

禁食时间对雌性长爪沙鼠免疫功能的影响

徐德立^{1,2} 王德华^{2*}

(1 曲阜师范大学生命科学学院, 曲阜 273165)

(2 中国科学院动物研究所, 农业虫鼠害综合治理研究国家重点实验室, 北京 100101)

摘要: 动物的免疫系统是防御细菌、病毒等病原体侵害的重要途径, 对其生存至关重要, 而食物短缺是影响动物免疫的重要因素。前期研究发现, 禁食 3 d 可抑制雌性长爪沙鼠 T 细胞介导的免疫功能, 而禁食时长可能在影响动物免疫中起重要作用。为此, 本实验主要测定不同的禁食时间如何影响雌性长爪沙鼠的免疫功能, 该问题的解决有助于了解它们在野外面临食物短缺时的生存状况。将 55 只成年雌鼠随机分为 8 组, 分别禁食 1 d、2 d、3 d 和自由取食, 每种处理分别注射磷酸缓冲液和植物血凝素 (PHA)。结果发现, 随禁食时间的延长, PHA 反应 (指示 T 细胞介导的免疫功能) 逐渐受到抑制, 胸腺和脾脏逐渐萎缩, 表明禁食时间对长爪沙鼠的免疫功能影响显著。同样, 随饥饿时间增加, 长爪沙鼠的体脂、血糖和血清瘦素水平逐渐下降, 并且与 PHA 反应呈正相关, 但白细胞总数和皮质酮水平不受禁食时间的影响。结果表明, 禁食时间长短能显著影响雌性长爪沙鼠的免疫功能, 随禁食时间的延长, 长爪沙鼠 T 细胞介导的免疫功能逐渐受抑制, 这可能与体脂和葡萄糖含量下降有关, 血清瘦素逐渐降低也可能是其免疫受抑制的原因。

关键词: 长爪沙鼠; 禁食; 植物血凝素; 血糖; 瘦素

中图分类号: Q493

文献标识码: A

文章编号: 1000–1050 (2015) 04–0369–10

Effect of fasting duration on immune function in female Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*)

XU Deli^{1,2}, WANG Dehua^{2*}

(1 College of Life Sciences, Qufu Normal University, Qufu 273165, China)

(2 State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects and Rodents, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract: The immune system protects animals from the effects of pathogens including bacteria and viruses, hence it plays an important role in their survival. However, immune function is affected greatly by food shortage. Our previous research showed that 3 days of fasting suppressed phytohaemagglutinin (PHA) response in female Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). The duration of fasting might play a key role in influencing animals' immunity. In order to clarify this question, we investigated how different fasting durations would have effects on immunity in gerbils. Fifty-five adult female gerbils were randomly divided into 4 groups that, in turn, were subjected to 1 day, 2 days, and 3 days of fasting or fed *ad libitum*, respectively. Half of each treatment group received phosphate buffered saline or PHA injection. We found that PHA response indicative of T-cell-mediated immunity was suppressed gradually with duration of fasting. Similarly, fasting led to spleen and thymus atrophy in gerbils. These results indicate that the duration of fasting had an important effect on immunity. Moreover, body fat mass, blood glucose and leptin levels decreased gradually with duration of starvation, which were all positively correlated with PHA response. However, white blood cells and corticosterone concentrations were not affected by fasting. Taken together, the duration of fasting had an important effect on immunity in gerbils. Suppression of T-cell-mediated immunity might be due to the gradual decrease of body fat mass, blood glucose and leptin levels with the time of fasting.

Key words: Fasting; Glucose; Leptin; Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*); Phytohaemagglutinin response

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31070332, 31370427); 山东省自然科学基金项目 (ZR2013CM019)

作者简介: 徐德立 (1975–), 男, 博士, 教授, 主要从事动物生态免疫学研究.

收稿日期: 2014–12–02; 修回日期: 2015–04–27

* 通讯作者, Corresponding author, E-mail: wangdh@ioz.ac.cn

动物的免疫功能在防御病原体（如病毒、细菌和真菌等）侵害有机体中发挥重要作用（Sheldon and Verhulst 1996; Owens and Wilson 1999）。动物免疫功能的影响因素是生态免疫学领域的研究热点之一（Rolf and Siva-Jothy, 2003; 徐德立和王德华, 2012）。影响动物免疫功能的因素很多, 如光周期（Walton *et al.*, 2011）、温度（Marnila and Lilius, 2015）、季节性（Horrocks *et al.*, 2012）、繁殖状态（Xu *et al.*, 2012）、性别（Abdullah *et al.*, 2012）、年龄（Nussey *et al.*, 2012）、密度（Andrade *et al.*, 2015）、社群等级（Li *et al.*, 2007）等, 而食物可利用性及其成分是决定动物免疫功能的重要因素之一（Kaminogawa and Nanno, 2004; Schaible and Kaufmann, 2007; 徐德立和徐来祥, 2015）。

面临食物资源等的季节性波动, 温带地区动物的免疫功能同样发生着季节性变化（张志强和王德华, 2006; Martin *et al.*, 2007）。食物短缺时, 动物的免疫功能常受到抑制, 例如禁食 2 d 能抑制小鼠 T 细胞介导的免疫功能（Lord *et al.*, 1998），迟发型超敏反应（反映细胞免疫功能）在禁食小鼠或大鼠中也受到抑制（Nohr *et al.*, 1985; Nakamura *et al.*, 2001, 2004），禁食 60 h 可降低小鼠骨髓淋巴细胞数量（Fujita *et al.*, 2012）。面临能量缺乏, 动物体内的不同生理过程之间会发生权衡, 分配给免疫的能量减少可能是其受抑制的原因（Houston *et al.*, 2007; Higginson *et al.*, 2014）。但是, 也有学者发现不同的结果, 例如禁食 3 d 对人类免疫反应影响不大（Neuvonen and Salo, 1984），而间断禁食可提高人类和动物的免疫功能（Faris *et al.*, 2012; Longo and Mattson, 2014; Xu *et al.*, 2014）。可见, 禁食的模式、时间以及物种的差异均会影响动物的免疫功能。

植物血球凝集素（Phytohaemagglutinin, PHA）注射入动物皮下后, 可诱导 T 细胞活化和增殖而导致肿胀, 该反应可用来评价哺乳动物 T 细胞介导的免疫功能（Smits *et al.*, 1999; Bellocq *et al.*, 2006）。此外, 免疫器官如胸腺、脾脏和白细胞总数也能间接地反映动物的免疫功能（Savino and Dardenne, 2000; Calder and Kew, 2002; Smith and Hunt, 2004）。

动物的免疫受一些激素如瘦素（leptin）和皮

质酮的调节。主要由脂肪细胞合成和分泌的瘦素, 不仅能调节能量平衡, 反映机体的能量状况, 而且还能促进免疫反应（Zhang *et al.*, 1994; Lam and Lu, 2007）; 而皮质酮常能抑制动物的免疫功能（Sapolsky *et al.*, 2000）。脂肪不仅是能量贮存形式, 现在还被认为是重要的内分泌和免疫器官（Ahima and Flier, 2000; Trayhurn, 2005; Fantuzzi, 2005; Schäffler *et al.*, 2007）。代谢燃料葡萄糖同样在免疫中发挥重要作用, 它为淋巴细胞的存活和正常功能的发挥提供能量（Maciver *et al.*, 2008）。禁食时动物瘦素水平的降低、皮质酮分泌的增加以及体脂、血糖水平的下降, 可能是其免疫功能受抑制的原因（Ahima *et al.*, 1996; Lord *et al.*, 1998; Xu and Wang, 2011）。

