

热应激对鸡免疫性能的影响^{*}

杨采堂^{**} 王新谋 顾宪红

(北京农业大学)

提 要 以绵羊红细胞(SRBC)作为抗原,根据鸡对其产生抗体水平的高低,分为高抗体(HA)组和低抗体(LA)组鸡,然后以高温作为激源,研究其对两组鸡免疫性能的影响。结果表明:

1)在未受应激时,HA组和LA组鸡的淋巴细胞转化率无差异;LA组鸡白细胞总数明显比HA组鸡高($P < 0.01$);LA组鸡异嗜性细胞与淋巴细胞的比值(H/L)显著高于HA组鸡($P < 0.05$)。

2)急性热应激使HA组鸡淋巴细胞的转化受到抑制,但对LA组鸡无影响;慢性热应激使两组鸡的淋巴细胞转化率都下降,但对LA组鸡影响更明显。

3)慢性热应激对HA组鸡白细胞总数无影响,但使其H/L值明显升高;慢性热应激对LA组鸡的H/L值无明显影响,但却使其白细胞总数明显下降。

关键词 热应激 鸡 免疫性能

1 前 言

有关热应激对鸡免疫性能的影响,国内研究报道少见,而国外学者对此做了大量工作^[1,2,3],但他们所用的鸡大都没有经过筛选,以鸡对SRBC(绵羊细胞)产生抗体水平而筛选的鸡,在免疫和对一些疾病的抵抗力方面,都存在一定的差异^[4,5]。本试验以鸡对SRBC产生抗体的水平,筛选出HA和LA组鸡,研究热应激对两组鸡淋巴细胞转化、白细胞总数及白细胞分类计数的影响,试图评价所筛选鸡对热应激的抵抗力。

2 材料与方 法

2.1 材 料

- (1) 试验鸡:250日龄巴布考克B-300型蛋鸡,购于北京市种禽公司;
- (2) RPMI-1640培养基:美国Life Technologies INC.出品, No. 430-1800EB;
- (3) 氚标记胸腺嘧啶核苷(³H-TdR):中国原子能科学研究院出品;
- (4) 植物血凝素(PHA):华美生物工程公司出品, BJ9012, BP0357-1;
- (5) 98孔平底微孔培养板:日本住友ベークライト株式会社生产;
- (6) 液体闪烁计数器:MR600(DYNATECH产品);

* 国家自然科学基金资助项目

** 现已毕业于青岛正大有限公司任职

(7) 二氧化碳培养箱: SHEL—LRB 1815TC, USA;

2.2 方法

2.2.1 试验鸡的筛选和分组

按《兽医临床检验手册》^[6]的方法制备 SRBC 抗原。将 160 只鸡分别腿静脉注射 0.5% SRBC 悬浮液 1mL, 5 天后采血, 按《兽医免疫》^[7]凝集反应法(用 96 孔 V 型板)测定 SRBC 抗体水平, 选血凝价 $\geq 1:128$ 的为高抗体组(HA 组), 血凝价 $\leq 1:8$ 的为低抗体组(LA 组), 经检验, 两组鸡抗体水平差异极显著($P < 0.01$)。然后每组各随机选 16 只鸡, 再分别等分为试验组和对照组, 每组 8 只鸡, 并分别测定白细胞总数、白细胞分类计数和淋巴细胞转化率。

2.2.2 热应激处理

将 HA 和 LA 的试验组及 HA 和 LA 的对照组分别置于两个农大 KB—I 型呼吸测热室中, HA 和 LA 对照组温度始终保持 22℃, HA 和 LA 试验组温度为 30℃ 保持 24h, 然后升温至 35℃ 保持 120h。在试验组 30℃ 24h 和 35℃ 120h 时, 同时对各组鸡采血, 分别测定白细胞总数、白细胞分类计数和淋巴细胞转化率。

2.2.3 研究指标测定方法

白细胞总数计数按《临床免疫技术》^[8]所述方法进行; 白细胞分类计数按《兽医临床检验手册》^[6]所述方法进行; 淋巴细胞转化率的测定, 是根据淋巴细胞受分裂原如植物细胞凝集素(PHA)或特异性抗原刺激而发生转化, 此时将具有放射性的³H—TdR 加入培养液, 则³H—TdR 会被摄入转化中的细胞内, 用 β -液体闪烁仪测定加 PHA 和不加 PHA 样品管每分钟的脉冲数(CPM 值), 以两者的比值—刺激指数(SI)表示其转化率($SI = \text{加 PHA 管的 CPM 值} / \text{未加 PHA 管的 CPM 值}$), 本试验参照 Lucy(1979)^[9]建立的鸡外周血淋巴细胞对 PHA 刺激反应最佳条件, 结合本研究预试验确定的培养条件进行。

