

L-2 对感染不同株旋毛虫小鼠的免疫调节作用*

牛 春 姜洪杰 黄 松 诸欣平

首都医科大学细胞生物系 北京 100054

提要 目的: 探讨细胞因子在旋毛虫感染免疫中的调节作用。**方法:** 采用间接 ELISA 和生殖力指数测定等方法对 L-2 作用下感染旋毛虫小鼠的 IgG 抗体水平及寄生虫感染力进行连续观察。**结果:** 不同剂量 L-2 对不同地理株感染小鼠产生的影响存在较大差异: 对于黑龙江株猪型旋毛虫感染小鼠, L-2 注射具有明显抗虫效果; 而对于美国株猪型旋毛虫感染的小鼠, L-2 对成虫繁殖力无显著影响, 但大剂量 L-2 (每鼠 2 000 U/次) 使新生幼虫的感染力降低。**结论:** L-2 对黑龙江株猪型旋毛虫感染力有明显抑制作用。

关键词 旋毛虫病 小鼠 白细胞介素-2 IgG 抗体

旋毛虫感染的免疫机制一直是研究热点, 但对于 L-2 在旋毛虫感染免疫中的作用国内外尚少报道。本文用不同剂量 L-2 腹腔注射实验室感染旋毛虫的小鼠, 观察血清 IgG 抗体水平, 成虫繁殖力及新生幼虫再感染力的变化, 以初步探讨 L-2 在旋毛虫感染免疫中的调节作用及其可能的机制。

材料与方 法

虫株来源 虫株分别为本室昆明株系小鼠保种的黑龙江株猪型旋毛虫 (HL) 和美国株猪型旋毛虫 (AM, 来自美国芝加哥大学)。

实验动物 第 1 组昆明株纯系雄性小鼠 40 只, 体重 18~ 22 g, 按照不给药、小剂量给药和大剂量给药随机分成 A、B、C 3 组, 分别为黑龙江株 A、B、C 组每组各 6 只, 美国株 A 组 3 只、B 组 4 只、C 组 6 只和对照 A、B、C 组每组各 3 只。第 2 组昆明株纯系雄性小鼠 31 只, 体重 18~ 22 g, 随机分成黑龙江株 A 组 5 只、B 组 6 只、C 组 8 只和美国株 A、B、C 组每组 4 只。

感染和计数方法 按何忠平等^[1]方法剖杀感染旋毛虫 2 个月的种鼠, 消化肌肉收集幼虫计数, 第 1 组小鼠黑龙江株 3 组和美国株 3 组分别以口饲法接种 150 条 HL 和 AM 幼虫/鼠, 对照组不接种, 各组均饲养至 70 d 时处死, 以同样方法收集幼虫计数, 计算生殖力指数 (reproductive capacity index, RCI= 获幼虫数/接种幼虫数)。将第 1 组小鼠收集的黑龙江株和美国株 A、B、C 3 组幼虫再感染第 2 组小鼠, 口饲法 150 条/只, 饲养 70 d 后处死, 同上计数并计算 RCI。

L-2 用药方案 第 1 组的 B 组和 C 组小鼠, 在接种幼虫后 d₃、d₃ 及 d₄ 各腹腔注射 1 次 L-2 (人 rL-2 由邦定生物工程公司提供, 批号 980203), B 组每鼠 200 U/次, C 组每鼠 2 000 U/次。

血清抗体 IgG 测定 第 1 组小鼠于感染后 d₃、d₁₀、d₁₄、d₂₁、d₂₈、d₃₅、d₄₂、d₄₉、d₅₆ 及 d₆₃, 分别经鼠尾取血, 离心收集血清, -20 保存备用。血清中特异性抗体 IgG 的测定参照蒋成淦法^[2]。ELISA 测定结果表示: 设阳性对照血清平均 OD 值为 100, 待测血清与阳性对照血清平均 OD 值之比乘以 100 表示血清抗体水平的变化。旋毛虫粗抗原 1 mg/ml 由北京热带医学研究所提供, 工作浓度 0.1 mg/ml, 辣根过氧化物酶标记羊抗小鼠 IgG (编号 9804) 由北京诚挚生物制品公司提供 (批号 9801), 工作浓度 1:4 000。

