

DOI: 10.5846/stxb201305241171

徐德立, 徐来祥. 食物限制对黑线仓鼠免疫功能的影响. 生态学报, 2015, 35(6): 1882-1890.

Xu D L, Xu L X. Effect of food restriction on immune function in the striped hamster (*Cricetulus barabensis*). Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(6): 1882-1890.

食物限制对黑线仓鼠免疫功能的影响

徐德立, 徐来祥*

曲阜师范大学生命科学学院, 曲阜 273165

摘要:温带地区小型哺乳动物经常面临着食物资源的波动。食物对动物的免疫功能具有重要影响。将 19 只成年雄性黑线仓鼠 (*Cricetulus barabensis*) 随机分为自由取食组 ($n=9$) 和限食组 ($n=10$)。注射植物血球凝集素 (PHA) 来测定细胞介导的免疫反应, 用匙孔血蓝蛋白 (KLH) 免疫动物, 然后测定抗 KLH 抗体的浓度以反映其体液免疫功能。旨在检验食物限制是否会抑制黑线仓鼠的细胞免疫和体液免疫功能。结果发现, 与对照组相比, 限食组黑线仓鼠具有较低的体重、体脂、脾脏鲜重、血清瘦素水平、免疫球蛋白 IgG 和 IgM 浓度。而限食对胸腺鲜重、白细胞数、皮质酮水平以及 PHA 反应没有显著影响。结果表明黑线仓鼠免疫系统的不同成分对限食反应存在差异, 在食物资源短缺时, 黑线仓鼠防御细胞外病原体的能力降低, 从而导致生存能力的下降。

关键词:食物限制; 体液免疫; 黑线仓鼠 (*Cricetulus barabensis*); 植物血球凝集素反应

Effect of food restriction on immune function in the striped hamster (*Cricetulus barabensis*)

XU Deli, XU Laixiang*

College of Life Sciences, Qufu Normal University, Qufu 273165, China

Abstract: The immune system protects animals against environmental pathogens, and hence it plays an important role in their survival and fitness. However, immune function is influenced by many factors including food availability. Small mammals in the temperate zone often face fluctuations in food availability, which is important to their survival. Changes in food availability may have a great influence on an animals' immunity. Some investigators have examined the effect of reduced food availability (i.e., food restriction) on the immune function in small rodents, but their results are often inconsistent. Food restriction could depress, enhance or have no effect on immunity in different species. In order to clarify the discrepancy between results, the striped hamster (*Cricetulus barabensis*) was used to examine the effect of food restriction on its immune function. The striped hamster is a major pest rodent in northern China. It is granivorous, nocturnal and feeds mainly on plant stems and leaves during summer and forages crop seeds in winter. The climate is arid and characterized by warm and dry summers and cold winters. Thus, the species experiences great seasonal fluctuations in temperature, photoperiod as well as food quality and availability. The question we focused on in the present study was how the immune function would vary in the face of reduced food availability for hamsters. Nineteen adult male hamsters were randomly divided into the fed *ad libitum* group (Fed, $n=9$) and food restricted group (FR, $n=10$) (90% of baseline food intake). The course of food restriction was 21 days. Hamsters were injected with phytohaemagglutinin (PHA) and keyhole limpet haemocyanin (KLH) solution to assess cellular and humoral immunity, respectively. Our goal was to test whether food

基金项目:国家自然科学基金 (31070332, 31370427); 山东省自然科学基金 (ZR2013CM019); 曲阜师范大学博士启动基金 (bsqd20100204)

收稿日期:2013-05-24; **网络出版日期:**2014-04-25

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: xulxxu@126.com

restriction would suppress cellular and humoral immunity in striped hamsters. Body mass in the FR group decreased significantly after 21 days of food restriction, whereas body mass in the Fed group did not change significantly. Body mass in the FR group was significantly lower than that of the Fed group after 10 days of food restriction. Food restriction significantly reduced perirenal fat, perirenal fat content, retroperitoneal fat, total body fat, and wet spleen mass in the FR group compared with the Fed group. However, it had no significant effect on the wet thymus mass or white blood cells. Immunoglobulin (Ig) G and IgM concentrations were reduced significantly in the food restricted hamsters in contrast with the Fed control group, which indicated the suppressive role of food restriction on humoral immunity. PHA response did not differ between the two groups, suggesting cellular immunity was not influenced by food restriction. Food restricted hamsters had significantly lower serum leptin levels than that of the control group, while corticosterone levels were not affected by food restriction. Taken together, our results suggest that different components of the immune system respond differently to food restriction in striped hamsters. Humoral immunity was suppressed in food restricted hamsters, which might be due to their lower body fat mass and lower leptin levels. In the face of food shortage, striped hamsters might be more prone to extracellular pathogens and their survival capability would decrease.

