

- Nippon Naibunpi Gakkai Zasshi 1994 70(4): 471-477.
- [6] Saisto T, Kaaia R, Ylikorkala O, *et al*. Reduced pain tolerance during and after pregnancy in women suffering from fear of labor [J]. Pain 2001, 93(2): 123-127.
- [7] Dawson B M, Gintzler A R. Gestational and ovarian sex steroid antinociception: synergy between spinal kappa and delta opioid systems [J]. Brain Res 1998 794(1): 61-67.
- [8] Dawson B M, Gintzler A R. Involvement of spinal cord delta opiate receptors in the antinociception of gestation and its hormonal stimulation [J]. Brain Res 1997 757(1): 37-42.
- [9] Jarvis S, McLean K A, Chimsi J, *et al*. Opioid-mediated changes in nociceptive threshold during pregnancy and parturition in the sow [J]. Pain 1997 72(1-2): 153-159.
- [10] 高秀. 针刺镇痛机制的研究 [J]. 国外医学中医中药分册, 1999 21(3): 21-27.
- [11] Millan M J. Descending control of pain [J]. Prog Neurobiol 2002 66 355-474.
- [12] 柴小青, 陈昆洲, 阎淑珍, 等. 硬膜外麻醉下血浆内源性阿片肽水平与胆心反射 [J]. 临床麻醉学杂志, 1997 13(4): 215-217.
- [13] Zachariou V, Goldstein B D. Opioid receptor modulation of the release of substance P-like immunoreactivity in the dorsal horn of the rat following mechanical or thermal noxious stimulation [J]. Brain Res 1996 736 305-314.
- [14] Zachariou V, Goldstein B D. Kappa-opioid receptor modulation of the release of substance P in the dorsal horn [J]. Brain Res 1996 706 80-88.
- [15] Bakli E, Conti P, Conti R, *et al*. Hypemocceptive syndromes and pharmacological inhibition of endorphin endogenous opioid degradation [J]. Int J Clin Pharmacol 1986 6(1): 19.
- [16] 张镜如主编. 生理学 [M]. 第4版. 北京: 人民卫生出版社, 1998. 310-311.

[责任编辑: 韩 蓁]

婴幼儿唾液中三种免疫学指标的研究

杨媛媛¹, 刘黎明¹, 孙晓勉¹, 贾梅², 王懿¹, 杨文方¹, 张水平², Kevin A cheson³

(1. 西安交通大学医学院附属第一医院妇幼保健中心, 陕西 西安 710061;

2. 西安市妇幼保健院, 陕西 西安 710003; 3. 瑞士洛桑雀巢国际研究中心)

[摘要] 目的 了解正常儿童唾液中 sIgA、IL-6 与 TNF- α 的含量及其相互关系。方法 采取随机整群抽样的方法对陕西农村 391 名出生至 18 个月婴幼儿进行调查, 并对其中 55 名婴幼儿采用 ELISA 方法检测唾液中 sIgA、IL-6 与 TNF- α 的含量及其粪便中 sIgA 含量。结果 0~18 个月龄婴幼儿 sIgA (B 组 48.29700 ± 55.28781)、IL-6 (B 组 100.36200 ± 22.79248) 与 TNF- α (B 组 199.05850 ± 182.18959) 的均数随年龄增大而变化的趋势基本一致, 在 B 组 (4~6 月) 中均为最高, 但统计学分析无显著性差异 ($P > 0.05$), 1 岁后趋于平稳; 且唾液中 sIgA 含量与母乳喂养量、粪便 sIgA 含量无明显相关性。结论 0~18 个月龄的婴幼儿唾液中 sIgA、IL-6、TNF- α 水平均较低, 局部免疫功能较差, 因此容易发生病毒及细菌的感染, 应提高 6 个月辅食的质和量, 促进婴幼儿生长发育。但是唾液检测并不能代替粪便中 sIgA 检测, 特别不适用于婴幼儿胃肠道功能及胃肠病 (腹泻病等) 的监测。

[关键词] 婴幼儿; 唾液; 免疫学指标

[中图分类号] R392.9

[文献标识码] A

[文章编号] 1673-5293(2006)01-0014-03

A research on three immune markers in infantile saliva

YANG Yuan-yuan¹, LIU Liming¹, SUN Xiaomian¹, JIA Mei², WANG Yi¹, YANG Wen-fang¹, ZHANG Shui-ping³, Kevin A cheson²

