

妊娠

在医学中的应用研究

李德仁、王德成、李德成 著

国家自然科学基金资助项目

74

山西科学教育出版社

蚯蚓在医学中的应用研究

*

山西科学教育出版社出版发行 (太原并州北路十一号)

山西人民印刷厂印刷

*

开本: 787 × 1092 1/32 印张: 5.375 字数: 110千字

1991年4月第1版 1991年4月山西第1次印刷

印数: 1—1 000册

*

ISBN 7-5377-0388-4

S·53

定价: 2.50元

前 言

蚯蚓在祖国医学应用中有悠久的历史。中医认为它性属咸寒，归经于肝、脾及膀胱经，有清热定惊、通经、平喘、利尿等作用，主要用于高热神昏、惊痫抽搐、关节痹痛、肢体麻木、半身不遂、肺热喘咳、水肿、高血压等症。

由于现代科学技术的不断进步，近十余年来，蚯蚓在医学领域的应用有了新的进展。1982年日本宫崎医科大学美原教授等以新闻形式报导了蚯蚓溶栓酶的研究，1987年兰州大学路英华报导了她们研究组分离纯化出二种纤溶酶，1980年以来，山西医学院生化教研室从双胸蚓组织中分离纯化出六种溶栓酶和二种胶原酶，还研究了这些酶的酶学性质、化学组成和毒理。结果表明：这些酶的酶学性质的共同特点是活性强且耐久、最适pH和最适温度范围广，很适用于人体。经动物实验证实，这些酶溶解动脉血栓时间快、无毒、又无副作用。它给临床应用提供了重要依据。

在医学领域中，威胁人类健康严重的疾病如，脑血栓、心肌梗塞、肺栓塞、脉管炎等都可用溶栓酶进行治疗。目前，国内外虽有链激酶、葡激酶、尿激酶和蛇毒抗栓酶用于治疗血栓症，但都有不同程度的副作用，且价格昂贵，因此不能广泛应用。而胶原酶也是从蚯蚓组织中分离纯化出来的

另一类新酶，它的应用范围比溶栓酶较为广泛，凡有结缔组织增生的一些疾病如，陈旧性血栓症、肝硬化、烧伤瘢痕、硬皮病、动脉硬化等（都与体内胶原组织增生或胶原酶活性降低有关），用它治疗效果较好。

本书所介绍的蚯蚓在医学中的应用是我们研究组多年的研究课题。全书共分五章。第一章概述蚯蚓的生物学。包括蚯蚓的种类、分布及生物学特性，蚯蚓的人工繁殖。第二章是蚯蚓在医学中的应用及研究。主要阐述蚯蚓在祖国医学中的应用和蚯蚓研究的近况。第三章和第四章是我们研究组自1980以来所研究的成果。主要包括双胸蚓溶栓酶和胶原酶的分离纯化、酶学性质、作用机理以及毒理方面的研究等。第五章是展望蚯蚓研究的前景。

本书可供从事蚯蚓研究科技人员，及中高级医药工作者参考。

由于我们的水平有限，难免有不妥之处，请读者批评指正。

本书所汇集的研究成果，都是在国家自然科学基金委员会资助下完成的，特此表示衷心感谢。

(单鸿仁)

目 录

第一章 蚯蚓的生物学	(1)
第一节 蚯蚓的种类、分布及其生物学特性	(1)
一、蚯蚓的种类.....	(1)
二、蚯蚓的分布.....	(2)
三、蚯蚓的习性.....	(2)
四、蚯蚓的基本结构与生理特点.....	(2)
五、蚯蚓的损伤修复.....	(3)
第二节 蚯蚓的人工饲养和繁殖	(4)
一、饲养蚯蚓所需的器具与场地.....	(4)
二、蚯蚓培养基的配制和选择.....	(5)
三、蚯蚓种的引入.....	(6)
四、蚯蚓养殖的管理.....	(7)
 第二章 蚯蚓在医学中的应用与研究	(12)
第一节 蚯蚓在祖国医学中的作用	(12)
一、概述.....	(12)
二、蚯蚓在临床的应用.....	(13)
第二节 现代医学对蚯蚓的研究和应用	(30)
一、蚯蚓体内的微量元素.....	(31)

