บทที่ 14

ภูมิคุ้มกันวิทยาในสัตว์ปีก
(Avian Immunology)

สัตว์ปีกเป็นสัตว์ที่ออกลูกเป็นไข่ ดังนั้นจึงมีการป้องกันสิ่งแปลกปลอมที่จะเข้าไปทำลายตัวอ่อนได้เป็นอย่างดี โดยในไข่นั้นจะมีเยื่อ chorioallantoic หุ้มตัวอ่อนอยู่ นอกจากนี้ยังมี antibody บางตัวที่สามารถ่ายทอดจากแม่ไปสู่ลูกได้ โดยส่งผ่านทาง yolk ขณะที่ลูกไก่ยังอยู่ใน ovary เมื่อไข่ผ่านมายัง oviduct ทั้ง IgM และ IgA ที่อยู่ใน oviduct secretion จะรวมเข้ากับ albumin เมื่อตัวอ่อนเติบโตขึ้นก็จะกินเข้าไปในรูปของ amniotic fluid ส่วน IgG ลูกไก่จะสามารถดูดซึมจาก yolk เข้าสู่กระแสเลือดได้ แต่ antibody ในลูกไก่นี้จะลดลงมากใน 10-20 วันหลังจากฟักเป็นตัว

Lymphocytes ในสัตว์ปีกสามารถพบได้ทั้ง T-lymphocytes และ B-lymphocytes

T-lymphocytes เป็นเซลล์ซึ่งสามารถพบได้ง่ายในชั้น Cortex of Thymus Gland มีลักษณะเหมือน Lymphocyte ที่พบทั่วๆ ไป มีขนาดเล็ก ประกอบด้วย nucleus ที่มีขนาดค่อนข้างใหญ่ ในไก่มี Thymocytes เป็นจำนวนมาก มีขนาดเล็ก และมี Feulgen-positive เมื่อใช้การตรวจสอบ DNA โดยเทคนิค Feulgen-Rossenbeck ในนกกระทานั้นพบว่า Thymocytes มีขนาดใหญ่ และมี Feulgen-positive เกาะติดอยู่บนเยื่อหุ้มนิวเคลียส เมื่อตรวจสอบทางจุลกายวิภาคศาสตร์ของเนื้อเยื่อพบว่าในไก่และนกกระทาจะมีนิวเคลียสที่แตกต่างกัน

การขาดไปของ Congenic ของนกที่ถูกกดดันขัดขวางพัฒนาการของ Alloantisera ที่เป็นองค์ประกอบหนึ่งของ T-lymphocytes และการอธิบายความจำเพาะของ Antigenic marker บน T-lymphocytes โดยทั่วไป Anti-T-cell Antisera ที่ปรากฏประมาณครึ่งหนึ่งของ Splenic Lymphocytes ที่จะเจริญไปเป็น T-cell ในไก่ที่อายุ 2-3 สัปดาห์ และจากผลการทดลองในน้ำเหลืองของไก่ที่มีอายุ 24 สัปดาห์ พบว่ามีการกระจายของ T-lymphocytes ในปริมาณที่เหมาะสม

B-lymphocytes

สามารถแยกออกจาก T-lymphocytes ได้โดยดูที่ผิวเซลล์ จะมี slgM อยู่ โดยมีการพัฒนามาจาก Bursa of Fabricius ได้ทำการทดลองโดย ฉีด anti-chain antibody ในตัวอ่อนที่มีอายุ 13 วัน ในขณะเดียวกันก็ทำ Bursectomized ในไก่ที่เพิ่งฟักออกมาจากไข่ พบว่าไก่เริ่มมีอาการ agramma globulinaemic ซึ่งผลการทดลองในไก่อายุ 13 วันนั้น พบว่าที่ผิวของ B-cell จะเป็น slgM positive และในไก่ที่มีลักษณะ gene ที่แตกต่างกัน ก็พบการแสดงออกของ B-lymphocyte บน B-cell เพียงชนิดเดียว

Mitogen คือสารที่สามารถทำให้ Lymphocyte มีการแบ่งตัวสร้าง DNA มีฤทธิ์ไม่จำเพาะกับ antigen ใด ๆ สารที่มีคุณสมบัติเป็น mitogen มีหลายชนิด เช่น

