

高之煜, 曹鑫艳, 范文雨, 等. 绵羊肺炎支原体对盘羊杂交羊免疫功能的影响 [J]. 畜牧与兽医, 2024, 56 (12): 85-90.

GAO Z Y, CAO X Y, FAN W Y, et al. Effect of *Mycoplasma ovipneumoniae* on immune function of Argali hybrid sheep [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2024, 56 (12): 85-90.

绵羊肺炎支原体对盘羊杂交羊免疫功能的影响

高之煜, 曹鑫艳, 范文雨, 顾兰英, 张彦兵*, 孙延鸣*

(石河子大学动物科技学院, 新疆 石河子 832003)

摘要: 旨在研究绵羊肺炎支原体 (Mo) 感染盘羊杂交羊后免疫功能的变化。通过酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测免疫球蛋白 (Ig)、核因子 κ B (NF- κ B) 信号通路相关细胞因子以及 CD4 浓度和 CD8 浓度; 按照前期建立的绵羊支原体肺炎发病模型的方法, 对 6 只盘羊杂交羊人工感染发病, 设为感染组, 另外 6 只盘羊杂交羊注射等量 PBS 为对照组; 在攻毒第 0、7、14、21 和 28 天分别采集静脉血, 分离血清, 检测 IgG、IgA、IgM、NF- κ B、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-17 (IL-17)、白细胞介素-18 (IL-18)、CD4 与 CD8 的浓度。结果: 与对照组相比, Mo 感染导致盘羊杂交羊血清中 IgA 与 IgM 在 14 d 后显著升高 ($P < 0.05$), IgA、IgM、IgG 在 21 d 后极显著升高 ($P < 0.01$); NF- κ B 与 IL-1 β 水平在 14 d 显著升高 ($P < 0.05$), 在 21、28 d 极显著升高 ($P < 0.01$); IL-17 水平在 28 d 极显著提升 ($P < 0.01$); IL-18 水平在 21 d 后极显著提升 ($P < 0.01$); CD4 浓度及 CD4/CD8 比值在 14 d 显著降低 ($P < 0.01$), CD8 浓度在 14 d 后显著升高 ($P < 0.01$)。综上, Mo 感染盘羊杂交羊后, 可刺激宿主的 IgA、IgG、IgM 水平升高, NF- κ B、IL-1 β 、IL-17 和 IL-18 表达水平上升, CD4 浓度降低, CD8 浓度升高, 使宿主的细胞免疫与体液免疫功能均出现了异常。

关键词: 绵羊肺炎支原体; 免疫功能; 免疫球蛋白; 细胞因子; ELISA

中图分类号: S852.6 文献标志码: A 文章编号: 0529-5130(2024)12-0085-06

Effect of *Mycoplasma ovipneumoniae* on immune function of Argali hybrid sheep

GAO Zhiyu, CAO Xinyan, FAN Wenyu, GU lanying, ZHANG Yanbing*, SUN Yanming*

(College of Animal Science and Technology, Shihezi University, Shihezi 832003, China)

Abstract: In order to explore the changes in immune function of Argali hybrid sheep (AHS) infected with *Mycoplasma ovipneumoniae* (Mo), enzyme-linked immuno sorbent assay (ELISA) was used in this study to detect the changes. The concentrations of immunoglobulin (Ig), nuclear factor κ B (NF- κ B) signaling pathway-related cytokines, CD4 and CD8 were detected by ELISA. According to the conditions of the previous model of Mo in sheep, 6 AHS were artificially infected as the infection group, and the other 6 AHS were injected with the same amount of PBS as the control group. IgG, IgA, IgM, NF- κ B, IL-1 β , IL-17, IL-18, CD4 and CD8 in the serum of the sheep were detected at days 0, 7, 14, 21 and 28 after the challenge. The results showed that, compared with the control group, the levels of IgA and IgM in the cross serum of para-sheep were significantly increased at 14 d after Mo infection ($P < 0.05$), and IgA, IgM and IgG were extremely significantly increased at 21 d after Mo infection ($P < 0.01$). The levels of NF- κ B and IL-1 β were significantly increased at day 14 d ($P < 0.05$), and extremely significantly increased at 21 d and 28 d ($P < 0.01$). The IL-17 level was significantly increased at 28 d ($P < 0.01$). The level of IL-18 was significantly increased at 21 d ($P < 0.01$). The CD4 concentration and the CD4/CD8 ratio were significantly decreased and the CD8 concentration was significantly increased at 14 d ($P < 0.01$). To sum up, Mo infection stimulated the host's IgA, IgG, IgM levels, raised the NF- κ B, IL-1 β , IL-17 and IL-18 expression levels, reduced the CD4 concentration, and increased the CD8 concentration. Abnormal immune function was found in both cellular immunity and humoral immunity in the Argali hybrid sheep infected with Mo.

