

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.19.006

各个肠段 IL-10 水平与气候变化的关系*

王 菁 黄晓宇 张兆国 吴红倩 刘晓燕[△]

(北京中医药大学基础医学院 北京 100029)

摘要 目的:季节气候的变化能够影响人体肠道的生理功能和病理变化,这在中医学的长期临床实践和现代流行病学调查中都有记载和证实,但是相关的机制并不清晰。因此本研究通过观察不同气候下大鼠空肠、回肠、结肠的 IL-10 水平变化,从而从免疫功能的角度探讨季节气候变化对肠道功能的影响机制。**方法:**根据北京地区气象资料,大致可将一年之中气候划分为五种季节气候,分别由春、夏、长夏、秋和冬来代表;实验分为正常组和松果腺摘除模型组;分别把两组大鼠饲养五种正常自然季节气候下一个月,然后用 ELISA 方法检测大鼠空肠、回肠和结肠的 IL-10 水平。**结果:**① 正常组空肠 IL-10 水平在长夏季节明显升高($P<0.001$);② 回肠的 IL-10 表达水平则是在长夏与冬季这两个季节含量最多($P<0.01$, $P<0.001$);③ 结肠 IL-10 含量则在冬季呈现出高峰($P<0.01$)。**结论:**季节气候变化对肠道功能的影响的机制与肠道免疫功能的季节性变化有关。具体表现在:① 肠道 IL-10 水平是有季节气候变化规律的,而且空肠、回肠和结肠表现出来的季节气候规律是不相同的。② 松果腺参与了肠道免疫功能气候调节过程。

关键词:气候;空肠;回肠;结肠;IL-10;松果腺

中图分类号:Q95-3,R226,R392.11 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)19-3622-04

The Relationship between Climate Change and Intestinal IL-10*

WANG Jing, HUANG Xiao-yu, ZHANG Zhao-guo, WU Hong-qian, LIU Xiao-yan[△]

(Beijing University of Chinese Medicine, Beijing, 100029, China)

ABSTRACT Objective: Epidemiological researches and traditional Chinese medicine studies showed that climate change had a great impact on guts' physiological and pathological functions. This study was designed to explore whether IL-10 levels in jejunum, ileum and colon follow climatic patterns. **Methods:** The climates of a year contain spring, summer, long summer, autumn and winter. The mice were divided into the control and pinealectomized groups, naturally fed for a month in each season. Finally, the levels of IL-10 in jejunum, ileum and colon were analyzed respectively by Elisa. **Results:** ① Significantly, the level of IL-10 in jejunum was highest in long summer ($P<0.001$). ② Compared with those of spring, summer and autumn, the level of IL-10 in ileum was obviously higher in long summer and winter ($P<0.01$, or $P<0.001$) respectively. ③ The level of IL-10 in colon increased much more in winter, compared with those of spring, summer, long summer and autumn ($P<0.01$). The trend of IL-10 levels in intestinal tract of pinealectomized group was totally different from that of control group. **Conclusions:** ① Strong climatic patterns of IL-10 level were observed in jejunum, ileum and colon. ② Pineal gland may play a role in the climatic patterns of IL-10 level in intestinal tract.

Key words: Climate; Jejunum; Ileum; Colon; IL-10; Pineal gland

Chinese Library Classification(CLC): Q95-3, R226, R392.11 **Document Code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)19-3622-02

前言

中医学认为人与自然界是一个有机的整体,相互影响、相互通应。在长期的中医实践中,人们逐渐认识到人体的生理病理都会受到季节气候变化的影响^[1,2]。流行病学研究也发现季节气候变化会增加多种疾病的发病率,如心血管系统疾病^[3]、呼吸系统疾病^[4]以及消化系统疾病^[5]。肠道是消化系统中的重要器官,也会受到季节气候变化的影响^[6]。肠道还被认为人体最大的免疫器官,能够保护机体免受病毒、细菌、寄生虫等病原微生物侵害,对维持机体的稳态起着重要的作用。临床上,很多研究认为触发肠道炎症病变的启动因素主要是由于肠道免疫功能