统计学分析 结果进行卡方检验和 *q* 检验 (最小显著差法)。因寄生虫的繁殖力以几何级数递增, 将 RCI 值化为对数再进行统计学分析。

结 果

第 1 组血清抗体变化 对照组中除 C 组在 d₂₁ 抗体水平升高, 以后迅速下降外, A、B 组抗体水平未见明显变化。感染组与对照组相比较抗体水平自 d₂₁ 起明显升高, 其中黑龙江株猪型 A、B、C 3 组与美国株 A 组在 d₃₅ 时抗体水平达到高峰, 美国株 B 组与 C 组在 d₄₂ 时达高峰, d₆₃ 开始各组抗体水平均下降。黑龙江株 A 组与 B 组的抗体水平变化相比较无明显差异, 而黑龙江株 C 组的抗体水平在 d₂₁ 略有升高后即迅速下降并持续处于低水平状态, 其抗体检测值明显低于前两组; 美国株 B 组与 C 组的抗体高数值均显著高于 A 组。

旋毛虫感染力变化 黑龙江株感染的第 1 组小鼠的 B 组与 C 组旋毛虫 RCI 均明显低于 A 组 (分别为 $P < 0.05$ 和 $P < 0.001$), 两组间无显著性差异。上述 3 组收集的幼虫感染的第 2 组小鼠, A、B、

* 美国中华医学基金会 (CMB) 资助项目 (No. 98-647)

C 3 组的 RCI 均无显著性差异。

美国株感染的第 1 组小鼠 A、B、C 3 组旋毛虫

RCI 均无显著性差异,但在第 2 组小鼠中,C 组的

RCI 显著低于 A 组和 B 组 ($P < 0.001$) (表 1)。

表 1 L-2 注射后旋毛虫感染力的变化(RCI对数均值)
Table 1 Changes in infectivity of *T. spiralis* after L-2 injection (mean log RCI)

组别 Group	黑龙江株 HL ($\bar{X} \pm SD$)			美国株 AM ($\bar{X} \pm SD$)		
	A	B	C	A	B	C
1	2.247 ± 0.166	1.942 ± 0.168*	1.659 ± 0.355**	1.523 ± 0.115	1.460 ± 0.144	1.769 ± 0.345
2	1.862 ± 0.332	1.971 ± 0.136	2.029 ± 0.217	1.739 ± 0.305	1.547 ± 0.205	0.729 ± 0.255**

* $P < 0.05$ ** $P < 0.001$

讨 论

目前已知宿主对旋毛虫成虫及幼虫的免疫应答机制颇为不同:旋毛虫感染小鼠后 10 d 左右肠道成虫即被排出,这种排虫免疫主要与 T 细胞释出的 L-3 介导的肠粘膜肥大细胞增生有关,小鼠感染前后注射 rL-3 4 d 可明显减少虫荷^[3]。给受体小鼠直接转移免疫肠系膜淋巴结细胞(MLNC),亦可使受体小鼠具有抵抗感染的保护作用,表现为成虫生长受阻,生殖能力降低,排虫加速。转移免疫力的能力与分化的淋巴细胞有关。Despommier^[4]在体外实验中证明 IgA 在抵抗肠道成虫的免疫应答中也具有重要作用,可明显抑制虫体的生殖力。但是 CD4⁺ T 细胞介导的免疫反应可能是引起肠道炎症及排虫的主要因素。L-2 是由活化的 CD4⁺ Th1 分泌的淋巴因子,它可激活 T 辅助细胞增殖,使 Th1 向 Th2 转化分泌出与抗旋毛虫免疫相关的细胞因子如 L-3, L-4, L-5 等,并增强 NK 和 LAK 细胞的杀伤功能,产生细胞免疫效应。另一方面能促进 B 细胞分化为浆细胞,产生 IgG、IgA、IgE 等抗体,介导体液免疫。因此,从理论上讲,给予 L-2 可以从体液、细胞免疫两方面增强宿主对寄生虫的免疫反应,达到抑制虫体增殖,降低感染力的目的。但是,我们在实验中发现,L-2 对不同旋毛虫地理株感染小鼠的免疫作用方式存在较大差异:对于 HL 感染鼠,L-2 的抑虫作用似乎主要表现在成虫阶段,它使得成虫生殖力下降,肌肉中虫荷降低,但小鼠血清中 IgG 抗体水平较低。这可能是由于虫荷降低,虫体释放的抗原量少,因而抗体产生的水平较低。此外,在正常宿主体内,L-2 持续作用,会使 L-2 受体的表达逐渐衰减,以防止刺激 T 细胞过度增殖。本实验中,对照 C 组(大剂量用药组)的 IgG 抗体水平在短暂升高后迅速下降,并持续保持较低水平。这种抗体下降作用也有可能影响到宿主

