

近交系小鼠感染日本血吸虫的研究*

何毅勋 毛才生 常正山
郁琪芳 胡亚青 张永年

(中国医学科学院寄生虫病研究所, 上海)

摘 要

本文报告了近交系C57BL、ICR、615和津白I小鼠以及昆明杂交系小鼠感染大陆品系日本血吸虫后体内虫体发育的生物学, 包括各品系小鼠体内的虫负荷、两性虫体的体长、性腺及出现虫卵前期等病原生物学的基础资料。

在生物医学研究工作中, 为了减少和避免实验动物个体间差异所造成的影响, 常常需要应用近交系动物进行实验。目前, 近交系小鼠曾被广泛或选择地用于遗传、免疫、肿瘤、代谢等各方面的研究。在血吸虫病的科研中, 应用近交系小鼠进行实验近年来正日益受到重视 (Colley, 1972; Murrell等, 1979; Colley等, 1980; Mitchell等1981; Usawattanakul等, 1982)。为了提供今后开展血吸虫病的免疫、药物疗效及代谢等方面的参考, 我们对若干近交系小鼠感染日本血吸虫尾蚴后, 对鼠体内血吸虫的负荷及发育情况进行了观察, 以便积累有关病原生物学的基础资料。

近交系是指用血统或亲缘关系相近的个体进行交配繁殖所得到的遗传上具有高度纯合性的品系。按目前国际统一规定, 只有经过连续20代以上亲缘关系最近的兄(弟)姐(妹)或亲子(女)交配所产生的品系才算是近交系。本文研究了C57BL、ICR、615和津白I近交系小鼠体内血吸虫的发育情况, 与此同时也对昆明杂交系小鼠进行了观察。

材 料 和 方 法

一、小鼠的来源 本研究采用的近交系小鼠由中国科学院上海实验动物中心供应, 为C57BL、ICR、615、津白I以及本所动物房饲养繁殖的二系昆明杂交小鼠代号为Km-P和Km-S。实验用的各系小鼠全为雄性, 在实验期间均同样喂养规定的硬块饲料及自来水。

* 本项研究得到联合国开发计划署/世界银行/世界卫生组织热带病研究培训特别规划的部份支持。
本文1981年8月26日收到, 1983年1月24日收到修改稿。

二、尾蚴的来源 感染用的尾蚴是安徽贵池大陆品系日本血吸虫感染家兔后其肝脏中虫卵孵出的毛蚴，感染同一批人工繁殖的安徽贵池的子1代湖北钉螺 (*Oncomelania hupensis hupensis*) 后逸出的尾蚴。

三、感染的条件和操作 每次实验系从上述所得的同一批阳性钉螺逸出的尾蚴，在6—9小时内进行人工感染。各品系小鼠均在相同的条件下，将计数的尾蚴采取任意依次交叉感染的方法，每鼠腹部皮肤感染复性尾蚴40条。每鼠于人工感染后第33天开始用直接涂片法逐日检查粪便。寻找血吸虫卵，以确定其出现虫卵前期的时间 (Prepatent period)。至第42天，小鼠全部解剖，用灌注法收集虫体并计数。每次实验的各个感染环节均分别由同一专人负责操作，共进行10次实验。

四、虫体及性腺的测量 每次实验解剖小鼠所检获的第42天虫龄血吸虫标本经计数后分别固定于5%福尔马林中，然后测量体长。经酸胭脂红染色后进行雄虫睾丸及雌虫卵巢和子宫内虫卵数的测量或计数。各项测量分别由专人进行。

结 果

一、血吸虫的负荷

各品系小鼠感染日本血吸虫后从门-肠系膜静脉回收的虫数见表1。从表1中可明显地看出C57BL、ICR、615小鼠体内血吸虫平均负荷虫数的差别经方差分析无统计学意义，而津白I、Km-P、Km-S小鼠体内平均负荷虫数的差别亦无统计学意义。除ICR与Km-S之间的平均负荷虫数无统计学意义外，C57BL、ICR、615小鼠与津白I、Km-P、Km-S小鼠体内血吸虫平均负荷虫数的差别均有显著或非常显著的统计学意义。这说明不同品系小鼠感染血吸虫后其体内的虫负荷呈现不同。

