

胡浪,王颖,周亚杰,等.灵芝孢子糖肽对荷瘤小鼠的特异性免疫调节作用研究[J].上海农业学报,2024,40(1):82-87.

灵芝孢子糖肽对荷瘤小鼠的特异性免疫调节作用研究

胡浪,王颖,周亚杰,钱一帆,郭原,冯鹏
(南京中科药业有限公司,南京 210008)

摘要:为考察灵芝孢子糖肽对荷瘤小鼠的特异性免疫调节作用,建立 S_{180} 荷瘤小鼠模型,随机设 4 个处理组(空白组,模型组,阳性药云芝胞内糖肽胶囊组,阳性药环磷酰胺组),灵芝孢子糖肽设低、中、高(130 mg/kg、260 mg/kg、520 mg/kg)三个剂量组。通过对小鼠体重、瘤重、主要脏器的质量、白细胞计数及血清溶血素试验来研究灵芝孢子糖肽对小鼠体内特异性免疫的影响。结果表明:灵芝孢子糖肽对小鼠无明显毒副反应,可以升高小鼠的血清半数溶血值,提高小鼠体内特异性免疫作用,升高白细胞值。灵芝孢子糖肽可以显著降低瘤重。上述结果表明,灵芝孢子糖肽具有一定的抗肿瘤活性,能增强荷瘤小鼠的特异性免疫作用,而无明显毒副作用。

关键词:灵芝孢子糖肽;特异性免疫; S_{180} 荷瘤小鼠;血清溶血素试验

中图分类号:S865.1;R285.5 文献标志码:A 文章编号:1000-3924(2024)01-082-06

Specific immunomodulatory effect of *Ganoderma lucidum* spore glycopeptide on tumor-bearing mice

HU Lang, WANG Ying, ZHOU Yajie, QIAN Yifan, GUO Yuan, FENG Peng
(Nanjing Zhongke Pharmaceutical Co., Ltd., Nanjing 210008, China)

Abstract: To study the specific immunoregulatory effect of *Ganoderma lucidum* spore glycopeptide on tumor-bearing mice. The S_{180} tumor-bearing mouse model was established and randomly divided into blank group, model group, positive drug Yunzhi intracellular glycopeptide group, positive drug cyclophosphamide group, and *G. lucidum* spore glycopeptide was set as low, medium and high (130 mg/kg, 260 mg/kg, 520 mg/kg) in three dose groups. The effects of *G. lucidum* spore glycopeptide on specific immunity in mice were studied by the experiments of mouse body weight, tumor weight, main organ weight, white blood cell count and serum hemolysin. The results showed that *G. lucidum* spore glycopeptide had no unexpected adverse events occurred on mice, could increase the serum half hemolysis value of mice, improve the specific immune function in mice, and increase the white blood cell value. *G. lucidum* spore glycopeptide could significantly reduce tumor weight. The above results showed that *G. lucidum* spore glycopeptide had a certain anti-tumor activity and could enhance the specific immune function of tumor-bearing mice without unexpected adverse events occurred.

Key words: *Ganoderma lucidum* spore glycopeptide; Specific immunity; S_{180} tumor-bearing mice; Serum hemolysin test

灵芝[*Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst.] 药用在我国已有 2 000 多年的历史,是中国传统的扶正固本、滋补强壮的名贵药材。灵芝孢子是灵芝的种子,是灵芝成熟以后,从菌褶中弹射出的卵形生殖细胞^[1-3]。灵芝孢子粉(*Ganoderma* spore)的功效成分和保健功能与灵芝几乎一致。富含氨基酸、脂肪酸、三萜类、多肽,以及糖类(还原糖和多糖)等有效物质^[4]。

灵芝孢子糖肽,其主要成分为灵芝多糖、灵芝三萜、灵芝多肽等^[5],是灵芝孢子经蛋白酶酶解后再醇提得到的一种多糖多肽类混合物。其药用价值日益受到重视,研究发现灵芝多糖具有多方面的生物活性。Ren

收稿日期:2022-08-26

作者简介:胡浪(1990—),男,硕士,中级工程师,从事灵芝类药品、保健食品的研究与开发。E-mail:njhulang@163.com

等^[6]发现灵芝多糖可通过调节免疫系统而发挥抗肿瘤作用,Su 等^[7]发现灵芝三萜可抑制一氧化氮的产生而发挥抗炎效应,这些结果均表明灵芝孢子糖肽中的多种有效成分对于免疫功能可发挥保护作用。

