

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2019.03.12

# 茶树油提取物粉对小鼠免疫功能的影响

庞艳华<sup>1</sup>, 郝福星<sup>2</sup>, 韩玲玲<sup>1</sup>, 韦芊含<sup>1</sup>, 赵泽婷<sup>1</sup>, 陈昕<sup>1</sup>, 张雨梅<sup>1,3\*</sup>

(1.扬州大学兽医学院,扬州 225009;2.江苏农牧科技职业学院,泰州 225300;

3.江苏省动物重要疫病与人兽共患病防控协同创新中心,扬州 225009)

[收稿日期] 2018-08-29 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2019) 03-0072-07 [中图分类号] S859.79

**[摘要]** 研究茶树油提取物粉对小鼠免疫功能的影响,为茶树油产品的研发及作为畜禽养殖添加剂的应用积累资料。茶树油提取物粉对小鼠的经口急性毒性  $LD_{50} > 5000 \text{ mg/kg b.w.}$ 。茶树油提取物粉分别以 1250、250、50  $\text{mg/kg b.w.}$  灌胃给予连续 10 d,分别进行腹腔巨噬细胞吞噬活性和脾淋巴细胞增殖试验,测定免疫器官指数、血清溶血素水平及外周血  $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ T 淋巴细胞亚群水平。结果表明茶树油提取物粉高、中、低剂量组能极显著增加小鼠脾脏指数 ( $P < 0.01$ ),中剂量能显著增加肝脏指数和胸腺指数 ( $P < 0.05$ )。中、高剂量能显著提高腹腔巨噬细胞吞噬活性和血清溶血素水平 ( $P < 0.05$ )。三个剂量组均能显著提高小鼠脾淋巴细胞增殖的刺激指数 ( $P < 0.05$ )。中剂量组能显著增加小鼠  $CD4^+/CD8^+$  比值 ( $P < 0.05$ )。因此,茶树油提取物粉在一定程度上能够提高小鼠细胞免疫和体液免疫,具有增强小鼠免疫功能的作用。

**[关键词]** 茶树油提取物;小鼠;免疫功能;淋巴细胞增殖;血清溶血素;巨噬细胞吞噬

## Effect of the Powder of Tea Tree Oil Extract on the Immune Function of Mice

PANG Yan-hua<sup>1</sup>, HAO Fu-xing<sup>2</sup>, HAN Ling-ling<sup>1</sup>, WEI Qian-han<sup>1</sup>,

ZHAO Ze-ting<sup>1</sup>, CHEN Xin<sup>1</sup>, ZHANG Yu-mei<sup>1,3\*</sup>

(1.College of Veterinary Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China; 2.Jiangsu Animal Husbandry and Veterinary College, Taizhou 225300, China;

3.Jiangsu Co-innovation Center for Prevention and Control of Important Animal Infectious Diseases and Zoonoses, Yangzhou 225009, China)

Corresponding author: ZHANG Yu-mei, E-mail: zym@yzu.edu.cn

**Abstract:** To study the effect of the tea tree oil extract powder on the immune function of mice, and to accumulate data for the research and development of the tea tree oil products and the application as additives for livestock and poultry breeding. Acute oral toxicity of the tea tree oil extract powder to mice is  $LD_{50} > 5000 \text{ mg/kg b.w.}$  ICR mice were orally administered at dose of 1250, 250 and 50  $\text{mg/kg b.w.}$  for 10 consecutive days respectively, the peritoneal macrophage phagocytosis activity and spleen lymphocyte proliferation test were performed respectively, and the immune organ index, serum hemolysin levels and level of  $CD3^+$ ,  $CD4^+$ ,  $CD8^+$  T lymphocyte subsets in

