

动物寄生性蠕虫基因组学研究进展

杨 洋¹, 付宝权^{1,2*}

(1. 中国农业科学院兰州兽医研究所 家畜疫病病原生物学国家重点实验室 农业部兽医公共卫生重点开放实验室 甘肃省动物寄生虫病重点实验室, 兰州 730046; 2. 江苏省动物重要疫病与人兽共患病防控协同创新中心, 扬州 225009)

摘 要: 动物(人)寄生性蠕虫病主要由寄生性线虫、吸虫和绦虫引起, 严重威胁着人和动物的健康, 但目前尚无有效的防治措施。近年来, 随着测序技术的不断发展, 越来越多种类的寄生性蠕虫基因组序列被测定和解析, 寄生性蠕虫的生物学特征也被更深层次地挖掘。本文中作者将就寄生性蠕虫全基因组测序现状、基因的组成及特征、功能基因组的研究等进行综述, 为深入了解寄生性蠕虫的起源、进化和致病机制, 以及为寄生性蠕虫病的诊断、新药设计和疫苗研发提供新的思路。

关键词: 寄生性蠕虫; 基因组测序; 功能基因组学

中图分类号: S852.73

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2017)06-0979-11

Advances on Animal Parasitic Helminth Genomics

YANG Yang¹, FU Bao-quan^{1,2*}

(1. State Key Laboratory of Veterinary Etiological Biology/ Key Laboratory Veterinary Public Health of the Ministry of Agriculture/ Key Laboratory of Veterinary Parasitology of Gansu Province, Lanzhou Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou 730046, China; 2. Jiangsu Co-innovation Center for Prevention and Control of Important Animal Infectious Disease, Yangzhou 225009, China)

Abstract: Animal (human) parasitic helminthiasis are mainly caused by parasitic nematodes, trematodes and cestodes, which are seriously threat to human and animal health, but there are no effective prevent and control measures at the current time. With the rapid development of genome sequencing technology in recent years, increasing numbers of parasitic helminth genomes have been sequenced, the biological characteristics of helminth parasite were deeply analyzed. This paper reviews the present situation of the whole genome sequencing of parasitic helminth, the composition and characteristics of the genomes and the advancement in functional genomics, which will provide the base-data for study of the evolution and pathogenic mechanism of parasitic helminth, and for development of diagnostic methods, new medicines and vaccines for parasitic helminthiasis.

Key words: parasitic helminth; whole genome sequencing; functional genomics

动物寄生性线虫、吸虫和绦虫是严重威胁家畜健康, 制约畜牧业的发展, 危及人和家畜生命健康且分布广泛的蠕虫。许多动物寄生性蠕虫能引

起人兽共患病, 世界上超过三分之一的人正在遭受着蠕虫感染的威胁^[1]。全球每年仅因绦虫幼虫感染(包虫病)造成的损失就高达 20 亿美元^[2]。

收稿日期: 2016-12-02

作者简介: 杨 洋(1990-), 女, 云南水富人, 硕士, 主要从事畜禽人兽共患寄生虫病分子生物学方面的研究, E-mail: yangyang2014418@163.com

* 通信作者: 付宝权, 研究员, E-mail: fubaoquan@163.com

但对于大多数蠕虫病而言,现有的预防和治疗效果均不太理想,缺乏有效的早期诊断措施、疫苗和治疗药物。

随着分子生物学技术的日益成熟和人类基因组计划的提出,人类及各类生物包括动物、植物和微生物的基因组研究得到迅猛发展。近年来,寄生性蠕虫的基因组研究也获得了快速发展。寄生虫基因组研究的陆续实施,不但有助于全面深入地了解神秘的寄生现象,而且在不同物种之间和群体水平为寄生虫的起源和进化、寄生虫的致病机制、新药物的设计、疫苗和诊断研发等问题提供快速有效的研究方向。笔者通过对寄生性蠕虫的基因组测序现状、基因组结构和组成特点、功能基因组等方面的研究作简要综述,以期为蠕虫病的防治及抗蠕虫疫苗的研制和新的药物靶标的筛选提供思路。

1 寄生性蠕虫全基因组测序概况

1.1 测序技术

DNA 测序技术是寄生虫全基因组研究的重要手段。自 1977 年第一代测序技术出现以来,经过近 40 年的发展,DNA 测序技术取得重大进展。从需要 PCR 扩增的第一代 Sanger 测序法和以高通量为特点的第二代合成测序法,已经发展到了无需 PCR

扩增、以单分子测序为特点的高通量、低成本的第三代测序技术^[3-6]。第一代测序技术的测序读长较长、测序精度较高,且已经规模化,但是其测序成本高、速率较低等不足限制了其进一步推广应用。与第一代测序技术相比,第二代测序技术不仅具有更高的测序速率和测序覆盖深度,而且测序成本较低。目前主要有三种商业化的二代测序技术,即 Roche 公司的 454、Illumina 公司的 Solexa、HiSeq 和 ABI 公司的 SOLiD。Roche 454 测序系统作为第一个商业化运营二代测序技术的平台,在第二代测序中读长最长,但其样品制备较难,准确率低,成本高^[3];Solexa 及其升级版 HiSeq 测序技术具有很高的测序通量,是目前性价比最高,应用最广泛的测序技术,但其仪器昂贵,用于数据删节和分析的费用很高;SOLiD 测序技术拥有二代测序反应中最高通量,其独特之处在于在边合成边测序过程中以连接反应取代聚合反应^[7],但测序运行时间长,读长短,造成成本高,数据分析困难和基因组拼接困难。第三代测序技术不需要 PCR 扩增步骤,极大地提高了测序速度,更能反映样本的真实情况,并且在序列读长、测序通量以及试剂成本等方面具有显著的优势,但是其测序准确率较低^[5],规模化应用尚需时日(表 1)。

