

龙眼肉多糖 LP II 的体外免疫调节活性评价

易阳¹, 张名位²

(1. 武汉轻工大学食品科学与工程学院, 湖北武汉 430023)

(2. 广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所, 广东广州 510610)

摘要: LP II 是龙眼肉多糖的主要级分之一, 本文研究了其体外免疫调节活性及酶降解作用对活性的影响。采用尼龙毛柱分离脾淋巴 T/B 细胞, 在 25~400 $\mu\text{g/mL}$ 剂量范围内体外评价 LP II 对脾淋巴细胞的刺激作用发现, LP II 能刺激脾淋巴细胞及 B 细胞增殖, 并促进 B 细胞抗体生成, 但对 T 细胞激活作用不明显 ($P>0.05$)。此外, LP II 还能有效刺激巨噬细胞增殖, 并增强其吞噬功能和 NO 生成量。LP II 的高分子量组分在木瓜蛋白酶、链酶蛋白酶和胰蛋白酶的作用下均发生明显降解, 且 200 $\mu\text{g/mL}$ 剂量下对刀豆蛋白 A 诱导的脾淋巴细胞增殖的刺激作用显著降低 ($P<0.05$), 但对脂多糖诱导的脾淋巴细胞增殖和巨噬细胞吞噬的刺激作用却显著增强 ($P<0.05$)。LP II 具有显著的体外免疫调节活性, 是龙眼肉“滋补”的重要功能成分, 而适度降解有利于增强活性。

关键词: 龙眼肉; 多糖; 免疫调节活性; 酶解

文章编号: 1673-9078(2014)4-63-67

In vitro Evaluation of Immunomodulatory Activity for Polysaccharide

LP II from *Arillus longanae*

YI Yang¹, ZHANG Ming-wei²

(1. College of Food Science & Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China) (2. Key Laboratory of Functional Food, Sericulture & Agri-Food Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510610, China)

Abstract: LP II is one of the main fractions of polysaccharides from *Arillus longanae*. The immunomodulatory activities of LP II, and the effect of enzymolysis on its activity were investigated *in vitro*. Splenic lymphocytes were injected into a nylon fiber column to separate T cells and B cells. The stimulating effects of LP II on lymphocytes in the dose range of 25~400 $\mu\text{g/mL}$ indicated that LP II could stimulate the proliferations of splenic lymphocyte and B cell and promote the antibody production of B cell. However, its activation on T cells was not significant. In addition, LP II could effectively enhance the proliferation, phagocytosis and NO production of macrophage in the dose range. The fraction of LP II with higher molecule weight obviously degraded by papain, pronase or trypsin, following with the weakened effect on ConA-induced splenic lymphocyte proliferation ($P < 0.05$) and the strengthened effects on LPS-induced splenic lymphocyte proliferation and macrophage phagocytosis ($P < 0.05$). LP II has the significant immunomodulatory activity *in vitro*, and the activity can be enhanced with appropriate degradation, which is confirmed as the most important functional component in *Arillus longanae*.

Key words: *Arillus longanae*; polysaccharide; immunomodulatory activity; enzymolysis

龙眼 (*Dimocarpus longan Lour*) 俗称桂圆, 为无患子科龙眼属常绿果树, 在我国主要分布于广东、福建、广西和台湾等省。其假种皮为可食果肉部分, 具有药食两用的特性, 常作为中药材用于补益心脾、养血安神^[1], 然而作用机理尚不清楚。龙眼肉的药理学

收稿日期: 2013-11-03

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31301416); 武汉轻工大学引进人才科研启动项目 (2013RZ03)

作者简介: 易阳 (1986-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 天然活性成分

通讯作者: 张名位 (1966-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 特色农产品的生物活性机制与功能食品

