

蒙药成份复方对乳腺炎模型小鼠免疫功能的影响

高瑞娟¹ 王纯洁^{1*} 敖日格乐² 贾知锋¹

(1. 内蒙古农业大学 兽医学院, 呼和浩特 010018;

2. 内蒙古农业大学 动物科学学院, 呼和浩特 010018)

摘要 为探讨蒙药成份复方对乳腺炎模型小鼠免疫功能的影响,96只产后3~5d泌乳期母鼠被随机分为4组($n=24$),灌药3d后,于第4d的末次灌药后1h复制小鼠乳腺炎病理模型,继续用药治疗3d。并于复制模型前0、48和72h用破瘀血清法测巨噬细胞吞噬活力;MTT法测自然杀伤细胞(Natural killer cell, NK cell)活性;脱臼处死小鼠称胸腺和脾脏湿重并计算小鼠免疫脏器指数;ELISA法测小鼠血清中白介素-4(IL-4)、干扰素(IFN- γ)含量。结果表明蒙药成份复方可以显著提高小鼠免疫脏器指数、促进单核巨噬细胞吞噬能力和NK细胞杀伤活性、下调IL-4含量、上调IFN- γ 的含量。由此可见,蒙药成份复方可以提高乳腺炎模型小鼠非特异性免疫及特异性免疫功能。

关键词 蒙药; 成份复方; 非特异性免疫; 特异性免疫

中图分类号 S858.23

文章编号 1007-4333(2018)01-0106-07

文献标志码 A

Immunoregulation effect of Mongolian medicine composition compounds on mastitis model mice

GAO Ruijuan¹, WANG Chunjie^{1*}, Aorigele¹, JIA Zhifeng¹

(1. College of Veterinary Medicine, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China;

2. College of Animal Science, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China)

Abstract To explore the immune-regulation effect of Mongolian medicine compound prescription on mastitis model mice, a total of 96 postnatal 3-5 d lactating female mice were randomly divided into 4 groups ($n=24$). Oral medication was conducted on mice for three days and the pathological model of murine mastitis was then reproduced in 1 h after final oral medication at the 4th day. The phagocytic activity of macrophages was measured by broad-width carbon at 0, 48 and 72 h, respectively. MTT assay was adopted to detect NK cell activity. The mice were dislocated and the wet weight of the thymus and spleen measured. Immune organ index was calculated. The levels of IL-4 and IFN- γ in serum were determined by ELISA. Mongolian medicine compound significantly improved immune organ index of mice, promoted the phagocytic capacity of monocyte-macrophage and NK cell killing activity, down-regulated the content of IL-4, increase the content of IFN- γ . In conclusion, Mongolian medicine compound can improve the mastitis model mice nonspecific immune and specific immune function.

Keywords Mongolian medicine; composition compound; nonspecific immune; specific immune

奶牛乳房炎发病率高、造成经济损失大,对奶牛养殖业危害严重。该病多发于奶牛产后泌乳期,常因乳头损伤、乳汁淤积及细菌感染等因素诱发,其中细菌、真菌等致病菌感染引发的乳腺炎最常见,感染

率占总发病率90%以上^[1]。全世界有33%的奶牛因患各种类型的乳房炎被淘汰,所造成的经济损失高达350亿美元^[2]。美国每年有26.25%的奶牛因患有乳房炎被淘汰,造成经济损失高达20亿美

收稿日期: 2017-02-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(31260590); 国家科技支撑项目(2015BAD29B06)

