



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105147716 B

(45)授权公告日 2018.06.05

(21)申请号 201510385579.2

(22)申请日 2015.06.30

(65)同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 105147716 A

(43)申请公布日 2015.12.16

(73)专利权人 山东农业大学  
地址 271018 山东省泰安市岱宗大街61号

(72)发明人 赵晓娜 孙文静 刘建柱 马滕菲  
郝盼 王胜华

(51) Int. Cl.

A61K 31/715(2006.01)

A61K 39/39(2006.01)

A61P 37/04(2006.01)

A61P 31/14(2006.01)

A61K 36/481(2006.01)

(56)对比文件

CN 1985875 A,2007.06.27,

CN 103550244 A,2014.02.05,

杨鸿 等.玉屏风复合多糖对免疫抑制小鼠的免疫调节作用.《中国农学通报》.2014,第30卷(第35期),93-96.

张述斌 等.黄芪多糖、淫羊藿多糖对鸡新城疫疫苗免疫增强作用的研究.《甘肃畜牧兽医》.2004,第34卷(第4期),24-25.

审查员 郑茹

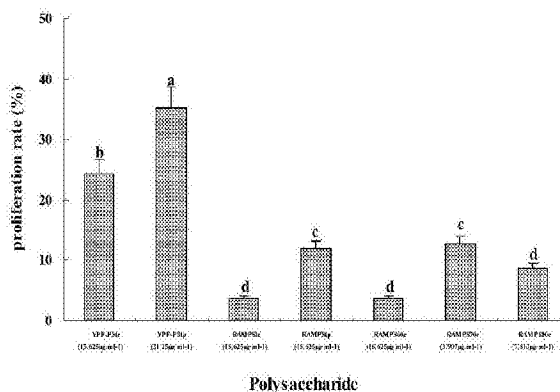
权利要求书1页 说明书13页 附图4页

(54)发明名称

一种新城疫疫苗玉屏风多糖免疫增强剂

(57)摘要

本发明属于于畜禽免疫领域,提供了一种畜禽免疫佐剂,具体公开了一种新城疫疫苗玉屏风多糖免疫增强剂,主要采用黄芪、白术、防风按质量比3:1:1,通过水煎-醇沉法制备而得,其重要成分为玉屏风多糖;采用这种免疫增强剂,与疫苗配合使用,能增强动物免疫功能,提高动物的抗病力和疫苗的保护率,因而在预防和控制动物传染性疾病上有很大的推广价值。



1. 一种新城疫疫苗玉屏风多糖免疫增强剂,其特征在于:成分为玉屏风多糖,所述的玉屏风多糖采用黄芪、白术、防风按质量比3:1:1,通过水煎-醇沉法制备而得;

其中所述玉屏风多糖是按如下方法提取的:

以玉屏风散1000g计,将黄芪、白术、防风按质量比3:1:1配置成1000 g玉屏风散,加入8倍质量的水浸泡30 min;之后煮沸1h,过滤后药渣加入6倍质量的水煮沸1h,过滤后滤渣再次加入6倍质量的水煮沸1h过滤,合并三次滤液,将滤液加热浓缩至1000 mL,冷却后3000 rpm离心10 min,除去杂质,蒸馏水定容制成1000 mL;用一步醇沉法提取,向上述浓缩液中缓慢加入95wt%乙醇使混合液中乙醇的终浓度达80wt%,边加边搅拌,添加完成后静置24 h,离心,取沉淀置于60 °C烘干箱干燥,即得玉屏风总多糖--YPF-PS<sub>tc</sub>;

对上述获得的玉屏风总多糖--YPF-PS<sub>tc</sub>进行纯化,具体步骤如下:

取YPF- PS<sub>tc</sub>500 mg溶解于10 mL蒸馏水中,得到50mg·mL<sup>-1</sup>样品,之后用1.6 cm×90 cm层析柱,介质为Sephadex A-25,流速0.42 mL·min<sup>-1</sup>上样,之后采用分部收集,用0.05 mol·L<sup>-1</sup> NaCl和1 mol·L<sup>-1</sup> NaCl各400 mL梯度洗脱,洗脱液经透析袋透析去除氯化钠和杂质即得纯化多糖;

所述的玉屏风多糖作为新城疫疫苗免疫增强剂时的具体用量为:每单位剂量疫苗配合9 mg中药免疫增强剂使用。

## 一种新城疫疫苗玉屏风多糖免疫增强剂

### 技术领域

[0001] 本发明属于于畜禽免疫领域,提供了一种畜禽免疫佐剂,具体公开了一种新城疫疫苗中药玉屏风多糖免疫增强剂。

### 背景技术

[0002] 随着中国经济的发展、畜牧业快速增长,动物疫病不仅给畜牧业生产造成巨大的经济损失,而且某些人兽共患病,直接威胁着人类的生存和发展。现在人们已经认识到,机体免疫系统的紊乱更易发生感染。但由于化学药物有用药时间长、疗效持续时间短、药物残留、环境污染等缺点,而且动物机体的免疫应答,有着极其复杂的过程,多种因素的参与,所以免疫抑制产生时,常不是单一的化学免疫增强剂所能奏效,因此目前特别缺乏高效低毒的免疫增强剂。而中药在这方面则有比较明显的特色和优势。许多中药及其复方以整体调整、平衡阴阳为特点,使机体达到和维持免疫稳定,具有持续作用时间长、无残留、对动物机体刺激小等优点,所以成为较理想的免疫增强剂。

[0003] 中药免疫增强剂与疫苗配合使用,能增强动物免疫功能,提高动物的抗病力和疫苗的保护率,因而在预防和控制动物传染性疾病上有很大的推广价值。多糖因为其显著的生物活性,已引起人们在研发上的极大兴趣。

### 发明内容

[0004] 针对现有技术存在的诸多不足,本发明提供了一种新城疫疫苗中药玉屏风多糖免疫增强剂,主要采用黄芪、白术、防风按质量比3:1:1,通过水煎-醇沉法制备而得,其重要成分为玉屏风多糖;采用这种免疫增强剂,与疫苗配合使用,能增强动物免疫功能,提高动物的抗病力和疫苗的保护率,因而在预防和控制动物传染性疾病上有很大的推广价值。

[0005] 本发明的具体技术方案是:

[0006] 一种新城疫疫苗中药玉屏风多糖免疫增强剂,成分为玉屏风多糖,所述的玉屏风多糖采用黄芪、白术、防风按质量比3:1:1,通过水煎-醇沉法制备而得;

[0007] 其中所述玉屏风多糖是按如下方法提取的:

[0008] 以玉屏风散1000g计,将黄芪、白术、防风按质量比3:1:1配置成1000g玉屏风散,加入8倍质量的水浸泡30min;之后煮沸1h,过滤后药渣加入6倍质量的水煮沸1h,过滤后滤渣再次加入6倍质量的水煮沸1h过滤,合并三次滤液,将滤液加热浓缩至1000mL,冷却后3000rpm离心10min,除去杂质,蒸馏水定容制成1000mL;使其终浓度为1g/mL;

[0009] 之后用一步醇沉法提取,向上述浓缩液中缓慢加入95wt%乙醇使混合液中乙醇的终浓度达80wt%,边加边搅拌,添加完成后静置24h,离心,取沉淀置于60℃烘干箱干燥,即得玉屏风总多糖--YPF-PS<sub>tc</sub>;

[0010] 为了达到免疫增强剂的要求,发明人进一步对上述获得的玉屏风总多糖--YPF-PS<sub>tc</sub>进行了纯化,具体步骤如下:

[0011] 分别取YPF-PS<sub>tc</sub> 500mg溶解于10mL蒸馏水中,得到50mg·mL<sup>-1</sup>样品,之后层析柱

(1.6cm×90cm), 介质为Sephadex A-25, 流速 $0.42\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 上样, 之后采用分部收集, 用 $0.05\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{NaCl}$ 和 $1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{NaCl}$ 各400mL梯度洗脱, 洗脱液经透析袋透析去除氯化钠和杂质即得纯化多糖(YPF-PS<sub>tp</sub>)。

[0012] 在获得上述的玉屏风总多糖--YPF-PS<sub>tc</sub>后, 发明人采用RAMPS<sub>tc</sub>、RAMPS<sub>tp</sub>、各白术分级多糖(RAMPS<sub>60c</sub>、RAMPS<sub>70c</sub>和RAMPS<sub>80c</sub>)作为对照对其免疫增强效果进行了评价, 结果显示玉屏风多糖免疫增强剂能显著增强新城疫疫苗免疫雏鸡的血清抗体效价, 促进外周淋巴细胞增殖, 促进淋巴细胞进入S期和G2/M期, 提高CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞亚群的百分率, 提高雏鸡免疫器官指数, 能显著提高新城疫疫苗的免疫效果。

