文章编号:1000-5404(2009)21-2073-05

论著

日本血吸虫和斯氏并殖吸虫的 rDNA-ITS2 遗传多态性研究

何 谐,张锡林,牛靖萱,陈 琳 (第三军医大学基础医学部病原生物学教研室,重庆 400038)

摘 要:目的 分析日本血吸虫和斯氏并殖吸虫的核糖体 DNA 第二内转录间隔区(rDNA-ITS2)基因的遗传变异。**方法** 采集2种吸虫成虫标本,提取其基因组 DNA,PCR 特异性扩增 rDNA-ITS2 基因并测序;Clusterx 软件进行多序列对比;MEGA 4 软件计算遗传距离,NJ 法和 MP 法构建系统进化树;DNAsis 软件对 rDNA-ITS2 序列片段进行模序分析。**结果** 2种方法构建的遗传系统进化树基本结构相似,日本血吸虫与斯氏并殖吸虫间存在较远的遗传距离,但二吸虫 ITS2 序列间有 42.7% 的相似性。利用 DNAsis 软件在日本血吸虫和斯氏并殖吸虫的 rDNA-ITS2 序列中发现 AP_2_CS6、bHLH_CS 和 CAP_site 3种相同的转录因子。**结论** 日本血吸虫和斯氏并殖吸虫虽然在 rDNA-ITS2 基因水平上存在明显种间差异,但在 rDNA-ITS2 序列、转录因子方面具有重要的相似性。

关键词:日本血吸虫;斯氏并殖吸虫;rDNA-ITS2;序列;遗传多态性
中图法分类号:R383.24; R394-33; R394.5 **文献标识码**:A

Genetic polymorphism of rDNA-ITS2 of *Schistosoma japonicum* and *Paragonimus skrjabini*

HE Xie, ZHANG Xi-lin, NIU Jing-xuan, CHEN Lin (Department of Pathogenic Biology, College of Basic Medical Sciences, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To analyze the genetic variation of rDNA-ITS2 of *Schistosoma japonicum* and *Paragonimus skrjabini* in order to avoid the cross reactions in immune diagnosis between schistosomiasis and paragonimiasis. **Methods** The 2 species of fluke were collected, and then the genomic DNA was extracted, to amplify the gene of rDNA-ITS2 by polymerase chain reaction (PCR) and then sequenced. Multiple sequences were aligned by Clusterx, the genetic distance was analyzed by MEGA4, and the phylogentic tree of rDNA-ITS2 genes of *Schistosoma* and *Paragonimus* constructed with MP and NJ method. The motifis of the rDNA-ITS2 gene sequences of *Schistosoma* and *Paragonimus* were analyzed with DNAsis. **Results** The results of phylogentic trees of rDNA-ITS2 genes of *Schistosoma* and *Paragonimus* were similar. The genetic distance between *Schistosoma japonicum* and *Paragonimus skrjabini* was longer, though there was 42.7% similarity between their rDNA-ITS2 gene. There were 3 same transcription factors in the sequences of *Schistosoma japonicum* as well as *Paragonimus skrjabini*, AP_2_CS6, bHLH_CS and CAP_site. **Conclusion** Though there are obviously differences between the *Schistosoma japonicum* and *Paragonimus skrjabini* at the level of gene, they have significantly similarity in transcription factors of rDNA-ITS2 sequences. It may provide valuable theoretical information for studies on cross-reacting antigen between *Schistosoma japonicum* and *Paragonimus skrjabini* at gene level.

