

重组鸡干扰素- γ 对脂多糖引起的肉鸡免疫应激的影响

陈 鹏, 单安山*, 孙进华, 程宝晶

(东北农业大学动物营养研究所, 哈尔滨 150030)

摘 要: 文章旨在研究前期注射重组鸡干扰素- γ (rChIFN- γ) 对肉鸡免疫应激的影响。将 40 羽 14 日龄肉鸡随机平均分成 A、B、C 和 D 4 组。于 14、21、28 和 35 日龄给 A 组和 B 组肉鸡静脉注射 PBS 缓冲液 1 mL $\cdot$ 只⁻¹, C 组同期静脉注射含 rChIFN- γ 50 μ g 的 PBS 缓冲液 1 mL $\cdot$ 只⁻¹, D 组同期静脉注射含 rChIFN- γ 100 μ g 的 PBS 缓冲液 1 mL $\cdot$ 只⁻¹。于 36、38、40 日龄, 给 B、C、D 组的肉鸡腹腔注射含有大肠杆菌脂多糖(LPS, 按体质量以 250 μ g $\cdot$ kg⁻¹ 计算)的 PBS 缓冲液 1 mL $\cdot$ 只⁻¹ 造模, A 组同期腹腔注射 PBS 缓冲液 1 mL。记录 36 日龄至 41 日龄肉鸡的体质量和采食量, 测定第 3 次注射脂多糖(40 日龄)12 h 肉鸡的血常规和 T 淋巴细胞刺激指数, 并于第 3 次注射脂多糖后 12、24 和 36 h, 测定肉鸡血清白细胞介素-1(IL-1)、皮质酮(CORT)的含量。研究表明: (1)在整个免疫应激时期(36~41 日龄), A 组的平均日增体质量($P < 0.01$)和平均日采食量($P < 0.05$)均要高于 B、C、D 3 组, A 组的料重比要显著低于 B、C、D 3 组($P < 0.05$); (2)第 3 次注射脂多糖后 12 h, C 组和 D 组的白细胞总数显著高于 A 组和 B 组($P < 0.05$); (3)第 3 次注射脂多糖后 12 h, C 组和 D 组的淋巴细胞刺激指数显著高于 A 组和 B 组($P < 0.05$); (4)第 3 次注射脂多糖后 12 h, A 组的 CORT 含量显著低于 B 组($P < 0.05$), 第 3 次注射脂多糖后 24 h, A 组的 CORT 含量低于 B 组($P < 0.01$)、C 组($P < 0.05$)和 D 组($P < 0.05$), 第 3 次注射脂多糖后 36 h, A 组显著低于 B 组($P < 0.05$); (5)第 3 次注射脂多糖 12 h 后, A 组 IL-1 显著低于 B 组($P < 0.05$), 第 3 次注射脂多糖 24 h 后, A 组极显著低于其它各组($P < 0.01$)。结果显示, 前期注射 rChIFN- γ , 可以缓解免疫应激导致的肉鸡血清中 IL-1 和皮质酮升高, 提高免疫应激时期肉鸡的细胞免疫功能, 缓解免疫应激对肉鸡的负面影响。

关键词: 肉鸡; 重组鸡干扰素- γ ; 脂多糖; 免疫应激

中图分类号: S852.4

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2012)01-0126-07

Effects of Recombinant Chicken Interferon- γ on Lipopolysaccharide Induced Immunological Stress in Broilers

CHEN Peng, SHAN An-shan*, SUN Jin-hua, CHENG Bao-jing

(Institute of Animal Nutrition, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: The objective of this experiment was to research the effects of injection recombinant chicken interferon- γ (rChIFN- γ) in the prophase on immunological stress broilers. Forty 14-day-old healthy AA broilers were allotted to 4 groups randomly which were group A, group B, group C and group D. The broilers of group A and group B were injected with 1 mL PBS at 14, 21, 28 and 35 days of age. At the same time, the group C was injected with 50 μ g rChIFN- γ (in 1 mL PBS) and the group D was injected with 100 μ g rChIFN- γ (in 1 mL PBS). At the time of 36-day-old, 38-day-old and 40-day-old, the broilers of group B, group C, group D were injected with PBS (1 mL) which contained LPS (250 μ g $\cdot$ kg⁻¹ BW). At the same time, the broilers of group A were injected with PBS (1 mL) only. The performance indices were recorded at the time of 36-

收稿日期: 2010-03-30

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31072046); 东北农业大学创新团队发展计划(CXT006)

