

人工感染新城疫鸡红细胞免疫功能及 CD_2 的变化

陈德坤 肖俊杰 李政凯 陈争上 白永平

(西北农业大学动物医学系, 陕西杨陵 712100)

摘要 15只10~12月龄的健康罗丝鸡经人工感染NDV($F_{48}E_8$)后,以红细胞 C_{3b} 受体花环试验、红细胞免疫复合物花环试验、E_i花环试验及反向E玫瑰花环试验测定其红细胞、T细胞免疫功能及外周血中可溶性 CD_2 (sCD_2)含量的变化。结果表明,鸡感染NDV后,在 C_{3b} 受体花环率、E_i花环率不断下降的同时,外周血中 CD_2 含量持续上升导致6只鸡死亡;9只鸡在感染的中后期伴随着 C_{3b} 受体花环率及E_i花环率的回升, sCD_2 含量趋向正常水平而耐过。认为高含量 CD_2 不仅与T细胞免疫功能受抑制密切相关,还可能与红细胞免疫功能受抑制有关。

关键词 可溶性 CD_2 新城疫,红细胞 CR_1 花环试验,红细胞免疫复合物花环试验,反向E玫瑰花环试验

中图分类号 S858.310.53, S852.53, R392.11

近年来的实验表明,T细胞膜 CD_2 不仅在T细胞活化中起着重要作用,并且还可从T细胞表面脱落/分泌至体液中成为 $CD_2^{[1]}$ 。临床发现体液 CD_2 含量的增高往往是机体细胞免疫功能的受抑制^[2]。另一方面,红细胞表面的 CD_2 配体(CD_{38} ,LFA-3)既可与T细胞膜 CD_2 结合,辅助、诱导T细胞活化;又可与 CD_2 结合,在体外参与溶解异种红细胞效应^[3]。研究体内 CD_2 含量、红细胞免疫功能的变化与T细胞免疫功能的关系,对进一步探讨机体免疫状态及疾病的预后有着重要意义。

1 材料与方 法

1.1 材 料

NDV $F_{48}E_8$ 冻干毒,引自中监所。用前经鸡胚传代。致敏及未致敏的酵母制剂均由本室按郭峰的方法^[4]制备。RBC悬液为无菌Hanks液配制的 1×10^7 个/mL、 1×10^8 个/mL鸡红细胞(CRBC)悬液和 1×10^8 个/mL绵羊红细胞(SRBC)悬液。用15只未经新城疫免疫的10~12月龄健康罗丝鸡。

1.2 方 法

1.2.1 红细胞 C_{3b} 受体(E- CR_1)花环试验及红细胞免疫复合物(E-IC)花环试验 按郭峰的方法^[4]进行。

1.2.2 E_i花环试验 按常规方法^[5]进行。

1.2.3 反向E玫瑰花环试验 采用改进的Mendes等的方法^[1],即0.4 mL的 1×10^8

收稿日期:1994-12-06

个/mL SRBC 悬液与 0.1 mL 4 倍稀释的待测鸡血清混合,室温下缓慢振荡 30 min,然后 1000 r/min 离心 15 min,弃上清并以无菌 Hanks 液洗涤 SRBC 3 次,恢复至原浓度。然后向其中加等体积的 5×10^6 个/mL 鸡 PBMC,其余步骤及花环判定同常规方法^[5]。所得花环率为反向 E 玫瑰花环率,按以下公式计算出 E 玫瑰花环抑制率:

$$E \text{ 玫瑰花环抑制率} = \frac{\text{正常 } E_1 \text{ 花环率} - \text{反向 E 玫瑰花环率}}{\text{正常 } E_1 \text{ 花环率}} \times 100\%$$

并以此表示 CD₂ 的含量。

1.2.4 实验组别及感染途径 经滴鼻及肌肉注射感染 NDV,并于感染前及感染后 24, 60, 84, 108 和 288 h 分别采血检测。感染后死亡者统称死亡组,耐过者统称为耐过组。

