

doi:10.3969/j.issn.1673-6184.2019.03.007

• 综述 •

梅毒螺旋体疫苗的研究进展

郑康¹, 刘安元^{1,2}, 吴移谋¹

1. 南华大学衡阳医学院病原生物学研究所, 衡阳 421001; 2. 南华大学附属第二医院, 衡阳 421001

摘要: 梅毒是由密螺旋体苍白亚种(*Treponema pallidum* subsp. *pallidum*, Tp)感染引起的慢性系统性传播疾病, 流行于中低等收入国家。越来越多的临床病例表明清除Tp感染需要加强公共卫生筛查和治疗, 而接种疫苗是预防Tp感染极有价值和首选的方法。本文概述了研制Tp疫苗的必要性, 总结疫苗研究过程中候选抗原的相关信息及递送系统, 分析Tp疫苗发展策略。

关键词: 梅毒螺旋体苍白亚种; 疫苗; 候选抗原; 递送系统; 发展策略

Vaccine development for syphilis

ZHENG Kang¹, LIU Anyuan^{1,2}, WU Yimou¹1. *Institution of Pathogenic Biology, Medical College, University of South China, Hunan Province Cooperative Innovation Center for Molecular Target New Drug Study, Hengyang, 421001, China*; 2. *The Second Affiliated Hospital of University of South China, Hengyang 421001, China*

Abstract: Syphilis is a sexually transmitted infection caused by *Treponema pallidum* subsp. *Pallidum* (*T. pallidum*). Over 90% of syphilis cases occur in low- and middle-income countries. Studies indicated that elimination of *T. pallidum* requires enhanced public health screening, treatment and vaccination. This article provides an overview of the need for development of a syphilis vaccine, summarizes the information and delivery system and candidate antigens in development, and analyzes the development strategies for *T. pallidum* vaccine.

Keywords: *Treponema pallidum* subsp. *pallidum*; vaccine; candidate antigens; delivery system; development strategy

梅毒螺旋体苍白亚种(*Treponema pallidum* subsp. *pallidum*, TP)感染引起的性传播疾病是全球公认的公共卫生安全问题。世界卫生组织(World Health Organization, WHO)估计每年感染Tp的病例数为3 600万例, 新增感染人数超过1 200万^[1], 其中90%以上的梅毒感染病例集中在中低等收入国家, 也常出现于欧洲、美国、加拿大和中国^[2-4]。在美国, 男男性行为者(men who have sex with men, MSM)引起的Tp发病率急剧上升, 从2000年每10万名MSM中15.8人感染Tp, 上

升到2013年的228.8人^[5]。近年来, 高收入和低收入国家的先天性Tp发病率在逐渐增加^[6]。据统计全世界每年有136万孕妇感染Tp, 其中约52万患者出现胎儿死亡^[7]。中国的先天性梅毒病例也在逐渐升高, 2013年中国疾病预防控制中心(Chinese Center for Disease and Prevention, CDC)报告每10万名孕妇中有69.9名活产胎儿出现Tp感染^[8-10]。Tp还能增加人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)阳性个体的传染性和HIV阴性个体的易感性, 使患者HIV的传播和

基金项目: 国家自然科学基金(81471576, 81702046)

通信作者: 吴移谋

Correspondence to: WU Yimou E-mail: yimouwu@sina.com

获得风险增加 2~5 倍^[11]。再者,携带 HIV 的 MSM 也被确定为有再次感染 Tp 风险的人群^[12]。因此,通过有效的疫苗接种,早期预防并治疗 Tp 的高危人群,对于防止 Tp 扩散,具有深远的实际意义。