作者简介: 陈 鹏(1984-), 男, 哈尔滨人, 硕士生, 主要从事动物营养与饲料科学研究

* 通讯作者: 单安山, E-mail: asshan@mail. edu. neau. cn

day-old. Recorded the weight and intake of each broilers from 36 to 41 days. Hematologic indices and T-lymphocytes proliferation of broilers were assayed at 12 hours post the third injection of LPS. The concentration of interleukin-1 (IL-1) and corticosterone (CORT) in the serum were measured at 12, 24, 36 hours post the third injection of LPS. The results showed that: (1) during the challenge, the growth performance was not affected by rChIFN- γ ($P>0.05$); (2) 12 hours after the third injection of LPS, the white blood cell counts of group C and group D were higher than that of group A ($P<0.05$) and group B ($P<0.05$); (3) 12 hours after the third injection of LPS, the T-lymphocyte stimulation index of group C and group D were higher than that of group A and group B ($P<0.05$); (4) 12 hours after the third injection of LPS, the CORT of group A was lower than that of group B ($P<0.05$); 24 hours after the third injection of LPS, the CORT of group A was lower than that of group B ($P<0.01$), group C ($P<0.05$) and group D ($P<0.05$); 36 hours after the third injection of LPS, the CORT of group A was lower than that of group B ($P<0.05$); (5) 12 hours after the third injection of LPS, the IL-1 of group A was lower than that of group B ($P<0.05$), 24 hours after the third injection of LPS, the group A was lower than that of the other groups ($P<0.01$). As the results shown, injection of rChIFN- γ at prophase could release the IL-1 and CORT in the immunological stress broilers, improve the cell immunity during the stress.

Key words: broilers; recombinant chicken interferon- γ ; lipopolysaccharide; immunological stress

免疫应激是指动物受到饲养环境中病原体(如细菌、病毒和内毒素)等侵染,从而破坏了畜禽机体的内环境,需要机体以适应性的反应达到新的动态平衡而引起的应激^[1]。免疫应激期间,机体的肾上腺皮质激素和甲状腺素升高,使机体的细胞免疫功能受到抑制;同时,免疫细胞所释放的大量炎性细胞因子(如 IL-1、TNF、IL-6 等)既能局部作用于免疫细胞,又能作用于外周其他组织器官(肝脏、骨骼肌和脂肪组织),还能作用于中枢神经系统,影响动物机体的代谢,最后导致动物的生产性能下降,给养殖业带来巨大的经济损失。

干扰素- γ 对动物有很强的免疫调节作用^[2-3],能提高巨噬细胞和中性细胞的吞噬和杀菌活性^[4-5],而巨噬细胞和中性粒细胞对细菌和脂多糖均有吞噬作用,这对于机体防御细菌侵害、抵抗免疫应激是非常重要的。脂多糖(LPS)是革兰氏阴性菌细胞壁的组成成分,习惯上称之为细菌内毒素。目前,动物腹腔或静脉注射一定剂量 LPS 是最普遍、最经典的免疫应激模型的建模方式。本试验通过前期注射重组鸡干扰素- γ (rChIFN- γ),再用 LPS 建立免疫应激模型,来研究 rChIFN- γ 对肉鸡免疫应激的影响,探讨注射 rChIFN- γ 是否可以缓解 LPS 导致的免疫应激反应,降低免疫应激的负面影响,为 rChIFN- γ 在家禽生产中的应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验动物 选取 1 日龄健康 AA 肉仔鸡 50 羽。在试验条件下用全价饲料常规饲养 2 周,于 14 日龄进入试验阶段。试验用舍为东北农业大学动物营养研究所育雏舍。具体实施依据《现代肉鸡生产手册》^[6]进行。配方参考 NRC(1994)家禽营养标准及《AA 肉鸡饲养手册》推荐水平,日粮组成及营养成分见表 1。

1.1.2 主要试剂 重组鸡干扰素- γ 是由本实验室通过分子生物学方法,经大肠杆菌表达系统重组表达纯化所得($8.47 \text{ IU} \cdot \mu\text{g}^{-1}$);ELISA 试剂盒购自美国 R&D 公司。二甲基亚砜(DMSO)、刀豆蛋白(ConA)、四甲基偶氮唑蓝(MTT) RP1640 培养基均为 Sigma 公司产品。

