

斯氏狸殖吸虫排泄上皮的光镜与电镜观察*

郑时春 张敏如

(西安医科大学寄生虫学教研室, 710061)

摘要 斯氏狸殖吸虫排泄囊表面被覆单层上皮, 上皮具有多态性, 细胞核明显, 细胞质内含嗜硷颗粒。扫描电镜观察到上皮表面有丝状物覆盖, 其走向不定, 相互吻合, 成为迷宫式结构。透射电镜下发现丝状物为板层, 呈环状, 两端与上皮细胞连接, 胞质中可见线粒体、内质网等; 基底膜形成基底板向上皮内伸入。¹⁴C-葡萄糖放射自显影实验示排泄上皮可能有滤过和重吸收作用。

为了对肺吸虫形态结构、生理代谢以及探讨药物杀虫作用机制的研究积累资料, 本人曾报告了斯氏狸殖吸虫 (*Pagumogonimus skrjabini*) 正常组织化学和肠上皮结构与功能的研究结果, 同时还对其各期进行了扫描电镜观察。本文报告其排泄上皮光镜与电镜的观察结果。

材料与方 法

从陕西宁强斯氏肺吸虫病流行区捕捉溪蟹, 收集囊蚴, 经腹腔注射感染家犬和大鼠。犬感染后 28 天和 90 天, 大鼠感染后 40 天解剖, 检获童虫和成虫, 做如下处理。

组织切片 将成虫用 10% 福尔马林液固定, 石蜡切片, H.E 染色, 光镜观察。

¹⁴C-葡萄糖放射自显影 ¹⁴C-葡萄糖 (2% 乙醇水溶液) 和核 4 型原子核乳胶由中国科学院原子能研究所供给。¹⁴C-葡萄糖的放射性比度 30mci/g, 放射性浓度 150uci/ml, 放化纯度 96% 以上。剖出之虫体先用无菌 Earle's 液 (pH 7.4) 反复冲洗后, 放入含 1uci/ml 的 ¹⁴C-葡萄糖、10% 小牛血清和少量青链霉素的 RPMI 1640 培养基中, 常规培养 6 小时。终止培养后用上述洗液清洗, 再置 80% 丙酮和无水乙醇各半的固定液中固定, 常规石蜡切片, 95% 热乙醇展片 (防止放射性葡萄糖丢失), 烘干后脱蜡, 在暗室内将加热至 40℃ 溶化的核乳胶均匀地涂布在切片上, 吹干后黑纸包严, 曝射 120

天(4℃), 最后经显影、定影、苏木素-伊红染色, 光镜观察。

扫描电镜样品制备 剖出虫体在体视显微镜下经排泄囊纵行切开, 在含 2.5% 戊二醛的磷酸缓冲液 (0.2 mol/L, 4℃) 中固定 3 小时, 经上述缓冲液洗后, 用 1% 四氧化锇后固定 2 小时, 洗后梯度浓度乙醇脱水, 醋酸异戊酯置换 Hitachi HCP-2 型二氧化碳临界点干燥仪干燥, Eiko IB-5 型离子镀膜仪喷金膜, 最后送入 Hitachi S-520 型扫描电镜在 15kV 加速电压下观察拍照。

透射电镜样品制备 固定脱水同上, 环氧丙烷置换, Epon 812 包埋, LKB-5 型超薄切片机切片, 经醋酸铀枸橼酸铅双重染色后, Hitachi H-600 型透射电镜观察拍照。

结 果

光镜观察 在切片上排泄囊表面不平整, 上皮细胞呈单层排列, 无明显细胞界限, 细胞质形成许多皱襞样结构伸向囊腔, 可见细胞核及嗜硷颗粒。上皮细胞某些部位呈线状覆盖囊表面, 此时核间距较大 (图 1, 图 1—9 见封 2)。

显微放射自显影 ¹⁴C-葡萄糖自显影实验显示实质中的排泄管腔内有大量银粒子出现 (图 2), 而排泄囊银粒则呈线状位于上皮细胞

* 本室史文利和李小其同志协助采集标本, 核医学教研室苟秉义副教授指导放射自显影实验, 特此致谢。

内,囊腔内很少出现(图3)。

扫描电镜观察 扫描电镜下排泄囊表面不光滑,覆盖一层丝状物,其走行无一定方向,且相互吻合形成迷宫式网络,丝状物末端可见膨大(图4,5)。

透射电镜观察 低倍放大时,排泄囊上皮表面覆盖板层(lamellae),板层呈环状,两端接上皮细胞,中段游离。板层下方胞质电子密度较大,但其中未见细胞器,此致密区以下有线粒体、内质网及核糖体等。上皮基部质膜形成皱褶伸入细胞内,但不到达致密区(图6)。高倍放大时,见板层由两侧的质膜中夹均质结构组成,质膜与细胞膜连续,外表面有一层纤维状糖萼,可见板层分枝吻合。上皮顶部呈颗粒状,胞质内线粒体多呈椭圆形,稀少,基质电子密度较高(图7)。

