

DOI:10.13350/j.cjpb.230312

• 论著 •

# 猪囊尾蚴排泄分泌抗原 TP<sub>x</sub> 蛋白的表达、纯化及其多克隆抗体制备\*

王乾飞<sup>1</sup>,袁凤玲<sup>1</sup>,王世敏<sup>1</sup>,汪倩倩<sup>1</sup>,何威<sup>2</sup>,罗波<sup>2</sup>,周必英<sup>2\*\*</sup>

(1. 遵义医科大学第一临床学院, 贵州遵义 563000; 2. 遵义医科大学寄生虫学教研室)

**【摘要】** 目的 原核表达猪囊尾蚴排泄分泌抗原(Excretory secretory antigen, ESA) 硫氧还蛋白过氧化物酶(Thioredoxin peroxidase, TP<sub>x</sub>), 并纯化 TP<sub>x</sub> 蛋白及制备兔多克隆抗体。方法 通过全基因合成的方法 PCR 扩增 TP<sub>x</sub> 基因。将扩增的 TP<sub>x</sub> 基因克隆至原核表达质粒 pET30a 载体中, 构建重组质粒 pET30a-TP<sub>x</sub> 并转化至大肠埃希菌 BL21(DE3) 感受态细胞, 通过异丙基硫代半乳糖苷(IPTG) 诱导表达, 12% SDS-PAGE 电泳分析蛋白表达情况。用 Ni-IDA 亲和层析柱进行纯化, Western blot 鉴定 TP<sub>x</sub> 重组蛋白的纯化效果。用纯化的 TP<sub>x</sub> 重组蛋白免疫新西兰兔, 制备 TP<sub>x</sub> 多克隆抗体, ELISA 测定纯化抗体的效价。结果 成功构建重组质粒 pET30a-TP<sub>x</sub>, 经 IPTG 诱导表达, 获得以可溶性形式高效表达的 TP<sub>x</sub> 重组蛋白, 相对分子质量约为  $22.43 \times 10^3$ , 纯化后的带有 His 标签的 TP<sub>x</sub> 重组蛋白能被兔抗血清识别。用纯化的 TP<sub>x</sub> 重组蛋白免疫新西兰兔, 获得 TP<sub>x</sub> 多克隆抗体, 其 ELISA 效价为 1 : 1 126 400, 抗体纯度为 85%。结论 成功制备猪囊尾蚴排泄分泌抗原 TP<sub>x</sub> 重组蛋白, 并获得了高纯度、高效价的兔多克隆抗体。

**【关键词】** 猪囊尾蚴; 排泄分泌抗原; 硫氧还蛋白过氧化物酶; 原核表达; 多克隆抗体

**【中图分类号】** R383.34

**【文献标识码】** A

**【文章编号】** 1673-5234(2023)03-0310-05

[Journal of Pathogen Biology. 2023 Mar;18(3):310-314,318.]

## Expression, purification and preparation of polyclonal antibody against TP<sub>x</sub> protein of cysticercus cellulosae excretory secretory antigen

WANG Qian-fei<sup>1</sup>, YUAN Feng-ling<sup>1</sup>, WANG Shi-min<sup>1</sup>, WANG Qian-qian<sup>1</sup>, HE Wei<sup>2</sup>, LUO Bo<sup>2</sup>, ZHOU Bi-ying<sup>2</sup> (1. The First Clinical College of Zunyi Medical University, Zunyi 563000, Guizhou, China; 2. Department of Parasitology, Zunyi Medical University) \*\*\*

**【Abstract】** **Objective** Prokaryotic expression of Thioredoxin peroxidase (TP<sub>x</sub>) at Excretory secretory antigen (ESA) of *Cysticercus cellulosae* was performed, and the TP<sub>x</sub> protein was purified and rabbit polyclonal antibody was prepared.

**Methods** TP<sub>x</sub> gene was amplified by PCR using whole gene synthesis. The amplified TP<sub>x</sub> gene was cloned into prokaryotic expression plasmid pET30a vector, and the recombinant plasmid pET30a-TP<sub>x</sub> was constructed and transformed into competent *Escherichia coli* BL21 (DE3) cells, and the expression was induced by isopropyl thiogalactoside (IPTG). The expression of TP<sub>x</sub> was analyzed by 12% SDS-PAGE, and purified by Ni-IDA affinity chromatography. Western blot was used to identify the purification effect of TP<sub>x</sub> recombinant protein. Polyclonal antibody against TP<sub>x</sub> was prepared by immunizing New Zealand rabbits with purified TP<sub>x</sub> recombinant protein. The titer of purified antibody was determined by ELISA. **Results** The recombinant plasmid pET30a-TP<sub>x</sub> was successfully constructed, and TP<sub>x</sub> recombinant protein was obtained by IPTG induced expression, and the molecular mass was about  $22.43 \times 10^3$ . The purified TP<sub>x</sub> recombinant protein with His label could be recognized by rabbit antiserum. Immunizing New Zealand rabbits with purified TP<sub>x</sub> recombinant protein, TP<sub>x</sub> polyclonal antibody was obtained, with a titer of 1 : 1 126 400 and antibody purity of 85%. **Conclusion** The recombinant protein of excretory antigen TP<sub>x</sub> from *C. cellulosae* was successfully prepared, and the rabbit polyclonal antibody with high purity and high efficiency was obtained.

