

中国大陆钉螺种群遗传学研究

Ⅱ. 钉螺易感性与等位基因频率间的关系*

周晓农¹ T. K. Kristensen² 吴中兴¹ 洪青标¹ 孙乐平¹ 徐 秋¹ 陆安生¹

1 江苏省寄生虫病防治研究所(无锡 214064)

2 Danish Bilharziasis Laboratory

3 江苏省无锡市血吸虫病防治站

提要 为了探讨钉螺易感性与遗传变异间的相互关系,本研究应用 Logistic 回归方程模型分析中国 33 个地点钉螺易感性与等位基因频率间的关系。逐步回归分析结果显示,只有一个变量(Mdh-2 基因频率)显著性地进入模型,回归系数为 13.7069,常数为-8.7409。所建立的模型拟合原始数据完好,且种群的分正确率达 93.9%,表明 Mdh-2 基因位点与钉螺易感性相关。

关键词 钉螺 易感性 基因型频率 Logistic 回归

血吸虫和螺蛳间的相容性关系,可概括为寄生虫感染和螺蛳易感性两个方面^[1]。血吸虫与螺蛳的相容程度,在很大程度上取决于与之相关的寄生虫感染性基因和宿主的抗感染基因^[2]。Richards 证实了影响光滑双脐螺对曼氏血吸虫感受性的一些遗传因子^[3]。Minchella 则描述了宿主对寄生虫抗性进化的影响因子^[4]。不同地区的钉螺对日本血吸虫的地域株具有不同的感受性已有研究^[5,6]。然而有关引起钉螺-日本血吸虫相容性差异的遗传学基础尚无报道。原因为血吸虫的生活史复杂,且在易感性方面螺蛳的遗传存在着自身变异^[7]。本研究运用 Logistic 回归模型分析研究现场钉螺种群易感性与遗传变量的定量关系。

方 法

从 33 个地区钉螺的易感性实验结果中收集钉螺种群的感染率资料,在等位基因酶实验结果中收集相应钉螺种群的 7 个多态基因位点的等位基因频率资料(待发表)。

Logistic 回归分析以每个钉螺种群的感染率为因变量,多态基因位点的基因频率为

自变量。当钉螺不能被感染时,钉螺种群的易感性计为 0,当钉螺感染率大于 0 时,钉螺种群的易感性则计为 1。回归分析模型为:感染概率 = $e^z / (1 + e^z)$, 或:感染概率 = $1 / (1 + e^{-z})$ 。在这里 z 是多元线性参数, $z = B_0 + B_1X_1 + B_2X_2 + \dots + B_pX_p$; 其中 $B_0, B_1, B_2, \dots, B_p$ 是从资料中评估出来的系数; X_1, X_2, \dots, X_p 是自变量, e 是自然对数的底^[8]。

Logistic 回归模型的参数用最大似然法估算,全部计算程序按照 Norusis 计算机软件模型进行^[8]。建立模型后对该模型进行拟合优度检验和判别正确率计算,以确定模型的适宜程度。

结 果

钉螺种群易感性和相应的等位基因频率见表 1、表 2。向前和向后两种逐步回归分析方法结果显示,仅 Mdh-2 基因位点在 LEON 值等于 0.000 1 的水准上进入方程,其回归系数为 13.706 9 (SD=5.398 8, $P=0.011 1$),常数为-8.740 99 (SD=3.740 9,

* 本课题得到联合国开发署/世界银行/世界卫生组织热带病研究和培训特别规划署的资助

$P=0.0195$)。因此,如以 FM 代表 Mdh-2 的基因频率,Logistic 回归方程可写作:感染概率 $= 1/(1 + e^{-z})$, $z = 13.7069 \times FM - 8.74099$ 。

该 Logistic 回归模型拟合优度显著性检验结果无显著差异($P=0.9999$)。93.9%的种群判别正确,其中 83.3%的非易感种群和 96.3%的易感种群判别正确。

