

【综述】

文章编号: 1000-7123(2001) 04-0250-05

按蚊抗疟原虫感染免疫机制的研究进展

徐文岳 综述

黄复生 审校

中图分类号: R531.3, R384.111

文献标识码: A

疟疾严重危害人类健康, 杀虫剂灭蚊是控制其传播的重要手段。受蚊虫抗药性和生态多样性的困扰, 至今未能取得理想的防制效果。随着分子生物学技术的发展和疟疾防治的需要, 世界卫生组织于 20 世纪 90 年代初提出一项基因操纵蚊媒新策略, 即通过转基因手段, 把蚊虫抵抗疟原虫感染的相关基因转入蚊基因组, 使其稳定遗传并在自然种群中扩散, 以期减少甚至阻断蚊虫的传播。研究疟原虫-蚊媒相互关系的分子机制, 尤其对按蚊阻断疟原虫感染的免疫机制的研究, 是实现这一策略的重要课题。

1 按蚊抗疟原虫感染免疫的特点

疟原虫孢子增殖在按蚊体内完成, 胃和唾液腺是疟原虫发育的内环境和相关因子。与此同时, 蚊胃细胞分泌多种消化酶和激活多种免疫反应攻击疟原虫, 阻断疟原虫在其体内发育。有效的抗疟原虫免疫反应在吸血感染后大约 24 h 出现, 此时, 动合子开始穿过蚊胃上皮细胞。目前分离出的 6 种免疫标记分子 (gene marker, GM), 包括防御素 (defensin)、革兰氏阴性菌结合蛋白 (Gram-negative bacteria-binding protein, GGBP)、丝氨酸蛋白酶样分子 ISPL5 和 ISP13、半乳糖特异的凝集素样分子 (putative galactose lectin, IGALE20)^[1]、一氧化氮合酶 (nitric oxide synthase, NOS)^[2] 和 ICHIT, 在蚊胃壁细胞的转录明显增强。在疟原虫随后的发育中, GM 转录逐渐下降; 吸血感染后 10 d, 子孢子进入唾液腺时, 这 6 种 GM 转录又开始增强。感染疟原虫后, GM 在蚊胃和唾液腺局部的转录增强, 在胃外组织中的转录也增强。如, 吸血感染后 24 h, 防御素和 GGBP 在胃和胃外组织转录均增强, 同时胃外其它组织 ISPL5 的转录也增强。而半乳糖凝集素样分子 IGALE20 以蚊胃壁细胞内转录增强为主。因此认为, 疟原虫能刺激按蚊产生局部免疫 (local immune), 还能刺激按蚊产生系统免疫 (systemic im-

mune)。其中可能存在一种免疫相关的信号途径, 但尚不清楚是疟原虫的代谢产物还是按蚊组织间的信号传递引起的^[3-4]。

与其它昆虫一样, 按蚊缺乏抗体介导的特异性免疫, 但可能具有识别不同病原体的能力。Oduol 采用基因表达筛选技术 (gene expression screen) 得到的 23 种冈比亚按蚊免疫相关基因中, β -2-巨球蛋白 (β -2-macroglobulin) 感染疟原虫后转录显著增强, 而感染细菌后转录很低, 甚至不转录。但疟原虫和细菌对其它免疫相关因子的诱导出现与 β -2-巨球蛋白相反的反应^[5]。

按蚊具有完整的体液免疫和细胞免疫, 抑制疟原虫的发育。主要有黑化包被反应^[6]、抗菌肽的产生^[7]以及 NO (nitric oxide)^[2] 的产生和蚊胃细胞的裂解作用^[8] 等其它先天性免疫 (innate immune) 机制。

