

DOI:10.13350/j.cjpb.220214

• 论著 •

伊维菌素体外抗新孢子虫作用研究^{*}

孙瑾, 张西臣, 张楠, 宫鹏涛, 李新, 王晓岑^{**}

(吉林大学动物医学学院人兽共患病研究教育部重点实验室, 吉林长春 130062)

【摘要】 目的 研究伊维菌素体外抗新孢子虫的作用。 **方法** 通过细胞活力试验确定伊维菌素对 Vero 细胞活力完全无影响的安全浓度。用安全浓度的伊维菌素处理新孢子虫感染的 Vero 细胞和新孢子虫, 使用荧光定量 PCR、光学显微镜和电子显微镜检测伊维菌素处理后对新孢子虫的细胞内增殖、细胞感染率以及虫体超微结构的影响。 **结果** 伊维菌素处理细胞 24 h, 其浓度在 0.3~10 $\mu\text{mol/L}$ 对 Vero 细胞活力均无显著影响。相比于新孢子虫感染组, 试验组伊维菌素 5 $\mu\text{mol/L}$ 、8 $\mu\text{mol/L}$ 和 10 $\mu\text{mol/L}$ 3 个浓度均可使细胞内虫体数量显著下降, 分别减少 86.4%、93.4%、93.26%; 伊维菌素 5 $\mu\text{mol/L}$ 处理组细胞的新孢子虫感染率降低 50.6%, 并且含有 4 个以上虫体的纳虫空泡数量减少 59%。透射电镜观察发现, DMSO 处理组的新孢子虫形态及虫体内部结构正常, 而经 8 $\mu\text{mol/L}$ 伊维菌素处理后的部分虫体外边缘变形, 较多虫体细胞膜破裂或模糊, 并且胞质内出现较大空泡, 内容物流失, 部分虫体细胞核形状发生畸变。 **结论** 伊维菌素具有抗新孢子虫作用, 在治疗新孢子虫感染方面具有潜在的应用前景。

【关键词】 新孢子虫; 伊维菌素; Vero 细胞; 细胞感染率; 超微结构

【中图分类号】 R382.3

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2022)02-0195-04

[Journal of Pathogen Biology. 2022 Feb;17(2):195-198, 2022.]

In vitro effect of ivermectin against *Neospora caninum* infection

SUN Jin, ZHANG Xi-chen, ZHANG Nan, GONG Peng-tao, LI Xin, WANG Xiao-cen (Key Laboratory of Zoonosis Research by Ministry of Education, College of Veterinary Medicine, Jilin University, Changchun 130062, China)

【Abstract】 Objective To investigate the effect of ivermectin against *Neospora caninum* infection *in vitro*. **Methods**

The safe concentration of ivermectin that has no effect on Vero cell viability was determined by cell viability test. *N. caninum*-infected Vero cells were treated with safe concentrations of ivermectin, then the rate of *N. caninum*-infected cells was determined by microscopy, intracellular proliferation was detected by quantitative PCR and microscopy. The ultrastructure of *N. caninum* after ivermectin treatment were observed by transmission electron microscope. **Results**

The viability of Vero cell was not affected by ivermectin treatment for 24 h at concentrations of 0.3-10 $\mu\text{mol/L}$. When compared with the *N. caninum* infection only group, the proliferation of *N. caninum* in Vero cells was significantly inhibited by 5, 8, and 10 $\mu\text{mol/L}$ ivermectin, and the reduction rates were 86.4%, 93.4% and 93.26%, respectively; meanwhile, the rate of *N. caninum*-infected cells in 5 $\mu\text{mol/L}$ ivermectin treatment group was reduced by 50.6%, and the number of parasitophorous vacuoles with more than 4 tachyzoites was reduced by 59%. The morphology and internal structure of DMSO-treated *N. caninum* in the negative group were normal under transmission electron microscopy, while the outer edges of some *N. caninum* treated with 8 $\mu\text{mol/L}$ ivermectin were deformed, the cell membranes of much *N. caninum* were ruptured or blurred, the large vacuoles and the lost content were observed in the cytoplasm, and the shape of some *N. caninum* nuclei was deformed. **Conclusion** Ivermectin had a good anti-*N. caninum* effect and has potential application prospects in the treatment of *N. caninum* infection.

