



江西农业大学学报

Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis

ISSN 1000-2286, CN 36-1028/S

《江西农业大学学报》网络首发论文

题目：口服太子参皂苷对鸡免疫功能和炎症反应的影响
作者：廖丽华，郑娉，许高琳，陈沛予，马玉芳，王全溪
收稿日期：2024-02-29
网络首发日期：2024-04-10
引用格式：廖丽华，郑娉，许高琳，陈沛予，马玉芳，王全溪. 口服太子参皂苷对鸡免疫功能和炎症反应的影响[J/OL]. 江西农业大学学报.
<https://link.cnki.net/urlid/36.1028.s.20240408.1926.002>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

口服太子参皂苷对鸡免疫功能和炎症反应的影响

廖丽华, 郑娱, 许高琳, 陈沛予, 马玉芳, 王全溪*

(福建农林大学 动物科学学院/中西兽医结合与动物保健福建省高等学校重点实验室/福建省兽医中药与动物保健重点实验室, 福建 福州 350002)

摘要: 【目的】旨在研究口服太子参皂苷 (RP) 对鸡免疫功能和炎症反应的影响, 为使用 RP 作为免疫增强剂提供科学依据, 对家禽养殖业的疾病预防和健康维护具有实际应用价值。【方法】试验以鸡毒支原体 (MG) 抗原、抗体均为阴性的 30 日龄健康河田鸡为研究对象, 根据初始体重平均分为五组, 空白组不给药及疫苗, 疫苗对照组口服灭菌生理盐水 7 d 后免疫 MG 弱毒疫苗, 3 个剂量 RP 组分别连续口服 RP (100 mg/kg、20 mg/kg、5 mg/kg) 7 d 后免疫 MG 弱毒疫苗, 一免后 28 d 进行二免, 试验期 49 d。采用间接 ELISA 法检测血清中 MG 特异性抗体消长规律及抗体阳性率和细胞因子 (IFN- γ 、IL-4、IL-5、IL-1 α 、CCL4、IL-17A、IL-6) 含量。【结果】(1) RP 组与疫苗对照组相比, 口服 RP 能有效提高一免及二免后 7 天的 MG 特异性抗体滴度及抗体阳性率 ($P < 0.05$), 其中以 RP 高剂量 (100 mg/kg) 效果最佳。(2) 细胞因子表达水平中, 与疫苗对照组相比, RP 高剂量 (100 mg/kg) 和中剂量 (20 mg/kg) 组血清中免疫因子 (IFN- γ 、IL-4、IL-5) 的含量在一免后 3 天呈现显著上升 ($P < 0.05$), 一免后 7 天无明显差异; (3) 与疫苗对照组相比, RP 组炎症细胞因子 (IL-1 α 、CCL4、IL-17A、IL-6) 血清中的含量显著降低 ($P < 0.05$), 高剂量组 (100 mg/kg) 下降最为显著。【结论】免前口服太子参皂苷 (RP) 能够提高河田鸡的免疫功能, 并降低由 MG 弱毒疫苗引起的炎症反应, 其中 RP 100 mg/kg 的剂量效果最优。

关键词: 太子参皂苷; 鸡毒支原体弱毒疫苗; 免疫功能; 细胞因子

中图分类号: S858.31 文献标识码:A

Effects of oral administration of *Pseudostellaria heterophylla* saponins on immune function and inflammatory response in chickens

LIAO Lihua, ZHENG Yu, XU Gaolin, CHEN Peiyu, MA Yufang, WANG Quanxi*

(School of Animal Science, University Key Laboratory for Integrated Chinese Traditional and Western Veterinary Medicine and Animal Healthcare in Fujian Province, Fujian Key Laboratory of Traditional Chinese Veterinary Medicine and Animal Health, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: [Objective] The aim of this study was to investigate the effects of oral administration of *Radix Pseudostellariae* (RP) on immune function and inflammatory response in chickens, and to provide a scientific basis for the use of RP as an immunopotentiator, which has practical application value for disease prevention and health maintenance in poultry industry. [Method] The 30-day-old healthy Hetian chickens with negative *Mycoplasma gallisepticum* (MG) antigen and antibody were used as subjects in the study. According to the initial body weight, they were divided into five groups, the blank group was not administered with drugs and vaccines. The vaccine control group was immunized with MG attenuated vaccine after oral administration of sterilized normal saline for 7 days. The three dose RP groups were orally administered with RP (100 mg/kg, 20 mg/kg, 5 mg/kg) for 7 days and then immunized with MG attenuated vaccine, the second immunization was carried out 28 days after the first immunization, and the test period was 49 days. Indirect ELISA was used to detect the growth and decline of MG-specific antibodies in serum, the positive rate of antibodies and the content of cytokines (IFN- γ , IL-4, IL-5, IL-1 α , CCL4, IL-17A, IL-6). [Results] (1) Compared with the vaccine control group, oral administration of RP before immunization can effectively improve the MG specific antibody titer and antibody positive rate 7 days after the first immunization and the second immunization, among them, the high dose of RP (100 mg/kg) had the best effect. (2) In the expression level of cytokines, compared with the vaccine control group,

收稿日期: 2024-02-29 修回日期: 2024-03-14

基金项目: 福建省科技重大专项项目 (2021NZ029008)

Project supported by the Major Special Project of Fujian Province (2021NZ029008)

作者简介: 廖丽华, 硕士生, orcid.org/0009-0007-0969-2962, liaolihua0410@foxmail.com; *通讯作者: 王全溪, 教授, 博士生导师, 主要从事动物宿主与病因互作研究, orcid.org/0000-0001-9432-9955, wqx608@126.com。

the content of immune factors (IFN- γ , IL-4, IL-5) in the serum of the RP high-dose (100 mg/kg) and medium-dose (20 mg/kg) groups increased significantly on the 3rd day after the first immunization ($P<0.05$), and there was no significant difference on the 7th day after the first immunization.(3) Compared with the vaccine control group, the serum levels of inflammatory cytokines (IL-1 α , CCL4, IL-17A, IL-6) in the RP group were significantly decreased($P<0.05$), and the high-dose group (100 mg/kg) decreased most significantly. **[Conclusion]**The results showed that oral administration of RP before immunization could improve the immune function of Hetian chickens and reduce the inflammatory response caused by MG attenuated vaccine, and the dose of RP 100 mg / kg had the best effect.

