

DOI:10.13350/j.cjpb.240122

• 综述 •

## 细粒棘球蚴病疫苗的研制现状\*

于涛<sup>1</sup>, 王利磊<sup>1</sup>, 赵慧卿<sup>1</sup>, 解晓曼<sup>1</sup>, 张妤<sup>2</sup>, 魏婕<sup>2\*\*</sup>

(1. 山东省寄生虫病防治研究所, 山东第一医科大学(山东省医学科学院), 山东济宁 272033;

2. 新疆动物疫病研究重点实验室, 新疆畜牧科学院兽医研究所)

**【摘要】** 细粒棘球蚴病是由细粒棘球蚴寄生引起的人兽共患寄生虫病, 呈世界性流行, 严重阻碍着畜牧业的发展和人体健康。目前细粒针对棘球蚴病的药物和手术治疗效果尚不理想, 切断传播途径是有效的预防手段, 预防性疫苗接种是预防细粒棘球蚴病的有效措施之一。使用潜在的家畜和犬类疫苗来对抗细粒棘球蚴生命周期的幼虫和成虫阶段可能是生产强效疫苗的关键, 而此类免疫疗法通常无法诱导足够的免疫反应。本文基于粗抗原或针对细粒棘球蚴的活疫苗、DNA疫苗、重组蛋白疫苗、系统疫苗学和/或计算建模疫苗等的研究进展进行综述, 为研发和改进下一代细粒棘球蚴疫苗提供理论参考。

**【关键词】** 细粒棘球蚴病; 疫苗; 研制现状; 免疫保护; 综述

**【文献标识码】** A **【文章编号】** 1673-5234(2024)01-0107-06

[Journal of Pathogen Biology. 2024 Jan;19(1):107-112.]

### Current status and outlook of vaccine development for *Echinococcus granulosus*

YU Tao<sup>1</sup>, WANG Lilei<sup>1</sup>, ZHAO Huiqing<sup>1</sup>, XIE Xiaoman<sup>1</sup>, ZHANG Yu<sup>2</sup>, WEI Jie<sup>2</sup> (1. Shandong Institute of Parasitic Diseases, Shandong First Medical University, Jining, Shandong 272033, China; 2. Xinjiang Key Laboratory of Animal Infectious Diseases/Institute of Veterinary Medicine, Xinjiang Academy of Animal Sciences)

**【Abstract】** Echinococcosis is a human-animal parasitic disease caused by *Echinococcus granulosus*, which is prevalent worldwide and seriously hinders the development of animal husbandry and human health. At present, drug and surgical treatment of echinococcosis is not satisfactory, and cutting off the transmission route is an effective means of prevention. Prophylactic vaccination is one of the effective measures to prevent echinococcosis. The use of potential livestock and canine vaccines against the larval and adult stages of the echinococcosis life cycle may be key to the production of effective vaccines, and such immunotherapy usually fails to induce an adequate immune response. This paper reviews the progress of research on crude antigen-based or live *E. granulosus* vaccines, DNA vaccines, recombinant protein vaccines, systemic vaccinology, and/or computational model vaccines to provide theoretical references for the development and improvement of next-generation *E. granulosus* vaccines.

**【Key words】** *Echinococcus granulosus*; vaccine; status of development; immune protection; review

\*\*\*细粒棘球蚴病(Cystic echinococcosis, CE)是由细粒棘球蚴寄生引起的人兽共患寄生虫病, 以囊性病变为特征, 常累及于肝脏和肺部, 如果不及时治疗可能会致命。细粒棘球蚴的感染最常见于撒哈拉以南非洲、中亚、南美洲和地中海地区, 在我国西部和西北部牧区人群也存在较高的感染率, 世界卫生组织将其列为17种被忽视的热带病之一<sup>[1]</sup>。细粒棘球蚴(*Echinococcus granulosus*, Eg)系带科、棘球属绦虫, 生活史复杂<sup>[2]</sup>。有虫卵、六钩蚴、棘球蚴、成虫等4个发育阶段<sup>[3]</sup>。棘球蚴的终宿主是食肉动物, 如狗、猫、狼、豺和狐狸等。中间宿主通常是食草动物, 如绵羊、山羊、牛、猪、骆驼和鹿等, 以及含有幼虫期的啮齿动物。细粒棘球蚴主要寄生在犬科动物小肠, 狗是主要的感染源, 在流行地区, 绵羊和牛经常, 居民用患有棘球蚴病的羊和其他牲畜内脏喂狗, 狗有机会摄入棘球蚴, 感染后肠道寄生虫的数量可能达到数百或数千, 随粪便排出污染皮毛及周围牧草、土壤、水源等环境, 人类与狗接触可造成直接或间接感染<sup>[4]</sup>。

我国是细粒棘球蚴病的主要流行国家之一, 23个省(自治

区)均有感染, 有100多万人感染, 主要流行于青海、四川、新疆、内蒙等省(自治区)的牧区<sup>[5]</sup>。由于牲畜的感染, 人群中发病率的增加, 以及控制、诊断和治疗成本的巨大经济负担, CE在全球范围内引起了严重的公共卫生问题<sup>[6]</sup>。由于感染后囊肿生长缓慢数年, 且原发感染初期多无症状, 多数患者错过了最佳治疗阶段, 出现占位性病变, 引起囊肿破裂或新囊肿的扩散, 可导致过敏性休克及死亡<sup>[7]</sup>。目前针对细粒棘球蚴病的药物和预防策略主要集中在药物治疗、感染动物驱虫监测、人群筛查、适宜手术患者手术以及健康教育等。驱虫药的大量使用造成了耐药性、药物残留、环境污染等一系列问题, 可用的驱虫