1. Phytomitogen (lectin) จากพืช
2. Lipopolysaccharide (LPS) จากจุลลินทรีย์มีฤทธิ์ต่อ B-cell
3. Anti immunoglobulin sera

ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมนั้น พบว่า Mitogen Phytohaemagglutinin (PHA) และ Concavalin (ConA) มีความจำเพาะต่อ T-lymphocytes ซึ่งพบว่าเป็นผลมาจาก gene

Helper T-lymphocytes หน้าที่ของ Helper-T-lymphocyte คือ กระตุ้นให้ B-lymphocytes หรือ Macrophage ซึ่งเป็น Antigen-presentating cell นั้นเกิดความสามารถที่จะสื่อชนิดของ antigen ให้แก่ T-lymphocyte และกระตุ้น T-lymphocytes ให้พ้นจากภาวะ anergy (ภาวะที่ T-lymphocyte ไม่สามารถทำงานได้)

Suppressor T-cell เป็นตัวยับยั้งการทำหน้าที่ของ T-cell สร้างมาจาก bone marrow cell พบได้ในรูป CT8, CT4, CTR1 เป็นต้น และพบว่า การสูญเสียการทำหน้าที่ของ Suppressor T-cell อาจจะเป็นสาเหตุในการเกิดภาวะ Autoimmune ได้ เนื่องจาก ไม่มีตัวยับยั้ง T-cell ที่ทำหน้าที่มากเกินไป

Cytokines เป็นกลุ่มของสารน้ำที่หลั่งออกมาจากเซลล์หลายชนิด โดยเฉพาะเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน เพื่อตอบสนองแบบ Specific immune response ชนิดของ Cytokines

1. Interferon แยกย่อยออกได้เป็น
   - α-Interforon สร้างมาจากเม็ดเลือดขาว
   - β-Interferon สร้างมาจาก Fibroblast
   - γ-Interferon สร้างมาจาก T-lymphocyte
2. Interleukin ชนิดที่พบมากในไก่ คือ Interleukin-1 และ Interleukin-2
3. Colony-stimulating factor
4. Tumor necrosis factor

Lymphoid Organ

Primary Lymphoid Organ

Thymus Gland ต่อมไทมัสที่พบในสัตว์ปีก ประกอบด้วยพูเล็ก ๆ ประมาณ 14 พู ซึ่งอยู่ในตำแหน่งต่ำกว่าคอและอยู่เหนืออกอยู่ชิดกับเส้นเลือด Jugular vein มีความสัมพันธ์กับต่อม Parathyroid, Thyroid, และ Ultimobranchial

ลักษณะทางจุลกายวิภาคนั้นคล้ายกับต่อมไทมัสในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม โดยแต่ละพูประกอบด้วยกลีบเล็ก ๆ เป็นจำนวนมากเชื่อมต่อกันด้วย connective tisseu ตรงกลางเป็นชั้น medulla และมี cortex ล้อมรอบ ซึ่งเป็นชั้นของ Lympholid cell ต่อมไทมัสนี้เจริญมาจาก branchial pouch คู่ที่

3 และอาจจะมีบางส่วนมาจาก คู่ที่ 4 โดยเริ่มแรก หลังฟักออกจากไข่ประมาณ 5 วัน จะเกิดเป็น epithelial tubular วางตัวตามเส้นเลือด Jugular vein และมีการขยายขนาดออกไปเรื่อยๆ แล้วจะมีการเชื่อมต่อกับ pharynx หลังจากนั้น epithelial cord จะถูกล้อมรอบโดย mesoderm จากนั้นจะมี large lymphocyte เกิดขึ้นแล้วเซลล์เหล่านี้จะเคลื่อนที่เข้าไปอยู่ในต่อมไทมัส ในไก่นั้น epithelial cell จะมีการจัดเรียงตัวแบบก้นหอย ส่วนในชั้น cortex มีการจัดเรียงยาวออกไปตามแนวรัศมี ต่อมไทมัสของนกนั้นจะมีขนาดใหญ่ที่สุดในช่วง sexually immature จากนั้นจะเริ่มสลายโดย parenchyma จะถูกแทนที่ด้วย ไขมันและ fibrous tissue