表 1 三代测序技术的特点

Table 1 The characteristics of three generation sequencing technology

测序技术 Sequencing technology	平台 Platform	测序方法 Sequencing method	平均读长 Read length (Average)	错误率/% Error rate
第一代	Sanger	Sanger 毛细管电泳测序法	1 000 bp	0.001
	454	焦磷酸测序法	400 bp	~1
第二代	HiSeq 2000/HiSeq 2500	可逆链终止物和合成测序法	100~150 bp	≥0.1
	SOLiD	连接测序法	50 bp	>0.06
第三代	PacBio RS	实时单分子 DNA 测序法	3~10 kb	~15
	Ion Torrent PGM	合成测序法	10 ¹⁰ ~2×10 ¹⁰ bp	~1

1.2 测序概况

自 1998 年模式生物秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)全基因组测序完成以来^[8],随着测序技术的不断发展,完成全基因组测序的寄生虫数量逐年增多。根据 WormBase 数据库^[9]和 NCBI

数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)所提供的数据库,迄今为止,共完成 44 种动物寄生性蠕虫的全基因组测序并已公开发表,其中吸虫 6 种、绦虫 7 种、线虫 31 种(数据更新到 2016 年 11 月,表 2^[10-35])。

表 2 已发表的动物寄生性蠕虫全基因组参考信息

Table 2 The published of complete parasitic helminth genome sequencing

物种 Species	基因组 大小/Mb Genome size	测序技术 Sequencing technology	组装水平 Assembly level	Contig N50/bp	GC 含量/% GC content	编码基因 Coding genes	登录号 Accession No.	发表情况 Published information
吸虫 Trematode								
华支睾吸虫 <i>Clonorchis sinensis</i>	547	Illumina	Scaffold	233 037	44.1	13 634	GCA_000236345.1	Y. Huang 等(2013) ^[10]
肝片吸虫 <i>Fasciola hepatica</i>	1 275	Illumina	Scaffold	12 161	44.3	22 676	GCA_000947175.1	K. Cwiklinski 等(2015) ^[11]
麝猫后睾吸虫 <i>Opisthorchis viverrini</i>	620	Illumina	Scaffold	36 994	43.8	16 356	GCA_000715545.1	N. D. Young 等(2014) ^[12]
埃及血吸虫 <i>Schistosoma haematobium</i>	376	Illumina	Scaffold	22 446	35.1	10 493	GCA_000699445.1	N. D. Young 等(2012) ^[13]
日本血吸虫 <i>Schistosoma japonicum</i>	403	WGS	Scaffold	6 121	34.1	12 738	GCA_000151775.1	Y. Zhou 等(2009) ^[14]
曼氏血吸虫 <i>Schistosoma mansoni</i>	365	WGS	Chromosome	76 721	35.3	10 772	GCA_000237925.2	M. Berriman 等(2009) ^[15]
绦虫 Cestode								
细粒棘球绦虫 <i>Echinococcus granulosus</i>	111	454; Illumina	Contig	42 483	41.7	11 319	GCA_000524195.1	H. J. Zheng 等(2013) ^[16]
多房棘球绦虫 <i>Echinococcus multilocularis</i>	115	WGS; Illumina	Scaffold	219 470	41.9	10 245	GCA_000469785.1	I. J. Tsai 等(2013) ^[17]
猪带绦虫 <i>Taenia solium</i>	130	454; Illumina	Scaffold	11 270 870	42.5	10 663	GCA_000469725.3	I. J. Tsai 等(2013) ^[17]
牛带绦虫 <i>Taenia saginata</i>	169	454; Illumina	Scaffold	165 332	42.89	12 481	GCA_001870725.1	I. J. Tsai 等(2013) ^[17]
亚洲带绦虫 <i>Taenia asiatica</i>	168	Illumina	Scaffold	142 979	43.2	13 161	GCA_001693075.2	S. Wang 等(2016) ^[18]
欧氏迭宫绦虫 <i>Spirometra erinaceieuropaei</i>	1 259	Illumina	Scaffold	116 010	43.2	13 323	GCA_001693035.2	S. Wang 等(2016) ^[18]
微口膜壳绦虫 <i>Hymenolepis microstoma</i>	182	454; Illumina	Scaffold	1 236	46.0	39 557	GCA_000951995.1	H. M. Bennett 等(2014) ^[19]
线虫 Nematode								
猪蛔虫 <i>Ascaris suum</i>	273	Illumina	Scaffold	251 576	36.0	12 368	GCA_000469805.2	I. J. Tsai 等(2013) ^[17]
犬弓首蛔虫 <i>Toxocara canis</i>	317	Illumina	Scaffold	22 226	37.9	18 542	GCA_000298755.1	A. R. Jex 等(2011) ^[19]
				18 797	40.4	18 596	GCA_000803305.1	X. Q. Zhu 等(2015) ^[21]

(转下页 Carried forward)

(续表 2 Continued)

