

· 综述 ·

褪黑素与免疫功能的研究进展

谢琴 综述 符州 审校

(重庆医科大学儿童医院, 重庆 400014)

[中图分类号] R58 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2007)03-0285-04

褪黑素(Melatonin, MT)是由哺乳动物和人类的松果体在夜间分泌的一种吲哚胺类激素, 化学名称为N-乙酰基-5-甲氧基色胺^[1]。1958年Lerner首先从牛的松果体中分离得到该物质, 经提纯后可以使两栖类皮肤变白, 因此命名为MT。它调节着昼夜节律、睡眠、内分泌等多种重要生理功能。随着对MT的深入研究, 发现外源性MT具有抗氧化、抗衰老、免疫调节、抗炎、镇痛等更为广泛的药理作用。现就褪黑素对免疫功能的影响作一综述。

1 概述

MT是以色氨酸为原料, 经过羟化、脱羧、N-乙酰化和氧甲基化, 最终形成MT。在脊椎动物, MT主要是由松果体合成和分泌的。近年来, 人们采用免疫组化、细胞培养等方法, 发现除松果体外其他的器官和细胞如下丘脑、视网膜、泪腺^[2]、胃肠道、骨髓细胞、血小板和淋巴细胞^[3]也可以合成MT。大量研究表明MT的生物合成受光照周期的制约, 夜间MT的分泌量是白天的5~10倍, 且在凌晨2:00~3:00达高峰。MT的合成还受其他因素影响如年龄^[4,5]、交感神经、某些阴离子的浓度及药物等。由于MT具有良好的脂溶性, 分泌后它可以透过松果体内细胞的细胞膜进入到血液内, 但具体的分泌机制还不是十分清楚。进入血液后MT主要与特异性MT受体结合而产生生物效应, 研究证明, MT受体(MR)为膜受体, 是G蛋白偶联受体超家族的一员, 有7个跨膜段。目前在中枢神经系统及其外周部位发现了许多MT的结合位点。在哺乳动物的中枢神经系统MR主要存在于大脑皮质、下丘脑、垂体等部位, 在外周器官MR存在于胸腺、胃肠道、脾、淋巴结、性腺、肾等部位, 在啮齿类、禽类、人类的循环淋

巴细胞存在高亲和力MR。

2 MT对免疫功能的影响

上世纪80年代初, 首次发现MT对免疫系统的调节作用, 现已公认为它是一种神经免疫调节剂, 免疫系统包括免疫器官、免疫细胞及免疫分子, MT可从免疫系统的各个方面影响免疫功能。

2.1 MT与免疫器官

骨髓和胸腺是重要的中枢免疫器官, 是免疫细胞产生、发育、接受抗原刺激和分化、成熟的场所, 并对外周免疫器官的发育起主导作用。造血干细胞在骨髓发育分化成为不同的免疫细胞系列, MT通过影响骨髓造血功能从而影响免疫细胞的分化和发育。Othman等^[6]研究发现MT能对抗醋酸铅所导致的骨髓造血功能降低, 他们给成年雄性鼠肌注醋酸铅每日10mg/kg, 连续7d后, 发现骨髓中出现异常造血, 促红细胞生成素的水平也显著降低。而预先给予MT每日30mg/kg处理的动物则能防止上述现象。

胸腺发挥着重要的免疫调节作用。Oner等^[7]对Wistar大鼠行松果体切除术及松果体切除术加MT补充治疗后, 发现松果体切除组大鼠胸腺重量减轻及萎缩, 而松果体切除加MT补充治疗组大鼠却保持正常。Pertsov等^[8]也发现在正常状态下给予大鼠MT, 能增加胸腺及脾的重量, 在应激状态下能对抗应激所致的胸腺萎缩。周瑞祥等^[9]证实松果体摘除导致Cyclin E表达上调, 引起胸腺细胞S期和G₂+M期百分比升高, 补充MT后通过上调细胞周期依赖性激酶1 β 的表达最终影响胸腺细胞的分化发育。

MT对外周免疫器官脾脏也有作用。Haldar

[收稿日期] 2006-12-20; [修回日期] 2007-01-15

[作者简介] 谢琴, 女, 硕士研究生。主攻方向: 小儿哮喘的免疫学发病机制。

等^[10]通过对热带啮齿类动物研究表明,切除松果体后,该动物胸腺和脾脏功能被抑制,表现为白细胞和淋巴细胞数量显著减少,淋巴细胞(如胸腺细胞、脾细胞、淋巴细胞)的母细胞反应数量也明显下降,再注射 MT 给这些动物后,能显著恢复被抑制的免疫功能。研究还发现^[11],无论在体内或体外,MT 均能增加脾细胞的增殖及脾脏的重量。