**【Key words】** *Cysticercus cellulosae*; excretory secretory antigen; thioredoxin peroxidase; prokaryotic expression; polyclonal antibody

\* **【基金项目】** 国家自然科学基金项目(No. 81960378);遵义市校联合基金项目(遵市科合 HZ 字[2021]278 号);遵义医科大学学术新苗培养及创新探索专项项目(黔科合平台人才[2020]-004);遵义医科大学研究生教育创新计划项目(No. ZYK70);国家级大学生创新创业训练计划项目(No. 202210661232);贵州省科技厅基础研究计划(黔科合基础-ZK[2023]-一般 516);遵义医科大学大学生创新创业训练计划项目(No. ZYDC2022047)。

\*\* **【通讯作者】** 周必英, E-mail: zbyzl01@126.com

**【作者简介】** 王乾飞(2000-),男,贵州人,在读本科生。主要研究方向:寄生虫感染与免疫。E-mail:3191242548@qq.com

猪囊尾蚴病(cysticercosis cellulosa)俗称囊虫病,是由猪带绦虫(*Taenia solium*)的幼虫猪囊尾蚴(*Cysticercus cellulosa*)寄生于人体皮下肌肉、脑、眼等引起的一种严重危害人类健康和畜牧业生产的人兽共患寄生虫病<sup>[1-2]</sup>。其中,以脑囊虫病最为严重,具有极高的致死率及致残率。此外,当人生食或半生食含猪囊尾蚴的猪肉后,猪囊尾蚴在人体小肠中发育为成虫,使人患猪带绦虫病<sup>[3-4]</sup>。囊虫病以药物治疗为主,研发保护性疫苗是防治囊虫病最有效的经济手段。由于囊虫病的免疫发病机制复杂,是制约囊虫病疫苗研发的重要因素之一<sup>[5-6]</sup>。

寄生虫感染宿主后可主动或被动地释放排泄分泌抗原(excretory secretory antigen, ESA)。研究发现,寄生虫 ESA 可诱导宿主产生免疫抑制细胞并分泌相关的细胞因子,从而逃避宿主的免疫攻击<sup>[7-9]</sup>。Fan 等<sup>[10]</sup>的研究发现猪囊尾蚴 ESA 可诱导 Treg 细胞的分化及启动 Th2 型免疫应答,从而发挥免疫逃避作用。ESA 成分复杂,为进一步研究猪囊尾蚴 ESA 中发挥免疫逃避作用的蛋白分子,He 等<sup>[11]</sup>通过非标定量蛋白质组学筛选出猪囊尾蚴 ESA 中具有免疫调控的硫氧还蛋白过氧化物酶(thioredoxin peroxidase, TPx)。TPx 蛋白属于硫氧还蛋白超家族中的一员,广泛存在于寄生虫的各个发育阶段及其 ESA 中,可参与调控宿主的免疫应答<sup>[12-15]</sup>。本研究拟通过全基因合成 TPx 基因,构建重组质粒 pET30a-TPx,转化至 *E. coli* BL21(DE3)感受态细胞中表达,通过纯化获得 TPx 重组蛋白,并用该重组蛋白免疫新西兰兔,制备多克隆抗体,为该重组蛋白的进一步研究奠定基础。

## 材料与方 法

### 1 材料

**1.1 质粒和菌种** 质粒 pET30a,大肠埃希菌 Top10 和 BL21(DE3)购自南京钟鼎生物技术有限公司。

**1.2 主要试剂** Protein Marker 购自美国 Thermo 公司;IPTG, Acr, Bis 和 Tris 购自美国 Sigma 公司;SDS 购自美国 Amresco 公司;TEMED 购自美国 BIO-RAD 公司;Tryptone 和 Yeast Extract 购自英国 OXOID 公司;0.22 μm 无菌滤器和透析袋购自美国 Millipore 公司;Ni-IDA 亲和层析胶购自美国 Novagen 公司;PVDF 膜购自美国 Millipore 公司;酶标二抗和 PBST 购自南京钟鼎生物技术有限公司;弗氏佐剂购自美国 Sigma 公司。

### 2 方法

**2.1 TPx 抗原编码基因合成和引物设计** 根据 NCBI 数据库猪带绦虫 TPx 基因序列(GenBank: AHZ89374.1),通过全基因合成的方法设计全长拼接

引物,在引物两端分别加入 NdeI 和 XhoI 酶切位点和保护性碱基,PCR 扩增 TPx 基因。扩增参数:96 °C 预变性 5 min;96 °C 变性 22 s,60 °C 退火 22 s,72 °C 延伸 25 s,共 25 个循环;72 °C 终延伸 1 min。PCR 产物进行 1% 琼脂糖凝胶电泳鉴定,其余产物按照凝胶回收试剂盒说明书进行回收纯化。

