

豚鼠实验性痢疾杆菌结膜角膜炎

II. 病理变化过程

林飛卿 楊德玲 吳本第

(上海第一医学院)
(微生物教研组, 上海)

(上海第一医学院眼科)
(教研组病理室, 上海)

前文中^[1]我们报告用细菌学、细胞学和血清学方法观察豚鼠实验性痢疾杆菌结膜角膜炎的感染过程及其对再感染的免疫性。观察结果发现感染后的1小时内,在结膜分泌物的直接涂片中,只看到大量痢疾杆菌,而没有细胞。自2小时起,多核中性白血球出现,胞外细菌消失,仅有时可以在吞噬细胞和上皮细胞中发现。这点似乎说明细菌可以在上皮细胞内生长。本文继续用病理学方法观察豚鼠实验性痢疾杆菌结膜角膜炎的病理变化,并寻找细菌在豚鼠眼中的繁殖场所与消长过程。结果发现,病理变化主要发生在眼前部,以角膜的变化为最明显。细菌则在角膜的上皮细胞中生长,引起细胞坏死脱落,形成溃疡,伴有炎症和由内毒素所引起的血管系统紊乱现象。最后,细菌生长速度下降,恢复过程开始。

材料与 方法

豚鼠 全白色,体重400克左右。

菌种 福氏痢疾杆菌2a型,菌号63104,保存与接种方法与前文同^[1]。

用大剂量痢疾杆菌引起豚鼠急性结膜角膜炎,在感染后1/2、1、2、4、8、12、24、48、72、96小时,7、14、21与28日将豚鼠杀死,摘取眼球,用任氏(Zenker)液固定,然后用火棉胶或石蜡包埋法切片,前法切片厚度约15—20微米,用H. E. 染色法着色,供观察病理变化之用,后者约厚5—6微米,用美蓝染液着色,主要为了观察细菌。

实 验 结 果

(一) 初感染后不同时期的病理变化

结果见表1。

总之,豚鼠眼经痢疾杆菌感染后,结膜病变出现迅速,感染后1/2小时部分上皮细胞已出现变性,多核中性白血球开始浸润和血管扩张。1小时上皮细胞已出现脱落;8小时上皮下组织水肿;24小时上皮下结缔组织增生,新生血管增多。以上病变不断加剧,于感染后72小时达高峰。角膜病变于感染后8小时才开始,首先是角膜上皮细胞变性,12小时开始脱落,24小时角膜上皮层细胞大量脱落,形成溃疡,此时基质中开始有多核白血球浸润和基质水肿,这些病变也于72小时达高峰。此外,自24小时起眼前、后房、虹膜睫状体和脉络膜也有轻度变性,水肿与炎性细胞浸润。以上反应,自96小时起开始减退,至第7日已接近完全复原,但在感染后28日,整个眼组织中仍可看到慢性炎性细胞,结缔组织

表 1 感染后不同时间的病理组织学检查结果

| 观察时间 | 结 膜 | 角 膜 缘 | 角膜表面 | 角膜基质 | 前房与后房 | 睫状体与脉络膜 |
|---------|---|------------|---|-----------------|--------------------------|---|
| 30 分 钟 | 多核中性白血球浸润, 上皮层变性, 血管充血。 (图版 I ₍₂₎) | 少数多核中性白血球。 | | | | |
| 1—4 小时 | 上皮细胞变性增剧, 有脱落倾向。 | ” | | | | |
| 8—12 小时 | ” | 多核中性白血球浸润。 | 上皮细胞层变性。(图版 I ₍₃₎ (4)) | | | |
| 24 小 时 | 变性与坏死。 | 上皮细胞变性与脱落。 | 坏死与溃疡。 (图版 I ₍₅₎) | 坏死与水肿。 | 纤维性渗出物, 多核中性白血球与大单核细胞浸润。 | 少量水肿与充血, 少数多核中性白血球。 (图版 I ₍₆₎) |
| 72 小 时 | ” | ” | 全部坏死。 | 水肿显著。白血球大量浸润。 | 浸润显著。 | 水肿显著。 |
| 96 小 时 | ” | ” | ” | 水肿减退。 | 浸润减退。 | 水肿减退。 |
| 7 日 | 上皮细胞层开始新生。 | 上皮细胞层新生。 | 上皮细胞层新生。 | 新生血管多, 白血球浸润显著。 | ” | 少量水肿, 血管扩张, 有浆细胞与淋巴球浸润。 |
| 14 日 | 上皮细胞层新生完全。 | | ” | ” | 渗出物消失。 | ” |
| 21 日 | ” | | 上皮细胞层新生完全, 厚薄不均。(图版 II ₍₇₎) | ” | | ” |
| 28 日 | 尚剩少数多核中性白血球与大单核白血球。 (图版 II ₍₈₎) | | 尚剩少数慢性炎性细胞。 | ” | | 尚剩少数慢性炎性细胞。 |