【Key words】 *Neospora caninum*; ivermectin; Vero cells; infection rate of cell; ultrastructure

^{***}新孢子虫寄生于宿主的有核细胞内, 可造成终末宿主如犬的神经系统障碍疾病, 中间宿主如奶牛、肉牛和羊等的繁殖障碍, 主要导致孕畜流产, 新孢子虫病尤其给养牛业带来严重经济损失^[1-3], 是造成养牛业繁殖障碍疾病的主要原因之一。本病的报道近几年呈现出增多的趋势^[4-5], 相关研究也越来越深入, 喹诺酮类、喹啉类、磺胺类、吩噻嗪类药物应用效果相对较好^[6], 中药青蒿素与乙胺嘧啶或亚甲基蓝联合使用对新孢子虫具有一定抑制作用^[7], 其它药物中生物制剂类药物如钙

依赖性蛋白激酶 1 作为一个新的药物靶点也很具有应用前景^[8]。目前我国应对新孢子虫病的药物疗效较低, 治疗方案成效不显著, 能有效治疗新孢子虫病的药物也较为匮乏^[6,9], 亟待寻找治疗新孢子虫的有效药

^{*} **【基金项目】** 国家自然科学基金项目(No. 31902296)。

^{**} **【通讯作者】** 王晓岑, E-mail: wangxiaocen2016@163.com

【作者简介】 孙瑾(1997-), 女, 湖北人, 硕士研究生。研究方向: 兽医寄生虫病学。E-mail: 757698944@qq.com

物。

伊维菌素作为一种广谱、高效、低毒抗生素类抗药,在治疗线虫等蠕虫感染中具有良好效果^[10]。近年来研究发现,伊维菌素还可用于治疗癌症、病毒感染等^[11-12],进一步研究该药物对其他病原感染的治疗作用具有重要意义。本实验旨在观察伊维菌素体外抗新孢子虫的作用,以期寻找新的治疗新孢子虫药物和探索其作用机制奠定基础。

材料与方法

1 材料

1.1 细胞及虫株 Vero 细胞和新孢子虫 Nc-1 株均由本实验室保存。

1.2 主要试剂 伊维菌素购自上海 Selleck 公司; RPMI 1640 培养基和胎牛血清购自以色列 Biological Industries 公司; Percoll 购自德国 GE Healthcare 公司; CCK-8 试剂盒购自 Bimake 公司; 基因组 DNA 提取试剂盒购自北京天根生化科技有限公司; 瑞氏-姬姆萨染色液购自珠海贝索生物技术有限公司, 包括瑞氏-姬姆萨 A 液(主要成分: 瑞氏染料、姬姆萨染料)和瑞氏-姬姆萨 B 液(主要成分: 磷酸盐)。

2 方法

2.1 细胞及虫株的培养、纯化 用含 5% 胎牛血清和 1% 青霉素/链霉素的 RPMI 1640 培养基培养 Vero 细胞, 每 2 天进行传代培养。新孢子虫培养于 Vero 细胞中, 使用含 2% 胎牛血清和 1% 青霉素链霉素的 RPMI 1640 培养基。待含有新孢子虫的 Vero 细胞破裂至 80%, 将含逸出新孢子虫的悬液转移至 15 mL 离心管中, 1 000 g 离心 5 min, 弃上清; 沉淀用 1 mL PBS 重悬, 加入到 40% Percoll 分离液(PBS 稀释)的上层, 1500 g 离心 30 min, 弃去上层液体; 收集底部的虫体沉淀, 用 10 mL PBS 冲洗 1 次, 1000 g 离心 5 min, 得到纯化后的虫体沉淀。体外抗新孢子虫试验中均使用含 1% 胎牛血清和 1% 青霉素链霉素的 RPMI 1640 培养基。

