

恰麻古胶囊提取液对树突状细胞成熟及功能的影响

阿地拉·艾皮热 罗娇娇 马 雷 胡焕景 张富春 李金耀*

(新疆生物资源基因工程重点实验室, 新疆大学生命科学与技术学院, 乌鲁木齐 830046)

摘要 维吾尔药恰麻古具有多种药效, 但其对免疫系统的调节作用, 尤其是对树突状细胞(dendritic cell, DC)成熟及功能的作用有待研究。将恰麻古胶囊提取液(*Brassica rapa* L. capsule extract, BRCE)按不同多糖浓度(0.01, 0.1, 0.5, 1 mg/mL)对C57BL/6骨髓来源的DC进行处理。结果显示, 含1 mg/mL多糖的BRCE对DC存活率没有毒性作用, 并且增强DC的成熟及其细胞因子的表达水平, 同时增强了DC刺激同种异体T细胞增殖的能力。进一步研究发现, BRCE上调了脾细胞的增殖能力, 并且DC和B细胞的比例显著增加。该研究表明, BRCE不仅刺激了DC的成熟, 增强了DC的功能, 而且能够刺激B细胞的增殖, 说明BRCE具有潜在的免疫促进作用。

关键词 恰麻古; 树突状细胞; 表面分子; 细胞因子; 细胞增殖

Effects of Extract from *Brassica rapa* L. Capsule on the Maturation and Function of Dendritic Cells

Adila Aipire, Luo Jiaojiao, Ma Lei, Hu Huanjing, Zhang Fuchun, Li Jinyao*

(Xinjiang Key Laboratory of Biological Resources and Genetic Engineering, College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi 830046, China)

Abstract Traditional uyghur medicine *Brassica rapa* L. has been used as tonic for lung and kidney and has a variety of efficacies, such as anti-aging and anti-radiation. It has been used to treat cough, chronic bronchitis and asthma. However, its effects on the regulation of the immune system, especially the maturation and function of dendritic cell (DC), need to be investigated. DCs were induced from C57BL/6 bone marrow (BM) in the presence of murine granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF). On day 7, BM-DCs were treated with different doses of *Brassica rapa* L. Capsule extract (BRCE) according to polysaccharide concentrations (0.01, 0.1, 0.5, 1 mg/mL). DCs treated with lipopolysaccharides (LPS) were used as positive control. The expression of co-stimulatory molecules and the secretion of cytokines were detected by flow cytometry and ELISA, respectively. The function of DC was determined by mixed lymphocyte reaction (MLR). The results showed that BRCE containing 1 mg/mL polysaccharide had no toxic effect on DC survival. The expressions of co-stimulatory molecules (CD40, CD80 and CD86) were up-regulated by BRCE treatment in a dose-dependent manner, and the levels of cytokines (IL-12p40, IL-6, IL-1 β and TNF- α) were also increased and arrived at the maximum in DCs treated with 0.1 mg/mL BRCE. MLR results suggested that BRCE dose-dependently enhanced the ability of DC to stimulate allogeneic T cell proliferation. We further observed that BRCE promoted the proliferation of splenocytes, and the proportions of DCs and B cells were significantly increased by BRCE treatment. These results show that BRCE not only enhances

收稿日期: 2015-07-22 接受日期: 2015-08-24

新疆维吾尔自治区重点实验室开放课题(批准号: 2015KL001)资助的项目

*通讯作者: Tel: 0991-8583259, E-mail: ljyxju@xju.edu.cn

Received: July 22, 2015

Accepted: August 24, 2015

This work was supported by the Open Research Fund Projects of Xinjiang Uygur Autonomous Region Key Laboratory (Grant No.2015KL001)

*Corresponding author: Tel: +86-991-8583259, E-mail: ljyxju@xju.edu.cn

网络出版时间: 2015-09-16 17:25:28

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20150916.1725.010.html>

the maturation, cytokine production and function of DC, but also stimulates DC and B cell proliferation, suggesting that BRCE has the immunostimulatory potential through regulating the activating status of DCs.

