

特异性抗人三价流感病毒 IgY 对小鼠的保护作用研究

方会珍¹ 聂荣庆¹ 吴东风¹ 张进¹ 胡国柱²

(1 江西省中医药研究院 南昌 330046; 2 江西省人民医院 南昌 330006)

关键词: 特异性抗人三价流感病毒 IgY; 非特异性 IgY; 小鼠; 保护作用

中图分类号: R 965

文献标识码: B

doi: 10.3969/j.issn.1671-4040.2010.04.066

流行性感 冒(简称流感)是由甲、乙、丙三种类型流感病毒分别引起的发病率最高的急性呼吸道传染病, 上世纪人类曾遭受四次大规模流行性感冒, 数千万人被夺去生命^[1]。近些年的流行病学和流感病毒分子进化演变研究提示, 新的变异株很有可能出现。因此, 流行性感 冒已成为严重威胁人类健康的世界性疾病, 也是我国当前流行最为广泛、危害性最严重的一种传染病。在多次新变异株出现的我国, 预测和预防新的流感大流行成为摆在我们面前的重大课题。本实验研究通过制备特异性抗人三价流感病毒 IgY 抗体, 观察特异性抗人三价流感病毒 IgY 不同给药方案经滴鼻途径免疫小鼠后, 抗流感强毒攻击的效果及其对流感病毒的防治作用, 探索特异性抗人三价流感病毒抗体预防和治疗流感的可行性, 为流感的生物防治提供理论依据和新的防治手段。

1 材料与方法

1.1 材料 特异性抗人三价流感病毒 IgY (20 倍稀释供试液); 非特异性 IgY。流感噬鼠肺毒株: A/fm/1/47(H1N1), 批号 Y030612A (长春生物制品研

究所保存、提供)。动物: BALB/C 小鼠, 体重 10~12g, 雌雄各半。

1.2 方法

1.2.1 半数致死量测定 取液氮冻存毒种, 给小鼠感染后, 用鼠肺浸出液分别接种鸡胚, 进行培养, 然后取鸡胚尿囊液感染小鼠。感染方法: 乙醚麻醉小鼠至浅Ⅲ期, 然后通过滴鼻方式用病毒感染小鼠, 原液稀释 10 倍为起始稀释度开始 10 倍稀释, 共 5 个剂量组, 每组 10 只小鼠, 感染后观察 10d, 记录死亡和活存数量, 计算 LD₅₀。动物试验攻击时, 均经鼻腔攻击 10 个 LD₅₀ 强毒。

1.2.2 动物保护力试验 对照组和试验组均滴鼻感染 10 个 LD₅₀ 流感噬鼠肺强毒病毒。各组免疫和攻击方法如下: A 组: 正常对照组, 自攻毒前 1d 开始, 每天用生理盐水滴鼻, 0.02mL/ 只, 共滴 8 次, 不攻毒。B 组: 阳性对照组, 攻毒前 1d 生理盐水滴鼻, 0.02mL/ 只, 1 次 /d, 第 2 次(第 2 天)滴鼻 1h 后攻毒, 经鼻攻击 10 个 LD₅₀, 0.02mL/ 只, 以后用生理盐水滴鼻, 0.02mL/ 只, 1 次 /d, 共滴 8 次。C 组: 非特异性 IgY 预防组, 攻毒前 1h 用非特异性 IgY 滴鼻,

表 2 益母草提取物对昆明种 S180 肉瘤小鼠的抑瘤率 (X±S)

组别	剂量(mg/kg)	小鼠数量(只)	瘤重(g)	瘤率(%)
生理盐水	-	10	1.96± 0.27	/
顺铂	2.5	10	0.98± 0.26**	50.0
益母草水提物	250	10	2.12± 0.43	/
	750	10	1.45± 0.40	26.0
益母草醇提物	250	10	1.90± 0.26	/
	750	10	1.98± 0.30	/

3 讨论

益母草在我国有着丰富的自然资源, 其对妇科肿瘤、肝癌、胰腺癌、白血病等都有较好疗效, 经合理配伍还可以用于治疗膀胱癌、脑肿瘤、多发性骨髓瘤及子宫肌瘤等其他良恶性肿瘤^[9]。益母草可调补胎产妇女诸多虚证, 可能与增强妇女机体的细胞免疫功能有关。

