

粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子与生长抑素融合表达质粒对断奶仔猪生长及相关激素的影响

舒邓群^{1,3}, 茆达干¹, 陈荣达³, 吴志敏³, 杨利国^{1,2*}

(1. 南京农业大学动物繁育研究所, 江苏 南京 210095; 2. 华中农业大学动物科技学院, 湖北 武汉 430070;
3. 江西农业大学动物科技学院, 江西 南昌 330045)

摘要: 选择40头断奶的长大二元杂交仔猪, 随机分为4组, 每组10头, 公母各半, 其中I组为对照组, II~IV组分别口服以减毒沙门氏菌为载体的DNA疫苗pcS/2SS、pGM-CSF/SS和pGM-CSF+pcS/2SS, 分析这些DNA疫苗对断奶仔猪的生产性能和相关激素分泌的影响。结果显示, 与II组和IV组相比, III组平均日增重分别提高了8.37% ($P>0.05$)和17.2% ($P<0.05$), 饲料利用率分别提高了14.8%和6.7%。II组、III组和IV组血浆中GH的含量有升高的趋势。II组IGF-I的含量一直处于较高的水平, III和IV组在第2周后处于较低的分泌水平, III组IGF-I的峰值高于其他组。I、II和IV组 T_3 的含量呈下降的趋势, 而III组呈上升趋势, 免疫后第8周, III组的 T_3 分泌水平显著高于II和IV组 ($P<0.05$), 而与对照组差异不显著。I组 T_4 的含量不断降低, 而II、III和IV组有不断升高的趋势, II组和III组 T_4 的分泌一直保持在较高的水平。上述结果表明, 粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)对SS DNA疫苗有一定的免疫增强作用, pGM-CSF/SS的免疫效果要优于pGM-CSF+pcS/2SS共免疫。

关键词: 粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF); 生长抑素(SS); 生长激素(GH); IGF-I; 仔猪
中图分类号: S852.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-2030(2007)04-0092-05

Effect of fusion-expression plasmid contained GM-CSF and SS on growth and relative hormone of weaned piglets

SHU Deng-qun^{1,3}, MAO Da-gan¹, CHEN Rong-da³, WU Zhi-min³, YANG Li-guo^{1,2*}

(1. Institute of Animal Breeding and Reproduction, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;
2. College of Animal Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;
3. College of Animal Science and Technology, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

Abstract: To study the effect of SS DNA vaccine on the growth and hormone, a total of 40 weaned Landrace × Yorkshire crossbred piglets were divided into 4 groups and immunized with 0.85% salt solution (Group I as control), pcS/2SS (Group II), pGM-CSF/SS (Group III) and pGM-CSF+pcS/2SS (Group IV) delivered by attenuated *Salmonella* as carrier at a dose of 4×10^{10} CFU per piglet, respectively. A booster was given two weeks later. The results demonstrated that daily gain of pGM-CSF/SS increased 8.37% and 17.2%, respectively, and feed efficiency increased 14.8% and 6.7%, respectively, compared with Group II and IV. pcS/2SS and pGM-CSF+pcS/2SS had no effect on growth, but improved their feed efficiency. Plasma GH level of Group II, III and IV increased after immunization, while plasma GH level in the control group retained stable during the whole period. Plasma IGF-I level of pcS/2SS kept in higher level all the times. Peak level of plasma IGF-I level in pGM-CSF/SS was higher than that in other groups. Plasma T_3 level of Group I, II and IV exhibited declination, while ascending of Group III. Plasma T_3 level of pGM-CSF/SS was higher than that of Group I, II and IV at 8th week ($P<0.05$). Plasma T_4 level of Group II and III kept in higher level all the while. These results indicated that GM-CSF could enhance immunization effect on SS DNA vaccine, and the immune response of pGM-CSF/SS was prior to that of pGM-CSF+pcS/2SS.

