

中国美利奴羊不同 MHC-DRB1/DQB1 单倍型个体感染细粒棘球绦虫的免疫应答分析

杜迎春, 贾斌*, 申红, 蒋松, 惠文巧, 田永芝, 温青娜,
周其伟, 吕利民, 李仁燕

(新疆石河子大学动物科技学院, 石河子 832003)

摘要: 为探讨中国美利奴羊(新疆军垦型)不同单倍型个体感染细粒棘球绦虫的免疫应答变化。将 8 只抗性单倍型绵羊设为抗性组, 8 只非抗性单倍型绵羊设为对照组, 在相同的饲养条件下进行人工感染攻虫。分别在攻虫前 7 d (-7 d)、攻虫当天(0 d)、攻虫后第 7、21、30、60 天用流式细胞仪分析外周血中 CD4⁺T、CD8⁺T、B 淋巴细胞亚群的变化, 同时用 ELISA 方法定量分析血清中 IgG、IgM、IgE、IFN- γ 水平并进行粒细胞计数。结果表明, 抗性组绵羊的发病率显著低于对照组 ($P=0.019$); CD4⁺T 细胞 2 组之间差异不显著 ($P>0.05$), CD8⁺T 细胞在攻虫后第 7 天抗性组显著高于对照组 ($P<0.05$); IgG 水平在攻虫后第 7 天 2 组均显著高于攻虫前 7 d ($P<0.05$)。攻虫后第 30 天抗性组 IgM 和 IFN- γ 水平均显著高于对照组 ($P<0.05$)。抗性组的白细胞、淋巴细胞分别在攻虫后第 7 和 21 天显著高于对照组 ($P<0.05$), 嗜中性粒细胞和总蛋白在攻虫后第 21 天抗性组极显著低于对照组 ($P<0.01$)。结果显示, 抗性单倍型绵羊对细粒棘球绦虫的抵抗力显著高于非抗性绵羊; 抗性组绵羊体内的 CD8⁺T 细胞、IgM、IFN- γ 和白细胞、淋巴细胞水平在攻虫后不同时期显著高于非抗性组绵羊。

关键词: 中国美利奴羊; 细粒棘球绦虫; MHC; CD4⁺T; CD8⁺T; IgM; IFN- γ

中图分类号: S826.86

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2010)11-1401-06

Immunological Response Analysis of Chinese Merino Sheep with Different MHC-DRB1/DQB1 Haplotypes Infected with *Echinococcus granulosus*

DU Ying-chun, JIA Bin*, SHEN Hong, JIANG Song, HUI Wen-qiao, TIAN Yong-zhi,
WEN Qing-na, ZHOU Qi-wei, LV Li-min, LI Ren-yan

(College of Animal Science and Technology, Shihezi University, Shihezi 832003, China)

Abstract: The aim of this study was to analyze the immunological response to *Echinococcus granulosus* in Chinese Merino (Xinjiang Army Wasteland Reclamation) sheep with different MHC-DRB1/DQB1 haplotypes. 16 two-year-old female healthy Chinese Merino sheep with different haplotypes were artificially infected with *Echinococcus granulosus* under the same raising condition, which were divided into two groups: the test group (8 resistant haplotypoe sheep) and the control group (8 nonresistant haplotype individuals). The percentage of CD4⁺T, CD8⁺T and B lymphocyte subpopulations in peripheral blood were analyzed by flow cytometry on 7 day before infection (-7), and on 0 (the day of infection), 7, 21, 30 and 60 day after infection, respectively. During the same period, the content of IgG, IgM, IgE, IFN- γ in the serum were quantitatively assayed by ELISA and the quantity of granulocyte were counted on Wright's stained blood smears. The results showed that: 1) the incidence of Cystic Echinococcosis in the test group was significantly lower than that in the control group ($P=0.019$). 2) The percentage of CD4⁺T cells

收稿日期: 2009-12-08

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30660124)

