

网络出版时间: 2019-9-19 10:05 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.r.20190917.1059.024.html>

◇预防医学研究◇

IL-33 和 IFN- γ 在聚肌胞苷酸加重三氯乙烯致敏小鼠肝损伤中的表达

代玉莹¹, 张澄², 陈双平¹, 黄丽萍¹, 徐琼影¹, 王峰³, 谢海波¹, 张家祥¹, 朱启星^{1,3}

摘要 目的 观察三氯乙烯(TCE)致敏小鼠肝脏中白细胞介素-33(IL-33)和干扰素- γ (IFN- γ)的蛋白表达水平,探讨IL-33和IFN- γ 在聚肌胞苷酸[Poly:(I:C)]加重三氯乙烯致敏小鼠肝损伤中的作用。方法 6~8周雌性BALB/c小鼠随机分为空白对照组(5只)、溶剂对照组(5只)、TCE处理组(20只)和TCE+Poly:(I:C)联合处理组(20只),建立TCE致敏模型。Poly:(I:C)联合处理组小鼠于末次TCE激发前3h腹腔注射100 μ l质量浓度为0.5 g/L的Poly:(I:C)。根据皮肤致敏结果分为TCE致敏阳性组、TCE致敏阴性组、Poly:(I:C)联合处理阳性组和Poly:(I:C)联合处理阴性组,于末次激发后48h采用比色法检测小鼠血清天门冬氨酸氨基转移酶(AST)水平,HE染色观察肝脏组织病理学改变情况,免疫组化和Western blot检测肝脏组织中IL-33和IFN- γ 表达水平。结果 TCE组与Poly:(I:C)联合处理组小鼠致敏率分别为40.0%(8/20)和35.0%(7/20),两者比较差异无统计学意义($P>0.05$)。病理学检测发现TCE致敏阳性组小鼠可见明显肝细胞水肿,Poly:(I:C)联合处理阳性组小鼠肝组织出现大面积细胞空泡样变性,且细胞质出现疏松化状态。TCE致敏阳性组小鼠血清AST活力分别高于空白对照组、溶剂对照组和TCE致敏阴性组($P<0.05$)。Poly:(I:C)联合处理阳性组小鼠血清AST活力高于TCE致敏阳性组($P<0.05$)。TCE致敏阳性组小鼠肝组织中IL-33和IFN- γ 的表达水平均高于空白对照组、溶剂对照组和TCE致敏阴性组($P<0.05$)。Poly:(I:C)联合处理阳性组小鼠肝组织中IL-33和IFN- γ 的表达水平高于TCE致敏阳性组($P<0.05$)。TCE致敏阳性组小鼠肝组织中IL-33和IFN- γ 的蛋白相对表达水平均高于空白对照组、溶剂对照组和TCE致敏阴性组($P<0.05$)。Poly:(I:C)联合处理阳性组小鼠肝组织中IL-33和IFN- γ 的蛋白表达水平高于TCE致敏阳性组

($P<0.05$)。结论 IL-33和IFN- γ 参与TCE致敏所致肝损伤,并可能在Poly:(I:C)加重三氯乙烯致敏小鼠肝损伤中发挥重要作用。

关键词 三氯乙烯;聚肌胞苷酸;白介素-33;干扰素- γ ;肝脏损伤

中图分类号 R 135.7

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2019)11-1780-06

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2019.11.024

三氯乙烯(trichloroethylene,TCE)是五金、电子和电镀等工业上广泛应用的干洗剂和除脂剂。在职业环境中,工人主要通过呼吸道和皮肤等途径暴露于TCE,而接触TCE一段时间后其造成的职业危害不可忽视。部分接触TCE的工人会出现职业性三氯乙烯药疹样皮炎(occupational dermatitis medicamentosa-like of trichloroethylene,ODMLT),主要表现为皮肤出现大量皮疹,并常伴发肝脏和肾脏损伤。临床观察ODMLT患者早期除了明显的皮肤症状外,常出现如发烧和头痛等类似病毒性感染的症状^[1]。此外已有研究^[2-3]提出在存在肝脏损伤的ODMLT患者中出现疱疹病毒和巨细胞病毒再次激活的现象,且患者血清中抗病毒抗体滴度显著升高,验证了ODMLT与病毒感染密切相关。前期课题组研究^[4]表明Poly:(I:C)会加重TCE致敏小鼠诱导的肝脏损伤。白细胞介素-33(interleukin-33,IL-33)和干扰素- γ (interferon- γ ,IFN- γ)是重要的炎症因子,研究发现两者在内脏利什曼病导致的肝脏损伤、刀豆蛋白A(ConA)诱导的肝脏损伤、病毒性肝炎等多种疾病中均起到重要作用^[5-7],但其在Poly:(I:C)加重TCE致敏小鼠肝损伤中的作用是未知的,本研究基于前期课题组TCE致敏小鼠模型,通过腹腔注射聚肌胞苷酸Poly:(I:C)模拟临床ODMLT患者早期病毒感染情况,观察Poly:(I:C)加重TCE致敏小鼠免疫性肝损伤过程中IL-33和IFN- γ 的表达水平,为阐明Poly:(I:C)加重TCE致敏小鼠肝损伤机制提供基础资料,为最终防治TCE的危害提供

