

· 论 著 ·

空肠弯曲菌外膜蛋白福氏佐剂疫苗免疫小鼠后的抗体应答*

冯胜军¹, 吴丽丹², 肖 政³, 孙万邦³, 米 娜¹, 刘 仿¹, 陈 群¹, 陈军剑¹

(1. 广东医学院东莞校区微生物与免疫学教研室 523808; 2. 广东省东莞市石龙人民医院内科 523326; 3. 遵义医学院免疫学教研室, 贵州遵义 563003)

摘要:目的 探讨空肠弯曲菌甘氨酸提取物 28~31 kd 外膜蛋白福氏佐剂疫苗免疫小鼠后的抗体应答效果。方法 将 30 只 BALB/c 小鼠随机分为 5 组, 每组 6 只, 采用空肠弯曲菌甘氨酸提取物 28~31 kd 外膜蛋白以不同剂量疫苗组, 分别在第 0、7、14、21、28 天, 通过背部及腹部皮下多点注射免疫小鼠; 空白组、对照组分别采用 0.4 mL 生理盐水(NS)、0.4 mL 福氏完全佐剂。在末次免疫 10 d(即第 38 天), 分别应用双向免疫琼脂扩散试验法、试管凝集法检测血清特异性抗体效价, ELISA 检测血清和肠液中的特异性 IgG、IgA。结果 末次免疫 10 d 后, 各疫苗组中, 双向免疫琼脂扩散试验法、试管凝集法检测血清特异性抗体效价分别达到 1:4~1:16 和 1:320~1:1280, ELISA 法检测血清、肠液中 IgG、IgA 的水平与空白组、对照组比较差异均有统计学意义($P<0.05$); 空白组与对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 空肠弯曲菌甘氨酸提取物 28~31 kd 外膜蛋白佐剂疫苗能够诱导 BALB/c 小鼠较好的体液免疫应答和高水平的肠液抗体, 将为空肠弯曲菌亚单位疫苗的深入研究奠定重要的实验依据。

关键词: 空肠弯曲菌; 外膜蛋白; 抗体; 黏膜免疫

中图分类号: R378.2; R392.7

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)10-1179-03

Antibody response in mouse inoculated with Freud's vaccine of outer membrane protein of campylobacter jejuni*

FENG Sheng-Jun¹, WU Li-dan², XIAO Zheng³, et al.

(1. Department of Microbiology & Immunology, Guangdong Medical College, Dongguan, Guangdong 523808, China;

2. Department of Internal Medicine, Dongguan Shilong People's Hospital, Dongguan, Guangdong 523326, China;

3. Department of Immunology, Zunyi Medical College, Zunyi, Guizhou 563003, China)

Abstract: Objective To explore the effect of antibody response in mouse inoculated with Freud's vaccine of outer membrane protein with molecular mass of 28-31 kd of campylobacter jejuni(Pur). **Methods** Thirty BALB/c mice were divided randomly into control group and immune group. Mice in three immune groups were subcutaneously (SC) injected Pur with different doses added the incomplete Freud's adjuvant(IFA). Mice in control groups were treated with F and NS. Each mouse received five times of immunization at an interval of 6 d(0, 7, 14, 21, 28 d) at each same dose of Pur. On 10 d after the final immunization(38 d), the specific antibodies titer in serum were measured with double immunodiffusion test and tube agglutination test. The specific IgG, IgA, secretory IgA(SIgA) antibodies titer in serum and intestinal fluid detected by indirect-ELISA. **Results** After mice treated with three doses of Freud's vaccine for five times, antibody titers of immune serum detected by double immunodiffusion test were 1:4-1:16, and by tube agglutination test were 1:320-1:1280, the levels of specific IgG, IgA and SIgA antibodies in serum and intestinal fluid were significantly higher in immune group than those in control groups ($P<0.05$). No significant difference existed in two control groups($P>0.05$). **Conclusion** Freud's vaccine of outer membrane protein with molecular mass of 28-31 kd of campylobacter jejuni purified by Sephadex G-75 after being extracted by glycine-hydrochloride buffered solution could induce specific antibodies response, especially high level SIgA in intestinal fluid, in BALB/c mice, which would be used as a promising subunit vaccine of campylobacter jejuni.