Key words: granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF); somatostatin (SS); growth hormone (GH); IGF-I; piglet

收稿日期: 2006-05-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(30270959)

作者简介: 舒邓群, 副教授, 博士, 主要从事基因免疫与分子生物学研究, E-mail: sudengq@163.com。* 通讯作者: E-mail: ylg@mail.hzau.edu.cn。

生长抑素主要是由下丘脑释放的肽类激素, 其生理作用是抑制垂体前叶生长激素 (GH) 的释放, 而 GH 是促进动物生长的关键激素, 它的释放受下丘脑生长激素释放激素 (GHRH) 的促进和生长抑素 (somatostatin, SS) 的抑制双重调节, 且 SS 主要控制 GH 的基础分泌^[1]。采用 SS 的主动和被动免疫可以改善动物的生产性能, 提高血浆 GH 的基础浓度^[2]。但也有研究发现, SS 免疫尽管能使日增重提高 10%, 但血浆胰岛素生长因子 I (IGF-I) 和 GH 水平却低于对照组^[3]。粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF) 是一种具有多项潜能的造血生长因子, 不仅能刺激造血祖细胞增殖、分化和成熟, 并从骨髓向外周转移, 而且还能活化中性粒细胞、巨噬细胞、树突状细胞 (dendritic cell, DC) 及其他单核细胞^[4], 常用作 DNA 疫苗的免疫佐剂, 以提高 DNA 疫苗的免疫效果。

本试验将真核表达质粒 pcS/2SS、pGM-CSF 和 pGM-CSF/SS 分别转入减毒沙门氏菌, 制成口服疫苗免疫断奶仔猪, 分析这 3 种免疫方式对仔猪生产性能和相关激素的影响, 探讨 SS DNA 疫苗对仔猪的促生长作用以及 GM-CSF 的免疫增强作用, 为生长抑素 DNA 疫苗应用于大动物提供试验依据。

1 材料与方法

1.1 质粒、菌株及疫苗的准备

生长抑素 DNA 疫苗 pcS/2SS 由曹少先博士构建^[5-6]; pGM-CSF 为 GM-CSF 真核表达质粒、pGM-CSF/SS 是在 pcS/2SS 的基础上亚克隆 GM-CSF 基因构建的融合表达质粒, 均由作者自行构建。减毒沙门氏菌 CS022 由南京农业大学动物繁育研究所保存。

含有 pcS/2SS、pGM-CSF 和 pGM-CSF/SS 的减毒沙门氏菌重组疫苗分别接种 LB 培养基, 37 °C、150 r·min⁻¹ 振荡培养至 A_{600} 为 0.3~0.4, 然后 4 °C、1 500 g 离心 10 min; 弃上清液, 用灭菌的 PBS 调整细菌至 10¹⁰ CFU·mL⁻¹, 备用。

1.2 试验动物的选择

从江西农业大学种猪场选择来源相同、体重相近的 35 日龄断奶长白×大约克夏二元杂交仔猪 (简称: 长大二元仔猪) 40 头。试验开始前先进行 7 d 的预饲期。在预饲期内仔猪进行驱虫和去势。预饲期结束后, 称初始体重, 经统计分析, 差异不显著, 进入试验期, 试验期为 56 d。

1.3 试验方法

40 头断奶仔猪随机分为 4 组, 每组 10 头, 公、母各半, 其中 I 组为对照组, 口服生理盐水; II~IV 组分别口服 pcS/2SS、pGM-CSF/SS 和 pGM-CSF + pcS/2SS 进行免疫。免疫前 12 h 禁食禁水, 免疫前 30 min, 预先口服 0.075 mg·mL⁻¹ 的 NaHCO₃ (每头 5 mL) 以中和胃酸。免疫剂量为每头 4 × 10¹⁰ CFU。初次免疫后 2 周以相同剂量、相同方法加强免疫一次。

以初次免疫为 0 周, 分别在第 0、2、4、6 和 8 周早晨空腹称体重, 并采用清箱底的方法, 记录每次称体重时的饲料消耗; 前腔静脉采取血样, 肝素钠抗凝, 制备血浆, -20 °C 保存备用。

