

免疫初乳对大鼠血液某些生理指标 和激素水平的影响

高 伟, 许龙兵, 陈 龙

(南京师范大学生命科学学院, 江苏省分子医学生物技术重点实验室, 江苏省生物医药功能材料工程研究中心, 江苏 南京 210046)

[摘要] 24只健康成年SD大鼠,雌雄对半,随机分成对照组(C组)、普通初乳组(NC组)、免疫初乳组(IC组),每组8只。NC和IC组每天分别灌服普通初乳和免疫初乳(1 mL/100 g体重),C组灌服生理盐水。连续6 d在第6天观察了灌胃免疫初乳后大鼠血液某些生理指标和激素水平的变化,探讨免疫初乳在参与机体生理活动和内分泌功能活动过程中的作用。结果显示,在整个实验期内,IC组大鼠血液中性粒细胞显著高于C、NC组;NC和IC组大鼠血浆中Ins水平极显著高于对照组;IC组大鼠 T_3 水平显著高于对照组;然而,在整个实验期,大鼠血浆 T_4 、IL-2水平各组间无显著差异。提示免疫初乳可提高正常机体非特异性免疫功能,促进机体代谢激素的分泌,但对细胞免疫没有明显效应。

[关键词] 免疫初乳, 大鼠, 血液, 生理指标, 激素水平

[中图分类号] R 392 [文献标识码] A [文章编号] 1001-4616(2009)03-0084-04

Effect of Immune Colostrums on Some Blood Physiological Indices and Hormone Levels in Rats

Gao Wei Xu Longbing Chen Long

(School of Life Sciences, Nanjing Normal University, Jiangsu Province Key Laboratory for Molecular and Medical Biotechnology,
Jiangsu Engineering Research Center for Biomedical Function Materials, Nanjing 210046, China)

Abstract Twenty-four healthy SD rats with half of female and male were chosen and randomly divided into a control group (group C), a normal colostrum group (group NC) and a immune colostrums group (group IC). 8 rats in each group. Rats in groups NC and IC were orally given 1 mL/100 g BW once a day during 6 days, normal colostrum or immune colostrum, respectively. The rats in groups C were received physiologic saline at the same dose and frequency. After experiment, Physiological index and hormone levels in plasma were tested to learn the immune colostrums action in physiological and endocrine. The results showed that during the whole experimental period, blood neutrophilic granulocytes in group IC were dramatically higher than that in groups C and NC. Plasma Ins level in groups NC and IC, and T_3 level in group IC, were significantly higher as compared with control group. Plasma T_4 and IL-2 levels were near among three groups. It suggests that the immune colostrums can enhance non-specific immune function, and promote the excretion of metabolism hormones, but take no obvious effects on cellular immunity in the body.

Key words immune colostrum, rat, blood, physiological index, hormone level

机体免疫系统由免疫细胞和体液免疫分子组成,其中许多成分均分布在血液中,如血液中的淋巴细胞、单核细胞、巨噬细胞、粒细胞和红细胞等免疫细胞;血液中的免疫球蛋白、细胞因子、补体等免疫分子。此外,血液中也含有许多内分泌激素和一些自分泌或旁分泌因子如胰岛素(Ins)、甲状腺激素(T_3 、 T_4)、生长因子等,它们对机体生长发育具有重要的调控作用。已有研究证实,初乳具有增强或调节机体的系统免疫能力^[1]。本研究室研制的抗婴幼儿17株腹泻病原菌免疫乳制品,前期研究发现,从免疫初乳中分离纯化的高纯度特异性IgG在体外能够通过特异性凝集反应,显著抑制病原菌的生长^[2];并通过改善和提高血液免疫细胞功能活动,介导免疫介质的调整作用,发挥抗大鼠感染性腹泻的效应,口服免疫初乳能

收稿日期: 2009-02-04

基金项目: 国家“十五”奶业重大科技专项(2002BA518A12)、江苏省“十五”攻关项目(BE2002302)。

通讯联系人: 陈 龙, 博士, 教授, 研究方向: 免疫生理学与生物化学。E-mail: kher@njnu.edu.cn

有效地减轻和预防急性感染性腹泻的发生和发展^[3]。免疫初乳除了含有高滴度的特异性免疫球蛋白外,还含有高于正常初乳水平的一些其他非特异性免疫因子^[4],但系统观察该免疫初乳对正常机体血液生理指标和激素水平的影响尚未报道。为此,本文研究了正常大鼠灌胃免疫初乳后血细胞及其相关的生理指标和血浆中 $\ln s T_3$ 、 T_4 和白介素 - 2 (IL-2) 水平变化,探讨免疫初乳在参与机体生理活动和内分泌功能活动过程中的作用,为功能性免疫乳的开发应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 免疫初乳制备

