

- [3] Ingram J, Knudsen G, Lim KC, *et al.* Proteomic analysis of human skin treated with larval schistosome peptidases reveals distinct invasion strategies among species of blood flukes [J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2011, 5(9): e1337.
- [4] Ohta N, Kumagai T, Maruyama HY, *et al.* Research on calpain of *Schistosoma japonicum* as a vaccine candidate [J]. *Parasitol Int*, 2004, 53(2): 175-181.
- [5] Dvořák J, Mashiyama ST, Braschi S, *et al.* Differential use of protease families for invasion by schistosome cercariae [J]. *Biochimie*, 2008, 90(2): 345-358.
- [6] Kumagai T, Maruyama H, Hato M, *et al.* *Schistosoma japonicum*: localization of calpain in the penetration glands and secretions of cercariae [J]. *Exp Parasitol*, 2005, 109(1): 53-57.
- [7] Hu S, Fung MC. Microarray analysis of genes highly expressed in cercarial stage of *Schistosoma japonicum* and the characterization of the antigen Sj20H8 [J]. *Acta Trop*, 2009, 112(1): 26-32.
- [8] Sorimachi H, Ishiura S, Suzuki K. Structure and physiological function of calpains [J]. *Biochem J*, 1997, 328(Pt3): 721-732.
- [9] Mellgren RL, Murachi T. Intracellular calcium-dependent proteolysis [M]. Boca Raton: CRC Press, 1990: 4-21.
- [10] 汪世平, 陈秀春, 高冬梅. 我国血吸虫疫苗研究进展及应用前景 [J]. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志*, 2009, 27(5): 402-411.
- [11] 高璐珊, 吴威, 侯洪烈, 等. 犬恶丝虫酪蛋白激酶2 β 亚基基因片段的克隆和原核表达 [J]. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志*, 2013, 31(4): 290-292.
- [12] 刘建, 徐斌, 张晓, 等. 日本血吸虫硫氧还蛋白-1的克隆, 表达和功能分析 [J]. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志*, 2012, 30(5): 335-340.
- [13] Zhou YP, Wu ZD, Yang LL, *et al.* Cloning, molecular characterization of a 13-kDa antigen from *Schistosoma japonicum*, Sj13, a putative salivary diagnosis candidate for schistosomiasis japonica [J]. *Parasitol Res*, 2009, 105(5): 1435-1444.
- [14] 黄江, 李波, 戴佳琳, 等. 猪带绦虫CDC37基因的克隆、表达与组织定位研究 [J]. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志*, 2013, 3(1): 21-26.
- [15] Ruppel A, Chlichlia K, Bahgat M. Invasion by schistosome cercariae: neglected aspects in *Schistosoma japonicum* [J]. *Trends Parasitol*, 2004, 20(9): 397-400.
- [16] Jankovic D, Aslund L, Oswald IP, *et al.* Calpain is the target antigen of a Th1 clone that transfers protective immunity against *Schistosoma mansoni* [J]. *J Immunol*, 1996, 157(2): 806-814.
- [17] Hota-Mitchell S, Clarke MW, Podesta RB, *et al.* Recombinant vaccinia viruses and gene gun vectors expressing the large subunit of *Schistosoma mansoni* calpain used in a murine immunization-challenge model [J]. *Vaccine*, 1999, 17(11-12): 1338-1354.
- [18] Zhang R, Yoshida A, Kumagai T, *et al.* Vaccination with calpain induces a Th1-biased protective immune response against *Schistosoma japonicum* [J]. *Infect Immun*, 2001, 69(1): 386-391.
- [19] Zhou Y, Zheng H, Chen Y, *et al.* The *Schistosoma japonicum* genome reveals features of host-parasite interplay [J]. *Nature*, 2009, 460(7253): 345-351.
- [20] 黄成玉, 卢艳, 王玮, 等. 日本血吸虫弹性蛋白酶基因的克隆、表达及虫期特异性转录 [J]. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志*, 2007, 25(5): 359-363.

