

文章编号: 1000-7423(2011)-05-0389-05

【综述】

# Toll样受体激动剂作为佐剂成份在疟疾红内期疫苗中的应用

谢创波<sup>1,2</sup>, 钱锋<sup>1</sup>, 徐沪济<sup>1</sup>

**【提要】** Toll 样受体是一类模式识别受体, 与其配体结合可激活先天性免疫系统, 继而启动获得性免疫反应。因此, 一些 Toll 样受体的配体或激动剂可作为佐剂成份用于多种疫苗的制备。恶性疟原虫蛋白 AMA1 和 MSP1 是疟疾红内期疫苗的 2 个主要候选抗原, 但对人体是弱免疫原。为提高这两种蛋白的免疫原性, 将 Toll 样受体激动剂作为佐剂成份, 添加到以这两种蛋白为抗原所制备的疫苗中, 用于临床试验。本文对 Toll 样受体激动剂在疟疾红内期疫苗中的应用进行综述。

**【关键词】** 恶性疟原虫; 红内期疫苗; Toll 样受体; 佐剂

中图分类号: R531.3

文献标识码: A

## Application of Toll-like Receptor Agonists as an Adjuvant Component to Malaria Blood-stage Vaccine

XIE Chuang-bo<sup>1,2</sup>, QIAN Feng<sup>1</sup>, XU Hu-ji<sup>1</sup>

(1 Department of Rheumatology and Immunology, Changzheng Hospital, The Second Military Medical University, Shanghai 200003, China; 2 Graduates Management Brigade, The Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

**【Abstract】** Toll-like receptors (TLRs) belong to the category of pattern recognition receptor. The binding of TLRs with their respective ligands activates innate immune system, thereby initiates adaptive immune responses. As such, some TLR ligands or agonists have been used as an adjuvant component in a variety of vaccine formulations. AMA1 and MSP1 from *Plasmodium falciparum* are two main antigens of malaria blood-stage vaccine, but they are poor immunogens in humans. To enhance the immunogenicities of these two vaccine candidates, the TLR agonists have been used in their formulations for the clinical trials. Recent progress in the field is reviewed in this article.

**【Key words】** *Plasmodium falciparum*; Blood-stage vaccine; Toll-like receptor; Adjuvant

疟疾是一种由疟原虫引起的、危害人类健康和导致公共卫生问题的蚊媒传染疾病, 研制安全有效的疟疾疫苗是预防该病的优先策略<sup>[1]</sup>。疟原虫裂殖子的顶端膜抗原 1 (apical membrane antigen 1, AMA1) 和表面蛋白 1 (merozoite surface protein 1, MSP1) 是疟疾红内期疫苗的 2 个主要抗原。恶性疟原虫 AMA1 是一前体蛋白, 通过 N 端切割而加工成为相对分子质量 ( $M_r$ ) 66 000 的分子, 并移至裂殖子表面<sup>[2]</sup>。恶性疟原虫 MSP1 也是一前体蛋白, 在疟原虫的发育过程中经历 2 次加工, 首次加工产生若干片段, 其中 C 末端为  $M_r$  42 000 的片段 (MSP1-42); 第 2 次加工发生在裂殖子侵入红细胞前, C 末端的  $M_r$  42 000 片段

再被加工成  $M_r$  33 000 和 19 000 (MSP1-19) 的 2 个片段, 仅 MSP1-19 片段随裂殖子侵入其他红细胞<sup>[3]</sup>。但是, AMA1 和 MSP1 在人体中均为低免疫原性的抗原, 如何提高他们的免疫原性是个难题。随着 Toll 样受体研究的不断深入, 一些 Toll 样受体的配体或激动剂作为佐剂成分被添加到多种疫苗中, 以提高抗原的免疫原性, 进而提高疫苗的有效性。本文对 Toll 样受体激动剂在疟疾红内期疫苗中的应用进行综述。

