

网状内皮系统吞噬功能在钩端螺旋体病中的作用

邓文龙 聂仁吉 刘家玉

(四川省中药研究所, 重庆)

用小白鼠和豚鼠对动物的实验性钩端螺旋体(简称钩体)感染的研究表明,网状内皮系统吞噬功能起着重大的作用。用墨汁封闭网状内皮系统(RES),可使小白鼠出现以全身广泛出血为特点的典型钩体病变,并致死亡,对豚鼠则可大大加重感染严重程度。以卡介苗激活 RES 吞噬功能,则可明显提高动物对钩体的抵抗力,延迟死亡时间,减轻病变程度,降低死亡率。上述结果提示激活 RES 功能有可能在防治人类钩体病及其肺大出血上具有一定的意义。本文墨汁封闭 RES 小白鼠的实验性钩体感染还可作为一个较好的钩体病实验模型而用于药物防治的研究。

在钩端螺旋体感染中机体免疫系统功能的作用,以往多注重于特异性体液抗体,认为其具有十分重要的意义,外源性特异性免疫球蛋白也对钩体病有显著疗效。但一些血清抗体已达较高水平的重症钩体病人,其血培养仍出现阳性,或病情继续发展、乃至死亡。提示机体还有除抗体以外的其它免疫因素起着重大作用。考虑到钩体病早、中期有大量钩体在血中生长繁殖,我们研究了对血流中颗粒异物具有强大吞噬活性的 RES 功能状态在钩体病中的意义。现将结果报告如下:

材料和方法

(一) 实验动物

1. 小白鼠: 雄性或雌雄各半, 体重 14 ± 1 克或 20 ± 1 克, 昆明种。
2. 豚鼠: 雄性或雌雄不拘, 体重 200—300 克。

(二) 药品

1. 印度墨汁系德制 Pelikan 牌, 每毫升含碳粒 80 毫克, 临用前以 1% 明胶溶液稀释四倍。
2. 卡介苗: 系成都生物制品研究所出品, 每毫升含卡介苗 75 毫克, 于 70°C 灭活后使用, 或采用过期二月者。

(三) 菌种

采用钩体黄疸出血群沃尔登型, 在豚鼠身上连续传代以提高毒力, 肝或肾原代柯托夫氏培养基 7—11 天培养物, 每毫升含钩体 $1.0-1.2$ 亿。

(四) RES 吞噬功能测定

按 Harpn 墨汁法, 计算吞噬指数 K。

实验结果

一、墨汁封闭 RES 对动物实验性钩体感染的影响

小白鼠 66 只分三组, 分别于静注明胶或不同剂量的印度墨汁后静脉感染钩体 0.4 毫升/只, 观察动物体重变化、死亡情况及肺出血严重程度, 结果见表 1。

由表 1 结果可见, 正常小白鼠对钩体具有强的抵抗力, 给以明胶溶液的对照组感染钩体后无 1 只死亡, 实验结束时剖验肺部仅于一些动物可见 1 至数个针尖大小之陈旧性出血点。但当以墨汁封闭 RES 后, 小白鼠对钩体的敏感性大为提高, 此时小鼠可因钩体感染发病甚至死亡, 其主要表现是食欲降低、自发活动减少、体重降

本文于 1979 年 8 月 13 日收到。

表 1 不同剂量墨汁封闭 RES 对小白鼠钩体感染的影响

| 组 别 | 感染前处理 | 动物数 (只) | 死 亡 数 | | 体重变化 (克/只) | | 肺出血指数**** |
|-----|----------------------|------------|-------|------------|----------------|----------------|---------------|
| | | | (只) | 百分率 (%) | 感染后 3 天 | 感染后 6 天 | |
| 1 | 1% 明胶 0.2 毫升/20 克 | 25 | 0 | 0 | (+)0.92±0.280 | (+)0.08±0.412 | 0.52±0.079 |
| 2 | 墨 汁 0.1 毫升/20 克 | 18 | 5 | 27.8** | (-)0.78±0.548* | (-)0.83±0.713 | 1.61±0.200*** |
| 3 | 墨 汁 0.2 毫升/20 克 | 23 | 15 | 65.2* | (-)2.25±0.380* | (-)2.22±0.530* | 3.26±0.357* |

