

·运动人体科学·

运动应激对 Th1 和 Th2 偏移的影响及其与 Cor、BLA 和 BUN 的关系

何伟

(四川师范大学 体育学院, 四川 成都 610068)

摘 要: 为了探索运动应激对 Th1 和 Th2 偏移的影响及其与皮质醇(Cor)、血乳酸(BLA)和血尿素氮(BUN)的关系。以非体育专业男大学生为研究对象,空腹,以 200 W 蹬车 2 min,间歇 5 min,重复运动至极度疲劳。检测运动前、运动后即刻和运动后 3 h Th1 型细胞因子干扰素- γ (IFN- γ)、Th2 型细胞因子白细胞介素-4(IL-4)、T-淋巴细胞转换指数(T-LTI)、血清免疫球蛋白(IgG、IgA、IgM)以及血清皮质醇(Cor)、血乳酸(BLA)和尿素氮(BUN)浓度等。结果: IFN- γ 、IFN- γ 与 IL-4 比值和 T-LTI 在运动后即刻和运动后 3 h 分别下降了 37%、30%、31%、31%、39%和 28%($P<0.001$); IL-4 和血清 IgG、IgA 和 IgM 在运动前后无明显变化;血清 Cor、BLA 和 BUN 浓度在运动后即刻分别增加了 95%、314%、31%($P<0.001$),休息 3 h 后仍无明显恢复。IFN- γ 和 IFN- γ 与 IL-4 比值分别与 T-LTI 呈正相关($P<0.05$)。IFN- γ 与 IL-4 比值分别与 Cor、BUN、BLA 以及 IFN- γ 分别与 Cor、BUN 之间均呈负相关($P<0.05$); T-LTI 分别与 Cor、BLA、BUN 呈负相关($P<0.05$)。IFN- γ 与 Ig 以及 IL-4 与 BLA、BUN 无显著相关。结果说明运动应激时 Th1 和 Th2 向 Th2 方向偏移,细胞免疫功能下调。这些变化与血清 Cor 和 BLA、BUN 浓度增加有关。

关键词: 运动应激; Th1 型细胞因子干扰素- γ ; Th2 型细胞因子白细胞介素-4; 皮质醇; 血乳酸; 尿素氮; T-淋巴细胞转换指数

中图分类号: G804.2 文献标识码: A 文章编号: 1006-7116(2009)05-0095-05

Effects of exercise stress on the deviation of Th1 and Th2 as well as its relations with Cor, BLA and BUN

HE Wei

(School of Physical Education, Sichuan Normal University, Chengdu 610068, China)

Abstract: In order to probe into the effects of exercise stress on the deviation of Th1 and Th2 as well as its relations with cortisol (Cor), blood lactic acid (BLA) and blood urea nitrogen (BUN), the author used male college students not majoring in physical education as the research subjects, who exercised to an extremely exhausted condition by repeatedly riding on a treadmill with 200 W of power for 2 min and then resting for 5 min in a stomach empty condition. The author tested the Th1 type cytokine, interferon- γ (IFN- γ), Th2 type cytokine, interleukin-4 (IL-4), T-lymphocyte transduction index (T-LTI), blood serum immunoglobulins (IgG, IgA and IgM), as well as the concentrations of blood serum Cor, BLA and BUN, before exercising, immediately after exercising and in 3 h after exercising, and revealed the following findings: IFN- γ , the ratio of IFN- γ to IL-4 and T-LTI dropped respectively by 37%, 30%, 31%, 31%, 39% and 28% immediately after exercising and in 3 h after exercising ($P<0.001$); there is no significant change in IL-4 as well as immunoglobulins IgG, IgA and IgM in blood serum after exercising; the concentrations of blood serum Cor, BLA and BUN increased respectively by 95%, 314% and 31% immediately after exercising ($P<0.001$), but they had no significant recovery after resting for 3 h; a positive correlation is shown re-

spectively between IFN- γ and T-LTI as well as between the ratio of IFN- γ to IL-4 and T-LTI ($P < 0.05$); a negative correlation is shown respectively between IFN- γ /IL-4 and Cor、BUN and BLA as well as between IFN- γ and Cor and BUN ($P < 0.05$); a negative correlation is shown respectively between T-LTI and Cor、BLA and BUN ($P < 0.05$); there is no significant correlation between IFN- γ and Ig as well as between IL-4 and BLA and BUN. The findings indicate that under exercise stress Th1 deviated towards Th2 and cell's immune functions were weakened. These changes are related to the increase of the concentrations of blood serum Cor, BLA and BUN.

