第11卷 第1期　　水生生物学报　　Vol. 11, No. 1
1987年3月　　ACTA HYDROBIOLOGICA SINICA　　Mar., 1987

日本血吸虫尾蚴人工方法转变的童虫超微结构的观察

王　薇　　周述龙
（湖北医学院寄生虫学教研室、血吸虫病研究室，武汉）

提　　要

本文报道日本血吸虫尾蚴经注射器推压和血清孵育两种人工方法转变的童虫与载体皮肤型童虫的透射及扫描电镜的观察结果。描述了三种童虫在转变后3小时至12小时其糖膜、外质膜、体被内包含体及腺体的超微结构的变化。

关键词　日本血吸虫，超微结构，尾蚴，童虫

近年来，人工方法转变的血吸虫童虫已广泛用作血吸虫体外培养、血吸虫病免疫学和药物学研究的材料. 因此，有必要了解和掌握其形态学及生理学特征。作者曾观察了日本血吸虫尾蚴经机械方法和血清方法转变为童虫的过程，并对其生理学变化进行了研究。本文比较这两种人工方法转变的童虫与皮肤型童虫的超微结构特征。

材料与方法

1. 童虫的制备

人工感染日本血吸虫的湖北钉螺经常规方法逸出尾蚴。尾蚴用盖玻片粘贴法收集，用含0.5%水解乳蛋白的Earle's液离心洗涤3次。部分尾蚴用血清孵育方法转变为童虫（简称血清童虫），即将尾蚴置50%新鲜兔血清的RPMI 1640培养基中，在37℃，5% CO_2 培养箱内孵育3小时和12小时；部分尾蚴经机械方法转变为童虫（简称机械童虫），即用6号针头及10毫升注射器推压尾蚴14—18次，将童虫置0.5%水解乳蛋白的Earle's液中，在培养箱内孵育3小时和12小时；小白鼠经腹部皮肤感染500—1,000条尾蚴，分别于感染后3、12小时，收集皮肤内童虫（简称皮肤童虫）。

2. 电镜观察

（1）透射电镜　童虫置冷冻的2.5%戊二醛（二甲胂酸钠缓冲液配制）中固定1小时（4℃）。用缓冲液洗3次后，置1%锇酸中固定1小时，用缓冲液洗后经丙酮逐级脱水，用Epon 812进行包埋，经离心使童虫集中于包埋块的底面，用LKB超薄切片机切片后，每个样品上有多个虫体的各种切面。经醋酸铀、柠檬酸铅染色，置Philips JEM 400或

1985年10月4日收到。

Hitachi H 600 透射电镜观察。

(2) 扫描电镜 按上述方法固定后的童虫经逐级酒精脱水,临界点干燥,喷金仪内喷金,置 JEM-25 S 型扫描电镜观察。

结 果

日本血吸虫尾蚴转变成童虫后,其形态及生理均发生明显的变化,以适应淡水自由生活过渡到宿主体内寄生生活的环境变化。本试验表明,三种童虫(血清、机械、皮肤童虫)在转变后 3 小时及 12 小时,其糖膜、外质膜、体被内包含体、头腺、前后钻腺等超微结构呈适应性动态变化。

1. 糖膜 日本血吸虫尾蚴体表覆盖有一层厚的糖膜。电镜观察见孵育 3 小时的血清童虫体表的糖膜变得厚薄不匀(图版 I:1)。孵育 3 小时的机械童虫体表的糖膜呈薄而不连续的状况,糖膜与体表分离,其间出现明显的间隙(图版 I:2)。3 小时皮肤童虫体表亦可见少量的糖膜。而 12 小时机械及皮肤童虫体表糖膜几乎完全消失,偶尔见糖膜的痕迹(图版 I:3)。

2. 外质膜 血吸虫尾蚴的外质膜由一个单位膜构成,即两层电子致密层及其间的电子透明层,呈 3 层结构。3 小时血清童虫体表大部分区域仍为 3 层结构的外质膜,但某些部位的外质膜已变为 5—7 层(图版 I:4)。7 层的外质膜由两个单位膜构成。3 小时机械童虫及皮肤童虫的外质膜多为 3 层或 5 层。至 12 小时,三种童虫外质膜的变化基本相似,其体表均为交替的 3—5—7 层结构的外质膜(图版 I:5,6)。

