

弓形虫入侵宿主机制及免疫学研究进展

蒲元华, 张德林*

【提要】 刚地弓形虫 (*Toxoplasma gondii*) 是一种专性细胞内寄生虫, 对人类健康和畜牧业的发展造成严重危害。近年来, 对弓形虫入侵宿主的机制及免疫学方面进行了大量研究, 取得了许多重要的研究进展, 有助于深入了解弓形虫的致病机制和进行免疫预防。本文拟从细胞与分子生物学角度阐述弓形虫入侵宿主细胞的过程, 并综述宿主感染弓形虫后不同免疫细胞的作用以及不同器官的免疫应答。

【关键词】 弓形虫; 入侵机制; 免疫细胞; 免疫学

中图分类号: R382.5 文献标识码: A

Research Progress on Invasion Mechanism and Immunology of *Toxoplasma gondii*

PU Yuan-hua, ZHANG De-lin*

(State Key Laboratory of Veterinary Etiological Biology, Key Laboratory of Veterinary Public Health of the Ministry of Agriculture; Key Laboratory of Veterinary Parasitology of Gansu Province, Lanzhou Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730046, China)

【Abstract】 *Toxoplasma gondii* is a kind of obligate intracellular parasite and causes serious harm to human health and the development of animal husbandry. Recent years, significant research on its mechanism of host-invasion and immunology has been conducted, and considerable research progress has been made, which are important for an in-depth knowledge of pathogenesis of *Toxoplasma gondii* and immune prevention. This paper reviews the invading process of the parasite in the viewpoint of molecular and cell biology, and the effects of different kinds of immunocytes and the immune responses in the organs.

【Key words】 *Toxoplasma gondii*; Invasion mechanism; Immunocyte; Immunology

Supported by the National Special Research Fund for Public Welfare (Agriculture) of China (No. 200903036-06)

* Corresponding author, E-mail: zhangdl2005@163.com

弓形虫是专性细胞内寄生虫, 可入侵几乎所有的有核细胞, 并在细胞内增殖。近年来, 随着医源性免疫抑制、器官移植以及艾滋病患者的增多, 弓形虫病的发病率有升高的趋势, 甚至造成致死性损害^[1]。弓形虫侵入肠上皮细胞, 然后扩散到全身组织, 可通过母婴垂直传播, 引起胎儿畸形、死亡^[2]。因此, 研究弓形虫的致病机制, 并进行免疫预防尤为重要。目前主要的动物模型是以小鼠感染弓形虫为模型, 从细胞与分子生物学角度研究弓形虫入侵宿主的过程, 并逐渐掌握宿主感染弓形虫后不同免疫细胞的作用以及不同器官中的免疫应答状况。

1 细胞与分子生物学

1.1 弓形虫入侵宿主细胞的过程 弓形虫入侵宿主细胞是一个主动过程, 主要包括对宿主细胞的黏附、侵入、在宿主细胞内形成纳虫空泡和对纳虫空泡进行修饰^[3]。弓形虫速殖子长约 6 μm, 宽约 2 μm, 呈半月形。虫体顶端的亚细胞器具有分泌功能^[4], 微线体经类椎体能分泌大量微线体蛋白^[5], 这些蛋白与宿主细胞膜相互结合, 黏附于宿主细胞; 棒状体能分泌颈部蛋白 (rhoptry neck proteins, RONS), 也黏附并插入宿主细胞膜。这两类蛋白质通过特异性反应, 于虫体前端与宿主细胞之间形成连接区域^[6], 虫体依靠其原生质膜下独特的肌动蛋白——肌球蛋白马达结构^[7], 迅速挤过连接区域, 进入宿主细胞^[8]。在侵入过程中, 随着虫体的移位, 连接区域也向后移位, 此后, 棒状体分泌的蛋白 (rhoptry proteins, ROPs) 和致密颗粒分泌的致密颗粒蛋白 (dense granules antigens, GRAs) 共同形成

基金项目: 公益性行业 (农业) 科研专项经费项目 (No. 200903036-06)

作者单位: 中国农业科学院兰州兽医研究所, 家畜疫病病原生物学国家重点实验室, 农业部兽医公共卫生重点开放实验室, 甘肃省动物寄生虫病重点实验室, 兰州 730046

* 通讯作者, E-mail: zhangdl2005@163.com

纳虫空泡膜 (parasitophorous vacuole membrane, PVM) 将虫体包裹; 与此同时, 虫体分泌斜切蛋白酶 (rhomboid proteases, ROMs) 将连接区域切割, 成功侵入宿主细胞^[9]。最后虫体自身对纳虫泡成分进行修饰, 使其免遭宿主溶酶体的融合和酸化作用, 并与宿主的内吞系统隔离。虫体在纳虫空泡内发育, 以二分裂或芽殖的方式进行繁殖, 繁殖 5~6 代后, 宿主细胞裂解, 释放出速殖子, 新的速殖子转移, 继而入侵新的宿主细胞或组织。

1.2 弓形虫在宿主体内的扩散 弓形虫速殖子进入宿主后, 将扩散到相应的组织器官, 该过程必须经过一些生理屏障, 例如肠道、血脑屏障和胎盘等。在迁移过程中, 弓形虫速殖子首先聚集在细胞连接周围, 很可能通过胞旁路径穿过生理屏障, 原因在于弓形虫移行过程中, 宿主细胞膜始终保持完整, 同时宿主细胞表面细胞间黏附分子 1 (ICAM-1) 上调表达, 而抗 ICAM-1 抗体可阻止弓形虫移行, 表明 ICAM-1 在弓形虫移行过程中具有重要作用^[10]。因此, 弓形虫以一种自我保护的方式穿过生理屏障, 并向深处组织扩散^[11]。

