

· 综述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.34.023

氢气对缺血再灌注心肌代谢的影响*

李翔子¹, 孙晓宇¹, 李良同¹, 刘福林^{2△}综述, 周玉娟¹审校

(1. 河北大学医学院, 河北保定 071000; 2. 河北大学附属医院科研处, 河北保定 071000)

【摘要】 氢气是一种还原性气体, 具有抗氧化、抗炎性反应和抗细胞凋亡等作用。研究发现, 氢气对缺血再灌注损伤具有重要的保护作用, 对机体新陈代谢有很大的影响。现从糖代谢、能量代谢、氨基酸代谢、脂质代谢等方面阐述氢气对缺血再灌注心肌代谢的影响。

【关键词】 氢气; 心肌缺血; 再灌注损伤; 心肌代谢

【中图分类号】 R542.2

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-8348(2018)34-4415-04

氢元素是人体和许多生命机体的基本元素, 是地球生命起源的关键能量分子, 在真核生物进化过程中发挥关键作用, 同时它也是宇宙中含量最多的一种气体。氢气作为一种相对分子质量极小的气体, 能够轻易地进入生物体细胞内的任何位置, 为作用于机体提供了一个十分重要的前提。氢气是一种类似于一氧化氮(NO)、硫化氢(H₂S)、一氧化碳(CO)等的新型的具有生物活性的气体, 它对多种疾病都有治疗作用。OHSAWA 等^[1]是最先研究并发现氢气医学作用的学者, 他们发现氢气具有较强的抗氧化作用, 脑缺血再灌注损伤模型大鼠呼吸少量氢气(2%, 35 min)后, 大鼠大脑内氧化损伤终产物被有效清除, 大鼠脑缺血后脑梗死体积明显减小。随后, 更多的学者对氢气进行了研究, 发现其对各类组织器官缺血再灌注损伤、动脉硬化、癌症、糖尿病等都具有很好的疗效^[2]。本文就氢气对缺血再灌注后心肌代谢的影响作一综述。

1 氢气对缺血及再灌注后心肌糖代谢的影响

正常情况下, 葡萄糖及糖原经过糖酵解途径产生丙酮酸, 有氧条件下丙酮酸在线粒体基质中经丙酮酸脱氢酶作用转变成乙酰辅酶 A (Ac Co A), 进入三羧酸循环, 最终生成二氧化碳(CO₂)和水(H₂O)并产生一定量的三磷酸腺苷(ATP)为心肌细胞提供能量。

缺血缺氧情况下, 心肌细胞内葡萄糖摄取及糖酵解速度加快, 葡萄糖大量消耗, 含量减少, ATP 生成减少。同时, 缺氧情况下, 葡萄糖转变为丙酮酸后无法进一步分解为 CO₂ 和 H₂O, 最终生成乳酸, 乳酸可在乳酸脱氢酶(LDH)催化下产生 ATP。但有研究发现, 心肌缺血时, 心肌组织中乳酸含量会降低^[3-4], 乳酸在心肌细胞中的代谢能力下降^[5], 可见葡萄糖转化为乳酸后, 提供 ATP 能力大大降低, 心肌细胞功能会受到抑制。SAMBANDAM 等^[6]研究发现心肌缺血再灌注期间缺血引起的 AMPK[Adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase]活性增加

致使心肌细胞糖酵解的增加及糖原的贮积, 缺血时葡萄糖氧化的降低导致质子的积累, 会导致心脏效率的降低和细胞的损伤。

心肌细胞的糖代谢与线粒体和心肌细胞本身都有着密切的关系, 心肌缺血再灌注后, 心肌细胞的糖代谢也随着细胞及线粒体的受损而发生变化。赵悦等^[7]在研究饱和氢盐水对大鼠心肌细胞线粒体损伤的影响时发现饱和氢盐水可通过降低心肌细胞 PKC 和 HSP90 蛋白表达, 减少线粒体 CX45 和 CX43 蛋白表达, 从而减轻线粒体和心肌缺血再灌注损伤。当线粒体损伤减轻时, 心肌细胞糖代谢也随之得到一定恢复。NODA 等^[8]在研究富氢水对移植心脏的保存作用时同样发现富氢水能够减轻离体心脏的线粒体损伤。据报道, 氢气饱和生理盐水能够减少心肌细胞的凋亡^[9-10], 这也从另一方面降低了心肌缺血及再灌注对细胞糖代谢的影响。有氧时, 乳酸的代谢需要 LDH 的作用, 而氢气可以降低缺血再灌注后 LDH 水平^[11], 说明氢气可调节缺血再灌注后机体内乳酸代谢, 即氢气对缺血及再灌注后心肌糖代谢有调节作用。

