

# 血吸虫虫卵在 BALB/c 鼠各组织中的分布

许 瑞<sup>1</sup>,赵登云<sup>1</sup>,林矫矫<sup>1</sup>,刘金明<sup>1</sup>,陆 珂<sup>1</sup>,洪 烨<sup>1</sup>,李 浩<sup>1</sup>,刘迎春<sup>1</sup>,刘一平<sup>2</sup>,徐玉梅<sup>3</sup>,朱传刚<sup>1</sup>

**摘要:**目的 研究血吸虫感染 BALB/c 鼠后,虫卵在其部分组织中特别是在肠壁中的分布状况。**方法** 10 只 BALB/c 鼠腹部贴片感染血吸虫尾蚴(40±1 条/只),感染 42 d 后剖杀,分别取鼠的肝脏、脾脏、肠道(小肠上段、中段、下段、盲结肠、直肠)进行成虫计数、虫卵计数、毛蚴孵化、组织切片观察,并将得到的结果进行统计学分析。**结果** 血吸虫虫卵在 BALB/c 鼠各组织的分布为:肝脏(59.64%)、脾脏(0.81%)、小肠上段(6.27%)、小肠中段(5.24%)、小肠下段(5.14%)、盲结肠(17.48%)、直肠(5.41%),肝脏的沉积虫卵数和孵化数与其他组织相比差异显著,肠组织中大肠段比小肠段的沉积虫卵数和孵化数多且差异显著。在孵化率的比较中肝脏的孵化率最高(1.09%)。病理切片观察,肝脏产生大量肉芽肿结节,肠壁出现不同程度的炎症坏死。**结论** BALB/c 鼠定量人工感染血吸虫后,肝脏中的沉积虫卵最多,其次是盲结肠,最少的是脾脏;且不同组织的沉积虫卵数目与病理损伤程度有关。

**关键词:**血吸虫;BALB/c 鼠;组织分布;沉积虫卵

中图分类号:R383.2

文献标识码:A

文章编号:1002-2694(2015)06-0574-05

## Distribution of *Schistosoma japonicum* eggs in each tissues of BALB/c mice

XU Rui<sup>1</sup>, ZHAO Deng-yun<sup>1</sup>, LIN Jiao-jiao<sup>1</sup>, LIU Jin-ming<sup>1</sup>, LU Ke<sup>1</sup>, HONG Yang<sup>1</sup>,  
LI Hao<sup>1</sup>, LIU Ying-chun<sup>1</sup>, LIU Yi-ping<sup>2</sup>, XU Yu-mei<sup>3</sup>, ZHU Chuan-gang<sup>1</sup>

(1. Shanghai Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences  
/ Key Laboratory for Animal Parasitology, Ministry of Agriculture, Shanghai 200241, China;

2. Anhui Provincial Center for Animal Disease Control and Prevention, Hefei 230091, China;

3. Department of Clinical laboratory, shanghai Xvhui Central Hospital, Shanghai 200031, China)

**Abstract:** We investigated the distribution of eggs of *Schistosoma japonicum* in each tissue, each BALB / c mice were infected with *Schistosoma japonicum* miracidium (40±1). At 42 days post infection, the mice's livers, spleens and intestines (the upper, middle and lower section of the small intestine, cecocolon, and rectums) were separated for counting the adult worms, eggs of *Schistosoma japonicum*, hatching miracidias and for pathological examination. The *Schistosoma japonicum* eggs had different distribution in the tissues of BALB/c mice. The percentage of eggs was 59.64% in liver, 0.81% in spleen, 6.27% in the upper of small intestine, 5.24% in the middle of small intestine, 5.14% in the lower of small intestine, 17.48% in cecocolon, and 5.41% in rectum. And the eggs in liver had a high hatching rate comparing with eggs in the other tissues (0.19%). HE staining showed that the inflammatory formation was around the lodges eggs in liver and the intestines emerged different degrees of necrosis. Liver of infected mice had the largest number of eggs per gram, followed by those in cecocolon, the least ones was in spleen. Furthermore, the pathogenesis was correlated with the deposition of eggs.

