

黄秋葵多糖对鸡淋巴细胞体外增殖的影响

夏继涛¹, 成好学², 姚宏亮², 张萍^{2*}

(1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306; 2. 金陵科技学院动物科学与技术学院, 江苏 南京 210038)

摘要:采用MTT法测定不同浓度的OPS单独或协同伴刀豆球蛋白(ConA)对鸡淋巴细胞增殖能力的影响。结果表明:单独刺激外周血淋巴细胞时,OPS在 $0.0781\sim 20\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,其吸光度值均显著高于细胞对照组;协同ConA刺激外周血淋巴细胞时,OPS+ConA在 $0.3125\sim 20\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,其吸光度值均显著高于ConA对照组。单独刺激脾脏淋巴细胞时,OPS在 $0.3125\sim 20\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,其吸光度值均显著高于细胞对照组;协同ConA刺激脾脏淋巴细胞时,OPS+ConA在 $0.3125\sim 20\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,其吸光度值均显著高于ConA对照组。由此表明OPS在体外既可以单独刺激鸡外周血淋巴细胞和脾脏淋巴细胞增殖,又与ConA具有协同刺激作用,且在一定浓度范围内,呈现出明显的剂量反应关系。

关键词:黄秋葵多糖;淋巴细胞;免疫增殖

中图分类号:TQ281

文献标识码:A

文章编号:1672-755X(2020)03-0082-05

Effect of Okra Polysaccharides on Proliferation of Chicken Lymphocytes *in vitro*

XIA Ji-tao¹, CHENG Hao-xue², YAO Hong-liang², ZHANG Ping^{2*}

(1. Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Jinling Institute of Technology, Nanjing 210038, China)

Abstract: MTT method was used to determine the effect of OPS alone or in combination with concanavalin(ConA) on the proliferation of chicken lymphocytes. When OPS were $0.0781\sim 20\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, its absorbance value was significantly higher than that of the cell control group ($P<0.05$); when OPS+ConA were $0.3125\sim 20\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, its absorbance value was significantly higher than that of the con a control group ($P<0.05$). When OPS were $0.3125\sim 20\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ alone, the absorbance value of OPS was significantly higher than that of cell control group ($P<0.05$); when OPS+ConA were $0.3125\sim 20\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, the absorbance value of OPS+ConA were significantly higher than that of ConA control group ($P<0.05$). It is suggested that OPS can not only stimulate the proliferation of peripheral blood lymphocytes and spleen lymphocytes *in vitro*, but also have synergistic effect with ConA, and in a certain concentration range, it has a significant dose-response relationship.

Key words: okra polysaccharides; lymphocytes; immunoproliferation

黄秋葵(Okra)也称为羊角豆、秋葵,为锦葵科(Malvaceae)一年生的草本植物,在我国很多省份具有广泛的种植^[1]。黄秋葵常作为蔬菜,有蔬菜王之称,它的果实富含果胶、蛋白质、多糖和维生素等^[2]。黄秋

收稿日期:2020-06-13

基金项目:金陵科技学院大学生创新训练计划项目(201913573084X);江苏省农业科技自主创新资金项目(CX[17]3035);金陵科技学院校级“创客”虚拟班持续建设项目(2017009,2017008)

作者简介:夏继涛(1996—),男,江苏淮安人,硕士研究生,主要从事鱼虾疾病流行病学方面的研究。

通信作者:张萍(1979—),女,江苏沛县人,副教授,博士,主要从事兽医教学与新兽药研发工作。

葵多糖(Okra polysaccharides, OPS)就是从黄秋葵果实中提取的一种植物多糖。近年来有实验研究表明,黄秋葵多糖具有抗疲劳、抗氧化、抗肿瘤、调节免疫力、降血糖和降血脂等作用^[3],但上述应用主要集中在人医上,有关黄秋葵多糖在动物生产上的应用研究较少。本试验以黄秋葵多糖为研究对象,采用MTT法比较不同浓度的黄秋葵多糖单独及协同ConA对鸡外周血淋巴和脾脏淋巴细胞增殖作用的影响,为黄秋葵多糖在禽类养殖上的应用以及进一步开发新型兽用免疫增强剂奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验药物 黄秋葵由金陵科技学院动物科学与技术学院食品科学与工程系实验室提供。