弓形虫进入宿主细胞后, 首先破坏宿主细胞核转录因子 κB (NF- κB) 的信号级联反应, 同时阻止促分裂素原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinases, MAPK) 的激活, 使宿主暂时不能产生白介素-12 (IL-12) 和 α 肿瘤坏死因子 (TNF- α)^[12]。在调节 NF- κB 活性的过程中, Dobbin 等^[13]研究发现, 弓形虫分泌的热激蛋白 70 (*TgHSP70*) 可能发挥作用, 可能通过抑制 20S 蛋白酶体的活性或作用于 NF- κB /I κB 复合体, 从而抑制 NF- κB 发挥作用。*TgHSP70* 还可抑制宿主 Th1 免疫应答途径, 增加宿主感染弓形虫的风险^[14]。此外, 宿主感染弓形虫后, 将降低 p65 的磷酸化作用, 阻止 NF- κB 向细胞核转移^[15]; 弓形虫还可诱导 p38MAPK 自身磷酸化^[16]。因此, 弓形虫可通过众多途径破坏转录通道信号, 延迟宿主的免疫应答, 大大促进弓形虫的感染和转移。最近研究表明, 弓形虫的毒力可能与其分泌的一种蛋白有关, 该蛋白的作用与穿孔素一样, 可通过在 PVM 和宿主细胞膜上形成小孔, 转移虫体^[17]。

1.3 弓形虫在宿主体内持续性感染 为在宿主体内长久生存、持续感染, 弓形虫能改变其寄生细胞和附近未感染细胞的凋亡程序^[18]。感染弓形虫后, T 淋巴细胞和其他白细胞通过凋亡蛋白 Fas 依赖和 Fas 非依赖途径被诱导凋亡^[19,20]。相反, 为阻止被感染宿主细胞凋亡, 弓形虫能干扰凋亡信号的传递: 增加被感染宿主细胞的抗细胞凋亡分子的表达, 降低多腺苷酸聚合

酶的活性^[21,22]。弓形虫从两方面阻止被感染宿主细胞凋亡, 这对其建立持续性感染非常重要。

为与宿主共存并应付宿主强有力的免疫反应, 弓形虫具有许多基因家族可让其成功入侵宿主细胞, 调整宿主细胞基因表达以及逃避宿主免疫应答。所用策略包括改变宿主免疫调节因子的表达和分泌, 改变免疫细胞的生存能力, 以及阻断宿主抗菌效应机制。弓形虫虽能阻止宿主将其消灭, 但宿主免疫反应只是部分被削弱而不是完全被阻断, 因此弓形虫似乎是在宿主免疫反应被诱导与抑制之间保持一种微妙的平衡, 使宿主和虫体均能生存^[23]。

2 各类免疫细胞的免疫作用

宿主感染弓形虫以后, 对于不同的个体, 可引起局部或系统的免疫应答, 这似乎与宿主的遗传背景和免疫状态有密切关系^[24], 目前只有极少数实验研究人体对弓形虫感染的免疫应答, 大多数实验都是以小鼠为模型, 因为感染小鼠相对容易, 并可以将寄生虫控制在实验室内。下面主要总结几种免疫细胞在宿主对弓形虫免疫应答中的作用。

2.1 多形核白细胞 (polymorphonuclear leukocyte)

多形核白细胞是最早到达感染部位的吞噬细胞。采用腹腔内注射弓形虫速殖子方法研究小鼠感染弓形虫后的免疫应答, 由于 CXC 型趋化因子受体 CXCR2^[25]和 CC 型受体 CCR1^[26]的存在, 小鼠局部组织聚集大量中性粒细胞; 而 CCR1^{-/-}小鼠嗜中性粒细胞的运输和增殖均存在缺陷, 更易感染弓形虫。小鼠中性粒细胞表面高水平表达 Gr-1 分子结构, 用抗 Gr-1 单克隆抗体中和多形核白细胞, 可导致小鼠免疫失调, 对弓形虫更加敏感。而在感染后期, 小鼠缺损中性粒细胞, 但不会造成影响, 说明中性粒细胞只在弓形虫感染初期具有重要作用^[27], 且受半乳糖凝集素-3 (Gal-3) 调节^[28]。Dunay 等^[29,30]最新研究发现, 多形核白细胞在弓形虫感染急性期并无重要作用, 起重要作用的为单核细胞。

2.2 树突状细胞 (dendritic cell, DC) 弓形虫入侵宿主时, DCs 在协调宿主先天性免疫应答过程中发挥重要作用^[31]。同时, DCs 是产生 IL-12 的主要来源, 能有效阻止弓形虫感染^[32]。小鼠缺损 DCs 将抑制 IL-12 和 γ 干扰素 (IFN- γ) 产生, 增加其对弓形虫的敏感性^[33]。将野生型小鼠的 DCs 植入 DCs 缺损鼠, 可恢复其产生 IL-12 和 IFN- γ 的能力, 结果提高了 DCs 缺损鼠对弓形虫感染的抵抗力^[34]。弓形虫在宿主体内转移过程中, DCs 也具有重要作用。体外试验表明, 弓形虫比其他血细胞更倾向于感染未成熟 DCs^[35]。将被感染的 DCs

过继转移给同系小鼠，与腹腔内注射感染相比，弓形虫在小鼠体内向远端器官转移的速度更快，感染也更为严重^[36]。因为弓形虫抑制了 DCs 的活化，不能激活初始 T 细胞和分泌细胞因子，T 细胞活化受到抑制，并通过接触依赖而凋亡，但 T 细胞凋亡机制目前尚不清楚。可溶性弓形虫抗原 (STAg) 致敏的 DCs 可分泌一种具有递呈能力的小体，诱导抗弓形虫的保护性免疫反应，此发现为无细胞疫苗在弓形虫免疫预防中的应用开辟了新途径^[37]。小鼠感染弓形虫 I 型强毒株或 II 型弱毒株均可诱导 IL-12 和 IFN- γ 产生，但感染 II 型虫株的小鼠在感染处和淋巴结产生较强的 DC 免疫应答，产生大量内源性 CD8⁺T 细胞，形成慢性感染；而被 I 型虫株感染的小鼠只有少量 DCs 和 CD8⁺T 细胞，结果是致死的。因此，依赖 DC 免疫应答的虫株可能由于形成抗原特异性 CD8⁺T 细胞，使感染的结果不同^[38]。

