

DOI:10.13350/j.cjpb.250528

• 综述 •

肺炎链球菌的免疫预防现状*

李文桂**,陈雅棠

(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)

【摘要】 肺炎链球菌(*Sp*)是一种呼吸道常见的机会致病菌,采用疫苗防治是当前研究的热点之一。*Sp* 表面粘附素、表面蛋白 A、胆碱结合蛋白、酪蛋白裂解酶、多胺转运蛋白 D、热休克蛋白 A、*Sp* 铁摄取蛋白、SPD0295、SP2018、SP0148、RrgB、延长因子 Tu、*Sp* 溶血素、3 磷酸甘油醛脱氢酶和神经氨酸酶 A 等是几种常见的疫苗候选分子,肺炎链球菌疫苗的种类有全菌体细胞疫苗、重组抗原、DNA 疫苗和载体介导疫苗(rBCG-PspA、rSt-Ply、rLL-CPS3/PppA/PspA、rLc-PsaA/PspA 和 rSm-CPS5)等。本文将对这方面的研究现状进行综述。

【关键词】 肺炎链球菌;疫苗;综述

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2025)05-0677-06

[*Journal of Pathogen Biology*. 2025 May;20(05):677-682.]

The status in the research of immunoprophylaxis of *Streptococcus pneumoniae*

LI Wengui, CHEN Yatang (*Institute of Infectious and Parasitic Diseases, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China*)

【Abstract】 *Streptococcus pneumoniae* is one type of opportunistic pathogen in the respiratory tract, it recently becomes highlight to control this bacterium by use of the vaccine. pneumococcal adhesion A(PsaA), pneumococcal surface protein A(PspA), pneumococcal choline-binding protein A(PcpA), caseinolytic protease P(CLPP), polyamine transport protein D(PotD), heat shock protein A(HspA), pneumococcal iron uptake/acquisition protein A(PiuA/PiaA), SPD0295, SP2018, SP0148, RrgB, elongation factor(EF-Tu), pneumococcalysin (Ply), glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase(GAPDH), and neuraminidase A(NanA) are many kinds of effective candidate molecules of vaccine, *Sp* vaccines include whole cell vaccine, recombinant protein, DNA vaccine and vector-based vaccine(rBCG-PspA, rSt-Ply, rLL-CPS3/PppA/PspA, rLc-PsaA/PspA, and rSm-CPS5). The review outlines the status in the research of immunoprophylaxis of *S. pneumoniae*.

【Keywords】 *Streptococcus pneumoniae*; vaccine; review

*** 肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*, *Sp*)是鼻窦炎、细菌性中耳炎、菌血症、败血症、社区获得性肺炎或化脓性脑膜炎的常见病原体。通常使用抗生素和疫苗等防治该菌感染,化疗常用青霉素或头孢类抗生素等,但易产生耐药性,免疫预防使用 23 价肺炎链球菌多糖疫苗(pneumococcal polysaccharide-based vaccine, PPV23)和 7/10/13 价肺炎链球菌结合疫苗(pneumococcal conjugate vaccine 7/10/13, PCV7/10/13),但 PPV23 存在生产工艺复杂、价格昂贵和血清替换限制等缺陷,PCV7/10/13 的研发工艺存在诸多问题,这就需要研究更有效的防治措施^[1]。

早期研究^[2]发现 *Sp* 表面粘附素(pneumococcal adhesion A, PsaA)是 ABC 镁离子透酶复合物的组成部分,主要参与 Mn^{2+} 和 Zn^{2+} 的转运,与钙粘蛋白互作促进 *Sp* 粘附鼻咽部的上皮细胞,参与 *Sp* 的粘附和自溶;*Sp* 表面蛋白 A(pneumococcal surface protein A, PspA)是一种所有 *Sp* 菌株均有的细胞表面抗原,具有抑制乳铁蛋白和干扰补体参与的吞噬调理作用;*Sp* 胆碱结合蛋白(pneumococcal choline-binding protein A, PcpA)含有亮氨酸重复序列,参与细胞粘附、细胞凋亡、信号传导、DNA 修复和免疫应答等生物学功能;酪蛋白裂解酶(caseinolytic protease P, CLPP)是一种高度保守的 ATP 依赖的丝氨酸蛋白水解酶,参与蛋白的正确折叠、修复和降解等,在

Sp 致病和侵袭中起作用;多胺转运蛋白 D(polyamine transport protein D, PotD)是一种高度保守的膜结合蛋白,是多胺类物质胞内转运的主要转运体,而多胺类物质在 DNA/RNA 合成和 mRNA 转录中起其作用;热休克蛋白 A(heat shock protein A, HspA),又称 DnaJ,是一种热应急蛋白,具有分子伴侣、免疫佐剂和蛋白水解酶的功能;*Sp* 铁摄取蛋白 A(pneumococcal iron uptake/acquisition protein A, PiuA/PiaA)是一种转运脂蛋白,可结合血红素和亚铁血红素,参与铁吸收;SPD0295 是磷酸烯醇丙酮酸依赖的磷酸酶转运系统(PTS)的 E II 组分,参与转运碳源、趋化、磷酸化以及代谢通路的调节;SP2018 是细菌 ABC 转运系统中的结合蛋白,能结合并转运麦芽糖,促进 *Sp* 生长并在鼻咽部的定植;SP0148 是一种 ATP 结合的转运蛋白,可诱导 Th17 免疫应答;RrgB 是 *Sp* 菌毛岛 1 的骨架,具有 3 个变体 RrgB1、Rrg2 和 RrgB3,将其融合后具有较好的免疫原性;延长因子 Tu(elongation factor, EF-Tu)具有分子伴侣的活性,参与

