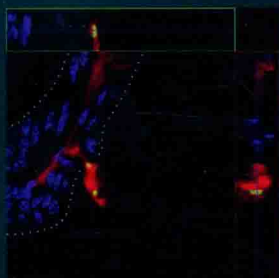


读
后
感

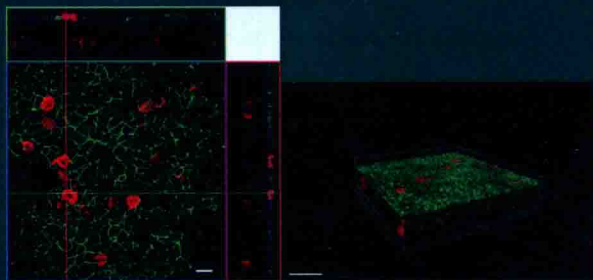
疫苗是防止动物传染病的有效措施，该书结合黏膜免疫的特点介绍近年来黏膜免疫疫苗及其发展策略，尤其是在新型黏膜免疫佐剂和主动黏膜免疫递送系统方面，对最新的进展做了深入和详细的介绍，为有效提高黏膜免疫力奠定了基础。

——夏咸柱 中国工程院院士

人和动物的传染病大都是通过消化道、呼吸道进行传播。通过黏膜免疫可以切断病原的传播途径，有效预防传染病的发生。黏膜免疫操作简便、安全，减少疼痛（人）和应激反应（动物），因此黏膜免疫不仅对预防人类还是对预防动物（主要是家畜和家禽）传染病都具有诱人的应用前景。但黏膜免疫在我国还不为大多数人所知，临床应用方面上仅仅处于起步阶段。本书收集了近年来大量有关黏膜免疫的研究文献，在参考国外几本有关本书黏膜免疫学的书籍基础上，精心策划撰写本专著。本书的出版将会有助于我国黏膜免疫的推广和应用，为有效防控人类和动物的传染病发挥重要的作用。



小肠绒毛中树突状细胞通过肠上皮细胞间向肠腔中伸出突起



肠上皮细胞与树突状细胞共培养模型

（封底照片由秦涛博士和阴银燕博士提供）



科学出版中心 生物分社
联系电话：010-64012501
E-mail: lifescience@mail.sciencep.com
网 址: <http://www.lifescience.com.cn>



本书更多信息请扫码

www.sciencep.com



定 价: 180.00元

销售分类建议: 生物学; 基础医学

国家科学技术学术著作出版基金资助出版

国家自然科学基金项目 (31172302, 31372465)

国家公益性农业行业科研专项 (201303046)

新生物学丛书

黏膜免疫及其疫苗设计

Mucosal Immunization and Vaccine Strategies

杨 倩 著

科学出版社

北 京

内 容 简 介

本书主要包括四大部分。首先介绍了黏膜免疫的发展历史,第一部分的主要内容是详细介绍黏膜屏障及其与黏膜免疫的关系,详细描述了各个黏膜免疫途径(消化道、呼吸道和生殖道)及其相关组织和细胞(第二章和第三章)。第二部分的主要内容是深入讨论了黏膜免疫机制,主要从与黏膜免疫密切相关的M细胞、肠上皮细胞、树突状细胞、T细胞、Th17细胞、上皮内淋巴细胞、SIgA、淋巴细胞归巢、口服免疫耐受、黏膜免疫的调节、黏膜免疫的衰老等方面进行详细阐述(第四章)。第三部分的主要内容是阐明以黏膜感染为主的消化道传染病、呼吸道传染病和寄生虫感染疾病的感染机制和黏膜免疫机理(包括第五章、第六章和第七章)。第四部分较全面介绍了近年来黏膜免疫疫苗及其发展策略,包括黏膜免疫佐剂、主动黏膜免疫递送系统、被动黏膜免疫递送系统和植物口服载体等,以及消化道免疫特点和呼吸道疫苗设计的基本原理及策略(第八章),通过各种方法有效提高黏膜免疫力。

本书可供各类医学院、农林院校动物医学(兽医)、动物科学(畜牧)、综合性大学动物专业的研究生、教师及研究人员参考使用。亦可为医学科学院、农业科学院(畜牧兽医所)、各省疾病预防控制中心的有关专业(主要是传染病和免疫学方面)的研究人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

黏膜免疫及其疫苗设计/杨倩著. —北京:科学出版社, 2016.1

(新生物学丛书)

ISBN 978-7-03-047076-8

I. ①黏… II. ①杨… III. ①黏膜—免疫学②疫苗—研究 IV. ①R392
②R979.9

中国版本图书馆CIP数据核字(2016)第010460号

责任编辑:罗 静 田明霞/责任校对:郑金红

责任印制:徐晓晨/封面设计:刘新新

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

北京东华虎彩印刷有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2016年1月第一版 开本:787×1092 1/16

2016年1月第一次印刷 印张:29 1/4

字数:680 000

定价:180.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

《新生物学丛书》专家委员会成员名单

主 任：蒲慕明

副主任：吴家睿

专家委员会成员（按姓氏汉语拼音排序）：

昌增益	陈洛南	陈晔光	邓兴旺	高 福
韩忠朝	贺福初	黄大昉	蒋华良	金 力
康 乐	李家洋	林其谁	马克平	孟安明
裴 钢	饶 毅	饶子和	施一公	舒红兵
王 琛	王梅祥	王小宁	吴仲义	徐安龙
许智宏	薛红卫	詹启敏	张先恩	赵国屏
赵立平	钟 扬	周 琪	周忠和	朱 祯

