论著

文章编号:1000-5404(2007)13-1276-04

# 多房棘球绦虫混合重组BCG-EmⅡ/3和BCG-Em14-3-3疫苗诱导小鼠的免疫保护力观察

李文桂,王 鸿,朱佑明 (重庆医科大学附属第一医院传染病寄生虫病研究所,重庆 400016)

**提 要:目的** 探讨多房棘球绦虫混合重组BCG-EmⅡ/3和BCG-Em14-3-3疫苗免疫鼠后对Em原头节攻击感染的保护性作用。**方法** 将混合重组BCG疫苗采用皮下注射和鼻腔内接种分别免疫BALB/c小鼠,免疫后8周用多房棘球绦虫原头节进行攻击感染,感染后18周剖杀小鼠,计算减蚴率,测定血清中IgG及其亚类和IgE水平;分离脾细胞,流式细胞仪检测脾$CD4^+$和$CD8^+$T淋巴细胞亚群的百分比,同时设有空载体、BCG和PBS对照。**结果** 疫苗接种组的减蚴率为45.29%~76.47%,血清IgG、IgG2a、IgG2b和IgE水平明显升高,IgG1和IgG3显著降低;疫苗接种组的脾$CD4^+$T细胞亚群显著增加,$CD8^+$T细胞亚群无明显变化,$CD4^+/CD8^+$亚群比值明显升高。**结论** 多房棘球绦虫混合重组BCG-EmⅡ/3和BCG-Em14-3-3疫苗鼻腔内接种是一种较好的途径,IgG、IgG2a、IgG2b和IgE以及$CD4^+$T细胞亚群在疫苗诱导的保护力中起重要作用。

**关键词:** 多房棘球绦虫;重组BCG-EmⅡ/3疫苗;重组BCG-Em14-3-3疫苗;保护力

**中图法分类号:** R383.3; R392.11; R392.7 **文献标识码:** A

# Protective effect of immunization with mixed recombinant BCG-EmⅡ/3 and BCG-Em14-3-3 vaccine against *Echinococcus multilocularis* in mice

LI Wen-gui, WANG Hong, ZHU You-ming (Institute of Infectious and Parasitic Diseases, The First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

**Abstract: Objective** To investigate the protection by immunization with mix recombinant BCG-EmⅡ/3 and BCG-Em14-3-3 vaccine of *Echinococcus multilocularis* (Em) and against challenge of Em protoscolexes. **Methods** BALB/C mice were subcutaneously or intranasally vaccinated with mixed recombinant BCG vaccines respectively. Eight weeks later, the immunized mice were challenged with Em protoscolexes. On the $18^{th}$ week after vaccination, the mice were killed to count the rate of reduced alveolar echinococcus weight and to examine the levels of IgG and its subclasses, IgE; the spleen cells were separated to measure subsets of $CD4^+$ and $CD8^+$ T cells by FACsort. Blank vector, BCG and PBS served as control. **Results** In the immunized groups, the rate of reduced alveolar echinococcus weight was 45.29% -76.47%; the levels of IgG, IgG2a, IgG2b and IgE increased apparently while IgG1 and IgG3 decreased remarkably; $CD4^+$ subset and the ratio of $CD4^+/CD8^+$ increased obviously, but $CD8^+$ subset had no change. **Conclusion** Intranasal vaccination with mix recombinant BCG-EmⅡ/3 and BCG-Em14-3-3 vaccine is a good way for immunization. IgG, IgG2a, IgG2b, IgE and $CD4^+$ T cell subset may play an important role in protecting against challenge of Em protoscolexes.

**Key words:** *Echinococcus multilocularis*; recombinant BCG-EmⅡ/3 vaccine; recombinant BCG-Em14-3-3 vaccine; protection

泡型包虫病(alveolar echinococcosis, AE)是由多房棘球绦虫(*Echinococcus multilocularis*, Em)的续绦期幼虫寄生在人体肝脏引起的一种严重危害人类健康的人畜共患寄生虫病,研制疫苗是防治该病的有效途径之一。当前分子生物学技术的发展为研制理想的Em疫苗提供了新方法,将Em外源DNA引入特定疫苗载

基金项目:国家自然科学基金(30500423);教育部重点项目(205131)
Supported by the National Natural Science Foundation of China (30500423) and the Key Project of Education Ministry of China (205131)

作者简介:李文桂(1967-),男,湖北省郧县人,博士,研究员,主要从事病原微生物的分子免疫学方面的研究,发表论文76篇。电话:(023)89012724,E-mail:li_wengui@yahoo.com.cn

