维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号：0253-3626(2001)02-0148-03

日本血吸虫重组BCG-Sj26GST疫苗诱导小鼠脾细胞IL-6变化的研究

李文桂[1]、石佑恩[2]、张 鹏[3]

(1. 重庆医科大学传染病寄生虫病研究所 重庆 400016; 2. 同济医科大学寄生虫学教研室 武汉 430030;
3. 重庆市云阳县凤鸣中心医院 云阳 404502)

【摘 要】目的：研究日本血吸虫重组BCG-Sj26GST疫苗对小鼠脾细胞IL-6的影响。方法：实验1采用该疫苗皮下免疫小鼠，免疫后8周用日本血吸虫尾蚴进行攻击感染，感染后6周剖杀小鼠，同时设有PBS对照组。实验2用该疫苗皮下和静脉注射分别免疫小鼠，于免疫后0、4、8、10、14和16周各剖杀4只，分离脾脏，用Sj26或PHA刺激脾细胞，用ELISA法检测脾细胞上清液中IL-6含量。结果：疫苗免疫、尾蚴攻击后，IL-6水平无明显变化；动态观察发现IL-6于疫苗免疫后8～10周达最高水平。结论：IL-6可能与日本血吸虫重组BCG-Sj26GST疫苗诱导的保护性免疫力无关。

【关键词】日本血吸虫；重组BCG-Sj26GST疫苗；IL-6

【中国图书分类法分类号】R383.24；R392.11 【文献标识码】A 【收稿日期】

Study on the change of IL-6 in spleen cells of mice induced by recombinant BCG-Sj26GST vaccine of schistosoma japonicum

LI Wen-gui, et al

(Institute for Infectious and Parasitic Diseases, Chongqing Medical University)

【Abstract】 *Objective*: To study the effect of recombinant BCG-Sj26GST vaccine of schistosoma japonicum on IL-6 produced by spleen cells of mice. *Methods*: In the first experiment, mice were immunized subcutaneously by the vaccine, with PBS serving as control, challenged with Sj cercariae after 8w of immunization and killed on 6w of the infection to separate spleens; in the second experiment, after subcutaneous and intravenous immunization by the vaccine respectively, 4 mice were killed to separate spleens on 0,4,8,10,14 and 16w of immunization, spleen cells were stimulated by Sj26 or PHA, and the level of IL-6 in supernatant of spleen cells were detected by ELISA. *Results*: The level of IL-6 had no obvious change by immunization with the vaccine against challenge with Sj cercariae;dynamic observation showed that IL-6 reached the highest level on 8~10w of immunization. *Conclusion*: IL-6 may not be related to the protective immunity elicited in mice by vaccination with recombinant BCG-Sj26GST vaccine of schistosoma japonicum.

【Key words】 Schistosoma japonicum; Recombinant BCG-Sj26GST vaccine; IL-6

血吸虫病是一种免疫性疾病，其主要病变是虫卵肉芽肿的形成和肝纤维化。人们发现IL-6在免疫性疾病的发病机制中具有重要作用[1]，IL-6是一种多功能细胞因子，它能诱导T细胞Bcl-2表达，从而抑制其凋亡[2]，促进T细胞活化、增殖和分化，产生IL-2[3]，促进B细胞分化、增殖，产生抗体[4]，诱导T细胞表达粘附分子[5]，促进单核细胞分泌TNF-α和IL-1[6]，促进血小板对童虫的杀伤作用[7]。作者等[8]发现日本血吸虫重组BCG-Sj26GST疫苗免疫BALB/C鼠、尾蚴攻击后减虫率为16.64%～27.34%，减卵率为55.75%～60.50%，虫卵肉芽肿显著缩小，抗Sj26GST抗原的IgG抗体明显升高，表明该疫苗可产生较好的保护力。在此基础上，本文研究该疫苗免疫对小鼠脾细胞上清液中IL-6的影响，从而为阐明其保护性免疫机制提供有意义的材料。

作者介绍：李文桂（1967- ） 男，湖北鄂县人，主治医师，博士，主要研究方向：寄生虫分子免疫学。

1 材料和方法

1.1 材料

维普资讯 http://www.cqvip.com

1.1.1 实验动物：为雌性12～14周龄的BALB/C鼠，购自同济医科大学实验动物中心，每只体重20g左右，共78只。

1.1.2 日本血吸虫重组BCG-Sj26GST疫苗：由同济医科大学分子生物学教研室提供。

1.1.3 主要试剂和试剂盒：PHA购自广州医工所，重组Sj26抗原由同济医科大学寄生虫学教研室保存，IL-6试剂盒购自北京邦定生物医学公司。

1.2 方法

1.2.1 实验分组、疫苗注射部位、途径、剂量和次数：实验1分三组，每组10只小鼠，分别为10^5和10^8克隆形成单位（colony-forming unit；CFU）疫苗皮下注射组及PBS对照组；实验2分二组，分别为10^8CFU疫苗皮下（subcutaneous；SC）和静脉（intravenous；IV）注射组。10^5或10^8 CFU疫苗悬浮于100μl PBS于小鼠后背部皮下或尾静脉行单次注射。

