DOI:10.16016/j.1000-5404.1993.02.005

枯氏细胞活性对疟原虫子孢子的拘留和对其穿越肝血窦壁的作用

王兴相 （第三军医大学基础部寄生虫学教研室）630038

提 要 本文综述了枯氏细胞—肝内巨噬细胞—的生理活性对拘留疟原虫子孢子及对其杀伤或转运子孢子越过肝血窦壁的作用。巨噬细胞的吞噬活性对拘留血流中子孢子起重要作用；肝组织中拘留子孢子数量远较脾、肺中的多。一般情况下，枯氏细胞吞噬活性愈强，愈有利于子孢子入侵，其杀伤活性愈强，愈有利于阻止子孢子入侵。当用制剂使枯氏细胞杀伤活性大大增强后，则吞噬活性愈强，被杀伤的子孢子也愈多，从而入侵的子孢子也愈少。

关键词 Kupfer 细胞；巨噬细胞；约氏疟原虫；孢子虫纲；大鼠；地塞米松；环磷酰胺；干扰素类

哺乳类疟原虫子孢子入侵脊椎动物宿主体内，必须先经肝实质细胞内发育阶段（红外期）后，才能侵入红细胞，并进一步发育。但血流中子孢子不可能直接与肝实质细胞接触，它必须停留肝血窦内并越过肝血窦壁，才可进入地塞氏间隙，才能接触肝实质细胞。子孢子是如何穿越血窦壁的，在其穿越过程中，构成血窦壁的主要细胞之一的巨噬细胞——枯氏细胞究竟起何种作用，尚有争论。Shin 等[1]认为枯氏细胞可吞噬子孢子，并予以裂解，故可阻止子孢子入侵；Meis 等[2]则认为子孢子是藉枯氏细胞转运至迪塞氏间隙的。他们的推论都是以形态学的观察为依据。为了进一步探讨此问题，我们根据巨噬细胞具有吞噬异物并予以杀伤（裂解）之作用，以及巨噬细胞之吞噬活性和杀伤功能并不相应，甚至相反的特点[3]，采用改变其活性的方法，观察其对约氏疟原虫（P. yoelii）子孢子的拘留和对子孢子入侵 Wistar 大鼠肝细胞的影响。

1 封闭或降低巨噬细胞吞噬活性水平后，对子孢子入侵的影响[4]

碳粒是常用于封闭巨噬细胞吞噬作用的物质。当用灭菌的印度墨汁（Winson Newton ink）用生理盐水稀释 10 倍后，于接种子孢子前 24、4 h，静脉注射于大鼠体内。接种子孢子 42 h 后检测肝内红外期数，观察其发育状态，并求出子孢子发育率（以下同），结果见表 1。

表 1 某些制剂对子孢子入侵的影响

Tab 1 Effects of some agents on the sporozoite the invasion

	No. rats	sporozoite viability (%)	
		test	control
carbon particle	5	10.92±7.35	19.53±8.54
BCG	6,7	14.42±7.52*	29.87±9.64*
Dexamethasonum	6	53.43±7.19**	29.81±9.24**
cyclopnospnamide	5	11.30±3.8+	3.7±2.1+
Poly 1∶C	5	0.39±0.34++	12.32±4.85++
r-IPN	5	0.43±0.31△	5.69±0.89△

$^{*}P<0.05$ $^{**}P<0.005$ $^{+}P<0.005$ $^{++}P<0.001$ $^{\triangle}P<0.001$

此结果表明，当枯氏细胞吞噬活性被降低后，子孢子入侵肝细胞机率亦随之下降，且只有对照组之一半。

2 增强巨噬细胞杀伤功能，对子孢子入侵之影响[4]