Keywords: Radix Pseudostellariae; *Mycoplasma gallisepticum* attenuated vaccine; immune function; cytokines

【研究意义】太子参 (*Pseudostellaria heterophylla*) 别名孩儿参, 主要产地在福建柘荣, 含有皂苷、多糖、环肽等成分, 有益气健脾、生津润肺的功效, 药性较为温和。太子参皂苷 (Radix Pseudostellariae, RP) 是从太子参中提取的活性成分, 研究表明其具有增强免疫、抗应激、抗氧化等药理作用, 并且太子参对于动物的免疫器官发育也有积极作用, 有利于提高动物免疫功能^{[1][2]}。皂苷是苷元为三萜或螺旋甾烷类化合物的一类糖苷, 在许多的植物体内被发现, 随着研究不断的深入, 它被作为一种疫苗佐剂应用于各种疫苗中。**【前人研究进展】**Xu 等^[3] 将油包水佐剂 CV 13 加入人参茎叶皂苷 (Ginseng stem leaf saponins, GSLS) 作为免疫增强剂, 对口蹄疫病毒 (Foot-and-mouth disease virus, FMDV) 抗原的免疫活性和佐剂效应进行了评价, 结果表明含有 GSLS 的 CV 13 制备的 FMD 疫苗免疫小鼠的抗体滴度和脾细胞增殖率均被显著提高。苏菲等^[4] 通过人参皂苷 Rg1 和重组大肠杆菌不耐热肠毒素 rLTB 联合滴鼻免疫小鼠, 发现 Rg1-rLTB 能够显著上调 Th1、Th2 和 Th17 型细胞因子的转录水平, 明显提高血清和局部黏膜中的 OVA 特异性 IgA 和 IgG 抗体水平。Qi 等^[5] 利用皂素佐剂 Quil-A 和针刺通路激活剂联合免疫小鼠, 发现发病率明显降低, 且佐剂组残余炎症水平最低。马玉芳^[6] 等发现太子参须皂苷 (Radix Pseudostellariae fibrous roots saponins, RPFRS) 可以通过提高 RAW 264.7 细胞的增殖能力、吞噬活性、分泌 NO 和细胞因子能力从而增强 RAW 264.7 细胞的免疫功能。还有研究证明, 太子参须皂苷能够增强小鼠免疫功能, 提高免疫模式抗原 (Ovalbumin, OVA) 免疫原性, 加强小鼠对 OVA 免疫应答能力, 从而起到一定佐剂作用^[7]。Choi 等^[8] 发现太子参通过下调 NF- κ B、 κ B α 磷酸化抑制剂的作用和丝裂原活化蛋白激酶的蛋白表达水平, 调节 Th1 和 Th2 水平以达到治疗小鼠特应性皮炎 (Atopic dermatitis, AD) 的效果。目前已有少数皂苷佐剂获批上市, 例如美国食品药品监督管理局 2017 年批准了一种佐剂名为 AS01 的带状疱疹疫苗 Shingrix®, 该疫苗的主要成分是 QS-21 皂苷和单磷脂酰 A。可见皂苷具有较好的免疫增强效果, 可以作为一种新型的疫苗佐剂。

【本研究切入点】鸡毒支原体 (*Mycoplasma gallisepticum*, MG) 引发的鸡慢性呼吸道疾病 (Chronic respiratory disease, CRD) 是全球养禽业临床常遇的慢性疾病, 给世界各地养禽业造成巨大的经济损失。现今, 对于 MG 的防治策略主要停留在抗菌药物的使用上, 但抗菌药物的滥用也带来了细菌耐药性增加以及药物残留等负面问题^[9], 所以疫苗免疫是防控鸡毒支原体的有效方法之一。常用 MG 商业化弱毒疫苗主要有 F 株、Ts-11 株等, 尽管这些疫苗株毒力温和, 但是其也极易产生接种反应, 如炎症反应^{[11][11]}。皂苷佐剂因其能够增强疫苗的免疫效果而备受关注, 虽然皂苷佐剂在动物疫苗应用中已经取得了一定的进展, 但是关于太子参皂苷在鸡毒支原体疫苗中的应用和免疫作用研究, 目前还是相对匮乏。**【拟解决的关键问题】**本研究以福建省地方优质肉鸡品种—河田鸡为对象, 分别通过免疫 MG 疫苗前饮水口服不同剂量的 RP, 探讨口服 RP 对鸡群免疫功能和炎症反应的影响, 研究结果可为 RP 在家禽中的使用提供理论基础和参考。

1 材料与方法

1.1 试验动物

挑选并检测鸡毒支原体抗原、抗体均为阴性健康 30 日龄河田鸡 90 只, 公母各半; 试验动物来源: 长汀县河田鸡保种场; 免疫情况: 鸡群已免疫马立克氏病 CVI988 液氮苗, 新城疫、禽流感二联油乳剂苗; 初始体重: (546 \pm 15) g。适应性饲养 3 d 后开始进行试验。

1.2 试验药品及主要试剂

太子参总皂苷, 购自兰州沃特特莱斯生物科技有限公司; 生理盐水, 购自福州海王福药制药公司; 人参皂苷 Re, 香草醛, 均购自北京谨明生物科技有限公司; MG 弱毒疫苗 (F36) (MGAV F36), 兆丰华生物科技有限公司提供; 细胞因子 ELISA 检测试剂盒购自上海苗彩生物科技有限公司; 鸡毒支原体抗体检测试剂盒 (MG Ab) 购自北京爱德士生物科技有限公司。

1.3 太子参总皂苷含量测定

经查阅《中华人民共和国药典》和参考文献^{[12] [13]}, 太子参皂苷含量测定中缺少从太子参中分离得到的对照品, 选择化学结构相近的人参皂苷 Re 为对照品, 采用香草醛-硫酸显色法对人参皂苷 Re 进行显色反应, 在酶标仪中以 560 nm 波长测定其 OD 值, 以 OD 值为纵坐标, 标准品含量为横坐标, 绘制人参皂苷 Re 为对照品的标准曲线。称取各待测太子参皂苷样品 1.10 mg、1.20 mg 于玻璃试管中, 重复 3 份, 再次利用香草醛-硫酸显色法进行显色反应, 在酶标仪中以 560 nm 波长得到太子参皂苷样品相应吸光度 OD 值, 根据人参皂苷 Re 标准曲线方程, 计算出太子参总皂苷含量。

1.4 试验分组及免疫程序

本研究选用 MG 抗体与抗原检测均为阴性的 30 日龄健康鸡适应性饲养 3 天后, 根据体重平均分为 5 组, 每组 18 只鸡, 公母各半。一免二免空白组滴鼻生理盐水 0.1 mL/羽, 对照组只进行滴鼻鸡毒支原体弱毒 (F36 株) 疫苗 3.0×10^6 CCU/羽, RP 试验组依据前人研究结果^{[6] [7]} 将其分为 100 mg/kg (高)、20 mg/kg (中)、5 mg/kg (低) 3 个剂量于生理盐水中进行稀释, 一免前每日 1 次, 连续口服 7 d 后, 滴鼻疫苗, 于一免后抗体滴度呈下降趋势近临界值时, 按照一免的免疫程序进行二免, 继续观察抗体的消长规律和鸡群健康情况。具体分组及免疫程序见表 1。

表 1 试验分组及免疫程序表

Table 1 Experimental grouping and immune procedure table

试验分组 Test groups	免疫情况 Immune Situation	给药情况 Administration situation	试验鸡数量 Number of test chickens
空白组 Blank group	一免、二免均不免疫	一免、二免都不给药	18
疫苗对照组 Vaccine control group	滴鼻鸡毒支原体弱毒疫苗 (F 株) 3.0×10^6 CCU/羽	免前每日一次, 连续口服 7 d 生理盐水, 滴鼻疫苗	18
高剂量组 High dose group	滴鼻鸡毒支原体弱毒疫苗 (F 株) 3.0×10^6 CCU/羽	免前每日一次, 连续口服 7 d RP 后, 滴鼻疫苗	18
中剂量组 Middle dose group	滴鼻鸡毒支原体弱毒疫苗 (F 株) 3.0×10^6 CCU/羽	免前每日一次, 连续口服 7 d RP 后, 滴鼻疫苗	18
低剂量组 Low dose group	滴鼻鸡毒支原体弱毒疫苗 (F 株) 3.0×10^6 CCU/羽	免前每日一次, 连续口服 7 d RP 后, 滴鼻疫苗	18

