

文章编号: 1000-7423(2006)-06-0475-02

## 旋毛虫感染小鼠血清 IL-12 水平的动态观察

万启惠, 王佳丽, 贺莉芳, 刘晖, 张曦

**【提要】** 给昆明小鼠口饲含 150±5 条旋毛虫幼虫的骨骼肌, 同时设正常对照组。分别于感染后的 7、21、35 和 49 d 眼眶静脉取血, 分离血清, 用双抗夹心 ELISA 检测血清中白细胞介素 12 (IL-12) 的含量。感染后 7、21 和 35 d 小鼠血清 IL-12 水平与正常对照组比较明显降低 ( $P<0.01$ ), 感染 49 d 血清中的 IL-12 接近正常对照组 ( $P>0.05$ )。说明小鼠感染旋毛虫后, 早、中期血清 IL-12 水平降低, 晚期则接近正常。

**【关键词】** 旋毛虫; 小鼠; 白细胞介素-12

中图分类号: R353.14 文献标识码: B

## Serum IL-12 Level in Mice Infected with *Trichinella spiralis*

WAN Qi-hui, WANG Jia-li, HE Li-fang, LIU Hui, ZHANG Xi

(Department of Parasitology, Zunyi Medical College, Zunyi 563003, China)

**【Abstract】** Kunming mice were infected by feeding 150±5 larvae of *Trichinella spiralis*, established was also a normal control group. Blood was collected from the ophthalmic venous plexus respectively on 7 d, 21 d, 35 d and 49 d after infection and IL-12 in the serum was detected by ELISA. The level of IL-12 in serum decreased in groups of 7 d, 21 d, and 35 d, with a significant difference to the control ( $P<0.01$ ). However, there was no significant difference between 49 d group and control ( $P>0.05$ ), suggesting that the serum IL-12 of the *Trichinella spiralis*-infected mice significantly decreased at the earlier stage but approached to normal at a later stage.

**【Key words】** *Trichinella spiralis*; Mice; Interleukin-12

作者单位: 遵义医学院寄生虫学教研室, 遵义 563003

- (郑锡文. 我国艾滋病流行形势及预防与控制成就[J]. 中华流行病学杂志, 1999, 20: 131-134.)
- [2] Chad S, Zheng MQ, Erana YG, et al. Increased host resistance against *Pneumocystis carinii* pneumonia in gammadelta T-cell-deficient mice: protective role of gamma interferon and CD8<sup>+</sup> T cells[J]. Infect Immun, 2002, 70: 5208-5215.
- [3] Kolls JK, Scott H, Shean MK, et al. INF- $\gamma$  and CD8<sup>+</sup> restore host defenses against *Pneumocystis carinii* in mice depleted of CD4<sup>+</sup> T cells[J]. J Immun, 1999, 162: 2890-2894.
- [4] López-Palomo C, Martín-Zamorano M, Benítez E, et al. Pneumonia in HIV-infected patients in the HAART era: Incidence, risk, and impact of the pneumococcal vaccination[J]. J Med Virol, 2004, 72: 517-524.
- [5] Powles T, Imami N, Nelson M, et al. Effects of combination chemotherapy and highly active antiretroviral therapy on immune parameters in HIV-1 associated lymphoma[J]. AIDS, 2002, 16: 531-536.
- [6] Yang YH. Study advances on *Pneumocystis carinii* pneumonia[J]. J Hangzhou Med College, 2004, 25: 178-179. (in Chinese) (杨艳宏. 卡氏肺孢子虫肺炎研究若干进展[J]. 杭州医学高等专科学校学报, 2004, 25(4), 178-179.)
- [7] Qin YH, Cui Y, Ren YX, et al. Immunological regulation and treatment of brucea javanica and fructus psoraleae on rats with *Pneumocystis carinii* pneumonia[J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2006, 24:59-62. (in Chinese) (秦元华, 崔昱, 任一鑫, 等. 中药鸦胆子与补骨脂素对卡氏肺孢子虫病大鼠免疫调节的影响[J]. 中国寄生虫与寄生虫病杂志, 2006, 24:59-62.)
- [8] Ni XY, Tang XK, Chen YT, et al. The anti-*Pneumocystis carinii* effect of bilobalide in the animal model with transmission electron microscope[J]. Chin J Zoonoses, 2003, 19(1): 9-12. (in Chinese) (倪小毅, 唐小葵, 陈雅棠, 等. 白果内酯治疗实验大鼠肺孢子虫肺炎电镜观察[J]. 中国人兽共患病杂志, 2003, 19 (1): 9-12.)
- [9] Chen XB, Wu GL, Sun X, et al. Contemporary Parasitic Diseases [M]. Beijing: People's Military Medical Publisher, 2002. 325-333. (in Chinese) (陈兴保, 吴观陵, 孙新, 等主编. 现代寄生虫病学[M]. 北京: 人民军医出版社, 2002. 325-333.)
- [10] <http://www.p53.cn/> Wu SC. Exploration on the anticancer mechanism of brucea javanica at the level of molecular biology [N]. Chin Cancer Med Net, 2005-07-07. (in Chinese) (<http://www.p53.cn/> 吴松昌. 从分子生物学水平探讨鸦胆子抗癌机理[N]. 中国癌症医学网, 2005-07-07.)
- [11] Huang J, Zhao LH, Zou QG, et al. New development of chemical and pharmacological study on psoralea corylifolia[J]. Prog Pharm Sci, 2000, 24: 212-214. (in Chinese) (黄剑, 赵陆华, 邹巧根, 等. 补骨脂化学成份与药理研究进展[J]. 药学进展, 2000, 24(4): 212-214.)
- [12] Li WG, Chen YT, Liu CW, et al. Pathological changes in lungs of rats infected with *Pneumocystis carinii* pneumonia after therapy with dihydroartemisinin[J]. Chin J Zoonoses, 2004, 20: 223-227. (in Chinese) (李文桂, 陈雅棠, 刘成伟, 等. 经双氢青蒿素治疗后大鼠肺孢子虫肺炎大鼠的肺部病理学变化[J]. 中国人兽共患病杂志, 2004, 20: 223-227.)
- [13] Cui Y, Qing YH, Li Q, et al. Experimental studies on the oxidation damages of mice induced by *Pneumocystis carinii* pneumonia and the trial uses of the traditional Chinese medicine [J]. Chin J Zoonoses, 2004, 20: 858-862. (in Chinese) (崔昱, 秦元华, 李琦, 等. 卡氏肺孢子虫病鼠氧化损害与中药防治的实验研究[J]. 中国人兽共患病杂志, 2004, 20: 858-862.)

