

## 吡喹酮对日本血吸虫尾蚴的作用

肖树华、乐文莉、梅静艳、张荣泉<sup>1</sup> (中国预防医学科学院寄生虫病研究所<sup>2</sup>, 上海 200025)

**提要** 血吸虫尾蚴经吡喹酮作用后, 由于体、尾的不协调收缩, 尾干自尾蚴体的后孔脱出而分离。在生理盐水或等渗的5%葡萄糖溶液中, 吡喹酮使血吸虫尾蚴脱尾的作用受抑制。在去氯水中, 尾蚴经吡喹酮作用后, 其体表及渗透性均有明显变化, 移置生理盐水或 Hanks' 盐平衡溶液(HBS)中时可恢复正常。此结果与扫描电镜观察的结果相一致。

**关键词** 吡喹酮; 日本血吸虫尾蚴; 尾蚴脱尾; 扫描电子显微镜检查

在水中, 低浓度的吡喹酮具有使日本血吸虫尾蚴迅速脱尾的作用, 脱尾后的尾蚴体若移

置于含血清的等渗盐平衡溶液中培养时可转变为童虫<sup>(1)</sup>; 若持续放置在水中, 则尾蚴体肿大死亡。本文系初步探讨影响吡喹酮使血吸虫尾蚴脱尾的因素, 及尾蚴经吡喹酮作用后死亡的原因。

### 方 法

**血吸虫尾蚴** 自人工感染的阳性钉螺逸出尾蚴。

**吡喹酮溶液配制** 吡喹酮由我所合成。称取一定量的吡喹酮溶解于聚乙二醇(PEG 400)中, 然后用生理盐水稀释至0.1或1 mg/ml。

**血吸虫尾蚴脱尾的观察** 取24孔凹塑板,

1985年10月31日收稿 1986年6月19日修回

<sup>1</sup> 上海市卫生局测试中心

<sup>2</sup> 世界卫生组织疟疾、血吸虫病、丝虫病合作中心

每孔加入去氯水或待测试的 NaCl、葡萄糖溶液和乙二胺四乙酸(EDTA)、5-羟色胺、阿托品及敌百虫等, 随即加入吡喹酮, 挑入尾蚴, 在倒置显微镜下观察。另有部分试验采用载玻片在显微镜下观察。为了了解尾蚴经吡喹酮作用后, 其受损和渗透性的改变, 又加入 0.03% 美蓝和 NaF 0.1 mol/L 进行观察<sup>(2)</sup>。

**扫描电镜观察** 血吸虫尾蚴经吡喹酮作用不同时间后 1000 rpm 离心 2-3 min, 移去上清液, 用去氯水或 0.9% NaCl 洗涤 2 次, 然后用 2.5% 戊二醛固定, 按前文<sup>(3)</sup>方法制备扫描电镜标本, 用 H-300 型电子显微镜观察。

## 结 果

**尾蚴脱尾的整体观察** 在载玻片上滴加 0.1 ml 去氯水, 将尾蚴挑入后覆盖盖玻片, 从盖玻片边缘处注入吡喹酮, 终浓度为 1 μg/ml。尾蚴与吡喹酮接触后迅即挛缩呈圆球形, 随即伸长, 有的穿刺腺开始分泌; 同时, 尾蚴的活动开始兴奋, 尾蚴体的前端频繁伸缩, 原来紧密连接的体、尾连接处(图 1 A, 见铜版图 1)因体、尾收缩的方向相反而伸长, 出现体、尾间隙(图 1 B)。最初, 尾蚴体末端的后孔似是嵌入尾干中, 但随着体、尾间隙的加宽, 则可见到

尾干中间有一小粒状物插入尾蚴体的后孔(图 1 B), 从而使体、尾相连。由于体、尾的不协调收缩和尾部的扭摆, 连接尾干的粒状物自尾蚴体的后孔脱出, 使体、尾分离。

### 影响尾蚴脱尾的因素

1. 等渗溶液 尾蚴在等渗的 0.9% NaCl 中活动如常, 加入吡喹酮 1 μg/ml 后 2 h 未见尾蚴有明显脱尾。当 NaCl 的浓度为 0.6% 或 1.2% 时, 对吡喹酮引起的尾蚴脱尾均有保护作用。但当浓度为 0.3% 时则无明显保护作用, 2 h 后有 69.2% 的尾蚴脱尾。在 5% 的葡萄糖等渗溶液中, 尾蚴活动如常, 1 h 后活动减弱, 并有皱缩, 2 h 后未见有尾蚴脱尾。若在 5% 葡萄糖中加入吡喹酮 1 μg/ml 后 2 h, 尾蚴亦无明显脱尾, 2.5% 葡萄糖具有相似的保护作用, 而 1% 葡萄糖则无(表 1)。

