

## 剧烈运动与训练诱发体内产生免疫抑制蛋白的初步研究

矫 玮\* 樊晋华 佟启良 王安利  
(北京体育大学,北京 100084)  
范少光 邵 黎(北京医科大学)

**摘要** 免疫抑制蛋白是在应激情况下体内出现的一种大分子蛋白,可抑制免疫功能,它是否参与了运动与免疫的调节?研究表明,持续的大运动量训练可使运动员血清出现免疫抑制蛋白,其分子量为140KD;1次急性超负荷游泳后小鼠血清内出现大分子量的免疫抑制因子,其分子量亦为140KD,说明免疫抑制蛋白在运动与免疫的调节中发挥着作用,提示在运动与免疫的调节中,存在着不同于神经内分泌调节机制的另一途径,即免疫抑制蛋白途径。

**关键词** 运动训练 免疫抑制蛋白 免疫调节

### Study on the Immune Suppressive Protein Induced by Strenuous Exercise and Training

Jiao Wei et al

1998, 18(3):71

(Beijing University of Physical Education, Beijing, China 100084)

**Abstract** Immune suppressive protein, a big molecular protein, appears in serum at stress and can repress immune functions. The purpose of this study was to discuss the immuno-modulation role of immune suppressive protein in exercise. The results showed that prolonged heavy training led to immune suppressive protein in athletes' serum with molecular weight 140KD, and acute overload swimming until exhaustion induced to immune suppressive factor in mice's serum with molecular weight also 140KD. These suggested that there existed another way of accommodating immune function in exercise, the way of immune suppressive protein, which was different from the mechanism of neuro-endocrine regulation.

**Key words** immunity, protein, serum, exercise, endocrinology, biochemistry, physiology

#### 1 前言

免疫抑制蛋白(Immune Suppressive Protein),也称免疫抑制因子,神经免疫蛋白<sup>[1]</sup>,应激免疫抑制蛋白等。研究表明,损伤性应激如严重创伤病人、大手术病人、烧伤、失血性休克等可使机体血清中出现一类免疫抑制因子。这类因子多为未知的大分子肽类或蛋白质,其分子量为1~23KD,可抑制正常人或鼠的淋巴细胞增殖反应<sup>[2]</sup>。实验证明,非损伤性束缚应激也能使动物血清产生某些因子,抑制正常淋巴细胞转化<sup>[3,4]</sup>。这种免疫抑制因子不直接来源于中枢神经系统<sup>[5]</sup>,而是在中枢神经系统控制、参与下<sup>[6,7,8]</sup>,由外周淋巴组织(脾、淋巴结)产生的一种免疫抑制蛋白<sup>[9]</sup>,其分子量为155KD,190KD及370KD,但推测后一免疫抑制物质可能是一个二聚

\* 第1作者简介:矫 玮,女,1963年3月出生,运动生理学博士,讲师。

体。目前发现这一免疫抑制因子可以抑制 T、B 淋巴细胞转化,抑制 T 细胞产生 IL-2,抑制迟发过敏反应,而对 IL-1 没有作用<sup>[10,11]</sup>。目前我们尚未发现这种大分子的免疫抑制蛋白(分子量大于100KD)在人体发现的报道,亦未见运动诱发其产生的报道。从事竞技体育的运动员,不仅承受着巨大的体力负荷,而且承受着强烈的精神刺激。免疫抑制蛋白是否参与运动与免疫的调节环节,还未见报道。本文拟在这方面进行探讨。

## 2 研究方法

### 2.1 实验对象与运动负荷

动物实验:选用 Balb/C 雄性小鼠,由北京医科大学实验动物科学部提供。小鼠游泳水温33~36℃。采用当日间歇运动法,即9:00~13:00,14:40~16:10,17:50~18:20 3个时间段连续游泳,累积游泳6 h。因游泳时间大大超过一次游泳力竭时间,故称之为超负荷游泳。游泳完毕,立即断头取血,留血清, -30℃存放备用。人体实验:实验对象为山西省自行车队8名男性优秀运动员,国家级健将2名,一级3名,二级2名,全部运动员身体健康。在冬训时一个大运动量大强度的18天训练期前、后及调整训练第10天分别3次无菌取血。取血时间均安排在8:00~8:30,空腹,不出操。将血置4℃冰箱,待凝后离心取血清, -30℃存放备用。