对新生幼虫的免疫应答,因此新生幼虫的再感染力与对照组相比较无显著性差异。在 AM 感染小鼠,L-2 对成虫的繁殖力无显著影响,大剂量用药组的幼虫再感染力显著降低(下降 90%),其机制尚不清楚。实验证明,不同地理株引起宿主的细胞、体液免疫应答有显著差异且与 RCI 相关^[5,6]。本实验所用虫株,经许多作者^[7,8]基因鉴定均为 Ts,但地域相隔甚远,可认为是两个地理株。何忠平等^[9]用 RAPD 技术对我国 7 株旋毛虫的基因组 DNA 进行分析表明,旋毛虫分离株地区距离愈远,DNA 相似率愈小。牛安欧等^[10]采用扩增片段长度多态性(AFLP)技术对我国 5 个旋毛虫地域株的研究表明,中国大陆各地域株与欧洲各株旋毛虫有明显差异,湖北、天津 2 株与西安、云南、黑龙江 3 株间也存在不稳定差异。作者认为可能由于 HL 和 AM 两个地理株在生物学、遗传学等诸方面存在的显著差异而产生了 L-2 作用的不同反应。本研究表明,L-2 对旋毛虫感染小鼠的免疫调节作用与感染的不同地理株相关,也与用药剂量相关,将为旋毛虫感染的免疫反应机制及 L-2 作用机制研究提供一定实验依据。

致谢 本研究承张穗教授惠赠旋毛虫 AM 株,安云庆、刘振龙老师热情帮助,王凤云、周蕾老师协助部分实验,谨此致谢。

参 考 文 献

- 何忠平,陈佩惠,卢思奇,等.我国 4 个旋毛虫分离株 DNA 限制性酶切片长度差异的比较研究.首都医学院学报 1995; 16: 19-20
- 蒋成淦.酶免疫测定法.北京:人民卫生出版社,1984. 133-135
- Korenaga M, Abe T, Hashiguchi Y. Injection of recombinant interleukin 3 hastens worm expulsion in mice infected with *Trichinella spiralis*. Parasitol Res 1996; 82: 108-113
- Despommier DD. Immunity of *Trichinella spiralis*. Am J Trop Med Hyg 1977; 26(Part II): 68-71
- Goyal PK, Hemaneh J, Wakelin DW. Lymphocyte proliferation and cytokine production in mice infected with different geographical isolates of *Trichinella spiralis*. Parasit Immunol 1994; 16: 105-110
- Wakelin DW, Goyal PK. *Trichinella* isolates: parasite variability and host responses. Int J Parasitol 1996; 26: 471-481
- 刘明远,宋铭忻,杨瑞毅,等.用随意扩增的 DNA 多态性鉴定中

- 国分离的部分旋毛虫虫株 中国兽医科技 1997; 27(2) 18-20
- 8 许汴利, 崔兆麟, 张玉林, 等 我国首次发现乡土旋毛虫的研究报告 中国寄生虫学与寄生虫病杂志 1997; 15 257-260
- 9 何忠平, 陈佩惠, 谢毅, 等 我国 7 株旋毛虫基因组 DNA 的研

- 究 寄生虫与医学昆虫学报 1995; 2 218-222
- 10 牛安欧, 张国华, 甘燕, 等 PCR 检测鉴别我国 5 个旋毛虫地域株的研究 中国人兽共患病杂志 1998; 14(2) 46-49
- 1998 年 11 月 30 日收稿 1999 年 5 月 25 日修回 (编辑: 庄兆农)

IMMUNOREGULATION OF L-2 IN TRICHINELLA-INFECTED MICE*

NU Chun, JIANG Hongjie, HUANG Song, ZHU Xiping

Department of Cell Biology, Capital University of Medical Sciences, Beijing 100054

ABSTRACT

AM: To study the immunoregulation of L-2 in *Trichinella*-infected mice **METHODS:** Mice infected respectively with HL strain and AM strain larvae of *Trichinella spiralis* were treated with L-2 from the second day postinfection for 3 days. Serum IgG antibody levels were determined by ELISA and the infection capacity was determined using reproductive capacity index (RCI). **RESULTS:** In HL, higher dosage of L-2 injection induced lower RCI and showed apparent anti-*Trichinella* effect. In AM, both low and high dose of L-2 had no measurable effect on RCI, however, high dose of L-2 reduced the infectivity of newborn larvae. **CONCLUSION:** L-2 exhibits apparent suppressive effect on the infectivity of *T. spiralis* of HL strain.