2. 其它 将 50-100 条尾蚴挑入 1 ml 的去氯水中, 分别加入 EDTA、阿托品、敌百虫和 5-羟色胺, 终浓度为 0.1-1 mmol/L, 然后加入吡喹酮 1 μg/ml, 在 2 h 内进行观察。结果未见吡喹酮使尾蚴脱尾的作用受到明显的影响。

### 尾蚴体表渗透性改变的观察

#### 1. 美蓝试验

##### 1.1 尾蚴先在去氯水中经吡喹酮 1 μg/ml

Tab 1. Effect of praziquantel on tail shed of cercariae 2 h after incubation in iso-osmotic solutions of sodium chloride and glucose

Medium	Concentration	Praziquantel 1 μg/ml	Number of cercariae	
			with tail	without tail
NaCl solution	0.3%	+	28	63 (69.2%)
		-	24	0 (0)
	0.6%	+	66	6 (8.3%)
		-	33	5 (13.2%)
	0.9%	+	70	4 (5.4%)
		-	56	2 (3.4%)
1.2%	+	41	8 (16.3%)	
-	-	55	4 (6.8%)	
Glucose solution	1%	+	10	64 (86.5%)
		-	64	16 (20.0%)
	2.5%	+	54	17 (23.9%)
		-	75	0 (0)
	5%	+	73	7 (8.8%)
-	-	70	2 (2.8%)	

作用 30 min 脱尾, 经离心移去药液后, 将脱尾的尾蚴体移至生理盐水或去氯水中, 在室温 (30°C) 中培养不同时间后, 将生理盐水或去氯水移去, 加入 0.03% 美蓝液, 在 10-15 min 内观察虫的着色情况, 每组 50-100 条尾蚴。结果, 脱尾尾蚴体移入生理盐水后 10 min, 即见穿刺腺分泌, 74% 的尾蚴体有少量浅蓝着色, 部分以尾蚴体的前 1/4 着色较多, 而后孔处则无着色。在断尾中, 30% 的尾干与尾蚴体后孔连接的凹陷处有浅蓝色, 少数可在整个尾干和尾叉中查见细小的蓝色小点。培养 0.5-4 h 后, 美蓝着色的尾蚴体由 10 min 的 74% 减至 10%, 未着色的尾蚴体活动如常, 而着色的则均为挛缩不动的死虫。相反, 断尾着色者由 10 min 的 30% 增至 64%。若将经吡喹酮脱尾的尾蚴体移至无药的去氯水中 10 min, 尾蚴体稍有一些肿大, 活动明显减弱, 断尾全部着色, 且以尾干凹陷处较深浓; 尾蚴体着色的占 34%, 亦以体前 1/4 处较常见。移置水中 0.5-4 h, 全部断尾的尾蚴体着色深浓, 着色率增至 96%, 且虫体肿大。

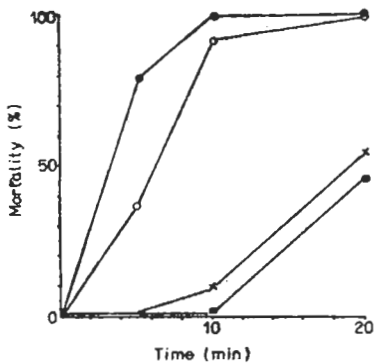


Fig 2. Susceptibility of praziquantel-damaged cercariae to NaF (0.1 mol/L) in dechlorinated water and Hanks' balanced salt solution (HBS). (■) Control cercariae exposed to NaF in dechlorinated water; (○) cercariae exposed to NaF after previous exposure to praziquantel 1 µg/ml for 10 min; (●) cercariae exposed to NaF after previous exposure to praziquantel 1 µg/ml for 30 min; (×) cercariae exposed to praziquantel 1 µg/ml for 30 min and then transferred to HBS for another 3 h.

1.2 取载玻片滴加去氯水 0.1 ml 和吡喹酮 1 µg/ml, 随即挑入尾蚴, 加 0.03% 美蓝两滴进行观察。结果 1 min 左右尾蚴即开始脱尾, 4 min 后, 在上述断尾的尾干凹陷处即出现浅蓝色, 并逐渐加深, 着色范围亦由尾干扩展至整个尾部。10 min 后, 断尾着色率占 44%, 尾蚴体无着色; 30 min 后, 全部断尾着色, 有的深浓, 而尾蚴体着色的占 26%, 1 h 后占 98.7%, 一般着色深浓。