**Keywords:** *Schistosoma japonicum*; BALB/c mice; different tissue; density of eggs

Supported by the Special Fund for Agro-scientific Research in the Public Interests (No. 200903036) and the Central Public-interest Scientific Institution Basal Research Fund (No. 2014JB01)

Corresponding author: Zhu Chuan-gang, Email: zcg@shvri.ac.cn

国家公益性行业(农业)科研专项基金(No. 200903036),中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目(No. 2014JB01)

通讯作者:朱传刚, Email: zcg@shvri.ac.cn

作者单位:1. 中国农业科学院上海兽医研究所,农业部寄生虫学重点开放实验室,国家防治动物血吸虫病专业实验室,上海 200241;

2. 安徽省动物疫病预防与控制中心,合肥 230091;

3. 上海徐汇区中心医院检验科,上海 200031

血吸虫病是一种严重危害人类健康和影响社会发展进步的慢性传染病,主要分布在包括中国在内的热带和亚热带地区<sup>[1]</sup>。血吸虫虫卵在血吸虫病的传播流行方面起着重要作用,是传播血吸虫病的重要因素。虫卵随哺乳动物粪便排出,一旦污染水源,

粪便中的血吸虫卵就能在适宜的条件下孵出毛蚴,若水中有钉螺,则导致钉螺的感染,人或家畜在有阳性钉螺的地区活动并接触疫水,很容易感染血吸虫病<sup>[2]</sup>。

血吸虫成虫寄生于人或其他哺乳类动物的肠系膜下静脉,合抱的雌雄虫交配产卵于小静脉的小分支,部分虫卵附着于肠壁血管内和周围组织,另一部分虫卵随血流经肝门静脉沉积于肝,在门管区等处形成虫卵结节,故在肝表面和切面可见粟粒或绿豆大结节<sup>[3]</sup>。分布在肠腔组织的虫卵引起肠壁免疫反应形成病变和溃口,虫卵可经此进入肠腔,随粪便排出体外。虫卵是引起宿主组织发生病变的最重要因素,虫卵引起的病变与虫卵在各组织器官中沉积的数量密切相关。本论文以人工感染的 BALB/c 小鼠为模型探索血吸虫虫卵在小鼠肝、脾和肠各段中的具体分布的数量关系以及虫卵孵化成毛蚴的能力,并对各组织产生的病理损伤进行检测。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 实验动物 8 周龄 SPF 级 BALB/c 小鼠,雄性,体重 20~22 g,购自上海斯莱克实验动物有限责任公司。

1.1.2 血吸虫虫种 阳性钉螺由江苏省寄生虫病研究所购进,实验室人工培养。

### 1.2 方法

1.2.1 小鼠的感染与取样 将 10 只小鼠按常规腹部贴片感染血吸虫尾蚴( $40 \pm 1$  条/只),感染后第 42 d 解剖,取各鼠的肝、脾、肠,将肠根据功能细分成小肠、盲结肠、直肠 3 段,其中小肠再细分成上、中、下 3 段(每段约 18 cm),清空肠道内容物。

1.2.2 不同组织成虫的计数 仔细分离各组织周围的血管,用眼科镊挑取各组织部位血管中的成虫,并计数。

1.2.3 各组织的处理 仔细分离除去粘附于各组织的血管、肠系膜等外在组织,分别称重后放入离心管中,加适量的蒸馏水,定容至 10 mL,用高速匀浆机处理,得到各组织的匀浆。

1.2.4 毛蚴的孵化与计数 将孵化瓶中加蒸馏水至瓶颈处,加入 5 mL 上述匀浆,在瓶口水面处塞入疏松脱脂棉。再缓慢加入 10 mL 蒸馏水,静置孵化 2 h 后,吸取棉层上部液体加甲醛固定过夜后收集毛蚴,用碘酒染色,解剖镜下计数。

