

DOI:CNKI:61-1390/S.20120223.1726.026
网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20120223.1726.026.html>

网络出版时间:2012-02-23 17:26

丙氨酰-谷氨酰胺对建鲤体外培养淋巴细胞增殖的影响

王桂芹¹, 芦洪梅^{1,2}, 韩宇田¹, 牛小天¹,
李子平¹, 赵朝阳³, 秦贵信¹

(1 吉林农业大学 动物科技学院,吉林 长春 130118; 2 长春通威饲料有限公司,吉林 长春 130456;

3 中国水产科学研究院 淡水渔业研究中心,农业部淡水鱼类遗传育种和养殖生物学重点开放实验室,江苏 无锡 214081)

[摘要] 【目的】探讨丙氨酰-谷氨酰胺(Ala-Gln)对免疫抑制和应激建鲤体外培养淋巴细胞增殖的调控作用。【方法】通过对建鲤注射环磷酰胺和皮质醇来建立免疫抑制和应激模型,以注射生理盐水为对照,分离头肾、脾脏和外周血淋巴细胞进行体外培养,测定培养液中不同浓度 Ala-Gln(0.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 和 10.0 mmol/L)对淋巴细胞转化率的影响。【结果】免疫抑制模型及应激模型中,建鲤头肾、脾脏和外周血的淋巴细胞转化率均显著低于对照组($P < 0.05$),Ala-Gln 浓度在 0.0~8.0 mmol/L 时,可以促进免疫抑制建鲤的淋巴细胞增殖($P < 0.05$),在 0.0~6.0 mmol/L 时,可以促进应激建鲤的淋巴细胞增殖($P < 0.05$),随着 Ala-Gln 浓度的进一步增大,淋巴细胞转化率不再继续增大($P > 0.05$)。【结论】Ala-Gln 对离体培养免疫抑制和应激条件下的建鲤淋巴细胞增殖具有明显的促进作用,是有潜力的鱼用抗应激免疫增强剂。

[关键词] 丙氨酰-谷氨酰胺;建鲤;免疫抑制;应激;淋巴细胞

[中图分类号] S942.5

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2012)03-0013-05

Effect of Ala-Gln on lymphocyte proliferation of *Cyprinus carpio* var. Jian *in vitro*

WANG Gui-qin¹, LU Hong-mei^{1,2}, HAN Yu-tian¹, NIU Xiao-tian¹,
LI Zi-ping¹, ZHAO Chao-yang³, QIN Gui-xin¹

(1 College of Animal Science and Technology, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118, China;

2 Changchun Tongwei Feed Limited Company, Changchun, Jilin 130456, China;

3 Key Laboratory of Genetic Breeding and Aquaculture Biology of Freshwater Fishes, Ministry of Agriculture,
Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Science, Wuxi, Jiangsu 214081, China)

Abstract: 【Objective】The effect of Ala-Gln on lymphocytes proliferation of *Cyprinus carpio* var. Jian *in vitro* was investigated by models of immunosuppression and stress. 【Method】Models of immunosuppression and stress were established by injecting cyclophosphamide and cortisol, and the injection of saline was taken as control. Lymphocytes of head kidney, spleen and blood were separated and cultured *in vitro* in media containing different Ala-Gln(0.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 and 10.0 mmol/L), lymphocyte proliferation was determined in different Ala-Gln concentrations of two models. 【Result】Lymphocyte transformation in head Kidney, spleen and blood of control group was higher than that of immunosuppression and stress

* [收稿日期] 2011-09-20

[基金项目] 中国博士后基金项目(200763016);农业部淡水鱼类遗传育种和养殖生物学重点开放实验室开放基金项目(BZ2009-01)