2 结果

2.1 不同时期 E-CR₁ 花环率

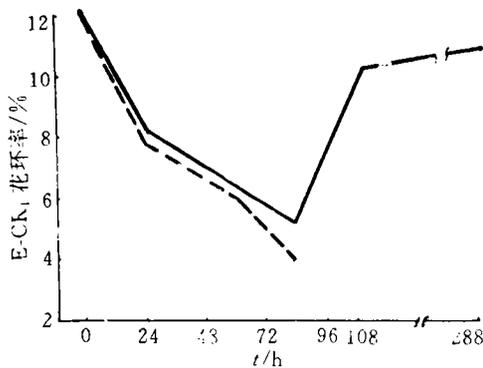


图1 不同时期的红细胞 C₃b 受体花环率

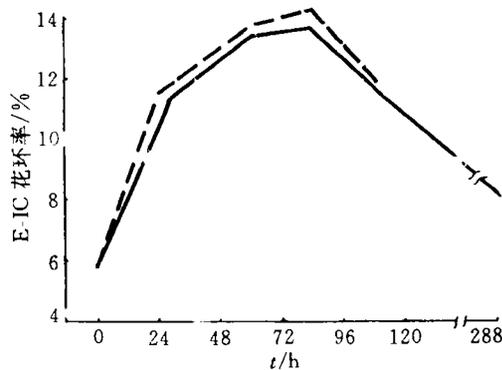


图2 不同时期的红细胞免疫复合物花环率

---死亡组;—耐过组

鸡感染 NDV 后,死亡组 E-CR₁ 花环率持续下降,24 h 检出的花环率极显著低于感染前 ($P < 0.01$),持续下降至 108 h (濒死前)则降至最小值;耐过组感染 NDV 60 h 内,其 E-CR₁ 花环率变化与死亡组相似,并于感染后 84 h 时,降至最低,84 h 后,E-CR₁ 花环率急剧回升,至 288 h 时,检出值与感染前无显著性差异 ($P > 0.05$,图 1)。

2.2 不同时期的 E-IC 花环率

如图 2 所示,死亡组和耐过组的 E-IC 花环率变化基本一致。感染初 24 h,E-IC 花环率急剧上升并明显高于感前 ($P < 0.01$),84 h 时,E-IC 花环率达到最高值,其后持续下降。死亡组濒死前的 E-IC 花环率极显著高于感染前 ($P < 0.01$)。耐过组在 288 h 的 E-IC 花环率与感染前无显著性差异 ($P > 0.05$)。

2.3 不同时期的 E₁ 花环率

鸡感染 NDV 后,死亡组 E₁ 花环率迅速下降,24 h 检出的 E₁ 花环率极显著低于感染前 ($P < 0.01$);耐过组 E₁ 花环率在 84 h 内变化同死亡组类似,并且 E₁ 花环率在 84 h 时降至最低值。其后,耐过组 E₁ 花环率开始回升,108 h 的检出值明显高于 84 h ($P < 0.05$),

但 288 h 的 E₁ 花环率仍明显低于感染前 ($P < 0.05$, 图 3)。

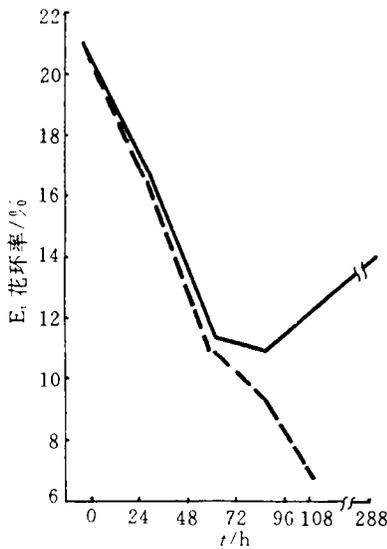


图 3 不同时期的 E₁ 花环率

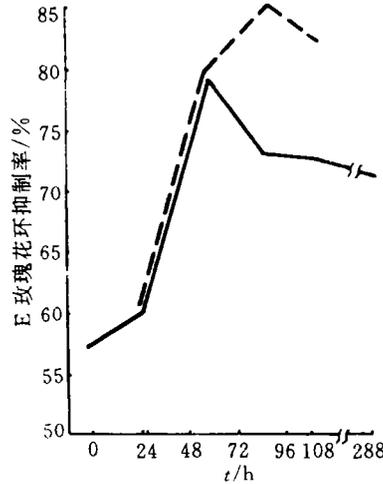


图 4 不同时期的 E 玫瑰花环抑制率

---死亡组; —耐过组

2.4 不同时期的 E 玫瑰花环抑制率

鸡感染 NDV 后 24 h 内,虽然死亡组和耐过组的 E 玫瑰花环抑制率均升高,但与感染前无显著差异 ($P < 0.05$)。自 24 h 起,至 60 h,两组的 E 玫瑰花环抑制率均急剧升高,且极显著高于感染前 ($P < 0.01$)。死亡组于 84 h 达到峰值,虽然以后有所下降,但与 84 h 相比,无显著差异 ($P > 0.05$);耐过组 E 玫瑰花环抑制率自 60 h 后迅速下降,并且 84 h 的 E 玫瑰花环抑制率明显低于 60 h ($P < 0.05$, 图 4)。

