

# 爱拔益加肉鸡和北京油鸡体液免疫及细胞免疫功能的比较研究

马彦博<sup>1,2</sup>, 吕于明<sup>1</sup>, 聂伟<sup>1</sup>, 袁建敏<sup>1</sup>, 王忠<sup>1</sup>

(1. 中国农业大学动物科技学院, 北京 100094; 2. 河南科技大学动物科技学院, 河南洛阳 471003)

**摘要:** 试验选用 1 日龄健康爱拔益加 (AA) 肉鸡和北京油鸡公雏各 72 只。检测新城疫抗体效价, 牛血清白蛋白抗体水平, 外周血 T、B 淋巴细胞转化率以及 T 淋巴细胞亚群等指标。结果表明: 北京油鸡二免后第 7 天的新城疫抗体效价和二免后第 6 天的牛血清白蛋白抗体水平都比 AA 肉鸡的高, 但均无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。北京油鸡的脂多糖 (LPS) 刺激指数始终比 AA 肉鸡的高 ( $P > 0.05$ ); 21 日龄时, 北京油鸡的刀豆素 A (ConA) 刺激指数、 $CD_4^+$ 、 $CD_8^+$  T 淋巴细胞数量以及  $CD_4^+/CD_8^+$  都比 AA 肉鸡的高, 但均无显著性差异 ( $P > 0.05$ ); 而 42 日龄时, AA 肉鸡的 ConA 刺激指数、 $CD_4^+$ 、 $CD_8^+$  T 淋巴细胞数量以及  $CD_4^+/CD_8^+$  却高于北京油鸡 ( $P < 0.05$ )。本试验结果提示, AA 肉鸡和北京油鸡的体液免疫和细胞免疫功能之间存在一定的差异, 但差异不显著。

**关键词:** 体液免疫; 细胞免疫; 爱拔益加肉鸡; 北京油鸡

中图分类号: S831.1

文献标识码: A

文章编号: 0258-7033(2007)07-0018-03

随着现代养禽业的快速和大规模发展, 各种传染病对养鸡的影响也越来越大<sup>[1]</sup>。人们为了使动物还能够处于一个健康的状态, 常常通过多种手段来增强动物的免疫机能和抗病能力。但是无论采取哪些调控手段都应该是以动物自身免疫系统功能发育规律为基础的。国内外关于快大型肉鸡爱拔益加肉鸡 (AA) 和优良地方品种北京油鸡在笼养状态下体液免疫和细胞免疫功能的比较研究较少。因此, 本试验旨在将爱拔益加肉鸡和北京油鸡在笼养状态下饲养, 以期找到二者在免疫系统功能发育的规律和差异, 为不同品种在生产实际中免疫程序的制定与修正、品种选育、饲养环境的优化以及免疫调节产品的开发与合理利用提供科学的理论依据。

## 1 材料与方法

**1.1 试验动物与分组** 试验选用 1 日龄健康爱拔益加 (Arbor Acre; AA) 肉鸡和北京油鸡公雏各 72 只, 每个品种的鸡各自为处理, 每个处理随机分成 6 个重复。此次试验使用的北京油鸡具有 78% 纯血。试验动物饲养于 3 层笼具内, 2 个品种的鸡同为自由采食、饮水。试验期 49 d。

**1.2 试验日粮和免疫程序** 采用玉米-豆粕型基础日

粮, 参照 NRQ 1994 肉鸡营养需要配制, 供试动物的营养水平完全相同。免疫程序如 7 日龄滴鼻、点眼各 1 滴接种新城疫疫苗, 14 日龄滴鼻、点眼各 1 滴接种法氏囊疫苗; 21 日龄饮水二次免疫新城疫疫苗, 28 日龄饮水二次免疫法氏囊疫苗。

## 1.3 检测指标与方法

**1.3.1 血清新城疫抗体效价的测定** 分别于 14、21、28、35、42 日龄从每个品种中随机选取 6 只鸡, 翅静脉采集非抗凝血 5 mL, 分离血清, -20℃ 保存备用。用微量法红细胞凝集抑制 (HI) 试验测定血清中新城疫抗体效价<sup>[2]</sup>。

