

樟芝多糖通过调节肠黏膜浸润的 Th9 及 IL-9 的表达调控小鼠慢性结肠炎的机制研究

郭丽, 韩晨阳, 官俏兵, 阮水良^{*} (嘉兴市第二医院, 浙江 嘉兴 314001)

摘要: 目的 研究樟芝多糖调节结肠黏膜浸润的 Th9 及其细胞因子 IL-9 的表达, 从而减轻小鼠慢性结肠炎的机制。方法 利用葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)构建小鼠慢性结肠炎模型, 设置正常组、模型组、阳性对照组(抗 IL-9 抗体注射组)以及樟芝多糖组(20 mg·kg⁻¹)。DAI 评分综合评价小鼠 1 个月内活动能力, 测定小鼠 1 个月内的体重变化, 流式细胞术检测外周血、结肠黏膜固有层中单个核细胞中 CD4+IL-9+T 细胞的比例, ELISA 法检测外周血及结肠黏膜中 IL-9、TGF- β 以及 IL-4 的表达, 实时荧光定量 PCR 检测小鼠结肠黏膜中 IL-9、TGF- β 、smad3 及 IL-4 的表达, HE 染色观察小鼠结肠组织病理。结果 DSS 可以引起小鼠慢性结肠炎性病变, DAI 评分结果显示模型组小鼠活动能力明显下降, 而樟芝多糖干预后 DAI 评分显著降低($P<0.05$), 模型组小鼠外周血及结肠黏膜固有层中 Th9 比例相比正常组显著增高($P<0.05$), 外周血及结肠黏膜中 IL-9、TGF- β 及 IL-4 的蛋白及 mRNA 表达也显著增高($P<0.05$)。阳性对照组及樟芝多糖组小鼠外周血及结肠黏膜固有层中 Th9 比例相比模型组显著下调($P<0.05$), 且外周血及结肠黏膜中 IL-9、TGF- β 以及 IL-4 的蛋白及 mRNA 表达也显著下调($P<0.05$), HE 染色结肠病理情况明显好转。结论 樟芝多糖可以通过调节 Th9 比例和 IL-9 表达改善小鼠慢性结肠炎, 其作用与免疫调节及抗炎作用有关。

关键词: 樟芝多糖; 慢性结肠炎; Th9; IL-9

中图分类号: R285.4

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2018)06-0864-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2018.06.017

引用本文: 郭丽, 韩晨阳, 官俏兵, 等. 樟芝多糖通过调节肠黏膜浸润的 Th9 及 IL-9 的表达调控小鼠慢性结肠炎的机制研究[J]. 中国现代应用药学, 2018, 35(6): 864-868.

Mechanism Study on *Antrodia Camphorata* Polysaccharide Regulate Mouse Chronic Colitis via Intestinal Mucosal Infiltration of Th9 and Its Cell Factor IL-9

