

旋毛虫在小鼠体内发育及 T 淋巴细胞亚群变化的动态观察

张光玉¹, 王云甫², 钟萍³, 黄朝芬², 王绍基¹, 杨树国¹

(鄖阳医学院 1. 寄生虫学教研室, 2. 附属太和医院神经内科, 3. 保健中心, 湖北十堰 442000)

摘要: 目的 观察 IL-2 对感染旋毛虫小鼠免疫功能的影响及旋毛虫在小鼠体内的发育。方法 小鼠感染旋毛虫后, 分别采用 ELISA 和流式细胞仪检测小鼠不同时期外周血中 IL-2 含量、CD4⁺ 及 CD8⁺ T 淋巴细胞的百分率。取小鼠不同部位肌肉观察旋毛虫的发育和分布。**结果** 小鼠感染旋毛虫后 1~5 周 IL-2 的含量较正常组明显增加。小鼠感染旋毛虫后 1~6 周, CD4⁺ T 细胞较正常组明显减少, CD8⁺ T 淋巴细胞明显增多, CD4⁺/CD8⁺ 比值明显下降。旋毛虫幼虫主要分布在小鼠的膈肌, 其次为咬肌, 舌肌最少。**结论** IL-2 对感染旋毛虫小鼠早期具有一定的免疫抑制作用, 小鼠感染旋毛虫后 21 d 即可检出旋毛虫, 35~42 d 密度达最高。

关键词: IL-2; 旋毛虫; T 淋巴细胞

中图分类号: R38, R392 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7083 (2006) 01-0171-03

The Dynamic Changes of T Lymphocyte and the Development on *Trichinella spiralis* Infection in Mice

ZHANG Guang-yu, WANG Yun-fu, ZHONG Ping, HUANG Zhao-fen, WANG Shao-ji, YANG Shu-guo

(Department of Parasitology, Yunyang Medical College, Shiyan, Hubei Province 442000)

Abstract: Objective: Dynamic changes of IL-2 from mice infected and the its development of *T. spiralis* in the body of mouse. **Methods:** After mice were infected with *T. spiralis*, the content of IL-2 in peripheral blood was detected by ELISA with the percentage of CD4⁺ and CD8⁺ cells in peripheral blood cells, and using flow cytometer at different periods, and then observing the development and distribution of muscles of different parts of mice of *T. spiralis*. **Results:** The content of IL-2 in infected mice within 1~5 weeks was increased significantly than that in normal mice. The percentage of CD4⁺ cells in infected group was lowered in normal group within 1~6 weeks, thus, that of CD4⁺ cells decreased and CD8⁺ cells increased, and the rate of CD4⁺ and CD8⁺ decreased significantly. The main distribution of the larva of *T. spiralis* is in the muscle of midriff, and in the masseter, and then in the muscle linguae is the smallest. **Conclusion:** It suggests that IL-2 could have immunological effects in mice infected with *T. spiralis*. *T. spiralis* can be inspected after 21 days when the mouse was infected, and the density of *T. spiralis* would reach the peak during 35 to 42 days after the infection.

Key words: *T. spiralis*; T Lymphocyte; development

宿主感染旋毛虫的免疫涉及到体液免疫和细胞免疫的共同作用, 而细胞免疫在旋毛虫的感染过程中起到重要的作用。IL-2 是直接影响维持细胞免疫功能的重要细胞因子, 在宿主感染旋毛虫后的免疫反应中具有重要作用。Barriga 提出旋毛虫新生幼虫的排泄分泌物对 IL-2 产生具有诱导作用^[1]。IL-2 刺激 CD8⁺ TS 细胞大量增殖、分化, 导致 CD4⁺/CD8⁺ 比值下降, 宿主出现免疫功能抑制^[2]。实验认为 IL-2 抑制虫体的作用可能主要表现在成虫阶段, 可使成虫生殖力下降, 肌肉中虫荷

降低^[3]。针对感染旋毛虫后动物细胞免疫的特点, 我们观察 IL-2 对感染旋毛虫小鼠免疫功能的影响以及旋毛虫在感染小鼠体内的发育和分布。探讨 T 细胞对宿主感染旋毛虫后的免疫调节作用的机制, 对指导旋毛虫临床免疫诊治和免疫学的研究提供一定的理论意义。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 封闭群昆明小鼠, 平均体重 18

~20 g, 雌雄不限。本院实验动物中心提供。

1.1.2 旋毛虫虫种来源 为本院寄生虫学教研室 SD 大鼠保种传代的旋毛虫幼虫。

1.1.3 小鼠 IL-2 ELISA 检测试剂盒 购自晶美生物工程有限公司。异硫氰酸荧光素 (FITC) 标记的抗小鼠 CD4 (L3T4) McAb、FITC 标记的抗小鼠 CD8McAb 购自美国 EB 公司。