2.3 单核/巨噬细胞 (macrophage) 炎性单核细胞产生于骨髓，然后运输至固有层发挥其抗菌作用。炎性单核细胞在对弓形虫黏膜免疫的过程中具有重要作用，切断召集炎性单核细胞的信号，将导致弓形虫大量复制，中性粒细胞广泛浸润，肠道坏死，以及宿主迅速死亡^[39]。激活的巨噬细胞在抵抗弓形虫感染的细胞免疫中起重要作用，可产生活性氧和活性氮的中间体^[40]，且有效地杀伤弓形虫速殖子，IFN- γ 即通过激活的巨噬细胞起杀灭弓形虫作用^[41]。Li 等^[42]研究发现，小鼠感染弓形虫后，若腹腔巨噬细胞中诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS) 活性高而精氨酸酶-1 (Arginase-1, Arg1) 活性低，就能抵抗弓形虫的感染，反之则不然。巨噬细胞表面具有所有的模式识别受体，如 Toll 样受体 (TLRs)、NOD 样受体 (NLRs)、RIG 样受体 (RLRs) 和 C 型凝集素受体 (CLRs) 等，TLRs 能识别弓形虫表面的甘油磷酸肌醇 (GPI) 锚定蛋白，TLR-2 和 TLR-4 通过识别 GPIs 而激活巨噬细胞^[43]，当缺少 MyD88 时，小鼠对弓形虫高度敏感，表明 TLRs 在抵抗弓形虫感染的过程中具有重要作用^[44]；但缺损 TLR-2 和 TLR-4 后，小鼠对弓形虫依然具有抵抗力^[45]。研究发现，弓形虫前纤维蛋白 (profilin) 是诱导宿主产生 IL-12 的主要生物分子，且 TLR-11 是前纤维蛋白的重要配体^[46]。新发现的鸟苷三磷酸酶 (GTPase) p47 家族 (LRG47, IGTP, IRG47) 是调节宿主体内 IFN- γ 抵抗弓形虫感染的核心分子，当巨噬细胞缺失 LRG47 时，宿主免疫机能下降。虽然 p47 GTPase 的作用机制尚未清楚，但当其积聚在弓形虫纳虫空泡中后，PVM 破裂，弓形虫被消灭^[47]。

2.4 $\gamma\delta$ T 淋巴细胞 $\gamma\delta$ T 细胞是 T 淋巴细胞的一种，在血液、淋巴组织和器官中比例较少，主要聚集在皮肤和黏膜上皮。 $\gamma\delta$ T 细胞是早期抗感染免疫的主要细胞，其将先天性免疫与适应性免疫连接起来。弓形虫感染的小鼠体内 $\gamma\delta$ T 细胞数量急剧上升，而 $\gamma\delta$ T 细胞缺失将导致宿主一氧化氮 (NO) 产生水平降低^[48]。Bohne 等^[49]以由骨髓产生的巨噬细胞进行的体外实验结果表明，NO 通过抑制弓形虫线粒体呼吸作用发挥抗弓形虫的作用，同时促使弓形虫由速殖子转变为缓殖子。Hayashi 等^[50]以 C57BL/6 小鼠进行实验发现，NO 在宿主感染弓形虫的过程中具有双重作用，它一方面具有抵抗弓形虫的作用，另一方面又限制机体的免疫反应。

2.5 NK 细胞 (natural killer cell) NK 细胞体积较大，内含颗粒，细胞膜无典型 T 或 B 细胞的表面标志。该细胞无需抗原刺激即可杀伤靶细胞，因此称为自然杀伤细胞。在弓形虫感染早期，NK 细胞是 IFN- γ 的主要来源，能够杀伤被感染的细胞；但感染弓形虫的 NK 细胞却能使弓形虫逃脱宿主的免疫识别^[51]。巨噬细胞和 DCs 分泌的 IL-18 可以增强 NK 细胞对靶细胞的杀伤作用，当 IL-18 和 IL-15 联合作用时，可促使 NK 细胞增殖^[52]。NK 细胞转移至感染部位的淋巴组织，分泌 IFN- γ ，通过经典途径激活巨噬细胞，同时提高巨噬细胞表面 MHC-II 类分子的表达^[53]。NK 细胞表面还具有较多趋化因子受体，CCR5 为其中重要的一种，CCR5^{-/-}小鼠感染弓形虫后，感染部位聚集的 NK 细胞数量减少。NKG2D 是 NK 细胞表面最强的一种活化性受体，当它与 DCs 表面的配体结合后，NK 细胞将产生更多的 IFN- γ ，用抗体中和 NKG2D 受体导致 IFN- γ 产生水平降低^[54]。

2.6 淋巴细胞 (lymphocyte)

2.6.1 T 淋巴细胞 大多数 T 细胞含有 CD4 或 CD8 膜分子，CD4⁺T 细胞一般为辅助性 T 细胞 (Th)，而 CD8⁺T 细胞为 T 细胞毒细胞 (Tc)。CD4⁺和 CD8⁺T 细胞对于宿主抵抗弓形虫感染较为重要，切除小鼠胸腺，小鼠对弓形虫弱毒株和强毒株均较敏感^[55]。CD8⁺T 细胞被活化后，分化繁殖为细胞毒 T 淋巴细胞，能裂解被感染的细胞，抵抗弓形虫感染；CD4⁺T 细胞被活化后，分泌各种细胞因子，直接参与调节免疫应答，抵抗弓形虫感染，减少小鼠弓形虫脑炎的发生^[56]。此外，活化的 CD4⁺T 细胞还能释放 IL-2，促使 CD8⁺T 细胞活化与增殖^[57]。核苷酸结合寡聚化结构域 (nucleotide-binding oligomerization domain, NOD) 蛋白是新近发现的天然免疫系统中细胞质型模式识别受体中的一个重要家族成员，主要识别细胞浆中的病原

