

不同品系小鼠对约氏疟原虫-斯氏按蚊系统敏感性的观察

王淑芬 时云林 郭保忠 高徐生

(军事医学科学院 微生物流行病学研究所)

国外自 60 年代中期起重视疟疾病因性预防研究工作^[1]。但报道的多是伯氏疟原虫-斯氏按蚊系统方面的资料^[5-10]。约氏疟原虫 1965 年被发现、1974 年被用于疟疾病因性预防药物筛选研究^[4]，关于各品系小鼠对约氏疟原虫-斯氏按蚊系统的敏感性未见有详细报道。

国内应用此系统进行疟疾病因性预防药物研究起步于 1977 年，1980 年见有报道^[2-3]。本文详细报道不同品系小鼠对约氏疟原虫-斯氏按蚊系统敏感性观察结果。

材 料 和 方 法

(一) 材料

1. 动物

(1) C₅₇BL/6Jax 该鼠原由美国 Jackson 研究所纯化，1973 年我国从日本引进，1977 年我院从中国科学院遗传研究所引进，它体毛纯黑，体形小，体重较稳定，为低乳癌品系。

(2) AMS 该鼠为我院实验动物场 1974 年用上海杂种小白鼠纯化培育而成，命名为军事医学科学院 1 号纯系小鼠。体毛纯白，眼赤，体重增加略快。

(3) LACA/AmMS 该鼠 1973 年由英国

引进，我院同年由北京生物制品研究所引进。体毛纯白，眼赤，体形中等，体重略稳定。

(4) 615 该鼠是中国医学科学院血液病研究所 1961 年用瑞士种 XC₅₇BL 杂交而成。体毛深褐，眼黑，体形体重中等。低癌品系。

(5) ICR/JCL 该鼠 1973 年从日本引进，1977 年我院从中国科学院遗传所引进。体毛纯白，眼赤，体形体重中等。低癌品系。

(6) C₃H/HCmS 该鼠从日本引进，为 C₃H/He 的一个亚系。我院 1977 年从中国科学院遗传所引进。体毛棕黄，体形较小。为高乳癌品系。

以上六种为纯品系小鼠。

(7) 3 号小鼠 体毛纯白，眼赤，体形体重略大。

(8) 上海小鼠 该鼠抗日战争时期从瑞士引进。体毛纯白，眼赤，体重增加的快。

以上两种小鼠为杂种鼠。

2. 疟原虫

约氏疟原虫 (*Plasmodium yoelii yoelii*)

本文承滕翕和副教授、俞焕文教授审校；表格承薛仲三教授审校；各品系小鼠由实验动物场罗贞美主任等大力协助；张德芳同志对本工作给了热情帮助和关怀，在此衷心致谢。

By265)。该虫株 1976 年从法国自然博物馆动物学实验室引进。在本实验室用血传-蚊传相间的方法保种。

3. 蚊虫

斯氏按蚊 (*Anopheles stephensi* Hor 株)。该蚊种 1973 年从英国伦敦 Horton 医院引进,在本实验室保种。

4. 献血鼠

上海杂种小白鼠。

(二) 方法

用血传 3 或 4 代、接种后 3 或 4 天、疟原虫寄生率等于或大于 2%、50 个白血球视野内雌雄配子体的各自数量等于或大于 2 的献血鼠,血餐感染羽化后 3—5 日龄的蚊虫。于感染后第十二天,选择唾液腺感染率大于 50%、感染度大于“++”(高倍镜下能见 50—100 条孢子,且形态运动正常)的蚊虫,在冰水浴中制备孢子悬液。按 25000 条、10000 条、1000 条孢子量迅速准确地经腹腔接种给每只欲试的小鼠。从接种后的第四天起,每天取每只小鼠尾静脉血涂薄血片检查,每张血片检查 50 个视野未见疟原虫定为阴性。阴性鼠检查至接种后的第十二天或十四天止;阳性鼠检查至接种后的第二十八天止。观察小鼠的出虫率(感染率)、虫现前期、虫现期、原虫寄生率、原虫转阴、鼠死亡等指标。

