

青蒿素对感染疟疾小鼠溶血空斑和玫瑰花形成细胞的影响

北京医学院寄生虫学教研室 邹 樟* 程道新 王一琴

内容提要 通过青蒿素对感染疟原虫小鼠溶血空斑形成细胞(PFC)和玫瑰花形成细胞(RFC)影响的实验观察表明,感染贝氏疟原虫的小鼠,在血虫率较高时,PFC、RFC反应受到严重抑制。此时用青蒿素治疗(每天300mg/kg×7天),杀灭血中原虫后测定PFC、RFC,反应逐渐恢复;以氯喹治疗组为对照,两组间无明显差异。并对疟原虫感染后小鼠腹腔巨噬细胞在免疫反应中起的作用,做了初步的探讨。

一些实验资料表明青蒿素可活化小鼠腹腔巨噬细胞,增强其吞噬能力⁽¹⁾,具有免疫调节剂的作用⁽²⁾。青蒿素可迅速地治愈疟疾患者,除了它对疟原虫有较强的杀灭作用外,它是否能改善在感染期间宿主常出现的免疫反应受抑制的状况,使其体液免疫反应和细胞免疫反应很快恢复,提高机体抗感染的能力?我们用溶血空斑形成细胞(PFC)和玫瑰花形成细胞(RFC)方法进行了初步的研究,报告如下。

材料和方法

疟原虫: *Plasmodium berghei*, 北京中医学院寄生虫学教研室提供。

实验动物: 均用 LACA 纯种小白鼠, 体重 20g 左右, 北京医学院动物室提供。

青蒿素: 结晶, 中医研究院中药研究所提供。使用时研磨成细粉, 悬浮于 2% 吐温-80 液中。

羊红细胞: 颈静脉取血, 在阿氏(Alsever)液中 4℃ 保存一个月左右。用前用生理盐水洗二遍, 按实验要求制成不同浓度的红细胞悬液。

脾细胞悬液的制备和 RFC 的测定见北京医学院微生物学教研室的方法⁽³⁾。

PFC 的测定按 Cunningham 等人⁽⁴⁾的单层法略加改良。

巨噬细胞的提取根据 Shou-Hegrad 等人⁽⁵⁾的方法。

实验1 观察感染贝氏疟原虫小鼠 PFC 及 RFC 的变化: 雌性小鼠腹腔接种 10⁶ 个贝氏疟原虫感染的红细胞, 对照组给予 0.5 ml 生理盐水。当小鼠的血虫率分

别为 0 (组 I), <10% (组 II), 10% 左右 (组 III), 30% 左右 (组 IV) 时, 用 5% 羊红细胞悬液 0.4 ml/只腹腔注射进行免疫, 四天后测定 PFC、RFC。血中原虫率通过薄血涂片, Giemsa 染色, 计数 500 个红细胞来确定。每组实验动物为 14~15 只。

实验2 感染小鼠经青蒿素和氯喹治疗后 PFC、RFC 变化的观察: 雌雄小鼠各半, 腹腔接种 10⁶ 个贝氏疟原虫感染的红细胞, 10 天后当血虫率达到 25~35% 左右时, 一组小鼠用青蒿素治疗, 剂量为每天 300 mg/kg, 连续灌胃 7 天; 另一组用氯喹 (上海第十四药厂, 基质) 治疗, 剂量为每天 26.5 mg/kg, 灌胃 7 天, 作为对照组。两组在停药的当天、7、14、21 天, 用 5% 羊红细胞悬液 0.4 ml/只腹腔注射免疫, 四天后测定 PFC、RFC。实验动物在羊红细胞免疫和测定 PFC、RFC 时血涂片检查疟原虫均为阴性。每次实验每组实验动物为 12~15 只。

正常小鼠用 2% 的吐温-80 液 0.4 ml/只灌胃, 连续 7 天。在停止灌胃后的当天、7、14、21 天用相同量的羊红细胞悬液进行免疫, 四天后测定 PFC、RFC。

实验3 感染鼠接受正常巨噬细胞后 PFC、RFC 变化的观察: 雌雄小鼠各半, 用 10⁶ 个贝氏疟原虫感染的红细胞腹腔接种。八天后, 将感染小鼠分为两组, 一组给予同系正常小鼠的腹腔巨噬细胞, 每只 3 × 10⁶ 个细胞, 同时用 5% 羊红细胞悬液 0.4 ml/只免疫; 另一组只用相同剂量的羊红细胞悬液免疫, 四天后同时测定 PFC、RFC。