(收稿日期: 2014-02-21 编辑: 衣凤芸)

文章编号: 1000-7423(2014)-02-0091-04

【研究简报】

湖北钉螺血淋巴细胞的形态及其分类的研究

郑盛邦, 周艺彪*, 李林瀚, 伍劲屹, 宋秀霞, 姜庆五

【提要】 分别提取自湖南岳阳市君山区和四川西昌市普格县采集的湖北钉螺 (*Oncomelania hupensis*) 的血淋巴细胞, 经吉氏染色后观察其形态, 鉴定和计数其细胞类型, 测量不同类型血淋巴细胞的形态特征。结果显示, 根据细胞酸碱性和胞内颗粒性质可将钉螺血淋巴细胞分为 5 类: 嗜酸性大透明细胞、嗜酸性小透明细胞、嗜碱性透明细胞、嗜碱性小颗粒细胞和嗜碱性大颗粒细胞。在 5 类细胞中, 嗜酸性小透明细胞占细胞总数比例最大, 在君山钉螺中为 36.7% (229/624), 在普格钉螺中为 31.7% (257/810); 其次是嗜碱性透明细胞, 在君山钉螺中为 23.1% (144/624), 在普格钉螺中为 24.4% (198/810); 嗜碱性大颗粒细胞所占比例最小, 分别为 9.3% (58/624) 和 11.6% (94/810)。形态学上, 嗜酸性大透明细胞长径最大、核质比最小, 嗜酸性小透明细胞次之, 碱性细胞长径较小, 核质比较大。两地钉螺血淋巴细胞构成和透明细胞形态差异无统计学意义 ($P>0.05$), 君山钉螺颗粒细胞长径和核质比均小于普格钉螺。

【关键词】 湖北钉螺; 亚种; 血淋巴细胞; 颗粒; 分类

中图分类号: R383.241

文献标识码: B

Hemocyte Morphology and Classification in *Oncomelania hupensis*

ZHENG Sheng-bang, ZHOU Yi-biao*, LI Lin-han, WU Jin-yi, SONG Xiu-xia, JIANG QING-wu

基金项目: 国家自然科学基金 (No. 30872159); 国家科技重大专项 (No. 2012ZX10004-220, 2008ZX10004-011)

作者单位: 复旦大学公共卫生学院流行病学教研室, 公共卫生安全教育部重点实验室, 复旦大学热带病研究中心, 上海 200032

* 通讯作者, E-mail: ybzhou@fudan.edu.cn

(Department of Epidemiology, School of Public Health, Fudan University; Key Laboratory of Public Health Safety, Ministry of Education; Tropical Disease Research Center, Fudan University, Shanghai 200032, China)

[Abstract] Hemocytes were collected from *Oncomelania hupensis* in Junshan, Hunan Province and Puge, Sichuan Province, respectively, and stained with Giemsa solution for light microscopic examination. The cells were classified morphologically. Five types of hemocytes were identified, viz., large acidophilic hyalinocytes, small acidophilic hyalinocytes, basophilic hyalinocytes, basophilic small granulocytes and basophilic large granulocytes. The proportion of small acidophilic hyalinocytes was the most abundant hemocyte [36.7% (229/624) in snails from Junshan and 31.7% (257/810) in snails from Puge], followed by basophilic hyalinocyte [23.1% (144/624) in Junshan and 24.4% (198/810) in Puge]. Basophilic large granulocyte was about 9.3% (58/624) in Junshan and 11.6% (94/810) in Puge. The length of large acidophilic hyalinocytes was the maximum and its nucleocytoplasmic ratio was minimum, followed by small acidophilic hyalinocytes. The length of basophilic cells was shorter and its nucleocytoplasmic ratio was smaller than those of acidophilic cells. There was no significant difference in cellular constituents of hemocytes and the morphological features of hyalinocytes between the snails from Junshan and Puge, while the length and nucleocytoplasmic ratio of granulocytes in Junshan snails were smaller than those of Puge ones.

[Key words] *Oncomelania hupensis*; Subspecies; Hemocyte; Granule; Classification

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30872159) and the National Major Special Science and Technology Project of China (No. 2012ZX10004-220, 2008ZX10004-011)

