

人芽囊原虫扫描电镜观察*

何建国 江静波

(生物学系)

摘要 扫描电镜观察,人芽囊原虫空泡型虫体的表面较光滑,阿米巴型虫体表面高低不平,呈锯齿状和块状突起;颗粒型虫体表面呈长条形内陷。颗粒型虫体表面的颗粒是在细胞质中产生的,细胞外膜破裂后露了体表,脱离表面后,表面留有半球形凹陷。颗粒型虫体内和表面的圆形颗粒性质一致,为线粒体、微小体等结构。纤丝层在空泡型虫体中可能起着维持虫体形,增强虫体表面强度的作用,老化的空泡型虫体失去了上述功能;在阿米巴型虫体中,起着非专一性粘着细菌的功能。本文认为人芽囊原虫细胞外环境与细胞内环境之间有潜在通道。

关键词 扫描电镜观察,人芽囊原虫,空泡型虫体,颗粒型虫体,阿米巴型虫体,复分裂型虫体

人芽囊原虫(*Blastocystis hominis*) 是人畜共患肠道寄生虫,广泛寄生于人和其他灵长类动物,在狗、猫、小鼠、大鼠、家兔、豚鼠、蛙、蛇、蚯蚓、家禽和猪中也有发现^[1~2]。该寄生虫形态结构复杂,分为空泡型虫体(vacuolated form)、颗粒型虫体(granular form)、阿米巴型虫体(ameba form)和复分裂型虫体(multiple fission form)^[3~4]。由于其细胞质和细胞核占虫体体积10%~30%,其余为中央体(central body),虫体极易破损变形,前人一直未采用扫描电镜技术研究虫体的表面结构。Tan等^[5]和Yoshikawa等^[6]先后用冰冻蚀刻(freeze-fracture)技术研究了细胞外膜(outer cell membrane),细胞外膜不是虫体最外层结构,最外层结构纤丝层(filamentous layer)未能得到研究。本文采用扫描电镜技术,观察了人芽囊原虫4种类型的表面结构,结果表明,不同类型虫体,表面结构不同。

1 材料与方法

1.1 人芽囊原虫的来源

R株虫体来源于广州市红十字会医院一个腹泻住院成年病人粪便。L株虫体来源于广州市动物园一名饲养猩猩(*Pongopy gmaeus*)的饲养员粪便,无腹泻症状。M株虫体来源于本研究室的一只无腹泻症状的猕猴(*Macaca mulatta*)粪便,猕猴消瘦,毛松。

本文1991年1月21日收到

• 广东省科学基金资助项目

1.2 体外培养

3株虫体按Zierdt(1973)方法^[3]培养。R株和L株虫体转种保存1年6个月, M株虫体转种保存6个月。

1.3 扫描电镜观察

体外培养36h的L、R和M株虫体, 500g离心10min, 0.1mol/L二甲胂酸钠缓冲液(pH7.0)清洗离心2次。虫体用0.1mol/L二甲胂酸钠缓冲液配制的2.5%戊二醛前固定30min。缓冲液清洗离心2次, 每次30min。丙酮梯度脱水至无水丙酮, 乙酸异戊酯置换后, 取少量L、R和M株虫体分别置3块盖玻片上, 于日立HCP-2型临界点干燥器中CO₂临界点干燥。带虫的盖玻片贴于样品台上, 于IB-2型离子镀膜仪中喷金, 在日立S-450型扫描电镜(SEM)下观察拍照。

2 结果

人芽囊原虫三株虫体的表面结构没有差异。同一株不同类型的虫体, 表面结构明显不同。

2.1 空泡型虫体

表面较光滑, 无明显的突起和凹陷, 略有些不明显的皱折(图版I-1)。老化虫体表面部分内陷, 并有点状突起(图版I-2), 这一虫体部分表面放大, 呈现许多小孔, 大小约0.08 μ (图版I-3)。