二、蚯蚓的脂类组成和某些蛋白质的研究.....	(31)
三、蚯蚓酶类的研究.....	(32)
四、蚯蚓其它成分在医学中的作用.....	(36)

第三章 双胸蚓溶栓酶的研究..... (38)

第一节 双胸蚓溶栓酶的发现..... (38)

一、双胸蚓溶栓作用的发现..... (38)

二、双胸蚓提取液中溶栓酶的分离纯化..... (41)

三、双胸蚓提取液中纤溶酶原激活物的分离 纯化..... (46)

第二节 双胸蚓溶栓酶的分离纯化及酶学性质

研究的概述..... (47)

一、双胸蚓溶栓酶的分离纯化..... (47)

二、溶栓酶及纤溶酶原激活物的理化性质及 其作用的研究..... (52)

第三节 双胸蚓溶栓酶研究之一..... (54)

一、双胸蚓溶栓酶的分离纯化..... (54)

二、双胸蚓溶栓酶的酶学性质研究..... (61)

第四节 双胸蚓溶栓酶研究之二..... (70)

一、双胸蚓溶栓酶及纤溶酶原激活物的分离 纯化..... (70)

二、双胸蚓溶栓酶对家兔实验性动脉栓塞溶 栓作用的研究..... (81)

第五节 双胸蚓溶栓酶研究之三..... (87)

第六节 双胸蚓溶栓酶的作用及其机制..... (106)

一、概述..... (106)

二、双胸蚓溶栓酶的抗凝促纤溶作用·····	(115)
三、双胸蚓溶栓酶抗凝促纤溶的作用机制·····	(121)
第七节 双胸蚓溶栓酶的毒理学研究·····	(129)
 第四章 双胸蚓胶原酶的研究·····	(131)
第一节 双胸蚓胶原酶的提取纯化·····	(132)
第二节 双胸蚓胶原酶的酶学性质及化学 组成·····	(143)
第三节 胶原的结构及胶原酶的作用原理·····	(154)
 第五章 蚯蚓应用研究的前景·····	(162)

第一章 蚯蚓的生物学

第一节 蚯蚓的种类、分布 及其生物学特性

一、蚯蚓的种类

蚯蚓又称地龙，俗名曲蟾、赤虫等。蚯蚓属于无脊椎动物，环节动物门，有环纲，寡毛目。自然界的蚯蚓品种繁多，大小不一。成虫短的不足1厘米，长的可达2米以上。其颜色各异，有棕色、红色、灰白色等。据不完全统计，全世界的蚯蚓约有1800种之多。

根据蚯蚓形态学上的特征，如体节、刚毛及消化、生殖、排泄系统的形态、位置等加以分类，大体有4种分法(目前尚未完全统一，但大同小异)：11个科(Michaelsen, 1900年)、21个科(Michaelsen, 1921年修订)、14个科(Stephensen, 1930年)及12个科(Gates, 1959年)等。以Gates的分类法较为全面而简便，因此较常用。按其分法，蚯蚓分为以下12个科：

- | | |
|-------|-------|
| ①链胃蚓科 | ②巨头蚓科 |
| ③寒蟪蚓科 | ④棘蚓科 |

- | | |
|-------|-------|
| ⑤八毛蚓科 | ⑥真蚓科 |
| ⑦舌文蚓科 | ⑧沙蚓科 |
| ⑨微毛蚓科 | ⑩同胃蚓科 |
| ⑪羊蚓科 | ⑫正蚓科 |

以上最重要的是正蚓科。它不仅数量多、分布广泛，而且为人类提供的福利也最多，它是蚯蚓中最进化的科。该科蚯蚓原本主要生长在欧洲，后随着人类文化交流、逐渐传播到全世界。其生命力、繁殖力较强，加之其有开拓新土壤的能力，故除本土蚓种外，它能在所到之地逐渐繁殖，并占优势。正蚓科蚯蚓在改良土壤、作饲料（如鱼饵等）及药用等方面对人类的贡献不断扩大。

