

尾吊模拟失重大鼠胃肠道白介素2和生长抑素的表达

朱 鸣, 吴本俨, 尤纬缔

朱鸣, 吴本俨, 尤纬缔, 中国人民解放军总医院南楼消化科 北京市 100853
朱鸣, 女, 1969-02-04 生, 浙江省宁波市人, 汉族, 2002 年军医进修学院医学硕士, 主治医师. 主要从事胃肠道免疫方面的研究.
总装备部预研基金项目, No. 5142203030101JB1003
项目负责人: 吴本俨, 100853, 北京市复兴路 28 号, 中国人民解放军总医院南楼消化科. zm6924@vip.sina.com
电话: 010-66937393
收稿日期: 2004-06-08 接受日期: 2004-06-17

Expression of interleukin-2 and somatostatin in gastric and jejunum mucosa in tail-suspended rats

Ming Zhu, Ben-Yan Wu, Wei-Di You

Ming Zhu, Ben-Yan Wu, Wei-Di You, Department of Gastroenterology, South Building, the General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China
Supported by the Research Foundation of the General Equipment Headquarters of Chinese PLA, No. 5142203030101JB1003
Correspondence to: Ben-Yan Wu, Department of Gastroenterology, South Building, the General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China. zm6924@vip.sina.com
Received: 2004-06-08 Accepted: 2004-06-17

Abstract

AIM: To reveal the alterations of interleukin-2 (IL-2) and somatostatin (SS) immunoreactive cells in the gastric and jejunum mucosa of rats during simulated weightlessness.

METHODS: Experiments were conducted on 35 Sprague-Dawley rats. They were divided into 4 groups: suspended for 14 days (5 male and 5 female), control of 14 days (5 male and 5 female) and suspended for 28 days (10 male), control of 28 days (5 male). Tail-suspension (-30°) was used to simulate weightlessness. The change of IL-2 and SS immunoreactive cells in the gastric and jejunum mucosa of rats was examined by immunohistochemistry.

RESULTS: In the gastric mucosa, IL-2 immunoreactive cells in the 14 days tail-suspended rats were tended to decrease, but did not change significantly ($P > 0.05$). It decreased significantly in the 28 days tail-suspended rats ($P < 0.01$). SS immunoreactive cells decreased significantly both in the 14 days and the 28 days tail-suspended rats ($P < 0.01$). In the jejunum mucosa, IL-2 immunoreactive cells in the 14 days and 28 days tail-suspended rats both did not change significantly ($P > 0.05$). SS immunoreactive cells decreased significantly in both the 14 days and the 28 days tail-suspended rats ($P < 0.05$ and $P < 0.01$).

CONCLUSION: Decrease of IL-2 and SS cells is found in the gastric mucosa of rats under simulated weightlessness. SS cells are also decreased in jejunum mucosa, but IL-2 does not change significantly in it. The functions of immune and endocrine may be changed.

Zhu M, Wu BY, You WD. Expression of interleukin-2 and somatostatin in gastric and jejunum mucosa in tail-suspended rats. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2004;12(8):1880-1883

摘要

目的: 研究尾吊模拟失重状态下大鼠胃窦和空肠黏膜白介素2(interleukin-2, IL-2)及生长抑素(somatostatin, SS)免疫反应细胞的变化.

方法: 采用尾部悬吊模拟失重, 将大鼠分为悬吊 14 d 组和 28 d 组及相应同步对照组. 以免疫组织化学方法, 观察大鼠胃窦和空肠黏膜 IL-2 及 SS 免疫反应细胞的变化.

结果: 与正常对照组相比, 在胃窦部黏膜 14 d 尾部悬吊大鼠 IL-2 免疫反应细胞有下降趋势, 但统计学分析无明显差异, 28 d 悬吊组则明显减少($P < 0.01$); 14 d 和 28 d 悬吊组 SS 免疫反应细胞均明显减少($P < 0.01$). 与正常对照相比, 在空肠黏膜 14 d 及 28 d 悬吊组 IL-2 免疫反应细胞无明显变化($P > 0.05$); 14 d 及 28 d 悬吊组 SS 免疫反应细胞减少($P < 0.05$ 及 $P < 0.01$).