《新生物学丛书》丛书序

当前，一场新的生物学革命正在展开。为此，美国国家科学院研究理事会于 2009 年发布了一份战略研究报告，提出一个“新生物学”（New Biology）时代即将来临。这个“新生物学”，一方面是生物学内部各种分支学科的重组与融合，另一方面是化学、物理、信息科学、材料科学等众多非生命学科与生物学的紧密交叉与整合。

在这样一个全球生命科学发展变革的时代，我国的生命科学研究也正在高速发展，并进入了一个充满机遇和挑战的黄金期。在这个时期，将会产生许多具有影响力、推动力的科研成果。因此，有必要通过系统性集成和出版相关主题的国内外优秀图书，为后人留下一笔宝贵的“新生物学”时代精神财富。

科学出版社联合国内一批有志于推进生命科学发展的专家与学者，联合打造了一个 21 世纪中国生命科学的传播平台——《新生物学丛书》。希望通过这套丛书的出版，记录生命科学的进步，传递对生物技术发展的梦想。

《新生物学丛书》下设三个子系列：科学风向标，着重收集科学发展战略和态势分析报告，为科学管理者和科研人员展示科学的最新动向；科学百家园，重点收录国内外专家与学者的科研专著，为专业工作者提供新思想和新方法；科学新视窗，主要发表高级科普著作，为不同领域的研究人员和科学爱好者普及生命科学的前沿知识。

如果说科学出版社是一个“支点”，这套丛书就像一根“杠杆”，那么读者就能够借助这根“杠杆”成为撬动“地球”的人。编委会相信，不同类型的读者都能够从这套丛书中得到新的知识信息，获得思考与启迪。

《新生物学丛书》专家委员会

主 任：蒲慕明

副主任：吴家睿

2012 年 3 月

序

近年来，人和动物的传染病层出不穷，不仅动物的传染病给我国家畜家禽养殖业带来了巨大损失，动物传给人的新的传染病也呈上升趋势。尽管每年有大量新型疫苗上市，但依然很难阻止传染病的不断发生，探究其原因主要是由于传统的预防途径操作繁琐，很难普及到所有的动物（尤其是散养的动物，如猪、狗等）。感染人和动物的大多数病原微生物大都是通过消化道、呼吸道进入体内。如果能切断这些传播途径就能有效控制这些传染病的发生。多年来的临床经验表明，传统的免疫方式从免疫效率、人道主义和动物福利等方面来看已不能满足人和家畜家禽传染病的预防。而黏膜免疫以减少疼痛、简便、更舒适的方式预防传染病向传统的免疫方式发起了挑战。黏膜免疫方法简便，省时省力，易于推广，通过黏膜途径（呼吸道和消化道）可直接阻断传播途径。如果黏膜免疫预防各种传染病在家畜家禽养殖业中广泛推广，对免疫接种产生重大变革。这将对我国畜牧业的发展产生积极的推动作用。

疫苗是防止动物传染病的有效方法之一，该书紧紧围绕黏膜免疫疫苗的研发详细阐述有关黏膜免疫的理论。首先介绍黏膜免疫的历史，从基本概念入手，介绍了黏膜免疫的一些理论和概念，然后逐渐深入探讨黏膜免疫的各种机制；最后结合生产应用介绍近年来黏膜免疫疫苗及其发展策略，尤其是在新型黏膜免疫佐剂和主动黏膜免疫递送系统方面引进了最新进展。该书由浅入深向广大有关学者介绍黏膜免疫的理论和知识，涵盖几乎所有的黏膜免疫理论和知识，在国内是第一本有关黏膜免疫的专著，对预防我国传染病的发生将发挥积极的作用。

中国工程院院士

夏咸柱

2015年10月

前 言

感染人和动物的绝大多数病原微生物都是通过消化道、呼吸道进入体内。如果能切断这些传播途径就能有效控制这些传染病的发生。黏膜免疫就是通过消化道、呼吸道和生殖道等黏膜处建立起坚强的免疫力来抵抗病原微生物入侵的。此外,传统的免疫方式(系统免疫:肌内注射和皮下注射)从免疫效率、人道主义和动物福利等方面来看已不能满足人和家畜家禽传染病预防的需要。黏膜免疫以能减少疼痛(人)或应激反应(动物),以及更舒适、简便的预防方式等巨大优势,向传统的免疫方式发起了挑战。在临床上应用呼吸道或消化道黏膜免疫(鼻腔疫苗或口服疫苗)预防传染病在国内外已经开始推广,如美国已应用滴鼻免疫预防流感,应用口服免疫预防轮状病毒的感染。目前国外已有6种人用黏膜疫苗得到正式批准使用,如口服脊髓灰质炎疫苗、甲肝减毒活疫苗、伤寒菌苗、口服卡介苗和口服腺病毒疫苗。我国从20世纪60年代就开始应用口服脊髓灰质炎糖丸预防脊髓灰质炎的感染。但总体来说,与国外相比我国黏膜免疫理论研究滞后,很少有相关黏膜疫苗得到广泛应用。其中主要原因和困难是对人体和动物的呼吸道与肠道免疫系统了解及研究不够深入。

