

抗寄生虫疫苗

(英) A.E.R. 泰勒 R. 马勒 著

王捷等译 何凯增等校

0.1

人民卫生出版社

Vaccines against Parasites

A. E. R. Taylor

R. Muller

Blackwell Scientific Publications

1980

抗寄生虫疫苗

[英] A. E. R. 泰勒 R. 马勒 著

王捷 等译

人民卫生出版社出版

(北京市崇文区天坛西里10号)

天津新华印刷四厂印刷

新华书店北京发行所发行

787×1092毫米32开本 6%印张 149千字

1984年8月第1版 1984年8月第1版第1次印刷

印数: 00,001—5,260

统一书号: 14048·4808 定价: 1.05元

[科技新书目78—75]

译者的话

寄生虫病的分布几乎遍及全球，在我国也是常见的多发病，对人类及牲畜的危害极大，严重影响生产劳动力和畜牧业的发展，造成国家经济巨大损失。多年来，许多寄生虫学家和免疫学家为了寻找防治寄生虫病的有效方法，在研制抗寄生虫疫苗方面作了很大努力，经过大量的探索和科学研究工作，取得了令人鼓舞的进展，发现了苗头。一九七九年十月下旬，英国寄生虫学会在伦敦召开了第十九次有关抗寄生虫疫苗的学术会议。该会的会议资料已由该学会汇编成册于一九八〇年发表。许多著名寄生虫学家和免疫学家在会上就研制预防人、畜几种主要寄生虫病的疫苗问题作了详尽的学术报告，介绍他们进行探索研究的过程和已取得的结果，并列出了供参考的数以千计的文献，所有会议内容为继续深入研究、发展抗寄生虫疫苗提供了线索和可能成功的途径。有鉴于此，我们将该会议的资料汇编进行了全文翻译，以供国内从事该项研究者参考，期能有助于抗寄生虫疫苗的研制，使疫苗接种防治人、畜寄生虫病得以实现，为保护劳动力，保障经济建设作出贡献。但是由于我们的水平有限，在译文中难免有不少不当和错误之处，请同道们和读者予以批评指正。

目 录

一、抗疟疫苗	1
(一) 化学治疗控制	2
(二) 人类的免疫力	2
(三) 动物疫苗接种	2
1. 用孢子接种	3
2. 用含虫红细胞接种	4
3. 用裂殖子接种	5
4. 用血液期原虫的亚细胞组分接种	6
5. 用配子接种	7
6. 非特异性免疫刺激	8
7. 动物模型 (注意事项)	9
(四) 疟原虫的培养	10
(五) 优先权	11
(六) 采用何种类型的疫苗	12
(七) 佐剂	13
(八) 寄生虫的逃避机理	13
1. 免疫抑制	14
2. 抗原变异	14
3. 可溶性复合物	15
(九) 疫苗接种的免疫病理性并发症	15
(十) 后勤问题	16
(十一) 哪一类免疫应答	17
1. 抗体与 T 细胞	17
2. 抗体	17
3. 其他 T 细胞的功能	19

4. 总结和设想	21
(十二) 人类接种疫苗的应用	22
二、抗梨浆虫的疫苗	35
(一) 引言	35
(二) 对牛重要的梨浆虫	37
(三) 致病的巴贝虫种	38
1. 牛巴贝虫	38
2. 二联巴贝虫	38
3. 离散巴贝虫	38
4. 贾氏巴贝虫	39
(四) 致病的泰累尔氏虫种	39
1. 环形泰累尔氏梨浆虫	39
2. 小泰累尔氏梨浆虫	40
3. 瑟氏泰累尔氏梨浆虫	40
(五) 抗牛巴贝虫的疫苗接种	42
1. 当前用的疫苗	42
2. 生产代疫苗的尝试	47
(1) 照射的疫苗	47
(2) 非特异性免疫	49
(3) 在异常宿主中传代而减毒的疫苗	49
(4) 死抗原	50
(六) 抗环形泰累尔氏梨浆虫的疫苗接种	52
(七) 抗小泰累尔氏梨浆虫的疫苗接种	56
1. 感染剂量的滴定	60
2. 照射法	60
3. 化学预防	61
(八) 抗梨浆虫婢源疫苗的前景	65
三、抗鸡球虫病的疫苗接种	81
(一) 引言	81

