

文章编号:1000-7423(2000)-03-0132-03

日本血吸虫病流行区人群特异抗原诱导 IFN- γ 的应答特征*

沈蕾¹ 吴海玮¹ 张兆松¹ Rosemary E. Weir² 谢彰武³
胡林生³ 陈淑贞¹ Martin G. Taylor² 吴观陵¹

(1 南京医科大学分子免疫寄生虫学研究室,南京 210029;
2 伦敦大学伦敦卫生与热带医学学院,伦敦;
3 江西省寄生虫病研究所流行病学研究室,南昌 330046)

摘要 [目的] 观察日本血吸虫病流行区人群血吸虫抗原 IFN- γ 的应答特征。[方法] 选择江西省鄱阳湖中的南山岛上三个毗邻的自然村作为观察试区,根据粪检结果对 14~41 岁人群按年龄组随机抽样,选取粪检结果阴性的 65 人、粪检阳性的 64 人为研究对象。采用全血培养法,检测培养上清中血吸虫抗原特异性的 IFN- γ 水平,并检测血清中特异性抗体水平。[结果] 化疗后,人群 IFN- γ 诱导水平较化疗前显著升高,未再感染组 SEA 特异的 IFN- γ 水平显著高于再感染组,SEA 特异的 IFN- γ 水平与抗 SEA 的 IgG4 抗体水平之间呈显著负相关。[结论] 本研究结果提示 IFN- γ 水平与对再感染的抗力有关。

关键词: 日本血吸虫病,再感染,IFN- γ

中图分类号:R532.210.3

文献标识码:A

人群血吸虫病的免疫流行病学研究及实验性血吸虫病的免疫学研究证实,人体存在年龄相关的对再感染的获得性免疫力,血吸虫抗原特异性的 IgE 和嗜酸性粒细胞被认为是保护性免疫力的关键因素,也是细胞免疫应答的一个重要标志,其水平受一系列 Th1/Th2 型细胞因子的调节^[1]。近年来,国外在曼氏、埃及血吸虫病流行区对人群血吸虫抗原特异性的细胞因子免疫应答特征进行了大量研究,发现 Th1 优势分泌的细胞因子 IFN- γ 可能与对再感染的抗力相关,其机制可能是通过增强血小板膜表面的 IgE 受体表达,从而使 IgE 依赖的血小板介导的 ADCC 作用增强,提高杀虫效应^[2];此外,IFN- γ 还可诱导大量参与杀虫效应机制的分子编码基因的表达,如可诱导一氧化氮合酶、肿瘤坏死因子 α 以及某些趋化因子等^[3]。而目前对日本血吸虫病的相关研究刚刚起步。本文报道日本血吸虫病流行区人群血吸虫抗原诱导 IFN- γ 的免疫应答特征,以探讨 IFN- γ 在获得性免疫力产生机理中的意义。

材料与方 法

1 试区现场概况

研究现场为江西省新建县鄱阳湖中的南山岛上邱家、陈家、山西三个毗邻的自然村,感染高峰季节为 7~9 月份。1997 年调查,草洲活钉螺密度为 2.10 只/0.11m²,钉螺感染率为 0.36%。当地居民为半农半渔的生产劳动方式,捕鱼、拾田螺、游泳、洗衣、戏

水依次为主要的接触疫水方式。

2 研究对象

于 1998 年 2 月对试区 14~41 岁有血吸虫感染史的人群进行三送九检 Kato-Katz 法粪检,选取 129 人作为研究对象,其中包括粪检虫卵阴性的 65 人、粪检虫卵阳性的 64 人,进行采血及吡喹酮 50 mg/kg 口服治疗。化疗后 45 d 对服药者进行再次粪检并采血,将其中粪检阴性的 93 人定为暴露程度及再感染观察组。经过一个感染季节后,于 1998 年 12 月对观察组人群进行粪检以确定再感染情况:再感染者 14 人,未再感染 79 人。