**2.2 重组质粒 pET30a-TPx 的构建及鉴定** 利用 NdeI 和 XhoI 双酶切纯化的 PCR 产物及 pET30a 载体,连接后转化至大肠埃希菌 Top10 感受态细胞。挑取阳性克隆,提取质粒进行酶切和测序鉴定。

**2.3 TPx 重组蛋白的表达、纯化** 将鉴定正确的 pET30a-TPx 重组质粒转化至 *E. coli* BL21(DE3)感受态细胞。挑取单个菌落,接种于含 50 μg/ml Amp 的 3 ml LB 培养液中,37 °C、220 r/min 振摇过夜,次日按 1:100 接种于 50 μg/ml Amp 的 30 ml LB 培养液中,37 °C、220 r/min 振摇至菌体 A<sub>600</sub> 值为 0.6~0.8。取 1 ml 培养物未诱导作为对照,余下的培养物中加入终浓度为 0.2 mmol/L 的 IPTG,15 °C 诱导过夜,取出 1 ml 诱导物。分别将 1 ml 诱导与未诱导的培养物 10 000 r/min(离心半径 22 cm)室温离心 2 min,弃上清,用 100 μL 1×上样缓冲液重悬菌体沉淀。再将剩余的培养物 4 000 r/min 离心 10 min,弃上清,用 PBS 重悬菌体沉淀。重悬液进行超声波破碎,分别取上清与沉淀液加入上样缓冲液重悬,进行 12% SDS-PAGE 电泳。利用低压层析系统,将诱导破碎后上清以 0.5 ml/min 流速上样至 Ni-IDA Binding-Buffer 预平衡的 Ni-IDA-Sepharose Cl-6B 亲和层析柱,用 Ni-IDA Binding-Buffer 以 0.5 ml/min 流速冲洗,至流出液 A<sub>280</sub> 值到达基线;用 Ni-IDA Washing-Buffer(20 mmol/L Tris-HCl,30 mmol/L 咪唑,0.15 mol/L NaCl,pH 8.0)以 1 ml/min 流速冲洗,至流出液 A<sub>280</sub> 值到达基线;用 Ni-IDA Elution-Buffer(20 mmol/L Tris-HCl,250 mmol/L 咪唑,0.15 mol/L NaCl,pH 8.0)以 1 ml/min 流速洗脱目的蛋白,收集流出液。上述收集的蛋白溶液加入透析袋中,使用 PBS 透析过夜后进行 12% SDS-PAGE 分析。

**2.4 TPx 重组蛋白的 Western blot 鉴定** 纯化的 TPx 重组蛋白经 12% SDS-PAGE 电泳湿法转移至 PVDF 膜上;将 PVDF 膜浸入封闭液中 37 °C 封闭 1 h,PBST 洗涤 4 次,每次 5 min;加入 PBS 稀释一抗(抗 His 标签抗体),37 °C 孵育 1 h,PBST 洗涤 4 次,每次 5 min;加入用 5% 的牛奶封闭的酶标二抗(羊抗鼠-HRP,1:10000),37 °C 孵育 1 h,PBST 洗涤 4 次,每次 5 min;ECL 法显色,拍照并记录结果。

**2.5 兔抗血清的制备及纯化** 将纯化的 TPx 重组蛋白与等体积的弗氏佐剂混匀后免疫新西兰实验兔(皮

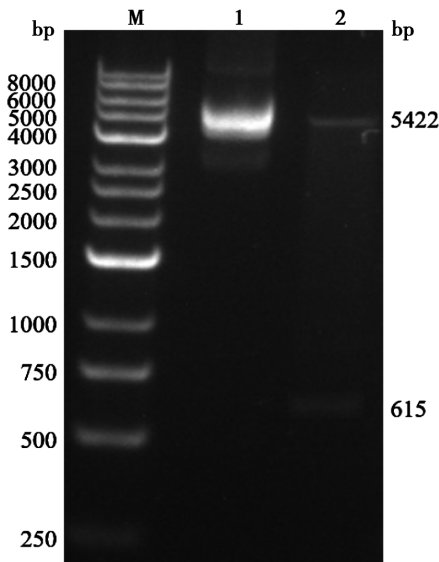
下免疫 400 μg/次), 2~3 周免疫 1 次, 共免疫 3 次。末次免疫 1 周后颈动脉放血, 分离血清。将 TPx 重组蛋白与琼脂糖介质偶联制备成抗原亲和纯化层析柱, 将兔抗血清与 PBS 等量混合后缓慢上样, 待抗体结合后用甘氨酸洗脱缓冲液洗脱, 得到纯化的抗体。

