

• 综述 •

# 一氧化氮/一氧化氮合酶在寄生虫学研究中的应用

杨坤<sup>1</sup>, 周晓农<sup>2</sup>

(1. 江苏省血吸虫病防治研究所, 江苏无锡 214064; 2. 中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所, 上海 200025)

【中图分类号】 R38      【文献标识码】 A      【文章编号】 1001-6627(2003) 02-0125-03

自 20 世纪 80 年代内源性一氧化氮(Nitric oxide, NO)被发现以来, 其在生物学中广泛而重要的生理及病理作用越来越受到人们的重视, 其限速酶一氧化氮合酶(Nitric oxide synthase, NOS)的研究也取得较大进展, 本文就近年来 NO/NOS 在寄生虫学研究中的应用作一综述。

## 1 NO/NOS 的生物学特性及功能

NO 是 L-精氨酸(L-arg)的末端由 NOS 氧化产生的一种自由基, 具有脂溶性, 可快速透过生物膜扩散, NO 在机体内极不稳定, 存在细胞内外液中。NOS 是合成 NO 的唯一限速酶, 以 L-arg、还原型尼可酰胺腺苷二核苷酸(NADPH)、O<sub>2</sub> 为底物生成 NO 及 L-瓜氨酸。NOS 分原生型 NOS( constitutive NOS, cNOS) 和诱生型 NOS(inducible NOS, iNOS) 两大类, 前者根据分子水平和来源的研究可分为神经元型(neuronal NOS, nNOS) 和内皮型(endothelial NOS, eNOS)。cNOS 需要 NADPH 作辅酶, 依赖于钙离子(Ca<sup>2+</sup>) 和钙调蛋白(CaM), 产生少量的 NO, iNOS 的生物活性不依赖于钙离子及钙调蛋白, 一般情况下不表达, 但可被细胞因子[如肿瘤坏死因子(TNF)、干扰素- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )、白介素- $\beta$ (IL- $\beta$ )等]、细胞脂多糖(LPS)、多种试剂、紫外光创伤等诱导, 产生大量的 NO, 发生免疫反应或细胞毒作用。

NO 的生物合成除受 NOS 调节外, 还受底物可用度(如 L-arg)、辅助因子(如 BH<sub>4</sub>)、低频电磁场<sup>[1]</sup>等影响。L-arg 类似物 L-单甲基-精氨酸(L-NMMA)、N-硝基-L-精氨酸(L-NNA)、N-硝基精氨酸甲酯(L-NAME)等可竞争性抑制 NO 的合成。NOS 的生物合成发生在蛋白质水平和基因水平的调节, 蛋白质水平主要受钙离子(Ca<sup>2+</sup>)、钙调蛋白(CaM)、细胞因子的调节, 基因水平的调节主要是影响 NOS-mRNA 的表达<sup>[2,3]</sup>。

NO 分子小, 可自由穿过细胞膜, 以自分泌或旁分泌形式作用于细胞内的靶分子, 发挥信号传递、炎症介质、血管扩张等生理作用。这一作用机制不但存在于脊椎动物中, 还存在于无脊椎动物中<sup>[4]</sup>, 另一方面, 高浓度 NO 又会对细胞产生损伤作用, NO 可与超氧阴离子反应生成亚硝酸离子, 后者及其分解产物羟自由基可导致细胞毒性作用, 使参与能量代谢的酶(如甘油醛-3-磷酸脱氢酶, GAPDH)或抗氧化有关的酶(如谷胱甘肽过氧化物酶, GPx)失活。再者, NO 还可抑制 DNA 合成和直接损伤 DNA。

## 2 NO/NOS 与寄生虫感染

人体内抗寄生虫感染的主要效应细胞是巨噬细胞, 其它还有中性粒细胞、单核细胞、内皮细胞、神经小胶质细胞和肝细胞, 这些细胞中的 iNOS 被 LPS、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  和 IL-2 中的一种或多种因子激活, 产生 NO, 发挥抗寄生虫感染的作用<sup>[5]</sup>。NO 与寄生虫的作用机制复杂, 多数学者认为系通过 NO 作用于寄生虫体内的关键代谢酶, 使其失活而发挥抑制和杀伤作用。