二、蚯蚓的分布

蚯蚓几乎遍及全世界，除常年覆盖冰雪的高寒地带、沙漠、无土壤的山脉及海洋等地域外，各地均有。其中正蚓科蚯蚓适应新环境的能力较强，故在天然及人工传播下分布最广，以北半球温带为最多，其次为南半球温带。

三、蚯蚓的习性

蚯蚓大多喜温暖、湿润的土壤环境。若土壤表层或土壤中富含有机质，则更适宜蚯蚓的生长繁殖。不同蚓种生长的最适温度不同，一般多在 $10\sim 25^{\circ}\text{C}$ 之间。蚯蚓喜暗，在其体表口前叶有感光细胞，对光照很敏感，故除夜晚能到土壤表层觅食外，一般均在土壤表层下穿行。通常约从下午6时至午夜活动较多。

四、蚯蚓的基本结构与生理特点

蚯蚓身体细长，外表明显地分有许多环节，节数依品种不同而异，少者20节左右，多者可达百余节。除前两节外，

其余各节上均有刚毛。刚毛的主要功能是勾住与身体接触的土壤，帮助运动。

蚯蚓身体结构大致可分为体壁及其内侧的体腔两大部分。体壁外表为一带有色素的角质层(角质层由交织的胶原纤维组成)，角质下依次为表皮、肌层及腹膜。腹膜内侧为体腔，这是一条贯穿全身的大腔。与体表分节相应，这里也有分节的半隔膜。体腔内有一条从口至肛孔的消化管道、有血液循环的主干——至少由一条背干和一条腹干组成的闭式血管系统和一条腹神经索，其神经节上发出的神经分支环绕体壁分布到肌层和表皮。除此之外，体腔内充满着体腔液。当蚯蚓受到强的机械性或理化性刺激(如过冷、过热、高浓度盐溶液等)时，体腔液便从背孔喷出，用以湿润体表和自卫，若体腔液损失过多，可致蚯蚓死亡。

蚯蚓代谢的废物主要通过肾管排出：肾管由体壁伸入体腔液，从中吸收废物排出。消化管内的废物还可从肛孔排出。

蚯蚓通过体表呼吸，空气中的 O_2 溶于表皮湿润的含水层，再渗入角质层和表皮，进入血管后，同血液中的血红蛋白结合运输到全身。

蚯蚓雌雄同体，多为异体交配繁殖，少数为孤雌生殖。其生殖腺体位于一定的体节上，当性成熟时，该体节膨大，颜色变浅。蚯蚓交配受精后由生殖孔排出一个茧，内包含数个受精卵。蚓茧依品种不同，大小、形态、颜色各异，有的状如小米粒，有的呈椭圆形。颜色有浅黄、浅棕、浅绿等。受精卵在茧内发育成幼小的蚯蚓，待到孵出时形态已与成蚓相似。

五、蚯蚓的损伤修复

蚯蚓自身修复损伤和再生的能力较强。如一条蚯蚓断成

两段，只要伤口靠近，可在一周内完全再接。当蚯蚓遭受损害，失去头侧或尾侧部分体节后，均可再生。失去尾侧体节的再生比失去头侧体节的再生快，有的仅一周就可生成。但再生的体节数不会比原来失去的体节数多。这种再生的机制至今尚不清楚。

(张祖珣)

第二节 蚯蚓的人工饲养和繁殖

蚯蚓是一种对食物与环境具有较广泛适应性的低等动物，易于人工养殖。由于蚯蚓种类繁多，所需生活环境不尽相同，因此要根据其生物学、生理学特点，在模拟其生态环境的基础上，调整、改善其食物及其它环境条件，使蚯蚓的各种生理过程处于最佳状态。这样，蚯蚓的生长、繁殖和蚓卵的孵化等才能更好更快。实践表明，蚯蚓条件适宜时，可连续生长发育，不出现休眠、滞育和蛰伏，其寿命、产卵量、茧子的孵出率等均比自然条件下提高数倍。下面重点介绍陆生蚓的养殖法与注意事项。

