

寄生虫病的免疫学研究

——实用的临床免疫学方法——

〔英〕V.霍巴 编

何凯增 等译

人民卫生出版社

发生于温带气候的其他寄生虫病，除阿米巴病对热带有特别意义外不予考虑。

我们和几位合作者，各章的作者一起，拟为不熟悉一些课题的读者提供有关寄生虫及其生活史的简短说明，以及各种感染中免疫学研究有关的临床表现和/或病理后果的描述。本书的主要部分集中于免疫学研究和免疫诊断试验的全面综述以及推荐作常规应用的试验的详细叙述。

W.H.O., 日内瓦 V.霍巴

1980年3月

前 言

千百万居住在热带和亚热带国家的人都会罹患热带病，这些疾病在非热带地区是不存在的。寄生虫病如疟疾、血吸虫病、丝虫病、利什曼病、非洲和南美洲锥虫病是其中主要的疾病。这些感染中很多是慢性病，不一定致命，但可使大部分患者身体衰弱。为了阻断这些感染的复杂周期，过去世界不同地区采用和进行了广泛的国家和国际间的根治规划，包括新的抗媒介药物（如杀虫剂、杀螺剂等）或治疗各种感染的新药。即使过去采用的措施在一些地区有效，但并未解决全球范围内这些感染的防治问题，因此开始寻求其他的一些防治措施。免疫学的研究是这个途径的新动向之一，因为至少在有些热带寄生虫病中，已认为免疫学实质上能通过几种手段发挥其防治作用，即①改进诊断标准（新的、更敏感的、特异和简明的免疫诊断试验）；②防止感染的病理后果（更好地了解损害的发病机理）；有希望的是③制备有效的疫苗。

上述感染在宿主体内都可诱导免疫应答，但与细菌和/或病毒感染比较，这种应答是无效的。由于这个原因，近几十年来特别注意研究宿主-寄生虫的相互关系，尤其是寄生虫逃避宿主的免疫应答的机理以及为什么宿主应答不很有效的原因。

本书的目的在于评述人类热带寄生虫病的一些免疫学研究，主要着重于与临床研究和病理后果有关的免疫诊断的和其他的免疫学措施。人类疫苗的使用仍较空想，不太现实，因此未包括与该题有关的研究。

目 录

第一章	引言.....	1
	V. Houba	
第二章	疟疾.....	7
	A. Voller 和 V. Houba	
第三章	非洲锥虫病 (睡眠病)	46
	V. Houba	
第四章	美洲锥虫病 (恰加斯氏病)	73
	I. G. Kagan	
第五章	利什曼病.....	99
	R. S. Bray	
第六章	阿米巴病及其他原虫病.....	115
	P. Ambroise-Thomas	
第七章	丝虫病.....	131
	P. Ambroise-Thomas	
第八章	棘球蚴病.....	167
	P. M. Schant 和 I. G. Kagan	
第九章	血吸虫病.....	210
	V. Houba	
第十章	其他吸虫和绦虫.....	244
	I. G. Kagan	
附 录		261

第一章 引言

V. Houba

宿主与寄生虫的关系,长期以来一直是科学家感兴趣的。但到1960年左右,大多数研究或多或少地仅仅是描述性的,并未集中于寄生虫在免疫宿主体内怎样能存活和为什么宿主对侵入的寄生虫不能确立有效防御的一些基本问题。目前对这种关系我们已有了更多的了解(Ciba 基金会专题讨论会,1974),但在能操纵宿主对寄生虫有效保护的免疫反应之前,特别是在热带,我们还需进行更多的研究。

天然(先天)免疫

这在宿主对寄生虫感染的抵抗力起着巨大作用,尽管已有几千种寄生于各种宿主的原虫,但其中仅少数对人类是致病的(Cohen, 1974)。已描述过这类抵抗力的若干可能的机理;最近已观察证实了遗传因子对宿主易感性起主要作用。

获得性免疫

普遍认为寄生虫及其产物是宿主的免疫原,且在宿主与寄生虫关系的演变中起重要作用。但事实是在绝大多数寄生虫感染中免疫应答并不非常有效地保护宿主,而在一些感染中则完全无保护作用(Mitchell, 1977, 1979)。由于这个原因,对寄生虫病特异的获得性免疫的意义争论了很长时间。