结论: 模拟失重状态下, IL-2 在大鼠胃窦部的表达下降, 在空肠变化不明显; 而 SS 在大鼠胃窦及空肠的表达均下降. 提示其免疫及内分泌功能发生了改变.

朱鸣, 吴本俨, 尤纬缔. 尾吊模拟失重大鼠胃肠道白介素2和生长抑素的表达. 世界华人消化杂志 2004;12(8):1880-1883

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/1880.asp>

0 引言

人类自从 1961 年已经有航天飞行的记录, 但是关于在宇宙飞行中神经内分泌及免疫系统反应的资料和数据仍较有限. 尽管内分泌和神经系统在调节机体的新陈代谢和自我平衡中起主要作用, 免疫系统对机体调节功能也不能忽视^[1]. IL-2 在免疫调节中起重要作用, 生长抑素是一种内分泌激素, 他存在于中枢神经系统、胃肠道和淋巴器官, 对免疫系统有广泛影响^[2]. 我们以尾吊大鼠为模拟失重模型, 观察其胃窦和空肠黏膜中 IL-2 和 SS 表达的变化.

1 材料和方法

1.1 材料 健康♂SD 大鼠 15 只, 体质量 250-300 g, 随机分为 28 d 实验组 10 只, 28 d 同步对照组 5 只(标本取材于第四军医大学航空航天医学系实验室). 健康♂及♀SD 大鼠各 10 只, 体质量 250-300 g, 随机分为

14 d 实验组和 14 d 同步对照组各 10 只, 雌雄各半(标本取材于空军总医院动物实验室). 采用尾悬吊-30°作为模拟失重模型, 每只笼内悬吊一只大鼠, 尾部悬于笼顶, 使鼠的前肢踏于笼底的塑料棒上, 后肢悬空, 身体纵轴与水平面成 30°. 对照组除不悬吊外, 其他条件与实验组相同. 兔抗 IL-2 抗血清, 武汉博士德公司提供, 工作浓度 1:50; 兔抗 SS 抗血清, 北京中山公司提供, 工作浓度 1:50. 二抗为北京中山公司提供的二步法免疫组化试剂 PV-6001.

1.2 方法 悬吊组和对照组分别于 14 d 和 28 d 悬吊结束时腹腔注射戊巴妥钠(45 mg/kg)麻醉后开腹腔取出胃和空肠, 沿胃小弯及空肠纵轴剖开, 甲醛缓冲液固定标本, 按常规脱水、石蜡包埋, 3 μm 切片. 采用二步法免疫组化检测. 切片经常规脱蜡至水, 用 30 mL/L 的过氧化氢孵育 10 min, 用正常山羊血清封闭 30 min, 滴加一抗, 室温过夜; TBS 洗 3 次, 各 5 min 后, 滴加 PV-6001, 37° 孵育 30 min, DAB 显色, 苏木素复染, 甘油明胶封片, 显微镜下观察. 其中一抗为 IL-2 时需微波修复. 阴性对照用和第一抗体同比稀释正常兔血清代替第一抗体染色. 在光学显微镜下分别计数胃窦部和空肠黏膜各免疫反应细胞的密度(阳性细胞百分比).

统计学处理 采用成组 *t* 检验比较悬吊组与对照组动物间的差异.

2 结果

棕色颗粒分布于胃窦和空肠 IL-2 和 SS 免疫反应细胞的胞质或胞核内, 背景清晰. 胃窦部 IL-2 免疫反应细胞呈卵圆形或多边形, 多分布于胃窦腺上皮中下 1/3(图 1A, B); SS 免疫反应细胞呈卵圆形、梭形或多边形,

