

FCC-1/HN* 株型恶性疟原虫的超微结构及其宿主细胞的改变

——关于恶性疟原虫的研究

中心实验室 蒋音丽 夏愿耀 颜永碧

有关鸟类、爬虫类、灵长类以及人类疟原虫，包括恶性疟原虫的超微结构络续已有报道。但是至今有关我国海南岛人类恶性疟原虫超微结构的报道尚不多见。我们把这株疟原虫取名为 FCC-1/HN。它的超微结构与上述各种类型的疟原虫略有不同之处。本文先就本株疟原虫滋养体的超微结构作如下报道，并结合有关文献进行探讨。

材料与 方法

本株疟原虫由我校寄生虫教研室自海南岛采集，经体外培养 1 年余后提供的。取材后以每分钟 500 转，离心 10 分钟，去培养液。用磷酸缓冲液配制的 1.25% 戊二醛固定 (pH7.3, 内含 4% 蔗糖)。固定后用同上缓冲液洗三次，然后制成琼脂块。再用 1% 锇酸后固定。逐级丙酮脱水。Epon 812 包埋，作超薄切片 (30—50nm)。用醋酸铀及枸橼酸铅染色，国产 DXA4—10 型透射式电子显微镜 (以下简称电镜) 观察。

观 察 结 果

一、FCC-1/HN 株恶性疟原虫的超微结构

(一) 早期滋养体 (或称环状体) 呈长形、镰刀状、半环状等，常位于红细胞边缘，呈镶嵌式。感染的红细胞明显变形，原虫所在处的红细胞局部肿胀或表面凹陷；或呈球拍状，原虫位于“球拍柄”，两侧包绕薄层红细胞胞质。原虫围以双层膜。胞质一般电子致

密度较低，游离核糖体丰富。胞核大，围绕双层核膜，核质的电子致密度更低于胞质。食物泡 *food vacuole* 不显著，亦见环状体局部胞质内凹，有摄取宿主细胞胞质的现象 (图 1、2、3)。

(二) 成熟滋养体 有时一个红细胞内感染两个滋养体。滋养体外围两层膜，有时带虫泡 *parasitoporous vacuole* 与其下的原虫质膜之间间隙增宽，其中有膜性或短纤维样物质。胞质内核糖体丰富，多为游离型，亦有纤维样物质。线粒体结构不典型，围绕双层膜，其中有细纤维，未见线粒体嵴，一个原虫中只见到一个线粒体 (图 4)。部分滋养体中可见粗面内质网，呈扁平囊泡或小泡状 (图 5)。摄食早期，胞口 *cytostome* 略为扩大，两侧有两个并列的短而深染的片状物 *dense segments*。胞口腔 *cytostomal cavity* 极度充盈时，胞口顶端与宿主细胞胞质接近处有同心的双层膜结构 (图 6)。另一电镜照片显示胞口腔极度扩大，原虫的上述部位为一凹陷，围绕两层膜，可能两者同为胞口孔 *cytostomal orifice* 的不同切面 (图 4)。待胞口已行封闭，形成食物泡后有时还可见到上述部位电子致密度较大，似为胞口遗迹。滋养体中食物泡大小不一，或为单个或为多个，内容物的电子致密度可以与红细胞胞质相同，其中包含长方形疟色素结晶时内容物

注: * FCC-1/HN 即
F—*plasmodium falciparum* C—culture
C—China HN—Hai Nan

的电子致密度往往降低。有时食物泡中出现螺旋状成团的膜性物,可能为食物泡中消化后残余物。此物有时又位于食物泡边缘(图7、8)。有的原虫胞质内亦见与上述类似的膜性物,但位于食物泡远侧(图7、8),可能属于一般所谓的多层膜小体 *multilaminated membrane body*。有的原虫胞质内有围绕双层膜的扁平长泡,基质透明,无结构,部分与带虫泡及原虫质膜之间的间隙相通(图4、6)。

