

日本血吸虫不同阶段抗原免疫抑制 过敏性哮喘小鼠气道炎症的实验观察

蒋自卫¹, 莫红梅^{1,2}, 王磊¹, 程喻力¹, 王洪泓¹, 雷家慧¹, 刘文琪¹, 李雍龙^{1*}

【摘要】 目的 观察日本血吸虫不同生活史阶段抗原对过敏性哮喘小鼠气道炎症的影响。方法 雌性 BALB/c 小鼠 48 只, 随机均分 8 组, A 组为健康对照组; B 组为哮喘模型组, 以鸡卵白蛋白 (OVA) 抗原腹腔注射致敏, OVA 滴鼻诱发哮喘; C、D 和 E 组小鼠分别用可溶性虫卵抗原 (SEA)、可溶性成虫抗原 (SWA) 和童虫抗原 (SSA) 经腹部皮下免疫, 共 4 次, 每次间隔 1 周, 末次免疫后 1 周再按 B 组方法诱发哮喘; F、G 和 H 组分别用 SEA、SWA 和 SSA 免疫接种小鼠 (免疫方法及剂量分别同 C、D、E 组), 末次免疫后 1 周用等量生理盐水代替 OVA 处理小鼠, 不诱发哮喘。诱发哮喘后 48 h 剖杀各组小鼠, 观察各组小鼠肺组织的病理变化和支气管肺泡灌洗液 (BALF) 中的相关细胞成分及细胞因子的变化。结果 A 组小鼠气道肺组织无明显炎症变化; B 组小鼠气道肺组织可见明显的炎性细胞, 尤其是嗜酸粒细胞的浸润; C、D 和 E 组小鼠气道肺组织炎症明显轻于 B 组小鼠。B 组小鼠 BALF 中白细胞总数 $[(98.4 \pm 16.1) \times 10^4/\text{ml}]$ 、嗜酸粒细胞百分数 $[(17.6 \pm 4.3) \times 10^4/\text{ml}]$ 和白细胞介素-5 (IL-5) 水平 $[(197.9 \pm 36.5) \text{ pg/ml}]$ 均明显高于 A 组 [分别为 $(8.2 \pm 1.1) \times 10^4/\text{ml}$ 、 $(0.02 \pm 0.01) \times 10^4/\text{ml}$ 和 $(12.3 \pm 7.4) \text{ pg/ml}$], 而 IL-10 和 γ 干扰素 (IFN- γ) 水平明显低于 A 组。C、D 和 E 组小鼠 BALF 中白细胞总数、嗜酸粒细胞百分数和 IL-5 水平均明显低于 B 组, 而 IL-10、IFN- γ 水平则明显高于 B 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 日本血吸虫不同抗原免疫后能有效调节过敏性哮喘小鼠的细胞因子平衡, 同时对哮喘小鼠嗜酸粒细胞在肺组织中的浸润及肺组织炎症都有一定的抑制作用。

【关键词】 日本血吸虫; 抗原; 哮喘; 细胞因子

中图分类号: R383.24 文献标识码: A

Suppression Effect of Different Stage Antigens of *Schistosoma japonicum* on Airway Inflammation in a Murine Model of Asthma

JIANG Zi-wei¹, MO Hong-mei^{1,2}, WANG Lei¹, CHENG Yu-li¹, WANG Qi-hong¹,
LEI Jia-hui¹, LIU Wen-qi¹, LI Yong-long^{1*}

(1 Department of Pathogenic Biology, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China; 2 Department of Laboratory Medicine, People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi 830000, China)

