

免疫失衡动物模型的复制及应用(综述)

马 玲 姚小曼(审校)

(北京市卫生防疫站,北京 100013)

具有免疫调节作用的保健食品或药品的应用对象主要是年老体弱、对额外应激状态的代偿能力及机体维持稳态的能力均降低、致使对外界环境致病因子免疫力降低的个体,其目的是促使机体由不良状态向健康状态转化,增强防御疾病的能力。在利用实验动物对这类功能食品和药品进行功效研究时,必须选用免疫功能低下的动物模型进行实验。目前,在实验动物科学研究中,已培育出多种免疫缺陷动物模型^[1],如 W/W^v 小鼠(骨髓衰竭模型)、无脾小鼠、无胸腺裸大鼠、裸小鼠、遗传性巨噬细胞缺陷小鼠等,这类动物虽然已成为免疫学、肿瘤学、遗传学等研究的重要工具,但要用作保健食品的功能学检测用,目前尚不现实。老年动物由于机体衰老而呈现免疫功能进行性降低,作为免疫失衡动物模型较为理想,但由于老年动物不易获得、不能满足功能食品常规检测的用量,因而不宜推广。针对这一情况许多学者采用化学诱导法复制出相应的免疫失衡动物模型,用以对具有免疫调节作用的保健食品或药品进行科学的、可靠的功效研究。

1 利用环磷酰胺复制动物模型 环磷酰胺(Cyclophosphamide, CY)是烷化剂中作为免疫抑制剂最多的药物^[2],对体液免疫和细胞免疫均有抑制作用。它作用于参与免疫过程的多种细胞,能非特异性地杀伤抗原敏感性小淋巴细胞、限制其转化为免疫母细胞,并对 B 淋巴细胞的作用尤为显著。鉴于该制剂的这些特点,常被选择用于复制免疫失衡动物模型,但在用药剂量、用药途径及对不同免疫细胞的抑制程度等方面不尽相同。

1.1 大剂量、一次给予的复制方式 罗秋平等^[3]按 100 mg/kg BW 和 200 mg/kg BW 的剂量,给 LACA 种小鼠一次腹腔注射 CY 后,小鼠脾细胞总数、T 淋巴细胞转化作用、腹腔巨噬细胞(M Φ)总数、M Φ 吞噬功能及血清抗体效价均明显下降。冯景奇^[4]在研究当归多糖的免疫调节作用时,以 80 mg/kg 的剂量给小鼠一次皮下注射 CY,复制免疫失衡动物模型,可明显抑制由 ConA 诱导的脾淋巴细胞增殖(淋巴细胞相对增殖指数由 100% 降至 38.5%)、NK 细胞活性(NK 杀伤活性由 32.6% 降至 15.5%)和 IL-2 的生成(A 值由 0.48 下降至 0.32)。雷志明等^[5]在免疫毒理学研究中选择阳性对照物时,观察了不同剂量 CY 对不同性别小鼠免疫功能的影响,结果认为 200、100 mg/kg 的 CY 可对雌、雄小鼠体液免疫功能产生明显抑制,抑制率雄性高于雌性,并建议采用一次较大剂量注射,而不用少量多次注射的方法。

1.2 小剂量、多次给予的复制方式 吕建新^[6]以 20 mg/kg BW 剂量连续 7 d 给 615 纯系小鼠腹腔注射 CY,复制免疫失衡动物模型,结果血清半数溶血值明显受到抑制(HC₅₀由 264 降至 103)。郭国华^[7]在研究人参五灵脂水煎液对免疫低下的小鼠免疫功能影响时,选用了 BALB/C 纯系小鼠,经连续 3 d 腹腔注射 CY(40 mg/kg)复制动物模型,发现其胸腺、脾脏重量明显减轻,溶血素抗体及腹腔 M Φ 吞噬功能受到抑制。关宁^[8]用 CY(每天 15 mg/kg)隔日两次给小鼠皮下注射,复制免疫低下模型获得成功,其血清溶血素由 458.0 降至 287.9,抑制作用非常显著。

1.3 对 T、B 淋巴细胞敏感性的差异 T、B 淋巴细胞对 CY 的敏感性不同,B 细胞比 T 细胞更敏感。^[5,9]朱新华用 30 mg/kg BW 的剂量给昆明种小鼠腹腔注射 CY,隔日一次,共三次,采用 3H-TdR 掺入法测定脾细胞增殖反应,结果发现 CY 组的 B 细胞增殖反应 cpm 值(6180 $\pm$ 564.49)明显低于对照组(9396 $\pm$ 2491.7);T 细胞增殖反应的 cpm 值(5814 $\pm$ 1096.76),虽低于对照组(6542 $\pm$ 1360.18),但无统计学意义,说明分裂速度快的 B 细胞比 T 细胞对 CY 更敏感。熊玉兰^[11]在复制免疫失衡模型时,对于细胞免疫指标—淋巴细胞转化实验,选用一次给予(100 mg/kg)的大剂量,而对于体液免疫指标—PFC 测定则选用多次给予(15 mg/kg, 3 次)的小