多分布于胃窦腺上皮中上 1/3(图 1C, D), 悬吊组与对照组的分布相似. 空肠部 IL-2 免疫反应细胞呈梭形、长方形或多边形, 多分布于空肠黏膜中下 1/3(图 2A, B), SS 免疫反应细胞呈梭形或长方形, 多分布于空肠黏膜中上 1/3(图 2C, D); 悬吊组与对照组的分布相似. 阴性对照切片未见特异性着色. 与正常对照组相比, 在胃窦部黏膜 14 d 尾部悬吊大鼠 IL-2 免疫反应细胞有下降趋势, 但统计学分析无明显差异, 28 d 悬吊组明显减少($P<0.01$); 14 d 和 28 d 悬吊组 SS 免疫反应细胞均明显减少($P<0.01$, 表 1). 与正常对照相比, 在空肠黏膜 14 d 及 28 d 悬吊组空肠黏膜 IL-2 免疫反应细胞无明显变化($P>0.05$); 14 d 及 28 d 悬吊组 SS 免疫反应细胞减少($P<0.05$ 及 $P<0.01$, 表 2).

表 1 悬吊大鼠胃窦 IL-2 阳性细胞和 SS 阳性细胞的变化(mean \pm SD, %)

分组	IL-2 阳性细胞		SS 阳性细胞	
	14 d	28 d	14 d	28 d
对照组	54.1 \pm 16.1	48.1 \pm 9.2	69.0 \pm 13.5	63.8 \pm 7.0
悬吊组	42.9 \pm 12.9 ^a	30.3 \pm 11.1 ^b	48.3 \pm 13.4 ^d	45.2 \pm 8.9 ^f

^b $P<0.01$, ^d $P<0.01$, ^f $P<0.01$ vs 对照组.

表 2 悬吊大鼠空肠 IL-2 阳性细胞和 SS 阳性细胞的变化(mean \pm SD, %)

分组	IL-2 阳性细胞		SS 阳性细胞	
	14 d	28 d	14 d	28 d
对照组	102.3 \pm 39.5	85.6 \pm 41.7	347.0 \pm 71.6	306.4 \pm 70.0
悬吊组	111.5 \pm 55.5 ^a	77.6 \pm 28.8 ^b	264.6 \pm 100.5 ^a	131.9 \pm 26.0 ^b

^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ vs 对照组.

