

日本血吸虫 Sjl4-3-3 疫苗研究进展

谭建蓉 李文桂*

【摘要】 日本血吸虫病是由日本血吸虫引起的一类严重危害人类健康的人兽共患寄生虫病,研制疫苗防治该病是目前的研究热点。Sjl4-3-3 蛋白是一种有效的疫苗分子,该文就 Sjl4-3-3 蛋白疫苗和核酸疫苗的研究进展进行综述。

【关键词】 日本血吸虫;Sjl4-3-3 蛋白;疫苗

Research progress on Sjl4-3-3 vaccine of *Schistosoma japonicum* Tan Jianrong, Li Wengui*. Institute of Infectious and Parasitic Diseases, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

*Corresponding author: Li Wengui, Email:cqliwengui@163.com

Supported by the Major Special Fund of Endemic of Chongqing(2008AB5055;2008AB5008;2008AB5054)

【Abstract】 Schistosomiasis japonica is a serious health-threatening parasitic zoonosis to human beings, which is caused by *Schistosoma japonicum*. Developing vaccines for schistosomiasis is a hot spot in the present studies. Sjl4-3-3 protein is an effective vaccine. This article reviewed the progress on Sjl4-3-3 protein vaccines and DNA vaccines.

【Key words】 *Schistosoma japonicum*; Sjl4-3-3 protein; Vaccine

日本血吸虫病是由日本血吸虫引起的一类严重危害人类健康的人兽共患寄生虫病,对流行区人群健康及经济造成了严重威胁及影响,我国是主要流行国家之一。血吸虫病流行因素复杂^[1],宿主繁多,发育的不同阶段(尾蚴、童虫、成虫和虫卵)均可对宿主产生不同程度的损害。目前血吸虫病防治措施以灭螺和吡喹酮化疗为主,但存在钉螺分布面积广,不易消灭;保虫宿主多,人畜同步化疗困难;吡喹酮治疗易产生耐药性等不足。多数学者认为血吸虫病疫苗是长期综合防治该病的有效措施之一。

14-3-3 蛋白广泛存在于真核细胞内,是一组高度保守的多功能蛋白质^[2],存在于日本血吸虫生活史各期,有较好的免疫原性及诊断价值^[3,4]。Zhang 等^[5]首次克隆了日本血吸虫(中国大陆株)14-3-3 基因即 Sjl4-3-3 亚型,进一步研究发现其免疫动物后可产生高滴度的抗体,表明 Sjl4-3-3 蛋白具有较好的免疫原性。刘庆中等^[6]用免疫荧光证实 Sjl4-3-3 位于血吸虫成虫和童虫的皮层、皮下层、肌层和实质层

中,它可与激酶、磷酸酶和膜转移受体等信号肽结合,在细胞有丝分裂、细胞周期调节和细胞凋亡等信号转导过程中发挥重要作用。近年来 Sjl4-3-3 抗原分子受到了国内外学者的广泛关注,是当前血吸虫病疫苗研究的热点之一。

1 Sjl4-3-3 蛋白疫苗

1.1 单个蛋白分子

唐小牛等^[7-8]将 Sjl4-3-3 基因片段亚克隆至表达载体 pBK-CMV,构建重组质粒转化至大肠埃希菌 BL21 中,表达出日本血吸虫(大陆株)14-3-3 同型融合蛋白质。以 100 μg 重组蛋白经皮肤多点注射 BALB/c 小鼠,免疫 3 次,每次间隔 2 周,于末次免疫后 2 周每鼠经皮肤感染 40 条尾蚴,42 d 后剖杀小鼠,获得 27.5% 的减虫率及 28.2% 的肝减卵率,表明日本血吸虫 14-3-3 同型蛋白可诱导小鼠产生抗血吸虫感染的部分保护性免疫力。

刘庆中等^[9]将 Sjl4-3-3 基因亚克隆入原核表达载体 pET28a,转化至大肠埃希菌进行诱导表达,分别用 50、100 和 300 μg 的纯化的 rSjl4-3-3 蛋白加福氏完全佐剂(Freund's complete adjuvant, FCA)免疫 BALB/c 小鼠,第 2 周用相同剂量的抗原加等体积不完全福氏佐剂(Freund's incomplete adjuvant, FIA)加强免疫 1 次,第 4 周以 10 μg 相应抗原悬液加强免

