

血吸虫的组织化学研究进展 (二)酶类的组织化学研究*

向 选 东

(湖北医学院)

用组织化学方法研究血吸虫体内酶的存在情况、定位分布及影响酶作用的各种因素,对于揭示酶——这类特殊蛋白质在血吸虫生命活动中的作用与规律以及对于血吸虫病的诊断与治疗均有着重要意义。

近四分之一世纪以来,血吸虫的酶组织化学研究进展较快。表现在:随着生物化学科学的迅速发展,方法学上不断有创新与改进;冰冻切片机的普遍推广,组织细胞中酶活性得到了保护,能够显示的酶的种类增多了;电子显微镜的应用,观察手段的提高,能观层次更细更深入了;其它学科的启发与渗透,酶组织化学研究的前景更广阔了。本文对国内外有关血吸虫的酶组织化学研究进展作一些介绍,以供参考。

磷 酸 酶

从狭义讲,磷酸酶是指能水解磷酸酯的酶类。组织化学常显示的有碱性磷酸酶和酸性磷酸酶。这两种酶均能水解 α -甘油磷酸和 β -甘油磷酸,但它们工作时的最适pH有异。碱性磷酸酶最适pH8.6—10.0,酸性磷酸酶最适pH4.6—5.5。实验证明,尽管将动物组织作冰冻切片时能显示更强的酶活性,但这两种磷酸酶均能经受常规石蜡切片的处理,其被保留的酶活性足以用一般组织化学方法显示出来。这也是磷酸酶的组织化学研究之所以被普遍推行的原因所在。

首先用组化方法揭示在血吸虫体内存在磷酸酶应推Dusanic^[18]。1959年他将感染了曼氏血吸虫的鼠肝分别作冰冻切片和低熔点石蜡

(50—52°C)包埋切片,用Gomori氏钙-钴法检测虫卵内碱性磷酸酶。结果显示,两种切片中的虫卵均存在碱性磷酸酶,酶活性局限于毛蚴的生殖细胞区域。在新鲜毛蚴的整体标本中,呈现最大酶活性的部位仍是生殖细胞区域,但毛蚴的头腺和穿刺腺的核及核仁也均呈阳性反应。他认为毛蚴头腺中的碱性磷酸酶可能与毛蚴的分泌功能有关,尽管人们对头腺的生理功能了解得不够。生殖细胞区域强的酶活性可能表示它们高度活跃的代谢状态和将来在螺宿主体内进一步发育成子胞蚴的潜力。

日本血吸虫卵胚胎发育的组化研究揭示了磷酸酶在虫卵胚胎发育过程中的动态变化。何毅勋等(1979)^[12]报告,依据胚胎发育的构造可将日本血吸虫卵的胚胎发育分为单细胞期、细胞分裂期、器官发生期和毛蚴成熟期。在前3期,碱性磷酸酶活力出现于胚胎与卵壳之间,而卵裂细胞核及胚胎的细胞核仅呈弱阳性。至毛蚴成熟期,毛蚴整个呈强阳性反应。关于酸性磷酸酶的分布,用Gomori氏硫化铅法在未成熟虫卵仅见于分裂细胞核存在酶活力。在成熟虫卵,毛蚴的头腺、神经团和生殖细胞均呈强阳性反应。

从以上情况看,Dusanic与何氏虽然运用同一方法显示碱性磷酸酶,但该酶在毛蚴体内的分布不尽相同,是否为虫种间存在的实际差异现在仍不得而知。若能同时将不同种的血吸虫虫体在一个染缸中进行组化染色,恐怕其结