第一作者: 高瑞娟, 硕士研究生, E-mail: gaoruijuan01@126.com

通讯作者: 王纯洁, 教授, 博士生导师, 主要从事动物生理调控与蒙兽药研究, E-mail: chunjiewang200@sohu.com

元^[3]。在我国,临床型奶牛乳房炎发病率为33.41%,隐性乳房炎发病率达46.40%~85.70%,二者发病率均高于国外已见报道,每年所造成的经济损失高达30亿元人民币^[4]。国内外在临床上主要用抗生素治疗奶牛乳房炎,虽然效果显著,但会发生细菌耐药性、出现变异的超级细菌以及抗生素残留等问题。研究发现90%的牛奶中抗生素的浓度已经达到了有效抑菌浓度^[5],人们长期饮用含有抗生素的牛奶会导致肠道菌群产生耐药性,会进而影响人体的免疫力。蒙药是一类毒副作用小的天然药物,在治疗奶牛乳腺炎和调节免疫机能方面存在很大潜力。蒙药抗炎免疫成份复方对80%最低致死量(Minimum lethal dose,MLD)混合致病菌有较好的保护作用^[6],蒙药抑菌成份复方对小鼠的抗菌效率达62.5%,效果与抗生素效果相当^[7],蒙药成份复方对小鼠的最大耐受量达5 g/kg^[8]。

基于抗生素治疗所引发的一系列公共卫生和食品安全问题,加之蒙药天然、低毒、抑菌效果好等特点,所以研究蒙药对奶牛乳房炎的治疗效果及抗炎免疫机制显得尤为重要。本研究在前期研究基础上,拟用金黄色葡萄球菌和大肠杆菌混合菌液诱发小鼠乳房炎病理模型,并在乳房炎模型小鼠上进行蒙药成份复方对小鼠乳房炎的治疗作用及其对乳房炎小鼠免疫机能影响的研究,目的是研究蒙药成份复方的抗炎机制,以期开发一种天然、低毒、可以替代抗生素治疗奶牛乳房炎的药物提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

1.1.1 试验动物

22~25 g 无特定病原级(Specified pathogen free,SPF)昆明系小鼠(内蒙古医科大学实验动物中心)。n_雌:n_雄=3:1 饲养。恒温、恒湿条件下饲喂全价日粮,自由采食和饮水,饲养至母鼠分娩。

1.1.2 受试菌

致病性 *Escherichia coli* 和 *Staphylococcus aureus* 由内蒙古农业大学动物科学学院牛生产学实验室从内蒙古呼和浩特市周边牛场乳房炎患牛的奶中分离、纯化和保存。

1.1.3 药物和试剂

IL-4、IFN- γ 检测试剂盒(购自北京诚林生物科

技有限公司)。高盐甘露醇培养基、伊红美蓝培养基(购自广东环凯微生物科技有限公司)。印度墨汁(上海赛默飞世尔有限公司)、PBS、碳酸钠(上海国药试剂有限公司),YAC-1 小鼠淋巴瘤细胞(上海中桥新舟生物科技有限公司)、二甲亚砜(DMSO)、胎牛血清(美国 Amresco 公司)

1.1.4 蒙药成份复方的配制

根据前期研究^[6]用正交法所得出的剂量配比将大黄酸、大黄素、栀子苷、没食子酸、姜黄素5味有效成份配制成水溶液。

1.2 试验器材

酶标仪(Synergy HT),上海迭戈生物科技有限公司;恒温培养(JC-SPJ-480),济南精诚实验仪器有限公司;电子天平,(PL203),梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;高压蒸汽灭菌锅,上海申安医疗器械厂;超净工作台,上海智城分析仪器制造有限公司等实验室常用器材由内蒙古农业大学牛生产学实验室提供。

1.3 试验方法

1.3.1 细菌培养及菌液制备

将斜面保存的 *E. coli* 和 *S. aureus* 分别接种于LB培养基中,37℃摇床培养18 h,离心弃上清,平板计数法将混合菌液调制 1×10^8 cfu/mL,4℃冰箱保存备用。

1.3.2 动物分组及给药方案

将96只产后母鼠分为4组(n=24),空白对照组不做任何处理;阴性对照组以20 g/kg 体重给乳房炎模型小鼠灌胃生理盐水;阳性对照组以0.13 g/kg 体重给乳房炎模型小鼠灌胃左旋咪唑水溶液;试验组以0.5 g/kg 体重给乳房炎模型小鼠灌服蒙药成份复方水溶液;2次/d,共7 d。

