

# 阿苯达唑联合 IFN- $\alpha$ 抗小鼠 细粒棘球蚴病的实验研究

云哲琳<sup>1</sup>, 周永升<sup>1</sup>, 张焱<sup>2</sup>, 李冰<sup>1</sup>

**摘要:**目的 在 BALB/c 小鼠体内评价阿苯达唑 (ABZ) 联合干扰素 (interferon, IFN)- $\alpha$  对于 CE 的治疗效果。方法 Balb/c 小鼠原头蚴腹腔继发感染 5 个月后, 小鼠被随机分配到 4 组: ABZ 组、IFN- $\alpha$  组、ABZ+IFN- $\alpha$  组和未经处理对照组。不同处理组分别给药 2 个月。在治疗的第 0、7、14、28、36、48、60 d 从小鼠尾静脉采血检测血清中抗体水平变化。治疗结束后处死小鼠, 检测相关指标评价治疗效果。结果 与对照组 ( $P < 0.01$ ) 或 ABZ 组 ( $P < 0.05$ ) 相比, ABZ+IFN- $\alpha$  组包囊的数量、大小及重量都显著减少。对不同处理组的包囊进行透射电镜观察 (TEM) 发现, ABZ+IFN- $\alpha$  组的包囊的超微结构发生了明显的改变。ELISA 实验结果表明, ABZ+IFN- $\alpha$  组的血清与脾细胞分泌的白细胞介素 (interleukin, IL)-10 显著下降 ( $P < 0.01$ ); 血清中 IgE、IgG 抗体及其亚型浓度与对照组相比显著降低 ( $P < 0.01$ )。结论 本研究证实 ABZ 联合 IFN- $\alpha$  可能成是一种有效的 CE 治疗方案。

**关键词:** 细粒棘球蚴病 (CE); 阿苯达唑; IFN- $\alpha$ ; IL-10; 超微结构改变

中图分类号: R383

文献标识码: A

文章编号: 1002-2694(2018)02-0133-06

## *In vivo* therapeutic effects of albendazole in combination with IFN- $\alpha$ on cystic echinococcosis in mice

YUN Zhe-lin<sup>1</sup>, ZHOU Yong-sheng<sup>1</sup>, ZHANG Yan<sup>2</sup>, LI Bing<sup>1</sup>

(1. Department of General Surgery, Baogang Hospital, Baotou 014010, China;

2. The Sci-technology Center, Ningxia Medical University, Yinxia 750003, China)

**Abstract:** This study aimed to evaluate the *in vivo* efficacy of combined ABZ-interferon (IFN)- $\alpha$  treatment for CE in mice. After 5 months of secondary infection with protoscoleces, mice were randomly allocated into four groups: ABZ-treated group, IFN- $\alpha$ -treated group, ABZ+IFN- $\alpha$  group and untreated control group. Drugs in diverse treated groups were respectively administered for 2 months, of which, sera were respectively collected in 0 d, 7 d, 14 d, 28 d, 36 d, 48 d, and 60 d. Mice were then euthanized and associated indications were investigated to evaluate the therapeutic efficacy. Results showed that ABZ+IFN- $\alpha$  induced a significant reduction of the number, size as well as weight of cysts, compared with that in ABZ ( $P < 0.05$ ) or untreated group ( $P < 0.01$ ) respectively. This effect was associated with ultrastructural modification of the cyst in ABZ+IFN- $\alpha$  group. Interestingly, significant decrease of IL (interleukin)-10 in serum and *in vitro* production by spleen cells with ABZ+IFN- $\alpha$  treatment was observed in comparison with untreated control ( $P < 0.01$ ). Serum IgE, IgG and subsets were respectively decreased in ABZ+IFN- $\alpha$  treatment, compared with that in control group ( $P < 0.01$ ). Our findings demonstrated that combination of ABZ with IFN- $\alpha$  may contribute to an efficient therapeutic regimen of human and animal CE.