2.2 MT 对免疫细胞的影响

广义上,所有血细胞均属免疫细胞,本文所讨论的主要是 B 细胞、T 细胞及 NK 细胞。淋巴干细胞在骨髓微环境中发育为成熟的 B 细胞,MT 能抑制骨髓前 B 细胞的凋亡,促进外周血中 B 细胞的增殖^[12]。但在 B 淋巴细胞性白血病,MT 可以促进 B 细胞的凋亡^[13]。人类的特异性免疫反应包括体液免疫和细胞免疫,体液免疫主要是由 B 淋巴细胞介导的。大量研究表明,MT 可增强机体的体液免疫。给予正常和免疫缺陷的小鼠 MT 后,无论在体内或体外都发现抗体反应增强^[14]。Negrette 等^[15]用灭活的委内瑞拉马脑脊髓炎病毒(Venezuelan equine encephalomyelitis, VEE)免疫小鼠,在免疫前 3 d 开始给小鼠皮下注射 MT,直到免疫后 14 d。于免疫后第 7, 14, 21 天时测血清球蛋白 M(IgM)的滴度,发现在免疫 14 d 后 IgM 滴度高于对照组。Akbulut 等^[16]发现外源性 MT 能促进 28 月龄 Wistar 大鼠血清中 IgG1 及 IgM 的含量增加。

T 细胞主要在胸腺分化成熟,MT 可通过影响胸腺的发育而影响 T 细胞的分化和成熟。对于 T 细胞,MT 主要是作用于 Th 细胞及前 T 细胞。MT 在骨髓以自分泌的方式作用于前 T 细胞,在外周可促进 Th 细胞分泌阿片类物质而增强免疫功能^[14]。MT 可促进淋巴细胞的增殖,增加 CD3⁺细胞的百分含量,提高 CD4⁺细胞或 CD8⁺细胞百分含量,改变 CD4⁺/CD8⁺的比值,调整 Th/Ts 比例而发挥免疫增强作用^[17,18]。

NK 细胞是与 T、B 细胞并列的第三类群淋巴细胞,它是一种能直接杀伤靶细胞效应的特殊的淋巴细胞系。研究发现 MT 可以使 NK 细胞的数量明显增加,当让健康青年每晚服用 2 mg MT,连服 2 个月后,测定 NK 细胞的数量并与未服前的 NK 细胞的数量比较,发现服药后的 NK 细胞的数量比未服药前增加 24%。Huang 等^[19]通过给创伤的大鼠腹腔注射 MT,发现给予 MT 后能恢复创伤大鼠降低的 NK 细胞活性。Srinivasan^[20]报道,MT 能促使祖细胞向粒细胞和巨噬细胞分化,并且能促进 NK 细胞产生和释放多种细胞因子。

2.3 MT 对细胞因子的影响

MT 通过影响免疫活性细胞产生细胞因子而调节免疫功能。MT 可提高离体培养的人单个核细胞(PBMC)IL-1, IL-2, IL-6, IFN- γ 及 IL-12 的产生。无论在体内或体外,MT 都能促进鼠脾细胞产生 IL-2 和 IL-1 β ^[21]。给 LPS 诱导的脓毒败血症休克小鼠腹腔注射 MT,能降低局部的前炎症因子水平,如 TNF- α 、IL-12 和 IFN- γ 等,但能增加抗炎因子 IL-10 的水平^[22]。同时 T 辅助细胞的褪黑素受体激活后,也刺激 T 辅助细胞分泌各种细胞因子,如 IL-2, IFN- γ 等。MT 也可激活一些新型阿片类细胞因子,这些介质可对抗应激诱导的免疫功能下降和其他再次免疫缺陷。我们知道 IFN- γ 是 Th1 特征性的细胞因子,IL-4 是 Th2 的特征性细胞因子,目前关于 MT 是仅作用于 Th1 或 Th2 还没有明确。Garcia-Maurino 等^[23]发现 MT 能在体外激活人 Th1 类淋巴细胞,增加 IL-2 和 IFN- γ 的生成,但并不影响 IL-4 产生。然而,Shaji 等^[24]研究得出 MT 促进 Th2 类细胞的增殖,改善其分泌 IL-4 的能力,降低 IL-2 和 IFN- γ 的生成。近来又有学者发现^[25],生理浓度的 MT 对糖皮质激素抑制的 PBMC 产生的细胞因子 IFN- γ 和 IL-4 都没有影响^[22]。Dimitrov 等^[26]检测 14 名健康成人睡眠时(23 点到凌晨 7 点)血中细胞因子的水平,发现早期睡眠时 Th1 占优势,IFN- γ 增加,IFN- γ /IL-4 提高,然而,Th1 的增加是非常缓和的,并且在晚期睡眠中这种优势很快被 Th2 所取代。人在睡眠时出现的这种 Th1 与 Th2 改变是否跟 MT 的分泌变化有关,需要进一步证实^[23]。