1.2.5 虫卵的消化与计数 取 800  $\mu$ L 的组织匀浆于 2 mL 的 EP 管中,再加入 800  $\mu$ L 的 20% NaOH

溶液,37 °C 的条件下消化 2 h,4 °C 保存,每次取 100  $\mu$ L 消化液,用计数板计数其虫卵数,每样计数 3 次。

1.2.6 制备组织切片 将肝脏、脾脏、小肠上段、小肠中段、小肠下段、盲肠、结肠和直肠组织修块,放入 EP 管中,并加入 10% 的甲醛溶液固定,然后进行石蜡包埋,切片并进行 HE 染色,显微镜下观察。

1.2.7 统计学分析 实验数据用 SPSS17.0 软件进行统计学分析,计算算数平均数、标准偏差。同时比较组间差异。内脏沉积虫卵百分比的计算:记录每只小鼠的肝脏、脾脏和肠各段沉积虫卵量,取均值分别计算各自的沉积虫卵百分比,计算依照如下公式:

$$\text{沉积虫卵百分比} = \frac{\text{每脏器沉积虫卵总量}}{\text{全部脏器沉积虫卵总量}} \times 100\%$$

## 2 结 果

2.1 成虫的计数 BALB/c 小鼠人工感染尾蚴 42 d 后,血吸虫成虫多在肝门处寄生,且多以雌雄合抱形式存在。其中在肝门附近的血管居多,在其他肠系膜血管均有寄生,且活体观察发现血吸虫在血管内处于游走状态,小鼠处死后不同部位相对寄生数见表 1。

表 1 不同部位血吸虫成虫数

Tab. 1 Number of adult worms in different parts

	Pair	Single	Total
Hepatic portal	$5.40 \pm 1.14$	$1.60 \pm 1.82$	$12.40 \pm 4.10$
Small intestine	$1.40 \pm 0.55$	0	$2.80 \pm 1.10$
Cecocolon	$1.20 \pm 0.45$	0	$2.40 \pm 0.90$
Rectum	$1.00 \pm 0.71$	0	$2.00 \pm 1.42$

2.2 虫卵的计数 对不同脏器组织中的虫卵进行计数,不同脏器组织中虫卵的数目差别很大,见图 1。每 g 组织虫卵数分别是肝( $5.40 \pm 1.18$ ) $\times 10^4$ 、脾( $3.90 \pm 1.53$ ) $\times 10^3$ 、小肠上段( $1.77 \pm 0.48$ ) $\times 10^4$ 、小肠中段( $1.48 \pm 0.39$ ) $\times 10^4$ 、小肠下段( $1.45 \pm 0.41$ ) $\times 10^4$ 、直肠( $1.03 \pm 0.31$ ) $\times 10^5$ 、盲结肠( $6.65 \pm 2.63$ ) $\times 10^4$ 。计算各组织中沉积虫卵含量百分比,分别为肝脏(59.64%)、脾脏(0.81%)、整个肠腔(39.55%),其中小肠上段(6.27%)、中段(5.24%)、下段(5.14%)、盲结肠(17.48%)、直肠(5.41%),见图 2。经统计分析结果表明:肝脏与脾脏、肠道相比;直肠与盲结肠相比;小肠上段与小肠中段、小肠下段相比, $P < 0.05$  差异具有统计学意义。在感染第 42 d,脾脏所含虫卵数最低,其次是小肠中段和小肠下段。