**Keywords:** cystic echinococcosis (CE); albendazole; IFN- $\alpha$ ; IL-10; ultrastructural modification

细粒棘球蚴病 (cystic echinococcosis, CE) 是一种在全世界广泛分布并在部分区域呈现严重流行的蠕虫类人兽共患病<sup>[1]</sup>。我国是棘球蚴病发病最高的国家之一<sup>[2]</sup>。治疗 CE 通常依赖于手术和/或化

疗, 取决于多种的因素如囊肿的大小和位置、合并微生物感染、潜在危险并发症如囊肿破裂等<sup>[3-6]</sup>。作为手术治疗的补充, 唯一可用的药物治疗 CE 的苯并咪唑氨基甲酸酯衍生物, 即甲苯咪唑 (MBZ) 和阿苯达唑 (ABZ)<sup>[7]</sup>。然而, 有超过 20% 的 CE 病例对于这样的治疗效果不佳<sup>[8]</sup>。因此, 迫切需要新型的、更有效的治疗方案。

作者单位: 1. 内蒙古包钢医院普外科, 包头 014010;

2. 宁夏医科大学科技中心, 银川 750003

Email: Yun\_zhelin727@126.com

干扰素(interferon, IFN)- $\alpha$ ,属一类干扰素,最初主要被用于各种病毒性疾病的抗病毒治疗<sup>[9]</sup>。随后,IFN- $\alpha$ 被证实具有多种生物学功能,包括:抗病毒、抗肿瘤及免疫调节等<sup>[9-10]</sup>。对于另一种棘球蚴病-泡球蚴病(AE),有研究表明 IFN- $\alpha$  具有积极的保护作用。Godot V 等研究证实 IFN- $\alpha$  能够显著减小 AE 病人的病变囊泡<sup>[11]</sup>。进一步研究发现,IFN- $\alpha$  治疗 AE 的过程中能够逆转 Th2 型到 Th1 型免疫应答,而这有利于机体免疫对于包囊产生有效的保护性的免疫应答。在 AE 的研究中还发现,IFN- $\alpha$  能够减轻肝脏纤维化与损伤水平。然而,目前缺乏 IFN- $\alpha$  对于 CE 治疗效果的研究。本研究旨在小鼠体内评价单独 IFN- $\alpha$  及联合 ABZ-IFN- $\alpha$  对于 CE 的治疗效果。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 实验动物 所有动物实验均通过内蒙古包钢医院伦理委员会的审核批准。40 只雌性 Balb/c 小鼠(8 周龄,18~20 g)购自北京维通利华实验动物有限公司。实验动物饲养在一定室温控制(22±1℃)、光照(12 h 光照/黑暗循环)环境中。

1.1.2 药物及试剂 ABZ 购自葛兰素史克公司,Pegasys<sup>®</sup> interferon alfa-2a 购自罗氏制药有限公司。青霉素、链霉素、RPMI 1640 细胞培养基、胎牛血清(FBS)均购自 Invitrogen 公司。Con-A 购自 Sigma-Aldrich 公司。小鼠 IL-4、IL-10 和 IFN- $\gamma$  细胞因子 ELISA 检测试剂盒购自 e-Bioscience 公司。山羊抗小鼠 IgE、IgG 抗体及其亚型二抗购自 Novagen 公司。其他试剂均为国产分析纯。

1.1.3 原头蚴 包囊从临床手术中分离获得后,迅速无菌地转移到实验室。通过注射器将囊液从包囊中吸出,9 000×g 4℃离心 20 min,弃上清,将沉淀原头蚴用含有双抗的 PBS(pH 7.2,包含 1 000  $\mu$ g/mL 青霉素和 1 000 U/mL 链霉素)洗两遍。原头蚴活性利用美兰排除实验进行鉴定<sup>[12]</sup>。只有当原头蚴活性达到 90%以上才会被用于接下来小鼠继发感染。继发感染使用的原头蚴终浓度是 1 500 个/200  $\mu$ L PBS。

### 1.2 实验方法

1.2.1 实验设计 通过腹腔注射继发感染 40 只雌性 Balb/c 小鼠,每只小鼠感染重悬在 200  $\mu$ L PBS 的 1 500 个新鲜的原头蚴。感染 5 个月后,小鼠被随机分配到 4 组(10 只/组):a) ABZ 治疗组,小鼠每日灌胃 ABZ (5 mg/kg);b) IFN- $\alpha$  治疗组,小鼠

每 3 d 肌肉注射 IFN- $\alpha$ -2a 10 000 IU/50  $\mu$ L;c) ABZ + IFN- $\alpha$  组,小鼠同时进行 ABZ 与 IFN- $\alpha$  的治疗,剂量方法同 a) 和 b);d) 未经治疗对照组。各组药物治疗维持 2 个月。随后,随后处死小鼠,检测相关指标评价治疗效果。