作者简介: 杜迎春(1979-), 女, 河南南阳人, 博士生, 主要从事动物分子遗传学研究, E-mail: duyignchun@163.com

* 通讯作者: 贾斌, E-mail: jiabin@shzu.edu.cn

had no significant difference between the two groups ($P>0.05$). The percentage of CD8⁺ T cells in the test group was significantly higher than that in the control group ($P<0.05$) at day 7. 3) Serum levels of IgG in the two groups were significantly higher at day 7 when compared to day (-7) ($P<0.05$). Compared with the test group, significantly higher IgM and IFN- γ occurred in the control group at day 30 ($P<0.05$). 4) Leukocytes and lymphocytes in the test group were significantly more than that in the control group ($P<0.05$) at day 7 and 21. Neutrophils and albumin in the test group were obviously lower than that in the control group ($P<0.01$) at day 21. The significantly higher resistance to *Echinococcus granulosus* occurred in the resistant haplotype sheep, when compared with the nonresistant haplotype individuals. In addition, the levels of CD8⁺ T cells, IgM, IFN- γ , leukocytes and lymphocytes in the resistant haplotype sheep were significantly higher than those in nonresistant haplotype individuals during the different periods after infection.

Key words: Chinese Merino sheep; *Echinococcus granulosus*; MHC; CD4⁺ T; CD8⁺ T; IgM; IFN- γ

绵羊的主要组织相容性复合体 (Major Histocompatibility Complex, MHC) 基因位于 20 号染色体上。MHC 的表达产物称为 MHC 抗原, 主要功能是抗原递呈, 与外来抗原相结合为复合体, 从而被 T 淋巴细胞识别并将外来抗原递呈给 T 淋巴细胞, 使之激活触发免疫反应, 在动物机体的免疫系统中发挥着非常重要的作用。因此, MHC 作为疾病抗性和易感性的候选基因成为抗病育种的研究热点之一。

细粒棘球蚴病 (Cystic Echinococcosis, C. E) 又称包虫病, 是由细粒棘球绦虫 (*Echinococcus granulosus*, *E. g*) 的幼虫 (续绦期) 寄生在各种中间宿主 (人和食草动物如牛、羊) 的肝脏、肺脏等器官内发育为包囊引起的一种人畜共患病。绵羊是细粒棘球绦虫最适宜的中间宿主, 在中国西部牧区, 绵羊包虫病已经严重地影响了养羊业的发展和农牧民生活质量。多年来, 对包虫病的防治投入了大量的人力、物力, 但始终未能得到很好的控制, 治疗也主要以手术摘除为主, 但是摘除不完全且易复发。从抗病育种的角度研究其免疫机制和抗病机理对包虫病的防治具有特殊意义。目前, 关于绵羊 MHC 基因多态性与疾病抗性 or 易感性相关的研究主要集中在 *MHC-DRB1*^[1-4] 和 *MHC-DQB*^[5-6] 基因上。而有关 MHC 与包虫病的相关性研究主要集中在人上^[7-10], 在动物方面 MHC 与包虫病的相关性研究主要集中在小鼠上^[11-13]。而绵羊 MHC 与包虫病的研究还很少, 彭林泽^[14]、申红^[15]等分析了中国美利奴羊 *MHC-DRB1* 和 *DQB1* 基因多态性与包虫病的关系, 发现了包虫病的抗性基因型; 本课题组进一步分析发现中国美利奴羊 *DRB1* 和 *DQB1* 基因不同的单倍型与包虫病抗性密切相关。本试验在

前期研究的基础上, 利用人工攻虫的方法验证不同单倍型个体与细粒棘球绦虫感染之间的关系, 进行不同单倍型个体感染过程中的免疫应答分析, 为探讨绵羊的抗病机理奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验动物

由新疆生产建设兵团农九师 165 团提供, 健康的 2 岁雌性中国美利奴羊 (新疆军垦型), 体质量 40~50 kg。选择 8 只 *DRB1-Sac I AB/DRB1-Mva I BB/DQB1-Taq I AA/DQB1-Hae III NN* 单倍型绵羊作为抗性组, 8 只非抗性单倍型绵羊作为对照组。

1.2 主要试剂和仪器

绵羊包虫病 ELISA 诊断试剂盒 (深圳康百得公司); 绵羊抗体检测试剂盒 (上海蓝基生物科技有限公司); CD4 单克隆抗体 (MOUSE ANTI OVINE CD4; FITC), CD8 单克隆抗体 (MOUSE ANTI OVINE CD8; RPE), CD45R 单克隆抗体 (MOUSE ANTI OVINE CD45R; FITC) 均为 Caltag Laboratories 公司产品; 溶血剂购自德国 Partec 公司; 流式细胞仪为德国 Partec 公司产品; 全自动生化分析仪 (Olymps-2700)。