1.3.3 模型小鼠制备

分娩母鼠用30 mg/kg 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉,对第4对乳头剃毛并消毒。用左手拇指和食指将小鼠的第4对乳头固定,右手持带有钝头毛细管的微量进样器,将毛细管钝头经小鼠乳导管进入乳腺,在1对乳头内分别注入20 μ L 1×10^8 cfu/mL 的菌液。(乳房炎病理模型小鼠成功制备的依据见相关研究)

1.3.4 小鼠免疫脏器指数及细胞因子的测定

末次给药1 h后,分别于注菌前即0 h和注菌后48、72 h各取8只小鼠,于眼前房采血,分离血清并在-20℃保存备用;脱臼处死小鼠,称其体重及

胸腺、脾脏的湿重,按文献[11]公式计算免疫脏器指数。 $IFN-\gamma$ 、 $IL-4$ 含量按试剂盒说明书操作。

1.3.5 小鼠单核巨噬细胞吞噬功能的测定

按1.3.2、1.3.4的灌药方法和取样方法在各个时间点取8只小鼠按10 mL/kg体重尾静脉注射20%印度墨汁0.2 mL,在2、20 min时眼底静脉取血20 μ L加入2.5 mL 10%碳酸钠溶液中,测 $r=600$ nm时的OD值。称小鼠肝脾重量并记录数据。按文献[10]中的公式进行计算。

1.3.6 小鼠NK细胞活性测定

无菌取小鼠脾脏制备小鼠脾淋巴细胞,并以YAC-1为靶细胞(浓度为 $1 \times 10^5 \cdot L^{-1}$)。按文献^[9-10]方法进行,检测OD 570值,按文献[9]、[10]和[11]中的方法测定NK细胞活性。

1.4 数据处理

用SAS方差分析系统处理数据,并用“平均数 \pm 标准差”表示。

2 结果与分析

2.1 对小鼠免疫脏器指数的影响

将不同处理中乳房炎模型小鼠脾脏指数进行横向比较:与0 h相比,48、72 h时,除空白对照组外,各组均显著降低($P < 0.05$) (表1)。将不同处理中乳房炎模型小鼠脾脏指数进行纵向比较:0 h时,各组差异不显著($P > 0.05$);48、72 h时,各组均显著高于阴性对照组($P < 0.05$),其中成份复方组与空白对照组差异不显著($P > 0.05$),阳性对照组显著低于空白对照组($P < 0.05$) (表1)。

将不同处理中乳房炎模型小鼠胸腺指数进行横向比较:阴性对照组,48 h极显著低于0 h($P < 0.01$),72 h显著高于48 h($P < 0.05$)。阳性对照组和成份复方组,小鼠胸腺指数随着时间顺序依次升高($P < 0.05$)。将不同处理中乳房炎模型小鼠胸腺指数进行纵向比较:0 h时,各组差异均不显著($P > 0.05$)。48 h时,各组均显著高于阴性对照($P < 0.05$),其中阳性对照高于空白对照,成份复方组与空白对照差异不显著($P > 0.05$)。72 h时,各组均显著高于阴性对照($P > 0.05$),其中阳性对照组和成份复方组均高于空白对照组且二者差异不显著($P < 0.05$)。

2.2 对小鼠单核巨噬细胞吞噬功能的影响

将不同处理中乳房炎模型小鼠吞噬指数K进

行横向比较:阴性对照组48、72 h显著低于0 h ($P < 0.05$);阳性对照组和空白对照组各时间点差异不显著($P > 0.05$);成份复方组48 h显著低于0、72 h ($P < 0.05$)。将不同处理中乳房炎模型小鼠吞噬指数K进行纵向比较:0 h时,成份复方组和阳性对照组显著高于阴性对照组和空白对照组 ($P < 0.05$);48 h,阴性对照组显著低于其他各组 ($P < 0.05$),且这3组间差异不显著($P > 0.05$);72 h时,阳性对照组和成份复方组显著高于空白对照组 ($P < 0.05$),极显著高于阴性对照组 ($P < 0.01$) (表2)。

将不同处理中乳房炎模型小鼠吞噬系数A进行横向比较:阴性对照组48、72 h显著低于0 h ($P < 0.05$);阳性对照组48 h显著低于0、72 h ($P < 0.05$);空白对照组各时间点差异不显著 ($P > 0.05$);成份复方组48 h显著低于0、72 h ($P < 0.05$)。将不同处理中乳房炎模型小鼠吞噬系数A进行纵向比较:0 h时,成份复方组和阳性对照组显著高于阴性对照组和空白对照组 ($P < 0.05$);48 h,阳性对照组和成份复方组显著高于空白对照组 ($P < 0.05$),极显著高于阴性对照组 ($P < 0.01$);72 h时,空白对照组和成份复方组显著高于阴性对照组,显著低于阳性对照组 (表2)。

2.3 对小鼠NK细胞活性的影响

将不同处理中乳房炎模型小鼠NK细胞活性进行横向比较:阴性对照组:48、72 h显著低于0 h ($P < 0.05$);阳性对照组:48 h显著低于0、72 h ($P < 0.05$);空白对照组:各时间点差异不显著 ($P > 0.05$);成份复方组:48与72 h显著低于0 h ($P < 0.05$),且48、72 h差异不显著 ($P > 0.05$) (表3)。

将不同处理中乳房炎模型小鼠NK细胞活性进行纵向比较:0 h时,阳性对照组和成份复方组显著高于空白对照组和阴性对照组 ($P < 0.05$)。48 h时,阴性对照组显著低于其它三组,且这三组间差异不显著。72 h时,各组均显著高于阴性对照组,其中阳性对照组和成份复方组显著高于空白对照组 ($P < 0.05$) (表3)。

2.4 对小鼠血清中细胞因子的影响

将不同处理中乳房炎模型小鼠血清中 $IL-4$ 进行横向比较:阴性对照组,48、72 h显著高于0 h ($P < 0.05$),其他三组各时间点差异不显著 ($P > 0.05$)。将不同处理中乳房炎模型小鼠血清中 $IL-4$ 进行纵向比较:0 h时,各组之间差异不显著 ($P > 0.05$)。48、72 h

表 1 蒙药成份复方对乳房炎模型小鼠不同时间点免疫脏器指数测定结果 (n=24)

Table 1 Results of Mongolian medicine composition compound effecting on the mastitis mice immune organ index at different time(n=24) %

项目 Item	组别 Group	采样时间/h Sampling time		
		0	48	72
脾脏指数 Spleen index	阴性对照组 Negative control group	5.47±0.08 aA	4.51±0.10 cB	4.53±0.06 cB
	阳性对照组 Positive control group	5.52±0.09 aA	5.02±0.15 bC	5.37±0.03 bB
	空白对照组 Blank control group	5.47±0.13 aA	5.50±0.13 aA	5.67±0.11 aA
	成份复方组 Composition compound group	5.59±0.13 aA	5.32±0.28 abC	5.55±0.10 abB
	阴性对照组 Negative control group	2.41±0.01 aA	1.36±0.01 cC	1.74±0.00 cB
	阳性对照组 Positive control group	2.63±0.00 aC	3.06±0.00 aB	3.20±0.00 aA
胸腺指数 Thymus index	空白对照组 Blank control group	2.47±0.06 aA	2.46±0.00 bA	2.45±0.12 bA
	成份复方组 Composition compound group	2.44±0.00 aC	2.65±0.00 bB	3.06±0.00 aA

注：同列小写字母为纵向比较，同行大写字母为横向比较，相同字母差异不显著 (P>0.05)，相邻字母差异显著 (P<0.05)，相间字母差异极显著 (P<0.01)，下同。

Note: Small letter within the same column indicate Longitudinal comparison ; Capital letter within the same column indicate horizontal comparison , the same letter indicate no significant difference (P>0.05); nearby letters indicate significant difference (P<0.05) and inter-letters indicate extreme (P<0.01). The same below.

表 2 蒙药成份复方对乳房炎模型小鼠不同时间点单核巨噬细胞吞噬功能测定结果 (n=24)

Table 2 Results of Mongolian medicine composition compound effecting on macrophage function in mastitis mice of different times (n=24)

项目 Item	组别 Group	采样时间 Sampling time		
		0 h	48 h	72 h
吞噬指数(K) Phagocytic index	阴性对照组 Negative control group	0.023±0.00 bA	0.014±0.00 cB	0.015±0.00 cB
	阳性对照组 Positive control group	0.026±0.00 aA	0.024±0.00 abA	0.029±0.00 aA
	空白对照组 Blank control group	0.023±0.00 bA	0.026±0.00 abA	0.024±0.00 bA
	成份复方组 Composition compound group	0.027±0.00 aA	0.021±0.00 bB	0.026±0.00 aA
	阴性对照组 Negative control group	2.22±0.00 bA	1.36±0.00 cB	1.33±0.06 cB
	阳性对照组 Positive control group	3.76±0.68 aB	2.49±0.01 aC	4.16±0.14 aA
吞噬系数(A) Phagocytic coefficient	空白对照组 Blank control group	2.17±0.02 bA	2.18±0.03 bA	2.20±0.02 bA
	成份复方组 Composition compound group	4.27±0.05 aA	2.37±0.59 aC	3.50±0.03 bB

表3 蒙药成份复方对乳腺炎模型小鼠不同时间点NK细胞活性测定结果($n=24$)
Table 3 Results of Mongolian medicine composition compound effecting on NK cell activity
in mastitis mice of different times ($n=24$) %

组别 Group	采样时间 Sampling time		
	0 h	48 h	72 h
阴性对照组 Negative control group	28.56±0.31 cA	21.94±0.61 bB	23.03±0.53 cB
阳性对照组 Positive control group	36.26±0.22 aA	28.41±0.63 aB	35.64±0.40 aA
空白对照组 Blank control group	28.30±0.40 cA	27.87±0.47 aA	28.04±0.14 bA
成份复方组 Composition compound group	32.03±0.11 bA	28.53±2.00 aB	30.24±0.13 aB

时,各组均显著低于阴性对照组($P<0.05$)(表4)。

将不同处理中乳房炎模型小鼠血清中IFN- γ 进行横向比较:阴性对照组:48、72 h显著低于0、72 h显著高于48 h($P<0.05$);阳性对照组:48 h显著低于0、72 h($P<0.05$)且0、72h差异不显著($P>$

0.05);成份复方组和空白对照组各时间点差异不显著($P>0.05$)。将不同处理中乳房炎模型小鼠血清中IFN- γ 进行纵向比较:0 h时,各组之间差异不显著($P>0.05$)。48、72 h时,各组均显著高于阴性对照组($P<0.05$)(表4)。

表4 蒙药成份复方对乳腺炎模型小鼠血清中不同时间点细胞因子浓度测定结果($n=24$)
Table 4 Results of Mongolian medicine composition compound effecting on cytokines level in
mastitis mice serum of different times ($n=24$) ng/mL

项目 Item	组别 Group	采样时间 Sampling time		
		0 h	48 h	72 h
IL-4	阴性对照组 Negative control group	29.68±0.98 aB	32.73±0.82 aA	31.89±0.41 aA
	阳性对照组 Positive control group	30.42±0.47 aA	28.86±0.94 bA	29.84±0.48 bA
	空白对照组 Blank control group	29.89±2.01 aA	29.94±1.52 bA	29.49±0.10 bA
	成份复方组 Composition compound group	30.15±1.26 aA	29.24±0.97 bA	30.56±0.56 bA
IFN- γ	阴性对照组 Negative control group	142.49±6.13 aA	127.73±2.29 bC	136.17±1.90 cB
	阳性对照组 Positive control group	152.99±1.54 aA	147.10±4.05 aB	154.14±5.69 aA
	空白对照组 Blank control group	142.61±19.96 aA	141.15±5.29 aA	144.67±7.30 aA
	成份复方组 Composition compound group	151.83±3.14 aA	147.47±9.70 aA	151.05±2.71 aA

3 讨论

胸腺为中枢免疫器官,可诱导胸腺细胞分化成T细胞,在受到抗原刺激时发挥免疫效应^[12]。脾脏为外周免疫器官,胸腺和脾脏的重量与体重的比例称为免疫脏器指数,该指数高低反映动物机体免疫水平。免疫脏器指数高在一定程度上说明动物免疫机能强,反之则弱^[9]。复制小鼠乳腺炎病理模型后,发现各组小鼠脾脏指数和胸腺指数均显著低于空白对照组($P < 0.05$),这说明乳房炎使小鼠免疫器官可调用的免疫细胞减少,导致其免疫功能降低。与之相比,蒙药成份复方和阳性对照组小鼠免疫脏器指数显著升高($P < 0.05$),说明左旋咪唑和蒙药成份复方可以促进机体中枢和外周免疫器官内组织细胞的生长发育、从而提高小鼠免疫力、降低混合致病菌对小鼠机体造成的损害并且修复乳房炎引起的免疫器官损伤,且蒙药成份复方和左旋咪唑效果相当($P > 0.05$)。

NK细胞是固有免疫的主要效应细胞,具有免疫调节、抗肿瘤、抗病毒等作用。NK细胞的激活不受MHC限制,所以无须抗原预先致敏,它主要通过释放穿孔素脱颗粒酶、表达配体和分泌干扰素等作用杀伤靶细胞^[13]。本研究结果显示,在0h时,与阴性对照组和空白对照组相比,蒙药成份复方组和阳性对照组NK细胞的活性显著升高,说明在造模前,灌服蒙药成份复方能增强小鼠NK细胞对YAC-1靶细胞的杀伤活性,保护机体不受细菌进一步侵害,可以起到预防作用,且蒙药成份复方组效果与左旋咪唑相当。48h时,蒙药成份复方组和阳性对照组NK细胞活性显著高于阴性对照组($P < 0.05$)且与空白对照组差异不显著($P > 0.05$),提示蒙药成份复方可以保护免疫细胞免受病原菌的损伤,从而维持NK细胞正常的杀伤活性,也可以说明蒙药成份复方本身可以提高NK细胞的杀伤活性。

单核巨噬细胞在病原或异物刺激下变异为活化巨噬细胞,此时巨噬细胞参与机体非特异性免疫防御,吞噬和杀伤病原及异物^[14]。单核巨噬细胞的吞噬功能是判定机体非特异性免疫的重要指标之一^[15]。单核巨噬细胞可将摄入的抗原加工、处理成小分子肽段,随后递呈给T细胞,激发机体特异性免疫。吞噬指数K和吞噬系数A的大小可反映巨噬细胞的吞噬能力。复制乳房炎模型前0h时,蒙药成份复方组的吞噬系数显著高于空白对照组,提

示蒙药成份复方能够提高小鼠的巨噬细胞的吞噬活性,其效果与左旋咪唑相当($P < 0.05$)。复制乳房炎模型后48h,各组吞噬指数均显著下降,说明在复制小鼠乳房炎病理模型会损伤单核巨噬细胞的吞噬能力($P < 0.05$)。同时间点与阴性对照组相比,蒙药成份复方可以修复乳房炎给小鼠带来的吞噬机能的损伤,且于72h时基本修复到了正常水平。所以,我们推断蒙药成份复方可能是通过提高单核巨噬细胞的吞噬能力来实现非特异及相继的特异性免疫调节。

CD4⁺T细胞可分化为Th1、Th2两个亚群:Th1介导细胞免疫,主要分泌IFN- γ 等细胞因子;Th2介导体液免疫细胞,主要分泌IL-4等细胞因子^[16]。IFN- γ 、IL-4分别是Th1、Th2两个亚群主要的细胞因子,只有Th1、Th2细胞功能保持稳定,机体才能进行有效的生理防御或免疫监视等功能,当该平衡被破坏后,会出现Th1或Th2某一细胞功能亢进,进而导致相应的病理状态^[17]。所以临床上经常通过测定IFN- γ 和IL-4的含量了解Th1、Th2细胞的功能状态。复制乳房炎病理模型前0h时,各组小鼠血清中IL-4、IFN- γ 水平差异不显著;复制乳房炎病理模型48和72h时,阴性对照组IL-4含量显著上升,IFN- γ 含量显著下降,说明复制小鼠乳房炎病理模型可以改变小鼠Th1、Th2细胞平衡,但通过成份复方的预防和治疗,模型小鼠体内IFN- γ 和IL-4的含量会一直保持稳定,提示蒙药成份复方可以纠正因乳房炎导致的Th1、Th2细胞因子平衡紊乱。纵向比较结果表明:与阴性对照组相比,蒙药成份复方可以下调IL-4含量,上调IFN- γ 的含量,且与空白对照组差异不显著,提示蒙药成份复方可以促进Th1类细胞因子的生成,抑制Th2类细胞因子的生成,使其平衡恢复正常水平。

本研究利用乳房炎病理模型小鼠,探讨了蒙药成份复方对乳房炎小鼠免疫机能影响。乳房炎模型小鼠的应用,节约了乳房炎药物开发及研究的成本,真实模拟了细菌和机体免疫系统间相互作用机制,验证了蒙药成份复方是通过提高乳房炎模型小鼠免疫脏器指数、提高单核巨噬细胞吞噬能力、NK细胞杀伤活性及稳定Th1和Th2细胞群的功能,进而增强了小鼠的非特性及特异性免疫,从而达到治疗或预防大肠杆菌和金黄色葡萄球菌混合感染所引发的奶牛乳房炎的目的。

参考文献 References

- [1] Miles H, Lesser W, Sears P. The Economic-implication of bioengineered mastitis control[J]. *Journal of Dairy Science*, 1992, 75(2):596-605
- [2] 李成应. 治疗奶牛乳房炎的复方中药制剂的开发研究[D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学, 2008
Li C Y. Research and development of the compound Chinese medicine preparation for treating bovine mastitis[D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2008 (in Chinese)
- [3] Fitzgerald J R, Monday S R, Foster T J. Characterization of a putative pathogenicity island from bovine *Staphylococcus aureus* encoding multiple superantigens [J]. *Journal of Bacteriology*, 2001, 183(1):63-70
- [4] 刘龙海, 李新圃, 杨峰, 罗金印, 王旭荣, 张哲, 李宏胜. 奶牛乳房炎综合防控关键技术研究进展[J]. *中国草食动物科学*, 2015, 35(5):56-61
Liu L H, Li X P, Yang F, Luo J Y, Wang X R, Zhang Z, Li H S. Progress in the key technologies for controlling bovine mastitis [J]. *China Herbivores*, 2015, 35(5):56-61 (in Chinese)
- [5] Passchyn P, Piepers S, Schmitt-van de Leemput E. Concentration of penicillin G in mammary tissue and secretion of end-term dairy heifers following systemic prepartum administration of Penethamate hydriodide [J]. *Journal of Dairy Research*, 2010, 77(1):33-36
- [6] 郭婧, 王纯洁, 苏迅, 敖日格乐, 姚媛媛, 刘娜. 正交法筛选治疗奶牛乳房炎蒙药复方中最佳抗炎免疫成分复方的研究[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2015(5):147-149
Guo J, Wang C J, Su X, Aorigele, Yao Y Y, Liu N. Study on screening for the best anti-inflammatory immune ingredient compound from the Mongolian medicine compound for the treatment of mastitis in dairy cows by orthogonal method[J]. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 2015(5):147-149 (in Chinese)
- [7] 苏迅, 王纯洁, 郭婧, 王威, 宋越, 敖日格乐. 治疗奶牛乳房炎蒙药复方中最佳抑菌成分复方的筛选研究[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2015(3):152-154
Su X, Wang C J, Guo J, Wang W, Song Y, Aorigele. Study on screening for the best bacteriostatic ingredient compound from Mongolian medicine compound for the treatment of mastitis in dairy cows[J]. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 2015(3):152-154 (in Chinese)
- [8] 刘娜. 蒙药复方“特润舒都乐”有效成分临床前的初步安全性评价[D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学, 2015
Liu N. The preclinical preliminary safety evaluation on the effective constituent of mongolian medicine compound Terunshudule [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2015 (in Chinese)
- [9] 王君巧, 聂少平, 余强, 殷鹏飞, 高江宇, 张翼良, 谢明勇. 黑灵芝多糖对免疫抑制小鼠的免疫调节和抗氧化作用[J]. *食品科学*, 2012, 33(23):274-277
Wang J Q, Nie S P, Yu Q, Yin P F, Gao J Y, Zhang Y L, Xie M Y. Immune modulation and antioxidant activity of polysaccharides from *Ganoderma atrum* in immuno-suppressed mice[J]. *Food Science*, 2012, 33(23):274-277 (in Chinese)
- [10] 颜爱, 李波, 李润成, 喻凯, 余兴龙. 香菇多糖和黄芪多糖对免疫抑制小鼠免疫功能调节的研究[J]. *中国免疫学杂志*, 2012, 28(11):999-1003
Yan A, Li B, Li R C, Yu K, Yu X L. Effect of lentinan and astragalus polysaccharides on immunological function in immuno-uppressed mice[J]. *Chinese Journal of Immunology*, 2012, 28(11):999-1003 (in Chinese)
- [11] 陈玉洁. 酸马奶源酵母菌代谢物对致病性大肠杆菌的抑菌作用机理研究[D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学, 2015
Chen Y J. Study of antibacterial mechanism of yeasts metabolites from koumiss on pathogenic *Escherichia coli* [D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2015 (in Chinese)
- [12] 杨铁虹, 卢保华, 贾敏, 梅其炳. 当归多糖对小鼠免疫功能的影响[J]. *中国药理通报*, 2003(4):448-451
Yang T H, Lu B H, Jia M, Mei Q B. Immunoregulation effect of angelica polysaccharide isolated from *Angelica sinensis* [J]. *Chinese Pharmacological Bulletin*, 2003(4):448-451 (in Chinese)
- [13] Fernando S F G, Minou A C, Cavaillon J M. Natural killer (NK) cells in antibacterial innate immunity: Angels or devils? [J]. *Molecular Medicine*, 2012, 18(1):270-285
- [14] Fidler I J, Kleinerman E S. Therapy of cancer metastasis by systemic activation of macrophages-from the bench to the clinic [J]. *Research in Immunology*, 1993, 144(4):274-276
- [15] 龚非力. 医学免疫学[M]. 北京:科学出版社医学出版社, 2004:171
Gong FL. *Medical Immunology* [M]. Beijing: Science Publishing House Medical Publishing Branch, 2004:171 (in Chinese)
- [16] 季敬璋, 胡璟谊, 吕建新. 牛膝多糖对 CD4+T 细胞的诱导和分化作用研究[J]. *中国病理生理杂志*, 2006, 22(2):228-233
Ji J Z, Hu J Y, Lv J X. Effect of *Achvranthes bidentata* polysaccharides on induction and differentiation of CD4+ T cells [J]. *Chinese Journal of Pathophysiology*, 2006, 22(2):228-233 (in Chinese)
- [17] 周红, 胡岩, 韦国玉, 刘娅. 急性肾炎患儿治疗前后血清 IL-2、IL-4 和 IFN- γ 检测的临床评价[J]. *放射免疫学杂志*, 2011(4):378-379
Zhou H, Hu Y, Wei G Y, Liu Y. Clinical evaluation of determination the changes on serum IL-2, IL-4 and IFN- γ levels after treatment in pediatric patients with acute nephritis [J]. *Journal of Radioimmunology*, 2011(4):378-379 (in Chinese)