

文章编号: 1000-7423(2011)-04-0267-05

【论著】

日本血吸虫感染适宜与非适宜宿主的免疫学特征初步研究

卢潍媛^{1,2}, 胡媛², 袁忠英², 李佩³, 徐徐信², 沈玉娟², 周何军², 陈盛霞¹, 曹建平^{2*}

【摘要】 目的 研究 3 种不同易感性宿主感染日本血吸虫后免疫应答特征的差异, 初步探讨适宜和非适宜鼠类宿主感染血吸虫后免疫应答的机制。方法 C57BL/6 小鼠、Sprague Dawley (SD) 大鼠和东方田鼠 (*Microtus fortis*) 各 12 只, 均随机分为感染组和未感染组, 每组 6 只。C57BL/6 小鼠、SD 大鼠和东方田鼠的感染组每鼠经腹部皮肤分别感染日本血吸虫尾蚴 20、200 和 1 000 条。感染后 42 d, 剖杀各组动物, 观察门脉系统成虫寄生及肝脏肉芽肿情况。收集血清, ELISA 法检测细胞因子白细胞介素 10 (IL-10)、 γ 干扰素 (IFN- γ) 和血清特异性抗体 IgG、IgG_{2a} 及 IgG₁ 的水平。结果 感染日本血吸虫后 42 d, C57BL/6 小鼠和 SD 大鼠均检获日本血吸虫成虫, 并在宿主肝脏发现虫卵肉芽肿, 而东方田鼠未检获血吸虫成虫及虫卵, 肝脏正常。SD 大鼠血清中 IL-10 的含量 [(2.21±0.12) pg/ml] 明显高于东方田鼠 [(1.64±0.39) pg/ml] ($P<0.05$) 和 C57BL/6 小鼠 [(0.10±0.04) pg/ml] ($P<0.01$), 而东方田鼠也显著高于 C57BL/6 小鼠 ($P<0.01$); SD 大鼠血清中 IFN- γ 的含量 [(0.21±0.11) pg/ml] 均高于东方田鼠 [(0.11±0.03) pg/ml] 和 C57BL/6 小鼠 [(0.09±0.02) pg/ml] ($P<0.05$), 而 C57BL/6 小鼠与东方田鼠组间差异无统计学意义 ($P>0.05$); SD 大鼠 IgG (1.53±0.31)、IgG₁ (1.48±0.44)、IgG_{2a} (0.41±0.11) 水平均显著高于东方田鼠各抗体亚类水平 (0.48±0.14、0.15±0.03 和 0.12±0.06) ($P<0.01$), C57BL/6 小鼠 IgG (1.21±0.16) 和 IgG₁ (0.88±0.31) 水平也显著高于东方田鼠 ($P<0.01$), 3 种鼠血清抗体亚类均以 IgG₁ 占优势。未感染组 C57BL/6 小鼠、SD 大鼠及东方田鼠均未检测出 IL-10、IFN- γ 及抗体亚类 IgG、IgG₁、IgG_{2a} 的表达。结论 与 Th2 型免疫应答主要相关的细胞因子 IL-10 在血吸虫非适宜宿主体内水平显著高于适宜宿主, 可能在抗血吸虫机制中发挥重要作用。

【关键词】 日本血吸虫; 适宜宿主; 非适宜宿主; 免疫; T 辅助细胞 2

中图分类号: R383.24

文献标识码: A

Preliminary Study on the Immunological Characteristics of Permissive and Non-permissive Hosts Infected with *Schistosoma japonicum*

LU Wei-yuan^{1,2}, HU Yuan², YUAN Zhong-ying², Li Pei³, XU Yu-xin², SHEN Yu-juan², ZHOU He-jun², CHEN Sheng-xia¹, CAO Jian-ping^{2*}

(1 School of Medical Science and Laboratory Medicine, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China; 2 National Institute of Parasitic Diseases, Chinese Center for Disease Control and Prevention; Key Laboratory of Parasite and Vector Biology, MOH; WHO Collaborating Center for Malaria, Schistosomiasis and Filariasis, Shanghai 200025, China; 3 Library of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240, China)