根据获得性特异的抵抗力的临床表现, Cohen (1976)把寄生虫感染概括分为三个主要类型。

1. 缺乏有效的免疫应答 在这种情况下，虽然出现宿主免疫应答的迹象，如特异性抗体，但病人不产生任何有效的免疫力。典型的例子是非洲锥虫病、内脏利什曼病和阿米巴病。

2. 非消除性免疫 大多数寄生虫感染仅诱导一种部分有效的免疫应答。在原虫中这种现象被称为“带虫免疫”，寄生虫维持在受控制的水平（如疟疾）。在蠕虫病中则相当于“伴随免疫”，保护宿主抵抗再感染，但对初次或以前感染已发育的成虫则无作用（如血吸虫病）。

3. 消除性免疫 这在人类非常罕见，可能见于皮肤利什曼病，但已在动物模型的感染得到证明。

根据免疫状态的诊断

应当指出不论发生任何免疫状态，免疫应答通常是种特异和株特异或期特异的。这种应答是现存感染的一个不充分的指标。对寄生虫学诊断来说，证明寄生虫或其产物（如虫卵）仍为确诊感染唯一满意的方法。有些情况（如急性疟疾）下这可能十分容易。

但在另一些情况下，特别是对于慢性感染和治疗控制来说，尽管寄生虫学技术精细，诸如使用浓集方法（如血原虫过柱，虫卵过滤）、体外培养技术、将材料注入新生期或照射过的啮齿动物等，寄生虫的检出可能非常困难。对于这些情况，已证明免疫诊断试验除对群众性筛选研究、流行病学调查、输血的筛选等有其价值外，对于支持临床诊断也是有用的（Warren和Mahmoud, 1978）。

自免疫学技术引进寄生虫病诊断部门以来，它是以特异抗体或抗原（游离的或结合于免疫复合物的）的检测及宿主免疫细胞的反应性为基础的。

抗体的检测 自本世纪开始以来，血清学技术已被用作识别与寄生虫成分起反应的抗体的经典方法。研究了对寄生虫抗原的原发性和继发性反应。在文献上描述的技术范围中主要的免疫诊断试验是沉淀反应、凝集反应、间接血凝反应及补体结合试验。后来采用免疫电泳及其改良法以及人造微粒、胶乳和皂土取代红细胞。新近使用标记的试剂包括免疫荧光、酶免疫测定、酶联免疫吸附试验和放射免疫测定。逐步改进了检测与寄生虫抗原起反应的抗体的技术，以提高其敏感性，有些在这方面已达到高水平。遗憾的是大多数试验的特异性仍不满意。原因是多方面的，但主要问题是缺乏明确的抗原。

由于寄生虫在其生活史和存活于宿主体内期间具有或产生非常复杂的混合物质，因此必需仔细考虑选择用于免疫学试验的抗原性质和来源。过去使用过，现仍用于血清学试验的许多抗原都是“不明确的异质混合物”（WHO，1975）。因此在很多情况下“与无关的寄生状态发生交叉反应是常见的，而不是寄生虫病血清学的例外”，是不足为奇的。所以曾反复强调需要发展生物化学和物理化学技术来制备更好的抗原以及使用纯化抗原。一个近代的典型进展是从曼氏血吸虫粗制的可溶性虫卵抗原中分离MSA₁组分及其用于放射免疫测定，大大提高了测试抗体的特异性。正在对其他抗原进行同样的努力，有希望在几年内将会得到纯化的组分甚至纯化抗原，以提高许多免疫诊断试验的特异性。

另一发展是应用杂交瘤技术制备纯化的寄生虫抗原，但必须认识到从个别寄生虫株（克隆）分离高度特异的抗原也许不符合实际免疫诊断需要的标准。典型的例子是非洲锥虫的表面变型抗原，用于研究调查是重要的，但难以用于常规