* 与对照相比 $p<0.01$; ** 与①、③组相比 $p<0.05$; *** 与①、③组相比 $p<0.01$ 。**** 肺出血指数分五级: 1 级为 1 至数个针尖样出血点; 2 级为密集针尖样出血点, 或融合成片, 出血面积不到肺的 1/3; 3 级为出血面积占肺 1/3—1/2; 4 级为出血面积占肺 1/2—2/3; 5 级为满肺出血。(下同)。

表 2 感染菌量及途径对小白鼠钩体感染的影响

| 组 别 | 墨汁封闭剂量 (毫升/只) | 感染途径 | 感染钩体剂量 (毫升/只) | 实验动物数 (只) | 死亡动物数 (只) | 感染第四日体重 变化(克/只) | 肺出血指数 |
|-----|------------------|------|------------------|--------------|--------------|--------------------|---------------|
| 1 | — | — | — | 20 | 0 | (+)0.21±0.198 | — |
| 2 | — | IP | 0.2 | 10 | 0 | (+)0.60±0.570 | 0.90±0.100 |
| 3 | 0.2 | IP | 0.2 | 10 | 3 | (-)0.40±0.458 | 1.70±0.335* |
| 4 | 0.2+0.2**** | IP | 0.2 | 10 | 5 | (-)1.10±0.531 | 3.90±0.379 |
| 5 | — | IV | 0.2 | 10 | 0 | (+)0.80±0.382 | 0.80±0.133 |
| 6 | 0.2 | IV | 0.2 | 10 | 3*** | (-)0.30±0.448 | 1.90±0.335*** |
| 7 | — | IV | 0.4 | 10 | 0 | (+)1.25±0.214 | 1.10±0.265 |
| 8 | 0.2 | IV | 0.4 | 10 | 9** | (-)1.10±0.289** | 4.10±0.300** |

* 与相应未封闭组相比 $p<0.05$ (③与②, ⑥与⑤相比较); ** 与相应未封闭组相比 $p<0.01$ (⑧与⑦相比较); *** 与⑥组相比 $p<0.05$; **** 系于第一次墨汁封闭后 40 小时再封闭一次。

低、可见稀便或血便,多于 3—6 日内死亡。死前可有振颤、翻滚、昏迷等神经系统症状,解剖可见程度不同之黄疸及全身广泛的出血,以肺出血为特点,重者可呈现满肺出血甚至出现口鼻涌血(图版 I-1)。在两个封闭剂量间反映疾病严重程度的指标均有显著的差异,说明小白鼠对钩体的敏感性随其 RES 被封闭的程度而增高。

另有小白鼠 90 只,分组及处理结果见表 2。

由表 2 结果可见,感染钩体的菌量对于小白鼠钩体病病情也有较大的影响。在同一封闭剂量下,以同一菌液静脉感染钩体,动物之体重下降、死亡率及肺出血严重程度均因感染菌量的增加而增加,而特别

以肺出血的加剧为突出。经 660 只小白鼠的实验结果表明,当以 0.2 毫升/20 克体重的印度墨汁封闭 RES 时,静脉感染钩体原代培养液 0.4 毫升/20 克体重,死亡率在 50—100% 之间,采用在豚鼠体内连续传代的高毒力菌株,可使死亡率稳定在 80—100%,且动物多可出现甚为严重的肺及全身出血,从死亡动物之肝、肾、心血等组织均可获钩体纯培养。但由表 2 可见感染途径似对钩体病结局无明显影响。

另有豚鼠 35 只分三组,第 1 组为钩体感染对照组,第 2 组系以墨汁静注封闭 RES 后 20 分钟,再从静脉感染相同剂量的钩体原代培养液(1 毫升/100 克体重),观察动物存活时间及肺出血严重程度,结果

表3 墨汁封闭或卡介苗激活 RES 对豚鼠钩体感染的影响

| 组别 | 感染前处理 | | 动物数 (只) | 平均生存时间 (小时) | 肺出血指数 | 满肺出血 (只) |
|----|----------|---------|------------|----------------|--------------|----------------------|
| | 卡介苗 | 墨汁 | | | | |
| 1 | — | — | 11 | 89.5±11.65 | 3.46±0.281 | 1 |
| 2 | — | 6 毫升/公斤 | 10 | 52.4±4.65* | 4.80±0.133* | 8 只, 其中 4 只 口鼻涌血* |
| 3 | 75 毫克/公斤 | — | 14 | 101.6±9.69 | 2.57±0.300** | 0 |