2.3 虫卵孵化率的比较 小鼠感染血吸虫 42 d

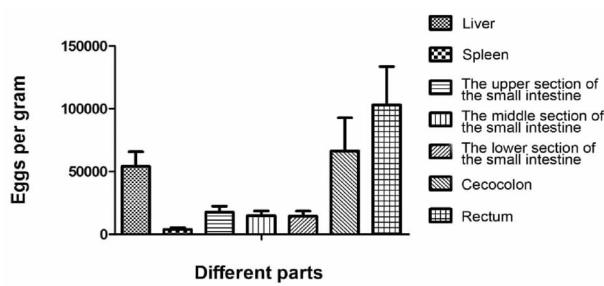


图 1 不同组织沉积虫卵数

Fig. 1 Density of eggs in different tissues

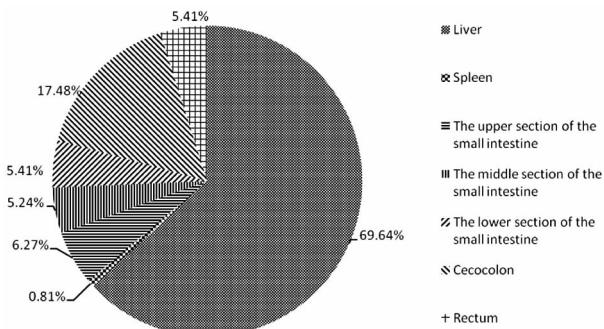


图 2 不同组织中沉积虫卵百分比

Fig. 2 Percentage of eggs in different tissues

后,定量取不同组织进行沉积虫卵的毛蚴孵化实验,结果见图 3。经统计分析结果表明:肝脏与脾脏、肠道相比;直肠与盲结肠相比;小肠上段与小肠下段相比;小肠中段与小肠下段相比, $P < 0.05$  差异具有统计学意义。其中肝脏组织和盲结肠每 g 组织中能孵化的虫卵数相对较多,而整个小肠各段的孵化数均较少。

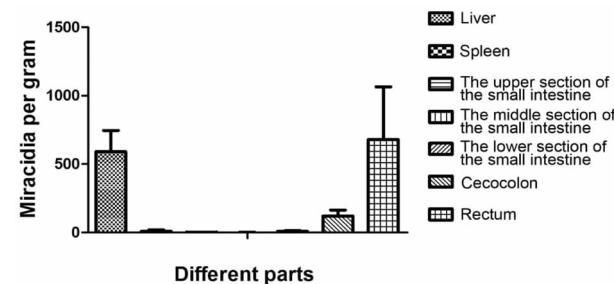


图 3 不同组织孵化毛蚴数

Fig. 3 Density of miracidia hatching in different tissues

由上述数据可以得出不同组织中沉积虫卵孵化的毛蚴数是不同的,肝脏中的孵化率最高,而小肠中的孵化率最低,结果见表 2。

表 2 不同组织孵化率

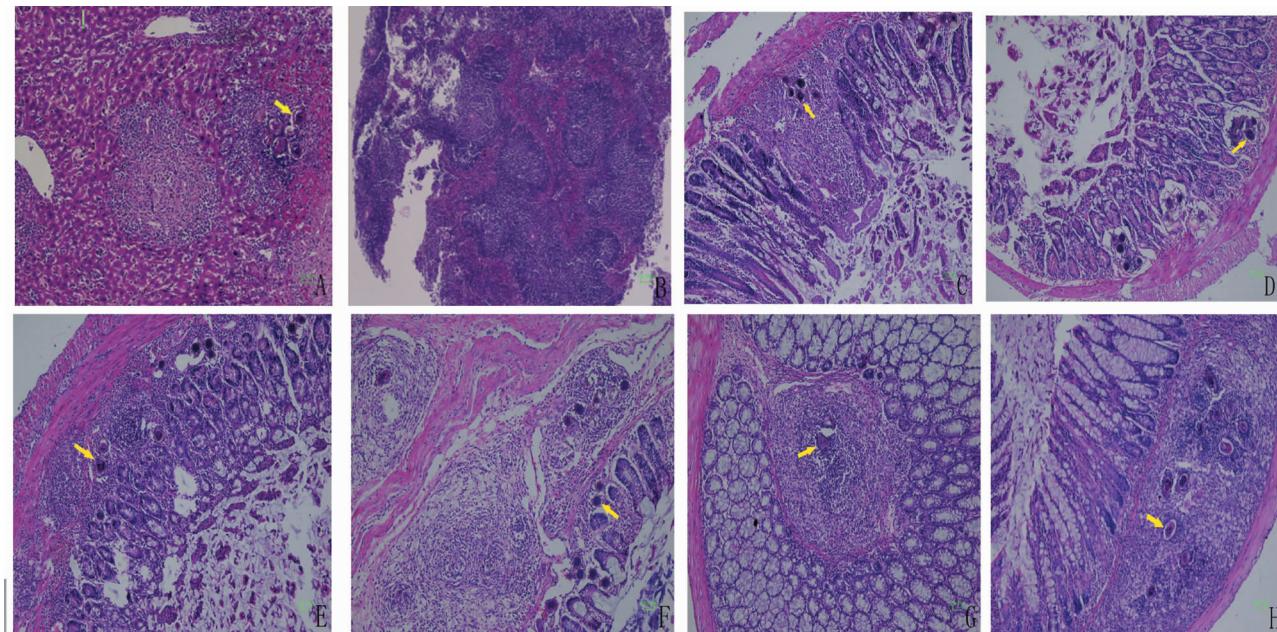
Tab. 2 Hatching rate of eggs in different tissues