**基金项目:** 江苏高校优势学科建设工程项目

**作者简介:** 庞艳华, 硕士研究生, 研究方向: 兽医药理与毒理学, E-mail: 1029913954@qq.com; 郝福星, 与庞艳华为共同第一作者。

**通讯作者:** 张雨梅。E-mail: zym@yzu.edu.cn

peripheral blood were determined. The results showed that the high, medium and low doses of the tea tree oil extract could significantly increase the spleen index of mice ( $P<0.01$ ), and the medium dose could significantly increase the liver index and thymus index ( $P<0.05$ ). Medium and high doses of the tea tree oil extract could significantly increase the peritoneal macrophage phagocytic activity and serum hemolysin level ( $P<0.05$ ). The stimulation index of mouse spleen lymphocyte proliferation was significantly increased in all three dose groups ( $P<0.05$ ). The middle dose group significantly increased the  $CD4^+/CD8^+$  ratio in mice ( $P<0.05$ ). The conclusion is that the tea tree oil extract powder can improve the cellular immunity and humoral immunity of mice to a certain extent, and has the effect of promoting the immune function of mice.

**Key words:** tea tree oil extract powder; mice; immune function; lymphocyte proliferation; serum hemolysin; macrophage phagocytosis

茶树为桃金娘科白千层属植物,茶树油是从其新鲜枝叶中提取的,经水蒸气蒸馏得到的天然芳香精油<sup>[1-2]</sup>。茶树油主要由单萜组成,具有抗菌<sup>[3]</sup>、抗真菌<sup>[4]</sup>、抗病毒<sup>[5]</sup>和消炎等作用。在澳大利亚,茶树油作为民间药物常用来治疗感染、炎症、腹泻和外伤<sup>[6]</sup>。在二战期间,茶树油也发挥了巨大作用,在治疗伤员的皮肤损伤上效果显著<sup>[7]</sup>。目前茶树油是已发现的天然物质中抗菌作用最强的,也是极具价值和发展潜力的纯天然植物精油之一<sup>[8-9]</sup>。

目前,我国对茶树油无论是提取还是深加工都得到了很好的成果,茶树油及其相关产品的开发应用具有良好的前景。本研究拟通过灌胃给予小鼠茶树油,首先进行急性毒性试验,确定  $LD_{50}$  值,然后通过小鼠腹腔巨噬细胞吞噬活性试验、脾淋巴细胞增殖能力试验、免疫器官指数试验、测定血清溶血素水平及外周血  $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ T 淋巴细胞亚群水平,考察茶树油提取物粉对小鼠免疫功能的影响,为探索茶树油及其主要成分的作用,获得可靠数据,以研制出新的茶树油深加工产品,为茶树油产品在日化、食品、香料、医药等行业的应用提供理论基础<sup>[10-11]</sup>。

## 1 材料

1.1 实验动物 ICR 小鼠(清洁级),体重 18~22 g,购自扬州大学比较医学中心。动物生产许可证号为 SCXK(苏)2017-0004,使用许可证号为 SYXK(苏)2017-0044。饲喂经 60Co 照射饲料,环境温度(24±2)℃,湿度为(60±20)%,饮水为符合城

市饮用水标准的自来水。试验开始前于实验环境中适应 3 d,灌胃前禁食 12 h,不限制其饮水。

1.2 试验药品 茶树油提取物粉(澳叶宝),由 20%澳洲茶树油提取物与微晶纤维素制成的白色粉末,由江苏无锡晨芳生物科技有限公司提供,批号为 20160320。

表 1 茶树油提取物主要成分

Tab 1 The main composition of the tea tree oil extract powder/%

主要成分 Main compositions	茶树油成分含量 Content of tea tree oil
α-蒎烯 α-pinene	1
α-松油烯 α-terpinene	10
对伞花烃 β-cymene	7.5
1,8-桉叶素 1,8-cineole	5
松油烯醇-4 Terpinen-4-ol	60
α-松油醇 α-terpineol	3

1.3 主要试剂 RPMI1640 培养基、胎牛血清均购自美国 HyClone 公司;100×青霉素链霉素溶液,购自碧云天生物技术有限公司;MTT、小鼠淋巴细胞分离液、台盼蓝均购自生工生物工程(上海)股份有限公司,MTT 用 pH7.2~7.4 PBS 配成 5 mg/mL 的溶液,微孔滤器过滤除菌,4℃避光保存,不能超过 1 个月,现配现用;刀豆蛋白 A IV(ConA, IV),购自美国 Sigma 公司,20 μg/mL ConA 用 RPMI1640 完全培养液稀释,微孔滤器过滤除菌,现配现用;DMSO,购自国药集团化学试剂有限公司。