GUO Li, HAN Chenyang, GUAN Qiaobin, RUAN Shuiliang^{*} (The Second Hospital of Jiaxing, Jiaxing 314001, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the mechanism of *Antrodia camphorata* polysaccharide regulate mouse chronic colitis via intestinal mucosal infiltration of Th9 and its cell factor IL-9. **METHODS** The chronic colitis model was established by dextran sulfate sodium(DSS). Set the normal group, the model group, the positive control group (anti IL-9 antibody injection group), the *Antrodia camphorata* polysaccharide group (20 mg·kg⁻¹ *Antrodia camphorata* polysaccharide). Activity in mice within one month was comprehensive evaluated by DAI score. Body weight changes of mice in one month were detected. Flow cytometry was used to detect the proportion of CD4+IL-9+T cells in the mononuclear cells of the peripheral blood and intestinal mucosa. The expression of IL-9, TGF- β and IL-4 in peripheral blood and intestinal mucosa were detected by ELISA. IL-9, TGF- β , Smad3 and IL-4 expression in mouse mucosa were detected by real-time quantitative PCR. HE staining was used to observe the pathological changes of colon tissue in mice. **RESULTS** DSS could induce chronic colitis in mice, DAI results showed that the activity of mice in the model group decreased significantly and there is a significant decreased in DAI score in the prognosis of polysaccharides($P<0.05$). The ratio of Th9 in the peripheral blood and intestinal lamina propria of model mice was significantly higher than that in the normal group($P<0.05$). The expressions of IL-9, TGF- β , IL-4 protein and mRNA in peripheral blood and intestinal mucosa were also increased significantly($P<0.05$). In the positive control group and the *Antrodia camphorata* polysaccharide group, the ratio of Th9 in the peripheral blood and intestinal lamina propria was lower than that in the model group after intervention($P<0.05$). The expressions of IL-9 TGF- β , IL-4 protein and mRNA in peripheral blood and intestinal mucosa were also declined significantly($P<0.05$). The pathological changes of colon were obviously improved by HE staining. **CONCLUSION** *Antrodia camphorata* polysaccharide can improve chronic colitis in mice via intestinal mucosal infiltration of Th9 and its cell factor IL-9. The mechanism is related to immune regulation and anti-inflammatory reaction

KEY WORDS: *Antrodia camphorata* polysaccharide; chronic colitis; Th9; IL-9

作者简介: 郭丽, 女, 主管技师
13757373960

Tel: 13967370023

E-mail: taishanlg@163.com

E-mail: ruanguan@hotmail.com

^{*}通信作者: 阮水良, 男, 副教授, 副主任医师

Tel:

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一种较为难治的消化道疾病,发病率逐年上升,目前 IBD 的病因并不十分明确。通常认为免疫异常、持续的肠道感染以及环境因素的共同参与了 IBD 的发生和发展^[1]。其中肠黏膜的免疫异常在 IBD 的发生发展中具有重要作用^[2], CD4+T 细胞是最为重要的效应细胞,辅助性 T 细胞 9(Th9)是一种 CD4+IL9+表达的亚群,在免疫反应中发挥重要的作用,常与免疫抑制、炎症发生相关。目前认为 Th9 在 IBD 的发生中也发挥着重要作用^[3]。多糖是天然产物中的一个大家族,其生理活性和来源多样。目前研究发现,多数多糖有免疫调节作用^[4-5]。樟芝作为台湾独有的一种天然真菌,目前开发研究较少,具有巨大的研究价值。本研究考察了樟芝多糖通过调节 Th9 和 IL-9 改善小鼠慢性结肠炎的机制。

1 材料

1.1 动物

C57BL/6 小鼠 40 只,♀♂各半,体质量(22±5)g,购于浙江中医药大学动物实验中心,实验动物许可证号:SCXK(浙)2013-0184;合格证号:16091102。小鼠分笼饲养,每笼 5 只。动物实验室温为 20~25℃,湿度为(70±5)%,依据啮齿类动物国家标准使用干燥饲料喂养,活动自由、摄食自由。

1.2 仪器与试剂

樟芝多糖(杭州众芝康股份有限公司,批号:20160214;纯度>85%);葡聚糖硫酸钠(DSS, MP Biomedicals 公司,批号:1754254);PE anti-mouse IL-9、FITC anti-mouse CD4(美国 Biolegend 公司,批号分别为 174110、175487);LEAF™ Purified anti-mouse IL-9(美国 Biolegend 公司,批号:172411);IL-9、TGF-β、IL-4 ELISA 试剂盒(南京建成生物工程公司,批号分别为 17421、17542、17523);anti-IL-9 抗体及同型免疫球蛋白 G(美国 PEPROTECH 公司,批号分别为 P17521、P17533);实时定量 PCR 试剂盒/SYBR Green Realtime PCR Master Mix(sinobio,批号:E090);总 RNA 提取试剂盒(Trizol 法, BioTeKe 公司,批号:RP2041)。