1 Tp 的临床特征

Tp 感染后,大约在 3 周内可出现以感染部位的皮肤损伤(硬下疳)为首发的临床症状^[13]。如果感染未能得到有效治疗,3 个月内就可出现多种临床症状:淋巴结肿大、全身皮疹等^[13,14]。大约 3 个月后,Tp 感染进入无症状潜伏期,包括早期潜伏期(初感染 1 年内无临床症状)和晚期潜伏期(1 年以上无临床症状或病程不明)。约有 30% 未经治疗的潜伏期患者出现Ⅲ期梅毒临床症状(主要表现为树胶肿、心血管和神经系统损伤、全身轻瘫和脊髓痨)。先天性梅毒可导致新生儿流产、死胎、早产和死亡;幸存的婴儿也可能出现先天性梅毒的症状,包括鼻炎、皮肤损伤、间质角膜炎而失明及牙齿和骨骼畸形^[14]。临床症状每一阶段表达的抗原不尽相同,多达数百种的独特抗原使疫苗研发相对困难。

2 Tp 疫苗研究的必要性

经过 70 多年的抗生素使用,并没有出现 Tp 感染的耐药现象。目前 Tp 对青霉素治疗非常敏感,但其患病率并没有因此降低,反而在全世界范围内流行^[15]。这一事实表明仅靠公共卫生筛查和抗生素治疗不太可能根除 Tp 感染。事实上,对 Tp 已经实施多项强化的公共卫生控制的举措,这些举措在减少主要人群发病率、提高医务人员和公众对 Tp 传染性和先天性梅毒的认识、增加以公共卫生和社区为基础控制该病的服务及增加专门用于防治 Tp 和其他性传播疾病感染的资金和资源方面具有不可估量的价值,但该病发病率仍然位居我国甲、乙类传染病的第 3 位^[16]。Tp 在世界范围内持续流行,采取新的额外措施遏制 Tp 传播的必要性尤为突出。其中一项措施就是 Tp 疫苗的研制与开发。然而有效的 Tp 疫苗将面临诸多挑战,主要包括:Tp 感染的临床诊断困难;临床医生对 Tp 感染期间可能出现的各种临床症状缺乏了解^[13];目前实验室诊断技术对早期 Tp 感染的检测灵敏度较低^[17,18];尽管采取适当的治疗,由于抗 Tp 抗体保持可检测性,准确诊断再感染仍具有一定的难度^[18];常规检测方法对 Tp 感染的准确诊断依赖于患者的复诊依从性,而有效的 Tp 治疗依赖于足量青霉素,就目前而言青霉

素处于长期短缺状态^[19,20]。这些挑战将可通过开发有效的 Tp 疫苗而得到缓解。主要体现在以下几个方面:①预防 Tp 感染,从而预防所有时期的 Tp 和母婴传播;②在不同 Tp 菌株间提供交叉保护,从而降低再感染的发生率;③消除对回访和有效控制 Tp 感染而大量使用青霉素的依赖。综上所述,接种疫苗将是一种对预防 Tp 感染和扩散极有价值的首选方法。

3 疫苗研究过程中候选抗原

与其他病原体疫苗研究相比,Tp 存在一定技术上的限制(其外膜脆弱,人工培养和基因操控无法进行,Tp 的基础研究相对较少),影响了 Tp 疫苗的进一步开发^[13]。Tp 疫苗的研究主要经历了灭活疫苗、减毒活疫苗、重组蛋白疫苗和 DNA 疫苗阶段,这些研究尚未进入临床应用。Metzger 等使用储存在 4 ℃ 的 Tp 分别静脉注射和肌内注射新西兰兔,首次证实菌体抗原能产生部分性保护^[21]。同时 Miller 课题组用 γ 射线处理的 Tp 菌体抗原免疫新西兰兔获得长达 1 年的抗 Tp 完全性保护^[22]。由此说明剧烈的化学反应或热灭活可以破坏菌体表面抗原,为 Tp 保护性抗原的不稳定性提供强有力的证据。再者抵抗有症状的同源菌株感染的完全性保护在感染后的第 12 周才出现。如果新西兰兔前 12 周 Tp 感染得到治愈,12 周后可出现再次感染。由此推测这种缓慢性免疫保护的变化与 Tp 特殊的表面蛋白稀少有关。假定 γ 射线处理过的 Tp 为非增生性的,而感染剂量的增加和时间的延长表明一个相似抗原的接触过程就是感染 Tp 12 周内未经抗生素治疗的过程。同时 γ 射线处理过 Tp 免疫的新西兰兔获得完全免疫保护(感染部位未见皮肤损伤,也未见淋巴结转移)需要 37 周。因此我们可以从这些研究中得出一些重要结论:①Tp 保护性免疫的研制依赖于未被破坏的完整菌体,保护性抗原具有敏感性且受热不稳定;②大量灭活的 Tp 免疫后显示保护性免疫发展缓慢,这可能是 Tp 外膜蛋白缺乏而需要对这些抗原进行重复免疫;③Tp 免疫接种对外源的 Tp 菌株无交叉保护作用,表明不同菌株的保护性抗原不同;④灭活 Tp 保护时间长且感染后菌液量减少,说明在兔模型中可以获得有效的免疫保护。