[作者简介] 王桂芹(1968—),女,吉林东辽人,教授,博士,主要从事鱼类营养和饲料学研究。E-mail:wgqjau@yahoo.com.cn

[通信作者] 秦贵信(1956—),男,吉林长春人,教授,博士生导师,主要从事动物营养与饲料学研究。E-mail:QGX@jlau.edu.cn

models ($P < 0.05$), Lymphocyte proliferation of immunosuppression was significantly promoted at the range from 0.0 to 8.0 mmol/L Ala-Gln ($P < 0.05$), Lymphocyte proliferation of stress was significantly promoted at the range from 0.0 to 6.0 mmol/L Ala-Gln ($P < 0.05$). With the increase of Ala-Gln concentration, Lymphocyte transformation no longer continued to increase ($P > 0.05$). 【Conclusion】 In the present study, it concluded that the immune was enhanced of Ala-Gln on lymphocyte transformation of *C. carpio* var. Jian under stress and immunosuppression. Ala-Gln as anti-stress immunostimulants was recommended for the culture of *C. carpio* var. Jian.

Key words: Ala-Gln; *Cyprinus carpio* var. Jian; immunosuppression; stress; lymphocyte

谷氨酰胺(Gln)是动物细胞体外培养所必需的氨基酸,可作为细胞生长的主要能源和氮源,并参与合成嘌呤、嘧啶、蛋白质和多肽等物质^[1]。Lin 等^[2]研究表明,在原代培养鲤鱼前中肠上皮细胞时,添加 Gln 可促进肠道的发育,改善肠道的功能。养殖试验表明,在饲料中添加丙氨酰-谷氨酰胺(Ala-Gln)可提高建鲤(*Cyprinus carpio* var. Jian)的生长、免疫和抗应激能力^[3-4]。关于 Ala-Gln 对应激状态下免疫力低下的鱼类淋巴细胞增殖的影响尚未见报道。因此,本研究通过对建鲤注射环磷酰胺和皮质醇建立免疫抑制和应激模型,以其头肾、脾脏和外周血淋巴细胞为研究对象,探讨 Ala-Gln 对免疫抑制和应激建鲤体外培养淋巴细胞增殖的调控作用,以期为 Ala-Gln 在生产上的广泛应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验鱼

试验用建鲤为购自吉林省东辽县安西渔场的健康二龄鱼种,体质量 100 g 左右。试验鱼饲养于室内玻璃缸中,每天投喂含粗蛋白 350 g/kg、能量为 17 kJ/g 的饲料 2 次(09:00,17:00)。

1.2 试 剂

Ala-Gln(纯度>99%)购于北京莱瑞森医药科技有限公司,皮质醇购于郑州羚锐制药股份有限公司,环磷酰胺(CY)购于山西普德药业有限公司,淋巴细胞分离液购于天津市灏洋生物制品科技有限责任公司,RPMI 1640 培养基购于 GIBCOBRL 公司,细胞培养板购于 GIBCO 公司,噻唑蓝(MTT)购于 AMRESCO 公司,植物血凝素(PHA)购于美国 Metabolix 公司。

1.3 试验模型的建立

1.3.1 免疫抑制模型^[5-6] 每 kg 鱼体质量注射 10 mg CY,每隔 5 d 注射 1 次,共注射 3 次,第 3 次注射结束 6 d 后取样,每尾鱼在腹鳍基部注射药液量控制在 0.5 mL 左右,设置 5 个重复,每个重复 5 尾

鱼;同时设置相应对照组,以同样方式注射相同剂量的生理盐水。

1.3.2 应激模型^[7-8] 每 kg 鱼体质量注射 50 mg 皮质醇,在腹鳍基部注射后 20 min 取样,设置 5 个重复,每个重复 5 尾鱼;同时设置相应对照组,以同样方式注射相同剂量的生理盐水。

