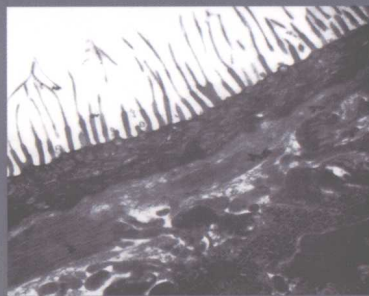


猪带绦虫囊尾蚴的 发育生物学

Developmental Biology
of *Cysticerci cellulosa*

李庆章 等 著



科学出版社

www.sciencepress.com

猪带绦虫囊尾蚴的发育生物学

Developmental Biology of *Cysticerci cellulosae*

李庆章等 著

科学出版社

北京

内 容 简 介

针对目前猪带绦虫囊尾蚴病防治过程中存在的基础理论研究薄弱、早期治疗效果不佳等实际问题,本书着重介绍了猪带绦虫六钩蚴的发育生物学、猪带绦虫囊尾蚴的发育生物学、猪带绦虫囊尾蚴的药效生物学等最新研究成果,从寄生虫生物化学方面深入揭示了猪带绦虫囊尾蚴发育过程中的物质代谢和能量代谢规律、苯并咪唑氨基甲酸酯类药物的作用靶点和作用机理,为筛选有效抗囊药物以及为药物治疗、新药开发及临床应用提供了重要的理论和实验依据。

本书的读者对象为人兽共患疾病特别是人兽共患寄生虫病的基础研究人员和临床工作人员、卫生防疫和兽医卫生防疫的工作人员、医科大学基础医学和农业大学基础兽医学教学和教学辅助人员,本书也可作为相关学科有关研究领域广大研究生和本科生的参考用书。

图书在版编目(CIP)数据

猪带绦虫囊尾蚴的发育生物学/李庆章等著. —北京:科学出版社, 2008

ISBN 978-7-03-020068-6

I. 猪… II. 李 III. ①猪带绦虫-发育生物学②囊尾蚴-发育生物学 IV. Q959.156

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2007)第 169957 号

责任编辑:李秀伟 王 静 甄文全/责任校对:陈玉凤

责任印制:钱玉芬/封面设计:福瑞来书装

科学出版社出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

双青印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2008 年 1 月第 一 版 开本:A5 (890×1240)

2008 年 1 月第一次印刷 印张:9 7/8 插页:32

印数:1—1 500 字数:359 000

定价:58.00 元(含光盘)

(如有印装质量问题,我社负责调换〈双青〉)

著 者 名 单

李庆章 东北农业大学 博士 教授

郝艳红 美国密苏里大学 (哥伦比亚校区)
博士 教授

高学军 东北农业大学 博士 教授

刘永杰 南京农业大学 博士 副教授

高文学 上海交通大学 博士 副研究员

序

看到 30 余万字的《猪带绦虫囊尾蚴的发育生物学》的完成，作为一名寄生虫学的老工作者，心中有无尽的感慨和喜悦。记得此书研究内容作为黑龙江省“九五”科学技术计划重大项目立项之时，我就参与了项目的论证、参与项目的 3 位博士的毕业论文答辩会以及研究成果的专家鉴定会。除此之外，我还与吉林农业大学的兽医寄生虫学家刘德惠教授为该项目积极寻觅猪带绦虫虫卵，我们都为此项研究倾注了极大的心血。日月荏苒，转瞬已过 8 年，实际研究内容较原计划研究内容有了很多补充和完善，尤其是国家自然科学基金的支持，使猪带绦虫囊尾蚴能量代谢规律和苯并咪唑氨基甲酸酯类抗囊药物作用机理的研究更加深入。在《猪带绦虫囊尾蚴的发育生物学》付梓之际，我想特别提出此项研究的以下特点：

（一）研究工作劳顿。凡参与过猪带绦虫囊尾蚴病研究的人都知道，此项工作十分艰苦，为保证研究效果，所有事情都要亲历亲为。从寻找虫源到人工感染、从动物饲养到动物宰杀，从校外取样到校内检测，而与之相伴的只有疲劳与汗水。