原虫胞核为单个,呈椭圆形或不正形,大而电子致密度低,围绕双层核膜,外层核膜上附着大量核糖体(图7),但大部分原虫的核膜似较一般细胞的核膜菲薄,因此胞核周界不全清晰。核质内有颗粒及细纤维,颗粒似较胞质中的核糖体为细(图4、8)。未见核仁。

二、宿主细胞的改变

(一)宿主细胞寄生原虫的局部肿胀 滋养体所在部位的红细胞膨胀、变形。原虫位于红细胞中央,红细胞变成两头小中间大的菱形。原虫位于红细胞一端,红细胞呈球拍状,与早期滋养体相反,原虫位于“球拍”部位(图8)。

(二)红细胞表面出现结节状突起 成熟滋养体感染的红细胞表面出现一系列变化。红细胞质膜局部电子致密度增大,呈尖角状突起,继而切面成为环状或半环状结节突出细胞表面,亦即外圈电子致密度大,中央着色较浅。结节直径一致,与红细胞膜的关系不易分辨,亦有集结呈牛角状或辫子状(图9)。

(三)毛氏裂隙 成熟滋养体感染的红细胞胞质中有时可见狭长的裂隙,外围单层膜,称为毛氏裂隙 *Maurer's clefts*(图6)。

讨 论

FCC-1/HN株疟原虫虽经体外培养1年多,而超微结构方面未见明显退变或变异

现象,与 Langreth^[1]的结论基本一致,他指出恶性疟原虫在体外连续培养,各期的超微结构没有改变。与在活体中生长的比较,所不同的是培养中的原虫丧失同步特征。宿主细胞的改变亦与一般描述的恶性疟原虫基本相同。现就以下问题分别讨论。

一、环状体的形态

电镜下,一般环状体呈长形、哑铃状、半环状或镰刀状,胞质电子致密度较低^[2,3]。FCC-1/HN株环状体除未见典型的哑铃状外,与上述形态基本相同。部分又与 Trager^[4]描写的一致,虫体位于红细胞边缘,呈镶嵌式(图1、2、3)。

二、胞口的形态

1966年由 Aikawa^[5]首先命名。胞口是原虫表面的特化器官,在红内期用于摄食宿主细胞胞质。红细胞胞质通过胞口孔进入胞口腔。胞口孔在摄食中大小不变。胞口腔产生于摄入宿主胞质前,然后形成食物泡。胞质在食物泡内消化^[2,5]。FCC-1/HN株滋养体处于不同时期的胞口与文献所报道的鸟类及灵长类疟原虫中的结构相同。

(一)摄食早期,胞口腔略为扩大,其中包含红细胞胞质。胞口两侧各有两个粗、短而深染的片状物(图6)。Aikawa^[1]观察到上述胞口的正面观为三个同心圆,最里层是宿主细胞质膜,外面两层膜致密,相当于胞口纵切面中的片状物。内侧的片状物末端与胞口基部相连,外侧的与原虫质膜相连。

(二)滋养体呈半环状、中央凸入大量红细胞胞质(图3),与 Aikawa^[2]和 Rudzinska^[6]在猴疟原虫早期滋养体中观察到的类似。Aikawa^[5]在同一原虫的不同切面中见到胞口结构。

(三)Aikawa^[2]指出胞口孔围绕着两层膜,与我们的发现基本一致。在 FCC-1/HN株成熟滋养体中胞口孔侧面观为半环状的两层膜(图4),或在胞口紧挨宿主细胞胞

质处有两层膜围绕的一个孔(图6)。这些滋养体的胞口腔均已极度扩大,即将形成食物泡,并且其中已有疟色素结晶。

(四)在 FCC-1/HN 株中常发现胞口腔极度扩大,其中充满红细胞胞质并有疟色素存在。有时胞口腔中内容物的电子致密度同宿主细胞胞质,但又有疟色素存在(图4)。酸性磷酸酶反应证明^[3]胞口腔内也有水解酶。以上两个事实说明,胞口不仅具有吞噬红细胞胞质的功能,同时又能消化红细胞胞质,并且似乎可以边吞噬边消化。