3 结果与分析

3.1 热应激对淋巴细胞转化率的影响

由表 1 可以看出, HA 组与 LA 组在实施热应激前的 SI 总初始值差异不显著; HA 组鸡和 LA 组鸡的试验组与对照组的 SI 初始值, 也分别无显著差异。当试验组温度为 30℃ 24h 时, HA 组鸡的试验组与对照组 SI 值差异极显著($P < 0.01$), 但 LA 组鸡的试验组和对照组 SI 值无显著差异。当试验组温度升至 35℃ 120h 时, HA 组鸡试验组与对照组 SI 值差异显著($P < 0.05$), LA 组鸡试验组与对照组 SI 值差异极显著($P < 0.01$); LA 试验组 SI 值低于 HA 试验组, 但差异不显著。

3.2 热应激对白细胞总数的影响

由表 2 可以看出, HA 组鸡、LA 组鸡白细胞总数的总初始值差异极显著, LA 鸡白细胞总数比 HA 鸡高。HA 组鸡的试验组与对照组初始值差异不显著; 在 30℃ 和 35℃ 处理后, 试验组白细胞总数有升降, 对照组较稳定, 两组差异均不显著。LA 组鸡的试验组与对照组初始值差异不显著; 试验期间 LA 组鸡的对照组白细胞总数较稳定, 而试验组在 30℃ 24h 时, 白细胞总数下降, 但与对照组无显著差异, 35℃ 120h 处理后, 试验组白细胞总数下降到极显著低于对照组($P < 0.01$)。HA 组与 LA 组鸡的试验组之间, 两次测定值均无明显差异, 但 LA 对

照组与 HA 对照组的第二次测定值,仍有明显差异($P < 0.01$),表现为 LA 对照组高。

表 1 热应激对淋巴细胞转化率(SI 值)的影响

Tab. 1 The effect of heat stress on lymphocyte transformation

类别	总初始值	组别	初始值	第一次值	第二次值
HA 组	2.894±1.496 (16)	试验组 (8)	2.938±1.078	2.181±0.367**	1.893±0.708*
		对照组 (8)	2.851±1.906	2.812±0.275	2.962±0.661
LA 组	3.106±1.213 (16)	试验组 (8)	3.155±1.181	2.330±0.510	1.328±0.211**
		对照组 (8)	3.015±1.318	2.886±1.458	3.168±0.547

注:(1)总初始值和初始值均在 20℃ 左右的室温下采血测得,下同。

(2)第一次值和第二次值分别为试验组温度为 30℃ 持续 24h 和 35℃ 持续 120h 采血测得;对照组第一、二次值采血时间与试验组同,但温度均为 22℃,下同。

(3)括号中数字为样本数,下同。

(4)* 和 ** 分别代表 HA 组或 LA 组的试验组与对照组之间差异显著($P < 0.05$)和极显著($P < 0.01$);不同的小写或大写英文字母分别表示同一次测定值的 HA 组与 LA 组间差异显著($P < 0.05$)或极显著($P < 0.01$),下同。

表 2 热应激对白细胞总数的影响($\times 10^5$ 个/mL 血液)

Tab. 2 The effect of heat stress on white blood cells

类别	总初始值	组别	初始值	第一次值	第二次值
HA 组	261.46±117.70 ^A (16)	试验组 (8)	247.28±91.36	399.208±108.75	251.00±58.79
		对照组 (8)	282.21±152.42	300.09±108.75	295.38±51.83 ^C
LA 组	464.54±107.08 ^B (16)	试验组 (8)	513.94±107.00	391.01±102.42	263.81±83.18**
		对照组 (8)	415.50±87.70	405.38±92.07	410.28±40.48 ^D

表 3 热应激对白细胞分类计数(H/L 值)的影响

Tab. 3 The effect of heat stress on white-cell differential count (H/L)

类别	总初始值	组别	初始值	第一次值	第二次值
HA 组	0.358±0.095 ^A (16)	试验组 (8)	0.331±0.095	0.537±0.074	0.648±0.165**
		对照组 (8)	0.395±0.096	0.470±0.145	0.342±0.092
LA 组	0.464±0.135 ^B (16)	试验组 (8)	0.468±0.138	0.437±0.096	0.580±0.124
		对照组 (8)	0.461±0.140	0.344±0.083	0.468±0.118

3.3 热应激对白细胞分类计数的影响

表 3 的结果显示,HA 组与 LA 组的 H/L 总初始值差异显著($P < 0.05$),表现为 LH 组高。HA 组鸡的试验组和对照组 H/L 初始值无显著差异,升温至 30℃ 24h,两组间也无显著

