

## 鸭疫里默氏菌感染对鸭生长发育及肠黏膜屏障功能的影响

陶志云<sup>1</sup>, 徐文娟<sup>1</sup>, 朱春红<sup>1</sup>, 施祖灏<sup>2</sup>, 刘宏祥<sup>1</sup>, 宋卫涛<sup>1</sup>, 章双杰<sup>1</sup>, 王志成<sup>1</sup>, 李慧芳<sup>1</sup>

(1. 江苏省家禽科学研究所, 江苏 扬州 225125; 2. 谱尼测试集团江苏有限公司, 江苏 苏州 215000)

**摘要:** 为了为鸭疫里默氏菌与机体的相互作用及作用机制研究提供基础数据, 以雏鸭为研究对象, 开展鸭人工感染鸭疫里默氏菌试验, 分别测定感染组和对照组 1、2、3、5、9、14 d 等不同时间段的体质量、小肠各肠段的长度以及血浆中内毒素和血清中乳酸脱氢酶含量; 荧光定量 PCR 法检测肠黏膜屏障功能相关基因 *MUC2* 和 *MYLK* 的表达量, 探讨鸭疫里默氏菌感染对鸭生长发育和肠黏膜屏障功能的影响。结果表明, 与对照组相比, 感染组 5、9 d 体质量显著降低; 感染鸭疫里默氏菌 5 d 十二指肠和空肠的长度显著降低; 感染鸭疫里默氏菌 1 d 血浆中内毒素和血清中乳酸脱氢酶的含量均显著增加; 鸭人工感染鸭疫里默氏菌的 *MUC2* 和 *MYLK* 表达量在十二指肠和空肠主要表现为下调, 而在回肠 *MUC2* 的表达量表现为先下降再上调, *MYLK* 的表达量表现为先下调再恢复至对照水平。综上, 鸭人工感染鸭疫里默氏菌会减缓鸭的体质量增长和小肠生长, 引起鸭的肠黏膜屏障功能相关基因的表达发生变化。

**关键词:** 鸭疫里默氏菌; 鸭; 小肠; 黏膜屏障

中图分类号: S858.32

文献标识码: A

文章编号: 1002-2481(2024)03-0153-06

## Effects of *Riemerella anatipestifer* Infection on the Growth and Intestinal Mucosal Barrier Function of Ducks

TAO Zhiyun<sup>1</sup>, XU Wenjuan<sup>1</sup>, ZHU Chunhong<sup>1</sup>, SHI Zuhao<sup>2</sup>, LIU Hongxiang<sup>1</sup>,

SONG Weitao<sup>1</sup>, ZHANG Shuangjie<sup>1</sup>, WANG Zhicheng<sup>1</sup>, LI Huifang<sup>1</sup>

(1. Jiangsu Institute of Poultry Science, Yangzhou 225125, China;

2. Pony Testing Group Jiangsu Co., Ltd, Suzhou 215000, China)

**Abstract:** To provide basic data for the study on the interaction and mechanism of action between *Riemerella anatipestifer* and the body, in this study, taking ducklings as the research object, experiments on artificial infection of duck with *Riemerella anatipestifer* were conducted. Body weight, the length of each intestinal segment, and the content of endotoxin and lactate dehydrogenase in blood of infection control and control groups at different time periods of 1, 2, 3, 5, 9, and 14 days were measured, the expression of *MUC2* and *MYLK* genes related to intestinal mucosal barrier function were detected by fluorescent quantitative PCR, and the effects of *Riemerella anatipestifer* infection on the growth and development and intestinal mucosal barrier function of ducks were investigated. The results showed that the body weight of 5 and 9 days of *Riemerella anatipestifer* infection was significantly lower than that of the control group. The length of duodenum and jejunum of 5 days of *Riemerella anatipestifer* infection was significantly lower than that of the control group. The contents of endotoxin and lactic acid in the blood of the *Riemerella anatipestifer* group were significantly increased on 1 day of *Riemerella anatipestifer* infection. The level of *MUC2* and *MYLK* genes in duodenum and jejunum were decline, while the level of *MUC2* in ileum decreased first and then increased, and that of *MYLK* decreased first and then returned to a level similar to control group. In conclusion, artificial infection of *Riemerella anatipestifer* could slow down body weight increase and small intestine growth, and cause changes in the expression of genes related to intestinal mucosal barrier function of ducks.