众所周知 BCG 能促进巨噬细胞的杀伤功能，当大鼠于接种子孢子前 2 周，静脉 BCG 6×10^{7} 活菌单位，则其子孢子发育率如表 1。本结果提示，当巨噬

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

细胞杀伤功能被 BCG 促进后，则子孢子入侵之机率随之下降，只及对照组之半。

3 增进巨噬细胞吞噬活性，同时降低其杀伤功能后，对子孢子入侵之影响

地塞米松小剂量可激惹巨噬细胞吞噬活性，并可降低其杀伤功能[5]；单一剂量之环磷酰胺亦可抑制巨噬细胞杀伤功能，却增进其吞噬活性[6,7]。当大鼠于接种子孢子前 24、12 和 0.5 h，各皮下注射地塞米松 0.5mg/kg；或接种子孢子前 24 h 静注环磷酰胺 20mg/kg 1 次[4,8]，则其子孢子发育率见表 1。本结果提示，子孢子发育率随着巨噬细胞吞噬活性的提高，杀伤功能的降低而大大上升。

4 增强巨噬细胞吞噬活性的同时，加强其杀伤功能后，对子孢子入侵的影响[9,10]

具有上述功能的制剂首推干扰素[11,12]，而 Poly I：C 是临床常规使用的 α、β-干扰素诱导剂。当大鼠于接种子孢子前 18 h 静注 Poly I：C 5mg/kg 或 5 h 前静注大鼠 r-干扰素 160 000u/kg，则其子孢子发育率见表 1。本结果提示，当巨噬细胞杀伤功能被大大强化时，其吞噬活性愈强，则可被杀伤的子孢子也愈多，从而子孢子入侵的机率也愈低。

5 干扰素能否抑制红外期的发育

Jahiel 等[13]，Ferreira 等[14]认为干扰素可直接强烈地抑制红外期的发育，其根据是，应用干扰素后，感染子孢子的小鼠虫血症前期延长或所测肝内疟原虫之 DNA 含量远较对照组低。但他们都未直接观察红外期的发育情况。当大鼠接种子孢子后 2 h，即子孢子已进入实质细胞之后，再静注 Poly I：C 或大鼠 r-干扰素，则我们可以看到完全不同于 Jahiel 和 Ferrira 等的推论。其结果如表 2。

表 2 子孢子侵入肝实质细胞后，干扰素对红外期发育的影响

Tab 2 Effects of interferonlon the dcvelopment of exoerythrocytic forms when the sporozoites have located in the hepatic parenchyma

	No. rats	sporojoite viability %	Diameter of EEF μm	Maturation rate of EEF %
Poly I：C	6	5.38±2.95	32.96±3.66	78.18
control	6	6.09±3.43	32.02±3.73	78.26
r-Interferon	5	7.83±1.18	34.30±5.56	78.95
control	5	7.89±1.78	34.86±5.61	83.38

$P > 0.05$

本实验证明，当子孢子侵入肝细胞后，干扰素对子孢子发育率，对红外期大小及成熟率均无任何不利作用，这进一步说明，干扰素的抗疟作用靶位是在子孢子入侵肝细胞之前某一阶段。当含干扰素(α、β)血清或 r-干扰素与子孢子共孵 40min 后再接种，亦不影响子孢子发育率，故亦可排除其对子孢子本身的不利作用[9,10]。

6 肝、肺、脾拘留子孢子的能力与巨噬细胞活性之关系

6.1 不同流量灌注下，肝、肺对子孢子的拘留能力[15]

大鼠在戊巴比妥钠麻醉下，将定量子孢子生理盐水悬液自门静脉或右心室灌注，由前腔静脉或主动脉回收灌注液，并计数收集液中的子孢子数。灌注流量分低流量(肝：3ml/min；肺：2ml/min)和高流量(肝、肺：7ml/min)。3 次实验平均结果如表 3。

表 3 不同流量灌注下，肝、肺拘留子孢子的能力

Tab 3 The ability of traping sporozoite of liver and lung under different perfusion flow

	liver		lung	
Volume of flow (ml/min)	3	7	2	7
% of sporojoite captured	81.60±6.39	81.34±11.03	67.39±2.60	33.74±9.26

本实验说明，在相差一倍以上的两种流量灌注下，肝脏对子孢子的拘留能力是稳定的，提示这种拘

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

留能力不是依赖单纯子孢子沉积所致的。肺对子孢子的拘留能力则显示是灌注流速依赖性的，即与灌注流速呈负相关，提示其拘留机制主要是机械性的。

6.2 将^{125}I 标记之子孢子静注于大鼠体内，2 h 后，分别检测肝、肺及脾内 cpm 值，结果，肝、脾、肺 cpm 值之比为 1∶0.027∶0.29，提示肝内拘留子孢子数远高于脾、肺中之数[15]。

