

尹柏双,王秋竹,付连军,等. 隐性乳房炎病牛乳清中 IL-8 及 TNF- $\alpha$  含量的变化[J]. 江苏农业科学,2017,45(2):143-144.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.02.042

# 隐性乳房炎病牛乳清中 IL-8 及 TNF- $\alpha$ 含量的变化

尹柏双<sup>1</sup>,王秋竹<sup>1</sup>,付连军<sup>1</sup>,郝景锋<sup>1</sup>,沙万里<sup>1</sup>,王 奔<sup>1</sup>,郑洪娟<sup>2</sup>,苗玉辉<sup>3</sup>

(1. 吉林农业科技学院动物科技学院,吉林吉林 132101;2. 吉林正业生物股份有限公司,吉林吉林 132101;  
3. 吉林省汪清县动物疫病预防控制中心,吉林汪清 133200)

**摘要:**旨在探讨奶牛隐性乳房炎发病与乳清中 IL-8 和 TNF- $\alpha$  含量变化的关系。选取 24 头患有不同程度隐性乳房炎的奶牛和 8 头健康奶牛作为试验动物,采集 64 份乳样并分离乳清,利用 ELISA 法检测乳清中 IL-8 和 TNF- $\alpha$  含量。结果表明,患有轻、中、重度隐性乳房炎的奶牛乳清中,IL-8 和 TNF- $\alpha$  含量与健康对照组相比均极显著或显著升高( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ),且乳清中 IL-8 和 TNF- $\alpha$  含量随着隐性乳房炎病情的加重呈升高趋势。乳清中 IL-8 和 TNF- $\alpha$  含量与奶牛隐性乳房炎的发病程度呈正相关性,IL-8 和 TNF- $\alpha$  含量随着乳腺炎症的加剧而升高。

**关键词:**奶牛;隐性乳房炎;乳清;白细胞介素-8(IL-8);肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )

**中图分类号:** S858.237.2<sup>+</sup>6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)02-0143-02

奶牛乳房炎是危害奶牛养殖业最严重的疾病之一,其中隐性乳房炎发生率最高。隐性乳房炎可引起泌乳奶牛产奶量下降、牛奶品质降低、养殖成本增加、产后发情延长、妊娠时间推迟,为奶牛养殖业带来巨大经济损失<sup>[1-2]</sup>。白细胞介素-8(IL-8)和肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )是全身性炎症反应急性期非特异性标志物之一<sup>[3]</sup>。IL-8 主要由单核吞噬细胞产生,在某些细胞因子诱导下,单核细胞、淋巴细胞、内皮细胞等也能合成并释放 IL-8,IL-8 具有趋化中心粒细胞、促进黏附能力、增强中心粒细胞溶酶体酶活性及吞噬功能的作用<sup>[4]</sup>。TNF- $\alpha$  由活化的单核巨噬细胞产生,具有诱导中性粒细胞趋化和局部浸润、启动炎症反应的作用,同时可激活中性粒细胞及内皮细胞表面黏附受体,引起组织细胞损伤<sup>[5]</sup>。本研究探讨奶牛隐性乳房炎发生与乳清中 IL-8 和 TNF- $\alpha$  含量变化的关系,以期为奶牛隐性乳房炎的临床诊断提供依据。

收稿日期:2015-12-03

基金项目:吉林省科技厅重点科技攻关项目(编号:20130206040NY);吉林省教育厅“十二五”科学技术项目(编号:吉教科合字 2013339);吉林市科技局杰出青年培育专项(编号:2013625019)。

作者简介:尹柏双(1978—),男,黑龙江哈尔滨人,博士,副教授,主要从事奶牛乳腺疾病研究。E-mail:ybs3421@126.com。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验动物

通过乳汁体细胞计数监测后,选取年龄、胎次、产奶量、泌乳期等指标相近的 8 头健康奶牛和 24 头患有不同程度隐性乳房炎的奶牛。奶牛由吉林省吉林市某奶牛场提供。

### 1.2 主要试剂与仪器

IL-8 和 TNF- $\alpha$  检测试剂盒购自南京建成生物试剂研究所。Fossmatic 5000 型体细胞计数仪(丹麦 FOSS 公司),Varioskan 型酶标仪(美国 Thermo 公司),离心机(美国 Sigma 公司)。

### 1.3 试验动物分组

通过乳汁体细胞数(SCC)监测,将试验奶牛分为健康对照组(8 头,SCC <  $10 \times 10^4$  个/mL)、轻度隐性乳房炎组(8 头, $50 \times 10^4$  个/mL < SCC <  $150 \times 10^4$  个/mL)、中度隐性乳房炎组(8 头, $150 \times 10^4$  个/mL < SCC <  $500 \times 10^4$  个/mL)、重度隐性乳房炎组(8 头,SCC >  $500 \times 10^4$  个/mL)。

### 1.4 乳样采集

采集试验奶牛乳汁前对乳区进行清洗,并采用 75% 乙醇消毒乳区。弃掉头 3 把乳汁,分别采乳 10 mL 装入无菌试管中,每头奶牛采集 2 个乳区,共采集 64 个乳样。将采集的乳样放到冰盒中,带回实验室进行检测。

[2]徐如人,庞文琴,于吉红,等. 分子筛与多孔材料化学[M]. 北京:科学出版社,2004.