收稿日期:2006-07-05;修回日期:2006-12-01

体构建重组活疫苗可将保护性抗原传递至宿主免疫系统。王昌源等[1]发现 EmⅡ/3 重组抗原(ELP 蛋白)是一种有较好保护性免疫力的抗原分子,Siles 等[2]发现 Em14-3-3 抗原位于 Em 原头蚴的生发层,其过度表达与原头蚴的进行性、侵入性和无限制生长特性有关,提示它是一种有希望的疫苗分子。Cirillo 等认为卡介苗(Bacille Calmette-Guerin, BCG)是一种理想的疫苗载体,Matsuo 等在 BCG 中成功构建了外源抗原分泌系统,这为发展 BCG 成为多价疫苗载体打下了坚实的基础。本研究在成功构建重组 BCG-EmⅡ/3 和 BCG-Em14-3-3 疫苗的基础上[3,4],将这两种疫苗按 1∶1 的浓度比例混匀,组成混合疫苗后免疫小鼠,原头节攻击后观察其诱导的减蚴率和抗体水平以及脾 $CD4^+$ 和 $CD8^+$ T 淋巴细胞亚群的变化,从而为研究混合重组 BCG 疫苗的保护性免疫机制提供有价值的材料。

## 1　材料与方法

### 1.1　材料

1.1.1　实验动物　65 只雌性 BALB/c 小鼠,12 ~ 14 周龄,平均体质量(22 ± 3)g,购自重庆医科大学实验动物中心。

1.1.2　多房棘球绦虫重组 BCG-EmⅡ/3 和 BCG-Em14-3-3 疫苗　由本室构建[3,4],将 rBCG-EmⅡ/3 和 rBCG-Em14-3-3 疫苗按 1∶1 的浓度比例混匀,组成混合疫苗。

1.1.3　主要试剂　HRP 标记的羊抗小鼠 IgE、IgG、IgG1、IgG3、IgG2a 和 IgG2b 购自 Southern Biotech 公司。ConA 购自 Sigma 公司,大鼠抗小鼠 $CD4^+$ 和 $CD8^+$ T 细胞亚群单克隆抗体以及 FITC 标记兔抗大鼠 IgG 抗体购自北京邦定泰克生物技术有限公司。泡球蚴粗抗原由本室制备。

### 1.2　方法

1.2.1　实验分组　65 只雌性 BALB/c 小鼠随机数字表法分为 5 组,每组 13 只。第 1 组为 $5\times10^6$ CFU 混合疫苗悬浮于 100 μl PBS 于小鼠后背部皮下单次注射;第 2 组为 $5\times10^5$ CFU 混合疫苗悬浮于 10 μl PBS 于小鼠鼻腔黏膜单次接种;第 3 组为 $5\times10^6$ CFU 的空载体(含 pBCG 质粒的 BCG)皮下注射对照组;第 4 组为 $5\times10^6$ CFU 的 BCG 皮下注射对照组;第 5 组为 100 μl PBS 皮下注射对照。

1.2.2　攻击感染　多房棘球绦虫混合重组 BCG-EmⅡ/3 和 BCG-Em14-3-3 疫苗免疫后 8 周用 50 个泡球蚴原头节腹腔内注射进行攻击。

1.2.3　减蚴率计算　攻击感染后 18 周剖杀各组小鼠,切开小鼠腹部,仔细分离泡球蚴组织,称质量,计算减蚴率。其公式为:减蚴率(%) = (1 - 免疫组检获泡球蚴质量/对照组检获泡球蚴质量) × 100%。

1.2.4　血清收集和抗体检测　小鼠接种疫苗前和接种疫苗后 8 周从尾静脉采血,原头节攻击感染后 18 周从眼球采血,室温静置 12 h,2 000 r/min 离心 10 min,分离血清,-20 ℃冰箱冻存。常规 ELISA 检测 IgG 及其亚类和 IgE 抗体。

1.2.5　脾细胞制备　按参考文献[6]进行。

1.2.6　脾细胞 $CD4^+$ 和 $CD8^+$ 亚群制备　吸取 $1\times10^6$ 脾细胞至 1.5 ml Ep 管,加入大鼠抗小鼠 $CD4^+$ 或 $CD8^+$ 亚群单抗 50 μl,4 ℃放置 30 min;加入 FITC 标记兔抗大鼠 IgG 抗体 50 μl,4 ℃放置 30 min;每管加入 1% 多聚甲醛 100 μl 进行固定,4℃保存。