[0013] 同时发明人将每个多糖设为5个浓度, 分别为2、4、6、8、100mg mL<sup>-1</sup>, 在雏鸡14天时, 滴鼻点眼新城疫疫苗, 同时肌肉注射0.5mL多糖, 连续三天, 28天时加强免疫, 在初免后7、14、21、28天时抽血测定抗体效价, 来确定免疫效果最好的浓度为6mg mL<sup>-1</sup>。所以我们需要的玉屏风免疫增强剂的剂量为 $6\text{mgmL}^{-1}\times 0.5\text{mL}\times 3$ 天。

[0014] 由此确定了玉屏风多糖作为新城疫疫苗免疫增强剂时的具体用量为: 每单位剂量疫苗配合9mg中药免疫增强剂使用。

[0015] 综上所述, 采用这种免疫增强剂, 与新城疫疫苗配合使用, 能增强动物免疫功能, 提高动物的抗病力和疫苗的保护率, 因而在预防和控制动物传染性疾病上有很大的推广价值。

## 附图说明

[0016] 图1为各种多糖单独刺激外周血淋巴细胞最高细胞增殖率的变化柱状图;

[0017] 图2为多糖协同PHA刺激时各组的最高淋巴细胞增殖率的变化柱状图;

[0018] 图3为多糖协同PHA刺激在不同时间点对鸡淋巴细胞周期分布的变化柱状图;

[0019] 图4为在不同时间点对鸡淋巴细胞亚群CD4<sup>+</sup>的影响柱状图;

[0020] 图5为在不同时间点对鸡淋巴细胞亚群CD8<sup>+</sup>的影响柱状图;

[0021] 图6为新城疫IV系弱毒苗免疫雏鸡后血清ND-HI抗体效价的变化图( $\log_2, n=6$ );

[0022] 图7为新城疫IV系弱毒苗免疫雏鸡后各组胸腺指数的动态变化图( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}, n=4$ );

[0023] 图8为新城疫IV系弱毒苗免疫雏鸡后各组脾脏指数的动态变化图( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}, n=4$ );

[0024] 图9为新城疫IV系弱毒苗免疫雏鸡后各组法氏囊指数的动态变化图( $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}, n=4$ )

[0025] 图10为新城疫IV系弱毒苗免疫雏鸡后多糖在不同时间点对鸡淋巴细胞周期分布的变化柱状图( $n=4$ );

[0026] 图11为新城疫IV系弱毒苗免疫雏鸡后在不同时间点对鸡淋巴细胞亚群CD4<sup>+</sup>的影响柱状图;

[0027] 图12为新城疫IV系弱毒苗免疫雏鸡后在不同时间点对鸡淋巴细胞亚群CD8<sup>+</sup>的影响柱状图。

## 具体实施方式

[0028] 以下通过实施例形式的具体实施方式, 对本发明的上述内容做进一步的详细说明, 但不应将此理解为本发明上述主题的范围仅限于以下的实例。凡基于本发明上述内容

所实现的技术均属于本发明的范围。

[0029] 实施例1多糖的制备

[0030] 以玉屏风散1000g计,将黄芪、白术、防风按质量比3:1:1配置成1000g玉屏风散,加入8倍质量的水浸泡30min;之后煮沸1h,过滤后药渣加入6倍质量的水煮沸1h,过滤后滤渣再次加入6倍质量的水煮沸1h过滤,合并三次滤液,将滤液加热浓缩至1000mL,冷却后3000rpm离心10min,除去杂质,蒸馏水定容制成1000mL;用一步醇沉法提取,向上述浓缩液中缓慢加入95wt%乙醇使混合液中乙醇的终浓度达80wt%,边加边搅拌,添加完成后静置24h,离心,取沉淀置于60℃烘干箱干燥,即得玉屏风总多糖--YPF-PS<sub>tc</sub>。

[0031] 实施例2多糖的纯化

[0032] 分别取YPF-PS<sub>tc</sub> 500mg溶解于10mL蒸馏水中,得到50mg·mL<sup>-1</sup>样品,之后层析柱(1.6cm×90cm),介质为Sephadex A-25,流速0.42mL·min<sup>-1</sup>上样,之后采用分部收集,用0.05mol·L<sup>-1</sup>NaCl和1mol·L<sup>-1</sup>NaCl各400mL梯度洗脱,洗脱液经透析袋透析去除氯化钠和杂质即得纯化多糖(YPF-PS<sub>tp</sub>)。

[0033] 实施例3体外免疫效果的比较

[0034] 方法:以玉屏风多糖为试验材料,以RAMPS<sub>tc</sub>、RAMPS<sub>tp</sub>、各白术分级多糖(RAMPS<sub>60c</sub>、RAMPS<sub>70c</sub>和RAMPS<sub>80c</sub>)作为对照。首先测定3个方剂对外周血淋巴细胞的安全浓度,然后将3个方剂用细胞培养液(RPMI1640)分别稀释成62.5、31.25、15.625、7.813、3.907μg·mL<sup>-1</sup>一共5个工作浓度,分别加入到培养的鸡外周血淋巴细胞中,在酶联免疫仪上检测570nm处的吸光值(A<sub>570</sub>值),作为淋巴细胞增殖的指标。并按公式计算各多糖的最高细胞增殖率:最高细胞增殖率=(多糖组最高A<sub>570</sub>值-细胞对照组A<sub>570</sub>值)/细胞对照组A<sub>570</sub>值×100%。筛选出RAMPS<sub>60c</sub>作为对照方1和RAMPS<sub>tp</sub>作为对照方2,在流式细胞仪上检测各个时间点细胞的周期分布以及CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞亚群的影响。

[0035] 结果:

[0036] (1) 多糖单独刺激时各组淋巴细胞增殖的变化

[0037] YPF-PS<sub>tc</sub>和RAMPS<sub>tp</sub>在15.625-62.5μg·mL<sup>-1</sup>、YPF-PS<sub>tp</sub>在7.813-62.5μg·mL<sup>-1</sup>、RAMPS<sub>70c</sub>在31.25μg·mL<sup>-1</sup>时的A<sub>570</sub>值显著高于细胞对照组(P<0.05)(表1),表明它们在这些浓度均能显著促进鸡外周血淋巴细胞增殖。

[0038] 表1多糖单独刺激时各组淋巴细胞增殖的变化(A<sub>570</sub>值)

[0039]

Concentration ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	YPF-PS <sub>tc</sub>	YPF-PS <sub>tp</sub>	RAMPS <sub>tc</sub>	RAMPS <sub>tp</sub>	RAMPS <sub>60c</sub>	RAMPS <sub>70c</sub>	RAMPS <sub>80c</sub>
62.5	0.247±0.017 <sup>a</sup>	0.265±0.016 <sup>ab</sup>	0.574±0.011 <sup>a</sup>	0.561±0.013 <sup>a</sup>	0.377±0.016 <sup>a</sup>	0.516±0.009 <sup>ab</sup>	0.451±0.024 <sup>a</sup>
31.25	0.322±0.005 <sup>b</sup>	0.273±0.010 <sup>a</sup>	0.552±0.003 <sup>a</sup>	0.554±0.003 <sup>a</sup>	0.390±0.004 <sup>a</sup>	0.538±0.017 <sup>ab</sup>	0.471±0.021 <sup>ab</sup>
15.625	0.251±0.008 <sup>a</sup>	0.268±0.006 <sup>ab</sup>	0.583±0.027 <sup>a</sup>	0.565±0.022 <sup>a</sup>	0.391±0.012 <sup>a</sup>	0.521±0.038 <sup>ab</sup>	0.492±0.023 <sup>ab</sup>
7.813	0.198±0.002 <sup>a</sup>	0.239±0.015 <sup>bc</sup>	0.578±0.016 <sup>a</sup>	0.525±0.012 <sup>ab</sup>	0.377±0.003 <sup>a</sup>	0.525±0.004 <sup>ab</sup>	0.531±0.016 <sup>a</sup>
3.907	0.211±0.002 <sup>bc</sup>	0.224±0.003 <sup>cd</sup>	0.536±0.013 <sup>a</sup>	0.574±0.011 <sup>ab</sup>	0.387±0.011 <sup>a</sup>	0.558±0.029 <sup>a</sup>	0.485±0.026 <sup>ab</sup>
Cell control	0.202±0.001 <sup>c</sup>	0.202±0.001 <sup>d</sup>	0.562±0.012 <sup>a</sup>	0.505±0.012 <sup>b</sup>	0.377±0.009 <sup>a</sup>	0.495±0.007 <sup>b</sup>	0.489±0.009 <sup>ab</sup>