* **【基金项目】** 国家自然科学基金项目(No. 30801052, 30671835, 30500423, 30200239)。

** **【通信作者(简介)】** 李文桂(1967-),男,湖北郧县人,博士,研究员,主要从事病原微生物的分子生物学和分子免疫学研究。E-mail: cqliwengui@163.com

肽的生物合成、蛋白折叠和细胞应急; Sp 溶血素(pneumococlysin, Ply)是一种裂解红细胞的胞内蛋白,具有抑制淋巴细胞增殖和多形核白细胞杀菌的功能。Ply 敲除 146 位丙氨酸可丧失溶血活性, pdT 是 Ply 的遗传脱毒形式(detoxified form of pdT); 3 磷酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)是糖酵解途径的关键酶之一,在能量产生、凋亡、自噬、DNA 修复和免疫逃避起作用; 神经氨酸酶 A(neuraminidase A, NanA)能分解细胞膜的糖蛋白和糖脂的 N-乙酰神经氨酸,破坏上皮细胞的硅酸位点,暴露下面的受体,增强 Sp 在鼻咽部的定植。上述资料提示 Sp 的多种蛋白参与 Sp 感染的发病机制,这为研制 Sp 疫苗提供了依据。Sp 疫苗的研究经历了全菌体细胞疫苗、重组抗原、DNA 疫苗和载体介导疫苗(rBCG-PspA、rSt-Ply、rLL-CPS3/PppA/PspA、rLc-PsaA/PspA 和 rSm-CPS5)这几个研究阶段。本研究拟概述 Sp 免疫预防的研制现状。

1 全菌体细胞疫苗

用全菌体细胞疫苗(whole cell vaccine, WCV)接种宿主可产生有效的保护力,但尚未弄清 WCV 有效抗原成分的种类和剂量、WCV 抗原之间的干扰和体内逆转的可能性,这就限制了其广泛应用^[3]。

2 重组蛋白

2.1 PsaA Sp 内肽酶 O(pneumococcal endopeptidase O, PepO)是一种金属内肽酶,参与细菌的粘附和侵袭,逃避宿主的免疫损伤。将 PsaA/PepO-PsaA 基因插入 pET32α(+)后转化 BL21(DE3),筛选培养后收集重组菌表达的融合蛋白。经皮下注射途径将 PsaA 抗原加 FCA 佐剂接种昆明鼠 3 次,在初次注射后 6 周用 D39 株进行腹腔注射攻击产生 35%(7/20)的存活率。将 PepO-PsaA 融合蛋白加 CT 佐剂皮下注射 BALB/c 鼠 4 次,在初次注射后 5 周显现血清 IgG 和唾液 sIgA 升高,在初次注射后 6 周用 D39 株进行滴鼻攻击产生 83.3%(10/12)的存活率,表明 PepO-PsaA 的免疫效果优于 PsaA 抗原。将 PsaA、PspA、表面抗原 Spr1875 和菌毛抗原 Flic 蛋白融合成嵌合蛋白 PSPF,将嵌合蛋白加 CW1505 佐剂滴鼻瑞士小鼠 3 次,在初次滴鼻后 5 周提示血清 IgG 和支气管肺泡灌洗液(BALF)的 sIgA 升高, BALF 的 TNF-α、IFN-γ、IL-10 和 IL-4 等细胞因子升高。用 D39 株进行滴鼻攻击发现肺组织的细菌负荷下降 100 倍左右^[4-8]。

2.2 PspA 腺苷酸环化酶 A(adenylate cyclase, cyaA)分解 cAMP,可作为呈递抗原的平台,通过 MHCI/MHC II 传递抗原肽,激活 CD4⁺ CD8⁺ 细胞介导的免疫应答。将 PspA 抗原滴鼻 BALB/c 鼠 4 次,在初次接种后 10 周进行交配,在初次接种后 13 周分娩新生鼠。在新生鼠分娩后 3 周皮下注射 10 μg 的 PspA,在分娩后 6 周显现血清 IgG、IgG1、IgG2a 和 IgG2b 升高,用 D39 株进行腹腔注射攻击产生 70%(7/10)的存活率。将 PsaA-PspA 或 PsaA-CyaA 融合蛋白加铝佐剂皮下注射 BALB/c 鼠 3 次可完全对抗 6314 株的腹腔注射攻击,提示 PsaA-PspA 或 PsaA-CyaA 融合蛋白产生的保护力高于 PspA 抗原^[9-11]。PE、PGA-CO-PDL、PLGA、HCl-CS、CM-CS 和 DOTAP/DC-chol 脂质体具有生物相容性和生物降解性,可作为疫苗递送系统使用。将 PE、PGA-CO-PDL、PLGA 和 CM-CS 包裹 PspA 的纳米颗粒皮下注射或滴鼻 CBA/N 鼠或

BALB/c 鼠 2 次,在初次接种后 4 周显示血清 IgG、IgG1 和 IgG2a 升高, IgG1/IgG2a 比值大于 1,用 6303 株进行腹腔注射攻击后 2 周发现 PGA-CO-PDL/HCl-CS 包裹免疫组、PLGA/HCl-CS 包裹免疫组和对照鼠的存活率分别为 100%(5/5)、83.3%(5/6)、100%(6/6)和 0(0/6),DOTAP/DC-chol 免疫组的肺组织细菌负荷减少^[12-14]。

2.3 PcpA 通过皮下注射将 10 μg 的 PcpA 加铝佐剂接种 BALB/c 鼠 2~3 次,在初次接种后 4 周用 TIGR4 株进行攻击后显示静脉攻击组和滴鼻攻击组分别产生 60%(6/10)和 70%(7/10)存活率,表明 PcpA 皮下注射可有效抵抗有毒株的攻击^[15-16]。