研究在功能食品和生物医药领域引起了广泛关注。项目组前期研究报道了龙眼肉及其水提取物能有效提高正常小鼠的体液和细胞免疫功能及血清抗氧化水平^[2], 通过成分分析推断多糖可能是主要的功能因子。为了证实该假说, 采用超声波-酶法浸提、阴离子交换树脂脱色、浓缩透析等工序制备得到龙眼肉粗多糖 LP3。通过体内免疫调节活性评价确定, LP3 不仅能在体外显著刺激脾淋巴细胞增殖、NK 细胞杀伤和巨噬细胞吞噬^[3], 还能在 100 $\text{mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 剂量下显著增强环磷酰胺免疫抑制小鼠的细胞和体液免疫功能, 并改善其摄食量、饮水量以及体重值至正常水平, 且免疫调节

疗效与 50 mg/(kg d)的灵芝多糖相当^[4]。进一步采用 DEAE-52 离子交换层析对 LP3 进行分离纯化获得四个级分 LPI、LPII、LPIII 和 LPIV, 其得率分别为 56.02%、22.08%、4.77%和 2.95%。四个级分的分子量、糖苷键组成及分子构象均存在明显差异。其中, 含量最高的中性级分 LPI 以致密的球型构象存在, 体外免疫调节活性极弱^[5], 而其他级分的免疫调节活性及构效关系尚未可知。为探明龙眼肉多糖免疫调节的主要活性级分, 本文通过体外实验评价了 LPII 对混合脾淋巴细胞、T 细胞、B 细胞和巨噬细胞的刺激作用。此外, 为初步了解 LPII 免疫调节的构效关系, 分析比较了其酶解前后分子量分布和免疫调节活性的变化, 可为改性强效研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 主要材料与仪器

主要实验材料: 新鲜“储良”龙眼果实, 由广东省农业科学院果树研究所提供; Sephadex G-100 凝胶、甲基噻唑基四唑 (MTT)、脂多糖 (LPS)、刀豆蛋白 A (ConA), 美国 Sigma 公司; RPMI-1640 和 DEME 培养基、胎牛血清、木瓜蛋白酶 (≥ 800 U/mg)、胰蛋白酶 (≥ 250 U/mg)、链酶蛋白酶 (≥ 200 U/mg), 美国 Gibco 公司; 尼龙毛, 德国 Gerlinde Kisker 公司。昆明小鼠和 RAW24.7 巨噬细胞, 购于中山大学实验动物中心。

主要实验仪器: SBS-Z100 数控计滴自动部分收集器和 HL-2 恒流泵, 上海青浦沪西仪器厂; CO₂ 培养箱, SANYO 公司; 倒置显微镜, NIKON 公司; Thermo 酶标仪, Thermo Labsystems, Finland; 冷冻干燥仪, 北京德天佑科技发展公司。

1.2 龙眼肉多糖 LPII 的制备

新鲜龙眼整果干燥后剥取果肉粉碎, 采用超声波-酶法提取水溶性多糖, 结合 D301-F 树脂脱除色素和蛋白质制备粗多糖, 再通过 DEAE-52 离子交换层析纯化得到多糖级分 LPII。该级分主要由 (1 \rightarrow 6)- α -D-Glcp、(1 \rightarrow 5)- α -L-Araf 和 β -D-Galp 组成, 其重均分子量为 68.34 kDa, 含有 5.6%的结合蛋白^[6]。

1.3 龙眼肉多糖 LPII 的酶解

龙眼肉多糖 LPII 的酶解处理参考文献^[7]稍作调整。30 mg 多糖经 10 mL PBS 缓冲液 (0.02 mol/L, pH 值为 7.6) 溶解后, 加入 5 mL 的酶缓冲溶液 (木瓜蛋白酶、链酶蛋白酶或胰蛋白酶, 含酶 0.30 mg) 于 37 °C

酶解 24 h, 再加入 5 mL 的酶缓冲溶液 (含酶 0.15 mg) 酶解 48 h。酶解液经 Sevag 法脱蛋白后真空冷冻干燥制备得到酶解级分 (LII1、LPII2 或 LPII3)。