[0040] 注:同列数据标注不同字母者差异显著(P<0.05);以下同。

[0041] 最高细胞增殖率:YPF-PS<sub>tp</sub>在31.25 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时的细胞增殖率最高,为31.148%;其次为YPF-PS<sub>tc</sub>在15.625 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,为24.257%,两组显著高于其它多糖组(P<0.05)(图1),表明它们单独促进外周血淋巴细胞增殖的效果较强。

[0042] (2) 多糖协同PHA刺激时淋巴细胞增殖的变化

[0043] YPF-PS<sub>tc</sub>在15.625-62.5 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、YPF-PS<sub>tp</sub>在15.625-31.25 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、RAMPS<sub>tp</sub>在3.125 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、RAMPS<sub>60c</sub>在7.813-15.625 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的A<sub>570</sub>值显著高于PHA对照组(P<0.05)(表2)。表明它们在这些浓度能协同PHA促进鸡外周血淋巴细胞增殖。

[0044] 表2白术多糖协同PHA刺激时淋巴细胞增殖的变化(A<sub>570</sub>值)

[0045]

concentration ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	YPF-PS <sub>tc</sub>	YPF-PS <sub>tp</sub>	RAMPS <sub>tc</sub>	RAMPS <sub>tp</sub>	RAMPS <sub>60c</sub>	RAMPS <sub>70c</sub>	RAMPS <sub>80c</sub>
62.5	0.248±0.002 <sup>ab</sup>	0.239±0.005 <sup>bc</sup>	0.597±0.019 <sup>a</sup>	0.584±0.025 <sup>ab</sup>	0.431±0.011 <sup>bc</sup>	0.535±0.006 <sup>a</sup>	0.530±0.003 <sup>a</sup>
31.25	0.257±0.006 <sup>a</sup>	0.263±0.003 <sup>a</sup>	0.626±0.024 <sup>a</sup>	0.645±0.008 <sup>a</sup>	0.428±0.017 <sup>bc</sup>	0.532±0.002 <sup>a</sup>	0.435±0.003 <sup>b</sup>
15.625	0.250±0.008 <sup>ab</sup>	0.252±0.004 <sup>ab</sup>	0.593±0.022 <sup>a</sup>	0.623±0.004 <sup>ab</sup>	0.440±0.019 <sup>b</sup>	0.520±0.013 <sup>a</sup>	0.527±0.003 <sup>a</sup>
7.813	0.240±0.001 <sup>bc</sup>	0.238±0.002 <sup>bc</sup>	0.590±0.046 <sup>a</sup>	0.555±0.013 <sup>ab</sup>	0.504±0.018 <sup>a</sup>	0.522±0.006 <sup>a</sup>	0.487±0.015 <sup>ab</sup>
3.907	0.241±0.001 <sup>bc</sup>	0.239±0.001 <sup>bc</sup>	0.554±0.020 <sup>a</sup>	0.563±0.018 <sup>ab</sup>	0.422±0.011 <sup>bc</sup>	0.540±0.024 <sup>a</sup>	0.517±0.012 <sup>a</sup>
PHA control	0.228±0.003 <sup>a</sup>	0.228±0.003 <sup>a</sup>	0.521±0.031 <sup>a</sup>	0.528±0.022 <sup>a</sup>	0.388±0.007 <sup>b</sup>	0.505±0.017 <sup>a</sup>	0.505±0.017 <sup>a</sup>

[0046] 最高细胞增殖率:RAMPS<sub>60c</sub>在7.813 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时的细胞增殖率最高,为29.897%,其次RAMPS<sub>tp</sub>在31.25 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,为22.159%,两组显著高于其它多糖组(P<0.05),YPF-PS<sub>tc</sub>和YPF-PS<sub>tp</sub>的细胞增殖率显著高于RAMPS<sub>70c</sub>、RAMPS<sub>80c</sub>和RAMPS<sub>tc</sub>组(P<0.05)(图2)。表明它们协同PHA促进外周血淋巴细胞增殖的效果较强。

[0047] (3) 多糖体外对鸡外周血淋巴细胞周期的影响

[0048] 在72h之内未经任何处理的细胞大部分处于G0/G1期,其变化不明显。RAMPS<sub>tp</sub>和YPF-PS<sub>tp</sub>处理细胞48h、72h后,与RAMPS<sub>60c</sub>相比较,G0/G1期细胞的百分比明显降低,S期细胞

百分比明显增多 ( $P < 0.05$ ) (表3和图3)。在所有时间点,与PHA组相比,YPF-PS<sub>tp</sub>和RAMPS<sub>tp</sub>对淋巴细胞周期的SPF值、PI值的影响均显著 ( $P < 0.05$ )。YPF-PS<sub>tp</sub>和RAMPS<sub>tp</sub>处理细胞48h后,与RAMPS<sub>60c</sub>相比较,SPF值和PI值显著升高 ( $P < 0.05$ ) (表4和5)。

[0049] YPF-PS<sub>tp</sub>在作用于淋巴细胞48h时升高S期细胞的百分比的效果最显著,其SPF值、PI值也均最大,YPF-PS<sub>tp</sub>效果最明显。

[0050] 表3在不同时间点对鸡淋巴细胞周期分布的影响 (n=4)

Time	组别 Group	G0/G1	S	G2/M
24 h	YPF-PS <sub>tp</sub>	56.567±0.25	25.370±0.39	18.063±0.15
	RAMPS <sub>tp</sub>	55.733±0.30	26.183±0.31	18.063±0.53
	RAMPS <sub>60c</sub>	55.900±0.02	25.640±0.28	18.460±0.84
	PHA	59.670±0.71	23.557±0.18	16.773±0.53
	Cell control	71.657±0.24	14.250±0.31	14.093±0.32
	48 h	YPF-PS <sub>tp</sub>	<b>51.660±0.33</b>	<b>29.180±0.01</b>
RAMPS <sub>tp</sub>		<b>51.210±0.25</b>	<b>28.633±0.48</b>	20.157±0.24
RAMPS <sub>60c</sub>		53.330±0.73	27.513±0.30	19.160±0.69
PHA		58.977±0.35	25.683±0.11	15.340±0.45
Cell control		67.370±0.17	19.843±0.29	12.787±0.12
72 h		YPF-PS <sub>tp</sub>	<b>51.210±0.20</b>	<b>29.300±0.22</b>
	RAMPS <sub>tp</sub>	<b>52.643±0.95</b>	<b>28.683±0.83</b>	18.673±0.67
	RAMPS <sub>60c</sub>	55.060±0.48	26.850±0.25	18.090±0.24
	PHA	56.330±0.31	26.513±0.26	17.157±0.52
	Cell control	65.323±0.33	17.970±0.08	16.707±0.36

[0052] 表4在不同时间点对鸡淋巴细胞周期分布的SPF值 (n=4)

组别 Group	SPF 值		
	24 h	48 h	72 h
YPF-PS <sub>tp</sub>	25.370±0.399 <sup>*</sup>	<b>29.180±0.018<sup>*</sup></b>	28.967±0.222 <sup>*</sup>

[0054]	RAMPS <sub>60c</sub>	26.183±0.319 <sup>a</sup>	<b>28.633±0.487<sup>a</sup></b>	28.683±0.838 <sup>a</sup>
	RAMPS <sub>60c</sub>	25.640±0.281 <sup>a</sup>	27.513±0.309 <sup>a</sup>	26.850±0.257 <sup>a</sup>
	PHA	23.557±0.182 <sup>a</sup>	25.683±0.116 <sup>a</sup>	26.513±0.269 <sup>a</sup>
	Cell control	14.259±0.317 <sup>a</sup>	19.843±0.299 <sup>a</sup>	17.970±0.088 <sup>a</sup>

[0055] 表5在不同时间点对鸡淋巴细胞周期分布的PI值 (n=4)

Group	PI 值		
	24 h	48 h	72 h
YPF-PS <sub>tp</sub>	43.433±0.252 <sup>a</sup>	<b>48.670±0.218<sup>a</sup></b>	48.457±0.082 <sup>a</sup>
RAMPS <sub>60c</sub>	44.247±0.307 <sup>a</sup>	<b>48.790±0.258<sup>a</sup></b>	47.357±0.955 <sup>a</sup>
RAMPS <sub>60c</sub>	44.100±0.047 <sup>a</sup>	46.670±0.734 <sup>a</sup>	44.940±0.481 <sup>a</sup>
PHA	40.330±0.715 <sup>a</sup>	41.023±0.359 <sup>a</sup>	43.670±0.313 <sup>a</sup>
Cell control	28.343±0.242 <sup>a</sup>	32.630±0.172 <sup>a</sup>	34.677±0.337 <sup>a</sup>