Keywords *Brassica rapa* L.; dendritic cell; co-stimulatory molecules; cytokines; proliferation

树突状细胞(dendritic cell, DC)是人体内专职的抗原递呈细胞, 连接固有免疫系统和获得性免疫系统^[1]。DC可以识别、捕获和加工抗原, 并将抗原递呈给naïve T细胞, 激活抗原特异性的免疫反应。不成熟DC分布于机体外周组织, 同时具有很强的抗原吞噬能力, 并通过表面或胞内受体如Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)识别微环境的信号^[2], 刺激DCs成熟, 其特征是增加了表面共刺激分子(CD40、CD80及CD86)、MHC分子以及促炎细胞因子的表达; 成熟DCs表达趋化因子受体而获得迁移到淋巴结的能力, 把抗原呈递给naïve T细胞, 激活抗原特异性的免疫反应^[3]。DC的成熟状态决定了获得性免疫反应的强度和类型^[4]。

中药具有悠久的历史, 对多种人类疾病具有预防和治疗作用。越来越多的证据表明, 中草药及其有效成分对免疫系统具有调节作用, 尤其是可以调节DC的成熟和功能, 从而促进Th1和CTL免疫应答^[5-8]。我们的研究表明, 阿魏菇水提物可以促进DC的成熟, 增强了DC刺激CD8⁺ T细胞的增殖能力和抗原递呈能力^[9]。恰麻古, 又称为芜菁(*Brassica rapa* L.), 属于十字花科(Cruciferae)、芸苔属植物, 原产于地中海北岸, 为世界性栽培的蔬菜。我国主要分布在东北、西北、华北等较北方的地区。恰麻古在新疆南部广泛种植, 是维吾尔药中药食两用、保肺壮身之佳品。恰麻古具有滋阴润肺、治疗哮喘及慢性支气管炎、开胸顺气等功效, 也具有抗衰老、抗辐射等药理活性^[10-11], 但对其免疫调节的机制, 尤其是对DC成熟及功能的影响, 有待进一步研究。本研究旨在通过观察恰麻古胶囊对小鼠骨髓来源DC(BM-DC)成熟以及功能的影响, 探讨恰麻古胶囊是否能够通过增强小鼠DC成熟及功能, 从而发挥免疫增强作用, 为阐明恰麻古的免疫调节机制作初步探索。

1 材料与方法

1.1 恰麻古胶囊水提液的制备

恰麻古胶囊(*Brassica rapa* L. capsule, BRC)购于新疆华圣元医药科技有限公司。其主要材料为恰

麻古, 主要成分为生物碱、总皂苷、黄酮等。BRC 1:50的料液比溶于水, 过滤除菌后对其多糖含量进行测定; 稀释到多糖含量为10 mg/mL, 即为恰麻古胶囊提取液(*Brassica rapa* L. capsule extract, BRCE), 4 °C保存备用。

1.2 实验动物及试剂

6~8周龄的C57BL/6和BALB/c雌性小鼠购于北京维通利华实验动物技术有限公司。小鼠饲养于新疆大学标准的温控和光控动物饲养室, 并按照相关动物管理条例进行饲养, 实验过程严格遵循动物伦理相关规定。

RPMI-1640细胞培养基、胎牛血清购于Gibco公司; GM-CSF购自Peprotech公司; CD40、CD80及CD86抗体购于BD Biosciences公司; ELISA试剂盒购于BOSTER公司; DMSO(二甲基亚砜)、四甲基偶氮唑蓝(MTT)购于Sigma公司; 磷酸盐缓冲液(PBS)购于HyClone公司。

1.3 小鼠骨髓来源DC的诱导培养

参考文献[12], 将C57BL/6小鼠处死后取股骨和胫骨, 用70%乙醇漂洗, 再用RPMI-1640将骨髓细胞从骨髓中冲出, 制备成单细胞悬液, 离心(1 200 r/min, 7 min), 弃上清。用6 mL RPMI-1640培养基(含有10%胎牛血清、1%青霉素-链霉素和20 ng/mL GM-CSF)悬浮细胞并调整细胞浓度为 1×10^6 /mL, 然后加入到60 mm细胞培养皿中, 置于37 °C培养箱(5% CO₂)中培养。在培养的第3 d, 轻轻除去非贴壁细胞并加入新鲜培养液。每隔1 d补充一次新鲜培养液。第7 d收集细胞, 用含不同多糖浓度的BRCE(0, 0.01, 0.1, 0.5, 1 mg/mL)刺激细胞, LPS(100 ng/mL)刺激组为阳性对照组, 12 h后流式细胞技术检测DC存活率及共刺激分子(CD40、CD80和CD86)的表达, 酶联免疫法检测细胞因子水平。