1.4 凝胶过滤层析

称取多糖约 6~8 mg 溶于 4 mL 蒸馏水中, 充分溶解后于 4500 r/min 离心 15 min。取上清液 1 mL 加入 Sephadex G-100 凝胶层析柱 (20 cm \times 1.5 cm) 中, 用蒸馏水以 0.1 mL/min 的流速洗脱, 1.5 mL/管收集洗脱液。逐管检测多糖 (苯酚-硫酸法, 490 nm)、蛋白质 (280 nm) 和色素 (420 nm) 浓度^[3]。

1.5 免疫调节活性评价

1.5.1 T/B 细胞的富集分离

参考尼龙毛使用说明, 用 10 mL 医用注射器制作 T/B 细胞分离柱。以 50 mL 预温 RPMI1640 培养液平衡分离柱, 注射器柱芯挤压排出气泡, 封闭柱下端出口, 拔出柱芯后立即加入 3 mL 培养液防止柱干。将尼龙毛柱垂直置于培养箱 (37 °C, 5% CO₂) 中 50 min 后使用。分离小鼠脾淋巴细胞, 采用培养液调整细胞浓度为 7.5×10^7 个/mL。将尼龙毛柱面上培养液排尽后, 加入 2 mL 细胞悬液, 待全部流入柱内后, 加 0.5 mL 培养液润洗柱壁, 控制流速约为 0.02 滴/s。关闭出口后再加入 3 mL 培养液, 垂直置于培养箱中 45 min 后进行细胞分离。分离柱加满培养液, 并以约 0.02 滴/s 的流速收集未粘附的细胞液 18 mL, 即得富集 T 细胞悬液。用冰冷的培养液分 4 次洗涤分离柱, 每次加入 3 mL, 并用柱芯挤压收集洗脱液, 即得富集 B 细胞悬液。T 细胞和 B 细胞悬液经 1000 r/min 离心 5 min 后, 分别采用培养液悬浮并调整浓度。

1.5.2 细胞增殖评价

用 RPMI1640 培养液调整脾淋巴细胞浓度为 1×10^7 个/mL, T 细胞和 B 细胞浓度范围为 $1 \times 10^6 \sim 5 \times 10^6$ 个/mL, 以及用 DEMD 培养液调整 RAW264.7 巨噬细胞浓度为 5×10^5 个/mL。参考文献^[6]中 MTT 方法测定多糖对脾淋巴细胞、T 细胞、B 细胞和巨噬细胞增殖的影响, 多糖剂量为 25~400 μ g/mL, LPS 和 ConA 的剂量为 5 μ g/mL。

1.5.3 B 细胞抗体生成测定

用 RPMI1640 培养液调整脾淋巴细胞浓度为 2×10^7 个/mL, 以 100 μ L/孔加入 48 孔培养板中, 另每孔加入 100 μ L 多糖或 LPS 刺激培养 72 h (多糖终浓度为 25~400 μ g/mL, LPS 终浓度为 5 μ g/mL)。每孔加入 40 μ L 豚鼠血清补体和 40 μ L 的绵羊红细胞, 在培养箱 (37 °C, 5% CO₂) 中孵育 1 h, 并间歇震荡。培

养结束后,将培养板于 1000 r/min 离心 5 min,每孔各取 200 μL 的上清液分别加入 1.5 mL 离心管中,再加入 0.6 mL 蒸馏水稀释。以培养液代替细胞上清液作为对照。释放的血红素于 540 nm 下采用光度计测定吸光值 (A)。B 细胞抗体生成以下式计:

$$\text{HC}/\% = (\text{A}_{\text{实验组}} - \text{A}_{\text{对照组}}) / \text{A}_{\text{对照组}} \times 100$$

