

文章编号: 1000-7423(2002)-04-0220-03

# 不同品系小鼠对卡氏肺孢子虫的易感性及其免疫反应的研究

安春丽<sup>1</sup> 苏晓平<sup>2</sup> A. G. Harmsen<sup>3</sup>

**【摘要】** 目的 探讨不同品系小鼠对卡氏肺孢子虫(*P. c.*)的易感性及其免疫反应。方法 以接触传播方式使BALB/c和C57BL/6小鼠(各15只)感染*P. c.*。观察小鼠与传染源接触4、5、6 wk后肺内虫数、支气管肺泡灌洗液中CD4<sup>+</sup> T细胞和CD8<sup>+</sup> T细胞及血清IgG水平的变化。结果 与传染源接触4 wk,小鼠肺内均可检出*P. c.*。之后,BALB/c小鼠虫数继续增高,5 wk末达高峰。4 wk时C57BL/6小鼠虫数无明显变化,5 wk时显著少于BALB/c小鼠。两组小鼠支气管肺泡灌洗液内CD4<sup>+</sup> CD62<sup>low</sup> T细胞和CD8<sup>+</sup> CD62<sup>low</sup> T细胞数明显增多,血清IgG抗体水平显著上升。6 wk小鼠肺内*P. c.*均转阴。结论 BALB/c比C57BL/6小鼠更易感染*P. c.*。BALB/c和C57BL/6小鼠感染*P. c.*后5 wk可产生有效的细胞和体液免疫反应并清除肺内感染的*P. c.*。

**【关键词】** BALB/c小鼠; C57BL/6小鼠; 卡氏肺孢子虫; 易感性

中图分类号: R531.5

文献标识码: A

## Susceptibility and Immune Responses to *Pneumocystis carinii* Infection in Different Strains of Mice by Contagious Transmission

AN Chun-li<sup>1</sup>, SU Xiao-ping<sup>2</sup>, A. G. Harmsen<sup>3</sup>

(1 Department of Pathogenic Biology, China Medical University, Shenyang 110001;

2 Department of Parasitology, Shenyang Medical College; 3 Trudeau Institute, New York USA)

**【Abstract】** **Objective** To explore the susceptibility of different strains of mice to *P. carinii* infection and the host immune response to the organism. **Methods** C57BL/6 and BALB/c strains of mice (15 each) were exposed to SCID mice infected with *P. carinii* by co-housing. Observations were made on the number of parasites in the lungs, level of CD4<sup>+</sup> T cell and CD8<sup>+</sup> T cell in BALF, and serum IgG at 4, 5 and 6 wk after contagion. **Results** The number of *P. carinii* grew in the lungs of BALB/c mice was found much greater than those in C57BL/6 mice. A few number of *P. carinii* cysts were detected in the lungs of both strains of mice by 4 wk after co-housing, the number of cysts increased at 5 wk in the lungs of BALB/c mice but not in that of C57BL/6 mice. *P. carinii*-specific IgG in the sera and high level of CD62<sup>low</sup> CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells in the lungs were found at 5 wk. The parasites were cleared from the lungs at 6 wk in all infected mice, shortly after acquired immune response was initiated. **Conclusion** BALB/c mice are more susceptible to *P. carinii* than the C57BL/6 mice by natural transmission, and all the immunocompetent mice can clear the infection of *P. carinii* by cellular and humoral immune responses.

**【Key words】** BALB/c mice, C57BL/6 mice, *Pneumocystis carinii*, susceptibility

Supported by the funds from the Ministry of Education (No. 2001345)

卡氏肺孢子虫(*Pneumocystis carinii*, *P. c.*)是一种机会感染病原体。*P. c.*所致的卡氏肺孢子虫肺炎(PcP)是艾滋病(AIDS)等各类先天或后天免疫机能低下患者常见的并发症和主要死亡原因。研究表明,CD4<sup>+</sup> T细胞数量减少和功能下降是造成宿主对*P. c.*易感的主要原因<sup>[1,2]</sup>。但是临床和动物实验资料显示,PcP患者和实验动物PcP的肺组织病理损害程度、肺功能变

化以及其临床症状的严重程度往往不完全与其感染的虫荷呈正比<sup>[3,4]</sup>。表明不同宿主对*P. c.*的敏感性可能存在差异。本研究用接触传播的方式让不同品系小鼠在同等条件下接触*P. c.*传染源,通过观察小鼠肺内虫体数量、细胞免疫和体液免疫反应,研究不同品系小鼠对*P. c.*感染的敏感性和抗感染免疫效应。