\* **【基金项目】** 新疆动物疫病研究重点实验室开放科研课题 (No. 2023KLB004)。

\*\* **【通讯作者】** 魏婕, E-mail: xiaojie0717@aliyun.com

**【作者简介】** 于涛(1979-), 男, 江苏丰县人, 硕士, 助理研究员, 主要从事寄生虫病防治及发病机制研究。

E-mail: yutao5816@126.com

药物的治疗效果还不够令人满意,其中一些药物的使用可能与牲畜和人体的一些不可避免的副作用有关。与药物疗法相比,有效的疫苗可提供更加有效的治疗方法来对抗细粒棘球绦虫感染。由于寄生虫感染的复杂性,与抗病毒疫苗相比,几乎没有有效的包虫病疫苗。然而,与其他类型的感染不同,针对细粒棘球绦虫感染的免疫治疗方法较少。因此,亟待研发能诱导强烈免疫记忆并因此产生免疫反应的疫苗。

多种疫苗候选抗原(VCA)现已用于针对细粒棘球绦虫的免疫接种,暂设一种用于人的细粒棘球绦虫病商品化的疫苗上市<sup>[8]</sup>。重视针对细粒棘球绦虫血清型和基因型的多功能疫苗的开发,通过接种疫苗预防最终宿主的感染或抑制中间宿主的疾病,以阻断虫卵的传播,可切断病原循环,以控制棘球绦虫病流行。本研究就近年主要的疫苗候选抗原进行综述,了解它们的生化和免疫学特性,以及构建针对细粒棘球绦虫感染的疫苗的研发,为通过计算建模方法建立的新一代疫苗和设计策略提供理论基础。

### 1 基于粗抗原或针对细粒棘球绦虫的活疫苗

抗包虫病疫苗最初的策略是基于从细粒棘球绦虫生命周期的各个阶段提取的粗体细胞排泄或分泌抗原,包括囊尾蚴及成虫的虫体、粗提物、囊液和虫体组织等<sup>[9]</sup>。在了解保护性免疫反应之后,确定最佳抗原,可以进行免疫接种,从而引发针对感染的高度免疫反应。小鼠和绵羊受到细粒棘球绦虫的抗体攻击后,免疫球蛋白 IgG 最早对细粒棘球绦虫液和包囊球抗原反应分别出现在 2 周和 11 周,这些抗细粒棘球绦虫抗体在杀死细粒棘球绦虫中起主要作用<sup>[10]</sup>。尽管在感染的早期阶段,针对细粒棘球绦虫的抗体水平较低,但涉及抗体依赖性细胞介导的细胞毒性反应。在细粒棘球绦虫的慢性期,经常出现抗体水平升高,尤其是 IgG、IgM 和 IgE,其中 IgG1 和 IgG4 亚类占主导地位<sup>[11]</sup>。这种抗体的产生对于血清诊断测试的发展至关重要。此外,在细粒棘球绦虫中诱导的免疫是复杂的并且包含体液和细胞成分。对应于 Th1 反应,而 Th2 反应与感染的进展无关,Th2 反应允许细粒棘球绦虫幼虫逃避宿主保护性 Th1 反应<sup>[12]</sup>。

在粗抗原或细粒棘球绦虫活疫苗免疫的基础上,细粒棘球绦虫的粗抗原已被用于诱导免疫反应或感染的血清学诊断,其取决于许多不同的因素,其中之一是细粒棘球绦虫的基因型和次生包囊发育的差异<sup>[13]</sup>。在 Pourseif 等<sup>[14]</sup>的研究在 BALB/c 中使用富含碳水化合物的部分抗原,观察到高水平的 IL-10、IgG2a 和 IgG2b。此外,Song 等<sup>[13]</sup>报道在兔中使用粗抗原增加了半胱天冬酶 3 和 p53 的表达。Wang 等<sup>[15]</sup>的研究证明使用包虫液的 BALB/c 和使用细粒棘球绦虫全身匀浆的绵羊的保护性免疫最强,对于包囊的生发层粗抗原或针对细粒棘球绦虫的活疫苗的免疫,该方法的保护水平为 66.7%~94.7%。然而活疫苗的保质期较短,由病原体或致病性较低的菌株制备的疫苗稳定性较差,缺乏细胞和体液免疫的刺激,缺乏足够和持续的特异性抗体产生。此外,它们具有与寄生虫可能传播到其他易感动物相关的风险。而且,活疫苗含有少量减弱的活病毒对免疫系统较弱、有基础疾病或接受过器官移植的患者也有一定的局限性,目前并未广泛用于细粒棘球绦虫感染的研究。

### 2 细粒棘球绦虫的 DNA 疫苗

DNA 疫苗是新一代疫苗,具有刺激体液和细胞免疫活动

的潜力,并且通过表达抗原 DNA 序列的质粒,使 T 细胞辅助细胞向 Th1 或 Th2 极化<sup>[16]</sup>。该疫苗可快速引起体液和细胞特异性免疫反应,生产成本低、免疫持久。目前用于设计 DNA 疫苗的抗原是蛋白(FABP)、EG95、EgA31、EgTrp、EgP-29、Eg95-EgA31、AgB8/2、EgG1Y162 和抗原 B 等<sup>[17]</sup>。这些抗原中的大多数引起机体体液免疫反应,抗原 B 具有较强的免疫原性并诱导细胞和体液免疫,其诱导 Th2 反应多于 Th1 反应。且在疫苗中添加佐剂可增强、维持和引导抗原的免疫原性,有效调节适当的免疫反应,减少所需的抗原量或免疫次数,并提高疫苗在新生儿、老年人或免疫功能低下个体中的效力<sup>[18]</sup>。佐剂为分子、化合物或大分子复合物,可提高对抗原的特异性免疫反应的效力和寿命,但其自身产生的毒性或持久的免疫作用较小。弗氏完全佐剂(complete Freund's adjuvant, CFA)、卡介苗(bacille calmette guerin, BCG)和 IL-12 等佐剂已用于细粒棘球绦虫感染 DNA 疫苗研究。Zarrabi 等<sup>[19]</sup>在犬中使用 FABPs 抗原的研究表明,免疫组血清和唾液中的 IgG、IgG2a 和 IgA 水平高,使用 EG95 抗原的研究中 BALB/c 模型发现免疫组 IgG 和 IgG2a 水平显著,免疫组脾 T 细胞增殖反应高于对照组。在 BALB/c 小鼠中使用 EgP-29 抗原和 CFA 佐剂进行的调查中, IgG1 和 IgG2b 的水平增高,保护性免疫为 96.6%<sup>[20]</sup>。在 BALB/c 模型中使用 EgG1Y162 抗原和 BCG 佐剂导致机体 IgG1、IgG2a 和 IgG2b 水平升高,并诱导 Th1 和 Th2 反应<sup>[21]</sup>。