三、食物泡

胞口摄取红细胞胞质到达一定程度时自胞口离断形成食物泡。Aikawa^[5]认为这一过程可能属于胞饮过程。初形成的食物泡,内容物的电子致密度与宿主细胞胞质的电子致密度相同。消化过程中内容物的电子致密度下降,同时出现疟色素结晶,两者适成反比,证明摄入的胞质是在食物泡内消化。胞口摄入胞质,外围两层膜,外层紧贴原虫胞质是胞口基膜,内层为红细胞质膜。食物泡自胞口离断,进行消化。至消化后期,食物泡围绕单层膜^[5,7]亦即红细胞质膜同时被消化。在 FCC-1/HN 株的滋养体食物泡中除了见到上述现象外,还见成团膜性物位于食物泡中央或边缘,亦有位于食物泡外侧(图7、8)。推测这些膜性物可能属于食物泡消化红细胞质膜的残余物,并逐渐排斥于食物泡之外。电镜细胞化学证明食物泡内含酸性磷酸酶^[3],与溶酶体类似。由于红细胞质膜富含胆甾醇难以消化而有残留。胞口与食物泡内的疟色素结晶呈长方形,与一般哺乳类疟原虫的疟色素形态相同(图4)。

四、胞质内细胞器

FCC-1/HN 株疟原虫与其它疟原虫一样,胞质内核糖体丰富。多为游离型。而其它细胞器则略有不同。

(一)内质网 一般疟原虫的内质网不发达,FCC-1/HN 株疟原虫中偶然可见粗面内

质网呈扁平囊泡或小泡状,表面附着核糖体(图5)。

(二)线粒体 Langreth^[1]认为体外培养的恶性疟原虫红内期各阶段的线粒体均有嵴,并且含有 DNA 样细纤维。FCC-1/HN 株滋养体中的线粒体不典型,结构不清晰,未见线粒体嵴,而有细纤维(图4)。这个特征与 Aikawa^[7]的观察一致,他认为哺乳类疟原虫线粒体的嵴较少见而代以复层膜围绕的结构 double-membrane-bounded structure。细胞化学证明没有嵴的线粒体中没有琥珀酸脱氢酶的活性存在。复层膜结构中有细胞色素氧化酶,在原虫中起到线粒体作用。在我们的材料中亦有螺旋状膜性物(图4、5)。位于食物泡远侧,虽与食物泡内的膜性物类似,但由于所在部位不同,因此推测可能属于上述复层膜围绕的结构,或称多层膜小体。

(三)扁平长形泡 Rudzinska^[6]描述原虫胞质内有双层膜围绕的长形泡 elongate vacuole,泡内基质无结构,密度低,推测可能用于贮存液体或收集排泄物。在 FCC-1/HN 株疟原虫中不仅见有同样结构的扁平长泡,部分电镜照片中还见这种长形泡与带虫泡及原虫质膜之间的腔隙相通(图4、6)。

五、胞核

FCC-1/HN 株与 Ladda^[8]所描述的人的恶性疟原虫滋养体胞核比较,两者基本相同。所不同的是 Ladda 观察到核质呈粗网状与颗粒状,核质颗粒与胞质内核蛋白颗粒相似。而 FCC-1/HN 株滋养体胞核的核质细腻,其中细纤维和细颗粒掺杂,核质内的颗粒较胞质内核糖体颗粒细小(图4、8)。

六、宿主细胞主要有以下三方面的改变

(一)细胞形态的变异 Miller^[9]发现人体感染早期滋养体的红细胞局部突起,呈畸形。未感染的红细胞成串,呈缙钱状;而感染成熟滋养体的红细胞亦呈畸形,并且被排斥于成串红细胞之外。由此认为感染成熟滋

养体的红细胞其可变性变小, 因此易于阻塞毛细血管, 尤其是大脑毛细血管。在我们的材料中虽然感染与未感染原虫的红细胞绝大部分处于分散状态, 但感染成熟与未成熟滋养体的红细胞均呈畸形(图8)。推测这种红细胞的可变性亦可能小于正常红细胞, 从而成为毛细血管堵塞的因子。