2.2 伊维菌素对 Vero 细胞活力的检测 将浓度为 5×10^4 个/(mL·孔)的 Vero 细胞接种于 96 孔细胞培养板中培养, 待其生长至单层贴壁后, 试验组分别加入含 1% 胎牛血清培养基稀释的伊维菌素(终浓度分别为 0.3、0.5、1、2、3、4、5、10、12.5、15、20、25、30 $\mu\text{mol/L}$), 对照组细胞仅加入含 1% 胎牛血清及 1 μl DMSO 的培养基, 同时设置无细胞的单独培养基对照, 于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 条件下孵育 24 h。试验结束后 2 h, 每孔各加入 10% CCK-8 试剂, 待试验结束, 用酶标仪在波长 450 nm 处读取吸光度(A)值, 并按下式计算细胞活力。细胞相对活力(%) = $(A_{\text{试验组}} - A_{\text{培养基组}}) / (A_{\text{对照组}} - A_{\text{培养基组}}) \times 100\%$ 。

$(A_{\text{培养基组}}) \times 100\%$ 。

2.3 伊维菌素对 Vero 细胞内新孢子虫增殖影响的检测 将浓度为 7×10^5 个/(mL·孔)的 Vero 细胞接种于 12 孔细胞培养板中, 待细胞长至单层贴壁后, 将纯化的新孢子虫按细胞: 新孢子虫 = 1: 1 的比例感染细胞 3 h; 用 PBS 洗去悬浮的虫体, 再加入 5、8、10 $\mu\text{mol/L}$ 伊维菌素继续培养至 24 h, 分别以新孢子虫感染和以 66.7 和 71.2 $\mu\text{mol/L}$ 妥曲珠利处理^[13]新孢子虫感染的细胞作为对照。收取细胞样品, 提取细胞基因组 DNA, 按照每孔 200 ng 基因组 DNA 进行荧光定量 PCR。根据新孢子虫高度保守性 Nc5 基因(X84238)设计引物。引物 F: 5'-ACTGGAG-GCACGCTGAACAC-3', R: 5'-AACAATGCTTCG-CAAGAGGAA-3'。扩增片段大小 76 bp。荧光定量 PCR 体系共 20 μL ; SYBR Green Master(2 $\times$) 10 μL , Primer forward(10 mmol/L)和 Primer reverse(10 mmol/L)各 0.5 μL , 模板 DNA 和 ddH₂O 共 9 μL 。荧光定量 PCR 反应程序: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s, 共 40 个循环。读取 Ct 值, 标准品设置: 以 4×10^4 个新孢子虫的基因组为第一个标准品作 10 倍倍比稀释, 共设置 5 个浓度梯度的标准品, 根据标准曲线计算每组的虫体数量。

2.4 伊维菌素体外抑虫效果的观察 将浓度为 5×10^5 个/(mL·孔)的 Vero 细胞接种于 24 孔板中的玻片上, 待细胞长至单层, 将纯化的新孢子虫按细胞: 新孢子虫 = 1: 1 的比例感染细胞 3 h, 用 PBS 洗去悬浮的虫体, 再分别加入 5、8、10 $\mu\text{mol/L}$ 的伊维菌素继续培养至 24 h, 以新孢子虫感染未加药组作为对照, 根据参考文献以 66.7 和 71.2 $\mu\text{mol/L}$ 妥曲珠利处理新孢子虫感染的细胞作为药物阳性对照组^[13]。取玻片, 根据说明书对细胞用姬姆萨染色液进行染色, 光学显微镜下观察并统计新孢子虫的细胞感染率和 100 个纳虫空泡中虫体数量。

