

文章编号: 1000-7423(2012)-05-0367-06

【论著】

亚洲带绦虫和牛带绦虫实验感染乳猪后 肝脏细胞凋亡的研究

牟荣, 包怀恩*, 张科, 吴家红, 郎书源

【摘要】 目的 观察亚洲带绦虫和牛带绦虫实验感染乳猪后不同时间囊尾蚴寄生处肝组织细胞凋亡的情况。方法 分别驱虫获取贵州省都匀市和从江县的人源亚洲带绦虫和牛带绦虫, 收集虫卵。20 日龄三元杂交乳猪 (Duroc-Yorkshire-Landrace 株) 19 头, 随机分为亚洲带绦虫实验组 6 头、牛带绦虫实验组 8 头和对照组 5 头, 两实验组以定量虫卵 15 万个/头灌胃感染。于感染后第 15、32、46 和 74 天处死, 取两实验组囊尾蚴寄生处的肝组织和对照组肝组织, 常规病理切片, 苏木素-伊红 (HE) 染色法观察组织病理变化, 原位末端标记法 (TUNEL 法) 检测肝细胞凋亡指数, 透射电子显微镜观察凋亡细胞形态。结果 两实验组乳猪的感染率均为 100%, 亚洲带绦虫实验组较牛带绦虫实验组肝脏上的囊尾蚴数量多且发育较好。HE 染色结果显示, 两实验组均出现相似的肝脏组织病理学改变, 感染后第 15 和 32 天, 肝细胞水肿, 胞浆疏松化, 甚至气球样变, 并可见肝细胞点片状坏死, 感染后第 46 天, 部分肝细胞呈小灶性坏死, 感染后第 74 天, 以肉芽肿形成和局部性肝纤维化为特征。TUNEL 结果显示, 感染后第 46 和 74 天, 亚洲带绦虫实验组[(15.07±3.42)%和(27.33±0.92)%]和牛带绦虫实验组肝组织细胞的凋亡指数[(17.13±1.62)%和(34.20±0.73)%]均明显高于对照组[(9.53±1.06)%和(13.60±2.26)%]($P<0.05$), 且牛带绦虫实验组均高于亚洲带绦虫实验组 ($P<0.05$)。透射电子显微镜观察发现, 两实验组肝组织内均可见明显的肝实质细胞凋亡的形态特征, 表现为细胞核体积缩小且皱缩变形, 染色质凝集成块并聚集于胞核边缘, 并可见典型的凋亡小体。结论 2 种带绦虫囊尾蚴感染乳猪后中、晚期均可诱导明显的肝组织细胞凋亡。

【关键词】 亚洲带绦虫; 牛带绦虫; 乳猪; 肝脏; 细胞凋亡

中图分类号: R383.32

文献标识码: A

Study on Hepatocyte Apoptosis of Domestic Pigs Experimentally Infected with *Taenia asiatica* and *Taenia saginata*

MOU Rong, BAO Huai-en*, ZHANG Ke, WU Jia-hong, LANG Shu-yuan

(Department of Parasitology, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, China)

【Abstract】 **Objective** To investigate apoptosis in liver tissue of the domestic pigs infected with eggs of *Taenia asiatica* and *Taenia saginata*. **Methods** The adult worms of *T. asiatica* and *T. saginata* were collected and identified from the taeniasis patients in Duniyun and Congjiang districts, Guizhou province. Eggs were collected from gravid proglottids and prepared by washing and centrifugation. Nineteen 20-day hybrid domestic pigs (Duroc-Yorkshire-Landrace strain) were randomly divided into *T. asiatica* group (6 pigs), *T. saginata* group (8 pigs) and control group (5 pigs). Each animal of experimental groups was infected with 1.5×10^5 eggs by stomach injection. On day 15, 32, 46 and 74 after infection, animals were sacrificed and liver samples were collected for further experiments. The liver tissues were sliced for glass slides and prepared for ultrathin sections. The apoptosis of hepatocytes was identified by terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick and labeling. The morphological features of liver tissue were observed under transmission electron microscope. **Results** The infection rate of two experiment groups reached 100%. Better developed cysticerci were found in liver of *T. asiatica* group than that of *T. saginata* group, but the liver pathological changes caused by cysticerci were similar. On day 15 and 32 after infection, hydropic degeneration, obvious vacuolization and some balloon-like degen-

基金项目: 国家自然科学基金 (No. 30660168); 教育部高等学校博士学科点专项科研基金 (No. 20050660001); 贵阳医学院博士科研基金 (No. C2007-6)

