

单磷酸脂质 A 佐剂对无细胞百日咳疫苗的免疫保护效果研究

王斌宇, 江文文, 胡文著, 杭赛虎, 赵宏, 陈溢娟, 赵云蓉, 柏会文, 赵宸, 梁疆莉

【摘要】

目的 探讨单磷酸脂质 A (MPLA) 佐剂对无细胞百日咳疫苗 (aP) 的免疫保护效果影响。

方法 aP 中添加 MPLA 佐剂, 在 Balb/c 小鼠上进行免疫以及感染保护实验。通过检测小鼠百日咳特异性 IgG 抗体及其分型抗体 IgG1 和 IgG2a 水平、感染后白细胞变化以及气管和肺组织细菌定植来进行免疫效果的评估。

结果 aP + MPLA 免疫的小鼠在第一次和第二次免疫后所产生的 IgG 抗体水平均高于 aP 组, 且两次基础免疫后显著促进了 Th1 细胞免疫。但百日咳气雾感染保护实验结果显示无论是否添加 MPLA, 疫苗在小鼠上都具有明显的保护效果。但添加 MPLA 佐剂, 对小鼠感染后白细胞变化以及气管和肺组织细菌定植并未有显著改善。

结论 MPLA 佐剂对 aP 的免疫保护效果并未有明显改善。

【关键词】 百日咳鲍特氏杆菌; 无细胞百日咳疫苗; 单磷酸脂质 A; 佐剂

www.cmbp.net.cn

中国医药生物技术, 2022, 17(1):12-18

百日咳是由革兰氏阴性鲍特氏杆菌 (*Bordetella Pertussis*, B.p) 引起的急性呼吸道感染性疾病。百日咳杆菌可在各年龄组的人群中引起较高的发病率, 而且可对未接种疫苗的婴儿形成生命威胁^[1]。全菌体的百日咳疫苗 (whole-cell pertussis vaccine, wP) 于 20 世纪 30 年代成功研制后, 在 40 年代得到了大规模的应用。但是因为 wP 伴随着很多严重的副反应, 如伴有或不伴有发热性痉挛、肿胀、疼痛以及注射部位红肿甚至高热、惊厥以及脑病等^[2]。为了减少这些副反应的发生率和程度, Sato 等^[3]设计了一种用共纯化方式获得的无细胞百日咳疫苗 (aP)。含百日咳杆菌 1~5 个组分的 aP 上市后便广泛替代 wP 使用至今^[4]。虽然疫苗是预防此疾病最有效的工具, 但并不是 100% 的有效^[5]。即使在疫苗覆盖率超过 90% 的国家, 每年感染率仍达到 1%~7%^[2, 6-7]。全球百日咳发病率的增加可

能反映了检测方法学灵敏度的提高、疫苗诱导的保护力以及诱导的保护时间的有限以及病原体的适应和进化^[8-11]。其中一个很重要的因素可能是目前使用的 aP 无法在基础免疫后诱导强效的细胞免疫, 而强效的细胞免疫是疫苗介导长期保护的必要条件^[12]。

有研究表明, TLR4 配体 LPS 的存在是 wP 诱导的免疫反应更偏向于 Th1 反应的一个重要因素^[13]。在 aP 中加入 TLR4 配体作为佐剂能诱导更理想的细胞免疫反应^[13-14]。无毒性的单磷酸脂质 A (MPLA) 来源于沙门氏菌的脂多糖。一些临床前研究显示, MPLA 可以诱导 IL-2 和 IFN- γ 的合成和释放, 从而促进了 Th1 细胞反应的产生^[15-16]。本研究拟利用实验室前期建立的百日咳气雾攻击动物模型开展用常规的 aP [含百日咳毒素 (PT)、丝状血凝素 (FHA)、黏附素 (PRN) 以及铝佐剂] 作为基础疫苗, 研究加入 MPLA 佐剂后对 aP 的免疫效果影响。通过动物实验研究试验疫苗在动物体中介导的免疫反应差异, 特别是 Th1 和 Th2 的差异, 评价 MPLA 佐剂的添加对改善 aP 的免疫效果, 从而为后续新型的疫苗研发奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 疫苗 无细胞百日咳疫苗的三个抗原组分 PT、FHA 和 PRN 由中国医学科学院医学生物学研究所自主制备; MPLA 购自美国 Avanti 公司; PT、FHA、PRN 及 MPLA 分别用氢氧化铝佐剂吸附制成原液, 按所需的量加入。各疫苗配方见表 1。

基金项目: 云南省创新疫苗技术与产业转化研发平台 (202002AA100009); 昆明市科学技术局科技创新中心示范建设计划重点项目 (2019-1-N-25318000003332)