2. NaF 试验 每组的尾蚴数约 100 条。正常尾蚴与 NaF 0.1 mol/L 接触后活动兴奋。10 min 后穿刺腺大量分泌; 12 min 后, 尾蚴活动明显减弱; 至 20 min 后, 46% 的尾蚴不动。若尾蚴先经吡喹酮 1 µg/ml 作用 10-30 min 后再加入 NaF 0.1 mol/L 时, 5 min 后即有 32-78% 的尾蚴不动, 10 min 后达 92-100%。将在去氯水中经吡喹酮 1 µg/ml 作用 0.5 h 的脱尾尾蚴体移至 Hanks' 盐平衡溶液 (HBS) 中, 若立即或移入 HBS 后 10 min 加入 NaF 0.1 mol/L, 全部尾蚴体于 5-10 min 后不动, 若移入 HBS 后 3 h 加入 NaF 0.1 mol/L 则 20 min 后不动的尾蚴体数占 54% (图 2)。

### 扫描电镜观察

1. 去氯水 血吸虫尾蚴在水中经吡喹酮 1 或 10 µg/ml 作用 0.5 h 后, 尾蚴体的皮层即示有不同程度的肿胀, 体棘亦因皮层的肿胀而变平, 棘间隙增宽, 有的体表有大量絮丝状物覆盖 (图 3 A 见铜版图 1), 头器表面亦有少量泡状物。吡喹酮作用 2 h 后, 尾蚴体因肌肉的不规则收缩而呈扭曲状, 体表皮层的肿胀更为明显, 有的部位的体棘仅见残迹 (图 3 B), 局部皮层有糜烂、破溃或融合成一片。两种浓度的吡喹酮引起的尾蚴体表损害相仿。

尾蚴在水中经上述浓度的吡喹酮作用 0.5 h 后, 移置无药的水中培养 1-2 h, 其体表皮层进一步肿胀, 并有许多大小不等的泡状物, 体棘排列紊乱, 稀疏, 局部有糜烂、破溃 (图 3 C, 3 D); 有的局部体表有表面光滑的块状物出现,

2. HBS 血吸虫尾蚴在 HBS 中经吡喹酮  $1 \mu\text{g/ml}$  作用 2 h 后, 绝大部分的尾蚴体未见异常, 体棘清晰, 体、尾连接处如常, 少数尾蚴体的头器表面有一些小泡状物。若经吡喹酮  $10 \mu\text{g/ml}$  作用 1 h, 在部分伸出的头器中, 可见到穿刺腺开口处有腺液排出, 呈圆球滴状(图 4 E, 见铜板图 2); 尾蚴体的皮层大部分正常, 少数局部有肿胀, 并有少量泡状物(图 4 F)。经吡喹酮作用 2 h 后, 未见尾蚴体的皮层进一步损害。

尾蚴体在水中经吡喹酮  $1$  或  $10 \mu\text{g/ml}$  作用 0.5 h, 然后移置无药的 HBS 中继续培养 2 h, 则大部分尾蚴体的皮层恢复正常, 体棘清晰(图 4 G); 若经药物作用 1 h 后再移置 HBS 中培养 2 h, 部分虫的体表有明显恢复(图 4 H), 部分虫在肿胀的皮层上有许多大小不等的泡状物。

## 讨 论

吡喹酮使血吸虫尾蚴脱尾, 不同于用注射器迫使尾蚴通过狭窄的针头, 因受挤压而使体、尾分离<sup>(4)</sup>; 亦不同于尾蚴经离心压积后在少量水中培养时的体、尾分离<sup>(5)</sup>。最初认为, 后一种脱尾法是由于尾蚴穿刺腺的排泌物, 使尾蚴的尾部相互粘连而脱落<sup>(6)</sup>。其后又认为是在尾蚴的穿刺腺排泌时, 尾蚴体的后孔括约肌收缩, 使之不能套住由尾干形成的颈状结构而脱离<sup>(2)</sup>。吡喹酮使血吸虫尾蚴脱尾极其迅速, 往往在穿刺腺尚未大量排泌时, 体、尾即已分离, 由于具有兴奋或抑制尾蚴活动的 5-羟色胺、阿托品或敌百虫均不影响吡喹酮对尾蚴的脱尾作用, 故吡喹酮使尾蚴脱尾可能不是通过神经介质起作用, 而可能是药物作用于体尾结合的肌肉群的结果。

前文<sup>(1)</sup>指出, 在 HBS 中, 或在生理盐水中, 吡喹酮皆不引起脱尾。实际上, 非盐类的葡萄糖等渗溶液, 甚或只要有一定渗透压的 NaCl 或葡萄糖溶液均有相似的作用。一般认为, 尾蚴体表外层的糖萼(Glycocalyx)在维持尾蚴适

应不等渗的水环境中具有重要作用<sup>(7)</sup>。是否在水中吡喹酮能通过糖萼进入虫体, 而在等渗或一定渗透压的环境中则不能, 抑或在等渗溶液中吡喹酮不能正常地对尾蚴起作用, 尚待阐明。