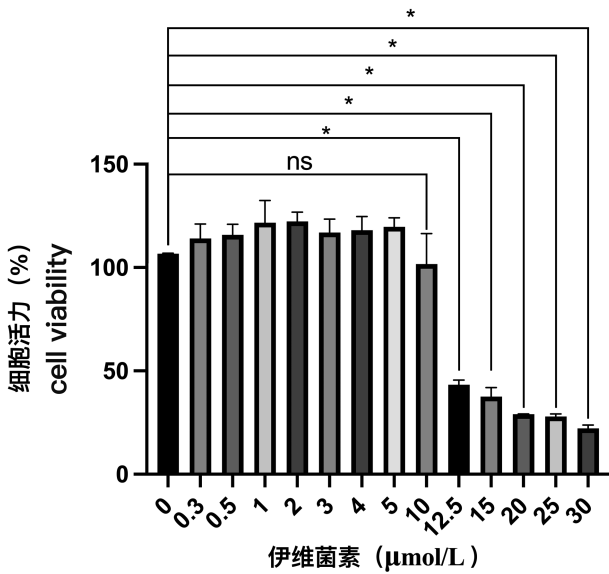
2.5 伊维菌素对新孢子虫超微结构影响的观察 将纯化后的新孢子虫分为两组, 每组虫体数量为 2×10^8 个, 分别用 1 mL 含 1 μl DMSO 和 8 $\mu\text{mol/L}$ 伊维菌素的 1% RPMI 1640 培养基孵育 1 h, 2 000 g 离心 5 min, 弃去上清, 将虫体沉淀置于含 2.5% 戊二醛的固定液中, 制片后进行透射电镜观察。

结果

1 伊维菌素对 Vero 细胞活力

当伊维菌素浓度在 0.3~10 $\mu\text{mol/L}$ 时, 对 Vero 细胞活力无显著影响; 当伊维菌素浓度达到 12.5 $\mu\text{mol/L}$ 时, Vero 细胞活力下降至 50% 以下, 会对 Vero 细胞造成明显的毒性作用(均 $P < 0.01$) (图 1)。因

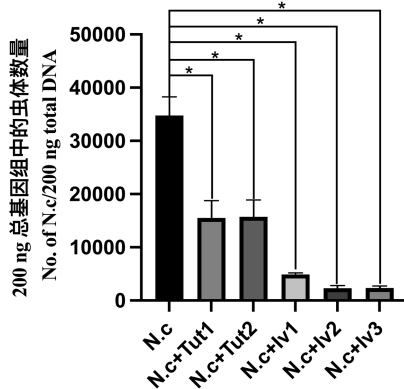
此选择伊维菌素安全浓度范围内的 5、8、10 $\mu\text{mol/L}$ 作为后续的试验浓度。



注: * 组间比较, $P < 0.01$ 。
图 1 各浓度伊维菌素对 Vero 细胞活力的影响
Fig. 1 Effects of various concentrations of ivermectin on Vero cell viability

2 伊维菌素对 Vero 细胞内虫体增殖的影响

荧光定量 PCR 检测显示,相比于新孢子虫感染组 (N. c), 试验组伊维菌素 5 $\mu\text{mol/L}$ (N. c + Iv1)、8 $\mu\text{mol/L}$ (N. c + Iv2) 和 10 $\mu\text{mol/L}$ (N. c + Iv3) 3 个浓度均可使细胞内虫体数量显著下降, 分别减少 86.4%、93.4%、93.26% (均 $P < 0.01$) (图 2)。相比于阳性对照妥曲珠利, 伊维菌素抑制细胞内虫体数量的效果更显著。