* 本文承蒙周述龙教授审阅,特此致谢。

果更能说明问题些。1968年, Sodeman 等^[28]就曾这样做过。他们同时对3种人体血吸虫尾蚴(曼氏血吸虫波多黎各株, 埃及血吸虫伊朗株, 日本血吸虫日本株)的磷酸酶进行了组化定位, 所用方法是 Burstone 氏偶联偶氮法。结果表明, 曼氏血吸虫尾蚴的体部和尾部均存在碱性磷酸酶活性。单细胞钻腺的基部及其管道均无此酶存在, 尽管基部被阳性反应区所包围。排泄系统染色很强, 尤其是排泄孔。但焰细胞未查见酶活性。在尾部, 阳性反应勾画出尾干及尾叉中排泄管的轮廓, 但尾叉末端的球形开口处呈阴性反应。碱性磷酸酶在埃及血吸虫尾蚴的分布大致与曼氏血吸虫的相似, 所不同的是尾蚴前端的球状凸出部染色均匀。另外, 焰细胞呈现明显的酶活性。在日本血吸虫尾蚴, 体部前端不存在酶活性, 这与曼氏血吸虫尾蚴的染色结果相似。但焰细胞阳性反应鲜明。与前两种尾蚴比较, 尾部排泄管的酶活性范围较局限, 仅见于尾部的前1/3处。关于酸性磷酸酶, 在曼氏血吸虫尾蚴的整个体被下层、钻腺管道在球状头部的开口处、神经系统、腹吸盘折叠的中央以及体尾连接处均存在此酶活性。但钻腺基部为阴性。在埃及血吸虫尾蚴, 除口器部位的钻腺管开口处未染上色外, 该酶在其它部位的分布与曼氏血吸虫的相似, 但阳性反应强度低些。在日本血吸虫尾蚴, 口器部位酶活性不明显, 体被下层的染色呈补丁状, 不是连续的。整个染色强度最低。

从以上结果可以看出, 两种磷酸酶在三种血吸虫尾蚴中的分布是有差异的, 尽管相同点仍占主导。这些差异可能是不同虫种在酶含量和酶的最适 pH 方面的绝对差异。磷酸酶在能量代谢和膜转运方面起着重要作用。三种血吸虫尾蚴的排泄系统中均存在明显的酶活性, 说明这类酶与代谢物的排除和维持虫体生理代谢平衡等方面有关。两种磷酸酶在3种血吸虫尾蚴的单细胞钻腺中均未查见的事实表明, 成熟尾蚴钻腺内的代谢可能不再是活跃的。对于这一推测不仅有核酸组化研究的阴性结果加以佐证^[2,29], 而且得到了形态学上的支持^[16](见笔

者前文)。

血吸虫尾蚴侵入终宿主皮肤后转变为童虫。随着童虫的发育, 虫体内部构造渐趋明显与成熟, 两种磷酸酶的分布也渐具特征性。日本血吸虫皮肤型童虫后端实质组织中含有非常丰富的碱性磷酸酶, 但体被的反应并不明显。肺型童虫除后端的阳性反应仍很强外, 少数虫体的体被已出现弱阳性反应。肝门型童虫体被的酶活性很强, 并且两性虫体的生殖细胞也呈强阳性反应。当虫体发育成熟时, 雄虫背侧体被和雌虫全部体被的酶含量均非常丰富, 但雄虫腹面体被的则较少。生殖系统除雄虫输精管壁和雌虫的卵模上皮细胞呈阳性反应外, 两性虫体的生殖细胞均为阴性。排泄系统的酶活性见于集合排泄管壁。在酸性磷酸酶方面, 皮肤型童虫和肺型童虫的酶活性主要分布于体被、体被下层及实质组织中的细胞。肝门型童虫除上述各组织含丰富的酶活力外, 肠上皮细胞的阳性反应开始明显且日益增强。发育至成熟虫体时, 体被下肌层和肠上皮细胞的酶活力更强, 食道腺细胞、两性虫体的生殖细胞及雌虫卵黄细胞均具丰富的酶活力^[3]。

两种磷酸酶在曼氏血吸虫成虫体内的分布与日本血吸虫的大致相同^[18,19,25,31]。有关成虫体内磷酸酶的功能, 现在一般认为: 1. 与葡萄糖的吸收和转运有关; 2. 参与碳水化合物转变为脂的过程; 3. 参与核酸代谢和蛋白质代谢。

