

长期有规律的体育运动对老年人 I 型和 II 型 T 细胞因子平衡的影响

黄腊秀¹, 陈小武²

(咸宁学院 1. 体育系; 2. 医学院解剖教研室, 湖北 咸宁 437100)

摘 要:为了检验长期习惯性的体育运动是否影响老年人 I 型和 II 型 T 细胞因子的平衡。通过对 9 名老年妇女(平均年龄(63±1)岁,最大耗氧量(32.2±1.0)mL·kg⁻¹·min⁻¹)进行步行训练;挑选 12 名不进行运动训练的老年(妇女平均年龄(63±1)岁,最大耗氧量(27.8±0.9)mL·kg⁻¹·min⁻¹)和 9 名不进行运动训练的年轻妇女(平均年龄(26±1)岁,最大耗氧量(37.8±1.3)mL·kg⁻¹·min⁻¹);然后检测了 CD4+ 和 CD8+ T 细胞中 IFN-γ、IL-2 和 IL-4 的水平,并对 I 型和 II 型 T 细胞进行了比较。结果:老年人运动组表达 IFN-γ 的 CD4+ 细胞数目与比青年非运动组比较,差异有显著性(P<0.01);老年运动组表达 IL-2 的 CD8+ 的 T 细胞数目与老年非运动组比较差异有显著性(P<0.05);青年组表达 IL-4 的 CD8+ 细胞与老年非运动组比较,差异有显著性(P<0.01);3 组中 CD4+ 和 CD8+ T 细胞中 IFN-γ/IL-4 的比率差异无显著性。实验结果显示年龄对 I 型和 II 型 T 细胞的影响比运动训练对它的影响更大。

关 键 词:运动; 免疫; T 淋巴细胞; 最大耗氧量; 老年人

中图分类号:C804.7 文献标识码:A 文章编号:1006-7116(2006)03-0054-04

The effect of long term and regular physical exercise on the balance of type I and type II T cytokines in the elderly

HUANG La-xiu¹, CHEN Xiao-wu²

(1. Department of Physical Education; 2. Department of Anatomy of Medical School, Xianning Institute, Xianning 437100, China)

Abstract: The purpose of this study was to test the hypothesis that regular exercise training in elderly people affects the type 1/type 2 balance. Methods Nine elderly women who train by walking (63±1)a, VO_{2max}(32.2±1.0)mL·kg⁻¹·min⁻¹, 12 age-matched untrained women (63±1)a, VO_{2max}(27.8±0.9)mL·kg⁻¹·min⁻¹, and nine young untrained women (26±1)a, VO_{2max}(37.8±1.3)mL·kg⁻¹·min⁻¹ participated in the study. We measured interferon γ (IFN-γ), IL-2, and IL-4 in CD4+ and CD8+ T cells, to compare type 1 and type 2 T cells. Results the number of CD4+ cells expressing intracellular IFN-γ (CD4+//IFN-γ cell) significantly higher in the elderly trained than in the young (P<0.01). The number of CD8+//IL-2 cells was significantly higher in the elderly trained than in the elderly untrained (P<0.05). The number of cells was significantly higher in the young than in the elderly untrained (P<0.01). No significant differences were apparent in the IFN-γ/IL-4 ratio within CD4+ and CD8+ cells from the three groups. Conclusion These results might indicate that the effect of age on the balance of type 1/type 2 T cells was stronger than the effect of physical training.

Key words: exercise; immunity from disease; T-lymphocytes; VO_{2max}; elderly

随着年龄的增长人体的免疫功能的进行性下降或损害性的改变,会导致对感染的抵抗力的下降以及自身免疫疾病和癌症的发病率和死亡率增高。与年龄相关的细胞免疫功能的改变包括穿孔素活性的降低^[1]、细胞毒性 T 细胞对分裂增殖信号的反应减弱^[2]、成熟的功能 NK 细胞的数量减少以

及 NK 细胞中溶酶和其它溶细胞蛋白的产生减少^[3]等的证据越来越多。另外,在 60 岁以上的老年病人中,各种形式的结核菌复活的比例增加^[4],结核病是一种细胞内的感染,其清除是由 Th1 淋巴因子启动的细胞免疫反应。