物种 Species	基因组 大小/Mb Genome size	测序技术 Sequencing technology	组装水平 Assembly level	Contig N50/bp	GC 含量/% GC content	编码基因 Coding genes	登录号 Accession No.	发表情况 Published information
乳突类圆线虫 <i>Strongyloides papillosus</i>	60	Illumina	Scaffold	76 990	25.6	18 456	GCA_000936265.1	V. L. Hunt 等 (2016) ^[22]
鼠类圆线虫 <i>Strongyloides ratti</i>	43	454; Illumina	chromosome	1 652 408	21.57	12 448	GCA_001040885.1	V. L. Hunt 等 (2016) ^[22]
粪类圆线虫 <i>Strongyloides stercoralis</i>	43	Illumina	Scaffold	419 556	22.1	13 098	GCA_000947215.1	V. L. Hunt 等 (2016) ^[22]
委内瑞拉类圆线虫 <i>Strongyloides venezuelensis</i>	52	Illumina	Scaffold	293 296	25.1	16 904	GCA_001028725.1	V. L. Hunt 等 (2016) ^[22]
<i>Parastrongyloides tric-</i> <i>hosuri</i> (无对应中文名)	42	Illumina	Scaffold	120 746	28.4	15 010	GCA_000941615.1	V. L. Hunt 等 (2016) ^[22]
胎生网尾线虫 <i>Dictyocaulus viviparus</i>	161	454	Scaffold	12 688	34.8	13 514	GCA_000816705.1	S. N. McNulty 等 (2016) ^[23]
捻转血矛线虫 <i>Haemonchus contortus</i>	370	Illumina	Scaffold	23 747	43.4	21 869	GCA_000469685.1	R. Laing 等 (2013) ^[24]
锡兰钩口线虫 <i>Ancylostoma ceylanicum</i>	313	Illumina	Scaffold	25 353	43.5	36 687	GCA_000688135.1	E. M. Schwarz 等 (2015) ^[25]
美洲板口线虫 <i>Necator americanus</i>	244	454	Scaffold	5 429	40.2	19 153	GCA_000507365.1	Y. T. Tang 等 (2014) ^[26]
彭亨布鲁丝虫 <i>Brugia pahangi</i>	90	Illumina	Scaffold	42 155	28.3	14 674	GCA_000951115.1	Y. L. Lau 等 (2015) ^[27]
马来丝虫 <i>Brugia malayi</i>	94	WGS	Scaffold	20 202	31.5	11 429	GCA_000002995.2	E. Ghedin 等 (2007) ^[28]
犬恶丝虫 <i>Dirofilaria immitis</i>	85	Illumina	Contig	15 147	28.0	12 857	GCA_001077395.1	C. Godel 等 (2012) ^[29]
罗阿丝虫 <i>Loa loa</i>	96	PACBIO_SMRT	Contig	180 288	30.8	12 473	GCA_000733445.1	L. J. Tallon 等 (2014) ^[30]
鼠鞭虫 <i>Trichuris muris</i>	84	454; Illumina	Scaffold	47 836	44.8	11 004	GCA_000612645.1	B. J. Foth 等 (2014) ^[31]
毛首鞭形线虫 <i>Trichuris trichiura</i>	76	Illumina	Scaffold	65 229	42.2	9 650	GCA_000613005.1	B. J. Foth 等 (2014) ^[31]

(转下页 Carried forward)

(续表 2 Continued)

物种 Species	基因组 大小/Mb Genome size	测序技术 Sequencing technology	组装水平 Assembly level	Contig N50/bp	GC 含量/% GC content	编码基因 Coding genes	登录号 Accession No.	发表情况 Published information
猪鞭虫 <i>Trichuris suis</i>	74	Illumina	Scaffold	77 954	43.3	14 436	GCA_000701005.1	A. R. Jex 等(2014) ^[32]
旋毛虫 <i>Trichinella spiralis</i>	64	ABI 3730	Scaffold	76 707	33.9	16 380	GCA_000181795.2	M. Makedonka 等(2011) ^[33]
布氏旋毛虫 <i>Trichinella britovi</i>	52	Illumina	Scaffold	104 317	33.8	16 058	GCA_001447585.1	P. K. Korhonen 等(2016) ^[34]
米氏旋毛虫 <i>Trichinella murrelli</i>	49	Illumina	Scaffold	98 153	33.7	14 852	GCA_001447425.1	P. K. Korhonen 等(2016) ^[34]
乡土旋毛虫 <i>Trichinella nativa</i>	48	Illumina	Scaffold	104 143	33.6	13 545	GCA_001447565.1	P. K. Korhonen 等(2016) ^[34]
纳氏旋毛虫 <i>Trichinella nelsoni</i>	47	Illumina	Scaffold	141 065	33.6	13 229	GCA_001447455.1	P. K. Korhonen 等(2016) ^[34]
巴布亚旋毛虫 <i>Trichinella papuae</i>	47	Illumina	Scaffold	153 339	32.8	11 837	GCA_001447755.1	P. K. Korhonen 等(2016) ^[34]
<i>Trichinella patagoniensis</i> (无对应中文名)	50	Illumina	Scaffold	121 031	33.7	15 319	GCA_001447655.1	P. K. Korhonen 等(2016) ^[34]
伪旋毛虫 <i>Trichinella pseudospiralis</i>	46	Illumina	Scaffold	59 291	32.6	11 005	GCA_001447445.1	P. K. Korhonen 等(2016) ^[34]
旋毛虫 T6 <i>Trichinella sp. T6</i>	51	Illumina	Scaffold	106 131	33.5	15 241	GCA_001447435.1	P. K. Korhonen 等(2016) ^[34]
旋毛虫 T8 <i>Trichinella sp. T8</i>	49	Illumina	Scaffold	120 751	33.6	14 919	GCA_001447745.1	P. K. Korhonen 等(2016) ^[34]
旋毛虫 T9 <i>Trichinella sp. T9</i>	49	Illumina	Scaffold	113 887	33.6	13 111	GCA_001447505.1	P. K. Korhonen 等(2016) ^[34]
津巴布韦旋毛虫 <i>Trichinella zimbabweensis</i>	51	Illumina	Scaffold	114 936	33.0	14 764	GCA_001447665.1	P. K. Korhonen 等(2016) ^[34]
班氏线虫 <i>Wuchereria bancrofti</i>	90	Illumina HiSeq	Scaffold	53 640	29.1	11 068	GCA_001555675.1	S. T. Small 等(2016) ^[35]

WGS. 全基因组鸟枪法

WGS. Whole-genome shotgun

2 动物寄生性蠕虫的基因组组成和特点

动物寄生性蠕虫是一类营寄生生活的生物,相对于高等脊椎动物,其基因组除了核(染色体)基因组和线粒体基因组外,一些动物寄生性线虫(如马来丝虫、犬恶丝虫)还具有内共生菌基因组。

2.1 核(染色体)基因组

基因组大小:动物寄生性蠕虫核基因组大小变化范围较大,为42~1 275 Mb,其中,吸虫的基因组整体上大于绦虫和线虫的基因组;重复序列:不同寄生性蠕虫所含重复序列的比例不同,其中,线虫的核基因组重复序列所占的比例为4.4%~29%;吸虫的基因组含有大量的重复序列,所占比例在25.6%~47.2%;绦虫核基因组所含重复序列比例较小,仅为10%左右,但欧猿迭宫绦虫是个例外,其重复序列高达43%(537 Mb),其中长散布序列占16%,短散布序列占4%,长末端重复序列占2%,未分类的重复序列占19%^[19];碱基含量:动物寄生性蠕虫基因组AT碱基含量较为丰富,GC碱基含量在21%~46%。