**2.1 蛋白 Eg95 疫苗** Eg95 疫苗诱导的保护有效性与体液免疫应答密切相关,疫苗接种后可诱发高水平的 Eg95 特异性 IgG 抗体,这些抗体能够在体外培养中有效杀死细粒棘球绦虫。Eg95 蛋白抗原在保护中间宿主免受细粒棘球绦虫感染中起重要作用,不同 Eg95 分离株抗原性多样<sup>[22]</sup>。17 ku 的 Eg95 蛋白由一个小的多基因家族(Eg95 1-7)编码,包括分泌信号肽、进化保守蛋白结构域、糖基磷脂酰肌醇脂质,以及具有 18 aa 长度的跨膜区域<sup>[23]</sup>。细胞质和包囊穿透腺细胞(即 PG1 和 PG2 细胞)的分泌颗粒是 Eg95 的主要来源,这些细胞在细粒棘球绦虫的成熟卵、孵化的包囊和活化的包囊中表达<sup>[24]</sup>。Eg95 含 SLKAVNPSDPLVYKRQTAKF、DIETPRAGKESVMTSGS A、SALTSIAGFVFC 和 TETPLRKHFNLTTPV 的 4 个线性表位<sup>[25]</sup>。前 3 个表位显示生成特异性 IgG1,第 4 个表位生成 IgG2 抗体。编码蛋白 Eg95 的氨基酸序列与细粒棘球绦虫的 Eg95 疫苗抗原具有 80% 的序列同一性。与全长 rEg95 相比,合成肽未能在免疫绵羊中诱导抗 Eg95 抗体滴度,而 rEg95 疫苗可通过 2 次疫苗接种和每年加强免疫获得最佳免疫力。Eg95 在不同的分离株中高度保守,使得 Eg95 成为细粒棘球绦虫感染疫苗接种的通用抗原。普通 rEg95 疫苗的编码基因与 G1 基因型(Eg95-1G1)有关,可能对其他基因型尤其是 G6 无效。目前 Eg95 亚型(Eg95-5G1)已被用于细粒棘球绦虫感染小鼠免疫,取得良好治疗效果<sup>[26]</sup>。在新西兰、澳大利亚等国家已经在绵羊身上进行了针对细粒棘球绦虫实验性攻击感染的 Eg95 疫苗试验,表明 Eg95 疫苗可诱导羊产生 96%~98% 的保护力<sup>[27-28]</sup>。该疫苗的宿主保护作用在不同国家是可重复的,并且 Eg95 疫苗有潜力用于控制不同地区羊间细粒棘球绦虫感染的传播。

**2.2 蛋白 EgA31 疫苗** EgA31 为细粒棘球绦虫的单拷贝基因编码的 66 ku 纤维蛋白,主要在细粒棘球绦虫的成虫阶段表

达,在犬和人类的细粒棘球绦虫感染中起着重要作用<sup>[29]</sup>。EgA31单独或与其他抗原蛋白组合的免疫原性已在细粒棘球绦虫感染犬试验中得到验证。1999年,rEgA31被用作终宿主疫苗接种的抗原,在犬皮内注射rEgA31后,通过流式细胞术和淋巴结免疫组织化学评估细胞免疫反应结果显示,T细胞标记物数量显著增加<sup>[30]</sup>。EgA31 cDNA的4个最具免疫原性的限制性片段表位(SalI-PstI、SalI-HindIII、PstI-HindIII和PstI-DraI)已用于评估EgA31抗原<sup>[31]</sup>。其中,PstI-HindIII为最具抗原性的表位,可在最终宿主中充当疫苗候选抗原。肠道Caco-2细胞作为成熟肠细胞的拟态细胞,用于测量细粒棘球绦虫感染后的细胞因子反应,其中单独使用EgA31或与FABP1和EgTrp Ags混合使用诱导产生细胞因子,在两种类型的重组蛋白中发现Th1/Th2分布显著增加<sup>[32]</sup>。Cucher等<sup>[33]</sup>研究发现rEgA31、rEgTrp和rEgA31-EgTrp在BALB/c小鼠中的免疫原性较高,重组蛋白可以显著增加IgA和IgG亚类的滴度。

**2.3 蛋白Ag5疫苗** Ag5是细粒棘球绦虫包囊液的显性抗原之一,为不稳定的复合糖二聚体蛋白,具有属于丝氨酸内肽酶家族的蛋白A结合结构,以单条多肽链的形式产生-类似于其他丝氨酸蛋白酶,由通过二硫桥连接的22 ku和38 ku亚基组成,两个亚基带有N聚糖修饰,38 ku亚基与胰蛋白酶家族的丝氨酸蛋白酶密切相关<sup>[34]</sup>。Ag5在细粒棘球绦虫生命周期的所有阶段均有表达,在原头节外皮、包囊膜和包囊表面强表达,在成体皮层中表达较弱。亚基的免疫学特征不同,研究显示22 ku亚基可诱导IgG4和IgE抗体高滴度,而38 ku亚基显示可诱导IgG1反应<sup>[35]</sup>。基于EgAg5的序列同源性、理化特性、B细胞表位、细胞毒性T细胞表位、功能域和修饰位点结构方面,rEgAg5有多个有高免疫原性的B和T细胞激活表位<sup>[36]</sup>。部分EgAg5与其来自其他绦虫科的同系物的比对表明,EgAg5序列中的九聚体片段在绦虫科和棘球绦虫寄生中不保守,该区域为线性B细胞表位<sup>[37]</sup>。因此,EgAg5作疫苗候选抗原,可用于终宿主和中间宿主接种针对细粒棘球绦虫感染的疫苗。

