

康复预处理对实验性自身免疫性脑脊髓炎小鼠 IL-23/IL-17 轴的影响

许秋生^a, 唐强^b, 朱路文^b

【摘要】 目的:探讨康复预处理对实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE)小鼠白介素 23(IL-23)/白介素 17(IL-17)轴的影响。方法:对 C57BL/6 小鼠进行为期 8 周的康复预处理(跑台训练),复制 C57BL/6 小鼠 EAE 模型,建立模型组和预处理加模型组(预加模组),并设立空白对照组,观察各组小鼠临床评分,用 ELISA 法检测各组小鼠血清 IL-23 和 IL-17 的表达。结果:预加模组小鼠临床评分明显低于模型组(1.44 ± 0.56 、 2.75 ± 1.13 , $P < 0.05$)。模型组 IL-23 及 IL-17 的表达均较空白对照组高($P < 0.05$),预加模组较模型组低($P < 0.05$),预加模组和空白对照组比较差异无统计学意义。结论:康复预处理能够延迟 EAE 发生,这一作用可以通过抑制 IL-23/IL-17 轴而实现。

【关键词】 实验性自身免疫性脑脊髓炎;康复预处理;IL-23/IL-17 轴

【中图分类号】 R49;R742 **【DOI】** 10.3870/zgkf.2013.04.019

Effects of rehabilitation pretreatment on IL-23/IL-17 axis of mice with experimental autoimmune encephalomyelitis

XU Qiu-sheng, TANG Qiang, ZHU Lu-wen. Graduate School, Heilongjiang University of Traditional Chinese Medicine, Haerbin 150040, China

【Abstract】 Objective: To explore the effects of rehabilitation pretreatment (RT) on interleukin-23 (IL-23)/IL-17 axis of mice with experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). Methods: After C57BL/6 mice were subjected to rehabilitation pretreatment (treadmill training), EAE model was induced in mice, and EAE group and RT-EAE group were established. Normal mice were selected as control group. The mean neurobehavioral scores were measured, and the serum levels of IL-23 and IL-17 were detected by using ELISA. Results: The mean neurobehavioral scores in RT-EAE group were significantly lower than in EAE group (1.44 ± 0.56 vs. 2.75 ± 1.13 , $P < 0.05$). The expression of IL-23 and IL-17 in EAE group was significantly higher than in control group and RT-EAE group ($P < 0.05$). Conclusion: RT can delay the occurrence of EAE probably by inhibiting the IL-23/IL-17 axis.

【Key words】 experimental autoimmune encephalomyelitis; rehabilitation pretreatment; IL-23/IL-17 axis

多发性硬化(multiple sclerosis, MS)是一种获得性自身免疫性中枢神经系统疾病,研究发现提出了多发性硬化的白介素 23(Interleukin 23, IL-23)/白介素 17(Interleukin 17, IL-17)轴的发病机制学说^[1-3]。本实验试图通过观察康复预处理对实验性自身免疫性脑脊髓炎(experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE)小鼠发病潜伏期、行为学和血清 IL-17 和 IL-23 的影响,探讨康复预处理能否通过抑制 IL-23/IL-17 轴而延缓 EAE 的发生。

1 材料与方法

1.1 材料 选取 6~8 周龄、体质量 16~20g、雌性、SPF 级的 C57BL/6 小鼠 24 只,随机分为空白对照组、模型组和预加模组 3 组,每组 8 只。

1.2 方法 ①康复预处理:预加模组小鼠进行为期 8 周的跑台训练,起始速度定位 10m/min,预跑 5min,以适应环境;然后将速度加至 16m/min,训练 40min;最后再进行持续 5min 的 10m/min 的慢跑,每周训练 6d,持续 8 周。②EAE 模型的诱导:在预加模组 8 周跑台训练结束后,对模型组和预加模组进行 EAE 的诱导。EAE 模型制备参照周明言^[4]的方法,每只 C57BL/6 小鼠需要 0.1ml 的抗原免疫乳剂,其中包括:100ugMOG35-55、50ulCFA 和 50ul0.01M PBS,于

基金项目:黑龙江省 2012 年研究生创新科研资金项目(YJSCX2012-346HLJ)

收稿日期:2013-03-29

作者单位:黑龙江中医药大学 a. 研究生学院, b. 附属二院康复中心, 哈尔滨 150040

作者简介:许秋生(1986-),女,硕士研究生,主要从事神经系统疾病综合康复治疗方面的研究。

腋窝皮下缓慢注射;免疫当天记为0天,并于免疫当天和第2天经腹腔注射百日咳毒素,每只鼠200ng。正常对照组于腋窝皮下注射0.1ml 0.01M PBS与CFA混合剂,其他处理方法同模型组。