3. 体被内包含体 童虫体被中存在包含体。根据其形态大致可分为三类:杆状体、膜状囊和多膜体。杆状体为长椭圆形,其表面由一层单位膜包绕,中间为致密的基质。膜状囊分别有 3 层、5 层或 7 层膜结构的膜状囊,中央均为电子透亮区。多膜体的外周为多层的膜状结构,中央为电子密度较高的基质(图版 I:7—9)。3 小时及 12 小时的三种童虫体被内均可见杆状体、多膜体及膜状囊(表 1)。

在 3 小时机械童虫体被中发现胞质桥结构,胞质桥穿过肌层,连通体被及体被下组织。在近质桥的体被下有一些圆形或杆状的包含体,沿胞质桥的方向排列(图版 I:10)。将这些小体放大观察,可见 7 层膜的多膜体(图版 I:11)、3 层膜的膜状囊和杆状体,其形态与体被中的包含体相似。推测体被中的包含体是由体被下细胞合成,经胞质桥运至体被内。这一观察与曼氏血吸虫的结果一致 Hockley (1973)[6]。

4. 头腺 3 小时血清童虫的体前部可见头腺腺管的结构,腺管壁较薄,为膜状结构。管腔内充满分泌颗粒,颗粒大多为膜状结构(图版 II:12)。3 小时皮肤童虫头腺基底部充满分泌颗粒,颗粒均为非膜状结构。12 小时机械童虫头腺基底部中央有一大的细胞核,分泌颗粒亦均为非膜状结构,基底部内还有一些线粒体结构。从头腺基底部向外周发出几条弯曲的腺管,其内亦充满分泌颗粒(图版 II:13)。12 小时皮肤童虫头腺基底部仍有少量分泌颗粒(图版 II:14)。

根据观察,日本血吸虫的头腺由单细胞的基底部及其发出的多条腺管组成。腺基底部的分泌颗粒为非膜性结构,而至腺管内则逐渐变成膜性结构的分泌颗粒。

表 1　日本血吸虫童虫体被内包含体的种类和大小

Tab. 1　Types and size of inclusion bodies in the tegument of schistosomules

包含体 Inclusion	童虫 Schistosomule	平均大小（微米） Average size (mμ)
杆状体 rod-shaped bodies	3小时　机械童虫　3h　mech-S*	121×29(93×21—141×35)
	3小时　皮肤童虫　3h　skin-S**	146×58(118×59—176×59)
	12小时　机械童虫　12h　mech-S	97×26(86×29—106×24)
	12小时　皮肤童虫　12h　skin-S	142×59(133×50—150×67)
膜状囊 membranous vesicles	3小时　机械童虫　3h mech-S	110×58(93×64—136×73)
	3小时　皮肤童虫　3h skin-S	126×78(91×88—176×94)
	12小时　血清童虫　12h seru-S***	255×195(282×182—227×136)
	12小时　皮肤童虫　12h　skin-S	103×79(83×58—117×83)
	12小时　机械童虫　12h　mech-S	133×89(86×64—173×127)
多膜体 multilamellated bodies	3小时　皮肤童虫　3h skin-S	167×96(113×63—235×141)
	12小时　机械童虫　12h mech-S	105×52(91×45—118×59)
	12小时　皮肤童虫　12h skin-S	163×110(100×67—229×114)

* mech-S: mechanical schistosomules。
** skin-S: skin schistosomules。
*** seru-S: serum schistosomules。

5. 前钻腺　3 小时皮肤童虫前钻腺腺管内有分泌颗粒。12 小时皮肤童虫前钻腺基底部内仍有一些分泌颗粒，颗粒呈块状，颗粒内有多个球形的透明区(图版 II:14)。

