

· 研究原著 ·

文章编号 1000-2790(2007)22-2044-03

## 哮喘大鼠模型血清 IL-12 及 IL-18 的变化及相关性研究

代继宏<sup>1</sup>, 王永红<sup>2</sup>, 周远大<sup>3</sup>, 何海霞<sup>3</sup> (重庆医科大学:<sup>1</sup> 附属儿童医院呼吸中心, 重庆 400014, <sup>2</sup> 附属第一医院神经内科, 重庆市神经病学重点实验室, <sup>3</sup> 临床学院临床药理学研究室, 重庆 400016)

## Changes of serum IL-12 and IL-18 levels in asthmatic rat models and their correlation

DAI Ji-Hong<sup>1</sup>, WANG Yong-Hong<sup>2</sup>, ZHOU Yuan-Da<sup>3</sup>, HE Hai-Xia<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Center of Pulmonology, Children's Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400014, <sup>2</sup>Chongqing Key Laboratory of Neurology, First Affiliated Hospital, <sup>3</sup>Department of Pharmacology, College of Clinical Medicine, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

**【Abstract】** AIM: To investigate the levels of serum interleukin-12 (IL-12) and interleukin-18 (IL-18) in asthmatic rat, so as to analyze the relation between the two cytokines and airway inflammation. **METHODS:** Forty-eight Wistar rats were randomly divided into 3 groups: asthma group, dexamethasone group, and normal control group. Rats in asthma and dexamethasone groups were sensitized by intraperitoneal injections of ovalbumin (OVA) and A(OH)<sub>3</sub> on day 0 and 7. From day 8, rats were challenged with 1% OVA aerosol for 30 min, continuously for 7 d. Rats in dexamethasone group were intraperitoneally injected dexamethasone before each challenge. Rats in normal group were only sensitized and challenged with saline instead. Twenty-four hours after last challenge, the measurement of serum IL-12 and IL-18 levels with enzyme linked immunosorbent assay and the count of eosinophils in bronchoalveolar lavage fluid BALF were performed. **RESULTS:** Serum IL-12 levels in asthma group, dexamethasone group, and normal control group were (53.1 ± 9.6) ng/L, (82.4 ± 8.1) ng/L and (140.1 ± 13.4) ng/L, respectively. Compared with asthma group, IL-12 level in dexamethasone group increased significantly, but it was lower than normal group ( $P < 0.01$ ). IL-18 levels in these 3 groups were (353.5 ± 11.9) ng/L, (250.6 ± 8.4) ng/L and (100.5 ± 12.7) ng/L, respectively; they were higher in asthma and dexamethasone groups than in normal group ( $P < 0.01$ ). Eosinophils from

BALF in the 3 groups were  $(49.3 \pm 4.0) \times 10^5/L$ ,  $(31.9 \pm 3.6) \times 10^5/L$  and  $(14.8 \pm 4.1) \times 10^5/L$ , respectively; they were significantly more in asthma and dexamethasone groups than in normal group ( $P < 0.01$ ). Correlation analysis of IL-12, IL-18 levels with eosinophil count in BALF of asthma group rats revealed that there was a negative correlation between IL-12 and eosinophil ( $r = -0.746, P < 0.01$ ), while there was a positive correlation between IL-18 and eosinophil ( $r = 0.682, P < 0.01$ ). **CONCLUSION:** IL-12 and IL-18 might play roles in the pathogenesis of asthma and their effects are antagonistic.

