

细粒棘球绦虫蛋白质组学研究进展

徐梦飞^{1,2}, 卢平萍^{1,2}, 马 勋², 张艳艳¹, 王伟焯^{1,2}, 孟季蒙¹, 王正荣^{1*}, 薄新文^{1*}

(1. 省部共建绵羊遗传改良与健康养殖国家重点实验室/新疆农垦科学院畜牧兽医研究所, 石河子 832000;
2. 石河子大学动物科技学院, 石河子 832000)

摘 要: 随着人类基因组计划(Human genomic project, HGP)的实施和推进, 生命科学研究已进入后基因组时代, 而蛋白质组学是后基因组时代生命科学研究的热门之一。包虫病作为一种重要的人兽共患病, 给人类带来了巨大的健康威胁和经济损失, 因此, 包虫病的预防、诊断和治疗是人们迫切需要研究的课题, 本文就近几年细粒棘球绦虫蛋白质组学研究的进展进行叙述, 并对相关的研究方法和手段作出科学的论述, 旨在阐述细粒棘球绦虫与宿主在分子水平的相互作用方式, 为包虫病的疫苗研发、诊断标志物和诊断药物靶点的筛选提供参考。

关键词: 细粒棘球绦虫; 原头蚴; 蛋白质组学; 包虫病

中图分类号: S852.734

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2018)03-0466-11

Advances in *Echinococcus granulosus* Proteomics

XU Meng-fei^{1,2}, LU Ping-ping^{1,2}, MA Xun², ZHANG Yan-yan¹,
WANG Wei-ye^{1,2}, MENG Ji-meng¹, WANG Zheng-rong^{1*}, BO Xin-wen^{1*}

(1. State Key Laboratory of Sheep Genetic Improvement and Healthy Production/Institute of Animal Husbandry and Veterinary, Xinjiang Academy of Agricultural and Reclamation Sciences, Shihezi 832000, China; 2. College of Animal Science and Technology, Shihezi University, Shihezi 832000, China)

Abstract: With the Human genome project's (HGP) implementation and propulsion, life science research has entered a post-genome era. In this era, proteomics has become a hot study of life science. Echinococcosis is a significant health burden for humans in developing world and also lead to substantial economic losses in livestock production around the world. Therefore, the prevention, diagnosis and treatment had been a major issue in parasite research. This paper reviews present advances in the proteomics of *Echinococcus granulosus* (*E. granulosus*), highlights some means and methods. This will highlight some of the advances that have been made in understanding the host-parasite in *E. granulosus* infection, provide the base-data for development of diagnostic methods, new medicine and vaccines for *E. granulosus*.

Key words: *Echinococcus granulosus*; protoscolex; proteomics; echinococcosis

细粒棘球绦虫(*Echinococcus granulosus*, *E. g.*), 系带科、棘球属绦虫, 其拥有复杂的生活史, 包括虫卵、六钩蚴、棘球蚴、成虫等 4 个发育阶段, 以及两任

宿主^[1]。其成虫主要寄生于犬科食肉动物, 如犬、狼等(终末宿主), 幼虫寄生于牛、羊等食草动物和人(中间宿主)。包虫病是由细粒棘球绦虫的幼虫引起

收稿日期: 2017-08-21

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973 计划)(2015CB150300); 国家自然科学基金(31360608); 新疆生产建设兵团科技攻关(2014BA002); 新疆生产建设兵团国际科技合作(2013BC001)

作者简介: 徐梦飞(1992-), 男, 新疆呼图壁人, 硕士生, 主要从事寄生虫分子生物学研究, E-mail: 458816582@qq.com

* 通信作者: 王正荣, 助理研究员, 主要从事寄生虫分子生物学研究, E-mail: wzrtiger@sina.com; 薄新文, 博士, 研究员, 硕士生导师, 主要从事寄生虫分子生物学研究, E-mail: 851661263@qq.com

的重要人畜共患病,对人类的健康和养殖业的发展构成严重的威胁,并且其分布相当广泛^[2],在亚洲、欧洲、非洲、北美洲的高原及气候寒冷的牧区与半牧区较为流行,被 WHO 列为严重的“被忽视的热带病”^[3-5]。中国是包虫病流行较为严重的国家之一,主要在西部的牧区和半牧区,其中 20 多个省、自治区和直辖市都已证实有包虫病感染的病例,主要流行于四川西部、甘肃、内蒙、宁夏、青海、西藏和新疆,在 2012 年被列为《国家中长期动物疫病防治规划(2012—2020 年)》优先防治的国内动物疫病^[6]。

在早期预防阶段,除在包虫病流行区进行健康教育之外,疫苗预防是主要的预防方法。近些年,在包虫病研究中,主要包括疫苗候选分子、药物靶点和诊断标志物的筛选,而了解细粒棘球绦虫蛋白构成情况是以上工作的基础和前提,蛋白质组学是从整体水平对细粒棘球绦虫的蛋白质进行大规模研究和探索,为包虫病的预防和治疗探索新的方法和思路^[2]。下面将从相关的研究方法和进展等方面进行阐述。

1 细粒棘球绦虫蛋白质组学研究的主要技术和手段

目前蛋白质组学研究的内容包括三个方面,即蛋白质分离、鉴定和生物信息学分析,其中蛋白质分离和鉴定的核心技术是双向凝胶电泳和质谱技术,而生物信息学分析必须先建立蛋白质数据库,后进行蛋白质预测及功能分析等操作。下面将从以上三个方面进行概述。

1.1 双向凝胶电泳

双向凝胶电泳(2-dimensional gel electrophoresis, 2-DE)是当前用于分离组织、细胞蛋白质最有效的分离手段^[7],其能够同时将数千种蛋白质分离和展示。2-DE 结合了等电聚焦技术和 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳技术。通常第一维电泳是等电聚焦电泳,根据蛋白质等电点不同将其分离,第二维电泳是 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳,根据相对分子量对蛋白质进行分离^[3]。这样各个蛋白质根据等电点和分子量的不同而被分离、分布在二维图谱上。

由于双向电泳具有很高的分辨率,在细粒棘球绦虫蛋白质组学研究中应用广泛,同时也在不断改进,李居怡等在分析细粒棘球绦虫囊液过程中,通过比较等电聚焦中胶条的 pH 值发现, pH 值在 7~10 时分离蛋白质效果更好,得到的单个蛋白质斑点更

多^[7]。通常 2-DE 技术会串联质谱(mass spectrometry, MS)技术使用,从而进行差异蛋白质组学分析,其中基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption/ionization time of flying mass spectrometry, MALDI-TOF-MS)可实现 2-DE 分离后蛋白质的快速、灵敏和高通量鉴定^[8]。但该技术重复性差,并且某些疏水蛋白不适合进行等电点聚焦电泳,检测不出低丰度蛋白质等^[3]。