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4122.2014.02.009

基金项目:重庆市科委地方病重大专项基金(2008AB5055; 2008AB5008;2008AB5054)

作者单位:400016 重庆,重庆医科大学附属第一医院传染病寄生虫病研究所

*通信作者:李文桂, Email:cqliwengui@163.com

疫 1 次,于末次免疫 5 d 后,每鼠经皮肤感染日本血吸虫尾蚴 40 条,感染后 6 周剖杀小鼠,结果各组的减虫率依次为 28.20%、43.10%和 40.00%,减卵率依次为 41.80%、57.50%和 55.70%。提示 100 μg 重组 Sjl4-3-3 蛋白免疫小鼠获得的保护性较好。

蒋就喜等^[10]用大肠埃希菌表达 rSjl4-3-3 蛋白,分离、纯化后用 50 μg 的 rSjl4-3-3 蛋白加 FCA,经背部皮下多点注射 BALB/c 小鼠,第 2、4 周用 50 μg 的 rSjl4-3-3 蛋白加等体积 FIA 加强 1 次,于末次免疫后 2 周每鼠经腹部皮肤感染日本血吸虫尾蚴 30 条,感染后 45 d,rSjl4-3-3 疫苗组小鼠虫卵肉芽肿直径为 $(208.5 \pm 26.3) \mu\text{m}$,显著小于感染对照组的 $(267.7 \pm 28.6) \mu\text{m}$;rSjl4-3-3 疫苗组透明质酸和层黏连蛋白水平显著低于感染对照组,提示 Sjl4-3-3 疫苗具有一定的抗虫卵肉芽肿及抗肝纤维化作用。

张宁等^[11-16]将重组质粒 pGEX-Sjl4-3-3 转化入两歧双歧杆菌(*Bifidobacterium bifidum*, Bb)中,构建 rBb(pGEX-Sjl4-3-3)疫苗。用该疫苗分别经口服灌胃及鼻黏膜接种免疫 BALB/c 小鼠,结果口服免疫组小鼠血清 IgG、IgG2a、IgG3、IgE 和 IgA 水平在免疫后 2~22、2~22、2~20、2~22 和 2~22 周升高,分别于 8、6、8、10 和 6 周达到峰值;脾淋巴细胞悬液中的 IFN- γ 、IL-12、TNF- α 和 IL-10 水平分别在免疫后 2~10、2~22、2~8 和 2~8 周升高,分别于 8、8、6 和 4 周达峰值;脾淋巴细胞增殖在免疫后 6 周达峰值;脾 CD4⁺T 于 8 周达峰值,CD8⁺T 细胞于免疫后 14 周达峰值。鼻黏膜接种免疫组小鼠血清 IgG、IgG2a、IgG3、IgE 和 IgA 水平均在免疫后 2~22 周升高,分别于 4、4、8 和 10 周达到峰值;脾淋巴细胞悬液中的 IFN- γ 、IL-12、TNF- α 和 IL-10 水平分别在免疫后 2~16、2~22、2~16 和 2~16 周升高,分别在 2、2、4 和 4 周达峰值;脾淋巴细胞增殖在免疫后 8 周达峰值;脾 CD4⁺T 于 4 周达峰值,CD8⁺T 细胞于免疫后 14 周达峰值;提示 rBb(pGEX-Sjl4-3-3)疫苗能够促进脾 T 细胞增殖,使 T 淋巴细胞向 CD4⁺T 和 CD8⁺T 细胞增殖分化,激发机体产生 Th1 和 Th2 混合型免疫应答,且在免疫早期即可激发小鼠产生有效的免疫应答,鼻腔黏膜接种效果可能优于口服免疫,但未进行保护力实验。

郭美娟等^[17]将 Sjl4-3-3 与酵母菌表达质粒 pPICZA-B 重组,转化毕赤酵母菌 X-33 株,用甲醇诱导 48~72 h 后获得相对分子质量(M_r)为 35 000 的重组蛋白,免疫印迹发现重组蛋白可被 Sjl4-3-3 单克隆抗体识别,表明 Sjl4-3-3 酵母重组蛋白具有一定的免疫原性。