作者单位: 贵阳医学院寄生虫学教研室, 贵阳 550004

* 通讯作者, E-mail: bhe@gmc.edu.cn

eration were found in hepatocytes, and focal hepatic necrosis was observed. On day 46, spotty necrosis occurred in some local liver tissues. On day 74, main damages were granulomatous reactions surrounding cysticercus and focal liver fibrosis. On day 46, apoptosis index in *T. asiatica* group [(15.07±3.42)%] and *T. saginata* group [(17.13±1.62)%] was considerably higher than that in the control [(9.53±1.06)%] ($P<0.05$). On day 74, apoptosis index in *T. asiatica* group [(27.33±0.92)%] and *T. saginata* group [(34.20±0.73)%] was higher than that in the control [(13.60±2.26)%] ($P<0.05$), and the apoptosis index in *T. saginata* group was significantly higher than that of *T. asiatica* group ($P<0.05$). Simultaneously, morphological characteristics of apoptosis were clearly observed in hepatocytes in two experimental groups, showing shrunken, wrinkled and deformed nucleus with consolidation of chromosomes and appearance of apoptic body. **Conclusion** The hepatocyte apoptosis of domestic pig is induced in the middle and late stages of infection by the cysticerci of *T. asiatica* and *T. saginata*, indicating that hepatic apoptosis might be related to focal liver fibrosis of the host caused by the cysticerci.

[Key words] *Taenia asiatica*; *Taenia saginata*; Domestic pig; Liver; Apoptosis

Supported by the National Natural Science Foundation of China(No. 30660168), the Research Fund for the Doctoral Program of Higher Education of China(No. 20050660001), and the Research Fund for the Doctoral Program of Guiyang Medical College (No. C2007-6)

* Corresponding author, E-mail: bhe@gmc.edu.cn

牛带绦虫(*Taenia saginata*)和亚洲带绦虫(*T. asiatica*)是 2 种重要的食源性人兽共患寄生虫病的病原。亚洲带绦虫是近 30 年来在东南亚和西太平洋地区许多国家和地区新发现的一种带绦虫。近年来,本课题组对中国西部地区几个省牛带绦虫的形态、流行地域分布、实验动物感染和分子遗传学等方面做了大量研究工作^[1]。结果显示,中国西部大部分地区分布的为牛带绦虫,而西南部的局部地区存在亚洲带绦虫。既往实验研究发现,这 2 种带绦虫的幼虫均可寄生于乳猪肝脏,引起相似的猪肝脏组织病理学改变,但亚洲带绦虫幼虫的病灶数量较牛带绦虫的多,且对猪肝脏的病理损伤较严重^[2,3]。有关寄生虫与宿主细胞凋亡方面的研究,目前主要集中在原虫和少数蠕虫^[4,6]。关于带绦虫幼虫引起宿主细胞凋亡的研究较少。刘文杰等^[7]报道了猪囊尾蚴感染仔猪淋巴细胞凋亡率的变化。Tato 等^[8]研究发现,猪囊尾蚴排泄分泌物中的半胱氨酸蛋白酶可诱导人的 CD4⁺T 细胞凋亡。寄生虫侵入宿主后,可诱导或抑制细胞凋亡,一方面逃避宿主的免疫防御,另一方面导致宿主免疫细胞或器官实质细胞过度增生或凋亡,表现出不同形式的感染和病理损伤。本研究通过观察亚洲带绦虫和牛带绦虫卵实验感染乳猪后,不同时间内幼虫寄生处肝组织细胞凋亡的情况,以了解这 2 种带绦虫幼虫所致乳猪肝脏细胞凋亡与病理损伤的关系,对研究带绦虫幼虫致中间宿主肝脏损伤的分子机制具有重要意义。

材料与方 法

1 材料

1.1 虫体来源 虫体采自贵州省都匀市河阳乡米秀村 3 名和从江县高增乡 5 名带绦虫症患者,经口服槟榔-生南瓜籽煎剂驱虫,收集成虫孕节虫卵,经一般

形态学观察和分子生物学鉴定,证实从贵州省都匀市和从江县采集的虫体分别为亚洲带绦虫和牛带绦虫。

1.2 实验动物 19 头(雌性 9 头,雄性 10 头)20 日龄三元杂交乳猪(Duroc-Yorkshire-Landrace 株)购自贵州省贵阳市种猪繁殖场,体重约 5 kg,体健,未进生食。经吡喹酮驱虫和粪检虫卵,确定无绦虫感染。

1.3 主要试剂和仪器 TUNEL 检测试剂盒(In Situ Cell Death Detection Kit)购自瑞士 Roche 公司,戊二醛、钨酸和环氧树脂购自美国 SPI 公司,丙酮购自上海升博化工有限公司。旋转式切片机为上海医疗器械四厂产品,超薄切片机(LKB-v 型)为瑞典 LKB 公司产品,透射电子显微镜(H-7650 型)为日本日立公司产品,Mias 图象分析系统(Mias2000)为四川大学研发软件。

