

· 临床研究报告 ·

鲜母乳与冷藏母乳单个核细胞 IL-6, TNF- α 分泌水平的研究

陈平洋¹, 谢宗德¹, 吴勇²

(1. * 中南大学湘雅二医院儿科教研室 410011; 2. * 长沙市妇幼保健院, 湖南 * 长沙 410007)

[摘要] 目的 研究鲜母乳与冷藏母乳单个核细胞 IL-6, TNF- α 的分泌水平, 探讨鲜母乳与冷藏母乳对新生儿免疫保护作用的差异。方法 ELISA 法测定健康产妇的鲜初乳、鲜过渡乳和冷藏初乳、冷藏过渡乳单个核细胞培养上清的 IL-6 和 TNF- α 的浓度。结果 鲜母乳单个核细胞 IL-6, TNF- α 分泌水平明显高于冷藏母乳 ($P < 0.05$); 初乳单个核细胞 IL-6, TNF- α 分泌水平明显高于过渡乳 ($P < 0.05$)。结论 鲜母乳与冷藏母乳活化的单个核细胞 IL-6 和 TNF- α 分泌水平存在显著性差异, 鲜母乳尤其是鲜初乳对新生儿的免疫保护作用明显强于冷藏母乳。

[关键词] 冷藏; 乳; 人; 白细胞, 单核; 白细胞介素 6; 肿瘤坏死因子

[中图分类号] Q492.7 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1008-8830(2001)03-0307-02

众所周知, 母乳是喂养婴儿的最佳食物, 纯母乳喂养能降低婴儿的患病率和死亡率^[1]。为了提高母乳喂养率, 国内很多医院建立了母乳库, 给由于各种原因不能实行母乳喂养的新生儿提供冷藏母乳。但鲜母乳与冷藏母乳的免疫效价是否存在差异, 目前国内外尚未见报道。为了探讨鲜母乳与冷藏母乳对新生儿免疫保护作用的差异, 本文用 ELISA 法对 30 名健康母亲的新鲜及冷藏母乳, 过渡乳单个核细胞经丝裂原 (LPS, PHA) 激活后 IL-6, TNF- α 分泌水平进行了研究, 现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 对象

选取足月妊娠平产的健康母亲 30 名, 分别于产后 2~5 d, 7~30 d 收集初乳, 过渡乳。每份标本均留 2 份, 1 份于 4~6 h 内即制备出单个核细胞悬液并行细胞培养为鲜母乳组, 另 1 份置 4℃冰箱冷藏 48 h 后再制备单个核细胞悬液及细胞培养为冷藏母乳组。

1.2 方法

1.2.1 制备单个核细胞悬液 用消毒的低压吸乳

器取乳汁 100 ml, Hank's 液稀释, 离心、去脂, 去上清后再洗涤 3 次, 用 Ficoll-Hypaque 淋巴细胞分离液分离出单个核细胞。

1.2.2 收集单个核细胞培养上清 在 24 孔细胞培养板孔内加入 2×10^6 个单个核细胞, 再分别加植物血凝素 (PHA) 200 μ g 进行诱导激活, 于 CO₂ 培养箱内孵育 48 h 后收集培养上清, 置 -70℃冰箱贮存待测。

1.2.3 ELISA 法测定 TNF- α , IL-6 浓度 在 ELISA 板孔内加入稀释好的抗 TNF- α , 抗 IL-6 单克隆包被抗体, 100 μ l/孔, 4℃, 48 h 后洗板 3 次。再依次加入待测样品, 阴性对照及倍比稀释的标准品, 100 μ l/孔, 37℃, 24 h 后洗板 3 次。加入抗 TNF- α , 抗 IL-6 酶标抗体 100 μ l/孔, 37℃, 1 h 后洗板 3 次。加 ABTS 显色液, 100 μ l/孔, 37℃, 15~30 min 后用 ELISA 测定仪测 410 nm 波长滤光片处 A 值, 据标准曲线求 TNF- α , IL-6 浓度。

1.3 统计学处理

实验结果用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 各组均数差异比较用单因素方差分析及两两比较 q 检验, 以双侧 $\alpha < 0.05$ 为显著性检验水准。

