

# 壳聚糖对肉仔鸡血清花生四烯酸含量、磷脂酶 $A_2$ 活性及小肠胞内磷脂酶 $A_2$ mRNA 表达的影响

李慧英 史彬林\* 闫素梅 冯永森 郭晓宇

(内蒙古农业大学动物科学与医学学院, 呼和浩特 010018)

**摘要:** 本试验旨在研究日粮中添加不同水平壳聚糖对肉仔鸡血清花生四烯酸含量、磷脂酶  $A_2$  活性及小肠胞内磷脂酶  $A_2$  mRNA 表达的影响。试验选择 1 日龄健康爱拔益加肉仔鸡 240 只(公母各占 1/2), 随机分为 6 个处理, 每个处理 5 个重复, 每个重复 8 只鸡。对照组饲喂基础日粮, 其他 5 种试验日粮分别在基础日粮中添加 50、200、500、1 000 和 2 000 mg/kg 的壳聚糖配制而成。试验期 42 d。结果表明, 肉仔鸡血清花生四烯酸含量、磷脂酶  $A_2$  活性及十二指肠、空肠、回肠的胞内磷脂酶  $A_2$  mRNA 表达均随日粮壳聚糖添加量的增加呈显著二次曲线增加 ( $P < 0.05$ ); 其中以 500 和 1 000 mg/kg 壳聚糖组较高, 但当日粮壳聚糖添加量为 2 000 mg/kg 时则有不同程度的降低。由此可知, 壳聚糖对肉仔鸡免疫功能的影响可能与磷脂酶  $A_2$  的活性及小肠胞内磷脂酶  $A_2$  mRNA 的表达发生改变有关。

**关键词:** 壳聚糖; 肉仔鸡; 花生四烯酸; 磷脂酶  $A_2$ ; 胞内磷脂酶  $A_2$  mRNA

研究和开发天然、绿色的抗生素替代品, 已成为国内外研究的热点之一。壳聚糖即(1,4)-2-氨基-2-脱氧- $\beta$ -D 葡萄糖, 是甲壳素脱乙酰基的产物, 属于天然来源的碱性多糖, 主要来自海生动物, 如虾、蟹等的外壳。已有研究表明, 壳聚糖不能为动物消化吸收<sup>[1]</sup>, 但壳聚糖及其衍生物作为饲料添加剂能改善动物生产性能, 增强机体免疫能力, 具有抗菌、抗病毒作用, 且安全无毒, 对环境无公害, 被认为是一种新型的饲料添加剂<sup>[2-3]</sup>。前期的试验研究发现, 壳聚糖可显著提高肉仔鸡的抗体滴度、吞噬指数和淋巴细胞转化率<sup>[4]</sup>; 添加壳聚糖使肉仔鸡血液中辅助性 T 细胞/细胞毒性 T 细胞 ( $CD^{4+}/CD^{8+}$ ) 值有所增加, 并随添加剂量增加呈一次线性或二次曲线上升趋势<sup>[5]</sup>。磷脂酶  $A_2$  ( $PLA_2$ ) 因家族成员的多样性、结构间的差异及基因表达上的特异性而具有多种生物学作用。细胞膜磷脂在  $PLA_2$  催化作用下可以释放花生四烯酸(arachidonic acid, AA)。AA 在环氧化酶和脂氧化酶作用下产生前列腺素  $E_2$  ( $PGE_2$ )、白细胞三烯  $B_4$  ( $LTB_4$ ) 等一系列激素类物质, 这些物质在生物体内起着重要作用<sup>[6]</sup>, 其中  $PGE_2$  和  $LTB_4$  具有重要的免疫调节作用。胞内磷

脂酶  $A_2$  ( $cPLA_2$ ) 和其他  $PLA_2$  没有同源性, 是唯一一个已明确对 Sn-2 位的 AA 具有优先选择性的  $PLA_2$ 。已有报道认为, 壳聚糖可通过激活  $cPLA_2$  促进巨噬细胞 AA 的释放<sup>[7]</sup>。Usami 等<sup>[8]</sup> 研究发现, 壳聚糖能刺激犬多形核细胞合成  $LTB_4$  和  $PGE_2$ 。由此推测, 壳聚糖对动物免疫机能的促进效果可能与  $PLA_2$  的活性增强有关, 但目前关于壳聚糖对动物机体免疫功能影响的机理研究尤其是分子机制的试验研究鲜见报道。鉴此, 本试验旨在通过研究日粮添加不同水平的壳聚糖对肉仔鸡血清 AA 含量、 $PLA_2$  活性及小肠  $cPLA_2$  mRNA 表达的影响, 从  $PLA_2$  途径探讨壳聚糖对肉仔鸡免疫功能的影响机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验动物分组