1.4 流式细胞术(flow cytometry)检测

收集不同处理的DCs, 加入10 mL PBS, 离心(1 200 r/min, 7 min), 收集细胞, 进行DC存活率分析: 用PE-CD11c抗体对BM-DCs染色15 min。DC共刺激分子表达分析: 用PE-CD11c抗体、APC-CD40抗体和FITC-CD80抗体或用PE-CD11c抗体和FITC-CD86

抗体染色15 min, 加入10 mL PBS, 离心(1 200 r/min, 7 min), 收集细胞, 然后用250 μ L PBS重悬细胞后铜网过滤。FACSCalibur流式细胞仪(BD Biosciences)进行检测, FlowJo软件进行数据分析。

1.5 酶联免疫法(ELISA)检测BM-DC培养上清液中细胞因子表达水平

收集上述不同处理细胞培养上清液。根据ELISA试剂盒(BOSTER公司)操作步骤检测细胞培养上清液中细胞因子表达水平, 在酶标仪(Bio-Rad)上测定 D_{450} 值。以试剂盒提供的标准品进行标准曲线制备, 最后根据样品吸光值计算出相应细胞因子的浓度。

1.6 MTT法检测细胞增殖反应

混合淋巴细胞反应(mixed lymphocyte reaction, MLR): 收集上述不同处理的DCs并进行计数, 收集BALB/c小鼠脾细胞并进行计数, 将DC和脾细胞分别以1:5和1:10的比例进行共培养。48 h后离心(1 200 r/min, 7 min), 吸掉细胞培养液, 每孔加100 μ L 10% MTT溶液(5 mg/mL)继续孵育4 h后离心, 弃上清, 每孔加入100 μ L DMSO溶液, 在酶标仪(Bio-Rad)上测定 $D_{540/655}$ 值。

脾细胞增殖: 为研究恰麻古胶囊提取液对小鼠脾细胞增殖的影响, 将收集的C57BL/6小鼠脾脏细胞以 1×10^5 /mL铺到96孔板中, 分别加入含不同多糖浓度的BRCE(0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1 mg/mL)处理24 h, 按上述步骤进行检测。

1.7 恰麻古胶囊对脾细胞的影响

将收集的C57BL/6小鼠脾细胞以 1×10^6 /mL铺到24孔板中, 用含不同多糖浓度的BRCE(0.01, 0.05, 0.1, 0.5 mg/mL)进行处理, 阳性对照为LPS(100 ng/mL)处理组。36 h后收集细胞, 用PE-CD19抗体、FITC-CD11c抗体和APC-CD3抗体进行染色, 用FACSCalibur流式细胞仪进行检测, FlowJo软件分析脾细胞中T细胞、B细胞和DC的比例。

1.8 数据处理

实验数据采用统计软件GraphPad Prism 4进行分析。实验数据采用One-Way ANOVA对处理组与对照组进行分析, 以 $P < 0.05$ 表示有显著性差异。

