

# 复方中药提取物对 REV 诱发的免疫抑制鸡的免疫增强作用

柳风祥, 崔治中, 郭慧君

(山东农业大学动物科技学院, 山东泰安 271018)

**摘要:** 【目的】探讨复方中药提取物对 REV 诱发的免疫抑制鸡的免疫增强作用, 建立测试某些中药制剂免疫增强作用的实验模型。【方法】分别在临床健康鸡和在 1 日龄感染网状内皮增生病毒 (REV) 诱发了免疫抑制状态的鸡测试了中药制剂对鸡的免疫增强作用。【结果】随饮水饲喂黄芪、党参、淫羊藿和甘草复方中药浸出物, 在健康鸡对鸡新城疫病毒 (NDV) 和 H5 亚型禽流感病毒 (H5-AIV) 灭活疫苗免疫后的血凝抑制 (HI) 抗体滴度没有明显影响。但是在 REV 诱发了免疫抑制的鸡, 该中药浸出物可显著提高对 NDV 和 H5-AIV 的 HI 抗体滴度 ( $P < 0.01$ ), 虽然仍显著低于未经 REV 感染的对照鸡。【结论】REV 诱发的免疫抑制状态下的鸡, 可作为测试某些中药制剂免疫增强作用的一种实验模型。

**关键词:** 中药提取物; 免疫抑制; REV; 体液免疫

## Immune Enhancement Effect of Mixed Herbal Extracts in Chicks Immunosuppressed by Reticuloendotheliosis Virus Infection

LIU Feng-xiang, CUI Zhi-zhong, GUO Hui-jun

(College of Veterinary Medicine, Shandong Agricultural University, Taian 271018, Shandong)

**Abstract:** 【Objective】 To research immune enhancement effect of mixed herbal extracts in chicks immunosuppressed by reticuloendotheliosis virus infection and establish an experiment model for determination of immune enhancing effects of some herbs. 【Method】 Immune enhancement of herbal extracts was determined in clinical health chicks and chicks with immunosuppression induced by reticuloendotheliosis virus (REV) infection. 【Result】 Hemagglutination inhibition (HI) antibody titers against Newcastle disease virus (NDV) and H5 avian influenza virus (H5-AIV) after vaccination were not influenced by supplement with the extract of mixed herbs, *Radix Astragali*, *Radix Codonopsis*, *Herba Epimedii* and *Radix Glycyrrizae* in drinking water in clinical health chicks. In chicks immunosuppressed by reticuloendotheliosis virus (REV) infection, however, supplement of the same herbal extract in drinking water significantly increased HI antibody titers to NDV and H5-AIV when compared to the immunosuppressed control group ( $P < 0.01$ ). 【Conclusion】 It is concluded that chicks with REV-induced immunosuppression could be used as an experiment model for determination of immune enhancing effects of some herbs.

**Key words:** herbal extraction; immunosuppression; REV; humoral immunity

## 0 引言

【研究意义】近几年来, 由于鸡群中普遍存在免疫抑制性病毒的单独或混合感染<sup>[1-2]</sup>, 常常导致免疫鸡群抗体水平不高或免疫失败, 造成疾病发生, 为了控制这些疾病不得不大量、长期的使用疫苗和药物以减少造成的经济损失, 结果导致禽肉产品质量问题, 并

严重限制了中国肉鸡产品的出口潜力<sup>[3]</sup>。中药源于自然, 绿色无毒, 不影响产品质量。现代医学研究表明, 许多中药具有免疫增强作用, 能刺激免疫系统, 提高免疫系统组织细胞活性, 增加机体免疫细胞的生长及抗体的合成<sup>[4-6]</sup>。本研究通过复方中药提取物对免疫抑制鸡免疫增强效果的研究, 不但探索中药的免疫增强作用, 而且为免疫增强剂的研究建立实验模型具有重

收稿日期: 2008-03-16; 接受日期: 2009-03-22

基金项目: 国家自然科学基金重点项目 (30330450)

作者简介: 柳风祥 (1962-), 男, 山东武城人, 博士研究生, 研究方向为畜禽疾病的药物防治。Tel: 0538-8628237; E-mail: fxliu1111@126.com。  
通信作者崔治中 (1944-), 男, 江苏江阴人, 教授, 博士, 研究方向为兽医微生物和分子病毒学。Tel: 0538-8241560; E-mail: zzcui@sdau.edu.cn

要意义。【前人研究进展】国内学者对中药制剂的免疫增强作用进行了多方面的研究。这些研究报告发现,一些中药制剂不仅能增强小鼠或鸡免疫细胞的活性<sup>[7-10]</sup>,有些制剂还能提高禽流感、鸡新城疫<sup>[11-15]</sup>和猪瘟疫疫苗免疫后的特异性抗体水平,这些都是在健康动物做的试验。还有报道<sup>[16-18]</sup>,一些复方中药多糖可刺激正常中枢性免疫器官的发育,也可抵消免疫抑制剂环磷酰胺造成的中枢免疫器官的萎缩。在他们的试验中也显示,对于同是经环磷酰胺处理使脾脏或法氏囊萎缩的鸡,复方中药对这些与免疫功能相关的脏器发育的刺激作用更为明显。【本研究切入点】对于研究中药制剂的免疫增强作用来说,似乎都用免疫功能下降的动物更为适宜。考虑到鸡群中大多数免疫抑制状态都是由不同的免疫抑制性病毒的亚临床感染引起的,而其中网状内皮增生病毒(REV)又是一种对鸡的免疫抑制性能最稳定的病毒,本研究选择 REV 作为诱发免疫抑制状态的病毒,将 REV 感染鸡作为一种实验模型来检测中药的免疫增强活性。【拟解决的关键问题】本研究试图模拟商品代鸡群中自然发生的免疫抑制状态,建立一个动物模型测试药物特别是中药制剂的免疫增效作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验用药物