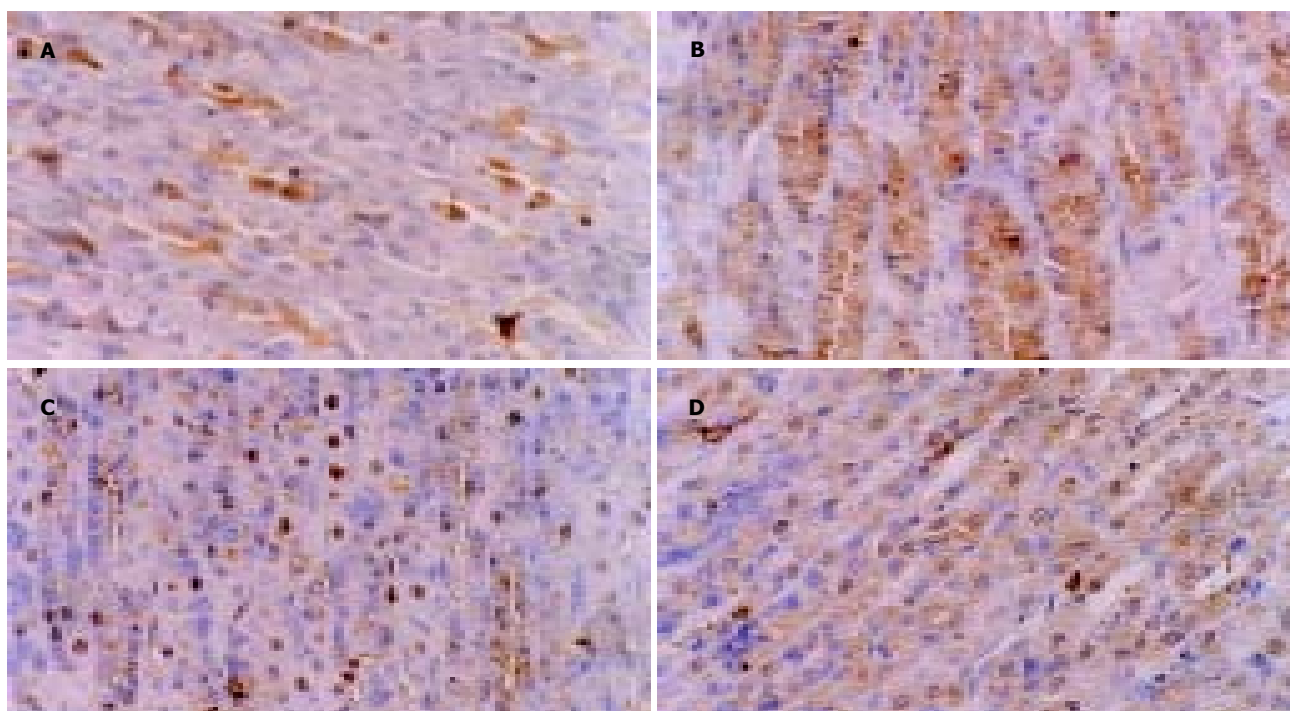


图 1 28 d 大鼠胃窦免疫反应细胞 SABC \times 400. A: 尾吊组 IL-2 细胞; B: 对照组 IL-2 细胞; C: 尾吊组 SS 细胞; D: 对照组 SS 细胞.

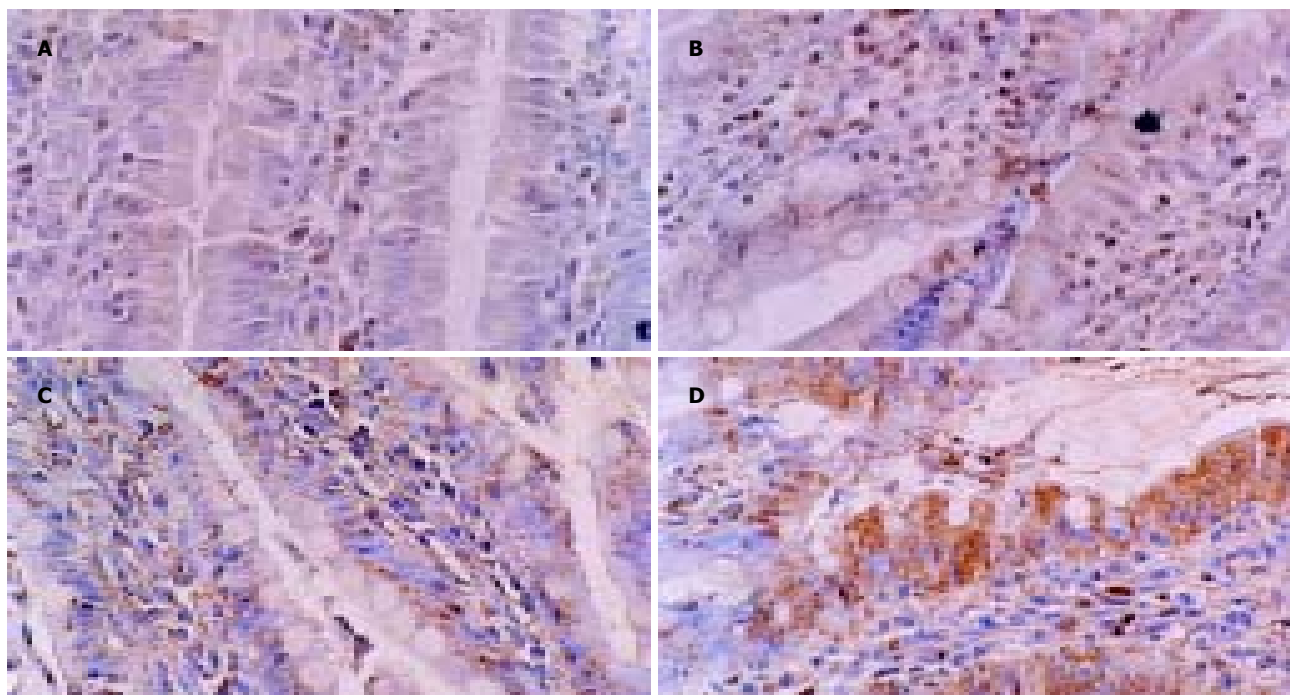


图2 28 d大鼠空肠免疫反应细胞 SABC $\times 400$. A:尾吊组 IL-2 细胞; B: 对照组 IL-2 细胞; C:尾吊组 SS 细胞; D: 对照组 SS 细胞.

