

极端气候变化对金黄地鼠血清褪黑素、IL-1、IL-6、CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 的影响

衡衍 李德魁 马淑然 蔡月超 许筱颖

【摘要】 目的 基于“天人相应”理论,探讨极端气候对机体免疫功能的影响。**方法** 将金黄地鼠按体重随机分为正常气候组、气温骤升组、气温骤降组、持续高温组、持续低温组、高温高湿组、常温高湿组共七组,借助人工气候模拟箱,进行极端气候模拟,干预结束后 24 小时、72 小时取血,测定血清褪黑素(melatonin, MT)、白细胞介素 1(interleukin, IL-1)、IL-6、免疫细胞表面抗原分子 T 细胞亚群(cluster of differentiation, CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺)的含量。**结果** (1)高温高湿情况下金黄地鼠存活率为 62.5%,其余情况下为 100%。(2)极端气候结束 24 小时,与正常气候组相比,气温骤升情况下 IL-1、IL-6、CD3⁺、CD4⁺有显著差异;气温骤降情况下 IL-1、CD8⁺有显著差异;持续高温情况下 IL-1、IL-6、CD8⁺有显著差异;持续低温情况下 MT、IL-1、IL-6、CD3⁺有显著差异;高温高湿情况下 IL-1 有显著差异;常温高湿情况下 MT、IL-1、IL-6、CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺均有显著差异。(3)极端气候结束 72 小时,与正常气候组相比,气温骤升情况下 CD8⁺有显著差异;气温骤降情况下 IL-1、IL-6、CD3⁺有显著差异;持续高温情况下 IL-1、CD8⁺有显著差异;持续低温情况下 MT、IL-6、CD3⁺有显著差异;常温高湿情况下 MT、IL-1、IL-6、CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺均有显著差异。**结论** (1)极端气候会对机体造成不利影响,尤以高温高湿为甚。(2)高湿度对免疫系统影响较为持久。(3)不同的极端气候对褪黑素及免疫功能的调节存在一定差异性和滞后性。

【关键词】 极端气候; 褪黑素; 免疫; T 细胞; 白介素

【中图分类号】 R122.2 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2017.08.004

Influence of extreme climate variations on serum MT, IL-1, IL-6, CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ of golden hamster HENG Yan, LI Dekui, MA Shuran, et al. School of Basic Medical Sciences, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Corresponding author: XU Xiaoying, E-mail: xxy2006stone@163.com

【Abstract】 Objective To explore the influences of extreme climate variations on immunity functions of organism based on correspondence between nature and human theory. **Methods** The golden hamsters were randomly divided into ZC group, ZS group, ZJ group, CG group, CD group, GWGS group, GWGS group. Limatic simulation chambers was used to simulate extreme climates. Samples were collected after 24 hours and 72 hours respectively. MT, IL-1, IL-6, CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ of serum was detected. **Results** (1) Survival rate of golden hamster was 62.5% in hot and humid conditions, the remaining groups was 100%. (2) 24 hours after the extreme climate, compared with ZC group, the content of IL-1, IL-6, CD3⁺, CD4⁺ in ZS group were significantly different; IL-1, CD8⁺ was significantly different in ZJ group; IL-1, IL-6, CD8⁺ was significantly different in CG group; MT, IL-1, L-6, CD3⁺ was significantly

基金项目: 国家自然科学基金青年基金(30901887); 国家留学基金委员会资金; 北京中医药大学自主选题(2013-JYBZZ-JS-115)

作者单位: 100029 北京中医药大学基础医学院[衡衍(硕士研究生)、李德魁、马淑然、蔡月超、许筱颖]; 重庆邮电大学医院中医骨伤科(衡衍)

作者简介: 衡衍(1983-), 2013 级在读硕士研究生。研究方向: 天人相应理论的文献、实验及临床研究; 中医骨伤的临床研究。E-mail: hengyan83@163.com

通信作者: 许筱颖(1974-), 女, 博士, 副教授, 副主任医师, 硕士生导师, 北京市第四批老中医药专家学术继承人。研究方向: 天人相应理论的文献、实验及临床研究。E-mail: xxy2006stone@163.com

different in CD group; IL-1 was significantly different in GWGS group; MT, IL-1, IL-6, CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ was significantly different in CWGS group. (3) 72 hours after the extreme climate, compared with ZC group, CD8⁺ was significantly different in ZS group; IL-1, IL-6, CD3⁺ was significantly different in ZJ group; IL-1, CD8⁺ was significantly different in CG group; MT, IL-6, CD3⁺ was significantly different in CD group; MT, IL-1, IL-6, CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ was significantly different in CWGS group. **Conclusion**

(1) Extreme climate can have adverse effects on the body, especially in high temperature and high humidity. (2) High humidity has a long-lasting effect on the immune system. (3) There are some differences and hysteresis quality in the regulation of melatonin and immune function in different extreme climates.