* Corresponding author, E-mail: ybzhou@fudan.edu.cn

湖北钉螺 (*Oncomelania hupensis*) 是日本血吸虫惟一的中间宿主, 对血吸虫病的传播流行至关重要^[1]。在中国大陆分布的湖北钉螺可分为 4 个亚种: 指名亚种 (*Oncomelania hupensis hupensis*)、滇川亚种 (*Oncomelania hupensis robertsoni*)、广西亚种 (*Oncomelania hupensis guangxiensis*) 和福建亚种 (*Oncomelania hupensis tangi*)^[2], 这些钉螺与不同地域血吸虫的相容性具有较大差别^[3]。研究发现一些螺类血淋巴细胞能够识别螺体内“自己”和“非己”, 从而对侵入螺体内的血吸虫幼虫进行杀灭, 阻止血吸虫幼虫的生长繁殖, 进而阻断血吸虫病的传播^[4-6]。因此, 研究螺类血淋巴细胞的形态、功能及其免疫学特性具有重要意义。螺类血淋巴细胞分类的分歧很大, 尚无统一的分类标准, 国际上通用方法是按照细胞有无颗粒来进行分类, 血淋巴细胞胞内颗粒可能与抵抗血吸虫感染的能力有关^[7]。国外有研究按此标准对双脐螺 (*Biomphalaria*) 的血淋巴细胞进行分类, 但国内无该类报道, 而是按照细胞的形态对钉螺血淋巴细胞进行分类^[8], 这种分类方法未将细胞的性质考虑在内。为探讨不同亚种钉螺血淋巴细胞的形态及其分类, 本研究对湖南君山和四川普格两地湖北钉螺 (以下简称君山钉螺和普格钉螺) 的血淋巴细胞进行研究, 根据其颗粒的有无和大小对两地钉螺血淋巴细胞进行分类, 并比较其形态差别。

1 材料与方法

1.1 钉螺来源 君山钉螺采自湖南省岳阳市君山区 (113°0' E, 29°43' N), 孳生地为湖沼型地区; 普格钉螺采自四川省西昌市普格县 (102°53' E, 27°38' N), 孳生地为山丘型地区。采用逸蚴法鉴别钉螺是否感染血吸虫, 每个地区取 15 只阴性钉螺于实验室饲养 1 周后备用。

1.2 主要试剂 0.01 mol/L 无钙镁 PBS 缓冲液和 10% 吉氏染液均购自北京鼎国昌盛生物技术有限公司, 无水甲醇为上海振兴

化工一厂产品。

1.3 钉螺血淋巴细胞的提取、制片和观察 参照文献 [9] 的方法, 将钉螺的尾尖端剪去, 保留体螺旋和体前螺旋后, 破壳取头足部软体, 钉螺血淋巴细胞主要集中于此。将 15 只阴性钉螺软体在无钙镁 PBS 缓冲液中洗涤 3 次, 在缓冲液用镊子夹碎软体后, 置 250 目尼龙筛网过滤, 1 000×g 离心 8 min, 弃上清获得大量钉螺血淋巴细胞。将血淋巴细胞沉淀滴 2~3 滴于干净的载玻片上, 室温晾干, 无水甲醇固定, 再室温晾干后固定 1 次, 10% 吉氏染液染色 30 min。1 000 倍镜下随机取 30 个视野, 计数 5 种类型的细胞 (分别为嗜酸性大透明细胞、嗜酸性小透明细胞、嗜碱性透明细胞、嗜碱性小颗粒细胞和嗜碱性大颗粒细胞), 计算各种类型细胞所占的比例, 并测量不同类型细胞的长径和短径, 以及核的长径和短径, 每种类型细胞测量 50 个。

1.4 统计学分析 使用 SPSS 20.0 软件对数据进行统计分析, 细胞间长径的比较使用 *t* 检验或方差分析, 核质比的比较使用秩和检验。检验水平为 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 基本情况 君山钉螺有纵肋, 属指明亚种, 长约 8~10 mm; 普格钉螺为壳壳钉螺, 无纵肋, 属滇川亚种, 长约 6~8 mm。钉螺采集后经逸蚴法鉴别, 血吸虫感染均为阴性。

2.2 细胞的分类 根据细胞的酸碱性和胞质中颗粒的性质, 将钉螺血淋巴细胞分为 5 类, 即嗜酸性大透明细胞、嗜酸性小透明细胞、嗜碱性透明细胞、嗜碱性小颗粒细胞和嗜碱性大颗粒细胞。

2.2.1 嗜酸性大透明细胞 细胞呈圆形, 长径 > 20 μm , 细胞核较小, 居中, 多呈圆形, 细胞边界难以区分。吉氏染色后细胞呈紫红色, 细胞核呈深紫红色, 胞浆内充满密集的紫红色丝

状物，无颗粒或仅有少量颗粒，细胞核质比较小（图 1A、B）。

2.1.2 嗜酸性小透明细胞 细胞多呈圆形，细胞较大，长径约为 15 μm，细胞核较小，居细胞中央，呈圆形。吉氏染色后细胞呈紫红色，胞浆内含有紫红色丝状物，多无颗粒，核质比小于 0.05（图 1C、D）。