1.5 ELISA 检测 RP 对鸡免后血清中 MG 特异性抗体阳性率、抗体效价及消长规律的影响

每组固定抽取 6 只鸡于给药前, 一免后 7 d、14 d、21 d、28 d, 二免后 7 d、14 d、21 d 采集鸡群外周血 (翅静脉) 3 000 r/min 转速, 离心 10 min, 得血清, -80°C 冰柜保存备用。根据 IDEXX 鸡毒支原体抗体检测试剂盒的操作说明, 采用 ELISA 方法检测不同时间点血清中 MG 特异性抗体阳性率及抗体消长规律, 结果判定: 样品 S/P 值大于 0.50 (滴度大于 1076) 判定为阳性反之为阴性, Log_{10} 滴度 = $1.09 (\text{Log}_{10} \text{S/P}) + 3.36$, S/P 等于 0.50 (滴度等于 1076) 为 MG 特异性抗体临界值 (介于阴性值和阳性值之间)。

1.6 ELISA 检测 RP 对鸡免后血清中免疫因子和炎症因子含量的影响

每组固定抽取 6 只鸡采集免前及一免后 3 d、7 d 的外周血 (翅静脉) 3 000 r/min 的转速, 离心 10 min, 得血清, 于 -80°C 冰柜保存备用。根据上海苗彩酶联免疫吸附测定试剂盒的操作说明检测各组细胞因子干扰素 (interferon, IFN) $-\gamma$ 、白细胞介素 (interleukin, IL) -4、IL-5, 炎症因子: IL-17A、趋化因子 (chemokines, CCL)4、IL-6、IL-1 α 的含量。

1.7 数据处理

细胞因子和 MG 特异性抗体水平应用 GraphPad Prism 9 中单因素方差分析 (one-way ANOVA) 的 LSD 法进行多重比较, 并绘制相应图表, $P < 0.05$ 表示差异显著; 人参皂苷 Re 标准曲线和 MG 特异性抗体阳性率利用 Excel 中的图表工具进行绘制图表。

2 结果与分析

2.1 太子参总皂苷含量检测结果

以人参皂苷 Re 为标准品, 香草醛-硫酸显色法测定本试验太子参总皂苷含量, 绘制的标准曲线方程为 $y = 2.7209x + 0.1033$ $R^2 = 0.999$ (图 1)。待检太子参皂苷样品 1.10 mg、1.20 mg, 所得的 OD 值分别为 0.76、2.87, 代入标准曲线方程所得本试验太子参总皂苷含量为 73.18%。

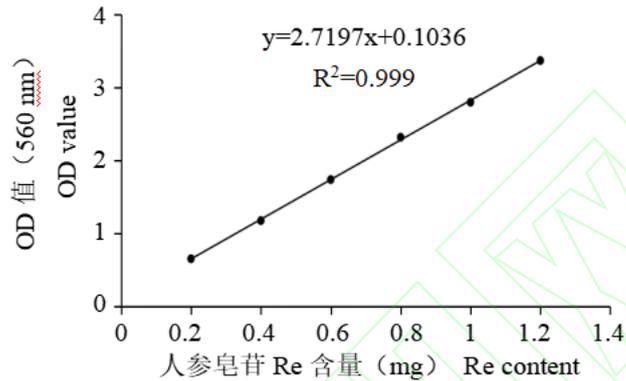


图 1 人参皂苷 Re 标准曲线

Fig.1 Standard curve of ginsenoside Re

2.2 RP 提高 MG 疫苗免后不同时期血清中特异性抗体阳性率

采用 ELISA 方法检测一免后 7 d、14 d、21 d、28 d, 二免后 7 d、14 d、21 d 7 个时间点血清中的 MG 抗体阳性率。结果显示, 与疫苗对照组相比, 一免后 7 d RP 组由高到低抗体阳性率分别为 50、33%、17%, 反之疫苗对照组的抗体阳性率为零; 二免后 7 d 疫苗对照组抗体阳性率为 83%, RP 组 MG 特异性抗体阳性率均达到 100%。表明免前口服饮水给药 RP 能有效提高一免及二免后 7 d 的抗体阳性率, 其中以 RP 高剂量 (100 mg/kg) 效果过最佳 (表 2)。

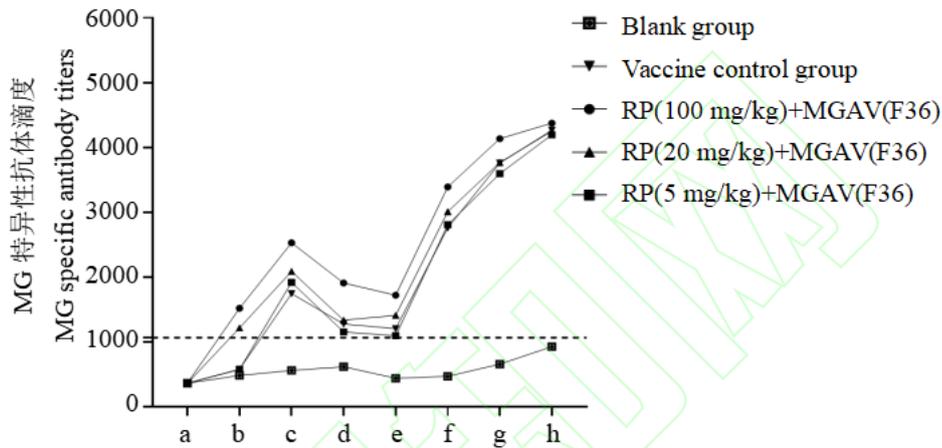
表 2 各组免后 MG 抗体阳性率

Tab.2 The positive rate of MG antibody in each group after immunization

试验分组 Test groups	空白组 Blank group	疫苗对照组 Vaccine control group	高剂量组 High dose group	中剂量组 Middle dose group	低剂量组 Low dose group
一免后 7 d 7 days after the first immunization	0%	0%	50%	33%	17%
一免后 14 d 14 days after the first immunization	0%	50%	67%	67%	67%
一免后 21 d 21 days after the first immunization	0%	67%	67%	67%	67%
一免后 28 d 28 days after the first immunization	0%	67%	67%	67%	67%
二免后 7 d 7 d after the second immunization	0%	83%	100%	100%	100%
二免后 14 d 14 d after the second immunization	0%	100%	100%	100%	100%

2.3 RP 提高 MG 疫苗免后不同时期血清中特异性抗体水平

采用 ELISA 方法检测给药前及一免后 7 d、14 d、21 d、28 d，二免后 7 d、14 d、21 d 8 个时间点血清中的 MG 特异性抗体的消长规律，样品滴度大于 1076 判定为阳性。结果显示：RP 高剂量（100 mg/kg）和中剂量组（20 mg/kg）在一免后抗体最先开始上升，于一免后 14 d 到达峰值 2533、2092，疫苗对照组和 RP 低剂量组（5 mg/kg）一免后 7 天抗体才开始上升，于一免后 14 d 到达峰值 1749、1924，各组间于一免后 14 天近同幅度缓慢下降；抗体滴度将近临界值（1070）时进行二免（一免后 28 d），疫苗对照组与 RP 给药组抗体滴度在二免后均呈上升趋势，RP 高剂量组在二免后 7 d 上升幅度最为明显（图 2）。结果表明：免前口服一定剂量的 RP 能够促进鸡群更早地产生 MG 特异性抗体，从而提高鸡群对 MG 的免疫保护，其中以 RP 高剂量（100 mg/kg）效果最佳。



A: 免前; b: 一免后 7 d; c: 一免后 14 d; d: 一免后 21 d; e: 一免后 28 d; f: 二免后 7 d; g: 二免后 14 d; h: 二免后 21 d。

a: before exemption, b: 7 days after the first immunization, c: 14 days after the first immunization, d: 21 days after the first immunization, e: 28 days after the first immunization, f: 7 days after the second immunization, g: 14 days after the second immunization, h: 21 days after the second immunization.