将 17 株来源于人肠道的致腹泻感染性病原菌 (12 株大肠杆菌, 2 株沙门氏菌, 3 株志贺菌, 购自中国药品生物制品检定所) 分别在 37℃ 的牛肉膏蛋白胨液体培养基中扩增培养 24 h 后, 用 0.4% 甲醛灭活 48 h 经接种牛肉膏蛋白胨琼脂板培养检验无活菌后收菌、生理盐水洗菌 3 次 (4500 r/min, 15 min), 计菌数使其为 10^9 /mL, 然后将各病原菌按 1:1 比例制备成混合菌液。用 2% 硬脂酸铝溶液作为佐剂将混合菌液经高速搅拌乳化成灭活联合多效价疫苗。

选择健康生理条件近似的预产期 6~8 周妊娠荷斯坦奶牛 10 头, 由南京奶业 (集团) 公司南京西岗联营牛奶场提供, 随机分为对照组和实验组, 每组 5 头。实验组在颈部两侧肌肉注射疫苗 10 mL (2×5 mL), 对照组按同样的方法注射由生理盐水和佐剂制成乳化液。疫苗免疫在预产期前的 2 个月开始, 在免疫注射开始后每 2 周加强免疫 1 次, 共 3 次。在整个免疫期间奶牛健康, 不注射任何抗生素, 以利于抗 17 株病原菌的活性抗体产生。分娩后 1~4 d 采初乳, 每次 1000 mL。乳样立即经纱布过滤, 4℃ 离心去脂肪 (10000 r/min, 15 min), 再经巴斯杀菌后, 置 -20℃ 保存。

1.2 实验动物与饲养

24 只健康、体重 170.42 ± 0.67 g 的成年 SD 大鼠, 雌雄各半 (南京医科大学实验动物中心提供)。经 1 周适应饲养后, 随机分成 3 组, 即对照组 (C 组)、普通初乳组 (NC 组)、免疫初乳组 (IC 组), 每组 8 只。C 组每天灌服 1 mL/100 g 体重的生理盐水, NC 和 IC 组分别灌服 1 mL/100 g 体重的普通初乳和免疫初乳, 连续 6 d。大鼠自由采食、饮水, 饲养过程中, 每天换水, 隔日换 1 次笼中的木屑垫料以保持清洁。环境温度 20~25℃。

1.3 样品采集和处理

灌服 6 d 后, 大鼠眼眶静脉丛采血 1 mL, 迅速放入含有肝素钠 (1:500) 的塑料管内, 混匀; 并取少许全血用于 18 项血液指标的测定, 然后将血液置 4℃ 离心 (3000 r/min, 20 min), 取出血浆置 -20℃ 保存用于其它指标的测定。

1.4 测定指标和方法

18 项血液指标: 全自动血细胞分析仪测定。包括: 白细胞总数 (WBC)、淋巴细胞数目 (Lym#)、单核细胞数目 (Midi)、中性粒细胞数目 (Gn#)、淋巴细胞百分比 (Lym)、单核细胞百分比 (Midi)、中性粒细胞百分比 (Gm)、红细胞总数 (RBC)、血红蛋白含量 (HGB)、红细胞压积 (HCT)、红细胞平均体积 (NCV)、红细胞平均血红蛋白含量 (NCH)、红细胞平均血红蛋白浓度 (NCHC)、血细胞分布宽度 (RDW)、血小板 (PLT)、血小板容积 (PCT)、平均血小板体积 (MPV) 和血小板分布宽度 (PDW) 等; 血浆 $\ln s T_3$ 、 T_4 、IL-2 水平: 放射免疫分析法, 试剂药盒由北京北方生物技术研究所提供。试剂盒操作步骤和注意点严格按说明书进行。

