

AA 肉鸡血液 CD3⁺、CD4⁺ 和 CD8⁺ T 淋巴细胞的变化规律*

孙国庆, 王纯洁^{**}, 乌日娜, 曙 光, 吴德胜, 张 勇, 赵怀平
(内蒙古农业大学动物科学与医学学院, 内蒙古呼和浩特 010018)

摘 要: 采用流式细胞仪检测 1、3、5、7、14、21、28、35、42、49 日龄 AA 肉鸡血液中的 CD3、CD4、CD8 阳性 T 细胞比例。研究结果表明: 1~5 日龄 T 细胞逐渐进入血液参与细胞免疫, 7、21 日龄注射疫苗起免疫应答作用, 28 日龄后基本形成稳固的细胞免疫水平。

关键词: AA 肉鸡; 血液; CD3⁺T 淋巴细胞; CD4⁺T 淋巴细胞; CD8⁺T 淋巴细胞

Dynamic Rules of CD3⁺, CD4⁺ and CD8⁺ of T Lymphocytes in Blood of AA Broiler*

Sun Guoqing, Wang Chunjie^{**}, Wu Rina, Shu Guang, Wu Desheng, Zhang Yong, Zhao Huaiping
(College of Animal Science and Medicine, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot, Inner Mongolia 010018)

Abstract: In order to verify the dynamic rules of T lymphocyte and its subsets in AA broiler, lymphocytes were separated from chicken blood and the concentration of CD4⁺ and CD8⁺ subsets of T cells and CD3⁺ T cells were checked with flow cytometer in different old days of AA broiler. The results indicated that the T cells entered into blood and joined in cell-mediated immunity at 1 to 5 days old. The first vaccination came into protecting at 7 days old. Then the second vaccination brought immunoreactions at 21 days old. The immunity became steady after 28 days old.

Key words: AA broiler; blood; CD3⁺ T cell; CD4⁺ T cell; CD8⁺ T cell

目前国内大部分商品家禽的大型集约化饲养管理, 易感染病原。要保持禽群正常免疫功能, 主要以接种许多疫苗来完成。但是疫苗的保护效率取决于机体本身免疫系统对疫苗的反应强度, 若机体的免疫被抑制, 对疫苗反应差, 易感染传染病。因此选择适当日龄接种疫苗, 对提高免疫功能有十分重要意义^[1,2]。为研究生产中

AA 肉鸡血液 CD3⁺、CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞含量变化规律及在免疫系统中的重要作用, 本研究用流式细胞仪检测了其含量, 从而提供重要的免疫参考数据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验动物

100 只爱拔益加肉鸡 (Abor Acre, AA), 购自内蒙古畜牧科学院。生产状态下饲养, 并在 6 日龄和 21 日龄时分别接种新城疫疫苗。

收稿日期: 2007- 01- 07

修回日期: 2007- 04- 30

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30160067)

** 通讯作者

1.1.2 仪器与试剂

肝素钠抗凝剂;淋巴细胞分层液(1.077);小鼠抗鸡CD3- FITC、R- PE标记的CD4、CD8单抗(Southern Biotech);流式细胞仪(Facs Calibur, 美国BD公司)。

1.1.3 试验设计

于1、3、5、7、14、21、28、35、42、49日龄上午9:00取AA肉鸡各10只,编号,心脏采血约1 mL加抗凝剂,制备淋巴细胞悬液,流式细胞仪检测CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺T细胞。

1.2 实验方法

在心脏采的肝素抗凝血中加入等体积的PBS(0.01 mol/L, pH 7.2~7.4)稀释。混匀后轻悬在等体积的淋巴细胞分层液上,离心。收集白细胞层用PBS液洗2次。然后将细胞配成 $1 \times 10^6 \sim 2 \times 10^6$ 个/mL浓度的悬浮液,按说明进行CD3- FITC/CD4- RPE、CD3- FITC/CD8- RPE双染色,流式细胞仪检测CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺T细胞所占圈细胞的百分含量和CD4⁺、CD8⁺亚群各占CD3⁺T细胞的百分含量。利用CELLQUEST软件分析流式细胞仪上获取的数据。用SPSS软件统计。

