

# 脑型疟发生的免疫病理机制

刘太平, 付雍, 徐文岳\*

**【提要】** 脑型疟(cerebral malaria)是疟疾感染的严重并发症, 近年来其发生的免疫病理学机制受到极大关注。早期的研究认为, 脑型疟的发生主要与感染疟原虫的红细胞和脑血管内皮细胞黏附, 导致脑血管阻塞有关。然而, 越来越多的证据表明, 脑型疟的发生主要由疟原虫感染后引起的免疫病理反应所导致, 与炎症因子的过量释放和免疫细胞在脑血管的浸润密切相关。本文就近年来脑型疟发生的免疫病理机制的研究进展作一综述。

**【关键词】** 炎症因子; 脑型疟; CD8<sup>+</sup>T 细胞

中图分类号: R531.33

文献标识码: A

## Immunopathological Mechanism of Cerebral Malaria

LIU Tai-ping, FU Yong, XU Wen-yue\*

(Department of Pathogenic Biology, The Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

**【Abstract】** Cerebral malaria is a severe complication of malaria. Early studies suggest that cerebral malaria is related to cytoadherence of parasitized red blood cells to the microvessel endothelium of brain. However, more and more evidence supported that the cause of cerebral malaria is uncontrolled inflammatory cytokines and infiltration of lymphocytes in brain microvessel. The article summarizes the research progress on immunological mechanism of cerebral malaria.

**【Key words】** Inflammatory cytokine; Cerebral malaria; CD8<sup>+</sup>T cells

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30972773)

\* Corresponding author, E-mail: xuwenyue@gmail.com

脑型疟(cerebral malaria, CM)是疟原虫感染导致患者死亡的主要原因, 探讨脑型疟的发生机制是制定脑型疟防治措施的前提。早期的研究认为, 脑型疟的发生是由感染疟原虫红细胞黏附于脑部微血管内皮细胞, 导致血管的阻塞和周围脑组织的缺氧和出血引起的。然而, 随后的研究发现, 大多数的疟疾患者均出现感染疟原虫红细胞阻塞脑部微血管的现象, 但仅 1% 发生脑型疟。而且脑型疟患者的脑部微血管并未见感染疟原虫红细胞阻塞血管的现象, 而是表现为淋巴细胞的浸润和阻塞。因此, 感染疟原虫的红细胞黏附于脑部微血管内皮细胞并阻塞血管, 导致脑型疟发生的理论受到了质疑, 越来越多的证据表明脑型疟是一种免疫细胞所介导的免疫病理性疾病。由于受伦理学的限制, 对脑型疟发病机理的研究主要依赖于伯氏疟原虫 ANKA/C57 实验脑型疟模型。

### 1 炎症因子在疟原虫感染诱导实验脑型疟发生中的作用和分子机制

#### 1.1 炎症因子在疟原虫感染诱导实验脑型疟发生中

基金项目: 国家自然科学基金 (No. 30972773)

作者单位: 第三军医大学基础医学部病原生物学教研室, 重庆 400038

\* 通讯作者, E-mail: xuwenyue@gmail.com

的作用 疟原虫感染早期, 在建立适应性免疫前期, 宿主主要通过活化天然免疫反应抑制疟原虫的增殖和扩散, 表现为天然免疫细胞, 如巨噬细胞、单核细胞和自然杀伤 (NK) 细胞活化后分泌肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-6 (IL-6)、白细胞介素-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) 和  $\gamma$ -干扰素 (IFN- $\gamma$ ) 等炎症因子, 增强巨噬细胞对吞噬感染疟原虫的杀灭作用。然而, 过度的免疫反应和大量炎症因子的释放是脑型疟发生的重要原因。