已有大量文献证实个别抗原在动物模型的免疫接种中具有一定的保护能力,包括 Tp92 (BamA)、TprK、Gpd、TmpB、Tp0751 和 FlaB3^[23-27]。其中 Tp92 (BamA)、Gpd 和 FlaB3 免疫的新西兰兔表现出延缓感染部位皮损发展的部分性保护作用^[25,27]。

而且 TprK 蛋白分子的保护性区域定位于 N 端, 有望获得部分性免疫保护^[28]。但是目前 Tprk、Gpd、Tp92 等几种蛋白的保护能力存在不确定性, 主要表现为实验室条件的差异性, 需要抗原制备和免疫方法标准化。而且这些重组抗原的免疫原性往往较差, 不能诱导完全保护所需的免疫应答类型, 限制了其在临床上的应用。但是这些研究在全新的方向上为新型疫苗的研制提供了选择。

4 Tp 疫苗研制所需要的递送系统

Tp 感染期间, 原发和继发病灶的消退与 T 细胞和巨噬细胞为主的炎性细胞浸润过程一致^[29-30]。人体的原发性病变及兔子的原发性和继发性病变主要包含 CD4⁺ T 细胞、巨噬细胞和 NK 细胞, 而人体继发性病变炎性细胞浸润以 CD8⁺ T 细胞为主^[31-32]。大量的文献证实迟发型超敏反应 (delayed type hypersensitivity, DTH) 参与了病灶部位的 Tp 清除^[33]。这种 DTH 清除机制主要依靠 Th1 型细胞因子 (IFN-γ、IL-2 和 IL-12)^[34-35]。其中感染部位的 IFN-γ 主要是由 CD4⁺ T 细胞、NK 细胞、CD8⁺ T 细胞和定植的树突细胞分泌^[36-37]。随后 Th1 型细胞因子诱导的巨噬细胞活化并促进调理素吞噬 Tp。各种数据显示, Tp 感染部位皮损的 DTH 和心脑血管并发症的出现与宿主过强的 Th1 型细胞炎症应答密切相关^[33-34]。由此说明维持炎症细胞因子和抗炎症细胞因子之间的动态平衡对 Tp 感染至关重要。一旦免疫应答之间的平衡被打破, 可导致 Tp 慢性感染或者病情加重。因此, 在决定 Tp 疫苗研究的候选抗原方面, 调控 Tp 感染的免疫应答与诱导有效的抗 Tp 免疫同样重要。在 Tp 疫苗研究的动物模型中, 无论是体液成分的被动免疫, 还是 T 细胞过继转移都不能产生完全性的免疫保护^[38-39]。此外, 人或兔腹膜巨噬细胞吞噬 Tp 取决于患者免疫血清或兔免疫血清也凸显出体液成分在有效清除 Tp 所需的细胞诱导免疫反应的重要性^[31,36]。这些都表明 Tp 感染清除过程中细胞诱导的免疫反应与体液应答的相互作用是必不可少的^[40]。因此需要对调理素抗体敏感度相关的特定表面抗原暴露或表面抗原的多样性进行鉴别, 因为持续存在的 Tp 人群的特性难以捉摸, 使完全免疫清除 Tp 的疫苗方案无法实行。