Key words: *Schistosoma japonicum*; *Paragonimus skrjabini*; rDNA-ITS2; sequences; polymorphism

虽然长江三峡为血吸虫病非流行区,但三峡库区位于湖北汉江平原和四川成都平原两大血吸虫病流行区之间。研究表明随着人群流动和动、植物的远距离迁移,三峡库区存在传染源输入和钉螺向库区扩散的可能,对库区构成血吸虫病流行的潜在危机[1]。另外,以往的研究显示三峡库区为肺吸虫病的中、高度流行区[2]。在我国导致肺吸虫病流行的病原体主要为斯氏并殖吸虫,三峡库区为斯氏并殖吸虫流行区;而血吸虫病则由日本血吸虫导致。由于斯氏并殖吸虫与血吸虫同属于吸虫纲,存在遗传上的亲缘性,在现有的免疫诊断方法中,二者之间存在较高的交叉反应率[3,4],这必将给传入三峡库区的血吸虫病流行病学调查、临

基金项目:重庆市重大科技专项(CSTC2007AB5029);重庆市自然科学基金(CSTC2007BB5055)
Supported by the Key Program of Sci & Tech of Chongqing (CSTC2007AB5029) and the Natural Science Foundation of Chongqing (CSTC2007BB5055)
作者简介:何 谐,女,重庆市人,硕士研究生,主要从事吸虫的遗传多态性与致病基因方面的研究。E-mail:akadiya45@yahoo.com.cn
通信作者:张锡林,E-mail:jsczxl@tmmu.edu.cn
收稿日期:2009-04-08;修回日期:2009-06-15

床病例的明确诊断带来极大困难。为此,本研究分析日本血吸虫和斯氏并殖吸虫的 rDNA-ITS2 基因遗传多态性,从基因水平探讨日本血吸虫病和肺吸虫病在免疫诊断中出现交叉反应的分子机制,为库区肺吸虫病与血吸虫病监控与防治策略的制定、调整提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 日本血吸虫和斯氏并殖吸虫样本采集 自湖南血吸虫病流行区购得阳性钉螺,孵化出尾蚴;以 1 200 条尾蚴感染兔,45 d 后感染兔处死,在兔的肝门静脉内检获日本血吸虫成虫。在库区斯氏并殖吸虫流行区采集溪蟹,从溪蟹中分离出斯氏并殖吸虫囊蚴;斯氏并殖吸虫囊蚴经腹腔注射感染雄性家犬(斯氏并殖吸虫 200 个囊蚴/条),在感染后 70 d 处死感染犬,在犬的肺部检获斯氏并殖吸虫成虫。2 种吸虫用 0.01 mol /L PBS(pH 7.2) 洗涤 3 次,置 -70 ℃超低温冰箱保存备用。

1.1.2 菌株与质粒 大肠杆菌(*E. coli*) JM109 菌株(由本实验室提供)。PMD19-T Vector 购自大连宝生物公司。

1.1.3 主要试剂和仪器 蛋白酶 K、饱和酚、氯仿、无水乙醇、琼脂糖、胰化蛋白胨、酵母提取液、NaCl 皆为国产试剂,PTC-100 型 PCR 仪,德国 MJ Research 公司产品,5415R 型台式冷冻离心机,德国 Eppendorf 公司产品。

1.1.4 引物 由大连宝生物公司合成。根据由 NCBI 数据库中查得日本血吸虫、斯氏并殖吸虫 rDNA5.8S 和 28S 编码区保守序列,参考日本血吸虫 rDNA-ITS2 序列,根据斯氏并殖吸虫保守序列用 Primer 5 软件设计引物 Pw,序列如下:上游引物 PsPw-ITS2U 5′-GAAGAGCGCAGCCAACT-3′,下游引物 PsPw-ITS2L 5′-AATCCGGGTCAGAAGAATG-3′。预计产物长度在 400 ~ 500 bp。

1.2 方法

1.2.1 日本血吸虫和斯氏并殖吸虫成虫基因组 DNA 提取 分别取日本血吸虫成虫 62.3 mg 和斯氏并殖吸虫成虫 62.6 mg,加入 TE 缓冲液 500 μl,充分研磨后转入 1.5 ml EP 管。加入 SDS(终浓度 1%)、蛋白酶 K(终浓度 100 ~ 200 μg/ml) 混匀,55 ℃水浴 3 h,煮沸 5 min。分别用等体积的饱和酚、酚:氯仿:异戊醇(25:24:1)各抽提 1 次,上清液转移到另一离心管中,加入 1/10 体积 3 mol/L 醋酸钠和 2.5 倍体积预冷无水乙醇混匀,置于 -20 ℃冰箱中 30 min,12 000 r/min 离心 20 min,用 70% 酒精沉淀 2 次,待完全挥发后,用 TE 缓冲液溶解 DNA,利用 Nanodrop 测定 DNA 浓度, -20 ℃保存备用。

