

杨红洋,朱晓庆,商云霞,等. 中药复方多糖对不同 *MHC B-L β II* 基因型鸡新城疫抗体和免疫球蛋白 IgG、IgM 含量的影响[J]. 江苏农业科学, 2017,45(18):168-172.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.18.043

中药复方多糖对不同 *MHC B-L β II* 基因型鸡新城疫抗体和免疫球蛋白 IgG、IgM 含量的影响

杨红洋,朱晓庆,商云霞,谷新利,郭 晓

(石河子大学动物科技学院,新疆石河子 832003)

摘要:为探究 *MHC B-L β II* 基因多态性对中药复方多糖免疫调节剂量的影响,采用 PCR-SSCP 方法将 500 羽黄麻肉鸡按不同 *MHC B-L β II* 基因型分组,再将各组分高、中、低剂量中药复方多糖组和空白对照组。分别于 8 日龄皮下注射 50.0、25.0、12.5 mg/mL 中药复方多糖和生理盐水各 0.2 mL/只,连续注射 7 d,于 21、42、56、70 日龄各组随机取 5 只试验鸡,翅静脉采血分离血清,测定血清中新城疫(newcastle disease,简称 ND)抗体和 IgG、IgM 的含量。结果显示,多糖能提高 *MHC B-L β II* 不同基因型鸡新城疫抗体和 IgG、IgM 含量,且高剂量组中药复方多糖组中 AB 基因型个体血清中新城疫抗体含量最高,AA 基因型个体血清中 IgG、IgM 含量最高;中、低剂量中药复方多糖组中 AB 基因型个体血清中新城疫抗体含量和 IgG、IgM 含量最高。表明中药复方多糖能提高不同 *MHC B-L β II* 基因型鸡的免疫力,且中药复方多糖对不同 *MHC B-L β II* 基因鸡的最适免疫调节剂量不同。

关键词:中药复方多糖;*MHC B-L β II* 基因;新城疫;免疫球蛋白 IgG 和 IgM;鸡

中图分类号:S853.74 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2017)18-0168-05

免疫能力的高低决定了机体抵抗病原能力的大小,直接

收稿日期:2016-11-29

基金项目:国家自然科学基金(编号:31460673)。

作者简介:杨红洋(1987—),男,山东菏泽人,硕士研究生,研究方向为临床兽医学。E-mail:hongyang527@126.com。

通信作者:商云霞,高级实验师,从事动物疫病防治研究,E-mail:shangyunxia@shzu.edu.cn;谷新利,博士,教授,从事中药制剂开发与应用方面研究,E-mail:xlgu@shzu.edu.cn。

参考文献:

- [1] Tagari H, Webb K, Theurer B, et al. Mammary uptake, portal - drained visceral flux, and hepatic metabolism of free and peptide - bound amino acids in cows fed steam - flaked or dry - rolled sorghum grain diets[J]. Journal of Dairy Science, 2008, 91(2): 679 - 697.
- [2] Mabjeesh S J, Kyle C E, MacRae J C, et al. Vascular sources of amino acids for milk protein synthesis in goats at two stages of lactation[J]. Journal of Dairy Science, 2002, 85(4): 919 - 929.
- [3] Wang S. Peptide - bound methionine can be a source of methionine for the synthesis of secreted proteins by mammary tissue explants from lactating mice[J]. The Journal of Nutrition, 1996, 126(6): 1662.
- [4] Pan Y, Bender P K, Akers M, et al. Methionine - containing peptides can be used as methionine sources for protein accretion in cultured C2C12 and MAC - T cells[J]. The Journal of Nutrition, 1996, 126(1): 232.
- [5] Wu H H, Yang J Y, Zhao K. Effects of methionine - containing dipeptides on casein α_s1 expression in bovine mammary epithelial cells [J]. Journal of Animal Feed Science, 2007, 16(S2): 7 - 12.
- [6] Zhou M M, Wu Y M, Liu H Y, et al. Role of oligopeptide transporter

影响经济动物的生长和生产。注射疫苗能有效地提高机体抵抗病原的能力,并且当疫苗与免疫增强剂配合使用时能显著增强疫苗的防疫效果。目前,国内外广泛使用的油乳剂、铝胶类等化学性免疫增强剂常具有副作用大、局部刺激性强、致癌等弊端。大量研究表明,从中草药中提取的多糖不仅能增强机体免疫力,还具有毒副作用小、残留量低等优点,成为开发疗效确定、低毒免疫增强剂的理想药物。