2.4 CLPP 将 CLPP 基因插入 pET32α(+)后转化 BL21(DE3),筛选培养后收集重组菌表达的 CLPP-Trx 蛋白。借助腹腔注射将融合蛋白加铝佐剂接种 BALB/c 鼠 3 次,在初次接种后 5 周证实血清 IgG 滴度为 1:320 000。用 TIGR4 株进行腹腔注射攻击后显示免疫组的存活时间大于 21 d,而对照组小于 4 d^[17-19]。

2.5 PotD 壳聚糖(chitosan)是甲壳素的脱乙酰化产物,可与 DNA 结合形成纳米微粒,提高黏膜组织对 DNA 的摄取能力。将 PotD 基因插入 pET28α(+)后转化 BL21(DE3),筛选培养后收集表达的 PotD-His 融合蛋白。经皮下注射将壳聚糖包裹的融合蛋白加铝佐剂免疫 CBA/Ca 鼠 3 次,在初次免疫后 5 周显现血清 IgG 升高。用 WU2 株进行滴鼻攻击产生 91.7%(11/12)的保护效果^[20-21]。

2.6 DnaJ DnaJ 蛋白促进细胞 TNF-α 和 IL-6 的表达,增加 p38MAPK 和 JNK 磷酸化水平。将 DnaJ 蛋白加 CT 佐剂滴鼻 BALB/c 鼠或 DnaJ-ΔA146ply 融合蛋白皮下注射 C57BL/6 鼠 4 次,在初次免疫后 5w 显示血清 IgG、IgG2b 和 IgA 升高,脾细胞分泌 IFN-γ、IL-10 和 IL-17A 等细胞因子。用 D39 株进行腹腔注射攻击后显现 DnaJ-ΔA146ply 融合蛋白免疫组的存活率为 60%(6/10)^[22-24]。

2.7 PiuA/PiaA 将 PiuA/PiaA 基因插入 pQE31/pET33b 后转化大肠埃希菌 M15 株,筛选培养后收集融合蛋白。将融合蛋白加铝佐剂腹腔注射 BALB/c 鼠 3 次,在初次注射后 6 周发现血清 IgG 升高,该血清促进 HL60 细胞杀死 D39 株。用 D39 株进行腹腔注射攻击后产生 80%(8/10)的存活率^[25-27]。

2.8 SPD0295/SP2018/SP0148 将 SPD0295/SP2018/SP0148 基因插入 pET28α(+)/pCold-TF 后转化 BL21(DE3),筛选培养后收集表达的融合蛋白。SP2018 蛋白抑制 D39 株粘附 A549 细胞。将 SP0148 蛋白加铝佐剂皮下注射 C57BL/6 鼠 3 次可对抗 D39 株的滴鼻攻击,产生 41.7%(5/12)的保护力^[28-30]。

2.9 RrgB321 将 RrgB321 蛋白加铝佐剂或弗氏佐剂腹腔注射 BALB/c 鼠 3 次,用 TIGR4 株进行攻击,发现滴鼻攻击组和腹腔注射攻击组均产生完全保护力,值得深入研究^[31-32]。

2.10 EF-Tu 将 EF-Tu 蛋白皮下注射 BALB/c 鼠 3 次产生一个 Th1 型应答,用 NP15A 株进行腹腔注射攻击产生 80%(8/10)的保护效果^[33]。

2.11 ΔA146Ply 将 ΔA146Ply 蛋白加 CT 佐剂滴鼻 BALB/c 鼠 4 次,在初次滴鼻后 5 周证实血清 IgG、IgG1、IgG2b、IL-17A 和唾液 sIgA 升高,用 7466 株进行滴鼻攻击产生 50%(4/8)的

保护力^[34]。

2.12 GAPDH 将 GAPDH 蛋白加铝佐剂皮下注射 C57BL/6 鼠 5 次,在初次注射后 10 周显现血清 IgG 及其亚类升高,用 19F 株进行滴鼻攻击产生 40%(1/10)的保护效果^[35]。

2.13 NanA 将 NanA 蛋白加弗氏佐剂腹腔注射毛丝鼠 (*Chinchillas*) 3 次,在初次注射后 6 周显示血清 IgG 升高,用 6A 株进行滴鼻攻击可产生有效的保护力^[36]。

2.14 PNEU 肽 选取 Ply、神经氨酸酶、锌粒子金属蛋白酶和烯醇化酶蛋白的表位,将它们融合表达为 PNEU 肽,然后用壳聚糖进行包裹。将壳聚糖包裹 PNEU 肽加 CM 佐剂滴鼻 BALB/c 鼠 3 次,在初次滴鼻后 6w 显示血清 IgG、IgG2a 和 IgA 等抗体以及 IL-6、IL-10、TNF- α 和 IL-17 等细胞因子提升,脾细胞增殖,ELISOPOT 显示脾 IFN- γ^+ SFC 的数目增加^[37]。

3 DNA 疫苗

将 PsaA/PcpA 基因插入 pcDANA3.1 得 pCD-PsaA/PcpA;将 100 μ g 重组质粒肌肉注射 BALB/c 鼠 3 次诱导一个 Th1 型应答,可对抗 D39 株滴鼻或 TIGR4 株的腹腔注射攻击,均产生 80%(8/10)的保护效果^[38-39]。

聚乙烯亚胺(PET)是一种粘膜佐剂。将壳聚糖包裹的 pCD-PotD 纳米微粒滴鼻 BALB/c 鼠或 pCD-DnaJ 加 dPEI 佐剂肌肉注射 C57BL/6 鼠 4 次,在初次接种后 9 周显现血清 IgG、IgG1 和 IgG2a 以及鼻粘膜 sIgA 升高,脾细胞分泌高水平的 IFN- γ 、IL-17A 和 IL-4 等细胞因子。用 D39 株进行滴鼻攻击后发现鼻腔灌洗液的细菌负荷下降 $10^2 \sim 10^4$ 倍^[40-41]。