成分,其中 Nod2 对于宿主抵抗弓形虫感染具有重要作用。小鼠缺损 Nod2 后,清除体内弓形虫的能力降低,IFN- γ 产生水平降低^[58]。研究人员让实验小鼠 T 细胞缺损 Nod2,该小鼠感染弓形虫后,分化产生的 Th 细胞不能产生 IL-2,细胞核中积聚大量转录调控因子 C-Rel,免疫系统具有明显缺陷。此外,上皮内 T 淋巴细胞 (IEL) 被弓形虫激活后,通过自身产生 IFN- γ 杀伤虫体,抵抗感染^[59]。

2.6.2 B 淋巴细胞 B 淋巴细胞起源于骨髓中的造血干细胞,其在抗弓形虫感染过程中的作用和抗体产生的研究尚不深入。在弓形虫感染早期,主要由细胞免疫发挥抗感染作用,在感染 3~4 周后,B 淋巴细胞分泌产生的特异性抗体开始发挥免疫作用^[60]。B 淋巴细胞在弓形虫疫苗诱导的免疫保护作用中也具有重要作用,用弱毒弓形虫速殖子免疫 B 细胞缺损小鼠后,再用弓形虫强毒株攻击,B 细胞缺损小鼠的易感性明显高于健康小鼠;给 B 细胞缺损小鼠注入弓形虫免疫血清后,再用强毒株攻击,小鼠的生存时间明显延长^[61]。最近研究发现,在弓形虫感染急性期的早期,特异性弓形虫抗体 IgM 能够阻止弓形虫速殖子入侵细胞,限制弓形虫在宿主全身转移^[62]。

3 不同器官中的免疫应答

3.1 眼弓形虫病 (ocular toxoplasmosis, OT) OT 的发病机制非常复杂,由于没有合适的动物模型,因此至今尚未清楚,局部的免疫应答也不甚了解。Jones 等^[63]最近对眼弓形虫病作了综述,认为其是弓形虫与免疫因子共同作用的结果,首先弓形虫入侵使血眼屏障崩溃,然后免疫细胞进入眼部组织。在眼部的免疫应答过程中,IFN- γ 的产生、巨噬细胞的激活以及 TNF- α 和 NO 的产生对于宿主限制弓形虫的增殖和防止眼弓形虫病复发极为重要,Czepiel 等^[64]研究发现,宿主血液中低水平的 IFN- γ 和 IL-8 可导致眼弓形虫病的发生。Fas/FasL 介导的细胞凋亡和 CD8⁺ 特异性杀伤 T 细胞能准确作用于被感染的细胞,减少对正常眼部组织的伤害^[65]。宿主感染弓形虫后,上调表达 Fas、FasL 和 β 2-微球蛋白,从而增强特异性细胞的杀伤作用。最近有研究发现,趋化因子配体 10 (CXC ligand 10, CXCL10) 在眼弓形虫病慢性感染过程中具有重要作用,能维持宿主 T 细胞免疫应答,抑制虫体复制^[66]。此外,在眼部血清和眼房中检测到 IgG、IgA 和 IgM 抗体,但不同抗体在 OT 中的作用还有待研究^[67,68]。

3.2 先天性弓形虫病 (congenital toxoplasmosis) Pfaff 等^[69]研究发现,IFN- γ 在先天性弓形虫病过程中

具有双重作用,一方面 IFN- γ 能控制弓形虫病,另一方面又能促使弓形虫转移,并对胎儿发育造成伤害。当小鼠缺损 T 细胞和 B 细胞、或缺损 IFN- γ 时,弓形虫转移到胎儿的几率比野生型小鼠显著降低;IFN- γ 能增强滋养层细胞的 ICAM-1 表达,因此增加 IFN- γ 的浓度,将促使感染的单核细胞与滋养层细胞结合,增加胎儿的感染几率^[70]。孕酮浓度的提高,将抑制巨噬细胞产生 IL-12、TNF- α 和 NO^[71],DCs 也提高 IL-10 的产生水平^[72],从而抑制 Th1 细胞的发育,因此妊娠小鼠对弓形虫更为敏感^[73]。因而,不管是人类还是小鼠,妊娠期间感染弓形虫易导致垂直感染,引起胎儿先天性弓形虫病。

3.3 弓形虫脑炎 (toxoplasmic encephalitis, TE) 弓形虫能感染宿主大脑中的星形胶质细胞、神经细胞和小胶质细胞。控制大脑内弓形虫主要依靠 CD4⁺ 和 CD8⁺T 细胞产生的 IFN- γ ,同时,IFN- γ 还能诱导产生其他具有保护作用的细胞因子,并激活感染细胞的保护效应机制。Th17 细胞的主要效应因子是 IL-17,在慢性弓形虫感染过程中,可促使小鼠产生神经炎症反应,Stumhofer 等^[74]研究发现,IL-27 对 Th17 细胞的发育有较强的抑制作用;此外,IL-27 和 IL-6 能诱导 Th1、Th2 细胞及其他一些 Th 细胞分泌 IL-10,使患有弓形虫脑炎的宿主产生免疫抑制,炎症反应趋于缓和。大脑中星形胶质细胞可产生趋化因子 IP-10/CRG-2 和 MCP-1,并上调表达 MHC-I 类分子。如星形胶质细胞缺损内胶质纤维酸性蛋白 (GFAP),其修复弓形虫引起的炎症损害的能力降低,结果可导致更广泛的炎症反应^[75]。John 等^[76]研究发现,可能是由于多个趋化因子受体之间的协同效应,调节整合蛋白 LFA-1 的亲和力,使大量 DCs 聚集于脑部,这对脑部免疫系统形成提出新的见解。

