

# 日粮添加维生素 E 对免疫抑制产蛋鸡 经济性状下降的调控效应

彭炳勇, 高玉鹏, 王春江, 郑海祖, 皇甫一凡, 纪建新

(西北农林科技大学动物科技学院, 陕西杨凌 712100)

**摘要:**【目的】研究在基础日粮中添加维生素E对环磷酰胺诱导产蛋鸡免疫抑制的调控效应。【方法】将 270 只健康尼克褐产蛋鸡随机等分为 5 组, 每组 3 个重复, 每个重复 18 只。I、II 组饲喂基础日粮 (维生素E含量 44.59 mg·kg<sup>-1</sup>), III、IV、V 组在基础日粮中分别添加 50、100 和 200 mg·kg<sup>-1</sup>维生素E。试验第 5、6、7 天, 对 II—V 组产蛋鸡注射 80 mg·kg<sup>-1</sup> BW环磷酰胺建立免疫抑制模型, 第 I 组注射等量生理盐水。【结果】日粮中添加VE能显著提高免疫抑制产蛋鸡的产蛋性能和饲料转化率、养分表观代谢率 ( $P<0.05$ ), 提高免疫抑制产蛋鸡脾脏和胸腺的相对重量和新城疫 (new castle disease, ND)、H5 和H9 亚型禽流感 (avian influenza, AI) 抗体滴度及血浆谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活性 ( $P<0.05$ ), 降低丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 的含量 ( $P<0.05$ ); 提高免疫抑制产蛋鸡血浆的PGE<sub>2</sub>、IL-1、IL-6 和TNF- $\alpha$  含量 ( $P<0.05$ )。【结论】环磷酰胺诱导产蛋鸡所产生的免疫抑制可显著降低其生产性能、养分利用率、抗体水平、抗氧化功能及PGE<sub>2</sub>和炎性细胞因子含量; 日粮中添加维生素E对免疫抑制蛋鸡具有明显的调控效应, 且添加水平为 50 和 100 mg·kg<sup>-1</sup>时效果优于 200 mg·kg<sup>-1</sup>的添加量。

**关键词:** 维生素 E; 蛋鸡; 免疫抑制; 调控机制

## Modulation of Dietary Vitamin E on Economic Characterization of Immunosuppressed Laying Hens

PENG Bing-yong, GAO Yu-peng, WANG Chun-jiang, ZHENG Hai-zu, HUANGFU Yi-fan, JI Jian-xin

(College of Animal Science and Technology, Northwest A & F University, Yangling 712100, Shaanxi)

**Abstract:**【Objective】The modulation of dietary vitamin E levels on immunosuppressed laying hens induced by cyclophosphamide (CTX) was studied. 【Method】Two hundred and seventy Nick Red laying hens were randomly divided into 5 groups and each group had 3 replications with 18 birds. Laying hens from group III, IV, and V (birds treated with vitamin E) were fed diets supplemented with 50, 100 and 200 mg·kg<sup>-1</sup> vitamin E, respectively, whereas group I and II received only the corn-soybean meal basal diets with 44.59 mg·kg<sup>-1</sup> of vitamin E. Laying hens in group II-IV (birds challenged with CTX) were injected in the thigh muscle with CTX at 80 body weight for 3 days, and that in group I (control group) were injected with the same amount of sterile saline. 【Result】Supplemental vitamin E significantly increased egg production, feed efficiency and nutrient digestibility ( $P<0.05$ ). The relative weights of the spleen and thymus to the body weight, serum HI antibody titers to H5-AI, H9-AI and ND, plasma GSH-Px and SOD activities were greater in immunosuppressed birds fed supplemented vitamin E ( $P<0.05$ ), and the MDA concentration was least at 50 mg·kg<sup>-1</sup> supplemental vitamin E, and further additions had negative effect ( $P<0.05$ ). Birds treated with CTX fed diets with supplemental 100 and 200 mg vitamin E/kg had greater plasma PGE<sub>2</sub>, IL-1, IL-6, and TNF- $\alpha$  levels ( $P<0.05$ ). 【Conclusion】The results showed that dietary vitamin E supplementation significantly attenuated immunosuppressive effect of CTX challenge in laying hens.

**Key words:** vitamin E; laying hens; immunosuppression; mechanism

收稿日期: 2011-04-02; 接受日期: 2011-11-02

基金项目: 国家蛋鸡产业技术体系项目资助 (CARS-41-S23)

联系方式: 彭炳勇, E-mail: pengbingyong@126.com. 通信作者高玉鹏, E-mail: gaoyupeng112@sina.com

## 0 引言

【研究意义】近年来, 由应激、疾病以及饲养管理方法不当等因素导致的家禽免疫抑制已成为影响中国蛋鸡生产水平提高的普遍而较为严重的问题。亚临床症状的免疫抑制往往导致鸡群疫苗接种失败, 鸡群的生产性能降低, 并发感染或继发感染发生率的增加, 给家禽业造成了重大经济损失<sup>[1-5]</sup>。生产实践证明, 由于家禽免疫抑制产生的特殊机制, 仅依赖防治, 效果不尽显著, 并且常常导致禽产品质量下降及药物的二次污染<sup>[6]</sup>。如何通过营养途径调控或降低动物机体免疫抑制负效应, 已成为业界关注的热点问题之一<sup>[2,7-11]</sup>。