大量文献指出 Tp 致病机制的关键是血液播散。相对于皮损部位的免疫应答, 目前系统感染的免疫应答认识还不很明确^[13]。Tp 感染期间, 外周血细胞中的树突细胞、分泌 IFN-γ 和细胞毒性的

NK 细胞促使淋巴细胞聚集到二次感染部位, 患者血清中主要为 Th1 型细胞因子 (IFN-γ 和 IL-10), 而 Tp 感染未经治疗的患者血清中主要为低水平的 Th2 型细胞因子 (IL-4 和 IL-5)^[37,40]。由此表明, 抗 Tp 保护性免疫有赖于 Th1 和 Th2 型免疫应答的有效建立和协调过渡。同时在潜伏期内, 患者血清中 IL-17 和 IL-23 水平均升高, 提示潜伏期内 Tp 也可能引起一系列的免疫反应^[37,40]。这些结果可能源于研究方法的不同, 以及对血清细胞因子水平与特定细胞类型的细胞因子分泌有关。除协调免疫应答允许合适的免疫细胞聚集在感染部位之外, 系统的免疫应答还可促进血液中细胞因子对 Tp 的识别与清除^[40]。因此防止 Tp 播散到远端器官取决于候选疫苗的抗体能否识别血源性传播过程中表达的 Tp 蛋白。

5 Tp 疫苗开发策略

从 Tp 的自然发展历程中可以预测研制疫苗的最优策略。Tp 早期感染的典型表现主要为感染部位的溃疡性病变 (硬下疳), 继之以播散性皮疹和黏膜病变为主^[14]。由于 Tp 的传播是通过接触感染的原发性硬下疳或继发性病变而发生, 因此预防或减弱这些病变将是 Tp 疫苗研究的必要条件, 它将有助于消除或减少人与人之间的传播。Tp 疫苗研究的第 2 个关键因素是针对 Tp 在感染宿主体内的播散。高度侵袭性的 Tp 能穿过胎盘屏障引起先天性梅毒, 穿过血管屏障引起中枢神经系统损伤^[41]。动物研究表明 Tp 感染数小时内就出现血液和淋巴管播散^[42]。目前临床前疫苗研究的目标应该是候选抗原能诱导 DTH, 促进 Th1 细胞因子的产生, 并激活巨噬细胞, 加速 Tp 的调理吞噬^[33]。因此, 有效的疫苗接种还需要关注 Tp 的持续性感染, 抑制血管内 Tp 向远端组织扩散^[26,32]。Tp 外膜蛋白 Tp0751 是一种黏附素, 可针对性黏附到血管系统内的多种宿主成分, 可能在 Tp 扩散中发挥着至关重要的作用^[43]。Lithgow 等人也证实 Tp0751 可以作为一个理想的疫苗候选抗原抑制 Tp 在宿主体内的扩散^[26]。通常原核生物如细菌、支原体、衣原体和螺旋体等存在较多的血清型, 容易发生交叉反应, 因此在疫苗研究中通常会采用多价疫苗使宿主获得完全保护。所以临床前 Tp 疫苗开发进程中, 需要评估几个关键问题: ① 实现最大免疫效果所需的疫苗接种次数; ② 接种疫苗后诱导免疫持续的时间; ③ 对不同菌株的交叉保护; ④ 合适的多价疫苗制备; ⑤ 佐剂选择和优化, 以实现对 Tp 感染有效保护的免疫

应答。

6 展望

至今为止,尽管Tp疫苗研制的条件有限,随着资金和监管机构的介入,该领域有望在未来5年内取得显著进展。现代研究工具的应用,对Tp的生物学研究加深了我们对其致病机制的了解,并发现新的候选疫苗。跨学科研究考虑宿主与病原体两方面的相互作用,包括宿主对感染的先天性免疫反应和适应性免疫反应,以及Tp相关的逃避机制,将增加对与预防疾病相关关系的了解。目前存在一种能够包含大多数疾病极好的动物模型,因此可以进行临床前研究,这将为随后的人类I期临床疫苗试验提供帮助。总之,将这些研究成果和方法应用于Tp研究,将推动Tp疫苗研制的发展。