1.1.2 主要试剂 四甲基偶氮唑蓝(MTT)、伴刀豆蛋白(ConA)、鸡淋巴细胞分离试剂盒(包括全血及组织稀释液、分离液和洗涤液)、二甲基亚砜(DMSO)均购自上海索莱宝(Solarbio)科技有限公司,RPMI 1640培养液购自杭州吉诺生物医药技术有限公司。

1.1.3 主要仪器 微孔板分光光度计Epoch(科瑞恩特(北京)科技有限公司)、CO₂培养箱(上海一恒科学仪器有限公司)、倒置荧光显微镜(上海蔡康光学仪器有限公司)、低温高速离心机(北京时代北利离心机有限公司)、微型漩涡混合仪(上海青浦沪西仪器厂)。

1.1.4 试验动物 60日龄健康公鸡,购自南京汤泉养殖场,实验期间自由采食和饮水。

1.2 试验方法

1.2.1 黄秋葵多糖的提取 采用水提醇沉法提取黄秋葵多糖^[4]。将黄秋葵干燥并粉碎,取黄秋葵粉末,按照料液比1:60,恒温水浴温度为80℃,水浴50 min,过滤除渣。将滤液浓缩至原体积的七分之一。加入酒精并离心,弃去上层液体,取出沉淀并干燥成粉末,即得到黄秋葵多糖粗品,用苯酚-硫酸法检测黄秋葵多糖含量。

1.2.2 外周血淋巴细胞和脾脏淋巴细胞的提取 无菌采集5 mL抗凝血并用5 mL稀释液稀释,然后加到10 mL分离液上,3 000 r·min⁻¹离心20 min。吸取淋巴细胞,加入10 mL洗涤液并吹打混匀,2 000 r·min⁻¹离心10 min。用洗涤液重复洗涤两次。弃上清,收集外周血淋巴细胞并用台盼蓝染色检测细胞活力。

无菌采取鸡脾脏,小心研磨并用5 mL全血及组织稀释液稀释,收集细胞悬液,然后加入到5 mL分离液上,3 000 r·min⁻¹离心20 min。吸取淋巴细胞,加入10 mL洗涤液混匀,2 000 r·min⁻¹离心10 min。用洗涤液重复洗涤一次。弃上清,收集脾脏淋巴细胞并用台盼蓝染色检测细胞活力。

1.2.3 细胞安全浓度的测定 采用MTT法测定黄秋葵多糖的安全浓度^[5]。用RPMI 1640培养液配制浓度为20 mg·mL⁻¹的黄秋葵多糖溶液,连续倍比稀释11个浓度梯度,并用0.22 μm微孔滤膜除菌,于4℃保存备用。

采用1.2.2方法收集鸡外周血淋巴细胞,用RPMI 1640培养液稀释淋巴细胞至3×10⁶个·mL⁻¹。取96孔细胞培养板,黄秋葵多糖组(细胞悬液100 μL·孔⁻¹,黄秋葵多糖100 μL·孔⁻¹),细胞对照组(细胞悬液100 μL·孔⁻¹,细胞培养液100 μL·孔⁻¹),每个浓度做4个重复孔。

将细胞培养板置于37℃,5% CO₂培养箱中培养44 h。培养结束后取出细胞培养板,每孔加入20 μL的MTT溶液,继续培养4 h。取出,1 000 g离心10 min,弃去上清液,每孔加入100 μL的DMSO,小心地晃动使结晶完全溶解。用微孔板分光光度计检测570 nm(A₅₇₀)处的吸光度。以黄秋葵多糖浓度组A₅₇₀值不显著小于细胞对照组A₅₇₀值的黄秋葵多糖浓度作为黄秋葵多糖的安全浓度。