3 寄生虫学检查

采用改良加藤法对研究对象进行三送九检。

4 接触疫水的调查

详见参考文献 4。

5 IFN- γ 水平的检测

详见参考文献 5。

6 抗体同型检测

确定最适抗原包板浓度、待测血清最佳稀释度、孵育条件和酶标抗体的最适条件。采用光密度值法表示抗体水平。每份血样在不同酶标板上分别测两次,按公式:ODST = (1/OD₁ - 1/OD₂) / (1/OD₁ - 1/OD₂) 校正板间误差,求出平均值,即为标准化的抗体水平^[4]。

* 欧共体资助项目(项目编号:IC 18-CT97-0243)

7 统计学分析

各项统计分析均借助于 SAS 统计分析软件进行。

结 果

1 治疗前后血吸虫抗原诱导的 IFN- γ 应答情况

治疗前对 SEA 刺激不产生 IFN- γ 应答的个体占总人数的 73.1%，对 SWAP 无应答个体百分率为 77.4%，治疗后对 SEA 和 SWAP 无应答百分率分别降至 31.2%和 29.0%。从表 1 和图 1 可见，特异性 IFN- γ 水平在治疗后较治疗前显著升高。

表 1 化疗前后 IFN- γ 诱生水平的比较
Table 1 Comparison of antigen-specific IFN- γ levels before and after treatment

变量 Variable	IFN- γ 水平 (ng/l) IFN- γ level (ng/l)				P
	化疗前 Before treatment		治疗后 After treatment		
	$\bar{X} \pm SE$	$\bar{X} \pm SE$	$\bar{X} \pm SE$	$\bar{X} \pm SE$	
SEA 特异的 IFN- γ SEA-specific IFN- γ	32.84	7.55	180.15	45.25	<0.01
SWAP 特异的 IFN- γ SWAP-specific IFN- γ	23.00	6.57	153.74	44.90	<0.01

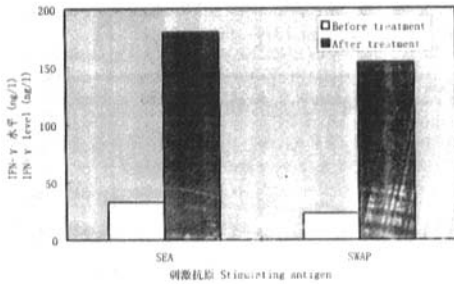


图 1 治疗前后 IFN- γ 诱生水平的比较
Fig. 1 Comparison of antigen-specific IFN- γ levels induced before and after treatment

2 IFN- γ 水平与同型限制性抗体的相关性分析

将治疗后 SEA 和 SWAP 刺激诱生的 IFN- γ 水平与特异性的抗体同型之间进行 Spearman 等级相关分析,发现 SEA 特异的 IFN- γ 与 SEA 特异的 IgG4 和 IgG 呈显著的负相关 ($P < 0.05$),相关系数

表 2 IFN- γ 诱生水平与 SEA 和 SWAP 特异性抗体间的 Spearman 等级相关系数
Table 2 Spearman's rank correlation coefficients between the level of IFN- γ and the specific antibodies

细胞因子 Cytokine	SEA 和 SWAP 特异性的同型抗体 SEA-and SWAP-specific antibodies							
	SEA-IgG4	SWAP-IgG4	SEA-IgM	SWAP-IgM	SEA-IgG	SWAP-IgG	SEA-IgE	SWAP-IgE
SEA 特异的 IFN- γ SEA-specific IFN- γ	-0.27*	-0.16	0.20	0.04	-0.26*	-0.18	-0.02	-0.10
SWAP 特异的 IFN- γ SWAP-specific IFN- γ	0.10	0.14	0.10	0.02	0.05	0.06	0.11	0.15

* 黑体数值表示有显著性相关 ($P < 0.05$).
Values in boldface denote significant correlation at $P < 0.05$.