1.2.7　脾细胞 $CD4^+$ 和 $CD8^+$ 亚群检测　用 FACsort 流式细胞仪于 523 nm 波长下测定细胞绿色荧光,每个样本计数 $1\times10^4$ 个细胞,分析软件为 ModFitLT。

### 1.3　统计学处理

采用 SPSS 11.0 统计软件进行计量资料 $t$ 检验或方差分析;组间两两比较用 SNK 法。计数资料用 $\chi^2$ 检验。

## 2　结果

### 2.1　减蚴率计算

$10^6$ CFU 混合重组 BCG 疫苗皮下注射免疫小鼠后,减蚴率为 45.29%,与 PBS 对照组相比,差异显著($P<0.05$);$10^5$ CFU 混合重组 BCG 疫苗鼻腔内接种免疫小鼠后,减蚴率为 76.47%,与 PBS 对照组相比,差异极显著($P<0.01$);鼻腔内接种组减蚴率显著高于疫苗皮下注射组($P<0.01$);空载体和 BCG 皮下注射组的减蚴率分别与 PBS 对照组相比,差异均不显著($P>0.05$),见表 1。

**表 1　混合重组 BCG-EmⅡ/3 和 BCG-Em14-3-3 疫苗免疫和原头节攻击后小鼠减蚴率检测($n=8$)**

| 组别 | 检获包囊质量(g, $\bar{x}\pm s$) | 减蚴率(%) |
|---|---|---|
| 疫苗皮下注射组 | 0.93 ± 0.39 | 45.29[a] |
| 疫苗鼻腔内接种组 | 0.40 ± 0.37 | 76.47[b] |
| 空载体对照组 | 1.49 ± 0.48 | 12.35 |
| BCG 对照组 | 1.51 ± 0.39 | 11.18 |
| PBS 对照组 | 1.70 ± 1.28 | … |

a: $P<0.05$, b: $P<0.01$,与 PBS 对照组比较; b: $P<0.01$,与疫苗皮下注射组比较

### 2.2　IgG 及其亚类和 IgE 检测

小鼠血清 IgG、IgG2a 和 IgG2b 在疫苗接种后 8 周以及疫苗免疫和原头节攻击后 18 周与 0 周相比均显著增加,统计学分析发现差异有显著或极显著意义($P<0.05$, $P<0.01$),疫苗免疫和原头节攻击后 18 周小鼠血清 IgG2a 与疫苗接种后 8 周相比明显升高($P<0.01$);小鼠血清 IgG1 在疫苗接种后 8 周与 0 周相比均显著降低,统计学分析显示差异有极显著意义($P<0.01$),疫苗免疫和原头节攻击后 18 周小鼠血清 IgG1 水平与疫苗接种后 8 周相比明显增加($P<0.01$);小鼠血清 IgG3 在疫苗接种后 8 周与 0 周相比明显降低($P<0.01$),IgG3 在疫苗免疫和原头节攻击后 18 周与 0 周相比轻微降低($P>0.05$),疫苗免疫和原头节攻击后 18 周小鼠血清 IgG3 水平与疫苗接种后 8 周相比轻微增加($P>0.05$);小鼠血清 IgE 水平在疫苗接

种后8周较0周显著升高，统计学分析显示差异有极显著意义（$P<0.01$），疫苗免疫和原头节攻击后18周小鼠血清IgE水平分别与疫苗接种后8周和0周相比明显降低（$P<0.05$，$P<0.01$），见表2。

**表2 混合重组BCG-EmⅡ/3和BCG-Em14-3-3疫苗鼻腔内接种和原头节攻击后小鼠血清Ig检测（$n=8$，$\bar{x}\pm s$）**

| 组别 | 0周 | 8周 | 18周 |
|---|---|---|---|
| IgG | 0.034±0.010 | 0.081±0.018[b] | 0.092±0.003[b] |
| IgG2a | 0.012±0.004 | 0.018±0.002[a] | 0.026±0.004[bc] |
| IgG2b | 0.014±0.006 | 0.021±0.003[b] | 0.021±0.004[a] |
| IgG1 | 0.192±0.008 | 0.039±0.006[b] | 0.205±0.034[c] |
| IgG3 | 0.175±0.031 | 0.141±0.010[b] | 0.158±0.024 |
| IgE | 0.024±0.003 | 0.143±0.003[b] | 0.020±0.003[ac] |