的免疫诊断。

抗原检测 用于诊断的抗原检测是新近的进展。已证明在若干寄生虫病中宿主的血循环内和/或排泄物中有可溶性抗原的存在。主要问题是这些物质在体液（血清、乳汁、尿）中的浓度通常很低，需有高度敏感的技术来测定。这样的技术目前是有效的。可以预期在寄生虫病免疫诊断中抗原检测可能更为可取。有几个理由：

（1）检出由存活的寄生虫产生的抗原证实感染的存在。

（2）有些寄生虫抗原的半衰期较循环中的抗体持续时间短。

（3）有些抗原（如血吸虫的多糖）不是良好的免疫原，且在循环中呈游离状态，而不与抗体结合成免疫复合物。

（4）有些抗原排泄入尿液、乳汁等中，不需要采血样。

（5）对于确定循环的或排泄的抗原量和虫负荷间的关系正在研究中，等等。

这些试验同样有上述特异性和交叉反应的问题。但由杂交瘤产生的单克隆抗体，有希望使情况有所改善。

抗原抗体（免疫）复合物 上述的免疫诊断方法即抗体或抗原的检测可能是复杂的，因为抗体已在宿主体内和寄生虫抗原结合形成复合物，复合物有时可长期存在于血循环中。已有报道在许多热带寄生虫感染的血循环中有过量抗原或抗体的免疫复合物的存在。血清“抗补体”作用或许是严重妨碍这些疾病的补体结合试验诊断价值的主要原因。

在诊断上使用检测循环免疫复合物的方法已进行过很多尝试（WHO，1977）。遗憾的是，大多数用于识别免疫复

合物的常规技术缺乏抗原特异性,因此不能用于疾病的诊断,鉴定免疫复合物中的抗原或抗体的新的动向更有希望。

超敏试验 I型和II型超敏性的抗体依赖试验早已用于诊断。其敏感性和特异性将在以后联系各种疾病一起讨论,其主要缺点之一是所用抗原的适用性未确定。

细胞免疫试验,即延迟型或IV型超敏反应和体外试验也曾用过。人的皮肤试验在一些寄生虫病的诊断和流行病学调查中得到了评价。最近介绍的体外试验,用于研究的仍较用于常规操作为多。

评论

免疫诊断只是热带寄生虫病免疫研究的一小部分。这些研究的主要目标在于更好地了解宿主与寄生虫的关系。首先我们希望验明免疫应答的效应机理,以寻求宿主抵抗寄生虫感染有效的保护作用,达到疫苗制备的最终目标和其他更好的疾病防治方法。一个例子是抗体依赖细胞介导反应,已证明在体外对多细胞寄生虫(血吸虫童虫)有效。有关在体内情况的研究也许有希望成为感染控制的新途径。第二,我们希望研究参与这些疾病临床和病理表现的免疫机理,如疟疾、非洲锥虫病、血吸虫病中由于免疫复合物定位于肾脏肾小球基底膜引起的肾病,或在肝脏内血吸虫卵周围的细胞介导反应导致肉芽肿的形成。

制备抗热带寄生虫病疫苗的许多研究在进行中,实验模型已显示出有希望的结果,但距离我们得到对人类安全而有效的疫苗还很远,这一论题就不再进一步讨论了。

(杨静姝 译 何凯增 校)

参 考 文 献

- Ciba Foundation (ed) 1974 Parasites in the immunized host, mechanisms of survival. Ciba Foundation Symposium, vol 25. Associated Scientific Publishers, Amsterdam
- Cohen S 1974 In Parasites in the immunized host, mechanisms of survival. Ciba Foundation Symposium, vol 25, p 3-20. Associated Scientific Publishers, Amsterdam
- Cohen S 1976 In: Cohen S, Sadun E H (eds) Immunology of parasitic infections. Blackwell Scientific Publications, Oxford, ch 3, p 35-46
- Mitchell G F 1977 In: Mandel T E, Cheers C, Hosking C S, McKenzie I F C, Nossal G J V (eds) Progress in immunology III. North Holland Publishing Company, Amsterdam, p 675-680
- Mitchell G F 1979 Review-effector cells, molecules and mechanisms in host-protective immunity to parasites. Immunology 38:209-223
- Warren K S, Mahmoud A A F 1978 Geographic medicine and the practitioner: algorithms in the diagnosis and management of exotic diseases, Kass E H (gen ed) The University of Chicago Press, Chicago
- WHO 1975 Parasite antigens. Bulletin of the World Health Organization 52:237-249
- WHO 1977 The role of immune complexes in disease, World Health Organization, Technical Report Series 606