表1 各品系小鼠感染日本血吸虫的负荷

小鼠品系	C57BL	ICR	615	津白I	Km-P	Km-S
实验鼠数	98	96	97	95	100	99
每鼠感染尾蚴数	40	40	40	40	40	40
每鼠平均虫数±SD (♂:♀)	25.2±8.0 (1.4:1)	23.9±7.8 (1.6:1)	24.8±6.6 (1.7:1)	19.4±8.4 (1.5:1)	19.6±9.1 (1.5:1)	21.8±9.0 (1.4:1)
方差分析 P值	NS		NS		NS	
	NS			NS		
	NS					
	<0.05					
	<0.01					

NS = 无显著意义

二、血吸虫的生长和发育

(一) 体长 各品系小鼠体内两性日本血吸虫的体长测量结果见表2。

(二) 性腺 为了解各品系小鼠体内两性血吸虫生殖器官发育成熟的程度, 对雄虫睾丸数及睾丸列的平均长度以及雌虫卵巢的平均大小和子宫内虫卵的平均数进行了全面观察, 结果见表3。

表2 各品系小鼠体内日本血吸虫的体长 (单位: mm)

小鼠品系	C57BL	ICR	615	津白 I	Km-P	Km-S
♂						
测量虫数	1041	1060	1125	639	939	1073
平均体长±SD	12.6±2.3	12.6±2.3	12.1±2.3	12.8±2.5	13.0±2.5	13.1±2.6
♀						
测量虫数	677	589	632	409	545	663
平均体长±SD	16.0±1.4	16.5±1.4	16.1±1.6	17.0±1.7	17.0±1.7	17.0±1.8

表3 各品系小鼠体内日本血吸虫的性腺

小鼠品系	C57BL	ICR	615	津白 I	Km-P	Km-S	
雄	观察虫数	631	568	631	357	533	641
	7个睾丸虫数 (%)	559 (88.6)	489 (86.1)	559 (88.6)	323 (90.5)	468 (87.8)	575 (89.7)
	非7个睾丸虫数 (%)	72 (11.4)	79 (13.9)	72 (11.4)	34 (9.5)	65 (12.2)	66 (10.3)
	测量虫数	681	608	685	404	593	695
	平均长度±SD (mm)	0.623±0.09	0.622±0.10	0.625±0.10	0.632±0.10	0.650±0.10	0.649±0.10
雌	测量虫数	687	587	650	407	535	589
	平均长度±SD (mm)	0.551±0.07	0.544±0.08	0.550±0.08	0.568±0.08	0.581±0.08	0.579±0.08
	平均宽度±SD (mm)	0.178±0.02	0.180±0.02	0.180±0.02	0.184±0.03	0.184±0.02	0.182±0.02
虫	观察虫数	66	49	56	46	47	73
	平均虫卵数±SD (个)	96±45	111±41	120±47	129±52	14±45	119±45
双性畸形	观察虫数	1368	1195	1335	811	1128	1284
	畸形虫数	2	1	0	0	5	6

此外, 我们共查见14条双性畸形的虫体, 其中雄性双性畸形和雌性双性畸形各7条。在14条双性畸形虫体中, 11条是在昆明杂交系小鼠体内发现的, 而近交系C57BL小鼠有2条, ICR小鼠1条。

(三) 出现虫卵前期 为了进一步了解各品系小鼠体内雌虫的产卵及寄主粪便排卵的时间, 我们又观察了各品系小鼠感染日本血吸虫后的出现虫卵前期, 结果见表4。各品系小鼠的每鼠平均雌虫数分别为8—10条, 615品系小鼠为9.6条, 而其出现虫卵前期最长, 平均为 37.0 ± 1.8 天, 与其它各品系小鼠的出现虫卵前期, 平均为 $35.5 \pm 1.6 - 36.4 \pm 1.6$ 天相比较, 经方差统计分析均有显著意义。