鸡主要组织相容性复合体(major histocompatibility

- 2 in bovine mammary gland phenylalanine dipeptide uptake[J]. Chin Anim Nutr, 2011, 23(8): 1303 - 1308.
- [7] Zhou M M, Wu Y M, Liu H Y, et al. Effects of tripeptide and lactogenic hormones on oligopeptide transporter 2 in bovine mammary gland[J]. J Anim Physiol An N, 2011, 95(6): 781 - 789.
- [8] Zhou M M, Wu Y M, Liu H Y, et al. Effects of phenylalanine and threonine oligopeptides on milk protein synthesis in cultured bovine mammary epithelial cells[J]. J Anim Physiol An N, 2015, 99(2): 215 - 220.
- [9] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein - dye binding [J]. Anal Biochem, 1976, 72(1-2): 248 - 254.
- [10] Daniel H, Kottra G. The proton oligopeptide cotransporter family SLC15 in physiology and pharmacology[J]. Pflügers Archiv, 2004, 447(5): 610 - 618.
- [11] Matthews D M. Protein absorption[M]. New York: Development and Present State of the Subject, 1991.
- [12] Takahashi K, Masuda S, Nakamura N, et al. Upregulation of H⁺ - peptide cotransporter *PepT2* in rat remnant kidney[J]. American Journal of Physiology (Renal Physiology), 2001, 281(6): 1109 - 1116.

complex, 简称 MHC) 最初是作为具有高度多态性的红细胞抗原而被认识, 之后将该基因的基因座标记为 B, 即 B 复合体^[1], 是一个与机体免疫应答、抗病性能密切相关的多基因家族, 具有高度的多态性。鸡 MHC 至少包含 3 个亚区, 即 B-F、B-L、B-G 区^[2]。其中, B-L 区基因编码 MHCII 类分子, 主要负责递呈外源性抗原, 供 CD4⁺T 细胞识别, 诱导细胞因子分泌, 调节机体抗体的产生, 参与机体细胞免疫和体液免疫反应^[3]。MHC B-L β II 基因是 MHCII 类抗原的结合区, 具有丰富的多态性和功能特异性^[4]。

有研究表明, 多糖能被 MHCII 分子呈递而被 $\alpha\beta$ -T 细胞的 TCR (T cell receptor) 直接或者间接识别, 激活 B 淋巴细胞, 诱导特异性抗体产生^[5]。而鸡 MHC 基因多态性使得不同个体对相同抗原有不同免疫反应, 从而导致机体免疫功能存在个体差异, 进而可能影响中药多糖最适免疫增强剂量。因此, 本研究采用 PCR-SSCP 方法对试验鸡进行 MHC B-L β II 基因分型后, 给予不同剂量中药复方多糖, 通过测定各组试验鸡新城疫抗体和 IgG、IgM 等 2 种免疫球蛋白含量, 探讨 MHC B-L β II 基因多态性对中药复方多糖提高鸡体液免疫的最佳使用剂量是否有影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验药物 中药复方由当归、党参、熟地、川芎、山楂、何首乌、淫羊藿、麦冬、茯苓、补骨脂和黄芪 11 味中药组成, 各单味药均购自新疆石河子市医药公司。中药多糖 (质量百分浓度 $w = 77.10\%$) 由石河子大学化工学院提供。用灭菌蒸馏水将中药复方多糖配制成高剂量 (50 mg/mL)、中剂量 (25 mg/mL)、低剂量 (12.5 mg/mL) 3 个质量浓度。

1.1.2 药品与试剂 新城疫活疫苗购自新疆石河子市八师兽医站; 鸡新城疫抗体 (NDV-Ab) 酶联免疫分析试剂盒购自北京城林生物技术有限公司; 鸡 IgG、IgM ELISA 检测试剂盒购自上海蓝基生物有限公司; 血液基因组 DNA 提取试剂盒购自天根生化科技 (北京) 有限公司; 其他试剂均为国产分析纯试剂。

1.1.3 试验动物及分组 500 羽 1 日龄黄麻肉鸡购自新疆石河子市孵化场, 临床检查其健康情况。根据 MHC B-L β II 基因第 2 外显子 PCR-SSCP 的检测结果进行分组, 再将各组分成高、中、低剂量中药多糖组和空白对照组。分别于 8 日龄皮下注射 50.0、25.0、12.5 mg/mL 中药复方多糖及生理盐水各 0.2 mL/只, 连续注射 7 d。