试验选择 1 日龄健康爱拔益加肉仔鸡 240 只(公母各占 1/2), 随机分为 6 个处理, 每个处理 5 个重复, 每个重复 8 只鸡。各组鸡初始体重经方差检验, 差异不显著 ( $P > 0.05$ )。对照组饲喂基础日粮, 根据前人和前期的研究结果, 其他 5 种试验日粮分

收稿日期: 2008-12-06

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 30660130)

作者简介: 李慧英(1982-), 女, 内蒙古清水河人, 博士研究生, 主要从事动物营养与免疫及分子生物学研究。E-mail: lihuiying3@sina.com

\* 通讯作者: 史彬林, 教授, 博士, 硕士生导师, E-mail: binlinshi@yahoo.com.cn

别在基础日粮中添加 50、200、500、1 000 和 2 000 mg/kg 的壳聚糖配制而成。试验所用壳聚糖购于山东济南海德贝海洋生物工程有限公司,脱乙酰度为 90.52%。基础日粮以玉米和豆粕为主要原料,参照中国肉鸡饲养标准(2004),按照不同的生长发育阶段配制,基础日粮组成及营养水平见表 1。

表 1 基础日粮组成及营养水平(风干基础)  
Table 1 Composition and nutrient levels of basal diets  
(air-dry basis, %)

项目 Items	日龄 Age (d)	
	1~21	22~42
原料 Ingredients		
玉米 Corn	52.68	58.97
豆粕 Soybean meal	40.00	33.80
豆油 Soybean oil	3.00	3.00
石粉 Limestone	1.10	1.80
磷酸氢钙 CaHPO <sub>4</sub>	1.90	1.25
食盐 NaCl	0.37	0.37
蛋氨酸 Met	0.19	0.07
赖氨酸 Lys	0.05	0.03
胆碱 Choline	0.11	0.11
微量元素预混剂 Mineral premix	0.50	0.50
维生素预混剂 Vitamin premix	0.10	0.10
合计 Total	100.00	100.00
营养水平 Nutrient levels		
代谢能 ME (MJ/kg)	12.71	12.78
粗蛋白质 CP	21.37	18.99
钙 Ca	1.08	1.03
有效磷 AP	0.62	0.55
赖氨酸 Lys	1.25	1.10
蛋氨酸 Met	0.54	0.39

每千克基础日粮中含有 Provided per kilogram of basal diet: Fe 80 mg; Zn 80 mg; Mn 80 mg; Cu 8 mg; I 0.35 mg; Se 0.15 mg; VA 3 000 IU; VD<sub>1</sub> 250 IU; VE 15 IU; VK 2.2 mg; VB<sub>1</sub> 1.5 mg; VB<sub>2</sub> 8.0 mg; VB<sub>6</sub> 2.5 mg; VB<sub>12</sub> 0.011 mg; 烟酸 niacin 44 mg; D-泛酸 D-pantothenic acid 11 mg; 叶酸 folic acid 0.9 mg; 生物素 biotin 0.11 mg; 胆碱 choline 550 mg。

1.2 饲养管理

肉鸡采用涂塑肉鸡笼饲养,试验期 42 d。自动控温,自由饮水。

1.3 样品制备

分别于 14、28 和 42 日龄 08:00 于每重复中随机抽取 1 只鸡,翅静脉采血 10 mL 于普通采血管中,在 4 ℃ 下离心(3 000 r/min)制备血清, - 20 ℃ 冷冻保存备用。然后宰杀,于冰浴上迅速剪取十二

指肠、空肠和回肠组织,用生理盐水冲洗内容物,分装于 1.5 mL Eppendorf 管中放入液氮中,快速冷冻后转入 - 70 ℃ 低温冰箱冻存,用于 RNA 的提取。PLA<sub>2</sub> 活性采用放射免疫分析法测定(试剂盒购自北京华英生物技术研究),AA 采用酶联免疫分析法测定(试剂盒购自美国 R&D 公司)。

1.4 组织总 RNA 提取及反转录(RT)