3 MT 调节免疫功能的机制

MT 调节免疫系统的机制非常复杂,其对免疫系统的作用因剂量、用药方式、品种、性别、年龄、免疫系统的成熟程度和免疫系统被激活的方式而异,并与季节、免疫系统和松果体功能的昼夜节律以及应急状态有关。目前研究认为可能的机制主要有以下几种:①通过与 MT 受体结合:MT 与免疫细胞和器官的不同受体结合而对免疫功能产生调节作用,有文献^[27]研究指出 MT 是与 MT2 受体亚类结合从而增强细胞和体液免疫,而不是 MT1 受体,cAMP 和 IP3 信号传导通路在这过程中起了重要的调控作用。Wei 等^[28]认为在 MT 调节淋巴细胞功能及炎症免疫调节中 cAMP 信号传导通路可能是重要的机制之一。②通过促进免疫细胞释放多种细胞因子:如白细胞介素-1 α (IL-1 α),类 IL-1 受体因子 1, IL-

13 受体 $\alpha 1$, IL-15 等。IL-1 α 在免疫应答及炎症反应中起重要作用,可通过诱导 IL-2 的释放促进胸腺细胞、骨髓细胞、T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、NK 细胞等增殖。类 IL-1 受体因子 1 和 IL-13 受体 $\alpha 1$ 可参与调节 T 细胞的作用和 IL-4 的信号转导。IL-15 可刺激抗原特异性小鼠 Th 细胞克隆增殖;对 T 细胞具有强烈催化作用,在体内可诱导溶细胞性 T 淋巴细胞(CTL)的胞毒效应及淋巴因子激活的杀伤细胞活性。MT 对炎性细胞因子的调控作用目前还不清楚,有研究认为^[29],MT 可通过防止 NF- κ B 转移进核内及与 DNA 结合,降低前炎症细胞因子水平。③通过内源性阿片肽系统:Maestroni 等^[14]发现 MT 能激活小鼠的 Th 细胞,释放阿片肽增强免疫反应^[14]。在人类激活的 Th 细胞上也出现类似的结果。Moore 等^[30]对鸟类的研究发现 MT 能增强体液和细胞免疫功能,且都与阿片类物质的参与有关。④直接作用:作为一种高度亲水的复合物,MT 也可不需要特定受体的介导而进入免疫细胞,从而有效的抗自由基、抗衰老。免疫系统相应地也可通过合成和分泌一些可溶性因子、细胞因子,影响松果体的功能,从而形成一个信息环,使机体在面对有害的环境时保持自身稳定。

4 MT 对应激时免疫功能的影响

应激反应是指机体在受到各种内外环境因素刺激时所出现的非特异性全身反应,众多的研究表明,机体处于应激时,会导致免疫功能失调,而 HPA 轴是应激反应所涉及的重要系统。MT 可通过调节 HPA 轴的活动而影响机体的免疫功能,实验证明无论在体内或体外,MT 都能影响 ACTH 的合成和分泌^[31]。在生理状态下,MT 能促进肾上腺的发育,致肾上腺的重量增加;但在应激状态下却相反,外源性 MT 可拮抗由应激或外源性糖皮质激素所诱导的肾上腺增大,以及改善由此而引起的免疫抑制和胸腺萎缩^[8]。我们知道胎儿出生后处于一种应激状态,Zhao 等^[32]通过对正常健康新生儿脐血的分析,发现用 MT 处理后 NK 细胞活性及淋巴细胞产生 IL-2 的能力都大大提高。Haldar 等^[33]通过对季节性繁殖动物成年啮齿类雄性印度松鼠在非繁殖季节(10~12 月份,在这个时期,动物面临着自然界巨大的挑战,即低温、缺乏食物和栖身之处)的研究,发现每日给予地塞米松 60 mg/只能明显降低胸腺和脾的活性,同时淋巴组织的重量,外周血白细胞和淋巴细胞的数量以及骨髓和 T 细胞介导的免疫功能都