1.3 试验方法

1.3.1 包虫病 ELISA 血清学检测 按 ELISA 试剂盒操作, 确保试验羊均健康。

1.3.2 细粒棘球绦虫分离 将感染 *E. g* 的试验犬麻醉、宰杀, 从犬的小肠前段 (主要是十二指肠和空肠前段) 绒毛内分离 *E. g*, 挑出带有成熟孕节的虫体, 显微镜下分离计数。

1.3.3 攻虫 用注射器将 10 个成虫孕节直接注射到绵羊食管中,用生理盐水反复注射 2 次,确保孕节不遗留在注射器内。

1.3.4 攻虫前 7 d(-7 d)、攻虫当天(0 d)、攻虫后第 7、21、30、60 天采集绵羊新鲜的抗凝血并分离血清。试验结束时宰杀绵羊进行病理剖检。

1.3.5 淋巴细胞亚群的检测 采用流式细胞仪检测。

1.3.6 血清中 IgG、IgM、IgE、IFN- γ 的检测 按 ELISA 试剂盒操作。

1.3.7 血清中总蛋白的检测 利用全自动生化分析仪检测。

1.3.8 数据统计 所有数据均用 SPSS13.0 统计学软件单因素方差分析,试验数据采用平均数 \pm 标准误差表示。

2 结 果

表 1 外周血 CD4⁺T、CD8⁺T 淋巴细胞和 CD4⁺T/CD8⁺T 比值变化(N=16)

Table 1 Changes of CD4⁺T, CD8⁺T lymphocytes and CD4⁺T/CD8⁺T ratio in the peripheral blood(N=16)

采样时间/d Sample time	CD4 ⁺ T 淋巴细胞/% CD4 ⁺ T lymphocyte		CD8 ⁺ T 淋巴细胞/% CD8 ⁺ T lymphocyte		CD4 ⁺ T/CD8 ⁺ T 比值 CD4 ⁺ T/CD8 ⁺ T ratio	
	抗性组 Test group	对照组 Control group	抗性组 Test group	对照组 Control group	抗性组 Test group	对照组 Control group
	-7	34.606 \pm 2.135	33.931 \pm 1.275	19.883 \pm 1.529 ^a	18.770 \pm 1.946 ^a	1.804 \pm 0.176
0	34.489 \pm 2.127	32.413 \pm 1.108	23.656 \pm 2.322 ^{ab}	19.171 \pm 2.610 ^a	1.540 \pm 0.159	1.983 \pm 0.385
7	36.276 \pm 2.522	33.973 \pm 2.022	26.996 \pm 1.728 ^{b*}	20.979 \pm 2.556 ^a	1.378 \pm 0.130	1.828 \pm 0.309
21	33.711 \pm 2.546	32.879 \pm 1.849	22.774 \pm 1.615 ^{ab}	20.336 \pm 1.633 ^a	1.530 \pm 0.164	1.725 \pm 0.237
30	33.814 \pm 2.634	31.090 \pm 1.425	21.699 \pm 1.440 ^{ab}	18.509 \pm 2.337 ^a	1.604 \pm 0.170	1.935 \pm 0.354
60	32.499 \pm 2.418	29.986 \pm 1.913	22.813 \pm 1.678 ^{ab}	19.369 \pm 2.554 ^a	1.472 \pm 0.148	1.786 \pm 0.309

同一时间,同一指标两组之间,*表示 $P<0.05$,**表示 $P<0.01$ 。同一组内,两两之间有任一肩标字母相同者为差异不显著,不同小写字母表示 $P<0.05$,不同大写字母表示 $P<0.01$ 。无肩标者表示差异不显著($P>0.05$)。下表同

The same time,between two groups with identical index * indicate $P<0.05$,** indicate $P<0.01$. The same group with common letter means no significant difference, lowercase indicate $P<0.05$, capital letters indicate $P<0.01$, no superscripts mean no significant difference($P>0.05$). The same as below