1.2.2 rDNA-ITS2 片段的 PCR 扩增及产物电泳分析 PCR 反应体系:10 × Buffer 2.5 μl, dNTP 2 μl, $MgSO_4$ 1.5 μl, ddH_2O 14.5 μl, *Taq* 酶 0.5 μl,模板 DNA 2 μl,引物 1 1 μl,引物 2 2 μl。反应程序:94 ℃预变性 2 min;然后 94 ℃ 30 s, 48 ℃ 30 s, 72 ℃ 2 min, 共 40 个循环,最后延伸 72 ℃ 7 min,终止反应。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳观察结果。

1.2.3 PCR 产物的 TA 克隆与测序 用胶回收试剂盒回收纯化的 PCR 产物与 pMD19-T Vector 连接,16℃过夜;重组质粒转入感受态细菌 *E. coli* JM109,涂布到含 AMP 的 LB 固体培养基平板上进行培养 16 h。挑取菌落在含 AMPLB 液体培养基中摇菌 16 h,委托上海英骏公司测定插入片段序列。

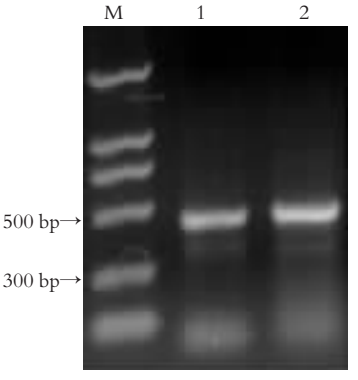
1.2.4 同源序列查找 利用 NCBI Blast 对实验所得的日本血吸虫的 rDNA-ITS2 序列进行 Blast,获得 22 种遗传距离相近虫种的 rDNA-ITS2 序列。

1.2.5 rDNA-ITS2 序列分析与进化树分析 对所获得的 22 种同源性相近的序列利用 MEGA 4 计算遗传距离,采用最大简约法(MP)和邻位相连法(NJ)构建系统进化树,Bootstrap 法检验,并 Clusterx 软件对 22 种虫种以及实验所得的日本血吸虫以及斯氏并殖吸虫此段同源 rDNA-ITS2 序列进行多序列对比,用 DNAsis 软件对实验所得日本血吸虫和斯氏并殖吸虫 rDNA-ITS2 片段序列进行序列分析。

2 结果

2.1 日本血吸虫和斯氏并殖吸虫 rDNA-ITS2 PCR 扩增结果

PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳,结果显示,所得的日本血吸虫以及斯氏并殖吸虫 rDNA-ITS2 片段大小为 400 ~ 500 bp。见图 1。



M:DNA 标准;1:斯氏并殖吸虫;2:日本血吸虫

图 1 日本血吸虫和斯氏并殖吸虫 rDNA-ITS2 PCR 扩增产物电泳结果

2.2 日本血吸虫以及斯氏并殖吸虫 ITS2 片段序列

参考从 NCBI 获得的日本血吸虫(日本株)以及卫氏并殖吸虫(日本株) ITS2 序列设计的引物 Pw-ITS2U 和 Pw-ITS2L PCR 扩增出日本血吸虫(中国流行区虫种)和斯氏并殖吸虫(中国流行区虫种)rDNA-ITS2 片段基因并测序。

日本血吸虫 rDNA-ITS2 片段 P-S ITS2,共 418 bp,在 NCBI 中未发现有与此序列同源性高于 98% 的血吸虫序列。推测为新的日本血吸虫 rDNA-ITS2 片段序列。斯氏并殖吸虫 rDNA-ITS2 片段 P-P ITS2,共 398 bp。