CD4+ Th 细胞和 CD8+ 的细胞毒性 T 细胞(Tc)根据他们

各自分泌细胞因子的情况分为I型(Th1和Tc1)和II型(Th2和Tc2)T细胞。I型T细胞产生IFN- γ 和TNF- β ,它们激活巨噬细胞并且参与了迟发性超敏反应。相反,II型T细胞产生IL-2、IL-4、IL-5、IL-10和IL-13,这些细胞因子介导了强烈的抗体反应,包括IgE的产生和抑制一些巨噬细胞的功能^[5]。衰老可能与Th1的发育缺陷及随后的对细胞内感染的细胞免疫损害有关^[4]。如果细胞因子随着衰老而发生改变,Th的分化也会发生改变,因为在抗原激活的早期阶段产生的细胞因子决定了随后Th的分化^[6]。

长时间大强度的运动导致了暂时的免疫功能损害和上呼吸道感染的敏感性增加^[7]。另一方面,适当强度的运动可以减少上呼吸道感染的危险^[8]。而且身体健康状况相当好的老年女性^[9]和经常参加跑步的老年男性^[10]与那些年龄相当的长期静坐不动的老年人相比对血凝素表现出更高的增生反应;因此有规律的运动训练可能是防止或延迟老年人免疫功能损伤的有效措施。大强度的运动也减少了循环中I型T细胞的百分比^[11]。目前运动训练对老年人I型和II型T细胞因子平衡的影响尚未见报道。本研究的目的是检测长期规律的运动训练对老年人I型和II型T细胞因子平衡的影响。

1 材料和方法

1.1 实验对象与分组

所有的参加实验者符合下列标准:(1)没有疾病及提示心脏病或癌症的症状和体征;(2)没有用过已知的影响免疫功能的药物;(3)在一年内接受过全面的体格检查并经医生允许可以参加本项实验;(4)没有慢性疼痛、明显的睡眠障碍、严重的变态反应疾病及严重的精神疾病;(5)非吸烟者。所有的受试者都得到本研究详细解释说明并明确本研究的内容及目的,包括参加的危险性并得到他们同意自愿参加的书面答复。

本实验共分为3组:(1)老年运动组:9人,均为女性,平均年龄(63 \pm 1)岁,均积极参加运动4年。本组实验的运动训练方法:每天以50%最大耗氧量(VO_{2max})的运动强度单独步行3~5 km,步行速度为6~7 km \cdot h⁻¹,运动时间为30 min,星期六集体步行10 km,一周有一次的运动时间为1.5 h;运动组除了每天的步行训练外不再进行其他体育运动。(2)老年非运动组:12人,女性,平均年龄(63 \pm 1)岁;(3)青年非运动组:9人,女性,平均年龄(26 \pm 1)岁。2非运动组每天均不参加任何体育活动。3组参试者的生理指标见表1。

表1 受试者各项生理指标($\bar{x} \pm s$)

组别	人数	年龄	身高/cm	体质量/kg	体脂比/%	最大吸氧量/(mL \cdot kg ⁻¹ \cdot min ⁻¹)
老年运动组	9	63.1 \pm 1.0	155.8 \pm 2.1	52.7 \pm 2.0	32.0 \pm 1.4 ¹⁾	32.0 \pm 1.0
老年非运动组	12	62.5 \pm 1.2 ³⁾	152.2 \pm 1.7 ³⁾	51.6 \pm 1.6	33.3 \pm 1.3 ⁴⁾	27.8 \pm 0.9 ⁴⁾
青年非运动组	9	25.8 \pm 0.9 ²⁾	160.4 \pm 1.7	50.0 \pm 1.6	21.8 \pm 1.9 ²⁾	37.8 \pm 1.3 ²⁾

1)老年运动组与老年非运动组比较 $P < 0.01$;2)老年运动组与青年非运动组比较 $P < 0.01$;3)老年非运动组与青年非运动组比较 $P < 0.05$;4)老年非运动组与青年非运动组比较 $P < 0.01$ 。

1.2 细胞因子的检测

受试者在测试前至少24 h不参加任何剧烈的体育运动。采集肘前静脉血放入含EDTA的无菌试管室温下保存以备以下实验:

(1)进行白细胞总数、淋巴细胞、中性粒细胞及单核细胞的计数。

(2)用Sander等^[12]首先描述并由Prussin等^[13]进行改良的方法先进行细胞刺激然后用流式细胞仪对产生细胞因子的细胞进行计数。血中单个核细胞(blood mononuclear cells, BMNC)在2 h内通过密度梯度离心分离,在1640培养基中洗3次,然后用流式细胞仪检测产生细胞因子的细胞数目(I)细胞表面的细胞因子检测:BMNC细胞分别用佛波醇(1 μ g \cdot mL⁻¹)、莫能星(0.2 μ mol \cdot L⁻¹),ionomycin(0.1 μ mol \cdot L⁻¹)刺激18 h,收集细胞加入以下抗体(均购自武汉大枫公司):1)PE标记的抗CD4单克隆抗体;2)FITC标记的抗CD8单克隆抗体;3)标记peridinin chlorophyll protein的抗CD3的单克隆抗体。(II)细胞内细胞因子检测:细胞用4%多聚甲醛固定后分别加入以下抗体:1)FITC标记的抗人IL-4抗体;2)PE标记的抗人IL-2抗体;3)抗人IFN- γ 抗体。最后细胞用流式

细胞仪进行检测,所得的数据用CELL Quest软件进行统计处理。

1.3 统计学分析

3组数据中的两两比较采用单因素方差分析,当方差分析的结果显示有显著的相互作用时则用薛费法(Scheffe's method)进行检验以确定其差异性。所得数据用SPSS13.0进行分析,结果用均数 \pm 标准差表示,在所用的统计分析中, $P < 0.05$ 被认为具有统计学意义。

2 结果

2.1 受试者的特征

表1结果可见,2个老年组平均身高、体重、体脂百分比没有差异显著性;老年训练组最大耗氧量与老年非运动组相比明显高,与年轻非运动组相比,老年运动组和非运动组的体脂百分比显著性要高;最大耗氧量两个老年组均比年轻未运动组低,而且老年运动组的最大耗氧量比老年未运动组明显高。

2.2 细胞计数

表2结果可见老年运动组淋巴细胞计数比老年非运动

组($P < 0.01$)和年轻未运动组显著性高($P < 0.05$)。虽然 CD3 + 的 T 细胞的百分比在 3 组中几乎相同,但由于淋巴细胞计数增加,老年运动组 CD3 + 的 T 细胞计数比老年未运动组显

著性地高($P < 0.01$);老年运动组 CD3 + CD4 + T 细胞的计数比年轻未运动组显著性地高($P < 0.05$)。但是在三组之间 CD3 + CD8 + 的 T 细胞的计数无显著性差异。

表 2 白细胞、淋巴细胞、CD3 + 、CD3 + CD4 和 CD3 + CD8 + T 细胞计数($\bar{x} \pm s$) mL^{-1}

组别	白细胞	淋巴细胞	CD3 + T	CD3 + CD4 + T	CD3 + CD8 + T
老年运动组	5 011 ± 411	2 046 ± 130 ¹⁾	1 257 ± 105 ³⁾	364 ± 48 ⁴⁾	163 ± 41
老年非运动组	4 483 ± 270	1 380 ± 118 ²⁾	832 ± 81	249 ± 37	85 ± 17
青年非运动组	5 260 ± 207	1 555 ± 84	963 ± 74	179 ± 31	99 ± 17
P 值	> 0.05	< 0.01	< 0.01	< 0.05	> 0.05

Scheffe 法事后检验 1)老年运动组与老年非运动组比较 $P < 0.01$;2)老年运动组与青年非运动组比较 $P < 0.05$;

3)老年运动组与老年非运动组比较 $P < 0.01$;4)老年运动组与青年非运动组比较 $P < 0.05$ 。

2.3 细胞内的细胞因子

老年运动组表达 IFN- γ 的 CD4 + 的细胞数目显著高于青年未运动组($P < 0.01$);老年运动组表达 IL-2 的 CD8 + 的细胞数目显著高于青年未运动组高($P < 0.05$);青年未运动组表达 IL-4 的 CD8 + 细胞百分比显著高于老年运动组和未运动组($P < 0.01$);青年组中 CD8 + 细胞的计数显著高于老年未运动组,而显著低于老年运动组($P < 0.01$);3 组中 CD4 + 和 CD8 + 细胞中 IFN- γ /IL-4 的比率差异无显著性($P < 0.01$)。