表4 各品系小鼠感染日本血吸虫的出现虫卵前期

小鼠品系	C57BL	ICR	615	津白 I	Km-P	Km-S
检查鼠数	95	97	93	68	100	95
平均天数 \pm SD	36.4 ± 1.6	36.2 ± 1.3	37.0 ± 1.8	36.3 ± 1.6	35.9 ± 1.6	35.5 ± 1.6

讨 论

关于不同科属种的哺乳动物感染大陆品系日本血吸虫后寄主与寄生虫相互关系问题的探讨, 不仅是项基础工作, 而且也能提供血吸虫病防制的参考。作者之一(何毅勋, 1963) 过去曾对包括实验动物及家畜等13种动物感染大陆品系日本血吸虫的寄主特异性进行了比较, 区分了它们充作血吸虫的适宜终末寄主与非适宜终末寄主的特点, 进而了解其在流行病学中的意义。本文进一步研究了小鼠的种下水平在感染大陆品系日本血吸虫后的虫负荷及其发育情况, 期望从中提供有关我国大陆品系日本血吸虫的生物学基础知识。我们的观察结果表明不同品系的小鼠感染相同数量和同一来源品系的日本血吸虫尾蚴, 按其体内的虫负荷可分为二类: 一类是C57BL、ICR、615小鼠的虫负荷较高, 另一类是津白 I、Km-P、Km-S小鼠的虫负荷较低。这两类小鼠体内虫负荷的差别, 除ICR与Km-S外, 均有统计学上的意义, 说明不同品系小鼠感染血吸虫后其体内的虫负荷呈现不同。

在每一品系各小鼠体内两性虫体的长度以及性腺发育成熟的程度和子宫卵数都呈现着一定的变异, 但值得注意的是在2系昆明杂交小鼠体内检获的2412条血吸虫中, 双性畸形的虫体分别占0.44%及0.47%, 而在近交系小鼠仅于C57BL和ICR小鼠体内分别查见0.15%及0.08%的双性畸形虫体。我们每次实验时, 均以同一来源的尾蚴在相同条件下同时进行人工感染各品系小鼠, 何以杂交系小鼠体内双性畸形的虫体却较近交系小鼠的为多, 这究竟是巧合抑或受寄主因素的影响, 确是一个值得注意的现象。

根据548只不同品系小鼠感染大陆品系日本血吸虫的观察结果, 表明当每鼠平均雌虫数为8—10条时, 大陆品系日本血吸虫的出现虫卵前期平均为 $35.5 \pm 1.6 - 37.0 \pm 1.8$ 天, 其中以615品系小鼠的出现虫卵前期最长。值得提出的是, 徐锡藩等(1958、1960)及邱瑞光等(1973)报告应用浙江来源的我国大陆品系日本血吸虫感染小鼠, 其出现虫卵前期的平均天数分别为 42.1 ± 0.5 (SE) 及 43.3 ± 1.8 (SD), 均明显地较我们应用安徽来源的大陆品系日本血吸虫的长5—7天。其原因可能与他们每鼠人工感染尾蚴数,

徐为60条雌、雄各半尾蚴,邱为54—121条尾蚴,均较我们的为多,致受拥挤效应(Crowding effect)而影响其发育,但更可能与他们观察的小鼠数量太少有关。至于我国大陆品系日本血吸虫感染小鼠的出现虫卵前期,是否因安徽与浙江两地地域不同也存在差别值得注意。

