

炭疽芽胞杆菌疫苗研究进展

展德文 王 芃 王令春 张兆山*

(军事医学科学院生物工程研究所 北京 100071)

摘 要 炭疽芽胞杆菌引起的炭疽病死亡率非常高,当前的疫苗具有效力不稳定、对吸入性炭疽的保护率低、免疫程序繁琐、存在副作用等缺点。近年来人们在改造传统疫苗的同时又有一些新的发现,如保护性抗原(PA)的抗体在体内可杀死芽胞,通过粘膜免疫能够诱导机体分泌 IgA 抗体,抗多聚谷氨酸(γ -D-PGA)抗体可以同炭疽杆菌的繁殖体作用,从而杀死繁殖体,寻找到新的免疫原。DNA 疫苗、活载体疫苗的出现为新一代安全、免疫程序简单、具更高保护率的疫苗奠定了基础。

关键词 炭疽芽胞杆菌 保护性抗原 疫苗

中图分类号:Q939.93 文献标识码:A 文章编号:1001-6209(2005)01-0149-04

炭疽病是由炭疽芽胞杆菌引起的一种死亡率非常高的疾病。炭疽芽胞杆菌为革兰氏阳性菌,主要通过皮肤、呼吸道和消化道感染动物和人。最初感染的部位常有巨噬细胞吞噬的炭疽芽胞,吞噬芽胞的巨噬细胞迁移到局部的淋巴结,芽胞在巨噬细胞内萌发,进而裂解巨噬细胞,然后繁殖体炭疽杆菌进入血液中,引起败血症和毒血症从而导致机体死亡。炭疽杆菌在有氧条件下可形成大量的芽胞,存在数 10 年后仍能够保持感染能力,若再次感染动物或人,则会重新在生物体内繁殖并导致机体死亡。生物恐怖主义者和一些国家的军方把炭疽杆菌研制成为一种生物武器,这给人们带来极大的恐慌,“911”事件后美国先后有几人接触夹有炭疽芽胞粉末的邮件而感染炭疽的病例,其中已有人死亡。

1 炭疽杆菌感染的分子机制

感染炭疽的患者死亡的主要原因是炭疽杆菌在血液中大量繁殖并产生毒素,只需微量的毒素就可致人于死。炭疽杆菌含有两个大质粒, pXO1 和 pXO₂。质粒 pXO1 编码毒力因子的基因 *cya*、*lef* 和 *pag*, 质粒 pXO₂ 中含有 3 个阅读框架 *capB*、*capC* 和 *capA*, 他们编码 4 种蛋白基因, 形成以 γ 键联结的聚-D-谷氨酰荚膜(γ -DPGA)。炭疽杆菌的主要的毒力因子属外毒素, 它们能破坏宿主的防御系统并导致细胞死亡而炭疽杆菌的荚膜能够抵抗宿主细胞的吞噬作用。

炭疽毒素主要由 3 个功能相关的蛋白组成外毒素, 3 种蛋白分别称为保护性抗原(Protective antigen, PA);致死因子(Lethal factor, LF)和水肿因子(Edema factor, EF)^[1]。PA 是一种单链蛋白质, 主要功能是介导 LF 和 EF 进入宿主细胞。LF 是一种高特异性的具有 4 个锌离子结构域的金属蛋白酶, 能够分解 MAPKK 并使巨噬细胞溶解, 从而导致宿主死亡。EF 是钙和钙调蛋白依赖性的腺苷酸环化酶, 它使 ATP 去掉两分

子磷酸形成 cAMP, 使得细胞内 cAMP 大量积聚, 破坏细胞内复制的信号传导通路。另外, EF 破坏嗜中性粒细胞正常功能, 并在皮肤性炭疽中导致水肿。这 3 个蛋白单个来说并没有致病作用, 但它们可以协同进入细胞, 引起病理性损害。其中 PA 和 LF 组成的复合体称为“致死毒素”。

