



人疟动物模型研究的回顾与前瞻

江 静 波

疟疾是全世界范围内为害最大的疾病之一，对亚非拉发展中的国家为害尤烈。疟疾防治的研究，在保障我国广大劳动人民、特别是贫下中农的健康，发展工农业生产，加强战备，以及支援世界人民革命等方面都有其重要意义。

目前，由于实验寄生虫学的迅速发展，特别是疟疾免疫的研究已进入了虫苗研制的阶段，人疟动物模型的研究工作已日形重要。

自1883年Laveran首先试图将人的疟原虫接种到动物身上失败以后，至今已有九十多年了。但这项研究工作，直至本世纪六十年代才蓬勃发展起来。为了更深入地从事疟原虫的生理、生化、病理、药理和免疫等研究工作，探索疟疾防治的新手段以提高疟疾防治的水平，遵照伟大领袖毛主席“自力更生”的教导，我国科学工作者在农业学大寨会议的推动下，决心在较短的时间内，研究和建立我国自己的人疟动物模型。

毛主席教导我们：“认真学习外国的好经验，也一定研究外国的坏经验——引以为戒”。在展开对人疟动物模型研究的同时，结合对毛主席著作的学习，回顾近百年来国外从事这方面研究的经验与教训，提出应注意的问题和我们的看法，也是很有意义的。

一、文献回顾

1917年mesnil和Roubaud首先报告以间日疟原虫(*Plasmodium vivax*)感染黑猩猩获得成功^[39]，他们以含有各期原虫的患者的血8至9毫升注入黑猩猩体内，12天后出现早期的滋养体，13天出现配子母体，14天出现第二代滋养体，15天各期皆出现，22天后原虫消失。三年后，他们再作报告^[40]，声称继续以间日疟原虫和恶性疟原虫(*P. falciparum*)患者的血注入黑猩猩体内，或者以受恶性疟原虫感染的蚊虫叮咬，都无法再使黑猩猩得到感染。但我们根据后人以黑猩猩接种间日疟原虫获得成功的事实来判断，mesnil和Roubaud(1917年)的报告有理由被认为是人疟接种动物获得成功的第一个纪录。

自此之后,许多这方面的研究多告失败。1934年Taliaferro和Taliaferro^[65]列举了前人的失败纪录如下: Rodhain和Van den Branden(1917)以恶性疟原虫或间日疟原虫接种蝙蝠(Pteropidae)并以蚊虫叮咬作辅助; Knowles(1919)以恶性疟原虫的环状体和配子母体注入2只獼猴(rhesus monkey),并且只以配子母体注入2只獼猴; Bertarelli(1920)以1只食蟹猴(Macaca irus)接种间日疟原虫2次,恶性疟原虫一次; Blacklock和Adler(1924)将恶性疟原虫患者的血注入黑猩猩,并且以恶性疟原虫和三日疟原虫(*P. malariae*)患者的血各注入2只猴,2只猪,6只豚鼠,2只大白鼠,2只小白鼠; Zia和Faust(1928)将间日疟原虫和恶性疟原虫接种兔、豚鼠、金地鼠,其中一部分是经过切脾处理或注射士的宁(strychnine)者; Adant(1931)以恶性疟原虫接种4只猴(2只Cercopithecus sabaeus和2只cynocephalus),其中1只曾经切脾处理。上述诸人皆未曾在被接种的动物体中发现疟原虫。此外还有人用被接种后动物的血回传给人也告失败; Marginesu(1929)将间日疟原虫接种到经切脾或封闭网状内皮系统的猴和兔,然后用它们的血注入人体; Segal(1930)以间日疟原虫接种到刚出生的豚鼠,8天至12天之后将该豚鼠的血注入人体。他们试验的结果,均未在人体内发现原虫。但也有在接种后数小时之内在被接种的动物血中找到原虫的; Bass(1922)以恶性疟原虫患者的血经静脉注射入数只豚鼠,在其中的1只豚鼠血中找到数个环状体; Franchini(1927)以间日疟患者的血接种9只猪,19天之后,在其中1只猪的厚血膜中找到2个配子母体; Stradomsky(1930)以间日疟原虫患者或恶性疟原虫患者的血经静脉或皮下注入犬或豚鼠的体内,在少数情况下,数小时内可以偶然发现原虫; Yoshino(1926)强调以动物的幼体甚至初生的动物作试验,他将间日疟原虫由皮下注入幼犬、鼠、豚鼠中,2至8天后在这些动物中找到环状体。还有人将人疟原虫注入动物体中,在一定时间之内原虫仍保持其对人的感染力; Massa(1929)以间日疟原虫注入兔体内,在4小时至3天后其血仍可使入得到感染; Bodechtel(1930)将间日疟患者的血注入经封闭网状内皮系统的小白鼠体内,24—48小时后取其血注入8个人体内,在其中7个人的血中出现疟原虫。

西方大部分学者,把1934年Taliaferro和Taliaferro将恶性疟原虫接种巴拿马产的吼猴(*Aloutta palliata*)的婴猴体内的报告^[66]作为人疟接种动物获得成功的第一个确凿记载。他们在经接种后的吼猴的外周血液中,看到在进行无性繁殖的原虫的各个时期;他们除了对各期原虫的形态作了详细的描述外,还对原虫在猴体内的消长情况作了统计。虽然他们的记载是精确的,但尚不足以证明吼猴可以作为恶性疟原虫的猴模:第一,他们没有将恶性疟原虫在吼猴体内转种传代;第二,他们的实验并不能证明恶性疟原虫的发育和繁殖是在血源中的人的红细胞内,抑或已侵入猴的红细胞内(因为他们在440—645克的婴猴体内,注入20毫升的恶性疟疾患者鲜血中经洗涤后的红细胞,这样在猴体内人的红细胞与猴的红细胞的比例是相当大的)。不过他们认真地以美洲的小型猴类为研究对象,取得令人鼓舞的进展,可以