**Key words:** *Riemerella anatipestifer*; duck; small intestine; mucosal barrier

自 1932 年 HENDRISON 等<sup>[1]</sup>在病鸭群中分离 出鸭疫里默氏菌 (*Riemerella anatipestifer*) 以来, 鸭

收稿日期: 2023-04-26

基金项目: 江苏省现代农业(水禽)产业技术体系(JATS[2023]365); 国家家养动物种质资源库(2024)

作者简介: 陶志云(1979-), 女, 安徽滁州人, 副研究员, 主要从事家禽免疫与遗传育种研究工作。

通信作者: 李慧芳(1974-), 女, 山西阳泉人, 研究员, 博士, 主要从事家禽遗传育种与家禽资源保护研究工作。

疫里默氏菌病已成为全球最具破坏性的病原体之一<sup>[2-3]</sup>。其血清有多达 21 种,临床上多为不同血清间的混合或交替感染<sup>[4-5]</sup>。有研究发现,感染鸭疫里默氏菌致死的 SPF (Specific Pathogen Free, 无特定病原体) 鸭心、肝、脾、肺、脑和肾具有典型病变<sup>[6]</sup>。在江苏地区发现的 11 型鸭疫里默氏菌感染的鸭的病理学变化涉及心、肝、脾、肺、胰、脑、肠黏膜和法氏囊<sup>[7]</sup>。目前,对鸭疫里默氏菌的致病机制已有较多的研究,结果已证明了 AS87\_RS04190<sup>[8]</sup>、AS87\_RS02955<sup>[9]</sup>、PhoP<sup>[10]</sup> 等多个鸭疫里默氏菌的重要毒力相关因子。众所周知,细菌性疾病的发病机制及其发展是病原体和宿主之间复杂的相互作用过程。已有研究表明,细胞因子 IL-22<sup>[3]</sup> 和 IL-17<sup>[11-12]</sup> 等在机体对鸭疫里默氏菌的抗感染机制中发挥有重要作用。但鸭疫里默氏菌的致病机制及机体对该菌的抗病机制尚不完全清楚,尤其是鸭疫里默氏菌致肠黏膜损伤及肠道在抗鸭疫里默氏菌感染中的作用知之甚少。

肠道是一个高度复杂的生态系统,许多物种相互作用,宿主细胞相互作用,进而影响动物生理和对病原体的易感性<sup>[13]</sup>。有研究表明,寄生虫<sup>[14]</sup>、致病菌<sup>[15-16]</sup> 和病毒<sup>[17]</sup> 均会引起肠道微生物结构和肠道功能的改变。水禽育种与生产课题组前期通过 16S rDNA 测序的方法也证明鸭疫里默氏菌感染可以引起鸭直肠微生物结构的改变<sup>[18]</sup>,组织学检查发现该菌可引起鸭盲肠肠道损伤和免疫反应的改变<sup>[19]</sup>,表明鸭疫里默氏菌感染过程会对肠道造成损伤。

鸭疫里默氏菌感染鸭发病后的耐过者常表现为生长发育受阻,成为僵鸭,进而造成重大经济损失<sup>[20-21]</sup>。据此推测,鸭疫里默氏菌感染造成鸭生长发育受阻可能是由于该菌会引起鸭小肠的正常发育和功能发生改变。本课题组(水禽育种与生产研究室)前期通过 HE 染色观察了鸭疫里默氏菌感染鸭的小肠肠道形态结构,结果显示,鸭疫里默氏菌感染降低了鸭十二指肠、空肠和回肠黏膜厚度和肠绒毛长度<sup>[22]</sup>,证实了鸭疫里默氏菌感染影响鸭的小肠形态结构,但是否对小肠发育和肠黏膜屏障功能产生影响尚不清楚。

本研究通过对鸭疫里默氏菌感染鸭和未感染鸭不同时间点的体质量和小肠长度进行比较分析,以明确鸭疫里默氏菌感染对鸭生长发育的影响;进一步通过检测感染鸭血液中内毒素和乳酸脱氢酶含量变化,以及肠道组织中肠黏膜屏障功能相关基

因 *MUC2* 和 *MYLK* 的表达量变化,探讨鸭疫里默氏菌对鸭小肠发育和肠道屏障功能的影响,旨在为解释鸭疫里默氏菌致肠道损伤机制提供数据支持。

## 1 材料和方法

### 1.1 鸭人工感染试验及样品采集

人工感染鸭疫里默氏菌试验参考本课题组建立的鸭疫里默氏菌人工感染的方法开展<sup>[20]</sup>。鸭疫里默氏菌人工感染试验于 2022 年 5 月在江苏省家禽科学研究所试验动物房进行,在试验鸭 14 日龄时进行人工感染试验。试验鸭共 96 只,感染组和对照组各 48 只。鸭疫里默氏菌感染组鸭每只皮下注射  $1.0 \times 10^9$  cfu/mL 的菌液 0.5 mL,对照组每只鸭皮下注射等体积的生理盐水。在感染的 1、2、3、5、9 d 和 14 d,每组随机选择 8 只鸭称量体质量,分别用去热源肝素钠真空采血管和促凝血管采集颈静脉血液,每管 2 mL,用于内毒素和乳酸脱氢酶检测;屠宰后取出肠道,分离小肠各肠段,用皮尺测量长度,同时采集十二指肠、空肠和回肠组织于冻存管中,储存于液氮中,用于后续组织 RNA 提取。