第二章 疟 疾

A. Voller 和 V. Houba

引 言

疟疾是由疟原虫属的寄生虫引起的疾病。感染人体的疟原虫有四种，即恶性疟原虫、间日疟原虫、卵形疟原虫和三日疟原虫。它们产生的这些疾病在临床病程、病理和治疗上都有些不同。除人类的疟原虫外，还有其他许多种感染猿类、猴类、鸟类和啮齿类的疟原虫。

直至最近，疟疾一直是世界上重要的“致命”疾病之一。它广泛分布于热带、亚热带甚至温带的边缘。第二次世界大战后实施了由世界卫生组织协调的广泛的国家和国际的疟疾根除规划。这些规划主要以使用新的杀虫剂如二二三为基础，很有成效，世界很多地区根除了疟疾。但是，同时疟疾媒介对采用的杀虫剂产生了抗性，于是寻找如化疗的其他防治方法。

同时疟原虫开始出现抗药性，特别是对最广泛应用的抗疟药之一氯喹的抗性。这些“生物学问题”结合财政和行政上的困难，需要重新估价全球性的疟疾根治策略。疟疾还将长期存在是目前公认的，这就意味着对本病的诊断、监察、预防和治疗还需继续努力。已认识到免疫学在疟疾防治新途径中起主要作用。最后希望研制出一种有效的疫苗(Cohen, 1979)。

脊椎动物宿主的疟原虫

当感染的蚊虫叮咬易感的人体时，子孢子注入血流，仅经几分钟即侵入肝实质细胞，在肝内红外期经1、2周的发育，最后红外期裂殖体破裂，释出数以千计的裂殖子进入血流。这些裂殖子侵入红细胞即开始红细胞的无性生活周期。疟原虫开始呈很小的环状物，发育至滋养体，然后核分裂产生含8~24个裂殖子的成熟裂殖体。在这阶段，宿主红细胞破裂，释出的裂殖子侵入新的红细胞，继续无性循环繁殖。最后原虫血症增加至宿主死亡或发生免疫应答（危象）这样一种程度，免疫应答导致原虫数骤减。当原虫数再次增加并有危象时，往往有以后的复发或复燃。最后原虫血症可能稳定在低水平上或原虫完全消失。疟原虫的有性型配子体可在最初发作期间或以后任何时间出现。

免疫应答

直到最近认为由蚊虫注入的子孢子不产生免疫应答。但Nussenzweig等(1972)、Spitalny和Nussenzweig (1973)、Golenser等(1977)能在感染的蚊虫叮咬的啮齿类动物测出对子孢子的抗体。Nardin和Nussenzweig (1978)在疟疾流行区发现居民的血清内有抗子孢子的抗体。

红外期看来不诱导可觉察的免疫应答。但它们在体外的血清学试验中与血内疟原虫诱导的抗体会起反应。

主要的免疫应答无疑是由疟原虫红细胞内无性期引起的。血液受侵后不久，即能用任何一种常规血清学方法测出抗体，且迅速上升到高水平，甚至血清的IgG及/或IgM的总量都显著增加。已经充分证明至少部分的免疫球蛋白显示出

抗体特异性 (Cohen等, 1961)。

疟疾的血清学反应具有产生抗体和其他各种特异性因子的特性。一方面我们有能凝集感染裂殖体的细胞 (SICA) 的高度特异抗体, 这种抗体对每个变型是特异的, 例如从一个人每次发作或复发时分离的疟原虫可诱导性质不同的 SICA 抗体。然后通过培养基中裂殖子再侵犯的抑制作用测出抗体。这种抗体看来是株特异的, 与对攻击的临床免疫力有明显关系。用常规血清学试验如免疫荧光试验、间接血凝试验和酶免疫测定测出的抗体有较广泛的反应性。这些抗体是疟原虫的属特异的, 而不完全是种特异的。最后, 还有非特异的因子如嗜异凝集素、抗核抗体及类风湿因子, 这些可由疟疾引起, 但与疟疾源性物质不发生特异反应。