1.1.4 实验仪器 酶标仪、流式细胞仪 (美国 Beckman Coulter)。

1.2 方法

1.2.1 旋毛虫肌幼虫收集及动物感染 将旋毛虫感染的小鼠处死后, 取全身肌肉, 剪碎后, 每 g 肌肉中加入 60 ml 人工胃液消化液, 放入 37℃ 温箱中约消化 12~14 h, 去上清液, 沉淀过滤, 用温水洗涤 3 次, 沉淀分离幼虫并计数^[4]。小鼠随机分为感染旋毛虫组及正常对照组, 每组 14 只。感染旋毛虫试验小鼠每只口饲感染旋毛虫幼虫 150 条, 两组分笼喂养。

1.2.2 旋毛虫在小鼠体内发育及分布 小鼠感染旋毛虫后第 21、28、35、42、49 d 分别将感染小鼠处死后, 取膈肌、胸肌、咬肌、颈部肌肉、腿肌、舌肌、背部肌肉各 40 mg, 作肌肉压片镜检。观察旋毛虫在小鼠体内的发育、分布、密度以及囊包的形成情况。

1.2.3 抗凝血的制备 感染旋毛虫后 7、14、21、28、35、42 d 于小鼠眶静脉取血, 肝素抗凝血。同时取正常小鼠肝素抗凝血。

1.2.4 小鼠外周血 CD4⁺、CD8⁺ T 淋巴细胞的测定 取 25 μl 肝素抗凝血, 分别加入 FITC 标记的抗小鼠 CD4⁺、CD8⁺ McAb 10 μl (pH 7.2 的 PBS

对倍稀释), 混匀, 室温孵育 30 min。加入 750 μl 双蒸水于抗凝血中溶血, 混匀。30 s 后再加入 750 μl pH 7.2 的 PBS 稀释血液。流式细胞仪检测小鼠外周血 CD4⁺、CD8⁺ T 淋巴细胞的百分率。

1.2.5 小鼠血清 IL-2 含量的测定 ELISA 试剂盒检测, 医学实验数据处理智能系统自动换算 IL-2 含量。

2 结果

2.1 小鼠血清 IL-2 含量的动态变化

ELISA 检测结果, 感染旋毛虫组小鼠外周血 IL-2 的含量, 第 1~5 周较正常对照组明显增加 (表 1)。

表 1 旋毛虫感染小鼠 IL-2 的动态变化 (pg/ml)
Table 1 Dynamic changes of IL-2 form mice infected with *Trichinella spiralis* (pg/ml)

周数 Weeks	感染组 Infection	对照组 Normal
1	31.46 ± 2.10*	8.36 ± 0.95
2	21.27 ± 1.89*	7.85 ± 1.45
3	15.54 ± 2.74**	7.93 ± 1.42
4	13.04 ± 1.77**	8.21 ± 0.92
5	9.73 ± 0.97	8.31 ± 1.39
6	7.59 ± 1.06	7.82 ± 1.14

注: 与正常组比较, *P<0.01, **P<0.05

2.2 小鼠外周血 T 淋巴细胞亚群的动态观察

T 淋巴细胞的检测结果, 感染旋毛虫组小鼠外周血第 1~6 周 CD4⁺ 细胞较正常组明显减少, CD8⁺ 细胞明显增多。感染旋毛虫组小鼠 CD4⁺/CD8⁺ 细胞的比值较正常对照组小鼠明显下降 (表 2)。

表 2 感染旋毛虫组与对照组 CD4⁺、CD8⁺ 细胞百分率及 CD4⁺ 与 CD8⁺ 细胞比值的比较

Table 2 The percent of CD4⁺ and CD8⁺ cells of *T. spiralis* group with normal group

周数 Weeks	CD4 ⁺ %		CD8 ⁺ %		CD4 ⁺ /CD8 ⁺	
	感染组 Infection	对照组 Normal	感染组 Infection	对照组 Normal	感染组 Infection	对照组 Normal
1	43.40 ± 1.83*	50.43 ± 1.25	22.53 ± 2.45**	17.82 ± 1.35	1.98 ± 0.18*	2.88 ± 0.15
2	39.17 ± 2.36*	48.52 ± 1.34	26.63 ± 2.10*	18.67 ± 1.81	1.47 ± 0.07*	2.61 ± 0.28
3	43.83 ± 3.02**	48.36 ± 1.01	23.90 ± 1.83**	18.87 ± 2.54	1.84 ± 0.12*	2.59 ± 0.37
4	44.73 ± 2.53**	49.26 ± 1.52	23.20 ± 1.92**	17.77 ± 1.61	1.93 ± 0.20**	2.78 ± 0.24
5	46.46 ± 2.67	47.73 ± 2.53	20.25 ± 1.67	18.11 ± 1.11	2.31 ± 0.27	2.65 ± 0.09
6	45.19 ± 4.17	48.88 ± 1.41	20.31 ± 1.86	18.90 ± 2.59	2.27 ± 0.34	2.62 ± 0.37