2 方法

2.1 虫卵收集和计数 分别取 2 种带绦虫的最后 15~20 个孕节,在生理盐水中以细针沿纵轴划破孕节使虫卵溢出,并用生理盐水反复清洗,447×g 离心 20 min,收集虫卵备用。光学显微镜下观察收集的虫卵,分别反复计数 5 次,取平均值,定量 1 ml 生理盐水中含 15 万个虫卵备用。

2.2 实验动物感染和标本采集 19 头乳猪随机分为 3 组,亚洲带绦虫实验组 6 头(雌雄各 3 头)、牛带绦虫实验组 8 头(雌雄各 4 头)和健康对照组 5 头(雌性 2 头,雄性 3 头),两实验组以定量虫卵 15 万个/头灌胃感染。感染初期,3 组乳猪分开饲养,10 d 后混养,整个实验过程中实行封闭饲养,以膨化颗粒饲料和煮熟玉米麦麸粥喂养。于感染后第 15、32、46 和 74 天各随机处死两实验组和对照组乳猪 1~2 头,采集检测标本。

2.3 标本组织苏木素-伊红 (HE) 染色 选取实验组有囊尾蚴寄生处的肝组织和对照组等大的肝组织, 常规制作病理组织切片, 行 HE 染色。

2.4 原位末端标记 (TUNEL) 法检测 不同感染时间的两实验组和对照组都分别选取 3 个不同组织块的切片各 1 张做 TUNEL 检测。切片经脱蜡、水化后滴加 3% H₂O₂-甲醇, 室温作用 10 min, 阻断内源性辣根过氧化物酶, 0.01 mol/L PBS (pH 7.2~7.4) 清洗 3 次, 每次 5 min。加入 20 μg/ml 蛋白酶 K, 37 °C 湿盒作用 30 min, 0.01 mol/L PBS (pH 7.2~7.4) 清洗 3 次, 每次 5 min。各组切片均加入 50 μl TUNEL 反应混合液孵育 (含末端脱氧核苷酸转移酶和标记液)。阳性对照切片先用 DNase 酶 I (2000 U/ml, pH 7.5 50 mmol/L Tris-HCl) 在 15~25 °C 孵育 10 min, 促使 DNA 链断裂, 再加入 50 μl TUNEL 反应混合液孵育, 阴性对照切片仅加入 50 μl 标记液, 不加末端脱氧核苷酸转移酶。所有切片最后均加入辣根过氧化物酶 (POD) 转换液 50 μl 孵育, 二氨基联苯胺 (DAB) 显色, 苏木素复染后于光学显微镜下观察。阳性细胞的细胞核应染成深棕色或棕黄色, 阴性细胞的细胞核应染成深蓝色或蓝黑色。根据上述判定方法判断肝组织中的凋亡细胞, 每张切片选择相邻的 5 个炎症反应和坏死较轻的高倍视野, 利用 Mias 图象分析系统计数 500 个细胞中出现的凋亡细胞数并计算凋亡指数^[9]。凋亡指数=一定范围内的凋亡细胞数/同一范围内的细胞总数×100%。

2.5 透射电子显微镜观察 取两实验组囊尾蚴寄生处的肝组织和对照组肝组织 (1 mm×1 mm×1 mm), 置于 4% 戊二醛 4 °C 固定 2 h 后, 换 4% 戊二醛 4 °C 固定过夜, 0.2 mol/L PBS 液洗涤, 1% 锇酸固定 2 h, 0.2 mol/L PBS 缓冲液漂洗 30 min 后, 梯度丙酮脱水 (70% 丙酮 15 min, 80% 丙酮 15 min, 90% 丙酮 15 min, 100% 丙酮 10 min 2 次)。环氧树脂浸透包埋的组织块经超薄切片机切片, 按电镜常规制备标本, 半薄切片定位后再做 50 nm 的超薄切片。超薄组织切片经乙酸钠和柠檬酸铅复染, 于透射电子显微镜下观察并照相。

3 统计学分析

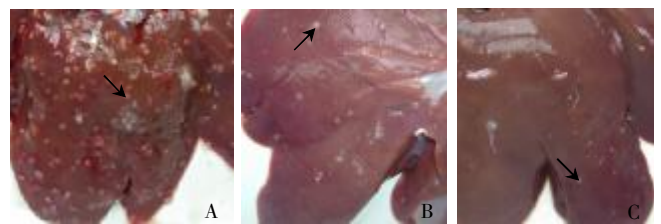
实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 实验组和对照组的显著性检验采用 SPSS 11.5 统计软件分析, 多组样本间比较采用单因素方差分析。

