

# 日粮锌、硒水平对肉鸡肠道黏膜屏障结构的影响

王子旭, 余锐萍\*, 陈越, 陈耀星, 刘欣, 马卫明

(中国农业大学动物医学院, 北京 100094)

中图分类号: S821.3

文献标识码: A

文章编号: 1007-5038(2003)04-0099-04

**摘要:** 为了探讨微量元素锌和硒相互作用对肉鸡肠道黏膜屏障结构的影响, 将 24 只 1 日龄 AA 肉鸡随机分 3 组, 分别饲喂添加有高锌高硒(锌 1 000 mg/kg、硒 5 mg/kg)、低锌低硒(锌 34 mg/kg、硒 0.08 mg/kg)或常锌常硒(锌 50 mg/kg、硒 0.15 mg/kg)的日粮 45 d 后, 观察肠黏膜上皮细胞、上皮内淋巴细胞和盲肠扁桃体的形态结构变化。结果表明: 高锌高硒或低锌低硒组肉鸡的肠黏膜结构有明显的损伤, 表现为肠黏膜上皮细胞萎缩, 绒毛长度下降, 上皮内淋巴细胞数量减少; 盲肠扁桃体的弥散淋巴组织和淋巴小结中, 淋巴细胞数量减少, 细胞出现肿胀, 有的核消失, 结缔组织增生, 淋巴小结萎缩。尤其是高锌高硒组的损伤最为严重。而常锌常硒组肉鸡肠黏膜和盲肠扁桃体的形态结构正常。结论: 日粮中按锌 50 mg/kg、硒 0.15 mg/kg 的比例添加, 对于维持肠道黏膜的正常屏障结构是合适的。过高或过低的锌和硒对小肠黏膜有毒性作用, 破坏其屏障功能; 而且高锌和高硒可相互促进以增强其毒性作用。

**关键词:** 锌; 硒; 上皮内淋巴细胞; 盲肠扁桃体; 肠道屏障; 肉鸡

锌和硒作为动物体的必需微量元素, 有着广泛的生理功能, 对维持动物正常的生长发育和免疫功能有重要的作用<sup>[1]</sup>。特别是锌和硒对机体免疫功能的影响及其二者间的相互作用, 一直倍受人们的关注。许多报道将锌和硒作为免疫器官生长发育和免疫应答所必需的营养因子, 是直接参与免疫功能的重要生命相关元素, 它们对体液免疫、细胞免疫和黏膜免疫都有促进作用<sup>[2]</sup>。但是, 当锌和硒缺乏或过高时, 可导致动物胸腺、脾脏、腔上囊等免疫器官生长发育不良, 器官萎缩, 重量减轻, 或发生明显的病理变化<sup>[3-5]</sup>; 免疫细胞数量减少, 免疫细胞亚群比例和免疫因子的活性受到影响<sup>[6-7]</sup>; 黏膜抗体产生受到抑制<sup>[8-9]</sup>, 结果造成机体免疫功能低下。随着研究的深入, 人们发现锌和硒并不是独立地发挥其生物学作用, 而是相互影响和制约<sup>[10-12]</sup>。例如: 低硒或高硒日粮可导致肉鸡肾脏发生增生性病变, 病变的程度可受日粮中锌含量的影响, 即在日粮中加入高锌或低锌就使病变加重, 而加入正常的锌则可缓解低硒或高硒导致的病理

损伤。相反, 高或低锌日粮引起的肉鸡肾脏病理损伤的程度也受日粮中硒含量的影响, 即被低或高硒所加重, 但被正常量的硒所缓解<sup>[11]</sup>。在兽医临床上, 也有采用硒和锌联合治疗溃疡性结肠炎, 效果显著好于单独硒治疗组<sup>[12]</sup>。但是, 有关锌和硒相互作用对黏膜免疫功能影响的报道尚不多。肠道和呼吸道黏膜屏障的淋巴组织总量比脾和淋巴结的还多, 它们是免疫系统的第一道防线<sup>[13]</sup>。为此, 本实验旨在阐明锌、硒互作对肠道黏膜屏障结构的影响, 为合理使用锌、硒微量元素提供一些的形态学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物分组