【Abstract】 Objective To investigate the effect of antigens of different stage *Schistosoma japonicum* on airway inflammation in a murine model of asthma. **Methods** 48 female BALB/c mice were randomly divided into eight groups. Mice in group A were given normal saline of equal volume as control. Group B was asthma model which was established by intraperitoneal and intranasal challenge with OVA. Mice in groups C, D and E were immunized with soluble egg antigen (SEA), soluble male worm antigen (SWA), and schistosomulum antigen (SSA) respectively 4 times in a week interval, followed by OVA sensitization as in group B 1 week after the final immunization. Mice in groups F, G, and H were immunized with SEA, SWA, and SSA respectively but sensitized and challenged with saline instead of OVA. 48 hours after asthma was induced, the mice were sacrificed. Leukocytes and eosinophils were counted in bronchoalveolar lavage fluid (BALF). The level of IL-5, IL-10 and IFN- γ in BALF was detected. Pathologic changes in lung tissues were observed. **Results** Inflammation cells, especially eosinophils, appeared in airways of mice in groups B, C, D and E, but with much less number in groups C, D and E. No inflammation cells were seen in airways of group A mice. The number of leukocytes, eosinophils and level of IL-5 in BALF of group B $[(98.4 \pm 16.1) \times 10^4/\text{ml}$, $(17.6 \pm 4.3) \times 10^4/\text{ml}$,

作者单位: 1 华中科技大学同济医学院病原生物学系, 武汉 430030; 2 新疆维吾尔自治区人民医院检验科, 乌鲁木齐 830000

* 通讯作者, E-mail: lyulong@mails.tjmu.edu.cn

(197.9±36.5) pg/ml respectively] were significantly higher than those of group A [(8.2±1.1) ×10⁴/ml, (0.02±0.01) ×10⁴/ml, (12.3±7.4) pg/ml], however the levels of IL-10 and IFN-γ were significantly lower than that of group A (P<0.05). The number of leukocytes, especially eosinophils, in BALF of groups C, D and E was significantly lower than that of group B. The level of IL-5 in BALF of groups C, D and E was significantly reduced, while that of IL-10 and IFN-γ in BALF of the 3 groups was significantly higher than group B (P<0.05). **Conclusions** The immunization with *S. japonicum* antigens can effectively modulate the level of cytokines and inhibit the eosinophil infiltration and airway inflammation in asthmatic mice.

[Key words] *Schistosoma japonicum*; Antigen; Asthma; Cytokine

* Corresponding author, E-mail: lylong@mail.tjmu.edu.cn

大量的流行病学研究资料显示, 由于卫生条件的改善, 发达国家很多感染性疾病的发病率明显下降, 但与遗传因素和环境因素相关的一类疾病——自身免疫性疾病和过敏性疾病(包括哮喘)的发病率却显著增高; 与之相反的是, 在相对落后的热带和亚热带地区感染性疾病的发病率较高, 但自身免疫性疾病和过敏性疾病的发病率却较低^[1-3]。近年来国内外的一些研究报道显示, 某些寄生虫感染能够减轻和抑制过敏性疾病和自身免疫性疾病的发生, 如曼氏血吸虫感染能减轻鼠非肥胖糖尿病(NOD)的症状^[4], 血吸虫的感染可以通过产生白细胞介素 10 (IL-10) 阻止过敏性疾病的发生^[5]。本研究探讨日本血吸虫生活中不同阶段的 3 种抗原免疫 BALB/c 小鼠对其过敏性哮喘的影响。

材料与方 法

1 实验动物和试剂来源

SPF 级雌性 6~8 周龄 BALB/c 小鼠 48 只购自湖北省实验动物医学中心。二辛可宁酸法 (BCA) 检测蛋白质含量试剂盒购自美国 Pierce 公司, 细胞因子 ELISA 检测试剂盒购自美国 eBioscience 公司。

2 日本血吸虫 3 种抗原的制备

按常规方法用日本血吸虫尾蚴经皮肤感染家兔, 42 d 后剖杀, 门静脉灌洗收集成虫, 选雄虫用 PBS 洗涤后置匀浆器冰浴匀浆 40 min, 300×g 离心 10 min, 取上清即为日本血吸虫成虫抗原 (SWA), 用 BCA 蛋白检测试剂盒测定蛋白含量, 分装后-20℃冻存备用。另从感染日本血吸虫的家兔肝脏中分离虫卵, 可溶性虫卵抗原 (SEA) 的制备方法与 SWA 相同。童虫抗原 (SSA) 为机械断尾的尾蚴, -20℃冻存备用。