黏膜免疫学具有诱人的应用前景,但黏膜免疫远比全身系统免疫的结构和功能复杂得多。本书在国内外首次对黏膜免疫的有关概念、理论,以及与系统免疫的区别和联系都进行了详细阐明和高度概括,并对各种免疫途径的黏膜疫苗设计进行了详细阐述。本书大致分为四个部分:第一部分详细介绍各个黏膜免疫途径及其相关组织和细胞。第二部分深入讨论了黏膜免疫机制,主要在与黏膜免疫有关的细胞如肠上皮细胞、M细胞、树突状细胞、SIgA、T细胞、上皮内淋巴细胞、淋巴细胞归巢、口服免疫耐受、黏膜免疫的调节、黏膜免疫的衰老等方面展开探索。尤其是首次对共同黏膜免疫系统进行了详细阐述和归纳。第三部分概括叙述了黏膜感染与免疫的重要疾病如消化道感染螺旋杆菌、霍乱弧菌、志贺氏菌、肠致病性大肠杆菌、轮状病毒等;呼吸道感染流感病毒、冠状病毒、鼻病毒、呼吸道合胞体病毒等。第四部分较全面介绍了近年来黏膜免疫疫苗及其发展策略,包括黏膜免疫增强剂、主动黏膜免疫递送系统、被动黏膜免疫递送系统和植物口服载体等,以及呼吸道和消化道免疫特点、呼吸道和消化道疫苗设计的基本原理。黏膜表面环境复杂(大量的食物抗原和共生菌)致使黏膜产生的免疫反应较弱,因此,黏膜免疫的调节、免疫佐剂和疫苗的设计成为本书关注的重点。此外,本书还对黏膜免疫最前沿的进展如黏膜中上皮内淋巴细胞的运动性,黏膜中的天然免疫细胞、Treg细胞及靶向树突状细胞、M细胞和新生儿Fc受体的消化道免疫策略等做了详细介绍。

近10年我国人畜共患病的频繁发生,以及一些动物重大传染病的发生如禽流感、链球菌病、布鲁氏菌病和猪丹毒等严重危害到人类的健康。人类传染病和动物传染病关系越来越密切,动物免疫学和人类免疫学具有同样重要的地位。本书的一大亮点是将人的免疫学与兽医免疫学紧密结合起来撰写,强调了人用疫苗与兽用疫苗都具有同样重要的

作用，人用疫苗的研制需要建立在兽用疫苗的基础上。

近年来，生命科学技术日新月异，作为生命科学领域前沿的免疫学发展迅速，新的观念、新的理论及新的技术也在飞速充实着黏膜免疫学领域。黏膜免疫学多年来在国外一直受到高度重视，如国外三大著名杂志 *Nature*、*Science*、*Cell* 一直不断发表有关黏膜免疫的最新文章，充分显示了黏膜免疫的重要性。

本书主要瞄准近年来黏膜免疫的最新进展，收集资料大多都是国外近几年发表的文章和论文，经过翻译和整理编入本书中。为了节省篇幅，本书对涉及一般免疫学的理论不再重复赘述；同时为了避免繁杂落俗的编写套路，作者结合教材的编写方式，以由浅入深、简明扼要、通俗易懂的方式进行撰写，如存在不足之处敬请读者提出宝贵意见。

本书从构思、设计、收集资料、撰写到完稿，作者付出了大量心血和时间，历时 6 年多，终于与广大读者见面。在本书收集材料和撰写期间我校教师王先玮、费荣梅、宋小凯、庾庆华、袁丽霞、张小飞、邢鹏和林健参加了少量编写工作，在此表示衷心感谢！

著 者

2015 年 10 月

目 录

《新生物学丛书》丛书序

序

前言

第一章 绪论	1
第一节 黏膜免疫的发展简史	2
第二节 黏膜免疫与传统免疫的区别	4
第三节 黏膜免疫的优势	7
第四节 黏膜免疫的发展方向	8
参考文献	9
第二章 黏膜屏障及其与黏膜免疫的关系	15
第一节 黏膜上皮的结构屏障	15
第二节 黏液屏障	22
第三节 微生物屏障	37
参考文献	41
第三章 黏膜免疫系统及其相关淋巴组织	62
第一节 消化道及其相关淋巴组织	62
第二节 呼吸道及其淋巴相关组织	70
第三节 生殖道免疫途径及其相关组织	80
第四节 禽类黏膜相关淋巴组织	84
参考文献	87
第四章 黏膜免疫机制	105
第一节 M 细胞与黏膜免疫	106
第二节 树突状细胞与黏膜免疫	120
第三节 SIgA 与黏膜免疫	135
第四节 T 细胞与黏膜免疫	142
第五节 上皮内淋巴细胞与黏膜免疫	152
第六节 肠上皮细胞与黏膜免疫	155
第七节 淋巴细胞归巢与黏膜免疫	160
第八节 共同黏膜免疫系统	165
第九节 口服免疫耐受与黏膜免疫	169
第十节 黏膜免疫的衰老	171
第十一节 黏膜免疫的调节	174
参考文献	178

第五章 消化道感染及其黏膜免疫	246
第一节 幽门螺旋杆菌感染及其黏膜免疫	246
第二节 鼠伤寒沙门氏菌感染及其黏膜免疫	250
第三节 霍乱弧菌感染和黏膜免疫	254
第四节 志贺氏菌感染与黏膜免疫	257
第五节 致病性大肠杆菌在上皮细胞的感染和黏膜免疫机制	260
第六节 轮状病毒及其黏膜免疫	262
第七节 脊髓灰质炎病毒与黏膜免疫	266
第八节 猪流行性腹泻病毒与黏膜免疫	269
参考文献.....	272
第六章 呼吸道感染及其黏膜免疫	289
第一节 流感病毒感染与黏膜免疫	289
第二节 呼吸道合胞体病毒感染与黏膜免疫	293
第三节 严重急性呼吸综合征相关冠状病毒及其黏膜免疫	296
第四节 猪肺炎支原体感染和黏膜免疫机制	298
参考文献.....	300
第七章 寄生虫感染及其黏膜免疫特点	310
第一节 弓形虫黏膜感染和黏膜免疫	310
第二节 隐孢子虫黏膜感染和黏膜免疫	314
第三节 动物线虫在小肠的黏膜免疫反应	316
第四节 片形吸虫在小肠的黏膜免疫反应和黏膜免疫机制	320
第五节 鸡球虫在小肠的黏膜免疫反应和黏膜免疫机制	322
参考文献.....	325
第八章 黏膜免疫疫苗设计及其策略	333
第一节 黏膜免疫增强剂.....	335
第二节 被动黏膜免疫递送系统	352
第三节 主动黏膜免疫递送系统	365
第四节 消化道疫苗设计的基本原理	379
第五节 呼吸道疫苗设计的基本原理	385
第六节 生殖道疫苗设计的基本策略	394
第七节 点眼免疫疫苗设计的基本原理	395
参考文献.....	397
附录 英汉对照	444
后记	458