机体细胞表面普遍存在一种 I 型膜蛋白, 可以同 PA 结合, 称为炭疽毒素受体(Anthrax toxin receptor, ATR)^[2]。PA 是一个包含 4 个结构域的蛋白, 其 C 末端同宿主细胞膜表面 ATR 结合。PA 同细胞膜表面的 ATR 结合后, 被 Furin 样细胞表面蛋白酶在结构域 DI(164 RKKR167)处裂解为两部分, N 末端的片段 PA₂₀ 释放至胞外质, 不再起作用。剩下 C 末端的 PA₆₃ 部分自身连接形成环形七聚体-[PA₆₃]₇, 是如蛋糕样楔子。[PA₆₃]₇ 形成一阴性电子腔, 呈现疏水性表面同 LF 和 EF 结合。[PA₆₃]₇-LF 和 [PA₆₃]₇-EF 通过 ATR 介导的细胞吞饮作用进入细胞。胞内低 PH 能够引发 [PA₆₃]₇ 的构象改变, 使 PA₆₃ 嵌入细胞膜, 在 14 β 层的基础上形成膜扩展的阳离子通道。这些机制使得 LF 和 EF 被转运入细胞内。EF 干扰细胞膜对离子和水跨膜运动的控制, 导致组织水肿, 同时它还消耗吞噬细胞的能量, 使其无力发挥吞噬细菌的作用。LF 通过分解 MAPKK 和诱导巨噬细胞凋亡, 阻止趋化因子和细胞因子的释放, 从而导致宿主死亡。

外毒素被认为抑制了抗感染免疫反应, 而荚膜则阻碍繁殖体被吞噬。在荚膜缺乏时, 细胞壁则由高度平行的超结构蛋白结晶片段形成一层面结构, 称为 S-层, 它由 EA1 和 Sap 2 个蛋白质组成, 主要靠非共价键维系, EA1 是 S-层主要的蛋白质。S-层主要促进细胞粘附和表面识别, 提高骨架构成和维持细胞形态或硬度, 是抗原多样性的机制之一, 使病原体逃逸宿主识别。

* 通讯作者。Tel 86-10-66948834, E-mail: zhangzs@bmi.nic.ac.cn

作者简介:展德文(1976-)男,山东青岛人,博士研究生,主要从事疫苗研究。E-mail:rmjl727@yahoo.com.cn

收稿日期 2004-06-23, 修回日期 2004-08-23

2 现用的炭疽疫苗现状与研究进展

最早的炭疽疫苗是巴斯德于 1881 年给牛注射的疫苗,到 19 世纪 30 年代由 Sterne 株发展成弱毒人用疫苗。目前我国和俄罗斯主要用的是活菌苗,它们多为活芽胞制剂,不加任何的防腐剂和杀菌剂。无论皮下注射或皮上划痕,须以活芽胞进入体内的菌数多少作为免疫强弱的依据,使它们在进入体内后还能够增殖,所以是一次接种^[3,4]。根据我国 2000 年《中国生物制品规程》报告,目前应用的炭疽疫苗主要是杨雅等选育的 A16R 菌株,此菌株不含有 pOX2 大质粒,不能形成荚膜,因此毒力大大减弱,它主要通过皮肤划痕进行免疫接种,经过人群效果观察,保护率为 80%~100%。但对肺炎炭疽的保护效果不佳,并具有一定的不良反应,如头晕、耳鸣、心悸、四肢乏力等,严重者可导致晕厥、四肢抽搐和呼吸困难。另外存在个别细菌的致病作用未被彻底去除的隐患,有可能造成感染而发病。

在美国,已被 FDA 批准的用于人体的炭疽疫苗(AVA)是一种经氢氧化铝吸附和福尔马林处理的炭疽杆菌 V770-NP1-R 株的上清液,该菌株是 Sterne 株衍生出来的产毒素、无荚膜、非蛋白酶解性炭疽杆菌。此疫苗的生产过程是先通过大量培养细菌,再经过滤除菌,然后将剩下的毒素蛋白与氢氧化铝等佐剂吸附在一起,最后经过福尔马林处理灭活而得到。其中起主要免疫作用的毒素蛋白是 PA,每 0.5mL 的剂量含 PA 不超过 0.83mg, Jendrek 等^[5]证明用氢氧化铝和福尔马林作为佐剂比磷酸铝等佐剂好得多。研究证明,注射这种疫苗能够有效的刺激免疫系统产生特异性结合毒素的抗体并将其灭活,在一定的范围内其使用效果很好,但它的制备产量有限,并且要分别在 0、2、4 周和 6、12、18 月进行皮下注射,随后每年加强,接种程序烦琐。因滤液中除 PA 外,还含有 EF 和 LF 及其它物质,所以会有少数免疫者呈现严重的不良反应,副作用大,轻度局部反应达 30%,约 0.2%接种者呈全身反应,症状表现为乏力、发热和寒颤。

如上所述,AVA 中除 PA 外,还有 EF 和 LF 及其它物质,使少数免疫者呈现严重的不良反应。为了使疫苗更安全,同时缩短免疫时间,简化免疫程序,提高保护率,许多科学家都致力于获得弱毒的炭疽杆菌疫苗,并且尝试通过改变宿主菌提高 PA 的表达,如采用枯草杆菌、牛痘病毒、沙门氏菌作为表达宿主^[6-8]。其中表达保护性抗原的炭疽减毒活疫苗是研究的热点。Barnard 等^[9]通过化学和调节温度的方法把炭疽杆菌的质粒 pXO1 和 pXO₂ 去掉,建立一个突变的炭疽杆菌株 Δ ANR,然后构建一个含有 PA 基因的表达质粒,将它转入炭疽杆菌株 Δ ANR 中,通过这种方法在培养上清中检测到 PA 的表达,用它和炭疽杆菌疫苗株 Δ Sterne-1 免疫豚鼠,发现保护率同 Sterne 株没有区别,而且理论上副作用应该降低。在国内,兰州生物制品所的王秉翔等^[10]和本文作者均筛选出无 pXO1 和 pXO2 质粒的 A16R 菌株,为进一步研究打下了基础。另外,重组 PA 或 PA 片段的蛋白质或多肽苗也是一重要的研究方向。美国的 Scott Jendrek 等制成了区别于 AVA 的

rPA 疫苗,它不含 EF 和 LF,这项工作已经完成了临床 I 期实验^[3]。Donald^[11]把炭疽荚膜与 PA 混合到一起免疫小鼠,大大的提高了保护率。

3 炭疽疫苗的免疫学研究探索

中国和俄罗斯的炭疽疫苗都是通过划痕皮肤进行免疫,美国的 AVA 疫苗则主要通过注射途径,这样获得的保护主要的是系统免疫。但是对于吸入性炭疽来说,炭疽芽胞通过粘膜表面侵袭宿主,现在研究表明,只能通过粘膜免疫,才能有效的产生粘膜和系统双重免疫保护作用^[12,13]。Prosper 等^[14]用重组 PA 通过鼻腔对小鼠进行免疫,粘膜免疫佐剂分别为霍乱毒素和 CpG 寡核苷酸,结果发现不仅在血清中含有高特异性抗 PA IgG 抗体,并且还在唾液、鼻腔冲洗液和粪便提取物中检测到了抗 PA 的可分泌性 IgA 抗体。PA 特异性 CD⁴ + T 细胞,分泌的 Th1 型细胞因子降低,但是 IL-4、IL-5、IL-6 和 IL-10 却提高了应答,获得更为安全的炭疽免疫保护^[14]。

在炭疽杆菌感染的病人中,主要的死亡原因就是感染了炭疽芽胞。芽胞进入宿主后,就在宿主巨噬细胞中繁殖,并到达淋巴结中,最后在细胞外大量繁殖并分泌大量的毒素导致中毒,若治疗不及时,极易死亡,患者死亡率达 80% 以上。当前的疫苗(如 AVA)主要是针对 PA 的,而对芽胞杆菌没有有效的作用。质粒 pXO2 编码的以 γ 键联结的聚-D-谷氨酰荚膜(γ -D-PGA)是炭疽杆菌荚膜一种结构物质,它能抑制巨噬细胞的噬菌作用,但是只有很弱的免疫原性。Rachel 等^[15]把 PGA 与甲基化的 BSA 偶联起来,再偶联 PA 免疫小鼠,发现小鼠血清含有很高的抗 PGA 的 IgG 抗体和抗 PA 的 IgG 抗体。Gi-Eun 等^[16]几乎同时用相似的方法把 PGA 与 PA 偶联起来,也获得了相同的结果。最近,Wang 等^[17]把 PGA 的九聚体同血蓝蛋白偶联,产生的抗 PGA 的九聚体的抗体可以识别至少 PGA 四聚体抗原表位,并且可以同炭疽杆菌的繁殖体作用,使巨噬细胞不易溶解,这对帮助机体内清除炭疽杆菌的繁殖体有重要的作用。Thomas 等^[18]用小鼠 CD40 的单克隆抗体作为激动剂,同 γ -D-PGA 一同免疫小鼠,对吸入性炭疽的保护率大于 90%。

随着生物信息学和全基因组测序技术的发展,人们可以预测到一些编码毒力因子和免疫原基因,这些基因编码的产物可以成为新药的靶标和新的疫苗候选目标。Ariel 等^[19]通过对 pXO1 全序列搜寻,找到了 143 个开放阅读框(ORFs),其中 70% 的开放阅读框编码的产物在数据库中无同源类似物,其功能未知。该实验室应用蛋白质芯片技术和生物信息学,通过对 143 个 ORFs 编码的产物进行分析,最终找到了 3 个与 PA 具有极为相似免疫原性的 ORF 编码的蛋白,为进一步的研究奠定了基础。

4 新型炭疽疫苗的研究进展

4.1 DNA 疫苗

DNA 疫苗又称基因疫苗或者核酸疫苗。它的出现被认

为是疫苗发展史上的第三次革命^[20]。简单的说,就是用编码蛋白质的 DNA 片段或基因来替代蛋白质或微生物免疫动物。炭疽杆菌 DNA 疫苗的优势主要体现在:①DNA 疫苗既能刺激机体产生体液免疫,又能产生细胞免疫,尤其是能诱导产生具有细胞毒功能的 T 淋巴细胞,因此能更加有效的抵御炭疽杆菌的感染。②DNA 疫苗的制备只需对编码抗原的基因进行克隆,不需在体外表达和纯化蛋白质,在安全方面类似灭活疫苗,制备简单,经济,对于炭疽疫苗来说可以大大降低副反应的发生率。③DNA 疫苗本质是核酸分子,因而它不同于蛋白质和活疫苗,可以在室温保存,避免了疫苗贮存运输中遇到的冷藏问题。④外源基因容量大,易于构建多价疫苗。

Mi-Li^[21]最初把编码 PA 的 173-764 氨基酸的基因片段插入到 pJW4303 载体上,进行免疫小鼠,并用 PA + LF 进行攻击,发现脾细胞分泌的 IFN γ 明显增加,IL-4 分泌量增加 4 倍,表明用此 DNA 疫苗免疫后,激活了抗原特异性的 Th1 和 Th2 细胞因子分泌细胞。PA + LF 进行攻击后,免疫的小鼠均获得有效的保护。Williamson 等^[22]把鼠疫杆菌的 V 抗原基因和 PA 基因融合到一起,用质粒 pCMV β 做骨架,构建成 DNA 疫苗,在这 PA 和 V 抗原都具有免疫原性。用此 DNA 疫苗对小鼠免疫,对 V 和 PA 都能检测到免疫应答,并且能明显提高小鼠对鼠疫杆菌免疫保护。Brian 等^[23]用编码基因 LF₄ 的质粒免疫小鼠,可在小鼠的血清内检测到抗 LF 的 IgG,它能阻滞 PA 与 LF 的结合,具有一定的保护作用。Galloway 等^[24]以质粒 pCI 作为骨架,把 PA₆₃ 基因和 LF₄ 基因插入到 pCI 质粒上,PA₆₃ 基因和 LF₄ 基因编码的蛋白均没有毒力。用这两种质粒联合对兔子进行免疫,并用气溶胶形式的炭疽芽胞进行攻毒,发现用质粒免疫的兔子均得以存活,主要的原因就是重组的 DNA 疫苗免疫的兔子具有持续的免疫应答能力,在血清中具有明显相对高的抗 PA 的 IgG 含量。Tan 等^[25,26]用腺病毒作载体表达 PA 的 DNA 疫苗,能有效的对抗 LT 的攻击,并且比单纯的 PA 免疫具更高的保护率。

4.2 转基因植物疫苗

随着基因工程技术的发展,人们已经成功的将一些病原体抗原基因转到食用植物中并在果实中成功的表达,为研制新型疫苗提供了新的思路。由于植物远离人和动物的疾病,并且可以把抗原通过食物输入到人和动物的体内,用这种方法不仅不用担心患上疾病,还可以获得有效的免疫力。Haq 等^[27]最初用转基因植物中表达的重组细菌抗原进行口服免疫获得了成功。利用这个思路 Aziz 等^[28]把 PA 基因转到烟草中,并在烟叶中检测到具有活性的 PA 的表达,这为炭疽杆菌研究提供了新的途径。另有报道^[29],Thomas Jefferson 大学的 Alexander Karasev 已将 PA 基因成功转入菠菜中,并在菠菜中有表达,目前该研究正在进行中。

5 问题与展望

炭疽杆菌的芽胞可经皮肤、呼吸道和消化道进入机体,特别是通过呼吸道造成的感染很难预防,传统的减毒活

疫苗和以 PA 为主的铝胶吸附培养上清液疫苗虽有效力但仍存在很多亟待解决的问题,比如效力不稳定,主要引起是体液免疫反应,并且免疫保护的时间不能持久,局部水肿和疼痛等副作用,免疫程序复杂,保护人群受生物恐怖袭击所需的抗体水平不清楚等。用 PA 和少量的 LF 肌注免疫,可以提高机体的免疫应答^[30,31],同时炭疽荚膜与 PA 混合到一起免疫可以提高保护率^[11]等一些新的发现为传统疫苗的改造提供了新的帮助,并且其中一些问题也得到了解决。

随着基因组学和蛋白质组学研究的不断深入,许多未知的基因和蛋白质被发现,并且它们的功能和结构被明晰,DNA 疫苗技术的发展,这为新型疫苗研制提供了依据。目前的 DNA 疫苗具有很好免疫效果同时,还能产生持续的免疫应答,Vical 公司研制的 DNA 二联苗,在第 3 次免疫家兔 7 个月,保护率为 100%。另外,Helen 等^[32]把 PA 基因整合到减毒沙门氏菌染色体上构建的活载体疫苗利用静脉注射途径免疫,均有不错的效果。当然还有一些问题需要人们的持续深入研究,比如 γ -D-PGA 抗体如何同炭疽杆菌的繁殖体作用,LT 通过干扰树突状细胞来抑制宿主免疫的分子机制^[33];怎样才能增强细胞免疫等等。

虽然 PA 对炭疽的保护性免疫发挥重要作用,但 γ -D-PGA 和其它新发现的抗原也将产生非常有效的免疫保护效果。过去对芽胞的抗原性和免疫原性研究较少,随着研究的不断深入,对开发新型的炭疽疫苗会起到重要的作用。基因疫苗、活载体疫苗更有可能是未来理想的炭疽疫苗。在将来,两种或两种以上的疫苗联合应用将对炭疽芽胞杆菌产生更高的保护率,同时用抗生素和单克隆抗体联合治疗感染者,感染者的存活率也会提高。随着科学的发展,未来的疫苗肯定会安全、廉价、免疫程序简单,并具有很高的保护率。