参考文献

- [1] Newman L, Rowley J, Vander Hoorn S, Wijesooriya NS, Unemo M, Low N, Stevens G, Gottlieb S, Kiarie J, Temmerman M. Global estimates of the prevalence and incidence of four curable sexually transmitted infections in 2012 based on systematic review and global reporting [J]. PloS One, 2015, 10(12): e0143304.
- [2] Hook EW 3rd, Peeling RW. Syphilis control—a continuing challenge [J]. N Engl J Med, 2004, 351(2): 122-124.
- [3] Tucker JD, Cohen MS. China's syphilis epidemic: epidemiology, proximate determinants of spread, and control responses [J]. Curr Opin Infect Dis, 2011, 24(1): 50-55.
- [4] Patton ME, Su JR, Nelson R, Weinstock H; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Primary and secondary syphilis—United States, 2005-2013 [J]. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2014, 63(18): 402-406.
- [5] Peterman TA, Su J, Bernstein KT, Weinstock H. Syphilis in the United States: on the rise [J]? Expert Rev Anti Infect Ther, 2015, 13(2): 161-168.
- [6] Newman L, Kamb M, Hawkes S, Gomez G, Say L, Seuc A, Broutet N. Global estimates of syphilis in pregnancy and associated adverse outcomes: analysis of multinational antenatal surveillance data [J]. PLoS Med, 2013, 10(2): e1001396.
- [7] Weston EJ, Workowski K, Torrone E, Weinstock H, Stenger MR. Adherence to CDC recommendations for the treatment of uncomplicated gonorrhea-STD Surveillance Network, United States, 2016 [J]. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2018, 67(16): 473-476.
- [8] Hawkes S, Matin N, Broutet N, Low N. Effectiveness of interventions to improve screening for syphilis in pregnancy: a systematic review and meta-analysis [J]. Lancet Infect Dis, 2011, 11(9): 684-691.
- [9] Lawn JE, Blencowe H, Waiswa P, Amouzou A, Mathers C, Hogan D, Flenady V, Frøen JF, Qureshi ZU, Calderwood C, Shiekh S, Jassir FB, You D, McClure EM, Mathai M, Cousens S; Lancet Ending Preventable Stillbirths Series Study Group; Lancet Stillbirth Epidemiology Investigator Group. Stillbirths: rates, risk factors, and acceleration towards 2030 [J]. Lancet, 2016, 387(10018): 587-603.
- [10] Wang H, Dwyer-Lindgren L, Lofgren KT, Rajaratnam JK, Marcus JR, Levin-Rector A, Levitz CE, Lopez AD, Murray CJ. Age-specific and sex-specific mortality in 187 countries, 1970-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010 [J]. Lancet, 2012, 380(9859): 2071-2094.
- [11] Douglas JM, Jr. Penicillin treatment of syphilis: clearing away the shadow on the land [J]. JAMA, 2009, 301(7): 769-771.
- [12] Kenyon C, Lynen L, Florence E, Caluwaerts S, Vandenbruaene M, Apers L, Soentjens P, van Esbroeck M, Bottieau E. Syphilis reinfections pose problems for syphilis diagnosis in Antwerp, Belgium-1992 to 2012 [J]. Euro Surveill, 2014, 19(45): 20958. doi: 10.2807/1560-7917.ES2014.19.45.20958.
- [13] Lafond RE, Lukehart SA. Biological basis for syphilis [J]. Clin Microbiol Rev, 2006, 19(1): 29-49.
- [14] Chapel TA. The signs and symptoms of secondary syphilis [J]. Sex Transm Dis, 1980, 7(4): 161-164.
- [15] Lukehart SA, Godornes C, Molini BJ, Sonnett P, Hopkins S, Mulcahy F, Engelman J, Mitchell SJ, Rompalo AM, Marra CM, Klausner JD. Macrolide resistance in *Treponema pallidum* in the United States and Ireland [J]. N Engl J Med, 2004, 351(2): 154-158.
- [16] Grant GB, Reef SE, Patel M, Knapp JK, Dabbagh A. Progress in rubella and congenital rubella syndrome control and elimination-worldwide, 2000-2016 [J]. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2017, 66(45): 1256-1260.
- [17] Morshed MG. Current trend on syphilis diagnosis: issues and challenges [J]. Adv Exp Med Biol, 2014, 808: 51-64.
- [18] Causer LM, Kaldor JM, Fairley CK, Donovan B, Karapanagiotidis T, Leslie DE, Robertson PW, McNulty AM, Anderson D, Wand H, Conway DP, Denham I, Ryan C, Guy RJ. A laboratory-based evaluation of four rapid point-of-care tests for syphilis [J]. PloS One, 2014, 9(3): e91504.
- [19] Hotton AL, Gratzer B, Pohl D, Mehta SD. Factors associated with repeat syphilis testing at a large urban LGBT health clinic, Chicago, IL 2002-2008 [J]. Sex Transm Dis, 2011, 38(3): 205-209.
- [20] Harbarth S, Gundlapalli AV, Stockdale W, Samore MH. Shortage of penicillin G: impact on antibiotic prescribing at a US tertiary care centre [J]. Int J Antimicrob Agents, 2003, 21(5): 484-487.
- [21] Metzger M, Michalska E, Podwińska J, Smogor W. Immunogenic properties of the protein component of *Treponema pallidum* [J]. Br J Vener Dis, 1969, 45(4): 299-304.