2.2 阿米巴型虫体

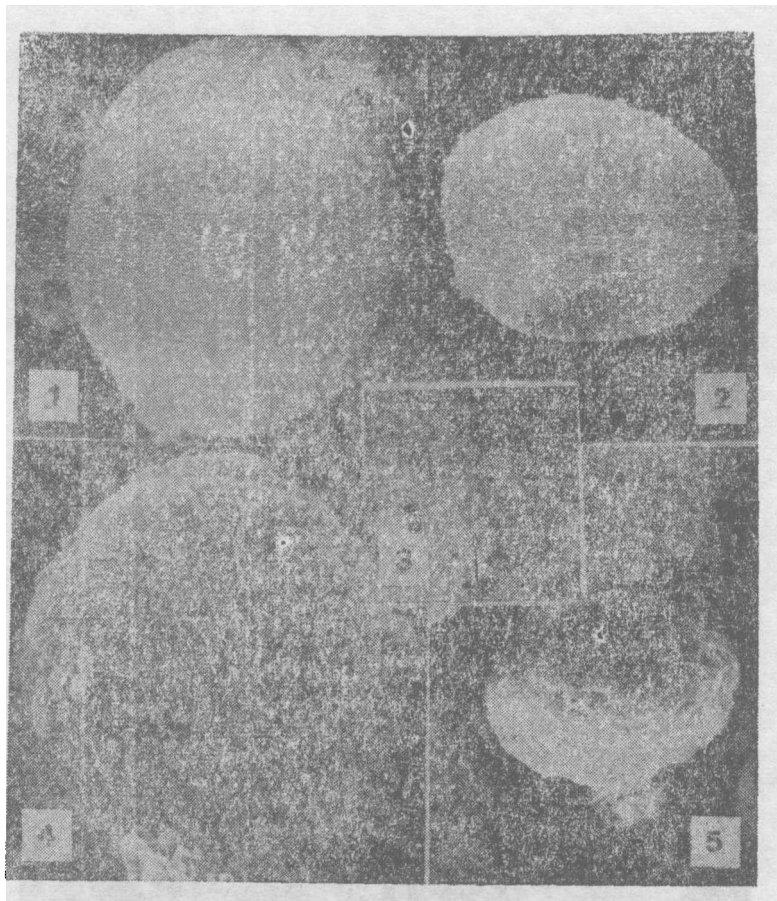
阿米巴型虫体表面高低不平, 明暗不一, 形状略不规则。一种类型是形态变化不显著的虫体, 表面呈大小不一, 形状各异的块状突起(图版I-4)。第二种类型是形态变化显著, 伪足活动迅速的虫体, 有的虫体突起规则(图版I-5), 将其放大更清楚显示虫体表面锯齿状突起(图版II-1); 有的虫体突起不规则(图版II-2)。第三种形态的阿米巴型虫体成环状中空状态, 是虫体两端弯曲连接在一起而成, 表面呈锯齿状突起(图版II-3)。阿米巴型虫体表没有发现小孔。

2.3 复分裂型虫体

SEM观察结果进一步证实了光镜和透射电镜观察到的复分裂型虫体^[4]。如图版II-4所示, 3个由二层细胞内膜和其中间的细胞质和细胞核组成的隔层, 将中央体分割成4个小空泡。空泡中有圆形颗粒和形状不规则的相互连接的结构, 前者可能是虫体破裂后进入空泡的细菌等, 后者可能是细胞核和细胞器等结构。细胞外膜和隔层上有小孔, 大小约0.1 μ

2.4 颗粒型虫体

光镜下观察到的颗粒型虫体的一种, 表面上的圆型颗粒和半球形凹陷^[4]在SEM下得到较好的观察。如图版II-5所示, 有的颗粒已脱离体表, 体表留有半球形凹迹; 有的颗粒暴露于体表; 有的颗粒尚在细胞质中, 其上为细胞外膜。由此说明这些颗粒是在细胞质中产生, 细胞外膜破裂后, 颗粒露于体表, 最后脱离虫体表面, 在表面留有半球形的凹陷。颗粒型虫体表面凹凸不平, 成格子形(图版II-5, 6), 这种形态可能是虫体老化的标志。