1.5.4 巨噬细胞吞噬功能及 NO 生成测定

25~400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 多糖诱导 RAW264.7 巨噬细胞对中性红的吞噬能力参考文献^[6]测定。5 $\times 10^5$ 个/mL 的巨噬细胞悬液以 400 μL /孔加入 24 孔培养板中,置于培养箱中贴壁 3 h 后,吸除上清培养液。每孔加入含样品或 LPS 的培养液 400 μL (多糖终浓度为 25~400 $\mu\text{g}/\text{mL}$, LPS 终浓度为 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 每个浓度设 4 个复孔)。另加 400 μL 培养液的细胞孔作为空白对照。培养板于培养箱中孵育 48 h 后,吸取细胞上清液于 1.5 mL 离心管中,加入 300 g/L 的 ZnSO_4 溶液 20 μL 沉淀蛋白,经 5000 r/min 离心 10 min 后,取 100 μL 上清液于 96 孔培养板中,并加入 100 μL 的 Griess 试剂。每个实验孔重复测定 3 次。室温下轻轻摇振 10 min 后,在酶标仪上测定 492 nm 处吸光值表征巨噬细胞 NO 生产量。

1.6 统计分析

采用 SPSS11.5 统计软件单因素方差分析进行组间差异的比较,组间的两两比较采用 S-N-K 检验 (the Student-Newman-Keuls test),显著性水平为 $P < 0.05$,数据均以用 ($\bar{x} \pm s$) 表示。图表中采用不同小写字母表示 0.05 水平显著性差异。

2 结果与讨论

2.1 LP11 对淋巴细胞功能的影响

龙眼肉多糖 LP11 对脾淋巴细胞以及 T 细胞和 B 细胞增殖的影响由图 1 可见。LP11 在 100~400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 剂量范围内有效刺激脾淋巴细胞和 B 细胞增殖,且增殖指数随剂量增加而增大。其中 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 剂量的增殖指数为 26.32%,显著高于其他剂量 ($P < 0.05$)。而 LP11 在 25~400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 剂量范围内刺激 T 细胞增殖的作用不明显,各剂量组之间无显著差异 ($P > 0.05$)。LP11 可能选择性刺激 B 细胞增殖,而对 T 细胞无影响。由图 2 可见,LP11 能剂量依赖性刺激 B 细胞分泌绵羊红细胞溶血素。400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 剂量下的溶血素水平最高,达 67.22%;其次是 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 剂量,其溶血素水平分别为 40.04% 和 43.98%,无显著差异 ($P > 0.05$);以上剂量下的抗体生成量均显著高于其他低剂量 ($P < 0.05$)。然而,LP11 在该剂量范围内对脾淋

巴细胞增殖的刺激作用均显著弱于 ConA 和 LPS ($P < 0.05$),且对 B 细胞增殖和抗体生成的刺激作用也明显弱于 LPS ($P < 0.05$)。

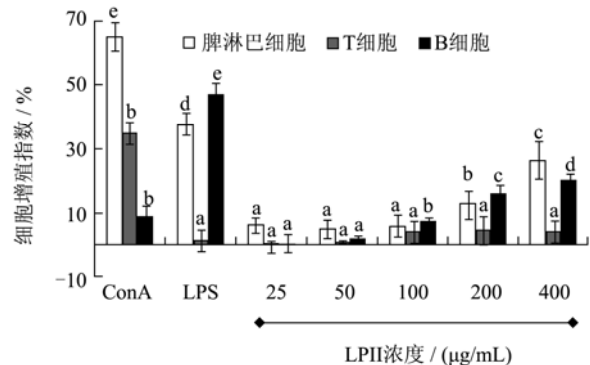


图 1 龙眼肉多糖 LP11 对脾淋巴细胞、T 细胞和 B 细胞增殖的影响

Fig.1 Effects of polysaccharide LP11 from *Arillus longanae* on the proliferation of splenic lymphocyte, T cell and B cell