1.2.2 检测寄生虫感染及分析治疗有效率 解剖小鼠腹腔,检测每只小鼠的包囊数量、大小及重量。治疗有效率(基于感染小鼠包囊重量)通过下列公式计算<sup>[13]</sup>:

$$\text{有效率} = \frac{X_c - X_t}{X_c} \times 100\%$$

其中  $X_c$  是未经治疗对照组平均包囊重量, $X_t$  是治疗组平均包囊重量。

1.2.3 透射电子显微镜观察(Transmission electron microscopy,TEM) 各组包囊样本经处理后用 TEM 进行检测<sup>[14]</sup>。包囊被切割为 1 mm<sup>3</sup> 大小并利用预冷的含 2.5% 戊二醛的 0.1 M PBS 固定 5 h。样本经 0.1 M PBS 洗两遍后,采用 1% 四氧化锇固定。样本随后经不同乙醇浓度梯度脱水后在等体积的氧化丙烯/环氧树脂中包埋过夜。随后,再次在新鲜的 100% 环氧树脂包埋 24 h 及在 65℃ 包埋 18h。采用超微切片机(Leica EM FC7)制备 50—70 nm 厚度的切片。随后放置到 200-目的铜网,切片经饱和乙酸双氧铀及柠檬酸铅分别浸泡着色 10 min 和 5 min。切片经蒸馏水清洗后自然干燥,利用 TEM(H7650,日立)检测。

1.2.4 酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay,ELISA) 首先,将每只小鼠分离的脾细胞采用 RPMI 1640 培养基(含 10% 热灭活 FBS)重悬,终浓度调整到 5×10<sup>6</sup> 个脾细胞/mL,加入 2.5  $\mu$ g/mL Con-A (Sigma) 刺激剂 37℃ 5% CO<sub>2</sub> 孵育 72 h 后,收集培养上清用于检测 IL-4、IL-10 和 IFN- $\gamma$  浓度。血清与细胞培养上清细胞因子的检测的具体步骤参见 EILSA 细胞因子检测试剂盒说明书。

ELISA 检测血清抗体水平:用 96 孔微量板,每孔加入含有 0.1  $\mu$ g/ $\mu$ L 包囊粗抗原的 0.1 M 磷酸盐缓冲液(pH 9.6)100  $\mu$ L 4℃孵育过夜。血清以 1:100 稀释到 PBST 缓冲液(pH 7.2,PBS 中含有 0.05% 吐温-20)中,37℃孵育 1 h。随后加入二抗,即以 1:1000 稀释的 HRP 标记的山羊抗小鼠 IgG、IgG 亚型和 IgE。酶标仪(Bio-Rad)单波长 490nm 处检测吸光密度 OD 值。

1.3 统计学分析 所有数据均通过 Prism 5.0 (GraphPad 软件)进行分析。结果表示为均数±标

准误。包囊重量、大小、细胞因子浓度与抗体水平均分别通过单因素方差检验进行分析。当  $P < 0.05$  时,具有统计学差异。

## 2 结果

2.1 ABZ+IFN- $\alpha$  治疗显著抑制包囊 小鼠在实验过程无发现死亡,表明没有严重的药物副作用。

小鼠处死时,4 组小鼠平均小鼠体重没有统计学差异( $P > 0.05$ )。ABZ+IFN- $\alpha$  治疗组的包囊数量与对照组( $P < 0.01$ )或 ABZ 组( $P < 0.05$ )相比显著下降,ABZ 治疗组的包囊数量与对照组相比显著下降( $P < 0.01$ )。然而,IFN- $\alpha$  治疗组包囊数量与对照组相比无显著差异( $P > 0.05$ ),见表 1。

表 1 对照组与不同治疗组的包囊数量

Tab.1 The number of hydatid cysts in control and treated infected mice

分组 Group	每只小鼠的包囊数量 Each number of cyst in mice										Mean $\pm$ SEM
ABZ	3	2	2	1	4	1	2	1	3	2	2.100 $\pm$ 0.314
IFN- $\alpha$	4	7	3	4	5	1	6	2	4	2	3.800 $\pm$ 0.592
ABZ+ IFN- $\alpha$	1	1	1	0	2	1	1	2	0	0	0.900 $\pm$ 0.233 <sup>ab</sup>
对照组 Untreated control	5	4	0	6	2	3	3	5	7	4	3.900 $\pm$ 0.640

注: ABZ+IFN- $\alpha$  治疗组的包囊数量与未处理组(<sup>a</sup>  $P < 0.01$ )或 ABZ 治疗组(<sup>b</sup>  $P < 0.05$ )相比显著下降。

Note: The number of cysts in treated group showed significant reduction from group untreated control (<sup>a</sup>  $P < 0.01$ ) or group ABZ (<sup>b</sup>  $P < 0.05$ ).