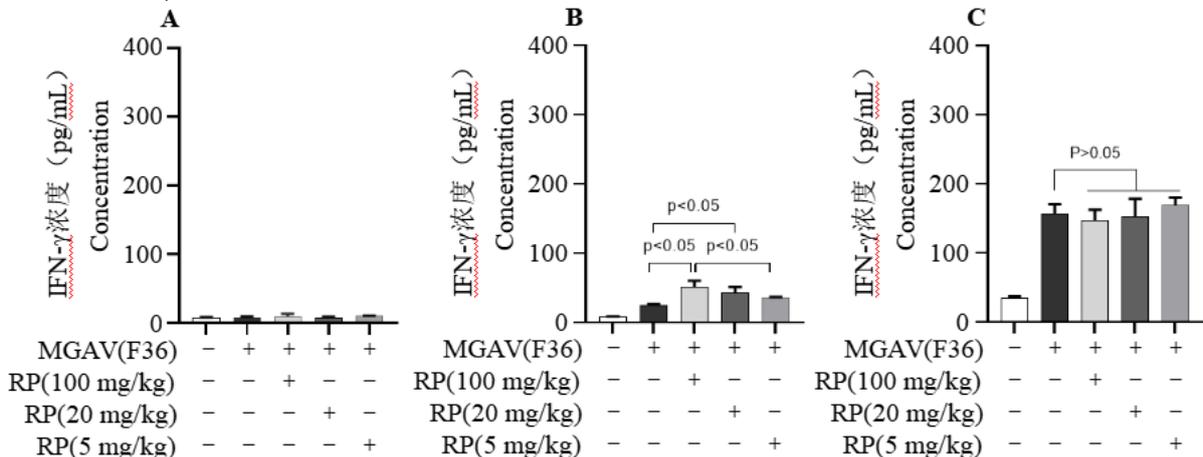
图 2 各组免后不同时期 MG 特异性抗体滴度

Fig.2 MG-specific antibody titers in different periods after immunization in each group

2.4 RP 对 MG 疫苗免后血清中免疫因子的影响

2.4.1 口服 RP 提高 MG 疫苗免后不同时间血清中 IFN- γ 含量

如图 3 结果所示：各组免前 IFN- γ 含量差异不显著（图 3 A）；一免后 3 d，3 个剂量 RP 组与疫苗对照组相比较，RP 高剂量组（100 mg/kg）和中剂量组（20 mg/kg）IFN- γ 含量均被显著提高（ $P < 0.05$ ），RP 低剂量组（5 mg/kg）细胞因子 IFN- γ 的含量无显著差异（ $P > 0.05$ ）（图 3 B）；一免后 7 d，RP 各组与疫苗对照组 IFN- γ 含量无明显差异（图 3 C）。



A: 免前; B: 一免后 3 d; C: 一免后 7 d。

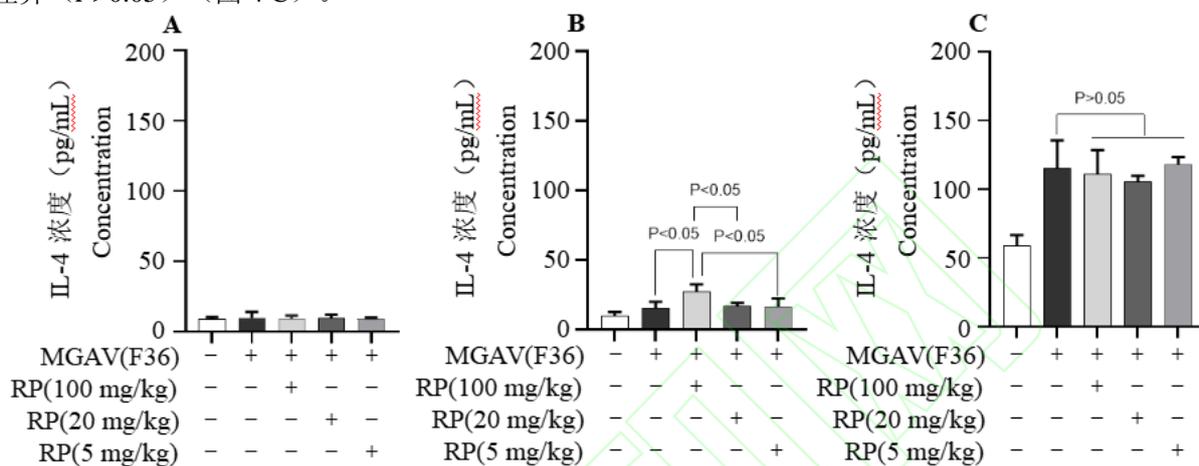
A: Before exemption, B: Three days after the first immunization, C: Seven days after the first immunization.

图 3 各组血清中细胞因子 IFN- γ 含量表达水平

Fig.3 The expression level of IFN- γ in serum of each group

2.4.2 口服 RP 提高 MG 疫苗免后不同时间血清中 IL-4 含量

如图 4 结果所示: 各组免前 IL-4 含量差异不显著 (图 4 A); 一免后 3 d, 3 个剂量 RP 组与疫苗对照组相比较, RP 高剂量组 (100 mg/kg) 被显著提高 ($P < 0.05$), RP 低剂量组 (5 mg/kg) 和中剂量组 (20 mg/kg) 细胞因子 IL-4 的含量无显著差异 ($P > 0.05$) (图 4 B); 一免后 7 d, RP 各组与疫苗对照组 IL-4 含量无明显差异 ($P > 0.05$) (图 4 C)。