一、饲养蚯蚓所需的器具与场地

根据蚯蚓的生活习性以及我们的饲养经验在选择饲养蚯蚓的场所时应选保温、保湿、通风良好，安静避光，而且便于管理的器具与场地。

小型养殖可用木箱、盆、缸、罐等。近年来，我们实验室采用了易于搬动、管理的纸板箱和木箱养殖蚯蚓。具体做

法是，箱内衬以塑料薄膜，以防水土漏出或蚯蚓钻出，箱顶加盖用于遮光，箱内加培养基至箱高 $3/4$ 处。放置在温度适宜的室内、地下室或走廊的一角，避免过分的摇动或翻动。若养殖箱数量较多，可用板架上下存放或将箱子垛放在一起，但箱间要留有一定空隙，以利通风，也便于添加水、饲料等。

大规模养殖，常采用养殖池养殖法。即在室内或室外砌一池子或挖一池子（池边高于地面，以免进水），池深60~80厘米即可。池内壁及底要铺衬塑料薄膜或用水泥、砖、灰等抹砌，加固，以防蚯蚓向四周钻窜逃失。池顶部应根据不同气候条件，备有能遮光、保温，可卷动的盖帘。如草帘加塑料布或篷布等。

若要观察了解其生物学行为，可选用直观性强的玻璃容器养殖，既便于调整温度、湿度，又便于观察。观察蚓茧的孵化，则应选用小型、易移动的器皿。用玻璃器皿时，其内应铺潮湿的滤纸，让蚓茧在滤纸上孵化。

养殖蚯蚓的容器或场地的大小，要根据养殖的规模和蚯蚓的种类而定。一般对于种蚓应提供较大的空间，以保证充足的营养和良好的外环境，使之得以正常生长繁殖。根据经验，每升容积可放养中、小型种蚓5~7条，大型种蚓2~5条为宜。若饲养幼蚓，放养条数可适当增加至15~30条，若养殖目的是为了大量收获成蚓，则每升容积的放养条数可增至15~20条，对形体较大的蚯蚓，应适当减少。

二、蚯蚓培养基的配制和选择

培养基是蚯蚓赖以生存的环境。自然界的蚯蚓多以植物的根、叶，微生物和小动物尸体以及土壤中的腐植质等为

食。蚯蚓对生活环境中的温度、湿度、酸碱度及土壤的种类等都有一定要求。因此人工养殖蚯蚓的培养基，在科学配制与选择上是很重要的。

人工养殖蚯蚓的培养基配方较多，最经济适用的是用马粪七份，牛粪或羊粪一份，人粪干一份，大田土一份，浇以适量的人粪尿（或水），然后按农家沤肥的方法，混匀堆放腐熟，即成腐肥。使用前，将该腐肥与半量鲜马粪混匀，浇水使之潮湿，拌匀即可。该培养基中含有大量的腐植质、微生物、蛋白质及多糖类等有机物，且质地疏松，保湿性能好，酸碱度适宜（ $\text{pH}7.0\sim7.8$ ）。多数陆生蚓喜欢在此种培养基中生活，且生长、繁殖快，若有的蚓种对培养基的酸碱度有特殊要求时，可用2%尿素溶液或食醋、磷酸、腐植酸等喷洒培养基，加以调整。另外，在培养基的表面撒些粮食粉末或糠、麸，或适当添加一些果皮、树叶、菜叶等可补充饲料。但禁忌加含盐、碱酸多的食料，因蚯蚓不耐受盐、酸、碱及糖的直接刺激，否则会产生强烈的反应，使之分泌出大量的黄色体液，而导致死亡。

三、蚯蚓种的引入

人工养殖蚯蚓的蚓种，通常有两个来源，一是从人工养殖的蚯蚓中选种引入；一是从野外采集蚯蚓进行人工培育、繁殖。前者往往有现成的养殖经验或有关资料可供借鉴，因而养殖较容易，也会获得圆满的结果，但目前人工养殖的蚓种有限，尚难满足科研和生产的需要。野外采集蚯蚓，是开发和引入新蚓种的最常用的方法。