1.2 融合蛋白分子

李德发等^[18-20]利用大肠埃希菌将 Sjl4-3-3 与 GST 融合表达,获得 rSjl4-3-3-GST 重组蛋白。用 50 μg 的 rSjl4-3-3-GST 加 FCA 皮下注射免疫 BALB/c 鼠,第 2 周用 50 μg 的重组蛋白加 FIA 皮下注射加强免疫 1 次,第 4 周用 10 μg 相应重组抗原腹腔注射加强 1 次,于末次免疫后 5 周用 40 条 Sj 尾蚴进行攻击感染,攻击后 6 周免疫鼠的减虫率和肝组织的减卵率分别为 34.4%和 60.1%,免疫鼠的肝虫卵肉芽肿的数目减少,体积缩小,说明重组 Sjl4-3-3-GST 融合蛋白可诱导小鼠产生较好的保护力且有抗生殖作用。

殷旭仁等^[21]重组质粒 Sjl4-3-3/pGEX-4T-3 转化至大肠埃希菌 BL21 中表达,获得 M_r 约为 55 000 的融合蛋白,经凝血酶切割和亲和层析纯化后,rSjl4-3-3 能诱导家兔产生高效价的特异性抗体,该抗体可识别重组和天然的 14-3-3 蛋白,表明 rSjl4-3-3 具有较好的免疫原性。

1.3 混合蛋白分子

日本血吸虫有多个抗原表位,而目前制备的疫苗识别表位单一,虽能够诱导产生部分免疫保护力,但保护力较低。于是研究者试图采用联合免疫方案,将不同靶位的疫苗经各种途径联合应用,以期增进免疫效果。刘庆中等^[22]将 rSjl4-3-3 和 rSjGST(各 25 μg)混合,分别加福氏佐剂和结核分枝杆菌抗原佐剂(*Mycobacterium tuberculosis*, Mtb)皮下注射免疫 BALB/c 小鼠,第 2 周用等体积相应抗原加 FIA 加强 1 次,第 4 周以 10 μg 相应抗原腹腔注射加强免疫 1 次,末次免疫后 5 d 每鼠经腹部感染 40 条尾蚴,在攻击感染 6 周后剖杀小鼠,结果 rSjl4-3-3+rSjGST+福氏佐剂组、rSjl4-3-3+rSjGST+Mtb 佐剂组的减虫率分别为 31.10%和 26.00%,减卵率分别为 53.30%和 58.60%。

蒋就喜等^[23]分别用大肠埃希菌表达、纯化 Sjl4-3-3 蛋白和 Sj26GST 蛋白,在第 0、2、4 周各用 50 μg 加 FCA 皮下注射联合免疫 BALB/c 小鼠,设置 rSjl4-3-3 和 rSj26GST 对照组,在末次免疫后 2 周每鼠以 30 条尾蚴进行攻击感染,于攻击后 45 d 剖杀,结果联合免疫组、rSjl4-3-3 组和 rSj26GST 组的减虫率分别为 38.38%、16.98%和 26.80%;减卵率分别为 48.81%、25.27%和 41.41%;联合免疫组小鼠虫卵肉芽肿的直径显著小于 rSjl4-3-3 和 rSj26GST 对照组,说明 rSjl4-3-3 和 rSj26GST 联合免疫可产生较好的保护力。

罗飞等^[24]将 rSjl4-3-3 和 rSj26GST 和 mIL-12 混合组成聚乳酸聚乙醇酸共聚物缓释微球,在第 0 周

将 50 μg 缓释微球肌内注射免疫 BALB/c 鼠, 2 周后加强 1 次, 末次免疫后 3 周用 40 条 Sj 尾蚴进行攻击, 攻击后 6 周, 免疫鼠的减虫率和减卵率分别为 38.3% 和 43.1%, 均较单独免疫组高, 表明 rSj14-3-3 和 rSj26GST 混合抗原的缓释微球也可诱导小鼠产生较好的免疫保护力, 在小鼠抗血吸虫攻击感染中 mIL-12 可增强疫苗的保护作用。