Keywords: *Mycoplasma ovipneumoniae*; immune function; immunoglobulin; cytokines; ELISA

收稿日期: 2023-12-28; 修回日期: 2024-09-20

基金项目: 国家自然科学基金项目 (32060133, 32360901); 新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目 (2022D01B197)

第一作者: 高之煜, 男, 硕士研究生

* 通信作者: 孙延鸣, 博士, 教授, 主要从事临床兽医学研究, E-mail: sym@shzu.edu.cn; 张彦兵, 博士, 副教授, 主要从事临床兽医学研究, E-mail: zhangyanbing129@126.com.

绵羊肺炎支原体 (*Mycoplasma ovipneumoniae*, Mo) 可引起羊的支原体肺炎, 绵羊、山羊以及野生盘羊等均为易感动物, 且以羔羊时期最易感^[1]。患病羊临床表现为高热、咳嗽、流涕、渐进性消瘦, 造成继发性感染, 死亡率极高^[2]。Mo 造成宿主的继发性感染, 其原因可能是 Mo 可影响机体的免疫系统, 正如 Jones 等^[3]的研究表明, Mo 感染会导致牲畜免疫功能显著下降。

免疫系统构成机体的安全防线, 其中特异性免疫系统包括体液免疫与细胞免疫。体液免疫主要以免疫球蛋白 (Ig) 和补体为效应指标, 二者可代表机体体液免疫状态, 对机体免疫调节机制具有监视和促进的作用, 以 IgA、IgG 及 IgM 最为常见, 其能够识别病原体并与之结合, 从而通过免疫应答杀灭病原菌^[4-5]。核因子 κ B (NF- κ B) 信号通路作为人体中重要的一类炎症信号通路, 在机体炎症反应中发挥关键调节作用, 该信号通路激活可促进大量炎症因子的分泌和释放^[6-7]。细胞免疫主要指 T 细胞介导的免疫应答, T 细胞表面分子包括 CD4 分子和 CD8 分子, CD4 分子结合主要组织相容性复合物 (MHC) II 类分子后形成 CD4 阳性细胞, 能诱发炎症反应, CD8 分子结合 MHC I 类分子后形成细胞毒性 T 淋巴细胞, 可分泌干扰素和肿瘤坏死因子^[8]。

本试验对盘羊杂交羊人工感染 Mo, 建立了绵羊支原体肺炎发病模型, 同时选择不同时间点测定血清中 IgG、IgA、IgM、NF- κ B、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-17 (IL-17)、白细胞介素-18 (IL-18)、CD4 和 CD8 的浓度, 检测盘羊杂交羊 Mo 感染前后 NF- κ B 信号通路相关细胞因子的变化规律, 探讨 Mo 发病后盘羊杂交羊细胞免疫与体液免疫的变化情况, 从而为研究绵羊支原体肺炎发病机理及免疫治疗提供帮助。

1 材料与方 法

1.1 试验动物和组织强毒

12 只约 2~3 月龄、体重 10~15 kg 的盘羊杂交羊购买自新疆额敏种羊场, 经 Mo 抗体检测均为阴性。

Mo 强毒株 XJ15^[9] 由本试验室保存。将 Mo-XJ15 经气管注射感染羔羊, 无菌取病变肺组织, 其研磨液再感染另 1 只羔羊, 连续传 3 代, 待第 3 代羔羊出现明显的临床症状后, 立即采集其肺脏病变部位, 在无菌条件下, 以肺组织与 PBS 质量比 1:5, 加入 PBS 并用研钵研磨, 无菌纱布过滤后取上清液保存, 备用。

1.2 试验试剂

Mo 培养基由兰州兽医研究所储岳峰研究员惠赠, 绵羊支原体肺炎 ELISA 诊断试剂盒购自上海邦奕商贸有限公司; 绵羊 IgG、IgA、IgM、NF- κ B、IL-1 β 、IL-17、IL-18 ELISA 试剂盒均购自上海语纯生物科技有限公司; 绵羊 CD4、CD8 的 ELISA 试剂盒均购自江苏酶免实业有限公司。

1.3 试验动物分组及感染

将 12 只盘羊杂交羊随机均分为感染组和对照组, 将肺组织研磨液 (经过荧光定量 PCR 鉴定 Mo 含量 4.64×10^5 copies/mL) 采用气管内注射^[10]的方法对感染组羊进行人工感染, 每只 5 mL, 对照组羊每只注射同剂量的 PBS。

