

硒对山羊细胞免疫功能的影响

李引乾¹, 王建华¹, 靳亚平¹, 沈文正^{1,2}, 马勇江^{1,3}

(1 西北农林科技大学 动物医学院, 陕西 杨凌 712100; 2 杨凌职业技术学院 动物工程系, 陕西 杨凌 712100;
3 华南农业大学 兽医学院, 广东 广州 510642)

【摘要】 **【目的】**探讨硒对山羊细胞免疫功能的影响。**【方法】**12只试验羊随机分为4组,分别灌服0.3、0.5和0.7 mg/kg的硒以及1 mL/kg的蒸馏水,每周1次,连续3周,检测硒对山羊外周血单个核细胞(Peripheral blood mononuclear cell, PBMC)的活化作用。无菌分离未服硒山羊 PBMC,分别加入4、8、12和16 $\mu\text{g/mL}$ 亚硒酸钠进行体外培养,检测硒在体外对PBMC的活化作用及其分泌IL-2的影响。**【结果】**山羊灌服0.7 mg/kg硒2周后及灌服0.5 mg/kg硒3周后,其PBMC对PHA刺激的反应性显著提高。8~16 $\mu\text{g/mL}$ 亚硒酸钠在体外培养中可显著促进山羊PBMC的活化,且呈剂量依赖关系,4 $\mu\text{g/mL}$ 亚硒酸钠对PBMC的活化作用较弱,与对照组间差异不显著;山羊PBMC体外培养时,加入8~12 $\mu\text{g/mL}$ 亚硒酸钠可显著促进山羊PBMC的IL-2分泌,4和16 $\mu\text{g/mL}$ 亚硒酸钠虽能诱导PBMC分泌IL-2,但与对照组差异不显著。**【结论】**山羊灌服一定量的硒,可显著提高其免疫细胞对抗原刺激的反应性。亚硒酸钠在一定质量浓度范围内可显著促进山羊PBMC的活化,且能促进其IL-2分泌。

【关键词】 硒;山羊;外周血单个核细胞(PBMC);细胞免疫

【中图分类号】 S852.4;O613.52

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2008)03-0049-05

Influence of selenium on cellular immune function in goats

LI Yin-qian¹, WANG Jian-hua¹, JIN Ya-ping¹, SHEN Wen-zheng^{1,2}, MA Yong-jiang^{1,3}

(1 College of Veterinary Medicine, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Department of Animal engineering, Yangling Vocational and Technical College, Yangling, Shaanxi 712100, China;

3 College of veterinary medicine, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642, China)

Abstract: **【Objective】** The study is to observe the influence of selenium on cellular immune function in goats. **【Method】** 12 goats were grouped into 4 groups and were treated with 0.3, 0.5, 0.7 mg/kg of selenium and 1 mL/kg of distilled water orally respectively. The peripheral blood mononuclear cells (PBMC) were aseptically isolated from goats not treated by selenium and cultured in vitro in media containing sodium selenite respectively at the levels of 4, 8, 12 and 16 $\mu\text{g/mL}$, and then their in vitro activation and IL-2 levels were tested. **【Result】** PBMC from goats 2 weeks after oral administration with 0.7 mg(Se)/kg or 3 weeks after oral administration with 0.5 mg (Se)/kg could be significantly stimulated by PHA-P. 8—16 $\mu\text{g/mL}$ sodium selenite could significantly activate goat PBMC in vitro in a dose-dependent manner, and 4 $\mu\text{g/mL}$ sodium selenite also activated goat PBMC but not significantly in comparison to control group (0 $\mu\text{g/mL}$ sodium selenite). The in vitro secretion of IL-2 by goat PBMC was significantly promoted by 8—12 $\mu\text{g/mL}$ sodium selenite but not significantly by 4 and 16 $\mu\text{g/mL}$ sodium selenite. **【Conclusion】** Oral administration with a certain amount of Se could sensitize the response of goat immunocytes to antigen. Sodium selenite within certain range of doses could dose-dependently stimulate the secretion of IL-2 by goat PB-

* [收稿日期] 2007-03-19

[基金项目] 国家自然科学基金项目(39970544)

[作者简介] 李引乾(1962—),男,陕西岐山人,副教授,博士,主要从事兽医药理学与免疫学研究。

[通讯作者] 王建华(1948—),男,河南南阳人,教授,博士,博士生导师,主要从事临床兽医学研究。

MC.

