

纳米颗粒在疫苗中的研究进展

汪梦竹^{1,2}, 蒲飞洋^{1,2}, 王慧慧^{1,2}, 冯茜莉^{1,2}, 李易聪^{1,2}, 赵泽阳^{1,2}, 马晓霞^{1,2}, 刘俊林^{1,2*}

(¹西北民族大学, 生物医学研究中心, 生物工程与技术国家民委重点实验室, 兰州 730030;

²西北民族大学, 生物医学研究中心, 甘肃省动物细胞技术创新中心, 兰州 730030)

摘要: 疫苗是预防传染病最成功且有效的方法。随着疫苗技术的不断发展, 候选疫苗的数量正逐步增加。然而, 多数潜在疫苗的免疫原性较低, 不能刺激机体产生强大且持久的免疫反应。为了获得高效的疫苗, 疫苗佐剂和新型传递系统受到了极大关注, 其中有关纳米技术的研究十分热门。纳米颗粒作为疫苗载体能够增强宿主的免疫反应, 且能够到达特定的细胞区域。迄今为止, 已有一些纳米疫苗成功应用的案例, 而更多纳米材质的新型疫苗正处于不同临床试验阶段且前景良好。在维持疫苗抗原性及稳定性方面, 纳米材料在抗原物质提呈、免受降解以及促进靶细胞吸收方面都表现出突出的优势。这些系统中研究最多的是病毒样颗粒、自组装蛋白质、胶束、脂质体、无机纳米颗粒和聚合物纳米材料。本文就纳米颗粒在疫苗生产中的不同类型、合成方法、性质和应用进行综述。

关键词: 疫苗; 纳米技术; 纳米颗粒; 纳米疫苗

Research progress of nanoparticles in vaccines

WANG Mengzhu^{1,2}, PU Feiyang^{1,2}, WANG Huihui^{1,2}, FENG Xili^{1,2}, LI Yicong^{1,2}, ZHAO Zeyang^{1,2},
MA Xiaoxia^{1,2}, Liu Junlin^{1,2*}

(¹Key Laboratory of Biotechnology and Bioengineering of State Ethnic Affairs Commission, Biomedical Research Center, Northwest Minzu University, Lanzhou 730030, China; ²Gansu Tech Innovation Center of Animal Cell, Biomedical Research Center, Northwest Minzu University, Lanzhou 730030, China)

Abstract: Vaccines are the most successful and effective way to prevent infectious diseases. With the continuous development of vaccine technology, the number of vaccine candidates is gradually increasing. However, most potential vaccines have low immunogenicity and do not stimulate a strong and durable immune response in the body. In order to obtain efficient vaccines, vaccine adjuvants and novel delivery systems have received great attention, among which research on nanotechnology is very popular. Nanoparticles as vaccine carriers can increase the host's immune response and can reach specific cellular regions. So far, there have been some cases of successful application of nano-vaccine, and lots of new vaccines with nano-materials are in different stages of clinical trials and have good prospects. In maintaining the antigenicity and stability of nano-based vaccines, nanomaterials have outstanding advantages in presenting antigenic substances, preventing degradation and promoting target cell absorption. Several types of nanoparticles have been used to deliver vaccine antigens, which can protect the antigen from degradation, enhance its presentation, and promote its uptake by specific antigen-presenting cells. Virus-like particles, self-assembled proteins, micelles, liposomes,

收稿日期: 2022-03-05

基金项目: 校企横向科研项目[2021西民合(科研)字第175号]

第一作者: E-mail: 547493109@qq.com

*通信作者: E-mail: ljil@xbmu.edu.cn

inorganic nanoparticles, and polymer nanomaterials are the most popular systems. This paper reviews the different types, synthesis methods, properties and applications of nanoparticles in vaccine production.