**【Keywords】** asthma; interleukin-12; interleukin-18; eosinophils; airway inflammation

**【摘要】**目的: 探讨哮喘大鼠模型血清中白细胞介素-12 (IL-12) 与白细胞介素-18 (IL-18) 之间的关系及其在气道炎症发生中的机制。方法: 48 只 Wistar 大鼠随机分为 3 组, 分别为正常对照组、哮喘组、地塞米松干预组, 用卵白蛋白 (OVA) 腹腔注射致敏, 雾化吸入 OVA 激发制备大鼠哮喘模型, 对照组用生理盐水代替 OVA, 地塞米松干预组每次雾化前经腹腔注射地塞米松。雾化激发后 24 h 取各组肺泡灌洗液进行嗜酸性细胞计数, 并用 ELISA 方法测定血清 IL-12, IL-18 的水平, 分析二者相关性。结果: 哮喘组、地塞米松组和对照组血清 IL-12 水平分别为  $(53.1 \pm 9.6)$  ng/L,  $(82.4 \pm 8.1)$  ng/L 和  $(140.1 \pm 13.4)$  ng/L, 与哮喘组比较, 地塞米松组血清 IL-12 水平显著升高, 但低于对照组 ( $P < 0.01$ )。三组血清 IL-18 水平分别为  $(353.5 \pm 11.9)$  ng/L,  $(250.6 \pm 8.4)$  ng/L 和  $(100.5 \pm 12.7)$  ng/L, 哮喘组与地塞米松组显著高于对照组 ( $P < 0.01$ )。肺泡灌洗液中嗜酸性细胞数  $(49.3 \pm 4.0) \times 10^5/L$ ,  $(31.9 \pm 3.6) \times 10^5/L$  和  $(14.8 \pm 4.1) \times 10^5/L$ , 哮喘组与地塞米松组显著高于对照组。哮喘组血清 IL-12, IL-18 水平分别与肺泡灌洗液中 EOS 数量进行两两相关分析, 显示 IL-12 与肺泡灌洗液 EOS 呈负相关 ( $r = -0.746, P < 0.01$ ), 而 IL-18 与肺泡灌洗液 EOS 呈正相关 ( $r = 0.682, P < 0.01$ )。结论: IL-12 与 IL-18 可能共同参与哮喘气道炎症发病过程, 并且两者的作用相互拮抗。

**【关键词】** 哮喘; 白细胞介素-12; 白细胞介素-18; 嗜酸性细胞; 气道炎症

**【中图分类号】** R562.25 **【文献标识码】** A

收稿日期 2007-08-29; 接受日期 2007-10-11

基金项目 重庆市自然科学基金重点课题 (渝科发字第 [2006] 24 号 CST2006EB5030)

通讯作者: 王永红. Tel: (023) 89011976 Email: wyh2000cq@163.com  
作者简介: 代继宏, 硕士, 副教授. Tel: (023) 63632756 Email: djh@mail.chemu.com

## 0 引言

在哮喘病理生理过程中, T 辅助细胞 2 (T helper

cell 2, Th2) 过度增殖活化、分泌细胞因子过多是引起其气道炎症的主要原因之一,而 Th1 细胞分泌的细胞因子可以抑制 Th2 细胞发育及其引起的免疫反应。白细胞介素 12( interleukin-12, IL-12) 是 T 辅助细胞 1( T helper cell 1, Th1) 分泌的炎症抑制因子,同时是诱导 Th1 分化的关键因子,能上调 Th1 型细胞因子,或下调 Th2 型细胞因子,降低气道高反应性( airway hyperresopnsiveness, AHR) 或肺组织嗜酸性细胞( Eosinophilia, EOS) 浸润。白细胞介素-18( interleukin-18, IL-18) 本身还可以诱导 IgE 合成和促进炎症过程,即促进 Th2 反应。我们通过建立哮喘大鼠模型,探讨 IL-12 及 IL-18 在哮喘气道炎症发生机制中的作用及关系,为哮喘的治疗提供理论基础。

## 1 材料和方法

1.1 材料 取 8~10 周龄 Wistar 大鼠(重庆医科大学实验动物中心提供),雌雄不限,体质量 100 g 左右,共 48 只,随机分 3 组,每组 16 只,分别为哮喘组、地塞米松干预组及对照组。