所有试验鸡于 7 日龄进行新城疫疫苗的点和滴鼻免疫, 27 日龄进行 2 免, 并且均采用相同的饲养方法、饲养条件、饲料品质和饲养管理进行常规饲养。

1.1.4 试验仪器 酶标仪 (美国热电 FC 型号)、微量移液器、恒温培养箱等。

1.2 试验方法

1.2.1 DNA 提取 分别采集 500 羽鸡的外周血, 按照 DNA 提取试剂盒说明书提取鸡全血 DNA, 4℃ 冰箱储存备用。

1.2.2 引物设计 参照 GenBank 收录的鸡 MHC B-L β II 基因序列 (NC_006103.2) 第 2 外显子信息, 由生工生物工程 (上海) 股份有限公司完成引物设计和合成, 扩增目的条带大小

为 308 bp, 上游引物 Forward: 5' - CTGAATACTGGAAC AGCAACG - 3', 下游引物 Reverse: 5' - ACCACTTCACCTC GATCTCC - 3'。

1.2.3 PCR 扩增 扩增反应总体积为 20 μ L, 其组成为 Mix 12 μ L, 上、下游引物各 1 μ L, 基因组 DNA 1 μ L, 灭菌 ddH₂O 5 μ L。反应条件: 94℃ 预变性 3 min; 94℃ 变性 30 s, 60℃ 复性 30 s, 72℃ 延伸 1 min, 30 个循环; 72℃ 延伸 5 min; 4℃ 保存。

1.2.4 PCR-SSCP 基因型检测 3 μ L PCR 产物与 8 μ L 上样缓冲液 (98% 甲酰胺, 0.025% 溴酚蓝, 0.025% 二甲苯青, 10 mmol EDTA) 混匀后 98℃ 水浴变性 10 min, 立即冰浴 10 min。样品在 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶中电泳。电泳结束后, 进行银染并用聚焦成像系统进行拍照。

1.2.5 鸡血清新城疫抗体和 IgG、IgM 的含量测定 每组抽取 5 只试验鸡, 于 21、42、56、70 日龄翅静脉采血, 常规分离血清。根据鸡新城疫抗体及 IgG、IgM 酶联免疫吸附试验 (enzyme-linked immunosorbent assay, 简称 ELISA) 检测试剂盒说明书进行操作, 用酶联免疫检测仪测定样品在 450 nm 波长处的吸光度 (D 值), 并根据 ELISA 检测试剂盒中标准品浓度及其对应的 D 值获得标准曲线的直线回归方程, 再根据样品的 D 值利用回归方程计算出相应样品的新城疫抗体和 IgG、IgM 的含量。

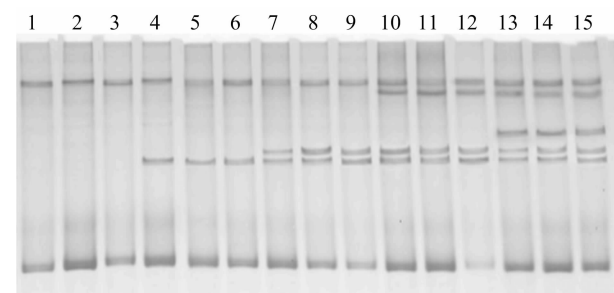
1.3 数据分析

数据结果均以平均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。采用 SPSS 19.0 对试验数据进行方差分析和多重比较。所有统计分析结果以 $P < 0.05$ 作为差异显著性的判断标准。

2 结果与分析

2.1 PCR-SSCP 基因型检测

对所有 DNA 样品进行 PCR-SSCP 基因型检测, 发现有 5 种基因型, 即 AA 基因型 (共 186 羽), AB 基因型 (共 180 羽), BB 基因型 (共 68 羽), AC 基因型 (共 35 羽), AD 基因型 (共 31 羽) (图 1)。



1~3 为 AC 型; 4~6 为 BB 型; 7~9 为 AA 型;
10~12 为 AB 型; 13~15 为 AD 型

图 1 部分试验鸡 MHC B-L β II 基因型 PCR-SSCP 检测结果

2.2 中药复方多糖对不同 MHC B-L β II 基因型鸡血清中新城疫抗体含量的影响

由表 1 可知, 与空白对照组相比, 各剂量中药复方多糖均能提高不同基因型鸡新城疫抗体含量, 但在同一剂量中药复方多糖组和空白对照组中, 不同基因型鸡血清中新城疫抗体含量不同。其中, 高剂量中药复方多糖组 21、42 日龄 AB 基因型鸡血清中新城疫抗体含量显著高于 AA、BB、AC、AD 基