第一章 绪 论

人和动物的黏膜表面如胃肠道、呼吸道和生殖道黏膜是大多数病原体入侵机体的门户，95%以上的传染病病原微生物都由黏膜入侵机体。例如，人类的幽门螺旋杆菌（*Helicobacter pylori*）、霍乱弧菌（*Vibrio cholerae*）、肠毒素大肠杆菌（enterotoxigenic *Escherichia coli*）、鼠伤寒沙门氏菌（*Salmonella typhimurium*）、志贺氏菌（*Shigella* spp.）、空肠弯曲杆菌（*Campylobacter jejuni*）、轮状病毒（rotavirus）等都是从消化道感染的；人类的流感病毒（influenza virus）、呼吸道合胞体病毒（respiratory syncytial virus）、SARS、麻疹病毒（measles）、腮腺炎病毒（mumps）、风疹病毒（rubella）、水痘病毒（varicella）、肺炎支原体（*Mycoplasma pneumoniae*）、肺炎链球菌（*Streptococcus pneumoniae*）、流感嗜血杆菌（*Haemophilus influenzae*）和结核分枝杆菌（*Mycobacterium tuberculosis*）等都是从呼吸道感染的；人类免疫缺陷病毒（human immunodeficiency virus, HIV）、单纯疱疹病毒（herpes simplex virus）、衣原体（*Chlamydia*）和淋病双球菌（*Neisseria gonorrhoeae*）等都是从生殖道感染的（Holmgren et al., 2003; Holmgren and Czerkinsky, 2005）。只有极少数的感染引起的传染病是通过节肢动物或是其他昆虫叮咬或血液进行传播的。世界卫生组织在 2004 年发布报告指出，世界上超过 90% 的感染性疾病引起人死亡的原因来源于呼吸道感染、HIV/AIDS、腹泻性痢疾、结核病、疟疾和麻疹。除了麻疹，其余 5 种人的重要疾病都是主要通过黏膜感染进行传播的（Davey, 2005）。由此可见，诱导黏膜免疫力是防止病原微生物通过黏膜感染最有效的方法。而多年来通过皮下注射或肌肉注射疫苗通常无法提供有效的黏膜保护。

动物的传染病虽然不像人的感染性疾病危害大，但近年来人兽共患病的不断发生已给人类构成很大的威胁。目前动物的传染病也是影响养殖业最大的根源。所有国家畜产品的质量和数量都取决于家畜和家禽传染病的发生。动物的传染病绝大多数病原微生物也是由黏膜入侵的，如猪的口蹄疫（foot and mouth disease）、猪繁殖与呼吸综合征（porcine reproductive and respiratory）、猪流感（swine influenza）、猪支原体肺炎（mycoplasmal pneumonia of swine）、猪传染性胃肠炎（transmissible gastroenteritis）、猪流行性腹泻（porcine epidemic diarrhea, PED），家禽的禽流感（avian influenza）、新城疫（Newcastle disease）等。然而，目前几乎所有的疫苗都是针对血液和体内的免疫器官（如骨髓、淋巴小结、脾脏）研制的，而针对黏膜下的淋巴相关组织建立局部免疫防线的疫苗却很少。针对全身免疫器官的疫苗只能刺激全身产生免疫应答，而不能诱导黏膜表面产生免疫反应。

黏膜表面（包括消化道、呼吸道和生殖道黏膜）在体内占有的面积很大，比身体皮肤的面积大 400 多倍（Takahashi and Kiyono, 1999）。黏膜免疫系统是指机体与外界相通的腔道黏膜表面的免疫系统，主要由消化道、呼吸道、泌尿生殖道黏膜及某些外分泌腺（如唾液腺、泪腺及乳腺等）黏膜相关的淋巴组织组成。该系统在机体内的覆盖面积

很大,是动物体防御外界病原微生物的第一道屏障。黏膜免疫系统的淋巴组织不仅在体内分布很广,而且数量也最多。已知黏膜部位的免疫细胞(如T细胞、B细胞)和免疫分子(如SIgA、SIgM)的数量均超过全身免疫系统,黏膜免疫系统在防御传染病的发生中发挥的作用将越来越重要。

黏膜免疫就是直接应用疫苗到黏膜表面如消化道、呼吸道、泌尿生殖道黏膜,诱导局部黏膜产生免疫应答反应。黏膜免疫最大的优点是可以模拟自然感染途径,直接刺激呼吸道和消化道黏膜下丰富的淋巴组织产生大量免疫活性细胞和抗体,直接切断病原微生物入侵机体的途径,因此,黏膜免疫对阻止由黏膜入侵机体内的病原微生物效果最好(Dietrich et al., 2003; Levine and Campbell, 2004)。由于所处的解剖位置和分布部位的特殊性,黏膜免疫系统既是机体系统免疫的重要组成部分,又具有其相对独立性,如消化道免疫后在回肠集合淋巴结处黏膜致敏的淋巴细胞可经胸导管进入血液循环,在特异的归巢受体(homing receptor)介导下,大多数(80%)细胞又回到肠黏膜部位发挥作用。同时,约20%的细胞进入其他黏膜部位,参加广泛的黏膜免疫反应,使不同黏膜部位的免疫反应形成一个免疫网络——共同黏膜免疫系统(common mucosal immune system, CMIS)。