Key words: excise stress; Th1 type cytokine interferon- γ ; Th2 type cytokine interleukin-4; cortisol; blood lactic acid; urea nitrogen; T-lymphocyte transduction index

Th1 型淋巴细胞分泌的特异性细胞因子 IFN- γ 介导细胞免疫; Th2 型淋巴细胞分泌的特异性细胞因子 IL-4 介导体液免疫。通常用 IFN- γ 和 IL-4 分别代表 Th1 和 Th2 细胞, 根据 IFN- γ 与 IL-4 比值变化反映 Th1 和 Th2 免疫偏移方向。二者各自通过细胞因子的旁分泌作用, 表现出交互抑制现象, 从而调节细胞免疫和体液免疫之间的平衡, 维持免疫系统内的自稳状态。人体外周血发生 Th1 与 Th2 免疫偏移, 必然导致免疫应答类型(细胞免疫与体液免疫)的变化^[1]。已有报道发现剧烈运动可导致 CD4⁺ 和 CD8⁺T 细胞内的 Th1 型细胞因子(IL-2、IFN- γ 和 IL-12)下降, 或循环血中的 Th1 型细胞的百分比下降、Th1 与 Th2 比值下调^[2-3]。但他们没有同步检测和分析机体免疫应答类型、血清皮质醇(Cor)浓度、代谢因素的变化及相互关系。剧烈大负荷运动必将引起机体激烈的应激反应和代谢产物的堆积, 并同时伴随细胞免疫功能抑制^[4]。据此可推断运动应激所致的细胞免疫功能抑制可能与 Th1 和 Th2 偏移有关, 并与应激激素(Cor)和代谢产物堆积可能也存在联系。因此, 本研究就此做一初步探索, 这对探索运动与免疫的关系有重要意义。

1 对象与方法

1.1 对象

向受试者讲明运动试验过程及可能出现的反应, 受试者自愿参加, 为某大学非体育专业健康男生 20 人, 年龄(20.80 ± 2.02)岁, 身高(174 ± 3.22) cm, 体重(64.65 ± 3.81) kg。

1.2 运动试验

受试者于清晨空腹状态下完成间歇性蹬功率自行车运动试验。负荷为 200 W, 踏速 50 r/min, 持续蹬车 2 min, 间歇 5 min, 称为一组。间歇期可轻微活动。运动至连续 10 s 不能保持规定的速度为止。该运动模型参照了文献[5]。记录完成组数和运动前后的心率。

1.3 血样采集

于运动前、运动后即刻和运动后 3 h 抽取血样。用无菌针管于肘静脉处抽取静脉血 10 mL, 分为 2 份,

各 5 mL, 分别装入自带肝素的抗凝试管和无抗凝剂的玻璃试管内。血样立即送检。

1.4 指标检测

1) T-淋巴细胞转化指数(T-lymphocyte transformation index T-LTI): 无菌条件下取外周肝素抗凝血 3 mL, 常规分离单个核细胞(PBMC)后, 将调制成的细胞悬液加入 96 孔平底细胞培养板, 100 μ L/孔, 每份作 4 复孔, 其中 3 孔加植物血凝素(PHA)作为刺激剂(50 ng/孔), 另一孔不加 PHA 作为空白对照。将培养平板置于 37 $^{\circ}$ C 体积分数 5% 的 CO₂ 孵箱内孵育 72 h, 终止培养前 4 h 离心, 去上清 110 μ L/孔, 加入 MTT 10 μ L/孔。置于 37 $^{\circ}$ C 体积分数 5% 的 CO₂ 孵箱内孵育 3 h。于 570 nm 处测 OD 值。T-LTI = OD_{刺激}/OD_{对照}。以此指数评价 T-淋巴细胞在 PHA 刺激作用下的增殖能力。