A: 免前; B: 一免后 3 d; C: 一免后 7 d。

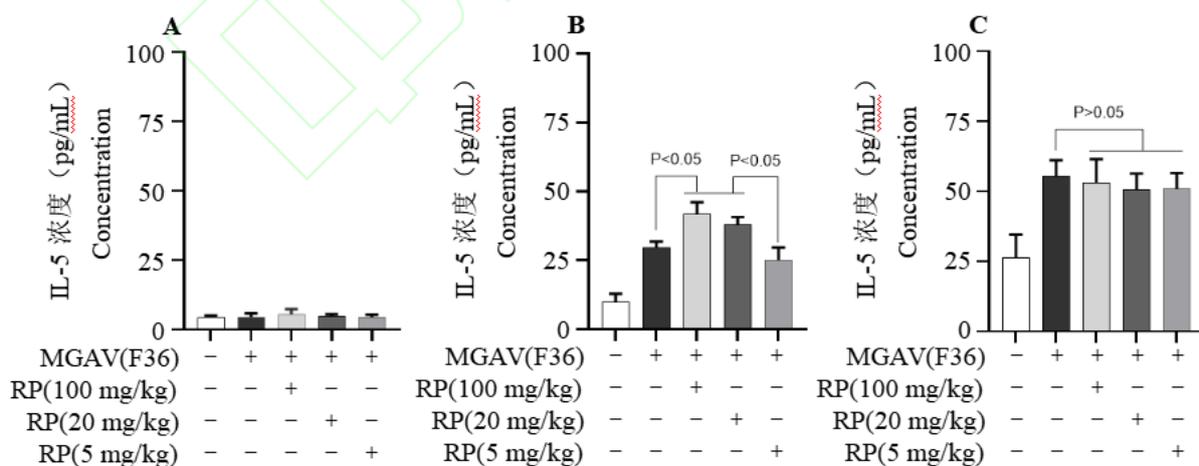
A: Before exemption, B: Three days after the first immunization, C: Seven days after the first immunization.

图 4 各组血清中细胞因子 IL-4 含量表达水平

Fig.4 The expression level of cytokine IL-4 in serum of each group

2.4.3 口服 RP 提高 MG 疫苗免后不同时期血清中 IL-5 含量

如图 5 结果所示: 各组免前 IL-5 含量差异不显著 (图 5 A), 一免后 3 d, 3 个剂量 RP 组与疫苗对照组相比较, RP 高剂量组 (100 mg/kg) 和中剂量组 (20 mg/kg) IFN- γ 含量均被显著提高 ($P < 0.05$), RP 低剂量组 (5 mg/kg) 细胞因子 IL-5 的含量无显著差异 ($P > 0.05$) (图 5 B)。一免后 7 d, RP 各组与疫苗对照组 IL-5 含量无明显差异 (图 5 C)。



A: 免前; B: 一免后 3 d; C: 一免后 7 d。

A: Before exemption, B: Three days after the first immunization, C: Seven days after the first immunization.

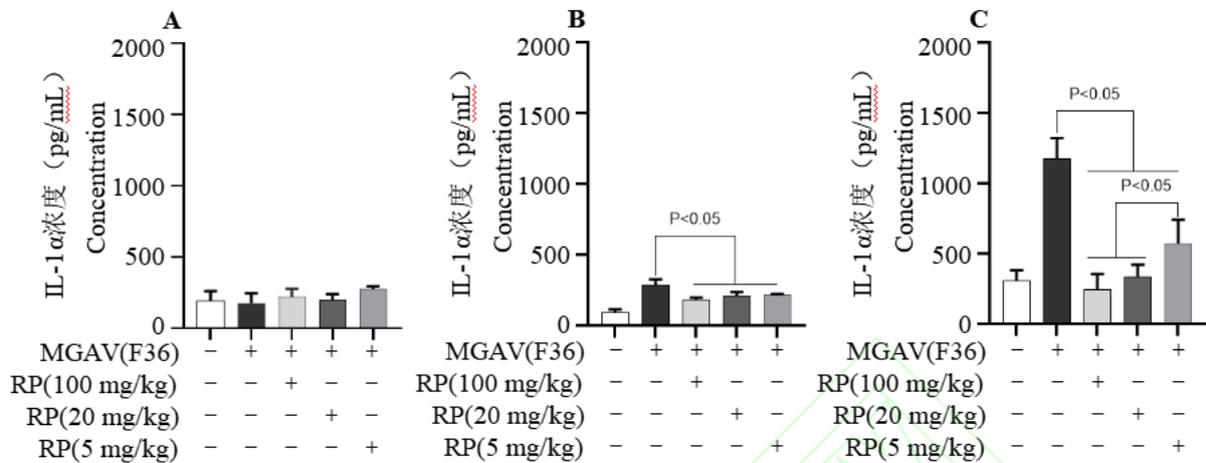
图 5 各组血清中细胞因子 IL-5 含量表达水平

Fig.5 The expression level of cytokine IL-5 in serum of each group

2.5 RP 抑制 MG 疫苗免后血清中炎症因子水平

2.5.1 口服 RP 对 MG 疫苗免后不同时期血清中 IL-1 α 含量的影响

如图 6 结果所示：各组免前 IL-1 α 含量差异不显著（图 6 A），一免后 3 d（图 6 B）和一免后 7 d（图 6 C），三个剂量 RP 组与疫苗对照组相比较，RP 给药组 IL-1 α 含量均被显著降低（ $P < 0.05$ ）；其中 RP 高剂量组（100 mg/kg）和中剂量组（20 mg/kg）下降趋势最明显（ $P < 0.05$ ）（图 6 C）



A: 免前; B: 一免后 3 d; C: 一免后 7 d。

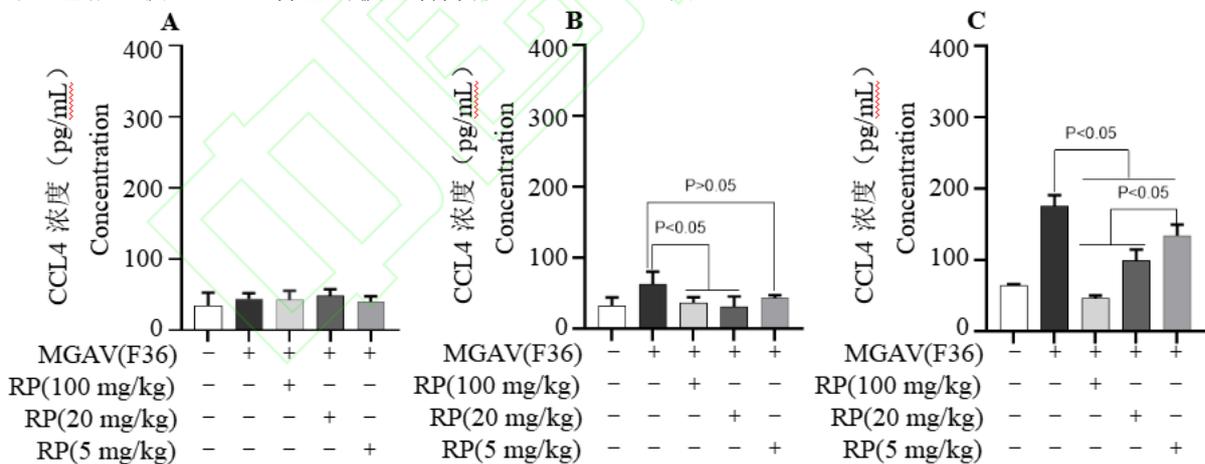
A: Before exemption, B: Three days after the first immunization, C: Seven days after the first immunization.