**2.6 酶联免疫吸附试验(ELISA)测定纯化抗体的效价** 用 PBS 包被液将纯化重组 TPx 蛋白稀释成 5 μg/L, 混匀后加入板条中, 每孔 100 μL, 4 °C 冰箱过夜, 洗板 3 次; 每孔加入 200 μL 封闭液, 37 °C 封闭 1 h, 洗板 1 次; 加入 PBS 倍比稀释的纯化抗体 (1 : 1100、1 : 2200、1 : 4400、1 : 8800、1 : 17600、1 : 35200、1 : 70400、1 : 140800、1 : 281600、1 : 563200、1 : 1126400), 每孔 100 μL, 37 °C 孵育 1 h, 洗板 3 次; 每孔加入 100 μL 酶标二抗(羊抗兔-HRP, 1 : 50000), 37 °C 孵育 1 h, 洗板 4 次; 每孔加入 100 μL TMB 显色液, 37 °C 显色 15 min 后每孔加入 100 μL 1 mol/L HCl 溶液终止反应, 用酶标仪测量吸光度 A<sub>450</sub> 值, 将 A 值大于设定的阴性对照 A 值的 2.1 的孔对应的稀释度定为该样品的效价。取纯化的抗体进行 SDS-PAGE 电泳, 考马斯亮蓝染色进行后灰度扫描, 计算抗体纯度。

### 结 果

#### 1 重组质粒 pET30a-TPx 的酶切和测序鉴定

重组质粒 pET30a-TPx 经 NdeI 和 XhoI 双酶切, 用 1% 琼脂糖凝胶电泳, 得到 5 422 bp 的 pET30a 载体片段和 615 bp 的 TPx 基因片段, 与预期结果相符 (图 1)。测序结果表明与预期序列 100% 匹配, 重组质粒 pET30a-TPx 构建成功。

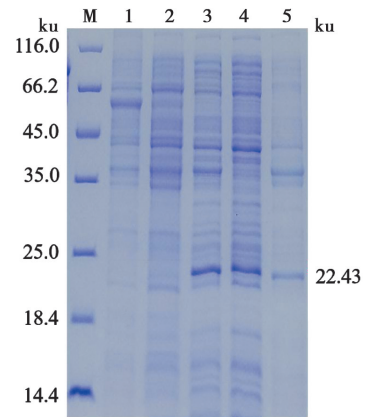


M DNA 标志物 1 酶切前质粒 2 酶切后质粒  
图 1 重组质粒酶切鉴定

M DNA marker 1 Plasmid before enzyme digestion 2 Plasmid after enzyme digestion  
Fig. 1 Identification of recombinant plasmid by enzyme digestion

#### 2 TPx 重组蛋白的表达、纯化和鉴定

重组质粒 pET30a-TPx 经 15 °C、0.2 mmol/L IPTG 诱导过夜后进行 SDS-PAGE 分析, 得到相对分子质量约 22.43 × 10<sup>3</sup> 的目的蛋白 (图 2), 与预测分子质量加上 His 标签分子质量的大小相符, 表明该蛋白为带 His 标签的 TPx 蛋白。TPx 蛋白主要以可溶形式存在于菌体处理后的上清液中。将 TPx 重组蛋白通过 Ni-IDA 亲和层析柱纯化, 获得大小约 22.43 × 10<sup>3</sup> 的单一目的蛋白条带 (图 3)。Western blot 鉴定纯化的重组蛋白能被相应抗体识别, 反应条带位于 22.43 × 10<sup>3</sup> 处 (图 4)。

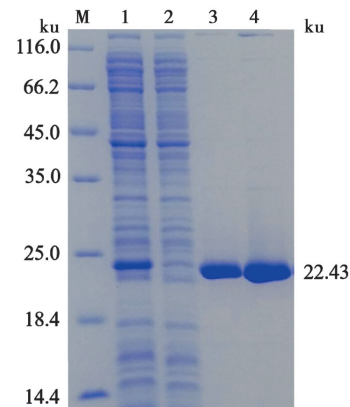


M 蛋白分子质量标准 1 pET30a 诱导对照 2 重组质粒转化菌未诱导 3 重组质粒转化菌 IPTG 诱导 3 h 4 IPTG 诱导重组质粒转化菌破碎上清 5 IPTG 诱导重组质粒转化菌破碎沉淀

图 2 诱导表达的 TPx 重组蛋白 SDS-PAGE 分析

M Protein marker 1 pET30a induction control 2 Recombinant plasmid transformed bacteria were not induced 3 Recombinant plasmid transformed bacteria IPTG induction for 3 h 4 IPTG induced recombinant plasmid transformed bacteria crushed supernatant 5 IPTG induced recombinant plasmid transformed bacteria crushed and precipitated

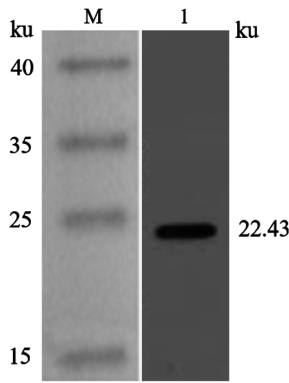
Fig. 2 SDS-PAGE analysis of induced expression of TPx recombinant protein



