

蓝光对肉鸡免疫应激的缓解作用

谢 电¹, 陈耀星^{1*}, 王子旭¹, 李俊英², 曹 静¹, 贾六军¹ (1. 中国农业大学 动物医学院, 北京 100094; 2. 中国农业大学 动物科技学院, 北京 100094)

摘要:以发光二极管发出的单色光作为光源, 对饲养在蓝光下的肉鸡注射脂多糖(LPS), 探讨单色光尤其蓝光对肉鸡免疫应激反应的影响。结果表明, 蓝光可在一定程度上抑制肉鸡因LPS刺激引起的体增重下降和应激激素以及细胞因子IL-1 β 水平升高, 并可提高细胞免疫和体液免疫功能, 提示蓝光对肉鸡的免疫应激反应具有缓解作用。

关键词:蓝光; 免疫应激; 缓解作用; 肉鸡

中图分类号:S831.1; S831.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1005-4545(2008)03-0325-03

Alleviating action of blue light on immune stress in broilers

XIE Dian¹, CHEN Yao-xing^{1*}, WANG Zi-xu¹, LI Jun-ying², CAO Jing¹, JIA Liu-jun¹ (1. College of Animal Medicine, China Agricultural University, Beijing 100094, China; 2. College of Animal Science, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract: This experiment was conducted to evaluate the alleviating action of birds reared under blue light by using Light Emitting Diode lighting (LED) system on immunological stress in broilers injected with LPS. The results indicated that blue light could, to an extent, inhibit declining of body weight and rising of stress hormones and IL-1 β , and enhance the humoral and cellular immunity in broilers injected with LPS, showing an action of alleviating immune stress.

Key words: blue light; immune stress; alleviating action; broilers

* Corresponding author, E-mail: yxchen@cau.edu.cn

有时微生物攻击动物机体并不导致临床疾病, 但会引起一种免疫反应, 表现为机体代谢发生变化, 免疫系统出现炎症反应, 从而抑制动物的生长, 这种现象称为免疫应激^[1]。在生产中, 通常采用抗生素疗法来减弱机体因免疫应激造成的分解代谢^[2]。但是, 大量使用抗生素, 将产生药物残留、病原菌的耐药性等负面影响。因此, 人们积极探讨新的措施来缓解因免疫应激造成的生产性能下降, 例如关注通过“绿色”健康养殖手段(如养禽业的光照手段)增强动物机体免疫功能来改善因免疫应激造成的动物生产性能下降。

光环境因素对禽类的行为、生产性能和健康状况具有重大的影响, 是影响鸡生产力表现的主要因素之一。有报道认为影响家禽生产力表现的诸因素中, 遗传力只占5%~50%, 而50%~95%则取决于

环境条件^[3]。因此, 现代养鸡业普遍采用人工控制光照时间和光照强度来促进鸡的生产性能。鸡的视觉优于其他家畜, 甚至光谱范围比人类(380~760 nm)广, 能够区分不同的颜色^[4]; 而且禽类下丘脑内含有视网膜外光受体, 能感受不同波长的光刺激反应^[5-6], 但目前有关光信息尤其是光色信息影响鸡免疫功能和免疫应激的文献报道很少见。我们的预实验发现蓝光能促进肉鸡的生长。因此, 本试验拟研究单色光尤其是蓝光对肉鸡免疫应激的影响, 以期从缓解免疫应激的角度探讨蓝光的促生长机理。

1 材料与方法

1.1 试验动物与试验设计 选用刚出壳AA雄性肉鸡160只, 购自北京爱拔益家家禽育种有限公司, 笼养于2层笼具内, 随机分为4个光源组, 每组4个重复, 每个重复10只, 饲养期为49 d。试验采用4 \times 2因子设计, 即4个光源处理与2个免疫应激处理。光照处理: 蓝光组(B)、绿光组(G)、红光组(R)和白光组(W); 光源为发光二极管(LED, 中山市晶明光电科技有限公司制造), 光的波长分别为660 nm

收稿日期: 2006-07-10

基金项目: 北京市自然科学基金资助项目(6032014); 高等学校博士学科点专项科研基金资助项目(2004019002); 新世纪优秀人才支持计划资助项目(NCET-04-0126)