a：$P<0.05$，b：$P<0.01$，与0周比较；c：$P<0.01$，与8周比较

### 2.3 脾细胞

$10^6$ CFU混合重组BCG疫苗皮下注射免疫小鼠后，脾细胞$CD4^+$亚群百分比为33.58%，与PBS对照组相比显著升高，差别有显著意义（$P<0.01$）；$10^5$ CFU疫苗鼻腔内接种免疫小鼠后，脾细胞$CD4^+$亚群百分比为31.05%，明显高于PBS对照组（$P<0.01$）；疫苗皮下注射组的脾细胞$CD4^+$亚群百分比明显高于疫苗鼻腔内接种组（$P<0.01$）；空载体和BCG皮下注射组的脾细胞$CD4^+$亚群百分比分别与PBS对照组相比，差别均无显著意义（$P>0.05$），见表3。

### 2.4 脾细胞$CD8^+$亚群百分比变化

皮下注射组和鼻腔内接种组的脾细胞$CD8^+$亚群百分比与PBS对照组相比无明显变化（$P>0.05$）；疫苗皮下注射组的脾细胞$CD8^+$亚群百分比与疫苗鼻腔内接种组比较无显著差别（$P>0.05$）；空载体和BCG皮下注射组的脾细胞$CD8^+$亚群百分比分别与PBS对照组相比，差别均无显著意义（$P>0.05$），见表3。

### 2.5 脾细胞$CD4^+/CD8^+$亚群比值变化

疫苗皮下注射组或鼻腔内接种组的$CD4^+/CD8^+$亚群比值显著高于PBS对照组（$P<0.01$）；空载体和BCG皮下注射组的$CD4^+/CD8^+$亚群比值分别与PBS对照组相比，差别均无显著意义（$P>0.05$），见表3。

**表3 重组BCG-EmⅡ/3和BCG-Em14-3-3疫苗免疫，原头节攻击后小鼠脾细胞亚群检测（$n=8$）**

| 组别 | $CD4^+$亚群百分比 | $CD8^+$亚群百分比 | $CD4^+/CD8^+$亚群比值 |
|---|---|---|---|
| 疫苗皮下注射组 | 0.336±0.005[bc] | 0.092±0.006 | 3.67±0.26[b] |
| 疫苗鼻腔内接种组 | 0.310±0.011[b] | 0.090±0.006 | 3.47±0.63[b] |
| 空载体对照 | 0.236±0.017 | 0.091±0.013 | 2.62±0.29 |
| BCG对照 | 0.244±0.023[a] | 0.096±0.006 | 2.55±0.35 |
| PBS对照 | 0.216±0.027 | 0.085±0.018 | 2.75±1.08 |

a：$P<0.05$，b：$P<0.01$，与PBS对照组比较；c：$P<0.01$，与鼻腔内接种组比较

## 3 讨论

Reuben等用$10\sim10^7$ CFU的BCG腹腔内注射免疫棉鼠（Sigmodon hispidus），然后用1个Em育囊腹腔内注射进行攻击，发现10 CFU的BCG免疫组不产生保护力，$10^2$ CFU的BCG免疫组可产生部分保护力，而$10^3\sim10^7$ CFU的BCG免疫组可产生完全保护力，推测BCG可激活腹腔巨噬细胞，从而杀伤Em的原头节。本研究表明空载体和BCG皮下注射组可诱导11.18%～12.35%的减蚴率，表明BCG对Em原头节具有一定的杀伤作用。

温浩等发现94%的AE患者血清IgG升高，抗体亚类分析显示84%患者IgG4升高，58%患者IgG1增加，但IgG2和IgG3降低；Gottstein等证实C57BL/6j鼠在感染泡球蚴90 d后IgG1升高，但IgG2a降低；当将重组St-EmⅡ/3-10疫苗采用皮下注射和口服免疫分别接种C57BL/6J鼠和犬时发现免疫鼠和犬的血清抗EmII/3-10特异性抗体显著升高，但免疫犬的特异性抗体水平高于免疫鼠；王昌源等[1]用100 μg的EmⅡ/3重组抗原（ELP蛋白）皮下注射免疫BALB/c鼠3次后发现首次免疫后2周鼠血清IgG1明显增加，当加用弗氏佐剂时鼠血清IgG2b轻微增加。由于小鼠MHC分子的多样性和多房棘球绦虫抗原结构的复杂性，小鼠将针对抗原的多个表位产生免疫反应，使得单一抗原成分（EmⅡ/3或Em14-3-3）诱导宿主产生的保护性免疫应答效果往往较低，因此，本研究将重组BCG-EmⅡ/3和BCG-Em14-3-3疫苗按1∶1的浓度比例混匀，组成混合疫苗后免疫小鼠，原头节攻击后观察其诱导的抗体水平，发现小鼠血清IgG、IgG2a和IgG2b在疫苗接种后8周显著增加，提示IgG、IgG2a和IgG2b可能参与疫苗诱导的保护性免疫反应；小鼠血清IgG1和IgG3在疫苗接种后8周明显降低，表明IgG1和IgG3可能与泡球蚴病的易感性有关。