[0057] (4) CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞亚群的变化

[0058] 在所有时间点,试验组的CD4<sup>+</sup>淋巴细胞百分率均显著高于空白对照组 (P<0.05), YPF-PS<sub>tp</sub>和RAMPS<sub>tp</sub>的CD4<sup>+</sup>淋巴细胞百分率显著高于PHA对照组 (P<0.05); YPF-PS<sub>tp</sub>和RAMPS<sub>tp</sub>处理细胞48h后,CD4<sup>+</sup>淋巴细胞百分率显著高于RAMPS<sub>60c</sub>对照组 (P<0.05),表明YPF-PS<sub>tp</sub>可以提高CD4<sup>+</sup>淋巴细胞百分率(表6和图4)。

[0059] 表6在不同时间点对鸡淋巴细胞亚群CD4<sup>+</sup>的影响 (n=4)

Group	24 h	48 h	72 h
YPF-PS <sub>tp</sub>	30.097±0.329 <sup>a</sup>	<b>33.247±0.142<sup>a</sup></b>	31.393±0.206 <sup>a</sup>
RAMPS <sub>60c</sub>	29.943±0.265 <sup>a</sup>	<b>32.900±0.126<sup>a</sup></b>	30.690±0.231 <sup>a</sup>
RAMPS <sub>60c</sub>	29.393±0.805 <sup>ab</sup>	31.883±0.279 <sup>a</sup>	28.817±0.159 <sup>a</sup>
PHA	28.683±0.137 <sup>a</sup>	29.070±0.228 <sup>a</sup>	28.270±0.086 <sup>a</sup>
Cell control	23.837±0.154 <sup>a</sup>	25.190±0.082 <sup>a</sup>	24.993±0.186 <sup>a</sup>

[0061] (5) CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞亚群的变化

[0062] 在所有时间点,试验组的CD8<sup>+</sup>淋巴细胞百分率均显著高于空白对照组 (P<0.05),多糖处理细胞48h、72h后,CD8<sup>+</sup>淋巴细胞百分率显著高于PHA对照组 (P<0.05),RAMPS<sub>tp</sub>处理细胞48h后,CD8<sup>+</sup>淋巴细胞百分率显著高于RAMPS<sub>60c</sub>对照组 (P<0.05),表明YPF-PS<sub>tp</sub>可以提高CD8<sup>+</sup>淋巴细胞百分率(表7和图5)。

[0063] 表7在不同时间点对鸡淋巴细胞亚群CD8<sup>+</sup>的影响 (n=4)

[0064]	Group	24 h	48 h	72 h
	YPF-PS <sub>tp</sub>	17.023±0.617 <sup>a</sup>	18.107±0.121 <sup>bc</sup>	17.157±0.013 <sup>a</sup>
	RAMPS <sub>tp</sub>	16.693±0.178 <sup>a</sup>	<b>18.427±0.154<sup>d</sup></b>	17.070±0.198 <sup>a</sup>
	RAMPS <sub>60c</sub>	16.487±0.664 <sup>a</sup>	17.816±0.191 <sup>b</sup>	16.813±0.227 <sup>a</sup>
[0065]	PNA	16.333±0.039 <sup>a</sup>	16.810±0.017 <sup>a</sup>	16.410±0.039 <sup>a</sup>
	Cell control	14.830±0.093 <sup>b</sup>	15.340±0.101 <sup>b</sup>	15.490±0.118 <sup>b</sup>

[0066] 实施例4、体内对雏鸡新城疫疫苗免疫应答的比较

[0067] 方法:以玉屏风多糖为试验材料,另制备对照方1(RAMPS<sub>60c</sub>)和对照方2(RAMPS<sub>tp</sub>)。将健康1日龄海兰褐雏公鸡210只,随机分为6组,除空白对照组(BC组)外均用新城疫IV系苗免疫,28日龄二免。在首次免疫的同时,1-3组分别肌肉注射6mg·mL<sup>-1</sup>的YPF-PS<sub>tp</sub>、RAMPS<sub>tp</sub>和RAMPS<sub>60c</sub> 0.5mL,4组(Lev组)口服盐酸左旋咪唑0.5mL(10mg·kg<sup>-1</sup>),无佐剂对照组(NA组)注射等量生理盐水。分别于首次免疫后第7、14、21、28d翼静脉采血检测血清HI抗体效价,心脏采血测定外周血T淋巴细胞增殖、细胞周期、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞亚群的变化,处死雏鸡后称取胸腺、脾脏和法氏囊的重量,计算免疫器官指数。

[0068] 结果:

[0069] (1) 血清ND-HI抗体效价变化

[0070] 血清ND-HI抗体效价变化见于表8和图6。免疫后第7、14d,YPF-PS<sub>tp</sub>、RAMPS<sub>tp</sub>和RAMPS<sub>60c</sub>组的抗体效价显著高于无佐剂组(P<0.05);YPF-PS<sub>tp</sub>和RAMPS<sub>tp</sub>组的抗体效价显著高Lev对照组;YPF-PS<sub>tp</sub>组的抗体效价最高,其次为RAMPS<sub>tp</sub>组。

[0071] 免疫后第21、28d,YPF-PS<sub>tp</sub>、RAMPS<sub>tp</sub>、RAMPS<sub>60c</sub>和Lev组的抗体效价显著高于无佐剂组(P<0.05);YPF-PS<sub>tp</sub>、RAMPS<sub>tp</sub>和RAMPS<sub>60c</sub>组的抗体效价显著高Lev对照组(P<0.05);YPF-PS<sub>tp</sub>和RAMPS<sub>tp</sub>组的抗体效价显著高RAMPS<sub>60c</sub>组;YPF-PS<sub>tp</sub>组的抗体效价最高。

[0072] 表8血清ND-HI抗体效价的变化(Log<sub>2</sub>,n=6)

组别 Group	7 d	14 d	21 d	28 d
YPF-PS <sub>tp</sub>	5.50±0.131 <sup>a</sup>	7.00±0.333 <sup>a</sup>	<b>7.75±0.151<sup>a</sup></b>	<b>8.50±0.289<sup>a</sup></b>
RAMPS <sub>tp</sub>	5.50±0.412 <sup>a</sup>	6.75±0.267 <sup>a</sup>	<b>7.50±0.164<sup>a</sup></b>	<b>8.25±0.211<sup>a</sup></b>
[0073] RAMPS <sub>60c</sub>	5.25±0.250 <sup>ab</sup>	6.00±0.408 <sup>ab</sup>	6.75±0.408 <sup>b</sup>	7.50±0.289 <sup>b</sup>
Lev	4.75±0.112 <sup>b</sup>	5.50±0.112 <sup>b</sup>	6.25±0.129 <sup>b</sup>	6.75±0.112 <sup>b</sup>
NA	4.00±0.115 <sup>c</sup>	4.25±0.218 <sup>c</sup>	5.00±0.099 <sup>c</sup>	5.50±0.126 <sup>c</sup>
BC	2.75±0.090 <sup>d</sup>	2.50±0.104 <sup>d</sup>	2.25±0.090 <sup>d</sup>	1.75±0.090 <sup>d</sup>

[0074] (2) 外周血T淋巴细胞增殖的变化

[0075] 免疫后第7、14d,YPF-PS<sub>tp</sub>和RAMPS<sub>tp</sub>组的A<sub>570</sub>值均显著高于Lev对照组(P<0.05)。而RAMPS<sub>60c</sub>组的A<sub>570</sub>值与Lev对照组的差异不显著(P>0.05)。在14 d,YPF-PS<sub>tp</sub>组的A<sub>570</sub>值均显著

高于RAMPS<sub>60c</sub>组 (P<0.05)。免疫后第21、28d, YPF-PS<sub>tp</sub>、RAMPS<sub>tp</sub>和RAMPS<sub>60c</sub>组的A<sub>570</sub>值均显著高于Lev对照组 (P<0.05)。在21d, YPF-PS<sub>tp</sub>和RAMPS<sub>tp</sub>组的A<sub>570</sub>值均显著高于RAMPS<sub>60c</sub>组; 在28d, YPF-PS<sub>tp</sub>组的A<sub>570</sub>值均显著高于RAMPS<sub>60c</sub>组(表9)。

[0076] 表9外周血T淋巴细胞增殖的变化 (A<sub>570</sub>value, n=4)