[3]陈 超. 利用软锰矿浸渣制备 4A 分子筛的研究[D]. 南宁:广西大学,2012.

[4]黄晗名. 改性 13X 分子筛的制备及其吸附脱硫性能研究[D]. 南宁:广西大学,2012.

[5]李 明,姚金花. 活性炭含水量对甲烷吸附量的影响[J]. 天津化工,2001(5):4-6.

[6]张丽丹,王晓宇,韩春英,等. 活性炭吸附二氧化碳性能的研究[J]. 北京化工大学学报(自然科学版),2007(1):76-80.

[7]李建民. 利用矿物废料水热法制备纳米 4A 分子筛[D]. 青岛:青岛科技大学,2013.

[8]张云林. 改性处理对 5A 和 13X 分子筛氢及杂质气体吸附性能影响研究[D]. 北京:北京有色金属研究总院,2014.

[9]王 慧. 改性 13X、NaY 分子筛和丝光沸石对氯气吸附性能的研究[D]. 太原:太原理工大学,2011.

[10]黄晗名. 改性 13X 分子筛的制备及其吸附脱硫性能研究[D]. 南宁:广西大学,2012.

[11]陈继辉,童明伟,严 嘉. 干冰升华特性的实验[J]. 重庆大学学报(自然科学版),2005(4):50-52.

### 1.5 乳清制备

将采集的乳样以 3 000 r/min 离心 5 min, 去除上层乳脂; 再于 16 000 r/min 高速离心机中离心 10 min, 去除沉淀, 保留上清, 于 4 °C 下保存待测。

### 1.6 检测方法

采用体细胞计数仪进行乳汁体细胞计数。采用 IL-8 试剂盒测定乳清中白细胞介素-8(IL-8)含量, 采用 TNF 试剂盒测定肿瘤坏死因子(TNF)含量, 按照各试剂盒说明书进行操作并计算含量。

采用 SPSS 17.0 数据分析系统进行单因素方差分析, 结果以“平均值 ± 标准误”表示。 $P < 0.01$  为差异极显著,  $P < 0.05$  为差异显著,  $P > 0.05$  为差异不显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 奶牛乳清中 IL-8 含量变化

由表 1 可知, 患轻度隐性乳房炎的奶牛乳清中 IL-8 含量为  $(163.23 \pm 5.48)$  ng/L, 与对照组相比升高显著 ( $P < 0.05$ ); 患中度隐性乳房炎的奶牛乳清中 IL-8 含量为  $(196.79 \pm 7.58)$  ng/L, 与对照组相比升高极显著 ( $P < 0.01$ ); 患重度隐性乳房炎的奶牛乳清中 IL-8 含量为  $(223.27 \pm 6.73)$  ng/L, 极显著高于对照组 ( $P < 0.01$ ); 随着隐性乳房炎病情的加重, 乳清中 IL-8 含量呈升高趋势。

表 1 奶牛乳清中 IL-8 含量变化结果

组别	样品数量(份)	IL-8 含量(ng/L)
健康对照组	16	143.88 ± 8.36
轻度乳房炎组	16	163.23 ± 5.48 *
中度乳房炎组	16	196.79 ± 7.58 **
重度乳房炎组	16	223.27 ± 6.73 **

注: “\*” “\*\*” 分别表示在 0.05, 0.01 水平下与对照组相比差异显著。下表同。

### 2.2 奶牛乳清中 TNF- $\alpha$ 含量变化

由表 2 可知, 患轻度隐性乳房炎的奶牛乳清中 TNF- $\alpha$  含量为  $(129.45 \pm 8.57)$  ng/L, 与对照组相比升高显著 ( $P < 0.05$ ); 患中度隐性乳房炎的奶牛乳清中 TNF- $\alpha$  含量为  $(146.72 \pm 10.37)$  ng/L, 与对照组相比升高极显著 ( $P < 0.01$ ); 患重度隐性乳房炎的奶牛乳清中 TNF- $\alpha$  含量为  $(206.79 \pm 23.43)$  ng/L, 极显著高于对照组 ( $P < 0.01$ ); 随着奶牛隐性乳房炎病情的加重, 乳清中 TNF 含量呈升高趋势。

