

网络出版时间:2015-03-12 14:17

DOI:10.13207/j.cnki.jnwfufu.2015.04.029

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20150312.1417.029.html>

围产期母猪的免疫状态及与皮质醇的关系

刘永祥^{1,2}, 朱宽佑¹, 李婉涛¹, 杨建平^{1,2}

(1 河南牧业经济学院, 河南 郑州 450046; 2 河南省高校动物营养与饲料工程技术研究中心, 河南 郑州 450046)

[摘要] 【目的】研究围产期母猪的免疫状态, 并初步探讨免疫状态与应激的关系。【方法】在分娩前 14 d、分娩当天和分娩后 14 d, 采集初产母猪血样, 检测血清皮质醇、结合珠蛋白及外周血淋巴细胞转化率和嗜中性细胞吞噬能力, 采用实时荧光 PCR 检测外周血嗜中性细胞和淋巴细胞糖皮质激素受体基因(*GR*) mRNA 的表达情况。【结果】分娩当天母猪血清皮质醇和结合珠蛋白的质量浓度分别极显著和显著高于产前 14 d 和产后 14 d 的水平。分娩当天母猪外周血嗜中性细胞吞噬率较产前 14 d 减少 40.56% ($P < 0.01$), 在产后 14 d 仍未恢复到产前 14 d 的水平 ($P < 0.01$)。分娩当天母猪外周血淋巴细胞转化率较产前 14 d 减少 40.00% ($P < 0.01$), 在产后 14 d 依然维持在较低水平。分娩当天母猪外周血嗜中性细胞 *GR* 基因 mRNA 表达较产前 14 d 减少 43.54% ($P < 0.01$), 产后 14 天基本上恢复到产前 14 d 的水平; 外周血淋巴细胞 *GR* 基因 mRNA 表达较产前 14 d 减少 46.67% ($P < 0.01$), 产后 14 d 依然维持在较低水平。嗜中性细胞和淋巴细胞 *GR* 基因 mRNA 表达与血清皮质醇的水平呈极显著的负相关关系 ($P < 0.01$)。【结论】围产期母猪处于高度应激、健康水平下降和免疫抑制的生理状态。皮质醇可能通过 *GR* 途径调节嗜中性细胞和淋巴细胞 *GR* 基因 mRNA 表达, 从而影响其功能。

[关键词] 母猪; 围产期; 应激; 免疫状态

[中图分类号] S828

[文献标志码] A

[文章编号] 1671-9387(2015)04-0012-05

Immune status of perinatal sows and the relationship between immune function and cortisol content

LIU Yong-xiang^{1,2}, ZHU Kuan-you¹, LI Wan-tao¹, YANG Jian-ping^{1,2}

(1 Henan University of Animal Husbandry and Economy, Zhengzhou, Henan 450046, China;

2 Henan Engineering Technology Research Center of Animal Nutrition and Feed, Zhengzhou, Henan 450046, China)

Abstract: 【Objective】This study aimed to investigate the immune status of perinatal sows and the relationship between the stress status and immune function. 【Method】Blood samples of primiparous sows were collected on 14 days before delivery (day -14), the delivery day (day 0), and 14 days after delivery (day +14), and cortisol, haptoglobin, peripheral blood lymphocyte transformation rate, and neutrophil phagocytosis were detected. The mRNA expressions of peripheral blood neutrophil and lymphocyte glucocorticoid receptor were detected by RT-PCR. 【Result】The serum cortisol and haptoglobin concentrations on day 0 were significantly and extremely significantly higher than on day -14 and day +14, respectively. The peripheral blood neutrophil phagocytosis on day 0 decreased by 40.56% ($P < 0.01$) compared to day -14, and it did not recover on day +14 ($P < 0.01$). The peripheral blood lymphocyte transformation rate on day 0 decreased by 40% compared to day -14 ($P < 0.01$) and it maintained low on day +14. The neutrophil glucocorticoid receptor (*GR*) gene mRNA expression on day 0 decreased by 43.54% ($P < 0.01$) compared to day -14, and it recovered on day +14. The peripheral blood lymphocyte *GR* gene mRNA ex-

[收稿日期] 2014-09-08

[基金项目] 河南省重点科技攻关项目(142102110131, 112102110123)

[作者简介] 刘永祥(1969—), 男, 山东成武人, 副教授, 博士, 主要从事猪生产研究。E-mail: yxliu225@163.com

pression on day 0 decreased by 46.67% compared to day 0 ($P<0.01$) and it remained low on day +14. GR gene expressions of neutrophil and lymphocyte were negatively correlated with serum cortisol concentrations ($P<0.01$).【Conclusion】 Perinatal sows were in a state of high intensity stress, deteriorated physical health and immunosuppression. Cortisol may regulate neutrophil and lymphocyte GR gene mRNA expressions and affect their functions through GR pathway.