Key Words: food restriction; humoral immunity; striped hamsters (*Cricetulus barabensis*); phytohaemagglutinin (PHA) response

免疫系统在动物防止或减少环境中的病毒、细菌、真菌等病原体攻击中起着至关重要的作用,是其防御有害因子侵害机体的重要保障,因此免疫功能是决定动物生存的重要因素之一,它能在一定程度上反映动物的生存能力,并最终影响到动物的适合度^[1]。影响动物免疫功能的因素很多,而食物的数量和质量是重要的影响因素^[2]。一些研究者研究了食物可利用性降低对小型哺乳动物免疫功能的影响,但他们的结果却存在差异^[3-12]。大多数研究发现食物限制抑制动物的免疫能力。限食抑制拉布拉多白足鼠(*Peromyscus maniculatus*)细胞介导的免疫反应^[3],并可通过降低脾脏来源的抗体生成 B 细胞的数目损害其免疫记忆^[4-5]。限食抑制短光照条件下黑线毛足鼠(*Phodopus sungorus*)的延迟型超敏性反应,但对长光照条件下的免疫功能没有影响^[6]。妊娠期大仓鼠(*Tscherskia triton*)限食处理后,其雄性后代具有较低免疫反应^[7]。体液免疫功能在限食的小鼠中也受到损害^[8]。能量限制的宿主更易感染病原体^[9]。然而,少数研究发现食物或能量限制能增加动物的免疫功能,例如能量限制能增加大鼠淋巴细胞的数目、自然杀伤细胞(natural killer cells, NK)活性,并且脾细胞对刀豆素 A(concanavalin A, Con A)和脂多糖(lipopolysachride, LPS)的增殖反应显著增强^[10]。限食可提高短光照条件下黑线毛足鼠的体液免疫功能^[11]。然而,长期温和的限食不影响长爪沙鼠(*Meriones unguiculatus*)的体液免疫和细胞介导的免疫反应^[12]。上述的这些研究结论不一致,因而还需在更多物种中深入研究。

黑线仓鼠(*Cricetulus barabensis*)是中国北方的主要农业害虫,在俄罗斯、蒙古国和朝鲜也有分布,该物种为夜行性动物,春夏季节主要以植物的茎叶为食,冬季以贮存的作物种子为食^[13]。黑线仓鼠生境特点是夏季温暖干旱(极端最高温 42.6 °C),冬季严寒(极端最低温-20 °C 以下),因而该物种经历环境温度、光周期以及食物可利用性的显著性季节变化^[13-14]。人们关注的问题是当面临食物可利用性降低时黑线仓鼠免疫功能将会发生怎样的变化,该问题的解决可帮助人们理解食物资源短缺如何影响其存活能力,同时也有助于从免疫学角度理解其分布和种群动态。前期研究表明限食可降低黑线仓鼠的基础代谢率(basal metabolic rate, BMR)和非颤抖性产热(nonshivering thermogenesis, NST)^[15],为此,假设限食同样会抑制黑线仓鼠的细胞免疫和体液免疫功能。

1 材料和方法

1.1 实验对象

本实验中所使用的成年雄性黑线仓鼠捕自于山东省曲阜九仙山(35°46.275'N, 116°59.976'E)。室内单

笼(30 cm×15 cm×20 cm)饲养于 12L:12D 的光周期和(21±1)℃温度条件下,使用锯末为垫料。食物为标准鼠饲料块(济宁医学院动物饲养中心),自由取食和饮水。

1.2 实验设计

动物体重稳定后,将 19 只成年雄性随机分为限食组(FR)($n=10$)和自由取食组(Fed)($n=9$)。黑线仓鼠对食物短缺比较敏感(与聊城大学赵志军交流)^[15],考虑到野生动物福利,为避免限食处理过程中出现动物死亡,将限食量确定为 90%(自由取食量的 90%),处理时间为 21 d。FR 组 10 只动物每 2 d 投喂定量足够食物,连续测定 6 d,然后计算出每只动物平均日摄食量(即基准食物量),FR 组动物每天投喂食物量为基准食物量的 90%。FR₀和 FR_{*n*}分别代表限食第 0、*n* 天。

1.3 细胞免疫的测定

植物血球凝集素(PHA)反应是检测哺乳动物细胞免疫功能的常用指标^[16],PHA 反应的测定参考 Xu 和 Wang 的方法^[17]。在 FR₁₉,取自由取食组和限食组的黑线仓鼠,用数显电子测微尺(Mitutoyo Absolute cod. 547-301, 日本)测定仓鼠左后足足垫的厚度(精确至±0.01 mm),用 75%酒精对足垫消毒,然后在足垫中心处注射 0.03 mL 含 0.1 mg PHA(PHA-P, Sigma L-8754)的无菌 PBS 缓冲液(pH 值 7.4),6、24、48 h 后分别测量左后足足垫的厚度,PHA 反应的计算公式为:(注射后足垫厚度-注射前足垫厚度)/注射前足垫厚度,每只动物测定 6 次,最后取 6 次测定的平均值^[16-17]。