3.4 弓形虫引起的小肠炎 易感小鼠感染弓形虫后,在小肠特别是回肠能引起严重的炎症反应^[77]。但小肠炎并不是因为弓形虫的复制直接导致,而是由于小鼠在 Th1 免疫应答过程中,过量产生促炎介质,包括 IL-12、IL-18、IFN- γ 、TNF- α 和 NO 等^[78,79]。小鼠经口感染弓形虫包囊,从感染后到第 3 天,小鼠回肠黏膜无组织病理学变化;感染后第 3 天至第 5 天,回肠黏膜有轻度炎症,小肠细胞分泌渗出液到回肠腔;第 6 天至第 7 天,小肠发生中度炎症,小肠上皮细胞脱落,并且肠绒毛顶端被破坏;至第 8 天,小鼠死于严重的回肠坏死和组织破坏,以及广泛的免疫细胞浸润^[79]。基质金属蛋白酶 (MMPs) 在炎性肠道疾病 (IBD) 的发病过程中具有重要作用^[80],目前发现其由 IL-23 诱导产生^[81]。在弓形虫感染引起回肠炎的过程中,IL-

23 可诱导产生 MMP-2 (白明胶酶-A) 和 MMP-9 (白明胶酶-B), MMP-2 发挥主要作用^[82]。因此, 可合成一种白明胶酶的选择性抑制剂来治疗和预防小鼠的小肠炎, 也为人类治疗 IBD 提供了一种可能的治疗方案。

4 结语

弓形虫入侵宿主细胞是一个主动过程, 包括黏附、侵入宿主细胞, 并在细胞内形成纳虫空泡, 这个过程主要与微线体、棒状体和致密颗粒分泌的蛋白相关, 但目前对某些功能分子的确切功能和作用机制尚未清楚; 然后弓形虫破坏宿主细胞的信号级联反应, 以特殊方式在宿主体内扩散; 为能长期存在于宿主体内, 弓形虫调整宿主细胞的凋亡程序, 并巧妙应对宿主的免疫反应。宿主免疫反应并非完全被阻断, 只是部分被削弱, 多种免疫细胞发挥免疫作用, 例如多形核白细胞、树突状细胞、单核巨噬细胞、 $\gamma\delta$ T 淋巴细胞、NK 细胞和淋巴细胞等, 它们之间相互协同, 分泌多种细胞因子抵抗弓形虫感染, 最后宿主免疫反应在被诱导与抑制之间保持一种微妙的平衡, 使宿主与虫体均可生存。弓形虫在宿主体内扩散后, 到达不同器官, 引起眼弓形体病、先天性弓形虫病、弓形虫脑炎和小肠炎等, 这些疾病的发病机制有待进一步研究, 虽然这些器官具有保护屏障, 但宿主免疫细胞能到达这些特殊区域, 其机制需进一步探讨。

参 考 文 献

[1] Pereira-Chioccola VL, Vidal JE, Su C. *Toxoplasma gondii* infection and cerebral toxoplasmosis in HIV-infected patients[J]. *Future Microbiol*, 2009, 4(10): 1363-1379.

[2] Joiner KA, Dubremetz GF. *Toxoplasma gondii*: a protozoan for the nineties[J]. *Infect Immun*, 1993, 61(4): 1169-1172.

[3] Dubremetz JF, Garcia-regurt N, Fourmaux MN, et al. Apical organelles and host cell invasion by Apicomplexa [J]. *Int J Parasitol*, 1998, 28(7): 1007-1013.

[4] Carruthers VB, Sibley LD. Sequential protein secretion from three distinct organelles of human fibroblasts [J]. *Eur J Cell Biol*, 1997, 73(2): 114-123.

[5] Mathiesen SH, Shenoy SM, Kim K, et al. Role of the parafusin orthologue, PRP1, in microneme exocytosis and cell invasion in *Toxoplasma gondii*[J]. *Cell Microbiol*, 2003, 5(9): 613-624.

[6] Richard D, Macrauld CA, Riglar DT, et al. Interaction between *Plasmodium falciparum* apical membrane antigen 1 and the rhoptry neck protein complex defines a key step in the erythrocyte invasion process of malaria parasites [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(19): 14815-14822.

[7] Soldati D, Meissner M. *Toxoplasma* as a novel system for motility [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2004, 16(1): 32-40.

[8] Soldati D, Dubremetz J F, Lebrun M. Microneme proteins: structural and functional requirements to promote adhesion and invasion by the Apicomplexan parasite *Toxoplasma gondii* [J]. *Int J Parasitol*, 2001, 31(12): 1293-1302.

[9] Santos JM, Ferguson DJ, Blackman MJ, et al. Intramembrane cleavage of AMA1 triggers *Toxoplasma* to switch from an invasive

to a replicative mode[J]. *Science*, 2010, 331(6016): 473-477.

[10] Barragan A, Brossier F, Sibley LD. Transepithelial migration of *Toxoplasma gondii* involves an interaction of intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) with the parasite adhesin MIC2 [J]. *Cell Microbiol*, 2005, 7(4): 561-568.

[11] Tardieux I, Menard R. Migration of Apicomplexa across biological barriers: the *Toxoplasma* and *Plasmodium* rides [J]. *Traffic*, 2008, 9(5): 627-635.

[12] Butcher BA, Denkers EY. Mechanism of entry determines the ability of *Toxoplasma gondii* to inhibit macrophage proinflammatory cytokine production[J]. *Infect Immun*, 2002, 70(9): 5216-5224.

[13] Dobbins CA, Smith NC, Johnson AM. Heat shock protein 70 is a potential virulence factor in murine *Toxoplasma* infection via immunomodulation of host NF-kappa B and nitric oxide [J]. *J Immunol*, 2002, 169(2): 958-965.

[14] Ahmed AK, Mun HS, Aosai F, et al. Roles of *Toxoplasma gondii*-derived heat shock protein 70 in host defense against *T. gondii* infection[J]. *Microbiol Immunol*, 2004, 48(11): 911-915.

[15] Shapira S, Speirs K, Gerstein A, et al. Suppression of NF-kappa B activation by infection with *Toxoplasma gondii*[J]. *J Infect Dis*, 2002, 185(Suppl): S66-S72.