(二) 与接种有关的免疫应答	82
1. 不同种的免疫原性	82
2. 种和株的免疫特异性	83
3. 保护性抗原的来源	83
4. 抗原的使用方法	84
5. 免疫力的持续时间	84
6. 结论	85
(三) 接种的实验研究	85
1. 非生活的寄生虫材料的抗原性和免疫原的性能	85
2. 用活寄生虫的免疫法	87
(1) 减毒的虫株	87
1) 用物理因素处理卵囊	88
2) 通过适应和选育使虫株减毒	90
(2) 毒力株的使用	92
(3) 减毒株和毒力株的合并使用	93
(四) 目前使用的疫苗	94
(五) 将来的发展	95
四、抗锥虫的预防接种	107
(一) 非洲牛锥虫病	107
1. 免疫应答的性质及其并发症	109
(1) 抗原变异	110
(2) 免疫抑制	111
(3) 牛群中获得性和遗传性的带虫免疫	114
2. 将来疫苗接种的可能性	121
(1) 特异性免疫	122
(2) 非特异性免疫	123
(3) 寄生虫的减毒	123
3. 实际问题	124
(二) 美洲人体锥虫病 (恰加斯氏病)	126

1. 抗克氏锥虫的免疫力·····	127
2. 致病机理——一种免疫基础·····	129
3. 接种的研究·····	132
五、对绦虫的免疫 ·····	152
前言·····	152
1. 牛肉绦虫·····	154
2. 羊绦虫·····	157
3. 细粒棘球绦虫·····	158
六、抗吸虫疫苗 ·····	162
(一) 血吸虫·····	162
1. 活疫苗·····	162
2. 照射的羊血吸虫疫苗·····	165
3. 照射的牛血吸虫疫苗·····	168
4. 照射的曼氏血吸虫疫苗·····	173
5. 灭活的血吸虫疫苗·····	175
6. “基础免疫学”途径·····	176
(二) 片吸虫·····	177
1. 活疫苗·····	177
2. 小鼠和大鼠的“基础”实验·····	181
七、牛肺线虫疫苗的现场实验 ·····	201
八、结论 ·····	210

一、抗 疟 疫 苗

J.H.L.Playfair

设想使用疫苗方法使人类免于疟疾的威胁，经过近 50 年时断时续的努力，近年来无疑地得到前所未有的重视。其主要原因在于：

1. 认识到化学治疗控制原虫和媒介的局限性；
2. 长期感染疟疾的成年人明显地表现出有效免疫力；
3. 疫苗接种使实验动物具有对致死性疟疾的抵抗力；
4. 最近建立了人体恶性疟原虫血液期连续培养；
5. 研究基金会，特别是世界卫生组织通过热带病的“特殊规划”，给予研制疟疾疫苗的优先权。

然而，与此相反，仍有一些困难有待克服，如：

6. 使用疫苗的类型尚未确定；
7. 佐剂的选择；
8. 原虫“逃避”免疫反应的可能性；
9. 存在有害（病理性的）免疫的危险性；
10. 在热带地区使用各种疫苗经常遇到的生产、安全试验及运输等方面的问题；
11. 需要的免疫应答的确切类型尚不了解。

近来有些书籍在这些方面作了专题评论(Cohen和Mitchell 1978; Richards 1977; Mitchell 1977)，本文并不打算与上述评论竞争，仅对上述各方面加以补充并依次作简单的讨论，特别是最后一点缺乏肯定的免疫方向。依我看

在推理方面主要的空白之一是从动物试验到人群的实际疫苗接种的问题（多半是以经验为根据的）。

（一）化学治疗控制

一位偶然出访非洲的游客，因服用抗疟药而未患疟疾。人们也许会对这种过分谨慎感到多此一举，但在越南有近十万美军感染疟疾以及100多人死亡的事实应足以引起深思了，而这些人都在监督下服用了最昂贵的药物（Canfield, 1972）。如果把受疟疾威胁的人口数量（仅非洲约有4亿）与众所周知的蚊子和原虫均有产生抗药性的能力等加以衡量的话，问题的重要性就显得更为突出了（Bruce-Chwatt 1978）。