剂量,结果亦提示B细胞对CY的敏感性强于T细胞。

上述各项实验结果表明,CY作为一种免疫抑制剂,无论用大剂量一次或小剂量多次给予小鼠,皆能引起免疫功能多项指标的抑制。由于CY的药理功效较为复杂,随着用药剂量、用药途径、动物品系、性别、年龄等的不同,对各类免疫细胞的抑制程度均会有一定影响,故将此模型应用于保健食品功能学试验时,应特别小心。保健食品不同于药品,其生物活性不可能很强,因CY对动物免疫抑制作用过强,即使所研究的保健食品具有一定的免疫增强作用,在此模型上观察也很难得到具有统计学意义的结果。

2 糖皮质激素类诱发的动物模型 糖皮质激素是一类主要影响糖、蛋白质和脂肪代谢,并能对抗炎症反应的药物,临床应用广泛^[2]。在复制免疫失衡动物模型中,常用氢化可的松(Hydrocortisone, HY)、氢化泼尼松(Prednisolone, PR)、地塞米松(Dexamethasone, DXM)等。这几种制剂的作用特点大致相同,对网状内皮系统的吞噬功能有抑制作用,能抑制巨噬细胞吞噬和“处理”抗原的作用,可加速免疫活性淋巴细胞的破坏,使淋巴细胞减少,从而抑制细胞免疫和体液免疫。

宋春华等^[12]采用受试物与抑制物同时给予的方式,研究了“保元汤醇”提取物对小鼠体重及免疫器官的影响。即在每日给予受试物前,先给小鼠每天肌肉注射HY 0.5 mg,连续两周,发现HY对照组小鼠净增体重数、脾指数、胸腺指数皆明显低于正常对照组。毛俊浩^[13]应用短程大剂量注射HY造成免疫抑制动物模型,并根据中医基本理论认为此模型属于“阳虚”类,而具有益气健脾的补益中药,可有效地恢复此“阳虚”小鼠脾淋巴细胞对ConA的反应性。朱新华^[14]以同等剂量(30 mg/kg)的CY和HY分别复制了免疫抑制动物模型,并选择在免疫反应中具有重要意义的巨噬细胞活性、血清溶菌酶含量、细胞因子IL-1、IL-2水平作为观察指标。结果发现HY模型的各项免疫指标均呈高度抑制状态。CY模型在IL-2产生水平上呈高度抑制状态,在巨噬细胞吞噬率和血清溶菌酶含量方面虽有明显抑制作用,但在程度上都小于HY模型的抑制力,而代表活化巨噬细胞吞噬能力的吞噬指数及IL-1的产生水平都未见明显抑制状态,这与谢克平^[15]报道的CY剂量在一定范围内并不影响吞噬细胞功能的结果相吻合。熊玉兰^[16]为了观察“九头鸟SOD口服液”的免疫调节作用,选用3种不同抑制剂复制小鼠免疫失衡模型,结果表明PR能明显降低小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能,HY使小鼠脾淋巴细胞转化能力受到影响,而CY可有效地抑制小鼠体液免疫反应。

上述研究表明,各种免疫细胞及其亚群对不同免疫抑制剂的敏感性有一定差别,在复制模型时,针对不同的免疫指标,可选用不同的抑制剂。

3 其它免疫抑制剂的使用 冯景奇^[4]采用体外实验研究了当归多糖拮抗环孢素A、氢化可的松及抗肿瘤药的免疫抑制作用,其结果为环孢素A(Cyclosporin, CSA)、丝裂霉素C(mitomycin C, MitC)、5-氟尿嘧啶(5-Fluorouracil, 5-FU)和阿糖胞苷(Cytarabine, Cyt)对小鼠混合淋巴细胞培养反应(MLR)有轻度抑制(抑制50%以下),而HY对MLR严重抑制(抑制50%以上)。许爱华^[17]的实验结果表明,每天经口给予CSA(25~100 mg/kg)连续4 d,能显著抑制小鼠脾脏空斑形成数和溶血素生成,而以该剂量连续给予10 d,可显著抑制小鼠迟发型皮肤超敏反应,但对碳廓清速率和骨髓细胞数均无影响,说明环孢素A这种从霉菌代谢产物分离所得的免疫抑制剂具有不抑制造血系统,亦不影响巨噬细胞功能的特点。陈哲生^[18]的研究结果进一步证实了这个观点。

