DOI:10.16016/j.1000-5404.1987.02.014



# BCG、地塞米松和碳素对大鼠肝内约氏疟原虫孢子入侵及外期发育的影响

王兴相 陈志强（寄生虫学教研室）

**提 要** 大鼠在注射BCG、地塞米松或碳素后，再静注约氏疟原虫子孢子，42小时后活杀，观察三种制剂各自对子孢子入侵及外期原虫发育的影响。结果：碳素组中30%枯氏细胞内充斥碳粒，外期密度明显下降；BCG $6\times10^7$菌单位一次静注，亦可使外期密度明显下降，且原虫较小，退变率较高；地塞米松则可使外期密度明显升高，且原虫较大，有液泡者多。本文对出现上述现象的原因进行了分析。

**关键词** 约氏疟原虫子孢子；外期；BCG；碳素；地塞米松；枯氏细胞

疟原虫子孢子进入宿主血流后，一小时内即侵入肝实质细胞并发育为外期。外期原虫发育成熟并在释放裂殖子以前的整个过程中，宿主都没有明显的生理和组织反应。然而宿主机体的免疫反应仍起一定作用。如约氏疟原虫外期在大鼠肝内发育过程中可出现退变[1]；环磷酰胺也能明显促进子孢子入侵肝细胞；肝血窦内枯氏细胞(Kupffer cell)可活跃地吞噬入侵的子孢子[7][8]。但是关于被吞噬的子孢子的命运，目前仍无定论。为了进一步探讨宿主在不同免疫状态下，枯氏细胞对疟原虫子孢子入侵肝细胞及外期发育的影响，本文用免疫增效剂—BCG、免疫抑制剂—地塞米松及巨噬细胞封闭物质—碳素分别处理试验动物，然后接种约氏疟原虫子孢子，分别观察疟原虫在不同免疫状态下宿主体内发育的特点。

## 材 料 与 方 法

约氏疟原虫 (P.y.yoelii) BY265株 保种于昆明株小鼠体内。每周血传一次，每5周蚊传一次。

斯氏按蚊 (A.stephensi) 饲育于26±1℃养蚊室内。成蚊羽化后第3天用于吸血感染。

大鼠 Wistar株，体重40～60g，雌雄不拘。

碳素 市购印度墨汁 (Winson & Newton Ink)，英国出品。使用前高压消毒（15磅，15分钟），用无菌生理盐水稀释10倍。分两个剂量组：一组于接种子孢子前24、4小时各静注0.5ml，总剂量1ml；另一组于接种前6天起，每天经腹腔注射0.5ml，共6次，4小时前静注0.3ml，总剂量为3.3ml。

BCG 粉剂，成都生物制品研究所产品。每支75mg，含$150\times10^7$活菌单位。保存于4℃。临用前用无菌生理盐水稀释所需浓度。分3个剂量组静注，即$2\times10^7$、$4\times10^7$和$6\times10^7$菌单位，注射后第14天接种子孢子。

地塞米松 (Dexamethasonum) 市购品，临用前用无菌生理盐水稀释。接种子孢子前24小时皮下注射一次，以后每隔12小时注射一次。共3个剂量组，即1mg/kg×5，1mg/kg×2，0.5mg/kg×3，总剂量各为5、2、1.5mg/kg。

动物感染及镜检 蚊媒感染及分离子孢子法见前文[1]。分离后的子孢子悬液用孔径35μm的细绢过滤后经尾静脉注入大鼠体内，每组鼠0.5或0.7ml。接种后42小时活杀动物。每鼠镜检肝切片面积平均为10～16cm²。制片程序及外期密度计算法见前文。

## 结 果

**一、碳素对子孢子发育为外期的影响** 本试验共两个剂量组，每组各5只大鼠。除统计肝切片中原虫数外，并在油浸镜下观察含碳粒的枯氏细胞数。凡含碳粒5粒以上者作为被封闭论。剂量1ml组中枯氏细胞被封闭率平均为28.15%；3.3ml组中，封闭率平均为33.12%。两组子孢子发育为外期的百分率（子孢子发育率）平均各为10.92%和18.55%，其相应对照组各为19.53%和29.15%，各为封闭组的1.5倍左右（表1）。