[16] Kim L, Laura DR, Barbara AB, et al. p38 MAPK autophosphorylation drives macrophage IL-12 production during intracellular infection[J]. *J Immunol*, 2005, 174(7): 4178-4184.

[17] Kafack BF, Pena JD, Coppens I, et al. Rapid membrane disruption by a perforin-like protein facilitates parasite exit from host cells[J]. *Science*, 2009, 323(5913): 530-533.

[18] Carmen JC, Sinai AP. Suicide prevention: disruption of apoptotic pathways by protozoan parasites [J]. *Mol Microbiol*, 2007, 64(4): 904-916.

[19] Caamano J, Tato C, Cai GF, et al. Identification of a role for NF- κ B2 in the regulation of apoptosis and in maintenance of T cell-mediated immunity to *Toxoplasma gondii* [J]. *J Immunol*, 2000, 165(10): 5720-5728.

[20] Begum-Haque S, Haque A, Kasper LH. Apoptosis in *Toxoplasma gondii* activated T cells: the role of IFN- γ in enhanced alteration of Bcl-2 expression and mitochondrial membrane potential [J]. *Microb Pathog*, 2009, 47(5): 281-288.

[21] Laliberte J, Carruthers VB. Host cell manipulation by the human pathogen *Toxoplasma gondii* [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2008, 65(12): 1900-1915.

[22] Gais A, Beinert N, Gross U, et al. Transient inhibition of poly (ADP-ribose) polymerase expression and activity by *Toxoplasma gondii* is dispensable for parasite-mediated blockade of host cell apoptosis and intracellular parasite replication[J]. *Microbes Infect*, 2008, 10(4): 358-366.

[23] Lüder CG, Stanway RR, Chaussepied M, et al. Intracellular survival of apicomplexan parasites and host cell modification[J]. *Int J Parasitol*, 2009, 39(2): 163-173.

[24] Suzuki Y, Remington JS. Toxoplasmic encephalitis in AIDS patients and experimental models for study of the disease and its treatment[J]. *Res Immunol*, 1993, 144(1): 66-67.

[25] Del Rio L, Bennouna S, Salinas J, et al. CXCR2 deficiency confers impaired neutrophil recruitment and increased susceptibility during *Toxoplasma gondii* infection [J]. *J Immunol*, 2001, 167(11): 6503-6509.

[26] Khan IA, Murphy PM, Casciotti L, et al. Mice lacking the chemokine receptor CCR1 show increased susceptibility to *Toxoplasma gondii* infection[J]. *J Immunol*, 2001, 166(3): 1930-1937.

[27] Bliss SK, Gavrilescu LC, Alcaraz A, et al. Neutrophil depletion during *Toxoplasma gondii* infection leads to impaired immunity and lethal systemic pathology [J]. *Infect Immun*, 2001, 69(8): 4898-4905.

[28] Alves CM, Silva DA, Azzolini AE, et al. Galectin-3 plays a modulatory role in the life span and activation of murine neutrophils during early *Toxoplasma gondii* infection[J]. *Immunobiolo-*

