

慢性应激对 II 型糖尿病模型大鼠血清 IL-2、IL-4 和 IL-18 表达的影响

刘娜, 梁执群, 李治国, 燕娟, 郭巍伟

(山西医科大学医学心理学教研室, 山西 太原 030001)

【摘要】 目的:通过测定慢性应激条件下的 II 型糖尿病模型大鼠血清 IL-2、IL-4、IL-18 含量,揭示慢性应激对 II 型糖尿病大鼠免疫功能的影响。方法:对应激组大鼠进行为期 4 周的强迫寒冷游泳与束缚刺激后,比较健康对照组与健康应激组、模型对照组与模型应激组的差异。结果:健康对照组和健康应激组 IL-2 测定值差异有统计学意义;模型对照组和模型应激组 IL-4、IL-18 测定值差异有统计学意义 ($P<0.01$)。结论:2 型糖尿病大鼠的免疫功能更易受到慢性应激影响。

【关键词】 慢性应激;免疫功能;IL-2;IL-4;IL-18

中图分类号: R395.1

文献标识码: A

文章编号: 1005-3611(2012)01-0035-02

Chronic Stress on IL-2、IL-4、IL-18 Content in SD Rats

LIU Na, LIANG Zhi-qun, LI Zhi-guo, YAN Juan, GUO Wei-wei

Psychology Department of Shanxi Medical University in Shanxi, Taiyuan 030001, China

【Abstract】 Objective: By measuring the granting of chronic stress in rats with type 2 diabetes, serum IL-2、IL-4 and IL-18 content, to explore the chronic stress on immune function in type 2 diabetic rats. **Methods:** Compare the control group with the chronic stress group, and diabetic model group with the chronic stress+diabetes mellitus model group, after 4 weeks forced cold swimming and fetter on the chronic stress group and the chronic stress+diabetes mellitus model group.

Results: Chronic stress can impact type 2 diabetic rats' immune function.

【Key words】 Chronic stress; Immune function; IL-2; IL-4; IL-18

糖尿病被认为是一种与心理因素密切相关的身心疾病, Th1 和 Th2 细胞及其表达的细胞因子失衡为 B 细胞受损的关键环节之一^[1,2]。Th1 型细胞分泌 IL-2 等细胞因子, 主要介导细胞免疫, 可导致胰岛 B 细胞功能受损和胰岛素抵抗。Th2 型细胞分泌的 IL-4 等细胞因子, 可抑制 Th1 型细胞因子的细胞毒作用, 发挥对胰岛 B 细胞保护作用。IL-18 是在一定免疫环境下诱导 Th1 或者 Th2 极化作用的独特细胞因子, 目前已有多项研究证明 IL-18 与 2 型糖尿病的发展有关。因此本文通过对照研究的方法, 选取 IL-2、IL-4 和 IL-18 三个因子来探讨慢性应激对实验性 2 型糖尿病模型大鼠免疫功能的影响。

1 材料和方法

1.1 动物和材料

清洁级健康雄性 SD 大鼠 60 只, 体重 180 ± 20 g, 由山西医科大学实验动物中心提供。适应性饲养 1 周后, 随机分为造模组和对照组。造模组 40 只大鼠给予高糖高脂饲料 (在标准全价混合饲料的基础上添加蔗糖、炼猪油和蛋黄, 热能含量 21.6KJ/Kg), 喂

养 4 周后腹腔注射 STZ (溶解在 pH 值为 4.0 的 0.1mmol/l 柠檬酸缓冲液内, 25mg/kg 体重, 1 次/日, 连续 2 日)。空腹血糖大于 16.7mmol/l 的糖尿病大鼠 (剪尾取血, 测试前禁食 12 小时) 判定为实验性 2 型糖尿病造模成功大鼠^[3,4]。对照组 20 只大鼠饲以标准全价混合饲料, 4 周后注射等量柠檬酸缓冲液 2 次。取造模成功大鼠 20 只随机分为模型对照组和模型应激组; 对照组随机分为健康对照组和健康应激组。

STZ 由美国 Sigma 公司生产。IL-2、IL-4、IL-18 试剂盒为美国 RB 公司 ELISA KIT 产品。

1.2 实验方法

采用强迫寒冷游泳与束缚刺激交替的方法进行为期 4 周的慢性应激。束缚和强迫游泳隔天交替进行且每日开始时间不同, 避免大鼠对应激性刺激形成习惯。强迫寒冷游泳是将大鼠放在水深为 30cm、水温为 $15\pm 1^\circ\text{C}$ 的光滑水槽内 (45×45×50cm), 隔日 5 分钟/次; 束缚刺激是将大鼠置于自制的束缚制动筒内 (由大鼠固定仪改制而成), 通过移动插片而逐步缩小大鼠的活动空间。束缚制动隔日 1 次, 持续时间由 1h 逐步延长。制动期间禁食禁水^[5]。

1.3 免疫指标测定

【基金项目】 山西医科大学大学生创新基金 (2009-163)