2.3 日本血吸虫和斯氏并殖吸虫 rDNA-ITS2 序列分析和同源性比较

2.3.1 2 种吸虫 rDNA-ITS2 序列分析 用 Clusterx 软件进行序列对比结果发现日本血吸虫和斯氏并殖吸虫此段 rDNA-ITS2 序列片段一共有 162(379/419)位碱基相同,约占 42.7%。变异大多为颠换与转换,有 20 处缺失。

利用 NCBI Alignment 进行 2 条序列同源性分析比较的结果显示,日本血吸虫与斯氏并殖吸虫在此段 ITS2 序列中同源性为 90%,间隙为 5%。见图 2。

```
Query   1  AATCCGAGGTCAGAAGAATGAGCCACATGGCACATACATAGGTCAGCATCGGGCACACAC   60
           ||||||||||||||||||||||||||| |||||||||||||||||| ||||| |||||||
Sbjct 397  AATCCGAGGTCAGAAGAATGAGCCACACGGCACATACATAGGTCAGTATCGGACACACAC  338

Query  61  CACGCGCAACATCAACCATAGACGATGATAGGATAGCGGAACGCGCACA-AA-TCAATCA  118
           |||||||||||||||||||||||||||| || | ||||||||||||||| || |||||||
Sbjct 337 CACGCGCAACATCAACCATAGACGATGACAGAACAGCGGAACGCGCACATAAGTCAATCA   278

Query 119  CTGAGCCACGATTCCGTTGCCACATCCCCATCAAGGCTTTCAGCCACAACATGGGTACGC  178
           |||||||||||||||||||| |||||||||||||||||||||||||||| ||||||||
Sbjct 277  CTGAGCCACGATTCCGTTGCCAAATCCCCATCAAGGCTTTCAGCCACAACACGGGTACGC  218

Query 179  CCGGATATGTTAGGGAAACGCCACAGATCTGGCACCCCACAGCCACGAGGCCAGGTTGGG  238
           |||||| ||||| ||    |  | | | |  |     | ||  ||  ||||  ||| |||
Sbjct 217  CCGGATTTGTTA-GG----G--A-A-A-C--G-----C-CA--CA--AGGCTGGGTGGGG  180

Query 239  GAAATCACGCCAGCTGGCAAAACCCAAGCCGCGACTTTTTGGGCGTCGCGATAGTTTATA  298
           ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct 179  GAAATCACGCCAGCYGGCAAAACCCAAGCCGCGACTTTTTGGGCGTCGCGATAGTTTATA  120

Query 299  AGCCGACCCTCGGACAGGCGTGACCACAGGCTAACCCGTGGCCGCAATATGCGTTCAAGA  358
           |||||||||||||||||||| ||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct 119  AGCCGACCCTCGGACAGGCGTGGCCACAGGCTAACCCGTGGCCGCAATATGCGTTCAAGA   60

Query 359  TGTCGATGTTCAAAGCAGTATGCAGTTCACATTAATTCACACAGTTGGCTGCGCTCTTC  417
           |||||||||||||||||||||||||||||| ||||||||||||||||||||||||||||
Sbjct  59  CGTCGATGTTCAAAGCAGTATGCAGTTCACACTAATTCACACAGTTGGCTGCGCTCTTC    1
```

Query:日本血吸虫;Sbjct:斯氏并殖吸虫

图 2　日本血吸虫与斯氏并殖吸虫序列同源性分析

2.3.2　2 种吸虫 rDNA-ITS2 序列遗传系统进化树构建　　通过在 GenBank 数据库中 Blast 检索,结果显示,日本血吸虫(中国流行区虫种)此段 rDNA-ITS2 基因和斯氏并殖吸虫、异盘并殖吸虫、哈氏并殖吸虫、卫氏并殖吸虫以及斜睾吸虫等有相似性,一共搜索到 22 种具有同源性的虫种的此段 rDNA-ITS2 序列,表 1 列出主要的 16 种虫种。

