

替米考星对机体免疫系统调节的研究进展

田 丹 杨元信

浙江康德权科技有限公司, 杭州 311107

摘要 替米考星是动物专用的新一代大环内酯类抗生素, 近年来广泛应用于畜禽养殖中, 用于呼吸系统疾病的防控。有学者提出替米考星对免疫系统的调节作用在疾病治疗过程中起着重要作用, 本文阐述了近年来替米考星在促进机体防御功能方面所取得的最新进展。

关键词 替米考星; 免疫调节; 巨噬细胞; 中性粒细胞; 研究进展

替米考星是新型的动物专用的抗生素, 属于半合成大环内酯类抗生素, 由美国礼来公司于 20 世纪 80 年代研发。因其抗菌活性强, 组织渗透能力强, 耐药性低, 毒副作用小, 多用于防治家畜肺炎(胸膜肺炎放线杆菌、巴氏杆菌、霉形体等感染)、家禽支原体病以及泌乳动物乳房炎等。近年来研究表明, 与其他多数抗生素对机体免疫系统产生抑制作用不同, 替米考星能刺激动物体免疫功能, 促进机体自身防御。Retuter 等指出替米考星在治疗疾病的机制中对免疫系统的调节作用做出的贡献比对细菌的直接抑杀作用要大^[1]。

1 协同巨噬细胞产生杀菌作用

巨噬细胞是机体先天性免疫的重要执行者, 是所谓的“专职性组织吞噬细胞”。在非特异性免疫中, 巨噬细胞被称为机体“清道夫”, 主要通过吞噬作用杀灭和清除病原体及异物, 并介导炎症反应。在特异性免疫方面, 巨噬细胞主要发挥免疫调节功能, 包括对抗原递呈进行调节, 活化后分泌各种细胞因子, 发挥免疫调节作用。

在正常状态时, 巨噬细胞能将集聚在感染部位的病原体和自身凋亡的细胞吞入, 然后利用自身的消化酶(溶酶体分泌)将吞入的病原体等杀灭, 再释放出相应的抗原免疫成分, 递呈给下一级免疫系

统, 促进抗体的产生。但实际上, 并非所有的病原体都能被杀灭, 当病原体的数量超过巨噬细胞的吞噬消灭能力时, 机体就会表现出发病状态。替米考星能协同巨噬细胞杀灭病原菌。Chin 等将从鸡体内分离到的吞噬细胞与替米考星共同培养, 结果发现替米考星能聚集在吞噬细胞内(包括巨噬细胞和异嗜细胞), 细胞内外浓度比高达 50%~75%。替米考星的这种特性可能与其本身的亲油性有关^[2]。积聚在巨噬细胞内的替米考星 51%~85% 的亚细胞分布是定位于溶酶体中^[3]。而溶酶体是巨噬细胞内消化酶的“生产器”, 溶酶体酶的活性直接影响着巨噬细胞的杀菌活性。研究证实进入巨噬细胞的替米考星能显著增加溶酶体酶的分泌量并增强其活性^[4], 这将有助于替米考星协助巨噬细胞共同杀灭病原体。除此之外, 进入巨噬细胞内的替米考星代谢比细胞外缓慢, 当细胞外的替米考星已代谢完时, 嗜中性粒细胞和巨噬细胞中的替米考星至少还能维持 4 h^[4]。也就是说, 当血液中的替米考星清除到最小抑菌浓度(MIC)下时, 吞噬细胞内的替米考星仍可保持较高浓度, 并对病原菌起作用。

众所周知, PRRSV 主要侵害机体的巨噬细胞, 包括肺泡巨噬细胞、卵巢卵泡中的巨噬细胞和生精小管间质内巨噬细胞等。PRRSV 进入机体后首先攻击肺泡巨噬细胞, 并在肺泡巨噬细胞内增殖, 然后