1.2.2 攻击感染：实验1行攻击感染。疫苗免疫后8周用日本血吸虫大陆株正常尾蚴经腹部皮肤感染各组小鼠，每只感染40±2条尾蚴。

1.2.3 脾细胞制备：实验1攻击感染后6周剖杀各组小鼠，实验2疫苗免疫前及免疫后4、8、10、14和16周各剖杀4只小鼠，75%酒精消毒、无菌取脾、匀浆、200目尼龙网过滤，用双蒸水溶解红细胞，用含10%胎牛血清的RPMI1640培养液调整细胞浓度为5×10^6/ml，加入青霉素100U/ml和链霉素100U/ml。

1.2.4 IL-6的诱生和活性测定：将5×10^6/ml脾细胞悬液加入24孔细胞培养板，每份标本设3孔，分别加入原液、5μg/ml Sj26和10μg/ml PHA各1ml，37℃ 5% CO_2培养72h。2000r/min离心20min，收集上清液，-20℃冰箱冻存待查。用IL-6试剂盒检测上清液IL-6活性，测定方法按试剂盒的说明书进行操作。

2 结 果

2.1 实验1

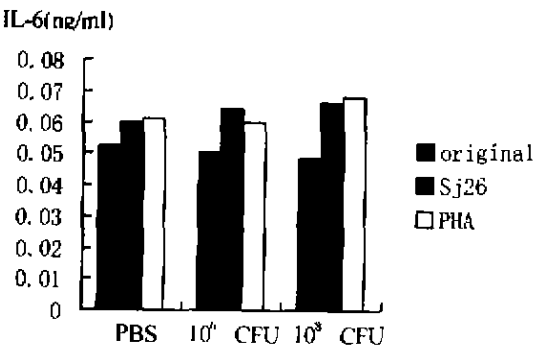


图1 重组BCG-Sj26GST疫苗免疫、尾蚴攻击后小鼠脾细胞IL-6检测

其结果见图1。当脾细胞培养液不用任何刺激物或用Sj26或PHA刺激后，10^5或10^8CFU疫苗组与对照组相比，IL-6水平无明显差别。

2.2 实验2

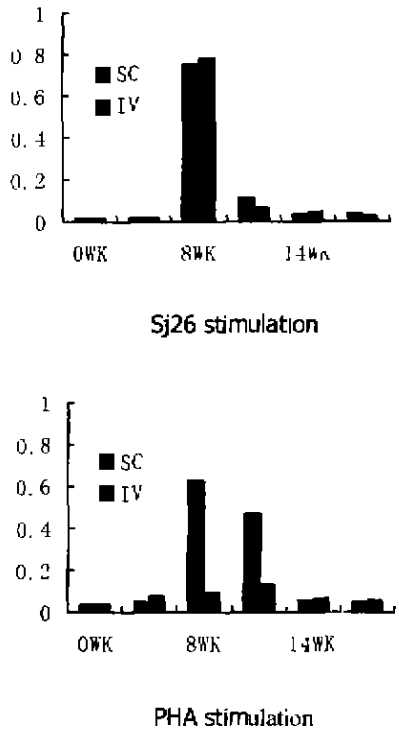


图2 重组BCG-Sj26GST疫苗免疫小鼠脾细胞IL-6动态观察

其结果见图2。当脾细胞培养液用Sj26刺激时，皮下和静脉注射组的IL-6都在免疫后8～16周升高，在免疫后8周达最高水平；当脾细胞培养液用PHA刺激时，皮下和静脉注射组的IL-6都在免疫后4～16周升高，分别在免疫后8周和10周达最高水平；同一时间点比较发现当脾细胞用PHA刺激在免疫后8～10周皮下注射组IL-6含量显著高于静脉注射组（$P<0.05$）。

3 讨 论

血吸虫尾蚴攻击感染后，在宿主体内经过22～23天（感染后3～4周）发育成熟，第24天成虫开始排卵，虫卵自产生至发育成熟需10～11天（感染后6周）、感染后7～9周肉芽肿形成达高峰，随后肉芽肿发生纤维化[9]；肉芽肿模型研究证明在肉芽肿生长的第1天（感染后6周）可检测到IL-6 mRNA的表达，在第6天（感染后7周）IL-6 mRNA表达显著升高[10]；Khalil等[11]发现曼氏血吸虫（Schistosoma mansoni；Sm）感染小鼠的肝肉芽肿细胞表达IL-6

