维普资讯 http://www.cqvip.com

华支睾吸虫神经系统的初步研究

寄生虫学教研室 叶彬 郎所*

提 要 利用硫代胆碱法研究华支睾吸虫神经系统，发现其中含有乙酰胆碱酯酶及非特异性胆碱酯酶。该虫神经系统结构由中枢神经节、纵行神经干和横神经联合以及分布于口腹吸盘等器官的神经分支组成。中枢神经节向前发出四对纵神经干，向后发出三对纵神经干，其中一对后腹神经干最粗长。口吸盘内的神经环较细，腹吸盘有来自后腹神经干的数对分支所形成的神经网。纵横神经交织形成神经网络。本文还就方法及结果与前人的研究作了比较

关键词 华支睾吸虫；神经系统；乙酰胆碱酯酶；胆碱酯酶；组化定位
中图分类号 R383.22

自从Bueding (1952) 发现曼氏血吸虫成虫匀浆内含有乙酰胆碱酯酶以来[1]，国内外相继有人从组化角度证实多种酯酶在吸虫、绦虫及线虫体内存在。并且还有人以酶组化反应产物特异性的沉着位置，研究蠕虫的神经系统。如单殖吸虫类的双身虫[2]，复殖吸虫类的曼氏血吸虫、日本血吸虫以及肝片吸虫等[3-5]。

关于华支睾吸虫的神经系统，何毅勋以单独的乙酰胆碱酯酶定位作过相应研究[6]。根据我们的研究结果，发现在该虫神经系统的解剖学结构上彼此存在一定差异，并且组化定位方法也不尽一致，故将我们的研究报告于后，以资讨论。

材料和方法

材料系以华支睾吸虫囊蚴人工感染大白鼠后所得。成虫为90d虫龄。

神经系统的组化定位方法为Douglas的硫代胆碱法改进而成[7]，成虫标本经固定及水洗之后，在37℃下与底物液孵育30—60min。以不含底物者作空白对照。底物分别是碘化乙酰硫代胆碱（Acetylthiocholine iodide, Aschi）和碘化丁酰硫代胆碱(Butyrylthiocholine iodide, Bschi)。各种底物液分别为：8mg/ml Aschi，16mg/ml Aschi底物液，9mg/ml Bschi，18mg/ml Bschi底物液，及4mg/ml Aschi+4.5mg/ml Bschi底物液。孵育的样品经处理后，以聚乙烯吡咯烷酮（PVP）封片，镜检。

结 果

华支睾吸虫成虫神经系统内胆碱酯酶的定位结果见表1。

从表可见，在不含底物的空白对照中未见有酶反应产物沉着于虫体的神经系统，表明以此底物所进行的酶反应具有特异性。

在不同底物的试验中，结果表明相同浓度下以Aschi作底物比Bschi作底物所得产物量要多些，所展示的神经颜色也较深些。同种底物下，高浓度底物液进行反应所见较为明显的结果，神经展示也明显些。其中以16mg/ml Aschi底物液的酶反应结果最明显，神经展示最清楚。与其效果相当的是1mg/ml Aschi+1.5mg/ml Bschi底物

* 郎所为华东师范大学生物系教授。本文整理还得到李树华教授的热情指导及审阅

表 1 华支睾吸虫神经系统的胆碱酯酶定位*

(Table 1) Localization of cholinesterase in the nervous system of *Clonorchis sinensis*

底物	Aschi			Bschi			Aschi+Bschi	
浓度 (mg/ml) / 虫体部位	0	8	16	0	9	18	0	4+4.5
中枢神经节	−	++	+++	−	++/+	+++/++	−	+++
腹神经干	−	++	+++	−	++	+++	−	+++
背神经干	−	+	++	−	+	++	−	++
侧神经干	−	±	+	−	±	+	−	+
横神经联合	−	+	++/+	−	+	+	−	++/+
口吸盘内神经	−	+	++	−	+	++/+	−	++
腹吸盘内神经	−	+	++	−	+	++/+	−	++
咽部神经	−	±	+	−	±	+/±	−	+
排泄囊上神经	−	+	++/+	−	±	+/±	−	++
其他部位神经	−	−	±	−	−	±/−	−	±

*注：表中"−"为未见酶反应产物沉着，"+"为可见到产物沉着

液。

华支睾吸虫神经系统的胆碱酯酶定位结果表明其中含有乙酰胆碱酯酶和非特异性胆碱酯酶。其中枢神经节（即脑神经节）和后腹神经干的酶反应最强，背神经干及口腹吸盘内神经的酶反应次之，侧神经干及横神经联合等部位则更弱。看来中枢神经节及后腹神经干内的胆碱酯酶含量最多。