失调,即免疫反应和免疫耐受之间的平衡被打破^[7,8]。针对肠道免疫功能失调治疗是目前肠炎治疗研究的热点^[9-11]。因此,本课题目的主要是通过引入中医的长夏季节气候(即湿热气候),观察对比春、夏、长夏、秋、冬五季气候变化对空肠、回肠、结肠的白介素 10(interleukin-10, IL-10)表达水平的影响,从而发现并揭示人体肠道免疫功能适应季节气候变化的新规律,为治疗肠道疾病提供一点新思路。

1 材料和方法

1.1 动物

洁净级 SD 大鼠,雄性,重量(190±10)g,由北京维通利华

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81001482);国家支撑计划课题(2012BAJ02B05)

作者简介:王菁(1987-),女,硕士研究生,主要研究方向:天人相应, E-mail: wangjing309@163.com

△ 通讯作者:刘晓燕, E-mail: Liuxy1088@sina.com

(收稿日期:2014-01-04 接受日期:2014-01-26)

实验动物技术有限公司提供, 许可证号码:SCXK(京)2006-0009。

1.2 主要试剂

10%水合氯醛,生理盐水,酒精,双蒸水,注射用青霉素钠(华北制药厂),明胶海绵等。Rat IL-10 ELISA Kit(瑞格博,中国)。

1.3 主要方法

1.3.1 松果腺摘除模型的构建 用 10%水合氯醛,按 30-40 mg/kg 腹腔注射,固定,无菌操作,头顶皮肤切口约 2 cm,暴露颅骨矢状缝和人字缝。在人字缝和矢状缝处钻取圆形骨片,暴露矢状静脉(SSV)、横向静脉窦(TS)、窦汇(CS),用眼科镊直接取出松果腺,明胶海绵止血,清创,点适量青霉素干粉,缝合皮肤,无菌操作,创口再点青霉素干粉。

1.3.2 动物饲养季节的选择 根据北京地区气象资料^[2],大致可将一年之中气候划分为五种季节气候,分别由春、夏、长夏、秋和冬来代表。7、8月这段时间是北京一年之中湿度和热度最大的时段,中医将其命名为长夏^[3],刚好是立秋前的一个月即农历六月,因此本研究选择立秋前 1 天为取材时间,并将立秋前一个月为长夏季节的动物饲养时间。由于春分、夏至、秋分、冬至四个节气分别位于春、夏、秋、冬四个季节的中点,因此无论从天文学还是气象学的角度,都可以代表各自的季节气候特点,因此本研究选择在春分、夏至、秋分、冬至作为取材时间,并将它们的前一个月作为春、夏、秋、冬四季的动物饲养时间。

1.3.3 分组处理 分别在春分、夏至、秋分、冬至的前 37d,以及立秋的前 38d,购入 12 只 SD 雄性大鼠,随机分为正常组和松果腺摘除模型组,每组各 6 只。模型组分别于春分、夏至、秋分、冬至的前 30d 以及立秋的前 31d 实行松果腺摘除术,与正常组动物在相同条件下饲养一个月,分别至春分、夏至、立秋的前一天(长夏)、秋分、冬至进行实验取材。饲养条件:自然光照,室温(冬季存在供暖,温度 $(18\pm 1)^{\circ}\text{C}$,其他未有人工干预,保持与外围环境气候一致,这主要因为本实验的目的是观察自然气候对大鼠的肠道影响)。自由摄取水及饲料,饲料为普通鼠全价颗粒饲料。

1.3.4 取材及指标测定 在晚上 8 点开始,在暗室红光灯下,用 10%水合氯醛,按 30-40 mg/kg 腹腔注射,固定,无菌操作,开腹取出空肠、回肠、结肠,用生理盐水冲洗干净,迅速置于液氮中