### 1 Toll 样受体家族及其功能

脊椎动物的免疫系统分为先天性免疫和获得性免疫两部分, 先天性免疫不仅是抵抗病原体侵袭的第一

道屏障,而且在识别和区分病原体、启动获得性免疫中起关键作用。识别和区分病原体由所谓的模式识别受体(pattern recognition receptor, PRR)识别病原体相关分子模式(pathogen associated molecular pattern, PAMP)来完成。Toll 样受体(Toll-like receptor, TLR)家族就是一类 PRR,迄今已发现十多个 TLR 家族成员,其中 TLR1~TLR10 存在于人体多种细胞中,如浆细胞、树突细胞、巨噬细胞、自然杀伤细胞、B 细胞和 CD4<sup>+</sup>T 细胞等免疫细胞,以及上皮细胞和内皮细胞等非免疫细胞<sup>[4,6]</sup>。

TLR 家族成员均为 I 型跨膜蛋白,胞外区识别相关的 PAMP,其序列中有 10 多个富含亮氨酸的重复基序(leucine-rich repeat motif);而胞内区起信号传递的功能,其序列与白细胞介素 1(interleukin 1, IL-1)受体胞内区序列同源,称为 Toll/IL-1R 受体同源区域(Toll/IL-1 receptor homologous region, TIR)<sup>[5]</sup>。TLR1、TLR2、TLR4、TLR5 和 TLR6 分布于细胞表面,TLR10 可能也分布于细胞表面,TLR2 常与 TLR1 或 TLR6 形成异源二聚体,TLR4 的表达受到髓样分化蛋白 2(myeloid differential protein 2, MD-2)的促进,并与 MD-2 形成复合物<sup>[5,6]</sup>。TLR3、TLR7、TLR8 和 TLR9 分布于细胞内,呈现在多种细胞器的膜上<sup>[5,6]</sup>。TLR 可识别脂蛋白和脂肽(TLR2+TLR1/6)、双链 RNA (TLR3)、脂多糖 (TLR4)、细菌鞭毛蛋白 (TLR5)、单链 RNA (TLR7/8)和未被甲基化的寡聚脱氧核糖核酸 (TLR9)等多种 PAMP<sup>[4,5]</sup>。

TLR2、TLR5、TLR7/8 和 TLR9 的信号传递是通过髓样分化因子 88(myeloid differential factor 88, MyD88)途径实现的,MyD88 是这些 TLR 信号传递所必需的衔接分子,TLR2 的 MyD88 途径还需要 TIR 结构域衔接蛋白(TIR domain adaptor protein, TIRAP)的参与<sup>[5]</sup>。TLR4 信号传递途径有 MyD88 依赖途径和 MyD88 非依赖途径,TLR4 的 MyD88 依赖途径也需要 TIRAP 的参与;TLR4 的 MyD88 非依赖途径又称 TRIF (TIR domain containing adaptor inducing interferon-beta)途径,这一途径需要 TRIF 相关衔接分子 (TRIF-related adaptor molecule, TRAM)的参与<sup>[5]</sup>。TLR3 的信号传递是通过 TRIF 途径实现的<sup>[5]</sup>。信号的级联传递最终使核因子卡帕 B (nuclear factor kappa B, NF- $\kappa$ B)得以释放,从细胞质移入细胞核内,与靶基因上的特定序列结合促进多种促炎细胞因子和趋化因子的合成,上调协同刺激分子<sup>[5]</sup>。此外,信号级联传递还可通过激活剂蛋白 1 (activator protein 1, AP-1)、干扰素调节因子 3 和 7 (interferon regulatory factor 3 and 7, IRF3 and IRF7)的活化促进一些细胞因子的

合成<sup>[5]</sup>。

当免疫系统遭遇病原体时,抗原呈递细胞尤其是树突细胞摄取相关抗原,经抗原加工后与主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)分子结合成为 MHC-肽复合物;抗原呈递细胞在摄取抗原时还通过 PRR 如 TLR 识别病原体的 PAMP,通过细胞的信号级联传递促进多种促炎细胞因子的合成,上调协同刺激分子。MHC-肽复合物、促炎细胞因子和协同刺激分子共同作用于 T 细胞,T 细胞由此被激活从而启动抗原特异的获得性免疫<sup>[5]</sup>。