六十年代初, Lewert 和 Dussanic^[23]应用组化方法证明, 对二胺二苄烷 (symmetrical diamino-dibenzylalkane) 能抑制曼氏血吸虫体内碱性磷酸酶活力。认为这可能解释了二胺类药物能减低曼氏血吸虫在体外的糖利用和乳酸代谢产物减少作用的机制。近来有研究报道, 在体外, 将日本血吸虫培养于含吡嗪酮 3 或 10ug/ml 的台氏液-小牛血清中 24 小时后, 其体表组织、排泄管管壁及卵黄细胞胞浆内的碱性磷酸酶反应均普遍减弱或消失, 尤以虫体体表的变化为最显著。培养 48 小时后, 酶的反应完全消失。与此相伴随的现象是, 虫体内糖原含量明显减少直至完全消失。在体内口服吡嗪酮 (300mg/

kg) 1—14 天后的感染鼠,其体内肝移的血吸虫虫体组织化学变化与体外观察结果相似。由于在血吸虫通过体表吸收葡萄糖的过程中需要碱性磷酸酶参与,认为虫体组织内糖原的减少或消失与该酶的活性被抑制有关^[5]。

胆 碱 酯 酶

组织化学研究证明,血吸虫生活史各阶段虫体均存在胆碱酯酶。主要是乙酰胆碱酯酶,其次是非特异性胆碱酯酶^[6,10,15,20,26]。大凡有神经分布的地方就有胆碱酯酶活力的存在,反过来说,胆碱酯酶组织化学的定位研究揭示了血吸虫各期虫体的神经系统。通观国内外学者这方面的报道可知,日本血吸虫与曼氏血吸虫的胆碱酯酶组化定位结果十分相似。限于篇幅,下面仅分两方面作一大体介绍。

1. 主要分布与生物学意义

(1) 虫卵与毛蚴

在血吸虫成熟虫卵内,胆碱酯酶活力定位于靠近毛蚴体中央的一个小卵圆形区域,这个位置在解剖学上与毛蚴的中枢神经系统相符^[26]。从虫卵孵化出的毛蚴,其神经系统主要由中枢神经团和神经干组成。中枢神经团位于毛蚴的中横线之前,略呈二叶状,由此向前发出 4 对神经干,向后发出 3 对纵神经干,即背干、腹干及侧干^[6]。

毛蚴是血吸虫从终末宿主寄生过渡到中间宿主寄生的一个重要阶段。健全的神经系统和强的胆碱酯酶活性无疑为之在水中短暂而又活跃的运动以及寻找并侵入螺宿主提供了保证^[26]。

(2) 母胞蚴与子胞蚴

从毛蚴至母胞蚴是一个直接转变过程。在这个转变过程中,毛蚴的神经团、神经干以及乳突均明显消失,胆碱酯酶活力显著降低。这表明神经系统在母胞蚴时期有生理性退化现象。从母胞蚴解剖得到的子胞蚴,其体表仅有稀疏的酶活力分布,于体外培养一定时间后,很强的酶活力与发育中的尾蚴胚胎有关^[45]。

(3) 尾蚴

神经系统由中枢神经节和神经干组成。中枢神经节约位于尾蚴体部前 1/3 处,两端膨大,中间有粗的神经连合。两侧对称的神经干有 3 对:背干、腹干及侧干。腹干向前延伸至头部,前端分叉。向后延伸至腹吸盘处有一对分支进入腹吸盘,形成腹吸盘神经环。尾蚴尾部的神经支配来自于背干。此外,尾蚴体表尚有许多胆碱酯酶阳性的乳突^[6]。

尾蚴乃血吸虫的感染阶段,由它完成血吸虫从在中间宿主寄生到终宿主寄生的过渡。尾蚴在水中生存的时间并不长,必须时刻准备着侵入适宜宿主方能继续生存。事实上尾蚴具备这样的能力,其体表之胆碱酯酶阳性的具纤毛的感觉乳突是接触及(或)液流感觉器,接受施于纤毛上的机械压力以协调动作^[2]。当接触宿主皮肤时,体、尾部神经肌肉的通力合作,加上钻腺分泌物的作用,很快便突破宿主皮肤屏障,完成感染过程。