* 与对照相比 $p < 0.01$; ** 与对照相比 $p < 0.05$ 。

见表 3。

由表 3 结果可看出, 正常动物于感染钩体后 55—166 小时内陆续死亡, 平均存活 89.5 小时, 11 只动物中仅 1 只呈满肺出血, 而封闭动物则于 22—69 小时内因严重钩体病而死亡, 平均存活仅 52.4 小时, 10 只动物中 8 只呈满肺出血, 其中 4 只发生口鼻涌血, 其余 2 只也呈严重之肺出血。从平均存活时间及肺出血严重程度相比, 正常动物与封闭动物间均有显著差异, 而以肺出血程度的差异为最明显。说明墨汁封闭 RES, 也能十分明显地加重豚鼠的实验性钩体感染, 加速感染所致死亡, 并几乎可使全部动物造成严重的肺大出血。

二、卡介苗激活 RES 对动物实验性钩体感染的影响

将同窝同性别断乳小白鼠分配于实验各组, 第 1 组为对照组, 第 2、3 组为墨汁封闭对照组, 第 4、5 组为卡介苗激活组。实验开始时于第 4、5 组动物分别静注卡介苗 1 或 3 毫克/鼠, 1—3 组静注同体积生理盐水, 25 天后按表 4 所示静注印度墨汁, 第 3、4、5 组动物于注射墨汁后取血测定 RES 的吞噬指数 K, 所有各组均于静注墨汁 (2—5 组) 或明胶溶液 (1 组) 后 20—30 分钟静脉感染钩体原代培养液 0.2 毫升/鼠, 结果见表 4。

由表 4 结果可看出, 卡介苗免疫后可

表4 卡介苗激活 RES 对小白鼠小剂量钩体感染的影响

| 组别 | 感染前处理 | | 动物数 (只) | 死亡动物数 | | 体重下降 (克/只) | 肺出血指数 | 吞噬指数 K |
|----|---------------|----------------------|------------|-------|------------|---------------|--------------|-------------------------|
| | 卡介苗 (毫克/只) | 墨汁 (毫升/20 克体重) | | 只 | 百分率 (%) | | | |
| 1 | — | — | 17 | 0 | 0 | 1.18±0.625 | 1.06±0.278 | — |
| 2 | — | 0.1 | 19 | 0 | 0 | 1.32±0.490 | 1.74±0.246 | — |
| 3 | — | 0.2 | 24 | 7 | 29.16* | 3.34±0.685 | 2.75±0.284** | 0.03436± 0.004285*** |
| 4 | 1 | 0.2 | 13 | 0 | 0 | 1.32±0.725 | 1.31±0.430 | 0.09883± 0.009313 |
| 5 | 3 | 0.2 | 17 | 0 | 0 | 1.18±0.663 | 1.30±0.267 | 0.10331± 0.011280 |

* 与①、②、⑤组相比 $p < 0.05$; ** 与卡介苗激活组相比 $p < 0.05$; *** 与卡介苗激活组相比 $p < 0.01$ 。

表 5 卡介苗激活 RES 对小白鼠大剂量钩体感染的影响

| 组 别 | 感染前处理 | | 动物数 (只) | 死亡动物数 | | 体重下降 (克/只) | 肺出血指数 | 吞噬指数 K |
|-----|---------------|-----------------------|------------|-------|------------|---------------|--------------|-------------------------|
| | 卡介苗 (毫克/只) | 菌 液 (毫升/20 克体重) | | 只 | 百分率 (%) | | | |
| 1 | — | 0.2 | 8 | 3 | 37.5 | 4.00±0.681 | 2.75±0.620 | 0.02502± 0.005186 |
| 2 | — | 0.4 | 8 | 6 | 75.0* | 6.90±0.906** | 3.11±0.354** | 0.01724± 0.003302*** |
| 3 | 2 | 0.4 | 13 | 0 | 0 | 2.54±0.949 | 1.54±0.386 | 0.09715± 0.01750 |
| 4 | 5 | 0.4 | 9 | 1 | 11.1 | 3.11±1.414 | 1.67±0.527 | 0.11300± 0.01587 |