将 24 只 1 日龄健康 AA 商品代肉鸡随机分成 3 组, 每组 8 只。各组除了依照试验要求饲喂添加不同剂量的硒、锌日粮外, 均按常规方法饲养。

### 1.2 基础日粮组成

基础日粮以玉米和豆粕为主要原料, 再补以维生素和矿物元素精确配制。试验鸡按北京爱拔益加家禽育种有限公司提供的“肉用仔鸡饲养管理手册”规程和要求进行管理。

### 1.3 日粮硒锌水平试验设计

日粮中硒锌各设置 3 个水平, 即亚缺乏量(低锌低硒组)、营养需要量(常锌常硒组)和亚中毒剂量(高锌高硒组)<sup>[11]</sup>, 各试验组日粮硒锌含量见表 1。按添加量精确称取亚硒酸钠( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ , 分析纯)和硫酸锌( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )烘干至恒重, 研磨过 200 目筛, 先混入少量石粉及麦麸中作为预混料, 后逐级稀释, 充分混匀于各实验组日粮中。为了确保所添加的硒和锌功效稳定, 硒锌预混料于每周配料前现用现配。

### 1.4 主要检测指标和方法

1.4.1 试验用鸡取材、标本制作 试验用鸡于 45 日龄剖杀, 取十二指肠、空肠、回肠和盲肠等, 800 mL/L 酒精或 4% 多聚甲醛磷酸缓冲液(pH 7.4)固定, 石蜡包埋, 每种连续切片 5 张, 厚 5  $\mu\text{m}$ , HE 染色。

1.4.2 观测指标及数据处理 光镜下详细观察和比较肠黏膜上皮和盲肠扁桃体形态结构的变化情况。应用 Moditec 照相处理软件, 每张切片具体观测 5 个最长肠绒毛的长度取其平均值。黏膜上皮内淋巴细胞数量的统计是: 计算 100 个肠上皮细胞间的淋巴细胞数量, 每个肠样品计数 5 个视野, 取其平均值。应用 Excel 软件对测定数据进行组间方差分析和多重比较。实验结果用平均数  $\pm$  标准差( $\bar{X} \pm S$ )表示,  $P < 0.05$  为差异有显著性。

收稿日期: 2003-04-03

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(39570538)

作者简介: 王子旭(1964-), 女, 辽宁人, 中国农业大学实验师, 在读硕士, 主要从事动物组织胚胎学及黏膜免疫方面的研究工作。\* 通信作者。

表 1 各试验组日粮硒、锌设计水平

Table 1 Designed levels of selenium and zinc in diet in experimental groups

微量元素 Trace elements	低锌低硒组 Low zinc-selenium	常锌常硒组 Normal zinc-selenium	高锌高硒组 High zinc-selenium
硒(Selenium)	0.08	0.15	5
锌(Zinc)	34	50	1000