（二）人类的免疫力

死于疟疾的主要是5岁以下的儿童。疟疾流行区的成人大多不出现原虫血症或严重症状。一旦他们在国外作6个月的短期旅行再返回时，往往引起严重的临床症状（Maegraith 1974）。这清楚地表明了这是一种适应性免疫，但持续时间很短。这种抵抗力至少是部分来自免疫力，已被Cohen等第一次证实（1961），即获得免疫的成人的IgG能使患急性恶性的儿童原虫血症降低。这个著名的实验可看作是疟疾免疫学新时代的开端。

（三）动物疫苗接种

这里不准备一一列举疟疾的实验动物模型，在这些实验动物体内某种形式的疫苗接种已经生效（参阅Cohen和Mitchell 1978；Nussenzweig等1978）。通过接种，

小鼠幸免于伯氏疟原虫 (*P. berghei*), 小鸭幸免于鹧疟原虫 (*P. lophurae*), 罗猴幸免于诺氏疟原虫 (*P. knowlesi*) 致死性感染。这种能使正常动物免于致死性的疟疾感染所产生的心理学方面的效果, 增强了免疫学家对疟疾的兴趣。由于生活史的复杂性以及动物饲养中后勤工作的种种原因, 使每个研究人员的研究工作只局限于某一个宿主, 有限的几个虫种, 甚至往往是生活史中的某个阶段而已。因而不那么容易比较不同疫苗的价值, 这一事实仍是国际会议上争论激烈的问题。本节着重讨论动物试验中出现的一些带有鼓舞性的情况, 困难方面另将考虑。

疟疾的特点是免疫应答有 3 个明显不同的阶段: 子孢子期、红内期及配子期。

1. 用子孢子接种 近代, 最早研究子孢子作为一种免疫原的是 Nussenzweig 和她的同事 (1967)。他们发现经照射的子孢子能使小鼠幸免于活子孢子致死性的感染, 这个试验结果已被其它研究人员 (Beaudoin 等 1976) 所证实。解剖蚊子的唾液腺, 取得 75000 个子孢子, 再用 8~15 千拉德的 X 射线或 γ 射线照射, 作单次静脉注射可获得部分的保护作用, 反复注射效果更好。除了短小棒状杆菌 (*Corynebacterium parvum*) 外, 迄今没有任何比它更好的佐剂 (Nussenzweig 等 1978)。保护作用比较好, 但都不是种特异性, 而完全是期特异性, 即血液期不受影响。就保护作用而言, 脾脏并非主要的, 只要接种疫苗有足够效力 (Spitalny 等 1976), 但 T 细胞倒是不可缺少的 (Spitalny 等 1977)。虽然早已表明保护作用是抗体介导的, 现在看来同样包括一种细胞介导的成分, 可能在肝脏内起作用, 这已表明经照射的子孢子可能引起暂时性的肝脏感染 (Spitalny

等 1976)。

另一种途径是听凭经照射的蚊子叮咬，这方面在人体内已明显获得成功：5 名志愿者中有 3 名经数百次叮咬后产生了对恶性疟疾和间日疟的免疫力 (Clyde 等 1973; Clyde 1975)，但这种免疫力是暂时的 (3 个月) 和种特异性的，尽管如此，这是一个富有意义的里程碑，因为它表明人体的疫苗能得到正常感染所不能获得的免疫力——这个可能性有时是被怀疑的。当前这类疫苗的价值只局限于保护为数不多的人对有限的蚊虫叮咬时使用。美国海军对这方面极为重视。这种高度的期特异性意味着任何疫苗保护作用低于 100% 就无用了，因为即使只有一个裂殖子进入血液也能引起完全的血液期感染 (Richards 1977)。

2. 用含虫红细胞接种 血液期疫苗首先是在鸡的体内获得试验成功。用 30 千拉德的大剂量照射过的感染红细胞接种能产生对鸡疟原虫 (*P. gallinaceum*) 的部分免疫 (Ceithaml 和 Evans 1964)，随后将这种方法应用于啮齿类和猴，保护程度差别很大，由有的延迟死亡，有的先出现短暂的低原虫血症，而后出现无虫免疫和抵抗再感染。另一个使血液型失去感染力的方法是加热。用加热法制作的疫苗对小鼠进行接种效果与照射的疫苗相似 (D'Antonio 1972a)。