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

表1 碳素对大鼠肝内约氏疟原虫子孢子发育的影响

| 试验号 | 碳素组 鼠数 | 剂量(ml) | 发育率%($\bar{X}\pm SD$) | 对照组 鼠数 | 发育率%($\bar{X}\pm SD$) |
|---|---|---|---|---|---|
| I | 5 | 1 | 10.92±7.35 | 6 | 19.53±8.54 |
| II | 5 | 3.3 | 18.55±6.48 | 5 | 29.15±15.65 |

二、BCG、地塞米松对子孢子发育率的影响

BCG有3个剂量组，每组5～8只鼠。剂量为$2\times10^7$和$4\times10^7$菌单位时，子孢子发育率各为6.18%和9.16%，与相应对照组（9.66%和8.56%）无明显差异；剂量为$6\times10^7$菌单位时，子孢子发育率为14.42%，仅为对照组（29.81%）的1/2，两者差异显著。此外，BCG 3组中变异系数也都远较相应对照组大。地塞米松亦有3个剂量组，每组5～6只鼠。剂量为5、2、1.5mg/kg组的子孢子发育率依次为18.40%、13.79%和53.40%，与相应对照组比较，约为后者的1.5～2倍，差异均显著。而且地塞米松组中子孢子发育率的变异系数均较小（表2）。

三、BCG、地塞米松对外期发育的影响 对照

表2 BCG、地塞米松对大鼠肝内约氏疟原虫子孢子发育的影响

| 试验号 | 对照组 鼠数 | 发育率%($\bar{X}+SD$)(CV) | 地塞米松组 鼠数 | 剂量(mg/kg) | 发育率%($\bar{X}\pm SD$)(CV) | BCG组 鼠数 | 剂量(菌单位) | 发育率%($\bar{X}\pm SD$)(CV) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| I | 6 | 9.66±2.06[a] 0.21 | 6 | 5 | 18.40±4.06[b] 0.22 | 8 | $2\times10^7$ | 6.18±3.77 0.61 |
| II | 5 | 8.56±3.44[c] 0.40 | 5 | 2 | 13.79±0.57[d] 0.04 | 5 | $4\times10^7$ | 9.16±6.19 0.67 |
| III | 6 | 29.81±9.64[e] 0.32 | 6 | 1.5 | 53.40±7.19[f] 0.13 | 7 | $6\times10^7$ | 14.42±7.52[g] 0.52 |

a,b间：$P<0.001$ c,d间：$P<0.01$ e,f间：$P<0.01$ e,g间：$P<0.01$ CV：变异系数

组原虫多呈圆形或椭圆，直径多在35μm以内，超过30μm者约占原虫数的20.29%（194/956）。多数原虫的核径为0.5～1.0μm，3～5个核聚集在一起，呈不均匀分布。偶可见一个肝细胞内含2个原虫，个别原虫胞浆中央可有一大液泡，其直径可达21～30μm（图1、2、3）。未见有成熟破裂原虫。原虫退变率为1%，原虫密度范围为4.4～156.4/$cm^2$。地塞米松组的原虫亦多呈圆形或椭圆，一些较大原虫呈明显分叶状（图4）。直径大于30μm者约占原虫数的31.12%（413/327），其中直径达40～45μm者占4.4%。核分布与对照组相似，原虫胞浆中含中央大液泡者多见，有些原虫胞浆内还可出现多至10个液泡，液泡直径为3.5～12μm不等（图5）。未见有成熟破裂原虫。原虫退变率约1%，原虫密度为13.9～175/$cm^2$。BCG组原虫形态类似对照组，但体积较小，直径超过30μm者仅占13.76%（30/218）。未有超过35μm者。原虫退变率约3%。原虫密度范围为0.2～105/$cm^2$。

## 讨 论

一、大鼠对约氏疟原虫子孢子敏感性的个体差异 Vanderberg等(1968)在观察CFN大鼠对P.berghei子孢子敏感性时，发现该鼠个体之间的敏感性差异很大，其变异系数可高至0.37，不同批试验中，其子孢子平均发育率也在3～35%之间[9]。本试验结果表明，Wistar大鼠亦有同样现象。如表2对照组Ⅱ中，5只鼠子孢子发育率平均为8.56%，其变异系数达0.40。而3次试验的各自平均结果差别亦明显（8.56%～29.81%）。大鼠个体之间敏感性差异很可能是个体之间非特异性免疫水平差异的表现；而不同批试验之间的结果差异很可能是由于试验条件不一致的结果，如子孢子成熟程度、试验时的室温差别等等。