因型($P<0.05$),56 日龄 AB 基因型的新城疫抗体含量显著高于 AC、AD 基因型($P<0.05$),70 日龄 AB 基因型的新城疫抗体含量显著高于 AA、AC、AD 基因型($P<0.05$);中剂量中药复方多糖组 21 日龄 AB 基因型鸡血清中新城疫抗体含量显著高于 AA、BB、AC、AD 基因型($P<0.05$),AC 基因型的新城疫抗体含量显著高于 AA、BB、AD 基因型($P<0.05$),42 日龄 AB 基因型的新城疫抗体含量显著高于 AA、BB、AC、AD 基因型($P<0.05$),AC 基因型的新城疫抗体含量显著高于 AD 基因型($P<0.05$),56 日龄 AB 基因型的新城疫抗体含量显著高于 AA、BB、AD 基因型($P<0.05$),70 日龄 AB 基因型的

新城疫抗体含量显著高于 AD 基因型($P<0.05$);低剂量中药复方多糖组 21 日龄 AB 基因型鸡血清中新城疫抗体含量显著高于 BB、AC、AD 基因型($P<0.05$),AA 基因型的新城疫抗体含量显著高于 AC、AD 基因型($P<0.05$),42 日龄 AB 基因型的新城疫抗体含量显著高于 AA、BB、AC、AD 基因型($P<0.05$),AA 基因型的新城疫抗体含量显著高于 BB、AD 基因型($P<0.05$),56、70 日龄 AB 基因型的新城疫抗体含量略高于 AA、BB、AC、AD 基因型,但无显著性差异($P>0.05$);空白对照组各日龄 AA 基因型鸡血清中新城疫抗体含量略高于 AB、BB、AC、AD 基因型,但无显著性差异($P>0.05$)。

表 1 中药复方多糖对不同 MHC B-Lβ II 基因型鸡血清新城疫抗体含量的影响

组别	基因型	新城疫抗体含量 (pg/mL)			
		21 日龄	42 日龄	56 日龄	70 日龄
高剂量组	AA	1 118.00 ± 56.76a	1 233.33 ± 106.01a	1 045.66 ± 141.12ab	843.33 ± 83.19a
	AB	1 264.67 ± 284.23b	1 530.33 ± 189.69b	1 132.00 ± 178.40b	993.00 ± 182.39b
	BB	1 024.33 ± 76.04a	1 271.33 ± 228.50a	1 029.33 ± 186.80ab	859.00 ± 233.35ab
	AC	1 064.00 ± 296.91a	1 195.33 ± 345.81a	987.33 ± 309.07a	841.33 ± 238.11a
	AD	1 086.00 ± 233.35a	1 174.33 ± 303.83a	972.67 ± 193.25a	835.33 ± 59.48a
中剂量组	AA	1 185.33 ± 114.98a	1 400.00 ± 86.63ab	1 061.67 ± 112.67a	983.33 ± 48.17ab
	AB	1 663.33 ± 155.26c	1 784.67 ± 150.09c	1 252.00 ± 190.38b	1 092.33 ± 96.90b
	BB	1 157.67 ± 167.87a	1 464.67 ± 110.43ab	1 029.33 ± 186.80a	919.33 ± 169.48ab
	AC	1 330.67 ± 185.17b	1 528.67 ± 254.13b	1 199.00 ± 225.67ab	971.00 ± 231.09ab
	AD	1 132.33 ± 151.45a	1 355.67 ± 218.12a	1 009.67 ± 32.9a	847.33 ± 85.49a
低剂量组	AA	1 192.00 ± 122.54bc	1 239.00 ± 110.12b	1 038.32 ± 145.78a	932.01 ± 126.05a
	AB	1 294.67 ± 147.29c	1 390.33 ± 154.76c	1 045.48 ± 141.12a	943.33 ± 183.19a
	BB	1 044.67 ± 172.57ab	1 128.00 ± 183.76a	999.87 ± 121.89a	859.00 ± 233.35a
	AC	1 027.33 ± 156.67a	1 238.67 ± 169.38ab	937.23 ± 144.98a	841.67 ± 229.34a
	AD	1 027.33 ± 156.68a	1 161.87 ± 161.92a	935.14 ± 144.65a	835.33 ± 159.47a
空白组	AA	993.36 ± 163.90a	1 094.73 ± 132.43a	955.30 ± 113.26a	819.04 ± 118.32a
	AB	903.33 ± 158.16a	1 007.67 ± 198.12a	891.12 ± 138.89a	801.68 ± 123.69a
	BB	896.33 ± 110.11a	998.33 ± 132.34a	867.33 ± 125.56a	793.67 ± 115.78a
	AC	891.67 ± 188.61a	969.00 ± 145.21a	824.46 ± 137.24a	740.73 ± 109.77a
	AD	895.00 ± 152.45a	987.67 ± 145.78a	855.39 ± 119.38a	789.00 ± 110.66a