### 1.2 内毒素检测

采用去热源肝素钠真空采血管收集血样,混匀后,3 000 r/min 离心 2 min,吸出血浆;采用试管定量显色基质法检测,具体操作按显色基质试剂盒(含偶氮)(EC80545,厦门萤试剂生物科技股份有限公司)的说明书要求进行,在波长为 545 nm 处读取吸光度值,根据标准曲线计算样品的内毒素浓度。

### 1.3 乳酸脱氢酶(LDH)含量和酶活检测

促凝管收集血液,待血液凝集分离出血清,1 000 r/min 离心 10 min 后取血清;然后利用 D-乳酸测试盒(EDLC-100,上海鑫乐生物科技有限公司)测定乳酸脱氢酶含量,具体操作按试剂盒说明书进行;最后在波长为 340 nm 处测定各管吸光度值,计算得出各管的酶活力。

### 1.4 鸭肠屏障功能相关基因表达检测

采用 TRNzol 法提取 RNA,然后利用 FastKing 一步法反转录 cDNA。使用 Primer premier 5.0 软件设计鸭 *MUC2* 和 *MYLK* 基因表达量的引物,以  $\beta$ -actin 作为内参,引物序列见表 1<sup>[23]</sup>。通过 Stratagene 公司的 Mx3000P 型 PCR 仪进行基因的荧光定量检测。RNA 提取、反转录和荧光定量 PCR 试剂均为天根生化科技(北京)有限公司产品:TRNzol 试剂(DP424),FastKing 一步法除基因组 cDNA 第 1 链合

成预混试剂(KR118),SuperReal PreMix Plus(SYBR Green)(FP205),所有操作步骤按说明书进行。

表1 鸭肠屏障功能相关基因引物  
Tab.1 Primer list of duck intestinal barrier function-related genes

| 基因<br>Gene       | NCBI登录号<br>NCBI accession number | 引物序列(5'-3')<br>Primer sequence(5'-3') | 扩增长度/bp<br>Amplification length | 退火温度/°C<br>Annealing temperature |
|------------------|----------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| MUC2-F           | XM_027458017.1                   | GTCAGTCATGGTGGCCGTGTAAC               | 141                             | 62                               |
| MUC2-R           |                                  | CGTCATCAAGGACTTGCACAGGAG              |                                 |                                  |
| MYLK-F           | XM_027461697.1                   | GCATGGCAAGGTCTGTAGGATCG               | 183                             | 62                               |
| MYLK-R           |                                  | AACAGGCAGCAACAGAAGGATGG               |                                 |                                  |
| $\beta$ -actin-F | EF667345.1                       | TGAGAGTAGCCCCTGAGGAGCAC               | 198                             | 62                               |
| $\beta$ -actin-R |                                  | TAACACCATCACCAGAGTCCATCAC             |                                 |                                  |

## 1.5 数据统计

鸭体质量、小肠长度及MUC2和MYLK基因表达差异分析均采用SPSS 20.0软件单因素方差分析ANOVA进行。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法分析MUC2和MYLK基因的相对表达量。

## 2 结果与分析

### 2.1 鸭疫里默氏菌感染对鸭体质量和小肠长度的影响

鸭疫里默氏菌感染对鸭体质量和小肠各段长度的影响如表2所示。

表2 鸭疫里默氏菌感染对鸭体质量和小肠各段长度的影响  
Tab.2 Effect of RA infection on the length of each intestinal segment and body weight of ducks

| 项目<br>Item         | 组别<br>Group | 1 d           | 2 d           | 3 d           | 5 d             | 9 d             | 14 d            |
|--------------------|-------------|---------------|---------------|---------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 体质量<br>Body weight | 对照组         | 885.71±17.51a | 873.75±39.15a | 893.75±49.21a | 1 050.63±38.06b | 1 174.28±44.53b | 1 372.63±56.39a |
|                    | 感染组         | 910.71±10.03a | 841.67±12.49a | 857.5±41.49a  | 876.25±26.70a   | 1 021.25±45.53a | 1 295.25±58.85a |
| 十二指肠<br>Duodenum   | 对照组         | 29.21±0.99a   | 28.06±1.19a   | 27.21±1.34a   | 31.07±1.49a     | 31.69±1.24a     | 31.5±0.53a      |
|                    | 感染组         | 29.89±0.51a   | 26.13±0.83a   | 27.56±0.94a   | 28.31±1.04a     | 30.5±0.83a      | 31.13±1.07a     |
| 空肠<br>Jejunum      | 对照组         | 70.10±0.64a   | 66.88±2.64a   | 68.07±1.43a   | 72.86±1.72b     | 75.25±1.68a     | 78.13±2.23a     |
|                    | 感染组         | 70.28±1.31a   | 64.06±1.33a   | 63.5±2.17a    | 65.81±3.39a     | 72.5±0.98a      | 75.13±2.74a     |
| 回肠<br>Ileum        | 对照组         | 66.17±0.84a   | 66.86±1.40b   | 68.79±1.86b   | 70.56±2.28b     | 71.44±1.27a     | 72.50±1.00a     |
|                    | 感染组         | 67.81±0.81a   | 64.31±1.51a   | 63.56±2.11a   | 65.44±2.53a     | 69.5±2.24a      | 71.31±2.29a     |