- gy, 2010, 215(6): 475-485.
- [29] Dunay IR, Sibley LD. Monocytes mediate mucosal immunity to *Toxoplasma gondii*[J]. *Curr Opin Immunol*, 2010, 22(4): 461-466.
- [30] Dunay IR, Fuchs A, Sibley LD. Inflammatory monocytes but not neutrophils are necessary to control infection with *Toxoplasma gondii* in mice[J]. *Infect Immun*, 2010, 78(4): 1564-1570.
- [31] Hou B, Benson A, Kuzmich L, et al. Critical coordination of innate immune defence against *Toxoplasma gondii* by dendritic cells responding via their Toll-like receptors [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(1): 278-283.
- [32] Scott P, Hunter CA. Dendritic cells and immunity to leishmaniasis and toxoplasmosis[J]. *Curr Opin Immunol*, 2002, 14(4): 466-470.
- [33] Mashayekhi M, Sandau MM, Dunay IR, et al. CD8 α ⁺ dendritic cells are the critical source of interleukin-12 that controls acute infection by *Toxoplasma gondii* tachyzoites[J]. *Immunity*, 2011, 35(2): 249-259.
- [34] Liu CH, Fan YT, Dias A, et al. Cutting edge: dendritic cells are essential for *in vivo* IL-12 production and development of resistance against *Toxoplasma gondii* infection in mice [J]. *J Immunol*, 2006, 177(1): 31-35.
- [35] Channon JY, Seguin RM, Kasper LH. Differential infectivity and division of *Toxoplasma gondii* in human peripheral blood leukocytes[J]. *Infect Immun*, 2000, 68(8): 4822-4826.
- [36] Lambert H, Hitziger N, Dellacasa I, et al. Induction of dendritic cell migration upon *Toxoplasma gondii* infection potentiates parasite dissemination[J]. *Cell Microbiol*, 2006, 8(10): 1611-1623.
- [37] Bertaux L, Mevelec MN, Dion S, et al. Apoptotic pulsed dendritic cells induce a protective immune response against *Toxoplasma gondii*[J]. *Parasite Immunol*, 2008, 30(11/12): 620-629.
- [38] Tait ED, Jordan KA, Dupont CD, et al. Virulence of *Toxoplasma gondii* is associated with distinct dendritic cell responses and reduced numbers of activated CD8⁺ T cells [J]. *J Immunol*, 2010, 185(3): 1502-1512.
- [39] Dunay IR, Damatta RA, Fux B, et al. Gr1⁺ (Ly6C⁺) inflammatory monocytes are required for mucosal resistance to the pathogen *Toxoplasma gondii*[J]. *Immunity*, 2008, 29(2): 306-317.
- [40] Gazzinelli RT, Denkers EY, Sher A. Host resistance to *Toxoplasma gondii*: model for studying the selective induction of cell-mediated immunity by intracellular parasites [J]. *Infect Agents Dis*, 1993, 2(3): 139-149.
- [41] Lykens JE, Terrell CE, Zoller EE, et al. Mice with a selective impairment of IFN-gamma signaling in macrophage lineage cells demonstrate the critical role of IFN-gamma-activated macrophages for the control of protozoan parasitic infections *in vivo* [J]. *J Immunol*, 2010, 184(2): 877-885.
- [42] Li Z, Zhao ZJ, Zhu XQ, et al. Differences in iNOS and arginase expression and activity in the macrophages of rats are responsible for the resistance against *T. gondii* infection[J]. *PLoS One*, 2012, 7(4): e35834.
- [43] Debierre-Grockiego F, Campos MA, Azzouz N, et al. Activation of TLR2 and TLR4 by glycosylphosphatidylinositols derived from *Toxoplasma gondii*[J]. *J Immunol*, 2007, 179(2): 1129-1137.
- [44] Scanga CA, Aliberti J, Jankovic D, et al. Cutting edge: MyD88 is required for resistance to *Toxoplasma gondii* infection and regulates parasite-induced IL-12 production by dendritic cells [J]. *J Immunol*, 2002, 168(12): 5997-6001.
- [45] Gopal R, Birdsall D, Monroy FP. Regulation of toll-like receptor in intestinal epithelial cells by stress and *Toxoplasma gondii* infection[J]. *Parasit Immunol*, 2008, 30(11-12): 563-576.
- [46] Yarovinsky F, Zhang DK, John F, et al. TLR11 activation of dendritic cells by a protozoan profilin-like protein [J]. *Science*, 2005, 308(5726): 1626-1629.
- [47] Martens S, Parvanova I, Zerrahn J, et al. Disruption of *Toxoplasma gondii* parasitophorous vacuoles by the mouse p47-resistance GTPases[J]. *PLoS Pathog*, 2005, 1(3): e24.
- [48] Hisaeda H, Sakai T, Maekawa Y, et al. Mechanisms of HSP65 expression induced by gamma delta T cells in murine *Toxoplasma gondii* infection[J]. *Pathobiology*, 1996, 64(4): 198-203.
- [49] Bohne W, Heesemann J, Gross U. Reduced replication of *Toxoplasma gondii* is necessary for induction of bradyzoite-specific antigens: a possible role for nitric oxide in triggering stage conversion[J]. *Infect Immun*, 1994, 62(5): 1761-1767.
- [50] Hayashi S, Chan CC, Gazzinelli R, et al. Contribution of nitric oxide to the host parasite equilibrium in toxoplasmosis[J]. *J Immunol*, 1996, 156(4): 1476-1481.
- [51] Persson CM, Lambert H, Vutova PP, et al. Transmission of *Toxoplasma gondii* from infected dendritic cells to natural killer cells [J]. *Infect Immun*, 2009, 77(3): 970-976.
- [52] French AR, Holroyd EB, Yang L, et al. IL-18 acts synergistically with IL-15 in stimulating natural killer cell proliferation [J]. *Cytokine*, 2006, 35(5-6): 229-234.
- [53] Khan IA, Thomas SY, Moretto MM, et al. CCR5 is essential for NK cell trafficking and host survival following *Toxoplasma gondii* infection[J]. *PLoS Pathog*, 2006, 2(6): e49.
- [54] Guan H, Moretto M, Bzik DJ, et al. NK cells enhance dendritic cell response against parasite antigens via NKG2D pathway[J]. *J Immunol*, 2007, 179(1): 590-596.
- [55] Langermans JA, Van der Hulst ME, Nibbering PH, et al. IFN-gamma-induced L-arginine-dependent toxoplasmastatic activity in murine peritoneal macrophage is mediated by endogenous tumor necrosis factor-alpha[J]. *J Immunol*, 1992, 148(2): 568-574.
- [56] Grover HS, Blanchard N, Gonzalez F, et al. The *Toxoplasma gondii* peptide AS15 elicits CD4 T cells that can control parasite burden[J]. *Infect Immun*, 2012, 80(9): 3279-3288.
- [57] Lai YP, Lin CC, Liao WJ, et al. CD4⁺ T cell-derived IL-2 signals during early priming advances primary CD8⁺ T cell responses[J]. *PLoS One*, 2009, 4(11): e7766.
- [58] Show MH, Reimer T, Sanchez-Valdepenas C, et al. T cell-intrinsic role of Nod2 in promoting type I immunity to *Toxoplasma gondii*[J]. *Nat Immunol*, 2009, 10(12): 1267-1274.
- [59] Charde T, Buzoni-Gatel D, Lepage A, et al. *Toxoplasma gondii* oral infection induces specific cytotoxic CD8 alpha/beta +Thy-1 + gut intraepithelial lymphocytes, lytic for parasite-infected enterocytes[J]. *J Immunol*, 1994, 153(10): 4596-4603.
- [60] Kang H, Remington JS, Suzuki Y, et al. Decreased resistance of B cell-deficient mice to infection with *Toxoplasma gondii* despite unimpaired expression IFN-gamma, TNF-alpha, and inducible nitric oxide synthase[J]. *J Immunol*, 2000, 164(5): 2629-2634.
- [61] Sayles PC, Gibson GW, Johnson LL. B cells are essential for vaccination-induced resistance to virulent *Toxoplasma gondii* [J]. *Infect Immun*, 2000, 68(3): 1026-1033.
- [62] Couper KN, Roberts CW, Brombacher F, et al. *Toxoplasma gondii*-specific immunoglobulin M limits parasite dissemination by preventing host cell invasion[J]. *Infect Immun*, 2005, 73(12): 8060-8068.
- [63] Jones LA, Alexander J, Roberts CW. Ocular toxoplasmosis: in the storm of the eye [J]. *Parasite Immunol*, 2006, 28(12): 635-642.
- [64] Czepiel J, Biesiada G, Sobczyk-Krupiarz I, et al. Interleukin 8 and interferon gamma in ocular toxoplasmosis [J]. *Klin Oczna*, 2011, 113(4-6): 149-152.
- [65] Hu MS, Schwartzman JD, Yeaman GR, et al. Fas-FasL interaction involved in pathogenesis of ocular toxoplasmosis in mice [J]. *Infect Immun*, 1999, 67(2): 928-935.
- [66] Norose K, Kikumura A, Luster AD, et al. CXCL10 is required to maintain T-cell populations and to control parasite replication during chronic ocular toxoplasmosis [J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2011, 52(1): 389-398.
- [67] Klaren VN, Peek R. Evidence for a compartmentalized B cell response as characterized by IgG epitope specificity in human ocular toxoplasmosis[J]. *J Immunol*, 2001, 167(11): 6263-6269.