【Abstract】 **Objective** To study the difference among immune responses of three kinds of experimental animals with different susceptibility to the infection of *Schistosoma japonicum*, and preliminarily explore the mechanism of the immune response in permissive and non-permissive hosts. **Methods** Twelve animals of each kind of rodents, C57BL/6 mice, Sprague Dawley (SD) rats and *Microtus fortis*, were randomly divided into the infected group and uninfected group each with 6 animals. In infected groups of C57BL/6 mice, SD rats, and *M. fortis*, each animal was infected with 20, 200 and 1 000 cercariae of *S. japonicum*, respectively. 42 d later, all rodents were sacrificed. Adult worms in portal vein and granulomas in liver were observed and the sera were collected. The levels of cytokines IL-10 and IFN- γ as well as serum IgG, IgG_{2a}, and IgG₁ were detected by ELISA. **Results** At the 42th day post infection, worms in

基金项目: 国家自然科学基金(No. 30801047、30872212); 国家传染病重大专项(No. 2009ZX10004-201、2008ZX10004-002); 国家高技术研究发展计划(国家“863”计划)(2006AA02Z444)

作者单位: 1 江苏大学基础医学与医学技术学院, 镇江 212013; 2 中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所, 卫生部寄生虫病原与媒介生物学重点实验室, 世界卫生组织疟疾、血吸虫病和丝虫病合作中心, 上海 200025; 3 上海交通大学图书馆, 上海 200240

* 通讯作者, E-mail: caojp@yahoo.com

portal vein and liver granulomas were observed in C57BL/6 mice and SD rats, but not in *M. fortis*. The level of IL-10 in the sera of SD rats [(2.21±0.12) pg/ml] was significantly higher than that in the sera of *M. fortis* [(1.64±0.39) pg/ml] and C57BL/6 mice [(0.10±0.04) pg/ml] ($P<0.01$). IL-10 in the sera of *M. fortis* was also significantly higher than that in the sera of C57BL/6 mice ($P<0.01$). IFN- γ in the sera of SD rats [(0.21±0.11) pg/ml] was significantly higher than that in the sera of *M. fortis* [(0.11±0.03) pg/ml] and C57BL/6 mice [(0.09±0.02) pg/ml] ($P<0.05$), but no difference between *M. fortis* and C57BL/6 mice ($P>0.05$). The levels of IgG (1.53±0.31), IgG₁ (1.48±0.44) and IgG_{2a} (0.41±0.11) in SD rats were significantly higher than that in the sera of *M. fortis* (0.48±0.14, 0.15±0.03 and 0.12±0.061) ($P<0.01$). The levels of IgG (1.21±0.16), IgG₁ (0.88±0.31) in C57BL/6 mice were significantly higher than that in the sera of *M. fortis* ($P<0.01$). IgG₁ antibody is the predominant subclass in the three kinds of rodents. The levels of IL-10, IFN- γ and antibody subclass IgG, IgG₁, IgG_{2a} in all non-infected rodents were not detected. **Conclusion** IL-10 in non-permissive hosts, which is an essential agent in the regulation of Th2 immune response, is higher than that in permissive host. It may play an important role in the resistance to schistosome in the non-permissive hosts.

【Key words】 *Schistosoma japonicum*; Permissive host; Non-permissive host; Immune; T helper cell 2

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30801047 and 30872212), the National Science & Technology Major Project for Infectious Disease of China (No.2009ZX10004-201 and 2008ZX10004-002) and the High-tech Research and Development Program of China(863) (No.2006AA02Z444)