通讯作者: 梁执群

用 20% 的乌拉坦(0.5ml/100g 体重)腹腔麻醉大鼠后,从腹主动脉抽取 5ml 血液。再经 3000rpm 离心 15min,取血清 2ml 进行 IL-2、IL-4、IL-18 的测定(采用酶联免疫吸附法 ELISA)。

2 结 果

2.1 无应激状态下健康鼠与模型鼠比较

实验显示,模型鼠与健康鼠相比 IL-2、IL-4 和 IL-18 水平均有上升。经统计分析, F 值分别为 29.46、7.29 和 11.04,三者均有显著差异性($P<0.01$)。

2.2 慢性应激对健康鼠的影响

对应激组健康大鼠进行为期 4 周的慢性应激后,经双因素方差分析比较应激组和对照组在应激前后血清 IL-2、IL-4 和 IL-18 表达的差异,结果显示三者表达水平均有升高,但 IL-2 上升具有显著性($P<0.01$),见附表。

2.3 慢性应激对模型鼠的影响

模型组大鼠给予慢性应激后,IL-4 及 IL-18 表达水平较无应激组显著性升高($P<0.01$),而 IL-2 不升反降,且无显著性,结果见附表。

附表 两组大鼠有/无应激 IL-2、IL-4、IL-18 差值比较

		有应激	无应激	F 值
健康鼠	IL-2	171.69±71.939	110.30±29.897	7.30*
	IL-4	44.62±8.747	36.79±7.773	3.59
	IL-18	65.51±15.362	57.62±13.607	1.35
模型鼠	IL-2	186.46±38.174	217.10±52.290	3.64
	IL-4	54.48±11.162	47.54±10.140	7.13*
	IL-18	96.65±15.501	77.15±19.936	16.51*

注: $F_{0.01(1,56)}=7.12$, * 表示在 0.01 水平上有统计学意义

3 讨 论

Th1 和 Th2 细胞及其表达的细胞因子失衡已经被证实是影响糖尿病病情的重要原因之一。IL-2 由 Th1 细胞分泌,能诱导 NK 细胞的增殖分化,提高机体的细胞免疫功能。IL-4 属于 Th2 类细胞因子,能促进体液免疫,调节抗体生成。本研究结果表明,造模过程的生理刺激和应激过程的心理刺激均可影响大鼠的细胞免疫和体液免疫反应,表现为无应激时模型鼠与健康鼠之间比较、有应激与无应激健康鼠之间比较,IL-2、IL-4 均有升高,特别是 IL-2 的升高呈显著性,说明在造模过程中,细胞免疫占主导。

Th1 和 Th2 细胞及其表达的相互作用比较复杂,有研究表明 Th1 型细胞因子可以分泌 IFN- γ 、TNF- α 、IL-2 等细胞因子,进而抑制 Th2 细胞的功能。也有实验显示慢性心理应激能抑制细胞免疫,而使体液免疫占优^[6,7]。本研究中健康组大鼠在应激后 IL-2、IL-4 同步升高,模型组大鼠在应激后 IL-4 升高($P<0.01$)、IL-2 不升反降的结果提示,Th1 和 Th2 细胞及其表达与体内免疫储备有关。模型组大鼠因体内免疫储备有限,更易受到慢性心理应激影响,表现出抑制细胞免疫,而使体液免疫占优。

IL-18 是在一定免疫环境下诱导 Th1 或者 Th2 极化作用的细胞因子,在炎症级联反应中发挥重要作用。Thorand^[8]等证明 IL-18 水平增加可以提高 II 型糖尿病的发病危险性。本研究中健康组大鼠在应激后 IL-18 未升高,而模型组大鼠在应激后 IL-18 升高的结果表明,慢性应激可促进模型大鼠的免疫功能变化,加重 II 型糖尿病的病情。

参 考 文 献

- 1 Somaza N, Vargas F, Carme RM, et al. Pancreas in recent onset insulin dependent diabetes mellitus. J Immuno l, 1994, 153: 1360-1368
- 2 沈岚,陆付耳. 炎症反应与 2 型糖尿病. 微循环学杂志, 2004, 14(4): 63-65
- 3 Cohen S, Miller GE, Rabin BS. Psychological stress and antibody response to immunization: A critical review of the human literature. Psychosom Med, 2001, 63(1): 7-18
- 4 颜军,尹剑春,孙开宏. 强迫游泳和冷刺激对大鼠白细胞介素 2 和 β -内啡肽的影响. 中国心理卫生杂志, 2002, 16(12): 811-813
- 5 张银娥,宋辉,杨惠芳,等. 运动对慢性心理应激大鼠影响. 中国公共卫生, 2007, 23(4): 472-473
- 6 Falcone M, Yeung B, Tucker L, et al. IL-4 triggers autoimmune diabetes by increasing self antigen presentation within the pancreatic islets. Clin Immunol, 2001, 98(2): 190-199
- 7 Gaffen SL, Liu KD. Overview of interleukin-2 function, production and clinical applications. Cytokine, 2004, 28(3): 109-123
- 8 Thorand B, Kolb H, Baumert J, et al. Elevated levels of interleukin-18 predict the development of type 2 diabetes. Diabetologia, 2005, 48(10): 2932-2938

(收稿日期:2011-07-11)