2 按蚊诱导产生抗菌肽抗疟原虫感染

目前发现的疟原虫诱导按蚊产生的抗菌肽主要是防御素^[9]。吸血感染后 14 h 未检测到防御素的转录, 而在 24 h 显著转录, 40~48 h 转录下降。这可能与此时只有少量的动合子穿过蚊胃壁有关。吸血感染后 10 d 子孢子进入唾液腺, 原位杂交发现唾液腺的中叶和侧叶近端有明显的防御素转录。有资料表明, 疟原虫可诱导蚊胃细胞产生抗菌肽, 蚊胃外组织 (如脂肪体细胞、血细胞和唾液腺) 也可产生抗菌肽^[3-4]。但 Lowenberger 发现, 感染疟原虫并不能有效地诱导按蚊产生抗菌肽。感染鸡疟原虫 (*Plasmodium gallinaceum*) 后 4~10 d, 用 Northern blot 法在埃及伊蚊 (*Aedes aegypti*) 体内未能检出防御素。用 RT-PCR 法从感染疟原虫的埃及伊蚊胃中扩增获得防御素, 但与不吸血对照组无明显差异。吸血感染之前用细菌诱导, 能明显降低冈比亚按蚊和埃及伊蚊胃的感染率和感染度, 同时在埃及伊蚊血淋巴内可检测到大量的成熟防御素^[7]。体外实验表明, 防御素对鸡疟原虫子孢子有明显的杀伤作用^[10]。细菌诱导产生的抗菌肽可能主要作用于卵囊

基金项目: 军队“九五”科研基金项目 (No. 98D045)

作者单位: 第三军医大学病原生物学教研室, 重庆 400038

前期和子孢子期,抑制体内疟原虫的发育。由于疟原虫易感的按蚊体内同样有防御素的转录,而且还存在活性防御素多肽^[11],因此认为,疟原虫诱导按蚊产生抗菌肽只能在一定程度上影响疟原虫的感染率,而不是按蚊阻断疟原虫发育的主要免疫机制。目前,模型昆虫-果蝇抗菌肽诱导产生的调节机制研究已较深入^[12-13]。研究发现,疟原虫和细菌在诱导按蚊产生防御素的同时,还增强GNBP、ISPL5和I-GALE20的转录。分析结果表明,GNBP与*B. circulans*的 β -1,3-葡聚糖有34.6%的同源性,可能是LPS的识别结合蛋白,IGALE20与哺乳动物的半乳糖特异的凝集素有很高的同源性。两者可能与识别细菌或疟原虫有关,而ISPL5可能是一种调节级联反应的丝氨酸蛋白酶^[1]。推测,疟原虫和细菌诱导产生抗菌肽可能与一种丝氨酸蛋白酶介导的级联反应有关。大剂量外源性的抗菌肽杀死蚊期疟原虫的具体机制尚不清楚,但是抗菌肽能影响按蚊体内疟原虫的发育是肯定的。因此研究抗菌肽产生的调节机制,有效地诱导按蚊产生抗菌肽,从而阻断按蚊体内疟原虫的发育,可能是蚊媒防治的一种新方法。

3 按蚊黑化包被疟原虫反应

按蚊黑化包被疟原虫的现象最早在1898年由Ross首次发现,而后Garnham发现,在寒冷季节,野生株按蚊经常黑化包被疟原虫;这一现象同样出现在不适宜感染疟原虫的按蚊。黑化包被反应可能是抗性株冈比亚按蚊的最主要表型。20世纪80年代,Collins采用遗传学方法,成功筛选出对食蟹猴疟原虫(*Plasmodium cynomolgi*)和多种人疟原虫不易感的抗性株冈比亚按蚊,其中包括恶性疟原虫(*Plasmodium falciparum*)、间日疟原虫(*Plasmodium vivax*)和卵形疟原虫(*Plasmodium ovale*)3种。抗性株冈比亚按蚊能黑化包被绝大多数疟原虫的晚期动合子,抑制卵囊的形成,阻断疟原虫在蚊体内的发育。黑化包被的动合子的形态结构并无异常,这一过程是通过识别活的动合子激活,不是动合子的死亡引起^[14]。