本研究建立 S_{180} 荷瘤小鼠模型,探索灵芝孢子糖肽对 S_{180} 荷瘤小鼠初步毒性及肿瘤生长的抑制作用,并通过小鼠血清溶血素试验考察灵芝孢子糖肽对小鼠体内特异性免疫的影响,探讨灵芝孢子糖肽免疫调节的作用机制,以期对灵芝孢子糖肽的开发应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 药物与试剂

灵芝孢子糖肽(南京中科药业有限公司);云芝胞内糖肽胶囊(江苏苏中药业集团股份有限公司);环磷酰胺(Baxter Oncology GmbH 公司);羧甲基纤维素钠(国药集团化学试剂有限公司);氯化钠注射液(华润双鹤药业股份有限公司);20% SRBC(南京泽维尔生物科技有限公司);都氏试剂(焦作云之羽生物科技有限公司);豚鼠血清(南京森贝伽生物科技有限公司)。

1.2 仪器

80-2 型普通离心机(江苏金怡仪器科技有限公司);Varioskan 全波长酶标仪:(美国 Thermo 公司);电子天平(上海良平仪器仪表有限公司);恒温水浴锅(宁波市鄞州群安实验仪器有限公司);全自动血细胞分析仪(深圳市普康电子有限公司)。

1.3 实验动物

昆明种小白鼠,雌雄各半,8—9 周龄,起始体重为 18—20 g,由斯贝福(北京)生物技术有限公司提供。生产许可证号:实验动物生产许可证 SCXK(京)2019—0010;合格证编号 110324200104651668。辐照实验鼠维持饲料,由江苏美迪森生物医药有限公司提供。饲养条件:普通级动物房,温度为 20—25 ℃,相对湿度为 30%—70%。

1.4 灵芝孢子糖肽的制备方法

参考相关文献^[8-9]中的方法并加以改良,先将灵芝孢子粉经破壁机破壁后,进行二氧化碳超临界萃取,萃取后收集去油破壁灵芝孢子粉;再将去油破壁灵芝孢子粉用纯化水混合后,加碱溶液调节 pH 至 5—10,加入酶解液,边搅拌边加热至 90—100 ℃,保温 1—2 h,得提取液;将提取液离心分离,收集上清液;将上清液加入乙醇进行醇沉,收集沉淀;将沉淀进行真空低温干燥后,粉碎过筛,即得灵芝孢子糖肽粉末。采用硫酸-蒽酮法对其多糖含量进行检测,其多糖含量为 41.2%,采用凯氏定氮法对其多肽多糖含量进行检测,其多肽含量为 17.6%。

1.5 荷瘤小鼠建立、动物分组及称重观察

无菌条件下抽取接种 7 d 的 S_{180} 荷瘤小鼠的腹水,颜色为乳白色,无菌氯化钠注射液稀释 15 倍后,取 0.2 mL 细胞悬液接种于小鼠右前肢腋窝皮下。整个操作过程在无菌条件下完成。取上述小鼠按体重随机分为 7 组,每组 10 只。试验分组:空白对照组(0.5% CMC-Na, ig, QD), S_{180} 荷瘤组(0.5% CMC-Na, ig, QD),阳性药云芝胞内糖肽胶囊组(1 g/kg, ig, QD),阳性药环磷酰胺组(50 mg/kg, iv, QOD)。灵芝孢子糖肽设低、中、高(130 mg/kg、260 mg/kg、520 mg/kg, ig, QD)三个剂量组。空白对照组和模型对照组给予等体积 CMC-Na[0.4 mL/(20 g)],每日一次,连续灌胃给药 10 d。每天定时观察动物状态,称重并记录;如果动物发生死亡,对动物进行大体解剖,肉眼观察内脏有无异常,并记录。

1.6 小鼠血清溶血素试验

免疫:给药 3 d 后,每只小鼠腹腔注射 20% SRBC 0.2 mL,给药后第 10 天取眼球血,分离血清,稀释 500 倍,待测。

溶血反应:将稀释的血清 1 mL,10% SRBC 0.5 mL,10% 补体 1 mL 加入反应管,37 ℃ 水浴保温 30 min,冰浴终止反应,反应液 1 500 r/min 离心 10 min,取上清液 1 mL 加入 3 mL 都氏试剂,摇匀,放置 10 min,测定 540 nm 波长吸光度。