**1.3.2 牛血清白蛋白抗体水平的测定** 分别于 14 日龄从每个品种中随机选取 6 只鸡, 每只鸡的右腿肌肉注射 0.5% 牛血清白蛋白 (BSA) 1 mL, 并做标记 (翅号), 用以测定特异性抗体效价, 28 日龄时对标记鸡进行牛血清白蛋白二次强化免疫。然后分别在一免和二免后的第 6、10 天和 14 天, 从每个品种中选出戴翅号的 6 只鸡, 从鸡翅静脉采集非抗凝血 5 mL, 分离血清, -30℃ 冻存, 以备检测 BSA 抗体水平。BSA 抗体水平按 ELISA 方法测定 405 nm 处 OD 值<sup>[3,4]</sup>。

**1.3.3 外周血淋巴细胞增殖 (转化) 率和 T 淋巴细胞亚群测定** 分别于 21、42 日龄从每个品种中随机选取 6 只鸡, 翅静脉无菌采集抗凝血 5 mL (肝素抗凝, 20 IU/mL), 采用微量全血体外培养和 MTT (四甲基偶氮唑盐) 法测定 T、B 淋巴细胞转化率<sup>[5-7]</sup>。结果以刺激指数 (SI) 来表示:  $SI = \text{ConA 或 LPS 刺激的 } OD_{470nm} / \text{对照管的 } OD_{470nm}$ 。流式

收稿日期: 2006-04-21; 修回日期: 2006-07-25

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 (2004CB117504)

作者简介: 马彦博 (1978-), 男, 河南洛阳人, 助教, 硕士

\* 通讯作者

细胞仪测定 T 淋巴细胞分化抗原  $CD_4^+$  和  $CD_8^+$  细胞百分比<sup>[8]</sup>, 计算  $CD_4^+/CD_8^+$  比值。小鼠抗鸡  $CD_4^+$ -PE、 $CD_8^+$ -PE 单抗均购自晶美生物公司。

1.4 数据处理和统计分析 采用 SPSS 11.5 for windows 软件进行 t 检验。试验数据以平均值  $\pm$  标准差表示, 百分数经 ARCSIN 转换。

## 2 结 果

2.1 AA 肉鸡和北京油鸡的新城疫抗体效价及牛血清白蛋白抗体水平 见表 1。AA 肉鸡和北京油鸡二免后

的总新城疫抗体效价和总牛血清白蛋白抗体水平都高于一免, 北京油鸡二免后第 7 天的新城疫抗体效价和二免后第 6 天的牛血清白蛋白抗体水平都比 AA 肉鸡的高, 但均无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。

2.2 AA 肉鸡和北京油鸡外周血淋巴细胞转化率及 T 淋巴细胞亚群 从表 2 可以看出, 北京油鸡的脂多糖 (LPS) 刺激指数始终比 AA 肉鸡的高, 但均无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。21 日龄时, 北京油鸡的刀豆素 A (ConA) 刺激指数、 $CD_4^+$ 、 $CD_8^+$  T 淋巴细胞数量以及  $CD_4^+/CD_8^+$  都比 AA 肉鸡的高, 均无显著性差异 ( $P > 0.05$ ); 而 42 日

表 1 AA 肉鸡和北京油鸡的新城疫 (NDV) 抗体效价及牛血清白蛋白 (BSA) 抗体水平

免疫程序	时间	NDV 抗体效价		时间	BSA 抗体水平	
		北京油鸡	AA 肉鸡		北京油鸡	AA 肉鸡
一免	第 7 天	4.38 $\pm$ 0.14	4.33 $\pm$ 0.38	第 6 天	0.179 $\pm$ 0.02	0.187 $\pm$ 0.04
	第 14 天	6.33 $\pm$ 0.82	5.70 $\pm$ 0.89	第 10 天	0.165 $\pm$ 0.03	0.168 $\pm$ 0.01
				第 14 天	0.157 $\pm$ 0.00	0.156 $\pm$ 0.00
二免	第 7 天	9.19 $\pm$ 0.75	8.25 $\pm$ 0.85	第 6 天	0.210 $\pm$ 0.03	0.194 $\pm$ 0.02
	第 14 天	7.75 $\pm$ 0.71	8.06 $\pm$ 0.62	第 10 天	0.168 $\pm$ 0.01	0.169 $\pm$ 0.01
	第 21 天	6.50 $\pm$ 0.82	6.78 $\pm$ 0.86	第 14 天	0.161 $\pm$ 0.00	0.162 $\pm$ 0.00