1.4 体液免疫的测定

通过注射特异性的抗原如匙孔血蓝蛋白(KLH)然后测定相应抗体浓度的方法通常用于反映动物的体液免疫功能^[11,18]。注射 KLH(Sigma LH7017)的时间为处死动物前 15 d(FR₆),背部皮下注射 0.1 mL 浓度为 0.15 mg/mL 的 KLH 注射液(溶于无菌生理盐水),5 d(FR₁₁)、10 d(FR₁₆)后,用眼眶取血的方法取大约 0.5 mL,取血后迅速取 20 μL 血液,溶于 0.38 mL 白细胞稀释液中,用于白细胞数目的测定(详细步骤参照 1.6 白细胞数的测定),其余血液置于冰浴中,1 h 后在 4000 r/min、4℃条件下离心 30 min,取血清贮存于-80℃冰箱中保存,用于检测抗 KLH 抗体的浓度;注射 KLH 15 d 后(FR₂₁)处死动物,颈部取血并按上述方法获得血清,-80℃冰箱中保存,用于测定抗 KLH 抗体、瘦素以及皮质酮水平。选取这些取血时间点主要是获得免疫球蛋白 M(IgM)和 IgG 峰值,IgM 是注射 KLH 后最先产生的免疫球蛋白,IgG 是 KLH 挑战后产生的优势免疫球蛋白^[18]。

抗 KLH 抗体测定:将包被液(将 KLH 按 0.5 mg/mL 的浓度溶于 0.05 mol/L Na₂CO₃-NaHCO₃缓冲液,pH 值 9.6)以每孔 100 μL 加入到 96 孔酶标板,4℃,过夜。用洗涤液(含 0.05% Tween 20 的磷酸盐缓冲液,pH 值 7.4;PBS-T)满孔洗涤 3 遍,每次 3 min。每孔内加入 100 μL 5%脱脂奶粉(溶于 PBS-T),4℃,过夜,以减少非特异性结合。把酶标板孔内的 5%脱脂奶粉倒出,用 PBS-T 洗涤 3 遍,每次 3 min;溶化的血清用 PBS-T 按 1:20 比例(血清:PBS-T)进行稀释,然后向抗原包被过的孔中加入 150 μL 稀释样品。阳性对照样品是 KLH 反复注射的黑线仓鼠中取得的血清(用 PBS-T 稀释)和阴性对照样品为 KLH 未致敏黑线仓鼠中取得的血清(用 PBS-T 稀释)。然后封上酶标板,37℃孵育 3 h;然后用 PBS-T 洗涤 3 遍,每次 3 min。向每孔内加入 100 μL 二抗(碱性磷酸酶结合的抗小鼠 IgG,按 1:2000 的比例用 PBS-T 稀释, Cappel, Durham, NC;或者碱性磷酸酶结合的抗小鼠 IgM,按 1:500 的比例用 PBS-T 稀释, Cappel, Durham, NC);将酶标板封上后,37℃孵育 1 h;然后用 PBS-T 洗涤 3 遍,每次 3 min。每孔加入 150 μL 酶底物对硝基苯磷酸[Sigma Chemical, St Louis, MO (浓度是 1 mg/mL,溶于二乙醇胺底物缓冲液)],37℃避光孵育 20 min。每孔加入 50 μL 1.5 mol/L NaOH 终止液,使反应终止。在酶标仪上(Tunable Versamax microplate reader)读取波长为 405 nm 时的吸光值,每个样品重复 2 次。抗 KLH 抗体含量用样品的光吸收值与阳性对照光吸收值的比值来表示^[11,18]。

1.5 器官的解剖

器官的解剖参考 Xu 和 Wang 的方法^[17]。动物处死后快速分离肩胛间的褐色脂肪组织(IBAT)称重,随后分别取出动物的心脏、肺脏、胸腺、肝脏、肾脏、肾上腺、脾脏、睾丸、附睾、贮精囊,剔除器官表面附着的结缔组

组织和脂肪,在滤纸上吸干器官表面的血液后称重(精确到 0.001 g),为器官鲜重。取出动物的消化道,分别分离出胃、小肠、盲肠、结肠,小心剔除器官肠系膜及结缔组织和脂肪。分别称量胃及其内容物、小肠及其内容物、盲肠及其内容物、结肠及其内容物重。之后,将其纵向剖开,用生理盐水洗去内容物,置滤纸上吸干表面水分后,称重,作为器官鲜重。此外,小心地分离皮下脂肪、性腺周围脂肪、肾周脂肪、腹膜后脂肪和肠系膜脂肪,这 5 部分脂肪的总重被认为是总体脂重,脂肪含量的计算方法是分别用上述脂重除以终体重。