2.2 线粒体基因组

线粒体是由两层质膜包被的细胞器,几乎存在于所有的真核生物中,它有一套独立于核染色体的基因组。与核基因组相比,线粒体基因组编码的基因数目相对稳定,具有母系遗传的特点。线粒体基因组不仅突变率较高,而且进化速度更快,能够更好地反应种、株乃至型间的差异,多用于评价物种的种系发生^[36]。蠕虫线粒体基因组变化范围很小,在13.6~16.7 kb,富含AT碱基,蛋白编码区约占70%^[36]。

2.3 内共生菌基因组

目前,已发现绝大多数引起人类和动物疾病的丝虫(除罗阿丝虫 *Loa loa* 和链尾丝虫 *Dipetalonema streptocerca* 外)均含有沃尔巴克体(*Wolbachia*, Wb)共生菌,Wb具有促进丝虫生长发育、繁殖及在宿主体内生存等功能^[37-38],抗立克次体的抗生素能够作用于动物宿主体内的丝虫,使其发育迟缓。因此,对丝虫病的防治可以从研究Wb的基因组入手,以期寻找新的疫苗和药物靶点。

丝虫的Wb基因组很小,仅有0.9~1.4 Mb。其中,马来丝虫Wb基因组大小为1.1 Mb^[39],GC含量为34.14%,编码805个基因;彭亨丝虫Wb基因组大小为1.4 Mb,GC含量为34.18%,含有803

个基因^[27]。

3 寄生性蠕虫功能基因组学研究进展

基因组学的研究内容主要包括结构基因组学(structural genomics)和功能基因组学(functional genomics)。结构基因组学以确定基因组成、定位为目标;功能基因组学又称为后基因组学(post genomics),它以结构基因组学的知识为基础,以发现基因功能、基因表达分析及其突变检测为目标。功能基因组学研究技术主要包括基因敲除、转基因技术、RNA干扰技术、CRISPR/CAS9基因编辑技术、基因诱变技术、生物芯片技术、基因表达系列分析、抑制削减杂交技术、生物信息学等技术^[40]。

人类基因组精细图谱的完成,标志着基因组学研究由结构基因组学转向后基因组学。随着寄生性蠕虫基因组全序列测定的相继完成,其功能基因组学的研究也得到迅速发展。寄生性蠕虫功能基因组学的研究有助于揭示其基因组所包含的信息,促进全面了解寄生虫生物学特征及寄生虫与宿主之间的相互作用关系,为建立新的寄生虫病诊断方法、药物靶标和疫苗候选分子的筛选以及寄生虫病的防控带来希望。

3.1 寄生性蠕虫的代谢途径

动物寄生性蠕虫的营养物质代谢主要包括碳水化合物代谢、脂类代谢、氨基酸代谢以及核苷酸代谢。完整的碳水化合物代谢途径包括糖酵解、三羧酸循环和磷酸戊糖途径,但不同寄生虫的代谢途径各有其独特的特征。如通过分析KEGG通路,发现细粒棘球绦虫具有完整的碳水化合物代谢途径^[16];华支睾吸虫基因组中存在较多的糖酵解途径所需的己糖激酶、烯醇酶、丙酮酸激酶和乳酸脱氢酶的基因拷贝数^[41],日本血吸虫能够利用葡萄糖载体蛋白转运葡萄糖,并且大量表达与糖酵解途径(而非三羧酸循环)有关的酶基因^[42],这表明华支睾吸虫、日本血吸虫所需要的能量主要来源于以乳酸为终产物的糖酵解途径。

大多数动物寄生性蠕虫缺乏合成脂类的能力,因此这类营养物质必须从宿主体内获得。例如曼氏血吸虫不能从头合成甾体和脂肪酸,其脂类代谢主要建立在载脂蛋白从宿主体内获取合成脂类的前体物质的基础之上^[15];华支睾吸虫的脂肪酸合成途径中仅有3-氧化酰基合成酶II、乙酰辅酶A羧化酶和丙二酰转移酶S,缺乏从头合成脂肪酸的关键酶基

因^[41]; 绦虫和血吸虫一样缺乏从头合成脂肪酸和胆固醇的能力, 它们使用脂肪酸载体和脂类增长酶来从宿主那里获得必需的脂肪, 在这一过程中还需要几种绦虫特异性基因家族的参与, 比如脂肪酸结合蛋白(FABP)以及载脂蛋白 B 抗原^[17]。对于棘球属绦虫中终期幼虫来说脂肪酸的摄取似乎非常重要, 因为脂肪酸结合蛋白(FABP)和载脂蛋白 B 抗原家族是表达水平最高的基因^[17]。虽然多数动物寄生性蠕虫能够合成一定数量的氨基酸, 但日本血吸虫丢失了从头合成氨基酸的相关基因^[14], 细粒棘球绦虫也缺乏从头合成嘧啶、嘌呤和大部分氨基酸(除了丙氨酸、天冬氨酸、谷氨酸)的能力^[16], 这类营养物质也必须从宿主体内获得。动物寄生性蠕虫的核苷酸合成主要分为从头合成和补救合成两种途径, 而细粒棘球绦虫没有合成核苷酸的能力, 只能从其宿主体内获取^[16]。

3.2 寄生性蠕虫的发育和繁殖

对动物寄生性蠕虫的基因组进行研究, 发现了与发育和繁殖相关的基因。在华支睾吸虫的基因组中鉴定出了 53 个与性别发育相关的基因, 其中 SOX6 和 DMRT1 基因对于华支睾吸虫的性别发育至关重要^[41]; 在细粒棘球绦虫中发现了与分化和有性生殖相关的基因, 细粒棘球绦虫的原头蚴具有独特的双向发育的能力, 这意味着原头蚴既能在中间宿主(人类)体内发育为棘球蚴又能在终末宿主(狗)肠道内发育为成虫, 这一过程由胆汁刺激所致^[16]; 血吸虫基因组含有许多与生长和发育相关的内分泌激素受体的基因, 所编码的蛋白受体分子与宿主的相比非常保守, 推测该受体分子除了与吸虫自身合成的激素结合, 还可能与宿主分泌的激素结合以调节虫体生长发育, 适应寄生生活^[14]。这些基因的发现对于阐明寄生虫的生长、发育和繁殖等过程并且在寄生虫病的诊断、治疗和预防等方面具有指导意义。