结 果

一、感染小鼠血中无疟原虫时, PFC、RFC 反应正常; 当血中出现了疟原虫时, PFC、RFC 反应开始

* 现在北京中医学院寄生虫学教研室

下降:随着血虫率的升高,小鼠PFC、RFC反应急剧下降。当血虫率达到30%左右时,感染小鼠PFC数是正常小鼠的0.4%,RFC只有正常小鼠的7.8%。PFC及RFC反应的正常对照组与感染小鼠的组Ⅰ、组Ⅱ、组Ⅲ,有显著性差异 $P<0.01$ 。

二、青蒿素、氯喹治愈的感染小鼠在停药后不同时间测定PFC、RFC,反应逐渐恢复。免疫反应的恢复是缓慢的。在停药的第21天,青蒿素治疗组的PFC、

RFC分别为正常小鼠的28%和32%;氯喹治疗组的PFC、RFC分别为正常小鼠的34%。青蒿素治疗组和氯喹治疗组之间没有明显的差异($P>0.20$ 及 $P>0.05$)。

三、感染8天后给予同系正常小鼠巨噬细胞的小鼠PFC、RFC见附表。

结果表明给予正常巨噬细胞与没有给予巨噬细胞的感染小鼠PFC、RFC反应没有显著性差异($P>0.10$)。

附表 感染小鼠给予同系正常小鼠巨噬细胞后RFC、PFC反应

组别	例数	免疫时 血虫率	试验时 血虫率	PFC/ 10^6 脾细胞 ($M\pm SE$)	RFC(千)/ 10^6 脾细胞 ($M\pm SE$)
正常对照	7	—	—	828 ± 207	20.7 ± 3.4
感染组(8天)	14	24.7 (10~50.4)	36.9 (12~55.3)	5 ± 1	0.7 ± 0.4
感染8天+ 3×10^6 个巨噬细胞	9	22.2 (9.6~33.2)	37.5 (19.7~57.1)	4 ± 1	1.2 ± 0.6

讨 论

应用PFC、RFC方法观察疟原虫感染后小鼠免疫功能的变化,结果表明:当疟原虫在血中出现后再用羊红细胞进行免疫时,PFC、RFC数目就有所下降,随着血虫率的增高,PFC、RFC数目急剧降低。PFC、RFC数目的减少,说明在感染疟原虫后,宿主的免疫功能发生了改变,参与免疫反应的免疫细胞(T、B淋巴细胞、巨噬细胞)的功能受到一定程度的损害,对再进入机体的与疟原虫无关的抗原如羊红细胞的免疫反应产生了抑制作用,这种抑制作用随着血原虫率的增高而加剧。

感染较重的小鼠用青蒿素或氯喹治疗,杀灭其体内的疟原虫,PFC、RFC反应同时恢复上升。氯喹是常用的抗疟药,长期小剂量服用又可治疗系统性红斑狼疮⁽⁶⁾,可见对机体的免疫功能有一定影响。实验证实氯喹可以抑制淋巴细胞对有丝分裂素的反应⁽⁷⁾,但是小剂量短时期服用对血清中抗体滴度变化和超敏反应并无抑制作用,对抗原的初次和再次反应亦无影响⁽⁸⁾。短时间小剂量氯喹治疗感染小鼠后,PFC、RFC缓慢的恢复是其体内疟原虫消灭后,机体免疫功能自身恢复,氯喹对此并无促进作用。

青蒿素是一种新的抗疟药,它吸收快,在体内可迅速发挥药效,很快杀灭疟原虫,血片检查原虫转阴时间较氯喹治疗者快。青蒿素治疗组小鼠在停药后不同时间测定PFC、RFC,反应也在缓慢地恢复,与氯喹治疗组小鼠PFC、RFC之间并无明显差异,这表明

青蒿素在治疗感染小鼠时对其PFC、RFC反应的恢复无促进作用,与氯喹作用相似。

PFC、RFC的升降与巨噬细胞及T、B淋巴细胞的功能有密切的关系。我们取正常同系小鼠的腹腔巨噬细胞输给感染疟原虫的小鼠体内,同时用羊红细胞免疫测定PFC、RFC,结果观察到PFC、RFC反应与未经处理的感染小鼠之间无显著性差异。这说明在疟原虫感染较重时机体免疫功能的改变是复杂的,不仅是巨噬细胞一种细胞的功能受到影响,而且很可能同时造成T、B淋巴细胞功能的改变。功能异常的巨噬细胞,T、B淋巴细胞互相影响,互相作用而导致机体出现严重的免疫反应的抑制。在用药治愈感染后,这些细胞的功能也不会很快恢复正常。