## 2 方法

2.1 急性毒性试验 根据预试验结果,茶树油提取物粉剂量达 5000 mg/kg b.w.时,小鼠未出现死亡。因茶树油提取物粉的毒性较小,无法测出 LD<sub>50</sub> 数值,根据急性毒性试验技术规范,对茶树油提取物粉进行最大给药量试验。

取 ICR 小鼠 20 只,雌、雄各半,以 0.2 mL/10g b.w. 给药容积灌胃,剂量为 5000 mg/kg b.w.。连续观察 2 周,并记录动物中毒症状及死亡情况。

### 2.2 对小鼠免疫功能的影响

2.2.1 试验分组 将 ICR 小鼠随机分成 4 组,每组 10 只,雌雄各半。茶树油提取物粉以 1% 羧甲基纤维素钠溶液配制成混悬液,灌胃给予。茶树油提取物粉试验组分为高剂量(1250 mg/kg b.w.)、中剂量(250 mg/kg b.w.)、低剂量组(50 mg/kg b.w.)以及 1% 羧甲基纤维素钠对照组。以 0.2 mL/10g b.w 给药容积灌胃,每天给药一次,连续灌胃 10 d 后,分别进行以下试验。

2.2.2 免疫器官指数试验 ICR 小鼠分组及处理同 2.2.1。小鼠连续灌胃 10 天后,于第 11 天,脱颈椎处死小鼠,称量小鼠体重及肝脏、脾脏、胸腺的重量,并按以下公式计算免疫器官指数(肝脏指数、脾脏指数、胸腺指数)<sup>[12]</sup>。

免疫器官指数 = 免疫器官鲜重(g)/体重(g) × 100%

2.2.3 腹腔巨噬细胞吞噬活性试验 小鼠灌胃 10 d 后,于第 11 天,按照文献<sup>[13]</sup>的方法,测定腹腔巨噬细胞吞噬活性。

2.2.4 脾淋巴细胞增殖试验 小鼠灌胃 10 d 后,于第 11 天,无菌取脾、研磨后过 200 目不锈钢网,

用 RPMI 1640 完全培养液制成单细胞悬液。根据文献<sup>[14]</sup>的方法,测定脾淋巴细胞增殖能力。

2.2.5 外周血 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞亚群水平测定试验 小鼠连续灌胃 10 d,于末次灌胃 12 h 后,摘眼球采血 0.5 mL,以 4% EDTA-Na<sub>2</sub> 抗凝。根据文献<sup>[15]</sup>的方法,测定小鼠外周血 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞水平。

2.2.6 血清溶血素水平测定试验 小鼠分组及处理同 2.2.1。于灌胃第 3 天,每只小鼠腹腔注射 0.2 mL 的 5% 鸡红细胞进行免疫,小鼠免疫后再连续灌胃 7 d,摘眼球取血,根据文献<sup>[16]</sup>的试验方法,测定血清溶血素。

2.3 数据处理 数据统计采用 SPSS17.0 软件,以平均数 ± 标准差表示。采用单因素分析 Duncan's 法进行显著性分析,以 P < 0.05 作为差异显著性水平。

## 3 结果与分析

3.1 茶树油提取物粉的小鼠急性毒性试验 茶树油提取物粉按 5000 mg/kg b.w. 剂量灌胃给予小鼠后,二周内未见明显的眼观异常。

茶树油提取物粉对小鼠经口 LD<sub>50</sub> 大于 5000 mg/kg b.w., 根据 WHO 对化学物急性毒性分级标准,茶树油提取物粉属于实际无毒级别。