* 与③组相比 p<0.01, 与④组相比 p<0.05; ** 与③组相比 p<0.05; *** 与③、④组相比 p<0.01。

使小白鼠 RES 吞噬功能大大增强,其吞噬指数K可比不免疫动物提高 3 倍,因完全对抗了墨汁封闭 RES 所致小白鼠对钩体敏感性的增高,从而防止了钩体感染所致死亡及体重下降,并明显降低肺出血的严重程度。两个剂量的卡介苗间这一作用未见明显差异,可能与它们对小白鼠 RES 吞噬指数K的提高相似有关。

另有实验于卡介苗免疫后两周,加大

感染剂量以观察激活 RES 对小白鼠钩体感染的影响,处理情况见表 5, 各组动物均于静注钩体菌液前 20 分钟用印度墨汁封闭 RES。

由表 5 可见,卡介苗激活 RES,对大剂量钩体所致严重感染仍有非常明显的保护作用。需指出的是表 5 所列未用卡介苗组之致死动物,多系 RES 吞噬功能较低者,第 4 组卡介苗免疫后钩体感染致死的一只小

表 6 抗菌素对墨汁封闭 RES 小白鼠钩体感染的疗效

| 药 物 | 剂 量 | 给药次数 | 实验动物数 (只) | 死亡动物数 (只) | p 值 |
|-------|-----------|---------------|--------------|--------------|-------|
| 生理盐水 | — | 感染当日给药一次,次日二次 | 10 | 9 | |
| 青 霉 素 | 40 万单位/公斤 | 感染当日给药一次,次日二次 | 10 | 1 | <0.01 |
| 庆大霉素 | 4 万单位/公斤 | 感染当日给药一次,次日二次 | 10 | 5 | >0.05 |
| 四 环 素 | 0.5 克/公斤 | 感染当日给药一次,次日二次 | 10 | 1 | <0.01 |
| 生理盐水 | — | 一日二次,连续三日 | 10 | 9 | |
| 青 霉 素 | 40 万单位/公斤 | 一日二次,连续三日 | 10 | 0 | <0.01 |
| 庆大霉素 | 4 万单位/公斤 | 一日二次,连续三日 | 10 | 2 | <0.05 |
| 四 环 素 | 0.5 克/公斤 | 一日二次,连续三日 | 10 | 0 | <0.01 |

表 7 抗菌素对小白鼠钩体感染肺出血程度的影响

| 药 物 | 剂 量 | 实验动物数 (只) | 肺出血指数 | P 值 |
|-------|-----------|--------------|------------|-------|
| 生理盐水 | — | 10 | 2.80±0.467 | |
| 青 霉 素 | 40 万单位/公斤 | 10 | 0.60±0.163 | <0.01 |
| 庆大霉素 | 4 万单位/公斤 | 10 | 1.20±0.359 | <0.05 |
| 四 环 素 | 0.5 克/公斤 | 10 | 0.40±0.163 | <0.01 |

白鼠，系免疫后唯一未能明显提高 RES 吞噬活性者，其 K 值仅为 0.0183。说明 RES 吞噬功能的强弱与实验性钩体感染的严重程度间有十分密切的关系。

激活 RES 吞噬功能对豚鼠实验性钩体病过程的影响见表 3。表 3 第 3 组系于实验前 28 天静注卡介苗 7.5 毫克/100 克体重以增强其 RES 吞噬活性者，结果卡介苗也有明显的保护作用，能延长动物存活时间，明显减轻肺出血的严重程度（见图版 1-2）。另还用卡介苗皮下注射免疫等，也均观察到对豚鼠钩体感染有明显的保护作用。

三、在墨汁封闭 RES 的小白鼠实验性钩体病中抗菌素的疗效

小白鼠于静注印度墨汁 0.2 毫升/20 克体重后 20 分钟静注钩体强毒菌液 0.4 毫升/只造成感染，然后用青霉素、庆大霉素、四环素等进行治疗，结果见表 6。另用毒力减弱后的钩体菌株，于感染后第 6 日处死，以观察抗菌素对肺出血程度的影响，结果见表 7。

表 6 及表 7 结果说明青霉素、庆大霉素、四环素等临床上对钩体病有较好疗效的药物对于以墨汁封闭 RES 小白鼠的实验性钩体感染也具有很高的疗效，可防止动物感染死亡，并能明显减轻钩体感染后肺出血的严重程度。