Key Words: vaccines; nanotechnology; nanoparticles; nanovaccinology

接种疫苗是预防传染病最有效的武器,是人类健康的主要课题之一。疫苗一般通过激活适当的免疫反应来抵抗疾病,但传统疫苗的免疫原性低、稳定性差、需要连续多次免疫才能发挥效用,在实际应用中有一定的局限性。随着现代技术的发展,新型疫苗的研发已成为时下研究的热点,候选疫苗的数量正在逐步增加。

自20世纪90年代初以来,纳米技术作为传统科学理论的一部分,展现了其医学应用价值。能够结合外源性药物并自组装形成纳米颗粒的天然或合成材料,已作为新型的药物传递载体,在临床实践中广泛应用^[1]。研究纳米颗粒在医学方面应用的同时,也进行了生物相容性和潜在的细胞毒性的相关研究^[2],为之后的应用提供了安全保障。同时,纳米技术为开发高效疫苗提供了思路,作为疫苗载体成分的纳米颗粒在新型疫苗的开发方面发挥着重要作用。由于纳米颗粒的空间构象与某些细胞表面分子构象相似,可以通过内吞作用机制,特别是胞吞作用进入活细胞并到达特定的细胞区域^[3]。

基于纳米颗粒的疫苗(即纳米疫苗)与传统亚单位疫苗相比具有诸多优势。纳米疫苗可诱导产生快速持久的细胞免疫和体液免疫^[4],给药途径多种多样^[5],且具有良好的稳定性。按照用途,纳米疫苗可大致分为治疗性和预防性两种。治疗性纳米疫苗主要用于癌症的治疗^[6],但越来越多的研究将其用于治疗其他疾病或应对其他健康问题,如阿

尔茨海默症、高血压和尼古丁成瘾等^[7-9]。预防性纳米疫苗主要用于预防传染病,已有一定数量的预防性纳米疫苗处于不同临床试验阶段且前景良好^[10]。在研制纳米疫苗时,确定纳米颗粒的大小、组成成分和材料的修饰十分重要,因为这些参数决定了它们在“体内”的生物效应,同时也需要考虑纳米颗粒的形状和剂量。这就突显了纳米类疫苗的个性化设计,研究人员需要根据纳米材料的理化特性与目标抗原之间的匹配度来确定其适用范围及制作工艺。

本文将系统介绍几种在研制新型纳米疫苗中表现突出的纳米模型:病毒样颗粒、自组装蛋白质、纳米胶束、脂质体、无机纳米颗粒和聚合物纳米材料(表1)。

1 病毒样颗粒

病毒样颗粒(virus-like particles, VLPs)是一种由病毒抗原蛋白通过自组装形成的非感染性病毒粒子,大小通常在20 nm~800 nm之间,可以通过不同表达系统进行表达(表2)。VLPs颗粒不仅具有尺寸适宜、空间构架有序以及可被快速细胞递呈等优点^[11],还具有良好的免疫原性,可诱导产生高滴度的中和抗体,既能刺激细胞免疫,又能刺激体液免疫^[12],其常表现出与感染性病毒颗粒相似的形态和穿透能力,可用于在组装过程中包裹一些小分子佐剂^[13]。目前,在疫苗领域中对VLPs的研究相较于其他纳米颗粒更为成熟,不仅成功

表1 不同类型纳米颗粒比较

纳米颗粒类型	优势	局限性	应用
病毒样颗粒	空间构架有序,细胞递呈速度快,免疫原性强,可诱导产生高滴度的中和抗体	难以生产多价疫苗	乙肝病毒重组疫苗、人乳头瘤病毒(HPV)疫苗
自组装蛋白质	具有生物相容性,较为稳定	特异性低,载量低	肿瘤治疗性疫苗
纳米胶束	体内滞留时间长,性质稳定,载药范围广,载量高	生物利用率低,灭菌操作困难	HIV疫苗、抗肿瘤药物载体
脂质体	具有生物相容性,载量高,表面修饰性强	具有一定细胞毒性,易被清除	抗寨卡病毒药物载体
无机纳米颗粒	可塑性强,可控性强,性质稳定,种类多	不可进行生物降解	口蹄疫疫苗、禽白血病疫苗
聚合物纳米材料	安全性高,良好的生物降解性	转染性能低	禽类疫苗、癌症疫苗