差异,再次升温至 35℃ 120h,试验组 H/L 值极显著高于时照组($P < 0.01$)。LA 组鸡的试验组和对照组 H/L 初始值及 30℃ 24h H/L 值,均无显著差异,35℃ 120h 时,试验组 H/L 值有所升高,但与对照组差异不显著。HA 组和 LA 组的试验组之间,在 30℃ 24h 和 35℃ 120h 时,HA 试验组 H/L 值升高趋势较明显,但与 LA 试验组均无显著差异。

4 讨 论

4.1 热应激对淋巴细胞功能的影响

本试验急性热应激(22℃~30℃持续 24h)使 HA 组鸡 SI 值显著下降,慢性热应激(35℃持续 5 天)使 HA 组和 LA 组鸡 SI 值均显著下降, SI 下降表明淋巴细胞功能降低,这与 Regnier(1981)^[10]的研究一致。应激导致淋巴细胞功能下降,可能与应激时血浆皮质酮水平升高、肾上腺髓质释放肾上腺素和去甲肾上腺素有关(Edens,1975)^[11,12]。Gillis 等(1979)^[13]的研究发现,糖皮质激素可抑制受到抗原或有丝分裂素刺激的 T-细胞释放 T-细胞生长因子,因而抑制了植物细胞凝集素(PHA)刺激的 T-细胞转化。Sullivan(1979)^[14]证实,皮质类固醇与淋巴样细胞胞浆中的特异蛋白受体相结合,类固醇受体复合物穿入细胞核内而改变酶的活性,并影响其核酸代谢,葡萄糖的摄取和蛋白质的合成也受到抑制,因此,应激时淋巴细胞受有丝分裂素刺激的转化率下降。本研究的其他试验证明,热应激可导致鸡血浆皮质酮水平升高,也说明了这一点。

4.2 热应激对白细胞总数及白细胞分类计数的影响

在正常条件下,HA 组与 LA 鸡的白细胞总数及白细胞分类计数都存在显著差异,表现为 LA 组鸡白细胞总数多, H/L 值大,说明 LA 组鸡外周血中异嗜性细胞多。但经过热处理(急性或慢性)后,HA 组鸡白细胞总数变化不大,而 H/L 值明显升高;LA 组鸡则白细胞总数下降明显,而 H/L 值无显著升高。 H/L 值升高,可能由于应激引起皮质酮升高,进而引起(1)外周血 T-淋巴细胞转移于骨髓和血管外组织(Cohen,1972)^[15];(2)淋巴细胞的分化受到影响,皮质酮敏感淋巴细胞亚群的增殖受到抑制(Gillis,1978)^[13];(3)淋巴细胞被肾上腺胆固醇分解(lysed)(Claman,1971)^[16]。因而使外周血中异嗜性白细胞相对增多, H/L 值升高。但 LA 组鸡遭受慢性热应激时,白细胞总数下降, H/L 升高不明显,说明其外周血淋巴细胞数减少时,异嗜性细胞也相应减少,可能是因慢性热应激使 LA 组鸡进入应激衰竭阶段,免疫功能急剧下降所致。

4.3 对 HA 组鸡与 LA 组鸡对热应激所表现差异的分析

在本试验中,急性和慢性热应激均使 HA 鸡淋巴细胞转化率显著下降;而急性热应激对 LA 组鸡无明显影响,慢性热应激却使 LA 组鸡淋巴细胞转化率极显著下降。这种差异可能是因(1)以 SRBC 抗体水平筛选,造成 HA 组和 LA 组鸡之间在淋巴细胞功能上的遗传差异,这种遗传差异只有遭受一定应激时才表现出来。LA 组鸡胸腺大,法氏囊小(Ubosi 等,1985)^[17],而 T-淋巴细胞主要在胸腺分化成熟,B-淋巴细胞则源于法氏囊,故两组鸡在热应激时表现的淋巴细胞功能差异,可能与其胸腺和法氏囊的形态解剖学差异有关,虽未见有关这种差异的直接报道,但 Regnier(1981)^[10]曾报道过 New Hampshire 鸡和 Hubbard 鸡的这种差异。Gross(1971)^[18]也曾报道过与遗传因素有关的、由应激引起的这种体液免疫的变化,并

认为是环境因素和遗传因素互作的结果;(2)HA组鸡与LA组鸡对高温的适应性差异,LA组鸡体型较大,对慢性热应激难以适应,反应强烈。

本试验HA组鸡与LA组鸡,在正常情况下白细胞总数和 H/L 值都存在显著差异,而经慢性热处理后,两组鸡的差异又变得不明显了,好象应激使两组鸡趋于一致,这与Gross(1979)用小鸡做的试验结果一致。

5 结 论

(1)在未受应激时,HA组和LA组鸡的淋巴细胞转化率无差异;LA组鸡白细胞总数明显比HA组鸡高($P<0.01$);LA组鸡异嗜性细胞与淋巴细胞的比值(H/L)显著高于HA组鸡($P<0.05$)。

