

· 综 述 ·

疟疾疫苗研究进展

王国玲¹, 甘标¹, 陆家海²1 广州市海珠区疾病预防控制中心, 广东 广州 510288; 2 中山大学公共卫生学院,
中山大学热带病防治教育部重点实验室, 广东 广州 510080

摘要: 疟疾是一种世界范围内的传染病, 严重影响人类的身体健康和生命安全。疫苗作为控制乃至消灭传染病的有效手段, 在疟疾研究中受到广泛关注。目前针对疟原虫生活史各期的期特异性疫苗、传播阻断型疫苗、多阶段/多抗原疫苗以及减毒活疫苗都处于研究中。尽管尚无成熟疫苗推入市场, 但一些候选疫苗已进入临床实验, 并产生了非常有希望的结果。该文就疟疾疫苗的研究进展做一综述。

关键词: 疟疾; 疫苗

中图分类号: R531.3 文献标志码: A 文章编号: 1003-4692(2014)02-0189-04

DOI: 10.11853/j.issn.1003.4692.2014.02.029

Progress in research on malaria vaccine

WANG Guo-ling¹, GAN Biao¹, LU Jia-hai²

1 Haizhu Center for Disease Control and Prevention of Guangzhou, Guangzhou 510288, Guangdong Province, China;

2 School of Public Health, Sun Yat-sen University, State Ministry of Education Key Laboratory of Tropical Diseases
Control Research, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, Guangdong Province, China

Corresponding author: LU Jia-hai, Email: jiahailu@aliyun.com

Abstract: As an infectious disease worldwide, malaria seriously affects human health. Vaccine is an effective way to control and even eradicate infectious disease and has attracted considerable attention in the malaria research. Currently, specific malaria vaccines against human and mosquito stages of the parasite life cycle, transmission-blocking vaccines, multi-stage/multi-antigen vaccines, and live attenuated vaccines are in development. Although no malaria vaccine is put in the market, some vaccine candidates have been in clinical trials, with promising results. The progress in research on malaria vaccine is presented in this article.

Key words: Malaria; Vaccine

联合国开发计划署/世界银行/世界卫生组织(WHO)联合倡议的热带病特别规划防治的6种主要热带病中,除麻风病外,其余5种都是寄生虫病,而疟疾则是危害性最大的一类寄生虫病。疟疾是由按蚊叮咬而感染疟原虫所引起的虫媒传染病。尽管全世界以蚊媒控制和药物治疗为主的大规模防治计划开展了近40年,但目前仍有100多个国家和地区不同程度地受到疟疾的威胁。由于环境改变和流动人口的增加,受威胁人口越来越多。据WHO《2011年世界疟疾报告》,2010年在全球106个疟疾流行国家及地区共发现约2.16亿病例,全球共有超过65万疟疾死亡病例,其中81%的患者和91%的死亡者在非洲。据统计,全球86%的疟疾患者是5岁以下儿童^[1]。疟疾防治的常用方法包括清除蚊虫孳生地、用杀虫剂(如DDT)灭蚊、防蚊叮咬(如使用药蚊帐)、药物预防和治疗。然而,由于媒介按蚊对杀虫剂、疟原虫对氯喹等抗疟药都产生了抗药性,特别是多重抗药性的恶性疟不断扩散,使这些防控措施面临严重的威胁^[2]。因此,研制安全、高效的疟疾疫苗成为控制及消灭全球疟

疾的可靠途径和迫切需要。

疟原虫生活史有多个时期,每个生活时期有多种抗原,而且每种抗原具有多个表位,有些抗原还有多个等位基因,相同抗原又有多种结构形式,免疫系统有多种作用因子,而不同宿主的免疫反应也不相同,这些因素给疟疾疫苗的研制带来了许多困难^[3]。目前针对疟原虫生活史各期研究的期特异性疫苗、多阶段/多抗原疫苗以及减毒活疫苗都处于研究中。该文就疟疾疫苗的研究进展进行综述。

1 红前期疟疾疫苗

这类疫苗目前仍处于临床研发阶段,如RTS,S/AS01,针对恶性疟原虫的红细胞前期的环子孢子蛋白(circumsporozoite protein, CSP)。CSP包含一个中间重复区,能够诱导产生抗体^[4]。针对中间重复区的抗体能够导致蛋白衣壳脱落,阻止侵入肝细胞。RTS,S由针对CSP的中间重复区(R)、T细胞表位(T)组成,利用乙型肝炎表面抗原(S)作为载体。RTS在酿酒酵母中和表面抗原(S)共表达,因此命名为RTS,S。RTS,S的临床研发也促进了佐剂系统AS01的深入研究。

RTS,S是第一个研发出的疟疾疫苗,临床实验结果表明该

作者简介: 王国玲,女,硕士,主管医师,从事疾病预防控制工作。

Email: wangguoling911@aliyun.com

通讯作者: 陆家海, Email: jiahailu@aliyun.com

疫苗有比较好的临床保护效果。在自然暴露于疟疾的儿童和婴儿人群中,可保护 30%~56% 的人群不发生疟疾,可保护高达 66% 的人群不受疟疾感染,而且具有很好的安全性和耐受性^[5-6]。在莫桑比克,1465 名儿童经过 4 年的 II 期临床试验,结果表明,26% 的受试者不发生疟疾,32% 仅感染一种型别的疟疾,38% 的不发生严重疟疾^[7]。

目前,已开展 RTS,S/AS01 疟疾疫苗的大规模 III 期临床试验,受试人群包括撒哈拉以南非洲地区 7 个国家的 15 460 名儿童和婴儿。初步结果显示,大年龄组 6000 名 5~17 月龄儿童接种 3 剂疫苗后,在 12 个月随访期内,罹患临床疟疾和严重疟疾的风险分别降低了 56% 和 47%,疫苗在该年龄段儿童中具有较好的安全性和免疫原性^[8]。尽管许可使用保护力只有 25%~50% 的疟疾疫苗的成本-效益广受争议,但是在疟疾负担依然很重的地区,如撒哈拉以南的非洲地区,这一疫苗有可能被考虑使用。目前,研究者也在研究提高 RTS,S/AS01 的保护效果的策略,包括使用同一佐剂系统增加抗原种类,如基于多阶段、多抗原的 RTS,S 疫苗^[9],在 RTS,S/AS01 疫苗使用之前通过腺病毒表达 CSP^[10]。

其他几个红细胞前期候选疫苗也已经过临床前期和临床早期的研究开发^[11],包括重组亚单位蛋白疫苗、DNA 疫苗和以病毒为载体的疫苗^[6]。尽管部分疫苗联合强效应的佐剂似乎产生了较好的体液免疫或细胞免疫反应^[12],但临床试验未观察到疫苗有保护效果。在孢子攻击试验中,使用 DNA 疫苗或以病毒为载体的疫苗进行初免-加强免疫,观察到可以提高其免疫原性^[13]。尽管已公开发表的文献表明,初免-加强免疫的疫苗免疫策略在临床试验中未能观察到保护效果,但是未公开发表的研究报告令人鼓舞,使用 CSP 和血液阶段抗原-裂殖子顶端膜抗原(apical membrane antigen 1, AMA1)的 DNA 疫苗初免和以病毒为载体的疫苗加强免疫,能完全保护 25% 人群不受感染(T. Richie 2011, personal communication)。研究者正在努力改善这些策略,以获得更持久的细胞免疫反应和更高水平的保护力,但是人体对疫苗免疫接种反应的多变化性使其难以达到。其他新的疫苗,如自我-组装多肽纳米颗粒 CSP 疫苗,临床前期研究结果表明该疫苗很有希望^[14]。基因组学和蛋白组学数据的挖掘使得能够鉴定新的红细胞前期疫苗候选蛋白,其中一些在动物模型的研究结果表明很有研发前景^[15]。

2 红内期疟疾疫苗

多个红内期疟疾候选疫苗都是基于入侵性裂殖子表面的抗原和/或涉及入侵红细胞过程的抗原。使用这些抗原免疫接种有望刺激产生抗体,在血液阶段阻断入侵和减少疟原虫复制,降低临床发病的风险或严重性。裂殖子表面蛋白 1(merozoite surface protein 1, MSP1)是最有特点的裂殖子表面蛋白,第一个被选为疫苗进行开发。临床试验发现^[16],自然获得的针对 MSP1₁₉ 的抗体抑制裂殖子入侵红细胞,能够保护研究对象不发生疟疾,是一种潜在的候选疫苗。一种基于 MSP1 的疫苗,其佐剂和 RTS,S 相同,马里国家的成人接种 MSP1 疫苗后,产生的特异性抗体能够识别恶性疟原虫株的 MSP1^[17],但是肯尼亚儿童接种该疫苗后,对临床疟疾没有保护效果^[18]。

AMA1 是位于裂殖子的顶端复合体。AMA1 被认为在入侵

红细胞阶段发挥重要作用,而且在入侵肝细胞时可能发挥类似作用。体外试验表明,自然获得的针对 AMA1 的抗体能够抑制疟原虫入侵红细胞^[19],临床试验表明其具有保护效果^[20]。动物模型研究表明抗 AMA1 抗体的抑制作用具有株特异性^[19],这些结果被后续的对偶基因交换试验所证实^[21-22]。

目前有 2 种 AMA1 疫苗的研发已进入人体临床效果评价阶段。基于 2 种不同形式的 AMA1 联合氢氧化铝佐剂的一双价疫苗,经临床试验评价,发现该疫苗不能够保护研究对象免于患寄生虫血症或感染疟疾后发病^[23]。这一令人失望的研究结果,以及随后的基于 MSP1 的疫苗和其他红内期疟疾疫苗不能保护研究对象不发生疟疾,促使了研究者们逐渐放弃亚单位红内期疟疾疫苗的研发。但是,另一单价 AMA1 疫苗联合与 RTS,S 相同的佐剂,同样接种非洲儿童,发现其具有较高的免疫原性^[24]。尽管这一疫苗不能防止试验性子孢子攻击感染,但是显示有微弱的保护其不发病,该疫苗具有很强的株特异性,能够将与 AMA1 同源性的疟原虫感染导致的疟疾发病风险降低 60% 以上^[25]。这一令人鼓舞的结果,以及此后对 MSP3 的 Ib 期临床试验数据的调查分析^[26],重燃了红内期疟疾疫苗领域的研究希望,提示有可能开发出更广泛有效的多价或嵌合型新一代 AMA1 疫苗。

3 传播阻断型疫苗(transmission-blocking vaccines, TBVs)

该类疫苗设计以配子体或之后的蚊虫生长阶段的独特分子为靶标,阻断疟原虫的传播。针对这些靶标的抗体能够阻断蚊虫中疟原虫生长,从而阻断传播。设计针对多种疟原虫的疫苗比较少见,研究者设计了基于恶性疟原虫和卵形疟原虫的蚊虫生长阶段的蛋白,结果表明,该疫苗刺激产生了传播阻断活性,其传播阻断效应与免疫血清剂量依赖性^[27]。但是该疫苗佐剂为 Montanide ISA51,因其引起的抗体水平不高而不被接受。随着近几年全球消除疟疾计划的启动,传播阻断型疫苗愈来愈被重视。

尽管高效的红细胞前期疟疾疫苗传统意义上被认为不属于传播阻断型疫苗,但这种疫苗可提供无虫免疫,也能够起到干扰传播的作用。

4 多阶段、多抗原疫苗

人体病原体中,针对病毒、细菌感染都不断开发出相应的疫苗,但由于疟原虫抗原虫期多且抗原成分复杂,诱导人体产生相对复杂、多方面的免疫反应,单一抗原成分的疫苗免疫效果较差。因此,回顾以前开发出的多种候选疟疾疫苗都最终失败,尤其是面对其他型疟原虫的天然攻击。多阶段、多抗原复合疫苗是研究的重点。近几年来,科学家们已进行多种尝试,通过研发多阶段、多抗原疫苗,来改善单一抗原效果不足的缺陷。比较早开发的是 SP66,是一种合成疫苗,源于红内期抗原 MSP1 的肽组成,MSP1 与红细胞前期抗原 CSP 的中间复制区连接。尽管前期在南非开展的临床试验效果评价取得令人欣喜的结果^[28],但之后在非洲和亚洲的进一步研究表明没有明显的保护效果^[29-30]。另一项研究也以失败而告终,该研究以牛痘病毒为载体表达 7 种恶性疟原虫的基因,但是免疫原性和保护

效果都有限^[31]。Kumar等^[32]试图开发包括恶性疟原虫15个基因的DNA疫苗,同样也不成功。

由于RTS,S疫苗能够一定程度上预防疟疾的发生,红内期疫苗使用与RTS,S类似的佐剂系统能够刺激产生株特异性抗体,因此构建多阶段、多抗原重组蛋白,提高RTS,S的保护效果是值得探索的。

5 全虫疫苗(whole-organism vaccines)

尽管减毒活疫苗是最早的,对于其他很多病原体来说,目前依然是最好的疫苗形式。在早期疟疾疫苗的研究中,减毒活疫苗在鸟类和猴子动物模型中观察到保护效果^[33]。在20世纪70年代,通过辐射减毒的子孢子疫苗也观察到保护效果^[34],但该研究不是开发疟疾疫苗的直接途径,仅证明减毒活疫苗有可能,这些研究所获得的有限的成功导致对通过辐射减毒的子孢子疫苗研发工作需重新评估,蚊虫体内不可能生产减毒子孢子疫苗^[35]。有研究称,已从无菌饲养的蚊虫体内产生并纯化一种通过辐射减毒的、有代谢活性的、非复制的子孢子疫苗,通过人体实验性子孢子攻击试验,对其安全性和效果进行评价^[36]。该研究的目标是观察通过注射途径接种免疫原,然后通过至少1000只辐射过的蚊虫叮咬,证明有90%的保护效果(消除性免疫)。通过皮内或皮下注射子孢子疫苗未观察到明显的保护效果。但是,在猴子的模型上观察到,静脉注射子孢子疫苗产生了较高的免疫原性,但皮下注射未观察到^[37]。

通过以上方法获得高效红细胞前期的全虫是很有前景的。目前正在通过各种努力,改善疫苗接种途径,使得减毒子孢子能够有效进入血液循环,动物模型研究初步表明,静脉注射途径比较可行。通过对子孢子进行基因减毒,替代辐射减毒,早期试验发现,尽管减毒不充分,导致之后的突发感染,使得这一方法中途停止^[38],但目前仍在对其进行探索研究。

美国马里兰大学疫苗研发中心正在进行一项试验,皮内注射恰当数量的子孢子成功感染人^[39],替代蚊虫叮咬。通过这一有效途径,今后对于试验性疫苗以及药物来说,不仅在昆虫研究中心,而且在任何一家疟疾临床实验机构,包括那些疟疾流行的国家,实验性攻击试验可能变成常规,使得疟疾疫苗的效果评价试验更易进行。

6 展 望

2006年12月4日,WHO在曼谷举行的全球疫苗研究论坛上,呼吁采取联合行动,加快研制和批准使用一种高效的疟疾疫苗。同时将启动一项新的全球战略,即“疟疾疫苗技术路线图”^[40]。该项计划的最终目标是:在2025年之前研制出一种具有80%以上预防效果,并有4年以上保护作用的疟疾疫苗。暂定目标是:于2015年之前研制成功和批准使用第一代具有1年以上保护作用,且有50%以上预防效果的疟疾疫苗。WHO于2013年11月14日正式发布了旨在预防和消除疟疾的《2013疟疾疫苗技术路线图》,根据这份路线图,一种可将疟疾病率降低四分之三、并且能够根除这一传染性疾病的疫苗有望在2030年前获得生产和使用许可^[41]。尽管至今尚无成熟疫苗推入市场,但一些候选疫苗已进入临床试验,并产生了非常有希望的结果。目前临床进展最快的疫苗RTS,S/AS01已进入Ⅲ期临

床试验,如果获得成功,将有望上市并成为第一种研制成功的疟疾疫苗。随着蛋白技术、基因技术的发展,对疟原虫抗原和免疫机制的认识不断深入,不久的将来,人类将成功设计出有效的疟疾疫苗。

参考文献

- [1] World Health Organization. World malaria report 2011[R]. Geneva: WHO, 2011:12.
- [2] 周家莲,杨恒林. 抗疟药研究现状与发展趋势[J]. 中国病原生物学杂志, 2008, 11(3): 865-867.
- [3] 郑春福,陈雅棠. 疟疾核酸免疫的研究进展[J]. 国外医学寄生虫病分册, 2000, 27(1): 7-11.
- [4] Ballou WR, Rothbard J, Wirtz RA, et al. Immunogenicity of synthetic peptides from circumsporozoite protein of *Plasmodium falciparum*[J]. Science, 1985, 228(4702): 996-999.
- [5] Alonso PL, Sacarlal J, Aponte JJ, et al. Efficacy of the RTS, S/AS02A vaccine against *Plasmodium falciparum* infection and disease in young African children: randomised controlled trial[J]. Lancet, 2004, 364(9443): 1411-1420.
- [6] Bejon P, Lusingu J, Olotu A, et al. Efficacy of RTS, S/AS01E vaccine against malaria in children 5 to 17 months of age[J]. N Engl J Med, 2008, 359(24): 2521-2532.
- [7] Sacarlal J, Aide P, Aponte JJ, et al. Long-term safety and efficacy of the RTS, S/AS02A malaria vaccine in Mozambican children[J]. J Infect Dis, 2009, 200(3): 329-336.
- [8] 季敏. RTS, S/AS01 疟疾疫苗Ⅲ期临床研究取得积极结果[J]. 国际生物制品学杂志, 2011, 22(6): 296-296.
- [9] Heppner DG Jr, Kester KE, Ockenhouse CF, et al. Towards an RTS, S-based, multi-stage, multiantigen vaccine against falciparum malaria: progress at the Walter Reed Army Institute of Research[J]. Vaccine, 2005, 23(17/18): 2243-2250.
- [10] Stewart VA, McGrath SM, Dubois PM, et al. Priming with an adenovirus 35-circumsporozoite protein (CS) vaccine followed by RTS, S/AS01B boosting significantly improves immunogenicity to *Plasmodium falciparum* CS compared to that with either malaria vaccine alone[J]. Infect Immun, 2007, 75(5): 2283-2290.
- [11] World Health Organization. Initiative for vaccine research: malaria vaccines. 2010[EB/OL]. [2011-08-17]. Available at http://www.who.int/vaccine_research/links/Rainbow/en/index.html.
- [12] Cummings JF, Spring MD, Schwenk RJ, et al. Recombinant liver stage antigen-1 (LSA-1) formulated with AS01 or AS02 is safe, elicits high titer antibody and induces IFN- γ /IL-2 CD4⁺ T cells but does not protect against experimental *Plasmodium falciparum* infection[J]. Vaccine, 2010, 28(31): 5135-5144.
- [13] Hill AV, Reyes-Sandoval A, O'Hara G, et al. Prime-boost vectored malaria vaccines: progress and prospects[J]. Hum Vaccin, 2010, 6(1): 78-83.
- [14] Kaba SA, Brando C, Guo Q, et al. A nonadjuvanted polypeptide nanoparticle vaccine confers longlasting protection against rodent malaria[J]. J Immunol, 2009, 183(11): 7268-7277.
- [15] Bergmann-Leitner ES, Mease RM, de La Vega P, et al. Immunization with pre-erythrocytic antigen CelTOS from *Plasmodium falciparum* elicits cross - species protection against heterologous

- challenge with *Plasmodium berghei* [J]. PLoS One, 2010, 5 (8) : e12294.
- [16] Riley EM, Allen SJ, Wheeler JG, et al. Naturally acquired cellular and humoral immune responses to the major merozoite surface antigen (PfMSP1) of *Plasmodium falciparum* are associated with reduced malaria morbidity [J]. Parasite Immunol, 1992, 14 (3) : 321–337.
- [17] Thera MA, Doumbo OK, Coulibaly D, et al. Safety and allele-specific immunogenicity of a malaria vaccine in Malian adults: results of a phase I randomized trial [J]. PLoS Clin Trials, 2006, 1 (7) : e34.
- [18] Ogutu BR, Apollo OJ, McKinney D, et al. Blood stage malaria vaccine eliciting high antigenspecific antibody concentrations confers no protection to young children in Western Kenya [J]. PLoS One, 2009, 4(3) : e4708.
- [19] Hodder AN, Crewther PE, Anders RF. Specificity of the protective antibody response to apical membrane antigen 1 [J]. Infect Immun, 2001, 69(5) : 3286–3294.
- [20] Polley SD, Mwangi T, Kocken CH, et al. Human antibodies to recombinant protein constructs of *Plasmodium falciparum* apical membrane antigen 1 (AMA1) and their associations with protection from malaria [J]. Vaccine, 2004, 23(5) : 718–728.
- [21] Dutta S, Lee SY, Batchelor AH, et al. Structural basis of antigenic escape of a malaria vaccine candidate [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104(30) : 12488–12493.
- [22] Healer J, Murphy V, Hodder AN, et al. Allelic polymorphisms in apical membrane antigen-1 are responsible for evasion of antibody-mediated inhibition in *Plasmodium falciparum* [J]. Mol Microbiol, 2004, 52(1) : 159–168.
- [23] Sagara I, Dicko A, Ellis RD, et al. A randomized controlled phase 2 trial of the blood stage AMA1-C1/Alhydrogel malaria vaccine in children in Mali [J]. Vaccine, 2009, 27(23) : 3090–3098.
- [24] Thera MA, Doumbo OK, Coulibaly D, et al. Safety and immunogenicity of an AMA1 malaria vaccine in Malian children: results of a phase 1 randomized controlled trial [J]. PLoS One, 2010, 5(2) : e9041.
- [25] Thera MA, Doumbo OK, Coulibaly D, et al. A field trial to assess a blood-stage malaria vaccine [J]. N Engl J Med, 2011, 365 (11) : 1004–1013.
- [26] Sirima SB, Cousens S, Druilhe P. Protection against malaria by MSP3 candidate vaccine [J]. N Engl J Med, 2011, 365 (11) : 1062–1064.
- [27] Wu Y, Ellis RD, Shaffer D, et al. Phase 1 trial of malaria transmission blocking vaccine candidates Pfs25 and Pvs25 formulated with montanide ISA 51 [J]. PLoS One, 2008, 3 (7) : e2636.
- [28] Valero MV, Amador LR, Galindo C, et al. Vaccination with SPf66, a chemically synthesized vaccine, against *Plasmodium falciparum* malaria in Colombia [J]. Lancet, 1993, 341 (8847) : 705–710.
- [29] D'Alessandro U, Leach A, Drakeley CJ, et al. Efficacy trial of malaria vaccine SPf66 in Gambian infants [J]. Lancet, 1995, 346 (8973) : 462–467.
- [30] Alonso PL, Smith T, Schellenberg JR, et al. Randomised trial of efficacy of SPf66 vaccine against *Plasmodium falciparum* malaria in children in southern Tanzania [J]. Lancet, 1994, 344 (8931) : 1175–1181.
- [31] Ockenhouse CF, Sun PF, Lanar DE, et al. Phase I/II a safety, immunogenicity, and efficacy trial of NYVAC-Pf7, a pox-vectored, multiantigen, multistage vaccine candidate for *Plasmodium falciparum* malaria [J]. J Infect Dis, 1998, 177(6) : 1664–1673.
- [32] Kumar S, Epstein JE, Richie TL, et al. A multilateral effort to develop DNA vaccines against falciparum malaria [J]. Trends Parasitol, 2002, 18(3) : 129–135.
- [33] Freund J, Thomson KJ, Sommer HE, et al. Immunization of rhesus monkeys against malarial infection (*P. knowlesi*) with killed parasites and adjuvants [J]. Science, 1945, 102(2643) : 202–204.
- [34] Clyde DF, Most H, McCarthy VC, et al. Immunization of man against sporozite-induced falciparum malaria [J]. Am J Med Sci, 1973, 266(3) : 169–177.
- [35] Luke TC, Hoffman SL. Rationale and plans for developing a non-replicating, metabolically active, radiation-attenuated *Plasmodium falciparum* sporozoite vaccine [J]. J Exp Biol, 2003, 206 (Pt 21) : 3803–3808.
- [36] Hoffman SL, Billingsley PF, James E, et al. Development of a metabolically active, nonreplicating sporozoite vaccine to prevent *Plasmodium falciparum* malaria [J]. Hum Vaccin, 2010, 6 (1) : 97–106.
- [37] Epstein JE, Tewari K, Lyke KE, et al. Live attenuated malaria vaccine designed to protect through hepatic CD8⁺ T cell immunity [J]. Science, 2011, 334(6055) : 475–480.
- [38] VanBuskirk KM, O'Neill MT, de La Vega P, et al. Preerythrocytic, live - attenuated *Plasmodium falciparum* vaccine candidates by design [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2009, 106(31) : 13004–13009.
- [39] Lyke KE, Laurens M, Adams M, et al. *Plasmodium falciparum* malaria challenge by the bite of aseptic *Anopheles stephensi* mosquitoes: results of a randomized infectivity trial [J]. PLoS One, 2010, 5(10) : e13490.
- [40] Program for Appropriate Technology in Health (PATH), Accelerating Progress Toward Malaria Vaccines [M]. Bethesda, MD: PATH, 2007.
- [41] World Health Organization. New malaria vaccines roadmap targets next generation products by 2030 [EB/OL]. [2013–11–14]. Available at <http://www.who.int/mediacentre/news/notes/2013/malaria-vaccines-20131114/en/>.

收稿日期: 2013–12–10