Bursa of Fabricius เป็นอวัยวะที่พบเฉพาะในสัตว์ปีกเท่านั้น มีลักษณะเป็นโพรงหรือถุงรูปกลมรี เชื่อมต่อกับส่วนล่างของ cloaca ด้วยท่อสั้นๆ ในลูกไก่ ต่อมนี้จะมีขนาดใหญ่ แต่จะเล็กลงเมื่อไก่มีอายุมากขึ้น โดยเข้าใจว่าการที่ต่อมนี้มีขนาดเล็กลงนั้นเป็นผลมาจาก adrenal hormone และ sex hormone หน้าที่ของต่อมเบอร์ซา คือทำให้เกิดการ differentiation ของ B-cell ซึ่งเป็นเซลล์สำคัญในระบบของการสร้าง antibody ต่อมเบอร์ซาประกอบด้วยส่วน cortex ซึ่งมี lymphocyte, plasma cell และ macrophage รวมกลุ่มกันอยู่ส่วนในชั้น medulla จะมี epithetial cell อยู่ระหว่าง corticomedullary junction มีการผลิตฮอร์โมนจากต่อมนี้ เช่น bursin ที่กระตุ้นให้เกิด maturity ของ B-cell

Lymph node ในนกส่วนใหญ่ไม่พบ lymph node ยกเว้นในพวก aquatic species เช่น เป็ด และนกน้ำ lymph node ที่พบได้แก่ cervico-thoracic node อยู่บริเวณ thoracid มีลักษณะยาวล้อมรอบส่วนท้ายของ cervial lymphatic duct, lumbar nodes อยู่ในแต่ละด้านของ abdominal aorta ถึงแม้ว่าการพัฒนาของ lymph node ในนกจะน้อยกว่าใน สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม แต่ก็พบว่ามีส่วนช่วยในการเกิด re-circulation ของ T-lymphocyte และ B-lymphocyte

Bone Marrow ในไขกระดูกปกติของไก่นั้น สามารถพบ granulocyte cells ได้ แต่มีจำนวนไม่มากนัก แต่ก็สามารถเจริญพัฒนาไปเป็น cytoplasmic granulocytes ชนิด heterophils, basophils และ eosinophils ส่วนใหญ่จะมีรูปร่างกลมมี nucleus ขนาดใหญ่ นอกจากนี้ยังพบเซลล์ชนิดอื่นได้อีก เช่น lymphocyte, monocyte, osteoclasts และ osteoblasts Secondary Lymphoid Organ

Spleen ลักษณะรูปร่างเป็นรูปไข่อยู่บริเวณส่วนล่างของ กระเพาะแท้ (proventiculus) น้ำหนักประมาณ 0.2% ของน้ำหนักตัว เป็นแหล่ง antibody ที่สำคัญของร่างกาย โดยเป็นแหล่งปฐมภูมิของการสร้าง granulocytes และ erythrocytes แบ่งออกเป็นสองบริเวณคือ White pulp และ Red pulp ตรงกลางของ White pulp นั้นจะมีเส้นเลือด Central arteriole ซึ่งมีเปลือกหุ้มอยู่ เรียกว่า periarterial lymphatic sheath (PALS) เป็นที่ที่สามารถพบ T-lymphocyte ส่วนบริเวณปลาของ PALS นั้น จะเริ่มมีการบีบตัวของหลอดเลือดให้กลายเป็น penciliform capillary ซึ่งจะถูกล้อมรอบ

ด้วย ellipsoid เป็นบริเวณที่มี B-lymphocytes และ Dendritic cells ต่อจากบริเวณนี้ penciliform capillary จะแตกแขนงออกเป็น capillary ซึ่งจะเกิดการขับสารต่างๆ ไปยังบริเวณ Red pulp sinus และบริเวณ germinal center ที่อยู่ใกล้กับ central arteriole นั้นจะปรากฏ presentating cell และ B-lymphocyte ที่เคลื่อนมาจาก ellipsoid