ME204E 电子分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司);DP11 显微镜(日本奥林巴斯公司);BS97 MyCler PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司);全波长酶标仪(美国 Thermo);FACS Canto II 流式细胞仪(美

国 BD)。

2 方法

2.1 模型构建及分组

配制 2.5% DSS 溶液(22.5 g DSS 溶于 900 mL 蒸馏水)。40 只小鼠随机分为正常组、模型组、阳性对照组(抗 IL-9 抗体注射)、樟芝多糖组,每组 10 只,♀♂各半。模型组、阳性对照组、樟芝多糖组小鼠隔日给予 2.5%的 DSS 饮水 1 次,其余时间给予蒸馏水饮用,阳性对照组小鼠隔日腹腔注射 1 次 IL-9 中和抗体和同型免疫球蛋白 G,每次每只 100 μg。樟芝多糖组小鼠每日腹腔注射 1 次樟芝多糖 20 mg·kg⁻¹。干预 1 个月。

2.2 观察项目和检测指标

2.2.1 DAI 评分 每日观察小鼠精神状态、活动情况、毛发光泽度、食欲、粪便性状和体质量等;按 DAI 评分标准,每 3 d 评价小鼠体质量,粪便性状和潜血情况 1 次,并记录评分,实验过程中共评价 10 次,评分标准见表 1。

表 1 DAI 评分标准

Tab. 1 DAI scoring standard

记分	体质量下降/%	粪便性状	粪便潜血
0	<1	量少、硬、干、不黏、不散	无颜色
1	1~5	量少、硬、湿、黏	颜色反应为点状
2	6~10	量多、软、很黏	持续蓝色
3	11~15	量多、软、散	深色粪便+潜血蓝色
4	>15	稀便	血便+深蓝反应

2.2.2 小鼠体质量的变化 在 DAI 评分中每 3 d 测小鼠体质量 1 次,并记录。

2.2.3 小鼠外周血和结肠黏膜固有层单个核细胞中 CD4+IL-9+T 细胞的比例 从小鼠尾静脉抽取外周血检测;结肠黏膜中 CD4+IL-9+T 细胞于实验结束后分离结肠组织后检测。

2.2.4 ELISA 法检测外周血及结肠黏膜中 IL-9、TGF-β 以及 IL-4 的表达 外周血中 IL-9、TGF-β 以及 IL-4 的表达于实验后检测 1 次,结肠黏膜中的 IL-9、TGF-β 以及 IL-4 的表达于实验后分离结肠组织后在液氮下研磨,研磨充分后,3 000 r·min⁻¹ 离心 15 min,得到上清液,通过 BCA 法进行蛋白定量检测,调整蛋白浓度后参照 ELISA 试剂盒操作检测。

2.2.5 RT-QPCR 检测结肠黏膜中 IL-9、TGF-β、smad3 以及 IL-4 的 mRNA 表达水平 实验结束后

分离小鼠结肠组织,按 Trizol 试剂盒操作,提取总 mRNA 后经反转录形成 cDNA 后检测。设计引物见表 2。

2.2.6 小肠组织 HE 染色 小鼠的结肠组织经过石蜡包埋后 4 μm 连续切片,二甲苯脱蜡,乙醇脱水,苏木精染色,尹红染色,酒精脱水,二甲苯透明化以及树胶封片后,在光镜下观察。

表 2 引物序列

Tab. 2 Primer sequence

目的基因	PCR 引物序列	bp 值
<i>TGF-β</i>	Sense: 5' ACCGCAACAACGCCATCTATGAG 3'	224
	Antisense: 5' GGGGTCAGCAGCCGGTTAC 3'	
<i>IL-4</i>	Sense: 5' AGGGACGCCATGCACGAGAT 3'	95
	Antisense: 5' GCACCTTGAAGCCCTACAGACGA 3'	
<i>IL-9</i>	Sense: 5' AACTGATGATTGTACCACACCGTGC 3'	412
	Antisense: 5' AGGACGGACACGTGATGTTCTTTAG 3'	
<i>Smad3</i>	Sense: 5' AGGGCTTTGAGGCTGTCTACC3'	364
	Antisense: 5' GTCCAC GCTGGCATCTTCTG3'	
<i>GAPDH</i>	Sense: 5' TCGTCCCGTAGACAAAATGG 3'	132
	Antisense: 5' TTGAGGTCAATGAAGGGGTC 3'	