早期的研究发现, TNF- $\alpha$  是实验脑型疟发病机制中的关键要素。在脑型疟患者血清中出现高水平 TNF- $\alpha$  的提示下, 采用 TNF- $\alpha$  中和抗体、可溶性受体 TNFR 和 TNFR1 敲除小鼠均能明显抑制实验脑型疟 (experimental cerebral malaria, ECM) 的发生, 从而证实 TNF- $\alpha$  在实验脑型疟发生中的重要作用。然而, 淋巴毒素 LT- $\alpha$  能和 TNF- $\alpha$  形成可溶性同源三聚体, 并可通过与 TNFR1/2 结合而发挥作用, 提示 LT- $\alpha$  和 TNF- $\alpha$  存在交叉效应, Engwerda 等<sup>[1]</sup>观察了 LT- $\alpha$  和 TNF- $\alpha$  敲除小鼠发生实验脑型疟, 发现脑部微血管局部上调的 LT- $\alpha$ , 在实验脑型疟的发生中起到关键作用。最近, 利用基因敲除小鼠证实了 LT- $\beta$  受体和 TNFR2 也参与了实验脑型疟的发生<sup>[2]</sup>。

虽然 IFN- $\gamma$  可诱导 NO 的产生, 从而杀死肝期和

红内期疟原虫, 并抑制感染疟原虫红细胞在脑部微血管内皮细胞的黏连; 然而, 过量的  $\text{IFN-}\gamma$  可导致实验脑型疟的发生。 $\text{IFN-}\gamma$  敲除小鼠在感染伯氏疟原虫 ANKA 后能通过抑制  $\text{TNF-}\alpha$  的释放和脑部微血管内皮细胞 ICAM-1 的表达而完全抑制实验脑型疟的发生<sup>[3]</sup>。

研究发现, 在感染早期, 伯氏疟原虫 NK65 感染小鼠和恶性疟患者血清中的抗炎症因子  $\text{TGF-}\beta$  水平明显低于非致死株夏氏疟原虫和约氏疟原虫感染小鼠, 而注射抗  $\text{TGF-}\beta$  抗体可使血清中的炎症因子  $\text{TNF-}\alpha$  和  $\text{IFN-}\gamma$  水平明显增加, 不但可致伯氏疟原虫 ANKA 感染小鼠的情况恶化, 而且可致非致死株夏氏疟原虫和约氏疟原虫感染小鼠的死亡<sup>[4]</sup>。另外, 炎症因子 IL-10 同样可抑制实验脑型疟的发生。例如, 混合感染非致死株疟原虫可通过增加 IL-10 的分泌而抑制伯氏疟原虫 NK65 感染小鼠实验脑型疟的发生<sup>[5]</sup>。

### 1.2 疟原虫感染调节炎症因子分泌的分子机制

脾脏是抗血源性感染的重要免疫器官, 感染疟原虫的红细胞流经脾脏时, 将被脾脏的天然免疫细胞识别。TLR (Toll-like receptor) 是天然免疫细胞表面的重要模式识别受体, 疟原虫成分被 TLRs 识别后, 能直接或间接地诱导巨噬细胞、NK 细胞和树突状细胞 (DC) 等天然免疫细胞分泌炎症因子, 在感染早期控制病原体的增殖和扩散。研究证实, 疟原虫糖基磷脂酰肌醇 (glycosylphosphati-dylinositol, GPI) 成分可通过 TLR2 和 TLR4 诱导脾脏边缘区的巨噬细胞产生  $\text{TNF-}\alpha$ 、IL-12、IL-6 和 NO 等炎症因子<sup>[6,7]</sup>, 针对 GPI 的疫苗能通过抑制巨噬细胞等过度分泌炎症因子, 从而降低脑型疟的发生概率<sup>[8]</sup>。另外, TLR4 受体的基因多态性 (Asp299Gly/Thr399-Ile)<sup>[9]</sup>, 以及 TLR2 和 TLR4 信号共同的接头分子 Mal/TIRAP 的多态性 (Ser180Leu)<sup>[10]</sup> 与脑型疟的发生密切相关; 而 TLR2-/- 小鼠能明显地抑制感染伯氏疟原虫 ANKA 后实验脑型疟的发生<sup>[11]</sup>; 可见 TLR2/4 受体介导的炎症因子释放在脑型疟发生中的重要作用。另外, 红细胞内的疟原虫代谢血红蛋白的产物疟色素释放入血后, 能被巨噬细胞等表面的 TLR9 受体所识别, 并诱导产生  $\text{TNF-}\alpha$  和 IL-6 等炎症因子<sup>[12]</sup>。最近的研究证实, 疟色素结合的疟原虫 DNA, 而不是疟色素本身, 才是 TLR9 真正的配体, 并以复合物的形式活化 TLR9<sup>[13,14]</sup>; 同样, TLR9-/- 小鼠能明显降低感染伯氏疟原虫 ANKA 后实验脑型疟的发生几率<sup>[15]</sup>, 而 TLR9 受体的基因多态性 (T-1486C) 同样与脑型疟的发生密切相关<sup>[11]</sup>; 从而证实疟原虫的疟色素可通过 TLR9 释放炎症因子而在脑型疟发生中发挥重要作用。疟原虫感染早期的  $\text{IFN-}\gamma$  主要由 NK 细胞分泌, 但是 TLR 激动剂 GPI 和疟色素不能直接活化 NK 细胞。研究发现, 疟原虫成分以 MyD88 依赖的方