2 结果

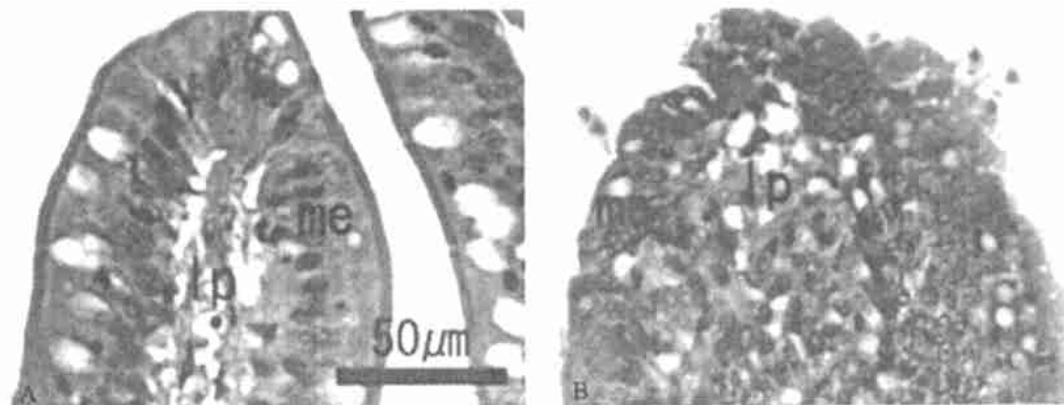
2.1 肠黏膜上皮细胞的形态学变化

各试验组肉鸡分别用添加不同剂量锌和硒的日粮饲喂 45 d 后,发现常锌常硒组肉鸡的肠黏膜上皮结构完整,为单层柱状上皮,细胞轮廓清晰,染色鲜明,排列规则,绒毛表面纹状缘致密厚实,厚度均匀一致,完整清晰可见(图 1A)。柱状细胞或称吸收细胞,呈高柱状,胞浆丰富,胞核椭圆形,位于细胞基部,杯状细胞散在于柱状细胞之间。上皮细胞呈正常生长更新状态。而低锌低硒组和高锌高硒组肉鸡的肠黏膜结构有不同程度的损伤,肠黏膜上皮细胞萎缩,结构不完整,许多部位的黏膜

上皮脱落,纹状缘变薄,甚至消失,固有层裸露(图 1B)。

2.2 肠绒毛长度的统计比较

低锌低硒和高锌高硒对实验鸡的肠绒毛高度均有影响,与对照组相比,绒毛长度均变短(图 2),例如,肉鸡十二指肠的绒毛长度在常锌常硒组约为(1975.5 ± 181.7) μm,在低锌低硒组仅为(1645.6 ± 83.2) μm,而在高锌高硒组的绒毛长度更低,为(994.4 ± 168.3) μm,即高锌高硒组和低锌低硒组明显低于常锌常硒组(P < 0.01),而高锌高硒组的变化更明显,其肠绒毛长度仅是常锌常硒组肠绒毛的 50.3% ~ 83.4%。



A. 常锌常硒组, 肠黏膜上皮细胞排列整齐, 结构完整; B. 低锌低硒组, 肠黏膜上皮脱落, 结构有明显损伤, lp: 固有层, me: 黏膜上皮, 比例尺分别为 50 μm。  
A. normal Zn-Se; B. low Zn-Se; lp: lamina propria; me: mucous epithelium. Bars: 50 μm.

图 1 不同锌、硒水平对肉鸡空肠绒毛和黏膜上皮细胞结构的影响

Fig 1 Effect of different the zinc and selenium level in diet on the structure of villus and mucous epithelium in the jejunum of broiler

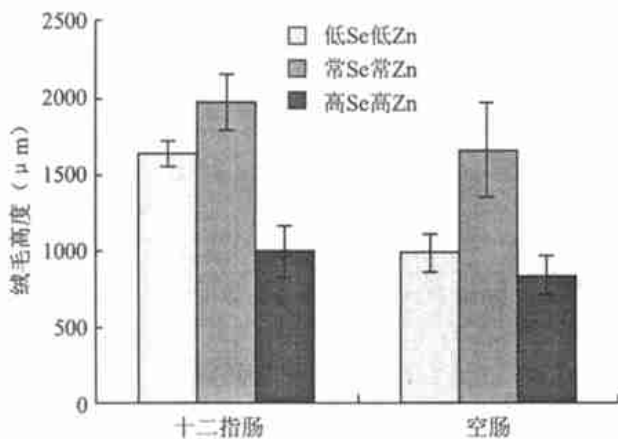


图 2 不同锌、硒水平对肉鸡十二指肠和空肠绒毛长度(μm)的影响

Fig 2 Effect of different the zinc and selenium level in diet on the length of villus (μm) in the duodenum and jejunum of broiler

