

樟脑气味嗅觉条件刺激诱发小鼠条件反射性抗体增强的实验研究

孙萌 亓晓丽 林文娟

【摘要】 目的 对流感疫苗(流感病毒血凝素表面抗原)的接种,观察条件反射性免疫反应。方法 采用 36 只 BALB/c 小鼠肌肉注射流感疫苗抗原(3 μg /每只动物)为非条件性刺激,与樟脑气味嗅觉条件刺激一次性结合。第 6 周末再次给予条件刺激,观察条件反射性流感疫苗的抗体反应。结果 条件刺激组在一次性条件刺激后,抗流感疫苗的抗体水平 OD 值增高(第 9 周 0.68 ± 0.06 ;第 10 周 0.60 ± 0.06),与非条件刺激组(第 9 周 0.53 ± 0.06 ;第 10 周 0.48 ± 0.04)比较差异有显著性($P < 0.01$)。与条件训练对照组和非条件训练对照组比较差异有显著性($P < 0.05$)。结论 经过一次樟脑气味嗅觉条件刺激与流感疫苗非条件刺激的结合训练后,单独条件刺激能够诱导动物出现条件反射性抗体增强反应。

【关键词】 条件反射性抗体反应增强; 流感疫苗血凝素抗原; 樟脑气味

Conditioned enhancement of antibody response against influenza virus hemagglutinin using camphor odor as conditioned stimulus in mice SUN Meng, QI Xiao-li, LIN Wen-juan. Institute of Psychology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

【Abstract】 Objective To observe conditioned enhancement of antibody production against influenza vaccine. **Methods** 36 female BALB/c mice were injected with 3 μg /mouse influenza virus hemagglutinin (HA) as the unconditioned stimulus (UCS), and camphor odor was served as the conditioned stimulus (CS). After a CS/UCS pairing was made, animals were re-exposed to the CS at Weeks 6. **Results** Through one conditioned stimulus, the optical density of anti-HA antibody of the conditioned group (Weeks 9: 0.68 ± 0.06 ; Weeks 10: 0.60 ± 0.06) was significantly increased compared with the unconditioned group (Weeks 9: 0.53 ± 0.06 ; Weeks 10: 0.48 ± 0.04) ($P < 0.01$). The level of anti-HA antibody of the conditioned group was also significantly greater than other controlled groups ($P < 0.05$). **Conclusion** Through a single exposure to camphor odor which was paired with immunization of influenza virus HA in a single trial learning protocol, a significant conditioned anti-HA IgG production occurred.

【Key words】 Conditioned enhancement of antibody; Influenza virus hemagglutinin; Camphor odor

Ader 等在 1975 年发表的条件反射性免疫抑制实验证明了大脑能对免疫系统起调控作用,并由此而发展出一门新的交叉学科——心理神经免疫学^[1-2]。条件反射性免疫增强研究进一步为神经、免疫两大系统之间存在相互调节提供了证据^[3]。人们期望也许可以利用这一模型产生的特异性无毒副作用的免疫药理学效应,在临床上提高免疫反应,增强机体抗传染性疾病的的能力^[4]。但目前相关的文献中还没有以传染病疫苗作为非条件刺激物的条件反射性免疫增强的报告。为此,本研究采用中国疾病预防控制中心提供的流感病毒血凝素(HA)亚单位疫苗为非条件性刺激,与樟脑气味嗅觉条件刺激一次结合,观察条件反射性流感疫苗抗体反应增强反应。

材料与方法

一、动物

雌性 BALB/C 小鼠 51 只,体质量约 20 g 左右。单笼饲养,温度控制在 $(22 \pm 2)^\circ\text{C}$, 12 h 光/暗交替,动物进入实验室后先经适应期,此期动物自由饮水、取食。先各取 5 只动物为一组进行流感亚单位疫苗(甲 1 亚型、甲 3 亚型和乙型 3 种流感病毒血凝素 HA 表面抗原,中国疾病预防控制中心提供)的后腿肌肉免疫,接种剂量分别为每只动物 1 μg 、3 μg 和 20 μg , 随后每隔 7 d 取其尾血测其抗体水平,找到流感疫苗抗原最佳的接种剂量和初次抗体水平开始下降的时段。