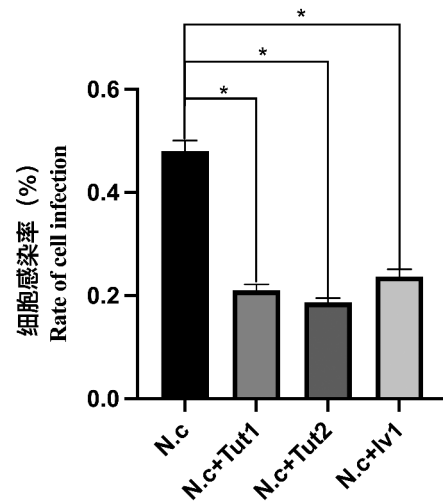


注: * 组间比较, $P < 0.01$ 。
图 2 各组细胞内新孢子虫数量
Fig. 2 The number of *N. caninum* in various groups

3 伊维菌素体外抑虫效果

通过光学显微镜下计数计算感染率。相比于新孢子虫感染组 (N. c), 伊维菌素 5 $\mu\text{mol/L}$ (N. c + Iv1) 处理组的细胞感染率降低 50.6% (P 均 < 0.01) (图

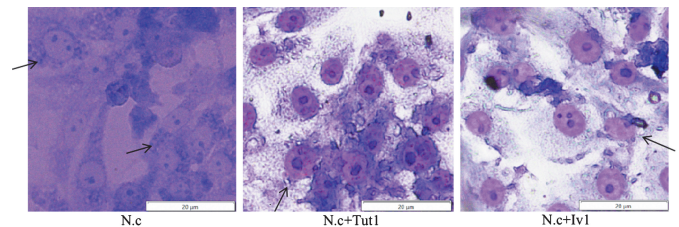
3)。同时观察到伊维菌素 8、10 $\mu\text{mol/L}$ (N. c + Iv2、N. c + Iv3) 处理组在新孢子虫和药物的双重刺激后多数细胞状态发生变化和死亡, 因此这两组的细胞感染率不做统计。



Tut1 66.7 $\mu\text{mol/L}$ Tut2 71.2 $\mu\text{mol/L}$ Iv1 5 $\mu\text{mol/L}$ 注: * 组间比较, $P < 0.01$ 。
图 3 各组细胞感染率

Fig. 3 Infection rates of Vero cells in various groups

在光学显微镜下观察姬姆萨染色后的伊维菌素 5 $\mu\text{mol/L}$ 处理组细胞, 细胞中的纳虫空泡内虫体增殖明显被抑制, 纳虫空泡中的虫体数量多为 1 或 2 个 (图 4)。光学显微镜下对不同组总数为 100 个纳虫空泡进行计数, 相比较于新孢子虫感染组, 阳性对照组妥曲珠利 66.7 $\mu\text{mol/L}$ (N. c + Tut1) 组含有 1 个新孢子虫的纳虫空泡数量增多 56%, 而多于 4 个新孢子虫的纳虫空泡数量减少 59.4%。同时, 相比较于新孢子虫感染组 (N. c), 伊维菌素 5 $\mu\text{mol/L}$ (N. c + Iv1) 处理组含有 1 个和 2 个新孢子虫的纳虫空泡数量分别增多 18% 和 38.6%, 而多于 4 个新孢子虫的纳虫空泡数量减少 59% (均 $P < 0.01$) (图 5)。

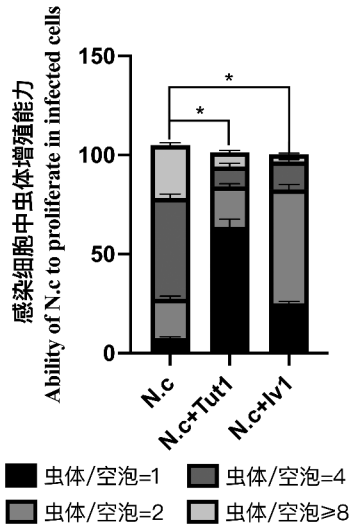


注: 箭头示细胞中部分纳虫空泡。
图 4 光学显微镜观察伊维菌素的抑虫效果 (40×)
Fig. 4 Inhibitory effect of ivermectin on *N. caninum* by optical microscopy (40×)