2.3 肠黏膜上皮内淋巴细胞数量的变化

上皮内淋巴细胞为散在分布于肠绒毛上皮细胞之

间,多数位于细胞基侧膜附近。以小型细胞为主,直径约为 2.5 μm,胞浆少,胞核大,圆形,深染(图 3)。在低锌低硒组和高锌高硒组,小肠上皮内淋巴细胞数量比常锌常硒组减少(表 2),特别在空肠尤为显著,只是常锌常硒组的 67% ~ 76%。

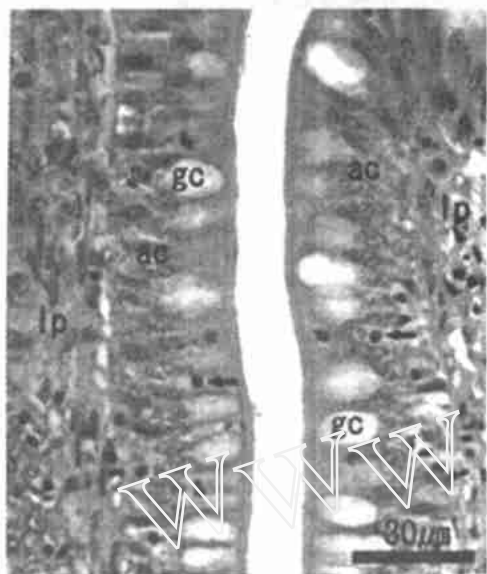
表 2 各试验组肉鸡每 100 个小肠柱状细胞间上皮内淋巴细胞的数量比较

Table 2 Comparison of the effect of different the zinc and selenium level in diet on The number of intraepithelial lymphocyte among 100 absorptive cells in the small intestine of broiler in the various experimental groups

组别 Groups	低锌低硒组 Low Zn-Se	高锌高硒组 High Zn-Se	常锌常硒组 Normal Zn-Se
十二指肠 Duodenum	22.4 ± 2.7	23.5 ± 3.5	24.2 ± 6.2
空肠 Jejunum	22.6 ± 4.8*	25.6 ± 3.7*	33.7 ± 5.7

\*注:与常锌常硒组(对照组)比较, P < 0.01。

Note: Compare with normal Zn-Se group (control group), P < 0.01.



ac 吸收细胞; gc 杯状细胞; lp 固有层; 箭头 上皮内淋巴细胞, 比例尺分别为  $30 \mu\text{m}$ 。

ac absorptive cell; gc goblet cell; lp lamina propria; arrows intraepithelial lymphocyte. Bars  $30 \mu\text{m}$ .