（二）研究工作细致。天然宿主猪人工感染猪带绦虫虫卵后，猪的剖检是一项极其浩繁而又细致的工作，一头猪剖检完后，所有内脏和肌肉都变成了 2~3mm³ 的肉屑，由此可见一斑。

（三）研究工作深入。研究发现人工感染后 30 日的猪即可见到猪带绦虫囊尾蚴，为彻底搞清猪带绦虫囊尾蚴的确切肉眼可见时间，将原有计划的宰杀时点提前，直至确定猪带绦虫囊尾蚴最早可见时间为人工感染后 19 日。

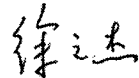
（四）研究工作创新。值得提出的重要的原始创新成果有：①系统研究了猪带绦虫囊尾蚴发育生物学，丰富了寄生虫学知识宝库；②实现了天然中间宿主猪口服猪带绦虫虫卵后 100% 感染，建立了猪的实验动物模型；③成功确定了猪带绦虫囊尾蚴最早可视出现时间为人工感染后的第 19 日，使之与猪带绦虫六钩蚴体外培养至 16 日的结果紧密衔接，

为深入研究猪带绦虫囊尾蚴发育生物学提供了重要数据；④明确划分了猪带绦虫囊尾蚴未成熟期和成熟期的发育时限，明确了猪带绦虫虫卵人工感染后 60 日为猪带绦虫囊尾蚴未成熟期和成熟期两个发育时期的分界点；⑤揭示了苯并咪唑氨基甲酸酯类抗囊药物作用靶点及其效应机制，奠定了此类抗囊新药研制与开发的理论基础；⑥筛选出了对未成熟期和成熟期猪带绦虫囊尾蚴均有杀灭作用，特别是对未成熟期猪带绦虫囊尾蚴杀灭效果显著的抗囊药奥芬达唑（oxfendazole, OFZ），其毒性较低、使用简便、适宜剂量一次口服即可收到较为理想效果。

以上是具有自有知识产权的原创性研究成果，相信后续研究一定会大大减少猪体猪带绦虫囊尾蚴病对养猪业的严重危害和导致的损失，更希望这些研究成果能为人体囊尾蚴病尤其是脑猪囊尾蚴病患者带来新的福音。

是为之序。

哈尔滨医科大学寄生虫学教研室教授
卫生部寄生虫病专家咨询委员会委员



2007 年 3 月 25 日

前 言

猪带绦虫囊尾蚴病 (cysticercosis cellulose), 简称猪囊尾蚴病, 又称猪囊虫病, 是一种危害十分严重的人兽共患寄生虫病。它不仅严重影响养猪业和肉品加工业的发展, 造成经济损失, 还给人健康和安全带来重大威胁, 后果十分严重。

猪囊尾蚴病在世界各地均有分布, 以发展中国家较为多见, 尤其在中非、南非、南亚、南美等地更为严重。在我国, 东北、华北、西北、西南等地发生率较高。据统计, 我国现有囊尾蚴病猪 1 000 万头, 每年因此造成的直接经济损失高达 20 亿元。猪囊尾蚴病不仅造成国民经济的巨大损失, 而且给人民健康带来严重危害。目前, 全国约有 600 万人患有猪囊尾蚴病, 其祸源就是猪带绦虫囊尾蚴 (*Cysticerci cellulosa*, 简称猪囊尾蚴)。