2.1.3 嗜碱性透明细胞 该类细胞多呈卵圆形，细胞核较大，呈卵圆形。吉氏染色后细胞核呈淡紫红色，胞质呈淡蓝色或透明，细胞内不含颗粒，核质比为 7~10（图 1E、F）。

2.1.4 嗜碱性小颗粒细胞 细胞呈卵圆形或梭形，细胞较小，细胞核呈卵圆形或梭形，居于细胞一侧。吉氏染色后细胞呈蓝色，胞质内含有较多的小颗粒，核质比低于嗜碱性透明细胞（图 1G、H）。

2.1.5 嗜碱性大颗粒细胞 细胞多呈卵圆形，少部分呈梭形，细胞较小，核多呈卵圆形。吉氏染色后细胞呈蓝色，胞质内含含有大颗粒，但数量较少，核质比在 7~10 之间（图 1I、J）。

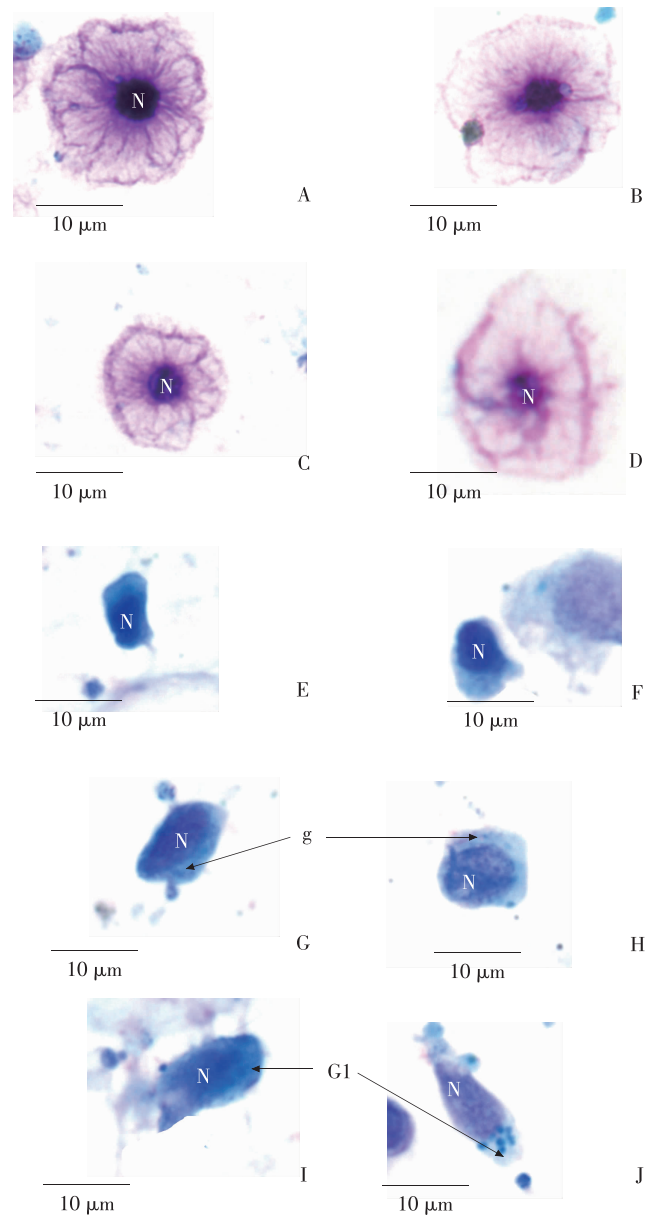
2.2 两地钉螺血淋巴细胞的比较

2.2.1 不同类型细胞的构成比 5 种类型细胞中，嗜酸性小透明细胞所占比例最大，在君山钉螺中为 36.7% (229/624)，在普格钉螺中为 31.7% (257/810)；其次是嗜碱性透明细胞，在君山钉螺中为 23.1% (144/624)，在普格钉螺中为 24.4% (198/810)；嗜碱性大颗粒细胞所占比例最小，在君山钉螺中为 9.3% (58/624)，在普格钉螺中为 11.6% (94/810)(表 1)。