4 伊维菌素对新孢子虫超微结构的影响

透射电镜观察, DMSO 处理组的新孢子虫呈新月形、卵圆形或圆形, 新孢子虫虫体内部细胞器形态正常, 可见一定数量脂质体和致密颗粒, 其代表虫体代谢

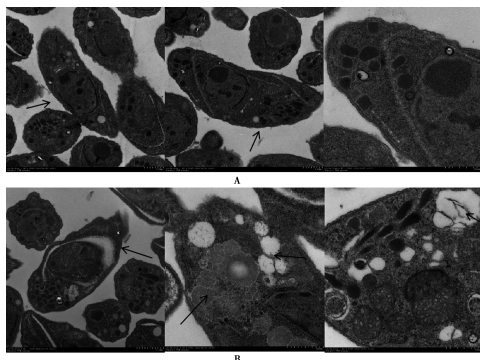
旺盛,虫体顶部类锥体、棒状体及微线蛋白等结构完整;而经 $8\ \mu\text{mol/L}$ 伊维菌素处理后,部分虫体外边缘变形,较多虫体细胞膜破裂或模糊,并且胞质内出现较大空泡,内容物流失,部分虫体细胞核形状发生畸变(图6)。表明伊维菌素可损伤新孢子虫的正常形态结构。



注: * 组间比较, $P < 0.01$ 。

图5 伊维菌素对纳虫空泡中新孢子虫增殖的抑制作用

Fig. 5 Inhibitory effect of ivermectin on *N. caninum* proliferation in parasitophorous vacuoles



A DMSO 处理的新孢子虫(箭头示正常虫体) B 伊维菌素处理的新孢子虫(箭头示虫体受损部位)

图6 透射电镜观察伊维菌素处理后新孢子虫的超微结构

Fig. 6 Ultrastructure of *N. caninum* after treatment with ivermectin by transmission electron microscopy

讨论

新孢子虫病是造成养牛业繁殖障碍疾病的主要原因之一,每年会给养殖业带来巨大经济损失。全世界由新孢子虫感染给养牛业造成的总损失达 12.98~23.8 亿美元^[14]。然而,目前尚无针对新孢子虫病的特异性药物和疫苗,且现有治疗方案效果不显著,因此对抗新孢子虫病药物的研究具有十分重要的意义^[6]。

近年来,伊维菌素治疗动物寄生虫病取得了很好的临床效果。目前,伊维菌素在国内上市的已有预混

剂、片剂、软膏剂、注射剂、透皮剂等多种剂型,已被广泛应用于猪、马、牛、羊、兔、骆驼、狐狸、羊驼等多种家畜和野生动物体内消化道线虫、肺丝线虫和体外寄生虫(蜱、虱、螨等)的治疗和预防^[15]。目前已有研究表明伊维菌素还具有其它的一些生物活性,如可激活 pannexin-1 通道并诱导 P2X4/P2X7 受体的过度表达, P2X7 受体的过度表达可释放 ATP,从而增强伊维菌素引起的细胞毒性,最终导致 BC 细胞的凋亡、坏死或焦亡^[16]。Wang 等^[2]的研究发现促进新孢子虫感染细胞发生焦亡可利于清除虫体,而伊维菌素是否对新孢子虫具有抑制作用尚不清楚。

