

Effect of *Hirsutella sinensis* Mycelium on Non-Specific Immunity in BALB/cByJ Mice

Shan-Ching Hsu¹, Chang Zhao², Chin-Chu Chen^{1,3,4,5,6*}

¹Department of Food Science, Nutrition, and Nutraceutical Biotechnology, Shih Chien University, Taipei Taiwan

²Shanghai Grape King Enterprise Co., Ltd., Shanghai

³Grape King Bio Ltd., Taoyuan Taiwan

⁴Institute of Food Science and Technology, National Taiwan University, Taipei Taiwan

⁵Institute of Biotechnology, National Changhua University of Education, Changhua Taiwan

⁶Bioscience Technology, Chung Yuan Christian University, Taoyuan Taiwan

Email: *gkbioeng@grapeking.com.tw

Received: May 3rd, 2018; accepted: May 16th, 2018; published: May 23rd, 2018

Abstract

The aim of this study is to evaluate non-specific and specific immune responses on the *Hirsutella sinensis* mycelium. 36 BALB/cByJ female (6-week-old) mice were randomly divided into 3 groups and gave them commercial chow diet with supplementary *Hirsutella sinensis* mycelium by oral administration of control (distilled water), low and high dosages (equivalent to 1.59, 15.9 g/60 kg/day for adult). After 5 weeks' experimental treatment, BALB/cByJ mice were sacrificed to evaluate the secretion on cytokine and antibody from spleen cell and peritoneal macrophages of mice. The result of the non-specific immune study showed that two experimental groups had no significant effect on their growth compared with control group. The number of MHC I, T, CD4, and CD8 lymphocytes in the high dosage group was significantly higher than that in the control group ($p < 0.05$). There was no significant difference among the three groups' lymphocytes such as MHC II, B, and NK. The high dosage group significantly increased in serum immunoglobulin G (IgG) and IgM than that in the control group ($p < 0.05$). Splenocyte proliferation significantly increased in low and high dosage groups compared with control group by concanavalin A (ConA), Phytohemagglutinin (PHA) and lipopolysaccharide (LPS) stimulating ($p < 0.05$). Compared with control group by ConA stimulating, we observed that low dosages significantly promoted the secretions of IL-2 and IFN- γ ($p < 0.01$), but the high dosages significantly inhibited the secretions of IL-4 and IL-5 ($p < 0.01$). The high dosage group significantly stimulated the IL-6 production in peritoneal macrophages compared with control group by LPS stimulating ($p < 0.05$). These results showed that the *Hirsutella sinensis* mycelium improved non-specific immunity in BALB/cByJ mice.

Keywords

Hirsutella sinensis, *Cordyceps sinensis*, Non-Specific Immunity, Lymphocytes, Macrophages