另一种有趣的方法是利用伯氏鼠疟原虫，这种疟原虫通过鼠和体外培养反复循环转种而毒性减弱，最后失去感染力，但保留了对有毒型的免疫力 (Weiss 1968)。这会使人们想起使用 BCG 出现的类似情况，但对这种方法尚未进行很全面的探索，以排除复原的危险。

所以许多研究人员主张采用杀死的原虫。有的企图用溶解或其它的方法“清除”宿主红细胞分离“纯化”的原虫

(Jerusalem 和 Eling 1969), 而另一些则认为不能完全除去污染的红细胞膜, 仅用福尔马林处理一下被寄生的红细胞就行了。用皂素将寄生的细胞溶解, 再用福尔马林固定能制成有效的抗鼠疟原虫的疫苗, 这种疫苗含有游离的原虫和红细胞膜, 以静脉注射最为有效。就佐剂而言, 百日咳杆菌 (*Bordetella pertusis*) 比弗氏完全佐剂更有效 (Playfair 等 1977)。正如前述的子孢子疫苗一样, 在接种时而不是在攻击时需要脾脏。这种类型的疫苗诱发免疫反应的详细经过将在后面介绍, 但在此可说明的是用相同方法制备的疫苗对猴的诺氏疟原虫无效 (Playfair, J. H. L. 和 Brown, K. N. 未发表资料)。

最后, 就地杀死原虫, 所产生的免疫力引起人们极大的关注, 因为这种方法不需要任何新的或未经试验过的疗法。控制的药物治疗能使小鼠和猴产生对伯氏疟原虫 (*P. berghei*, Lapierre 1954)、文氏疟原虫 (*P. Vinckei*, Cox 1966) 及诺氏疟原虫 (*P. knowlesi*, Voller 和 Rossan 1969) 再感染的完全抵抗力。最突出的例子是 B 细胞受抑制的小鼠, 这种小鼠的丙种球蛋白完全缺乏, 但对初次感染致死性约氏疟疾 (*P. yoelii*) 时经药物治疗后能产生抵抗力 (Roberts 和 Weidanz, 1979)。这个实验的重要意义在于, 它证明了非抗体介导抵抗机制的存在。

迄今尚未找到一种化学治疗方法使人体产生类似的免疫力, 但决不能排除这种可能性。从实际使用角度讲, 这种治疗方法必须采用最少次数的治疗, 这是这种治疗法的障碍。

3. 用裂殖子接种 Cohen 及其他的同事证实了免疫血清在体外主要是阻止再侵入而不是针对细胞内期 (Cohen 等 1969; Cohen 和 Butcher 1971)。他们又以裂殖子作

为免疫原进行了一系列广泛的试验 (Mitchell 等 1974, 1975)。这种方法有几个优点: 裂殖子的感染期短暂 (不到1小时), 不须将裂殖子杀死或灭活; 裂殖子可自然地从小红细胞内释出, 大大地减少了红细胞膜的污染, 也简化了抗原的分析 (Cohen 1979)。理论上的不利条件是: 作为免疫攻击的靶子, 裂殖子在生活周期中暴露的时间很短——实际上仅仅几分钟而已。

业已证明裂殖子疫苗对防制恒河猴的诺氏疟疾与夜猴的人类恶性疟疾非常有效, 但这种效果只有在与弗氏完全佐剂同时使用时才显示出来。裂殖子在使用方面的优点是经过冰冻或冻干仍能保持其免疫原性 (Mitchell 等 1977)。最初看来这些疫苗似乎仅仅产生抗裂殖子的抗体, 这种抗体具有阻止裂殖子穿入红细胞的能力, 但由于阻断抗体和保护作用之间在特异性上的某些差异 (原虫变异株) 以及难以解释需要分支杆菌作佐剂的原因 (Butchell 等 1978), 从而诱导出这样的设想, 即抗体依赖性细胞介导的细胞毒性也在起作用 (Cohen 1977)。

与猴的接种效果相反, 裂殖子疫苗对小鼠的效果比上述的含虫红细胞疫苗效果差。由此可见, 小鼠和猴有着明显的差异, 因此不可避免地提出了这样的问题: 对于人类疟疾, 究竟哪一个是较好的模式, 或都确实与人疟有关?