**2.1 血吸虫** 20 世纪 90 年代初, 在研究巨噬细胞对血吸虫尾

蚴的细胞毒作用中发现, 被 IFN- $\gamma$ 、LPS 或其它细胞因子激活的巨噬细胞产生的 NO 对血吸虫尾蚴有杀灭作用。Wynn 等<sup>[6]</sup>运用放射自显影的追踪方法, 研究免疫后受攻击的小鼠体内血吸虫童虫的分布, 发现大部分血吸虫童虫停留在肺内, 以后被逐渐消灭, 检查肺组织有大量的 IFN- $\gamma$ 、INF- $\alpha$ 、IL-2, 激活巨噬细胞产生 NO。还有学者<sup>[7]</sup>发现, 在肺内特别是寄生虫周围的炎症组织中有高水平 iNOS-mRNA 表达。李中明等<sup>[8]</sup>用过氧化酶标记的链霉菌白素染色法(SP)免疫组化法分析 cNOS 和 iNOS 在正常家兔和血吸虫病兔直肠壁的表达分布, 显示血吸虫病兔两者都为强阳性, iNOS 可见于虫卵、虫卵肉芽肿周围、纤维结缔组织及炎症细胞之间, 提示 NO 在血吸虫肉芽肿发病机理中起重要作用。一方面, NO 可杀伤血吸虫虫卵; 另一方面 NO 也可损伤直肠壁, 造成直肠壁的损伤。

Abdallahi 等<sup>[9]</sup>研究曼氏血吸虫的肝损伤时同样发现, NO 一方面对虫卵的沉积有阻碍作用, 另一方面 NO 产生的活性氧(Reactive oxygen species, ROS)对肝组织产生病理损伤, 促进肝纤维化, 并提出在血吸虫病的治疗过程中保持 NOS 和 ROS 的平衡有极其重要的意义。另有临床观察, 晚期血吸病患者血清的 NO 水平明显高于正常对照, 提示 NO 还参与了晚期血吸虫病的发病过程<sup>[10]</sup>。

**2.2 疟原虫** 通过纯化疟原虫抗原、疟原虫攻击免疫小鼠, L-NMMA 对照等证实 NO 在疟疾发病过程中有免疫保护作用<sup>[11]</sup>。Seguin 等<sup>[12]</sup>先用经照射减毒的子孢子免疫 BALB/c 小鼠, 此时的免疫小鼠对再感染子孢子呈抗性, 这种过程可被 NOS 阻断剂阻断, 提示肝细胞内产生的 NO 具有抗疟原虫感染的作用。免疫小鼠的肝脏在受子孢子攻击 18 h~24 h 后 iNOS-mRNA 表达达最高峰。进一步研究发现, 免疫小鼠对疟原虫的抗性可用抗 IFN- $\gamma$  抗体或耗尽 CD8<sup>+</sup>T 细胞(而不是 CD4<sup>+</sup>T 细胞)去除, 结果提示 CD8<sup>+</sup>T 细胞产生的 IFN- $\gamma$  通过诱导肝细胞和/或枯否氏细胞而对肝细胞内的疟原虫产生杀伤作用。Yoshida 等<sup>[13]</sup>在研究疟原虫 DNA 疫苗时, 发现含有环孢子蛋白基因(PL-phcsp)和小鼠白介素-12(IL-12)基因的基因疫苗注入小鼠肝脏中, 其保护率达 71% 左右, 并且在肝脏的枯否氏细胞产生大量的 iNOS, 而另一组基因注入皮肤中, 其保护率低于 33%, 没有大量的 iNOS 产生, 也间接提示了 iNOS 对疟原虫的杀伤作用。

**2.3 弓形虫** 林京等<sup>[14]</sup>采用末端脱氧核苷酸转移酶(TdT)介

\* 【作者简介】 杨坤(1976-), 男(汉族), 山东人, 1999 年毕业于济宁医学院预防医学系, 现为江苏省血吸虫病防治研究所在读硕士研究生, 主要从事血吸虫病流行病学研究。

E-mail: jipdyk76@hotmail.com

导的原位末端标记法(TUNEL)检测表明,NO 供体亚硝酸基铁氰化钠(SNP)可诱导弓形虫速殖子凋亡,并呈剂量和时间依赖性,NO 清除剂 N-乙酰半胱氨酸能明显抑制 SNP 诱导的弓形虫速殖子凋亡,不含有 NO 的 SNP 的类似物铁氰化钾不能诱导弓形虫速殖子的凋亡,提示外源性 NO 可诱导弓形虫速殖子凋亡。有学者研究表明<sup>[15,16]</sup>,巨噬细胞抗弓形虫的机理为 IFN- $\gamma$  活化巨噬细胞产生 IFN- $\alpha$  后者诱导 NO 产生抗弓形虫作用,在神经系统小胶质细胞发挥巨噬细胞作用,发挥抗弓形虫感染作用。