由于吡喹酮在引起尾蚴脱尾的同时, 尾蚴体逐渐肿大, 提示其体表渗透性有所改变。美蓝渗入试验的结果表明, 尾蚴在水中经吡喹酮作用脱尾后, 尾部的受损较其体部的迅速, 若及时将尾蚴体移置生理盐水中培养, 则美蓝渗入的虫数逐渐减少, 4 h 后除死亡者外, 均未见有美蓝渗入, 提示尾蚴体的受损体表已明显修复, 而尾部则不能。Howells 等报道<sup>(2)</sup>用离心压积法脱尾的尾蚴体, 对代谢抑制剂 NaF 的敏感性增加, 并认为这是尾蚴体体表渗透性改变, 使 NaF 易于渗入虫体内的结果。我们用 NaF 作试验时, 观察到经吡喹酮作用后, 尾蚴体对 NaF 的敏感性增加, 若移置 HBS 中培养 3 h 则降低, 与对照尾蚴相仿, 亦表明体表有明显修复, 这些结果亦为扫描电镜观察的结果所支持。由此可见, 吡喹酮损害尾蚴的体表, 改变其渗透性, 是尾蚴肿大死亡的原因。此外, 由于吡喹酮使尾蚴致死的最低浓度为  $0.05 \mu\text{g/ml}$ <sup>(8)</sup>, 故可考虑将吡喹酮用作灭蚴剂。

## 参 考 文 献

- 1 肖树华、薛海筹、乐文菊、梅静艳、裘丽妹。日本血吸虫尾蚴经吡喹酮作用后转变为童虫的观察。寄生虫学与寄生虫病杂志 1987; 5: 133
- 2 Howells RE, Gerdson SE, Ramalho-Pinto FJ, Kawazoe U, Gazzinelli G, Pellegrino J. *Schistosoma mansoni*: tail loss in relation to permeability changes during cercaria-schistosomulum transformation. *Parasitology* 1975; 71: 9
- 3 肖树华、戴志强、张荣泉、薛海筹、邵葆若。日本血吸虫皮层的扫描电镜观察。寄生虫学与寄生虫病杂志 1983; 1: 23
- 4 Colley DG, Wikel SK. *Schistosoma mansoni*: simplified method for the production of schistosomules. *Exp Parasitol* 1974; 35: 44
- 5 Ramalho-Pinto FJ, Gazzinelli G, Howells RE, Mota-Santos TA, Figueiredo EA. *Schistosoma mansoni*: defined system for stepwise transformation of cercariae to schistosomule *in vitro*. *Ibid* 1974; 36: 360

- 6 Howells RE, Ramalho-Pinto FJ, Gazzinelli G, De Oliveira CC, Figueiredo EA, Pellegrino J. *Schistosoma mansoni*: mechanism of cercarial tail-loss and its significance to host penetration. *Ibid* 1974; 36 : 373
- 7 Stirewalt MA. *Schistosoma mansoni*: cercaria

to schistosomule. In: Dawwa B, ed. *Advances in parasitology*. London: Academic Press, 1974; 12 : 115-75

- 8 肖树华、乐文菊、梅静艳。吡喹酮预防小鼠感染日本血吸虫尾蚴的分析。药理学报 1985; 20 : 641

*Acta Pharmacologica Sinica* 1987 Jul, 8 (4) : 358-362

### Effect of praziquantel on *Schistosoma japonicum* cercariae

XIAO Shu-Hua, YUE Wen-Ju, MEI Jing-Yan, ZHANG Rong-Quan<sup>1</sup>

(Institute of Parasitic Diseases, Chinese Academy of Preventive Medicine<sup>2</sup>, Shanghai 200025)

**ABSTRACT** When *Schistosoma japonicum* cercariae were exposed to praziquantel in dechlorinated water, the body and tail muscles contracted incoordinately, and the anterior part of the tail was separated from the posterior pole of hind-body region of cercariae. In normal saline or glucose solution (5%) the tail loss of cercariae caused by praziquantel was remarkably inhibited. No effect of EDTA, 5-hydroxytryptamine, atropine and dipterex on tail loss induced by praziquantel was observed. Methylene blue and NaF tests indicated that the surface of cercariae was damaged with enhancement of permeability of the larva.

All these alternations recovered to normal after transferring the above mentioned tail-less cercariae to normal saline or Hanks' balanced salt solutions. The conclusion was also supported by scanning electron microscopic observation.

**KEY WORDS** praziquantel; *Schistosoma japonicum* cercariae; tail loss of cercariae; scanning electron microscopy

<sup>1</sup> Measurement and Test Center of Shanghai Municipal Health Bureau

<sup>2</sup> WHO Collaborating Centre for Malaria, Schistosomiasis and Filariasis