

志贺毒素及其预防治疗剂的研究进展

刘越男 李珊珊 董 秀 谷丽维 李建春[△]

(沈阳药科大学 辽宁 沈阳 110016)

摘要:志贺毒素(Shiga toxin,Stx)主要由肠出血性大肠杆菌(EHEC)产生,是其主要的致病毒力因子,可通过引起急性肾衰竭导致死亡。迄今为止尚没有可推荐的治疗方案能够有效地预防或治疗 Stx 引起的疾病。目前,对于 Stx 的研究热点主要包括:Stx 尚未清楚的致病机理研究,Stx 与 HUS 的相关性研究,以及预防、治疗由 Stx 引起的疾病的研究。本文就以上几方面对国内外的相关研究进行总结及讨论。

关键词:志贺毒素;溶血性尿毒综合征;产志贺毒素大肠杆菌

中图分类号:R378.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2011)02-397-04

The development of study on Shiga toxin and the prevention and treatment

LIU YUE-nan, LI Shan-shan, DONG Xiu, GU Li-wei, LI Jian-Chun[△]

(Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang, Liaoning, 110016, PR China)

ABSTRACT: Stx is a member of the family of protein toxins produced by Escherichia coli O157:H7 and other enterohaemorrhagic E. coli. Renal disease was thought to be due to the combined action of Shiga toxin, which was the primary virulence factor of Shiga toxin. So far, there is no effective treatment of Stx-complications. Nowadays, the focus on Stx including: the unknown nosogenesis of Stx, the relationship between Stx and HUS, and prevention and treatment of Stx-complications. This paper will give a review on important aspects of Stx.

Key words: Shiga toxin; HUS; STEC

Chinese Library Classification(CLC): R378.2 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2011)02-397-04

1 志贺毒素概况

志贺毒素(Shiga toxin,Stx)是出血性大肠杆菌 O157:H7 及其他肠出血性大肠杆菌所产生的蛋白毒素中的一员,是产志贺毒素大肠杆菌(Shiga toxin producing E. coli ,STEC)的主要毒力因子,通常认为它与肾小球和肾小管的结合与引发肾病有关^[1]。由 STEC 感染而引起的溶血性尿毒综合征(hemolytic uremic syndrome,HUS),可以导致急性儿童肾损伤,特别是 5 岁以下幼儿,死亡率为 3%~5%^[2]。最新一项研究指出腹腔给予怀孕晚期的大鼠注射 Stx2,能够造成死胎和流产的现象^[3]。此外,Stx 也是一种潜在的生物毒素战剂,因此,近年来,Stx 已被国际社会列入生物武器核查清单剂中的 11 种生物毒素之一,成为潜在的生物毒素战剂和生物恐怖病原,受到各国政府和军队的重视。

1.1 Stx 的命名及家族

1977 年 Konowalchuk 等人首次在大肠菌中发现一种对非洲绿猴肾细胞(Vero 细胞)具有致死作用的细胞毒素并将其命名为 Vero 毒素(Verotoxin, VT),随后科学家 O'Brein 发现 Verol 能被志贺毒素(ST)抗血清中和,且二者在分子结构、生物学功能

上相似,所以将其命名为志贺样毒素(Shiga-like Toxin,SLT),后来的研究证明它们是同一类毒素。目前对由 EHEC 及其它细菌所产生的志贺毒素尚未有统一命名,目前得到较多认可的命名是志贺毒素(Shiga toxin, Stx)。Stx 家族包括 Stx1,Stx1c,Stx1d,Stx2,Stx2c,Stx2d,Stx 2e,Stx2f。目前的研究主要是针对 Stx1 和 Stx2 两种。