二、方法

1. 实验程序:将 36 只实验动物随机分成条件刺激组(CS group, $n = 12$)条件训练对照组(CS0 group, $n = 8$)、非条件训练对照组(NC group, $n = 8$)和非条件刺激组(UCS group, $n = 8$)。在条件训练日(第 1 周),分别将条件刺激组小鼠 CS 组(12 只动物)和条件训练对照组 CS0(8 只动物)在密闭容器中接受 15 min 的樟脑气味刺激。气味刺激后,CS 组与 CS0 组动物立即按每只动物接种 3 μg 流感疫苗的剂量,肌肉注射流感疫苗。条件训练后的第 6 周末作为条件刺激日,在条件

DOI:10.3760/cma.j.issn.1674-6554.2009.04.003

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30670707);中国博士后科学基金资助项目(20060400114)

作者单位:100101 北京,中国科学院心理所心理健康院重点实验室[孙萌(中国科学院研究生院)、亓晓丽、林文娟]

通信作者:林文娟,Email:Linwj@psych.ac.cn

刺激日,再次给 CS 组在密闭容器中施加 15 min 的樟脑气味条件刺激,而 CS0 组动物不施加樟脑气味刺激。非条件训练对照 NC 组和非条件刺激 UCS 组在第 0 天只肌肉注射 3 μg 流感疫苗,而不施加樟脑气味刺激(条件刺激),条件刺激日(第 42 天),NC 组接受樟脑气味刺激,而 UCS 组不施加樟脑气味刺激。

在第 7,8,9,10 周(即条件刺激后 1,2,3,4 周),经鼠尾静脉取血,用酶联免疫吸附法(ELISA)测定抗体水平,其相对值用吸光度(OD 值)来表示。

2. ELISA 法测定血清抗流感病毒血凝素 HA IgG 水平:具体方法参照文献[5]。

3. 统计分析:各组动物在各个时点的抗体 OD 值用采用 SPSS 11.0 统计分析软件中的单因素方差分析进行分析。用单因素方差分析的 post hoc Scheffe 分析在各个时点的组别差异。

结 果

一、不同剂量流感疫苗抗原免疫结果

动物接种 3 μg 流感疫苗的剂量时,第 4 周抗体高峰水平(OD 值为 1.08 ± 0.14)与第 6 周抗体水平(OD 值为 0.74 ± 0.18)差异有显著性($P < 0.05$),而每只动物分别接种 1 μg 和 20 μg 流感疫苗的剂量,诱导生成的抗体变化曲线都比较平滑,抗体生成的高峰水平与第 6 周抗体水平差异无显著性。见图 1。

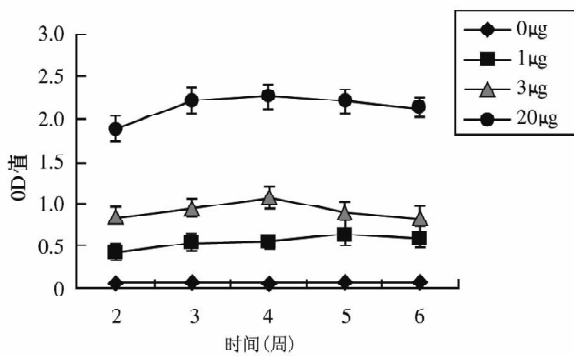
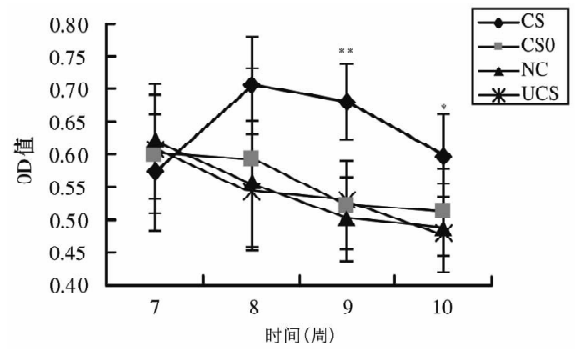