取肉鸡小肠组织,按总 RNA 提取试剂盒 RNAiso Reagent(TaKaRa D312,中国大连)说明进行总 RNA 提取。总 RNA 用无 RNA 酶水溶解,经 1% 琼脂糖凝胶电泳分析检测总 RNA 完整情况,于 - 70 ℃ 保存备用。因所获总 RNA 含量太低,紫外分光光度计不能准确测量,反转录前直接将 6.5 μL 的 RNA 加入到反转录体系中合成 cDNA。反应体系为 10 μL,其中 5× PrimeScript™ Buffer 2 μL、PrimeScript™ RT Enzyme Mix I 0.5 μL (TaKaRa DRR037S)、Oligo dT Primer (50 μmol/L) 0.5 μL, Random 6 mers (100 μmol/L) 0.5 μL。于 PCR 仪进行反转录,反应条件为:37 ℃ 15 min, 85 ℃ 5 s。

1.5 实时荧光定量 PCR

根据跨内含子原则进行引物设计以避免基因组污染干扰。引物由上海生工生物工程技术有限公司合成。

cPLA<sub>2</sub> (333 bp, GenBank 登录号 NM\_205423):  
上游 5'-CGGCAGCAGCGGAAGGATAATA-3';  
下游 5'-AGTGAGCAGCAGAAGTGGGTTGTGA-3'。  
β-肌动蛋白(β-actin) (118 bp, GenBank 登录号 NM\_205518):  
上游 5'-GCCAACAGAGAGAAGATGACAC-3';  
下游 5'-GTAACACCATCACCAGAGTCCA-3'。

采用 SYBR Green I 荧光染料法进行实时定量 PCR 扩增的检测。PCR 反应体系为 20 μL,其中 2× SYBR® premix E<sub>x</sub> Taq™ 10 μL (TaKaRa DRR041A)、cDNA 2 μL、上游引物(10 μmol/L) 0.4 μL、下游引物(10 μmol/L) 0.4 μL、dH<sub>2</sub>O 7.2 μL。于实时定量 PCR 仪(美国 MJ OPTICON-2)分别进行 cPLA<sub>2</sub> 和 β-肌动蛋白的 PCR 反应,扩增条件为:95 ℃ 预变性 1 min; 95 ℃ 变性 5 s, 62 ℃ 退火 30 s, 72 ℃ 延伸 6 s, 45 个循环后, 72 ℃ 延伸 7 min。

反应过程中以水替代 cDNA 为阴性对照。cPLA<sub>2</sub> mRNA 相对表达量采用 2<sup>-ΔCt</sup> 进行计算<sup>[9]</sup>, ΔCt = Ct(cPLA<sub>2</sub>) - Ct(β-肌动蛋白)。PCR 产物经单一熔解曲线峰进行确定,并取 5 μL PCR 产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳(100 V, 15 min)确定扩增产物片段大小后,送交上海生工进行序列测定。

1.6 试验数据处理

试验数据采用 SAS(SAS Institute, 1998) 软件回归分析程序进行统计, 对不同壳聚糖梯度的日粮处理效应进行一次线性和二次回归分析, 以  $P < 0.05$  作为差异显著性标准。

2 结 果

2.1 壳聚糖对肉仔鸡血清 AA 含量及 PLA<sub>2</sub> 活性的影响

由表 2 的回归分析统计结果可知, 在试验各期, 肉仔鸡血清中 AA 含量随日粮中壳聚糖添加量的增

加呈现显著二次曲线增加 ( $P < 0.05$ ); 其中以 500 和 1 000 mg/kg 壳聚糖组较高, 当日粮中壳聚糖添加量提高到 2 000 mg/kg 时, 血清 AA 含量都有不同程度的降低。随日粮中壳聚糖添加量的增加, 血清 PLA<sub>2</sub> 活性在试验第 14 天呈现二次曲线增加趋势 ( $P = 0.074$ ), 在试验第 28 天和第 42 天呈现显著二次曲线增加 ( $P < 0.05$ ); 其中以 500 和 1 000 mg/kg 壳聚糖组较高, 当日粮中壳聚糖添加量提高到 2 000 mg/kg 时, 血清 PLA<sub>2</sub> 活性呈下降趋势。

表 2 壳聚糖对肉仔鸡血清 AA 含量及 PLA<sub>2</sub> 活性的影响  
Table 2 Effects of different levels of chitosan in diet on AA content and PLA<sub>2</sub> activity in serum of broilers