2.3 统计学分析

利用 SPSS 18.0 软件进行统计分析,计量资料数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA),组间比较采用 SNK 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 小鼠体质量及 DAI 评分结果

实验期间,正常组小鼠精神状态良好,毛发光泽度良好,饮食及大便正常,体质量正常。模型组小鼠饮水及进食量下降,大便次数增加,精神萎靡,1 周后小鼠体质量下降明显,而阳性对照组、樟芝多糖组相比正常组 DAI 评分显著增高($P < 0.05$),但是相比模型组 DAI 评分较低($P < 0.05$),结果见图 1。

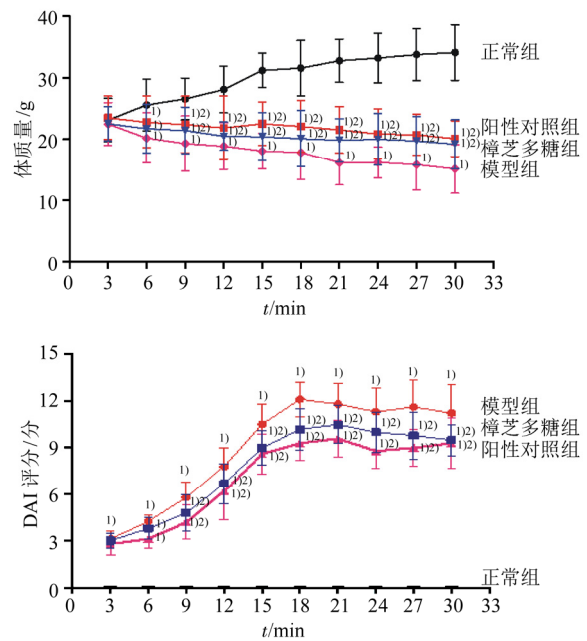


图 1 小鼠体质量及 DAI 评分结果($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

与正常组相比, $^1P < 0.05$; 与模型组相比, $^2P < 0.05$ 。

Fig. 1 The results of mice body weight and DAI score($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

Compared with normal group, $^1P < 0.05$; compared with model group, $^2P < 0.05$.

3.2 小鼠外周血及结肠黏膜中 Th9 的比例变化

正常组小鼠结肠黏膜中 Th9 细胞比例为 $(1.20 \pm 0.51)\%$, 显著低于模型组小鼠 Th9 细胞比例 $(4.13 \pm 0.79)\%$ ($P < 0.05$), 阳性对照组 $(1.30 \pm 0.49)\%$ 和樟芝多糖组的 Th9 比例 $(2.41 \pm 0.71)\%$ 显著低于模型组 ($P < 0.05$)。结果见图 2。

正常组小鼠外周血中 Th9 细胞比例为 $(0.50 \pm 0.12)\%$, 显著低于模型组 (2.67 ± 0.38) ($P < 0.05$), 阳性对照组 $(0.85 \pm 0.13)\%$ 和樟芝多糖组 $(1.62 \pm 0.32)\%$ Th9 细胞比例显著低于模型组 ($P < 0.05$)。结果见图 3。

