

CD₅₈分子在新城疫疫苗免疫中的佐剂效应探讨^{*}

陈德坤¹, 童德文¹, 孔庆波²

(1 西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西 杨陵 712100; 2 公安部沈阳警犬基地警犬学校, 辽宁 沈阳 110034)

[摘要] 应用从猪红细胞提取的CD₅₈分子协同新城疫IV疫苗, 免疫18日龄尼克红公鸡, 以 β 微量法测定ND抗体效价。并在免疫后39d用F_{48E9}强毒株攻毒。结果表明, CD₅₈能促进ND抗体的提前产生, 使应答负期明显缩短, 并且试验组ND抗体效价显著高于对照组($P < 0.05$, 或 $P < 0.01$)。攻毒后7d内, 试验组鸡死亡率为16.7%, 对照组为53.3%。

[关键词] CD₅₈分子; 新城疫IV疫苗; 抗体测定; 攻毒试验

[中图分类号] S858.312.4

[文献标识码] A

[文章编号] 1000-2782(2002)03-0032-03

白细胞分化抗原(cluster of differentiation, CD)作为白细胞表面的分子参与机体重要的生理及病理过程。CD分子尤其与免疫应答过程中免疫细胞的相互识别, 免疫细胞抗原识别、活化、增殖和分化, 免疫效应功能的发挥密切相关。对CD分子的研究已成为现代免疫学的一个重要领域之一, 有的CD分子制剂已在临床医学上得到应用。CD₅₈分子又称淋巴细胞功能相关抗原-3(lymphocyte function associated antigen-3, LFA-3), 它不仅参与T细胞的抗原特异性活化过程, 并且在T细胞旁路激活途径过程中起着关键作用。经国内外研究者多年大量的体外试验, CD₅₈的生物学活性基本已被阐明^[1~3]。CD₅₈分子的上述特性使其可能成为一种新的疫苗佐剂。本研究报道了有关CD₅₈分子在新城疫IV疫苗免疫中作用的结果。

1 材料与方法

1.1 材料

CD₅₈分子 从猪红细胞提取, 以E玫瑰花抑制环试验确定其生物活性。

试验鸡 18日龄的非免疫健康尼克红公鸡, 购自西北农林科技大学畜牧站种鸡场。

新城疫(ND)IV疫苗 陕西维康生物发展有限公司产品, 批号9711。

ND抗原 由西北农林科技大学禽病研究室提供。

F_{48E9}标准毒株 购自中国兽药监察所。

1.2 方法

CD₅₈分子在新城疫IV疫苗免疫中最佳用量试验 取18日龄试验鸡随机分为4组, 每组8只。分别以灭菌生理盐水0.5mL, 1.0mL CD₅₈分子溶液与每羽疫苗用量混合, 肌注免疫鸡。疫苗用量按说明书。

CD₅₈协同新城疫IV疫苗免疫试验 18日龄试验鸡随机分为试验组和对照组, 每组50只。按上述方法确定的CD₅₈剂量与新城疫IV疫苗混合后免疫试验组鸡。对照组鸡用与CD₅₈等量的灭菌盐水和新城疫IV疫苗混合后免疫。空白组鸡注射相应等量的无菌盐水。

新城疫抗体测定 采用 β 微量法, 分别于免疫前、免疫后4, 6, 8, 11, 15d测定HI抗体水平。抗体效价以log₂的负对数表示。

攻毒试验 免疫后39d, 用F_{48E9}标准毒株攻击试验组和对照组的所有鸡。F_{48E9}株的血凝价为2¹¹。攻毒剂量为1mL。攻毒途径为点眼、滴鼻、口服和肌注。

CD₅₈过敏试验 随机抽取18日龄试验鸡10只, 每只皮下分点注射CD₅₈。注射剂量为最佳剂量的5倍。观察鸡的反应情况。

2 结果与分析

2.1 CD₅₈最佳用量的确定

不同剂量CD₅₈协同新城疫IV疫苗免疫鸡后, ND抗体效价的产生情况见表1。由表1可确定每只鸡CD₅₈的最佳用量为0.5mL。

^{*} [收稿日期] 2001-06-19

[基金项目] 陕西省自然科学基金资助项目(99SM01)