1.2 Stx 的结构

Stx 具有 1A5B 的空间构象(全毒素的分子量大约是 70 kDa),包括一个 B 亚单位(每个 B 亚单位分子量约为 7.7 kDa)的五聚体结构和一个单独的 A 亚单位(分子量大约为 32ka)。由 B 亚单位构成的五聚体能够与鞘糖脂(globotriaosylceramide,Gb3)结合,一个 B 亚单位能与三个 Gb3 结合,因此一个完整的 Stx 可以与十五个 Gb3 受体结合,而且这五个聚合的单体排列在一个平面上。Gb3 是 Stx2 的靶细胞表面上的功能性受体,当这种结合实现后,全毒素通过 B 亚单位的结合"内吞"进入到靶细胞内。A 亚单位具有核糖核酸(RNA)N 端乙二醇水解酶的作用,它能够在胞浆内从 28S RNA 上裂解下一个腺嘌呤残基,从而抑制蛋白质的合成。景观 B 亚单位被认为是无毒性的结合单位,最近的研究却指出在 Stx2 损伤或杀伤靶细胞的机制中,B 单位具有一定的作用^[4]。

1.3 Stx 的致病机理

1.3.1 Stx 的强毒性 Stx 是一种致死性毒素,也是痢疾志贺菌的重要致病毒力因子。从产志贺毒素的大肠杆菌感染动物肠道

作者简介:刘越男(1981-),女,博士研究生,主要研究方向:药理学。

[△]通讯作者:李建春(1950-),男,博士生导师,教授,

E-mail: lijianchun0317@sina.com.cn

(收稿日期:2010-08-27 接受日期:2010-09-23)

的角度出发,当 Stx 从菌体中释放后,它所表现的致病机制呈正向调节的连锁反应。

Stx 主要表现出三方面的毒性:肠毒性,细胞毒性,神经毒性。Stx 不仅能够直接杀死肠绒毛的上皮细胞,它还能够通过肠上皮损伤以及诱导 LPS、炎性因子的释放,促进 Stx 自身穿越肠上皮细胞,从而进入血液循环,向机体中其他含有 Gb3 受体的靶器官聚集,造成中枢神经系统及 Gb3 受体含量较高的肾脏的损伤。小鼠实验证实 Stx 可诱导 IL-6、TNF- α 的表达及 TNF 在肾脏的合成,而 TNF- α , β 及 LPS 又可诱导增加 Gb3 的表达,Stx 通过诱导 LPS、炎性因子释放以及诱导 Gb3 在其靶器官上的表达的这种正向调节的连锁反应实现了 Stx 的强毒特性。

1.3.2 Stx 的肾毒性 在肠道中包含于菌中的志贺毒素是怎样引起肾损伤的?当摄取大肠杆菌(例如 STEC)后,菌通过使用一种叫做“紧密粘附素”的蛋白紧紧将自身粘附在肠粘膜上。一旦 Stx2 在肠内合成,它就通过肠粘膜细胞释放到血液当中。在血液中,Stx2 与白细胞(PMNs)结合,被白细胞携带着进行血液循环。有些研究表明,Stx2 与白细胞的结合并不诱发细胞毒性。由于 Stx2 与上皮细胞上的受体(Gb3)的亲和力比与 PMNs 上的受体的亲和力高出一百倍^[9],因此,Stx2 在随着血液循环到达肾脏的时候,它便从 PMNs 上“跳跃”到肾细胞上。这时 Stx 通过 B 亚基与靶器官上皮细胞的 Gb3 受体结合经内吞作用进入细胞,在细胞质中 B 亚基与 A 亚基分离,此时 A1 和 A2 间仍由 1 个二硫键连结。当 Stx 到达内质网后,A 亚单位被弗林蛋白酶裂解为 A1 和 A2 两个片段,A1 具有 N-糖苷脂酶的活性,可以使 28S RNA 中高度保守的茎环结构区域中第 4324 位腺嘌呤核苷酸的糖苷键断裂,导致一个特定的腺嘌呤脱落,阻止 60S 核糖体亚基与延长因子(EF-1)依赖性结合,使肽链延长受阻从而抑制了蛋白质的合成,引起细胞凋亡^[6]。A 亚基如何抵达核糖体的机制目前还不清楚,但钙离子可能参与其中^[7]。