SRBC 半数溶血值:取 10% SRBC 0.25 mL,加入都氏试剂至 4 mL,测定吸光度。

样品管半数溶血值(HC_{50}),计算公式为: $HC_{50} = (\text{样品的吸光度值} / \text{SRBC 半数溶血时的吸光度值}) \times 500$ 。

1.7 小鼠瘤重及主要脏器的质量

摘眼球取血后,分离 300 μL 小鼠全血进行白细胞计数。接着,处死荷瘤小鼠,分离瘤块并称重;分离小鼠主要脏器并称重,包括心、肝、脾、肺、肾。

1.8 统计分析方法

所有的数据均用 Graphpad prism 8.0 软件进行分析,多组间比较方差齐性时采用单因素方差分析(ANOVA 检验)进行;两组间相互比较采用 Student's *t* 检验进行。 $P < 0.05$ 表示有统计学意义。* 代表 $P < 0.05$, ** 代表 $P < 0.01$ 。

2 结果与分析

2.1 灵芝孢子糖肽对 S₁₈₀ 荷瘤小鼠毒性作用的初步研究

试验过程中观察发现阳性药环磷酰胺组小鼠均存在不同程度的脱毛现象,其他组小鼠形态学观察均无显著性差异。小鼠身体状态指标见表 1。体重检测结果表明,与 S₁₈₀ 荷瘤模型组相比,阳性药环磷酰胺组小鼠体重显著下降($P < 0.01$),阳性药云芝胞内糖肽胶囊组小鼠体重无显著变化($P > 0.05$),灵芝孢子糖肽低、中、高(130 mg/kg、260 mg/kg、520 mg/kg)剂量组对小鼠体重增长也无显著影响($P > 0.05$)(表 2)。给药 10 d 后,解剖小鼠,取心、肝、脾、肺、肾进行称重,并记录。与空白对照组相比,各组别鼠心脏、肝脏、肺脏和肾脏的质量均无显著性差异($P > 0.05$)。但是,与模型组相比,阳性药环磷酰胺组能显著降低脾脏质量($P < 0.01$),而阳性药云芝胞内糖肽胶囊组和灵芝孢子糖肽组对脾脏质量无显著影响($P > 0.05$)(表 3 和表 4)。给药 10 d 后,荷瘤小鼠分离肿瘤并称重,瘤体图片见图 1。表 5 结果表明,与 S₁₈₀ 荷瘤模型组相比,阳性药云芝胞内糖肽胶囊的抑瘤率为 46.15% ($P < 0.01$),阳性药环磷酰胺的抑瘤率为 75.48% ($P < 0.01$),高、中、低剂量的灵芝孢子糖肽的抑瘤率分别为 38.46% ($P < 0.01$)、30.29% ($P < 0.01$)和 22.12% ($P < 0.05$)。

表 1 小鼠身体状态指标
Table 1 physical status indicators of mice

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	精神状态	平均进食量/g	皮毛状态
空白对照		正常	5	正常
S ₁₈₀ 荷瘤小鼠模型		较差	2	较差
云芝胞内糖肽胶囊	1 000	一般	3	正常
环磷酰胺	50	较差	2	较差
灵芝孢子糖肽	130	一般	2	较差
灵芝孢子糖肽	260	正常	3	一般
灵芝孢子糖肽	520	正常	5	正常

表 2 灵芝孢子糖肽对 S180 荷瘤小鼠体重的影响 (mean ± S. D., *n* = 10)
Table 2 Effects of *Ganoderma lucidum* spore glycopeptide on body weight of S180 tumor-bearing mice (mean ± S. D., *n* = 10)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	最终体重/g
空白对照		29.90 ± 2.42
S ₁₈₀ 荷瘤小鼠模型		35.02 ± 3.08
云芝胞内糖肽胶囊	1 000	37.13 ± 4.72
环磷酰胺	50	30.25 ± 3.24 **
灵芝孢子糖肽	130	35.57 ± 3.63
灵芝孢子糖肽	260	36.89 ± 4.51
灵芝孢子糖肽	520	36.58 ± 5.31