1.2 动物分组及样品的采集

选取 1 日龄健康 AA 肉仔鸡 50 羽,在试验条件下用全价饲料常规饲养 2 周,于 14 日龄进入试验阶段。14 日龄选择体重基本一致的雏鸡 40 羽,随机分为 A、B、C、D 4 个处理组,每组 10 只。于 14、21、28 和 35 日龄给 A 组和 B 组肉鸡皮下注射 PBS 缓冲液 $1 \text{ mL} \cdot \text{只}^{-1}$,C 组同期皮下注射含 rChIFN- γ $50 \mu\text{g}$ 的 PBS 缓冲液 $1 \text{ mL} \cdot \text{只}^{-1}$,D 组同期皮下注

射含 rChIFN- γ 100 μg 的 PBS 缓冲液 1 mL $\cdot$ 只⁻¹。于 36、38、40 日龄,给 B、C、D 组的肉鸡腹腔注射含有大肠杆菌脂多糖(按 250 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 体重计算)的 PBS 缓冲液 1 mL $\cdot$ 只⁻¹造模,A 组同期腹腔注射 PBS 缓冲液 1 mL $\cdot$ 只⁻¹。记录 36 日龄至 41 日龄肉鸡的体质量和采食量,于第 3 次注射脂多糖(40

日龄)12 h,每个处理组随机取肉鸡 5 羽,采血测定血常规和 T 淋巴细胞刺激指数。于第 3 次注射脂多糖 12、24 和 36 h,每个处理组随机取肉鸡 5 羽,采血并分离血清测定白细胞介素-1(IL-1)、皮质酮(CORT)的含量。试验分组及处理方式见表 2。

表 1 日粮组成及营养水平

Table 1 Composition and nutrient levels of trial diets

饲料组成/% Ingredients			营养水平 Nutrient composition		
	1~3 周	4~6 周		1~3 周	4~6 周
玉米 Corn	57.00	61.26	代谢能/(MJ $\cdot$ kg ⁻¹) ME	13.02	13.02
豆粕 Soybean meal	32.60	30.00	粗蛋白/% CP	21.50	20.10
鱼粉 Fish meal	4.00	3.00	赖氨酸/% Lys	1.30	1.10
油脂 Soybean oil	3.00	2.50	蛋氨酸/% Met	0.62	0.47
食盐 Salt	0.30	0.30	钙/% Ca	1.02	0.96
磷酸氢钙 CaHPO ₄	1.10	1.10	总磷/% P	0.68	0.61
石粉 Limestone	1.40	1.40	有效磷/% AP	0.50	0.43
赖氨酸 L-Lysine	0.08	0.02			
蛋氨酸 DL-Methionine	0.20	0.10			
氯化胆碱 Choline Chloride	0.10	0.10			
复合多维 ¹ Vitamin premix	0.02	0.02			
微量元素 ¹ Mineral premix	0.20	0.20			

¹ 每千克饲料中含:VA 8 000 IU; VD₃ 200 IU; VE 10 IU; VK 0.5 mg; VB₁₂ 0.01 mg;生物素 0.15 mg;叶酸 0.55 mg;尼克酸 30 mg;泛酸 10 mg;VB₆ 3.5 mg;VB₂ 3.6 mg;VB₁ 1.8 mg;铜(CuSO₄ $\cdot$ 5H₂O) 8 mg;碘(KI) 0.35 mg;铁(FeSO₄ $\cdot$ H₂O) 80 mg;锰(MnSO₄ $\cdot$ H₂O) 60 mg;硒(Na₂SeO₃) 0.15 mg;锌(ZnSO₄ $\cdot$ H₂O) 40 mg

¹ Provided per kg of diets: VA 8000 IU; VD₃ 200 IU; VE 10 IU; VK 0.5 mg; VB₁₂ 0.01 mg; Biotin 0.15 mg; Folic acid 0.55 mg; Niacin 30 mg; Pantothenic acid 10 mg; VB₆ 3.5 mg; VB₂ 3.6 mg; VB₁ 1.8 mg; Cu (CuSO₄ $\cdot$ 5H₂O) 8 mg; I (KI) 0.35 mg; Fe (FeSO₄ $\cdot$ H₂O) 80 mg; Mn (MnSO₄ $\cdot$ H₂O) 60 mg; Se (Na₂SeO₃) 0.15 mg; Zn (ZnSO₄ $\cdot$ H₂O) 40 mg