	Liver	Spleen	Intestinal tract						Total	
			The upper	The middle	The lower	Cecocolon	Rectum			
			section of the	section of the	section of the					
Weight(g)	3.19±0.38	0.60±0.11	1.03±0.17	1.03±0.17	1.03±0.17	0.76±0.15	0.15±0.04	3.99±0.63		
No. miracidia per gram	(5.91±1.55)×10 <sup>2</sup>	9.12±11.76	2.30±1.33	1.20±1.37	9.43±6.37	(1.21±0.44)×10 <sup>2</sup>	(6.80±3.84)×10 <sup>2</sup>	(1.63±0.85)×10 <sup>2</sup>		
No. theory of the total miracidia	1.89×10 <sup>3</sup>	5.44	2.36	1.23	9.68	9.16×10 <sup>1</sup>	1.03×10 <sup>2</sup>	8.57×10 <sup>2</sup>		
No. eggs per gram	(5.4±1.18)×10 <sup>4</sup>	(3.90±1.53)×10 <sup>3</sup>	(1.77±0.48)×10 <sup>4</sup>	(1.48±0.39)×10 <sup>4</sup>	(1.45±0.41)×10 <sup>4</sup>	(6.65±2.63)×10 <sup>4</sup>	(1.03±0.31)×10 <sup>5</sup>	(4.33±1.26)×10 <sup>4</sup>		
No. the total number of eggs	1.72×10 <sup>5</sup>	2.33×10 <sup>3</sup>	1.81×10 <sup>4</sup>	1.52×10 <sup>4</sup>	1.49×10 <sup>4</sup>	5.05×10 <sup>4</sup>	1.56×10 <sup>4</sup>	1.14×10 <sup>5</sup>		
The percentage of eggs(%)	59.64	0.81	6.27	5.24	5.14	17.48	5.41	39.55		
The hatching rate of eggs(%)	1.09	0.23	0.01	0.01	0.07	0.18	0.66	0.38		

2.4 各组织病理切片观察 小鼠感染血吸虫 42 d 后,剖杀可见肝脏失去鲜活的红色呈现灰白色,表面密布白色和灰白色小点,肝脏质地变硬失去弹性;脾脏变大;肠道破开后,亦可见有糜烂、溃疡、点片状出血,直肠部位有铺路石样改变并可见典型的灰黄色血吸虫卵结节。

对各组织做病理切片检查,如图 4 所示。肝脏:可见大量慢性肉芽肿结节,虫卵周围有大量炎症细胞分布,肝细胞有灶性坏死。脾脏:脾组织正常结构存在,脾窦淤血,皮质脾小体反应性增大,有滤泡形

成,偶见虫卵。小肠上段:粘膜下层少量虫卵肉芽肿形成,肠粘膜炎症,粘膜上皮部分坏死脱落。小肠中段:粘膜下层小型虫卵肉芽肿,散在分布,肠粘膜结构多数尚好,粘膜上皮部分坏死脱落。小肠下段:粘膜下层数个小型虫卵肉芽肿形成,肠粘膜炎症,粘膜上皮部分坏死脱落。盲肠:粘膜下层大量虫卵肉芽肿形成,肠粘膜炎症,粘膜表浅上皮多灶性坏死脱落。结肠:粘膜下层少量急慢性虫卵肉芽肿形成。肠粘膜炎症细胞浸润,部分表浅上皮坏死脱落。直肠:直肠粘膜下层大量急慢性虫卵结节呈灶性分布。



注: A: 肝脏; B: 脾脏; C: 小肠上段; D: 小肠中段; E: 小肠下段; F: 盲肠; G: 结肠; H: 直肠。箭头所指为虫卵。

A: Liver; B: Spleen; C: The upper section of the small intestine; D: The middle section of the small intestine; E: The lower section of the small intestine; F: Cecum; G: Colon; H: Rectum. Arrows indicate the eggs.