本次研究中益母草水提物及醇提物在体外对 人子宫颈癌 HeLa 细胞增殖有显著的抑制作用, 提

示其具有一定抗肿瘤活性, 且研究发现益母草水提物的体外抑瘤效果优于益母草醇提物。上述两种益母草提取物对小鼠 S180 肉瘤的生长未见明显的抑制作用, 但 750 mg/kg 的益母草水提物出现了轻度的抑瘤趋势。综上所述, 益母草水提物及醇提物体外具有一定的抗肿瘤活性, 对益母草抗肿瘤活性及作用机制尚有待进一步研究。

参考文献

[1]黄自丽,黄修燕,郑起,等.中药抗肿瘤作用及其作用机制研究进展[J].医学综述,2010,16(3):386-389

[2]马敏,李俄成.中医中药在肿瘤内科治疗中的作用[J].现代中西医结合杂志,2005,14(12):1 604-1 605

[3]洪丽生,刘长节.益母草临床应用简介[J].中国乡村医药杂志,2006,13(6):35-36

[4]邢沈阳,乔萍.益母草提取液对小鼠遗传物质损伤的保护作用及对淋巴细胞功能的增强作用[J].吉林大学学报(医学版),2008,34(5):799-801

[5]吕丽莉,黄伟.益母草醇提取物对大鼠肾毒性损伤作用研究[J].中国药物警戒,2009,6(9):513-518

[6]张明庆,龚惠明.抗肿瘤中草药的临床应用[M].北京:人民卫生出版社,1998.120-124

(收稿日期: 2010-03-26)

0.02mL/ 只,然后攻毒,以后再滴特异性抗人三价流感病毒 IgY,0.02mL/ 只,1 次 /d,共计 5 次。D 组:特异性抗人三价流感病毒 IgY 预防组:D-1 组:攻毒前 1d、6h、1h 分别用特异性抗人三价流感病毒 IgY 滴鼻,0.02mL/ 只,然后攻毒,攻毒后再滴非特异性 IgY,0.02mL/ 只,1 次 /d,共计 5 次。D-2 组:攻毒前 1d、6h、1h 分别用特异性抗人三价流感病毒 IgY 滴鼻,0.02mL/ 只,然后攻毒,攻毒后再用特异性抗人三价流感病毒 IgY 滴鼻,0.02mL/ 只,1 次 /d,共计 5 次。上述各组均为鼻腔攻击 10 个 LD₅₀,0.02mL/ 只,各组动物均为 10 只,雌雄各半。观察时间为攻毒后 10d。

2 结果

表 1 特异性抗人三价流感病毒 IgY 不同给药方案对小鼠保护结果				
组别	动物数量(只)	攻毒剂量(LD ₅₀)	死亡数量(只)	平均死亡天数(d)
A	10	-	0	-
B	10	10	9	4.9
C	10	10	7*	5.6
D-1	10	10	3**△	6.7
D-2	10	10	2**△	7.5

注:与 B 组比较,*P<0.05,**P<0.01;与 C 组比较,△P<0.01。

从表 1 可以看出 D 组小鼠病死率明显减少,和 B 组比较有极显著性差异 (P<0.01);C 组小鼠病死率明显减少,和 B 组比较也有显著性差异 (P<0.05);D 组小鼠病死率比 C 组明显减少,两组比较有极显著性差异(P<0.01)。说明特异性抗人三价流感病毒 IgY 可以预防流感病毒的攻击,在小鼠体内具有一定的保护作用。

3 讨论

从试验小鼠病死率来看,B、C 组小鼠死亡时间

(上接第 81 页)器械用 40%甲醛熏蒸灭菌,并检查玻璃体切割机、冷冻器、眼内激光机是否正常。手术前 1h,用高压消毒锅消毒器械并清点记录。

2.2 手术中的配合 0.5%碘伏常规消毒眼睑及周围皮肤,铺巾,开睑,切开球结膜,牵引好四条直肌,安装好显微镜,用穿刺刀在角巩膜缘做三个切口,穿刺刀用完后插上海绵保护套放消毒盒内以免碰撞,插入导光纤及切割头,安放灌注管,放置角膜前置镜。开启玻璃体切割机,选择程序和数据。

