文章编号：1009－038X(2003)04－0018－05

日粮核苷酸对早期断奶小鼠生长发育的影响

王兰芳， 乐国伟， 施用晖， 马西艺
(江南大学 饲料研究所，江苏 无锡 214036)

摘　要：实验观察日粮核苷酸混合物对早期断奶小鼠生长发育的影响. 采用 16～17 日龄的断奶 Balb/c 雄性小鼠 60 只，分成 6 组，其中 3 组饲喂半纯合日粮作为对照，另外 3 组饲喂添加质量分数 0.25% 核苷酸混合物的日粮，在实验的第 2，4，10 天分别取对照组和实验组各一组，测定生长发育指标. 随着时间的延长小鼠体增重、胸腺和脾脏重量以及胸腺指数和脾脏指数都显著下降($P<0.01$)，第 10 天时核苷酸组体重损失显著低于对照($P<0.05$)，日粮核苷酸对胸腺和脾脏质量没有显著影响，但有减缓质量下降的趋势. 肝脏质量、肝脏指数、小肠质量以及肠壁厚度在第 4 天显著下降，第 10 天时基本恢复或超过第 2 天. 日粮核苷酸对肝脏、小肠质量、肠壁厚度没有显著影响，但在第 4 天时能够减轻肝脏和小肠质量的下降，使肝脏指数显著高于对照($P<0.05$). 核苷酸能改善消化道形态，提高小肠绒毛高度和绒毛高度/腺窝深度($P<0.05$). 实验组小鼠脾细胞淋巴细胞转化率在第 10 天时显著高于对照($P<0.05$). 结果表明日粮核苷酸能够减轻断奶对小鼠造成的应激，促进机体生长和免疫功能的恢复.

关键词：核苷酸；断奶应激；肠道发育
中图分类号：R 151.2　　**文献标识码**：A

Effect of Dietary Nucleotides on Development of Early Weaned Mice

WANG Lan-fang， LE Guo-wei， SHI Yong-hui， MA Xi-yi
(Institute of Feed Research, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract: The experiment aimed to study the effect of dietary nucleotides on the development of early weaned mice. Balb/c mice ($n=60$), 16～17 days, were randomized into 6 groups. Mice in three groups were fed with a nucleotide-free (NF) diet as control groups and other three groups were with fed nucleotide-supplemented (NS) diet (0.25% nucleotides) as experiment groups. The body weight gain, organ index and intestine development were evaluated at 2d, 4d and 10d. Organ weight deceased at 4d, and restored at 10d. Nucleotides has no effect on weight of thymus and spleen, but live weight and live index decreased less with nucleotides supplementation($P<0.05$). Villous height and villous length/crypt depth in small intestine were increased with nucleotides supplementation($P<0.05$). The spleen cell stimulation index was increased significantly at 10d in experiment group. The results indicated that the supplementation of nucleotides can lower the wean stress and promote the development and the restore of immune function in mice.

Key words: nucleotides; stress; intestine development

收稿日期：2002－12－17； **修回日期**：2003－04－17.
基金项目：教育部高校骨干教师资助项目(编号：G0202)课题.
作者简介：王兰芳(1973－)，女，山东招远人，营养与分子生物学博士研究生.

万方数据

幼龄动物的生长发育在动物整个生命周期中占据重要的地位,是动物生产过程中最重要的一个环节.幼龄哺乳动物断奶时由于营养、环境以及心理因素等方面的影响引起断奶应激,导致消化功能紊乱、生长发育受挫、免疫功能低下等症状,最终影响生长.母乳中含有大量的核苷酸,它是母乳中非蛋白氮的组成成分之一[1,2].核苷酸几乎参与了体内所有的生化过程,具有促进动物肠道生长发育[3]、维持肝功能[4]、调节代谢[5]、提高免疫[6]等作用.动物机体能够自身合成各种核苷酸,但在机体生长迅速、受到免疫挑战时自身合成的核苷酸不能满足各种代谢旺盛的组织和细胞的需要,须由外源供给.本实验探讨了在日粮中补充核苷酸混合物对早期断奶小鼠生长发育和免疫功能的影响,以期了解核苷酸在动物断奶应激过程中的作用.