作者单位: 650118 昆明, 中国医学科学院医学生物学研究所云南省重大传染病疫苗研发重点实验室

通信作者: 梁疆莉, Email: liangjiangli@imbcams.com.cn

收稿日期: 2021-06-04

表 1 无细胞百日咳疫苗的抗原及佐剂配方

Table 1 Antigens and adjuvants formulations of vaccines used in this study

抗原组分	Antigen	aP	aP + MPLA	PBS
PT (μg)		25	25	-
FHA (μg)		25	25	-
PRN (μg)		8	8	-
单磷酸脂质 A 佐剂 (μg)		-	20	-
MPLA adjuvant (μg)				
氢氧化铝佐剂 (mg)		0.6 ~ 0.7	0.6 ~ 0.7	0.6 ~ 0.7
Aluminum hydroxide adjuvant (mg)				

注：-不含该成分；表中抗原与氢氧化铝佐剂含量为用人用疫苗含量。

Notes: - Do not contain this ingredient; The antigen and aluminum hydroxide adjuvant formulation in the table is the human vaccine content.

1.1.2 试剂 百日咳攻击菌（菌株号：*B.p* 2016-CY-41）由中国食品药品检定研究院提供，为近期从临床病人新分离的流行株；对百日咳毒素启动子（*ptxP*）、百日咳毒素亚单位 1（*ptxA*）、PRN、百日咳菌毛蛋白（Fim）2 和 Fim 3 的多态性进行测序分析，百日咳菌株 *B.p* 2016-CY-41 基因型为 *ptxP1/ptxA1/prn1/fim2-1/fim3-1*；百日咳抗血清标准品（含 5 种百日咳抗原的抗体组分：anti-PT 17 IU/ml、anti-FHA 143 IU/ml、anti-PRN 30 IU/ml、anti-Fim2 32 IU/ml、anti-Fim3 32 IU/ml）购自英国国家生物制品检定所；羊抗小鼠 IgG、IgG1、IgG2a 二抗（带 HRP）购自美国 Jackson 公司；包被抗原 PT、FHA 和 PRN 为我所保存；单组分 TMB 底物显色液购自北京索莱宝科技有限公司；其他试剂均为国产分析纯。

1.1.3 实验动物 SPF 级 Balb/c 小鼠，4~5 周龄，共 60 只，雌雄各半，购自北京维通利华实验动物技术有限公司，实验动物生产许可证号：SCXK（京）2016-0006。所有动物实验均根据中国医学科学院医学生物学研究所动物保护和使用委员会批准的方案进行。

1.2 方法

1.2.1 动物免疫及感染 将小鼠随机分为 3 组（aP 组、aP + MPLA 组和 PBS 对照组），每组 20 只，雌雄各半。每只小鼠经腹腔途径免疫两次 1/40 的人用剂量疫苗（0.5 ml/剂），每次间隔 3 周。第一次免疫前三天及每次免疫后的第 21 天采血，分离血清，-80℃ 储存。在最后一次免疫的三周后对各组小鼠用百日咳鲍特氏菌菌株 2016-CY-41 进行气雾攻击，进行呼吸道感染（ 10^{11} CFU/ml）。于感染后第 2、6、10、14 和 21 天取样，每次 4 只/组，对肺部、气管细菌进行计数。

1.2.2 百日咳抗体效价检测 采用 ELISA 法检测血清中抗 PT、FHA 和 PRN 抗体（anti-PT、anti-FHA、anti-PRN）IgG 的水平。利用四参数拟合绘制曲线，并与每个酶标板上的百日咳抗血清标准品进行比较，将抗体浓度转化为 IU/ml^[17]。同时分别使用 IgG1 与 IgG2a 酶二抗测定小鼠血清中 IgG1 与 IgG2a 抗体亚型的滴度，并计算两者比值；显色液 TMB 37℃ 孵育显色 15 min 后，用 OD₄₅₀ 酶标仪检测吸光值，同时设定阴性血清对照孔，读数值/阴性值 ≥ 2.1 判定为阳性孔。

1.2.3 感染后白细胞计数 气雾感染各组小鼠，于感染前、感染后第 2、6、10、14、21 天尾静脉采血，采全血 200 μl，EDTA 抗凝，血球计数仪检测白细胞数。

1.2.4 感染肺部、气管菌落计数 每组每个采样点随机数字表法挑选 4 只小鼠，分离肺和气管组织，称取 0.1 g 肺组织以及整个气管组织，分别加入 1 ml 等渗无菌 PBS，电动组织匀浆器研匀。适当稀释后，取 50 μl 均匀涂布于直径为 6 cm 的含头孢氨苄（40 μg/ml）的木炭琼脂平板上，37℃ 孵育 4~5 d 后计算菌落克隆形成数（CFU）。剩余肺组织全部制备成匀浆，并加入 PMSF，-80℃ 冻存，以检测细胞因子含量。

1.3 统计学处理

采用 Graphpad prism 软件进行数据分析并绘图。两组间的比较采用双尾 *t* 检验，三组间比较采用 One-way ANOVA 分析，以 *P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 免疫后抗原特异性 IgG 抗体应答