(4) 童虫

在童虫发育过程中,神经系统最明显的变化是两个膨大如球状的中枢神经节形成;纵神经干随虫体的增长而增长;神经纤维分支越来越多,形成周身的立体网络。发育至第 11—14 天的童虫已具完善的神经系统,此时恰是童虫开始向肝外血管移行,并定居于门-肠系膜静脉的时相。显然对于协调虫体的生理活动是极为必要的。至第 17 天的童虫,由于雄虫抱雌褶的增宽和抱雌沟的明显,此处的神经纤维明显发达起来,以适应两性虫体合抱的生理需要^[6]。

(5) 成虫

雄虫的神经系统由中枢神经节、神经连合、纵神经干以及伸向口、腹吸盘和布满整个肌层的神经分支所组成。雌虫的神经系统与雄虫的相似,但没有雄虫那么发达的神经纤维^[6]。

从上述胆碱酯酶组化定位所揭示的血吸虫各期虫体的神经系统来看,没有理由认为它是一个退化系统。而胆碱酯酶与血吸虫神经介质的传递、肌肉活动及与其它物质的代谢均有着密切关系。

2. 血吸虫的胆碱酯酶对某些抗血吸虫药物

和抑制剂的敏感性

血吸虫的胆碱酯酶也是抗血吸虫药物作用的靶子之一。Bueding 等 (1967)^[12]的研究结果表明, TAC[Tris(p-Aminophenyl) Carbonium Salt] 对曼氏血吸虫的乙酰胆碱酯酶有抑制作用。在给予 TAC 饲料 7—8 天的鼠体取得的虫子, 口吸盘、咽及腹吸盘或者麻痹或者仅有微弱的不协调的运动。吸附器官在当浓度为 2×10^{-4} mol/L 的美加明或 1×10^{-4} mol/L 的阿托品存在时, 1—3 分钟便恢复协调运动。从而, 乙酰胆碱酯酶的被抑制与吸附器官麻痹之间的因果关系得以被证实。比较组织化学研究揭示, 乙酰胆碱酯酶活力在从用 TAC 处理了 7 天的鼠体取得的虫体中明显降低, 而腹吸盘处的酶反应强度改变尤为显著。用药少于 7 天的虫子其酶活力降低不甚明显。因而, 酶的被抑制发生恰好与吸附器官的麻痹、雌雄虫分离并发生肝移现象一致。

最近, 夏明仪等 (1982)^[6]比较了日本血吸虫的胆碱酯酶对若干抑制剂的敏感性差异。浓度为 1×10^{-5} mol/L 的毒扁豆碱和敌百虫已能抑制两吸盘的胆碱酯酶活力, 而 1×10^{-4} mol/L 才能完全抑制中枢神经节及纵神经干的酶活力。表明血吸虫口、腹吸盘的胆碱酯酶活力被抑制比其它处的来得快、来得易, 这在曼氏血吸虫和埃及血吸虫的情况也是如此^[7,11]。实验结果还表明, 日本血吸虫成虫的胆碱酯酶对氨基甲酸酯类化合物毒扁豆碱的敏感性高于对有机磷类化合物敌百虫, 更高于对季铵盐类化合物 BW284C51 和 62C47。实验中还观察到, 非特异性胆碱酯酶的抑制剂 iso-OMPA (四异丙基焦磷酸胺) 对日本血吸虫成虫的胆碱酯酶有抑制作用, 说明乙酰胆碱酯酶和非特异性胆碱酯酶并存于日本血吸虫的神经系统中。

酸性蛋白酶

Bogitsh 等 (1983)^[9]将日本血吸虫和曼氏血吸虫成虫作冰冻切片, 用荧光组化方法对这两种血吸虫的酸性蛋白酶、组织蛋白酶 B、二肽氨基肽酶 (DAP) I 和 II 作了定位研究。结果显

示, 这些酶活性主要分布在两性虫体的肠道上皮, 而雌虫的酶活力更强些。成虫的实质组织有散在的阳性颗粒, 雌虫的卵黄腺和雄虫的睾丸亦呈阳性反应。酶的分布在两种血吸虫之间无差异。