糖原合成激酶-3β、磷酸果糖激酶、丙酮酸激酶、己糖激酶、异柠檬酸脱氢酶、糖原磷酸化酶、丙酮酸脱氢酶等都是糖代谢中的关键酶, 当心肌中这些关键酶的水平发生变化时, 心肌缺血再灌注损伤程度也会发生变化(表 1)。氢气能够减轻心肌缺血再灌注损伤, 但对于心肌糖代谢关键酶的影响研究较少, 氢气是否可通过改变糖代谢关键酶减轻心肌缺血再灌注损伤需要进一步验证。AMPK 是维持机体葡萄糖平衡的关键酶, 当被激活时, 能够减轻心肌缺血再灌注损伤, 氢气可以调节 AMPK 的活性^[12-13], 作者推测氢气或可通过调节 AMPK 的活性调节心肌糖代谢, 减轻心肌缺血再灌注损伤。

2 氢气对缺血及再灌注后心肌脂质代谢的影响

脂类包括脂肪和类脂(磷脂、糖脂、胆固醇等), 正

* 基金项目: 河北省 2013 年医学科学研究重点课题计划项目(20130369)。 作者简介: 李翔子(1991—), 在读硕士, 主要从事药理学研究。

△ 通信作者, E-mail: lful666@sina.com。

常情况下,非酯化脂肪酸的 β 氧化是心肌细胞能量的主要来源途径,占其总量的60%~90%^[19]。有氧时,脂肪酸先在细胞质中活化为脂酰辅酶A,之后脂酰辅酶A在转运系统作用下进入线粒体基质进行 β -氧化生成乙酰辅酶A,经过三羧酸循环产生能量。

缺血缺氧时,非酯化脂肪酸代谢受到抑制,代谢减弱,导致细胞质中脂酰辅酶A和线粒体中的乙酰辅酶A等中间产物的积累及脂肪酸水平的明显升高。脂肪酸含量过高时,会加剧心肌细胞缺血性损伤,抑制丙酮酸脱氢酶活性,加重酸中毒。

表1 糖代谢关键酶对心肌缺血再灌注损伤的影响

项目	参与途径	浓度变化	心肌缺血再灌注损伤程度
糖原合成激酶-3 β (GSK-3 β) ^[14]	糖原合成	↓	↓
磷酸果糖激酶(PFK) ^[15]	糖酵解、有氧化	↓	↓
丙酮酸激酶(PK) ^[15]	糖酵解、有氧化	↓	↓
己糖激酶(HK) ^[15]	糖酵解、有氧化	↓	↑
异柠檬酸脱氢酶(IDH) ^[16]	有氧化	↓	↓
丙酮酸脱氢酶(PDH) ^[17]	有氧化	↓	↑
糖原磷酸化酶(GPBB) ^[18]	糖原分解	↓	↓

氧自由基反应及脂质过氧化反应与机体的生理代谢有着密切的关系。正常情况下,氧自由基反应与脂质过氧化反应处于协调与动态平衡之中,缺血再灌注后,氧自由基增多,氧自由基反应及脂质过氧化反应的平衡被打破,进而导致脂质代谢的紊乱,脂质过氧化产物(如丙二醛)的增多。研究发现,缺血再灌注损伤后,氢气能够降低缺血心肌中丙二醛的水平^[20],即氢气可以在一定程度上减少脂质过氧化产物,对脂代谢紊乱有调节作用。同时,氢气还可以与有细胞毒性的氧自由基发生反应^[1],降低氧自由基水平使氧自由基反应及脂质过氧化反应平衡得到一定恢复。另一方面,氢气能调节血浆中血脂水平,降低低密度脂蛋白和游离脂肪酸的水平^[21-22],减轻了由于脂肪酸含量过高引起的心肌细胞缺血性损伤。薛乾^[23]发现氢饱和生理盐水预处理可改善心肌细胞膜磷脂水平,改善胆固醇水平,并具有一定的浓度相关性,在应用20 mL/kg 氦水处理时保护作用最为明显。