二、枯氏细胞在子孢子入侵过程中的作用 Meis等（1983）[7]报导，枯氏细胞可活跃地吞噬侵入肝血窦内的子孢子。但发现被吞噬的子孢子形态却完好无损。因此认为枯氏细胞起着转运子孢子进入迪塞氏间隙

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

(Disse's Space)的功能。Shin等 (1982)[8] 在电镜下发现枯氏细胞中的子孢子多处在细胞溶解状态，认为枯氏细胞有清除子孢子的作用。这两种相左的观点都是从形态学推论而来的。本文表明，未致敏的大鼠，用碳素降低枯氏细胞的吞噬功能，可以明显降低子孢子入侵肝实质细胞的数量。可见枯氏细胞吞噬活动水平与子孢子侵入肝细胞的机率呈正相关。但不能排除枯氏细胞有杀伤未成熟或有损伤的子孢子的可能。

三、地塞米松的作用　地塞米松是肾上腺皮质激素类，其作用有两重性，大剂量可抑制巨噬细胞的吞噬活动；小剂量可激发其吞噬活动，并抑制对吞入物质的消化[3]。本文表明，地塞米松 3 种剂量均有明显提高子孢子发育率的作用。这提示这三种剂量的地塞米松均可促使枯氏细胞对子孢子的吞噬，又可抑制对子孢子的消化，从而使枯氏细胞积极转运子孢子至迪塞氏间隙。地塞米松还可使同组鼠之间个体敏感性差异大大缩小。这一现象似乎提示该激素还可将不同水平的非特异性免疫稳定在一较低水平。此外，该组中原虫体积也较大，分叶者多，有液泡者多。与对照组比，这些现象似乎是由于解除了某些抑制因子的结果。Decker等(1985)[5] 证明，枯氏细胞在一定条件下可被激化而起着自发细胞毒作用，可杀伤细胞内、外的目标。另外天然杀伤细胞的活性水平与疟原虫发育也有密切关系[6]。因此也不能排除该激素还可能抑制枯氏细胞和天然杀伤细胞的细胞毒活性作用。

四、BCG的作用　BCG 能使宿主增强对疟原虫红细胞内期感染的非特性免疫[4]，但对子孢子入侵的影响则未见报导。本文证明，一次静注 $6\times10^7$ 活菌单位即可明显降低外期数量，而且原虫体积较小，退变率较高，甚至宿主个体之间敏感性差异也因之增大。这些现象可能与 BCG 既可促进巨噬细胞的吞噬功能，促进枯氏细胞对子孢子的转运，又可激发巨噬细胞的细胞毒杀伤作用有关[2]。前者可增加外期数量，后者则可减少子孢子入侵。因此，只有当BCG达到一定剂量后，后一因素占主导地位时，才能显示抑制子孢子入侵的作用。BCG组中个体敏感性差异的增大，也可能与BCG对枯氏细胞的上述两重功能的不平衡有一定关系。至于BCG还可诱发天然杀伤细胞活性的功效[10]，对于疟原虫外期的发育也可能起一定的抑制作用。

## 参 考 文 献


1. 王兴相，等。约氏疟原虫外期在大鼠及小鼠体内形态、退变及宿主细胞反应。第三军医大学学报 1985；7:237
2. 都本业，等。卡介苗免疫对巨噬细胞功能的影响。中华结核和呼吸系疾病杂志 1983；6:268
3. 明道化。肾上腺皮质激素与免疫。上海免疫学杂志 1983；3:57
4. Clark IA, et al. Protection of mice against Babesia and Plaasmodium with BCG. Nature 1976; 259:309
5. Decker T, et al. Liver macrophages(Kupffer cells) as cytotoxic effector cells in extracellular and iutracellular cytotoxicity. Infect Immunity 1985; 50:358
6. Jayawardena AN. Mediators of nonspecific immunity a, Natural killer cells. In Mansfield JM ed. Parasitic Disease vol. I. New York, Marcel Dekker Inc. 1981:105
7. Meis JFGM, et al. An ultrastructural study of the role of kupffer cells in the process of infection by Plasmodium berghei sporozoites in rats. Parasitol 1983; 86:231
8. Shin SC, et al. Direct infection of hepatocyte by sporozoites of Plasmodium berghei. J Protozool 1982; 29:448
9. Vanderburg JP, et al. Further studies on the Plasmodium berghei-Anopheles stephensi-rodent system of mammalian malaria. J Parasitol 1968; 54:1009
10. Wolfe SA, et al. Induction of "natural killer cells" by BCG. Nature 1976; 262:584