1.4 测定指标

1.4.1 日增重和饲料转化率 记录每次的体重和饲料消耗, 计算全期日增重和饲料转化率。

1.4.2 血浆 GH、IGF-I、T₃ 和 T₄ 水平 采用放免法 (RIA) 测定血浆 GH、IGF-I、T₃ 和 T₄ 的水平。GH、T₃ 和 T₄ 检测试剂盒为北京市福瑞生物工程公司产品, IGF-I 检测试剂盒为天津九鼎医学生物工程有限公司产品, 具体操作按说明书进行。

1.5 数据分析

试验数据以 $\bar{x} \pm SE$ 表示, 采用 LSD 多重比较法进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 对断奶仔猪生长性能的影响

3 个试验组中, III 组 (pGM-CSF/SS 组) 全期平均日增重最高, 达 (427.3 ± 40.7) g, 比 II 组 (pcS/2SS 组) 提高了 8.37% ($P > 0.05$), 比 IV 组 (pGM-CSF + pcS/2SS 组) 提高了 17.2% ($P < 0.05$)。II 组和 IV 组全期平均日增重分别比对照组降低了 1.6% 和 9.0%。从饲料转化率来看, III 组饲料转化率最高, 料重比为 1.67:1, 分别比 II 组和 IV 组提高了 14.8% 和 6.7%。与对照组相比, II 组、III 组

和IV组分别提高了1.0%、15.7%和9.6%。提示 pGM-CSF/SS 促进了仔猪的生长,提高了饲料利用率(表1)。GM-CSF 对 SS DNA 疫苗有一定的免疫增强作用, pGM-CSF/SS 的效果要优于 pGM-CSF + pcS/2SS 的共免疫。

表1 不同DNA疫苗对仔猪生长性能的影响 ($n=10$)

Table 1 Effect of different DNA vaccines on growth performance of weaned piglets

组别 Group	初始体重/kg Initial weight	结束时体重/kg Final weight	增重/kg Weight gain	平均日增重/g ADG	料重比 F/G
I	8.68 ± 0.39 ^A	31.12 ± 1.66 ^A	22.44 ± 1.45 ^A	400.7 ± 25.98 ^{AB}	1.98:1
II	8.88 ± 0.46 ^A	30.96 ± 1.05 ^A	22.08 ± 0.97 ^A	394.3 ± 17.31 ^{AB}	1.96:1
III	8.93 ± 0.31 ^A	32.86 ± 2.31 ^A	23.93 ± 2.28 ^A	427.3 ± 40.70 ^A	1.67:1
IV	8.78 ± 0.43 ^A	29.20 ± 1.41 ^A	20.42 ± 1.09 ^A	364.6 ± 19.50 ^B	1.79:1

注: 1) I: Control group; II: pcS/2SS group; III: pGM-CSF/SS group; IV: pGM-CSF + pcS/2SS group

2) ADG: Average day gain; F/G: Fodder/gain

3) 同列数据中肩标大写字母不相同表示差异显著 ($P < 0.05$)。Data in the same column with the different superscripts capital letter are significantly different ($P < 0.05$). The same as follows.

2.2 对仔猪血浆中GH水平的影响

从表2可见, 试验开始时对照组GH水平略高于试验组, 随着试验的进行, 试验II组、III组和IV组仔猪血浆中GH水平有升高的趋势, II组、IV组在第6周时达到高峰, III组的最大值则出现在第8周, 而对照组在整个试验期都比较平稳。III组的GH水平总体上高于II组和IV组 ($P > 0.05$)。这可能是生长抑素抗体中和了体内的SS, 促进了GH的合成和分泌。提示: SS DNA 疫苗对保持体内GH较高水平有明显作用, GM-CSF 有一定的免疫增强作用。

表2 不同时期仔猪血浆中GH水平 ($n=10$)