2019-07-12 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81874259、81673141、81502791)

作者单位:¹安徽医科大学公共卫生学院职业卫生与环境卫生学系,合肥 230032

²安徽省肿瘤防治所,合肥 230032

³安徽医科大学第一附属医院皮肤病研究所,合肥 230022

作者简介:代玉莹,女,硕士研究生;

朱启星,男,教授,博士生导师,责任作者,E-mail: zqxing@yeah.net

新思路。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器

1.1.1 主要试剂 TCE、弗氏完全佐剂、丙酮、橄榄油(美国 Sigma 公司)。封闭用正常山羊血清、通用型生物素标记二抗、辣根酶标记链霉卵白素、DAB 试剂盒(北京中杉金桥公司); Western 裂解液、PMSF、BCA 蛋白定量试剂盒、SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液(上海碧云天生物公司); 天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST) 检测试剂盒(南京建成生物工程研究所); ECL 发光液(美国 Thermo Fisher Science 生物公司); 兔来源多克隆 IFN- γ 抗体和兔来源 IL-33 多克隆抗体(美国 Affinity Biosciences 生物公司); 体积分数为 50.0% TCE 溶液制备: TCE : 橄榄油 : 丙酮 = 5 : 3 : 2 (V/V/V); 体积分数为 30.0% TCE 溶液制备: TCE : 橄榄油 : 丙酮 = 3 : 2 : 5 (V/V/V)。

1.1.2 主要仪器 LD5-2A 低速离心机(北京雷勃尔离心机有限公司); Universal 320/320R 低温高速离心机(德国 Hettich 公司); u Quant 酶标仪(美国 Bio-Tek 公司); 翘板摇床(美国 SCILOGEX 公司); 电热恒温培养箱(上海三发科学仪器有限公司); 组织脱水机、石蜡包埋机、石蜡切片机、抗原修复用微波炉(由安徽医科大学第一附属医院中心实验室提供); Tanon EPS 300 电泳仪、VE-180 垂直电泳槽、VE-186 转移电泳槽、Fine-do X6 全自动化学发光图像分析系统(上海天能科技有限公司); 制冰机(宁波格兰特制冷设备有限公司)。

1.2 实验动物与分组 雌性 6~8 周 BALB/c 小鼠($n=50$) SPF 级, 16~18 g 购自安徽省实验动物中心。饲养于恒温(20~25℃)、恒湿(50%±5%)环境中, 自由取水取食, 维持 12 h/12 h 黑夜/白昼生物循环。适应性饲养 1 周后随机分为空白对照组、溶剂对照组、TCE 处理组、TCE + Poly: (I:C) 联合处理组。TCE 小鼠致敏模型的建立参考本课题组前期研究^[8]结果。本次研究中选择于末次激发前 3 h 腹腔注射 100 μ l 质量浓度为 0.5 g/L 的 Poly: (I:C)。TCE 处理组($n=20$)和溶剂对照组($n=5$)则在末次激发前 3 h 腹腔注射 100 μ l 生理盐水, 在第 21 天取眼球血, 然后麻醉、处死小鼠无菌取肝脏。

1.3 皮肤致敏反应视觉评分 于末次激发 24 h 后, 根据皮肤的反应结果对其进行评分: 无反应(0 分), 散在或小块红斑(1 分), 中度弥漫性红斑伴轻

微水肿(2 分), 严重红斑水肿(3 分)^[8]; 以小鼠背部评分结果 ≥ 1 为致敏阳性组, 0 分为致敏阴性。根据具体评分结果将 TCE 组分为 TCE 致敏阳性组和 TCE 致敏阴性组, 将 Poly: (I:C) 联合处理组分为联合处理阳性组和联合处理阴性组。

