

苷肽注射液诱导犬产生干扰素- γ 试验的研究

曲桂娟¹,孟轲音²,王延卓³,董晓庆¹,裴志花¹

(1. 吉林农业大学动物科技学院, 长春 130118; 2. 军事兽医研究所, 长春 130122; 3. 乌兰察布职业学院生物技术系, 内蒙古乌兰察布 012000)

[收稿日期] 2012-09-18 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2013) 01-0020-03 [中图分类号] S859.79

[摘要] 为了探讨新型免疫增强剂——苷肽注射液对犬免疫功能的影响,以 20 只健康犬为研究对象,随机分为四组,每组 5 只,分别注射苷肽注射液、苷肽注射液和犬五联疫苗(狂犬病、犬瘟热、副流感、传染性肝炎与细小病毒性肠炎)、犬五联疫苗、生理盐水,各组犬于注射后 0、2、7、15、21 d 采血,检测不同组间 IFN- γ 含量的变化。结果表明:苷肽注射液单独应用及其与疫苗联合应用,在注射后 2 d 就可以显著提高 IFN- γ 水平,并且可以维持 15 d;注射苷肽注射液联合犬五联疫苗组和单独注射苷肽注射液组 IFN- γ 含量显著高于单独注射犬五联疫苗组($P < 0.05$),说明苷肽注射液可以诱导 γ -干扰素的产生,从而发挥其免疫增强的作用。

[关键词] 苷肽注射液;犬;干扰素- γ ;免疫功能

Research on Generating IFN- γ of Canine Induced by the Glucoside Peptide Injection

QU Gui-juan¹, MENG Ke-yin², WANG Yan-zhuo³, DONG Xiao-qing¹, PEI Zhi-hua¹

(1. College of Animal Science and Technology, Jilin Agricultural University, Changchun, 130118, China; 2. Academy of Military Medicine, Changchun 130122, China; 3. College of Biological Technology, Ulanqab, Inner Mongolia 012000, China)

Abstract: In order to explore the influence of glucoside peptide injection, a new immune strengthening agent on immune function of canine, twenty canines were randomly divided into four groups in this experiment. There were five canines in each group. The canines in four groups were respectively injected with glucoside peptide injection, glucoside peptide injection combined with canine 5-mixed vaccines (rabies, canine distemper, parainfluenza, the infectious hepatitis and canine parvovirus viral enteritis), canine 5-mixed vaccines and normal saline. In order to detect the change of the IFN- γ content between the different groups, the blood was collected before injection and on the second day, the seventh day, the fifteen day and the twenty-one day after injection. The results showed that IFN- γ secretion level was significantly raised on the second day and maintained for 15 days, IFN- γ secretion level of canines in the group of glucoside peptide injection and the group of glucoside peptide injection combined with pentavalent vaccine was higher than canines in the group of canine 5-mixed vaccines ($P < 0.05$). This explained that glucoside peptide injection possessed the action of intensifying immunity. The results showed that glucoside peptide injection can induce IFN- γ so as to play its role of cell immunity enhancement.

Key words: glucoside peptide injection; canine; IFN- γ ; immune function

基金项目: 吉林省科技厅项目(20060205-02)

作者简介: 曲桂娟, 讲师, 博士, 从事动物生理学与药理学研究。E-mail: quguijuan2003@ yahoo.com.cn

免疫增强剂是指能非特异性增强机体原来低下的免疫功能、提高机体抗病能力的物质,是一类能增强白细胞活力并增强动物体对病毒、细菌、真菌和寄生虫引起疾病的抵抗力的化合物。单独或与抗原联合使用均能增强机体特异性、非特异性免疫应答,可降低动物对有害微生物的易感性及防止动物发生免疫抑制,对流行性疾病防控有积极的作用。目前,常用的免疫增强剂有氨基酸、多糖、肽类、中草药、左旋咪唑等^[1-4]。昔肽注射液是一种由胸腺肽和转移因子组成的复方生物制剂,本试验探讨对犬注射昔肽注射液后,通过测定 IFN- γ 的含量变化,以确定昔肽注射液对犬免疫功能的影响,从而探索其作为免疫增强剂在生产中的实际应用价值。

1 材料和方法

1.1 昔肽注射液与疫苗 昔肽注射液:吉林省天达动物药业有限责任公司提供,批号为 20030601。犬五联疫苗:由狂犬病、犬瘟热、副流感、传染性肝炎与细小病毒性肠炎疫苗弱毒株组成,吉林大学犬病中心提供,批号为 22611202。

1.2 试验动物与分组 选自吉林大学实验牧场,2月龄、体重 3 kg 左右,20 只健康雄性犬。将犬随机分为四个处理组,每组 5 只。A 组注射昔肽注射液(0.25 mL/kg·bw),B 组注射昔肽注射液(0.25 mL/kg·bw)和一头份犬五联疫苗,C 组注射一头份犬五联疫苗,D 组注射生理盐水(2 mL)作为对照组,分组饲养。

1.3 血液的采集 分别于注射当天、注射后 2、7、15、21 d 无菌采集犬颈静脉血,分离血清。

1.4 IFN- γ 的检测 采用上海科兴生物科技有限公司购买的犬 IFN- γ -ELISA(TPI Inc. Lot. No. 011717 Catalog No. IH330)试剂盒检测。

1.5 数据处理 应用 SPSS17.0 软件对实验结果进行统计分析,数据以平均数 \pm 标准差表示,各组间的差异显著性采用 LSD 检测法比较。

2 结果与分析

结果如图 1 所示。从图 1 可以看出,犬注射免疫增强剂和五联疫苗之后,与对照组相比均可刺激机体产生 γ -干扰素,且能维持到注射后 15 d,注射后 21 d 恢复到正常水平。并且加入免疫增强剂后,机体产生的 γ -干扰素显著高于未加免疫增强剂组($P < 0.05$)。因而,本试验表明,该免疫增强剂具有较明显的刺激机体产生 γ -干扰素的能力。

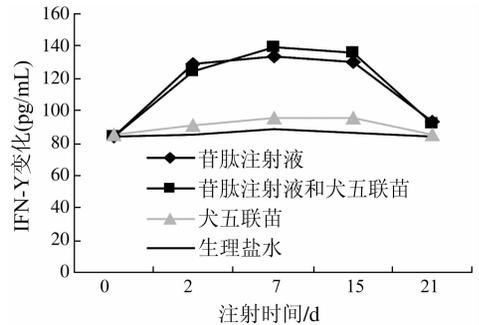


图 1 犬注射昔肽注射液和五联苗诱导产生 IFN- γ 含量的变化

3 讨论

昔肽注射液是将动物脾脏中提取的胸腺肽、转移因子按照一定比例配制而成的复方生物制剂,已应用于临床,并且取得了显著的效果。由于该免疫增强剂含有胸腺肽和转移因子,因此其可激活机体的免疫器官,使其产生免疫活性物质,促进 T 淋巴细胞的分化增殖、B 淋巴细胞的转化、提高抗体水平及增加白细胞介素受体表达^[5-8],通过诱导、调动、调节细胞免疫功能,改善机体免疫状态,进而达到增强机体的抗病效应,提高动物的生产性能^[9]。本试验中,该免疫增强剂单独应用和与疫苗联合应用,在注射的第 2 天就可以显著提高犬 IFN- γ 的含量,并且可持续到第 15 天,21 d 时恢复到正常水平,说明该免疫增强剂可以诱导 IFN- γ 的产生,提高机体的非特异性免疫机能。这与曹瑞兵报道的猪 α 干扰素可显著增强 Cap 蛋白亚单位疫苗接种仔猪的体液免疫反应结论相一致^[10]。

IFN 是生物细胞受干扰素诱生剂作用后,产生的一类高活性、多功能的糖蛋白。大量的研究发现,干扰素不仅对免疫应答具有调节作用,并且具有抗肿瘤和广谱抗病毒作用^[11-14]。干扰素对免疫应答起调节作用的因子主要是 IFN- γ ,其作用机制是有利于巨噬细胞对抗原的吞噬,K、NK 细胞对靶细胞的杀伤以及 T、B 淋巴细胞的激活,增强机体免疫应答能力。同时还可以刺激中性粒细胞,增强其吞噬能力,活化 NK 细胞,增强其细胞毒作用等来参与免疫调节^[15]。因此,IFN- γ 的含量可以反应免疫机能的情况。本试验中,在犬注射该免疫增强剂 2 d 后就可以显著提高 IFN- γ 含量,表明其对犬有较明显的诱导产生干扰素细胞因子的能力,说明其具有提高机体非特异性免疫的作用。由于该免疫增强剂是复方生物制剂,可以减少耐药性的

产生及药物的残留,而且能全面提高机体的免疫力及疾病的治疗效果。因此,该免疫增强剂克服了抗生素及其他制剂的不足,具有广阔的应用前景。

参考文献:

[1] 张耀武,郑建武,李文辉,等.复方中草药制剂对黄颡鱼生长和非特异性免疫功能的影响[J].水产科学,2010,29(4):225-228.

[2] 高吉青,刘升发,韩伟,等.胸腺素a原作为约氏疟原虫疫苗免疫佐剂的初步研究[J].中国免疫学杂志,2011,27:552-555.

[3] 李树鹏,郝艳霜,欧阳五庆.黄芪多糖与紫锥菊提取物纳米乳的制备及免疫佐剂效应研究[J].西北农林科技大学学报,2011,39(10):10-16.

[4] 郭玉娟,陈学年.A3a肽聚糖对受免彭泽鲫免疫应答影响的研究[J].中国预防兽医学报,2006,36(1):33-36.

[5] 董晓庆,曲桂娟,程培英.苷肽注射液对猪免疫器官及血液指标的影响研究[J].中国兽药杂志,2010,44(1):35-37.

[6] 曲桂娟,董晓庆,王延卓,等.苷肽注射液对犬外周血CD⁺₄、CD⁺₈比值的影响[J].中国兽药杂志,2011,45(10):10-11.

[7] 曲桂娟,董晓庆,王延卓,等.苷肽注射液对犬淋巴细胞转化

试验[J].中国兽药杂志,2010,44(12):12-13.

[8] 袁玉仲,袁正东,李晓华,等.芪黄素和转移因子对蛋鸡新城疫疫苗免疫效果的影响[J].中国家禽,2012,14(34):67-71.

[9] 曲桂娟,程培英,董晓庆,等.苷肽注射液对猪生产性能的影响[J].安徽农业科学,2009,37(26):12575-12588.

[10] 曹瑞兵,周国栋,陈溥言.猪α干扰素对猪圆环病毒2型亚单位疫苗免疫效果的影响[J].畜牧兽医学报,2009,40(6):867-872.

[11] 王艳,王新卫,周欣,等.干扰素对新城疫灭活苗抗体滴度的影响[J].安徽农业科学,2008,36(31):13639-13640.

[12] 李志中,凌红丽,高亚东,等.鸡γ干扰素联合新城疫活疫苗对肉鸡免疫效果的研究[J].中国动物检疫,2009,26(11):37-39.

[13] 解希帝.猪α、β、γ干扰素在新城疫病毒La Sota株中的高效稳定表达及抗病毒活性研究[D].呼和浩特:内蒙古农业大学,2008.

[14] 杨华.猪白细胞干扰素治疗小鹅瘟效果观察[J].中国兽医杂志,2000,26(2):54.

[15] 侯云德.干扰素研究进展[J].医学分子生物学杂志,1979,(4):77-79.

(责任编辑:侯向辉)

(上接第16页)

HA效价仍然在上升。分析原因,可能是TCID₅₀的测定时病毒是10的倍数系列稀释,而HA效价的测定是病毒的2倍系列稀释,也抑或是病毒装配完全成熟的病毒粒子与装配具有感染力的病毒粒子的过程所需时间不一致,也就是说,可能病毒具有感染力时,其装配不一定是完整的,至少凝聚素可能还没有完全装配“齐全”或空间构象还没有展开。因此,为得到高质量的PPV(CG-05株)病毒抗原,单凭TCID₅₀测定或HA效价测定一个指标来评判可能存在不足,需综合考虑。

在用ST细胞同步接种PPV(CG-05株)病毒时,病毒接种后56~96h之间收毒,比较稳妥可行。在56~96h之间,如果病变达到80%以上,且细胞脱落已形成20%以上空斑,即可收获。

参考文献:

[1] 殷震,刘景华.动物病毒学[M].第2版.北京:科学出版社,1997:1145-1155.

[2] 司徒镇强,吴军正.细胞培养[M].第1版.西安:世界图书出版西安公司,2004:78-80.

[3] 殷华平,郭万柱,徐志文,等.猪细小病毒(PPV)SC1株的分离鉴定[J].黑龙江畜牧兽医,2006,7:63-65.

[4] 庄金秋.猪细小病毒在不同组织细胞上增殖特性的研究[J].现代畜牧兽医,2005,7:47-48.

[5] 倪娇,赵建增,刘长辉,等.猪细小病毒在PK15细胞中增殖规律的研究[J].中国兽药杂志,2009,43(1):21-24.

[6] 魏战勇,崔保安,黄克和,等.猪细小病毒在PK细胞中的增殖过程[J].中国兽医学报,2005,25(5):453-455.

(责任编辑:李文平)