式活化巨噬细胞所释放的 IL-18, 从而诱导 NK 细胞分泌  $\text{IFN-}\gamma$ <sup>[15]</sup>。因此, 疟原虫主要通过活化 TLR 信号通路, 诱导天然免疫细胞分泌的炎症因子, 并在脑型疟的发生中起着关键的作用。

另外, TLR 信号还受感染的疟原虫调节, 并可能与脑型疟的发生相关。通常情况下, 在病原体的刺激下, TLRs 受体的反应性逐渐下降, 出现类似于内毒素耐受的现象。然而, 与其他病原体的感染不同, 恶性疟原虫感染后, 不但不会出现类似内毒素耐受, 反而可使 TLRs 受体的反应性增强, 促使炎症因子的分泌不断增加<sup>[16,17]</sup>; 可见疟原虫感染导致 TLRs 受体的反应性增加可能是脑型疟发生的重要机制之一。

## 2 免疫细胞在疟原虫感染诱导脑型疟发生中的作用

脑部组织切片显示, 发生实验脑型疟小鼠的脑部微血管存在明显的淋巴细胞浸润, 主要包括巨噬细胞、中性粒细胞、T 细胞和少量的 DC、NK 或 B 细胞。利用 T 细胞缺陷小鼠或通过中和抗体耗竭 T 细胞或过继转移实验, 证实  $\text{CD8}^+\alpha\beta$  T 细胞在实验脑型疟的发生中具有重要作用; 另外, 还提示  $\text{CD8}^+\gamma\delta$ T 和  $\text{CD4}^+$ T 细胞可能也参与了实验脑型疟的发生。鉴于  $\text{CD8}^+\alpha\beta$  T 细胞在实验脑型疟的发生中的重要作用, 其活化及在脑部微血管中的浸润和损伤机理成了关注的焦点。

### 2.1 $\text{CD8}^+\alpha\beta$ T 细胞的活化机制研究

首先是  $\text{CD8}^+\alpha\beta$  T 细胞的活化部位, 是在脾脏还是在脑部微血管局部被活化的呢? 虽然, 血管内皮细胞可作为抗原呈递细胞, 有可能直接吞噬黏附感染疟原虫的红细胞并呈递抗原, 从而活化  $\text{CD8}^+\alpha\beta$  T 细胞, 但是, 静止状态的内皮细胞的抗原呈递能力很弱, 至今尚无证据证实血管内皮细胞能呈递抗原并活化  $\text{CD8}^+\alpha\beta$  T 细胞。有证据表明,  $\text{CD8}^+\alpha\beta$  T 细胞在脾脏被活化的可能性更大, 因为趋化因子 CCR5 或 CXCR3 缺失小鼠在抑制  $\text{CD8}^+\alpha\beta$  T 细胞向脑部迁移的同时, 也抑制了实验脑型疟的发生<sup>[18-20]</sup>。其次是  $\text{CD8}^+\alpha\beta$  T 细胞的活化机理。利用带模式抗原卵清白蛋白 (OVA) 的伯氏疟原虫证实, 常规 DC 参与了  $\text{CD4}^+$ T 细胞的活化和脑型疟的发生, 而不是浆细胞样 DC (pDC)<sup>[21]</sup>; 而其中的  $\text{CD8}\alpha^+$  DC 在  $\text{CD8}^+\alpha\beta$  T 细胞的活化和脑型疟发生中发挥主要作用。最近, 用带 OVA 的红内期疟原虫间接地证实参与脑型疟发生的  $\text{CD8}^+\alpha\beta$  T 细胞具有红内期疟原虫的特异性<sup>[22]</sup>。然而, 目前尚不清楚疟原虫特异  $\text{CD8}^+\alpha\beta$  T 细胞的抗原成分。