再扩散至全身各组织的巨噬细胞中,破坏机体防御系统,导致严重的继发感染。所以控制 PRRS 的关键是“抢救”巨噬细胞。Molitor^[5]将替米考星和肺泡巨噬细胞放在一起培养,以 PRRSV 攻毒,发现 PRRSV 的复制受到抑制,而且这一抑制作用随替米考星浓度增加而增强,说明替米考星可以协助肺泡巨噬细胞抑制 PRRSV 复制。正是由于替米考星的这一特性使其成为防控猪 PRRS 的首选药物。国内外已经有许多用替米考星成功治疗 PRRS 的案例报道^[6]。

2 促使中性粒细胞凋亡

中性粒细胞(PMN)是体内数量最多的致炎性白细胞,对机体免疫防卫起至关重要作用,然而其对机体正常组织也有强大损伤作用。正常情况下当细菌进入体内,PMN 被激活、聚集、吞噬细菌,再将吞入的细菌杀死后会自动凋亡,形成一个含有细菌残骸的脓球,随后巨噬细胞将这个脓球吞噬,从细菌残骸中释放抗原成分呈递给机体,刺激抗体产生。但是当 PMN 凋亡出现异常的时候就会释放毒性内容物,损害组织和导致器官功能不全。引起 PMN 异常凋亡的因素很多,如 IL-1、IL-2 等细胞因子,黏附分子,地塞米松、氢化可的松等糖皮质激素类药物,氧化剂,细菌内毒素。其中最常见为细菌内毒素,如胸膜肺炎放线杆菌释放出的毒素能使 PMN 丧失凋亡功能,内毒素还可致 PMN 破裂坏死,当携带有大量消化酶的 PMN 坏死崩解后,消化酶向周围扩散,组织破坏范围会继而扩大,使炎症加剧。因此,炎症部位 PMN 的结局如何将关系到许多疾病的发生、发展和转归,而该部位 PMN 的清除是炎症反应消退的必要条件。

体内研究表明,替米考星可以促使感染胸膜肺炎放线杆菌猪 PMN 凋亡,表现出抗炎特性^[7]。此外,替米考星能诱导牛感染溶血曼海姆菌引起炎症的 PMN 凋亡。小牛接种活菌后用替米考星治疗,3 h 后就能检测到较高水平的 PMN 凋亡,而未经替米考星治疗组的感染肺组织中的炎性因子白细胞三烯 B₄ 积聚,炎症加重^[8]。说明替米考星的治疗作用与抑制白细胞三烯 B₄ 合成有关。PMN 体外循环试验证实,替米考星的这种直接促凋亡的特性与细菌的存在与否不相关,属于一种独立特性^[2]。也就是说,不管机体有没有感染病原微生物,只要有替米考星存在就会诱导中性粒细胞程序性死亡,这对于无菌

炎症的治疗意义重大。另外,体外培养试验发现替米考星可以增加巨噬细胞对凋亡 PMN 的吞噬作用(图 1)。最重要的是,替米考星这一诱导作用并不改变 PMN 的特性,包括细胞的趋化、化学、氧化爆裂、吞噬活性^[7]。总之通过诱导中性粒细胞凋亡,替米考星可以防止白细胞坏死继发引起的严重的组织损伤,具有重要的临床意义(图 2)。