(二)细胞表面产生结节状突起 恶性疟原虫所感染的红细胞, 细胞膜局部电子致密度增大, 并且形成结节状突起, 位于细胞膜下面。结节出现的时间, 在体内相当于原虫从外周血液隐退而进入内脏血管进行裂体增殖的阶段。在体外则为成熟滋养体的阶段。一般认为结节与免疫有关。结节可粘附在血管内皮上使原虫得以在血管内进行裂体增殖[7, 8, 9]。FCC—1/HN株疟原虫所感染的红细胞其结节与一般描述的相同。早期, 结节形成前红细胞膜局部电子致密度变大突出细胞表面。结节形成后, 结节外圈色深, 中央较淡。有的呈半环状, 部分结节有集结趋势。有的结节集结呈牛角状或辫子状向外延伸(图9)。

(三)红细胞胞质内产生裂隙 裂隙出现于环状体后期, 宿主细胞表面的结节形成前。体内及体外培养的疟原虫均有。两侧围以单位膜, 并与带虫泡连续[8]。它的形成与意义尚不清楚。在感染 FCC—1/HN 株疟原虫成

熟滋养体的红细胞胞质内所见到裂隙, 其结构与一般描述的相同(图6)。

(本文图见72页)

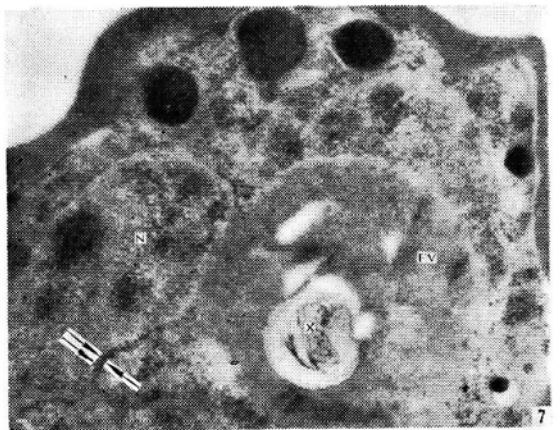
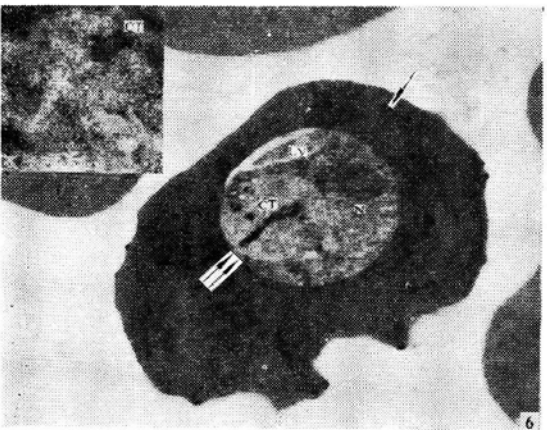
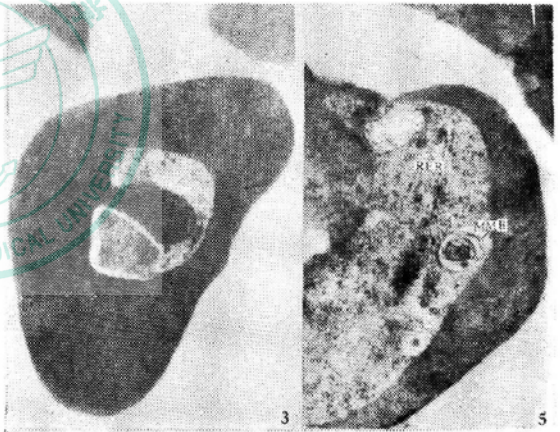
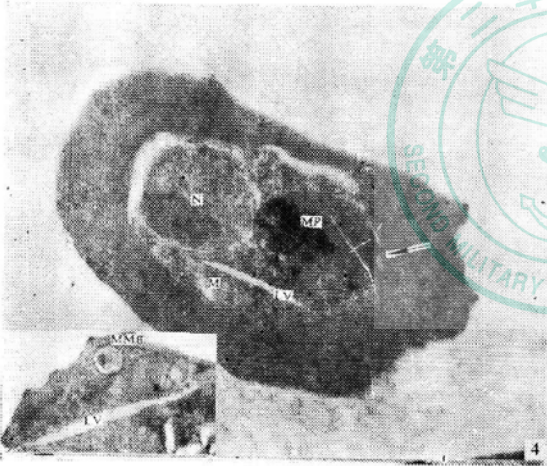
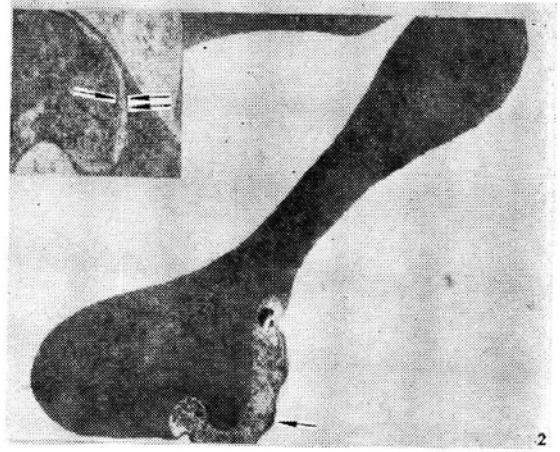
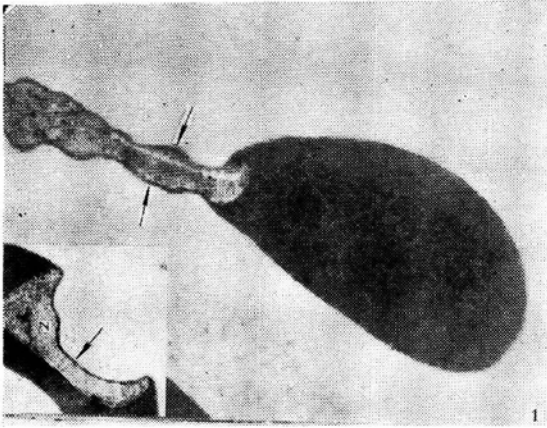
参 考 文 献