速冻,再放入 -70°C 冰箱中冷藏,检测各肠段的 IL-10 含量。IL-10 检测用 ELISA 方法。

1.4 统计学处理

试验所有数据均为计量资料,采用 SPSS20.0 统计软件处理,所有数据以均数 $\pm$ 标准差(mean $\pm$ SD)表示。由于同组季节之间的数据中存在不符合正态分布,或者是方差不齐的数据,因此都采用非参数检验(Non-parametric test)中的 K 个独立样本(kruskal-Wallis H test)的方法来检验是否有统计学意义,再用非参数的 2 个独立样本进行两两比较。正常组与模型组的比较由于部分数据中存在不符合正态分布,或者是方差不齐的数据,故采用独立样本 T 检验和非参数检验的 2 个独立样本两种方法,具体视情况选择。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 空肠 IL-10 水平与季节气候变化的关系

正常组的空肠 IL-10 水平在长夏季节明显升高,差异具有统计学意义($P<0.001$),其他四个季节无明显差异。模型组在春季较夏冬两季空肠 IL-10 的表达升高(分别是 $P<0.01$, $P<0.05$)。当模型组与正常组比较时,模型组的空肠 IL-10 含量在长夏这个季节比正常组显著降低($P<0.01$)。结果见表 1、图 1。

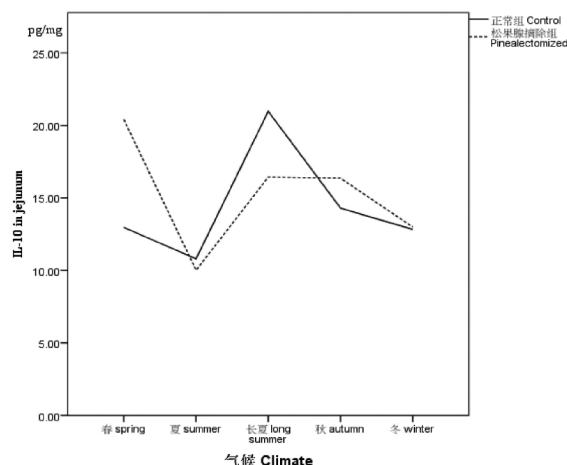


图 1 空肠 IL-10 水平与季节气候变化的关系 (pg/mg, mean $\pm$ SD, n=6)

Fig. 1 Climatic variation of IL-10 in jejunum (pg/mg, mean $\pm$ SD, n=6)

表 1 空肠 IL-10 水平与季节气候变化的关系 (pg/mg, mean $\pm$ SD, n=6)

Table 1 Climatic variation of IL-10 in jejunum (pg/mg, mean $\pm$ SD, n=6)

IL-10	Control		Pinelectomized	
Spring	12.97 $\pm$ 1.12	***	20.41 $\pm$ 2.50	
Summer	10.80 $\pm$ 1.15	***	10.02 $\pm$ 1.42	▲▲
Long summer	20.98 $\pm$ 0.68		16.44 $\pm$ 1.22	###
Autumn	14.30 $\pm$ 0.64	***	16.36 $\pm$ 0.86	
Winter	12.83 $\pm$ 0.40	***	13.00 $\pm$ 0.71	▲

*注:同组不同季节与长夏比较 *** $P<0.001$, 同组不同季节与春季比较 ▲ $P<0.05$, ▲▲ $P<0.01$, 正常组与模型组比较 ### $P<0.01$

*Note:*** $P<0.001$ vs Long summer, ▲ $P<0.05$, ▲▲ $P<0.01$ vs Spring, # $P<0.05$, ## $P<0.01$ vs Pinelectomized

2.2 回肠 IL-10 水平与季节气候变化的关系

正常组回肠 IL-10 的含量在长夏较春夏秋三季明显升高 ($P<0.01$),冬季比春季升高更为显著 ($P<0.001$),冬季较夏秋两季的回肠 IL-10 水平也有所升高 ($P<0.01$)。模型组回肠 IL-10