注:同类细胞增殖指数之间 0.05 水平的显著性差异采用不同小写字母表示,下同。

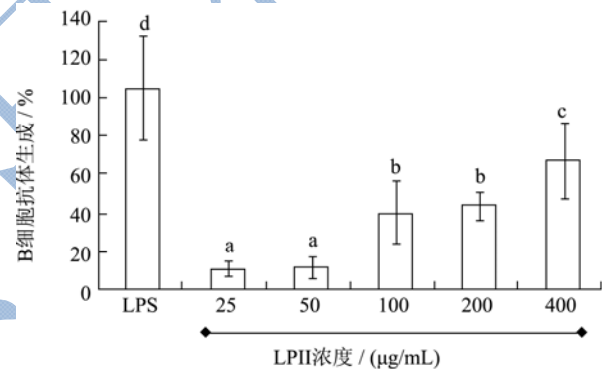


图 2 龙眼肉多糖 LP11 对 B 细胞抗体生成的影响

Fig.2 Effect of polysaccharide LP11 from *Arillus longanae* on the antibody production of B cell

2.2 LP11 对巨噬细胞功能的影响

由龙眼肉多糖 LP11 对巨噬细胞增殖、中性红吞噬及 NO 生成的影响 (图 3) 发现,其能剂量依赖性刺激巨噬细胞活化。LP11 对巨噬细胞增殖的刺激作用随剂量增加显著增大 ($P < 0.05$),且剂量和吸光值之间存在明显的线性关系 ($R^2 = 0.991$)。相比空白对照组,LP11 在剂量范围内能显著增强巨噬细胞的吞噬功能 ($P < 0.05$),100~400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 剂量内的中性红吸光值介于 0.466~0.503 之间,无显著差异 ($P > 0.05$)。而 LP11 仅在 100~400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 剂量内显著刺激巨噬细胞 NO 生成 ($P < 0.05$)。100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 NO 测定吸光值分别为 0.158 和 0.166,无显著差异 ($P > 0.05$),但均显著低于 400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 剂量的吸光值 0.176 ($P < 0.05$)。LP11 在 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 剂量下的巨噬细胞增

殖, 以及 100~400 $\mu\text{g/mL}$ 剂量范围的吞噬功能和 NO 生成, 均与 5 $\mu\text{g/mL}$ 剂量的 LPS 相当 ($P>0.05$)。200 $\mu\text{g/mL}$ 和 400 $\mu\text{g/mL}$ 剂量的 LPII 对巨噬细胞增殖的刺激作用则显著强于 5 $\mu\text{g/mL}$ 剂量的 LPS ($P<0.05$)。

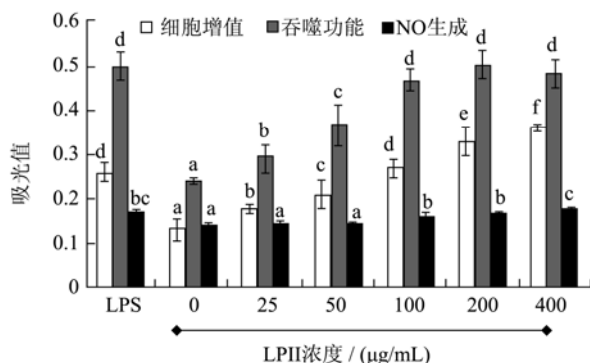


图3 龙眼肉多糖 LPII 对巨噬细胞增殖、吞噬功能和 NO 生成的影响

Fig.3 Effects of polysaccharide LPII from Arillus longanae on the proliferation, phagocytosis and NO production of macrophage

注: 同类指标吸光值之间 0.05 水平的显著性差异采用不同小写字母表示。

2.3 酶解对 LPII 分子量分布的影响

由图4可见, LPII 的分子量分布较宽, 且以第5~13管收集的高分子量组分 (490 nm) 为主, 而色素 (420 nm) 和蛋白质 (280 nm) 的洗脱峰值基本与低分子量组分吻合, 说明可能以结合状态存在。LPII 经木瓜蛋白酶、链酶蛋白酶和胰蛋白酶酶解处理分别得到多糖 LPII1、LPII2 和 LPII3, 其分子量分布发生明显变化, 尤其是高分子量组分发生明显降解。LPII1 的多糖峰值与 LPII 基本相同, 但低分子量组分含量较高。LPII2 和 LPII3 的多糖峰相对杂乱, 在洗脱管数 5~25 范围内分散或叠加分布。然而三种酶对 LPII 低分子量组分及其结合蛋白和色素的影响并不显著。