根据血吸虫“血红蛋白酶”在蛋白水解方面的有限性这一事实, 他们认为这一类酸性蛋白酶可能与血红蛋白的终末消化作用有关。设想其降解机制为: “血红蛋白酶”(组织蛋白酶 B) 将珠蛋白降解为多肽, 然后, 多肽在 DAP I 和 II 的作用下变为二肽。由于前肠和食道腺均缺乏酶活力, 所以上述珠蛋白的整个降解过程发生在肠管上皮。

氧化还原酶

许多生化研究资料表明, 在血吸虫的线粒体存在三羧酸循环和需氧型细胞呼吸链。在雌虫, 氧化代谢显得比雄虫更为重要, 因雌虫利用更多的氧, 并且细胞色素氧化酶的活力更高^[13]。

Moczon 等 (1983)^[24]对埃及血吸虫雌虫氧化还原酶的组化研究揭示, 在虫体体被、实质组织、卵黄腺及肠管上皮细胞均存在细胞色素氧化酶、苹果酸脱氢酶、琥珀酸脱氢酶、异柠檬酸脱氢酶、乳酸脱氢酶、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶、tetrazolium 氧化还原酶等酶的活性。而在卵黄腺的酶活力最强。这表明, 在卵黄腺细胞中一定数量的 ATP 产生于氧化磷酸化, 以满足雌虫生理的需要。现已知, 卵黄腺是虫体蛋白质合成代谢最旺盛的组织。研究还表明, 抗血吸虫药物硝噻哒唑能降低上述诸酶的活力。

酚酶与酚类物质

酚酶亦即酚氧化酶。普通组织化学和荧光组织化学研究均证实, 在人体血吸虫, 只有雌虫的成熟卵黄细胞的颗粒球及新形成的虫卵卵壳才含有酚酶和酚类物质^[4,8]。严格而又局限的定位分布本身就暗示了这些物质所具有的重要生理学意义。

目前公认, 酚酶和酚类物质与血吸虫卵壳的形成有直接关系。血吸虫卵壳物质隶属于醌

鞣蛋白系统,其前身物质是蛋白质、酚类及酚酶,它们均存在于卵黄细胞的颗粒球中。酚类物质如酪胺、L-多巴及多巴胺等被酚酶氧化,所形成的醌与邻近的蛋白质形成交链,并进一步鞣化为硬化的卵壳物质。

酚酶在血吸虫卵壳的形成方面起主要作用,而虫卵又是血吸虫病的最主要致病因素。因此,抑制酚酶,阻止虫卵的生产将可防止血吸虫病严重病理损害的发生。实验证明,埃及血吸虫雌虫受抗血吸虫药硝噻唑啉的作用后,其卵黄腺中的酚氧化酶活力及酚类物质的反应性消失。这些变化与超微结构的改变互为印证,电镜下发现雌虫体被表面溃裂;未成熟的棱型卵黄细胞数量减少;卵黄腺细胞内线粒体肿胀,内质网有规则的结构消失;卵黄腺细胞内空泡形成,并且颗粒球崩解^[24]。此外,近些年来已有人开始对酚酶抑制剂——硫脲化合物进行研究。

与感染有关的酶

血吸虫的毛蚴感染螺类宿主及尾蚴感染人类或哺乳类宿主,都必须突破宿主的组织屏障方能进入其体内。目前比较一致的看法是毛蚴与尾蚴在侵入宿主时均能释放一些溶解组织的酶类。然而,直接用组化方法对这些酶进行定位研究的报道并不多,主要是受方法学的限制。

放射性分析证明,曼氏血吸虫卵释放具胶原酶活性的蛋白酶,最适 pH4.8 至 5.2^[27]。Dresden 等(1983)^[27]用针对毛蚴蛋白酶的单克隆抗体进行免疫组化定位时发现蛋白酶位于毛蚴的侧穿刺腺。推测这些酶与虫卵通过宿主组织离体及毛蚴在水体中钻穿螺类表皮有关^[14]。