1.2.4 淋巴细胞增殖试验 外周血淋巴细胞和脾脏淋巴细胞制备方法同1.2.2。用RPMI 1640培养液将两种淋巴细胞浓度稀释至5×10⁶个·mL⁻¹。将上述两种淋巴细胞悬液各分为两个部分,一部分做黄秋葵多糖单独刺激鸡淋巴细胞增殖试验:取96孔细胞培养板,黄秋葵多糖组(细胞悬液100 μL·孔⁻¹,黄秋葵多糖100 μL·孔⁻¹),空白对照组(细胞悬液100 μL·孔⁻¹,细胞培养液100 μL·孔⁻¹),每个浓度做4个重复孔;另一部分做黄秋葵多糖协同ConA共同刺激鸡淋巴细胞增殖试验:取96孔细胞培养板,黄秋葵多糖组(细胞悬液80 μL·孔⁻¹,黄秋葵多糖100 μL·孔⁻¹,ConA为20 μL·孔⁻¹),空白对照组(细胞

悬液 $100\ \mu\text{L}\cdot\text{孔}^{-1}$, 细胞培养液 $100\ \mu\text{L}\cdot\text{孔}^{-1}$) 和 ConA 对照组 (细胞悬液 $80\ \mu\text{L}\cdot\text{孔}^{-1}$, 细胞培养液 $100\ \mu\text{L}\cdot\text{孔}^{-1}$, ConA 为 $20\ \mu\text{L}\cdot\text{孔}^{-1}$), 每个浓度做 4 个重复孔。

参照 1.2.3 细胞安全浓度测定中细胞培养方法进行培养。当黄秋葵多糖组的吸光度值显著大于对照组时, 表明黄秋葵多糖能够显著促进鸡淋巴细胞增殖。

1.2.5 数据处理及统计分析 试验数据使用 SPSS 22.0 软件进行单因素方差分析, 当差异显著时, 采用多重比较进行检验, 以 $p<0.05$ 为差异显著性判断标准。实验数据均以平均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示。

2 结果与分析

2.1 标准曲线的建立及黄秋葵多糖含量的测定

采用苯酚-硫酸法测定黄秋葵多糖含量, 检测在 490 nm 处的吸光度。以吸光度为横坐标(x), 以葡萄糖浓度为纵坐标(y), 绘制葡萄糖标准曲线, 回归方程为 $y=0.080\ 6x-0.004\ 1, R^2=0.999$ 。通过计算得出黄秋葵多糖的含量是 34.8%。

2.2 黄秋葵多糖的细胞安全浓度

黄秋葵多糖的细胞安全浓度测定结果如表 1 所示, 当黄秋葵多糖浓度在 $0.078\ 1\sim 20\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, 其吸光度值不显著低于细胞对照组 ($P>0.05$)。以黄秋葵多糖组的吸光度值不显著低于细胞对照组的最大浓度作为最大安全浓度, 所以黄秋葵多糖的最大安全浓度为 $20\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 以上。

2.3 黄秋葵多糖单独刺激鸡外周血淋巴细胞增殖的变化

黄秋葵多糖单独刺激鸡外周血淋巴细胞增殖试验结果如表 2 所示。黄秋葵多糖的浓度在 $0.078\ 1\sim 20\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, 各浓度组的吸光度值均显著大于细胞对照组 ($P<0.05$), 且黄秋葵多糖浓度为 $5\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时的吸光度值最大。黄秋葵多糖浓度在 $0.078\ 1\sim 5\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内, 吸光度值随着浓度的增加而变大, 且呈现一定的剂量反应关系。