1.4 临床观察

按照 Besser^[11] 的临床评分方法进行计分。观察性厌食症为 1 分, 鼻腔分泌物为 1 分, 咳嗽为 2 分, 呼吸困难为 1 分, 摇头为 1 分, 耳下垂为 1 分, 虚弱或不协调为 1 分。计分达到 3 分时, 说明出现支原体感染症状, 计分越高病情越严重。每天观察各组羊临床病症表现, 直至试验结束。

1.5 试验羊人工感染前后 ELISA 检测

在感染前及感染后的第 7、14、21 和 28 天, 颈静脉采血并分离血清, 用 ELISA 方法检测血清中 IgG、IgA、IgM、NF- κ B、IL-1 β 、IL-17、IL-18、CD4 和 CD8, 具体检测步骤参照各自对应的试剂盒说明书进行。

1.6 数据统计与分析

采用 GraphPad Prism 9 软件对数据进行统计学分析并作图, 单因素方差分析比较其差异性, $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著。

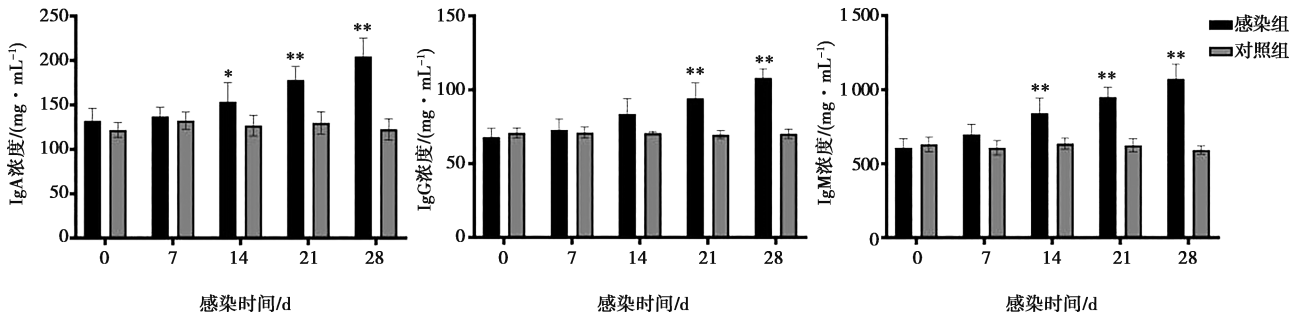
2 结果

2.1 临床观察

与对照组相比, 感染组在感染后 2~3 d 均表现为食欲减退、体温出现一过性发热 (40~41 $^{\circ}$ C), 精神不振。在感染 10 d 后, 感染组羊先后出现咳嗽、鼻腔分泌物增加与腹泻, 临床症状评分均为 3 分以上, 达到了人工感染绵羊支原体肺炎发病的状态。对照组羊在试验期间没有出现任何临床表现。

2.2 发病前后盘羊杂交羊免疫球蛋白水平检测

由图 1 可知, 随着发病时间的增加, 感染组免疫球蛋白水平逐渐上升。感染组 IgA、IgM 在 14 d 后显著高于与对照组 ($P < 0.05$), IgA、IgM、IgG 在 21 d 后极显著高于对照组 ($P < 0.01$)。



组间比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。下同。

图1 Mo感染发病前后盘羊杂交羊血清中IgA、IgG和IgM浓度

2.3 发病前后盘羊杂交羊 NF- κ B 通路相关细胞因子水平检测

两组盘羊杂交羊血清中的 NF- κ B、IL-1 β 、IL-17、IL-18 的浓度检测结果如图 2 所示。感染组 NF- κ B、IL-1 β 浓度在 14 d 显著高于对照组 ($P < 0.05$),

在第 21、28 天极显著高于对照组 ($P < 0.01$)。感染组 IL-17 浓度在 28 d 极显著高于对照组 ($P < 0.01$)。感染组的 IL-18 浓度在 21 d 后极显著高于对照组 ($P < 0.01$)。上述结果表明在感染 Mo 后, NF- κ B 信号通路被激活。