2 Stx 的主要危害及实验中常用的几种动物模型

2.1 Stx 与 HUS 的相关性

Stx 与 STEC 感染而引起的 HUS 密切相关。有研究发现,从 HUS 患者的肾组织切片上可以观察到 Stx 与细胞结合,并且引发典型的肾小球微血管纤维化病变,组织活检表明肾小球和肾小管型细胞均广泛坏死^[8]。早期在荷兰,对于 50 份与 HUS 相关的大肠杆菌的研究中发现,45 株表现出 Stx2 基因阳性,5 株表现出 Stx1 和 Stx2 基因阳性。从未在 HUS 的病人的血清中发现过志贺毒素,但是却在 HUS 患者的肾脏中检测到 Stx2。有研究指出 HUS 的主要症状是:贫血、血小板减少症以及肾衰竭,在啮齿类动物模型中,这些症状需要同时给予 Stx 和 LPS^[9]。然而,Mitchell A. Psotka 等人证实 Stx2 是引起肾衰竭的唯一诱因^[10]。总之,Stx2 是与 HUS 的发展最频繁相关的因素。

2.2 Stx 研究中常见的几种动物模型

目前在有关于 Stx 的研究中,多种动物模型都被使用过。啮齿类动物(包括大鼠和小鼠)因其较低的价格,可以大数量的

用于实验,此外这类动物模型可以发展成严重肾损伤,如肾间质出血,急性肾小管坏死^[11],因此,在抗 Stx 的早期研究中鼠是最常用的动物模型。在兔模型中,静脉注射 Stx 后发现,Stx 迅速从血液循环中消失并且沉积到靶器官--中枢神经系统(CNS)和小脑,随之在 CNS、肠和脊髓中出现损伤^[12],因此,兔模型多用于 Stx 造成的脑损伤研究。小型猪经常被用于研究注射 Stx 或 STEC 感染后所引发的腹泻症状^[12]。除此之外,还有人使用黑猩猩模型,此模型的发病机理与人相似,在应用于治疗人感染 STEC 也是非常适合的动物模型^[13]。总之,在对 Stx 进行研究时,动物模型应根据实际研究的目的进行选择。

3 目前抗 Stx 感染的预防及治疗方案

许多食品如牛奶,果汁,蔬菜,牛肉中都可检测到产生 Stx 的痢疾志贺菌,其传播途径广泛,可经口传染,也可通过人与人、人与动物密切接触传播。近年来,痢疾志贺菌引发的食物中毒在美、德、日、英、加拿大、澳大利亚等经济发达国家连续发生。因此,如何防治 Stx 的感染越来越受到医学界的重视。预防 STEC 特别是产 Stx 的菌株感染所诱发的 HUS (Stx2-HUS)以及相关严重并发症是非常重要的。尽管还不足以阐明单独的 Stx 就能发展 HUS 还是其他的毒力因子也参与其中,但是大部分研究都是以 Stx 为靶向。然而迄今为止,对于 Stx2-HUS 尚无有效的治疗方案。

3.1 抗生素治疗

就本质而言,对 Stx 病的防治应首先使用抗生素除去毒源,虽然有日本研究人员指出在感染 STEC 的早期阶段使用抗生素治疗能够避免疾病发展成 HUS,但是由于耐药菌株的不断出现,使得抗生素治疗效果甚微。此外,有人认为抗生素使用后会增加 Stx 的释放,不仅不能预防出血性肠炎、溶血性尿毒症的发生,还会加重疾病的发展^[13]。动物实验和体外实验也表明某些抗生素的使用可促进 Stx 编码抗菌素,导致毒素表达量增加^[14]。体外研究发现,即使是同一种抗生素,对于 Stx 释放的影响,其结果是相矛盾的^[14]。这些体内、体外实验中得出的相悖数据可能反映出这些抗微生物特效药对噬菌体诱导及相应而来的 Stx 基因表达、转录和诱导细菌裂解后增加 Stx 的释放都有作用^[14]。然而,使用抗生素应对 EHEC 菌株而导致毒素释放的机制尚未完全阐述清楚。总之,抗生素影响毒素的释放是取决于 Stxs 的类型,还是取决于菌属的血清型还不清楚。

