

鸵鸟皮肤抗菌肽对雏鸡免疫器官指数及 T淋巴细胞数量的影响初探

杨玉荣,梁宏德,卫红丽
(河南农业大学牧医工程学院,郑州 450002)

摘要:为了观察非洲鸵鸟皮肤抗菌肽对雏鸡免疫器官指数及T淋巴细胞数量的影响,进而研究其对雏鸡免疫系统的调节能力。选取50只1日龄健康雏鸡,随机分为两组:试验组(T)从1日龄开始每天在饮水中加入浓度为1 $\mu\text{g/ml}$ 的鸵鸟皮肤抗菌肽提取物,对照组(C)饮水中不添加抗菌肽提取物,分别于1、4、7、10、17日龄时随机抽取5只雏鸡称重后处死,采取免疫器官称重并运用ANAE染色方法测定免疫器官T淋巴细胞数量。结果发现抗菌肽能够提高10~17日龄雏鸡体重,提高4~7日龄雏鸡的免疫器官指数及7日龄免疫器官的T淋巴细胞数量($P<0.05$)。结果表明饮水中添加非洲鸵鸟皮肤抗菌肽可以促进雏鸡免疫器官发育,增强机体的细胞免疫。

关键词:非洲鸵鸟皮肤;抗菌肽;雏鸡;免疫器官

中图分类号:S816.79

文献标识码:A

论文编号:2009-1141

The Preliminary Study of Antimicrobial Peptides Extracted from African Ostrich Skin on the Immune Organs Indexes and the Number of T Lymphocytes in Immune Organs of Chickens

Yang Yurong, Liang Hongde, Wei Hongli
(Henan Agriculture University, Zheng Zhou, 450002)

Abstract: To study the immunomodulation function of antimicrobial peptides extracted from African Ostrich skin (O s t - AvBD-skin) on chicken, the immune organs indexes and the number of T lymphocytes in immune organs were observed. Fifty chickens were randomly divided into treatment and control groups. In the treatment group chickens received drinking water supplemented with African Ostrich skin antimicrobial peptides (1 $\mu\text{g/ml}$) right after hatching. Immune organs were taken at day 1, 4, 7, 10 and 17 respectively. African Ostrich skin antimicrobial peptides supplementation enhanced the weight of chicken from day 10 to 17, immune organs indexes from day 4 to 7 and the number of T lymphocytes in immune organs at day 7 ($P<0.05$). The results showed that the O s t - AvBD- skin could promote the development of chicken immune organs and cell immunity.

Key words: African Ostrich skin, antimicrobial peptides, chicken, immune organ

0 引言

动物每天接触大量的病原微生物及各种应激后不致于死亡,免疫、神经、内分泌系统起了重要的调节作用,其中抗菌肽在机体各系统的调节中发挥重要作用^[1]。抗菌肽对很多病原微生物有杀灭作用,还能诱导获得性

免疫反应^[2],因此将其发展为新的抗微生物药,应用在治疗感染、食品防腐剂和饲料添加剂等领域具有广阔前景。鸵鸟抗菌肽属于 β -防御素,目前已发现的鸵鸟抗菌肽有4种,分别是Osp-1、Osp-2、Osp-3和Osp-4^[3],关于非洲鸵鸟皮肤抗菌肽(O s t - AvBD- skin)调节免

基金项目:国家自然科学基金项目“ α -防御素表达紊乱在溃疡性结肠炎小鼠模型发病过程中的作用机制研究”(30800812)。

第一作者简介:杨玉荣,女,1977年出生,副教授,安徽涡阳人,研究方向:动物免疫病理学。通信地址:450002 河南省郑州市文化路95号河南农业大学牧医工程学院, E-mail: yangyu7712@sina.com。

通讯作者:梁宏德,男,1959年出生,汉族,教授,研究方向为动物免疫病理学。E-mail: hdliang12@163.com

收稿日期:2009-06-01,修回日期:2009-06-23。

疫功能的研究还未见报道。

笔者以非洲鸵鸟皮肤抗菌肽为研究对象, 雏鸡为试验动物, 鸵鸟皮肤抗菌肽经分离纯化后以饮水途径给予雏鸡, 对雏鸡的免疫器官指数及免疫器官的T淋巴细胞数量进行动态观察, 研究鸵鸟皮肤抗菌肽对雏鸡细胞免疫的影响, 为进一步了解鸵鸟皮肤抗菌肽的免疫调节作用提供帮助, 也为抗菌肽的进一步的研究及应用提供依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