### 2.2 $\text{CD8}^+\alpha\beta$ T 细胞向脑部微血管的浸润和迁移机制

对于实验脑型疟小鼠脑部的  $\text{CD8}^+\alpha\beta$  T 细胞的表型分析, 发现浸润的  $\text{CD8}^+\alpha\beta$  T 细胞高表达趋化因子

CCR2 和 CCR5, 研究表明 CCR5 而不是 CCR2 缺陷的小鼠能明显地抑制 CD8<sup>+</sup>αβ T 细胞向脑部微血管中迁移, 并能部分抑制或延缓实验脑型疟的发生<sup>[18,23]</sup>。然而, 对脑型疟患者的趋化因子分析发现, 血清中高表达的 CXCR3 与脑型疟的发生密切相关<sup>[19]</sup>。Miu 和 Campanella 均发现 CXCR3 缺失小鼠能明显地抑制 CD8<sup>+</sup>αβ T 细胞向脑部微血管中迁移, 并抑制实验脑型疟的发生<sup>[24,25]</sup>, 而 Campanella 等<sup>[25]</sup>利用 CXCL9<sup>-/-</sup>和 CXCL10<sup>-/-</sup>小鼠还证实 CXCR3 能通过与其内皮细胞表达的配体 CXCL9 和神经元高表达的配体 CXCL10 结合而发挥作用。且用抗体中和 CXCL10 (IP-10) 还可能通过将效应 T 细胞滞留于脾脏中而抑制疟原虫的增殖<sup>[26]</sup>。另外, 有研究发现, NK 细胞还能刺激 CXCR3<sup>+</sup>T 细胞迁移到脑部微血管, 参与实验脑型疟的发生<sup>[27]</sup>; 疟原虫代谢血红蛋白的产物血红素也是通过诱导脑部血管内皮细胞黏附因子的表达和 CD8<sup>+</sup>T 细胞在脑部的浸润而参与实验脑型疟的发生。虽然, 有研究表明, 脑部微血管的 IFN-γ、TNF-α 和 LT-α 等炎症因子可能诱导血管内皮细胞表达 CXCR3 配体 CXCL9 和 CXCL10, 然而, 目前尚不清楚 CD8<sup>+</sup>αβ T 细胞表达 CXCR3 和血管内皮细胞表达 CXCL9 和 CXCL10 的具体分子调节机制, 更不清楚疟原虫成分, 如 GPI 和疟原虫色素等在其中的作用。

**2.3 脑部微血管浸润的 CD8<sup>+</sup>αβ T 细胞导致实验脑型疟发生的机制** CD8<sup>+</sup>αβ T 细胞的效应机制主要包括穿孔素/颗粒酶途径、Fas/FasL 途径和 TNF/TNF 受体途径。研究发现, 穿孔素缺陷后能显著抑制伯氏疟原虫 ANKA 感染小鼠脑型疟的发生<sup>[28]</sup>, 可见穿孔素是脑部微血管浸润 CD8<sup>+</sup>αβ T 细胞导致实验脑型疟发生的重要机制。由于实验中所使用的疟原虫种株的不同, 对 Fas<sup>-/-</sup>小鼠感染疟原虫出现脑型疟的影响截然不同<sup>[29,30]</sup>, 因此, CD8<sup>+</sup>αβ T 细胞是否通过 Fas/FasL 通路参与脑型疟的发生尚存在争议。由于 TNF-α 缺陷小鼠并不能抑制脑型疟的发生, 因此认为 CD8<sup>+</sup>T 细胞不通过 TNF-α 通路参与脑型疟的发生。然而基因敲除小鼠证实 CD8<sup>+</sup>T 细胞可通过 LT-α 通路参与脑型疟的发生<sup>[1]</sup>。因此, 目前认为疟原虫感染所活化的 CD8<sup>+</sup>T 细胞可能通过穿孔素和 LT-α 通路致脑部微血管内皮组织的损伤, 破坏血脑屏障(blood-brain barrier, BBB), 使疟原虫成分和其他潜在损伤分子通过 BBB 进入脑实质, 导致小胶质细胞的激活以及星型胶质细胞的激活和凋亡。