图3 常锌常硒组肉鸡空肠黏膜上皮内淋巴细胞

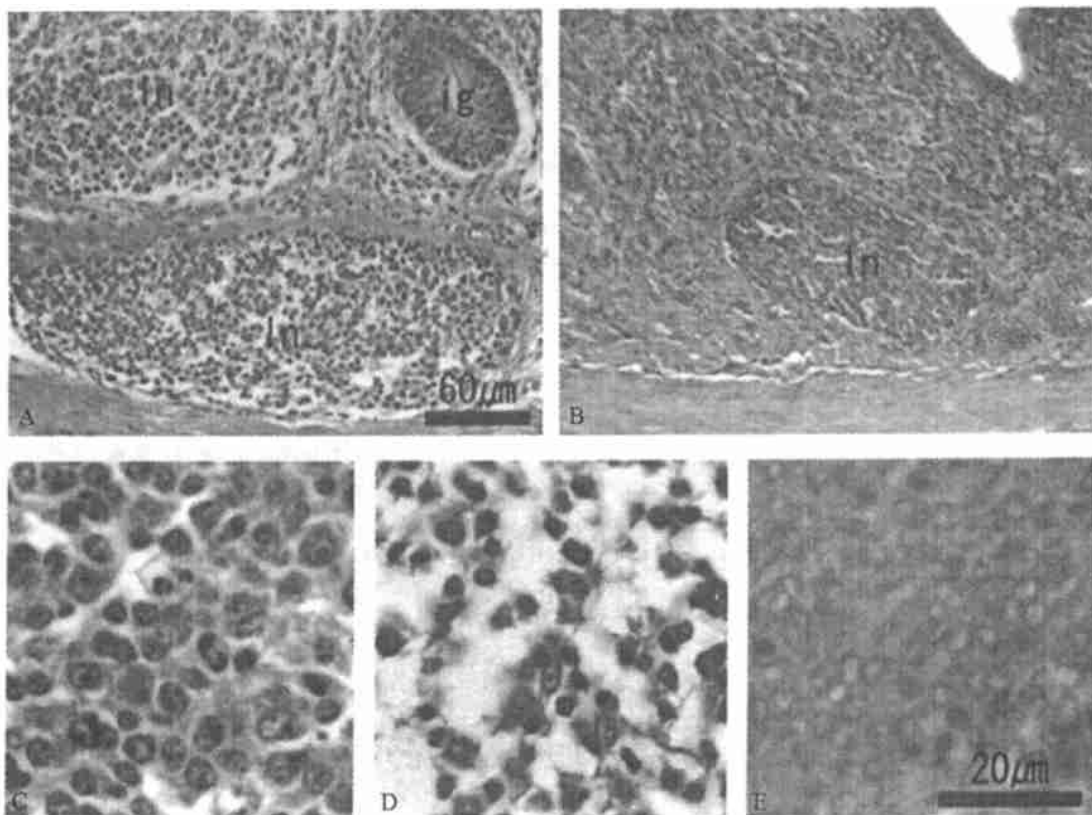
Fig. 3 Photomicrograph of intraepithelial lymphocyte in the jejunum of broiler in the normal Zn-Se group

## 2.4 盲肠扁桃体形态结构的变化

盲肠扁桃体位于盲肠基部的固有层和黏膜下层(图4A)。在常锌常硒组,由发达的弥散淋巴组织和淋巴小结构成,淋巴小结多呈卵圆形,常单独存在,少数可见2~3聚集成群;淋巴细胞的轮廓清晰,常见有分裂相,直径约为  $2.5 \sim 6.0 \mu\text{m}$ (图4C)。但在低锌低硒组和高锌高硒组,盲肠扁桃体的结构出现明显的病理损伤,表现为淋巴小结变小,界线不清(图4B);弥散淋巴组织和淋巴小结的淋巴细胞密度减少,细胞肿胀,核消失(图4D和4E),有嗜嗜性白细胞和网状细胞浸润,结缔组织增生。

## 3 讨论

肠道屏障功能主要是由肠黏膜屏障来实现的,后者包括了机械屏障、生物屏障、化学屏障、免疫学屏障和肠黏膜固有层分子筛等部分<sup>[14-16]</sup>。其中,肠黏膜机械屏障主要由肠黏膜上皮细胞、上皮细胞侧面的细胞连接、上皮基膜和上皮表面的细胞衣组成<sup>[14,16]</sup>,所以肠黏膜上



A. 常锌常硒组,淋巴小结界线清晰,结构完整,含有丰富的淋巴细胞;B. 高锌高硒组,淋巴小结变小,边界不清,淋巴细胞稀少;C. 常锌常硒组,淋巴细胞密集,结构正常,可见分裂中细胞;D. 低锌低硒组,淋巴细胞密度减少;E. 高锌高硒组,淋巴细胞密度极少。ln 淋巴小结; ig 肠腺。比例尺分别为  $60 \mu\text{m}$ (A和B)和  $20 \mu\text{m}$ (C~E)。

A and C. normal Zn-Se; B and E. high Zn-Se; D. low Zn-Se. ln lymphoid nodule; ig intestinal gland. Bars  $60 \mu\text{m}$ (A, B) and  $20 \mu\text{m}$ (C~E).