结果表明 ABZ+IFN- $\alpha$  治疗组无论包囊重量还是大小,与对照组( $P < 0.01$ )或 ABZ 治疗组( $P < 0.05$ )相比均显著下降,ABZ+IFN- $\alpha$  治疗组的包囊

抑制率达到 89.7%,这些结果表明 ABZ 联合 IFN- $\alpha$  治疗效果更显著,见表 2。

表 2 不同处理组的包囊重量与大小

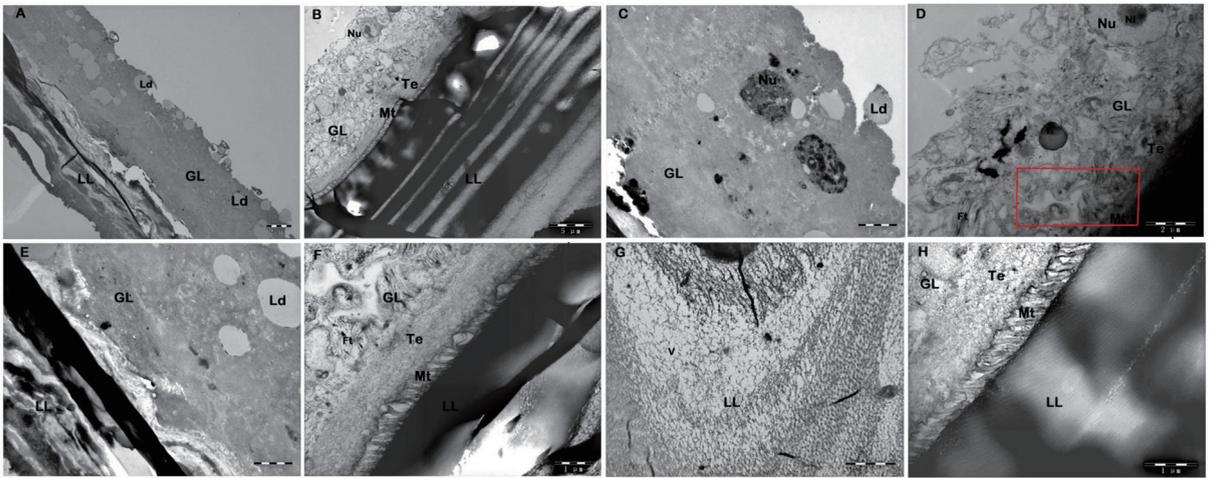
Tab.2 Weights and size of hydatid cysts in control and treated infected mice

分组 Group	囊重 (g) Weight of hydatid cyst	包囊直径 (mm) Size of hydatid cyst	包囊抑制率 (%) Cyst inhibition rate
ABZ	0.21 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup>	2.1 $\pm$ 0.9 <sup>a</sup>	78.4
IFN- $\alpha$	0.89 $\pm$ 0.28	6.7 $\pm$ 1.5	0.08
ABZ+ IFN- $\alpha$	0.10 $\pm$ 0.05 <sup>ab</sup>	1.2 $\pm$ 0.4 <sup>ab</sup>	89.7
Untreated control	0.97 $\pm$ 0.45	7.3 $\pm$ 3.2	-

注: ABZ+IFN- $\alpha$  治疗组的包囊重量与大小与对照组(<sup>a</sup>  $P < 0.01$ )或 ABZ 治疗组(<sup>b</sup>  $P < 0.05$ )相比显著下降。

2.2 ABZ+IFN- $\alpha$  治疗组的包囊超微结构的改变与破坏 TEM 用于观察不同处理组包囊超微结构的变化。结果表明,对照组的包囊呈现典型的细粒棘球蚴包囊结构,而 ABZ+IFN- $\alpha$  治疗组出现了包囊超微结构的改变与破坏。见图 1A 和 1B。在生发层,ABZ+IFN- $\alpha$  治疗的小鼠包囊中正常的未分化细胞、纤维组织、典型细胞核及核仁结构明显消

失,取而代之的是细胞核碎裂与大量的脂滴,见图 1C 和 1D,表明生发层产生子囊的能力被破坏。与对照组相比,ABZ+IFN- $\alpha$  治疗组的小鼠包囊典型的皮层与微毛微管结构消失,见图 1E 和 1F。正常外层的非细胞的、富含糖成分的角质层被排列不规整、富含空泡结构的代替,见图 1G 和 1H。