* Corresponding author, E-mail: caojp@yahoo.com

日本血吸虫是一种多细胞生物,在与宿主长期共进化过程中,产生复杂的寄生虫与宿主相互作用机制。根据血吸虫感染宿主后在其体内生长发育等情况和与宿主的关系,可以将宿主分为适宜宿主与非适宜宿主,其中非适宜宿主也包括半适宜宿主^[1,2]。C57BL/6 小鼠体形小,繁殖率高,且动物遗传背景均一,个体差异小,是血吸虫的易感宿主,血吸虫在其体内的发育率达 60%~70%。Sprague Dawley (SD) 大鼠繁殖迅速,对外环境适应性强,血吸虫在其体内的发育率为 10%~20%,为血吸虫的半适宜宿主。东方田鼠 (*Microtus fortis*) 属于仓鼠科田鼠亚科田鼠属,亦称沼泽田鼠,在中国分布广,北至黑龙江省,南至广东省均有分布。东方田鼠是迄今为止由中国学者在血吸虫病流行区发现的惟一种感染日本血吸虫后不致病的哺乳动物,对日本血吸虫感染具有天然抗性,是血吸虫的非适宜宿主^[3,4]。C57BL/6 小鼠、SD 大鼠和东方田鼠对日本血吸虫易感性有明显差异,感染血吸虫后免疫防御机制不同。C57BL/6 小鼠以细胞免疫为主,依赖于 CD4⁺ T 淋巴细胞和 γ 干扰素 (IFN- γ),并与巨噬细胞的活化等因素相关^[5]。SD 大鼠对血吸虫的免疫防御反应以体液免疫应答为主,并以 T 辅助细胞 2 (Th2) 型免疫应答为主,其中白细胞介素 10(IL-10)是一种重要的抗炎性细胞因子,对免疫调控具有重要作用。IL-10 可抑制 T 淋巴细胞的成熟及白细胞介素 12(IL-12)的产生,有助于诱导 Th2 反应^[6]。而东方田鼠对血吸虫的防御机制目前还缺乏了解,有研究显示,东方田鼠的抗性相关细胞包括巨噬细胞、嗜酸粒细胞、T 和 B 淋巴细胞等,巨噬细胞和嗜酸粒细胞对日本血吸虫

童虫具有天然黏附能力^[7],B 淋巴细胞诱导的体液免疫应答可产生保护力^[8],而 T 细胞诱导的细胞免疫也具有杀童虫的作用^[9]。本文通过感染日本血吸虫不同易感性的动物宿主,初步观察其感染后的免疫应答特征。

材料与方法

1 材料

1.1 实验动物和日本血吸虫尾蚴 7~8 周龄的 SPF 级雌性 C57BL/6 小鼠、SD 大鼠和东方田鼠各 12 只。C57BL/6 小鼠与 SD 大鼠购自中国科学院上海实验动物中心,东方田鼠由本所实验动物室提供。

日本血吸虫感染阳性钉螺由本所钉螺室提供。于室温、光照条件下,用去氯水逸出尾蚴。

1.2 主要试剂 小鼠 IL-10 ELISA 检测试剂盒 (DKW12-2100-048)、小鼠 IFN- γ ELISA 检测试剂盒 (DKW12-2000-048)、大鼠 IL-10 ELISA 检测试剂盒 (DKW12-3100-048) 和大鼠 IFN- γ ELISA 试剂盒 (DKW12-3000-048) 购自北京达科为生物技术有限公司。辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的羊抗大鼠 IgG (p7014-21-25)、IgG₁ (p7014-21-26)、IgG_{2a} (p7014-21-28) 购自美国国际 Alpha 诊断公司。HRP 标记的羊抗小鼠 IgG₁ (10407) 和 IgG_{2a} (F2507) 购自美国 Santa Cruz 公司。HRP 标记的羊抗小鼠 IgG (GMH6170) 购自洛阳华美生物工程有限公司。

2 方法

2.1 动物分组和感染 C57BL/6 小鼠、SD 大鼠和东方田鼠各 12 只,均随机均分为感染组和未感染组,每组各 6 只。根据对血吸虫易感性不同^[7,10,11],C57BL/6

小鼠、SD 大鼠和东方田鼠感染组，每鼠经腹部皮肤分别感染日本血吸虫尾蚴 20 条、200 条和 1 000 条。

2.2 感染动物血吸虫和虫卵肉芽肿观察 感染第 42 天剖杀所有实验动物，收集血清于 -20 °C 保存备用。统计门脉系统寄生的血吸虫成虫数量，并肉眼观察肝脏肉芽肿情况。

