

# 中草药免疫增强剂对鸡 T-淋巴细胞数量的影响<sup>\*</sup>

史秋梅

(河北科技师范学院 动物科学系, 河北 昌黎 066600)

**[摘要]** 为探讨中草药免疫增强剂的作用机理, 进行了鸡 T 淋巴细胞数量的动态观察。将 240 只 1 日龄雏鸡随机分为 3 组: 1 组为对照组, 其余 2 组分别饮用 10 和 5 mL/L 中草药免疫增强剂 48 d, 采用  $\alpha$  醋酸萘酯酶染色 (ANAE) 法检测了 12, 24, 36 和 48 日龄各组鸡血液中 T-淋巴细胞数量。结果显示, 饮用中草药免疫增强剂后, T-淋巴细胞百分率较对照组显著提高, 且 10 mL/L 中草药免疫增强剂组 T-淋巴细胞百分率较 5 mL/L 组显著提高。并运用组织学常规切片技术和 ANAE 法, 观察了 10 mL/L 中草药免疫增强剂组和对照组在 14 和 21 日龄时鸡小肠黏膜淋巴组织中 T 淋巴细胞的数量分布。结果显示, 10 mL/L 中草药免疫增强剂组鸡小肠的 T 淋巴细胞数量与对照组相比差异显著。上述结果表明, 该免疫增强剂对鸡 T-淋巴细胞数量有显著的提高作用, 且 10 mL/L 组的效果优于 5 mL/L 组。

**[关键词]** 中草药免疫增强剂; T-淋巴细胞;  $\alpha$  醋酸萘酯酶染色法; 组织学

**[中图分类号]** S859.7

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-9387(2005)07-0021-04

T-淋巴细胞(即胸腺依赖性淋巴细胞)来源于骨髓的多能干细胞, 多能干细胞中的部分淋巴细胞进入胸腺后, 在胸腺素的诱导下, 经过 10~30 d 的分化、增殖, 成为成熟的 T-淋巴细胞。成熟的 T-淋巴细胞经血流分布至外周免疫器官, 有的在淋巴结胸腺依赖区定居, 这部分细胞占淋巴细胞总数的 75% 左右; 有的在脾脏定居, 分布于白髓中央小动脉周围, 这部分细胞占淋巴细胞总数的 25% 左右, 并反复经血液-组织-淋巴-血液, 再循环周游全身, 以发挥淋巴细胞的免疫功能和免疫调节作用<sup>[1]</sup>。免疫功能直接影响着动物的抗病力和接种疫苗后的免疫效果, 动物机体免疫功能的高低与机体的 T、B 淋巴细胞数量关系密切。一般认为, T-淋巴细胞的功能主要有以下几方面: 产生细胞免疫作用或迟发型变态反应; 使宿主对移植物或肿瘤产生排斥作用; 溶解细胞和毒细胞的作用; 增强或扩大免疫反应; 帮助 B-淋巴细胞产生抗体; 抑制由于免疫作用增强而对机体产生的损伤。因此, T-淋巴细胞数量的增加反映了机体免疫力的提高。

现已证明, 很多物质如弗氏佐剂、左旋咪唑、细胞因子等, 均能够通过自己独特的方式增加机体 T、B 淋巴细胞的数量, 以起到免疫调节作用, 但都有一定的副作用。大量资料<sup>[2~6]</sup>表明, 一些中草药及复方

制剂能够明显提高机体 T-淋巴细胞的数量, 有助于免疫调节作用的发挥。戴远威等<sup>[7]</sup>分别在雏鸡日粮中添加何首乌、补骨脂, 结果试鸡血液中 T 淋巴细胞百分率显著或极显著升高。王超英等<sup>[8]</sup>将黄芪等 10 种天然药物加工成粉末, 按 20~30 g/kg 添加到饲料中饲喂雏鸡, 在用药后第 3, 5, 7, 10 周检测 T-淋巴细胞 E 花环形成率、B 淋巴细胞花环形成率等, 结果显示, 大多数中药试验组上述指标值较对照组显著或极显著增加。胡庭俊等<sup>[9]</sup>在使用禽霍乱疫苗进行免疫时, 配合使用 8301 多糖肌注试验鸡, 结果与单用禽霍乱疫苗免疫鸡相比, 多糖能显著提高鸡外周血淋巴细胞转化率, 与正常淋巴转化率比较差异极显著, 表明 8301 多糖能增强鸡的细胞免疫功能, 提高禽霍乱疫苗免疫力。本试验研制了由黄芪、白花蛇舌草、党参、茯苓、猪苓、甘草组成的中药免疫增强剂饮水剂型, 探讨了该中草药免疫增强剂对鸡外周血中及小肠中 T-淋巴细胞数量的影响, 旨在为中草药免疫增强剂的临床应用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂与仪器