表 2 肉鸡的分组及处理方式

Table 2 Grouping and treatment of broiler

组别 Group	处理方法 Method	
	14、21、28 和 35 日龄 14、21、28 and 35 days	36、38、40 日龄 36、38、40 days
A 组 Group A	注射 PBS 缓冲液 1 mL $\cdot$ 只 ⁻¹	注射 PBS 1 mL $\cdot$ 只 ⁻¹
B 组 Group B	注射 PBS 缓冲液 1 mL $\cdot$ 只 ⁻¹	注射含有脂多糖的 PBS 1 mL $\cdot$ 只 ⁻¹ , 脂多糖剂量为 250 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$
C 组 Group C	注射含重组鸡干扰素- γ 50 μg 的 PBS 缓冲液 1 mL $\cdot$ 只 ⁻¹	注射含有脂多糖的 PBS 1 mL $\cdot$ 只 ⁻¹ , 脂多糖剂量为 250 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$
D 组 Group D	注射含重组鸡干扰素- γ 100 μg 的 PBS 缓冲液 1 mL $\cdot$ 只 ⁻¹	注射含有脂多糖的 PBS 1 mL $\cdot$ 只 ⁻¹ , 脂多糖剂量为 250 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$

1.3 测定指标及方法

ELISA 法测定鸡 CORT 和 IL-1 水平,MTT 法测定 T 淋巴细胞增殖能力。用 BC-2600Vet 兽用全

自动血液细胞计数仪对肉鸡血液中白细胞数、红细胞数、血红蛋白含量、红细胞压积进行检测。记录 36 日龄和 41 日龄时各处理组的剩余饲料量,计算

平均日采食量(ADFI)。分别在 36 日龄和 41 日龄时称量各处理组肉鸡体质量,计算平均日增体质量(ADG),并计算料重比(F/G)。 $F/G = ADFI/ADG$ 。淋巴细胞增殖能力计算公式:刺激指数(SI) = 试验组平均 OD_{570 nm} 值/对照组平均 OD_{570 nm} 值

1.4 数据处理

试验数据采用 SPSS16.0 统计分析软件对试验数据进行单因素方差分析,多重比较用 Duncan's 法。数据均以“平均值±标准误($\bar{x} \pm SE$)”表示。

2 结 果

表 3 重组鸡干扰素- γ 对免疫应激条件下肉鸡生长性能的影响

Table 3 Influence of rChIFN- γ on growth performance in immunological stress broilers

组别 Group	测定指标 Measure index		
	平均日增体质量/g Average day gain	平均日采食量/g Average daily feed	料重比 The ratio of feed and gain
A 组 Group A	61.18±3.12 ^A	105.50±4.70 ^a	1.74±0.03 ^a
B 组 Group B	39.15±2.82 ^B	90.40±0.85 ^b	2.32±0.15 ^b
C 组 Group C	44.35±1.75 ^B	93.05±0.65 ^b	2.10±0.10 ^b
D 组 Group D	44.13±1.20 ^B	93.00±1.90 ^b	2.11±0.14 ^b

同列数据右上角标有不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$),标有不同大写字母表示差异极显著($P < 0.01$)。下表同

Different lower case letters in the same column means significant difference between the treatments ($P < 0.05$), different capital letters in the same column means extremely difference between the treatment ($P < 0.01$). The same as below

2.2 重组鸡干扰素- γ 对免疫应激条件下肉鸡血常规指标的影响

重组鸡干扰素- γ 对免疫应激条件下肉鸡血常规指标的影响见表 4。由表 4 可知,当第 3 次注射脂多糖 12 h 后,C 组和 D 组的白细胞总数均显著高于 A 组和 B 组($P < 0.05$),C、D 2 组之间无显著差异($P > 0.05$),A 组和 B 组之间无显著差异($P > 0.05$);在红细胞数目、红细胞压积和血红蛋白这 3 项指标上,各组之间不存在显著差异($P > 0.05$)。

2.3 重组鸡干扰素- γ 对免疫应激条件下肉鸡 T 淋巴细胞增殖能力的影响

重组鸡干扰素- γ 对免疫应激条件下肉鸡 T 淋巴细胞增殖能力的影响见表 5。由表 5 可知,第 3 次脂多糖注射后 12 h,C 组和 D 组的淋巴细胞刺激指数显著高于 A 组和 B 组($P < 0.05$),C、D 2 组之间无显著差异($P > 0.05$),A 组和 B 组之间无显著差异($P > 0.05$)。

