中国寄生虫学与寄生虫病杂志 2006 24 (6): 414-419 ISSN: 1000-7423 CN: 31-1248/R

论著

重组屋尘螨2类变应原疫苗免疫治疗小鼠过敏性气道炎症的研究

喻海琼1,2，刘志刚1,于琨瑛3,许卓谦2,丘劲1

1 深圳大学过敏反应与免疫学研究所， 深圳 518060； 2 广州医学院， 广州 510182； 3 南昌大学医学院， 南昌 330006

收稿日期 修回日期 网络版发布日期 接受日期

摘要

目的 观察以聚乳酸-羟基乙酸共聚物（PLGA）材料为佐剂制备的重组屋尘螨2类变应原（rDer p 2）纳米微粒疫苗（DEPN）对小鼠过敏性气道炎症的影响，并探讨其免疫治疗机 制。 方法 制备PLGA-rDer p 2纳米粒子并鉴定其特性。40只BALB/c小鼠随机分为5组，A组（对照组）均给予生理盐水（100 μl）。B、C、D和E组腹部皮下注射屋尘螨粗浸液（10 μg）免疫小鼠致敏，然后分别用PBS（100 μl）、2 mg 空白PLGA粒子（empty PLGA，EP）、100 μg rDer p 2、2 mg的DEPN纳米疫苗（载有100 μg rDer p 2）皮下注射进行免疫治疗，连续免疫治疗3 d，1次/d，各组用rDer p 2（50 μg）滴鼻激发，激发后第2天剖杀，收集支气管肺泡灌洗液（BALF）并对细胞进行总计数和分类计数；HE染色和PAS染色（Periodic Acid?鄴Schiff Stain）观察小鼠肺部组织炎症和支气管黏液分泌；用ELISA检测BALF和脾细胞培养上清的细胞因子（IL-4、 IFN-γ）和血清中变应原特异性IgG2a和IgE抗体浓度。结果 B、C 组肺部呈明显的变态反应性炎症，D、E组变应原诱导的肺部嗜酸粒细胞浸润和黏液分泌比B、C 组显著减轻。BALF中的细胞总数B组比A组明显增多，分类细胞以中性和嗜酸粒细胞为主，超过50%。rDer p 2特异性IgE抗体水平，D组（0.93±0.04）和E组（0.77±0.10）均低于B组（1.14±0.10）（*P*＜0.01）；特异性IgG2a抗体水平，D组（1.02±0.01）和E组（1.17±0.46）均高于B组（0.14±0.01）（*P*＜0.01）。在BALF中，D组[（55.60±3.79） pg/ml]和E组[（48.60±4.50） pg/ml]IL-4水平均低于B组[（78.90±6.07） pg/ml]（*P*＜0.01）；IFN-γ水平E组[（68.50±2.87） pg/ml]显著高于B组[（27.30±3.51） pg/ml] （*P*＜0.01）。脾细胞上清的IL-4水平，D组[（56.3±4.85） pg/ml]和E组[（40.2±4.36） pg/ml]显著低于B组[（81.20±6.84） pg/ml] （P＜0.01）；IFN-γ水平，E组[（70.20±3.85） pg/ml]显著高于B组[（34.60±2.25） pg/ml] 。 结论 DEPN免疫治疗可抑制小鼠肺部过敏炎症，其机制可能与调节Th1/Th2平衡有关。

关键词 聚乳酸-羟基乙酸共聚物（PLGA） 屋尘螨 变应原 纳米微粒 过敏性气道炎症 小鼠

分类号

Immunotherapy with Recombinant House Dust Mite Group 2 Allergen Vaccine Inhibits Allergic Airway Inflammation in Mice

YU Hai-qiong1,2,LIU Zhi-gang1,YU Kun-ying3,XU Zuo-qian2,QIU Jing1

1 Allergy and Immunology Institute，Shenzhen University，Shenzhen 518060，China; 2 Guangzhou Medical College， Guangzhou 510182，China；3 College of Medicine，Nanchang University，Nanchang 330006，China

Abstract

Objective To investigate the efficacy and mechanism of subcutaneously given recombinant Der p 2 entrapped PLGA nanoparticles （DEPN） on mouse model with allergic airway inflammation. Methods 40 BALB/c mice were randomly divided into 5 groups， group A （normal control） were treated with saline （100 μl） all the time，groups B， C， D and E were sensitized intraperitoneally with crude dust mite extracts （10 μg） and then subcutaneously treated respectively with PBS （100 μl）， 2 mg empty PLGA （EP）， 100 μg rDer p 2， and 2 mg DEPN （loaded with 100 μg rDer p 2） for 3 times， once per day， followed by intranasal challenge of 50 μg rDer p 2. One day post challenge， mice were sac-rificed and bronchoalveolar lavage fluid （BALF） was collected. Number of the total cells and eosinophils was deter-mined，and airway inflammation and mucus secretion were analyzed by haematoxylin and eosin （H&E） staining and pe-riodic acid-Schiff （PAS） staining. Level of cytokines in the supernatant of splenocyte culture was assayed by ELISA. Level of rDer p 2 specific IgG2a and IgE in the sera was determined by ELISA. Results The lung histology showed devel-opment of eosinophil infiltration in the airway of mice in groups B and C. The lung inflammation and mucus secretion in groups D and E were significantly alleviated than that of groups B and C. Number of total cells （63.50±5.12） and eosinophils （15.32±3.04） in BALF decreased in group B. Compared with group B， the number of

total cells in groups D（55.3±5.20） × 10^4 /ml and E（41.00±4.91） ×10^4 /ml greatly decreased （*P*＜0.05）， and same with that of eosinophils in groups D （9.56±1.09） ×10^4 /ml and E （3.22±0.31） ×10^4 /ml. The rDer p 2 specific IgE and IgG2a antibodies in group B were 1.14±0.105 and 0.14±0.07 respectively. The level of specific IgE was significantly lower （*P*＜0.01） in groups D （0.93±0.04） and E （0.77±0.09）， and that of IgG2a in groups D （1.02±0.01） and E （1.17±0.46） were significantly higher （*P*＜0.01） than that in group B. The level of IL-4 and IFN-γ in BALF in group B were （78.90±6.07） pg/ml and （27.30±3.51） pg/ml respectively. IL-4 in groups D and E was （55.6±3.79） pg/ml and （48.6±4.50）pg/ml respectively， significantly lower （*P*＜0.01） than that of group B; while IFN-γ （68.50±2.87） pg/ml in group E was significantly higher than that of group B （*P*＜0.01）. IL-4 released from cultured splenocytes in groups D and E was （56.30±4.85） pg/ml and （40.20±4.36） pg/ml respectively， significantly lower than that in group B （81.2±6.84 pg/ml） （*P*＜0.01）. The released IFN-γ in group E was （70.20±3.85） pg/ml， significantly higher than in group B （34.60±2.25） pg/ml （*P*＜0.01）. Conclusion DEPN can in-hibit airway allergic inflammation， its mechanism may be relevant to a balance of Th1 and Th2.

Key words Poly（D,L-lactic-co-glycolic）acid（PLGA） House dust mite Allergen rticle Allergic airway inflammation；Mouse

DOI:

通讯作者 刘志刚 LZG@szu.edu.cn

作者个人主页 喻海琼1;2;刘志刚1;于琨瑛3;许卓谦2;丘劲1