[作者简介] 陈德坤(1964-), 男, 陕西渭南人, 副教授, 主要从事兽医免疫学研究。

表 1 不同剂量 CD₅₈对 ND 抗体效价的影响

Table 1 The effect of different dose of CD₅₈ on ND antibody titers

CD ₅₈ 剂量/mL CD ₅₈ does	样本数 Sample numbers	HI 值($\bar{x} \pm s$) HI value		
		4 d	6 d	8 d
0 0	8	1 75±0 7	0 71±0 89	4 75±0 46
0 5	8	4 63±0 52 a	5 38±0 52 a	5 75±1 49 a
1 0	8	4 88±0 64 a	6 13±0 84 a	7 25±1 28 b

注: t 检验, 试验组与对照组比较, a 为 $P < 0.01$; b 为 $P < 0.05$ 。
Note: t test, compared with control group, a $P < 0.01$; b $P < 0.05$

2 2 CD₅₈协同新城疫IV疫苗免疫鸡后的抗体变化

免疫鸡, 其ND 抗体检测结果见表 2。

按每只鸡 CD₅₈ 0 5 mL 与新城疫IV疫苗混合后

表 2 CD₅₈对新城疫抗体的影响

Table 2 Effects of CD₅₈ on ND antibody titers

组别 Group	样本数 Sample numbers	HI 值($\bar{x} \pm s$) HI value				
		0	4 d	6 d	8 d	11 d
试验组 Test group	10	10	4 80±0 71	6 12±0 84	7 23±1 30	6 12±0 64
对照组 Control group	10	1 88±0 84	1 72±0 62	0 81±0 71	4 80±0 46	3 32±0 46

2 3 攻毒试验结果

攻毒后 3 d 对照组鸡出现精神不振, 食欲不振等症

状, 第 4 天症状加剧并开始出现死亡, 死亡延续至第 7 天结束, 其余没有死亡的发病鸡耐过。期间试

验组鸡有个别出现发病症状, 死亡 1 只。对所有死亡鸡进行剖检, 均发现有腺胃乳头出血, 嗉囊内有大量酸臭样液体等典型新城疫病变。结果见表 3。

表 3 免疫鸡攻毒后的死亡结果

Table 3 Death results of immune chicks attacked by F₄₈E₉ virus

组别 Group	样本数 Sample numbers	死亡数 Death numbers	保护数 Survival numbers	死亡率/% Death rate
试验组 Test group	30	5	25	16 7
对照组 Control group	30	16	14	53 3
空白组 Unvaccinated group	30	25	5	83 3

2 4 异源 CD₅₈分子的安全性

10 只试验鸡注射异源 CD₅₈分子后饲养 14 d, 连续观察未发现试验鸡出现异常反应。试验鸡注射异源 CD₅₈分子 48 h 后, 全部吸收, 注射部位未见残留。

3 讨 论

CD₅₈分子的化学成分为糖肽, 广泛存在于多种动物红细胞及有核细胞表面。CD₅₈与 T 细胞 CD₂ 分子结合, 在 T 细胞发育成熟及活化中起着重要作用。研究资料证实^[4~6], CD₅₈分子无论是存在于红细胞表面、红细胞膜碎片上, 还是天然脱落或人工提取的可溶性状态, 均能使 T 细胞活化增殖。大量体外试验表明^[7], T 细胞与红细胞 CD₅₈分子结合具有下列效应: T 细胞表面 L-2R 表达量上升; 对 L-2 的反应性增强; L-2 及 IFN- γ 分泌量提高; 细胞毒效应加强。本研究结果显示, CD₅₈分子能够明显提高 ND IV 系疫苗的免疫效果, 不仅促使鸡体内 ND 抗体