注: NDV 抗体数据以  $\log_2$  表示, BSA 抗体数据以 405 nm 下 OD 值表示

龄时, AA 肉鸡的 ConA 刺激指数、 $CD_4^+$ 、 $CD_8^+$  T 淋巴细胞数量以及  $CD_4^+/CD_8^+$  却都均比北京油鸡的高, 并且差异显著 ( $P < 0.05$ )。

表 2 AA 肉鸡和北京油鸡外周血淋巴细胞转化率及 T 淋巴细胞亚群

日龄	项目	北京油鸡	AA 肉鸡
21	ConA 刺激指数 SI	1.14 $\pm$ 0.14	1.10 $\pm$ 0.10
	LPS 刺激指数 SI	1.10 $\pm$ 0.11	1.08 $\pm$ 0.11
	$CD_4^+$ /%	24.18 $\pm$ 1.31	14.87 $\pm$ 1.10
	$CD_8^+$ /%	15.98 $\pm$ 1.52	10.80 $\pm$ 1.12
	$CD_4^+/CD_8^+$	1.51 $\pm$ 0.20	1.38 $\pm$ 0.11
42	ConA 刺激指数 SI	1.05 $\pm$ 0.07	1.09 $\pm$ 0.13
	LPS 刺激指数 SI	1.13 $\pm$ 0.78	1.10 $\pm$ 0.12
	$CD_4^+$ /%	20.06 $\pm$ 0.74 <sup>a</sup>	38.50 $\pm$ 1.49 <sup>b</sup>
	$CD_8^+$ /%	17.77 $\pm$ 0.72 <sup>a</sup>	28.63 $\pm$ 1.27 <sup>b</sup>
	$CD_4^+/CD_8^+$	1.13 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	1.34 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>

注: 同行肩标不同小写字母者表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。淋巴细胞转化率以刺激指数 SI 来表示

## 3 讨论与分析

3.1 动物机体的体液免疫是指抗体介导的特异性免疫反应, 其功能评价主要是指抗体的产生能力。抗体产生功能的评价包括天然抗体的效价和给予机体抗原刺激后对特异性抗体的测定。此次试验发现, AA 肉鸡和北京油鸡二免后的总新城疫抗体效价和总牛血清白蛋白抗体水平都高于一免。北京油鸡二免后第 7 天的新

城疫抗体效价和二免后第 6 天的牛血清白蛋白抗体水平都比 AA 肉鸡的高。这说明 AA 肉鸡和北京油鸡在对外界抗原的易感性上存在品种差异。Gross<sup>[9]</sup>认为, 鸡对绵羊红细胞 (SRBC) 的体液免疫应答有高抗反应 (HA) 品系和抵抗反应 (LA) 品系, 提示不同基因背景的动物对外界刺激的敏感性是不一样的。

3.2 淋巴细胞转化率是评价细胞免疫的一个重要指标, T、B 淋巴细胞在体外受到抗原或有丝分裂原刺激后, 细胞代谢和形态相继发生变化, 从而产生一系列增殖反应<sup>[7]</sup>。此次试验发现, AA 肉鸡和北京油鸡的 T 淋巴细胞转化率 (ConA 刺激) 随日龄的增长逐渐下降, 说明 T 淋巴细胞的功能是逐渐减弱的; 而 B 淋巴细胞转化率 (LPS 刺激) 则随日龄的增长逐渐升高, 提示 B 淋巴细胞的功能有逐渐增强的趋势, 这与其抗体水平的变化趋势具有相似性。这表明在家禽生长的前期其免疫功能主要由 T 淋巴细胞维持, 而后期其免疫功能主要由 B 淋巴细胞维持。

3.3 目前, 已鉴定的鸡 T 细胞表面分化抗原  $CD_3^+$ 、 $CD_4^+$  和  $CD_8^+$  等<sup>[10]</sup>。 $CD_4^+$  T 细胞大部分是 Th 细胞, 与 MHC-II 型分子密切联系, 是对外源性病原产生炎症反应的主要成分, 具有调节免疫反应活性, 辅助 B 细胞产生抗体等作用, 而  $CD_8^+$  T 细胞大部分是细胞毒性 T 细胞即 CTL 细胞, 与 MHC-I 型分子有联系, 主要是针对内源