2.3 细胞因子和抗体亚类检测 ELISA 法检测 3 种鼠血清中 IL-10、IFN- γ 和 IgG、IgG₁、IgG_{2a} 水平。ELISA 法按说明书操作，检测每孔加入待测血清 50 μ l (1:5 稀释)，倍比稀释的标准品作为阳性对照，洗涤缓冲液作为阴性对照。加入稀释后的生物素标记的抗体 (biotinylated antibody) 50 μ l/孔，混匀后盖上封板膜，37 °C 恒温孵育 90 min。每孔加入 300 μ l 洗涤缓冲液洗涤，洗涤 4 次后，每孔加入 100 μ l HRP 标记的链霉亲和素 (streptavidin-HRP)，检测东方田鼠血清的第二抗体为 HRP 标记的羊抗小鼠 IgG 及其亚类^[12]，盖上封板膜，37 °C 恒温孵育 30 min，扣去孔内液体后，用洗涤缓冲液洗涤 4 次，最后一次在滤纸上扣干。每孔加入 3,3',5,5'-四甲基联苯胺 (TMB) 显色液 100 μ l，37 °C 避光温育 10~20 min 后，根据孔内标准品颜色深浅(深蓝色为宜)判定终止反应，迅速加入 100 μ l 终止液终止反应，10 min 内检测吸光度(A₄₅₀ 值)。

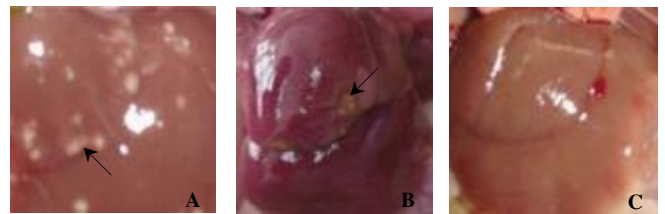
2.4 统计学分析 各组吸光度值以均数 \pm 标准差来表示，采用 V8.2SAS 软件包进行双尾 *t* 检验。

结 果

1 感染动物血吸虫及虫卵肉芽肿观察

感染后 42 d，C57BL/6 小鼠和 SD 大鼠查见日本血吸虫成虫，每只感染鼠体内检获的虫体数分别为 (17 \pm 2) 条和 (9 \pm 7) 条。宿主肝脏发现虫卵肉芽肿，且 C57BL/6 小鼠肝内虫卵肉芽肿明显大于 SD 大鼠肝内虫卵肉芽肿，C57BL/6 小鼠检获的虫卵数为 3.2 \times 10⁴ 个/克肝脏，SD 大鼠则只有 36 个/克肝脏。肉眼观察，东方田鼠感染组未查见血吸虫虫体及虫卵，肝脏正常 (图 1)。

2 细胞因子和抗体亚类表达水平



A: C57BL/6 小鼠感染血吸虫后肝脏肉芽肿; B: SD 大鼠感染血吸虫后肝脏肉芽肿; C: 东方田鼠感染血吸虫后肝脏无明显变化。

A: Liver granulomas in infected C57BL/6 mice; B: Liver granulomas in infected SD rats; C: No change in liver of infected *M. fortis*

图 1 C57BL/6 小鼠、SD 大鼠和东方田鼠感染日本血吸虫后肝脏肉芽肿
Fig. 1 Granulomas in livers of C57BL/6 mice, SD rats and *M. fortis* infected with *Schistosoma japonicum*

感染血吸虫后，SD 大鼠细胞因子 IL-10 的表达水平 [(2.21 \pm 0.12) pg/ml] 显著高于东方田鼠 [(1.64 \pm 0.39) pg/ml] (P <0.05) 和 C57BL/6 小鼠 [(0.10 \pm 0.04) pg/ml] (P <0.01)，东方田鼠也显著高于 C57BL/6 小鼠 (P <0.01)。SD 大鼠 IFN- γ 的表达水平 [(0.21 \pm 0.11) pg/ml] 均显著高于东方田鼠 [(0.11 \pm 0.03) pg/ml] 和 C57BL/6 小鼠 [(0.09 \pm 0.02) pg/ml] (P <0.05)，而 C57BL/6 小鼠与东方田鼠组间差异无统计学意义 (P >0.05) (表 1)。未感染组的 C57BL/6 小鼠、SD 大鼠和东方田鼠均未检测出明显的 IL-10 和 IFN- γ 表达。