表2 不同表达系统的优缺点

表达系统	优点	缺点
细菌表达系统	繁殖速度快; 培养成本低; 表达量高	易发生折叠错误; 容易产生细胞毒性
酵母表达系统	培养简单; 操作简单; 良好的活性和生物安全性	纯化复杂; 发酵时间长
昆虫细胞表达系统	可进行翻译后修饰; 表达量高	成本较高; 可能导致病毒感染
哺乳动物细胞表达系统	表达的蛋白最接近于天然蛋白; 免疫原性强	培养条件复杂; 成本高
植物表达系统	安全性高, 培养成本低; 可进行翻译后修饰	纯化复杂

生产出了几种有效的人用疫苗, 更有多种基于VLPs的疫苗正在进行临床或临床前试验, 但在如何有效放大工艺水平、提高VLPs组装效率、降低成本等方面仍面临许多挑战, 鉴于VLPs的不断发展, 将会有越来越多基于该技术的疫苗被研发。

1.1 乙型肝炎VLPs疫苗

乙型肝炎VLPs疫苗已经进行了多次改良, 是一款比较成熟的疫苗^[14]。最初, 巴鲁克·布隆伯格从乙肝感染者血液中分离出了抗原性物质, 为乙肝疫苗的研制提供了基础^[15]。于1986年研发的乙型肝炎疫苗是第一个应用VLPs生产并成功商业化的疫苗^[16], 其通过重组DNA技术利用酵母系统产生乙肝表面抗原, 该疫苗能够刺激CD4⁺和CD8⁺ T细胞的活化。而Wang等^[17]设计了一种铁蛋白纳米颗粒疫苗, 将preS1传递给SIGNR1树突状细胞(激活T滤泡辅助细胞)和与淋巴窦相关的SIGNR1巨噬细胞(激活B细胞), 诱导出高水平且持续的抗preS1反应, 在慢性乙型肝炎小鼠模型中实现了有效治愈。

1.2 人乳头瘤病毒VLPs疫苗

继乙型肝炎VLPs疫苗面世后, 2006年针对人类乳头瘤病毒(human papillomavirus, HPV)的四价VLPs疫苗被批准上市^[18]。二价疫苗于2009年10月被美国FDA批准上市; 九价疫苗于2014年12月被美国FDA批准上市^[19]。目前已研发的HPV疫苗基于L1蛋白(即HPV主要衣壳蛋白的72个五聚体)组装形成的VLPs^[20], 在酵母、昆虫细胞、大肠埃希菌等体系中表达、分离、纯化, 利用重组的DNA分子来表达病毒样颗粒^[21]。VLPs在结构上与HPV具有相同的抗原空间表位, 能激发机体产生中和抗体, 具有较高的安全性和免疫原性^[22]。

据调查显示, 接种HPV疫苗有望将全球的宫颈癌发病率降低90%^[23]。此外, 接种疫苗可以减少

对筛查和医疗护理的需要, 有助于降低医疗成本和后续相关程序的投入, 但其推广仍面临诸多问题, 如疫苗接种后的不良反应、公众对HPV及其疫苗知识的知晓率较低、进口疫苗成本高昂、供应短缺等^[24]。

1.3 戊型肝炎VLPs疫苗

戊型肝炎病毒(hepatitis E virus, HEV)是一种属于肝病毒科的RNA病毒, 通常会引起自限性急性肝炎(健康患者的死亡率<0.1%)以及免疫功能低下患者的慢性感染^[25]。据估计, 在美国, HEV的血清阳性率约为9%, 而在欧洲则为5%~20%^[26]。基于VLPs生产的HEV 239疫苗(益可宁, 厦门万泰沧海生物技术公司)是全球唯一批准上市的HEV疫苗, 目前仅在中国上市^[27]。

2 自组装蛋白质

在生物体中, 大多数蛋白质需要经过一系列修饰加工, 以各种形式组装成可以发挥特定功能的生物大分子。受此启发, 人工合成自组装蛋白质的技术受到了重视。早期, 自组装蛋白质通常由两个无规则卷曲的螺旋状结构域组成, 由一个短的连接区连接成一个肽链^[28], 但通过不同的设计方式, 现已构建出零维多面体笼、一维蛋白质组装体、二维蛋白质组装体、三维蛋白质组装体等多种自组装蛋白^[29]。这些纳米结构通常具有两亲性, 在水性介质中具有自组装倾向, 不仅具有蛋白质的良好生物相容性, 同时又具备纳米材料均一、稳定的特征, 可以提高疏水药物的生物利用度, 在药物释放、病灶检测和疫苗制备等研究中具有很好的应用前景^[30]。