3 小鼠哮喘模型的建立

参照文献^[6]方法, 小鼠腹腔注射 0.1% 鸡卵白蛋白 (OVA) 抗原 0.1 ml、10% 氢氧化铝 [Al (OH)₃]

0.2 ml 进行致敏, 第 14 和 21 天用同样剂量及方法各加强免疫 1 次, 末次免疫 1 周后连续 3 d 给予 1% 的 OVA 溶液 (50 μl/只) 滴鼻激发哮喘。

4 实验动物处理

48 只 BALB/c 小鼠按随机数字表法分为 8 组 (每组 6 只), A 组为健康对照组 (等量的生理盐水处理); B 组按上法建立哮喘模型; C 组和 D 组分别进行腹部皮下多点注射免疫 SEA 和 SWA (50 μg/只), E 组用 SSA 腹部皮下多点注射免疫 (200 条断尾的童虫/只)。3 组小鼠均免疫 4 次, 每次间隔 1 周, 末次免疫后 1 周按上述方法激发哮喘; F、G 和 H 组分别用 SEA、SWA 和 SSA 免疫, 方法及剂量分别同 C、D 和 E 组, 末次免疫后 1 周用等量生理盐水代替 OVA 处理小鼠。各组于末次滴鼻激发哮喘后 48 h 处死全部小鼠, 收集支气管肺泡灌洗液 (BALF) 并取肺组织, 用于以下各指标检测。

5 各指标的检测

5.1 肺组织病理学检查 取各组小鼠右肺组织, 10% 甲醛固定, 常规制作石蜡切片, 苏木素-伊红 (HE) 染色, 光镜观察细支气管及肺泡组织病理学变化。

5.2 BALF 中细胞计数和分类 经气管插入 22 号穿刺针, 通过导管将 0.7 ml PBS 缓慢注入肺内, 再将灌洗液缓慢回抽注入肺内, 反复 3 次, 收集 BALF 置 EP 管中。上述操作重复 2 次, 收集的全部 BALF 4℃ 300×g 离心 10 min, 取上清液移至另一 EP 管中, 置-20℃保存, 用于白细胞介素-5 (IL-5)、IL-10 和 γ 干扰素 (IFN-γ) 水平测定。另将 BALF 的沉淀细胞用 1 ml PBS 重悬, 取 50 μl 用于细胞计数。余液再次离心后吸出上清液用 1 ml PBS 重悬后涂片, 行瑞氏-吉氏染液复合染色, 光镜下进行细胞分类并计数 200 个细胞, 计算嗜酸粒细胞总数。

5.3 BALF 中细胞因子的测定 用双抗体夹心 ELISA, 按试剂盒说明书测定 BALF 中的 IL-5, IL-10 和 IFN-γ 含量, 比较各组小鼠细胞因子含量的变化。

6 统计学分析

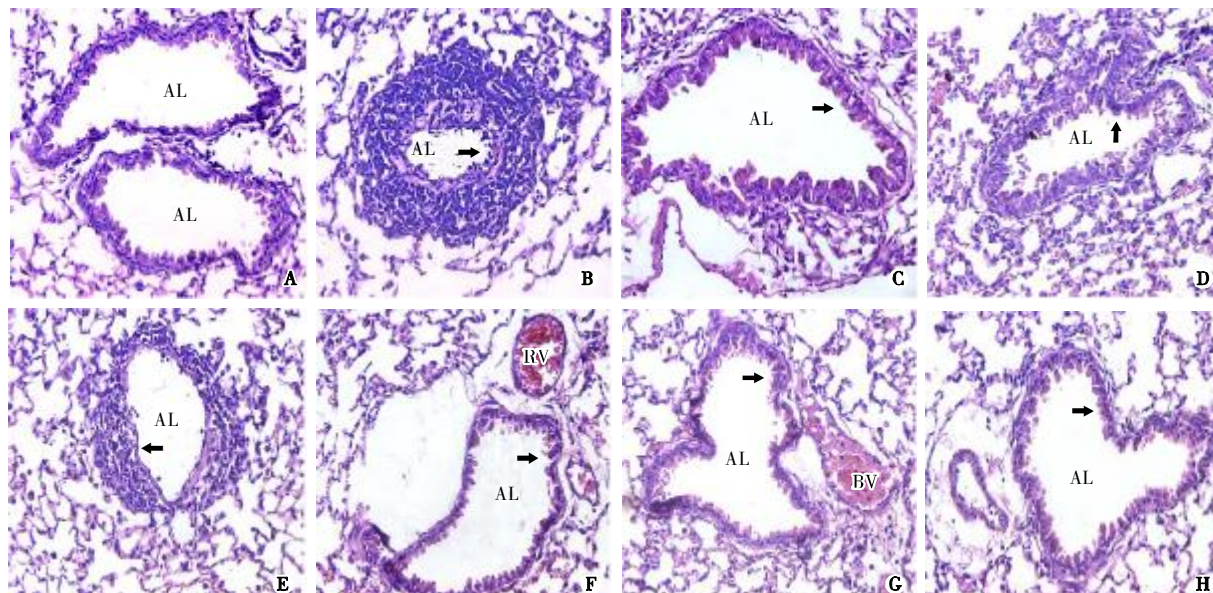
采用 SPSS12.0 软件进行统计学分析, 实验所得数据用均数±标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 各组间均数比较进行方差分析, 组间两两比较采用 SNK 检验。