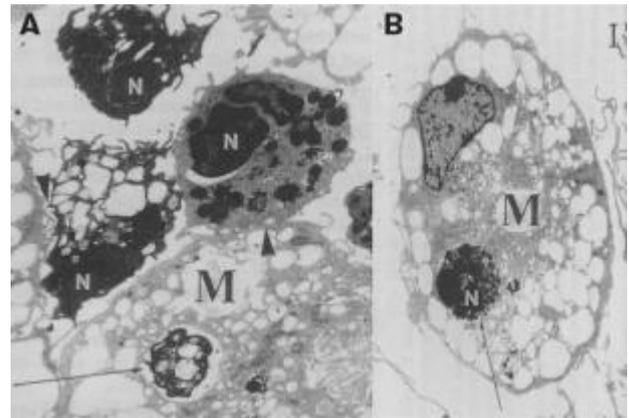


图 1 替米考星诱导中性粒细胞凋亡并增加巨噬细胞的吞噬能力

注:A 和 B 为电子显微镜照片,N 为牛中性粒细胞,M 为巨噬细胞。A 显示与替米考星(0.5 mg/mL)共同培养 2 h 后中性粒细胞开始出现凋亡特征,包括核膜剥离,染色质凝集和细胞质空泡化,同时细胞器完整。B 显示,替米考星增强巨噬细胞对凋亡中性粒细胞的吞噬作用^[9]。

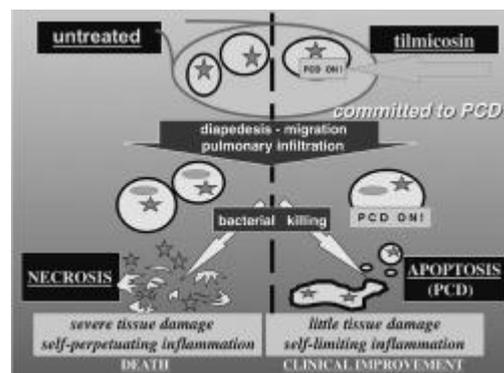


图 2 替米考星促进中性粒细胞凋亡的过程,又称程序性细胞死亡(PCD),以及可能会产生临床获益^[9]

3 调节机体免疫功能,减少炎症反应

免疫反应是机体防御机制中必不可少的部分,但是过度的免疫反应,却会对整个机体的代谢产生负面影响,如过度的炎症反应。炎症和炎性介质在食品动物上产生负面影响包括采食量减少,生长迟缓,繁殖障碍,产奶量降低,以及代谢障碍。所以机体免疫反应正常有序地进行是保持健康的

必要前提。

替米考星在鸡上对免疫的调节表现为降低体液免疫反应,增强细胞免疫反应^[10],却可以从体液免疫和细胞免疫水平调节小鼠的炎症反应^[11]。细胞免疫的增强对于病毒性疾病来说很重要,因为病毒的发病机制在细胞,所以细胞免疫在对抗病毒感染时就显得尤为重要,同时对于病毒性疫苗免疫起积极作用,疫苗免疫的同时加入替米考星可以一定程度提高抗体水平^[10]。替米考星降低了鸡辅助性 T2 细胞 IL-4 的表达量,增加 IFN- γ 的分泌量^[9],其对 IFN- γ 的促释放作用提示其对其它细胞因子的释放同样具有促进作用^[12]。但是在小鼠上替米考星对细胞因子的作用与鸡上稍有差异,高浓度时能降低伴刀豆瓣 A 和 LPS 引起的脾细胞增殖,降低 IL-2、IL-4 和 IFN- γ 的分泌量,减少卵清蛋白诱导炎症大鼠 IgG、IgG1 和 IgG2b 的表达^[11]。Cao 等^[13]利用脂多糖(LPS)诱导的小鼠巨噬细胞和外周血单核细胞,研究了体外替米考星在炎性过程对一氧化氮(NO)、前列腺素 E2(PGE2)和一些 LPS 诱导产生的细胞因子的影响,结果显示 10 mg/mL 和 20 mg/mL 的替米考星能显著降低前列腺环素 F1A(6-Keto-PGF1A, F1A)、PGE(2), NO、TNF,IL-1,IL-6 含量,减少环氧合酶-2(COX-2)和 NO 合成的基因表达,同时增加 IL-10 的表达,从而抑制了 LPS 诱导 NO 和 PGE2 产生的活性。其中 COX-2 活化是强大的炎症介质,IL-10 属于抗炎因子,IL-4 是一个介导体液免疫的重要细胞因子,IFN- γ 是由辅助 T1 细胞分泌的细胞因子,是用来评判细胞免疫的重要因子。以上结果提示替米考星通过调节某些递质和细胞因子的合成来起到抗炎的作用。虽然不同种属间替米考星对于细胞因子的调节不尽相同,但是仍可以推断出其对免疫系统具有正向调节作用。