Lymphoid Tissue of The Alimentary tract

The caecal tonsils

Caecal tonsils เป็นส่วนหนึ่งของ gut ที่มีความหนาแน่นของ lymphoid tissue ที่รอยต่อของ caeca นั้น จะมีผิวของผนังพับเป็นรูปไข่ใกล้กับบริเวณ ideal junction จากการศึกษาทางจุลกายวิภาค จะพบชั้น lamina propria ซึ่งเป็นชั้นที่อยู่ตรงกลาง จะมีความกว้างตามขนาด และจะแผ่ออกไปจนอยู่ใกล้กับต่อมอื่นๆ ที่อยู่ใกล้ๆ และ จะมีแนวแยกโดยชั้นของ connective tissue ที่ประกอบด้วย blood vessel, lymphatic และมี plasma cells ทั้งที่เจริญเต็มที่แล้ว และกำลังเจริญอยู่ caecal tonsils จะเริ่มมีการสะสมและเพิ่มจำนวนเมื่อลูกไก่ฟักออกจากไข่ประมาณ 5 วัน ซึ่งอวัยวะนี้เป็นแหล่ง antibody ที่สำคัญเนื่องจากสามารถพบ plasma cells เป็นจำนวนมาก ซึ่งสามารถผลิต antibody ต่อ Bovine Serum Albumin (BSA) และสามารถพบ IgG และ IgM

Peyer's Patches พบในไก่มีขนาดเล็กและจำนวนน้อยกว่าที่พบในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม

Lymphoid Tissue in Paraocular and Paranasal gland

Harderian gland เป็นต่อมที่ใหญ่ที่สุดที่พบใน paraocular gland ประกอบด้วย plasma cells เป็นจำนวนมาก และสามารถหลั่ง IgA ได้ ในไก่จะสามารถพบ plasma cells และ lymphoid cells ใน nasal turbinates และ lateral nasal gland

Immunoglobulin ในไก่สามารถผลิต antibody ได้อย่างน้อย 3 ชนิด

IgG (IgY)

IgM

IgA (IgB)

ลักษณะ IgM มีรูปร่างเป็น pentamer เหมือนกับโครงสร้าง IgM ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมจะพบในเซรั่มจำนวนมากมีรูปร่าง monomeric จึงพบเป็นผิวของ Immunoglobulin (Ig) บน B-lymphocyte พบในช่วงวิวัฒนาการระยะแรกของการพัฒนาของ B-lymphocyte ภายใน Bursa of Fabricius IgG (IgY) เป็นพวกที่เป็น non-IgM ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ สามารถพบได้ในเซรั่มเช่นกัน มีความสำคัญระหว่างการเกิด secondary immune response IgG จะ Homologous กับ IgY หรือ IgA ที่พบในสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำ และในสัตว์เลื้อยคลาน ที่พบ IgA จะพบในน้ำดี

การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแบบต่างๆ (Antibody-Mediated Immunity) นกสามารถตอบสนองได้ดีต่อ antigen ที่เป็น อนุภาค สารละลาย และ T-dependent antigen การตอบสนองของ antibody ขึ้นอยู่กับ การควบคุมของลักษณะทางพันธุกรรม ซึ่งจะเกิดได้เร็ว

Cell-Mediated Immunity

การเกิด allograft rejection และ xenograft rejection ในนกจะเกิดรวดเร็ว "acute" เหมือนในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม มีการยับยั้ง second-set memmory ซึ่งมีผลต่อ cytotoxic T-lymphocyte, cytotoxic antibody การเกิด graft rejection นั้นจะอยู่ใต้การควบคุมของ MHC และอาจจะเกี่ยวกับ minor histocompatibility รวมทั้ง sex-linked histocompatibility antigen

การเกิด Delayed hypersensitivity reaction ในนกจะมีการต่อต้านต่อ human Y-globulin plus complete Freund's adjuvent

Tolerance

เหมือนกันในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม การไม่เกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันที่จำเพาะอย่างนั้น สามารถทำให้เห็นจริงโดยการทำ parabiosy ในไก่ที่อยู่ในระยะคัพภะ 2 ตัว ไก่ทั้ง 2 ตัว นี้จะเกิดการไม่ตอบสนองต่อแต่ละเซลล์โดยเกิดเป็น