作者简介: 谢 电(1977-), 男, 博士。

* 通讯作者, E-mail: yxchen@cau.edu.cn

(红)、560 nm(绿)、480 nm(蓝)和 400~700 nm(白),光照强度为 15 lx,光照时间为 23 h/d(12:00~23:00)。免疫应激处理:于 48 日龄分别给每个光源组的试验鸡(20 只)腹膜内注射脂多糖(LPS, Sigma 公司产品)0.25 mg/kg,或等量的生理盐水。其他饲养管理相同,均参照北京爱拔益家家禽育种有限公司肉鸡饲养管理手册配制日粮,自由采食与饮水,常规免疫,鸡舍人工控温。

1.2 检测指标及方法

1.2.1 生长性能指标 分别于48日龄和 49 日龄称取试验鸡的体质量,并计算各组试验鸡 24 h 后的体质量变化率。按以下公式计算:(49 日龄体质量/48 日龄体质量)×100%。

1.2.2 外周血 T 淋巴细胞增殖反应 于 48 日龄注射 LPS 或生理盐水 24 h 后从各个重复组中随机选取 3 只试验鸡,翅静脉无菌采集 2 mL 抗凝血(肝素抗凝,20 IU/mL),采用微量全血体外培养和 MTT 法^[7]测定外周血淋巴细胞对刀豆素 A(ConA)的增殖反应,刺激原 ConA 的质量浓度为 45 mg/L(Sigma 公司产品),最后用 ELISA 免疫检测仪,以 570 nm 波长测定光密度值。

1.2.3 血液指标测定 于48日龄注射 LPS 或生理盐水 24 h 后,从各个重复组中随机选取 3 只试验

鸡,翅静脉采集抗凝血,分离血清。皮质醇采用¹²⁵I RIA 试剂盒(中国农业科学院原子能研究所)测定;IL-1 β 采用鸡的 IL-1 β ELISA 试剂盒(美国 BioSource International Inc.)测定。

1.2.4 抗 LPS 抗体水平的测定 在 48 日龄注射 LPS 后 6、12、24 h,从各个重复组中随机选取 3 只试验鸡,翅静脉采集抗凝血,分离血清,用 ELISA 法测定特定的 LPS 抗体。

1.3 统计分析 试验数据用 SAS 9.0 统计软件进行方差分析和多重比较。

2 结果

2.1 蓝光对 LPS 刺激的肉鸡体质量的影响 由表 1 可见,光源作为主效应对肉鸡增重有较明显的影响($P < 0.05$),与白光组相比,蓝光组的体增重提高了 3.24%;以 LPS 为主效应分析,注射 LPS 极显著降低了肉鸡的增重($P < 0.001$),且白光组和蓝光组分别降低了 11.96% 和 5.33%,显然白光组比蓝光组体质量下降得明显;但光源和 LPS 之间均未表现出显著的互作关系。注射 LPS 使白光组和蓝光组相比体增重降低了 9.87%,可见,蓝光对 LPS 引起的体质量下降具有一定的缓解作用。

表 1 蓝光对 LPS 刺激的肉鸡体质量、T 淋巴细胞转化率及有关血液指标的影响

项目	- LPS				+ LPS				s_x	P 值		
	白光	红光	绿光	蓝光	白光	红光	绿光	蓝光		光源	LPS	互作
体质量变化率/%	102.69	101.52	103.19	105.93	90.73	96.32	97.74	100.60	1.254	0.047	0.001	0.283
淋转率/%	0.836	0.591	0.696	0.750	1.314	0.416	0.753	1.148	0.041	<0.001	<0.001	<0.001
IL-1 β /(ng·L ⁻¹)	114.29	103.24	80.61	71.68	317.67	226.50	174.86	125.87	20.45	<0.001	<0.001	<0.001
皮质醇/(mg·L ⁻¹)	142.28	138.84	132.20	116.19	158.68	143.97	137.12	121.73	3.17	0.009	0.142	0.824