1.3 检测指标 ①小鼠临床评分:免疫后,每天观察小鼠状态并根据临床评分标准进行评分^[4],0分,正常;0.5分,部分尾瘫;1分,尾瘫;1.5分,尾瘫伴蹒跚步态;2分,一侧后肢瘫痪;2.5分,一侧后肢瘫痪伴另一后肢无力;3分,双后肢瘫痪;3.5分,上行性瘫痪;4分,躯干无力或瘫痪;4.5分,濒死;5分,死亡。②EAE模型的诱导:于免疫后14d水合氯醛麻醉模型组小鼠2只,以0.01ml PBS溶液左心室冲洗灌注至肝脏变白,改用4%多聚甲醛灌注,取出脑组织放于4%多聚甲醛中固定,进行石蜡包埋、切片,HE染色观察。余小鼠于免疫后第16天全部眼球取血,离心,-80℃冰箱储存备用。③血清IL-23、IL-17水平:用摘眼球法取得小鼠全血,静置、离心获得血清,采用固相夹心法酶联免疫吸附实验(enzymelinked immunosorbent assay, ELISA)检测血清中IL-23、IL-17含量,具体方法按ELISA试剂盒说明书操作。

1.4 统计学方法 采用SPSS 17.0统计软件进行分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,t检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠临床评分 模型组小鼠从免疫第12天开始出现临床症状,表现为精神萎靡、活动减少、食欲减退、尾部及四肢无力等;而空白对照组一直未发病,预加模组小鼠临床评分明显低于模型组(1.44 ± 0.56 、 2.75 ± 1.13 , $P < 0.05$)。

2.2 EAE模型的诱导 模型组小鼠脑组织HE染色光镜下显示小血管充血、血管周围大量炎性细胞浸润,表明EAE模型诱导成功。见图1。

2.3 小鼠血清中IL-23、IL-17的表达 模型组IL-23及IL-17的表达均较空白对照组高($P < 0.05$),预加模组较模型组低($P < 0.05$),预加模组和空白对照组之间差异无统计学意义。见表1。

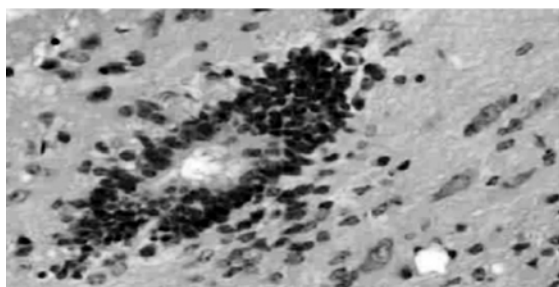


图1 模型组HE染色($\times 400$)

表1 3组小鼠血清IL-23、IL-17的表达比较 pg/ml, $\bar{x} \pm s$

组别	n	IL-23	IL-17
空白对照组	8	30.49 ± 7.05	8.09 ± 0.91
模型组	6	45.42 ± 5.44^a	13.17 ± 1.22^a
预加模组	8	31.39 ± 5.40^b	8.88 ± 2.59^b

与空白对照组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$

3 讨论

过去对于多发性硬化的免疫机制多集中于Th1/Th2平衡失调上,认为IL-12/IFN- γ 轴在多发性硬化发病过程中起到关键作用。后来研究发现IL-23在疾病的发生和发展中起到更为关键的作用,提出了IL-23/IL-17轴发病机制学说^[5]。IL-23是IL-12家族中的新成员,与IL-12结构相似。IL-12由P40和P35构成,IL-23由P40和P19构成,它们共用P40亚单位。研究发现对去除P40基因的小鼠进行EAE模型的诱导不敏感,对去除P35基因的小鼠进行EAE模型的诱导却高度敏感,IL-23重组蛋白可以使小鼠对EAE敏感^[5,6],说明IL-23在EAE的发生中起到举足轻重的作用。IL-23/IL-17轴发病机制学说认为IL-23诱导Th0细胞向Th17细胞分化,IL-23调节和控制着Th17细胞的稳定、增殖以及胞内IL-17的释放,Th17细胞分泌IL-17、IL-6和肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- γ , INF- γ)等促炎性细胞因子。其中IL-17还能诱导多种致炎性细胞因子的产生,如IL-6、肿瘤坏死因子1和一氧化氮合酶等,促进炎症反应和自身免疫性疾病的发生。敲除IL-23 P19完全阻断了小鼠IL-17的分泌,而INF- γ 分泌未受明显影响,而敲除IL-12 P35的小鼠体内INF- γ 的表达减少而IL-17的表达增加^[7]。IL-23/IL-17轴在多发性硬化等自身免疫性疾病的发病中起着关键的作用。

“治未病”是中医的基本治疗原则,指采取预防或治疗措施,防止疾病发生、发展的方法。体育锻炼和各种医疗保健体操都能够增强人体免疫系统功能,提高身体素质。研究证明康复运动训练能够改善多发性硬化患者功能障碍和缓解疲劳症状等,提高MS患者的生活质量^[8-10]。本实验通过对小鼠进行为期8周的康复预处理(跑台训练),然后再进行EAE模型的复制,发现预加模组较模型组发病潜伏期延长,临床评分也较低,康复预处理能够延缓EAE的发生,减轻小鼠的临床症状。本研究首次发现康复预处理能够通过抑制IL-23/IL-17炎性轴而起到延迟EAE发生的作用。

本实验中发现康复预处理能够延迟EAE的发生,减轻EAE小鼠的临床症状。可推断在临床上鼓励人们进行康复锻炼,可能能够预防或延缓多发性硬化的发生,这一方面有待进一步研究。综上所述,康复