3.2 茶树油提取物粉对小鼠免疫器官的影响 不同剂量茶树油提取物粉对小鼠免疫器官指数的影响见表 3-1。与对照组相比,茶树油高、中、低剂量组均能极显著增加小鼠脾脏指数 (P < 0.01); 250 mg/kg b.w. 剂量组能显著提高小鼠肝脏指数和胸腺指数 (P < 0.05); 50、1250 mg/kg b.w. 剂量组的肝脏指数和胸腺指数的差异不显著 (P > 0.05)。

表 3-1 对小鼠免疫器官指数的影响

Tab 3-1 Effect on immune organ index in mice/%

剂量组 Dose groups	肝 Liver	脾 Spleen	胸腺 Thymus
正常对照 Control	5.79±0.89	0.37±0.04	0.26±0.04
50 mg/kg b.w.	4.95±0.59	0.46±0.09**	0.32±0.05
250 mg/kg b.w.	6.53±0.76*	0.55±0.14**	0.42±0.04*
1250 mg/kg b.w.	6.42±0.83	0.67±0.19**	0.29±0.02

与正常对照组比较, \* P < 0.05, \*\* P < 0.01

Compared with the normal control group, \* P < 0.05, \*\* P < 0.01

3.3 腹腔巨噬细胞吞噬活性试验 不同剂量的茶树油提取物粉对小鼠巨噬细胞吞噬活性的影响见表3-2。由表3-2可以看出,与对照组相比,茶树油提取物粉三个试验剂量,都可增加小鼠巨噬细胞

的吞噬活性,但 50 mg/kg b.w.剂量差异不显著( $P>0.05$ );250 mg/kg b.w.剂量组差异极显著( $P<0.01$ );1250 mg/kg b.w. 剂量组差异显著( $P<0.05$ )。

表 3-2 对小鼠巨噬细胞吞噬活性、血清溶血素及脾淋巴细胞增殖的影响

Tab 3-2 Effects of phagocytic activity, serum hemolysin and spleen lymphocyte proliferation in mouse macrophages

剂量组 Dose groups	巨噬细胞吞噬(OD 值比) Macrophage phagocytosis (OD ratio)	血清溶血素(OD 值比) Serum hemolysin (OD ratio)	刺激指数 Stimulus index
正常对照 Control	1.00±0.23	1.21±0.02	1.86±0.44
50 mg/kg b.w.	1.33±0.38	1.32±0.05	3.04±0.65 *
250 mg/kg b.w.	1.57±0.15 **	1.48±0.13 *	4.53±0.24 **
1250 mg/kg b.w.	1.36±0.25 *	1.37±0.04 *	4.11±0.98 **

与正常对照组比较, \*  $P<0.05$ , \*\*  $P<0.01$

Compared with the normal control group, \*  $P<0.05$ , \*\*  $P<0.01$ .

3.4 茶树油提取物粉对小鼠脾淋巴细胞增殖的影响 不同剂量组茶树油提取物粉对小鼠脾淋巴细胞增殖能力的影响结果见表3-2。由表可以看出,与对照组相比,茶树油提取物粉三个试验剂量处理后,小鼠脾淋巴细胞刺激指数均显著升高( $P<0.05$ )。50 mg/kg b. w. 剂量组刺激指数显著提高;250 mg/kg b.w.剂量组和1250 mg/kg b.w.剂量组刺激指数极显著的升高,极显著的增强了小鼠脾淋巴细胞增殖能力。

3.5 茶树油提取物粉对外周血 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>和 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞亚群水平的影响 茶树油提取物粉对小鼠外周血 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>和 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞亚群水平的影响结果见表3-3。与对照组相比,50 mg/kg b.w.剂量组 CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞数量显著增加( $P<0.05$ );250 mg/kg b.w.剂量组 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比值显著增加( $P<0.05$ );高、中低剂量茶树油提取物对小鼠外周血 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>和 CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>指标无显著影响( $P>0.05$ )。

表 3-3 对小鼠外周血 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>和 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞亚群的影响

Tab 3-3 Effects of CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T lymphocyte subsets in peripheral blood of mice