ABZ+IFN- $\alpha$  治疗组的变化:A、C、E 和 G;未治疗对照组的变化:B、D、F 和 H。A 和 B 显示的是总体的包裹超微结构。C 和 D 展示的是包裹生发层。E 和 F 重点观察的是微管与外皮结构。F 来自 D 的红色区域。G 与 H 是包裹外层的层积层。在对照组,包裹具有角质层(LL)、生发层(GL)、皮层(Te)、微管(Mt)、未分化细胞(UC)、纤维组织(F)、细胞核(Nu)与核仁(NI)。ABZ+IFN- $\alpha$  治疗组的超微结构变化表明脂滴(Ld)和空泡(V)。

ABZ+IFN- $\alpha$  treated group (A, C, E and G) and Untreated group (B, D, F and H). A and B showed the general ultrastructure of cysts. C and D showed germinal layer of cysts. E and F emphasized on changes of teguments and microtriches. F derived from red rectangle area of D. G and H represented laminated layer of cysts. In untreated group, the hydatid cyst appears almost normal laminated layer (LL), germinal layer (GL), tegument (Te), microtriches (Mt), undifferentiated cells (UC), fibrous tissue (F), cell nucleus (Nu) and nucleolus (NI) are clearly visible. In ABZ+IFN- $\alpha$  treated group, ultrastructural alternations shows as lipid droplets (Ld) and vacuoles (V), nuclear fragmentation, degeneration and disappearance of microtriches (Mt), undifferentiated cells (UC), tegument (Te), and cellular elements. Each figure was labeled by a scale bar.

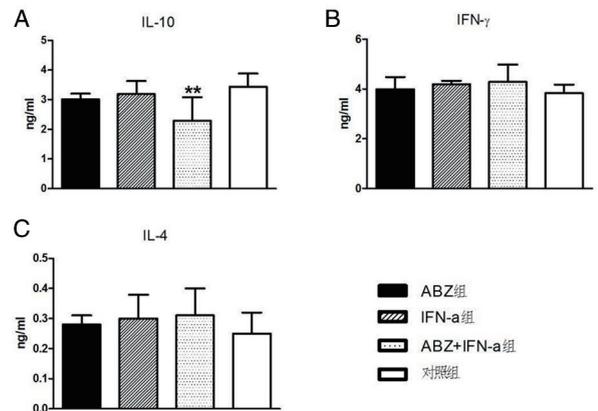
图1 ABZ+IFN- $\alpha$  治疗组的包裹超微结构变化

Fig.1 Ultrastructural modification of cyst wall and cyst components in ABZ+IFN- $\alpha$  treated group

2.3 ABZ+IFN- $\alpha$  治疗显著降低了血清 IL-10:为了检测治疗后细胞因子的生成情况,检查发现 ABZ+IFN- $\alpha$  治疗组的血清 IL-10 浓度与对照组相比显著降低( $2.29 \pm 0.25$  ng/mL) vs. ( $3.44 \pm 0.14$  ng/mL),  $P < 0.01$ (图 2A)。IFN- $\gamma$ (图 2B,  $P = 0.08$ )与 IL-4(图 2C,  $P = 0.11$ )在各组之间没有显著差别。

2.4 ABZ+IFN- $\alpha$  治疗显著降低了脾细胞分泌的 IL-10:经检测,脾细胞分泌细胞因子情况并发现 ABZ+IFN- $\alpha$  治疗组的 IL-10 分泌与对照组相比显著下降( $0.91 \pm 0.10$  ng/mL) vs. ( $1.99 \pm 0.17$  ng/mL),  $P < 0.01$ (图 3A)。但是 IFN- $\gamma$ (图 3B,  $P = 0.31$ )与 IL-4(图 3C,  $P = 0.18$ )水平在各组之间没有显著差别。

2.5 ABZ+IFN- $\alpha$  治疗组的血清特异性抗体变化为了更好的了解该治疗对于特异性抗体水平的影响,本研究对不同处理组血清抗体进行了 ELISA 检测。结果表明,与单纯感染对照组相比,ABZ+IFN- $\alpha$  治疗组的 IgG 抗体持续下降,在治疗结束时(第 60 d)显著下降( $P < 0.0001$ ,图 4A)。同样,在治疗结束时,IgG 抗体的亚型包括 IgG1 ( $P < 0.0001$ ,图 4B)、IgG2( $P = 0.0299$ ,图 4C)与 IgG4



