

血吸虫的组织化学研究进展

(一) 碳水化合物、蛋白质、核酸、脂类及无机成分的组织化学研究*

向 选 东

(湖北医学院)

在人们急需对血吸虫作全面、深入地了解,以便对血吸虫病提出切实可行的防治对策的今天,应用组织化学(简称组化)方法研究血吸虫,正日益受到国内外学者的重视。通过这方面的研究,不仅能在一定程度上阐明血吸虫的代谢状态和生理功能,而且有助于了解抗血吸虫药物作用的机制;有助于对有关血吸虫病免疫学机理的探讨。同时,组化研究资料将对血吸虫生活史各期的体外培养起指导作用,亦可为寻找抗血吸虫新药与血吸虫疫苗提供线索。

近二十多年来,血吸虫的组化研究进展较快,并且正在向着电子组织化学、免疫组织化学、荧光组织化学及定量组织化学等方向发展。下面首先对血吸虫的碳水化合物、蛋白质、核酸、脂类及无机成分的组化研究进展作一综述。有关酶类的内容将安排在第二部分中介绍。

碳水化合物

在血吸虫卵胚胎发育过程中,不仅形态学上逐渐地发生了改变,最后形成了毛蚴,而且卵内的化学成分也发生了明显的变化。其中碳水化合物的量由少到多。

组化研究证明,在日本血吸虫单细胞期虫卵,除受精卵细胞质对显示碳水化合物的PAS(过碘酸-雪夫试剂)反应呈弱阳性外,在受精卵周围的卵黄细胞中并不存在多糖物质。随着胚胎发育的进程,胚胎与卵壳之间出现多糖物质,至毛蚴成熟期,整个虫卵出现极强的PAS阳性反应。有关碳水化合物大量出现的机理尚未明了,但值得注意的是脂类物质却是逐渐减少的。推测,在血吸虫卵胚胎发育中有一些能将脂类物质转化为碳水化合物的酶类存在。这种转化的生理学意义在于作为供给血吸虫卵胚胎发育所需的能量来源^[6]。

在成熟的血吸虫卵,毛蚴实质组织中含有丰富的糖原。这可用消化糖原的淀粉酶处理后PAS反应即消失予以证明。糖原是能量的贮存形式,无疑这对将来毛蚴在水中生活及寻找与侵入螺类宿主提供了能量保证。毛蚴的一个顶腺和二个头腺中的PAS阳性物质主要的不是糖原。这些物质具有抗淀粉酶的作用,且不受甲醇-氯仿或醋酐作用的影响,表明是粘多糖

* 本文承蒙周述龙教授审阅,特此致谢

或糖蛋白^[6,27]。有趣的是,本身化学物质为醌鞣蛋白系统的卵壳在毛蚴成熟后出现了 PAS 阳性反应,该阳性反应物质的性质与毛蚴腺细胞中的相似。这说明卵壳的抗淀粉酶 PAS 阳性物质是毛蚴的腺细胞所分泌并通过卵壳渗出所致。现在一般认为,抗淀粉酶的 PAS 阳性物质是构成虫卵可溶性抗原的主要成分^[6,37,38]。免疫细胞化学研究证实,曼氏血吸虫卵可溶性抗原物质定位于毛蚴的顶腺及头腺细胞的小囊泡中^[44]。

Smith 等(1969)^[39]报道,曼氏血吸虫尾蚴的体部髓样实质组织中以及尾部均含有丰富的糖原,尤其是尾部对 PAS 反应十分强烈。这与生化研究的结果是一致的:尾蚴的尾部所含糖原占尾蚴总糖原量的一半^[33]。不难理解,尾蚴尾部丰富的糖原与其尾部的功能得到了统一。

长期以来,人们都相当注意血吸虫尾蚴对单细胞钻腺。这部分是因为在显微镜下观察时它们很突出,部分是因为它们的内含物是在侵入宿主皮肤期间被释放出来的。众多的组化研究事实表明,尾蚴三对后钻腺内含物主要是粘蛋白或糖蛋白^[8,28,42,43,44,45]。层析研究结果也证明尾蚴后钻腺分泌物中有与蛋白质牢固结合的多糖,存在 15 种氨基酸残基,以及葡萄糖与半乳糖胺等。

后钻腺分泌物具有遇水膨胀、变得粘稠的特性。因此,在尾蚴头端吸附过的地方留下袋状或漏斗状的痕迹^[44]。后钻腺分泌物的功能主要是在尾蚴钻穿宿主皮肤时粘附皮肤,封闭尾蚴口周围与宿主皮肤之间的空隙,使前钻腺分泌的溶组织酶类定向流出直达皮肤,以避免酶的流失。此外,在新转化的童虫通过皮肤角质层和表皮的角质增生区域时起润滑作用^[8,45]。