目前已利用铁蛋白的自组装倾向, 成功在大肠杆菌表达系统中制备了IBDV-VP2的铁蛋白纳米颗粒, 为探究铁蛋白自组装对提高鸡传染性囊病

疫苗的广谱性、免疫原性的作用提供了参考,为其作为药物和抗原载体的应用机制奠定了基础^[31]。此外, Lee等^[32]使用人工自组装的铁蛋白纳米颗粒将肿瘤抗原传递到淋巴结,并研发了用于癌症治疗的治疗性疫苗。 Walls等^[33]设计了一种基于自组装蛋白质纳米颗粒免疫原,可用作候选疫苗,这些免疫原在小鼠中引发针对SARS-CoV-2的有效的保护性抗体反应。而在细胞中也存在天然的自组装蛋白,其中广泛存在于机体中的穹窿主体蛋白对肿瘤的治疗表现良好^[34]。在作为疫苗佐剂的研究中,自组装蛋白在提高自身结构的合理性与抗原载量方面还有很大的提升空间。

3 纳米胶束

纳米胶束是具有疏水核心和亲水壳的两亲性分子,可在水中自组装形成一种类似核-壳结构的球形颗粒^[35]。纳米胶束可将脂溶性药物封装在疏水内核,作为药物传递载体,其具有稳定性良好、体内滞留时间长、载药量高、载药范围广等优点^[36]。研究表明,聚古罗糖醛酸硫酸酯-铜纳米胶束具有pH响应性和肿瘤靶向性,能有效抑制乳腺癌细胞生长,发挥抗肿瘤活性^[37]。

近年来,纳米胶束作为疫苗传递佐剂的发展态势也较为良好^[38]。基于其化学特性,根据抗原的大小和特性,胶束可以通过两种不同方式运输候选疫苗:一种方法是将抗原与胶束的亲水基团共价连接,这种连接方式已在人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)抗原与负载佐剂的聚合物纳米胶束的结合中成功应用,结合产物能诱导抗原呈递细胞对抗原刺激产生强烈反应^[39];另一种方法是生产两亲性多肽,其由连接到疏水烷基尾部的肽组成,可在水介质中自组装形成胶束结构^[40]。总体而言,胶束为增强抗原的免疫刺激能力提供了一个新的思路,因为胶束可以通过特定的疏水分子,轻易地破坏核内体,随后将抗原释放到细胞的细胞质。

4 脂质体

脂质体载体系统被认为是目前最灵活和最成功的传递系统之一,具有生物相容性、强包裹能力、高加载能力和可变的表面修饰方法等优

势^[41]。脂质体由具有生物相容性和可生物降解的磷脂双分子层组成,磷脂具有两亲性,其特征是在同一分子上有一个亲脂的尾部和亲水的头部。根据所用抗原或佐剂的不同特性,可以将其插入脂质体的亲水核心或两亲性的脂质双分子层中(图1),以保护抗原在运输过程中不被降解,从而高效地递送抗原至免疫细胞。脂质体在疫苗中功能和有效性的差异源于不同因素,包括脂质体的大小、层状性、表面电荷、双分子层的流动性等。据报道,较小的脂质体(粒径<100 nm)更倾向于激活Th2型免疫反应,而较大的脂质体(粒径>400 nm)更易于激活Th1型免疫反应^[42]。单层的脂质纳米材料在血清中的稳定性有限,而新开发的双层交联脂质体稳定性较好,且能够促进抗原在亲水核心或脂质双分子层中的稳定包埋^[43]。脂质体的表面电荷会影响抗原与脂质体的相互作用(如阴离子抗原能更好地与阳离子脂质相互作用)继而影响抗原负载,研究证明,DC-Chol阳离子脂质体作为四价流感疫苗的佐剂与中性佐剂相比具有良好的免疫增强作用^[44]。Kaur等^[45]证明胆固醇通过增强脂质双分子层流动性,从而使脂质体疫苗诱导的IFN- γ 水平升高。