长爪沙鼠（*Meriones unguiculatus*）主要分布于欧亚大陆草原区东缘的荒漠草原和典型草原及其毗邻的农牧交错地带, 是一种典型的非冬眠、群居性鼠种, 春夏主食植物的茎叶, 秋冬以种子为食, 具有集群贮食行为（Walker, 1968; 张知彬和王祖望, 1998）。在自然分布区内食物资源具有明显的季节性变化, 这暗示着长爪沙鼠可能会常常面临着食物短缺的威胁（Chen, 1988; Zhang and Wang, 2007）。长爪沙鼠体液免疫功能冬季高于夏季（张志强和王德华, 2006），但不受低蛋白膳食的影响（Chen *et al.*, 2007），并且长期温和的限食也不影响其细胞免疫和体液免疫（Xu *et al.*, 2011），然而禁食 3 d 则抑制了长爪沙鼠的细胞免疫（Xu and Wang, 2010）。因此, 食物短缺的程度和时间在影响动物免疫中起重要作用。为了检验禁食时间在免疫变化中的作用, 本实验主要研究了不同时长的禁食是否会对长爪沙鼠免疫功能造成不同影响, 该问题的解决有助于理解该物种在野外面临食物短缺时的生存状况。我们预测随禁食时间的延长, 长爪沙鼠的免疫功能逐渐降低。

1 研究方法

1.1 实验动物

实验用长爪沙鼠来源于中国科学院动物研究所室内繁殖的实验种群, 室内温度为 $23^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, 光照为 16L: 8D, 饲以标准大小鼠饲料块（北京科澳协力饲料有限公司生产），自由取食和饮水。我们前期研究发现 3 d 禁食会抑制雌性长爪沙鼠 T 细胞

介导的免疫功能 (Xu and Wang, 2010), 因此本实验同样选择无繁殖经历的雌性长爪沙鼠为研究对象。实验前, 动物单笼 (30 cm × 15 cm × 20 cm) 饲养适应 2 周, 体重稳定后选择 55 只健康雌鼠 (年龄: 7-8 个月, 体重: 53.0-69.0 g), 随机分为 8 组: 自由取食注射磷酸盐缓冲液 (Phosphate buffered saline, PBS) 组 (Fed/PBS) ($n=7$)、自由取食注射 PHA 组 (Fed/PHA) ($n=7$)、禁食 1 d 注射 PBS 组 (F1/PBS) ($n=7$)、禁食 1 d 注射 PHA 组 (F1/PHA) ($n=7$)、禁食 2 d 注射 PBS 组 (F2/PBS) ($n=6$)、禁食 2 d 注射 PHA 组 (F2/PHA) ($n=7$)、禁食 3 d 注射 PBS 组 (F3/PBS) ($n=7$)、禁食 3 d 注射 PHA 组 (F3/PHA) ($n=7$)。

1.2 器官和身体成分

器官的检测参照 Li 和 Wang (2005) 的方法。动物 CO₂ 麻醉后处死, 随后分别取出动物心脏、肺脏、胸腺、肝脏、肾脏、肾上腺、脾脏、性腺 (子宫与卵巢合在一起), 剔除器官表面的结缔组织和脂肪, 在滤纸上吸干器官表面的血液后称重 (精确到 0.001 g), 为器官鲜重。取出动物的消化道, 分离出胃、小肠、盲肠、结肠, 小心剔除器官肠系膜及结缔组织和脂肪, 将其纵向剖开, 用生理盐水洗去内容物, 置滤纸上吸干表面水分后, 称重, 作为器官鲜重。取出内脏各器官和消化道后称重, 作为胴体鲜重, 然后置于烘箱中 60℃ 烘干至恒重, 称重, 作为胴体干重, 胴体鲜重减去胴体干重即为体水重。体脂含量的测定采用索氏抽提法, 以体脂重除以胴体鲜重的百分比表示 (Xu and Wang, 2010)。

1.3 PHA 反应的测定

前期研究表明长爪沙鼠中最大 PHA 反应发生于 PHA 注射后 6 h (Xu and Wang, 2010), 因此, 实验中注射 PHA 的时间为处死动物前 6 h 进行。用数显电子测微尺 (Tesa Shopcal, 瑞士) 测定长爪沙鼠左后足足背至足垫的厚度 (精确至 ±0.01 mm); 用蘸有 75% 酒精的棉签小心擦拭足垫, 然后用微量注射器在足垫中心处注射 0.03 mL 含 0.1 mg PHA (PHA-P, Sigma L-8754) 的无菌 PBS 缓冲液 (pH7.4), 6 h 后测量左后足足垫的厚度, PHA 反应的计算公式为: (注射后足垫厚度 - 注射前足垫厚度) / 注射前足垫厚度, 每只动物测

定 6 次, 最后取 6 次测定的平均值 (Smits *et al.*, 1999; Bellocq *et al.*, 2006; Xu and Wang, 2010)。

1.4 白细胞总数的测定

实验结束后, 动物用 CO₂ 麻醉颈部取血, 迅速用移液枪取 20 μL 的血液, 溶于含 0.38 mL 的白细胞稀释液 (含 1.5% 的冰醋酸, 1% 的龙胆紫) 的离心管中, 用手指轻弹混匀, 一段时间后, 用移液枪取少许上述溶液小心地滴在已放有盖玻片的血球计数板 (计数室高度: 0.1 mm, 每小格面积: 1/400 mm²) 上, 在低倍显微镜下 (10×) 观察, 并用血球计数器计算 4 个角的 4 个大格中所有的白细胞总数, 然后乘以 5 × 10⁷, 得数即为血液中所含白细胞数量 (10⁹ cells/L) (Yang, 2004)。

1.5 血糖的测定

血糖水平采用自由式微量血糖计 (Free Style Mini Blood Meter) (Abbott Diabetes Care Inc. Alameda, USA) 进行测定 (Xu and Wang, 2010), 详细步骤参照说明书。利用这种方法所测定的血糖浓度范围是 1.1-27.8 mmol/L。批间和批内误差分别小于 5.6% 和 4.1%。

1.6 血清瘦素的测定

血清瘦素浓度采用多物种瘦素放射免疫分析试剂盒 (Multi-species leptin RIA Kit, LINCO Research, USA) 测定。具体操作按说明书进行, 试剂盒测定范围是 1-50 ng/mL, 批间和批内误差分别为小于 8.7% 和小于 3.6%, 放射免疫测定采用 γ 计数器, 根据标准曲线自动换算成样品血清瘦素的浓度 (ng/mL) (Zhao and Wang, 2006)。