剂量组 Dose groups	CD3 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup>	CD8 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>	CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>
正常对照 Control	37.36±4.69	73.03±2.28	20.04±2.35	3.59±0.28	57.40±5.53	93.06±1.99
50mg/kg b.w.	39.25±7.40	71.13±1.58	23.00±2.00	3.70±0.53	62.25±8.87 *	94.13±0.62
250mg/kg b.w.	37.58±3.64	73.10±2.50	20.77±1.71	3.75±0.31 *	58.35±2.32	93.87±1.13
1250mg/kg b.w.	36.83±8.37	70.22±3.55	23.15±3.62	3.66±0.80	56.65±8.83	93.87±0.52

与正常对照组比较, \*  $P<0.05$

Compared with the normal control group, \*  $P<0.05$

3.6 茶树油提取物粉对小鼠血清溶血素水平的影响 茶树油提取物粉对小鼠血清溶血素的影响结果见表3-2。由表可以看出,与对照组相比,250 mg/kg b.w.和1250 mg/kg b.w. 剂量组中小鼠血清溶血素水平均显著性增加( $P<0.05$ )。但50 mg/kg b.w.剂

量组中小鼠血清溶血素水平增加不显著( $P>0.05$ )。

#### 4 讨论与结论

4.1 小鼠急性毒性实验 急性毒性实验一般采用啮齿类或非啮齿类两种动物。通常为小鼠或大鼠采用经口、吸入或经皮感染途径。对小鼠进行一次

或 24 h 内多次接触外源化学物后,观察动物急性中毒表现,来了解新药急性毒性的强弱,为长期毒性试验和特殊毒性试验剂量设置提供依据,同时为新药药理学研究提供参考<sup>[17]</sup>。本试验中茶树油提取物粉经口 LD<sub>50</sub>大于 5000 mg/kg b.w.,属于实际无毒级别。

**4.2 小鼠免疫器官与免疫功能** 免疫器官是机体免疫系统的重要组成部分,胸腺是 T 淋巴细胞分化成熟的部位,脾脏是机体内最大的外周免疫器官,介导着全身的体液免疫和细胞免疫<sup>[18]</sup>。而肝脏又是体内最大的解毒器官,机体主要靠肝脏来代谢,承担着维持生命的重要功能。免疫器官指数是衡量机体免疫器官发育情况的经典指标。本次试验中,不同剂量的茶树油提取物粉能显著提高小鼠的脾脏指数,对小鼠的脾脏发育有着极明显的促进作用,而 250 mg/kg b.w. 剂量组的肝脏指数和胸腺指数有显著提高,效果最好。这说明茶树油提取物粉能促进脾脏、肝脏和胸腺等免疫器官的增重,增强了机体的免疫功能。

**4.3 腹腔巨噬细胞是评价免疫功能的重要指标** 巨噬细胞广泛分布于机体内,在免疫反应中具有重要作用,它不仅参与非特异性吞噬功能,还是特异性免疫中一类关键的细胞<sup>[19-20]</sup>。巨噬细胞能参与摄取、加工、处理、提呈抗原并激发免疫反应。本次实验中,通过对小鼠腹腔巨噬细胞的收集、分离和培养,探讨茶树油提取物粉对小鼠免疫功能的影响。实验结果表明,茶树油提取物粉三个试验剂量,都可增加小鼠巨噬细胞的吞噬活性,这说明茶树油提取物粉能提高小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬活性,促进小鼠巨噬细胞的吞噬作用。

**4.4 小鼠脾淋巴细胞增殖是评价免疫功能的重要指标** 小鼠淋巴细胞的转化功能可以作为特异性细胞免疫功能的指标,是评价机体免疫功能的重要指标之一,淋巴细胞的增殖状况反映了机体细胞免疫的状况。脾细胞的增殖能力可以通过研究脾脏 T 淋巴细胞在促分裂剂 ConA 作用下的增殖能力来反应细胞免疫功能<sup>[24]</sup>。刺激指数 SI 值与活脾脏淋巴细胞数呈正相关。SI 值越大,淋巴细胞增殖能力