### 2.2 免疫抑制蛋白的测定

#### 2.2.1 血清对正常小鼠淋巴细胞转化作用

取正常 LACA 小鼠,颈椎脱臼处死,无菌操作下取肠系膜周围淋巴结,制成单细胞悬液。以 RPMI-1640 液培养于96孔板中( $3 \times 10^5$ /孔),并加入 ConA(0.4 $\mu$ g/孔)和不同稀释度的血清(1:16,1:32),每种血清的稀释度均三重孔。于 CO<sub>2</sub> 孵育箱中培养42 h,每孔加入<sup>3</sup>H-TdR 0.2 $\mu$  Ci,继续培养6 h后,以多头细胞收获器收集细胞于玻璃纤维滤纸上,干燥后用 $\beta$ -液闪计数器测定放射活性,以 cpm 值表示。

#### 2.2.2 Sep-pakC18柱层析

取 Sep-pakC18相柱二根,先用5 ml 100%甲醇进行初始洗脱,再用10 ml 双蒸水平衡柱,将对照组和运动组血清各1 ml,加双蒸水7 ml 稀释后,分别过柱,收集水洗脱组分。

#### 2.2.3 凝胶过滤高压液相层析及样品活性与分子量测定

选用 ZorbaxGF250(9.4 $\times$ 250 mm)凝胶过滤柱(美国杜邦公司),首先用流动相等渗磷酸缓冲液(150mmol/L, pH7.4)过柱平衡。将分析样品层析,进样量为200  $\mu$ l/次,洗脱速度为1 ml/min。在波长280 nm处,检测样品吸光率,每管收集0.5 ml。将各管0.5 ml 的双蒸水洗脱液冷冻干燥,以 RPMI-1640复溶,用 RPMI-1640按1:16释成,观察其对淋巴细胞转化的影响。在相同的条件下,将不同分子量的标准品(Bio-Rad 公司)经 ZorbaxGF250凝胶过滤柱分析。以标准品分子量的常用对数为纵坐标,以洗脱体积/外水体积( $V_e/V_o$ )为横坐标,得标准曲线,根据曲线方程计算分子量。

### 2.3 数据处理

数据以均数 $\pm$ 标准差表示,显著性检验用方差分析法(ANOVA),显著性水平为  $P < 0.05$ 。

## 3 实验结果

### 3.1 动物试验

对照小鼠和超负荷游泳小鼠的血清在稀释度分别为1:16,1:32时,对照组(C)和超负荷游泳组(S)淋巴细胞转化的 cpm 值分别为1 053 $\pm$ 251,2 331 $\pm$ 560及589 $\pm$ 56,1 376 $\pm$ 215。与对照组相比,超负荷游泳组血清对淋巴细胞转化有明显的抑制作用,见表1。

结果表明,在第18管(9 min)时的层析液,与对照组相比,超负荷游泳组样品具有显著的抑制正常小鼠淋巴细胞转化的活性。经测定免疫抑制蛋白分子量是140 KD。

### 3.2 人体实验

与大运动量训练期前(C)相比,大运动量训练期后(S)运动员血清对淋巴细胞转化有明显的抑制作用,抑制率可达48%(1:16)。表明经过大运动量训练期的训练能够使运动员血清中产生免疫抑制物。经10天的调整训练(R),运动员血清中的免疫抑制因子消失,对正常小鼠淋巴细胞转化的 cpm 值已与大运动量训练期前基

本相同(S组与R组比较  $P < 0.05$ , R组与C组比较  $P > 0.05$ , ANOVA(表2)。

结果表明,在第18管(9 min)时的层析液,与大运动量训练期相比,大运动量训练期后运动员血清样品能显著地抑制正常淋巴细胞转化的活性。经测定,第18管的免疫抑制蛋白分子量是140 KD。