感染血吸虫后，SD 大鼠血清抗体亚类 IgG、IgG₁ 和 IgG_{2a} 水平 [(1.53 \pm 0.31)、(1.48 \pm 0.44) 和 (0.41 \pm 0.11)] 均显著高于东方田鼠各抗体亚类水平 [(0.48 \pm 0.14)、(0.15 \pm 0.03) 和 (0.12 \pm 0.06)] (P <0.01)，C57BL/6 小鼠 IgG 和 IgG₁ 水平 [(1.21 \pm 0.16) 和 (0.88 \pm 0.31)]，也显著高于东方田鼠 (P <0.01)。C57BL/6 小鼠抗体亚类 IgG₁ 和 IgG_{2a} 水平均显著低于 SD 大鼠 (P <0.05)，而 IgG 水平两组间差异无统计学意义 (P >0.05)。各感染组 IgG₁ 与 IgG_{2a} 的比值均大于 1，且 C57BL/6 小鼠 > SD 大鼠 > 东方田鼠 (表 1)。未感染组 C57BL/6 小鼠、SD 大鼠及东方田鼠均未检测出明显的抗体亚类 IgG、IgG₁ 和 IgG_{2a} 的表达。

讨 论

表 1 感染血吸虫后 SD 大鼠、C57BL/6 小鼠和东方田鼠细胞因子和抗体水平

Table 1 The levels of cytokines and antibodies in sera from C57BL/6 mice, SD rats and *M. fortis* infected with *S. japonicum*

组别 Group	动物数(只) No. animals	细胞因子水平/pg·ml ⁻¹ Level of cytokines/pg·ml ⁻¹		抗体亚类水平(A ₄₅₀ 值) Level of antibody subtypes (A ₄₅₀ value)			
		IL-10	IFN- γ	IgG	IgG ₁	IgG _{2a}	IgG ₁ /IgG _{2a}
C57BL/6 小鼠 C57BL/6 mice	6	0.10 \pm 0.04 ^{***}	0.09 \pm 0.02 [▲]	1.21 \pm 0.16 ^{**}	0.88 \pm 0.31 ^{***}	0.18 \pm 0.09 ^{▲▲}	4.89
SD 大鼠 SD rats	6	2.21 \pm 0.12 [*]	0.21 \pm 0.11 [*]	1.53 \pm 0.31 ^{**}	1.48 \pm 0.44 ^{**}	0.41 \pm 0.11 ^{**}	3.61
东方田鼠 <i>M. fortis</i>	6	1.64 \pm 0.39	0.11 \pm 0.03	0.48 \pm 0.14	0.15 \pm 0.03	0.12 \pm 0.06	1.25

注：与东方田鼠感染组比较，* P <0.05，** P <0.01；与 SD 大鼠感染组比较，▲ P <0.05，▲▲ P <0.01。

Note: vs infected *M. fortis*, * P <0.05, ** P <0.01; vs infected SD rats, ▲ P <0.05, ▲▲ P <0.01

血吸虫在不同宿主体内引起的免疫应答是不相同的^[5,13-15]。小鼠是血吸虫适宜宿主,血吸虫感染过程中以细胞免疫发挥主要作用,依赖于 CD4⁺ T 淋巴细胞和 IFN- γ , 并与巨噬细胞的活化、NO 的产生等有关^[5,13]。大鼠是血吸虫半适宜宿主, Khalife 等^[14]研究显示,大鼠体内抗血吸虫机制以体液免疫为主,特别是与 IgE 等密切相关,并以 Th2 型免疫应答为主。东方田鼠是目前为止发现的惟一种感染血吸虫后不致病的哺乳动物,其体内存在对日本血吸虫先天的、可遗传的抗性机制,但具体防御机制目前尚不清楚^[15]。本研究结果表明,感染日本血吸虫后 42 d, C57BL/6 小鼠和 SD 大鼠均检获成虫,并在肝脏发现虫卵肉芽肿,且 C57BL/6 小鼠肝内虫卵肉芽肿明显大于 SD 大鼠肝内的,而东方田鼠中未检获成虫及虫卵,这与曹淳力等^[4]的研究结果一致。