注: ** $P < 0.01$, 与模型组比较。

表 3 灵芝孢子糖肽对荷瘤小鼠心、肝和肺质量的影响 (mean ± S. D., *n* = 10)
Table 3 Effects of *Ganoderma lucidum* spore glycopeptide on the weight of heart, liver and lung of tumor-bearing mice (mean ± S. D., *n* = 10)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	心脏/g	肝脏/g	肺脏/g
空白对照		0.14 ± 0.02	2.26 ± 0.26	0.13 ± 0.02
S ₁₈₀ 荷瘤小鼠模型		0.13 ± 0.03	2.12 ± 0.25	0.12 ± 0.01
云芝胞内糖肽胶囊	1 000	0.13 ± 0.02	2.23 ± 0.29	0.12 ± 0.01
环磷酰胺	50	0.14 ± 0.01	2.15 ± 0.26	0.13 ± 0.02
灵芝孢子糖肽	130	0.15 ± 0.03	2.41 ± 0.61	0.14 ± 0.02
灵芝孢子糖肽	260	0.15 ± 0.04	2.47 ± 0.65	0.15 ± 0.04
灵芝孢子糖肽	520	0.15 ± 0.03	2.24 ± 0.35	0.14 ± 0.03

表 4 灵芝孢子糖肽对荷瘤小鼠肾和脾脏质量的影响 (mean ± S. D., n = 10)
Table 4 Effects of *Ganoderma lucidum* spore glycopeptide on the weight of kidney and spleen of tumor-bearing mice (mean ± S. D., n = 10)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	肾脏/g	脾脏/g
空白对照		0.39 ± 0.04	0.08 ± 0.02
S ₁₈₀ 荷瘤小鼠模型		0.38 ± 0.04	0.22 ± 0.04
云芝胞内糖肽胶囊	1 000	0.37 ± 0.07	0.18 ± 0.05
环磷酰胺	50	0.37 ± 0.05	0.12 ± 0.05 **
灵芝孢子糖肽	130	0.38 ± 0.07	0.22 ± 0.08
灵芝孢子糖肽	260	0.41 ± 0.06	0.26 ± 0.11
灵芝孢子糖肽	520	0.42 ± 0.07	0.22 ± 0.09

注: ** *P* < 0.01, 与模型组比较。

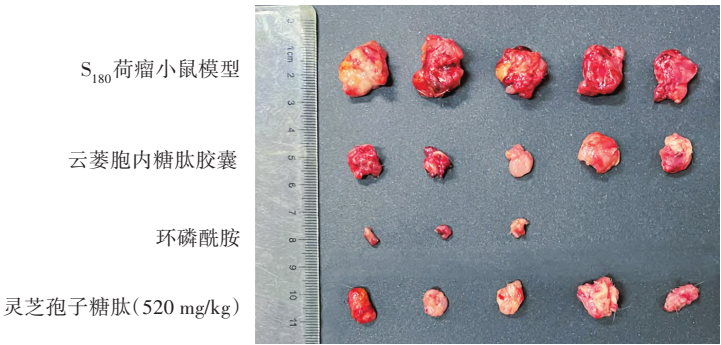


图 1 动物瘤体
Fig. 1 Image of animal tumor

表 5 灵芝孢子糖肽对 S₁₈₀ 荷瘤小鼠非特异性免疫的影响 (mean ± S. D., n = 10)
Table 5 Effects of *Ganoderma lucidum* spore glycopeptide on non-specific immunity in S180 tumor-bearing mice (mean ± S. D., n = 10)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	瘤重/g	抑瘤率/%
空白对照			
S ₁₈₀ 荷瘤小鼠模型		2.08 ± 0.28	
云芝胞内糖肽胶囊	1 000	1.12 ± 0.50 **	46.15
环磷酰胺	50	0.51 ± 0.33 **	75.48
灵芝孢子糖肽	130	1.62 ± 0.56 *	22.12
灵芝孢子糖肽	260	1.45 ± 0.41 **	30.29
灵芝孢子糖肽	520	1.28 ± 0.24 **	38.46

注: * *P* < 0.05, ** *P* < 0.01, 与模型组比较。

2.2 灵芝孢子糖肽对 S₁₈₀ 荷瘤小鼠特异性免疫的影响

小鼠血清溶血素法试验结果(表 6)表明,与空白对照组相比,S₁₈₀ 荷瘤模型组的血清半数溶血值有显著抑制作用(*P* < 0.01)。与 S₁₈₀ 荷瘤组相比,阳性药环磷酰胺能进一步降低血清半数溶血值(*P* < 0.01),阳性药云芝胞内糖肽可显著提高 S₁₈₀ 荷瘤小鼠的血清半数溶血值(*P* < 0.01),而灵芝孢子糖肽低、中、高(130 mg/kg、260 mg/kg、520 mg/kg)也能升高 S₁₈₀ 荷瘤小鼠的血清半数溶血值(*P* < 0.05、*P* < 0.01、*P* < 0.01)。