3.3 寄生性蠕虫与宿主间的相互关系

寄生虫和宿主之间通过神经-体液系统而相互作用, 这种体系形成了以信号分子-受体为基础的信息传递网络, 以促进生物间的信息交流, 这在寄生虫和宿主间的相互作用过程中起着至关重要的作用。具体表现在两个方面: 其一是寄生虫产生信号分子调节宿主细胞的功能。大多数动物寄生性蠕虫的 ES 产物可作为免疫调节剂而被宿主识别, 通过调节宿主免疫应答而形成利于寄生虫寄生的环

境^[43]。然而, 蠕虫产生的某些信号分子具有致癌潜力, 如埃及血吸虫分泌的雌二醇样分子能够诱导宿主细胞的肿瘤发生^[13], 华支睾吸虫基因组编码的颗粒蛋白生长因子在低浓度下就能促进宿主细胞增殖, 因此可能会诱导人类宿主的胆管癌^[41]。其二是寄生虫受宿主的刺激和调节。寄生性蠕虫的感觉神经系统能够接收来自宿主的物理和化学刺激, 研究表明血吸虫有原始的中枢神经系统和较为完善的外周感觉神经系统, 能接受周围环境发出的声、光、机械振动等信号, 有助于侵入宿主并到达营养丰富的器官(如肝门静脉、肠静脉等处)寄生^[14]。另外, 血吸虫能编码一些与生长、发育和成熟相关的受体, 除了接受自身合成的内分泌激素, 还可以接受宿主的激素作用, 甚至形成依赖宿主内分泌激素的寄生状态^[14]。但是, 与日本血吸虫相比, 细粒棘球绦虫的神经-内分泌系统比较简单且并不完整, 缺乏下丘脑垂体分泌的多数激素和受体^[16]。

3.4 寄生性蠕虫的侵入和免疫逃避

寄生虫能够侵入宿主并寄生在适宜的组织器官或细胞内。绝大多数寄生性蠕虫为内寄生虫, 它们主要以释放蛋白酶消化宿主组织的方式侵入宿主。常见的蛋白酶包括组织蛋白酶家族成员, 这类蛋白质广泛存在于动物细胞中。寄生虫组织蛋白酶主要促进宿主蛋白质水解以消化宿主组织, 这在寄生性蠕虫侵入的过程中起着至关重要的作用^[44-45]。血吸虫的基因组研究表明, 血吸虫能够编码并分泌弹力蛋白酶, 消化宿主(如人、牛等)皮肤组织而进入体内^[15]; 猪蛔虫和犬弓首蛔虫的分泌蛋白中含有丰富的肽酶, 与穿透及降解宿主组织相关^[21, 46]; 华支睾吸虫的基因组研究发现丝氨酸蛋白酶、金属蛋白酶和天冬氨酸蛋白酶可能在其免疫入侵过程中发挥重要作用^[41]。

寄生虫可以侵入免疫功能正常的宿主体内, 并能逃避宿主的免疫效应, 而在宿主体内生存、发育, 甚至繁殖, 这种现象称为免疫逃避(immunoevasion)。寄生性蠕虫有多种免疫逃避措施, 如抗原变异、抗原伪装、调节宿主的免疫应答以及建立隔离屏障等。1) 抗原变异: 寄生虫通过其表面抗原变异来对抗宿主的免疫反应是寄生虫免疫逃避的重要措施, 是寄生虫在长期巨大生产压力下进化出来的能力, 在多房棘球蚴中就发现了虫体抗原发生变异的现象^[47]; 2) 抗原伪装: 某些动物寄生性蠕虫能以宿主抗原伪装自己, 以逃避宿主的免疫反应。如棘球

蚴能够表达和绵羊宿主体内某些物质相似的抗原,从而逃避绵羊的免疫应答^[47];3) 免疫抑制:寄生虫能释放某些免疫抑制因子抑制宿主的免疫应答或者直接破坏宿主的免疫应答,如改变宿主的细胞因子的反应活性,调节 Th1/Th2 细胞因子的平衡。如细粒棘球绦虫拥有 EgAgB 家族在内的一系列基因,这些基因的产物能够干扰并改变宿主的免疫反应^[47];4) 建立隔离屏障:旋毛虫^[48]、棘球蚴^[49]等能够在宿主组织内形成包囊,作为逃避免疫反应的有效屏障,以保证包囊内寄生虫的存活。

3.5 寄生性蠕虫病的诊断和治疗

3.5.1 新的诊断靶标 寄生虫病最可靠的诊断方法为病原体检查,但由于寄生虫病原检出率低,因此对寄生虫病进行早期诊断和治疗常常难以实现。免疫学诊断和分子生物学诊断具有较高的特异性和灵敏性。随着寄生性蠕虫基因组信息的不断更新,有望找到新的诊断靶标,推动寄生虫病诊断技术的发展。1) 免疫诊断:免疫诊断的靶标通常是寄生虫特异的结构蛋白、分泌物以及针对特定病原体的抗体。如细粒棘球绦虫的分泌蛋白 EgAgB、EG10 及 TPx 等均有望作为血清学诊断的目标分子^[16]。2) 分子诊断:比较基因组学可以用来鉴定寄生虫核苷酸序列的属特异性或种特异性,利用这些特异的核苷酸序列(如多房棘球绦虫的线粒体基因 *rrnL*)设计引物或制作探针可作为诊断靶标^[50]。

3.5.2 新型药物候选分子 生物大分子(如蛋白质)是抗寄生虫药物的主要研究对象^[51],寄生性蠕虫基因组的研究有助于鉴别种特异蛋白质或对蠕虫生理功能有重要作用的蛋白质,从而确定新的药物靶标。目前研究的药物靶标主要有关键酶、结构蛋白(如膜通道和受体)、调节分子(如激素和激酶)以及其他生物大分子。从猪蛔虫的基因组序列中鉴定了 5 类新的药物靶标(如 GTP 酶、激酶、肽酶和磷酸酶等),这些药物靶标具有种属特异性,可以选择性地杀死猪蛔虫,而不会给宿主造成损害^[20]。美洲钩虫的核受体 DAF-12 是一种重要的转录因子,它通过与胆酸化合物相互作用来调节幼虫的发育并能抑制其发育进程^[52];H. J. Zheng 等分析了细粒棘球绦虫基因组中丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶、酪氨酸蛋白激酶、丝氨酸蛋白酶和核激素的编码基因,发现这些信号通路分子都是有效的药物靶标^[16]。另外,所有已测序的寄生性绦虫基因组中都存在半胱氨酸蛋白酶抑制剂和植物螯合蛋白合酶,这些抑制剂和酶