的表达则是在春与长夏两季为高峰 ($P<0.01$)。模型组与正常组比较,模型组回肠 IL-10 的含量在春夏秋三季比正常组的明显升高 ($P<0.01$)。结果见表 2、图 2。

表 2 回肠 IL-10 水平与季节气候变化的关系(pg/mg, mean± SD, n=6)

Table 2 Climatic variation of IL-10 in ileum(pg/mg, mean± SD, n=6)

IL-10	Control		Pinelectomized	
Spring	6.61± 0.38	**△△△	25.16± 3.75	##
Summer	7.10± 0.21	**△△	9.94± 0.95	##▲▲
Long summer	16.60± 2.58		22.00± 1.83	
Autumn	6.06± 0.21	**△△	11.89± 1.57	##▲▲
Winter	11.96± 0.60		10.90± 0.85	▲▲

* 注: 同组不同季节与长夏比较 ** P<0.01, 同组不同季节与冬季比较 △△ P<0.01, △△△ P<0.001, 同组不同季节与春季比较 ▲▲ P<0.01, 正常组与模型组比较 ## P<0.01

*Note: ** P<0.01 vs Long summer, △△ P<0.01, △△△ P<0.001 vs Winter, ▲▲ P<0.01 vs Spring, # P<0.05, ## P<0.01 vs Pinelectomized.

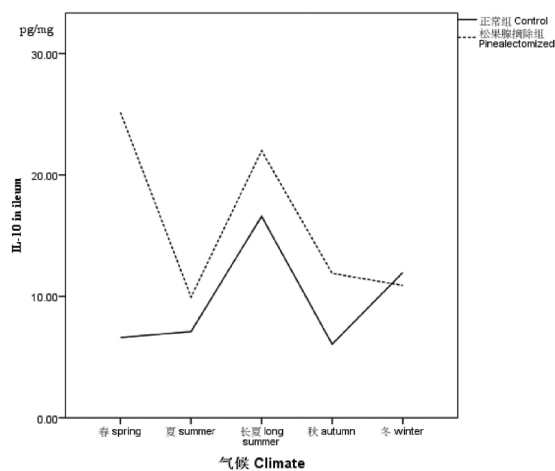


图 2 回肠 IL-10 水平与季节气候变化的关系(pg/mg, mean± SD, n=6)

Fig. 2 Climatic variation of IL-10 in ileum (pg/mg, mean± SD, n=6)

2.3 结肠 IL-10 水平与季节气候变化的关系

正常组在冬季时结肠 IL-10 的水平是最高的(较长夏 P<0.001, 较其他三季 P<0.01)。模型组结肠 IL-10 的水平在夏季较春两季升高(P<0.01), 较长夏升高更为显著(P<0.001)。模型组在夏、长夏、秋三个季节比正常组的结肠 IL-10 的表达显著升高(P<0.01)。结果见表 3、图 3。

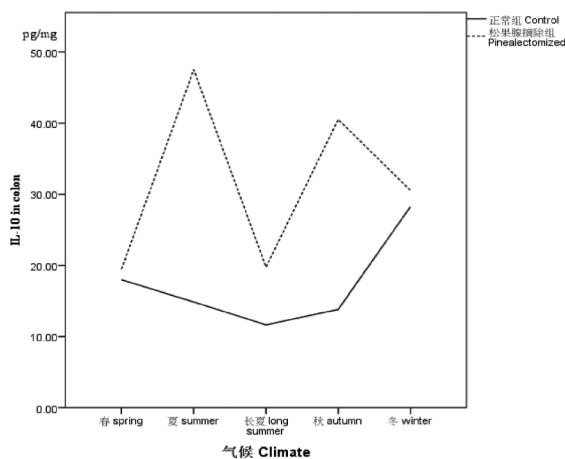


图 3 结肠 IL-10 水平与季节气候变化的关系(pg/mg, mean± SD, n=6)