淋巴细胞分层液,  $\alpha$  醋酸萘酯, 六偶氮副品红溶液, 甲醛-丙酮缓冲液, 甲醛-钙固定液, 磷酸盐缓冲

<sup>\*</sup> [收稿日期] 2004-11-08

[基金项目] 秦皇岛市科技局基金项目(秦科技 2003-30-35)

[作者简介] 史秋梅(1965-), 女, 河北乐亭人, 副教授, 在读博士, 主要从事动物传染病学研究。

液(pH 7.6);MB5-5 数码生物显微成像系统等。

### 1.2 中草药免疫增强剂

由黄芪 5 g,白花蛇舌草 2 g,党参 2 g,茯苓 0.5 g,猪苓 0.5 g,甘草 0.5 g 组成,所有草药均购自河北省安国市中药材医药公司,质量均符合中华人民共和国兽药典(2000 版)<sup>[10]</sup>标准,水煎制成每毫升含原生药 1 g 的水剂。

### 1.3 试验动物

海兰褐蛋雏鸡,由河北科技师范学院畜牧场提供,1 日龄时将 240 只健康海兰褐蛋雏鸡随机分成 3 组,每组 80 只。I 组、II 组分别按 10 和 5 mL/L 全天饮用中草药免疫增强剂,连续饮用 48 d,另设不饮中草药免疫增强剂为对照组。分别于 12、24、36 和 48 日龄时检测鸡血液中 T 淋巴细胞数量;在试验 14 和 21 日龄时分别取 10 mL/L 中草药免疫增强剂组和对照组的鸡小肠制成组织切片,进行组织学观察。

### 1.4 血液中淋巴细胞的 $\alpha$ 醋酸萘酯酶反应 (ANAE)

血液中淋巴细胞的分离、制片、固定、染色等均按文献[2]的方法进行。

### 1.5 结果判定

经染色后,淋巴细胞可分为 2 大类,即酯酶染色阳性细胞和酯酶染色阴性细胞。阳性细胞形态为圆形,胞质少,胞核为绿色大圆形,胞质边缘及其他部位有 1 个或多个粗大的红色或棕红色颗粒。阴性细

胞也如上述,但无明显的着色颗粒。油镜下观察 200 个淋巴细胞,计算 T 淋巴细胞 ANAE 阳性细胞百分率。

### 1.6 小肠组织学常规切片和 $\alpha$ 醋酸萘酯酶染色 (ANAE)

按文献[2,11]介绍的方法进行。每次每组取 5 只鸡,每只鸡分别取其十二指肠、空肠组织块做 5 张切片。每个切片观察 10 个视野,每张切片观察 10 个面积,面积定为 8 cm $\times$ 8 cm。计算组内个体间淋巴细胞的平均值。

### 1.7 统计方法

采用方差分析和多重比较法。

## 2 结果与分析

### 2.1 中草药免疫增强剂对鸡血液中 T-淋巴细胞数量的影响

由表 1 可以看出,饮用中草药免疫增强剂 12 d 后(即鸡 12 日龄时),试验 I 组 T-淋巴细胞百分率显著高于对照组,但 I 组与 II 组、II 组与对照组间差异不显著( $P>0.05$ )。在鸡 24 和 36 日龄时,I 组 T-淋巴细胞百分率显著高于对照组和 II 组,试验 II 组与对照组间差异也达显著水平( $P<0.05$ )。在鸡 48 日龄时,I 组 T-淋巴细胞百分率极显著( $P<0.01$ )高于对照组和 II 组,II 组极显著( $P<0.01$ )高于对照组。淋巴细胞酯酶染色的阳性淋巴细胞和阴性淋巴细胞见图 1 和图 2。