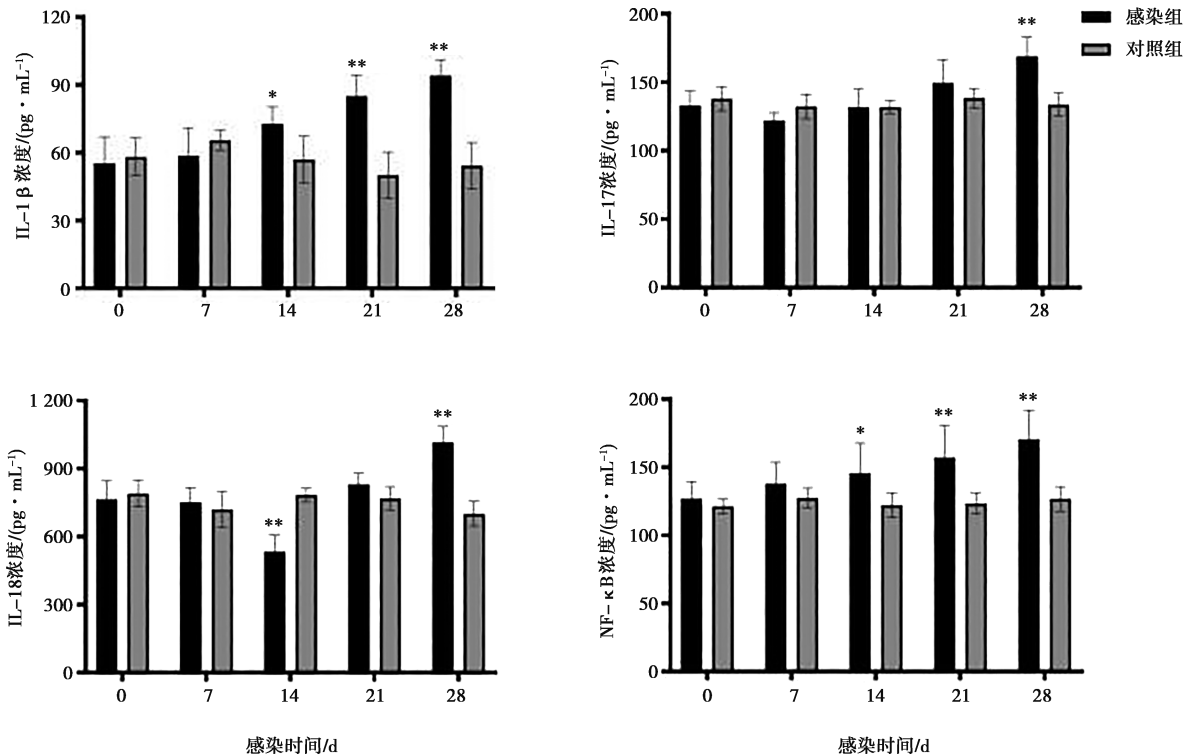


图2 Mo感染发病前后盘羊杂交羊血清中IL-1 β 、IL-17、IL-18和NF- κ B浓度

2.4 发病前后盘羊杂交羊 CD4、CD8 及 CD4/CD8 变化

血清中 CD4 与 CD8 水平间接反映了 CD4⁺ 和 CD8⁺ 细胞数量的化, 为此检测 Mo 感染发病前后各组羊血清中 CD4 浓度、CD8 浓度及 CD4/CD8 比值, 如

图 3 所示。感染组羊在发病后与对照组相比, CD4 浓度及 CD4/CD8 比值显著降低 ($P < 0.01$), CD8 浓度在 14 d 后显著升高 ($P < 0.01$)。CD4、CD8 和 CD4/CD8 比值异常变化, 表明 Mo 感染后羊体出现细胞免疫功能异常。

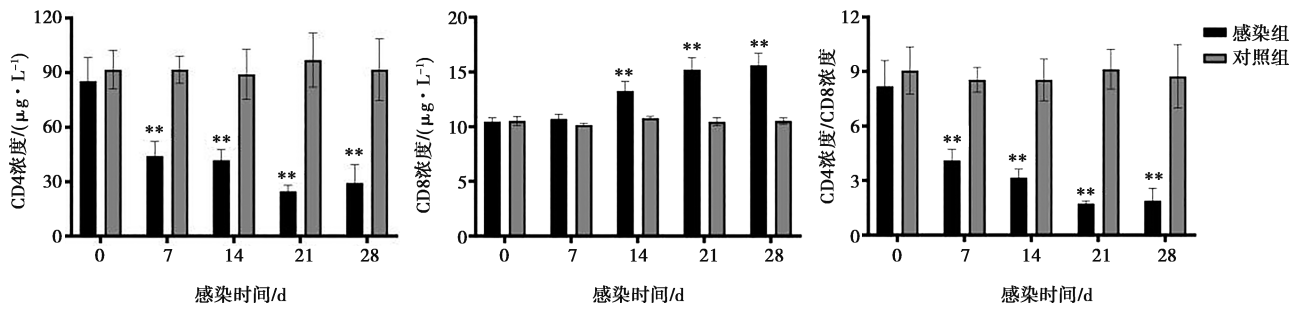


图3 Mo感染发病前后盘羊杂交羊血清中CD4、CD8浓度及CD4与CD8浓度比

3 讨论

绵羊肺炎支原体感染绵羊呼吸道可诱发绵羊支原体肺炎^[12],给世界各地养羊业造成了巨大的经济损失。Mo感染致病的分子机理极其复杂,多数观点认为,Mo感染介导的宿主免疫功能紊乱是肺炎发生发展的主要因素^[13]。Mo感染导致机体免疫力低下,易继发感染其他病原微生物而加重病情^[14]。本试验通过分析血清中不同免疫相关蛋白浓度变化发现,盘羊杂交羊在Mo感染发病后,细胞免疫、体液免疫与细胞因子水平均出现异常。