### 1.2 方法

1.2.1 大鼠哮喘模型制作 见文献[1],进行适当改进,即 ① 致敏:哮喘组与地塞米松组大鼠于第 1 日用新鲜配制的卵白蛋白(OVA, Grade V, Sigma) 1 mg + 氢氧化铝 200 mg + 生理盐水(noral sodium, NS) 1 mL 混悬液在大鼠两腹股沟、腹、前足跖,共 4 点作皮下注射,每点 0.2 mL,最后腹腔注射 0.2 mL,第 7 日重复上述注射 1 次,对照组则用 NS 代替 OVA 进行上述注射。② 激发:从第 8 日开始,哮喘组与地塞米松组大鼠均置于 20 cm × 20 cm × 15 cm 大小的密闭容器中,由 PariBoy 高频雾化器提供雾化动力,以 1 g/L OVA 进行雾化吸入激发,每次雾化 30 min,每天 2 次,连续 7 d。对照组用 NS 代替 OVA 进行激发。观察大鼠反应,若有烦躁不安、呼吸急促、腹肌抽搐、两便失禁等为阳性反应<sup>[1]</sup>。③ 干预处理:从激发第 1 日起对各组大鼠施以如下处理,地塞米松组:每次激发前 1 h,腹腔注射地塞米松 0.2 mg/(kg · d),共 7 d;哮喘组及对照组:用 NS 代替地塞米松进行注射,方法同地塞米松组。上述各组大鼠于最后 1 次处理 24 h 后即用心脏采血法处死并检测各项指标。

1.2.2 肺泡灌洗液中 EOS 计数 大鼠行气管插管,用 NS 1 mL 灌洗双肺,回收灌洗液,反复 3 次,收集支气管肺泡灌洗液,4℃ 下 1000 r/min,离心 10 min,弃上清,沉淀用 1 mL Hank's 液重悬,取 0.2 mL 涂片,瑞氏-吉姆萨染色,计数嗜酸性细胞。

1.2.3 血清中 IL-12, IL-18 的测定 取各组大鼠血液

静置 60 min, 2500 r/min 离心 10 min, 留取血清冻存于 -20℃ 待检。采用 ELISA 法,按 IBL 公司试剂盒说明书进行操作,根据光密度 A 值计算出血清标本中 IL-12, IL-18 水平。

统计学处理:检测结果采用  $\bar{x} \pm s$  表示,均数比较采用方差分析及 LSD-*t* 检验,相关分析采用 Pearson 直线相关分析,经 SPSS 11.5 统计软件包完成数据处理,以  $P < 0.01$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 各组血清 IL-12, IL-18 水平和肺泡灌洗液中 EOS 计数 各组大鼠血清、肺泡灌洗液检测结果有差异(表 1)。

表 1 各组血清 IL-12 及 IL-18 水平及肺泡灌洗液 EOS 计数 ( $n=16, \bar{x} \pm s$ )

组别	IL-12(ng/L)	IL-18(ng/L)	EOS( $\times 10^5/L$ )
哮喘	53.1 ± 9.6 <sup>b</sup>	353.5 ± 11.9 <sup>bd</sup>	49.3 ± 4.0 <sup>bd</sup>
地塞米松	82.4 ± 8.1 <sup>b</sup>	250.6 ± 8.4 <sup>b</sup>	31.9 ± 3.6 <sup>b</sup>
对照	140.1 ± 13.4	100.5 ± 12.7	14.8 ± 4.1

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 对照, <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 地塞米松。

2.2 各组血清 IL-12, IL-18 水平与肺泡灌洗液中 EOS 数量的相关性分析 哮喘组血清 IL-12, IL-18 水平分别与肺泡灌洗液中 EOS 数量进行两两相关分析,显示 IL-12 与肺泡灌洗液 EOS 呈负相关( $r = -0.746, P < 0.01$ ),而 IL-18 与肺泡灌洗液 EOS 呈正相关( $r = 0.682, P < 0.01$ )。