**表1 超常游泳小鼠血清对正常淋巴细胞转化的影响(cpm)**

分组	样本数	平均数±标准差 (1:16)	平均数±标准差 (1:32)
C	8	1 053±251	2 331±560
S	8	589±56	1 376±215

C组与S组比较  $P < 0.01$

**表2 运动员血清对正常淋巴细胞转化的影响**

分组	样本数	1:16(cpm)	1:32(cpm)
C	8	26 096±11 475	42 520±6 377
S	8	13 583±9 289	36 020±6 016
R	7	21 842±11 414	42 510±4 098

#### 4 讨论

由应激产生的免疫抑制因子与机体的抵抗力有平行关系,血清中这种免疫抑制因子的产生可作为一个窗口反映机体抵抗力的变化<sup>[2]</sup>。本文研究结果发现,训练期后运动员的血清能明显抑制正常小鼠脾淋巴细胞转化,而恢复期第10天这种抑制作用消失。进一步的测定表明,免疫抑制物分子量是140 KD,为蛋白质。从这种免疫抑制因子的分子量上看,它属于非创伤的精神应激产生的免疫抑制因子。从我们文献追踪掌握的情况看,这是在人体中首次发现这种大分子(分子量大于100 KD)的免疫抑制因子,也是运动应激可以产生免疫的抑制因子的首次报道。其意义在于,提示这种大分子量的免疫抑制因子可能是某些动物普遍存在的免疫调节物质,并且在以后进一步对这一免疫抑制因子的研究中,又增多了—一个创伤的激原——运动,而且可能更符合实际生活状况。研究结果提示,在运动与免疫的调节中,存在着不同于神经内分泌调节机制的另一途径,即免疫抑制因子途径。本文认为免疫抑制因子可能是机体在应激情况下出现的保护性抑制蛋白,它在运动应激时出现的意义有必要作进一步的深入探讨。由于非损伤性应激与人精神性应激十分相似,因此这种抑制因子有可能是精神应激时机体免疫功能降低、抵抗力下降的一种物质基础<sup>[2]</sup>,结果间接表明,精神因素对运动时免疫机能的变化产生着确实的影响。

以上研究的是持续训练一段时间机体出现免疫抑制因子,在一次急性运动中免疫抑制因子是否也扮演着相同的角色?以小鼠为试验对象的急性实验结果与持续训练的人体实验结果非常一致,免疫的抑制因子的分子量均是140 KD。说明运动应激机体出现免疫抑制因子很稳定,免疫抑制因子同样也能参与急性运动中的免疫的抑制调节。

#### 5 结论

在大运动量训练期运动员血清内可出现大分子的免疫抑制因子,其分子量为140 KD。一次急性超负荷游泳后小鼠血清内出现大分子量的免疫抑制因子,其分子量为140 KD。在运动与免疫的调节中,存在着不同于神经内分泌调节机制的另一途径,即免疫抑制蛋白。运动应激(训练应激和竞赛应激)中免疫抑制因子的出现可能与精神因素有关,建议在调节运动员免疫机能状态时,注意调整运动员的精神状态。

#### 6 参考文献

- 1 Fab—S.G,et al. A suppressive protein generated in peripheral lymph tissue induced by restraint stress. *Advances in Neuroimmunology*, 1996;6:279
- 2 丁桂凤,马大龙,邓鸿业编译. 医学免疫学纲要. 北京:北京医科大学 & 中国协和医科大学联合出版社,第1版,1992
- 3 范少光,等. 束缚应激小鼠血清免疫抑制因子的产生及其调节. *科学通报*,1989;34(20):1584
- 4 查宏斌,等. 束缚应激大鼠血清淋巴细胞转化抑制因子的调节. *生理学报*, 1991;43:31
- 5 汪静雪,等. 束缚应激动物血清中免疫抑制因子产生部位的研究. *生理学报*,1992;44:541
- 6 汪静雪,等. GABA 能神经元对抗束缚应激后血清淋巴细胞转化抑制因子的产生. *中国应用生理学杂志*,1992;8:120