第一次免疫后的第 21 天，aP 组小鼠血清中的 anti-PT、anti-FHA 以及 anti-PRN 的 IgG 抗体平均水平分别为 47.16、38.25 和 12.82 IU/ml；aP + MPLA 组的 PT、FHA 以及 PRN 的特异性 IgG 水平均高于 aP 组，分别为 88.12、95.88 和 94.76 IU/ml（图 1A ~ C）。第二次免疫后的第 21 天，aP 组小鼠血清中的 anti-PT、anti-FHA 以及 anti-PRN 的 IgG 抗体水平与第一次免疫后相比，有了明显升高，分别为 731.25、770.95 和 552.18 IU/ml；但 aP + MPLA 组第二次免疫后血清 anti-PT、FHA 以及 PRN 的特异性 IgG 水平与 aP 组相比，仍高于 aP 组且具有统计学差异，分别为 1200.12、3475.81 和 3369.76 IU/ml（图 1D ~ F）。

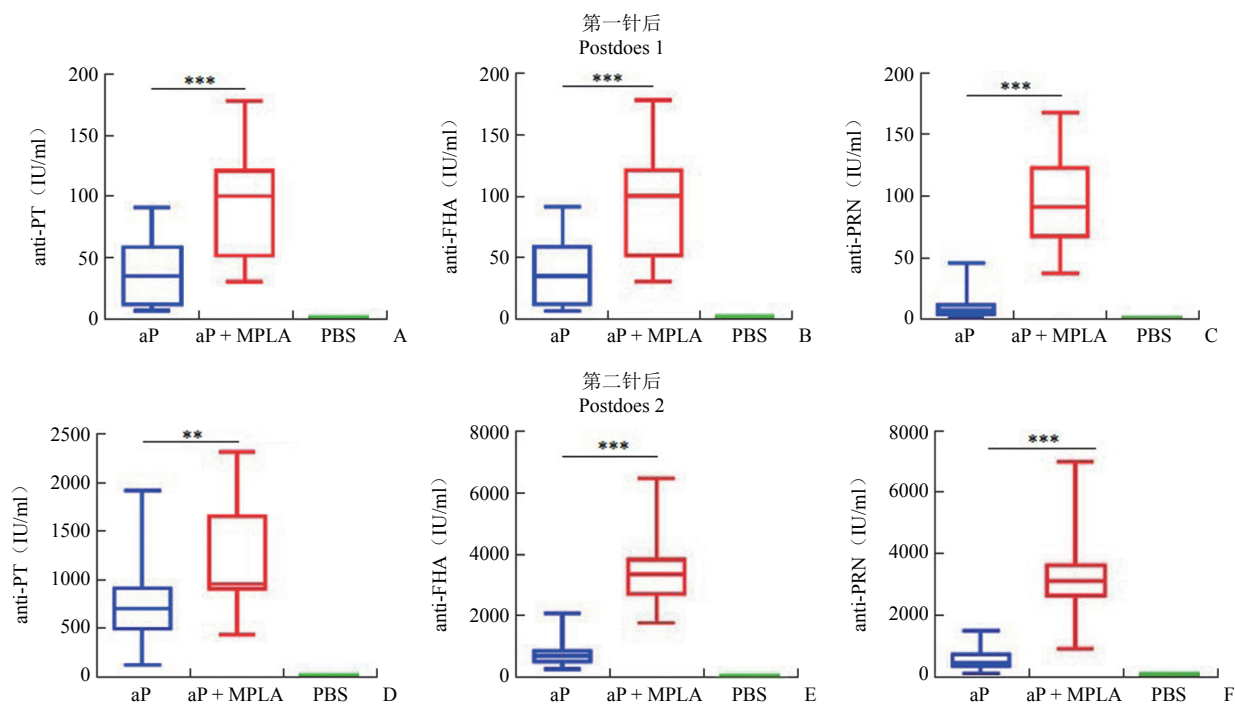


图 1 疫苗接种诱导的百日咳特异性 IgG (** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$)

Figure 1 *B. pertussis*-specific IgG production (** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$)