说是后来在美洲另一种小型猴类—夜猴—取得真正成功的先导。

Mesnil 和 Roubaud (1920)^[40]否定了他们自己三年前以间日疟原虫接种黑猩猩获得成功的实验之后,1938和1939年 Rodhain 和 Muylle 相继作了间日疟原虫接种黑猩猩获得成功的报告(见 Aberle, 1945)^[6]。虽然如此,但对黑猩猩作为人疟猴模的深入研究是在五十年代末期才开始的。因为自从 Shortt 和 Garnham (1948)^[64]发现间日疟原虫和食蟹猴疟原虫 (*P. cynomolgi*) 的红外期是在肝细胞内进行之后, Rodhain (1956)^[47]和 Bray (1957)^[11]指出间日疟原虫可以在黑猩猩的肝细胞内很好地完成红外期的全部裂体生殖的过程,不过潜隐子进入红细胞之后发育不佳,只能保持低度的感染,但是若把黑猩猩作切脾处理,则在短时间内可以产生高度的虫血症。他们研究的成果,除了完全肯定黑猩猩对间日疟原虫的感受性和详细描述了间日疟原虫在黑猩猩体内的全部繁殖过程之外,还肯定了切脾处理是从事建立人疟猴模的一个十分有效的手段。Garnham 等 (1956)^[23]发现以间日疟原虫接种黑猩猩之后,虽然原虫发育不甚佳,但所形成的配子母体对斯氏按蚊 (*Anopheles stephensi*) 有感染力。他们还以此斯氏按蚊叮咬作者中之一,第10天就在他的外周血液中查到原虫,第14天其体温升高达 41.2°C , 症状是典型的间日疟型。由此可见,间日疟原虫在黑猩猩体内繁殖发育之后,经可感的按蚊回传给人,原虫的特性仍未改变,这样终于肯定了黑猩猩完全可作为间日疟原虫的动物模型。Bray (1958)^[12]以受恶性疟原虫感染的冈比亚按蚊 (*A. gambiae*) 的唾液腺置于含有15%的人血清的洛氏液 (Loche's fluid) 中,由静脉注入黑猩猩的体内,原虫在肝的实质细胞发育良好,但当潜隐子侵入红细胞之后则发育不佳,最多只能维持了两个生活周期。但经切脾处理的却不一样,如在接种后8天切脾,10天后原虫出现在外周血液中,起初二周内的原虫率是很低的,然后突然升高,密度可达每立方毫米14,000个,接种后30天(即原虫在外周血液出现后20天)配子母体出现,但都是不成熟的,对冈比亚按蚊无感染力。原虫出现后22天虫数开始下降,但其后数度回升,最高原虫密度达每立方毫米34,000个。配子母体也重新出现,但除一个以外,都不成熟。Rodhain 和 Jadin (1964)^[48]以切脾的黑猩猩作类似的试验也得到相同的结果,所产生的配子母体也不成熟。Hickman (1969)^[31]用41只黑猩猩作恶性疟原虫的转种传代的研究,共传了14代,其中有体温升高和出现寒战者,原虫最高密度达到每立方毫米860,000个,配子母体在虫血症高峰时出现,但全都未成熟,对斯氏按蚊无感染力。由此看来,黑猩猩对间日疟原虫和恶性疟原虫都有一定的感受性,但对间日疟原虫为甚。

在东南亚, Ward 等 (1965)^[68]首先发现泰国的白掌长臂猿 (*Hylobates lar lar*) 对恶性疟原虫的血传有部分的感受性。嗣后 Ward 和 Cadigan (1966)^[67]、Gould 等 (1966)^[28]、Cadigan 等 (1969)^[15]皆做了不少工作,证明无论血传或蚊传皆可使切脾的白掌长臂猿产生虫血症。Cadigan 等实验的结果,14次用恶性疟患者的鲜血接种切脾的长臂猿皆获成功;在切脾的白掌长臂猿中进行恶性疟原虫的转种传代

也获得成功,但所形成的配子母体不成熟,大小在3—9微米之间,作椭圆形、麦状或菱形,这种形状在人体的外周血液中是极为罕见的。Cadigan等还在同一文中指出:原虫出现后红细胞的感染率很快达1%或更高些,二周后虫数下降,虽然可能再回升,但总的趋势是逐步下降的;原虫出现时间通常持续8—10周,血中可检出原虫的全部时间一般为31周左右(短者6周,长者72周)。Gould等(1966)^[28]以孢子接种白掌长臂猿,使其出现虫血症并产生不成熟的配子母体,对巴拉巴按蚊(*A. balabacensis*)无感染力。Rutledge(1968)^[51]的类似实验也指出在白掌长臂猿中形成的配子母体对可感的按蚊无感染力。Cadigan等(1972)^[18]的进一步研究说明在白掌长臂猿中,血传恶性疟原虫较蚊传为易;在未切脾的白掌长臂猿中,红细胞感染率是很低的,但在已经切脾处理的白掌长臂猿中,红细胞感染率可高达8%;原虫出现可以持续7个月左右而寄主没有明显的症状。因此他们认为恶性疟原虫在白掌长臂猿中和在人体中出现的规律较为近似。Cadigan等(1969)^[15]以少数的白顶长臂猿(*Hylobates lar piteatus*)作试验,发现它对恶性疟原虫的感受性不及白掌长臂猿。Cadigan等(1968)^[14]虽然以血传方法曾使白掌长臂猿得到间日疟原虫的感染,但原虫出现的时间是短暂的,最高的原虫密度每立方毫米只有原虫240个,这说明白掌长臂猿对间日疟原虫的感受性远不及它对恶性疟原虫的感受性(Cadigan等,1969)^[15]。