将 PsPA/PspANS 基因插入 pTAGET 得 pTA-PsPA/PspANS。将重组质粒肌肉注射 C57BL/6 或 BALB/c 鼠 2 次,在初次注射后 6w 显现血清 IgG、IgG1 和 IgG2a 升高;IgG2a/IgG1 比值小于 1。将 TIGR4 株进行腹腔注射攻击提示 C57BL/6 免疫鼠和 BALB/c 免疫鼠的存活率分别为 58%(7/12)和 83%(5/6)^[42-43]。

4 载体介导的疫苗

4.1 卡介苗 (*Bacille Calmette-Guerin*, BCG) BCG 是一种疫苗载体^[44]。将 pMV261 和 pMIP12 作为表达载体构建 rBCG-PspA 和 rBCG-PsPA-pdt 疫苗。将 rBCG-PspA 疫苗腹腔注射 BALB/c 鼠或 C3H/HeJ 鼠,在注射后 4 周证实血清 IgG 升高。用 WU2 株进行腹腔注射攻击显示 BALB/c 免疫鼠和 C3H/HeJ 免疫鼠的存活率分别为 100%(10/10)和 80%(8/10)。将 rBCG-PsPA-pdt 疫苗皮下注射 C57BL/6 鼠 2 次,在初次注射后 6 周证实血清 IgG、IgG1 和 IgG2c 增加,IgG1/IgG2c 比值大于 1,脾细胞分泌 Th1 型的细胞因子,流式细胞仪显示脾 CD4⁺ T 细胞的数目增加。用 WU2 株进行滴鼻攻击产生 100%(10/10)的保护力,鼻粘膜的细菌负荷下降 1000 倍^[45-47]。

4.2 鼠伤寒沙门氏菌 (*Salmonella typhimurium*, St) St 是一种疫苗载体^[48]。肺炎链球菌 M 蛋白具有结合血清蛋白、纤维蛋白原和 IgG3 的功能。抗原 I/II 粘附素的唾液结合区(SBR)促进 Sp 粘附于宿主细胞的表面。将 pJCP20M 作为表达载体构建 rSt-Ply/M/SBR 疫苗。将 rSt-Ply 疫苗口服 BALB/c 鼠产生高水平的血清 IgG 和 IgA,但腹腔注射组只能诱导高水平的 IgG。将 rSt-M 疫苗口服 BALB/c 鼠产生高水平的血清 IgG 和 IgM 以及唾液 IgA,并抵抗 M5 株滴鼻或腹腔注射的攻击。将 rSt-SBR 疫苗灌胃或滴鼻 BALB/c 鼠 2 次,在末

次加强后 3 周显示口服组的血清 IgG、IgG2a 和 IgG1 升高,唾液和小肠 sIgA 增加,而滴鼻组的血清 IgG 升高,唾液和小肠 sIgA 增加^[49-51]。

外膜泡(outer membrane vesicles, OMP)具有粘膜佐剂作用。将 OMP 包裹的 rSt-PspA 疫苗滴鼻 BALB/c 鼠可诱导 50%(5/10)~60%(3/5)的保护效果^[52-56]。

4.3 乳酸乳球菌 (*Lactococcus lactis*, LL) 和干酪乳杆菌 (*Lactobacillus casei*, Lc) LL 和 Lc 是 2 种常见的益生菌,可作为疫苗载体^[57-58]。3 型荚膜多糖(Capsular polysaccharide type3, CPS3)可抑制补体活化。保护性蛋白 A(Pneumococcal protective protein A, PppA)是一种保护性抗原。将 pTREP 作为表达载体构建 rLL-CPS3/PppA/PspA 疫苗。将 rLL-CPS3 疫苗腹腔注射 BALB/c 鼠,在初次注射后 6d 显现血清 IgM 滴度为 1:102。将 rLL-PppA 疫苗滴鼻 C57BL/6 鼠不能对抗 AV6B 株的滴鼻攻击,但滴鼻 CBA/Ca 鼠可部分抵抗 TIGR4 株的腹腔注射攻击,免疫鼠存活 80~100 h,而对照鼠仅存活 40~48 h。用 rLL-PspA 疫苗滴鼻或口服瑞士小鼠可完全对抗 AV14 株和 AV23F 株的攻击,部分对抗 AV3 株和 AV6B 株的攻击^[59-64]。

将 pAILacGFP 作为表达载体构建 rLc-PsaA/PspA 疫苗。将其滴鼻 C57BL/6 鼠 6 次,在初次滴鼻后 39 d 证实血清 IgG 以及鼻、唾液和支气管冲洗液 sIgA 升高;用 6B 株进行滴鼻攻击产生 80%(8/10)的保护力,鼻冲洗液内的细菌负荷显著降低^[65-67]。

4.4 缓症链球菌/缓症链球菌 (*Streptococcus mitis*, Sm) 是一种疫苗载体,可诱导 Th17A/Th17 型免疫应答。荚膜多糖血清型 5(capsular polysaccharides serotype 5, CPS5)可使 Sp 逃避宿主免疫细胞的吞噬。将 rSm-CPS5 疫苗滴鼻 C57BL/6 鼠 3 次,在初次滴鼻后 21d 证实血清、鼻和 BALF 的 IgG 和 sIgA 升高;淋巴结、脾、鼻和 BALF 的 IL-17A 升高,但 IL-4 和 IFN- γ 无变化。用 A66.1 株进行滴鼻攻击后发现肺组织、鼻组织和 BALF 的细菌负荷下降 10^5 倍^[68]。