表 1 各地钉螺易感性测定的实验结果

Table 1 Infection rate of *Oncomelania hupensis* with *Schistosoma japonicum*

地名(简称)	感染螺数	解剖螺数	阳性螺数	感染率(%)
Localities	Exposed snails	Dissected snails	No. positive	Infection rate(%)
安徽铜陵(山区)AHD LH	200	199	72	36.18
安徽铜陵(老洲)AHD LL	100	92	23	25.00
安徽铜陵(湖区)ALD LM	200	177	55	31.07
安徽广德 AHGD	300	281	0	0
安徽贵池 AHGZ	180	105	43	40.95
安徽青阳(山区)AHJYH	216	203	29	14.29
安徽青阳(湖区)AHJYM	100	100	17	17.00
福建福清 FJFQ	500	338	12	3.55
湖北洪湖 HBHW	100	98	81	82.65
湖北汉川 HBHZ	100	78	67	85.90
湖北潜江 HBJJ	100	55	20	36.36
湖北荆州 HBJZ	100	90	5	5.56
湖北石首 HBSS	200	136	60	44.12
湖北武昌 HBWZ	200	168	59	35.12
湖北咸宁 HBXN	100	93	19	20.43
湖南华容 HNHR	200	169	45	26.63
湖南西洞庭 HNXH	200	148	57	38.51
江苏南京八卦洲 JSBGZ	100	97	91	93.81
江苏高邮 JSGY	200	180	75	41.67
江苏吴县 JSWX	100	99	15	15.15
江苏南京花园 JSHY	100	98	21	21.43
江苏金坛 JSJD	100	95	52	54.74
江苏江浦 JSJP	100	93	26	27.96
江苏六合 JSLH	100	96	88	91.67
江苏盐城 JSYZ	100	90	24	26.67
江西彭泽 JXBZ	200	182	143	78.57
上海金山 SHJS	100	92	59	64.13
四川丹棱 SZDL	100	61	0	0
四川大邑 SZDY	200	31	0	0
四川普格 SZPG	200	199	12	6.03
四川彭山 SZPS	100	15	0	0
云南大理 YNDL	50	45	0	0
云南巍山 YNWS	200	81	0	0

讨 论

易感性遗传学测定技术已应用于其它种别的螺蛳—吸虫模型,如光滑双脐螺/曼氏血

吸虫;静水椎实螺/眼点毛毕吸虫; *Helisoma anceps*/ *Halipegns occidialis*^[9-11]。大多数有关吸虫与螺蛳相互关系的遗传学研究主要从两大方面着手:一是利用实验室已建立的寄

表 2 各地钉螺种群中多态等位点的等位基因频率

Table 2 Allele frequencies in seven polymorphic loci among 33 populations of *Oncomelania hupensis*

地点 Populations	Ap	Est-4	Est-5	Got	Mdh-2	Idh-2	Xdh
安徽铜陵(山区)AHD LH	0.8750	1.0000	0.0667	1.0000	0.7500	1.0000	1.0000
安徽铜陵(老洲)AHD LL	0.8750	1.0000	0.3571	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
安徽铜陵(湖区)AHD LM	0.9167	1.0000	0.6200	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
安徽广德 AHGD	0.9000	1.0000	0.5400	1.0000	0.6667	1.0000	0.5800
安徽贵池 AHGZ	0.9167	1.0000	0.6000	1.0000	1.0000	1.0000	0.9250
安徽青阳(山区)AHJ YH	0.5000	1.0000	0.4630	0.7083	0.8409	1.0000	1.0000
安徽青阳(湖区)AHJ YM	1.0000	1.0000	0.2000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
福建福清 FJFQ	0.8000	0.2500	0.2000	1.0000	1.0000	0.9500	0.0000
湖北洪湖 HBHW	1.0000	1.0000	0.2250	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
湖北汉川 HBHZ	1.0000	1.0000	0.5500	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
湖北潜江 HBJJ	0.3750	1.0000	0.5000	1.0000	1.0000	0.9500	0.9667
湖北荆州 HBJZ	0.9167	1.0000	0.5400	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
湖北石首 HBSS	1.0000	1.0000	0.1818	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
湖北武昌 HBWZ	0.8750	1.0000	0.2917	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
湖北咸宁 HBXN	0.8750	1.0000	0.2692	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
湖南华容 H NHR	0.7600	1.0000	0.6579	1.0000	1.0000	1.0000	0.9400
湖南西湖 HNXH	0.9167	1.0000	0.4800	1.0000	1.0000	1.0000	0.9750
江苏南京八卦洲 JSBGZ	1.0000	1.0000	0.5000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
江苏高邮 JSGY	1.0000	1.0000	0.2750	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
江苏吴县 JSWX	0.5200	0.5600	0.6750	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
江苏南京花园 JSHY	0.6500	1.0000	0.4630	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
江苏金坛 JSJD	0.8000	1.0000	0.8958	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
江苏江浦 JSJP	1.0000	1.0000	0.3571	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
江苏六合 JSLH	0.9167	1.0000	0.6000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
江苏盐城 JSYZ	0.8000	0.6500	0.6500	1.0000	1.0000	1.0000	0.0000
江西彭泽 JXBZ	0.6600	1.0000	0.5263	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
上海金山 SHJS	0.3500	1.0000	0.7500	1.0000	1.0000	1.0000	0.9667
四川丹棱 SZDL	1.0000	0.0000	0.3421	0.6250	0.3864	1.0000	0.1094
四川大邑 SZDY	1.0000	0.1400	0.1842	1.0000	0.6250	0.7500	0.0500
四川普格 SZPG	1.0000	0.1750	0.4000	1.0000	0.5000	1.0000	0.0000
四川彭山 SZPS	1.0000	0.0500	0.6500	1.0000	0.5000	1.0000	0.2000
云南大理 YNDL	1.0000	0.0000	0.1786	1.0000	0.3333	1.0000	1.0000
云南巍山 YNWS	0.7000	0.0000	0.0000	1.0000	0.4000	1.0000	1.0000