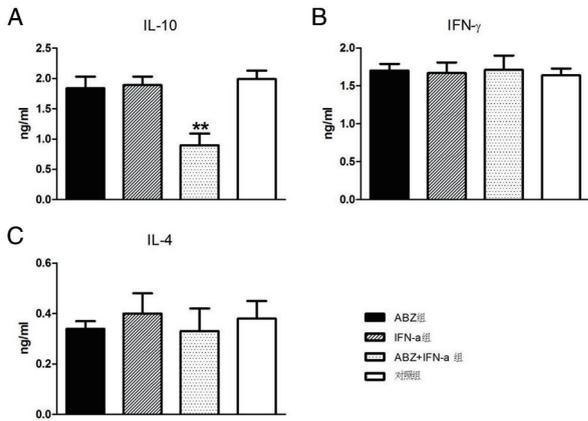
不同治疗组的小鼠血清分别使用 ELISA 试剂盒检测 IFN- $\gamma$  (A)、IL-4 (B) 和 IL-10 (C) 浓度。<sup>a</sup>  $P < 0.01$ 。

Sera of mice from diverse groups were collected respectively for detection of IFN- $\gamma$  (A), IL-4 (B) and IL-10 (C) concentration using ELISA kit. <sup>a</sup>  $P < 0.01$ .

图2 ABZ+IFN- $\alpha$  治疗组血清 IL-10 显著下降

Fig.2 Significant decrease of IL-10 in serum with ABZ+IFN- $\alpha$  treatment

( $P < 0.0001$ ,图 4D)均随着治疗显著降低。与此同时,联合治疗组 IgE 水平亦显著降低( $P < 0.0001$ ,图 4E)。



不同治疗组的小鼠脾细胞上清分别使用 ELISA 试剂盒检测 IFN- $\gamma$  (A)、IL-4 (B) 和 IL-10 (C) 浓度。<sup>a</sup>  $P < 0.01$ 。

Cytokines production by spleen cells from diverse groups were collected respectively for detection of IFN- $\gamma$  (A), IL-4 (B) and IL-10 (C) secretion using ELISA kit. <sup>a</sup>  $P < 0.01$ .

图 3 ABZ+IFN- $\alpha$  治疗组的脾细胞分泌的 IL-10 显著降低  
Fig.3 Significant decrease of IL-10 in production *in vitro* with ABZ+IFN- $\alpha$  treatment

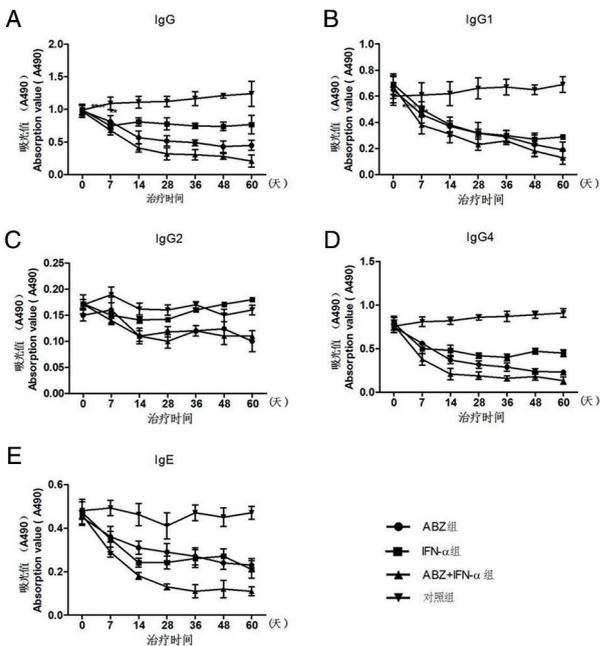


图 4 不同治疗组血清 IgG、IgG1、IgG2、IgG4、IgE 和 IgM 的检测

Fig.4 Detection of OD value profiles of sera IgG, IgG1, IgG2, IgG4, IgE and IgM in diverse treated groups

### 3 讨论

在本研究中,评价了 ABZ 联合 IFN- $\alpha$  对于 CE 的治疗效果。研究结果表明 ABZ 联合 IFN- $\alpha$  在小鼠继发感染 CE 中具有更好的治疗效果。进一步证实该治疗效果可能与包囊超微结构的改变、降低的 IL-10 水平以及下调体液免疫有关。