自 Vogel 和 Minning (1949) 二氏创立血吸虫尾蚴膜反应 (cercarien-huellen reaction, CHR) 以来,人们对尾蚴的体被产生了浓厚的兴趣。因为弄清尾蚴体被的形态结构和组化特性有助于澄清一些基本问题,如,为什么新近穿刺过宿主皮肤的童虫不能引起尾蚴膜反应,并

形成 CHR 特征性的鞘;为什么尾蚴从淡水到哺乳类的盐液的转换并不表现出有任何有害的影响,相反,早期的童虫当暴露于淡水时却起泡并且死亡,等等。

继 Lumsden 和 Foor (1968) 报道异毕(吸虫)属 *Heterobilharzia americana* 的尾蚴体表存在明显的多毛形外被 (hirsute coat) 后,曼氏血吸虫成熟尾蚴体表的丝状被也相继被得到证实^[23,28,39,41],但童虫和成虫均不具有这种结构。丝状被厚约 0.5—1.0 μm ,纤丝呈分支状结构,紧贴于体壁外缘,与外质膜有密切联系。尾蚴表面丝状被的揭示为解答上述疑问提供了形态学基础。

Morris (1971) 提出尾蚴表面丝状被为酸性粘多糖的假说,但实验证明并非如此。Stein 等(1973)^[41]对曼氏血吸虫胞蚴内的成熟尾蚴、从螺体逸出的尾蚴及新穿过鼠皮条的童虫进行了电子组织化学的研究。为确定虫体体表是否存在碳水化合物,采用: 1. PATCO (Periodate-thiocarbohydrazide-Osmium) 程序染色。即,过碘酸盐将碳水化合物上的连位乙二醇氧化为 vis-醛,然后,vis-醛与硫代卡巴胍结合,后者又使铁还原为不透电子的沉淀物,以便在电镜下观察。2. 刀豆球蛋白 A、过氧化物酶、DAB-过氧化氢程序。即,刀豆球蛋白 A 能特异地结合在天然碳水化合物结构上,而它本身又可用辣根过氧化物酶标记,然后与二氨基联苯胺 (diaminobenzidin, DAB) 及过氧化氢一起孵育,以显现吸附的过氧化物酶。并用省略了刀豆球蛋白 A 步骤的标本作对照。最后两组标本均用铁处理作电镜观察。由于酶放大了镜下可见反应产物,所以,此程序对于证明少量碳水化合物来说要比 PAS 优越;为确定虫体表面碳水化合物的性质,用胶态金属阳离子如铁或氧化钪染色。这些阳离子能在酸性条件下与反离子作静电学上的结合,所吸附的不透明金属微粒容易在电镜上呈现出来。从而,在很少其它酸性阴离子存在的情况下,有可能选择性地证明酸性粘多糖和糖蛋白;为确定尾蚴体表的染色特性是否与其丝状被有关,将活尾蚴与浓度为

8mmol/L 的尿素在 pH8.0 条件下孵育 15 分钟,以去掉丝状被。然后,用胶态铁染色,并作有关处理以便在电镜下观察。整个实验中有整体标本也有切片标本。

结果: 1. 尾蚴丝状被和尾蚴体被的基质中的膜限定泡内含物均在应用 PATCO 程序后染色浓密; 2. 尾蚴丝状被与外质膜均未染上酸性胶态铁,但在用 8mmol/L 尿素去掉尾蚴的丝状被后外质膜表面结合有高浓度的铁微胶粒; 3. 在钻穿鼠皮条后的童虫体表染上了酸性胶态铁; 4. 经刀豆球蛋白 A、过氧化物酶、DAB-过氧化氢程序处理的虫体表面可持续观察到一条不透电子物质的带,而省略了刀豆球蛋白 A 步骤的则无。

Stein 等根据以上结果得出结论: 尾蚴与童虫体表均存在碳水化合物,但性质不一样。尾蚴丝状被本身是中性糖蛋白,不是酸性粘多糖; 尾蚴外质膜上同样存在酸性功能团 (acidic functions), 但被中性糖蛋白所遮盖; 8mmol/L 尿素去掉尾蚴丝状被后,虫体体表的染色性质和新钻穿鼠皮条的童虫的一样。