项目 Items	日龄 Age (d)	壳聚糖水平 Levels of chitosan (mg/kg)						标准误 SEM	P 值 P-value	
		0	50	200	500	1 000	2 000		线性 Linear	二次 Quadratic
AA (mg/mL)	14	0.499	0.524	0.529	0.545	0.586	0.546	0.027	0.233	0.024
	28	0.392	0.397	0.411	0.506	0.567	0.470	0.046	0.260	0.007
	42	0.551	0.589	0.678	0.843	1.079	0.624	0.092	0.643	0.005
PLA <sub>2</sub> (mg/L)	14	197.03	205.93	206.53	216.33	258.89	184.37	21.100	0.912	0.074
	28	171.10	179.55	188.25	207.52	232.50	164.77	15.051	0.963	0.005
	42	224.14	228.96	230.31	238.78	260.49	191.54	17.014	0.375	0.022

2.2 壳聚糖对肉仔鸡十二指肠、空肠、回肠 cPLA<sub>2</sub> mRNA 表达的影响

由表 3 可知, 在试验各期, 随日粮中壳聚糖添加量的增加, 肉仔鸡十二指肠与空肠的 cPLA<sub>2</sub> mRNA 表达均呈显著二次曲线增加 ( $P < 0.05$ ); 其中以 500 和 1 000 mg/kg 壳聚糖组较高, 当日粮中壳聚糖添加量增加到 2 000 mg/kg 时, 十二指肠与空肠 cP-

LA<sub>2</sub> mRNA 表达均有不同程度的降低。随日粮中壳聚糖添加量的增加, 肉仔鸡回肠 cPLA<sub>2</sub> mRNA 表达在试验第 14 天和第 28 天呈现显著二次曲线增加 ( $P < 0.05$ ), 在试验第 42 天呈现二次曲线增加趋势 ( $P = 0.056$ ); 其中以 500 和 1 000 mg/kg 壳聚糖组较高, 当日粮中壳聚糖添加量为 2 000 mg/kg 时, 回肠 cPLA<sub>2</sub> mRNA 表达有不同程度的降低趋势。

表 3 壳聚糖对肉仔鸡十二指肠、空肠、回肠 cPLA<sub>2</sub> mRNA 表达的影响  
Table 3 Effects of different levels of chitosan in diet on cPLA<sub>2</sub> mRNA expression in duodenum, jejunum and ileum of broilers (2<sup>-ΔCt</sup>)

项目 Items	日龄 Age (d)	壳聚糖水平 Levels of chitosan (mg/kg)						标准误 SEM	P 值 P-value	
		0	50	200	500	1 000	2 000		线性 Linear	二次 Quadratic
十二指肠 Duodenum	14	0.008 3	0.010 1	0.010 5	0.012 0	0.015 3	0.011 7	0.002	0.271	0.019
	28	0.020 5	0.021 0	0.022 0	0.022 6	0.023 1	0.020 4	0.002	0.091	0.006
	42	0.021 4	0.027 7	0.040 2	0.044 6	0.048 2	0.030 3	0.001	0.562	0.036
空肠 Jejunum	14	0.006 1	0.007 7	0.009 3	0.010 7	0.015 6	0.012 8	0.004	0.091	0.011
	28	0.014 9	0.015 7	0.017 7	0.018 3	0.020 4	0.016 5	0.003	0.585	0.011
	42	0.018 7	0.019 2	0.020 0	0.020 6	0.021 2	0.019 5	0.001	0.670	0.007
回肠 Ileum	14	0.008 1	0.010 0	0.010 1	0.012 9	0.014 2	0.010 2	0.014	0.715	0.011
	28	0.008 5	0.012 8	0.012 9	0.013 2	0.016 4	0.011 5	0.004	0.605	0.007
	42	0.015 4	0.017 2	0.018 3	0.018 4	0.021 1	0.017 2	0.005	0.592	0.056