表 1　GenBank 数据库检索的部分并殖吸虫虫种的 NCBI ID

序号	虫种名称	NCBI ID
1	*Paragonimus africanus*	AB298779
2	*Paragonimus bangkokensis*	AB244621
3	*Paragonimus harinasutai*	AB370190
4	*Paragonimus heterotremus*	DQ836248
5	*Paragonimus hokuoensis*	AY618756
6	*Paragonimus kellicotti*	AF159606
7	*Paragonimus metacercaria*	AB370191
8	*Paragonimus mexicanus*	AF538945
9	*Schistosoma bovis*	AF146035
10	*Schistosoma japonicum*	SJU22167
11	*Paragonimus miyazakii*	PMU96912
12	*Paragonimus ohirai*	POU96911
13	*Paragonimus siamensis*	AB354222
14	*Paragonimus skrjabini*	PSU96913
15	*Paragonimus vietnamensis*	AB270691
16	*Paragonimus westermani*	DQ836243

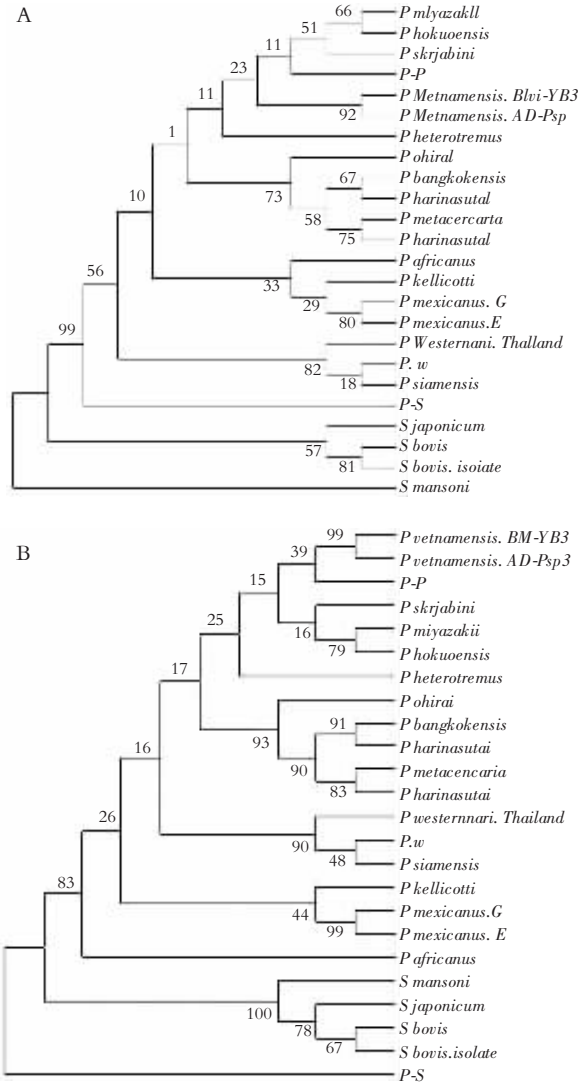
利用 MEGA 4 软件对这 24 条序列进行核酸分析,结果显示由 NCBI 数据库中所获得的与日本血吸虫(中国流行区虫种)此段 rDNA-ITS2 序列同源性较高的 22 种虫种的 A、T、C、G 碱基含量在碱基总数中百分比值接近。A 百分含量为 16.0% ~ 25.0%,T 含量为 17.4% ~30.2%,C 含量为 22.5% ~29.2%,G 含量为 23.9% ~ 30.6%。A、T、C、G 的平均含量分别为 19.5%、27.5%、24.7%、28.3%。同时用 MEGA 4 软件对从 NCBI Blast 数据库中获得的 22 种虫种的 rDNA-ITS2 序列与日本血吸虫以及斯氏并殖吸虫(中国流行区虫种)序列,分别用 MP 和 NJ 方法进行遗传系统进化树分析,算法 1 000 靴值重复[5],没有设立外群(outgroup)。结果显示,用 NJ 和 MP 方法构建的遗传系统进化树拓扑结构相似,结果如图 3 所示。同时用 MEGA4 软件对遗传距离进行分析计算,所得遗传距离远近分布与所得遗传系统进化树结果一致,遗传距离分析结果见表 2。