**2.4 蛋白Eg P29疫苗** 早期的表位疫苗主要由B细胞表位组成,只能引起单一的体液免疫反应,体液免疫应答需要细胞免疫应答的活性和调节<sup>[38]</sup>。保护性B细胞表位对于表位疫苗至关重要,表位疫苗构建体中T细胞表位的存在可以显著提高免疫保护水平。P29蛋白首先由Excler等提出,作为新型的29 ku一种诊断抗原,它具有很高的敏感性和特异性<sup>[39]</sup>。Lissandrin等<sup>[40]</sup>的研究采用小鼠模型表明rEg. P29免疫引发Th1型反应,在rEg. P29的初剂量和增强剂量后,产生细胞因子的细胞在第2周达到峰值。多数产生细胞因子的细胞表达IFN- $\gamma$ 、IL-2和TNF- $\alpha$ ,少数表达IL-4和IL-10<sup>[41]</sup>。rEg. P29可以刺激CD4和CD8 T细胞诱导IFN- $\gamma$ 的产生。Biranvand等<sup>[42]</sup>的研究表明,rEg. P29免疫感染患者的IgG水平显著升高,并且主要的IgG亚类是IgG4,Th2细胞因子调节IgG4的合成,表明rEg. P29引发Th2细胞介导的免疫反应诱导产生高水平的IgG4。

**2.5 蛋白Eg 14-3疫苗** Eg14-3为一个30 ku的高度保守蛋白质家族,在迄今为止研究的所有真核生物中表达,存在于棘球绦虫的不同发育阶段,在细胞周期分化、生长调节、信号转导、细胞周期控制、细胞分化以及凋亡细胞死亡等过程中发挥

着重要作用<sup>[43]</sup>。作为候选疫苗具有良好的抗原性和免疫原性,在接种ICR小鼠第2周开始诱导特异性抗原反应,特异性识别原头节的天然抗原,表明rEg14-3-3与天然抗原具有相同的表位<sup>[44]</sup>。r14-3-3蛋白治疗可刺激宿主产生针对细粒棘球绦虫的特异性免疫反应。在接种rEg14-3-3的小鼠的第6周后血清中检测到高水平的rEg14-3-3 IgG<sup>[45]</sup>。因此,rEg14-3-3疫苗接种可以诱导小鼠产生特异性rEg14-3-3抗体。细粒棘球绦虫液免疫的保护作用不仅与IgG水平相关,还与IgG同种型相关,rEg14-3-3在小鼠体内诱导的IgG主要同种型是IgG1和IgG2a<sup>[46]</sup>,表明rEg14-3-3抗原诱导的特异性抗体可以诱导保护性免疫。

### 3 重组蛋白疫苗

尽管DNA疫苗具有许多优点,但单一蛋白疫苗接种的情况下,它们诱导免疫反应的能力大多效果不理想。多数关于细粒棘球绦虫疫苗接种的研究属于重组蛋白方法。接种了组合pcHydI和pcMIL12的小鼠会产生更高的IFN- $\gamma$ ,重组蛋白疫苗可能为打破中间宿主和最终宿主之间的细粒棘球绦虫传播循环提供新的工具<sup>[47]</sup>。当与佐剂一起施用,或者当由无害的细菌或病毒载体或质粒表达时,重组疫苗依赖于一种或多种特定抗原的能力来诱导针对细粒棘球绦虫的免疫力。重组蛋白疫苗可以避免基于纯化大分子的疫苗引起的几个潜在问题,包括共纯化不需要的污染物或将类毒素逆转为其产毒形式的风险<sup>[48]</sup>。单独或与其他肽/抗原组合的重组EG95是此类免疫中选择最多的蛋白质。EG95抗原被表征为高度免疫原性蛋白,由多基因家族编码。EG95抗原似乎能够引发宿主针对细粒大肠杆菌的免疫反应,并为接种疫苗的宿主提供可接受的免疫力。此外,研究表明EG95是一个多基因家族,包括七个亚型(EG95-1到EG95-7)<sup>[49]</sup>。用于抗细粒大肠杆菌的重组蛋白疫苗的抗原包括EG95、EG101、EG119、EG123、EgA31、EgM4、EgM9、EgM123、BCG-Eg95、Eg95-EgA31、Eg9S-95-EgA31、Bb-Eg95-EgA31、Eg95-EgA31、EG95-5G1、rEgGST、HSP70、rEg. P29、rEg. myophilin、EgM9、EgM123和EgG1Y162-1/2等<sup>[50-52]</sup>。研发重组EG95疫苗的实际应用可能会受到不同中间宿主中表达的EG95蛋白的抗原变异性的影响,其等位基因多态性可能会影响基于EG95的疫苗功效。