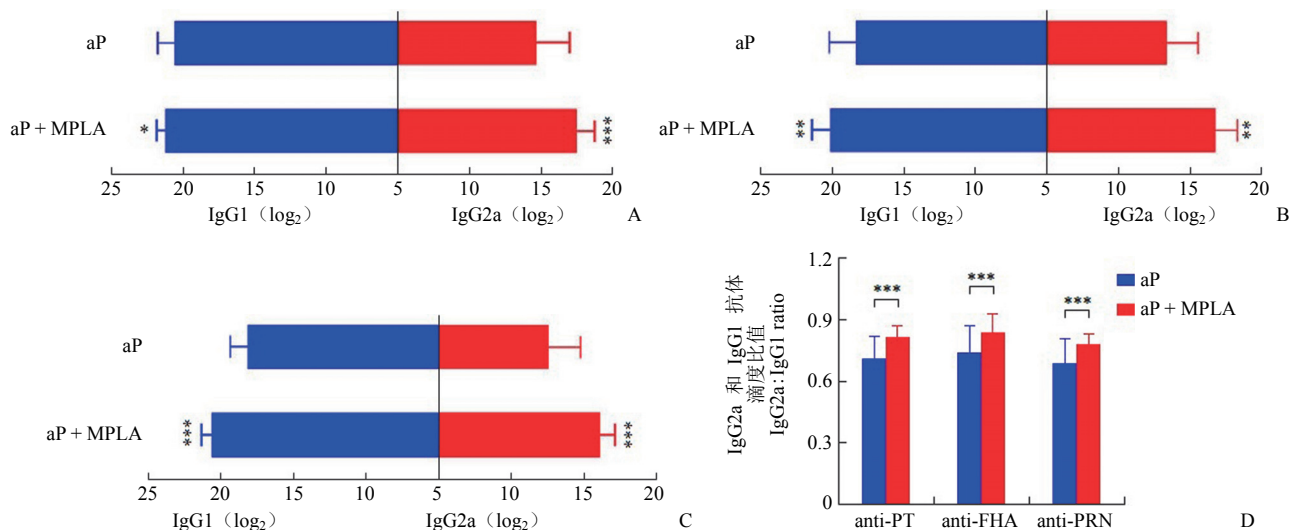


图 2 ELISA 检测 PT (A)、FHA (B)、PRN (C) 的特异性 IgG1、IgG2a 抗体水平和滴度比值 (D) (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$)

Figure 2 IgG1, and IgG2a specific for PT(A), FHA(B), PRN(C) titers were analyzed by ELISA assay and the antibody titers (D) (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$)

2.2 IgG1 与 IgG2a 变化

在第二次免疫后检测血清中 IgG 抗体的同时, 还检测了 IgG1 和 IgG2a 亚型的抗体滴度, 以此作为 CD4⁺ T 细胞应答的间接测量指标。MPLA 佐剂所诱导的 anti-PT、anti-FHA 以及 anti-PRN 的不同 IgG 亚型 (IgG1、IgG2a) 抗体水平均高于 aP 组 (图 2A~C)。计算各抗体 IgG2a 与 IgG1 的比值, 发现免疫 aP + MPLA 的小鼠

anti-PT、anti-FHA 以及 anti-PRN 的 IgG2a 与 IgG1 的比值均高于免疫 aP 的小鼠 (图 2D), 说明 MPLA 佐剂可促进无细胞百日咳疫苗产生偏向性 Th1 细胞免疫反应。

2.3 小鼠气雾感染后白细胞变化

百日咳杆菌气雾攻击小鼠后第 2 天, PBS 对照组小鼠白细胞数 (WBC) 与感染前相比出现了显著性升高, 并在第 14 天达到峰值, 在第 21 天恢

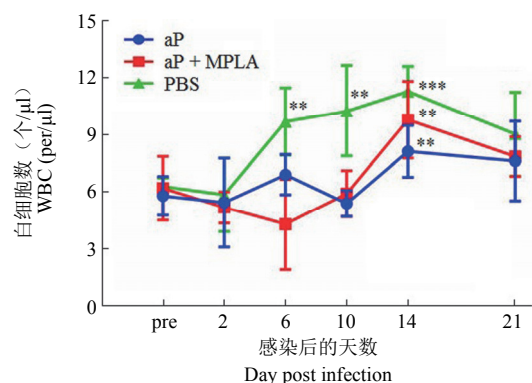


图 3 小鼠气雾感染后的白细胞数变化 (和感染前相比, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$)

Figure 3 Dynamic profiles of leukocytosis after challenged with *B. pertussis* (** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ vs. pre-challenge)

复至正常水平。aP 组和 aP + MPLA 组小鼠的 WBC 水平在感染后第 2、6 和 10 天与感染前相比无显著性变化,而在感染后第 14 天时,两组小鼠的 WBC 均有一过性升高,第 21 天便恢复至正常水平 (图 3)。

2.4 小鼠气雾感染后气管和肺组织细菌定植分析

对照组小鼠感染后百日咳杆菌在肺组织大量定植,并且在感染后的第 10 天达到最高峰 (2.3×10^5 CFU/ml),且在感染后的第 21 天仍未清除 (图 4A)。与对照组小鼠相比,两组疫苗接种组小鼠在肺组织中的细菌定植显著降低,但仍有少量定植,且两组之间无显著性差异。到感染后第 21 天,免疫 aP + MPLA 小鼠的肺组织已将感染清除至检测限,而 aP 免疫的小鼠肺组织中仍检测到少量细菌定植。此外,在气管组织中的细菌定植与肺部相似,各疫苗接种组的小鼠在气管中的细菌定植数量与对照组相比显著降低。其中 aP + MPLA 免疫的小鼠和 aP 组一样在感染第 14 天就将气