1.4 标本采集 本课题组前期研究^[4]发现, 小鼠与末次激发 48 h 后致敏反应达到高峰, 所以本研究于末次激发 48 h 后, 使用眼球取血法收集小鼠眼球血于微量离心管中, 然后无菌取小鼠肝脏, 取每只小鼠同一部位的一小块肝脏置于 4% 多聚甲醛溶液中固定, 用于观察小鼠肝脏组织病理学改变和小鼠相关指标检测, 剩下的肝脏用于提取蛋白进行相关指标相对蛋白水平检测。

1.5 血清 AST 活力测定 将 1.4 收集的眼球血在室温下静置 2 h 后, 4℃、12 000 r/min 离心 10 min 后, 取适量上清液, 按照 AST 检测试剂盒说明书步骤, 用全自动生化分析仪进行 AST 活力测定。

1.6 小鼠肝脏病理学检查 取新鲜肝脏组织固定于 4% 多聚甲醛, 石蜡包埋制备组织蜡块, 连续切片, 常规 HE 染色, 显微镜观察组织病理学改变。

1.7 免疫组化检测肝脏中 IL-33 和 IFN- γ 沉积 取新鲜肝脏组织固定于 4% 多聚甲醛, 石蜡包埋制备组织蜡块。切片后常规脱蜡水化, 双氧水消除内源性过氧化物酶, 枸橼酸钠抗原修复, 正常山羊血清封闭, 滴加一抗, 4℃过夜, 第 2 天取出洗净后滴加二抗, PBS 充分冲洗后 DAB 显色, 苏木精复染, 干燥, 封片, 观察并随机选取 10 个视野拍照。

1.8 Western blot 检测 IL-33、IFN- γ 蛋白表达水平 加入来自肝脏样品的等量(20 μ g)蛋白质提取物, 并使用(5%+12.5%)和(5%+15%)丙烯酰胺梯度通过 SDS-PAGE 分离。然后, 将蛋白质转移到增强的硝酸纤维素膜上, 并在室温下在 Dulbecco PBS(DPBS)中的 5% 脱脂奶粉中封闭 2 h。将膜与针对 IL-33(1:3 000)、IFN- γ (1:1 500)和 β -actin(1:1 000)的抗体一起温育。第 2 天, 将膜在含有 0.05% Tween-20 的 DPBS 中洗涤 3 次, 并用 DPBS 洗涤 1 次, 每次洗涤持续 10 min, 然后与山羊抗兔 IgG 抗体(1:100 000)一起温育 2 h。将膜在含有 0.05% Tween-20 的 DPBS 中洗涤 3 次, 在 DPBS 中洗涤 1 次, 每次 10 min; 使用 Pierce 的增强化学发光(ECL)检测试剂盒进行显影, 最后通过 Image-Pro Plus software 6.0 软件分析光密度。

1.9 统计学处理 录入数据至 Excel 表格中, 采用 SPSS 23.0 统计软件进行分析, 皮肤致敏率采用

Fisher 确切概率法进行比较,符合正态分布的资料用单因素方差分析(ANOVA)进行多组间的比较,组间均数两两比较用LSD法,分析前进行方差齐性检验,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,检验水准为 $\alpha = 0.05$ (双侧)。

2 结果

2.1 一般情况 实验期间各组小鼠一般情况良好,未出现个体因TCE染毒而死亡,空白对照组和溶剂对照组小鼠没有出现明显皮肤病变。小鼠单纯TCE处理组致敏率为40.0%,Poly:(I:C)联合处理组致敏率为35.0%,较TCE处理组致敏率无统计学差异($P > 0.05$)。具体评分情况见表1。

表1 各组小鼠背部皮肤致敏评分情况

组别	动物数 量(只)	不同评分动物数				致敏率 (%)
		0分	1分	2分	3分	
空白对照组	5	0	0	0	0	0.0
溶剂对照组	5	0	0	0	0	0.0
TCE处理组	20	12	7	1	0	40.0
联合处理组	20	13	6	0	1	35.0