人疟动物模型研究中的最大突破,是在1966年Young等^[68]首先以间日疟原虫患者的血接种美洲的一种小型猴类—夜猴(又称梟猴)(*Aotus trivirgatus*),获得成功。他们以肝素化的间日疟患妇的血由腹腔接种2只经切脾和口服硫唑嘌呤(Imuran)的夜猴,第4天在外周血液中出现原虫,最高的原虫密度达到每立方毫米47,000个。他们还以淡色按蚊(*A. albimanus*)叮咬其中的1只,14天之后,57%的蚊的唾液腺中出现孢子。他们又以受染的蚊叮咬2个“志愿者”和1只夜猴,虽然那只夜猴未得到感染,但在2“志愿者”的血中,11天后均查到原虫。他们又以此受感染的“志愿者”的血接种其他的经切脾和服硫唑嘌呤处理的夜猴,在其中的1只夜猴的血中,原虫密度高达每立方毫米70,000个。这个研究的成功有很重要的意义,因为它不但找到一种较为理想的人疟动物模型,大大地促进了对人疟原虫的生理、生化、病理、药理和免疫等方面的研究,而且也打破了只有高等的灵长类才能作为人疟动物模型的传统观念。同年Porter和Young(1966)^[42]亦报告以间日疟原虫患者的血接种11只夜猴,有7只夜猴得到感染。Coatney(1971)^[17]以间日疟原虫的7个株接种夜猴均获成功,其中有6个株是用未经切脾处理的猴来接种的。他们还以东南亚次大陆巴基斯坦的间日疟原虫的株作血传接种,14天后均出现配子母体,对弗氏按蚊(*A. freeborni*)有高度感染力,因此他们认为夜猴可以作为间日疟原虫配子母体的大量来源,以感染可感的按蚊。

夜猴对间日疟原虫的高度感受性被揭示之后的次年,Geiman和meagher(1967)^[20]接着报告以恶性疟原虫患者的鲜血接种经切脾的夜猴,第一代原虫的密

度即可达每立方毫米180,000个,连续传代,还可大为增加。Geiman等(1969)^[27]报告连续传代的结果,被寄生的红细胞率可以达到87%。Hickman(1969)^[81]也在这方面做了大量的工作:他以黑猩猩为过渡使3只切了脾的夜猴中有2只得到恶性疟原虫的感染;其后从事转种传代,至第11代时,取其血转种13只夜猴,其中有9只在红细胞感染率达到22.5—86%时死亡,红细胞寄生率的中数(mean)为41.1%,猴的存活时间的中数为16.4天;还有2只猴其红细胞寄生率分别为18.5%和20%者存活下来,原虫在它们的血中持续出现90天以上;还有2只没有出现那么高的虫血症,其中1只在红细胞感染率为7%时即死去。同上作者又以14只未经切脾的夜猴作试验,其结果原虫出现时间甚短,红细胞的感染率未有超过10%;在未切脾的夜猴中也进行了3次转种传代,其最高原虫密度也只有13%。Coatney等(1971)^[17]实验的结果与上述Hickman的结果略有出入,他们发现切脾和未切脾的夜猴对恶性疟原虫的感受性颇为相近:第1次转种传代的结果,切脾者原虫密度达到每立方毫米300,000个时是8天,而未经切脾者在第14天也能达到同样的水平。Coatney等还强调接种虫量的大小对结果的关系甚大:在使用同一血源的情况下,用小虫量者其虫血症高峰是在原虫出现后的第14天,原虫密度为每立方毫米300,000个,用大虫量者,虫血症的高峰是在原虫出现后的第10天,最高原虫密度为每立方毫米1,000,000个。此时不治,病猴多死去。

Contacos和Collins(1968)^[10]以及Collins等(1968)^[18]的实验都证明的夜猴体内所产生的恶性疟原虫的配子母体对弗氏按蚊有高度感染力,病猴体内的血对该按蚊的感染力可维持40天,其中的16天内,猴血对该蚊的感染力竟达100%,而在一个蚊胃中的卵囊数目竟有超过500个者! 感染的蚊子可以将恶性疟原虫回传给健康的人(Contacos and Collins 1968)^[10]。

从以上的资料看来,无论是对间日疟原虫或恶性疟原虫,夜猴都可以算是迄今为止最理想的猴模了。这个发现引起了科学工作者很大的重视,他们以夜猴作为人疟的动物模型(即猴模)从事人疟原虫的生理、生化、病理、药理和免疫等各方面的研究,取得了很大的成绩。

自从夜猴可作为人疟的良好猴模被发现和证实之后,科学工作者对美洲的其他小型猴类能否作为人疟猴模的研究很快地蓬勃发展起来,取得了许多重要的成果。迄今为止,美洲的小型猴类被证实对间日疟原虫或恶性疟原虫(或两者)有不同程度的感受性的有巴拿马猴(*Saguinus geoffroyi*)^{[42][43][7][44]}、松鼠猴(*Saimiri sciureus*)^{[20][65][40][50]}、黑蜘蛛猴(*Ateles fusciceps*)和红蜘蛛猴(*A.geoffroyi*)^{[7][8][64][46][9]}、白面猴即卷尾猴(*Cebus capucinus*)^{[60][64][24]},这方面的工作还是方兴未艾。但迄今为止,尚未有一种猴及得上夜猴。

应该指出的是,人疟动物模型的研究虽然有了很大的进展,但至今仍未能满足各方面疟疾防治研究工作的需要。黑猩猩、白掌长臂猿虽然体大而血量多,但都是稀少的珍贵动物,不可能大量供应作实验之用;夜猴体小血量少,野生的数目也日