目前猪场里由各种因素造成的猪群免疫抑制现象普遍存在,而且疾病趋于复杂化、非典型化,替米考星作为动物专用的抗生素,不仅抗菌活性强,而且最新研究显示出的替米考星在抗病毒和提高机体免疫力方面有积极的作用,在杀灭敏感菌的同时还能调动机体免疫,为临床用药带来了新的思路和方法。因此,替米考星在未来控制畜禽疾病中将发挥更重要的作用。

参 考 文 献

- [1] RETUTER R R,CARROLL J A,DAILEY J W,et al. Effctes of dietary energy source and level and injection of timicosin phosphate on immune function in lipopolysaccharide challenged beef steers[J].J.Anim.Sci,2008(86):1963-1976.
- [2] CHIN A C,LEE W D,MURRIN K A,et al.Tilmicosin induces apoptosis in bovine peripheral neutrophils in the presence or in the absence of *Pasteurella haemolytica* and promotes neutrophil phagocytosis by macrophages [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2000(44):2465-2470.
- [3] 张继瑜,王连娣.动物专用抗菌新药替米考星[J].饲料研究,2003(6):36-38.
- [4] SCORNEAUX B,SHRYOCK T R.Intracellular accumulation, subcellular distribution, and efflux of tilmicosin in chicken phagocytes[J].Poult. Sci,1998(77):1510-1521.
- [5] MOLITOR T W,BAUTISTA E,SHIN J,et al.Tilmicosin affects porcine reproductive and respiratory syndrome virus replication [C].LemanSwine Conference.2001:31.
- [6] MISENER M,PARADIS M A,WILLIAMS L.Preliminary evaluation of clinical effects and cost-effectiveness of in-feed Pulmotil (tilmicosin) and serum inoculation in an outbreak of PRRS [C] Proceedings of the 19th IPVS Congress.2006(2):13.
- [7] NERLAND E M,LEBLANC J M,FEDWICK J P,et al.Oral tilmicosin induces leukocyte apoptosis, reduces leukotriene B4, and attenuates inflammation in the actinobacillus pleuropneumoniae- infected porcine lung [J]. Am J Vet Res, 2005(66): 100-107.
- [8] CHIN A,MORCK D W,MERRILL J K,et al. Anti-inflammatory benefits of tilmicosin in calves with *P. haemolytica*-infected lungs[J].Am J Vet Res, 1998,59:765-771.
- [9] ANDRÉ G. BURET.Immuno-modulation and anti-inflammatory benefits of antibiotics:The example of tilmicosin [J]. The Canadian Journal of Veterinary Research,2010(74):1-10.
- [10] KHALIFEH M S,AMAWI M M,ABU-BASHA E A,et al. Assessment of humoral and cellular-mediated immune response in chickens treated with tilmicosin, florfenicol, or enrofloxacin at the time of Newcastle disease vaccination [J]. Poultry Science, 2009(88):2118-2124.
- [11] GUAN S,SONG Y,GUO W,et al. Immunosuppressive activity of tilmicosin on the immune responses in mice[J]. Immunopharmacol Immunotoxicol,2011 Jun,33(2):323-328.
- [12] DALHOFF A,SHALIT I. Immunomodulatory effects of quinolones [J].Lancet Infect Dis, 2003(3):359-371.
- [13] CAO X Y,DONG M,SHEN J Z,et al. Tilmicosin and tylosin have anti-inflammatory properties via modulation of COX-2 and iNOS gene expression and production of cytokines in LPS-induced macrophages and monocytes[J].Int J Antimicrob Ag,2006(27):431-438.