【前人研究进展】自作为鼠繁殖必需的日粮因子发现以来, 大量的研究证明, 维生素E具有清除动物体内自由基、防止机体氧化损伤、以抗氧化或非抗氧化的方式调节信号传递和相关基因表达, 调节机体免疫等功能<sup>[12-14]</sup>。日粮中添加维生素E, 能提高热应激条件下肉鸡的饲料转化率和免疫机能<sup>[13]</sup>, 蛋鸡的生产性能和蛋品质<sup>[15]</sup>; 能减轻地塞米松诱导的肉仔鸡氧化应激从而改善肉品质<sup>[16]</sup>。母源性高水平维生素E日粮(120—160 mg·kg<sup>-1</sup>)能提高孵化幼雏肝组织CAT和脑组织SOD活性, 降低血浆中MDA浓度和肝、脑组织中ROS水平, 增强幼雏的抗氧化能力, 减轻氧化应激<sup>[17]</sup>; 并且日粮维生素E对家禽的生长和体液免疫的影响具有自身依赖性<sup>[18]</sup>。因此, 维生素E已成为家禽日粮的必须营养素。【本研究切入点】目前, 对蛋鸡, 特别是中国蛋鸡生产中普遍存在的免疫抑制问题, 通过日粮途径添加较高水平的维生素E是否具有降低其负效应的危害未见报道。【拟解决的关键问题】探讨维生素E对免疫抑制蛋鸡的调控效应, 寻求营养途径以降低免疫抑制负效应的有效方法, 对筛选和开发效果好、毒副作用小、无残留、经济实用的并能改善和防止免疫抑制发生的常规营养性免疫抑制调控剂提供借鉴。

## 1 材料与方 法

本试验于2010年3—4月在西北农林科技大学畜禽养殖场进行。

### 1.1 实验动物与日粮

选产蛋率为(91.8±1.05)%、体重为(2 096±19)g的393日龄的健康尼克褐产蛋鸡270只, 随机等分为5组, 每组3个重复, 每个重复18只。经方差分析, 组间和重复间蛋鸡体重、产蛋量差异不显著( $P>$

0.05)。试验期42 d, 其中预试期7 d, 正试期35 d。

试验基础日粮为玉米-豆粕型, 按照中国《蛋鸡饲养标准(NY/T 33—2004)》<sup>[19]</sup>产蛋鸡营养需要配制(表1), 每次配制4 d的喂料量。试验鸡只采用3阶梯式舍内笼养, 3只/笼, 粉料饲喂, 1日3次(7:30、11:30、17:30), 自由采食和饮水, 每天光照16 h, 每日分别在7:30和14:30记录鸡舍温度分别为(16.8±0.5)和(18.3±0.7)℃及气候变化。其它按常规饲养管理进行。

### 1.2 试验设计

在I—V组试验鸡只中, 第I组为对照组; 第II—V组为免疫抑制组, 分别在正试期第5、6、7天连续腿肌注射环磷酰胺(cyclophosphamide, CTX), 每只鸡80 mg·kg<sup>-1</sup> BW, 0.5 mL生理盐水稀释; 同时, 对照组(第I组)注射等量生理盐水; I、II组饲喂基础日粮(含维生素E 44.59 mg·kg<sup>-1</sup>, 实测值), III—V组在基础日粮中分别添加维生素E(dl- $\alpha$ -生育酚醋酸酯)50、100和200 mg·kg<sup>-1</sup>。

在试验第1天分别对I—V组供试蛋鸡腿肌注射禽流感H5—H9二价灭活疫苗进行免疫, 第3天早晨断水2 h后进行新城疫疫苗(Lasota系)饮水免疫。

### 1.3 测定指标与分析方法

基础日粮中维生素E含量的测定, 采用高效液相色谱法<sup>[20]</sup>。

准确记录每日每重复的产蛋数、破蛋数、蛋重、死亡鸡只, 每周耗料量, 计算产蛋率、破蛋率、平均蛋重、平均日采食量和料蛋比。

试验第11—14天采用全收粪法进行代谢试验, 常规方法测定基础日粮和粪样中干物质、粗蛋白、粗脂肪、粗灰分、钙和磷, 计算营养物质表观代谢率。

试验第8、15、29天自鸡翅静脉采血, 每个重复3只鸡, 每只5 mL, 室温静置至析出血清, 吸取上清液于离心管中, 3 000 r/min离心15 min; 将吸取的上清液分装于2.5 mL离心管中, 置于4℃保存待测HI(hemagglutination inhibition)抗体滴度。

试验第15天每个重复取1只鸡屠宰, 取脾脏和胸腺, 称鲜重, 并计算相对重量。

血清新城疫(ND)、H5和H9亚型禽流感(AI)HI抗体滴度参照郑明珠<sup>[21]</sup>的方法进行, 结果以log<sub>2</sub>表示。

取第8天血样, 肝素钠抗凝, 3 000 r/min离心15 min; 将吸取的上清液分装于2.5 mL离心管中, 置于-20℃保存待测: ①GSH-Px、SOD活性和MDA含

表 1 基础日粮组成和营养水平（风干基础，%）

Table 1 Composition and nutrient levels of basal diets (air dry basis, %)

原料 Ingredient	含量 Content	营养水平 Nutrients levels	含量 Content
玉米 Corn	65.15	代谢能 ME (MJ·kg <sup>-1</sup> )	11.51
小麦麸 Wheat bran	3.72	粗蛋白 Crude protein	15.22
豆粕 Soybean meal	10.29	粗脂肪 Ether extract	3.33
棉籽粕 Cottonseed meal	6.00	钙 Calcium	3.64
菜籽粕 Rapeseed meal	4.04	总磷 Total phosphorus	0.53
石粉 Limestone	8.43	可利用磷 Available phosphorus	0.39
磷酸氢钙 CaHPO <sub>4</sub>	1.48	赖氨酸 Lysine	0.70
盐 Salt	0.31	蛋氨酸 Methionine	0.30
0.1% 蛋鸡多矿 Multi minerals	0.10	维生素E Vitamin E (mg·kg <sup>-1</sup> )	44.59
氯化胆碱 Chloride choline	0.09		
小苏打 Soda	0.10		
蛋氨酸 Methionine	0.10		
赖氨酸 Lysine	0.06		
蛋鸡专用复合维生素 Layer vitamin	0.04		
微生物制剂 Probiotics	0.09		
合计 Total	100.00		