1　材料与方法

1.1　实验动物与设计

实验采用 16～17 日龄断奶的 Balb/C 雄性小鼠(购自中科院上海实验动物中心)60 只,随机分成 6 组,其中 3 组饲喂无核苷酸的半纯合基础日粮作为对照,另外 3 组在基础日粮中添加质量分数 0.25% 的核苷酸混合物作为实验组(5′-AMP,5′-CMP,5′-GMP,5′-UMP 摩尔比为 1∶1∶1∶1,5′单核苷酸购自山东淄博双凤集团,纯度≥98%).在实验的第 2,4,10 天分别取一个对照组和一个实验组,小鼠称重后宰杀,取内脏器官,称重,测定脏器指数;截取 1 cm 空肠前段,10 g/dL 福尔马林溶液固定,做组织切片,观察消化道形态;无菌分离脾细胞测定细胞转化率.基础日粮组成见表 1.

表 1　基础日粮配方

Tab.1　Composition of basic diet

酪蛋白 质量分数/%	玉米淀粉 质量分数/%	玉米油 质量分数/%
20	65	8
纤维素 质量分数/%	**无机盐 质量分数/%**	**维生素 质量分数/%**
1	5	1

注:无机盐成分(g/kg):$CaHPO_4$ 500;NaCl 74;$K_3C_6H_5O_7 \cdot 12H_2O$ 220;K_2SO_4 52;$MnCO_3$(43～48 g/dL)3.5;柠檬酸铁 15～16;$ZnCO_3$(70 g/dL) 1.6;KIO_3 0.3;$Na_2SeO_3 \cdot 5H_2O$ 0.01;$CrK(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ 0.55;加蔗糖至 1 000 g.

维生素成分(mg/kg):VA 120;VD_3 25;VE 5 000;VB_1 600;VB_2 600;VB_6 700;叶酸 200;D-生物素 20;烟酸 3 g;泛酸 1.6 g;VK 5;加蔗糖至 1 000 g.

1.2　检测指标

1.2.1　体增重、肝脏质量及肝脏指数　实验前后小鼠禁食 12 h,称重,计算体增重;分离肝脏,计算脏器指数.

脏器指数 = 脏器质量(g)/体重(g)

1.2.2　消化道发育及形态　分离小肠,测定小肠长度、质量;显微镜下测量空肠前部绒毛高度、腺窝深度、肠壁厚度及绒毛高度/腺窝深度.

1.2.3　免疫器官发育　称量脾脏和胸腺质量,计算其各自的脏器指数.

1.2.4　脾细胞转化率　MTT 比色法测定.

1.3　统计分析

实验结果采用 SAS 统计软件进行方差分析和多重比较.

2　实验结果

2.1　体增重、肝脏质量及肝脏指数

小鼠体重随着时间的延长而显著下降($P<0.01$),第 10 天小鼠体重损失最严重.实验组第 4 天体重下降有减缓的趋势,第 10 天体重损失显著低于对照($P<0.05$)(见图 1).肝脏质量在第 4、第 10 天显著低于第 2 天($P<0.01$),其中第 4 天对照组最低,第 10 天时有所恢复.日粮核苷酸对肝脏质量没有显著影响($P>0.05$),但第 4 天时实验组肝脏质量比对照组高($P>0.05$)(见图 2).肝脏指数的变化基本同肝脏质量,第 4 天时实验组小鼠的肝脏指数显著高于对照($P<0.05$),第 10 天时没有显著差异($P>0.05$)(见图 3).

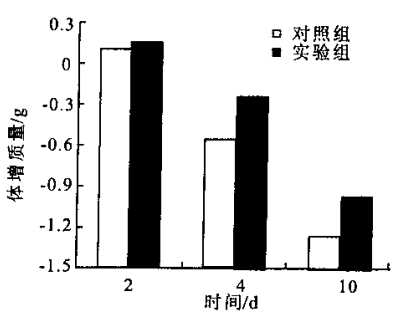


图 1　核苷酸对小鼠体增重的影响

Fig.1　Effect of nucleotides on body weight gain

2.2　小肠长度及小肠质量

小肠长度及质量变化见表 2.统计结果表明,小肠长度随着时间显著增加($P<0.01$).采食添加核苷酸日粮小鼠的小肠长度在第 4、第 10 天时比对照组有所增加,但影响不显著($P>0.05$).小肠质量在第 4 天时显著下降($P<0.05$),第 10 天显著升高并超过第 2 天.添加核苷酸能够减缓小肠质量下降,使小肠质量在第 4、第 10 天时高于对照组($P>$

万方数据

0.05).