1.7 血清皮质酮含量的测定

血清皮质酮浓度用大鼠皮质酮 ELISA 试剂盒 (Cat. No. HR083, RapidBio Lab. Calabasas, California, USA) 进行测定。所需要的血清样品量为 125 μL, 用此方法所能检测到的皮质酮最低水平为 1.0 nmol/L。详细的操作步骤参照 ELISA 试剂盒中的说明书进行。

1.8 统计分析方法

数据分析采用 SPSS 13.0 软件 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 进行分析, 所有的比值包括 PHA 反应、体水和体脂含量均进行反正弦转化。在分析前, 所有的数据利用 Kolmogorov-Smirnov 和 Levene tests 分别进行数据正态性和方差齐性的检验。禁食 1 d、2 d 和 3 d 后的体重差异采用配对样

本 *T* 检验和重复测量方差方法进行分析。器官干重的组间差异采用以胴体干重为协变量的双因素协方差 (ANCOVA) 和 Bonferroni *post hoc* 检验进行分析, 其它指标 (身体成分、PHA 反应、WBCs、血糖、瘦素和皮质酮浓度) 的组间差异采用双因素 (禁食 × 免疫刺激) ANOVA 进行分析及 Bonferroni *post hoc* 检验, 随禁食时间的变化则采用重复测量的方差分析。组间有显著差异的指标进一步用 GLM 多变量分析和 Bonferroni *post hoc* 检验进行比较。利用皮尔逊相关分析 (Pearson correlation analysis) 检测免疫刺激组 PHA 反应与体脂、血糖、瘦素和皮质酮之间的相关关系。结果用平均值 ± 标准误差 (Mean ± SE) 表示, $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果

2.1 体重

禁食开始前 (Day 0), Fed /PBS、Fed /PHA、F1/PBS、F1/PHA、F2/PBS、F2/PHA、F3/PBS 和 F3/PHA 8 组间体重没有显著差异 ($F_{7,54} = 0.109$, $P = 0.998$)。体重随禁食时间的延长显著降低 ($F_{3,72} = 136.658$, $P < 0.001$), 并受免疫刺激 × 禁食时间交互作用 ($F_{3,72} = 130.591$, $P < 0.001$) 的影响, 但不受免疫刺激 ($F_{3,72} = 1.802$, $P = 0.155$) 的影响 (图 1)。禁食 1 d ($t = 10.688$, $df = 54$, $P < 0.001$)、2 d ($t = 8.073$, $df = 40$, $P < 0.001$) 和 3 d ($t = 5.096$, $df = 27$, $P < 0.001$) 后, 体重显著下降。与第 0 天体重相比, 禁食 1 d 后, F1/PBS 和 F1/PHA 组的体重分别降低了 5.2 g (8.9%) 和 4.9 g (8.3%), 禁食 2 d 后, F2/PBS 和 F2/PHA 组分别降低了 9.3 g (15.9%) 和 10.3 g (17.6%), 禁食 3 d 后, F3/PBS、F3/PHA 组分别降低了 12.9 g (22.4%) 和 10.7 g (19.0%)。

2.2 身体成分和器官

禁食显著降低了雌性长爪沙鼠的终体重、胴体鲜重、胴体干重、体水重、体脂和体脂含量, 而对体水含量、去脂胴体干重没有显著影响; 另外, 所有身体成分均不受免疫刺激、禁食 × 免疫刺激交互作用的影响 (表 1)。与自由取食组相比, 禁食 1 d、2 d 和 3 d 后, 体脂重分别降低了 22.6%、38.9% 和 49.4%。免疫刺激组 (Fed/PHA, F1/PHA, F2/PHA 和 F3/PHA) 的 PHA 反应与体重

($r = 0.524$, $P = 0.004$)、体脂重 ($r = 0.589$, $P = 0.001$) 呈显著正相关。

禁食显著降低了胸腺干重、脾脏干重; 同样, 禁食对小肠干重、盲肠干重、结肠干重、总消化道干重影响显著, 对其它器官干重没有显著影响; 此外, 小肠干重还受免疫刺激、禁食 × 免疫刺激交互作用的影响 (表 2)。

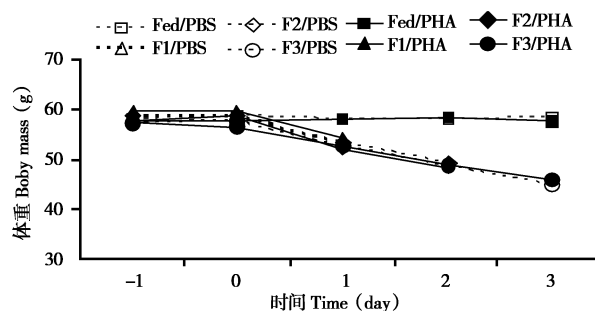


图 1 不同禁食时间对雌性长爪沙鼠体重的影响。Fed/PBS: 自由取食注射 PBS 组; Fed/PHA: 自由取食注射 PHA 组; F1/PBS: 禁食 1 d 注射 PBS 组; F1/PHA: 禁食 1 d 注射 PHA 组; F2/PBS: 禁食 2 d 注射 PBS 组; F2/PHA: 禁食 2 d 注射 PHA 组; F3/PBS: 禁食 3 d 注射 PBS 组; F3/PHA: 禁食 3 d 注射 PHA 组

Fig. 1 Changes of body mass during fasting periods in Mongolian gerbils. Fed/PBS: Fed *ad libitum* and injected with PBS; Fed/PHA: Fed *ad libitum* and injected with PHA; F1/PBS: Fasted for one day and injected with PBS; F1/PHA: Fasted for one day and injected with PHA; F2/PBS: Fasted for two days and injected with PBS; F2/PHA: Fasted for two days and injected with PHA; F3/PBS: Fasted for three days and injected with PBS; F3/PHA: Fasted for three days and injected with PHA

2.3 T 细胞介导的免疫反应

雌性长爪沙鼠 PHA 反应从禁食 2 d 后开始受到抑制 ($F_{3,47} = 12.241$, $P < 0.001$), 并且随禁食时间延长逐渐降低 ($F_{3,33} = 9.267$, $P < 0.001$), 与自由取食组相比, 禁食 2 d 和 3 d, PHA 反应分别降低了 77.3% 和 86.3% (图 2A)。免疫刺激 ($F_{1,47} = 65.704$, $P < 0.001$)、禁食 × 免疫刺激交互作用 ($F_{3,47} = 10.422$, $P < 0.001$) 对 PHA 反应均有显著影响。

2.4 白细胞总数

长爪沙鼠的白细胞总数不受禁食的影响 ($F_{3,47} = 0.608$, $P = 0.613$), 也不随禁食时间的延长而变化 ($F_{3,33} = 0.370$, $P = 0.775$), 但受免疫刺激的显著影响 ($F_{1,47} = 5.436$, $P = 0.024$) (图 2B)。

表 1 不同禁食时间对雌性长爪沙鼠身体成分的影响
Table 1 Effect of fasting duration on body composition in female Mongolian gerbils