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

## Effects of BCG, Dexamethasone and Carbon Particles on Invasion of Sporozoites and Development of Exoerythrocytic Forms of Plasmodium yoelii in Rat liver

Wang Xingxiang, Chen Zhiqiang ( Department of Parasitology, Third Military Medical College)

Wistar rats pretreated with BCG, dexamethasone or carbon particles respectively were inoculated with P. yoelii sporozoites via caudal vein. 42 hours after inoculation, the animals were killed to examine the effects of these 3 agents on the invasion of sporozoites and the development of exoerythrocytic forms (EEF).

It was found that in the carbon group about 30% of the kupffer cells contained the particles, and the density of EEF apparently decreased as compared with that of the control. In the BCG group, a dosage of $6 \times 10^7$ units also caused a marked decrease of EEF density, and the parasites were smaller with a higher rate of degenerated forms as compared with those of the control. In the dexamethasone group, however, the EEF density increased markedly up to the level 1.5~2 times higher than that of the control. In addition the EEF were larger and more numerous with vacuoles and some lobulated. The mechanism of these facts were discussed.

**Key words:** Plasmodium yoelii; Sporozoite; Exoerythrocytic forms; BCG; Carbon particle; Dexamethasone; Kupffer cell.

(p.175)

## Early Pulmonary Pathology after Bullet Injury on Hind Legs with Bone Fracture in Dogs

Liu Guojian, et al (Research Institute of Surgery, Third Military Medical College)

The pathological changes of the lungs in 16 dogs with blulet-caused fracture of the hind legs were studied. Under light microscopy, the pathological features were marked capillary congestion, extravasation of red cells in either the interstitium or alveolar spaces, atelectasis, leucocyte infiltration of the interstitium, mild pulmonary edema, and fat emboli in the small vessels. These changes, with the exception of fat embolism, were found to occur 2 hours after injury, and were fully developed around 24 hours. Then fat embolism supervened. Most of the changes gradually subsided and disappeared as time went by.

The results of this study indicate that there can be pathological lesions in the lungs secondary to the bullet-induced fracture of the hind legs in dogs.