研究发现,按蚊对疟原虫的黑化包被反应类似于对注入其胸腔内CM-sephadex磁珠(carboxymethyl-sephadex beads)的黑化包被反应。抗性株冈比亚按蚊能黑化注入其胸腔内的CM-sephadex磁珠,而易感株的CM-sephadex磁珠几乎不被黑化,或者只是微弱黑化^[15-16]。冈比亚按蚊黑化包被疟原虫和黑化包被CM-sephadex磁珠可能有共同

的遗传学机制。将对疟原虫和CM-sephadex磁珠均产生抗性的冈比亚按蚊与易感的冈比亚按蚊交配,产生的子代F1黑化包被疟原虫和黑化包被CM-sephadex磁珠,两者间存在明显的相关性,其相关系数达0.74($P < 0.01$)。提示疟原虫和CM-sephadex磁珠的黑化与冈比亚按蚊的至少一个主要基因有关^[17]。目前多利用抗性株和易感株冈比亚按蚊对CM-sephadex磁珠的不同黑化反应来探讨按蚊黑化包被疟原虫的机制。

3.1 前酚氧化酶级联反应在按蚊黑化包被疟原虫反应中的研究

3.1.1 由前酚氧化酶级联反应介导的按蚊黑化包被疟原虫反应

抗性株冈比亚按蚊黑化包被疟原虫在吸血感染后16~24h出现,此时动合子已成熟并穿过蚊胃上皮细胞停留在上皮细胞和基底膜之间,周围开始被高电子密度的黑色素复合物交联形成的包所包裹。随着黑化反应的继续,部分动合子结构出现异常,并黑色素渗透。整个过程很少有血细胞参与^[14]。类似的黑化现象同样存在于其它双翅目(Diptera)和半翅目昆虫(Hemiptera)^[18],这与鳞翅目昆虫细胞包囊晚期出现的黑化明显不同,按蚊黑化包被反应是一种体液性黑化反应(humoral melanization)。与其它昆虫一样,按蚊的黑化反应也是由前酚氧化酶级联反应(prophenoloxidase cascade)介导引起的。前酚氧化酶级联反应是昆虫的一种重要的识别、防御机制,是由丝氨酸蛋白酶所介导的级联反应。主要由识别/结合蛋白(recognition/binding protein)、前酚氧化酶(prophenoloxidase, PPO)和丝氨酸蛋白酶(serine proteinase)组成。机械损伤、化学因子及微量的病原体细胞壁成分,如 β -1,3-葡聚糖(β -1,3-glucan)、肽聚糖(PG)和脂多糖(LPS),均能激活昆虫前酚氧化酶级联反应。首先激活PPAE(prophe-noloxidase-activating enzyme, PPAE),接着PPAE(有时需要一种PPO激活因子PPAF的参与)通过限制性蛋白水解作用,使PPO裂解释放一个小分子肽后转变成有活性的酚氧化酶(phenoloxidase, PO),然后,PO羟化单酚氧化酶并氧化双酚氧化酶,产生大量的醌类中间产物,最后通过这些中间产物聚合形成黑色素。这些黑色素协同具有细胞毒性的醌类中间产物沉积到入侵的病原体周围,起到隔离杀死病原体的作用,即黑化包被反应。

3.1.2 参与按蚊黑化包被疟原虫反应的PO来源

黑化包被反应也是蚊阻断丝虫发育的重要防御

机制。其黑化包被反应是在丝虫穿过蚊胃上皮细胞并进入蚊血腔时才出现。血细胞和血淋巴均参与黑化反应,这与按蚊黑化包被幼虫不同,幼虫未与蚊血淋巴直接接触。是蚊胃细胞还是血细胞的有关成分参与了按蚊对幼虫的黑化包被反应,尚在争论。Paskewitz 发现,按蚊黑化包被幼虫期间,蚊胃基底膜迷路的细胞外流体中有黑色素样颗粒聚集,幼虫附近或周围的蚊胃上皮细胞内出现高电子密度颗粒的薄片状微管和小泡,而未感染的蚊胃细胞内未出现类似现象;抗性株冈比亚按蚊包被的幼虫附近胃基底膜处 PO 活性明显增强,易感株的 PO 活性却下降,甚至缺失。据此认为,蚊胃细胞可能与黑化包被疟原虫有关^[19]。血淋巴一侧的基底膜处也有黑色素颗粒聚集^[14],抗性株和易感株冈比亚按蚊前酚氧化酶活性及其在蚊后肠和唾液腺中的分布并无差异^[20],斯氏按蚊 (*Anopheles stephensi*) 血淋巴中 PO 均具有单酚氧化酶和双酚氧化酶活性,蚊胃细胞的 PO 只有双酚氧化酶活性^[21]。而且抗性株和易感株冈比亚按蚊对疟原虫和注入其血腔内 CM-sephadex 磁珠的黑化反应非常相似^[15],因此认为,按蚊血淋巴可能在黑化包被反应中起主要作用。