**2.4 阿米巴原虫** 阿米巴原虫对 NO 介导的杀伤作用敏感。有研究表明<sup>[17,18]</sup>,IFN- $\gamma$  活化的巨噬细胞产生的 NO 可杀灭阿米巴原虫,且此过程可被 L-NMMA 抑制,而应用 IFN- $\alpha$  增加巨噬细胞内 iNOS-mRNA 的表达,可加强巨噬细胞对阿米巴原虫的杀伤效果,提示 NO 介导的效应机制在宿主抗阿米巴原虫感染中起着重要的作用。

**2.5 锥虫** Saefel 等<sup>[19]</sup>研究表明,IFN- $\gamma$  活化的巨噬细胞产生的 NO 对细胞内的克氏锥虫有杀伤作用,不能产生足够 iNOS 的小鼠对克氏锥虫易感,且组织及血液内锥虫数量增加明显,小鼠死亡率高。Machado<sup>[20]</sup>测定被感染小鼠的 NO 的含量,结果表明,被感染的小鼠的 NO 含量明显增高,同时分别给予 IL-2、IFN- $\gamma$  和 INF- $\alpha$  可提高 NO 的含量,使锥虫的数量及活动能力都下降,这些作用都可被 L-NMMA 阻断,提示 NO 在抗克氏锥虫感染中有着重要作用。有学者<sup>[21]</sup>用免疫组织化学和 RT-PCR 法检测被布氏锥虫感染的小鼠的 NO 含量,结果被感染小鼠的 NO 含量明显增加,且 IFN- $\gamma$  可明显加强此过程,提示由 IFN- $\gamma$  介导的保护作用在小鼠抗布氏锥虫感染中同样具有重要意义。

**2.6 利什曼原虫** 研究表明,NO 对利什曼原虫的无鞭毛体和前鞭毛体均有抑制和杀伤作用,应用抗 iNOS 抗体作免疫组织化学和 mRNA 水平测定,发现 iNOS 在被感染小鼠的皮肤和体内淋巴结中的表达明显增加,且高表达区域很少或没有利什曼原虫感染<sup>[22]</sup>。一些释放 NO 的药物(如三乙酸甘油酯)已经成功地用于治疗皮肤利什曼病,Salvati 等<sup>[23]</sup>对其机理进行了研究,提出药物释放的 NO,通过作用于利什曼原虫体内的半胱氨酸而发挥其抗利什曼原虫感染的作用。

### 3 NO/NOS 与寄生虫媒介(中间宿主)

国内外学者开展了大量蚊体内酶及基因方面的研究,以期找到蚊体内与疟原虫有关的酶或基因。Han 等<sup>[24]</sup>在研究斑须按蚊(*Anopheles stephensi*)体内疟原虫动合子时,发现未被感染的蚊子体内的中肠上皮细胞不表达 iNOS,而被感染的中肠上皮细胞会有一些特征性变化,其中包括 iNOS 的表达。还有学者研究表明,斑须按蚊 NOS(As-NOS)是单拷贝基因,其结构类似人类的 3 种 NOS 基因,并用 Northern-blot、PCR 等技术证明共有 18~22 个转录子,在被感染的蚊体内表现出 3 个特殊的转录子<sup>[25]</sup>。Luckhart 等<sup>[26]</sup>把斑须按蚊分为 4 个组:对照组、感染组、感染+食物中含 L-NAME 组、感染+食物中含有 L-arg 组,结果显示,在 1~3 d 感染组的 As-NOS 表达量明显增加,而对照组变化不明显,这时期与疟原虫的侵入和卵囊的早期生长期相同,第 6 d 卵囊的生长期无 NOS 表达,第 9 d 随着子孢子的释放,As-NOS 再次升高,到了第 14 d 子孢子侵入蚊体的唾液腺后,As-NOS 再次下降。在感染组的食物中含有 NOS 的底物 L-