Key words: selenium; goat; peripheral blood mononuclear cells (PBMC); cellular immunity

硒是人和动物所必须的微量元素之一,具有重要的生物学价值。硒对人和动物的影响是多方面的,如硒与肿瘤的关系,硒与心血管疾病的关系,硒与抗衰老的关系,硒与动物免疫的关系,硒对镉、砷、银等重金属的颉颃作用,硒与动物繁殖力的关系等^[1]。有关硒对动物和人免疫功能影响的研究始于 20 世纪 70 年代,并且越来越受到人们的重视。在人^[2]、绵羊^[3]、小鼠^[4]、大鼠、猪、鸡等多种动物上已经证实,硒可以从多方面影响机体的免疫功能。机体缺硒时,T、B 淋巴细胞增殖分化以及对丝裂原的反应受到抑制,淋巴细胞分泌的细胞因子减少,T 细胞和自然杀伤细胞(Natural killer cell,NK)在体外杀伤癌细胞的能力下降,吞噬细胞的吞噬功能和杀灭病原体的能力受到严重影响,机体抗病能力和生产力明显降低,补给适量的硒则可以提高机体的免疫功能^[5]。硒对动物免疫功能影响的研究,在人及实验动物报道较多^[1-4],在畜、禽上的报道相对较少,特别是硒对山羊外周学单个核细胞(The peripheral blood mononuclear cells,PBMC)活化的影响,尚未见报道。为此,本试验通过研究硒对山羊 PBMC 的活化及对 PBMC 分泌 IL-2 的调节作用,探讨了硒对山羊细胞免疫功能的影响,并确定了硒对山羊 PBMC 的活化剂量,以期在调节动物免疫功能方面的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试剂 IL-2 依赖细胞株(cloned mouse cytotoxic T lymphocytic line,CTLL),购于第四军医大学免疫学教研室;淋巴细胞分离液,密度(1.077 ± 0.001) g/L,上海精华公司产品;亚硒酸钠(Na_2SeO_3),化学纯,西安化学试剂厂生产,批号:20010406;2,3-二氨基萘(2,3-diaminonaphthalene,DAN)、MTT、十二烷基磺酸胺(SDS)、二甲基甲酰胺(DMF)、RPMI 1640 培养基和 PHA-P 等,均为美国 SIGMA 公司产品。

MTT 应用液、RPMI 1640 培养液、完全培养液(CM)、SDS-DMF 缓冲液、HBSS 液等,均按参考文献[6]的方法配制。

1.1.2 仪器设备 DG5030 型酶标仪,南京华东电子集团公司生产;96 孔细胞培养板,美国 Sigma 公

司产品;WJ-60 型 CO_2 培养箱,上海益恒实验仪器有限公司生产;791 型磁力加热搅拌器,上海南汇电讯器材厂生产;LD4-2 型水平离心机,北京医用离心机厂生产;XSP-186 型显微镜,上海江南光学仪器厂生产。

1.1.3 试验动物 关中成年奶山羊,购于陕西省杨陵区揉谷乡。试验前观察 2 周,临床检查健康者用于试验,共 12 只。

1.2 试验方法

1.2.1 动物分组及处理 将试验羊分为试验 I、II、III 组和对照组,每组 3 只。I、II、III 3 组羊分别灌服 0.3、0.5 和 0.7 mg/kg 硒(亚硒酸钠溶液),对照组灌服 1 mL/kg 蒸馏水。每周 1 次,连续 3 周。给药后每天观察动物的临床症状,试验结束后将动物剖检,观察有无病理变化。

