

文章编号: 1000-7423(2000)-05-0293-03

环孢素 A 体外抗曼氏血吸虫合胞体超微结构的变化

柳建发¹ L. H. Chappell²

(1 宁波大学医学院病理学科, 宁波 315211; 2 英国苏格兰阿伯丁大学动物系, 阿伯丁市)

摘要 [目的] 探讨环孢素 A 体外抗曼氏血吸虫超微病理改变。[方法] MF1 小鼠实验感染曼氏血吸虫 6 wk 后, 经主动脉和门静脉灌注收集虫体。将虫体放入含有 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 环孢素 A 的 M199 培养液中体外培养。用扫描电镜和透射电镜观察药物所致的虫体损害。[结果] 药物作用后, 大多数雄虫皮层肿胀、表面出现大小不一的结节、皮层外膜破溃、皮棘脱落、合胞体极度破坏; 个别雄虫皮层出现空泡; 雌虫皮层极度空泡变及合胞体受损。[结论] 环孢素 A 具有直接抗曼氏血吸虫的作用, 合胞体受损是药物作用的主要机制。

关键词: 环孢素 A, 曼氏血吸虫, 合胞体, 超微结构

中图分类号: R978.641.9

文献标识码: A

早在 70 年代初, 瑞士 Borel 博士等在真菌 *Tolyocladium inflatum* 和 *Cylindrocarpon lucidum* 的培养基中发现和提纯环孢素 A (CsA), 其为含有 11 个氨基酸的环状多肽, 是一种强作用的免疫抑制剂, 已被广泛地用于器官移植和自身免疫性疾病的治疗^[1~3]。1998 年本文作者与 Chappell 等报道, 环孢素 A 对曼氏血吸虫实验性感染有治疗效果^[4], 但该药对虫体的具体作用尚不清楚。本实验应用扫描与透射电镜技术, 进一步探讨环孢素 A 抗曼氏血吸虫的作用机制。

材料与方法

1 虫株

曼氏血吸虫 Wellcome 株。

2 培养液配制

取 M199 培养原液 50 ml、7.5% 碳酸氢钠溶液 15 ml、小牛血清 50 ml、蒸馏水 435 ml、青霉素与链霉素混和液 5 ml, 在超净工作台配制。

3 实验动物感染

用体重 20~25 g 的雄性 MF1 小鼠 40 只, 以钢环法^[5]接种曼氏血吸虫尾蚴 100 条/鼠。6 wk 后, 小鼠断颈剖开, 作胸主动脉插管, 剪开门静脉, 用 40 $^{\circ}\text{C}$ 的枸橼酸钠与 Hanks 混和液灌注收集虫体。

4 药物制备

根据我们已进行的药理实验, 环孢素 A 体内

抗曼氏血吸虫成虫的最佳剂量是 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的血液浓度, 用药后 24 h, 虫体即开始受损, 而且药物无副作用, 因此, 称取环孢素 A 20 mg, 溶于 1 ml 的纯酒精中, 制成 20 mg/ml 的环孢素 A 溶液, 进行体外试验。

5 实验步骤

采用标准塑料圆底培养板, 每孔加入 2 ml 培养液, 取 6 对 6 周龄的曼氏血吸虫置于其中, 然后用显微注射器加药。试验分成 3 组: ① 正常对照组: 仅加活的曼氏血吸虫和培养液 2 ml; ② 乙醇对照组: 每孔加入无水乙醇 2 μl ; ③ 环孢素 A 组: 每孔加入 2 μl (20 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 环孢素 A 溶液, 共 12 孔。将培养板置于消毒的二氧化碳孵育箱内, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下温育。

6 电镜标本制备

各组在 24 h 后取出虫体, PBS 液冲洗, 置于 pH 7.2 的 4% 戊二醛磷酸缓冲液中前固定, 1% 锇酸后固定, 乙醇梯度脱水, 经液体二氧化碳临界点干燥后, 贴于小铜台双面胶上, 真空喷镀, 用 X-650 型扫描电镜和 JOEL 2000EX 透射电镜观察, 并摄影。

结 果

1 对照组虫体

正常对照组与纯酒精对照组虫体电镜观察无差别。曼氏血吸虫雄虫体表有明显的结节; 结节上分布着大量的皮棘, 结节间嵴结构纹理清晰、致密 (图 1)。雄虫成虫体壁的超微结构由外至内可分为

外膜、皮棘、基底膜、合胞体、环肌、纵肌和细胞体；基质内可见许多球形颗粒的分泌体和膜状小体，基质内皮棘清晰可见，其基部嵌入皮层下的基底膜，顶部为外膜覆盖（图 2，3）。雌虫皮层可见高低不平的众多皱褶，细胞质外伸内陷，形成不规则的突起及众多的管状和泡状空隙，雌雄虫合胞体均致密，内含大量线粒体（图 2，4，5）。