益减少,同时此猴在实验条件下饲养也较为困难。由于以上的原因,继续研究建立多产、体大、饲养容易的人疟动物模型,仍是一个重要的科研课题。

猴一科(Cercopithecidae),包括许多常见的猴种,其中尤以猴一属(Macaca),有许多是重要的实验动物,产量较多、个体较大,对实验环境也较易适应。科学工作者早已着重对它们的研究。Aberle(1945)^[5]曾经列举了1945年以前这方面的许多失败纪录。单就最普通的恒河猴(Macaca mulatta)而言,除Aberle(1945)^[5]所列举者之外,自从四十年代至今,仍有人不断以它来做研究,但皆以失败告终。他们中有:Huff和Coulston(1948)^[22]、Hawknig和Thurston(1952)^[20]、Garnham等(1956)^[23]、Hickman(1969)^[21]、Jeffery(1961)^[22]、Eyles(1961)^[21]。最近Ramos(1974)^[46]以和恒河猴极接近的菲律宾猴Macaca philippinensis作接种恶性疟原虫的实验亦告失败。

迄今为止,以猴一属为研究对象而获得一点苗头的,只有Cadigan等(1966)^[18]的报告。他们以恒河猴泰国亚种(Macaca mulatta siamica),猪尾猴(M.nemestrina),食蟹猴(M.irus)作实验,其结果如下:以受恶性疟原虫感染的白掌长臂猿的血(原虫密度每立方毫米有原虫4,000个)各1.5毫升静注于上述三种猴体内。恒河猴、猪尾猴和食蟹猴分别在第14、6和10天,均在外周血液中查出原虫,可检出原虫的时间分别为18、19和16周,最高的原虫密度分别为每立方毫米有原虫850个(第30天)、2420个(第48天)、1750个(第29天)。作者等还直接以泰国恶性疟患者(女性)的鲜血静注入猪尾猴和食蟹猴。猪尾猴在第9天开始,食蟹猴在第10天开始,皆可查到原虫。猪尾猴的最高原虫密度为每立方毫米220个(在第23和25天),原虫持续出现约7周,其后尚有间歇出现的。食蟹猴的最高原虫密度为每立方毫米450个(第10天),原虫持续出现的时间为19周。他们又以一泰国恶性疟患者(男性)的血静注入4只食蟹猴,有3只食蟹猴各在3、7、7天后出现原虫,其他1只在34天后仍未查出原虫。因此,他们对食蟹猴特别寄以期望。

Cadigan等(1966)^[18]上述研究的结果颇为重要。因为他们指出恶性疟原虫可以在这三种猴体内存活一个很长的时间,同时他们所用的恒河猴泰国亚种和用以接种的血源都是来自地处亚洲的泰国,因此他们的研究虽然是极为初步的,但对我们很有参考价值。

二、关于人疟动物模型研究的几个问题

人疟动物模型的研究经过近百年来科学工作者不断的努力取得很大的进展的今天,综观前人研究的经验,我们认为下面几点是值得注意的:

(一)模型动物研究的选择:人疟动物模型的研究是为深入研究人疟原虫的生理、生化、病理、药理、免疫以及人疟虫苗的研制服务的。因此理想的模型动物除了对人疟原虫有高度感受性之外,最好是多产、体大、易于饲养。要完全合乎上述

的要求是非常不容易的。不过由于研究的目的不同,对模型动物的要求也不一样。譬如用作药物试验的话,多产的动物是比较合乎要求的,但是若为了提取红内期原虫作抗原的研究,那么体大血量多而原虫密度又高的动物模型才是理想的。

传统的观念曾认为,对人疟原虫有无感受性是决定于该动物在进化系统上与人的亲缘关系是否密切。自从夜猴被证实对人疟原虫的感受性较黑猩猩和白掌长臂猿为佳之后,这一传统的想法已被打破了。最近 Ramos 等(1974)^[46]把他们在菲律宾猴研究上的失败,只归咎于该猴种在进化系统上与人较疏远,这个观点在目前看来是不够恰切的。因此,我们应从多方面去物色各种猴类及其他各种哺乳动物作为人疟动物模型的研究对象,这是很重要的一个方面。

除灵长类之外,其他哺乳动物可否作为人疟的动物模型呢?这是一个十分值得探讨的问题。

从晚近的科研进展看来,好些动物的疟原虫已显示出它们的寄主特异性并不如我们从前想象的那么严格。Wellde 等(1966)^[90]的研究,证明鼠类的伯氏疟原虫(*P. berghei*)可以感染恒河猴; McGhee (1951)^[36]研究的结果,一种鸟类的疟原虫即鹧鸪疟原虫(*P. lophurae*)可以感染小白鼠; Hawking 和 Gammage(1970)^[80]也证明伯氏疟原虫可以感染鸡胚。从上述的研究成果看来,某些疟原虫对寄主的适应范围,不但打破了种、属、科的界限,甚至于打破纲的界限了。人的疟原虫(主要是指恶性疟原虫和间日疟原虫)可适应的寄主可能不只限于少数的灵长类。Weinman (1966)^[58]报告,少数初生的小家鼠(*Mus musculus*)可以感染恶性疟原虫(原虫在鼠体内可以发展到核分裂的时期)。所以我们认为人疟动物模型的研究,要放弃进化系统的亲缘关系作为唯一的和绝对的依据的旧框框,更广泛地利用各种哺乳动物为研究的对象进行研究。

(二)建立动物模型的实验方法:若单从前人对人疟动物模型的研究看来,其方法不外是切脾、服免疫抑制剂如硫唑嘌呤、封闭网状内皮系统等。我们分析了前人在动物疟原虫方面交叉感染的经验,结合建立人疟猴模的成功经验,提出下列值得注意的几个问题:

(1)使用动物的幼婴:纵观前人研究的结果,无论用那一种动物为实验的对象,使用该种动物的幼婴显然是较为有利的。Yoshino (1926)^[62]首先强调使用幼年动物甚至初生动物作实验,并声称他以间日疟原虫皮下接种到犬、兔和豚鼠,2至8天之后可以在它们的血中找到环状体。虽然他的描述不够充实,并且未曾为后人的研究所证实(见 Taliaferro and Taliaferro, 1934^[55]),但从 Weinman(1966)^[69]以恶性疟原虫接种初生的小白鼠所获得的成果看来, Yoshino 的记载也许不是毫无根据的。Taliaferro 和 Taliaferro (1934)^[55]以恶性疟原虫接种吼猴, Ward 等(1965)^[56]以恶性疟原虫接种白掌长臂猿获得成果,也都是使用婴幼儿。此外, McGhee(1951)^[86]用鹧鸪疟原虫感染初生的小白鼠获得成功, Hawking 和 Gammage (1970)^[80]以伯氏疟原虫感染鸡胚获得成功,以及 Weinman 等(1966)^[69]以恶性

疟原虫接种初生的小白鼠获得一定的成果,都说明所用的实验动物愈幼小(特别是初生的幼婴),对于异种动物的疟原虫的感受性愈佳。McGhee(1968)^[38]的实验证明幼小的大白鼠的红细胞可以感染疟原虫,但出生40天之后的大白鼠的红细胞就失去其对疟原虫的感受性。总之,在我们从事建立人疟动物模型的研究时,使用动物的幼婴是一个必须吸取的好经验。

(2)血源的问题:血源的问题,包括疟原虫的种株问题,和接种血源的虫量问题。

不但不同种的疟原虫对试验动物有不同的感染力,同种不同株疟原虫的感染力也可能会有相当大的差异。如Young和Baerg(1969)^[60]发现巴拿马株的恶性疟原虫对切脾和服硫唑嘌呤的白面猴无感染力,但在夜猴中传代的乌干达株的恶性疟原虫却无例外地可以使切脾和服硫唑嘌呤的白面猴得到感染。当然这可能和原虫在夜猴体内经过适应有很大的关系,但原虫株的差异也可能是一个重要的原因。Garnham(1966)^[25]在讨论猴模的问题时,把食蟹猴疟原虫(*P. cynomolgi*)和间日疟原虫作对比,他列举了已知的食蟹猴疟原虫的不同亚种和不同的株共有8个,认为间日疟原虫不同的亚种和株至少也有此数,因此主张对间日疟原虫不同的亚种和株的感染力逐一加以研究。我们认为这一意见是对的。尤其是我国幅员广大,疟原虫的分布由温带至热带,其种、株的问题是相当复杂的。我们对国内的种、亚种和株的研究做得较少。本文作者等记载了河南开封和广东等地区流行的一个新亚种即间日疟原虫多核亚种(*Plasmodium vivax multinucleatum*, Chiang, Yu and Chen, 1956),并指出它的致病力比一般的间日疟原虫强^{[1][2]},尤其是它的形态特点与寄生于白掌长臂猿的*P. eylesi*^[68]颇为相似,因此更值得注意。此外,我们还发现患者外周血液中的大量中性多形核白细胞内出现疟原虫,并认为可能与种株的特性有关^[8]。杨树森(1974)^[4]也报告在外周血液中有大量白细胞吞噬疟原虫者。类似上述的报告虽不多,但也可以推知我国的疟原虫的种株的复杂性了。因此,在从事人疟动物模型的研究时,对不同地区的原虫种株作对比的研究是很重要的,这样对于建立我国自己的人疟动物模型是较为有利的。

血源的另一问题是虫量的问题。使用大虫量比较有利是可以理解的。因为在异常寄主中的先天免疫性较强,消灭原虫的速度也较快,接种大虫量可使原虫不致在短时间内被全部消灭,这当然有助于原虫在异常寄主内生存和繁殖。Taliaferro和Taliaferro(1934)^[65]在吼猴中所获得的成果显然是和使用特大虫量有关(接种后立即检查原虫率已接近4%)。Coatney(1971)^[17]亦提到,以恶性疟原虫接种夜猴,所接种的原虫量的大小对所产生的虫血症影响甚大。因此,接种时适当地使用大虫量也是建立人疟动物模型的一个重要措施。为达到此目的,使用原虫密度高的血源比使用大血量较为有利,因为密度高的原虫,其活力也必然较强。

腹腔接种进入血液中的原虫数肯定较静注为少。根据Jervis等(1966)^[34]以Gr⁶¹标记作实验的结果,在小白鼠腹腔中注入红细胞,最多只有33.75%进入循环

系统。因此,为了保证有较大的虫量进入循环系统,静注接种必较腹腔接种为佳(如有溶血等反应者除外)。Wellde等(1966)^[60]以伯氏疟原虫作静脉接种与腹腔接种的比较也证实了这一点。

(3)“过渡转种”与“适应性转种”:将人疟原虫先接种到已知有感受性的灵长类(如黑猩猩,白掌长臂猿,夜猴等),使其在这些猴类中繁殖传代,然后取其血转种到实验动物的体中,我们可称之为“过渡转种”。这种过渡转种已一再被证实是建立人疟猴模的有效措施。如以间日疟原虫患者的血直接接种黑蜘蛛猴和红蜘蛛猴均告失败,但以夜猴作过渡转种都获成功(Porter & Young 1970)^[45]。

另一种方法是“适应转种”(adaptive passage)。如将疟原虫在鸡胚胎中繁殖后,接种到初生的小白鼠,原虫在小白鼠体内只能生活一个短暂的时间,但在它未被全部消灭之前,又将它回传到鸡胚中,这样由鸡胚→小白鼠→鸡胚→小白鼠……反复传代,使原虫在小白鼠中逐渐适应,经4代之后,终于达到疟原虫无须回传给鸡胚,而直接在小白鼠中转种传代的目的(McGhee,1961)^[38]。我们不可以人作实验,但可以在这个实验的成功上得到启发,考虑我们在建立人疟动物模型中应采取的措施问题。