注:同一剂量组中,同列数据后不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。下表同。

2.3 中药复方多糖对不同 MHC B-Lβ II 基因型鸡血清中 IgG 含量的影响

由表 2 可知,与空白对照组相比,各剂量中药复方多糖均能提高不同基因型鸡的 IgG 含量,但在同一剂量中药复方多糖组和空白对照组中,不同基因型鸡血清中的 IgG 含量不同。其中,高剂量中药复方多糖组 21、42 日龄时 AA 基因型鸡血清中 IgG 含量略高于 AB、BB、AC、AD 基因型,但无显著性差异($P>0.05$),56 日龄时 AA 基因型的 IgG 含量显著高于 AC、AD 基因型($P<0.05$),70 日龄时 AA 基因型的 IgG 含量显著高于 BB、AC、AD 基因型($P<0.05$);中、低剂量中药复方多糖组和空白对照组各日龄 AB 基因型鸡血清中 IgG 含量略高于 AA、BB、AC、AD 基因型,但无显著性差异($P>0.05$)。

2.4 中药复方多糖对不同 MHC B-Lβ II 基因型鸡血清中 IgM 含量的影响

由表 3 可知,与空白对照组相比,各剂量中药复方多糖均能提高不同基因型鸡 IgM 含量,但在同一剂量中药复方多糖组和空白对照组中,不同基因型鸡血清中 IgM 含量不同。其中,高剂量中药复方多糖组 21 日龄 AA 基因型鸡血清中 IgM

含量显著高于 AB、BB、AC、AD 基因型($P<0.05$),42 日龄时 AA 基因型的 IgM 含量显著高于 BB、AC、AD 基因型($P<0.05$),56、70 日龄时 AA 基因型的 IgM 含量显著高于 AB、BB、AC、AD 基因型($P<0.05$),AB 基因型的 IgM 含量显著高于 AD 基因型($P<0.05$);中剂量中药复方多糖组各日龄 AB 基因型鸡血清中 IgM 含量显著高于 AA、BB、AC、AD 基因型($P<0.05$),并且 21 日龄时 AA 基因型的 IgM 含量显著高于 AD、AC 基因型($P<0.05$);低剂量中药复方多糖组 21 日龄时 AB、AA 基因型鸡血清中 IgM 含量显著高于 BB、AD 基因型($P<0.05$),42 日龄时 AB、AA 基因型的 IgM 含量显著高于 AC 基因型($P<0.05$),56 日龄时 AB 基因型的 IgM 含量显著高于 BB、AC、AD 基因型($P<0.05$),70 日龄时 AB 基因型的 IgM 含量显著高于 AA、BB、AC、AD 基因型($P<0.05$),AA 基因型的 IgM 含量显著高于 AC、AD 基因型($P<0.05$),BB 基因型的 IgM 含量显著高于 AD 基因型($P<0.05$);空白对照组各日龄 AB 基因型鸡血清中 IgM 含量显著高于 AA、BB、AC、AD 基因型($P<0.05$),并且在 42 日龄时 AA 基因型的 IgM 含量显著高于 AC 基因型($P<0.05$),70 日龄时 AA 基因