(1. The Maternal and Child Health Center, The First Affiliated Hospital of Medical College, Xi'an Jiaotong University, Xi'an, 710061, China; 2. Xi'an Municipal Maternal and Child Health Hospital, Shaanxi Xi'an 710003, China; 3. Nestle Ltd, Nestle Research Center, Lausanne Switzerland)

[Abstract] **Objective** To learn the contents and to investigate mutual relationship of sIgA, IL-6 and TNF- α in normal infantile saliva. **Methods** A total of 391 infants aged 0 to 18 months old were selected from the rural areas of Shaan'xi Province by using the stratified cluster sampling method. Of which, 55 infants were studied by using ELISA for detection of IgA, IL-6, TNF- α in saliva and fecal sIgA. **Results** The changing tendency of sIgA, IL-6 and TNF- α in five groups was basically identical with increase of age, the highest values of all three index were in B group (aged 4 to 6 months), but there were no significant differences between the five groups ($P > 0.05$), they tended to stable after 1 year old of age and there was no significant relationship between the concentration of sIgA and the amount of breast milk or fecal sIgA. **Conclusion** The levels of sIgA, IL-6 and TNF- α are lower in infants aged from birth to 18 months, the rural areas local immunity is weak, therefore, these children are susceptible to bacterial and viral infections, so we should raise the quality and quantity of complementary foods to promote infantile growth and development. However, the detection of salivary sIgA cannot replace the fecal sIgA, especially in monitoring infantile gastrointestinal tract function or gastroenteropathy (eg diarrhea).

[Key words] Infant saliva; immune marker

唾液这种体液, 包含了人体内很多信息。如今, 越来越多的医学研究者已经认识到, 唾液是人体的一面镜子, 唾液中很多成分能够反映人体的营养状况、免疫状况和疾病状态。唾

液检测已经成为一项重要的疾病评价依据和解决其他医学问题的辅助手段, 易于操作, 没有损伤性。目前, 已开展了应用唾液诊断疾病和分析唾液中微量元素的有关研究, 但是关于

[收稿日期] 2005-12-12

[作者简介] 杨媛媛 (1979-), 女, 在读研究生, 主要从事婴幼儿保健与营养的研究。

[通讯作者] 刘黎明, 教授。

[基金项目] 瑞士儿童营养国际合作项目 (99001)

唾液中免疫学指标的研究尚未见到,为了解正常婴幼儿唾液中免疫学指标的状态,我们对陕西省澄城县、富平县农村筛选出的 55 名婴幼儿唾液中 sIgA、IL-6 与 TNF- α 进行了测定,试图寻找婴幼儿营养发育状态和唾液中免疫细胞因子的关系。

1 材料和方法

1.1 调查对象

采取随机整群抽样的方法在陕西省澄城县、富平县抽取 6 个乡 18 个村 0~18 个月的 391 名婴幼儿进行问卷、体格发育、膳食营养调查,并选择其中 5 个村的 55 名婴幼儿采集了唾液和粪便标本。样本的入选条件为:无疾病、胎龄大于 37 周、无先天异常的母乳喂养婴幼儿,其中男性 35 例,女性 20 例。分为 5 个年龄组: A 组(出生至 3 个月 29 天)13 人、B 组(4 个月 0 天至 6 个月 29 天)10 人、C 组(7 个月 0 天至 9 个月 29 天)11 人、D 组(10 个月 0 天至 12 个月 29 天)11 人、E 组(13 个月 0 天至 18 个月 29 天)10 人。

1.2 调查方法

调查人员为儿童保健医师、儿科医师,并经过统一培训。体重测量用 ACS 型电子秤(精确度 5g),身长测量用 WB-③卧式婴儿身长测量器(精确度 0.1cm)。膳食调查采用 3 日称重法入户进行调查,食物量精确到克,母乳喂养摄入量取自每次喂母乳前后体重的差值。

1.3 样本采集

①唾液收集:在午后 2~4pm(进食后 2 小时左右),用真空吸引器套吸管不断的从口腔底部吸取唾液至 3mL。吸完后,将唾液用 3000 转/分的速度离心 15 分钟,然后弃去沉淀,吸取上清液测定 pH 值,在 -70℃ 保存以备检测;④粪便采集:用采样瓶采集儿童清晨第一次粪便约 5g 在 -40℃ 冰箱冷藏,10h 内进入实验室在 -70℃ 冰箱冷冻备用;④实验步骤: sIgA 检测均采用 ELISA 方法进行。将标本取出稀释后,按以下步骤进行检测:加样—反应—冲洗—加抗体—反应—冲洗—加显色剂—反应—加终止液,在 450nm 波长的 ELx800 型酶标仪下测量 OD 值;根据提供的标准样的浓度及测量的相应 OD 值制作标准曲线。再根据制作的标准曲线计算样本中对应的 OD 值的 sIgA 浓度。IL-6 TNF- α 均采用放射性免疫法进行测定,试剂盒由 Immundiagnostik AG 公司提供。