3.2 预防及抗 EHEC 感染的新治疗策略

最近几年在体外实验和动物模型中已经改进和评价了几种治疗方案。这些治疗方案包括 Gb3 受体类似物,这种类似物可以与 Stx 在肠道或血液循环中结合;使用人源化或人单克隆抗体(HumAbs)被动免疫,HumAbs 能够中和一种或多种 Stxs;使用 Stx1 和 Stx2 的类毒素主动免疫起到预防作用。

3.2.1 受体类似物 Stx 与其受体 Gb3 的结合是通过 Stx 的 B 亚单位和 Gb3 的三糖部分的结合实现。已有人报导了几种 Stx 的中和子,它们以不同的中心结构结合 Gb3 的三糖部分^[15-18],这些 Stx 的中和子在肠道或血液循环中吸收 Stx。

Takahashi 等改进了治疗剂,如 "SUPER TWIGs",它能够 在鼠的血液循环中中和 Stx^[17]。所有的 SUPER TWIGs 是由一连 串的碳烷烷树枝晶状体携带不同数量的三糖组成。其中,SU- PER TWIG (1)6 能够与 Stx1 和 Stx2 两种毒素都结合,并在 Vero 细胞毒性检测实验中表现出可抑制 Stx1 和 Stx2 的细胞 毒性^[17]。Mulvey 等改进了一种 α Gal(1,4) β Gal Stx 受体类似 物,称之为 "Daisy",它能够与 Stx1 和 Stx2 结合^[15]。与另一种受 体类似物 "Starfish" 相比,皮下注射 Daisy 与 Stx1 或 Stx2 混合 物能够使小鼠免于 Stx 造成的死亡^[19]。除了改进能够在血循环 中吸收 Stx 的中和子,改进 Stx 肠内吸收剂也十分重要,因为在 爆发 EHEC 感染时,对那些处于危险的人们,使用口服剂作为 预防和治疗的途径更有优势。Watanabe 与其合作者描述了一 种丙烯酰胺与 Gb3 的聚合物,它能够与 Stx1 和 Stx2 结合,并 能够在体外抑制这些毒素的细胞毒性活性^[18]。Paton 及其伙伴 构建了一种甲醛杀伤性重组菌(E coli CWG308:pJCP-Gb3),在 其表面表达 Gb3 受体类似物。这种菌在体外能够吸收并中和 Stx1,Stx2,Stx2c 及 Stx2d^[16]。为了吸收肠内或血循环内的 Stx, 除了上述几种 Stx 受体类似物外,其他的 Stx 结合蛋白也可能 有效。这类 Stx 结合蛋白的例子之一是人血浆淀粉蛋白 P。 Armstrong 等发现当腹腔给予致死剂量的 Stx2 的时,这种蛋白 能够保护小鼠免于死亡^[20]。