通过胆碱酯酶定位所显示的该虫神经系统结构清楚。神经系统由中枢神经节、纵神经干、神经联合及伸入口腹吸盘等器官的神经分支组成（图1、2、3）。

中枢神经节一对，位于咽背后两侧，其间有一粗大神经联合（图4）。

由中枢神经节向前发出四对纵神经干，由内向外依次为入咽神经干、前背神经干、前腹神经干和前侧神经干。入咽神经干较粗短，达咽部。前腹神经干和前侧神经干由中枢神经节发出的一粗大神经分支形成，前腹神经干再分为二支神经。前背神经干、前侧神经干及前侧神经干分别沿虫体背面、腹面及侧面达口吸盘，在其中形成一较细神经环，并有少许神经末梢分布于口周组织内（图4）。前行的神经干之间有少量神经联合构成稀疏的神经网。

中枢神经节向后发出三对纵神经干，即后背神经干、后腹神经干及后侧神经干。

后背神经干是最内的一对细长神经干，沿虫体背面向后延伸至前睾丸水平两条神经汇合为一较大的神经节，并由此发出一条神经达虫体末端（图1、3）。

后腹神经干直达虫体末端，是最为粗长的一对神经，但向后延伸逐渐变细（图1、3）。后腹神经干在腹吸盘水平处发出数对分支进入腹吸盘内，并反复分支形成神经网络，腹吸盘孔周还可见到一不明显的神经环（图5）。

后侧神经干是最细的一对后行神经干，沿虫体壁向后延伸，逐渐变细，可达后睾丸水平线，几乎接近虫体末端（图3）。

虫体腹面，后腹神经干之间以及每条后腹神经干与同侧的后侧神经干之间均有横神经联合构成虫体腹面的神经网。虫体背面，后背神经干间及其与后侧神经干也有横神经联合构成背面的神经网。虫体末端，后腹神经

维普资讯 http://www.cqvip.com

干及后背神经干的延伸神经细支及横神经联合形成稀疏的神经网，分布于排泄囊及排泄孔周。虫体腹面的神经网比背面的密，前部比后部的密，虫体中央部位比两侧的密。

讨　论

关于吸虫神经系统的一般解剖学研究，前人多用硝酸银浸染法。此法的特异性不强，尤其是虫体肥厚、感觉乳突少或缺乏的虫种，效果便受限制[3]。而采用组化定位方法则效果较好，且具有特异性。

定位神经干纤维内胆碱酯酶的硫代胆碱法始由Koelle等人设计的[5]。他们根据乙酰胆碱的结构合成其类似物——碘化乙酰硫代胆碱，并发现该化合物更容易被乙酰胆碱酯酶分解，其分解产物与铜离子结合成胆碱铜，经硫化氢进一步作用下生成棕褐色硫化铜沉积于乙酰胆碱酯酶所在部位。非特异性胆碱酯酶只能微弱地分解碘化乙酰硫代胆碱。然而，碘化丁酰硫代胆碱又只易被非特异性胆碱酯酶分解，乙酰胆碱酯酶对它几乎无作用[10]。因此，分别采用上述两种底物并结合空白对照，就可证实神经系统内胆碱酯酶的类别。

作者发现，还应针对不同虫种就硫代胆碱法作适当修改。在以上述两种底物的酶定位试验中，结果表明华支睾吸虫神经系统含有乙酰胆碱酯酶及非特异性胆碱酯酶，并且发现神经纤维展示清晰，酶反应强烈的底物液有两种，即1.64mg/ml Aschi及4mg/ml Aschi+4.5mg/ml Bschi。故作者认为在以展示神经系统形态结构为主要目的的研究中，用后者（即两种底物的混合液）作底物液较好，而不只是用Aschi作底物[6]。这种混合底物液能充分利用虫种的两类胆碱酯酶将神经展示清楚，还可适当减少试剂用量。

孵育温度是影响酶定位的重要因素之一，应尽可能接近吸虫自然寄生环境的温度，酶活力才最大。华支睾吸虫的终末宿主是猫、大白鼠等哺乳动物，故作者所选温度为37℃。若将虫体在20℃下与底物液孵育3～4h[6]，则酶活力会受到一定影响。据作者在其他虫种的试验中发现，由于温度低反应时间加长，还可能导致酶扩散，造成酶定位不清。