【Key words】 Extreme climate; Melatonin; Immunity; T lymphocytes; Interleukin

“天人相应”理论是中医学的原创理论,其强调人与自然界息息相关。如果自然界气候发生非正常变化,超过了人体的适应能力,六气就成为“六淫”,诱发人体发病甚至导致生命终结。基于此,在“天人相应”理论的指导下,本实验借助人工气候模拟箱,对极端气候条件下金黄地鼠血清的褪黑素和部分免疫物质进行测定、分析,探讨极端气候对金黄地鼠免疫功能的部分影响机制。

1 材料与方法

1.1 动物

雄性金黄地鼠,8 周龄,品系 LVG,级别 SPF/VAF,实验开始前一周由北京维通利华实验动物技术有限责任公司提供,合格证号:SCXK(京)2012-0001。

金黄地鼠均可自由进食与饮水,饲料为仓鼠全价颗粒饲料。所有金黄地鼠购入后进行适应性饲养三天,然后再安排各组进入人工气候模拟箱(温度设定为 25℃,湿度设定为 50%,光照参照当天北京地区日出日落时间)饲养三天。

1.2 动物分组

随机将实验动物分为正常气候组(ZC 组)和极端气候组两组。极端气候组内细分为气温骤升组(ZS 组)、气温骤降组(ZJ 组)、持续高温组(CG 组)、持续低温组(CD 组)、高温高湿组(GWGS 组)、常温高湿组(CWGS 组)六组,每组 16 只。

1.3 方法

1.3.1 实验条件 设定 ZC 组温度保持在 25℃ 左右;ZS 组温度 30 分钟内从 25℃ 快速上升到 38℃ 维持 6 小时;ZJ 组温度 30 分钟内从 25℃ 快速下降到 4℃ 维持 6 小时;CG 组温度从 25℃ 渐升至 35℃ 维持 72 小时;CD 组温度从 25℃ 渐降至 4℃ 维持 72 小时;GWGS 组温度从 25℃ 渐升至 35℃,相对湿度由 50% 左右逐渐升高到 85% 左右,维持 72 小时;

CWGS 组温度保持在 25℃ 左右,相对湿度由 50% 左右逐渐升高到 85% 左右,维持 72 小时;以上 ZC 组、ZS 组、ZJ 组、CG 组、CD 组的相对湿度在实验过程中均保持在 50% 左右。

1.3.2 取材 取材按照预定计划,分组、分批、分时进行。各极端气候组于干预后 24 小时、72 小时进行取材,其中各组的最后一次取材应安排在晚 21:00 后。将金黄地鼠麻醉固定,剖开腹腔,腹主动脉取血,静置 5 小时,4℃、2500 r/min 离心 15 分钟,吸取上清液后置于 -70℃ 低温保存备用。

1.3.3 指标测定与方法 金黄地鼠褪黑素(melatonin, MT)、T 细胞亚群(cluster of differentiation, CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺)、白细胞介素 1(Interleukin-1, IL-1)、IL-6 均采用酶联免疫法检测,严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 21.0 软件统计,数据均符合正态分布、方差齐,以均值±标准差($\bar{x} \pm s$)来表示,采用 LSD 检验统计分析, $P < 0.05$ 为差异具有显著性。

2 结果

2.1 极端气候情况下金黄地鼠的生存情况统计

极端气候条件下,高温高湿组存活率明显低于其他六组。提示高温高湿是本题所设计的六种极端气候中最为容易导致金黄地鼠死亡的气象条件,其对机体免疫影响可能最大,后果也最为严重。提示湿邪和热邪二者共同侵犯机体,产生的影响要远高于单独的寒邪、热邪和湿邪。见表 1。