结 果

1 肺组织病理改变

A 组小鼠支气管上皮黏膜完整无损伤, 支气管黏

膜下和细支气管周围肺组织无明显炎性细胞浸润。B 组小鼠支气管黏膜下和周围肺组织有大量炎性细胞浸润, 支气管黏膜肥厚、肌层增厚、嗜酸粒细胞浸润、腔内充满黏液栓、血管壁明显水肿和管腔缩窄。C、D 和 E 组小鼠细支气管、支气管黏膜下和周围肺组织炎症明显减轻较 B 组轻, 嗜酸粒细胞浸润明显减少。F、G、H 组小鼠与正常组小鼠相似, 支气管黏膜下和细支气管周围肺组织无明显炎性细胞浸润 (图 1)。



A: 健康对照组小鼠支气管黏膜下和肺组织周围无明显炎性细胞浸润, B: 哮喘模型组小鼠支气管黏膜下和肺组织周围有大量炎性细胞浸润, C、D、E: 分别为 C、D、E 组小鼠支气管黏膜下和肺组织周围未见明显炎性细胞浸润, F、G、H: 分别为 F、G、H 组, 小鼠支气管黏膜下和肺组织周围未见明显炎性细胞浸润; AL: 气道, BV: 血管。

A: Control, no considerable inflammatory cell infiltration in tunica mucosa bronchiorum and lung tissue, B: Asthma model, much inflammatory cell infiltration in tunica mucosa bronchiorum and lung tissue, C,D,E: Groups C, D, and E, no considerable inflammatory cell infiltration in tunica mucosa bronchiorum and lung tissue, F,G,H: Groups F, G, and H, no considerable inflammatory cell infiltration in tunica mucosa bronchiorum and lung tissue; AL: Airway lumen, BV: Blood vessel.

图 1 各组小鼠肺组织炎症病理变化 (HE 染色, ×400)

Fig.1 Pathological change of lung tissue inflammation in mice (HE, ×400)

2 BALF 中白细胞总数和嗜酸粒细胞计数分类

B 组小鼠 BALF 中白细胞总数 (98.4 ± 16.1) 和嗜酸粒细胞分类计数 (17.6 ± 4.3) 明显较 A 组高 (分别为 8.2 ± 1.1 , 0.02 ± 0.01) ($P<0.01$), C、D 和 E 组小鼠 BALF 中白细胞总数和嗜酸粒细胞分类计数明显低于 B 组 ($P<0.05$)。F、G 和 H 组小鼠 BALF 中白细胞总数和嗜酸粒细胞分类计数也明显低于 B 组 ($P<0.05$), 但与正常组比较差异无统计学意义 ($P>0.05$) (表 1)。

3 BALF 中细胞因子的变化

B 组小鼠 BALF 中 IL-5 水平明显高于 A 组 ($P<0.01$), 而 IL-10 和 IFN- γ 水平均明显低于 A 组 ($P<0.05$); C、D 及 E 组小鼠 BALF 中 IL-5 水平明显较 B