人工转变童虫未观察到前钻腺的结构。

6. 后钻腺　3 小时血清童虫和皮肤童虫体后部几乎完全被后钻腺基底部占住（图版 II:15)，其内分泌颗粒为规则的长椭圆形，横切面为圆形。分泌颗粒外周为三层结构的膜，内为细粒状基质。3 小时皮肤童虫纵切面可见蜿蜒向前的后钻腺腺管（图版 II:16)，腺管的外周有许多肌纤维束和大核的细胞支持。

至 12 小时，三种童虫后钻腺基底部和腺管内的分泌颗粒明显减少或者部分排空，无颗粒的空间由一些形状不规则的电子致密的物质充填。

7. 前端结构及体尾连接处　尾蚴体前端有一对半月形结构，由包绕腺管开口的隆起皮褶及 7 对感觉乳突构成[1]。三种童虫在转变后 3 小时和 12小时，其前端半月形结构和感觉乳突逐渐退化或消失。12 小时血清童虫可见半月形结构退化，一侧腺管开口消失，另一侧腺管开口的外侧并列的 3 个较大的孔为后钻腺开口，内侧并列的 2 个较小的孔为前钻腺开口(图版 II:17)。

人工方法断尾后的 3 小时童虫体部末端的体尾连接处断面呈环套状结构（图版 II: 18)，断面内可见连接体部及尾部的 6—7 束肌纤维束，其中央有一较大的排泄管腔。而 12 小时的童虫体部末端的环套状结构收缩(图版 II: 19)。可能血吸虫童虫是通过此种方式修复其断尾处的创面。

讨　　论

观察表明，日本血吸虫尾蚴在体外经人工方法转变的童虫超微结构的变化与经宿主

皮肤转变的童虫基本相同，但其变化的时间较曼氏血吸虫童虫为慢（Cousin 等 1981）[4]。说明两种血吸虫在形态变化的生物学方面有所不同。钻穿皮肤并非是血吸虫尾蚴转变成童虫的必需条件。日本血吸虫尾蚴转变成童虫后的早期超微结构变化主要表现在体壁及腺体。

1. 体壁变化 本结果表明，日本血吸虫尾蚴转变成童虫后，体壁超微结构主要变化包括糖膜的逐渐消失；外质膜变为 3—5—7 层的结构；前端结构退化消失（表 2）。

表 2 日本血吸虫童虫体表结构的变化

Tab. 2 Changes of the structures on the body surface of *S. japonicum* schistosomules

	血清童虫 seru-S		机械童虫 mech-S		皮肤童虫 skin-S	
	3h	12h	3h	12h	3h	12h
糖 膜 glycocalyx	厚薄不匀 thin or thick, uneven	薄而不连续 discontinuous	薄而不连续 discontinuous	几乎消失 almost absent	少 量 remnants	几乎消失 almost absent
外质膜 outer membrane	3—5—7 层 3—5—7 layers	3—5—7 层 3—5—7 layers	3—5 层 3—5 layers	3—5—7 层 3—5—7 layers	3—5 层 3—5 layers	3—5—7 层 3—5—7 layers
前端结构 anterior structure	退 化 degenerated	退 化 degenerated	退 化 degenerated	退 化 degenerated	退 化 degenerated	退 化 degenerated
体尾连接断面 body-tail link section	断 面 open	收 缩 contracted	断 面 open	收 缩 contracted	断 面 open	收 缩 contracted

日本血吸虫自尾蚴转变成童虫的过程中，其体壁的超微结构的变化是血吸虫适应由淡水生活过渡到寄生生活的生理基础。根据实验观察，推测在体被下细胞中形成的膜状囊及小体经胞质桥至体被，然后，这些包含体的膜与体被融合形成新的外质膜。因此，体被中的包含体可能是外质膜增加的物质基础（Hockley 1973）[6]。已有实验证实，宿主血液中的补体可杀伤刚转变的血吸虫童虫，但大多数童虫在 24 小时内能产生抵抗抗体及补体杀伤的能力（Clegg 1972）[3]。这种迅速产生的保护力可能与 7 层外质膜的形成有关。本观察发现，在童虫转变的早期，体表外质膜的增加是 3—5—7 层的逐渐变化过程。可能外质膜层数的逐渐增加与童虫抗免疫因素杀伤的能力的逐渐形成是一致的。外质膜的增加使童虫能适应在宿主血液中生存。