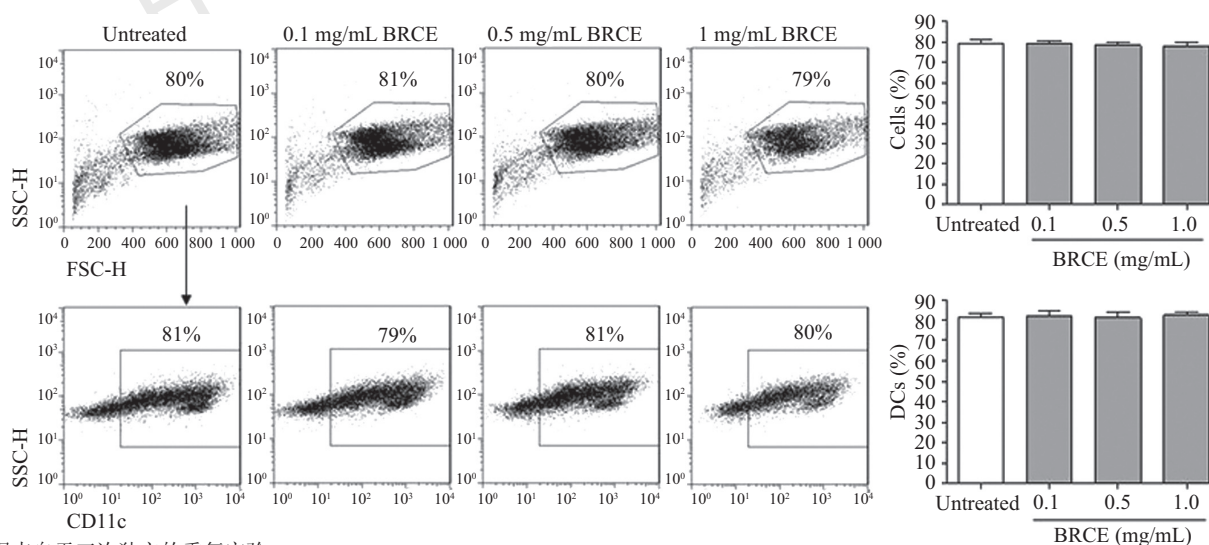
2 结果

2.1 恰麻古胶囊提取液对DC存活率的影响

用含不同多糖浓度的恰麻古胶囊提取液处理BM-DCs, 12 h后采用PE-CD11c抗体进行染色, 流式细胞术进行分析。收集的细胞按照图1所示策略进行门控, 首先用SSC和FSC进行门控, 然后对该群细胞门控CD11c⁺细胞(DC), 分析恰麻古胶囊提取液对诱导培养的骨髓细胞及CD11c⁺细胞比例的影响。结果显示, 恰麻古胶囊提取液处理组与对照组相比, 对骨髓细胞及CD11c⁺细胞存活率均无明显影响(图1)。

2.2 恰麻古胶囊提取液对DC成熟及细胞因子表达的影响

共刺激分子(CD40、CD80及CD86)表达上调是



数据来自于三次独立的重复实验。

Data are from 3 independent experiments.

图1 不同浓度BRCE对DC存活率的影响

Fig.1 Effects of BRCE at different concentrations on DC viability

DC成熟的主要标志^[13-14]。为了检测恰麻古胶囊提取液对DC表达共刺激分子的影响, 将不同浓度恰麻古胶囊提取液处理后的细胞用相应的荧光标记的抗体进行染色, 通过流式细胞仪检测其相对荧光强度。如图2A所示, 恰麻古胶囊提取液对DC表面CD40、CD80及CD86的表达均具有促进作用, 并呈现剂量依赖性。

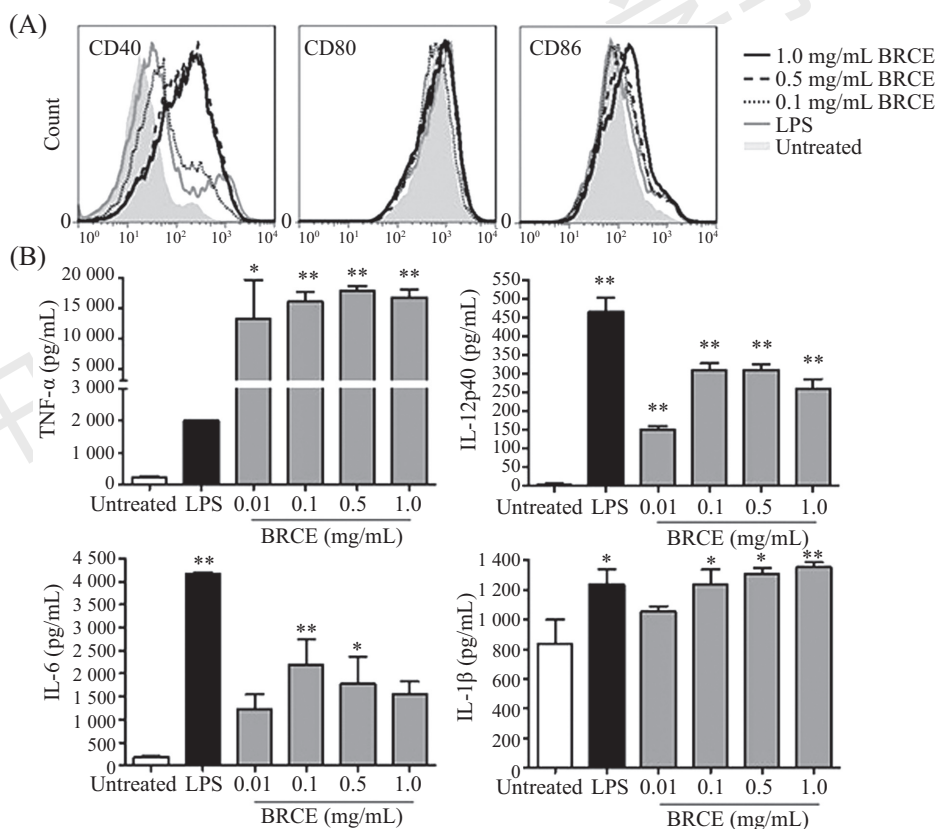
我们进一步检测了恰麻古胶囊提取液处理后DC细胞因子(包括IL-1 β 、IL-6、IL-12p40及TNF- α)的蛋白表达水平。ELISA结果表明, 恰麻古胶囊提取液显著增强了IL-1 β 、IL-6、IL-12p40及TNF- α 的表达水平(图2B), 并且在0.1 mg/mL时就已达到最高水平。结果显示, 恰麻古胶囊提取液不仅增加了DC表面共刺激分子的表达, 而且增强了促炎细胞因子的表达, 尤其是IL-12和TNF- α 的表达, 说明恰麻古胶囊提取液能促进DC的成熟。

