

# 吡喹酮对日本血吸虫病小鼠免疫应答的作用

吴公贵、刘述先、肖树华 (中国预防医学科学院寄生虫病研究所<sup>1</sup>, 上海 200025)

**提要** 感染日本血吸虫小鼠经吡喹酮治疗后其淋巴细胞对植物血凝素(PHA)血吸虫成虫抗原(SAWA)的应答, 辅助性T细胞的活力及IgM抗体分泌细胞(B细胞)水平均有明显增强, 宿主的免疫抑制现象得到改善, 提示吡喹酮在杀虫过程中, 可能有宿主细胞免疫的参与。

**关键词** 日本血吸虫, 吡喹酮, 巨噬细胞游走抑制因子, 溶血性斑块技术

吡喹酮是目前治疗血吸虫病较为满意的药物, 不仅具有杀灭血吸虫的作用, 而且还可使宿主的免疫功能有所改善<sup>(1)</sup>。我们在以前的实验中曾观察到小鼠感染日本血吸虫尾蚴后4 wk, 其淋巴细胞的应答能力明显减弱, 处于免疫抑制状态<sup>(2-4)</sup>。这种抑制现象与血吸虫的代谢产物有一定关系<sup>(5)</sup>。本文观察在吡喹酮杀虫过程中是否有宿主免疫机制的参与, 从4个方面测定了感染宿主经吡喹酮治疗后的免疫应答状况。

1986年9月30日收稿 1987年7月4日接受  
<sup>1</sup>世界卫生组织疟疾、血吸虫病与丝虫病合作中心

## 材料与 方法

**动物** C<sub>57</sub>BL近交系♂小鼠164只, 体重20±SD 2 g, 由中国科学院上海动物中心提供, 每鼠由腹部皮肤感染35-40条日本血吸虫尾蚴。

**药物** 吡喹酮由本所合成, 溶解于聚乙二醇(PEG 400)中, 浓度为30 mg/ml。植物血凝素(PHA)为广东省医药工业研究院产品。

**免疫测定方法** 小鼠于感染后4-7 wk, 1次ig吡喹酮300 mg/kg, 并于给药后2-8 d, 测定小鼠的免疫应答状况。另取未感染正常小鼠ig上述剂量的吡喹酮作为正常对照组。试验用的抗原为血吸虫成虫冷浸抗原(SAWA), 凯氏定氮法测得蛋白质含量为1.24 mg/ml。小鼠断头处死后迅速取出脾脏, 分离脾淋巴细胞, 进行以下一些观察。

1. 巨噬细胞移动抑制试验(MMIT) 按常规方法<sup>(2)</sup>进行。试验结果用求积仪测量面积

计算移动指数(MI), 即

$$MI = \frac{\text{加抗原或 PHA 后平均移动面积}}{\text{不加抗原或 PHA 后平均移动面积}} \times 100$$

2. 溶血空斑试验 按常规方法<sup>(2)</sup>进行。用空斑数/百万脾淋巴细胞来表示对羊红细胞(SRBC)的应答水平。

3. T细胞辅助活力测定 按前文<sup>(3)</sup>方法进行。结果以抗TNP空斑数/百万脾淋巴细胞表示。抗TNP空斑数=以TNP-SRBC为靶细胞的平均空斑数-以SRBC为靶细胞的平均空斑数。

## 结 果

### 对 PHA 的应答

1. 正常小鼠服药后对 PHA 的应答能力 正常小鼠以脾淋巴细胞为效应细胞时, 服药前对 PHA 的 MI 为  $35 \pm 11$ , 小鼠服药后 8 d 的 MI 为  $32 \pm 3$ , 服药组与未服药组结果相似。

2. 感染小鼠服药后对 PHA 的应答能力 小鼠感染后 4-7 wk 对 PHA 的应答能力较低, MI 分别为  $56 \pm 17$ ,  $90 \pm 7$ ,  $81 \pm 1$  及  $83 \pm 29$ , 小鼠服药后 8 d 对 PHA 的应答能力有很大增强, MI 分别为  $27 \pm 9$ ,  $19 \pm 2$ ,  $25 \pm 7$  及  $31 \pm 21$ , 均达到正常水平(表 1)。

Tab 1. Migration index in the response of lymphocyte to schistosome adult worm antigen (SAWA) and phytohemagglutinin (PHA) in infected mice after ig praziquantel 300 mg/kg.  $\bar{x} \pm SD$ . \* $p > 0.05$ , \*\* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.01$

wk after infection	n	PHA		SAWA	
		Before	After 8 d	Before	After 8 d
0	13	$35 \pm 11$	$32 \pm 3^*$	$92 \pm 10$	$85 \pm 6^*$
4	6	$56 \pm 17$	$27 \pm 9^{***}$	$115 \pm 30$	$66 \pm 22^{**}$
5	6	$90 \pm 7$	$19 \pm 2^{***}$	$93 \pm 1$	$49 \pm 3^{***}$
6	6	$81 \pm 1$	$25 \pm 7^{***}$	$104 \pm 19$	$63 \pm 12^{**}$
7	6	$83 \pm 29$	$31 \pm 21^{***}$	$140 \pm 15$	$60 \pm 11^{***}$