从野外采集蚯蚓的方法有多种，如徒手法、漂浮法、化学试剂逼出法、电激法、引诱法等，现将常用方法简要介绍如下。

(一) 徒手法 在选定的采集地，挖掘地表土壤约30厘米深即可，然后用手或细筛将土壤中的蚯蚓和蚓茧选出。该法不损害蚯蚓与蚓茧，较可靠，但工作量大，而且不易将采集区的蚯蚓全部收集到。

(二) 漂浮法 将采集区的表层土壤挖出，用不同孔径的筛子在水中筛洗，再将留在筛内的物质放入比重1.5的硫酸镁溶液中，收集上层漂浮物，即可获得蚯蚓和蚓茧，再及时用清水洗一次，除去粘附在其体表的盐分。该法采集效率较高，特别是用于采茧，是一种较方便的方法。

(三) 化学试剂法 选择对蚯蚓有刺激性但毒性又较小的化学药品配制成溶液，如福尔马林、高锰酸钾、氯化汞等溶液。将其喷洒在蚯蚓出没的地方，逼迫蚯蚓向地表面迁移，然后收集爬出的蚯蚓。上述试剂中以福尔马林的毒性较小，较为常用。其浓度为0.55%，每平方米用量约12.7升。如果地表很干燥，可先洒些水，再喷药。用该法逼出的蚯蚓，被捕获后应立即用清水漂洗蚓体，以免中毒死亡。

由野外采集的蚯蚓，往往不知其确实的种属，最好先进行分类学鉴定，而后将不同种属的蚯蚓分开饲养，以获得纯种。这样也便于进行科学研究和积累有关资料。

蚯蚓采集地的选择，要依据养殖蚓种的要求和采集容易与否而定。肥沃的农田、河沟旁、树林中、牧场及草原均是大量蚯蚓经常出没的场所。采蚓时，最好将采集地的部分土壤一并带回，这既可为人工饲养提供基础环境，又可通过分析，为人工饲养提供参考资料。

四、蚯蚓养殖的管理

蚯蚓的饲养和繁殖管理工作，是养殖蚯蚓成败的重要环

节。其主要任务是为蚯蚓提供最适宜的生活条件，使蚯蚓的生理活动、生长、生殖和卵茧孵化均处于最佳状态。因此在管理上必须从以下几方面做好工作。

(一) 温度对蚯蚓的影响及控制措施：

蚯蚓的活动、代谢、呼吸、生长及繁殖均受温度的影响。

有的报道提到，多数蚯蚓活动的最适温度为 $10\sim 14^{\circ}\text{C}$ 。蚯蚓体内存在着对温度变化适应的机制，大约气温（或室温）每增加 1°C ，蚓体耐热能力随之增高 0.3°C 。过高过低的温度对蚯蚓都不利，甚至有致死性的作用。

蚯蚓从幼虫发育至性成熟，在其生长的各时期均对温度有依赖性。如臭爱胜蚓，在 10°C 时，16周成熟； 18°C 时，9.5周成熟； 28°C 时，6.5周即可成熟。

不同的温度对蚯蚓的生殖也有很大影响。例如，某些正蚓科蚯蚓和背暗异唇蚓生活在 $6\sim 16^{\circ}\text{C}$ 温度环境内，比在 2°C 或 25°C 时的产卵数量高4倍。

蚓茧的孵化率，在一定温度范围内可随温度的升高而增加。如叶绿异唇蚓的卵茧在 10°C 时，112天孵化； 15°C 时，49天孵化； 20°C 时36天即可孵化。

适宜的温度促使蚯蚓生长、发育、繁殖，而不适宜的环境温度可使蚯蚓处于滞育、休眠状态，对蚯蚓的人工养殖极为不利。我们根据以上资料和养殖蚯蚓的初步经验，发现蚯蚓的最适活动温度比最适生长和最适繁殖温度低 2°C 左右。

控制蚯蚓环境的温度，其方法可根据条件选择或创造。目前效果最好的是在养殖场所内设置空调设备，但因其成本较高，一般很少采用。通常的做法是选择温度较适宜的环境进行养殖，如选择室内、楼道一角、地下室、院内，用器具或