第一节 黏膜免疫的发展简史

历史上有关黏膜免疫的记载最早出现在16世纪。当时人的天花(人痘)的传播和流行严重危害到人类的健康和生命。古人曾用天花患者干的结痂通过鼻腔免疫预防人的天花。有人将天花患者脱落的结痂研磨成粉末通过鼻腔黏膜为健康人“接种”,从而获得对天花的免疫能力。这种通过鼻腔接种的方式是最早的黏膜免疫方式。具体的方法是将痊愈期天花患者脱落的痘痂研成粉末,用一根小管子吹入被接种者的鼻孔。这种预防天花的方法很快在全国各地流传应用。例如,《张氏医通》记载:“迩年有种痘之说,始自江右,达于燕齐,近则遍行南北。”后来名医龚廷贤的弟子戴曼公将人痘接种术介绍到日本(1652年前后)。然后又传到了印度和土耳其。但应用康复人脱落的结痂接种有时也会引起严重的感染。随着鼻腔接种的不断传播,接种的技术和“疫苗”也在不断改进,Edward Jenner(1749~1823)发现从事挤奶的妇女手上经常患有类似天花的痘苗病毒引起的牛痘痂,但从不发生天花。牛痘苗病毒与天花病毒很像,但对人的致病性较差。应用牛痘苗病毒鼻腔接种预防人的天花比直接应用天花患者脱落的结痂更安全,于是应用牛痘苗病毒进行免疫接种得到广泛应用。

口服黏膜免疫最早源于回肠集合淋巴结也称派伊尔氏结(Peyer's patch, PP)的发现。瑞士解剖学家在1673年首次发现肠道中派伊尔氏结的结构,以自己的名字进行命名,并于1677年正式发表。1940年俄罗斯病理学家Alexandre Besredka领导的巴斯德研究所进行了一系列口服细菌获得免疫保护的试验。应用含有鸡霍乱弧菌的饲料喂鸡,肠道内产生抗鸡霍乱特异性抗体后可保护鸡免受鸡霍乱弧菌的感染;饲喂霍乱弧菌和伤寒杆菌的灭活菌或活菌后,动物可抵抗霍乱弧菌和伤寒杆菌的感染;应用肺结核杆菌、耶尔森菌和白喉杆菌饲喂动物后也获得不同程度的免疫保护效果。这些试验表明肠道局部分泌液

中的抗体可能发挥了重要的作用。于是 Alexandre Besredka 继续做了以下试验,应用志贺氏菌 (*S. dysenteriae*) 给兔子口服后发现兔子胃肠道中的抗体水平很高,但血清中的抗体并不高,说明局部黏膜的抗体与血清中的抗体没有关系,局部黏膜产生的抗体具有很好的保护性。Davies 进一步发现正常免疫志贺氏菌人的凝集素抗体不高,而从患有志贺氏菌病康复后的患者粪便中发现效价高达 1:80 的凝集素抗体,表明粪便中高效价的抗体来源于局部胃肠道而不是血液 (Davies, 1922)。1946 年一些研究人员开始应用脊髓灰质炎 (poliomyelitis) 减毒活疫苗进行口服免疫的研究,减毒的脊髓灰质炎病毒可以在肠内进行繁殖,后者产生的抗体可防止以后入侵的病毒进行感染。随后做了大量的试验证明口服免疫的有效性和安全性。

1960 年以后口服黏膜免疫学快速发展起来。1961 年应用脊髓灰质炎减毒三价活疫苗通过口服免疫取得很大成功,从全球上根除了脊髓灰质炎传染病 (Maldonado, 2003)。预防脊髓灰质炎的成功不仅成为消灭传染病的一个标志,也为其他病原进行口服免疫带来了广阔的应用前景。例如,1970 年应用口服伤寒沙门氏菌较有效预防了伤寒症 (50%~80%),接受接种的人有 62%~78% 在 5~7 年得到有效的保护 (Levine, 2003)。

鼻腔免疫虽然发现得很早,但发展稍落后于口服免疫。19 世纪初鼻腔免疫只有零散的研究。例如, Bull 和 McKee 在 1929 年通过鼻腔免疫预防传染性肺炎,应用灭活的肺炎链球菌悬浮液鼻腔免疫兔子 8 天后攻毒可保护 83% 的动物,11 天后攻毒可保护所有的动物,而未免疫的动物有 57% 攻毒后死亡;1937 年有人又做了白喉的鼻腔免疫试验,应用白喉类毒素给先进行皮下免疫的人再进行鼻腔免疫,结果血清中的抗体显著增加 (Jensen, 1937); Fazekas (1950) 对鼻腔免疫预防流感也做了试验,发现呼吸道抗体水平升高可以预防流感的发生。Waldman 等 (1968) 再次对鼻腔免疫展开深入研究。由于活的弱毒流感病毒通过鼻腔免疫可以模拟自然感染预防,流感病毒成为鼻腔免疫的研究重点 (Maassab, 1967)。研究发现鼻腔免疫可以预防人流感 (Briscoe, 1975; Davis, 2001)。应用百日咳菌苗进行鼻腔喷雾发现,其可以增加呼吸道分泌物中 IgA 抗体的水平,但对血清中抗体影响不大。应用灭活疫苗通过鼻腔免疫也可刺激局部产生分泌性 IgA 抗体 (Waldman et al., 1970; Wright et al., 1983)。