注: s_x 表示平均数的标准误, $P < 0.05$ 差异显著, $P < 0.001$ 差异极显著。下同

2.2 蓝光对 LPS 刺激的肉鸡外周血 T 淋巴细胞转化率的影响 从 2 因子方差分析可以看出(表 1),光源作为主效应,白光和蓝光均可显著提高肉鸡的 T 淋巴细胞转化率,而这种明显的促进作用主要体现在 LPS 刺激条件下;从多重比较结果看,在 LPS 刺激 24 h 后,白光组肉鸡的 T 淋巴细胞转化率增幅要比蓝光组的高出 4.1%。此外,光源和 LPS 之间也表现出极显著的互作关系($P < 0.001$)。这表明在免疫应激的条件下,白光组的肉鸡保持较高的细胞免疫水平。

2.3 蓝光对 LPS 刺激的肉鸡血清应激激素皮质醇和细胞因子 IL-1 β 水平的影响 肉鸡血液指标测定结果见表 1。光源作为主效应,血清应激激素皮质

醇水平在 49 日龄表现出光源处理之间的差异($P < 0.05$),而且蓝光组的含量要比白光组的低 18.34%;注射 LPS 后皮质醇水平升高并不显著($P > 0.05$),但白光组增幅为 11.53%,蓝光组增幅为 4.55%,显然蓝光组的增幅要小于白光组;光源和 LPS 之间未表现出显著的互作关系($P > 0.05$)。

另外,血清中细胞因子 IL-1 β 水平,无论是光源作为主效应还是免疫应激注射 LPS 作为主效应,均能极显著提高 IL-1 β 水平($P < 0.001$),而这种明显的促进作用主要体现在 LPS 刺激条件下;从多重比较结果看,在 LPS 刺激 24 h 后,白光组血清中细胞因子 IL-1 β 水平要比蓝光组的增加 102.40%。此外,光源和 LPS 之间表现出极显著的互作关系($P <$

0.001)。由此可见,蓝光可在一定程度上抑制肉鸡因 LPS 刺激引起的应激激素和细胞因子 IL-1 β 水平升高,从而对肉鸡的免疫应激产生一定的缓解作用。

2.4 LPS 抗体水平 不同光源处理对血清 LPS 抗体水平的影响见表 2。注射 LPS 后血清抗体水平随时间延长而呈上升的趋势,24 h 后各个光源处理组均达到峰值,并且抗体水平在 3 个测定时间点上大

小顺序均为蓝 > 绿 > 白 > 红。此外,与其他各光源组的值相比,蓝光组的抗体水平在 3 个测定时间点上都是最高的,与红光组的值相比分别高出 170.88%,126.49% 和 66.88%。但是,光源处理和测定时间之间均未表现出显著的互作关系 ($P > 0.05$)。

表 2 单色光对肉鸡抗 LPS 抗体水平的影响 D₄₅₀

注射 LPS 后 时间/h	白光	红光	绿光	蓝光	s _x	P 值		
						光源	LPS	互作
6	0.499	0.261	0.565	0.707	0.035	< 0.001	< 0.001	0.123
12	0.649	0.404	0.744	0.915	0.039	< 0.001	< 0.001	0.123
24	0.810	0.616	0.869	1.028	0.032	< 0.001	< 0.001	0.123

3 讨论

3.1 蓝光与 LPS 刺激对肉鸡体质量的影响 LPS 模型是经典的动物免疫应激模型。LPS 是革兰氏阴性菌膜结构物质,能够诱导动物产生急性细菌感染症状。LPS 刺激可引起机体强烈的炎症反应,结果导致免疫系统炎性介质分泌增加,最终使得营养物质在机体内重新分配,将用于机体生长的养分转向于维持高度激活的免疫系统功能,从而降低了营养物质的利用率^[8]。有研究表明,LPS 刺激会显著降低肉鸡的生长性能^[9]。在本试验中,给肉鸡注射 LPS 也观察到了同样的结果。但这种由 LPS 诱导的生长抑制因采用蓝光的光照而得到了缓解,蓝光组体质量要比其他光色组体质量下降的幅度要小。由此可以推断,蓝光可防止由 LPS 刺激引起免疫应激造成的肉鸡生产性能下降。