**Key words:** Pulmonary pathology; Bullet injury; Bone fracture (p.178)

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

## BCG、地塞米松和碳素对大鼠肝内约氏疟原虫孢子入侵及外期发育的影响

（正文见第175页）

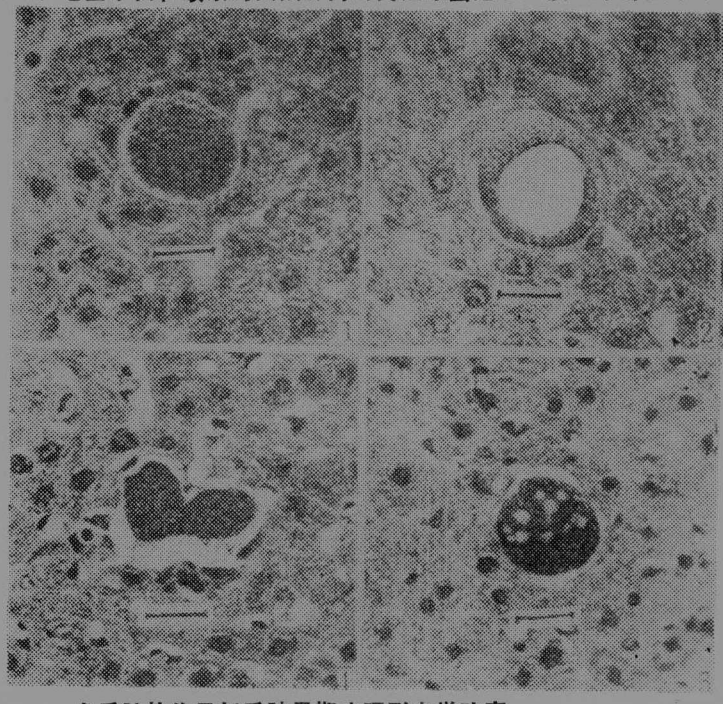


图1　对照组42小时外期原虫，细胞核3～5个聚积一起，比尺=20μm，下同

图2　对照组，外期原虫中有一液泡，直径约30μm

图3　对照组，两个外期原虫寄生于一肝细胞内

图4　地塞米松组，42小时外期原虫，呈分叶状

图5　地塞米松组，外期原虫内含有多个液泡

## 犬后肢枪伤骨折后肺早期病理形态学改变

（正文见第178页）

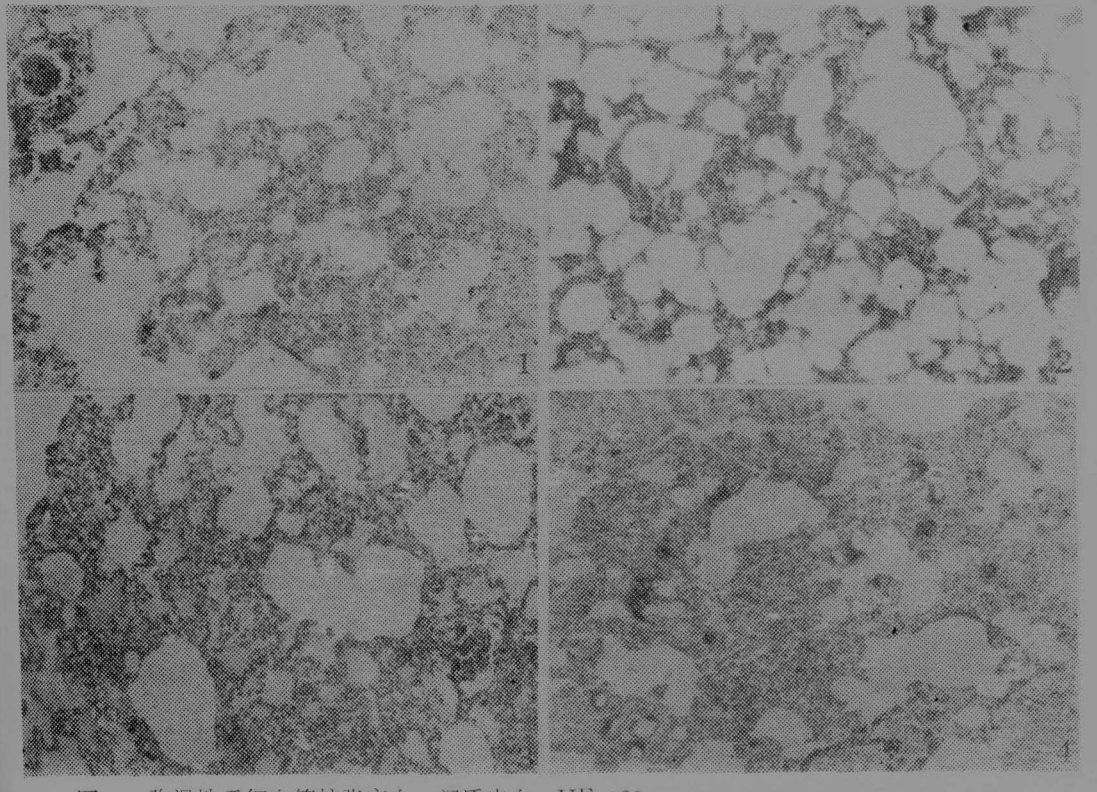


图1　弥漫性毛细血管扩张充血、间质出血　HE×66

图2　肺泡间隔大量炎细胞浸润，部分间隔增宽　HE×66

图3　弥漫性毛细血管扩张充血，伴肺泡腔水肿　HE×66

图4　肺小血管内可见多个脂肪栓子（黑色），锇酸染色×66

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