3.1.3 按蚊黑化包被疟原虫反应的可能调节机制

抗性株和易感株冈比亚按蚊黑化包被疟原虫反应的差异可能与它们表达黑化包被相关基因不同有关。Chun 采用双维凝胶电泳 (Two-dimensional gel) 对两株冈比亚按蚊血淋巴蛋白表达差异进行分析,发现易感株冈比亚按蚊 8 种特异性蛋白和抗性株 12 种特异性蛋白。虽然注射生理盐水、磁珠或损伤等因素均能诱导或增强两株冈比亚按蚊 9 种血淋巴蛋白的表达,但是株与株之间并没有差异,提示磁珠黑化包被相关蛋白在血淋巴中持续表达,而抗性株黑化包被磁珠与其株特异性血淋巴蛋白的表达有关。抗性株 12 种特异性血淋巴蛋白中,测序证实有 1 种是 Sp14D1 基因的表达产物 AgSp14D1^[22],为丝氨酸蛋白酶^[23]。同源性分析发现,Sp14D1 与 *Bombyx mori*^[24]、*Manduca sexta*^[25]、*Holotrichia diomphalia*^[26] 及 PPAAE 具有较高的同源性,提示 Sp14D1 可能是冈比亚按蚊 PPAAE。Sp14D1 又定位在染色体 14D,与黑化表型相关基因 Pen3 关联^[27]。而且发现疟原虫或细菌感染能明显增强 Sp14D1 基因的转录。疟原虫黑化包被可能与抗性株冈比亚按蚊 PPAAE 的特异表达有关。

另外,将易感株冈比亚按蚊血淋巴或在其内孵育了的磁珠转移到抗性株血淋巴中,能明显抑制抗

性株冈比亚按蚊对磁珠的黑化包被反应。反之,不明显,并且它可能共价结合在易感株冈比亚按蚊血淋巴中的磁珠表面。表明易感株冈比亚按蚊血淋巴中存在一种黑化抑制因子 (melanization preventing factor, MPF)。由于 H 因子也是通过与补体 C3b 和磁珠表面的化学基团形成复合物,从而抑制哺乳动物的补体旁路激活途径的,因此 Paskewitz^[28] 认为,MPF 很可能是一种丝氨酸蛋白酶抑制剂 (serine proteinase inhibitor),两株冈比亚按蚊黑化磁珠反应的不同可能与 MPF 的表达差异有关^[28]。遗憾的是,到目前为止,MPF 还未能纯化、克隆。黑化包被反应同样存在于疟原虫感染不适宜的按蚊。我们发现,大劣按蚊能黑化包被大多数的约氏疟原虫卵囊,并抑制其发育,而人疟原虫卵囊极少黑化。之所以能逃避大劣按蚊的识别或者能抑制其 PPAAE,其黑化包被机制,究竟是与抗性株冈比亚按蚊黑化包被疟原虫机制类似,还是与抗性株冈比亚按蚊对带不同电荷的磁珠黑化反应不同^[28],需进一步研究。与其他昆虫一样,PPO 级联反应也是按蚊的一种重要的识别、防御机制。它很可能直接参与和调节按蚊黑化包被疟原虫反应。但是,按蚊 PPO 级联反应的研究目前仅局限于 PPO^[29-30]、丝氨酸蛋白酶的同源 cDNA 克隆^[23-31]。由于蚊个体小,材料来源困难,相关成分的纯化尚未获得成功。目前,缺乏对 PPO 系统主要成分的功能性研究,及其生化激活途径的认识。