5 结语

现有部分 Sp 疫苗免疫宿主可诱导一定的保护力,但还存在下述缺点:PPV23 疫苗影响 Sp 的鼻咽部定植,其定植对其它细菌具有拮抗作用,增加血清型别以外细菌的感染风险;PCV13 疫苗存在免疫干扰现象,需探究干扰机制,应用不同载体结合荚膜多糖,优化结合方法;重组蛋白只能诱导体液免疫和 T_H 细胞应答,但不能诱导细胞毒性 T 淋巴细胞应答(CTL);DNA 疫苗有引起原癌基因活化和抑制基因失活的危险;重组 BCG 疫苗生长缓慢,表达外源基因需特殊载体;重组沙门氏菌苗的表达产物与天然蛋白存在差异,表达水平较低;重组乳球菌和乳杆菌苗长期低剂量口服有可能产生免疫耐受现象;重组缓症链球菌存在密码子偏爱,引起蛋白翻译的停滞。现有研究表明部分病毒的减毒株都是有效的疫苗载体^[69],构建这些载体介导的 Sp 疫苗可能具有极为广阔的开发应用前景。

随着科技的进步,人们将对 Sp 的基因组学、蛋白质组学、代谢组学、转录组学以及表观遗传学等进行深入探索,从而阐明 Sp 蛋白的结构与功能的关系;研究 PCV13 疫苗的多糖表位以及免疫宿主后产生的表位的识别机制,开发靶向特异性和免

疫原性较强的疫苗;构建融合 Sp 多个抗原的位点和覆盖多个菌株的疫苗;将 Sp 抗原位点与佐剂蛋白融合,将疫苗有效成分运到菌株定植部位;探索将 Sp 蛋白抗原作为结合疫苗载体的可能性,增强针对多糖的抗体应答,提高对其它血清型的交叉保护作用;研究新型佐剂、疫苗载体和制备融合蛋白,提高疫苗的免疫原性;筛选合适的动物模型评价新型疫苗分子的保护性免疫机制;摸索新型纳米微粒包裹的 Sp 疫苗是否可延长免疫应答的时间;阐明这些问题有助于开拓载体介导的 Sp 疫苗的应用前景。

【参考文献】

- [1] Oliveira GS, Olivera MLS, Miyaji EN, et al. Pneumococcal vaccine: past findings, present work, and future strategies[J]. Vaccine, 2021, 9: 1338.
- [2] Goncalves VM, Kaneko K, Solorzano C, et al. Progress in mucosal immunization for protection against *Pneumococcal pneumonia* [J]. Expert Rev Vac, 2019, doi. org/10. 10080/14760584. 2019. 1643719.
- [3] Goncalves VM, Dias WO, Campos IB, et al. Development of a whole-cell pneumococcal vaccine: BPL activation, cGMP production, and stability[J]. Vaccine, 2014, 32(9): 1113-1120.
- [4] 何斌,朱虹,端青,等.肺炎链球菌表面粘附素 A(rPsaA)的融合表达及抗原性分析[J]. 微生物学免疫学进展, 2007, 35(2): 12-14.
- [5] 吴艳丽,孙文平,杨光,等.肺炎链球菌表面粘附素 A 的原核表达及免疫保护性研究[J]. 中国现代医学杂志, 2009, 19(21): 3216-3219.
- [6] 张静,崔亚丽,江咏梅,等.肺炎链球菌内肽酶 O 及表面粘附素 A 联合蛋白疫苗免疫保护作用研究[J]. 中国当代儿科杂志, 2017, 19(5): 583-589.
- [7] 樊小英,薛红刚,郭蓉,等.肺炎链球菌 PsaA 抗原及其在结合疫苗中的应用[J]. 中华微生物学免疫学杂志, 2011, 31(7): 647-652.
- [8] Lalfio J, Villena J, Suvorov A, et al. Nasal immunization with recombinant chimeric pneumococcal protein and cell wall from immunobiotic bacteria improve resistance of infant mice to *Streptococcus pneumonia* infection[J]. PLoS One, 2018, 5: 1.
- [9] Kono M, Lyo T, Murakami D, et al. Maternal immunization with pneumococcal surface protein A provides the immune memories of offspring against *Streptococcus pneumonia* [J]. Front Cell, 2023, doi: 10. 3389/fmimb. 2023. 1059603.
- [10] Lu TC, Sun TX, Wang DD, et al. Protective immune responses elicits by fusion protein containing PsaA and PspA fragments [J]. Immunol Invest, 2015, 44(5): 482-496.
- [11] Carneiro GB, Castro JT, Davi M, et al. Immune responses and protection against *Streptococcus pneumonia* elicits by recombinant *Bordetella pertussis* adenylate cyclase (CyaA) carrying fragments of pneumococcal surface protein A, PspA[J]. Vaccine, 2023, 41(25): 4170-4182.
- [12] Moore III QC, Johnson L, Repka M, et al. Immunization with PspA incorporated into a poly (ethylene oxide) matrix elicits protective immunity against *Streptococcus pneumonia* [J]. Clin Vac Immunol, 2007, 14(6): 789-791.
- [13] De Figueiredo DB, Kaneko K, Rodrigues TDC, et al. Pneumococcal surface protein A-hybrid nanoparticles protects mice from lethal challenge after mucosal immunization targeting the lungs[J]. Pharmaceutics, 2022, 14: 1238.
- [14] Tada R, Suzuki H, Takahashi S, et al. Nasal vaccination with pneumococcal surface protein A in combination with cationic liposomes consisting of DOTAP and PC-Chol confers antigen-mediated protective immunity against *Streptococcus pneumonia* infection in mice[J]. Int Immunopharmac, 2018, 61(2): 385-393.
- [15] Glover DT, Hollingshead SK, Briles DE, et al. *Streptococcus pneumonia* surface protein PcpA elicits protection against lung infection and fatal sepsis[J]. Infect Immun, 2008, 76(6): 2767-2776.
- [16] Mann B, Thornton J, Health R, et al. Broadly protective protein-based pneumococcal vaccine composed of pneumolysin toxoid cbpA peptide recombinant fusion protein[J]. J Infect Dis, 2014, 209(6): 1116-1124.
- [17] 李岱容,曹炬,王虹,等.肺炎链球菌候选蛋白疫苗 CLPP 的保守性和抗原性[J]. 第四军医大学学报, 2008, 29(19): 1741-1744.
- [18] 李岱容,王虹,吴凯峰,等. CLPP 融合蛋白诱导的免疫反应可抵抗不同型别肺炎链球菌的侵袭性感染[J]. 中华微生物学免疫学杂志, 2008, 28(11): 972-975.
- [19] 袁军,陈耀,曹炬,等.肺炎链球菌毒力因子 CLPP 蛋白酶的体外表达及纯化[J]. 第三军医大学学报, 2008, 30(8): 1753-1755.
- [20] 闵迅,黄健,黄美容,等.肺炎链球菌蛋白 Pot 的表达纯化及免疫活性分析[J]. 第三军医大学学报, 2014, 36(16): 1660-1663.
- [21] Shah P, Swiatlo E. Immunization with polyamine transport protein PotD protects mice against *Streptococcus pneumonia* [J]. Infect Immun, 2006, 74(10): 5888-5892.
- [22] 吴盈盈,高松,马峰.肺炎链球菌热休克蛋白 40 通过 p38MAPK 和 JNK 通路诱导小鼠巨噬细胞免疫应答[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2015, 31(6): 730-735.
- [23] 游文献,曹炬.肺炎链球菌 DnaJ 蛋白的原核表达及其免疫保护效果[J]. 中国生物制品学杂志, 2013, 26(6): 754-759.
- [24] Su YF, Li DG, Xing Y, et al. Subcutaneous immunization with fusion protein immunization with DnaJ- Δ A146ply without additional adjuvants induces both humoral and cellular immunity against *Streptococcus pneumonia* [J]. Front Immunol, 2017, 8: 686.
- [25] Brown JS, Ogunniyi AD, Woodrow MC, et al. Immunization with components of two iron uptake ABC transporters protects mice against systemic *Streptococcus pneumonia* infection[J]. Infect Immun, 2001, 69(11): 6702-6706.
- [26] Jomaa M, Yuste J, Paton JC, et al. Antibodies to the iron uptake ABC transporter lipoproteins PiaA and PiuA promote opsonophagocytosis of *Streptococcus pneumonia* [J]. Infect Immun, 2005, 74(10): 6852-6859.
- [27] Whalan RH, Funnell SGP, Bowler LW, et al. PiuA and PiaA, iron uptake lipoproteins of *Streptococcus pneumonia*, elicit serotype independent antibody responses following human pneumococcal septicaemia[J]. FEMS Immunol Med Microbiol, 2023, 43(1): 73-80.
- [28] 闵迅,黄健,黄美容,等.肺炎链球菌候选疫苗蛋白 SPD0295 的重组表达及免疫活性分析[J]. 免疫学杂志, 2014, 30(8): 695-698, 703.
- [29] 骆诗露,黄健,韩道宾,等.肺炎链球菌 SP2018 蛋白的原核表达及免疫原性分析[J]. 遵义医学院学报, 2016, 39(4): 382-386.