2) Th1 和 Th2 型细胞因子: 用双抗体夹心 ABC-ELISA 法测定 T-淋巴细胞孵育 72 h 后的上清液中的干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ) 和白细胞介素-4(interleukin IL-4)质量浓度, 分别代表 Th1 型细胞和 Th2 型细胞。检测药盒由上海森雄科技实业有限公司提供。操作过程严格按说明书进行。单位: pg/mL。

3) 血清免疫球蛋白(IgG、IgA、IgM): Ig 反映体液免疫功能, 采用免疫比浊法检测。检测试剂由伊利康生物公司提供。定标液: Olympus 公司(日本)提供, 批号为 109; 质控品: Olympus 公司提供, 批号为 level-109c、level-2 018c; 测试过程: 将血清样品输入 AU 400 型全自动生化分析仪(Olympus 公司生产, 日本)自动分析。单位: g/L。

4) 皮质醇(Cortisol, Cor): 取血清, 用放射免疫法测定皮质醇。药盒由北京北方生物技术研究所提供。测定步骤严格按试剂盒的说明书操作。单位: ng/mL。

5) 尿素氮(Blood Urea Nitrogen, BUN): 酶法。将血样直接输入 OLYMPUS 全自动生化分析仪(AU 400 型)自动检测。单位: mmol/L。

6) 血乳酸(Blood Lactic Acid, BLA): 血样采集后立即进行血乳酸测定。取血清, 用南京建成生物工程研究所提供的试剂盒, 在 EOS 88 型半自动生化分析仪进

行检测。单位: mmol/L。

1.5 统计处理

应用 Excel 97 软件进行数据的录入、核实与维护, 所有统计分析均采用 SPSS11.5for Windows 统计软件包进行。各指标用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 行 *t* 检验。各指标间做相关分析。

2 结果及分析

2.1 运动前后各指标变化

从表 1 可见 Th1 的特异性细胞因子 IFN- γ 在运动后立即和运动后 3 h 显著低于运动前($P < 0.001$), 其下降幅度分别为 37%和 31%; Th2 特异性细胞因子 IL-4 在运动后立即和运动后 3 h 比运动前稍有增加; IFN-

γ 与 IL-4 比值在运动后立即和运动后 3 h 显著下降($P < 0.001$), 下降的幅度分别达到了 30%和 39%。血清 IgG、IgA 和 IgM 在运动后呈下降趋势, 但总的变化不明显($P > 0.05$); T-LTI 在运动后立即比运动前降低 31%($P < 0.001$), 这种下降水平一直维持到运动后 3 h。细胞免疫/体液免疫平衡指标 T-LTI 与 IgG 比值在运动后立即和运动后 3 h 时只相当于运动前的 51%和 53%($P < 0.001$)。血清 Cor 浓度在运动后立即显著增加, 其增加的幅度达运动前的 95%($P < 0.001$), 并一直保持到运动后 3 h。BLA、BUN 在运动后立即均显著增加, 尤其是 BLA 升高达 314%; 休息 3 h 后血清 BUN 浓度仍明显高于运动前水平, 但在正常值范围内, 而血清 BLA 则恢复到运动前水平。

表 1 试验前、后(即刻、3 h)各生化指标($\bar{x} \pm s$)检测结果

检测时间	$\rho(\text{IFN-}\gamma)$ /(pg·mL ⁻¹)	$\rho(\text{IL-4})$ /(pg·mL ⁻¹)	IFN- γ /IL-4	$\rho(\text{IgG})/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	$\rho(\text{IgA})$ /(g·L ⁻¹)	$\rho(\text{IgM})/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$
运动前	703.07±194.88	42.80±16.70	16.42±4.22	8.17±1.27	1.26±0.26	1.35±0.27
运动后即刻	442.93±151.33 ²⁾	48.80±9.07	12.98±3.86 ¹⁾	7.95±1.07	1.10±0.18	1.26±0.21
运动后 3 h	484.80±192.91 ²⁾	46.33±14.99	11.41±3.75 ¹⁾	8.06±0.52	1.09±0.21	1.34±0.19
检测时间	T-LTI	T-LTI/IgG	$\rho(\text{Cor})/(\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1})$	$c(\text{BUN})/(\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1})$	$c(\text{BLA})/(\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1})$	
运动前	3.32±0.80	0.64±0.66	148.51±60.54	4.57±0.67	3.44±0.28	
运动后即刻	2.32±0.70 ¹⁾	0.33±0.25 ¹⁾	290.26±92.75 ²⁾	5.98±0.63 ²⁾	14.27±0.55 ²⁾	
运动后 3 h	2.39±0.54 ²⁾	0.34±0.13 ¹⁾	255.38±107.50 ²⁾	5.74±0.77 ²⁾	3.80±0.46	