3 讨论

由于航天飞行中多种因素的影响,宇航员可能发生多种与免疫及内分泌功能失调有关的疾病.但是,太空实验受到多种条件限制,而地面模拟失重实验具有经费少、样本大、实验条件易控制等优点,可以预测、补充或证实航天中的一些变化^[3]. IL-2 是重要的细胞因子,能同时增强体液免疫和细胞免疫应答,但主要加强细胞免疫^[4]. 消化系统恶性肿瘤患者血清可溶性 IL-2 受体水平较良性肿瘤及正常对照组明显增高^[5]. IL-2 对消化道肿瘤有一定疗效^[6]. 消化性溃疡幽门螺杆菌(*H pylori*)阳性组 IL-2 浓度明显低于 *H pylori* 阴性组^[7]. 以上研究说明 IL-2 与胃肠道疾病的发生及治疗有一定关联. SS 是一种神经调节肽,除在神经系统有分布外,在胰腺、胃肠道、肾上腺、甲状腺等组织也有分布. SS 在机体内可以抑制多种激素的分泌,亦可作为神经递质和神经调节因子在中枢神经系统和外周组织发挥重要的生物学作用^[8]. SS 能抑制消化系统肿瘤^[9-10],对胃黏膜也有较强地保护作用.还能抑制多种外源性和内源性刺激引起的胰腺分泌,因而用于治疗急性胰腺炎^[11-12].

机体的内分泌和免疫系统之间存在着密切的相互作用^[1],有报道指出 SS 可导致 T 细胞分泌 IL-2 增加^[13]. SS 对 IL-2 的影响作用呈剂量依赖性,低浓度对抗原诱导的 T 细胞释放 IL-2 没有影响,在高浓度时可使 IL-2 的释放增加^[2, 14]. IL-2 可升高 SS 水平^[15-16]. SS 和 IL-2 不仅在血中存在,也存在于机体的胃肠道^[17-18]. 我们通过胃黏膜中 SS 及 IL-2 的研究表明,14 d 悬吊组大鼠胃窦部的 IL-2 呈下降趋势,28 d 悬吊组 IL-2 较对照组明显降低,但是 IL-2 在空肠黏膜中变化不明显.以往大多研究中模拟失重状态下 IL-2 是降低的.如在 2-12 mo 的航天飞行中人 IL-2 的分泌下降^[1]. 航天员由

CD4⁺、CD8⁺、CD3⁺ 分泌的 IL-2 都明显下降^[19]. 头低位模拟失重人 IL-2 的分泌明显下降^[20]. 回转器模拟失重发现 IL-2 的基因表达下降^[21]. 尾吊小鼠脾脏淋巴细胞悬液中 IL-2 减少^[22-23]. 也有一些研究发现 IL-2 无明显变化^[24-25]. 我们发现大鼠胃窦和空肠黏膜 SS 的表达均下降,与傅春光 *et al*^[26] 和王瑞安 *et al*^[27] 的结果一致,说明 SS 在模拟失重的早期在胃窦部已经开始下降; Sawchenko *et al*^[28] 的资料也显示,宇宙飞行的大鼠在中枢部位 SS 的免疫染色减少. 而有报道宇航员在 4 wk 飞行后血中 SS 的分泌无变化^[29]. 沈冬云 *et al*^[30] 以放免法测定头低位模拟失重 15 d 兔空肠 SS 的含量也未见明显变化. 这些结果的不尽相同,可能与模拟失重的时间、失重模型和取材的部位不同有关. 由本实验推论,模拟失重状态下大鼠胃肠道的免疫及内分泌功能可能发生了改变,并且基本呈抑制状态. 至于 IL-2 和 SS 的变化之间是否有关,谁是始动因素,如何相互作用,还有待于进一步探讨. IL-2 的改变与胃肠道疾病有一定关联,SS 的改变可导致胃肠胰内分泌系统激素的变化,从而引起胃肠道功能紊乱,这些均有可能与胃肠道疾病的发生有关.