- [30] Huang J, Luo SL, Huang ML, et al. Protection against fatal pneumoniae through mucosal and subcutaneous immunization with the pneumococcal SP0148 protein [J]. Microbiol Pathogenesis, 2019, 129(1): 206-212.
- [31] Moschioni M, De Angelis G, Harfouche C, et al. Immunization with the RrgB321 fusion protein protects mice against both high and low pilus-expressing *Streptococcus pneumonia* populations [J]. Vaccine, 2012, 30(7): 1349-1356.
- [32] Gianfaldoni C, Censini S, Hilteringmann M, et al. *Streptococcus pneumonia pneumoniae* pilus subunits protect mice against lethal challenge [J]. Infect Immun, 2007, 75(2): 1059-1062.
- [33] Nagai K, Domon H, Maekawa T, et al. Immunization with pneumococcal elongation factor Tu enhances serotype-independent protein against *Streptococcus pneumonia* infection [J]. Vaccine, 2019, 37(1): 160-168.
- [34] 姚润, 崔亚丽, 袁军, 等. 肺炎链球菌溶血素 Δ A146Ply 粘膜免疫的保护效果 [J]. 中国生物制品学杂志, 2011, 24(5): 579-582.
- [35] Sun XY, Wang JC, Zhou J, et al. Subcutaneous immunization with *Streptococcus pneumonia* confers effective protection in mice via TLR2 and TLR4 [J]. Mol Immunol, 2017, 83(1): 1-12.
- [36] Tong HH, Li D, Chen S, et al. Immunization with recombinant *Streptococcus pneumonia* neuraminidase NanA protein *Chinchillas* against nasopharyngeal colonization [J]. Infect Immun, 2005, 73(11): 775-7778.
- [37] Sadeghi S, Bandehpour M, Hoseini MHM, et al. Immune responses elevation by intranasal administration of chitosan microparticles adjuvanted poly-epitope against *Streptococcus pneumonia* in BALB/c mice [J]. Novelty Biomed, 2022, 1: 17-26.
- [38] 张巧, 马千里, 李琦, 等. 肺炎链球菌粘附素 A 基因疫苗的构建及对小鼠鼻咽部肺炎链球菌携带的防御作用 [J]. 第三军医大学学报, 2008, 30(8): 739-742.
- [39] 陈怡婷, 陈大鹏, 曹炬, 等. 肺炎链球菌 CbpA 基因疫苗的构建及免疫学特性 [J]. 第四军医大学学报, 2009, 30(9): 800-803.
- [40] 徐江红, 戴文佳, 王正敏, 等. 粘膜免疫壳聚糖-多胺转运蛋白 (PotD) DNA 纳米微粒对小鼠鼻咽部肺炎链球菌定植的保护作用研究 [J]. 中华微生物和免疫学杂志, 2010, 30(6): 560-565.
- [41] 孙思, 邱喻兰, 颜菊荣, 等. 重组质粒 pCDNA3-dnaJ/蛋白 DnaJ 异源免疫诱导 Th1 和 Th17 细胞免疫应答抵抗肺炎链球菌感染 [J]. 中国生物工程杂志, 2019, 39(12): 9-17.
- [42] Miyaji EN, Ferreira DM, Lopes APY, et al. Analisis of serum cross-reactivity and cross-protection elicited by immunization with DNA vaccines against *Streptococcus pneumonia* expressing PsPA fragments from different clades [J]. Infect Immun, 2002, 70(9): 5086-5090.
- [43] Ferreira DM, Miyaji EN, Oliverira MLS, et al. DNA vaccines expressing pneuoccal surface protein A (PspA) elicit protection levels compare to recombinant protein [J]. J Med Microbiol, 2006, 55(2): 375-378.
- [44] 李文桂, 陈雅棠. 血吸虫重组 BCG 疫苗构建及其免疫机制研究进展 [J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2002, 14(4): 307-310.
- [45] Langermann S, Palaszynski SR, Burlein JE, et al. Protective humoral response against pneumococcal infection in mice elicited by recombinant *Bacille Calmette-Guerin* expressing pneumococcal surface protein A [J]. J Exp Med, 1994, 180(6): 2277-2286.
- [46] Goulart C, Rodriguez D, Kanno AI, et al. Recombinant BCG-expressing a PspA-pdt fusion protein protects mice against pneumococcal lethal challenge in a prime-boost strategy [J]. Vaccine, 2017, 35(8): 1683-1691.
- [47] Goulart C, Rodriguez D, Kanno AI, et al. A combination of recombinant BCG-expressing pneumococcal protein induces cellular and humoral immune responses and protects against pneumococcal colonization and sepsis [J]. Clin Vaccine Immunol, 2017, doi:10.1128/ CVI.00133-17.
- [48] 李文桂, 陈雅棠. 重组细菌-St 疫苗研究进展 [J]. 热带病与寄生虫学, 2003, 1(2): 117-122.
- [49] Paton JC, Morona TK, Harrer S, et al. Immunization of mice with *Salmonella typhimurium* C5 aroA expressing a genetically toxoided derivative of the pneumococcal toxin pneumolysin [J]. Microb Pathog, 1993, 14(2): 95-102.
- [50] Poirier TP, Kehoe MA, Beachey EH. Protective immunity evoked by oral administration of attenuated aroA *Salmonella typhimurium* expressing cloned *Streptococcus* M protein [J]. J Exp Med, 1988, 168(1): 25-32.
- [51] Harokopakis E, Hajishengallis G, Greenway TE, et al. Mucosal immunogenicity of a recombinant *Salmonella typhimurium*-cloned heterologous antigen in the absence or presence of coexpressed cholera toxin A2 and B subunits [J]. Infect Immun, 1997, 65(4): 1445-1456.
- [52] Wang SF, Li YH, Shi HY, et al. Immune responses to recombinant pneumococcal PsaA antigen delivered by a live attenuated *Salmonella* vaccine [J]. Infect Immun, 2010, 78(7): 3258-3271.
- [53] Nayak AR, Tinge SA, Tart RC, et al. A live recombinant avirulent oral *Salmonella* vaccine expressing pneumococcal surface protein A induces protective responses against *Streptococcus pneumoniae* [J]. Infect Immun, 1998, 66(8): 3744-3751.
- [54] Seo SU, Kim JJ, Yang HJ, et al. Effective protection against secondary pneumococcal pneumonia by oral vaccination with attenuated *Salmonella* delivering PspA antigen in mice [J]. Vaccine, 2012, 30(38): 6816-6823.
- [55] Kang HY, Srinivasan J, Curtiss III R. Immune responses to recombinant pneumococcal PspA antigen delivered by live attenuated *Salmonella enterica* serovar *typhimurium* vaccine [J]. Infect Immun, 2002, 70(4): 1739-1749.
- [56] Muralinath M, Kuehn MJ, Roland KL, et al. Immunization *Salmonella enterica* serovar *typhimurium*-derived outer membrane vesicles delivering the pneumococcal protein PspA confers protection against challenge with *Streptococcus pneumoniae* [J]. Infect Immun, 2011, 79(2): 887-894.
- [57] 李文桂, 陈雅棠. 乳球菌介导的重组球菌疫苗研制现状 [J]. 中国病原生物学杂志, 2015, 10(2): 188-191.
- [58] 李文桂, 陈雅棠. 细菌重组乳杆菌疫苗的研制现状 [J]. 生物技术通讯, 2015, 26(3): 416-420.
- [59] Gilbert C, Robinson K, Dage RWFL, et al. Heterologous expression of an immunogenic pneumococcal type 3 capsular polysaccharide in *Lactococcus lactis* [J]. Infect Immun, 2000, 68(6): 3251-3260.