已经用实验动物研究了细胞免疫机理。切除胸腺的动物似对后来的感染更易感, 抗胸腺细胞血清降低大鼠对感染嗜齿类疟疾的抵抗力。但大多数疟疾抗原需要 T 细胞和 B 细胞间的协同作用以诱导特异抗体, 因此这些资料不一定单与细胞介导的机理有关, 协同作用的失调可降低抗体应答 (Cohen 等, 1974)。报告了人的病例中的类似研究结果, 如患严重恶性疟的儿童胸腺的明显退化, T 细胞相对比例的降低; 以前患有疟疾的个体周围血液淋巴细胞对疟疾抗原的转化增强 (WHO, 1975)。尽管细胞介导反应对疟疾的免疫力可能起作用, 但其实际机理尚在研究中, 也还没有有助于免疫诊断的技术。

免疫病理学损害

在疟疾的免疫病理学损害的全过程中, 可能同时存在体液免疫和细胞免疫两种机理。对体液成分 (主要为免疫复合

物和补体)引起的损害的了解已取得了很大的进展。

宿主中可溶性抗原的存在和相应抗体的产生导致免疫复合物的形成;其中大多数免疫复合物可通过生理机理从循环中清除掉,但有些以可溶性免疫复合物的形式可长期存在于血循环中,且可定位于血管壁内,特别是在肾小球内。

肾病

有充分证据证明疟疾肾脏损害的免疫复合物型。有几篇文章综述了这个题目(WHO, 1972; Houba, 1975, 1977; Voller, 1975)。这里仅提及主要的一些特征。

与疟疾有关的两型肾病的特性已有充分的描述:

1.急性、短暂性和通常可逆的肾小球肾炎 感染后1~3周发生临床症状,此时肾脏活检冰冻切片用免疫荧光镜检,在肾小球沉积物中检出疟疾的抗原、免疫球蛋白和补体。这些损害对抗疟治疗的反应很好,绝大多数病例的异常表现在几个月内消失。这型损害在人和猴的恶性疟原虫感染是典型的,在急性疟疾的模型中如恒河猴的食蟹猴疟原虫和小鼠的伯氏疟原虫感染也是典型的。

2.慢性进行性损害 其特征是急性期后转入慢性期的肾病状态。这些损害主要与三日疟,即人的三日疟原虫和一些灵长类相应的虫种(如巴西疟原虫)有联系。大多数病例对加强的疟疾治疗全然无反应。治疗仅清除原虫血症,但不影响肾脏损害。通常对皮质类固醇和其它药物的反应也差(Hendrickse等, 1972)。这些病例的肾脏活检显示在毛细血管旁边有肾小球沉积物,96%的病例含IgG和IgM,66%的病例含补体,25%的病例含三日疟原虫抗原。免疫荧光和电镜的研究与治疗效果间的相互关系是饶有兴趣的:对皮质类固醇治疗有一些反应的病例总有粗的颗粒沉积物,补体和IgG,

亚类阳性；电镜下典型的电子致密物质的沉积物在上皮下或在基底膜内。另一方面对用皮质类固醇或免疫抑制药物治疗无反应的病例，许多有进行性病症和预后不良，在肾小球中呈现很细小的颗粒沉积物，常含有IgG₂，而补体阴性；电子致密物质的不规则沉积物位于内皮附近。因此，肾脏活检不仅有诊断价值，且有预后的意义（Houba, 1975）。

3.其他损害 非洲各国报告的其他肾脏损害的表现不如上述损害那样独特。有些病人的临床症状符合肾小球肾炎或肾病，但无肾小球沉积物；另一些病人中有沉积物，但找不到抗原。

热带脾肿大综合征

这种综合征在非洲一些地区称为“巨脾病”，是指若干非洲国家和新几内亚报告的慢性脾肿大（见Houba, 1977的综述）。虽无本病病因与疟疾有关的直接证据，但两者在地理上的一致，血液中有疟原虫的存在，血清中疟疾抗体的高滴度，特别是在用抗疟药彻底、长期治疗后症状的显著改善，充分提示疟疾与本病的联系。由于这些原因，至少符合上述标准的那些综合征，应当认为与疟疾是有联系的。但即使在这些情况下也有差异：这种病在新几内亚有较高的患病率，且尚未证实这病可能是间日疟占优势造成的结果。同样，这个综合征与三日疟原虫感染间的联系在非洲还未确定。