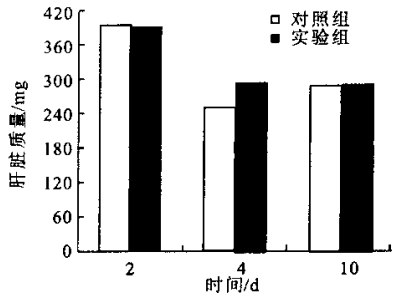


图 2 核苷酸对小鼠肝脏质量的影响

Fig.2 Effect of nucleotides on liver weight

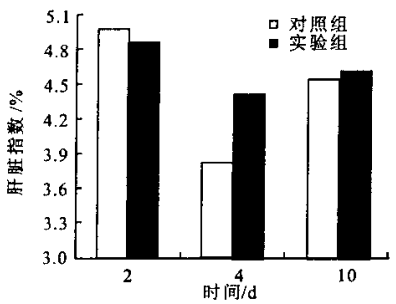


图 3 核苷酸对小鼠肝脏指数的影响

Fig.3 Effect of nucleotides on liver index

表 2 核苷酸对小肠生长发育的影响

Tab.2 The effect of nucleotides on intestine development ($n=10$)

时间/d	处理	小肠长度/cm	小肠质量/g
2	对照组	26.94±1.97bB	35.45±4.00bBC
	实验组	27.39±2.07bB	35.87±6.37bBC
4	对照组	27.00±2.02bB	29.96±5.44cC
	实验组	28.15±2.09bB	32.90±7.19bcC
10	对照组	30.19±1.65aA	40.87±1.84aAB
	实验组	31.38±1.09aA	43.09±2.36aA

注:同一列中不同小写字母表示差异显著($P<0.05$),不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$)(下同).

2.3 小肠形态

小鼠空肠前段绒毛高度随着时间的延长显著升高($P<0.01$),其中实验组小鼠在第 10 天时空肠绒毛高度显著高于第 4 天($P<0.05$)和第 2 天($P<0.01$).腺窝深度在第 2 天最高,第 4 天最低,其中采食核苷酸的小鼠在第 4 天显著低于第 2 天的所有小鼠($P<0.01$),第 10 天又略有增高($P<0.05$).实验第 4 天小鼠空肠肠壁厚度显著下降($P<0.01$),第 10 天有所恢复.核苷酸的添加对肠壁厚度没有显著影响.随着时间的延长绒毛高度/腺窝深度逐渐升高,第 10 天时实验组显著高于第 2 天时所有小鼠($P<0.01$).具体变化见表 3.

2.4 胸腺、脾脏质量及其脏器指数

断奶后小鼠胸腺和脾脏质量以及脏器指数显著下降($P<0.01$),在第 10 天时最低.日粮核苷酸对胸腺和脾脏质量没有显著影响($P>0.05$),但在实验的第 4、第 10 天有减缓脏器质量下降的趋势.

2.5 脾细胞转化率

小鼠淋巴细胞转化率随着时间的延长没有很大的变化(见表 4),但日粮核苷酸有提高脾细胞转化率(SI)的趋势,其中第 4 天时饲喂核苷酸的小鼠 SI 显著高于第 10 天时的对照组小鼠($P<0.01$).

3 讨 论

本试验采用 16~17 日龄断奶,在饲养过程中发现断奶后小鼠生长发育减慢,体重明显减轻,并且随着断奶时间的延长显著下降,在断奶后第 10 天仍未恢复,这说明小鼠受到断奶应激的影响.断奶时动物从吸吮气味、味道、营养俱全的液态母乳转向采食味差、坚硬、营养成分不同的固体食物,而此时其消化系统不能适应这种变化,导致消化功能紊乱、食欲差等现象,最终导致生长差,采食量下降[7].

表 3 核苷酸对小肠形态的影响

Tab.3 The effect of nucleotides on intestine morphology ($n=10$)

时间/d	处理	绒毛高度/μm	腺窝深度/μm	厚度/μm	绒毛长度/腺窝深度
2	对照组	363.60±23.17cB	69.88±3.85acA	99.96±5.60abAB	5.39±0.60cdB
	实验组	370.42±37.89bcB	70.12±3.00aA	98.10±8.11adBC	5.45±0.57bc
4	对照组	383.26±36.33bcAB	65.49±4.20bdAB	90.96±8.29cC	5.87±0.66acB
	实验组	380.80±33.08bcAB	63.68±4.88bB	93.10±3.41cdBC	6.00±0.54aAB
10	对照组	402.51±37.66acAB	68.26±4.72acdAB	99.78±8.82aBD	5.99±0.54abAB
	实验组	416.90±35.05aA	66.01±3.98bcAB	102.51±5.70aADE	6.31±0.41aA