2. 腺体变化 在转变早期，童虫头腺分泌颗粒从基底部向腺管运行的过程中，其形状从实质性变成膜性。这与 Dorsey（1976）[5] 在曼氏血吸虫的观察一致。Dorsey 认为头腺的机能是修复尾蚴钻穿过程中前端体被的损伤。而人工转变的童虫亦出现头腺排空的现象，推测头腺还有其它生理功能。

三种童虫在转变的早期均出现钻腺的分泌颗粒逐渐排出。显然血吸虫尾蚴钻腺的排空不一定依赖于钻穿过程，可能与生存环境的理化因素变化有关。如温度、渗透压及 pH 值的变化均可能作为启动钻腺分泌物排出的因素。然而，部分三种童虫在转变 12 小时后，钻腺尚未完全排空，这与唐仲璋等（1973）[2] 用组化方法证实的结果基本一致，他们发现肝脏早期的童虫尚保留有钻腺的残余物质。因此，是否以钻腺排空作为日本血吸虫童虫的特征之一值得讨论。

参　考　文　献

[1] 周述龙等，1984。日本血吸虫尾蚴扫描电镜的初步观察。寄生虫学与寄生虫病杂志，**2**(1): 58。
[2] 唐仲璋等，1973。日本血吸虫成虫和童虫在终末宿主体内异位寄生的研究。动物学报，**19**: 220—237。
[3] Clegg, J. A. & S. R. Smithers, 1972. The effects of immune rhesus monkey serum on *Schistosoma mansoni* during cultivation *in vitro*. *Int. J. Parasitol.*, **2**: 79—98.
[4] Cousin, C. E., Stirewalt, M. A. & C. H. Dorsery, 1981. *Schistosoma mansoni*: Ultrastructure of early transformation of skin and shear-pressure-derived schistosomules. *Exp. Parasitol.*, **51**: 341—365.
[5] Dorsey, C. H., 1976. *Schistosoma mansoni*: Description of the head gland of cercariae and schistosomules at the ultrastructural level. *Exp. Parasitol.*, **39**: 444—459.
[6] Hockley, D. J.. 1973. Ultrastructure of the tegument of schistosome. *Adv. Parasitol.*, **3**: 233—305.

OBSERVATION ON THE ULTRASTRUCTURE OF *SCHISTOSOMA JAPONICUM* SCHISTOSOMULA TRANSFORMED FROM CERCARIAE BY ARTIFICIAL METHODS

Wang Wei and Zhou Shulong

(Section of Parasitology, Research Laboratory of Schistosomiasis, Hubei Medical College, Wuhan)