6.3 用墨汁或地塞米松封闭或增强巨噬细胞吞噬活性后，然后静注^{125}I 标记之子孢子，2 h 后分别测定 0.1g 肝、脾、肺组织中 cpm 值，并与对照组比较[15]，其结果如表 4。

表 4 巨噬细胞对拘留子孢子的作用

Tab 4 Effect of macrophage on traping sporozoite

	cpm/0.1g cell		
	Dexamethasonum	ink	control
liver	4.8×10^{3}**	2.6×10^{3}**	4.2×10^{3}
spleen	2.1×10^{3}**	9.2×10^{2}**	1.2×10^{3}
lung	2.6×10^{3}	2.8×10^{3}	3.9×10^{3}

*$P<0.05$ **$P<0.01$

肝、脾组织中 cpm 值，地塞米松组均高于对照组，且与墨汁组之间均有显著性差异。此结果提示肝、脾中巨噬细胞吞噬活性之高低对拘留子孢子起重要作用。肺的 3 组之间，均无明显差异，这提示肺内巨噬细胞活性与拘留子孢子无明显关系。此结果与 6.1 项试验结果相符。其原因显然与肺内巨噬细胞即尘细胞不位于血管腔内有关。

7 巨噬细胞活性的差异对子孢子感染的其它影响

在我们多次的正常子孢子感染大鼠或小鼠实验中，不同批的子孢子发育率有很大差异。大鼠中子孢子发育率远高于小鼠中发育率，且红外期体积也较大，故对约氏疟原虫子孢子的感染，大鼠比小鼠敏感[16]，但同一鼠种内，如 Wistar 大鼠中，不同批的子孢子发育率，有的可高至 29%以上，亦可低至 1%左右，其原因除每批感染时子孢子成熟程度不尽一致外[17]，每批实验中鼠的巨噬细胞活性差异亦可能是重要原因。其它如宿主营养不良可严重抑制子孢子入侵[18]；雄性大鼠中子孢子发育率亦往往高于雌性[19]。这种性别上导致的差异似乎与血液中雌激素水平或自然杀伤细胞的活性高低无关[20]，而可能与巨噬细胞活性差别有关。

8 结语

枯氏细胞——肝内巨噬细胞的生理活性状态对拘留血循环中的子孢子和使之穿越肝血窦壁，侵入肝实质细胞内，起着重要作用。其高的吞噬活性水平有利于拘捕更多的子孢子，并将其转运至迪塞氏间隙，由此侵入肝实质细胞；其杀伤功能的加强则有利于将吞噬的子孢子裂解，特别对有损伤或致敏的子孢子，从而阻止子孢子的入侵。一般情况下，子孢子入侵肝细胞机率的大小是与枯氏细胞吞噬活性高低呈正相关，而与其杀伤功能的高低呈负相关。换言之，它取决于枯氏细胞吞噬活性与杀伤功能之间的不平衡程度。故凡能修饰巨噬细胞活性的制剂，均能影响子孢子的入侵。

参考文献

1. Shin Scj, Vanderberg JP, Tenzokis TA. Direct infection of hepatocyte by sporozoites of plasmodium berghei. J Protozool, 1982; 29(3): 148～154
2. Meis JFGM, Verhave JP, Tap PHK, et al. An ultrastructural study on the role of kupffer cells in the process of infection by plasmodium berghei sporozoites. Parasitol, 1983; 86(2): 231～242
3. Biozzi G, Meuton D, Stiffel C, et al. A major role of the macrophage in quantitative genetic regulation of immunoresponsiveness and antiinfectious immunity. Adv Immunology, Dixon FT edi: Academic Press Inc, 1984; 36: 189～232
4. 王兴相 陈志强。BCG、地塞米松和碳素对大鼠体内约氏疟原虫子孢子入侵及红外期发育的影响。第三军医大学学报，1987; 9(2): 175～177
5. 明道化。肾上腺皮质激素与免疫。上海免疫学杂志，1983; 3(1): 57～60
6. Spreafico F, Tagliabue A, Vecchi A. Chemical immunodepressants. In: Sirois P. & Rola-Pleszczyus-