### 4 基于基因的联合(双价或多价)和口服疫苗

基因联合来增强和转移接种疫苗的动物的免疫反应到Th1或Th2调节谱是双价或多价疫苗的优势之一<sup>[53]</sup>。目前已经制备了多种基因联合抗原作为针对细粒棘球绦虫的疫苗。尽管对这种复杂的感染实施了一些有效的控制措施,但多抗原疫苗接种似乎比单一Ag疫苗接种方法更有效。使用有效的制剂针对不同血清型和/或寄生物种进行免疫可以降低针对细粒棘球绦虫的疫苗生产成本。联合疫苗DTaP-IPV由8种不同的抗原组成,即白喉类毒素、破伤风类毒素、百日咳类毒素、丝状血凝素、百日咳杆菌粘附素和灭活脊髓灰质炎病毒1-3型抗原<sup>[54]</sup>。作为一种高科技联合疫苗,可以考虑在计算机上预测来自不同Ags的B和T辅助表位来设计多价表位构建体,这些类型的多抗原疫苗旨在同时阻断中间宿主和最终宿主的寄生虫生命周期<sup>[55]</sup>。鉴于犬细粒棘球绦虫被视为肠道寄生虫感染,通过食用和或口服疫苗可诱导肠道特异性免疫,诱导产生Th1细胞因子编码质粒(如IL-2,IL-15,IL-18,IL-23和IFN-

γ),活化的抗原呈递细胞<sup>[56]</sup>。接种 IL-12 与 pcHydI 组合疫苗的小鼠中 IFN-γ 因子含量显著增加,同时增加并扩大 Th1 细胞因子反应,通过 EgTrp 和 EgA31 的联合疫苗用于犬的口服免疫疫苗,研究结果显示其肠道免疫反应显著增强,血液 IgA 滴度增高<sup>[57]</sup>。EG95 和 EgA31 Ags 被亚克隆到 pBI 质粒中通过鼻腔吸入,生产可食用疫苗的表达系统<sup>[58]</sup>。通过设计使用 EG95 和 EgA31 下一代多效可食用疫苗,可以通过开发对绵羊和犬具有高免疫覆盖率的最有效的多表位疫苗,使用新的基因表达系统来诱导肠道粘膜免疫系统对抗此类肠道寄生虫病为一种具有成本效益且适用的策略。

## 5 多效微型基因疫苗和计算系统疫苗

作为一种新型疫苗,具有安全、稳定、产量高、选择性启动多种免疫反应等优点,其能够特异性靶向免疫反应中关键的中和肽,同时避免诱导抗体特异性不具有保护作用。目前,肽疫苗已被广泛研究用于肿瘤、神经退行性疾病、寄生虫病等疾病的预防和治疗<sup>[59]</sup>。基因疫苗的由于其相对较小的尺寸,通常具有较弱的免疫原性,需要载体分子、递送载体或佐剂来增强化学稳定性并诱导适度的免疫反应。由重要候选疫苗抗原的 B 细胞和 T 细胞表位组装的基于计算机的多效微型基因疫苗可用作有前途的疫苗接种平台,以干扰和阻碍寄生虫生物周期,可能与受感染的绵羊和犬的主要组织相容性(MHC)等位基因和人类 MHC 等位基因预测 T 细胞表位相关<sup>[60]</sup>。寄生虫和宿主免疫系统之间的相互作用网络复杂多样,因此,“免疫信息学分析”和“系统疫苗学”方法是利用从表位预测水平到疫苗接种模型的计算模拟策略之一<sup>[61]</sup>。快速和高精度的计算和数学方法可以为大量需要减少疫苗构建时间和成本,通过这种方式,计算机和数学分析可以优先用于开发具有高免疫原性但相当安全的多效疫苗。系统疫苗学方法与当前体外和体内测试的整合可能是针对细粒棘球蚴等多宿主寄生虫的疫苗接种活动中缺失的关键,预测过程针对来自不同疫苗候选抗原的细胞表位进行估算。在一些研究中,T 细胞表位是根据主动物模型和人类 MHC 等位基因的组织相容性等位基因<sup>[62]</sup>。计算建模和模拟方法已被用于预测细粒棘球蚴感染的传播动力学和疾病控制,这对抑制这种人畜共患疾病非常有益。尽管系统疫苗学取得了较大进展,但在预测疫苗诱导的免疫力方面仍然存在许多生物学挑战,其主要障碍是免疫群体中 MHC 等位基因的高度多态性和遗传多样性。

## 5 小结

在过去的十年中,在开发针对细粒棘球蚴感染的有效分子疫苗方面取得了多项进展。然而,细粒棘球蚴感染在全球许多地方仍然是一个具有挑战性的问题。理想的疫苗应该能够阻止犬、绵羊和人类的包虫囊肿进一步分化,从而阻止成年妊娠绦虫的发育。目前尽管研究人员仍未成功生产出对最终宿主和中间宿主具有完全免疫原性的疫苗,预计在未来几年,随着反向疫苗学以鉴定许多新型保护性疫苗候选抗原,借助计算机研发设计通用 DNA 和或 RNA 疫苗构建体,新型高性能纳米疫苗和纳米佐剂的配制,建立安全可靠的表达系统以生产新的口服疫苗等,现有疫苗和佐剂的构建和使用将在免疫原性、安全性和耐受性方面发生一些重要的改进。