## 3 讨论

哮喘是一种多因素影响的疾病,病理特点是以 EOS 浸润为主的气道慢性炎症。目前认为在哮喘发病过程中,不单是气道局部,全身的主要免疫器官也发生了相应的变化。

近年来,资料证实:Th1/Th2 比例失衡与哮喘密切相关。IL-12 是 Th1 分泌的一种炎症抑制因子,能够促进 Th0 细胞向 Th1 细胞分化,促进 T 细胞及自然杀伤细胞分泌 IFN- $\gamma$ , IL-2 等细胞因子,从而间接抑制由 Th2 细胞引起的变态炎症性反应<sup>[2]</sup>。同时,IL-12 通过趋化因子受体 3 抑制骨髓细胞 CD34<sup>+</sup> 分化形成 EOS,亦抑制 Th2 细胞免疫应答,从而抑制 IL-4 和 IgE 上调 IL-18R 表达<sup>[3]</sup>。IL-12 的浓度降低,引发 IgE 反应,导致哮喘发生。增加 IL-12 的浓度能抑制上述过程。本研究结果显示哮喘组 IL-12 水平较正常对照组低,表明机体 IL-12 水平降低与哮喘发生相关。

IL-18 能诱导 IL-4 产生,从而参与哮喘病的发生<sup>[4]</sup>。IL-18 能介导体内的 Th2 应答而引发哮喘<sup>[5]</sup>,还可促进抗原诱导的 EOS 在气道中的募集,注射 IL-18 对这种抗原诱导的 EOS 募集有剂量依赖关系,提示 IL-18 促进气道嗜酸性粒细胞的募集部分是通过增加致敏动物的抗原诱导的 CD4<sup>+</sup>T 细胞产生的肿瘤坏死因子(TNF- $\alpha$ )来实现的,即 IL-18 本身反而可促进和加重哮喘的气道炎症<sup>[6]</sup>。IL-18 可诱导 IgE 合成和促进炎症过程,即促进 TH2 反应<sup>[7]</sup>。本实验哮喘组 IL-18 与 EOS 计数均高于其他组,表明 IL-18 表达升高可能促进 EOS 募集,并进而促进哮喘发生。

本结果提示哮喘组血清中 IL-12 水平降低,IL-18 水平增高,同时发现 IL-12 与 IL-18 呈负相关,从而说明二者可能同时参与了哮喘的气道炎症发生,但作用似乎呈相互拮抗。

本结果提示地塞米松能有效降低哮喘气道的炎症程度,降低机体 IL-12,IL-18 水平是激素发挥作用的途径之一。因此 IL-12 和 IL-18 可能作为药物治疗新靶点,通过调整哮喘过程中 TH 细胞的平衡状态,从而减少 IgE 合成,减少哮喘的发生。此外,对哮喘治疗的研究已从单纯抑制炎症的非特异性治疗转向细胞水平的病因治疗,针对这些细胞因子的治疗具有潜在的价值<sup>[8-9]</sup>。