1.1.1 非洲鸵鸟皮肤抗菌肽 鸵鸟皮肤抗菌肽为河南农大牧医工程学院研究室制备, 制备方法参照文献^[4]进行。

1.1.2 试验动物 健康海蓝白商品蛋用公雏鸡。

1.2 试验方法

1.2.1 试验动物分组和处理 选取50只1日龄健康海蓝白商品雏鸡, 随机分为两组: 试验组(T)从1日龄开始每天饮水中加入浓度为1 μg/ml的鸵鸟皮肤抗菌肽提取物, 对照组(C)饮水中不添加抗菌肽提取物, 均自由饮水采食, 隔离饲养。

1.2.2 被检材料采取 分别在1、4、7、10、17日龄随机抽取T组和C组雏鸡各5只, 称重后快速剥离胸腺、脾脏和法氏囊并称量, 然后固定于4%甲醛中约1 h, 分别放

入15%和30%的蔗糖溶液中, 待组织沉底后立刻进行冰冻切片, 切片厚度7 μm, -20 °C低温保存。

1.2.3 检测指标及方法 免疫器官指数(mg/g) = 免疫器官重/体重。免疫器官T淋巴细胞数量检测采用冰冻组织切片及酸性α-醋酸萘酯酯酶(α-ANAE)染色法^[5]。染色后的组织切片用Leica Qwin显微镜成像处理系统测定, 每张切片测量10个不同视野。

1.3 数据的处理

采用SAS 8.02软件进行数据处理, 比较各组间的差异。数据以“平均值±标准差”表示。

2 结果与分析

2.1 非洲鸵鸟皮肤抗菌肽对雏鸡体重和免疫器官指数的影响

试验组(T)和对照组(C)雏鸡随着日龄的增长体重变化见表1。由表1可知, 随着日龄的增长, T组和C组雏鸡体重都增长, 但是T组增长速度比C组快, 1、4、7日龄时T组和C组雏鸡的体重相比差异不显著($P>0.05$), 10、17日龄时试验组雏鸡体重明显超过对照组, 且差异显著($P<0.05$)。4~10日龄试验组雏鸡的免疫器官指数高于对照组, 其中试验组雏鸡的胸腺指数和脾脏指数在7日龄、法氏囊指数在4日龄明显高于对照组($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 其余各日龄的免疫器官指数均无统计学差异($P>0.05$)。

表1 抗菌肽对雏鸡免疫器官指数和体重的影响

组别		日龄				
		1	4	7	10	17
胸腺指数/(mg/g)	C	0.29±0.12	0.35±0.01	0.89±0.05	0.96±0.04	1.15±0.03
	T	0.31±0.11	0.70±0.02	1.29±0.05*	1.08±0.17	1.55±0.08
脾脏指数/(mg/g)	C	0.21±0.04	0.65±0.26	0.63±0.01	1.12±0.08	1.34±0.17
	T	0.29±0.01	0.70±0.14	1.14±0.05**	1.15±0.55	1.21±0.13
法氏囊指数/(mg/g)	C	1.52±0.05	2.15±0.03	2.18±0.12	2.15±0.13	2.46±0.16
	T	1.79±0.10	2.75±0.01*	2.58±0.16	2.49±0.09	2.75±0.21
体重/g	C	37.06±4.89	37.34±5.04	38.29±2.08	42.51±4.23	75.73±6.03
	T	37.60±3.22	37.61±2.78	39.31±3.67	50.74±4.00*	81.69±2.75*

注: “*”: $P<0.05$, “**”: $P<0.01$ (以下表中标注相同)。

表2 雏鸡服用抗菌肽后免疫器官的T淋巴细胞数量变化(个/mm²)

组别		日龄				
		1	4	7	10	17
胸腺	C	31.37±1.75	32.90±4.08	38.75±4.23	47.21±2.17	29.47±2.85
	T	45.80±4.01	53.63±2.30	58.33±4.65*	49.51±8.10	38.39±3.04
脾脏	C	26.07±4.40	31.78±2.62	33.28±5.01	26.27±4.07	30.78±4.71
	T	30.71±3.98	48.03±4.31	55.98±5.53*	39.64±2.20	42.15±1.62
法氏囊	C	38.25±4.27	21.50±3.11	43.09±1.21	41.06±3.41	30.78±5.19
	T	46.31±2.99	30.56±2.52	76.28±11.55**	47.90±9.40	42.15±4.66