1.2.2 山羊血样的采集及处理 给药前采血 5 mL 作为空白对照。每次灌服硒 24 h 后,颈静脉采血 5 mL,肝素钠抗凝, $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 保存,用于血硒浓度测定。灌服硒后每周采血 1 次,连续 3 周,肝素钠抗凝,用于分离羊 PBMC。

1.2.3 山羊血硒含量的测定 以荧光分光光度法-2,3-二氨基萘法^[7]测定山羊全血硒含量。

1.2.4 山羊 PBMC 的分离 采用常规方法,用淋巴细胞分离液从山羊抗凝血中分离 PBMC。20 g/L 台盼蓝染色检查细胞活率。活力在 95% 以上者,以 RPMI 1640 培养液配成最终浓度为 $1 \times 10^6\text{ mL}^{-1}$ 的 PBMC 悬液^[6]。

1.2.5 硒对山羊 PBMC 活化的影响 将分离得到的对照组及试验组山羊的 PBMC 以 CM 调成 $2 \times 10^6\text{ mL}^{-1}$ 悬液,在 96 孔细胞培养板上按下述方法进行活化试验。试验组和对照组每孔加入 PBMC 悬液和 PHA-P 应用液各 100 μL ;阴性对照每孔加对照组的 PBMC 100 μL ,CM 100 μL ;空白对照每孔加 CM 200 μL 。置细胞培养板于 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 、体积分数 5% CO_2 、饱和湿度培养箱中培养 66 h,取出各孔加入 MTT 应用液 25 μL ,继续孵育至 72 h,取出各孔加入 SDS-DMF 缓冲液 100 μL 。 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 孵育过夜,于 570 nm 波长处以空白对照调零,测定 OD_{570} 值,计算刺激指数(Stimulation Index, SI): $\text{SI} = \text{试验组孔 } OD_{570} \text{ 值} / \text{阴性对照孔组 } OD_{570} \text{ 值}$ 。每组试验均设 3 个重复。

1.2.6 硒对山羊 PBMC 体外活化的影响 按 1.2.4 的方法分离对照组山羊 PBMC,以 CM 调细胞浓度至 $2\times 10^6\text{ mL}^{-1}$,按每孔 $100\text{ }\mu\text{L}$ 加于 96 孔细胞培养板。试验设 A、B、C、D 4 个试验组,分别加入 4,8,12 和 $16\text{ }\mu\text{g/mL}$ 亚硒酸钠溶液 $100\text{ }\mu\text{L}$ 于各孔中,以加入 PHA-P 为阳性对照(E 组),以加入 CM 为阴性对照(F 组),并设不含任何细胞的 CM($200\text{ }\mu\text{L}$)孔作为空白对照。以上所有试验每组设 3 个重复。按 1.2.5 的方法进行培养。在培养至 66 h 时,免振小心吸取各孔培养上清液 $150\text{ }\mu\text{L}$, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,用于测定 IL-2。然后向各孔加入 MTT 应用液 $25\text{ }\mu\text{L}$,继续孵育至 72 h,取出各孔加入 SDS-DMF 缓冲液 $100\text{ }\mu\text{L}$ 。 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,以空白对照调零,于 570 nm 波长处测定 OD_{570} 值,计算刺激指数(SI)。

1.2.7 硒对山羊 PBMC 体外分泌 IL-2 的影响 参

考文献[6],用生物学方法测定 IL-2 的表达量,反应细胞为 IL-2 依赖细胞株(CTLL)。在 96 孔培养板中每孔加 $100\text{ }\mu\text{L}$ 待测样品,再加 $100\text{ }\mu\text{L}$ 洗涤后的 CTLL(浓度为 $1\times 10^6\text{ mL}^{-1}$),置 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ CO_2 培养箱中培养 $22\sim 24\text{ h}$,取出每孔加入 $20\text{ }\mu\text{L}$ MTT 继续培养 $6\sim 8\text{ h}$ 后,加 $50\text{ }\mu\text{L}$ SDS-DMF。每孔均设 3 个重复,以 CM 培养液为对照。以对照组调零,用酶标仪测定 OD_{570} 值。