arg 降低了感染率,而食物中含有 NOS 抑制剂 L-NAME 时,感染蚊体内的疟原虫数就会明显增加,表明斑须按蚊利用 NO 限制体内疟原虫的生长。

研究表明<sup>[27,28]</sup>,用 NADPH-d 酶组织化学法进行定位,昆虫的脑组织也存在 NOS,分布于轴索、神经纤维网和一定神经胶质细胞中,但嗜血昆虫长红猎蝽(*Rhodnius prolixus*)的 NOS 却分布在特殊的组织—唾液腺中。Muller 等<sup>[29]</sup>发现作为神经递质的 NO 参于 *Apis mellifera* 昆虫的长时程记忆(long-term memory, LTM)的形成过程。哺乳动物内皮细胞释放的 NO 对血管张力、血压及器官血流量的调节起重要作用。NO 的血管舒张作用同样存在于嗜血昆虫长红猎蝽的唾液腺分泌的 NO 中,其在摄食过程中,将 NO 注入宿主体内使血管扩张,使其更容易吸血<sup>[30]</sup>。

螺类在传播多种寄生虫病中起着中间宿主的作用。NO 兼有第一信使和神经递质的性能,又是效应分子,在中枢神经系统的(CNS)参与多生理功能,与 NO 合成有关的 NOS 在螺体内的神经系统的分布首先引起了极大关注。Huang 等<sup>[31]</sup>用生物化学和分子生物技术观察到大蜗牛 *Helix pomatia* 螺的 CNS 中存在 NOS,并用组化方法进行了定位,证实了其活性依赖于  $\text{Ca}^{2+}$  及 NADPH,并可被 N-硝基-L-精氨酸(L-NNA)所阻止断。Korneev 等<sup>[32]</sup>研究肝片吸虫中间宿主椎实螺(*Lymnaea stagnalis*)时,同样证明 CNS 存在 NOS(lym-NOS),并且大部分与哺乳动物 CNS 中的 NOS 结构相似,但 lym-NOS 所包含的 7 个重复氨基酸序列没有在其它已知的 NOS 中发现,同时,还把 lym-NOS 定位到大脑巨型细胞(CGCs)中,而 CGCs 是调节摄食活动的中枢神经细胞,提示 NO 参与该螺的摄食活动。NOS 不但存在于 CNS 中,还存在周围神经细胞中,尤其是肌肉间神经节<sup>[33,34]</sup>。Kobayashi 等<sup>[35]</sup>用特殊的电极测定 B2 细胞(椎实螺口腔神经节产生 NO 的细胞)NO 的释放量,其结果显示用食物刺激唇部时,其释放量明显增加,且此过程可被 NOS 阻断剂所阻断,更直接证实了 NO 参与螺的摄食活动。NO 还参与神经蛋白(neuroprotein)和神经肽(neuropeptide)的释放<sup>[33]</sup>。国内梁幼生等<sup>[36]</sup>首先用 NADPH-d 酶组织化学技术对湖北钉螺(*Oncomelania hupensis*)软体的整体连续切片作系统观察,结果表明足肌纤维间含丰富 NOS 阳性神经元,中枢神经节纤维区、心脏壁、雌雄生殖细胞、腮管、咽管等呈强 NOS 阳性神经元,提示 NO 作为主要生物信使直接参与钉螺神经肌肉运动、生殖和心血管调节等生命活动。戴建荣等<sup>[37]</sup>在对杀螺增效剂的研究过程中发现,B002 作用于钉螺,使 NOS 阳性细胞失活,影响神经调节和肌肉活动,以发挥增效剂的作用,也间接证实了 NO 在螺体内的重要生物作用。

### 4 结语

NO 作为生物体内气态信使和效应分子,广泛参与生物体内的生理、生化和病理反应。广泛开展 NO/NOS 在寄生虫感染及寄生虫媒介(中间宿主)中的研究,有助于更好地认识寄生虫及媒介的生理和代谢状况。关于寄生虫感染与宿主间关系的研究,已引起极大的关注,但在外界因素对寄生虫的影响和媒介抗药机制等方面研究中的重要意义,尚待深入探讨。

另外,开展 NO 在寄生虫感染中的研究,有助于寄生虫感染的临床治疗。虽然多数学者认为 NO 抗寄生虫感染的机制系

通过 NO 作用于寄生虫体内的关键代谢酶而发挥抑制和杀伤作用,但具体的作用机制尚未完全明确。

【参考文献】

[1] Yoshikawa T, Tanigawa M, Tanigawa T, et al. Enhancement of nitric oxide generation by low frequency electromagnetic field [J]. Pathophysiology, 2000, 7: 131-135.