黄芪(*radix astragali*)、党参(*radix codonopsis*)、淫羊藿(*herba epimedii*)、甘草(*radix glycyrrizae*)均购自泰安市药材公司,经山东省兽药监察所鉴定;盐酸左旋咪唑购自陕西汉江药业有限公司,含量 99.3%,生产批号:20060710。

试验 1 和试验 3 及试验 2 中提取物 1 均由 40% 黄芪、25% 党参、25% 淫羊藿、10% 甘草(以各中药的拼音的第一个字母组合 HDYG 表示,下同)混合物提取而来。取 8 倍量的自来水浸泡过夜,煮沸 2 h 后过滤,滤渣加 5 倍量自来水煮沸 2 h,合并两次滤液,浓缩至含中药材 1 g·ml<sup>-1</sup>。

试验 2 中提取物 2 含 40% 黄芪、30% 党参、30% 淫羊藿(HDY),提取物 3 含 50% 黄芪、30% 淫羊藿、20% 甘草(HYG),提取物 4 含 60% 黄芪、40% 党参(HD),提取物 5 含 100% 黄芪(H)。上述 4 种提取物提取过程及浓缩程度同提取物 1。

### 1.2 病毒

REV-C99-p3 株,为山东农业大学动物科技学院分子病毒研究室保存的一株经分子克隆化的 REV 毒

株<sup>[19]</sup>,采用微量法在鸡胚成纤维细胞(CEF)的 96 孔板上测定 REV-C99-p3 株的病毒滴度,用 REV 的单克隆抗体 11A25 做间接免疫荧光实验(IFA)来判断结果。按照 Ree-Muench 氏法计算病毒的 TCID<sub>50</sub>。本研究所用 REV-C99-p3 株在每 0.1 ml 的接种液中含 10<sup>6</sup> 个 TCID<sub>50</sub>。

### 1.3 试验动物

1 日龄海兰褐公鸡,购自泰安市东岳种禽场,试验前用相应 ELISA 抗体检测试剂盒(IDEXX 公司产品)检测 REV 抗体阳性率 < 2.3%。1 日龄 SPF 鸡购自济南 SPAFS 公司,饲养于带正压过滤空气隔离罩内,饮水及饲料均经高压消毒。

### 1.4 试验设计

试验共分 3 次,试验设计和试验方法如下:

试验 1 180 只 1 日龄海兰褐公鸡,随机分为 6 组。1~3 组为健康组,不接种 REV,4~6 组为接种 REV 组,1 日龄大腿内侧肌肉接种 REV 病毒稀释液(500TCID<sub>50</sub>/只)。7 日龄时所有鸡均免疫 Lasota(齐鲁动物保健品有限公司生产)、NDV 灭活疫苗(英特威公司生产)、H5-AIV 灭活疫苗(齐鲁动物保健品有限公司生产),各种疫苗按说明书使用,其中 H5-AIV 为抗原浓缩型疫苗。14、21、28 日龄所有鸡用 IBDV 饮水免疫(英特威公司生产)。1 组为对照组,2、5 组在 1 日龄时在饮水中按 2% 的浓度添加中药提取物 1,3、6 组在 1 日龄时在饮水中按 50 mg·kg<sup>-1</sup> 的浓度添加盐酸左旋咪唑,自由饮水,直至试验结束。

试验 2 210 只 1 日龄海兰褐公鸡,随机分为 7 组。1 组为对照组,2~7 组为接种 REV 组,接种病毒量和接种方法同前。所有 7 组鸡免疫程序同试验 1。3~7 组在 1 日龄时在饮水中按 2% 浓度分别添加不同组合的中药提取物 HDYG、HDY、HYG、HD、H(见 1.1),自由饮水,直至试验结束。

试验 3 180 只 1 日龄 SPF 鸡,随机分为 6 组(1~6 组),1~3 组饲养于带正压隔离罩内,饮水及饲料均经高压消毒;4~6 组饲养于非 SPF 环境下。90 只 1 日龄海兰褐公鸡,随机分为 3 组(7~9 组)。1、4、7 组为对照组,2、3、5、6、8、9 组为接种 REV 组,接种病毒量和接种方法同前。3、6、9 组 1 日龄时在饮水中按 2% 的浓度添加中药提取物 1(HDYG),自由饮水,直至试验结束。所有鸡免疫程序同试验 1。

以上 3 次试验在 35、42、49 日龄时所有鸡翅静脉采血测鸡 NDV、H5-AIV 抗体效价。用血凝抑制(HI)微量法测定 NDV、H5-AIV 抗体效价。

### 1.5 REV 在鸡体内复制的病毒血症水平测定

12 只 1 日龄 SPF 鸡分为 2 组, 在接种 500 个 TCID<sub>50</sub> 的 REV 后, 分别饲养在 2 个隔离器中用常规饲料和水饲养。其中 1 组中按试验 1 在饮水按 2% 的浓度添加中药提取物 1。分别在 10、20 和 30 日龄在按笔者已发表的方法测定病毒血症水平<sup>[20]</sup>。