1.4 建鲤头肾、脾脏和外周血淋巴细胞的分离

1.4.1 外周血淋巴细胞的分离 分别在免疫抑制模型和应激模型中随机抽取 10 尾建鲤,经 MS-222 麻醉后,用体积分数 75% 酒精棉球擦洗,在无菌条件下,用经肝素钠润洗过的注射器从鱼尾静脉取血,用 pH 7.2 的 PBS 溶液将抗凝血稀释 1 倍。取 1 mL 缓缓加入盛有淋巴细胞分离液的灭菌离心管中(血液与淋巴细胞分离液体积比为 1:1),1 500 r/min 离心 10 min,从交界的白细胞处吸出中间淋巴细胞层,注入另一已灭菌的离心管中,用 PBS 溶液洗涤 2 次,1 000 r/min 离心 10 min,弃上清液,加入 RPMI 1640 培养液,用吸管将其打匀,制成细胞悬液。在细胞悬液中加入 10 μL Trypan Blue 染色 5 min,用血球计数板计数并确定活细胞比例,活细胞含量超过 95% 以上时,加入 RPMI 1640 培养基,调整活细胞密度至 $2 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ 用于试验。

1.4.2 头肾和脾脏淋巴细胞的分离 对采血后的建鲤用体积分数 70% 酒精消毒体表,在无菌条件下,取出脾脏和头肾,在 Hank 氏液中用剪刀剪碎后,轻轻吹打,用孔径 0.15 mm 尼龙网过滤,将滤液缓慢加入到淋巴细胞分离液的液面上,1 500 r/min 离心 10 min,液面交界处即为淋巴细胞,将细胞在 1 500 r/min 条件下离心 10 min,用 PBS 洗涤 2 次;然后加入 RPMI 1640 培养液,用吸管将其打匀,制成细胞悬液。在细胞悬液中加入 10 μL Trypan Blue 染色,活细胞含量超过 95% 以上时,调整细胞密度为 $2 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ 用于试验。

1.5 Ala-Gln 对建鲤淋巴细胞转化率的影响

用 MTT 法测定淋巴细胞的转化率。设置 6 个

Ala-Gln 浓度梯度(0.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0 mmol/L),以 PHA 为阳性对照,不含 Ala-Gln 为阴性(空白)对照,每个浓度做 8 个重复。先添加细胞悬液与含有不同浓度 Ala-Gln 的培养液各 50 μL,然后将加好样的 96 孔培养板置于 27 °C 的 CO₂ 培养箱中共培养 68 h,培养 64 h 时加 10 μL MTT 溶液,培养结束后每孔加 100 μL DMSO,置摇床上低速(50 r/min)振荡 10 min,使蓝色结晶物充分溶解,以刺激指数(SI)判断淋巴细胞转化率。

$$SI = \frac{\text{试验孔 } OD_{570}}{\text{阳性对照孔 } OD_{570}} \times 100\%.$$

1.6 数据处理

试验数据以“平均值±标准误”表示,采用 SPSS

表 1 Ala-Gln 对免疫抑制下建鲤淋巴细胞转化率的影响

Table 1 Effect of Ala-Gln on lymphocyte transformation of *C. carpio* var. Jian subjected to immunosuppression %

组织 Tissue	处理 Treatment	Ala-Gln 浓度/(mmol·L ⁻¹)					
		0.0	2.0	4.0	6.0	8.0	10.0
头肾 Head kidney	对照组 Control group 免疫抑制组 Immunosuppression group	1.73±0.05 Bab 0.64±0.05 Aa	1.83±0.05 Bbc 1.23±0.06 Ab	1.93±0.06 Bbc 1.72±0.06 Ac	2.03±0.07 Ac 2.30±0.09 Bd	2.01±0.12 Ac 2.36±0.08 Bd	1.57±0.06 Aa 2.34±0.10 Bd
脾脏 Spleen	对照组 Control group 免疫抑制组 Immunosuppression group	1.54±0.06 Ba 0.72±0.04 Aa	1.65±0.06 Ba 1.24±0.03 Ab	1.77±0.07 Aa 1.74±0.07 Ac	1.80±0.06 Aa 2.17±0.07 Bd	1.85±0.08 Aa 2.26±0.09 Bd	1.77±0.08 Aa 2.24±0.11 Bd
血浆 Plasma	对照组 Control group 免疫抑制组 Immunosuppression group	1.13±0.04 Ba 0.55±0.04 Aa	1.25±0.04 Bab 1.02±0.08 Ab	1.44±0.06 Abc 1.35±0.04 Ac	1.60±0.05 Ac 1.54±0.05 Ad	1.58±0.05 Ac 1.67±0.05 Ad	1.46±0.04 Abc 1.65±0.06 Bd