过往研究中曾选用新疆细毛羊、湖羊、巴什拜羊、阿尔泰羊等作为被感染对象,拟建立绵羊支原体肺炎发病模型均没有成功。后来研究发现盘羊杂交羔羊极易被Mo感染致大量死亡,而在相同饲养条件下饲养的巴什拜羔羊则无一发病,进一步深入研究发现盘羊杂交羔羊是Mo的极易感动物,感染后的临床症状尤为显著^[15-18]。因此,本试验选取盘羊杂交羊为研究对象。此外,在本试验选用组织强毒进行感染是因为Mo的实验室培养菌株直接感染羊,虽能造成试验羊Mo抗体阳性,但肺组织病变损伤较小,难以表现出临床特征^[19]。

免疫球蛋白是指具备抗体活性或与抗体结构类似的球蛋白,包括IgA、IgG、IgM、IgD和IgE这5种。IgA、IgG、IgM是Ig水平检测的关键指标,其在血清中的含量与体液免疫应答水平紧密相关^[20]。IgA有抑制黏附、调理吞噬等作用,对于局部抗感染具有重要意义^[21]。IgM作为体液免疫应答时最先产生的免疫球蛋白,有溶菌、溶血等作用,在机体免疫防护早期不可被替代^[22]。IgG有抗菌、抗病毒等作用,参与机体体液抗感染免疫过程^[23]。正常来说IgA、IgG、IgM含量上升,证明了机体免疫水平增强,但是免疫过度则会诱发免疫性疾病^[24]。本试验中感染组羊的IgA、IgG、IgM的水平比对照组显著升高,这意味着免疫水平增强,但持续性增高,则会诱发自身免疫性

疾病。汪森^[25]与朱香红等^[26]的研究发现,严重感染支原体的儿童血清IgA、IgG、IgM水平高于健康儿童。在范彦希^[27]的研究中发现肺炎支原体感染患儿血清IgM水平同病情严重度呈正相关,血清IgG、IgA水平同病情严重度呈负相关。此结果与本试验结果不符,可能是由于感染的支原体不同导致的。

研究表明,肺炎支原体感染后通过细胞因子的诱导作用,激活内皮细胞和粒细胞,继而调节黏附因子的合成及其在细胞表面的表达,从而导致炎症的发生,并认为这些细胞因子的异常表达可能是支原体肺炎的发病机制之一^[28]。IL-1 β 是机体重要的炎症细胞因子,能激活、募集炎症细胞,强化炎症反应,已在临床上广泛证实,IL-1 β 是与肺部感染关系密切的炎症细胞因子之一^[29-30]。郭海英等^[16]的研究证明,羊感染Mo后,IL-1 β 会出现显著升高。本试验结果与之一致。IL-17是一种主要由活化的T细胞产生的致炎细胞因子,IL-17水平升高与支原体肺炎病灶大小增加相关^[31-32]。本试验中IL-17水平升高,意味着肺部炎症加剧,病灶大小增加。IL-18是近年来临床上发现的另一种具有广泛免疫抑制活性的细胞因子,多项研究表明,IL-18在重症肺炎患者的自身免疫反应中起着至关重要的作用^[33-34]。李敏等^[35]研究发现肺炎支原体感染所致重症肺炎患儿血清IL-18升高,并且IL-18会促进患儿肺部炎症反应。本试验中IL-18水平在21d后异常升高,将导致Mo感染加重,IL-18浓度随着时间延长升高,意味着机体将出现免疫抑制^[34]。

NF- κ B通路与肺部疾病密切相关,如急性肺损伤、肺癌、慢性阻塞性肺疾病和哮喘等。支原体通过黏附气道上皮细胞刺激NF- κ B,而NF- κ B通路在调节支原体肺炎反应中起着至关重要的作用^[36-37]。pro-IL-1 β 、pro-IL-18的合成由PAMP激活的NF- κ B通路诱导,直到在细胞焦亡过程中被caspase-1加工为IL-1 β 、IL-18后释放,活性IL-1 β 、IL-18可促进T淋巴细胞分化,介导免疫反应^[38]。前人研究