1.6 白细胞数的测定

在 FR_{11} 、 FR_{16} 和实验结束后 (FR_{21}),分别用眼眶取血以及颈部取血的方法取血后,迅速取 20 μ L 血液,溶于 0.38 mL 白细胞稀释液[含 1.5% 的冰醋酸,1% 龙胆紫 (Sigma)] 中,用手指轻弹混匀,一段时间后,然后取 20 μ L 上述溶液小心地滴在已放有盖玻片的血球计数板上,在低倍显微镜下 (10 $\times$) 观察,并用血球计数器计算四个角四个大格中所有的白细胞总数,然后乘以 5×10^7 ,得数即为血液中所含白细胞数量 (10^9 个/L) [19]。

1.7 血清瘦素水平的测定

取动物处死后所获得的血清,用小鼠 ELISA 试剂盒测定血清瘦素水平 (Cat. No. XL-85K, Linco Research Inc., Missouri, USA)。当使用 10 μ L 样品时,该方法检测的范围是 0.3—8 ng/mL,详细检测步骤参考小鼠 ELISA 试剂盒中说明书进行。

1.8 血清皮质酮水平的测定

取动物处死后所获得的血清,用小鼠 ELISA 试剂盒测定血清皮质酮水平 (Cat. No. HR083, RapidBio Lab. Calabasas, California, USA)。当使用 10 μ L 样品时,该方法检测的范围是 8—150 ng/mL,详细检测步骤参考小鼠 ELISA 试剂盒中说明书进行。

1.9 统计方法

数据统计采用 SPSS13.0 统计软件包 (SPSS package, 1998)。统计分析之前,用 One-sample Kolmogorov-Smirnov test 检验数据是否呈正态分布,以确定可否用下述方法统计分析数据。比值包括 PHA 反应、脂含量用反正弦转换后用独立样本 t -检验进行分析,自由取食组和限食组的体重变化用重复测量的方差分析 (repeated measurement analysis),两组间体重的差异用独立样本 t -检验进行分析。比较自由取食组和限食组间器官鲜重用以体重为协变量的多因变量线性模型方差分析 (General Linear Model multivariate analysis, GLM) 进行,然后用 Bonferroni *post hoc* 进行检验。其它指标包括 IgM 和 IgG 浓度、WBC、瘦素和皮质酮浓度用独立样本 t -检验进行分析。PHA 反应、IgM 和 IgG 浓度随时间的变化用重复测量的方差分析进行。PHA 反应、IgM、IgG 浓度与瘦素、皮质酮间的相关关系用皮尔逊相关分析进行。结果数据均以平均值 $\pm$ 标准误 (Mean $\pm$ SE) 表示, $P < 0.05$ 为差异显著[在图中以星号 (*) 表示]。

2 结果

2.1 体重

在 FR_0 , 自由取食组和限食组间体重没有显著性差异 ($t = -0.125$, $df = 17$, $P = 0.902$)。21 d 限食处理后 FR 组体重显著降低 ($F_{21,168} = 13.583$, $P < 0.001$), 而 Fed 组的体重则没有显著性变化 ($F_{21,168} = 0.670$, $P = 0.858$)。从 FR_{10} ($t = -2.214$, $df = 17$, $P = 0.041$) 到 FR_{21} ($t = -2.733$, $df = 17$, $P = 0.014$), FR 组体重显著低于 Fed 组。与 FR_0 时的体重 ((30.6 $\pm$ 1.3) g) 相比, 21 d 限食处理后 ((25.7 $\pm$ 1.4) g), FR 组黑线仓鼠体重丧失 (4.9 $\pm$ 0.8) g (16.1%) (表 1)。

2.2 器官鲜重

限食显著降低了黑线仓鼠肾周脂肪 ($t = -3.801$, $df = 17$, $P < 0.01$)、肾周脂肪含量 ($t = -2.179$, $df = 17$, $P < 0.05$)、腹膜后脂肪 ($t = -2.308$, $df = 17$, $P < 0.05$)、总体脂 ($t = -2.675$, $df = 17$, $P < 0.05$) (表 1)、脾脏鲜重 ($F_{1,16} = 10.394$, $P = 0.005$)、心脏鲜重 ($F_{1,16} = 5.214$, $P = 0.036$) 和胃及内容物重 ($F_{1,16} = 6.502$, $P = 0.021$) (表 2)。其它身体成分和器官鲜重在两组间则没有显著性差异 (表 1, 表 2)。