受到抑制,而同时给予 MT 25 mg/只则能对抗这种免疫抑制作用。表明 MT 能改善应激时的免疫功能。

5 结语

总之,MT 对免疫系统的调节是多层次的综合影响,具有复杂的动态性,因此对 MT 的作用机制值得探讨。目前研究认为 Th1 和 Th2 平衡失调与肿瘤逃逸,微生物感染有密切关系,参与了变态反应性疾病、自身免疫性疾病及移植排斥反应的发生等。尤其是阐明 MT 对 Th1 和 Th2 的影响,可为很多疾病的治疗提供依据。MT 作为一种内源性多效性的生理活性介质,具有安全性高、低毒性等特点,若能尽早合理开发应用,将为免疫相关性疾病的治疗提供新的途径。

[参 考 文 献]

- [1] Simonneaux V, Ribelayga C. Generation of the melatonin endocrine message in mammals; a review of the melatonin regulation of melatonin synthesis nonorepinephrine, peptides, and other pineal transmitters [J]. *Pharmacol Rev*, 2003, 55(2):325-395.
- [2] Liu C, Fukuhara C, Wessel JH 3rd, Iuvone PM, Tosini G. Localization of Aa-nat mRNA in the rat retina by fluorescence in situ hybridization and laser capture microdissection [J]. *Cell Tissue Res*, 2004, 315(2):197-201.
- [3] Carrillo-Vico A, Calvo JR, Abreu P, Lardone PJ, Garcia-Maurino S, Reiter RJ, et al. Evidence of melatonin synthesis by human lymphocytes and its physiological significance; possible role as intracrine, autocrine, and or paracrine substance [J]. *FASEB J*, 2004, 18(3):537-539.
- [4] Ardura J, Gutierrez R, Andres J, Agapito T. Emergence and evolution of the circadian rhythm of melatonin in children [J]. *Horm Res*, 2003, 59(2):66-72.
- [5] Perreau VM, Bondy SC, Cotman CW, Sharman KG, Sharman EH. Melatonin treatment in old mice enables a more youthful response to LPS in the brain [J]. *J Neuroimmunol*, 2007, 182(1-2):22-31.
- [6] Othman AI, al Sharawy S, el-Missiry MA. Role of melatonin in ameliorating lead induced haematotoxicity [J]. *Pharmacol Res*, 2004, 50(3):301-307.
- [7] Oner H, Kus I, Oner J, Ogeturk M, Ozan E, Ayar A. Possible effects of melatonin on thymus gland after pinealectomy in rats [J]. *Neuro Endocrinol Lett*, 2004, 25(1-2):115-118.
- [8] Pertsov SS. Effect of melatonin on the thymus, adrenal glands, and spleen in rats during acute stress [J]. *Bull Exp Biol Med*, 141(3):292-295.
- [9] 周瑞祥,魏建恩,刘卉,黄云梅,谢美容,林建银. 松果体及其褪黑素影响胸腺 T 细胞发育周期 [J]. *解剖学报*, 2005, 36(1):70-75.
- [10] Haldar C, Singh R. Pineal modulation of thymus and immune function in aseasonally breeding tropical rodent, *Funambulus pennanti* [J]. *J Exp Zool*, 2001, 289(2):90-98.
- [11] Singh SS, Haldar C, Rai S. Melatonin and differential effect of L-