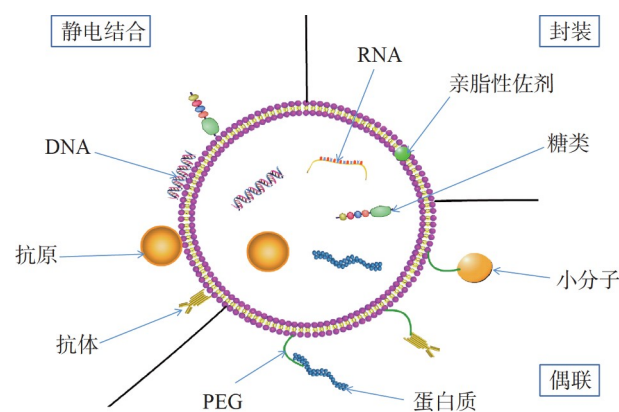


图1 将抗原、佐剂和靶向配体装配到脂质体上的不同方法

目前,已有多种脂质体相关产品用于预防和治疗疾病,包括甲型肝炎、流感、带状疱疹、和COVID-19(moderna、BioNTech的mRNA-1273和BNT162b2)^[46]。

5 无机纳米颗粒

无机纳米颗粒是由无机物固态核心产生的纳

米载体, 在疫苗学中被用作抗原佐剂和抗原载体, 以增加免疫反应。无机纳米颗粒的优势是结构坚硬且性质稳定, 合成可控; 缺点是不可进行生物降解^[47]。目前已有多种无机纳米颗粒被用作疫苗载体, 应用较广的是碳、金、二氧化硅和钙纳米颗粒。

5.1 碳纳米颗粒

碳纳米材料表面易发生功能化, 可进行有利的功能化修饰, 如今已作为不同种类疫苗的佐剂或载体使用。在纳米颗粒中, 携带抗原和刺激免疫反应的能力通常受结构和物理特征的影响, 碳纳米管具有的优良特性使其在各个领域广泛应用。碳纳米管是由含有六边形网格状的石墨片层卷曲形成的无缝纳米管状晶体, 一般分为单壁碳纳米管(single-walled carbon nanotubes, SWCNTs)和多壁碳纳米管(multi-walled carbon nanotubes, MWCNTs)^[48]。SWCNTs可与蛋白质结合, 通过胞吞作用进入胞内体并运送至溶酶体, 或经吞噬细胞吞噬作用形成吞噬体^[49]。MWCNTs是由多个同心石墨烯薄片形成的绕层碳纳米管, 可自主形成卷曲或束状结构, 一般通过胞吞作用进入细胞^[50]。碳纳米管长度从100 nm~1 000 nm不等, SWCNTs和MWCNTs的直径范围分别在0.4 nm~2 nm和2 nm~100 nm之间。将碳纳米管与口蹄疫病毒B细胞抗原表位连接研制的疫苗, 与传统疫苗相比可诱导产生高抗体滴度^[51], 验证了碳纳米管具备免疫佐剂的特性。2016年, Hassan等^[52]证明了碳纳米管的表面特性影响其作为疫苗纳米载体的体内外效力, MWCNTs通过增强细胞对抗原的摄取刺激了免疫反应。除碳纳米管外, 碳量子点(carbon quantum dots, CQDs)也是一种很好的免疫佐剂。一项针对J亚群禽白血病毒的重组gp85蛋白疫苗的研究表明, gp85-CQDs佐剂免疫的鸡具有较高的抗体水平和保护力^[53]。

随着研究的不断深入, 碳纳米颗粒的毒性也引起了研究者的极大关注, 碳纳米颗粒在药物、疫苗及基因治疗中的应用仍需完善, 力求研制出具有安全性、高效性及功能性的碳纳米颗粒。