### 3 讨论

PLA<sub>2</sub> 在生物体内广泛分布, cPLA<sub>2</sub> 定位在细胞的胞质内, 在单核巨噬细胞中含量丰富, 亦存在于其他细胞中<sup>[10]</sup>。cPLA<sub>2</sub> 和其他 PLA<sub>2</sub> 不具有序列上的同源性, 是唯一一个已明确对 Sn-2 位的 AA 具有优先选择性的 PLA<sub>2</sub>。目前关于 cPLA<sub>2</sub> 的研究主要集中在哺乳动物, Bianco 等<sup>[7]</sup> 研究发现, 壳聚糖可通过激活鼠 cPLA<sub>2</sub> 促进巨噬细胞 AA 的释放; 当壳聚糖水平(质量体积分数)低于 0.01% 时, 鼠巨噬细胞外无 AA 释放, 在 0.01%~0.05% 范围内, 随着壳聚糖水平提高, 膜磷脂向细胞外释放 AA 的量增加, 而在 0.05% 以上则无显著变化。AA 在环氧化酶和脂氧化酶作用下产生 PGE<sub>2</sub>、LTB<sub>4</sub> 等一系列激素类物质, 这些物质在生物体内起着重要作用<sup>[6]</sup>, 其中 PGE<sub>2</sub> 和 LTB<sub>4</sub> 具有重要的免疫调节作用。Usami 等<sup>[8]</sup> 研究发现, 壳聚糖能刺激犬多形核细胞合成 LTB<sub>4</sub> 和 PGE<sub>2</sub>。一些研究结果也指出当机体出现异常状况或病变时, 机体免疫系统启动, 血清 PLA<sub>2</sub> 水平均有不同程度的升高, 说明血清 PLA<sub>2</sub> 水平可以作为衡量机体免疫功能的指标<sup>[11-14]</sup>。本试验研究显示, 肉仔鸡血清 AA 含量及 PLA<sub>2</sub> 活性、十二指肠、空肠、回肠 cPLA<sub>2</sub> mRNA 表达均随日粮中壳聚糖添加量的增加呈显著二次曲线增加 ( $P < 0.05$ ), 其中以 500 和 1 000 mg/kg 壳聚糖组较高, 当日粮壳聚糖添加量为 2 000 mg/kg 时, 肉仔鸡血清 AA 含量及 PLA<sub>2</sub> 活性、十二指肠、空肠、回肠 cPLA<sub>2</sub> mRNA 表达都有不同程度的降低趋势。以上试验结果提示壳聚糖对肉仔鸡免疫功能的影响有一定的剂量依赖关系, 适量添加可刺激肉仔鸡的免疫机能, 而高剂量添加对肉仔鸡免疫功能有抑制作用, 这与前期研究<sup>[5]</sup> 得出的结果相吻合。根据这些试验结果也可推测, 壳聚糖对肉仔鸡免疫机能的影响机制可能与壳聚糖可调控肉仔鸡的 cPLA<sub>2</sub> mRNA 表达与 cPLA<sub>2</sub> 活性的机制研究报道也极少。有资料报道壳聚糖可增强小鼠的巨噬细胞产生淋巴因子白细胞介素-1 和白细胞介素-2<sup>[15]</sup>。白细胞介素-1 与其特异受体结合后, 通过某些调节蛋白作用, 激活胞膜上或胞浆内的多种磷脂酶, 但其确切的结果有待于进一步探讨。

### 4 结论

随日粮中壳聚糖添加量的增加, 肉仔鸡血清 AA 含量及 PLA<sub>2</sub> 活性、十二指肠、空肠与回肠的 cPLA<sub>2</sub> mRNA 表达均呈现显著二次曲线增加 ( $P < 0.05$ ), 且以添加 500 和 1 000 mg/kg 时效果较好; 当日粮壳聚糖添加量为 2 000 mg/kg 时有不同程度的降低。

### 参考文献:

- [1] Gallaher C M, Munion J, Hesslink R, Wise J, Gallaher D D. Cholesterol reduction by glucomannan and chitosan is mediated by changes in cholesterol absorption and bile acid and fat excretion in rats[J]. *Journal of Nutrition Science*, 2000, 130(11): 2 753-2 759.
- [2] 张学峰. 壳聚糖——新型饲料添加剂[J]. *吉林畜牧兽医*, 2003, 2: 45.
- [3] 宁维颖. 甲壳素与壳聚糖在家禽饲料中的应用[J]. *山东家禽*, 2003, 6: 47-49.
- [4] 史彬林, 李德发, 朴香淑. 壳聚糖对肉仔鸡生长性能和免疫功能的影响[J]. *中国畜牧杂志*, 2005, 41(1): 9-11.
- [5] 金 晓, 史彬林, 李慧英, 方丽惠, 张彩芬, 郭晓宇, 陈志刚. 壳聚糖对肉仔鸡外周血 T 淋巴细胞亚群的影响[J]. *饲料工业*, 2008, 29(6): 41-42.
- [6] 李晓玫, 李 彪. 白细胞介素-1——细胞信号转导机制研究现状[J]. *生理科学研究进展*, 1998, 29(1): 58-62.
- [7] Bianco I D, Balsinde J, Beltramo D M, Castagna L F, Landa C A, Dennis E A. Chitosan-induced phospholipase A<sub>2</sub> activation and arachidonic acid mobilization in P388D<sub>1</sub> macrophages[J]. *FEBS Letters*, 2000, 466: 292-294.
- [8] Usami Y, Okamoto Y, Takayama T, Shigemasa Y, Minami S. Chitin and chitosan stimulate canine polymorphonuclear cells to release leukotriene B<sub>4</sub> and prostaglandin E<sub>2</sub>[J]. *Journal of Biomedical Materials Research*, 1998, 42(4): 517-522.
- [9] Schmittgen T D, Zakrajsek B A. Effect of experimental treatment on housekeeping gene expression: validation by real-time, quantitative RT-PCR[J]. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 2000, 46(1/2): 69-81.
- [10] Kanfer J N, Sorrentino G, Sitar D S. Phospholipases as mediators of amyloid beta peptide neurotoxicity: an early event contributing to neurodegeneration characteristic of Alzheimer's disease[J]. *Neuroscience Letters*, 1988, 257: 93-96.