Lewert 等(1954)^[22]对被曼氏血吸虫尾蚴钻穿过的啮齿类动物表皮与真皮进行了组化研究。发现尾蚴分泌物使穿刺部位的基底膜消失,在真皮层物质中,水溶性糖蛋白形成,游离水分增加。揭示宿主皮肤组织中糖蛋白的改变与类胶原酶活性的存在有关,认为血吸虫尾蚴分泌物中具有这种酶或这种酶的复合体。Stirewalt 等(1973b)^[30]用间接组化方法证明了曼氏血吸虫尾蚴前钻腺有明胶酶存在。尾蚴行冰冻切

片,贴于快蓝 B(Fast blue B)染过的明胶膜上,37℃ 孵育 5 分钟时,尾蚴头端及对应于前钻腺基底部的明胶膜出现了透明区,而其它部位则无。最近,何毅勋等(1985)^[2]也证明日本血吸虫尾蚴前钻腺含有明胶酶及多糖酶。

其它酶类

Wheater 等(1976)^[21]报告,腺苷三磷酸酶和吲哚酚酯酶在曼氏血吸虫雄虫背侧体被及雌虫周身的体被中的活性很强。这与碱性磷酸酶的分布是一致的。他们将这三种酶视为曼氏血吸虫体被结构的固有标志。另外,还观察到在两性虫体的体被下层细胞存在丰富的单胺氧化酶和 NADH 黄递酶。从而揭示这些细胞是与体被有关的新陈代谢活动的主要部位。

组化研究证实,埃及血吸虫、曼氏血吸虫及罗氏血吸虫体内存在 β -葡萄糖醛酸酶。主要见于体被、肌肉和实质细胞。据认为,此酶与虫体的消化功能及解毒作用有关。该酶可被释放到虫体生活的环境中去,然后随宿主的小便排出体外。在埃及血吸虫病患者,尿中 β -葡萄糖醛酸酶含量很高,故可作为诊断此病的指标之一^[21]。

小 结

前人在血吸虫的酶组织化学研究方面做了许多工作,获得了宝贵的资料。目前,血吸虫病仍是一种流行广、危害严重的寄生虫病,消灭此病的早晚在很大程度上取决于人们对于血吸虫的了解与认识程度。无疑组织化学技术是这种“认识”过程中不可缺少的重要手段。

组织化学研究的特点是,直观性强,无需对生物体组织进行分离、提取,就能获得组织细胞内代谢的大量信息。这是生物化学等研究所不可比拟的。现在,国外在血吸虫的组织化学研究方面已进入电镜下的超微水平,并将免疫组织化学技术应用于血吸虫的抗原分析与免疫病理研究。笔者认为,国内学者应开拓这方面的工作,为全面揭示血吸虫的生存及致病运动规律,为早日消灭血吸虫病作出贡献。