(收稿日期: 2006-11-27 编辑: 盛慧锋)

旋毛形线虫(旋毛虫, *Trichinella spiralis*)是一种人兽共患寄生虫, 感染严重时可致死。该病死亡率高达 6%~30%。我国是目前世界上旋毛虫病危害较为严重的少数国家之一<sup>[1]</sup>。

感染旋毛虫后, 可诱导机体产生免疫应答, 同时又可逃避宿主的免疫应答, 虫体得以生长发育, 从而引起旋毛虫病。免疫应答和免疫逃避相互影响和相互作用, 使机体免疫指标发生一系列动态变化。细胞因子是由致敏或活化的淋巴细胞及某些组织细胞合成和释放的一类具有多种生物学活性的小分子物质, 其中白细胞介素 12 (IL-12)是细胞免疫发生的关键因素。对 IL-12 在旋毛虫感染中表达的研究, 有助于阐明旋毛虫感染的免疫机制。本研究采用双抗夹心 ELISA 检测小鼠感染旋毛虫后血清 IL-12 的动态变化。结果报告如下。

### 1 材料与方 法

1.1 实验动物与虫株 清洁级 8~10 周龄昆明小鼠 35 只, 体重 22~35 g, 雌雄不拘, 购自遵义医学院动物实验中心。旋毛虫大理株, 由大理医学院杨毅梅副教授惠赠。

1.2 主要仪器和试剂 酶标仪(Bio-takelx800, 美国通用公司), IL-12 ELISA 试剂盒由杭州科岛生物科技有限公司提供。

1.3 动物模型的建立及其分组 35 只昆明小鼠随机分为 5 组(每组 7 只), 1~4 组分别经口饲喂 150±5 条旋毛虫幼虫的骨骼肌, 第 5 组设为正常对照组。分别于小鼠感染后 7、21、35 和 49 d 眼眶静脉采血, 室温下静置 30~60 min, 2 000×g 离心 10 min, 分离血清, -80 °C 保存备用。

1.4 双抗夹心 ELISA 检测 IL-12

48 孔板的 8 孔中分别加入 100 μl 标准品稀释液, 第 1 孔再加入 100 μl 标准品 (2 000 pg/ml), 混匀后倍比稀释至第 7 孔, 第 8 孔为正常对照。1~7 孔再分别加入感染旋毛虫后 7、21、35 和 49 d 的待测血清及正常对照组血清 (100 μl), 充分混匀后置 37 °C 2 h, 洗涤液洗板 4~6 次, 滤纸上印干。每孔加入底物邻苯二胺 (OPD) 50 μl, 置 37 °C 1 h。同上洗板。每孔加入 Biotin-Ab 100 μl, 置 37 °C 1 h。同上洗板。每孔加入 100 μl OPD, 37 °C 暗处 5~10 min。每孔加入 1 滴终止液混匀, 在酶标仪上读取吸光值 ( $A_{492}$  值)。