2.2 极端气候干预 24 小时对金黄地鼠血清免疫指标的影响

极端气候干预结束 24 小时后,与正常气候组相比,金黄地鼠血清 MT 含量在持续低温和常温高湿情况下具有显著性差异($P < 0.05$);IL-1 含量在六种极端气候干预 24 小时后,均出现明显上升;IL-6 含

量在气温骤升、常温高湿情况下上升非常显著,持续高温、持续低温情况下则显著性上升($P<0.05$); $CD3^+$ 则在气温骤升、持续低温、常温高湿情况下明显上升,具有统计学意义($P<0.05$); $CD4^+$ 则在气温骤升、常温高湿情况下明显上升,具有统计学意义($P<0.05$); $CD8^+$ 在气温骤降、持续高温下降非常显著,在常温高湿情况下明显上升($P<0.05$)。见表 2、表 3。

表 1 极端气候变化过程中各组金黄地鼠存活率比较

组别	存活数	死亡数	总数	存活率
正常气候组	16	0	16	100%
气温骤升组	16	0	16	100%
气温骤降组	16	0	16	100%
持续高温组	16	0	16	100%
持续低温组	16	0	16	100%
高温高湿组	10	6	16	62.5%
常温高湿组	16	0	16	100%

表 2 极端气候干预后 24 小时 MT、IL-1、IL-6 的变化($\bar{x}\pm s, n=16$)

组别	MT(ng/L)	IL-1(ng/L)	IL-6(ng/L)
正常气候组	93.18 \pm 11.75	4.91 \pm 1.09	25.52 \pm 6.20
气温骤升组	111.52 \pm 29.53	6.75 \pm 1.20 ^a	42.38 \pm 8.44 ^a
气温骤降组	89.24 \pm 8.07	6.23 \pm 1.15 ^a	30.98 \pm 7.03
持续高温组	91.81 \pm 16.02	6.70 \pm 1.07 ^a	31.51 \pm 6.38 ^a
持续低温组	130.17 \pm 40.68 ^a	7.23 \pm 2.00 ^a	35.54 \pm 11.45 ^a
高温高湿组	101.98 \pm 23.74	6.17 \pm 1.32 ^a	29.83 \pm 3.06
常温高湿组	123.13 \pm 35.81 ^a	7.97 \pm 1.41 ^a	39.34 \pm 8.65 ^a

注:与正常气候组相比较,^a $P<0.05$ 。

表 3 极端气候干预后 24 小时 $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ 的变化($\bar{x}\pm s, n=16$)

组别	$CD3^+$ (ng/L)	$CD4^+$ (ng/L)	$CD8^+$ (ng/L)
正常气候组	90.91 \pm 13.27	56.93 \pm 9.47	74.06 \pm 12.07
气温骤升组	108.41 \pm 14.07 ^a	70.13 \pm 10.62 ^a	70.97 \pm 11.49
气温骤降组	104.88 \pm 23.98	51.48 \pm 8.56	51.55 \pm 8.56 ^a
持续高温组	97.22 \pm 14.20	53.81 \pm 8.07	57.76 \pm 8.22 ^a
持续低温组	118.84 \pm 29.40 ^a	62.97 \pm 19.60	71.80 \pm 27.01
高温高湿组	93.59 \pm 17.17	63.31 \pm 12.48	67.06 \pm 11.31
常温高湿组	118.74 \pm 20.76 ^a	76.17 \pm 8.63 ^a	91.90 \pm 14.18 ^a

注:与正常气候组相比较,^a $P<0.05$ 。

2.3 极端气候干预 72 小时对金黄地鼠血清免疫指标的影响

极端气候干预结束 72 小时,因高温高湿条件下金黄地鼠的低存活率导致数据不足以满足统计需要,故该组不再参与干预结束 72 小时的统计。与正

常气候组相比,金黄地鼠血清 MT 含量在气温骤降、持续低温和常温高湿情况下具有显著性差异($P<0.05$);IL-1 含量在气温骤降情况下增加非常显著,在持续高温、常温高湿两种情况下显著上升($P<0.05$);IL-6 含量在气温骤降、持续低温情况下增加非常显著,在常温高湿情况下显著上升($P<0.05$); $CD3^+$ 则在气温骤降、持续低温、常温高湿情况下明显上升,具有统计学意义($P<0.05$); $CD4^+$ 则只在常温高湿情况下明显上升($P<0.05$); $CD8^+$ 在气温骤升情况下下降非常显著,且在持续高温、常温高湿情况下明显上升($P<0.05$)。见表 4、表 5。