1.2 质谱技术

质谱技术已广泛应用于 *E. g* 蛋白质组学研究,它的基本原理是样品分子离子化后,根据不同离子间的质荷比(m/z)的差异来分离样品并确定相对分子质量,进行成分和结构分析^[9]。常用的质谱技术有 MALDI-TOF-MS 和电喷雾离子化串联质谱分析法(electrical spray ionisation-mass spectrometer/mass spectrometer, ESI-MS/MS),前者最适于肽相对分子质量分析,具有易于操作、分辨率高和灵敏度高的特点,后者最适于测定肽序列分析。利用生物信息学对这些蛋白质组学技术获得的数据库进行分析,在筛选生物标志物领域有着重要的作用。

1.3 生物信息学分析

质谱技术测定的结果通过高通量质谱软件分析、蛋白质数据库比对及生物信息学分析来鉴定蛋白质。现有的较成熟的蛋白质搜索数据库有 EMBL、SWISS-PROT 及 NCBI 的非冗余蛋白质序列数据库,其中 SWISS-PROT 是目前世界上最大、蛋白质种类最多的蛋白质组数据库^[10]。在细粒棘球绦虫蛋白质组学研究中,生物信息学分析起着重要的作用,为 2-DE、MS 等技术获得数据进行高通量的分析,从而得出详细的结果,通过数据库比对,还能进行基因功能聚类、通路富集等分析,为细粒棘球绦虫蛋白质组学研究提供了巨大的帮助。

1.4 近几年细粒棘球绦虫蛋白质组学常用方法

随着技术的进步,细粒棘球绦虫蛋白质组学研究中用到的技术和手段也随之提高,在常用的 2-DE、MS 和生物信息学分析的基础上,近几年在细粒棘球绦虫蛋白质组学研究的方法和手段上也出现了新的尝试,例如,基质辅助激光解吸四级杆飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption/ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry, MALDI-Q-TOF MS)^[11]、液相色谱-二级质谱连用(liquid chromatography tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)^[12]、强阳离子交换(strong cation

exchange, SCX)、双向液相色谱-质谱联用(2-dimensional liquid chromatography tandem mass spectrometry, 2DLC-MS)^[13]、免疫印迹(immunoblot)^[14]、矩阵辅助激光解吸/电离串联时间质谱法(matrix-assisted laser desorption/ionization tandem time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF/TOF-MS)^[15]、电感耦合等离子体原子发射光谱法(inductively coupled plasma atomic emission spectrometer, ICP-AES)^[16]、基质辅助激光解吸四级杆飞行时间质谱-二级质谱联用(matrix-assisted laser desorption/ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry/mass spectrometry, MALDI-Q-TOF MS/MS)、电喷雾液质联用四级杆飞行时间质谱-二级质谱联用(liquid chromatography electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry/mass spectrometry, LC-ESI-Q-TOF MS/MS)^[17]、激光显微切割(laser microdissection, LMD)^[18]、并且相关数据库完善和分析软件的发展,使蛋白质组学研究得到了快速发展。

2 细粒棘球绦虫蛋白质组学研究

2013年,具有转折性和革命性的两篇关于细粒棘球绦虫基因组研究论文发表,I. J. Tsai等描述了*E. g.*的基因组草图^[19],H. J. Zheng等报道了*E. g.*的基因组的序列与分析^[20],这两项研究成果,为人们在细粒棘球绦虫的生物学、变异、发育、进化、致病机制和与宿主之间的相互作用等方面提供了新的研究方向,其中之一便是蛋白质组学。

*E. g.*发育的全程包括虫卵、六钩蚴、棘球蚴、原头蚴和成虫等5个主要形态阶段。其中在中间宿主体内主要为棘球蚴阶段,即包裹阶段,在终末宿主体内主要是成虫阶段。目前*E. g.*的整体蛋白质组学研究主要集中在棘球蚴阶段和成虫阶段,其他阶段由于样本获得和操作的困难性,目前鲜有相应的研究。

2.1 棘球蚴蛋白质组学

此阶段为包裹形态,包裹内充满液体,由包裹壁包裹,包裹液中含有原头蚴。当前对棘球蚴蛋白质组的研究主要见于三个部分,即生发层(germinal layer, GL)、包裹液(hydatid cyst fluid, HCF)和原头蚴(protozoic, PSC)。此阶段也是寄生虫与宿主之间相互作用最活跃的时期,特别是对于ES产物的研究,对于疫苗研发和临床诊断的标志物的研

究具有重要的意义。

包裹壁包含有内外两层,即外层的薄片层(laminated layer, LL)与内层的GL。LL为非细胞结构,由GL衍生而成的薄层,主要作用是保护包裹不受宿主细胞的直接攻击;GL是由细胞形成的合胞体层,GL是产生PSC的部位,同时也是棘球蚴与宿主之间相互作用的部位,在棘球蚴生存过程中有着重要的作用,如摄取营养物质、分泌排泄以及免疫逃避等^[21-23]。GL能够控制寄生虫从宿主获取特定的氨基酸、蛋白质及营养物质,例如由于处于中绦期的*E. g.*缺乏合成脂肪和胆固醇的能力,*E. g.*通过使用脂肪酸结合蛋白(FABP)以及载脂蛋白B抗原从宿主那里获得必需的脂肪^[19]。K. M. Monteiro等^[24]对GL进行蛋白质组学分析后,鉴别出25个*E. g.*蛋白质,通过功能分析后,发现大部分蛋白质与代谢、产能和转化有关,这种结果也符合GL具有生殖功能的特征,并且可以推测出这些蛋白质都很活跃。棘球蚴是*E. g.*在中间宿主体内的主要存在形式,作为抗原而引起宿主的免疫应答,而棘球蚴为能够在中间宿主体内发育、增殖并长期存活,通过某些途径逃避宿主的免疫效应,在进化过程中获得了某些自我保护的能力——免疫逃避^[25]。作为棘球蚴与宿主重要的接触面——GL在棘球蚴免疫逃避过程中发挥着重要的作用,GL与LL构成的包裹壁作为免疫逃避的有效屏障,将宿主与包裹内的寄生虫隔离,保证寄生虫的存活;其次,棘球蚴可通过胞吞作用摄取宿主的蛋白质,并将其分泌在GL表面,进行免疫逃避,降低炎症反应^[12,24],并且棘球蚴能够通过自身表达和绵羊宿主的某些相似的抗原,从而进行免疫逃避^[26]。另外,GL中包含有多种可对宿主免疫应答进行抑制或直接破坏的蛋白质,如AgB8/1作为*EgAgB*基因家族的蛋白质产物,能够干扰并改变宿主的免疫反应^[26];副肌球蛋白是具有多种功能的宿主免疫调节蛋白,通过与补体、免疫球蛋白和细胞免疫分子发挥免疫调节作用;四分子交联体家族成员9能与各种细胞表面分子作用,如主要组织相容性复合体、Fc受体,从而调节它们的功能或信号,通过作为宿主配体的受体对宿主免疫功能进行调节;AgB和EgTeg能够诱发和维持Th2极化的微环境,营造棘球蚴适宜的生存环境有助于建立起*E. g.*的慢性感染;*E. g.*硫氧还过氧化物酶(*E. g.* thioredoxin peroxidase, EgTPx)能够抵抗宿主的氧化作用,增加寄生虫的生存概率;Ag5包含有一个高保