结 果

从 8 种小鼠品系中,发现两种纯品系小鼠—

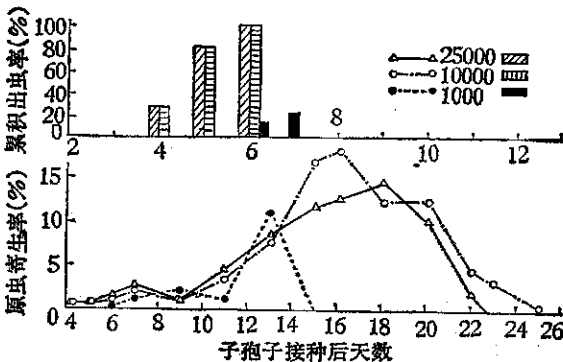


图 1 *C₅₇BL/6Jax* 鼠感染约氏疟原虫孢子剂的剂量反应

C₅₇BL/6Jax 和 AMS 对约氏疟原虫-斯氏按蚊系统比较敏感。每鼠接种孢子 95000 条时,前者出虫率为 95.24%,后者为 89.58%。前者虫现期短,半数以上的动物第四天出虫,三天内出齐;后者少数第四天出虫,五天内出齐(见表 1,图 1、2) 95% 总体置信限前者为 88.8—100%;后者为 80.9—98.2%。

表 1 不同品系小鼠对约氏疟原虫孢子 (25000 条/鼠) 敏感性

小鼠品系	接种鼠数	接种后不同天数出虫鼠数						合计	出虫率(%)
		4	5	6	7	8	14		
<i>C₅₇BL/6Jax</i>	42	22	15	3	40	95.24
AMS	48	7	19	7	7	3	...	43	89.58
LACA/AmMS	30	...	1	4	2	...	1	8	26.67
615	22	2	1	...	11	14	63.64
ICR/JCL	40	3	4	7	6	1	...	21	52.50
<i>C₃H/HcMS</i>	10	3	...	1	...	4	40.00
3号	10	...	2	3	5	50.00
上海	30	2	11	3	1	17	56.67

表 2 *C₅₇BL/6Jax*、AMS 对约氏疟原虫孢子 (25000 条/鼠) 敏感性比较

项 目	<i>C₅₇BL/6Jax</i>	AMS
接种鼠数:	40	48
出虫情况:		
虫现前期(天)	4.55	5.53
出虫鼠数	38	43
*出虫率(%)	95.00	89.58
虫血症情况:		
持续时间(天)	14.89	16.86
达峰值时间(天)	14.18	15.37
峰值(%)	21.03	25.07
虫转阴情况:		
转阴时间(天)	20.32	23.95
转阴鼠数	37	21
转阴率(%)	97.37	48.84
鼠死亡情况:		
死亡时间(天)	...	20.85
死亡鼠数	0	20
死亡率(%)	0	46.51

* $t = 0.935171$ $t_{0.05} = 1.960$ $0.935171 < 1.960$

C₅₇BL/6Jax 和 AMS 鼠在出虫率上无显著差别,但在出虫时间(虫现前期和虫现期)和虫血症达峰值时间上,前者都比后者平均提前将

近一天。前者罕见虫血症性死亡，97.37%的小鼠虫血症能自然转阴（于接种后第二十天左右）；后者则有近半数的小鼠出现虫血症性死亡，另近半数小鼠虫血症自然转阴（见表2）。