猪囊尾蚴病的防治工作虽然已进行了 20 多年, 但仍处于“百业待举”阶段, 猪囊尾蚴病发病率继续呈现上升趋势。迄今尚未找到对处于发育各个时期的猪囊尾蚴均为有效、安全、疗程短的防治药物, 也没有找到能够预防猪囊尾蚴病的有效疫苗。事实证明, 由于猪囊尾蚴的生长发育特点, 药物治疗仍然是一个无法回避且十分重要的选择。猪囊尾蚴病的化学治疗有了很大进展, 有关药物不断更新, 如吡喹酮、阿苯达唑及一些中药制剂等已表明具有较好疗效, 但也存在着明显缺憾。这些药物对侵入机体的早期幼虫治疗无效, 且副作用较大, 因此亟待选择或研发新型对猪囊尾蚴发育各个时期均有效的药物、改进药物的应用方法是摆在科研人员面前的一项重要课题。目前治疗猪囊尾蚴病的药物如阿苯达唑, 仅对成熟期囊尾蚴有效, 而对未成熟期猪囊尾蚴无效, 导致需要反复多次治疗、疗程长而复杂、治愈率不高。阿苯达唑对未成熟期猪囊尾蚴无抑制和杀灭作用, 说明未成熟期猪囊尾蚴的代谢与成熟期猪囊尾蚴的代谢存在显著差异, 有其独特的代谢过程。如果应用基础研究跟不上, 那么必然直接影响猪囊尾蚴病防治技术的提高。阿苯达唑等苯并咪唑氨基甲酸酯类药物是首选的抗囊药物, 但由于对与抗囊药物作用机理

密切相关的猪囊尾蚴生化代谢研究很少，致使一直未能明确抗囊药物发挥药效的分子机理，制约了此类药物的应用和相关新药的开发。为解决猪囊尾蚴病治疗上的巨大缺憾，必须搞清未成熟期猪囊尾蚴的代谢特点，以此作为药物治疗的依据，研究对未成熟期猪囊尾蚴有效的药物，进一步寻找对囊尾蚴各时期均为有效、安全、疗程短的防治药物。

鉴于目前有关猪囊尾蚴的应用基础研究严重不足，特别是机理等方面的研究报道甚少，本课题组以猪囊尾蚴为研究对象，采用 DNA 片段化原位末端标记技术，结合光学显微镜、电子显微镜技术定性定量检测猪囊尾蚴正常发育过程中以及使用药物后宿主淋巴细胞、宿主正常组织细胞以及猪囊尾蚴细胞凋亡与坏死，检测体内不同发育时期、不同处理情况下的猪囊尾蚴生化代谢指标，系统地测定体内发育过程中和体内、体外培养条件下及抗囊药物作用下猪囊尾蚴代谢的有关物质含量和酶活性的变化，揭示猪囊尾蚴的发育生物学规律、物质代谢和能量代谢规律，以及猪囊尾蚴病不同药物治疗的效应机理及苯并咪唑氨基甲酸酯类药物的作用机理，为筛选有效抗囊药物以及为药物治疗、新药开发及临床应用提供重要的理论和实验依据。猪囊尾蚴可能成为研究寄生蠕虫的重要实验模型，而有关药物则可能成为研究寄生蠕虫生物化学与分子生物学的重要研究工具。

《猪带绦虫囊尾蚴的发育生物学》是东北农业大学多学科交叉协作研究工作的集体成果，是生物化学与分子生物学、基础兽医学（家畜解剖学、组织学与胚胎学，动物生理学与动物生物化学，兽医药理学与毒理学，兽医病理学）、预防兽医学（家畜寄生虫学与寄生虫病学）、影像医学等学科研究人员、博士研究生、硕士研究生和其他研究工作者的有关猪囊尾蚴基础研究辛勤劳作的结晶，有许多新知识和新发现贡献给这个伟大的时代。特别是研究工作将猪带绦虫六钩蚴体外成功培养至 16 日，发现猪带绦虫卵感染后 19 日即有幼年期囊尾蚴出现，为猪带绦虫囊尾蚴发育生物学研究的连续性奠定了重要的基础。以猪带绦虫六钩蚴（或猪带绦虫卵）和猪带绦虫囊尾蚴发育生物学研究为基础，在超微形态学、膜分子生物学、物质代谢、能量代谢水平系统进行了抗囊药物选择和药物作用机理研究，成功筛选并确定了对未成熟期猪带绦虫囊尾蚴和成熟期猪带绦虫囊尾蚴均有杀灭作用的新型抗囊药物。