图4 不同锌、硒水平对肉鸡盲肠扁桃体内淋巴小结(A和B)和弥散淋巴组织(C~E)结构的影响

Fig. 4 Effect of different zinc and selenium level in diet on the structure of lymphoid nodule (A, B) and diffuse lymphoid tissue (D~E) in the caecal tonsil of broiler

皮结构的完整性决定肠黏膜机械屏障功能的健全程度。本研究发现常锌常硒对照组,肠黏膜上皮的正常,为单层柱状上皮,由柱状细胞和杯状细胞组成。细胞轮廓清晰,排列规则;细胞间结合紧密,绒毛表面纹状致密厚实,完整清晰,有效地保护黏膜上皮(图1A)。但是,低硒低锌组或高硒高锌组实验鸡的肠黏膜出现明显的病变,肠绒毛长度明显降低(图2),黏膜上皮细胞萎缩,结构不完整,许多部位的黏膜上皮脱落,固有膜裸露(图1B)。这说明不论是低硒低锌还是高硒高锌均不同程度地破坏了肉鸡肠黏膜的机械屏障功能。

肠道黏膜的免疫学屏障主要由肠道相关淋巴组织构成<sup>[16]</sup>。肠道相关淋巴组织分为组织性淋巴样组织及散在于整个肠壁中的淋巴细胞,主要包括有PP结(peyer patches)、肠黏膜孤立淋巴小结、弥散于肠黏膜的T和B淋巴细胞、浆细胞、巨噬细胞和上皮内淋巴细胞等<sup>[13]</sup>。有文献报道,锌过量时大鼠小肠黏膜固有层IgA浆细胞数量减少,其合成和分泌IgA的能力削弱,黏膜抗体sIgA减少,黏膜免疫能力下降,是肠道感染或肠源性感染的根源之一<sup>[8-9]</sup>。可见,日粮中微量元素的含量可影响肠道黏膜的免疫学屏障功能。上皮内淋巴细胞是位于肠绒毛上皮细胞之间的特殊淋巴细胞群,有人报道<sup>[13]</sup>:在上皮中,15%的细胞为淋巴细胞,是黏膜免疫系统中最先接触抗原的免疫活性细胞。它不但参与免疫反应,而且通过伪足与上皮细胞接触,加速上皮细胞再生,所以在肠道黏膜中起重要的免疫屏障作用。关于鸡的上皮内淋巴细胞数量尚未见研究报道。本实验结果发现低硒低锌和高硒高锌可引起肠黏膜上皮内淋巴细胞数量明显下降,在空肠每100个上皮细胞只有约22~25个上皮内淋巴细胞,比常锌常硒对照组减少了67%~76%;而且盲肠扁桃体的弥散淋巴组织和淋巴小结中,淋巴细胞密度减少,出现细胞肿胀(图4E),结缔组织增生,淋巴小结萎缩,结构不完整(图4B)。这些结果说明低硒低锌或高硒高锌均有毒性作用,破坏了肠黏膜的正常免疫屏障结构。

如前文所述,微量元素间并不是独立地发挥其生物

学作用,而是相互影响和制约。本研究发现高锌高硒组比低锌低硒对肠道黏膜屏障结构的损伤更为严重。这说明了锌硒二者有协同作用,高锌高硒可相互促进以增强其毒性作用。所以,在使用锌、硒微量元素时,不仅要考虑其添加量,还要注意微量元素之间的相互影响。