维普资讯 http://www.cqvip.com

mRNA在感染后6周升高、感染后10周达高峰，随后逐渐下降、感染后24周恢复正常水平，可见IL-6与虫卵肉芽肿形成有一定关系。

本文用日本血吸虫重组BCG-Sj26GST疫苗免疫、尾蚴攻击后发现脾细胞分泌IL-6无明显变化，提示IL-6可能与血吸虫疫苗诱导的保护性免疫力无关。已知IL-6是由活化的单核巨噬细胞、B细胞和Th2细胞分泌的细胞因子，我们推测疫苗免疫可提高宿主细胞免疫功能，IL-1分泌升高，可能促进脾细胞Th1分泌IL-2和IFN-γ，加强宿主Th1反应，但不促进甚至抑制脾脏单核巨噬细胞、B细胞和Th2细胞分泌IL-6，因而IL-6水平无明显变化。

Khalil等[11]发现Sm感染鼠脾细胞分泌IL-6在感染后6～20周升高，在感染后10周达高峰。本文显示疫苗皮下注射后，用Sj26或PHA诱导均在免疫后8周达最高水平，当疫苗静脉注射后，用Sj26诱导脾细胞产生IL-6在免疫后8周达最高水平，而用PHA刺激时则在免疫后10周达最高水平，可见疫苗免疫小鼠后脾细胞产生IL-6在免疫后4～8周开始升高，免疫后8～10周达最高水平，并持续至观察结束的第16周，表明疫苗免疫后脾细胞产生IL-6动力学过程大约早于曼氏血吸虫感染2周左右。

参 考 文 献

[1] kishimoto T, Akira S, Taga T, et al. Interleukin-6 and its receptor: a paradigm for cytokines[J]. Science, 1992;258:593-597.

[2] Kent TT, Marrack P, Kappler JW, et al. IL-6 rescues resting mouse T cells from apoptosis[J]. J Immunol.1997;158:5791-5796.

[3] Joseph SB, Miner KT, Croft M, et al. Augmentation of naive, Th1 and Th2 effector CD4 responses by IL-6, IL-1 and TNF-α [J]. Eur J Immunol.1998;28:277-289.

[4] Kishimoto T. The biology of interleukin-6[J]. Blood.1989;74 (1):1-10.

[5] Watson CS, Smith WN, Vora AJ, et al. IL-6 acts on endothelial cells to preferentially increase their adherance for lymphocytes[J]. Clin Exp Immunol.1996;105:112-123.

[6] Panzer S, Madden M, Matsuki K. Interaction of Il-1 beta, IL-6 and tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha) in human cells activated by murine antigens[J]. Clin Exp Immunol. 1993; 93:471-479.

[7] Pancre V, Monte D, Delannoye A, et al. Interleukin-6 is the main mediator of the interaction between monocytes and platelets in the killing of schistosoma mansoni[J]. Eur Cytokine Netw. 1990;1:15-21.

[8] 李文桂，石佑恩，汪燕鸣，等. 血吸虫重组BCG-Sj26GST疫苗接种后保护力的观察[J]. 同济医科大学学报，1999;28(1):13-19.

[9] 毛守白. 血吸虫生物学与血吸虫病的防治[M]. 第一版. 北京：人民卫生出版社，1990;8-220

[10] Wynn TA, Eltoum I, Cheever AW, et al. Analysis of cytokine mRNA expression during primary granuloma formation induced by eggs of schistosoma mansoni[J]. J Immunol. 1993; 151(3):1430-1440.

[11] Khalil RM, Hultner L, Mailhammer R, et al. Kinetics of interleukin-6 production after experimental infection of mice with schistosoma mansoni[J].Immunol.1996;89(2):256-261.

(上接第144页)

[1] 李 杨，王 威，刘 苗，等. 盐酸氟桂利嗪片人体生物等效性研究[J]. 中国药房，2000;11(3):120.

[2] 谢 林，刘晓东，高 旭，等. 人血浆中盐酸氟桂利嗪HPLC测定及药代动力学研究[J] 中国药科大学学报，1995;26(5):300.

[3] 曲福军，夏 军，姜礼红，等 用反相HPLC法国测盐酸氟桂利嗪胶囊在人体中的相对生物利用度[J]. 中国药房，1997;8(4):173.

[4] 何海霞，周远大，姚高琼，等 人血浆中盐酸氟桂利嗪的HPLC测定及药代动力学研究[J]. 药物分析杂志，2000;20 (3):157.

(上接第147页)

[2] Drexler H, Depenbusch JW, Truog AG, et al. Effects of diltiazem on cardiac function and regional blood at rest and during exercise in a conscious rat preparation of chronic heart failure (myocardial infarction)[J]. Circulation, 1985;71:1260-1270.

[3] Shmuel D, Michael TJ, Matic S, et al. Angiogenic-induced enhancement of collateral blood flow to ischemic myocardium by vascular endothelial growth factor in dogs[J]. Circulation. 1994;89:2183-2189.

[4] Bernhard W, Takayuki A, Tomoaki M, et al. Vascular endothelial growth factor-c promotes angiogenesis in the setting of tissue ischemia[J]. Am J Pathol. 1998;153:381-394.

[5] Wei Z, Margaret DB, Tommy AB, et al Bradycardia-induced coronary angiogenesis is dependent on vascular endothelial growth factor[J]. Circ Res. 1999;85:192-198.