2.3 恰麻古胶囊提取液处理的DC对同种异体T细胞增殖的影响

上述实验结果表明, 恰麻古胶囊提取液能促进DC的成熟。我们进一步通过混合淋巴细胞反应(MLR)检测其对DC功能的影响。如图3所示, 恰麻古胶囊提取液处理的C57BL/6小鼠骨髓来源的DC以不同比例与同种异体脾细胞(来自BALB/c小鼠)混合培养48 h后, 与未处理组相比, 能显著增强T细胞的增殖, 并且恰麻古胶囊提取液剂量依赖性地增强了DC的功能。

2.4 恰麻古胶囊提取液对脾细胞增殖的影响

恰麻古胶囊提取液增强了DC的成熟和功能, 为了研究恰麻古胶囊提取液对其他免疫细胞(尤其是T细胞和B细胞)是否有刺激作用, 我们收集了C57BL/6小鼠脾细胞, 用不同浓度的恰麻古胶囊提取液对脾细胞进行处理。24 h后, 采用MTT法检测

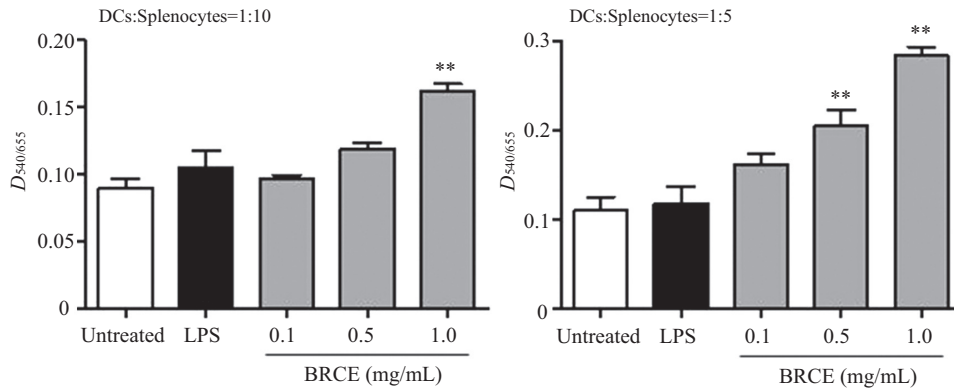


A: 流式细胞术检测含不同多糖浓度的BRCE(0.1, 0.5, 1.0 mg/mL)和100 ng/mL LPS处理后DC共刺激分子表达; B: ELISA检测DC培养上清中细胞因子表达量。数据为三次实验中的一次, 每种处理三个样本。* P <0.05, ** P <0.01, 与未处理组相比。

A: the expressions of co-stimulatory molecules (CD40, CD80 and CD86) on BM-DCs treated with 0.1, 0.5, 1.0 mg/mL BRCE and 100 ng/mL LPS were analyzed by flow cytometry; B: the cytokine production of BM-DCs upon BRCE treatment was detected by ELISA. Data are from one of three independent experiments. * P <0.05, ** P <0.01 compared with untreated group (0 mg/mL BRCE).

图2 不同浓度BRCE对DCs成熟的影响

Fig.2 Effects of BRCE at different concentrations on maturation of DCs



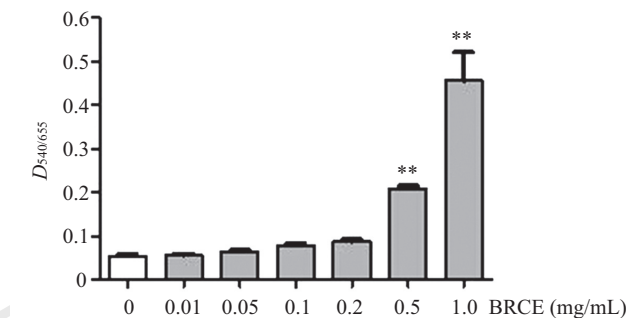
每种处理三个重复。** $P < 0.01$, 与未处理组相比。

Each group contained 3 samples. ** $P < 0.01$ compared with untreated group (0 mg/mL BRCE).

