

吸引日本血吸虫毛蚴的物质及其应用的初步观察

张爱华¹, 石磊², 刘洋², 卢恒聪², 彭迅³, 何昌浩⁴

(1. 长江大学 医学院 病原生物学系寄生虫学教研室, 湖北 荆州 434023; 2. 华中科技大学 同济医学院, 湖北 武汉 430030; 3. 长江水利规划委员会血吸虫病防治办公室, 湖北 武汉 430010; 4. 华中科技大学 同济医学院 病原生物学系, 湖北 武汉 430030)

摘要: 采用改良的 Roberts 比较法, 观察 Mg^{2+} 、 Fe^{3+} 等金属离子对日本血吸虫毛蚴 (*Schistosoma japonicum* miracidia) 的趋向作用及其在“模拟钉螺”中的应用。结果表明, 加入 1.00 mol/L 的 Mg^{2+} 溶液时, 日本血吸虫毛蚴在 Φ 形容器中实验组和对照组的数目为 93: 21 ($P < 0.01$); Fe^{3+} 浓度从 0.05 mol/L 到 1.00 mol/L 变化时, 日本血吸虫毛蚴在实验组和对照组的数目分别是 52:17 ($P < 0.01$), 41:7 ($P < 0.01$), 225:39 ($P < 0.01$), 24:5 ($P < 0.01$), 81:29 ($P < 0.01$)。一定配比的明胶混合物释放出的 Fe^{3+} 离子具有比钉螺处理过的水更强的吸引日本血吸虫毛蚴的能力。 Mg^{2+} 、 Fe^{3+} 在适宜的溶液浓度时能够显著影响日本血吸虫毛蚴的趋向运动, “模拟钉螺”具有比钉螺处理过的水更大的吸引日本血吸虫毛蚴的能力。利用对日本血吸虫毛蚴有趋向作用的物质制成“模拟钉螺”吸引毛蚴, 减少毛蚴侵入钉螺的机会, 这种先保护钉螺而最终保护人类的方法有望成为预防日本血吸虫感染的新思路。

关键词: 日本血吸虫毛蚴 (*Schistosoma japonicum* miracidia); 钉螺; 趋向性

中图分类号: R383.24 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3096 (2007) 09-0050-04

国内外做过有关毛蚴趋向性的研究, 据报道, 螺蚶处理过的水 (snail conditioned water, 简称 SCW) 可影响毛蚴活动。Chernin^[1] 把 SCW 中对毛蚴有吸引作用的物质统称为毛蚴松 (miraxone)。Stihbs 等^[2] 的进一步研究发现某些离子、氨基酸等可能对毛蚴的趋向有影响。国内郭天南、何昌浩等^[3] 证实日本血吸虫的中间宿主钉螺同样也能释放“毛蚴松”, 对日本血吸虫毛蚴 (*Schistosoma japonicum* miracidia) 的趋向具有吸引作用, 同时还发现 Fe^{3+} 具有吸引日本血吸虫毛蚴作用, 而 Fe^{2+} 具有排斥作用, 进一步的研究发现毛蚴松中具有生物活性的物质是 Mg^{2+} 。在日本血吸虫传播的各个环节中, 传统的占主导地位防治策略是在钉螺这一环节, 通过消灭惟一的中间宿主钉螺来阻断血吸虫病的传播, 国内学者提出了“钉螺无害化”理论^[4], 这对多年来以灭螺控制血吸虫病的策略有了新的思路。因此, 为探索离子对日本血吸虫毛蚴趋向的影响及其初步应用, 作者进行了该项研究。

1 材料和方法

1.1 材料

$MgCl_2$ 和 $FeCl_3$ (分析纯, 用于配制 0.10, 1.00 和 2.00 mol/L 的 Mg^{2+} 溶液和 1.00、0.50、0.25、0.1、0.05 mol/L 的 Fe^{3+} 溶液) 购于校供应室; 日本血吸虫毛蚴 (感染了日本血吸虫的小白鼠肝脏、感染了血吸虫的家兔肝脏匀浆, 采用常规毛蚴孵化法获得); 钉螺 (采自武汉市郊区及疫区); SCW (500 个钉螺浸泡入 500