3.2.2 Stx 抗体的被动免疫 目前已产生多种抗 Stx1 或 Stx2 的 HumAbs^[21,22]。这些抗体在体外和动物实验中表现出能够中和 Stx1 或 Stx2 的活性的作用^[23]。在动物实验中,小型猪和小鼠经常 被用于研究针对 Stx 的这些特异性抗体的药效,药代特性, 剂量,时间点和给药途径。通过观察效果发现直接抗 B 亚单位 的抗体(例如抗体 TMA-15^[22])抗 Stx2 非常有效,但是对 Stx2 的变体却没多大效果。这个发现可能与 A 亚单位核酸序列的 同源性高于 B 亚单位的事实有关。与 B 亚单位特异性结合的 HumAbs 可能防止 Stx2 进入靶细胞,而与 A 亚单位特异性结 合的 HumAbs 可能防止 Stx2 核糖体失活或阻碍 Stx 与其靶位 点结合。因此,给予特异性针对 A 和 B 亚单位的具有保护性的 混合型 HumAbs 要比任何单独的 HumAb 更具有保护性。另一个 不得不指出的重点是给予抗体的时间点。Tzipori 及其伙伴指 出,用产 Stx2 的大肠杆菌感染小型猪后 48 小时给予针对 Stx2 的特异性 HumAb(5C12),能够保护动物避免发生 CNS 综合 症^[23]。Yamagami 及其伙伴在小鼠中评价了抗 Stx2 的 HumAb (TMA-15)的抗毒效果,他们发现在感染产 Stx2d 的 EHEC 24 小时后用 TMA-15 治疗,能够保护动物免于致死剂量的攻 击^[22]。这些发现引导出一项推测:对于那些感染 EHEC 的儿童, 在腹泻一发生的时候就短期使用抗体治疗可能会保护他们使 其不发展成 HUS。在临床 I 期研究中,Dowling 及其伙伴在健 康的志愿者体内,确定了一种鼠-人单克隆抗体的变体 (c α Stx2)的安全剂量^[24]。他们已经在小鼠体内证明了此抗体的 抗 Stx2 和 Stx2d 的保护性。在这些志愿者体内的研究表明这种 抗体的耐受性良好。在这种抗体接下来的 II 期和 III 期临床实验 中,需要验证它是否能保护已经出现出血性腹泻的儿童避免发

展成 HUS。

未来,如果出现一种能够防治 Stx-HUS 的特异性抗体,将 伴随产生一种合理的抗体合剂。

3.2.3 Stx 类毒素的主动免疫 用类毒素疫苗(灭活的全毒素)免 疫机体预防毒素引发疾病的方法曾很成功地应用在破伤风和 白喉^[25]。不幸的是,用福尔马林或戊二醛灭活的 Stxs 并不合适 作为类毒素疫苗。因为,这种方法可能会造成毒性残留或可能 使全毒素的天然结构发生改变,以至于不能产生中和性抗体或 者抗体滴度较低^[25]。一种较为安全的调整方法是通过基因改变 毒素结构,例如,在 Stx 的 A 亚单位基因序列上引发特殊突变。 高翔等人通过基因构建出一种 Stx1B-Stx2B 的融合蛋白,称为 "2S",它能免疫小鼠足够滴度的抗体抵御致死剂量的 EHEC 造 成的死亡^[26]。Smith 等也通过基因构建得出一种类毒素,这种 类毒素包括酶催化失活的 StxA2 亚单位和野生型 StxB1 亚单 位^[25]。这种 Stx 类毒素的结构不会引起 Vero 细胞的毒性,却可 以免疫小鼠产生中和 Stx1 和 Stx2 的抗体滴度。然而在人体内 应用这样一种重组蛋白疫苗,消除内毒素污染是十分重要的。 为了克服这一困难,可将类毒素的操纵子在口服活性减毒疫苗 或真核细胞表达载体中进行转化。Wen 及其伙伴设计了一种抗 Stx2 的植物疫苗^[27]。通过基因灭活的 Stx2 基因被转化到 Nicotiana tabacum 细胞系的 NT-1 细胞中。当口服表达类毒素 的 NT-1 细胞免疫小鼠时,可以保护小鼠免于口服产 Stx2d 的 O91:H21 大肠杆菌(B2F1)引发的死亡。Marcato 等构建了一种 偶联了血蓝蛋白(KLH)的重组 Stx2 类毒素,配合 RAS 佐剂免 疫小鼠^[28]后,能使致死剂量的 Stx2 攻击的小鼠全部存活。

