维普资讯 http://www.cqvip.com

肿瘤坏死因子在寄生虫感染中的作用

寄生虫学教研室

张作培 童新华 综述
李树华 骆云鹏 审校

1975年Carswell等发现，两周前用卡介苗（BCG）感染的小鼠或家兔再静脉内注射大肠杆菌内毒素(LPS)，2大时后放血，其血清中含有活性较高的细胞毒因子。此种因子对某些类型带瘤动物肿瘤发生明显坏死，此外还对体外培养的肿瘤细胞和转化细胞具有细胞毒作用，称它为肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor，TNF)[1]。含肿瘤坏死因子的血清称为肿瘤坏死血清(TNS)。近年来国内外对TNF研究进展非常迅速，不但TNF的氨基酸序列已搞清楚，还克隆出编码TNF蛋白质的基因，并始生产重组TNF(rTNF)试用于治疗癌肿病人[2]。迄今已发展到研究重组TNF与其它淋巴因子(如干扰素-r)、酶或化疗药物的相互作用[3,4]。TNF具有广泛的生物活性，也包括对某些寄生虫的细胞毒性。本文现将近年来肿瘤坏死因子应用于寄生虫感染，特别是疟原虫感染的研究情况综述如下：

一、TNF的生物学特性

肿瘤坏死因子被认为是一种细菌感染以后由类毒素刺激产生的血清蛋白。TNF可分为两类，由激活的巨噬细胞(Mϕ)产生的肿瘤坏死因子称TNF-α；由激活的淋巴细胞(LT)产生的淋巴毒素称TNF-β[5,6]。重组的人TNF(rhTNF-α)分子量为17000，含有155个氨基酸，pH在5-9之间，60℃处理30分钟仍稳定，70℃处理30分钟则失去活性。重组鼠TNF(rMuTNF-α)分子量为17000，由156个氨基酸组成。两种TNF有约80%氨基酸相同，人的TNF基因位于第6对染色体上[6,7]。

就目前所知，巨噬细胞约分泌有60多种物质，TNF是最令人注目的因子之一[8]。在体外它对肿瘤细胞具有直接抑制增殖作用和细胞溶解作用；在体内致实体肿瘤出血性坏死，体积缩小以至消退。直接把重组的TNF注射到肿瘤组织后，肿瘤退缩率可高达40%[5]。但不同种类的肿瘤细胞对TNF的敏感性有很大的不同。TNF在体内的生物活性除了抗肿瘤作用外，还包括刺激粒细胞和成纤维细胞增生，损伤内皮细胞，促进白细胞介素生成，抑制脂蛋白的酯酶活性，抗病毒活性以及抗疟原虫和其它寄生虫感染等作用[6,8,9,10]。

二、寄生虫感染所致血浆肿瘤坏死因子升高

Playfair，V.Nussenzweig和J.Dawid强调了TNF在寄生虫感染中的重要性，并在寄生虫病患者（锥虫病、黑热病、疟疾）血清中检测到了TNF。Taverne（1981）报告TNF抑制了体外培养的约氏疟原虫（P.yoelii）生长，认为其生长的抑制是由于TNF的直接细胞毒性作用[11]。Playfair认

维普资讯 http://www.cqvip.com

为TNF还可促使其它因子的生成，这些因子对寄生虫也有直接的细胞毒性[10]。以后又有许多学者进行了这方面的研究，特别是亚历桑那大学的 Scuderi 等(1986)为了进一步探讨TNF同人类疾病之间的关系，应用抗TNF单克隆抗体，采用酶联免疫吸附试验测定了不同肿瘤患者，传染病患者血浆中TNF水平。传染病除病毒性、细菌性及霉菌病患者外，还检查了几种寄生虫感染如杜氏利氏曼原虫、疟原虫、溶组织内阿米巴、刚地弓形虫，结果在检测的四种寄生虫病中只有疟疾和内脏利氏曼病TNF升高者居多（其中疟疾27例中有18例占66.6%，而内脏利氏曼病10例中有7例占70%），两者血清TNF几何平均值比其它传染病组和肿瘤组高约5倍，支持TNF在某种程度上起着宿主抗疟原虫、利氏曼原虫以及其它寄生虫感染的作用[9]。

TNF还可以作用于利氏曼原虫生活史的各个阶段。利氏曼原虫的前鞭毛体和无鞭毛体均有抗原性，可供免疫识别[12]，正常人血浆含有能识别前鞭毛体的抗体(IgG和IgM)，但利氏曼原虫能籍与虫体表面成份有抗原交叉反应的蜕落因子 (Sheading Factor) 防止体液或细胞免疫损伤的发生，在这种情况下，无抗原识别依赖性宿主抵抗力则起着重要的作用。而TNF和其它细胞介素及利氏曼原虫患者血中热敏因子(Heat-labile Serum factor) 导致了利氏曼原虫的溶解，在无抗原识别依赖性宿主的抵抗力中发挥了特殊的作用[9]。