表 1 各组小鼠 BALF 白细胞总数和嗜酸粒细胞分类计数 ($\times 10^6/\text{ml}$)
Table 1 Number of leukocytes and eosinophils in BALF among eight groups ($\times 10^6/\text{ml}$)

组别 Group	白细胞总数 Total no. leukocytes	嗜酸粒细胞总数 No. eosinophils
A组 Group A	8.2 ± 1.1	0.02 ± 0.01
B组 Group B	$98.4\pm 16.1^*$	$17.6\pm 4.3^*$
C组 Group C	$20.0\pm 2.5^\Delta$	$0.5\pm 0.2^\Delta$
D组 Group D	$27.0\pm 3.6^\Delta$	$1.0\pm 0.3^\Delta$
E组 Group E	$28.2\pm 3.2^\Delta$	$1.4\pm 0.6^\Delta$
F组 Group F	$10.8\pm 1.6^\#$	$0.5\pm 0.2^\#$
G组 Group G	$5.3\pm 0.6^\#$	$0.2\pm 0.1^\#$
H组 Group H	$7.5\pm 0.5^\#$	$0.2\pm 0.1^\#$

注: 与 A 组比较, * $P<0.01$, # $P>0.05$; Δ 与 B 组比较, $P<0.05$ 。
Note: vs group A, * $P<0.01$, # $P>0.05$; Δ vs group B, $P<0.05$.

组低, 而 IL-10 和 IFN- γ 水平明显较 B 组高 ($P < 0.05$); C、D、E 等 3 组之间 BALF 中 IL-5、IL-10 和 IFN- γ 水平无明显差异。F、G、H 组小鼠 BALF 中 IL-5 水平较正常组高, 而 IL-10 和 IFN- γ 水平与正常组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$) (表 2)。

表 2 各组小鼠 BALF 中细胞因子水平
Table 2 Level of cytokines in BALF among eight groups

组别 Group	细胞因子水平 Level of cytokine (pg/ml)		
	IL-5	IL-10	IFN- γ
A 组 Group A	12.3 \pm 7.4	1 634.1 \pm 513.3	688.9 \pm 115.2
B 组 Group B	197.9 \pm 36.5*	520.8 \pm 432.0*	363.3 \pm 94.1*
C 组 Group C	42.1 \pm 34.9 ^Δ	3 900.4 \pm 1 390.8 ^Δ	1 490.8 \pm 201.1 ^Δ
D 组 Group D	72.3 \pm 17.5 ^Δ	2 287.2 \pm 983.5 ^Δ	725.0 \pm 196.4 ^Δ
E 组 Group E	126.3 \pm 24.4 ^Δ	1 854.4 \pm 478.4 ^Δ	615.2 \pm 91.6 ^Δ
F 组 Group F	92.5 \pm 32.9 [#]	1 284.2 \pm 163.6 [#]	535.8 \pm 171.1 [#]
G 组 Group G	127.3 \pm 25.2 [#]	1 829.6 \pm 522.7 [#]	1 079.8 \pm 491.9 [#]
H 组 Group H	107.7 \pm 28.9 [#]	1 438.4 \pm 235.0 [#]	908.7 \pm 410.9 [#]

注: IL-5, 与 A 组比较, * $P < 0.01$, # $P < 0.05$, Δ 与 B 组比较 $P < 0.05$; IL-10, 与 A 组比较, * $P < 0.05$, # $P > 0.05$, Δ 与 B 组比较 $P < 0.01$; IFN- γ , 与 A 组比较, * $P < 0.05$, # $P > 0.05$, Δ 与 B 组比较 $P < 0.05$ 。

Note: IL-5, vs group A, * $P < 0.01$, # $P < 0.05$, Δ vs group B $P < 0.05$; IL-10, vs group A, * $P < 0.05$, # $P > 0.05$, Δ vs group B $P < 0.01$; IFN- γ , vs group A, * $P < 0.05$, # $P > 0.05$; Δ vs group B $P < 0.05$.