4 参考文献

- 1 Tipton CM, Greenleaf JE, Jackson CG. Neuroendocrine and immune system responses with spaceflights. *Med Sci Sports Exerc* 1996;28:988-998
- 2 杨倩. 生长抑素与免疫. *免疫学杂志* 2003;19:75-77
- 3 沈炎云. 21 世纪失重生理学研究的展望. *航天医学与医学工程* 2003;16S:573-576
- 4 甘燕, 石佑恩. 细胞因子类基因佐剂研究进展. *国外医学寄生虫病分册* 2004;31:6-11
- 5 祝斌, 林华驹, 官成浓, 戴东, 汤斌, 陈群, 王胜春. 消化系统恶性肿瘤患者血清可溶性白细胞介素-2 受体的变化. *医学综述* 1997;3:302-303

- 6 邵恒骏, 萧树东. 白细胞介素-2 与消化道肿瘤的基因治疗. 肿瘤 2001;21:145-148
- 7 许英萍, 吕宾. IL-2、IFN- γ 在幽门螺杆菌感染中的作用研究. 杭州医学高等专科学校学报 2002;23:77-79
- 8 张鸿伟, 王凤山. 生长抑素及其结构修饰的研究进展. 中国生化药物杂志 2003;24:265-267
- 9 姜藻. 生长抑素在消化系统恶性肿瘤治疗中的应用. 实用临床医药杂志 2003;7:319-321
- 10 唐卓斌, 刘为纹. 生长抑素及其受体与消化系肿瘤. 肿瘤 2000;20:450-452
- 11 王云胜, 裴的善, 方新英. 生长抑素在消化系非肿瘤疾病的应用. 医师进修杂志 1996;19:43-45
- 12 杜勇, 徐少勇. 生长抑素及其类似物在临床消化系疾病中的应用. 邵阳医学院学报 2003;22:190-192
- 13 Levite M. Neuropeptides, by direct interaction with T cells, induce cytokine secretion and break the commitment to a distinct T helper phenotype. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:12544-12549
- 14 Cardoso A, el Ghamrawy C, Gautron JP, Horvat B, Gautier N, Enjalbert A, Krantics. Somatostatin increases mitogen-induced interleukin-2 secretion and proliferation of human Jurkat T cells via sst3 receptor isotype. *J Cell Biochem* 1998;68:62-73
- 15 王世鄂, 周瑞祥, 何为民, 林静, 陈奕权. 白介细胞素-2 对大鼠血中胃泌素和生长抑素水平的影响. 福建医科大学学报 1997;31:411-412
- 16 李光辉, 曹广文, 侯建国, 潘欣, 夏广彬, 钱松溪, 郑家富, 戚中田, 路长林, 王成海. 细胞因子对肾癌荷瘤裸鼠生长抑素的影响. 中华外科杂志 1997;35:333-335
- 17 汪毅, 黄裕新, 许才发, 赵国宁, 王庆莉. 生长抑素、胃动素在人胎儿消化系统的发生与分布. 胃肠病学和肝病学杂志 1998;7:13-16
- 18 高凌, 潘尚仁, 杨敏, 冯瑛瑛, 黄圣凯. 重组人白细胞介素-2 在小鼠体内的药代动力学及组织分布. 中国药科大学学报 1997;28:228-232
- 19 Crucian BE, Cabbage ML, Sams CF. Altered cytokine production by specific human peripheral blood cell subsets immediately following space flight. *J Interferon Cytokine Res* 2000;20:547-556
- 20 Schmitt DA, Schaffar L, Taylor GR, Loftin KC, Schneider VS, Koebel A, Abbal M, Sonnenfeld G, Lewis DE, Reuben JR, Ferebee R. Use of bed rest and head-down tilt to simulate spaceflight-induce immune system changes. *J Interferon Cytokine Res* 1996;16:151-157
- 21 Walther I, Pippia P, Meloni MA, Turrini F, Mannu F, Cogoli A. Simulated microgravity inhibits the genetic expression of interleukin-2 and its receptor in mitogen-activated T lymphocytes. *FEBS Lett* 1998;436:115-118
- 22 张虹, 胡平, 温秀兰, 黄宾. 尾部悬吊对小鼠脾脏淋巴细胞功能及 c-fos 原癌基因表达的影响. 航天医学与医学工程 1999;12:423-425
- 23 温秀兰, 杨光华, 汪涛, 胡平. 模拟失重对小鼠 T 细胞亚群及 IL-2、IL-6 活性的影响. 航天医学与医学工程 2001;14:60-62
- 24 Nash PV, Mastro AM. Variable lymphocyte responses in rats after space flight. *Exp Cell Res* 1992;202:125-131
- 25 Nash PV, Bour BA, Mastro AM. Effect of hind limb suspension simulation of microgravity on in vitro immunological responses. *Exp Cell Res* 1991;195:353-360
- 26 傅春光, 苏慧慈, 张远强, 张立藩, 陈杰, 马进. 地面模拟微重力大鼠胃窦部和十二指肠生长抑素免疫反应细胞的变化. 航天医学与医学工程 1993;6:106-109
- 27 王瑞安, 蔡文琴, 苏慧慈, 张立藩, 丁兆平. 尾吊大鼠胃窦部胃泌素、生长抑素、5-羟色胺和嗜铬颗粒素 A 免疫反应细胞的变化. 航天医学与医学工程 1995;8:49-52
- 28 Sawchenko PE, Arias C, Krasnov I, Grindeland RE, Vale W. Effects of spaceflight on hypothalamic peptide systems controlling pituitary growth hormone dynamics. *J Appl Physiol* 1992;73(2 Suppl):158S-165S
- 29 Riepl RL, Drummer C, Lehnert P, Gerzer R, Otto B. Influence of microgravity on plasma levels of gastroenteropancreatic peptides: a case study. *Aviat space Environ Med* 2002;73:206-210
- 30 沈冬云, 刘丁, 蒋爱萍, 吴玉宁. 模拟微重力条件下兔胃肠组织脑肠肽的变化. 中国航天工业医药 1999;1:22-24