- [60] Oliveira MLS, Areas APM, Campos IB, et al. Induction of systemic and mucosal immune response and decrease in *Streptococcus pneumonia* colonization by nasal inoculation of mice with recombinant lactic acid bacteria expressing pneumococcal surface antigen A[J]. Microbes Infect, 2006, 8(6):1016-1024.
- [61] Hanniffy SB, Carter AT, Hitchin E, et al. Mucosal delivery of a pneumococcal vaccine using *Lactococcus lactis* affords protection against respiratory infection[J]. J Infect Dis, 2007, 195(2):185-193.
- [62] Medina M, Villena J, Vintini E, et al. Nasal immunization with *Lactococcus lactis* expressing the pneumococcal protective protein A induces protective immunity in mice [J]. Infect Immun, 2008, 76(6):2696-2705.
- [63] Villena J, Medina M, Raya R, et al. Oral immunization with recombinant *Lactococcus lactis* confers protection against respiratory pneumococcal infection[J]. Can J Microbiol, 2008, 54(5):845-853.
- [64] Villena J, Medina M, Racedo S, et al. Resistance of young mice to pneumococcal infection can be improved by oral vaccination with recombinant *Lactococcus lactis*[J]. J Microbiol Immunol Infect, 2010, 43(1):1-10.
- [65] Oliveira MLS, Monedero V, Miyaji EN, et al. Expression of *Streptococcus pneumonia* antigens, PsaA (Pneumococcal surface antigen A) and PspA (pneumococcal surface protein A) by *Lactobacillus casei*[J]. FEMS Microbiol Lett, 2003, 227(1):25-31.
- [66] Oliveira MLS, Areas APM, Campos IB, et al. Induction of systemic and mucosal immune response and decrease in *Streptococcus pneumonia* colonization by nasal inoculation of mice with recombinant lactic acid bacteria expressing pneumococcal surface antigen A[J]. Microbes Infect, 2006, 8(6):1016-1024.
- [67] Campos IB, Darrieux M, Ferrieux M, et al. Nasal immunization of mice with *Lactobacillus casei* expressing the pneumococcal surface protein A: induction of antibodies, complement deposition and partial protection against *Streptococcus pneumonia* challenge [J]. Microbes Infect, 2008, 10(3):481-488.
- [68] Shekhar S, Amdal H, Petersen FC, et al. Vaccination with the commensal *Streptococcus mitis* expressing pneumococcal serotype 5 capsule elicits IgG/IgA and Th17 responses against *Streptococcus pneumonia* [J]. Front Immunol, 2021, 12:676488.
- [69] 李文桂, 陈雅棠. 载体介导的结核分枝杆菌 ESAT-6 疫苗的研制现状[J]. 热带医学杂志, 2024, 24(2):299-304.