每千克日粮中微量元素及维生素含量为：Mn 100 mg, Zn 60 mg, Fe 25 mg, Cu 5 mg, I 0.5 mg, VA 10800 IU, VD 2000 IU, VK<sub>1</sub> 1 mg, VB<sub>1</sub> 0.4 mg, VB<sub>2</sub> 3 mg, VB<sub>12</sub> 6 mg, D-泛酸钙 5 mg, 烟酸 6 mg, 叶酸 0.1 mg, 氯化胆碱 20 mg。每克微生物制剂提供活菌数 4.0×10<sup>10</sup>个；其中，嗜酸乳杆菌 1.0×10<sup>10</sup>个、酵母菌 1.5×10<sup>10</sup>个、纳豆芽孢杆菌 1.5×10<sup>10</sup>个。基础日粮中粗蛋白质、粗脂肪、钙、总磷和维生素E含量为实测值，其余为计算值

Provided per kilogram of diet: Mn 100 mg, Zn 60 mg, Fe 25 mg, Cu 5 mg, I 0.5 mg, VA 10800 IU, VD 2000 IU, VK<sub>1</sub> 1 mg, VB<sub>1</sub> 0.4 mg, VB<sub>2</sub> 3 mg, VB<sub>12</sub> 6 mg, D-calcium pantothenate 5 mg, niacin 6 mg, folic acid 0.1 mg, choline chloride 20 mg. The number provided per gram of probiotics: 4.0×10<sup>10</sup>, and Lactobacillus acidophilus 1.0×10<sup>10</sup>, yeast 1.5×10<sup>10</sup>, bacillus natto 1.5×10<sup>10</sup>. The contents of crude protein, ether extract, calcium, total phosphorus and vitamin E in the basal diet were analyzed values, and others were calculated values

量；②前列腺素E<sub>2</sub>（prostaglandin E<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub>）、白介素-1（interleukin-1, IL-1）、白介素-6（interleukin-1, IL-6）和肿瘤坏死因子-α（tumor necrosis factor-α, TNF-α）含量。

血浆中 GSH-Px和SOD活性、MDA、PGE<sub>2</sub>、IL-1、IL-6 和TNF-α含量均按说明书进行测定。

#### 1.4 主要试剂

主要试剂：环磷酰胺（山西普德药业有限公司）；H5-H9 二价灭活疫苗（乾元浩生物股份有限公司），鸡新城疫疫苗（Lasota株）（哈药集团生物疫苗有限公司），维生素E粉剂（dl-α-生育酚醋酸酯）（浙江新维普添加剂有限公司），GSH-Px、SOD、MDA试剂盒（南京建成生物工程研究所），PGE<sub>2</sub>、IL-1、IL-6 和TNF-α试剂盒（R&D公司）。

#### 1.5 统计分析

试验数据以重复为单位，采用 SPSS17.0 进行处理，采用 One-Way ANOVA 分析，多重比较采用 LSD 法，以  $P < 0.05$  为显著水平。

## 2 结果

### 2.1 维生素 E 对免疫抑制蛋鸡生产性能和养分表观代谢率的影响

由表 2 可知，与对照 I 组相比，免疫抑制 II 组产蛋鸡的产蛋率、平均蛋重和平均日采食量显著降低（ $P < 0.05$ ），破蛋率显著升高（ $P < 0.05$ ）；日粮添加维生素 E 显著提高免疫抑制蛋鸡的产蛋率、平均蛋重和平均日采食量（ $P < 0.05$ ），降低料蛋比和破蛋率（ $P < 0.05$ ）。但是，整个试验期间各组蛋鸡体重差异不显著（ $P > 0.05$ ）（数据未列出）。

由表 3 可知，免疫抑制产蛋鸡显著降低对日粮粗蛋白、粗脂肪、钙和磷的表观代谢率（ $P < 0.05$ ），干物质的表观代谢率有降低趋势（ $P > 0.05$ ）；日粮添加维生素 E 显著提高免疫抑制蛋鸡对日粮粗脂肪和磷的表观代谢率（ $P < 0.05$ ）。

### 2.2 维生素 E 对免疫抑制蛋鸡免疫功能的影响

由表 4 可知，免疫抑制显著降低脾脏和胸腺的相

表 2 不同处理产蛋鸡生产性能的变化

Table 2 Performance of laying hens

项目 Items	产蛋率 Laying rate (%)	蛋重 Egg weight (g)	采食量 Feed intake (g·d <sup>-1</sup> )	料蛋比 Feed-egg ratio	破蛋率 Break egg rate (%)
I	91.51±0.19a	62.77±0.07a	124.12±0.44a	2.16±0.01a	1.24±0.09b
II	81.49±0.16d	60.64±0.06c	106.46±0.31d	2.16±0.00a	1.89±0.25a
III	87.29±0.17b	61.56±0.07b	113.83±0.17c	2.12±0.00b	1.13±0.11b
IV	87.69±0.28b	61.77±0.11b	115.44±0.36b	2.13±0.01b	1.08±0.09b
V	85.54±0.20c	61.51±0.13b	113.76±0.48c	2.17±0.01a	1.30±0.09b

同列不同字母表示差异显著 ( $P<0.05$ ), 相同字母表示差异不显著 ( $P>0.05$ )。下同

Values within a column with the different letters were significantly different ( $P<0.05$ ), with the same letters were no significantly different ( $P>0.05$ ). The same as below

表 3 不同处理产蛋鸡日粮养分表观代谢率

Table 3 Apparent digestibility coefficient of feedstuff for laying hens

处理 Treatments	干物质 DM	粗蛋白 CP	粗脂肪 EE	钙 Ca	磷 P
I	75.14±2.35a	54.00±0.71a	70.85±2.03a	63.34±1.26a	37.55±0.57a
II	72.88±1.14a	49.49±0.96b	65.47±0.68b	56.89±3.04b	32.39±0.86b
III	75.75±1.17a	51.85±1.10ab	70.23±1.42a	62.07±2.80ab	36.29±1.47a
IV	75.63±0.82a	51.82±0.79ab	70.87±1.58a	62.17±1.54ab	36.94±0.38a
V	76.25±1.29a	52.24±1.78ab	71.66±1.16a	62.97±1.34ab	36.83±1.48a

表 4 脾脏和胸腺相对重量 (mg/100 g BW)

Table 4 The relative weights of the spleen and thymus to the body weight

项目 Items	I	II	III	IV	V
脾脏 Spleen	176±8a	132±3b	155±6a	169±9a	173±4a
胸腺 Thymus	268±9a	178±13b	250±11a	274±11a	266±15a