2.4　日本血吸虫和斯氏并殖吸虫 rDNA-ITS2 转录因子分析

利用 DNAsis 软件对实验获得的日本血吸虫和斯氏并殖吸虫(中国流行区虫种)的 rDNA-ITS2 序列片段进行转录因子预测发现,在日本血吸虫和斯氏并殖吸虫(中国流行区虫种)此段 rDNA-ITS2 片段中,有 3 种相同的转录因子,分别是 AP_2_CS6、bHLH_CS 和 CAP_site。

表2 2种吸虫rDNA-ITS2序列的遗传距离分析

虫种	实验所得斯氏并殖吸虫	斯氏并殖吸虫	异盘并殖吸虫	宫崎氏并殖吸虫	河口狸殖吸虫	曼谷狸殖吸虫	哈氏并殖吸虫	卫氏并殖吸虫	泰国卫氏并殖吸虫	暹罗并殖吸虫	墨西哥并殖吸虫变种1	墨西哥并殖吸虫变种2	非洲并殖吸虫	越南并殖吸虫变种1	越南并殖吸虫变种2	哈氏并殖吸虫变种	大平并殖吸虫	克氏并殖吸虫
牛裂体吸虫	0.043	0.106	0.008	0.110	0.110	0.043	0.051	0.189	0.193	0.236	0.059	0.091	0.154	0.051	0.051	0.035	0.177	0.102
牛裂体吸虫变种	0.043	0.106	0.008	0.110	0.110	0.043	0.051	0.189	0.193	0.236	0.059	0.091	0.154	0.051	0.051	0.035	0.177	0.102
日本血吸虫	0.650	0.945	0.437	0.618	0.618	0.650	0.744	0.642	1.035	0.602	0.476	0.524	0.850	0.465	0.453	0.453	0.657	0.594
曼氏血吸虫	0.366	0.594	0.260	0.520	0.520	0.336	0.406	0.583	0.689	0.677	0.429	0.508	0.673	0.098	0.248	0.248	0.657	0.543



P-S:日本血吸虫 ;*P-P*:斯氏并殖吸虫

A:通过MP方法建的遗传系统进化树;B:通过NJ方法构建的遗传系统进化树

图3 2种吸虫rDNA-ITS2序列的遗传系统进化树的构建

3 讨论

在真核生物中,位于18S、5.8S和28S之间的核糖体DNA转录间区即rDNA-ITS(ITS1和ITS2)序列由于其进化速度快,种间变异明显大于种内变异,经过已经被证明可用于种内变异的判断依据[6]。ITS序列经常被用于同一物种之中个体或者种群的同源性分析以及遗传进化分析[7]。目前为止,已有许多研究关注吸虫rDNA-ITS以及线粒体基因组信息,比如对卫氏并殖吸虫的研究等,试图以此为契机打开吸虫遗传进化多样性的大门[8]。

本实验中PCR均采用由卫氏并殖吸虫核酸序列设计的引物,由此成功扩增出了日本血吸虫与斯氏并殖吸虫(中国流行区虫种)的rDNA-ITS2片段,其片段大小相近,均为400 bp左右。而将日本血吸虫rDNA-ITS2片段序列经过测序获得的序列经NCBI Blast搜索,得到22种同源性相近的虫种的rDNA-ITS2片段。