Key words: sow; perinatal period; stress; immune status

母猪围产期是产前7 d至产后7 d的时段,是母猪繁殖周期中相当特殊而且关键的时期,围产期是仔猪生产经济损失的重要阶段,围产期对母猪的健康有重要的影响^[1]。了解母猪围产期的生理有助于围产期母猪的管理,但迄今为止围绕该问题的专门研究却非常少,国内的研究基本处于空白状态。

母猪的分娩受复杂的生理和内分泌活动控制,是一个极度疲劳、剧烈疼痛和各种代谢紊乱的过程^[2],围产期母猪遭受筑巢行为的表达受阻、营养负平衡状态、肠道活性弱等多种应激因素的困扰,处于强应激状态^[3]。在分娩过程中和产后的一段时间内,由于体力消耗过大、剧烈疼痛和各种代谢紊乱等,导致机体抵抗力下降^[4]。总之,围产期是生理剧变、高度应激和疾病易感性高的阶段,使围产期母猪的管理相对困难。繁殖影响人和动物机体的免疫状态^[5-6],但关于围产期母猪免疫状态的研究还非常少。有研究显示,分娩母猪处于免疫抑制状态,嗜中性白细胞的吞噬能力降低,外周血淋巴细胞的增殖能力被抑制^[4,7-8],但 Magnusson 等^[9]的研究并不支持分娩母猪免疫抑制的结论,且有研究显示,母猪围产期外周血单核细胞的吞噬能力没有变化^[10-11]。鉴于母猪围产期免疫状态知识的匮乏和现有研究结果的不一致,有必要加强此方面的研究。本试验重点研究母猪围产期的免疫状态,并初步探讨应激和免疫状态的关系,以为母猪围产期的管理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物

选取同批次15头初产长大二元杂交母猪,产前7 d转到分娩栏以适应环境,母猪的饲养管理按照常规程序进行。

1.2 样品收集和准备

在分娩前14 d、分娩当天和分娩后14 d,于每天的9:00用一次性注射器从母猪耳缘静脉采血10 mL,其中5 mL装入肝素抗凝离心管于4℃保存,用于淋巴细胞和嗜中性淋巴细胞的分离,检测淋巴

细胞转化率和嗜中性细胞吞噬率(24 h内),另外5 mL装入离心管,2 500 g离心10 min,分离血清, -20℃保存,用于检测血清皮质醇和结合珠蛋白的水平。

1.3 皮质醇和结合珠蛋白的测定

血清皮质醇采用猪皮质醇 ELISA 试剂盒(上海抚生生物技术有限公司)测定,结合珠蛋白采用猪结合珠蛋白 ELISA 试剂盒(上海酶联试剂盒检测测定中心)测定。

1.4 外周血淋巴细胞转化率和嗜中性细胞吞噬能力的检测

1.4.1 嗜中性细胞和淋巴细胞的分离 按照 Salak-Johnson 等^[12]描述的 Ficoll-泛影钠(Ficoll-Hypaque)密度梯度及红细胞裂解法分离外周血嗜中性细胞和淋巴细胞。全血用 RPMI 培养液进行1:1(体积比)稀释,加分离液 Histopaque 1077 和 Histopaque 1119,分离液与样本的体积比为1:1.5,25℃700 g离心30 min,收集淋巴细胞(Histopaque 1077层)和嗜中性细胞层(Histopaque 1119层)。分离的细胞用 RPMI 洗涤2次,淋巴细胞用 RPMI 重悬;嗜中性细胞沉淀物在室温下裂解10 min(裂解液为 NH_4Cl 0.15 mol/L- KHCO_3 0.01 mol/L-EDTA Na_2 1 $\mu\text{mol/L}$),以去除红细胞, RPMI 重悬。