图 4 各组织病理切片(HE 染色)

Fig. 4 Pathological slices of each tissue (Hematein Eosin)

### 3 讨 论

血吸虫发育阶段中的尾蚴、童虫及成虫、虫卵等均可引起病变,但以虫卵引起的病变最严重,对机体的危害也最大<sup>[4]</sup>。通过研究宿主内脏中血吸虫沉积虫卵的分布,有助于明确宿主的损伤部位和损伤程度。

一般认为,日本血吸虫主要寄生在宿主的肠系膜上静脉的前支和门静脉,本实验通过活体检测发现,血吸虫成虫广泛分布在感染小鼠的门静脉和肠系膜上、中、下静脉,且成虫在上述血管中处于缓慢的移行过程,寄生部位并不固定。此外,比较寄生部位的成虫数量与周围组织沉积虫卵数量,两者之间并非一一对应关系。

血吸虫虫卵主要沉积在肝脏与肠道。更精细的研究表明,感染 42 d 的 BALB/c 小鼠虫卵的分布具有一定的特点,从肝、肠、脾 3 大器官的虫卵分布看,虫卵在脾脏的沉积数量最少,脾脏的病理损伤也较轻,可能是感染 42 d,虫卵造成的门静脉分支栓塞,以及虫卵肉芽肿引起的门静脉周围纤维组织增生,使肝内门静脉分支阻塞和受压尚不严重,门静脉高压处于形成阶段,脾的功能暂未受到严重影响。可以推测,随着血吸虫感染产生门脉高压造成肝脏窦性充血以及纤维变性,部分虫卵将转而在小鼠脾脏中沉积。从肠道各段比较分析,在小肠的沉积虫卵数较少,尤其是小肠的中段。小肠的上段的前端为

十二指肠,为胆管开口部位,是否有进入肝脏的虫卵经此进入肠道值得进一步研究;相比较而言,盲结肠和直肠的虫卵沉积最多,尤其是小鼠直肠部位,单位重量的直肠沉积虫卵最多;虫卵沉积数量和病理切片显示的病理变化一致,沉积虫卵数少的脾脏和小肠,病变较轻,反之,肝脏和直肠等部位沉积虫卵多,病理损伤严重。早在 1924 年, Faust 和 Meleney<sup>[5]</sup>在研究中就发现,日本血吸虫感染后,病人结肠的病理损伤最严重。Vogel 和 Minning<sup>[6]</sup>使用日本血吸虫中国大陆株感染恒河猴后,发现虫卵肉芽肿引起的消化道的损伤主要在大肠部位。我们的检查揭示小鼠感染 42 d 后,血吸虫虫卵在小肠的沉积数量并不多,形成的病理损伤也不是最重的,这同上述文献一致。而有文献报道<sup>[5]</sup>,在实验感染的狗中,小肠的空肠却是损伤最严重的部位。在日本, Ito<sup>[7]</sup>对日本血吸虫感染的实验兔和小鼠的研究中发现,虫卵引起的损伤部位多数集中位于低位十二指肠和高位空肠,而肠道其他部位损伤少见。造成这一变化的原因可能在易感宿主体内血吸虫的数量和感染时间的不同,此外,日本血吸虫虫卵引起损伤的分布因地理株系与宿主品系的不同也会有所改变。

不同组织器官沉积虫卵的孵化率也具有一定规律,感染 42 d 的小鼠,肝脏沉积虫卵的孵化率相对最高,而小肠各段沉积虫卵的孵化率均较低,小肠中的虫卵多靠近肌层,发育还不成熟,导致小肠中的孵

化率相对较低。在大肠中肠粘膜炎症细胞浸润,部分表浅上皮坏死脱落,且虫卵更靠近粘膜层,易于脱落进入肠腔,且虫卵大多发育成熟,孵化率相对于小肠较高。肠道沉积虫卵逐步引起肠组织的病变、溃烂,这部分已发育一定时间的虫卵率先进入肠道中随粪便排出了体外,形成肠道沉积虫卵孵化率相较于肝脏沉积虫卵的孵化率降低。

