DOI:10.16016/j.1000-5404.1985.03.004

约氏疟原虫外期在大鼠及小鼠肝内的形态、退变及宿主细胞反应

王兴相 黄复生 张 军 向超群*

（寄生虫学教研室）

提要 约氏疟原虫外期在小鼠和大鼠肝内的形态基本相似，但大鼠体内的成熟外期体积远较小鼠体内者大。接种子孢子48小时后的肝切片中，无论大鼠或小鼠中，均可见到退变原虫，其中一类原虫的轮廓仍完整，所寄生的肝细胞胞核多肿胀，呈空泡状，多无白细胞浸润；另一类则多为白细胞包绕和侵入，轮廓多不完整。退变原虫的发生率小鼠中为5.8%，大鼠中为6.6%。正常发育的原虫一旦成熟破裂，即迅速招引大量白细胞聚集，形成浸润灶。有许多浸润灶内虽未见有原虫残骸，很可能也是由退变原虫或成熟破裂的原虫引起的。

关键词 约氏疟原虫；斯氏按蚊；外期；大白鼠；小白鼠

Jap等（1982）[4]观察大鼠体内伯氏疟原虫（P. berghei）外期超微结构时，发现部份原虫有退变现象。关于光学显微镜下鼠疟原虫的退变现象还未见有详细报导。目前我国许多实验室内建立了鼠疟原虫—斯氏按蚊系统动物模型，并用来进行疟疾实验研究。因此进一步探讨鼠疟原虫在其非自然宿主小鼠与大鼠体内的发育、退变现象以及宿主细胞的反应，对于正确分析根治药物对外期的作用，恰当估计原虫发育过程，具有重要意义。本文仅就约氏疟原虫外期在小鼠及大鼠肝内的发育特性，作一初步探讨。

材料和方法

约氏疟原虫（P. y. yoelii）BY265株 每周血传一次，5周内至少蚊传一次，保种于昆明株小鼠内。

斯氏按蚊（Anopheles stiphensi） 饲育于26±1℃，相对湿度70～90%恒温室内，羽化后第3天用于吸血感染。

试验动物 昆明株小鼠，体重16～20g，大鼠Wistar株，两批，体重57～80g和170～196g，雌雄不论。饲料成份有麸皮、玉米粉、大米粉、面粉、黄豆粉、鱼粉、骨粉、酵母粉及食盐。

感染方式及标本制作 小鼠血传感染后第3天供血感染斯氏按蚊。按蚊饱血后，饲以含0.05%PABA的10%蔗糖水，血餐后第4天加饲兔血一次。从吸血感染时起至分离子孢子时均饲于24±1℃、相对湿度70～90%条件下。感染后第14天按前文[1]报导的方法分离子孢子。用子孢子悬液作尾静脉接种，小鼠0.2ml，大鼠0.5ml。注射后36、48、54和65小时，分别活杀或活检，取肝组织用Carnoy氏液或10%福尔马林生理盐水固定，石蜡常规切片，厚5μm，分别用吉氏液或苏木素伊红（HE）染色。部份切片于吉氏液染色前用1/10N HCl水解[5]，以便更好地显示原虫细胞核。必要时用描绘法计肝组织切片之面积[2]。

*乌鲁木齐军区军事医学研究所

21994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

结　果

共感染小鼠两批15只，接种子孢子数每鼠45～97万，肝切片原虫密度为5～28/cm^2；大鼠两批14只，接种子孢子数每鼠135～357万，原虫密度为10～88/cm^2。

一、正常外期形态

36小时者共有小鼠3只，大鼠2只，检查切片500张。根据20个原虫连续切片的测定，其直径（长、宽、厚）大小范围为16～18×18～25×10～25μm，圆形、椭圆或不规则；核杆状、哑铃状或不规则形，直径1～2μm，约150～200个；胞浆深蓝色，常掩盖着核，使之不易呈现。用HCl水解后，核呈鲜红色，形状及数目均较清晰。寄生的肝细胞都胀大，肝细胞核被挤至一旁，大小形状均正常（图1）。