1.4.2 嗜中性细胞吞噬能力的检测 吸取嗜中性细胞悬浮液0.06 mL于微量细胞培养板孔内,加入金黄色葡萄球菌菌液0.02 mL,充分混匀,置有盖湿盒内,37℃温育30 min,每10 min轻摇1次,取一小滴于洁净玻片上,推成薄片,甲醇固定,吉姆萨染色、干燥,油镜下观察计数200个中性粒细胞,记录吞噬细菌的细胞数,计算吞噬率。

1.4.3 淋巴细胞转化率的检测 采用四甲基偶氮唑盐(MTT)法测定淋巴细胞转化率。取96孔细胞培养板,每孔加入190 μL 1×10^7 mL^{-1} 的淋巴细胞悬液,再加入含刀豆蛋白A(ConA,最终质量浓度为50 $\mu\text{g/mL}$)的 RPMI-1640 完全营养液,对照组加等体积的不含丝裂原的培养液,培养体系每孔共

200 μL , 3 个重复。将加入 ConA 的淋巴细胞于体积分数 5% CO_2 、37 $^\circ\text{C}$ 下培养 72 h, 在培养结束前 4 h, 每孔加入 5 mg/mL 的 MTT 10 μL , 继续培养 4 h。培养结束时, 每孔再加入 100 μL 质量分数 10% SDS-0.04 mol/L HCl 溶液, 30 min 后用酶标仪于 570 nm 波长下测定吸光值。

1.5 嗜中性细胞和淋巴细胞的糖皮质激素受体基因 mRNA 检测

用 TRIZOL 一步法抽提外周血淋巴细胞总 RNA。以 βactin 为内参, 采用实时荧光 PCR 检测嗜中性细胞和淋巴细胞糖皮质激素受体(Glucocorticoid receptor, GR) 基因 mRNA 的表达情况。以 GenBank 中发表的猪 GR 基因 mRNA(GenBank 登录号: AY779185) 序列为模板, 设计的引物为: 5'-GTT CCA GAG AAC CCC AAGAGT TCA-3'、5'-TCA AAG GTG CTT TGG TCTGTG GTA-3'。以 GenBank 发表的猪 βactin 基因 mRNA(GenBank 登录号: AY 550069) 序列为模板, 设计引物,

上游序列为 5'-TCTGGTGGTACCACAATGTAC-CCT-3', 下游序列为 5'-CCAGTAATTGGTACCG-GCTCCTC-3'。

1.6 数据统计与分析

数据表示为“平均数 $\pm$ 标准差”, 用 SPSS 11.5 统计分析软件中的 one-way anova 分析数据差异的显著性, 差异显著时, 采用 Duncan's 法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 围产期母猪的应激状态和健康状况

由表 1 可知, 分娩当天母猪血清皮质醇的质量浓度是产前 14 d 的 4.38 倍($P<0.01$), 是产后 14 d 的 3.60 倍($P<0.01$), 说明分娩母猪处于高强度的应激状态; 分娩当天血清结合珠蛋白的质量浓度较产前 14 d 提高 25.81%($P<0.05$), 较产后 14 d 提高 32.20%($P<0.01$), 说明分娩母猪的健康水平降低。

表 1 围产期母猪的应激状态和健康状况

Table 1 Stress status and health condition of perinatal sows

项目 Item	产前 14 d 14 days before delivery	分娩当天 Delivery day	分娩后 14 d 14 days after delivery
皮质醇/(ng $\cdot$ mL ⁻¹) Cortisol	33.64 $\pm$ 10.61 A	147.28 $\pm$ 23.59 B	40.92 $\pm$ 15.38 A
结合珠蛋白/(mg $\cdot$ mL ⁻¹) Haptoglobin	0.62 $\pm$ 0.13 aAB	0.78 $\pm$ 0.15 bB	0.59 $\pm$ 0.18 aA

注: 同行数据后标相同字母表示差异不显著 ($P>0.05$), 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: The same letters within each row mean insignificant difference ($P>0.05$), the different lowercase letters within each row mean significant difference ($P<0.05$), and the different capital letters within each row mean extremely significant difference ($P<0.01$). The same below.