因此,一些 Toll 样受体的配体或激动剂作为佐剂被应用于多种疫苗,以提升疫苗抗原的免疫原性,目前应用最多的是 TLR9 激动剂 CpG ODN (cytosine phosphate guanine dinucleotide oligodeoxyribonucleic acids)和 TLR4 激动剂单磷酸脂质 A (monophosphoryl lipid A, MPL)。

## 2 TLR9 激动剂 CpG ODN 在疟疾红内期疫苗中的应用

CpG ODN 是包含有未被甲基化的胞嘧啶-鸟嘌呤二核苷酸基序(CpG motif)的寡聚脱氧核糖核酸,这样的 CpG 二核苷酸基序在细菌 DNA 中出现的频率比在哺乳动物 DNA 中出现的频率高 20 倍以上<sup>[7]</sup>。人工合成的 CpG ODN 有 A、B 和 C 等 3 种主要类型,在刺激机体免疫应答方面存在一定差异<sup>[8]</sup>。

CpG ODN 作为佐剂成分首先被添加在约氏疟原虫 MSP1-19 的铝佐剂疫苗制剂中,研究者使用的是 CpG ODN 1826 (一种 B 型 CpG ODN),通过腹腔免疫小鼠,检测抗 MSP1-19 特异性抗体,并用致死型约氏疟原虫株攻击免疫小鼠,结果显示,在添加了 CpG ODN 后,特异性抗体效价得到极大提高,小鼠存活率与抗体效价的提高呈现相关性<sup>[9]</sup>。随后,CpG ODN 被不同的研究组添加到各自的约氏疟原虫 MSP1-19 疫苗制剂中,如 PyMSP1-19/Montanide ISA51 和 PyMSP1-19/Montanide ISA720,在动物试验中均获得很好的效果<sup>[10-12]</sup>。

AMA1-C1 是由毕氏酵母表达的恶性疟原虫 3D7 株和 FVO 株 AMA1 重组蛋白的等量混合物,将其与一种市售铝佐剂胶 Alhydrogel 结合而成为疫苗制剂 AMA1-C1/Alhydrogel。AMA1-C1/Alhydrogel 在小鼠体内可诱导强烈的免疫应答,但在人体中仅能诱导弱到中等的免疫应答<sup>[13-16]</sup>,在马里 2~3 岁儿童中进行的 II 期临床试验结果显示,该疫苗对受试儿童无保护作用<sup>[16]</sup>。当在 AMA1-C1/Alhydrogel 中添加了 CPG 7909 (一种 B 型 CpG ODN)后,无论是在小鼠、大鼠还是豚鼠中

均极大提高了特异性抗体效价, 抗体效价与血清抗体的恶性疟原虫体外抑制试验 (growth inhibition assay, GIA) 活性呈现相关性<sup>[17]</sup>。

基于在动物试验中所获得的有意义结果, 添加了 CPG 7909 的 AMA1-C1/Alhydrogel 疫苗制剂在北美无疟区健康成人和非洲疟区成人中各进行了 2 次和 1 次 I 期临床试验<sup>[18-20]</sup>。在北美无疟区健康成人中进行的首次 I 期临床试验中, 有多人因出现不良反应而退出试验, 有 1 受试者抗双链 DNA 抗体有轻微的升高, 在另外 2 次 I 期临床试验中, 无人因出现不良反应而退出试验, 也未出现抗双链 DNA 抗体的升高, 在这 3 次试验中均未出现自身免疫性疾病的临床表现。因此, 这种添加了 CpG ODN 的 AMA1-C1/Alhydrogel 疫苗总体上是安全的。在北美无疟区成人中, 疫苗在添加了 CPG 7909 后, 受试者不但抗 AMA1 的抗体效价极大提高, 与不加 CPG 7909 的受试者相比提高了 11~14 倍, 而且抗体的 GIA 活性也得到极大提升, 最高者达 96%, 抗体效价与抗体 GIA 活性呈现相关性<sup>[18,19]</sup>。但在非洲疟区成人中, 疫苗添加 CPG 7909 后, 受试者抗 AMA1 的抗体效价仅提升了 2~3 倍, 抗体的 GIA 活性无显著提高<sup>[20]</sup>。