表 1 限食对黑线仓鼠身体成分的影响

Table 1 Effect of food restriction on body composition in striped hamsters

参数 Parameters	自由取食组 Fed group	限食组 FR (food restriction) group	统计结果 Statistical summary
样本数 Sample size	9	10	
初始体重 Initial body mass/g	30.6±1.3	30.8±1.4	ns
终体重 Final body mass/g	30.7±1.2 a	25.7±1.4 b	<0.05
胴体湿重 Wet carcass mass/g	61.6±2.6	56.2±2.6	ns
皮下脂肪 Subcutaneous fat/g	0.312±0.035	0.206±0.055	ns
皮下脂肪含量 Subcutaneous fat content/%	1.0±0.09	0.7±0.18	ns
肾周脂肪 Perirenal fat/g	0.057±0.006 a	0.028±0.005 b	<0.05
肾周脂肪含量 Perirenal fat content/%	0.2±0.03	0.1±0.01	<0.05
腹膜后脂肪 Retroperitoneal fat/g	0.065±0.007 a	0.035±0.010 b	<0.05
腹膜后脂肪含量 Retroperitoneal fat content/%	0.2±0.02	0.1±0.03	ns
性腺周围脂肪 Perigonadal fat/g	1.289±0.095	0.997±0.102	ns
性腺周围脂肪含量 Perigonadal fat content/%	4.2±0.21	3.8±0.22	ns
肠系膜脂肪 Mesenteric fat/g	0.179±0.014	0.155±0.014	ns
肠系膜脂肪含量 Mesenteric fat content/%	0.6±0.04	0.6±0.05	ns
总体脂重 Total body fat/g	1.902±0.134 a	1.422±0.170 b	<0.05
总体脂含量 Total body fat content/%	6.2±0.28	5.4±0.38	ns

同一行中不同字母的上标表示组间差异显著; ns 表示差异不显著

表 2 限食对黑线仓鼠器官鲜重的影响

Table 2 Effect of food restriction on wet organ mass in striped hamsters

参数 Parameters	自由取食组 Fed group	限食组 FR group	统计结果 Statistical summary
样本数 Sample size	9	10	
肩胛间褐色脂肪组织 IBAT /mg	98 ± 13	93 ± 12	ns
心脏 Heart /mg	182 ± 6 a	163 ± 5 b	<0.05
肺脏 Lungs /mg	254 ± 17	245 ± 16	ns
胸腺 Thymus /mg	8 ± 1	6 ± 1	ns
肝脏 Liver /mg	1182 ± 46	1128 ± 43	ns
脾脏 Spleen /mg	71 ± 6 a	44 ± 5 b	<0.01
肾脏 Kidneys /mg	434 ± 13	394 ± 12	ns
肾上腺 Adrenal glands /mg	7 ± 1	9 ± 1	ns
胃及内容物 Stomach with contents /mg	988 ± 57 a	773 ± 53 b	<0.05
胃 Stomach /mg	271 ± 15	278 ± 14	ns
小肠及内容物 Small intestine with contents /mg	1066 ± 47	1031 ± 44	ns
小肠 Small intestine /mg	331 ± 21	345 ± 20	ns
小肠长度 Small intestine length /cm	30.4 ± 0.7	31.1 ± 0.6	ns
盲肠及内容物 Caecum with contents /mg	838 ± 51	958 ± 48	ns
盲肠 Caecum /mg	189 ± 10	206 ± 9	ns
盲肠长度 Caecum length /cm	4.6 ± 0.2	4.5 ± 0.2	ns
结肠及内容物 Colon with contents /mg	409 ± 41	423 ± 39	ns
结肠 Colon /mg	167 ± 8	181 ± 7	ns
结肠长度 Colon length /cm	13.3 ± 0.4	14.1 ± 0.4	ns
总消化道重 Total digestive tract /mg	958 ± 34	1009 ± 32	ns
总消化道长 Total digestive tract length /cm	48.3 ± 1.1	49.7 ± 1.0	ns
睾丸 Testes /mg	1292 ± 55	1305 ± 52	ns
贮精囊 Seminal vesical /mg	400 ± 31	326 ± 29	ns

同一行中不同字母的上标表示组间差异显著; ns 表示差异不显著

2.3 白细胞数

KLH 免疫挑战后 5 d ($t = 1.179$, $df = 17$, $P = 0.255$)、10 d ($t = 0.293$, $df = 17$, $P = 0.773$) 和 15 d ($t = 0.693$, $df = 17$, $P = 0.498$), 限食组和自由取食组间的白细胞数均无显著性差异 (图 1)。限食组 ($F_{2,18} = 2.253$, $P = 0.168$) 和自由取食组 ($F_{2,16} = 0.138$, $P = 0.872$) 白细胞数也不随限食时间而变化。

2.4 细胞免疫

PHA 免疫后的 6 h ($t = -0.102$, $df = 17$, $P = 0.920$)、24 h ($t = 1.853$, $df = 17$, $P = 0.081$) 和 48 h ($t = -0.770$, $df = 17$, $P = 0.442$), 限食组黑线仓鼠的 PHA 反应均与对照组没有显著性差异。限食组 ($F_{2,18} = 70.502$, $P < 0.001$) 和自由取食组 ($F_{2,16} = 56.201$, $P < 0.001$) PHA 反应均随时间的延长而显著下降。