在文稿完成之时，看着这些令人瞩目的原始创新性研究成果，回想

共同杀猪取样时的汗水淋漓和又有新的发现时欢欣鼓舞的情景又一幕幕呈现在大家面前。在专著付梓之际，特别感谢哈尔滨医科大学寄生虫与寄生虫病学家徐之杰教授、吉林农业大学兽医寄生虫与寄生虫病学家刘德惠教授在实验全过程所给予的悉心指导和帮助，特别感谢东北农业大学兽医寄生虫与寄生虫病学家周源昌教授在立项研究之初所给予的醍醐灌顶般的学术建议和实验过程中所表现出的提携后人的大师之风，同时对国家自然科学基金委员会生命科学部和黑龙江省科学技术厅农业处所给予的资助一并表示深深的感谢。文稿校对修订还得到了东北农业大学赵锋博士以及崔英俊、张莉、吕英、林叶、刘营等老师的大力协助，在此一并表示感谢。

编 者

2007年6月15日

目 录

序

前言

1 绪论	1
1.1 分子寄生虫学的发展简史	1
1.2 猪囊尾蚴病的地域流行性	4
1.3 猪囊尾蚴的基础研究现状	6
1.3.1 猪囊尾蚴囊液氨基酸组分研究	7
1.3.2 猪囊尾蚴物质代谢途径的研究	7
1.3.3 猪囊尾蚴与宿主间的相互作用	7
1.3.4 猪囊尾蚴疫苗免疫的研究进展	8
1.3.5 猪囊尾蚴病的分子诊断学进展	9
小结	11
参考文献	11
2 猪带绦虫六钩蚴的发育生物学	14
2.1 猪带绦虫六钩蚴的形态发育	14
2.1.1 猪带绦虫六钩蚴的体外培养	14
2.1.2 猪带绦虫六钩蚴的形态变化	24
2.2 猪带绦虫六钩蚴的物质代谢	30
2.2.1 猪带绦虫六钩蚴的物质代谢基础	30
2.2.2 猪带绦虫六钩蚴的物质代谢规律	31
2.2.3 猪带绦虫六钩蚴的物质代谢特点	32
2.3 猪带绦虫六钩蚴的质膜代谢	32
2.3.1 猪带绦虫六钩蚴的膜脂组分与含量	32
2.3.2 猪带绦虫六钩蚴膜糖——唾液酸含量	33
2.3.3 猪带绦虫六钩蚴细胞膜的膜流动性	34
2.4 猪带绦虫六钩蚴的能量代谢	34
2.5 猪带绦虫六钩蚴的物质转运	35
小结	35

参考文献	36
3 猪带绦虫囊尾蚴的发育生物学	39
3.1 猪带绦虫囊尾蚴的形态发育	39
3.1.1 体外猪带绦虫囊尾蚴的形态发育	39
3.1.2 体内猪带绦虫囊尾蚴的形态发育	40
3.2 猪带绦虫囊尾蚴的物质代谢	56
3.2.1 猪带绦虫囊尾蚴的物质代谢实验	56
3.2.2 猪带绦虫囊尾蚴的物质代谢变化	57
3.2.3 猪囊尾蚴的物质代谢规律	60
3.3 猪带绦虫囊尾蚴的质膜代谢	65
3.3.1 猪带绦虫囊尾蚴的质膜代谢实验	65
3.3.2 猪带绦虫囊尾蚴的质膜代谢变化	68
3.3.3 猪带绦虫囊尾蚴的质膜代谢规律	73
3.4 猪带绦虫囊尾蚴的能量代谢	77
3.4.1 猪带绦虫囊尾蚴的能量代谢实验	77
3.4.2 猪带绦虫囊尾蚴的能量代谢变化	81
3.4.3 猪带绦虫囊尾蚴的能量代谢规律	89
3.5 猪带绦虫囊尾蚴的其他变化	102
3.5.1 猪带绦虫囊尾蚴的细胞凋亡情况	103
3.5.2 猪带绦虫囊尾蚴的一些指标变化	108
3.5.3 猪带绦虫囊尾蚴的宿主防御反应	113
3.5.4 猪带绦虫囊尾蚴的影响相关分析	117
3.5.5 带虫宿主的血清唾液酸含量变化	119
3.6 猪带绦虫囊尾蚴病发生机制	119
3.6.1 猪带绦虫囊尾蚴的免疫逃避机制	119
3.6.2 猪带绦虫囊尾蚴的临床致病机制	121
3.6.3 唾液酸实验检测的临床实际意义	124
小结	126
参考文献	127
4 猪带绦虫囊尾蚴的药效生物学	138
4.1 药物对猪带绦虫囊尾蚴形态发育的影响	138
4.1.1 药物对猪带绦虫囊尾蚴形态发育影响的实验	138
4.1.2 药物对猪带绦虫囊尾蚴形态发育影响的结果	141
4.1.3 药物对猪带绦虫囊尾蚴形态发育影响的规律	157