犬体28天龄和鼠体40天龄童虫排泄囊超微结构基本同成虫。犬体童虫排泄囊上皮板层内常包裹有大量分泌体,其电子密度很高,均质状。这些分泌体可以通过板层的破坏而进入腔中(图8)。鼠体童虫上皮板层更整齐些,基部质膜伸入细胞内形成复杂的网状结构(图9)。

讨 论

吸虫排泄系统结构和功能很复杂,但迄今国内尚无详尽的文献记载。Erasmus(1967)报告杯叶吸虫(*Cyathocotyle bushiensis*)排泄上皮细胞为合胞体,顶部胞质形成板层,板层中部游离,两端与上皮细胞连接;基部质膜向上皮内伸入形成许多基板(lamina),胞质中有线粒体和核糖体等。Powell(1974)报告*Ochetosoma aniarum*排泄囊上皮亦有上述结构,这些研究报告与本文关于斯氏狸殖吸虫排泄囊的观察结果类似。Powell指出排泄上皮的板层是在囊期就形成的,笔者发现28天龄童虫的板层与

90天龄成虫板层无明显差异,说明虫体发育早期就具有这些板层。关于板层的功能,一般认为是扩大表面积,有利于分泌、排泄和吸收。

Erasmus(1967)指出排泄上皮参与脂类的积累、合成与排泄,该氏观察到上皮板层内包裹有脂滴,后者最终借板层的破裂排入管腔,进而排出体外。虫体在终宿主体内刚脱囊时,上皮内含的排泄小体(excretory corpuscles),3天后转变为脂滴。我们在犬体和鼠体童虫排泄上皮的板层内均查见一种高电子密度的分泌体,可能就是起排泄作用的排泄小体。

Halton(1967)推论排泄上皮内磷酸酶的存在与物质进出排泄上皮有关,因为焰细胞对低分子代谢物如单糖选择性不强,实质中的代谢物滤入管腔,需要被重吸收。笔者在¹⁴C-葡萄糖放射自显影中发现斯氏狸殖吸虫与放射性葡萄糖接触6小时,排泄管内有大量银粒子出现,排泄囊腔内无银粒子,但被覆上皮细胞内又银粒成串。我们认为排泄管内的糖是经实质滤入的,向下经集合管和排泄囊时不断被重吸收入入上皮细胞内,这种重吸收作用,使吸虫避免了能源物质和营养物质的丢失。

参 考 文 献

- [1] 郑时春等 1988 斯氏狸殖吸虫成虫组织化学观察 动物学报 34(3): 206—209。
- [2] 郑时春等 1988 斯氏狸殖吸虫肠上皮的光镜与电镜观察 动物学报 34(4): 380—381。
- [3] 郑时春等 1988 陕西宁强斯氏狸殖吸虫成虫扫描电镜观察 中国人兽共患病杂志 4(5): 30—31。
- [4] Erasmus D. A. 1967 Ultrastructural observations on the reserve bladder system of *Cyathocotyle bushiensis* Khan 1962 (Trematoda: Strigeoidea) with special reference to lipid excretion. *J Parasitol* 53: 525—536.
- [5] Halton D. W. 1967 Studies on phosphatase activity in Trematoda. *J Parasitol* 53: 46—54.
- [6] Powell E. C. 1979 Fine structure of the excretory bladder epithelium in adult *Ochetosoma aniarum*(Leidy 1891). *J Parasitol* 65: 328—331.