Stein 等的研究结果与 Kemp (1970)^[26]的一致, Gress 等 (1976)^[23]的研究进一步证实了上述的结论。现在一般认为,尾蚴的体表存在糖膜,糖膜是虫体外质膜的固有成分。不象有的报道所说的那样来自尾蚴的钻腺或螺宿主。糖膜由体被细胞的高尔基复合体所制造,并通过胞质通道被分泌到尾蚴体表^[23,25,39,41]。糖膜的结构模型由三部分组成: 带阴电荷的酸性糖脂连接于外质膜脂质双层外面的亲水端; 带阴电荷的酸性糖蛋白,由外向内插入脂质双层中; 中性糖蛋白,即丝状物,由脂质双层中的颗粒亚单位与之发生某种联系。丝状物显露得最高,整体看上去犹如一层丝状被^[23,25]。

很明显,尾蚴体表的丝状物只是糖膜的一个组成部分。它是用来掩盖外质膜表面的阴离子基团的,这些阴离子基团在尾蚴穿刺哺乳类和人类宿主皮肤后便被暴露了出来,发挥其功能,如钙等无机离子的掺合^[31,41]。中性糖蛋白是有效的过滤装置,吸收几倍于本身体积的水

而不丧失结构^[30]。因此,具有丝状被的尾蚴表现出对水等的不通透性,去掉丝状被有如拔出孔塞的效果,酸性基团显露,虫体表面水合作用容易进行。所以,新转变的童虫对水的通透性增高。这清楚地说明尾蚴丝状被对尾蚴在淡水中生活具有保护作用。

免疫组织化学研究表明,糖膜是尾蚴膜反应的部位。但尾蚴膜反应抗原是否为糖膜的一个结构部分尚未定论。可能性仍然为尾蚴膜反应抗原是一持续被分泌出来,并且平时被糖膜圈住的外抗原 (exo-antigen)。当它与尾蚴膜反应抗体结合时,糖膜只是以尾蚴膜反应的方式起作用。在新转化的童虫,由于丝状被的丢失,糖膜的完整性遭到破坏,所以,抗原-抗体复合物便没有起圈住作用的基质而进入外周介质中去了,因而不能形成特征性的尾蚴膜反应鞘^[28,29]。

尾蚴钻穿宿主皮肤后转变为童虫。何毅勋等 (1980)^[7]报道,刚侵入小鼠皮肤的日本血吸虫童虫体内仍含有较多的糖原,但在第 3—5 天肺脏中取得的童虫体内糖原显著减少。提示从皮肤移行至肺脏的这段时间里虫体原先贮存的糖原被消耗。在第 7—10 天鼠肝中查见的童虫,体壁肌肉构造明显,糖原含量又相对增多,但实质组织内一直很少。至体内各器官基本形成后,实质组织内又开始贮存糖原。从糖原量的变化可以看出,尾蚴转变为童虫变更了生活环境,为得以生存,需首先依赖内源性能量贮备。然后,随着虫体各器官系统的形成及对新环境的适应,便开始从宿主取得营养物质,并合成自身所需的能量。

Stein 等 (1973)^[41]报道,曼氏血吸虫成虫体表为酸性粘多糖。但也有人研究揭示为中性粘多糖或糖蛋白。由于成虫体表不断破坏与重建,并且有时还结合有宿主的糖脂等物质,所以虫体体表的碳水化合物可能代表宿主与寄生虫两者物质的混合^[17,26]。报道结果的不一致反过来也说明了寄居于宿主血管内的血吸虫体表组化成分的复杂性。

组化研究揭示,日本血吸虫成虫体内的糖

原主要分布于各种肌纤维和实质组织内。在雄虫以抱雌沟周围体壁肌层及其附近实质组织内含量最多。雌虫体内糖原含量比雄虫少^[4]。Cornford 等 (1979)^[48] 报道,处于合抱状态的曼氏血吸虫雄虫体内的糖原含量较未合抱的少。两年后他们发现曼氏血吸虫雄虫体内的葡萄糖向雌虫转运^[49]。可以看出,上述组化研究结果所揭示的雄虫体内糖原的“偏向性”分布可能正是出于这个原因。而雌虫每日几乎把接近于自身干重的物质用来制造虫卵,所以需要大量的能量。但为什么雌虫在获得葡萄糖方面逐渐形成了对雄虫的部分依赖现在尚不清楚。

何毅勋等 (1964)^[5] 对在离体培养中的日本血吸虫成虫进行了动态地组织化学观察。结果显示,在不含葡萄糖的台氏液中培养 6 小时后,虫体实质组织和肌纤维内原先贮存的丰富的糖原颗粒明显减少。一般又以实质组织内的糖原比肌纤维中的消失得更早更快。这种受“饥饿”处理后糖原含量的减少进一步证明在血吸虫组织内的糖原是供作能量的来源。在 6 小时后调换含葡萄糖的台氏液继续培养 18 小时,虫体实质组织内和肌纤维中糖原又重新大量出现,且虫体活力有所增加。说明虫体能从环境中取得合成糖原的原料——葡萄糖。当切除体前端后不具口的合抱虫体在葡萄糖台氏液中培养 72 小时后,雌雄虫体实质组织和肌纤维中仍含有较丰富的糖原。这说明虫体可通过体表摄取葡萄糖。