生虫、螺蛳种株来阐明宿主和寄生虫相容性的遗传学基础^[6]；二是对自然种群进行监测，并鉴定影响虫-宿主关系的因子。用酶分析螺蛳种群内多态变异现象，为观察自然种群的遗传动态提供了一种方法^[1]。本研究采用第 2 种方法，结果显示湖北钉螺 (*O. hupensis*) 的易感性(对无锡株日本血吸虫)与钉螺 Mdh-2 基因频率间的相关关系。

Fletcher 等^[12]曾分析了光滑双脐螺表现型与对曼氏血吸虫感染程度的相关关系。本

文从 7 个多态基因中筛选出一个等位基因 (Mdh-2)，由于能定量地应用该等位基因频率分析与钉螺感染率间的关系，所建立的 Logistic 回归模型优度检验无显著差异 ($P>0.05$)，判别正确率高 (93.9%)，表明 Mdh-2 等位点确与钉螺易感性关联。本试验建立的模型对研究其它宿主-寄生虫相容性具有一定参考价值，尤其是在部分螺宿主种群对寄生虫非易感的情况下适用。

某些实验研究显示，具有遗传学基础的

寄生虫抗性可导致寄生虫对宿主种群结构的变化^[13]。本研究表明,在 6 个非易感种群螺蛳中,Mdh-2/0.04 的基因频率变化范围为 0.33—0.63,并以杂合子为主。非易感螺仍保持着一定的低频率,其原因可能是自然选择压力仅直接作用于易感种群,导致非易感种群有较多的杂合子。Mulvey 等报道多态基因组的数目越多,似乎越能抗感染^[14]。本研究结果显示易感种群比非易感种群具有更高的 Mdh-2/0.04 基因频率,这符合随机遗传漂流及低迁移速率可引起螺蛳对血吸虫易感性呈不均匀分布的假设^[6]。然而感染螺和非易感螺间的遗传差异也反映在螺空间分布的杂合性,例如感染螺和非感染螺种群的地域性分化。

分析 Mdh-2 等位基因,其为一对多态等位基因的基因位点:Mdh-2/0.15 和 Mdh-2/0.04,后者为主要等位基因而应用于模型分析。结果表明 88.9% 的易感种群在 Mdh-2/0.04 等位基因上呈现为单独带型。而 100.0% 非易感钉螺种群呈现为杂交基因位点,其中有部分个体钉螺在 Mdh-2/0.15 处出现单带。提示,Mdh-2/0.04 等位点可能与易感性相关,Mdh-2/0.15 等位点则可能与抗感染相关。当然,相关关系并不意味着 Mdh-2 基因标记自身在钉螺的易感性和抗感染性中起着直接的作用,但可作为与钉螺易感性相关的候选基因。

参 考 文 献

- 1 Rollinson D, Southgate VR. In: Ecology and Genetics of Host-Parasite Interactions. pp. 91-109. Linnean Society of London. 1985