虽然血管内皮细胞理论上可作为抗原呈递细胞参与疟原虫抗原的呈递, 但是 CD8<sup>+</sup>αβ T 细胞在发挥效应前必须通过结合 MHC I /抗原多肽复合物而识别血管内皮细胞。目前尚无相关的实验证据表明 CD8<sup>+</sup>αβ

T 细胞是通过识别血管内皮细胞呈递的抗原而发挥作用。

### 3 结语

现有研究证实, 脑型疟的发生不是由疟原虫的直接损伤所致, 而是由疟原虫感染后引发的免疫病理导致的。炎症因子是机体在感染早期抑制疟原虫增殖和扩散的重要机制, 然而, 过度的炎症因子(如 TNF-α、IFN-γ 等)释放可导致脑型疟的发生。另外, 越来越多的证据表明, 疟原虫感染活化的 CD8<sup>+</sup>T 细胞在脑部微血管的浸润在实验脑型疟的发生中发挥重要作用。研究提示, 炎症因子和 CD8<sup>+</sup>T 细胞可能分别在脑型疟的早期和晚期发挥重要作用, 然而, 两者并不是孤立发挥作用的。早期分泌的炎症因子(如 TNF-α 和 IFN-γ 等)通过诱导脑部微血管内皮细胞黏附分子和趋化因子的表达, 诱导 CD8<sup>+</sup>T 细胞向脑部的浸润; 而晚期 CD8<sup>+</sup>T 细胞在脑部的浸润可通过分泌 IFN-γ 等增强炎症因子的大量释放, 协同诱导实验脑型疟的发生。

可见, 脑型疟的发生是机体促炎症反应和抗炎症反应失衡的结果。通过不同措施下调疟疾患者亢进的免疫反应, 不但能抑制疟原虫的增殖, 而且能防止脑型疟的发生, 是今后脑型疟研究的方向。

### 参 考 文 献

- [1] Engwerda CR, Mynott TL, Sawhney S, et al. Locally up-regulated lymphotoxin alpha, not systemic tumor necrosis factor alpha, is the principle mediator of murine cerebral malaria[J]. J Exp Med, 2002, 195(10): 1371-1377.
- [2] Togbe D, de Sousa PL, Fauconnier M, et al. Both functional LT beta receptor and TNF receptor 2 are required for the development of experimental cerebral malaria[J]. PLoS ONE, 2008, 3(7): e2608.
- [3] Rudin W, Favre N, Bordmann G, et al. Interferon-gamma is essential for the development of cerebral malaria[J]. Eur J Immunol, 1997, 27(4): 810-815.
- [4] Omer FM, Riley EM. Transforming growth factor beta production is inversely correlated with severity of murine malaria infection [J]. J Exp Med, 1998, 188(1): 39-48.
- [5] Niikura M, Kamiya S, Kita K, et al. Coinfection with nonlethal murine malaria parasites suppresses pathogenesis caused by Plasmodium berghei NK65[J]. J Immunol, 2008, 180(10): 6877-6884.
- [6] Krishnegowda G, Hajjar AM, Zhu J, et al. Induction of proinflammatory responses in macrophages by the glycosylphosphatidylinositols of Plasmodium falciparum: cell signaling receptors, glycosylphosphatidylinositol (GPI) structural requirement, and regulation of GPI activity[J]. J Biol Chem, 2005, 280(9): 8606-8616.
- [7] Zhu J, Krishnegowda G, Gowda DC. Induction of proinflammatory responses in macrophages by the glycosyl phosphatidylinositols of Plasmodium falciparum: the requirement of extracellular signal-regulated kinase, p38, c-Jun N-terminal kinase and NF-kappaB pathways for the expression of proinflammatory cytokines and nitric oxide[J]. J Biol Chem, 2005, 280(9): 8617-8627.
- [8] Schofield L, Hewitt MC, Evans K, et al. Synthetic GPI as a candidate anti-toxic vaccine in a model of malaria[J]. Nature, 2002, 418(6899): 785-789.