### 感染小鼠服药后对成虫抗原(SAWA)的应答能力

1. 正常小鼠以脾淋巴细胞为效应细胞时, 对 SAWA 的 MI 均值为  $92 \pm 10$ , 小鼠服药后

d 8 的 MI 为  $85 \pm 6$ , 服药组与未服药组的应答能力相似。

2. 感染 4-7 wk 小鼠对 SAWA 的应答能力呈低下状态, MI 分别为  $115 \pm 21$ ,  $93 \pm 1$ ,  $104 \pm 19$  及  $140 \pm 15$ , 表明致敏淋巴细胞再次接触 SAWA 后释放 MIF 的量未见增多, 应答能力受到抑制。但自服药后 d 4 起应答能力有所增强, 至 d 8 的 MI 分别为  $66 \pm 22$ ,  $49 \pm 3$ ,  $63 \pm 12$  及  $60 \pm 11$ , 表明感染小鼠经治疗后, 对 SAWA 的反应性有很大增强。

### 对胸腺依赖抗原—羊红细胞 SRBC 的应答

正常小鼠服药前和服药后 d 4, 每百万脾淋巴细胞的空斑数分别为  $169 \pm 40$  和  $181 \pm 52$ , 无显著差异( $p > 0.05$ )。感染 5-7 wk 小鼠服药前, 对 SRBC 的应答能力逐周下降, 每百万脾淋巴细胞的空斑数分别为  $148 \pm 33$ ,  $116 \pm 43$  及  $49 \pm 6$ 。表明各周脾淋巴细胞的应答能力随感染时间的增长而减弱, 至第 7 wk 对 SRBC 的应答水平要显著低于正常小鼠( $p < 0.01$ )。但服药后 d 4, 感染 5-7 wk 小鼠脾淋巴细胞对 SRBC 的应答能力明显提高, 每百万脾淋巴细胞的空斑数分别为  $427 \pm 171$ ,  $366 \pm 157$  及  $129 \pm 63$ 。各周的空斑数与服药前相比, 均有显著差异( $p < 0.01$ ), 而且均达到或超过正常小鼠的应答能力(图 1)。

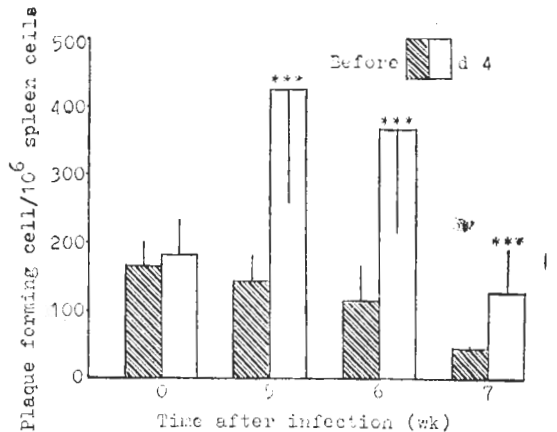
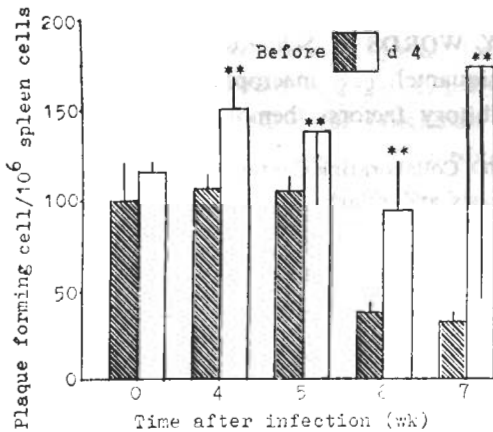


Fig 1. Response of lymphocyte to sheep red blood cell (SRBC) in infected mice after praziquantel treatment.  $n = 5$ ,  $\bar{x} \pm SD$ . \*\*\* $p < 0.01$  vs corresponding control group.

**对半抗原载体 (TNP-童虫) 的应答** 正常小鼠服药前, 每百万脾淋巴细胞的抗 TNP 空斑数为  $100 \pm 21$ , 服药后 2 和 4 d 分别为  $96 \pm 18$  和  $116 \pm 7$ , 表明服药前后的抗 TNP 空斑数无显著差异 ( $p > 0.05$ )。感染 4-7 wk 小鼠的脾淋巴细胞对 TNP 的应答能力逐周下降, 每百万脾淋巴细胞的空斑数分别为  $107 \pm 8$ ,  $105 \pm 8$ ,  $39 \pm 5$  及  $34 \pm 5$ , 不同程度地低于正常小鼠的应答水平。自服药后 2 d 起对 TNP 的应答能力有所增强, 至服药后 4 d, 感染 4-7 wk 小鼠每百万脾淋巴细胞的空斑数分别  $151 \pm 19$ ,  $139 \pm 41$ ,  $93 \pm 23$  及  $173 \pm 128$ , 其应答能力明显增强, 表明治疗后宿主细胞辅助活力得到较大的改善 (图 2)。



**Fig 2. Response of lymphocyte to trinitrophenyl (TNP) in infected mice after praziquantel treatment.**  $n = 5$ ;  $\bar{x} \pm SD$ . \*\* $p < 0.05$  vs corresponding control group.