分别为 -0.271 和 -0.255。

3 再感染与未再感染组血吸虫抗原特异的 IFN- γ 水平比较

比较两组治疗后 SEA 刺激诱生的 IFN- γ 水平,未再感染组 (206.72 ± 52.71 ng/l) 明显高于再感染组 (30.19 ± 12.33 ng/l)。Wilcoxon Test 检验有显著性差异 ($P < 0.01$)。利用 SAS 软件,得到了两组 SEA 诱生 IFN- γ 水平的分布盒状图 (图 2, 图中未再感染组的上四分位数、中位数和下四分位数分别为 177.5、71.3 和 0 ng/l,再感染组的上四分位数、中位数和下四分位数分别为 60、0 和 0 ng/l), 各组合对应盒子的上、下边分别是其对应的 IFN- γ 水平分布的上四分位数和下四分位数,盒中黑线表示分布的中位数,盒子的长度为四分位数间距,盒子两端中间竖线为由盒子上、下两边到其四分位数间距 1.5 倍处的扩展线。该图使我们直观而全面地了解和比较了未再感染组和再感染组 SEA 特异性 IFN- γ 水平的分布特征和差异。

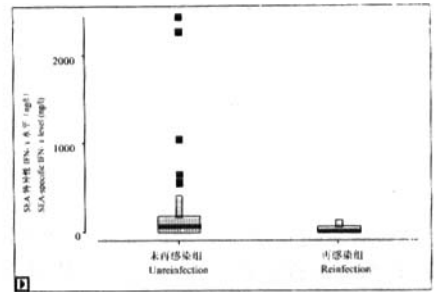


图 2 未再感染组和再感染组 SEA 特异性 IFN- γ 水平的分布盒状图
Fig. 2 Distribution profile of SEA-specific IFN- γ level in uninfected group and reinfected group

讨 论

关于人体对血吸虫病再感染抗力的状况和产生机制的研究,初期主要集中在研究血清中特异性同种型抗体的应答特征方面,近来,T 辅助细胞及其分泌的细胞因子功能在免疫效应机制的研究中日益受

到重视。Th1-Th2 细胞的相互作用在人体与实验动物的研究结果有所不同,人体曼氏血吸虫感染细胞因子应答状态的研究表明,流行区人群主要以 Th2 型免疫应答为主;而对小鼠,Th2 型免疫应答却是对寄生虫有利的因素。进一步研究发现,寄生虫对宿主杀伤作用的抵抗,可能来自其对宿主免疫应答的总体下调^[5]。

本研究在现场观察的基础上,分析了血吸虫抗原特异的 IFN- γ 在流行区人群中的应答特征,结果发现治疗后特异性 IFN- γ 水平较治疗前显著升高,提示流行区感染人群 IFN- γ 水平被下调,而化疗清除虫体后,下调的免疫应答水平回复。未再感染组 SEA 特异的 IFN- γ 水平显著高于再感染组,提示 IFN- γ 可能与对再感染的抗力相关。这与在曼氏及埃及血吸虫病中的研究结果相近,小鼠模型表明成功的免疫依赖于 IFN- γ 活化的效应细胞对虫体的破坏^[6];曼氏和埃及血吸虫病的人群免疫流行病学研究发现在流行区的正常人分泌 IFN- γ 水平高于血吸虫病感染者,均提示 IFN- γ 与对再感染的抗力有关^[7,8]。另外,Butterworth 在综合曼氏和埃及血吸虫病再感染相关研究资料的基础上,提出了用于解释人体对再感染抗力产生机制的“阻断抗体”学说,认为 IgG4 是介导阻断性免疫应答的阻断抗体,影响对再感染抗力的表达。本研究结果显示,IFN- γ 与 IgG4 呈明显负相关,间接反映了其可能与再感染的抗力相关。

目前血吸虫病亚单位疫苗之所以只有部分保护性免疫力,部分原因是由于其不能同时诱导细胞和体液两种免疫应答。本研究发现 Th1 细胞优势分泌

的 IFN- γ 与抗力的相关性为日本血吸虫病疫苗的研制提供了有益的参考;有效的疫苗不仅要能诱导 Th2 类细胞参与的体液免疫应答,还要能诱导以 IFN- γ 为代表的 Th1 介导的细胞免疫应答^[9,10]。

