维普资讯 http://www.cqvip.com

大鼠肺孢子虫肺炎动物模型建立及病原学病理学观察

传染病寄生虫病研究所 陈雅棠 刘约翰 沈际琨* 唐 宜** 王小根

提 要 纯系Wistar大鼠皮下注射醋酸可的松25mg/次，每周2次，用药7周即可成功诱发大鼠肺孢子虫肺炎。相差显微镜直接镜检、姬姆萨氏染色（Giemsa's stain）、六亚甲基四胺银染色（GMS stain）和亚甲胺蓝染色（TBO stain）均可检出包囊。其中六亚甲基四胺银染色可显示囊壁特征性的括弧样结构，具有确诊价值。病理改变主要为肺泡间隔增厚和淋巴细胞、单核细胞浸润，肺泡中少量蜂窝状渗出物。对肺孢子虫的滋养体、囊子前期和囊子的超微结构进行了电镜观察

关键词 卡氏肺孢子虫肺炎；六亚甲基四胺银染色；括弧样结构；透射电镜

肺孢子虫肺炎是一种重要的机会性寄生虫感染疾病。随着抗肿瘤化学治疗和器官移植中免疫抑制剂广泛应用以及AIDS病人的增多，肺孢子虫肺炎作为一种常见併发症已为国内外学者所重视。最近，我们采用给大鼠注射免疫抑制剂的方法，在纯系Wistar大鼠中诱发肺孢子虫肺炎获得成功，并进行了病原学及病理学初步观察。现将结果报告如下。

材料与方法[1,2,3]

1. **实验动物** 纯系Wistar大鼠17只，由本校动物房提供，均为雌性，体重120～150g，置普通敞式大鼠笼中颗粒饲料喂养。观察1周无异常后皮下注射醋酸可的松25mg/次，每周2次。同时在饮水中加入四环素100mg/100ml以预防细菌感染。持续用药6周后陆续解剖取肺脏检查。

2. **观察方法**

（1）病原学检查：①肺切片相差显微镜观察；②肺切片姬姆萨氏染色（Giemsa's stain）油镜观察；③肺切片六亚甲基四胺银染色（Gomori's methenamine silver nitrate stain, GMS）油镜观察；④亚甲胺兰染色（Chalvardjian's toluidine blue-O stain, TBO）油镜观察。

（2）病理学观察：肺组织石蜡切片，HE染色、PAS染色、GMS染色观察。

（3）透射电镜观察：肺组织4%戊二醛前固定，1%锇酸后固定，环氧树酯618包埋，超薄切片，醋酸双氧铀和柠檬酸铅染色，日立H-600透射电镜观察。

结 果

17只大鼠在接受醋酸可的松皮下注射第2～4周内陆续死亡6只，未作检查。其余11

* 病理解剖教研室 ** 电镜室

维普资讯 http://www.cqvip.com

只从第6周开始出现精神萎靡、进食减少、毛色灰暗，体毛松散并呈斑片状脱落、呼吸急促等症状。在濒临死亡时解剖取肺脏送检。用药7周后剖检3只，2只肺孢子虫包囊阳性；8周剖检3只，2只阳性；9周剖检2只及10周剖检3只，均为阳性。包囊检出率为81.8%(9/11)。

1. 病原学观察

（1）相差显微镜观察　成熟包囊呈圆球形或椭圆形。囊壁厚，周围有一折光性较强的环。可见数个圆形或不规则状的囊内小体（图1）。滋养体大小形态不一，胞质较薄，内含1核。滋养体有伪足样突起，但未见滋养体活动（图2）。

（2）Giemsa染色　包囊圆形，与红细胞等大或略小。8个囊内小体紫红色，排列成团状，周围有少量淡染之胞质，边界隐约可辨。囊壁不着色（图3）。

（3）GMS染色　包囊圆形，椭圆形或多边形。囊壁棕黑-黑色，有特征性括弧样结构。囊内小体不着色（图4）。

（4）TBO染色　囊壁为紫兰色，囊内小体亦不着色（图5）。

2. 病理学观察

肉眼观察肺脏呈粉红色，体积增大而质地稍硬。表面及切面均可见片状或点状灰白色病灶，挤压后切面有少量泡沫样渗出物流出。

肺切片HE染色，可见肺泡间隔明显增厚，间质血管充血明显。浸润细胞类型主要为淋巴细胞及单核细胞，浆细胞及嗜中性粒细胞较少。部分肺泡中有少量蜂窝状渗出物，内有红细胞、淋巴细胞、单核细胞及脱落的肺泡上皮细胞等（图6）。PAS染色，蜂窝状渗出物呈红色（图7）。HE染色及PAS染色的肺切片中，肺孢子虫包囊均不着色，难以辨认。但在GMS染色中则可见肺泡间质和肺泡腔渗出物中混有大量囊壁为棕黑-黑色的包囊（图8）。