1.2.8 数据处理及统计分析 采用 SPSS 软件(SPSS V12.0 版)进行基本统计分析,数据以平均数±标准差表示($\bar{X}\pm SD$)。

2 结果与分析

2.1 山羊全血硒含量的测定结果及临床症状观察 山羊全血硒含量的测定结果见表 1。

表 1 山羊全血硒含量的测定结果($n=3$)
Table 1 Concentration of whole blood selenium in goats $\mu\text{g/mL}$

周次 Week	血硒含量 Concentration of selenium in blood			
	对照组 Control group	试验Ⅰ组 Group I	试验Ⅱ组 Group II	试验Ⅲ组 Group III
0	$0.088\pm 0.017\text{ a}$	$0.091\pm 0.019\text{ a}$	$0.086\pm 0.012\text{ a}$	$0.079\pm 0.015\text{ a}$
1	$0.083\pm 0.018\text{ aA}$	$0.148\pm 0.021\text{ bAC}$	$0.198\pm 0.016\text{ cBD}$	$0.258\pm 0.029\text{ dB}$
2	$0.078\pm 0.014\text{ A}$	$0.167\pm 0.016\text{ aB}$	$0.217\pm 0.020\text{ bBC}$	$0.274\pm 0.025\text{ cC}$
3	$0.090\pm 0.012\text{ A}$	$0.179\pm 0.022\text{ aB}$	$0.231\pm 0.026\text{ bBC}$	$0.289\pm 0.024\text{ cC}$

注:同行数据后标不同小写字母者表示差异显著($P<0.05$),标不同大写字母者表示差异极显著($P<0.01$)。下表同。
Note:saml letters following numbers show significant difference($P<0.05$),and capital letters following numbers show extremely significant difference ($P<0.01$). The following tables are the same.

由表 1 可知,试验前各组山羊血硒浓度差异不显著;试验期间,同期试验组血硒浓度显著或极显著高于对照组。试验组间血硒浓度也存在显著差异:第 1 周时,Ⅲ组显著高于Ⅱ组,Ⅱ组极显著高于Ⅰ组;第 2 周和第 3 周时,Ⅲ组显著高于Ⅱ组,Ⅱ组显著高于Ⅰ组。

在试验中未观察到山羊出现临床中毒症状,剖检后也未观察到组织器官有病理变化出现。

2.2 硒对山羊 PBMC 活化的影响

由表 2 可以看出,试验开始前各组山羊之间 SI

值无显著差异,表明山羊细胞免疫功能无差异;服硒 1 周后,试验组山羊细胞免疫水平有所升高,但未达到显著水平;服硒 2 周后,Ⅲ组 SI 值显著高于对照组;服硒 3 周,Ⅱ组和Ⅲ组 SI 值显著高于对照组。说明给山羊灌服 0.5 mg/kg 的硒,每周 1 次,连续 3 周,可显著提高山羊的细胞免疫水平;山羊灌服 0.7 mg/kg 的硒,每周 1 次,连续 2 周,可显著提高山羊的细胞免疫水平。

2.3 硒对山羊 PBMC 体外活化的影响

硒对山羊 PBMC 体外活化的影响结果见表 3。

表 2 硒对山羊 PBMC 活化的影响
Table 2 Result of PBMC activated in goats administered selenium