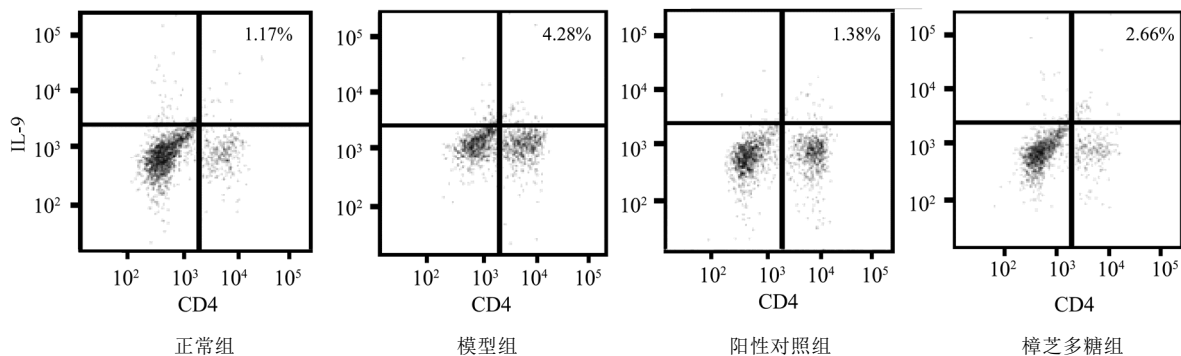


图 2 结肠黏膜中 Th9 比例的结果($n=10$)

Fig. 2 The result of the Th9 ratio in the colonic mucosa($n=10$)

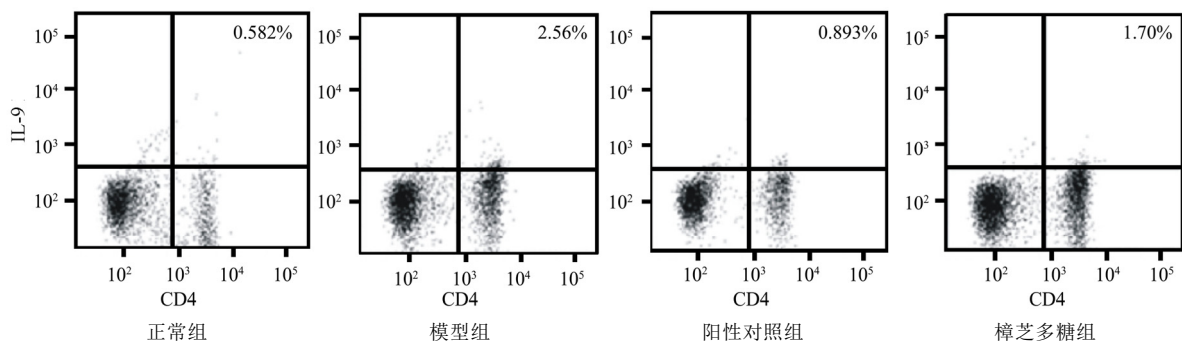


图3 外周血中 Th9 比例的结果($n=10$)

Fig. 3 The result of Th9 ratio in peripheral blood($n=10$)

3.3 小鼠外周血及结肠黏膜中 IL-9、TGF- β 以及 IL-4 的表达

正常组小鼠外周血及结肠黏膜中 IL-9、TGF- β 和 IL-4 的表达显著低于模型组($P<0.05$), 而阳性对照组和樟芝多糖组中 IL-9、TGF- β 和 IL-4 的表达显著低于模型组($P<0.05$), 但比正常组高($P<0.05$)。

结果见表 3。

3.4 小鼠结肠组织 HE 染色结果

HE 染色显示, 正常组小鼠肠组织状态良好, 而模型组小鼠可见结肠黏膜充血、水肿、肠壁增厚, 阳性对照组和樟芝多糖组小鼠肠组织状态显著优于模型组, 充血、水肿程度减轻。结果见图 4。

表 3 小鼠外周血及肠黏膜中 IL-9、TGF- β 以及 IL-4 的表达($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 The expression of IL-9, TGF- β and IL-4 in the peripheral blood and intestinal mucosa of mice($n=10$, $\bar{x} \pm s$) $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$