(三)建立人疟动物模型的机理研究:异种动物对人疟原虫的感受性决定于什么因素呢?这是一个至今仍未解决的问题。自从夜猴对人疟原虫的感受性被证实比黑猩猩更佳之后,绝对用亲缘关系来说明问题已行不通了。现在许多科学工作者试图将有感受性的动物(如夜猴)的血和被认为无感受性的动物(如恒河猴)的血从事生化的分析,希望从中得出答案来。

先天免疫的说法是过于笼统的了。但是某些动物的白细胞的吞噬能力效强,使人疟原虫不能繁殖下去而被完全消灭,这仍然可能是某种动物缺乏感受性的一个因素。此外,血液中的生理生化、包括原虫必须营养物质的存在与否,当然是另一方面的重要因素。在这方面有许多研究,这里只简单地介绍一些与建立人疟动物模型有直接关系或有重要参考价值的问题。

自五十年代以来,许多研究都证明吃奶的动物由于缺乏疟原虫的必需的营养物质对氨基甲酸(PABA),因而使疟原虫无法生长(Zuckerman,1958)^[68]。因此,在它们的食物中适当地加入对氨基甲酸是完全必要的。

McGhee (1968)^[38]指出,以14种哺乳动物的红细胞注入受疟原虫感染的鸡胚中,只有小白鼠、兔、猪的红细胞会受疟原虫的侵袭。此外,幼小的大白鼠的红细胞可以受疟原虫的侵袭,而出生后40天的大白鼠的红细胞即失去它对疟原虫的感受性。由此可见原虫不但对不同种的试验动物的红细胞有其选择性,即在同种动物的红细胞中,随着动物的年龄不同其感受性也不同。Miller等(1973)^[41]作培养试验,发现在培养液中,诺氏疟原虫攻击猕猴细胞的数目4倍于攻击人或夜猴的红细胞的数目(以上两种动物对诺氏疟原虫有一定程度的感受性)。但是那些对诺氏疟原虫有抵抗力的小白鼠,大白鼠、豚鼠、鸡、犬、兔等,则极少受侵袭,由此可见

物对某种原虫的感受性,可能和该动物的红细胞膜的性质有关。动物红细胞对人疟原虫有无感受性的主要物质是什么呢?目前这方面的研究工作还在不断发展中。颇多的学者认为G-6-PD的缺乏可以避免疟原虫的感染(Allison,1960^[8];Luzzato等,1969)^[85],但也有相反的意见(Segal等,1972)^[63]。Geiman等(1969)^[27]也对人、夜猴和5种猕猴的血红蛋白作比较的分析研究,希望从中找出对人疟原虫具感受性与否的因素,尚未有完全肯定的结论。

毛主席教导我们:“实践、认识、再实践、再认识,这种形式循环往复以至无穷,而实践和认识之每一循环的内容,都比较地进到了高一级的程度。”纵观将近百年来科学工作者对人疟动物模型的研究,使我们更深刻地认识到,毛主席这段话也就是自然科学发展规律的高度概括。现在,由于科学工作者不断的实践,旧的“只有高级的灵长类对人的疟原虫才有感受性”的认识已被“动物对疟原虫的感受性虽和动物间的亲缘关系有关,但和进化系统并非有绝对的联系”这一新的认识所代替。我们必须大胆地去再实践,广泛地以更多的动物(包括灵长类)作实验,从国外成功的经验中得到启发,同时走我们自己的道路,努力争取建立我国自己的人疟动物模型来,从而促使疟疾防治的研究工作进一步向前发展。

参 考 文 献

- (1) 江静波、余锡尧、陈俊民: 流行我国间日疟原虫一新亚种。中山大学学报, 自然科学版, 1965年第1期, 第131—132页
- (2) 江静波、余锡尧: 间日疟原虫与相近两种疟原虫的比较。寄生虫学报, 1965年, 第2卷第4期, 第333—341页
- (3) 江静波、余锡尧: 疟原虫在多形核白血球中大量出现。中山大学学报, 自然科学版, 1965年第2期, 第227—230页
- (4) 杨树森、谢醒民、朱静和、张玉润、修志刚: 大量白细胞吞噬疟原虫的报告。中华医学杂志, 1974年第10期, 第637页
- (5) Aberle, S. D., 1945. PRIMATE MALARIA. Natl. Res. Council, Div. Med. Sci., Washington.
- (6) Allison, A. D., 1960. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in red cells of East Africans. Nature, 186:531.
- (7) Baerg, D. O. & Young, M. D., 1969. Susceptibility of mosquitoes to human malaria induced in Panamanian monkeys. Mil. Med., 134:772-779.
- (8) Baerg, D. C., Porter, J. A. & Young, M. D., 1969. Sporozoite transmission of Plasmodium vivax to Panamanian primates. Am. J. Trop. Med. Hyg., 18:346-350.