周次 Week	SI 值 SI value			
	对照组 Control group	试验Ⅰ组 Group I	试验Ⅱ组 Group II	试验Ⅲ组 Group III
0	$2.16\pm 0.23\text{ a}$	$2.12\pm 0.16\text{ a}$	$2.23\pm 0.19\text{ a}$	$2.19\pm 0.21\text{ a}$
1	$2.25\pm 0.19\text{ a}$	$2.28\pm 0.27\text{ a}$	$2.34\pm 0.21\text{ a}$	$2.51\pm 0.33\text{ a}$
2	$2.19\pm 0.27\text{ ab}$	$2.31\pm 0.13\text{ ac}$	$2.40\pm 0.20\text{ ac}$	$2.78\pm 0.10\text{ c}$
3	$2.21\pm 0.17\text{ a}$	$2.36\pm 0.24\text{ ac}$	$2.77\pm 0.15\text{ bc}$	$2.81\pm 0.11\text{ bc}$

表 3 硒对山羊 PBMC 体外活化的影响

Table 3 Result of PBMC of goat activated by sodium selenite in vitro

项目 Item	A 组 Group A	B 组 Group B	C 组 Group C	D 组 Group D	E 组 Group E	F 组 Group F
SI 值 Value of SI	1.21±0.040 acA	1.82±0.095 dB	1.98±0.155 dCB	1.29±0.061 ACb	2.30±0.032 eC	1.00±0.101 aA

由表 3 可知,与阴性对照组(F 组)相比,PHA-P (E 组)可极显著地促进山羊 PBMC 的活化;在体外培养过程中,8~12 $\mu\text{g/mL}$ 的亚硒酸钠(B 组和 C 组)可极显著地促进山羊 PBMC 的活化,16 $\mu\text{g/mL}$ 的亚硒酸钠(D 组)可显著促进山羊 PBMC 的活化;4 $\mu\text{g/mL}$ 的亚硒酸钠虽也能促进 PBMC 的活化,但与对照组间无显著差异。表明在一定范围内,亚硒酸钠对山羊 PBMC 的活化与剂量正相关,但其浓度过高,对 PBMC 的活化作用减弱。

表 4 硒对山羊 PBMC 体外分泌 IL-2 作用的影响

Table 4 Result of secreting IL-2 by goat PBMC stimulated with sodium selenite

组别 Group	A 组 Group A	B 组 Group B	C 组 Group C	D 组 Group D	E 组 Group E	F 组 Group F
OD ₅₇₀ 值 Value of OD ₅₇₀	0.365±0.037 AC	0.419±0.021 aBC	0.530±0.043 bB	0.363±0.044 AC	0.747±0.031 D	0.297±0.013 A

3 讨 论

在本试验剂量范围内给羊灌服硒,可显著提高其血硒水平,同期试验组山羊血硒水平显著高于对照组;试验组间Ⅲ组显著高于Ⅱ组,Ⅱ组显著高于Ⅰ组。在试验中未观察到山羊出现临床中毒症状,剖检后也未观察到组织器官有病理变化出现。表明在 0.3~0.7 mg/kg 剂量下,山羊每周 1 次、连续 3 周灌服硒是安全的。

本试验结果显示,给山羊灌服 0.5 mg/kg 硒,每周 1 次,连续 3 周,可显著提高山羊的细胞免疫水平;给山羊灌服 0.7 mg/kg 硒,每周 1 次,连续 2 周,可显著提高山羊的细胞免疫水平,这与以往在其他试验动物上的试验结果^[8-10]基本一致。表明山羊灌服一定量的硒可显著提高其细胞免疫水平,且在一定的剂量范围内,细胞免疫水平与硒的灌服剂量正相关。

T 淋巴细胞与特异性抗原或非特异性促分裂因子在体外共同培养时,会发生增殖变化^[11]。硒作为一种非特异性刺激因子,给动物补硒可以提高其 PBMC 对有丝分裂原的反应,体外培养液中加入适当的硒也可以促进 PBMC 的活化。有研究表明,将饲喂非缺硒饲料的猪或犬的外周血淋巴细胞(PBL)置于缺硒动物的血浆中培养,会使淋巴细胞对有丝分裂原的反应明显下降^[12]。体外培养缺硒羔羊的外周血 PBL 时,培养液中添加 10 $\mu\text{g/mL}$ 的硒,PBL