守性的黏多糖结合的机构域,能够以此为抗原,并且以 Ag5 为抗原的疫苗已经上市,但其生物学意义并未完全研究透彻^[24]。

HCF 是由包囊壁包裹的无色清亮的液体,其中含有大量的蛋白质,其中主要包括两类,即 GL 和 PSC 的 ES 产物,以及大量宿主的蛋白质^[24],本文将 HCF 中的蛋白质按功能分为三类,即 PSC 发育、免疫逃避及保护作用。HCF 是棘球蚴重要的组成部分,也是 PSC 生长繁殖不可或缺的组分,因为 HCF 的主要功能之一是为 PSC 提供发育所需的营养和必要成分^[12],如 *E. g* 除缺乏从头合成脂肪酸和胆固醇的能力,并且还缺乏从头合成嘧啶、嘌呤和大部分氨基酸(除丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸外)的能力,加之缺乏从头合成核苷酸的能力,以上营养物质 *E. g* 只能从宿主那里获得^[20],通过对 HCF 蛋白质组学分析,发现其中存在与 PSC 发育所需营养物质相关的蛋白质组,如低密度脂蛋白受体,其能够帮助 *E. g* 摄取宿主的甾醇类和脂肪酸^[12];在 HCF 大量存在的宿主血清蛋白中,主要包括白蛋白、血清铁传递蛋白和血红蛋白,其中推测白蛋白为 PSC 提供必要的能源物质,血清铁转移蛋白能够帮助 PSC 获取宿主的铁,血红蛋白能够为 PSC 运输氧气和二氧化碳,维持 HCF 的酸碱度^[27];通过比较不同物种中间宿主(羊、牛和人)体内获得 HCF 中鉴定出的蛋白质,发现蛋白质的含量和数量均有差异,如有 12 个蛋白质只在牛的包囊液(CHCF)中存在,AgB-4 在三种中间宿主的 HCF 中都有出现,但在羊的包囊液(SHCF)中高表达,推测可能与宿主的生理环境不同有关,同时还发现,IgM 和补体 C3 仅在 CHCF 和人的包囊液(HHCF)中出现,说明对于棘球蚴的出现,不同种宿主之间在最初的反应存在差异^[12]。HCF 中大量的宿主蛋白质不但能够为 PSC 的发育提供所需的营养,也能够通过分泌在包囊表面,进行抗原伪装,这与之前的研究结果相同^[12]。PSC 能够在具有免疫应答的宿主体内存活,HCF 中的蛋白质起着重要的作用,如其中的亲环蛋白通过与环孢素及 CD147 作用,能够调节宿主的炎症反应,营造适合棘球蚴生存的环境^[28]。由于 HCF 中蛋白质与宿主血浆蛋白的相似性,同时 HCF 中的蛋白质混合物是处在变化之中,HCF 的蛋白质组学分析面临着挑战^[24,29]。

PSC 是 *E. g* 生活史中重要的一部分,由 GL 上的生发囊(brood capsule)产生,是在中间宿主体内

存在的主要形式。PSC 具有双向发育的能力,即在中间宿主体内时,可发育为子囊,并通过无性生殖的方式在子囊中产生新的 PSC,当进入终末宿主时,在胆汁的刺激下,在终末宿主的小肠内发育为成虫^[19-20]。PSC 是 *E. g* 生活史中蛋白质组学研究较多的阶段之一,对 PSC 的 ES 产物中鉴定出的蛋白质进行注释后,通过 GO 分析,发现这些蛋白质主要分类为结合与催化,除此之外,还包括抗氧化、酶调节以及转运功能^[14]。在与宿主相互作用过程中,除 GL 的抗原伪装外,PSC 可释放 ES 产物以结合、降解或以其他方式与宿主免疫细胞作用,从而对宿主免疫反应进行调节,达到免疫逃避的目的^[30]。研究发现,PSC 能够释放一些蛋白质与宿主的免疫效应物作用,进而调节宿主的免疫反应,通过 2-DE 免疫印迹发现包虫病患者血清中鉴定出 PSC 的 14 个蛋白质(P-29、*E. g*TPx、HSP70 等)^[24],其中 EgTeg 能够引起 Th2 免疫反应,与 *E. g* 慢性感染有关^[14];14-3-3 蛋白与抵御细胞介导的免疫有关^[14];TPx 能够保护寄生虫不受宿主及自身的细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)的破坏,并且在免疫逃避中起重要的作用,TPx 在 *E. g* 各个阶段均有表达,PSC 阶段表达量较大,在其体表皮层、皮下层和钙颗粒细胞内分布广泛^[31-32];钙蛋白酶在 V. G. Virginio 等的研究中首次在 ES 产物中被鉴定出来,与其他绦虫相似,钙蛋白酶能够促进 *E. g* 对宿主蛋白的消化和组织的浸润^[14,33]。碳水化合物代谢、氨基酸代谢、脂类代谢及核苷酸代谢是动物寄生性蠕虫的营养物质代谢主要方式,其中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,KEGG 通路分析发现,*E. g* 具有完整的碳水化合物代谢途径^[20]。W. Pan 等^[34]在研究中发现 *E. g* 进化出了几近完美的从宿主获取能量和营养的策略,不但通过释放磷酸果糖激酶(phosphofructokinase, PFK1)和丙酮酸激酶(pyruvate kinase, PK)等调节糖酵解的酶类,这些限速酶通过调节糖酵解能够合成非必需氨基酸、脂肪酸、腺嘌呤、次黄嘌呤和嘧啶供其生长所需,而且在葡萄糖缺乏时,PSC 能够释放丙酮酸羧化酶(pyruvate carboxylase)等酶类进行糖异生反应,从而合成葡萄糖供其生长所需,在 V. G. Virginio 等的研究^[14]中也有相似发现。PSC 除在蛋白质水平上与宿主进行相互作用,在 PSC 还发现锌指蛋白能够在转录和翻译水平上调控宿主基因的表达,使宿主的内环境适合 PSC 的生长发

育^[13, 34]。在 G. B. Dos Santos 等的研究中, 鉴定出 G 蛋白伴侣受体超家族的两个卷曲蛋白, 它们在细胞信号转导和生长发育过程中起主要作用, 并且在调节细胞对刺激的反应程度方面有着重要的作用, 它们的缺失可能会导致寄生虫信息传递、发育及存活出现问题, 最终导致 PSC 不能产生子囊, 甚至死亡^[35]。通过将鉴定出的 PSC 蛋白进行 KEGG 分析, 发现大量蛋白质参与 Wnt、Hedgehog 和 Notch 等与虫体发育密切相关的信号通路, 了解 PSC 蛋白质表达特性, 将有助于抗原及诊断靶标候选分子的筛选^[36]。PSC 是 *E. g* 蛋白质组学中研究较多也是较透彻的一个阶段, 也是进行诊断标志物筛选、药物靶标筛选及疫苗候选分子筛选中具有较大希望的阶段。