图3 不同浓度BRCE对DC功能的影响

Fig.3 Effects of BRCE at different concentrations on DC function

脾细胞的增殖。如图4所示, 随着恰麻古胶囊提取液浓度的升高, 脾脏细胞的增殖逐渐增强, 处理组与空白对照组相比, 在0.5, 1.0 mg/mL时达到了显著性差异($P < 0.05$)。结果表明, 恰麻古胶囊提取液对脾细胞的增殖有促进作用。我们进一步通过流式细胞技术检测了恰麻古胶囊提取液对哪种细胞增殖有促进作用。不同浓度恰麻古胶囊提取液处理脾细胞, 36 h后, 用APC-CD3、PE-CD19和FITC-CD11c抗体对脾细胞进行染色, 流式细胞技术检测脾细胞中T细胞($CD3^+$)、B细胞($CD19^+$)、DC($CD11c^+$)的比例(图5A)。结果显示, 0.5 mg/mL的恰麻古胶囊提取

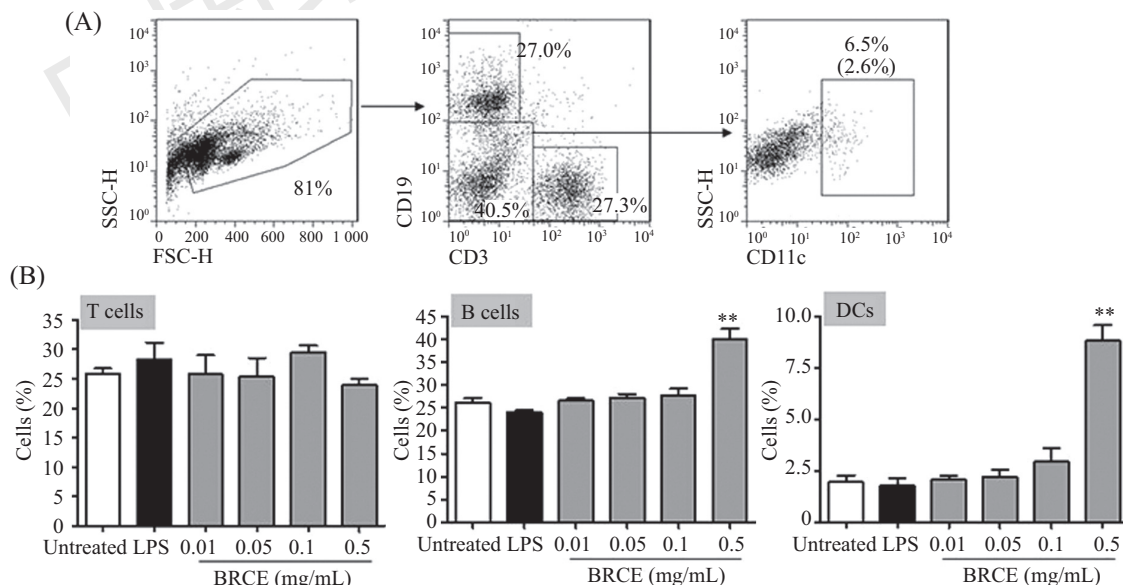


每种处理三个重复。** $P < 0.01$, 与未处理组相比。

Each group contained 3 samples. ** $P < 0.01$ compared with untreated group (0 mg/mL BRCE).

图4 不同浓度BRCE对脾脏细胞增殖的影响

Fig.4 Effects of BRCE at different concentrations on splenocytes proliferation



A: 对脾中不同细胞群($CD3^+$ 、 $CD19^+$ 、 $CD11c^+$)进行门控; B: 不同浓度BRCE(0.01, 0.05, 0.1, 0.5 mg/mL)和100 ng/mL LPS处理小鼠脾细胞后, 流式细胞术检测脾中T细胞、B细胞及DCs的比例。每种处理三个重复。 ** $P < 0.01$, 与未处理组相比。

A: the gating strategy for $CD3^+$, $CD19^+$ and $CD11c^+$ cells using flowjo software; B: the proportion of T cells, B cells and DCs in splenocytes treated with BRCE at different concentrations. Each group contained 3 samples. ** $P < 0.01$ compared with untreated group (0 mg/mL BRCE).