【收稿日期】 2024-12-04 【修回日期】 2025-02-28

(上接 669 页)

- [22] Sobel JD, Sobel R. Current treatment options for vulvovaginal candidiasis caused by azole-resistant *Candida* species[J]. Expert Opin Pharmacother, 2018, 19(9):971-977.
- [23] Cousens C, Alleaume C, Bijsmans E, et al. Jaagsiekte sheep retrovirus infection of lung slice cultures [J]. Retrovirology, 2015, 12(1):31.
- [24] Baxter CG, Marshall A, Roberts M, et al. Peripheral neuropathy in patients on long-term triazole antifungal therapy [J]. J Antimicrob Chemother, 2021, 66(9):2136-2139.
- [25] Marr KA, Leisenring W, Crippa F, et al. Cyclophosphamide metabolism is affected by azole antifungals[J]. Blood, 2022, 103(4):1557-1559.

【收稿日期】 2024-12-23 【修回日期】 2025-03-15

(上接 673 页)

- [22] Waheed G, Soliman MAR, Ali AM, et al. Spontaneous spondylodiscitis: review incidence, management, and clinical outcome in 44 patients[J]. Neurosurgical Focus, 2019, 46(1):10.
- [23] Ma CY, Wu HB, Chen G, et al. The potential of metagenomic next-generation sequencing in diagnosis of spinal infection: a retrospective study[J]. Eur Spine J, 2022, 31(2):442-447.
- [24] Gu W, Miller S, Chiu CY. Clinical metagenomic next-generation sequencing for pathogen detection[J]. Ann Rev Pathol, 2019, 14(9):319-338.
- [25] 颜金祥, 刘家门, 熊绪, 等. 宏基因组二代测序在脊柱感染性疾病诊断中的应用效果[J]. 南昌大学学报(医学版), 2024, 64(3):89-93.

【收稿日期】 2024-12-25 【修回日期】 2025-03-09

(上接 676 页)

- [30] Shi S, Zhang Q, Sang Y, et al. Probiotic bifidobacterium longum BB68S improves cognitive functions in healthy older adults: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial [J]. Nutrients, 2022, 15(1):51-59.
- [31] 杨光露, 马勇, 郭杨, 等. 基于 16S rDNA 分析脊髓康对脊髓损伤小鼠肠道菌群的影响[J]. 中华中医药杂志, 2023, 38(3):1009-1014.
- [32] 王天雨, 魏炜, 杨志新, 等. 艾灸"相对穴"对脊髓损伤大鼠运动能力和其肠道菌群的影响[J]. 中国微生态学杂志, 2022, 34(11):1283-1288.
- [33] 崔振华, 林夏妃, 陈永敏, 等. 针灸与康复疗法干预脑缺血模型大鼠神经功能及肠道菌群的变化[J]. 中国组织工程研究, 2023, 27(17):2692-2698.
- [34] 刘明富, 刘槃, 宁宇, 等. 粪菌移植疗法对大鼠脊髓损伤后的作用研究[J]. 广西医科大学学报, 2021, 38(12):2240-2245.
- [35] Jing Y, Yu Y, Bai F, et al. Effect of fecal microbiota transplantation on neurological restoration in a spinal cord injury mouse model: involvement of brain-gut axis[J]. Microbiome, 2021, 9(1):59-79.

【收稿日期】 2025-01-22 【修回日期】 2025-04-03