### 1.6 数据统计学分析

所有数据用平均值±标准误差 ( $\bar{X}\pm SD$ ), 组间差异性用 Student's t-test 软件分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 HDYG 和盐酸左旋咪唑对不同免疫功能状态下鸡体液免疫反应的影响

表 1 和表 2 的结果显示, 不论是在健康鸡还是在感染 REV 鸡, 添加盐酸左旋咪唑对 NDV 抗体水平都没有影响, 与对照鸡差异不显著 ( $P>0.05$ )。HDYG 对健康鸡抗体水平也没有影响 ( $P>0.05$ ) (第 2 组)。但是, 在 1 日龄感染 REV 导致免疫功能下降的鸡,

HDYG 可显著改善体液免疫反应。在 1 周龄接种 NDV 的灭活油乳疫苗后 4、5 和 6 周虽然应用 HDYG 的 REV 感染鸡 (第 5 组) 对 NDV 仍达不到健康对照组 (第 1 组) 水平, 却显著高于同样经 REV 感染但未添加中药的对照组 (第 4 组), 对 NDV HI 抗体滴度的统计学差异极显著 ( $P<0.01$ )。

HDYG 和盐酸左旋咪唑对不同免疫功能状态下鸡的 H5-AIV 抗体水平的影响与 NDV 相似。

### 2.2 不同组合中药提取物免疫增强作用的比较

在 1 日龄感染 REV 鸡, 分别使用了 1~5 种不同组合的中药提取物, 表 3 中的试验结果显示, 除单一黄芪 (H) 提取物没有明显效应外 (比较第 2 组和第 7 组,  $P>0.05$ ), 其余 4 个组合不论是 2 种 (第 6 组) 还是 3 种 (第 4、5 组) 药物都呈现不同程度的免疫增强作用 (相对于第 2 组,  $P<0.05$ ), 但仍以第 3 组 (4 种药物) 和第 4 组 (黄芪、党参和淫羊藿 3 种药物) 的免疫增强作用最好。在对 NDV 的抗体反应中, 第 3~6 组均显著高于对照组第 2 组。

表 1 HDYG 和盐酸左旋咪唑对不同免疫功能状态下鸡的 NDV HI 抗体滴度 (Log<sub>2</sub>) 的影响 (试验 1)

Table 1 Influence of HDYG and levamisole hydrochloride on NDV HI titer (Log<sub>2</sub>) in different immune status chicks (Exp.1)

组别 Group	REV (at 1 d)	处理 Treatment	日龄 Age (d)		
			35	42	49
1	-	/	6.71±1.06a(n=28)	6.48±0.83a(n=27)	6.35±0.92a(n=26)
2	-	HDYG	6.86±0.94a(n=29)	6.59±1.06a(n=27)	6.38±1.00a(n=26)
3	-	Lev	6.64±1.14a(n=28)	6.37±1.34a(n=27)	6.20±1.13a(n=25)
4	+	/	2.80±0.85c(n=25)	2.75±0.72c(n=24)	3.21±1.00c(n=24)
5	+	HDYG	4.22±0.96b(n=27)	3.92±1.07b(n=26)	4.36±1.09b(n=25)
6	+	Lev	3.04±0.85c(n=26)	2.96±0.82c(n=25)	3.48±1.02c(n=25)

$\bar{X}\pm SD$  (n=样本数)。同一列的数值进行比较, 标注不同小写字母者, 统计学差异显著 ( $P<0.05$ )。下同

h=sample size. The data in the same columns were compared, different small letters indicates significant difference ( $P<0.05$ ). The same as below

表 2 HDYG 和盐酸左旋咪唑对不同免疫功能状态下鸡的 H5-AIV HI 抗体滴度 (Log<sub>2</sub>) 的影响 (试验 1)

Table 2 Influence of HDYG and levamisole hydrochloride on H5-AIV HI titer (Log<sub>2</sub>) in different immune status chicks (Exp.1)

组别 Group	REV (at 1 d)	处理 Treatment	日龄 Age (d)		
			35	42	49
1	-	/	6.93±0.92a(n=28)	6.59±0.99a(n=27)	6.88±0.97a(n=26)
2	-	HDYG	6.86±0.94a(n=29)	6.78±0.99a(n=27)	6.46±0.89a(n=26)
3	-	Lev	6.96±0.87a(n=28)	6.74±0.93a(n=27)	6.80±0.85a(n=25)
4	+	/	3.12±0.99c(n=25)	3.04±0.89c(n=24)	3.25±0.97c(n=24)
5	+	HDYG	4.37±0.99b(n=27)	4.15±0.91b(n=26)	4.36±0.84b(n=25)
6	+	Lev	3.04±0.85c(n=26)	3.12±0.91c(n=25)	3.36±1.16c(n=25)

表 3 不同组合中药提取物对感染 REV 鸡的 NDV HI 抗体滴度 (Log<sub>2</sub>) 的影响 (试验 2)Table 3 Influence of different herbal extracts on NDV HI titer (Log<sub>2</sub>) in chicks infected with REV (Exp.2)