在绦虫与宿主的相互作用之间起着至关重要的作用,并且参与重金属的解毒,因此可以作为最具潜力的候选药靶^[17-18, 53];microRNA 分子通过 RNA 干扰能够抑制基因的表达,这是寄生虫本身的一种内源调控途径,也是设计、合成药物进行干预的新途径,基因组研究已经发现线虫体内存在 RNA 干扰相关基因(如 *sid-1* 和 *drsh-1*)^[28, 54]。

3.5.3 新型疫苗候选分子 寄生性蠕虫的特异蛋白质可以作为免疫抗原激活宿主免疫应答系统,从而使机体产生免疫记忆,继而阻止病原体的再次入侵,这些特异性的蛋白质是潜在的疫苗分子^[55]。寄生性蠕虫基因组学的研究促进了新的疫苗靶点的发现。寄生虫分泌的半胱氨酸蛋白酶是一种介导寄生虫侵入宿主的蛋白酶,具有一定程度的种属特异性,不同亚型的半胱氨酸蛋白酶疫苗可以用来抵抗不同的寄生虫^[56-58]。寄生虫脂肪酸结合蛋白(FABP)能够结合和转运宿主体内的脂肪酸作为能量物质,吸虫脂肪酸结合蛋白具有良好的交叉保护力,可以作为潜在的预防吸虫病的疫苗分子^[59-60]。曼氏血吸虫跨膜蛋白 Sm29 能够诱导人类 Th1 型免疫应答,从病人血清中可以分离出 IgG1 和 IgG3 抗体,这表明 Sm29 具有作为疫苗预防曼氏血吸虫病的潜力^[61-62]。

4 展望

4.1 测定更多蠕虫全基因组序列

自 1998 年首个模式生物秀丽隐杆线虫全基因组序列测定以来,在随后的 10 年间,仅有 3 个动物寄生性蠕虫完成全基因组序列测定,但 2009 年之后至今,已经完成了 29 个,进展迅速。尽管如此,所测定的寄生虫尚不能全覆盖动物寄生性蠕虫物种,仅仅是“九牛一毛”。因此动物寄生性蠕虫全基因组测序和数据库资料的不断积累和完善仍是今后研究的热点和发展方向。目前,国际上已经启动蠕虫基因组计划,拟对 50 种蠕虫进行基因组序列测定与分析。

4.2 第二代高通量测序技术与第三代单分子测序技术的应用

第二代高通量测序技术已经广泛地应用于各项研究领域中,但其读长较短,使得序列拼接、组装以及注释等生物信息学分析较为困难,并且该技术以 PCR 为基础,扩增后的 DNA 片段数目比例有偏差,对基因的表达分析产生很大影响。第三代测序技术

不需要 PCR 扩增,更能反映样本的真实情况,并且测序速度更快,成本更低,具有超长测序读长等特点,弥补了二代测序技术的缺点。因此,在今后的基因组测序研究中,第二代和第三代测序技术的联合应用将会越来越多。

4.3 基因组拼接注释软件的开发与利用

由于生物基因组具有多样性,单一的基因组拼接注释软件不能满足不同物种基因组的拼接和注释。因此,除利用现有的一些软件外,相应软件的开发也迫在眉睫。

4.4 动物寄生性蠕虫基因组数据库数据利用与挖掘

随着越来越多的动物寄生性蠕虫基因组序列的测定,基因组数据库的数据量也在飞速扩增。因此,对现有基因组数据库数据进行挖掘也将成为今后的研究方向之一。

5 结 语

综上所述,DNA 测序技术的快速发展使得生物全基因组测序迎来了前所未有的机遇和挑战。动物寄生性蠕虫全基因组序列测定与分析促使人类以一种新的、全面的视野看待寄生虫及其与宿主的关系。全基因组测序的动物寄生性蠕虫数目正在迅速增加,动物寄生性蠕虫全基因组结构与功能研究将成为生命科学领域面临的新课题,研究成果将有助于揭示寄生虫的起源与进化,为寄生虫病诊断、新药设计及疫苗研制等方面开辟广阔的前景,最终为控制甚至消灭人和动物寄生性蠕虫病奠定坚实的基础。

参考文献(References):