- thyroxine on immune system of Indian tropical bird *Perdica asiatica* [J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2006, 145(3):215-221.
- [12] Brennan CP, Hedricks GL 3rd, EL-Sheikh TM, Mashaly MM. Melatonin and the enhancement of immune responses in immature male chickens [J]. *Poult Sci*, 2002, 81(3):371-375.
- [13] Trubiani O, Recchioni R, Moroni F, Pizzicannella J, Caputi S, Di Primio R. Melatonin provokes cell death in human B-lymphoma cells by mitochondrial-dependent apoptotic pathway activation [J]. *J Pineal Res*, 2005, 39(4):425-431.
- [14] Maestroni GJ. The immunotherapeutic potential of melatonin [J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2001, 10(3):467-476.
- [15] Negrette B, Bonilla E, Valero N, Pons H, Garcia Tamayo J, Chacin-Bonilla L, et al. Melatonin treatment enhances the efficiency of mice immunization with Venezuelan equine encephalomyelitis virus TC-83 [J]. *Neurochem Res*, 2001, 26(7):767-770.
- [16] Akbulut KG, Gonul B, Akbulut H. The effects of melatonin on humoral immune responses of young and aged rats [J]. *Immunol Invest*, 2001, 30(1):17-20.
- [17] Baltaci AK, Mogulkoc R, Bediz CS, Pekel A. Effects of zinc deficiency and pinealectomy on cellular immunity in rats infected with *Toxoplasma gondii* [J]. *Biol Trace Elem Res*, 2005, 104(1):47-56.
- [18] Litvinenko GI, Shurygina AV, Verbitskaya LV, Panteleeva NG, Melnikova EV, Trufakin VA. Circadian dynamics of cell composition of the thymus and lymph nodes in mice normally, under conditions of permanent illumination, and after melatonin injection [J]. *Bull Exp Biol Med*, 2005, 140(2):213-216.
- [19] Huang YS, Jiang JW, Wu GC, Cao XD. Effect of melatonin and electroacupuncture (EA) on NK cell activity, interleukin-2 production and POMC-derived peptides in traumatic rats [J]. *Acupunct Electrother Res*, 2002, 27(2):95-105.
- [20] Srinivasan V, Maestroni G, Cardinali D, Esquifino A, Perumal SP, Miller S. Melatonin, immune function and aging [J]. *Immun Ageing*, 2005, 2:17.
- [21] Arias J, Melean E, Valero N, Pons H, Chacin-Bonilla L, Larreal Y, et al. Effect of melatonin on lymphocyte proliferation and production of interleukin-2 (IL-2) and interleukin-1 beta (IL-1 beta) in mice splenocytes [J]. *Invest Clin*, 2003, 44(1):41-50.
- [22] Carrillo-Vico A, Lardone PJ, Naji L, Fernandez-Santos JM, Martin-Lacave I, Guerrero JM, et al. Beneficial pleiotropic actions of melatonin in an experimental model of septic shock in mice: regulation of pro-/anti-inflammatory cytokine network, protection against oxidative damage and anti-apoptotic effects [J]. *J Pineal Res*, 2005, 39(4):400-408.
- [23] Garcia-Maurino S. Melatonin enhances IL-2, IL-6, and IFN-gamma production by human circulating CD4⁺ cells: a possible nuclear receptor-mediated mechanism involving T helper type 1 lymphocytes and monocytes [J]. *J Immunol*, 1997, 159(2):574-581.
- [24] Shaji AV, Kulkarni SK, Agrewala JN. Regulation of secretion of IL-4 and IgG1 isotype by melatonin-stimulated ovalbumin-specific T cells [J]. *Clin Exp Immunol*, 1998, 111(1):181-185.
- [25] Effect of melatonin on the glucocorticoid-induced immunity suppression studied in vitro [J]. *Eksp Klin Farmakol*, 2005, 68(1):45-47.
- [26] Dimitrov S, Lange T, Tiekens S, Fehm HL, Born J. Sleep associated regulation of T helper 1/T helper 2 cytokine balance in humans [J]. *Brain Behav Immun*, 2004, 18(4):341-348.
- [27] Markowska M, Mrozkowiak A, Pawlak J, Skwarlo-Sonta K. Intracellular second messengers involved in melatonin signal transduction in chicken splenocytes in vitro [J]. *J Pineal Res*, 2004, 37(3):207-212.
- [28] Wei W, Shen YX, Dai M, Chen Q. Effects and mechanisms of melatonin on immune responses in mice of different months [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2003, 24(7):719-723.
- [29] Li JH, Yu JP, Yu HG, Xu XM, Yu LL, Liu J, et al. Melatonin reduces inflammatory injury through inhibiting NF-kappaB activation in rats with colitis [J]. *Mediators Inflamm*, 2005, 31(4):185-193.
- [30] Moore CB, Siopes TD. Melatonin enhances cellular and humoral immune responses in the Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) via an opiate mechanism [J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2003, 131(3):258-263.
- [31] Juszczak M, Michalska M. The role of the pineal gland and melatonin in the regulation of adenohipophysial hormone synthesis and secretion [J]. *Postepy Hig Med Dosw (online)*, 2006, 60:653-659.
- [32] Zhao J, Liu XJ. Antioxidative and immunomodulatory role of melatonin, sodium selenite, N-acetyl-L-cysteine and quercetin on human umbilical blood [J]. *Pharmazie*, 2005, 60(9):683-688.
- [33] Haldar C, Rai S, Singh R. Melatonin blocks dexamethasone-induced immunosuppression in a seasonally breeding rodent Indian palm squirrel, *Funambulus pennanti* [J]. *Steroids*, 2004, 69(6):367-377.

(本文编辑:吉耕中)