IFN- $\alpha$  具有多种生物学功能包括抗病毒感染、

抗肿瘤及免疫调节作用,但在蠕虫感染中的作用研究十分有限。但是值得一提的是在 AE 研究中, IFN- $\alpha$  减轻了人和小鼠的包囊病变<sup>[11, 15]</sup>。研究者进一步指出该作用与 Th2 型细胞因子向 Th1 型细胞因子逆转有关,包括下调 IL-10、IL-6 与 IL-13,以及上调 IFN- $\gamma$  水平<sup>[11]</sup>。但是本研究显示仅仅 IFN- $\alpha$  并不能产生缓解 CE 的能力,也不能逆转 Th 细胞因子类型,说明仅仅 IFN- $\alpha$  不能够打破慢性 CE 的 Th2 型免疫应答。该结果与之前在 AE 治疗的报道不同。然而 IFN- $\alpha$  联合 ABZ 能够显著改善 CE 降低包囊负担,与 ABZ 组或对照组相比治疗效果显著见表 1、2。进一步研究表明,该联合治疗能够显著下调 IL-10。IL-10 是典型的 Th2 型细胞因子,在 CE 中抑制 Th1 保护性应答并帮助寄生虫逃避宿主免疫应答<sup>[16]</sup>。所以,该联合治疗取得更好的治疗效果可能与抑制了 IL-10,降低了 Th2 型免疫应答有关。

体液免疫应答在 CE 发生发展过程中发挥重要作用,在感染的早期,通过激活补体、调理作用、AD-CC 作用等发挥重要的保护性免疫应答,而在感染的慢性期抗体尤其是 IgG4 类型具有保护虫体逃逸的作用<sup>[17-18]</sup>。在本研究联合治疗中的 IgG、IgG1、IgG2、IgG4 和 IgE 都显著下降,这表明在感染慢性期异常升高的体液免疫应答在该联合治疗中显著下调,其中 IgG4 也显著降低。但是,尽管 IgG 水平在联合治疗后显著下降,我们发现其水平仍高于阴性水平。这可能与感染的免疫记忆有关,但需要进一步的研究。总之,该联合治疗的治疗效果可能亦与下调对寄生虫有利的体液免疫有关。

在本研究中,ABZ+IFN- $\alpha$  或单独的 IFN- $\alpha$  治疗都没有显著增加感染慢性期 IFN- $\gamma$  水平。这或许是与 IFN- $\gamma$  往往在感染早期(7-8 d)发挥重要的保护作用,而随后在感染的慢性期就会下降有关<sup>[19]</sup>。感染早期治疗对于 IFN- $\gamma$  的影响将会进一步研究。此外,有研究报道 IFN- $\alpha$  通过增强树突状细胞(DC)细胞递呈抗原发挥抗肿瘤作用<sup>[20-21]</sup>,但是 DC 细胞是否在该联合治疗中发挥作用仍需探究。

总之,本研究证实 ABZ 联合 IFN- $\alpha$  对于 CE 具有更好的治疗效果,为 CE 治疗提供了实验依据。

### 参考文献:

- [1] Brunetti E, Kern P, Vuitton DA. Writing Panel for the W-I. Expert consensus for the diagnosis and treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans[J]. Acta tropica, 2010, 114 (1): 1-16. DOI: 10.1016/j.actatropica.2009.11.001
- [2] Qi YF, Wu WP. Progress on the epidemiology of echinococcosis