组别 Group	7 d	14 d	21 d	28 d
YPF-PS <sub>c</sub>	0.239±0.0	<b>0.251±0.0</b>	<b>0.284±0.0</b>	<b>0.269±0.0</b>
RAMPS <sub>c</sub>	0.232±0.0	0.243±0.0	<b>0.272±0.0</b>	0.255±0.0
RAMPS <sub>tp</sub>	0.228±0.0	0.235±0.0	0.252±0.0	0.244±0.0
Lev	0.223±0.0	0.228±0.0	0.240±0.0	0.233±0.0
NA	0.162±0.0	0.172±0.0	0.183±0.0	0.175±0.0
BC	0.158±0.0	0.149±0.0	0.169±0.0	0.162±0.0

[0078] (3) 免疫器官指数的变化

[0079] ①胸腺指数的变化

[0080] 胸腺指数的动态变化见表10和图7。免疫后第7d, YPF-PS<sub>tp</sub>和RAMPS<sub>tp</sub>组的胸腺指数显著高于Lev对照组 (P<0.05)。而RAMPS<sub>60c</sub>组的胸腺指数与Lev对照组的差异不显著 (P>0.05)。在首免后第14d, 只有YPF-PS<sub>tp</sub>组的胸腺指数显著高于Lev对照组 (P<0.05)。在28d, YPF-PS<sub>tp</sub>和RAMPS<sub>tp</sub>组的胸腺指数显著高于RAMPS<sub>60c</sub>组。

[0081] 表10各组胸腺指数的动态变化 (g·kg<sup>-1</sup>, n=4)

组别 Group	7 d	14 d	21 d	28 d
YPF-PS <sub>c</sub>	3.444±0.125 <sup>a</sup>	3.873±0.145 <sup>a</sup>	4.324±0.134 <sup>a</sup>	<b>4.772±0.373<sup>a</sup></b>
RAMPS <sub>c</sub>	3.369±0.067 <sup>a</sup>	3.700±0.141 <sup>ab</sup>	4.209±0.238 <sup>a</sup>	<b>4.625±0.227<sup>a</sup></b>
RAMPS <sub>tp</sub>	3.278±0.065 <sup>ab</sup>	3.353±0.113 <sup>ab</sup>	4.037±0.212 <sup>ab</sup>	4.312±0.691 <sup>b</sup>
Lev	3.106±0.077 <sup>b</sup>	3.402±0.049 <sup>b</sup>	3.805±0.113 <sup>b</sup>	4.028±0.180 <sup>b</sup>
NA	2.831±0.058 <sup>c</sup>	3.140±0.095 <sup>cd</sup>	3.493±0.062 <sup>c</sup>	3.664±0.117 <sup>c</sup>
BC	2.713±0.034 <sup>c</sup>	3.024±0.098 <sup>c</sup>	3.350±0.101 <sup>c</sup>	3.454±0.067 <sup>c</sup>

[0083] ②脾脏指数的变化

[0084] 脾脏指数的动态变化见表11和图8。免疫后第7d, YPF-PS<sub>tp</sub>和RAMPS<sub>tp</sub>组的脾脏指数显著高于Lev对照组 (P<0.05), RAMPS<sub>60c</sub>组的胸腺指数与Lev对照组的差异不显著 (P>0.05), YPF-PS<sub>tp</sub>组的脾脏指数显著高于RAMPS<sub>60c</sub>组 (P<0.05)。免疫后第14、21、28d, YPF-PS<sub>tp</sub>、RAMPS<sub>tp</sub>和RAMPS<sub>60c</sub>组的脾脏指数显著高于Lev对照组 (P<0.05)。在14、28d, YPF-PS<sub>tp</sub>和RAMPS<sub>tp</sub>组的脾脏指数 显著高于RAMPS<sub>60c</sub>组。

[0085] 表11各组脾脏指数的动态变化 ( $g \cdot kg^{-1}$ ,  $n=4$ )

组别 Group	7 d	14 d	21 d	28 d
YPF-PS <sub>60c</sub>	1.332±0.060 <sup>a</sup>	1.946±0.110 <sup>a</sup>	3.177±0.103 <sup>a</sup>	3.586±0.147 <sup>a</sup>
RAMPS <sub>60c</sub>	1.228±0.107 <sup>ab</sup>	1.918±0.114 <sup>a</sup>	3.124±0.118 <sup>a</sup>	3.548±0.106 <sup>a</sup>
[0086] RAMPS <sub>60c</sub>	1.157±0.214 <sup>bc</sup>	1.743±0.131 <sup>b</sup>	2.855±0.044 <sup>bc</sup>	3.296±0.280 <sup>b</sup>
Lev	1.073±0.033 <sup>c</sup>	1.513±0.056 <sup>c</sup>	2.369±0.086 <sup>c</sup>	2.918±0.079 <sup>c</sup>
NA	0.924±0.037 <sup>d</sup>	1.222±0.030 <sup>d</sup>	1.782±0.043 <sup>d</sup>	1.960±0.092 <sup>d</sup>
BC	0.828±0.041 <sup>e</sup>	1.099±0.092 <sup>e</sup>	1.541±0.062 <sup>e</sup>	1.667±0.078 <sup>e</sup>

[0087] ③法氏囊指数的变化

[0088] 法氏囊指数的动态变化见表12和图9。免疫后第7、14d, YPF-PS<sub>tp</sub>和RAMPS<sub>tp</sub>组的法氏囊指数显著高于Lev对照组和RAMPS<sub>60c</sub>组 ( $P<0.05$ )。而RAMPS<sub>60c</sub>组的法氏囊指数与Lev对照组的差异不显著 ( $P>0.05$ )。

[0089] 免疫后第21、28d, YPF-PS<sub>tp</sub>、RAMPS<sub>tp</sub>和RAMPS<sub>60c</sub>组的法氏囊指数显著高于Lev对照组 ( $P<0.05$ )。在21d, YPF-PS<sub>tp</sub>和RAMPS<sub>tp</sub>组的法氏囊指数显著高于RAMPS<sub>60c</sub>组; 在28d, YPF-PS<sub>tp</sub>组的法氏囊指数显著高于RAMPS<sub>60c</sub>组。

[0090] 表12各组法氏囊指数的动态变化 ( $g \cdot kg^{-1}$ ,  $n=4$ )

组别 Group	7 d	14 d	21 d	28 d
YPF-PS <sub>tp</sub>	1.886±0.034 <sup>a</sup>	2.836±0.085 <sup>a</sup>	3.586±0.047 <sup>a</sup>	3.692±0.101 <sup>a</sup>
RAMPS <sub>tp</sub>	1.829±0.073 <sup>a</sup>	2.801±0.156 <sup>a</sup>	3.342±0.081 <sup>b</sup>	3.526±0.096 <sup>ab</sup>
[0091] RAMPS <sub>60c</sub>	1.722±0.063 <sup>b</sup>	2.678±0.130 <sup>bc</sup>	3.108±0.114 <sup>c</sup>	3.341±0.189 <sup>c</sup>
Lev	1.654±0.018 <sup>c</sup>	2.480±0.034 <sup>c</sup>	2.954±0.008 <sup>c</sup>	3.122±0.047 <sup>c</sup>
NA	1.521±0.018 <sup>d</sup>	2.071±0.030 <sup>d</sup>	2.361±0.026 <sup>d</sup>	2.569±0.080 <sup>d</sup>
BC	1.462±0.014 <sup>e</sup>	1.822±0.026 <sup>e</sup>	2.169±0.051 <sup>e</sup>	2.239±0.045 <sup>e</sup>

[0092] (4) 淋巴细胞周期的变化

[0093] 免疫后雏鸡淋巴细胞周期的分布见于表13和图10。免疫后第7、14d, YPF-PS<sub>tp</sub>、RAMPS<sub>tp</sub>和RAMPS<sub>60c</sub>组的各周期分布显著不同于Lev和无佐剂对照组 ( $P<0.05$ ); 与Lev对照组相比较, YPF-PS<sub>tp</sub>和RAMPS<sub>tp</sub>组G0/G1期细胞的百分比明显降低 ( $P<0.05$ ), 处于S期和G2/M期的细胞百分比明显增多 ( $P<0.05$ )。YPF-PS<sub>tp</sub>和RAMPS<sub>tp</sub>组的各周期分布也显著不同于RAMPS<sub>60c</sub>组。免疫后21、28d, YPF-PS<sub>tp</sub>、RAMPS<sub>tp</sub>和RAMPS<sub>60c</sub>组都可以显著降低G0/G1期细胞的百分比 ( $P<0.05$ ), S期和G2/M期的细胞百分比明显增多 ( $P<0.05$ )。与AMPS<sub>60c</sub>相比较, YPF-PS<sub>tp</sub>和RAMPS<sub>tp</sub>组免疫21d后, YPF-PS<sub>tp</sub>组免疫28d后, G0/G1期细胞的百分比明显降低, S期细胞