3 讨论

本实验的主要发现是在老年运动组和非运动组中 T 细胞 IFN- γ /IL-4 的比率无显著性差异,但是外周血中 CD8 + T 细胞内 IL-2 的浓度老年运动组比老年非运动组增高,本实验结果表明年龄对 I 型、II 型 T 细胞因子平衡的影响要比体育运动对它的影响大得多。

虽然对鼠的研究支持年龄相关的细胞因子反应从 I 型到 II 型的转变^[14,15],但是这种转变是否在人类也是这样? Sakata-Kaneko^[16]研究了用抗 CD3 和 CD80 刺激 CD4 + 的细胞,结果发现 IFN- γ 和 IL-2 的分泌在健康老年受试者中明显比年轻受试者高,而 IL-4 的分泌青年受试者比老年受试者显著高,因此老年受试者中 CD4 + 亚型细胞比青年受试者含有更高比例的 Th1 型细胞。其他的研究也表明 I 型 T 细胞随着年龄而增加^[17]。相反,有研究表明外周血中 CD8 + 的 T 细胞中 IFN- γ 和 IL-4 的浓度在 81 岁的老人中增加,并且发现百岁老人 CD8 + T 细胞中以表达 II 型细胞因子为主^[18]。

在我们的研究中发现运动对老年人 I 型、II 型细胞因子的平衡并无影响作用,还发现在老年人中不管是 CD4 + 还是 CD8 + 的 T 细胞亚型,I 型 T 细胞的比例要比青年人的高得多。我们把从老年运动组和老年非运动组得来的数据和从青年非运动组得来的数据进行比较后发现老年组中 CD8 + T 细胞 IFN- γ /IL-4 的比率明显高于青年组,但 CD4 + T 细胞 IFN- γ /IL-4 的比率虽然高却没有显著性意义。这个研究结果提示衰老并不一定与 I 型 T 细胞的减少有关。

参考文献:

- [1] Rukavina D, Laskarin G, Rubesa G, et al. Age-related decline of perforin expression in human cytotoxic T lymphocytes and natural killer cells[J]. Blood, 1998, 92: 2410 - 2420.
- [2] Boucher N, Dufeu-Duchesne T, Vicaut E, et al. CD28 expression in T cell aging and human longevity[J]. Exp. Gerontol, 1998, 33: 267 - 282.
- [3] Mariani E, Mariani A R, Meneghetti A, et al. Age-dependent decreases of NK cell phosphoinositide turnover during spontaneous but not Fc-mediated cytolytic activity[J]. Int. Immunol, 1998, 10: 981 - 989.
- [4] Alvarez S, Shell C, Berk S L. Pulmonary tuberculosis in elderly men[J]. Am J Med, 1987, 82 (3 Spec No): 602 - 606.
- [5] Romagnani S. The Th1/Th2 paradigm[J]. Immunol Today, 1997, 18: 263 - 266.
- [6] Seder R A, Paul W E. Acquisition of lymphokine-producing phenotype by CD4 + T cells[J]. Annu Rev Immunol, 1994, 12: 635 - 673.
- [7] Pedersen B K, Hoffman-Goetz L. Exercise and the immune system: regulation, integration, and adaptation[J]. Physiol Rev, 2000, 80: 1055 - 1081.
- [8] Heath G W, Macera C A, Nieman D C. Exercise and upper respiratory tract infections. Is there a relationship[J]. Sports Med, 1992, 14: 353 - 365.
- [9] Nieman D C, Henson D A, Gusewitch G, et al. Physical activity and immune function in elderly women[J]. Med Sci Sports Exerc, 1993, 25: 823 - 831.
- [10] Shinkai S, Kohno H, Kimura K, et al. Physical activity and immune senescence in men[J]. Med Sci Sports Exerc, 1995, 27: 1516 - 1526.
- [11] Steensberg A, Toft A D, Bruunsgaard H, et al. Strenuous exercise decreases the percentage of type 1 T cells in the circulation[J]. J Appl Physiol, 2001, 91: 1708 - 1712.
- [12] Sander B, Andersson J, Andersson U. Assessment of cytokines by immunofluorescence and the paraformaldehydesaponin procedure[J]. Immunol Rev, 1991, 119: 65 - 93.