## 讨 论

试验结果表明, 未经治疗的感染小鼠, 其免疫应答处于低水平状况, 但经吡喹酮治疗后, 脾淋巴细胞的反应性有明显变化, 改变了宿主原来的抑制状态。然而不同的免疫测定方法其免疫学意义有所不同。即 MMIT 方法反映治疗对小鼠 T 细胞接触 PHA 和 SAWA 后产生淋巴因子—MIF 的影响, 溶血空斑试验是以

IgM 分泌细胞 (B 细胞) 为指标来反映机体免疫应答所受的影响, 而抗 TNP 空斑试验方法则反映治疗后机体 T-B 细胞协作过程中, T 细胞辅助活力受到的影响。曼氏血吸虫或埃及血吸虫患者经吡喹酮或其它化疗后, 其外周血淋巴细胞对 PHA 或 SAWA 的应答能力可有明显增强, 这种应答能力的增强是由于治疗后, 宿主体内的粘附性抑制细胞减少或反应性降低<sup>(6-8)</sup>。

然而日本血吸虫和曼氏血吸虫及埃及血吸虫的免疫发病机制有所不同<sup>(9)</sup>, 从我们的实验结果来看, 似可认为小鼠经吡喹酮治疗后, 具有抑制作用的虫源性代谢产物可能停止释放, 致使宿主淋巴细胞反应性明显增强, 从而使免疫抑制状况得以改善, 这将有利于机体的免疫机制参与杀虫作用, 至于吡喹酮系直接参与宿主的细胞免疫调节, 抑或通过受损的虫体释放某些物质, 从而刺激细胞免疫, 尚待探讨。

## 参 考 文 献

- 1 Chen MG, Wang MJ, Fu S, *et al.* Immunologic function in schistosomiasis japonica patients before and after treatment. *Chin Med J* 1983; 96 : 917
- 2 刘述先, 吴公贵, 潘彩娥. 日本血吸虫感染宿主的免疫抑制现象. *上海免疫学杂志* 1983; 3 : 7
- 3 刘述先, 吴公贵, 潘彩娥. 日本血吸虫感染小鼠的 T 细胞辅助活力变动的初步观察. 同上 1983; 3 : 1
- 4 刘述先, 吴公贵, 潘彩娥. 日本血吸虫感染对小鼠免疫应答的影响. 同上 1984; 4 : 279
- 5 吴公贵, 宋光承, 刘述先. 血吸虫代谢产物对感染小鼠增生应答的影响 *中国寄生虫学与寄生虫病杂志* 1987; 5 : 127
- 6 Abdel-Salam E, Higashi GI, Kamal KA, Ishaac S. Cell-mediated immune assay in children with *Schistosoma haematobium* infection and the effect of niridazole therapy. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1981; 75 : 207
- 7 Barsoum IS, Gamil FM, Al-Khafaf MA, Ramzy RM, El Alamy MA, Colley DG. Immune response and immunoregulation in relation to human schistosomiasis in Egypt. Effect of treatment on *in vitro* cellular responsiveness. *Am J Trop Med Hyg* 1982; 31 : 1181

- 8 Tawfik AF, Carter CE, Colley DG. Effects of antischistosomal chemotherapy on immune response, protection and immunity. *Ibid* 1986; 35 : 100
- 9 Warren KS, Domingo EO. Granuloma forma-

tion around *Schistosoma mansoni*, *S. haematobium* and *S. japonicum* eggs: size and rate of development, cellular composition, cross-sensitivity, and rate of egg destruction. *Ibid* 1970; 19 : 292

*Acta Pharmacologica Sinica* 1988 Mar, 9 (2) : 163-166

## Effects of praziquantel on immunological response in mice infected with *Schistosoma japonicum*

WU Gong-Ze, LIU Shu-Xian, XIAO Shu-Hua

(Institute of Parasitic Diseases, Chinese Academy of Preventive Medicine<sup>1</sup>, Shanghai 200025)

**ABSTRACT** The immunological response, such as the levels of lymphocyte response to PHA and schistosome adult worm antigen (SAWA), the T cell helper activity as well as IgM released from antibody forming cells, in mice infected with *S. japonicum* were increased after treatment with praziquantel. The immunosuppressive effects of infected hosts were improved after praziquantel. The

results suggested that the cellular immunity may involve and modulate in the lethal mechanism of praziquantel on the schistosome.

**KEY WORDS** *Schistosoma japonicum*; praziquantel; macrophage migration inhibitory factors; hemolytic plaque technic

<sup>1</sup>WHO Collaborating Center for Malaria, Schistosomiasis and Filariasis