收稿日期: 2004-06-12; 修回日期: 2007-07-17

作者简介: 张爱华 (1957-), 女, 湖北荆州人, 学士, 副教授, 从事人体寄生虫学教学和寄生虫生态学与寄生虫病防治学研究, 电话: 13329773092 / 0716-8060076; E-mail: aihuaz5701@yahoo.com.cn; 何昌浩, 通讯作者, 电话: 027-83693253; E-mail: hechanghao@126.com

mL 去氯水中 48 h, 即获钉螺处理过的水); 琼脂和明胶均购于本校供应室。

含 Fe^{3+} 琼脂载体: 先制作 1%, 2%, 4% 琼脂凝胶颗粒, 实验后表明 1%, 2% 琼脂凝胶块极易碎, 不合要求; 4% 琼脂凝胶块形态较稳定, 在去离子水中浸泡 30 min 后开始变软, 有一定的弹性。然后分别制作含 Fe^{3+} 浓度为 0.1, 0.5 和 1 mol/L 的 4% 琼脂凝胶块颗粒, 用于实验。

含 Fe^{3+} 明胶载体: 先制作 10% 和 20% 明胶凝胶颗粒, 然后在 10% 凝胶颗粒组内制成 0.1, 0.5, 1.0 和 2.0 mol/L 的 Fe^{3+} 浓度的 4 种凝胶颗粒, 依次命名为 A, B, C, D 号凝胶颗粒; 在 20% 明胶凝胶颗粒制成 1.0 和 2.0 mol/L 的铁离子浓度的 2 种凝胶颗粒, 依次命名为 E, F 号凝胶颗粒, 并用于实验中。

含 Fe^{3+} 混合载体: 制作含 0.5 mol/L Fe^{3+} 浓度含

11.3% 明胶而琼脂质量浓度分别为 2.5% 和 1.2% 的混合凝胶颗粒, 依次命名为 G, H 号混合凝胶颗粒; 制作含 0.5 mol/L Fe^{3+} 浓度含 4.3% 琼脂而明胶质量浓度分别为 6.2% 和 2.4% 的混合凝胶颗粒, 依次命名为 I, J 号混合凝胶颗粒, 并用于实验。

1.2 方法

1.2.1 毛蚴孵化

采用常规方法孵化出毛蚴, 取上层孵化液实验。

1.2.2 Φ 形容器 (图 1)

用石蜡在 6 cm×6 cm 玻璃上浇铸一个如图所示的中间有一直径为 3 cm 的圆孔的容器 (以下称作 Φ 形容器)。在通过圆心处的直线两端划出两个凹槽, 用以插隔板, 把容器分为两个容积相等的半圆腔室, 图中*所示处为加样点。

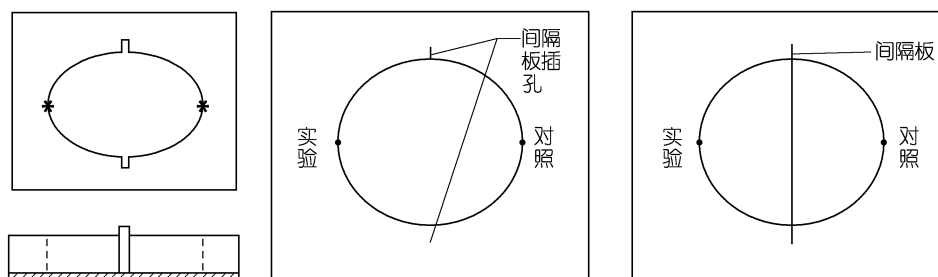


图 1 Φ 形容器

Fig.1 Φ -shape container

1.2.3 采用改良的 Roberts 比较法^[5]

在 Φ 形容器中注入刚孵出的毛蚴悬液 2 mL (毛蚴密度约 20 个/mL), 让毛蚴在容器内自由活动并均匀分布。在一侧加样点处用加样器分别加入待测趋化物质即各种载体颗粒 (实验组), 而在对侧加样点处加等量 SCW 水作为对照 (对照组), 2 min 后, 将隔板插入凹槽内阻止毛蚴从一侧游到另一侧。随即在两边各加碘酒 1 滴, 杀死并固定毛蚴, 静置片刻, 在显微镜下计数毛蚴数, 每组实验重复 3~4 次, 然后进行统计学处理。

2 结果

2.1 日本血吸虫毛蚴在 Mg^{2+} 、 Fe^{3+} 等金属离子所在区域的分布密度

2.1.1 1.00 mol/L 的 Mg^{2+} 能非常显著地吸引日本血吸虫毛蚴

由表 1 可见, 0.10 和 2.00 mol/L 的 Mg^{2+} 对毛蚴

在 Φ 形容器两侧的分布无明显差异。1.00 mol/L 的 Mg^{2+} 能非常显著地使日本血吸虫毛蚴分布到 Φ 形容器中实验组一侧。 Mg^{2+} 对毛蚴产生趋向作用的浓度临界值尚需进一步做浓度梯度实验确定。本结果与国外学者对曼氏血吸虫毛蚴以及埃及血吸虫毛蚴的研究结果一致。

表 1 Mg^{2+} 对毛蚴趋向的影响 (采用 SCW 作为对照)

Tab.1 The effect of Mg^{2+} on the distribution of miracidia (water for hatch miracidia used as contrast fluid)

Mg^{2+} 浓度 (mol/L)	毛蚴数 (条)		$P^{1)}$	趋向 ²⁾
	实验组	对照组		
0.10	168	142	>0.05	+
1.00	93	21	<0.01	+
2.00	57	42	>0.05	+

注: 1): $P<0.05$ 为有显著的吸引作用, $P<0.01$ 为非常显著吸引作用,

$P>0.05$ 为无明显吸引作用 (下表同); 2) + 为吸引

2.1.2 Fe³⁺对日本血吸虫毛蚴分布的影响由表 2 可见, Fe³⁺浓度从 0.05 mol/L 到 1.00 mol/L 变化时, 日本血吸虫毛蚴均非常显著地分布到实验组区域, 表明各浓度的 Fe³⁺对毛蚴均具有非常明显的吸引作用。

表 2 Fe³⁺对毛蚴趋向的影响 (采用 SCW 作为对照)

Tab. 2 The effect of Fe³⁺ on the distribution of miracidia
(water for hatch miracidia used as contrast fluid)

Fe ³⁺ 浓度 (mol/L)	毛蚴数 (条)		P	趋向
	实验组	对照组		
1.00	81	29	<0.01	+
0.50	24	5	<0.01	+
0.25	225	39	<0.01	+
0.10	41	7	<0.01	+
0.05	52	17	<0.01	+

2.1.3 Fe³⁺和 Mg²⁺吸引日本血吸虫毛蚴比较

在 Φ 容器两侧分别同时加入 Fe³⁺ 和 Mg²⁺ 两种离子, 进行 Fe³⁺ 和 Mg²⁺ 对比实验, 结果在浓度为 0.10 和 1.00 mol/L 时, Fe³⁺ 比 Mg²⁺ 吸引日本血吸虫毛蚴的作用更强。因此, 以下载体实验均选用 Fe³⁺ 作为“模拟钉螺”中的毛蚴吸引物质 (表 3)。

表 3 Fe³⁺和 Mg²⁺对毛蚴吸引能力比较

Tab. 3 Comparison of the attractivity to miracidia between Fe³⁺ and Mg²⁺

浓度 (mol/L)	毛蚴数 (条)		P
	Fe ³⁺ 实验组	Mg ²⁺ 对比组	
0.10	42	8	<0.01
1.00	18	4	<0.05

2.2 “模拟钉螺”比 SCW 能更迅速地吸引日本血吸虫毛蚴。

2.2.1 琼脂、明胶作载体

为使载体材料与钉螺的生物组织相似, 选用明胶、琼脂做载体材料, 采用 Fe³⁺ 做吸引日本血吸虫毛蚴的物质进行实验。结果如下:

2.2.1.1 单独使用琼脂作载体

琼脂中加入不同浓度的 Fe³⁺ 后均难以成型, 甚至如水样, 故单独使用琼脂作载体不能达到预期要求。

2.2.1.2 20%明胶凝胶颗粒制成 1.0 和 2.0 mol/L 的铁离子浓度的 2 种 (即 E, F 号凝胶颗粒) 符合现场应用要求使用不同浓度含 Fe³⁺ 离子的 A, B, C, D 号

明胶载体实验, 结果 Fe³⁺ 浓度较高, 在室温下长期保持流体状态, 不凝固, 不宜作载体。分析这一现象原因可能与 Fe³⁺、Cl⁻ 等离子引起明胶中蛋白质的结构发生改变有关, 于是采用 E, F 号凝胶颗粒 (降低 FeCl₃ 的含量) 进行观察, 混合物溶解均匀, 且均能凝固, 符合现场应用要求。取 E, F 号凝胶颗粒与钉螺 SCW (对照组) 作竞争实验, 结果见表 4。

表 4 明胶载体对毛蚴趋向的影响 (采用 SCW 作为对照)

Tab. 4 The effect of steep on the distribution of miracidia
(water for hatch miracidia used as contrast fluid)

凝胶颗粒 序号	毛蚴数 (条)		P
	实验组	对照组	
E 号	105	33	<0.01
F 号	74	32	<0.01

由表 4 可见, E 号凝胶颗粒比 F 号凝胶颗粒具有更大的吸引日本血吸虫毛蚴的能力。不过小颗粒明胶在水中长时间浸泡后会逐渐溶解, 不适宜作为模拟钉螺载体, 尚需进一步改进研究。