表 1 中草药免疫增强剂对鸡血液中 T-淋巴细胞百分率的影响

Table 1 Effect of Immunopotentiator on the Percentage of T Lymphocyte in blood of chicken

| 分组 Groups | 鸡龄/d Age           |                   |                   |                   |
|-----------|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
|           | 12                 | 24                | 36                | 48                |
| CK        | 0.15 $\pm$ 0.02 a  | 0.18 $\pm$ 0.02 a | 0.19 $\pm$ 0.02 a | 0.21 $\pm$ 0.09 A |
| I         | 0.22 $\pm$ 0.05 b  | 0.35 $\pm$ 0.05 c | 0.36 $\pm$ 0.05 c | 0.39 $\pm$ 0.05 C |
| II        | 0.18 $\pm$ 0.04 ab | 0.23 $\pm$ 0.05 b | 0.23 $\pm$ 0.04 b | 0.28 $\pm$ 0.05 B |

注: 同列数据后标不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ ), 标不同大写字母表示差异极显著( $P<0.01$ )。下表同。

Note: Marking different small letter after data expressed significant difference ( $P<0.05$ ), big letter expressed polarly significant difference ( $P<0.01$ ). The following table is the same

### 2.2 鸡小肠切片组织学形态观察

在光学显微镜下(10 $\times$ 目镜,100 $\times$ 油镜)观察鸡小肠(十二指肠与空肠)组织学结构,发现试验 I 组鸡的小肠皱襞组织结构由内向外依次为黏膜层、黏膜下层、肌层和浆膜层,小肠绒毛大小不等,呈指状突起,向内突入肠腔。经免疫组织化学染色后,小肠绒毛中部和固有层内可以看到许多免疫细胞,细胞

呈圆形或椭圆形,细胞质呈棕褐色,细胞核呈蓝色。而对照组细胞质呈阴性。

### 2.3 鸡小肠中 T 淋巴细胞观察

由表 2 可知,试验 I 组鸡在 14 和 21 日龄时,小肠中 T-淋巴细胞数量显著高于对照组( $P<0.05$ )。

试验 I 组和对对照组鸡小肠中 T-淋巴细胞观察结果见图 3~ 图 5。

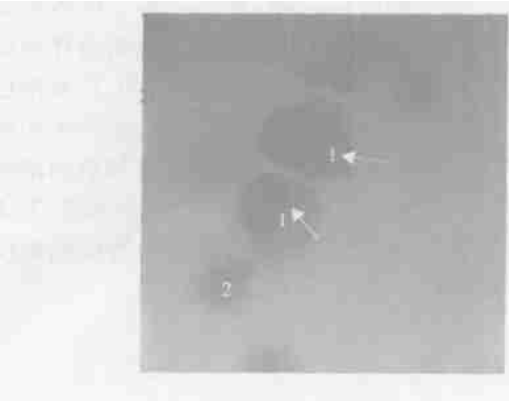


图 1 酯酶染色淋巴细胞  
(箭头所指为酯酶染色颗粒)  
Fig 1 ANAE stain T lymphocyte  
(the A rrow indicates ANAE granules)

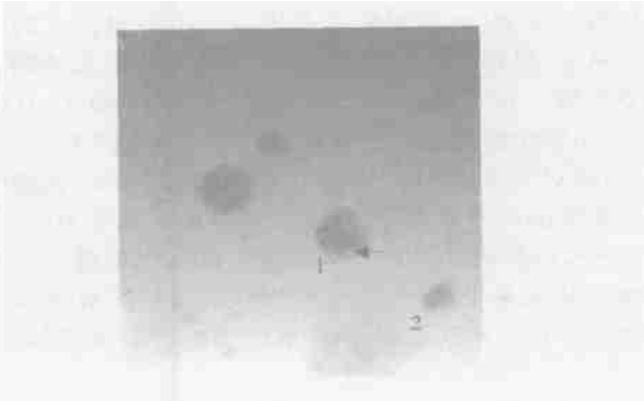


图 2 酯酶染色淋巴细胞  
(箭头所指为酯酶染色颗粒)  
Fig 2 ANAE stain T lymphocyte  
(the A rrow indicates ANAE granules)



图 3 对照组 14 日龄鸡小肠中的  
T 淋巴细胞(10×100)  
Fig 3 Control 14 d T lymphocyte of  
small intestine(10×100)



图 4 试验 I 组 14 日龄鸡小肠中的  
T 淋巴细胞(10×100)  
Fig 4 I group 14 d T lympho-  
cyte of small intestine(10×100)