2.4 硒对山羊 PBMC 体外分泌 IL-2 作用的影响

由表 4 可知,E 组的 OD₅₇₀ 值极显著高于其他各组,表明 PHA-P 可极显著地促进 IL-2 的分泌;试验 B、C 组与对照 F 组之间有极显著差异,试验 C 组与 A、D 组间有极显著差异,C 与 B 组间有显著差异;A、D 组的 OD₅₇₀ 虽较 F 组升高,但无显著差异。表明在一定剂量(8~12 $\mu\text{g/mL}$) 范围内,亚硒酸钠可极显著地促进山羊 PBMC 分泌 IL-2。

的增殖效应达最高。本试验结果显示,8~12 $\mu\text{g/mL}$ 亚硒酸钠可极显著促进山羊 PBMC 的活化,16 $\mu\text{g/mL}$ 亚硒酸钠可显著地促进山羊 PBMC 的活化,4 $\mu\text{g/mL}$ 亚硒酸钠虽能促进 PBMC 的活化,但与对照组之间无显著差异($P>0.05$)。出现这一结果的原因可能是剂量太低时,硒对 PBMC 的刺激强度不够;剂量太大时,硒对 PBMC 的活化作用减弱。表明在一定范围内,亚硒酸钠对山羊 PBMC 的活化呈剂量依赖关系。

目前,对于硒促进 PBMC 活化的机理还不太清楚。杜立芹等^[13]在研究硒对细胞毒性 T 淋巴细胞(Tc)增殖的影响时认为,硒引起 Tc 克隆增殖的可能机理是:①硒能使细胞膜上 IL-2 受体表达增强,IL-2 与其受体的交互作用增强,从而促进了 TC 的增殖与分化。本试验也得到类似的结果。②硒影响了跨膜或细胞内的信号传递,从而影响 TC 的增殖分化。③在 T 细胞相关基因(CD4、CD8、HLA-RR P³³)的开放阅读框架内,含有 10 个 UGA 密码子,其 RNA 结构中含 AUG(N)mAAA(N)nUGR 的插入序列,这些均与含硒蛋白的编码基因有关,因而推测这些基因除编码糖蛋白外,可能还编码含硒蛋白(即硒能促进某些含硒蛋白的合成),这可能是硒的作用机制之一。IL-2 主要是由 T 细胞,特别是 CD4⁺ T 细胞在受抗原或丝裂原刺激后合成的,B 细胞、NK 细胞及单核-巨噬细胞亦能产生 IL-2。近年来,国外学者对硒和细胞因子的关系研究较多,结果也有

差异。有研究报道,外周血淋巴细胞(PBL)在硒含量为 $10^{-19} \sim 10^{-6}$ mol/mL 条件下培养,其产生 IL-2 的能力增强;在小鼠淋巴细胞体外培养液中加入适量硒也可促进 IL-2 的分泌^[5]。也有研究报道,补硒对 IL-1 和 IL-2 的产生没有影响,只能使淋巴细胞表面 IL-2 受体的表达提早而且增多^[14]。国内的研究报道较少,且认为补硒可以使 IL-1 和 IL-2 的产生明显增多^[15]。本试验结果显示,在一定浓度范围内,亚硒酸钠可极显著促进山羊 PBMC 分泌 IL-2,浓度过高,则会抑制 IL-2 的分泌。