本研究使用伊维菌素对 Vero 细胞增殖率完全无影响的安全浓度,在细胞保持正常活力的情况下观察伊维菌素体外抗新孢子虫的作用,结果显示浓度为 $5\ \mu\text{mol/L}$ 的伊维菌素可抑制 Vero 细胞中新孢子虫的增殖,并显著降低细胞的感染率。本研究初步筛选出伊维菌素对 Vero 细胞增殖率无影响的安全浓度中最大为 $10\ \mu\text{mol/L}$,然而在后续的试验中发现新孢子虫在 $8, 10\ \mu\text{mol/L}$ 伊维菌素刺激下的同时, Vero 细胞在 24 h 内形态发生变化,绝大部分活力变差,细胞死亡,这可能与新孢子虫和伊维菌素共刺激触发 Vero 细胞的焦亡有关,但具体机制仍需进一步阐明。已有文献报道伊维菌素防治寄生虫的作用机理是伊维菌素可与谷氨酸受体结合,引发氯化物流入,使虫体神经元发生超级化,阻碍正常动作电位的启动或传导,导致靶寄生虫麻痹、死亡^[17]。通过新孢子虫超微结构的变化分析伊维菌素对新孢子虫的直接作用,观察推断伊维菌素也可能通过直接引起新孢子虫虫体形态发生变化,影响其活力,导致新孢子虫感染细胞及胞内增殖能力下降。其具体作用机制仍有待进一步研究。

【参考文献】

- [1] Dubey JP. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals[J]. Korean Parasitol, 2003, 41(1):1-16.
- [2] Wang X, Gong P, Zhang N, et al. Inflammasome activation restrains the intracellular *Neospora caninum* proliferation in bovine macrophages[J]. Vet Parasitol, 2019(268):16-20.
- [3] Wang X, Gong P, Zhang X, et al. NLRP3 inflammasome activation in murine macrophages caused by *Neospora caninum* infection[J]. Parasit Vectors, 2017, 10(1):266.
- [4] Gazzonis AL, Villa L, Lubian E, et al. Molecular survey on *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infection in wild birds of prey admitted to recovery centers in Northern Italy[J]. Microorganisms, 2021, 9(4):736.
- [5] Venturoso PJS, Venturoso OJ, Silva GG, et al. Risk factor analysis associated with *Neospora caninum* in dairy cattle in Western Brazilian Amazon[J]. Rev Bras Parasitol Vet, 2021, 30(1):e023020.

(下转 202 页)

粮食类及其制品为主要暴露食品。因此应结合本市食源性疾病的流行病学特征,加强食品安全知识宣教,完善食源性疾病预防体系,提高病原溯源能力,从而有效地达到预警、防控,减少食源性腹泻病的发生。

【参考文献】

- [1] 杨小琴,姜洁,李盛,等. 2006-2017年兰州市其他感染性腹泻病流行特征分析[J]. 中国预防医学杂志,2019,20(7):569-573.
- [2] Hall G, Kirk MD, Beeker N, et al. Estimating foodborne gastroenteritis, Australia[J]. Emerg Infect Dis, 2005, 11(8):1257-1264.
- [3] Jean C, Buzby, Tanya Roberts. The economics of enteric infections; human foodborne disease costs[J]. Gastroenterology, 2009 (136):1851-1862.
- [4] 陈君石. 中国的食源性疾病有多严重? [N]. 北京科技报, 2015-04-20(052).
- [5] 陈慧中, 刘博, 刘丰瑜, 等. 2016-2018年沈阳市食源性疾病主动监测结果分析[J]. 实用预防医学, 2019, 26(9):1040-1041.
- [6] 邢玉芳, 孙月琳, 王朝霞, 等. 2013年-2017年烟台市食源性疾病预防监测结果分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2019, 29(6):747-750.
- [7] 纪蕾, 陈莉萍, 沈月华, 等. 2016年浙江省湖州市急性胃肠炎病例诺如病毒感染状况及其基因型别特征[J]. 疾病监测, 2018, 33

(3):235-240.