表 2 中药复方多糖对不同 *MHC B-Lβ II* 基因型鸡血清 IgG 含量的影响

组别	基因型	IgG 含量 (mg/mL)			
		21 日龄	42 日龄	56 日龄	70 日龄
高剂量组	AA	6.53 ± 0.14a	10.52 ± 0.25a	8.85 ± 0.17b	5.96 ± 0.34b
	AB	6.42 ± 0.13a	10.42 ± 0.19a	8.66 ± 0.11ab	5.67 ± 0.31ab
	BB	6.38 ± 0.15a	10.37 ± 0.26a	8.52 ± 0.13ab	5.53 ± 0.32a
	AC	6.37 ± 0.12a	10.29 ± 0.21a	8.38 ± 0.21a	5.41 ± 0.28a
	AD	6.37 ± 0.16a	10.28 ± 0.25a	8.38 ± 0.15a	5.39 ± 0.25a
中剂量组	AA	6.76 ± 0.18a	12.79 ± 0.27a	10.69 ± 0.23a	5.88 ± 0.15a
	AB	6.87 ± 0.21a	12.81 ± 0.23a	10.79 ± 0.17a	5.99 ± 0.17a
	BB	6.69 ± 0.19a	12.59 ± 0.25a	10.58 ± 0.25a	5.79 ± 0.35a
	AC	6.68 ± 0.15a	12.55 ± 0.44a	10.57 ± 0.20a	5.77 ± 0.13a
	AD	6.63 ± 0.17a	12.52 ± 0.28a	10.55 ± 0.14a	5.75 ± 0.22a
低剂量组	AA	6.45 ± 0.21a	10.36 ± 0.24a	8.66 ± 0.17a	5.82 ± 0.22a
	AB	6.49 ± 0.26a	10.48 ± 0.22a	8.80 ± 0.11a	5.86 ± 0.19a
	BB	6.40 ± 0.28a	10.34 ± 0.25a	8.49 ± 0.13a	5.79 ± 0.25a
	AC	6.38 ± 0.25a	10.33 ± 0.31a	8.48 ± 0.22a	5.76 ± 0.16a
	AD	6.36 ± 0.31a	10.32 ± 0.18a	8.46 ± 0.15a	5.74 ± 0.28a
空白组	AA	5.74 ± 0.23a	9.96 ± 0.17a	7.82 ± 0.21a	5.14 ± 0.31a
	AB	5.79 ± 0.18a	10.01 ± 0.33a	7.88 ± 0.23a	5.17 ± 0.26a
	BB	5.72 ± 0.19a	9.85 ± 0.26a	7.79 ± 0.16a	5.13 ± 0.28a
	AC	5.68 ± 0.31a	9.83 ± 0.23a	7.77 ± 0.27a	5.11 ± 0.32a
	AD	5.67 ± 0.17a	9.81 ± 0.19a	7.76 ± 0.31a	5.09 ± 0.25a

表 3 中药复方多糖对不同 *MHC B-Lβ II* 基因型鸡血清 IgM 含量的影响

组别	基因型	IgM 含量 (μg/mL)			
		21 日龄	42 日龄	56 日龄	70 日龄
高剂量组	AA	1.21 ± 0.04b	1.36 ± 0.02b	1.09 ± 0.07c	0.88 ± 0.02c
	AB	0.88 ± 0.09a	1.34 ± 0.05ab	1.06 ± 0.09b	0.81 ± 0.05b
	BB	0.85 ± 0.03a	1.33 ± 0.01a	1.05 ± 0.05ab	0.80 ± 0.01ab
	AC	0.86 ± 0.06a	1.32 ± 0.07a	1.04 ± 0.02ab	0.79 ± 0.07ab
	AD	0.85 ± 0.05a	1.31 ± 0.04a	1.03 ± 0.06a	0.77 ± 0.04a
中剂量组	AA	0.96 ± 0.04b	1.68 ± 0.08a	1.25 ± 0.05a	0.85 ± 0.04a
	AB	0.99 ± 0.05c	1.75 ± 0.11b	1.27 ± 0.08b	0.89 ± 0.06b
	BB	0.94 ± 0.07ab	1.65 ± 0.09a	1.24 ± 0.06a	0.85 ± 0.07a
	AC	0.92 ± 0.03a	1.64 ± 0.07a	1.23 ± 0.04a	0.84 ± 0.03a
	AD	0.91 ± 0.01a	1.64 ± 0.06a	1.21 ± 0.07a	0.83 ± 0.06a
低剂量组	AA	0.86 ± 0.02b	1.27 ± 0.10b	1.05 ± 0.03ab	0.80 ± 0.01c
	AB	0.87 ± 0.04b	1.28 ± 0.06b	1.07 ± 0.01b	0.85 ± 0.05d
	BB	0.83 ± 0.05a	1.25 ± 0.07ab	1.04 ± 0.05a	0.78 ± 0.08bc
	AC	0.84 ± 0.08ab	1.23 ± 0.09a	1.02 ± 0.07a	0.75 ± 0.04ab
	AD	0.81 ± 0.03a	1.24 ± 0.06ab	1.03 ± 0.02a	0.74 ± 0.07a
空白组	AA	0.64 ± 0.07a	0.96 ± 0.05b	0.75 ± 0.08a	0.60 ± 0.01b
	AB	0.68 ± 0.05b	0.99 ± 0.08c	0.79 ± 0.04b	0.66 ± 0.03c
	BB	0.65 ± 0.08a	0.95 ± 0.04ab	0.73 ± 0.03a	0.59 ± 0.06ab
	AC	0.63 ± 0.01a	0.92 ± 0.02a	0.73 ± 0.07a	0.57 ± 0.08a
	AD	0.63 ± 0.03a	0.94 ± 0.06ab	0.72 ± 0.01a	0.55 ± 0.01a