2.2 鸵鸟皮肤抗菌肽对雏鸡免疫器官T淋巴细胞数量的影响

抗菌肽对雏鸡免疫器官T淋巴细胞数量的影响结果如表2。随着日龄的增长,试验组雏鸡免疫器官单位面积的ANAE阳性细胞数量均高于对照组,其中在7日龄明显高于对照组($P<0.05$ 或 $P<0.01$),其余各日龄无统计学差异($P>0.05$)。

3 讨论

试验表明,饮水中添加抗菌肽能够提高雏鸡体重,提高4~7日龄雏鸡的免疫器官指数及7日龄免疫器官的T淋巴细胞数量($P<0.05$),说明鸵鸟皮肤抗菌肽可以促进雏鸡免疫器官发育,增加T淋巴细胞数量,增强了机体的细胞免疫。试验中所采用的抗菌肽有部分会在消化道被蛋白酶降解,但是试验结果证明口服途径还是有效果的,但具体起作用的生物学活性浓度还需要进一步的研究。抗菌肽是生物体内天然防御机制的重要组成部分,还具有潜在的诱导获得性免疫的作用,起到了连接天然免疫和获得性免疫的桥梁作用,可调节免疫系统以提高机体的抗感染能力^[6]。关于鸵鸟皮肤抗菌肽的功能研究还未见报道,其他抗菌肽在饲料中的应用研究发现抗菌肽可促进动物生长^[7-9],可提高鸡或肉鸭的免疫器官指数,但差异不显著^[7,10],杨玉荣报道AvBD-13(Gal-13)对雏鸡体重无明显影响,但明显提高了雏鸡的中枢免疫器官的免疫水平^[11]。不同抗菌肽对不同动物的影响不一,关于抗菌肽作为饲料添加剂在实际生产中应用较少,其功能评价还需更多动物

试验证实。

参考文献

- [1] Ganz Tomas. Defensin: antimicrobial peptides of innate immunity [J]. Nat Rev Immunol, 2003, 3: 710-720.
- [2] Yang D, O Chertov, Bykovskaia SN, et al. β -Defensins: Linking Innate and Adaptive Immunity Through Dendritic and T Cell CCR6 [J]. Science, 1999, 286 (5439): 525-528.
- [3] Haryadi Sugiarto, Pak-Lam Yu. Identification of three novel ostracins: an update on the phylogenetic perspective of β -defensins[J]. Int J Antimicrob Agents, 2006, 27(21): 229-235.
- [4] Yang Y, Jiang Y, She R, et al. Effects of Gal-13 on the content of immunoglobulin, proliferation of lymphocyte and antibody yiters in chickens[J]. Asian-Aust J Anim Sci, 2007, (20)3: 405-411.
- [5] Mueller J, Brun del Re G, Buerki H, et al. Nonspecific acid esterase activity: a criterion for differentiation of T and B lymphocytes in mouse lymphnodes[J]. Eur J Immunol, 1975, 5(4): 270-274.
- [6] Oppenheim JJ, Yang D. Alarmins: chemotactic activators of immune responses[J]. Curr Opin Immunol, 2005, 17 (4): 359-365.
- [7] 陈晓生,温刘发,张辉华,等. 饲料中添加抗菌肽对肉鸭生产性能及免疫器官、内脏器官的影响[J]. 畜禽业,2005(2): 12-13.
- [8] 温刘发,黄自然,黄达华,等. 新型饲料添加剂抗菌肽饲养肉猪的效果[J]. 广东蚕业,2007,41(1): 39-42.
- [9] 温刘发,翁照南. 抗菌肽酵母制剂的生产及其作饲料添加剂应用价值的探讨[J]. 广东蚕业,2001, 35(2): 34-36.
- [10] 厉宝林,赵东伟,蒲俊华,等. 日粮中添加不同生物制剂对鸡免疫机能的影响[J]. 中国家禽, 2007, 29(9): 22-24.
- [11] 杨玉荣. 鸡抗菌肽 Gal-13 的分离提取及其对雏鸡免疫的影响和作用机理研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2006: 56-63.