

尹柏双,王秋竹,付连军,等. 隐性乳房炎病牛乳清中 IL-8 及 TNF- α 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- α 含量的变化

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

(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- α 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- α 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- α 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- α 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- α 含量与奶牛隐性乳房炎的发病程度呈正相关性, IL-8 和 TNF- α 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- α (TNF- α)

中图分类号: S858.237.2⁺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^[1-2]。白细胞介素-8 (IL-8) 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 是全身炎症反应急性期非特异性标志物之一^[3]。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^[4]。TNF- α 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^[5]。本研究探讨奶牛隐性乳房炎发生与乳清中 IL-8 和 TNF- α 含量变化的关系, 以期对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- α 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, 50×10^4 个/mL $< SCC < 150 \times 10^4$ 个/mL)、中度隐性乳房炎组 (8 头, 150×10^4 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, 王晓宁, 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. 利用矿物废水水热法制备纳米 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 ℃ 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 ± 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 ± 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 ± 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	$163.23 \pm 5.48^*$
中度乳房炎组	16	$196.79 \pm 7.58^{**}$
重度乳房炎组	16	$223.27 \pm 6.73^{**}$

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-α 含量变化

由表 2 可知, 患轻度隐性乳房炎的奶牛乳清中 TNF-α 含量为 (129.45 ± 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-α 含量为 (146.72 ± 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-α 含量为 (206.79 ± 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-α 含量变化结果

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

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^[6]。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^[7]。

3.2 奶牛隐性乳房炎与乳清中 TNF-α 含量的相关性

肿瘤坏死因子-α(TNF-α) 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^[8]。TNF-α 作为细胞外刺激因子, 可激活 NF-κB 并进一步放大炎症反应^[9]。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-α 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-α, TNF-α 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^[5]。

3.3 结论

患有隐性乳房炎的奶牛乳清中, IL-8 和 TNF-α 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-α 含量随着乳腺炎症的加剧而升高。奶牛乳清中 IL-8 和 TNF-α 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-α 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-α 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] 袁祥印. ACC 患者血清 hs-CRP、IL-6、IL-8 和 TNF-α 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, Ulfhammer E, Glise K, et al. Influence of TNF-α 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-α 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.