4. 用血液期原虫的亚细胞组分接种 由于疟原虫的数量多以及获得不受污染的疟原虫的困难, 给疫苗的生产、使用和安全等方面提出重要的问题。因此人们很自然地会考虑使用更精制的制剂。可惜事与愿违, 这样的“疟原虫抗原”的效果比上述的粗制品要差得多。

原虫被压力或超声等粉碎, 能产生与原虫寄生细胞相似

免疫性质的膜组分，具有抗伯氏疟原虫 (D'Antonio 1972b) 与诺氏疟原虫 (Schenkel 等 1973) 的效果，但必须与弗氏完全佐剂配合使用。

这些“无细胞的浸出物”通过进一步分离所得到的“可溶性抗原”更具有实用意义。文献中只有极少数成功的结果，许多未成功的试验未发表，目前有三种制剂有效，将分解的诺氏疟原虫以蔗糖梯度离心获得的一个组分对猴进行接种。接种分两次进行，一次与弗氏完全佐剂配合使用，一次不加任何佐剂，虽然对贫血无效，却可保护猴不受感染 (Simpson 等 1974)。疟原虫的某种蛋白质内含有一种奇怪的复合物，其中 70% 是组氨酸残基，不加任何佐剂给鸭子注射 3 次以后，鸭产生对活原虫的抵抗力。这种抵抗力的一部分可通过血清转移，因而认为抗体能干扰裂殖子的入侵 (Kilejian 1978)。有人提出从受诺氏疟原虫感染的猴血清中提取的 β 球蛋白能使大鼠具有对伯氏疟原虫的抵抗力，减轻原虫血症而不减轻贫血 (Cox 1966)。在没有充分的虫特异性根据的情况下，还不能肯定这些效果是不是真正的免疫，还是红细胞或骨髓的继发性改变，但他们的工作使“保护性抗原”的进一步研究变得更有价值。

5. 用配子接种 这是一个新近提出的观点，而且初看是个纯学术问题。现在证明，含有配子体的疫苗，不论是经过照射的还是用福尔马林固定的疫苗，都能使小鸡 (Gwadz 1976; Carter 和 Chen 1976) 和小鼠 (Mendis 和 Targett 1979) 对蚊子无感染力；如有对红内期有抗力的话，可归因于配子体被无性体污染的结果，其机理被看作是由于抗体阻碍了在蚊子胃里放出雌配子，因而这种疫苗的主要作用是限制传播，而不是对接种这种疫苗的病人有利，病

人实际上起了一个“无私的”作用,至于能否起到这种作用,那就得依靠接种人员非凡的策略了。这是一个非常吸引人的问题,配子具有如此强的抗原性,但不是在现场进行研究,则不可能知道这一类型的免疫力在对蚊子的控制方面是否比其他方法更有效。

6. 非特异性免疫刺激 不少“自然”免疫机制具有抵抗疟疾的效力(作为复习参看 Miller 和 Carter 1976)。例如,裂殖子及红细胞决定簇之间的不相容性,可能在子孢子和肝细胞之间也存在这种不相容性,这种现象说明疟原虫虫种具有较为严格的宿主特异性。目前已验证了这样一个决定簇即 Duffy 血型抗原,它为间日疟原虫侵入红细胞所必需,在西非较为少见。这种类型的抵抗力肯定不能通过普通的途径而改变,所以不列入疫苗的范围之内。但在有一些病例中,自然防御系统的活化超出其正常状态,这样不需要任何特异性的原虫抗原,就可产生对原虫的抵抗力。这里可举一个明显的例子,大剂量的活的 BCG 或杀死的短小棒状杆菌能使小鼠产生对文氏鼠疟原虫感染的完全抵抗力,这是由于某种类似于干扰素的可溶性因子的释放(从巨噬细胞?)所引起的(Clark等 1977)。其他一些制剂,其中包括细菌的脂多糖、刀豆素A和己烯雌酚,尽管并不都对同一种细胞起作用,但都具有一般“免疫刺激”效果,对约氏鼠疟原虫能暂时显著降低原虫血症(Cottrell 等, 1977)。看来,至少小鼠是如此,寄生于成熟红细胞的原虫(文氏鼠疟原虫, *P. chabaudi*, *Babesia microti*)对这些非特异效应的反应比那些通常寄生于网状细胞的原虫(约氏鼠疟原虫、伯氏鼠疟原虫)更为敏感,其中也可能有佐剂方面的原因,譬如弗氏完全佐剂中的分枝杆菌和百日咳杆菌都起着一部分免疫刺激物的作用。尽管有