讨 论

过敏性哮喘(简称哮喘)是一种以嗜酸粒细胞和 T 细胞浸润为主的慢性气道炎症性疾病, 其本质是气道慢性炎症并发气道高反应性的过敏反应性疾病, 其中 Th2 细胞及其释放的细胞因子在哮喘发病中起着重要作用 [7]。Th2 细胞通过释放 IL-4、IL-5 和 IL-13 等细胞因子, 促进支气管黏膜嗜酸粒细胞的浸润及 IgE 产生, 而 Th1 细胞分泌的抗炎因子 IFN- γ 可以对抗 Th2 细胞的作用, 抑制 Th2 细胞增殖和抑制 Th2 细胞释放 IL-4 和 IL-5 等细胞因子, 从而减少 IgE 的合成, 防止抗原导致的嗜酸粒细胞和 T 淋巴细胞在肺组织的聚集并降低气道反应性。因此, Th1/Th2 细胞免疫应答平衡在气道慢性炎症中发挥着重要的作用, 调节 Th1 细胞因子活性或抑制 Th2 细胞免疫反应使其恢复正常 Th1/Th2 细胞比例成为哮喘治疗的新策略 [8]。然而, 现有研究证实支气管哮喘的免疫类型中不仅限于 Th1/Th2 平衡, 其他形式的调节性 T 细胞如 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞 (CD4⁺CD25⁺ Treg) 也可能参与支气管哮喘的发生和发展 [3], 由于 CD4⁺CD25⁺ Treg 能下调过度的效应细胞反应 [包括 Th1、Th2 和细胞毒性 T 淋巴细胞 (CTL) 等], 以保持机体的免疫平

衡, 因此通过增强调节性 T 细胞的作用也可能成为治疗哮喘的有效手段 [9]。

研究表明, 寄生虫感染可导致 CD4⁺CD25⁺ Treg 明显上升, 从而下调过度的 Th1 或 Th2 免疫应答 [10]。流行病学调查显示, 自身免疫性疾病和过敏性疾病的发病率与儿童早期感染呈负相关, 也似与寄生虫感染引起 CD4⁺CD25⁺ Treg 升高有关, 如 Elliott 等 [11] 研究发现, 曼氏血吸虫虫卵免疫后可阻止小鼠过敏性结肠炎的发生, 并发现调节性 T 细胞在其中发挥重要作用, Mo 等 [12] 的研究也表明, 日本血吸虫虫卵免疫可阻止小鼠过敏性结肠炎的发生, 且小鼠脾脏调节性 T 细胞 CD4⁺CD25⁺ 亚群比例和 IL-10 的水平显著高于未免疫小鼠。

本实验结果显示, 3 种不同虫期的血吸虫抗原免疫均能降低哮喘小鼠 BALF 中 Th2 类细胞因子 IL-5 水平, 升高 Th1 类细胞因子 γ 干扰素 (IFN- γ) 水平, 同时 IL-10 的水平明显升高。由于 IL-10 主要是由 Treg 所分泌的 [13], 由此提示 3 种血吸虫抗原免疫后均能激活宿主的 Treg。新近研究证实, Treg 是一类能对效应细胞产生明显免疫抑制作用的相对独立的 T 细胞亚群, 能抑制过度的效应细胞反应 (包括 Th1、Th2 和 CTL 等), 以保持机体的免疫平衡 [14]。本研究结果提示, 血吸虫抗原免疫后能抑制哮喘小鼠肺组织气道炎症, 预防小鼠过敏性哮喘的发生似与 Treg 对过度的 Th2 反应的抑制有关。