表 6 灵芝孢子糖肽对 S₁₈₀ 荷瘤小鼠特异性免疫和白细胞数的影响 (mean ± S. D., n = 10)
Table 6 Effects of *Ganoderma lucidum* spore glycopeptide on specific immunity and the number of leukocytes in S180 tumor-bearing mice (mean ± S. D., n = 10)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	HC ₅₀	白细胞数(×10 ⁹ /L)
空白对照		138.18 ± 17.84	8.16 ± 1.16
S ₁₈₀ 荷瘤小鼠模型		102.98 ± 7.30 ##	3.97 ± 2.96
云芝胞内糖肽胶囊	1 000	132.09 ± 14.17 **	7.98 ± 2.67 **
环磷酰胺	50	86.84 ± 5.39	3.06 ± 2.38
灵芝孢子糖肽	130	113.47 ± 10.74 *	6.77 ± 2.44 *
灵芝孢子糖肽	260	120.03 ± 13.18 **	8.37 ± 3.83 *
灵芝孢子糖肽	520	131.43 ± 15.39 **	10.04 ± 3.26 **

注: ## *P* < 0.01, 与空白组比较; * *P* < 0.05, ** *P* < 0.01, 与模型组比较。

2.3 灵芝孢子糖肽对 S_{180} 荷瘤小鼠白细胞数的影响

给药 10 d 后, 取血进行白细胞计数。表 6 结果表明, 与 S_{180} 荷瘤模型组相比, 阳性药环磷酰胺对白细胞数量无明显影响, 阳性药云芝胞内糖肽胶囊组可显著提高白细胞数量 ($P < 0.01$), 而灵芝孢子糖肽低、中、高 (130 mg/kg、260 mg/kg、520 mg/kg) 剂量组也能升高 S_{180} 荷瘤小鼠的白细胞数量 ($P < 0.05$ 、 $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$)。

3 结论与讨论

肿瘤作为一个全球性健康问题, 一直以来严重影响着人类的寿命。根据第三次全国居民死因调查结果显示, 由于环境污染越发严重、人类不健康的生活方式等原因, 与 20 世纪 80 年代相比, 我国癌症的病死率上升了 465%^[10]。随着现代医学不断发展, 治疗肿瘤的方法也在不断更新, 临床上大多使用化疗作为主要的标准疗法, 然而化疗后会改变肿瘤内部微环境 (Tumor microenvironment, TME), 宿主自身保护性抗肿瘤免疫力则会被 TME 中的非恶性白细胞谱系所抑制, 以至于显著影响药物的长期疗效。因此, 人们将目光投向提高自身免疫力, 从源头阻止肿瘤病变部位的产生或扩散这一研究领域^[11]。自身免疫调节在体内发挥着重要作用, 在免疫网络学 (Immune network theory) 中也提出, 免疫调节是各种免疫构成的防御体系, 由各种免疫细胞与免疫分子相互作用形成的网络结构^[12]。

机体免疫功能与肿瘤生长情况密切相关, 其可以通过不同的免疫途径启动抗肿瘤免疫应答^[13]。白细胞是人体内与疾病斗争的“卫士”。具有吞噬 (Phagocytosis) 功能, 还可分泌白细胞介素、干扰素、肿瘤坏死因子等多种细胞因子, 它们在特异性免疫应答的诱导和调控中起关键作用。而脾脏作为机体最大的外周淋巴组织器官, 也会通过分泌淋巴细胞、巨噬细胞等来发挥免疫调节的作用^[14-16]。多种中药多糖类物质除免疫调节外, 还具有抗肿瘤活性好、毒副作用小等特点^[17]。免疫功能的强度可以用血清溶血素和抗体生成细胞来体现。但灵芝糖肽目前研究较少, 本研究系统阐释了灵芝孢子糖肽的抑瘤及免疫效应。

Yue 等^[18]发现灵芝热水提取物可影响荷瘤小鼠的免疫调节和抗肿瘤活性, 抑瘤率达 31.5%。本研究结果与之前报道一致, 同样发现灵芝孢子糖肽具有抗肿瘤活性, 且呈现出良好的量-效依赖关系, 其中高剂量的灵芝孢子糖肽的抑瘤率达到了 38.46% ($P < 0.01$)。

