

- [3] Johanna Pauw, Jane Ferrie. A controlled HIV/AIDS - related health education program in Managua, Nicaragua[J]. AIDS, 1996, 10(5): 527- 544.
- [4] Honjic L, Detels R, Ghani AC, et al. A study of sex behavior among

rural residents of China[J]. AIDS and Retro, 1998, 19: 80- 88.

- [5] 吴尊友, 张家鹏, 李志荣, 等. 云南省陇川县男性青年吸毒危险因素分析[J]. 中华流行病学杂志, 1999, 20(1): 15- 18.

收稿日期: 2003-11-25

(蔡天德编校)

文章编号: 1004-0580(2004)08-0975-02 中图分类号: R328.3 文献标识码: A

【论 著】

一氧化氮对约氏疟原虫裂殖子感染力的影响

阎建忠¹, 刘军¹, 邓立军¹, 杨毅梅², 刘英杰¹, 杨杰³, 曹雅明¹

摘要: 目的 探讨一氧化氮(NO)对红内期疟原虫裂殖子感染力的影响。方法 利用NO发生剂(NOC)5和NOC18于体外预处理约氏疟原虫裂殖体,然后接种小鼠,尾静脉采血,吉姆萨薄血膜染色,计数小鼠感染率。结果伴随NOC处理浓度的升高或处理时间的延长,小鼠出现感染的时间明显滞后,感染率显著下降。结论 NO具有明显削弱约氏疟原虫裂殖子感染力的作用,这种效应表现为剂量依赖性和时间依赖性。

关键词: 一氧化氮; 约氏疟原虫; 裂殖子

Research on effect of nitric oxide on infectivity of merozoite of *plasmodium yoelii* YAN Jian-zhong, LIU Jun, DENG Li-jun, et al. College of Basic Medical Sciences, China Medical University (Shenyang 110001, China)

Abstract: Objective To clarify effect of nitric oxide on infectivity of merozoite. **Methods** *P. yoelii* schizonts collected and treated with NO donors (NOC5 and NOC18) *in vitro*, were injected into abdominal cavity of mice. Infective rate was assessed by the microscopic examination of Giemsa-stained smears of tail blood. **Results** As concentration of NO donor was hoisted and treated time was prolonged, the infective rate of mice decreased obviously and infection occurred late. **Conclusion** Exogenous nitric oxide was able to weaken infectivity of *P. yoelii* merozoite in a time and dose dependent manner.

Key words: nitric oxide; *plasmodium yoelii*; merozoite

一氧化氮(nitric oxide, NO)作为非特异性免疫效应分子在抗多种病原生物感染的过程中发挥着重要的防御作用^[1]。一些研究表明,在疟原虫感染过程中,NO可明显消除疟原虫红外期子孢子对肝细胞的感染,并能有效抑制有性阶段疟原虫的进一步发育^[2,3]。然而,在红内期疟原虫感染的免疫应答中,NO的保护性免疫作用尚不十分清楚。我们前期的研究已经发现,伴随疟原虫感染小鼠体内NO水平的升高,红细胞感染率不断上升的趋势受到遏制,同时大量裂殖子仅黏附于红细胞表面而不能迅速侵入^[4]。在此基础上,本实验通过外源性NO发生剂(NOC)对约氏疟原虫裂殖体进行预处理,旨在进一步阐明NO对红内期疟原虫裂殖子感染力的影响。现报道如下。

1 材料和方法

1.1 疟原虫裂殖体的收集 1×10^6 致死型约氏疟原虫(*P. yoelii* 17XL)感染的红细胞经腹腔接种雌性、8周龄BALB/c小鼠。肝素抗凝,心脏采集感染后第6d小鼠血液(红细胞感染率达60%~80%),经灭菌纤维素(CF)11过柱,去除白细胞,45% Percoll密度离心法进一步分离、收集疟原虫裂殖体。

1.2 疟原虫裂殖体的处理 将收集的裂殖体分别用不同浓度(1.25, 2.5, 5, 10 mmol/L)的NOC5和NOC18(半衰期分别

为25 min和18 h)处理后接种小鼠。RPMI 1640培养液处理组作为对照。NOC18实验组的作用时间分别为2, 4, 8, 16 h。

1.3 小鼠感染状况的观察 将不同浓度或不同作用时间NOC处理后的裂殖体经腹腔接种小鼠,每组均为10只。经尾静脉采血,吉姆萨薄血膜染色、光学显微镜镜检观察感染的红细胞,并计算小鼠感染率。

2 结果

2.1 不同浓度NOC处理同一时间对约氏疟原虫裂殖子感染力的影响 随着NOC5处理浓度的增加,小鼠出现感染的时间明显滞后,对照组于接种后第3d 10只小鼠全部感染,而10 mmol/L NOC5处理组于接种后第9d 10只小鼠仍未出现感染;同时,在接种后的同一时间,随着NOC18处理浓度的增加,小鼠的感染率明显下降(表1)。检测不同浓度NOC18处理对裂殖体感染力的影响,结果与NOC5处理的结果相似。由此提示外源性NO以剂量依赖性方式削弱约氏疟原虫裂殖子感染力。

2.2 同一浓度NOC处理不同时间对约氏疟原虫裂殖子感染力的影响 经NOC18处理的各实验组之间比较显示,随着NOC18处理时间的延长,小鼠出现感染的时间明显滞后,2 h处理于接种后第3d即出现感染,而16 h处理组于接种后第9d 10只小鼠仍未出现感染。同时,在接种后的同一时间,随着NOC18处理时间的延长,小鼠的感染率明显下降。相比之下,对照组则未见上述变化。各实验组与相应的对照组相比,小鼠也表现为出现感染的时间滞后,感染率下降(表2)。由此表明外源性NO以时间依赖性方式削弱约氏疟原虫裂殖子