参 考 文 献

- [1] Wilson MS, Taylor MD, Balic A, et al. Suppression of allergic air-way inflammation by helminth-induced regulatory T cells[J]. J Exp Med, 2005, 202 (9): 1199-1212.
- [2] Van Oosterhout AJ, Bloksma N. Regulatory T-lymphocytes in asthma[J]. Eur Respir J, 2005, 26(5): 918-932.
- [3] Maizels RM. Infections and allergy-helminths, hygiene and host immune regulation[J]. Current Opinion Immunol, 2005, 17 (6): 656-661.
- [4] Cooke A, Tonks P, Jones FM, et al. Infection with *Schistosoma mansoni* prevents insulin dependent diabetes mellitus in non-obese diabetic mice[J]. Parasit Immunol, 1999, 21 (4): 169-176.
- [5] Mangan NE, Fallon RE, Smith P, et al. Helminth infection protects mice from anaphylaxis via IL-10-producing B cells[J]. J Immunol, 2004, 173 (10): 6346-6356.
- [6] Chen B, Gao ZC. The molecular mechanisms of the effects of murine interferon- γ transgenic expression on allergen-induced allergic model via adenoviral vector [J]. Chin J Tuberculosis Resp Dis, 2005, 28 (5): 315-319. (in Chinese)
(陈彬, 高占成. γ 干扰素转基因表达对过敏小鼠模型的治疗作用及其机制研究 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2005, 28 (5): 315-319.)
- [7] Li JG, Hu XW, Tan WP, et al. The effect of interferon gamma gene transferring on inflammatory cells in bronchoalveolar lavage fluid of asthma mice [J]. J Modern Clin Med Bioengin, 2004, 10 (5): 375-377. (in Chinese)

- (in Chinese)
(周晓红, 陈晓光, 张晓东, 等. 弓形虫多表位基因植物表达载体的构建[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2003, 21(2): 106-109.)
- [5] Ying CY, Huang XQ, Guo YQ, *et al.* Optimization of tomato genetic transformation, kanamycin-resistant screening and seed selection[J]. J South Med Univer, 2008, 28(7): 1117-1122. (in Chinese)
(应彩云, 黄小琴, 郭瑜琪, 等. 番茄遗传转化筛选及其子代选育体系的优化研究[J]. 南方医科大学学报, 2008, 28(7): 1117-1122.)
- [6] Chen HF, Chang MH, Chiang BL, *et al.* Oral immunization of mice using transgenic tomato fruit expressing VP1 protein from enterovirus[J]. Vaccine, 2006, 24(15): 2944-2951.
- [7] Briza J, Pavingerova D, Vlasak J, *et al.* Production of human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein fused with β -glucuronidase in transgenic tomato and potato plants[J]. Biol Plantarum, 2007, 51(2): 268-276.
- [8] Jiang XL, He ZM, Peng ZQ, *et al.* Cholera toxin B protein in transgenic tomato fruit induces systemic immune response in mice [J]. Transgenic Res, 2007, 16(2): 169-175.
- [9] Sandhu JS, Krasnyanski SF, Domier LL, *et al.* Oral immunization of mice with transgenic tomato fruit expressing respiratory syncytial virus-F protein induces a systemic immune response [J]. Transgen Res, 2000, 9(2): 127-135.
- [10] Mett V, Lyons J, Musiychuk K, *et al.* A plant-produced plague vaccine candidate confers protection to monkeys[J]. Vaccine, 2007, 25(16): 3014-3017.
- [11] Streetfield SJ. Mucosal immunization using recombinant plant-based oral vaccines[J]. Methods, 2006, 38(2): 150-157.
- [12] Huang Z, Leprot K, Elkin G, *et al.* High-yield rapid production of hepatitis B surface antigen in plant leaf by a viral expression system[J]. Plant Biotechnol J, 2008, 6(2): 202-209.
- [13] Huang Z, Santi L, Leprot K, *et al.* Rapid high-level production of hepatitis B core antigen in plant leaf and its immunogenicity in mice[J]. Vaccine, 2006, 24(14): 2506-2513.
- [14] Thanavala Y, Huang Z, Mason HS. Plant-derived vaccines: a look back at the highlights and a view to the challenges on the road ahead[J]. Expert Rev Vaccin, 2006, 5(2): 249-260.
- [15] Wang XL, Suo CY, Peng XX, *et al.* Transcription regulation of plant fruit-ripening related genes[J]. Biotechnol Bull, 2001, 24(4): 33-37. (in Chinese)
(王新力, 索桂英, 彭学贤. 植物果实成熟相关基因的转录调控[J]. 生物技术通报, 2001, 24(4): 33-37.)
- [16] Igarashi M, Kano F, Tamekuni K, *et al.* *Toxoplasma gondii*: evaluation of an intranasal vaccine using recombinant proteins against brain cyst formation in BALB/c mice[J]. Exp Parasitol, 2008, 118(3): 386-392.
- [17] Jongert E, Melkebeek V, Craeye SD, *et al.* An enhanced *GRA1-GRA7* cocktail DNA vaccine primes anti-*Toxoplasma* immune responses in pigs[J]. Vaccine, 2008, 26(8): 1025-1031.
- [18] Menzies FM, Henriquez FL, Roberts CW. Immunological control of congenital toxoplasmosis in the murine model [J]. Immunol Letter, 2008, 115(2): 83-89.
- [19] Siachoque H, Guzman F, Burgos J, *et al.* *Toxoplasma gondii*: immunogenicity and protection by P30 peptides in a murine model[J]. Exp Parasitol, 2006, 114(1): 62-65.
- [20] Li WX, Lu HM, Zhang HQ, *et al.* Detection of IFN- γ , IL-2 and NO in the sera of the mice orally immunized with recombinant lactococcus lactis expressing P30 of *Toxoplasma gondii*[J]. J Pathogen Biol, 2006, 1(5): 356-358. (in Chinese)
(李文姝, 陆惠民, 张惠琴, 等. 弓形虫 P30 乳酸球菌口服免疫小鼠血清中 IFN- γ , IL-2 和 NO 含量的测定[J]. 中国病原生物学杂志, 2006, 1(5): 356-358.)
- [21] Liu JP, Meng XL, Ying GR, *et al.* Dynamic of mucosal associated lymphocyte subsets of mice immunized with *Toxoplasma* complex mucosal vaccine by intranasal drip[J]. Chin J Biol, 2007, 20(5): 346-351. (in Chinese)
(刘晋平, 孟晓丽, 殷国荣, 等. 弓形虫复合黏膜疫苗滴鼻免疫小鼠的黏膜相关淋巴细胞及其亚群的动态变化[J]. 中国生物制品学杂志, 2007, 20(5): 346-351.)
- (收稿日期: 2008-06-18 编辑: 盛慧锋)