- [13] Prussin C, Metcalfe D D. Detection of intracytoplasmic cytokine using flow cytometry and directly conjugated anticytokine antibodies [J]. *J Immunol Methods*, 1995, 188: 117 - 128.
- [14] Mu X Y, Thoman M L. The age - dependent cytokine production by murine CD8 + T cells as determined by four - color flow cytometry analysis [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 1999, 54: B116 - B123.
- [15] Wakikawa A, Utsuyama M, Wakabayashi A, et al. Age - related alteration of cytokine production profile by T cell subsets in mice: a flow cytometric study [J]. *Exp Gerontol*, 1999, 34: 231 - 242.
- [16] Sakata - Kaneko S, Wakatsuki Y, Matsunaga Y, et al. Altered

- Th1/Th2 commitment in human CD4 + /T cells with ageing [J]. *Clin Exp Immunol*, 2000, 120: 267 - 273.
- [17] McNerlan S E, Rea I M, Alexander H D. A whole blood method for measurement of intracellular TNF - alpha, IFN - gamma and IL - 2 expression in stimulated CD3 + lymphocytes: differences between young and elderly subjects [J]. *Exp Gerontol*, 2002, 37: 227 - 234.
- [18] Sandmand M, Bruunsgaard H, Kemp K, et al. Is ageing associated with a shift in the balance between Type 1 and Type 2 cytokines in humans [J]. *Clin Exp Immunol*, 2002, 127: 107 - 114.

[编辑:郑植友]

(上接第53页)

8 Abstract(英文摘要)

每篇论文都要有英文摘要(简报、简讯除外)。英文摘要包括论文题目英译、全部作者姓名汉语拼音、作者工作单位英译等。英文摘要内容与中文摘要对应,也可略为详细些。其他要求同中文摘要,且要符合英文文法。英文摘要置于“中图分类号”之后。

9 Keywords(英文关键词)

英文关键词与中文关键词完全对应,全部小写(专有名词除外),每个词前不加“the”,词间用“;”隔开。

10 收稿日期

收稿日期即编辑部收到稿件时间,包括年、月、日。收稿日期置于篇首页脚注的第一行,用阿拉伯数字。如:收稿日期:2004 - 08 - 15

11 基金项目

基金项目是指所发表的论文是由哪一类基金资助的研究课题产生的,属于国家或省部级基金资助课题产生的论文均要著录“基金项目”,其他层次低的基金资助项目一般不必著录。基金项目后面要注明编号。如:“基金项目:国家自然科学基金资助项目(2003 - 4871)”基金项目置于“收稿日期”之下。

12 作者简介

只著录第一作者的简介,内容包括:姓名(出生年~),性别,职称,学历,研究方向;

也可同时著录“通信联系人(即导师或课题主持人)。作者简介置于“基金项目”之下。

13 分级标题

分级标题也称层次标题,是指除论文标题以外的各个级别分标题。分级标题一律用阿拉伯数字编号,不同层次的两个数字之间用下圆点(.)隔开,末尾数字后面不加点号,如“1”、“2.1”、“3.1.2”等;各个层次的第一个序码均左顶格,最后一个序码之后空一字距接排标题。分级标题的要求与论文标题类似,但不超过15个汉字。同级标题的字数、语法结构力求相同或相似。论文的层次不要分得过多过细,3~4级为宜。注意论文的章节与“点”的区别。

14 前言

论文的前言就是文章的“开场白”,目的是向读者交代本研究的来龙去脉,让读者对论文有个总体的了解。前言中要写的内容大致有:(1)研究的理由和背景。包括问题的提出、研究对象及其基本特征;前人对这一问题做了哪些工作,存在哪些不足;希望解决哪些问题,该问题的解决有什么意义和作用。(2)理论依据、实验基础和研究方法。(3)预期结果及其地位、作用和意义。要写的内容比较多,只能采用简述的方式,通常用一两句话即把某一问题就交代清楚。前言不要与摘要重复或雷同。前言不设分级标题,也不加序号。

15 致谢

作者认为对完成本研究或本论文有过帮助的人需要表示感谢时,可著录感谢段。对被感谢者不要直书其名,而应加上称谓,如“某某教授”“某某博士”等,尤其不要把他们姓名和工作单位写错。表示感谢的词语要体现诚恳的态度和热忱的心情,不能使人有吹嘘轻浮的感觉。致谢段置于正文之下,两者间空一行。

(下转第73页)