万方数据

表 4　核苷酸对小鼠免疫器官发育和细胞免疫功能的影响

Tab.4　The effect of nucleotides on development of immune organ and immune function (n = 10)

时间/d	处理	*SI*	胸腺质量/mg	脾脏质量/mg	胸腺指数/‰	脾脏指数/‰
2	对照组	1.02±0.06bcAB	50.12±6.92aA	35.85±8.31aA	6.31±0.40aA	4.49±0.76aA
	实验组	1.05±0.06bcAB	48.85±9.24aA	36.66±7.95aA	6.24±0.78aA	4.62±0.95aA
4	对照组	1.09±0.17acAB	25.91±5.82bB	23.37±6.34bcB	4.14±0.78bB	3.54±0.50bBC
	实验组	1.18±0.12aA	29.84±6.68bB	24.65±6.03cB	4.52±0.50bB	3.68±0.66bB
10	对照组	0.98±0.12Cb	12.64±2.01cC	18.30±3.18bB	1.89±0.23cC	2.77±0.38cC
	实验组	1.15±0.17abAB	13.15±1.80cC	18.64±3.96bcB	2.02±0.26cC	2.83±0.42cC

核苷酸作为一类核酸前体物质,参与体内几乎所有的生化过程.生物本身具有一定的合成能力,如肝脏、脑、骨髓、淋巴等组织,但在快速生长发育、应激等条件下机体自身合成的核苷酸不能满足代谢需要,须由外源供给.母乳中含有大量的核苷酸,断奶使得日粮成为核苷酸的主要来源.断奶应激和早期的快速生长发育造成小鼠对核苷酸的需求加大.动物对核苷酸的需要尚不完全清楚,人对嘌呤、嘧啶的需要估测每日在 500 mg,哺乳动物日粮核苷酸需要量则达质量分数 0.25%,因此在本试验中核苷酸的添加量设定在质量分数为 0.25%.

核苷酸进入体内后,在消化道各种酶的作用下逐步分解成核苷酸和核苷.小肠的前部有较强的吸收能力,核苷酸和核苷均能被小肠粘膜吸收.动物实验表明,核苷是主要的吸收形式[8],近 90% 的核苷和碱基被小肠细胞吸收.核苷主要以易化扩散、依钠主动运输机制进入肠细胞.已知细胞外核苷及核苷酸在细胞表面有其自身的受体,通过这些受体可以影响许多生物学特性.

日粮核苷酸影响肝脏生长、组成、结构、形态和功能.核苷酸缺乏使肝脏中嘌呤和嘧啶核苷酸池受到抑制(主要是腺嘌呤和鸟嘌呤核苷酸)[9],降低肝脏蛋白质合成率以及肝脏中 RNA 的含量[10],导致肝脏中总脂、胆固醇、磷脂及胆红素的水平升高,肝重(肝重/体重)及糖原含量降低[11].因此,本实验在第 4 天时肝脏质量和肝脏指数低于第 2 天,添加核苷酸后小鼠肝脏指数显著高于对照($P<0.05$).由于肝脏有一定从头合成核苷酸的能力,应激程度也随着实验进程有所缓解,因而第 10 天肝脏质量有所恢复.

在断奶应激时由于日粮的变化使哺乳动物小肠绒毛急剧变短,腺窝加深.添加核苷酸后小肠绒毛高度、绒毛高度/腺窝深度、肠壁厚度增加,腺窝变浅,这与 Uauy[3] 结果相同.核苷酸是核酸合成的前体,对所有的分裂细胞都非常重要.在动物的早期发育阶段小肠发育非常迅速,肠细胞的生长和增殖很快,对核苷酸比较敏感.小肠上皮细胞合成嘌呤、嘧啶的能力有限,日粮是其重要的来源.日粮核苷酸能提高小肠绒毛高度、肠壁厚度、总蛋白量、DNA 量[3] 以及肠道酶的活性,加速饥饿应激和感染后损伤肠道的恢复[12].体外实验表明核苷酸能够促进小肠上皮细胞的增殖[13],调控小肠细胞周转的动力学平衡[14].

在检测的组织器官中,胸腺和脾脏质量显著下降,这说明免疫器官对应激较其他组织器官更加敏感.研究表明,淋巴细胞补救合成嘧啶的能力有限[15],不能提供足够的嘌呤核苷酸供淋巴细胞增殖[16].在无核苷酸的半纯合日粮中添加核苷酸提高了断奶小鼠脾脏淋巴细胞的增殖反应,这与 Ameho[17] 的结果相一致.