Table 2 Plasma GH level of piglets at different time after immunization

ng · mL⁻¹

组别 Group	免疫后时间/周 Time after immunization				
	0	2	4	6	8
I	0.73 ± 0.14 ^{Aa}	0.76 ± 0.20 ^{Aa}	0.68 ± 0.10 ^{Aa}	0.76 ± 0.37 ^{Aa}	0.73 ± 0.45 ^{Aa}
II	0.65 ± 0.15 ^{Aa}	0.54 ± 0.12 ^{Aa}	0.73 ± 0.20 ^{Aa}	0.95 ± 0.17 ^{Aa}	0.93 ± 0.12 ^{Aa}
III	0.57 ± 0.15 ^{Aa}	0.69 ± 0.14 ^{Aa}	0.65 ± 0.07 ^{Aa}	0.90 ± 0.17 ^{Ab}	0.98 ± 0.30 ^{Ab}
IV	0.51 ± 0.11 ^{Aa}	0.61 ± 0.03 ^{Aa}	0.61 ± 0.08 ^{Aa}	0.74 ± 0.08 ^{Aa}	0.63 ± 0.14 ^{Aa}

注: 同行数据肩标小写字母不相同表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: Data in the same line with the different superscripts small letter are significantly different ($P < 0.05$). The same as follows.

2.3 对仔猪血浆中IGF-I水平的影响

试验开始时对照组IGF-I水平略高于试验组, 随着试验的进行, IGF-I水平的变化类似于GH的动态变化。I组、II组和IV组分泌的最高峰是在第2周, 以IV组为最高 ($P > 0.05$); II组IGF-I的分泌从第6周开始一直高于其他组, IV组在2周后处于较低的分泌水平。第III组的分泌高峰出现在第4周, 高于其他组的分泌高峰(表3)。这可能是由于SS水平的下降, 促进了GH的合成和分泌, GH分泌的增加提高了血液中IGF-I的分泌水平, 但组间差异不显著 ($P > 0.05$)。

表3 不同时期仔猪血浆中IGF-I水平 ($n=10$)

Table 3 Plasma IGF-I level of piglets at different time after immunization

ng · mL⁻¹

组别 Group	免疫后时间/周 Time after immunization				
	0	2	4	6	8
I	325.67 ± 15.22 ^{Aab}	367.51 ± 9.85 ^{Aa}	318.89 ± 26.94 ^{Aab}	283.46 ± 22.82 ^{Ab}	304.42 ± 22.05 ^{Aab}
II	318.39 ± 4.06 ^{Aa}	350.44 ± 14.53 ^{Aa}	307.48 ± 17.51 ^{Aa}	321.74 ± 15.42 ^{Aa}	329.51 ± 20.97 ^{Aa}
III	293.30 ± 17.09 ^{Ab}	344.63 ± 23.15 ^{Aa}	350.46 ± 8.02 ^{Aa}	286.66 ± 17.72 ^{Ab}	297.41 ± 13.02 ^{Ab}
IV	283.80 ± 17.90 ^{Abc}	386.66 ± 8.28 ^{Aa}	306.31 ± 6.44 ^{Abc}	280.01 ± 8.05 ^{Ac}	310.85 ± 12.05 ^{Ab}

2.4 对仔猪血浆中T₃和T₄水平的影响

随免疫后时间的延长I组、II组和IV组T₃的分泌呈下降的趋势, 高峰出现在0和2周, 而III组T₃的分泌呈上升趋势, 高峰在第8周, 与0周分泌水平相比, 差异显著 ($P < 0.05$) (表4)。尽管后期各组T₃的分泌水平均有所下降, 但III组的T₃分泌水平显著高于I组、II组和IV组。这可能是pGM-CSF/SS疫苗的免疫降低了体内SS水平, 解除SS对T₃分泌的抑制作用, 促进了T₃分泌。

表4 不同时期仔猪血浆中 T_3 和 T_4 水平 ($n=10$)