百分比明显增多(P<0.05)。

[0094] 免疫后所有时间点,与Lev组相比,YPF-PS<sub>tp</sub>和RAMPS<sub>tp</sub>组对淋巴细胞周期的SPF值、PI值的影响均显著(P<0.05)。YPF-PS<sub>tp</sub>和RAMPS<sub>tp</sub>组免疫21d后,与RAMPS<sub>60c</sub>组相比较,SPF值和PI值明显升高(P<0.05)(表14和15)。

[0095] YPF-PS<sub>tp</sub>组免疫21d后,S期细胞的百分比的升高效果最显著,其SPF值、PI值也均最大,效果最明显。

[0096] 表13在不同时间点对鸡淋巴细胞周期分布的影响(n=4)

时间 Time	组别 Group	G0/G1	S	G2/M
7 d	YPF-PS <sub>tp</sub>	57.850±0.30	23.420±0.11	16.730±0.
	RAMPS <sub>tp</sub>	58.367±0.85	24.997±1.03	16.637±0.
	RAMPS <sub>60c</sub>	58.977±0.21	24.690±0.43	16.340±0.
	Lev	60.103±0.26	23.560±0.29	16.307±0.
	NA	63.103±0.17	23.510±0.12	15.390±0.
	BC	66.323±0.24	20.250±0.14	13.427±0.
	YPF-PS <sub>tp</sub>	55.390±0.47	26.580±0.26	18.027±0.
14 d	RAMPS <sub>tp</sub>	55.923±0.51	26.183±0.53	17.893±0.
	RAMPS <sub>60c</sub>	57.400±0.37	25.203±0.73	17.397±0.
	Lev	59.070±0.57	24.110±0.45	16.823±0.
	NA	61.137±0.20	22.510±0.22	16.360±0.
	BC	63.037±0.14	20.177±0.24	14.787±0.
	YPF-PS <sub>tp</sub>	<b>50.687±0.62</b>	<b>28.720±0.41</b>	20.583±0.
	RAMPS <sub>tp</sub>	<b>51.337±0.66</b>	<b>28.890±0.37</b>	19.773±0.
21 d	RAMPS <sub>60c</sub>	52.960±0.59	26.773±0.17	20.270±0.
	Lev	55.953±0.33	25.377±0.16	18.673±0.
	NA	58.897±0.15	23.483±0.11	17.620±0.
	BC	61.820±0.21	22.060±0.23	16.123±0.
	YPF-PS <sub>tp</sub>	<b>52.660±0.62</b>	28.847±0.59	18.490±0.
	RAMPS <sub>tp</sub>	53.210±0.46	27.967±0.45	18.823±0.
	RAMPS <sub>60c</sub>			17.9

[0097]

[0098]	28 d	RAMPS <sub>60c</sub>	6 <sup>a</sup>	53.980±0.63	28.017±0.66	18.007±0.
		Lev	9 <sup>c</sup>	56.733±0.06	24.517±0.20	18.757±0.
		NA	1 <sup>b</sup>	60.917±0.22	21.757±0.10	17.327±0.
		BC	0 <sup>a</sup>	63.323±0.15	20.637±0.22	16.040±0.

[0099] 表14在不同时间点对鸡淋巴细胞周期分布的SPF值 (n=4)

组别 Group	SPF 值			
	7 d	14 d	21 d	28 d
YPF-PS <sub>tp</sub>	25.420±0.117 <sup>a</sup>	26.580±0.269 <sup>a</sup>	<b>28.720±0.414<sup>a</sup></b>	28.847±0.592 <sup>a</sup>
RAMPS <sub>60c</sub>	24.997±1.030 <sup>b</sup>	26.183±0.330 <sup>b</sup>	<b>28.890±0.374<sup>a</sup></b>	27.967±0.436 <sup>a</sup>
RAMPS <sub>60a</sub>	24.690±0.439 <sup>bc</sup>	25.203±0.734 <sup>bc</sup>	26.773±0.175 <sup>b</sup>	28.017±0.662 <sup>a</sup>
Lev	23.560±0.290 <sup>b</sup>	24.110±0.453 <sup>b</sup>	25.377±0.168 <sup>b</sup>	24.517±0.205 <sup>b</sup>
NA	21.510±0.129 <sup>c</sup>	22.510±0.222 <sup>c</sup>	23.483±0.112 <sup>c</sup>	21.757±0.104 <sup>c</sup>
BC	20.250±0.140 <sup>c</sup>	20.177±0.248 <sup>c</sup>	22.060±0.236 <sup>c</sup>	20.637±0.223 <sup>c</sup>

[0101] 表15在不同时间点对鸡淋巴细胞周期分布的PI值 (n=4)

组别 Group	PI 值			
	7 d	14 d	21 d	28 d
YPF-PS <sub>tp</sub>	39.867±0.333 <sup>a</sup>	40.933±0.572 <sup>a</sup>	44.050±0.270 <sup>a</sup>	43.273±0.069 <sup>a</sup>
RAMPS <sub>60c</sub>	41.633±0.661 <sup>a</sup>	44.600±0.515 <sup>a</sup>	<b>48.663±0.851<sup>a</sup></b>	46.790±0.466 <sup>a</sup>
RAMPS <sub>60a</sub>	41.030±0.598 <sup>a</sup>	42.600±0.047 <sup>ab</sup>	47.043±0.215 <sup>a</sup>	46.023±0.628 <sup>a</sup>
Lev	36.900±0.157 <sup>b</sup>	38.870±0.210 <sup>b</sup>	40.770±0.171 <sup>b</sup>	39.083±0.222 <sup>b</sup>
NA	33.677±0.334 <sup>b</sup>	34.963±0.141 <sup>b</sup>	38.183±0.147 <sup>b</sup>	36.677±0.149 <sup>b</sup>
BC	20.250±0.140 <sup>c</sup>	20.177±0.248 <sup>c</sup>	22.060±0.236 <sup>c</sup>	20.637±0.223 <sup>c</sup>

[0103] (5) 外周血CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞亚群的变化

[0104] 免疫后所有时间点, 试验组的CD4<sup>+</sup>淋巴细胞百分率均显著高于无佐剂对照组 (P<0.05), YPF-PS<sub>tp</sub>和RAMPS<sub>tp</sub>的CD4<sup>+</sup>淋巴细胞百分率显著高于Lev对照组 (P<0.05); YPF-PS<sub>tp</sub>组免疫后7、14d, YPF-PS<sub>tp</sub>和RAMPS<sub>tp</sub>组免疫后21、28d, CD4<sup>+</sup>淋巴细胞百分率显著高于RAMPS<sub>60c</sub>对照组 (P<0.05), 表明YPF-PS<sub>tp</sub>可以提高CD4<sup>+</sup>淋巴细胞百分率 (表16和图11)。

[0105] 免疫后所有时间点, 试验组的CD8<sup>+</sup>淋巴细胞百分率均显著高于无佐剂对照组 (P<0.05), YPF-PS<sub>tp</sub>和RAMPS<sub>tp</sub>的CD8<sup>+</sup>淋巴细胞百分率显著高于Lev对照组 (P<0.05); YPF-PS<sub>tp</sub>组

免疫后7、14、28d, YPF-PS<sub>tp</sub>和RAMPS<sub>tp</sub>组免疫后21d, CD8<sup>+</sup>淋巴细胞百分率显著高于RAMPS<sub>60c</sub>对照组 (P<0.05), 表明YPF-PS<sub>tp</sub>可以提高CD8<sup>+</sup>淋巴细胞百分率(表16和图11)。

[0106] 表16在不同时间点对鸡淋巴细胞亚群CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>的影响 (n=4)

