

吡喹酮对小鼠感染日本血吸虫尾蚴后早期免疫功能的影响¹

肖树华、吴公贵、薛海筹、郭惠芳、宋光承、裘丽姝

(中国预防医学科学院寄生虫病研究所², 上海 200025)

提要 BABL/C小鼠于感染日本血吸虫尾蚴3h后一次ig吡喹酮400mg/kg, 药后2-72h腹腔巨噬细胞的吞噬功能明显增强; 药后72h, 鼠脾淋巴细胞对PHA和Con A诱导的增生应答明显增加。此淋巴细胞增生应答的增加, 与正常BABL/C小鼠观察结果相仿。在上述时间内, 吡喹酮对正常或感染的BABL/C小鼠的血清总补体含量无明显影响。

关键词 日本血吸虫尾蚴; 吡喹酮; 植物血凝素; 刀豆蛋白A; 补体; 淋巴细胞增生

吡喹酮在杀虫过程中需有宿主免疫机制参与⁽¹⁾。Doenhoff等⁽²⁾报道, 吡喹酮对切除胸腺的感染曼氏血吸虫的小鼠的疗效减低, 同时感染血吸虫病的小鼠用吡喹酮治疗后, 其免疫功能迅速恢复正常⁽³⁾。在进一步观察吡喹酮对侵袭小鼠的血吸虫尾蚴⁽⁴⁾和侵入小鼠皮肤3h的童虫的作用⁽⁵⁾时, 发现吡喹酮可增加宿主皮肤的炎细胞数, 促使肥大细胞脱粒和酸性粘多糖增加, 而且白细胞亦迅速附着于侵入皮肤的童虫体表, 并出现死虫。这些结果提示吡喹酮在杀灭侵入宿主皮肤的童虫中, 非特异性免疫功能的增强可能起重要作用。本文系进一步探讨吡喹酮对小鼠感染血吸虫尾蚴后早期的非特异性免疫功能的影响。

方 法

吡喹酮由本所药物化学合成研究室供给。用聚乙二醇(PEG 400)配制成溶液, 浓度为40mg/ml。

BABL/C小鼠96只, 鼠龄为8和10wk,

其中半数鼠自腹部皮肤感染日本血吸虫尾蚴, 每鼠约300条, 另半数鼠不感染。小鼠于感染后3h一次ig吡喹酮400mg/kg, 并于给药后2, 24, 72, 168h作免疫功能测定, 另取感染相应时间但不服药的小鼠作对照。在不感染鼠中, 半数一次ig吡喹酮400mg/kg, 半数不给药, 测定宿主免疫功能的时间与感染鼠的相同。

巨噬细胞吞噬功能测定 正常或感染的小鼠于ig吡喹酮后立即、22及70h后, ip5%鸡红细胞生理盐水悬液, 2h后(测定时间分别以给药后2, 24及72h表示)按常规方法⁽⁶⁾收集腹腔巨噬细胞, 用Giemsa染色液染色后测定巨噬细胞的吞噬%和吞噬指数。

血清总补体量的测定 用摘眼球法取小鼠血, 分离血清测定血清的总补体量⁽⁷⁾小鼠血清1:4-1:16稀释, 并用致敏兔红细胞作为靶细胞, 以提高CH₅₀测定值。小鼠的总补体含量以补体u/ml表示。

微量淋巴细胞增生试验 将上述放血处死的小鼠, 用无菌法剖取脾脏, 制备脾淋巴细胞, 用同位素法⁽⁸⁾测定脾淋巴细胞对PHA和Con A增生应答的变化。应答的大小以刺激指数(SI)表示。

$$SI = \frac{\text{加 PHA 或 Con A 培养的淋巴细胞 (cpm)}}{\text{不加 PHA 或 Con A 培养的淋巴细胞 (cpm)}}$$

结 果

对巨噬细胞吞噬功能的影响 正常BABL/C小鼠的腹腔巨噬细胞的吞噬%, 和吞噬指数分别为18%和0.28。一次ig吡喹酮400mg/kg后2-72h, 巨噬细胞的吞噬%和吞噬指数均较对照组的稍高, 但差别不显著。小鼠感染血吸虫尾蚴后3h一次ig上述剂量的

1985年9月4日收稿 1986年2月14日修回

¹ 本研究得到联合国开发计划署/世界银行/世界卫生组织热带病研究培训特别规划的支持

² 世界卫生组织疟疾、血吸虫病和丝虫病合作中心

吡喹酮后 2-72 h 则各组的巨噬细胞吞噬%, 和吞噬指数均较感染不给药的相应对照组显著为高; 若与不感染不给药组相比, 除 72 h 以外差别亦显著(表 1)。