参 考 文 献

- Chin, J. K. (邱瑞光) & Kao, C. T. (高捍田) 1973 Studies on host-parasite relationships of Ilan strain of *Schistosoma japonicum* in animals I. Prepatent period. *Chinese J. Microbiol.* (Taiwan) 6: 72—79.
- Colley, D. G. 1972 *Schistosoma mansoni*: Eosinophilics and the development of lymphocyte blastogenesis in response to soluble egg antigen in inbred mice. *Exp. Parasit.* 32: 520—526.
- Colley, D. G. & Freeman, G. L. Jr. 1980 Differences in adult *Schistosoma mansoni* worm burden requirements for the establishment of resistance to reinfection in inbred mice I. CBA/J and C57 BL/6 mice. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 29: 1279—1285.
- Ho, Yi-Hsun (何毅勤) 1963 On the host specificity of *Schistosoma japonicum*. *Chinese Med. J.* 82: 403—414.
- Hsu, H. F. (徐锡藩) & Hsu Li, S. Y. (李书颖) 1958 The prepatent period of four geographic strains of *Schistosoma japonicum*. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 52: 363—367.
- Hsu, H. F. (徐锡藩), Hsu Li S. Y. (李书颖) & Tsai, C. T. (蔡嘉泰) 1960 Further studies on the prepatent periods of four geographic strains of *Schistosoma japonicum*. *Libro Homenaje al Dr. Eduardo Caballero y Caballero*, 153—160.
- Mitchell, G. F., Garcia, E. G., Anders, R. F., Valdez, C. A., Tapales, F. P. & Cruise, K. M. 1981 *Schistosoma japonicum*: Infection characteristics in mice of various strains and a difference in the response to eggs. *Inter. J. Parasit.* 11: 267—276.
- Murrell, K. D., Clark, S., Dean, D. A. & Vannier, W. E. 1979 Influence of mouse strain on induction of resistance with irradiated *Schistosoma mansoni* cercariae. *J. Parasit.* 65: 829—831.
- Usawattanakul, W., Kamijo, T. & Kojima, S. 1982 Comparison of recovery of schistosomula of *Schistosoma japonicum* from lungs of mice and rats. *J. Parasit.* 68: 783—790.

INFECTION AND MATURATION OF *SCHISTOSOMA JAPONICUM* IN INBRED AND OUTBRED MICE*

He Yixun Mao Caisheng Chang Zhengshan

Yu Qifang Hu Yaqing Zhang Yongnian

(*Institute of Parasitic Diseases, Chinese Academy of Medical Sciences*)

A study was carried out to evaluate the development of *Schistosoma japonicum* (Chinese (mainland) strain) in inbred and outbred mice. Male mice of four inbred strains (C57BL, ICR, 615, Jin-Bai I) and two outbred strains (Km-P, Km-S) were used. Cercariae were collected from many F1 laboratory-bred and -infected *Oncomelania hupensis hupensis*. Both snails and schistosomes were originated from Anwei Province. Each mouse was exposed to 40 cercariae of the same pool, 10 mice for each strain were used in each of the 10 experiments. Daily stool examination for schistosome eggs were started 33 days after infection, and after 6 weeks all mice were autopsied and their worm burden was recorded.

Results obtained from the present study indicated that the six strains of mouse can be grouped into two categories based upon the worm burden. The first category included the C57BL, ICR and 615 inbred mice in which the worm burden was higher than that of the second category to which the inbred Jin-Bai I as well as outbred Km-P and Km-S strains belong. No consistent differences were observed in the body size or in the size of gonads of adult worms at the age of 42 days in the six strains of mice. But more hermaphroditic malformation of adult worms was found in outbred strain mice in which 11 specimens were observed than in inbred C57BL and ICR strains, in which only 2 and 1 specimens were obtained respectively. The mean prepatent period, namely the time elapsed between exposure of the host and the beginning of the appearance of eggs in the feces, varied with the strains of mice, from 35.5 ± 1.6 to 37.0 ± 1.8 days, with 615 strain mouse showing the longest.

* Partial financial support was received from UNDP/World Bank/WHO TDR.