[2] Zhang ZG, Chopp M, Gautam S, et al. Upregulation of neuronal nitric oxide synthase and mRNA, and selective sparing of nitric oxide synthase containing neurons after focal cerebral ischemia in rat [J]. Brain Res, 1994, 654: 85-95.

[3] Kadowaki K, Kishimoto J, Leng G, et al. Up-regulation of nitric oxide synthase (NOS) gene expression together with NOS activity in the rat hypothalamo-hypophyseal system after chronic salt loading-arginine vasopressin and oxytocin secretion [J]. Endocrinology, 1994, 134: 1011-1017.

[4] Muller U. The nitric oxide system in insects [J]. Prog Neurobiol, 1997, 51(3): 363-381.

[5] Liew FY, Wei XQ, Proudfoot L. Cytokines and nitric oxide as effector molecules against parasitic infections [J]. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 1997, 352(1359): 1311-1315.

[6] Wynn TA, Oswald IP, Eltoun IA, et al. Elevated expression of Th1 cytokines and NO synthase in the lungs of vaccinated mice after challenge infection with *Schistosoma mansoni* [J]. J Immunol, 1994, 153: 5200-5209.

[7] Oswald IP, Eltoun I, Wynn TA, et al. Endothelial cells are activated by cytokine treatment to kill and intravascular parasite, *Schistosoma mansoni*, through production of nitric oxide [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1994, 91: 999-1003.

[8] 李中明, 陈茂平. 血吸虫病兔直肠壁一氧化氮合成酶的免疫组化分析 [J]. 中华传染病杂志, 1998, 16(2): 79-81.

[9] Abdallahi OM, Bensalem H, Diagana M, et al. Inhibition of nitric oxide synthase activity reduces liver injury in murine schistosomiasis [J]. Parasitology, 2001, 122: 309-315.

[10] 陈盛铎, 杨柳, 杨玲, 等. 晚期血吸虫病患者血清一氧化氮的检测意义 [J]. 中西医结合肝病杂志, 1998, 8(2): 75-76.

[11] Jones IW, Thomsen LL, Knowles R, et al. Nitric oxide synthase activity in malaria-infected mice [J]. Parasite Immunol, 1996, 20(1): 853-858.

[12] Seguin MC, Klotz FW, Schneider I, Weir JP, et al. Induction of nitric oxide synthase protects against malaria in mice exposed to irradiated *Plasmodium berghei* infected mosquitoes: involvement of interferon gamma and CD8<sup>+</sup> T cells [J]. J Exp Med, 1994, 180(1): 353-358.

[13] Yoshida S, Kashiwamura SI, Hosoya Y, et al. Direct immunization of malaria DNA vaccine into the liver by gene gun protects against lethal challenge of *Plasmodium berghei* sporozoite [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2000, 271(1): 107-115.

[14] 林京, 胡建石, 林建银. 外源性一氧化氮对弓形虫速殖子凋亡的诱导作用 [J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2001, 19(2): 72-75.

[15] Langermans JAM, Van Der Ijuiist MEB, Nibbering PH, et al. IFN-γ-induced L-arginine dependent toxoplasmatatic activity in murine peritoneal macrophages is mediated by endogenous tumor necrosis factor [J]. J Immunol, 1992, 148: 568-574.

[16] Chao CC, Hu S, Gekker G, et al. Effects of cytokines on multiplica-

tion of *Toxoplasma gondii* via a nitric oxide mechanism [J]. Clin Immunol Immunopathol, 1993, 67: 178-183.

[17] Lin JY, Chadee K. Macrophage cytotoxicity against *Entamoeba histolytica* trophozoites is mediated by nitric oxide from L-arginine [J]. J Immunol, 1992, 148: 3999-4005.

[18] Lin JY, Seguin R, Keller K, et al. Tumor necrosis factor alpha augments nitric oxide-dependent macrophage cytotoxicity against *Entamoeba histolytica* by enhanced expression of the nitric oxide synthase gene [J]. Infect Immunol, 1994, 62: 15341.