2.2 血清AST活力 TCE致敏阳性组小鼠血清AST活力分别高于空白对照组、溶剂对照组和TCE致敏阴性组($P < 0.05$)。Poly:(I:C)联合处理阳性组小鼠血清AST活力高于TCE致敏阳性组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.3 肝脏病理学 HE染色结果显示,空白对照组、溶剂对照组和所有致敏阴性组小鼠肝细胞未见明显异常。TCE致敏阳性组小鼠可见明显肝细胞水肿,而Poly:(I:C)联合处理阳性组小鼠肝组织出现大面积细胞空泡样变性,且细胞质出现疏松化状态。见图1。

2.4 免疫组化检测IL-33和IFN- γ 表达 空白对照组、溶剂对照组和致敏阴性组小鼠肝脏组织中IL-33和IFN- γ 均未见明显表达,TCE致敏阳性组和联

合处理阳性组小鼠肝脏组织中可见IL-33和IFN- γ 的大量沉积,见图2、3;与空白对照组、溶剂对照组和致敏阴性组小鼠相比,TCE致敏阳性组和联合处理阳性组小鼠IL-33和IFN- γ 表达明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);与TCE致敏阳性组相比,Poly:(I:C)联合处理阳性组小鼠IL-33和IFN- γ 表达量显著增加,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

2.5 Western blot检测IL-33、IFN- γ 蛋白表达

TCE致敏阳性组小鼠肝脏组织IL-33和IFN- γ 的蛋白相对表达水平均高于空白对照组、溶剂对照组和致敏阴性组,联合处理阳性组小鼠IL-33和IFN- γ 的蛋白相对表达水平均高于空白对照组、溶剂对照组和致敏阳性组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图4。

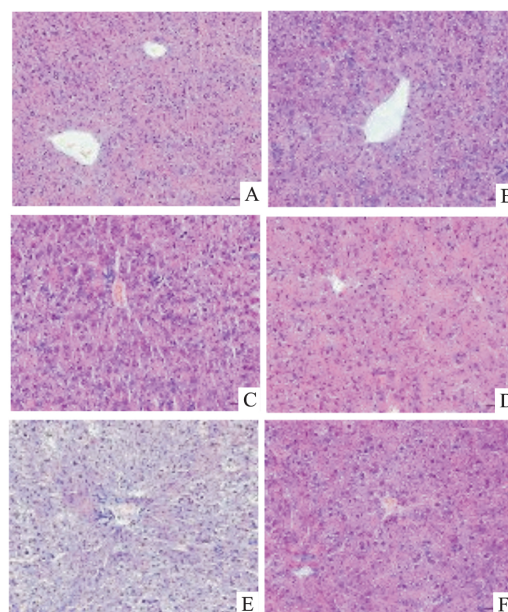


图1 各组小鼠肝脏病理学改变情况 HE染色 $\times 400$

A: 空白对照组; B: 溶剂对照组; C: TCE致敏阳性组; D: TCE致敏阴性组; E: 联合处理阳性组; F: 联合处理阴性组

表2 各组小鼠肝脏组织中IL-33和IFN- γ 组化评分比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	AST(U/L)	免疫组化法(IOD)	
			IL-33	IFN- γ
空白对照组	5	108.334 $\pm$ 5.512	0.056 $\pm$ 0.026	0.070 $\pm$ 0.044
溶剂对照组	5	109.723 $\pm$ 6.698	0.012 $\pm$ 0.010	0.017 $\pm$ 0.018
TCE致敏阳性组	8	140.573 $\pm$ 8.045 ^{#*} Δ	1.762 $\pm$ 0.033 ^{**} Δ	0.411 $\pm$ 0.019 ^{**} Δ
TCE致敏阴性组	12	110.024 $\pm$ 6.786	0.036 $\pm$ 0.063	0.036 $\pm$ 0.038
联合处理阳性组	7	278.371 $\pm$ 15.379 ^{**} $\Delta \nabla$	4.735 $\pm$ 0.065 ^{**} $\Delta \nabla$	0.967 $\pm$ 0.055 ^{**} $\Delta \nabla$
联合处理阴性组	13	105.462 $\pm$ 12.934	0.036 $\pm$ 0.063	0.025 $\pm$ 0.034
F值		1 073.834	4 172.731	105.216

与空白对照组比较: [#] $P < 0.05$; 与溶剂对照组比较: ^{*} $P < 0.05$; 与TCE致敏阴性组比较: $P < 0.05$; 与联合处理阴性组比较: $\Delta P < 0.05$; 与TCE致敏阳性组相比: $\nabla P < 0.05$