48小时者共有小鼠8只，大鼠8只，检查切片约1000张。这时原虫形态多样，未成熟原虫多为圆形或椭圆，原虫核紫红，胞浆蓝色（吉氏染色）或核紫黑色，胞浆淡红（HE染色）。有些原虫胞浆分为许多圆形团块状，团块大小不一，直径4～6μm，团块边缘多有核排列（图2）；有的原虫中团块状胞浆渐消失，而核则呈团块状排列（图3），提示这是比胞浆呈团块状时更晚的外期；也有的原虫中核单个或3～4个聚集一起，核径0.5～1μm，未见有空泡(图4）；成熟外期呈圆、椭圆或不规则，核径约0.5μm，分布均匀，有些已释放裂殖子入血窦（图5）。这类原虫的大小，因宿主种类不同而有明显差异。根据小鼠中5个成熟外期的连续切片测定，其长宽厚径平均为31.1×29.1×34μm；大鼠中5个成熟外期的平均大小为44.9×45.3×46μm。两批体重相差悬殊的大鼠中，外期形态及大小未见有任何差异。另外，仍可见到一些形态及大小均类似36小时的原虫。

54小时者共有小鼠4只，大鼠2只，检查切片300余张。这时原虫数量显著减少，除有一些成熟外期外，尚有一些形态及大小仍似36小时者。

在48及54小时切片中还可见到少数形态特殊的原虫。根据4个原虫连续切片的测定，其大小范围为21～23×23～24×20μm。吉氏液染色时胞浆淡蓝色，核紫红色，圆形或椭圆，核膜上有分布不匀之染色质，核微体明显，核之直径4～5μm，数目在50～101之间（图8）。

65小时者共2只大鼠，检查切片130张，未发现任何可疑外期。

二、变性外期形态

这类原虫只在48小时切片中发现。根据有无白细胞浸润，退变原虫可分为两型：1.无白细胞浸润型，原虫轮廓完整。有的胞浆内有许多大小不一的空泡，其直径在1～6μm之间，胞浆灰色（HE）或深灰色（吉氏），核稀少，散在（图9）；有的胞浆及核分成许多小凝块状（图10）；有的胞浆灰色，核不见，但有数个不定形嗜碱性颗粒（图11）。所寄生的肝细胞胞核多肿胀，核浆稀薄，呈空泡状。尚有些原虫直径仍不超过15μm，胞浆呈均匀灰色，核稀少，深灰色（HE），（图12）。2.白细胞浸润型，原虫轮廓多不完整，胞浆灰色（HE）或灰蓝色（吉氏），呈网状或凝块状，胞浆内多有白细胞侵入，原虫周围也可有白细胞，核分布稀疏，灰色或暗红色。还可见到白细胞浸润灶内仍有原虫残骸存在，说明原虫退变后可被白细胞迅速清除（图13）。对115个原虫进行了分析，有上述退变现象者占6.1%，其中大鼠占6.6%（4/63），小鼠中占5.8%（3/52）。二者无明显差异。

三、宿主细胞反应

除上述变性原虫所引起的白细胞浸润外，对发育正常的原虫未见有任何细胞反应。但当原虫成熟并释放裂殖子后，常招致

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

白细胞浸润。有的仅包绕于原虫周围，有的已入侵原虫内部（图5、6）；有不少白细胞浸润灶内只有少数裂殖子或原虫残体（图7）。还有许多白细胞浸润灶中未见有原虫踪迹，很可能原虫已被清除干净。这种浸润灶形状多样，圆形、椭圆或不规则，大小不一，直径35～90μm，多数在50μm左右（图7）。其中含有多核白细胞和单个核细胞，未见嗜酸性白细胞。这种白细胞浸润灶，36小时切片中不存在，48～65小时切片中均可发现。而且原虫密度高的切片中这种浸润灶也较多。根据两只大鼠同一肝叶的48和65小时切片中的统计，48小时切片中这种浸润灶密度为65小时的13倍。提示浸润灶可很快消散。

讨　论

一、不同宿主体内的发育　36小时外期的最大径，不论小鼠或大鼠中，未有超过25μm者，形态也无不同；但再过12小时，小鼠体内原虫直径鲜有超过35μm者，而大鼠中则可超过50μm。两种宿主中各个原虫发育的速度也都不同步。无论小鼠或大鼠中，原虫形态均类似，除大小外看不出有何差异。从不同时期的原虫形态看，约氏疟原虫发育过程中会出现明显的裂殖子胚（cytomere）时期，即胞浆分裂成团块状时期，这非常类似恶性疟原虫（P. falciparum）的外期发育过程[3]。

二、Landau等（1968）[6]于捕获后3个多月的伯氏疟原虫自然宿主树鼩（Thamnonys sp.）的肝内，发现有一形态特殊的原虫，并认为这是迟缓发育的外期。它的形态、大小与我们在48、54小时的大鼠肝切片中所见到的特殊形态的原虫（图8）是类似的。因此这种原虫是否就是约氏疟原虫在大鼠内发育迟缓的外期，值得进一步探讨。