Key words: campylobacter Jejuni; outer membrane protein; antibody; mucous immunity

空肠弯曲菌(campylobacter jejuni, CJ)属一种重要人畜共患病病原体, 已成为最常见的、急性细菌性肠道传染病重要致病菌。据美国国家食品网的监测, CJ 是全球范围内胃肠炎的主要病因, 已超过李斯特菌、沙门菌病和志贺菌病^[1-3]。我国 CJ 与沙门菌的检出率占腹泻患者病原菌的 34.8%~57%^[4]。近年研究表明, 该菌与格林-巴利综合征(guillain-barre syndrome, GBS)及其变体(miller-fisher syndrome, MFS)、反应性关节炎(reactive arthritis, RA)等疾病发生关系密切。随着耐

药菌株^[5-7]的增加, 疫苗的研究和开发成为必然。至今, 国内外尚无一种有效的 CJ 疫苗使用, 因此, 对 CJ 亚单位抗原的寻找、提取及鉴定, 将为病原血清学诊断、亚单位疫苗的制备等方面奠定基础。在迄今对 CJ 多种亚细胞抗原的研究中, 认为 CJ 外膜中 28 kd(PEB1)、29 kd(PEB2)、30 kd(PEB3)、31 kd(PEB4)具有相对保守性及免疫反应性, 是一种共同抗原, PEB1 具有较强的免疫原性并有黏附真核细胞的能力, 被认为是 CJ 对宿主细胞侵袭的黏附素^[8-9], 发挥 CJ 在宿主肠道定居作用。本研

* 基金项目: 广东医学院青年基金资助项目(XQ0410); 湛江市科技攻关项目(2006C03002)。

究拟探讨本课题组首次通过分子筛层析大量制备的纯化 28~31 kd 外膜蛋白是否具有有良好的免疫应答效应,逐步深入研究,为 CJ 亚单位疫苗的实验研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 菌种 CJ 标准株 CF-1(*C. Fetus ssp jejuni*)为牛乳冻干 4 °C 保存。购于上海市疾病预防控制中心菌种保存中心,由中国科学院从腹泻肠炎患者中分离;为了避免实验过程中的污染,本课题组已经对该菌种进行了生化鉴定,已确定为空肠弯曲杆菌菌株。

1.2 主要试剂 胰蛋白酶、蛋白胨和酵母浸出粉(OXIOD 公司);脱纤维羊血(上海疾病预防控制中心);SephadexG-75 (Pharmacia 公司),考马斯亮蓝 R-250(购于 Sigma 公司);低分子量蛋白质 Marker(Amersham 公司);HRP 标记羊抗小鼠 IgA 抗体(Southern Biotech 公司);HRP 标记羊抗小鼠 IL-4 抗体(Southern Biotech 公司);蛋白酶抑制剂(Amersham 公司);羊毛脂(B0DI,天津市博迪化工有限公司),液体石蜡(天津市津沽工商实业公司);ELX800 型酶标仪(BIO. TEKINSTRUMENTS, INC)。

1.3 蛋白+不完全福氏佐剂(IFA)疫苗的制备 CJ 甘氨酸提取 28~31 kd 外膜蛋白由本课题组自制^[10]。蛋白质定量采用 Bradford 法。称取 20 g 优质羊毛脂置于研钵中,逐滴加入液体石蜡 60 mL 进行研磨混匀,制备成 IFA,经高压蒸气灭菌后置于 4 °C 保存备用。将 60 mL 制备好的 IFA 置于无菌研钵中,分装成 5 等份,每等份逐滴加入等体积不同蛋白剂量 28~31 kd 外膜蛋白,进行充分研磨,直至制成乳白色混悬液,置于 4 °C 冰箱保存备用。

1.4 动物分组与免疫 BALB/c 小鼠清洁级,6~8 周龄,健康,体质量 18~25 g,♂,购于重庆医科大学,常规饲养。免疫前已做粪便细菌培养,无 CJ 污染。将 30 只小鼠分别随机分为 5 组,每组 6 只,采用空肠弯曲菌甘氨酸提取物 28~31 kd 外膜蛋白以不同剂量抗原(50 g/只、100 g/只、200 g/只,每剂加或不加入 0.2 mL IFA)分别于第 0、7、14、21、28 天通过背部及腹部皮下多点注射免疫 BALB/c 小鼠,每次每只小鼠用量 0.4 mL,如有佐剂,则其中蛋白抗原 0.2 mL,IFA 0.2 mL;空白组、对照组分别采用 0.4 mL 生理盐水(NS)、0.4 mL IFA。动物免疫后常规饲养。免疫期间观察进食、大便、毛皮、四肢、体质量、活动、死亡等情况。