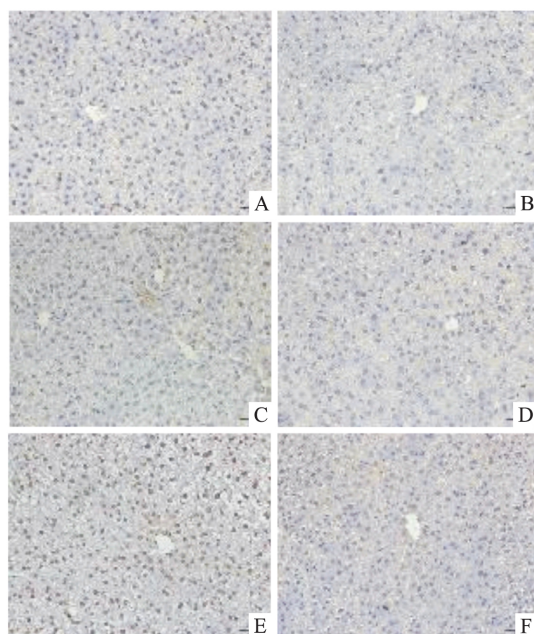


图2 小鼠肝脏中 IL-33 表达水平 DAB 染色 $\times 400$

A: 空白对照组; B: 溶剂对照组; C: TCE 致敏阳性组; D: TCE 致敏阴性组; E: 联合处理阳性组; F: 联合处理阴性组

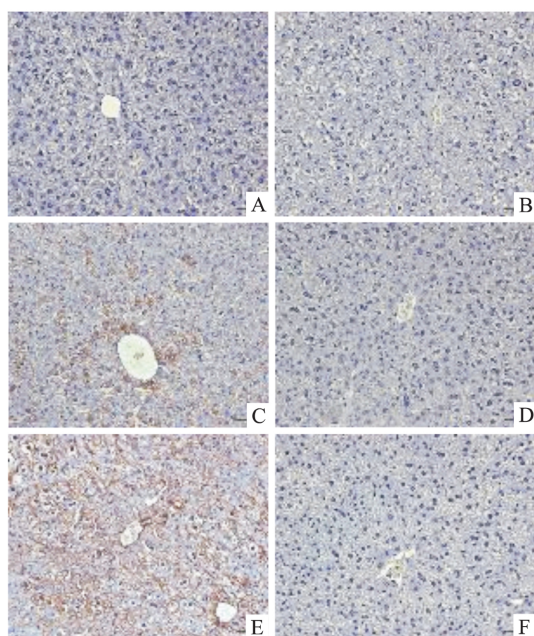


图3 各组小鼠肝脏中 IFN- γ 表达水平 DAB 染色 $\times 400$

A: 空白对照组; B: 溶剂对照组; C: TCE 致敏阳性组; D: TCE 致敏阴性组; E: 联合处理阳性组; F: 联合处理阴性组

3 讨论

TCE 在工业生产中广泛应用,且其用量有逐渐上升的趋势。据报道我国 TCE 的大量使用主要集中在广东沿海地区,近十余年内发现由 TCE 所致疾病的患者约达数百例,其临床主要表现为皮肤炎症和

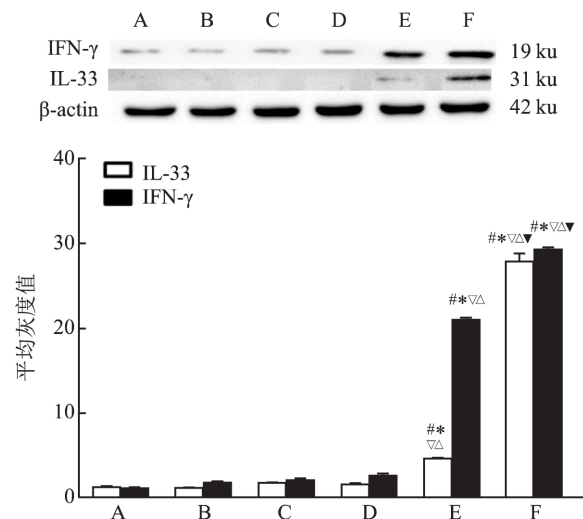


图4 各组小鼠肝脏组织中 IL-33 和 IFN- γ 蛋白含量变化

A: 空白对照组; B: 溶剂对照组; C: TCE 致敏阴性组; D: 联合处理阴性组; E: TCE 致敏阳性组; F: 联合处理阳性组; 与空白对照组比较: [#] $P < 0.05$; 与溶剂对照组比较: ^{*} $P < 0.05$; 与 TCE 致敏阴性组比较: $P < 0.05$; 与联合处理阴性组比较: [∇] $P < 0.05$; 与 TCE 致敏阳性组比较: ^{∇Δ} $P < 0.05$