## 【参考文献】

- [1] Pourseif MM, Moghaddam G, Saeedi N, et al. Current status and future prospective of vaccine development against *Echinococcus granulosus*[J]. *Biologicals*, 2018, 51: 1-11.
- [2] 朱国强, 闫涛斌, 李立, 等. 棘球蚴(包虫)病疫苗研究进展[J]. *中国人兽共患病学报*, 2019, 35(1): 59-65.
- [3] 杨先伟, 陶浪, 魏金文, 等. 包虫病特异性疫苗抗原研究现状及展望[J]. *中国普外基础与临床杂*, 2023, 30(5): 513-517.
- [4] 李文桂, 李用国. 囊型棘球蚴病的免疫预防现状[J]. *临床内科杂志*, 2022, 39(4): 227-231.
- [5] Li Y, Zhu Y, Sha T, et al. A Multi-Epitope chitosan nanoparticles vaccine of canine against *Echinococcus granulosus*[J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2021, 17(5): 910-920.
- [6] Shams M, Javanmardi E, Nosrati MC, et al. Bioinformatics features and immunogenic epitopes of *Echinococcus granulosus* Myophilin as a promising target for vaccination against cystic echinococcosis[J]. *Infect Genet Evol*, 2021, 89: 104714.
- [7] Anvari D, Rezaei F, Ashouri A, et al. Current situation and future prospects of *Echinococcus granulosus* vaccine candidates: A systematic review[J]. *Transbound Emerg Dis*, 2021, 68(3): 1080-1096.
- [8] Yu M, Zhu Y, Li Y, et al. Design of a novel multi-epitope vaccine against *Echinococcus granulosus* in immunoinformatics[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 668492.
- [9] Miles S, Portela M, Cyrklaff M, et al. Combining proteomics and bioinformatics to explore novel tegumental antigens as vaccine candidates against *Echinococcus granulosus* infection[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(9): 15320-15336.
- [10] Pourseif MM, Moghaddam G, Daghighkia H, et al. A novel B- and helper T-cell epitopes-based prophylactic vaccine against *Echinococcus granulosus*[J]. *Bioimpacts*, 2018, 8(1): 39-52.
- [11] Casulli A, Siles-Lucas M, Tamarozzi F. *Echinococcus granulosus sensu lato*[J]. *Trends Parasitol*, 2019, 35(8): 663-664.
- [12] Manterola C, Totomoch-Serra A, Rojas C, et al. *Echinococcus granulosus sensu lato* genotypes in different hosts worldwide: A systematic review[J]. *Acta Parasitol*, 2022, 67(1): 161-185.
- [13] Song HY, Zhan JF, Hua RQ, et al. Molecular characterization and immunological properties of *Echinococcus granulosus sensu stricto* (G1) ADK1 and ADK8[J]. *Parasitol Res*, 2023, 10(5): 320-323.
- [14] Pourseif MM, Yousefpour M, Aminianfar M, et al. A multi-method and structure-based in silico vaccine designing against *Echinococcus granulosus* through investigating enolase protein [J]. *Bioimpacts*, 2019, 9(3): 131-144.
- [15] Wang L, Gao J, Lan X, et al. Identification of combined T-cell and B-cell reactive *Echinococcus granulosus* 95 antigens for the potential development of a multi-epitope vaccine[J]. *Ann Transl Med*, 2019, 7(22): 652.
- [16] Kırış MT, Ergun S, Akıncı O, et al. Evaluation of *Echinococcus* DNA by polymerase chain reaction (PCR) in cystic echinococcosis of the liver[J]. *Turk J Surg*, 2022, 38(2): 196-201.
- [17] Beyhan YE, Çobanoğlu U, Çelik S, et al. Molecular characterization of human lung and liver cystic echinococcosis isolates in Van Province, Turkey[J]. *Acta Trop*, 2020, 206: 105451.