*通讯作者。

中华被毛孢菌丝体对BALB/cByJ小鼠之非特异性免疫功能探讨

许珊菁¹, 赵 敏², 陈劲初^{1,3,4,5,6*}

¹实践大学食品营养与保健生技学系, 台湾 台北

²上海葡萄王企业有限公司, 上海

³葡萄王生技股份有限公司, 台湾 桃园

⁴国立台湾大学食品科技研究所, 台湾 台北

⁵彰化师范大学生物技术研究所, 台湾 彰化

⁶中原大学生物科技学系, 台湾 桃园

Email: *gkbioeng@grapeking.com.tw

收稿日期: 2018年5月3日; 录用日期: 2018年5月16日; 发布日期: 2018年5月23日

摘要

本研究目的为探讨中华被毛孢菌丝体对非特异性免疫功能影响, 本实验将36只BALB/cByJ雌性(6周龄)小鼠随机分成三组: 对照组(蒸馏水)、低剂量组与高剂量组(相当60公斤成人每天摄取1.59 g与15.9 g), 连续灌喂中华被毛孢菌丝体五周后, 分析小鼠脾脏细胞与腹腔巨噬细胞之非特异性免疫指标。实验结果发现中华被毛孢菌丝体对小鼠生长没有显著影响。在高剂量组其MHC I、CD4及CD8细胞数目显著较对照组增加($p < 0.05$), 在MHC II、T、B及NK等淋巴细胞数目三组间无显著差异。高剂量组血清IgG及IgM抗体显著较对照组增加($p < 0.05$)。在ConA, PHA及LPS三种裂殖素的分别刺激下, 中华被毛孢菌丝体显著刺激脾脏淋巴细胞增生($p < 0.05$)。在ConA刺激下, 低剂量组显著刺激脾脏细胞产生Th1细胞激素IL-2及IFN- γ ($p < 0.01$), 高剂量组显著抑制脾脏细胞产生Th2细胞激素IL-4及IL-5 ($p < 0.01$)。在LPS刺激下, 高剂量组显著刺激腹腔巨噬细胞生成IL-6 ($p < 0.05$)。中华被毛孢菌丝体具有促进B细胞免疫反应、调节Th1/Th2细胞激素分泌与促进巨噬细胞功能, 显示中华被毛孢菌丝体具免疫调节功效。

关键词

中华被毛孢, 冬虫夏草, 非特异性免疫, 淋巴细胞, 巨噬细胞

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

冬虫夏草(*Cordyceps sinensis*)是一种药食两用真菌, 含多种活性成分, 具有抗肿瘤、抗氧化、降血糖、降血脂、增强免疫力等生理作用[1][2]。但天然冬虫夏草由于价格昂贵与产量有限, 不能被广泛应用, 逐渐使用培育的虫草菌丝体来取代天然冬虫夏草。冬虫夏草相关无性型菌种研究共有发现有22个学名, 13个属, 中华被毛孢为冬虫夏草菌的合格发表的新种名称其中之一[3]。

免疫防卫系统可分为先天性免疫系统(innate immune system)和后天性免疫系统(adaptive immune system)两种，由于两者互助合作及互相支持，方能维持身体正常的免疫机能，免受病菌的入侵[4]。当淋巴细胞受到抗原的刺激时，会立即增生至适当数目，以发挥清除入侵抗原的功能。根据各族群免疫细胞数的消长分析，可以作为免疫调节能力的综合指标之一。B 淋巴细胞可藉由产生抗体来清除入侵病菌；T 淋巴细胞则藉由产生各种细胞激素来调控免疫反应。巨噬细胞在先天性免疫系统占有重要的地位，它可辨识细菌等病原之表现抗原，将其吞噬，并且经由胞内水解酵素将之分解。因此，藉由分析巨噬细胞活性，可作为评估先天性免疫系统功能的指针。本实验目的为研究给予中华被毛孢菌丝体(*Hirsutella sinensis*)对小鼠非特异性免疫功能的影响。

2. 材料与方法

2.1. 中华被毛孢菌丝体制备方法

本研究中使用的试验品是冷冻干燥的 *Hirsutella sinensis* 菌丝体粉末。18℃下培养 30 天，将其转移到 1 L 的培养基(含 2% sucrose, 1% peptone, 1% yeast extract)，在 18℃下培养 14 天，再以 500 L 的发酵槽培养 14 天，再转移到 5 t 的发酵罐中培养。分离培养液后冻干，并研磨成粉末。

2.2. 试验动物与饲养

本次试验遵守动物伦理委员 3R 规范，由财团法人国家实验研究院国家实验动物中心(台北市，台湾)订购 36 只 6 周龄之雌性 BALB/cByJ 小鼠。动物房温度控制在 23℃ ± 2℃，湿度制在 50% ± 10%，光照与黑暗各十二小时，饲料饮水不限制。