2.5 体液免疫

KLH 挑战后的 5 d ($t = -1.142$, $df = 17$, $P = 0.269$)、10 d ($t = -0.624$, $df = 17$, $P = 0.541$) 抗 KLH IgG 浓度在两组间没有差异, KLH 挑战后的 15 d 限食组抗 KLH IgG 浓度显著低于自由取食组 ($t = -2.241$, $df = 17$, $P = 0.039$) (图 2), 此外限食组 ($F_{2,18} = 11.714$, $P = 0.001$) 和自由取食组 ($F_{2,16} = 13.899$, $P < 0.001$) IgG 浓度随限食时间的延长而升高。限食不影响 KLH 挑战后的 5 d ($t = -0.470$, $df = 17$, $P = 0.644$)、10 d ($t = -1.675$, $df = 17$, $P = 0.112$) 的抗 KLH IgM 浓度, 但显著降低了 KLH 挑战后 15 d 的抗 KLH IgM 浓度 ($t = -2.527$, $df = 17$, $P = 0.022$) (图 2)。限食组 ($F_{2,18} = 2.979$, $P = 0.076$) 和自由取食组 ($F_{2,16} = 3.202$, $P = 0.068$) IgM 浓度不受限食时间的影响。

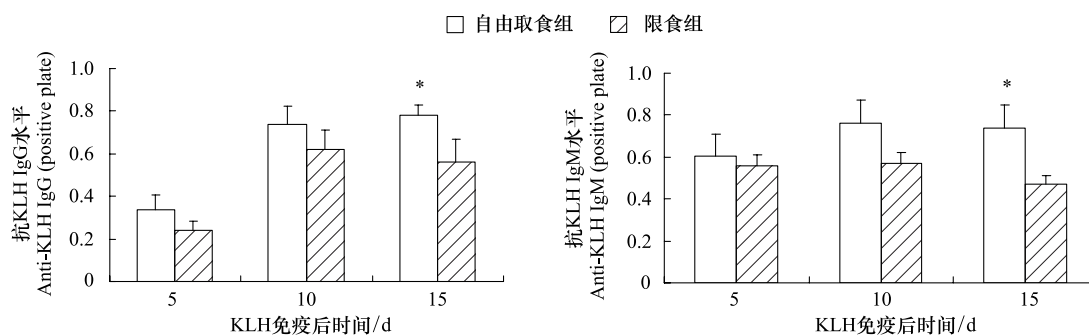


图 2 限食对黑线仓鼠 IgG 和 IgM 浓度的影响

Fig.2 Effect of food restriction on IgG and IgM concentrations in striped hamsters

2.6 血清瘦素水平

限食显著降低了黑线仓鼠血清瘦素水平 ($t = -2.622$, $df = 17$, $P = 0.018$) (图 3)。瘦素与总体脂重 ($r = 0.358$, $P = 0.132$)、PHA 反应 ($r = -0.379$, $P = 0.109$)、IgG ($r = 0.295$, $P = 0.220$) 和 IgM 浓度 ($r = 0.341$, $P = 0.154$) 均不存在相关关系。

2.7 血清皮质酮水平

限食对黑线仓鼠血清皮质酮水平没有显著性影响 ($t = -1.280$, $df = 17$, $P = 0.218$)。皮质酮与 PHA 反应 ($r = -0.064$, $P = 0.795$)、IgG ($r = 0.372$, $P = 0.116$) 和 IgM 浓度 ($r = 0.635$, $P = 0.003$) 也不存在相关关系。

3 讨论

与预期的一样, 限食降低了黑线仓鼠的体重、体脂重、脾脏鲜重、血清瘦素水平和体液免疫功能, 而胸腺鲜

重、白细胞数、细胞免疫和皮质酮水平的变化与预期不一致。

限食导致脾脏萎缩但不影响胸腺鲜重,暗示着外周免疫器官的功能受到抑制而中枢免疫器官的功能不受限食的影响。与自由取食对照组相比,限食组黑线仓鼠体液免疫功能降低但细胞免疫功能没发生变化,说明在面临食物可利用性降低时,黑线仓鼠防御胞外病原体和寄生虫的能力下降,而控制胞内病原体(如病毒)不受影响。与其它动物在面临食物资源短缺时细胞免疫或体液免疫受到抑制^[3-7]或升高^[11]相比,黑线仓鼠表现出完全不同的免疫适应策略。

3.1 体脂与免疫

脂肪组织不仅是动物能量贮存的场所,而且最近被认为是重要的内分泌和免疫器官^[20-21]。动物能量贮存(脂肪)的下降可导致免疫功能受到抑制^[17-18];Houston 等^[22]认为具有较低能量贮存的动物分配给免疫防御的能量比具有较高能量贮存的要少。限食显著降低了黑线仓鼠肾周脂肪、腹膜后脂肪和总体脂重,较低的能量贮存可能不足以维持昂贵生理过程包括免疫反应所需要的能量^[23-24],这可能是限食组动物体液免疫能力受到抑制的原因之一。