3.2 按蚊黑化包被疟原虫相关基因的定位和克隆

微卫星基因 (microsatellite loci) 在真核生物的基因组中含量非常丰富,突变及其引起的等位基因的多态性也很高,通过 PCR 技术能敏感地检测出等显性基因。对基因组 DNA 相对较少的按蚊来说,利用微卫星位点作为标记进行遗传学分析更体现其优越性。目前多采用微卫星基因进行按蚊黑化包被疟原虫相关基因的定位和克隆。通过对抗性株和易感株的冈比亚按蚊交配产生的子代 F1 雌蚊与易感株雄蚊回交,获得 7 种不同的回交家族。用食蟹猴疟原虫 B 株感染子代冈比亚按蚊,大约在吸血感染后 7 d,通过计算发育为正常卵囊的疟原虫数,分别判断其为感染表型还是包被表型,然后采用 PCR 技术扩增常染色体微卫星基因,进行基因型分析,最后用 Mapmaker/QTL^[32] 软件分析包被相关的微卫星标记。结果发现,1 个主要和 2 个次要的特性定量位点与冈比亚按蚊黑化包被疟原虫有关,分别称为疟原虫包被基因 Pen1、Pen2 和 Pen3。其中 Pen1

离第 2 条染色体右臂 (2R) 上的微卫星基因 H175 1.5 cM (分摩), 与 60% 的黑化包被表型有关; Pen2 位于第 3 条染色体左臂 (3L) 上的微卫星基因 H758 8.0 cM 处, 与 19% 的黑化包被表型有关, 而 Pen3 位于第 2 条染色体右臂的微卫星基因 H135 4.0 cM 处^[27]。对冈比亚按蚊黑化 CM-sephadex 磁珠的表型进行遗传学分析发现, 只有 1 个特性定量位点与表型明显相关, 位于第 2 条染色体右臂微卫星基因 H157 和 H46 的 1 个长 13.7 cM 的间隙内, 能解释 44% 的黑化表型^[33]。因为 Pen1 也是位于这个间隙内, 所以 Pen1 可能是决定黑化包被疟原虫和黑化 CM-sephadex 磁珠的主要基因。Cornel 认为, 采用 PCR 方法用最靠近 Pen1 的微卫星基因筛选人工细菌染色体 (bacterial artificial chromosome, BAC) 冈比亚按蚊基因组文库, 能获得足够多邻近的、重叠的特异 DNA 克隆, 重组这些重叠单位, 可能获得新的更精确的微卫星基因。总之, 目前克隆的包含 Pen1 的染色体间隙还相当大, 需要发展新技术对其进行精确定位和功能分析。

4 其它抗疟原虫感染的可能免疫机制和免疫因子

研究发现, 疟原虫感染早期 (1~3 d) 和晚期 (10~21 d), 不但斯氏按蚊胃和唾液腺局部以及其它组织的 NOS 转录明显增强, 而且 NOS 酶活性、血淋巴中 NOS 产物 NO₂ 和 NO₃ (nitrite/nitrate) 也明显增高。在饲料中加 NOS 作用底物 L-精氨酸, 能明显地降低斯氏按蚊的疟原虫感染率; 反之, 加 NOS 抑制剂则能显著增加其感染率^[2]。因此认为, 按蚊诱导产生的 NO 能在一定程度上抑制体内疟原虫的发育。另外, 蚊胃上皮细胞还可裂解入侵的部分动合子, 但其具体机制尚不清楚^[5]。目前, 已分离获得 23 种疟原虫感染相关的免疫因子^[5], 随着这些免疫因子功能的深入研究, 可能发现新的抗疟原虫感染免疫反应。