M 蛋白分子质量标准 1 IPTG 诱导重组质粒转化菌破碎上清 2 流出液 3、4 洗脱液

图 3 纯化 TPx 重组蛋白的 SDS-PAGE 电泳分析

M Protein marker 1 IPTG induced recombinant plasmid transformed bacteria crushing supernatant 2 Effluent 3,4 Eluent  
Fig. 3 SDS-PAGE electrophoresis analysis of purified TPx recombinant protein



M 蛋白分子质量标准 1 TPx 重组蛋白与相应抗体反应条带

图 4 TPx 重组蛋白的 Western blot 鉴定

M Protein marker 1 TPx recombinant protein with corresponding antibody reaction bands

Fig. 4 Western blot identification of TPx recombinant protein

### 3 免疫血清抗体效价及纯度

间接 ELISA 检测显示,纯化的 TPx 重组蛋白免疫兔血清抗体效价为 1 : 1 26 400(图 5)。纯化的 TPx 多克隆抗体通过 SDS-PAGE 电泳分析,55 × 10<sup>3</sup> 和 25 × 10<sup>3</sup> 处出现抗体重链与轻链条带,未发现杂蛋白(图 6)。灰度扫描计算纯化的抗体纯度为 85%。

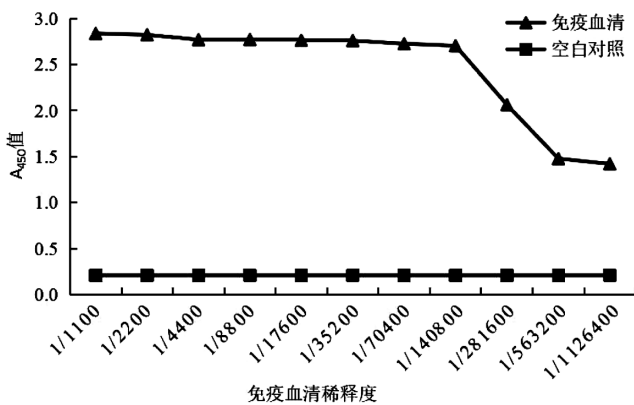


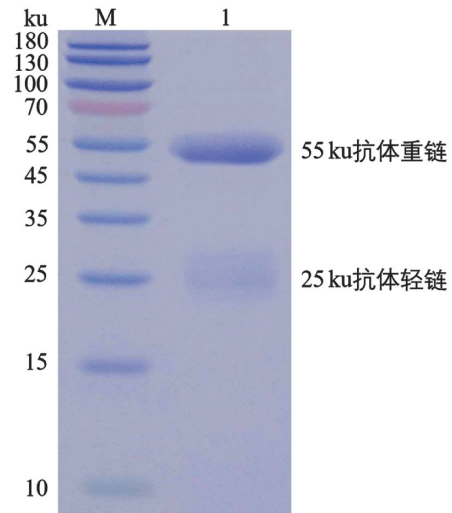
图 5 ELISA 检测免疫血清的抗体效价

Fig. 5 ELISA detects antibody titer in immune serum

## 讨论

猪囊尾蚴病呈全球性分布,在国外主要分布于亚洲、拉丁美洲和非洲等发展中国家,在我国以西北、华北、东北和西南地区的农村和少数民族聚集地较常见<sup>[16-18]</sup>。该病的免疫发病机制较为复杂,其中猪囊尾蚴 ESA 是影响宿主免疫应答的重要因素之一,且已证明猪囊尾蚴 ESA 可调节宿主 T 细胞免疫应答<sup>[19-20]</sup>。猪囊尾蚴 ESA 是囊尾蚴在寄生过程中为抵御宿主免疫攻击而分泌的一些特异性蛋白成分,可诱导宿主产生免疫应答反应<sup>[21]</sup>。ESA 成分复杂,为寻找猪囊尾蚴 ESA 调控 T 细胞时发挥关键作用的蛋白分子,He 等<sup>[11]</sup>在蛋白质组学分析的基础上从猪囊尾蚴 ESA 中筛选出高表达的 TPx 蛋白。推测 TPx 蛋白可能是调

控宿主免疫应答的重要蛋白分子,因此选取该蛋白作为重点研究对象。



M 蛋白分子质量标准 1 纯化的免疫兔抗体

图 6 纯化抗体的 SDS-PAGE 分析

M Protein marker 1 Purified immune rabbit antibody

Fig. 6 SDS-PAGE analysis of purified antibody

TPx 蛋白又称过氧化物酶(Peroxiredoxin, Prx),是一种高度保守的蛋白质家族<sup>[22-23]</sup>,在细胞免疫应答作用中发挥着重要作用。研究表明,寄生虫 TPx 蛋白可参与调控宿主免疫应答,诱导宿主 CD4<sup>+</sup> T 细胞亚群分化,产生 Th 混合免疫反应<sup>[24-27]</sup>。此外,寄生虫 TPx 蛋白具有良好的免疫诊断价值及作为候选疫苗的潜力<sup>[28-29]</sup>。TPx 蛋白在寄生虫领域的相关研究较多,但其在猪囊尾蚴病中的影响尚不清楚。为进一步探讨猪囊尾蚴 ESA 中 TPx 蛋白调控 T 细胞免疫应答的作用,本实验对其进行了原核表达和多克隆抗体制备。