组别 Group	REV (at 1 d)	处理 Treatment	日龄 Age (d)		
			35	42	49
1	-	/	6.41±1.00a(n=29)	6.79±0.82a(n=28)	6.54±0.87a(n=28)
2	+	/	2.46±1.00c(n=24)	2.35±0.96c(n=24)	3.14±0.76c(n=23)
3	+	(HDYG)	3.16±0.82b(n=26)	4.12±0.89b(n=26)	4.36±0.79b(n=25)
4	+	(HDY)	3.15±0.82b(n=26)	3.73±1.23b(n=26)	4.17±1.11b(n=24)
5	+	(HYG)	3.04±0.60b(n=25)	3.84±1.08b(n=25)	4.13±1.10b(n=24)
6	+	(HD)	3.04±0.81b(n=26)	3.88±0.86b(n=25)	4.28±1.04b(n=25)
7	+	(H)	2.76±0.98c(n=26)	2.69±1.63c(n=25)	3.20±0.93c(n=25)

表 4 中的试验结果显示, 单一黄芪 (H) 提取物对 REV 免疫抑制鸡的 H5-AIV 抗体反应没有明显变化 (比较第 2 组和第 7 组,  $P>0.05$ ), 其余 4 个药物组合都呈现不同程度的免疫增强作用 (相对于第 2 组,  $P<0.05$ ), 但以第 3 组的免疫增强作用最好。第

3-6 组虽然都有免疫增强作用, 但第 3 组和第 4 组的免疫增强作用一直都很明显, 第 5 组和第 6 组这种免疫增强作用只是短暂的, 只呈现在免疫后 5 周。在免疫后 6 周, 与对照组 (第 2 组) 的差异就不再显著了。

表 4 不同组合中药提取物对感染 REV 鸡的 H5-AIV HI 抗体滴度 (Log<sub>2</sub>) 的影响 (试验 2)Table 4 Influence of different herbal extracts on H5-AIV HI titer (Log<sub>2</sub>) in chicks infected with REV (Exp.2)

组别 Group	REV (at 1 d)	处理 Treatment	日龄 Age (d)		
			35	42	49
1	-	/	6.66±0.92a(n=29)	7.04±0.94a(n=28)	7.18±0.89a(n=28)
2	+	/	2.83±0.90b(n=24)	3.42±1.00d(n=24)	3.83±0.82c(n=23)
3	+	(HDYG)	3.35±0.92b(n=26)	4.81±1.04b(n=26)	4.68±0.79b(n=25)
4	+	(HDY)	3.31±0.77b(n=26)	4.50±1.22b(n=26)	4.67±0.90b(n=24)
5	+	(HYG)	3.32±0.93b(n=25)	4.12±1.31bc(n=25)	4.04±0.93c(n=24)
6	+	(HD)	3.31±0.95b(n=26)	4.04±1.18cd(n=25)	4.08±0.80c(n=25)
7	+	(H)	3.10±0.98b(n=26)	3.56±1.37d(n=25)	3.76±0.89c(n=25)

### 2.3 HDYG 对不同类型鸡免疫增强作用的影响

表 5 中的试验结果显示, SPF 来源鸡在感染 REV 造成免疫抑制后如果继续在 SPF 条件下饲养, 在饮水中添加该中药提取物对 NDV 抗体水平没有表现出明显增强作用 (第 2 组和第 3 组)。但同是 SPS 来源鸡在感染 REV 后, 如果在非 SPF 的普通饲养条件下饲养, 在饮水中添加同样的中药提取物可显著提高对 NDV 抗体水平 (第 5 组和第 6 组,  $P<0.01$ ), 虽然仍低于未经 REV 感染的对照鸡 (第 4 组)。在同一次试验中, 又重复了海蓝褐鸡的试验。经 REV 感染造成免疫抑制的海蓝褐鸡, 添加该中药提取物也显著增强了对 NDV 的抗体滴度, 即添加 HDYG 提取物的第 9 组鸡的抗体水平显著高于不喂中药的第 8 组 ( $P<0.01$ )。

同样, 也仍然显著低于未感染组 (第 7 组)。

表 6 中的试验结果同样显示, SPF 来源鸡在感染 REV 造成免疫抑制后如果继续在 SPF 条件下饲养, 在饮水中添加该中药提取物对 H5-AIV 抗体水平没有表现出明显增强作用。但同是 SPS 来源鸡在感染 REV 后, 如果在非 SPF 的普通饲养条件下饲养, 在饮水中添加同样的中药提取物可显著提高对 H5-AIV 抗体水平 ( $P<0.01$ ), 虽然仍低于未经 REV 感染的对照鸡。经 REV 感染造成免疫抑制的海蓝褐鸡, 添加该提取物也显著增强了对 H5-AIV 的抗体滴度, 同样, 也仍然显著低于未感染组。

### 2.4 中药提取物对病毒在体内复制的影响

在饮水中添加中药提取物后测定对病毒血症水平

表 5 HDYG 对不同类型的鸡 ND HI 抗体滴度 (Log<sub>2</sub>) 的影响 (试验 3)Table 5 Influence of HDYG on NDV HI titer (Log<sub>2</sub>) of different chicks (Exp.3)