参 考 文 献

- [1] 何毅勋等 1979 日本血吸虫卵胚胎发育的组织化学研究 动物学报 25(4): 304—310。
- [2] ——等 1985 日本血吸虫尾蚴的组织化学及扫描电镜观察 动物学报 31(1): 6—11。
- [3] ——等 1980 日本血吸虫发育的组织化学研究 动物学研究 1(4): 453—463。
- [4] ——等 1973 日本血吸虫酚及酚酶的组织化学定位 动物学报 19(1): 1—7。
- [5] 杨元清等 1979 吡喹酮对日本血吸虫及动物宿主肝脏作用的组织学观察, 中国医学科学院学报 1(1): 7—10。
- [6] 夏明仪等 1982 日本血吸虫胆碱酯酶的组织化学定位 动物学报 28(4): 361—367。
- [7] Barker LR et al, 1966 The possible role of acetylcholine in *Schistosoma mansoni*. *Brit J Pharm Chemother* 26: 656—665。
- [8] Bennett JR et al, 1978 Fluorescent histochemical localization of phenol oxidase in female *Schistosoma mansoni*. *J Parasit* 64: 941—944。
- [9] Bogitsh BJ et al, 1983 Fluorescent histochemistry of acid proteases in adult *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma japonicum*. *J Parasit* 69: 106—110。
- [10] Bruckner DA et al, 1974 The nervous system of larval *Schistosoma mansoni* as revealed by acetylcholinesterase staining. *J Parasit* 60: 437—446。
- [11] Bueding E et al, 1972 Inhibition by metrifonate and dichlorvos of cholinesterases in schistosomes. *Brit J Pharmacol* 46: 480—487。
- [12] Bueding E et al, 1967 Some physiological, biochemical and morphological effects of Tris (p-aminophenyl) carbonium salts (TAC) on *Schistosoma mansoni*. *AM J Trop Med Hyg* 16: 500—515。
- [13] Coles GC, 1973 The metabolism of schistosomes: a review *Intern J Biochemi* 4: 319—337。
- [14] Coles GC, 1984 Recent advances in schistosome biochemistry *Parasit* 89: 603—637。
- [15] DiConza JJ et al, 1975 Histochemical demonstration of acetylcholinesterase in sporocysts of *Schistosoma mansoni* (Trematoda) *Parasit* 71: 305—310。
- [16] Dorsey CH, 1975 *Schistosoma mansoni*: Development of acetabular glands of cercaria at ultrastructure level *Exp Parasit* 37: 37—59。
- [17] Dresden MH et al, 1983 A monoclonal antibody from infected mice to a *Schistosoma mansoni* egg proteinase. *J Immunol* 130: 1—3。
- [18] Dusanic DG, 1959 Histochemical observations of alkaline phosphatase in *Schistosoma mansoni*. *J Infect Dis* 105: 1—8。
- [19] Ernst SC, 1975 Biochemical and cytochemical studies of digestive-absorptive functions of esophagus, cecum and tegument in *Schistosoma mansoni*: acid phosphatase and tracer studies. *J Parasit* 61: 633—647。
- [20] Fripp PJ, 1967 Histochemical localization of esterase activity in schistosomes. *Exp Parasit* 21: 380—390。
- [21] Fripp PJ, 1966 Histochemical localization of β -glucuronidase in schistosomes. *Exp Parasit* 19: 254—263。
- [22] Lewert RM et al, 1954 Studies on the passage of helminth larvae through host tissues. *J Infect Dis* 95: 13—51。
- [23] Lewert RM et al, 1961 Effects of a symmetrical diaminodibenzylakane on alkaline phosphatase of *Schistosoma mansoni*. *J Infect Dis* 109: 85—89。
- [24] Moczon T et al, 1983 *Schistosoma haematobium*: Oxidoreductase histochemistry and ultrastructure of niridazole-treated females *Intern J Parasit* 13: 225—232。
- [25] Nimmo-Smith RH et al, 1963 Phosphamonoesterases of *Schistosoma mansoni*. *Exp Parasit* 13: 305—322。
- [26] Pepler WJ, 1958 Histochemistry demonstration of an acetylcholinesterase in the ova of *Schistosoma mansoni*. *J Histochem Cytochem* 6: 139—141。
- [27] Smith MA, 1974 Radioassay for the proteolytic enzyme secreted by living eggs of *Schistosoma mansoni*. *Intern J Parasit* 4: 681—683。
- [28] Sodeman WA et al, 1968 Schistosomal phosphatases: histochemical localization of alkaline and acid phosphatase in cercariae of *Schistosoma mansoni*, *Schistosoma haematobium*, and *Schistosoma japonicum*. *Am J Trop Med Hyg* 17: 851—857。
- [29] Stirewalt MA et al, 1973 (a) *Schistosoma mansoni*: histochemical analysis of the postacetabular gland secretion of cercariae. *Exp Parasit* 33: 56—72。
- [30] Stirewalt MA, 1973(b) *Schistosoma mansoni*: histological localization of gelatinase in the preacetabular glands of cercariae. *Exp Parasit* 34: 382—392。
- [31] Wheeler PR et al, 1976 The tegument of *Schistosoma mansoni*: a histochemical investigation. *Parasit* 72: 99—109。