表 1 黄秋葵多糖的安全浓度测定结果		表 2 黄秋葵多糖单独刺激鸡外周血淋巴细胞增殖试验结果	
终浓度/($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	A570 值	终浓度/($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	A570 值
20	$0.091\ 3\pm 0.003\ 0^{\text{de}}$	20.000 0	$2.102\ 5\pm 0.066\ 6^{\text{e}}$
10	$0.095\ 3\pm 0.002\ 8^{\text{d}}$	10.000 0	$2.266\ 3\pm 0.118\ 1^{\text{b}}$
5	$0.244\ 8\pm 0.007\ 1^{\text{a}}$	5.000 0	$2.733\ 0\pm 0.103\ 3^{\text{a}}$
2.5	$0.212\ 8\pm 0.006\ 1^{\text{b}}$	2.500 0	$2.636\ 8\pm 0.089\ 4^{\text{a}}$
1.25	$0.113\ 3\pm 0.002\ 9^{\text{c}}$	1.250 0	$2.249\ 3\pm 0.184\ 1^{\text{b}}$
0.625	$0.090\ 5\pm 0.002\ 9^{\text{de}}$	0.625 0	$1.765\ 5\pm 0.084\ 8^{\text{d}}$
0.312 5	$0.089\ 3\pm 0.002\ 2^{\text{e}}$	0.312 5	$1.446\ 5\pm 0.103\ 0^{\text{e}}$
0.156 3	$0.087\ 0\pm 0.001\ 6^{\text{e}}$	0.156 3	$1.261\ 5\pm 0.088\ 9^{\text{f}}$
0.078 1	$0.085\ 8\pm 0.002\ 2^{\text{e}}$	0.078 1	$1.082\ 3\pm 0.034\ 0^{\text{g}}$
0.039 1	$0.080\ 5\pm 0.001\ 3^{\text{f}}$	细胞对照组	$0.754\ 0\pm 0.050\ 0^{\text{h}}$
0.019 5	$0.076\ 8\pm 0.003\ 0^{\text{f}}$		
细胞对照组	$0.085\ 8\pm 0.002\ 2^{\text{e}}$		

注: 同一列数据标注不同字母, 表示差异显著 ($P<0.05$), 下同。

2.4 黄秋葵多糖协同 ConA 共同刺激鸡外周血对淋巴细胞增殖的影响

黄秋葵多糖协同 ConA 共同刺激鸡外周血淋巴细胞增殖试验结果如表 3 所示。OPS+ConA 在 $0.312\ 5\sim 20\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, 各浓度组的吸光度值均显著大于 ConA 对照组 ($P<0.05$), OPS+ConA 在 $5\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, 协同 ConA 更能够有效的促进鸡外周血淋巴细胞增殖。OPS+ConA 在 $0.312\ 5\sim 5\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时, 呈现出一定的浓度依赖性, 表明黄秋葵多糖协同 ConA 能够促进鸡外周血淋巴细胞体外增殖。

2.5 黄秋葵多糖单独刺激鸡脾脏淋巴细胞增殖试验的变化

黄秋葵多糖单独刺激鸡脾脏淋巴细胞增殖试验结果如表 4 所示, 黄秋葵多糖在 $0.312\ 5\sim 20\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$

时,各浓度黄秋葵多糖组的吸光度值均显著大于细胞对照组($P<0.05$)。黄秋葵多糖浓度在 $5\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,其吸光度值显著高于其他浓度的黄秋葵多糖组($P<0.05$),且黄秋葵多糖浓度在 $0.0781\sim5\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内,吸光度值随着浓度的变大而增加,呈现一定的剂量反应关系。

表 3 黄秋葵多糖协同 ConA 共同刺激
鸡外周血淋巴细胞增殖试验结果

终浓度/($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	A570 值
20.000 0	$2.039\ 0\pm0.126\ 3^c$
10.000 0	$2.249\ 3\pm0.184\ 1^b$
5.000 0	$2.667\ 0\pm0.045\ 3^a$
2.500 0	$2.266\ 3\pm0.118\ 1^b$
1.250 0	$1.807\ 8\pm0.074\ 7^d$
0.625 0	$1.419\ 8\pm0.139\ 2^e$
0.312 5	$1.247\ 3\pm0.091\ 2^f$
0.156 3	$0.969\ 3\pm0.048\ 4^g$
0.078 1	$0.956\ 5\pm0.032\ 6^g$
ConA 对照组	$1.084\ 8\pm0.072\ 8^g$
细胞对照组	$0.611\ 3\pm0.039\ 3^h$