组别 Group	REV	处理 Treatment	Chicks	SPF	日龄 Age (d)		
					35	42	49
1	-	/	SPF	+	7.30±0.90a(n=30)	6.82±0.93a(n=28)	6.74±0.93a(n=27)
2	+	/	SPF	+	2.96±0.82c(n=25)	3.04±0.73c(n=24)	3.13±0.80c(n=24)
3	+	HDYG	SPF	+	3.15±0.72c(n=26)	3.16±0.78c(n=25)	3.28±0.29c(n=25)
4	-	/	SPF	-	6.30±0.78a(n=30)	6.29±0.84a(n=28)	6.12±0.90a(n=28)
5	+	/	SPF	-	2.82±0.75c(n=25)	2.64±0.69c(n=25)	3.00±0.75c(n=25)
6	+	HDYG	SPF	-	3.00±0.90b(n=28)	3.19±0.86b(n=27)	4.04±0.79b(n=27)
7	-	/	Hailan	-	6.93±0.75a(n=28)	6.57±0.86a(n=28)	6.62±0.79a(n=26)
8	+	/	Hailan	-	2.93±0.60c(n=27)	3.08±0.69c(n=25)	3.04±0.89c(n=24)
9	+	HDYG	Hailan	-	4.39±1.29b(n=28)	4.81±0.72b(n=27)	4.36±0.93b(n=25)

表 6 HDYG 对不同类型的鸡 H5-AIV HI 抗体滴度 (Log<sub>2</sub>) 的影响 (试验 3)Table 6 Influence of HDYG on H5-AIV HI titer (Log<sub>2</sub>) of different chicks (Exp.3)

组别 Group	REV	处理 Treatment	Chicks	SPF	日龄 Age (d)		
					35	42	49
1	-	/	SPF	+	7.33±0.87a(n=30)	6.64±0.89a(n=28)	6.93±0.81a(n=27)
2	+	/	SPF	+	3.08±0.89c(n=25)	2.92±0.72c(n=24)	3.04±0.79c(n=24)
3	+	HDYG	SPF	+	2.77±0.75c(n=26)	3.04±0.72c(n=25)	2.92±0.98c(n=25)
4	-	/	SPF	-	6.87±0.85a(n=30)	6.93±0.75a(n=28)	6.46±0.98a(n=28)
5	+	/	SPF	-	2.92±0.89c(n=25)	3.04±0.72c(n=25)	2.80±0.69c(n=25)
6	+	HDYG	SPF	-	3.75±0.91b(n=28)	4.00±0.82b(n=27)	4.04±0.92b(n=27)
7	-	/	Hailan	-	7.43±0.82a(n=28)	6.25±0.87a(n=28)	6.54±0.63a(n=26)
8	+	/	Hailan	-	2.85±0.76c(n=27)	2.92±0.74c(n=25)	2.92±0.76c(n=24)
9	+	HDYG	Hailan	-	4.32±1.00b(n=28)	3.63±0.78b(n=27)	3.72±0.87b(n=25)

的影响。结果表明,在 1 日龄接种一定量 REV 后,在 10 日、20 日和 30 日龄时,饮水中添加 HDYG 提取物 6 只鸡的病毒血症水平与不加中药提取物的 6 只鸡的病毒血症水平无显著差异(具体数据省略)。

### 3 讨论

中药的免疫增强作用,是开发中国传统医学的一个重要方面,也是最容易用现代试验手段将其科学化的一个方面。在过去多年中已有不少关于某些中药提取物可提高小鼠、鸡、兔或猪的特异性和非特异性免疫反应的报道<sup>[8-9,14-15,21-22]</sup>。其中王福传等<sup>[22]</sup>更是在很大数量鸡的对比试验中证明了,用黄芪多糖提取物注射或以某些复方中药添加于饲料中,可显著提高鸡群对 NDV 或 IBVD 疫苗免疫后的抗体反应。但上述报道中的试验多是在健康鸡或动物完成的。谷新利

等<sup>[16-18]</sup>以化学药物环磷酰胺诱发全身性免疫抑制,也证明了黄芪多糖和香菇多糖可抵消环磷酰胺诱发的法氏囊和脾脏的萎缩。但环磷酰胺诱发的免疫抑制毕竟不是鸡群中自然发生的情况。在现代规模化养鸡中,最常见的免疫抑制是一些病毒的亚临床感染造成的,如鸡网状内皮增生病毒(REV)、马立克氏病毒(MDV)、白血病病毒(ALV)、鸡传染性贫血病毒(CAV)或鸡呼肠孤病毒(ARV)。当以法氏囊和胸腺的萎缩及对 NDV 或 AIV 灭活疫苗免疫后的 HI 抗体为指标时,REV 是最强的一种免疫抑制性疾病,而且可诱发在程度上可控的稳定的一种免疫抑制<sup>[23]</sup>。

#### 3.1 中药提取物对不同免疫功能状态下鸡体液免疫的影响

本研究以一定剂量 REV 感染雏鸡,造成一定程度的免疫抑制,比较了在饲料中添加一些复方中药浸出

物后的免疫增强作用。结果发现, 由黄芪、党参、淫羊藿和甘草组成的方剂添加到饲料中后, 对正常健康鸡体液免疫反应没有任何影响, 但确可显著增强处于 REV 诱发的免疫抑制状态的鸡群对 NDV 和 AIV 灭活疫苗免疫后的特异性抗体反应。