4.2 药物对猪带绦虫囊尾蚴物质代谢的影响	162
4.2.1 药物对猪带绦虫囊尾蚴物质代谢影响的实验	162
4.2.2 药物对猪带绦虫囊尾蚴物质代谢影响的结果	165
4.2.3 药物对猪带绦虫囊尾蚴物质代谢影响的规律	192
4.3 药物对猪带绦虫囊尾蚴质膜代谢的影响	198
4.3.1 药物对猪带绦虫囊尾蚴质膜代谢影响的实验	198
4.3.2 药物对猪带绦虫囊尾蚴质膜代谢影响的结果	199
4.3.3 药物对猪带绦虫囊尾蚴质膜代谢影响的规律	208
4.4 药物对猪带绦虫囊尾蚴能量代谢的影响	214
4.4.1 药物对猪带绦虫囊尾蚴能量代谢影响的实验	214
4.4.2 药物对猪带绦虫囊尾蚴能量代谢影响的结果	220
4.4.3 药物对猪带绦虫囊尾蚴能量代谢影响的规律	245
4.5 药物对猪带绦虫囊尾蚴和宿主的其他影响	264
4.5.1 药物对猪带绦虫囊尾蚴和宿主其他影响的实验	264
4.5.2 药物对猪带绦虫囊尾蚴和宿主其他影响的结果	265
4.5.3 药物对猪带绦虫囊尾蚴和宿主其他影响的规律	279
4.6 猪带绦虫囊尾蚴治疗药物疗效考核的判定标准	282
4.6.1 一般形态学观察	282
4.6.2 病理组织学检查	282
4.6.3 超微形态学观察	283
4.6.4 细胞凋亡率检查	283
4.6.5 抗猪囊尾蚴抗体检测	283
4.7 药物毒理学研究	284
4.7.1 材料与方法	284
4.7.2 结果	287
4.7.3 讨论	289
4.7.4 结论	292
小结	292
参考文献	293
附录 1 图版	301
附录 2 索引	359
附录 3 缩略词表	362

1 绪 论

寄生虫学 (parasitology) 是寄生虫病学 (parasitosis) 的重要生物学基础。在寄生虫学中, 基础寄生虫学又是应用寄生虫学的重要发展前提。加强基础寄生虫学方面的研究, 深入探索寄生虫特别是人兽共患寄生虫病寄生虫的生命特点和生长、生活规律, 对于正确认识、有效防治人兽共患寄生虫病, 发展动物农业, 保护人类健康, 提高人和动物的生活质量和生命质量, 具有重要的社会公共卫生学意义。

1.1 分子寄生虫学的发展简史

第二次世界大战期间, 原虫病、蠕虫病人数激增, 引起公众和医学家对寄生虫病的高度重视, 寄生虫生物化学初步开展, 促进了抗寄生虫药物的筛选。20 世纪 60 年代, 某些寄生虫中间代谢包括代谢酶、旁路代谢、代谢的调节、膜的转移、氧在代谢中的作用等进一步开展, 阐明了一批抗寄生虫药物的作用机理, 使分子寄生虫学 (molecular parasitology) 初露端倪。分子寄生虫学是运用生物化学、分子生物学、遗传学、免疫学、细胞学等理论和技术, 从分子水平研究病原寄生虫与宿主、环境的相互关系, 阐明寄生虫生长、发育、繁殖、致病和传播规律的科学。20 世纪 70 年代, 由于生物化学与生物物理学新技术和新方法在寄生虫研究领域的广泛应用, 寄生虫的中间代谢、酶学、生物能量学、细胞膜的结构与功能研究愈加深入。20 世纪 80 年代, 由于寄生虫分子生物学、分子免疫学的发展, 使得寄生虫学进入了一个全新的分子寄生虫学时代。20 世纪 90 年代, 寄生虫病疫苗的研究进入了前所未有的兴盛时期。20 世纪 90 年代中期开始, 先后开展了寄生虫基因组学和蛋白质组学的研究。2002 年, 恶性疟原虫基因组全序列公开发表, 成为分子寄生虫学史上的又一个新的里程碑。