三、退变原虫所在的肝细胞胞核多呈现肿胀，核浆稀薄；而原虫形态正常者，肝细胞核均正常。这一现象提示原虫的退变与肝细胞的退变有密切关系。也可能肝细胞因某种原因退变死亡，使原虫代谢无法进行，从而导致原虫的继发死亡。

四、约氏疟原虫外期出现如此明显的退变现象以及成熟破裂原虫引起如此剧烈而迅速的白细胞反应，这在哺乳类疟原虫外期在其自然宿主体内的发育过程中，还未见有报导。这说明非自然宿主的小鼠和大鼠并不完全适应约氏疟原虫外期的发育。这种退变及白细胞迅速反应的现象，在疟疾实验研究中，特别是对外期的药物作用试验中应予以特别注意。

参考文献

1. 王兴相等：我国保有的食蟹猴疟原虫的生物学特征及株型的探讨。寄生虫学与寄生虫病杂志1984；2：234
2. Anderson JM: Histometry, from "Theory and Practice of Histological Techniques", 2nd edi (ed. R Bancroft & A Stevens) Churchill Livingestone, London & New York 1982; pp.558—559
3. Garnham PCC: Plasmodium falciparum and Plasmodium reichenowi, Malaria Parasites and Other Haemosporidia. Blackwell Scientific Publication Oxford, 1966; pp357—430
4. Jap PHK, et al: Degenerating exoerythrocytic forms of Plasmodium berghei in rat liver: An ultrastructural cytochemical study. Parasit 1982; 85:213

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

5. Landau I & Killick-Kendrick R: Rodent Plasmodia of the Republique Centrafricanes: the sporogony and tissue stage of Plasmodium chabaudi and P. berghei yoelii. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 1966; 60:633
6. Landau I, et al: Cycle biologique au laboratoire de P. berghei Killicki n. subsp. from "Rodent Malaria" (ed. Killick-Kendrick R & Peter W) Academic Press, London 1968; pp.80—81

Morphology & Degeneration of Exoerythrocytic Forms of Plasmodium y. yoelii & Reactions of Host Cells in Rats & Mice

Wang Xingxiang, Huang Fusheng, Zhang Jun, Xiang Chaoqun

(Department of Parasitology, Third Military Medical College)

The exoerythrocytic forms (EEF) of Plasmodium yoelii yoelii BY265 in the liver of rats and mice are morphologically similar, however, the size of the matured EEF in the former is far much larger than that in the latter. In the sections of the liver of both the animals, which are sliced 48～65 hours after the inoculation of sporozoites, certain degenerated EEF can be found. The degenerated EEF fall into two types:

(1) Degenerated EEF without WBC infiltration: These EEF usually remain intact in their outline with many vacuoles of the size 1～6μm in diameter in the cytoplasm. The nuclei of the host hepatic cells parasitized are usually swollen and appear blank after staining. No WBC infiltration can be found.

