

薛 洋, 闫延华, 付敬敬, 等. 黄芩苷防治雏鸡传染性支气管炎的药理作用[J]. 江苏农业学报, 2017, 33(5): 1082-1092.  
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2017.05.019

## 黄芩苷防治雏鸡传染性支气管炎的药理作用

薛 洋<sup>1</sup>, 闫延华<sup>1</sup>, 付敬敬<sup>1</sup>, 刘 芳<sup>1,2</sup>, 张红英<sup>1,2</sup>, 王学兵<sup>1,2</sup>

(1. 河南农业大学牧医工程学院, 河南 郑州 450000; 2. 河南省动物性食品安全重点实验室, 河南 郑州 450000)

**摘要:** 为探讨黄芩苷对雏鸡感染传染性支气管炎 M41 (IBV-M41) 的防治效果, 将 150 只 12 日龄白羽肉鸡随机均分为 10 组, 分别为黄芩苷高、中、低剂量预防组, 黄芩苷高、中、低剂量治疗组, 双黄连对照组, 麻杏石甘颗粒对照组, 模型对照组, 空白对照组。除空白对照组外其余各组每只鸡于 15 日龄接种 IBV-M41 0.2 ml。记录雏鸡的采食量及体重变化、发病情况, 测定其生产性能指标、淋巴细胞增殖能力、淋巴细胞亚群及细胞因子浓度。结果表明攻毒后黄芩苷预防和治疗各组料质量比均显著或极显著低于模型对照组; 黄芩苷预防高剂量组保护率较高, 黄芩苷治疗组治愈率最高可达 80%; 黄芩苷预防和治疗组淋巴细胞转化能力有明显提升; 黄芩苷可以显著提高感染雏鸡 CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> 淋巴细胞比率, 使 IFN- $\alpha$  浓度长时间维持高水平, 并且使 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 的比值及 IL-4 浓度维持一定的动态平衡。多项检测结果表明黄芩苷抗雏鸡感染 IBV-M41 兼具预防与治疗作用, 其中预防以高剂量 [42 mg/(kg·d)] 效果显著, 治疗以中剂量 [28 mg/(kg·d)] 效果最佳。

**关键词:** 黄芩苷; 鸡传染性支气管炎; 药理作用

中图分类号: S858.316.3

文献标识码: A

文章编号: 1000-4440(2017)05-1082-11

## Pharmacology of prevention and control of avian infectious bronchitis by baicalin

XUE Yang<sup>1</sup>, YAN Yan-hua<sup>1</sup>, FU Jing-jing<sup>1</sup>, LIU Fang<sup>1,2</sup>, ZHANG Hong-ying<sup>1,2</sup>, WANG Xue-bing<sup>1,2</sup>

(1. College of Animal Science and Veterinary Medicine, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450000, China; 2. Key Laboratory for Animal-derived Food Safety of Henan Province, Zhengzhou 450000, China)

**Abstract:** To probe into the preventive and control effect of baicalin on avian infectious bronchitis, one hundred and fifty 12-day-old white broiler chickens were randomly divided into 10 groups which were prevention groups with baicalin at high, medium and low dosage, treatment groups with baicalin at a high, medium and low dosage, shuanghuanglian control group, maxingshigan particles control group, model and blank control group. The chickens were infected with avian infectious bronchitis virus M-41 except for those in blank control group. The intake and weight of chickens were recorded and their clinical symptoms were observed. The production performance, lymphocyte proliferation and the concentration of cytokines were detected. The feed/gain ratios of chickens in baicalin-treated groups were lower than those in model control group. The protective rates were high in prevention groups with baicalin at a high dosage and the cure rate was up to 80% in

the treatment groups. The lymphocyte proliferation was promoted significantly in baicalin-treated groups. Baicalin enhanced the percentages of CD3<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup>, maintained a high level of IFN- $\alpha$  for a long time, and kept a dynamic balance of CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> and IL-4 concentration. In conclusion, baicalin is capable of prevention and control of avian infectious bronchitis, and a moderate dose at [28 mg/(kg·d)] for cure and a high dose at [42

收稿日期: 2017-03-24

基金项目: 河南省基础与前沿技术研究项目 (152300410076); 河南省科技攻关计划项目 (152102110048)

作者简介: 薛 洋 (1989-), 女, 河南开封人, 硕士研究生, 主要从事中药免疫调节作用研究。(E-mail) xueyangsmile@163.com。  
闫延华为共同第一作者。

通讯作者: 王学兵, (E-mail) xbwang74@163.com

mg/(kg·d)] for prevention were recommended.

**Key words:** baicalin; avian infectious bronchitis; pharmacology

鸡传染性支气管炎(Avian Infectious Bronchitis, IB)是由鸡传染性支气管炎病毒(IBV)引起的一种鸡的急性、高度接触性、传染性呼吸道疾病<sup>[1-2]</sup>。IBV可以在呼吸道、泌尿生殖系统和胃肠道复制,并可导致这些系统发生不同的病变。感染IBV往往会引起复合感染(如新城疫、慢性呼吸道疾病等),并可继发细菌性疾病(如大肠杆菌病、沙门氏菌病等)从而加重对鸡的危害。和同类的冠状病毒一样,IBV通过自发性突变和基因重组发生变异<sup>[3]</sup>。因此IBV的血清型比较多,各毒株的毒力差异较大,毒株之间交叉保护力低,故导致IBV的疫苗保护也收效甚微,IBV在免疫鸡群中发生感染的情况也很常见<sup>[4]</sup>,给该病的防治工作带来较大的困难。IBV感染鸡群,导致肉鸡生产性能降低,蛋鸡产蛋量大幅下降等,给世界养禽业带来巨大的经济损失<sup>[5]</sup>。

中医上认为鸡传染性支气管炎是由热侵入肺所致,肺失宣发和肃降,宜清热、解毒、宣肺止咳、祛痰散结,而唇形科植物黄芩(*Scutellaria baicalensis* georgi)具有很好的清热解毒,宣肺止咳,抗病毒,增强机体免疫力等作用<sup>[6]</sup>。黄芩苷(baicalin)是黄芩的有效成分之一<sup>[7]</sup>,是从黄芩的干燥根茎中提取的一种黄酮类化合物,有显著的生物学活性。大量研究结果表明黄芩苷具有清热解毒、抗炎、利胆、降压、利尿、抗变态反应及免疫调节诸多作用<sup>[8-16]</sup>。本试验主要探究黄芩苷对雏鸡感染传染性支气管炎的保护作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 毒株 传染性支气管炎病毒(IBV):M41标准毒株,购自中国兽药监察所。经毒力检测,病毒在鸡胚上的 $EID_{50}$ 为 $0.1\text{ ml } 10^{-4.32}$ , $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冻存。经造模试验筛毒,人工感染雏鸡IBV-M41的模型攻毒量为 $100\text{ }EID_{50}$ 。

1.1.2 试验药物 黄芩苷(纯度 $\geq 98\%$ ,北京索莱宝生物科技有限公司产品),羧甲基纤维素钠(CMC,北京博奥拓达科技有限公司产品),双黄连口服液(郑州后羿制药有限公司产品),麻杏石甘颗

粒(天津生机集团有限公司产品)。其中,受试药物以前期黄芩苷药量初步筛选试验中所得到的最佳剂量 $[28\text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})]$ 作为中剂量,再设置高剂量 $[42\text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})]$ 、低剂量 $[21\text{ mg}/(\text{kg}\cdot\text{d})]$ ,双黄连口服液及麻杏石甘颗粒的给药量均以药物说明书为准

由于黄芩苷极难溶于水,故本试验黄芩苷需要用 $0.5\%$ 的CMC(羧甲基纤维素钠)溶液助溶,因黄芩苷遇光易变质,故需置于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 避光保存。

1.1.3 试验动物 1日龄AA白羽肉鸡150只,购于河南省开封市兴达禽业有限公司,常规饲养至12日龄供试验用。试验期间未做任何疫苗免疫。饲料为无抗生素的雏鸡全价饲料,购于河南省金诺饲料有限公司。

1.1.4 主要试剂 RPMI-1640(HyClone公司产品),胎牛血清(杭州四季青公司产品),青霉素 $10\text{ kU}/\text{ml}$ 、链霉素 $10\text{ mg}/\text{ml}$ (北京雷根生物技术有限公司产品),L-谷氨酰胺( $200\text{ mmol}/\text{L}$ ,WOLSEN公司产品),刀豆蛋白A(ConA,Sigma公司产品),脂多糖(LPS,Sigma公司产品),cck-8(cell counting kit,日本同仁化学研究所产品),淋巴细胞分离液(北京索莱宝科技有限公司产品),鼠抗鸡CD3-FITC(1支 $0.5\text{ mg}$ )、CD4-PE(1支 $0.1\text{ mg}$ )、CD8a-PE(1支 $0.1\text{ mg}$ )、鼠抗人IgG1-FITC(100次)和IgG1-PE(100次)单克隆抗体(艾美捷科技有限公司产品),鸡白介素4(IL-4)酶联免疫吸附测定试剂盒(Elabscience公司产品),鸡 $\alpha$ 干扰素(IFN- $\alpha$ )酶联免疫吸附测定试剂盒(Elabscience公司产品)。

### 1.2 方法

1.2.1 动物饲养 采用笼养方式。试验前将鸡舍、鸡笼彻底打扫,甲醛熏蒸消毒。整个试验期内除用药及观察时段外雏鸡均进行自由采食、饮水,饲料采用无任何抗生素添加的雏鸡全价饲料。第一周室温控制在 $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,保证雏鸡体温,饮水给以温开水,以防雏鸡拉稀,以后随雏鸡的日龄增长每周可适当降低温度,并给以常规饮水,相对湿度保持在 $50\%\sim 60\%$ ,每日常规打扫、消毒鸡舍卫生。试验期36d。

1.2.2 动物分组与处理 150只12日龄白羽肉鸡,逐只标记后随机分为10组,每组15只。1~3组分别为黄芩苷高、中、低剂量预防用药组,给药量分别

依次为 42 mg/(kg·d)、28 mg/(kg·d)、21 mg/(kg·d),于攻毒前 3 d(12 日龄)开始灌胃给药,每天 1 次,给药 3 d;4~6 组分别为黄芩苷高、中、低剂量治疗用药组,给药量分别依次为 42 mg/(kg·d)、28 mg/(kg·d)、21 mg/(kg·d),于攻毒后 1 d(16 日龄)开始灌胃给药,每日 1 次,连续 6 d。第 7 组为双黄连药物对照组,于攻毒后 1 d(16 日龄)开始给药,每日按 1 只 1 ml 的剂量(药物溶于 1 L 饮水),连续 6 d。第 8 组为麻杏石甘颗粒药物对照组,于攻毒后 1 d(16 日龄)开始给药,每日按 1 只 1 g 的剂量(药物溶于 1 L 饮水),连续 6 d。所有用药组雏鸡在用药前先停水 1 h,便于用药。第 9 组为模型对照组,只攻毒不用药。第 10 组为空白对照组,不攻毒不用药,隔离饲养于单独鸡舍,饲养人员及用具均单独设置。除去空白对照组外,其余各组鸡均于第 15 日龄滴鼻染毒,每只 0.2 ml。

**1.2.3 生产性能检测** 试验期间每日记录饲料消耗量。分别于第 1 d、12 d、26 d、32 d(试验结束)记录各组鸡的体质量和耗料量,计算平均日增质量(ADG)、平均日采食量(ADFI),最终得出料质量比(F/G),计算公式如下:

平均日增质量(g/d) = (末质量 - 始质量) / 饲养天数 / 羽

平均日采食量(g/d) = 总耗料量 / 饲养天数 / 羽

料质量比(g/g) = 总耗料量 / 总增质量

**1.2.4 临床症状观察** 给各组鸡分别标号,以便区分观察。攻毒后 1 d 开始观察各组雏鸡是否出现喷嚏、甩鼻、张口呼吸、吞咽困难、呼噜声(气管啰音)等症状。连续 10 d,每日早、晚八点各观察、统计一次并做详细记录。每日观察前禁止给水给料,避免鸡群躁动影响观察结果。在观察期间有临床症状出现的鸡均记为发病,发病鸡症状完全消失的记为康复,统计鸡的未发病数、发病数与康复数(治愈数或自愈数),计算保护率(预防用药组)、发病率及治愈(自)愈率。计算公式如下:

保护率 = 未发病只数 / 动物数量 × 100%

发病率 = 发病只数 / 动物数量 × 100%

治愈(自)愈率 = 治愈(自)愈只数 / 发病只数 × 100%

**1.2.5 淋巴细胞增殖转化能力检测** 分别于第 19 d(攻毒后 4 d)、25 d(攻毒后 10 d)、31 d(攻毒后 16 d)在各组随机抽取 3 只鸡进行翅下静脉无菌采血。将 2 ml 血液与等量无菌 PBS 液(磷酸盐缓冲液)充

分混匀后,缓慢加入分离液(分离液:混合液 = 1:1),2 000 r/min 离心 20 min,吸取中间白色云雾状狭窄条带,即为鸡的淋巴细胞,以 5 倍以上体积的 PBS 液将细胞吹打混匀后离心,1 600 r/min,10 min,加入 5 ml 红细胞裂解液,置于 37 ℃,5 min,1 200 r/min,离心 5 min,将红细胞裂解完全后,加入 10 ml PBS 液,1 500 r/min,10 min 洗 2 次,加 1640 基础培养液,1 500 r/min,10 min 洗 1 次,弃上清后用 PRMI-1640 完全培养液重悬细胞,调整细胞浓度为 1 ml  $3 \times 10^6$ 。将上述细胞悬液加入 96 孔板中,每孔 100  $\mu$ l,6 个重复孔,同时每孔加 10  $\mu$ l ConA(终浓度 10  $\mu$ g/ml)或 LPS(终浓度 10  $\mu$ g/ml),置于 37 ℃,5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 48 h,于培养结束前 3 h,每孔加入 10  $\mu$ l CCK-8 试剂,并用酶标仪于 450 nm 波长下检测其吸光值。

**1.2.6 外周血 T 淋巴细胞亚群检测** 分别于第 19 d(攻毒后 4 d)、21 d(攻毒后 7 d)、25 d(攻毒后 10 d)从各组随机抽取 3 只鸡,翅下静脉采血、提取淋巴细胞,用 PBS 溶液调整细胞浓度至 1 ml  $3 \times 10^6$ ,每个样品均设置 2 个样品管,每管 500  $\mu$ l 细胞液,一管加入经 PBS 溶液 10 倍稀释的鼠抗鸡 CD3-FITC、CD4-PE 单克隆抗体各 20  $\mu$ l,另一管加入经 PBS 溶液 10 倍稀释的 CD3-FITC、CD8a-PE 单克隆抗体各 20  $\mu$ l,相应对照管加入淋巴细胞悬液 500  $\mu$ l,鼠抗人 IgG1-FITC、IgG1-PE 单克隆抗体各 10  $\mu$ l,充分混匀,4 ℃避光作用 20 min,再置于室温环境,避光作用 10 min,1 200 r/min 离心 10 min,弃去上清,加入 PBS 溶液 500  $\mu$ l,1 200 r/min 离心 10 min,弃去上清,最后再加入 PBS 溶液 500  $\mu$ l 重悬细胞,流式细胞仪检测。

**1.2.7 细胞因子水平检测** 分别于第 15 d(攻毒前 0 d)、19 d(攻毒后 4 d)、21 d(攻毒后 7 d)、25 d(攻毒后 10 d)从各组随机抽取 3 只鸡,翅下静脉无菌采血,4 ℃下过夜,待血清析出后,3 000 r/min 离心 20 min,收集上清即为血清,4 ℃保存。严格遵照鸡 IL-4、IFN- $\alpha$  酶联免疫吸附测定试剂盒说明书对鸡血清中 IL-4、IFN- $\alpha$  的水平进行检测。

**1.2.8 数据分析与处理** 统计各项指标数据,计数资料以 Excel2013 软件进行  $\chi^2$  检验分析;计量资料用 SPSS20.0 for Windows 统计分析软件进行 Duncan's 多重比较分析,数据以 Mean  $\pm$  SD 表示,比较各组各项指标的变化情况。

## 2 结果

### 2.1 生产性能检测

雏鸡在 1~12 d、12~26 d、26~32 d 的料质量比详见表 1。

从表 1 中可以看出,各组雏鸡 1 至 12 日龄的料质量比无显著性差异;12 至 26 日龄(攻毒后 11 d)

的料质量比,各组雏鸡均极显著低于模型对照组( $P<0.01$ )。26(攻毒后 11 d)至 32 日龄(攻毒后 17 d)的料质量比,模型对照组鸡的料质量比显著高于空白对照组( $P<0.05$ ),用药组除预防低剂量组及双黄连对照组外,其他组别鸡料质量比均显著低于模型对照组( $P<0.05$ )。

表 1 雏鸡料质量比

Table 1 The feed/gain ratios of chickens

组别	料质量比 (g/g)		
	1~12 d	12~26 d	26~32 d
预防高剂量组	1.361 6±0.115 4	1.504 9±0.145 6**	1.469 3±0.658 4*
预防中剂量组	1.343 2±0.133 7	1.469 8±0.065 2**	1.663 7±0.071 3*
预防低剂量组	1.393 3±0.092 6	1.490 4±0.132 8**	2.032 4±0.253 6
治疗高剂量组	1.411 4±0.063 6	1.593 8±0.055 1**	1.485 2±0.171 3*
治疗中剂量组	1.404 2±0.108 3	1.591 9±0.057 0**	1.421 8±0.277 2*
治疗低剂量组	1.385 0±0.087 4	1.427 0±0.099 0**	1.573 7±0.090 6*
双黄连对照组	1.421 3±0.075 9	1.326 0±0.004 0**	1.773 8±0.376 7
麻杏石甘对照组	1.367 6±0.097 5	1.552 8±0.116 2**	1.474 9±0.315 5*
模型对照组	1.401 1±0.075 9	2.096 6±0.165 4	2.299 3±0.491 0
空白对照组	1.387 5±0.089 8	1.448 4±0.112 5**	1.540 3±0.313 8*

\*、\*\* 表示与模型对照组相比差异显著( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。

### 2.2 临床疗效

从攻毒后 1 d 开始,连续观察 10 d,各组鸡发病只数及治愈只数经统计记录于表 2,并由此计算出

各组鸡的发病率及模型对照组的自愈率、预防用药组的保护率和治疗用药组的治愈率。

表 2 雏鸡发病率及保护率和治愈率

Table 2 The disease incidence, protective rate and cure rate of chickens

组别	动物数量(只)	发病数(只)	治愈数(只)	发病率(%)	保护率/治愈率/自愈率(%)
预防高剂量组	15	8	3	53.33Bb	46.67
预防中剂量组	15	9	4	60.00BCb	40.00
预防低剂量组	15	12	9	80.00BCbc	20.00
治疗高剂量组	15	9	5	60.00BCb	55.56ABb
治疗中剂量组	15	10	8	66.67BCb	80.00Bb
治疗低剂量组	15	10	7	66.67BCb	70.00Bb
双黄连对照组	15	13	7	86.67BCbc	53.85ABb
麻杏石甘对照组	15	11	5	73.33BCbc	45.46ABab
模型对照组	15	15	2	100.00Cc	13.33Aa
空白对照组	15	0	—	0Aa	—

同列数据后标有不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ ),不同大写字母表示差异极显著( $P<0.01$ )。

由表 2 中可以看出,所有攻毒组的发病率都极

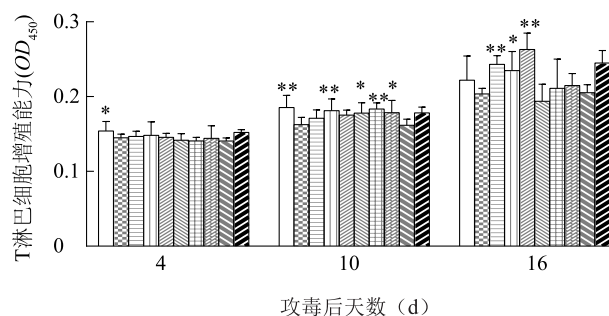
显著高于空白对照组( $P<0.01$ );黄芩苷用药组除预



防低剂量组外发病率均显著低于模型对照组 ( $P < 0.05$ ), 其中预防高剂量组的发病率极显著低于模型对照组 ( $P < 0.01$ ), 保护率达到 46.67%。黄芩苷治疗组的治愈率均显著高于模型对照组的自愈率 ( $P < 0.05$ ), 其中中、低剂量组极显著高于模型对照组 ( $P < 0.01$ )。

## 2.3 淋巴细胞增殖转化能力检测

2.3.1 T-淋巴细胞增殖 各组鸡由 ConA 诱导的 T 淋巴细胞增殖变化详见图 1。



\*、\*\* 分别表示与模型对照组相比差异达显著 ( $P < 0.05$ ) 和极显著 ( $P < 0.01$ ) 水平。

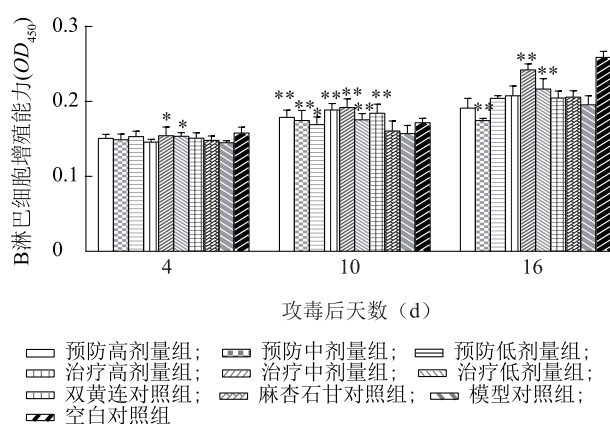
图 1 T 淋巴细胞增殖

Fig.1 T-Lymphocyte proliferation

攻毒后 4 d, 模型对照组和双黄连对照组的 T 淋巴细胞增殖能力均显著低于空白对照组 ( $P < 0.05$ ), 黄芩苷预防高剂量组 T 淋巴细胞增殖能力显著高于模型对照组; 攻毒后 10 d, 模型对照组与预防中剂量组 T 淋巴细胞增殖能力显著低于空白对照组 ( $P < 0.05$ ), 黄芩苷预防、治疗高剂量组及双黄连对照组 T 淋巴细胞增殖能力极显著高于模型对照组 ( $P < 0.01$ ), 黄芩苷治疗低剂量与麻杏石甘对照组显著高于模型对照组 ( $P < 0.05$ ); 攻毒后 16 d, 模型对照组、2 个药物对照组及预防中剂量组、治疗低剂量组 T 淋巴细胞增殖能力均显著或极显著低于空白对照组 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 黄芩苷治疗中、高剂量及预防低剂量组显著或极显著高于模型对照组 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。

2.3.2 B 淋巴细胞增殖 各组鸡的由 LPS 诱导的 B 淋巴细胞增殖变化详见图 2。

攻毒后 4 d, 模型对照组、麻杏石甘对照组及黄



\*、\*\* 分别表示与模型对照组相比差异达显著 ( $P < 0.05$ ) 和极显著 ( $P < 0.01$ ) 水平。

图 2 B 淋巴细胞增殖

Fig.2 B-Lymphocyte proliferation

芩苷治疗高剂量组、预防中剂量组的 B 淋巴细胞增殖能力均显著或极显著低于空白对照组 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 黄芩苷治疗中、低剂量组 B 淋巴细胞增殖能力显著高于模型对照组 ( $P < 0.05$ ); 攻毒后 10 d, 模型对照组 B 淋巴细胞增殖能力显著低于空白对照组 ( $P < 0.05$ ), 黄芩苷所有治疗组, 预防高、中剂量组及双黄连对照组均极显著高于模型对照组 ( $P < 0.01$ ), 黄芩苷预防低剂量组显著高于模型对照组 ( $P < 0.05$ )。同时治疗高、中剂量组及双黄连对照组还显著或极显著高于空白对照组 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); 攻毒后 16 d, 所有攻毒组鸡的 B 淋巴细胞增殖能力均极显著低于空白对照组 ( $P < 0.01$ ), 黄芩苷治疗中、低剂量组极显著高于模型对照组 ( $P < 0.01$ )。

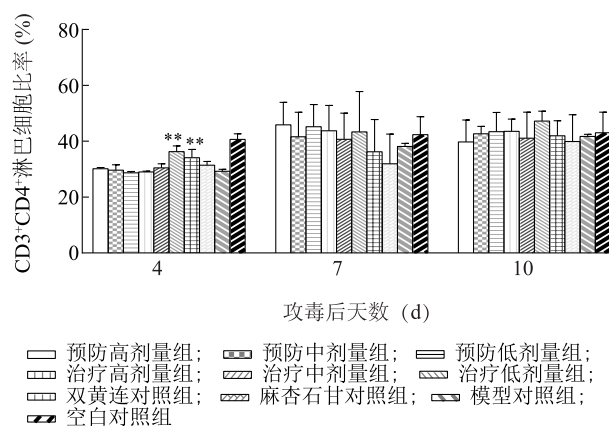
## 2.4 T 淋巴细胞亚群检测结果

2.4.1 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>淋巴细胞动态变化 流式细胞仪检测各组鸡外周血中的 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞亚群检测结果见图 3。

攻毒后 4 d, 所有攻毒组鸡的 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>淋巴细胞比率均极显著小于空白对照组 ( $P < 0.01$ ); 黄芩苷治疗低剂量组、双黄连对照组极显著高于模型对照组 ( $P < 0.01$ )。攻毒后 7 d、10 d, 各组 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>淋巴细胞比率均差异不显著。

2.4.2 CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>淋巴细胞动态变化 流式细胞仪检测各组鸡外周血中的 CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>淋巴细胞亚群检测结果见图 4。

攻毒后 4 d, 模型对照组鸡的 CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>淋巴细



\*\* 表示与模型对照组相比差异达极显著 ( $P < 0.01$ ) 水平。

图3  $CD3^+ CD4^+$  淋巴细胞比率

Fig.3 Percentages of  $CD3^+$  and  $CD4^+$  lymphocytes

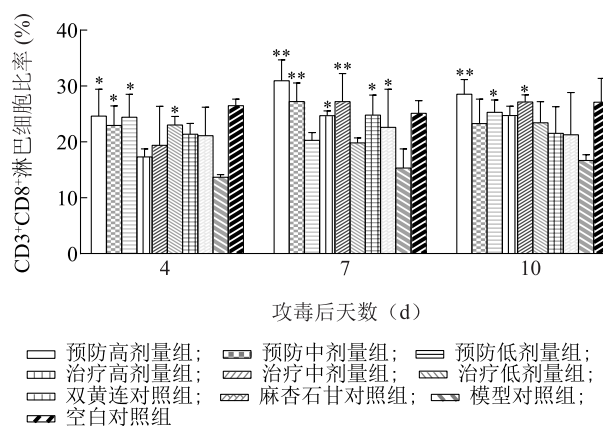
胞比率极显著低于空白对照组 ( $P < 0.01$ ), 黄芩苷治疗高剂量组显著低于空白对照组 ( $P < 0.05$ ); 黄芩苷预防 3 个剂量组、治疗低剂量组均显著高于模型对照组 ( $P < 0.05$ )。攻毒后 7 d, 模型对照组鸡的  $CD3^+ CD8^+$  淋巴细胞比率极显著低于空白对照组 ( $P < 0.01$ ); 黄芩苷预防高、中剂量组, 治疗中剂量组均极显著高于模型对照组 ( $P < 0.01$ ), 黄芩苷治疗高剂量组及 2 个用药对照组显著高于模型对照组 ( $P < 0.05$ )。攻毒后 10 d, 模型对照组鸡的  $CD3^+ CD8^+$  淋巴细胞比率显著低于空白对照组 ( $P < 0.01$ ), 黄芩苷预防高剂量组极显著高于模型对照组 ( $P < 0.01$ ), 黄芩苷预防低、治疗中剂量组显著高于模型对照组 ( $P < 0.05$ )。

2.4.3  $CD4^+/CD8^+$  淋巴细胞比值动态变化 各组鸡外周血中  $CD4^+/CD8^+$  淋巴细胞比值结果见图 5。

攻毒后 4 d, 模型对照组鸡  $CD4^+/CD8^+$  淋巴细胞比值与空白对照组差异显著 ( $P < 0.05$ ), 所有用药组均与模型对照组有显著或极显著差异 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); 攻毒后 7 d, 黄芩苷治疗低剂量组  $CD4^+/CD8^+$  淋巴细胞比值与空白对照组差异显著 ( $P < 0.05$ ), 黄芩苷预防高、中剂量组, 黄芩苷治疗中剂量组及 2 个药物对照组与模型对照组差异显著 ( $P < 0.05$ ); 攻毒后 10 d, 模型对照组鸡  $CD4^+/CD8^+$  淋巴细胞比值与空白对照组差异显著 ( $P < 0.05$ ), 黄芩苷预防高、低剂量组以及黄芩苷治疗高、中剂量组与模型对照组差异显著或极显著 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。

## 2.5 细胞因子水平

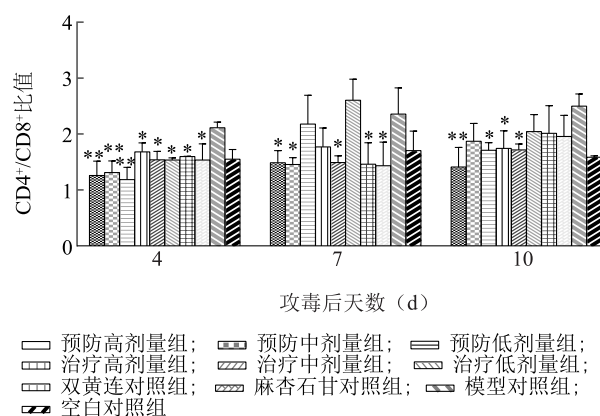
2.5.1 IL-4 水平的动态变化 各组鸡血清中 IL-4



\*、\*\* 分别表示与模型对照组相比差异达显著 ( $P < 0.05$ ) 和极显著 ( $P < 0.01$ ) 水平。

图4  $CD3^+ CD8^+$  淋巴细胞比率

Fig.4 Percentages of  $CD3^+$  and  $CD8^+$  lymphocytes



\*、\*\* 分别表示与模型对照组相比差异达显著 ( $P < 0.05$ ) 和极显著 ( $P < 0.01$ ) 水平。

图5  $CD4^+/CD8^+$  淋巴细胞比值

Fig.5 Ratio of  $CD4^+/CD8^+$

的浓度见表 3。

攻毒后 0 d, 各组鸡血清中的 IL-4 浓度无显著性差异; 攻毒后 4 d, 所有用药组的 IL-4 浓度均显著或极显著高于模型对照组及空白对照组 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); 攻毒后 7 d, 除麻杏石甘对照组的 IL-4 浓度显著高于模型对照组及空白对照组外 ( $P < 0.05$ ), 其他组别均无显著性差异 ( $P > 0.05$ ); 攻毒后 10 d, 除黄芩苷预防低剂量组及麻杏石甘对照组外, 其他组的 IL-4 浓度均极显著低于模型对照组 ( $P < 0.01$ )。

2.5.2 IFN- $\alpha$  水平的动态变化 各组鸡血清中 IFN- $\alpha$  的浓度见表 4。

表 3 血清中 IL-4 浓度

Table 3 Concentration of IL-4 in chickens' s serum

组别	血清中 IL-4 浓度 (pg/ml)			
	攻毒后 0 d	攻毒后 4 d	攻毒后 7 d	攻毒后 10 d
预防高剂量组	221.7±2.6	437.1±32.6 **	235.7±32.4	232.2±17.1 *
预防中剂量组	234.4±38.0	409.2±12.4 *	252.9±36.8	249.1±28.0 **
预防低剂量组	224.6±9.8	401.5±53.7 *	296.0±86.5	312.4±42.7
治疗高剂量组	249.4±55.6	454.1±4.8 **	248.3±58.9	275.6±50.8 **
治疗中剂量组	223.9±20.9	468.3±15.5 **	284.2±25.0	224.3±15.2 **
治疗低剂量组	245.3±31.3	403.9±86.1 *	282.2±23.0	272.2±0.7 **
双黄连对照组	229.7±31.8	405.9±10.9 *	247.0±43.7	223.9±25.4 **
麻杏石甘对照组	233.9±2.2	473.9±81.1 **	348.5±36.7 *	341.0±65.5
模型对照组	226.6±99.3	302.9±81.8	309.7±39.1	374.9±42.9
空白对照组	242.5±86.6	294.7±49.5	244.3±82.9	267.7±13.7

\*、\*\* 分别表示与模型对照组相比差异达显著 ( $P<0.05$ ) 和极显著 ( $P<0.01$ ) 水平。

表 4 血清中 IFN- $\alpha$  的浓度Table 4 Concentration of IFN- $\alpha$  in chickens' s serum

组别	血清中 IFN- $\alpha$ 浓度 (pg/ml)			
	攻毒后 0 d	攻毒后 4 d	攻毒后 7 d	攻毒后 10 d
预防高剂量组	345.0±42.0 **	419.2±116.9 **	504.9±26.4 **	326.9±23.9 **
预防中剂量组	340.1±11.0 **	407.1±133.8 **	488.6±67.8 **	349.0±45.6 **
预防低剂量组	322.5±18.8 *	390.3±65.2 **	463.5±28.2 **	247.1±20.8
治疗高剂量组	239.1±23.5	352.8±45.2 **	428.9±38.5 **	346.4±48.8 **
治疗中剂量组	240.9±44.8	467.9±43.8 **	533.3±25.9 **	442.3±32.8 **
治疗低剂量组	246.9±24.7	344.7±43.3 *	358.8±54.7 **	262.5±35.0
双黄连对照组	250.2±43.4	327.8±59.8 *	312.9±46.5 **	234.7±30.0
麻杏石甘对照组	241.5±34.8	387.5±38.2 **	287.9±25.9 **	235.4±29.6
模型对照组	253.1±28.6	183.9±62.3	180.5±45.2	210.8±37.2
空白对照组	245.4±29.0	255.7±46.6	256.4±8.1	257.2±21.8

\*、\*\* 分别表示与模型对照组相比差异达显著 ( $P<0.05$ ) 和极显著 ( $P<0.01$ ) 水平。

攻毒前,黄芩苷预防组的鸡血清中的 IFN- $\alpha$  浓度均显著或极显著高于模型对照组及空白对照组 ( $P<0.05$  或  $P<0.01$ ),其他组别均差异不显著;攻毒后 4 d,所有用药组 IFN- $\alpha$  浓度均显著或极显著高于模型对照组 ( $P<0.01$  或  $P<0.05$ ),其中黄芩苷预防所有组、治疗中剂量组及麻杏石甘对照组的 IFN- $\alpha$  浓度显著或极显著高于空白对照组 ( $P<0.01$  或  $P<0.05$ );攻毒后 7 d,模型对照组的 IFN- $\alpha$  浓度显著低于空白对照组 ( $P<0.05$ ),所有用药组的 IFN- $\alpha$  浓度均极显著高于模型对照组 ( $P<0.01$ ),其中黄芩苷所有组的 IFN- $\alpha$  浓度还都极显著高于空白对照组

( $P<0.01$ );攻毒后 10 d,黄芩苷预防高、中剂量组及治疗高、中剂量组的 IFN- $\alpha$  浓度均显著或极显著高于模型对照组及空白对照组 ( $P<0.05$  或  $P<0.01$ )。

### 3 讨论

#### 3.1 生产性能

在肉鸡生产中,料质量比是衡量肉鸡生产性能的一项重要指标,而生产性能则直接代表了肉鸡生产的经济效益。因此在肉鸡生产中保证鸡料质量比的低水平便显得尤为重要。研究结果表明,黄芩苷可以使感染鸡只的料质量比剧增得到有效降低,可



以有效地提高感染雏鸡的生产性能,大大降低鸡群感染所造成的经济损失。

### 3.2 临床疗效

早在 2009 年,王秋菊<sup>[14]</sup>就用水煎煮法提取黄芩苷,并通过正交设计,筛选出提取复方黄芩颗粒剂的较好工艺,随后对 180 只未免疫鸡进行抗 IB 试验,结果提示黄芩的有效成分能够有效预防 IB 且无毒副作用。这与本试验中,黄芩苷对感染鸡只的临床疗效一致。

从试验结果中的发病率及治愈率可以明显看出黄芩苷对雏鸡感染 IBV 具有显著的防治作用,在预防方面,黄芩苷预防高剂量组具有较好效果,保护率达到 46.67%;在治疗方面,黄芩苷治疗中、低剂量组,效果显著,治愈率达到 70.00%~80.00%,明显优于药物对照组。

### 3.3 淋巴细胞增殖转化能力

动物机体的免疫系统在受到抗原刺激后,具有抗原特异性的淋巴细胞,即 T、B 淋巴细胞会对抗原进行识别,继而自身发生活化、分化与增殖,这一免疫反应是机体发生免疫应答的一个重要过程<sup>[17]</sup>。在现代免疫学理论里,T、B 淋巴细胞作为机体免疫主要的承担细胞,分别介导了细胞免疫及体液免疫<sup>[18]</sup>,在机体免疫应答过程中的作用至关重要<sup>[19]</sup>。Con A (刀豆蛋白)是一种有丝分裂原,可以刺激 T 淋巴细胞的增殖与活化;而 LPS 则可直接刺激 B 淋巴细胞增殖并分化为浆细胞以产生抗体。因此,以 Con A 及 LPS 来诱导外周血淋巴细胞分化、增殖并测量其 OD 值(吸光值),分别用来评价动物机体在感染、用药后其 T、B 淋巴细胞的增殖能力,可以直观地反应出机体内所发生的免疫细胞水平变化。

据淋巴细胞增殖能力检测结果可知,在感染后,模型对照组的 OD 值始终显著低于空白对照组( $P<0.01$ 或 $P<0.05$ ),即感染 IBV-M41 的雏鸡淋巴细胞增殖转化能力显著降低。而黄芩苷用药组则可以不同程度地提高感染鸡只的 T、B 淋巴细胞增殖能力,增强鸡的免疫能力。

### 3.4 T 淋巴细胞亚群

CD3<sup>+</sup>是 T 淋巴细胞的主要表面标志,其存在于所有成熟的淋巴细胞表面,作为鉴定和区别淋巴细胞的主要表面标志,CD3<sup>+</sup>代表着整个机体的细胞免疫功能状态网。而 CD4<sup>+</sup>和 CD8<sup>+</sup>也是 T 淋巴细胞两个重要的淋巴细胞表面标志。CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞在

动物机体中诱导及增强机体的免疫应答,其可以识别 MHC II 型分子所递呈的抗原,对各种免疫细胞如 Tc、Ts、B 细胞等都有辅助作用,分泌各种具有免疫活性的细胞因子,从而刺激 B 淋巴细胞进行活化、增殖并且产生特异性的中和抗体,在机体免疫系统中发挥了重要作用<sup>[20-23]</sup>。CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞则与 MHC I 型分子所递呈的抗原结合,在机体中可以介导细胞毒杀伤作用,其主要通过 CTL 机制来直接杀伤抗原物质从而使细胞毒性 T 细胞效应得以发挥,并且可以直接杀伤被病毒感染的自身细胞或肿瘤细胞等<sup>[24-26]</sup>。因为作为动物机体免疫调节的枢纽,CD4<sup>+</sup>和 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞对机体有着重要的免疫调节作用,故而,在正常情况下,健康的机体其 CD4<sup>+</sup>与 CD8<sup>+</sup>的比值仅会在一定的范围内波动,正常情况下的比值会在 2~1 之间,如若偏离此范围即会被认为是免疫机能失调<sup>[27-28]</sup>。

在现代免疫学理论中,机体 T 淋巴细胞各个亚群之间相互平衡、调节,得以使机体对外来的抗原刺激产生正常的免疫应答,并使机体的免疫平衡状态得以维持。因此,CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞亚群在动物外周血中的分布量以及 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>的比值是重要的免疫状态检测指标<sup>[29-33]</sup>。

本试验结果显示,攻毒后,模型对照组的各种淋巴细胞亚群比率均与空白对照组差异显著或极显著( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ),而大部分用药组则显著改善了感染鸡 T 淋巴细胞大量减少、细胞比率不协调的现象,起到了较好的免疫调节作用。不同浓度的黄芩苷预防或治疗用药,不但可以不同程度地使感染鸡外周血内 CD3<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞显著增加,且统观 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>淋巴细胞比值可知,模型对照组雏鸡 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>淋巴细胞比值超出正常范围,与空白对照组有显著差异( $P<0.05$ ),而黄芩苷高、中剂量预防组及治疗组雏鸡的 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>淋巴细胞比值在攻毒后仍能保持正常水平,与空白对照组无显著差异。

综合所有结果可以看出,高、中剂量的黄芩苷预防及治疗均对雏鸡感染 IBV-M41 后所发生的 T 淋巴细胞亚群减少及紊乱产生了良好的促进增殖及调节作用,有效提高了感染雏鸡的细胞免疫水平,其效果还超出了 2 个药物对照组。

### 3.5 细胞因子水平

细胞因子在免疫反应调节中扮演了关键角色,



在机体防御病毒、细菌和原生动物病原体以及肿瘤的过程中必不可少<sup>[34-36]</sup>。在机体内存在着各种各样的细胞因子,它们形成了复杂的网络,相互影响、作用并引发了一系列复杂的级联反应。虽然至今仍有细胞因子的生物学功能还没有完全明晰,但机体内细胞因子水平在一定范围内的稳定、平衡与否却可以反映出动物机体的免疫水平。

IL-4 也是细胞生长因子,又叫作细胞刺激因子、细胞分化因子,是辅助性 T 细胞分化的一种 Th2 型细胞因子。IL-4 对静止的 B 细胞作用<sup>[37]</sup>,不仅可以活化细胞,而且还可以增大静止细胞的体积,使其增殖。故也叫作 B 细胞生长因子。IL-4 还可以激活肥大细胞和嗜酸性粒细胞,促进 IgE 水平升高并且与特异性炎症和过敏性炎症有着密切的关系<sup>[38]</sup>,是一类重要的促炎性因子。在攻毒后 0 d(预防用药后 3 d),各组雏鸡 IL-4 的浓度无显著差异。在攻毒后,模型对照组雏鸡 IL-4 浓度以缓慢的趋势一直升高,而各个用药组 IL-4 浓度则先显著升高,随后再逐渐降低。病原体入侵机体时,炎症是机体发生的一种自身保护性反应,释放适量的促炎细胞因子是机体受到病毒感染后的一种修复自我的表现,在感染初期,机体细胞会释放大量的促炎性细胞因子来引发炎症从而应对病原体的入侵,而长时间剧烈的炎症反应又会引起机体发生严重的病理变化,使动物机体的疾病恶化,病情加重。IL-4 作为启动并维持炎症反应的重要细胞因子之一,IL-4 在动物机体内的浓度可以在一定程度上反应机体内的炎症反应程度。黄芩苷预防及治疗高、中剂量组在鸡感染初期显著促进 IL-4 浓度升高,引发机体发生炎症进行自我保护,而至感染后期,鸡的 IL-4 浓度又随时间逐渐降低恢复至正常水平,与空白对照组无显著差异,而其他用药组的 IL-4 浓度则始终处于较高水平,容易引起机体发生严重的病理反应,故黄芩苷对感染雏鸡机体内炎症反应的调节作用具有更加良好的效果。

I 型干扰素 (IFN) 在先天性免疫和获得性免疫反应中都参加调控。而鸡主要产生两种 I 型干扰素 ( $\alpha$  和  $\beta$ ),具有很强的抗病毒活性<sup>[39]</sup>。大量研究结果表明<sup>[40-46]</sup>,IFN 可以抑制许多禽的传染性病毒在机体内外复制。包括禽流感病毒 (AIV)、传染性法氏囊病病毒 (IBDV)、传染性支气管炎病毒 (IBV)、马立克氏病病毒 (MDV) 和鸡新城疫病毒

(NDV)。因此,机体内 IFN(干扰素)水平也具有机体免疫水平的指示作用。试验结果显示,黄芩苷可以在雏鸡感染前后均显著提高其体内的 IFN- $\alpha$  浓度,具有良好的抗病毒作用。

2008 年,周翠珍等<sup>[47]</sup>用 IBV 感染无 IB 抗体的 28 d 健康雏鸡,研究双黄连可溶性粉对人工感染 IBV 雏鸡的预防及治疗作用。结果表明,预防组和治疗组保护率、治愈率较高,说明双黄连可溶性粉对 IB 的防治作用良好。

麻杏石甘汤复方是抗 IBV 的一例经典药方,该复方可以从多个方面产生抗 IBV 作用。药物可以通过活化动物机体的细胞,促进组织的有效再生,从而使呼吸系统病变减缓,尤其是肺、支气管等组织;组方中药物还可以促进雏鸡体内产生专一性的抗体作用于 IBV,抑制其繁殖及对机体的损伤,达到抗病毒效果,对鸡群产生有效的保护力;另外,该组方还可以促进机体发挥黏膜免疫功能,使鸡只在康复期间始终维持较高的免疫水平,进而提高其抗 IBV 能力。因此近年来有多位学者对不同制剂或是添加不同药物的加味麻杏石甘汤在抗 IBV 方面的作用进行研究,发现其在体内外均具有良好的抗 IBV 作用<sup>[48-54]</sup>。而综合考虑黄芩苷对感染 IBV-M41 雏鸡多个指标的检测可知:黄芩苷用药组的效果明显优于双黄连及麻杏石甘颗粒 2 个药物对照组,可以明显提高感染雏鸡的生产性能及淋巴细胞增殖能力,并且可以在雏鸡感染后有效地调节其淋巴细胞亚群及多种细胞因子动态平衡,大大提升了雏鸡的免疫水平,从而使雏鸡的保护率及治愈率均显著提高,对雏鸡感染 IBV-M41 具有突出的防治作用。

综合各项指标的检测结果可以看出,黄芩苷在抗雏鸡感染 IBV-M41 方面具有良好作用,其预防作用以高剂量[42 mg/(kg·d)]效果最好,治疗则以中剂量[28 mg/(kg·d)]效果更加显著。

#### 参考文献:

- [1] CAVANAGH D, GELB J. Infectious bronchitis[M]//SAIF Y M, FADLY A M, GLISSON J R, et al. Diseases of Poultry. 12th edition. Ames, Iowa: Blackwell Publishing Professional, 2008:117-135.
- [2] 何怡宁,李仲林,唐宁,等.桔百颗粒(乐康宁)对雏鸡感染鸡传染性支气管炎的防治效果[J].南方农业学报,2016,47(9):1602-1607.
- [3] JJ S D W, COOK J K, HM V D H. Infectious bronchitis virus va-

- riants; a review of the history, current situation and control measures [J]. *Avian Pathol*, 2011, 40(3):223-235.
- [4] CAVANAGH D. Coronavirus avian infectious bronchitis virus [J]. *Vet Res*, 2007, 38(2):281-297.
- [5] BALESTRIN E, FRAGA A P, IKUTA N, et al. Infectious bronchitis virus in different avian physiological systems-a field study Brazilian poultry flocks [J]. *Poult Sci*, 2014, 93:1922-1929.
- [6] 张喜平,田 华,程琪辉. 黄芩苷的药理作用研究现状[J]. *中国药理学通报*, 2003, 15(11): 1212-1215.
- [7] 崔 岚,袁 静,王平全. 黄芩苷药理作用研究进展[J]. *中国医院药学杂志*, 2000, 20(11):1127-1129.
- [8] 郭梦尧. 黄芩苷对小鼠金黄色葡萄球菌性乳腺炎的作用及机制研究[D]. 长春:吉林大学, 2014.
- [9] 侯艳宁,朱秀媛,程桂芳. 黄芩苷的抗炎机理[J]. *药学报*, 2000, 35(3):161-164.
- [10] 刘衍季,何小燕,刘晓华,等. 黄芩苷铜和铝配合物的合成及其生物活性研究[J]. *中国中药杂志*, 2012, 37(9):1296-1306.
- [11] 郭 明,伍周玲,王春歌,等. 黄芩苷-金属配合物的合成及其抗肿瘤活性研究[J]. *药学报*, 2014, 49(3): 337-345.
- [12] 蔡仙德,谭剑平. 黄芩苷对小鼠细胞免疫功能的影响[J]. *南京铁道医学院学报*, 1994, 13(2):65
- [13] 郑 庆,杨 宇,刘翠中,等. 黄芩苷对慢性间歇性缺氧兔主动脉 NF- $\kappa$ B 和 TNF- $\alpha$  表达的影响[J]. *检验医学与临床*, 2017, 14(5):630-636.
- [14] 王秋菊,杨建省. 黄芩有效成分提取及对传染性支气管炎预防效果的研究[J]. *饲料博览*, 2009(12):34-36.
- [15] XU G, DOU J, ZHANG L, et al. Inhibitory effects of baicalein on the influenza virus in vivo is determined by baicalin in the serum [J]. *Biol Pharm Bull*, 2010, 33(2): 238-243.
- [16] SUN J Y, LI D L, YAN D, et al. Baicalin inhibits toll-like receptor 2/4 expression and downstream signaling in rat experimental periodontitis[J]. *International Immunopharmacology*, 2016, 36: 86-93.
- [17] 杨汉春. 动物免疫学[M]. 北京:中国农业大学出版社, 2003: 109-112.
- [18] 刘继平,兰 洲,傅 强,等. 六味地黄汤相关苷类单体对小鼠脾淋巴细胞增殖作用的研究[J]. *中国中西医结合儿科学*, 2013, 5(1):5-8.
- [19] QIU Y, HU Y L, CUI B A, et al. Immunopotentiating effects of four Chinese herbal polysaccharides administered at vaccination in chickens [J]. *Immunology, Health and Disease, Poult Sci*, 2007, 86(12):2530-2535.
- [20] ZHANG Y, YANG S, ZHAO X, et al. Immune enhancement of Taishan Robinia pseudoacacia polysaccharide on recombinant *Proteus mirabilis* OmpA in chickens [J]. *International Immunopharmacology*, 2014, 22(1):236-41.
- [21] 孙文静. 玉屏风多糖的制备及体内外增强免疫活性研究[D]. 泰安:山东农业大学, 2015.
- [22] UYANGAA E, CHOI J Y, PATIL A M, et al. Functional restoration of exhausted CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells in chronic viral infection by vinegar-processed flos of *Daphne genkwa* [J]. *Comparative Immunology Microbiology & Infectious Diseases*, 2015, 39:25.
- [23] 汪 雪,王红宁,阳 泰,等. 传染性支气管炎病毒结构蛋白免疫鸡 CD4<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞亚群的影响[J]. *中国兽医杂志*, 2009, 45(10):13-15.
- [24] 许银叶,褚夫江,吴玉萍,等. 罗仙子提取物对小鼠脾淋巴细胞的体外增殖 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比例的影响[J]. *广东医学*, 2013, 34(7):985-988.
- [25] 陈文英,郝艳霜,何 欣,等. 蒲公英多糖对雏鸡外周血 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞亚群的影响[J]. *江苏农业科学*, 2011, 39(3):265-267.
- [26] ZHANG N, BEVAN M J. CD8<sup>+</sup> T cells: foot soldiers of the immune system [J]. *Immunity*, 2011, 35(2):161.
- [27] 方乐堃,潘凌霄,黎雅婷,等. 复方小柴胡汤对荷 EAC 鼠 IL-2 水平和 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2007, 23(9):1720-1723.
- [28] 邱 妍. 四种中药多糖增强免疫和抗病毒作用及机理研究 [D]. 南京:南京农业大学, 2007.
- [29] 李淑芳,张继东,李 英,等. 米糠多糖对免疫抑制鸡外周血 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞亚群的调节作用[J]. *畜牧与兽医*, 2009, 41(2):59-62.
- [30] 孙永科,田占成,王云峰,等. 表达鸡  $\gamma$ -干扰素和传染性支气管炎病毒 S1 基因的重组鸡痘病毒疫苗对鸡外周血 T 淋巴细胞动态分布影响的研究[J]. *中国预防兽医学报*, 2006, 28(5): 539-543.
- [31] 黄 军,姜国均,周帮会,等. 中药“增免散”对鸡腔上囊细胞凋亡和外周血 T 细胞亚群的影响[J]. *中国家禽*, 2006, 28(17): 19-21.
- [32] 黄 蔚,关丽萍,徐世文,等. 硒对氟中毒鸡淋巴细胞亚群及脾淋巴细胞凋亡的影响[J]. *中华地方病学杂志*, 2010, 29(2): 142-145.
- [33] XU Y Y, CHU F J, WU Y P, et al. Effects of housefly maggots extracts on the proliferation and the CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> of mouser splenic lymphocytes in vitro [J]. *Guangdong Medical Journal*, 2013, 34: 985-988.
- [34] BELARDELLI F. Role of interferons and other cytokines in the regulation of the immune response [J]. *APMIS*, 1995, 103(1-6): 161-179.
- [35] READ S A, DOUGLAS M W. Virus induced inflammation and cancer development [J]. *Cancer Lett*, 2014, 345:174-181.
- [36] WANG J Q, JEELALL Y S, FERGUSON L L, et al. Toll-Like receptors and cancer: MYD88 mutation and inflammation [J]. *Front Immunol*, 2014, 5:367.
- [37] ARAI K I, LEE F, MIYAJIMA A, et al. Cytokines: coordinators of immune and inflammatory responses [J]. *Annu Rev Biochem*, 1990, 59:783-836.
- [38] ROMAGNANI S. Lymphokine production by human T cells in disease states [J]. *Annu Rev Immunol*, 1994, 12:227-257.
- [39] QU H, YANG L, MENG S, et al. The differential antiviral activities of chicken interferon alpha (ChIFN- $\alpha$ ) and ChIFN- $\beta$

- are related to distinct interferon-stimulated gene expression [J]. PLoS One, 2013, 8(3):e59307.
- [40] DAI M, WU S, FENG M, et al. Recombinant chicken interferon-alpha inhibits the replication of exogenous avian leukosis virus (ALV) in DF-1 cells[J]. Molecular Immunology, 2016, 76:62-69.
- [41] JAROSINSKI K W, JIA W, SEKELICK M J, et al. Cellular responses in chickens treated with IFN-alpha orally or inoculated with recombinant Marek's disease virus expressing IFN-alpha [J]. J Interferon Cytokine Res, 2001, 21(5): 287-296.
- [42] JIANG H, YANG H, KAPCZYNSKI D R. Chicken interferon alpha pretreatment reduces virus replication of pandemic H1N1 and H5N9 avian influenza viruses in lung cell cultures from different avian species [J]. Virol J, 2011, 8(1):447.
- [43] MENG S, YANG L, XU C, et al. Recombinant chicken interferon-alpha inhibits H9N2 avian influenza virus replication in vivo by oral administration [J]. J Interferon Cytokine Res, 2011, 31(7): 533-538.
- [44] O'NEILL A M, LIVANT E J, EWALD S J. Interferon a-Induced Inhibition of infectious bursal disease virus in chicken embryo fibroblast cultures differing in Mx genotype [J]. Avian Diseases, 2010, 54(2):802-806.
- [45] MO C W, CAO Y C, LIM B L. The *in vivo* and *in vitro* effects of chicken interferon alpha on infectious bursal disease virus and Newcastle disease virus infection [J]. Avian Dis, 2001, 45(2): 389-399.
- [46] PEI J, SEKELICK M J, MARCUS P I, et al. Chicken interferon type I inhibits infectious bronchitis virus replication and associated respiratory illness [J]. J Interferon Cytokine Res, 2001, 21: 1071-1077.
- [47] 周翠珍,王红梅,齐雪茹,等. 双黄连可溶性粉对鸡传染性支气管炎攻毒实验的效果观察[J]. 中兽医学杂志, 2008(3):13-15.
- [48] 张素辉,曹国文,陈春林,等. 麻杏石甘散组方提取液对鸡传染性支气管炎病毒影响的研究[J]. 中国畜牧兽医, 2011, 38(10):168-170.
- [49] 王海凤. 加味麻杏石甘汤防治鸡传染性支气管炎的试验研究[D]. 保定:河北农业大学, 2009.
- [50] 郭兵,王海凤,庞春西,等. 中药加味麻杏石甘汤对传染性支气管炎病毒感染雏鸡的保护作用及其机制分析[J]. 中国动物传染病学报, 2010, 18(5):17-22.
- [51] 黄晓洁,魏刚,张龙,等. 麻杏石甘汤的药理作用和临床应用研究进展[J]. 广东药学院学报, 2014, 30(1):110-114.
- [52] 刘晓磊,郑继方,罗永江,等. 麻杏石甘汤作用机制及其在兽医临床上的应用[J]. 湖北农业科学, 2012, 51(17):3797-3800.
- [53] 高艳艳,周德刚,李佑新. 麻杏石甘制剂药理作用及其在兽医临床中的应用[J]. 中国兽药杂志, 2012, 46(10):54-61.
- [54] 刘淑亚. 麻杏石甘制剂药理作用及其在兽医临床中的应用[J]. 兽医导刊, 2016(8):224-224.

(责任编辑:姜华琬)