Vega (2003) 在马达加斯加和墨西哥的两个地区进行猪带绦虫的遗传群体结构和多样性通过随机放大多态 DNA 的研究, 发现抑制群体

的基因变异性和基因流动的效率很低。猪带绦虫的基因分化研究表明,不同的进化途径导致了猪囊尾蚴的不同组织寄生,使疾病的严重程度多样化。这也是免疫诊断方法和疫苗的发展困难所在。

世界卫生组织现已将寄生虫基因组计划更名为寄生虫功能基因组计划,分子寄生虫学进入崭新的后基因组时代。庞歌等(2007)综述了猪带绦虫基因组学研究进展。目前,一些在医学上影响重大的寄生虫基因组计划已得到顺利开展,有两种寄生虫的基因组全序列已测定完成并公开发表,另外有4种寄生虫的基因组序列测定已完成,基因组序列的汇编和注解正在进行中,还有13种寄生虫的基因组序列测定正在进行中,其中包括带科绦虫中细粒棘球绦虫和多房棘球绦虫的表达序列标签计划和猪带绦虫的基因组计划。猪带绦虫基因组计划由墨西哥国立自治大学重点实验室联盟发起,该计划分两个阶段实施。在第一阶段将要完成对猪带绦虫基因组基本指标的测定,这些指标包括基因组大小、染色体核型、基因密度等;在第二阶段基因组计划将会得到全方位开展。现已通过两种不同的方法对猪带绦虫基因组大小进行了测定,即细胞荧光光度术测定单个神经元细胞的细胞核和在3000个已知的猪带绦虫基因组序列克隆的基础上对基因组编码和重复密度进行的概率估算,两种方法测得的猪带绦虫基因组大小分别为270Mb和251Mb。对目前所获得的猪带绦虫部分序列表达标签和基因克隆的鉴定结果表明,约有30%的猪带绦虫编码序列具有同源序列,其大部分高同源序列来自哺乳动物的基因,特别是人类的基因;另外,有1.5%猪带绦虫编码序列在人类基因中缺少同源序列,这为猪带绦虫及囊尾蚴病的药物治疗、诊断和疫苗的研究直接提供了候选基因。作为一种多细胞的真核后生动物,其大部分序列标签与基因的调控和信号转导密切相关,另外的一小部分序列标签与持家基因功能、新陈代谢、细胞分裂、细胞骨架、蛋白酶、空泡转运、激素调节和细胞外基质的活动相关。在猪带绦虫基因组计划之前,猪带绦虫线粒体全基因组核苷酸序列已测定完成。已知其序列全长为13709bp,共包含36个基因,其中12个基因编码氧化磷酸化相关蛋白,2个基因编码核糖体RNA,22个基因编码tRNA。猪带绦虫线粒体DNA的基因组成和结构与其他带科绦虫相似,具有带科绦虫基因编码的一些共性,即蛋氨酸密码子为GUG、终止子密码为UAA,同时还具有扁形动物门寄生虫基因编码的一些共性,包括:①异亮氨酸的密码