Gugler 和 von Muralt (1959) 发现了黏膜免疫与乳腺的密切关系,乳腺中的分泌型 IgA (SIgA) 与其他外分泌腺中的性质和功能一样,都具有抗病毒、抗菌的能力 (Chodirker and Tomasi, 1963; Bienenstock and Tomasi, 1968)。小肠免疫后产生的淋巴细胞可向唾液、乳腺和呼吸道中迁移 (McWilliams et al., 1975; Husband and Gowans, 1978)。口服疫苗后胃肠道、唾液腺和乳腺 IgA 水平显著升高 (Holmgren and Czerkinsky, 2005)。进一步研究发现鼻相关淋巴组织 (nasal-associated lymphoid tissue, NALT) 和小肠派伊尔氏结 (PP) 中的 IgA 抗体分泌细胞都能归巢到乳腺中 (Montgomery et al., 1974, 1978; Goldblum et al., 1975)。

黏膜免疫真正得到重视是在 20 世纪 80 年代的晚期。随着免疫学、分子生物学和传染病学的发展,人们对黏膜免疫调节有了更新、更全面的认识。对早期由细菌引起的感染如霍乱、痢疾、伤寒及肺炎的研究转向对由病毒引起感染的研究。黏膜免疫最成功预防的传染病就是脊髓灰质炎,通过口服脊髓灰质炎活疫苗已在全世界基本消灭该病的感

染和发生。病毒疫苗如脊髓灰质炎和轮状病毒,细菌疫苗如伤寒热、霍乱及表达外源抗原的活菌苗和表达抗原的可食性植物疫苗相继被开发出来(Dietrich et al., 2003; Tacket et al., 2004)。在美国通过鼻腔免疫预防流感的疫苗早在 1995 年就已经开发出来了(Quiding-Jarbrink et al., 1995)。2003 年一种适应较冷温度的三价流感疫苗在美国得到 FDA 的许可证,广泛应用在 5~49 岁的健康人群中。

在预防动物的传染病上利用鸡新城疫弱毒苗(IV 系苗)点眼预防鸡新城疫已较为普遍;应用猪伪狂犬疫苗滴鼻预防猪伪狂犬病在我国大型养猪场已开始推广;应用羊布鲁氏菌 5 号苗滴鼻或气雾免疫山羊或绵羊预防羊布鲁氏菌病的发生只在某些地区推广。应用口蹄疫弱毒苗通过气雾喷鼻免疫牛预防牛口蹄疫发生曾广泛推广(近年来因禁用弱毒苗而暂时停止)。

第二节 黏膜免疫与传统免疫的区别

传统免疫即传统的系统免疫(systemic immune)或全身免疫,通过肌肉注射(intramuscularly injection)或皮下注射(subcutaneous injection)疫苗,诱导全身产生免疫反应。黏膜免疫(mucosal immune)则是应用疫苗通过饮水或饲喂(消化道)、滴鼻或喷雾(呼吸道)、点眼(只用于家禽)等诱导消化道、呼吸道、泌尿生殖道黏膜免疫动物,诱导局部产生黏膜免疫反应和适当的全身免疫反应。在黏膜诱导部位(或黏膜诱导位点)疫苗经抗原呈递细胞摄取活化 B 细胞和 T 细胞,增殖后的淋巴细胞重新分布到效应部位发挥效应功能。系统免疫通过血液循环和淋巴循环形成一个整体,全身的免疫反应水平基本一致,而黏膜免疫由不同部位相对分离的黏膜区域构成,每个黏膜区域的免疫反应水平并不一致(McGhee et al., 1992)。因此黏膜免疫从组成和解剖组织学上都与系统免疫不同,黏膜免疫比系统免疫结构要复杂得多,使黏膜免疫相对独立于系统免疫,主要局限在黏膜表面(Brandtzaeg et al., 1999)。黏膜免疫存在不同的免疫诱导位点和效应位点(McGhee and Kiyono, 1999);与系统免疫最大的不同是由于黏膜直接与大量的病原微生物接触,免疫诱导后产生的免疫反应也不同。因此,黏膜免疫与传统系统免疫的主要区别体现在免疫途径、免疫部位、免疫球蛋白的类型、免疫活性细胞的类型、归巢现象等几个方面。

一、免疫部位与免疫器官组织结构

系统免疫系统主要由位于淋巴循环通路上的许多淋巴结和位于血液循环通路上的脾等外周淋巴器官组成,也包括中枢淋巴器官胸腺、骨髓和禽类的腔上囊。黏膜免疫系统主要包括消化道、呼吸道、泌尿生殖道黏膜及某些外分泌腺的淋巴组织。这些黏膜中(黏膜上皮内及黏膜下)分布着大量的免疫细胞、较多的弥散的黏膜相关淋巴组织(diffuse mucosa associated lymphoid tissue, D-MALT),以及一些有一定组织结构的黏膜相关淋巴组织(mucosa associated lymphoid tissue),如派伊尔氏结(Peyer's patch, PP)、扁桃体(tonsil)、阑尾(appendix)、肠相关淋巴组织(gut-associated lymphoid tissue, GALT)、鼻相关淋巴组织(nasal-associated lymphoid tissue, NALT)、支气管相关淋巴组织