2.3 术中灌注液的使用 (1)根据眼部细菌的种类在灌注液内加入不同的抗生素,一般在 500mL 灌注液内加入庆大霉素 2 万单位。(2)调整灌注液的高度和流速,一般高度为离眼球 45~60cm。若切割晶状体或玻璃体时发生出血,要提高灌注液以增加灌注压;切割玻璃体后极部时要降低灌注压;同时,在手术台上要根据角膜水肿程度来调整灌注液的高度。(3)灌注液即将滴完时要及时更换新的灌注液,切勿将空气灌注眼内而影响手术的正常进行。

比较集中,二者差异不显著;D-1、D-2 两组与 B 组相比存活率明显提高,且差异有显著意义。说明特异性抗人三价流感病毒 IgY 在小鼠体内具有一定的保护作用。而 D-1 和 D-2 两组相比较,差异不大,但 D-2 组稍优于 D-1 组。可能由于感染流感后,马上给 IgY,病毒活性会受到一定影响。

特异性 IgY 抗体实验研究证明,其可预防龋齿^[2],防止胆囊纤维化患者绿脓杆菌的反复感染^[3];治疗婴幼儿轮状病毒性腹泻^[4]、急性和慢性咽喉炎^[5]以及幽门螺杆菌性胃炎^[6]。本实验研究显示,特异性抗人三价流感病毒抗体有预防和治疗流感的可行性,为流感的生物防治提供理论依据和新的防治手段。

参考文献

[1]ServiceR F.Researchers seek new weapon against the flu[J].Science, 1997,275(5301):756-757
[2]Hatta H,Tsuda K,Ozeki M,et al.Passive immunization against dental plaque formation in humans:effect of a mouth rinse containing egg yolk antibodies (IgY) specific to Streptococcus mutans[J].Caries Res, 1997,31(4):268-274
[3]Kollberg H,Carlander D,Olesen H,et al. Oral administration of specific yolk antibodies (IgY) may prevent Pseudomonas aeruginosa infections in patients with cystic fibrosis: A phase I feasibility study [J].Pediatr Pulmonol, 2003,35(6):433-440
[4]Sarker SA,Casswall TH,Juneja LR,et al.Randomized, placebo-controlled,clinical trial of hyperimmunized chicken egg yolk immunoglobulin in children with rotavirus diarrhea [J].J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2001,32(1):19-25
[5]谢民强,蒙永祥,李仲汉,等.特异性免疫球蛋白 Y 治疗急性慢性咽炎的疗效观察[J].中华耳鼻咽喉科杂志,2004,39(2): 51-54
[6]Suzuki H, Nomura S,Masaoka T,et al.Effect of dietary anti-Helicobacter pylori-urease immunoglobulin Y on Helicobacter pylori infection[J].Aliment Pharmacol Ther, 2004,20(SI):185-192

(收稿日期: 2010-03-11)

2.4 玻璃体切割器的使用 (1)严格按照仪器的操作程序,先开电源,再开氮气总开关。正确连接各种管道,调整所需程序及数据,使其处于良好工作状态。(2)手术结束后,将玻切机余气排出,关闭氮气、电源,并用玻璃体切割机罩罩好,避免尘埃落入仪器内。

2.5 器械的保管与清洗 (1)玻切头用蒸馏水或 75%酒精冲洗干净并吹干,消毒后待用。(2)硅油推进器及灌注管用 75%酒精浸泡,然后将其中的硅油冲洗干净并擦干放回原处。(3)角膜接触镜用蒸馏水洗净,用柔软棉制品或丝绸擦干,放回盒内,清点入柜。(4)手术结束后,使用超声波清洁剂清洗(可加入少量清洗剂)手术器械,眼内镊、眼内剪要拿在手上,将器械使用一端放入水中清洗,待干燥后上油,清点放柜。在清洗器械时,切勿让器械互相碰撞。每次使用后,须立即尽快冲洗干净,不要让血痂或组织干涸在器械上,特别对器械的关节部位要仔细清洗后烘干。

(收稿日期: 2009-11-04)