用MEGA 4软件对这22种虫种以及日本血吸虫、斯氏并殖吸虫(中国流行区虫种)rDNA-ITS2片段序列进行多序列对比、系统进化树和核酸序列分析,可以看到经过NJ法和MP法得出的拓扑结构有一定差异,但这24条序列对比所显示的22种虫种亲缘关系分布大致一样:日本血吸虫(中国流行区虫种)数据和埃及血吸虫、日本血吸虫(日本株)、以及牛血吸虫等的遗传距离较近,而斯氏并殖吸虫(中国流行区虫种)与卫氏并殖吸虫、异盘并殖吸虫、哈氏并殖吸虫、以及斜睾吸虫等虫种等同源性更近。经过MEGA4软件的对24条序列的碱基成分分析,在实验所得的这段rDNA-ITS2序列中,这22种虫种的A、T、G、C含量接近,斯氏并殖吸虫和异盘并殖吸虫、哈氏并殖吸虫、卫氏并殖吸虫以及斜睾吸虫等虫种的相似性程度高,同时日本血吸虫、埃及血吸虫以及牛血吸虫序列之间的相似性程度高。利用MEGA4产生的遗传距离分析我们发现斯氏并殖吸虫(中国流行区虫种)与血吸虫种属内的亲缘关系较远(0.36~0.65之间)。这说明从虫种的基因角度而言,斯氏并殖吸虫与日本血吸虫存在明显差异,因而进一步从基因组学水平为日本血吸虫与斯氏并殖吸虫存在特异抗原提供了理论支持。

利用Clusterx软件对实验获得的日本血吸虫以及斯氏并殖吸虫的rDNA-ITS2序列片段对比分析,发现有162(379/419)位碱基相同,约占碱基总量的42.7%,这从基因的角度证实了日本血吸虫与斯氏并殖吸虫遗传上具有一定的相似性。

另外,利用DNAsis软件对这段rDNA-ITS2序列片段的分析显示,在日本血吸虫和斯氏并殖吸虫的这一段rDNA-ITS2序列片段中发现存在3种相同的转录因子,它们分别是AP_2_CS6、bHLH_CS和CAP_site。AP_2_CS6在日本血吸虫此段rDNA-ITS2序列中有1个,bHLH_CS有3个,CAP_site有3个;在斯氏并殖吸虫中它们的数量则分别是1个、2个和2个。这进一步说明

了在 2 种吸虫的基因转录、表达方面,日本血吸虫和斯氏并殖吸虫存在明显的相似性,为日本血吸虫与斯氏并殖吸虫间存在交叉抗原提供了理论证据。同时,实验获得的此段日本血吸虫和斯氏并殖吸虫 ITS2 序列片段中也分别存在各自特有的 CF1_CS、E2A_CS、和 ZESTE_CS 等转录因子。说明了 2 种虫种之间的明显差异性。

日本血吸虫病和肺吸虫病长久以来都是人类社会的健康一大危害。在我国,吸虫病的历史也同样悠远。三峡水库的修建,地理、生态环境等变化使三峡库区具有成为血吸虫病流行区的可能性。而日本血吸虫和斯氏并殖吸虫存在的交叉抗原则将干扰对血吸虫病和肺吸虫病的流行病学调查、疾病的临床诊断。本实验尝试从遗传进化的角度探寻两虫种之间的差异与相似性,从基因的角度寻找日本血吸虫和斯氏并殖吸虫的交叉、特异抗原。希望从中获得更多的两近缘吸虫间各自特异的遗传信息,更加深入地了解血吸虫病和肺吸虫病的共性和差异性,为血吸虫病和肺吸虫病的流行病学调查、防治以及临床诊断与治疗起指导性作用。

参考文献:

[1] 肖邦忠, 廖文芳, 吴成果, 等. 三峡库区生态环境变化对血吸虫病流行的影响及防治对策研究[J]. 热带医学杂志, 2008, 8(8): 844 - 847.

[2] 张锡林, 王　英, 黄　勇, 等. 三峡建坝后库区环境变化对肺吸虫病流行的影响[J]. 中国寄生虫病防治杂志, 2002, 15(1): 30 - 32.

[3] 张顺科, 曾宪芳, 易新元, 等. 日本血吸虫快速酶联免疫吸附试验抗体检测试剂盒的应用研究[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2001, 13(2): 79 - 81.

[4] 干小仙, 施晓华, 王　越, 等. 肺吸虫抗体快速检测试剂盒(金标渗滤法)的研制和应用[J]. 中国人兽共患病杂志, 2005, 21(11): 988 - 990.

[5] Tamura K, Dudley J, Nei M, *et al*. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) Software Version 4.0[J]. Mol Biol Evol, 2007, 24(8): 1596 - 1599.