参数 Parameters	自由取食组		禁食 1 d 组		禁食 2 d 组		禁食 3 d 组	
	Fed/PBS	Fed/PHA	F1/PBS	F1/PHA	F2/PBS	F2/PHA	F3/PBS	F3/PHA
样本数 Sample size	7	7	7	7	6	7	7	7
终体重 Final body mass (g)	58.3 ± 2.6 ^a	57.6 ± 2.6 ^a	53.2 ± 2.6 ^{ab}	54.6 ± 2.6 ^{ab}	49.4 ± 2.8 ^{ab}	48.2 ± 2.6 ^{ab}	44.8 ± 2.6 ^b	45.7 ± 2.6 ^b
胴体鲜重 Wet carcass mass (g)	44.4 ± 2.1 ^{ab}	46.0 ± 2.1 ^a	42.9 ± 2.1 ^{ab}	43.6 ± 2.1 ^{ab}	39.7 ± 2.3 ^{ab}	38.6 ± 2.1 ^{ab}	36.1 ± 2.1 ^b	35.9 ± 2.1 ^b
胴体干重 Dry carcass mass (g)	18.4 ± 1.3	19.5 ± 1.3	16.9 ± 1.3	16.5 ± 1.3	16.2 ± 1.4	14.5 ± 1.3	13.5 ± 1.3	14.3 ± 1.3
体水重 Body water mass (g)	26.0 ± 1.2	26.5 ± 1.2	26.0 ± 1.2	27.1 ± 1.2	23.5 ± 1.3	24.1 ± 1.2	22.6 ± 1.2	21.6 ± 1.2
体水含量 Water content (%)	58.8 ± 1.6	57.7 ± 1.6	60.8 ± 1.6	62.0 ± 1.6	59.4 ± 1.7	63.0 ± 1.6	63.0 ± 1.6	60.3 ± 1.6
去脂胴体干重 Fat free dry carcass (g)	11.6 ± 0.5	11.8 ± 0.5	11.1 ± 0.5	11.1 ± 0.5	11.0 ± 0.6	10.8 ± 0.5	10.6 ± 0.5	9.9 ± 0.5
体脂重 Body fat mass (g)	6.8 ± 0.9 ^{ab}	7.7 ± 0.9 ^a	5.8 ± 0.9 ^{ab}	5.4 ± 0.9 ^{ab}	5.3 ± 1.0 ^{ab}	3.7 ± 0.9 ^{ab}	2.9 ± 0.9 ^b	4.4 ± 0.9 ^{ab}
体脂含量 Fat/wet carcass mass (%)	36.2 ± 3.3 ^{ac}	38.3 ± 3.3 ^a	33.7 ± 3.3 ^{ab}	32.2 ± 3.3 ^{ab}	30.9 ± 3.6 ^{ab}	22.0 ± 3.3 ^{bc}	19.4 ± 3.3 ^b	30.2 ± 3.3 ^{ab}
Statistical summary	Fasting		Immunochallenge		Fasting × Immunochallenge			
	<i>F</i> _{3,47}	<i>P</i>	<i>F</i> _{1,47}	<i>P</i>	<i>F</i> _{3,47}	<i>P</i>		
终体重 Final body mass (g)	9.090	<0.001	0.008	0.930	0.113	0.952		
胴体鲜重 Wet carcass mass (g)	7.272	<0.001	0.028	0.868	0.140	0.936		
胴体干重 Dry carcass mass (g)	5.464	0.003	0.003	0.956	0.508	0.679		
体水重 Body water mass (g)	6.318	0.001	0.133	0.716	0.304	0.822		
体水含量 Water content (%)	2.000	0.127	0.054	0.818	1.453	0.239		
去脂胴体干重 Fat free dry carcass (g)	2.599	0.063	0.184	0.670	0.279	0.841		
体脂重 Body fat mass (g)	5.360	0.003	0.027	0.869	1.045	0.382		
体脂含量 Fat/wet carcass mass (%)	6.036	<0.001	0.067	0.930	2.901	0.952		

表中数据为平均值 ± 标准误。数据统计采用双因素（禁食与免疫刺激）方差分析及 Bonferroni 多重比较，同一行中的不同字母上标表示差异显著

Data are mean ± SE. Values for a specific parameters that share different superscripts are significantly different at *P* < 0.05, determined by a two-way ANOVA and Bonferroni multiple comparisons

表 2 不同禁食时间对雌性长爪沙鼠器官干重的影响
Table 2 Effect of fasting duration on dry organ mass in female Mongolian gerbils

参数 Parameters	自由取食组		禁食 1 d 组		禁食 2 d 组		禁食 3 d 组	
	Fed/PBS	Fed/PHA	F1/PBS	F1/PHA	F2/PBS	F2/PHA	F3/PBS	F3/PHA
样本数 Sample size	7	7	7	7	6	7	7	7
脑 Brain (mg)	1109 ± 26	1142 ± 27	1117 ± 25	1210 ± 25	1156 ± 27	1162 ± 25	1121 ± 26	1117 ± 26
心脏 Heart (mg)	55 ± 3	51 ± 3	51 ± 3	52 ± 3	53 ± 3	52 ± 3	51 ± 3	52 ± 3
胸腺 Thymus (mg)	8 ± 1 ^a	8 ± 1 ^a	8 ± 1 ^a	7 ± 1 ^{ac}	6 ± 1 ^{ab}	6 ± 1 ^{ab}	2 ± 1 ^b	3 ± 1 ^{bc}
肺脏 Lung (mg)	92 ± 7	93 ± 8	93 ± 7	89 ± 7	91 ± 8	99 ± 7	93 ± 7	87 ± 7
肝脏 Liver (mg)	564 ± 37 ^{ab}	456 ± 38 ^b	533 ± 36 ^{ab}	528 ± 36 ^{ab}	539 ± 39 ^{ab}	465 ± 36 ^b	459 ± 37 ^b	639 ± 37 ^a
脾脏 Spleen (mg)	9 ± 1	9 ± 1	9 ± 1	8 ± 1	6 ± 1	6 ± 1	5 ± 1	6 ± 1
肾脏 Kidneys (mg)	120 ± 5	114 ± 5	116 ± 5	115 ± 5	116 ± 5	117 ± 5	112 ± 5	119 ± 5
肾上腺 Adrenal gland (mg)	13 ± 1	11 ± 1	12 ± 1	13 ± 1	12 ± 1	11 ± 1	12 ± 1	11 ± 1
性腺 Gonad (mg)	24 ± 4	20 ± 4	21 ± 4	22 ± 4	20 ± 4	19 ± 4	19 ± 4	19 ± 4