表3 C₅₇BL/6Jax. AMS 对约氏疟原虫子孢子剂量反应

项目	C ₅₇ BL/6Jax 剂量 (条/鼠)			AMS 剂量 (条/鼠)		
	25000	10000	1000	25000	10000	1000
接种鼠数	10	10	10	48	20	20
出虫情况:						
虫现前期(天)	4.90	4.80	6.50	5.53	6.93	14.00
出虫鼠数	10	10	2	43	14	2
出虫率(%)	100.00	100.00	20.00	89.58	70.00	10.00
虫血症情况:						
持续时间(天)	14.90	15.20	7.50	16.86	14.67	...
达峰值时间(天)	15.10	15.40	13.00	15.37	17.21	...
峰值(%)	22.90	27.40	11.50	25.07	27.86	...
虫转阴情况:						
转阴时间(天)	20.60	21.00	15.00	23.95	22.67	...
转阴鼠数	10	9	2	21	6	...
转阴率(%)	100.00	90.00	100.00	48.84	42.86	...
鼠死亡情况:						
死亡时间(天)	...	22	...	20.85	23.57	...
死亡鼠数	0	1	0	20	7	...
死亡率(%)	0	10.00	0	46.51	50.00	...

C₅₇BL/6Jax 小鼠，每只接种 25000 条或 10000 条孢子，两组出虫率、累积出虫率和虫现期完全相同，其它观察指标如虫现前期、虫血症持续时间、虫血症转阴时间、原虫消长曲线等也极其接近。每只小鼠接种 1000 条孢子时，出虫率只有 20%，虫现前期延长将近两天（见表3、图1）。

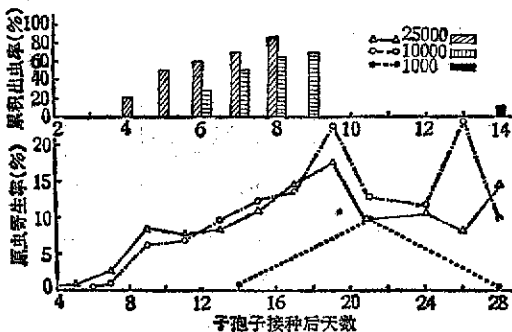


图2 AMS 鼠感染约氏疟原虫子孢子的剂量反应

AMS 鼠每只接种 10000 条孢子比 25000 条的出虫率明显降低，虫现前期也明显延长。每只小鼠接种 1000 条孢子时，出虫率只有 10%，虫现前期竟延至接种后的第十四天（见表3、图2）。

表4 C₅₇BL/6Jax. AMS 不同鼠龄对约氏疟原虫子孢子敏感性 (25000 条/鼠)

小鼠周龄	接种鼠数	接种后不同天数出虫鼠数				出虫率 (%)
		4	8	12	合计	
C ₅₇ BL/6Jax:						
4—6	25	12	11	...	23	* 92.00
9—12	15	8	7	...	15	100.00
16.5	20	18	2	...	20	100.00
21	15	3	11	...	14	93.33
AMS:						
4—6	14	4	9	...	13	△ 92.86
7—9	15	3	11	...	14	93.33
21—40	10	9	9	90.00

* $\chi^2 = 2.785575$ $\chi_{0.05}^2 = 7.817$ $2.785575 < 7.817$
 △ $\chi^2 = 0.103155$ $\chi_{0.05}^2 = 5.991$ $0.103155 < 5.991$

C₅₇BL/6Jax 和 AMS 小鼠，每只接种孢子 25000 条时，各周龄组出虫率接近，无显著性差别，出虫时间也基本接近（见表4）。

表5 C₅₇BL/6Jax. AMS 不同性别对约氏疟原虫子孢子敏感性 (25000 条/鼠)

小鼠性别	接种鼠数	接种后不同天数出虫鼠数				出虫率 (%)
		4	8	12	合计	
C ₅₇ BL/6Jax:						
雌	15	8	7	...	15	* 100.00
雄	20	13	6	...	19	95.00
AMS:						
雌	10	8	2	...	10	△ 100.00
雄	10	4	5	...	9	90.00

* $t = 0.878688$ $t_{0.05} = 1.960$ $0.878688 < 1.960$
 △ $t = 1.025978$ $t_{0.05} = 1.960$ $1.025978 < 1.960$