1.5 统计学分析 数据用 SPSS13.0 统计软件进行单变量方差分析, 以( $\bar{x}±s$ )表示。

### 2 结 果

小鼠感染旋毛虫不同时间, 血清 IL-12 水平所有不同。7、21 和 35 d 组的 IL-12 水平分别为(14.14±1.95)、(14.87±2.19)和(15.65±2.19) pg/ml, 与正常对照组(19.29±2.81) pg/ml 比较, 差异有统计学意义( $P<0.01$ ); 49 d 组的为(17.70±2.01) pg/ml, 与正常对照组相比差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

### 3 讨 论

动物实验表明, 机体抗旋毛虫感染的保护性免疫力依赖于 T 细胞<sup>[2]</sup>, 其中 Th 细胞的作用至关重要, Th 细胞分泌的细胞因子在调节免疫反应中起主导作用<sup>[3,4]</sup>。IL-12 主要由树突状细

胞、巨噬细胞、白细胞以及其他一些抗原递呈细胞 (APC) 产生。与其他细胞因子相比, IL-12 具有作用快, 发挥生物学效应的浓度低及作用的靶细胞相对特异等特点。IL-12 可通过调节 Th1 和 Th2 细胞亚群来启动细胞免疫应答<sup>[5]</sup>, 是抑制 Th2 细胞产生和促进 Th1 细胞产生的必须因子, 并可促进 Th0 细胞向 Th1 细胞漂移。

IL-12 是一种多功能的免疫调节因子, 对 T 细胞和自然杀伤细胞 (NK) 具有多种促进作用, 在病原体侵入机体后的早期免疫中有着十分重要的作用<sup>[6]</sup>。如果将外源性 rIL-12 用于治疗感染旋毛虫的 NIH 小鼠, 可导致肠肥大细胞反应的明显抑制、排虫延迟、肌肉幼虫荷增加及治疗早期 Th2 细胞因子分泌量短暂地明显下降。外源性 rIL-12 的作用基本上与 IFN-γ 无关, 因为将 rIL-12 用于治疗 IFN-γ 敲除的小鼠, 同样引起上述现象。因此, IL-12 作为肠道 Th2 细胞反应的直接负调节因子可能发挥着重要的生物学作用, 在 IFN-γ 缺乏的情况下对肠道内旋毛虫成虫的存活还可具有促进作用<sup>[7]</sup>。

本研究发现小鼠感染旋毛虫后, 早、中期(7 d~35 d 组)血清 IL-12 水平明显低于正常对照组, 而晚期 (49 d 组)则逐渐升高, 接近正常对照组。结合旋毛虫的致病过程来分析, 推测 IL-12 水平降低可能与感染旋毛虫小鼠急性期细胞免疫功能抑制有关。感染早、中期, 血清 IL-12 水平降低, 引起 Th1 类细胞因子分泌减少, 机体细胞免疫功能降低, 从而有利于旋毛虫的生长、发育; 感染晚期, 血清 IL-12 水平逐渐升高并接近正常, 促进机体细胞免疫功能增强, 抑制虫体的发育, 以减轻对宿主的损伤。

### 参 考 文 献

- [ 1 ] Liu MY. Trichinellosis in China and its research update[J]. Hygiene of Meat Product, 2005, 6: 14-16. (in Chinese) (刘明远. 我国的旋毛虫病及最新研究概况[J]. 肉品卫生, 2005, 6: 14-16.)
- [ 2 ] Finkelman FD, Shea-Donohue T, Coldhill J, et al. Cytokine regulation of host defense against parasitic gastrointestinal nematodes: Lessons from studies with rodent models[J]. Annu Rev Immunol, 1997, 15: 505-533.
- [ 3 ] Schmitt E, Hoehn P, Germann T, et al. Differential effects of interleukin-12 on the development of naïve mouse CD4<sup>+</sup> T cells [J]. Eur J Immunol, 1994, 24: 343-347.
- [ 4 ] Wu CY, Demeure C, Kiniwa M, et al. IL-12 induces the production of IFN-γ by neonatal human CD4 T cells[J]. J Immunol, 1993, 151 : 1938- 1949.
- [ 5 ] Silva RA, Florido M, Appelderg R. Interleukin-12 primes CD4<sup>+</sup> T cells for interferon-gamma production and protective immunity during *Mycobacterium avium* infection[J]. Immunology, 2001, 103: 368-374.
- [ 6 ] Skeen MJ, Miller MA, Shinnick TM, et al. Regulation of murine macrophage IL-12 production. Activation of macrophages *in vivo*, restimulation *in vitro*, and modulation by other cytokines[J]. J Immunol, 1996, 156: 1196-1206.
- [ 7 ] Helmby H, Grenais PK. IFN-gamma independent effects of IL-12 during intestinal nematode infection[J]. J Immunol, 2003, 171: 3691-3696.

(收稿日期:2005-06-14 编辑:盛慧锋)