参 考 文 献

- [1] Capron M, Capron A. Immunoglobulin E and effector cells in schistosomiasis. *Science*, 1994, 264 : 1876~1877.
- [2] Pancre V, Schellekens H, Meide PV, et al. Biological effect of interferon- γ during the course of experimental infection of rat by *Schistosoma mansoni*. *Cellular Immunol*, 1990, 125 : 58~64.
- [3] Wilson RA. Interferon gamma is a key cytokine in lung phase immunity to schistosomes but what is its precise role? *Braz J Med Biol Res*, 1998, 31 : 157~161.
- [4] 吴海玮,张兆松,陈淑贞. 人群日本血吸虫病再感染与优势抗体应答的研究. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志*, 1997, 15 : 345~348.
- [5] 吴海玮,沈蕾,张兆松,等. 日本血吸虫病流行区人群细胞因子水平的初步研究. *南京医科大学学报*, 1998, 11 : 472~475.
- [6] Allen JE, Maizels RM. Th1-Th2 : reliable paradigm or dangerous dogma? *Immunol Today*, 1997, 18 : 387~392.
- [7] Correa OR, Malaquias LC, Falcao PL, et al. Cytokines as determinants of resistance and pathology in human *Schistosoma mansoni* infection. *Braz J Med Biol Res*, 1998, 31 : 171~177.
- [8] Viana ZR, Sher A, Carvalho OS, et al. Interferon-gamma production by peripheral blood mononuclear cells from residents of an area endemic for *Schistosoma mansoni*. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1994, 88 : 466~470.
- [9] Jankovic D, Wynn TA, Kullberg MC. Optimal vaccination against *Schistosoma mansoni* requires the induction of both B cell and IFN-gamma dependent effector mechanisms. *J Immunol*, 1999, 162 : 345~351.
- [10] 陈默峰,何维,王若翔,等. 从第十届国际免疫学大会看免疫学的进展. *上海免疫学杂志*, 1999, 19 : 1~7.

收稿日期:1999-12-14

(编辑:夏天)

HUMAN PARASITE ANTIGEN-SPECIFIC IFN- γ RESPONSE IN SCHISTOSOMIASIS JAPONICA ENDEMIC AREA *

SHEN Lei¹, WU Hai-wei¹, ZHANG Zhao-song¹, Rosemary E Weir², XIE Zhang-wu³
HU Lin-sheng¹, CHEN Shu-zhen¹, Martin G Taylor³, WU Guan-ling¹

(1 *Molecular and Immunoparasitology Research Department, Nanjing Medical University, Nanjing 210029*; 2 *Department of Infectious and Tropical Diseases, Immunology Unit, London School of Hygiene and Tropical Medicine, London WC1E 7HT*; 3 *Jiangxi Provincial Institute of Parasitic Diseases, Nanchang 330000*)

Abstract [Objective] To explore the characteristics of human schistosome antigen-specific IFN- γ response in a population in an area endemic for schistosomiasis japonica. [Methods] Three neighboring villages were chosen on Nanshan Island of Poyang Lake. 65 egg-negative persons and 64 egg-positive ones were selected randomly from the residents aged 14~41 years according to the egg counts by Kato-Katz thick smear method. IFN- γ was measured in the whole blood culture supernatant after stimulated by the schistosome soluble egg antigen (SEA) and soluble worm antigen preparations (SWAP). Serum isotype-restricted antibody was detected by ELISA. [Results] IFN- γ levels induced by both SEA and SWAP were increased significantly after praziquantel treatment. The SEA-specific IFN- γ level of the uninfected group was much higher than that of the reinfected group. A negative correlation between IFN- γ level and IgG4 production was found, reflecting that IFN- γ might be associated with the resistance to schistosome reinfection. [Conclusion] The changes in IFN- γ level might play an important role in association with the resistance to schistosome reinfection.

Key Words: Schistosomiasis japonica, reinfection, IFN- γ .

* Supported by the European Community (IC 18-CT 97-0243)