- [8] 杨丽, 段德水, 钟庆, 等. 2013-2016年济南市哨点医院食源性疾病病原体分布及流行特征调查[J]. 中华疾病控制杂志, 2018, 22(3):282-286.
- [9] 郝瑞娥, 姚素霞, 张秋香, 等. 山西省 2015-2016 年食源性疾病预防监测的病原学特征分析[J]. 中国人兽共患病学报, 2019, 35(9): 852-856.
- [10] 梁丹, 车荣飞, 石倩萍, 等. 感染性腹泻疾病负担及其病原谱变化的研究进展[J]. 中国公共卫生, 2020, 36(11):1651-1654.
- [11] 宋灿磊, 刘燕. 国内诺如病毒胃肠炎疫情分子流行病学分析[J]. 实用预防医学, 2013, 20(11):1294-1296.
- [12] 黄敏, 谢基连, 杨贵清, 等. 感染性腹泻的现况调查及危险因素分析[J]. 中南医学科学杂志, 2015, 43(3):299-302.
- [13] 刘建平, 张锦周, 潘柳波, 等. 2016年深圳市食源性疾病预防流行病学特征[J]. 职业与健康, 2018, 34(21):2913-2916.
- [14] 李娜, 邓立权, 赵庆龙, 等. 吉林省 2013-2015 年托幼儿童法定传染病监测结果分析[J]. 中国学校卫生, 2017, 38(1):139-141.
- [15] 张晶, 李薇薇, 杨淑香, 等. 中国 2010-2016 年家庭食源性疾病预防事件流行特征分析[J]. 中国公共卫生, 2019, 35(10):1379-1382.

【收稿日期】 2021-12-15 【修回日期】 2022-02-15

(上接 198 页)

- [6] 梁馨一, 葛冰洁, 赵鹏. 抗新孢子虫病药物研究进展[J]. 吉林畜牧兽医, 2020, 41(11):11-12, 14.
- [7] 谢素珠, 李航, 赵少伟, 等. 不同药物体外抑制新孢子虫的比较[J]. 中国兽医学报, 2019, 39(9):1753-1757.
- [8] Muller J, Aguado-Martinez A, Balmer V, et al. Two novel calcium-dependent protein kinase 1 inhibitors interfere with vertical transmission in mice infected with *Neospora caninum* tachyzoites[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2017, 61(4):e02324-16.
- [9] Aguado-Martinez A, Basto AP, Leitao A, et al. *Neospora caninum* in non-pregnant and pregnant mouse models: cross-talk between infection and immunity[J]. Int J Parasitol, 2017, 47(12):723-735.
- [10] Hurlimann E, Keller L, Patel C, et al. Efficacy and safety of co-administered ivermectin and albendazole in school-aged children and adults infected with *Trichuris trichiura* in Cote d'Ivoire, Laos, and Pemba Island, Tanzania: a double-blind, parallel-group, phase 3, randomised controlled trial[J]. Lancet Infect Dis, 2022, 22(1):123-135.
- [11] Chen L, Bi S, Wei Q, et al. Ivermectin suppresses tumour growth

and metastasis through degradation of PAK1 in oesophageal squamous cell carcinoma[J]. J Cell Mol Med, 2020, 24(9):5387-5401.

- [12] Patri A, Fabbrocini G. Hydroxychloroquine and ivermectin: A synergistic combination for COVID-19 chemoprophylaxis and treatment? [J]. J Am Acad Dermatol, 2020, 82(6):e221.
- [13] Qian W, Wang H, Shan D, et al. Activity of several kinds of drugs against *Neospora caninum* [J]. Parasitol Int, 2015, 64(6):597-602.
- [14] 王晓岑. NLRP3 炎症小体在抗新孢子虫感染中的作用及其机制[D]. 长春: 吉林大学, 2018.
- [15] 关琛, 王琼, 郭田顺, 等. 伊维菌素制剂在动物寄生虫病防治中的研究进展[J]. 中国草食动物科学, 2021, 41(5):61-63, 71.
- [16] Xia X, Wang X, Cheng Z, et al. The role of pyroptosis in cancer: pro-cancer or pro-"host"? [J]. Cell Death Dis, 2019, 10(9):650.
- [17] 王丽坤, 金振华, 张国华, 等. 微乳技术对伊维菌素治疗动物寄生虫病的推动作用[J]. 现代畜牧科技, 2022(1):19-21.

【收稿日期】 2021-12-19 【修回日期】 2022-02-05