图5 不同浓度BRCE对脾脏中T细胞、B细胞及DCs比例的影响

Fig.5 Effects of BRCE at different concentrations on the proportions of T cells, B cells and DCs in spleen

液显著提高了B细胞和DC的比例, 但是对T细胞没有影响(图5B)。这些结果表明, 恰麻古胶囊提取液不仅增强了DC的成熟和功能, 而且促进了B细胞的增殖。

3 讨论

越来越多的研究证明, 中草药可以通过调节免疫系统达到预防和治疗疾病的目的, 尤其是对抗原递呈细胞的调节作用^[7]。有文献报道, 新疆恰麻古多糖具有抗肿瘤、抗氧化作用^[15-16]。马合木提等^[17]通过体外试验研究恰麻古籽提取物的抗氧化活性发现, 恰麻古籽乙酸乙酯和正丁醇提取物具有清除氧自由基、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)和羟基自由基($\cdot\text{OH}$)的能力。有文献报道, 恰麻古蜜膏能提高小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬能力, 能明显增强二硝基氯苯(DNCB)引起的迟发型超敏反应, 提高小鼠单核吞噬细胞清除血液中碳粒的能力, 提高小鼠血清中IgM抗体水平, 是良好的免疫促进剂^[18]。虽然之前的研究已经证明了恰麻古具有增强机体免疫的能力, 但其对DC的成熟和功能的影响还有待进一步研究。

DC是机体内最重要的专职抗原递呈细胞, 将抗原递呈给naïve T细胞, 激活获得性免疫应答。成熟的DC会增加MHC分子和共刺激分子(如CD40、CD80和CD86)的表达以及分泌一些细胞因子(如IL-12、IL-6、TNF- α 等), 从而提高其抗原递呈和活化T细胞的能力^[19]。DC的成熟在诱导抗原特异性T细胞中起着关键性的作用, DC的成熟状态决定了获得性免疫反应的强度和类型^[4]。本研究表明, 恰麻古胶囊提取液增强了DC表面共刺激分子CD40、CD80及CD86的表达, 并高于LPS刺激DC表面共刺激分子表达的能力; 同时, 提高了促炎细胞因子IL-1 β 、IL-6、TNF- α 以及IL-12的表达量。恰麻古胶囊提取液刺激IL-12及IL-6表达的能力低于LPS, 刺激IL-1 β 表达的能力与LPS相似, 但刺激TNF- α 的能力显著高于LPS, 该结果与我们之前的研究相似^[9], 说明恰麻古胶囊提取液刺激DC成熟的途径与LPS并不完全相同。因此, 后续的实验将对恰麻古胶囊刺激DC成熟的作用机理进行研究, 进一步阐明恰麻古胶囊调节免疫系统的机理。对DC的功能研究发现, 恰麻古胶囊提取液刺激的DC增强了同种异体T细胞的增殖。这些结果说明, 恰麻古可能是通过促

进了DC的成熟及功能, 从而增强了机体的免疫力。进一步研究发现, 恰麻古胶囊提取液对B细胞也具有促进增殖的作用, 可能与机体产生的抗体水平有关, 但其作用机理有待进一步的研究。

总之, 恰麻古胶囊不仅增强了DC的成熟及功能, 而且促进了DC和B细胞的增殖活性, 从而提高了机体的免疫力。

参考文献 (References)