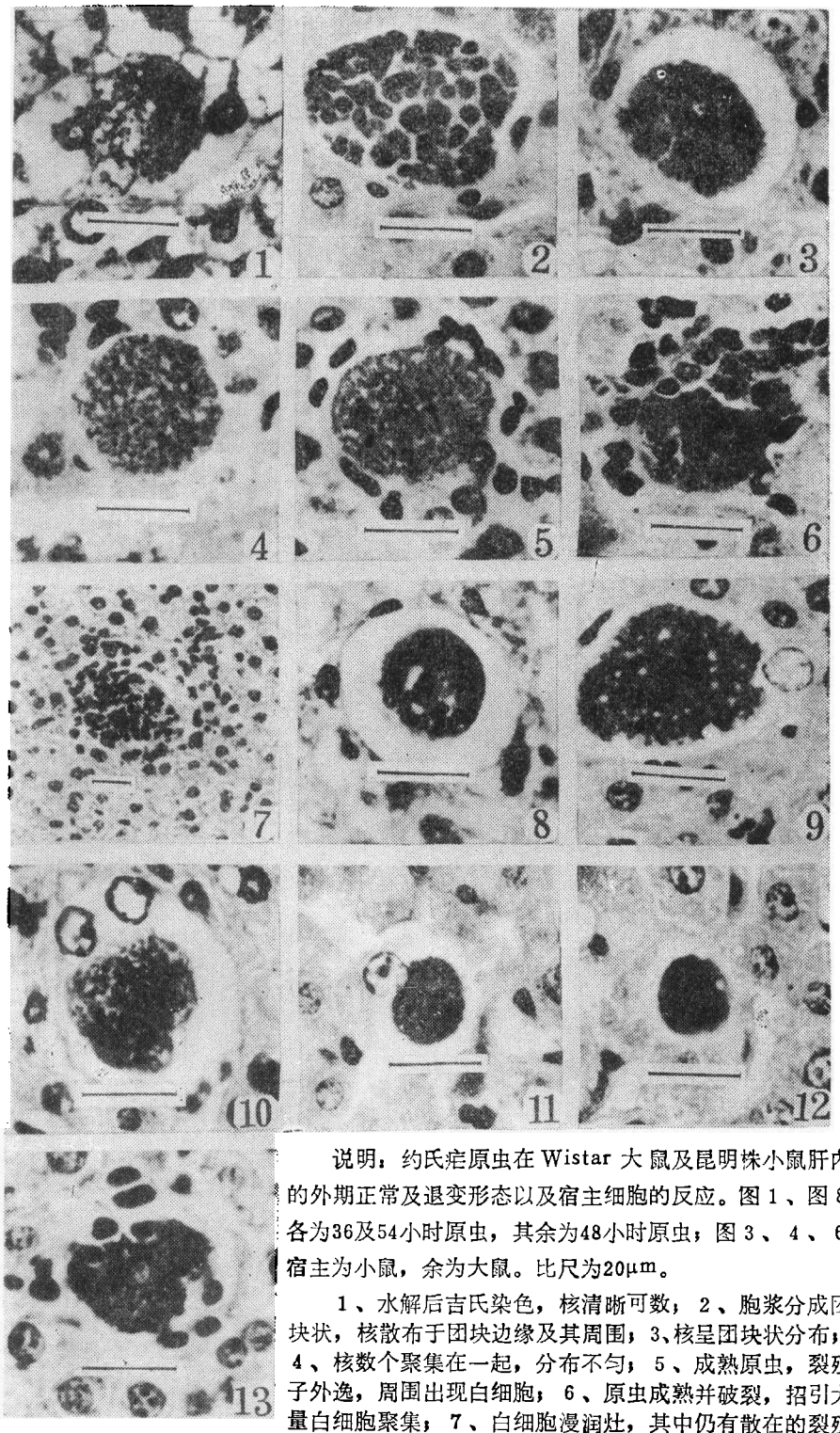
(2) Degenerated EEF with WBC infiltration: The outline of these degenerated EEF is no more intact. They are usually infiltrated and/or surrounded by WBC.

Degeneration occurs in 6.6% of the EEF in rats and 5.8% in mice. Once the normally developed parasites become matured and ruptured, large amounts of WBC are attracted and accumlated to form local foci of WBC infiltration of the size 35～90μm in diameter. In some of the foci, remnants of the parasites can be seen, while in some others, no remnants can be found and they most likely are also formed by the degenerated EEF or ruptured matured parasites.

Key words: Plasmodium yoelii; Anopheles stephensi; Exoerythrocytic form; Albino rat; Mouse

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

约氏疟原虫外期在大鼠及小鼠肝内的形态、退变及宿主细胞反应（正文见第237页）



说明：约氏疟原虫在 Wistar 大鼠及昆明株小鼠肝内的外期正常及退变形态以及宿主细胞的反应。图 1 、图 8 各为36及54小时原虫，其余为48小时原虫；图 3 、 4 、 6 宿主为小鼠，余为大鼠。比尺为20μm。

1 、水解后吉氏染色，核清晰可数； 2 、胞浆分成团块状，核散布于团块边缘及其周围； 3、核呈团块状分布； 4 、核数个聚集在一起，分布不匀； 5 、成熟原虫，裂殖子外逸，周围出现白细胞； 6 、原虫成熟并破裂，招引大量白细胞聚集； 7 、白细胞漫润灶，其中仍有散在的裂殖子； 8 、形态特殊的原虫，9—13、退变原虫； 9 、胞浆内有许多大小不等之空泡，肝细胞核肿胀；10、胞浆及核呈许多小凝块状，肝细胞核肿胀；11、胞浆出现嗜硷性颗粒，肝细胞核肿胀；12、直径不超过15μm，胞浆呈均匀灰色；13、白细胞包围并侵入原虫内部。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net