- [1] BRINDLEY P J, MITREVA M, GHEDIN E, et al. Helminth genomics: the implications for human health[J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2009, 3(10): e538.
- [2] TORGERSON P R, MACPHERSON C N L. The socioeconomic burden of parasitic zoonoses: global trends[J]. *Vet Parasitol*, 2011, 182(1): 79-95.
- [3] MARGULIES M, EGHOLM M, ALTMAN W E, et al. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors[J]. *Nature*, 2005, 437(7057): 376-380.
- [4] MARDIS E R. Next-generation DNA sequencing methods[J]. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 2008, 9(1): 387-402.
- [5] DELSENY M, HAN B, HSING Y I. High throughput DNA sequencing: the new sequencing revolution [J]. *Plant Sci*, 2010, 179(5): 407-422.
- [6] MUNROE D J, HARRIS T J R. Third-generation sequencing fireworks at Marco Island[J]. *Nat Biotechnol*, 2010, 28(5): 426-428.
- [7] SMITH D R, QUINLAN A R, PECKHAM H E, et al. Rapid whole-genome mutational profiling using next-generation sequencing technologies[J]. *Genome Res*, 2008, 18(10): 1638-1642.
- [8] The *C. elegans* Sequencing Consortium. Genome sequence of the nematode *C. elegans*: a platform for investigating biology[J]. *Science*, 1998, 282(5396): 2012-2018.
- [9] HOEW K L, BOLT B J, CAIN S, et al. WormBase 2016: expanding to enable helminth genomic research [J]. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44(D1): D774-D780.
- [10] HUANG Y, CHEN W, WANG X, et al. The carcinogenic liver fluke, *Clonorchis sinensis*: new assembly, reannotation and analysis of the genome and characterization of tissue transcriptomes [J]. *PLoS One*, 2013, 8(1): e54732.
- [11] CWIKLINSKI K, DALTON J P, DUFRESNE P J, et al. The *Fasciola hepatica* genome: gene duplication and polymorphism reveals adaptation to the host environment and the capacity for rapid evolution[J]. *Genome Biol*, 2015, 16(1): 71.
- [12] YOUNG N D, NAGARAJAN N, LIN S J, et al. The *Opisthorchis viverrini* genome provides insights into life in the bile duct[J]. *Nat Commun*, 2014, 5(5): 4378.
- [13] YOUNG N D, JEX A R, LI B, et al. Whole-genome sequence of *Schistosoma haematobium* [J]. *Nat Genet*, 2012, 44(2): 221-225.
- [14] ZHOU Y, ZHENG H J, CHEN X Y, et al. The *Schistosoma japonicum* genome reveals features of host-parasite interplay [J]. *Nature*, 2009, 460(7253): 345-351.
- [15] BERRIMAN M, HAAS B J, LOVERDE P T, et al. The genome of the blood fluke *Schistosoma mansoni* [J]. *Nature*, 2009, 460(7253): 352-358.
- [16] ZHENG H J, ZHANG W B, ZHANG L, et al. The genome of the hydatid tapeworm *Echinococcus granulosus* [J]. *Nat Genet*, 2013, 45(10): 1168-1175.
- [17] TSAI I J, ZAROWIECKI M, HOLROYD N, et al. The genomes of four tapeworm species reveal adaptations to parasitism [J]. *Nature*, 2013, 496(7443): 57-63.

- [18] WANG S, WANG S, LUO Y F, et al. Comparative genomics reveals adaptive evolution of Asian tape-worm in switching to a new intermediate host[J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 12845.
- [19] BENNETT H M, MOK H P, GKRANIA-KLOTSAS E, et al. The genome of the sparganosis tape-worm *Spirometra erinaceieuropaei* isolated from the biopsy of a migrating brain lesion[J]. *Genome Biol*, 2014, 15(11): 510.
- [20] JEX A R, LIU S P, LI B, et al. *Ascaris suum* draft genome[J]. *Nature*, 2011, 479(7374): 529-533.
- [21] ZHU X Q, KORHONEN P K, CAI H M, et al. Genetic blueprint of the zoonotic pathogen *Toxocara canis*[J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 6145.
- [22] HUNT V L, TSAI I J, COGHLAN A, et al. The genomic basis of parasitism in the strongyloides clade of nematodes[J]. *Nat Genet*, 2016, 48(3):299-307.
- [23] MCNULTY S N, STRÜBE C, ROSA B A, et al. *Dictyocaulus viviparus* genome, variome and transcriptome elucidate lungworm biology and support future intervention[J]. *Sci Rep*, 2016, 6:20316.
- [24] LAING R, KIKUCHI T, MARTINELLI A, et al. The genome and transcriptome of *Haemonchus contortus*, a key model parasite for drug and vaccine discovery[J]. *Genome Biol*, 2013, 14(8):R88.
- [25] SCHWARZ E M, HU Y, ANTOSHECHKIN I, et al. The genome and transcriptome of the zoonotic hookworm *Ancylostoma ceylanicum* identify infection-specific gene families[J]. *Nat Genet*, 2015, 47(6):416-422.
- [26] TANG Y T, GAO X, ROSA B A, et al. Genome of the human hookworm *Necator americanus* [J]. *Nat Genet*, 2014, 46(3):261-269.
- [27] LAU Y L, LEE W C, XIA J Q, et al. Draft genome of *Brugia pahangi*: high similarity between *B. pahangi* and *B. malayi*[J]. *Parasites Vect*, 2015, 8(1): 451.
- [28] GHEDIN E, WANG S L, SPIRO D, et al. Draft genome of the filarial nematode parasite *Brugia malayi* [J]. *Science*, 2007, 317(5845): 1756-1760.
- [29] GODEL C, KUMAR S, KOUTSOVOULOS G, et al. The genome of the heartworm, *Dirofilaria immitis*, reveals drug and vaccine targets[J]. *Faseb J*, 2012, 26(11):4650-4661.
- [30] TALLON L J, LIU X, BENNURU S, et al. Single molecule sequencing and genome assembly of a clinical specimen of *Loa loa*, the causative agent of loiasis [J]. *BMC Genomics*, 2014, 15(1):788.
- [31] FOTH B J, TSAI I J, REID A J, et al. Whipworm genome and dual-species transcriptome analyses provide molecular insights into an intimate host-parasite interaction[J]. *Nat Genet*, 2014, 46(7):693.
- [32] JEX A R, NEJSUM P, SCHWARZ E M, et al. Genome and transcriptome of the porcine whipworm *Trichuris suis*[J]. *Nat Genet*, 2014, 46(7):701-706.
- [33] MAKEDONKA M, JASMER D P, ZARLENGA D S, et al. The draft genome of the parasitic nematode *Trichinella spiralis* [J]. *Nat Genet*, 2011, 43(3): 228-235.
- [34] KORHONEN P K, POZIO E, LA R G, et al. Phylogenomic and biogeographic reconstruction of the *Trichinella* complex[J]. *Nat Commun*, 2016, 7(2): 10513.
- [35] SMALL S T, REIMER L J, TISCH D J, et al. Population genomics of the filarial nematode parasite *wuchereria bancrofti* from mosquitoes[J]. *Mol Ecol*, 2016, 25(7):1465-1477.
- [36] 贾万忠, 闫鸿斌, 倪兴维, 等. 蠕虫线粒体基因组研究及其应用进展[J]. *科学通报*, 2011, 56(28-29): 2358-2372.
- JIA W Z, YAN H B, NI X W, et al. Advances in the study of helminth mitochondrial genomes and their associated applications[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2012, 57(1): 54-67.
- [37] TAYLOR M J, BANDI C, HOERAUF A. *Wolbachia*. Bacterial endosymbionts of filarial nematodes [J]. *Adv Parasitol*, 2005, 60: 245-284.
- [38] SCOTT A L, GHEDIN E, NUTMAN T B, et al. Filarial and *Wolbachia* genomics[J]. *Parasite Immunol*, 2012, 34(2-3): 121-129.
- [39] FOSTER J, GANATRA M, KAMAL I, et al. The *Wolbachia* genome of *Brugia malayi*: endosymbiont evolution within a human pathogenic nematode[J]. *PLoS Biol*, 2005, 3(4): e121.
- [40] 艾琳, 陈韶红, 陈家旭. 重要人兽共患寄生虫功能基因组学研究进展[J]. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志*, 2011, 29(1): 58-63.
- AI L, CHEN S H, CHEN J X. Progress on functional genomics of some important zoonotic parasites [J]. *Chinese Journal of Parasitology and Parasitic Diseases*, 2011, 29(1): 58-63. (in Chinese)
- [41] WANG X Y, CHEN W J, HUANG Y, et al. The draft genome of the carcinogenic human liver fluke *Clonorchis sinensis*[J]. *Genome Biol*, 2011, 12(10):