树突状细胞(dendritic cell, DC)是体内功能较强的一种专职抗原提呈细胞, 在机体免疫应答中起着核心作用。由于其独特的功能, DC 目前广泛应用于抗感染、肿瘤、自身免疫和移植免疫等^[25-28]。为探讨 DC 混合多价疫苗抗日本血吸虫感染保护性免疫机制, 沈定文等^[29]利用 Sj26、Sj23 和 Sj14 基因转染 DC 并制成细胞悬液, 经耳廓注射 0.2 ml 细胞悬液免疫 BALB/c 小鼠 3 次, 在末次免疫后 2 周, 每只鼠经皮肤感染 40 条日本血吸虫尾蚴, 6 周后剖杀小鼠, 发现联合免疫组(DC-Sj26-Sj23-Sj14)小鼠血清特异性 IgG 抗体、干扰素- γ (IFN- γ) 水平与对照组相比明显升高, 且联合免疫组小鼠脾淋巴细胞经刀豆蛋白 A (concanavalin A, ConA) 和可溶性虫卵抗原(soluble egg antigen, SEA) 刺激后诱生的 IFN- γ 水平显著升高, IL-4 水平显著降低, 表明 DC-Sj26-Sj23-Sj14 混合多价疫苗可诱导小鼠产生保护性免疫作用, 其中 Th1 型免疫应答在抗日本血吸虫感染的保护性免疫中可能起主要作用。

2 Sj14-3-3 的 DNA 疫苗

2.1 单个 DNA 疫苗

余传信等^[30]将 pUC-Sj14-3-3 与 pCDNA3.1 重组构建 pCD-Sj14-3-3。用该重组质粒 100 μg 肌内注射免疫 BALB/c 鼠, 免疫后 2 周和 4 周各加强 1 次, 末次免疫后 30 d 用 45 条日本血吸虫尾蚴进行攻击, 在攻击后 45 d 发现 pCD-Sj14-3-3 免疫组的减虫率和减卵率分别为 33.8% 和 10.87%, 提示 pCD-Sj14-3-3 可诱导小鼠产生一定的保护力。

李德发等^[31]将 765 bp 的 Sj14-3-3 编码基因插入 pBK-CMV, 构建重组质粒 pBK-Sj14-3-3。用 100 μg 重组质粒肌内注射免疫 BALB/c 鼠, 3 周后加强 1 次, 在末次免疫后 5 d 用 40 条日本血吸虫尾蚴进行攻击, 在攻击后 6 周发现免疫鼠的减虫率和肝组织的减卵率分别为 27% 和 79%, 表明 pBK-Sj14-3-3 可诱导小鼠产生较好的保护力。

2.2 融合 DNA 疫苗

李建国等^[32]用基因拼接法将 SjGST 和 SjFABP

编码基因连接, 得到融合基因 SjGST-FABP, 定向克隆至 pCDNA3, 构建 pCD-SjGST-FABP 重组质粒。以 100 μg 重组质粒肌内注射免疫小鼠, 间隔 2 周同量加强免疫 1 次, 第 3 次免疫后 2 周经腹部皮肤攻击感染日本血吸虫尾蚴 40 条, 在攻击后 45 d 处死小鼠, 获得 42.39% 的减虫率和 56.09% 的肝减卵率, 表明融合 DNA 疫苗可诱导较好的保护力。

2.3 多价非融合 DNA 疫苗

唐成武等^[33]将 Sj14、Sj26 和 Sj97 抗原基因克隆入载体 pIRES 构建重组质粒 pIRES-Sj97-Sj14-Sj26, 以该质粒经股四头肌注射免疫 BALB/c 小鼠 (100 μg /只), 每隔 2 周加强免疫 1 次, 共免疫 3 次, 在末次免疫 2 周后经腹部感染 40 条尾蚴, 在攻击 45 d 后剖杀小鼠, 得到的减虫率及肝减卵率分别为 39.9% 和 43.94%, 表明 pIRES-Sj97-Sj14-Sj26 疫苗可对日本血吸虫感染的小鼠产生一定的保护作用。

2.4 混合 DNA 疫苗

刘庆中等^[34]以 pBK-CMV-Sj14-3-3 和 pBK-CMV-SjGST 质粒各 50 μg 混合后经股四头肌注射免疫 BALB/c 小鼠, 3 周后以相同方案加强免疫 1 次, 末次免疫后 3 周经腹部皮肤感染日本血吸虫尾蚴 40 只, 在尾蚴攻击 6 周后剖杀小鼠, 减虫率和减卵率为 32.40% 和 55.23%, 表明混合 DNA 疫苗能够诱导小鼠产生较好的免疫保护力。