注:同行数据后标不同小写字母表示不同浓度 Ala-Gln 处理间差异显著($P<0.05$,Duncan's),同列数据后标不同大写字母表示处理组与对照组差异显著($P<0.05$,Student *t*)。下表同。

Notes: Data among different Ala-Gln concentrations in the same line with different letters indicate difference at $P<0.05$, Duncan's; Data in both treatment group and control group with different capital letters in the same column indicate difference at $P<0.05$, Student *t*. The same as following.

由表 1 免疫抑制组与对照组间的 *t* 检验结果可知,在 Ala-Gln 浓度为 0.0 mmol/L 时,免疫抑制组建鲤头肾、脾脏和血淋巴细胞转化率均显著低于对照组($P<0.05$),表明免疫抑制降低了头肾、脾脏和外周血淋巴细胞的转化率,使其免疫力下降。Duncan's 多重比较结果表明,免疫抑制组头肾、脾脏和血淋巴细胞转化率均随着 Ala-Gln 浓度的升高而显著提高($P<0.05$);当 Ala-Gln 浓度超过 8.0 mmol/L 时,头肾、脾脏和外周血的淋巴细胞转化率不再继续升高,且 8 mmol/L 组与 6.0 和 10.0 mmol/L Ala-Gln 处理间无显著差异;添加 Ala-Gln 的各处理组建鲤头肾、脾脏和外周血的淋巴细胞转化率均显著高于 0.0 mmol/L Ala-Gln 处理($P<0.05$)。表明在一定浓度范围(0.0~8.0 mmol/L)内,Ala-Gln 可以促进免疫抑制下建鲤淋巴细胞的增殖,超过此范围后,淋巴细胞增殖能力不再继续增大($P>0.05$)。

16.0 软件对不同浓度 Ala-Gln 处理组间脾脏、头肾和外周血的淋巴细胞转化率进行方差(ANOVA)分析,并用 Duncan's 多重比较检验各处理间的差异;各处理组与注射生理盐水的对照组间平均值的差异用 Student *t* 检验, $P<0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 Ala-Gln 对免疫抑制下建鲤淋巴细胞增殖的影响

用不同浓度的 Ala-Gln 在体外作用免疫抑制下建鲤的淋巴细胞后,对淋巴细胞增殖的影响见表 1。

2.2 Ala-Gln 对应激条件下建鲤淋巴细胞增殖的影响

不同浓度 Ala-Gln 在体外作用应激条件下建鲤的淋巴细胞后,对淋巴细胞增殖能力的影响见表 2。*t* 检验结果表明,Ala-Gln 浓度为 0.0 mmol/L 时,应激组建鲤头肾、脾脏和血淋巴细胞转化率均显著低于对照组($P<0.05$),表明应激处理降低了建鲤头肾、脾脏和外周血的淋巴细胞转化率,使其免疫力下降。Duncan's 多重比较结果表明,应激组 Ala-Gln 各处理建鲤头肾的淋巴细胞转化率均显著高于 0.0 mmol/L Ala-Gln 组($P<0.05$),且各浓度间无显著差异($P>0.05$);应激组脾脏的淋巴细胞转化率均随着 Ala-Gln 浓度的增加而升高,Ala-Gln 各处理均显著高于 0.0 mmol/L Ala-Gln 组($P<0.05$),其中,10.0 mmol/L Ala-Gln 处理脾脏的淋巴细胞转化率显著高于 2.0 mmol/L Ala-Gln 处理($P<0.05$),但与其他处理无显著差异;应激组外周血的