- [18] Hamamcı B, Acıkgöz G, Çetinkaya U, et al. Molecular genotyping of *Echinococcus granulosus* sensu stricto from human Echinococcal cysts in Hatay, Türkiye[J]. Exp Parasitol, 2023, 245:108454.
- [19] Zarrabi Ahrabi S, Madani R, Shemshadi B, et al. Genetic affinity of *Echinococcus granulosus* protoscoleces in human and sheep in East Azerbaijan, Iran[J]. Arch Razi Inst, 2020, 75(1):47-54.
- [20] Mazaheri N, Dalimi A, Pirestani M, et al. Construction and identification of a recombinant plasmid encoding *Echinococcus granulosus* oncosphere antigen (EG95)[J]. Iran J Parasitol, 2017, 12(4):490-497.
- [21] Wang F, Ye B. In silico cloning and B/T cell epitope prediction of triosephosphate isomerase from *Echinococcus granulosus*[J]. Parasitol Res, 2016, 115(10):3991-8.
- [22] Pan W, Chen DS, Lu YJ, et al. Genetic diversity and phylogenetic analysis of EG95 sequences of *Echinococcus granulosus*: Implications for EG95 vaccine application[J]. Asian Pac J Trop Med, 2017 May, 10(5):524-527.
- [23] Sreevatsava V, De S, Bandyopadhyay S, et al. Variability of the EG95 antigen-coding gene of *Echinococcus granulosus* in animal and human origin: implications for vaccine development[J]. J Genet, 2019, 98(2):53.
- [24] Amarir F, Rhalem A, Sadak A, et al. Control of cystic echinococcosis in the Middle Atlas, Morocco: Field evaluation of the EG95 vaccine in sheep and cesticide treatment in dogs[J]. PLoS Negl Trop Dis, 2021, 15(3):e0009253.
- [25] Wang L, Gao J, Lan X, et al. Identification of combined T-cell and B-cell reactive *Echinococcus granulosus* 95 antigens for the potential development of a multi-epitope vaccine[J]. Ann Transl Med, 2019, 7(22):652.
- [26] Pourseif MM, Moghaddam G, Naghili B, et al. A novel in silico minigene vaccine based on CD4+ T-helper and B-cell epitopes of EG95 isolates for vaccination against cystic echinococcosis[J]. Comput Biol Chem, 2018, 72:150-163.
- [27] Liu F, Fan X, Li L, et al. Development of recombinant goatpox virus expressing *Echinococcus granulosus* EG95 vaccine antigen[J]. J Virol Methods, 2018, 261:28-33.
- [28] Larrieu E, Mujica G, Araya D, et al. Pilot field trial of the EG95 vaccine against ovine cystic echinococcosis in Rio Negro, Argentina: 8 years of work[J]. Acta Trop, 2019, 191:1-7.
- [29] Zhao X, Zhang F, Li Z, et al. Bioinformatics analysis of EgA31 and EgG1Y162 proteins for designing a multi-epitope vaccine against *Echinococcus granulosus* [J]. Infect Genet Evol, 2019, 73:98-108.
- [30] 李文桂, 欧兴坤, 何爱琳. 粪肠球菌介导的细粒棘球绦虫重组 Efs-Eg95-EgA31 疫苗的构建、鉴定及表达[J]. 中国病原生物学杂志, 2022, 17(9):1025-1029.
- [31] 张杰, 李玉娇, 张峰波, 等. 细粒棘球绦虫多价 EgA31-EgG1Y162 抗原序列优化分析[J]. 中国免疫学杂志, 2020, 36(1):19-25.
- [32] Teroj M. Movement of *Echinococcus granulosus* under a light microscope[J]. Clin Microbiol Infect, 2022, 28(9):1236-1237.
- [33] Cucher MA, Macchiaroli N, Baldi G, et al. Cystic echinococcosis in South America: systematic review of species and genotypes of *Echinococcus granulosus* sensu lato in humans and natural domestic hosts[J]. Trop Med Int Health, 2016, 21(2):166-175.
- [34] Fathi S, Jalousian F, Hosseini SH, et al. Design and construction of a new recombinant fusion protein and its assessment for serodiagnosis of cystic echinococcosis [J]. APMIS, 2018, 126(5):428-439.
- [35] Magliocco A, Agero FA, Valacco MP, et al. Characterization of the B-Cell epitopes of *Echinococcus granulosus* Histones H4 and H2A Recognized by sera from patients with liver cysts [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2022, 12:901994.
- [36] Ranasinghe SL, McManus DP. *Echinococcus granulosus*: Cure for Cancer Revisited[J]. Front Med (Lausanne), 2018, 5:60.
- [37] Bao J, Qi W, Sun C, et al. *Echinococcus granulosus* sensu stricto and antigen B may decrease inflammatory bowel disease through regulation of M1/2 polarization [J]. Parasit Vectors, 2022, 15(1):391.
- [38] Lv Y, Zhu Y, Chang L, et al. Identification of a dominant murine T-cell epitope in recombinant protein P29 from *Echinococcus granulosus* [J]. Acta Biochim Biophys Sin, 2022, 54(4):482-493.
- [39] Excler JL, Saville M, Berkley S, Kim JH. Vaccine development for emerging infectious diseases [J]. Nat Med 2021, 27:591-600.
- [40] Lissandrin R, Tamarozzi F, Mariconti M, et al. Watch and wait approach for inactive echinococcal cyst of the liver: an update [J]. Am J Tropical Med Hyg, 2018, 99:375-379.
- [41] Liang Y, Song H, Wu M, et al. Preliminary evaluation of recombinant EPC1 and TPx for serological diagnosis of animal cystic Echinococcosis [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2020, 10:177.
- [42] Biranvand E, Rafiei A, Beiromvand M, et al. Cytokine profiles in peripheral blood mononuclear cells from patients with cystic echinococcosis [J]. Comp Immunol Microbiol Infect Dis, 2020, 70:101469.
- Tao J, Du X, Liu K, et al. Clinical characteristics and antibodies against *Echinococcus granulosus* recombinant antigen P29 in patients with cystic echinococcosis in China [J]. BMC Infect Dis, 2022, 22(1):609.
- [43] Zhang X, Wei C, Lv Y, et al. EgSeverin and Eg14-3-3zeta from *Echinococcus granulosus* are potential antigens for serological diagnosis of echinococcosis in dogs and sheep [J]. Microb Pathog, 2023, 179:106110.
- [44] Xian J, Wang N, Zhao P, et al. Molecular characterization and immune protection of the 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase gene in *Echinococcus granulosus* [J]. Parasit Vectors, 2021, 14(1):489.
- [45] Pereira I, Hidalgo C, Stoores C, et al. Transcriptome analysis of *Echinococcus granulosus* sensu stricto protoscoleces reveals differences in immune modulation gene expression between cysts found in cattle and sheep [J]. Vet Res, 2022, 53(1):8.
- [46] Teichmann A, Vargas DM, Monteiro KM, et al. Characterization of 14-3-3 isoforms expressed in the *Echinococcus granulosus* pathogenic larval stage [J]. J Proteome Res, 2015, 14(4):1700-1715.
- [47] Jazouli M, Lightowlers MW, Bamouh Z, et al. Immunological responses and potency of the EG95NC- recombinant sheep vaccine against cystic echinococcosis [J]. Parasitol Int, 2020, 78:102149.
- [48] Xian J, Zhao P, Wang N, et al. Molecular Characterization of a

tetraspanin TSP11 gene in *Echinococcus granulosus* and evaluation Its immunoprotection in model dogs[J]. Front Vet Sci, 2021, 8: 759283.

[49] Bohlul E, Hasanlou F, Taromchi AH, et al. TRAIL-expressing recombinant *Lactococcus lactis* induces apoptosis in human colon adenocarcinoma SW 480 and HCT 116 cells[J]. J appl Mmicro, 2019, 126(5): 1558-1567.

[50] Kak G, Raza M, Tiwari BK. Interferon-gamma (IFN-γ): exploring its implications in infectious diseases[J]. Biomolecular concepts, 2018, 9(1): 64 - 79.

[51] Zhang F, Li S, Zhu Y, et al. Immunization of mice with egG1Y162-1/2 provides protection against *Echinococcus granulosus* infection in BALB/c mice[J]. Mol Immunol, 2018, 94: 183-189.

[52] Azizi H, Kazemi B, Bandehpour M, et al. Modulation of the immune response to DNA vaccine encoding gene of 8-kDa subunit of *Echinococcus granulosus* antigen b using murine interleukin-12 plasmid in BALB/c mice[J]. Iran J Parasitol, 2016, 11(4): 480-489.