参 考 文 献

1. 叶鑫生,等.青蒿素对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响.北京医学院学报1982;14(2):141.
2. 钱瑞生,等.青蒿素的免疫作用和抗病毒作用.中医杂志1981;22(6):63.
3. 北京医学院基础部微生物教研组.中药对免疫细胞及其功能的作用·I免疫特异玫瑰花方法(RFC)的探讨及中药对抗原结合细胞的作用.北京医学院学报1978;3:156.
4. Cunningham A J, et al. Further improvements in the plaque technique for detecting single antibody-forming cell. Immunology 1968;14:599.
5. Shou-Hegrad M A, et al. Improved method for the isolation of purified mouse (下转第557页)

84.1mg/dl)有显著的增高($P < 0.002$),且超过正常值范围(314 ± 110 mg/dl)。可见,单体A似对纤溶活性无甚影响;单体B则通过升高 α_2 -MG,竞争性地抑制了纤溶酶及或纤溶酶原活化素的活力,使纤溶活力减低,起到纤溶抑制剂的止血作用。

AT-III是抗凝血中活性最强的生理性抗凝物质,它在服用单体A、B前后的变化见表3。

表3 服用单体A和B前后AT-III 3分钟的变化

	单体 A (%)		单体 B (%)	
	M	± SD	M	± SD
服 前	110.5	13.0	110.5	13.0
服 后	97.1	7.5	94.9	7.5
P 值	<0.02		<0.01	
正常值	104.4±14.1			

表3所示,这两种大黄单体都降低AT-III的活性,其机理可能是单体干扰AT-III与凝血

酶或与肝素的正常结合,从而增强凝血酶的活力,加速血液凝固。

参 考 文 献

1. 上海市卢湾区中心医院。口服单味生大黄治疗上消化道出血120例疗效观察。中华内科杂志1978; 17(6): 432。
2. Jiao Dong-hai, et al. Résumé of 400 cases of acute upper digestive tract bleeding treated by rhubarb alone. International Journal of Experimental and Clinical Pharmacology 1980; 20(Suppl:1):128。
3. 焦东海,等。单味大黄治疗上消化道大量出血70例临床小结及实验研究。中国急救医学1982; 2(3):30。
4. 焦东海,等。单味大黄活血止血作用的实验研究。中成药研究1983; 4:30。
5. 陈赛娟,等。高凝状态的研究。止血与血栓研究工作汇编。上海:上海第二医学院血液病研究室,1982:97。
6. 王鸿利,等。六种血液凝固时间的敏感性比较。中华医学检验杂志1983; 6(4):245。
7. 钱耀贤,等。大黄对正常人体一些凝血功能影响的研究。上海第一医学院学报1981; 8(6):108。

(上接第564页)

peritoneal macrophages. J Immunol Method 1981; 43:167。

6. 北京医学院。基础和临床免疫学。第1版。北京:人民卫生出版社,1981:368。

7. Hurvitz D, et al. Suppression of in vitro lymphocyte responses by chloroquine. J Med 1965; 273:23。
8. Thong Y H. Normal immunological responses in mice treated with chloroquine, quinine and primaquine. Trans R. Soc Trop Med Hyg 1981; 75:108。

(上接第552页)

均可应用益肾冲剂改善肾微循环,加速肾病康复。

本文无效2例,均为慢性肾炎肾病综合征伴氮质血症的患者,临床有明显贫血及血压持续增高,其中1例利尿后水肿减轻,但高血压未能控制,继而病情又趋恶化;1例虽经各种治疗,病情无改善。提示慢性肾炎终末期发生之肾病综合征,属于不可逆性病变,仍宜及时采取透析疗法或肾脏移植。

参 考 文 献

1. 章剑今。 $^{60}\text{Co}\gamma$ 线对小鼠肾微循环的影响及其治疗。中华放射医学与防护杂志1984; 4(6):19。
2. 上海第二医学院附属第三人民医院中医科,等。中西医结合诊治肾病综合征难治病例的经验体会。中华内科杂志1978; 17(2):82。
3. 钱桐荪。泼尼松、噻嗪派短期疗法治疗成人慢性肾炎的体会。新医学1978; 9(2):67。
4. 石毓树,等。临床肾脏病学。第1版。天津:科学技术出版社,1982; 214~215。
5. 董得长,等。肾小球疾病中的高凝状态。中华内科杂志1982; 21(2):99。