- [9] Baerg, D. C. & Young, M. D., 1970. Plasmodium falciparum infection induced in the black spider monkey, Ateles fusciceps, and black howler monkey, Alouatta villosa. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 64:193-194.
- [10] Studies on inoculation of experimental animals with malaria. Amer. J. Trop. Med., 2:107-114.
- [11] Bray, R. S., 1957. Studies on malaria in chimpanzees. II. Plasmodium vivax. Amer. J. Trop. Med. Hyg., 6:514-520.
- [12] Bray, R. S., 1958. Studies on malaria in chimpanzees. VI. Laverania falciparum. Amer. J. Trop. Med. Hyg., 7:20-24.
- [13] Cadigan, F. C., Spertzel, R. O., Chaicumpa, V. & Puhomchareon, S., 1966. Plasmodium in nonhuman primates (Macaque monkeys). Mil. Med. 131 (Suppl.):959-960.
- [14] Cadigan, F. C., Ward, R. A. & Puhomchareon, S., 1968. Transient infection of the gibbon with Plasmodium vivax malaria. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 62:295-296.
- [15] Cadigan, F. C., Ward, R. A. & Chaicumpa, V., 1969. Further studies on the biology of human malarial parasites in gibbons from Thailand. Mil. Med., 134: 757-766.
- [16] Cadigan, F. C., Iber, P. K. & Chaicumpa, V., 1972. Plasmodium falciparum in the white handed gibbon: Effect of prolonged infection on serum biochemistry values. Proc. Helminth. Soc. Washington, 39:28-33.
- [17] Coatney, G. R., Collins, W. E., Warren Mew. & Contacos, P. G., 1971. THE PRIMATE MALARIA. U. S. Government Printing Office, Washington.
- [18] Collins, W. E., Contacos, P. G., Guinn, E. G., Jeter, M. H. & Sodeman, T. M., 1968. Monkey to man transmission of Plasmodium falciparum by Anopheles freeborni mosquitoes. J. Parasit., 54: 116-117.
- [19] Contacos P. G. & Collins, W. E., 1968. Falciparum malaria transmissible from monkey to man by mosquito bite. Science 161:56.
- [20] Deane L. M., Neto, J. F. & Siveira, I. P. S., 1966. Experimental infection of a splenectomized squirrel monkey, Saimiri sciureus with Plasmodium vivax. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg., 60:811-812.
- [21] Eyles, D. E., Wharton, R. H. & Warren, M., 1961. Monkey malaria investigation. Ann. Rpt., Inst. Med. Res., Federation of Malaya, Kuala Lumpur: 88-105. (from Porter & Young, 1966)
- [22] Garnham, P. C. C., & Bray, R. S., 1956. The influence of immunity upon the stages (including late exo-erythrocytic schizonts) of mammalian malaria parasites. Rev. Brazil. Malar. 8:151-160 (from Porter & Young, 1966)
- [23] Garnham, P. C. C., Laison, R. & Gunders, A. E., 1956. Some observations on malaria parasites in a chimpanzee, with particular reference to the persistence of Plasmodium reichenowi and Plasmodium vivax. Ann. Soc. Belge de Med. Trop.,

- 36:811-812 (from Coatney et al. 1971)
- (24) Garnham, P. C. C., 1966. *MALARIA PARASITES AND OTHER HAEMOSPORIDIA*. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- (25) Garnham, P. C. C., 1966. Comments on biology of human malaria, *Mil. Med.*, 131(Suppl.):961-962.
- (26) Geiman, Q. M. & Meagher, M. J., 1967. Susceptibility of a New World monkey to *Plasmodium falciparum* from man. *Nature*, 215:437-439.
- (27) Geiman, Q. M., Siddiqui, W. A. & Schnell, J. V., 1969. Biological basis for susceptibility of *Aotus trivirgatus* to species of *Plasmodia* from man. *Mil. Med.*, 134:780-786.
- (28) Gould, D. J. & Cadigan, 1966. *Falciparum malaria*: Transmission to the gibbon by *Anopheles balabacensis*. *Science*, 153:1384.
- (29) Hawking, F. & Thurston, J. P., 1952. Chemotherapeutic and other studies on the pre-erythrocytic forms of simian malaria (*Plasmodium cynomolgi*). *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 46:293-300.
- (30) Hawking, F. & Gammage, K., 1970. Propagation of *Plasmodium berghei* and *P. vinckei* in mouse erythrocytes injected into chick embryos. *Parasitol.*, 61(1):65-70.
- (31) Hickman, R. L., 1969. The use of subhuman primate for experimental studies of human malaria. *Mil. Med.*, 134:741-756.
- (32) Huff, C. G. & Coulston, F., 1948. Symposium on exo-erythrocytic forms of malaria parasites. II. A search for pre-erythrocytic stages of *P. vivax* and *P. cynomolgi*. *J. Parasit.*, 34:264-274.
- (33) Jeffery, G. M., 1961. Inoculation of human malaria into a simian host *Macaca mulatta*. *J. Parasit.*, 47:90.
- (34) Jervis, H. R., Johnson, C. R., & Evans, C. B., 1966. The rate of absorption of intraperitoneally injected erythrocytes in germ free and conventional mice and its possible relationship to experimental malaria. *Mil. Med.*, 131(Suppl.): 891-896.
- (35) Luzzato, L., Usanga, E. & Reddy, S., 1969. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficient red cells: Resistance to infection by malarial parasites. *Science*. 164:11-14.
- (36) McGhee, R. B., 1951. The adaption of the avian malaria parasite *Plasmodium lophurae* to a continuous existence in infant mice. *J. Inf. Dis.*, 88:86-97.
- (37) McGhee, R. B., 1957. Comparative susceptibility of various erythrocytes to four species of avian *Plasmodia*. *J. Inf. Dis.*, 100:92-96.
- (38) McGhee, R. B., 1968. Development and Reproduction (Vertebrate and Arthropod Host). (In "INFECTIONS DISEASES OF MAN AND ANIMALS" edited by Weinman & Ristic. pp307-341).
- (39) Mesnil, F. & Roubaud, E., 1917. Sur la sensibilité du chimpanze au paludisme humaine. *C.R.Acad. Sci.*, 165:39-41 (T.D.B., 1918, 11, Abst. 33)