1.4 数据处理

采取 EPI 16.0 软件进行数据录入,SPSS 10.0 软件进行其他统计学分析。

2 结果

2.1 各组三种细胞因子浓度

5 组婴幼儿 sIgA、IL-6 与 TNF- α 的值随年龄增大而变化的趋势基本一致,上述各项测量值以 B 组(4~6 月)为最高,但统计学分析无显著性差异($P > 0.05$) (见表 1)。经过组与组之间多重比较,IL-6 TNF- α 在第 2 组与第 5 组之间有显著性差异($P = 0.045$, $P = 0.037$)。

将各年龄组不同性别的 sIgA 浓度进行 t 检验, B 组(4~6 个月) P 值小于 0.05 说明 4~6 个月时女婴唾液中 sIgA 浓度高于男婴,其余各组无显著性差异($P > 0.05$)。将各年龄组不同性别的 TNF- α 浓度、IL-6 浓度进行 t 检验, P 值均大于 0.05 说明各年龄组男、女唾液中 TNF- α 浓度与 IL-6 浓度均无显著性差异。

附表 不同月龄组婴幼儿唾液中三种免疫学指标的比较

组别	人数	sIgA	IL-6	TNF- α
A	13	33.68077 $\pm$ 46.15758	89.39385 $\pm$ 20.54840	170.60808 $\pm$ 29.09185
B	10	48.29700 $\pm$ 55.28781	100.36200 $\pm$ 22.79248	199.05850 $\pm$ 182.18959
C	11	24.27000 $\pm$ 18.02001	90.58364 $\pm$ 24.97602	184.31955 $\pm$ 76.82110
D	11	21.84455 $\pm$ 18.34066	89.81136 $\pm$ 26.53263	112.23409 $\pm$ 29.17543
E	10	31.05700 $\pm$ 37.56542	77.13150 $\pm$ 25.81794	63.77550 $\pm$ 40.55688
F 值		0.774	1.023	1.664
P 值		0.547	0.404	0.175

2.2 TNF- α 与 IL-6 的相关关系

唾液中 TNF- α 和 IL-6 间存在线性相关关系。相关系数 $r = 0.514$, $P = 0.000 < 0.05$, 回归方程如下: $Y = 1.018 \times 10^{-4}X + 3.753$