表 1 君山、普格两地钉螺血淋巴细胞构成比

细胞分类	君山钉螺		普格钉螺	
	数量	构成比/%	数量	构成比/%
嗜酸性大透明细胞	121	19.4	149	18.4
嗜酸性小透明细胞	229	36.7	257	31.7
嗜碱性透明细胞	144	23.1	198	24.4
嗜碱性小颗粒细胞	72	11.5	112	13.8
嗜碱性大颗粒细胞	58	9.3	94	11.6
合计	624	100	810	100

2.2.2 不同类型细胞的形态 在君山钉螺的血淋巴细胞中，5 类细胞的细胞长径差异有统计意义 ($P<0.05$)，嗜酸性大透明细胞的细胞长径最大，为 29.149 μm，嗜酸性小透明细胞次之，为 14.394 μm，嗜碱性透明细胞的细胞长径大于嗜碱性大颗粒细胞，为 12.621 μm，但差异无统计学意义 ($P>0.05$)，嗜碱性小颗粒细胞的细胞长径最小，为 9.545 μm。嗜碱性细胞之间核质比差异无统计学意义 ($P>0.05$)，而嗜酸性大透明细胞



A: 君山钉螺嗜酸性大透明细胞; B: 普格钉螺嗜酸性大透明细胞; C: 君山钉螺嗜酸性小透明细胞; D: 普格钉螺嗜酸性小透明细胞; E: 君山钉螺嗜碱性透明细胞; F: 普格钉螺嗜碱性透明细胞; G: 君山钉螺嗜碱性小颗粒细胞; H: 普格钉螺嗜碱性小颗粒细胞; I: 君山钉螺嗜碱性大颗粒细胞; J: 普格钉螺嗜碱性大颗粒细胞。N: 细胞核; g: 小颗粒; G1: 大颗粒。

图 1 钉螺不同类型血淋巴细胞

表 2 君山、普格两地钉螺不同类型血淋巴细胞形态特征

细胞分类	君山钉螺				普格钉螺			
	细胞长径/μm	核长径/μm	核质比	体积($\times 10^3$)/μm ³	细胞长径/μm	核长径/μm	核质比	体积($\times 10^3$)/μm ³
嗜酸性大透明细胞	29.149±6.423 (27.263, 31.035)	7.301±2.554 (6.551, 8.051)	0.019±0.016 (0.015, 0.025)	146.43±109.33 (120.92, 177.33)	28.803±6.603 (26.771, 30.836)	8.225±2.854 (7.346, 9.103)	0.027±0.021 (0.022, 0.034)	112.07±75.00 (97.06, 129.39)
嗜酸性小透明细胞	14.394±3.156 (13.477, 15.311)	4.292±1.140 (3.961, 4.623)	0.030±0.021 (0.025, 0.035)	18.96±14.57 (15.49, 23.20)	15.485±2.820 (14.676, 16.296)	4.565±8.10 (4.332, 4.797)	0.031±0.022 (0.026, 0.037)	21.43±15.02 (18.36, 25.01)
嗜碱性透明细胞	12.621±2.441 (12.025, 13.216)	8.272±1.697 (7.858, 8.686)	0.474±0.334 (0.414, 0.542)	6.85±5.00 (5.91, 7.95)	13.031±2.913 (12.185, 13.877)	8.952±1.953 (8.385, 9.519)	0.543±0.383 (0.463, 0.637)	6.45±4.45 (5.57, 7.48)
嗜碱性小颗粒细胞	9.545±1.529 (9.230, 9.860)	6.365±1.289 (6.099, 6.630)	0.413±0.295 (0.366, 0.466)	2.88±1.95 (2.62, 3.18)	11.517±3.874 (10.534, 12.502)	7.721±2.564 (7.070, 8.372)	0.537±0.377 (0.469, 0.616)	3.07±2.08 (2.73, 3.47)
嗜碱性大颗粒细胞	12.105±2.513 (11.331, 12.878)	7.465±1.890 (6.883, 8.047)	0.464±0.356 (0.376, 0.573)	3.90±2.54 (3.47, 4.39)	13.511±2.287 (12.887, 14.135)	9.046±1.874 (8.535, 9.558)	0.832±0.619 (0.699, 0.991)	4.66±3.18 (4.07, 5.33)

注: 括弧内为 95% 可信区间; 核质比和体积的数据属于非正态分布, 其均值、标准差和 95% 可信区间是将数据 ln 转换后的正态分布均数和标准差经反对数转换后求得的。