肝脏损伤,严重者可导致死亡。临床观察表明,ODMLT 患者在早期阶段经常发生病毒感染的症状,如发热和头痛^[1],这提示患者前期可能发生病毒感染,而病毒感染极有可能是 ODMLT 患者发病过程中的一个危险因素。Poly: (I: C) 在结构上类似于病毒双链 RNA,能够模仿系统性病毒感染,是一种常用的病毒模拟物,如其可用于建立病毒性肝炎和孕期病毒感染模型,也用于处理各种细胞如巨噬细胞和卫星细胞来达到病毒感染细胞的目的,同时研究显示 Poly: (I: C) 一般在早期攻击患者,因此在本研究中,通过 Poly: (I: C) + TCE 联合处理小鼠模拟 ODMLT 患者早期出现的病毒感染状况。本实验结果显示,TCE 组和 Poly: (I: C) 联合处理组小鼠致敏率相比差异无统计学意义 ($P > 0.05$),显示 Poly: (I: C) 并不能够增加小鼠皮肤致敏反应,提高致敏率。通过 HE 染色观察到,TCE 致敏阳性组小鼠肝组织部分出现细胞水肿,而 Poly: (I: C) 联合处理阳性组小鼠肝组织出现大面积细胞空泡样变性,细胞质出现疏松化状态,同时,与空白对照组、溶剂对照组和 TCE 致敏阴性组相比,TCE 致敏阳性组小鼠血清 AST 活力明显升高 ($P < 0.05$),且 Poly: (I: C) 联合处理阳性组小鼠血清 AST 活力高于 TCE 致敏阳性组 ($P < 0.05$),提示 Poly: (I: C) 联合处理阳性组小鼠较 TCE 致敏阳性组小鼠肝脏损伤明显加重。

前期课题组^[4]研究显示 Poly: (I: C) 可以通过

上调补体 C3a、B 因子水平促进补体激活从而加重 TCE 致敏小鼠诱导的肝脏损伤,这表明补体激活在病毒感染加重 TCE 致敏小鼠肝脏损伤中发挥重要作用。最近研究^[9]发现,C3a 可以调节 2 型先天淋巴细胞(ILC2)的募集引起白细胞介素(IL)-33 的异常分泌从而影响过敏反应的进程。C3a 和 CD46 的自分泌活化是 T 细胞分泌 IFN- γ 的必要要求,C3a 的生成降低会导致 IFN- γ 分泌水平下降。IL-33 是一种最近发现的 IL-1 家族的多效性细胞因子,通过其受体 ST2R 的信号传导刺激免疫细胞产生促炎症细胞因子,在 2 型、1 型和调节性免疫应答中具有多效活性。大量临床流行病学观察显示,在慢性、重症酒精性和病毒性肝炎患者血清中存在明显的 IL-33 水平的升高,提示 IL-33 可能参与肝脏炎症病理发展的进程。同时有研究^[10]发现 IL-33 在致病性小鼠肝炎病毒(L2-MHV3)或 Poly:(I:C)诱导的小鼠肝炎模型肝细胞中表达升高,且感染 L2-MHV3 诱导爆发性肝炎与上调表达的 IL-33 和肝脏中促炎细胞因子升高有关。Antunes et al^[11]研究同样发现肝脏免疫细胞中的 IL-33 信号传导增强了由药物诱导的肝脏损伤和炎症。本研究结果显示,TCE 致敏阳性组和 Poly:(I:C)联合处理阳性组小鼠肝脏组织 IL-33 表达水平显著高于空白对照组、溶剂对照组和致敏阴性组,且 IL-33 蛋白相对表达水平分别高于空白对照组、溶剂对照组和致敏阴性组($P < 0.05$),与以上研究结果相一致。