越强。试验不同剂量组茶树油提取物粉对小鼠脾淋巴细胞的增殖转化影响。试验结果表明,茶树油提取物粉三个剂量组的 SI 值显著高于正常对照组,这说明不同剂量组的茶树油提取物粉能促进淋巴细胞的增殖转化,且 250 mg/kg b.w. 和 1250 mg/kg b.w. 剂量组效果显著。证实茶树油提取物粉在一定剂量下能提高特异性细胞免疫功能,增强细胞免疫。

**4.5 外周血 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞亚群是评价免疫功能的重要指标** 淋巴细胞亚群主管细胞免疫,具有抵抗病毒和调节免疫系统功能的作用<sup>[25]</sup>,细胞功能取决于 T 淋巴细胞总值(CD3<sup>+</sup>)及其亚群(CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>)的相对组成。流式细胞分析仪 FCM 根据淋巴细胞表面标志的不同来检测各淋巴细胞亚群。用 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值来判断机体内部是否紊乱,CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值上升,则表明细胞免疫功能活跃,反之则细胞免疫功能处于迟滞状态<sup>[26]</sup>。试验结果发现,茶树油提取物粉 250 mg/kg b.w. 剂量组 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值显著增加( $P < 0.05$ ),表明细胞免疫功能处于活跃状态,其他剂量组与对照组相比差异不显著。这说明 250mg/kg b.w. 剂量的茶树油提取物粉对细胞免疫功能有促进作用,能提高机体的免疫功能。

**4.6 血清溶血素是评价免疫功能的重要指标** 小鼠血清溶血素的水平是一项机体非特异性免疫功能的主要指标<sup>[20-21]</sup>,溶血值的测定反映了 B 细胞的增殖分化以及与补体结合后向体液中分泌溶血素的能力,其介导的是体液免疫<sup>[22]</sup>。通过测定溶血素值,用以检测药物对机体防御能力的影响<sup>[23]</sup>。本实验中,茶树油提取物粉三个试验剂量组中,小鼠血清溶血素水平都有所增加,这说明茶树油提取物粉具有刺激 B 细胞分化增殖转变为浆细胞的功能,促进小鼠溶血素抗体的生成,提高抗体水平,增强小鼠体液免疫功能。

**4.7 结论** 茶树油提取物粉经口 LD<sub>50</sub>大于 5000 mg/kg b.w.,根据 WHO 对化学物急性毒性分级标准,茶树油提取物粉属于实际无毒级别。

不同剂量的茶树油提取物粉对小鼠的脾脏指

数都有着极明显的促进作用,对肝指数和胸腺指数也有一定的促进作用。

茶树油提取物粉通过促进小鼠巨噬细胞的吞噬活性、淋巴细胞的增殖、提高血清溶血素的水平以及  $CD4^+/CD8^+$  比值,表明茶树油提取物粉对小鼠免疫功能具有促进作用。

茶树油提取物粉通过增加免疫器官指数、增强小鼠腹腔巨噬细胞的吞噬活性、脾淋巴细胞的增殖能力、提高血清溶血素的水平以及  $CD4^+/CD8^+$  比值,表明茶树油提取物粉对小鼠免疫功能具有一定的促进作用。