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2004 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

World Journal of Gastroenterology 稿件管理

为了加快《*World Journal of Gastroenterology*, WJG》稿件管理的信息化、电子化进程, 提高办刊质量, 规范编辑工作流程, 提高工作效率, 我们成功开发了世界胃肠病学杂志社稿件管理系统, 并于 2003-04-15 投入使用, 来稿登记、稿件回执、稿件初审、二审(包括选择审稿专家和发送审稿通知书)、审稿意见、终审定稿、发送录用通知书、退稿、编辑加工、数据交换、网上投稿查询等, 全部实现了自动生成, 电子化处理. 作者在 WJG 网上投稿查询系统内提交用户名(第一作者)和密码(文章编号)后可查询到稿件的处理状态, 如编号、刊名、题名、作者、收稿日期、送审日期、接受日期、退稿日期、发票编号、待发表日期、入卷(期)和出版页码等在内的 28 个项目.

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2004 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

World Journal of Gastroenterology 栏目设置

《*World Journal of Gastroenterology*, WJG》主要开设以下栏目. (1)文献综述: 基于作者自己研究为主的综述性论文. (2)特色栏目 如食管癌、胃癌、肝癌、病毒性肝炎、中医中药、中西医结合等, 具有我国特色及国际领先水平的原创性研究论文. (3)基础研究 报道学术价值高、实验数据完整、具有原始性和创新性的研究成果. (4)临床研究 报道安全性和有效性的随机、双盲双模拟、多中心平行对照临床试验的临床研究论文. (5)研究快报 报道具有原始性和创新性的阶段性成果. (6)病例报告: 报道对临床工作者有指导意义的个案.