1. Langreth SG, et al: Fine structure of human malaria in vitro. *J Protozool* 25 (4): 443-452, 1978.
2. Aikawa M; et al: Comparative feeding mechanisms of avian and primate malarial parasites. *Milit Med* 131 (9): 969, 1966.
3. Aikawa M: Localization of acid phosphatase activity in plasmodium berghei and plasmodium gallinaceum: an electron microscopic observation. *J Parasit* 57 (3): 603-610, 1971.
4. Trager M, et al: The fine structure of plasmodium falciparum and its host erythrocytes in nature malarial infection in man. *Bull WHO* 35:883-885, 1966.
5. Aikawa M, et al: The feeding mechanism of avian malarial parasites. *J Cell Biol* 28: 355-372, 1966.
6. Rudzinska MA, et al: Pinocytotic uptake and the digestion of hemoglobin in malarial parasites. *J Protozool* 12: 563-572, 1965.
7. Aikawa M: Variation in structure and function during the life cycle of malarial parasites. *Bull WHO* 55: 139-156, 1977.
8. Ladda R, et al: Electron microscopy of plasmodium falciparum. I. The structure of trophozoites in erythrocytes of human volunteers. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 60 (3): 369, 1966.
9. Miller LH: The ultrastructure of red cells infected by plasmodium falciparum in man. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 66(3): 459-462, 1972.

FCC-1/NH 株型疟原虫超微结构及其宿主细胞的改变

——关于恶性疟原虫的研究

(正文见36页)



新抗疟药化合物的临床前毒性研究

Ⅳ 复方磷酸喹哌对肝细胞超微结构的影响

(正文见47页)