组别	结肠黏膜			外周血		
	IL-9	TGF- β	IL-4	IL-9	TGF- β	IL-4
正常组	98.52 $\pm$ 12.52	32.53 $\pm$ 10.24	75.64 $\pm$ 16.54	65.36 $\pm$ 16.52	22.51 $\pm$ 8.57	59.36 $\pm$ 10.54
模型组	312.38 $\pm$ 21.58 ¹⁾	254.35 $\pm$ 17.86 ¹⁾	186.51 $\pm$ 25.64 ¹⁾	267.3 $\pm$ 19.68 ¹⁾	125.64 $\pm$ 18.78 ¹⁾	118.68 $\pm$ 19.65 ¹⁾
阳性对照组	23.25 $\pm$ 8.57 ¹⁾²⁾	138.25 $\pm$ 18.57 ¹⁾²⁾	147.54 $\pm$ 20.47 ¹⁾²⁾	16.36 $\pm$ 5.42 ¹⁾²⁾	86.32 $\pm$ 12.54 ¹⁾²⁾	73.32 $\pm$ 14.57 ¹⁾²⁾
樟芝多糖组	152.36 $\pm$ 25.87 ¹⁾²⁾	158.35 $\pm$ 19.54 ¹⁾²⁾	163.25 $\pm$ 28.35 ¹⁾²⁾	120.35 $\pm$ 18.54 ¹⁾²⁾	91.35 $\pm$ 10.53 ¹⁾²⁾	86.75 $\pm$ 12.52 ¹⁾²⁾

注: 与正常组比较, ¹⁾ $P<0.05$; 与模型组比较, ²⁾ $P<0.05$ 。

Note: Compared with the normal group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with the model group, ²⁾ $P<0.05$.

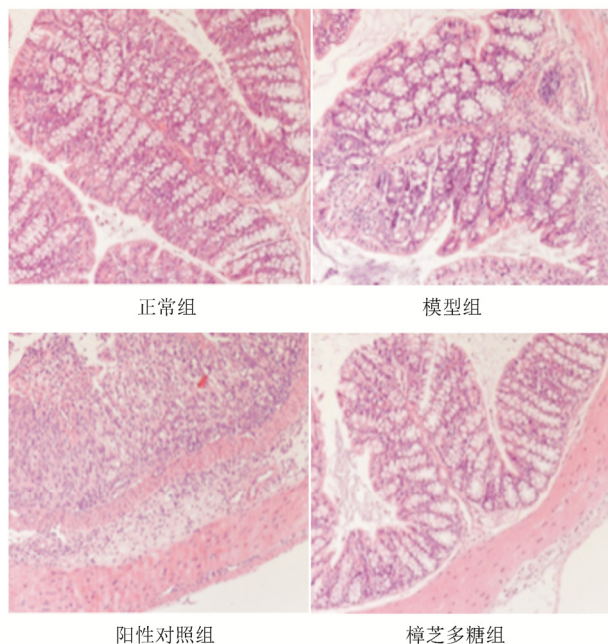


图4 小鼠肠组织 HE 染色结果(400 $\times$)

Fig. 4 HE staining of intestinal tissue in mice(400 $\times$)

3.5 小鼠结肠黏膜中 IL-9、TGF- β 、smad3 以及 IL-4 的 mRNA 表达

模型组小鼠结肠黏膜组织中 IL-9、TGF- β 、smad3 以及 IL-4 的 mRNA 表达显著高于正常组($P<0.05$), 而阳性对照组和樟芝多糖组小鼠的 IL-9、TGF- β 、smad3、IL-4 的 mRNA 表达比模型组显著下调($P<0.05$), 结果见表 4。

表 4 小鼠结肠黏膜中 IL-9、TGF- β 、smad3 以及 IL-4 的 mRNA 表达($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 4 The mRNA expression of IL-9, TGF- β , Smad3 and IL-4 in the colon mucosa of mice($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