- [22] Miller JN. Immunity in experimental syphilis. VI. Successful vaccination of rabbits with *Treponema pallidum*, Nichols strain, attenuated by -irradiation [J]. *J Immunol*, 1973, 110(5): 1206-1215.
- [23] Cameron CE, Lukehart SA, Castro C, Molini B, Godornes C, van Voorhis WC. Opsonic potential, protective capacity, and sequence conservation of the *Treponema pallidum* subspecies *pallidum* Tp92 [J]. *J Infect Dis*, 2000, 181(4): 1401-1413.
- [24] Tomson FL, Conley PG, Norgard MV, Hagman KE. Assessment of cell-surface exposure and vaccinogenic potentials of *Treponema pallidum* candidate outer membrane proteins [J]. *Microbes Infect*, 2007, 9(11): 1267-1275.
- [25] Arroll TW, Centurion-Lara A, Lukehart SA, van Voorhis WC. T-Cell responses to *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* antigens during the course of experimental syphilis infection [J]. *Infect Immun*, 1999, 67(9): 4757-4763.
- [26] Lithgow KV, Hof R, Wetherell C, Phillips D, Houston S, Cameron CE. A defined syphilis vaccine candidate inhibits dissemination of *Treponema pallidum* subspecies *pallidum* [J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 14273. doi: 10.1038/ncomms14273.
- [27] Zheng K, Xu M, Xiao Y, Luo H, Xie Y, Yu J, Tan M, Li Y, Zhao F, Zeng T, Wu Y. Immunogenicity and protective efficacy against *Treponema pallidum* in New Zealand rabbits immunized with plasmid DNA encoding flagellin [J]. *Emerg Microbes Infect*, 2018, 7(1): 177. doi: 10.1038/s41426-018-0176-0.
- [28] Morgan CA, Lukehart SA, van Voorhis WC. Protection against syphilis correlates with specificity of antibodies to the variable regions of *Treponema pallidum* repeat protein K [J]. *Infect Immun*, 2003, 71(10): 5605-5612.
- [29] Lukehart SA, Baker-Zander SA, Lloyd RM, Sell S. Characterization of lymphocyte responsiveness in early experimental syphilis. II. Nature of cellular infiltration and *Treponema pallidum* distribution in testicular lesions [J]. *J Immunol*, 1980, 124(1): 461-467.
- [30] van Voorhis WC, Barrett LK, Nasio JM, Plummer FA, Lukehart SA. Lesions of primary and secondary syphilis contain activated cytolytic T cells [J]. *Infect Immun*, 1996, 64(3): 1048-1050.
- [31] Cruz AR, Ramirez LG, Zuluaga AV, Pillay A, Abreu C, Valencia CA, La Vake C, Cervantes JL, Dunham-Ems S, Cartun R, Mavilio D, Radolf JD, Salazar JC. Immune evasion and recognition of the syphilis spirochete in blood and skin of secondary syphilis patients: two immunologically distinct compartments [J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2012, 6(7): e1717.
- [32] Carlson JA, Dabiri G, Cribier B, Sell S. The immunopathobiology of syphilis: the manifestations and course of syphilis are determined by the level of delayed-type hypersensitivity [J]. *Am J Dermatopathol*, 2011, 33(5): 433-460.