- induction of IL-10-producing macrophages[J]. J Immunol, 2008, 180(6): 4265-4272.
- [40] Imai S, Fujita K. Molecules of parasites as immunomodulatory drugs[J]. Curr Top Med Chem, 2004, 4(5): 539-552.
- [41] Donnelly S, Stack CM, O'Neill SM, et al. Helminth 2 Cys peroxiredoxin drives Th2 responses through a mechanism involving alternatively activated macrophages [J]. FASEB J, 2008, 22(11): 4022-4032.
- [42] Steinfeld S, Andersen JF, Cannons JL, et al. The major component in schistosome eggs responsible for conditioning dendritic cells for Th2 polarization is a T2 ribonuclease (omega-1)[J]. J Exp Med, 2009, 206(8): 1681-1690.
- [43] Smith P, Fallon RE, Mangan NE, et al. *Schistosoma mansoni* secretes a chemokine binding protein with anti-inflammatory activity[J]. J Exp Med, 2005, 202(10): 1319-1325.
- [44] Harnett MM, Melendez AJ, Harnett W. The therapeutic potential of the filarial nematode-derived immunomodulator, ES-62, in inflammatory disease[J]. Clin Exp Immunol, 2010, 159(3): 256-267.
- [45] Wolff MJ, Broadhurst MJ, Loke P. Helminthic therapy: improving mucosal barrier function [J]. Trends Parasitol, 2012, 28(5): 187-194.
- (收稿日期: 2012-02-29 编辑: 瞿麟平)

(上接第 485 页)

- [68] Onqkosuwito JV, Bosch-Driessen EH, Kijlstra A, et al. Serologic evaluation of patients with primary and recurrent ocular toxoplasmosis for evidence of recent infection [J]. Am J Ophthalmol, 1999, 128(4): 407-412.
- [69] Pfaff AW, Abou-bacar A, Letscher-bru V, et al. Cellular and molecular physiopathology of congenital toxoplasmosis: the dual role of IFN-gamma[J]. Parasitology, 2007, 134(Pt13): 1895-1902.
- [70] Abou-Bacar A, Pfaff AW, Georges S, et al. Role of NK cells and gamma interferon in transplacental passage of *Toxoplasma gondii* in a mouse model of primary infection [J]. Infect Immun, 2004, 72(3): 1397-1401.
- [71] Miller L, Alley EW, Murphy WJ, et al. Progesterone inhibits inducible nitric oxide synthase gene expression and nitric oxide production in murine macrophages [J]. J Leukoc Biol, 1996, 59(3): 442-450.
- [72] Huck B, Steck T, Habersack M, et al. Pregnancy associated hormones modulate the cytokine production but not the phenotype of PBMC-derived human dendritic cells [J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2005, 122(1): 85-94.
- [73] Luft BJ, Remington JS. Toxoplasmic encephalitis in AIDS [J]. Clin Infect Dis, 1992, 15(2): 211-222.
- [74] Stumhofer JS, Laurence A, Wilson EH, et al. Interleukin 27 negatively regulates the development of interleukin 17-producing T helper cells during chronic inflammation of the central nervous system[J]. Nat Immunol, 2006, 7(9): 937-945.
- [75] Drogemuller K, Helmuth U, Brunn A, et al. Astrocyte gp130 expression is critical for the control of *Toxoplasma* encephalitis[J]. J Immunol, 2008, 181(4): 2683-2693.
- [76] John B, Ricart B, Tait Wojno ED, et al. Analysis of behavior and trafficking of dendritic cells within the brain during toxoplasmic encephalitis[J]. PLoS Pathog, 2011, 7(9): e1002246.
- [77] Liesenfeld O, Kosek J, Remington JS, et al. Association of CD4⁺T cell-dependent, interferon-gamma-mediated necrosis of the small intestine with genetic susceptibility of mice to peroral infection with *Toxoplasma gondii*[J]. J Exp Med, 1996, 184(2): 597-607.
- [78] Vossenkamper A, Struck D, Alvarado-Esquivel C, et al. Both IL-12 and IL-18 contribute to small intestinal Th1-type immunopathology following oral infection with *Toxoplasma gondii*, but IL-12 is dominant over IL-18 in parasite control [J]. Eur J Immunol, 2004, 34(11): 3197-3207.
- [79] Heimesaat MM, Bereswill S, Fischer A, et al. Gram-negative bacteria aggravate murine small intestinal Th1-type immunopathology following oral infection with *Toxoplasma gondii* [J]. J Immunol, 2006, 177(12): 8785-8795.
- [80] Gao Q, Meijer MJW, Kubben FJGM, et al. Expression of matrix metalloproteinases-2 and -9 in intestinal tissue of patients with inflammatory bowel diseases [J]. Dig Liver Dis, 2005, 37(8): 584-592.
- [81] Langowski JL, Zhang XQ, Wu LL, et al. IL-23 promotes tumour incidence and growth[J]. Nature, 2006, 442(7101): 461-465.
- [82] Munoz M, Heimesaat MM, Danker K, et al. Interleukin-23 mediates *Toxoplasma gondii*-induced immunopathology in the gut via matrixmetalloproteinase-2 and IL-22 but independent of IL-17[J]. J Exp Med, 2009, 206(13): 3047-3059.
- (收稿日期: 2012-06-19 编辑: 张争艳)