2 用药组虫体

在倒置显微镜下观察到对照组成虫运动活泼、体长及折光性好；而药物作用组成虫变圆、卷缩和表面颗粒化，雌虫和雄虫虫体均呈短曲，表皮损坏，成虫肠道有大包块形成；有些包块堵塞肠腔，并向肠腔表皮突出，形成疝样突起，导致虫体表皮破溃。

大多数雄虫体外用药后 24 h，皮层肿胀，表面出现大小不一的病理结节（图 6）；继而皮层外膜破溃或脱落（图 7）；有些雄虫基底膜肿胀、破裂和皮棘脱离基底膜，合胞体极度破坏（图 4）；个别雄虫皮层出现空泡变，但外质膜未见破坏（图 8）。大多数雌虫皮层极度空泡变和合胞体受损（图 9）。

讨 论

本研究在过去工作的基础上，进一步显示环孢

素 A 有直接杀虫作用，电镜下可见虫体皮层和合胞体受损。文献表明，合胞体结构是曼氏血吸虫和细粒棘球绦虫不同发育阶段皮层的主要结构，其主要生理功能是保护虫体吸收和输送营养物质、参与代谢活动和维持渗透压稳定^[5]。本文观察到，经药物体外作用后，雌雄成虫合胞体严重受损和破坏，提示合胞体的损害是药物杀虫的主要机制。

参 考 文 献

- [1] Bout D, Deslee D. Protection against *Schistosoma mansoni* produced by cyclosporin A. *Am J Trop Med Hyg*, 1984a, 33: 185~186.
- [2] Bout D, Deslee D, Capron A. Antischistosomal effect of cyclosporin A: Cure and prevention of mouse and rat schistosomiasis mansoni. *Infect Immun*, 1986, 52:823.
- [3] Chappell LH, Thomson AW, Smith SWG. Prophylactic and therapeutic effects of cyclosporin A in murine schistosomiasis: studies on bisexual and unisexual infections and the hepatic inflammatory response. *Inf Archs Allergy Appl Immun*, 1988, 85:174.
- [4] Chappell LH, Smith SWG. Prophylactic and therapeutic effects of cyclosporin A in murine and studies on the action of cyclosporin A against *Schistosoma mansoni* and other parasitic infections. *Transplantation Proc*, 1988, 20:291.
- [5] 王虎. 细粒棘球绦虫合胞体结构与功能的探讨. 地方病通报, 1998, 13(3):34.

收稿日期:1999-12-30

(编辑:李雅卿)

ULTRA-PATHOLOGICAL STUDY ON THE SYNCYTIUM OF *SCHISTOSOMA MANSONI* EXPOSED TO CYCLOSPORIN A *IN VITRO*

LIU Jian-fa¹, L. H. Chappell²

(1 Department of Pathology, Medical School of Ningbo University, Ningbo 315211;

2 Department of Zoology, Aberdeen University, Scotland, AB9 2TN, U. K.)

Abstract [Objective] To study the ultra-pathological changes of syncytium of *Schistosoma mansoni* after cyclosporin A (CsA) treatment. [Methods] MF1 mice were infected with *Schistosoma mansoni* cercariae. Six weeks later, the adult worms were recovered by portal vein perfusion. After the worms were exposed to CsA of 20 $\mu\text{g/ml}$ for 24 h, the drug-induced damage of the worm surface was observed by SEM and TEM. [Results] Incubation of male and female schistosomes with 20 $\mu\text{g/ml}$ of CsA for 24 h resulted in disruption of the tegument and rupture of the spines. Progressive surface damage and swelling and vacuolization of the tegument led to eventual disruption of the syncytium. [Conclusion] The antischistosomal action of CsA is direct, the syncytium is the main site for CsA attack.