2.3. 试验设计

36 只试验动物给予正常成鼠饲料(PMI 5001, Purina, 美国)与饮用蒸馏水适应环境 1 周后，将其随机分为三组，每组 12 只。其分组为：对照组(等体积二次水)、低剂量组(每天 4 毫克)与高剂量组(每天 40 毫克)。采用胃管口服给予喂食，每日一次，每周六天，连续五周。试验期间，小鼠自由摄食饲料和蒸馏水，每周纪录小鼠体重。试验结束后，利用二氧化碳迷昏小鼠后，进行心脏采血，收集血样。再续以二氧化碳牺牲，以无菌操作方式采取腹腔细胞与脾脏细胞。

2.4. 脾脏细胞悬浮液制备

将脾脏放置于已加入适量培养基(RPMI-1640, 10% FBS)的 3 cm patch dish 内，以无菌针筒的尾端将脾脏磨碎，使成为细胞悬浮液。静置 5 分钟后，取上清液，在 25℃下，以 600×g 离心 5 分钟，倒掉上清液。拍散细胞加入 5 mL RBC lysing buffer，静置 1 分钟，加入 5 mL 的培养基，在 25℃下，600×g 离心 5 分钟，倒掉上清液，拍散细胞。以 10 mL HBSS 缓冲液清洗两次，后将细胞悬浮于 10 mL 的培养基中。以 trypan blue 染色法计算细胞总数，调细胞数至 1×10^7 cells/mL medium。

2.4.1. 淋巴细胞增生反应

先于 96 well 培养盘中分别加入 100 μL 之培养基(spontaneous)或裂殖素(分别为 ConA(concanavalin A) 10 μg/mL; PHA (phytohemagglutinin) 20 μg/mL; LPS (lipopolysaccharide) 50 μg/mL)，加入 100 μL 脾脏细胞悬浮液(4×10^6 cell/mL)，以 5% CO₂, 37℃之条件下培养 72 小时后，加入 20 μL/well 之 MTT (5 mg/mL)，并于 37℃培养 4~6 小时后，于 25℃下，以 250×g 离心 10 分钟，吸弃上清液，加入 200 μL/well 之 DMSO，震荡 5 分钟后，测其 A570 nm 之吸亮度。增生指数(stimulation index)计算公式为(A570_{nm} mitogen - A570_{nm} medium control)/(A570_{nm} spontaneous - A570_{nm} medium control)。

2.4.2. 细胞激素分泌试验

先于 24 well 培养盘中分别加入 600 μL 之培养基(spontaneous)或 600 μL 之 ConA (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)与 100 μL 之培养基，再加入 400 μL 脾脏细胞悬浮液(10^7 cell/mL)，以 5% CO₂，37°C 之条件下分别培养 24 与 72 小时后，收集细胞上清液，保存在-20°C 冰箱。利用 sandwich-ELISA 法测试 IL-2、IFN- γ 、IL-4(24 小时)及 IL-5 (72 小时)的含量。

2.4.3. 免疫细胞数量分析

每只老鼠共有六管，每管加入 100 μL 脾脏细胞悬浮液($1 \times 10^7 \text{ cell/mL}$)。六管分别加入不同的荧光抗体(isotype controls-FITC/PE、 α -H2K FITC、 α -I-Ad FITC、 α -NK 1.1 FITC、 α -CD3 FITC/ α -CD19 PE、 α -CD4 FITC/ α -CD8 PE/ α CD3)，于 4°C 下染色 30 分钟。每管加入 1 mL PBS，4°C 下 600×g 离心 10 分钟，吸弃上清液，重复三次。加入 500 μL 之 2% formaldehyde-PBS，避光保存于 4°C 冰箱中，于 72 小时内以流氏细胞仪分析 MHC I/II，T，B，CD4，CD8 与 NK 细胞消长情形。