图 6 各组血清中细胞因子 IL-1 α 含量表达水平

Fig.6 The expression level of IL-1 α in serum of each group

2.5.2 口服 RP 对 MG 疫苗免后不同时期血清中 CCL4 含量的影响

如图 7 结果所示：各组免前 CCL4 含量差异不显著（图 7 A），一免后 3 d，三个剂量 RP 组与疫苗对照组相比较，RP 高剂量组（100 mg/kg）和中剂量组（20 mg/kg）CCL4 含量均被显著降低（ $P < 0.05$ ），RP 低剂量组（5 mg/kg）细胞因子 CCL4 的含量无显著差异（ $P > 0.05$ ）（图 7 B）；一免后 7 天，RP 各组与疫苗对照组相比较，CCL4 含量均被显著降低（ $P < 0.05$ ）（图 7 C）。



A: 免前; B: 一免后 3 d; C: 一免后 7 d。

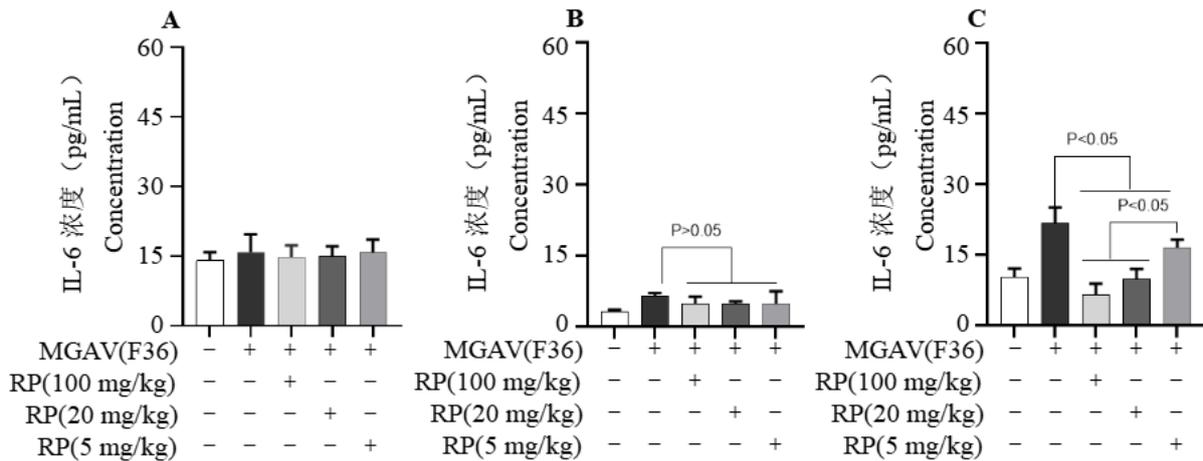
A: Before exemption, B: Three days after the first immunization, C: Seven days after the first immunization.

图 7 各组血清中细胞因子 CCL4 含量表达水平

Fig.7 The expression level of CCL4 in serum of each group

2.5.3 口服 RP 对 MG 疫苗免后不同时期血清中 IL-6 含量的影响

如图 8 结果所示：各组免前 IL-6 含量差异不显著（图 8A），一免后 3 d（图 8B）和一免后 7 d（图 8C），3 个剂量 RP 组与疫苗对照组相比较，RP 给药组 IL-6 含量均被显著降低（ $P < 0.05$ ）；其中 RP 高剂量组（100 mg/kg）和中剂量组（20 mg/kg）下降趋势最明显（图 8C）。



A: 免前; B: 一免后 3 d; C: 一免后 7 d。

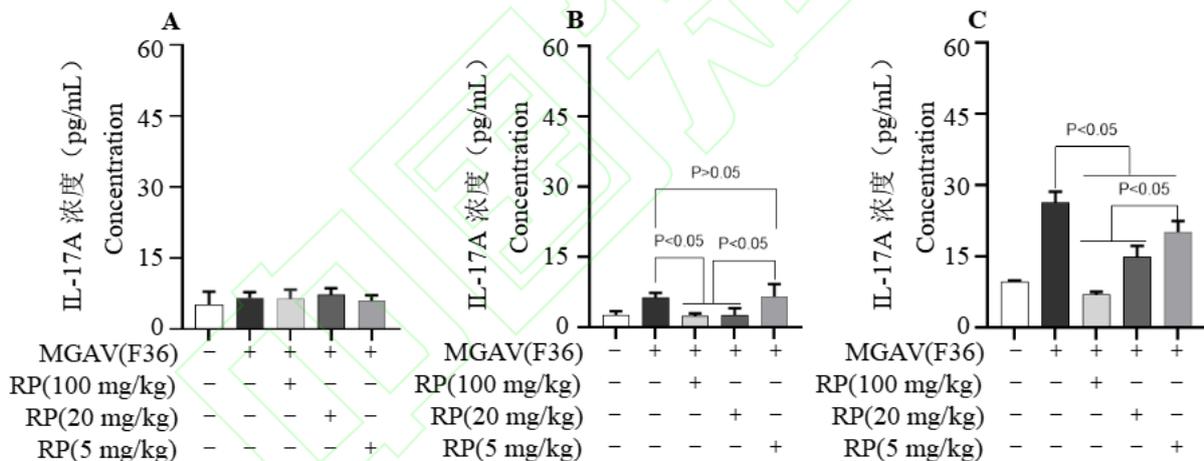
A: Before exemption, B: Three days after the first immunization, C: Seven days after the first immunization.

图 8 各组血清中细胞因子 IL-6 含量表达水平

Fig.8 The expression level of cytokine IL-6 in serum of each group

2.5.4 口服 RP 对 MG 疫苗免后不同时期血清中 IL-17A 含量的影响

如图 9 结果所示: 各组免前 IL-17A 含量差异不显著 (图 9A), 一免后 3 d, 3 个剂量 RP 组与疫苗对照组相比较, RP 高剂量组 (100 mg/kg) 和中剂量组 (20 mg/kg) IL-17A 含量均被显著降低 ($P < 0.05$), RP 低剂量组 (5 mg/kg) 细胞因子 CCL4 的含量无显著差异 ($P > 0.05$) (图 9 B); 一免后 7 天, RP 各组与疫苗对照组 IL-17A 含量均被显著降低 (图 9 C)。



A: 免前; B: 一免后 3 d; C: 一免后 7 d。

A: Before exemption, B: Three days after the first immunization, C: Seven days after the first immunization.

图 9 各组血清中细胞因子 IL-17A 含量表达水平

Fig.9 The expression level of IL-17 A in serum of each group

3 讨论

3.1 RP 对 MG 弱毒疫苗的免疫调节作用

MG 感染可导致气管严重的病理损伤及氧化应激, 有研究^[9]发现 MG 是通过下调紧密连接蛋白和调节黏蛋白这两种蛋白的表达来进行破坏呼吸道黏膜屏障。黏膜免疫系统是机体防御病原微生物入侵的第一道屏障, 通过黏膜局部免疫途径的疫苗既能诱导系统性的免疫应答, 也能有效诱导黏膜局部的免疫应答^[14]^[16]。中药口服后最先作用于肠道黏膜, 肠道作为食物消化吸收的主要场所, 同时可能是中药发挥局部免疫效应从而影响整体免疫的场所。毕师诚^[17]研究证实了人参 Rg1 经消化道途径进入体内后可以增强氧化应激和鸡免疫传染性法氏囊病毒疫苗的免疫效果, 显著提高血清中的特异性抗体水平、细胞因子水平等。