1.5 数据处理

以平均值 \pm 标准误 (Mean \pm SEM) 表示, 用计算机统计软件包 Statistica 对数据作 Students' t 检验, 确定差异显著性。

2 结果

2.1 免疫初乳对大鼠 18 项血液生理指标的影响

在整个实验期内, 灌服免疫初乳后第 6 天大鼠的血细胞组分中性粒细胞数目 (Gn#) 和中性粒细胞比例 (Gm%), 显著高于对照组 (C 组)、普通初乳组 (NC 组), 其它各指标组间差异不显著 (表 1)。

表 1 免疫初乳对大鼠 18 项血液生理指标影响

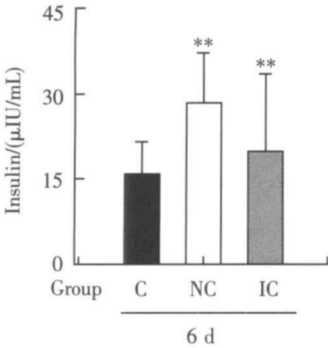
Table 1 Effects of immune colostrums on eighteen blood physiological indices in rats

Indices	C	NC	IC
WBC/(G/L)	11.16±1.92	10.54±2.00	9.96±1.48
Ly n#/(G/L)	8.58±1.28	7.75±1.26	7.93±1.12
M i#/(G/L)	0.73±0.34	0.89±0.53	0.53±0.17
G n#/(G/L)	1.86±0.81	1.90±0.94	2.51±0.52*
Ly m %	76.41±5.75	73.04±5.87	78.8±4.07
M id %	7.00±2.46	8.66±4.52	5.64±1.09
G m %	16.59±4.73	18.3±6.68	20.56±3.93*
RBC/(T/L)	6.20±0.30	6.26±0.41	5.99±0.42
HGB/(g/L)	156.94±7.51	156.25±6.67	153.00±8.28
HCT/(L/L)	0.39±0.02	0.39±0.24	0.37±0.02
NCV /fL	62.66±1.53	62.00±1.03	61.65±1.34
NCH /pg	25.35±1.19	25.01±1.52	25.59±0.92
NCHC/(g/L)	404.38±13.85	403.5±23.74	415.38±16.52
RDW %	13.61±0.62	13.43±0.43	13.63±0.66
PLT/(G/L)	99.94±19.53	97.63±16.77	109.00±23.38
PCT/(mL/L)	0.51±0.11	0.50±0.08	0.58±0.17
MPV/(fL)	5.06±0.20	4.95±0.16	5.05±0.45
PDW %	43.24±1.04	42.68±0.91	42.85±0.95

注: G: 1×10⁹, T: 1×10¹², fL: 1×10¹⁵ L n= 8 mean±SEM. * p<0.05 vs control group

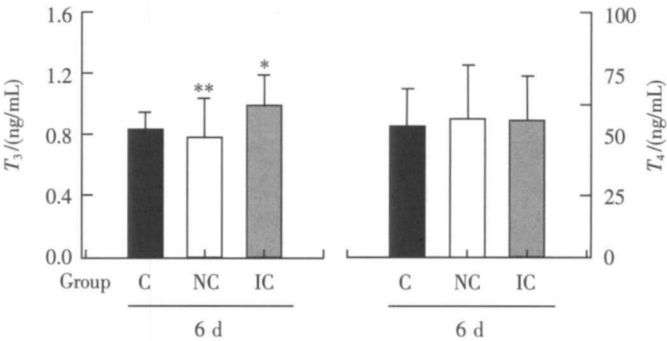
2.2 免疫初乳对大鼠血浆几种激素水平的影响

在大鼠实验后的第 6 天, NC 和 IC 组血浆 Ins 水平极显著高于对照组 (图 1). 由图 2 所示, IC 组大鼠 T₃ 水平显著高于对照组, NC 组与对照组差异不显著, 而在整个实验期, 大鼠血浆 T₄ 水平各组间无显著差异.