综上所述, 在棘球蚴阶段, 寄生虫主要通过 ES 产物与宿主相互作用, 一方面利用 ES 产物直接或间接调节宿主免疫反应, 创造适宜的生存环境, 例如 ES 产物中的 TPx 等, 另一方面寄生虫利用 ES 产物直接从宿主处获得营养物质或调节宿主相关代谢途径, 从而获得能量, 例如参与三羧酸循环(tricarboxylic acid cycle, TCA)的部分酶类^[34], 以及参与脂肪合成的 FABP 等。随着 *E. g* 蛋白质组学研究的不断深入, 发现 ES 产物在 *E. g* 生长发育中具有重要作用, 在 ES 产物研究过程中, 通过筛选将部分 ES 产物分为诊断标志物、疫苗靶点和药物靶标的候选蛋白, 以期在包虫病的诊断、预防和治疗中提供帮助, 见表 1。

表 1 已知蛋白质的潜在应用

Table 1 Potential application of known proteins

GenBank 登录号 GenBank ID	蛋白质 Protein	氨基酸(aa) Amino acid	应用 Application	表达阶段 Stage
疫苗候选				
ART89314.1	EG95	156	疫苗候选	幼虫 ^[37]
	EgM9		疫苗候选	成虫 ^[38]
ABG75851.1	Myophilin	190	疫苗候选	幼虫 ^[39]
AAF19966.1	14-3-3 protein	244	疫苗候选	成虫 ^[40]
CDS16133.1	Leucyl aminopeptidase	566	疫苗候选	幼虫 ^[41]
Q02970.2	Fatty acid-binding protein homolog 1	133	疫苗候选	幼虫 ^[42]
EUB59176.1	Antigen EG31	634	疫苗候选	幼虫 ^[20]
AF067807	EgA31	1 836	疫苗候选	幼虫 ^[43]
CDS21034.1	Immunogenic protein Ts11	162	疫苗候选	幼虫 ^[19]
EUB57912.1	Glutathione S-transferase (GST)	438	疫苗候选、诊断标志物	幼虫 ^[44]
诊断标志物				
CAA81256.1	Antigen B	65	诊断标志物	成虫 ^[45]
EUB59176.1	EgA13	634	诊断标志物	幼虫 ^[19]
ACA14468.1	Tropomyosin B	224	诊断标志物	幼虫及成虫 ^[46]
AAD38373.1	EgAgB8/1	81	诊断标志物	幼虫 ^[47]
NP_001153220.1	EgAgB8/2	245	诊断标志物	幼虫 ^[48]
AAW78439.1	Antigen B1	78	诊断标志物	幼虫 ^[49]
AAW78460.1	Antigen B2	81	诊断标志物	幼虫 ^[49]
AAW78445.1	Antigen B3	82	诊断标志物	幼虫 ^[49]
AAW78450.1	Antigen B4	81	诊断标志物	幼虫 ^[49]
AAQ74961.1	Antigen B subunit 4	81	诊断标志物	幼虫 ^[49]
AAZ76567.1	Antigen B subunit 1	78	诊断标志物	幼虫 ^[50]
AAC14584.1	Thioredoxin (TRX)	107	诊断标志物	幼虫 ^[51]
AOY34842.1	EpC1	174	诊断标志物	幼虫 ^[52]
CDS15479.1	FKBP12 rapamycin complex associated protein	3 300	诊断标志物	幼虫 ^[19]

(续表 1 Continued)

GenBank 登录号 GenBank ID	蛋白质 Protein	氨基酸(aa) Amino acid	应用 Application	表达阶段 Stage
EUB62759.1	T-cell immunomodulatory protein	909	诊断标志物	幼虫 ^[20]
CDS19541.1	H17g protein tegumental antigen	613	诊断标志物	幼虫 ^[19]
EUB63582.1	Major egg antigen	343	诊断标志物	幼虫 ^[20]
CDS24402.1	Lymphocyte antigen 75	1 264	诊断标志物	幼虫 ^[19]
EUB59337.1	Actin	393	诊断标志物	幼虫及成虫 ^[53]
Q24800.3	Severin	374	诊断标志物	幼虫及成虫 ^[53]
EUB54995.1	Superoxide dismutase	221	诊断标志物、药物靶点	幼虫及成虫 ^[54]
EUB55039.1	Transaldolase (TAL)	322	诊断标志物、药物靶点	幼虫 ^[55]
AEJ15814.1	Phosphoenolpyruvate carboxykinase	644	药物靶点	幼虫 ^[35]
AAN63052.1	Thioredoxin glutathione reductase	597	药物靶点	幼虫 ^[56]
EUB64459.1	Hexokinase (HK)	481	药物靶点	幼虫 ^[20]
EUB60615.1	Pyruvate kinase	603	药物靶点	幼虫 ^[20]
EUB62503.1	Insulin receptor (IR)	1 661	药物靶点	幼虫 ^[57]
诊断标志物、疫苗候选				
CAA79849.1	Paramyosin	863	诊断标志物、疫苗候选	幼虫 ^[58]
AAA99139.1	HSP70	665	诊断标志物、疫苗候选	幼虫及成虫 ^[59]
ACY30465.1	Enolase	433	诊断标志物、疫苗候选	幼虫 ^[60]
AAL84833.1	TPx	193	诊断标志物、疫苗候选	幼虫 ^[61]
AF362442	EgAgB8/3	402	诊断标志物、疫苗候选	幼虫 ^[62]
AAN62875.1	Cyclophilin (EgCyP)	162	诊断标志物、疫苗候选	幼虫 ^[63]
ABI24154.2	EG19 antigen	146	诊断标志物、疫苗候选	幼虫 ^[64]
EUB54863.1	Oncosphere antigen B	153	诊断标志物、疫苗候选	幼虫 ^[20]
AAA28302.1	Antigen 5	212	诊断标志物、疫苗候选	幼虫 ^[65]
AAD53328.1	P-29	238	诊断标志物、疫苗候选、 药物靶标	幼虫 ^[66]
药物靶点、疫苗候选				
EUB64953.1	Cathepsin B (CatB)	672	药物靶点、疫苗候选	幼虫 ^[67]
CDS20328.1	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)	352	药物靶标、疫苗候选	幼虫 ^[68]

2.2 成虫的蛋白质组学

E. g. 的终末宿主在采食含有包囊的内脏后, PSC 进入终末宿主(如犬)的体内, 在胆酸盐的刺激下发育为成虫, 寄生终末宿主的小肠中。

E. g. 通过头节的吸盘固定在终末宿主的小肠黏膜上, 通过表皮吸收食物中的营养, 并通过释放 ES 产物调节宿主的免疫反应, 创造适宜的生长环境。通过寄生虫与宿主蛋白质共纯化的方式, 从 *E. g.* 中鉴定出 30 个宿主的蛋白质, 如激动蛋白、组蛋白、代谢酶类、角质及胞内蛋白等, 推测这些蛋白质可能是成虫从其吸附的肠道上皮细胞中获得的, 并且还发现宿主激素及固有免疫分子, 表明成虫通过摄取宿主蛋白质减轻炎症反应, 从而建立长期感