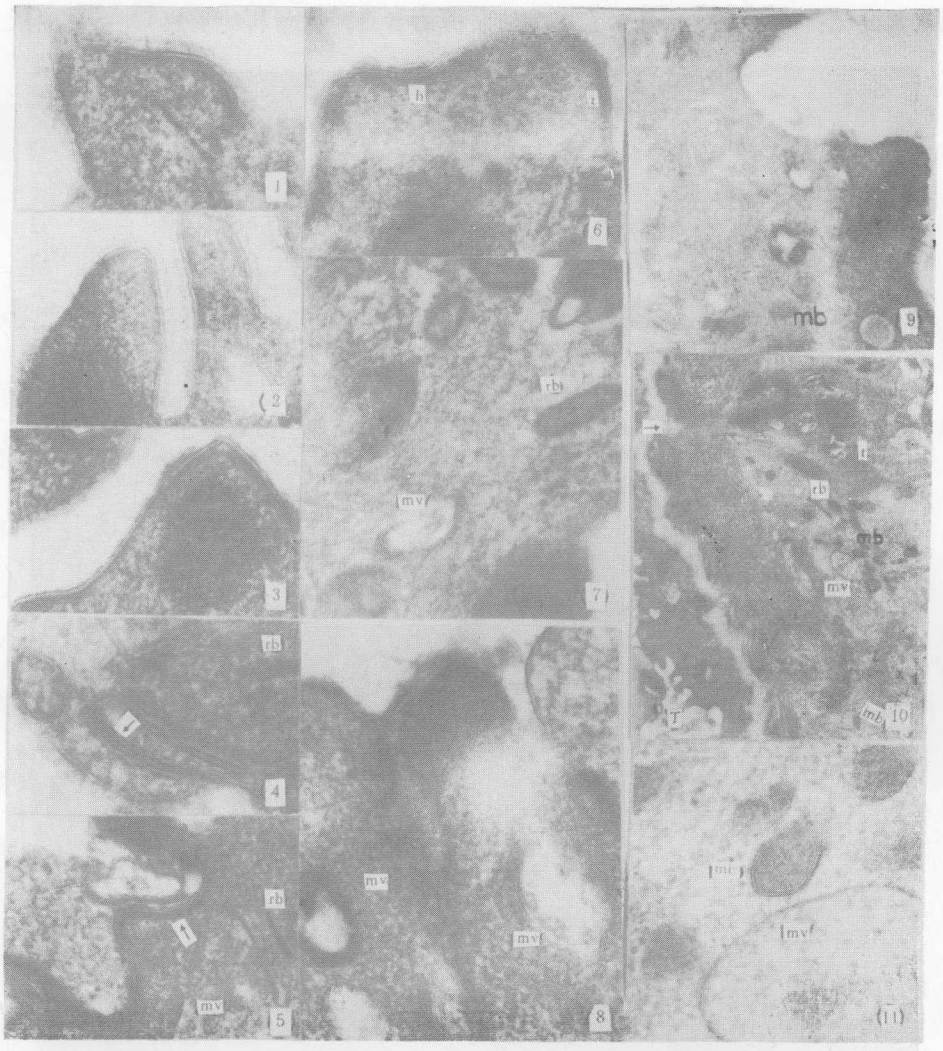
Abstract

This paper reports the observation on the ultrastructure of *Schistosoma japonicum* schistosomules with scanning and transmission electron microscopes. Schistosomules were transformed from cercaria by syringe mechanical method and by fresh serum incubation *in vitro* or skin penetration *in vivo*. The dynamic changes of schistosomules after being transformed for 3hrs and 12hrs were observed mainly in tegument and glands.

1. Changes in tegument: The glycocalyx was reduced on the surface of the schistosomules that were transformed by mechanical method or skin penetration in 3hrs, and only its trace was seen on 12hrs worms. The glycocalyx was thin and discontinuous on 12hrs serum schistosomules. The outer membrane of three kinds of 12hrs schistosomules changed into tri-, penta- or hepatalaminate structure. The inclusion bodies in tegument such as rod-shaped body, membranous vesicles and multilamellated body were present in 3hrs individuals and their number was larger in 12hrs worms. The anterior structure such as two crescents and sensory papillae were degenerated. The openings of acetabular glands were closed.