- [11] 郝秀华, 陈 玲. 豚鼠血 TNF、PLA<sub>2</sub> 含量在哮喘发病及其耳针防治过程中的变化[J]. 标记免疫分析与临床, 1998, 5(3): 138-141.
- [12] 肖仁飞, 刘军麟, 李祥福, 李良友, 苏先狮. 病毒性肝炎患者血清 PLA<sub>2</sub> 活性、ALT 水平及其临床意义[J]. 海南医学院学报, 2004, 10(4): 226-228.
- [13] 廖 璞, 王淑琴, 康格非. 乳腺癌患者血清磷脂酶 A<sub>2</sub> 活性变化的研究[J]. 医学研究生学报, 2001, 14(6): 483-484.
- [14] 张建新, 瞿建国, 程国祚, 李 龙, 王旭青. 急性坏死性胰腺炎模型大鼠肠血流量及血清磷脂酶 A<sub>2</sub>、白介素-1 $\beta$  的变化[J]. 基础医学与临床, 2003, 23(5): 556-558.
- [15] Nishimura K, Nishimura S, Seo H, Nishi N, Tokura S, Azuma I. Macrophage activation with multi-porous beads prepared from partially deacetylated chitin [J]. Journal of Biomedical Materials Research, 1986, 20(9): 1 359-1 372.

## Effects of Chitosan on Arachidonic Acid Content, Phospholipase A<sub>2</sub> Activity in Serum and Expression of Cytosolic Phospholipase A<sub>2</sub> mRNA in Small Intestine of Broilers

LI Huiying SHI Binlin\* YAN Sumei FENG Yongmiao GUO Xiaoyu

(College of Animal Science and Veterinary Medicine, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot 010018, China)

**Abstract:** The study was conducted to determine the effects of chitosan on content of arachidonic acid and the activity of phospholipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) in serum, and relative expression of cytosolic phospholipase A<sub>2</sub> (cPLA<sub>2</sub>) mRNA in duodenum, jejunum, and ileum of broilers. Two hundred and forty one-day-old Arbor Acre broilers were randomly allotted to six treatments with five replicates each and eight chickens in each replicate. Six groups were prepared for the study. Control group was the basal diet without chitosan. The other five groups were formulated by the addition of 50, 200, 500, 1 000 and 2 000 mg/kg of chitosan to the basal diet, respectively. The trial lasted for 42 days. The results showed that chitosan improved the content of AA and the activity of PLA<sub>2</sub> in serum, and also the expression of cPLA<sub>2</sub> mRNA in duodenum, jejunum, and ileum of broilers in a quadratic dose-dependent manner ( $P < 0.05$ ), and the supplementation of 500 and 1 000 mg/kg chitosan to the diet were more effective. However, the supplementation of 2 000 mg/kg chitosan to diet was less effective. It was concluded that it was probably related to the improvement of PLA<sub>2</sub> activity and the expression of cPLA<sub>2</sub> mRNA in small intestine that chitosan may improve the immune function of broilers. [Chinese Journal of Animal Nutrition, 2009, 21(4): 580-584]

**Key words:** Chitosan; Broilers; Arachidonic acid; Phospholipase A<sub>2</sub>; Cytosolic phospholipase A<sub>2</sub> mRNA