与运动前比较, 1) $P < 0.05$; 2) $P < 0.001$

2.2 各个指标间的相关分析

Th1 和 Th2 细胞因子与免疫功能指标的相关分析(表 2)发现 IFN- γ 与 IgG、IgA、IgM 无显著相关, 但 IFN- γ 和 IFN- γ 与 IL-4 比值、T-LTI、T-LTI 与 IgG 比值呈正相关($P < 0.05$)。IFN- γ 与 IL-4 比值变化分别与 Cor、BUN、BLA 质量浓度变化以及 IFN- γ 分别与 Cor、BUN 之间均呈负相关($P < 0.05$); IL-4 与各个指

标间无显著相关。Cor、BLA、BUN 分别与免疫应答类型指标呈负相关, 但只有 T-LTI 和 T-LTI 与 IgG 比值分别与 Cor、BLA、BUN 以及 IgG 与 BUN 的相关有统计学意义。此外, IFN- γ 和 IFN- γ 与 IL-4 比值呈高度显著正相关, 而 IL-4 和 IFN- γ 与 IL-4 比值呈负相关, 但无统计学意义。

表 2 各生化指标间的相关关系

	IgG	IgA	IgM	T-LTI	T-LTI/IgG	IFN- γ	IL-4	IFN- γ /IL-4
Cor	-0.23	0.14	0.00	-0.36 ¹⁾	-0.32 ¹⁾	-0.64 ²⁾	-0.13	-0.42 ²⁾
BLA	-0.27	-0.13	-0.21	-0.31 ¹⁾	-0.30 ¹⁾	-0.27	0.12	-0.31 ¹⁾
BUN	-0.32 ¹⁾	-0.21	-0.29	-0.60 ²⁾	-0.38 ¹⁾	-0.31 ¹⁾	-0.25	-0.41 ²⁾
IFN- γ	0.25	0.11	-0.11	0.35 ¹⁾	0.31 ¹⁾	1	-0.21	0.75 ²⁾
IL-4	-0.23	-0.16	-0.17	0.19	0.11	-0.21	1	-0.26
IFN- γ /IL-4	0.29	0.17	0.07	0.42 ²⁾	0.33 ¹⁾	0.75 ²⁾	-0.26	1

与运动前比较, 1) $P < 0.05$, 2) $P < 0.01$

2.3 运动负荷量相关指标

受试者完成运动试验的时间(63 ± 7) min; 运动至极度疲劳平均完成 9 组(8~10 组)蹬车运动; 心率从运

动前的(68 ± 7)次/min 升高至运动后(172 ± 6)次/min($P < 0.001$), 但休息 3 h 后基本恢复到运动前水平(73 ± 7)次/min。