实验表明,早期断奶对小鼠造成了强烈的应激,在日粮中添加核苷酸能缓解断奶应激,促进组织器官功能恢复、小肠生长发育和淋巴细胞的增殖.

参考文献:

[1] Gil A, Sanchez-Medina F. Acid-soluble nucleotides of cow 's, goat 's and sheep 's milks, at different stages of lactation[J]. **J Dairy Res**, 1981, 48:35-44.

[2] Gil A, Sanchez-Medina F. Acid-soluble nucleotides of human milk at different stages of lactation[J]. **J Dairy Res**, 1982, 49: 301-307.

万方数据

[3] Uauy R. Effect of dietary nucleotides on growth and maturation of the developing gut in the rat[J]. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, 1990, 10(4): 497－503.

[4] Torres M I, Fernandez M I, Gil A, *et al*. Dietary nucleotides have cytoprotective properties in rat liver damaged by thioacetamide[J]. **Life Science**, 1998, 62(1): 13－22.

[5] Nunez MC, Ayudarte M W, Gil A, *et al*. Effect of dietary nucleotides on the fatty acid composition of rat liver microsomes [J]. **Archives Internationals de physiologic, de biochemie et de biophysique**, 1993, 101(2): 123－128.

[6] Jyonouchi H, Zhnag-Shanbhag L, Yokoyama H. Nucleotide-free diet impairs T-helper cell functions in antibody production in response to T-dependent antigens in normal C57BL/6 mice[J]. **J Nutr**, 1994,124: 475－484.

[7] Lecce J G, Armstrong P C, Crawford P C, *et al*. Nutrition and management of early weaned piglets: Liquid versus dry feeding [J]. **J Anim Sci**, 1979, 48: 1007.

[8] Sonoda T, Tatibana M. Metabolic rate of pyrimidines and purines in dietary nuclic acids ingested by mice[J]. **Biochem Biophys Acta**, 1978, 521: 55－56.

[9] Lopez-Navarro A T, Gil A, Sanchez Pozo A. Deprivation of dietary nucleotides results in a transient decrease in acid-soluble nucleotides and RNA concentration in rat liver[J]. **J Nutr**, 1995, 125: 2090－2095.

[10] Lopez-Navarro A T, Bueno I D, Gil A, *et al*. Morphological changs in hepatocytes of rats deprived of dietary nucleotides[J]. **Bri J Nutr**, 1996, 76(4): 579－589.

[11] Novak D A, Carver J D, Barness L A. Dietary nucleotides affect hepatic growth and composition in the weanling mouse[J]. **J Parenter Enter Nutr**, 1994, 18: 62－66.

[12] Ortega M A, Gil A, Sanchez Poza A. Maturation satus of small intestine epithelium in rats deprived of dietary nucleotides[J]. **Life Science**, 1995, 56: 1623－1630.

[13] He Y, Chu Shu-Hen, Walker W A. Nucleotide supplements alter proliferation and differentiation of cultured human (Caco-2) and rat (IEC-6) intestinal epithelial cells[J]. **J Nutr**, 1993,123: 1017－1027.

[14] Tanaka M, Lee K, Martinez-Augustin O, *et al*. Exogenous nucleotides alter the proliferation,differentiation and apoptosis of human small intestinal epithelium[J]. **J Nutr**, 1996,126: 424－433.

[15] Perignon J L, Bories D M, Houllier A M, *et al*. Metabolism of pyrimidine bases and nucleosides by pyrimidine-nucleoside phosphorylasase in cultured human lymphoid cells[J]. **Biochem Biophys Acta**, 1987, 928: 130－136.

[16] Marijnen Y M T, Korte D, Haverkort W A, *et al*. Studies on the incoporation of precursors into purine and pyrimidine nucleotides via 'de novo 'and 'salvage 'pathways in normal lymphocyte and lymphoblastic cell-line cells[J]. **Biochem Biophys**, 1989, 1012: 148－155.

[17] Ameho C K, Adjei A A,*et al*. Modulation of age-related changes in immune functions of protein-deficient senescence-accelerated mice by dietary nucleoside-nucleotide mixture supplementation[J]. **Bri J Nutr**, 1997, 77(5): 795－804.

(责任编辑 杨 勇)

万方数据