3.2 瘦素与免疫

瘦素(leptin)是由脂肪细胞分泌的细胞因子样蛋白激素,与体脂重呈正相关^[25-26]。它可通过抑制动物摄食和促进能量消耗在能量平衡中发挥调节作用,同样在免疫中也起重要作用,如瘦素可直接调节T细胞免疫反应^[27-29]。许多研究发现低浓度瘦素会损害动物的免疫功能^[29-31]。尽管没有检测到体液免疫与瘦素水平之间的相关性,限食导致黑线仓鼠瘦素水平的降低可能是其体液免疫功能受抑制的另一原因。

3.3 应激与免疫

应激通常会激活下丘脑-垂体-肾上腺轴(hypothalamic-pituitary-adrenal axis, HPA 轴),导致应激激素如皮质酮分泌增加,而皮质酮具有抑制免疫的作用^[32-33]。限食同样导致应激激素皮质酮或皮质醇分泌增加^[3,6]。黑线仓鼠皮质酮水平不受限食的影响,原因可能有两个,一是本实验的限食程度对黑线仓鼠而言可能比较温和,所以不足以激活其 HPA 轴;二是皮质酮的产生受限食时间的影响很大,在限食初期皮质酮的产生可能会增加,但随着限食时间的延长,黑线仓鼠可能已产生适应。应激激素与限食时间有何关系还需要深入研究。我们的结果与其它研究存在差异,例如,70%限食 2 周不影响对短光照不敏感的和长光照条件下黑线毛足鼠的血清皮质醇水平,但却能降低对短光照敏感的黑线毛足鼠的血清皮质醇的水平^[11]。80%限食 35 d 可降低长爪沙鼠血清皮质酮的水平^[12]。这些结果的差异可能与限食的时间及程度、物种特点以及实验环境的不同有关。皮质酮与细胞免疫、IgG 和 IgM 浓度均不存在相关性,说明皮质酮水平的变化可能还不能解释限食对黑线仓鼠免疫的影响。

与其它研究相比^[3-7,18],本文研究测定了免疫器官、白细胞数、体液免疫和细胞免疫等多种免疫学指标,这有助于比较全面地理解限食对动物免疫系统不同成分的影响。结果表明,食物可利用性降低对黑线仓鼠不同免疫系统成分的影响存在差异,限食抑制了脾脏和体液免疫功能,而胸腺、白细胞总数以及细胞免疫功能则不受限食的影响;限食导致的体脂和瘦素水平降低可能是体液免疫能力受抑制的原因。体液免疫的主要功能是结合胞外病原体并使之中性化,因此,面临食物资源短缺时,黑线仓鼠防御胞外病原体的能力降低,其存活能力也会下降。

致谢:感谢张圣坤、孙志存和孟大千在本实验中的帮助。

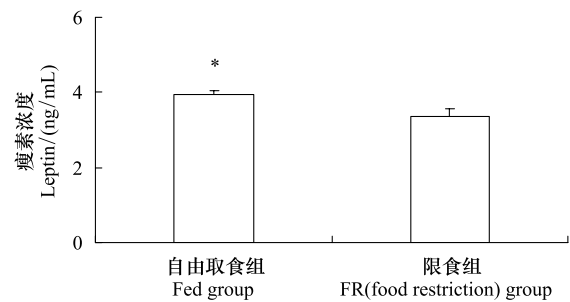


图3 限食对黑线仓鼠血清瘦素水平的影响

Fig. 3 Effect of food restriction on leptin concentration in striped hamsters

参考文献 (References):