C₅₇BL/6Jax 和 AMS 鼠，每只接种孢子 25000 条时，雌雄性间出虫率无显著性差别，出虫时间也比较接近（见表5）。

讨 论

从前面结果可以看出, C₅₇BL/6Jax和 AMS 两种纯品系小鼠对约氏疟原虫-斯氏按蚊系统都是比较敏感的,是疟疾病因性预防研究比较理想的模型。共同特点是出虫率高,出虫率不受鼠龄和性别限制;原虫寄生率峰值平均大于20%,比1974年 Fink 报道的 NMRI 小鼠高^[4];虫血症自然转阴晚(平均在二十天以后)。但二者相比,可以认为 C₅₇BL/6Jax 小鼠尤其理想。理由是:1. 出虫率的可重复性好。95%总体置信限的下界虽为88.8%,但在多次实验中,出虫率都在92%以上,达100%的次数比较常见。这一点在我们实验室应用此模型的近两年实践中也得到了证明。2. 出虫时间早(即虫现前期和虫现期都短)。3. 每只小鼠接种子孢子25000条或10000条均可。4. 虫血症性死亡极罕见。5. 小鼠体重比较恒定,尤其雌性鼠。缺点体毛纯黑,不便标记。但采用耳缘剪迹法可以解决。

在 C₅₇BL/6Jax 小鼠来源困难时,AMS 鼠也可被选用,但接种的子孢子剂量不能低于每鼠25000条。此鼠体毛纯白,便于标记。

建立了理想的鼠模型,还必须与其它诸条件的保证,才能充分显示出模型的敏感性。如规律性的血传-蚊传疟原虫株以稳定其毒力;献血鼠的条件标准化;供实验用的蚊虫要经过严格选择;含有子孢子的操作要迅速准确等。

参 考 文 献

- [1] 陈林、张秀平等,1978: 近年来国外关于疟疾病因性预防研究的一些进展。国外医学参考资料, 寄生虫病分册(2): 49—63。
- [2] 陈林等,1981: 疟疾病因性预防药物筛选试验动物模型。1. 约氏疟原虫-斯氏按蚊系统。药学报, 16(4): 260—266。
- [3] 张秀平、陈林等,1980: 疟疾防治药物研究。1,2,4-二氨基-5-取代氨基嘧啶和2,4-二氨基-6-甲基-5-取代氨基嘧啶衍生物的合成及其抗疟作用。药学报, 15(12): 711—717。
- [4] Fink, E., 1974: Assessment of causal prophylactic activity in *Plasmodium berghei yoelii* and its value for the development of new antimalarial drugs. *Bull. WHO.*, 50(5—4): 213—22.
- [5] Landau, I. et al., 1966: Rodent Plasmodia of the République Centrafricaine: The sporogony and tissue stages of *Plasmodium chabaudi* and *P. berghei yoelii*. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 60(5): 633—649.
- [6] Most, H. et al., 1966: Susceptibility of genetically standardized (JAX) mouse strains to sporozoite-induced *Plasmodium berghei* infections. *Milit. Med.*, 131(增刊): 915—918.
- [7] Most, H. et al., 1967: Chemotherapy of sporozoite- and blood-induced *Plasmodium berghei* infections with selected antimalarial agents. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 16(5): 572—579.
- [8] Nussenzweig, R. et al., 1966: Studies on sporozoite-induced infections of rodent malaria III. The course of sporozoite-induced *Plasmodium berghei* in different hosts. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 15(5): 684—689.
- [9] Vanderberg, J. P., 1968: Further studies on the *Plasmodium berghei*-*Anopheles stephensi* rodent system of mammalian malaria. *J. Parasit.*, 54(5): 1009—1016.
- [10] Yoeli, M. et al., 1965: Studies on sporozoite-induced infections of rodent malaria. II. *Anopheles stephensi* as an experimental vector of *Plasmodium berghei*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 14(6): 927—930.