基于大肠埃希菌易于操作、表达量高、周期短、可用性高以及对其代谢和遗传已有广泛的知识体系,因而被广泛用作表达重组蛋白,其中菌株 BL21(DE3)由于缺乏蛋白酶的有利特性,能够避免靶蛋白的降解,成为大肠埃希菌中最具代表性的重组蛋白表达系统<sup>[30-32]</sup>,因此以 *E. coli* BL21(DE3)作为该试验的表达菌株表达 TPx 重组蛋白。本实验通过全基因合成的方法扩增 TPx 抗原编码基因,将其亚克隆到原核表达载体 pET30a 中,构建重组质粒 pET30a-TPx 经双酶切和测序鉴定证实 TPx 基因成功插入到 pET30a 中,表明重组质粒 pET30a-TPx 构建正确。将 pET30a-TPx 重组质粒转化至 *E. coli* BL21(DE3)感受态细胞,经 SDS-PAGE 分析表达相对分子质量约 22.43 × 10<sup>3</sup> 的目的蛋白,且该蛋白主要存在于重组菌破碎上清中。将 IPTG 诱导的重组菌破碎上清进行 Ni-IDA 亲和层析柱纯化,收集的流出液进行 SDS-

PAGE 分析,获得纯度较高的  $22.43 \times 10^3$  融合蛋白。纯化的 TPx 蛋白经 Western blot 鉴定,能被相应抗体识别,即具有反应原性。用纯化的 TPx 重组蛋白免疫新西兰兔,得到的血清抗体 ELISA 效价为 1 : 1 26 400,表明制备的 TPx 蛋白具有免疫原性,获得的抗血清抗体效价高。纯化抗体进行 SDS-PAGE 电泳后通过灰度扫描计算其纯度为 85%,纯度较高。

综上所述,本研究实现了猪囊尾蚴排泄分泌抗原 TPx 基因在 *E. coli* BL21(DE3)中的高效表达,并成功制备了高纯度的 TPx 重组蛋白,获得了高效价的多克隆抗体,为该重组蛋白的进一步研究奠定了基础。