### 材料与方法

#### 1 实验动物

雌性严重联合免疫缺陷(SCID)小鼠10只,3 wk龄。雌性C57BL/6和BALB/c小鼠各30只,7~9 wk

基金项目: 国家教育部基金资助项目(No. 2001345)

作者单位: 1 中国医科大学病原生物学教研室, 沈阳 110001;

2 沈阳医学院寄生虫学教研室, 沈阳 110034;

3 Trudeau Institute, New York USA

龄。3种动物均由 Trudeau 研究所(Saranac Lake, New York, USA) 实验动物部培育。

### 2 P. c 传染源

将 SCID 小鼠与传代保种的 *P. c* 源小鼠置同一笼内饲养, 以接触传播方式使 SCID 小鼠感染 *P. c*, 6 wk 后与 *P. c* 源小鼠隔离, 再饲养 2 wk 后随机解剖其中的 4 只小鼠, 证明该组动物 *P. c* 的感染密度为  $10^7$  个/鼠, 剩余 6 只用于本研究的 *P. c* 传染源小鼠。

### 3 动物感染

随机将 C57BL/6 和 BALB/c 小鼠分成感染组和对照组(共 4 组), 置于密闭的塑料小鼠笼内(每笼 10 只, 包括 *P. c* C57BL/6 和 BALB/c 小鼠各 5 只), 感染组每笼加入 2 只传染源鼠, 以滤过空气和灭菌饲料在清洁级动物室内饲养。分别在接触传染源 4、5、6 wk 后解剖检查(5 只小鼠/每组)。

### 4 肺内 P. c 检查

取全肺组织, 加入 5 ml 生理盐水制成匀浆, 每 0.1 ml 制成一张直径为 5 mm 的玻片标本, 分别用 Diff-Quick 和改良的快速银染法染色后镜检。根据检查的视野数、检出 *P. c* 包囊数、肺匀浆体积和稀释倍数等, 计算每鼠 *P. c* 感染总数。以每鼠检查 50 个油镜视野( $<1$  个包囊) 计算出每只鼠肺内包囊的可检出极限的对数值(lgx) 是 2.5。

### 5 CD4<sup>+</sup> T 细胞和 CD8<sup>+</sup> T 细胞检测

对小鼠进行支气管肺泡灌洗<sup>[5]</sup>, 每鼠收集灌洗液 5 ml。取 0.1 ml 制成玻片标本, Diff-Quick 染色, 分别计数淋巴细胞等炎性细胞, 并计算每鼠灌洗液中淋巴细胞总数。其余灌洗液经离心取细胞, 分别用 Cy-Crome 标记的抗 CD4<sup>+</sup> 抗体(GK1.5)、PE 标记的抗 CD8<sup>+</sup> 抗体(TIB210) 和 FITC 标记的 CD62 抗体(Mel-14) 孵育染色后, 流式细胞仪检测 5 000 个细胞/鼠, 最后用 FACScan (Becon Dickinson, CA) 分析, 计算 CD4<sup>+</sup> T 细胞和 CD8<sup>+</sup> T 细胞总数。

### 6 P. c 特异性 IgG 检测

麻醉动物后剖腹取主动脉血分离血清, 用 ELISA 法检测 *P. c* 特异性 IgG, 分光光度计检测结果<sup>[5]</sup>。

## 结 果

肺内 *P. c* 数如图 1 所示, 未接触传染源的动物均未检出虫体。接触传染源的小鼠在第 4 周均查到 *P. c* 包囊, C57BL/6 为 2.55 (log10), BALB/c 为 2.70 (log10)。第 5 周时 BALB/c 组包囊数增至 3.24 (log10), C57BL/6 组未见明显变化。第 6 周, 包囊数均降至可检出极限以下。

CD4<sup>+</sup> T 细胞检测结果见图 2。对照组在 3 个时间点几乎查不到 CD4<sup>+</sup> T 细胞。第 5 周时 C57BL/6 和 BALB/c 感染组 CD4<sup>+</sup> T 细胞数明显升高, 具有活性的 CD4<sup>+</sup> T (CD62<sup>low</sup>) 细胞数分别为  $2.72 \times 10^4$  和  $1.4 \times 10^4$ 。第 6 周时 C57BL/6 的 CD4<sup>+</sup> T 细胞下降到  $1.1 \times 10^4$ , 而 BALB/c 组仍持续在较高水平 ( $2.4 \times 10^4$ )。4 组小鼠 CD8<sup>+</sup> CD62<sup>low</sup> T 细胞反应与 CD4<sup>+</sup> T 细胞