目前公认,血吸虫为能量产生所需碳水化合物主要是通过虫体体表从宿主血液中吸收。其方式类似于脊椎动物体内的中间转运和扩散。

早年组化研究表明,在给予抗血吸虫药 TAC [Tris (P-aminophenyl) carbonium] 饲料 7—8 天后的鼠体内取得的曼氏血吸虫雄虫,表皮结节中糖原消失,结节变平。虫体实质组织和背侧体壁内糖原明显减少。从恢复正常饲料 7 天后的鼠体内取得的虫体,表皮结节再现,体内糖原含量恢复。抗血吸虫药硝基噻唑衍生物 CIBA32, 644-Ba 早期的作用也是雄虫糖原减

少,但对表皮结节中糖原的影响不明显^[50]。5-硝基咪喃衍生物 F-30066 不论在体外或体内的实验中均使原来贮存于日本血吸虫的实质组织和肌纤维中的糖原消失。这与血吸虫在无糖台氏液中离体培养后其体内糖原的消失情况很相似,但是,虫体与该药接触 6 小时后即使去除药原再调换不含药物的葡萄糖-台氏液继续培养,也不能发现虫体内的糖原有重新恢复。据以上结果可以认为, F-30066 药物对日本血吸虫的糖代谢有着影响,估计其杀虫作用与此有关^[4]。

杨元清等 (1979)^[51] 在应用组化方法探讨吡喹酮对日本血吸虫的作用方式时,发现鼠体内的血吸虫,经药物作用 24 小时后,其体内糖原含量明显减少或消失。而体外培养的血吸虫,即使仅与 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 浓度的吡喹酮接触 6 小时,其体内的糖原亦明显减少,此时,若将血吸虫移入不含药物的培养液内继续培养,也未见其体内糖原含量明显恢复。结合吡喹酮对虫体体表的严重损害以及碱性磷酸酶活力的显著降低或消失的事实,认为此药可能影响虫体对葡萄糖的吸收,从而消耗其内源性糖原,并最终导致虫体糖原含量减少甚至消失。

蛋 白 质

在日本血吸虫卵胚胎发育的各个时期均存在酪氨酸、色氨酸及组氨酸结合的蛋白质,其含量递进性增多。在成熟虫卵,毛蚴的一对头腺含非常丰富的碱性蛋白质。提示可能在功能上与顶腺不同^[6]。

Smith 等 (1969)^[39] 报道,曼氏血吸虫尾蚴的体被、体棘和表皮结节对显示二硫键和硫氢基的 DDD (Dihydroxy-dinephthyl-disulfide) 反应、显示色氨酸的 DMABNO₂ (Dimethyl aminobenzaldehyde-nitrate) 反应均呈阳性。

何毅勋等 (1980)^[7] 采用组化方法对移行在不同器官组织中的日本血吸虫童虫进行原位观察。结果表明,在鼠皮肤中的童虫体壁、体壁下层、头器和实质组织中的细胞对显示蛋白质结合酪氨酸、色氨酸及组氨酸的偶联四氮反应呈强阳性。在肺脏的第 3 天童虫,反应的结果与

在皮肤中的相仿。在肝脏的第7天童虫,肠上皮细胞的构造已经很明显。随后,肠上皮和食道腺细胞亦显示出强阳性反应。在肝门—肠系膜静脉的第14天童虫,卵巢中生殖细胞的阳性反应很强,输卵管与子宫均衬着呈阳性反应的上皮细胞。雄虫睾丸中生殖细胞一直呈强阳性反应。此后,在接近成熟或成熟雌虫的卵黄腺中,卵黄细胞的阳性反应也很明显。上述结果反映了蛋白质在不同日龄童虫体内的动态变化。

Wheater 等(1976)^[46]报道,在曼氏血吸虫成虫,雄虫体被背侧的蛋白质含量较腹侧的为多,雌虫没有这种现象。两性虫体的体被细胞体和肌纤维中均含较丰富的蛋白质。