- [33] Podwinska J, Lusiak M, Zaba R, Bowszyc J. The pattern and level of cytokines secreted by Th1 and Th2 lymphocytes of syphilitic patients correlate to the progression of the disease [J]. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 2000, 28(1): 1-14.
- [34] van Voorhis WC, Barrett LK, Koelle DM, Nasio JM, Plummer FA, Lukehart SA. Primary and secondary syphilis lesions contain mRNA for Th1 cytokines [J]. *J Infect Dis*, 1996, 173(2): 491-495.
- [35] Moore MW, Cruz AR, La Vake CJ, Marzo AL, Eggers CH, Salazar JC, Radolf JD. Phagocytosis of *Borrelia burgdorferi* and *Treponema pallidum* potentiates innate immune activation and induces gamma interferon production [J]. *Infect Immun*, 2007, 75(4): 2046-2062.
- [36] Leader BT, Godornes C, van Voorhis WC, Lukehart SA. CD4⁺ lymphocytes and gamma interferon predominate in local immune responses in early experimental syphilis [J]. *Infect Immun*, 2007, 75(6): 3021-3026.
- [37] Stary G, Klein I, Bruggen MC, Kohlhofer S, Brunner PM, Spazierer D, Müllauer L, Petzelbauer P, Stingl G. Host defense mechanisms in secondary syphilitic lesions: a role for IFN-gamma-IL-17-producing CD8⁺ T cells [J]? *Am J Pathol*, 2010, 177(5): 2421-2432.
- [38] Wicher V, Wicher K, Jakubowski A, Nakeeb SM. Adoptive transfer of immunity to *Treponema pallidum* Nichols infection in inbred strain 2 and C4D guinea pigs [J]. *Infect Immun*, 1987, 55(10): 2502-2508.
- [39] Hawley KL, Cruz AR, Benjamin SJ, La Vake CJ, Cervantes JL, LeDoyt M, Ramirez LG, Mandich D, Fiel-Gan M, Caimano MJ, Radolf JD, Salazar JC. IFN gamma enhances CD64-potentiated phagocytosis of *Treponema pallidum* opsonized with human syphilitic serum by human macrophages [J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 1227. doi: 10.3389/fimmu.2017.01227.
- [40] Salazar JC, Cruz AR, Pope CD, Valderrama L, Trujillo R, Saravia NG, Radolf JD. *Treponema pallidum* elicits innate and adaptive cellular immune responses in skin and blood during secondary syphilis: a flow-cytometric analysis [J]. *J Infect Dis*, 2007, 195(6): 879-887.
- [41] Houston S, Hof R, Honeyman L, Hassler J, Cameron CE. Activation and proteolytic activity of the *Treponema pallidum* metalloprotease, pallilysin [J]. *PLoS Pathog*, 2012, 8(7): e1002822.
- [42] Schell RF, Chan JK, Le Frock JL. Endemic syphilis: passive transfer of resistance with serum and cells in hamsters [J]. *J Infect Dis*, 1979, 140(3): 378-383.
- [43] Houston S, Taylor JS, Denchev Y, Hof R, Zuerner RL, Cameron CE. Conservation of the host-interacting proteins Tp0750 and pallilysin among treponemes and restriction of proteolytic capacity to *Treponema pallidum* [J]. *Infect Immun*, 2015, 83(11): 4204-4216.

(收稿日期: 2019-04-22)