表 4 极端气候干预后 72 小时 MT、IL-1、IL-6 的变化($\bar{x}\pm s, n=16$)

组别	MT(ng/L)	IL-1(ng/L)	IL-6(ng/L)
正常气候组	93.18 \pm 11.75	4.91 \pm 1.09	25.52 \pm 6.20
气温骤升组	92.50 \pm 17.37	5.95 \pm 1.46	30.01 \pm 4.94
气温骤降组	129.67 \pm 32.23 ^a	7.92 \pm 1.23 ^a	41.37 \pm 11.47 ^a
持续高温组	98.94 \pm 24.08	6.04 \pm 1.21 ^a	27.51 \pm 6.78
持续低温组	122.43 \pm 25.81 ^a	6.11 \pm 2.00	36.30 \pm 7.00 ^a
常温高湿组	123.13 \pm 35.81 ^a	7.32 \pm 1.32 ^a	35.44 \pm 10.03 ^a

注:与正常气候组相比较,^a $P<0.05$ 。

表 5 极端气候干预后 72 小时 $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ 的变化($\bar{x}\pm s, n=16$)

组别	$CD3^+$ (ng/L)	$CD4^+$ (ng/L)	$CD8^+$ (ng/L)
正常气候组	90.91 \pm 13.27	56.93 \pm 9.47	74.06 \pm 12.07
气温骤升组	90.76 \pm 14.67	56.52 \pm 9.93	50.56 \pm 12.17 ^a
气温骤降组	128.37 \pm 35.59 ^a	67.93 \pm 12.88	73.26 \pm 25.48
持续高温组	93.13 \pm 15.14	55.21 \pm 16.86	61.77 \pm 14.25 ^a
持续低温组	116.19 \pm 26.27 ^a	63.31 \pm 12.48	84.84 \pm 20.02
常温高湿组	118.74 \pm 20.76 ^a	74.51 \pm 9.60 ^a	91.90 \pm 14.18 ^a

注:与正常气候组相比较,^a $P<0.05$ 。

3 讨论

《素问·阴阳应象大论》云“天有四时五行,以生长收藏,以生寒暑燥湿风”,“六气”是万物生存的必要条件,但气候非正常变化,超过了人体的适应能力就会化为“六淫”。《素问·六节藏象论》将六气转化为六淫的规律概括为“未至而至,此谓太过”“至而不至,此谓不及”^[1]。但需要注意的是,六气六淫学说是古人运用黑箱理论的结果,其与气温、湿度、风速、降水量等现代气候指标的关系犹如中医的五脏六腑和现代医学解剖中的脏腑关系一样,有交集但也有不同,并不能完全对应^[2]。

本次实验结果显示在不同极端气候条件下,对其机体健康产生了不利影响。尤其是高温高湿(35℃,RH85%)条件下,金黄地鼠的存活率仅为62.5%,表明在相同温度情况下,湿度越大,金黄地鼠越容易死亡。有研究认为^[3],高温高湿环境下小鼠的生存指标会显著下降,与本实验结果相一致。此外,部分学者认为^[4-5],在高温高湿条件下,会增加心脑血管疾病的发病率,房晓等^[6]则认为高温高湿还会导致晕动病发病率上升。因此,应对高温高湿做好相关措施,以减轻机体负担。

此外,黏滞是湿邪的重要致病特点。《素问·五行运大论篇》曰“中央生湿,湿生土……其性静兼,其德为濡”,湿性属静,感而停滞体内,难以祛除。故湿邪为患,多蕴蒸不化,胶着难解,导致病程较长。从中医角度讲,湿性黏滞的根本原因在于正气损耗。张六通等^[7]通过制造外湿大鼠模型,结果发现湿邪能够使 IL-2 的诱生、活性下降,肠道菌群紊乱,骨骼肌线粒体活性下降,机体抗病能力减弱。通过对本实验结果分析发现,六种人工模拟极端气候中,常温高湿情况下,MT、CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、IL-1、IL-6 等免疫指标在干预结束 72 小时后,仍与正常气候组有显著性差异,而在其他情况下则大部分已恢复至正常水平,这在一定程度上从现代免疫学角度证明了中医学“湿性黏滞”观点的科学性。