Vuitton等发现30例AE患者血清IgE升高，李富荣等[5]证实35例AE患者经阿苯哒唑治疗后血清IgE明显下降。本研究用混合重组BCG疫苗鼻腔内接种小鼠8周后发现小鼠血清IgE水平在疫苗接种后8周显著升高，在疫苗免疫和原头节攻击后18周显著降低，与上述结果不同。推测升高的IgE可通过激活小鼠体内的肥大细胞、嗜碱性粒细胞、嗜酸性粒细胞、巨噬细胞和血小板，释放主要碱性蛋白、阳离子蛋白和过氧化氢等生物活性物质，发挥非特异性杀伤Em原头节的效应；IgE还可通过抗体依赖的补体介导的细胞毒作用，发挥特异性杀伤Em原头节的效应，但IgE可

通过肥大细胞介导的 I 型变态反应对宿主组织造成损伤作用。

李文桂等[6]研究测得正常 BALB/c 鼠脾 $CD4^+$ T 细胞亚群百分比为 24.11%，$CD8^+$ T 细胞亚群百分比为 5.97%，本研究表明 BALB/c 鼠感染 Em 原头节后，$CD4^+$ T 细胞亚群百分比为 21.63%，$CD8^+$ T 细胞亚群百分比为 8.48%，可见 Em 感染可降低小鼠的 $CD4^+$ T 细胞数目，轻微增加 $CD8^+$ T 细胞数目。BCG 皮下注射组和空载体对照组 $CD4^+$ 和 $CD8^+$ T 细胞亚群百分比与感染对照组相比均轻微增加，提示 BCG 免疫对 Em 感染具有一定的免疫调节作用。

Gottstein 等将重组 St-EmⅡ/3-10 疫苗采用皮下注射和口服免疫分别接种 C57BL/6J 鼠和犬时发现免疫鼠和犬的脾淋巴细胞明显增多；王昌源等[1]用100 μg 的 EmⅡ/3 重组抗原（ELP 蛋白）皮下注射免疫 BALB/c 鼠 3 次后发现首次免疫后 2 周免疫鼠脾细胞在 EmAg 或 ConA 刺激下明显增殖；Dai 等[7]发现小鼠缺乏功能性 $\alpha\beta^+CD4^+$ T 细胞亚群时，体内泡球蚴生长迅速，且无肉芽肿形成，脾细胞增殖降低，提示该细胞在抑制泡球蚴生长过程中起关键作用；Manfras 等[8]发现有明显症状的 AE 患者外周血单核细胞增殖明显降低，$CD4^+$ T 细胞亚群明显减少，$CD8^+$ T 细胞亚群显著增多；李富荣等[9,10]证实泡球蚴感染 BALB/c 鼠后 1～8 周以 $CD4^+$ T 细胞增多为主，随后 $CD4^+$ T 细胞开始减少，$CD8^+$ T 细胞开始增加，20 周后改变明显，$CD4^+/CD8^+$ 亚群比值迅速倒置；感染泡球蚴 25 周的小鼠脾 $CD4^+$ T 细胞凋亡明显增加；AE 患者体内 $CD4^+$ T 细胞明显减少，$CD8^+$ T 细胞显著增加，$CD4^+/CD8^+$ 亚群比值倒置，当用阿苯哒唑进行治疗时发现疗程达 1 年的 AE 患者体内 $CD8^+$ T 细胞继续增加，疗程达 2 年的患者体内 $CD4^+$ T 细胞开始增加，$CD8^+$ T 细胞开始下降，$CD4^+/CD8^+$ 亚群比值升高。本研究显示皮下注射组和鼻腔内接种组小鼠脾 $CD4^+$ T 细胞显著增加，推测疫苗分泌的 EmⅡ/3 或 Em14-3-3 抗原经抗原提呈细胞加工处理后，形成 13～17 个氨基酸残基组成的抗原肽，该肽与 MHCⅡ类分子连接形成抗原肽——MHCⅡ类分子复合物，经高尔基体运送到 APC 表面，与 $CD4^+$ T 细胞受体结合，活化 $CD4^+$ T 细胞。活化的 $CD4^+$ T 细胞增殖分化，形成效应性 Th 细胞，其中 $Th_1$ 细胞分泌 IL-2 和 IFN-γ，促进 $T_{DTH}$ 和 Tc 细胞的增殖分化和成熟，在细胞介导的免疫应答中发挥作用；Th2 细胞分泌 IL-4、IL-5、IL-6 和 IL-10，促进 B 细胞的增殖分化和抗体形成，在抗体介导的免疫应答中发挥作用；活化的 $CD4^+$ T 细胞后可激活巨噬细胞和 NK 细胞，从而增强它们杀伤泡球蚴的作用[11,12]。