- 2 Bayne, CJ, Loker ES. In: The Biology of Schistosomes, from genes to latrines. pp. 321-346. Academic Press Limited. London. 1987
- 3 Richards, CS. Malacologia 1984, 25: 493-502
- 4 Minchella DJ. Parasitology 1985, 90: 205-216
- 5 Cross, JH, Lo CT. Southeast Asian J Trop Med Pub Hlth 1980, 11: 374-377
- 6 Yuan HC et al. Southeast Asian J Trop Med Pub Hlth 1984, 15: 86-94
- 7 Richards CS. Nature 1970, 227: 806-810
- 8 Norusis MJ. SPSS/PC + Advanced Statistics. SPSS Inc. Chicago 1990
- 9 Richards CS. Parasitology 1975, 70: 231-241
- 10 McClelland G, Bourns TKR. Exp Parasitol 1969, 24: 137-146
- 11 Mulvey M, et al. J Parasitol 1987, 73: 757-761
- 12 Fletcher M, et al. Exp Parasitol 1981, 52: 362-370
- 13 Richards CS. Am J Trop Med Hyg 1973, 22: 749-756
- 14 Mulvey M, Vrijenhoek RC. Am J Trop Med Hyg 1982, 31: 1195-1200

1994 年 9 月 28 日收稿 1994 年 11 月 8 日修回

(编辑:许正元)

POPULATION GENETICS OF *ONCOMELANIA SPP.* IN MAINLAND CHINA (I) RELATIONSHIP BETWEEN SUSCEPTIBILITY AND GENOTYPE FREQUENCY OF SNAILS

Zhou Xiaonong¹, T. K. Kristensen², Wu Zhongxin¹,
Hong Qingbiao¹, Shen Luping¹, Xu Qiu¹, Lu Ansheng³

1 Jiangsu Institute of Parasitic Diseases (Wuxi 214064)

- 2 Danish Bilharziasis Laboratory
3 Wuxi City Anti-schistosomiasis Station

ABSTRACT

The susceptibility of *Oncomelania hupensis* to *Schistosoma japonicum* has been shown to be very variable from population to population. This study was undertaken to relate this variation in susceptibility to genetic variability. A total of 33 populations of *O. hupensis* from several wide spread localities in mainland China were collected. Snails of all populations were exposed in groups to miracidia (20 miracidia per snail) of one laboratory strain of *S. japonicum*. Infection rate varied from zero to 93.9%. Population genetic study was carried out by using horizontal starch gel electrophoresis with the 12 specific enzyme systems. A total of 17 genetically interpretable loci were observed, 7 of these were polymorphic loci. They were Ap, Est-4, Est-5, Got, Mdh-2, Idh-2, Xdh. Allele frequencies were calculated for each population. For logistic regression analysis, susceptibility of the population was scored as 0 when no snail became infected or as 1 when infection rate was more than 0%. Variation in susceptibility was analysed by logistic regression models with genotype frequencies of the 7 polymorphic loci as independent variables. In order to identify the most important factors, both forward and backward stepwise procedures were performed. Results showed that only one variable (genotype frequency of Mdh-2) entered into the model with a regression coefficient of 13.706 9 and a constant of -8.740 9. Results also showed the established model fitted the data well in goodness of fit test, and 93.9% of the populations were correctly classified. It is suggested that a close linkage exists between Mdh-2 gene locus and the susceptibility of *O. hupensis*.

Key words: *Oncomelania hupensis*, susceptibility, genotype frequency, logistic regression

This work was supported by UNDP/WORLD BANK/WHO Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases

堆放芦苇导致江湖滩钉螺向垅内扩散

王艾容 陈季然 徐善来 刘长宽

安徽省望江县血吸虫病防治站 (246203)

望江县于 1983 年基本消灭内陆钉螺后,发现有四处内陆新螺点,均由堆放垅外芦苇造成。一处位于雷池江滩长江修防段垅内的一口水塘,1987 年 4 月,发现钉螺,面积 200m²,活螺平均密度 2 只/0.11m²,最高密度 12 只/0.11m²。该水塘边长期堆放从雷池江外滩运来的防汛备用芦苇。外滩钉螺面积 60 万 m²,活螺框出现率 50.11%,活螺平均密度 3.21 只/0.11m²,最高密度 61 只/0.11m²。另一处为泊湖滩垅内一条水沟,1991 年 4 月发现钉螺,面积 2 500m²,活

螺平均密度 3.45 只/0.11m²,最高密度 25 只/0.11m²。有一芦苇编织专业户,常年在沟边堆放自泊湖滩的芦苇。该滩钉螺面积 81 万 m²,活螺框出现率 33.25%,活螺平均密度 3.45 只/0.11m²,最高密度 111 只/0.11m²。

垅外有螺滩地的芦苇、树木、湖草等搬运到垅内,易造成钉螺向垅内扩散,应加强管理和监测。

1992 年 9 月 16 日收稿

(编辑:许正元)