将大肠埃希菌表达的恶性疟原虫 3D7 株和 FVO 株 MSP1-42 重组蛋白与 Alhydrogel 结合制成疫苗 MSP1-42/Alhydrogel, 在北美无疟区健康成人中进行 I 期临床试验, 结果显示在无疟区健康人群中未诱导出足够高效价的抗 MSP1-42 抗体<sup>[21]</sup>。当在 MSP1-42/Alhydrogel 疫苗中加入 CPG 7909 后, 在北美无疟区健康成人中进行的 I 期临床试验结果显示, 添加 CPG 7909 的 MSP1-42/Alhydrogel 疫苗对人体是安全的, 受试者的抗体效价也得到极大提高, 与未添加 CPG 7909 的受试者相比, 在第 2 次和第 3 次免疫后分别提高了 49 倍和 8 倍, 但是抗体的 GIA 活性最高仅 38%<sup>[22]</sup>。

虽然临床试验表明在疟疾红内期疫苗中添加 CpG ODN 总体上是安全的, 但是疫苗临床试验的审批部门始终担忧 CpG ODN 有可能导致自身免疫性疾病的发生, 在接种含 CpG ODN 的乙肝疫苗受试人群中发现 1 例韦氏肉芽肿 (Wegener's granulomatosis) 后<sup>[23]</sup>, 加剧了这种担忧, 这增加了含 CpG ODN 的疫苗进入临床试验的审批难度。

### 3 TLR4 激动剂 MPL 在疟疾红内期疫苗中的应用

脂多糖是革兰氏阴性菌细胞壁外膜的重要成分, 既是细菌的内毒素, 也是一种外源性致热源。脂多糖由特异多糖、核心多糖和脂质 A (lipid A) 等 3 部分组成, 脂质 A 是内毒素毒性的主要组分, 由一种被

多种脂肪酸链修饰的双磷酸化的氨基葡萄糖双糖组成。MPL 是一种单磷酸化的脂质 A 衍生物, 毒性低, 但仍可诱导强烈的机体免疫应答。

英国葛兰素史克公司 (GSK) 研制了一系列疫苗佐剂, 主要有 AS01、AS02、AS03 和 AS04。AS01 是含有 MPL 和 QS21 的脂质体 (liposome), 这里的 MPL 来源于明尼苏达沙门氏菌 (*Salmonella minnesota*) Re595 株, 是一种脱酰基的 MPL (3-deacylated monophosphoryl lipid A), QS21 (*Quillaja saponaria* fraction 21) 是奎拉雅皂树的内树皮提取物皂苷 QuilA 的第 21 个高效液相色谱 (HPLC) 峰值组分。AS02 是一种水包油佐剂, 含有 MPL 和 QS21。由 GSK 公司制备的恶性疟原虫红前期疫苗 RTS, S/AS01E 和 RTS, S/AS02D 在非洲婴幼儿中进行了 II 期临床试验, 结果显示, 这两种疫苗制剂对疟区婴幼儿有一定程度的保护作用, 总体有效性为 30~65%<sup>[24,25]</sup>。RTS, S/AS 疟疾疫苗已于 2009 年获批准在非洲婴幼儿中进行 III 期临床试验 (<http://clinicaltrials.gov>, NCT00866619), 这是目前惟一获准进入 III 期临床试验的疟疾疫苗。