参 考 文 献

- [1] Pannifier A D, Wong T Y, Schwarzenbacher R, et al. Crystal structure of the anthrax lethal factor. *Nature*, 2001, **414**:229 - 233.
- [2] Brdley K A, Mogridge J, Mourez M, et al. Identification of the cellular receptor for anthrax toxin. *Nature*, 2001, **414**(6860):225 - 219.
- [3] 董树林.炭疽菌苗免疫述评.微生物学免疫学进展,1994, **22**(2):39 - 41.
- [4] 王秉翔.炭疽疫苗.见:李忠明,张延龄,徐德启,等.当代新疫苗.北京:高等教育出版社,2001:423 - 438.
- [5] Jendrek S, Little S F, Hem S, et al. Evaluation of the compatibility of a second generation recombinant anthrax vaccine with aluminum-containing adjuvants. *Vaccine*, 2003, **21**:3011 - 3018.
- [6] Coulson N M, Fulop M, Titball R W. *Bacillus anthracis* protective antigen, expressed in *Salmonella typhimurium* SL3261, affords protection against anthrax spore challenge. *Vaccine*, 1994, **12**:1395 - 1401.
- [7] Iacono-Connors L C, Schmaljohn C S, Dalrymple J M. Expression of the *Bacillus anthracis* protective antigen gene by baculovirus and vaccinia virus recombinants. *Infect Immunology*, 1990, **58**:366 - 372.
- [8] Ivins B E, Welkos S L. Cloning and expression of the *Bacillus anthracis* protective antigen gene in *Bacillus subtilis*. *Infect Immunology*, 1986, **52**:454 - 458.