的核质比为 0.019, 小于嗜酸性小透明细胞的核质比 (0.030) ($P < 0.05$), 为 5 类细胞中最小。在普格钉螺的血淋巴细胞中, 5 类细胞的长径差异也有统计学意义 ($P < 0.05$)。嗜酸性大透明细胞最大, 为 28803 μm , 嗜酸性小透明细胞次之, 为 15485 μm , 嗜碱性透明细胞的细胞长径小于嗜碱性大颗粒细胞, 但两者的差别无统计学意义 ($P > 0.05$), 嗜碱性小颗粒细胞的最小, 为 7.721 μm 。嗜酸性大透明细胞的核质比 (0.027) 小于嗜酸性小透明细胞的 (0.031), 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 两者均小于嗜碱性细胞。嗜碱性透明细胞与嗜碱性小颗粒细胞的核质比也无明显差别 ($P > 0.05$), 嗜碱性大颗粒细胞核质比最大, 为 0.832。

君山钉螺嗜碱性小颗粒细胞和碱性大颗粒细胞长径均小于普格钉螺嗜碱性小颗粒细胞 ($P < 0.05$)。君山钉螺嗜酸性大透明细胞、嗜碱性小颗粒细胞和嗜碱性大颗粒细胞核质比均小于普格钉螺的 ($P < 0.05$)。其他细胞的长径和核质比, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$) (表 2)。

3 讨论

螺类血淋巴细胞的分类目前较为通用的分类方法是由 Takatsuki (1934) 首次提出, 将血淋巴细胞分为透明细胞和颗粒细胞。随后, Sminia 等^[10]和 Yoshino 等^[11]建议将螺类血淋巴细胞按其性质分为伸展性阿米巴细胞、圆形阿米巴细胞和透明细胞 3 类。伸展性阿米巴细胞有伪足伸出, 伪足胞浆不着色, 圆形阿米巴细胞核质比较大, 胞浆嗜碱性, 无颗粒或仅有少量颗粒, 透明细胞较小, 胞浆无颗粒^[12]。Bezerra 等^[13]使用中性红将循环血淋巴细胞分为两类: 不被中性红染色的透明细胞和被中性红染色的颗粒细胞。根据细胞中颗粒的有无对双脐螺的血淋巴细胞进行分类是因为颗粒细胞和透明细胞在抵抗血吸虫感染方面具有不同的免疫作用。Seta 等^[14]和 Oliveira^[15]等发现颗粒细胞具有免疫防御作用, 而透明细胞免疫作用较弱或无免疫作用。而在国内, 张红梅等^[8]将钉螺血淋巴细胞按照细胞形态分为圆形具有丝状伪足细胞、嗜酸性圆形无丝状伪足细胞、嗜碱性圆形无丝状伪足细胞和梭形细胞, 王晓勤等^[16]观察到具有活跃伪足的伸展性阿米巴细胞。研究中同样发现钉螺血淋巴细胞具有免疫防御功能, 能够抑制金黄色葡萄球菌和大肠埃希菌的生长^[8], 具有吞噬醛化羊红细胞的能力^[16], 但并未提及不同类型淋巴细胞免疫作用的差别。为了后续观察钉螺不同淋巴细胞免疫作用的差别, 本研究参照国外对双脐螺血淋巴细胞的分类方法, 按照胞内颗粒的有无和大小进行分类, 又因嗜酸性细胞和嗜碱性细胞形态差异较大, 故最终将钉螺血淋巴细胞分为 5 类: 嗜酸性大透明细胞、嗜酸性小透明细胞、嗜碱性透明细胞、嗜碱性小颗粒细胞和嗜碱性大颗粒细胞。与透明细胞相比, 颗粒细胞较小, 核质比较大, 形态的不同以及颗粒的有无可能与免疫功能相关。

双脐螺的血淋巴细胞在抵抗血吸虫感染方面具有重要作用^[17], 钉螺血淋巴细胞同样具有抵抗血吸虫幼虫感染的能力, 但不同亚种的钉螺对血吸虫的易感型亦不相同。指名亚种与滇川亚种是流行最为广泛的两个亚种钉螺, 但两者对不同地域血吸虫的相容性相差较大^[3], 故本试验采集两地不同亚种的钉