Table 4 Plasma T_3 and T_4 level of piglets at different time after immunization		nmol · L ⁻¹				
项目 Item	组别 Group	免疫后时间/周 Time after immunization				
		0	2	4	6	8
T_3	I	1.26 ± 0.08 ^{Aa}	1.04 ± 0.15 ^{Aa}	1.05 ± 0.07 ^{Aa}	1.13 ± 0.08 ^{ABa}	1.11 ± 0.05 ^{ACa}
	II	0.74 ± 0.11 ^{Bb}	1.17 ± 0.19 ^{Aa}	1.04 ± 0.13 ^{Aab}	0.92 ± 0.08 ^{Bab}	0.77 ± 0.10 ^{Bb}
	III	0.73 ± 0.09 ^{Bb}	1.00 ± 0.22 ^{Aab}	1.15 ± 0.07 ^{Aa}	1.02 ± 0.09 ^{ABb}	1.32 ± 0.15 ^{Aa}
	IV	0.75 ± 0.11 ^{Bb}	1.28 ± 0.14 ^{Aa}	0.91 ± 0.15 ^{Ab}	1.21 ± 0.09 ^{Aa}	0.99 ± 0.11 ^{Ca}
T_4	I	79.86 ± 6.22 ^{Aa}	71.16 ± 7.26 ^{Aa}	73.12 ± 2.43 ^{Aa}	74.45 ± 5.10 ^{Aa}	64.44 ± 2.40 ^{Aa}
	II	53.92 ± 9.56 ^{Aa}	64.85 ± 2.37 ^{Aa}	64.49 ± 6.31 ^{Aa}	67.53 ± 7.45 ^{Aa}	55.81 ± 2.26 ^{Aa}
	III	58.81 ± 6.82 ^{Aa}	59.76 ± 16.96 ^{Aa}	78.73 ± 4.64 ^{Aa}	69.69 ± 9.79 ^{Aa}	68.63 ± 0.20 ^{Aa}
	IV	68.63 ± 2.34 ^{Aa}	58.93 ± 15.69 ^{Aa}	79.63 ± 6.17 ^{Aa}	79.87 ± 9.10 ^{Aa}	67.17 ± 4.47 ^{Aa}

由表4可以看出,随着试验的进行, I组 T_4 的分泌不断降低,而 II组、III组和IV组有不断升高的趋势。II组和IV组的最大值出现在第6周, III组在第4周就达到 (78.73 ± 4.64) nmol · L⁻¹,此后 T_4 的分泌一直保持在较高的水平,这与 T_3 的分泌是一致的,说明 pGM-CSF/SS 疫苗的免疫降低了体内 SS 水平,促进了 T_4 分泌。

3 讨论

3.1 SS DNA 疫苗对动物生产性能的影响

Spencer 等^[7]将 SS 连接于人 α -球蛋白制成复合抗原,用以免疫3周龄绵羊,结果试验组动物生长速度比对照组提高了17.6%,证明了 SS 免疫能促进动物生长。从目前的研究结果来看,SS 的免疫对小动物(小鼠、大鼠和兔等)的生产性能有一定的促进作用^[8],王恩秀等^[9]以生长抑素基因工程疫苗免疫120 g Wistar 大鼠,7周后发现雌鼠增重率较对照组提高15.4%,雄鼠提高8.3%。但是利用 SS 免疫促进大动物生长的报道,结果并不一致,用 SS 免疫绵羊可提高血浆 GH 水平,但生长速度受抑制^[2]。Vicini 等^[10]用 SS 免疫37周龄母牛、7周龄小公牛,结果提高了小公牛生长速度,而对母牛生长无影响,饲料转化率没有改善。王金洛等^[11]报道,使用生长抑素卵黄抗体可提高北京油鸡的生长速度。本研究结果表明, pGM-CSF/SS 免疫仔猪获得了较好的增重和饲料利用率,比单独的 SS DNA 疫苗免疫日增重提高了8.4%, GM-CSF 对 SS DNA 疫苗有一定的免疫增强作用,但 pGM-CSF + pcS/2SS 共免疫效果不理想,这可能是由于两种质粒分开免疫存在着时间和位置效应。据报道,分别构建的 DNA 疫苗与 GM-CSF 编码质粒混合注射,对基因免疫会产生干扰作用^[12-13],从而影响 DNA 疫苗的免疫效果。