#### 【参考文献】

- [1] Nyangi C, Stelzle D, Mkupasi EM, et al. Knowledge, attitudes and practices related to *Taenia solium* cysticercosis and taeniasis in Tanzania[J]. BMC Infect Dis, 2022, 22(1):534.
- [2] Pujari A, Bhaskaran K, Modaboyina S, et al. Cysticercosis in ophthalmology[J]. Surv Ophthalmol, 2022, 67(2):544-569.
- [3] Langa I, Padama F, Nhancupe N, et al. The burden of *T. solium* cysticercosis and selected neuropsychiatric disorders in Mocuba district, Zamb zia province, Mozambique[J]. PLoS Negl Trop Dis, 2022, 16(7):e0010606.
- [4] Cruz-Rivera M, Torres J, Carrillo-Farga J, et al. Distribution of *Taenia solium* diagnostic glycoproteins in the different developmental stages of the parasite[J]. J Parasitol, 2019, 105(4):642-650.
- [5] Zhang Y, Luo B, Liu MC, et al. Analysis of immune response in BALB/c mice immunized with recombinant plasmids pMZ-X3-Ts14-3-3.3 and pMZ-X3-sp-Ts14-3-3.3 of *Taenia solium* [J]. Acta Trop, 2022(232):106517.
- [6] Zhou BY, Sun JC, Li X, et al. Analysis of immune responses in mice orally immunized with recombinant pMG36e-SP-TSOL18/Lactococcus lactis and pMG36e-TSOL18/Lactococcus lactis vaccines of *Taenia solium* [J]. J Immunol Res, 2018(2018):9262631.
- [7] Han C, Yu J, Zhang Z, et al. Immunomodulatory effects of *Trichinella spiralis* excretory-secretory antigens on macrophages [J]. Exp Parasitol, 2019(196):68-72.
- [8] Lu M, Tian X, Zhang Y, et al. Protection studies of an excretory-secretory protein HcABHD against *Haemonchus contortus* infection[J]. Vet Res, 2021, 52(1):3.
- [9] Junginger J, Raue K, Wolf K, et al. Zoonotic intestinal helminths interact with the canine immune system by modulating T cell responses and preventing dendritic cell maturation[J]. Sci Rep, 2017, 7(1):10310.
- [10] Fan X, Zhang Y, Ouyang R, et al. *Cysticercus cellulosae* regulates T-cell responses and interacts with the host immune system by excreting and secreting antigens [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2021(11):728222.
- [11] He W, Sun X, Luo B, et al. Regulation of piglet T-cell immune responses by thioredoxin peroxidase from *Cysticercus cellulosae* excretory-secretory antigens [J]. Frontier in Microbiology, 2022(13):1019810.
- [12] 何威, 罗波, 周必英. 人体重要寄生虫重组 TPx 参与免疫调控、免疫诊断及免疫预防的研究进展[J]. 中华地方病学杂志, 2022, 41(10):856-860.
- [13] Dorey A, Cwiklinski K, Rooney J, et al. Autonomous non antioxidant roles for *Fasciola hepatica* secreted thioredoxin-1 and peroxiredoxin-1 [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2021(11):667272.
- [14] Wang H, Li J, Zhang C, et al. *Echinococcus granulosus sensu stricto*: silencing of thioredoxin peroxidase impairs the differentiation of protoscoleces into metacestodes [J]. Parasite, 2018(25):57.
- [15] Tian AL, Tian X, Chen D, et al. Modulation of the functions of goat peripheral blood mononuclear cells by *Fasciola gigantica* thioredoxin peroxidase *in vitro* [J]. Pathogens, 2020, 9(9):758.
- [16] Prodjinotho UF, Lema J, Lacordia M, et al. Host immune responses during *Taenia solium* neurocysticercosis infection and treatment [J]. PLoS Neg Trop Dis, 2020, 14(4):e0008005.
- [17] Dinh NN, John N, Kathleen B, et al. The epidemiology of porcine *Taenia solium* cysticercosis in communities of the central highlands in Vietnam[J]. Parasit Vectors, 2018, 11(1):360.
- [18] 马孜琪, 牛莉. 猪囊尾蚴病的诊断及防治措施[J]. 养殖与饲料, 2021, 20(8):79-80.
- [19] 范贤敏, 周必英. 绦虫排泄分泌物与宿主免疫效应的相关研究进展[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2020, 38(1):128-133.
- [20] 范贤敏. 猪囊尾蚴排泄分泌抗原对仔猪 T 细胞免疫应答的影响 [D]. 遵义:遵义医科大学, 2021.
- [21] 李瑾, 肖婷, 孙慧, 等. 猪囊尾蚴排泄分泌抗原 Ts8B3 基因的原核表达、纯化以及免疫反应性分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2018, 13(5):480-483, 488.
- [22] Zhu D, Huang R, Yang C, et al. Identification and molecular characterization of peroxiredoxin 2 in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. Fish Shellfish Immunol, 2019(92):570-582.
- [23] 尹红玲, 蒋娟, 黄怀球, 等. 华支睾吸虫硫氧还蛋白过氧化物酶对脓毒症小鼠的保护作用[J]. 热带医学杂志, 2017, 17(4):421-423, 429, 553.
- [24] Jin QW, Zhang NZ, Li WH, et al. *Trichinella spiralis* thioredoxin peroxidase 2 regulates protective Th2 immune response in mice by directly inducing alternatively activated macrophages[J]. Front Immunol, 2020(11):2015.
- [25] Fereig RM, Nishikawa Y. Genetic disruption of *Toxoplasma gondii* peroxiredoxin (TgPrx) 1 and 3 reveals the essential role of TgPrx3 in protecting mice from fatal consequences of toxoplasmosis[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(6):3076.
- [26] Fereig RM, Kuroda Y, Terkawi MA, et al. Immunization with *Toxoplasma gondii* peroxiredoxin 1 induces protective immunity against toxoplasmosis in mice[J]. PLoS One, 2017, 12(4):e0176324.
- [27] Anand SB, Rajagopal V, Kaliraj P. *Brugia malayi* thioredoxin peroxidase as a potential vaccine candidate antigen for lymphatic filariasis[J]. Appl Biochem Biotechnol, 2012, 167(5):1351-1364.

在接受抗逆转录病毒治疗后效果较好,总有效率为90.02%。在治疗过程中,应加大对年龄≥60岁、文化程度初中以下、治疗前WHO临床分期3期、有合并症、服药依从性差患者的关注,适当增加此类患者的随访频率,加强服药依从性教育,早期发现抗逆转录病毒治疗过程中出现的副反应并及时采取应对措施,提高治疗效果。然而本研究仅收集到尚在治疗中的HIV感染/AIDS患者信息,未能收集完全停药后患者的相关信息,今后有必要开展停药患者的研究探讨。

【参考文献】

[1] Godin A, Eaton JW, Giguere K, et al. Inferring population HIV incidence trends from surveillance data of recent HIV infection among HIV testing clients[J]. AIDS, 2021, 35(14): 2383-2388.

[2] Medeiros GC, Smith FA, Trivedi MH, et al. Depressive disorders in HIV/AIDS: A clinically focused narrative review[J]. Harv Rev Psychiatry, 2020, 28(3): 146-158.

[3] Okhai H, Vivancos-Gallego MJ, Hill T, et al. CD4<sup>+</sup>:CD8<sup>+</sup> T cell ratio normalization and the development of AIDS events in people with hiv starting antiretroviral therapy [J]. AIDS Res Hum Retroviruses, 2020, 36(10): 808-816.