本实验结果显示气温骤升、气温骤降、持续高温及高温高湿结束后 24 小时,褪黑素未出现明显变化;气温骤降后 72 小时,出现明显升高。在持续低温、常温高湿干预结束 24 小时、72 小时,MT 含量一直维持在较高水平。可见,不同极端气候干预后,褪黑素呈现出不同的应答反应,但都不低于正常水平。本团队之前对极端气候条件干预过程中和干预后立即对大鼠肺脏 MT 的水平进行观测,发现其 MT 水平一般低于正常水平,且都存在差异性^[8]。表明可能在极端气候干预时,褪黑素水平下降,免疫力降低,但干预一旦结束超过 24 小时,褪黑素水平就基本恢复正常。气温骤降、持续低温和常温高湿三种极端气候干预 72 小时后 IL-1、IL-6 含量仍显著高于正常水平,而在其他情况下已恢复。而本团队之前对极端气候条件干预过程中和干预后立即对大鼠肺脏 IL-6 水平进行观测,发现在气温骤变时,其水平未发生显著变化^[8],表明 IL-6 可能在气温骤变时存在一定的滞后性,机体免疫力并未快速增强,这也部分解释了气温骤变时免疫力低下人群中

的发病率高的原因。吴纪珍等^[9]认为血清 T 细胞亚群测定能够较好地对细胞免疫情况进行反映,其中 CD4⁺与 CD8⁺互相制约、互相诱导,对机体免疫功能的位置至关重要。如果 CD4⁺和 CD4⁺/CD8⁺降低或者 CD8⁺上升时,导致其协助淋巴细胞活化和促进 B 细胞合成抗体的能力降低,造成机体免疫功能降低^[10]。本次实验结果表明,各种极端气候均会对 T 细胞产生影响。综合所有检测指标发现,不同的极端气候结束后对褪黑素与免疫功能的调节存在一定差异性,以常温高湿最为显著,其次为气温骤降和常温高湿,再次为气温骤升和持续低温,但高温高湿免疫指标变化虽不显著,危险性却最大。此外不同的极端气候对机体免疫功能的影响可能具有不同的滞后效应,滞后期较短者小于 24 小时,较长者可以超过 72 小时。

综上,极端环境变化对金黄地鼠的免疫功能存在着程度不一的影响,干预因素不同能够诱发相应的免疫因子应答。高温高湿对机体的危害性最为显著,而高湿度则能够在较长时间内影响机体免疫力,部分解释了免疫性疾病的季节性发病规律,及极端气候发生时免疫力低下人群中的高发病率,为此类疾病的临床预防和治疗提供了实验依据。

参 考 文 献

- [1] 张登本,孙理军,李翠娟.《黄帝内经》六淫理论的发生及其意义[J]. 中华中医药学刊, 2006, 24(11): 1981-1982.
- [2] 周铭心,单丽娟,宋晓平,等. 西北燥证外感病因六淫构成情况因子分析[J]. 新疆医科大学学报, 2006, 29(12): 1123-1127.
- [3] 周美娟,丁振华. 高温高湿环境对受照小鼠生存的影响[J]. 第一军医大学学报, 2004, 23(4): 361-363.
- [4] 郭琳芳,董惠青. 南宁市居民心脑血管疾病与气象要素关系探讨[J]. 广西预防医学, 2000, 6(6): 341-343.
- [5] 李庆泉,盛丽,何燕. 气象因素对急性心肌梗死发病的影响及因时护理措施[J]. 中华护理杂志, 1998, 32(11): 621.
- [6] 房晓,罗琳,张雷,等. 湿热环境对晕动病发病的影响[J]. 第二军医大学学报, 2010, (6): 612-614.
- [7] 张六通,梅家俊. 外湿致病机理的实验研究[J]. 中医杂志, 1999, 40(8): 496-498.
- [8] 蔡月超. 基于“天人相应”理论的极端气候变化对大鼠肺脏免疫功能的影响[D]. 北京:北京中医药大学, 2015.
- [9] 吴纪珍,张罗献,马利军,等. 老年人慢性阻塞性肺病患者免疫功能测定及其意义[J]. 医药论坛杂志, 2005, 25(23): 10-12.
- [10] 王成秀,符州,谢琴,等. 50 例危重新生儿 T 细胞亚群及免疫抗体的检测[J]. 第三军医大学学报, 2007, 29(24): 2360.

(收稿日期: 2016-09-12)

(本文编辑: 王馨瑶)