2.3 唾液 sIgA 与母乳量的关系

在纯母乳喂养的 17 名婴幼儿中,婴幼儿每天所吃的母乳量与唾液中 sIgA 含量未见显著相关性($P > 0.05$)。

2.4 唾液 sIgA 与粪便 sIgA 的相关性。

本研究显示唾液 sIgA 与粪便 sIgA 在统计学上无显著相关性($P > 0.05$)。

3 讨论

3.1 唾液 sIgA 结构及功能

唾液中含有某些抗感染物质,包括免疫球蛋白 (immunoglobulin Ig) 和非免疫球蛋白两类。其中免疫球蛋白中的 IgG 和 IgM 在唾液含量较低,而 IgA 的含量较高,主要是分泌型 IgA (sIgA)。sIgA 广泛存在于人体的粘膜及分泌液中,如唾液、初乳、痰液等分泌液中。唾液 sIgA 与血清 IgA 有不同的分子排列,其沉降率为 11 秒。通过衍射和沉降法估计分子量为 37000 ± 33000 ,用已知分子量的蛋白标定的 Sephadex 柱的凝胶过滤法估计分子量为 $375000^{[1]}$ 。Hanson、Tomasi 和 South 等^[2]证明 sIgA 与血清 IgA 的不同之处在于其有一个额外的抗原决定簇。研究表明这个决定簇位于一个特殊的成分上,称之为分泌成分 (secretory component SC)。sIgA 为共同粘膜免疫系统 (common mucosal immune system, CMIS) 的产物,主要通过阻抑粘附、溶解细菌、中和病毒和中和毒素等作用发挥其抗感染的免疫屏障作用。sIgA 在局部抗感染中的重要性还反映在它的产量高,其每日分泌量可达 $30 \sim 100 \text{ mg/kg}$ 超过所有其它类型的 Ig 产量^[1]。在全唾液中其浓度变化范围很大,成人约为 $100 \sim 300 \mu\text{g/mL}^{[3]}$, 本研究所得 sIgA 数据的分布是偏态分布,大多数集中在 $3 \sim 150 \mu\text{g/mL}$ 与试剂盒给出的标准 (16 岁以下 $102 \sim 147 \mu\text{g/mL}$) 相比,明显偏低。考虑可能是由于年龄的影响。关于唾液中 sIgA 与年龄的关系,有研究表明不同年龄正常小儿唾液含量以婴儿期最低,随年龄的增长而上升。新生儿唾液中不含或仅含有极少量的 sIgA,出生后数周显著上升,小于两岁的婴幼儿唾液中 sIgA 含量仅为成人的 15%,关于到达成人水平的年龄从 4 周岁到 6~12 周岁不等,这可能与检测技术、标本保存及采样差异相关^[4]。本研究中婴幼儿在 6 个月以前,唾液中 sIgA 的含量一直呈上升趋势,从 6 个月开始唾液中水平直线下降,直到 1 岁时又缓慢上升至近出生水平。这可能与新生儿刚出生时肠粘膜固有层无合成 IgA 的浆细胞,肠腔内没有自身分泌的 IgA 有关,但是母乳,特别是初乳中含有大量的 sIgA 可通过分泌片介导,以分泌形式存在乳汁中,因此新生儿通过哺乳可被动地获得一定量的 sIgA 和少许 IgM^[5,6]。婴儿出生后 4~6 个月开始合成 sIgA,因此这个阶段 IgA 含量持续增长,故在 B 组(4~6 月)最高。但是当开始添加辅食后,其水平大幅度减少,这与国外报道的 0~18 个月婴幼儿唾液中 sIgA 水平一直随年龄增长而上升不一致^[7]。推测这可能与

我国辅食添加的质量和数量较差有关。1岁后,当孩子的饮食接近成人的饮食结构后,唾液中 sIgA 水平又回升,这更进一步说明在 6个月至 1岁这个过渡阶段,该地区辅食添加欠合理。因为该地区 6个月以下婴幼儿母乳喂养率较高,因此未进行不同喂养方式之间的差异性比较。但有资料表明小于 6个月的婴幼儿喂养方式与唾液 sIgA 分泌量无关^[8]。在我们研究的 17名纯母乳喂养孩子中,母乳喂养量与唾液中 sIgA 水平也无明显相关性,一方面考虑是样本量相对较小的原因,另一方面可能是由自身腺体分泌 sIgA 之前,初乳可以为新生儿提供大量的 sIgA,婴幼儿可以从初乳中获取一定量的抗体,而我们测得的最小婴幼儿年龄为 38天,乳汁已过渡为成熟乳汁,乳汁中 sIgA 也大量减少,并且当他们自身的腺体可以分泌后,来自乳汁的 sIgA 仅占唾液中小部分,所以不能显示母乳量与婴幼儿唾液中 sIgA 明显的相关性。

3.2 唾液 sIgA、IL-6和 TNF- α 的相互关系

sIgA 的功能主要是抑制病原体粘附到粘膜表面,使之不能在粘膜立足繁殖,从而防止感染发生。并且 sIgA 有促进白细胞吞噬细菌的能力,故在 B组 sIgA 水平最高的时候,唾液中 IL-6和 TNF- α 也在较高水平。IL-6可由淋巴细胞、单核巨噬细胞及成纤维细胞在免疫应答的不同阶段产生,是一种前炎症细胞因子,是启动抗炎症反应的重要细胞因子,在初乳和 1月乳中,多可检出 IL-6,它的存在可能有利于婴儿抑制和排除细菌。同时,IL-6和 TNF- α 也可以刺激 IgA 的合成,它们彼此互相促进,协调发挥抗感染的作用^[9]。所以新生儿和 6个月以内的婴儿不易得传染病。推测从母体胎盘和初乳中获取一些细胞因子也是唾液中的 IL-6在 6个月以前有较高水平的原因。血液和体液中的 sIgA、IL-6和 TNF 水平在很多情况下与病程和病情相平行,可对疾病的诊断、病情、疗效及预后进行评估。而测量唾液中的生物标志物比分析其他体液(如血液)有一些明显优点,如唾液采样相对无损,操作简便易行,被检者容易接受,唾液中的标志物能精确反应未结合的具有生物学活性的成分等。所以,目前在国际上,唾液生物标志物在行为学以及与健康相关研究中的应用已呈指数增长^[10]。