此外有研究^[6]显示,阻断 IL-33 可以通过降低 NKT 细胞分泌 IFN- γ 改善 ConA 诱导的肝脏损伤,同时研究显示 IL-33 高诱导 IFN- γ 和 IL-12 与内脏利什曼病导致肝脏损伤的进程有关^[5],Liang et al^[12]也强调了 IL-33 在病毒性肝炎期间调节先天性 IFN- γ 产生和树突状细胞功能方面具有重要作用。以上研究结果显示在肝脏损伤过程中 IFN- γ 可能是 IL-33 的一个下游效应分子。IFN- γ 是在 Th1 介导的免疫应答期间由 T 细胞和 NK 细胞产生分泌的 II 型干扰素。已知这种细胞因子在许多疾病中起作用包括肝硬化、分枝杆菌感染和丙型肝炎等^[13]。本课题组前期研究^[14-15]显示 TCE 致敏阳性组小鼠肾脏、脾脏和外周血中 IFN- γ 都有明显升高。本研究中实验结果同样显示,TCE 致敏阳性组和 Poly:(I:C)联合处理阳性组小鼠肝脏组织 IFN- γ 表达水平显著高于空白对照组、溶剂对照组和致敏阴性组,且 IFN- γ 蛋白相对表达水平分别高于空白对照组、溶剂对照组和致敏阴性组($P < 0.05$)。此外,与 TCE

致敏阳性组相比,Poly:(I:C)联合处理阳性组小鼠 IL-33 和 IFN- γ 表达水平更高($P < 0.05$),提示病毒感染可能与 ODMLT 导致的免疫性肝脏损伤病程的发生发展有关,IL-33 和 IFN- γ 在 Poly:(I:C)加重 TCE 致敏小鼠免疫性肝脏损伤过程中可能发挥了一定的作用,但在 Poly:(I:C)加重 TCE 致敏小鼠肝脏损伤中 IL-33 与 IFN- γ 之间的关系以及其如何发挥作用还需要进行进一步探讨。

参考文献

- [1] 林大枫,王佃鹏,刘慧敏,等. 三氯乙烯药疹样皮炎与人疱疹病毒 6 型、人巨细胞病毒感染关联[J]. 中国职业医学,2018,45(6): 686-90.
- [2] Kamijima M, Wang H, Yamanoshita O, et al. Occupational trichloroethylene hypersensitivity syndrome: human herpesvirus 6 reactivation and rash phenotypes[J]. J Dermatol Sci, 2013, 72(3): 218-24.
- [3] Watanabe H, Tohyama M, Kamijima M, et al. Occupational trichloroethylene hypersensitivity syndrome with human herpesvirus-6 and cytomegalovirus reactivation[J]. Dermatology, 2010, 221(1): 17-22.
- [4] Zhang C, Yu Y, Yu J F, et al. Viral mimic polyinosine-polycytidylic acid potentiates liver injury in trichloroethylene-sensitized mice-viral-chemical interaction as a novel mechanism[J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2018, 155: 101-8.
- [5] Rostan O, Gangneux J P, Piquet-Pellorce C, et al. The IL-33/ST2 axis is associated with human visceral leishmaniasis and suppresses Th1 responses in the livers of BALB/c mice infected with Leishmania donovani[J]. MBio, 2013, 4(5): e00383-13.
- [6] Chen J, Duan L, Xiong A, et al. Blockade of IL-33 ameliorates Con A-induced hepatic injury by reducing NKT cell activation and IFN- γ production in mice[J]. J Mol Med (Berl), 2012, 90(12): 1505-15.
- [7] Carriere V, Arshad M I, Le Seyec J, et al. Endogenous IL-33 deficiency exacerbates liver injury and increases hepatic influx of neutrophils in acute murine viral hepatitis[J]. Mediators Inflamm, 2017, 2017: 1359064.
- [8] Wang H, Zhang J X, Li S L, et al. An animal model of trichloroethylene-induced skin sensitization in BALB/c mice[J]. Int J Toxicol, 2015, 34(5): 442-53.
- [9] Gour N, Smole U, Yong H M, et al. C3a is required for ILC2 function in allergic airway inflammation[J]. Mucosal Immunol, 2018, 11(6): 1653-62.
- [10] Arshad M I, Patrat-Delon S, Piquet-Pellorce C, et al. Pathogenic mouse hepatitis virus or poly(I:C) induce IL-33 in hepatocytes in murine models of hepatitis[J]. PLoS One, 2013, 8(9): e74278.
- [11] Antunes M M, Araujo A M, Diniz A B, et al. IL-33 signalling in liver immune cells enhances drug-induced liver injury and inflammation[J]. Inflamm Res, 2018, 67(1): 77-88.
- [12] Liang Y, Jie Z, Hou L, et al. IL-33 promotes innate IFN- γ