续表 2 Continued from table 2

参数 Parameters	自由取食组		禁食 1 d 组		禁食 2 d 组		禁食 3 d 组	
	Fed/PBS	Fed/PHA	F1/PBS	F1/PHA	F2/PBS	F2/PHA	F3/PBS	F3/PHA
胃 Stomach (mg)	92 ± 5	83 ± 5	89 ± 5	95 ± 5	93 ± 5	93 ± 5	85 ± 5	93 ± 5
小肠 Small intestine (mg)	56 ± 6 ^b	75 ± 6 ^{ab}	69 ± 6 ^b	99 ± 6 ^a	65 ± 6 ^b	49 ± 6 ^b	52 ± 6 ^b	64 ± 6 ^b
盲肠 Caecum (mg)	38 ± 2 ^{ac}	35 ± 2 ^{ab}	39 ± 2 ^{ac}	43 ± 2 ^a	34 ± 2 ^{ab}	29 ± 2 ^{bc}	29 ± 2 ^{bc}	26 ± 2 ^b
结肠 Colon (mg)	60 ± 3 ^{ab}	57 ± 3 ^{ab}	63 ± 3 ^{ac}	66 ± 3 ^a	54 ± 3 ^{ab}	48 ± 3 ^b	49 ± 3 ^b	50 ± 3 ^{bc}
总消化道 Total digestive tract (mg)	190 ± 8 ^{ab}	175 ± 8 ^{ab}	192 ± 7 ^{ab}	204 ± 7 ^a	181 ± 8 ^{ab}	169 ± 8 ^{ab}	163 ± 8 ^b	170 ± 8 ^{ab}
Statistical summary	Fasting		Immunochallenge		Fasting × Immunochallenge			
	<i>F</i> _{3,47}	<i>P</i>	<i>F</i> _{1,47}	<i>P</i>	<i>F</i> _{3,47}	<i>P</i>		
脑 Brain (mg)	1.626	0.196	3.252	0.078	1.492	0.229		
心脏 Heart (mg)	0.109	0.955	0.023	0.879	0.385	0.764		
胸腺 Thymus (mg)	9.649	<0.001	0.011	0.919	0.128	0.943		
肺脏 Lung (mg)	0.203	0.894	0.000	0.989	0.331	0.803		
肝脏 Liver (mg)	0.629	0.600	0.004	0.950	6.410	0.001		
脾脏 Spleen (mg)	3.590	0.021	0.002	0.962	0.107	0.955		
肾脏 Kidneys (mg)	0.054	0.983	<0.001	0.991	0.680	0.569		
肾上腺 Adrenal gland (mg)	0.327	0.806	0.389	0.536	0.723	0.543		
性腺 Gonad (mg)	0.214	0.886	0.182	0.671	0.231	0.875		
胃 Stomach (mg)	0.514	0.675	0.131	0.719	1.192	0.323		
小肠 Small intestine (mg)	8.332	<0.001	7.530	0.009	5.416	0.003		
盲肠 Caecum (mg)	11.562	<0.001	1.081	0.304	1.346	0.271		
结肠 Colon (mg)	12.112	<0.001	0.565	0.456	1.432	0.246		
总消化道 Total digestive tract (mg)	5.779	0.002	0.131	0.719	1.580	0.207		

表中数据为平均值 ± 标准误。数据统计采用双因素协方差分析（以胴体干重为协变量）及 Bonferroni 多重比较，同一行中的不同字母上标表示差异显著

Data are mean ± SE. Values for a specific parameters that share different superscripts are significantly different at $P < 0.05$, determined by a three-way ANCOVA and Bonferroni multiple comparisons

2.5 血糖

禁食显著降低了长爪沙鼠的血糖水平 ($F_{3,47} = 6.996, P = 0.001$), 并随禁食时间延长而逐渐降低 ($F_{3,33} = 8.172, P < 0.001$), 与自由取食组相比, 禁食 1 d、2 d 和 3 d 后, 血糖水平分别降低了 20.7%、31.1% 和 29.7%。血糖水平不受免疫刺激 ($F_{1,47} = 0.554, P = 0.460$) 和禁食 × 免疫刺激交互作用 ($F_{3,47} = 0.802, P = 0.499$) 的影响 (图 2C)。免疫刺激组的血糖水平与 PHA 反应呈显著正相关 ($r = 0.379, P = 0.047$)。

2.6 血清瘦素

禁食显著降低了雌性长爪沙鼠的血清瘦素水平 ($F_{3,47} = 6.014, P = 0.001$), 并随禁食时间延长逐渐降低 ($F_{3,33} = 7.031, P = 0.001$), 与自由取食组相比, 禁食 1 d、2 d 和 3 d 后, 血清瘦素水平分别降低了 42.5%、54.1% 和 70.7% (图 2D)。血清

瘦素水平不受免疫刺激 ($F_{1,11} = 0.367, P = 0.557$) 和禁食时间 × 免疫刺激交互作用 ($F_{3,33} = 0.735, P = 0.539$) 的影响。免疫刺激组的瘦素水平与体脂重 ($r = 0.769, P < 0.001$)、PHA 反应 ($r = 0.553, P = 0.002$) 呈显著正相关。

2.7 皮质酮

血清皮质酮水平不受禁食 ($F_{3,47} = 2.221, P = 0.098$) 和免疫刺激 ($F_{1,47} = 0.094, P = 0.760$) 的影响, 但随禁食时间的延长有增加趋势, 与自由取食组相比, 禁食 1 d、2 d 和 3 d 后, 血清皮质酮水平分别增加了 27.2%、25.9% 和 69.3% (图 2E)。另外, 皮质酮水平还受禁食 × 免疫刺激交互作用 ($F_{3,47} = 3.851, P = 0.015$) 的影响。免疫刺激组的皮质酮水平与 PHA 反应 ($r = -0.223, P = 0.254$) 没有相关性。