从 80 年代起,国内学者开始研究日本血吸虫病人粪便中虫卵分布的特征,以期待对以粪样检测为主要手段的血吸虫病诊断提供科学的解释。余金明等<sup>[8]</sup>发现,日本血吸虫卵在粪便中的分布具有聚集性。虫卵主要分布在粪便的表层及头端,从表面至内部及从头至尾部虫卵数有逐渐减少的趋势。我们研究发现小鼠的虫卵主要沉积在盲结肠和直肠,这部分是粪样成型的场所,处于盲结肠处的粪样中水分等物质被大肠吸收,大肠的蠕动已经不可能充分混匀盲结肠处掉落的虫卵,当粪样成型进入直肠后,直肠处排出的虫卵只能粘附于粪样表面,形成粪样虫卵的聚集分布和表层分布的特点。

本研究系统的检测易感动物 BALB/c 小鼠定量人工感染血吸虫后沉积虫卵的分布情况以及虫卵孵化率的不同,丰富了日本血吸虫感染小鼠模型中虫卵分布的研究,对排出虫卵在粪样中的分布也做了推理。值得注意的是,本论文截取感染 42 d 小鼠,研究虫卵沉积情况以及虫卵总量的分布,若血吸虫感染数量的不同以及随着血吸虫病的进展,虫卵的沉积可能将发生改变,值得今后做进一步研究。

## 参考文献:

[1] Xue SW. Research of identification of the eggs dead or alive

which were extracted from the colonic mucosa of mice infected with *Schistosoma japonicum* and antigen detection[D]. Changsha: Department of Clinical medicine, Central South University, 2012. (in Chinese)

薛世伟. 日本血吸虫感染小鼠结肠粘膜内虫卵死活鉴别及抗原检测的研究[D]. 长沙: 中南大学临床医学系, 2012.

[2] Zhou SH, Wang SP. A simplified method for rapid isolation of *Schistosoma japonicum* immature eggs[J]. Chin J Schisto Ctrl, 2007, 19(2): 128-130. (in Chinese)

周松华, 汪世平. 简便快速分离日本血吸虫未成熟虫卵方法的研究[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2007, 19(2): 128-130.

[3] Zhu CG, Yang Y, Li XH, et al. Distribution of *Schistosoma japonicum* eggs in liver lobes of BALB/c mice[J]. Chin J Anim Infect Dis, 2011, 19(5): 66-70. (in Chinese)

朱传刚, 杨艺, 李小红, 等. 日本血吸虫虫卵在 BALB/c 鼠肝脏各叶中的分布调查[J]. 中国动物传染病学报, 2011, 19(5): 66-70.

[4] Melenet HE, Sandground JH, Moore DV, et al. The histopathology of experimental *Schistosomiasis*. II. Bisexual infections with *S. mansoni*, *S. japonicum*, and *S. haematobium*[J]. Am J Trop Med Hyg, 1953, 2: 883-913.

[5] Faust EC, Meleney HE. Studies on *Schistosomiasis japonica* [J]. Am J Trop Med Hyg, 1924, 3: 1-339.

[6] Vogel H, Minning W. Ueber die erworbene Resistenz von Macacus rhesus *Schistosoma japonicum*[J]. Ztschr Trop Med Parasitol, 1953, 4: 418-505.

[7] Ito J. Studies on the host-parasite relationships of *Schistosoma japonicum* in common laboratory animals[J]. Jpn J M Sc Biol, 1955, 8(1): 43-62.

[8] Yu JM, Chen QM, Yuan HC, et al. Distribution of *Schistosoma japonicum* eggs in the stools[J]. Chin J Parasit Dis Ctrl, 1998, 11(4): 298-300. (in Chinese)

余金明, 陈启明, 袁鸿昌, 等. 粪便中日本血吸虫卵的分布[J]. 中国寄生虫病防治杂志, 1998, 11(4): 298-300.

收稿日期: 2014-07-21; 修回日期: 2014-12-01