淋巴细胞转化率随着 Ala-Gln 浓度的增加而增大, 其中 6.0, 8.0 和 10.0 mmol/L Ala-Gln 处理间的淋巴细胞转化率差异不显著, 但均显著高于 0.0, 2.0 和 4.0 mmol/L Ala-Gln 处理 ($P < 0.05$)。表明

Ala-Gln 在一定浓度范围(0.0~6.0 mmol/L)内, 可以促进应激处理下建鲤的淋巴细胞增殖, 超过此范围后, 淋巴细胞增殖能力不再继续增大($P > 0.05$)。

表 2 Ala-Gln 对应激条件下建鲤淋巴细胞转化率的影响

Table 2 Effect of Ala-Gln on lymphocyte transformation of *C. carpio* var. Jian subjected to stress

%

组织 Tissue	处理 Treatment	Ala-Gln 浓度 / (mmol · L ⁻¹)						Ala-Gln concentration %
		0.0	2.0	4.0	6.0	8.0	10.0	
头肾 Head kidney	对照组 Control group	1.68±0.08 Ba	1.82±0.03 Ab	1.90±0.03 Ab	1.99±0.10 Ab	1.97±0.10 Ab	1.46±0.05 Aa	
	应激组 Stress group	1.39±0.03 Aa	1.79±0.08 Ab	1.94±0.05 Ab	1.95±0.11 Ab	2.00±0.12 Ab	2.00±0.05 Bb	
脾脏 Spleen	对照组 Control group	1.58±0.05 Ba	1.59±0.04 Aab	1.77±0.06 Abc	1.85±0.01 Ac	1.84±0.01 Ac	1.75±0.02 Aabc	
	应激组 Stress group	1.28±0.05 Aa	1.67±0.07 Ab	1.81±0.07 Abc	1.91±0.09 Abc	1.90±0.07 Abc	2.02±0.07 Bc	
血浆 Plasma	对照组 Control group	1.12±0.04 Ba	1.22±0.05 Bab	1.43±0.06 Bbc	1.59±0.08 Ac	1.59±0.06 Ac	1.36±0.03 Ab	
	应激组 Stress group	0.75±0.04 Aa	0.94±0.08 Aa	1.28±0.02 Ab	1.34±0.06 Ac	1.59±0.06 Ac	1.59±0.07 Bc	

3 讨 论

现有研究多是将免疫增强剂给予正常状态下的水产动物, 并依据免疫指标的变化判断动物免疫机能是否提高^[9-10]。然而在正常状态下, 水产动物能在一定范围内调节自身的免疫水平, 这样会在一定程度上阻止免疫增强剂的免疫正向调控, 从而影响免疫增强剂真实效果的发挥^[9]。因此有必要建立免疫抑制模型进行研究。CY 能使 DNA 双链交联, 使 DNA 转录与复制发生异常, 或复制有缺陷的 DNA 子链, 从而抑制细胞的增殖, 亦可非特异性杀伤抗原敏感性小淋巴细胞, 限制其转化为淋巴母细胞, 说明 CY 的杀伤作用易通过淋巴细胞增殖反映出来^[6,11]。关于胁迫影响动物的淋巴细胞转化率亦有一些报道, 如低氧慢性胁迫可以显著降低黄颡鱼的淋巴细胞转化率^[12], 热应激可以显著降低肉鸡外周血的淋巴细胞转化率^[13], 免疫应激能导致仔猪淋巴细胞转化率下降^[14]。本研究参照华雪铭等^[5]和陈勇等^[6]的方法注射 CY 构建免疫抑制模型, 参照 Basu 等^[7]和 Hideya 等^[8]的方法注射皮质醇构建应激模型, 结果表明, 注射 CY 和注射皮质醇的建鲤头肾、脾脏和外周血淋巴细胞转化率均显著降低, 表明免疫抑制模型及应激模型中建鲤的淋巴细胞转化率显著下降, 免疫力亦降低, 可用于体外检验 Ala-Gln 的免疫调控效果。