设池养殖，气温低时、加盖篷布、草帘或于室内设置取暖设备防寒；气温高时，采用通风、适当喷洒冷水等措施降温（室外养殖要防止烈日直射，可加遮阳光设施）。

（二）湿度对蚯蚓的影响和保湿管理措施 蚯蚓体重的75~90%是水分。蚯蚓对缺水有较强的适应能力，绝大多数蚯蚓可耐受约50%环境水分的缺失而不死亡。然而缺水会影响蚯蚓的正常代谢，导致其进入休眠，或处于滞育及蛰伏状态，并严重时会降低蚓卵的孵化率和幼蚓的成活率。有人曾做如下实验：把带有蚓茧的培养基吹干后，再放回到适宜的培养环境中，98%的蚓茧不能孵化，幼虫的数量也逐日减少。过分的湿度对成蚓的存活、生殖及卵茧的孵化一般没有太大影响，只是幼蚓的存活率比正常湿度时要低。但需注意，培养基湿度过大时，会使培养基内空隙减少，空气减少，这时蚯蚓往往爬到培养基上层，若培养基厚，则位于底层的蚯蚓，尚未爬到表层就可能因窒息而死亡。

对大多数陆生蚓，以20~28%的湿度为宜。保持湿度的方法简单，即经常性地往培养基上喷浇水。对于马粪混合培养基，如果轻握能成团，其湿度条件就可满足养殖的需要。

（三）酸碱度对蚯蚓的影响和控制措施 大量的研究表明，蚯蚓对环境酸碱度的改变很敏感。土壤的酸碱度是限制自然界蚯蚓在土壤中分布、数量和种类的关键因素。一般陆生蚓适宜在中性土壤中生活。环境pH值偏酸或偏碱均妨碍蚯蚓的正常代谢与生长，或导致其休眠、滞育，严重时可引起蚯蚓死亡。

绝大多数陆生蚓在pH6.5~7.8的环境条件下养殖较适宜。蚯蚓粪便的pH值约为7.0，因此对培养基酸碱度的控

制，通常是在配制培养基时做一次性的调整即可（以马粪、土为基础的培养基近于中性），调节酸碱度勿用无机酸、碱，可用低度醋酸、腐植酸、尿素等，以避免对蚯蚓产生不利影响。

（四）蚓茧孵化的管理 温度、湿度及环境的酸碱度是影响蚓茧孵化的重要条件。蚓茧孵化的最适温度较幼蚓生长的最适温度高 $3\sim 4^{\circ}\text{C}$ ，但蚓茧的孵化和幼蚓生长并不同步进行，因此在实际工作中，要兼顾两方面，就应取二者折衷的温度，即选 $20\sim 22^{\circ}\text{C}$ 进行孵化与育幼。湿度与养殖时期相同。酸碱度仍为中性。小型孵育可在培养皿内铺一层湿润的滤纸，蚓茧放在滤纸上，将该培养皿保温即可，大型的可在培养基肥土内进行孵育。如果蚓茧存在于待更换的培养基内，应先用漂浮法把蚓茧分离出来集中孵化，这可提高幼蚓成活率。一般若无特殊要求，可允许蚯蚓产的茧在原培养基内自然孵化（温度等不做特殊调整），但应保持良好的温度、酸碱度和通气，切忌在培养基中加入大量易腐败物，以免破坏良好的环境。

（五）培养基的更换 蚯蚓的食量很大，某些中型蚯蚓，每天的进食量可达 $20\sim 30\text{g}$ 。蚯蚓每天排出的粪便也很多，虽然粪便可以再被蚯蚓吞食，但蚯蚓在蚓粪过多的培养基中，各种生理活动均会减弱。另外，蚯蚓在爬行和打洞过程中，也会产生大量分泌物，会影响培养基的理化性状。适时地对培养基进行更换，是一项应引起饲养者高度重视的管理工作。蚯蚓的数量不多，蚓体较小时，培养基的更换次数一般是每2月一次。如果蚯蚓的数量大，蚓体较大时，应每月换一次培养基。换下的培养基不应立即扔掉，因其中还有