[53] Hassan H, Al Hadithi TS, Al Sakee HM. Experimental trial with a heat-shocked protoscolex extract as a vaccine candidate for protection against hydatid disease [J]. Turkiye Parazit Derg, 2016, 40(1): 1-8.

[54] Brehm K, Koziol U. *Echinococcus*-host interactions at cellular and molecular levels[J]. Adv Parasitol, 2017, 95: 147-212.

[55] Liu Y, Wang ZR, Pang S, et al. Evaluation of dynamic developmental processes and the molecular basis of the high body fat percentage of different proglottid types of *Moniezia expansa*. Parasit Vectors, 2019, 12: 390.

[56] Zhan JF, Song HY, Wang N, et al. Molecular and functional characterization of inhibitor of apoptosis proteins (IAP, BIRP) in *Echinococcus granulosus*[J]. Front Microbiol, 2020, 11: 729

[57] Zhang ZZ, Guo G, Li J, et al. Dog vaccination with EgM proteins against *Echinococcus granulosus*[J]. Infect Dis Poverty, 2018, 7: 61.

[58] Xin Q, Yuan MM, Lv W, et al. Molecular characterization and serodiagnostic potential of *Echinococcus granulosus* hexokinase [J]. Parasit Vectors, 2021, 14: 105.

[59] Lv Y, Chang L, Yang J, et al. Immunogenicity of peptide-based vaccine composed of epitopes from *Echinococcus granulosus* rEg. P29[J]. FASEB J, 2023, 37(4): e22819.

[60] Lightowers MW, Gasser RB, Hemphill A, et al. Advances in the treatment, diagnosis, control and scientific understanding of taeniid cestode parasite infections over the past 50 years[J]. Int J Parasitol, 2021, 51: 1167-1192.

[61] Du X, Zhu M, Zhang T, et al. The recombinant Eg. P29-mediated miR-126a-5p promotes the differentiation of mouse naive CD4 (+) T cells via DLK1-mediated Notch1 signal pathway[J]. Front Immunol, 2022, 13: 773276

[62] Yasen A, Li W, Aini A, et al. Th1/Th2/Th17 cytokine profile in hepatic cystic echinococcosis patients with different cyst stages [J]. Parasite Immunol, 2021, 43: e12839.

【收稿日期】 2023-07-25 【修回日期】 2023-10-14

(上接 106 页)

[78] 杨梅, 李文桂, 朱佑明. 多房棘球绦虫重组 Bb-Em II /3-Em14-3-3 疫苗的构建及鉴定[J]. 中国人兽共患病学报, 2007, 23(10): 1026-1029.

[79] 杨梅, 李文桂. 多房棘球绦虫重组 Bb-Em II /3-Em14-3-3 疫苗诱导小鼠细胞因子变化的研究[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2008, 24(8): 781-784.

[80] 杨梅, 李文桂, 朱佑明. 多房棘球绦虫重组 Bb-Em II /3-Em14-3-3 疫苗对小鼠脾细胞凋亡的影响[J]. 中国人兽共患病学报, 2008, 24(11): 1032-1035.

[81] 杨梅, 李文桂, 朱佑明. 多房棘球绦虫重组 Bb-Em II /3 疫苗的构建及其表达效率[J]. 重庆医科大学学报, 2008, 33(6): 652-656.

[82] 杨梅, 李文桂, 朱佑明. 多房棘球绦虫重组 Bb-Em14-3-3 疫苗的构建及其表达效率[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2008, 29(2): 148-151, 159.

[83] 杨梅, 李文桂, 朱佑明. 多房棘球绦虫重组质粒 pGEX-Em II /3-Em14-3-3 在大肠埃希菌 BL21(DE3) 表达效率的研究[J]. 中国病原生物学杂志, 2007, 2(6): 424-427.

[84] 杨梅, 李文桂, 刘兴超. 多房棘球绦虫重组 Bb-EmII/3-Em14-3-3 疫苗诱导 BALB/c 小鼠 T 淋巴细胞亚群变化的研究[J]. 中华地方病学杂志, 2016, 35(9): 629-632.

[85] Ailor E, Betenbaugh MJ. Modifying secretion and post-translational processing in insect cells[J]. Curr Opin Biotech, 1999, 10(2): 142-145.

[86] 王芬, 赵明才, 胡容, 等. 多房棘球绦虫 *severin* 基因过表达慢病毒载体的构建及对入正常肝细胞侵袭、迁移能力的影响[J]. 中国病原生物学杂志, 2019, 14(3): 304-310.

[87] 李文桂, 陈雅棠. 重组黄热病疫苗的研制现状[J]. 中国病原生物学杂志, 2019, 14(1): 123-124.

[88] 李文桂, 陈雅棠. 重组委内瑞拉脑膜炎病毒疫苗的研制现状[J]. 中国病原生物学杂志, 2020, 15(2): 238-240, 245.

[89] 李文桂, 陈雅棠. 水疱性口炎病毒介导黄病毒疫苗的研制现状[J]. 中国病原生物学杂志, 2020, 15(10): 1234-1236.

[90] 李文桂, 陈雅棠. 重组牛痘疹病毒 I 型疫苗的研制现状[J]. 中国病原生物学杂志, 2021, 16(6): 724-727.

[91] 李文桂, 陈雅棠. 重组新城疫病毒疫苗研制现状[J]. 生物技术通讯, 2019, 30(2): 275-285.

[92] 李文桂, 陈雅棠. 重组鸡痘病毒疫苗的研制现状[J]. 生物技术通讯, 2019, 30(5): 710-721.

[93] 李文桂, 陈雅棠. 新培斯病毒介导的病原体疫苗研制现状[J]. 生物技术通讯, 2020, 31(1): 104-111.

【收稿日期】 2023-06-03 【修回日期】 2023-08-20