Gln 是机体含量最丰富的游离氨基酸, 淋巴细胞的增殖分化、中性粒细胞与巨噬细胞分泌过氧化物和吞噬异物均需要 Gln^[15]。体外研究表明, 培养基中的 Gln 浓度降低, 可以导致淋巴细胞分裂增殖速度迅速下降, 胞内 ATP 浓度下降^[16]。Gln 是淋巴细胞增殖分化必需的营养物质, 对健康人淋巴细

胞的研究表明, 当培养液中 Gln 浓度为 0.0~6.0 mmol/L 时, 淋巴细胞增殖数量与 Gln 浓度呈剂量依赖关系^[17]。本研究表明, 建鲤不同组织中分离的淋巴细胞, 经 Ala-Gln 刺激后, 其转化率存在明显差异, 这可能是由于建鲤不同组织中淋巴细胞的数量不同, 或者是由于不同组织中淋巴细胞的分化程度有别所致。Ala-Gln 浓度为 0.0~8.0 mmol/L 时, 可以促进免疫抑制下建鲤的淋巴细胞增殖, 在 0.0~6.0 mmol/L 时, 可以促进应激处理下建鲤的淋巴细胞增殖; 超过此范围后, 淋巴细胞转化率不再继续明显增大。表明处于免疫抑制的淋巴细胞恢复正常时, 需要更多的能量来合成各种大分子物质, 以完成分裂过程, Gln 在一定浓度范围内能通过调控淋巴细胞增殖来提高免疫力。同样有报道指出, Gln 可通过提高氧化应激、免疫应激及环磷酰胺免疫抑制下的淋巴细胞增殖来调控动物的免疫力^[18-19]。因此, 在本试验条件下, Ala-Gln 对离体培养免疫抑制和应激后免疫功能低下建鲤的淋巴细胞增殖具有明显的促进作用, 是有潜力的鱼用抗应激免疫增强剂。

[参考文献]

- [1] Abelarda G L, Pedro P G. Clinical evidence for enteral nutritional support with glutamine: A systematic review [J]. Nutri, 2003, 19: 805-811.
- [2] Lin Y, Zhou X Q. Dietary glutamine supplementation improves structure and function of intestine of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) [J]. Aquac, 2006, 256: 389-394.
- [3] 芦洪梅, 王桂芹. 谷丙酰胺对鲤鱼生长性能和饲料利用的影响 [J]. 中国饲料, 2011(10): 23-26.
Lu H M, Wang G Q. Effect of Ala-Gln on the growth and feed utilization of *Cyprinus carpio* var. Jian [J]. China Feed, 2011 (10): 23-26. (in Chinese)
- [4] 芦洪梅. 谷氨酰胺二肽对建鲤生长、免疫和抗应激的影响 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2011: 58-68.