[19] Saeftel M, Fleischer B, Hoerauf A. Stage-dependent role of nitric oxide in control of *Trypanosoma cruzi* infection [J]. Infect Immunol, 2001, 69(4): 2252-2259.

[20] Machado FS, Martins GA, Aliberti JC, et al. Trypanosoma cruzi infected cardiomyocytes produce chemokines and cytokines that trigger potent nitric oxide-dependent trypanocidal activity [J]. Circulation, 2000, 102(24): 3003-3008.

[21] Girard M, Ayed Z, Preux PM, et al. In vitro induction of nitric oxide synthase in astrocytes and microglia by *Trypanosoma brucei* [J]. Parasite Immunol, 2000, 22(1): 7-12.

[22] Liew FY, Li Y, Moss D, et al. Resistance to leishmania major infection correlated with the induction of nitric oxide synthase in murine [J]. Eur J Immunol, 1992, 12(12): 3009-3014.

[23] Salvati L, Mattu M, Colasanti M, et al. NO donors inhibit Leishmania infantum cysteine proteinase activity [J]. Biochim Biophys Acta, 2001, 1545(1-2): 357-366.

[24] Han YS, Thompson J, Kafatos FC, et al. Molecular interactions between *Anopheles stephensi* midgut cells and *Plasmodium berghei*: the time bomb theory of ookinete invasion of mosquitoes [J]. EMBO J, 2000, 19(22): 6030-6040.

[25] Luckhart S, Li K. Transcriptional complexity of the *Anopheles stephensi* nitric oxide synthase gene [J]. Insect Biochem Mol Biol, 2001, 31(3): 249-256.

[26] Luckhart S, Vodovotz Y, Cui L, et al. The mosquito *Anopheles stephensi* limits malaria parasite development with inducible synthesis of nitric oxide [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95(10): 5700-5705.

[27] Bicker G, Hahnlein I. NADPH-diaphorase expression in neurones and glial cells of the locust [J]. Neuroreport, 1995, 6: 325-328.

[28] Nussenzveig RH, Bentley DL, Ribeiro JM. Nitric oxide loading of the salivary nitric oxide-carrying hemoproteins (nitrophorins) in the blood-sucking bug *Rhodnius prolixus* [J]. J Expl Biol, 1995, 198: 1093-1098.

[29] Muller U. Inhibition of nitric oxide synthase impairs a distinct form of long-term memory in the honeybee *Apis mellifera* [J]. Neuron, 1996, 16(3): 541-549.

[30] Ribeiro JM, Hazzard JM, Nussenzveig RH, et al. Reversible binding of nitric oxide by a salivary heme protein from bloodsucking insect [J]. Science, 1993, 260(5107): 539-541.

[31] Huang S, Kerschbaum HH, Engel E, et al. Biochemical characterization and histochemical localization of nitric oxide synthase in the nervous system of the snail, *Helix pomatia* [J]. J Neurochem, 1997, 69(6): 2516-2528.

[32] Korneev SA, Piper MR, Picot J, et al. Molecular characterization of NOS in a mollusc: expression in a giant modulatory neuron [J]. J Neurobiol, 1998, 35(1): 65-76.

[33] Moroz LL. Giant identified NO<sup>-</sup> releasing neurons and comparative histochemistry of putative nitrergic systems in gastropod molluscs [J]. Microsc Res Tech, 2000, 49(6): 557-569.

[34] Pisu MB, Conforti E, Fenoglio C, et al. Nitric oxide-containing neurons in the nervous ganglia of *Helix aspersa* during rest and activity: immunocytochemical and enzyme histochemical detection [J]. J Comp Neurol, 1999, 409(2): 274-284.

[35] Kobayashi S, Sadamoto H, Ogawa H, et al. Nitric oxide generation around buccal ganglia accompanying feeding behavior in the pond snail, *Lymnaea stagnalis* [J]. Neurosci Res, 2000, 38(1): 27-34.

[36] 梁幼生, 戴建荣, 朱荫昌, 等. 钉螺一氧化氮合酶分布的酶组织化学研究 [J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2001, 13(4): 196-197.

[37] 戴建荣, 梁幼生, 王锐, 等. B002 对氯硝柳胺杀螺增效机理的研究 [J]. 中国寄生虫病防治杂志, 2001, 14(1): 38-40.

【收稿日期】 2002-03-20 【修回日期】 2002-12-06