增生与新生血管。

(二) 感染过程中病原体在局部组织中的分布与动态

表 2 角膜上皮层中细菌分布的动态

| 观察时间 | 上 皮 层 表 面 | 上 皮 层 深 处 |
|------------|---|--|
| 30分钟及 1 小时 | 未发现细菌。 | |
| 2 小 时 | ” | 有 2 处各有一个细胞, 内含 10—20 个细菌, 菌体大小一般。(图版 II ₍₉₎) |
| 4 小 时 | 有 2 处出现胞内细菌, 细菌数量多少不一, 形大, 呈竹节状。 | 4 个分散的细胞, 内充满细菌。 |
| 8 小 时 | 含菌的细胞增至 8 处, 菌数也较前为多, 形状大。 | 有 9 处各有 1 个含菌的细菌。胞内细菌较小, 轮廓比较模糊, 没有扩散至邻近细胞的倾向。(图版 II ₍₁₀₎) |
| 12 小 时 | 整个表面几乎都可看到大量胞内细菌。 (图版 II ₍₁₁₎) | 含菌的细胞仅有 2 个。 |
| 24 小 时 | 大部分表皮层已脱落, 仅余一小处尚有残剩上皮细胞, 其中均有细菌, 菌体很大。 (图版 II ₍₁₂₎) | |

在豚鼠眼的实验性痢疾杆菌感染中,虽然细菌可能在结膜与角膜中同时生长并引起病变,但在切片标本中,结膜中很少看到细菌,而在角膜上皮层中病原菌的分布与扩散都很明显。这可能是由于正常结膜中有许多血管与淋巴组织,一旦细菌侵入,多核白血球和其他炎性细胞很快出动,将细菌吞噬与消灭。角膜组织中没有血管,仅在感染后 72 小时才有新生血管侵入,这样在感染后的 72 小时内细菌有可能较自由地繁殖并引起病理变化。表 2 显示在感染的早期,细菌在豚鼠角膜上皮层的生长情况与动态过程。

总之,在整个切片标本中,细菌主要发现于上皮细胞内,在吞噬细胞内或细胞外很少看到细菌。

讨 论

关于豚鼠痢疾杆菌结膜角膜炎感染过程的病理学检查,我们的发现和其他学者^[2-4]的报告基本上相同。Piechaud^[4]与 Левенбук 和 Андреева^[6]还提到痢疾杆菌能在豚鼠角膜上皮细胞中繁殖,引起细胞变性与死亡。我们完全同意这种看法,而且认为角膜的表层细胞是痢疾杆菌繁殖的主要场所。我们认为细菌侵入角膜上皮的方式有 2 种:(1)细菌穿过表层细胞后在上皮的深层细胞中被固定。在本实验中,感染后 2 小时有 2 处深层细胞中各有 1 个细胞中充满了细菌;在 4 小时有 4 处;8 小时有 9 处;而在 12 小时,此时上皮还未出现溃疡,但深层细胞只有 2 处含有细菌。在各期中有菌细胞均系分散存在,菌数约在 10—20 之间,在早期中细菌较长,染色鲜明,而在后期,菌体较短,且外廓比较模糊,我们认为,可能细菌在深层细胞中没有繁殖而被消灭。(2)细菌从最表层细胞侵入,逐步向两侧与下层细胞扩散,引起细胞坏死与脱落,最后形成溃疡。最早发现细菌在角膜上皮层的最表层细胞中为感染后 4 小时,共 2 处;8 小时增为 8 处;12 小时几乎整个表层细胞中都有成堆细菌。细菌自始至终很长,内含粗大颗粒和呈竹节状,显示细菌在繁殖阶段。同时最表层细胞的界限已模糊,开始脱落,而上皮层下的基质层,除穹窿部外,仅发现少量多核白血球浸润与基质水肿。感染后 24 小时,发现除一小部分角膜上皮未脱落外,其他部分全部脱落,形成溃疡。在溃疡边缘残存上皮细胞中充满长大的杆菌,在溃疡底部的基质层中有大量多核白血球浸润,但在完整无菌上皮层下的基质层中极少见多核白血球,整个基质层有明显的水肿与变性。48 小时上皮层全部脱落。