螺, 经试验发现两地钉螺的透明细胞没有明显差别, 但君山钉螺颗粒细胞长径和核质比均小于普格钉螺的。而钉螺的颗粒细胞与透明细胞免疫性质是否相同, 不同地域钉螺与血吸虫相容性的差别是否与血淋巴细胞的不同有关, 尚需进一步探究。

参 考 文 献

- [1] 王海银, 何宗, 周艺彪, 等. 洞庭湖区钉螺生存状态观察[J]. 复旦学报(医学版), 2010, 37(4): 430-433.
- [2] 周艺彪, 姜庆五, 赵根明, 等. 中国大陆钉螺的亚种分化[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2007, 19(6): 485-487.
- [3] 何毅勋, 郭源华, 倪传华, 等. 中国大陆日本血吸虫品系的研究 I. 幼虫-钉螺的相容性 [J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 1990, 8(2): 92-95.
- [4] Loker ES, Bayne CJ. *In vitro* encounters between *Schistosoma mansoni* primary sporocysts and hemolymph components of susceptible and resistant strains of *Biomphalaria glabrata* [J]. Am J Trop Med Hyg, 1982, 31(5): 999-1005.
- [5] Bayne CJ, Buckley PM, DeWan PC. Macrophage-like hemocytes of resistant *Biomphalaria glabrata* are cytotoxic for sporocysts of *Schistosoma mansoni in vitro* [J]. J Parasitol, 1980, 66(3): 413-419.
- [6] Hahn UK, Bender RC, Bayne CJ. Killing of *Schistosoma mansoni* sporocysts by hemocytes from resistant *Biomphalaria glabrata*: role of reactive oxygen species [J]. J Parasitol, 2001, 87(2): 292-299.
- [7] Martins-Souza RL, Pereira CAJ, Coelho PMZ, et al. Flow cytometry analysis of the circulating haemocytes from *Biomphalaria glabrata* and *Biomphalaria tenagophila* following *Schistosoma mansoni* infection[J]. Parasitology, 2009, 136(1): 67-76.
- [8] 张红梅, 诸葛洪祥, 王玉芳, 等. 钉螺血淋巴细胞及其功能的研究[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2007, 25(2): 141-145.
- [9] 张红梅, 诸葛洪祥, 陆祥彬, 等. 钉螺血淋巴细胞制备染色体 [J]. 中国人兽共患病学报, 2007, 23(4): 384-385.
- [10] Sminia T, Barendsen L. A comparative morphological and enzyme histochemical study on blood cells of the freshwater snails *Lymnaea stagnalis*, *Biomphalaria glabrata*, and *Bulinus truncatus* [J]. J Morphol, 1980, 165(1): 31-39.
- [11] Yoshino TP. The ultrastructure of circulating hemolymph cells of the marine snail *Cerithidea californica* (Gastropoda: Prosobranchiata) [J]. J Morphol, 1976, 150(2): 485-493.
- [12] 王晓勤. 腹足类血淋巴细胞的研究 [J]. 国外医学寄生虫病分册, 1994, 21(2): 52-55.
- [13] Bezerra JC, Becker W, Zelck UE. A comparative study of the organic acid content of the hemolymph of *Schistosoma mansoni*-resistant and susceptible strains of *Biomphalaria glabrata* [J]. Mem Inst Oswaldo Cruz, 1997, 92(3): 421-425.
- [14] de Seta L, Magalhães LA, de Carvalho JF. Behavior of hemolymph amebocytes from Planorbidae in the presence of *Schistosoma mansoni* larvae parasitism, after inoculation of Indian ink or fracture of the shell [J]. Rev Saude Pub, 1996, 30(4): 332-340.
- [15] Oliveira ALD, Levada PM, Zanotti-Magalhaes EM, et al. Differences in the number of hemocytes in the snail host *Biomphalaria tenagophila*, resistant and susceptible to *Schistosoma mansoni* infection [J]. Genet Mol Res, 2010, 9(4): 2436-2445.
- [16] 王晓勤, 裘丽妹, 何毅勋, 等. 湖北钉螺血淋巴细胞的形态及其吞噬功能 [J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 1994, 12(2): 100-103.
- [17] Mitta G, Galinier R, Tisseyre P, et al. Gene discovery and expression analysis of immune-relevant genes from *Biomphalaria glabrata* hemocytes [J]. Dev Comp Immunol, 2005, 29(5): 393-407.

(收稿日期: 2013-06-26 编辑: 衣凤芸)