(2)急性热应激使HA组鸡淋巴细胞的转化受到抑制,但对LA组鸡无影响;慢性热应激使两组鸡的淋巴细胞转化率都下降,但对LA组鸡影响更明显。

(3)慢性热应激对HA组鸡白细胞总数无影响,但使其 H/L 值明显升高;慢性热应激对LA组鸡的 H/L 值无明显影响,但却使其白细胞总数明显下降。

参 考 文 献

- 1 Thaxton P et al. Immune response of chicken following heat exposure or injection with ACTH. Poultry Science, 1968, 47: 264
- 2 Thaxton P. Influence of temperature on the immune response of birds. Poultry Science, 1978, 57: 1430
- 3 Jeffery A R et al. Acute thermal stress and synthesis of antibodies in chickens. Poultry Science, 1980, 59: 985
- 4 Gross W B. Effect of dose of antigen and social environment on antibody response of high and low antibody response chicken. Poultry Science, 1986, 65: 687
- 5 Gross W B, P B Siegel. Genetic-environmental interactions and antibody response in chicken to two antigens. Avian Diseases, 1990, 34: 343
- 6 时玉声等. 兽医临床检验手册. 上海:上海科学技术出版社, 1989
- 7 杜念兴. 兽医免疫学. 上海:上海科学技术出版社, 1985
- 8 余贺等. 临床免疫技术. 上海:上海科学技术出版社, 1982
- 9 Lucy F Lee. Chicken lymphocyte stimulation by mitogens; a microassay with whole-blood cultures. Avian Diseases, 1977, 22: 296
- 10 Regnier J A et al. Heat-and cold-stress suppresses in vivo and in vitro cellular immune responses of chickens. American Journal of Veterinary Research, 1981, 42: 294
- 11 Edens F W et al. Effect of reserpine on humoral immune responsiveness in young chickens. Poultry Science, 1975, 54: 1970
- 12 Edens F W, H S Siegel. Reserpine modification of the blood pH, PCO_2 and PO_2 of chickens in high environmental temperature. Poultry Science 1974, 53: 279
- 13 Gillis S et al. Glucocorticoid-induced inhibition of T-cell growth factor production. I. the effect on mitogen-induced lymphocyte proliferation. The Journal of Immunology, 1979, 123: 1624

- 14 Sullivian D A et al. , Sex hormone and glucocorticoid receptor in the bursa of fabricius of immature chickens. *J. Immunology*, 1979, 122: 2617
- 15 Cohen J J. Thymus-derived lymphocytes sequestered in the bone marrow of hydrocortisone-treated mice. *Journal of Immunology*, 1972, 108: 841
- 16 Claman H N et al. , Corticosteroids and lymphoid cell in vitro. I. hydrocortisone lysis of human, guinea pig and mouse thymus cells. *J. Lab. Clin. Med.* , 1971, 78: 499
- 17 Ubosi C O et al. , Divergent selection of chickens for antibody production to sheep erythrocytes; age effect in parental lines and their crosses. *Avian Diseases*, 1985, 29: 15
- 18 Gross W B, G Colmano. Effect of infections agents on chickens selected for plasma corticosterone response to social stress. *Poultry Science*, 1971, 50: 1213

Effects of Heat Stress on the Immune of Laying Hens

Yang Caitang Wang Ximou Gu Xianhong

(Beijing Agricultural University)

Abstract

The laying hens of 250 day old were divided into high antibody group(HA) or low antibody group (LA) according to the fifth day's plasma-antibody titer to sheep red blood cells(SRBC) after primary intravenous immunization. Then studied the effects of high ambient temperature on the immunability of HA chicks and LA chicks. The results as follows:

(1) In normal conditions there were no significant difference between LA chicks and HA chicks in lymphocyte transformation ($P > 0.05$); but LA chicks had more white blood cells than HA chicks ($P < 0.01$) and the value of heterophil lymphocyte(H/L) of LA chicks was also higher than HA chicks ($P < 0.05$).

(2) Acute heat stress ($22^{\circ}\text{C} \sim 30^{\circ}\text{C}$, 24h) significantly inhibited lymphocyte transformation of HA chicks but it had no influences on LA chicks. Chronic heat stress (35°C , 5 days old) significantly inhibited both HA chick's and LA chick's lymphocyte transformation ($P < 0.05$ and $P < 0.01$, respectively)

(3) Chronic heat stress had no influences on total white blood cells of HA chicks; but increased significantly the values of H/L ($P < 0.01$). On the contrary, chronic heat stress decreased the total of white blood cells of LA chicks, and had no influence on the value of H/L.

Key words Heat stress Hen Immune