图版 I 人芽囊原虫空泡型和阿米巴型虫体的扫描电镜观察

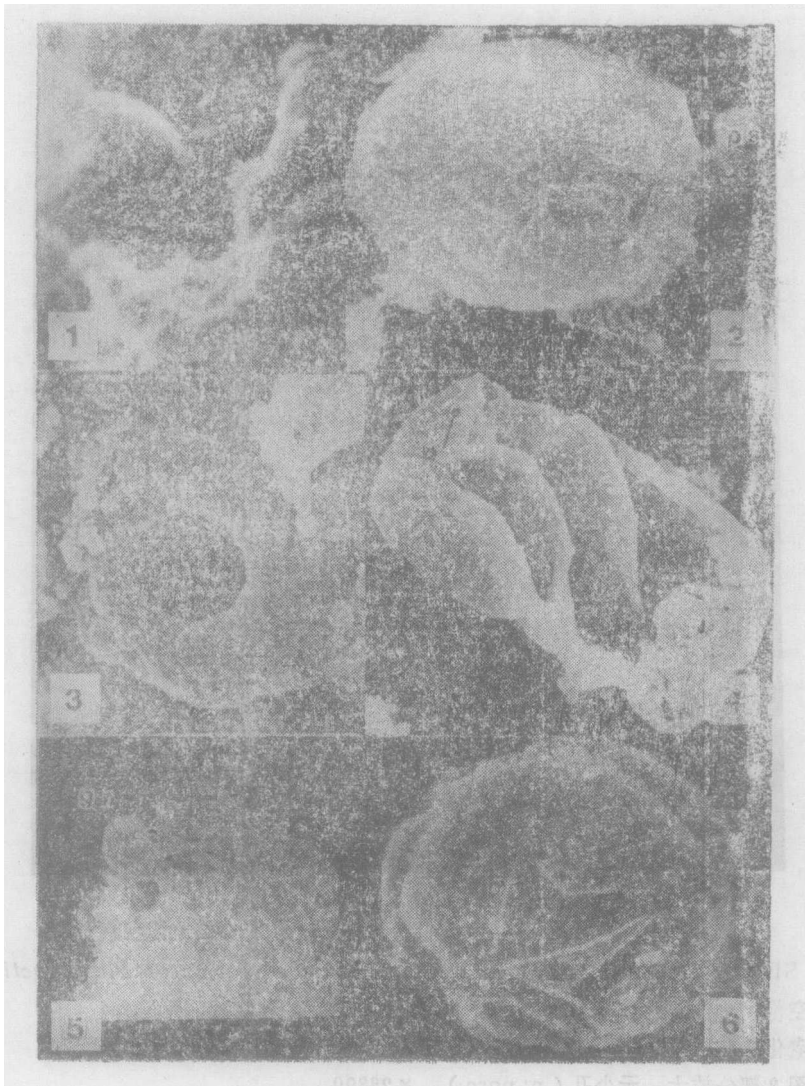
Plate 1 SEM micrograph of vacuolated and ameba forms of *Blastocystis hominis*

1. 空泡型虫体 (vacuolated form), 表面较光滑, $\times 9500$
2. 老化的空泡型虫体, 表面凹陷并有点状突起, $\times 8000$
3. 图 2 部分放大, 示小孔 (pore), $\times 28800$
4. 阿米巴型虫体 (ameba form), 示表面大小不一, 形状不规则的块状突起, $\times 7680$
5. 阿米巴型虫体锯齿状突起, $\times 4640$

3 讨论

人芽囊原虫的透射电镜研究报道较多, 但未利用扫描电镜观察它的最外层的表面结构。虽然 Tan 等^[6]和 Yoshikawa 等^[6]利用冰冻蚀刻技术研究了细胞外膜的结构, 但纤丝层没有得到研究。本文结果表明: 空泡型虫体表面较光滑; 颗粒型虫体表面有裂痕; 阿米巴型虫体表面凹凸不平。本文认为不同形态的表面结构在不同类型的虫体中功能不同。Dunn 等^[7]认为阿米巴型虫体纤丝层, 作为虫体吞噬过程的一个环节, 具非专一性地识别和粘着细菌的功能, 但未说明在空泡型虫体和颗粒型虫体的功能。纤丝层在空泡型虫体中可能具有增强虫体表面强度, 维持虫体形状的作用, 在颗粒型虫体中失去了上述功能。