FMP2.1/AS02A 是由大肠埃希菌表达的恶性疟原虫 3D7 株 AMA1 重组蛋白与佐剂 AS02 配制而成的疫苗制剂, 首先在北美无疟区健康成人中进行了 I 期临床试验, 结果显示该疫苗是安全的; 在所有受试者中都激发出特异性抗体; 荧光抗体试验 (IFA) 检测显示, 免疫血清识别疟原虫的子孢子和裂殖子; 受试者外周血单个核细胞经抗原体外刺激, 检测到淋巴细胞增殖,  $\gamma$  干扰素 (IFN- $\gamma$ ) 分泌细胞和白细胞介素 5 (IL-5) 分泌细胞数量增加; 但未在受试者中激发出高 GIA 活性, 血清抗体对同源的 3D7 株抑制率为 13~17%, 对于异源的 FVO 株未呈现 GIA 活性<sup>[26]</sup>。由毕赤酵母表达的恶性疟原虫 FVO 株 AMA1 重组蛋白与佐剂 AS02 配制而成的疫苗制剂 AMA1-FVO/AS02, 在欧洲无疟区健康成人中进行的 I 期临床试验结果显示, 免疫血清对同源恶性疟原虫株的 GIA 活性达到 50%<sup>[27]</sup>。FMP2.1/AS02A 在非洲疟区成人中进行的 I 期临床试验结果显示, 该疫苗是安全的; 在抗体效价的峰值点, 免疫组较对照组高 6.4 倍; 免疫血清对 3D7 株和 FVO 株均显示 GIA 活性, 后者甚至高于前者, 但均未超过 40%, 全剂量免疫组第 3 次免疫后 GIA 活性显著高于免疫前和对照组<sup>[28]</sup>。FMP2.1/AS02A 在非洲疟区 1~6 岁儿童中进行的 I 期临床试验结果亦显示这一疫苗是安全的; 在受试儿童中激发出高 (高出基线 100 倍) 且持久的抗体应答<sup>[29]</sup>。

FMP1/AS02A 是由大肠埃希菌表达的恶性疟原虫 3D7 株 MSP1-42 重组蛋白与佐剂 AS02 配制而成的疫苗制剂, 其在北美无疟区健康成人中进行的 I 期临床

试验显示, 该疫苗是安全的; 在所有受试者中均激发出高效价的特异性抗体; IFA 检测显示, 免疫血清识别疟原虫的滋养体、裂殖体和裂殖子; 受试者外周血单个核细胞经抗原体外刺激后, 淋巴细胞增殖, IFN- $\gamma$  分泌细胞数量增加; 但免疫血清对同源的 3D7 株 GIA 平均值低于 20%<sup>[30]</sup>。FMP1/AS02A 在非洲疟区成人中进行了 2 次 I 期临床试验, 分别在西肯尼亚和马里, 这是两个不同类型的疟疾流行区, 临床试验结果显示该疫苗是安全的; 在使用了一种统计模型后, 免疫组血清效价显著高于对照组; 但 2 次试验均无 GIA 数据<sup>[31,32]</sup>。FMP1/AS02A 在西肯尼亚 1~4 岁儿童中进行的 I 期临床试验结果显示, 该疫苗是安全的; 统计模型显示, 免疫组血清抗体效价在各时间点显著高于对照组<sup>[33]</sup>。FMP1/AS02A 在西肯尼亚 1~4 岁儿童中进行的 II 期临床试验结果显示, 该疫苗是安全的; 免疫组儿童中激发出的特异性抗体在峰值处达到 26.3  $\mu\text{g/ml}$ , 显著高于免疫前和对照组; 但是特异性抗体与保护性无相关性, 总的疫苗有效性(vaccine efficacy, VE)为 5.1%, 因此 FMP1/AS02A 对疟区儿童无保护作用<sup>[34]</sup>。

#### 4 结语

福氏完全佐剂是一种矿物油的油包水佐剂并添加了灭活的分枝杆菌干粉(通常为结核杆菌), 具有很强的免疫佐剂作用, 在动物研究中的应用已有多年。在 Toll 样受体及其配体被发现、以及作用机制被揭示之前, 一直不清楚福氏完全佐剂有强烈的免疫佐剂效应的原因。现在已知道在福氏完全佐剂中添加的分枝杆菌包含有多种 Toll 样受体的配体, 如 TLR2、TLR4 和 TLR9 的配体, 他们起到了促进免疫应答的作用, 也有实验结果显示福氏完全佐剂中多种配体的佐剂作用可能不是直接通过 Toll 样受体起作用的<sup>[35,36]</sup>。Toll 样受体的研究不仅揭示了一些已有佐剂的作用机制, 也使新研发的 Toll 样受体激动剂在疫苗研究中获得应用, 如 CpG ODN。但是, 含有 MPL 的佐剂 AS02 应用于 MSP1-42 未能通过 II 期临床试验, CpG ODN 受到安全性问题的困扰, 因此有必要开发和应用其他不同类型的 Toll 样受体激动剂<sup>[37,38]</sup>, 甚至非 Toll 样受体激动剂, 以提高疟疾红内期抗原的免疫原性, 进而提高疟疾红内期疫苗的有效性。