在日本血吸虫成虫,虫体对蛋白质结合酪氨酸、色氨酸及组氨酸的阳性反应相当广泛。但更令人注目的是雌虫卵黄细胞的颗粒球中含丰富的蛋白质^[9]。有证据表明,卵黄细胞质中所含蛋白质的卵黄小滴是构成卵壳的主要成分。因此,约占雌虫虫体全长一半的卵黄腺构造所含蛋白质即是这种生理上需要的保证。有人曾推算:每条日本血吸虫雌虫每日产卵3,500个,而每个虫卵需由一个受精卵细胞及约20个卵黄细胞配备。以此估计,那么每条雌虫每日须供应7万个卵黄细胞,即每分钟供应50个。如此巨大的卵黄细胞产量,势必要求雌虫具有迅速合成蛋白质的特殊途径。若能针对这种生理特点,研制出以卵黄腺蛋白质合成代谢作为攻击点的抗血吸虫药物,那将会极大地减轻由虫卵引起的病理损害。

血吸虫雌虫每日需要合成大量蛋白质以制造虫卵。而用以合成蛋白质的原料——氨基酸和大分子肽类的来源也是多途径的:1. 摄取宿主血液中的红细胞,其摄取量比雄虫高7倍^[32]。然后,虫体内的蛋白酶将红细胞中的珠蛋白降解为小分子二肽,通过肠道吸收;2. 通过体表摄取某些游离氨基酸^[10,11,16];3. 个别大分子多肽由雄虫转运给予^[12]。

核 酸

核酸在生物的遗传和蛋白质合成中都起着

重要作用。在日本血吸虫卵的胚胎发育过程中,核酸物质随着新细胞的不断产生而相应增加。细胞核对显示DNA的Feulgen反应呈阳性,而细胞质和核仁对显示RNA的甲基绿-派若宁反应呈阳性^[6]。

Stirewalt 等(1973)^[45]报道,曼氏血吸虫成熟尾蚴的钻腺基底部和腺管对Feulgen反应均呈阴性。在日本血吸虫尾蚴的钻腺,DNA和RNA也均未被查见^[8]。这说明成熟尾蚴钻腺内的有关代谢并不活跃。Dorsey(1975)^[21]在超微水平对曼氏血吸虫尾蚴钻腺的发育情况进行了研究。观察到成熟尾蚴的钻腺基底被胞质充填得象一个大囊袋,而粗面内质网、高尔基复合体及线粒体等亚细胞结构均被推到了外周,并且逐渐开始退化。这个观察结果似乎证实了上述组化结果的真实性。

日本血吸虫发育的组化研究揭示,在鼠皮肤的童虫,虫体头部及体部的细胞均呈DNA和RNA的强阳性反应。在肺部的童虫,其体内的细胞对二种核酸的反应亦很强。在肝脏,发育第7天童虫的实质组织中的细胞大量增加。此时,在虫体后端可查见一团对核酸呈强阳性反应的生殖细胞。第14天,不仅虫体的食道腺细胞和肠上皮细胞的核酸反应明显,而且两性生殖细胞对显示核酸的反应较实质组织中的细胞为强。在以后的发育过程中,两性生殖腺及卵黄细胞一直含有丰富的核酸^[7]。

Wheater 等(1976)^[46]报道,曼氏血吸虫成虫体被的细胞体对显示核酸的甲基绿-派若宁、花青精-铬明矾及吡啶橙等三种试验均呈强阳性,而外皮层却呈阴性。这与日本血吸虫成虫体壁的组化结果一致。

在日本血吸虫,雄虫睾丸内未成熟的各级精母细胞含有中度的DNA,而精子中DNA含量最多。RNA的分布与DNA的有所不同,成熟精子RNA为阴性,仅未成熟的精母细胞的核仁与胞质呈中等强度的阳性。在雌虫,卵巢中未成熟的卵细胞DNA含量丰富,而成熟卵细胞内DNA含量较少;未成熟卵细胞中RNA含量很少,而成熟卵细胞核仁和胞质中

RNA 含量非常丰富；卵黄腺中卵黄细胞核含有明显的 DNA，而核仁和胞质中有大量的 RNA^[1]。一般认为，在蛋白质合成旺盛的组织内 RNA 含量高，血吸虫雌虫的卵黄细胞中的情况正是如此。除具有丰富的蛋白质外，还有大量的 RNA。

脂 类

生化和组化研究结果均表明，日本血吸虫卵含有脂类物质^[6,40]，而组化研究揭示了脂类物质在虫卵胚胎发育过程中的动态变化。在单细胞期卵内存在大量中性脂肪，主要是来自卵黄细胞。随着胚胎发育的进程，脂类物质逐渐减少，至毛蚴成熟期，脂类减少到用一般显示方法难以查见。脂类物质的减少与碳水化合物的增多相伴随，可能的内在关系和意义已在前面叙述。