孙军等^[16]发现,东方田鼠感染血吸虫后,与 Th2 型免疫应答相关的 IL-10 可抑制巨噬细胞等 NO 的合成。与其他细胞因子不同的是,IL-10 除了能抑制 Th1 细胞的增殖和 IL-2、IL-3、IFN- γ 和粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)等细胞因子的合成外,还能一定程度地促进细胞毒性 T 细胞(CTL)的诱导和增强 B 细胞的增殖分化^[17]。感染血吸虫后,东方田鼠肺和肝内的血吸虫童虫周围有嗜酸粒细胞和少量中性粒细胞、巨噬细胞浸润,IFN- γ 亦可激活巨噬细胞,促进 B 细胞增殖产生 IgG₁^[18],提示 IL-4、IL-10 和 IFN- γ 等细胞因子与 IgG 的抗体亚类可能是非适宜宿主杀伤血吸虫的重要免疫学特征。本研究比较了各鼠感染血吸虫后血清 IL-10 和 IFN- γ 等细胞因子与 IgG 的抗体亚类的水平,进一步明确各宿主感染血吸虫后的免疫应答特征。结果显示,在血吸虫感染后 42 d, IL-10 与 IFN- γ 的表达水平在不同宿主体内的表现不同,SD 大鼠 IL-10 与 IFN- γ 的表达水平均显著高于东方田鼠($P<0.05$)和 C57BL/6 小鼠($P<0.05$),东方田鼠 IL-10 水平显著高于 C57BL/6 小鼠($P<0.01$)。结果提示,细胞因子 IL-10 和 IFN- γ 在非适宜宿主东方田鼠和半适宜宿主 SD 大鼠抗血吸虫病机制中可能发挥了重要作用。由于 IL-10 主要参与 Th2 型的免疫应答,IFN- γ 则主要参与 Th1 型的免疫应答,说明血吸虫感染宿主后,宿主体内的 Th1 型和 Th2 型免疫应答共同参与,是一个纵横交错的复杂的免疫反应^[13,15],其中 IL-10 在血吸虫非适宜宿主抗血吸虫机制中可能发挥更重要的作用。同时从血吸虫在不同宿主体内消亡的时间来看,东方田鼠作为血吸虫感染的非适宜宿主,血吸虫在其体内的生存时间一般可以维持 2~3 周^[19],在感染后 6 周时,机体已经处于相对恢复状态,因

此各细胞因子表达水平低于同期半适宜宿主 SD 大鼠的表达水平。

感染血吸虫后 42 d, 抗体亚类的检测结果显示,各鼠感染组 IgG₁ 与 IgG_{2a} 的比值均大于 1, 且 C57BL/6 小鼠>SD 大鼠>东方田鼠,表明宿主体内以 Th2 型的免疫应答相对占优势。SD 大鼠的 IgG、IgG₁ 和 IgG_{2a} 的表达水平显著高于东方田鼠,可能是由于在 42 d 时血吸虫在东方田鼠体内已消亡,机体开始处于相对恢复状态;而 SD 大鼠作为血吸虫的半适宜宿主,血吸虫在其体内免疫应答的时间也较东方田鼠长。同样,C57BL/6 小鼠 IgG 与 IgG₁ 水平显著高于东方田鼠,说明可能在感染血吸虫 6 周时,半适宜和适宜宿主体内均以 Th2 反应为主。

本研究针对血吸虫感染的适宜与非适宜宿主免疫学的部分特征,提示非适宜宿主东方田鼠的天然抗性可能是其体内的 Th1 型和 Th2 型免疫应答共同参与的结果,其中 IL-10 作为一种重要的抗炎细胞因子在非适宜宿主以及半适宜宿主中显著上调,在血吸虫非适宜宿主抗血吸虫机制中可能发挥重要作用,这为继续研究东方田鼠抗血吸虫天然抗性机制提供了重要基础^[20]。为了进一步阐明东方田鼠的抗血吸虫病机制,今后应继续进行不同易感性宿主感染血吸虫后不同时间的免疫学特征的动态比较,特别是感染血吸虫的早期变化。