结 果

1 大体观察

三元杂交乳猪均能感染亚洲带绦虫和牛带绦虫的

虫卵, 感染率均为 100%。感染后第 15 天, 两实验组肝脏均可见白色细小点状结构, 未见清晰囊尾蚴结构, 以亚洲带绦虫实验组病变明显; 感染后第 32 和 46 天, 两实验组肝脏均可见散在分布的点状米粒大小的囊尾蚴结构, 其中以亚洲带绦虫实验组囊尾蚴数量较多, 大部分囊液清晰, 囊壁较薄, 可见向内翻卷的头节; 感染后第 74 天, 亚洲带绦虫实验组大多数囊尾蚴钙化, 仅见少数几个成熟囊尾蚴, 而牛带绦虫实验组囊尾蚴几乎完全钙化 (图 1)。对照组肝脏结构正常, 未见囊尾蚴寄生。



A: 亚洲带绦虫感染后第 15 天的猪肝脏, ↑ 示未成熟囊尾蚴; B: 亚洲带绦虫感染后第 46 天的猪肝脏, ↑ 示成熟囊尾蚴; C: 牛带绦虫感染后第 74 天的猪肝脏, ↑ 示钙化囊尾蚴。

A: Pig liver on day 15 after infection with *T. asiatica*, ↑ showing immature cysticerci; B: Pig liver on day 46 after infection with *T. asiatica*, ↑ showing mature cysticerci; C: Pig liver on day 74 after infection with *T. saginata*, ↑ showing calcified cysticerci.

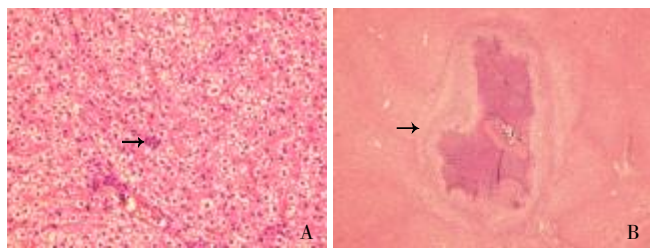
图 1 感染亚洲带绦虫和牛带绦虫的乳猪肝脏
Fig. 1 Pig liver infected with *T. asiatica* and *T. saginata*

2 组织切片 HE 染色观察

感染后第 15 天和 32 天, 两实验组肝组织切片均可见囊尾蚴结构, 部分变性坏死, 虫体周围见大量中性粒细胞和淋巴细胞, 散在嗜酸粒细胞, 外围有纤维结缔组织增生; 肝细胞水肿, 胞浆疏松化, 部分气球样变, 并可见肝细胞点片状坏死。感染后第 46 天, 两实验组肝组织内均可见成熟囊尾蚴, 亚洲带绦虫囊尾蚴囊壁结构清晰, 可见头节和吸盘结构, 纤维组织外膜内有大量成纤维细胞增生, 炎性细胞浸润减少, 而牛带绦虫囊尾蚴囊壁厚且结构不甚清晰, 并见大量炎性细胞浸润; 肝细胞水肿明显, 同时可见肝细胞呈小灶性坏死。感染后第 74 天, 亚洲带绦虫实验组肝组织内的囊尾蚴大部分钙化, 而牛带绦虫实验组肝组织内的囊尾蚴几乎完全钙化, 两实验组钙化灶内均见肉芽肿形成, 汇管区纤维组织增生明显, 局部呈明显纤维化改变 (图 2)。

3 TUNEL 法检测结果

阳性对照的细胞核均染成深棕色或深黄色。阴性对照的所有细胞核呈深蓝色。感染后不同时间在远离虫体炎症反应和坏死较轻的区域内, 亚洲带绦虫实验



A: 亚洲带绦虫感染后第 46 天的猪肝组织切片, ↑ 示小灶性坏死 (×400); B: 牛带绦虫感染后第 74 天的猪肝组织切片, ↑ 示钙化囊尾蚴周围肉芽肿形成和纤维组织增生 (×40)。

A: Section of pig liver on day 46 after infection with *T. asiatica*, ↑ showing spotty necrosis (×400); B: Section of pig liver on day 74 after infection with *T. saginata*, ↑ showing granuloma formation and fibrosis surrounding the calcified cysticerci (×40).