时间 Time	组别 Group	CD4 <sup>+</sup> T	CD8 <sup>+</sup> T	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>
7 d	YPF-PS <sub>tp</sub>	<b>35.083±0.209<sup>a</sup></b>	<b>19.830±0.378<sup>a</sup></b>	1.769±0.027 <sup>a</sup>
	RAMPS <sub>60c</sub>	34.297±0.489 <sup>b</sup>	19.463±0.945 <sup>bc</sup>	1.765±0.070 <sup>a</sup>
	RAMPS <sub>60a</sub>	33.730±0.436 <sup>bc</sup>	19.043±0.886 <sup>b</sup>	1.771±0.058 <sup>a</sup>
	Lev	33.033±0.055 <sup>c</sup>	18.547±0.474 <sup>c</sup>	1.781±0.048 <sup>a</sup>
	NA	30.333±0.237 <sup>d</sup>	16.973±0.122 <sup>d</sup>	1.787±0.018 <sup>a</sup>
	BC	27.910±0.152 <sup>e</sup>	16.407±0.089 <sup>e</sup>	1.702±0.011 <sup>a</sup>
14 d	YPF-PS <sub>tp</sub>	<b>42.987±0.513<sup>a</sup></b>	<b>23.040±0.122<sup>a</sup></b>	1.865±0.015 <sup>a</sup>
	RAMPS <sub>60c</sub>	41.607±0.748 <sup>b</sup>	22.780±0.535 <sup>bc</sup>	1.816±0.014 <sup>a</sup>
	RAMPS <sub>60a</sub>	39.930±0.753 <sup>c</sup>	22.290±0.968 <sup>bc</sup>	1.792±0.007 <sup>a</sup>
	Lev	38.063±0.882 <sup>c</sup>	21.527±0.296 <sup>c</sup>	1.768±0.017 <sup>a</sup>
	NA	34.673±0.202 <sup>d</sup>	19.347±0.203 <sup>d</sup>	1.774±0.006 <sup>a</sup>
	BC	30.540±0.368 <sup>e</sup>	18.447±0.325 <sup>e</sup>	1.658±0.009 <sup>a</sup>
21 d	YPF-PS <sub>tp</sub>	<b>49.237±0.224<sup>a</sup></b>	<b>26.000±0.272<sup>a</sup></b>	1.894±0.048 <sup>a</sup>
	RAMPS <sub>60c</sub>	<b>47.963±0.040<sup>a</sup></b>	<b>25.490±0.748<sup>a</sup></b>	1.884±0.053 <sup>a</sup>
	RAMPS <sub>60a</sub>	44.667±0.547 <sup>b</sup>	23.893±0.544 <sup>b</sup>	1.869±0.014 <sup>a</sup>
	Lev	41.490±0.484 <sup>c</sup>	22.570±0.384 <sup>c</sup>	1.840±0.008 <sup>a</sup>
	NA	37.260±0.835 <sup>d</sup>	21.217±0.369 <sup>d</sup>	1.756±0.017 <sup>a</sup>
	BC	33.553±0.930 <sup>e</sup>	19.917±0.322 <sup>e</sup>	1.681±0.021 <sup>a</sup>
28 d	YPF-PS <sub>tp</sub>	<b>45.307±0.701<sup>a</sup></b>	<b>24.213±0.477<sup>a</sup></b>	1.935±0.008 <sup>a</sup>
	RAMPS <sub>60c</sub>	<b>44.8600±0.996<sup>a</sup></b>	23.220±0.513 <sup>b</sup>	1.891±0.004 <sup>a</sup>
	RAMPS <sub>60a</sub>	42.740±0.533 <sup>b</sup>	22.823±0.653 <sup>b</sup>	1.872±0.017 <sup>a</sup>
	Lev	40.473±0.468 <sup>c</sup>	21.760±0.475 <sup>c</sup>	1.865±0.018 <sup>a</sup>
	NA	35.977±0.355 <sup>d</sup>	20.133±0.169 <sup>d</sup>	1.788±0.006 <sup>a</sup>
	BC	31.430±0.193 <sup>e</sup>	18.440±0.093 <sup>e</sup>	1.705±0.004 <sup>a</sup>

[0108] 以上结果表明, 玉屏风多糖免疫增强剂能显著增强新城疫疫苗免疫雏鸡的血清抗体效价, 促进外周淋巴细胞增殖, 促进淋巴细胞进入S期和G2/M期, 提高CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞

亚群的百分率,提高雏鸡免疫器官指数,通过这些指标的检测,我们可以看出玉屏风多糖能显著提高新城疫疫苗的免疫效果。

[0109] 发明人进一步确定玉屏风免疫增强剂的剂量为 $6\text{mg mL}^{-1} \times 0.5\text{mL} \times 3\text{天}$ ;由此确定了玉屏风多糖作为新城疫疫苗免疫增强剂时的具体用量为:每单位剂量疫苗配合9mg中药免疫增强剂使用。