2.5. 血清抗体测定

将保存于-20°C 之血清样本，解冻后以 sandwich-ELISA 测定其中所含 IgM 及 IgG 抗体浓度。

2.6. 腹腔巨噬细胞功能试验

以吸入 CO₂ 法使小鼠窒息死亡，剪开小鼠腹腔外侧皮毛，用手撕开，露出整个腹膜，以镊子轻挑起腹膜，以针筒缓缓打入 HBSS buffer (Hank's balanced salts solution)，晃动鼠体后，再将腹腔细胞抽出，将所取得的细胞悬浮液，在 25°C 下，以 600×g 离心 10 分钟，吸弃上清液，加入 5 mL 培养基(DMEM, 10% FBS)使细胞均匀悬浮。以 trypan blue 染色法计算细胞总数，调细胞数至 $2 \times 10^6 \text{ cells/mL medium}$ 。96 well 培养盘中分别加入 100 μL 之培养基(spontaneous)或 100 μL 之 LPS (50 $\mu\text{g}/\text{mL}$)，再加入 100 μL 腹腔细胞悬浮液($2 \times 10^6 \text{ cells/mL}$)，以 5% CO₂，37°C 之条件下分别培养 24 小时后，收集细胞上清液，保存在-20°C。利用 sandwich-ELISA 法测试 IL-6 的含量。

2.7. 统计分析

统计分析使用 SPSS 软件进行。实验结果均以平均值±标准误差(Mean ± SD)表示。数据以 One-way ANOVA 分析，继以 Duncan's Multiple Range test 进行固处理见间比较，并以 Dunnett's t-test 来检定处理组与对照组两组间差异显著性，将显著性水平设定为 p < 0.05。

3. 讨论

3.1. 小鼠生长状况

高剂量组、低剂量组与对照组经五周试验后，三组间小鼠的生长体重无显著差异(见表 1)。

3.2. 脾脏细胞增生能力的影响

脾脏细胞以 ConA、PHA 及 LPS 等三种裂殖素处理，于 5% CO₂、37°C 下培养三天，结果发现于三种不同的裂殖素刺激下，均发现低剂量与高剂量组显著刺激脾脏淋巴细胞增生(p < 0.05) (见表 2)。

3.3. 脾脏淋巴细胞种类的影响

与对照组比较发现高剂量组脾脏细胞中 MHC I、CD8 细胞数目显著增加(p < 0.05)。在低剂量组中 CD4 细胞显著增加较对照组增加(p < 0.05)。在其他淋巴细胞如 MHC II、T、B 及 NK 等细胞数目三组间无显著差异(见表 3)。

Table 1. Effect of *Hirsutella sinensis* mycelium on body weights in mice**表 1. 中华被毛孢菌丝体对小鼠生长体重之影响**

实验周期	对照组	低剂量组	高剂量组
	body weight (g)		
第一周	20.93 ± 1.41	20.53 ± 1.47	20.95 ± 1.79
第二周	21.86 ± 1.40	21.01 ± 1.47	21.41 ± 1.57
第三周	22.54 ± 1.40	21.54 ± 1.40	21.73 ± 1.53
第四周	23.14 ± 1.36	22.01 ± 1.42	22.26 ± 1.65
第五周	23.20 ± 1.21	21.99 ± 1.50	22.36 ± 1.56

The reported values are the mean ± SD (n = 12).

Table 2. Effect of *Hirsutella sinensis* mycelium on the ConA, PHA and LPS stimulated proliferation from spleen cell of mice**表 2. 中华被毛孢菌丝体对小鼠脾脏淋巴细胞增生之影响**

裂殖素	对照组	低剂量组	高剂量组
	Stimulation index		
ConA	20.25 ± 5.24	35.16 ± 10.08**	26.84 ± 10.54
PHA	7.36 ± 3.25	13.17 ± 2.47**	12.10 ± 2.52**
LPS	10.15 ± 6.68	20.19 ± 6.58**	17.43 ± 5.58*

Data expressed as mean ± S.D. *Significant different from control group (p < 0.05). **Significant different from control group (p < 0.01).