### 3.2 不同组合中药提取物免疫增强作用的比较

对试验结果的分析还表明, 由 4 种(第 3 组)或仅用黄芪、党参和淫羊藿 3 种中药(第 4 组)的合剂, 表现有类似的免疫增强作用(表 3 和表 4)。而在增强 AIV 特异性抗体反应方面, 由黄芪、淫羊藿和甘草组成的合剂或由黄芪、党参组成的合剂(第 5、6 组)略差于第 3 组和第 4 组(表 4)。这似乎表明, 甘草的作用不大, 而黄芪、党参和淫羊藿三者间有协同作用。值得提出的是, 单用黄芪(第 7 组)几乎完全没有免疫增强作用(表 3 和表 4)。这究竟是由于黄芪的作用必须有党参或淫羊藿的协同作用, 还是由于 7 组中黄芪浓度过高有关(从第 3 组至第 7 组, 黄芪浓度逐渐升高), 还有待进一步研究比较。

### 3.3 中药提取物对不同类型鸡免疫增强作用的影响

与笔者预期的相反, 在 SPF 饲养条件下, 同样的中药方剂, 却没有任何作用(表 5 和表 6), 第 2 组和第 3 组间无差别。但同是 SPF 来源的同一品系的鸡, 在常规饲养条件下, 复方中药方剂(HDYG)对 REV 诱发的免疫抑制状态下的鸡表现出免疫增强作用, 这表明在 SPF 饲养条件下, 由于所用的饲料和饮水也全部经过高压消毒, 因此肠道菌群与常规饲养条件下的鸡完全不同, 这就改变了中药在肠道中的化学变化过程。而口服中药提取物的药效显然受这一过程的影响很大。对于测试口服中药的效果时, SPF 饲养环境是不适应的。

### 3.4 盐酸左旋咪唑的免疫增强作用

左旋咪唑是教科书上提到的一种免疫增强剂。但是在本试验中, 不论是在正常健康鸡还是 REV 感染后免疫抑制的鸡, 左旋咪唑却没有表现出任何免疫增强作用。实际上, 对左旋咪唑的免疫增强作用, 在文献中也有不同的报道, 有的肯定, 有的否定<sup>[24]</sup>。由此推测左旋咪唑在有些条件下对有些抗原的刺激有免疫增强作用, 但在另一种条件下对其它抗原的刺激却没有免疫增强作用。看来, 各种潜在的免疫增强剂, 包括中药, 如果有作用的话, 也可能有一定的作用范围, 即适用于特定的状态下针对某些特定的抗原。

已有报道表明, 某些中药制剂可显著增强对 NDV 或 AIV 疫苗的免疫反应<sup>[9,14-15,21-22]</sup>, 但这些试验均是在

临床健康时做的, 对免疫抑制状态下的鸡是否有作用还有待于测试。本研究正是模仿鸡群中自然发生的免疫抑制, 以对 NDV 和 H5-AIV 抗原的体液免疫反应为指标来测试某些中药制剂的免疫增强作用。本研究只是表明, 所选用的中药制剂在 REV 诱发的免疫状态下, 对这二种特定抗原的抗体反应有增强作用。至于, 这一中药制剂在其它病毒诱发的免疫抑制状态下的鸡是否也有免疫增强作用, 这也有待于做比较试验。

文献中已有报道, 某些中药提取物可提高正常鸡的免疫反应<sup>[22,25]</sup>。但本研究所用的复方中药提取物却在正常鸡不表现免疫增强作用, 但在经 REV 感染诱发的免疫抑制的鸡显现显著的免疫增强作用。这表明, 不同的中药制剂在免疫增强作用上可能有不同的作用机制。因此, 为了检验不同中药的免疫增强作用, 需要不同的实验模型。本文提出的模拟鸡群中的实际情况由 REV 诱发的免疫抑制状态的鸡, 可作为检验中药免疫增强作用的一种新的实验模型。

## 4 结论

4.1 由黄芪、党参、淫羊藿和甘草组成的方剂对处于 REV 诱发的免疫抑制状态下鸡群的体液免疫反应有增强作用, 但对正常健康鸡体液免疫反应没有任何影响。

4.2 由黄芪、党参、淫羊藿和甘草 4 种中药组成的方剂的免疫增强效果显著好于由其中 3 种、两种或单用黄芪的效果。

4.3 该复方中药制剂对 SPF 来源继续在 SPF 环境下饲养的鸡没有免疫增强作用, 但对同样 SPS 来源在常规饲养条件下饲养的鸡有免疫增强作用。

4.4 盐酸左旋咪唑对由 REV 诱发的免疫抑制鸡的体液免疫水平没有任何影响。

4.5 可以以 REV 为免疫抑制因子, 建立测试某些中药制剂免疫增强作用的实验模型。

## References

- [1] 金文杰, 崔治中, 刘岳龙, 秦爱建. 传染性法氏囊病病料中 MDV、CAV、REV 的共感染检测. 中国兽医学报, 2001, 21(1): 6-9.  
Jin W J, Cui Z Z, Liu Y L, Qin A J. Co-infection of MDV, CAV and REV in infectious Bursal disease sample. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2001, 21(1): 6-9. (in Chinese)
- [2] 崔治中. 我国鸡群中免疫抑制性病毒多重感染的诊断和对策. 动物科学与动物医学, 2001, 18(4): 19-22.  
Cui Z Z. Effect of multiple immunosuppressive viral infections on diagnosis and treatment in China chicken flocks. *Animal Science and*