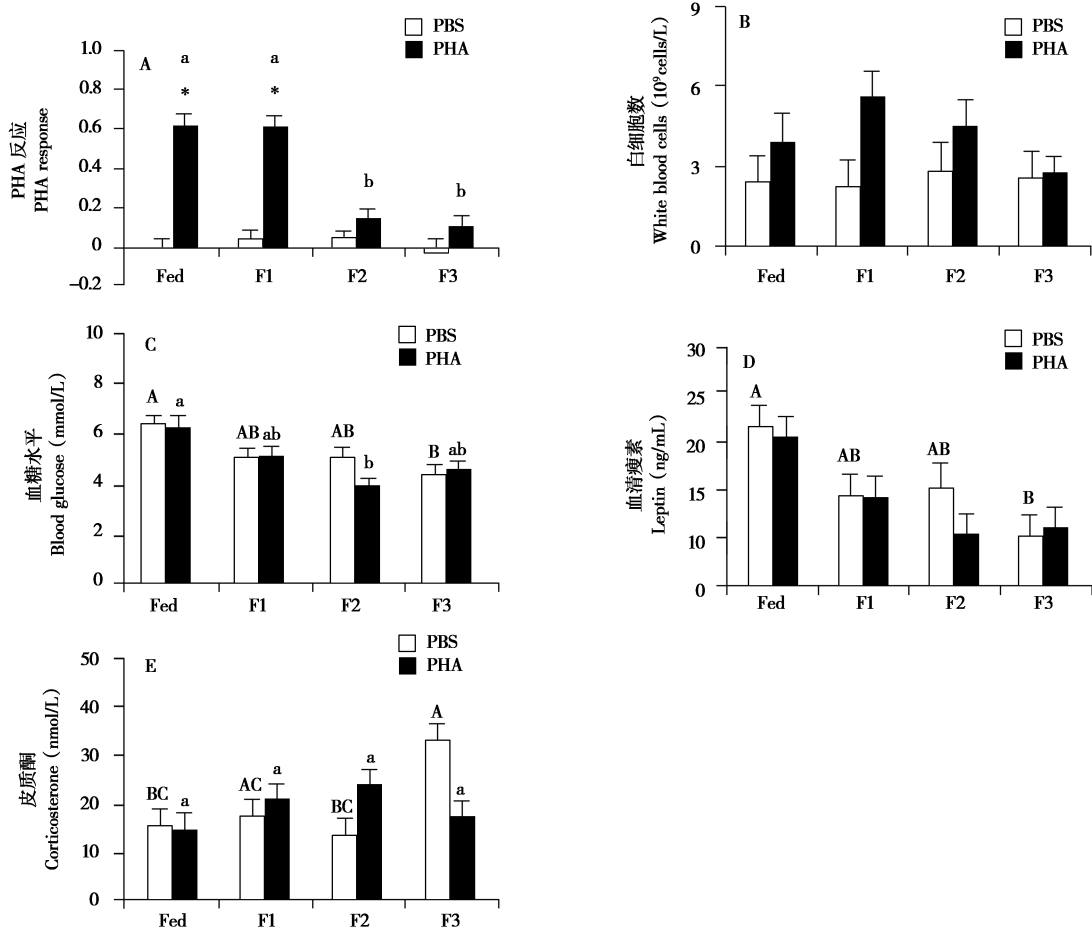


图2 不同禁食时间对雌性长爪沙鼠PHA反应(A)、白细胞总数(B)、血糖水平(C)、瘦素水平(D)和皮质酮水平(E)的影响。Fed: 自由取食组; F1: 禁食1 d组; F2: 禁食2 d组; F3: 禁食3 d组; PBS: 注射PBS; PHA: 注射PHA。*表示同一处理中PBS组和PHA组之间差异显著($P < 0.05$) (独立样-T-检验分析); 大(小)字母表示所测指标随禁食时间的变化(重复测量的方法分析)

Fig. 2 Effect of fasting period on PHA response (A), white blood cells (B), blood glucose (C), leptin levels (D) and corticosterone levels (E) in female Mongolian gerbils. Fed: Fed *ad libitum*; F1: Fasted for one day; F2: Fasted for two days; F3: Fasted for three days; PBS: Injected with PBS; PHA: Injected with PHA. * indicate significant difference between PBS and PHA groups within the same treatment regime, which was analyzed with the independent-samples *T* Test. Capital or lower-case letters indicate significant differences of the examined parameters with fasting duration, which was analyzed with Repeated Measures of General Linear Models

3 讨论

与预测一致, 禁食时间在影响动物免疫中具有重要作用, 雌性长爪沙鼠T细胞介导的免疫功能在禁食2 d后开始受到抑制。禁食同样导致了免疫器官胸腺和脾脏的萎缩, 这与禁食诱导小鼠胸腺发生萎缩的结果一致(Howard *et al.*, 1999)。

3.1 能量可利用性和免疫

随禁食时间的延长, 长爪沙鼠体内的能量(主要包括脂肪和血糖)可利用性逐渐降低, 这可

能是其免疫受抑制的重要原因。脂肪组织不仅仅是能量贮存场所, 也是重要的内分泌和免疫器官, 并在免疫中发挥重要作用(Ahima and Flier, 2000; Schäffler *et al.*, 2007)。一方面, 脂肪可为昂贵的生理过程包括免疫反应提供能量(Demas *et al.*, 1997; Moret and Schmid-Hempel, 2000; Fantuzzi, 2005); 另一方面, 脂肪组织能分泌一些脂肪因子, 直接参与免疫反应(Lago *et al.*, 2007)。动物的能量贮存越多, 分配给免疫的能量也越多, 反之亦然(Houston *et al.*, 2007), 因此体脂的降低可削

弱动物的免疫 (Demas *et al.*, 2003)。此外,长爪沙鼠的小肠、盲肠、结肠和总消化道重在禁食 1 d 后增加,这可能暗示着其消化率增加,动物可能试图通过提高消化率来应对短期的饥饿;随禁食时间的延长,它们的重量逐渐降低,这可能暗示着机体能量越来越缺乏时,分配给消化道这些对即时生存不太重要器官的能量越来越少,以致发生分解以提供能量,而重要器官如脑和心脏则不受禁食时间的影响。由此可见,在面临能量危机时,动物一方面动用能量贮存,另一方面可能将能量从不太关键的生理过程(如免疫)和器官(如消化道)转移至对生存至关重要的系统(如脑和心脏)(Lochmiller and Deerenberg, 2000; Demas, 2004),因此,免疫受抑制可能是长爪沙鼠适应长时饥饿的一种节约能量的策略。

葡萄糖是淋巴细胞维持生存和发挥功能所必需的 (Matarese and Cava, 2004; Maciver *et al.*, 2008), 2-脱氧葡萄糖诱导的葡萄糖利用性降低会抑制动物的免疫功能 (Zysling *et al.*, 2007; Martin *et al.*, 2008), 而限食的禽类饮用葡萄糖水后,其体液免疫得到显著提高 (Hadri *et al.*, 2004), 我们同样发现禁食的长爪沙鼠饮用葡萄糖水后,其 T 细胞介导的免疫功能得到恢复 (Xu and Wang, 2011), 这些研究均说明葡萄糖在免疫中发挥重要作用。本研究发现长爪沙鼠的血糖水平随禁食时间的延长逐渐下降,并且血糖水平与 PHA 反应呈正相关,这表明禁食引起血糖水平下降可能是其免疫受抑制的重要原因。

3.2 瘦素和免疫

瘦素除了在能量平衡中发挥调节作用外,在免疫中也起重要作用,并且近年来瘦素被认为是联系能量平衡和免疫的桥梁 (Matarese *et al.*, 2005; Lam and Lu, 2007; Steiner and Romanovsky, 2007)。瘦素可促进 T 淋巴细胞的存活,抑制其凋亡 (Fantuzzi, 2006; Lam and Lu, 2007), 瘦素水平下降会抑制动物的免疫反应 (Flier, 1998)。Lord 等 (1998) 发现补充外源瘦素可恢复禁食小鼠受抑制的免疫功能;同样,瘦素可保护小鼠的胸腺不受禁食的影响 (Howard *et al.*, 1999)。本研究发现随禁食时间的延长,瘦素水平逐渐降低,并且与 PHA 反应显著正相关,因此,瘦素水平的降低可能是其免疫受抑制的另一原因 (Ahima *et al.*, 1996; Nor-

ris and Evans, 2000; Zhan *et al.*, 2009)。

3.3 皮质酮与免疫

应激如禁食会引起下丘脑—垂体—肾上腺轴的激活,相应地应激激素如皮质酮分泌也会增加,而它对免疫功能通常具有抑制作用 (Sapolsky *et al.*, 2000; Xu and Wang, 2010)。本实验发现皮质酮水平虽然不受禁食的影响,但随禁食时间的延长有增加趋势,此外,皮质酮水平与 PHA 反应不存在相关性。鉴于在测定 PHA 反应时对动物的抓握造成的应激以及皮质酮作为应激激素变化较快的特点,它在禁食过程中对免疫的作用还需进一步研究 (Sapolsky *et al.*, 2000)。