《斯氏狸殖吸虫排泄上皮的光镜与电镜观察》

一文之附图

(正文见第 6 页)

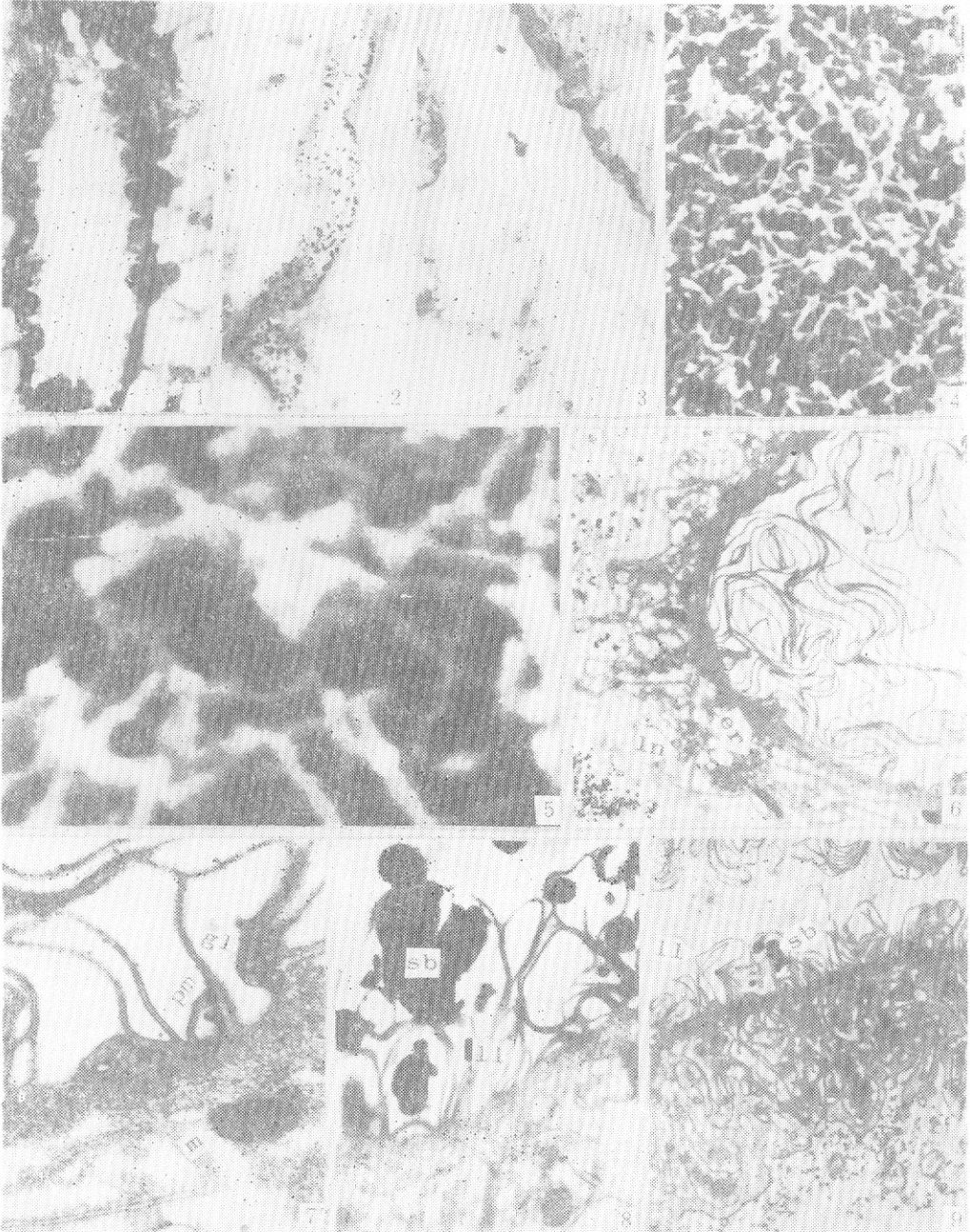


图1 斯氏狸殖吸虫排泄上皮的光镜观察； 图2—3 ^{14}C -葡萄糖放射自显影。图2 排泄管内有银粒 $\times 475.2$ ；图3 排泄囊上皮细胞内有银粒，囊腔内无银粒 $\times 110.7$ ； 图4—5 扫描电镜观察。图4 上皮表面的丝状物 $\times 9\,000$ ；图5 放大的丝状物 $\times 36\,000$ ； 图6—9 透射电镜观察。图6 上皮细胞的板层、线粒体、内质网和基板(er,ln) $\times 5\,400$ ；图7 上皮细胞内的线粒体、质膜及糖萼(Pm, gl, m) $\times 18\,000$ ；图8 犬体童虫上皮表面的板层及分泌体(l1, Sb) $\times 9\,000$ ；图9 鼠体童虫上皮的板层及分泌体(l1, Sb) $\times 5\,400$