学报, 1990, 7(3): 182- 184.
〔5〕 吴仕九,杨运高, 杨钦河, 等. 温病湿热证动物模型的研制及清热祛湿法机理的探讨 [J]. 中国中医药科技, 1999, 6(2): 65- 67.
〔6〕 周燕萍,高清华, 李华锋, 等. 3种温病治法对温病湿热证模型血脂影响的对比研究 [J]. 中医药学刊, 2006, 24(2): 368- 369.
〔7〕 干雅平,章子贵, 申秀英, 等. 硝酸铈对小鼠内脏形态结构影响 [J]. 中国公共卫生, 2006, 22(1): 76- 77.
〔8〕 谢娟,来则民,黄国伟. 高密度脂蛋白胆固醇 (HDL- C)异常的危险因素研究 [J]. 中国公共卫生, 2000, 16(11): 971- 972.
〔9〕 莫日根,韩雪梅,史圣华. 蒿芩清胆汤对温病湿热证动物模型影响的实验研究 [J]. 中医研究, 2006, 19(6): 12- 15.

收稿日期: 2008-09-01 (蔡天德编校)

文章编号: 1001-0580(2009)02-0199-02 中图分类号: R 135.+1 文献标志码: A 【论 著】

铅暴露对猪免疫功能影响*

魏帅[1,2], 魏益民[2], 郭波莉[2], 潘家荣[2], 杨鸣琦[1], 文 一[2]

摘 要: 目的 探讨饲料中添加不同剂量铅对猪免疫功能的影响。方法 将 24头 14~ 17 kg仔猪随机分为 4组, 用正常饲料和分别添加 5, 15, 45 mg/kg(分别为低、中、高剂量组, 均按含铅量计)醋酸铅的饲料对其进行 90 d攻毒饲养试验。测定猪血液中白细胞数量 (WBC)、血清中免疫球蛋白 (IgM、IgG、IgA)、和补体 (C_3, C_4)含量, 并使用四甲基偶氮噻唑盐 (MTT)法检测血液中 T淋巴细胞活力。结果 低剂量组 T淋巴细胞活力降低 29.3%, 与对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 中剂量组 IgA含量下降 0.12 g/L, T淋巴细胞活力降低 25.2%, 与对照组比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 高剂量组的白细胞 (WBC). IgM、IgG、IgA、C_3 含量分别下降 4.3×10^9, 1.48, 0.13, 0.14, 0.31 g/L, T淋巴细胞活力下降 37.4%, 与对照组比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 饲料中含铅量达到 5 mg/kg时影响猪免疫功能, 高于 45 mg/kg时可导致猪免疫力显著降低。

关键词: 铅; 饲料; 猪; 免疫功能

Effect of lead exposure on immune function in pigs *WEI Shuai, WEI Yimin, GUO Boli, et al. College of Veterinary Medicine, Northwest Agriculture and Forest University (Yangling 712100, China)*

Abstract Objective To study the effect of lead exposure on immune function of pigs. **Methods** Twenty- four pigs were randomly divided into four groups and were fed for 90 days with normal feeds and feeds with lead content of 5 mg/kg (low dose), 15 mg/kg (medium dose), 45 mg/kg (high dose), respectively. The number of white blood cell (WBC) and IgM, IgG, IgA, C_3, C_4 level in serum were measured and T- lymphocyte activity was determined by MTT method. **Results** T- lymphocyte activity in low- dose group decreased by 29.3% compared with the control group ($P < 0.05$). The content of IgA and T- lymphocyte activity in the medium- dose group decreased by 0.12 g/L and 25.2%, respectively, compared with the control group ($P < 0.05$). The content of WBC, IgM, IgG, IgA and C_3 in high dose group decreased by 4.3×10^9/L, 1.48 g/L, 0.13 g/L, 0.14 g/L, 0.31 g/L, respectively. While the T- lymphocyte activity was 37.4% lower than that of the control group, and all the differenes compared with the control group were statistical significant ($P < 0.05$). **Conclusion** The immunity of pigs could be affected by lead in feed when its content was up to 5 mg/kg, and could be signincantly decreased with the lead content above 45 mg/kg.

Key words: lead; feed; pig; immune function

近年来, 伴随饲料工业的发展, 为满足畜禽快速生长需要, 我国畜牧业生产过程中存在盲目向饲料中添加过多微量元素的现象, 导致饲料中铅超标的情况时有发生, 对畜禽健康和食品安全造成潜在的危害[1]。有研究表明, 长期低剂量铅暴露可以抑制 T淋巴细胞的增殖和分化[2,3], 并导致血清中免疫球蛋白 IgM, IgG含量降低[4]。本研究观察饲料中添加不同剂量铅对猪免疫机能的影响, 找出饲料中铅含量与猪免疫毒性的剂量 -效应关系, 为国家制定饲料中铅含量限量标准提供理论依据。

1 材料与方法

* 基金项目: 国家自然科学基金 (30671484); 国家"十·一五"科技支撑计划项目 (2006BAK02A16)
作者单位: 1. 西北农林科技大学动物医学学院, 陕西 杨陵 712100; 2. 中国农业科学院农产加工研究所, 北京 100094
作者简介: 魏帅 (984-), 男, 陕西西安人, 硕士在读, 主要从事细胞病理与食品安全风险评估研究。
通讯作者: 魏益民

1.1 材料与仪器 健康商品仔猪 24头, 雌雄各半 (陕西杨陵上河猪场), 体重 14~ 17 kg醋酸铅 (纯西安化学试剂厂); 胎牛血清培养液 (DMEM) (美国 Gibco公司); 植物凝集素 (PHA- P) (美国 Sigma公司); 二甲基亚砜 (DMSO, 美国 Sigma公司); 猪淋巴细胞分离液 (天津灏洋生物制品科技责任公司); 标准胎牛血清 (天津灏洋生物制品科技责任公司); XD811L生化分析仪 (上海迅达医疗仪器有限公司); CA500三分类血液分析仪 (日本埃尔玛公司); CKX41倒置显微镜 (日本 Olympus公司); MCO- 15AC二氧化碳培养箱 (日本 Sanyo公司); DG5030多孔酶标测定仪 (国营华东电子管厂)。

1.2 分组与染毒 24头猪随机分为 4组, 每组 6头, 分别为对照组和低、中、高剂量组 (饲料中分别添加铅 5.0, 15.0, 45.0 mg/kg)。正常饲料适应性饲养 10 d后, 攻毒饲养持续 90 d。

1.3 血液中白细胞数量分析 采用乙二胺四乙酸钠 (EDTA

-Na)真空采采取猪血管抗凝血,血液分析仪测定全血中白细胞数量。

1.4 T淋巴细胞活力测定 采用 T淋巴细胞转化试验测定 T淋巴细胞转化率。于猪前腔静脉采取无菌抗凝血,经猪淋巴细胞分离液分离出淋巴细胞,显微镜下稀释至 5×10^6 个/ml,加入含 PHA-P的 DMEM 培养藏 100μl(PHA-P终浓度为 9μg/ml), CO_2 培养箱孵育 68 h,之后加入四甲基偶氮噻唑蓝 (MTT 5 mg/ml) 10μl,继续孵育 4 h,加入 100μl DMSO,轻微振荡 10 min,利用酶标仪在 490 nm 波长下测定其吸光度(*A*)值。用加 PHA-P孔的吸光度值减去不加 PHA-P孔的吸光度值代表淋巴细胞的活力。

1.5 免疫球蛋白(IgM, IgG, IgA)和补体(C_3, C_4)测定 采用免疫比浊法,按照试剂盒说明操作。试剂盒(上海玉兰生物技术有限公司)。

1.6 统计分析 采用 SPSS 13.0软件进行方差分析和 Duncan多重比较分析。

2 结 果

2.1 铅对猪血液中白细胞数量及 T淋巴细胞活力的影响(表 1) 低中剂量组血液中白细胞数量较对照组略有降低,差异无统计学意义 ($P>0.05$);高剂量组血液中白细胞数量显著低于对照组 ($P<0.05$)。3个剂量组 T淋巴细胞活力与对照组比较差异均有统计学意义 ($P<0.05$),且中剂量组 T淋巴细胞活力较低剂量组略有上升,但 3个攻毒组血液内 T淋巴细胞活力差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

表 1 铅暴露对猪白细胞数量和 T淋巴细胞活力影响 ($\bar{x}\pm s$)

组 别	白细胞数量(WBC) ($\times10^9$/L)	T淋巴细胞活力 (*A*)
对照组	11.3±0.4	222±27
低剂量组	10.7±0.5	157±16
中剂量组	10.9±0.6	166±15[a]
高剂量组	7.0±1.2[a]	139±15[a]

注:与对照组比较,a$P<0.05$。

2.2 铅对猪血清中免疫球蛋白及补体含量的影响(表 2) 随着饲料中铅含量的增高,血清中免疫球蛋白数量呈下降趋势。结果显示,高剂量组体内 IgG、IgA含量均显著低于对照组 ($P<0.05$);中剂量组体内 IgA含量显著低于对照组 $P<0.05$);低剂量组各类免疫球蛋白含量与对照组比较差异均无统计学意 ($P<0.05$)。随着饲料中铅含量的增加,C_3 含量呈逐步降低趋势,且高剂量组血清中 C_3 含量与对照组比较差异有统计学意义 ($P<0.05$),而中、低剂量组血清中 C_3 含量与对照组之间比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。C4含量低剂量组与高剂量组比较差异有统计学意义 ($P<0.05$)。

表 2 铅暴露对猪血清中免疫球蛋白和补体含量影响 ($\bar{x}\pm s$, g/L)

组 别	IgG	IgM	IgA	C_3	C_4
对照组	3.10±0.22	0.35±0.07	0.47±0.02	0.62±0.04	0.22±0.02
低剂量组	2.98±0.28	0.34±0.11	0.37±0.05	0.59±0.07	0.26±0.04
中剂量组	2.43±0.34	0.31±0.12	0.35±0.02[a]	0.47±0.06	0.18±0.02
高剂量组	1.62±0.09[a]	0.22±0.05[a]	0.33±0.02[a]	0.31±0.04[a]	0.15±0.02

注:与对照组比较,a$P<0.05$。

3 讨 论

T淋巴细胞转化试验是目前测定机体细胞免疫功能状态的一种较好的方法,而测定血清中的 IgM、IgG、IgA、C_3、C_4 含量则能较好地反映出机体体液免疫能力的强弱。

研究发现,饲喂含铅饲料可导致猪体内白细胞含量降低,T淋巴细胞活力下降,免疫球蛋白与补体含量下降。说明食用含铅饲料可以使猪免疫力降低,证明铅具有免疫毒性,与相关报道一致[5-8]但也有报道表明,铅可以促进 T淋巴细胞的增殖和分化,低浓度的铅在体外可以激活小鼠淋巴细胞,使其 DNA 合成增加[9]。本实验发现,中剂量组 T淋巴细胞活力略高于低剂量组,但远低于对照组。提示,铅含量在一定范围内或许可以小幅度提高 T淋巴细胞活力,但具体作用机制还有待于进一步研究。

实验结果表明,低剂量组 T淋巴细胞活力测定结果与对照组比较差异有统计学意义,($P<0.05$),说明饲料中含铅 5 mg/kg对试验猪免疫能力的损伤已经在少数指标上开始体现。高剂量组的试验猪各免疫指标与对照组相比急剧降低,其中 WBC、IgG、IgA、C_3 与对照组比较差异有统计学意义 ($P<0.01$),说明饲料中铅含量达到 45 mg/kg已经对猪免疫力造成极严重影响,与成军[10]等研究结果部分相似。

参考文献

〔1〕何进,黄逸红.饲料中铅、镉含量超标的危害与对策[J].饲料博览,2006,(5):45-47.

〔2〕Mishra KP, Singh VK, Rani R, et al. Effect of lead exposure on the immune response of some occupationally exposed individuals[J]. Toxicology, 2003, 188(2-3): 251-259.

〔3〕赵剑,蔡原,谭成森,等.铅和乙醇对雄性小鼠细胞免疫功能影响[J].中国公共卫生,2006,22(1):52-53.

〔4〕Sarasua SM, Vogt RF, Henderson LO, et al. Serum immunoglobulins and lymphocyte subset distributions in children and adults living in communities assessed for lead and cadmium exposure[J]. Journal of Toxicoloy and Environmental Health, 2000, 60(1): 1-15.

〔5〕Koller LD, Kovacic S. Decreased antibody formation in mice exposed to lead[J]. Nature, 1974, 250(462): 148-150.

〔6〕Lee JE, Naqi SA, Kao E, et al. Embryonic exposure to lead: comparison of immune and cellular responses in unchallenged and virally stressed chickens[J]. Arch Toxicol, 2002, 75(11-12): 717-724.

〔7〕Lee JE, Chen S, Karen A, et al. Developmental windows of differential lead-induced immunotoxicity in chickens[J]. Toxicology, 2001, 156(2-3): 161-170.

〔8〕钟振伟,王净.小鼠喂养低铅饲料对细胞免疫功能的影响[J].中国公共卫生,2002,18(12):1429-1430.

〔9〕Krocova Z, Macela A, Kroca M, et al. The immunomodulatory effect(s) of lead and cadmium on the cells of immune system *in vitro*[J]. Toxicol *in Vitro*, 2000, 14(1): 33-40.

〔10〕成军,高丰,金天明,等.仔猪实验性铅中毒的血液学变化[J].内蒙古民族大学学报:自然科学版,2004,19(2):190-192.

收稿日期:2008-06-15 (宋艳萍编辑 蔡天德校对)

中国公共卫生 CPH