表 2 奶牛乳清中 TNF- $\alpha$  含量变化结果

组别	样品数量(份)	TNF- $\alpha$ 含量(ng/L)
健康对照组	16	98.14 ± 19.25
轻度乳房炎组	16	129.45 ± 8.57 *
中度乳房炎组	16	146.72 ± 10.37 **
重度乳房炎组	16	206.79 ± 23.43 **

## 3 结论与讨论

### 3.1 奶牛隐性乳房炎与乳清中 IL-8 含量的相关性

IL-8 能趋化和激活中性粒细胞, 促使中性粒细胞弹性

蛋白酶释放, 生成活性氧化代谢物, 引发组织浸润反应, 同时可有效调节黏附分子表达, 增强白细胞与内皮细胞黏附, 加剧炎症的发展<sup>[6]</sup>。本试验发现, 随着奶牛隐性乳房炎发病程度的加重, 乳汁中 IL-8 含量逐渐升高, 极显著高于对照组 ( $P < 0.01$ )。其主要原因可能是隐性乳房炎发生时, 病原微生物代谢产生的内毒素和代谢产物刺激机体炎性细胞产生 IL-1、PHA、LPS 等, 诱导单核细胞、淋巴细胞、内皮细胞合成并释放 IL-8, 从而引起乳汁中 IL-8 含量升高, 导致乳腺局部炎症反应加剧, 起到杀菌作用并引起严重的乳腺细胞损伤<sup>[7]</sup>。

### 3.2 奶牛隐性乳房炎与乳清中 TNF- $\alpha$ 含量的相关性

肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ) 是主要由单核巨噬细胞炎症激活后分泌的一种细胞因子, 通过增加血管通透性来增加黏附分子和趋化因子的表达, 从而损害内壁细胞功能<sup>[8]</sup>。TNF- $\alpha$  作为细胞外刺激因子, 可激活 NF- $\kappa$ B 并进一步放大炎症反应<sup>[9]</sup>。本研究发现, 随着奶牛隐性乳房炎发病程度的加重, 乳汁中 TNF- $\alpha$  含量逐渐升高, 与对照组相比差异极显著或显著 ( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ )。其主要原因可能是病原微生物进入乳腺组织后, 刺激机体单核巨噬细胞活化, 由活化的单核巨噬细胞产生大量 TNF- $\alpha$ , TNF- $\alpha$  诱导中性粒细胞趋化和局部浸润, 启动并加剧了炎症反应, 增加微血管壁通透性, 激活中性粒细胞及内皮细胞表面黏附受体, 引起乳腺组织细胞损伤<sup>[5]</sup>。

### 3.3 结论

患有隐性乳房炎的奶牛乳清中, IL-8 和 TNF- $\alpha$  含量变化与隐性乳房炎的发病程度呈正相关性, 乳清中 IL-8 和 TNF- $\alpha$  含量随着乳腺炎症的加剧而升高。奶牛乳清中 IL-8 和 TNF- $\alpha$  含量的变化可作为奶牛隐性乳房炎的诊断指标。

### 参考文献:

- [1] 吴美玲, 付静涛, 王江涛, 等. 影响奶牛隐性乳房炎发病率的主要因素[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2014(4): 49-50.
- [2] 尹柏双, 付连军, 郝景锋, 等. 我国奶牛隐性乳房炎诊断方法的研究现状[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2014(11): 54-56.
- [3] 向长港, 周莉芳. IL-6、IL-8 和 TNF- $\alpha$  水平的变化与急性脑梗死的关系研究[J]. 临床血液学杂志, 2015, 20(10): 857-859.
- [4] 龚非力. 医学免疫学[M]. 北京: 科学出版社, 2000: 79-80.
- [5] 王东, 张东岳. 肿瘤坏死因子- $\alpha$  和白细胞介素-8 与慢性阻塞性肺疾病发病机制的关系[J]. 中国生物制品学杂志, 2010, 23(6): 665-668.
- [6] 裘祥印. ACC 患者血清 hs-CRP、IL-6、IL-8 和 TNF- $\alpha$  水平检测与分析[J]. 山东医药, 2011, 51(3): 83-84.
- [7] 姚俊, 赵霞. IL-8 与哮喘气道炎症关系及中医药对其拮抗作用的研究进展[J]. 上海中医药杂志, 2014, 48(12): 94-96.
- [8] Bergh N, Ullhammer E, Glise K, et al. Influence of TNF- $\alpha$  and biomechanical stress on endothelial anti- and prothrombotic genes[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2009, 385(3): 314-318.
- [9] 赖斌, 魏玉杰, 刘惠亮, 等. TNF- $\alpha$  对血栓调节蛋白表达活性的影响及其作用机制的探讨[J]. 心脏杂志, 2016, 28(1): 16-19.