- R107.
- [42] HU W, YAN Q, SHEN D K, et al. Evolutionary and biomedical implications of a *Schistosoma japonicum* complementary DNA resource[J]. *Nat Genet*, 2003, 35(2): 139-147.
- [43] HARNETT W. Secretory products of helminth parasites as immunomodulators[J]. *Mol Biochem Parasitol*, 2014, 195(2): 130-136.
- [44] VILLA-MANCERA A, REYNOSO-PALOMAR A, UTRERA-QUINTANA F, et al. Cathepsin L1 mimotopes with adjuvant Quil A induces a Th1/Th2 immune response and confers significant protection against *Fasciola hepatica* infection in goats[J]. *Parasitol Res*, 2014, 113(1): 243-250.
- [45] ROBINSON M W, DALTON J P, DONNELLY S. Helminth pathogen cathepsin proteases: it's a family affair[J]. *Trends Biochem Sci*, 2008, 33(12): 601-608.
- [46] LI M W, LIN R Q, SONG H Q, et al. The complete mitochondrial genomes for three *Toxocara* species of human and animal health significance[J]. *BMC Genomics*, 2008, 9(1): 224.
- [47] KOSINSKI R J. Antigenic variation in trypanosomes: a computer analysis of variant order[J]. *Parasitology*, 1980, 80(2): 343-357.
- [48] 王学林, 王心蕊, 吴秀萍, 等. 旋毛虫 T668 基因转录及表达的时空特性鉴定[J]. *中国兽医学报*, 2008, 28(11): 1292-1295.
- WANG X L, WANG X R, WU X P, et al. Identification of transcription and expression of *Trichinella spiralis* T668 gene[J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2008, 28(11): 1292-1295. (in Chinese)
- [49] DEMATTEIS S, ROTTENBERG M, BAZ A. Cytokine response and outcome of infection depends on the infective dose of parasites in experimental infection by *Echinococcus granulosus* [J]. *Parasite Immunol*, 2003, 25(4): 189-197.
- [50] KNAPP J, MILLON L, MOUZON L, et al. Real time PCR to detect the environmental faecal contamination by *Echinococcus multilocularis* from red fox stools[J]. *Vet Parasitol*, 2014, 201(1-2): 40-47.
- [51] HORN D, DURAISINGH M T. Antiparasitic chemotherapy: from genomes to mechanisms[J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2014, 54(1): 71-94.
- [52] RANA A K, MISRA-BHATTACHARYA S. Current drug targets for helminthic diseases[J]. *Parasitol Res*, 2013, 112(5): 1819-1831.
- [53] GREGORY W F, MAIZELS R M. Cystatins from filarial parasites: evolution, adaptation and function in the host-parasite relationship[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2008, 40(6-7): 1389-1398.
- [54] WANG J B, CZECH B, CRUNK A, et al. Deep small RNA sequencing from the nematode *Ascaris* reveals conservation, functional diversification, and novel developmental profiles[J]. *Genome Res*, 2011, 21(9): 1462-1477.
- [55] HILLYER G V. *Fasciola* antigens as vaccines against fascioliasis and schistosomiasis[J]. *J Helminthol*, 2005, 79(3): 241-247.
- [56] CHANTREE P, PHATSARA M, MEEMON K, et al. Vaccine potential of recombinant cathepsin B against *Fasciola gigantica* [J]. *Exp Parasitol*, 2013, 135(1): 102-109.
- [57] BAIG S, DAMIAN R T, MORALES-MONTOR J, et al. Protection from murine cysticercosis by immunization with a parasite cysteine protease [J]. *Microbes Infect*, 2006, 8(12-13): 2733-2735.
- [58] SKUCE P J, REDMOND D L, LIDDELL S, et al. Molecular cloning and characterization of gut-derived cysteine proteinases associated with a host protective extract from *Haemonchus contortus* [J]. *Parasitology*, 1999, 119(4): 405-412.
- [59] LEE J S, KIM I S, SOHN W M, et al. A DNA vaccine encoding a fatty acid-binding protein of *Clonorchis sinensis* induces protective immune response in Sprague-Dawley Rats[J]. *Scand J Immunol*, 2006, 63(3): 169-176.
- [60] TENDLER M, VILAR M M, BRITO C A, et al. Vaccination against schistosomiasis and fascioliasis with the new recombinant antigen Sm14: potential basis of a multi-valent anti-helminth vaccine? [J]. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 1995, 90(2): 255-256.
- [61] CARDOSO F C, MACEDO G C, GAVA E, et al. *Schistosoma mansoni* tegument protein Sm29 is able to induce a Th1-type of immune response and protection against parasite infection[J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2008, 2(10): e308.
- [62] CARDOSO F C, PACÍFICO R N A, MORTARA R A, et al. Human antibody responses of patients living in endemic areas for schistosomiasis to the tegumental protein Sm29 identified through genomic studies[J]. *Clin Exp Immunol*, 2006, 144(3): 382-391.