参 考 文 献

- [1] Wang SP. Medical Parasitology[M]. Beijing: Higher Education Press, 2004: 126. (in Chinese)
(汪世平. 医学寄生虫学 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2004: 126.)
- [2] Sakaguchi S. Regulatory T cells: mediating compromises between host and parasite[J]. Nat Immunol, 2003, 4(1): 10-11.
- [3] Li SK, Zhu ZL, Jin BR, et al. None infectiousness *Schistosoma japonicum* to the field mouse *Microtus fortis*[J]. Acta Parasitol Sin, 1965, 2: 103-106.
- [4] Cao CL, Wei WY, Liu ZC, et al. Infectivity of *Microtus fortis* to schistosome in Dongting Lake region[J]. Chin J Schisto Control, 2008, 20(5): 374-376. (in Chinese)
(曹淳力, 魏望远, 刘宗传, 等. 洞庭湖区东方田鼠血吸虫感染性调查[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2008, 30(5): 374-376.)
- [5] Wu GL. Human Parasitology[M]. 3rd ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2005: 352. (in Chinese)
(吴观陵. 人体寄生虫学[M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 352.)
- [6] Ronet C, Hauyon-La TY, Revaz-Breton M, et al. Regulatory B cells shape the development of Th2 immune responses in BALB/c mice infected with *Leishmania major* through IL-10 production [J]. J Immunol, 2010, 184(2): 886-894.
- [7] Liu JM, Fu ZQ, Li H, et al. Preliminary observation on the killing effect to schistosomula of *Schistosoma japonicum in vitro* by ADCC of *Microtus fortis* [J]. Acta Parasitol Med Entomol Sin, 2001, 8(4): 212-219. (in Chinese)
(刘金明, 傅志强, 李浩, 等. 东方田鼠 ADCC 体外杀伤日本血吸虫童虫效果的初步观察[J]. 寄生虫与医学昆虫学报. 2001, 8(4): 212-219.)