在经常发生食物短缺的环境中,动物对短期食物短缺的适应能力对其生存至关重要。随饥饿时间的延长,动物体内的能量越来越少,此时不同生理过程和系统之间就会发生权衡。动物分配给对短时生存重要程度较低的生理过程和系统(如免疫和消化道)的能量会降低,从而为重要器官(如脑和心脏)保存能量,提高食物短缺时的动物生存 (Ahima *et al.*, 1996; Lord *et al.*, 1998)。因此,抑制免疫功能可能是动物面临能量危机时节约能量以增加存活的一种策略。

致谢:感谢中国科学院动物研究所动物生理生态学研究组全体成员在实验过程中提供的帮助,特别感谢刘新宇博士在本实验过程中的帮助。

参考文献:

- Abdullah M, Chai P S, Chong M Y, Tohit E R M, Ramasamy R, Pei C P, Vidyadaran S. 2012. Gender effect on in vitro lymphocyte subset levels of healthy individuals. *Cell Immunol*, **272**: 214–219.
- Ahima R S, Flier J S. 2000. Adipose tissue as an endocrine organ. *Trends Endocr Metab*, **11**: 327–332.
- Ahima R S, Prabakaran D, Mantzoros C, Qu D Q, Lowell B, Maratos-Flier E, Flier J S. 1996. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. *Nature*, **18**: 250–252.
- Andrade T, Afonso A, Pérez-Jiménez A, Oliva-Teles A, Heras V, Mancera J M, Serradeiro R, Costas B. 2015. Evaluation of different stocking densities in a Senegalese sole (*Solea senegalensis*) farm: implications for growth, humoral immune parameters and oxidative status. *Aquaculture*, **438**: 6–11.
- Belloq J G, Krasnov B R, Khokhlova I S, Pinshow B. 2006. Temporal dynamics of a T-cell mediated immune response in desert rodents. *Comp Biochem Physiol A*, **145**: 554–559.
- Calder P C, Kew S. 2002. The immune system: a target for functional

- foods? *Bri J Nutr*, **88**: S165 – 176.
- Chen J F, Zhong W Q, Liu W, Li Y L, Wang D H. 2007. Effects of dietary protein content on social behavior and some physiological properties in male Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Acta Zool Sin*, **27**: 234 – 242. (in Chinese).
- Chen Z Z. 1988. Topography and climate of Xilin River basin. In: Academia, Sinica ed. Research on Grassland Ecosystem. Inner Mongolia Grassland Ecosystem Research Station. Beijing: Science Press, 13 – 22.
- Demas G E, Chefer V, Talan M I, Nelson R J. 1997. Metabolic costs of mounting an antigen-stimulated immune response in adult and aged C57BL/6J mice. *Am J Physiol Reg Integr Comp Physiol*, **273**: 1631 – 1637.
- Demas G E, Drazen D L, Nelson R J. 2003. Reductions in total body fat decrease humoral immunity. *Proc R Soc Lond B*, **270**: 905 – 911.
- Demas G E. 2004. The energetics of immunity: a neuroendocrine link between energy balance and immune function. *Horm Behav*, **45**: 173 – 180.
- Fantuzzi G. 2005. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol*, **115**: 911 – 919.
- Fantuzzi G. 2006. Leptin: nourishment for the immune system. *Eur J Immunol*, **36**: 3101 – 3104.
- Faris M E, Kacimi S, Al-Kurd R A, Fararjeh M A, Bustanji Y K, Mohammad M K, Mohammad L, Salem M L. 2012. Intermittent fasting during Ramadan attenuates proinflammatory cytokines and immune cells in healthy subjects. *Nutrition Res*, **32**: 947 – 955.
- Flier J S. 1998. Lowered leptin slims immune response. *Nat Med*, **4**: 1124 – 1125.
- Fujita Y, Yanagida H, Mimori T, Jin Z X, Sakai T, Kawanami T, Sawaki T, Masaki Y, Fukushima T, Okazaki T, Umehara H. 2012. Prevention of fasting-mediated bone marrow atrophy by leptin administration. *Cell Immunol*, **273**: 52 – 58.
- Hadri L E, Garlich J D, Qureshi M A, Ferket P R, Odetallah N H. 2004. Glucose and electrolyte supplementation of drinking water improve the immune responses of poult with inanition. *Poultry Sci*, **83**: 803 – 809.
- Higginson A D, McNamara J M, Houston A I. 2014. The starvation-predation trade-off shapes the strategic use of protein for energy during fasting. *J Theoret Biol*, **359**: 208 – 219.
- Horrocks N P C, Matson K D, Shobrak M, Tinbergen J M, Tieleman B I. 2012. Seasonal patterns in immune indices reflect microbial loads on birds but not microbes in the wider environment. *Ecosphere*, **3**: 19 – 33.
- Houston A I, McNamara J M, Barta Z, Klasing K C. 2007. The effect of energy reserves and food availability on optimal immune defence. *Proc R Soc Lond B*, **274**: 2835 – 2842.
- Howard J K, Lord G M, Matarese G, Vendetti S, Ghatei M A, Ritter M A, Lechler R I, Bloom S R. 1999. Leptin protects mice from starvation-induced lymphoid atrophy and increases thymic cellularity in *ob/ob* mice. *J Clin Invest*, **104**: 1051 – 1059.
- Kaminogawa S, Nanno M. 2004. Modulation of immune functions by foods. *eCAM*, **1**: 241 – 250.
- Lago F, Dieguez C, Gómez-Reino J, Gualillo O. 2007. Adipokines as emerging mediators of immune response and inflammation. *Nat Clin Pract Rheum*, **3**: 716 – 724.
- Lam Q L K, Lu L W. 2007. Role of leptin in immunity. *Cell Mol Immunol*, **4**: 1 – 13.
- Li F H, Zhong W Q, Wang Z X, Wang D H. 2007. Rank in a food competition test and humoral immune functions in male Brandt's voles (*Lasiopodomys brandtii*). *Physiol Behav*, **90**: 490 – 495.
- Li X S, Wang D H. 2005. Seasonal adjustments in body mass and thermogenesis in Mongolian gerbils: the roles of photoperiod and cold. *J Comp Physiol B*, **175**: 593 – 600.
- Lochmiller R L, Deerenberg C. 2000. Trade-offs in evolutionary immunology: just what is the cost of immunity? *Oikos*, **88**: 87 – 98.
- Longo V D, Mattson M P. 2014. Fasting: molecular mechanisms and clinical applications. *Cell Metab*, **19**: 181 – 193.
- Lord G M, Matarese G, Howard J K, Baker R J, Bloom S R, Lechler R I. 1998. Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. *Nature*, **394**: 897 – 901.
- Maciver N J, Jacobs S R, Wieman H L, Wofford J A, Coloff J L, Rathmell J C. 2008. Glucose metabolism in lymphocytes is a regulated process with significant effects on immune cell function and survival. *J Leuko Biol*, **84**: 949 – 957.
- Marnila P, Lilius E M. 2015. Thermal acclimation in the perch (*Percu fluviatilis* L.) immunity. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtherbio.2015.01.002>.
- Martin L B, Weil Z M, Nelson R J. 2007. Seasonal changes in vertebrate immune activity: mediation by physiological trade-offs. *Phil Trans R Soc B*, 1 – 19.
- Matarese G, Cava A L. 2004. The intricate interface between immune system and metabolism. *Trends Immunol*, **25**: 193 – 200.
- Matarese G, Moschos S, Mantzoros C S. 2005. Leptin in immunology. *J Immunol*, **173**: 3137 – 3142.
- Moret Y, Schmid-Hempel P. 2000. Survival for immunity: the price of immune system activation for bumblebee workers. *Science*, **290**: 1166 – 1168.
- Nakamura H, Koud K, Tokunaga R, Takeuchi H. 2004. Suppressive effects on delayed type hypersensitivity by fasting and dietary restriction in ICR mice. *Toxicol Lett*, **146**: 259 – 267.
- Nakamura H, Kouda K, Fan W Y, Watanabe T, Takeuchi H. 2001. Suppressive effects on allergic contact dermatitis by short-term fasting. *Toxicol Pathol*, **29**: 200 – 207.
- Neuvonen M D P T, Salo M D M. 1984. Effects of short-term starvation on the immune response. *Nutr Res*, **4**: 771 – 776.
- Nohr C W, Tchervenkov J I, Meakins J L, Christou N V. 1985. Malnutrition and humoral immunity: short term acute nutritional deprivation. *Surgery*, **98**: 769 – 775.