3 结语

各种 Sj14-3-3 疫苗均显示出一定的免疫保护作用, 融合疫苗及混合疫苗总体效果较单分子疫苗免疫效果好。现有研究表明分子疫苗制备过程复杂, 诱导免疫不全面; DNA 疫苗制备简单, 且能同时诱导体液免疫及细胞免疫, 但 DNA 可能整合到宿主细胞的基因组中, 有引起原癌基因活化和抑制基因失活的危险等缺点; 重组 Bb 疫苗的保护性免疫机制、最佳免疫途径、剂量等问题尚未能阐明, 现有各种血吸虫疫苗能够诱导的保护力水平通常不超过 50%。一方面需积极研究新型血吸虫病疫苗, 另一方面可对现有疫苗加以改进, 制作融合、混合疫苗, 探索有效、高效佐剂。同时加强对疫苗的不良反应、免疫机制、佐剂的研究及疫苗的免疫途径、剂量、次数、间隔时间以及末次免疫后尾蚴攻击时间等方面的研究, 建立标准化和规范化的疫苗效果评价体系。

参 考 文 献

- [1] Zhou XN, Wang LY, Chen MG, et al. The public health significance and control of schistosomiasis in China-then and now[J]. Acta Trop, 2005, 96(2-3): 97-105.
- [2] Robinson K, Jones D, Patel Y, et al. Mechanism of inhibition of protein kinase C by 14-3-3 isoforms. 14-3-3 isoforms do not have phospholipase A2 activity[J]. Biochem J, 1994, 299(3): 853-861.
- [3] Jaqiello E, Krasnowska M. The role of genetic factors, apoptosis and 14-3-3 protein in induction of atopic diseases[J]. Postepy Hig Med Dosw, 1997, 51(4): 385-398.
- [4] Berman PA, Adams PA. Artemisinin enhances heme-catalysed oxidation of lipid membranes[J]. Free Radic Biol Med, 1997, 22(7): 1283-1288.
- [5] Zhang Y, Taylor MG, McCrossan MV, et al. Molecular cloning and characterization of a novel *Schistosoma japonicum* "irradiated vaccine-specific" antigen, Sj14-3-3 [J]. Mol Biochem Parasitol, 1999, 103(1): 25-34.
- [6] 刘庆中, 沈继龙, 汪学龙, 等. 日本血吸虫信号蛋白 14-3-3 的虫体免疫定位[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2003, 21(6): 330-332.
- [7] 唐小牛, 汪学龙, 沈继龙, 等. 日本血吸虫 14-3-3 蛋白 epsilon 亚型基因扩增及表达载体的构建[J]. 皖南医学院学报, 2002, 21(3): 171-173.
- [8] 唐小牛, 汪学龙, 沈继龙. 日本血吸虫(大陆株)14-3-3 epsilon 同型信号转导蛋白诱导小鼠保护性免疫的研究[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2002, 14(3): 176-179.
- [9] 刘庆中, 胡元生, 沈继龙, 等. 重组日本血吸虫信号蛋白 14-3-3 不同剂量对免疫保护性的影响[J]. 中华预防医学杂志, 2006, 40(4): 248-252.
- [10] 蒋就喜, 房修罗, 胡婷婷. 日本血吸虫 rSj14-3-3 疫苗对小鼠抗病免疫效应的研究[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2010, 22(5): 442-445.
- [11] 张宁, 李文桂. 日本血吸虫重组两歧双歧杆菌 pGEX-Sj14-3-3 疫苗构建及鉴定[J]. 中国地方病学杂志, 2011, 30(4): 357-360.
- [12] 张宁, 李文桂, 向进平. 日本血吸虫重组 Bb(pGEX-Sj14-3-3) 疫苗免疫小鼠脾细胞因子的动态观察[J]. 免疫学杂志, 2012, 28(1): 142-146, 151.
- [13] 张宁, 李文桂. 日本血吸虫重组两歧双歧杆菌 pGEX-Sj14-3-3 疫苗免疫 BALB/c 小鼠的血清抗体动态观察[J]. 中国地方病学杂志, 2012, 31(3): 301-304.
- [14] 张宁, 李文桂, 王敏, 等. 日本血吸虫重组质粒 pGEX-Sj14-3-3 的构建及其在大肠埃希菌 BL21(DE3)中的表达[J]. 四川大学学报(医学版), 2012, 43(3): 310-313.
- [15] 张宁, 李文桂. 日本血吸虫重组双歧杆菌属两歧双歧杆菌 pGEX-Sj14-3-3 疫苗免疫 BALB/c 小鼠脾细胞凋亡的动态观察[J]. 中国地方病学杂志, 2012, 31(6): 604-607.
- [16] 张宁, 李文桂, 向进平. 日本血吸虫重组 Bb(pGEX-Sj14-3-3) 疫苗免疫 BALB/c 小鼠诱导免疫应答的动态检测[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2013, 29(7): 685-689.
- [17] 郑美娟, 李敏, 王志成, 等. 日本血吸虫信号蛋白 14-3-3 在毕赤酵母菌中的分泌表达及其抗原性分析[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2007, 25(1): 12-16.
- [18] 李德发, 祖莹, 陈月生, 等. 日本血吸虫重组抗原 rSj14-3-3 免疫保护作用的初步研究[J]. 中国寄生虫病防治杂志, 2004, 17(2): 106-109.
- [19] 祖莹, 李德发, 沈继龙. 两种血吸虫病疫苗候选分子在原核细胞的融合表达[J]. 中国寄生虫病防治杂志, 2003, 16(1): 4-6.
- [20] 李德发, 祖莹, 沈继龙. rSj14-3-3 和 rSj14-3-3/SjGST 对日本血吸虫虫卵肉芽肿形成的影响[J]. 中国人兽共患病杂志, 2003, 19(5): 55-57.
- [21] 殷旭仁, 余传信, 谢曙英, 等. 日本血吸虫信号传导蛋白 14-3-3 的制备及其特性分析[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2011, 23(2): 168-172.
- [22] 刘庆中, 沈继龙. 日本血吸虫重组信号蛋白 14-3-3 疫苗免疫保护性的观察[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2003, 21(5): 257-260.
- [23] 蒋就喜, 房修罗, 沈继龙, 等. 日本血吸虫 rSj14-3-3 疫苗和 rSj26 GST 疫苗联合免疫保护作用研究[J]. 中国人兽共患病学报, 2010, 26(9): 825-829.
- [24] 罗飞, 沈继龙, 王志成, 等. 重组 Sj14-3-3, SjGST 及 mL-12/聚乳酸聚乙醇酸共聚物(PLGA)缓释微球对小鼠免疫保护性的研究[J]. 中国人兽共患病学报, 2006, 22(11): 1017-1021.
- [25] Turtle CJ, Hart DN. Dendritic cells in tumor immunology and immunotherapy[J]. Curr Drug Targets, 2004, 5(1): 17-39.
- [26] Morel PA, Feili-Hariri M, Coates PT, et al. Dendritic cells, T cell tolerance and therapy of adverse immune reactions [J]. Clin Exp Immunol, 2003, 133(1): 1-10.
- [27] Bergquist NR, Leonardo LR, Mitchell GF. Vaccine-linked chemotherapy: can schistosomiasis control benefit from an integrated approach[J]. Trends Parasitol, 2005, 21(3): 112-117.
- [28] Singh M, O'Hagan D. Advances in vaccine adjuvants[J]. Nat Biotechnol, 1999, 17(11): 1075-1081.
- [29] 沈定文, 罗金萍. 树突状细胞 DNA 多价疫苗抗日本血吸虫感染作用机制的研究[J]. 中国人兽共患病学报, 2012, 28(10): 996-999.
- [30] 余传信, 朱荫昌, 殷旭仁, 等. 日本血吸虫脂肪酸结合蛋白(SjCFABP)核酸疫苗诱导小鼠免疫保护作用研究[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2002, 14(3): 163-167.
- [31] 李德发, 陈月生, 祖莹, 等. 日本血吸虫 DNA 疫苗的构建及其保护性免疫[J]. 中华预防医学杂志, 2004, 38(3): 193-195.
- [32] 李建国, 张阳德, 李罗丝, 等. 日本血吸虫 DNA 多价疫苗 SjGST-FABP/pcDNA3 的构建及其保护性免疫研究[J]. 中国现代医学杂志, 2007, 17(14): 1709-1712.
- [33] 唐成武, 刘朔婕, 马彦彬, 等. 血吸虫多基因非融合性膜锚定表达疫苗的研究[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2008, 26(6): 412-416.
- [34] 刘庆中, 沈继龙. 日本血吸虫重组信号蛋白 14-3-3 DNA 免疫保护作用的观察[J]. 中国人兽共患病杂志, 2004, 20(3): 230-232.

(收稿日期:2013-10-11)

(本文编辑:陈勤)