证明,人肺炎支原体激活的NF- κ B信号通路涉及IL-1 β 、IL-17和IL-18的表达^[31,39]。Shan等^[40]的研究也证实了鸡肺炎支原体激活NF- κ B信号通路,并且激活了IL-1 β 和IL-18等细胞因子的表达。在以往的研究中,证明IL-1 β 、IL-17可以激活NF- κ B通路,也有研究证明NF- κ B信号通路调节IL-1 β 、IL-17水平^[41-42]。本试验中NF- κ B水平自感染开始便出现升高,意味着在Mo感染后对盘羊杂交羊的NF- κ B信号通路产生了影响。

CD4分子是辅助T淋巴细胞的主要表面标志物,在MHC II分子进行抗原递呈时,可参与T细胞对抗原的识别、信号传递等,同时促进T细胞活化^[43]。CD8分子是细胞毒性T淋巴细胞的主要表面标志物,通过MHC I等多种途径对识别抗原、裂解靶细胞具有重要作用^[44]。血清中的CD4分子和CD8分子是由CD4⁺T淋巴细胞和CD8⁺T淋巴细胞分泌的,当机体感染时,它们的分泌量会随着CD4⁺T淋巴细胞和CD8⁺T淋巴细胞数量改变而产生显著变化^[45]。T淋巴细胞激活后分泌CD4分子和CD8分子,检测CD4和CD8分子水平变化更能反映机体的免疫机能变化情况^[46-47]。正常情况下CD4和CD8含量及比值相对处于动态平衡,当发生免疫应激时,细胞分泌CD4和CD8的量会紊乱,其比值也通常随之发生改变^[48]。本试验中CD4和CD4/CD8在Mo感染后出现降低,CD8出现升高,意味着感染Mo后,机体出现免疫应激。吕静^[49]的研究结果显示,肺炎支原体患儿CD4⁺T淋巴细胞水平低于门诊健康体检儿童。周迎春等^[50]对支气管肺炎患者的CD4⁺细胞、CD8⁺细胞、CD4⁺/CD8⁺水平进行了检测,发现患者的CD4⁺细胞、CD4⁺/CD8⁺水平较对照组降低,CD8⁺细胞水平较对照组升高,并且重症患者较轻症患者CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺水平降低,CD8⁺细胞水平升高。本试验证明了绵羊支原体肺炎与人支原体肺炎感染有着相似的免疫抑制的症状。

综上,本研究证实Mo感染盘羊杂交羊后,宿主的IgA、IgG、IgM水平升高,NF- κ B、IL-1 β 、IL-17和IL-18等细胞因子表达水平升高,CD4浓度降低,CD8升高,说明Mo的感染显著影响了宿主的体液免疫和细胞免疫反应,极易使机体诱发继发感染。

参考文献:

- [1] LIESKE C, GERLACH R, FRANCIS M, et al. Multilocus sequence typing of *Mycoplasma ovipneumoniae* detected in Dall's sheep (*Ovis dalli dalli*) and Caribou (*Rangifer tarandus grantii*) in Alaska, USA [J]. *J Wildl Dis*, 2022, 58 (3): 625-630.
- [2] 戴伶俐,王娜,张帆,等.绵羊肺炎支原体分子致病机理研究进展 [J]. *畜牧与饲料科学*, 2022, 43 (2): 124-128.
- [3] JONES G, KEIR W, GILMOUR J. The pathogenicity of *Mycoplasma ovipneumoniae* and *Mycoplasma arginini* in ovine and caprine tracheal organ cultures [J]. *J Comp Pathol*, 1985, 95 (4): 477-487.
- [4] 孟洪,李然,尹小梅,等.凝血指标、血小板参数及体液免疫功能检测在小儿重症肺炎中的应用价值 [J]. *血栓与止血学*, 2018, 24 (6): 1072-1074.
- [5] 程进立.丙种球蛋白对重症肺炎患儿血气指标及免疫球蛋白水平的影响 [J]. *临床医学*, 2020, 40 (10): 111-113.
- [6] 樊月月,罗浩,李富豪,等.参芪补脾方通过调节TLR4/MyD88/NF- κ B信号通路治疗2型糖尿病大鼠的作用机制 [J]. *中华中医药学刊*, 2023, 41 (6): 237-242.
- [7] 吴晓静,胡桂才,高宇,等.利拉鲁肽对胰岛素抵抗大鼠肾脏NF- κ B及炎症因子表达的影响 [J]. *实用医学杂志*, 2016, 32 (18): 3000-3003.
- [8] KOSUMI K, MASUGI Y, YANG J, et al. Tumor SQSTM1 (p62) expression and T cells in colorectal cancer [J]. *Oncoimmunology*, 2017, 6 (3): e1284720.
- [9] 魏立翔,袁婷,高之煜,等.绵羊肺炎支原体不同分离株的致病性比较 [J]. *动物医学进展*, 2023, 44 (10): 7-11.
- [10] 李媛,陶岳,阿依吐拉·肉孜,等.从绵羊肺脏中分离绵羊肺炎支原体的鉴定 [J]. *中国预防兽医学报*, 2006 (4): 375-379.
- [11] BESSER T E, CASSIRER E F, POTTER K A, et al. Epizootic pneumonia of bighorn sheep following experimental exposure to *Mycoplasma ovipneumoniae* [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (10): e110039.
- [12] RONG G, ZHAO J, HOU G, et al. Seroprevalence and molecular detection of *Mycoplasma ovipneumoniae* in goats in tropical China [J]. *Trop Anim Health Prod*, 2014, 46 (8): 1491-1495.
- [13] NIANG M, ROSEBUSCH R, ANDREWS J, et al. Occurrence of autoantibodies to cilia in lambs with a 'coughing syndrome' [J]. *Vet Immunol Immunopathol*, 1998, 64 (3): 191-205.
- [14] DASSANAYAKE R, SHANTHALINGAM S, HERNDON C, et al. *Mycoplasma ovipneumoniae* can predispose bighorn sheep to fatal *Mannheimia haemolytica* pneumonia [J]. *Vet Microbiol*, 2010, 145: 354-359.
- [15] 沈文,姜方配,鲁海富,等.人工感染绵羊肺炎支原体后绵羊血清中细胞因子的动态变化 [J]. *畜牧与兽医*, 2014, 46 (6): 89-91.
- [16] 郭海英,王明哲,陈冬梅,等.绵羊肺炎支原体感染羊细胞因子的动态变化 [J]. *畜牧与兽医*, 2015, 47 (8): 1-4.
- [17] 姜方配,沈文,鲁海富,等.ISG15蛋白对感染绵羊肺炎支原体的盘羊杂交羊的免疫调节作用 [J]. *中国预防兽医学报*, 2013, 35 (11): 925-928.
- [18] 刘海燕,王继雪,赵宁,等.重组SPLUNC1蛋白对感染绵羊肺炎支原体的盘羊杂交羊的免疫调节作用研究 [J]. *中国预防兽医学报*, 2018, 40 (5): 426-430.
- [19] BESSER T, CASSIRER E, POTTER K, et al. Association of *Mycoplasma ovipneumoniae* infection with population-limiting respiratory disease in free-ranging rocky mountain bighorn sheep (*Ovis canadensis canadensis*) [J]. *JCM*, 2008, 46 (2): 423-430.
- [20] CHENG G, ZHANG N, WANG Y, et al. Antibodies of IgG, IgA and IgM against human bronchial epithelial cell in patients with chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Clin Lab*, 2016, 62 (6): 1101-1108.