2.3 血清中抗体检测

2 组的 IgG 水平在攻虫后第 7 天均显著高于攻虫前 7 d($P<0.05$),对照组 IgG 水平在攻虫后第 7 天极显著高于攻虫当天($P<0.01$)。抗性组 IgM 水平在攻虫后第 7 和 30 天均显著高于攻虫前 7 d($P<0.05$),对照组 IgM 水平攻虫后第 7 天显著高于攻虫前 7 d($P<0.05$)。攻虫后第 30 天抗性组 IgM

2.1 攻虫结果

试验羊人工感染细粒棘球绦虫后第 60 天,宰杀,进行病理剖检。剖检以肝脏表面有明显细粒棘球蚴囊肿突起、镜检囊液有棘球砂者判定为人工攻虫感染为阳性。结果,抗性组中发病 3 只,未感染 5 只;对照组中发病 6 只,未感染 2 只。用 Fisher 确切概率统计结果表明抗性组绵羊包虫病的发病率显著低于对照组($P=0.019$)。

2.2 淋巴细胞亚群检测

CD4⁺T 淋巴细胞百分数抗性组与对照组差异不显著($P>0.05$),但抗性组始终高于对照组。CD8⁺T 淋巴细胞在攻虫后第 7 天抗性组显著高于对照组($P<0.05$),抗性组 CD8⁺T 淋巴细胞水平在攻虫后第 7 天显著高于攻虫前 7 d($P<0.05$)。CD4⁺T/CD8⁺T 比值 2 组间差异不显著($P>0.05$,表 1);对照组的 B 淋巴细胞水平在攻虫后第 30 天显著低于攻虫前 7 d(表 2)。

和 IFN- γ 水平均显著高于对照组($P<0.05$)。抗性组总蛋白水平在攻虫后第 21 天极显著低于对照组($P<0.01$),在攻虫后第 30 天显著高于攻虫后第 21 天($P<0.05$),对照组总蛋白水平在攻虫后第 21 天极显著高于攻虫后第 7 天($P<0.01$),之后开始下降,攻虫后第 30 天显著低于攻虫后第 21 天($P<0.05$,表 2、表 3)。

表 2 外周血 B 淋巴细胞及血清中 IgG 和 IgM 变化 (N=16)

Table 2 Changes of B lymphocyte in the peripheral blood, IgG and IgM in the blood serum (N=16)

采样时间/d Sample time	B 淋巴细胞/% B lymphocyte		IgG/(mg·mL ⁻¹)		IgM/(mg·mL ⁻¹)	
	抗性组 Test group	对照组 Control group	抗性组 Test group	对照组 Control group	抗性组 Test group	对照组 Control group
-7	39.781±3.229 ^a	45.150±2.079 ^a	36.141±8.988 ^a	34.605±6.734 ^{Ba}	15.501±1.585 ^a	14.207±2.123 ^a
0	34.134±2.815 ^a	40.756±3.014 ^{ab}	40.601±4.619 ^{ab}	30.720±7.113 ^{Aa}	16.970±1.052 ^{ab}	5.603±2.261 ^{ab}
7	37.503±3.420 ^a	40.277±1.867 ^{ab}	57.141±4.578 ^b	56.295±7.529 ^{Bb}	21.433±0.441 ^b	18.972±1.694 ^b
21	36.326±3.144 ^a	38.059±2.094 ^{ab}	55.709±5.609 ^{ab}	42.079±7.314 ^{ABab}	20.014±0.964 ^{ab}	17.244±2.256 ^{ab}
30	33.400±3.063 ^a	36.806±2.431 ^b	47.014±7.423 ^{ab}	41.096±7.616 ^{ABab}	20.491±0.617 ^{b*}	15.726±2.518 ^{ab}
60	36.291±2.931 ^a	40.139±2.002 ^{ab}	40.210±3.468 ^{ab}	43.886±8.072 ^{ABab}	18.728±0.948 ^{ab}	18.240±1.838 ^{ab}

表 3 血清中 IgE、IFN-γ 和总蛋白变化 (N=16)

Table 3 Changes of IgE, IFN-γ and albumin in the blood serum (N=16)