- 1 Duluc D, Gannevat J, Joo HM, Ni L, Upchurch K, Boreham M, *et al.* Dendritic cells and vaccine design for sexually-transmitted diseases. *Micro Pathog* 2013; 58: 35-44.
- 2 Huang D, Nie S, Jiang L, Xie M. A novel polysaccharide from the seeds of *Plantago asiatica* L. induces dendritic cells maturation through toll-like receptor 4. *Int Immunopharmacol* 2014; 18(2): 236-43.
- 3 Gordon JR, Ma Y, Churchman L, Gordon SA, Dawicki W. Regulatory dendritic cells for immunotherapy in immunologic diseases. *Front Immunol* 2014; 5: 7.
- 4 Garg R, Shrivastava P, van Drunen Littel, van den Hurk S. The role of dendritic cells in innate and adaptive immunity to respiratory syncytial virus, and implications for vaccine development. *Expert Rev Vaccines* 2012; 11(12): 1441-57.
- 5 Chen X, Yang L, Howard OM, Oppenheim JJ. Dendritic cells as a pharmacological target of traditional Chinese medicine. *Cell Mol Immunol* 2006; 3: 401-10.
- 6 Chang JM, Hung LM, Chyan YJ, Cheng CM, Wu RY. *Carthamus tinctorius* enhances the antitumor activity of dendritic cell vaccines via polarization toward Th1 cytokines and increase of cytotoxic T lymphocytes. *Evid Based Complement Alternat Med* 2011; 2011: 274858.
- 7 Chang WT, Chen HM, Yin SY, Chen YH, Wen CC, Wei WC, *et al.* Specific *Dioscorea* phytoextracts enhance potency of TCL-loaded DC-based cancer vaccines. *Evid Based Complement Alternat Med* 2013; 2013: 932040.
- 8 Li J, Li J, Zhang F. The immunoregulatory effects of Chinese herbal medicine on the maturation and function of dendritic cells. *J Ethnopharmacol* 2015; 171(2015): 184-95.
- 9 Li J, Wang X, Wang W, Luo J, Aipire A, Li J, *et al.* *Pleurotus ferulae* water extract enhances the maturation and function of murine bone marrow-derived dendritic cells through TLR4 signaling pathway. *Vaccine* 2015; 33(16): 1923-33.
- 10 海力茜·陶尔大洪, 周芳, 杨珊, 杨永新. 维药恰麻古止咳、祛痰及平喘的药效学研究. 中成药(Taoerdahong-Hailiqian, Zhou Fang, Yang Shan, Yang Yongxin. *Chinese Traditional Patent Medicine*) 2011; 33(4): 682-5.
- 11 王花, 吴萍, 文绍敦. 高原玉树地区药食两用植物芫菁的抗衰老作用. 中国老年学杂志(Wang Hua, Wu Ping, Wen Shaodun. *Chinese Journal of Gerontology*) 2012; 11: 52.
- 12 Inaba K, Inaba M, Romani N, Aya H, Deguchi M, Ikehara S, *et al.* Generation of large numbers of dendritic cells from mouse bone marrow cultures supplemented with granulocyte/macrophage colony-stimulating factor. *J Exp Med* 1992; 176(6): 1693-702.

- 13 Ghimire TR, Benson RA, Garside P, Brewer JM. Alum increases antigen uptake, reduces antigen degradation and sustains antigen presentation by DCs *in vitro*. *Immunol Lett* 2012; 147(1): 55-62.
- 14 Awate S, Babiuk L A, Mutwiri G. Mechanisms of action of adjuvants. *Front Immunol* 2013; 4.
- 15 姚 军, 乌 英, 海力茜·陶尔大洪, 古娜娜·对山别克. 恰麻古多糖的体外抗氧化作用研究. *华西药理学杂志*(Yao Jun, Wu Ying, Taoerdahong·Hailiqian, Duishanbieke·Gunana. *West China Journal of Pharmaceutical Sciences*) 2014; 29(5): 606-7.
- 16 李雅双, 连路宁, 阿西娜, 刘 杰, 刘春兰. 芜菁化学成分及生物活性的研究进展. *时珍国医国药*(Li Yashuang, Lian Luning, A Xina, Liu Jie, Liu Chunlan. *Advance in the study on the chemical constituents and biological activity of the *Brassica rapa* L.* *Li shizhen Medicine and Materia Medica Research*) 2013; 24(9): 2247-9.
- 17 马合木提·买买提明, 赛力慢·哈得尔, 玛尔哈巴·吾斯满. 芜菁籽不同溶剂提取物体外抗氧化活性研究. *化学研究与应用*(Mahemut·Maimaitimin, Sailiman·Hadeer, Maerhaba·Wusimanl. *Turnip seed different solvent extracts the study on antioxidant activity *in vitro**. *Chemical Research and Application*) 2013; 25(6): 829-33.
- 18 孙 艳, 安熙强, 马 媛, 张 涛, 姚 华, 贾鸿雁, 等. 恰玛古蜜膏对小鼠免疫功能的影响. *中国医药导报*(Sun Yan, An Xiqiang, Ma Yuan, Zhang Tao, Yao Hua, Jia Hongyan, *et al.* *The effect of *Brassica campestris* ointment on immune function of mice.* *China Medical Herald*) 2010; 7(6): 20-2.
- 19 Sousa CR. Dendritic cells in a mature age. *Nat Rev Immunol* 2006; 6(6): 476-83.