染^[13]。另外, 研究发现, 在成虫与宿主间的相互作用中, 几种蛋白质发挥着重要的作用, 如烯醇酶、亲环素硫氧还蛋白过氧化物酶等, 其中烯醇酶是成虫 ES 产物中含量最多的蛋白质, 其是具有多功能的表面蛋白, 与建立寄生虫、宿主之间相互作用和寄生虫侵袭有关^[69]; 亲环素是成虫 ES 产物中第二多的蛋白质, 参与寄生虫发育和寄生虫、宿主相互作用, 并且亲环素已开发出免疫疗法制剂——亲环素 A^[70]; 磷酸烯醇丙酮酸激酶 (phosphoenolpyruvate carboxykinase, PEPCK), 其中 PEPCK 涉及多个通路, 如内分泌功能、排泄和糖代谢等^[13]。在免疫逃避方面, 成虫通过不断脱落表皮, 从而逃避宿主的免疫反应^[12]。通路分析发现成虫能够通过有氧和无

氧糖酵解两种方式产生 ATP^[13]。2015年, Y. Wang 等对成虫进行了 ES 产物和抗原性蛋白的分析, 鉴定了 9 个 ES 蛋白和 13 个抗原性蛋白, 其中 6 个抗原性蛋白为首次发现, 此研究丰富了 *E. g* 蛋白质组学数据, 对宿主与寄生虫相互作用和寄生虫生存机制的研究提供了相关信息, 对 *E. g* 的疫苗候选分子和诊断标志物的筛选提供了帮助^[15]。

2.3 细粒棘球绦虫和多房棘球绦虫蛋白质组学差异

随着在 2013 年关于 *E. g* 和多房棘球绦虫 (*Echinococcus multilocularis*, *E. m*) 全基因组序列的发布^[19-20], 为 *E. g* 和 *E. m* 的蛋白质组学研究奠定了重要的基础。

虽然 *E. g* 和 *E. m* 同属于棘球属, 蛋白质具有较高的同源性, 但也存在一定的差异。通过对人体内的细粒棘球绦虫和多房棘球绦虫蛋白质表达谱进行分析, 发现细粒棘球绦虫原头节的蛋白质浓集在相对分子质量 72 ku 处, 囊壁的蛋白质浓集在 17、26 和 72 ku 处, 囊液的蛋白质浓集在 17、26、43~55 和 72 ku; 泡球绦虫总蛋白质浓集在 26、55~72 和 72 ku 处^[71]。和 *E. g* 相似, 对 *E. m* 的蛋白质组学研究中, 也发现一些在疫苗研发、诊断标志物筛选及药物靶标筛选中具有潜力的蛋白质, 如 Em2、Em II /3、Em10、Em18、Ag5、AgB、Em70、Em90 及 EmY162 等, 其中由 Em10 构建的 Pcd-Em10 核酸疫苗免疫小鼠, 发现对 *E. m* 原头节攻击具有保护性免疫反应^[72]; Em70 和 Em90 具有潜在的多房棘球绦虫病血清学诊断价值^[73]; EmY162 在诊断 *E. m* 成虫的感染方面具有一定的价值^[74]。

3 存在的问题

由于目前蛋白质组学研究的相关技术限制, 在对蛋白质进行分离时, 蛋白质会出现一定量的损失, 特别是对于低丰度蛋白质, 可能出现分离不到的情况, 而某些低丰度蛋白质对 *E. g* 功能起重要作用, 另外, 在棘球绦虫阶段, 包裹液中存在大量的宿主蛋白质, 对寄生虫蛋白质组学分析干扰较大, 如何克服这一特性还需要在相关技术上改进; 目前对于 *E. g* 蛋白质组学的分析大多集中在棘球绦虫和成虫阶段, 特别是在棘球绦虫阶段研究较为集中, 而对其他阶段的研究比较少, 如果要全面了解 *E. g* 完整的蛋白质表达变化, 以及诊断试剂、疫苗和药物的开发, 传播阶段的研究不可或缺; 缺少系统性 *E. g* 的蛋白质组学研究, *E. g* 为多宿主寄生虫, 当寄生的宿主不

同, 寄生的部位不同, 发育阶段不同, 以及宿主环境变化都会引起 *E. g* 蛋白质的变化, 系统性了解 *E. g* 蛋白质组学, 对于预防、诊断和治疗 *E. g* 引起的人兽共患病有着重要意义; 在对 *E. g* 进行蛋白质组学分析之后, 数据的处理同样重要, 例如基因功能聚类分析、通路富集分析等, 而目前相关研究较少。

4 展望

鉴定蛋白质是蛋白质组学研究的基础, 虽然近些年随着蛋白质组学研究技术的进步, 已鉴定出了许多种 *E. g* 蛋白质, 但并没有全覆盖 *E. g* 的蛋白质, 未鉴定的蛋白质还有很多, 并且已鉴定出的蛋白质许多仅仅是推测, 因此 *E. g* 蛋白质的鉴定任重道远。

“工欲善其事, 必先利其器”, 蛋白质组学研究中涉及到的技术手段有限, 常见且主要的有 2-DE、MS、WB, 因此技术上的改进与创新显得相当重要, 例如在 2-DE 主要的作用是将蛋白质根据等电点和质量进行分离, 但对于丰度较小的蛋白质分离效果较差; 目前, MS 已不单单是一种技术, 而是一套技术, 通过与其他技术的联合使用以及自身的创新, 已发展出许多衍生的技术。

随着绦虫属寄生虫蛋白质组学研究的推进, 通过数据比对发现, 很多蛋白质是一种或多种寄生虫共有, 有利于疫苗研发和药物靶标的筛选, 可以利用一种蛋白质对多种寄生虫进行预防和治疗, 但在免疫诊断方面会产生非特异性的结果, 因此要对现有绦虫蛋白质数据库进行数据挖掘, 发现寄生虫特有的蛋白质进行研究, 将对寄生虫的疫苗研发、药物靶标筛选和免疫诊断起到促进作用。

参考文献 (References):

- [1] 詹希美. 人体寄生虫学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001.
ZHAN X M. Human parasitology[M]. Beijing: People's Medical Publishing House (PMPH), 2001. (in Chinese)
- [2] BUDKE C M, DEPLAZES P, TORGERSON P R. Global socioeconomic impact of cystic echinococcosis [J]. *Emerg Infect Dis*, 2006, 12(2): 296-303.
- [3] 冯海燕, 景志忠, 房永祥, 等. 双向凝胶电泳技术及其应用[J]. 生物技术通报, 2009(1): 59-63, 68.
FENG H Y, JING Z Z, FANG Y X, et al. Two-Dimensional electrophoresis and its application[J]. *Bio-*