- production and modulates dendritic cell response in LCMV-induced hepatitis in mice [J]. *Eur J Immunol*, 2015, 45(11): 3052 – 63.
- [13] Morales-Mantilla D E, King K Y. The role of interferon-gamma in hematopoietic stem cell development, homeostasis, and disease [J]. *Curr Stem Cell Rep*, 2018, 4(3): 264 – 71.
- [14] 李树龙, 俞 韵, 王 慧, 等. 经水摄入三氯乙烯对 BALB/c 小鼠干扰素- γ 和白细胞介素-4 的影响 [J]. *中国科技论文*, 2014, 9(9): 1049 – 51, 56.
- [15] Zhang J X, Zha W S, Ye L P, et al. Complement C5a-C5aR interaction enhances MAPK signaling pathway activities to mediate renal injury in trichloroethylene sensitized BALB/c mice [J]. *J Appl Toxicol*, 2016, 36(2): 271 – 84.

Expression of IL – 33 and IFN – γ in live injury sensitized – mice by trichloroethylene and aggravated by Poly: (I: C)

Dai Yuying¹, Zhang Cheng², Chen Shuangping¹, et al

(¹Dept of Occupational and Environmental Health, School of Public Health, Anhui Medical University, Hefei 230032; ²Anhui Provincial Cancer Institute, Hefei 230032)

Abstract Objective To observe expression of interleukin-33 (IL-33) and interferon- γ (IFN- γ) protein in mice liver by trichloroethylene (TCE) –sensitized, and to explore the role of IL-33 and IFN- γ in polyinosinic: polycytidylic acid [Poly: (I: C)] exacerbated TCE-sensitized mouse liver injury. **Methods** Female BALB/c mice were randomly divided into blank control group ($n=5$), solvent control group ($n=5$), TCE treatment group ($n=20$) and TCE + Poly: (I: C) combined treatment group ($n=20$). A TCE-sensitized model was established. Mice in the combination group of Poly: (I: C) were intraperitoneal injected with a mass concentration of 0.5 g/L Poly: (I: C) , 100 μ l before 3 hours of the last TCE stimulation. After the last stimulation, mice were divided into TCE sensitization positive group, TCE sensitization negative group, Poly: (I: C) combined treatment positive group and Poly: (I: C) combined treatment negative group by skin sensitization response scores. After the last stimulation of 48 h, serum AST was detected by colorimetric method. The histopathological changes of mouse liver were observed by HE staining, and the expression levels of IL-33 and IFN- γ in liver tissues were detected by immunohistochemistry and Western blot. **Results** The sensitization rates of mice in the TCE group and the combination of Poly: (I: C) were 40.0% (8/20) and 35.0% (7/20), respectively. There was no significant difference between the two groups ($P>0.05$). Pathological examination showed that cell edema appeared in the liver tissue of TCE sensitization positive group mice, while large cell vacuolar degeneration occurred in the liver tissue of the mice treated with Poly: (I: C) combined treatment, and the cytoplasm was loose. The serum aspartate aminotransferase (AST) activity of TCE sensitization positive group was higher than that of blank control group, solvent control group and TCE sensitization negative group ($P<0.05$). The serum AST activity of Poly: (I: C) combination positive control group was higher than TCE sensitization positive group ($P<0.05$). The expression levels of IL-33 and IFN- γ in liver tissue of TCE sensitization positive group mice were higher than those in blank control group, solvent control group and TCE sensitization negative group ($P<0.05$). The expression levels of IL-33 and IFN- γ in the liver tissue of the Poly: (I: C) combination positive control group were higher than those in the TCE sensitization negative group ($P<0.05$). The relative protein expression levels of IL-33 and IFN- γ in liver tissue of TCE sensitization positive mice were higher than those in blank control group, solvent control group and TCE sensitization negative group ($P<0.05$). However, these index in Poly: (I: C) sensitization positive group were higher than that of TCE sensitization positive group ($P<0.05$). **Conclusion** IL-33 and IFN- γ may play an important role in TCE-sensitized immunological liver injury and Poly: (I: C) exacerbated TCE-sensitized mouse.

Key words trichloroethylene; Poly: (I: C); IL-33; IFN- γ ; liver injury