脾肿大通常肉眼可见，且持续时间长，可与单纯的疟疾脾肿大相区别。血清的IgM从高值至极高值（常为高分子和多克隆的），高滴度的IgM疟疾抗体，类风湿因子和冷蛋白的出现为最独特的特征。其他IgM抗体的存在如嗜异凝集素和冷凝集素与同地区对照组比较通常无区别。详细地研究过冷沉淀素的存在，可能与免疫复合物有关，但寻找有关的抗

原尚未成功 (Ziegler, 1973; Fakunle等, 1978)。典型的病例显示与疟疾有联系, 用抗疟药治疗后, 一些异常 (如高含量的IgM、类风湿因子和冷沉淀素) 通常都消除 (Sagoe, 1970)。

脑型疟疾

这是恶性疟的严重并发症, 具有严重原虫血症的特征, 如未判明和治疗, 死亡率高。已有报道主要发生在学龄前儿童, 但无免疫力的成人也易感 (WHO, 1975)。形态学的研究显示大脑毛细血管有疟原虫寄生的红细胞栓塞、出血和血管内凝血。

这种情况的免疫病理学性质由感染伯氏疟原虫的仓鼠和感染约氏疟原虫的小鼠两种主要动物模型显示出。两种模型显示出的脑部损害与人类的非常相似。但当切除胸腺的 (Wright, 1968) 或给以抗淋巴细胞血清免疫抑制的动物 (Wright等, 1971) 受到同样的感染时, 并未出现出血。也有报告这种情况可能与补体活化有关, 在某种条件下补体活化能促使血管内凝血。但什么东西促使活化, 那一种补体途径重要, 均不清楚 (WHO, 1975), 可能与疟疾抗原和免疫复合物的形成有关 (P. H. Lambert, 个人通讯)。

自身免疫

已报道居住在疟区的人的血清以及动物模型中各种自身抗体普遍增高。自身抗体包括类风湿因子、抗核抗体、嗜异抗体和对心肌的抗体等。类风湿因子型抗球蛋白可能与血循环中检出的疟疾免疫复合物形成有关。抗核抗体可能是由疟疾DNA诱导的交叉反应抗体。但除了肾脏内有些自身抗体可能造成肾脏损害的发展和永久性损害外, 对其致病意义还未进行研究。

其他

还有免疫学影响发病机理的其他情况，例如贫血、黑尿热和全身性免疫抑制。疟疾与一些热带国家中像Burkitt淋巴瘤较高的发病率和麻疹严重性增加这样一些现象的关系还不清楚。

疟疾血清学的应用

没有理由使用血清学试验作为急性疟疾的诊断。吉氏染色的厚、薄血膜检查疟原虫的寄生虫学诊断是目前确诊急性疟疾唯一满意的方法。

在疟疾非流行区，血清学试验可用于以下目的：

（1）对认为曾患过疟疾并接受过治疗，以致不可能作出寄生虫学诊断的病人进行回顾性诊断。

（2）对长期反复发热性疾病或有肝脾肿大、贫血症状或肾病综合征的患者，确诊或排除疟疾。

（3）筛选供血者：①避免输感染的血；②检测发生输血性疟疾后应负责的供血者。

（4）用血清学试验确定那些曾患过或从流行区回来后感染的考察队工作人员和军事人员等，可能也是有价值的。

在疟疾流行区，因为大多数人群中可以有抗体，所以血清学试验的临床应用受到限制，但即使这样，可用以测定抗体水平断定是否临床表现如肉眼可见的脾肿大是起因于疟疾。在疟区应用血清学主要是流行病学的（WHO，1974）：

①确定疟疾的地方流行性；

②在防治规划期间或以后，评定传播的变化；

③确定疟疾疫源地，划出需要特殊行动的疟区。

为了这些目的，使用血清学应结合原虫学调查。必须记住