David报告了嗜酸性细胞毒素对曼氏血吸虫幼虫的作用可通过重组TNF得到增强。嗜酸性细胞激活因子 (EAF) 可由 TNF激活而产生，它能增强人体外周血液中嗜酸性细胞对抗包被有抗体的曼氏血吸虫的细胞毒活性。虽然粒细胞—单核粒细胞群落刺激因子 (GM-CSF) 同样可激活嗜酸性细胞对曼氏血吸虫的毒性，但激活的机制似与TNF的有所不同[10,18]。

TNF在结构上与恶液质物质(cachectin)为同一成份，其分子量与结构均相同。恶液质物质是在研究有寄生虫感染的恶病质内源性介质时首先分离出来的。在牛、兔的锥虫病中产生了严重的消耗综合症，此症使宿主体重大为减轻而且常常降至原体重的1/2[14]。感染了枯氏锥虫的动物，TNF对恶病质起一定的作用[7]。造成恶病质的原因可能是由于TNF加速了糖原的分解，2—6磷酸果糖含量大幅度上升以及糖元消耗，乳酸盐生成增加所致[14]。

其它寄生虫感染时可能血浆中TNF的浓度也会升高，但目前这方面资料甚少。

三、TNF对疟原虫的杀伤作用

（一） TNF所致的疟原虫骤退现象

巨噬细胞被BCG—LPS刺激后所产生的TNF-α在体外可杀伤伯氏疟原虫(P.berghei)、约氏疟原虫和恶性疟原虫(P.falciparum)[11,15,16]。而用部份纯化的TNF所制备的抗血清则可抑制BCG—LPS血清对恶性疟原虫红内期的毒性作用[16]。Clark首次报道了TNF的抗疟原虫的活性[17]，他们发现两次腹腔内注射小鼠TNF可降低疟原虫血症并保护经感染文氏疟原虫(P.Vinckei)致死株的小鼠免于死亡，同时 Taverne 等发现[11]TNF在体外对约氏疟原虫非致死株及致死性伯氏疟原虫有杀伤活性。但把兔子的TNS注入小鼠体内后，只有约氏疟原虫感染的原虫血症降低，而对伯氏疟原虫感染的无此作用[18]，认为可能是兔TNF进入小鼠体内后被灭活或在伯氏疟原虫感染时宿主的免疫系统受到严重抑制而无力与TNF协同发挥作用所致。以后 Wozen Craft 等报道感染人的恶性疟原虫对TNF也相当敏感。当疟原虫感染时，巨噬细胞处于高度活化状态，激活的Mφ变大，游走及吞噬能力增强。内毒素注射后可引起TNF大量释放入血，抑制了细胞内疟原虫的发育并引起骤退现象

维普资讯 http://www.cqvip.com

(Crist Forms)，提示疟原虫感染过程中可释放TNF并参与寄生虫的杀伤[15,16,18]。但Jensen指出无论是纯化的小鼠TNF或是重组的人TNF对肿瘤细胞高度敏感而对疟原虫无效，不能引起体外培养的恶性疟原虫发生骤退现象。

（二） TNF杀伤疟原虫的机理

在疟原虫感染时并无内毒素产生，那如何解释激发细胞毒的作用？playfair认为是在疟疾患者肝功能失调时从肠道而来的少量内毒素进入血循环，或是疟原虫可能释放一种类似内毒素的物质或是T细胞或抗体激活Mφ而产生细胞毒。TNF的抗疟原虫活性与杀伤肿瘤细胞的细胞毒活性是完全一致的。因为被疟原虫寄生的红细胞能抑制小鼠TNS对肿瘤细胞的细胞毒作用，反之肿瘤细胞也能防止TNS体外对恶性疟原虫的杀伤作用，而且两种TNF在凝胶过滤及离子交换色谱法中都能一同被纯化，这似乎说明杀伤肿瘤细胞与杀伤疟原虫的TNF为同一物质[11,16,17,20]。

TNF对靶细胞如肿瘤细胞的作用机理是通过细胞表面高亲和性的受体来完成的。许多证据表明肿瘤细胞膜上存在有转铁蛋白受体[21]，TNF与受体结合后被溶酶体酶摄入，在此过程中溶酶体酶内的蛋白酶类释放在细胞浆中，致使细胞溶解，而且经TNF受体介导的TNF识别机制对表达TNF细胞毒作用十分必要。Taverne认为在疟原虫寄生的红细胞上也存在有转铁蛋白受体[21]。疟原虫生长需要铁离子，但它不能从血红素的降解中直接获得，因而转铁蛋白可能是其铁离子的来源[22]。虽然成熟红细胞与网织红细胞相比只有极少量转铁蛋白受体，但疟原虫能插入它自身蛋白到红细胞膜上，转铁蛋白就是其中之一。被疟原虫寄生的红细胞膜表面发生改变，转铁蛋白受体增多，以接受更多的转铁蛋白供应原虫生长，但TNF阻断或破坏了感染的红细胞膜上的转铁蛋白受体，由于转铁蛋白摄入减少而使红细胞内疟原虫发育受阻而退化[20]。因此TNF是通过受体介导发挥对疟原虫的细胞毒作用，阻止其增殖。