颗粒型虫体的颗粒分为 3 种: 代谢颗粒 (metabolic granules), 脂肪颗粒 (Lipid



图版 I: 人芽囊原虫阿米巴型、复分裂型和颗粒型虫体的扫描电镜观察

Plate I SEM micrograph of ameba, multiple fission and granular forms of *Blastocystis hominis*

1. 图版 I、5 部分放大, 示阿米巴型虫体 (ameba form) 的锯齿状突起, $\times 3200$
2. 示阿米巴型虫体的伪足 (ps) 及表面块状和锯齿状突起, $\times 8100$
3. 阿米巴型虫体变形, 形成中间空形态, $\times 8800$
4. 复分裂型虫体 (multiple fission form), 三个隔层分割中央体, 形成 4 个空泡, 细胞外膜和隔层上有小孔 (p), $\times 7400$
5. 颗粒型虫体 (granular form), 示细胞表面和细胞质内的圆形颗粒 (gr) 和表面的半球形凹陷, $\times 12000$
6. 颗粒型虫体表面的格子形凹陷和半球形凹陷, $\times 1700$

granules) 和繁殖颗粒 (reproductive granules), 这些颗粒有的在虫体表面, 有在的虫体内^[3,4,8], 其中是否有繁殖颗粒意见还不统一^[2,7]。本文结果表明, 光镜下观察到的虫体表面的圆形颗粒是在细胞质中产生的, 细胞外膜破裂后, 这些颗粒露于体

表,脱离表面,在表面留下半球形凹陷,因此认为位于虫体中央体中的一些颗粒也是在细胞质中形成的,细胞内膜破裂后,颗粒进入中央体,虫体表面和虫体里面的颗粒性质一致,为线粒体、微小体等结构。

人芽囊原虫空泡型虫体和阿米巴型虫体中有细菌^[5,7]。阿米巴型虫体可以通过吞噬作用获得细菌,在空泡型虫体中,细菌是以什么方式进入还不清楚。Tan等^[5]观察到虫体细胞外膜上有小孔,认为是细胞外环境与细胞内环境之间的直接通道,但超微结构不能证明这一点^[7,9,10],Yoshikawa^[6]认为这是人为现象。本文结果表明,有的虫体表面有圆形小孔,与Tan等^[5]描述相同,人芽囊原虫细胞内环境与细胞外环境之间可能有潜在通道,利于细菌进入虫体,这一通道还有待于进一步研究。

参 考 文 献

- 1 McClure H M *et al.* Lab Anim Sci, 1980, 30: 890
- 2 Yamada H *et al.* Parasitol Res, 1987, 73: 527
- 3 Zierdt C H. J. Protozool, 1973, 20: 114
- 4 何建国等. 中山大学学报(自然科学版), 1990, 29(3): 122~128
- 5 Tan H K *et al.* Z Parasitenk, 1974, 44: 267
- 6 Yoshikawa H *et al.* J Protozool, 1988, 35: 522
- 7 Dunn L A *et al.* Inter J Parasitol, 1989, 19(1): 43
- 8 Zierdt C H *et al.* Exp Parasitol, 1974, 36: 233
- 9 Silard R *et al.* Arch Roum Path Exp Micro, 1983, 42: 233
- 10 Zierdt C H *et al.* Am J Clin Path, 1967, 48: 495

SEM Observation on *Blastocystis hominis*

He Jianguo* Jiang Jingto

Abstract The paper, as a repor of emplying SEM to observe surface of *Blastocystis hominis*, shows that the surface structures of vacuolated form, granular form and ameba form are not same: smooth in vacuolated form, cave in some granular form, and sawtooth-like protrudings in ameba form. This suggests that surface structures are closely related to different functions, it seems that the function of filamentous layer may be strengthening the surface tension, maintaining the shape of the vacuolated form, and in ameba form, may have a non-specific recognition mechanism for attachment of bacteria as part of phagocytic process. These granules which located on surface of *B. hominis* are produced in the cytoplasm of the parasite. The granules filling the central body of the parasite and the granules locating on surface of the parasite are actually some deteriorated mitochondria and microbodies.

The parasite may have potential tunnels between the outer cell enviroment and the inner cell enviroment.

Keywords SEM observation, *Blastocystis hominis*, vacuolated form, granular form, ameba form, multiple fission form

* Department of Biology