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

ki M. edi. Immunopharmacology, Amsterdan: Elsevier Biomedical Press, 1982; 4: 329～333
7. 王彩英 邢善田 周金黄。环磷酰胺对小鼠 B、T-淋巴细胞及巨噬细胞活性的影响。重庆医药, 1984; 13(1): 56～59
8. 王兴相 黄复生。环磷酰胺对大鼠体内约氏疟原虫红外期发育的影响。中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 1987; 5(3): 180～183
9. 王兴相 黄复生 陈志强, 等。聚集胞对大鼠体内约氏疟原虫子孢子入侵及红外期发育的影响。中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 1991; 9(3): 186～189
10. 秦小红 王兴相 况明书。r-干扰素对大鼠体内约氏疟原虫子孢子入侵及红外期发生的影响。第三军医大学学报, (本刊待发表)
11. Donahoe RM, Huang KY. Interferon preparations enhance phagocytosis in vivo. Infect Immunity, 1976; 13(4): 1250～1257
12. Murray MW, Spitalny GL, Nathan CF. Activity of mouse-peritoneal macrophages in vitro and in vivo by IFN-r. J Immunol, 1985; 134(3): 1619～1622
13. Jahiel RI, Vilcer J. Exogenous interferon protect mice against plasmodium berghei malaria. Nature, 1970; 227(5265): 1350～1351
14. Ferreira A, Schofield L, Enea V, et al. Inhibition of development of exoerythrocytic forms of malaria parasites by r-interferon. Science, 1986; 232(7245): 881～884
15. 齐洁 王兴相 段建华。大鼠肝、脾、肺对疟原虫子孢子的拘捕及与巨噬细胞活性的关系。第三军医大学学报, 1992; 14(4): 359～361
16. 王兴相 黄复生 张军, 等。约氏疟原虫红外期在大鼠及小鼠肝内的形态、退变及宿主细胞的反应。第三军医大学学报, 1985; 7(3): 237～240
17. Vanderberg JP. Development of infectivity by the plasmodium berghei sporozoite. J Parasitol, 1975; 61(1): 43～50
18. 李全贞 王兴相 陈志强。营养不良对约氏疟原虫子孢子入侵和红外期发育的影响。动物学报, 1989; 35(4): 442～443
19. 李全贞 王兴相 陈志强。Wistar 大鼠鼠龄、性别和脾脏对约氏疟原虫子孢子入侵和红外期发育的影响。四川动物, 1987; 7(4): 8～9
20. 王兴相 陈志强。雌激素对大鼠肝内约氏疟原虫子孢子入侵及红外期发育的影响。第三军医大学学报, 1988; 10(4): 330～331

(收稿: 1992-06-26; 修回: 1992-11-30)

Effects of Kupffer's cell activity on traping of plasmodial sporozoites and on their passing through hepatic sinus walls

Wang Xingxiang (Department of Parasitology, Third Military Medical College, Chongqing, 630038)

Abstract The effects of Kupffer's cells on the traping or killing of the plasmodial sporozoites and on the transporting of them through the hepatic sinus walls into the Disse's space were summarized. The phagocytosis of Kupffer's cells plays an important role to trap the sporozoites and the ability to trap sporozoites is higher in the liver than in the lungs and the spleen. In general, the stronger the phagocytosis of the Kupffer's cells, the more advantageous to the invasion of sporozoites; the higher the biocidal activity of Kupffer's cells, the more advantageous for the host to prevent the sporozoites from invading. When the biocidal activity of the Kupffer's cells is enhanced by certain drug agents, more sporozoites can be phagocytized and killed and less amounts of sporozoites will invade the host's red cells.

Key words Kupffer cells; macrophages; plasmodium yoelii; sporozoa; rat; dexamethasome; cyclophosphamide; interferons

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net