Table 3. Effect of *Hirsutella sinensis* mycelium on lymphocyte type from spleen cell of mice**表 3. 中华被毛孢菌丝体对小鼠脾脏淋巴细胞种类之影响**

细胞种类	对照组	低剂量组	高剂量组
	%		
MHC I	98.19 ± 0.77	98.88 ± 0.50**	98.77 ± 0.80*
MHC II	42.92 ± 2.66	41.53 ± 4.29	42.04 ± 4.12
T	40.77 ± 3.19	41.92 ± 2.52	41.77 ± 2.15
B	50.83 ± 3.66	50.88 ± 3.11	49.14 ± 3.32
CD4	31.51 ± 3.58	34.27 ± 3.35*	33.12 ± 2.29
CD8	12.45 ± 0.84	14.48 ± 0.92**	14.12 ± 1.68**
NK	0.51 ± 0.09	0.54 ± 0.09	0.56 ± 0.15

Data expressed as mean ± S.D. *Significant different from control group (p < 0.05). **Significant different from control group (p < 0.01).

3.4. 血清抗体生成

高剂量组血清 IgG 及 IgM 含量显著较对照组增加(p < 0.05)，低剂量组血清 IgG 含量显著较对照组增加(p < 0.05) (见表 4)。

3.5. 脾脏细胞分泌细胞激素能力的影响

脾脏细胞于自发情况(spontaneous)下，三组间 IL-2、IFN-γ、IL-4 及 IL-5 的分泌量相当低，各组间无

Table 4. Effect of *Hirsutella sinensis* mycelium on serum IgG and IgM antibody of mice
表 4. 中华被毛孢菌丝体对小鼠血清 IgG 与 IgM 抗体之影响

	对照组	低剂量组	高剂量组
	mg/mL		
IgG	1.61 ± 0.46	2.00 ± 0.32*	2.07 ± 0.25**
IgM	0.27 ± 0.04	0.28 ± 0.04	0.30 ± 0.05*

Data expressed as mean ± S.D. *Significant different from control group ($p < 0.05$). **Significant different from control group ($p < 0.01$).

Table 5. Effect of *Hirsutella sinensis* mycelium on cytokines secretion from spleen cell of mice
表 5. 中华被毛孢菌丝体对小鼠脾脏细胞激素分泌之影响

Cytokine	Items	对照组	低剂量组	高剂量组
		pg/mL		
IL-2	spontaneous	1.93 ± 1.31	1.95 ± 1.22	1.22 ± 0.57
	ConA	2174.30 ± 392.00	2598.00 ± 469.70*	2382.00 ± 483.60
IFN-γ	spontaneous	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	ConA	332.70 ± 137.20	546.60 ± 82.70**	471.00 ± 137.20*
IL-4	spontaneous	13.25 ± 1.25	13.49 ± 1.53	10.72 ± 1.09
	ConA	1259.60 ± 176.80	1280.70 ± 249.00	819.40 ± 244.10**
IL-5	spontaneous	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
	ConA	380.00 ± 86.10	350.80 ± 100.90	205.80 ± 64.40**

Data expressed as mean ± S.D. *Significant different from control group ($p < 0.05$). **Significant different from control group ($p < 0.01$).

Table 6. Effect of *Hirsutella sinensis* mycelium on IL-6 secretion from peritoneal macrophages of mice
表 6. 中华被毛孢菌丝体对腹腔巨噬细胞 IL-6 生成之影响

	对照组	低剂量组	高剂量组
	IL-6 (pg/mL)		
Spontaneous	655.9 ± 298.9	1018.8 ± 637.1	1471.3 ± 340.2**
LPS	1751.2 ± 106.9	2403.9 ± 1712.5	3858.2 ± 2232.2**

Data expressed as mean ± S.D. **Significant different from control group ($p < 0.01$).