DiConza (1976)^[20] 对体外培养的曼氏血吸虫母胞蚴和子胞蚴进行了脂类的组化研究。结果表明，这两期胞蚴的中性脂含量随培养的时间延长而增多，其分布大多在体被。但未查见非酯化脂肪酸。

Stirewalt (1959)^[43] 报道，曼氏血吸虫尾蚴的前、后钻腺对显示脂类的苏丹黑 B 和四氧化钼反应均呈阴性。最近，何毅勋 (1985)^[5] 报道日本血吸虫尾蚴的头腺及前、后钻腺也未被查见脂类物质。

尽管血吸虫尾蚴的单细胞腺体中未发现脂类，但有证据表明，环境中的脂类物质能影响尾蚴的行为。不饱和脂肪酸，特别是油酸能激惹尾蚴进行穿刺活动^[43]。在哺乳类和人类皮肤表面均有较多的皮脂，这对尾蚴的钻穿是有利的。

据报道，在鼠体内发育 1 周和 2 周的本血吸虫童虫其体内未查见脂类物质，发育第 3 周性刚成熟的虫体含有少量脂类颗粒。嗣后，雄虫的实质组织和雌虫卵黄细胞中脂类含量增多^[2]。Rumjanek 等 (1981) 报道，体外培育于 10% 小牛血清中的曼氏血吸虫童虫其脂类物质减少，而培育于 10% 人血清中的童虫，对胆固醇和甘油三酸酯的摄取增加。据认为，甘油

三酸酯具有保护虫体免受嗜酸性粒细胞介导的细胞毒作用。

日本血吸虫成虫体内的脂类物质含量很高。主要分布于雄虫的实质组织和雌虫的卵黄腺以及子宫中虫卵的卵黄细胞内^[2]。Haseeb 等 (1984)^[24] 将曼氏血吸虫成虫在恒低温箱中切片，然后用油红 O 染色观察。结果显示，雄虫含中性脂，主要见于表皮结节与实质组织。雌虫的中性脂主要分布于卵黄腺。

根据脂类物质在血吸虫卵胚胎发育过程中的变化和在成熟雌虫卵黄腺中卵黄细胞内含大量脂类与蛋白质的事实，不难看出，卵黄细胞具有双重生理功能：一是供应制造卵壳的材料；二是作为卵胚胎发育所需要的营养来源。

无 机 成 分

用组化方法研究血吸虫体内的无机成分，工作做得最多的还是在尾蚴的钻腺。

Stirewalt 等 (1961)^[44] 用 purpurin (红紫素) 对曼氏血吸虫尾蚴的前、后钻腺进行了染色观察。结果表明，该试剂能特异地使前钻腺染成红色，而后钻腺呈阴性反应。认为前钻腺内含物中存在不溶性钙盐。但 Lewert 等 (1966)^[34] 考虑到前人所用的 purpurin 不仅能与钙形成不溶性的沉淀，而且，在镁和其它重金属离子存在时也能产生颜色反应。所以，他们用 GBHA [Glyoxal-bis (2-hydroxyanil)] 对尾蚴钻腺进行钙离子的组化定位。GBHA 对钙离子有高度特异性，作用后形成鲜红色的钙螯合物。结果显示，在杜氏血吸虫和曼氏血吸虫尾蚴前钻腺均呈阳性，且腺体基底和腺管定位精确，而后钻腺呈阴性。但在日本血吸虫尾蚴定位很不理想，尽管前钻腺对 purpurin 反应呈阳性。这说明在不同血吸虫虫种之间钻腺内含物中的金属离子可能存在差异。Miura (1955)^[35] 曾报道，日本血吸虫尾蚴的前、后钻腺均含有钙、镁离子，此外，前钻腺还含有锌离子和铜离子。

现在已知，血吸虫尾蚴前钻腺内含物中有明胶酶等多种蛋白水解酶，这些酶在尾蚴钻穿宿主皮肤时被分泌出来并发挥作用。而钻腺中

钙、镁等金属离子存在的意义就在于作为这些酶的辅基或激活剂^[34]。然而,体外实验表明,钙离子浓度过高也能使钻腺内的蛋白酶失活^[22]。联想到不同血吸虫病流行区的感染性差异,未必与自然水中某些金属离子的浓度无关?