- [J]. Chin J Parasitol Paras Dis, 2013, 31(02): 143-148. (in Chinese)
- 齐颜凤, 伍卫平. 棘球蚴病流行病学研究进展[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2013, 31(02): 143-148.
- [3] Kern P. Medical treatment of echinococcosis under the guidance of Good Clinical Practice (GCP/ICH) [J]. Parasitol Int, 2006, 55 Suppl: S273-82.DOI:10.1016/j.parint.2005.11.040
- [4] Ceballos L, Elissondo C, Moreno L, et al. Albendazole treatment in cystic echinococcosis: pharmacokinetics and clinical efficacy of two different aqueous formulations[J]. Parasitol Res, 2008, 103(2): 355-362.DOI: 10.1128/AAC.05105-11
- [5] Menezes da Silva A. Hydatid cyst of the liver-criteria for the selection of appropriate treatment[J]. Acta Tropica, 2003, 85(2): 237-242.DOI: 10.1016/S0001-706X(02)00271-1
- [6] Wen H, Tu EGAL AJ, Shao YM, et al. Research achievements and challenges for echinococcosis control[J]. Chin J Parasitol Paras Dis, 2015, 33(06): 466-471. (in Chinese)
- 温浩, 吐尔干艾力·阿吉, 邵英梅, 等. 棘球蚴病防治成就及面临的挑战[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2015, 33(06): 466-471.
- [7] Falagas ME, Bliziotis IA. Albendazole for the treatment of human echinococcosis: a review of comparative clinical trials [J]. Am J Medl Sci, 2007, 334(3): 171-179.DOI: 10.1097/MAJ.0b013e31814252f8
- [8] Moro P, Schantz PM. Echinococcosis: a review[J]. Int J Infect Dis, 2009, 13(2): 125-133.DOI: 10.1016/j.ijid.2008.03.037
- [9] Uze G, Tavernier J. High efficiency targeting of IFN-alpha activity: possible applications in fighting tumours and infections [J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2015, 26(2): 179-182.DOI: 10.1016/j.cytogfr.2014.10.006
- [10] Gibbert K, Schlaak JF, Yang D, et al. IFN- $\alpha$  subtypes: distinct biological activities in anti-viral therapy[J]. Br J Pharmacol, 2013, 168(5):1048. DOI: 10.1111/bph.12010
- [11] Godot V, Harraga S, Podoprigrora G, et al. IFN alpha-2a protects mice against a helminth infection of the liver and modulates immune responses[J]. Gastroenterology, 2003, 124(5): 1441-1450. DOI: 10.1016/S0016-5085(03)00273-7
- [12] Elissondo M, Dopchiz M, Ceballos L, et al. *In vitro* effects of flubendazole on *Echinococcus granulosus* protoscoleces [J]. Parasitol Res, 2006, 98(4): 317-323.DOI: 10.1007/s00436-005-0026-6
- [13] Pensel PE, Ullio Gamboa G, Fabbri J, et al. Cystic echinococcosis therapy: Albendazole-loaded lipid nanocapsules enhance the oral bioavailability and efficacy in experimentally infected mice[J]. Acta Trop, 2015, 152: 185-194.DOI: 10.1016/j.actatropica.2015.09.016
- [14] Ahmadian S, Moazeni M, Mohammadi-Samani S, et al. *In vivo* evaluation of the efficacy of albendazole sulfoxide and albendazole sulfoxide loaded solid lipid nanoparticles against hydatid cyst [J]. Exp Parasitol, 2013, 135(2): 314-319.DOI: 10.1016/j.exppara.2013.07.017
- [15] Harraga S, Godot V, Bressonhadni S, et al. Clinical efficacy of and switch from T helper 2 to T helper 1 cytokine profile after interferon  $\alpha$ 2a monotherapy for human echinococcosis[J]. Clin Infect Dis, 1999, 29(1):205-206. DOI: 10.1086/520157
- [16] Manel A, Chafia TB. Involvement of Treg and alternatively activated macrophages in evasion strategies during hydatidosis [J].Front in Immunol, 2013, 4(4): 41-7. DOI: 10.3389/conf.fimmu.2013.02.00425
- [17] Rigano R, Profumo E, Di Felice G, et al. *In vitro* production of cytokines by peripheral blood mononuclear cells from hydatid patients [J]. Clin Exp Immunol, 1995, 99(3): 433-439.
- [18] Zhang W, Hao W, Li J, et al. Immunology and immunodiagnosis of cystic echinococcosis: an update[J]. Clin Dev Immunol, 2012(1):101895.DOI: 10.1155/2012/101895
- [19] Gessner A, Moskophidis D, Lehmann-Grube F. Enumeration of single IFN-gamma-producing cells in mice during viral and bacterial infection [J]. J Immunol, 1989, 142(4): 1293-1298.
- [20] Rizza P, Capone I, Moretti F, et al. IFN- $\alpha$  as a vaccine adjuvant: recent insights into the mechanisms and perspectives for its clinical use.[J]. Expert Rev Vaccines, 2011, 10(4): 487-498.DOI: 10.1586/erv.11.9
- [21] Aricò E, Belardelli F. Interferon- $\alpha$  as antiviral and antitumor vaccine adjuvants: mechanisms of action and response signature[J]. J Interferon Cytokine Res, 2012, 32(6): 235-247. DOI: 10.1089/jir.2011.0077

收稿日期:2017-09-13 编辑:李友松