此外还有实验表明TNF能抑制恶性疟原虫的3H—次黄嘌呤合成核酸的过程，使红细胞内疟原虫死亡[16]。

（三） 脑型疟中TNF的作用

脑型疟（CM）是恶性疟原虫感染最严重的并发症，其病理生理作用至今尚不清楚。虽然其发生率仅占疟疾患者的0.5～1‰，但在疟疾高发区却是很常见的[23]。目前的研究证实血中TNF水平与脑型疟的严重程度有关。Grau在实验中表明正常小鼠不含有能检测到的TNF，而CM鼠血清TNF浓度明显高于无CM鼠[23]。这一现象在对不同感染程度的脑型疟儿童研究中获得证实，死亡病人TNF血清浓度大大高于存活者浓度，且血中TNF水平越高，死亡率也越高，似说明患者的TNF浓度升高很可能是由p.f引起[24]。

恶性疟并发脑型疟可能是由于毛细血管和小静脉被寄生的红细胞阻塞以及局部组织灌注紊乱所致，而TNF的作用之一是对血管内皮细胞有直接的细胞毒作用，可改变白细胞对血管内皮细胞的粘附能力，增强被寄生的红细胞的粘附作用，从而使红细胞阻滞，使组织灌注发生障碍[24,25]。TNF还可刺激生成促凝血因子而促使血管内血栓形成。高水平的TNF可由于全身巨噬细胞产物过度增加局部内皮的改变而使病情恶化。血管内皮的改变又有助于单核细胞的聚集，导致更进一步的TNF和白细胞介素I的释放，这样的过程发生在脑型疟时就成了急速致死的原因。因此用抗TNF抗体治疗可减少巨噬细胞的增殖，脾及淋巴结内Mφ聚集减少，脑血管内皮损害减轻从而达到治疗的目的[23]。

重症恶性疟治疗前常出现低血糖症，可能与TNF刺激了胰岛素的分泌增加[26]和减

维普资讯 http://www.cqvip.com

弱了肝脏内糖元异生作用有关[24]。

TNF在CM中对宿主的有害作用似乎与疟疾感染时淋巴细胞及巨噬细胞的保护性作用自相矛盾。是否可以这样认为，在对寄生虫抗原的免疫应答中，T淋巴细胞能刺激巨噬细胞引起的过氧化物或TNF-α等物质的释放[23,27]，它们对寄生虫有潜在的毒性，但在寄生虫感染特别严重时，它们对宿主的保护机制未能表现出来。因此局部和暂时的TNF可以对人体有益，而全身持续性TNF也可有害，取决于它的活性程度，时限及其作用部位[5,28]。

四、结　语

由巨噬细胞，淋巴细胞等受刺激后所释放的可溶性介质除TNF外，还包括淋巴激活因子(LAF)、白细胞介素[17]H_2O_2[28]、干扰素等。这些因子相辅相成，协同发挥对寄生虫的杀伤作用，无疑TNF是其中最重要的因子。目前的工作除了疟原虫以外，其它寄生虫与TNF的详细机理尚待进一步研究。可以预见，随着工作的深入，TNF将可能成为治疗寄生虫病特别是疟疾的一种很有前景的生物疗法。

参考文献

[1] Carswell, EA, et al. proc Natl Acad Sci USA 1975; 72:3666

[2] Beardsley, T. Nature 1985; 315:175

[3] Luo YP et al. Proc znd SCBA Int Symposium and Workshop 1988; Burkeley CA P169

[4] Luo YP. Proc AACR 1987; 28:1518

[5] Malik, S. Bri Med J 1988; 296:1214

[6] Selby, D. et al. Br J Cancer 1987; 56: 803—808

[7] Scheurich, P. Int J Cancer 1986; 38: 127

[8] Playfair, JHL etal:Immunol Today 1984; 5:165

[9] Scuderi, P. et al. The lancet 1986; 13: 1364

[10] Ruddle, NH. Int Immunol Tody 1987; 8:129

[11] Taverne, J. et al. Inf Immunol 1981; 33:83

[12] Pearson, D. the J Immunol 1980; 125: 2195

[13] Thorne, KJ. et al. Immunol 1988; 63: 545

[14] Cerami, A, et al. Immunol Today 1988; 9:2830

[15] Wozencraft, AO, etal, Inf Immunol 1984; 43:664

[16] Haidaris, CG, et al. Inf Immunol 1983; 42:385

[17] Clark, IA, et al. Inf Immunol 1982; 32:1058～66

[18] Taverne, J. et al. Inf Immunol 1982; 37:927

[19] Jensen, et al. Inf Immunol 1987; 55: 1722

[20] Taverne, J, et al. Clin exp Immunol 1984; 57:293

[21] Faulk, wp, et al. Lancet 1980; 11:390

[22] Pollack, S. Br J Hoematol 1983; 53: 181

[23] Grau, GE. Scince 1987; 237:1210

[24] 荆清. 国外医学寄生虫分册 1989; 6:262

[25] Beutler, B, et al. J EXP Med 1986; 163:1433

[26] Choy, yM, et al. Cancer letters 1987; 37:33

[27] Teagust, JH. clin EXP Immunol 1986; 66:44

[28] Dockrell, HM, et al. Inf Immunol 1983; 39:456～459