2 结果

鲜初乳、鲜过渡乳激活的单个核细胞培养上清 IL-6 , TNF-α 浓度明显高于冷藏初乳、冷藏过渡乳 ($P < 0.05$) 。

初乳激活的单个核细胞培养上清 IL-6 , TNF-α 浓度明显高于过渡乳 ($P < 0.05$) ,见表 1。

表1 各组培养上清 IL-6 , TNF-α 水平比较

(pg/ ml , $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	IL-6 浓度	TNF-α 浓度
鲜初乳	30	102 ±22	360 ±660
鲜过渡乳	26	60 ±15 ^{a,b}	96 ±82 ^{a,b}
冷藏初乳	30	63 ±18 ^{a,b}	147 ±118 ^{a,b}
冷藏过渡乳	26	31 ±11 ^a	52 ±41 ^a

注 :a 与鲜初乳比较 $P < 0.05$; b 与冷藏过渡乳比较 $P < 0.05$

3 讨论

母乳喂养是孩子生命中一个最好的开端 ,据报道全世界每年约有 100 万以上的婴儿由于没有适当的母乳喂养而死于肺炎、腹泻、败血症等感染性疾病^[2]。更多的孩子由于没有母乳喂养而患有不应有的疾病。因此 ,保护、促进和支持母乳喂养是 1990 年联合国召开的“世界儿童首脑会议”提出的重要目标之一。

母乳喂养之所以能增强婴儿抗感染的能力 ,除了已知其中富含 SIgA ,溶菌酶 ,双歧因子等外 ,更重要的是因为母乳中含有大量免疫活性细胞^[3] ,通过母乳喂养 ,这些免疫活性细胞可被婴儿肠道中的细菌内毒素激活、增殖、分化、分泌出多种细胞因子 ,从

而对新生儿产生免疫保护作用^[4]。

本文用 ELISA 法证实 ,鲜母乳和冷藏母乳单个核细胞经 LPS ,PHA 激活后均能分泌 IL-6 , TNF-α。这两种细胞因子均是机体重要的免疫调节因子 ,具有广泛的生物学活性^[5,6] ,且与新生儿抗病毒 ,抗细菌感染免疫力密切相关^[4]。提示鲜母乳和库存的冷藏母乳均能通过细胞因子的分泌从而对新生儿产生免疫保护作用。但鲜母乳单个核细胞 IL-6 , TNF-α 的分泌水平明显高于冷藏母乳 ($P < 0.05$) ,初乳单个核细胞 IL-6 , TNF-α 分泌水平亦明显高于过渡乳 ($P < 0.05$)。提示鲜母乳 ,尤其是鲜初乳对婴儿具有更高的抗感染保护价值。为了提高婴儿的机体抵抗力 ,减少患病率和死亡率 ,应大力提倡纯鲜母乳喂养。特殊原因不能直接哺喂母乳者 ,亦可选用库存的冷藏母乳喂养 ,但其免疫效价明显低于鲜母乳。

[参 考 文 献]

[1] 杨琦,陈珠兰. 母乳喂养预防小儿中耳炎 [J]. 国外医学妇幼保健分册,1994, 5(4): 150 - 152.

[2] 世界卫生组织联合国儿童基金会合编. 中华人民共和国卫生部妇幼卫生司译. 母乳喂养咨询培训教程 [M]. 北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社,1997, 1 - 2.

[3] Skansen U, Lindfor A, Andresson U. Cytokine production in mononuclear cells of human mile studied at the single-cell level [J]. Pediatr Res, 1993, 34(2): 213 - 215

[4] 陈平洋,吴勇,谢宗德. 母乳单个核细胞 IL-6 , TNF-α 分泌水平与新生儿免疫的研究 [J]. 中华儿科杂志,1999, 37(6): 340 - 342.

[5] 夏正坤,陈荣华. 母乳中 α-TNF 及其临床意义 [J]. 国外医学儿科学分册,1994, 21(3): 145 - 147.

[6] Schibler KR, Liechty KW, White WL, et al. Defective production of interleukin-6 by monocytes: a possible mechanism underlying several host defense deficiencies of neonates [J]. Pediatr Res, 1992, 31(1): 18 - 21.

(本文编辑:吉耕中)