## 【参考文献】

- [1] Santing RE, Olymulder CG, Zaagsma J, et al. Relationships among allergen-induced early late phase airway obstructions, bronchial hyperreactivity, and inflammation in conscious, unrestrained guinea pig[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 1994 93(6): 1021-1030.
- [2] Wills Karp M. IL-12/IL-13 axis in allergic asthma[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2001 107: 9-18.
- [3] Lamkhioed B, Abelelibah SG, Hamid U, et al. The CCR3 receptor is involved in eosinophil differentiation and is up-regulated by Th2 Cytokines in CD34<sup>+</sup> progenitor cells[J]. *J Immunol*, 2003, 170(1): 537-547.
- [4] Yoshimoto T, Tsutsui H, Tominaga K, et al. IL-18, although anti-allergic when administered with IL-12, stimulates IL-4 and histamine release by basophiles[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999 96(24): 13962-13966.
- [5] Wild JS, Sihounas A, Sur N, et al. IFN-gamma-inducing factor(IL-18) increases allergic sensitization, serum IgE, Th2 cytokines, and airway eosinophilia in a mouse model of allergic asthma[J]. *J Immunol*, 2000 164(5): 2701-2710.
- [6] Kumano K, Nakao A, Nakajima H, et al. Interleukin-18 enhances antigen-induced eosinophil recruitment into the mouse airways[J]. *Am Respir Crit Care Med*, 1999 160(3): 873-878.
- [7] El-Mezayen RE, Matsumoto T. *In vitro* responsiveness to IL-18 in combination with IL-12 or IL-2 by PBMC from patients with bronchial asthma and atopic dermatitis[J]. *Clin Immunol*, 2004 111(1): 61-68.
- [8] 汪奕琪, 方凤, 刘枫, 等. 盐酸氮溴索对慢性哮喘大鼠气道炎症及杯状细胞增生的影响[J]. *第四军医大学学报*, 2003, 24(16): 1472-1475.
- [9] 苏斌斌, 倪殿涛, SU BX, 等. 肺表面活性物质对哮喘小鼠模型树突细胞功能的调节机制[J]. *第四军医大学学报*, 2004, 27(5): 437-440.

编辑 袁天峰

· 经验交流 · 文章编号 1000-2790(2007)22-2046-01

## 板层状鱼鳞病 1 例

田 蓉<sup>1</sup>, 王兵科<sup>2</sup> (<sup>1</sup> 空军总医院皮肤科, 北京 100036, <sup>2</sup> 河北北方学院第三医院皮肤科, 河北 张家口 075000)

【关键词】板层状鱼鳞病 遗传

【中图分类号】R758.52 【文献标识码】B

1 临床资料 患者, 女性, 15 岁。因四肢、躯干角化性鳞屑 14 a 于 2007-09 就诊我院门诊。患者 1 岁左右时无诱因腰腹部、四肢出现散在斑片, 大小不等, 形状不规则, 表面粗糙, 无水疱大疱, 无自觉症状, 未诊治。之后随年龄增长, 皮损面积逐年扩大, 角化加重, 鳞屑厚如盔甲, 夏季自觉瘙痒。患者病程中体质量无减轻, 无发热, 精神饮食睡眠均正常。既往史无特殊。父母非近亲结婚, 其弟 1 岁时皮肤出现类似症状, 余家族史无特殊。体格检查: 智力正常, 系统检查未见异常。皮肤科检查: 双上肢屈侧、腰部、双下肢深褐色角化性鳞屑, 皲裂, 呈盔甲状(图 1), 汗臭味, 夏季瘙痒明显, 未见掌跖角化及眼睑外翻。

2 讨论 板层状鱼鳞病<sup>[1]</sup>是常染色体隐性遗传, 因其表皮细胞分裂率明显增加引起泛发性红皮症。一般出生时或出生



图 1 板层状鱼鳞病患者下肢皮损为深褐色角化性鳞屑, 皲裂, 呈盔甲状

不久即发生, 其特征为大的灰棕色鳞屑, 四方型, 中央黏着, 边缘游离高起, 严重者鳞屑可厚如盔甲, 常见掌跖中度角化。可有臭汗症。大多数患者毛囊口如火山口样, 1/3 患者出现眼睑外翻。本例患者出生不久即发病, 有家族史, 皮损特点为角化性鳞屑, 厚如盔甲, 皲裂, 瘙痒, 汗臭症, 故诊断明确。治疗给予口服维胺脂 50 mg 2/d, 外用 0.1 g/L 维甲酸乳膏。

## 【参考文献】

- [1] 赵 辨. 临床皮肤病学[M]. 3 版. 南京: 江苏科学技术出版社, 2001 1062-1063.

编辑 袁天峰

收稿日期 2007-10-15; 接受日期 2007-10-30

作者简介: 田 蓉, 博士, 主治医师. Tel (010) 66928074