采样时间/d Sample time	IgE/(mg·L ⁻¹)		IFN-γ/(pg·mL ⁻¹)		总蛋白/(g·L ⁻¹) Albumin	
	抗性组 Test group	对照组 Control group	抗性组 Test group	对照组 Control group	抗性组 Test group	对照组 Control group
-7	248.291±67.517	254.709±46.800	372.705±49.992	270.362±59.460	74.143±2.145 ^{ab}	76.929±6.592 ^{ABab}
0	263.672±45.224	255.057±69.180	387.256±30.825	289.795±63.579	71.329±5.670 ^{ab}	73.329±3.015 ^{ABab}
7	366.048±29.654	355.364±45.463	456.787±16.352	355.615±38.204	73.300±5.612 ^{ab}	65.843±2.393 ^{Aa}
21	388.998±56.596	310.163±54.289	439.307±29.046	353.760±63.767	62.671±6.319 ^a	85.357±7.130 ^{Bb**}
30	395.101±31.369	361.224±65.407	482.764±36.732 [*]	344.287±76.898	76.614±2.105 ^b	71.314±3.978 ^{Ba}
60	252.328±30.088	289.028±48.120	440.869±28.051	365.088±41.315	71.786±2.544 ^{ab}	78.700±3.412 ^{ABab}

2.4 血液中粒细胞检测

白细胞总数在攻虫后第 7 天抗性组显著高于对照组 ($P < 0.05$), 抗性组白细胞在攻虫后第 7 天显著高于攻虫当天 ($P < 0.05$), 对照组白细胞在攻虫后第 30 天极显著高于攻虫前 7 d ($P < 0.01$); 淋巴细胞在攻虫后第 21 天抗性组显著高于对照组 ($P <$

0.05), 抗性组淋巴细胞在攻虫后第 21 天显著高于攻虫后第 7 天 ($P < 0.05$); 抗性组中性粒细胞在攻虫后第 21 天显著低于攻虫后第 7 天 ($P < 0.05$), 抗性组嗜中性细胞在攻虫后第 21 天极显著低于对照组 ($P < 0.01$, 表 4)。

表 4 外周血白细胞、淋巴细胞和中性粒细胞变化 (N=16)

Table 4 Changes of leukocytes, lymphocytes and neutrophils in the peripheral blood (N=16)

采样时间/d Sample time	白细胞/% Leukocyte		淋巴细胞/% Lymphocyte		中性粒细胞/% Neutrophil	
	抗性组 Test group	对照组 Control group	抗性组 Test group	对照组 Control group	抗性组 Test group	对照组 Control group
-7	9.629±0.869 ^b	9.971±0.980 ^{bb}	57.429±2.836 ^{ab}	57.571±2.419 ^a	36.857±2.251 ^{ab}	38.429±2.235 ^a
0	6.914±0.345 ^a	6.657±0.821 ^{Aa}	55.714±4.669 ^{ab}	53.286±5.818 ^a	36.143±5.045 ^{ab}	42.000±5.678 ^a
7	9.386±0.790 ^{b*}	6.657±0.559 ^{Aa}	50.857±4.239 ^a	54.000±5.682 ^a	43.000±3.055 ^a	41.286±6.432 ^a
21	8.771±0.963 ^{ab}	8.329±0.974 ^{ABab}	64.429±2.991 ^{b*}	47.857±6.617 ^a	27.857±3.641 ^b	47.286±6.661 ^{**}
30	7.443±0.691 ^{ab}	6.971±0.629 ^{Aa}	59.571±3.337 ^{ab}	51.000±6.658 ^a	33.571±1.730 ^{ab}	42.857±6.724 ^a
60	7.957±0.675 ^{ab}	8.129±0.778 ^{ABab}	56.857±4.857 ^{ab}	46.571±4.174 ^a	39.143±3.355 ^{ab}	49.143±4.636 ^a

3 讨论

本研究利用人工攻虫方法, 初步证实了理论上

筛选出的抗性单倍型绵羊具有一定的抗 *E. g* 能力。试验中 CD4⁺T 淋巴细胞 2 组间差异不显著, 但在整个试验过程抗性组外周血中 CD4⁺T 淋巴细胞始