此外, 有研究报道灵芝多糖等代谢产物对机体在毒副作用方面, 本试验结果显示, 灌胃给药 10 d, 阳性药环磷酰胺组小鼠均存在不同程度的脱毛现象, 其他组小鼠形态学观察均无显著性差异, 显示出灵芝孢子糖肽在脱毛副作用方面毒性弱于环磷酰胺化疗药。此外, 在小鼠体重及脾脏质量方面, 与 S_{180} 荷瘤模型组相比, 阳性药环磷酰胺组两者均显著下降, 灵芝孢子糖肽组无明显影响, 进一步验证灵芝孢子糖肽毒副作用较低。这说明灵芝孢子糖肽可能避免了化疗药物的光谱杀伤性, 即在杀伤癌细胞的同时不会损害机体的免疫系统。

小鼠腹腔被注射 SRBC 后, 小鼠血清中会出现 SRBC 抗体, 和补体共同作用后, 将与 SRBC 一起孵育发生溶血反应, 并释放血红蛋白。血清溶血素可以提高单核吞噬系统功能, 即提高机体的免疫能力。本试验中, 灵芝孢子糖肽高剂量组和云芝胞内糖肽胶囊组小鼠半数溶血值明显高于对照组, 且差异具有显著性 ($P < 0.05$)。说明灵芝孢子糖肽能明显提高实验小鼠血清溶血素含量, 从而增强体液的免疫功能, 且灵芝孢子糖肽对小鼠半数溶血值有明显量效差异。

白细胞和相关细胞因子充当先天性和适应性免疫细胞以及非免疫细胞和组织的通信手段, 是肿瘤的生成、发展和控制环节的关键因素。以往研究认为灵芝水提取物或灵芝孢子抗肿瘤活性的主要机制是刺激宿主的防御反应^[19]。灵芝孢子水提取物曾被报道可刺激体内淋巴细胞增殖, 2 g/kg 口服可刺激荷瘤小鼠脾脏淋巴细胞增殖 6.5 倍^[18], 本试验发现 130 mg/kg、260 mg/kg、520 mg/kg 灵芝孢子糖肽均可提高 S_{180} 荷瘤小鼠体内白细胞数, 且随着灵芝孢子糖肽剂量逐渐增加, 白细胞数也呈现良好的正相关, 最高可达 2.5 倍 ($P < 0.05$)。试验结果提示, 灵芝孢子糖肽可促进机体白细胞的生成, 从而提高免疫力。在肿瘤发生早期, 通过免疫细胞杀死、吞噬癌细胞。查阅相关文献, 其机理可能与灵芝糖肽能够调节吞噬细胞、NK 细胞、T/B 细胞等有关。林东梅等研究发现灵芝多糖肽可通过激活巨噬细胞这一重要免疫细胞, 从而分泌出肿瘤坏死因子 $TNF-\alpha$ 、 COX_2 、环氧化酶和 iNOS, 从而起到抗肿瘤的作用^[20]。也有试验表明, 灵芝糖肽具有促进巨噬细胞 (M1) 的极化作用^[21]。张丽等^[22]认为灵芝糖肽可抑制人外周血单核细胞 Th1 类细胞因子

IL-12, IL-2, TNF- α -, IFN- γ 分泌。本研究认为灵芝孢子糖肽具有免疫促进作用,且灵芝孢子糖肽在此试验剂量范围内是安全的。这与冯鹏等^[23]的结论一致。

灵芝孢子糖肽对荷瘤小鼠的瘤体抑制效应,其主要机制并不是通过影响瘤细胞增殖以及凋亡而发挥直接性抑瘤作用,可能是通过调节小鼠的免疫功能来发挥间接性的抑瘤作用。灵芝孢子糖肽可作为免疫增强剂或佐剂,在提高免疫力的同时,发挥抗肿瘤的作用,其具体的作用机制还有待进一步的研究。