过氧化物酶体增殖物激活受体(PPARs)是人体脂代谢中的关键受体,PPAR- γ 是其中一种亚型。研究证明,PPAR- γ 水平升高,总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL)等水平降低能够减轻心肌缺血再灌注损伤^[24-25]。氢气能够增加正常饮食 C57BL/6 小鼠体内 PPAR- γ 水平,减轻 TC 和 TG 水平,同时降低代谢综合征患者体内 TC/HDL 比例^[26-27]。因此,氢气可能通过提高 PPAR- γ 水平,降低 TC、TG、HDL 水平影响缺血再灌注后心肌脂代谢,进而减轻缺血再灌注损

伤,但需进一步验证。

3 氢气对缺血及再灌注后心肌氨基酸代谢的影响

氨基酸是一种重要的能源物质,氨基酸代谢也是心肌细胞能量来源途径之一。正常情况下,氨基酸通过脱羧基作用和脱氨基作用两种途径进行分解代谢。在脱氨基作用途径中主要进行氧化脱氨基作用,先在氨基酸脱氢酶催化下脱氢生成亚胺,之后在氨基酸氧化酶催化下脱氨基生成 α -酮酸和氨, α -酮酸可进一步分解为水及二氧化碳并产生 ATP 供能。在脱羧基途径中,氨基酸在氨基酸脱羧酶催化下脱羧基生成二氧化碳和伯胺,伯胺在胺氧化酶催化下进一步生成氨和脂酸。氨是一种有毒物质,可以合成其他物质排出体外或体内再利用,在含量过多时也有一定毒性。

有研究发现,缺血缺氧早期,心肌细胞出现凋亡,线粒体等细胞器发生损伤,蛋白质降解加速,氨基酸含量上升,随着缺血时间的延长,部分氨基酸含量下降。SANSBURY 等^[28]发现小鼠心肌梗死(心肌缺血)5 d 后,氨基酸水平发生明显变化,说明小鼠心脏氨基酸水平的多少与心肌缺血有密切的关系。简维雄等^[3]则发现大鼠心肌梗死后组甘氨酸、谷氨酸、赖氨酸等的水平发生了改变。酪氨酸是心肌缺血的代表性标志物之一^[29],心肌缺血会导致氨基酸代谢通路发生变化,谷氨酸、酪氨酸、精氨酸、脯氨酸等氨基酸的合成受阻,酪氨酸的水平下降,这也是心肌细胞凋亡的原因之一^[4]。

丙氨酸氨基转移酶参与体内蛋白质的新陈代谢,能够加快氨基酸在体内转运速度,通常存在于胞浆中。器官缺血后,丙氨酸氨基转移酶水平增高,导致氨基酸水平的降低。研究发现大鼠缺血前腹腔注射氢气盐溶液,再灌注后 2、6、12、24 h 血清丙氨酸氨基转移酶水平明显降低^[30],说明氢气对缺血器官再灌注后氨基酸代谢有一定调节作用。另有研究发现,氢气饱和生理盐水能够降低大鼠肾缺血再灌注导致的尿素氮升高^[10],而尿素氮是氨基酸代谢的终产物之一,证明氢气能够调节缺血肾再灌注后的氨基酸代谢。氢气对缺血心肌再灌注后氨基酸代谢的影响不够明确,还需要进一步研究。

4 氢气对缺血及再灌注后心肌能量代谢的影响

能量代谢是伴随物质代谢进行的,正常情况下,氨基酸、葡萄糖、脂肪酸等物质均是机体能量代谢的底物。心肌细胞利用底物通过糖酵解、氧化磷酸化、糖原氧化分解、脂肪酸氧化、酮体氧化分解、三羧酸(TCA)循环、磷酸肌酸分解等途径产生 ATP 为机体生命活动提供必需的能量。机体能量代谢过程十分复杂,必须依靠多种途径协同合作,共同维持内环境的稳定。

缺血缺氧时,心肌细胞结构、功能及能量代谢都会发生变化。缺血缺氧导致线粒体结构受损及细胞的凋亡^[31],线粒体有氧氧化代谢受到抑制,三羧酸循

环减慢,葡萄糖和游离脂肪酸氧化代谢效率降低,同时,心肌中磷酸肌酸转化为 ATP 为心肌提供所需的能量^[32],磷酸肌酸水平下降。 Ca^{2+} 对肌肉收缩及酶活性的调节具有重要作用,心肌缺血时, Ca^{2+} 循环能力下降,再灌注后细胞内 Ca^{2+} 超负荷,会导致心脏收缩功能障碍及线粒体依赖性细胞凋亡^[33],这也对缺血心肌能量代谢产生很大影响。

HAN 等^[34]研究氢气对脑缺血再灌注的保护作用时发现,氢气对缺血导致的细胞 Ca^{2+} 超负荷有一定调节作用,氢气可以降低缺血细胞内过高的 Ca^{2+} 水平。同时,氢气通过增强缺血心肌 $\text{Na}^{+}-\text{K}^{+}-\text{ATP}$ 酶活性、降低 Ca^{2+} ATP 酶活性等方式调节心肌离子水平^[35],对缺血心肌离子平衡的恢复有重要作用,对细胞能量代谢具有重要的调节作用。肌酸和磷酸肌酸可防止细胞内 ATP 的消耗和内部酸化,增强缺血后的蛋白质合成回收率,促进细胞膜上自由基清除,肌酸激酶可以在缺氧期间增强肌酸代谢^[36]。研究发现,氢气可以降低缺血心肌肌酸激酶水平^[11,35,37],肌酸或者肌酸激酶的减少代表着心肌功能得到一定恢复,说明氢气对心肌缺血及再灌注损伤有保护作用,同时对心肌能量代谢有调节作用。NODA 等^[8]在研究富氢水对移植心脏的保存作用时还发现富氢水能够提高心脏 ATP 水平。

AMPK 既能调节糖代谢,同时也是能量代谢的关键分子。缺血时,AMPK 会被激活,使 ATP 合成系统活性增强,同时减少 ATP 的消耗,而氢气对 AMPK 活性有增强作用,氢气或可通过调节 AMPK 活性调节缺血再灌注后心肌能量代谢^[13,17]。

综上所述,氢气对缺血再灌注后心肌糖代谢、能量代谢、氨基酸代谢、脂质代谢等有调节作用,其调节作用与线粒体有着密切联系。但对于部分具体的物质代谢,如氨基酸、葡萄糖等的代谢证据较少,需要进一步研究。同时,氢气对心肌代谢中各种酶的影响也需进一步验证。从氢气对缺血再灌注后心肌糖代谢、能量代谢、氨基酸代谢、脂质代谢等的探讨中可以发现,氢气可以通过抗凋亡、调节信号通路、抗氧化、清除自由基等方式调节心肌代谢。因此,研究氢气对缺血再灌注后心肌代谢的影响对研究氢气治疗疾病的机制有着重大意义。

参考文献

[1] OHSAWA I, ISHIKAWA M, TAKAHASHI K, et al. Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic Oxygen radicals[J]. *Nat Med*, 2007, 13(6):688-694.

[2] 揣云海,孙学军,蔡建明. 氢气生物学及其医学应用[J]. *生物物理学报*, 2012, 28(9):705-718.

[3] 简维雄,陈清华,黄献平,等. 大鼠心血瘀阻证心肌组织代谢组学的研究[J]. *中国中西医结合杂志*, 2012, 32(4):

515-520.

[4] 吴德坤,郑景辉,王铁华,等. 大鼠急性心肌梗死血瘀证心肌组织代谢组学的生物信息学分析[J]. *辽宁中医杂志*, 2016, 43(3):630-632.

[5] 陈炬,李少华,张惠忠,等. TMLR 对缺血心肌乳酸代谢及线粒体的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2004, 20(12):2219-2222.

[6] SAMBANDAM N, LOPASCHUK G D. AMP-activated protein kinase (AMPK) control of fatty acid and glucose metabolism in the ischemic heart[J]. *Prog Lipid Res*, 2003, 42(3):238-256.

[7] 赵悦,马雪,解用江,等. 饱和氢盐水对心肌缺血再灌注损伤老年大鼠心肌细胞线粒体损伤的影响[J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2016, 18(12):1301-1307.

[8] NODA K, SHIGEMURA N, TANAKA Y, et al. A novel method of preserving cardiac grafts using a hydrogen-rich water bath[J]. *J Heart Lung Transplant*, 2013, 32(2):241-250.

[9] SUN Q, KANG Z, CAI J, et al. Hydrogen-rich saline protects myocardium against ischemia/reperfusion injury in rats[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2009, 234(10):1212-1219.

[10] WANG F, YU G, LIU S Y, et al. Hydrogen-rich saline protects against renal ischemia/reperfusion injury in rats[J]. *J Surg Res*, 2011, 167(2):e339-344.

[11] 卫然. 氢气通过 PI3K/Akt 信号通路抑制糖尿病大鼠心肌缺血再灌注损伤引起的细胞凋亡[D]. 桂林:桂林医学院, 2014.

[12] YU L, GONG B, DUAN W, et al. Melatonin ameliorates myocardial ischemia/reperfusion injury in type 1 diabetic rats by preserving mitochondrial function: role of AMPK-PGC-1 α -SIRT3 signaling[J]. *Sci Rep*, 2017, 7:41337.

[13] LEE J, YANG G, KIM Y J, et al. Hydrogen-rich medium protects mouse embryonic fibroblasts from oxidative stress by activating LKB1-AMPK-FoxO1 signal pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 491(3):733-739.

[14] ZHAO B, GAO W W, LIU Y J, et al. The role of glycogen synthase kinase 3 beta in brain injury induced by myocardial ischemia/reperfusion injury in a rat model of diabetes mellitus[J]. *Neural Regen Res*, 2017, 12(10):1632-1639.

[15] 王丽艳,赵晓丽,郭彦青,等. 丹曲林对缺血再灌注大鼠心肌糖代谢酶活性的影响[J]. *天津医药*, 2011, 39(7):631-633.

[16] 陈学颖,孙爱军,弭守玲,等. 辛伐他汀保护缺血-再灌注损伤心肌的线粒体蛋白质组学研究[J]. *中国分子心脏病学杂志*, 2010, 10(6):360-365.

[17] 孙晚晴. 诱导型心肌特异性丙酮酸脱氢酶敲除对心肌缺血损伤的影响及其机制[D]. 长春:吉林大学, 2016.

[18] 曾剑. 体外循环心脏直视手术病人术后血清糖原磷酸化酶同工酶 BB(GPBB)的变化及其临床意义[D]. 长沙:中南大学, 2010.

[19] STANLEY W C, LOPASCHUK G D, HALL J L, et al. Regulation of myocardial carbohydrate metabolism under

- normal and ischaemic conditions. Potential for pharmacological interventions [J]. *Cardiovasc Res*, 1997, 33 (2): 243-257.
- [20] 刘雪聪, 刘福林, 李志林, 等. 氢气对大鼠离体心肌缺血再灌注损伤的保护作用及机制[J]. *山东医药*, 2015, 55(6): 1-3.
- [21] 李敏. 富氢水对社区代谢综合征患者血脂及高密度脂蛋白功能的影响[D]. 泰安: 泰山医学院, 2013.
- [22] KAJIYAMA S, HASEGAWA G, MAI A, et al. Supplementation of hydrogen-rich water improves lipid and glucose metabolism in patients with type 2 diabetes or impaired glucose tolerance[J]. *Nutrition Research*, 2008, 28 (3): 137-143.
- [23] 薛乾. 分子氢对心肌缺血再灌注损伤保护的膜分子机制研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2016.
- [24] LUO H, FAN Z, XIANG D, et al. The protective effect of umbelliferone ameliorates myocardial injury following ischemia? reperfusion in the rat through suppression NLRP3 inflammasome and upregulating the PPAR- γ [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(2): 3404-3410.
- [25] 马敏, 张娜娜, 师磊, 等. SDG 对去卵巢大鼠心肌缺血再灌注损伤保护作用[J]. *中国公共卫生*, 2015, 31(6): 825-828.
- [26] 骆莹莹. 氢分子对正常饮食 C57BL/6 小鼠脂肪组织代谢及脂代谢相关基因表达的影响[D]. 扬州: 扬州大学, 2012.
- [27] NAKAO A, TOYODA Y, SHARMA P, et al. Effectiveness of Hydrogen rich water on antioxidant status of subjects with potential metabolic syndrome-an open label pilot study[J]. *J Clin Biochem Nutr*, 2010, 46(2): 140-149.
- [28] SANSBURY B E, DEMARTINO A M, XIE Z, et al. Metabolomic analysis of pressure-overloaded and infarcted mouse hearts[J]. *Circ Heart Fail*, 2014, 7(4): 634-642.
- [29] BIBLI S I, ZHOU Z, ZUKUNFT S, et al. Tyrosine phosphorylation of eNOS regulates myocardial survival after an ischaemic insult; role of PYK2 [J]. *Cardiovasc Res*, 2017, 113(8): 926-937.
- [30] 刘艳涛. 氢气盐溶液在肝脏缺血再灌注损伤中保护作用的机制[D]. 上海: 第二军医大学, 2010.
- [31] 瞿勇强, 李桢, 李树华, 等. 缺血心肌早期超微结构观察[J]. *昆明医学院学报*, 2011, 32(3): 118-119.
- [32] 孙安会. 冠心病血症证病因病势对心肌细胞能量代谢及病证网络模型的影响[D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2016.
- [33] NICOLAOU P, RODRIGUEZ P, REN X, et al. Inducible expression of active protein phosphatase-1 inhibitor-1 enhances basal cardiac function and protects against ischemia/reperfusion injury[J]. *Circ Res*, 2009, 104(8): 1012-1020.
- [34] HAN L, TIAN R, YAN H, et al. Hydrogen-rich water protects against ischemic brain injury in rats by regulating calcium buffering proteins [J]. *Brain Res*, 2015, 1615: 129-138.
- [35] JING L, WANG Y, ZHAO XM, et al. Cardioprotective effect of hydrogen-rich saline on isoproterenol-induced myocardial infarction in rats[J]. *Heart Lung Circ*, 2015, 24(6): 602-610.
- [36] BALESTRINO M, SAROCCHI M, ADRIANO E A. Potential of creatine or phosphocreatine supplementation in cerebrovascular disease and in ischemic heart disease[J]. *Amino Acids*, 2016, 48(8): 1955-1967.
- [37] 张泉三, 巩霞, 王滨, 等. 吸入氢气对大鼠心肌缺血再灌注损伤的影响[J]. *中国当代医药*, 2015, 8(27): 7-9, 21.

(收稿日期: 2018-06-18 修回日期: 2018-08-16)

(上接第 4414 页)

- [34] CUI Y, ZHANG X, GONG Y, et al. Immunization with DnaJ (hsp40) could elicit protection against nasopharyngeal colonization and invasive infection caused by different strains of *Streptococcus pneumoniae* [J]. *Vaccine*, 2011, 29(9): 1736-1744.
- [35] BROOKS W A, CHANG L J, SHENG XIAOHUA, et al. Safety and immunogenicity of a trivalent recombinant PcpA, PhtD, and PlyD1 pneumococcal protein vaccine in adults, toddlers, and infants; A phase I randomized controlled study[J]. *Vaccine*, 2015, 33(36): 4610-4617.
- [36] CONVERSO T R, GOULART C, DARRIEUX M, et al. A protein chimera including PspA in fusion with PotD is protective against invasive pneumococcal infection and reduces nasopharyngeal colonization in mice[J]. *Vaccine*, 2017, 35(38): 5140-5147.
- [37] MOSCHIONI M, DE ANGELIS G, MELCHIORRE S, et al. Prevalence of pilus-encoding islets among acute otitis media *Streptococcus pneumoniae* isolates from Israel[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2010, 16(9): 1501-1504.
- [38] GIANFALDONI C, CENSINI S, HILLERINGMANN M, et al. *Streptococcus pneumoniae* pilus subunits protect mice against lethal challenge [J]. *Infect Immun*, 2007, 75(2): 1059-1062.
- [39] HARFOUCHE C, FILIPPINI S, GIANFALDONI C, et al. RrgB321, a fusion protein of the three variants of the pneumococcal pilus backbone RrgB, is protective in vivo and elicits opsonic antibodies[J]. *Infect Immun*, 2012, 80(1): 451-460.
- [40] FELDMAN C, ANDERSON R. Review: current and new Generation pneumococcal vaccines [J]. *J Infect*, 2014, 69(4): 309-325.
- [41] PRINCIPI N, ESPOSITO S. Development of pneumococcal vaccines over the last 10 years [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2018, 18(1): 7-17.

(收稿日期: 2018-06-11 修回日期: 2018-08-16)