对血清总补体含量的影响 正常 BABL/C 小鼠一次 ig 吡喹酮 400 mg/kg 后 2, 24 及 72 h 的血清总补体含量与不给药对照组的相仿, 差别不显著。小鼠感染后 3 h 一次 ig 吡喹酮 400 mg/kg, 并于给药后 2-72 h 取血清测定时, 其总补体含量与各相应对照组的相似, $p>0.05$ (表 2)。

脾淋巴细胞对 PHA 和 Con A 增生应答的影响 正常 BABL/C 小鼠一次 ig 吡喹酮 400 mg/kg 后 2 h, 由 PHA 和 Con A 诱导的脾

淋巴细胞增生受抑制, 其 SI 值较不给药对照组的为低 $p<0.05$; 给药后 24 h 的与对照组相似, 而给药后 72 h 的则明显增强, 其 SI 值远较对照组的为高, $p<0.05$ 。给药后 168 h(7 d), 鼠脾淋巴细胞对 Con A 诱导的增生应答与对照组相仿。小鼠感染 3 h 后一次 ig 吡喹酮 400 mg/kg, 并于给药后 2 及 24 h 测定, 其脾淋巴细胞对 PHA 和 Con A 诱导的增生应答与不给药的感染相应对照组相似 $p>0.05$; 给药后 72 h, 则 PHA 和 Con A 诱导的鼠脾淋巴细胞增生应答, 较相应对照组的显著为高 $p<0.05$ 。给药后 168 h(7 d) 由 Con A 诱导的鼠脾淋巴细胞的增生应答低于相应对照组, 但两者的差别不显著 $p>0.05$ (表 3)。

Tab 1. Effect of ig praziquantel given 3 h after the infection with about 300 cercariae on peritoneal macrophages of BABL/C mice. * $p>0.05$, ** $p<0.05$ as compared with corresponding control group

Mice	Praziquantel (400 mg/kg)	Duration after Rx (h)	Mice tested	Phagocytic rate(%) $\bar{x}\pm SD$	Phagocytic index $\bar{x}\pm SD$
Normal	-		12	18.0±10	0.28±0.16
	+	2	4	23.1±11*	0.34±0.13*
	+	24	4	25.2±11*	0.37±0.10*
	+	72	4	20.6±15*	0.31±0.29*
Infected	-	2	4	15.6±9	0.28±0.17
	-	24	4	13.7±11	0.20±0.16
	-	72	4	13.4±15	0.22±0.24
	+	2	4	34.5±9**	0.56±0.14**
	+	24	4	35.4±16**	0.63±0.31**
	+	72	4	30.9±18**	0.58±0.39**

Tab 2. Effect of ig praziquantel given 3 h after the infection with about 300 cercariae on total serum complement content of BABL/C mice

Mice	Praziquantel (400 mg/kg)	Duration after treatment(h)	Mice tested	Total serum complement content(u/ml, $\bar{x}\pm SD$)
Normal	-		15	19.1±10
	+	2	5	21.9±10*
	+	24	5	16.0±17*
	+	72	4	20.2±11*
Infected	-	2	5	23.7±15
	-	24	5	21.4±5
	-	72	5	22.5±14
	+	2	5	22.7±18*
	+	24	5	19.4±18*
	+	72	5	27.1±8*

* $p>0.05$ as compared with corresponding control group

Tab 3. Effect of ig praziquantel given 3 h after the infection with about 300 cercariae on lymphocyte proliferation induced by PHA and Con A. $\bar{x} \pm SD$

Mice	Praziquantel (400 mg/kg)	Duration after Rx (h)	Mice tested	Stimulation index of mouse splenic lymphocytes induced by	
				PHA	Con A
Normal	-		12	7.4±7.0	8.0±5.0
	+	2	4	3.2±1.0**	4.4±1.8**
	+	24	4	4.5±2.6*	6.2±0.9*
	+	72	4	17.8±7.0***	17.1±6.0***
	+	168	3	-	9.5±3.0*
Infected	-	2	4	2.6±0.2	5.1±1.3
	-	24	4	4.2±0.8	7.3±4.0
	-	72	4	7.2±2.6	4.5±4.0
	-	168	3	-	11.4±2.4
	+	2	4	4.0±1.3*	4.1±2.0*
	+	24	4	3.5±1.5*	5.3±1.5*
	+	72	4	20.5±14.0***	23.0±17.0***
	+	168	3		7.0±3.0*

* $p > 0.05$, ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$ as compared with corresponding group