【参考文献】

- [1] 徐辉碧,范汉汉. 生命科学中的微量元素[M]. 北京:中国计量出版社,1991:189-248.
Xu H B, Fan H H. Trace Element in life science [M]. Beijing: China Metrology Publishing House, 1991: 189-248. (in Chinese)
- [2] 杨山钟,季寿琪. 硒对正常人细胞免疫功能的影响[J]. 中国病理生理杂志,1993,9(1):3-5.
Yang S Z, Ji S Q. In vitro study of the effect of selenium on normal human T-lymphocyte functions [J]. Chinese Journal of Pathophysiology, 1993, 99(1): 3-5. (in Chinese)
- [3] Larsen H L, Moksnes K, Vernes C. Influence of selenium on antibody production in sheep [J]. Research Science, 1988, 45: 4-10.
- [4] 杜莹,王晓燕,解清,等. 富硒蛋白对小鼠免疫功能的影响[J]. 中国公共卫生,2006(1):43-45.
Du Y, Wang X Y, Xie Q, et al. Effect of selenium-enriched protein on immune function of mice [J]. China Public Health, 2006(1): 43-45. (in Chinese)
- [5] Kiremidjian S Z, Roy M, Wishe H I, et al. Regulation of cellular immune responses by selenium [M]. Bio Trace Elem Res, 1992, 33: 23.
- [6] 沈关心,周汝麟. 现代免疫学实验技术[M]. 武汉:湖北科学技术出版社,1998.
Shen G X, Zhou R L. Experimental technology of modern immunology [M]. Wuhan: Hubei Science and Technology Press, 1998. (in Chinese)
- [7] 杨咏元,杜保珍. 毛发、粮食、土壤中微量硒的荧光分光光度法[J]. 环境化学,1985,4(4):45-50.
Yang R Y, Du B Z. Fluorescence spectrophotometric method of determining trace-Selenium in hair, food and soil [J]. Environmental Chemistry, 1985, 4(4): 45-50. (in Chinese)
- [8] Yu-Zhang C, James A, Weaver C. et al. Selenium deficiency alters the formation of eicosanoids and signal transduction in rat lymphocytes [J]. Prostaglandins & Other Lipid Mediators, 2002, 70(1-2): 131-143.
- [9] Gao Y Z, Maddox J F, Mastro A M. Selenium deficiency alters the lipooxygenase pathway mitogenic response in bovine lymphocytes [J]. J of Nutrition, 1992, 122(11): 2121-2127.
- [10] 徐辉碧,黄开勋. 硒的化学、生物化学及其在生命科学中的应用[M]. 武汉:华中理工大学出版社,1994:222.
Xu H B, Huang K X. Chemistry and biochemistry of selenium and application in life science [M]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology (HUST) Press, 1994: 222. (in Chinese)
- [11] 崔治中,崔保安. 兽医免疫学[M]. 北京:中国农业出版社,2004.
Cui Z Z, Cui B A. Veterinary immunology [M]. Beijing: Agricultural Publishing House of China, 2004. (in Chinese)
- [12] Finch J M, Turher R J. Effects of selenium and Vitamin E on the immune responses of domestic animals [J]. Research Science, 1996, 60: 97-106.
- [13] 杜立芹,程五凤,史奎雄. 硒与免疫 [J]. 国外医学卫生学分册,1999,26(2):91-94.
Du L Q, Cheng W F, Shi K X. Selenium and immunity [J]. Foreign Medical Sciences (Section of Hygiene), 1999, 26(2): 91-94. (in Chinese)
- [14] Roy M, Kiremidjian S L, Wishe H I, et al. Supplementation with selenium and human immune cell functions [J]. Bio Trace Elem Res, 1994, 41(1-2): 103-114.
- [15] 杜立芹,程五凤,史奎雄,等. 硒对小鼠免疫功能的影响[J]. 上海第二医科大学学报,2000,20(1):29-31.
Du L Q, Cheng W F, Shi K X, et al. Effect of selenium on immune function in immuno-suppressed mice [J]. Acta Universitatis Medicinalis Secundae of Shanghai, 2000, 20(1): 29-31. (in Chinese)