本研究用混合重组 BCG-EmⅡ/3 和 BCG-Em14-3-3 疫苗皮下注射或鼻腔内接种免疫小鼠后，可诱导 45.29%～76.47% 的减蚴率，推测疫苗免疫后可诱导小鼠血清产生高水平的 IgG、IgG2a 和 IgG2b 和 IgE，这些抗体及其亚类均可杀伤 Em 原头节，从而减轻泡球蚴的重量。鼻腔内接种组的减蚴率明显高于皮下注射组，提示疫苗鼻腔内接种是一种较好的免疫途径。

**参考文献：**


[1] 王昌源，陈雅棠，余登高，等. 多房棘球绦虫 ELP 重组蛋白疫苗免疫 BALB/c 小鼠引起的免疫应答[J]. 免疫学杂志，2003，19(4)：285－288，292.

[2] Siles-Lucas M，Felleisen R S，Hemphill A，*et al*. Stage-specific expression of the 14-3-3 gene in *Echinococcus multilocularis*[J]. Mol Biochem Parasitol，1998，91(2)：281－293.

[3] 李文桂，王　鸿，朱佑明. 多房棘球绦虫重组 BCG-EmⅡ/3 疫苗构建及其表达效率[J]. 中国地方病学杂志，2006，25(5)：490－493.

[4] 王　鸿，李文桂. 多房棘球绦虫重组 BCG-Em14-3-3 疫苗的构建及鉴定[J]. 中国病原生物学杂志，2006，1(1)：43－46.

[5] 李富荣，石佑恩，史大中，等. 阿苯达唑治疗泡球蚴病患者血清中 Th1/Th2 型细胞因子的变化及临床意义[J]. 中国人兽共患病杂志，2003，19(2)：71－73.

[6] 李文桂，石佑恩. 血吸虫重组 BCG-Sj26GST 疫苗诱导小鼠 T 淋巴细胞亚群变化的研究[J]. 中国人兽共患病杂志，2000，16(2)：56－58.

[7] Dai W J，Waldvogel A，Siles-Lucas M，*et al*. *Echinococcus multilocularis* proliferation in mice and respective parasite 14-3-3 gene expression is mainly controlled by an alphabeta CD4 T-cell-mediated immune response[J]. Immunology，2004，112(3)：481－488.

[8] Manfras B J，Reuter S，Wendland T，*et al*. Impeded Th1 CD4 memory T cell generation in chronic-persisting liver infection with *Echinococcus multilocularis*[J]. Int Immunol，2004，16(1)：43－50.

[9] 李富荣，石佑恩，史大中，等. 泡状棘球蚴病宿主淋巴细胞的变化及意义[J]. 中国人兽共患病杂志，2003，19(3)：91－94.

[10] 李富荣，石佑恩，史大中，等. 阿苯达唑治疗前后泡状棘球蚴病患者淋巴细胞亚群变化及临床意义[J]. 中国寄生虫病防治杂志，2003，16(3)：167－169.

[11] 王存邦，陈幸华，欧英贤，等. G-CSF 对不同人群 $CD34^+$ 细胞及 T 细胞亚群影响的动态变化研究[J]. 第三军医大学学报，2005，27(12)：1269－1271.

[12] 施　阳，蹇启政. 32 例慢性支气管炎患者注射胸腺肽 $\alpha_1$ 后 T 细胞亚群的变化[J]. 第三军医大学学报，2004，26(22)：2036，2041.


（编辑　栾　嘉）