图 2 感染亚洲带绦虫和牛带绦虫的乳猪肝组织病理切片

Fig. 2 Section of the pig liver after infection with *T. asiatica* and *T. saginata*

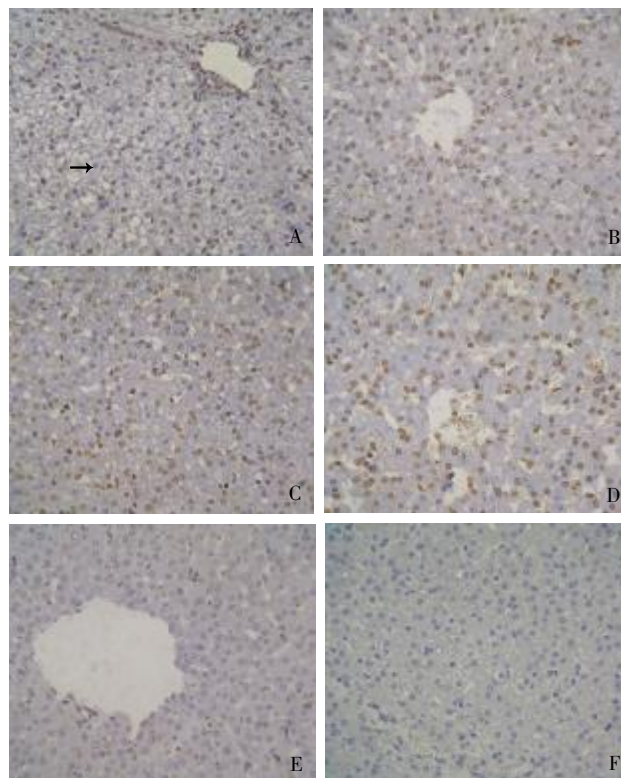
组和牛带绦虫实验组肝组织中均可见阳性细胞, 感染后第 46 和 74 天, 两实验组的阳性细胞尤为多见。对照组肝组织中亦检测到少量细胞核呈深棕色或棕黄色的凋亡细胞 (图 3)。各组肝细胞凋亡检出率均为 100%。感染后第 46 和 74 天, 亚洲带绦虫实验组 [(15.07±3.42)% 和 (27.33±0.92)%] 和牛带绦虫实验组 [(17.13±1.62)% 和 (34.20±0.73)%] 肝组织细胞的凋亡指数均明显高于对照组 [(9.53±1.06)% 和 (13.60±2.26)%] ($P<0.05$), 且牛带绦虫实验组明显高于亚洲带绦虫实验组 ($P<0.05$) (表 1)。

4 透射电子显微镜检测结果

对照组肝实质细胞超微结构正常。感染后第 15 和 32 天, 亚洲带绦虫实验组和牛带绦虫实验组无明显肝实质细胞凋亡形态学改变。感染后第 46 和 74 天, 两实验组均可见明显的肝实质细胞凋亡形态特征, 表现为细胞核体积缩小且皱缩变形, 染色质凝集成块并聚集于胞核边缘形成环状, 细胞浆内还可见典型的凋亡小体 (图 4)。

讨 论

细胞凋亡和坏死是细胞死亡的两种形式。凋亡在维持肝脏正常代谢中有重要作用, 可避免由于肝细胞死亡引发的炎症反应^[10]。寄生虫感染所引起的宿主细胞凋亡, 往往和宿主细胞的坏死同时并存。彭海峰等^[11]发现, 兔血吸虫病肝细胞有凋亡和坏死两种死亡模式。令狐艳等^[2]、汪敏等^[3]等曾分别以都匀亚洲带绦虫和从江牛带绦虫虫卵人工感染健康家猪, 发现两种带绦虫幼虫均可引起猪肝脏相似的病理损伤, 感染早期 (感染后第 4~20 天) 表现为严重的肝细胞水肿、变



A: 亚洲带绦虫感染后第 46 天猪肝组织, ↑ 示凋亡肝细胞 (细胞核呈棕黄色); B: 亚洲带绦虫感染后第 74 天猪肝组织; C: 牛带绦虫感染后第 46 天猪肝组织; D: 牛带绦虫感染后第 74 天猪肝组织; E: 正常肝组织; F: 阴性对照。

A: Hepatic tissue on day 46 after infection with *Taenia asiatica*, ↑ showing hepatic apoptosis (brown nucleus in apoptotic cell, amethyst nucleus in normal cell); B: Hepatic tissue on day 74 after infection with *Taenia asiatica*; C: Hepatic tissue on day 46 after infection with *Taenia saginata*; D: Hepatic tissue on day 74 after infection with *Taenia saginata*; E: Hepatic tissue in control group; F: Hepatic tissue in negative control group.