多种佐剂或免疫刺激物能增加巨噬细胞的活性水平，但目前还不确切知道这些作用是如何发挥的。也有人曾提出有些佐剂或免疫刺激物可刺激“自然杀伤”细胞，这是一种新描述的令人迷惑的细胞，形状与淋巴细胞相类似，主要起抗肿瘤的作用，被认为是一种原始的防御机制 (Koren 等 1978)。

即便是高特异性抗体和 T 细胞介导的应答通常都是借助于非特异性细胞或因子，如巨噬细胞、多形核白细胞、嗜酸粒细胞、补体等的最后作用，而其结果有时可依后者和前者的情况为转移。现已证明受约氏鼠疟原虫疫苗接种的小鼠体内，非特异性细胞被吸引到肝 (Playfair 等 1979) 与它们释放的可溶性的寄生虫毒性因子 (Agomo 与 Playfair 待发表) 可能是有效的保护应答的基本成分。另一方面也已证明非特异巨噬细胞的活化可能减少保护性抗体的产生 (Playfair 和 De Souza 1979)。此外，其他原虫病，譬如非洲锥虫病，B 细胞受到原虫“有丝分裂原”的非特异性刺激能抑制有效的特异性抗体的形成 (Hudson 等 1976)。显然，特异性免疫和非特异性免疫的相互作用可能有利于宿主也可能有利于寄生虫。在考虑对人群进行免疫的可能后果时，应注意“免疫刺激”的普遍状态。

7. 动物模型 (注意事项) 前面已提及了一系列的研究成果，在此可以设想人体的接种所涉及的将是如何选择最好的模型并按比例地增加。然而，除了后勤工作方面的障碍以外，还存在着这样的问题，上述的成功是在宿主和原虫的复合体相互适应性较差的情况下取得的，而这种复合体在人体内适应性就要强得多。伯氏鼠疟原虫、文氏鼠疟原虫、约氏鼠疟原虫及夏氏疟原虫都不是小鼠的自然寄生虫，而是灌木丛鼠 (*Thamnomys rutilans* 和 *Grammomys surdaster*) 的自

然寄生虫,也许这些疟原虫没有一种能在小鼠界里存活,前两种原虫会很快地毁灭十分之一的宿主,后两种经过一个短暂的急性期后,因原虫血症过低而使传播产生障碍。值得争论的是恶性疟能引起许多儿童死亡,正如伯氏疟原虫对未成年的大鼠和诺氏疟原虫对恒河猴一样,但除了不能控制急性感染之外,并不意味着任何潜在的相同之处。总之,用自然的宿主与寄生虫复合体做的动物试验实在太少了。

许多实验模型的第二个局限性是不能获得完整的生活史,受到抗血液期接种的小鼠和猴,几乎总是受到静脉注射的原虫血液的攻击而不是用蚊咬攻击的——尽管有正当的例外(Richards 等 1977)。事实证明,肝脏参与了约氏疟原虫血液期免疫(Playfair 等 1979),免疫前肝内的孢子感染可能并不是无关紧要的。

最后应当提及的是疟疾的患病过程可能因各种其他感染而变化,诸如,病毒、立克次体、细菌、其他原虫及蠕虫(Cox 1978)。不具有这些感染的动物群是“优良”动物群,但是生活在疟疾流行区的人体内受到其中某些感染是毫不奇怪的。

鉴于目前的现状,较为明智的是只将大多数动物试验看作是抗疟免疫过程中的个体的研究而不是看作对人类进行疫苗接种的模式。

(四) 疟原虫的培养

大多数有效的动物疫苗接种试验需要大量的疟原虫,可以推算,相应地人用疟原虫的需要量将是一个惊人的数字(按体重每只小鼠用 10^8 个血内期疟原虫,一个 14 磅重的婴儿则要用 3×10^{10} 个疟原虫)。经过多年的研究,两个美国工