5.2 金纳米颗粒

金纳米颗粒(gold nanoparticles, GNs)和金纳米棒因尺寸较小、生物相容性高和易于修饰加工

的特性, 已成为催化、临床诊断、医学治疗、疫苗研究等众多领域的热点材料。

GNs可与抗原结合, 作为病毒抗原的载体。目前, 科学家已应用自组装寡甘露糖苷的单层涂层(类似于gp120)合成金纳米颗粒, 用于开发HIV疫苗^[54]。GNs还具有免疫刺激作用, 能激活免疫细胞, 不仅可作为抗原的运输载体, 还可以作为佐剂提高疫苗的效力^[55]。Assis等^[56]使用*Schistosoma mansoni* rSm29蛋白结合到金纳米棒上, 在小鼠体内产生了抗血吸虫的保护作用, 证明GNs可以作为预防血吸虫的新型疫苗载体。在口蹄疫病毒样颗粒疫苗的生产中, 金纳米材料作为佐剂有效地促进了免疫应答, 提高了仓鼠肾成纤维细胞中口蹄疫病毒样颗粒的摄取量^[57]。

5.3 硅纳米颗粒

硅纳米颗粒(silica nanoparticles, SiNPs)制备工艺简单, 耗时短, 在各个领域具有极大的研究价值, 可作为载体运载抗癌药物、生物大分子、多肽等。对SiNPs的化学修饰可以丰富其表面的硅醇基团, 以提高细胞的识别、与细胞的相互作用、细胞对特定生物分子的摄取和吸收。SiNPs疫苗的抗原偶联并不需要免疫刺激作用, 其可以生产出粒径大小在50~200 nm的高效纳米载体, 称为介孔二氧化硅纳米颗粒, 可作为纳米载体和佐剂有效地传递抗原^[58]。将介孔二氧化硅及介孔氧化硅表面活化修饰得到的硅囊泡, 作为新一代抗原载体和佐剂在牛病毒性腹泻病毒疫苗的研究中也表现出了良好的免疫效力。目前, SiNPs作为载体和佐剂应用于疫苗的报道日益增多, 如肝炎B核心病毒样颗粒、猪圆环病毒蛋白、卵清蛋白模型抗原等^[59]。

5.4 纳米钙

磷酸钙纳米颗粒(calcium phosphate nanoparticles, CaPNPs)是由柠檬酸钠、氯化钙和磷酸二碱钠混合形成的, CaPNPs在生理条件下较为稳定, 具有良好的生物相容性, 易于生物降解。CaPNPs被吞噬后, 在细胞摄取过程中pH值从中性变为酸性时, CaPNPs会融化到细胞质中, 并释放出被其包裹的物质。因此, CaPNPs可以自然地释放其内容物, 堪称完美的抗原载体。研究已经证明CaPNPs作为DNA疫苗和黏膜免疫的佐剂,

可以引起高滴度的中和抗体反应,可提供比铝佐剂更高的保护效力^[60]。

6 聚合物纳米材料

聚合物纳米颗粒是一种粒径为10 nm~500 nm的固体结构,具有较高的生物安全性和良好的生物降解性,其中生物活性材料可以通过溶解、包装或表面吸附内化,在疫苗载体的研究过程中备受关注。聚合物纳米材料分为天然材料和合成材料,二者具有一定区别。天然材料中,壳聚糖(chitosa, CS)和 γ -聚谷氨酸(γ poly-glutamic acid, γ -PGA)最为重要;而合成材料中,聚乳酸纳米颗粒(poly lactic acid, PLA)和聚乳酸-乙醇酸共聚物纳米颗粒(poly lactic-co-glycolic acid, PLGA)应用较广。

CS是一种天然多糖类阳离子高分子材料,具有生物相容性好、生物降解性好和低毒性等优点,在药物领域得到了广泛研究与应用^[61],这种聚合物很容易从甲壳类动物和鳞状动物的外骨骼及真菌的细胞壁中获得。CS可以通过静电相互作用连接带负电荷的蛋白质或质粒DNA,保护它们不被降解。Prego等^[62]使用CS纳米颗粒成功诱导了针对HBV感染的免疫应答,在肌肉注射后诱导了极高的血清保护率(高达5 500 mIU/mL,比传统吸附疫苗高9倍)。