2.2 围产期母猪外周血嗜中性细胞的吞噬能力和淋巴细胞的转化率

从表 2 可以看出, 分娩当天母猪外周血嗜中性细胞吞噬率较产前 14 d 减少 40.56% ($P<0.01$),

在产后 14 d 有所恢复, 但仍未达到产前 14 d 的水平 ($P<0.01$); 分娩当天母猪外周血淋巴细胞转化率较产前 14 d 减少 40.00% ($P<0.01$), 在产后 14 d 依然维持在较低水平。

表 2 围产期母猪的嗜中性细胞吞噬能力和淋巴细胞转化率

Table 2 Peripheral blood Neutrophil phagocytosis capacity and lymphocyte transformation rate of perinatal sows

项目 Item	产前 14 d 14 days before delivery	分娩当天 Delivery day	分娩后 14 d 14 days after delivery
嗜中性细胞吞噬率/% Neutrophil phagocytosis rate	64.81 $\pm$ 7.36 A	38.52 $\pm$ 9.51 B	50.45 $\pm$ 10.39 C
淋巴细胞转化率 Lymphocyte transformation rate	1.25 $\pm$ 0.13 A	0.75 $\pm$ 0.16 B	0.79 $\pm$ 0.12 B

2.3 围产期母猪外周血嗜中性细胞和淋巴细胞 GR 基因 mRNA 的表达

表 3 表明, 分娩当天母猪外周血嗜中性细胞 GR 基因 mRNA 的表达较产前 14 d 降低 43.54% ($P<0.01$), 产后 14 d 几乎恢复到产前 14 d 的水平; 分娩当天母猪外周血淋巴细胞 GR 基因 mRNA 的表达

较产前 14 d 减少 46.67% ($P<0.01$), 在产后 14 d 依然维持在较低水平。

相关分析表明, 血清皮质醇的水平与嗜中性粒细胞和淋巴细胞 GR 基因 mRNA 表达的相关性均达到极显著水平, 相关系数分别为 -0.39 ($P<0.01$) 和 -0.46 ($P<0.01$)。

3 讨 论

3.1 围产期母猪的生理状态

与产前和产后相比,分娩当天母猪血清皮质醇的浓度显著升高,皮质醇是反映机体应激状态的指标,血清皮质醇的浓度大幅度升高说明分娩当天母猪处于强烈的应激状态,这与 Meunier-Salaiin 等^[13]的研究结果一致。血清皮质醇浓度的提高既与母体应激有关,也与胎儿自身皮质醇水平升高有关^[14],

表 3 围产期母猪的嗜中性细胞和淋巴细胞糖皮质激素受体 mRNA 的相对表达水平

Table 3 Peripheral blood Neutrophils and lymphocytes GR gene expression of perinatal sows

项目 Item	产前 14 d 14 days before delivery	分娩当天 Delivery day	分娩后 14 d 14 days before delivery
嗜中性细胞 GR 基因 mRNA 表达水平 Neutrophil GR gene expression	0.62±0.11 A	0.35±0.08 B	0.59±0.09 A
淋巴细胞 GR 基因 mRNA 表达水平 Lymphocyte GR gene expression	1.35±0.28 A	0.72±0.25 B	0.70±0.25 B

当动物在受到内、外部刺激时,机体急性期蛋白会发生变化,结合珠蛋白被认为是检测猪体内急性期蛋白最具敏感性和特异性且最为有效的指标^[15],其主要由肝脏产生,大部分存在于血清中,体液中也有少量分布。结合珠蛋白的含量随着管理、应激、饲养密度、限饲、日龄及亚疾病等机体健康状态的变化而变化,是评价动物机体是否健康的直接指标,当机体发生炎症、感染、组织损伤及体内失衡时,其损害程度越大,结合珠蛋白含量越高,机体健康状况越差^[16]。在本试验中,分娩当天母猪血清结合珠蛋白的浓度显著高于分娩前 14 d($P<0.05$)和分娩后 14 d($P<0.05$),说明分娩当天母猪的健康水平降低。

3.2 围产期母猪的免疫状态

本研究以嗜中性细胞的吞噬能力作为评价母猪非特异性免疫的指标,研究发现分娩当天母猪外周血嗜中性细胞吞噬率极显著低于产前 14 d 和产后 14 d,说明分娩当天母猪的非特异性免疫水平下降。Jakovac-Strajn 等^[8]以 FITC 标记的大肠杆菌为靶细胞,以全血为样本,研究发现母猪分娩当天嗜中性白细胞吞噬能力降低,这与本研究的结果一致。但 Osterlundh 等^[17]以含酵母聚糖颗粒的大肠杆菌为靶细胞,以每个中性细胞的发光度为检测标准,研究发现围产期母猪外周血嗜中性白细胞的吞噬能力并未发生变化。经产母猪围产期外周血单核细胞的吞噬能力也没有变化^[11]。这些研究结果的差异或许与研究方法和母猪的繁殖周期有关。