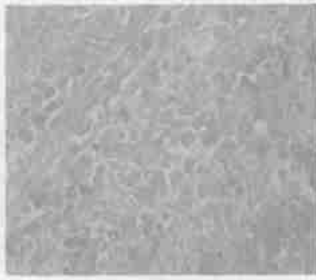


图 5 试验 I 组 21 日龄鸡小肠中的  
T 淋巴细胞(10×100)  
Fig 5 I group 21 d T lymphocyte of  
small intestine(10×100)

表 2 鸡小肠中 T 淋巴细胞数比较( $\bar{x} \pm SD$ )

| 组别<br>Group | 鸡龄/d Age      |              |
|-------------|---------------|--------------|
|             | 14            | 21           |
| CK          | 24 54±2 71 a  | 25 45±2 80 c |
| I           | 44 87±10 76 b | 45 57±6 18 b |

2 4 鸡小肠绒毛中单核细胞观察

在试验 I 组 14 日龄的鸡小肠绒毛中, 所观察视野内单核细胞的个数平均为 64 个, 21 日龄鸡小肠绒毛中单核细胞平均为 63 个, 而对照组平均只有 22 个, 表明中草药免疫增强剂对鸡小肠的单核细胞也有增加作用。

3 讨 论

3 1 中草药免疫增强剂对鸡血液中免疫细胞数量的影响

在家禽体内的免疫活性细胞中, T 淋巴细胞的数量及其分泌淋巴液的量, 以及淋巴因子的功能, 直接决定了机体细胞免疫的效果。因此, T 淋巴细胞的多少是机体全身免疫机能强弱的一个具体表现。本

研究中, 试验 I 组和 II 组鸡 12 日龄时, 血液中免疫细胞数量差异不显著, 试验 II 组与对照组间差异也不显著, 这可能是由于饮用免疫增强剂的时间太短, 药物在体内尚未达到一定浓度, 或与免疫增强剂还未充分激活机体的免疫系统有关。但在 12 日龄以后, 试验 I 组和 II 组鸡的体内 T-淋巴细胞数量呈明显上升趋势。至 24 日龄时, 各组间有明显差异, 尤其在 48 日龄时, 各组间差异达极显著水平。这充分说明试验用免疫增强剂能明显提高鸡机体的 T-淋巴细胞数量, 而且 T-淋巴细胞数量与饮用免疫增强剂的浓度呈正相关。

研究<sup>[12~14]</sup>表明, 黄芪多糖具有促进胸腺发育、延缓胸腺萎缩、提高机体 T-淋巴细胞数量、维持机体特异性与非特异性免疫功能的作用。本试验将含有黄芪、党参、甘草等中草药的免疫增强剂给鸡饮用 48 d, 明显提高了鸡体内的 T-淋巴细胞数量。

3 2 中草药免疫增强剂对鸡黏膜免疫细胞数量的影响

家禽黏膜部位有特异的具有调节或效应功能的

T-淋巴细胞<sup>[1]</sup>, 黏膜免疫系统为一个相对独立的免疫系统。机体在正常状态下, 黏膜是预防病原体的主要屏障。在本试验中, 试验 I 组鸡在 14 和 21 日龄时, 小肠中淋巴细胞的平均数分别为 44.87 和 45.57 个, 较对照组的 24.54 和 25.45 个明显增多。试验组的单核细胞分别为 64 和 63 个, 对照组分别为 22 和 21 个, 也有明显差异。这表明中草药免疫增强剂对鸡小肠绒毛中 T 淋巴细胞及单核细胞的数量均有增加作用。小肠黏膜中 T 淋巴细胞的数量增加, 有

效地加强了黏膜的屏障作用, 从而提高了机体的免疫力。单核细胞能非特异性地吞噬侵入畜禽体内的病原体和有害异物, 而且能将抗原递呈给 T、B 淋巴细胞, 从而参与机体的特异性免疫应答。近年来的研究<sup>[15~18]</sup>发现, 许多中草药都能促进免疫细胞的增殖分化, 促使淋巴细胞数量增加, 特别是有助于 T、B 淋巴细胞数量的增多, 从而可增强动物的细胞免疫和体液免疫功能。