- technology Bulletin*, 2009(1): 59-63, 68. (in Chinese)
- [4] ECKERT J, GEMMELL M A, MESLIN F X, et al. WHO/OIE manual on *Echinococcosis* in humans and animals: a public health problem of global concern [M]. Paris: World Organization for Animal Health and World Health Organization, 2001: 100-142.
- [5] THOMPSON R C A, MCMANUS D P. Aetiology; parasites and life cycles[EB/OL]//WHO/OIE Manual on *Echinococcosis* in humans and animals: A public health problem of global concern. Paris: World Organization for Animal Health and World Health Organization, 2001: 1-19. [2017-12-26]. <http://www.oie.int/doc/ged/d11247.pdf>.
- [6] CRAIG P S. The Echinococcosis working group in China. Epidemiology of human alveolar echinococcosis in China [J]. *Parasitol Int*, 2006, 55 Suppl: S221-S225.
- [7] 李居怡, 刘巧媚, 黄文静, 等. 适用于细粒棘球绦虫液蛋白质组分析的双向电泳技术[J]. 西安交通大学学报: 医学版, 2015, 36(5): 711-714.
LI J Y, LIU Q M, HUANG W J, et al. Two-dimensional electrophoresis for proteomics analysis of hydatid fluid of the *Echinococcus granulosus* [J]. *Journal of Xi'an Jiaotong University: Medical Sciences*, 2015, 36(5): 711-714. (in Chinese)
- [8] RAPPILBER J, MONIATTE M, NIELSEN M L, et al. Experiences and perspectives of MALDI MS and MS/MS in proteomic research [J]. *Int Mass Spectrom*, 2003, 226(1): 223-237.
- [9] 许颖, 张锡林. 疟原虫蛋白组学的研究进展[J]. 国际医学寄生虫病杂志, 2006, 33(2): 96-100.
XU Y, ZHANG X L. The progress of study on plasmodium proteomics [J]. *International Journal of Medical Parasitic Diseases*, 2006, 33(2): 96-100. (in Chinese)
- [10] 李君良. 细粒棘球绦虫原头蚴蛋白质组学研究及生物信息学分析[D]. 银川: 宁夏医科大学, 2013.
LI J L. Study on proteomics and bioinformatics of the *Echinococcus granulosus* protoscoleces from infected humans[D]. Yinchuan: Ningxia Medical University, 2013. (in Chinese)
- [11] AHN C S, HAN X M, BAE Y A, et al. Alteration of immunoproteome profile of *Echinococcus granulosus* hydatid fluid with progression of cystic echinococcosis [J]. *Parasit Vectors*, 2015, 8: 10.
- [12] AZIZ A, ZHANG W B, LI J, et al. Proteomic characterisation of *Echinococcus granulosus* hydatid cyst fluid from sheep, cattle and humans [J]. *J Proteomics*, 2011, 74(9): 1560-1572.
- [13] CUI S J, XU L L, ZHANG T, et al. Proteomic characterization of larval and adult developmental stages in *Echinococcus granulosus* reveals novel insight into host-parasite interactions [J]. *J Proteomics*, 2013, 84: 158-175.
- [14] VIRGINIO V G, MONTEIRO K M, DRUMOND F, et al. Excretory/secretory products from *in vitro*-cultured *Echinococcus granulosus* protoscoleces [J]. *Mol Biochem Parasitol*, 2012, 183(1): 15-22.
- [15] WANG Y, XIAO D, SHEN Y J, et al. Proteomic analysis of the excretory/secretory products and antigenic proteins of *Echinococcus granulosus* adult worms from infected dogs [J]. *BMC Vet Res*, 2015, 11: 119.
- [16] LI J Y, JU Y, WANG X F, et al. Analysis of the chemical components of hydatid fluid from *Echinococcus granulosus* [J]. *Rev Soc Bras Med Trop*, 2013, 46(5): 605-610.
- [17] HIDALGO C, GARCÍA M P, STOORE C, et al. Proteomics analysis of *Echinococcus granulosus* protoscoleces stage [J]. *Vet Parasitol*, 2016, 218: 43-45.
- [18] LONGUESPÉE R, CASADONTE R, KRIEGSMANN M, et al. Proteomic investigation of human cystic echinococcosis in the liver [J]. *Mol Biochem Parasitol*, 2017, 211: 9-14.
- [19] 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.
- [20] 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.
- [21] THOMPSON R C A, LYMBERY A J. *Echinococcus* and hydatid disease [M]. Wallingford: CAB International, 1995: 1-50.
- [22] SIRACUSANO A, RIGANÒ R, ORTONA E, et al. Immunomodulatory mechanisms during *Echinococcus granulosus* infection [J]. *Exp Parasitol*, 2008, 119(4): 483-489.
- [23] CAMICIA F, PAREDES R, CHALAR C, et al. Sequencing, bioinformatic characterization and expression pattern of a putative amino acid transporter from the parasitic cestode *Echinococcus granulosus* [J]. *Gene*, 2008, 411(1-2): 1-9.
- [24] MONTEIRO K M, DE CARVALHO M O, ZAHA