同行不同字母表示差异显著 ( $P<0.05$ ), 相同字母差异不显著 ( $P>0.05$ )

Values within a row with the different letters were significantly different ( $P<0.05$ ), with the same letters were no significantly different ( $P>0.05$ ). The same as below

对重量 ( $P<0.05$ ); 日粮添加维生素 E 显著提高脾脏和胸腺的相对重量 ( $P<0.05$ ), 但是各种维生素 E 添加水平间差异不显著。

由表 5 可知, 与对照 I 组比较, 免疫抑制 II 组蛋鸡血清 H5、H9 和 ND 抗体滴度显著降低 ( $P<0.05$ ); 日粮添加维生素 E 显著提高蛋鸡血清 H5、H9 和 ND 抗体滴度 ( $P<0.05$ ), 并表现出一定的剂量效应, 其中免疫抑制产蛋鸡血清 H5 和 ND 的抗体滴度随着日粮维生素 E 添加量的增加而有所降低, 添加 50 mg·kg<sup>-1</sup> 剂量效果相对较好。

### 2.3 维生素 E 对免疫抑制蛋鸡抗氧化功能的影响

由表 6 可知, 与对照 I 组比较, 免疫抑制 II 组显著降低了蛋鸡血浆 GSH-Px、SOD 水平, 提高了 MDA

的水平; 日粮添加维生素 E 显著提高免疫抑制蛋鸡 GSH-Px、SOD 的活性 ( $P<0.05$ ), 降低 MDA 含量 ( $P<0.05$ ) 并且表现出一定的日粮维生素 E 剂量效应, 添加 50 mg·kg<sup>-1</sup> 剂量效果相对较好。

### 2.4 维生素 E 对免疫抑制蛋鸡血浆 PGE<sub>2</sub> 和炎性细胞因子含量的影响

由表 7 可知, 与对照组 I 相比, 免疫抑制组 II 显著降低产蛋鸡血浆 PGE<sub>2</sub>、IL-1、IL-6 和 TNF- $\alpha$  含量 ( $P<0.05$ ); 日粮添加维生素 E 显著提高免疫抑制产蛋鸡血浆 PGE<sub>2</sub>、IL-1、IL-6 和 TNF- $\alpha$  含量 ( $P<0.05$ ), 并表现出一定的剂量效应。其中, PGE<sub>2</sub> 和 TNF- $\alpha$  含量随着维生素 E 添加量的增加而增大, 维生素 E 添加量为 100 mg·kg<sup>-1</sup> 时产蛋鸡血浆 IL-1 和 IL-6 有最大值。

表 5 不同处理产蛋鸡血清免疫抗体变化

Table 5 HI antibody titers of H5, H9 and ND in the sera of laying hens (log<sub>2</sub>)

项目 Items	天 Days	I	II	III	IV	V
H5	8	8.00±0.19a	7.22±0.11b	7.89±0.11a	7.78±0.22a	7.61±0.20ab
	15	7.83±0.17ab	7.22±0.11c	8.17±0.17a	7.72±0.15ab	7.67±0.17bc
	29	8.33±0.19a	7.17±0.17b	8.22±0.11a	7.50±0.29b	7.17±0.17b
H9	8	6.94±0.24a	6.11±0.11b	6.78±0.11a	6.83±0.17a	6.00±0.00b
	15	7.83±0.17a	6.22±0.11c	6.72±0.15b	7.83±0.17a	6.61±0.06bc
	29	8.56±0.11a	6.78±0.11c	8.50±0.10ab	9.00±0.29a	8.11±0.11b
ND	8	9.56±0.29a	7.67±0.33b	9.06±0.24a	8.67±0.33a	7.50±0.29b
	15	9.67±0.17a	8.50±0.29c	9.17±0.17ab	8.83±0.17bc	8.56±0.06c
	29	9.50±0.10ab	9.22±0.11b	9.78±0.11a	9.44±0.06 b	9.39±0.06b

表 6 不同处理产蛋鸡的血浆抗氧化功能指标变化

Table 6 Plasma antioxidant function in laying hens

处理 Treatments	GSH-Px (U·mL <sup>-1</sup> )	SOD (U·mL <sup>-1</sup> )	MDA (nmol·mL <sup>-1</sup> )
I	4646.90±58.36a	164.52±0.56b	9.20±0.54c
II	449.45±0.56e	102.83±4.78d	11.87±0.36b
III	3146.05±8.76c	175.15±2.39a	7.55±0.06d
IV	3433.93±19.09b	162.12±2.94b	12.20±0.18b
V	2670.34±7.31d	134.44±0.93c	19.50±0.64a

表 7 不同处理产蛋鸡的血浆 PGE<sub>2</sub> 和炎性细胞因子含量Table 7 Plasma PGE<sub>2</sub> and cytokine levels in laying hens (ng·L<sup>-1</sup>)

处理 Treatments	PGE <sub>2</sub>	IL-1	IL-6	TNF-α
I	36.96±1.98a	25.86±0.54c	5.97±0.11a	28.55±0.17a
II	28.97±0.86c	18.53±0.89d	4.82±0.11d	11.71±0.76d
III	32.37±1.50bc	27.52±0.52c	4.99±0.16cd	12.89±0.52d
IV	33.47±0.85ab	39.98±0.04a	5.50±0.10b	18.21±0.78c
V	34.66±1.55ab	37.17±1.26b	5.33±0.15bc	24.53±0.85b

### 3 讨论

#### 3.1 日粮添加不同维生素 E 水平对免疫抑制产蛋鸡生产性能和养分利用率的影响

研究表明, 环磷酰胺既能直接影响动物细胞代谢和其它细胞生理活性, 也能使动物产生免疫抑制; 动物免疫抑制导致动物采食量、体增重、养分利用率、免疫功能和抗氧化功能显著降低<sup>[2-3,7,11-12]</sup>。本试验以环磷酰胺诱导剂构建蛋鸡免疫抑制模型<sup>[2,7,23]</sup>, 评估基础日粮中添加不同水平维生素 E 对免疫抑制蛋鸡的影响。结果表明, 免疫抑制产蛋鸡的产蛋率、平均蛋重和平均日采食量显著降低, 破蛋率显著升高, 这与 He