本文研究发现华支睾吸虫中枢神经节之间有一粗大的弧形神经联合，位于咽后端背部，而不是背神经干间某一根横联合，这有别于一些研究报告[1,2]。根据虫体的神经分布来看，口腹吸盘内神经分布明显不同。口吸盘内是一神经环，腹吸盘内是神经网。该虫口吸盘内的神经没有曼氏血吸虫和日本血吸虫那么发达[3,4]，但其腹吸盘内的神经网却后二者发达得多。在腹吸盘的神经分布方面，本文与何毅勋的报告有所不同[6]。作者观察发现，后腹神经干延伸至腹吸盘处发出数对分支进入腹吸盘，并非仅有一对神经分支（图5）。

此外，作者观察发现后侧神经干可延至后睾丸水平线，而不是只达受精囊水平线[6]（图3）。

华支睾吸虫神经系统结构与同盘科、裂体科等吸虫比较起来较为简单[3,4,13]，这与有关的报告相符合[14,15]。该虫口腹吸盘的神经分布以及虫体前密后疏的神经网络，可能与其生理活动是相应的。

关于本虫生长发育过程中神经系统的发育变化的资料尚未见到，还需进一步研究。

参 考 文 献

[1] Bueding, E.L., Br. J. Pharma. Col 1952, 7:563

[2] Halton, D.W. and Jennings, J.B. Na ture 1964; 202:510

[3] Bueding, E., Schiller, E.L. and Bourgeois, J.G. Am.J. Trop. Med. & Hyg 1967; 16:500

[4] 夏明仪. 等. 动物学报 1982; 28(4):361

[5] Panitz, E. and Knapp, L.E. J.Histochem. Cytochem 1967, 6:139

维普资讯 http://www.cqvip.com

[6] 何毅勋. 动物学报 1991; 37(1):47
[7] Douglas, L.T. Acta Histo hem 1966; 24:301
[8] wilson, R. A Parasitol 1970; 60:399
[9] Koelle, G.B. and Friedenwald, J.B. Proc. Soc. Exp. Biol. Med 1949; 70: 617
[10] 武内忠男, 等. 新酶组织化学 人民卫生出版社 1983
[11] Ramisz, A. and Szankowskea, Z. Acta Parasitological. Polonica 1970; 17:217
[12] Niewiadomska, K. and Moczon, T. Parasitol. Res. 1987; 73:46
[13] Mishra, N. and Tandon, V. Ind. J. Parasitol 1984; 8(1):33
[14] Kolmogorova EJa, Zool.Zh 1959; 38: 1627
[15] Niewiadomska, K. and Tandon, V. Z. Parasitol 1984; 70:537

(收稿日期 1992-06-29)

STUDIES ON THE NERVOUS SYSTEM OF CLONORCHIS SINENSIS BY THE HISTOCHEMICAL METHOD

Ye Bin, et al

Dept. of Parasitology

The nervous system of *Clonorchis sinensis* was demonstrated by Koelle-Gomoris thiocholine method, as modified by Douglas-Bueding for localization of acetylcholinesterase (AchE) and the nonspecific cholinesterase (ChE). AchE and ChE activities were found in the ganglia, longitudial nerve fibres of the fluke. The results suggested that the amount of AchE should be more than that of ChE.

In the 90-day-adult, the central nervous system is revealed as two compact cerebral ganglia which are connected by a thick transverse commissure in the postero-dorsal region of the pharynx. Four pairs of anterior nerve trunks and three posteriorones emerge from the cerebral ganglia. The innermost anterior pairs of nerve trunks are pharyngel nerves innervating the pharynx. The nerves of three pairs of anterior trunks (anterodorsal, antero-ventral, antero-lateral) terminate in a ring surrounding the oral opening. The posterior longitudinal nerves are postero-ventral nerves, postero-dorsal nerves and posterolateral nerves. The postero-ventral nerves are the stoutest and longest ones whose branches innervate the acetabulum, forming a nerve network. All longitudial nerve trunks are connected to each other by a lot of thin transverse commissurses which are further jioned with one another by some thinner connectives forming a nerve network. The nerve network in the ventral of the fluke is more complicated than that in the dorsal, so does that in the anterior body than that in the posterior body

KEY WORDS *Clonorchis sinensis*; nervous system; acetylcholinesterase; cholinesterase; histochemical localization