组织病理变化在 72 小时为最高峰。96 小时时基质层与虹膜睫状体的水肿已开始减轻,前、后房的渗出液也减少。此外,结缔组织的增生、新生血管的长入与上皮细胞的新生亦已在 72 小时前后发生。似乎在角膜上皮层细胞完全破坏后,细菌的增长速度大大下降,同时由于新生血管的出现等,机体的防御与修复工作占据上风。很显然,细菌仍据有一定病灶,继续在该处繁殖与排菌。

至于细菌如何在病灶中消失,仍是没有解决的问题。在本试验中除在上皮细胞内发现有较大量细菌外,很少看到吞噬细胞中有菌或胞外细菌。可能细菌在胞外很快发生溶解或被吞噬细胞吞噬后在细胞内很快消失,部分细菌还可能随脱落的细胞与分泌液排至体外。

在实验结束时——28 日,局部组织中尚存留许多新生血管与慢性炎性细胞,这些情况对抵抗再感染无疑地将发挥一定作用。此外,是否尚有其他对再感染的防御机制,如特

异性抗体,细胞的改变等,将作为进一步研究的目标。

結 論

本文中报告豚鼠中痢疾杆菌实验性结膜角膜炎的病理学检查与细菌的分布与动态。病理变化主要发生在眼组织的前半部分,但以角膜的病变为最明显与有规律性。在角膜中,细菌主要在上皮层细胞内繁殖,自感染后第4小时起,即可看到细菌在角膜上皮最表层细胞中出现,先向整个最表层扩散,然后向深层细胞蔓延。在12—24小时之间,上皮细胞开始脱落,形成溃疡,同时基质层出现水肿与大量多核白血球浸润。感染后48小时,角膜上皮层已完全脱落。72小时病变达高峰,在此以后病变程度逐渐减轻,修复工作开始。以上说明在豚鼠眼的痢疾杆菌感染中,细菌主要在表层的上皮细胞中繁殖,引起细胞坏死,脱落,形成溃疡。以后由于上皮层完全破坏,炎性细胞侵入,细菌的大量繁殖受到限制。我们认为豚鼠眼感染在研究菌痢的溃疡形成上可能是一个良好的模型。

参 考 文 献

- [1] 林飞卿等:微生物学报,11(3):391,1965。
- [2] 冯振南等:中华医学杂志,44:329,1958。
- [3] 潘绍武:微生物学报,8:316,1962。
- [4] Piéchaud, M. et al.: *Ann. l'Inst. Pasteur Lille.*, 94:298, 1958.
- [5] Serény B.: *Acta Microbiol.*, 4:367, 1957.
- [6] Левенбук, И. С. и др.: *Вест, А.М.Н., СССР*, 17:70, 1962.

图 版 說 明

图 版 I

- (1) 正常角膜,显示复层上皮层,中间基质部分和底层的内皮细胞层。184×
- (2) 感染后1/2小时,前部分结膜上皮变性,上方为脱落的上皮细胞与多核中性白血球。368×
- (3) 感染后8小时,前角膜表皮细胞变性,处界模糊,核染色淡。360×
- (4) 感染后12小时,前角膜上皮变性更明显,有脱落现象。360×
- (5) 感染后24小时,角膜溃疡。大部分上皮层已脱落,仅剩左端一小部分。基质层炎性细胞大量浸润,特别靠近上皮层处。360×
- (6) 感染后24小时,虹膜睫状体轻度水肿,睫状体有炎性细胞浸润。360×

图 版 II

- (7) 感染后21天,角膜上皮已完整,基质中有新生血管。96×
- (8) 感染后四周,结膜上皮已完整,上皮下有少数炎性细胞浸润,主要为淋巴细胞和多核中性白血球。184×
- (9) 感染后2小时,显示在角膜上皮层的一个细胞中,充满了细菌。1000×
- (10) 感染后8小时,显示角膜上皮层深处有许多细胞中有菌,但细菌形态较短(右方细胞),或轮廓模糊(左方细胞),似在崩解状态。3000×
- (11) 感染后12小时,显示角膜表层细胞中有大量细菌。3000×
- (12) 感染后24小时,角膜的上皮层大部分已脱落。照片中显示溃疡边缘的上皮细胞中有许多细菌。3000×