### 参考文献:

- [1] Hammer K A, Carson C F, Riley T V. In vitro activity of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil against dermatophytes and other filamentous fungi [J]. *J. Antimicrob. Chemother.* 2002, 50: 195-199.
- [2] Brophy J J, Davies N W, Southwell I A, et al. Gas chromatographic quality control for oil of *Melaleuca terpinen-4-ol* type (Australian tea tree) [J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 1989, 37(5): 1330-1335.
- [3] Pegard A. Antimicrobial activity of essential oil of *Bulnesia sarmienti*, Lorenz (Gaiac Wood) and of a rectified fraction of this oil. Comparison with *Melaleuca alternifolia*, L. (Tea Tree) essential oil activity[J]. *Phytothérapie*, 2015, 13(6): 384-388.
- [4] Ninomiya K, Maruyama N, Inoue S, et al. The essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil) and its main component, terpinen-4-ol protect mice from experimental oral candidiasis [J]. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 2012, 35(6): 861.
- [5] Usachev E V, Pyankov O V, Usacheva O V, et al. Antiviral activity of tea tree and eucalyptus oil aerosol and vapour[J]. *Journal of Aerosol Science*, 2013, 59(3): 22-30.
- [6] Pazyar N, Yaghoobi R, Bagherani N, et al. A review of applications of tea tree oil in dermatology [J]. *International Journal of Dermatology*, 2013, 52(7): 784-790.
- [7] 程晓静, 黄群峰, 徐云龙. 低聚壳聚糖复配体系对皮肤致病细菌的体外抗菌活性研究[J]. *材料导报*, 2016, 30(2): 313-316.  
Cheng X J, Huang Q F, Xu Y L. Antibacterial Properties of Low Molecular-weight Chitosan Composite System Towards Skin Pathogenic Bacteria[J]. *Materials Review*, 2016, 30(2): 313-316.
- [8] Singh B R, Vadhana P, Bhardwaj M, et al. Comparative Antimicrobial Activity of Tea Tree Oil (*Melaleuca Oil*) and Common Topical Antimicrobials against Bacteria Associated With Wound and Topical Infections [J]. *Pharmaceutica Analytica Acta*, 2017, 7(11).
- [9] 秦文文, 梁剑平, 郝宝成, 等. 茶树油对 5 种常见致病菌的体外抑菌作用研究[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2017(21): 195-199.  
Qin W W, Liang J P, Hao B C, et al. Bacteriostasis of Tea tree oil on five common pathogenic bacteria in vitro[J]. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 2017(21): 195-199.
- [10] 钟昌勇, 陈海燕. 茶树油的应用及市场前景[J]. *生物质化学工程*, 2003, 37(5): 31-35.  
Zhong C Y, Chen H Y. Tea tree oil application and market prospects[J]. *Biomass Chemical Engineering*, 2003, 37(5): 31-35.
- [11] Shiran S, Shlomo P, Diana K, et al. Terpinen-4-ol: A Novel and Promising Therapeutic Agent for Human Gastrointestinal Cancers [J]. *Plos One*, 2016, 11(6): e0156540.
- [12] 杨玉荣, 郑世民, 焦喜兰. 益生菌对雏鸡免疫器官指数的影响[J]. *科学技术与工程*, 2007, (17): 4448-4450.  
Yang Y R, Zheng S M, Jiao X L. Effects of Probiotics on Immune Organs Index of Chicks[J]. *Science Technology and Engineering*, 2007, (17): 4448-4450.
- [13] 周霞, 彭耀宗, 黄涛, 等. 黄连生物碱对体外培养的小鼠腹腔巨噬细胞的影响[J]. *中国中药杂志*, 2015, (23): 4660-4666.  
Zhou X, Peng Y Z, Huang T, et al. Effects of alkaloids from *Coptidis Rhizoma* on mouse peritoneal macrophages in vitro[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2015, (23): 4660-4666.
- [14] 周泽伟, 刘浩, 王凯, 等. 黄芪灵芝口服液对雏鸡免疫功能的影响[J]. *中国兽医杂志*, 2016, (08): 59-61.  
Zhou Z W, Liu H, Wang K, et al. Effect of Huangqi Lingzhi Oral Liquid on Immune Function of Chicken[J]. *Chinese Journal of bVeterinary Medicine*, 2016, (08): 59-61.
- [15] 王思芦, 汪开毓, 耿毅, 等. 鸡枞菌多糖对小鼠 T 细胞免疫功能的影响[J]. *中国兽医科学*, 2013, (01): 77-83.  
Wang S L, Wang K Y, Gen Y, et al. Effect of *Termitomyces albuminosus* polysaccharide on T cell immunity in mouse [J]. *Chinese Veterinary Science*, 2013, (01): 77-83.
- [16] 吴铁, 汤少明, 彭剑飞, 等. 小鼠全血法测定血清溶血素的方法学探讨[J]. *中国药理学通报*, 1992, (02): 155-156.  
Wu T, Tang S M, Peng J F, et al. Methodological study on