讨 论

试验结果表明,感染 3 h 童虫的小鼠一次 ig 吡喹酮后 3 d 内其腹腔内的巨噬细胞被激活,吞噬的%和吞噬指数均明显增加,且超过正常鼠的水平,但是由于未感染鼠 ig 吡喹酮后,其巨噬细胞的吞噬功能无明显变化,提示服药感染鼠的巨噬细胞的吞噬功能增强,可能是童虫经吡喹酮作用受损后释放某些物质的结果。

由于吡喹酮一次给药后 72 h 不仅可增强感染鼠的脾淋巴细胞对 PHA 和 Con A 的增生应答,对未感染鼠亦有相似的作用,表明吡喹酮在所用的剂量下,具有增强宿主的非特异性细胞免疫水平。 Φ dum 等⁽⁹⁾报道,吡喹酮的浓度高达 80 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时,可抑制体外促有丝分裂原和结核菌素蛋白衍生物对人淋巴细胞的增生作用;若药物浓度低于 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 则无作用。我们在体外用鼠脾淋巴细胞测定时,观察到吡喹酮 10, 30 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 具有刺激鼠脾淋巴细胞的增生应答,浓度为 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时则起抑制作用。鉴于吡喹酮对钻入皮肤 3 h 童虫的杀灭作用迅

速,故其杀虫作用并非依赖于非特异性细胞免疫水平的提高,而很可能是与吡喹酮直接刺激或由受损害的童虫释放某些物质刺激吞噬细胞有关。

参 考 文 献

- Xiao SH (肖树华), Shao BR (邵葆若), Yu YG (俞月桂). Preliminary studies on the mode of action of pyquitol against *Schistosoma japonicum*. *Chin Med J* 1984; 97: 839
- Doenhoff M, Harrison A, Sabah A, Murare H. Schistosomiasis in the immunosuppressed host: studies on the host-parasites relationship of *Schistosoma mansoni* and *S. bovis* in T-cell-deprived and hydrocortisone-treated mice. In: Owen DG, ed. *Animal model in parasitology*. London: Macmillan Press 1982: 155-69
- 吴公贵、潘彩娥、刘述先,等. 日本血吸虫感染小鼠治疗前后免疫功能的变化. 中国医学科学院寄生虫病研究所年报 1981. 7-1982. 6: 43
- 肖树华、杨元清、张荣泉、张超威. 侵袭预服吡喹酮小鼠皮肤的血吸虫童虫形态变化和皮肤细胞反应. 中国药理学报 1986; 7: 358
- 肖树华、乐文菊、梅静艳,等. 侵入小鼠皮肤不同虫龄的日本血吸虫童虫时吡喹酮敏感性差异原因的初步探讨. 中国药理学报(待发表)
- 林志彬. 免疫药物筛选规程. 见: 周金黄, 主编. 药理学进展 抗炎免疫药理分册 (1982).

- 北京：人民卫生出版社，1983：208-17
- 7 北京医学院微生物教研组，编．实验免疫学，第7章补体的测定．第1版．北京：人民卫生出版社，1980：124-37
- 8 刘述先、吴公责、潘彩娥，等．血吸虫感染宿主免疫抑制现象的研究 I．日本血吸虫感染对小鼠免疫应答的影响．上海免疫学杂志 1984；4：279
- 9 Ødum N, Theander TG, Bygbjerg IC. Effect of praziquantel on human lymphocyte proliferation *in vitro*. *Eur J Clin Pharmacol* 1984; 27: 311

Acta Pharmacologica Sinica 1987 Jan, 8 (1): 60-63

Effect of praziquantel on mice immunity in early stage after infection with *Schistosoma japonicum* cercariae¹

XIAO Shu-Hua, WU Gong-Ze, XUE Hai-Chou, GUO Hui-Fang, SONG Guang-Cheng, QIU Li-Shu

(Institute of Parasitic Diseases, Chinese Academy of Preventive Medicine², Shanghai 200025)

ABSTRACT When BABI/C mice, infected with about 300 *Schistosoma japonicum* cercariae for 3 h, were given intragastrically with praziquantel at a single dose of 400 mg/kg, the phagocytosis of their peritoneal macrophages increased significantly within 2-72 h after the medication. The proliferative response of splenic lymphocytes induced by PHA and Con A increased at 72 h after the treatment. This increase in stimulation index of lymphocytes to PHA and Con A occurred also in uninfected BABL/C mice treated with the same dose of

praziquantel. No effect of praziquantel on total serum complement content of BABL/C mice was observed.

KEY WORDS *Schistosoma japonicum* cercariae; praziquantel; phytohemagglutinins; concanavalin A; complement; proliferation of lymphocytes

¹ Partial financial support was received from UNDP/World Bank/WHO TDR

² WHO Collaborating Center for Malaria, Schistosomiasis and Filariasis