4 总结与展望

本文只对目前已知的致病机理的几个重要方面及近几年 改良后的几种治疗方案进行综述。还需要进一步验证这些治疗 方案,包括在动物模型中对不同 Stx 亚型,剂量,时间点,及给 药方案进行研究。目前的动物模型还不能模仿 EHEC 在人体内的 感染,因此,需要临床试验来验证这些改良后的新治疗方案 在人体内的有效性。在评价有关志贺毒素的治疗药物、抗体、多 肽的研究中多有涉及到志贺毒素在动物体内的组织分布或血 浆浓度,却无人对志贺毒素进行系统的毒代研究。笔者提倡应 对 Stx 在机体内的动态进行系统性的研究 -- 即 Stx 的毒代研 究,这将有利于为评价 Stx 的抗体的有效性提供客观标准。此 外,由于志贺毒素的 B 亚单位具有明确的靶向性,而 A 亚单位 又具有毒性活性,建议可根据 Stx 特殊的 1A5B 结构考虑应用 于靶向药物的研发。

参考文献(Reference)

- [1] Tarr PI, Gordon CA, Azuma K. Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* and haemolytic uraemic syndrome [J]. *Lancet*, 2005, 365: 1073-1086
- [2] Valles PG, Pesle S, Piovano L. Postdiarrheal Shiga toxin-mediated hemolytic uremic syndrome similar to septic shock [J]. *Medicina*, 2005, 65:395-401