[4] Chen J, Li C, Li R, et al. Exosomes in HIV infection[J]. Curr Opin HIV AIDS, 2021, 16(5): 262-270.

[5] He Y, Lu H. Clinical guidelines for the diagnosis and treatment of HIV/AIDS in China: Their potential benefits and impact on public health[J]. Biosci Trends, 2022, 15(6): 413-417.

[6] Cao P, Zhang Y, Dong G, et al. Clinical oral condition analysis and the influence of highly active antiretroviral therapy on human salivary microbial community diversity in HIV-Infected/AIDS Patients[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2022, 12(1): 1-13.

[7] 刘小莹, 郑宏波, 王一龙, 等. 高效抗反转录病毒治疗对 HIV/AIDS 患者临床疗效及免疫功能影响[J]. 中国性科学, 2018, 27(12): 126-128.

[8] Ma Y, Cui Y, Hu Q, et al. Long-Term changes of HIV/AIDS incidence rate in china and the U. S. population from 1994 to 2019: A join-point and age-period-cohort analysis [J]. Front

Public Health, 2021, 9(1): 1-14.

[9] Martial NT, Mubarik S, Yu C. The trend of HIV/AIDS incidence and risks associated with age, period, and birth cohort in four central african countries[J]. Int J Environ Res Public Health, 2021, 18(5): 2564-2578.

[10] Yang X, Su B, Zhang X, et al. Incomplete immune reconstitution in HIV/AIDS patients on antiretroviral therapy: Challenges of immunological non-responders[J]. J Leukoc Biol, 2020, 107(4): 597-612.

[11] Tebas P, Jadowsky JK, Shaw PA, et al. CCR5-edited CD4<sup>+</sup> T cells augment HIV-specific immunity to enable post-rebound control of HIV replication[J]. J Clin Invest, 2021, 131(7): 1-22.

[12] Cao W, Hsieh E, Li T. Optimizing treatment for adults with HIV/AIDS in China: Successes over two decades and remaining challenges[J]. Curr HIV/AIDS Rep, 2020, 17(1): 26-34.

[13] 叶韦玮, 吴霜, 陈永薪, 等. 不同基线 CD4<sup>+</sup> T 细胞水平抗逆转录病毒治疗 HIV/AIDS 患者合并机会性感染的临床特点[J]. 中华医院感染学杂志, 2020, 30(15): 2296-2300.

[14] 杜波, 马玉霞, 田晓东, 等. 阜新市高效抗反转录病毒治疗的 HIV/AIDS 病人基因型耐药情况及影响因素[J]. 中国艾滋病性病, 2020, 26(8): 814-818.

[15] Schafer G, Hoffmann C, Arasteh K, et al. Immediate versus deferred antiretroviral therapy in HIV-infected patients presenting with acute AIDS-defining events (toxoplasmosis, Pneumocystis jirovecii-pneumonia): a prospective, randomized, open-label multicenter study (IDEAL-study) [J]. AIDS Res Ther, 2019, 16(1): 34-48.

[16] 马宁, 康续, 赵砚, 等. CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值在 HIV 感染者/AIDS 患者抗逆转录病毒治疗效果评估中的应用研究[J]. 国际病毒学杂志, 2021, 28(2): 145-148.

[17] Boyd MA, Boffito M, Castagna A, et al. Rapid initiation of antiretroviral therapy at HIV diagnosis: definition, process, knowledge gaps[J]. HIV Med, 2019, 20(1): 3-11.

[18] 王伟, 张亚丽, 马琳, 等. 2011-2019 年河北省 ≥50 岁 HIV 感染者/AIDS 患者接受抗病毒治疗后生存时间及影响因素分析[J]. 职业与健康, 2021, 37(23): 3223-3226.

【收稿日期】 2022-11-30 【修回日期】 2023-01-25

(上接 314 页)

[28] Liang Y, Song H, Wu M, et al. Preliminary evaluation of recombinant EPC1 and TPx for serological diagnosis of animal cystic echinococcosis [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2020 (10): 177.

[29] Han Y, Zhao B, Zhang M, et al. Biochemical properties and vaccine effect of recombinant TPx-3 from *Schistosoma japonicum* [J]. Parasitol Res, 2017, 116(4): 1361-1372.

[30] Du F, Liu YQ, Xu YS, et al. Regulating the T7 RNA polymerase expression in E. coli BL21 (DE3) to provide more host options

for recombinant protein production[J]. Microb Cell Fact, 2021, 20(1): 189.

[31] Hausjell J, Weissensteiner J, Molitor C, et al. E. coli HMS174 (DE3) is a sustainable alternative to BL21 (DE3) [J]. Microb Cell Fact, 2018, 17(1): 169.

[32] Carmignotto GP, Azzoni AR. On the expression of recombinant Cas9 protein in E. coli BL21(DE3) and BL21 (DE3) Rosetta strains[J]. J Biotechnol, 2019(306): 62-70.

【收稿日期】 2022-08-31 【修回日期】 2022-11-16