- [21] 李赵嘉, 孟然, 杨文娇, 等. 蒲公英水提物对热应激条件下奶牛产奶性能、血清生化指标、乳中体细胞数及粪便微生物多样性的影响 [J]. 动物营养学报, 2024, 36 (2): 1003-1019.
- [22] 徐腾腾. 复合植物提取物对奶生产奶性能、免疫及抗氧化的影响 [D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2019.
- [23] SHAMJI M, VALENTA R, JARDETZKY T, et al. The role of allergen-specific IgE, IgG and IgA in allergic disease [J]. Allergy, 2021, 76 (12): 3627-3641.
- [24] 魏僊僊. 免疫球蛋白和自身抗体在乙型肝炎肝硬化发病和进展中的表达及与预后的关系 [J]. 中国医药指南, 2023, 21 (32): 36-39.
- [25] 汪森. 肺炎支原体感染患儿免疫球蛋白 IgM、IgG、IgA 水平检测的临床价值体会 [J]. 当代医学, 2019, 25 (34): 165-166.
- [26] 朱香红, 金学锋. 肺炎支原体感染患儿血清 IgM、IgG、IgA 变化及其临床意义 [J]. 系统医学, 2017, 2 (15): 76-78.
- [27] 范彦希. 肺炎支原体感染患儿免疫球蛋白 IgM、IgG、IgA 水平变化与意义 [J]. 现代医学与健康研究电子杂志, 2020, 4 (1): 43-44.
- [28] YANG J, HOOPER W, PHILLIPS D, et al. Regulation of proinflammatory cytokines in human lung epithelial cells infected with *Mycoplasma pneumoniae* [J]. Infect Immun, 2002, 70 (7): 3649-3655.
- [29] SONG C, HE L, ZHANG J, et al. Fluorfenidone attenuates pulmonary inflammation and fibrosis via inhibiting the activation of NALP3 inflammasome and IL-1 β /IL-1R1/MyD88/NF- κ B pathway [J]. J Cell Mol Med, 2016, 20 (11): 2064-2077.
- [30] MAHMUTOVIC PERSSON I, MENZEL M, RAMU S, et al. IL-1 β mediates lung neutrophilia and IL-33 expression in a mouse model of viral-induced asthma exacerbation [J]. Respir Res, 2018, 19 (1): 16.
- [31] FAN H, LU B, YANG D, et al. Distribution and expression of IL-17 and related cytokines in children with *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia [J]. Jpn J Infect Dis, 2019, 72 (6): 387-393.
- [32] 彭丹, 何秋水. 肺炎支原体感染呼吸道菌群和细胞因子的研究进展 [J]. 国际呼吸杂志, 2020, 40 (21): 1654-1659.
- [33] SCHULTZ M, KNAPP S, FLORQUIN S, et al. Interleukin-18 impairs the pulmonary host response to *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Infect Immun, 2003, 71 (4): 1630-1634.
- [34] NARITA M, TANAKA H. Late increase of interleukin-18 levels in blood during *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia [J]. Cytokine, 2012, 59 (1): 18-19.
- [35] 李敏, 张迎辉. 血清 miR-23b-3p、IL-18 水平与肺炎支原体感染所致重症肺炎患儿的病情及预后的关系 [J]. 河南医学研究, 2023, 32 (1): 65-69.
- [36] ARORA S, AHMAD S, IRSHAD R, et al. TLRs in pulmonary diseases [J]. Life Sci, 2019, 233: 116671.
- [37] 丁鑫尧, 李树军. 重症肺炎支原体肺炎细胞免疫变化及 NF- κ B 与细胞因子相互作用的研究进展 [J]. 现代临床医学, 2023, 49 (3): 233-235.
- [38] 陈言, 岳新, 冯志海, 等. 基于 NLRP3 炎症小体介导细胞焦亡探讨中医药防治自身免疫性甲状腺炎 [J]. 中医学报, 2024, 39 (2): 297-303.
- [39] SALVATORE C, FONSECA-ATEN M, KATZ-GAYNOR K, et al. Respiratory tract infection with *Mycoplasma pneumoniae* in interleukin-12 knockout mice results in improved bacterial clearance and reduced pulmonary inflammation [J]. Infect Immun, 2007, 75 (1): 236-242.
- [40] SHAN C, XIONG Y, MIAO F, et al. Hydroxytyrosol mitigates *Mycoplasma gallisepticum*-induced pulmonary injury through downregulation of the NF- κ B/NLRP3/IL-1 β signaling pathway in chicken [J]. Poult Sci, 2023, 102 (5): 102582.
- [41] 宋维维, 袁冬兰, 朱丹丹, 等. 基于网络药理学与分子对接探讨二妙散治疗宫颈乳头瘤病毒感染的的作用机制 [J]. 现代药物与临床, 2023, 38 (11): 2706-2713.
- [42] 韦泽晶, 师丽敏, 雷湘兰, 等. 三丁酸甘油酯对沙门氏菌感染文昌鸡所致肝脏盲肠损伤的影响 [J]. 农业与技术, 2023, 43 (21): 115-119.
- [43] 张倩, 杨琨, 黄玉凤, 等. CD4 分子在牦牛主要淋巴器官的表达 [J]. 农业生物技术学报, 2015, 23 (9): 1254-1260.
- [44] 丁尊俄, 张双翔, 周碧君, 等. PRRS 不同疫苗组合对仔猪血清抗体水平和 CD3、CD4、CD8 分子表达量的影响 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2018 (18): 87-89.
- [45] 边世雄, 李云雷, 倪爱心, 等. 种鸽感染毛滴虫对乳鸽生长性能、胴体性能和免疫功能的影响 [J]. 中国畜牧兽医, 2022, 49 (4): 1461-1469.
- [46] SCHENTEN D, MARCON L, KARLSSON G, et al. Effects of soluble CD4 on simian immunodeficiency virus infection of CD4-positive and CD4-negative cells [J]. J Virol, 1999, 73 (7): 5373-5380.
- [47] 付晓政, 史彬林, 李侗宇, 等. 复合益生菌对奶牛免疫及抗氧化功能的影响 [J]. 粮食与饲料工业, 2014 (9): 56-58.
- [48] 岳远西, 史彬林, 闫素梅, 等. 黑沙蒿水提物对肉仔鸡免疫及抗氧化功能的影响 [J]. 饲料研究, 2015 (19): 49-53.
- [49] 吕静. 小儿肺炎支原体肺炎细胞免疫和体液免疫指标检测的临床价值 [J]. 实用临床医药杂志, 2019, 23 (6): 107-109.
- [50] 周迎春, 姜蓉, 蒋忠. 支气管肺炎患者 NLR 与 T 细胞免疫水平相关性 [J]. 河北医科大学学报, 2023 (11): 1285-1288.