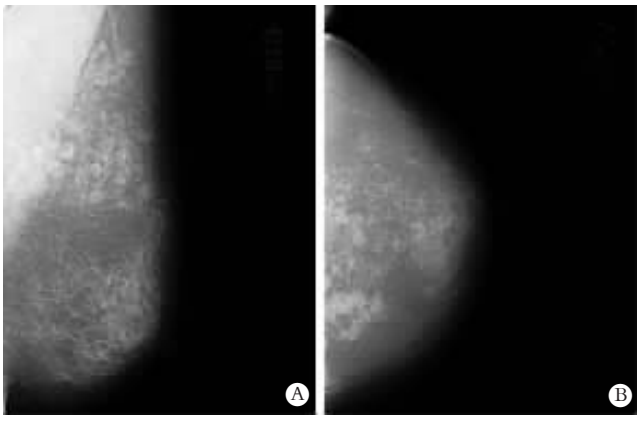
[6] Vidigal T H, Kissinger J C, Caldeira R L, *et al*. Phylogenetic relationships among Brazilian Biomphalaria species (Mollusca: Planorbidae) based upon analysis of ribosomal ITS2 sequences[J]. Parasitology, 2000, 121 Pt 6: 611 - 620.

[7] Prasad P K, Tandon V, Chatterjee A, *et al*. PCR-based determination of internal transcribed spacer (ITS) regions of ribosomal DNA of giant intestinal fluke, Fasciolopsis buski (Lankester, 1857) Looss, 1899 [J]. Parasitol Res, 2007, 101(6): 1584 - 1587.

[8] Iwagami M, Rajapakse R P, Yatawara L, *et al*. The first intermediate host of Paragonimus westermani in Sri Lanka[J]. Acta Trop, 2009, 109(1): 27 - 29.

(编辑　王小寒)

(上接 2068 页)



A:LMLO 位;B:LCC 位

图 1　乳腺多发性海绵状血管瘤患者左乳钼靶表现



图 2　乳腺多发性海绵状血管瘤患者左乳彩色多普勒表现

2　讨论

乳腺血管瘤是由血管组织构成的先天性良性血管畸形,临床少见,任何年龄均可发生。主要位于乳腺皮肤、皮下或乳腺实质内,大小深浅不定。有单发,也有多发。依据组织形态和结构特点分为 2 大类型:乳腺毛细血管瘤和乳腺海绵状血管瘤。以海绵状血管瘤多见,常位于皮下引起皮肤色泽改变而确诊,临床多为无意发现,生长缓慢,无不适感,检查肿块表面光滑、质软可压缩,有囊性感,可活动,无压痛,穿刺可抽出血性液体。X 线表现与乳头状瘤或腺纤维瘤相似[1]。本例为多发性乳腺海绵状血管瘤,与以前报道的单一病灶相比[2,3],更为少见。钼靶表现为多个小病灶,每一个病灶均似 1 个小纤维腺瘤,其中 2 个结节伴良性线状钙化,因部分结节有聚集改变,故临床扪及的肿块较大。可能因病灶结节均较小,血流速度较慢,彩色多普勒超声未能提示血流信号等有价值的依据。钼靶摄影能全面观察病灶的数量、分布、形态及内部改变,特别是显示病灶内静脉石,故是一种较好的影像诊断方法。

关键词: 乳腺;海绵状血管瘤

中图法分类号: R655.8; R814.41　　**文献标识码:** B

参考文献:

[1] 李树玲. 乳腺肿瘤学[M]. 北京:科学技术文献出版社, 2000: 205, 344 - 345.

[2] 刘凤照,王春霞,窦发坦,等. 彩超诊断乳腺海绵状血管瘤 1 例[J]. 中国医学影像技术, 2001, 17(10): 996.

[3] Kim S M, Kim H H, Shin H J, *et al*. Cavernous Haemangioma of the Breast[J]. Br J Radio, 2006, 79(947): 177 - 180.

(编辑　汪勤俭)