组别	IL-9	TGF- β	IL-4	smad3
正常组	0.58 $\pm$ 0.12	1.80 $\pm$ 0.35	0.68 $\pm$ 0.12	1.13 $\pm$ 0.23
模型组	3.85 $\pm$ 0.23 ¹⁾	3.23 $\pm$ 0.38 ¹⁾	2.58 $\pm$ 0.15 ¹⁾	3.64 $\pm$ 0.34 ¹⁾
阳性对照组	0.43 $\pm$ 0.10 ¹⁾²⁾	2.10 $\pm$ 0.22 ¹⁾²⁾	1.36 $\pm$ 0.24 ¹⁾²⁾	1.89 $\pm$ 0.24 ¹⁾²⁾
樟芝多糖组	1.83 $\pm$ 0.21 ¹⁾²⁾	2.43 $\pm$ 0.27 ¹⁾²⁾	1.51 $\pm$ 0.30 ¹⁾²⁾	2.31 $\pm$ 0.18 ¹⁾²⁾

注: 与正常组比较, ¹⁾ $P<0.05$; 与模型组比较, ²⁾ $P<0.05$ 。

Note: Compared with the normal group, ¹⁾ $P<0.05$; compared with the model group, ²⁾ $P<0.05$.

4 讨论

肠黏膜的免疫异常在慢性结肠炎的发生发展中发挥着重要作用, Th9 是一种分泌 IL-9, 发挥促炎作用的 T 细胞^[6], 而 IL-4 和 TGF- β 被认为是诱导 Th9 分化的关键细胞因子, 体外实验中证明两者联合刺激可以诱导 Th9 细胞的生成^[7]。smad3 作为 TGF- β 信号的关键下游受体, 它和 TGF- β 的表达水平可以反应出信号上下游相通的水平, 间接反应 Th9 的激活程度。Th9 参与多种免疫疾病, 在自身免疫性脑炎中发现, 降低 IL-9 可以减轻脑炎的程度^[8], IL-9 缺乏的小鼠中枢神经系统中产生炎症 IL-6 细胞数目减少; 而 Dardahon 等^[9]研究发现, 回输 Th9 细胞可以诱导自身免疫性结肠炎的发生以及外周神经炎的发生, 且小鼠体重质量下降明显, 组织病理结果显示 Th9 细胞可以加重结肠炎小鼠的炎症反应, 且这种作用可能与 IL-10 的发生有关。临床实验中发现, 在活动性溃疡性结肠炎患者肠道上皮细胞中, IL-9 受体的表达是升高的, 且黏膜固有层中 Th9 和 IL-9 的表达也增高, 在 DSS 诱导的实验性结肠炎小鼠中应用 IL-9 抗体后肠黏膜的炎症明显减轻, 这说明 Th9 和 IL-9 确实促进了结肠炎的发生和发展^[10]。

多糖是由多种单糖所构建而成的大分子化合物, 大量实验证明多糖具有提高免疫力、抗炎、抗病毒等作用^[11-13]。在多糖受体的研究中发现, 多糖可以通过与淋巴细胞表面多糖受体结合影响细胞间的信息传递, 从而影响淋巴细胞的功能, 目前已证实 CR3、Dectin-1 和 Seavenger 是多糖结合的受体, 在辅助性 T 细胞的研究中发现^[14], 香菇多糖可以降低 Th1 和 Th2 细胞的比例, 调节其免疫抑制和促炎作用^[15]。

樟芝作为台湾独有的一种多孔菌科类真菌, 在生物学分类上与大陆熟知的灵芝、云芝类似, 但其多糖、三萜类、腺苷等含量远高于同类灵芝, 有极高的研究价值。本研究利用 DSS 构建慢性结肠炎小鼠模型, 利用樟芝多糖进行干预, 注射抗 IL-9 抗体作为阳性对照, 结果显示 DSS 可以引起小鼠结肠炎性病理改变, 且结肠炎小鼠肠黏膜组织及外周血中 Th9 比例和 IL-9 的表达显著上升, 使用抗 IL-9 抗体和樟芝多糖干预后, 结肠炎病理情况显著好转。这说明樟芝多糖可以调节 Th9 的比例和 IL-9 的表达来改善小鼠结肠炎。由于 TGF- β 和 IL-4 可以促进 Th9 生成, 进一步检测肠黏膜中