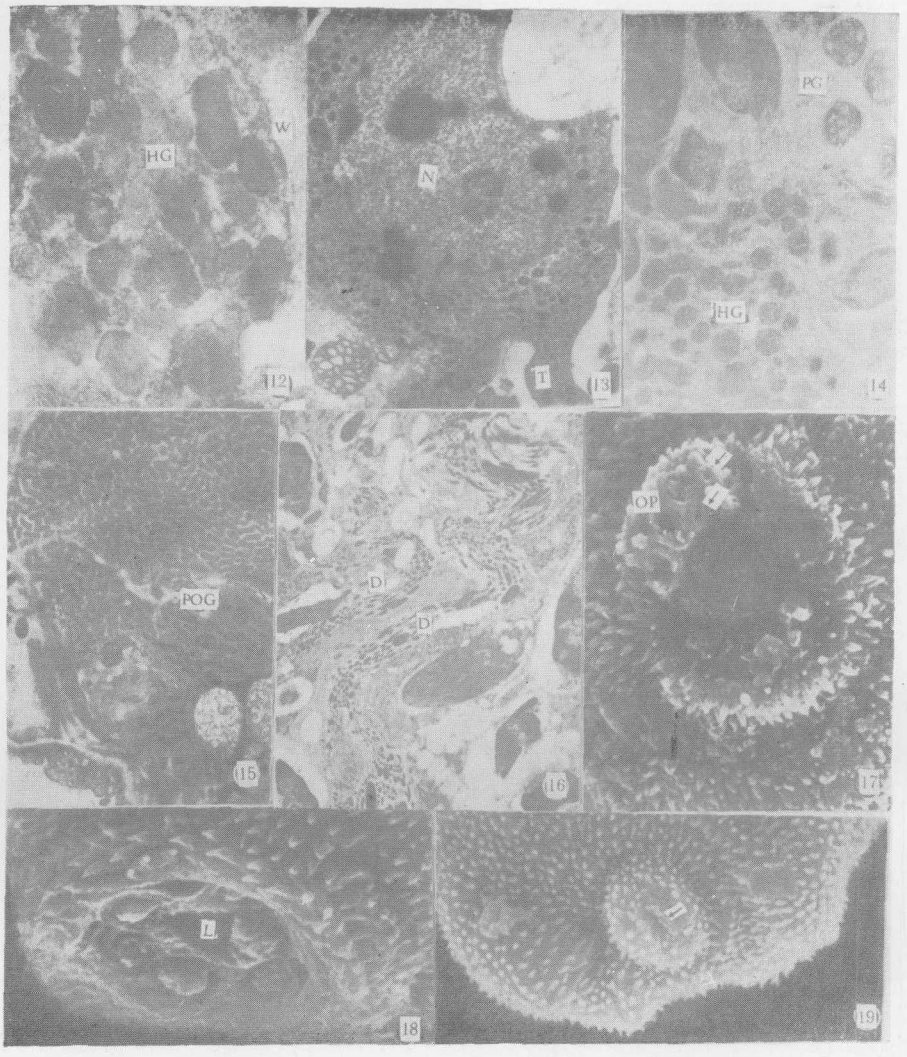
2. Changes of glands: The head gland of *Schistosoma japonicum* schistosomules was unicellular, with a fundus possessing ducts filled with secretory granules. The secretory granules were nonmembranous but multilamellated in the ducts. Some 12hrs skin and artificial worms partly retained their secretory granules of head gland, especially those from mechanical method. The schistosomules of all three kinds did not exhaust their pre- or postacetabular glands completely in 12hrs.

Key words　*Schistosoma japonicum*, schistosomulum, cercariae, ultrastruture



1. 3 小时血清童虫体被，糖膜厚薄不匀. ×88,000　2. 3 小时机械童虫体被，糖膜变薄，并明显与体被分离。×65,800　3. 12 小时机械童虫体被，糖膜几乎完全消失。×8,800　4. 3 小时血清童虫体被，可见 7 层的外质膜(箭头)，体被中有杆状体 (rb)。×112,000　5. 12 小时机械童虫体被。可见 7 层的外质膜 (箭头)。体被内有膜状囊 (mv) 和杆状体 (rb)。×66,800　6. 12 小时皮肤童虫体被，可见 3 层 (t)、7 层结构的外质膜。×64,000　7. 3 小时皮肤童虫体被。可见杆状体 (rb) 和膜状囊 (mv)。×65,600　8. 12 小时机械童虫体被。可见膜状囊 (mv)。×88,000　9. 12 小时皮肤童虫体被，可见杆状体 (rb)、膜状囊 (mv) 和多膜体 (mb)。×46,400　10. 3 小时机械童虫体被 (T) 及其体被下组织 (t)。可见胞质桥结构(箭头)，体被下有一些包含体向胞质桥方向运动，有膜状囊 (mv)、杆状体 (mv) 和多膜状 (rb)。×8,800　11. 将图 10 中的包含体放大，可见 5 层结构的膜状囊 (mv) 和 7 层结构的多膜体 (mb)。×66,800