图 3 感染亚洲带绦虫和牛带绦虫的乳猪肝组织切片 (TUNEL 法, ×400)

Fig. 3 Section of the pig liver after infection with *T. asiatica* and *T. saginata* (TUNEL, ×400)

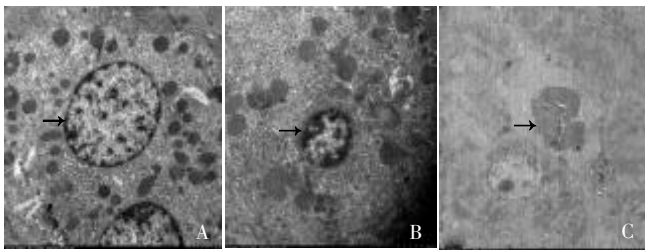
表 1 乳猪感染两种带绦虫后不同时间肝组织细胞凋亡指数
Table 1 Apoptotic index of the hepatic tissue in pigs infected with *Taenia asiatica* and *Taenia saginata*

| 组别 Group | 不同感染时间(d)的肝细胞凋亡指数/% Apoptotic index of hepatic tissue at different time(d) after infection/% | | | |
|--------------------------------------|---|------------|-------------|--------------|
| | 15 | 32 | 46 | 74 |
| 亚洲带绦虫实验组 <i>T. asiatica</i> group | 9.47±3.40 | 12.40±3.83 | 15.07±3.42* | 27.33±0.92*# |
| 牛带绦虫实验组 <i>T. saginata</i> group | 6.40±6.91 | 8.33±0.85 | 17.13±1.62* | 34.20±0.73* |
| 对照组 Control group | 5.60±0.28 | 7.20±0.42 | 9.53±1.06 | 13.60±2.26 |

注: * 与对照组比较 $P<0.05$; # 与牛带绦虫实验组比较, $P<0.05$ 。

Note: * vs. control, $P<0.05$; # vs. *T. saginata* group, $P<0.05$.

性, 肝细胞有点片状坏死; 感染中期 (感染后第 40~65 天) 和晚期 (感染后第 60~85 天) 可见部分肝细



A: 对照组正常肝实质细胞超微结构 ($\times 15000$); B: 亚洲带绦虫实验组猪肝实质细胞凋亡形态特征: 细胞核体积缩小且皱缩变形, 染色质凝块并聚集于细胞核边缘形成环状 ($\times 15000$); C: 牛带绦虫实验组猪肝实质细胞凋亡形态特征: 凋亡小体形成 ($\times 10000$)。

A: Normal ultrastructure of pig hepatocytes in control group ($\times 15000$); B: Shrunken, wrinkled and deformed nucleus with consolidation of chromosomes in hepatocytes from pig liver after infection with *Taenia asiatica* ($\times 15000$); C: Apoptotic body in the hepatocytes from pig liver after infection with *Taenia saginata* ($\times 10000$).

图 4 感染亚洲带绦虫和牛带绦虫的乳猪肝组织细胞凋亡形态
Fig. 4 Morphological characteristics of apoptosis cells from pig liver after infection with *T. asiatica* and *T. saginata*

胞呈小灶性坏死, 以肉芽肿形成和局灶性肝纤维化为特征。本研究也观察到上述组织病理学变化结果, 提示两种带绦虫幼虫感染不同时期乳猪肝细胞死亡模式, 包括细胞凋亡和细胞坏死, 感染中、晚期肝细胞死亡模式以细胞凋亡为主。

细胞凋亡是不同于坏死的细胞死亡形式, 是由基因控制的、细胞自主的有序死亡。在寄生虫感染中, 宿主细胞过度凋亡或正常凋亡的过程被抑制, 均可导致组织或器官发生病理改变, 甚至死亡^[12]。肝损伤的一个普遍特征就是不受调控的持续性的病理性肝细胞凋亡, 并由此产生凋亡小体^[13]。凋亡小体的吞噬可引起吞噬细胞内相关信号的改变和细胞因子的产生, 特别是 TGF- β 的产生, 促进肝纤维化发生。因此, 两种带绦虫感染中晚期乳猪明显的肝细胞凋亡可能与幼虫寄生处的局灶性肝纤维化发生有关。

宿主细胞凋亡与寄生虫的作用时间和浓度之间存在相互依赖的关系。王文实等^[5]研究发现, 在日本血吸虫感染过程中, CD4⁺和 CD8⁺T 细胞的促凋亡基因的表达随感染时间的延长而升高。彭国华等^[14]证实人蛔虫 II 期幼虫提取物可诱导人肺上皮细胞凋亡, 细胞凋亡与提取物浓度呈明显的相关关系。刘文杰等^[7]发现随猪囊尾蚴感染时间的延长, 仔猪体内凋亡的淋巴细胞增多。家猪是亚洲带绦虫的适宜中间宿主, 而非牛带绦虫的适宜中间宿主, 但牛带绦虫六钩蚴可实验感染家猪, 并可生长和发育。由此推测, 两种带绦虫六钩蚴侵入乳猪后定居于肝脏发育为囊尾蚴, 在囊尾蚴发育成熟至钙化的过程中不断释放某种分泌物作用于寄生处的肝组织细胞, 随作用时间的延长和作用物浓