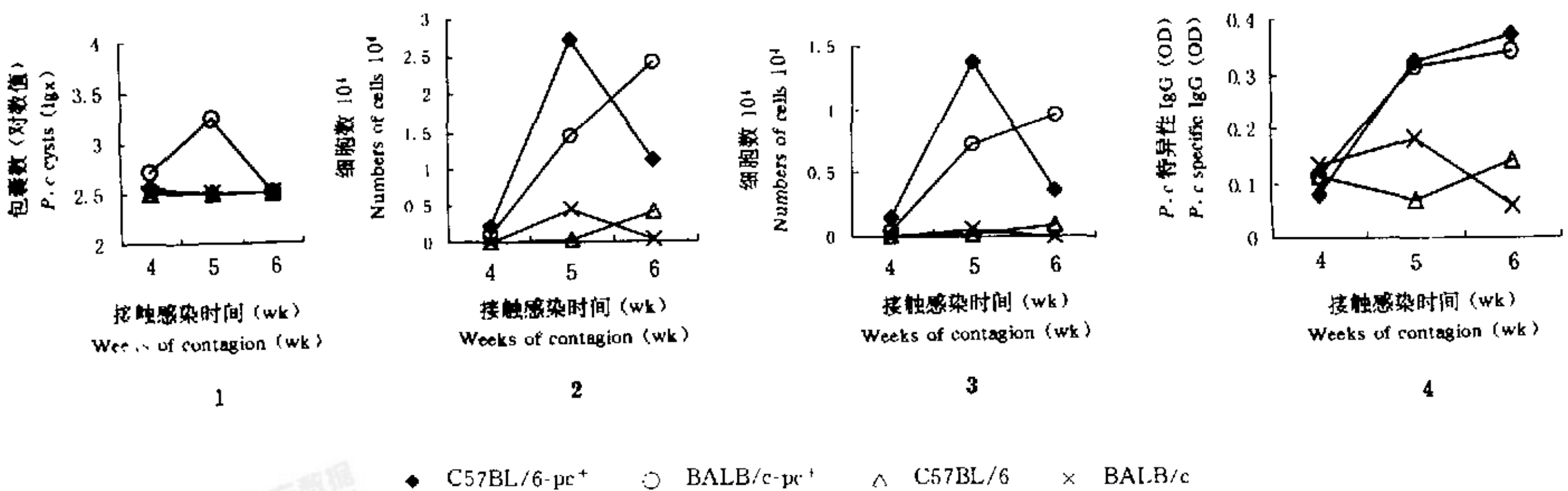


图 1 *P. c* 包囊数    图 2 CD4<sup>+</sup> T 细胞数    图 3 CD8<sup>+</sup> T 细胞数    图 4 *P. c* 特异性 IgG  
 Fig. 1 Numbers of *P. c* cyst    Fig. 2 Numbers of CD4<sup>+</sup> T cells    Fig. 3 Numbers of CD8<sup>+</sup> T cells    Fig. 4 *P. c* specific IgG



曲线相似,但数值相对较低(图3)。第5周时 C57BL/6 为  $1.37 \times 10^4$ , BALB/c 为  $0.73 \times 10^4$ 。第6周时, C57BL/6 减少到  $0.37 \times 10^4$ , BALB/c 继续升高到  $0.6 \times 10^4$ 。

血清 *P. c* 特异性 IgG 变化曲线见图4。对照组血清 IgG 无明显变化,感染组在第5周均检测到明显升高的 IgG,并持续到第6周。C57BL/6 与 BALB/c 间无显著性差异。

### 讨 论

有研究表明,INF- $\gamma$  并非是抗 *P. c* 感染所必不可少的细胞因子<sup>[6]</sup>。但是也有研究证明,缺乏 INF- $\gamma$  的个体清除 *P. c* 的时间延长,而输入外源性 INF- $\gamma$  能促进宿主清除 *P. c* 感染<sup>[7]</sup>。本研究结果表明,同等条件下接触传染源 5 wk 后, BALB/c 小鼠体内发现了较多的虫体,说明 BALB/c 对 *P. c* 的敏感性高于 C57BL/6 小鼠。其机制可能是 BALB/c 小鼠细胞免疫反应是以 Th2 型 CD4<sup>+</sup> T 细胞为优势细胞反应,表达较少的 INF- $\gamma$  有关。

本研究接触传染源 4 wk 小鼠肺内出现包囊, 5 wk 后肺内有大量免疫活性细胞积聚,血清中 IgG 水平升高。第6周后肺内虫体转阴。表明免疫感受态小鼠在接触感染后不久产生的免疫反应可自行清除体内感染的虫体。前人的研究表明,在抗 *P. c* 感染免疫中, CD4<sup>+</sup> T 细胞起主导作用<sup>[1,2]</sup>。而 CD8<sup>+</sup> T 细胞在抗 *P. c* 感染免疫中的作用尚存在不同观点<sup>[1,8]</sup>。本研究结果显示,免疫感受态小鼠在接触感染 *P. c* 后,除了有