2.2.1.3 混合材料作载体

G, H 号混合凝胶颗粒各物质混合均匀, 较易凝固。各取小块浸泡于水中能够释放出 Fe³⁺ 离子, 且胶体几乎不溶解在水, 但遇水能够变软, 可作为模拟钉螺的载体进一步研究; 而 I, J 号混合凝胶颗粒中, 混合载体长期保持流体状态 (持续 1W 以上) 不宜作为模拟钉螺的载体。

3 讨论

作者的研究表明, 某些金属离子能够模拟“毛蚴松”的作用影响日本血吸虫毛蚴的趋向运动, 而且将这些离子加入到适宜的载体材料制成“模拟钉螺”可以吸引日本血吸虫毛蚴, 从而为减少毛蚴感染钉螺提供了理论基础。

在血吸虫生活史中, 毛蚴必需钻入中间宿主钉螺体内发育成尾蚴, 尾蚴再经皮肤感染人而致病。在预防日本血吸虫感染的研究中, 人们一直将注意力集中在预防尾蚴钻入皮肤和消灭钉螺上, 但结果并不令人满意。如果能够利用这些对毛蚴有趋向作用的物质使毛蚴不侵入或少侵入钉螺而使钉螺不产生或少产生尾蚴, 这样, 即使有钉螺的存在也同样能防止血吸虫

病的传播。作者认为模拟钉螺必须具备如下条件,即:

(1) 常态下应为固体,遇水后能够膨胀、变软;(2) 能够不断地释放吸引毛蚴的物质;(3) 能够使毛蚴识别、侵入;(4) 毛蚴侵入后不能产生尾蚴逸出。后两个条件尚待进一步研究。

利用对日本血吸虫毛蚴有趋向作用的物质制成“模拟钉螺”来吸引毛蚴,减少毛蚴侵入钉螺的机会,这种先保护钉螺而最终保护人类的方法即“钉螺无害化理论”有望成为预防日本血吸虫感染的新思路。

参考文献:

[1] Chernin E. Some host-finding attributes of *Schistosoma mansoni* miracidia. *Amer J Trop Med Hyg*, 1974,

23(3): 320-327.

[2] Stibbs H H, Chernin E. Magnesium emitted by snails alters the swimming behavior of *Schistosoma mansoni* miracidia [J]. *Nature*, 1976, 260: 702-703.

[3] 郭天南,何昌浩等,日本血吸虫毛蚴对钉螺趋向的观察[J]. *中国血吸虫病防治杂志*, 2006, 18 (2): 122-123.

[4] 何昌浩. 钉螺无害化的理论与实践[J]. *中国血吸虫病防治杂志*, 2003, 15 (6): 480.

[5] Roberts T M, Stibbs H, Chernin E, et al. A simple quantitative technique for testing behavioural responses of *Schistosoma mansoni* miracidia to chemicals [J]. *J Parasitol*, 1978, 64: 277-282.

A preliminary observation of the materials attracting *Schistosoma japonicum* miracidia

ZHANG Ai-hua¹, SHI Lei², LIU Yang², LU Heng-cong², PENG Xun³, HE Chang-hao⁴

(1. Division of Pathogenic biology of Medical College of Yangtze University, Jingzhou 434023, China; 2. Tongji Medical College of Huazhong Science and Technology of University, Wuhan 430030, China; 3. Office of Schistosomiasis Control in Committee of Water Conservancy of Yangtse River, Wuhan 430030, China; 4. Tongji Medical College of Huazhong Science and Technology of University, Wuhan 430030, China)

Received: Jun., 12, 2007

Key words: *Schistosoma japonicum* miracidia; snail oncomelania; chemotaxis

Abstract: With the improved Roberts testing technique, after adding 1.00 mol/L of Mg^{2+} to the test side of the ϕ -shape container, the number of *Schistosoma japonicum* miracidia in the two separated areas is 93:21 ($P < 0.01$), while the concentration of Fe^{3+} changes from 0.05 mol/L to 1.00 mol/L, the numbers of *S. japonicum* miracidia in the two separated areas are 81:29 ($P < 0.01$), 24:5 ($P < 0.01$), 225:39 ($P < 0.01$), 41:7 ($P < 0.01$), and 52:17 ($P < 0.01$), respectively. Fe^{3+} released from the mixture of gelatin and $FeCl_3$ has a stronger affinity to miracidias than the SCW. Mg^{2+} , Fe^{3+} can affect the chemotaxis of *S. japonicum* miracidia, and the artificial oncomelania, made with a proper ratio of attractive ions and organic materials, shows an even stronger attraction to *S. japonicum* miracidias than miraxone released by oncomelania.

(本文编辑: 谭雪静)