终比无抗性组的多,这与 Gill 等^[16]报道的美利奴羊感染线虫后 CD4⁺ T 淋巴细胞的变化规律一致。Manfras 等^[17]发现,多房棘球蚴病(Alveolar Echinococcosis, AE)患者外周血 CD8⁺ T 淋巴细胞的活性受 HLA-DR 和 CD38 表达的共同控制,在 AE 病人体内 HLA-DR⁺ 外周血 CD8⁺ T 淋巴细胞显著升高,与疾病相关的 CD8⁺ T 淋巴细胞无性繁殖明显增强,HLA-DR⁺ CD4⁺ T 淋巴细胞也显著上升,CD4⁺ T/CD8⁺ T 比值和 B 淋巴细胞均无显著变化。绵羊感染 *E. g* 后体内 CD4⁺ T、CD8⁺ T 淋巴细胞的变化也可能受 MHC-DRB1、DQB1 基因的影响。本研究中 CD8⁺ T 淋巴细胞在攻虫后第 7 天抗性组显著高于对照组,可能是 *E. g* 感染后抗性羊体内 DRB1、DQB1 基因递呈外源性抗原的能力增强,CD8⁺ T 淋巴细胞的活性升高,无性繁殖增强后水平升高。CD4⁺ T/CD8⁺ T 比值无显著变化;CD4⁺ T/CD8⁺ T 的比值可以反映机体内的免疫过程,CD4⁺ T/CD8⁺ T 比值上升机体呈保护性免疫;反之则呈损伤性免疫。在寄生虫感染中 B 淋巴细胞主要参与体液免疫,同时还可诱导抗体的产生。本试验中对照组 B 淋巴细胞水平在攻虫后第 30 天显著低于攻虫前水平($P < 0.05$),提示此时非抗性绵羊对 *E. g* 的抵抗力显著下降。

研究证实棘球蚴感染后宿主体内产生的免疫球蛋白主要是 IgG 类,所有 IgG 亚类的水平也都逐渐升高。本研究中 2 组血清 IgG 水平在攻虫后均明显上升,第 21 天后开始下降。Zhang 等^[18]报道棘球蚴感染早期就可检测到 IgG₃、IgM 的存在,在人体内包裹形成后常见 IgM、IgG、IgE 水平升高。本试验中 2 组的 IgM 水平在攻虫后第 7 天都显著高于攻虫前 7 d($P < 0.05$),攻虫后第 30 天抗性组 IgM 水平显著高于对照组($P < 0.05$)。IgE 水平也有一个从攻虫后第 7 到 30 天升高的过程,但 2 组之间差异不显著。IFN- γ 是由抗原诱生的 Th1 型细胞因子,在抗寄生虫感染的防御机制中主要通过增强巨噬细胞吞噬功能和限制细胞内寄生原虫的增殖发育等方式控制感染。IFN- γ 可促进 Th1 细胞成熟,通过激活巨噬细胞杀伤虫体、抑制 *E. g* 组织的生长,试验中 IFN- γ 水平在攻虫后第 30 天抗性组显著高于对照组($P < 0.05$),表明此时抗性单倍型个体对 *E. g* 的抵抗力显著增强。

由于寄生虫感染会引起显著的细胞炎性反应,本研究分析了 *E. g* 感染中各种粒细胞的变化。抗

性羊体内白细胞、淋巴细胞水平分别在攻虫后第 7 和 21 天显著高于非抗性羊,说明 *E. g* 感染后会引引起白细胞、淋巴细胞的大量增殖来抵抗感染。张琰^[19]报道绵羊在感染 *E. g* 虫卵后 25~30 d,与抗体有关的嗜中性粒细胞可杀死 *E. g* 虫卵,抗性组嗜中性粒细胞在第 21 天时显著低于对照组,可能与这种杀伤机制有关。本研究采用人工感染的方法,初步验证了包虫病的抗性遗传标记,分析了不同的 MHC 基因单倍型个体感染 *E. g* 中的免疫应答反应,为今后绵羊包虫病的抗病机理研究奠定了基础。

4 结 论

本研究利用人工感染的方法,分析了不同的 MHC 基因单倍型绵羊感染 *E. g* 过程中的免疫应答反应,得出以下结论:抗性单倍型绵羊对 *E. g* 的抵抗力显著高于非抗性绵羊;抗性组绵羊体内的 CD8⁺ T 细胞、IgM、IFN- γ 和白细胞、淋巴细胞水平在攻虫后不同时期显著高于非抗性绵羊。

参考文献:

- [1] BALLINGALL K T, FARDOE K. Genomic organisation and allelic diversity within coding and non-coding regions of the Ovar-DRB1 locus[J]. *Immunogenetics*, 2008, 60: 95-103.
- [2] LYNN M H, WHITE S N, MICHELLE R, et al. Ovine progressive pneumonia provirus levels associate with breed and Ovar-DRB1 [J]. *Immunogenetics*, 2008, 60: 749-758.
- [3] SAYERS G, GOOD B, HANRAHAN J P, et al. Major Histocompatibility Complex DRB1 gene: its role in nematode resistance in Suffolk and Texel sheep breeds[J]. *Parasitology*, 2005, 131: 403-409.
- [4] OUTERIDGE P M, ANDERSSON L, DOUCH P G, et al. The PCR typing of MHC-DRB genes in the sheep using primers for an intronic microsatellite: application to nematode parasite resistance[J]. *Immunol Cell Biol*, 1996, 74(4): 330-336.
- [5] HOHENHAUS M A, OUTERIDGE P M. The Immunogenetics of resistance to *Trichostrongylus colubriformis* and *Haemonchus contortus* parasites in sheep[J]. *Br Vet J*, 1995, 151(2): 119-140.
- [6] SCOTT P C, MADDOX J F, GOGOLIN-EWENS K T, et al. The nucleotide sequence and evolution of ovine MHC class II B genes: DQB and DRB[J]. *Immunogenetics*, 1991, 34: 80-87.

- [7] VUITTON D A, MANTION G, BARTHOLOMOT B, et al. Parasite-host relationships and treatment [J]. *Bull Acad Natl Med*, 2008, 192(6): 1103-1116.
- [8] AZAB M E, BISHARA S A, RAMZY R M, et al. The evaluation of HLA-DRB1 antigens as susceptibility markers for unilocular cystic echinococcosis in Egyptian patients[J]. *Parasitol Res*, 2004, 92(6): 473-477.
- [9] HARRAGA S, GODOT V, BRESSON-HADNI S, et al. Profile of cytokine production within the periparasitic granuloma in human alveolar echinococcosis [J]. *Acta Trop*, 2003, 85(2): 231-236.
- [10] GODOT V, HARRAGA S, BEURTON I, et al. Resistance/susceptibility to *Echinococcus multilocularis* infection and cytokine profile in humans. II. Influence of the HLA B8, DR3, DQ2 haplotype[J]. *Clin Exp Immunol*, 2000, 121(3): 491-498.
- [11] WEDEKIND C, WALKER M, LITTLE T J. The separate and combined effects of MHC genotype, parasite clone, and host gender on the course of malaria in mice[J]. *BMC Genet*, 2006, 7: 55.
- [12] ZHANG W, YOU H, LI J, et al. Immunoglobulin profiles in a murine intermediate host model of resistance for *Echinococcus granulosus* infection[J]. *Parasite Immunol*, 2003, 25(3): 161-168.
- [13] DAI W J, WALDVOGEL A, JUNGI T, et al. Inducible nitric oxide synthase deficiency in mice increases resistance to chronic infection with *Echinococcus multilocularis*[J]. *Immunology*, 2003, 108(2): 238-244.
- [14] 彭林泽, 申 红, 贾 斌, 等. 中国美利奴羊 MHC-DRB1 基因 PCR-RFLP 多态性分析[J]. 畜牧兽医学报, 2007, 38(10): 1115-1119.
- [15] 申 红, 贾 斌, 陈玉林, 等. 中国美利奴羊 MHC-DQB1 基因多态性与包虫病的抗性分析[J]. 中国预防兽医学报, 2008, 30(9): 682-688.
- [16] GILL H S. Cell-mediated immunity in Merino lambs with genetic resistance to *Haemonchus contortus*[J]. *Int J Parasitol*, 1994, 24: 749-756.
- [17] MANFRAS B J, REUTER S, WENDLAND T, et al. Increased activation and oligoclonality of peripheral CD8⁺ T cells in the chronic human helminth infection *Alveolar Echinococcosis* [J]. *Infect Immun*, 2002, 70(3): 1168-1174.
- [18] ZHANG W B, LI J, MCMANUS D P. Concepts in Immunology and diagnosis of hydatid disease [J]. *Clin Microbiol Rev*, 2003, 16(1): 18-36.
- [19] 张 琰. 包虫病所致免疫应答及易感性的研究[D]. 乌鲁木齐:新疆医科大学, 2006:7.

(编辑 郭云雁)