嗜中性白细胞和单核吞噬系统是机体抵抗病菌感染的第一道防线,具有非特异性防御和保护作用。当有外界细菌、病毒或寄生虫侵入体内引起局部组

在妊娠末期,胎儿释放的皮质醇引起母猪血浆激素水平发生变化是启动分娩的主要因素。在母体方面,母猪分娩是其生命中应激强度最大的状态之一,分娩的起始与母体垂体-肾上腺轴活性增强有关,伴随着血浆皮质醇浓度的变化。此外,围产期母猪遭受着激素变化、筑巢行为表达障碍、异化代谢旺盛、肠道活性弱、分娩疼痛和体液丢失等方面的困扰,这些因素也会导致母猪的应激。

织发生炎症反应时,血中的嗜中性细胞就会向炎症部位作趋向游动,将侵入的微生物包围起来将其吞噬,然后被细胞内的溶酶体酶和活性氧杀灭。因此围产期母猪嗜中性细胞吞噬能力的降低可能意味着母猪对疫病的易感性增强。

在本试验中,分娩当天母猪外周血淋巴细胞转化率分别较产前 14 d 减少 40.00% ($P<0.01$),产后 14 d 依然维持在较低水平。关于围产期对母猪淋巴细胞转化率的影响已有报道,Magnusson 等^[7]发现,临产母猪外周血单个核细胞对 ConA 体外增殖反应降低。Jakovac-Strajn 等^[8]发现,临产母猪外周血单个核细胞对植物血凝素(PHA)刺激的体外增殖反应在围产期显著被抑制($P<0.001$)。此外,Purswell 等^[18]报道初产母猪泌乳第一周对 PHA 刺激的增殖能力持续降低。但是 Nickamp 等^[11]的研究表明,分娩期母猪淋巴细胞增殖反应没有降低。这些研究结果的差异可能与有丝分裂原浓度及母猪的年龄、应激状态、营养和健康状况及繁殖周期等因素有关^[10]。

3.3 围产期母猪的免疫与应激状况

皮质醇属于糖皮质激素的一种。糖皮质激素是体内重要的激素,其作为一种脂溶性脂类物质,通过被动扩散经细胞膜进入细胞内,与细胞内 GR 结合形成 GC-GR 复合物,然后进入细胞核,与靶基因中的糖皮质激素反应元件相互作用,调节基因的表达,并最终引起各种生物学效应。人类医学研究表明,孕妇妊娠后期,特别是分娩前后,血液中游离糖皮质激素上升。糖皮质激素是淋巴细胞凋亡的典型信号,其可通过神经酰胺系统、胞内 Ca^{2+} 信号系统

和 cAMP/蛋白激酶 A(PKA)等路径转导凋亡信号,从而抑制机体免疫功能,削弱机体抵抗力^[19]。

鉴于母猪分娩当天皮质醇水平升高和免疫抑制,笔者推测皮质醇影响免疫状态,因此检测了母猪外周血淋巴细胞和嗜中性细胞 *GR* 基因 mRNA 的表达情况。结果发现,分娩当天母猪外周血嗜中性粒细胞和淋巴细胞 *GR* 基因 mRNA 表达显著降低,而且相关分析表明,血清皮质醇的水平与嗜中性细胞和淋巴细胞 *GR* 基因 mRNA 的表达均呈极显著的负相关关系,说明皮质醇调控的 *GR* 与围产期嗜中性细胞和淋巴细胞功能有关。此外,皮质醇可能通过影响 Th1 和 Th2 细胞因子的产生和白细胞表面分子,如 CD62L^[20] 和 L-selectin^[21] 的表达等途径影响白细胞的功能。

4 结 论

围产期母猪处于高度应激、健康水平下降的免疫抑制状态,表现为外周血嗜中性细胞吞噬能力和淋巴细胞转化率降低;皮质醇可能通过 *GR* 路径影响嗜中性细胞和淋巴细胞 *GR* 基因 mRNA 的表达。

[参考文献]