3.2 蓝光与 LPS 刺激对细胞免疫水平的影响 T 淋巴细胞是参与细胞免疫的功能细胞。当 T 细胞在体外培养时,受到非特异性有丝分裂原如 ConA 刺激后,能转化为淋巴母细胞,随后淋巴母细胞可发生分裂增殖。根据 T 细胞的转化率可判断机体的细胞免疫水平。本研究结果表明,注射 LPS 后 24 h,白光和蓝光均会显著提高 ConA 诱导的淋巴细胞增殖,细胞免疫水平显著高于其他光色组,且白光组的增幅要比蓝光组高出 4.1%,说明白光组肉鸡的免疫系统被迅速激活。

3.3 蓝光与 LPS 刺激对血清炎性介质产生的影响 炎性细胞因子是由巨噬细胞系统在感染和免疫早期合成与分泌产生的,主要包括 IL-1、TNF- α 和 IL-6 等^[10],这些细胞因子在免疫应激的整个过程中起着

十分重要的作用。另外,皮质醇是家禽体内一种重要的应激激素,是衡量机体应激反应强弱的重要指标,其含量越高,说明机体的应激反应越强,同时又是负反馈调节免疫反应的重要成分,可防止免疫反应过强造成对机体的伤害。从本试验结果可以看出,注射 LPS 后 24 h,白光使肉鸡的应激激素升高,IL-1 β 水平上升,免疫系统处于激活状态,产生免疫应激反应。这导致动物机体代谢上发生了改变,使得机体把将来用于生长和骨骼沉淀的营养物质转向于维持高度激活的免疫系统。因此,本试验中 LPS 刺激引起肉鸡的体增重降低,可能与 IL-1 β 和皮质醇等炎性介质在 LPS 刺激后大量产生密切相关。

本试验还发现,蓝光在降低血清 IL-1 β 和皮质醇含量的同时,对注射 LPS 引起的体增重下降有减缓的作用。尽管 T 淋巴细胞转化率低于白光组,但是要显著高于红光组和绿光组的转化水平,说明蓝光能够维持较佳的细胞免疫水平。由此可见,蓝光阻止免疫应激、肉鸡体增重下降可能与其抑制炎性细胞因子的分泌有关,表明蓝光可在一定程度上减弱免疫应激的不良影响。

3.4 蓝光与 LPS 刺激对体液免疫水平的影响 从试验结果可以看出,蓝光组的抗体水平在 LPS 刺激下显著高于其他各单色光组,能够维持最佳的体液免疫功能,说明免疫刺激时,蓝光可发挥出更加明显的体液免疫促进作用,但其确切的作用机制还有待于进一步研究。

参考文献:

[1] Klasing K C, Laurin D E, Peng R K, et al. Immunologically (下转 332 页)

之一,而 Oct-4 和 Nanog 是 ESCs 保持未分化状态的标志性蛋白因子^[14-16]。本试验用添加 KSR 的培养液分离得到的昆明系 mESCs 碱性磷酸酶染色呈强阳性,以 Oct-4、Nanog 为一抗的免疫组化染色也显示为阳性,说明所分离细胞具有 ESCs 的典型特征。

本试验用 KSR 替代 FBS,观察了昆明系小鼠胚胎贴壁和 ICM 集落的形成情况,将 2 株昆明系 mESCs 传到 7 代,碱性磷酸酶染色及 Oct-4、Nanog 的免疫组化染色表明分离细胞具有 ESCs 的特征;说明在 ESCs 培养液中,用 KSR 替代 FBS 有利于维持昆明系 mESCs 的未分化状态,昆明系小鼠 ICM 细胞和 ESCs 适宜用低质量浓度胰酶(0.5 g/L)离散消化,从而为昆明系 mESCs 建系提供理论依据。

参考文献:

- [1] Evans M J, Kaufman M H. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos [J]. *Nature*, 1981, 292:154-156.
- [2] Martin G R. Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1981, 78: 7634-7638.
- [3] Bryja V, Bonilla S, Cajánek L, et al. An efficient method for the derivation of mouse embryonic stem cells [J]. *Stem Cells*, 2006, 24(4): 844-849.
- [4] Wakayama S, Ohta H, Kishigami S, et al. Establishment of male and female nuclear transfer embryonic stem cell lines from different mouse strains and tissues [J]. *Biol Reprod*, 2005, 72:932-936.
- [5] HE W, GAO J G, LIU X, et al. Establishment of embryonic stem cell lines derived from outbred mouse embryos and production of chimeras [J]. *Dev Reprod Biol*, 1996, 5(2): 21-25.
- [6] 秦茂林,蔡文琴,姚忠祥.昆明种系小鼠胚胎干细胞的分离培养及特性鉴定[J]. *第三军医大学学报*, 2001, 23(9): 1071-1073.
- [7] 王国云,孔北华,李 栋,等.昆明鼠胚胎干细胞的分离培养与鉴定[J]. *山东大学学报:理科版*, 2004, 39(3): 121-124.
- [8] 郭志林,王新庄,王 木,等.影响昆明小鼠和 BALB/c 小鼠胚胎干细胞的分离、克隆、传代的若干因素[J]. *中国兽医学报*, 2006, 26(4): 448-450.
- [9] Cheng J, Dutra A, Takesono A, et al. Improved generation of C57BL/6J mouse embryonic stem cells in a defined serum-free media [J]. *Genesis*, 2004, 39: 100-104.
- [10] Horii T, Nagao Y, Tokunaga T, et al. Serum-free culture of murine embryonic primordial germ cells and embryonic stem cells [J]. *Theriogenology*, 2003, 59: 1257-1264.
- [11] Mallon B S, Park K Y, Chen K G, et al. Toward xeno-free culture of human embryonic stem cells [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2006, 38(8): 1063-1075.
- [12] Nagy A, Gertsenstein M, Vintersten K, et al. Manipulating the mouse embryo: a laboratory manual [M]. 3rd edition. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2003: 371-375.
- [13] 孟国良,藤 路,薛友纺,等. BALB/c 小鼠胚胎干细胞系建立的方法学探讨[J]. *遗传学报*, 2002, 29(7): 565-570.
- [14] Niwa H. Molecular mechanism to maintain stem cell renewal of ES cells [J]. *Cell Struct Funct*, 2001, 26: 137-148.
- [15] Chambers I, Colby D, Robertson M, et al. Functional expression cloning of nanog, a pluripotency sustaining factor in embryonic stem cells [J]. *Cell*, 2003, 113: 643-655.
- [16] Mitsui K, Tokuzawa Y, Itoh H, et al. The homeoprotein nanog is required for maintenance of pluripotency in mouse epiblast and ES cells [J]. *Cell*, 2003, 113: 631-642.

(上接 327 页)

- mediated growth depression in chicks: influence of feed intake, corticosterone and interleukin-1 [J]. *J Nutr*, 1987, 117: 1629-1637.
- [2] Roura A E, Homedes J, Klasing K C. Prevention of immunologic stress contributes to the growth permitting ability of dietary antibiotics in chicks [J]. *J Nutr*, 1992, 122: 2383-2390.
- [3] 杨 宁. 现代养鸡生产 [M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1994.
- [4] Prescott N B, Wathes C M. Spectral sensitivity of domestic fowl (*Gallusg. domestic*) [J]. *Br Poult Sci*, 1999, 40: 332-339.
- [5] Benoit J. The role of the eye and of the hypothalamus in the photostimulation of gonade in the duck [J]. *Ann New York Acad Sci*, 1964, 117: 204-215.
- [6] Foster R G, Follett B K. The environmental of a rhodopsin-like photopigment in the photoperiodic response of the Japanese quail [J]. *J Comp Physiol A*, 1985, 157: 519-528.
- [7] Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and cytotoxicity assays [J]. *Immunol Methods*, 1983, 65: 55-63.
- [8] Coor M E, Miller C C, Park Y, et al. Immune modulation by altered nutrient metabolism: nutritional control of immune-induced growth depression [J]. *Poult Sci*, 1993, 72: 1301-1305.
- [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(1): 47-53.
- [10] Klasing K C. Avian inflammatory response: Mediation by macrophages [J]. *Poult Sci*, 1991, 70: 1176-1186.