1 Tegument of 3hrs serum schistosomule. The thickness of glycocalyx is uneven. ×88,000　2 Tegument of 3hrs mechanical schistosomule. The glycocalyx is thin and separated from the body wall. ×65,800　3 Tegument of 12hrs mechanical schistosomule. The glycocalyx is almost lost. ×11,000　4 Tegument of 3hrs serum schistosomule, showing the hepatalaminate outer membrane (arrow), rod-shaped body (rb). ×112,000　5 Tegument of 12hrs mechanical schistosomule, showing hepatalaminate outer membrane (arrow), membranous vesicles(mv) and rod-shaped bodies (rb). ×66,800　6 Tegument of 12hrs skin schistosomule, showing tri- (t) and hepatalaminate (h) outer membrane. ×64,000　7 Tegument of 3hrs skin schistosomule, showing membranous vesicles(mv), rod-shaped body (rb). ×65,600　8 Tegument of 12hrs mechanical schistosomule, showing membranous vesicles. ×88,000　9 Tegument of 12hrs skin schistosomule, showing membranous vesicle (mv), rod-shaped body (rb) and multilamellated body(mb). ×46,400　10 Tegument (T) and underlying tissue (t) of 3hr mechanical schistosomule, showing cytoplasmic bridge (arrow). Many inclusion bodies are subjacent to bridge. There are rod-shaped bodies (rb), membramous vesicles (mv) and multilamellated bodies (mb). ×8,800　11 The inclusion bodies in Fig. 10, showing the multilamellated bodies with hepatalaminate membrane (mb) and membranous vesicle (mv). ×66,800



12. 3小时血清童虫体前部的头腺腺管结构，管壁（W）较薄，管腔内的分泌颗粒（HG）为膜性结构。×31200 13. 12小时机械童虫头腺基底部，中央有一大的细胞核（N），基底部发出几条弯曲的腺管干（T）。腺基底部和腺管干中的分泌颗粒是非膜性结构。×8,800 14. 12小时皮肤童虫可见前钻腺分泌颗粒（PG）与头腺分泌颗粒(HG)。×9,600 15. 3小时血清童虫后钻腺基底部，充满分泌颗粒（POG）。×4,000 16. 3小时皮肤童虫的后钻腺腺管（D）。×6,400 17. 12小时血清童虫体部顶端，一侧半月形结构和腺管开口退化，另一侧半月形结构的皮褶消失，外侧3个孔为前钻腺开口（OP），内侧2个孔为后钻腺开口（箭头）。×3,600 18. 3小时机械童虫断尾处的环套状结构，可见肌纤维束断面及中央的排泄管腔（L）。×5,600 19. 12小时机械童虫体部末端，可见体尾连接处的断面收缩，中央形成小的排泄孔（箭头）。×3,520

12 The head gland duct of 3hrs serum schistosomule. The wall of duct (W) is thin. The secretory granules (HG) in the duct are of membranous structure. ×31,200 13 The head gland fundus of 12hrs mechanical schistosomule. A large nuleus (N) is seen in the middle of fundus. Some gland trunks (T) originate from fundus. The secretory granules in fundus and trunks are unmembranous structure. ×8,800 14 12hrs skin schistosomule, showing the secretory granules of head gland (HG) and preacetabular gland (PG). ×9,600 15 The postacetabular gland fundus of 3hrs serum schistosomule, with many secretory granules (POG). ×4,000 16 The postacetabular gland ducts (D) of 3hrs skin schistosomule. ×6,400 17 The anterior structure of 12hrs serum schistosomule. The crescent and gland openings in one side are degenerated. Three pores at the other side are the openings of preacetabular gland (op). Two pores inside are the openings of the postacetabular gland (arrow). ×3,600 18 The section of body-tail link of 3hrs mechanical schistosomule, showing the lumen of excretory bladder (L). ×5,600 19 The end of 12hrs mechanical schistosomule. The section is contracted. The excretory pore is formed (arrow). ×3,520