作者单位: 1. 中国医科大学基础医学院, 沈阳 110001; 2. 大理学院基础医学院寄生虫学教研室; 3. 沈阳市和平区中医院
作者简介: 阎建忠(1952-), 男, 辽宁北镇县人, 主管技师, 本科, 主要从事疟疾抗感染免疫的研究工作。

感染力。

表 1 接种不同浓度 NOC5 处理 30 min 的裂殖子后小鼠累计感染率(%, n = 10)

分组 (mmol/L)	3 d		4 d		5 d		6 d		7 d		8 d		9 d	
	阳性数	阳性率 (%)	阳性数	阳性率 (%)	阳性数	阳性率 (%)	阳性数	阳性率 (%)	阳性数	阳性率 (%)	阳性数	阳性率 (%)	阳性数	阳性率 (%)
10	0		0		0		0		0		0		0	
5	0		0		0		2	20	3	30	3	30	3	30
2.5	0		1	10	2	20	4	40	5	50	5	50	5	50
1.25	1	10	3	30	7	70	8	80	8	80	8	80	8	80
对照组	10	100	10	100	10	100	10	100	10	100	10	100	10	100

表 2 接种 2.5 mmol/L NOC18 处理不同时间的裂殖子后小鼠累计感染率(%, n = 10)

分组	接种时 间(h)	3 d		4 d		5 d		6 d		7 d		8 d		9 d	
		阳性数	阳性率 (%)	阳性数	阳性率 (%)	阳性数	阳性率 (%)	阳性数	阳性率 (%)	阳性数	阳性率 (%)	阳性数	阳性率 (%)	阳性数	阳性率 (%)
实验组	2	1	10	4	40	8	80	10	100	10	100	10	100	10	100
	4	0		1	10	3	30	6	60	7	70	7	70	7	70
	8	0		0		1	10	3	30	4	40	4	40	4	40
	16	0		0		0		0		0		0		0	
对照组	2	10	100	10	100	10	100	10	100	10	100	10	100	10	100
	4	10	100	10	100	10	100	10	100	10	100	10	100	10	100
	8	10	100	10	100	10	100	10	100	10	100	10	100	10	100
	16	9	90	10	100	10	100	10	100	10	100	10	100	10	100

3 讨论

NO 作为非特异性免疫效应分子在疟疾感染防御过程中的作用备受关注。它既可有效地控制红内期疟原虫感染, 又可直接导致配子体向配子的发育能力发生障碍, 是介导疟原虫自然传播阻断现象发生的直接免疫效应分子^[2,3]。本实验结果提示, 外源性 NO 可明显削弱约氏疟原虫裂殖子的感染力, 这种效应具有明显的剂量依赖性和时间依赖性。

有研究显示, 夏氏疟原虫感染的小鼠合成高水平 NO 之后, 虫体血症水平会迅速下降; 注射 NO 合酶抑制剂后, 小鼠易感性的增加与血清中 NO 水平的下降显著相关^[5]; 我们以往的研究结果也显示, 在约氏疟原虫感染早期, 感染小鼠的巨噬细胞在 Th1 型细胞因子 IFN- γ 的作用下合成高水平的 NO, 使红细胞感染率不断上升的趋势受到显著遏制, 同时出现大量裂殖子仅黏附于红细胞表面而不能迅速侵入的现象^[4]。因此, 结合本实验结果, 我们认为, NO 通过使大量裂殖子对红细胞侵袭能力发生障碍, 进而抑制红内期原虫的增殖并遏制虫体血症的上升, 在红内期疟原虫感染的免疫应答中发挥了重要的作用。

红内期原虫的细胞毒作用之间可能存在一种动态平衡, 其细胞毒效应也依宿主、虫株和原虫所处阶段的不同而有显著差异。因此, NO 阻滞裂殖子感染红细胞的作用机制是直接杀伤还是功能上的抑制尚需进一步深入研究。

参考文献:

- [1] Myers JT, Tsang AW, Swanson JA. Localized reactive oxygen and nitrogen intermediates inhibit escape of *Listeria monocytogenes* from vacuoles in activated macrophages[J]. *J Immunol*, 2003, 171(10): 5447-5453.
- [2] Franke ED, Sette A, Sacci J Jr, et al. A subdominant CD8(+) cytotoxic T lymphocyte (CTL) epitope from the *plasmodium yoelii* circumsporozoite protein induces CTLs that eliminate infected hepatocytes from culture[J]. *Infect Immun*. 2000; 68(6): 3403-3411.
- [3] CAO Ya ming, Cao, Takafumi Tsuboi, Torrii. Nitric Oxide inhibits the development of *plasmodium yoelii* gametocytes into gametes[J]. *Parasitology International*, 1998, 47, 157-166.
- [4] 曹雅明, 王继春, 刘英杰, 等. 一氧化氮对红内期约氏疟原虫感染的影响[J]. *中国医科大学学报*, 2001, 30(3): 171-173.
- [5] Jacobs P, Radzioch D, Stevenson MM, et al. Nitric Oxide expression in the spleen, but not in the liver, correlates with resistance to blood-stage malaria in mice[J]. *J Immunol*, 1995, 155(11): 5306-5313.

收稿日期: 2004-05-20

(蔡天德编校)