型的 IgM 含量显著高于 AC、AD 基因型 ($P < 0.05$)。

3 讨论

新城疫是由新城疫病毒 (newcastle disease virus, 简称 NDV) 引起的一种鸡急性、败血性、热性以及高度接触性的传染病, 一旦发病, 在鸡群中会迅速传播, 造成鸡的大批死亡。新城疫抗体滴度是鸡对新城疫疾病免疫状态的一个重要指标, 能够反映出鸡对新城疫的免疫水平, 同时也能反映出鸡的

体液免疫水平^[6-7]。杨庆芳等研究了黄芪多糖 (ASP)、淫羊藿多糖 (EPP) 和板蓝根多糖对鸡新城疫疫苗免疫效果的影响, 发现 3 种中药多糖均可提高新城疫 HI 抗体效价^[8]; Liang 等的研究证实, 泰山刺洋槐多糖 (Taishan Robinia pseudoacacia polysaccharides, 简称 TRPP) 作为免疫佐剂可促进新城疫疫苗免疫的雏鸡免疫器官发育, 提高新城疫疫苗抗体效价, 而且还可以提高十二指肠中 SIgA 的含量^[9]。在本试验中, 与空白对照组相比, 高、中、低剂量中药复方多糖均能不同程度提高鸡

ND 抗体含量,并且在 42 日龄时达到峰值,之后逐渐降低,其主要原因是本试验中 27 日龄时使用的是新城疫活疫苗,它在接种后 7~9 d 可产生保护力,接种后 2 周抗体可达到峰值。

IgG、IgM 是由活化的 B 淋巴细胞产生的主要免疫球蛋白,反映体液免疫状况^[10]。其中,IgG 是血清和体液中抗体的主要成分,其含量占整个血清免疫球蛋白的 70%~75%,主要参与机体再次体液免疫应答,具有调理吞噬作用、凝集反应和沉淀抗原、中和病原体 and 毒素、活化补体传导途径的作用^[11]。IgM 含量占免疫球蛋白总量的 10%,是活化 B 细胞受抗原刺激后产生最早的免疫球蛋白^[12]。IgM 具有很强的抗原结合能力,在机体初期的体液免疫防御中有着重要的地位。陈强等在雏鸡日粮中添加黄芪多糖之后发现雏鸡 IgG、IgM 2 种免疫球蛋白的分泌量增加^[13];何雯娟等研究表明,黄芩多糖能够提高鸡的免疫器官指数,并且能够提高鸡免疫球蛋白水平,对鸡的免疫能力有提高作用^[14]。本试验结果显示,与对照组相比,高、中、低剂量中药复方多糖在各日龄均能不同程度地提高鸡血清中的 IgG、IgM 含量,增强了雏鸡免疫力,与文献报道结果一致。

自 MHC 基因发现以来,已有大量的研究表明该基因的突变会引起不同个体对相同抗原表现出不同的免疫反应,从而导致机体免疫功能存在个体差异。刘立波研究了鸡 MHC B-L 基因 SNPs 单倍型与绵羊红细胞抗体滴度(SRBC)、禽流感(AI)及新城疫(ND)抗体滴度等 5 个免疫性状关系,结果表明,每个免疫性状与多个突变位点存在显著相关,且有多个优势单倍型,反映了不同个体之间存在免疫应答能力的差异^[15]。在本试验的空白对照组中,不同 MHC B-L β II 基因型鸡 ND 抗体和 IgG、IgM 含量不同,其中,AA 基因型鸡血清中 ND 抗体含量略高于 AB、BB、AC、AD 基因型,AB 基因型鸡血清中的 IgG、IgM 含量略高于其他基因型鸡,表明 MHC B-L β II 基因多态性会引起机体免疫功能的个体差异。周伟等研究发现,不同 MHC 基因型狼山鸡的 IgG、IgM 含量存在一定差异^[16],这与本研究结果一致。

另外,中医药自古就讲求用药个体化,基因组学的发展为个体化用药提供了理论支持。当遗传变异和药物疗效之间的相互作用逐渐受到人们关注时,将基因组的研究应用于药物治疗领域逐渐增多。随着各国学者从细胞、分子、基因等不同水平对多糖免疫调节机理的深入研究,发现从中草药中提取的多糖不仅能增强机体免疫力,也是一种 T 细胞依赖性抗原,它被 MHC II 类分子处理和呈递,进而被 TCR 识别^[5],参与机体细胞免疫和体液免疫反应。在本试验中,当对不同 MHC B-L β II 基因型鸡进行中药复方多糖处理后,不同剂量中药复方多糖组中 MHC B-L β II 的优势基因型不同。其中,高剂量中药复方多糖组中 AB 基因型个体 ND 抗体含量最高,AA 基因型个体 IgG、IgM 含量最高,中、低剂量中药复方多糖组中 AB 基因型个体 ND 抗体含量和 IgG、IgM 含量最高。出现不同剂量中药复方多糖组中优势基因型不同的原因可能是:(1)MHC 基因丰富的多态性会导致 MHCII 类分子抗原肽结合槽的结构不同,TCR 在识别被呈递的细胞表面抗原时也要识别细胞上的 MHCII 类分子,中药多糖中的活性成分或杂质作为一种外来抗原被 MHCII 类分子提呈给 T 细胞的能力和激活 B 细胞的能力不同,导致不同浓度中药复方多糖组中不