TGF- β 和 IL-4 的表达, 结果显示 TGF- β 和 IL-4 的表达也降低。

综上, 本研究发现樟芝多糖可以通过调节 Th9 及其相关细胞因子改善小鼠结肠炎, 这为结肠炎治疗药物的研究提供了新的参考。

REFERENCES

- [1] PARK J H, PEYRIN-BIROULET L, EISENHUT M, et al. IBD immunopathogenesis: A comprehensive review of inflammatory molecules [J]. *Autoimmun Rev*, 2017, 16(4): 416-420.
- [2] JIA N. Progress on TL1A/DR3 in pathogenesis of inflammatory bowel disease [J]. *Pro Microbiol Immunol*(微生物学免疫学进展), 2017, 45(1): 60-64.
- [3] LEAKE I. IBD. TH9 cells might have a role in the pathogenesis of ulcerative colitis [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2014, 11(8): 455-461.
- [4] LI Q, HU J H, GAO B, et al. Advances on immunoregulation effect of Astragalus polysaccharides [J]. *Chin J Exp Tradit Med*(中国实验方剂学), 2017, 23(2): 199-206.
- [5] WANG L P, SHEN M J, YANG B, et al. Effects of polysaccharides from *Milletia speciosa* champ on proliferation of spleen lymphocyte and secretion of cytokine in mice [J]. *Herald Med*(医药导报), 2017, 36(5): 480-483.
- [6] MALIK S, DARDALHON V, AWASTHI A. Characterization of Th9 cells in the development of EAE and IBD [J]. *Methods Molecul Biol*, 2017(1585): 201-208.
- [7] ANURADHA R, GEORGE P J, HANNA L E, et al. Parasite antigen-specific, IL-4-, TGF β - and IL-1- dependent expansion of Th9 cells is associated with clinical pathology in human lymphatic filariasis [J]. *J Immunol*, 2013, 191(5): 2466-2470.
- [8] NOWAK E C, WEAVER C T, HENRIETTA T, et al. IL-9 as a mediator of Th17-driven inflammatory disease [J]. *J Exp Med*, 2009, 206(8): 1653-1655.
- [9] DARDALHON V, AWASTHI A, KWON H, et al. IL-4 inhibits TGF-beta-induced Foxp3+ T cells and, together with TGF-beta, generates IL-9+ IL-10+ Foxp3(-) effector T cells [J]. *Nat Immunol*, 2008, 9(12): 1347-1350.
- [10] QU D D, JIN S L, HU Z B, et al. Research progress of IL-9/Th9 and ulcerative colitis [J]. *China Mod Med*(中国当代医药), 2016, 23(18): 19-21.
- [11] SU Z F, DAI Z M, YANG J F. Research progress on immune mechanism of polysaccharide [J]. *J Yunnan Agric Univ*(云南农业大学学报), 2006, 21(2): 205-209.
- [12] TAN X, ZHOU X, CHEN H G. Structure-activity relationship of plant polysaccharides [J]. *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2017, 42(6): 4104-4109.
- [13] WANG L P, SHEN M J, YANG B, et al. Effects of polysaccharides from *Milletia speciosa* Champ on proliferation of spleen lymphocyte and secretion of cytokine in mice [J]. *Herald Med*(医药导报), 2017, 36(5): 480-483.
- [14] HUANG J H, LIN C Y, WU S Y, et al. CR3 and dectin-1 collaborate in macrophage cytokine response through association on lipid rafts and activation of syk-JNK-AP-1 pathway [J]. *Plos Pathogens*, 2015, 11(7): e1004985.
- [15] 李波. 香菇多糖和黄芪多糖对小鼠免疫平衡影响的研究[D]. 湖南农业大学, 2011.

收稿日期: 2017-10-25

(本文责编: 蔡珊珊)