提前产生, 而且在抗体滴度上也远高于对照组鸡, 并且抗体的保护效价持续时间长。攻毒试验更充分证实 CD₅₈分子是一种很好的疫苗佐剂, 用 CD₅₈配合 ND IV 系疫苗免疫鸡, 可以将保护率由约 46% 提高到 83%。

目前生产中给鸡注射用的新城疫活疫苗是 ND I 系疫苗, 该疫苗虽能产生较强的免疫力, 但注射后鸡的反应较大。ND IV 系疫苗毒性很小, 在生产中通过饮水等途径免疫雏鸡, 但免疫效果差。本研究目的在于探讨 CD₅₈分子对免疫原性较差的疫苗的佐剂效应, 因而选择了 ND IV 系疫苗, 试验结果证实了设想, 即 CD₅₈分子确实对弱免疫原性疫苗有很好的佐剂效应。有关 CD₅₈分子对其他一些弱免疫原性疫苗的佐剂效应需做进一步探讨, 以期 CD₅₈分子在养殖业传染病控制中的广泛应用打下坚实的基础。

本试验中每只鸡的 ND IV 系疫苗的用量都是严

格按照说明书要求操作的,疫苗使用时也处于有效期内,但对照组鸡的免疫抗体效价较低,且持续时间短。这可能是免疫途径的不同,或是疫苗的质量差异所造成的。

CD₅₈分子在进化中具有高度的保守性。本研究也发现猪CD₅₈分子进入鸡体内并不引起鸡产生异常反应,提示异源CD₅₈在应用中是安全的。

[参考文献]

- [1] H üig T, Gtiefenthaler K H, M üchenfelde S C M. A lternative pathway of T cell activation by binding of CD₂ to its cell-surface ligand[J]. Nature, 1987, 326: 298
- [2] Dekert M, Kubar J, Bernard A. CD₅₈ and CD₅₉ molecules exhibit potentializing effects in T cell adhesion and activation[J]. J Immunol, 1992, 148(3): 672- 677.
- [3] 徐陆亭, 石 镜, 张 云, 等. SRBC 膜提取物对猪 PBMNC 第二信使的影响[J]. 中华微生物和免疫学杂志, 1996, 16(4): 289- 292
- [4] 欧阳笑梅, 张红毅, 金伯泉. 红细胞在葡萄球菌肠毒素B 刺激人 PBM C 增殖中的辅佐作用[J]. 中国免疫学杂志, 1991, 7(4): 229
- [5] 肖俊杰, 胡秀珍. 红细胞、血小板LFA-3 与游离CD₂ 在淋巴细胞激活中的调控机理[J]. 中国免疫学杂志, 1993, 9(增刊): 135
- [6] 陈德坤, 肖俊杰. 红细胞培养上清液中CD₂ 配体的生物活性研究[A]. 第三届全国畜牧兽医青年科技工作者学术讨论会优秀论文集[C]. 长春: 长春出版社, 1996
- [7] 郭 峰. 红细胞免疫学初探[M]. 南京: 南京大学出版社, 1993

The adjuvanti effect of CD₅₈ on ND IV strain vaccination

CHEN De-kun¹, TONG De-wen¹, KONG Qing-bo²

(1 College of Animal Science and Technology, Northw est Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Shenyang Police Dog Base of Public Security Ministry of China, Shenyang, Liaoning 110034, China)

Abstract: 18 d chicks vaccinated with new castle disease (ND) IV strain vaccine cooperated with CD₅₈ molecular from pig erythrocyte. The ND antibody titers were detected by using β method. These chicks were attacked by F₄₈E₉ virulent strain after 39 d of inoculation. The results showed that CD₅₈ molecular could promote ND antibody development, and the ND antibody titers of chicks in test group were strikingly higher than those of chicks in control group. In 7 d after being attacked by F₄₈E₉ virulent virus, the death rate of chicks in control group was 53.3% while that in test group was 16.7%.

Key words: CD₅₈ molecular; new castle disease IV strain vaccine; antibody test; virus attacking test