γ -PGA纳米颗粒是带负电荷的聚电解质,作为抗原载体系统和疫苗佐剂,可诱导强烈的体液和细胞免疫反应。 γ -PGA纳米颗粒具有水溶性,能够在没有任何外部佐剂的情况下激活TLR4和MyD88信号通路^[63]。 γ -PGA与CS配合物配合研制出的CS- γ -PGA纳米凝胶型载体,是提高疫苗载体负载抗原免疫效果的理想选择^[64]。

PLGA是一种具有良好生物相容性和可降解性的生物聚合物,广泛应用于微球、微胶囊、纳米颗粒、颗粒、植入物和膜的制备^[65]。近年来,其作为药物载体的研究成为热点,特别是在化疗方面。封装在纳米颗粒或微球中的药物很容易到达肿瘤部位,可减少不良反应;PLGA还能延长药物在体内的寿命,改善其药代动力学特性。自2017年起,已有基于PLGA型的空肠弯曲杆菌疫苗已被用于诱导家禽的保护性免疫,显著减少了盲肠空

肠杆菌的定植^[66]。

7 总结

与传统疫苗相比,新型疫苗组分单一,抗原呈递方式更趋近自然感染状态,但这些抗原本身的免疫原性较弱,需要通过佐剂提高免疫应答水平。纳米技术的发展为佐剂的发展提供了良好的平台,纳米颗粒大多具有生物降解性,且毒性低,不仅能改善抗原摄取,还能提高免疫原性,延长免疫持续时间。现阶段,病毒样颗粒、自组装蛋白质、脂质体等佐剂在研发中更注重其免疫效力的提高,在此基础上以降低大规模生产成本为目标,正不断进行技术革新,对无机纳米颗粒则着重于提高其生物安全性及生物相容性。然而,在疫苗和药物递送中纳米材料仍面临着一些问题,包括佐剂活性的保持、制备工艺中的溶剂对机体的影响、载体包裹抗原与抗原有效释放间的平衡等,让纳米材料作为疫苗佐剂的应用面临很大的挑战。这就要求研究人员深入探索纳米颗粒与生物体的作用机制,构建更多的体内模型来进一步提高纳米佐剂的性能,而纳米佐剂领域广阔的应用前景将为人类的疾病预防和治疗事业带来新的希望。

参考文献

- [1] 李程, 律涛, 刘彦. 靶向纳米材料在药物传递过程中的应用. 沈阳药科大学学报, 2020, 37(8): 756-763
- [2] Visalli G, Facciola A, Currò M, et al. Mitochondrial impairment induced by sub-chronic exposure to multi-walled carbon nanotubes. *Int J Environ Res Public Health*, 2019, 16(5): 792
- [3] Zhao L, Seth A, Vibowo N, et al. Nanoparticle vaccines. *Vaccine*, 2014, 32(3): 327-337
- [4] Bhardwaj P, Bhatia E, Sharma S, et al. Advancements in prophylactic and therapeutic nanovaccines. *Acta Biomater*, 2020, 108: 1-21
- [5] Chenthamara D, Subramaniam S, Ramakrishnan SG, et al. Therapeutic efficacy of nanoparticles and routes of administration. *Biomater Res*, 2019, 23(1): 20
- [6] 杨玥, 王海燕, 孙野, 等. 纳米仿生型肿瘤疫苗的研究进展. 药学学报, 2022, 57(4): 963-975
- [7] 刘杰, 周艳晖, 秦秀英, 等. 多肽功能化纳米颗粒SQT/SRQT作为治疗阿尔兹海默综合症候选药物的研究[Z]. 广东: 暨南大学, 2018-12-20