- [9] Barnard J P , Friedlander A M . Vaccination against anthrax with attenuated recombinant strains of *Bacillus anthracis* that produce protective antigen . *Infect Immunology* , 1999 , **67** : 562 – 567 .
- [10] 王秉翔 , 彭玉芬 , 韩少波 , 等 . 一株炭疽杆菌无毒株的建立中国人兽共患病杂志 . 2004 , **20** (4) : 332 – 340 .
- [11] Donald J C , Angelo Scorpio , Steven A T , *et al.* Anthrax capsule vaccine protects against experimental infection . *Vaccine* , 2004 , **23** : 43 – 47 .
- [12] McGhee J R , Lamm M E , Strober W . Mucosal immune response : an overview . In : Ogra P L , Mestecky J , Lamm M E , *et al.* ed . *Mucosal Immunology* . New York : Academic press , 1999 , 485 – 468 .
- [13] Boyaka P N , Marinaro K , McGhee J R , *et al.* Host defence at mucosal surface . In : Rich R R , Fleisher T A , Shearer W T , *et al.* ed . *Clinical Immunology* . London : Mosby press , 2001 , 20 – 21 .
- [14] Prosper N B , Angela T , Romy F , *et al.* Effective mucosal immunity to anthrax : neutralizing antibodies and Th cell responses following nasal immunization with protective antigen . *The Journal of Immunology* , 2003 , **170** : 5636 – 5643 .
- [15] Rachel S , Joanna K , Teh-Yung L , *et al.* Poly (γ -D-PGA) protein conjugates induce IgG antibodies in mice to the capsule of *Bacillus anthracis* : A potential addition to the anthrax vaccine . *PANS* , 2003 , **100** : 8945 – 8950 .
- [16] Gi-Eun R , Michael H R , Michael M R , *et al.* A dually active anthrax vaccine that confers protection against both bacilli and toxins . *PANS* , 2003 , **100** : 10925 – 10930 .
- [17] Wang T T , Fellows P F , Leighton T J , *et al.* Induction of opsonic antibodies to the gamma-D-glutamic acid capsule of *Bacillus anthracis* by immunization with a synthetic peptide-carrier protein conjugate . *FEMS Immunol Med Microbiol* , 2004 , **40** (3) : 231 – 237 .
- [18] Thomas R K , William J M , Suzanne Brandt , *et al.* mAbs to *Bacillus anthracis* capsular antigen for immunoprotection in anthrax and detection of antigenemia . *PANS* , 2004 , **101** : 5042 – 5047 .
- [19] Ariel N , Zvi A , Grosfeld H O , *et al.* Search for potential vaccine candidate open reading frames in the *Bacillus anthracis* virulence plasmid pXO1 : In silico and *in vitro* screening . *Infection and Immunity* , 2002 , **70** : 6817 – 6827 .
- [20] Donnelly J J , Ulmer J B , Shiver J W , *et al.* DNA vaccine . *Ann Rev Immunol* , 1997 , **15** : 617 – 648 .
- [21] Mi-Li G , Stephen H L , Dennis M K . Protection against anthrax toxin by vaccination with a DNA plasmid encoding anthrax protective antigen . *Vaccine* , 1999 , **17** : 340 – 344 .
- [22] Williamson E D , Bennett A M , Perkins S D , *et al.* Co-immunization with a plasmid DNA cock tail primes mice against anthrax and plague . *Vaccine* , 2002 , **20** : 2933 – 2941 .
- [23] Brian M P , Adriane L L , Sukjoon P , *et al.* Protection against anthrax lethal toxin challenge by genetic immunization with a plasmid encoding the lethal factor protein . *Infection and Immunity* , 2001 , **69** : 4509 – 4515 .
- [24] Galloway D , Liner A , Legutki J , *et al.* Genetic immunization against anthrax . *Vaccine* , 2004 , **22** : 1604 – 1608 .
- [25] Tan Y , Hackett N R , Boyer J L , *et al.* Protective immunity evoked against anthrax lethal toxin after a single intramuscular administration of an adenovirus-based vaccine encoding humanized protective antigen . *Hum Gene Ther* , 2003 , **14** (17) : 1673 – 1682 .
- [26] Tan Y , Julie J B , Neil R H . Effective Boosting of protective immunity via repeated intramuscular administration of a human adenovirus-based anthrax vaccine . *Molecular Therapy* , 2004 , **9** : 214 .
- [27] Haq T A , Mason H S , Clements J D , *et al.* Oral immunization with a recombinant bacterial antigen produced in transgenic plants . *Science* , 1995 , **268** : 714 – 716 .
- [28] Aziz M A , Singh S , Kumar P A , *et al.* Expression of protective antigen in transgenic plants : a step towards edible vaccine against anthrax . *Biochemical and Biophysical Research Communications* , 2002 , **299** : 345 – 351 .
- [29] Hillary E S . Spinach makes a safer anthrax vaccine . *Drug Discovery Today* , 2003 , **8** : 428 – 430 .
- [30] Brossier F , Weber-levy M , Mock M , *et al.* Role of toxin functional domains in anthrax pathogenesis . *Infect Immune* , 2000 , **68** (4) : 1781 – 1786 .
- [31] Price B M , Liner A L , Park S , *et al.* Protection against anthrax lethal toxin challenge by genetic immunization with a plasmid encoding the lethal factor protein . *Infect Immune* , 2001 , **69** (7) : 4509 – 4515 .
- [32] Helen S G , Richard W T , Kate F G , *et al.* Salmonella enterica serovar typhimurium expressing a chromosomally integrated copy of the *Bacillus anthracis* protective antigen gene protects mice against an anthrax spore challenge . *Infection and Immunity* , 2003 , **71** (7) : 3831 – 3836 .
- [33] Agrawal A , Lingappa J , Leppla S H , *et al.* Impairment of dendritic cells and adaptive immunity by anthrax lethal toxin . *Nature* , 2003 , **424** : 324 – 329 .

Progress on the vaccine for anthrax

ZHAN De-wen WANG Peng WANG Ling-chun ZHANG Zhao-shan *

(Institute of Biotechnology , Academy of Military Medical Sciences , Beijing 100071 , China)

Abstract : *Bacillus anthracis* is the causative organism of the potentially fatal disease anthrax , and the used vaccines have some disadvantages . There are new developments appeared for the *Bacillus anthracis* in recent years , such as anti-PA antibody kills the spore of *Bacillus anthracis* , mucosal immunization induces immune responses in both systemic and secretory immune compartments , Poly (γ -D-PGA) protein induce IgG antibodies to the vegetative bacteria , new pathogens were found by genomic analysis . The DNA vaccine and live vector vaccine will be the next generation vaccines for anthrax . It will have a shorter immunization schedule and will be greater protective efficacy than before .

Key words : *Bacillus anthracis* , PA , Vaccine

* Corresponding author . Tel 86-10-66948834 E-mail : zhangzs@bmi.nic.ac.cn

Received date : 06-23-2004