讨 论

一、网状内皮系统吞噬活性是机体清

除多种微生物病原体的一个极为重要的手段，它在多种传染及感染性疾病的发生、发展及对这些疾病的药物防治中都起着重要的作用。但其在钩体病中的意义尚未明了。曾有报告发现 RES 细胞能吞噬钩体^[2,3]，本文实验结果证明，机体 RES 吞噬功能的状态对于实验性钩体病的发病、疾病严重程度及结局都具有十分明显的影响。用印度墨汁封闭 RES，可使对钩体具有很高抵抗力的小白鼠因钩体感染而呈现与豚鼠、金地鼠等敏感动物相似的，以全身广泛出血（特别是肺出血）为特点的典型钩体病变，并引起死亡，且小白鼠的这一敏感性因封闭程度的加大而增加。对于豚鼠，墨汁封闭 RES 也可大大增高动物对钩体的敏感性，明显加重感染的严重程度。但当以卡介苗激活 RES 吞噬活性后，则可明显提高小白鼠或豚鼠对钩体的抵抗力，延迟死亡时间，减轻病变程度，降低死亡率，这一作用也因 RES 吞噬活性激活程度的增高而增强。RES 吞噬功能的高低与实验性钩体感染轻重之间密切相关这一结果，提示激活机体 RES 功能有可能在防治人类钩端螺旋体病中具有一定的意义。

二、肺大出血是人类钩体病和动物实验性钩体感染的重要死因之一，本实验结果表明封闭或激活 RES 功能对钩体感染的影响尤以对肺出血的影响为著。如用墨汁封闭 RES 可使豚鼠几乎全部造成满肺出血，口鼻涌血的发生率也大为增加，正常豚鼠要造成这样严重的感染需用大 10 倍以

上的菌量^[4]。这些结果提示肺大出血的发生除感染菌量及其毒力外,RES 吞噬功能的降低或抑制也可能具有一定的意义,因而通过对机体 RES 的激活,有可能在钩体病肺大出血的防治中起到一定的作用。

三、墨汁封闭 RES 小白鼠的实验性钩体感染可以作为一个较好的钩体病实验模型,具有病变典型、出血严重、死亡规律、死亡率高、分离培养阳性率高等特点,而且临床有效的抗菌素也具有良好疗效。死亡率、存活时间、体重下降及肺出血程度四者可作为本模型疾病严重程度及药物疗效的

指标。由于本模型的主要发病机制在于机体非特异免疫功能的抑制,因而用本模型来研究以对机体作用为主的中草药等对钩体病的防治效果尤为适宜。

参 考 文 献

- [1] Halpern, B. N.: *J. Pharmacy. and Pharmacology*, **11**(6): 321, 1959.
- [2] Feine, S.: *Amer. J. Vet. Res.*, **25**: 830, 1964.
- [3] 四川医学院电子显微镜室等: 中华医学杂志, **55**(5): 328, 1975.
- [4] 四川医学院钩端螺旋体病研究室: 中华医学杂志, **53**(5): 279, 1973.

STUDIES ON THE ROLE OF RES IN LEPTOSPIROSIS

Deng Wenlong Nie Renji Liu Jiayu

(Sichuan Institute of Chinese Materia Medica, Chongqing)

The role of RES in Leptospirosis was studied by means of block with carbon and stimulation with BCG in mice and guinea pigs. The results of the present experiments showed that the susceptibility of mice to virulent *Leptospira icterohemorrhagiae* was significantly enhanced after blocking RES with carbon. The pathological changes caused by *Leptospira* showed the characters of syndrom on systemic hemorrhage, especially on pulmonary hemorrhage in mice. The syndroms of mice treated with carbon were the same as that of the guinea pigs and the hamsters. In the guinea pigs block of RES could make pulmonary

hemorrhage more serious and dead faster. Owing to the stimulation of RES with BCG, the *Leptospira* infection was completely prevented in mice and the seriousness of pulmonary hemorrhage in experimental Leptospirosis in guinea pigs was reduced significantly. The results suggested that stimulation of phagocytosis activity of RES probably have certain significance for prevention and treatment of human Leptospirosis and its suffusive pulmonary hemorrhage. *Leptospira* infection in mice after blocking RES with carbon can be a better model for experimental Leptospirosis.