Fig. 3 Climatic variation of IL-10 in colon (pg/mg, mean± SD, n=6)

表 3 结肠 IL-10 水平与季节气候变化的关系(pg/mg, mean± SD, n=6)

Table 3 Climatic variation of IL-10 in colon (pg/mg, mean± SD, n=6)

IL-10	Control		Pinelectomized	
Spring	17.99± 1.68	△△	19.47± 1.46	☆☆
Summer	14.86± 1.47	△△	47.53± 3.58	##
Long summer	11.65± 1.26	△△△	19.77± 2.00	##☆☆☆
Autumn	13.81± 1.09	△△	40.53± 5.09	##
Winter	28.27± 2.27		30.54± 3.97	☆☆

* 注: 同组不同季节与冬季比较 △△ P<0.01, △△△ P<0.001, 同组不同季节与夏季比较 ☆☆ P<0.01, ☆☆☆ P<0.001, 正常组与模型组比较 ## P<0.01

*Note: △△ P<0.01, △△△ P<0.001 vs Winter, ☆☆ P<0.01, ☆☆☆ P<0.001 vs Summer, ## P<0.01 vs Pinelectomized

3 讨论

很多研究报道, 疾病发生与气候变化有着密切的联系^[14-16]。季节气候的改变可能导致肠道菌群紊乱或感染致病菌, 诱发肠道疾病的发生^[17], 例如在炎热气候里, 人容易患上肠炎或者是痢疾^[18]; 随着温度上升以及相对湿度的增加, 会加重非病毒感染的肠道疾病^[19]。因此, 肠道免疫功能可能随着季节气候变化而发生改变。

本实验欲通过观察各个肠道 IL-10 表达水平, 来探索肠道免疫功能是否有季节气候变化的规律。IL-10 是免疫系统中重要的调节因子。它主要是由 T 细胞、TH2 细胞、单核巨噬细胞、活化的 B 细胞产生的, 可以抑制抗体的产生以及前炎性细胞因子如 IL-1、IL-6、IL-8、TNF-α 等的释放, 对维持细胞因子的网络平衡起着重要的调节作用^[20]。由于 IL-10 抗炎作用非常强大, 因此它与很多自身免疫系统疾病有着密切的联系^[21]。有研究发现, IL-10 基因敲除小鼠自发性出现炎症肠道疾病, 而且在溃疡性结肠炎的肠粘膜炎症性区域和非炎症区域 IL-10 的表达均明显增加^[22]。就此有人运用 IL-10 治疗克罗恩病取得了良好的疗效^[23]。

在我们对不同肠段 IL-10 水平的季节性观察过程中, 本研究发现, 如果加入了长夏季节(湿热的季节)就要比单纯的研究四季更能发现肠道的季节气候变化规律。结果显示, 正常组空肠 IL-10 水平在长夏季节明显升高; 回肠的 IL-10 表达水平则是在长夏与冬季这两个季节含量最多; 结肠黏膜 IL-10 含量则在冬季呈现出高峰。这就说明肠道的免疫功能确实是有季节气候变化规律的, 而且空肠、回肠和结肠表现出来的季节气候规律是不相同的。空肠在长夏这个湿热气候免疫功能作用比较强劲, 回肠则是在长夏和寒冷的冬季, 结肠则是在冬季严寒的气候中免疫因子含量增多。这一发现对临床上治疗非病毒性肠道疾病将有一定的提示作用, 即在不同季节可以通过剂型的改变而达到针对特定肠段治疗的目的, 而且治疗用药剂量也可以根据肠道疾病发生部位以及气候进行调整, 以达到最小剂量最佳疗效的目的。