子为 AUA；②天冬酰胺酸的密码子为 AAA；③酪氨酸的密码子为 UAA；④密码子 AUA 和 AAA 在线粒体基因中含量丰富。在已知猪带绦虫线粒体基因的基础上，对来自亚洲（包括中国、泰国、印度尼西亚和印度）、拉丁美洲（包括墨西哥、厄瓜多尔、玻利维亚、秘鲁和巴西）和非洲（包括坦桑尼亚、莫桑比克和喀麦隆）的猪带绦虫分离株进行的种系发育分析表明，猪带绦虫可分为两个基因型，即亚洲基因型和非洲（或美洲）基因型；利用 RAPD、PCR-RFLP、SSCP 等分子生物学手段对猪带绦虫墨西哥不同地方分离株的研究表明，猪带绦虫在地区、市区、村庄，甚至家族水平上存在基因差异，这将有助于猪带绦虫和囊尾蚴的系统进化和分子流行病学研究。猪带绦虫基因组及其功能基因组的研究将会为猪带绦虫囊尾蚴病和猪带绦虫病提供更加经济有效的诊断技术、疫苗和具有巨大潜在价值的药物靶位。同时，在基因组和蛋白质组基础之上，将会揭示出猪带绦虫独特生物学现象背后的一些特有的分子作用机制，这将会更加丰富现有的分子生物学知识，并为生物学技术的不断进步提供前进的动力。

宗瑞谦等（2004）从猪带绦虫囊尾蚴中提取总 RNA，并分离出 mRNA，采用定向克隆方法，将猪囊尾蚴 cDNA 片段重组入质粒表达载体 pSPORT 1 的 *Not* I 和 *Sal* I 双酶切位点之间，构建了猪囊尾蚴 cDNA 表达文库。通过库容量鉴定，所构建的表达文库的容量为 2×10^6 。经含有 IPTG 和 Xgal 的颜色选择平皿测定，其重组率为 100%。

骆学农等（2007）获得了不同发育阶段基因联合表达的具有良好免疫保护性的重组抗原，为研制高效的猪囊虫基因工程疫苗奠定基础。他采用 PCR 扩增截去 45W-4B 基因的信号肽和 C 端 17 个疏水氨基酸序列，经 *Bam*H I 和 *Eco*R I 酶切后与表达载体 pGEX-4T-1 连接转化 BL21 感受态细胞，酶切及 PCR 扩增鉴定阳性克隆。测序正确的质粒经 *Eco*R I 和 *Not* I 酶切处理后与截去信号肽的 18 ku 基因连接，构建双基因融合表达载体 pGEX-4BX/18。用 IPTG 诱导的表达产物，进行 SDS-PAGE 电泳、蛋白质印迹分析活性。分别用 300 μ g 重组 GST-4BX、GST-4BX/18 蛋白免疫猪，间接酶联免疫吸附测定（enzyme linked immunosorbent assay, ELISA）测定抗体水平。感染后 90d 剖检计算各组的减虫率，比较评价重组抗原的免疫保护性。研究结果表明 4BX/18 ku 在大肠杆菌中获得高效表达，表达产物为 50ku 的融合蛋白，

并能被人猪带绦虫囊尾蚴病和感染初期的猪带绦虫囊尾蚴病阳性血清所识别。重组抗原免疫猪 45d 后抗体达到峰值,联合表达重组抗原的减虫率为 97%,GST-4BX 免疫组的减虫率为 95%。

分子寄生虫学研究的目标是不断发现新的有效方法防治寄生虫病特别是人兽共患寄生虫病。其中最为重要的是药物和疫苗,在目前和相当长的时期内,新型抗寄生虫药物的研发和应用,必将仍然是寄生虫病特别是某些人兽共患寄生虫病防治中一个无法回避且十分重要的选择。

分子寄生虫学今后的研究方向应该是:①寄生虫的代谢系统及其生物化学与遗传学机理,以及寄生虫在宿主免疫和宿主代谢环境得以生存的机理;②新型、安全、有效抗寄生虫药物、剂型的研制及使用方法的优化;③抗寄生虫药物作用靶点、药物效应、抗药特性的判定(标准)及其分子机理;④寄生虫免疫的分子机理和有效疫苗;⑤寄生虫生长、发育、分化等相关关键因子的功能基因组学;⑥寄生虫表面抗原变异的遗传学及其合成、加工、转运的分子机理;⑦寄生虫病或寄生虫感染早期、超早期诊断的标识分子及其实际应用;⑧转基因寄生虫模型和寄生虫病动物模型。