- [1] Tuchscherer M, Puppe B, Tuchscherer A, et al. Early identification of neonates at risk; Traits of newborn piglets with respect to survival [J]. *Theriogenology*, 2000, 54: 371-388.
- [2] İrfan T U R. General reproductive properties in pigs [J]. *Turk J Vet Anim Sci*, 2013, 37: 1-5.
- [3] Meunier-Salaün M C, Gort F, Prunier A, et al. Behavioural patterns and progesterone, cortisol and prolactin levels around parturition in European (Large-White) and Chinese (Meishan) sows [J]. *Appl Anim Behav Sci*, 1991, 31: 43-59.
- [4] Mccauley I, Hartmann P E. A longitudinal study of the changes in lymphocyte populations and their relationship to plasma cortisol levels in the perinatal sow [J]. *J Reprod Immunol*, 1983, 5: 229-237.
- [5] Iwatani Y, Amino N, Tachi J, et al. Changes of lymphocyte subsets in normal pregnant and postpartum women; Postpartum increase in NK/K (Leu 7) cells [J]. *Am J Reprod Immun Micro*, 1988, 18: 52-55.
- [6] Kimura K, Goff J P, Kehrli M E, et al. Phenotype analysis of peripheral blood mononuclear cells in periparturient dairy cows [J]. *J Dairy Sci*, 1999, 82: 315-319.
- [7] Magnusson U, Fossum C. Numerical variations among blood mononuclear cells during the peripartal period in the gilt [J]. *J Veter Med B*, 1990, 37: 459-467.
- [8] Jakovac-Strajn B, Ihan A, Kopitar A N, et al. Phagocytic activity in blood and proliferation of peripheral blood lymphocytes during the perinatal period in primiparous sows [J]. *J Anim Physi Animal Nutr*, 2011, 95: 328-334.
- [9] Magnusson U, Greko C. Assessment of phagocytic capacity and opsonic activity in blood and mammary secretions during lactations in sows [J]. *J Veter Med B*, 1998, 45: 353-361.
- [10] Wuryastuti H, Stowe H D, Bull R W, et al. Effects of vitamin E and selenium on immune responses of peripheral blood, colostrums, and milk leukocytes of sows [J]. *J Anim Sci*, 1993, 71: 2464-2472.
- [11] Niekamp S R, Sutherland M A, Dahl G E, et al. Photoperiod influences the immune status of multiparous pregnant sows and their piglets [J]. *J Anim Sci*, 2009, 84: 2072-2082.
- [12] Salak-Johnson J L, DeDecker A E, Horsman M J, et al. Space allowance for gestating sows in pens; Behavior and immunity [J]. *J Anim Sci*, 2012, 90: 3232-3242.
- [13] Meunier-Salaün M C, Gort F, Prunier A, et al. Behavioural patterns and progesterone, cortisol and prolactin levels around parturition in European (Large-White) and Chinese (Meishan) sows [J]. *Appl Anim Behav Sci*, 1991, 31: 43-59.
- [14] Haussmann M F, Carroll J A, Weesner G D, et al. Administration of ACTH to restrained, pregnant sows alters their pigs hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis [J]. *J Anim Sci*, 2000, 78: 2399-2411.
- [15] Sorensen N S, Tegtmeier C, Andresen L O, et al. The porcine acute phase protein response to acute clinical and subclinical experimental infection with *Streptococcus suis* [J]. *Vete Immun Immun*, 2006, 113(1/2): 157-168.
- [16] Petersen H H, Nielsen J P, Heegaard P M. Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry [J]. *Veterinarian Res*, 2004, 35(2): 163-187.
- [17] Osterlundh I, Holst H, Magnusson U. Hormonal and immunological changes in blood and mammary secretion in the sow at parturition [J]. *Theriogenology*, 1998, 50: 465-477.
- [18] Purswell B J, Dawe D L, Brown J. Lymphocyte reactivity to mitogens and natural killer cell activity in crossbred swine during the reproductive cycle [J]. *Vet Immunol Immunopathol*, 1989, 22: 29-37.
- [19] Burnstein K L, Cidlowski J A. The down side of glucocorticoid receptor regulation [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 1992, 83: C1-C8.
- [20] Lee E K, Kehrli M E. Expression of adhesion molecules on neutrophils of periparturient cows and neonatal calves [J]. *Am J Vet Res*, 1998, 59: 37-43.
- [21] Monfardini E, Paape M J, Wang Y. Evaluation of L-selectin expression and assessment of protein tyrosine phosphorylation in bovine polymorphonuclear neutrophil leukocytes around parturition [J]. *Vet Res*, 2002, 33: 271-281.