2 结果

2.1 AA肉鸡血液CD3⁺、CD4⁺和CD8⁺T淋巴细胞含量的变化规律

从图1可见,1~5日龄CD3⁺T细胞含量逐渐升高,7日龄突然下降,14~21日龄急速升高并达到最高峰后急速下降至28日龄,35~49日龄时相对趋于平稳状态;CD4⁺T细胞含量1~3日龄明显低于其余日龄,3~5日龄急速上升,7~14日龄增加缓慢,21日龄时达到最高峰后急速下降至28日龄,35~49日龄时基本趋于平稳状态;CD8⁺T细胞含量1~5日龄缓慢上升,5~7日龄急速下降后再急速上升到14日龄,14~28日龄再下降,此后直至49日龄均在此水平上处于平稳状态。

2.2 AA肉鸡血液T淋巴细胞CD4⁺/CD8⁺比例的变化规律

由图2可知,CD4⁺/CD8⁺比例1~3日龄下降,5~7日龄快速增加,14日龄比例急速下降,21日龄时比例到达最高峰后急速下降至42日龄,但比例数值高于前1~7日龄,42~49日龄趋于平稳状态。

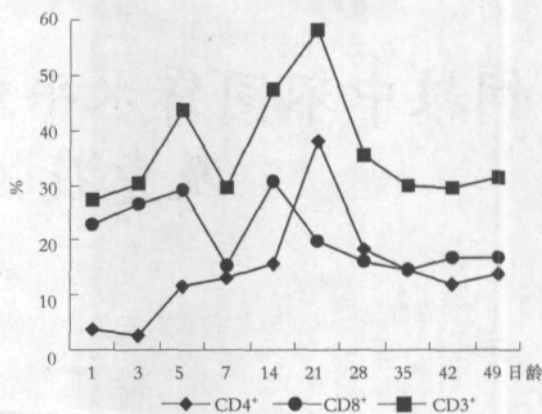


图1 AA肉鸡血液CD3⁺T淋巴细胞及其CD4⁺、CD8⁺亚群的变化规律

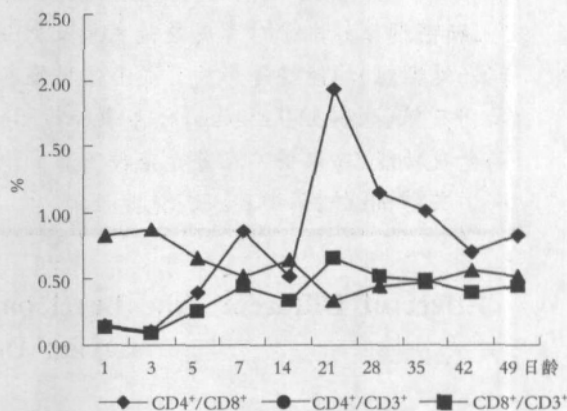


图2 AA肉鸡血液T淋巴细胞CD4⁺/CD8⁺比例的变化规律

3 讨论

本研究发现,1~5日龄CD3⁺T淋巴细胞含量逐渐升高,7日龄突然下降,14~21日龄急速升高并达到最高峰后急速下降至28日龄,35~49日龄时相对趋于平稳状态。表明1~5日龄机体成熟T淋巴细胞逐渐进入血液的含量增高,到7日龄时机体T细胞含量最少,与王纯洁在SPF鸡上的研究结果一致^[3],7~21日龄时含量直达最高峰,由于20日龄第二次注射疫苗从而机体产生免疫能力,随着疫苗浓度的减少28日龄时T细胞含量快速回降,35日龄后机体T淋巴细胞基本发育成熟,数量变化幅度较低。这结果符合前人的研究^[3,4]。CD4⁺T细胞含量1~3日龄明显低于其余日龄,3~14日龄一直上升,21日龄时达到最高峰后急速下降至28日龄,35~49日龄时基本趋于平稳状态。说明1、3日龄时刚孵化的雏鸡主要依靠母源抗体来抵抗病原微生物;与王纯洁(下转第17页)

和细胞因子的协同或调节,除受 B 淋巴细胞的影响外,还受到 T 淋巴细胞有关亚群如 TH 细胞群、巨噬细胞以及 IL-1、IL-2、IL-3、IL-5 等多种白细胞介素的影响^[4,5]。

崔恒敏等(2003)研究表明,免疫球蛋白合成受抑与免疫器官淋巴细胞增殖周期减慢、淋巴细胞的减少以及淋巴细胞亚细胞结构损伤紧密相关,其中缺锌法氏囊受损最严重,法氏囊 B 淋巴细胞核、线粒体、粗面内质网结构改变或被破坏,是导致抗体产生减少的直接原因^[1]。但是 Jean Veininger(1983)认为锌缺乏 B 淋巴细胞受损极小,不影响免疫球蛋白的合成^[6],本实验结果表明锌缺乏血清免疫球蛋白含量显著降低,机体体液免疫功能受到严重影响,缺锌能明显影响机体免疫球蛋白的合成,与 Jean Veininger 报道的结果不一致。