1.5 标本采集与指标检测 末次免疫后第 10 天,每组处死 6 只小鼠。在采集前 10 h 禁食。摘眼球从眼眶采血,常规分离血清,备用。采用双向免疫琼脂扩散试验、试管凝集试验常规检测血清中特异性抗体水平。同时,将采集的空肠和回肠剪碎,用胰蛋白酶抑制剂处理,混匀,高速离心,收集上清液待检,4 °C 保存,备用。ELISA 检测特异抗体:CJ 甘氨酸提取物(浓度 1 g/L)封板,37 °C 孵育,洗涤,加入稀释好的样品(血清或肠黏液),封板,孵育,洗涤,加入二抗 HRP 标记羊抗鼠 IgG、IgA 单克隆抗体,孵育。DAB 显色。490 nm 波长读取 A 值。每个样品设置 3 个复孔。

1.6 统计学方法 各组血清或肠黏液中的 IgG、SIgA 的 A 值以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS13.0 统计软件处理,进行方差齐性检验后,进行 *t* 检验、方差分析和相关性分析进行组间比较。

2 结果

CJ 甘氨酸提取物进行 SephadexG-75 分子筛层析,然后 SDS-PAGE,分析证实本次纯化出了相对分子质量为 28~31 kd 的外膜蛋白,且纯度较高,达 90% 以上(图 1)。免疫期间小鼠每次注射后 16 h 内,食量减少,之后逐渐恢复至正常水平;无稀便、干结;毛发倒立、紊乱;在第 2 次注射 1 d 后,加 IFA 组均有四肢关节肿胀、发红现象出现,并伴眼睑红肿,结膜充血,分泌物增加,活动受限,体质量明显减轻,分别减少 1~5 g,活动迟缓,无死亡。

2.1 双向免疫琼脂扩散试验法、试管凝集法检测血清特异性抗体效价 双向免疫琼脂扩散试验和试管凝集法检测血清抗体发现,高、中、低 3 个剂量组血清均产生具有较高水平的抗体效价。对照组和空白组未检测到抗体产生(表 1)。

表 1 双向免疫琼脂扩散试验和试管凝集试验检测血清效价结果

组别	<i>n</i>	双向免疫琼脂扩散试验	试管凝集试验
50 g+F	6	1:4~1:8	1:320~1:640
100 g+F	6	1:4~1:16	1:320~1:1280
200 g+F	6	1:4~1:16	1:320~1:1280
对照组	6	—	—
空白组	6	—	—

F:0.2 mL IFA; —:表示无数据。

表 2 末次免疫后 10 d 各组小鼠血清、肠液中抗体水平 (A_{490nm})

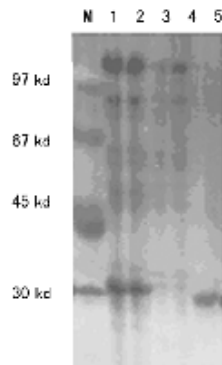
组别	<i>n</i>	血清		肠液	
		IgG	IgA	IgG	IgA
①50 g+F	6	1.71±0.04*	0.15±0.01	1.50±0.12*	0.71±0.07*
②100 g+F	6	1.71±0.08*	0.17±0.01	1.47±0.08*	0.70±0.15*
③200 g+F	6	1.76±0.02*	0.26±0.03 [△]	1.49±0.12*	0.57±0.06*
④对照组	6	0.20±0.17	0.20±0.17 [▲]	0.22±0.17	0.21±0.20
⑤空白组	6	0.12±0.02	0.10±0.04	0.15±0.015	0.20±0.12

F:0.2 mL IFA; *:与④、⑤比较, $P<0.05$;[△]:与①、⑤比较, $P<0.05$;[▲]:与⑤比较, $P<0.05$ 。

2.2 ELISA 检测血清、肠液中特异性抗体水平 相同抗体不同组别之间抗体水平比较见表 2,差异较规律:50 g+F、100 g

+F、200 g+F 3 个剂量组中抗体水平比较差异无统计学意义 ($P>0.05$),3 个剂量组与对照组、空白组比较差异均有统计学

意义($P < 0.05$),空白组与对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。而小鼠血清 IgA 的水平差异较无规律。



M:蛋白质 Marker;1,2:CJ 酸提取物的 SDS-PAGE 蛋白条带分布;3,4:CJ 酸提取物提取的 CJ 的 67、97、108 kd 外膜蛋白;5:CJ 酸提取物纯化 28~31 kd 外膜蛋白。

图 1 改良布氏血琼脂培养基 CJ(CF-1 菌株)酸提取物的 Sephadex G-75 纯化后 SDS-PAGE 分析

3 讨 论

CJ 是近 30 年来被国内外广泛关注的一种人畜共患病原菌。该菌可引起牛和绵羊流产,火鸡的肝炎和蓝冠病,童子鸡和雏鸡的坏死性肝炎及人、雏鸡、犊牛、仔猪的腹泻等多种疾病,已成为全球范围内人和动物急性胃肠炎最常见的病因之一。另外,CJ 还可引起人发热、急性肠炎、Reiter 和 Guillain-Barri 综合征等疾病。尽管 CJ 对紫外线、热力、干燥、微波、化学消毒剂等外界因素杀灭有较好的敏感性^[11],但是,随着耐药株的不断出现,CJ 疫苗研制被日益重视。疫苗研究在近 10 年来已经深入,先后进行了 recA、cheY、neu、ciaB、pIdA、cadF、dnaJ、fla 等基因的突变株活疫苗的动物接种研究,但这些活疫苗均由于毒力回复、保护力无法覆盖所有菌株以及直接导致病理损伤而放弃,而各种灭活疫苗,又由于其含有繁多组分的免疫致病性和杂质的存在带来不良反应,甚至致病,特别是该菌 LPS 中的神经节苷脂寡糖组分 GM1、GM2、GD1b、GD2、GD3 等的分子模拟导致 Guillain-Barri 综合征等严重的疾病而被终止。目前,在组分疫苗研究中,开展了 Jib 蛋白、RacR 蛋白、ompH1、HisJ、Cia 蛋白、OMP80、Fla 蛋白等组分的研究,但是,均不能发挥广泛菌株的保护力,可能是来源众多的 CJ 的抗原发生改变或不同所致。流行病学研究表明,曾经感染过 CJ 的患者,在 CJ 的志愿者活菌攻击中能够提供较广泛的保护力,因此,CJ 疫苗的关键仍是对某种遗传保守的、免疫原性强的、具有保护力的、各菌株均存在的共同抗原组分的寻找和鉴定。而 Dunn 等^[12]应用双向凝胶电泳和免疫印迹分析 CJ 外膜蛋白表明 29~31 kd 在全部被研究 CJ 菌株中均存在。大量的流行病学研究还表明,在感染不同 CJ 和 C. coli 的患者体内均存在 29 kd 和 31 kd 抗体。Kervella 等亦认为 CBF1(28 kd)具有暴露表面,CBF1 抗血清能显著降低 CJ 对 HeLa 细胞的黏附作用,认为 CBF1 可能是 CJ 的黏附作用的关键蛋白。PEB3(30 kd)和两种能与人类黏膜细胞结合的杆菌脑膜炎奈氏球菌 I 类菌毛和 E. coli 的耐热肠毒素 B 亚单位有重要的序列同源性,30 kd 蛋白参加了与杆菌宿主细胞的相互作用。PEBI(28 kd)在 CJ 分离菌株中具有高度的免疫原性并有黏附真核细胞的能

力^[8-9]。尽管如此,CJ 众多外膜蛋白中的抗原性、免疫原性、致病性目前国内外尚无完整系统的研究。并且空肠弯曲菌血清型繁多,全球分布,有型、株等特异性以及变异性的可能均影响 CJ 疫苗的研究的保护性效果,甚至致病。

本课题组首次通过甘氨酸抽提、分子筛纯化的 CJ 的 28~31 kd 外膜蛋白能够满足大规模生产疫苗的需要。为了鉴定纯化 CJ 的 28~31 kd 外膜蛋白(图 1)的体液应答效果,采用皮下注射免疫小鼠的方法收集资料。同时,考虑该类蛋白相对分子质量较小,采用 IFA 提高免疫原性。免疫后,CJ 的 28~31 kd 抗原能够诱导 BALB/c 小鼠血清或肠道中特异性抗体的产生(表 1、2)。而小鼠血清 IgA 的水平不规律可能由于该组血清 IgA 抗体水平过低,读数误差所致。

进一步分析发现 50 g+F、100 g+F、200 g+F 3 个剂量组相互间血清和肠液中各种抗体产生水平差异无统计学意义,即 50 g+F 较低剂量组能够达到 100 g+F、200 g+F 较高剂量组相同的抗体应答效果,考虑该原因可能与小鼠在多点注射时,由于 IFA 导致的局部皮肤的炎症反应,形成皮下囊肿,影响抗原的完全吸收,抗原量越多可能 IFA 的阻隔作用越明显,并且小鼠注射局部的皮下出现囊肿和少许未吸收团块物可以证实。第 2 次免疫后,也观察到该类佐剂能够诱导佐剂性关节炎的表现。CJ 是一种经口传播的食物源性病原体,黏膜免疫应答尤为重要,本研究揭示该类蛋白不仅能够激发良好血清 IgG 抗体的水平,更能诱导肠黏液中高水平的 SIgA 抗体,在此基础上,将深入研究口服活菌的攻击保护效果。此外,口服或皮下注射用佐剂上调抗原的免疫原性时,由于福氏佐剂不良反应过大的原因,可采用其他的缓释系统取代,如 CT、LT、脂质体等佐剂的单用或联合应用,该项工作本课题组正在开展中。本课题组提取的 CJ 28~31 kd 外膜蛋白纯品具有良好的抗体应答的结果,将为 CJ 组分疫苗的深入研究奠定重要的实验依据。

参考文献:

- [1] Chao HC, Chen CC, Chen SY, et al. Bacterial enteric infections in children; etiology, clinical manifestations and antimicrobial therapy[J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2006, 4(4): 629.
- [2] Sonnevend A, Rotimi VO, Kolodziejek J, et al. High level of ciprofloxacin resistance and its molecular background among Campylobacter jejuni strains isolated in the United Arab Emirates[J]. J Med Microbiol, 2006, 15: 1533.
- [3] Tauxe RV. Epidemiology of Campylobacter jejuni infection in the United States and other industrialized nations. In Campylobacter jejuni[C]. [出版地不祥]. Curr Stat Future Trends, 1992: 9.
- [4] 汪定成. 小儿腹泻病 164 例病原体分析[J]. 中华流行病学杂志: 腹泻病专辑, 1997, 18(6B): 61.
- [5] Rautelin H, Vierikko A, Hanninen ML, et al. Antimicrobial susceptibilities of campylobacter strains isolated from finnish subjects infected domestically or from those infected abroad[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2003, 47(1): 102.
- [6] Levesque S, Frost E, Michaud S. Compa-(下转第 1187 页)

含量均明显下降($P < 0.05$)。

综上所述,手术时机对微创血肿抽吸术的治疗效果有明显的影响,3 h 手术组在早期的治疗效果明显优于 6 h 手术组,中、远期的效果有待进一步研究。由于本实验采用的 ICH 动物模型与临床上 ICH 患者在病理生理过程中存在差异,基本排除了再出血和继续出血的现象^[14-15]。故临床上手术时机的选择还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Kim IM, Yim MB, Lee CY, et al. Three-dimensional computed tomography-guided multitract aspiration of extensive ganglionic hemorrhage; technical note[J]. Surg Neurol, 2005, 64(6): 519.
- [2] Carhuapoma JR, Barrett RJ, Keyl PM, et al. Stereotactic aspiration-thrombolysis of intracerebral hemorrhage and its impact on perihematoma brain edema[J]. Neurocrit Care, 2008, 8(3): 322.
- [3] Bederson JB, Pitts LH, Tsuji M, et al. Rat middle cerebral artery occlusion; evaluation of the model and development of a neurologic examination[J]. Stroke, 1986, 17(3): 472.
- [4] Keep RF, Xi G, Hua Y, et al. The deleterious or beneficial effects of different agents in intracerebral hemorrhage: think big, think small, or is hematoma size important[J]. Stroke, 2005, 36(7): 1594.
- [5] 孟凡超, 娄季宇, 杨宵鹏, 等. 实验性脑出血大鼠脑水肿的动态变化[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2006, 9(3): 67.
- [6] Xi G, Keep RF, Hoff JT. Mechanisms of brain injury after intracerebral haemorrhage [J]. Lancet Neurol, 2006, 5(1): 53.
- [7] Maeshima S, Osawa A, Takajo F, et al. Study on aspiration and swallowing exercise in stroke patients[J]. Brain Nerve, 2007, 59(9): 977.
- [8] Hsieh CT, Chen CY, Chiang YH, et al. Role of diffusion tensor imaging in a patient with spontaneous intracerebral hematoma treated by stereotactic evacuation [J]. Surg Neurol, 2008, 70(1): 75.
- [9] Kocherry XG, Hegde T, Sastry KV, et al. Efficacy of stereotactic aspiration in deep and eloquent-region intracranial pyogenic abscesses[J]. Surg Neurol, 2008, 69(6): 633.
- [10] Britz GW, Meno JR, Park IS, et al. Time-dependent alterations in functional and pharmacological arteriolar reactivity after subarachnoid hemorrhage [J]. Neurosurg Sci, 2006, 50(3): 67.
- [11] 余震, 胡长林, 唐玲, 等. 微创颅内血肿清除治疗对兔脑内血肿周围组织的保护作用与 Bcl-2, Bax 表达变化的关系. [J]. 重庆医学, 2004, 33(10): 1441.
- [12] Proust F, Leveque S, Derrey S et al. Spontaneous supratentorial cerebral hemorrhage; role of surgical treatment [J]. Neurochirurgie, 2007, 53(2~3): 58.
- [13] Kim IS, Son BC, Lee SW, et al. Comparison of frame-based and frameless stereotactic hematoma puncture and subsequent fibrinolytic therapy for the treatment of supratentorial deep seated spontaneous intracerebral hemorrhage[J]. Minim Invasive Neurosurg, 2007, 50(2): 86.
- [14] Hsieh CT, Wu CC, Chiang YH, et al. Stereotactic aspiration of enlarged intracerebral hematoma caused by intraprocedural perforation of aneurysm during coil embolization[J]. Neurocrit Care, 2008, 8(3): 322.
- [15] Passacantilli E, Pichierri A, Delfinis CP, et al. Chronic expanding intracerebral hematoma treated by mini-invasive ultrasonography-guided needle aspiration [J]. Neurosurg Sci, 2006, 50(3): 67.

(收稿日期: 2009-09-09 修回日期: 2009-10-20)

(上接第 1181 页)

- rison of antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni* isolated from humans, chickens raw milk, and environmental water in Quebec [J]. J Food Prot, 2007, 70(3): 729.
- [7] Parisi A, Lanzilotta SG, Addante N, et al. Prevalence, molecular characterization and antimicrobial resistance of thermophilic campylobacter isolates from cattle, hens, broilers and broiler meat in south-eastern Italy [J]. Vet Res Commun, 2007, 31(1): 113.
 - [8] Peit Z, Burucoa C, Grignon B, et al. Mutation in the *peb1A* locus of *Campylobacter jejuni* reduces interactions with epithelial cells and intestinal colonization of mice [J]. Infect Immun, 1998, 66(3): 938.
 - [9] Pei Z, Blaser MJ. *PEB1*, the major cell-binding factor of

Campylobacter jejuni, is a homolog of the binding component in gram-negative nutrient transport systems [J]. J Biol Chem, 1993, 268(25): 18717.

- [10] 冯胜军, 孙万邦, 姚新生, 等. 空肠弯曲菌 28~31 kd 外膜蛋白的初步提取及鉴定 [J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(2): 1.
- [11] 吴杰红, 解晓珍, 邱宗文, 等. 鹤鹑空肠弯曲菌对理化及部分药物抵抗力的观察 [J]. 重庆医学, 2008, 37(9): 952.
- [12] Dunn BE, Blaser MJ, Snyder EL. Two-dimensional gel electrophoresis and immunoblotting of *Campylobacter* outer membrane proteins [J]. Infect Immun, 1987, 55(7): 1564.

(收稿日期: 2009-09-24 修回日期: 2010-02-10)