- Norris K, Evans M R. 2000. Ecological immunology: life history trade-offs and immune defense in birds. *Behav Ecol*, **11**: 19 – 26.
- Nussey D H, Watt K, Pilkington J G, Zamoyska R, McNeilly T N. 2012. Age-related variation in immunity in a wild mammal population. *Aging Cell*, **11**: 178 – 180.
- Owens I P F, Wilson K. 1999. Immunocompetence: a neglected life history trait or conspicuous red herring? *Trends Ecol Evol*, **14**: 170 – 172.
- Rolf J, Siva-Jothy M T. 2003. Invertebrate ecological immunology. *Science*, **301**: 472 – 475.
- Sapolsky R M, Romero L M, Munck A U. 2000. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocr Rev*, **21**: 55 – 89.
- Savino W, Dardenne M. 2000. Neuroendocrine control of thymus physiology. *Endocr Rev*, **21**: 412 – 443.
- Schäffler A, Schölmerich J, Salzberger B. 2007. Adipose tissue as an immunological organ: Toll-like receptors, C1q/TNFs and CTRPs. *Trends Immunol*, **28**: 393 – 399.
- Schaible U E, Kaufmann S H E. 2007. Malnutrition and infection: complex mechanisms and global impacts. *Plos Med*, **4**: 806 – 812.
- Sheldon B C, Verhulst S. 1996. Ecological immunology: costly parasite defences and trade-offs in evolutionary ecology. *Trends Ecol Evol*, **11**: 317 – 321.
- Smith K G, Hunt J L. 2004. On the use of spleen mass as a measure of avian immune system strength. *Oecologia*, **138**: 28 – 31.
- Smits J E, Bortolotti G R, Tella J L. 1999. Simplifying the phytohaemagglutinin skin – testing technique in studies of avian immunocompetence. *Funct Ecol*, **13**: 567 – 572.
- Steiner A A, Romanovsky A A. 2007. Leptin: at the crossroads of energy balance and systemic inflammation. *Prog Lipid Res*, **46**: 89 – 107.
- Trayhurn P. 2005. Endocrine and signalling role of adipose tissue: new perspectives on fat. *Acta Physiol Scand*, **184**: 285 – 293.
- Walker E P. 1968. *Mammals of the World*. 2nd ed. Johns Hopkins Press, Baltimore.
- Walton J C, Weil Z M, Nelson R J. 2011. Influence of photoperiod on hormones, behavior, and immune function. *Frontiers Neuroendocri*, **32**: 303 – 319.
- Xu D L, Liu X Y, Wang D H. 2011. Food restriction and refeeding have no effect on cellular and humoral immunity in Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Physiol Biochem Zool*, **84** (1): 87 – 98.
- Xu D L, Tian Y F, Li R S, Li H T, Sun X N, Wang Q B, Shi J, Zhou P, Sun X L. 2014. Stochastic food deprivation increases cellular immunity in Kunming Mice. *Health*, **6**: 1099 – 1107.
- Xu D L, Wang D H. 2010. Fasting suppresses T cell-mediated immunity in female Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Comp Biochem Physiol A*, **155** (1): 25 – 33.
- Xu D L, Wang D H. 2011. Glucose supplement reverses the fasting-induced suppression of cellular immunity in Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Zoology*, **114** (5): 306 – 312.
- Xu D L, Wang D H. 2006. Seasonal changes in immune function, body fat mass and organ mass in Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Acta Theriologica Sinica*, **26** (4): 338 – 345. (in Chinese)
- Xu D L, Xu L X. 2015. Effect of food restriction on immune function in the striped hamster (*Cricetulus barabensis*). *Acta Ecologica Sinica*, **35** (6): 1882 – 1890. (in Chinese)
- Xu D L, Wang D H. 2012. Advances in ecological immunology. *Acta Ecologica Sinica*, **32**: 6251 – 6258. (in Chinese)
- Xu Y C, Yang D B, Wang D H. 2012. No evidence for a trade-off between reproductive investment and immunity in a small mammal. *Plos One*, **7**: 1 – 11.
- Yang X P. 2004. *Laboratory Manual in Animal Physiology*. Higher Education Press, 91 – 94.
- Zhan X M, Li Y L, Wang D H. 2009. Effects of fasting and refeeding on body mass, thermogenesis and serum leptin in Brandt's voles (*Lasiopodomys brandtii*). *J Therm Biol*, **34**: 237 – 243.
- Zhang Y Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman J M. 1994. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, **372**: 425 – 432.
- Zhang Z Q, Wang D H. 2007. Seasonal changes in thermogenesis and body mass in wild Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Comp Biochem Physiol A*, **148**: 346 – 353.
- Zhao Z J, Wang D H. 2006. Effects of photoperiod on energy budgets and thermogenesis in Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). *J Therm Biol*, **31**: 323 – 331.
- Zysling D A, Demas G E. 2007. Metabolic stress suppresses humoral immune function in long-day, but not short-day, Siberian hamsters (*Phodopus sungorus*). *J Comp Physiol B*, **177**: 339 – 347.
- 徐德立, 王德华. 2012. 生态免疫学研究进展. *生态学报*, **32**: 6251 – 6258.
- 徐德立, 徐来祥. 2015. 食物限制对黑线仓鼠免疫功能的影响. *生态学报*, **35** (6): 1882 – 1890.
- 张知彬, 王祖望. 1998. 农业重要害鼠的生态学及控制对策. 北京: 海洋出版社, 221 – 238.
- 张志强, 王德华. 2006. 长爪沙鼠免疫功能、体脂含量和器官重量的季节变化. *兽类学报*, **26** (4): 338 – 345.