总之,饲料中低硒、低锌或高硒、高锌均可引起肉鸡肠道黏膜屏障结构的损伤。饲料中加入常硒常锌,是维持肉鸡肠道黏膜屏障正常结构的最佳剂量。

### 参考文献:

- [1] 段得贤. 家畜内科学[M]. 北京: 农业出版社, 1981: 327.
- [2] 王子旭, 余锐萍, 袁莉. 锌硒互作对动物免疫功能的影响[J]. 动物医学进展, 2003, 24(4): 33-35.
- [3] 赵德明, 姜敬涛, 张日俊, 等. 锌缺乏对肉鸡淋巴组织器官发育的影响[J]. 中国兽医杂志, 1996, 22(28): 9-10.
- [4] 徐迪雄, 吴嘉惠, 魏文. 锌对大鼠胸腺、脾脏淋巴细胞增殖功能影响的研究[J]. 第三军医大学学报, 1995, 17(2): 131-134.
- [5] 梁礼成, 李庆怀, 金久善, 等. 硒对肉鸡免疫功能的增强作用[J]. 北京农业大学学报, 1993, 19(2): 99-103.
- [6] Tanaka U, Shizawa S, Morimoto I, et al. Role of zinc in interleukin 2 (L-2) mediated T-cell activation [J]. Scan J Immunol, 1990, 31: 547.
- [7] Kerimidjian-Schumacher L, Roy M, Wishe H I, et al. Effect of selenium supplementation on macrophage-mediated tumor cytodestruction[J]. J Nutritional Immunol, 1992, 33: 23-35.
- [8] Yadrick M K. Iron, copper and zinc states: response to supplementation with zinc or zinc and iron in adult females [J]. Am J Clin Nutr, 1989, 49: 145-150.
- [9] 罗治彬, 吴嘉惠, 徐采朴. 中毒剂量锌对大鼠小肠黏膜抗体产生的影响[J]. 世界华人消化杂志, 2000, 8(3): 363.
- [10] Hegazy SM, Adachi Y. Comparison of the effects of dietary selenium, zinc, and selenium and zinc supplementation on growth and immune response between chick groups that were inoculated with Salmonella and aflatoxin or Salmonella [J]. Poultry Science, 2000, 79: 331-335.
- [11] 杨鹰, 高铭宇, 袁莉, 等. 锌硒互作对肉鸡肝脏抗氧化酶活性的影响[J]. 中国兽医学报, 2002, 22(2): 178-180.
- [12] 李芳, 于中麟. 硒和锌对实验性溃疡性结肠炎的疗效观察[J]. 中华医学杂志, 1996, 7(12): 756-758.
- [13] 余锐萍, 高齐瑜, 王彩虹. 肠相关性淋巴样组织研究概况[J]. 动物医学进展, 2002, 23(4): 29-33.
- [14] Reynolds J V. Gut barrier function in the surgical patients [J]. Br J Surg, 1996, 83: 1668-1671.
- [15] Swank GM, Deitch EA. Role of the gut in multiple organ failure: bacterial translocation and permeability changes [J]. World J Surg, 1996, 20: 411-415.
- [16] 殷彦君, 陈强谱. 肠道屏障的组成与结构[J]. 消化病诊断和治疗, 2002, 2(2): 53-55.

## Effect of Different Zinc and Selenium Level in Diet on the Gut Barrier Function in the Broiler

WANG Zi-xu, SHE Rui-ping, CHEN Yue, CHEN Yao-xing, LIU Xin, MA Weim-ing  
(College of Animal Medicine, China Agricultural University, Beijing, 100094, China)

**Abstract** To explore the effect of trace elements zinc, selenium and their interaction on the gut barrier function in the broiler, twenty-four one-day-old AA broilers were divided into three groups, and were fed with the different diets including high zinc-selenium (Zn 1 000 mg/kg, Se 5 mg/kg), low zinc-selenium (Zn 34 mg/kg, Se 0.08 mg/kg), and normal zinc-selenium (Zn 50 mg/kg, Se 0.15 mg/kg), respectively. After forty-five days, the broilers were killed and the structure of mucous epithelium in the small intestine and cecal tonsil was observed. The results showed that in the two groups of high zinc-selenium and low zinc-selenium, the length of intestinal villus and number of intraepithelial lymphocyte decreased. Their epithelium of mucosa was atrophy and defluxion, especially in the high zinc-selenium group. The necrosis and depletion of lymphocytes and proliferation of connective tissue were observed in the cecal tonsil. But the structures of mucous epithelium and cecal tonsil were normal in the normal zinc-selenium group. This study indicated that the supplementary level of selenium at 0.15 mg/kg and zinc at 50 mg/kg in diet should be an appropriate ratio which would keep the normal gut barrier function in the broiler.

**Key words:** zinc; selenium; intraepithelial lymphocyte; cecal tonsil; gut barrier function; broiler