2.5 E₁ 玫瑰花环率与 E-CR₁ 花环率的相关性分析

鸡感染 NDV 后,死亡组 E₁ 玫瑰花环率变化与 E-CR₁ 花环率变化呈极强的相关性 ($r = 0.987, P < 0.01$);在耐过组呈中等程度相关 ($r = 0.69, P < 0.01$)。

3 讨论与小结

1)许多试验表明,NDV 进入鸡体后能够大量复制并扩散,除引起感染鸡的呼吸道、消化道及神经症状外,并引起病毒血症。但是,鸡感染 NDV 后,有关红细胞免疫功能及 T 细胞免疫功能变化的系统研究尚未见报道。本研究发现,部分鸡感染 NDV 后,其红细胞免疫功能及 T 细胞免疫功能随着病程的发展而持续下降,至濒死前,二者的功能均降至最低;另有部分个体,在感染 NDV 的中、后期,红细胞免疫功能和 T 细胞免疫功能不断得以恢复而使该部分个体耐过。这不仅说明,鸡感染 NDV 后红细胞免疫功能与 T 细胞免疫功能均受到一定抑制,还说明二者的变化与疾病的预后似有着密切关系。

2)从鸡感染 NDV 后红细胞免疫功能及 T 细胞免疫功能变化的比较中发现,感染鸡红细胞免疫功能的改变与 T 细胞免疫功能变化呈正相关。同时,红细胞免疫功能的恢复较 T 细胞免疫功能的恢复快。

3), CD_2 系从T细胞表面脱落/分泌至体液的糖蛋白。研究^[6]认为, CD_2 的免疫效应表现为抑制作用。我们的试验结果表明,当动物机体T细胞免疫功能及红细胞免疫功能持续降低时, CD_2 含量则不断上升;在红细胞免疫功能及T细胞免疫功能由低水平向正常状态恢复的过程中, CD_2 含量亦由高水平趋向正常值。这不仅支持高含量 CD_2 与机体T细胞免疫功能受抑制密切相关的观点,同时提示, CD_2 含量还可能与机体的红细胞免疫功能受抑制有一定关系。

参 考 文 献

- 1 Mendes N F, Paulo J S, Oscarlina B O S. Restorative effect of normal human serum transfer factor, and thymosin on the ability of heated human lymphocyte to rosettes with sheep erythrocyte. *Cell Immunology*, 1975, 17: 560
- 2 田森生. 可溶性E受体与疾病的关系. 国外医学——免疫学分册, 1986(4): 185
- 3 肖俊杰, 陈德坤. 猪血清中游离 CD_2 对红细胞的溶解作用. 西北农业大学学报, 1992, 20(2): 63~66
- 4 郭峰. 红细胞免疫功能的初步研究. 中华医学杂志, 1982, 62(12): 715
- 5 刘玉斌, 苟仕金. 动物免疫学实验技术. 长春: 吉林科学技术出版社, 1989: 240~243
- 6 肖俊杰, 胡秀珍. CD_2 分子. 陕西杨陵: 天则出版社, 1992: 46~48

Changes of Soluble CD_2 Amount and Erythrocyte Immune Function in Chicken Artificially Infected with NDV

Chen Dekun Xiao Junjie Li Zhengkai Chen Zhengshang Bai Yongping

(Department of Veterinary Science, Northwestern Agricultural University, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract The changes of soluble CD_2 amount in peripheral blood and immune function of erythrocyte and T cell of 15 10~12 month-old chickens artificially infected with NDV ($F_{48}E_8$) were detected using erythrocyte CR_1 rosette test, erythrocyte immune complexes rosette test, reverse E rosette test and Et rosette test. The result showed that after affected, 6 chickens died off because of the continuous increase of soluble CD_2 amount in peripheral blood with the decrease of the rate of erythrocyte CR_1 rosette and Et rosette; in the middle and late periods of infection, with the gradual recover of the rate of erythrocyte CR_1 rosette and Et rosette, 9 chickens survived and the soluble CD_2 amount tented to reach the normal level. The author believe that the high soluble CD_2 amount is not only closely related with the immune function of T cell but also with the restricted erythrocyte immune function.

Key words soluble CD_2 , NDV, erythrocyte CR_1 rosette test, erythrocyte immune complexes rosette test, reverse E rosette test