参 考 文 献

- [1] 余钰聪,姚菊明,应铁进. 灵芝结构多糖水解物促进细胞免疫的功能研究[J]. 中国食品学报,2019,19(6):46-53.
- [2] CHEN H Y, FAN X F, ZHAO Y N, et al. Stimuli-responsive polysaccharide enveloped liposome for targeting and penetrating delivery of survivin-shRNA into breast tumor[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2020, 12(19):22074-22087.
- [3] 董嘉成,顾晨曦,何雨婷,等. 灵芝多糖对小鼠免疫功能的调节作用[J]. 江苏医药,2021,47(1):10-13.
- [4] 马凡滋,肖丽,张丹. 中药多糖联合化疗治疗肿瘤进展研究[J]. 山东中医药大学学报,2020,44(1):105-109.
- [5] AHMAD M F. *Ganoderma lucidum*: persuasive biologically active constituents and their health endorsement [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2018, 107:507-519.
- [6] REN L, ZHANG J, ZHANG T H. Immunomodulatory activities of polysaccharides from *Ganoderma* on immune effector cells[J]. Food Chemistry, 2021, 340:127933.
- [7] SU H G, PENG X R, SHI Q Q, et al. Lanostane triterpenoids with anti-inflammatory activities from *Ganoderma lucidum*[J]. Phytochemistry, 2020, 173:112256.
- [8] XU K Y, ZHOU J P, ZHOU J H, et al. A preparation method of polysaccharide peptide from *Ganoderma lucidum* spore powder; China, CN110272932A[P]. 2019-06-09.
- [9] HE X F, XIA P F, LEI M, et al. *Ganoderma* spore powder glycopeptide extract and its preparation method and application; China, CN106265773A[P]. 2017-01-04.
- [10] 卫生部新闻办公室. 第三次全国死因调查主要情况[J]. 中国肿瘤, 2008, 17(5):344-345.
- [11] 邵晶,杜丽东,吴国泰,等. 红芪等4种中药多糖对环磷酰胺所致免疫低下小鼠模型的免疫调节作用对比研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2017, 33(21):2175-2178, 2186.
- [12] 周丽菁,龙婷婷,周星,等. 刺五加多糖对 Lewis 荷瘤小鼠抗肿瘤免疫调节作用及机制的研究[J]. 中国免疫学杂志, 2017, 33(6):849-853, 858.
- [13] JIN Y J, JIN Z Z, JIANG S Y. Antiproliferative and pro-apoptotic effects of *Cyclocarya paliurus* polysaccharide and X-ray irradiation combination on SW480 colorectal cancer cells[J]. Molecular Medicine Reports, 2019, 20(4):3535-3542.
- [14] 杨黎,张毅. 肿瘤相关巨噬细胞研究进展[J]. 中国免疫学杂志, 2020, 36(2):129-135.
- [15] 何伟. 恶性肿瘤现代中医病因病机研究现状及问题分析[J]. 中国中医基础医学杂志, 2019, 25(6):848-850.
- [16] 江一川,郭旻宇,吴雪记,等. 人参与灵芝超微粉对四氯化碳所致小鼠急性肝损伤的影响[J]. 人参研究, 2018, 30(6):2-4.
- [17] HE X Y, WANG Z, XIAO Y, et al. *Gynostemma pentaphyllum* polysaccharide prevents the growth of h22 ascites tumour by enhancing immunity rather than cytotoxicity in mice[J]. Food and Agricultural Immunology, 2020, 31(1):367-378.
- [18] YUE G G L, FUNG K P, LEUNG P C, et al. Comparative studies on the immunomodulatory and antitumor activities of the different parts of fruiting body of *Ganoderma lucidum* and *Ganoderma* spores[J]. Phytotherapy Research: PTR, 2008, 22(10):1282-1291.
- [19] GAO Y H, GAO H, CHAN E L, et al. Antitumor activity and underlying mechanisms of ganopoly, the refined polysaccharides extracted from *Ganoderma lucidum*, in mice[J]. Immunological Investigations, 2005, 34(2):171-198.
- [20] 林冬梅,罗虹建,马昂,等. 灵芝子实体标志性成分与生物活性的研究[J]. 时珍国医国药, 2022, 33(7):1568-1571.
- [21] SUN L X, LIN Z B, LU J, et al. The improvement of M1 polarization in macrophages by glycopeptide derived from *Ganoderma lucidum*[J]. Immunologic Research, 2017, 65(3):658-665.
- [22] 张莉,杜冠华. 灵芝糖肽药理研究进展[C]//中国药理学会. 第二届中国药理学会补益药药理专业委员会学术研讨会论文集. 承德: 2012-08-01.
- [23] 冯鹏,费璇,陈言,等. 灵芝孢子糖肽对小鼠肝损伤的保护作用[J]. 中国药科大学学报, 2021, 7(5):603-608.

(责任编辑:张睿)