#### 参 考 文 献

[1] Kristoff J. Malaria stage-specific vaccine candidates [J]. *Curr Pharm Des*, 2007, 13(19): 1989-1999.  
 [2] Remarque EJ, Faber BW, Kocken CH, et al. Apical membrane antigen 1: a malaria vaccine candidate in review [J]. *Trends*

*Parasitol*, 2008, 24(2): 74-84.  
 [3] Holder AA. The carboxy-terminus of merozoite surface protein 1: structure, specific antibodies and immunity to malaria [J]. *Parasitology*, 2009, 136(12): 1445-1456.  
 [4] Ishii KJ, Akira S. Toll or toll-free adjuvant path toward the optimal vaccine development [J]. *J Clin Immunol*, 2007, 27(4): 363-371.  
 [5] Ishii KJ, Uematsu S, Akira S. 'Toll' gates for future immunotherapy [J]. *Curr Pharm Des*, 2006, 12(32): 4135-4142.  
 [6] Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors [J]. *Nat Immunol*, 2010, 11(5): 373-384.  
 [7] Klinman DM, Yi AK, Beaucage SL, et al. CpG motifs present in bacteria DNA rapidly induce lymphocytes to secrete interleukin 6, interleukin 12, and interferon gamma [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93(7): 2879-2883.  
 [8] Krieg AM. Therapeutic potential of Toll-like receptor 9 activation [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2006, 5(6): 471-484.  
 [9] Near KA, Stowers AW, Jankovic D, et al. Improved immunogenicity and efficacy of the recombinant 19-kilodalton merozoite surface protein 1 by the addition of oligodeoxynucleotide and aluminum hydroxide gel in a murine malaria vaccine model [J]. *Infect Immun*, 2002, 70(2): 692-701.  
 [10] Kumar S, Jones TR, Oakley MS, et al. CpG oligodeoxynucleotide and montanide ISA 51 adjuvant combination enhanced the protective efficacy of a subunit malaria vaccine [J]. *Infect Immun*, 2004, 72(2): 949-957.  
 [11] Jeamwattanalert P, Mahakunkijcharoen Y, Kittigul L, et al. Long-lasting protective immune response to the 19-kilodalton carboxy-terminal fragment of *Plasmodium yoelii* merozoite surface protein 1 in mice [J]. *Clin Vaccine Immunol*, 2007, 14(4): 342-347.  
 [12] Hirunpetcharat C, Wipasa J, Sakkhachornphop S, et al. CpG oligodeoxynucleotide enhances immunity against blood-stage malaria infection in mice parenterally immunized with a yeast-expressed 19 kDa carboxyl-terminal fragment of *Plasmodium yoelii* merozoite surface protein-1 (MSP1(19)) formulated in oil-based montanides [J]. *Vaccine*, 2003, 21(21-22): 2923-2932.  
 [13] Malkin EM, Diemert DJ, McArthur JH, et al. Phase 1 clinical trial of apical membrane antigen 1: an asexual blood-stage vaccine for *Plasmodium falciparum* malaria [J]. *Infect Immun*, 2005, 73(6): 3677-3685.  
 [14] Dicko A, Diemert DJ, Sagara I, et al. Impact of a *Plasmodium falciparum* AMA1 vaccine on antibody responses in adult Malians [J]. *PLoS One*, 2007, 2(10): e1045.  
 [15] Dicko A, Sagara I, Ellis RD, et al. Phase 1 study of a combination AMA1 blood stage malaria vaccine in Malian children [J]. *PLoS One*, 2008, 3(2): e1563.  
 [16] Sagara I, Dicko A, Ellis RD, et al. A randomized controlled phase 2 trial of the blood stage AMA1-C1/Alhydrogel malaria vaccine in children in Mali [J]. *Vaccine*, 2009, 27(23): 3090-3098.  
 [17] Mullen GE, Giersing BK, Ajose-Popoola O, et al. Enhancement of functional antibody responses to AMA1-C1/Alhydrogel, a *Plasmodium falciparum* malaria vaccine, with CpG oligodeoxynucleotide [J]. *Vaccine*, 2006, 24(14): 2497-2505.  
 [18] Mullen GE, Ellis RD, Miura K, et al. Phase 1 trial of AMA1-C1/Alhydrogel plus CPG 7909: an asexual blood-stage vaccine for *Plasmodium falciparum* malaria [J]. *PLoS One*, 2008, 3(8): e2940.  
 [19] Ellis RD, Mullen GE, Pierce M, et al. A Phase 1 study of the blood-stage malaria vaccine candidate AMA1-C1/Alhydrogel with CPG 7909, using two different formulations and dosing intervals [J]. *Vaccine*, 2009, 27(31): 4104-4109.  
 [20] Sagara I, Ellis RD, Dicko A, et al. A randomized and controlled phase 1 study of the safety and immunogenicity of the AMA1-C1/Alhydrogel + CPG 7909 vaccine for *Plasmodium falciparum* malaria in semi-immune Malian adults [J]. *Vaccine*, 2009,