牛磺酸(Taurine)是含硫氨基酸的衍生物,具有多种重要的生理功能,是人体必须营养素之一。近年来有人对其免疫调节作用进行了探讨^[19],发现每天100~200 mg/kg BW腹腔注射牛磺酸连续6 d,对小鼠非特异性免疫、体液免疫和细胞免疫功能均有抑制作用,其作用强度与强的松龙或CY相似,是否能将其应用于复制动物模型尚待进一步研究。

免疫失衡动物模型是保健食品和药品功效研究中不可缺少的应用工具,而利用化学法诱发该模型是简便、经济、快速的方法,但在选择制剂、用药剂量、给予途径、指标敏感性等方面尚存在不一致的观点,确定一个完善、稳定、可行的造模方案是当今值得探讨的问题。

参考文献:

- [1] 张业彬,等.实验动物在生物医学研究中的应用与选择[M].北京:科学出版社,1997
 - [2] 上海医药工业研究院主编.抗变态反应药物及免疫增强剂[M].上海:上海科学技术出版社.1980
 - [3] 罗秋平,等.卡介菌多糖核酸和死卡介菌对环磷酰胺免疫抑制作用的影响[J].湖南医科大学学报.1996,21(4):281~284
 - [4] 冯景奇,等.当归多糖拮抗环孢菌素 A、氢化可的松及抗肿瘤药的免疫抑制作用[J].中国实验临床免疫学杂志.1998,10(4):5~7
 - [5] 雷志明,等.环磷酰胺对小鼠免疫功能的影响[J].卫生毒理学杂志.1989,3(2):108~109
 - [6] 吕建新,等.细脚拟青霉对小鼠体液免疫功能的影响[J].中国实验临床免疫学杂志.1996,8(6):8~10
 - [7] 郭国华,等.人参五灵脂水煎液配伍对免疫低下小鼠免疫功能的影响[J].中草药.1994,25(5):253~255
 - [8] 关宁,等.金蓝宝对小鼠免疫功能的影响[J].中国海洋药物杂志.1996,2,7~11
 - [9] Stockman G, et al. Differential effects of Cyclophosphamide on the B and T cell compartments of adult mice[J]. J Immunology 1973,110(1):277~282
 - [10] 朱新华,等.四逆汤免疫调节活性的实验研究[J].中国实验临床免疫学杂志.1995,7(6):47~49
 - [11] 熊玉兰,等.长寿长乐补酒的免疫药理学研究[J].中国实验免疫学杂志.1997,9(2):61~64
 - [12] 宋春华,等.保元汤醇提物不同途径给药对小鼠体重及免疫器官的影响[J].中国实验临床免疫学杂志.1998,10(3):39~41
 - [13] 毛俊浩,等.白术多糖对小鼠淋巴细胞功能的调节[J].免疫学杂志.1996,12(4):233~236
 - [14] 朱新华,等.免疫抑制动物模型—CY模型及HY模型比较研究[J].中国实验临床免疫学杂志.1998,10(5):29~31
 - [15] 谢克平,等.天然杀伤细胞活性的测定[J].上海免疫学杂志.1988,8(4):291~294
 - [16] 熊玉兰,等.九头鸟 SOD 口服液对免疫抑制小鼠免疫功能的影响[J].中药新药与临床药理,1995;6(2):46~48
 - [17] 许爱华,等.国产环孢素 A 对小鼠免疫功能的抑制作用[J].中国药理学通报,1990,6(4):252~255
 - [18] 陈哲生,等.噻唑蓝比色法检测环孢素 A 和氢化可的松对小鼠淋巴细胞和巨噬细胞的作用[J].药学情报通讯,1994,12(1):48~51
 - [19] 彭慧敏.牛磺酸对小鼠免疫功能的影响[J].中药药理与临床,1994,(3):38~40
- 中图分类号:TS218 文献标识码:E 文章编号:1004—8456(2000)02—0044—03

本刊加入中国学术期刊(光盘版)和 “中国期刊网”的声明

为适应我国信息化建设需要,扩大作者学术交流渠道,本刊已加入《中国学术期刊(光盘版)》和“中国期刊网”。如作者不同意将文章编入该数据库,请在来稿时声明,本刊将做适当处理。本刊所付稿酬包含本刊的纸版、光盘版、网络版的报酬。

网址: <http://www.chinajournal.net.cn>

<http://www.cnki.net>

《中国食品卫生杂志》编辑部
一九九九年十二月