- Veterinary Medicine*, 2001, 18(4): 19-22. (in Chinese)
- [3] 崔治中. 免疫抑制性病毒多重感染在鸡群疫病发生和流行中的作用. 畜牧兽医学报, 2003, 34(5): 417-421.  
Cui Z Z. Effect of multiple immunosuppressive viral infections on pathogenesis and epidemiology in chicken flocks. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2003, 34(5): 417-421. (in Chinese)
- [4] 王德云, 胡元亮, 张宝康, 刘家国, 王效田. 几种中药成分与 IL-2 免疫协同作用的比较. 南京农业大学学报, 2005, 28(3): 140-142.  
Wang D Y, Hu Y L, Zhang B K, Liu J G, Wang X T. Comparison on immune synergism of several Chinese herbal medicinal ingredients with interleukin-2. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2005, 28(3): 140-142. (in Chinese)
- [5] 陈洪亮, 嵇宝山, 李德发, 常碧影, 张家祥. 黄芪多糖对肉鸡脾淋巴母细胞转化及信息分子的影响. 中国兽医杂志, 2003, 39(10): 11-14.  
Chen H L, Zhuo B S, Li D F, Chang B Y, Zhang J X. Effect of astragalin on lymphocyte proliferation and signal molecules in the spleen of broilers. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2003, 39(10): 11-14. (in Chinese)
- [6] 李 诺, 余锐萍, 韩鲁佳, 王可洲. 黄芪提取物对鸡生长发育及免疫功能的影响. 中国兽医科技, 2004, 34(5): 61-64.  
Li N, She R P, Han L J, Wang K Z. Effect of astragalus root extractions on chicken growth and immunological function. *Chinese Journal of Veterinary Science and Technology*, 2004, 34(5): 61-64. (in Chinese)
- [7] 高向东, 吴梧桐. 五种抗衰老中药对小鼠 T-淋巴细胞增殖与 IL-2 产生的影响. 中国药科大学学报, 1990, 21(1): 43-45.  
Gao X D, Wu W T. Biological function of five chinese traditional drugs on proliferation and il-2 production of the mice lymphocytes. *Journal of China Pharmaceutical University*, 1990, 21(1): 43-45. (in Chinese)
- [8] 储岳峰, 李祥瑞, 胡元亮. 9 种中药成分对小鼠免疫细胞活性的影响. 南京农业大学学报, 2004, 27(1): 97-100.  
Chu Y F, Li X R, Hu Y L. Effects of Chinese herbal medicinal ingredient on cells mediated in immunity in mice. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2004, 27(1): 97-100. (in Chinese)
- [9] 王德云, 胡元亮, 孔祥峰, 张宝康, 刘家国, 王效田. 中药成分对雏鸡外周血 T 淋巴细胞转化的影响. 中国兽医学报, 2004, 24(6): 578-580.  
Wang D Y, Hu Y L, Kong X F, Zhang B K, Liu J G, Wang X T. Effects of Chinese herbal medicinal ingredients on peripheral T lymphocyte transformation in chicken. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2004, 24(6): 578-580. (in Chinese)
- [10] 牛瑞燕, 阎小艳, 王俊东. 复方党参口服液对小鼠免疫功能的影响. 山西农业科学, 2008, 36(9): 86-88.  
Niu R Y, Yan X Y, W J D. Effect of compound codonopsis oral liquids to immunity function in mice. *Journal of Shanxi Agricultural Science*, 2008, 36(9): 86-88. (in Chinese)
- [11] 操继跃, 周洪波, 卢笑丛, 窦树龙, 柳阳伟, 李小宝. 氟苯尼考和中草药黄芪淫羊藿合剂对鸡体液免疫反应的影响. 畜牧兽医学报, 2003, 34(4): 412-416.  
Cao J Y, Zhou H B, Lu X C, Dou S L, Liu Y W, Li X B. The effects of florfenicol and Chinese herbal ingredients radix astragali and herba epimedii on humoral immune response in chicks. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2003, 34(4): 412-416. (in Chinese)
- [12] 任宇皓, 胡元亮, 刘家国, 张宝康, 宋大鲁. 黄芪多糖、淫羊藿多糖和淫羊藿总黄酮对新城疫病毒感染细胞的影响. 南京农业大学学报, 2001, 24(2): 102-105.  
Ren Y H, Hu Y L, Liu J G, Zhang B K, Song D L. The effects of astragalus polysaccharide, epimedium polysaccharide and epimedium flavone on cell-infecting of ND. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2001, 24(2): 102-105. (in Chinese)
- [13] 王学斌, 张志民, 任向阳, 魏战勇, 崔保安. 黄芪多糖油乳佐剂新城疫灭活疫苗对鸡免疫功能的影响. 河南农业科学, 2007, (4): 103-105.  
Wang X B, Zhang Z M, Ren X Y, Wei Z Y, Cui B A. Effects of astragalus polysaccharides on the immune ability of chickens. *Journal of Henan Agricultural Science*, 2007, (4): 103-105. (in Chinese)
- [14] 李艳华, 田国彬, 李雁冰, 刘永刚, 陈化兰, 佟恒敏, 于康震. 某复方中药抗禽流感病毒的免疫抑制. 中国预防兽医学报, 2004, 26(6): 416-419.  
Li Y H, Tian G B, Li Y B, Liu Y G, Chen H L, Tong H M, Yu K Z. Mechanism of immunity on anti-Avian influenza virus of complex Chinese traditional medicine. *Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine*, 2004, 26(6): 416-419. (in Chinese)
- [15] 储岳峰, 颜新敏, 胡元亮, 李祥瑞. 几种中药成分的免疫增强活性及其作用效果. 中国兽医科技, 2005, 35(1): 67-70.  
Chu Y F, Yan X M, Hu Y L, Li X R. Immunoenhancing effects of nine Chinese herbal medicine ingredients. *Chinese Journal of Veterinary Science and Technology*, 2005, 35(1): 67-70. (in Chinese)
- [16] 谷新利, 李宏全, 王俊东, 蒋建军, 陈韩英, 李炳奇, 张建海, 刘振中, 刘 红, 罗 燕, 邵永斌. 从中药方剂中提取的复合多糖对雏鸡免疫功能的影响. 中国农业科学, 2005, 38(4): 813-820.  
Gu X L, Li H Q, Wang J D, Jiang J J, Chen H Y, Li B Q, Zhang J H, Liu Z Z, Liu H, Luo Y, Shao Y B. Effects of compound polysaccharide extracted from traditional Chinese medical herbs on the immunity function in chickens. *Scientia Agricultura Sinica*, 2005, 38(4):