等<sup>[2,7]</sup>的报道一致; 免疫抑制产蛋鸡对日粮粗蛋白、粗脂肪、钙和磷的表观代谢率显著降低, 与汪士奎等<sup>[22,24]</sup>的研究结果相同。

作为动物必需的营养素, 维生素 E 可增强畜禽的抗氧化功能, 改善机体免疫性能, 进而提高生产性能、肉品质量和繁殖性能<sup>[25-27]</sup>。在基础日粮中添加维生素 E 能提高热应激蛋鸡和肉鸡的生产性能<sup>[13,15]</sup>, 能改善地塞米松氧化应激对肉仔鸡生产性能和肉品质的负效应<sup>[16]</sup>。本研究中, 基础日粮添加维生素 E 后显著提高免疫抑制蛋鸡的产蛋性能, 显著降低料蛋比, 并表现出一定的日粮维生素 E 剂量效应; 日粮高剂量维生素 E (200 mg·kg<sup>-1</sup>) 对免疫抑制产蛋鸡生产性能的

恢复没有表现出优势,反而不及低剂量维生素E ( $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )对免疫抑制产蛋鸡产蛋率和料蛋比效应的恢复效果。维生素E的这种剂量效应与Lin等<sup>[28]</sup>的研究结果一致。Lin等<sup>[28]</sup>在台湾土鸡产蛋期基础日粮中添加  $80 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 维生素E时台湾土鸡获得最佳的产蛋和孵化性能,而当日粮维生素E添加量为  $120$ 、 $160 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,则台湾土鸡的产蛋和孵化性能均降低。Leshchinsky等<sup>[29]</sup>在肉仔鸡基础日粮(维生素E含量  $10.2 \text{ IU}\cdot\text{kg}^{-1}$ )中添加中等量的维生素E ( $25$ — $50 \text{ IU}\cdot\text{kg}^{-1}$ )时,肉仔鸡可具有最大的免疫调控功能,并且优于高水平添加量( $100$ 和 $200 \text{ IU}\cdot\text{kg}^{-1}$ )。维生素E改善免疫抑制产蛋鸡产蛋性能和饲料效益,并表现出日粮剂量效应的机制有待于探讨。

### 3.2 维生素 E 改善免疫抑制产蛋鸡经济性状的机制探讨

一是日粮维生素E与免疫抑制产蛋鸡免疫功能的关系。环磷酰胺属于烷化剂类药物,高剂量应用于动物可烷化动物细胞DNA,破坏免疫细胞,引起造血系统和免疫系统细胞的广泛损伤,导致其造血功能和免疫机能缺陷<sup>[8,23,30]</sup>。本试验采用环磷酰胺诱导产蛋鸡产生免疫抑制,致使产蛋鸡脾脏和胸腺相对重量及血清H5、H9和ND抗体滴度显著降低( $P<0.05$ ),与相关试验结果一致<sup>[2,7-10]</sup>。但在免疫后29d,ND抗体滴度与对照组无显著差异,与He等<sup>[2]</sup>的研究一致。说明,环磷酰胺诱导动物免疫抑制具有时效性,且不同免疫指标反映的程度或指标变化并不一致,尤其以ND抗体滴度变化较为敏感。在基础日粮中适量添加维生素E亦能显著提高蛋鸡脾脏和胸腺的相对重量,但在本试验中并不随添加剂量的变化而显著改变。在试验的8、15和29d,基础日粮中添加 $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 维生素E均显著提高了免疫抑制产蛋鸡血清H5-AI、H9-AI和ND HI抗体滴度,且表现出日粮维生素E水平对免疫抑制产蛋鸡免疫功能恢复的剂量效应;其中,H5和ND抗体滴度随着日粮维生素E添加量的增加而显著降低。Leshchinsky等<sup>[29]</sup>报道,给肉仔鸡饲喂添加 $0$ — $25 \text{ IU}\cdot\text{kg}^{-1}$ 维生素E的多梯度范围日粮时,其IBV抗体滴度与日粮浓度维生素E存在剂量关系,而日粮高水平维生素E( $100$ 和 $200 \text{ IU}\cdot\text{kg}^{-1}$ )则不及低水平的IBV抗体滴度。热应激条件下,在基础日粮中添加维生素E能提高肉鸡和蛋鸡的免疫机能<sup>[13,31]</sup>。许多研究证实,维生素E能调节免疫因子的分泌和 $\text{CD4}^+/\text{CD8}^+$ T细胞的比率<sup>[12,14,32]</sup>;日粮高水平维生素E能抑制Th细胞的功能和数量,进而抑制免疫因子的产生和B细

胞的活化,最终改变动物特异性抗体水平<sup>[29]</sup>。

二是日粮维生素E与免疫抑制产蛋鸡抗氧化功能的关系。免疫抑制可导致家禽机体抗氧化功能的降低<sup>[11,16,33-34]</sup>。本研究中环磷酰胺诱导的产蛋鸡免疫抑制可显著降低产蛋鸡血浆GSH-Px、SOD活性,增加MDA含量,降低机体抗氧化功能。维生素E能有效提高畜禽机体体内抗氧化酶的酶活,降低脂质过氧化反应,改善抗氧化性能<sup>[16-17,35-36]</sup>,但仍存在争议<sup>[37-39]</sup>。本研究中,日粮添加维生素E显著提高免疫抑制产蛋鸡GSH-Px、SOD的活性,降低MDA含量并且表现出一定的日粮维生素E剂量效应,即低剂量维生素E( $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )的效果相对优于中、高剂量( $100$ 、 $200 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ );其中,SOD活性随着日粮维生素E添加量的增加而线性下降( $y=-0.2722x+188.99$ ,  $R^2=0.9998$ ,  $P=0.009$ ),MDA含量随着维生素E添加量的增加而呈线性升高( $y=0.0787x+3.9$ ,  $R^2=0.9961$ ,  $P=0.04$ )。高剂量维生素E这一并不使机体具有最佳抗氧化功能的现象与Lin等<sup>[17,36,40]</sup>的研究一致,但与Meydani等<sup>[41-42]</sup>的研究有异。其机制可能是:①高浓度的维生素E具有氧化强化剂作用<sup>[43]</sup>,可以干扰正常的细胞反应<sup>[44]</sup>,降低血浆和肝组织中GSH-Px的活性<sup>[17,44]</sup>,提高血浆ROS水平<sup>[17]</sup>;②机体内抗氧化系统包括酶系统(如GSH-Px,SOD和CAT)和非酶系统(如维生素C、维生素E和谷胱甘肽),以多种浓度和活性存在不同组织中,而且具有互补性。当高浓度维生素E存在时,降低了组织过氧化的易感性;因此,降低了抗氧化酶的活性<sup>[17]</sup>。诚然,日粮不同维生素E水平对家禽抗氧化功能的影响机制还有待进一步深入研究。