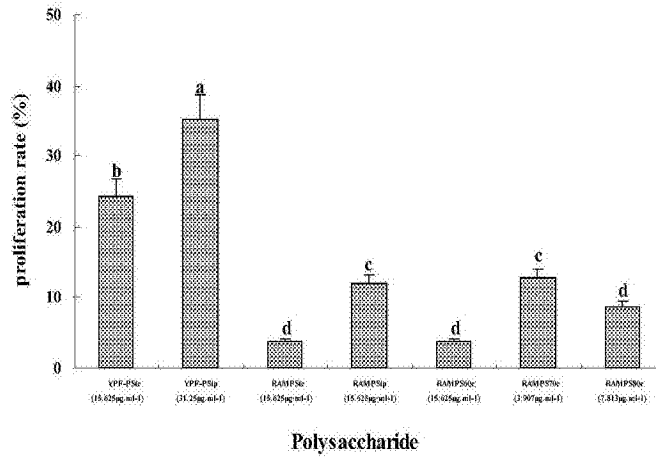


图1

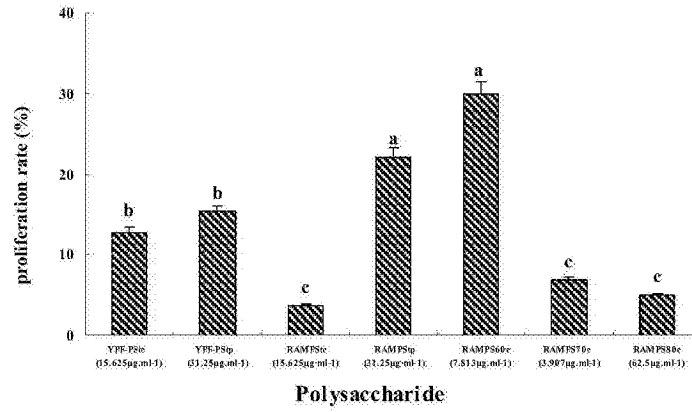


图2

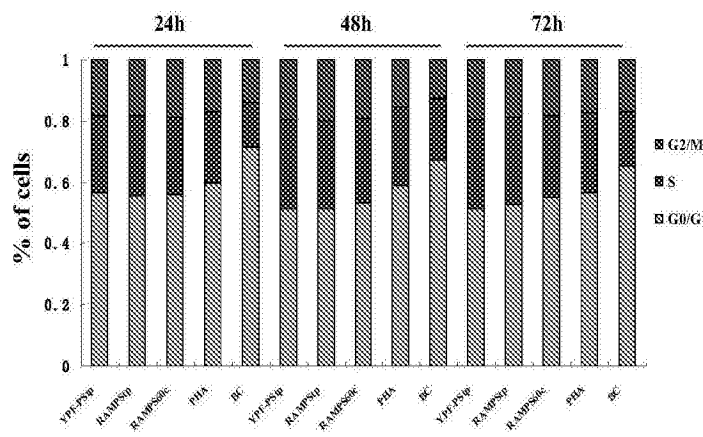


图3

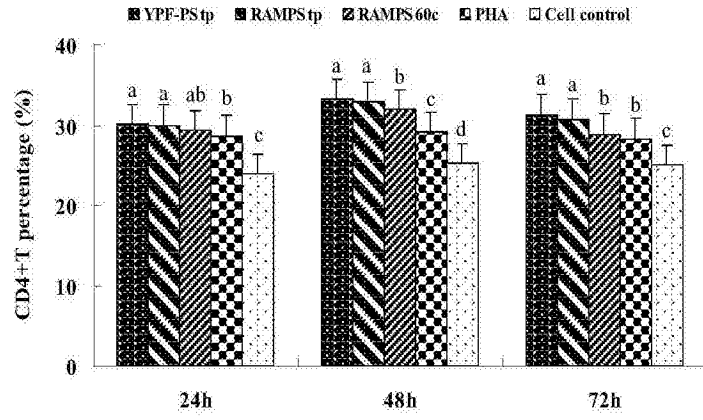


图4

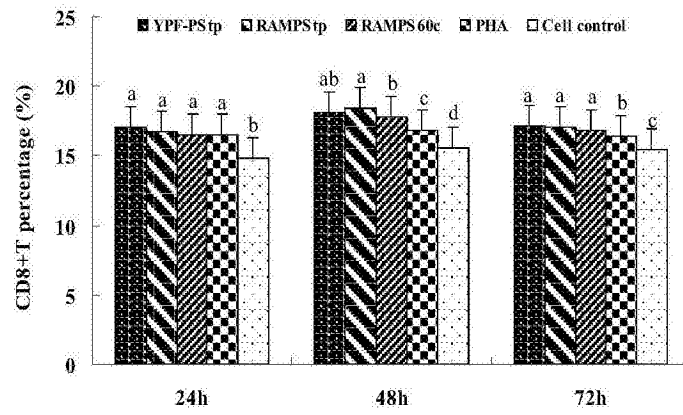


图5

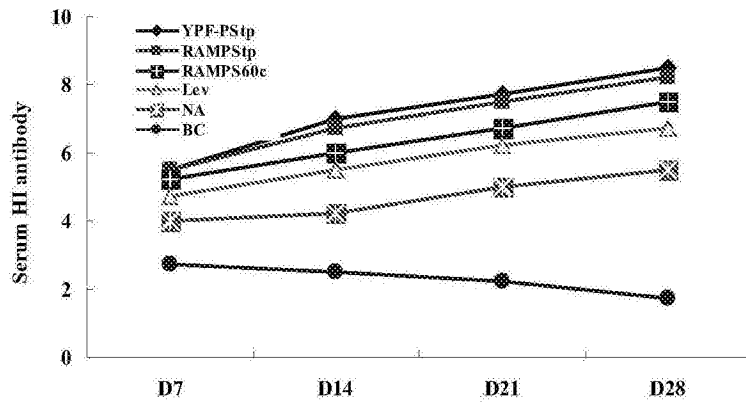


图6

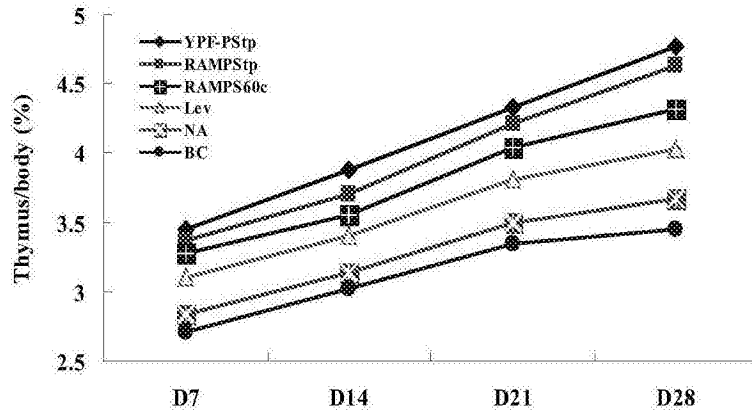


图7

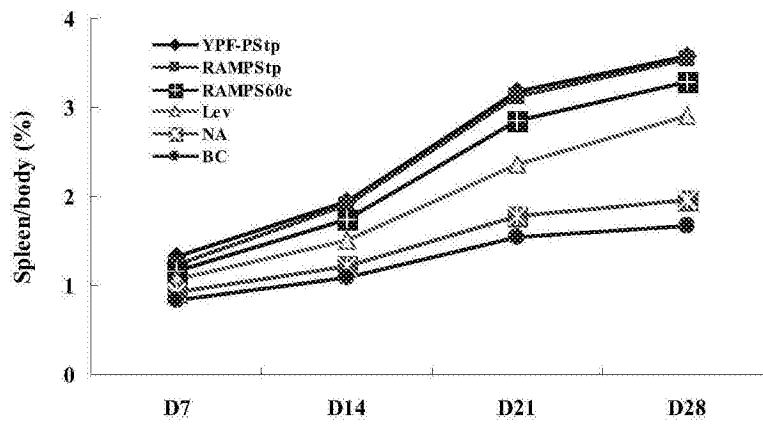


图8

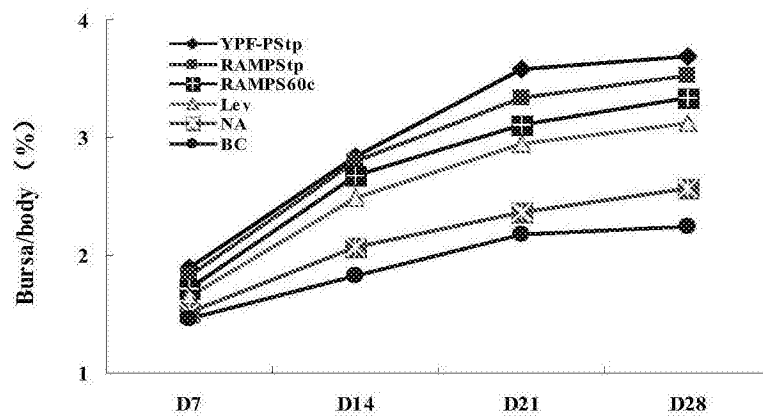


图9

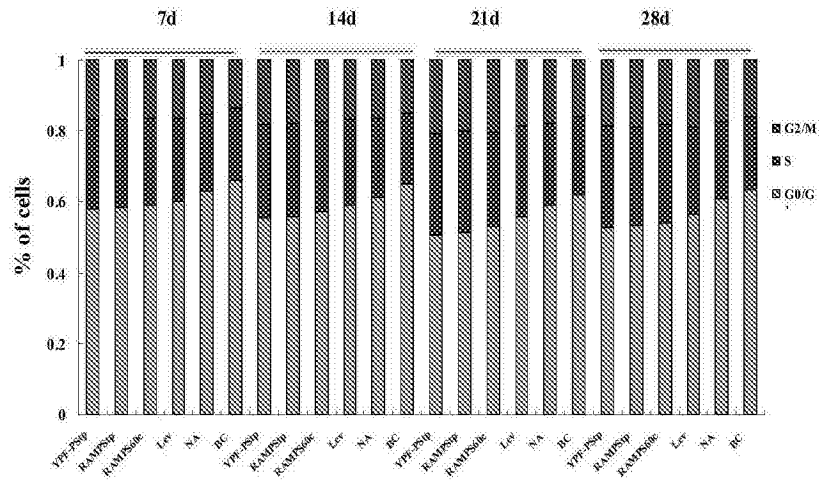


图10

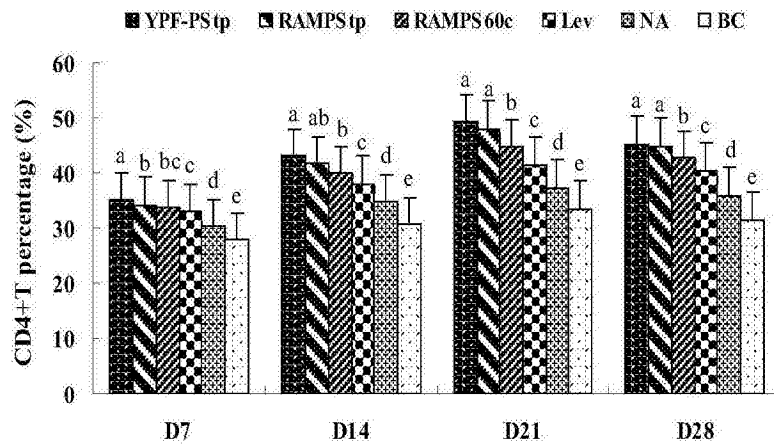


图11

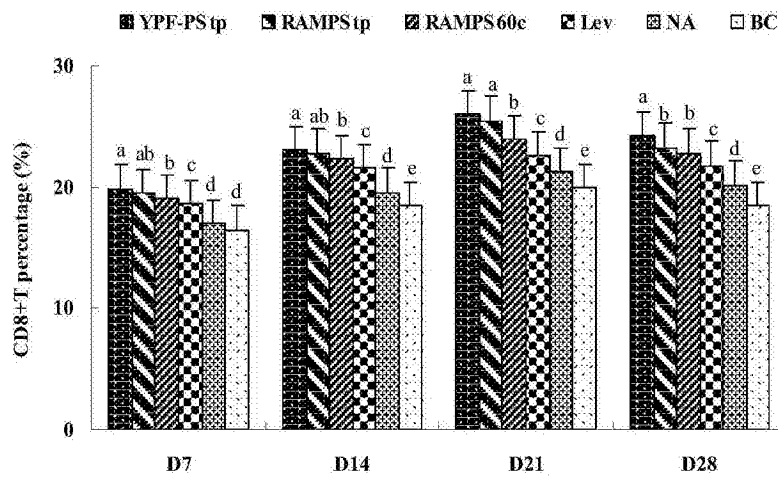


图12