- [9] Mockenhaupt FP, Cramer JP, Hamann L, et al. Toll-like receptor (TLR) polymorphisms in African children: Common TLR-4 variants predispose to severe malaria[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103(1): 177-182.
- [10] Khor CC, Chapman SJ, Vannberg FO, et al. A Mal functional variant is associated with protection against invasive pneumococcal disease, bacteremia, malaria and tuberculosis[J]. Nat Genet, 2007, 39(4): 523-528.
- [11] Coban C, Ishii KJ, Uematsu S, et al. Pathological role of Toll-like receptor signaling in cerebral malaria[J]. Int Immunol, 2007, 19(1): 67-79.
- [12] Coban C, Ishii KJ, Kawai T, et al. Toll-like receptor 9 mediates innate immune activation by the malaria pigment hemozoin[J]. J Exp Med, 2005, 201(1): 19-25.
- [13] Wu X, Gowda NM, Kumar S, et al. Protein-DNA complex is the exclusive malaria parasite component that activates dendritic cells and triggers innate immune responses[J]. J Immunol, 2010, 184(8): 4338-4348.
- [14] Parroche P, Lauw FN, Goutagny N, et al. Malaria hemozoin is immunologically inert but radically enhances innate responses by presenting malaria DNA to Toll-like receptor 9[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104(6): 1919-1924.
- [15] Baratin M, Roetyncck S, Lepolard C, et al. Natural killer cell and macrophage cooperation in MyD88-dependent innate responses to Plasmodium falciparum[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2005, 102(41): 14747-14752.
- [16] McCall MB, Netea MG, Hermsen CC, et al. Plasmodium falciparum infection causes proinflammatory priming of human TLR responses[J]. J Immunol, 2007, 179(1): 162-171.
- [17] Franklin BS, Parroche P, Ataide MA, et al. Malaria primes the innate immune response due to interferon-gamma induced enhancement of Toll-like receptor expression and function [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2009, 106(14): 5789-5794.
- [18] Belnoue E, Kayibanda M, Deschemin JC, et al. CCR5 deficiency decreases susceptibility to experimental cerebral malaria[J]. Blood, 2003, 101(11): 4253-4259.
- [19] Van den Steen PE, Deroost K, Aelst IV, et al. CXCR3 determines strain susceptibility to murine cerebral malaria by mediating T lymphocyte migration toward IFN-gamma-induced chemokines [J]. Eur J Immunol, 2008, 38(4): 1082-1095.
- [20] Campanella GS, Tager AM, El Khoury JK, et al. Chemokine receptor CXCR3 and its ligands CXCL9 and CXCL10 are required for the development of murine cerebral malaria[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(12): 4814-4819.
- [21] deWalick S, Amante FH, McSweeney KA, et al. Cutting edge: conventional dendritic cells are the critical APC required for the induction of experimental cerebral malaria[J]. J Immunol, 2007, 178(10): 6033-6037.
- [22] Lundie RJ, Koning-Ward TF, Davey GM, et al. Blood-stage Plasmodium infection induces CD8<sup>+</sup> T lymphocytes to parasite-expressed antigens, largely regulated by CD8 alpha<sup>+</sup> dendritic cells [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(38): 14509-14514.
- [23] Belnoue E, Costa FT, Vigarito AM, et al. Chemokine receptor CCR2 is not essential for the development of experimental cerebral malaria[J]. Infect Immun, 2003, 71(6): 3648-3651.
- [24] Miu J, Mitchell AJ, Muller M, et al. Chemokine gene expression during fatal murine cerebral malaria and protection due to CXCR3 deficiency[J]. J Immunol, 2008, 180(2): 1217-1230.
- [25] Campanella GS, Tager AM, El Khoury JK, et al. Chemokine receptor CXCR3 and its ligands CXCL9 and CXCL10 are required for the development of murine cerebral malaria[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(12): 4814-4819.
- [26] Nie CQ, Bernard NJ, Norman MU, et al. IP-10-mediated T cell homing promotes cerebral inflammation over splenic immunity to malaria infection[J]. PLoS Pathog, 2009, 5(4): e1000369.
- [27] Hansen DS, Bernard NJ, Nie CQ, et al. NK cells stimulate recruitment of CXCR3<sup>+</sup> T cells to the brain during Plasmodium berghei-mediated cerebral malaria[J]. J Immunol, 2007, 178(9): 5779-5788.
- [28] Nitcheu J, Bonduelle O, Combadiere C, et al. Perforin-dependent brain-infiltrating cytotoxic CD8<sup>+</sup> T lymphocytes mediate experimental cerebral malaria pathogenesis [J]. J Immunol, 2003, 170(4): 2221-2228.
- [29] Belnoue E, Kayibanda M, Vigarito AM, et al. On the pathogenic role of brain-sequestered alpha beta CD8<sup>+</sup> T cells in experimental cerebral malaria[J]. J Immunol, 2002, 169(11): 6369-6375.
- [30] Potter S, Chaudhri G, Hansen A, et al. Fas and perforin contribute to the pathogenesis of murine cerebral malaria[J]. Redox Rep, 1999, 4(6): 333-335.