Data are presented as mean ± SEM, n=8.
**p<0.01 vs control group

图 1 免疫初乳对大鼠血浆 Ins 水平的影响
Fig.1 Effect of immune colostrums on plasma insulin level in rats



Data are presented as mean ± SEM, n=8. *p<0.05 vs control group

图 2 免疫初乳对大鼠血浆 T₃、T₄ 水平的影响

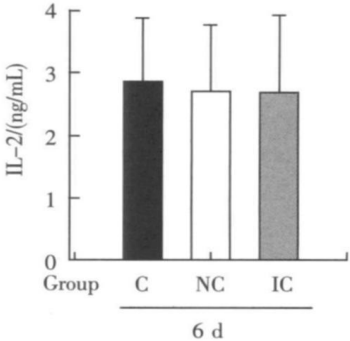
Fig.2 Effects of immune colostrums on plasma T₃ and T₄ levels in rats

2.3 免疫初乳对大鼠血浆 IL-2 水平的影响

图 3 显示, 在整个实验期, 各组间大鼠血浆 IL-2 水平无显著差异.

3 讨论

在机体血液免疫机能中, 中性粒细胞对机体具有非特异性防御和保护作用, 当机体内局部组织发生炎症时, 血液中的中性粒细胞就会大量增加并作趋向运动, 通过吞噬作用, 然后被其内的颗粒和溶酶体分解消化^[5]. 本研究显示, 在整个实验期内, IC 组大鼠血细胞中 G n#和 G m 的质量分数显著高于 C、NC 组. 提示免疫初乳可显著活化中性粒细胞, 提高机体血



Data are presented as mean ± SEM, n=8

图 3 免疫初乳对大鼠血浆 IL-2 水平的影响

Fig.3 Effect of immune colostrums on plasma IL-2 level in rats

液非特异性免疫功能.

机体血液中含有的许多内分泌激素如胰岛素 (Ins)、甲状腺激素等, 这些内分泌激素对机体生长发育具有重要的调控作用. 如: Ins水平低下可能是子代生长发育受到抑制的原因之一; 甲状腺激素以 T_3 、 T_4 两种形式存在, 可以互相转换, 保持动态平衡, 其中 T_3 活性生理作用遍及机体全身, 主要体现在调节机体代谢、生长和发育等^[6]. 本研究显示, 在大鼠灌服免疫初乳第 6 天, NC、IC 组血浆中 Ins 水平极显著高于对照组. IC 组血浆中 T_3 水平显著高于对照组, 提示免疫初乳能明显刺激机体的内分泌活动, 进而促进其生长发育和代谢. 这是因为作为纯天然的功能性食品, 免疫初乳除了含有高滴度的特异性免疫球蛋白外, 还含有高于正常初乳水平的一些其他非特异性免疫因子、生长因子以及生长发育所必需的营养物质. 所以, 免疫初乳能对机体一些内分泌激素具有调节作用.

IL-2 是由活化的 T 淋巴细胞产生并促进 T 淋巴细胞生长的因子, IL-2 具有诱导杀伤性 T 细胞 (cytolytic T cell CTL)、LAK 细胞、NK 细胞的分化效应功能^[7], 是反映机体细胞免疫功能的重要指标之一^[8]. 本研究显示, 在整个实验期, 各组间大鼠血清 IL-2 水平无显著差异. 提示免疫初乳在调节正常机体 T 淋巴细胞功能活性上没有明显关系.

[参考文献]

- [1] 曹进松. 初乳功能性食品 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2002 1-15.
- [2] Xu L B, Chen L, Gao W, et al. Bovine immune colostrum against seventeen strains of diarrhea bacteria and in vitro and in vivo effects of its specific IgG [J]. Vaccine, 2006, 24(12): 2131-2140.
- [3] 高伟, 陈龙, 许龙兵, 等. 免疫初乳对腹泻大鼠血液免疫细胞活性和免疫介质调节作用研究 [J]. 食品科学, 2009, 30(7): 239-242.
- [4] 杨廷彬, 尹学念. 实用免疫学 [M]. 长春: 长春出版社, 1994 31-45.
- [5] 南京农学院. 家畜病理生理学 [M]. 北京: 北京农业出版社, 1995 14-310.
- [6] 陈守良. 动物生理学 [M]. 北京: 北京大学出版社, 1996 215-242.
- [7] 金伯泉. 细胞和分子免疫学 [M]. 2 版. 北京: 科学出版社, 2001, 133-139.
- [8] Domzig W, Stadler BM, Herberman R B. Interleukin 2 dependence of human natural killer(NK) activity [J]. J Immunol 1983, 130(4): 1970-1973.

[责任编辑: 孙德泉]