2.4 LPII 及其酶解组分的免疫调节活性比较

龙眼肉多糖 LPII 及其酶解组分在 200 $\mu\text{g/mL}$ 剂量下对脾淋巴细胞和巨噬细胞的影响由图 5 和 6 可见。酶解后, LPII 对 ConA 诱导的脾淋巴细胞增殖的刺激作用显著降低 ($P<0.05$), 但对 LPS 诱导的脾淋巴细胞增殖和巨噬细胞吞噬的刺激作用却显著增强 ($P<0.05$)。其中, LPII3 刺激下的 LPS-细胞增殖水平 (吸光值 0.258) 显著高于其他组分 ($P<0.05$), 而 LPII1 具有最强的巨噬细胞刺激活性 (吸光值 0.336) ($P<0.05$)。

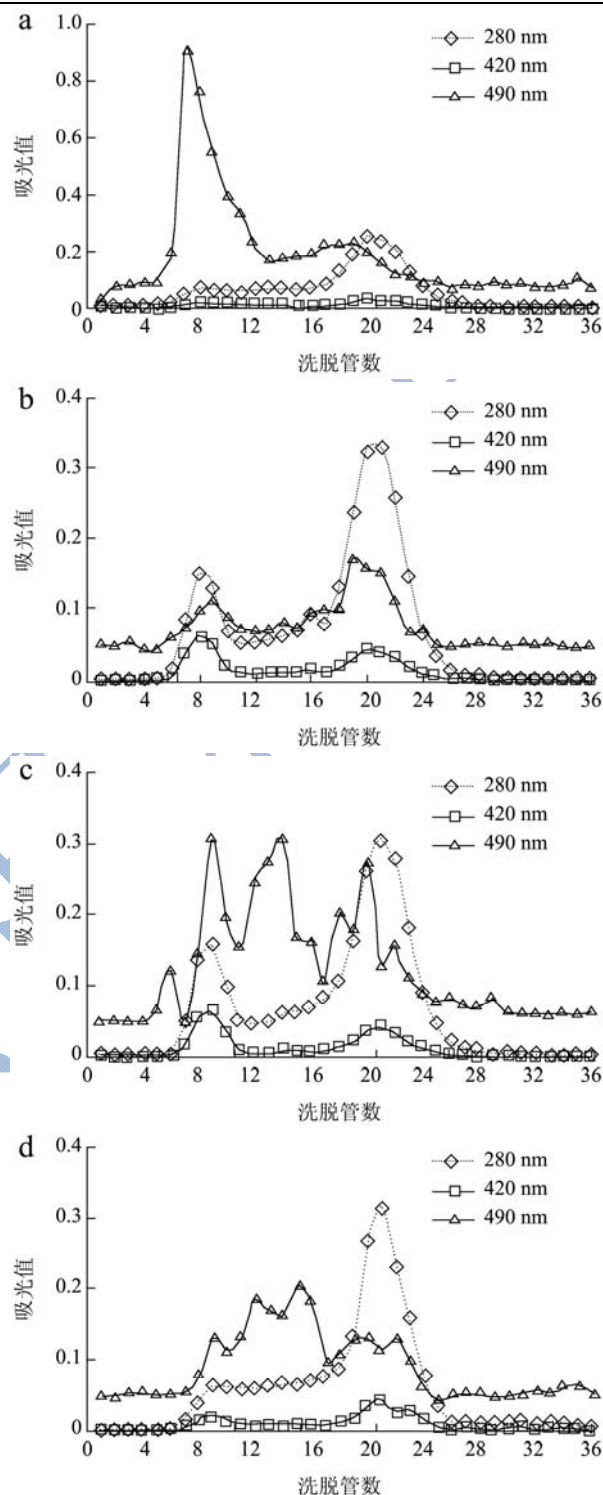


图4 酶解对龙眼肉多糖 LPII 分子量分布的影响

Fig.4 Effect of enzymolysis on the molecular weight distribution of polysaccharide LPII from Arillus longanae