2.1 重组鸡干扰素- γ 对免疫应激条件下肉鸡生长性能的影响

重组鸡干扰素- γ 对免疫应激条件下肉鸡生长性能的影响见表 3。由表 3 可知,肉鸡发生免疫应激的时期(36 ~ 41 日龄),A 组的平均日增体质量极显著高于其它各组($P < 0.01$),B、C、D 组之间无显著差异($P > 0.05$);A 组的平均日采食量显著高于其它各组($P < 0.05$),B、C、D 组之间无显著差异($P > 0.05$);A 组的料重比显著低于其它各组($P < 0.05$),B、C、D 组之间无显著差异($P > 0.05$)。

2.4 重组鸡干扰素- γ 对免疫应激条件下肉鸡血清中皮质酮(CORT)含量的影响

由表 5 可知,第 3 次注射脂多糖后 12 h,A 组显著低于 B 组($P < 0.05$),A 组与 C 组和 D 组之间无显著差异($P > 0.05$),B、C、D 3 组之间无显著差异($P > 0.05$);第 3 次注射脂多糖后 24 h,A 组极显著低于 B 组($P < 0.01$),A 组显著低于 C 组和 D 组($P < 0.05$),B、C、D 3 组之间无显著差异($P > 0.05$);第 3 次注射脂多糖后 36 h,A 组显著低于 B 组($P < 0.05$),C、D 2 组与 A 组无显著差异($P > 0.05$),C、D 2 组与 B 组也无显著差异($P > 0.05$)。

2.5 重组鸡干扰素- γ 对免疫应激条件下肉鸡血清中白细胞介素-1(IL-1)含量的影响

由表 6 可知,第 3 次注射脂多糖 12 h 后,A 组 IL-1 含量显著低于 B 组($P < 0.05$),与 C、D 2 组之间无显著差异($P > 0.05$),且 B、C、D 3 组之间无显著差异($P > 0.05$);第 3 次注射脂多糖 24 h 后,A 组极显著低于其它各组($P < 0.01$),B、C、D 3 组之间

无显著差异($P>0.05$);第3次注射脂多糖36 h后, 各组之间无显著差异($P>0.05$)。

表4 重组鸡干扰素- γ 对免疫应激条件下肉鸡血常规指标的影响

Table 4 Influence of rChIFN- γ on hematologic indices in immunological stress broilers

组别 Group	第3次注射脂多糖注射后12 h血常规指标 The hematologic indices of the third injection of LPS 12 hours later			
	白细胞总数/ $(\times 10^9 \cdot L^{-1})$	红细胞数目/ $(\times 10^{12} \cdot L^{-1})$	红细胞压积/%	血红蛋白含量/ $(g \cdot L^{-1})$
	White blood cell count	Red blood cell	Hematocrit	Hemoglobin
A组 Group A	22.17 $\pm$ 0.28 ^b	2.57 $\pm$ 0.11	32.52 $\pm$ 1.23	124.60 $\pm$ 1.03
B组 Group B	23.16 $\pm$ 0.51 ^b	2.53 $\pm$ 0.06	32.06 $\pm$ 1.01	123.60 $\pm$ 3.66
C组 Group C	25.08 $\pm$ 0.63 ^a	2.51 $\pm$ 0.10	31.74 $\pm$ 1.18	122.60 $\pm$ 3.08
D组 Group D	24.86 $\pm$ 0.66 ^a	2.51 $\pm$ 0.04	31.28 $\pm$ 0.62	122.40 $\pm$ 3.85

表5 重组鸡干扰素- γ 对免疫应激条件下肉鸡T淋巴细胞增殖能力和血清中皮质酮(CORT)含量的影响

Table 5 Influence of rChIFN- γ on T-lymphocytes proliferation and CORT in immunological stress broilers

测定指标 Measure index	组别 Group	测定时间		
		第3次注射LPS后12 h 12 hours after the third injection of LPS	第3次注射LPS后24 h 24 hours after the third injection of LPS	第3次注射LPS后36 h 36 hours after the third injection of LPS
T淋巴细胞增殖能力 T-lymphocytes proliferation	A	1.06 $\pm$ 0.008 ^b	—	—
	B	1.08 $\pm$ 0.003 ^b	—	—
	C	1.13 $\pm$ 0.003 ^a	—	—
	D	1.12 $\pm$ 0.016 ^a	—	—
CORT/ (ng $\cdot$ L ⁻¹)	A	202.44 $\pm$ 6.75 ^b	208.25 $\pm$ 7.48 ^{Bb}	211.28 $\pm$ 5.79 ^b
	B	256.61 $\pm$ 19.66 ^a	276.44 $\pm$ 9.52 ^{Aa}	235.75 $\pm$ 8.67 ^a
	C	233.95 $\pm$ 18.39 ^{ab}	245.20 $\pm$ 13.90 ^{ABa}	227.90 $\pm$ 8.35 ^{ab}
	D	227.87 $\pm$ 7.68 ^{ab}	250.32 $\pm$ 15.97 ^{ABa}	234.65 $\pm$ 8.81 ^{ab}