3.2 SS DNA 疫苗对外周血液 GH 和 IGF- I 分泌水平的影响

王子荣等^[14]研究表明,生长抑素基因工程疫苗免疫对绵羊保持体内较高水平的 GH 有明显作用。Varner 等^[2]发现 SS 免疫可以提高绵羊血浆 GH 的基础水平。但 Trout 等^[15]证实 SS 免疫对这两种激素水平没有影响。生长抑素的被动免疫对小鸡的增重和外周血液的 GH 水平没有影响,而主动免疫可提高小鸡的增重,但对 GH 的水平没有明显的影响^[16],这种效果与哺乳动物观察的结果相类似。可见用 SS 免疫对 GH 和 IGF- I 水平变化的影响较为复杂,结果并不一致。本试验结果证实,在开始时对照组 GH、IGF- I 水平均略高于试验组的情况下,利用 SS DNA 疫苗免疫仔猪,特别是在 SS 表达质粒中插入 GM-CSF 基因后, GH 和 IGF- I 的分泌一直保持较高水平,而对照组在整个试验期都比较平稳。

3.3 SS DNA 疫苗对外周血液 T_3 和 T_4 分泌水平的影响

本研究结果证实,在免疫后期, pGM-CSF/SS 免疫组的 T_3 分泌水平显著高于 pcS/2SS 组和 pGM-CSF + pcS/2SS 组,与 I 组差异不显著。 T_4 的分泌对照组不断降低,而3个试验组则呈现不断升高的趋势, pcS/2SS 和 pGM-CSF + pcS/2SS 免疫组的最大值出现在第6周,此后 T_4 的分泌一直保持在较高的水平,与 T_3 的分泌是一致的,这说明了 pGM-CSF/SS 免疫降低体内 SS 水平,解除了 SS 对 T_3 、 T_4 分泌的抑制作用,促进 T_3 、 T_4 分泌,加快了仔猪的生长。本试验结果与杨兵等^[16]的试验结果基本一致。杨兵等^[16]使用生长抑素卵黄抗体(SS-IgY)颈部皮下注射免疫1日龄北京油鸡,能有效提高北京油鸡血浆中 IGF- I 和 T_4 水平,并因此导致试验组鸡只增重较快,但血中 T_3 水平无显著差异,这与王恩秀等^[9]使用生长抑素基因工程疫苗免疫120 g Wistar 大鼠所得到的结果也相类似。

沙门氏菌是一种侵袭性胞内菌,不仅可以用作原核表达的宿主菌,还可以作为DNA疫苗的运送载体,能同时激活黏膜免疫和全身免疫,因此,是异源抗原免疫的优良载体^[17],由于已减毒,最终可被宿主清除,所以是安全的。Liu等^[18]将携带幽门螺旋杆菌UreB蛋白的真核表达质粒pTC01-UreB导入减毒沙门氏菌株SL3261中,口服免疫Balb/c小鼠,产生比对照组更高的IgG抗体。本试验结果表明,以减毒沙门氏菌为载体的pGM-CSF/SS和pGM-CSF+pcS/2SS重组菌免疫断奶仔猪,GM-CSF与SS的融合表达质粒pGM-CSF/SS表现出了较强的免疫反应性,其免疫效果要优于pGM-CSF+pcS/2SS的联合免疫以及单独的生长抑素DNA疫苗。因此,以减毒沙门氏菌为载体运送DNA疫苗是继肌肉注射和基因枪之后又一良好的免疫途径,且这种免疫方法具有接种方式简单,易于大规模免疫等特点,可显著降低疫苗的制作成本。

参考文献:

- [1] Brown P A, Davis W C, Draghia-Akli R. Immune-enhancing effects of growth hormone-releasing hormone delivered by plasmid injection and electroporation [J]. *Mol Ther*, 2004, 10(4): 644-651
- [2] Varner M A, Davis S L, Reeves J J. Temporal serum concentrations of growth hormone, thyrotropin, insulin, and glucagon in sheep immunized against somatostatin [J]. *Endocrinology*, 1980, 106(3): 1027-1032
- [3] Dawson J M, Soar J B, Buttery P J, et al. The effect of immunization against somatostatin and β -agonist administration alone and in combination on growth and carcass composition in young steers [J]. *Anim Sci*, 1997, 64: 37-51
- [4] Jager E, Ringhoffer M, Dienes H P, et al. Granulocyte-macrophage-colony-stimulating factor enhances immune responses to melanoma-associated peptides *in vivo* [J]. *Int J Cancer*, 1996, 67(1): 54-62
- [5] 曹少先, 杨利国, 茆达干, 等. 生长抑素DNA疫苗pEGS/2SS在大鼠体内的表达与分布 [J]. *南京农业大学学报*, 2005, 28(2): 137-139
- [6] 曹少先, 张文伟, 茆达干, 等. 生长抑素基因疫苗质粒pcS/2SS的构建、表达及免疫 [J]. *农业生物技术学报*, 2005, 13(4): 477-481
- [7] Spencer E M, Lewis L J, Lewis U J. Somatomedin generating activity of the 20000-dalton variant of human growth hormone [J]. *Endocrinology*, 1981, 109(4): 1301-1302
- [8] 刘永庆, 陈溥言, 赵国屏, 等. 重组生长抑素(SS)大肠杆菌疫苗促进动物生长的效果 [J]. *中国生物制品学杂志*, 2002, 15(3): 147-150
- [9] 王恩秀, 陈伟华, 杜念兴. 生长抑素基因工程疫苗对大鼠生长及免疫的影响 [J]. *中国兽医学报*, 2002, 22(5): 427-429
- [10] Vicini J L, Clark J H, Hurley W L, et al. The effect of immunization against somatostatin on growth and concentration of somatotropin in plasma of Holstein calves [J]. *Domest Anim Endocrinol*, 1988, 5(1): 35-45
- [11] 王金洛, 杨兵, 宋维平, 等. 生长抑素卵黄抗体(SS-IgY)对北京油鸡生长的影响 [J]. *华北农学报*, 2001, 16(2): 94-98
- [12] 廖国阳, 姜述德, 孙明波, 等. 双表达载体研究GM-CSF对HCV C基因免疫应答的影响 [J]. *免疫学杂志*, 2001, 17(4): 289-292
- [13] Kamath A T, Hanke T, Briscoe H, et al. Co-immunization with DNA vaccines expressing granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and *mycobacterial* secreted proteins enhances T-cell immunity, but not protective efficacy against *Mycobacterium tuberculosis* [J]. *Immunology*, 1999, 96(4): 511-516
- [14] 王子荣, 任明强, 胥清富, 等. 生长抑素基因工程苗对绵羊外周血液某些代谢物浓度和激素水平的影响 [J]. *畜牧兽医学报*, 2004, 35(4): 404-408
- [15] Trout W E, Schanbacher B D. Growth hormone and insulin-like growth factor-I responses in steers actively immunized against somatostatin or growth hormone-releasing factor [J]. *J Endocrinol*, 1990, 125(1): 123-129
- [16] 杨兵, 王金洛, 胥清富, 等. 生长抑素卵黄抗体对北京油鸡血中胰岛素样生长因子-I和甲状腺激素水平的影响 [J]. *华北农学报*, 2005, 20(1): 105-107
- [17] Dietrich G, Spreng S, Gentschev I, et al. Bacterial systems for the delivery of eukaryotic antigen expression vectors [J]. *Antisense Nucleic Acid Drug Dev*, 2000, 10(5): 391-399
- [18] Liu X F, Hu J L, Quan Q Z, et al. Systemic immune responses to oral administration of recombinant attenuated *Salmonella typhimurium* expressing *Helicobacter pylori* urease in mice [J]. *World J Gastroenterol*, 2005, 11(14): 2154-2156

责任编辑: 周广礼