- 813-820. (in Chinese)
- [17] 石达友, 刘汉儒, 黎建华, 卓 曲, 韩桂祥, 胡宇莉. 中药对鸡新城疫灭活疫苗免疫效果的影响. 中国兽医科技, 2004, 34(2): 42-46.  
Shi D Y, Liu H R, Li J H, Zhuo Q, Han G X, Hu Y L. Effects of some Chinese herbs on immune efficacy of the inactivated oil- emulsified vaccine against Newcastle disease in chicken. *Chinese Journal Science and Technology*, 2004, 34(2): 42-46. (in Chinese)
- [18] 毕可东, 崔尚金, 宋晓华, 刘焕齐, 孙月平. 中药多糖对鸡淋巴细胞转化百分率及 ANAE+淋巴细胞百分率影响的研究. 中国预防兽医学报, 2007, 22(4): 289-291.  
Bi K D, Cui S J, Song X H, Liu H Q, Sun Y P. The effect of chinese herb polysaccharide on the transformation percentage of chickens' lymphocyte and ANAE+lymphocyte. *Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine*, 2000, 22(4): 289-291. (in Chinese)
- [19] 吉 荣, 崔治中, 王锡乐, 孙淑红. 分子克隆化禽网状内皮组织增生症病毒传染性及其前病毒全基因组序列研究. 病毒学报, 2005, 21(6): 448-455.  
Ji R, Cui Z Z, Wang X L, Sun S H. Study of the infectivity of the molecular cloned reticuloendotheliosis virus and its genome. *Chinese Journal of Virology*, 2005, 21(6): 448-455. (in Chinese)
- [20] 庄国庆, 孙淑红, 崔治中, 曲立新. 鸡马立克氏病毒和网状内皮增生病毒共感染商品代肉鸡时的相互作用. 中国病毒学, 2006, 21(2): 157-162.  
Zhuang G Q, Sun S H, Cui Z Z, Qu L X. Interaction of marek's disease virus and reticuloendotheliosis virus in co-infected broilers. *Virologica Sinica*, 2006, 21(2): 157-162. (in Chinese)
- [21] 胡元亮, 孔祥峰, 李祥瑞, 王德云, 刘家国, 张宝康, 王效田. 10 种中药成分对 CEF 的增殖和抵抗 NDV 感染的影响. 畜牧兽医学报, 2004, 35(3): 301-305.  
Hu Y L, Kong X F, Li X L, Wang D Y, Liu J G, Zhang B K, Wang X T. Effects of ten chinese herbal medicinal ingredients on proliferation and resisting NDV infection of CEF. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2004, 35(3): 301-305. (in Chinese)
- [22] 王福传, 方昌阁, 张玉换, 王红宝, 韩一超. 复方中草药免疫增强剂对蛋鸡免疫效果的研究. 畜牧兽医学报, 2006, 37(2): 187-192.  
Wang F C, Fang C G, Zhang Y H, Wang H B, Han Y C. Effects of compound chinese herbal immunity of egg-laying chicken. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2006, 37(2): 187-192. (in Chinese)
- [23] 孙淑红, 崔治中, 邱玉玉. 网状内皮增生病毒感染 SPF 鸡对疫苗反应的抑制作用. 中国病毒学, 2006, 21(1): 34-37.  
Sun S H, Cui Z Z, Qiu Y Y. Immuno-suppression of reticuloendotheliosis virus infection on antibody responses to different vaccines in SPF chickens. *Virologica Sinica*, 2006, 21(1): 34-37. (in Chinese)
- [24] Van Der Maaten M J, Schmerr M J F, Miller J M, Sacks J M. Levamisole does not affect the virological and serological responses of bovine leukemia virus-infected cattle and sheep. *Canadian Journal of Comparative Medicine*, 1983, 47: 474-479.
- [25] 戴远威, 江青艳, 傅伟龙, 王瑞花, 高 萍. 助阳中药粗提物对粤黄鸡免疫功能的影响. 中国兽医学报, 1998, 18(1): 70-73.  
Dai Y W, Jiang Q Y, Fu W L, Wang R H, Gao P. Effects of the extracts from epimedium brevicornum and psoralea corylifolia on immune function in Yuehuang broilers. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 1998, 18(1): 70-73. (in Chinese)

(责任编辑 林鉴非)