(bronchus-associated lymphoid tissue, BALT) 等。在以上黏膜免疫系统的淋巴组织中没有输入淋巴管, 只有输出淋巴管, 淋巴组织中免疫反应产生依赖黏膜表面抗原的诱导。根据解剖和功能的不同, 黏膜免疫系统可分为诱导部位(或诱导位点, inductive site)和效应部位(或效应位点, effective site)。诱导位点位于抗原诱导起始反应的部位, 主要对抗原进行摄取、处理和呈递, 诱导免疫反应, 然后将抗原呈递给幼稚性 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞。诱导位点主要由 MALT 和局部附近的淋巴结(drainage lymph node, LN)构成, 如派伊尔氏结、扁桃体、阑尾、胃肠道相关淋巴组织、鼻相关淋巴组织、支气管相关淋巴组织、黏膜下弥散的淋巴组织及肠系膜淋巴结等。诱导位点的 MALT 一般由一层上皮所覆盖, 称为滤泡结合上皮, 包括肠上皮细胞和微皱褶细胞(microfold cell, M 细胞)(详见第四章第一节)。诱导位点包括以上黏膜相关淋巴组织。效应位点主要是弥散分布的淋巴组织(Kiyono and Fukuyama, 2004; Kunisawa et al., 2008), 抗原呈递后诱导产生活化的 T 细胞和 B 细胞, 进而产生特异性免疫反应(主要是 SIgA), 发挥免疫保护的作用。效应位点包括消化道、呼吸道和生殖道的黏膜固有层组织、乳腺及禽哈德氏腺等(详见第三章)。黏膜免疫系统的外源性抗原直接来源于黏膜表面。而系统免疫摄取的抗原则依赖血管和淋巴循环提供给淋巴结和脾, 其结构不分诱导部位和效应部位。

由于黏膜免疫系统主要由消化道、呼吸道、泌尿生殖道黏膜及某些外分泌腺的淋巴组织构成, 因此, 黏膜免疫系统中的免疫器官不像系统免疫系统中的具有完整的被膜, 成为一个专职的免疫器官。对于机体的健康来讲, 黏膜免疫系统对系统免疫系统的完善是一个更有效的补充。

二、免疫球蛋白类型

全身免疫系统产生的抗体主要是 IgG, 而黏膜免疫则具有独特的免疫球蛋白分子。IgA 抗体是黏膜免疫的主要效应因子。分泌型 IgA(secretory IgA, SIgA)在黏膜免疫防御中起着重要作用, 存在于黏膜表面的 SIgA 能阻止病原体的黏附和入侵, 而胞内转运过程中的 IgA 可中和胞内感染的病毒(详见第四章第三节)。尽管血液中也有较多的 IgA, 但 IgA 都是以单体的形式存在。SIgA 抗体是黏膜免疫的主要效应因子。局部黏膜中产生的 IgA 是由 J 链分子连接形成的二聚体 IgA, 后者再与黏膜上皮细胞和外分泌腺产生的分泌片段结合形成 SIgA。SIgA 在黏膜免疫防御中起着重要作用(详见第四章第三节)。IgM 在局部黏膜中含量也较高, 同时在黏膜中也有一定比例的 IgE 和 IgG。

三、免疫活性细胞

黏膜免疫系统中除了含有大量的 T 细胞、B 细胞、巨噬细胞和树突状细胞外, 还有 3 类性质独特的免疫细胞: M 细胞、上皮内淋巴细胞和肠黏膜上皮细胞。M 细胞位于 PP 的滤泡相关上皮内和黏膜上皮细胞间, 其顶面对黏膜腔, 其基底膜向顶部呈穹隆状突起, 形成一口袋状, 内装有 T 细胞和 B 细胞及少数巨噬细胞。M 细胞可有效摄取黏膜腔中的抗原, 将抗原转运至邻近的抗原呈递细胞。此外, M 细胞也是黏膜腔中病原体进入黏膜免疫系统的门户(详见第四章第一节)。

上皮内淋巴细胞 (intraepithelial lymphocyte, IEL) 位于黏膜上皮细胞间, 每 5~10 个肠上皮细胞中间就有一个 IEL。IEL 是第一个与黏膜表面抗原接触的免疫细胞, 其在黏膜免疫耐受与黏膜免疫应答激活及黏膜免疫防御中具有重要作用。肠黏膜上皮细胞是机体内环境的重要屏障, 承担着营养吸收、分泌转运、排泄等机体重要生理功能 (详见第四章第五节)。

黏膜上皮细胞所处的重要位置决定了其在黏膜免疫中的重要作用, 除了具有吸收功能外, 还有抗原呈递功能, 近年发现肠上皮细胞 (intestinal epithelium, IE) 表达类似 MHC I 类分子 CD1, 能呈递小肽、非肽类糖和脂类抗原, 在启动黏膜免疫相关的基因和分子中具有重要意义 (详见第四章第六节)。

此外, MALT 中的 T 细胞、B 细胞和树突状细胞类型及功能与系统免疫淋巴组织中的不同, 如淋巴细胞表面有归巢受体等 (详见第四章)。

四、归巢现象

归巢 (homing) 是黏膜免疫中特有的现象, 是指在黏膜部位致敏的免疫细胞, 经胸导管进入血液循环, 逐步分化成熟, 在特异归巢受体的介导下, 约 80% 的免疫细胞归巢到致敏部位的黏膜固有层或上皮内, 发挥免疫效应功能。另外约 20% 的免疫细胞进入其他的黏膜部位, 发生效应反应, 使不同黏膜部位的免疫反应相联系, 形成一个广泛的共同黏膜免疫系统网络 (详见第四章第七节)。