3.3 唾液中 sIgA和粪便中 sIgA

本研究显示,唾液中 sIgA和粪便中 sIgA 没有明显的相关性,可能由于唾液中 sIgA 主要来自于局部腺体的分泌,而粪便中 sIgA 的产生与多方面的因素有关,包括食物抗原性物质的摄入,胃肠消化功能及肠道菌群繁殖等。因此,唾液检测不能代替粪便中 sIgA 检测,尤其用于婴幼儿胃肠道功能及胃肠病(腹泻病等)监测时。

3.4 结论

总体说来,0~18月龄的婴幼儿唾液中 sIgA、IL-6、TNF- α 水平均较低,局部免疫功能较差,因此容易发生病毒及细菌的感染,应积极预防,大力提倡母乳喂养,提高 6个月后辅食添加的质和量,增强防病能力,促进婴幼儿生长发育。

影响唾液分泌和唾液成分的因素很多,诸如口腔内的理化刺激、水的摄入量、情绪变化、环境因素、药物以及采集唾液的方法和时间等。因此,进行唾液分析须严格控制实验条件,尤其是唾液采集方法和时间^[11]。唾液分泌在日间维持一定的规律,一般在午后 2~4小时分泌量最多,因此我们选取这个时间段进行唾液收集;为了避免母乳中 sIgA 的干扰及食物残渣、饮水对 sIgA 的影响,我们尽量选择在吸奶、进食及饮水后两小时进行收集。检测方法选择酶联免疫吸附法(ELISA),因其具有较高的灵敏度、特异性,而又无需昂贵的设备。

唾液用于检测 Ig 较血清有许多无可比拟的优越性。但尚存在标本采集处理和测定方法尚未统一,从而造成 Ig 测定值在各文献中不易比较。随着唾液 Ig 含量参考范围的进一步确定,将有更广泛的应用前景。

[参考文献]

- [1]孙涛,王松灵.唾液 S-IgA 的结构及功能研究[J].北京口腔医学,2000,8(4):200-203
- [2]South M A, Hong R, Good R. The IgA system. I Studies of the transport and immunochemistry of IgA in the saliva[J]. J Exp Med, 1996, 123: 615.
- [3]曹福娟,刘天佳.唾液 S-IgA 抗体防龋功能的研究[J].广东牙病防治,2002,10(2):159-160.
- [4]沈洪全,罗华靖.小儿呼吸道疾病唾液中 sIgA 含量的观察[J].中华医学丛刊,2004,(4):5-48.
- [5]Hanson L A, Komkova M. The role of breastfeeding in prevention of neonatal infection[J]. Sem in Neonatol 2002; 7(4): 275-281
- [6]Hanson L A, Komkova M, Telmo E. Breast-feeding, infant formulae and the immune system[J]. Ann Allergy Asthma Immunol 2003, 90(6 Suppl 3): 59-63
- [7]Seidel B M, Schubert S, Schulze B, et al. Secretory IgA, free secretory component and IgD in saliva of newborn infants[J]. Early Human Development 2001, 62(2): 159-164.
- [8]Wemmes C, Klasen J, Goertz J, et al. Development of immunoglobulin A in infancy and childhood[J]. Scandinavian Journal of Immunology, 2003, 58(6): 642-648
- [9]杨贵贞主编.边缘免疫学[M].北京:科学出版社,2002,13-14.
- [10]Shitcliff E A, Ganger D A, Schwartz E, et al. Use of salivary biomarkers in biobehavioral research: cotton-based sample collection methods can interfere with salivary immunoassay results[J]. Psychoneuro Endocrinology, 2001, 26(2): 165-173.
- [11]杨勤德.唾液免疫球蛋白的检测及临床应用现状[J].职业与健康,2003,19(1):35-36

[责任编辑:黄燕萍]

《第二届国际妇幼保健学术会》 暨《2005全国妇幼保健学术大会》征文通知

近 10 年来,在卫生部的领导及社会各界的支持和参与下,我国妇幼保健事业获得飞速发展,并受到空前重视。2005 年世界卫生日的主题即为“珍爱每一位母亲和儿童”(Make every mother and child count)。为了展示和交流我国妇幼卫生保健领域的学术成果,促进妇女儿童身心健康和学科发展,中华预防医学会妇女保健分会、儿童保健分会、中国 CDC 妇幼保健中心及首都儿科研究所将于 2006 年 4 月份在北京联合主办《第二届国际妇幼保健学术会》暨《2006 全国妇幼保健学术大会》。大会主题为《妇女儿童生存、健康与发展》。本次大会将邀请国际和国内妇幼保健领域的著名专家进行专题讲座,并选择部分优秀论文参加大会发言和壁报展示。详情请登陆 <http://www.mchchina.com> 或者 <http://www.chinaweb.org.cn> 查询。