(收稿日期: 2010-06-09 编辑: 衣凤芸)

文章编号: 1000-7423(2011)-01-0067-04

【研究简报】

## 多头带绦虫硫氧还蛋白过氧化物酶基因的克隆及序列分析

李永光<sup>1,2</sup>, 李文卉<sup>1</sup>, 盖文燕<sup>1</sup>, 姚菊霞<sup>1</sup>, 曲自刚<sup>1</sup>, 贾万忠<sup>1</sup>, Radu Blaga<sup>3</sup>, 付宝权<sup>1\*</sup>

**【摘要】** 从自然感染的羊脑内采集脑多头蚴原头节, 提取总 RNA。根据亚洲牛带绦虫的 TaHc2-D11 mRNA 序列设计特异引物, 采用 RT-PCR 技术扩增多头带绦虫硫氧还蛋白过氧化物酶(TmTPx)基因。PCR 产物连接到 pMD18-T 载体构建重组质粒 pMD-TmTPx, 转化大肠埃希菌 DH5 $\alpha$  后筛选阳性克隆, 经限制性酶切及测序鉴定后进行序列分析。扩增获得大小为 614 bp 的 TmTPx 基因 cDNA, 该基因的完整开放阅读框架(ORF, 591 bp)编码 196 个氨基酸, 编码蛋白的相对分子质量为 M<sub>r</sub> 21 690, 等电点为 7.61。生物信息学分析结果表明 TmTPx 具有一个典型的 2-Cys Prx 保守功能结构域。绦虫已知 TPx 的分子进化分析发现, 多头带绦虫与亚洲牛带绦虫的亲缘关系最近, 与猪带绦虫和肥头绦虫的亲缘关系次之, 与细粒棘球绦虫和多房棘球绦虫的亲缘关系最远。

**基金项目:** 国家科技支撑计划项目 (No. 2007BAD40B04); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (No. BRF080303); 中国-罗马尼亚政府间科技合作项目 (39-18)

**作者单位:** 1 中国农业科学院兰州兽医研究所, 家畜疫病病原生物学国家重点实验室, 农业部兽医公共卫生重点开放实验室, 甘肃省动物寄生虫病重点实验室, 兰州 730046; 2 甘肃农业大学动物医学院, 兰州 730070; 3 罗马尼亚农业与兽医大学兽医学院, 克鲁日-纳波卡 400372

\* 通讯作者, E-mail: fubaquan@163.com