5 结语

感染疟原虫诱导按蚊产生的 NO 和抗菌肽 (对此亦有争议) 只能在一定程度上调节按蚊体内的疟原虫感染率, 而黑化包被反应能完全抑制疟原虫的感染, 是决定按蚊抗性的主要表型。前酚氧化酶级联反应可能调节按蚊对疟原虫的黑化反应, 但其机制尚属推测。另外, 按蚊黑化包被疟原虫的表型可能是由多个基因决定, 如何系统地分离和克隆黑化包被相关基因, 并采用 DNA 微阵列技术从分子水平

监测按蚊黑化包被疟原虫反应, 也可能是一种新的研究思路。然而, 疟原虫-适宜蚊媒互相依存, 应辩证地看待按蚊的先天性免疫机制, 每一种按蚊免疫反应应视为疟原虫和蚊媒相互作用的结果。因此, 研究按蚊抗感染免疫机制的同时, 还应探讨疟原虫逃避或抑制按蚊免疫的机制。

参 考 文 献

- [1] Dimopoulos G, Richman A, Müller HM, et al. Molecular immune responses of the mosquito *Anopheles gambiae* to bacteria and malaria parasites. Proc Natl Acad Sci USA, 1997;94:11508-11513.
- [2] Luckhart S, Vodovotz Y, Cui L, et al. The mosquito *Anopheles stephensi* limits malaria parasite development with inducible synthesis of nitric oxide. Proc Natl Acad Sci USA, 1998;95:5700-5705.
- [3] Richman AM, Dimopoulos G, Seeley D, et al. *Plasmodium* activates the innate immune response of *Anopheles gambiae* mosquitoes. EMBO J, 1997;16:6114-6119.
- [4] Dimopoulos G, Seeley D, Wolf A, et al. Malaria infection of the mosquito *Anopheles gambiae* activates immune-responsive genes during critical transition stages of the parasite life cycle. EMBO J, 1998;17:6115-6123.
- [5] Oduol F, Xu J, Niaré O, et al. Genes identified by an expression screen of the vector mosquito *Anopheles gambiae* display differential molecular immune response to malaria parasites and bacteria. Proc Natl Acad Sci USA, 2000;97:11397-11402.
- [6] Collins FH, Sakai RK, Vernick KD, et al. Genetic selection of a *Plasmodium*-refractory strain of the malaria vector *Anopheles gambiae*. Science, 1986;234(4776):607-610.
- [7] Lowenberger CA, Kamal S, Chiles J, et al. Mosquitoes-*Plasmodium* interactions in response to immune activation of the vector. Exp Parasitol, 1999;91:59-69.
- [8] Vernick KD, Fujioka H, Seeley DC, et al. *Plasmodium gallinaceum*: a refractory mechanism of ookinete killing in the mosquitoes *Anopheles gambiae*. Exp Parasitol, 1995;80:583-595.
- [9] Lowenberger C, Bulet P, Charlet M, et al. Insect immunity: isolation of three novel inducible antibacterial defensins from the vector mosquito, *Aedes aegypti*. Insect Biochem Mol Biol, 1995;25:867-873.
- [10] Shahabuddin M, Fields I, Bulet P, et al. *Plasmodium gallinaceum*: differential killing of some mosquito stages of the parasite by insect defensin. Exp Parasitol, 1998;89:103-112.
- [11] Richman AM, Bulet P, Hetru C, et al. Inducible immune factors of the vector mosquito *Anopheles gambiae*: biochemical purification of a defensin antibacterial peptide and molecular cloning of preprodefensin cDNA. Insect Mol Biol, 1996;5:203-210.
- [12] Lemaitre B, Nicolas E, Michaut L, et al. The dorsoventral regulatory gene cassette spatzle/Toll/cactus controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults. Cell, 1996;86:973-983.
- [13] Lemaitre B, Kromer-Metzger E, Michaut L, et al. A recessive mutation, immune deficiency (imd), defines two distinct control pathways in the *Drosophila* host defense. Proc Natl Acad Sci USA, 1995;92:9465-9469.
- [14] Paskewitz SM, Brown MR, Lea AO, et al. Ultrastructure of the encapsulation of *Plasmodium cynomolgi* (B strain) on the midgut of a refractory strain of *Anopheles gambiae*. J Parasitol, 1988;74:432-439.
- [15] Paskewitz SM, Riehle MA. Response of *Plasmodium* refractory and susceptible strains *Anopheles gambiae* to inoculation sephadex beads. Dev Comp Immunol, 1994;18:369-375.
- [16] Chun J, Riehle M, Paskewitz SM. Effect of mosquitoes age and reproductive status on melanization of Sephadex Beads in *Plasmodium*-refractory and susceptible strains of *Anopheles gambiae*. J Invert