三是日粮维生素E与免疫抑制产蛋鸡血浆 $\text{PGE}_2$ 和炎性细胞因子的关系。本研究中,免疫抑制产蛋鸡血浆 $\text{PGE}_2$ 、IL-1、IL-6和TNF- $\alpha$ 含量显著降低,与刘倚帆等<sup>[45-46]</sup>在小鼠上的研究及汪士奎等<sup>[22,24]</sup>在肉鸡上的研究结果一致,亦与CAV引起的免疫抑制相符合<sup>[4,47-48]</sup>。 $\text{PGE}_2$ 是一种很强的免疫调节介质,能保护SOD的活性,提高清除氧自由基能力。高浓度 $\text{PGE}_2$ ( $10^6$ — $10^7 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )能提高动物机体细胞内的cAMP水平,不仅能抑制动物免疫抗体的产生,而且能抑制巨噬细胞、T杀伤细胞、自然杀伤细胞及TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-1、IL-2等淋巴因子的产生;而低浓度 $\text{PGE}_2$ ( $10^8$ — $10^9 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )则能提高动物机体细胞内cGMP水平,促进机体的免疫反应<sup>[49]</sup>。本研究中所有组的 $\text{PGE}_2$ 水平均为低浓度范围,对机体的免疫起增强作用。研究表明,IL-1可作用于多种免疫活性细胞并扩大其功能,在排

除外来微生物感染(抗感染免疫)及维持机体内环境的平衡(免疫自稳)中均起着重要作用<sup>[49]</sup>。IL-6 对体液免疫和细胞免疫都有促进作用,能诱导B细胞增殖、分化并产生抗体<sup>[49]</sup>。TNF- $\alpha$ 具有广泛的生物学活性,有参与抗感染、免疫调节与直接调节单核细胞的成熟及增强其活性<sup>[49]</sup>。维生素E可以通过清除ROS和RNS,或者通过调节炎性脂质介质的合成,或者影响特定细胞因子、趋化因子和其它炎性分子的信号传导和表达而促进免疫细胞的产生,干扰炎症反应<sup>[12,14,17,32]</sup>。本研究中,日粮添加维生素E能显著提高免疫抑制产蛋鸡血浆PGE<sub>2</sub>、IL-1、IL-6 和TNF- $\alpha$ 的含量,从而显著提高了免疫抑制蛋鸡的免疫和抗氧化功能。以上结果表明,维生素E可以调节环磷酸胺氧化应激引起的机体抗氧化体系紊乱及免疫功能的降低,可能与维生素E缓冲自由基生成、提高抗体应答水平和增强炎性细胞因子的表达水平有关。

## 4 结论

(1) 环磷酸胺诱导建立了产蛋鸡免疫抑制模型。

免疫抑制蛋鸡的生产性能、日粮养分利用率、免疫抗体水平、抗氧化性能均显著降低;

(2) 基础日粮添加维生素E能显著改善免疫抑制产蛋鸡的生产性能和饲料利用效率,并表现出日粮维生素E水平与其改良效应的剂量关系,基础日粮中添加 50 mg·kg<sup>-1</sup>剂量时效果较好;

(3) 维生素E改善免疫抑制蛋鸡生产性能的机制,与其调节免疫抑制蛋鸡体内PGE<sub>2</sub>、IL-1、IL-6 和TNF- $\alpha$ 的分泌,提高机体抗氧化和免疫功能有关。

## References

- [1] Shini S, Huff G R, Shini A, Kaiser P. Understanding stress-induced immunosuppression: exploration of cytokine and chemokine gene profiles in chicken peripheral leukocytes. *Poultry Science*, 2010, 89: 841-851.
- [2] He X, Yang X J, Guo Y M. Effects of different dietary oil sources on immune function in cyclophosphamide immunosuppressed chickens. *Animal Feed Science and Technology*, 2007, 139: 186-200.
- [3] Sharma J M, Kim I J, Rautenschlein S, Yeh H Y. Infectious bursa disease virus of chickens: pathogenesis and immunosuppression. *Developmental and Comparative Immunology*, 2000, 24: 223-235.
- [4] McConnell C D, Adair B M, McNulty M S. Effects of chicken anemia virus on macrophage function in chickens. *Avian Diseases*, 1993, 37: 358-365.
- [5] 高玉鹏. 透析我国蛋鸡产业面临的几个重大问题之五——免疫抑制已成为目前影响蛋鸡生产水平的重要障碍. *中国畜牧杂志*, 2010, 46(4): 26-29.  
Gao Y P. Overview problem for laying hens industry in China, 5. Immunospression is the major inhibition of laying hens product. *Animal Journal in China*, 2010, 46(4): 26-29. (in Chinese)
- [6] 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. *Journal of Animal and Veterinary*, 2003, 34(5): 417-421. (in Chinese)
- [7] Ei-Abasy M, Motobu M, Nakamura K, Koge K, Onodera T, Vainio O, Toivanen P, Hirota Y. Preventive and therapeutic effects of sugar cane extract on cyclophosphamide induced immunosuppression in chickens. *International Immunopharmacology*, 2004, 4: 983-990.
- [8] Bafna A R, Mishra S H. Protective effect of bioactive fraction of *Sphaeranthus indicus* Linn. against cyclophosphamide induced suppression of humoral immunity in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 2006, 104: 426-429.
- [9] 李淑芳, 杨汉春, 张继东, 李英, 刘会娟, 张晶晶. 米糠多糖对环磷酸胺诱导免疫抑制鸡外周血 T 淋巴细胞增殖活性及疫苗免疫效果的影响. *中国兽医科学*, 2007, 37(7): 588-592.  
Li S F, Yang H C, Zhang J D, Li Y, Liu H J, Zhang J J. Effects of rice bran polysaccharide on peripheral T lymphocyte proliferation activation and serum ND antibody titer after vaccination in immunosuppression chickens induced by cyclophosphamide. *Veterinary Science in China*, 2007, 37(7): 588-592. (in Chinese)
- [10] 柳风祥, 崔治中, 郭慧君. 复方中药提取物对 REV 诱发的免疫抑制鸡的免疫增强作用. *中国农业科学*, 2009, 42(6): 2164-2171.  
Liu F X, Cui Z Z, Guo H J. Immune enhancement effect of mixed herbal extracts in chicks immunosuppressed by reticuloendotheliosis virus infection. *Chinese Agricultural Science*, 2009, 42(6): 2164-2171. (in Chinese)
- [11] 代卉, 乐国伟, 孙进, 韩芳, 施用晖. 小麦肽对受环磷酸胺免疫抑制小鼠的免疫调节及抗氧化功能. *生物工程学报*, 2009, 25(4): 549-553.  
Dai H, Le G W, Sun J, Han F, Shi Y H. Immune modulation and antioxidant effects of wheat peptides on immunosuppressed mice. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2009, 25(4): 549-553. (in Chinese)
- [12] Zhang X, Zhong X, Zhou Y, Wang G, Du H, Wang T. Dietary RRR- $\alpha$ -tocopherol succinate attenuates lipopolysaccharide-induced inflammatory cytokines secretion in broiler chicks. *British Journal of Nutrition*, 2010, 104: 1796-1805.

- [13] Niu Z Y, Liu F Z, Yan Q L, Li W C. Effects of different levels of vitamin E on growth performance and immune responses of broilers under heat stress. *Poultry Science*, 2009, 88: 2101-2107.
- [14] Zingg J M. Vitamin E: an overview of major research directions. *Molecular Aspects of Medicine*, 2007, 28: 400-422.
- [15] Kirunda D F K, Scheideler S E, McKee S R. The efficacy of vitamin E (DL- $\alpha$ -tocopheryl acetate) supplementation in hen diets to alleviate egg quality deterioration associated with high temperature exposure. *Poultry Science*, 2001, 80: 1378-1383.
- [16] Gao J, Lin H, Wang X J, Song Z G, Jiao H C. Vitamin E supplementation alleviates the oxidative stress induced by dexamethasone treatment and improves meat quality in broiler chickens. *Poultry Science*, 2010, 89: 318-327.
- [17] Lin Y F, Tsai H L, Lee Y C, Chang S J. Maternal vitamin E supplementation affects the antioxidant capability and oxidative status of hatching chicks. *The Journal of Nutrition*, 2005, 135: 2457-2461.
- [18] Boa-Amponsem K, Picard M, Blair M E, Meldrum B, Siegel P B. Memory antibody responses of broiler and leghorn chickens as influenced by dietary vitamin E and route of sheep red blood cell administration. *Poultry Science*, 2006, 85: 173-177.
- [19] 中华人民共和国农业部. 鸡饲养标准(NY/T 33-2004). 北京: 中国农业出版社, 2004.  
Ministry of Agriculture of the People's Republic of China. Chicken Feed Standard(NY/T 33-2004). Beijing: China Agriculture Press, 2004. (in Chinese)
- [20] 陈桂银. 饲料分析与检测. 北京: 中国农业大学出版社, 2008.  
Chen G Y. *Feed Analysis and Detection*. Beijing: China Agriculture University Press, 2008. (in Chinese)
- [21] 郑明珠. 家畜传染病学实验指导(兽医专业用). 第 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2006.  
Zheng M Q. *Animal Infective Diseases Experiment Method(Used in Veterinary Major)*. 3rd ed. Beijing: China Agriculture Press, 2006. (in Chinese)
- [22] 汪士奎. 免疫抑制对肉仔鸡营养代谢影响的研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2003.  
Wang S K. The effect of immunosuppression on nutrition metabolism in broilers[D]. Beijing: Chinese Academy of Agriculture Sciences, 2003. (in Chinese)
- [23] Hou F X, Yang H F, Yu T, Chen W. The immunosuppressive effects of 10 mg/kg cyclophosphamide in Wistar rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2007, 24: 30-36.
- [24] 董晓芳, 汪仕奎, 萨仁娜, 张 琪, 佟建明. 免疫抑制剂环磷酰胺对肉仔鸡生产性能及其内分泌的影响. 畜牧兽医学报, 2007, 38(9): 993-998.  
Dong X F, Wang S K, Sa R N, Zhang Q, Tong J M. Effect of immunosuppressant cyclophosphamide on performance and Incretion in broiler. *Journal of Animal and Veterinary*, 2007, 38(9): 993-998. (in Chinese)
- [25] Lo Fiego D P, Santoro P, Macchioni P, Mazzoni D, Piattoni F, Tassone F, De Leonibus E. The effect of dietary supplementation of vitamins C and E on the  $\alpha$ -tocopherol content of muscles, liver and kidney, on the stability of lipids, and on certain meat quality parameters of the longissimus dorsi of rabbit. *Meat Science*, 2004, 67: 319-327.
- [26] Hatfield P G, Robinson B L, Minikhiem D L, Kott R W, Roth N I, Daniels J T, Swenson C K. Serum  $\alpha$ -tocopherol and immune function in yearling ewes supplemented with zinc and vitamin E. *Journal of Animal Science*, 2002, 80: 1329-1334.
- [27] Gore A B, Qureshi M A. Enhancement of humoral and cellular immunity by vitamin E after embryonic exposure. *Poultry Science*, 1997, 76: 984-991.
- [28] Lin Y F, Chang S J, Hsu A L. Effects of supplemental vitamin E during the laying period on the reproductive performance of Taiwan native chickens. *British Poultry Science*, 2004, 45: 807-814.
- [29] Leshchinsky T V, Klasing K C. Relationship between the level of dietary vitamin E and the immune response of broiler chickens. *Poultry Science*, 2001, 80: 1590-1599.
- [30] Matar P, Rozados V R, Gervasoni S I, Scharovsky O G. Down regulation of T-cell-derived IL-10 production by low-dose cyclophosphamide treatment in tumor-bearing rats restores in vitro normal lymphoproliferative response. *International Immunopharmacology*, 2001, 1: 307-319.
- [31] Puthpongiriporn U, Scheideler S E, Sell J L, Beck M M. Effects of vitamin E and C supplementation on performance, *in vitro* lymphocyte proliferation, and antioxidant status of laying hens during heat stress. *Poultry Science*, 2001, 80: 1190-1200.
- [32] Abdukalykova S T, Zhao X, Ruiz-Feria C A. Arginine and vitamin E modulate the subpopulations of T lymphocytes in broiler chickens. *Poultry Science*, 2008, 87: 50-55.
- [33] Senthilkumar S, Yogeeta S K, Subashini R, Devaki T. Attenuation of cyclophosphamide induced toxicity by squalene in experimental rats. *Chemico-Biological Interactions*, 2006, 160: 252-260.
- [34] 曹志玲. 环磷酰胺对雏鸡血液超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响. 广东畜牧兽医科技, 2007, 32(5): 36-37, 47.  
Cao Z L. The effect of cyclophosphamide on plasma SOD activity in chicks. *Guangdong Animal and Veterinary Science and Technology*, 2007, 32(5): 36-37, 47. (in Chinese)



- [35] Narciso-Gaytán C, Shin D, Sams A R, Bailey C A, Miller R K, Smith S B, Leyva-Ovalle O R, Sánchez-Plata M X. Soybean, palm kernel, and animal-vegetable oils and vitamin E supplementation effect on lipid oxidation stability of sous vide chicken meat. *Poultry Science*, 2010, 89: 721-728.
- [36] Franchini A, Sirri F, Tallarico N, Minelli G, Iaffaldano N, Meluzzi A. Oxidative stability and sensory and functional properties of eggs from laying hens fed supranutritional doses of vitamins E and C. *Poultry Science*, 2002, 81: 1744-1750.
- [37] MacDonald-Wicks L K, Garg M L. Vitamin E supplementation in the mitigation of carbon tetrachloride induced oxidative stress in rats. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 2003, 14: 211-218.
- [38] Beytut E, Aksakal M. Effects of dietary vitamin E and selenium on antioxidative defense mechanisms in the liver of rats treated with high doses of glucocorticoid. *Biological Trace Element Research*, 2003, 91: 231-241.
- [39] Musalmah M, Fairuz A H, Gapor M T, Ngah W Z. Effect of vitamin E on plasma malondialdehyde, antioxidant enzyme levels and the rates of wound closures during wound healing in normal and diabetic rats. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition* (Suppl. 7), 2002, 11: 448-451.
- [40] Eder K, Flader D, Hirche F, Brandsch C. Excess dietary vitamin E lowers the activities of antioxidative enzymes in erythrocytes of rats fed salmon oil. *The Journal of Nutrition*, 2002, 132: 3400-3404.
- [41] Meydani M, Macauley J B, Blumberg J B. Effect of dietary vitamin E and selenium on susceptibility of brain regions to lipid peroxidation. *Lipids*, 1988, 23: 405-409.
- [42] Chow C K, Reddy K, Tappel A L. Effect of dietary vitamin E on the activities of the glutathione peroxidase system in rat tissues. *The Journal of Nutrition*, 1973, 103: 618-624.
- [43] Chen J Y, Latshaw I D, Lee H O, Min D B.  $\alpha$ -Tocopherol content and oxidative stability of egg yolk as related to dietary  $\alpha$ -tocopherol. *Journal of Food Science*, 1998, 63: 919-922.
- [44] Yang N Y, Macdonald I B, Desai I D, Lee M. Vitamin E supplementation and glutathione peroxidase activity. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 1976, 151: 770-774.
- [45] 刘倚帆, 韩菲菲, 谢永刚, 汪以真. 重组猪乳铁蛋白 N 端多肽对环磷酰胺免疫抑制小鼠免疫功能的影响. *中国畜牧杂志*, 2009, 45(21): 26-29.
- Liu Y F, Han F F, Xie Y G, Wang Y Z. Effects of recombinated porcine lactofer r in-N on immunological function in immunosuppressive mice induced by cyclophosphamide. *Journal of Animal Science in China*, 2009, 45(21): 26-29. (in Chinese)
- [46] 高 芃, 钱嘉林, 刘长喜, 严卫星. 环磷酰胺对小鼠免疫抑制的动物模型建立. *环境与职业医学*, 2004, 21(4): 314-318.
- Gao P, Qian J L, Liu C X, Yan W X. Establishment of an immunosuppressive animal model induced by cyclophosphamide in mice. *Journal of Environment Occupation Medicine*, 2004, 21(4): 314-318. (in Chinese)
- [47] Markowski-Grimsrud C J, Schat K A. Infection with chicken anaemia virus impairs the generation of pathogen-specific cytotoxic T lymphocytes. *Immunology*, 2003, 109: 283-294.
- [48] Crowley T M, Haring V R, Moore R, Robert M. Chicken anemia virus: an understanding of the *in vitro* host response over time. *Viral Immunology*, 2011, 24(1): 3-9.
- [49] 李慧英. 壳聚糖对肉鸡免疫功能的影响及其分子机理研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2009.
- Li H Y. Effects of chitosan on immune functions in broiler chickens and the underlying molecular mechanisms[D]. Huhhot: Inner Mongolia Agriculture University, 2009. (in Chinese)

(责任编辑 周晓艳)