图 1 不同剂量流感疫苗抗原诱导小鼠初次抗体生成的变化曲线

二、条件刺激后各组动物抗流感疫苗抗体的变化趋势

单因素方差分析显示在第 9 周和第 10 周有显著的组别差异,第 9 周 $F_{(3,32)} = 9.72, P < 0.01$;第 10 周 $F_{(3,32)} = 4.04, P < 0.05$ 。进一步的 Posthoc 分析表明,条件刺激 CS 组的抗流感疫苗 HA IgG 水平在第 9 周(0.68 ± 0.06)和;第 10 周(0.60 ± 0.06)都显著高于条件训练对照组 CS0 在第 9 周($0.52 \pm 0.07, P < 0.01$)和第 10 周($0.51 \pm 0.07, P < 0.05$)的水平;也显著高于非条件训练对照 NC 组在第 9 周($0.50 \pm 0.06, P < 0.01$)和第 10 周($0.49 \pm 0.07, P < 0.05$)的水平。条件刺激 CS 组的抗体值也明显高于非条件刺激 UCS 组在第 9 周(0.53 ± 0.06)和第 10 周(0.48 ± 0.04)的水平,其 P

值均小于 0.01。见图 2。



* $P < 0.05, ** P < 0.01$

图 2 第 7,8,9,10 周(条件刺激后 1,2,3,4 周)的抗流感疫苗 HA IgG 抗体水平

讨 论

尽管神经系统通过条件反射性方法增强免疫反应已被本研究室在国际上首次报道和证实^[5-8]。抗卵清白蛋白的条件反射性抗体反应增强^[5,8],但迄今未见对流感疫苗建立条件反射性抗体增强的研究尚属首次。本实验以樟脑气味嗅觉刺激为条件刺激,接种流感疫苗 HA 表面抗原为非条件刺激,经一次结合训练,再次给予樟脑气味嗅觉条件刺激,结果诱导出明显的条件反射性抗 HA 抗体水平增高反应。虽然在动物身上观察到的条件反射性免疫增强效应比较微弱,但它在临床和生物学上却是有意义的。可以期望在临床上通过条件反射模式,辅助疫苗接种,可以增强流感疫苗的免疫效果,从而更加有效地预防季节性呼吸道传染病的流行。

参 考 文 献

- [1] Ader R, Kelley KW. A global view of twenty years of Brain, Behavior, and Immunity. Brain Behav Immunity, 2007, 21: 20-22.
- [2] 李杰, 林文娟, 李波, 等. 条件反射性细胞免疫抑制及其作用时程的实验研究. 中国行为医学科学, 2003, 12: 481-483.
- [3] Riether C, Doenlen R, Pacheco-López G, et al. Behavioural conditioning of immune functions; how the central nervous system controls peripheral immune responses by evoking associative learning processes. Rev Neurosci, 2008, 19: 1-17.
- [4] Bonneau RH, Padgett DA, Sheridan JF. Twenty years of psychoneuroimmunology and viral infections. Brain Behav Immunity, 2007, 21: 273-280.
- [5] Chen JH, Lin WJ, Wang WW, et al. Enhancement of antibody production and expression of c-Fos in the insular cortex in response to a conditioned stimulus after a single-trial learning paradigm. Behavioral Brain Research, 2004, 154: 557-565.
- [6] 林文娟. 心理神经免疫学研究. 心理科学进展, 2006, 14: 511-516.
- [7] Lin WJ, King M, Husband A. Conditioned behavioral learning activated antibody response to ovalbumin; New evidence for the communication between CNS and immunity. Proceedings of the second Afro-Asian Psychological Congress, 1993: 788-793.
- [8] Huang JX, Lin WJ, Chen J. Antibody response can be conditioned using electroacupuncture as conditioned stimulus. Neuroreport, 2004, 28: 1475-1478.

(收稿日期: 2008-09-28)

(本文编辑: 冯学泉)