Pathol. 1995, 66: 11-17.

[17] Gorman MJ, Cornel AJ, Collins FH, et al. A shared genetic mechanism for melaninotic encapsulation of CM-Sephadex Beads and a malaria parasite, *Plasmodium cynomolgi* B, in the mosquito, *Anopheles gambiae*. *Exp Parasitol*, 1996, 84(3): 380-386.

[18] Vey A. Humoral encapsulation. *Insect Immunity*. Kluwer Academic Publishers, Boston 1993: 59-67.

[19] Paskewitz SM, Brown MR, Collins FH, et al. Ultrastructural location of phenoloxidase in the midgut of refractory *Anopheles gambiae* association of the enzyme with encapsulated *Plasmodium cynomolgi*. *J Parasitol* 1989, 75: 594-600.

[20] Brey PT, Ahmed WJ, Lee WJ, et al. Tyrosinase type propheno-oxidase distribution in alimentary canal of strains of *Anopheles gambiae* refractory and susceptible to *Plasmodium* infection. *Exp Parasitol*, 1995, 80: 654-664.

[21] Sidjanski S, Mathews GV, Vanderberg JP, et al. Electrophoretic separation and identification of phenoloxidase in hemolymph and midgut of adult *Anopheles stephensi* mosquitoes. *J Parasitol*, 1997, 83: 686-691.

[22] Chun J, McMaster J, Han Y, et al. Two-dimensional gel analysis of haemolymph proteins from *Plasmodium*-melanizing and -non-melanizing strains of *Anopheles gambiae*. *Insect Mol Biol*, 2000, 9: 39-45.

[23] Paskewitz SM, Reese-Stardy S, Gorman MJ. An easter-like serine protease from *Anopheles gambiae* exhibits changes in transcript abundance following immune challenge. *Insect Mol Biol*, 1999, 8: 329-337.

[24] Satoh D, Horii A, Ochiai M, et al. Prophenoloxidase-activating enzyme of the silkworm, *Bombyx mori*. *J Biol Chem*, 1999, 274: 7441-7453.

[25] Jiang H, Wang Y, Kanost MR. Pro-phenol oxidase activating

proteinase from an insect, *Manduca sexta*: A bacteria-inducible protein similar to *Drosophila* easter. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 12220-12225.

[26] Lee SY, Cho MY, Hyun JH, et al. Molecular cloning of cDNA for pro-phenol-oxidase-activating factor 1, lipopolysaccharide or 1, 3-beta-glucan in coleopteran insect, *Holotrichia diomphalia* larvae induces a serine protease. *Eur J Biochem*, 1998, 1(25): 615-621.

[27] Zheng L, Cornel AJ, Wang R, et al. Quantitative trait loci for refractoriness of *Anopheles gambiae* to *Plasmodium cynomolgi*. *Science*, 1997, 276(5311): 425-428.

[28] Paskewitz SM, Riehle M. A factor preventing melanization of sephadex CM C-25 Beads in *Plasmodium*-susceptible and refractory *Anopheles gambiae*. *Exp Parasitol*, 1998, 90: 34-41.

[29] Jiang HB, Wang Y, Korochkina SE, et al. Molecular cloning of cDNAs for two pro-phenol oxidase subunits from the malaria vector, *Anopheles gambiae*. *Insect Mol Biol*, 1997, 27: 693-699.