- [8] 李涛, 杨思妹, 钱永军. 纳米技术在心血管疾病中的最新应用. 心血管病学进展, 2019, 40(5): 708-712
- [9] 张楠, 魏曼, 宋辉, 等. 尼古丁疫苗给药途径及递呈载体研究进展. 中南药学, 2017, 15(12): 1754-1756
- [10] Butkovich N, Li E, Ramirez A, et al. Advancements in protein nanoparticle vaccine platforms to combat infectious disease. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*, 2021, 13(3): 1681
- [11] 凌媛, 金苏, 李敏. 病毒样颗粒疫苗的研究进展及研发考虑要点. 中华微生物学和免疫学杂志, 2020, 40(5): 393-398
- [12] 于得静, 张添琪, 孟凡茹, 等. 免疫佐剂的研究进展. 经济动物学报, 2022, 26(1): 62-66
- [13] Wang ZB, Xu J. Better adjuvants for better vaccines: progress in adjuvant delivery systems, modifications, and adjuvant-antigen codelivery. *Vaccines (Basel)*, 2020, 8(1): 128
- [14] 谭坤, 张丽琳. 病毒样颗粒疫苗的研究进展. 湖北农业科学, 2021, 60(22): 5-10, 18
- [15] Blumberg BS, Sutnick AI, London WT, et al. Hepatitis and leukemia: their relation to Australia antigen. *Bull N Y Acad Med*, 1968, 44(12): 1566-1586
- [16] Hilleman MR, Ellis R. Vaccines made from recombinant yeast cells. *Vaccine*, 1986, 4(2): 75-76
- [17] Wang W, Zhou X, Bian Y, et al. Dual-targeting nanoparticle vaccine elicits a therapeutic antibody response against chronic hepatitis B. *Nat Nanotechnol*, 2020, 15(5): 406-416
- [18] Ljubojević S. The human papillomavirus vaccines. *Acta Dermatovenerol Croat*, 2006, 14(3): 208
- [19] 唐荣淳, 徐睿, 姚然然, 等. HPV疫苗安全性与有效性的研究现状及进展. 传染病信息, 2020, 33(4): 358-362
- [20] 周旭, 岳雅清, 贾荣霞, 等. 预防性人乳头瘤病毒疫苗免疫接种研究进展. 中华实验和临床病毒学杂志, 2020, 34(5): 567-572
- [21] 史晶洁, 宋硕, 王大宁, 等. 人乳头瘤病毒样颗粒组装研究进展. 病毒学报, 2018, 34(2): 252-258
- [22] 张梦玲, 梁江明, 梁富雄, 等. HPV疫苗的应用与发展概述. 内科, 2020, 15(3): 307-311
- [23] Kavanagh K, Pollock KG, Cuschieri K, et al. Changes in the prevalence of human papillomavirus following a national bivalent human papillomavirus vaccination programme in Scotland: a 7-year cross-sectional study. *Lancet Infect Dis*, 2017, 17(12): 1293-1302
- [24] 杨旭梅, 金蓉蓉, 周慧玲, 等. HPV疫苗研究进展及推广接种过程中的影响因素. 中华临床医师杂志(电子版), 2021, 15(3): 218-223
- [25] 赵一鸣, 刘秀红, 李伟华, 等. 戊型肝炎研究进展. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2018, 12(3): 216-220
- [26] Hartl J, Otto B, Madden RG, et al. Hepatitis E seroprevalence in Europe: a meta-analysis. *Viruses*, 2016, 8(8): 211
- [27] 吴清胜, 李媛媛. 重组戊型肝炎疫苗类病毒颗粒纯度高效分子排阻色谱检测方法的建立、验证及应用. 中国生物制品学杂志, 2018, 31(12): 1367-1372
- [28] Yang Y, Dai M, Wilson TM, et al. Na⁺/K⁺-ATPase α 1 identified as an abundant protein in the blood-labyrinth barrier that plays an essential role in the barrier integrity. *PLoS One*, 2011, 6(1): e16547
- [29] 赵广华, 张晓荣. 蛋白质自组装研究进展. 山西大学学报(自然科学版), 2022, 45(3): 744-759
- [30] Stevens CA, Kaur K, Klok HA. Self-assembly of protein-polymer conjugates for drug delivery. *Adv Drug Deliver Rev*, 2021, 174: 447-460
- [31] 杜梦潭, 张伟业, 刘兴健, 等. 铁蛋白与法氏囊病毒核衣壳蛋白重组蛋白的原核表达及纳米颗粒胞外自组装. 生物技术进展, 2020, 10(4): 378-385
- [32] Lee BR, Ko HK, Ryu JH, et al. Engineered human ferritin nanoparticles for direct delivery of tumor antigens to lymph node and cancer immunotherapy. *Sci Rep*, 2016, 6(1): 35182
- [33] Walls AC, Fiala B, Schäfer A, et al. