

张雨凝, 何敏, 韦靖婧, 等. 茜草制诃子对中国黄羽鹌鹑法氏囊 *T-bet* 与 *GATA-3* 表达量的影响[J]. 江苏农业学报, 2021, 37(3): 704-709.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2021.03.020

## 茜草制诃子对中国黄羽鹌鹑法氏囊 *T-bet* 与 *GATA-3* 表达量的影响

张雨凝<sup>1,2</sup>, 何敏<sup>1,2</sup>, 韦靖婧<sup>1,2</sup>, 郭熙艳<sup>1,2</sup>

(1. 四川农业大学动物医学院, 四川 成都 611130; 2. 动物疾病与人类健康四川省重点实验室, 四川 成都 611130)

**摘要:** 为探索茜草制诃子对免疫抑制中国黄羽鹌鹑法氏囊 *T-bet* 及 *GATA-3* 表达量的影响, 以茜草制诃子为研究对象, 选用 160 羽 21 日龄健康中国黄羽鹌鹑, 随机分为 8 组, 进行临床观察、苏木精-伊红(HE)染色、荧光定量 PCR 等试验。临床观察结果显示, 诃子组及茜草制诃子组平均日增质量增幅较空白组略小, 但较阴性组增幅明显较大。各组法氏囊 HE 染色结果显示, 诃子组及茜草制诃子组相较于空白组淋巴滤泡面积减小、法氏囊皱襞高度降低, 但均优于阴性组。*T-bet* 和 *GATA-3* 表达量趋势均为空白组>茜草制诃子 2 g/kg 组>诃子 1 g/kg 组>茜草制诃子 4 g/kg 组>茜草制诃子 1 g/kg 组>诃子 2 g/kg 组>诃子 4 g/kg 组>阴性组。说明, 诃子及茜草制诃子均对免疫抑制中国黄羽鹌鹑法氏囊的免疫功能有恢复作用, 茜草制诃子治疗效果优于诃子。研究结果为探索关于治疗免疫抑制疾病、提高动物自身免疫功能的药物提供了一些理论依据。

**关键词:** 茜草制诃子; 免疫抑制; 中国黄羽鹌鹑; 法氏囊

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 1000-4440(2021)03-0704-06

## Effects of *Rubia cordifolia* L. per *Terminalia chebula* on expression of *T-bet* and *GATA-3* in bursa of Fabricius of Chinese Yellow Quail

ZHANG Yu-ning<sup>1,2</sup>, HE Min<sup>1,2</sup>, WEI Jing-jing<sup>1,2</sup>, GUO Xi-yan<sup>1,2</sup>

(1. College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China; 2. Key Laboratory of Animal Diseases and Human Health of Sichuan Province, Chengdu 611130, China)

**Abstract:** To explore the effect of *Rubia cordifolia* L. per *Terminalia chebula* on the expression of *T-bet* and *GATA-3* in bursa of Fabricius of immunosuppressed Chinese Yellow Quail, *Rubia cordifolia* L. per *Terminalia chebula* was used as the research object, 160 21-day-old Chinese Yellow Quails were randomly divided into eight groups to do clinical observation, hematoxylin-eosin (HE) staining, fluorescence quantitative PCR and other experiments. Results of clinical observation showed that, the daily weight gains of *Terminalia chebula* group and *Rubia cordifolia* L. per *Terminalia chebula* group were slightly lower than that of blank group, but were obviously higher than that of negative group. HE staining results of bursa of Fabricius showed that, compared with the blank group, the area of lymphoid follicle and the height of Fabricius plica of *Terminalia chebula* group and *Rubia cordifolia* L. per *Terminalia chebula* group decreased, but they were improved compared with the negative group. The expression trends of *T-bet* and *GATA-3* were blank group> *Rubia cordifolia* L per *Terminalia chebula* 2 g/kg group> *Terminalia chebula* 1 g/kg group> *Rubia cordifolia* L. per *Terminalia chebula* 4 g/kg group> *Rubia cordifolia* L. per *Terminalia chebula* 1 g/kg group> *Terminalia chebula* 2 g/kg group> *Terminalia chebula* 4 g/kg group> negative group. The results show that both *Terminalia chebula* and *Rubia cordifolia* L. per *Terminalia chebula*

收稿日期: 2020-09-23

基金项目: 四川省教育厅科研基金项目(17SZA0249)

作者简介: 张雨凝(1996-), 女, 内蒙古包头人, 硕士研究生, 主要从事动物组织学研究。(Tel) 028-86292116; (E-mail) zhangyuning0330@163.com

通讯作者: 何敏, (Tel) 028-86292116; (E-mail) hemin09@163.com

*terminalia chebula* 2 g/kg group> *Terminalia chebula* 1 g/kg group> *Rubia cordifolia* L. per *Terminalia chebula* 4 g/kg group> *Rubia cordifolia* L. per *Terminalia chebula* 1 g/kg group> *Terminalia chebula* 2 g/kg group> *Terminalia chebula* 4 g/kg group> negative group. The results show that both *Terminalia chebula* and *Rubia cordifolia* L. per *Terminalia chebula*

*Terminalia chebula* can recover the immunosuppressed bursa of Fabricius of Chinese Yellow Quail, and compared with *Terminalia chebula*, *Rubia cordifolia* L. per *Terminalia chebula* has a better effect. It provides some theoretical basis for the exploration of drugs for treating immunosuppressive diseases and improving animal autoimmunity.

**Key words:** *Rubia cordifolia* L. per *Terminalia chebula*; immunosuppression; Chinese Yellow Quail; bursa of Fabricius

茜草(*Rubia cordifolia* L.)为植物茜草的干燥根和茎<sup>[1]</sup>。诃子(*Terminalia chebula*)为使君子科植物诃子或绒毛诃子的干燥成熟果实<sup>[2]</sup>。诃子作为主药、茜草作为辅药的配伍炮制方法在藏药方剂中早有记录<sup>[3]</sup>,两者可相辅相成。中国黄羽鹌鹑(Chinese Yellow Quail)是经选育培养成功的品种,因其生命力强、生长快、抗病性强等特点,在育种、生产、经济等方面都具有很高的价值<sup>[4]</sup>。法氏囊(Bursa of Fabricius, BF)作为禽类特有的中枢免疫器官,现有研究主要集中于其结构与功能发育、免疫功能的调控以及传染性法氏囊病<sup>[5]</sup>。虽然人们已对禽类广泛接种各类型疫苗进行传染病防治,但生产实践中仍然有免疫抑制病大面积暴发,给养殖业造成巨大的经济损失<sup>[6]</sup>。

*T-bet* 主要表达于 T 细胞特别是 Th1 细胞;*GATA-3* 表达于 Th2 细胞,正性调控 Th2 发育<sup>[7-8]</sup>。*T-bet* 与 *GATA-3* 的表达量往往被分别用来代表 Th1 及 Th2 的表达水平,*T-bet* 与 *GATA-3* 的比值也同时用来反映 Th1 与 Th2 的比值,Th1/Th2 可决定机体免疫反应的类型<sup>[8-9]</sup>。通过研究 Th1/Th2 细胞亚群漂移状态与疾病的关系及其发生机制,我们能够选择性地调节 Th1 或 Th2 的表达水平,逆转其漂移状态,从而达到治疗某些特定疾病的目的<sup>[10]</sup>。

目前诃子及诃子炮制品对于免疫系统影响的研究还不完善,针对茜草制诃子的研究较少,更未有以鹌鹑法氏囊为主体的研究。本试验通过对中国黄羽鹌鹑注射环磷酰胺形成免疫抑制状态,再分别通过灌胃中国黄羽鹌鹑诃子或茜草制诃子来进行治疗,进行临床观察、HE 染色法(苏木精-伊红染色法)、荧光定量 PCR 等试验,研究茜草制诃子对免疫抑制中国黄羽鹌鹑法氏囊的影响,为探索关于治疗免疫抑制疾病、提高动物自身免疫功能的药物提供一些理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

1.1.1 试验动物 21 日龄中国黄羽鹌鹑 160 羽(雌雄各半),购自成都市大安鹌鹑养殖社。

1.1.2 试验药物 诃子、茜草购于成都荷花池中药材市场,均由四川农业大学药学教师范巧佳副教授通过品种鉴别、质量和纯度分析鉴定为使君子科植物诃子(*Terminalia chebula*)和茜草科植物茜草(*Rubia cordifolia* L.),环磷酰胺购自源叶生物有限公司。

1.1.3 主要试剂与仪器 苏木精-伊红(HE)染液购自索来宝生物科技有限公司;荧光定量 PCR 试剂盒购自诺唯赞生物科技股份有限公司。

石蜡切片机(RM2235 型)、光学显微镜(BX53 型)、烘箱(DHG-9140A 型)、显微成像系统(BX61VS 型)、数显电热恒温水箱(HH-S6 型)、荧光定量 PCR 仪(LightCycler 96 型)等。

### 1.2 试验方法

1.2.1 动物分组及饲养管理 试验选用 160 羽 21 日龄健康中国黄羽鹌鹑,随机分为 8 组,每组 20 羽,分别为空白组、阴性组、诃子 1 g/kg 组、诃子 2 g/kg 组、诃子 4 g/kg 组、茜草制诃子 1 g/kg 组、茜草制诃子 2 g/kg 组及茜草制诃子 4 g/kg 组,具体处理见表 1。试验期为 10 d,试验前所有处理的中国黄羽鹌鹑按笼称质量,计算初始平均体质量,用于计算给药剂量。1~3 d 除空白组外其他组按每羽 80 mg/kg 剂量肌肉注射环磷酰胺,空白组注射等量生理盐水。4~10 d 全部停止注射,诃子组及茜草制诃子组按 3 个不同药量分别灌胃诃子或茜草制诃子,空白组与阴性组灌胃等量生理盐水。试验期间自由采食与饮水,以上药物灌胃量以及环磷酰胺注射量均参考前人研究结果<sup>[11-12]</sup>。

1.2.2 临床观察 试验期间每天 09:00 对中国黄羽鹌鹑的精神状况、活动情况进行临床观察。试验过程中以单个笼为单位记录各组中国黄羽鹌鹑平均日增质量变化。

1.2.3 HE 染色 每组抽取 3 羽中国黄羽鹌鹑后采集法氏囊,用 4% 多聚甲醛固定,制作常规石蜡组织切片进行 HE 染色。利用光学显微镜,在 400 倍视野下观察法氏囊结构变化。应用 Image-Pro Plus

6.0 图像分析系统,在 100 倍视野下,对各组法氏囊的皱襞高度以及淋巴滤泡的面积进行测量。

表 1 试验动物分组

Table 1 Group of experimental animals

组别	1~3 d 环磷酰胺 (mg/kg)	4~10 d 诃子 (g/kg)	4~10 d 茜草制诃子 (g/kg)
1	0	0	0
2	80	0	0
3	80	1	0
4	80	2	0
5	80	4	0
6	80	0	1
7	80	0	2
8	80	0	4

组别中的 1~8 分别为空白组、阴性组、诃子 1 g/kg 组、诃子 2 g/kg 组、诃子 4 g/kg 组、茜草制诃子 1 g/kg 组、茜草制诃子 2 g/kg 组、茜草制诃子 4 g/kg 组。

1.2.4 荧光定量 PCR 检测 *T-bet* 及 *GATA-3* 表达量变化 据荧光定量 PCR 对引物的要求,利用 NCBI 在线资源查找 *GATA-3*、*T-bet* 和  $\beta$ -actin 的基因序列,以  $\beta$ -actin 为内参基因,设计并合成引物(表 2),每组抽取 3 羽中国黄羽鹌鹑并摘取法氏囊,冷冻研磨法氏囊组织,并进行 RNA 的提取。参照 Prime-Script™ RT 试剂盒说明书将提取的 RNA 反转录合成 cDNA,得到 cDNA 后,参照购买公司说明书具体步骤进行免疫相关基因的荧光定量 PCR 检测,计算相对表达量。

### 1.3 数据处理

用 SPSS 20.0 分析软件进行数据统计、分析,数据以平均数±标准差(SD)表示, $P \leq 0.05$  时认为有

统计学意义, $0.05 < P < 0.10$  时认为其具有趋势性。

表 2 引物序列与扩增长度

Table 2 Primer sequence and amplification length

引物名称	引物序列(5'→3')	产物大小 (bp)
$\beta$ -actin-F	CCGTGACATCAAGGAGAAGC	190
$\beta$ -actin-R	CACAGGACTCCATACCCAAGAA	
<i>GATA-3</i> -F	ACTACTTGTGTAACGCCTGTGGAC	132
<i>GATA-3</i> -R	GTGGTGGTGGTCTGACAGTTAGC	
<i>T-bet</i> -F	CCGACTCACCAACACC	247
<i>T-bet</i> -R	GTAAGCAGTGACAGCAATGAA	

## 2 结果与分析

### 2.1 临床观察

2.1.1 生长状况 中国黄羽鹌鹑试验期间空白组采食饮水、活动状况、精神状态均表现良好;注射环磷酰胺期间,除空白组外均出现喜卧现象;灌胃相应剂量诃子或茜草制诃子后,诃子处理组及茜草制诃子处理组精神恢复正常,活动状况良好,眼观两组间无明显区别。

2.1.2 平均日增质量 各组中国黄羽鹌鹑平均日增质量见表 3,空白组平均日增质量总体呈上升趋势。注射环磷酰胺期间,从第 2 d 开始除空白组外其他各组平均日增质量明显下降。停止注射后,阴性组出现负增长且回升缓慢,诃子组及茜草制诃子组随着灌胃期延长平均日增质量相较于阴性组回升较快。各组每日增质量具体变化有差异,但总体呈现增长趋势,最后 1 d 平均日增质量均高于阴性组。

表 3 中国黄羽鹌鹑平均日增质量

Table 3 Average daily gain of weight of Chinese Yellow Quail

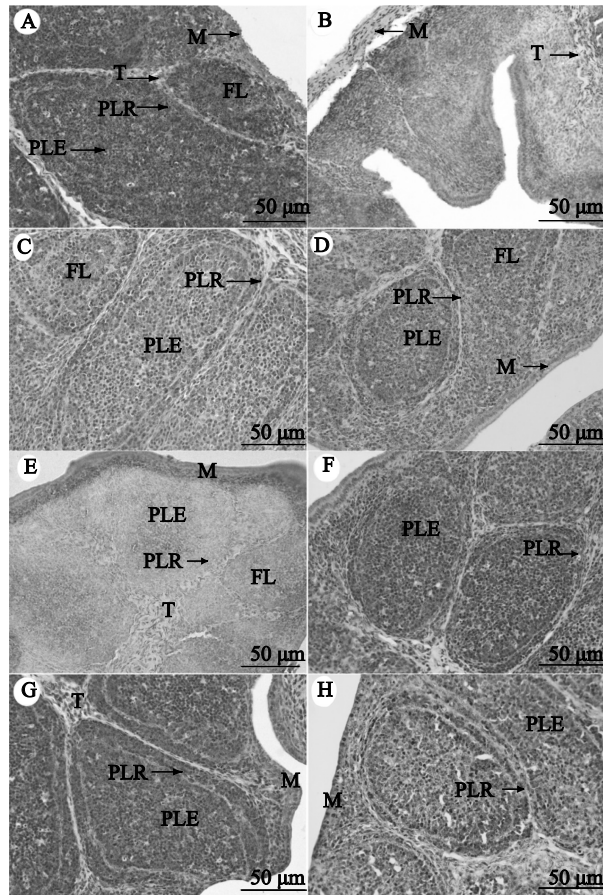
组别	平均日增质量(g, 1 羽)									
	第 1 d	第 2 d	第 3 d	第 4 d	第 5 d	第 6 d	第 7 d	第 8 d	第 9 d	第 10 d
1	8.60	4.71	2.43	4.04	5.19	3.91	3.15	4.29	2.15	5.03
2	5.57	2.55	1.20	-0.10	0.65	3.28	2.67	4.19	1.74	1.22
3	5.85	0.90	0.25	0.87	3.95	2.07	7.74	2.97	1.38	4.26
4	5.94	0.99	-0.71	-0.19	2.01	1.11	4.35	3.40	3.67	7.51
5	10.69	1.51	1.53	-1.28	0.00	3.32	3.83	3.22	5.19	4.60
6	8.00	0.50	1.60	2.20	0.11	0.81	0.53	4.41	3.24	6.05
7	8.28	4.20	0.93	1.22	2.93	1.66	5.54	2.48	4.97	3.37
8	5.26	1.25	1.33	0.38	2.21	2.20	3.87	4.11	3.30	2.06

1~8 处理组见表 1 注。



## 2.2 法氏囊 HE 染色

空白组(图 1A)法氏囊组织结构完整清晰,淋巴滤泡大多数呈长椭圆形,少数为不规则多边形,皮质髓质分界清晰,淋巴细胞排列较清晰。与空白组相比,阴性组(图 1B)组织结构缩小甚至出现空洞,法氏囊皱襞排列稀疏,无明显淋巴滤泡结构且皮质和髓质不可分辨,淋巴细胞明显减少。



A、B、C、D、E、F、G、H 分别为空白组、阴性组、诃子 1 g/kg 组、诃子 2 g/kg 组、诃子 4 g/kg 组、茜草制诃子 1 g/kg 组、茜草制诃子 2 g/kg 组、茜草制诃子 4 g/kg 组; FL: 淋巴滤泡; T: 小梁; M: 黏膜; ME: 黏膜上皮; PLE: 髓质; PLR: 皮质。H.E. 标尺=50  $\mu\text{m}$ 。

图 1 法氏囊的组织学变化

Fig.1 Histological changes of bursa of Fabricius

诃子 1 g/kg 组(图 1C)法氏囊组织结构完整清晰,淋巴滤泡呈长椭圆形且结构规则,皮质髓质分界清晰,淋巴细胞排列较清晰,眼观淋巴细胞少于空白组。诃子 2 g/kg 组(图 1D)与诃子 1 g/kg 组相比,淋巴滤泡排列稀疏且体积缩小,间质增宽。诃子 4 g/kg 组(图 1E)淋巴滤泡为不规则多边形,皮质和髓质边界已很难区分,间质结构疏松紊乱且出现退化,

淋巴细胞减少,其状态更趋近于阴性组法氏囊。

茜草制诃子 1 g/kg 组(图 1F)法氏囊组织结构完整,淋巴细胞排列清晰。茜草制诃子 2 g/kg 组(图 1G)法氏囊与空白组相近,与空白组相比淋巴滤泡面积较小,与茜草制诃子 1 g/kg 组相比皮质增厚,淋巴细胞增多。茜草制诃子 4 g/kg 组(图 1H)与茜草制诃子 2 g/kg 组相比法氏囊内细胞明显减少,皮质变薄,染色偏浅。

各组间法氏囊皱襞的高度及淋巴滤泡面积趋势(表 4)均为空白组>茜草制诃子 2 g/kg 组>诃子 1 g/kg 组>茜草制诃子 4 g/kg 组>茜草制诃子 1 g/kg 组>诃子 2 g/kg 组>诃子 4 g/kg 组>阴性组。其中在法氏囊皱襞高度上,空白组比阴性组极显著升高( $P<0.01$ ),诃子 1 g/kg 组、茜草制诃子各组比阴性组显著升高( $P<0.05$ )。在法氏囊淋巴滤泡面积上,空白组、诃子 1 g/kg 组比阴性组极显著增大( $P<0.01$ ),茜草制诃子 2 g/kg 组、茜草制诃子 4 g/kg 组比阴性组显著增大( $P<0.05$ )。

表 4 中国黄羽鹌鹑法氏囊皱襞高度及淋巴滤泡面积

Table 4 Height of plica and lymphoid follicles area of bursa of Fabricius in Chinese Yellow Quail

组别	皱襞高度( $\mu\text{m}$ )	淋巴滤泡面积( $\mu\text{m}^2$ )
1	990.51 $\pm$ 73.74 **	59 167.49 $\pm$ 4 107.34 **
2	358.14 $\pm$ 64.77	6 293.69 $\pm$ 563.24
3	758.54 $\pm$ 28.60 *	20 627.91 $\pm$ 1 319.65 **
4	566.36 $\pm$ 19.66	9 525.47 $\pm$ 1 129.21
5	388.46 $\pm$ 43.04	8 314.21 $\pm$ 1 176.01
6	697.20 $\pm$ 36.38 *	11 634.43 $\pm$ 1 435.30
7	876.48 $\pm$ 103.59 *	45 621.22 $\pm$ 6 142.59 *
8	715.51 $\pm$ 72.56 *	17 407.84 $\pm$ 1 889.06 *

1~8 处理组见表 1 注。\* 表示阴性组和其他组的组间差异显著( $P<0.05$ ), \*\* 表示阴性组和其他组的组间差异极显著( $P<0.01$ )。

## 2.3 荧光定量 PCR 检测 *T-bet* 及 *GATA-3* 表达量变化

由表 5 可知,*T-bet* 与 *GATA-3* 表达量的组间变化趋势相一致,即空白组>茜草制诃子 2 g/kg 组>诃子 1 g/kg 组>茜草制诃子 4 g/kg 组>茜草制诃子 1 g/kg 组>诃子 2 g/kg 组>诃子 4 g/kg 组>阴性组。其中,茜草制诃子 1 g/kg 组 *T-bet* 表达量比阴性组极显著升高( $P<0.01$ ),除茜草制诃子 4 g/kg 组与诃子 4 g/kg 组外,其他处理组 *T-bet* 表达量均比阴性组显著升高( $P<0.05$ )。诃子 1 g/kg 组、诃子 2 g/kg 组 *GAT*-

*T*A-3 表达量比阴性组极显著升高 ( $P < 0.01$ ), 其他组 *G*A<sub>T</sub>A-3 表达量与阴性组对比均显著升高 ( $P < 0.05$ )。

表 5 中国黄羽鹌鹑法氏囊 *G*A<sub>T</sub>A-3 与 *T*-*bet* 相对表达量

Table 5 Relative expression of *G*A<sub>T</sub>A-3 and *T*-*bet* in bursa of Fabricius of Chinese Yellow Quail

组别	<i>G</i> A <sub>T</sub> A-3 相对表达量	<i>T</i> - <i>bet</i> 相对表达量
1	19.98±2.87 *	13.27±1.79 *
2	1.00±0	1.00±0
3	16.20±0.89 **	8.58±1.08 *
4	7.86±0.35 **	5.77±0.46 *
5	1.63±0.06 *	1.99±0.34
6	10.34±0.93 *	6.25±0.32 **
7	17.76±2.07 *	12.09±1.23 *
8	11.6±0.98 *	6.86±1.50

1~8 处理组见表 1 注。\* 表示阴性组和其他组的组间差异显著 ( $P < 0.05$ ), \*\* 表示阴性组和其他组的组间差异极显著 ( $P < 0.01$ )。

### 3 讨论

#### 3.1 法氏囊 HE 染色

环磷酸胺具有较强的免疫抑制作用, 对 B 淋巴细胞的抑制作用明显<sup>[13]</sup>, 可使法氏囊皮质变薄, 皮质内淋巴细胞减少, 皮髓分界不清<sup>[14]</sup>。本试验中阴性组法氏囊结构变化均可与以上已有报道相对应, 证明本试验过程中环磷酸胺对中国黄羽鹌鹑形成的免疫抑制效果明显。反观诃子组与茜草制诃子组法氏囊微观结构, 虽不及空白组, 但均优于阴性组且差异显著, 表明诃子与茜草制诃子均可促进法氏囊组织结构的恢复。中药中含有多种营养物质、免疫活性物质和抗菌物质, 可通过促进免疫细胞活性来增强家禽的免疫功能<sup>[15-17]</sup>。推测诃子及茜草制诃子中含有的某些成分改善了法氏囊组织结构, 提高了免疫功能。

具体比较诃子组与茜草制诃子组, 由于未经炮制的诃子具有一定的毒性, 故在本试验中诃子组法氏囊皱襞的高度以及淋巴滤泡的面积与剂量呈负相关。在临床观察中发现, 诃子 2 g/kg、诃子 4 g/kg 2 个剂量组在第 4 d 平均日增质量出现负增长。推测是诃子具有免疫增强的作用, 但动物机体免疫机制被激活后, 会使部分营养素用于免疫反应和抵抗疾病, 而不是用于生长, 也就是在免疫功能增强的状态下, 动物机体分解代谢水平升高<sup>[18-19]</sup>。但茜草制诃

子组在增强免疫的过程中没有出现体质量负增长, 是因为茜草制诃子经过炮制后诃子中鞣质或多酚含量发生变化, 也或许是茜草与诃子相互作用生成了某种新成分, 使药效增强并且减少诃子直接入药带来的副作用<sup>[20]</sup>。由此可见, 茜草制诃子对中国黄羽鹌鹑法氏囊的药效比诃子更明显。

#### 3.2 荧光定量 PCR 检测结果分析

3.2.1 荧光定量 PCR 检测法氏囊 *T*-*bet* 及 *G*A<sub>T</sub>A-3 表达量变化 试验中, 诃子及茜草制诃子组 *T*-*bet* 及 *G*A<sub>T</sub>A-3 各自的相对表达量虽不及空白组但均高于阴性组, 证明诃子及茜草制诃子均可在一定程度上缓解环磷酸胺对 *T*-*bet* 及 *G*A<sub>T</sub>A-3 表达的抑制作用。因为诃子及茜草制诃子含有减轻环磷酸胺对基因损伤作用的成分, 并可以促进基因的自我修复, 具有增强机体抗氧化能力等功效<sup>[21-22]</sup>。

虽然中药可以减轻环磷酸胺对基因造成的损伤, 但中药剂量过大会导致药物毒副作用增大<sup>[23]</sup>。故本试验中诃子虽然有拮抗环磷酸胺的作用, 但随着诃子用药剂量的增加其副作用也逐渐增大, *T*-*bet* 及 *G*A<sub>T</sub>A-3 的相对表达量与药剂用量呈现反比。反观茜草制诃子组, 在 2 g/kg 剂量下 *T*-*bet* 及 *G*A<sub>T</sub>A-3 表达量最高, 虽然茜草制诃子 4 g/kg 组的表达量也有所下降, 但其表达量均高于诃子 2 g/kg 组以及诃子 4 g/kg 组。这是由于药物炮制是传统中药汤剂制作过程中的重要环节, 科学合理的药物炮制不仅可以降低药材内所含的毒性成分, 还可使药物的疗效得到有效提升<sup>[24-26]</sup>。

3.2.2 对比中国黄羽鹌鹑法氏囊 *T*-*bet* 及 *G*A<sub>T</sub>A-3 的表达量 Th2 类细胞主要介导体液免疫, 而法氏囊中的 B 淋巴细胞参与并介导体液免疫, 故各组 *G*A<sub>T</sub>A-3 的表达量要高于 *T*-*bet* 的表达量。但在诃子组中对比 *T*-*bet* 和 *G*A<sub>T</sub>A-3 的表达量可以发现, *T*-*bet* 与 *G*A<sub>T</sub>A-3 的比值越来越大, 甚至诃子 4 g/kg 组 *T*-*bet* 的表达量高于 *G*A<sub>T</sub>A-3 的表达量。推测未经炮制的诃子对中国黄羽鹌鹑的调节可能更偏向于 Th1 方向。

反观茜草制诃子组, 可以发现茜草制诃子各组 *G*A<sub>T</sub>A-3 的表达量均高于 *T*-*bet* 的表达量。也可推测, 未经炮制的诃子其药物副作用对于体液免疫的影响更为明显, 故导致诃子组 *T*-*bet* 与 *G*A<sub>T</sub>A-3 的比值与剂量呈正相关, 进而导致 Th1/Th2 的漂移偏向于 Th1。茜草制诃子可使漂移偏向于 Th2 是因为

*GATA-3* 可通过促进 Th2 细胞中 *IL-4*、*IL-10* 和 *IL-13* 的表达以活化 *STAT6* 来进一步增强 *GATA-3* 的表达,并通过抑制 *IL-12* 和 *INF-γ* 的信号转导来抑制 Th1 细胞发育<sup>[27-29]</sup>,甚至将 *GATA-3* 转入在 Th1 诱导环境下的 T 细胞中或者是已经终末分化的 Th1 细胞中也能导致 Th2 细胞特异性的染色质重塑<sup>[30-31]</sup>。

## 4 结 论

诃子与茜草制诃子对免疫抑制中国黄羽鹌鹑法氏囊的免疫功能均有促进作用,但诃子未经炮制会对动物机体有一定的毒副作用,随着剂量的增加毒副作用增强,而诃子经过茜草炮制后其毒副作用有所降低,且茜草制诃子对法氏囊免疫功能的促进作用优于诃子。本研究是对茜草制诃子研究的补充,也可探索关于治疗免疫抑制疾病、提高动物自身免疫功能的药物提供一些理论依据。

## 参考文献:

- [1] 张旭杰. 茜草指纹图谱及抗氧化活性相关性研究[D]. 哈尔滨:黑龙江大学, 2014.
- [2] 刘 芳,秦红飞,刘松青. 诃子化学成分与药理活性研究进展[J]. 中国药房, 2012,23(7):670-672.
- [3] 张玉良,李一年,黄 慧. 晶珠糖尿病胶囊的重量标准研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2002,9(8):33-34.
- [4] 邓小勇. 关于加快“铜梁鹌鹑”特色产业发展的调查与建议[J]. 兽医导刊, 2017(10):18-19.
- [5] 周永蔚,陈 忠. 禽类法氏囊结构与功能发育研究进展[J]. 家畜生态学报, 2014,35(12):86-90.
- [6] 陈 悦,刘兴友. 鸡病毒性免疫抑制病的流行病学研究进展[J]. 中国畜牧兽医, 2010,37(2):192-194.
- [7] SZABO S J, KIM S T, COSTA G L, et al. A novel transcription factor, *T-bet*, directs Th1 lineage commitment[J]. Cell, 2000, 100(6):655-669.
- [8] 解童玲. 1,25-二羟基维生素 D3 对支气管哮喘小鼠 *GATA-3* 及 *T-bet* 表达的影响[D]. 青岛:青岛大学, 2014.
- [9] 杨春华. 祛风止痉方对哮喘大鼠转录因子 *T-bet*、*GATA-3* 及 *TNF-α* 的调节作用[D]. 乌鲁木齐:新疆医科大学, 2010.
- [10] 姚金晶,陈宜涛. Th1/Th2 平衡调节与疾病发生的研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2009,9(13):2597-2600.
- [11] 李淑芳,杨汉春,张继东,等. 米糠多糖对环磷酰胺诱导免疫抑制鸡外周血 T 淋巴细胞增殖活性及疫苗免疫效果的影响[J]. 中国兽医科学, 2007,37(7):588-592.
- [12] 何 敏,梁晓霞,廖 礼,等. 诃子及其炮制品对 CCl4 诱导小鼠肝损伤的保护作用[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2018,44(3):314-319.
- [13] 史继静,刘朝奇,李 斌,等. 木瓜发酵液对环磷酰胺所致小鼠免疫抑制的保护作用[J]. 中药材, 2009,32(9):1418-1421.
- [14] 赵 谨. 黄精粗多糖对环磷酰胺应激下雏鸡生长性能及免疫功能的影响[D]. 雅安:四川农业大学, 2016.
- [15] 樊梅娜,程福亮,张建梅,等. 中草药和益生菌复方制剂对肉鸡法氏囊生长发育的影响[J]. 家禽科学, 2015(11):8-12.
- [16] 甘利平,杨维仁,张崇玉,等. 植物提取物的生物学功能及其作用机理[J]. 动物营养学报, 2015,27(9):2667-2675.
- [17] 方耀圆,欧阳吾乐,雷福红,等. 麻疯树叶提取物对肉鸡内脏器官指数和组织形态的影响[J]. 中国家禽, 2019,41(5):35-39.
- [18] 郭新华. 苜蓿素和金霉素对肉仔鸡不同组织器官中微量元素沉积的影响[D]. 扬州:扬州大学, 2009.
- [19] 佟建明. 不同免疫状态下动物营养代谢的特点[C]//中国畜牧兽医学. 动物营养研究进展. 北京:中国农业科学技术出版社, 2004:181-188.
- [20] 赵思琦,何 敏,梁晓霞,等. 诃子藏医炮制品对小鼠消化道嗜银细胞形态学及分布规律的影响[J]. 中国兽医科学, 2016, 46(08):1048-1056.
- [21] 赵凤鸣. 几首补益方对环磷酰胺致小鼠毒副作用的保护机制[D]. 南京:南京中医药大学, 2005.
- [22] 刘苗苗,黄威峰,彭 奔,等. 环磷酰胺致 DNA 损伤及其防治机制的研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2015,15(23):4585-4587.
- [23] 王 平. 乌头碱经皮给药“量-效-毒”关系探讨[J]. 中药药理与临床, 2013,29(4):53-56.
- [24] 沈多荣. 中药炮制方法对临床疗效的影响分析与应用思考[J]. 内蒙古中医药, 2016,35(15):102.
- [25] 张 明. 中药炮制方法与降低中药毒副作用研究[J]. 心理月刊, 2019,14(5):178.
- [26] 殷少文,叶世芸,王 维,等. 干燥温度及生长年限对黔产青钱柳中槲皮素和山柰素含量的影响[J]. 江苏农业科学, 2019,47(2):189-193.
- [27] 赵卫东,凌 斌. *GATA-3* 与 Th1/Th2 的分化[J]. 医学综述, 2007,13(18):1371-1373.
- [28] MCSORLEY S J. Immunity to intestinal pathogens: lessons learned from *Salmonella*[J]. Immunological Reviews, 2014,260(1):168-182.
- [29] 徐光美. 斑马鱼模型用于沙门菌质粒毒力基因 *spv* 对机体感染与免疫功能影响的研究[D]. 苏州:苏州大学, 2016.
- [30] 刘智多,孙 兵. 转录因子 *GATA-3* 在 Th2 细胞分化过程中的作用[J]. 细胞生物学杂志, 2009,31(6):749-753.
- [31] HAMMAREN M, OKSANEN K, LUUKINEN H, et al. Adequate Th2-type response associates with restricted bacterial growth in latent mycobacterial infection of zebrafish[J]. Scandinavian Journal of Immunology, 2016,83(5):382.

(责任编辑:陈海霞)