据报道, 松果腺作为根据季节变化和昼夜变化来调节机体的神经内分泌换能器和高位调节器^[24-26], 其分泌的褪黑素可以刺激机体对 IL-10 的表达^[27]。故本实验还进行了摘除松果腺的对比研究, 以探讨肠道 IL-10 季节气候变化的可能存在调节机制。结果发现, 正常大鼠一旦摘除了松果腺, 空肠、回肠和结肠

原有的 IL-10 分泌的季节气候节律消失。由此可见,松果腺确实参与了肠道免疫功能气候调节过程。

综上所述,肠道 IL-10 水平存在着季节气候变化规律,而且空肠、回肠和结肠表现出来的季节气候规律是不相同的。这证明了气候变化的确会对机体肠道免疫功能产生影响。本实验证明松果腺参与了肠道免疫功能气候调节过程。松果腺的功能是受到光线调节的,故气候中的光照因素也影响到了肠道 IL-10 的分泌。但具体是气候中的哪种因素(湿度、温度或光照)影响着其分泌变化,仍需进一步研究。下一步如果条件允许,可以通过人工气候模拟的方法进行气候的单因素控制,从而来探讨不同气象因素对肠道免疫功能的影响。

参考文献 (References)

- [1] 刘晓燕,郭霞珍,杨云霜,等.气温骤升诱发脑梗塞过程中单胺类神经递质的变化[J].现代生物医学进展,2012,12(3): 422-425
Liu Xiao-yan, Guo Xia-zhen, Yang Yun-shuang, et al. The changes of monoamine neurotransmitter in hypertensive rats with infarction induced by sudden rising temperature [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2012, 12(3): 422-425
- [2] 罗颂明,郭霞珍,刘晓燕.气温突变对高血压大鼠脑梗发病及心肌损害的影响[J].现代生物医学进展,2012,12(17): 3224-3227
Luo Song-ming, Guo Xia-zhen, Liu Xiao-yan. The affect of incidence of myocardial infarction and myocardial damage in hypertensive rats induced by sudden rising and dropping of temperature[J]. Progress in Modern Biomedicine, 2012, 12(17): 3224-3227
- [3] Diane R, Jonathan M. Air pollution, climate and heart disease [J]. Circulation, 2013, 128(21): 411-414
- [4] Amato GD, Cecchi L, Amato MD, et al. Urban air pollution and climate change as environmental risk factors of respiratory allergy: an update[J]. J Investig Allergol Clin Immunol, 2010, 20(2): 95-102
- [5] Aratari A, Papi C, Galletti B, et al. Seasonal variations in onset of symptoms in Crohn's disease [J]. Dig Liver Dis, 2006, 38(5): 319-323
- [6] Roberto M, Roberto DG, Michael HS, et al. Seasonal pattern of peptic ulcer hospitalizations: analysis of the hospital discharge data of the Emilia-Romagna region of Italy [J]. BMC Gastroenterol, 2010, 10: 37-37
- [7] Baumgart DC, Carding SR. Inflammatory bowel disease: cause and immunobiology[J]. The Lancet, 2007, 369(9573): 1627-1640
- [8] Xavier RJ, Podolsky DK. Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease[J]. Nature, 2007, 448(7152): 427-434
- [9] Kamanaka M, Huber S, Zenewicz LA, et al. Memory/effector (CD45RB(lo)) CD4 T cells are controlled directly by IL-10 and cause IL-22-dependent intestinal pathology [J]. Exp Med, 2011, 208(5): 1027-1040
- [10] Song L, Zhou R, Huang S, et al. High intestinal and systemic levels of interleukin-23/t-helper 17 pathway in chinese patients with inflammatory bowel disease [J]. Mediators Inflamm, 2013, 2013: 425915-425915
- [11] Zhang SJ, Wang L, Ming L, et al. Blockade of IL-6 signal exacerbates acute inflammatory bowel disease via inhibiting IL-17 producing in activated CD4⁺ Th17 population [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2013, 17(24): 3291-3295
- [12] 北京市气象科学数据共享服务网.北京市观测台标准气候值. <http://cdc.bjmb.gov.cn/public.asp/2013-12-15>
Beijing Met Data Services.Standard Value of Climate in Beijing. <http://cdc.bjmb.gov.cn/public.asp/2013-12-15>