[30] Muller HM, Dimopoulos G, Blass C, et al. A hemocyte-like cell line established from the malaria vector *Anopheles gambiae* expresses six prophenoloxidase genes. *J Biol Chem*, 1999, 274: 11727-11735.

[31] Gorman MJ, Andreeva OV, Paskewitz SM, et al. Molecular characterization of five serine proteinase genes cloned from *Anopheles gambiae* hemolymph. *Insect Mol Biol*, 2000, 30: 35-46.

[32] Lander ES, Green P, Abrahamson J, et al. Mapmaker: an interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations. *Genomics*, 1987, 1: 174-181.

[33] Gorman MJ, Severson DW, Cornel AJ, et al. Mapping a quantitative trait loci involve in melanotic encapsulation of foreign body in the mosquito vector, *Anopheles gambiae*. *Genetics*, 1997, 146: 965-971.

(收稿日期: 2000-12-30 编辑: 富秀兰)

文章编号: 1000-7423(2001)-04-0254-01

【简报】

胃镜诊断血吸虫病三例报告

胡复兴

中图分类号: R532.21

文献标识码: D

我院近 10 年来作胃镜检查 50 000 余病例。其中, 经活检共查出胃血吸虫病 3 例, 报告如下。

1 临床资料

1.1 一般资料

3 例胃血吸虫病患者, 男性 2 例, 女性 1 例, 年龄 40~58 岁。均长期生活在血吸虫病疫区, 有疫水密切接触史。经活检确诊为胃血吸虫病。

1.2 症状体征

3 例胃血吸虫病患者症状极似胃炎或消化性溃疡, 均有上腹部不规则隐痛或饱胀痛, 伴有嗝气、反酸 1 例, 伴呕吐 1 例, 其中 2 例出现贫血消瘦。肝剑突下 3~5 cm, 脾脏肿大 1 例。未经消化胃镜确认前均误诊为慢性浅表性胃炎、溃疡病, 对解痉止痛、止酸、消炎疗效不佳。

1.3 实验室检查

血常规嗜酸性粒细胞升高 1 例, 贫血 2 例。肝功能 SGPT 轻度增高 1 例, 血清白蛋白减少 1 例。大便常规隐血试验阳性 1 例, 白细胞增多 2 例。均行 X 线钡餐造影, 诊断为胃炎、胃窦炎及胃窦部溃疡, 多次从粪便中查找虫卵均为阴性。血吸虫环卵沉淀反应阳性 2 例。

2 胃镜及病理特点

3 例胃镜观察结果及病理特征与姚有涛报道相似^[1]。病变均在幽门前区, 说明与胃血管分布密切相关。胃镜窥视: 幽门及幽门前区粘膜充血水肿, 有散在性白色粘液斑附着, 1 例为慢性浅表性胃炎改变, 1 例胃窦粘膜苍白、透见红色血管网呈慢性萎缩性胃炎改变。钳取胃粘膜活检, 病理诊断: 前者为中度浅表性胃炎伴轻度肠上皮化生。后者为浅表性胃炎局限区萎缩伴 II° 不典型增生, 2 例均有陈旧性血吸虫卵沉积。另 1 例病变处粘膜粗糙伴结节样增生和浅溃疡与糜烂形成, 皱壁中断, 质地偏硬, 病理证实为腺癌, 虫卵与癌组织并存。

笔者认为, 对有血吸虫病史或生活于血吸虫病疫区, 有胃部不适的患者, 应做胃镜检查: 观察有无增生结节、颗粒状粗糙、糜烂溃疡或息肉, 并在这些部位取组织进行活检, 以便早期诊断、早期治疗。胃镜检查结合活检, 诊断血吸虫病准确率高, 有实用价值。

参 考 文 献

[1] 姚有涛. 胃血吸虫病合并胃癌 12 例报告. *肿瘤*, 1987, 7(3): 132.

(收稿日期: 2001-05-29 编辑: 盛慧锋)

作者单位: 浙江义乌市人民医院, 义乌 322000