表 4 黄秋葵多糖单独刺激鸡脾脏
淋巴细胞增殖试验结果

终浓度/($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	A570 值
20.000 0	$1.371\ 0\pm0.077\ 4^c$
10.000 0	$1.587\ 3\pm0.669\ 0^b$
5.000 0	$1.976\ 8\pm0.035\ 5^a$
2.500 0	$1.590\ 0\pm0.027\ 2^b$
1.250 0	$1.297\ 0\pm0.047\ 5^d$
0.625 0	$0.958\ 8\pm0.061\ 3^e$
0.312 5	$0.883\ 5\pm0.036\ 2^f$
0.156 3	$0.826\ 0\pm0.015\ 4^fg$
0.078 1	$0.811\ 8\pm0.045\ 7^g$
细胞对照组	$0.791\ 7\pm0.041\ 3^g$

2.6 黄秋葵多糖协同 ConA 共同刺激鸡脾脏对淋巴细胞增殖的影响

黄秋葵多糖协同 ConA 共同刺激鸡脾脏淋巴细胞增殖试验结果如表 5 所示。OPS+ConA 在 $0.312\ 5\sim20\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,各浓度黄秋葵多糖组的吸光度值均显著大于 ConA 对照组($P<0.05$),OPS+ConA 在 $0.0781\sim5\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,随着浓度的增大,吸光度值也随之增大,呈现出明显的剂量反应关系,并且 OPS+ConA 在 $5\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,其吸光度值显著高于其他浓度的黄秋葵多糖组($P<0.05$)。

表 5 黄秋葵多糖协同 ConA 共同刺激鸡
脾脏淋巴细胞增殖试验结果

终浓度/($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)	A570 值
20.000 0	$1.717\ 3\pm0.066\ 9^c$
10.000 0	$1.923\ 3\pm0.069\ 5^b$
5.000 0	$2.132\ 0\pm0.118\ 3^a$
2.500 0	$1.774\ 3\pm0.106\ 2^c$
1.250 0	$1.390\ 0\pm0.115\ 6^d$
0.625 0	$1.065\ 0\pm0.071\ 7^e$
0.312 5	$0.943\ 5\pm0.055\ 2^f$
0.156 3	$0.841\ 0\pm0.019\ 6^fg$
0.078 1	$0.849\ 8\pm0.022\ 2^fg$
ConA 对照组	$0.811\ 8\pm0.011\ 4^g$
细胞对照组	$0.595\ 3\pm0.031\ 5^h$

3 结论与讨论

黄秋葵多糖可溶于水,但不溶于乙醇,故本试验采取水提醇沉法提取黄秋葵多糖。将所提取的黄秋葵粗多糖用苯酚-硫酸法测定其含量为 34.8%。配制黄秋葵多糖溶液过程中发现,当黄秋葵多糖浓度大于 $20\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,液体变得粘稠成糨糊状,黄秋葵多糖溶液无法通过 $0.22\ \mu\text{m}$ 的微孔滤膜进行过滤除菌,所以黄秋葵多糖浓度配制从 $20\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 开始。

本试验采用 MTT 法测定淋巴细胞增殖的结果,其原理主要是利用活细胞线粒体中琥珀酸脱氢酶能使 MTT 还原为蓝紫色的甲瓚,而甲瓚所形成的数量与细胞增殖的程度成正相关^[6]。甲瓚溶于有机溶剂后,可以在 570 nm 处测其吸光度,其结果可以间接反映淋巴细胞增殖结果。

淋巴细胞是机体免疫系统的重要组成部分,淋巴细胞增殖情况可以体现出机体的免疫功能状态^[7]。T 淋巴细胞具有介导细胞免疫功能和调节免疫功能两个方面作用,所以本试验通过检测 T 淋巴细胞增殖情况,是判断机体免疫功能的最好的方法之一。脾脏是鸡重要的免疫器官,脾脏中 B 淋巴细胞约占脾内淋巴细胞总数的一半以上。B 淋巴细胞是机体中参与体液免疫的重要细胞类群,检测脾脏中 B 淋巴细胞增殖的变化也是检测机体的免疫功能的常用方法之一^[8]。所以本试验采用检测对外周血淋巴细胞和脾脏淋巴细胞增殖的方法以判断黄秋葵多糖对机体的免疫效果。