显著差异。以 ConA 裂殖素处理后，喂食低剂量与高剂量皆显著刺激 IL-2 和 IFN-γ 之分泌($p < 0.05$)。在 IL-4 及 IL-5 的分泌量，高剂量组明显抑制分泌($p < 0.05$) (见表 5)。

3.6. 腹腔巨噬细胞功能的影响

脾脏细胞于自发情况与 LPS 刺激下，IL-6 的分泌量随着喂食的剂量增加而提高，高剂量组 IL-6 的分泌量显著较对照组增加($p < 0.05$) (见表 6)。

4. 讨论

本篇研究主要探讨喂食中华被毛孢菌丝体(*Hirsutella sinensis*)对小鼠非特异性免疫功能影响，由试验中发现中华被毛孢菌丝体对小鼠生长状况无显著改变，显示中华被毛孢菌丝体的安全性[5] [6]。在非特异

性脾脏细胞增生能力方面，以 ConA、PHA 及 LPS 等三种裂殖素与脾脏细胞共同培养，发现增生指数在低剂量与高剂量组明显增加相较于对照组，说明中华被毛孢菌丝体显著促进免疫细胞之增生能力[7]。

非特异性免疫系统为动物体在正常情况下没有特定抗原存在时，对抗外界环境因子免疫力的综合表现。研究显示人工培养之冬虫夏草菌丝体可经由抑制嗜中性白血球吞噬作用及抑制 cyclooxygenase pathway，并调控 CD4(+)及 CD8(+)淋巴球细胞数的比例，以达到抗发炎的作用[8]。而后天性免疫反应包含了淋巴球及抗原呈献细胞(antigen-presenting cell, APC)两种，其中淋巴球分为 T 淋巴球及 B 淋巴球。T 淋巴球又分为辅助型细胞(T helper cell, Th cell)及毒杀型 T 细胞。辅助型 T 细胞又分为 Th1 及 Th2 两种，主要功能为分泌细胞激素参与体液及细胞免疫反应，而毒杀型 T 细胞则针对被病毒感染的细胞或其它外来物进行细胞毒杀免疫反应。每一种细胞有它特定的功能及特定的 CD 标帜，如 Th1/ Th2 为 CD4+ 阳性，杀手 T- 细胞为 CD8+ 阳性。B 淋巴球在成熟后会表现出专一性的抗原接受器，而当细胞受到感染，B 淋巴球会生成抗体且对特定抗原产生记忆性。APC 可将抗原摄入后表现于细胞膜上，使 T 细胞能够辨认抗原而结合。主要组织兼容性复合物(major histocompatibility complex, MHC)是一种细胞表面醣蛋白复合物，人类的 MHC 蛋白可以分为两大类：第一型 MHC 分子(MHC I)和第二型 MHC 分子(MHC II)，前者位于个体中所有核的细胞上，后者则只分布在 APC 上，如巨噬细胞、B 细胞、树突细胞等。本试验利用具专一性荧光抗体标帜细胞表面抗原，以流式细胞仪分析发现在 MHC II、T、B 及 NK 等细胞中三组间没有显著差异。但是，在高剂量组 MHCI、CD4 及 CD8 细胞数目显著较对照组增加($p < 0.05$)，显示中华被毛孢菌丝体对调节 Th1/Th2 的表现与小鼠后天性免疫反应有帮助。他人研究也发现中华被毛孢菌丝体有明显的免疫促进作用，在给予 200 mg/kg 和 800 mg/kg 的剂量下，中华被毛孢菌丝体能明显增强小鼠巨噬细胞吞噬功能、体液免疫功能和细胞免疫功能[9]。IgG 是血浆中含量最高的免疫球蛋白，IgM 是对抗抗原之初级反应所产生的第一种免疫球蛋白。试验中发现喂食高剂量与低剂量的中华被毛孢菌丝体，小鼠血清中 IgG 显著较对照组高，而高剂量喂食也显著增加血清中 IgM 的含量，显示中华被毛孢菌丝体可促进非特异性抗体的生成，而且对于调节入侵的细菌及对抗外来抗原的初级反应上有帮助。

由脾脏细胞激素分泌量实验得知，于 ConA 裂殖素处理下，喂食中华被毛孢菌丝体可增加 Th1-type 细胞激素 IL-2、IFN- γ 之生成，并抑制 Th2-type 细胞激素 IL-4 及 IL-5 的分泌，说明中华被毛孢菌丝体对调节 Th1/Th2 细胞激素分泌有帮助。他人研究发现冬虫夏草水萃物可以通过树突细胞调节发炎反应时 Th1/Th2 平衡[10] [11] [12]。于自发情况与 LPS 刺激处理下，与对照组相较，腹腔巨噬细胞之 IL-6 分泌量随中华被毛孢菌丝体剂量增加而上升，因此，显示中华被毛孢菌丝体可促进腹腔巨噬细胞功能[13] [14]。

高剂量的中华被毛孢菌丝体喂食可刺激小鼠淋巴细胞增生、增加血清 IgG 的含量、促进 Th1-type 细胞激素之生成，并抑制 Th2-type 细胞激素的分泌。综合以上，中华被毛孢菌丝体可以调节小鼠体内非特异性免疫功能。

参考文献

- [1] 黄丽俊, 李利东, 袁建新, 等. 冬虫夏草研究现状及展望[J]. 农学学报, 2014, 4(8): 63-65.
- [2] Chiu, C.P., Hwang, T.L., Chan, Y., et al. (2016) Research and Development of Cordyceps in Taiwan. *Food Science and Human Wellness*, 5, 177-185. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2016.08.001>
- [3] 蒋毅, 姚一建. 冬虫夏草无性型研究概况[J]. 菌物系统, 2003, 22(1): 161-176.
- [4] 高荣骏. 免疫学[M]. 台北: 九州出版社, 2011: 1-22.
- [5] 陈劲初. 台湾药用真菌的发展现况[J]. 菇类生技产业研讨会专刊, 2016: 71-86.
- [6] 聂木海, 张全新, 诸茂盛, 等. 虫草多糖口服液的急性及亚慢性毒性实验研究[J]. 现代预防医学, 2005, 32(9): 1062-1063.
- [7] 傅惠英, 张利棕, 寿旗扬, 等. 中国被毛孢和蝙蝠蛾拟青霉小鼠免疫功能调节作用的比较[J]. 中国比较医学杂志,

- 2012, 22 (9): 16-20.
- [8] 徐佳吟, 陈俊良, 杨贤鸿. 冬虫夏草对人体免疫反应之影响[J]. 中医药研究论丛, 2011, 14(2): 105-111.
- [9] 葛飞, 桂琳, 李婉珍, 等. 中国被毛孢菌丝体对小鼠免疫功能的影响[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2008, 13(8): 852-855.
- [10] Li, C.Y., Chiang, C.S., Tsai, M.L., et al. (2009) Two-Sided Effect of *Cordyceps sinensis* on Dendritic Cells in Different Physiological Stages. *Journal of Leukocyte Biology*, **85**, 987-995. <https://doi.org/10.1189/jlb.0908573>
- [11] Xiao, G., Miyazato, A., Abe, Y., et al. (2010) Activation of Myeloid Dendritic Cells by Deoxynucleic Acids from *Cordyceps sinensis* via a Toll-Like Receptor 9-Dependent Pathway. *Cellular Immunology*, **263**, 241-250. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2010.04.006>
- [12] 张颖苗, 杨晓彤, 杨庆尧, 等. 虫草对肺部疾病治疗的研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2014(34): 49.
- [13] Chen, W., Zhang, W., Shen, W., et al. (2010) Effects of the Acid Polysaccharide Fraction Isolated from a Cultivated *Cordyceps sinensis* on Macrophages *in Vitro*. *Cellular Immunology*, **262**, 69-74. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2010.01.001>
- [14] 徐佳念, 陈俊良, 杨贤鸿. 冬虫夏草人工培养菌丝体对人体嗜中性血球及 T 淋巴球免疫反应之影响[J]. 中医药杂志, 2011, 22(3&4): 161-172.

Hans 汉斯

知网检索的两种方式:

1. 打开知网首页 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2166-613X, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>
期刊邮箱: hjfn@hanspub.org