- A, et al. Proteomic analysis of the *Echinococcus granulosus* metacestode during infection of its intermediate host[J]. *Proteomics*, 2010, 10(10): 1985-1999.
- [25] 任一鑫, 戴晓冬, 孙明忠, 等. 寄生虫与宿主的免疫关系[J]. 中国微生态学杂志, 2014, 26(1): 122-124.
- REN Y X, DAI X D, SUN M Z, et al. Relationship between parasite and host in immunology[J]. *Chinese Journal of Microecology*, 2014, 26(1): 122-124. (in Chinese)
- [26] KOSINSKI R J. Antigenic variation in trypanosomes: a computer analysis of variant order[J]. *Parasitology*, 1980, 80(2): 343-357.
- [27] 张倩, 李居怡, 赵嘉庆, 等. 细粒棘球蚴囊液蛋白质组学的分析研究[J]. 解放军医药杂志, 2013, 25(12): 48-51.
- ZHANG Q, LI J Y, ZHAO J Q, et al. Proteomics study on hydatid cyst fluid of *Echinococcus granulosus*[J]. *Medical & Pharmaceutical Journal of Chinese People's Liberation Army*, 2013, 25(12): 48-51. (in Chinese)
- [28] YURCHENKO V, CONSTANT S, EISENMESSER E, et al. Cyclophilin-CD147 interactions: a new target for anti-inflammatory therapeutics[J]. *Clin Exp Immunol*, 2010, 160(3): 305-317.
- [29] CHEMALE G, VAN ROSSUM A J, JEFFERIES J R, et al. Proteomic analysis of the larval stage of the parasite *Echinococcus granulosus*: causative agent of cystic hydatid disease[J]. *Proteomics*, 2003, 3(8): 1633-1636.
- [30] HEWITSON J P, GRAINGER J R, MAIZELS R M. Helminth immunoregulation: the role of parasite secreted proteins in modulating host immunity[J]. *Mol Biochem Parasitol*, 2009, 167(1): 1-11.
- [31] LI J, ZHANG W B, LOUKAS A, et al. Functional expression and characterization of *Echinococcus granulosus* thioredoxin peroxidase suggests a role in protection against oxidative damage[J]. *Gene*, 2004, 326: 157-65.
- [32] 曹得萍, 樊海宁, 毋德芳, 等. 细粒棘球蚴在人体内棘球蚴原头节、囊壁蛋白质表达谱分析[J]. 中国人兽共患病学报, 2014, 30(6): 575-577, 582.
- CAO D P, FAN H N, WU D F, et al. Preliminary proteomics analysis on protoscoleces and cyst wall of human hydatid cyst[J]. *Chinese Journal of Zoonoses*, 2014, 30(6): 575-577, 582. (in Chinese)
- [33] DZIK J M. Molecules released by helminth parasites involved in host colonization[J]. *Acta Biochim Pol*, 2006, 53(1): 33-64.
- [34] PAN W, SHEN Y J, HAN X M, et al. Transcriptome profiles of the protoscoleces of *Echinococcus granulosus* reveal that excretory-secretory products are essential to metabolic adaptation[J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2014, 8(12): e3392.
- [35] DOS SANTOS G B, MONTEIRO K M, DA SILVA E D, et al. Excretory/secretory products in the *Echinococcus granulosus* metacestode: is the intermediate host complacent with infection caused by the larval form of the parasite? [J]. *Int J Parasitol*, 2016, 46(13-14): 843-856.
- [36] 王正荣, 薄新文, 张艳艳, 等. 细粒棘球蚴原头蚴蛋白表达谱分析[J]. 畜牧兽医学报, 2017, 48(8): 1519-1528.
- WANG Z R, BO X W, ZHANG Y Y, et al. Protein profile analyses of protoscoleces in *Echinococcus granulosus*[J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2017, 48(8): 1519-1528. (in Chinese)
- [37] LIGHTOWLERS M W. Vaccines against cysticercosis and hydatidosis: foundations in taeniid cestode immunology [J]. *Parasitol Int*, 2006, 55 Suppl: S39-S43.
- [38] ZHANG W B, LI J, YOU H, et al. A gene family from *Echinococcus granulosus* differentially expressed in mature adult worms[J]. *Mol Biochem Parasitol*, 2003, 126(1): 25-33.
- [39] MARTIN R M, CHILTON N B, LIGHTOWLERS M W, et al. *Echinococcus granulosus* myophilin-relationship with protein homologues containing "calponin motifs"[J]. *Int J Parasitol*, 1997, 27(12): 1561-1567.
- [40] SILES-LUCAS M, NUNES C P, ZAHA A, et al. The 14-3-3 protein is secreted by the adult worm of *Echinococcus granulosus* [J]. *Parasite Immunol*, 2000, 22(10): 521-528.
- [41] VESSAL M, GHALAMBOR M A. Studies on the enzymes of hydatid cyst fluid. Quantitative determination of enzymes present in *Echinococcus granulosus* cyst fluid[J]. *Isr J Med Sci*, 1970, 6(3): 383-387.
- [42] 郝慧芳, 王志钢, 李志伟. 细粒棘球蚴内蒙株 FABP 基因 cDNA 的克隆与核酸疫苗的构建[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2007, 25(4): 352-354.
- HAO H F, WANG Z G, LI Z W. Cloning and construction of nucleic acid vaccine of FABP gene cDNA

- from *Echinococcus granulosus* [J]. *Chinese Journal of Parasitology and Parasitic Diseases*, 2007, 25 (4): 352-354. (in Chinese)
- [43] 傅玉才, 许世镗, 金立群, 等. 细粒棘球绦虫 66kDa 抗原基因在成虫吸盘上的表达[J]. 中国人兽共患病杂志, 2002, 18(2): 41-43.
- FU Y C, XU S E, JIN L Q, et al. Expression of *Echinococcus granulosus* 66 kDa antigen gene in the suckers of adults[J]. *Chinese Journal of Zoonoses*, 2002, 18(2): 41-43. (in Chinese)
- [44] 李宗吉, 黄瑾, 张静, 等. 细粒棘球绦虫谷胱甘肽 S-转移酶重组抗原的高效融合表达、纯化及免疫特性的研究[J]. 中国人兽共患病学报, 2007, 23(1): 76-79.
- LI Z J, HUANG J, ZHANG J, et al. Expression and purification of glutathion S-transferase recombinant antigen in *Echinococcus granulosus* and its immunogenicity [J]. *Chinese Journal of Zoonoses*, 2007, 23(1): 76-79. (in Chinese)
- [45] GONZÁLEZ-SAPIENZA G, LORENZO C, NIETO A. Improved immunodiagnosis of cystic hydatid disease by using a synthetic peptide with higher diagnostic value than that of its parent protein, *Echinococcus granulosus* antigen B[J]. *J Clin Microbiol*, 2000, 38 (11): 3979-3983.
- [46] ALVITE G, ESTEVES A. *Echinococcus granulosus* tropomyosin isoforms: from gene structure to expression analysis[J]. *Gene*, 2009, 433(1-2): 40-49.
- [47] MADDISON S E, SLEMENDA S B, SCHANTZ P M, et al. A specific diagnostic antigen of *Echinococcus granulosus* with an apparent molecular weight of 8 kDa[J]. *Am J Trop Med Hyg*, 1989, 40(4): 377-383.
- [48] SIRACUSANO A, IOPPOLO S, NOTARGIACOMO S, et al. Detection of antibodies against *Echinococcus granulosus* major antigens and their subunits by immunoblotting [J]. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1991, 85(2): 239-243.
- [49] AREND A C, ZAHA A, AYALA F J, et al. The *Echinococcus granulosus* antigen B shows a high degree of genetic variability[J]. *Exp Parasitol*, 2004, 108(1-2): 76-80.
- [50] MUZULIN P M, KAMENETZKY L, GUTIERREZ A M, et al. *Echinococcus granulosus* antigen B gene family: further studies of strain polymorphism at the genomic and transcriptional levels[J]. *Exp Parasitol*, 2008, 118(2): 156-164.
- [51] CHALAR C, MARTÍNEZ C, AGORIO A, et al. Molecular cloning and characterization of a thioredoxin gene from *Echinococcus granulosus* [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, 262(1): 302-307.
- [52] LI J, ZHANG W B, WILSON M, et al. A novel recombinant antigen for immunodiagnosis of human cystic echinococcosis[J]. *J Infect Dis*, 2003, 188 (12): 1951-1960.
- [53] CORTEZ-HERRERA E, YAMAMOTO R R, RODRIGUES J J, et al. *Echinococcus granulosus*: cloning and functional *in vitro* characterization of an actin filament fragmenting protein[J]. *Exp Parasitol*, 2001, 97(4): 215-225.
- [54] SALINAS G, CARDOZO S. *Echinococcus granulosus*: heterogeneity and differential expression of superoxide dismutases[J]. *Exp Parasitol*, 2000, 94 (1): 56-59.
- [55] 辛奇, 景涛, 宋晓霞, 等. 细粒棘球绦虫转醛醇酶基因的克隆、表达及其潜在免疫诊断价值的研究[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2017, 35(3): 333-338.
- XIN Q, JING T, SONG X X, et al. Cloning, expression and potential immunodiagnostic evaluation of *Echinococcus granulosus* transaldolase [J]. *Chinese Journal of Parasitology and Parasitic Diseases*, 2017, 35(3): 333-338. (in Chinese)
- [56] AGORIO A, CHALAR C, CARDOZO S, et al. Alternative mRNAs arising from trans-splicing code for mitochondrial and cytosolic variants of *Echinococcus granulosus* thioredoxin glutathione reductase[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(15): 12920-12928.
- [57] DISSOUS C, KHAYATH N, VICOONE J, et al. Growth factor receptors in helminth parasites: signaling and host-parasite relationships[J]. *FEBS Lett*, 2006, 580(12): 2968-2975.
- [58] MOGHADAM Z K, GHAFFARIFAR F, KHALILPOUR A, et al. IgG4 detection of *Echinococcus granulosus* paramyosin is a useful diagnostic test for human hydatidosis[J]. *Clin Vaccine Immunol*, 2013, 20(4): 501-505.
- [59] 赵莉, 陈皓斐, 张文宝, 等. 细粒棘球绦虫 Hsp70 基因的克隆、表达及抗体制备[J]. 中国农业科学, 2012, 45(12): 2491-2501.
- ZHAO L, CHEN H F, ZHANG W B, et al. Cloning, prokaryotic expression of *Echinococcus granulosus* heat shock protein 70 and preparation of its antiserum[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2012, 45