- [3] Burdet J, Zotta E, Franchi AM. Intraperitoneal Administration of Shiga Toxin Type 2 in Rats in the Late Stage of Pregnancy Produces Premature Delivery of Dead Fetuses[J]. *Placenta*, 2009, 30:491-496
- [4] Creydt VP, Silberstein C, Zotta E. Cytotoxic effect of Shiga toxin2 holotoxin and its B subunit on human renal tubular epithelial cells[J]. *Microbes Infect*, 2006, 8:410-9
- [5] Ikeda M, Ito S, Honda M. Hemolytic uremic syndrome induced by lipopolysaccharide and Shiga-like toxin[J]. *Pediatr Nephrol*, 2004, 19: 485-489
- [6] Sandvig K, van Deurs B. Transport of protein toxin into cells: pathways used by ricin, Cholera toxin and Shiga toxin [J]. *FEBS letters*, 2002, 29-49
- [7] Serna At, Boedeker EC. Pathogenesis and treatment of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections[J]. *Curr Opin Gastroenterol*, 2008, 24:38-47
- [8] Chaisri U, Nagata M, Kurazono H, et al. Localization of Shiga toxins of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in kidneys of paediatric and geriatric patients with fatal haemolytic uraemic syndrome [J]. *Microb Pathog*, 2001, 31:59-67
- [9] Keepers TR, Psotka M A, Gross L K. A murine model of HUS: Shiga toxin with lipopolysaccharide mimics the renal damage and physiologic response of human disease [J]. *Am. Soc. Nephrol*, 2006, 17: 3404-3414
- [10] Mitchell A. Psotka FO, Glynis L.. Shiga Toxin 2 Targets the Murine Renal Collecting Duct Epithelium [J]. *Infection and Immunity*, 2009, 77:959-969
- [11] Rutjes NW, Binnington BA, Smith CR. Differential tissue targeting and pathogenesis of verotoxins 1 and 2 in the mouse animal model[J]. *Kidney International* 2002, 62: 832-845
- [12] Ngeleka M, Pritchard J, Appleyard G. Isolation and association of *Escherichia coli* AIDA-I/Stb, rather than EAST1 pathotype, with diarrhea in piglets and antibiotic sensitivity of isolates[J]. *J Vet Diagn Invest*, 2003,15:242-252
- [13] Wong CS, Jelacic S, Habeeb RL. The risk of the hemolytic-uremic syndrome after antibiotic treatment of *Escherichia coli* O157:H7 infections[J]. *N Engl J Med*, 2000,342:1930-6
- [14] Zhang X, McDaniel AD, Wolf LE. Quinolone antibiotic induces Shiga toxin encoding bacteriophages, toxin production and death in mice[J]. *J Infect Dis*, 2000, 181(2):664-670
- [15] Mulvey GL, Marcato P, Kitov PI. Assessment in mice of the therapeutic potential of tailored, multivalent Shiga toxin carbohydrate ligands[J]. *J Infect Dis*, 2003,187:640-9
- [16] Paton JC, Rogers TJ, Morona R. Oral administration of formaldehyde-killed recombinant bacteria expressing a mimic of the Shiga toxin receptor protects mice from fatal challenge with Shiga-toxigenic *Escherichia coli*[J]. *Infect Immun*, 2001, 69:1389-93
- [17] Nishikawa K, Matsuoka K, Kita E. A therapeutic agent with oriented carbohydrates for treatment of infections by Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002, 99: 7669-74
- [18] Watanabe M, Matsuoka K, Kita E. Oral therapeutic agents with highly clustered globotriose for treatment of Shiga toxigenic *Escherichia coli* infections[J]. *J Infect Dis*, 2004, 189:360-8
- [19] Miyagawa A, Watanabe M, Igai K. Development of dialyzer with immobilized glycoconjugate polymers for removal of Shiga-toxin [J]. *Biomaterials*, 2006, 27:3304-11
- [20] Armstrong GD, Mulvey GL, Marcato P. Human serum amyloid P component protects against *Escherichia coli* O157:H7 Shiga toxin 2 in vivo: therapeutic implications for hemolytic-uremic syndrome[J]. *J Infect Dis*, 2006, 193:1120-4
- [21] Smith MJ, Carvalho HM, Melton-Celsa AR. The 13C4 monoclonal antibody that neutralizes Shiga toxin Type 1 (Stx1) recognizes three regions on the Stx1 B subunit and prevents Stx1 from binding to its eukaryotic receptor globotriaosylceramide [J]. *Infect Immun*, 2006, 74:6992-8
- [22] Yamagami S, Motoki M, Kimura T. Efficacy of postinfection treatment with anti-Shiga toxin (Stx) 2 humanized monoclonal antibody TMA-15 in mice lethally challenged with Stx-producing *Escherichia coli*[J]. *J Infect Dis*, 2001, 184:738-42
- [23] Tzipori S, Sheoran A, Akiyoshi D. Antibody therapy in the management of shiga toxin-induced hemolytic uremic syndrome[J]. *Clin Microbiol Rev*, 2004, 17:926-41, table of contents
- [24] Dowling TC, Chavallaz PA, Young DG. Phase 1 safety and pharmacokinetic study of chimeric murine-human monoclonal antibody c alpha Stx2 administered intravenously to healthy adult volunteers[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2005, 49:1808-12
- [25] Smith MJ, Teel LD, Carvalho HM. Development of a hybrid Shiga holotoxoid vaccine to elicit heterologous protection against Shiga toxins types 1 and 2[J]. *Vaccine*, 2006, 24:4122-9
- [26] Gao X, Cai K, Shi J. Immunogenicity of a novel Stx2B-Stx1B fusion protein in a mice model of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157: H7 infection[J]. *Vaccine*, 2009, 27:2070-6
- [27] Wen SX, Teel LD, Judge NA. A plant-based oral vaccine to protect against systemic intoxication by Shiga toxin type 2[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103:7082-7
- [28] Marcato P, Griener TP, Mulvey GL. Recombinant Shiga toxin B-subunit-keyhole limpet hemocyanin conjugate vaccine protects mice from Shigatoxemia[J]. *Infect Immun*, 2005, 73:6523-9