ConA 作为有丝分裂原,可以在体外刺激淋巴细胞增殖^[9]。目前,研究者们通常将中药多糖单独刺激和协同 ConA 刺激淋巴细胞增殖作为判定中药多糖体外对细胞免疫调节功能的基本指标。本试验证明,

黄秋葵多糖浓度为 $0.078\ 1\sim 20\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,能够显著促进鸡外周血淋巴细胞增殖;OPS+ConA 在 $0.312\ 5\sim 20\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时协同 ConA 能够显著促进鸡外周血淋巴细胞增殖。黄秋葵多糖在浓度为 $0.312\ 5\sim 20\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,单独刺激鸡脾脏淋巴细胞增殖;OPS+ConA 在 $0.312\ 5\sim 20\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,协同 ConA 能够显著促进鸡脾脏淋巴细胞增殖。所以,黄秋葵多糖在一定浓度下能够提高机体的免疫功能。颜玉华等通过试验证明黄秋葵多糖对免疫抑制小鼠有增加体重和提高脾脏指数等作用^[10]。胡日查研究发现黄秋葵多糖可以促进小鼠免疫细胞的增殖以及细胞因子的分泌^[11],这些结果与本试验结果相似。通过试验还发现,在一定范围内,黄秋葵多糖对鸡外周血淋巴细胞和脾脏淋巴细胞体外增殖具有剂量反应关系,即随着黄秋葵多糖浓度的增加其促进淋巴细胞增殖能力越强,但是浓度过高时其增殖效果也会受到限制并出现下降的情况。本试验表明,在黄秋葵多糖浓度为 $5\ \text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,对鸡淋巴细胞体外增殖效果最佳。

总之,黄秋葵多糖对鸡淋巴细胞体外增殖具有明显的促进作用,本试验为黄秋葵多糖的进一步研究以及在临床上的应用提供依据,但是黄秋葵多糖对于体内免疫增强作用的影响需要更进一步的研究。

参考文献:

- [1] 辛松林,陈媛媛,邱秀艳,等.秋葵微粉对小鼠肠道内环境的影响[J].核农学报,2020,34(4):816-823
- [2] 刘雪蕊.黄秋葵多糖的提取及其降血糖活性研究[D].天津:天津科技大学,2017
- [3] 王冰嵩.黄秋葵多糖的提取分离、表征及其抗疲劳活性研究[D].合肥:合肥工业大学,2017
- [4] 颜玉华,席雪纯,姚宏亮,等.黄秋葵多糖提取的响应面优化[J].金陵科技学院学报,2016,32(1):84-88
- [5] 李龙昱.基于 MTT 法研究唐古特大黄多糖对不同肿瘤细胞的抑制作用[J].中国高原医学与生物学杂志,2019,40(3):180-183
- [6] 陈晨.miRNA-27a 和反义 miRNA-125b 模拟体对 HL-60 细胞株耐药性的影响[D].南宁:广西医科大学,2017
- [7] 张英楠,杨树宝,栾维民,等.不同日龄鸡脾脏中 T 淋巴细胞增殖功能的动态观察[J].畜牧兽医杂志,2013,32(3):7-8
- [8] 肖进,王楠,巴利民,等.牛外周血 T 淋巴细胞增殖试验条件的优化[J].中国兽医杂志,2012,48(11):27-29
- [9] 蒋春茂,陈晓兰,陆广富,等.不同中药多糖体外对鸡外周血和脾脏淋巴细胞增殖能力的比较[J].江苏农业学报,2015,31(1):106-111
- [10] 颜玉华,严庭莉,王蒙蒙,等.黄秋葵多糖对小鼠免疫功能的影响[J].金陵科技学院学报,2016,32(3):88-92
- [11] 胡日查.黄秋葵多糖分离、纯化及其免疫调节活性研究[D].海口:海南大学,2015

(责任编辑:谭彩霞)