CD4<sup>+</sup> T 细胞外,还有大量 CD8<sup>+</sup> T 细胞聚集至肺内。认为 CD8<sup>+</sup> T 细胞也参与清除虫体过程。本研究的 IgG 抗体反应表明,体液免疫在抗 *P. c* 感染中也具有一定作用。

### 参 考 文 献

[1] Beck JM, Harmsen AG. Lymphocytes in host defense against *Pneumocystis carinii*[J]. *Seminars in Respiratory Infections* 1998, 13(4): 330-338.

[2] Harmsen AG, Stankiewicz M. Requirement for CD4<sup>+</sup> cells in resistance to *Pneumocystis carinii* pneumonia in mice[J]. *J Exp Med*, 1990, 172: 937-945.

[3] Limper AH, Offord KP, Smith TF, et al. *Pneumocystis carinii* pneumonia: differences in lung parasite number and inflammation in patients with and without AIDS[J]. *Am Rev Respir Dis*, 1989, 140: 1204-1209.

[4] Wright TW, Gigliotti F, Harmsen AG, et al. Immune-mediated inflammation directly impairs pulmonary function, contributing to the pathogenesis of *Pneumocystis carinii* pneumonia[J]. *J Clin Invest*, 1999, 104: 1307-1317.

[5] Garvy AB, Wiley JA, Gigliotti F, et al. Protection against *Pneumocystis carinii* pneumonia by antibodies generated from either T helper 1 or T helper 2 responses[J]. *Infect Immun*, 1997, 65: 5052-5056.

[6] Garvy BA, Ezekowitz RB, Harmsen AG. Role of gamma interferon in the host immune and inflammatory responses to *Pneumocystis carinii* infection[J]. *Infect Immun*, 1997, 65: 373-379.

[7] Beck JM, Liggitt HD, Brunette EN, et al. Reduction in intensity of *Pneumocystis carinii* pneumonia in mice by aerosol administration of gamma interferon[J]. *Infect Immun*, 1991, 59: 3859-3862.

[8] 安春丽, 苏晓平, Harmsen AG. The role of CD8<sup>+</sup> T cells in the pathogenesis of *Pneumocystis carinii* pneumonia in mice depleted of CD4<sup>+</sup> T cells[J]. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志*, 2000, 18: 207-212.

(收稿日期: 2001-09-20 编辑: 富秀兰)

文章编号: 1000-7423(2002)-04-0222-01

## 【病例报告】

### 肾移植患者感染卡氏肺孢子虫一例

招钜泉 刘志江 李小平

中国分类号: R531.5

文献标识码: B

卡氏肺孢子虫 (*Pneumocystis carinii*) 是间质性浆细胞性肺炎的病原体, 属条件致病, 如不及时对症治疗常导致呼吸衰竭而死亡。我院诊治此病尚属首例, 报道如下。

患者潘某, 女, 35岁, 2001年6月因慢性肾小球肾炎、慢性肾功能不全、尿毒症而作同种异体肾移植术, 术后恢复良好出院。2001年11月再次入院, 患者精神疲倦, 发热, 咳嗽, 咯带血粘液痰, 气喘, 双肺呼吸音浊, X光片显示双下肺炎。血常规检查: WBC  $26 \times 10^9/L$ , RBC  $3.78 \times 10^{12}/L$ , Hb 94 g/L, PLT  $388 \times 10^9/L$ , 中性分叶 0.88, 淋巴 0.12。血气分析:

pH 7.468, PCO<sub>2</sub> 33.6 mmol/L, PO<sub>2</sub> 47.20 mmol/L, SBC 24.60 mmol/L, SO<sub>2</sub>C 83.8 L%, 提示低氧血症。查 C 反应蛋白 136 mg/L, 痰培养无致病菌及真菌生长。采用抗感染及使用免疫抑制剂等治疗, 病情无改善。晨痰涂片吉氏染色镜检, 见成熟包囊, 确诊为卡氏肺孢子虫感染。磺胺嘧啶 4.8 g/d 治疗 1 wk 后病情好转, 复查阴性。

### 参 考 文 献

[1] 赵魁先. 人体寄生虫学[M]. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 1994: 270-271.

(收稿日期: 2002-04-15 编辑: 富秀兰)

作者单位: 广东省佛山市第一人民医院检验科, 佛山 528000