度的增加, 肝细胞出现明显的细胞凋亡, 故导致感染中晚期乳猪肝细胞凋亡显著。朱武军等^[15]研究发现, 感染后第 60~85 天, 亚洲带绦虫感染的乳猪肝组织内, 除退化/钙化的囊尾蚴外, 仍有部分成熟囊尾蚴; 而牛带绦虫感染的乳猪肝组织内的囊尾蚴则全部退化/钙化。本研究也观察到相似结果。两种带绦虫囊尾蚴在乳猪体内钙化时间和程度上存在差异, 可能是导致感染晚期牛带绦虫实验组肝组织细胞凋亡指数明显高于亚洲带绦虫实验组的原因。事实是否如此尚待进一步研究。

囊尾蚴与宿主的相互作用是一个非常复杂的过程, 这一相互作用所导致的宿主细胞凋亡的机制尚不清楚。本研究发现, 两种带绦虫囊尾蚴感染乳猪后中晚期可以诱导宿主肝组织细胞凋亡, 关于通过何种途径诱导肝细胞凋亡, 两种囊尾蚴分泌物中有哪些成分可以诱导细胞凋亡, 两种囊尾蚴感染是否可以引起宿主免疫相关细胞的凋亡等问题, 均有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Bao HE, Mou R. Research progress on molecular identification and biologic behavior of *Taenia saginata* in western China [J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2009, 27(6): 520-526. (in Chinese) (包怀恩, 牟荣. 中国西部地区牛带绦虫的分子鉴定和生物行为研究进展[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2009, 27(6): 520-526.)
- [2] Linghu Y, Zhu WJ, Bao HE, et al. Observations on pathological and histochemical changes in piglet livers infected with *Taenia saginata asiatica* [J]. Front Med Chin, 2007, 1(3): 258-263.
- [3] Wang M, Bao HE, Rong JQ, et al. Morphological characteristics of cysticerci from cattle and swine infected with *Taenia saginata* and pathological changes of livers in infected animals [J]. Chin J Veter Sci Tech, 2005, 35(3): 203-206. (in Chinese) (汪敏, 包怀恩, 戎聚全, 等. 牛和猪人工感染牛带绦虫的囊尾蚴形态与肝组织的病理变化[J]. 中国兽医科技, 2005, 35(3): 203-206.)
- [4] James ER, Green DR. Manipulation of apoptosis in the host-parasite interaction [J]. Trends Parasitol, 2004, 20(6): 280-287.
- [5] Wang WS, Li YL. Studies on transcription of related genes with apoptosis in CD4⁺, CD8⁺ T cells of mice infected with *Schistosoma japonicum* [J]. Chin J Schisto Control, 2001, 13(1): 14-17. (in Chinese) (王文实, 李雍龙. 日本血吸虫感染过程中宿主细胞 CD4⁺CD8⁺T 细胞凋亡相关基因转录水平的研究 [J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2001, 13(1): 14-17.)
- [6] Sinai AP, Payne TM, Carmen JC, et al. Mechanisms underlying the manipulation of host apoptotic pathways by *Toxoplasma gondii* [J]. Int J Parasitol, 2004, 34(3): 381-391.
- [7] Liu YJ, Li QZ, Hao YH. Changes in lymphocyte apoptosis of piglets infected with *Cysticercus cellulosae* [J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2002, 20(6): 341. (in Chinese) (刘永杰, 李庆章, 郝艳红. 猪囊尾蚴感染仔猪淋巴细胞凋亡率的变化 [J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2002, 20(6): 341.)
- [8] Tato P, Fernandez A M, Solano S, et al. A cysteine protease from *Taenia solium* metacystodes induce apoptosis in human CD4⁺ T-cells [J]. Parasitol Res, 2004, 92(3): 197-204.
- [9] Del Vecchio MT, Leoncini L, Buerki K, et al. Diffuse centrocytic and/or centroblastic malignant non-Hodgkin's lymphomas: comparison of mitotic and pyknotic (apoptotic) indices [J]. Int J Cancer, 1991, 47(1): 38-43.