3 讨论

3.1 运动应激对 Th1 和 Th2 免疫偏移的影响

机体对剧烈运动的反应,本质上是一种应激反应。Elenkov IL 等^[6]研究认为,急性、亚急性和慢性应激反应可抑制细胞免疫,但却能促进体液免疫。Th1 型细胞因子 IFN- γ 介导细胞免疫, Th2 型细胞因子 IL-4 介导体液免疫^[1]。因此,应激反应有可能引起机体 Th1 和 Th2 下调。最近张宏杰等^[7]报道大学生篮球运动员集训期间大负荷训练可引起 Th1 和 Th2 向 Th2 方向偏移,并同时伴有细胞免疫功能削弱。Kohut M L 等^[8]让大鼠运动至疲劳后,取 T-细胞离体培养,分别用 HSV(Herpes Simplex Virus 单纯疱疹病毒)和 ConA 刺激,发现 IFN- γ 及细胞增殖能力均明显下降, Th2 细胞因子 IL-10 则无明显变化。王茹等^[9]指出,剧烈运动后 IFN- γ 明显下调并抑制细胞免疫。以上报道与本实验结果相似,均表现为 Th1 和 Th2 向 Th2 偏移,细胞免疫功能下降。但也有报道太极拳运动可促使 T 细胞亚群向 Th1 偏移,增强细胞免疫功能^[10]。这表明运动负荷量可能影响 Th1 和 Th2 偏移方向。本次研究还发现 IFN- γ 减少与细胞免疫功能下调有关,但不清楚本试验结果到底是由人体外周血 T-细胞数量减少还是由 T-细胞本身功能活性下降所致。已有报道证明长时间剧烈运动可减少循环血内的 Th1 型细胞^[2-3]。有学者认为剧烈运动后 T-细胞对 PHA 刺激发生的增殖反应显著下降与循环血中的 CD4⁺细胞比例减少有关^[11]。Mooren F C^[12]发现极度疲劳性运动后外周血淋巴细胞减少与细胞凋亡有关。Green K J^[13]报道急性剧烈运动后的淋巴细胞对 PHA 刺激的增殖反应能力下降同时伴随有大量的淋巴细胞死亡,但细胞本身的有丝分裂能力并未降低。因此,本次试验结果可能与人体外周血 Th1 型细胞数量下降有关。但这尚需研究证明。

3.2 皮质醇(Cor)与 Th1 和 Th2 免疫偏移的关系

皮质醇(Cor)对运动的应答主要取决于运动负荷量。中低强度的小负荷运动 Cor 变化不明显;大强度(60%~70%VO_{2max})的剧烈运动通常可导致血浆内的 Cor 质量浓度明显升高,并随运动时间延长而升高越明显。本次运动试验是非体育专业受试者在空腹状态下完成极度疲劳性大强度间歇性运动,在运动后血清 Cor 质量浓度显著增加,表明机体产生了剧烈应激反应。据报道 Cor 抑制细胞免疫功能和 IFN- γ 的产生,并且介导 Th0 型细胞向 Th2 型细胞分化,同时抑制 Th0 型细胞向 Th1 型细胞分化^[8, 14]。体外实验发现 Cor 可抑制丝裂原与异型抗原刺激的 T-细胞增殖^[15]。这与本试验结果相似。同时表明剧烈运动引起血清 Cor 水平升高,在提高机体对运动负荷的适应能力的同时,促进 Th1

和 Th2 向 Th2 方向偏移,抑制细胞免疫功能,从而影响机体的免疫应答类型。

3.3 BLA、BUN 与 Th1 和 Th2 免疫偏移的关系

运动中乳酸堆积是否影响免疫功能,目前未见报道。已知内环境稳态是机体保持正常生理功能的必要充分条件。剧烈运动产生的代谢产物必然影响内环境稳态,这可能影响血液细胞包括淋巴细胞的功能。Anne^[16]报道, pH<7 可损害淋巴细胞的增殖能力和细胞毒作用。本文结果可见 T-LTI、IFN- γ 和 IFN- γ 与 IL-4 比值与血清 BLA 和 BUN 浓度变化存在统计学意义上的负相关关系。这表明,机体在运动过程中产生的 BLA 和 BUN 可能介导 Th1 和 Th2 向 Th2 偏移,并下调细胞免疫功能。

运动中血清 BUN 浓度的升高主要在来自骨骼肌。剧烈运动时间超过 30 min,骨骼肌开始大量动用氨基酸供能以缓冲肌糖原的消耗,并大量增加氨排放,进而导致 BUN 增加。与此同时骨骼肌必然减少向血液中释放谷氨酰胺,运动后血浆中谷氨酰胺浓度降低会影响 IFN- γ 产生,进而抑制细胞免疫功能^[8]。补充谷氨酰胺^[17]或甘氨酸^[4]可以减轻这种变化。本文 BUN 对免疫功能的负性影响可能与骨骼肌大量动用氨基酸供能有关。

运动应激时 Th1 型细胞因子 IFN- γ 下降, Th2 型细胞因子 IL-4 变化不显著, IFN- γ 与 IL-4 比值下降,表明 Th1 和 Th2 免疫移动方向偏向 Th2,由此介导细胞免疫功能下调,体液免疫功能变化不明显; Cor 和 BLA、BUN 对 Th1 和 Th2 免疫偏移有影响,并对细胞免疫功能有抑制作用。

致谢:本课题经费得到本校博士科研启动基金的支持,在实验工作中得到四川大学华西基础医学学院免疫学教研室张平教授及相关工作人员给予的支持和帮助,在此一并表示衷心感谢!