- [13] 胡正芬,刘永涛,郑红斌.从《内经》时脏的确立看脾主长夏的主导地位[J].辽宁中医药大学学报,2007,9(5): 56-57
Hu Zheng-fen, Liu Yong-tao, Zheng Hong-bin. The Status of the Spleen Main Long Summer in Neijing [J]. Liaoning University of TCM, 2007, 9 (5): 56-57
- [14] Sherilee LH, Victoria LE, Corinne JS, et al. Weather, Water Quality and Infectious Gastrointestinal Illness in Two Inuit Communities in Nunatsiavut, Canada: Potential Implications for Climate Change [J]. EcoHealth, 2011, 8 (1): 93-108
- [15] Nicholas HO, Paul S, Manon F. Public Health in Canada and Adaptation to Infectious Disease Risks of Climate Change: Are We Planning or Just Keeping Our Fingers Crossed [J]. Advances in Global Change Research, 2011, 42: 161-175
- [16] Jacqueline MD, Angela SB, Christopher AD, et al. Burden of Disease from Climate Change [J]. Environmental Science and Technology Library, 2013, 24: 193-226
- [17] Grijibovski AM, Kosbayeva A, Menne B. The effect of ambient air temperature and precipitation on monthly counts of salmonellosis in four regions of Kazakhstan, Central Asia, in 2000-2010 [J]. Epidemiology and Infection, 2014, 142(3): 608-615
- [18] Christine NM, Michaela P, Gerhard R. Heat Waves, Incidence of Infectious Gastroenteritis, and Relapse Rates of Inflammatory Bowel Disease: A Retrospective Controlled Observational Study [J]. Am J Gastroenterol, 2013, 108(9): 1480-1485
- [19] Eze JI, Scott EM, Pollock KG, et al. The association of weather and bathing water quality on the incidence of gastrointestinal illness in the west of Scotland [J]. Epidemiol Infect, 2014, 142(6): 1289-1299
- [20] Mitsuyama K, Tomiyasu N, Takaki K, et al. Interleukin 10 in the pathophysiology of inflammatory bowel disease: increased serum concentrations during the recovery phase [J]. Mediators Inflamm, 2006, (6): 20875
- [21] K. Asadullah, Sterry W, Volk HD. Interleukin-10 Therapy-Review of a New Approach[J]. Pharmacol Rev, 2003, 55(2): 241-269
- [22] Melgar S, Yeung MM, Bas A, et al. Over expression of interleukin 10 in mucosal T cells of patients with active ulcerative colitis [J]. Immunol, 2003, 134(1): 127-137
- [23] Yuan C, Chen WX, Zhu JS, et al. IL-10 Treatment Is Associated with Prohibitin Expression in the Crohn's Disease Intestinal Fibrosis Mouse Model[J]. Mediators of Inflammation, 2013, 2013: 8-8
- [24] Cardinali DP, Esquifino AI. Circadian disorganization in experimental arthritis[J]. Neurosignals, 2003, 12 (6): 267-267
- [25] Altun A, Ugur-Altun B. Melatonin: therapeutic and clinical utilization [J]. Int J Clin Pract, 2007, 61(5): 835-845
- [26] Bogoeva M, Mileva M, Aljakov M. Regional and diurnal variations of 3H-melatonin binding sites in mouse alimentary tract [J]. C R Acad Bulgare Sci, 1994, 47(12): 107-109
- [27] Jolanta J, Joanna S, Andrzej KJ, et al. Protective Effect of Melatonin on Acute Pancreatitis[J]. Int J Inflamm, 2012, 2012: 8-8