在组别一列: A. A组; B. B组; C. C组; D. D组。—. 未检测

In the column of "Group", A. Group A; B. Group B; C. Group C; D. Group D. —. Not detected

3 讨论

3.1 重组鸡干扰素- γ 对免疫应激条件下肉鸡生长性能的影响

本试验中注射LPS显著降低了肉鸡的平均日增体质量和平均日采食量,这是因为LPS是革兰氏阴性菌膜的结构物质,能诱导动物产生急性细菌感染症状,如厌食、嗜睡、发热等^[7],常导致畜禽生产性能下降^[8-10]。试验中,B、C和D组的平均日增体质量和平均日采食量虽然显著低于A组,但是C和D组的平均日采食量和平均日增体质量与B组相比均有增高的趋势,说明重组鸡干扰素- γ 在一定程度上减缓免疫应激给肉鸡带来的生长性能下降的负面作用,这可能是因为干扰素- γ 对动物有很强的免疫

调节作用^[2-3],能提高巨噬细胞和中性粒细胞的吞噬和杀菌活性^[4-5],增强了巨噬细胞和中性细胞对LPS的吞噬作用,本试验中,C组和D组的T淋巴细胞刺激指数均显著提高,证明了以上的观点。

3.2 重组鸡干扰素- γ 对免疫应激条件下肉鸡血常规指标的影响

LPS是革兰氏阴性菌膜结构物质,可导致血液生化指标和血液常规指标在短时间内(0.5~12 h)呈现异常变化^[11-12]。试验中,B组的白细胞数目高于A组($P>0.05$),说明LPS诱导肉鸡产生了类似急性细菌感染的症状,白细胞总数及各种白细胞的比例发生变化,是当机体发生其它疾病或炎症时都能引起的现象^[13-14]。C、D组的白细胞数目虽然显著高于A组,但这2组白细胞总数的平均值小于B组,说明重组鸡干扰素- γ 可以在一定程度上控制炎症反应。

这可能与重组鸡干扰素- γ 能够提高噬中性白细胞的吞噬力和杀菌力,同时又能调控炎症因子有关^[15]。

表 6 重组鸡干扰素- γ 对免疫应激条件下肉鸡血清中白细胞介素-1(IL-1)含量的影响

组别 Group	ng · L ⁻¹		
	第 3 次注射 LPS 后 12 h	第 3 次注射 LPS 后 24 h	第 3 次注射 LPS 后 36 h
	12 hours after the third injection of LPS	24 hours after the third injection of LPS	36 hours after the third injection of LPS
A 组 Group A	42.62±1.63 ^b	41.79±1.81 ^A	41.29±1.10
B 组 Group B	49.89±1.57 ^a	54.98±2.01 ^B	46.80±1.38
C 组 Group C	46.10±1.63 ^{ab}	53.42±1.95 ^B	46.61±3.05
D 组 Group D	47.35±2.46 ^{ab}	53.21±2.57 ^B	47.33±2.41

试验中,B 组的白细胞数目与 A 组相比却并不显著,可能原因如下:①脂多糖对淋巴细胞转化率的影响有时间依赖性,多次免疫刺激使得肉鸡产生了免疫耐受^[13],故而导致了 B 组的白细胞总数与 A 组相比并不显著;②本试验过程中产生的皮质酮和丙二醛抑制了 B 组肉鸡 T 淋巴细胞和巨噬细胞的功能^[14]。

同时,C、D 组的白细胞数目显著高于 A 组和 B 组,说明重组鸡干扰素- γ 提高了免疫应激时期肉鸡的细胞免疫功能。这可能是因为重组鸡干扰素- γ 能够提高噬中性白细胞的吞噬力和杀菌力^[15]。