注:不同小写字母表示不同处理间差异显著( $P<0.05$ )。

Note: Different lowercase letters indicated significant difference in different treatment at 0.05 level.

由表2可知,与对照组相比,鸭感染鸭疫里默氏菌后1~3 d体质量略有下降但差异不显著,在感染后5、9 d体质量显著下降( $P<0.05$ ),感染后14 d体质量略有上升,但仍略低于对照组。鸭十二指肠的长度在鸭疫里默氏菌感染后的变化不显著;鸭空肠的长度在鸭疫里默氏菌感染后5 d显著短于对照组( $P<0.05$ ),其他时间点变化不显著;回肠的长度

在鸭疫里默氏菌感染后变化最明显,感染组的回肠的长度在2、3、5 d均显著短于对照组( $P<0.05$ )。

### 2.2 鸭疫里默氏菌感染对鸭肠黏膜通透性的影响

#### 2.2.1 检测鸭疫里默氏菌感染鸭血液中内毒素含量变化

由表3可知,与对照组相比,鸭疫里默氏菌感染后1 d感染组的内毒素含量显著增加( $P<0.05$ ),在其他时间点略有升高,但差异不显著。

表3 鸭疫里默氏菌感染对鸭血清内毒素的影响  
Tab.3 Effect of RA infection on endotoxin in duck serum

| 内毒素/(EU/mL)<br>Endotoxin |  | 1 d          | 2 d          | 3 d          | 5 d          | 9 d          | 14 d         |
|--------------------------|--|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 对照组<br>Control           |  | 66.27±15.42a | 60.38±13.25a | 71.31±15.76a | 65.14±28.91a | 71.88±20.37a | 72.74±26.62a |
| 感染组<br>Infection         |  | 90.18±7.31b  | 68.26±17.49a | 79.65±18.49a | 65.96±22.66a | 88.99±20.59a | 72.37±15.97a |
| P值<br>P value            |  | 0.032        | 0.663        | 0.469        | 0.975        | 0.062        | 0.696        |

注:不同小写字母表示同一时间不同组间相比差异显著( $P<0.05$ )。表4同。

Note: Compared with different groups of the same time, different lower case letters indicated significant differences( $P<0.05$ ). The same as Tab.4.

#### 2.2.2 鸭疫里默氏菌感染鸭血液中乳酸含量变化

由表4可知,与对照组相比,鸭乳酸含量在鸭

疫里默氏菌感染后 1 d 时显著增加( $P < 0.05$ ), 在其他时间点略有升高, 但差异不显著。

表 4 鸭疫里默氏菌感染对鸭血液中乳酸的影响  
Tab.4 Effect of RA infection on lactic acid in duck blood

| 乳酸/(mmol/L) | Lactic acid | 1 d        | 2 d        | 3 d        | 5 d        | 9 d        | 14 d       |
|-------------|-------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| 对照组         | Control     | 2.04±0.54a | 1.92±0.88a | 2.53±1.54a | 3.27±0.48a | 3.15±1.23a | 2.50±1.23a |
| 感染组         | Infection   | 4.58±1.19b | 2.14±0.77a | 2.57±1.09a | 3.41±2.64a | 3.59±1.67a | 2.21±0.80a |
| P 值         | P value     | 0.004      | 0.772      | 0.576      | 0.831      | 0.36       | 0.761      |

### 2.3 鸭疫里默氏菌感染鸭小肠肠黏膜屏障功能相关基因的表达量分析

由表 5 可知, 在十二指肠中, 与对照组相比, *MUC2* 的表达量在鸭疫里默氏菌感染后变化不明

显, 仅在感染后 5 d 显著下调( $P < 0.05$ ); *MYLK* 的表达水平在感染早期的表达量表现为下调, 尤其在感染后 1 d 显著下调( $P < 0.05$ ), 在感染后期表达量无明显变化。