4 结 论

试验结果表明,饲料锌水平影响育成鸭体增重,随饲料锌水平的升高,生长性能和免疫性能均不同程度的提高,但是在较高锌水平下,育成鸭的免疫性能又不同程度的受到抑制。综合试验结果

来看,笼养蛋鸭育成阶段在饲用玉米-豆粕型实用饲料(含锌 32.9 mg/kg)时外加锌 30 mg/kg 可满足生长需要,适当增加日粮锌含量可增加免疫功能,建议在蛋鸭笼养条件下育成阶段饲料锌的添加水平为 30-60 mg/kg。

参考文献:

- 1 崔恒敏,方静,彭西.缺锌对雏鸭免疫功能影响的研究[J].畜牧兽医学报,2003,34(2):161-167.
- 2 吴嘉惠,贺泽华,徐迪雄.缺锌对大鼠胸腺发育影响及机理探讨[J].营养学报,1998,20:303-306.
- 3 Sharma P K. Role of cyclic AMP in lymphocyte activation[J]. Biochem Cell Biol, 1986, 64: 1072.
- 4 Flynn A. Control of in vitro lymphocyte proliferation by copper, magnesium and zinc deficiency [J]. J Nutr, 1984, 114: 2034-2042.
- 5 张日俊,周毓平,黄燕等.锌对动物免疫功能的作用效应[J].国外畜牧科技,1998,25(1):3-8.
- 6 Jean Veininger P K D. Nutrition update [M]. A Widely-Interscience Publication, 1983.

(上接第13页)在 SPF 鸡上研究结果不一致的是 7、21 日龄时由于按生产要求前 1 天注射疫苗未下降反而上升^[3],说明两次免疫均引起 CD4⁺T 细胞增加,并且二免时增加迅速,此间一般情况下不易感染疾病,28 日龄后机体本身的免疫功能基本趋于成熟状态并引发体液免疫。这与相关报道一致^[4]。CD8⁺T 细胞含量 1-5 日龄缓慢上升,5-7 日龄急速下降后再急速上升到 14 日龄,14-28 日龄再下降,此后直至 49 日龄均在此水平上处于平稳状态。表明 7 日龄时识别内源性抗原能力差,14 日龄时机体虽识别内源性抗原的能力强,但识别外源性抗原的能力弱,因此自身免疫功能弱,所以接种外来疫苗来维持识别外来抗原。与王纯洁等^[3]的研究大体一致。CD4⁺/CD8⁺比例变化表明:AA 雏鸡在 1-7 日龄时其免疫功能逐渐提高,14 日龄时细胞免疫功能明显弱,这可能与 CD8⁺T 淋巴细胞含量高有关,21 日龄时细胞免疫水平达最高。28 日龄后细胞免疫功能基本保持稳定。

4 结 论

不同日龄的 AA 肉鸡血液中 CD3⁺、CD4⁺和

CD8⁺T 细胞在 1-5 日龄含量均有上升趋势,表明 T 细胞逐渐进入血液参加细胞免疫,7 日龄时除了 CD4⁺T 细胞外含量均下降到最低,除了 CD8⁺T 细胞含量在 14 日龄达到最高峰以外其余含量均在 21 日龄时达到最高峰,表明第二次注射疫苗起免疫应答作用,28 日龄后三者均下降到平稳状态,CD4⁺/CD8⁺比例除 14 日龄外,与 CD4⁺T 细胞的基本相似,表明 28 日龄后机体基本形成稳固的细胞免疫水平。

参考文献:

- 1 Jeurissen S H M, Boonstra-Blom A G, A1- Garib S O, et al. Defense mechanisms against viral infection in poultry Review [J]. Vet Quart, 2000, 22: 204-208.
- 2 Sharma J M. The structure and function of the avian immune system [J]. Acta Veterinaria Hungarica, 1997, 45: 229-238.
- 3 王纯洁,斯日古楞,贾德刚等.雏鸡淋巴细胞变化规律的流式细胞仪检测研究[J].畜牧兽医学报,2005,36(8):28-31.
- 4 姜国均,周帮会,郭红斌等.增免散对鸡脾脏 T 淋巴细胞 CD4⁺和 CD8⁺亚群的影响[J].中国兽医科学,2006,36(2):157-161.