注: 与正常组比较 *P<0.01, **P<0.05

2.3 旋毛虫在小鼠体内的发育及分布

小鼠感染旋毛虫幼虫后第 7、14 d 解剖, 检查各部位均未发现虫体, 感染第 21 d 检查发现仅少部分开始形成幼虫囊包。感染第 28 d 已形成囊包的幼虫约占幼虫总数的 65% 左右, 囊包内幼虫呈首尾卷曲或环状, 其余幼虫尾部卷曲或尚未卷曲, 幼虫呈单个卷曲于横纹肌间隙中。感染后第 35 d, 小鼠体内的旋毛虫幼虫囊包大部分已形成, 幼虫呈环状或首尾卷曲, 此时囊壁很薄, 个别幼虫还没有完全卷曲。感染第 42 d 小鼠体内大部分已形成完整的旋毛虫幼虫囊包。感染后第 56 d 后, 幼虫卷曲于囊包内, 囊壁增厚, 形成完整囊壁。囊内幼虫多为 1 条, 少数为 2 条。小鼠感染旋毛虫后的 21 d 在体内检获虫体, 以膈肌检出幼虫数为多, 其次为咬肌, 舌肌最少, 感染后第 35~42 d 旋毛虫幼虫在小鼠体内的分布和密度最高。

3 讨论

T 淋巴细胞是一类重要的免疫活性细胞, 按功能分为 $CD4^+$ (TH) 和 $CD8^+$ (TS/TC) 等细胞亚群。各亚群之间是相互联系、相互制约的。IL-2 是由活化的 $CD4^+$ Th1 分泌的淋巴因子, 它可激活 T 辅助细胞增殖, 使 Th1 向 Th2 转化, 分泌出与抗旋毛虫免疫相关的细胞因子如 IL-3、IL-4、IL-5 等, 并增强 NK 和 LAK 细胞的杀伤功能, 产生细胞免疫效应。另一方面能促进 B 细胞分化为浆细胞, 产生 IgA、IgG、IgE 等抗体, 介导体液免疫。IL-2 可以从细胞、体液免疫两方面增强宿主的免疫反应, 从而达到抑制虫体增殖, 降低感染力的目的^[3,5-7]。

实验研究发现, 感染旋毛虫小鼠后 1~5 周 IL-2 的含量较正常对照组小鼠明显增加, 感染旋毛虫组小鼠感染后 1~6 周 $CD4^+$ T 淋巴细胞较正常组明显减少, $CD8^+$ T 淋巴细胞明显增多, $CD4^+$ /

$CD8^+$ T 淋巴细胞的比值较正常对照组小鼠明显下降。小鼠感染旋毛虫后第 1 周 IL-2 的分泌增加, 并持续到第 5 周, 其 IL-2 的增加可能与 $CD4^+$ 对抗原刺激的应答能力增强, 活化的 Th1 细胞 IL-2 的分泌量增大, 也可能与旋毛虫新生幼虫的排泄分泌物对 IL-2 的产生具有诱导作用所致。IL-2 刺激 $CD8^+$ Ts 细胞大量增殖, 使 $CD4^+$ / $CD8^+$ 细胞比值下降, 导致感染旋毛虫小鼠免疫功能的抑制。第 6 周 IL-2 下降低于正常组与此时旋毛虫多已形成完整囊包, 抗原分泌量减少, Th2 产生的 IL-5 和 IL-10 细胞因子对 Th1 细胞起下调作用, 导致 Th1 细胞 IL-2 的分泌受到抑制; 小鼠免疫功能逐渐恢复。对感染旋毛虫小鼠第 21 d 检查发现仅少部分开始形成幼虫囊包。感染后第 56 d 后, 幼虫卷曲于囊包内, 囊壁增厚, 形成完整囊壁。

4 参考文献

- [1] Brriga OO. Responses of B-cell to mitogens and antigen in mice receiving isogenic splenocytes from animals treated with *Trichinella extracts* [J]. J Parasitol, 1980, 6695: 730~734.
- [2] Pozlo E. Updating on Trichinellosis [J]. Parasitol Today, 1994, 10 (2): 44~45.
- [3] 牛春, 姜洪杰, 黄松, 等. IL-2 对感染不同株旋毛虫小鼠的免疫调节作用[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 1999, 17 (6): 374~376.
- [4] 郭鄂平, 曾凡龙, 宋明华, 等. 从大白鼠体内分离旋毛虫幼虫并建立纯培养[J]. 郧阳医学院学报, 2003, 22 (2): 104.
- [5] 申丽洁, 朱声华, 罗仲金, 等. 旋毛虫成虫可溶性抗原和排泄分泌抗原对小鼠免疫保护作用的比较研究[J]. 中国人兽共患病杂志, 1999, 15 (5): 6~8.
- [6] Degiannis D, Czamecki M, Homung D, et al. Mix lymphocyte reaction-induced release of soluble IL-2 receptor [J]. Transplantation, 1991, 51 (2): 518~519.
- [7] 申丽洁, 罗志勇, 朱声华. 流式细胞术测定感染旋毛虫小鼠免疫功能的研究[J]. 中国寄生虫病防治杂志, 2001, 14 (2): 112~113.