- 27(52): 7292-7298.
- [21] Malkin E, Long CA, Stowers AW, et al. Phase 1 study of two merozoite surface protein 1 (MSP1(42)) vaccines for *Plasmodium falciparum* malaria [J]. *PLoS Clin Trials*, 2007, 2(4): e12.
- [22] Ellis RD, Martin LB, Shaffer D, et al. Phase 1 trial of the *Plasmodium falciparum* blood stage vaccine MSP1(42)-C1/Alhy drogel with and without CPG 7909 in malaria naïve adults [J]. *PLoS One*, 2010, 5(1): e8787.
- [23] DeFrancesco L. Dynavax trial halted [J]. *Nat Biotechnol*, 2008, 26(5): 484.
- [24] Abdulla S, Oberholzer R, Juma O, et al. Safety and immunogenicity of RTS, S/AS02D malaria vaccine in infants [J]. *N Engl J Med*, 2008, 359(24): 2533-2544.
- [25] Bejon P, Lusingu J, Olotu A, et al. Efficacy of RTS, S/AS01E vaccine against malaria in children 5 to 17 months of age [J]. *N Engl J Med*, 2008, 359(24): 2521-2532.
- [26] Polhemus ME, Magill AJ, Cummings JF, et al. Phase I dose escalation safety and immunogenicity trial of *Plasmodium falciparum* apical membrane protein (AMA-1) FMP2.1, adjuvanted with AS02A, in malaria-naïve adults at the Walter Reed Army Institute of Research [J]. *Vaccine*, 2007, 25(21): 4203-4212.
- [27] Roestenberg M, Remarque E, de Jonge E, et al. Safety and immunogenicity of a recombinant *Plasmodium falciparum* AMA1 malaria vaccine adjuvanted with Alhydrogel, Montanide ISA 720 or AS02 [J]. *PLoS One*, 2008, 3(12): e3960.
- [28] Thera MA, Doumbo OK, Coulibaly D, et al. Safety and immunogenicity of an AMA-1 malaria vaccine in Malian adults: results of a phase 1 randomized controlled trial [J]. *PLoS One*, 2008, 3(1): e1465.
- [29] Thera MA, Doumbo OK, Coulibaly D, et al. Safety and immunogenicity of an AMA1 malaria vaccine in Malian children: results of a phase 1 randomized controlled trial [J]. *PLoS One*, 2010, 5(2): e9041.
- [30] Ockenhouse CF, Angov E, Kester KE, et al. Phase I safety and immunogenicity trial of FMP1/AS02A, a *Plasmodium falciparum* MSP-1 asexual blood stage vaccine [J]. *Vaccine*, 2006, 24(15): 3009-3017.
- [31] Stoute JA, Gombé J, Withers MR, et al. Phase 1 randomized double-blind safety and immunogenicity trial of *Plasmodium falciparum* malaria merozoite surface protein FMP1 vaccine, adjuvanted with AS02A, in adults in western Kenya [J]. *Vaccine*, 2007, 25(1): 176-184.
- [32] Thera MA, Doumbo OK, Coulibaly D, et al. Safety and allele-specific immunogenicity of a malaria vaccine in Malian adults: results of a phase I randomized trial [J]. *PLoS Clin Trials*, 2006, 1(7): e34.
- [33] Withers MR, McKinney D, Ogutu BR, et al. Safety and reactogenicity of an MSP-1 malaria vaccine candidate: a randomized phase Ib dose-escalation trial in Kenyan children [J]. *PLoS Clin Trials*, 2006, 1(7): e32.
- [34] Ogutu BR, Apollo OJ, McKinney D, et al. Blood stage malaria vaccine eliciting high antigen-specific antibody concentrations confers no protection to young children in western Kenya [J]. *PLoS One*, 2009, 4(3): e4708.
- [35] Gavin AL, Hoebe K, Duong B, et al. Adjuvant-enhanced antibody responses in the absence of toll-like receptor signaling [J]. *Science*, 2006, 314(5807): 1936-1938.
- [36] Pulendran B. Tolls and beyond-many roads to vaccine immunity [J]. *N Engl J Med*, 2007, 356(17): 1776-1778.
- [37] Wu Y, Przysiecki C, Flanagan E, et al. Sustained high-titer antibody responses induced by conjugating a malarial vaccine candidate to outer-membrane protein complex [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(48): 18243-18248.
- [38] Bargieri DY, Leite JA, Lopes SC, et al. Immunogenic properties of a recombinant fusion protein containing the C-terminal 19kDa of *Plasmodium falciparum* merozoite surface protein-1 and the innate immunity agonist FliC flagellin of *Salmonella typhimurium* [J]. *Vaccine*, 2010, 28(16): 2818-2826.