- [40] Mesnil F. & Roubaud, E., 1920. Essais d'inoculation du paludisme au chimpanze. *Ann. Inst. Pasteur*, 34:466-480(T.D.B., 1921, 17, Abst. 146)
- [41] Miller, L.N., Dvorak, J.A., Shiroishi, T. & Durocher, J.R., 1973. Influence of erythrocyte membrane components on malaria merozoite invasion. *J. Exp. Med.*, 1973, 138:1597-601
- [42] Porter, J.A. & Young, M.D., 1966. Susceptibility of panamanian primates to *Plasmodium vivax*. *Mil. Med.* 131(Suppl.):952-958.
- [43] Porter J.A. & Ycung, M.D., 1967. The transfer of *Plasmodium falciparum* from man to the marmoset *Saguinus geoffroyi*. *J. Parasit.* 53(4):845-846.
- [44] Porter, J.A., 1970. Infections of *Plasmodium vivax* in *Saguinus geoffroyi*. *J. Protozool.*, 17:361-363.
- [45] Porter, J.A. & Young M.D., 1970. *Plasmodium vivax* infections in the spider monkeys. *Ateles fusciceps* and *A. geoffroyi*. *J. Parasit.*, 56:426-430
- [46] Ramos, O.L., 1974. The Philippine monkey(*Macaca philippinensis*) as experimental model in the study of *Plasmodium falciparum*. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, 5: 186-189.
- [47] Rodhain, J., 1956. Les formes preerythrocytaires du *Plasmodium vivax* chez le chimpanze. *Ann. Soc. Belge Med. Trop.*, 36:99-103. (from Coatney et al, 1971)
- [48] Rodhain, J & Jadin, J., 1964. La transmission du *Plasmodium falciparum* au chimpanze splenectomine. *Ann. Soc. Belge Med. Trop.*, 44:531-535. (from Coatney et. al., 1971)
- [49] Rossan, R.N., Baerg, D.C. & Young, M.D., 1972. Characterization of *Plasmodium vivax* infections in *Saimiri sciureus*(Squirrel monkeys). *Proc. Helminth. Soc. Washington*, 39: 24-28.
- [50] Rossan, R.N., Yonng, M.D. & Baerg, D.C., 1972. Trophozoite induced infections of *Plasmodium falciparum* in *Saimiri sciureus*(Squirrel monkeys). *Proc. Helminth. Soc. Washington.*, 39:21-24.
- [51] Rutledge, L.C., Gould, D.J., Cadigan, F.C. & Chacumpa, 1968. Human malaria in nonhuman primates: experimental mosquito transmission infection. *Mos. News*, 28:46-49.
- [52] Schmidt, L.H., 1973. Infections with *Plasmodium falciparum* and *P. vivax* in the owl monkey-Model systems for basic biological and chemotherapeutic studies. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 67:446-470.
- [53] Segal, H.E. Noll, W.W. & Thiemanun, W., 1972. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and falciparum malaria in two northeast Thai villages. *Proc. Helminth. Soc. Washington*, 39:79-83.
- [54] Shortt, F.E. & Garnham, P.C.C., 1948. The pre-erythrocytic development of *Plasmodium cynomolgi* and *Plasmodium vivax*. *Trans. Roy. Soc. Trop Med. Hyg.*, 41:785-795.

- [55] Taliaferro, W.H., & Taliaferro, I.G., 1934. The transmission of *Plasmodium falciparum* to the Howlor monkey, *Alouatta* sp. I. General nature of infection and morphology of the parasites. *Amer. J. Hyg.*, 19,9:318-334.
- [56] Ward, R.A., Morris, J.H., Gould, D.J., Bourke, A.R.C. & Cadigan, F.C., 1965. Susceptibility of the gibbon *Hylobates lar* to *falciparum* malaria. *Science*, 150:1604-1605.
- [57] Ward, R.A. & Cadigan, F.C., 1966. The development of erythrocytic stages of *Plasmodium falciparum* in the gibbon, *Hylobates lar*. *Mil. Med.*, 131 (Suppl.):944-958.
- [58] Warren, M., Bennett, G. F., Sandosham, A. A. & Coatney, G. R., 1965. *Plasmodium eylesi* sp.nov., a tertian malaria parasite from the white-handed gibbon, *Hylobates lar*. *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 59:500-508.
- [59] Weinman, E., Cavanaugh, E.C., & Deswitz, R., 1966. *Plasmodium falciparum* in *Mus musculus*. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 60:562.
- [60] Welde, B.T., Briggs, N.T. & Sadun, E.H., 1966. Susceptibility to *Plasmodium berghei*: Parasitological, biochemical and hematological studies in laboratory and wild mammals. *Mil. Med.*, 131(Suppl.):859-869.
- [61] Welde, B.T., Johnson, A.J., Williams, J.S., 1972. Experimental infection with *Plasmodium falciparum* in Aotus monkeys. I. Parasitologic, hematologic and serum biochemical determinations. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 21:260-271.
- [62] Yoshino, M., 1926. Ueber die möglichkeit der Uebertragung menscher Malaria-Plasmodien auf versuchstiere. *Arch. F. Schiffs-u. Trop. Hyg.*, 30:624-626 (from Taliaferro & Taliaferro, 1934)
- [63] Young, M.D. Porter, J.A. & Johnson, C.M., 1966. *Plasmodium vivax* transmitted from man to monkey to man. *Science*, 153:1006-1007.
- [64] Young, M.D. & Porter, J.A., 1969. Susceptibility of *Ateles fusciceps*, *Ateles geoffroyi* and *Cebus capucinus* monkeys to *Plasmodium vivax*. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 63:203-205.
- [65] Young, M.D. & Rossan, R.N., 1969. *Plasmodium falciparum* induced in the squirrel monkey, *Saimiri sciureus*. (Correspondence). *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 63:686-687.
- [66] Young, M.D. & Baerg, D. C., 1969. Experimental infections of *Plasmodium falciparum* in *Cebus capucinus*(white-faced capuchin)monkeys. *Mil. Med.*, 134:767-777.
- [67] Young, M.D., Baerg, D.C. & Rossan, R.N., 1971. Sporozoite transmission and serial blood passage of *Plasmodium vivax* in squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*). *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 56:835-836.
- [68] Zuckerman, A., 1968. Basis of host cell-parasite specificity (in "INFECTIOUS BLOOD DISEASES OF MAN AND ANIMALS" edited by Weinman and Ristic, vol.I, pp23-36)