- [8] Jiang SF, Wei MX, Lin JJ, *et al.* Research of anti-protection of passive transferred *Schistosoma japonicum* from *Microtus fortis* serum[J]. Chin J Parasit Dis Control, 2004, 17(5): 298-300. (in Chinese)
(蒋守富, 魏梅雄, 林娇娇, 等. 东方田鼠血清被动转移抗日本血吸虫的保护力研究 [J]. 中国寄生虫病防治杂志, 2004, 17(5): 298-300.)
- [9] Zhang XY, He YK, Li Y, *et al.* Preliminary observation of normal *Microtus fortis* serum and spleen cells kill schistosomula *in vitro*[J]. Chin J Schisto Control, 2001, 13(4): 206-208. (in Chinese)
(张新跃, 何永康, 李毅, 等. 正常东方田鼠血清及脾细胞体外杀血吸虫童虫作用的初步观察[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2001, 13(4): 206-208.)
- [10] Wang M, Yi XY, Zeng XF, *et al.* Preliminary Studies on the mechanisms of natural against infection of *Schistosoma japonicum* in SD rat[J]. Chin J Parasit Dis Control, 2004, 17(1): 42-45. (in Chinese)
(王敏, 易新元, 曾宪芳, 等. SD 大鼠抗日本血吸虫感染机理的初步研究 [J]. 中国寄生虫病防治杂志, 2004, 17(1): 42-45.)
- [11] Ji F, Liu Z, Cao J, *et al.* B cell response is required for granuloma formation in the early infection of *Schistosoma japonicum*[J]. PLoS One, 2008, 3(3): e1724.
- [12] Jiang SF, Wei HX, Lin JJ, *et al.* Preliminary study on natural antibodies and IgG subclasses against *Schistosoma japonicum* in *Microtus fortis*[J]. Chin J Schisto Control, 2001, 13(1): 1-3. (蒋守富, 魏梅雄, 林娇娇, 等. 东方田鼠天然抗日本血吸虫抗体及 IgG 亚类的初步研究[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2001, 13(1): 1-3.)
- [13] He YX, Hu YQ, Yu QF, *et al.* Characteristics of different isolates of *Schistosoma japonicum* from China in the final hosts [J]. Southeast Asian J Trop Med Pub Hlth, 1991, 22(2): 240-244.
- [14] Khalife J, Cêtre C, Pierrot C, *et al.* Mechanisms of resistance to *Schistosoma mansoni* infection: the rat model[J]. Parasitol Int, 2000, 49(4): 339-345.
- [15] He YK, Luo XS, Zhang XY, *et al.* Immunological characteristics of natural resistance in *Microtus fortis* to infection with *Schistosoma japonicum* [J]. Chin Med J (Eng), 1999, 112(7): 649-654.
- [16] Sun J, Li H, Wang XL, *et al.* Comparison of *Schistosoma japonicum* serum NO changes, and liver and lung lesions after being infected of *Microtus fortis* and mice [J]. Chin J Zoonoses, 2006, 22(5): 433-439. (in Chinese)
(孙军, 李浩, 王喜乐, 等. 东方田鼠和小鼠感染日本血吸虫后血清 NO 的变化以及肝、肺病变的比较[J]. 中国人兽共患病学报, 2006, 22(5): 433-439.)
- [17] Zhu YC, Wu GL, Guan XH. Schistosomiasis Infection Immunology[M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Literature Press, 2008; 89. (in Chinese)
(朱荫昌, 吴观陵, 管晓红. 血吸虫感染免疫学 [M]. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2008; 89)
- [18] Jiang SF, Wei MX, Lin JJ, *et al.* Effect of IgG₃ antibody purified from sera of *Microtus fortis* against *Schistosoma japonicum* [J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2008, 26(1): 34-36. (in Chinese)
(蒋守富, 魏梅雄, 林娇娇, 等. 东方田鼠 IgG₃ 抗体抗血吸虫病作用研究[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2008, 26(1): 34-36.)
- [19] He HB, Zuo JZ, Liu BX, *et al.* Experimental infection of *Schistosoma japonicum* in wild and laboratory *Microtus fortis* [J]. J Practic Parasitic Dis, 1995, 3(2): 72-74.
(贺宏斌, 左家铮, 刘柏香, 等. 室内繁殖和野生东方田鼠感染日本血吸虫的比较 [J]. 实用寄生虫病杂志, 1995, 3(2): 72-74.)
- [20] Mckee AS, Pearce EJ. CD25⁺CD4⁺ cells contribute to Th2 polarization during helminth infection by suppressing Th1 response development[J]. J Immunol, 2004, 173(2): 1224-1231.
(收稿日期: 2011-03-18 编辑: 张争艳)

文章编号: 1000-7423(2011)-04-0271-03

【研究简报】

家蝇天蚕素对人肝癌 BEL-7402 细胞的作用靶点

金小宝, 李小波, 朱家勇, 卢雪梅, 沈娟, 褚夫江, 梅寒芳

【提要】 将家蝇天蚕素(终浓度 50 μmol/L)加入对数生长期的人肝癌 BEL-7402 细胞中作用 12 h, 扫描电镜观察天蚕素对人肝癌细胞细胞膜的影响。在此基础上, 采用绿色荧光素异硫氰酸(FITC)标记天蚕素, 运用激光共聚焦显微镜观察 FITC 标记的天蚕素与人肝癌细胞细胞膜的作用。肿瘤细胞经天蚕素作用 12 h 后, 扫描电镜显示细胞膜表面微绒毛大部分消失; 激光共聚焦显微镜显示大部分天蚕素与细胞膜结合, 细胞内也发现部分天蚕素进入。

【关键词】 扫描电镜; 激光共聚焦显微镜; 天蚕素; 肿瘤细胞; 细胞膜

中图分类号: R384.2 文献标识码: B

The Target of *Musca domestica* Cecropin on Human Hepatocellular Carcinoma BEL-7402 Cells

JIN Xiao-bao, LI Xiao-bo, ZHU Jia-yong, LU Xue-mei,
SHEN Juan, CHU Fu-jiang, MEI Han-fang

基金项目: 广东省科技厅社会发展项目 (No. 2010B031200011); 广州市社会发展攻关项目 (No. 2005Z3-E0211)

作者单位: 广东药学院基础学院, 广东省生物活性药物研究重点实验室, 广州 510006

* 通讯作者, E-mail: zhujiy@gdpu.edu.cn