以上比较详细地综述了血吸虫体内碳水化合物、蛋白质、核酸、脂类及无机成分的定位分布与动态变化。

在血吸虫卵胚胎发育过程中,卵黄细胞为之提供了营养保证;在成熟血吸虫卵,毛蚴的腺细胞合成并分泌抗淀粉酶 PAS 阳性物质,这些物质通过卵壳向外渗透。这为解释何博礼现象和环卵沉淀反应这种血清学现象提供了实验依据;血吸虫尾蚴体表的丝状被具中性糖蛋白的性质,它对于维持糖膜结构的完整性、保护尾蚴在淡水中生活以及在尾蚴膜反应中都起着重要作用;尾蚴前、后钻腺的内含物不同,前钻腺主要含一些能溶解宿主组织的酶类(将另作介绍)和钙、镁等无机成分,而后钻腺主要含 PAS 阳性物质,且这些物质不受淀粉酶和醋酐的影响。在功能上,前、后钻腺既分工又合作;在童虫的发育过程中,随着新细胞的出现和各器官的形成,碳水化合物、蛋白质、核酸及脂类等物质逐渐增多。表明在童虫体内进行着活跃的代谢活动;血吸虫雄虫体内的糖原呈“偏向性”分布,这种分布的生理学意义在于有利于合抱状态中的雄虫向雌虫转运葡萄糖,以供具高代谢速率的雌虫的生理需要;吡喹酮等抗血吸虫药物可影响虫体的糖代谢;表现在虫体内糖原含量的减少甚至消失,因而虫体的活力降低,此乃上述药物杀虫作用的方式之一。

参 考 文 献

[1] 何毅勋 1962 日本血吸虫的组织化学研究 I. 成虫体内核酸、氨基酸、糖原和磷酸酶分布。动物学报 14(4): 433—437。
[2] —— 1963 日本血吸虫的组织化学研究 II. 脂类、脂酶和非特异性酯酶的组织化学证明。动物学报 15(3): 363—371。
[3] ——等 1964 日本血吸虫的组织化学研究 III. 在离体培养中虫体组织化学的动态。动物学报 16(2): 165—169。

[4] ——等 1964 F-30066 对日本血吸虫作用的组织化学观察。药学学报 11(3): 174—177。
[5] ——等 1974 日本血吸虫卵形成的生理。动物学报 20(3): 243—257。
[6] ——等 1979 日本血吸虫卵胚胎发育的组织化学研究。动物学报 25(4): 304—310。
[7] ——等 1980 日本血吸虫发育的组织化学研究。动物学研究 1(4): 453—463。
[8] ——等 1985 日本血吸虫尾蚴的组织化学及扫描电镜观察。动物学报 31(1): 6—11。
[9] 杨元清等 1979 吡喹酮对日本血吸虫及动物宿主肝脏作用的组织学观察。中国医学科学院学报 1(1): 7—10。
[10] Asch HL et al, 1975 Transtegumental absorption of amino acids by male *Schistosoma mansoni*. *J. Parasit* 61: 378—379。
[11] Asch HL et al, 1975 Membrane transport in *Schistosoma mansoni*: transport of amino acids by adult males. *Exp Parasit* 38: 123—135。
[12] Atkison KH et al, 1980 Biochemical basis for the continuous copulation of female *Schistosoma mansoni*. *Nature, London* 283: 478—479。
[13] Austin F. et al. 1974 Further studies of *Schistosoma mansoni* cercarial stimulation by crude egg lecithin and other lipids. *Parasit* 69: 455—463。
[14] Bogitsh BJ et al, 1975 Immunocytochemical studies on *Schistosoma mansoni* I. Soluble egg antigen in egg-shell-enclosed miracidium. *J Parasit* 61: 1031—1040。
[15] Bueding E, 1967 Some physiological, biochemical, and morphological effects of Tris (p-Aminophenyl) Carbonium Salts (TAC) on *Schistosoma mansoni*. *Am J Trop Med Hyg* 16: 500—515。
[16] Chappell LH, 1974 Methionine uptake by larval and adult *Schistosoma mansoni*. *Intern J Parasit* 4: 361—369。
[17] Clegg J, 1972 Functional aspects of parasite surfaces. *British Society for Parasitology Symposium*, No. 10: 23—40 London: Blackwell.
[18] Cornford EM et al, 1979 Transintegumental uptake of metabolic substrates in male and female *Schistosoma mansoni*. *J Parasit* 65: 357—363。
[19] ——, 1981 Glucose transfer from male to female schistosomes. *Science* 213: 1269—1271。
[20] DiConza JJ et al, 1976 Accumulation of lipids in *Schistosoma mansoni* sporocysts culture in vitro. *J Invertebr Pathol* 28: 337—340。
[21] Dorsey CH, 1975 *Schistosoma mansoni*: development of acetabular glands of cercaria at ultrastructure level. *Exp Parasit* 37: 37—59。
[22] Dresden MH et al, 1975 *Schistosoma mansoni*: calcium content of cercariae and its effects on protease activity in vitro. *J. Parasit* 61: 398—402。
[23] Gress FM et al, 1976 *Schistosoma mansoni*: Topochemical features of intrasporocyst cercariae. *J Parasit* 62: 927—938。
[24] Haseeb MA et al, 1984 Histochemical lipids studies on *Schistosoma mansoni* adults maintained in situ and in vitro. *Intern J Parasit* 14: 83—88。