性抗原,可以直接杀伤病毒感染的细胞,抑制病毒在细胞内的繁殖。 $CD_4^+$ T 细胞与  $CD_8^+$ T 细胞的比值是评估机体免疫状态的重要依据,其比例高说明免疫系统处于较强的激活状态,反之则说明免疫系统处于正常或较弱状态。此次试验发现,AA 肉鸡和北京油鸡的  $CD_4^+$ / $CD_8^+$ 随日龄的增长逐渐下降,这种变化趋势与其 T 淋巴细胞转化率的变化趋势具有相似性,有力的佐证了家禽生长后期 T 细胞功能是逐渐减弱的结论。

#### 4 结 论

随着家禽日龄的增长,AA 肉鸡和北京油鸡的 B 淋巴细胞功能(即体液免疫反应)逐渐增强,而 AA 肉鸡和北京油鸡的 T 淋巴细胞功能(即细胞免疫反应)则逐渐减弱。AA 肉鸡和北京油鸡的免疫系统发育虽有差异,但免疫功能没有明显差异。

#### 参考文献:

- [1] Weiss J M. Behavioral and neural influences on cellular immune response: effects of stress and interleukin-1[J]. J Clin Psychiatry, 1989, 50(5): 43-53.
- [2] 阴天榜,刘兴友. 家禽免疫学[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1999. 260-269.
- [3] Larsson R M, Balow T L, Lindahl T L, et al. Chicken antibodies: taking advantage of evolution - a review [J]. Poultry Sci, 1993, 72(10): 1807-1812.
- [4] Lillehoj H S. Lymphocytes involved in cell-mediated immune responses and methods to assess cell-mediated immunity[J]. Poultry Sci, 1991, 70: 1154-1164.
- [5] 吴建设,张日俊,周毓平,等. 全血法鸡淋巴细胞转化试验最佳试验条件研究[J]. 畜牧兽医学报, 1997, 28: 212-216.
- [6] Lee L F. Chicken lymphocyte stimulation by mitogens: a microassay with whole blood cultures[J]. Avian Disease, 1978, 22(2): 296.
- [7] Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and cytotoxicity assays[J]. J Immunol Methods, 1983, 65: 55-63.
- [8] Gisela P E, Walther G B, Tina K B.  $CD_4$ ,  $CD_8$  and TCR defined T-cell subsets in thymus and spleen of 2- and 7-week old commercial broiler chickens[J]. Vet Immunol Immunop, 1998, 62(1): 339-348.
- [9] Gross W B, Siegel P B. Environment-genetic influences on immunocompetence[J]. J Anim Sci, 1988, 66: 2091-2094.
- [10] Chan M M, Chen C H, Ager L L, et al. Identification of the avian homologous of mammalian  $CD_4$  and  $CD_8$  antigens[J]. J Immunol, 1988, 140: 2133-2138.

### Comparative Study on the Humoral Immunity and Cellular Immunal Function between Arbor Acre and Beijing Fatty Chickens

MA Yan-bo<sup>1,2</sup>, GUO Yu-ming<sup>\*</sup>, NIE Wei<sup>1</sup>, YUAN Jian-min<sup>1</sup>, WANG Zhong<sup>1</sup>

(1. College of Animal Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100094, China; 2. College of Animal Science and Technical, Henan University of Science and Technology, Henan Luoyang 471003, China)

**Abstract:** This study was conducted to investigate the humoral immunity and cellular immunal function between Arbor Acre(AA) and Beijing fatty chickens. The results showed that the antibody titers to NDV at 28 d and the anti-BSA antibody production at secondary response 6 d of Beijing fatty chickens were higher than that of AA chicken\$ P > 0.05). The proliferation of peripheral blood B lymphocyte of Beijing fatty chickens were higher than that of AA chicken\$ P > 0.05). At 21 days, the proliferation of peripheral blood T lymphocyte,  $CD_4^+$  T lymphocyte amount,  $CD_8^+$  T lymphocyte amount, and  $CD_4^+$ / $CD_8^+$  of Beijing fatty chickens were higher than that of AA chicken\$ P > 0.05), but at 42 days, the proliferation of peripheral blood T lymphocyte,  $CD_4^+$  T lymphocyte amount,  $CD_8^+$  T lymphocyte amount, and  $CD_4^+$ / $CD_8^+$  of AA chickens were higher significantly than that of Beijing fatty chickens ( P < 0.05). In conclusion, there were not significantly differences in humoral and cellular immunal function between Arbor Acre and Beijing fatty chickens.

**Key words:** humoral immunity; cellular immunity; Arbor Acre chickens; Beijing Fatty chickens