- Lu H M. Effect of Ala-Gln on growth, immune and anti-stress in *Cyprinus carpio* var. Jian [D]. Changchun: Jilin Agri Uni, 2011;58-68. (in Chinese)
- [5] 华雪铭,周洪琪,余奇文,等.环磷酰胺和嗜水气单胞菌对暗纹东方豚免疫抑制的研究 [J].现代免疫学,2004,24(6):494-502.
- Hua X M, Zhou H Q, Yu Q W, et al. The immuno-suppressive effects of cyclophosphamide and aeromonas hydrophila on Fugu obscurus [J]. Modern Immunol, 2004, 24 (6): 494-502. (in Chinese)
- [6] 陈 勇,周洪琪,余奇文,等.异育银鲫实验性免疫抑制模型的建立 [J].水产学报, 2005, 29(2):228-232.
- Chen Y, Zhou H Q, Yu Q W, et al. Preliminary study on establishing the experimental immunosuppression model of allogenetic silver crucian carp [J]. J Fisheries China, 2005, 29 (2):228-232. (in Chinese)
- [7] Basu N, Todgham A, Eackerman P A. Heat shock protein genes and their functional significance in fish [J]. Gene, 2002, 295: 173-183.
- Hideya T, Tatsuta S, Susumu H, et al. Expression of glucocorticoid receptor in the intestine of a euryhaline teleost, the Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*) ;Effect of seawater exposure and cortisol treatment [J]. Life Sci, 2006, 78 (20):2329-2335.
- [9] Sakai M. Current research status of fish immunostimulants [J]. Aquac, 1999, 172:63-92.
- [10] Dugenci K. Some medicinal plants as immunostimulant for fish [J]. J Ethnopharmacol, 2003, 88(1):99-106.
- [11] 董晓芳,汪仕奎,萨仁娜,等.免疫抑制剂环磷酰胺对肉仔鸡生产性能及其内分泌的影响 [J].畜牧兽医学报,2007,38(9):993-998.
- Dong X F, Wang S K, Sa R N, et al. Effect of immunosuppressant cyclophosphamide on performance and incretion in broile [J]. Acta Vet Zoo Sini, 2007, 38(9):993-998. (in Chinese)
- [12] 沈 凡,樊启学,杨 凯,等.不同溶氧条件下黄颡鱼免疫机能及抗病力的研究 [J].淡水渔业,2010,40(4):45-52.
- Shen F, Fan Q X, Yang K, et al. The immune responses of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) and its susceptibility to *Aeromonas hydrophila* at different dissolved oxygen levels [J]. Freshwater Fisheries, 2010, 40 (4): 45-52. (in Chinese)
- [13] 张彩虹,姜建阳,任慧英,等.酵母铬对热应激肉鸡免疫功能和胴体品质的影响 [J].家畜生态学报,2009,30(5):56-64.
- Zhang C H, Jiang J Y, Ren H Y, et al. Effects of chromium yeast on immune function and carcass quality in heat stressed broilers [J]. Acta Ecologiae Animalis Domestici, 2009, 30(5): 56-64. (in Chinese)
- [14] 王连珠,庞永刚,姜建阳,等.免疫应激对不同品种仔猪免疫应答能力的影响 [J].畜牧与兽医,2010,42(2):74-81.
- Wang L Z, Pang Y G, Jiang J Y, et al. The effect of immunological stress to immune response of different varieties piglet [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2010, 42(2): 74-81. (in Chinese)
- [15] Furukawa S, Saito H, Matsuda T. Relative effects of glucose and glutamine on reactive oxygen intermediate production by neutrophils [J]. Shock, 2000, 3:274-278.
- [16] Maria Z, Christopher G, Maja M E. Glutamine starvation of monocytes inhibits the ubiquitin-proteasome proteolytic pathway [J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2003, 1638:138-148.
- [17] Rohde T, Maclean D A, Pedersen B K. Glutamine, lymphocyte proliferation and cytokine production [J]. Scandinavian Journal of Immunology, 2004, 44:648-650.
- [18] 杨小军,高 泽,刘 凯,等.谷氨酰胺对肉仔鸡肠道黏膜淋巴细胞增殖活性、氧化应激和免疫应激的调控作用 [J].动物营养学报,2011,23(2):274-279.
- Yang X J, Gao Z, Liu K, et al. Modulation of glutamine in proliferative activity, oxidative and immune stress of intestinal lymphocytes of broiler [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2011, 23(2):274-279. (in Chinese)
- [19] 潘颖斌,刘艳芬,马建升,等.谷氨酰胺对环磷酰胺免疫抑制的调节作用及其机制研究 [J].四川畜牧兽医,2006(3):23-26.
- Pan Y B, Liu Y F, Ma J S, et al. Mechanism research and regulatory effect of glutamine to immune suppression by cyclophosphamide [J]. Sichuan Animal & Veterinary Sciences, 2006(3):23-26. (in Chinese)