3.3 重组鸡干扰素- γ 对免疫应激条件下肉鸡 T 淋巴细胞增殖能力的影响

细胞免疫是指淋巴细胞介导的特异性免疫,淋巴细胞转化率是评价细胞免疫功能的一个重要指标,转化率的高低反映机体的细胞免疫水平^[16]。重组鸡干扰素- γ 能够提高机体的免疫功能,促进 T、B 淋巴细胞的分化。从本试验的结果来看,多次注射脂多糖后 A 组与 B 组之间不存在显著差异,造成这种现象的因素可能有如下几点:①脂多糖对淋巴细胞转化率的影响有时间依赖性,多次免疫刺激使得肉鸡产生了免疫耐受^[10,13];②LPS 的作用效果与其注射剂量、注射后时间及剂量×时间的互作有关,不同剂量 LPS 引起的免疫反应的程度和持续时间不同。多数免疫制剂具有双向调节特点,低浓度时对机体免疫具有促进作用,而高浓度时却有抑制作用^[16];③本试验过程中产生的皮质酮和丙二醛抑制了 B 组肉鸡 T 淋巴细胞增殖能力^[14]。

许多研究显示,提高机体的细胞免疫能力可以降低免疫应激对机体的负面影响^[13,17]。而 C 组和 D 组的水平显著高于 A 组和 B 组,说明重组鸡干扰素- γ 降低了免疫应激对肉鸡的负面影响的可能原因是重组鸡干扰素- γ 增强了肉鸡的细胞免疫功能。

3.4 重组鸡干扰素- γ 对免疫应激条件下肉鸡血清中皮质酮(CORT)含量的影响

皮质酮是衡量肉鸡应激程度的重要指标。有研究表明,脂多糖能导致动物巨噬细胞大量分泌 IL-1、TNF- α 和 IL-6 等炎症细胞因子,致使肉鸡的皮质酮含量升高^[18]。从本试验的结果来看,第 3 次注射脂多糖后 12 h B 组的皮质酮含量显著高于 A 组,在 24 和 36 h, B 组的皮质酮含量分别极显著和显著高于 A 组,说明注射了脂多糖后,肉鸡机体发生了免疫应激反应,导致这 3 组皮质酮含量的升高。而在第 3 次注射脂多糖后 12 和 36 h, C 组和 D 组的皮质酮含量与 A 组相比无显著差异,说明注射了重组鸡干扰素- γ 能够抑制和缓解免疫应激所造成的肉鸡皮质酮升高。这可能是由于 C 组和 D 组的 T 淋巴细胞增殖能力高于 B 组,进而 C 组和 D 组对于外周血内毒素的清除能力提高导致的。

3.5 重组鸡干扰素- γ 对免疫应激条件下肉鸡血清中细胞因子含量的影响

从本试验的结果可以看出,在第 3 次注射脂多糖后的 12 和 24 h, A 组的 IL-1 水平极显著低于 B 组,这是由于给肉鸡注射 3 次脂多糖后,肉鸡机体发生了细菌性感染症状,免疫细胞迅速作出反应,IL-1、TNF- α 和 IL-6 等炎症细胞因子大量释放,引起剧烈的炎症反应,可见免疫应激模型的建立是成功的。而在第 3 次注射脂多糖后 12 h, C、D 两组的 IL-1 和 TNF- α 含量与 A 组相比无显著差异,说明干扰素- γ 对免疫应激期肉鸡血清中 IL-1 和 TNF- α 的释放有一定的抑制作用。

造成这种现象的原因有如下几点:①干扰素- γ 能够提高机体巨噬细胞和中性粒细胞对细菌和脂多糖的吞噬作用,并且能够提高机体免疫应激时期的细胞免疫作用,加快了机体对 LPS 的清除。伍杰^[19]通过

给发生金黄色葡萄球菌感染的泌乳家兔注射干扰素- γ ,发现注射干扰素- γ 后,给药组家兔血清中的炎症细胞因子含量显著低于空白对照组的含量,这说明干扰素- γ 能够短时间内提高机体的细胞免疫,加快机体对抗细菌和内毒素的侵袭;②提前注射过 γ -干扰素还能抑制LPS刺激引起的炎症反应。有研究表明,在LPS刺激之前给予肠外IFN- γ 注射,还能够抑制机体的炎症反应^[20];③干扰素- γ 还能对机体受到细菌或脂多糖刺激时产生的炎症因子起到调控作用,降低了免疫应激时期细胞炎症因子的释放。Sordillo等^[21]研究发现,人工感染大肠杆菌性乳房炎的奶牛,在感染前24 h,通过乳腺内注射rBoIFN- γ 可以有效下调血液中TNF- α 的含量。被干扰素- γ 注射过的老鼠在脂多糖引起的足垫反应(footpad reaction)中,表现出小鼠足垫厚度增长被抑制的现象^[22]。但是,第3次注射脂多糖后12 h,C、D组的IL-1含量与B组相比并不显著,这种现象可能是由于之前注射干扰素次数较多,导致其对肉鸡机体产生了负反馈作用的抑制作用。