张炎达等^[18] 基于 Meta 分析和 Network meta 分析评价太子参不同成分对小鼠免疫功能的影响, 发现多糖、皂苷和粗提物均能改善小鼠的免疫功能, 其中皂苷对小鼠吞噬指数的增加效果最好。陈珍等^[19] 研究表明太子参须提取干粉对禽 I 型副黏病毒番鸭抗体水平有显著促进作用。与本试验结果一致的是免前口服 RP 100 mg/kg (高剂量) 和 20 mg/kg (中剂量) 能够促进鸡群更早地产生 MG 特异性抗体, 有效提高一免及二免后 7 d 的抗体阳性率, 但这一现象于免后 14 d 起不明显, 这可能意味着口服太子参皂苷对 MG 抗体水平的促进作用具有药物依赖性, 提示了在实际应用中可能需要考虑药物的持续使用和剂量调整, 以确保最佳的免疫效果。

3.2 RP 对血清中免疫细胞因子的免疫调节作用

细胞因子是免疫系统中不可或缺的信号分子, 它们在调节免疫反应和维持免疫稳态中起着核心作用^[20]。这些分子通过精细的相互作用网络, 促进了免疫系统的构建和功能, 特别是 CD4+ T 细胞 (Th 细胞) 根据其分泌的细胞因子特性, 被分为两个主要亚群: Th1 和 Th2。Th1 细胞主要分泌包括白细胞介素-2 (IL-2) 和干扰素- γ (IFN- γ) 在内的细胞因子, 这些因子主要参与细胞免疫反应, 增强 T 细胞对抗原的识别能力。相反, Th2 细胞则主要分泌 IL-4、IL-5 和 IL-10 等细胞因子, 这些因子促进 B 细胞的活化、增殖和抗体的产生, 从而在体液免疫中发挥作用^[21]。刘宏莹^[22] 研究显示, 含有人参茎叶总皂苷和人参皂苷单体 Rb1 的牛病毒性腹泻病毒 (Bovine viral diarrhea, BVD) 灭活疫苗能够显著上调免疫小鼠细胞因子 IFN- γ 和 IL-4 的表达水平。于丛爽等^[23] 研究证实口服不同浓度太子参须皂苷能使血清中细胞因子 IL-2、IL-4 和 IFN- γ 含量呈现不同程度的升高或降低。本试验中, 在接种疫苗后 3 d, 口服 RP 高剂量 (100 mg/kg) 和中剂量 (20 mg/kg) 的动物组, 血清中的细胞因子 IFN- γ 、IL-4、IL-5 的水平显著增加。说明口服 RP 可能通过调节 Th1 和 Th2 细胞的功能, 促进体液免疫和细胞免疫的协同作用, 从而增强特异性抗体的产生和相关细胞因子的分泌, 进而提高机体的免疫应答能力。这种调节作用可能有助于提升疫苗接种的效果, 增强机体对病原体的防御能力。

3.3 RP 对血清中促炎细胞因子的免疫调节作用

在鸡接种 MG 弱毒疫苗 (F36 株) 后, 研究观察到中等毒力的疫苗株能够引发显著的接种后炎症反应, 此反应可能由炎症因子之间的相互作用触发, 引发“炎症级联”, 导致机体出现强烈的炎症应答^[24]。引起此反应涉及多种炎症介质, 包括白细胞介素 (IL-1 α 、IL-6、IL-17A)、趋化因子 (如 CCL4) 和肿瘤坏死因子 (TNF- α)^[25]。为了缓解由疫苗接种引起的炎症反应, 研究人员探索了植物提取物的潜在抗炎作用。一些植物提取物, 如石榴皮多酚^[26]、重楼总皂苷^[27] 和太子参多糖^[28], 已被证明能够通过降低促炎细胞因子的水平来减轻炎症, 这些提取物可能通过抑制炎症介质的生成和释放, 以及调节免疫细胞的功能来发挥作用。与本研究结果一致的是, 与疫苗对照组相比, RP 组在免疫后血清中的炎症因子 (如 IL-1 α 、CCL4、IL-17A、IL-6) 含量显著降低, 以 RP 高剂量 (100 mg/kg) 血清中抗炎效果最佳, 说明 RP 具有减轻疫苗接种引起的炎症反应的潜力, 这可能有助于改善鸡群的健康状态, 减少疫苗接种的副作用, 从而对养殖业产生积极影响。

4 结论

综上所述, 太子参皂苷在提高鸡群对 MG 弱毒疫苗的免疫应答方面显示出积极效果, 并有效缓解 MG 弱毒疫苗所致的炎症反应, 以 100 mg/kg RP 的免疫增强效果和抗炎效果最佳。研究发现为太子参皂苷在兽医领域的应用提供了科学依据, 尤其是在减少抗生素使用、提高疫苗效果和改善动物福利方面具有重要意义。太子参皂苷作为一种潜在的免疫增强剂, 具有副作用小、增强免疫作用的优势。将其开发为新型黏膜疫苗佐剂, 符合新型疫苗的发展要求, 具有进一步研究和开发的价值。

参考文献 Reference:

- [1] 张炎达, 潘慧青, 衣伟萌, 等. 太子参须提取物对小鼠免疫功能的影响[J]. 现代畜牧兽医, 2021(10): 46-49.
ZHANG Y D, PAN H Q, YI W M, et al. Effect of *Pseudostellaria heterophylla* fibrous root extraction on immunologic functions of mice[J]. Modern journal of animal husbandry and veterinary medicine, 2021 (10): 46-49.
- [2] DENG J, FENG X, ZHOU L, et al. Heterophyllin B, a cyclopeptide from *Pseudostellaria heterophylla*, improves memory via immunomodulation and neurite regeneration in icvA β -induced mice[J]. Food research international, 2022, 158: 111576.