表 5 鸭疫里默氏菌感染后鸭不同小肠段肠黏膜屏障相关基因的表达量变化  
Tab.5 Changes in the expression of intestinal mucosal barrier related genes of different intestinal segments from ducks infected with RA

| 肠段                 | 基因          | 组别    | 1 d        | 2 d        | 3 d        | 5 d        | 9 d        | 14 d       |
|--------------------|-------------|-------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Intestinal segment | Gene        | Group |            |            |            |            |            |            |
| 十二指肠<br>Duodenum   | <i>MUC2</i> | 对照组   | 1.08±0.17a | 1.02±0.17a | 0.99±0.21a | 1.08±0.10b | 1.03±0.10a | 0.98±0.13a |
|                    |             | 感染组   | 1.28±0.18a | 1.10±0.19a | 1.38±0.17a | 0.52±0.12a | 1.40±0.20a | 1.08±0.12a |
|                    |             | P 值   | 0.675      | 0.547      | 0.289      | 0.038      | 0.087      | 0.361      |
|                    | <i>MYLK</i> | 对照组   | 1.05±0.23b | 0.87±0.11a | 1.03±0.18a | 1.05±0.15a | 1.13±0.26a | 1.02±0.13a |
|                    |             | 感染组   | 0.55±0.11a | 0.66±0.13a | 0.68±0.21a | 1.02±0.15a | 1.00±0.36a | 1.01±0.14a |
|                    |             | P 值   | 0.036      | 0.098      | 0.121      | 0.652      | 0.754      | 0.821      |
| 空肠<br>Jejunum      | <i>MUC2</i> | 对照组   | 1.05±0.13a | 0.92±0.03b | 1.06±0.08a | 1.01±0.10b | 0.96±0.06a | 0.98±0.11a |
|                    |             | 感染组   | 0.92±0.08a | 0.47±0.05a | 1.07±0.12a | 0.35±0.08a | 1.56±0.17a | 1.14±0.05a |
|                    |             | P 值   | 0.568      | 0.027      | 0.578      | 0.015      | 0.056      | 0.485      |
|                    | <i>MYLK</i> | 对照组   | 1.05±0.15a | 0.92±0.24a | 1.01±0.25a | 0.96±0.21b | 1.04±0.17a | 0.98±0.13a |
|                    |             | 感染组   | 0.72±0.22a | 0.84±0.24a | 0.78±0.19a | 0.49±0.06a | 0.73±0.14a | 0.93±0.28a |
|                    |             | P 值   | 0.201      | 0.743      | 0.352      | 0.039      | 0.096      | 0.534      |
| 回肠<br>Ileum        | <i>MUC2</i> | 对照组   | 1.05±0.19a | 1.01±0.14b | 0.93±0.04a | 1.02±0.13b | 1.02±0.12a | 1.06±0.09a |
|                    |             | 感染组   | 1.07±0.14a | 0.51±0.05a | 0.69±0.11a | 0.31±0.12a | 1.85±0.09b | 1.94±0.17b |
|                    |             | P 值   | 0.813      | 0.035      | 0.058      | 0.032      | 0.041      | 0.035      |
|                    | <i>MYLK</i> | 对照组   | 1.11±0.17b | 1.07±0.17b | 0.97±0.24a | 1.01±0.31a | 1.01±0.25a | 1.02±0.36a |
|                    |             | 感染组   | 0.33±0.84a | 0.46±1.10a | 1.17±0.15a | 0.81±0.54a | 1.36±0.39a | 0.93±0.16a |
|                    |             | P 值   | 0.012      | 0.043      | 0.498      | 0.657      | 0.132      | 0.489      |

注: 不同小写字母表示同一基因同一时间不同组间相比差异显著( $P < 0.05$ )。  
Note: Compared with different groups of the same gene at the same time, different lower case letters indicated significant differences( $P < 0.05$ ).

在空肠中, 与对照组相比, *MUC2* 的表达量在鸭疫里默氏菌感染后 2、5 d 显著下调( $P < 0.05$ ), 其他时间点略有下调或上调, 但差异不显著; *MYLK* 的表达量在感染 1~9 d 总体表现为下调趋势, 尤其在感染后 5 d 显著下调( $P < 0.05$ ), 感染后 14 d 的表达水平变化不明显。

回肠中, 与对照组相比, *MUC2* 的表达量在鸭疫里默氏菌感染后 1~14 d 表现为先下降后升高的趋势, 在感染后 2、5 d 显著下调( $P < 0.05$ ), 9、14 d 显著上调( $P < 0.05$ ); *MYLK* 的表达水平在感

染后 1、2 d 显著下调( $P < 0.05$ ), 其他时间点差异不显著。

### 3 结论与讨论

小肠是家禽重要的组织器官, 其发育程度是限制动物生长的主要因素, 而鸭疫里默氏菌感染后, 发病幸存的鸭子常表现为生长发育受阻, 成为僵鸭<sup>[24]</sup>。推测鸭疫里默氏菌感染影响了鸭的肠道健康, 妨碍了鸭肠道的正常生长发育及其功能。在鸭疫里默氏菌感染对鸭小肠黏膜形态结构影响的研