- determination of serum hemolysin by whole blood method in mice [J]. *Chinese Pharmacological Bulletin*, 1992, (02): 155-156.
- [17] 袁媛, 邱霞. 急性毒性试验研究进展[J]. *海军医学杂志*, 2013, (05): 360-361.
- Yuan Y, Qiu X. Progress in acute toxicity test[J]. *Journal of Navy Medicine*, 2013, (05): 360-361.
- [18] 王思芦, 汪开毓, 赵玲, 等. 鸡枞菌多糖对免疫抑制小鼠免疫功能的影响[J]. *中国药理学通报*, 2013, (01): 59-63.
- Wang S L, Wang K Y, Zhao L, *et al.* Effect of chicken sputum polysaccharide on immune function in immunosuppressed mice [J]. *Chinese Pharmacological Bulletin*, 2013, (01): 59-63.
- [19] 戴志民, 王伍超. 巨噬细胞吞噬作用的研究进展[J]. *世界最新医学信息文摘*, 2015(84): 33-35.
- Dai Z M, Wang W C. Advance in Microphage Phagocytosis[J]. *World Latest Medicine Information*, 2015(84): 33-35.
- [20] Mantovani A, Locati M. Macrophage Metabolism Shapes Angiogenesis in Tumors[J]. *Cell Metabolism*, 2016, 24(5): 653-654.
- [21] Da S J L, Souza-Silva F, Pereira B A, *et al.* Exploring the Association of Surface Plasmon Resonance with Recombinant MHC; Ig Hybrid Protein as a Tool for Detecting T Lymphocytes in Mice Infected with *Leishmania (Leishmania) amazonensis* [J]. *Biomed Research International*, 2017, 2017(5): 9089748.
- [22] 郭明, 安高, 封桂英, 等. CD4<sup>+</sup> T 细胞亚群在类风湿性关节炎中的研究进展[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2014, 30(9): 1004-1007.
- Guo M, An G, Feng G Y. *et al.* Progress in Studies of CD4<sup>+</sup> Regulatory T Cells and Their Role in Rheumatoid Arthritis[J]. *Clinical Medical Engineering*, 2014, 30(9): 1004-1007.
- [23] 刘春景, 白荣, 宋继荣, 等. 蓬草除痹汤对 CIA 大鼠外周血 T 淋巴细胞亚群影响的实验研究[J]. *陕西中医*, 2014(8): 1086-1087.
- Liu C J, Bai R, Song J R, *et al.* Experimental Study on Effect of Pengcao Buyu Decoction on T Lymphocyte Subsets in Peripheral Blood of CIA Rats [J]. *Shanxi Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2014(8): 1086-1087.
- [24] 史钧, 晏利圣. 鸡红细胞免疫吸附性能与白细胞数量关系[J]. *生物学杂志*, 2005, 22(2): 30-31.
- Shi J, Yan L S. Relationship between chicken red blood cell immunoadsorption performance and white blood cell count [J]. *Journal of Biology*. 2005, 22(2): 30-31.
- [25] 叶振南, 李楠, 盛丹丹, 等. 青钱柳多糖对高脂血症大鼠血脂及抗脂质过氧化作用的影响[J]. *现代食品科技*, 2014(4): 1-5.
- Ye Z N, Li N, Sheng D D, *et al.* Effect of Cyclocarya paliurus Polysaccharide on Hyperlipidemia and Anti-lipid Peroxidation in Hyperlipidemic Rats [J]. *Modern Food Science & Technology*, 2014(4): 1-5.
- [26] 段淑香, 韩玉生, 陈刚, 等. 强脊康对小鼠免疫功能影响的实验研究[J]. *齐齐哈尔医学院学报*, 2011, 32(3): 341-342.
- Duan S X, Han Y S, Chen G, *et al.* Experimental study on the effect of Qiangkangkang on immune function in mice [J]. *Journal of Qiqihar Medical College*, 2011, 32(3): 341-342.

(编辑:陈希)