- [10] Patel T, Gores GJ. Apoptosis and hepatobiliary disease[J]. *Hepatology*, 1995, 21(6): 1725-1741.
- [11] Peng HF, Liu NY, Duan JY, *et al.* Liver cell apoptosis and gene regulation of rabbit schistosomiasis [J]. *Chin J Hepatobil Surg*, 2000, 6(3): 186. (in Chinese)
(彭海峰, 刘能银, 段君英, 等. 兔血吸虫病肝细胞的凋亡及基因调控[J]. *中华肝胆外科杂志*, 2000, 6(3): 186.)
- [12] Dosreis GA, Barcinski MA. Apoptosis and parasitism: from the parasite to the host immune response[J]. *Adv Parasitol*, 2001, 49: 133-161.
- [13] Rust C, Gores G J. Apoptosis and liver disease [J]. *Am J Med*, 2000, 108(7): 567-574.
- [14] Peng GH, Yuan K, Zhou XM, *et al.* Apoptosis of alveolar epithelial cells induced by extraction of the second stage larvae of *Ascaris lumbricoides*[J]. 2004, 22(4): 209-212. (in Chinese)
(彭国华, 袁铿, 周宪民, 等. 人蛔虫 II 期幼虫提取物诱导人肺上皮细胞凋亡[J]. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志*, 2004, 22(4): 209-212.)
- [15] Zhu WJ, Linghu Y, Bao HE, *et al.* A comparative investigation on the morphology of *Taenia saginata* cysticercus in domestic pigs from Duyun and Congjiang regions of Guizhou province[J]. *Chin J Zoonoses*, 2007, 23(8): 788-791.(in Chinese)
(朱武军, 令狐艳, 包怀恩, 等. 贵州都匀从江两地牛带绦虫感染家猪的比较研究[J]. *中国人兽共患病学报*, 2007, 23(8): 788-791.)

(收稿日期: 2012-05-30 编辑: 张争艳)

文章编号: 1000-7423(2012)-05-0372-02

【研究简报】

贵州省黑斑蛙体内裂头蚴扫描电镜观察

徐婧¹, 陈艳^{1*}, 唐贵文¹, 刘鲜林²

【摘要】 自野生黑斑蛙体内检获的裂头蚴, 选择 5 条完整、活动度好的虫体, 用戊二醛-锇酸双重固定, 经乙醇梯度脱水、真空冷冻干燥、喷金后, 用扫描电镜观察并拍照。结果发现, 虫体前后两端略膨大, 不分节, 但表面有不规则环形皱褶; 体前端无吸槽, 顶端中央有一横向凹陷, 凹陷周围体壁呈唇状突起; 体后端形态类似前端, 但中央为一裂隙, 裂隙较前端的凹陷浅、窄; 体表的质膜内陷形成大小不等的凹陷和沟纹; 整个虫体体表密布尖棘状长短不一的微毛。

【关键词】 黑斑蛙; 裂头蚴; 扫描电镜

中图分类号: R383.35 文献标识码: B

Scanning Electron Microscope Observation of Plerocercoid from *Rana nigromaculata* in Guizhou Province

XU Jing¹, CHEN Yan^{1*}, TANG Gui-wen¹, LIU Xian-lin²

(1 Department of Parasitology; 2 Section of Electron Microscopy, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, China)

【Abstract】 Five integral and active plerocercoids collected from naturally infected frogs were fixed by glutaraldehyde-osmic acid, dehydrated in graded series of ethanol, dried *via* vacuum freeze and coated with carbon gold. They were then observed by scanning electron microscopy. The results showed that the anterior and posterior ends of the plerocercoids were slightly swell and without segmentation. Annular furrows ran irregularly along the body surface. The anterior end was drawn inside and had a deep dorsoventral hollow, around which, the plasma membrane displayed a lip bulge. The posterior end was similar to the anterior one in the shape, but a fissure in its central part was comparatively narrower and shallower than the hollow in the anterior end. There were thousands of pits and grooves on the body surface, unequal in size. The whole body surface of the plerocercoid was densely covered by sharp spine-like microtriches.

【Key words】 *Rana nigromaculata*; Plerocercoid; Scanning electron microscopy

Supported by Joint Fund Project from Guizhou Science and Technology Department and Guiyang Medical College (No. [2010]3157)

* Corresponding author, E-mail: chenyan757@sina.com

迄今为止, 对迭宫属绦虫裂头蚴的超微结构研究较少。

基金项目: 贵州省科技厅与贵阳医学院联合基金项目 (No. [2010]3157)

作者单位: 1 贵阳医学院人体寄生虫学教研室, 贵阳 550004;

2 贵阳医学院科研处电镜室, 贵阳 550004

* 通讯作者, E-mail: chenyan757@sina.com

1990 年, Osaki^[1]对猎迭宫绦虫 (*Spirometra erinacei*) 裂头蚴的超微结构进行了电镜观察; 2005 年, Sohn 等^[2]对实验感染的蝌蚪体内早期发育 (<10 d) 的猎迭宫绦虫裂头蚴进行了扫描电镜观察。国内仅许世铨等^[3]对曼氏裂头蚴前端进行了扫描