究中发现,鸭疫里默氏菌感染1~9 d的鸭的十二指肠、空肠和回肠的肠黏膜厚度、肠绒毛长度以及隐窝深度均有不同程度下降<sup>[25]</sup>,说明鸭疫里默氏菌感染影响小肠的消化吸收功能。本研究结果表明,鸭疫里默氏菌感染后鸭的体质量下降,尤其在感染的5、9 d下降最为明显,且空肠和回肠的长度在鸭疫里默氏菌感染后5 d也明显低于对照组,表明鸭疫里默氏菌感染阻碍了鸭的生长发育,且对小肠的影响主要表现在中后段,这可能与鸭感染鸭疫里默氏菌后小肠的消化吸收功能降低有关。

血液中内毒素和乳酸水平是衡量肠道屏障损伤程度的2个重要指标。肠黏膜损伤的大鼠血清中内毒素和乳酸的含量明显增加<sup>[26]</sup>。重症肿瘤和肝硬化患者的内毒素和乳酸含量也显著增加。目前,内毒素和乳酸含量变化已成为患者肠黏膜屏障功能的早期诊断指标<sup>[27-28]</sup>。在大肠埃希氏菌感染加抗生素诱导的方法建立的肉鸡肠黏膜通透性模型中,肉鸡血液内毒素和乳酸含量明显增加,在感染24 h时,感染组和对照组间差异极显著<sup>[29]</sup>。本研究发现,鸭疫里默氏菌感染后1 d,鸭血液中的内毒素和乳酸含量均显著增加,在其他时间点略有升高,但差异不显著。说明鸭疫里默氏菌感染主要影响感染早期的肠黏膜通透性,对中后期影响较小,间接说明鸭疫里默氏菌感染损伤了鸭肠道黏膜屏障,进而影响了肠道屏障功能。

在肠道,*MUC2*蛋白为肠内抗菌蛋白及共生菌群提供黏附位点,在抵御肠内致病菌及有害物质入侵等方面发挥着重要功能<sup>[30-31]</sup>。研究表明,多种疾病和癌症与*MUC2*的功能缺乏有关。如*MUC2*<sup>-/-</sup>小鼠会自发的发展为结肠炎<sup>[31]</sup>。进一步研究表明,*MUC2*<sup>-/-</sup>小鼠的肠道内细菌与上皮细胞直接接触,并深入隐窝,可发展为炎症和癌症<sup>[32]</sup>。肌球蛋白轻链激酶(Myosin Light Chain Kinase, MYLK)是免疫球蛋白基因超家族的成员<sup>[33]</sup>。HALIM<sup>[34]</sup>研究表明,部分敲除MYLK基因的小鼠表现为严重的肠道运动障碍和膀胱功能异常。NIGHOT等<sup>[35]</sup>研究表明,作为革兰氏阴性菌主要成分的脂多糖诱导的肠黏膜通透性增加过程中需要MYLK的参与。因此,*MUC2*和MYLK是与肠道功能密切相关的基因。本研究发现,*MUC2*和MYLK基因的表达量在3个不同小肠肠段鸭疫里默氏菌感染后的至少1个时间点发生了改变,且主要表现为表达量下调,这一结果与在其他物种肠道损伤过程中*MUC2*和MYLK表达量下降一致,说明鸭疫里默氏菌感染

引起肠道损伤与*MUC2*和MYLK有关。

综上所述,鸭疫里默氏菌感染会导致鸭生长受阻,且可能与鸭疫里默氏菌感染引起的小肠肠道损伤、肠道吸收功能下降有关。*MUC2*和MYLK基因表达下降及肠黏膜通透性改变,可能是鸭疫里默氏菌的致病的重要原因,该研究为鸭疫里默氏菌与机体的相互作用及作用机制研究提供了基础数据。