(上接第 431 页)

- (李建国, 胡晓文, 檀卫平, 等. γ 干扰素质粒基因转染对哮喘小鼠支气管肺泡灌洗液炎症细胞的影响 [J]. 现代临床医学生物工程学杂志, 2004, 10 (5): 375-377.)
- [8] Li JG, Hu XW, Tan WP, *et al.* The effect of gamma interferon gene transfer on airway inflammation in asthmatic mice[J]. Chin J Tuberculosis Resp Dis, 2005, 28 (8): 530-533. (in Chinese)
(李建国, 胡晓文, 檀卫平, 等. γ 干扰素质粒基因转染对支气管哮喘小鼠气道炎症的影响 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2005, 28 (8): 530-533.)
- [9] Hawrylowicz CM. Regulatory T cells and IL-10 in allergic inflammation [J]. JEM, 2005, 202 (11): 1459-1463.
- [10] Urban JF Jr, Madden KB, Svetic A, *et al.* The importance of Th2 cytokines in protective immunity to nematodes[J]. Immunol Rev, 1992, 127 (3): 205-220.
- [11] Elliott DE, Li J, Blum A, *et al.* Exposure to schistosome eggs protects mice from TNBS-induced colitis [J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2003, 284 (3): 385-391.
- [12] Mo HM, Liu WQ, Lei JH, *et al.* *Schistosoma japonicum* eggs modulate the activity of CD4⁺CD25⁺ Tregs and prevent development of colitis in mice[J]. Exp Parasitol, 2007, 116 (4): 385-389.
- [13] Yazdanbakhsh M, Kreamsner PG, van Ree R. Allergy, parasites, and the hygiene hypothesis [J]. Science, 2002, 296 (5567): 490-494.
- [14] O'Garra A, Vieira P. Regulatory T cells and mechanisms of immune system control [J]. Nat Med, 2004, 10 (8): 801-805.
(收稿日期: 2007-11-12 编辑: 盛慧锋)