- [25] Hockley DJ, 1972 *Schistosoma mansoni*: the development of the cercarial tegument. *Parasit* 64: 245—252.
- [26] Hockley DJ et al, 1973 *Schistosoma mansoni*: changes in the outer membrane of cercaria to adult worm. *Intern J Parasit* 3: 13—25.
- [27] Kassim O et al, 1976 Hatching of *Schistosoma mansoni* eggs and observations on motility of miracidia. *J Parasit* 62: 715.
- [28] Kemp WM, 1970 Ultrastructure of the cercarienhüllenreaktion of *Schistosoma mansoni*. *J Parasit* 56: 713—723.
- [29] Kemp WM, 1973 *Schistosoma mansoni*: immunohistochemical localization of the CHR reaction in glycolyx of cercaria. *Exp Parasit* 33: 27—33.
- [30] Kent PW, 1967 Structure and function of glycoproteins. In P. N. Campbell and G. D. Greville (eds), *Essays in Biochemistry*, Volume 3, Academic Press, New York, p. 105—151.
- [31] Kusel J, 1971 The effects of various treatments on the surfaces of cercariae and schistosomula of *Schistosoma mansoni*. *Parasit* 62: 199—207.
- [32] Lawrence JD, 1973 The ingestion of red blood cells by *Schistosoma mansoni*. *J Parasit* 59: 60—63.
- [33] Lawson JR et al, 1980 The survival of the cercariae of *Schistosoma mansoni* in relation to water temperature and glycogen utilization. *Parasit* 81: 337—348.
- [34] Lewert RM et al, 1966 The role of calcium and magnesium ions in invasiveness of schistosome cercariae. *Am J Trop Med Hyg* 15: 314—323.
- [35] Miura M, 1955 Histochemical studies on *Schistosoma japonicum* 3. Histochemical studies of cercariae (Japanese). *Kumamoto Igakukai Zasshi* 29: 99—109.
- [36] Pelley RP et al, 1976 *Schistosoma mansoni* soluble egg antigens IV. Biochemistry and immunochemistry of major serological antigens with particular emphasis on MSA. In *Biochemistry of Parasites and Host-Parasite Relationships* (ed. H. van den Bossche) p. 283—290 Amsterdam: Elsevier/North Holland Biomedical Press.
- [37] Pelley RP et al, 1976 *Schistosoma mansoni* soluble egg antigens I. Identification and purification of three major antigens, and the employment of radioimmunoassay for their further characterization. *J Immunol* 117: 1553—1560.
- [38] Rifkin E, 1970 An ultrastructural study of the interaction between the sporocysts and the developing cercariae of *Schistosoma mansoni*. *J Parasit* 56 (No. 4, sect. 2): 284.
- [39] Smith JH et al, 1969 The integument of *Schistosoma mansoni*. *Am J Trop Med Hyg* 18: 28—48.
- [40] Smith TM et al, 1977 Fatty acid and lipid class composition of *Schistosoma japonicum* eggs. *Comp Biochem Physiol* 57B: 59—63.
- [41] Stein PC et al, 1973 *Schistosoma mansoni*: Topochemical features of cercariae, schistosomula, and adults. *Exp Parasit* 33: 499—514.
- [42] Stirewalt MA, 1957 Histochemical assay of the secretions from the acetabular gland complex of cercariae of *Schistosoma mansoni*. *Am J Trop Med Hyg* 6: 390.
- [43] Stirewalt MA, 1959 Isolation and characterization of deposits of secretion from the acetabular gland complex of cercariae of *Schistosoma mansoni*. *Exp Parasit* 8: 199—214.
- [44] Stirewalt MA et al, 1961 Activity of the acetabular secretory apparatus of cercariae of *Schistosoma mansoni* under experimental conditions. *Exp Parasit* 11: 191—211.
- [45] ———, 1973 Histochemical analysis of the postacetabular gland secretion of cercariae. *Exp Parasit* 33: 56—72.
- [46] Wheeler PR et al, 1976 The tegument of *Schistosoma mansoni*: a histochemical investigation. *Parasit* 72: 99—109.