参考文献:

- [1] 周光炎. 免疫学原理[M]. 上海:上海科学技术文献出版社, 2000.
- [2] Adam Steensberg, Anders Dyhr Toft, Helle Bruunsgaard, et al. Strenuous exercise decrease the percentage of type 1 T cell in the circulation[J]. J Appl Physiol, 2001, 91(3): 1708-1721.
- [3] Ilancaster G, Khan Q, Tdrsdale P, et al. Effect of prolonged exercise and carbohydrate ingestion on type 1 and type 2 T lymphocyte distribution and intracellular

- cytokine production in humans[J]. *J Appl Physiol*, 2005, 98(2): 565-571.
- [4] 樊晓飞, 李良菊, 肖德生, 等. 甘氨酸补充对一次性力竭运动小鼠运动能力和免疫功能的影响[J]. *体育学刊*, 2008, 15(11): 109-112.
- [5] 何伟, 高强. 不同强度运动引起的血浆 K^+ 、 Na^+ 变化及其对表面肌电图的影响[J]. *中国运动医学杂志*, 1998, 17(1): 94.
- [6] Elenkov I J, Chrousos G P. Stress Hormones. Th1/Th2 patters, Pro/Ant-inflammatory cytokines and susceptibility to disease[J]. *Trends Endocrinol Metab*, 1999, 10(9): 359-368.
- [7] 张宏杰, 陈佩杰, 段子才. 大学生篮球运动员集训期间部分淋巴细胞亚群和 Th1/Th2 细胞因子 mRNA 表达变化分析[J]. *中国运动医学杂志*, 2006, 25(4): 393-396.
- [8] Kohut M L, Martin A E, Senchina D S, et al. Glucocorticoids produced during exercise may be necessary for optimal virus-induced IL-2 and cell proliferation whereas both catecholamines and glucocorticoids may be required for adequate immune defense to viral infection[J]. *BRAIN BEHAVIOR AND IMMUNITY*, 2005, 19(5): 423-435.
- [9] 王茹, 陈佩杰. 运动与干扰素反应及其影响因素[J]. *中国运动医学杂志*, 2006, 25(4): 435-455.
- [10] 庞阳康, 刘仿. 太极拳运动对大学生外周血 T 细胞亚群的影响[J]. *体育学刊*, 2008, 15(6): 100-103.
- [11] David C Nieman, Dru A Henson, Steve R Mcanulty, et al. Influence of vitamin C supplementation on oxidative and immune changes after an ultramarathon[J]. *J Appl Physiol*, 2002, 92(3): 1970-1977.
- [12] Mooren F C, Blöming D, Lechtermann A, et al. Lymphocyte apoptosis after exhaustive and moderate exercise[J]. *J Appl Physiol*, 2002, 93(1): 147-153.
- [13] Green K J, David G Rowbottom. Exercise-induced changes to in vitro T-lymphocyte mitogen responses using CFSE[J]. *J Appl Physiol*, 2003, 95(6): 57-63.
- [14] 孙卫民, 王惠琴. 细胞因子研究方法[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1997.
- [15] Hoffman-Goetz L, Zajchowski S. In vitro apoptosis of lymphocytes after exposure to levels of corticosterone observed following submaximal exercise[J]. *J Sports Med Physical Fitness*, 1999, 39(1): 269-274.
- [16] Anne Lardner. The effects of extracellular pH on immune function[J]. *Journal of Leukocyte Biology*, 2001, 69(2): 522-530.
- [17] 金其贯. 运动、营养与免疫功能研究进展[J]. *中国运动医学杂志*, 2003, 22(1): 63-67.

[编辑: 郑植友]