#### 参考文献:

- [1] HENDRICKSON J M, HILBERT K F. A new and serious septicaemic disease of young ducks with a description of the causative organism, *Pfeifferella anatipestifer*[J]. The Cornell Veterinarian, 1932, 22: 239-252.
- [2] 张大丙, 郭玉璞. 鸭疫里默氏菌[J]. 中国动物保健, 2001, 3(7): 20-22.  
ZHANG D B, GUO Y P. *Riemerella anatipestifer*[J]. China Animal Health, 2001, 3(7): 20-22.
- [3] FLORES R A, CAMMAYO P L T, NGUYEN B T, et al. Duck interleukin-22: identification and expression analysis in *Riemerella anatipestifer* infection[J]. Journal of Immunology Research, 2021, 2021: 3862492.
- [4] LIU H W, WANG X L, DING C, et al. Development and evaluation of a trivalent *Riemerella anatipestifer*-inactivated vaccine [J]. Clinical and Vaccine Immunology, 2013, 20(5): 691-697.
- [5] 韩心语, 邓建峰, 张丽霞, 等. 鸭疫里氏杆菌的分离鉴定及耐药性分析[J]. 山西农业科学, 2021, 49(5): 675-678.  
HAN X Y, DENG J F, ZHANG L X, et al. Isolation, identification and drug resistance analysis of *Riemerella anatipestifer*[J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2021, 49(5): 675-678.
- [6] 帕提古丽·吾马尔, 郭东春, 张爱芹, 等. 鸭疫里默氏菌的分离鉴定及其对SPF鸭的致病性研究[J]. 中国预防兽医学报, 2013, 35(2): 117-120.  
PATIGULI W, GUO D C, ZHANG A Q, et al. Isolation and identification of *Riemerella anatipestifer* and the pathogenicity to SPF duck[J]. Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine, 2013, 35(2): 117-120.
- [7] 云水丽, 杨勇, 王小波, 等. 11型鸭疫里默氏杆菌分离鉴定及致病性研究[J]. 中国预防兽医学报, 2009(8): 605-609.  
YUN S L, YANG Y, WANG X B, et al. Isolation and identification of serotype 11 *Riemerella anatipestifer*[J]. Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine, 2009(8): 605-609.
- [8] CHEN Z C, NIU P F, REN X M, et al. *Riemerella anatipestifer* T9SS effector SspA functions in bacterial virulence and defending natural host immunity[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2022, 88(11): e0240921.
- [9] ZHU M, CHEN Z C, SHEN R Y, et al. *Riemerella anatipestifer* AS87\_RS02955 acts as a virulence factor and displays endonuclease activity[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2022, 88(19): e0127622.
- [10] ZHANG Y, WANG Y, ZHANG Y H, et al. Genome-wide analysis reveals that PhoP regulates pathogenicity in *Riemerella anatipestifer*[J]. Microbiology Spectrum, 2022, 10(5): e0188322.
- [11] DIAZ J A R, KIM W H, FERNANDEZ C P, et al. Identification and expression analysis of duck interleukin-17D in *Riemerella anatipestifer* infection[J]. Developmental & Comparative