Key Words: cyclosporin A, *Schistosoma mansoni*, syncytium, ultrastructure

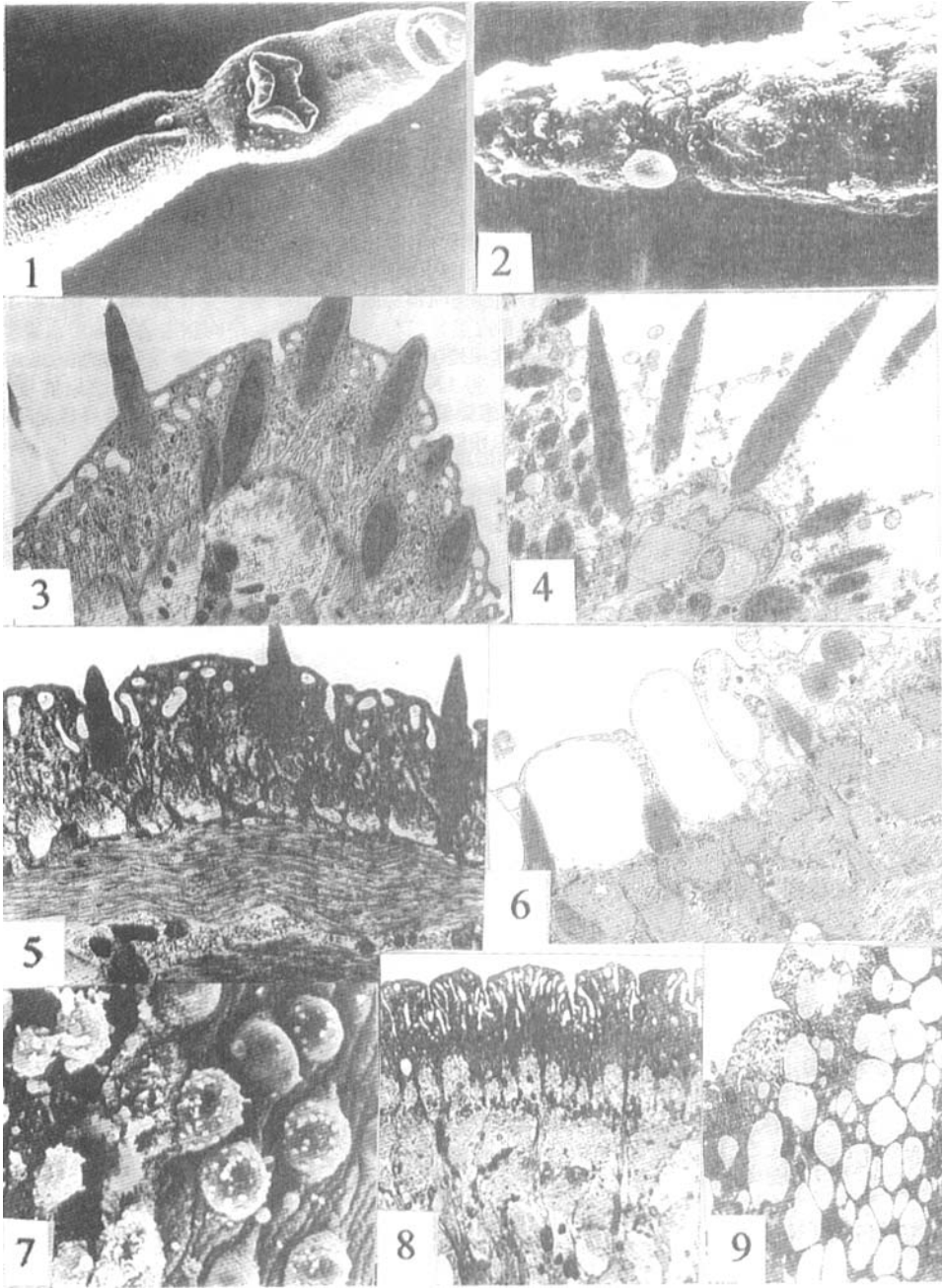


图 1 曼氏血吸虫雄虫对照组 6 500× SEM 图 2 药物作用后,雄虫表面 6 500× SEM 图 3 曼氏血吸虫雄虫对照组 9 700× TEM 图 4 曼氏血吸虫雄虫被药物作用后,合胞体破裂 9 700× TEM 图 5 曼氏血吸虫皮层 9 700× TEM 图 6 曼氏血吸虫雄虫表面空泡变 9 700× TEM 图 7 雄虫外质膜受损 9 700× SEM 图 8 雌虫皮层 9 700× TEM 图 9 雌虫皮层空泡变,合胞体受损 9 700× TEM

Fig.1 The surface of adult male *S. mansoni* of control group 6 500× SEM Fig.2 The male *S. mansoni* surface after drug treatment 6 500× SEM Fig.3 Male *S. mansoni* of control group 9 700× TEM Fig.4 Syncytium damage of male *S. mansoni* 9 700× TEM Fig.5 Surface membrane of male *S. mansoni* 9 700× TEM Fig.6 Swelling of male *S. mansoni* surface 9 700× TEM Fig.7 Damage of surface membrane of male *S. mansoni* 9 700× SEM Fig.8 Female *S. mansoni* surface 9 700× TEM Fig.9 Swelling of female *S. mansoni* surface and damage of syncytium 9 700× TEM