High - zone tolerance หรือ lmmune paralysis เกิดจากการได้รับ antigen ในปริมาณที่มาก

Low - zone tolerance เกิดจาการได้รับ antigen ในปริมาณที่น้อย

Major Histocompatibility Complex (MHC)

ในไก่ MHC ถูกเรียกว่าอยู่ในระบบ B complex และสามารถจำแนกออกได้เป็น 3 class คือ

Class I (B-F) gene products พบได้ใน เนื้อเยื่อทั่วไปและ erythrocytes

Class II (B-L) gene products จำแนกแยกได้จากบนเซลล์ที่เป็น non-lymphoid cell ที่อยู่ที่ bursa of Frabricius

- ใน Thymus cells
- B-lymphocytes
- Activated T-lymphocytes
- Macrophages
- Dendritic cells

Class IV (B-G) gene products พบได้ใน

- erythrocyte
- platelets

- intestinal cells
- arguably lymphocytes

บทบาทของ Class I และ Class II จะเหมือนกันใน mammals

Hpersensitivity

Anaphylactic reaction สามารถพบได้ในไก่ซึ่งถูกกระตุ้นด้วย protein antigen และการเกิดนี้สามารถถ่ายทอดได้ทาง serum และ basophils

Ig E หรือ Ig Y สามารถชี้ให้เห็นว่าการเกิด TYPE I hypersensitivity สามารถเกิดได้โดยอนุภาคหรือสารที่เหมือนกับที่ทำให้เกิดใน mammals นอกจากนี้พบว่า histamine มีส่วนในการทำให้เกิดปฏิกิริยาเช่นกัน

ในนกสามารถเกิด complement-mediated Type II cytotoxic hypersensitivity ได้โดยอาศัย alternative complement pathway และ Classical complement pathway โดย alternative complement pathway สามารถรวมกับ bacterial lipopolysaccharide หรือองค์ประกอบบางอย่างในพิษของงูเห่า

Autoimmunity

ในไก่พบการเกิดโรค obese strain (os) เป็นการเกิดการอักเสบของต่อม Thyriod การเกิดโรค os พบได้ในไก่อายุ 6 สัปดาห์ โดยไก่จะมีอาการ

1. ตัวเล็กเมื่อเทียบกับไก่ปกติที่อายุเท่ากัน
2. มีอาการเซื่อง
3. ไวต่ออุณหภูมิในสิ่งแวดล้อม
4. ผิวจะมีลักษณะมัน
5. การเจริญจนถึงขั้นผสมพันธุ์จะยาวกว่าปกติ
6. ถ้าเกิดกับตัวเมียจะไม่สามารถวางไข่ได้

ในไก่ที่เป็นโรคนี้จะมีการสร้าง Antibody ต่อ Thyroid antigen antibody ที่พบนั้นรวมทั้ง IgG และ IgM ซึ่งมีความจำเพาะต่อ Tg (thyroglobulin)

ภูมิคุ้มกันในลูกไก่ที่ได้รับจากแม่ไก่

แอนติบอดีในซีรั่มจะส่งผ่านจากแม่ไก่ไปยัง Yolk ได้ในขณะที่ไข่ยังคงอยู่ในรังไข่ และเมื่อไข่ผ่านลงมายังท่อนำไข่ทั้ง IgM และ IgA ใน oviduct secretion จะรวมเข้ากับ alblumin เมื่อตัวอ่อนเติบโตขึ้นก็จะดูดซึม IgG บางส่วนจาก yolk เข้ามาในกระแสโลหิต ส่วน IgM และ IgA อยู่ใน amniotic fluid และถูกกลืนโดยตัวอ่อน ดังนั้นลูกไก่จะมี IgG ในกระแสโลหิตและพบ IgM กับ IgA ในลำไส้ลูกไก่ที่เกิดใหม่จะไม่ดูดซึมแอนติบอดีใน yolk sac ทั้งหมดก่อน 24 ชั่วโมงหลังฟักเป็นตัวและแอนติบอดีที่ลูกไก่ได้รับจากแม่นี้จะรบกวนการใช้วัคซีนได้และแอนติบอดีจะลดลงมากใน 10-20 วันหลังฟักเป็นตัว