Key words: Trichinellosis, mouse, interleukin-2, IgG

* Supported by the Chinese Medical Board Foundation (Parasitology, No. 98-674)

阿苯达唑驱虫糖和吡喹酮治疗华支睾吸虫病的效果比较

广东省三水市预防保健中心 三水市 528100 黄细霞 蔡文安 马千里 陈平添

华支睾吸虫病是三水市广泛流行和重点防治的寄生虫病。以往用吡喹酮 2 d 疗法治疗华支睾吸虫病, 但因药费较贵有副作用, 而影响大面积防治。为了寻找便于大面积防治、经济、安全、有效的疗法, 1997 年, 在本市金本镇洲边村用广东省寄生虫病防治研究所提供阿苯达唑驱虫糖与吡喹酮进行比较观察, 结果如下。材料与与方法阿苯达唑驱虫糖是以阿苯达唑原粉均匀掺拌于糖果中, 剂量按原药计算, 成人总剂量为 2.8g 7 d 分服, (7 岁以上儿童服成人剂量, 7 岁以下服半量); 吡喹酮总剂量 100 mg/kg, 超过 50 kg 计算, 2 d (6 次) 分服。清水沉淀法粪检华支睾吸虫卵阳性者进行卵密度计数, 虫卵密度为 500 个/EPG 以上者为观察对象。有专业人员送药看服, 询问和记录副作用情况。治疗后 1 个月, 3 次用清水沉淀法复查, 华支睾吸虫卵及其比较两药疗效。结果阿苯达唑驱虫糖治疗 135 例 (年龄 7~60 岁, 男 96 例, 女 39 例); 吡喹酮治疗 151 例 (10~61 岁, 男 104 例, 女 47 例), 治疗后 1 月复查, 两组虫卵阴转率分别为 93.3% (126/135) 和 95.4% (144/151) 两者间差异无显著性意义 ($\chi^2 = 0.56, P > 0.25$); 虫卵减少率分别为 95.7% 和 94.6%, 两者间差异亦无显著性意义 ($\chi^2 = 1.33, P > 0.10$)。两药的副作用率阿苯达唑为 2.96% (4/135), 吡喹酮为 15.9% (24/151), 后者显著高于前者 ($\chi^2 = 12.07, P < 0.005$), 阿苯达唑驱虫糖以胃肠道反应为主, 吡喹酮则以神经系统反应居多。用吡喹酮片剂治疗, 每人份药费为 12.5 元, 而阿苯达唑驱虫糖仅 3.85 元, 群众易于接受。

讨论

吡喹酮和阿苯达唑治疗华支睾吸虫病的效果早已肯定,

翁约球等^[1]以吡喹酮 75 mg/kg 1 d 3 次分服和阿苯达唑片剂 20 mg · kg⁻¹ · d⁻¹ 连服 5 d, 治疗华支睾吸虫病, 治后 3 月复查, 虫卵阴转率分别为 94.6% 和 87.7%, 两者无显著差异 ($P > 0.05$)。本文用阿苯达唑驱虫糖和吡喹酮的治疗效果与上述报告基本一致, 说明阿苯达唑混合在糖果中不影响疗效。刘光汉和李建元^[2]报告用阿苯达唑治疗囊虫病出现恶性脱发 2 例, 而治疗华支睾吸虫病时副作用率低, 反应轻, 不需特殊处理, 不影响疗程。吡喹酮治疗华支睾吸虫病时出现严重副作用者屡见不鲜, 苏之常和蒙日康^[3]报告出现癫痫, 舒晶等^[4]报告出现颅内高压。在治疗血吸虫病时, 黎振星^[5]报告出现心功能障碍副作用。由于阿苯达唑驱虫糖对华支睾吸虫病有效, 安全, 副作用率低, 价廉, 患者易接受, 所以我们应用阿苯达唑驱虫糖在本市开展大规模华支睾吸虫病防治。

参 考 文 献

- 翁约球, 梁小波, 李皓虹, 等 丙硫咪唑与吡喹酮治疗华支睾吸虫病比较观察 中国寄生虫病防治杂志 1990; 3 317
- 刘光汉, 李建元 阿苯达唑引起恶性脱发 2 例报告 1993; 6(2): 117
- 苏之常, 蒙日康 吡喹酮治疗华支睾吸虫病发生癫痫大发作一例报告 寄生虫学与寄生虫病杂志 1983; 1 192
- 舒晶, 文景山, 李一宏 吡喹酮治疗华支睾吸虫合并脑囊虫病出现颅内高压一例报告 中国寄生虫学与寄生虫病杂志 1992; 10 289
- 黎振星 吡喹酮治疗后出现阿-斯综合症一例报告. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志 1993; 11 171

1999 年 9 月 3 日收稿 1999 年 11 月 20 日修回

(编辑: 任燕芬)