- 7 左永昌,等. 脑室注射白细胞介素1受体拮抗剂对抗束缚应激免疫抑制因子的产生. 生理学报,1995;47:515
- 8 李怡凡,等. 脑室注射白细胞介素1对淋巴细胞应激免疫抑制因子生成的影响. 药学学报,1995;30:395
- 9 邵黎,等. 束缚应激能引起淋巴结及脾脏细胞产生抑制淋巴细胞转化的因子. 科学通报,1995;40(2):166
- 10 刘微,等. 束缚应激血清抑制因子白细胞介素2的产生. 北京医科大学学报,1995;27:150
- 11 Zha HB, et al. Serum factor(s) induced by restrain stress in mice and rats suppresses lymphocyte proliferation. Brain Behavior and Immunity, 1992;6:18

1997-06-04收稿 1997-09-25修回 责任编辑:蓝 光

## 双和补元煎 I、II 对运动员机能状态和运动成绩的影响

王德平 王安民 郭 卫 黄 铎 雷少华  
(天水师范高等专科学校体育系,甘肃 741001)

受试的对象为天水市竞技体校普通班 5名男生和5名女生。身体健康,具有5年以上运动经历。实验期间受试者保持正常的学习,生活和训练。服药的方法采用交替分阶段服用法,即5天为1个阶段,第1、3、5阶段服用补元煎 I号,第2、4、6阶段服用补元煎 II号。每阶段取药两付分2次煎熬,每次煎煮15 min,取药汁750 g,将2次煎熬的煎汁溶在一起,每人每天服用3次,每次服用50 g,均在早、中、晚饭后30 min 服下,为时30天。有氧代谢运动的测试采用4分钟定时跑计取距离的方法;无氧代谢运动的测试采用30 m×5反复急跑,每次间隔15 s 的方法。实验结果显示:实验后安静状态下10 sHR 低于实验前。男子组由平均 $11.6 \pm 0.22$ 降至 $10.4 \pm 0.24$  ( $P < 0.05$ );女子组由平均 $12.4 \pm 0.24$ 降至 $11 \pm 0.32$  ( $P < 0.05$ )。安静时收缩压指标比实验前平均略有上升,但无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。安静状态下的 RBC(红细胞数量)和 HB(血红蛋白)比实验前有所增高。尤其是 HB 的数量有明显上升,男子组由平均 $13.12 \pm 0.19$  g%增至 $14.46 \pm 0.20$  g%;女子组由平均 $12.44 \pm 0.12$  g%增至 $13.5 \pm 0.37$  g%。完成4 min 定时跑和30 m×5反复急跑后,完成负荷即刻的 HR 较实验前有所降低 ( $P < 0.05$ ),实验后即刻收缩压指数都低于实验前,而恢复期1、3、5 min 收缩压指数也出现均低于实验前的现象。4 min 定时跑及30 m×5反复急跑后血 HL 浓度较实验前有所降低,与 RBC 和 HB 的增高相一致,而运动后即刻,特别是恢复5 min 后血 HL 的浓度实验前后均为上升趋势。完成30 m×5反复急跑后血 HL 指数上升幅度更为突出,这与补元煎对肌肉代谢的调节促进肌糖元酵解供能有关。另一方面也表明机体对缺氧及耐 HL 能力的提高。值得注意的是,实验后恢复20 min 血 HL 浓度大大低于实验前 ( $P < 0.01$ ),表明补元煎能有效地改善骨骼肌利用氧的能力以及心血管系统的供氧能力。实验后男运动员4 min 定时跑平均完成了 $1319 \pm 37.96$  m,女运动员完成了 $1118.4 \pm 22.46$  m,与实验前相比,平均分别增加了 $111.4 \pm 20.6$  m 和 $166.2 \pm 12.28$  m。30 m×5反复跑,男运动员由实验前平均 $4.07 \pm 0.02$  s 缩短为平均 $3.98 \pm 0.04$  s ( $P < 0.05$ ),而女运动员则由平均 $4.74 \pm 0.02$  s 缩短为 $4.31 \pm 0.2$  s,平均减少了0.17 s。连续服用补元煎后,女运动员经期反应大大减轻。