管组织细菌定植清除至检测限 (图 4B)。

2.5 小鼠气雾感染后血清和肺组织中细胞因子分析

实验中我们观察到感染后的第 2、6 和 10 天,各组小鼠血清中 IFN- γ 水平没有明显差异 (图 5A);而免疫 aP 的小鼠血清中,与 Th2 反应相关的 IL-5 细胞因子水平在感染后的第 2 天显著高于其他组 (图 5B);此外,感染后对照组小鼠血清中与 Th17 细胞反应相关的 IL-17A 的水平显著高于两种疫苗组 (图 5C),这说明小鼠的百日咳自然感染可以引起很强的 Th17 反应。同时,我们还检测了小鼠肺匀浆中的细胞因子以作为肺局部免疫指标,同血清中反应一样,各组小鼠肺组织中 IFN- γ 水平没有明显差异 (图 5D);而免疫 aP 的小鼠肺组织中,与 Th2 反应相关的 IL-5 细胞因子水平在感染后的第 2 天显著高于其他组 (图 5E),在感染后的第 6 天,疫苗组小鼠 IL-5 细胞因子水平均高于对照组 (图 5E);感染后第 10 天对照组小鼠肺组织中 IL-17A 的水平显著高于两种疫苗组 (图 5F)。

3 讨论

尽管自 20 世纪 30 年代以来就已经有百日咳预防性疫苗,但最近的流行病学数据表明百日咳的预防控制仍然存在问题^[1, 18]。MPLA 为 TLR4 的配体,可显著增强 T 细胞和 B 细胞的免疫应答,将 MPLA 作为佐剂已经在很多疫苗都被证实具有免疫增强的效应。近年来的研究还显示将 TLR4 配体作为佐剂添加到 aP 中可提高百日咳特异性 CD4⁺ T 细胞应答^[13]。因此,在此研究中我们将 MPLA 作为新的佐剂加入 aP 中,对其进行免疫刺激作用的评价。

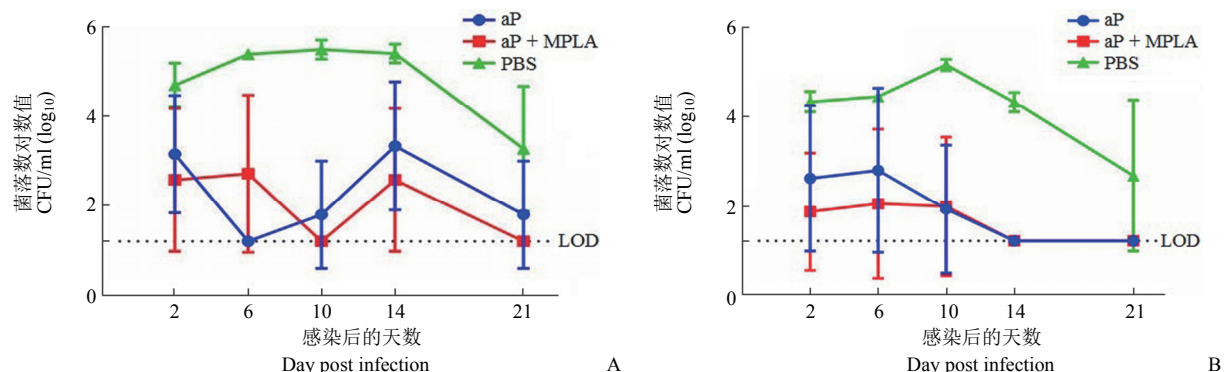


图 4 小鼠气雾感染后肺 (A) 和气管 (B) 组织细菌定植分析 (LOD: 检测限)

Figure 4 *B. pertussis* colonization of lung (A) and trachea (B) tissue after aerosol infection (LOD: Limit of detection)

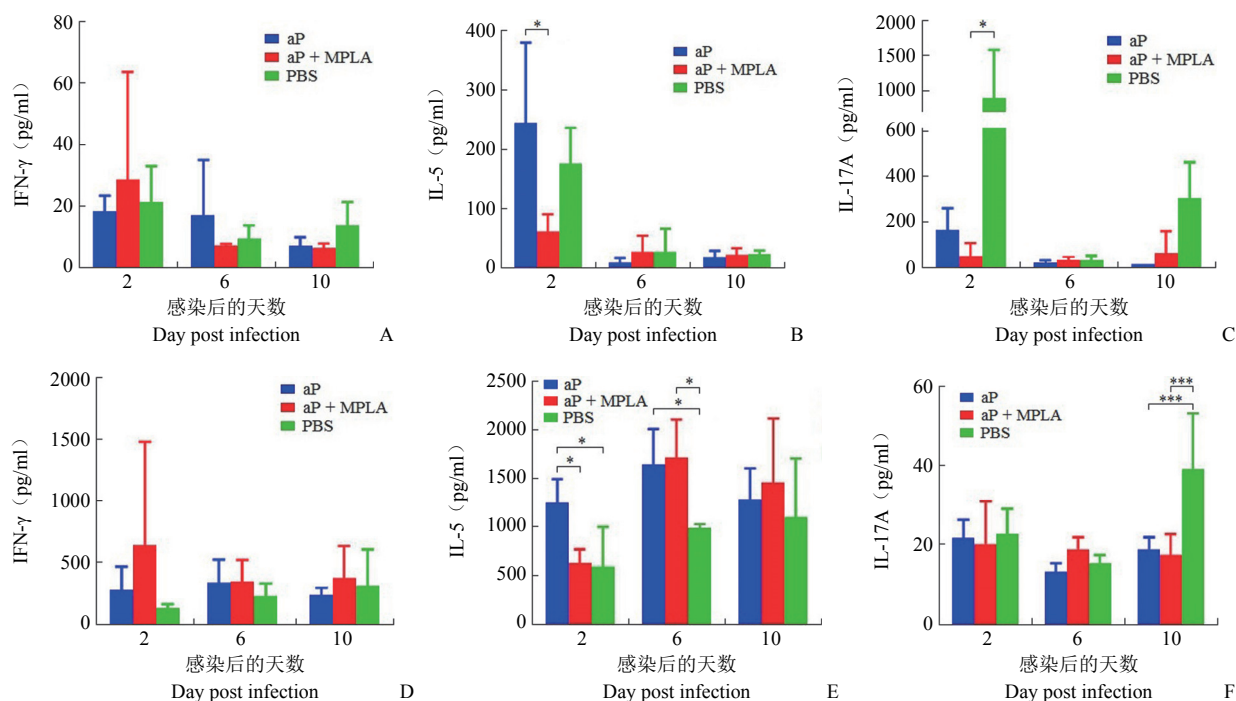


图 5 小鼠感染后血清和肺组织中细胞因子变化 (A: 血清 IFN-γ; B: 血清 IL-5; C: 血清 IL-17A; D: 肺组织 IFN-γ; E: 肺组织 IL-5; F: 肺组织 IL-17A; * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$)

Figure 5 Analysis of cytokines kinetics of serum and lung tissues in mice after infection (A: Serum IFN-γ; B: Serum IL-5; C: Serum IL-17A; D: Lungs IFN-γ; E: Lungs IL-5; F: Lungs IL-17A; * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$)

我们的研究发现,与单一使用铝佐剂相比,添加 MPLA 可同时显著提高 aP 免疫的 IgG、IgG1 和 IgG2a 的抗体水平,且显著提高了小鼠的 Th1 细胞免疫。此外,在使用百日咳杆菌菌株号为 2016-CY-41 的流行株作为攻击菌株的小鼠中,1/40 人用剂量的 aP 是具有保护性的,并且在该剂量下,添加 MPLA 佐剂在一定程度上可加快小鼠肺部细菌的清除,反映在感染后第 14 天肺部细菌就已经清除,而 aP 疫苗组在感染后第 21 天还检测到少量细菌。但添加 MPLA 的疫苗组小鼠感染后的白细胞水平,与 aP 相比没有显著性差异。另外, MPLA 的加入对气管的细菌定植未观察到明显改善。在此研究中, MPLA 的加入并未达到理想的改善 aP 的保护效果。对于这种现象我们主要有以下三点考虑,第一, MPLA 可能在细胞免疫记忆的迅速激活方面没有起到明显的促进作用,这反映在小鼠感染后血清和肺组织中 IFN-γ 水平都没有观察到显著变化; Auderset 等^[19]研究表明,相比于 TLR4 的激动剂,TLR9 的激动剂可诱导更高更快的免疫记忆细胞激活。第二, MPLA 的加入可能没有显著提高 Th17 细胞的作用。已有大量的研究表明, Th17 细胞在百日咳免疫保护效果中具有非常重要的作用^[20]。很遗憾在此研究中我们并没有监测

MPLA 的加入对小鼠免疫后 Th17 细胞的促进作用,只是将此作为一种推测。第三,百日咳自然感染可诱导保护性的黏膜免疫,这在再次感染的细菌快速清除中起到重要作用^[21]。此外,有研究表明细菌自然感染后在组织中诱导的局部组织驻留记忆 T 细胞 (tissue resident memory T cells, TRMs) 在抵抗再次感染中起关键作用^[22],而腹腔免疫途径不能诱导较好的黏膜免疫^[23]。

本研究的结果表明, MPLA 作为免疫佐剂添加到无细胞百日咳疫苗中与未添加 MPLA 的疫苗相比较都能产生足够的免疫保护能力。百日咳感染后保护效果的主要指标是检测白细胞和动物肺部百日咳菌克隆数的变化^[24],以及感染后细菌定植清除的效率。百日咳杆菌气雾攻击小鼠后,保护效果较好的疫苗组即白细胞上升更少、细菌定植量更少。 MPLA 的加入虽然可显著提高小鼠免疫后的体液和细胞免疫水平,但 MPLA 的添加与否并不影响疫苗的保护性能。与对照组小鼠相比,两组疫苗接种组小鼠感染后外周血白细胞数量在 10 天内无显著性变化,在肺组织和气管组织中的细菌定植显著降低且细菌清除时间相同,两组之间无显著性差异,因此两组疫苗在保护效果上并无明显差别。分析结果我们认为向当前 aP 中添加 MPLA 并不是

改善 aP 的最佳方式, 后续的研究应该考虑其他佐剂以及其他免疫途径。

参考文献

- [1] Kilgore PE, Salim AM, Zervos MJ, et al. Pertussis: Microbiology, disease, treatment, and prevention. *Clin Microbiol Rev*, 2016, 29(3): 449-486.
- [2] Dorji D, Mooi F, Yantorno O, et al. Bordetella pertussis virulence factors in the continuing evolution of whooping cough vaccines for improved performance. *Med Microbiol Immunol*, 2018, 207(1):3-26.
- [3] Sato Y, Kimura M, Fukumi H. Development of a pertussis component vaccine in Japan. *Lancet*, 1984, 1(8369):122-126.
- [4] Zhang L, Prietsch SO, Axelsson I, et al. Acellular vaccines for preventing whooping cough in children. *Cochrane Database Syst Rev*, 2014, (9):CD001478.
- [5] Cornford-Nairns R, Daggard G, Mukkur T. Construction and preliminary immunobiological characterization of a novel, non-reverting, intranasal live attenuated whooping cough vaccine candidate. *J Microbiol Biotechnol*, 2012, 22(6):856-865.
- [6] Guiso N, Wirsing von König CH. Surveillance of pertussis: methods and implementation. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 2016, 14(7):657-667.
- [7] Skoff TH, Baumbach J, Cieslak PR. Tracking pertussis and evaluating control measures through enhanced pertussis surveillance, emerging infections program, United States. *Emerg Infect Dis*, 2015, 21(9): 1568-1573.
- [8] Tan T, Dalby T, Forsyth K, et al. Pertussis across the globe: Recent epidemiologic trends from 2000 to 2013. *Pediatr Infect Dis J*, 2015, 34(9):222-232.
- [9] Mooi FR, Van Der Maas NA, De Melker HE. Pertussis resurgence: waning immunity and pathogen adaptation - two sides of the same coin. *Epidemiol Infect*, 2014, 142(4):685-694.
- [10] Althouse BM, Scarpino SV. Asymptomatic transmission and the resurgence of Bordetella pertussis. *BMC Med*, 2015, 13:146.
- [11] Witt MA, Katz PH, Witt DJ. Unexpectedly limited durability of immunity following acellular pertussis vaccination in preadolescents in a North American outbreak. *Clin Infect Dis*, 2012, 54(12):1730-1735.
- [12] Ross PJ, Sutton CE, Higgins S, et al. Relative contribution of Th1 and Th17 cells in adaptive immunity to Bordetella pertussis: towards the rational design of an improved acellular pertussis vaccine. *PLoS Pathog*, 2013, 9(4):e1003264.
- [13] Brummelman J, Helm K, Hamstra HJ, et al. Modulation of the CD4(+) T cell response after acellular pertussis vaccination in the presence of TLR4 ligation. *Vaccine*, 2015, 33(12):1483-1491.
- [14] Geurtsen J, Banus HA, Gremmer ER, et al. Lipopolysaccharide analogs improve efficacy of acellular pertussis vaccine and reduce type I hypersensitivity in mice. *Clin Vaccine Immunol*, 2007, 14(7): 821-829.
- [15] Arenas J, van Dijken H, Kuipers B, et al. Coincorporation of LpxL1 and PagL mutant lipopolysaccharides into liposomes with Neisseria meningitidis opacity protein: influence on endotoxic and adjuvant activity. *Clin Vaccine Immunol*, 2010, 17(4):487-495.
- [16] van der Ley P, Steeghs L, Hamstra HJ, et al. Modification of lipid A biosynthesis in Neisseria meningitidis lpxL mutants: influence on lipopolysaccharide structure, toxicity, and adjuvant activity. *Infect Immun*, 2001, 69(10):5981-5990.
- [17] Jiang WW, Liang JL, Gao N, et al. Immunogenicity of a candidate diphtheria, tetanus, acellular pertussis and Sabin strain inactivated poliovirus combined vaccine in a mouse model. *Chin J Vaccine Immunization*, 2018, 24(5):559-564. (in Chinese)
江文文, 梁疆莉, 高娜, 等. 候选无细胞百白破-Sabin 株灭活脊髓灰质炎联合疫苗免疫小鼠的效果研究. *中国疫苗和免疫*, 2018, 24(5):559-564.
- [18] Latasa P, Garcia-Comas L, Gil de Miguel A, et al. Effectiveness of acellular pertussis vaccine and evolution of pertussis incidence in the community of Madrid from 1998 to 2015. *Vaccine*, 2018, 36(12): 1643-1649.
- [19] Auderset F, Ballester M, Mastelic-Gavillet B, et al. Reactivating immunity primed by acellular pertussis vaccines in the absence of circulating antibodies: enhanced bacterial control by TLR9 rather than TLR4 agonist-including formulation. *Front Immunol*, 2019, 10:1520.
- [20] Kapil P, Merkel TJ. Pertussis vaccines and protective immunity. *Curr Opin Immunol*, 2019, 59:72-78.
- [21] Solans L, Loch C. The role of mucosal immunity in pertussis. *Front Immunol*, 2018, 9:3068.
- [22] Wilk MM, Misiak A, Mcmanus RM, et al. Lung CD4 tissue-resident memory T cells mediate adaptive immunity induced by previous infection of mice with bordetella pertussis. *J Immunol*, 2017, 199(1): 233-243.
- [23] Boehm DT, Wolf MA, Hall JM, et al. Intranasal acellular pertussis vaccine provides mucosal immunity and protects mice from Bordetella pertussis. *NPJ Vaccines*, 2019, 4:40.
- [24] Mu DC, Liang JL, Gao N, et al. Aerosol challenge model in murine by Bordetella pertussis. *J Med Postgrad*, 2017, 30(8):808-812. (in Chinese)
牟大超, 梁疆莉, 高娜, 等. 百日咳杆菌气雾感染小鼠模型的建立. *医学研究生学报*, 2017, 30(8):808-812.