(收稿日期: 2010-12-05 编辑: 高石)

文章编号: 1000-7423(2011)-05-0393-04

【研究简报】

## 云南省 19 县(市)小板纤恙螨地区分布及宿主选择研究

詹银珠<sup>1,2</sup>, 郭宪国<sup>1\*</sup>, 左小华<sup>1</sup>, 王乔花<sup>1</sup>, 吴滇<sup>1</sup>

**【提要】** 根据云南省不同地理方位、地形地貌、气候与生态等特点, 于 2001-2009 年选取 19 县(市)为调查点, 诱捕小兽, 收集其耳廓和外耳道的全部恙螨, 分析小板纤恙螨(*Leptotrombidium scutellare*)在不同宿主、不同地区的分布情况。结果, 在捕获的 4 目 7 科 18 属 30 种 9 838 只小兽体表采集到小板纤恙螨 16 491 只, 占有恙螨的 17.73% (16 491/92 990)。在调查的 19 县(市)中, 12 个县(市)有小板纤恙螨分布, 主要分布于云南西北部和南部的高海拔、低气温、低降水量地区。小板纤恙螨寄生宿主广泛, 主要宿主为大绒鼠 (*Eothenomys miletus*)和齐氏姬鼠(*Apodemus chevrieri*)。

**【关键词】** 小板纤恙螨; 地区分布; 宿主选择; 云南省

中图分类号: R384.421

文献标识码: B

## Research on the Area Distribution and Host Selection of *Leptotrombidium scutellare* in 19 Counties of Yunnan Province

ZHAN Yin-zhu<sup>1,2</sup>, GUO Xian-guo<sup>1\*</sup>, ZUO Xiao-hua<sup>1</sup>, WANG Qiao-hua<sup>1</sup>, WU Dian<sup>1</sup>

基金项目: 国家自然科学基金 (No. 30360096; No. 81060139)

作者单位: 1 大理学院病原与媒介生物研究所, 大理 671000; 2 观澜人民医院, 深圳 518110

\* 通讯作者, E-mail: xgguo2002@yahoo.com.cn