预处理能够通过抑制 IL-23/IL-17 炎性轴而起到延迟 EAE 发生的作用,为临床上多发性硬化的宣教提供理论依据。

【参考文献】

- [1] Iwakura Y, Ishigame H. The IL-23 /IL-17 axis in inflammation[J]. J Clin Invest, 2006, 116(5):1218-1222.
- [2] 谢小华. NQO1, IL-23 在实验性自身免疫性脊髓炎病程中的动态表达及莱菔硫烷的保护机制研究[D]. 河北医科大学, 2012, 37-38.
- [3] 梁活. 米诺环素对实验性自身免疫性脑脊髓炎大鼠 IL-23 和 IL-17 表达的影响[D]. 广西医科大学, 2010, 22-24.
- [4] 周明言. 骨化三醇治疗实验性自身免疫性脑脊髓炎的实验研究[D]. 哈尔滨医科大学, 2011, 19-20.
- [5] Angrish CI, Chen Y, Blumenschein WM, et al. IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation[J]. J Exp Med, 2005, 201(2):233-240.

- [6] Cua DJ, Sherlock J, Chen Y, et al. Interleukin-23 rather than interleukin-12 is the critical cytokine for autoimmune inflammation of the brain[J]. Nature, 2003, 421(6924):744-748.
- [7] Chen Y, Langrish CL, McKenzie B, et al. Anti-IL-23 therapy inhibits multiple inflammatory pathways and ameliorates autoimmune encephalomyelitis[J]. J Clin Invest, 2006, 116(5):1317-1326.
- [8] 朱琳, 宋为群, 岳月红, 等. 多发性硬化缓解期患者康复治疗神经功能和疲劳度恢复的疗效观察[J]. 中国康复医学杂志, 2011, 26(9):807-811.
- [9] 张金涛, 金香兰. 多发性硬化轴索损伤的治疗与康复[J]. 中国康复医学杂志, 2004, 19(7):551-553.
- [10] 蒋天裕, 吴卫平, 黄德晖, 等. 多发性硬化的家庭运动康复[J]. 中国康复理论与实践, 2012, 18(4):337-340.

• 经验交流 •

综合康复治疗对急性脑卒中患者的影响

王凤玲^a, 李旗^b, 魏建芬^a, 李爱春^a, 苗玉超^a, 张伟^a

【关键词】 脑卒中; 偏瘫; 康复

【中图分类号】 R49; R743.3 【DOI】 10.3870/zgkf.2013.04.034

2010年4月~2011年6月在我院神经内科收治的脑卒中患者60例,均符合全国第四届脑血管病会议制定的标准,其中男31例,女29例;年龄45~78岁,平均(53.8±1.3)岁;病程≤1周。随机分为康复组和对照组各30例,2组一般资料比较差异无统计学意义。2组患者入院后均给予神经内科常规药物治疗及护理。康复组在此基础上给予综合康复治疗:偏瘫患者体位摆放及康复训练^[1],综合应用 Bobath、Rood、Brunnstrom 等技术进行治疗,30min,每日2次;针灸,取肩三针、曲池、内关、合谷、足三里、太冲等穴,得气后接 G6805 电针仪,断续波,强度以患者耐受为度,留针 30min,每日1次。每次 30min,每日1次。

治疗1个月后,采用 Barthel 指数法评定患者日常生活活动能力, Fugl-Meyer 积分评定运动功能^[2], 康复组和对照组 Barthel 指数和 Fugl-Meyer 积分均明显高于治疗前(47.5±

15.1, 88.6±10.6 与 16.3±9.6, 45.8±12.9; 35.6±11.8, 46.3±13.3 与 17.1±11.8, 39.6±13.5, $P<0.05$), 且康复组更高于对照组($P<0.05$)。

脑卒中是一种伴随着一系列神经系统症状和体征的脑血管受损疾病,早期进行系统、规范和个体化的康复治疗可降低致残率,提高生活质量^[3]。早期康复训练可刺激部分脑细胞产生功能代偿,促进神经系统尽快建立新的联系,重建中枢神经功能。研究表明,综合康复训练对患者患肢功能的恢复,增强康复信心,提高生活能力方面有明显的促进效应。

【参考文献】

- [1] 于维东, 范红杰, 张文娟. 偏瘫康复理论与实践[J]. 现代康复, 2002, 5(4):9-13.
- [2] Sanford J, Moreland J, Swanson LR, et al. Reliability of the Fugl-Meyer assessment for testing motor performance in patients following stroke[J]. Phys Ther, 1993, 73(7):447-454.
- [3] 韦少娟. 脑卒中偏瘫患者的康复护理[J]. 中国社区医师, 2011, 13(287):186-188.

基金项目:唐山市科技计划项目(121302118b)

收稿日期:2013-03-16

作者单位:河北联合大学 a. 附属医院, b. 中医学院, 河北 唐山 063000

作者简介:王凤玲(1971-),女,副主任护师,主要从事脑卒中康复方面的研究。

通讯作者:李旗。