注: a: LPII、b: LPII1、c: LPII2、d: LPII3。

龙眼肉多糖 LPII 能有效刺激混合脾淋巴细胞和 B 细胞增殖, 并促进 B 细胞抗体生成, 但对 T 细胞无刺激作用, 表现出一定的靶向选择性, 与裂蹄木层孔菌多糖^[8]、灵芝多糖^[9-10]和樱桃多糖^[11]的功效相似。LPII

对于 T/B 细胞的选择性与特异的细胞表面受体作用有关, 而对 B 细胞的刺激作用可能涉及 TLR2/4 和 IgM/CD79 受体介导的 MAPKs 信号通路的活化或 Blimp-1 诱导的浆细胞分化过程中相关基因的调控表达^[12]。

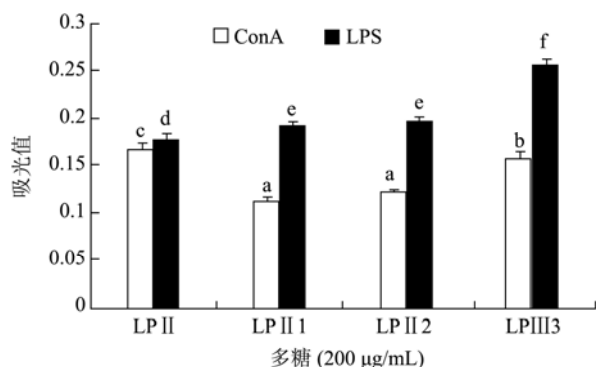


图5 龙眼肉多糖 LPII 及其酶解组分对脾淋巴细胞增殖的影响

Fig.5 Effects of Arillus longanae polysaccharide LPII and its enzyme-degraded products on splenic lymphocyte proliferation

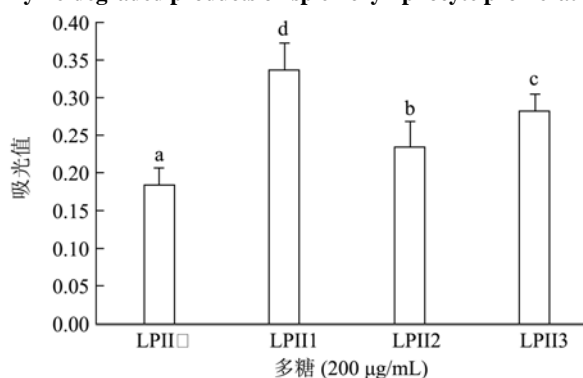


图6 龙眼肉多糖 LPII 及其酶解组分对巨噬细胞吞噬功能的影响

Fig.6 Effects of Arillus longanae polysaccharide LPII and its enzyme-degraded products on macrophage phagocytosis

ConA 和 LPS 诱导的脾淋巴细胞增殖常分别用于评价 T 细胞和 B 细胞活性。LPII 经酶解后对 T 细胞的刺激作用显著降低, 而对 B 细胞和巨噬细胞的刺激作用显著增强。B 细胞和巨噬细胞存在相似的多糖刺激信号转导机制 (TLR2/4→MAPKs), 酶解处理后多糖与 TLR2/4 的亲合能力可能得到增强。酶处理对 LPII 含结合蛋白的低分子量组分的影响并不显著, 反而明显导致含极少量蛋白质的高分子量组分的降解。高分子量组分降解后可能更有利于与受体 TLR2/4 的结合引发免疫应答。枸杞多糖结合蛋白含量高的级分表现出较强的 T 细胞刺激作用^[13], 而结合蛋白的消解不影响刺五加多糖的 B 细胞刺激活性^[14], 说明结合蛋白可能主要与 T 细胞活化有关。这也可能与 LPII 酶解后对 ConA 诱导的脾淋巴细胞刺激作用减弱存在关联。

