</sup>、人参多糖<sup>[23]</sup>、茯苓多糖<sup>[26]</sup>等通过对补体的影响来达到抑制肿瘤作用;枸杞多糖<sup>[7]</sup>、当归多糖<sup>[27]</sup>、白术多糖<sup>[28]</sup>等能促进淋巴细胞的分裂、增值和转化;白术多糖<sup>[29]</sup>、当归多糖<sup>[30]</sup>等具有对吞噬细胞的作用。在细胞毒作用方面,活性多糖主要通过改变肿瘤细胞膜的生长特性、抗自由基、影响肿瘤细胞的蛋白质和核酸的合成等方面来实现只对癌细胞作用<sup>[1]</sup>,而不杀伤正常细胞。白蜡虫多糖在体外对癌细胞无抑制作用,但在体内具有明显的抑瘤作用,且能增强免疫低下小鼠的非特异性免疫功能,说明白蜡虫多糖无直接的细胞毒作用,其抑制肿瘤的作用可能与大多数其它来源多糖一样,主要通过影响免疫功能而达到抑瘤效果,但具体的作用机制尚待进一步研究。

## 参考文献:

- [1] 谢明勇, 聂少平. 天然产物活性多糖结构与功能研究进展[J]. 中国食品学报, 2010, 10(2): 1-11
- [2] Synytsya A, Novák M. Structural diversity of fungal glucans[J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 92(1): 792-809
- [3] Kang M, Kim S Y, Kim Y T, et al. In vitro and in vivo antioxidant activities of polysaccharide purified from aloe vera (*Aloe barbadensis*) gel[J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 99(2): 365-371
- [4] Cai W, Xie L, Chen Y, et al. Purification, characterization and anticoagulant activity of the polysaccharides from green tea[J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 92(2): 1086-1090
- [5] Xie F, Sakiwatkul K, Zhang C, et al. *Atractylodis macrocephalae* Koidz. polysaccharides enhance both serum IgG response and gut mucosal immunity[J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 91(1): 68-73
- [6] Ai S, Fan X, Fan L, et al. Extraction and chemical characterization of *Angelica sinensis* polysaccharides and its antioxidant activity[J]. Carbohydr Polym, 2013, 94(2): 731-736
- [7] Jin M, Huang Q, Zhao K, et al. Biological activities and potential health benefit effects of polysaccharides isolated from *Lycium barbarum* L. [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013, 54(3): 16-23
- [8] Schepetkin I A, Quinn M T. Botanical polysaccharides: macrophage immunomodulation and therapeutic potential [J]. Int Immunopharmacol, 2006, 6(3): 317-333
- [9] 殷涌光, 韩玉珠, 丁宏伟. 动物多糖的研究进展[J]. 食品科学, 2006, 27(3): 256-263
- [10] 黄林清, 周世文, 张诗平, 等. 蚕蛹多糖对小鼠免疫功能的影响[J]. 解放军药学学报, 2002, 18(1): 11-13
- [11] 藏其中, 万淑莹. 蚕蛹多糖的分离和分析[J]. 中成药, 1992, 14(3): 35-36
- [12] 孙龙, 冯颖, 何钊, 等. 蚕蛹多糖的碱液提取及免疫活性初步研究[J]. 林业科学研究, 2007, 20(6): 782-786
- [13] 孙龙, 冯颖, 何钊, 等. 蟑螂水溶性多糖提取、分析及免疫活性研究[J]. 林业科学研究, 2009, 22(2): 256-261
- [14] 何钊, 冯颖, 孙龙, 等. 黄粉虫多糖响应面法提取及抗氧化活性[J]. 食品与生物技术学报, 2011(5): 641-647
- [15] 金伟, 王亚威. 虻虫抗凝血物质的药理研究[J]. 中医药信息, 2000, 17(3): 64-66
- [16] 陈晓鸣, 冯颖. 资源昆虫学概论[M]. 北京: 科学出版社, 2009: 29-30
- [17] 冯颖, 陈晓鸣, 马艳, 等. 白蜡虫免疫调节作用试验研究[J]. 林业科学研究, 2006, 19(2): 221-224
- [18] 冯颖, 陈晓鸣, 何钊, 等. 白蜡虫抗突变实验与主要功效成分分析[J]. 林业科学研究, 2006, 19(3): 284-288
- [19] 何钊, 孙龙, 冯颖, 等. 白蜡虫多糖的提取及单糖组分分析[J]. 林业科学研究, 2008, 21(6): 792-796
- [20] Zhang M, Cui S W, Cheung P C K, et al. Antitumor polysaccharides from mushrooms: a review on their isolation process, structural characteristics and antitumor activity[J]. Trends in Food Science & Technology, 2007, 18(1): 4-19
- [21] Zhang Y, Li S, Wang X, et al. Advances in lentinan: Isolation, structure, chain conformation and bioactivities[J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25(2): 196-206
- [22] Ng T B. A review of research on the protein-bound polysaccharide (polysaccharopeptide, PSP) from the mushroom *Coriolus versicolor* (Basidiomycetes: Polyporaceae) [J]. Gen Pharmacol, 1998, 30(1): 1-4
- [23] Sun Y. Structure and biological activities of the polysaccharides from the leaves, roots and fruits of *Panax ginseng* C. A. Meyer: An overview[J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 85(3): 490-499
- [24] Wang B, Won S, Yu Z, et al. Free radical scavenging and apoptotic effects of *Cordyceps sinensis* fractionated by supercritical carbon dioxide[J]. Food and Chemical Toxicology, 2005, 43(4): 543-552
- [25] Xu H, Zhang Y, Zhang J, et al. Isolation and characterization of an anti-complementary polysaccharide D3-S1 from the roots of *Bupleurum smithii* [J]. International Immunopharmacology, 2007, 7(2): 175-182
- [26] Rios J L. Chemical constituents and pharmacological properties of *Poria cocos*[J]. Planta Med, 2011, 77(7): 681-691
- [27] Jin M, Zhao K, Huang Q, et al. Isolation, structure and bioactivities of the polysaccharides from *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels: A review[J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 89(3): 713-722
- [28] 毛俊浩, 吕志良. 白术多糖对小鼠淋巴细胞功能的调节[J]. 免疫学杂志, 1996, 12(4): 233-236
- [29] 汤新慧. 白术多糖对小鼠免疫功能的影响[J]. 中医研究, 1998, 11(2): 7-9
- [30] 孟慧玲, 魏道武. 当归多糖的药理学研究新进展[J]. 甘肃中医, 2007, 20(1): 44-46