- (12); 2491-2501. (in Chinese)
- [60] GAN W J, ZHAO G X, XU H X, et al. Reverse vaccinology approach identify an *Echinococcus granulosus* tegumental membrane protein enolase as vaccine candidate[J]. *Parasitol Res*, 2010, 106(4): 873-882.
- [61] LI J, ZHANG W B, LOUKAS A, et al. Functional expression and characterization of *Echinococcus granulosus* thioredoxin peroxidase suggests a role in protection against oxidative damage[J]. *Gene*, 2004, 326: 157-165.
- [62] CHEMALE G, HAAG K L, FERREIRA H B, et al. *Echinococcus granulosus* antigen B is encoded by a gene family[J]. *Mol Biochem Parasitol*, 2001, 116(2): 233-237.
- [63] 王莹, 沈玉娟, 袁忠英, 等. 细粒棘球绦虫亲环蛋白基因的克隆 重组表达和生物信息学分析[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2012, 24(3): 294-297, 302.
WANG Y, SHEN Y J, YUAN Z Y, et al. Cloning, expression and bioinformatics analysis of cyclophilin of *Echinococcus granulosus* [J]. *Chinese Journal of Schistosomiasis Control*, 2012, 24(3): 294-297, 302. (in Chinese)
- [64] DELUNARDO F, ORTONA E, MARGUTTI P, et al. Identification of a novel 19kDa *Echinococcus granulosus* antigen[J]. *Acta Trop*, 2010, 113(1): 42-47.
- [65] LI Y Z, XU H X, CHEN J J, et al. Gene cloning, expression, and localization of antigen 5 in the life cycle of *Echinococcus granulosus* [J]. *Parasitol Res*, 2011, 110(6): 2315-2323.
- [66] RICHARDSON R T, SIVASHANMUGAM P, HALL S H, et al. Cloning and sequencing of human *Eppin*: a novel family of protease inhibitors expressed in the epididymis and testis[J]. *Gene*, 2001, 270(1-2): 93-102.
- [67] 张颀, 贾利芳, 陈英, 等. 细粒棘球绦虫组织蛋白酶 B 的重组表达及生物信息学分析[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2014, 26(6): 642-647.
ZHANG T, JIA L F, CHEN Y, et al. Cloning, expression and bioinformatics analysis of cathepsin B of *Echinococcus granulosus* [J]. *Chinese Journal of Schistosomiasis Control*, 2014, 26(6): 642-647. (in Chinese)
- [68] 王家海, 王凝, 胡丹丹, 等. 细粒棘球绦虫三磷酸甘油醛脱氢酶基因的克隆、表达及其分子特征的生物信息学分析[J]. 畜牧兽医学报, 2015, 46(9): 1629-1637.
- WANG J H, WANG N, HU D D, et al. Cloning, expression and bioinformatical analysis of *Echinococcus granulosus* glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase gene[J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2015, 46(9): 1629-1637. (in Chinese)
- [69] PÉREZ-SÁNCHEZ R, RAMAJO-HERNÁNDEZ A, RAMAJO-MARTÍN V, et al. Proteomic analysis of the tegument and excretory-secretory products of adult *Schistosoma bovis* worms [J]. *Proteomics*, 2006, 6 Suppl 1: S226-S236.
- [70] BELL A, MONAGHAN P, PAGE A P. Peptidylprolyl cis-trans isomerases (immunophilins) and their roles in parasite biochemistry, host-parasite interaction and antiparasitic drug action[J]. *Int J Parasitol*, 2006, 36(3): 261-276.
- [71] 张耀刚, 李超群, 毋德芳, 等. 细粒棘球绦虫和多房泡球绦虫在人体内蛋白质表达谱初步分析[J]. 中国人兽共患病学报, 2016, 32(1): 21-23.
ZHANG Y G, LI C Q, WU D F, et al. Preliminary protein expression profiling analysis on human hydatid and alveolar hydatid in Qinghai Province[J]. *Chinese Journal of Zoonoses*, 2016, 32(1): 21-23. (in Chinese)
- [72] 李文桂, 朱佑明, 王鸿, 等. pCD-Em10 对泡球绦虫感染小鼠免疫应答的影响[J]. 中国免疫学杂志, 2008, 24(2): 99-103, 109.
LI W G, ZHU Y M, WANG H, et al. Effect of pCD-Em10 on immune response in mice infected with alveolar hydatid cyst of *Echinococcus multilocularis* [J]. *Chinese Journal of Immunology*, 2008, 24(2): 99-103, 109. (in Chinese)
- [73] KORKMAZ M, INCEBOZ T, CELEBI F, et al. Use of two sensitive and specific immunoblot markers, Em70 and Em90, for diagnosis of alveolar echinococcosis[J]. *J Clin Microbiol*, 2004, 42(7): 3350-3352.
- [74] KATOH Y, KOUGUCHI H, MATSUMOTO J, et al. Characterization of emY162 encoding an immunogenic protein cloned from an adult worm-specific cDNA library of *Echinococcus multilocularis* [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1780(1): 1-6.