3 结论

龙眼肉多糖 LPII 能有效增强 B 淋巴细胞和巨噬细胞免疫功能, 但对 T 细胞激活作用不明显, 其选择性刺激作用可能与免疫细胞受体特异性有关。LPII 是龙眼肉多糖的主要活性级分之一, 适度降解有利于增强其免疫调节活性。后期研究将根据 LPII 的选择性刺激作用, 深入揭示 LPII 免疫刺激的细胞作用受体及胞内信号转导机制, 并进一步结合多糖的结构特征探究其免疫调节构效机制。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (一部) [M]. 北京: 化学工业出版社, 2010
Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (1st) [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2010
- [2] 苏东晓, 张名位, 廖森泰, 等. 龙眼果肉水溶性提取物对正常小鼠免疫调节作用的影响[J]. 中国农业科学, 2010, 43(9): 1919-1925
SU Dong-xiao, ZHANG Ming-wei, LIAO Sen-tai, et al. Effects of water soluble extracts from longan on immune regulation in normal mice [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2010, 43(9): 1919-1925
- [3] YI Yang, LIAO Sen-tai, ZHANG Ming-wei, et al. Physicochemical characteristics and immunomodulatory activities of three polysaccharide-protein complexes of longan pulp [J]. Molecules, 2011, 16(7): 6148-6164
- [4] YI Yang, LIAO Sen-tai, ZHANG Ming-wei, et al. Immunomodulatory activity of polysaccharide-protein complex of longan (*Dimocarpus longan* Lour.) pulp [J]. Molecules, 2011, 16(12): 10324-10336
- [5] YI Yang, ZHANG Ming-wei, LIAO Sen-tai, et al. Effects of alkali dissociation on the molecular conformation and immunomodulatory activity of longan pulp polysaccharide LPI [J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 87(2): 1311-1317
- [6] YI Yang, ZHANG Ming-wei, LIAO Sen-tai, et al. Structural features and immunomodulatory activities of polysaccharides of longan pulp [J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 87(1): 636-643
- [7] PENG Y, ZHANG L. Characterization of a polysaccharide-protein complex from *Ganoderma tsugae* mycelium by size-exclusion chromatography combined with laser light scattering [J]. J. Biochem Biophys Methods, 2003, 56(1-3): 243-252
- [8] KIM Gi-young, LEE Jae-yoon, LEE Jeong-ok, et al. Partial characterization and immunostimulatory effect of a novel

- polysaccharide-protein complex extracted from *Phellinus linteus* [J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2006, 70(5): 1218-1226
- [9] YE Li-bin, ZHENG Xiao-lin, ZHANG Jing-song, et al. Biochemical characterization of a proteoglycan complex from an edible mushroom *Ganoderma lucidum* fruiting bodies and its immunoregulatory activity [J]. *Food Research International*, 2011, 44(1): 367-372
- [10] ZHANG Jing-song, TANG Qing-jiu, Zimmerman-Kordmann Martin, et al. Activation of B lymphocytes by GLIS, a bioactive proteoglycan from *Ganoderma lucidum* [J]. *Life Sci.*, 2002, 71(6): 623-638
- [11] DOURADO F, MADUREIRA P, CARVALHO V, et al. Purification, structure and immunobiological activity of an arabinan-rich pectic polysaccharide from the cell walls of *Prunus dulcis* seeds [J]. *Carbohydrate Research*, 2004, 339(15): 2555-2566
- [12] LIN K I, KAO Y Y, KUO H K, et al. Reishi polysaccharides induce immunoglobulin production through the TLR4/TLR2-mediated induction of transcription factor Blimp-1 [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2006, 281(34): 24111-24123
- [13] CHEN Z S, TAN B K H, CHAN S H. Activation of T lymphocytes by polysaccharide-protein complex from *Lycium barbarum* L [J]. *International Immunopharmacology*, 2008, 8(12): 1663-1671
- [14] HAN S B, PARK S K, AHN H J, et al. Characterization of B cell membrane receptors of polysaccharide isolated from the root of *Acanthopanax koreanum* [J]. *Int. Immunopharmacol.*, 2003, 3(5): 683-691