1.2 猪囊尾蚴病的地域流行性

猪带绦虫囊尾蚴病又称猪囊虫病,是一种危害十分严重的人兽共患寄生虫病。不仅严重影响养猪业和肉品加工业的发展、造成经济损失,还给人类健康和生命安全带来重大威胁,后果十分严重。猪囊尾蚴病在世界各地均有分布,以发展中国家较为多见,尤其在中非、南非、南亚、南美等地更为严重。在我国,东北、华北、西北、西南等地发生率较高。据统计,我国现有囊尾蚴病猪 1 000 万头,每年因此造成的直接经济损失高达 20 亿元。猪囊尾蚴病不仅造成国民经济的巨大损失,而且给人民健康带来严重危害。目前,全国约有 600 万人患有猪囊尾蚴病,其祸源就是猪带绦虫囊尾蚴。

Sikasunge 等(2007)报道了赞比亚东西部一些省区农村猪囊尾蚴发病率,对 155 个村庄 788 个农户饲养的猪群进行了舌检和 ELISA 猪囊尾蚴循环抗原检测。检查的家庭中,饲养猪舌检感染率为 18.8%,ELISA 阳性率为 37.6%。

梁韶晖等 (2004) 报道了温州地区猪带绦虫和囊尾蚴病流行情况, 运用流行病学方法、血清学和粪便检查对该地区猪带绦虫和囊尾蚴病进行调查。温州地区人群血清猪囊尾蚴抗体阳性率为 0.61%, 猪带绦虫病患病率为 0.02%, 猪囊尾蚴病患病率为 0.09%。温州地区猪囊尾蚴病呈零星散发状态, 且较多为输入性感染, 但仍须重视猪带绦虫病和猪囊尾蚴病的防治工作。许正敏等 (2004) 报道了襄樊市 1976~2003 年生猪囊尾蚴感染情况调查结果: 20 世纪 70~80 年代, 该市生猪饲养以农户散养为主, 猪囊尾蚴感染率在 1976~1980 年的 5 年时间里呈上升趋势。1981 年后猪体囊尾蚴感染率总体呈下降趋势, 2003 年降至 0.046%, 比 1976 年下降 92.2%。

段绩辉 (2005) 报道了 2001~2004 年全国 31 个省 (直辖市、自治区) 猪囊尾蚴病血清学调查结果, 阳性率为 0.58%。以山西、福建、青海、宁夏、西藏为最高。以往的资料以农民为主, 而该次调查职业分布的特点发生了变化, 以半农半牧最高。卢学利等 (2005) 对哈尔滨市正阳楼肉类食品公司 1994~2003 年间屠宰生猪猪囊尾蚴的感染情况进行了统计学分析。结果表明, 猪囊尾蚴的感染率和感染强度在逐年降低, 感染率由 1994 年的 0.63% 下降到 2003 年的 0.08%, 检验部位猪囊尾蚴的感染数量逐年下降, 囊尾蚴的体积变小。猪囊尾蚴在猪体内的分布也发生了一定程度的变化。符文英等 (2005) 报道了青海互助县生猪定点屠宰检疫的结果并进行了分析。从 2003 年 4 月到 2004 年 10 月, 互助县威远镇生猪定点屠宰场共屠宰生猪 14 486 头, 全面进行了检疫, 检出猪囊尾蚴病猪 35 例 (占 0.242%), 还检出个别棘球蚴、黄脂病猪。互助县本地源的屠宰生猪中检出的疫病主要有猪瘟、猪丹毒、猪囊尾蚴病, 且三种疫病的检出率较低, 总体检出率为 2.8‰。这一结果表明, 互助县猪疫病的防治工作成效明显。就猪囊尾蚴病而言, 其感染率由 1996 年的 2% (屠宰场刚建成运营时) 下降到目前的 0.242%, 降幅为 88%。

据云南省兽医防疫总站 (2006) 报道, 云南省局部地区于 2002~2004 年间散发猪囊尾蚴病约 800 余例, 经采取综合防治对策及宰前后的检疫与执行全国动物防疫标准化委员会制定的标准化技术, 控制了当地猪病情。缪峰等 (2005) 调查分析了鲁北地区猪绦虫病与猪囊尾蚴病的流行情况。采用现场访问、粪便检查及血清学检测等方法对鲁北 4 市