### [参考文献]

- [1] 王世若, 王兴龙, 韩文瑜. 现代动物免疫学[M]. 第 2 版. 吉林: 吉林科学技术出版社, 2001. 183- 206; 516- 517.
- [2] 张庆茹. 中草药免疫促进作用的研究发展[J]. 中兽医医药志, 1997, (5): 15.
- [3] 丁巧铃, 柴家前. 中草药免疫研究概述[J]. 黑龙江畜牧兽医, 1998, (7): 43- 44.
- [4] 翟少钦, 王天益, 程安春, 等. 增免灵对鸭腺病毒蜂胶复合佐剂灭活疫苗的免疫增强作用[J]. 中国兽医杂志, 2003, 39(3): 36- 39.
- [5] 陈少莺, 俞伏松. 免疫增强剂在畜禽免疫中的应用[J]. 福建畜牧兽医, 1995, (3): 14- 15.
- [6] 张秋君, 刘旭东, 康志永, 等. 增免散对鸡免疫功能和增重的影响[J]. 中国兽医杂志, 2002, 38(1): 34- 35.
- [7] 戴远威, 江青艳, 傅伟龙, 等. 补益中药提取物对雏鸡免疫功能的影响[J]. 中兽医学杂志, 1997, 23(2): 2- 5.
- [8] 王超英, 柳纪省, 白银梅, 等. 天然药物免疫增强剂配方的筛选[J]. 中国兽医科技, 1999, 29(1): 32- 33.
- [9] 胡庭俊, 樊斌堂, 袁永隆, 等. 8301 多糖及其配合禽霍乱菌苗对鸡淋巴细胞转化率的影响[J]. 中兽医学杂志, 1996, (4): 12- 14.
- [10] 中国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药典[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000. 85- 256.
- [11] 沈 萍. 东亚蛇蝎毒腺组织学与组织化学研究[J]. 中国兽医科技, 1998, 28(6): 26- 27.
- [12] 安云庆, 解培英, 李玉英, 等. 中药本草九代对小鼠血清生物活性及 T、B 细胞增殖和分化的影响[J]. 中国免疫学杂志, 1998, 14(5): 360- 362.
- [13] 姜世金. 泰山灵芝提取物对雏鸡免疫功能影响的研究[D]. 山东: 山东农业大学, 1997.
- [14] 程朝朝, 张春杰, 李银聚, 等. 中药免疫增强剂对肉仔鸡免疫器官生长发育及免疫活性细胞影响的研究[J]. 中兽医杂志, 2002, (3): 6- 8.
- [15] 张乐翠, 王金宝, 孙月平, 等. 复方中药多糖对鸡免疫器官形态学的影响[J]. 中国兽医科技, 1998, 28(8): 26- 28.
- [16] 魏 萍, 李庆章, 郝艳红. 黄芪多糖和香菇多糖对 VAMV 感染雏鸡免疫器官 LPO 含量的影响[J]. 中兽医医药杂志, 1999, (3): 4- 7.
- [17] 李 繁, 谢明权, 林辉环, 等. 免疫增强剂对鸡球虫体液免疫指标的影响[J]. 中国兽医杂志, 2000, 36(8): 9- 11.
- [18] 张乐翠, 王金宝, 孙月平, 等. 新城疫多糖佐剂油乳剂苗对鸡免疫器官发育的影响[J]. 中国兽医学报, 1998, 18(4): 378- 381.

## Effect of immunopotentiator on the quantity of T lymphocyte in chicken

SHI Qiu-mei

(Department of Animal Science, Hebei Normal College of Science & Technology, Changli, Hebei 066600, China)

**Abstract:** In order to discuss the mechanism of immunopotentiator, the quantity of T lymphocyte was observed. Two hundred and forty 1-day-old chicken were divided into 3 groups randomly: one contrast group and two groups fed immunopotentiator with the concentration of 10 and 5 mL/L for 48 days. The number of T lymphocyte were tested in blood with ANA E at 12, 24, 36, 48 d. The results showed that the percent of T lymphocyte in trial group was higher than the contrast group and that of the 10 mL/L group higher than that of 5 mL/L group; And the quantity distributions of T lymphocyte in intestinal mucosa lymphoid tissue on 14-day-old, 21-day-old chicken of the contrast group and 10 mL/L group with the method of normal histology-slices and ANA E were observed. The results showed that the quantity of T lymphocyte in the 10 mL/L group was much higher than that of the contrast, which indicated that immunopotentiator advanced markedly the quantity of T lymphocyte and 10 mL/L group produced better result than 5 mL/L group.

**Key words:** immunopotentiator; T lymphocyte; ANA E; histology