3. 透射电镜观察[4]

滋养体粘附在Ⅰ型肺泡上皮细胞表面，具管状突起样伪足，形态不一。外膜较薄。胞质内有内质网、线粒体、游离核糖体、核等结构（图9）。包囊前期（precyst）有囊壁，较薄。胞质内亦有线粒体、核等，并具短而粗的突起（图11）。成熟包囊呈圆形或椭圆形。囊壁有三层，最外一层由高电子密度物质构成，较薄；中层电子密度较低，厚；内层较薄。囊内可见数个囊内小体，圆形或不规则形，彼此间有分隔。囊内小体中有核1个（图11）。

讨　论

唐学恒等用地塞米松肌肉注射大鼠，用药后14周成功诱发大鼠肺孢子虫肺炎[5]。我们用皮下注射醋酸可的松25mg/次，每周2次的方法，在用药7～8周即可在大多数大鼠体内成功诱发肺孢子虫肺炎，并在肺切片中检出肺孢子虫包囊。用药9～10周全部大鼠均可获得成功。表明大鼠经醋酸可的松免疫抑制处理后，诱发肺孢子虫肺炎的成功率非常高，且发病时间较地塞米松处理明显缩短。因而对合理选择实验动物种类、免疫抑制药物及处理程序、缩短实验周期均有实际意义。

肺孢子虫肺炎病原学检查方法较多。我们认为相差显微镜直接镜检及Giemsa染色比较简便迅速，且真菌不能被Giemsa染色着色，故可作为初筛检查选用。但这两种方法均需检查者具有较熟练的经验，否则每因背景和包囊边界区分不明显而漏检或误检。GMS染色虽然操作比较复杂，但由于囊壁着色明显、边界清楚而易于辨认。特别需要强调的是肺孢子虫包囊在GMS染色时具有特征性的括弧样结构，为呈类似括弧号的深

维普资讯 http://www.cqvip.com

染部分。经电镜证实为囊壁不规则增厚所致。此结构为肺孢子虫包囊所特有，具有确诊价值，检查时尤应注意[6,7]。GMS染色时由于真菌也可能被染为黑色，故应加以鉴别。鉴别点可根据（1）真菌外形比较一致，多为圆形；（2）真菌常可见到芽生现象；（3）真菌无括弧样结构。

大鼠肺孢子虫肺炎的病理改变主要为肺泡间隔明显增厚，间质小血管充血，大量淋巴细胞及单核细胞浸润。而浆细胞及嗜中性粒细胞少见，肺泡腔内蜂窝状渗出物亦较少。此种病理改变可能与大鼠体内体液免疫功能受到抑制有关，而类似于成人型人肺孢子虫肺炎。后者多见于大量应用免疫抑制剂、抗肿瘤药物或放射治疗等导致机体免疫功能损害的恶性肿瘤或器官移植病人，是临床上最为常见的一种类型。因此，大鼠肺孢子虫肺炎动物模型的建立，将有助于进一步研究人肺孢子虫肺炎的病原、病理、诊断及药物治疗。

参 考 文 献

[1] 吉田幸雄．ニューモシスチスカリニ肺炎．第1版，东京：南山堂，1986

[2] Bartlett MS, et al. J Clin Microbiol 1987; 25(3):480

[3] Bartlett MS, et al. J Clin Microbiol 1988; 26(6):1100

[4] 山田稔．Jpn J Parasitol 1986; 35(4):331

[5] 唐学恒，等。中国寄生虫学与寄生虫病杂志 1988; 6(1):39

[6] 吉田幸雄。图说人体寄生虫学。第2版，东京：南山堂，1986; 58—65

[7] 塩田恒三。醫學のあゆみ 1988; 144(8):660

ESTABLISHMENT OF RAT MODEL OF PNEUMOCYSTIS PNEUMONIA AND PATHOGENIC AND PATHOLOGICAL OBSERVATIONS

Chen Yatang, et al.

(The Institute of Infectivus Diseases and Parasitic Diseases)

Seventeen wistar rats were injected with cortisone acetate twice a week subcuteneously. After 7 weeks, pneumocystis pneumonia of rats was induced successfully. The cysts of Pneumocyst carinii were identified by phase-contrast microscope, Giemsa's stain, Gomori's methenamine silver nitrate stain and Chalvardjian's toluidine blue-O stain simultaneously. A characteristic parentheses-like structure was found by Gomori's stain in cyst wall. This structure has important value for differential diagnosis of pneumocystis pneumonia. The pathological changes were thickening of alveolar wall and infiltration of lymphocytes and monocytes. A few of honeycomb-like infiltration were found in the alveolar cavity. The Ultrastructures of trophozoite, precyst and cyst were observed by transmission electron microscope

KEY WORDS Pneumocystis carinii pneumonia; Gomori's methenamine silver nitrate stain; Parentheses-like structure; Transmission electron microscope