4 结 论

前期注射rChIFN- γ 能提高肉鸡免疫应激时期淋巴细胞增殖能力,对免疫应激引起的动物生长性能下降、白细胞数目增多、皮质酮分泌增加和IL-1含量升高均具有一定的抑制作用。

参考文献:

- [1] 赖长华,李德发,尹靖东,等. 共轭亚油酸对免疫应激调控的研究进展[J]. 中国农业大学学报, 2005, 10(4): 27-30.
- [2] WEI X Q, CHARLES I G, SMITH A, et al. Altered immune responses in mice lacking inducible nitric oxide synthase[J]. *Nature*, 1995, 375: 408-411.
- [3] 张薇薇. II型干扰素的免疫调节作用[J]. 山西医药杂志, 2001, 33(12): 1051-1053.
- [4] LAWMAN M J P, CAMPOS M, OHMANN H B, et al. Recombinant cytokines and their potential therapeutic value in veterinary medicine[M]. Comprehensive Biotechnology, London: Pergamon Press, 1989: 64-106.
- [5] SORDILLO L M, L A BABIUK. Modulation of bovine mammary neutrophil function during the periparturient period following in vitro exposure to recombinant bovine interferon gamma[J]. *Vet Immunol Immunopathol*, 1990, 27: 393.
- [6] 单永利. 现代肉鸡生产手册[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001.
- [7] JOHNSON R W, von BORELL E. Lipopolysaccharide-induced sickness behavior in pigs is inhibited by pretreatment with indomethacin[J]. *J Anim Sci*, 1994, 72: 309-314.
- [8] KEGLEY E B, SPEARS J W, AUMAN S K. Dietary phosphorus and an inflammatory challenge affect performance and immune function of weanling pigs[J]. *J Anim Sci*, 2001, 79: 413-419.
- [9] TAKAHASHI K, KAWAMATA K, AKIBA Y, et al. Influence of dietary conjugated linoleic acid isomers on early inflammatory responses in male broiler chickens[J]. *Br Poult Sci*, 2002, 43: 47-53.
- [10] 史彬林. 壳聚糖对肉仔鸡生长性能和免疫功能的影响及其机理的研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2005.
- [11] WODLOK D N, DOOLIN E E, PARLARE N A, et al. Effects of yeast expressed recombinant interleukin-2 and interferon gamma on physiological changes in bovine mammary glands and on bactericidal activity of neutrophils[J]. *J Dairy Res*, 2000, 67(2): 189-197.
- [12] 石君霞, 刘玉兰, 鲁晶, 等. 脂多糖刺激对断奶仔猪免疫细胞和免疫器官PPAR γ mRNA表达水平的影响[J]. 畜牧兽医学报, 2008, 39(5): 608-613.
- [13] 毛晓峰. 黄芪多糖影响断奶仔猪免疫功能及其作用机理的研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2004.
- [14] 温安祥. 谷氨酰胺缓解中华鳖免疫应激反应作用机理的研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2008.
- [15] WRIGHT K J, BALAJI R, HILL C M, et al. Integrated adrenal, somatotrophic, and immune responses of growing pigs to treatment with lipopolysaccharide[J]. *J Anim Sci*, 2000, 78: 1892-1899.
- [16] 杨汉春. 动物免疫学[M]. 第2版. 北京: 中国农业大学出版社, 2003: 81.
- [17] 肖丽华. 复合免疫增强剂组方的筛选及其抗免疫应激作用的研究[D]. 武汉: 武汉工业学院, 2008.
- [18] 李建涛, 蔡辉益, 刘国华. 脂多糖刺激对肉仔鸡内分泌激素和免疫机能的影响[J]. 畜牧兽医学报, 2006, 37(2): 134-140.
- [19] 伍杰. γ -干扰素对金黄色葡萄球菌性临床型乳房炎的疗效研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2009.
- [20] HEREMANS H, DIJKMANS R, SOBIS H, et al. Regulation by interferons of the local inflammatory response to bacterial lipopolysaccharide[J]. *J Immunol*, 1987, 138: 4175.
- [21] SORDILLO L M, PEEL J P. Effect of interferon- γ on the production of tumor necrosis factor during acute *Escherichia coli* Mastitis[J]. *J Dairy Sci*, 1992, 75: 2119-2125.
- [22] BILLIAU A. Interferons and Inflammation[J]. *J Interferon Res*, 1987, 7(5): 559-567.

(编辑 白永平)