同基因型个体 T、B 淋巴细胞增殖能力及抗体产生量不同,免疫功能存在差异;(2)免疫系统对抗原的感知有数量和浓度上的敏感性差异,多糖的浓度过高或者过低均不会产生较高的免疫应答,从而引起机体免疫水平的差异;(3)免疫性状除受 MHC B-L β II 基因调控外,还受到其他突变位点或者基因的调控,不同的突变位点引起的免疫性状的变化不同,可对抗体和免疫球蛋白的产生具有调节作用。

以上结果说明,MHC B-L β II 基因多态性使鸡的免疫能力产生个体差异,并且对提高鸡血清中的 ND 抗体含量和 IgG、IgM 含量的最适多糖浓度会有一定影响。

参考文献:

- [1] Briles W E, McGibbon W H, Irwin M R. On multiple alleles effecting cellular antigens in the chicken[J]. Genetics, 1950, 35(6): 633-652.
- [2] Bloom S E, Bacon L D. Linkage of the major histocompatibility (B) complex and the nucleolar organizer in the chicken[J]. Journal of Heredity, 1985, 76(3): 146-154.
- [3] 侯艳霞, 王靖飞. 鸡主要组织相容性复合体的结构与功能研究进展[J]. 动物医学进展, 2010, 31(12): 112-115.
- [4] 刁欠云, 李 宁, 唐玉新, 等. 中国部分地方鸡种 B-LII β (β_1 外显子) 基因分子遗传多态性研究[J]. 遗传学报, 2001, 28(1): 7-14.
- [5] Cobb B A, Wang Q, Tzianabos A O, et al. Polysaccharide processing and presentation by the MHCII pathway[J]. Cell, 2004, 117(5): 677-687.
- [6] 林继和, 姚中磊, 王世杰, 等. 复方中药对免疫新城疫和禽流感疫苗三黄鸡抗体产生的影响[J]. 中国家禽, 2011, 33(9): 64-65.
- [7] Sharma J M. The structure and function of the avian immune system[J]. Acta Veterinaria Hungarica, 1997, 45(3): 229-238.
- [8] 杨庆芳, 杨康林, 姚 静, 等. 3 种中药多糖对鸡新城疫疫苗免疫效果的影响[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(4): 220-221, 225.
- [9] Liang M F, Liu G H, Zhao Q Y, et al. Effects of Taishan Robinia pseudoacacia polysaccharides on immune function in chickens[J]. International Immunopharmacology, 2013, 15(4): 661-665.
- [10] 王世若, 王兴龙, 韩文瑜. 现代动物免疫学[M]. 长春: 吉林科学技术出版社, 2001: 386.
- [11] 朱晓磊, 刘文骁, 陈 宏. 百里香精油对麻花鸡 T 淋巴细胞 ANAE⁺、新城疫抗体水平和免疫球蛋白的影响[J]. 四川农业大学学报, 2014, 32(1): 87-90, 96.
- [12] 崔治中, 崔保安. 兽医免疫学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2004: 43.
- [13] 陈 强, 姜莉莉, 肖银霞, 等. 黄芪多糖对肉鸡生产性能及血清免疫球蛋白的影响[J]. 饲料研究, 2013(3): 50-52.
- [14] 何雯娟, 李润元, 梁 英, 等. 黄芩多糖对肉仔鸡血液生化指标及免疫指标的影响[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2014(7): 71-74.
- [15] 刘立波. 鸡 MHC B-L 基因 SNPs 单倍型与免疫性状关系的研究[C]//中国动物遗传育种研究进展——第十五次全国动物遗传育种学术讨论会论文集. 中国畜牧兽医学动物遗传育种学会分会, 2009: 478.
- [16] 周 伟, 常国斌, 陈国宏, 等. 狼山鸡 MHC 多态性及血型与部分抗性性状关联的研究[J]. 中国畜牧杂志, 2012, 48(19): 25-28.