- Immunology, 2016, 61: 190-197.
- [12] CAMMAYO P L T, FERNANDEZ-COLORADO C P, FLORES R A, et al. IL-17A treatment influences murine susceptibility to experimental *Riemerella anatipestifer* infection[J]. Developmental & Comparative Immunology, 2020, 106: 103633.
- [13] RANGANK J, HANG H C. Biochemical mechanisms of pathogen restriction by intestinal bacteria[J]. Trends in Biochemical Sciences, 2017, 42(11): 887-898.
- [14] RAPIN A, CHUAT A, LEBON L, et al. Infection with a small intestinal helminth, *Heligmosomoides polygyrus bakeri*, consistently alters microbial communities throughout the murine small and large intestine[J]. International Journal for Parasitology, 2020, 50(1): 35-46.
- [15] HERNANDEZ-PATLAN D, SOLIS-CRUZ B, PONTIN K P, et al. Evaluation of ascorbic acid or curcumin formulated in a solid dispersion on *Salmonella* enteritidis infection and intestinal integrity in broiler chickens[J]. Pathogens, 2019, 8(4): 229.
- [16] HUANG T, PENG X Y, GAO B, et al. The effect of *Clostridium butyricum* on gut microbiota, immune response and intestinal barrier function during the development of necrotic enteritis in chickens[J]. Frontiers in Microbiology, 2019(10): 2309.
- [17] WU Y J, LIU Z N, ZHU E P, et al. Changes in the small intestine mucosal immune barrier in Muscovy ducklings infected with Muscovy duck reovirus[J]. Veterinary Microbiology, 2019, 233: 85-92.
- [18] 陶志云, 朱春红, 施祖灏, 等. 鸭疫里默氏菌感染对鸭肠道菌群结构的影响[J]. 中国畜牧兽医, 2021, 48(6): 2129-2139.  
TAO Z Y, ZHU C H, SHI Z H, et al. Effect of *Riemerella anatipestifer* infection on the microflora of ducks[J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2021, 48(6): 2129-2139.
- [19] TAO Z Y, ZHU C H, XU W J, et al. *Riemerella anatipestifer* infection affects intestinal barrier structure and immune reactions in the duck caecum[J]. Avian Pathology, 2020, 49(6): 572-580.
- [20] 宁玲忠, 雷红宇, 胡仕凤, 等. 鸭疫里默氏菌病研究进展[J]. 湖南畜牧兽医, 2013(3): 4-5.  
NING L Z, LEI H Y, HU S F, et al. Research progress of *Riemerella anatipestifer* disease in ducks[J]. Hunan Journal of Animal Science & Veterinary Medicine, 2013(3): 4-5.
- [21] 朱斌. 鸭疫里默氏杆菌病防治技术[J]. 水禽世界, 2016(1): 39-41.  
ZHU B. Control techniques of *Riemerella anatipestifer* disease in ducks[J]. Waterfowl World, 2016(1): 39-41.
- [22] 陶志云, 徐文娟, 施祖灏, 等. 感染鸭疫里默氏菌对鸭小肠黏膜形态结构的影响[J]. 江苏农业科学, 2022, 50(8): 166-168, 175.  
TAO Z Y, XU W J, SHI Z H, et al. Influence of *Riemerella anatipestifer* infection on morphology structure of small intestinal mucosa of ducks[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2022, 50(8): 166-168, 175.
- [23] 韩雨晴, 薄素雪, 严飞飞, 等. 不同品种猪 *PVALB* 基因多态性及其在肌肉组织的表达差异分析[J]. 河南农业科学, 2023, 52(5): 150-155.  
HAN Y Q, BO S X, YAN F F, et al. Analysis of porcine *PVALB* gene polymorphism and differential expression in muscle tissues of different pig breeds[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2023, 52(5): 150-155.
- [24] 李雪岚, 王静, 闫丽辉, 等. 鸭疫里默氏杆菌病的病原及发病特点[J]. 畜牧兽医科技信息, 2013(3): 12-13.  
LI X L, WANG J, YAN L H, et al. Pathogen and characteristics of *Riemerella anatipestifer* disease in ducks[J]. Chinese Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2013(3): 12-13.
- [25] 向未, 陈辉, 姜朝丽, 等. 三黄胰瘿膏对重症急性胰腺炎模型大鼠肠黏膜屏障功能及血清内毒素、二胺氧化酶、D-乳酸的影响[J]. 实用中医药杂志, 2022, 38(8): 1279-1281.  
XIANG W, CHEN H, JIANG C L, et al. Effects of Sanhuang yidan ointment on intestinal mucosal barrier function and serum endotoxin, diamine oxidase and D-lactic acid in rats with severe acute pancreatitis[J]. Journal of Practical Traditional Chinese Medicine, 2022, 38(8): 1279-1281.
- [26] 桂伟. 重症肿瘤患者肠道功能评估与血清细菌内毒素、D-乳酸及二胺氧化酶变化的相关性研究[J]. 中国基层医药, 2018, 4(22): 2962-2964.  
GUI W. The relationship between the evaluation of intestinal function and the changes of serum bacterial endotoxin, D-lactic acid and two amine oxidase in patients with severe tumor[J]. Chinese Journal of Primary Medicine and Pharmacy, 2018, 4(22): 2962-2964.
- [27] 姜冰. 肝硬化患者 DAO、内毒素、D-乳酸变化及在肠黏膜屏障功能评估中的作用[J]. 中国实用医药, 2017, 12(33): 33-34.  
JIANG B. Changes of DAO, endotoxin and D-lactic acid in patients with liver cirrhosis and their roles in the evaluation of intestinal mucosal barrier function[J]. China Practical Medicine, 2017, 12(33): 33-34.
- [28] 黄启亮, 李丹, 谢莉敏, 等. 肉鸡肠粘膜通透性模型的建立[J]. 家禽科学, 2015(6): 3-6.  
HUANG Q L, LI D, XIE L M, et al. Construction intestinal permeability model for broilers[J]. Poultry Science, 2015(6): 3-6.
- [29] ALLEN A, HUTTON D A, PEARSON J P. The *MUC2* gene product: a human intestinal mucin[J]. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 1998, 30(7): 797-801.
- [30] LIU Y, YU X J, ZHAO J X, et al. The role of *MUC2* mucin in intestinal homeostasis and the impact of dietary components on *MUC2* expression[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 164: 884-891.
- [31] VAN DER SLUIS M, DE KONING B A E, DE BRUIJN A C J M, et al. *Muc2*-deficient mice spontaneously develop colitis, indicating that *MUC2* is critical for colonic protection[J]. Gastroenterology, 2006, 131(1): 117-129.
- [32] JOHANSSON M E V, PHILLIPSON M, PETERSSON J, et al. The inner of the two *Muc2* mucin-dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2008, 105(39): 15064-15069.
- [33] LAZAR V, GARCIA J G. A single human myosin light chain kinase gene (*MLCK*; *MYLK*) [J]. Genomics, 1999, 57(2): 256-267.
- [34] HALIM D, BROSENS E, MULLER F, et al. Loss-of-function variants in *MYLK* cause recessive megacystis microcolon intestinal hypoperistalsis syndrome[J]. The American Journal of Human Genetics, 2017, 101(1): 123-129.
- [35] NIGHOT M, RAWAT M, AL-SADIR, et al. Lipopolysaccharide-induced increase in intestinal permeability is mediated by TAK-1 activation of *IKK* and *MLCK/MYLK* gene[J]. The American Journal of Pathology, 2019, 189(4): 797-812.