- [1] Sheldon B C, Verhulst S. Ecological immunology: costly parasite defences and trade-offs in evolutionary ecology. *Trends in Ecology and Evolution*, 1996, 11(8): 317-321.
- [2] Schaible U E, Kaufmann S H E. Malnutrition and infection: complex mechanisms and global impacts. *PLoS Medicine*, 2007, 4(5): e115.
- [3] Demas G E, Nelson R J. Photoperiod, ambient temperature, and food availability interact to affect reproductive and immune function in adult male deer mice (*Peromyscus maniculatus*). *Journal of Biological Rhythms*, 1998, 13(3): 253-262.
- [4] Martin L B II, Navara K J, Weil Z M, Nelson R J. Immunological memory is compromised by food restriction in deer mice *Peromyscus maniculatus*. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 2007, 292(1): R316-R320.
- [5] Martin L B II, Navara K J, Bailey M T, Hutch C R, Powell N D, Sheridan J F, Nelson R J. Food restriction compromises immune memory in deer mice (*Peromyscus maniculatus*) by reducing spleen-derived antibody-producing B cell numbers. *Physiological and Biochemical Zoology*, 2008, 81(3): 366-372.
- [6] Bilbo S D, Nelson R J. Photoperiod influences the effects of exercise and food restriction on an antigen-specific immune response in Siberian hamsters. *Endocrinology*, 2004, 145(2): 556-564.
- [7] Liang H, Zhang J J, Zhang Z B. Food restriction in pregnant rat-like hamsters (*Cricetulus triton*) affects endocrine, immune function and odor attractiveness of male offspring. *Physiology and Behavior*, 2004, 82(2/3): 453-458.
- [8] Ishikawa L L W, França T G D, Chiuseo-Minicucci F, Zorzella-Pezavento S F G, Marra N M, Pereira P C M, Silva C L, Sartori A. Dietary restriction abrogates antibody production induced by a DNA vaccine encoding the mycobacterial 65 kDa heat shock protein. *Genetic Vaccines and Therapy*, 2009, 7(1): 11-19.
- [9] Kristan D M. Calorie restriction and susceptibility to intact pathogens. *Age*, 2008, 30(2/3): 147-156.
- [10] Pahlavani M A, Vargas D A, Evans T R, Shu J H, Nelson J F. Melatonin fails to modulate immune parameters influenced by calorie restriction in aging Fischer 344 rats. *Experimental Biological Medicine*, 2002, 227(3): 201-207.
- [11] Zysling D A, Garst A D, Demas G E. Photoperiod and food restriction differentially affect reproductive and immune responses in Siberian hamsters *Phodopus sungorus*. *Functional Ecology*, 2009, 23(5): 979-988.
- [12] Xu D L, Liu X Y, Wang D H. Food restriction and refeeding have no effect on cellular and humoral immunity in Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Physiological and Biochemical Zoology*, 2011, 84(1): 87-98.
- [13] 张知彬, 王祖望. 农业重要害鼠的生态学及控制对策. 北京: 海洋出版社, 1998: 1-286.
- [14] Zhao Z J, Cao J, Meng X L, Li Y B. Seasonal variations in metabolism and thermoregulation in the striped hamster (*Cricetulus barabensis*). *Journal of Thermal Biology*, 2010, 35(1): 52-57.
- [15] 赵志军. 食物限制对黑线仓鼠能量代谢和产热的影响. *兽类学报*, 2012, 32(4): 297-305.
- [16] de Bellocq J G, Krasnov B R, Khokhlova I S, Pinshow B. Temporal dynamics of a T-cell mediated immune response in desert rodents. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2006, 145(4): 554-559.
- [17] Xu D L, Wang D H. Fasting suppresses T cell-mediated immunity in female Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2010, 155(1): 25-33.
- [18] Demas G E, Drazen D L, Nelson R J. Reductions in total body fat decrease humoral immunity. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2003, 270(1518): 905-911.
- [19] 杨秀平. 动物生理学实验. 北京: 高等教育出版社, 2004: 91-94.
- [20] Trayhurn P. Endocrine and signalling role of adipose tissue: new perspectives on fat. *Acta Physiologica Scandinavica*, 2005, 184(4): 285-293.
- [21] Schäffler A, Schölmerich J, Salzberger B. Adipose tissue as an immunological organ: Toll-like receptors, C1q/TNFs and CTRPs. *Trends in Immunology*, 2007, 28(9): 393-399.
- [22] Houston A I, McNamara J M, Barta Z, Klasing K C. The effect of energy reserves and food availability on optimal immune defence. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2007, 274(1627): 2835-2842.
- [23] Demas G E, Chefer V, Talan M I, Nelson R J. Metabolic costs of mounting an antigen-stimulated immune response in adult and aged C57BL/6J mice. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 1997, 273: R1631-R1637.
- [24] Moret Y, Schmid-Hempel P. Survival for immunity: the price of immune system activation for bumblebee workers. *Science*, 2000, 290(5494): 1166-1168.
- [25] Zhang Y Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman J M. Positional cloning of the mouse *obese* gene and its human homologue. *Nature*, 1994, 372(6505): 425-432.

-
- [26] Ahima R S, Flier J S. Adipose tissue as an endocrine organ. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 2000, 11(8): 327-332.
- [27] Fantuzzi G, Faggioni R. Leptin in the regulation of immunity, inflammation, and hematopoiesis. *Journal of Leukocyte Biology*, 2000, 68(4): 437-446.
- [28] Matarase G, Moschos S, Mantzoros C S. Leptin in immunology. *Journal of Immunology*, 2005, 174(6): 3137-3142.
- [29] Lam Q L K, Lu L W. Role of leptin in immunity. *Cellular and Molecular Immunology*, 2007, 4(1): 1-13.
- [30] Lord G M, Matarese G, Howard J K, Baker R J, Bloom S R, Lechler R I. Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. *Nature*, 1998, 394(6696): 897-901.
- [31] Flier J S. Lowered leptin slims immune response. *Nature Medicine*, 1998, 4(10): 1124-1125.
- [32] Sapolsky R M, Romero L M, Munck A U. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocrine Reviews*, 2000, 21(1): 55-89.
- [33] Marketon J I W, Glaser R. Stress hormones and immune function. *Cellular Immunology*, 2008, 252(1/2): 16-26.