- [3] XU H, NIU Y, HONG W, et al. Development of a water-in-oil-in-water adjuvant for foot-and-mouth disease vaccine based on ginseng stem-leaf saponins as an immune booster[J]. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 2020, 71: 101499.
- [4] 苏菲, 薛银, 李军星, 等.人參皂昔 Rg1 联合重组大肠杆菌不耐热肠毒素 rLTB 作为滴鼻免疫佐剂在小鼠体内的作用研究[J]. *中国预防兽医学报*, 2019, 41(7): 734-739.
- SU F, XUE Y, LI J X, et al. Effect of Ginsenoside Rg1 in combination with recombinant *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin rLTB as intranasal adjuvant in mice[J]. *Chinese journal of preventive veterinary medicine*, 2019, 41(7): 734-739.
- [5] QI Y, FOX C B. A two-step orthogonal chromatographic process for purifying the molecular adjuvant QS-21 with high purity and yield [J]. *Journal of chromatography A*, 2021, 1635: 461705.
- [6] 曾丽, 陈赛红, 甘思言, 等.太子参参须皂昔对 RAW 264.7 细胞体外免疫调节作用研究[J].*天然产物研究与开发*, 2022, 34(10): 1657-1665.
- ZENG L, CHEN S H, GAN S Y, et al. Immunomodulatory effects of *Radix Pseudostellariae* fibrous root saponins on RAW 264.7 cells in vitro[J]. *Natural product research and development*, 2022, 34(10): 1657-1665.
- [7] 曾丽, 甘思言, 杜莹莹, 等.太子参参须皂昔的免疫佐剂作用研究[J].*天然产物研究与开发*, 2022, 34(6): 934-940.
- ZENG L, GAN S Y, DU Y Y, et al. Study on the immune adjuvant effect of *Radix Pseudostellariae* fibrous roots saponin [J]. *Natural product research and development*[J]. *Natural product research and development*, 2022, 34 (6): 934-940.
- [8] CHOI Y Y , KIM M H, AHN K S, et al. Immunomodulatory effects of *Pseudostellaria heterophylla* (miquel) pax on regulation of Th1/Th2 levels in mice with atopic dermatitis[J]. *Molecular medicine reports*, 2017, 15(2): 649-656.
- [9] 苗钰松.鸡毒支原体感染与呼吸道菌群黏膜免疫的互作及干预机制研究[D].哈尔滨:东北农业大学, 2022.
- MIAO Y S. Study on the interaction and intervention mechanism between *Mycoplasma gallisepticum* infection and mucosal immunity of respiratory tract microbiota[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2022.
- [10] ISHFAQ M, HU W, KHAN M Z, et al. Current status of vaccine research, development, and challenges of vaccines for *Mycoplasma gallisepticum*[J]. *Poultry science*, 2020, 99(9): 4195-4202.
- [11] MUGUNTHAN S P, KANNAN G, CHANDRA H M, et al. Infection, transmission, pathogenesis and vaccine development against *Mycoplasma gallisepticum*[J]. *Vaccines*, 2023, 11(2): 469
- [12] 刘光海, 吴庭柱, 王文春.基于紫外-可见分光光度法的黔东南不同产地太子参中总皂昔含量测定[J].*中国民族医药杂志*, 2017, 23(6): 45-47.
- LIU G H, WU T Z, WANG W C. Determination of the total saponin content in *Radix Pseudostellariae* by UV spectrophotometry from qian dong nan different regions[J]. *Journal of medicine*, 2017, 23 (6): 45-47.
- [13] 毕云枫, 王溪竹, 姜珊, 等.不同人參皂昔为标准品测定皂昔含量的比较研究[J].*食品工业*, 2018, 39(8): 200-203.
- BI Y F, WANG X Z, JIANG S, et al. Comparative study on determination of saponin content by different Ginsenosides as standard product[J].*The food industry*, 2018, 39(8): 200-203.
- [14] XU W, DU A, HU S. Transcriptome analysis of bovine lymphocytes stimulated by *Atractylodis macrocephalae* Koidz. polysaccharides *in vitro*[J]. *Veterinary immunology & immunopathology*, 2018, 196: 30-34.
- [15] ZHANG S T, ZUO C, LI W N, et al. Identification of key genes associated with the effect of estrogen on ovarian cancer using microarray analysis[J]. *Archives of gynecology & obstetrics*, 2016, 293(2): 421-427.
- [16] HUANG C H, HUANG C Y, HO H M, et al. Nanoemulsion adjuvantation strategy of tumor-associated antigen therapy rephrases mucosal and immunotherapeutic signatures following intranasal vaccination[J]. *Journal for immunotherapy of cancer*, 2020, 8(2): e001022.
- [17] 毕师诚. 人參皂昔 Rg1 提高氧化应激鸡对传染性法氏囊病疫苗的免疫应答的研究[D].杭州:浙江大学, 2019.
- BI S C. Ginsenoside Rg1 enhanced immune responses to infectious bursal disease vaccine in chickens with oxidative stress[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2019.
- [18] ZHANG Y D, PAN H Q, MA Y F, et al. Meta-analysis and network meta-analysis of the effects of different components of *Pseudostellaria heterophylla* on immune function in mice[J]. *Agricultural science & technology*, 2021, 22 (2):51-58.
- [19] 陈珍, 张炎达, 施少华, 等.太子参须对禽I型副黏病毒疫苗的增强作用[J].*中国兽医杂志*, 2022, 58(9): 34-38.
- CHEN Z, ZHANG Y D, SHI S H, et al. Enhancement effect of *Pseudostellaria heterophylla* fibrous roots on avian

- paraxyxovirus type I vaccine[J]. Chinese journal of veterinary medicine, 2022, 58 (9) : 34-38.
- [20] ABRAHAM C, ABREU M T, TURNER J R. Pattern recognition receptor signaling and cytokine networks in microbial defenses and regulation of intestinal barriers:implications for inflammatory bowel disease[J]. Gastroenterology, 2022, 162(6): 1602-1616.
- [21] 李红英, 陈红霞, 汪蕾.人参皂苷 Rb1 拮抗达沙替尼抑制 NK 细胞杀伤卵巢癌的研究[J].中国现代应用药学, 2014, 31(3): 293-297.
- LI H Y, CHEN H X, WANG L. Ginsenoside Rb1 antagonist dasatinib-induced inhibition on NK cells cytotoxicity to ovarian cancer cells [J].Chinese journal of modern applied pharmacy, 2014, 31(3): 293-297.
- [22] 刘宏莹.人参茎叶总皂苷及单体皂苷 Rb1 对 BVD 灭活疫苗的免疫增强作用研究[D].长春:吉林农业大学, 2023.
- LIU H Y. Immune boosting effect of total ginseng stem and leaf saponin and monosaponin Rb1 on inactivated BVD vaccine [D]. Changchun:Jilin Agricultural University, 2023.
- [23] 于丛爽, 陈俊宇, 周梦圆, 等.太子参参须皂苷对免疫抑制小鼠免疫调节作用研究[J].黑龙江畜牧兽医,2022(24): 108-112.
- YU C S, CHEN J Y, ZHOU M Y, et al. Study on the immunomodulatory effects of *Pseudostellaria heterophylla* fibrous root saponins on immunosuppressed mice [J]. Heilongjiang animal science and veterinary medicine, 2022(24): 108-112.
- [24] 崔健. 鸡新城疫病原学及疫苗研究进展[J].中国畜牧业, 2015(7): 50-52.
- CUI J. Research progress on the etiology and vaccine of Newcastle disease in chickens [J]. China animal industry, 2015(7): 50-52.
- [25] NOVELLO D, MAGER R, RODA G, et al. The IL23-IL17 immune axis in the treatment of ulcerative colitis: successes, defeats, and ongoing challenges[J]. Frontiers in Immunology, 2021, 12: 611256.
- [26] 鹿欣雨, 高敏, 李海燕, 等.石榴皮提取物通过抑制炎症和氧化应激改善小鼠结肠炎[J].山西医科大学学报, 2024, 55(1): 50-56.
- LU X Y,GAO M,LI H Y,et al. Pomegranate peel extract ameliorates colitis by reducing inflammation and oxidative stress in mice [J/OL].Journal of Shanxi medical university, 2024, 55(1): 50-56.
- [27] 王晓菲, 李鹏, 杨玥, 等.重楼皂苷抗炎、抗氧化及抗肿瘤作用机制研究进展[J].药物评价研究,2023,46(12): 2699-2708.
- WANG X F, LI P, YANG Y, et al. Research progress on antioxidant, anti-inflammatory, and anti-tumor mechanisms of Rhizome *Paridis* saponins [J]. Drug evaluation research, 2023, 46(12): 2699-2708.
- [28] YANG C J, YOU L T, YIN X B, et al. Heterophyllin B ameliorates lipopolysaccharide-induced inflammation and oxidative stress in RAW264.7 macrophages by suppressing the PI3K/Akt pathways [J]. Molecules, 2018, 23(4): 717.