Immune protective effect of monophosphoryl lipid A adjuvant on acellular pertussis vaccine

WANG Xiao-yu, JIANG Wen-wen, HU Wen-zhu, HANG Sai-hu, ZHAO Hong, CHEN Yi-juan, ZHAO Yun-rong, BAI Hui-wen, ZHAO Chen, LIANG Jiang-li

【Abstract】

Objective We aim to investigate the effect of monophosphoryl lipid A (MPLA) adjuvant on the immune protection of acellular pertussis vaccine (aP).

Methods MPLA was added to aP, and the immunity and infection protection were evaluated on Balb/c mice. The immune effect

was evaluated by detecting the titers of *B.pertussis*-specific IgG antibodies and their typing antibodies IgG1 and IgG2a, dynamics of white blood cells and bacterial colonization in trachea and lung tissues after *B.pertussis* infection.

Results The aP with MPLA-immunized mice group produced higher levels of IgG antibodies after the first and second immunizations than the aP alone group. After two basic immunization procedures, MPLA significantly promoted Th1 cell immunity. However, the results of pertussis infection showed that the vaccines had a significant protective effect in mice regardless of the addition of MPLA. However, the addition of MPLA did not significantly improve the changes of white blood cells and bacterial colonization in trachea and lung tissues after infection.

Conclusion The immune protection effect of MPLA adjuvant on aP is not significantly improved.

【Key words】 *Bordetella Pertussis*; acellular pertussis vaccine; monophosphoryl lipid A; adjuvant

Author Affiliation: Yunnan Key Laboratory of Vaccine Research & Development on Severe Infections Diseases, Institute of Medical Biology, Chinese Academy of Medical Science & Peking Union Medical College, Kunming 650118, China

Corresponding Author: LIANG Jiang-li, Email: liangjiangli@imbcams.com.cn

www.cmbp.net.cn

Chin Med Biotechnol, 2022, 17(1):12-18

• 读者 • 作者 • 编者 •

关于《中国医药生物技术》杂志投稿途径及收费情况的声明

<http://www.cmbp.net.cn/> 为《中国医药生物技术》杂志唯一官方网站。同时，本刊有且仅有唯一银行账号。

除下列投稿途径、银行账户信息之外，其他任何投稿途径、缴纳版面费途径均为假冒本刊的诈骗行为！

投稿途径：

1. 网站投稿：http://www.cmbp.net.cn/Journalx_zgyyswjs/authorLogOn.action?mag_Id=1
2. Email 投稿：cmbj01@126.com，请注明稿件联系作者姓名及电话。

缴纳版面费途径：

账户名称：《中国医药生物技术》杂志社有限公司

开 户 行：中国银行北京港澳中心支行

账 号：328556017337

审稿通过后，我们会根据您的稿件具体版面情况收取相应的版面费，并为您开具相应发票（增值税普通发票）。

本刊不接受邮政按地址汇款、密码汇款！