五、免疫耐受

黏膜免疫的免疫耐受或免疫不反应 (immunologic tolerance or immunologic unresponsiveness) 现象是在 20 世纪初发现的 (Wells, 1911)。抗原通过口服后会引引起局部黏膜免疫抑制 (口服耐受) 现象。与系统免疫不同, 黏膜 (尤其是消化道) 不仅是病原微生物的入口, 每天还接触大量的食物抗原和正常菌群, 因此, 黏膜免疫系统 (主要是消化道) 除了能对病原微生物进行免疫反应外, 还对食物中大量的抗原和正常菌群等产生免疫耐受, 这也是黏膜免疫系统与系统免疫系统的最大区别之一 (Mayer, 1997, 2000; Nagler-Anderson and shi, 2001)。免疫耐受是黏膜免疫独有的特点 (Czerkinsky et al., 1999) (详见第四章第九节)。肠道免疫耐受与肠道中微生物菌群、调节性 T 细胞、肠上皮细胞和树突状细胞有密切的关系 (Elisa Mazzini et al., 2014)。口服免疫的抗原用量、抗原的性质和免疫的次数对免疫耐受的产生非常重要 (Friedman and Weiner, 1994)。如果应用小剂量的可溶性的抗原多次通过口服免疫可导致宿主细胞免疫力降低 (Chen et al., 1994; Groux et al., 1997; Nagler-Anderson et al., 2004)。而如果应用大剂量的抗原口服免疫则可抑制宿主体液免疫和细胞免疫 (Whitacre et al., 1991; Melamed and Friedman, 1993; Chen et al., 1995)。解决免疫耐受的最好方法就是配合黏膜免疫佐剂、载体或抗原呈递系统 (Czerkinsky and Holmgren, 1995; Mestecky et al., 2003)。

此外, 黏膜免疫系统不同诱导位点的组织结构和细胞组成也有所不同, 如消化道的 GALT、呼吸道的 NALT 等, 在本书的相关章节中均有详细介绍。

第三节 黏膜免疫的优势

在人和动物中通过免疫接种预防传染病主要是应用传统的免疫方式即肌内或皮下注射。目前全世界有 12 亿人接受免疫接种, 大约 10 亿为儿童 (Simonsen et al., 1999)。肌肉接种疫苗产生的疼痛给很多人带来了痛苦和抵触, 尤其是儿童对注射疫苗具有恐惧反应, 国外报道 20% 的儿童对接种疫苗有抵触 (Jacobson et al., 2001)。除以上缺点, 肌肉接种还需在医院专门训练和培训技术人员等烦琐程序 (Giudice and Campbell, 2006; Amorij et al., 2008)。在具体执行疫苗接种的过程中, 操作不规范是经常出现的问题, 如注射器和针头的消毒不完善、操作人员不按照规定及时更换针头, 人为导致血源病原微生物的传播 (Levine, 2003)。根据报道, 每年在 5 个发展中国家大约 10 亿接受免疫接种的儿童中 50% 的接种过程是不安全的。在接种过程中可能会感染其他传染病如肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 和人类免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV)。研究发现, 20%~80% 新发生的肝炎病毒感染来自于不安全的免疫接种 (Simonsen et al., 1999)。在大型家畜和家禽养殖场大规模免疫接种过程中也常发生人为造成病原微生物传播的事件, 造成了巨大的经济损失。

由以上可以看出, 传统的预防接种 (traditional vaccination strategy) 存在以下问题: ①需要培训大量的专业医务人员或技术人员进行操作, 耗时耗力; ②肌内注射给人带来不必要的疼痛, 对动物产生的应激反应常影响动物的生长, 从而使免疫规程得不到顺利执行; ③不正确和不合理地接种疫苗存在其他血源病原微生物传播的危险; ④传统的免疫预防接种由于多次注射, 疫苗在体内残留还会引起动物肉制品质量的下降, 间接影响食品安全和公共卫生; ⑤注射疫苗需要针头和注射器, 这些医疗废物对环境造成一定的污染。因此, 国外很多专家认为, 未来传统的预防接种必定被一种新型的 “自我给药, 无需针头和注射器疫苗” (self-administrable, needle-free and syringe-free vaccines) 所代替。

无针免疫接种 (needle-free vaccine delivery) 包括黏膜免疫和皮肤接种。黏膜免疫又包括消化道免疫、呼吸道免疫、生殖道免疫和眼结膜免疫 (点眼免疫) (详见第八章)。消化道免疫包括饮水免疫和舌下免疫 (详见第八章); 呼吸道免疫包括滴鼻免疫、气溶胶免疫和肺内免疫 (详见第八章)。黏膜免疫具有以下优点。①黏膜免疫具体操作 (如滴鼻和饮水) 不需要专门培训技术人员, 这样就节省了大量的资源 (节省人力、物力和财力)。在畜牧业上适合大规模集约化动物传染病的接种。②减少疼痛, 减少对动物的刺激, 不妨碍动物的生长。③黏膜免疫会降低因注射疫苗 (减少注射器污染) 而带来感染其他传染病的风险, 如降低乙型肝炎病毒和 HIV 的传播率。④模拟自然感染途径。⑤避免传统的免疫预防接种多次注射疫苗在体内残留, 引起动物肉制品质量的下降, 保证食品安全。⑥黏膜疫苗的制造过程也相对简化, 这会提升发展中国家疫苗制造的能力。消化道黏膜免疫不仅在黏膜局部和其他黏膜组织产生免疫应答, 还可引起全身性的体液免疫应答。消化道和呼吸道免疫的特点将在本书中详细介绍。

皮肤的表皮中含有较多的朗格汉斯 (Langerhans) 细胞, 可覆盖皮肤 25% 的面积 (Glenn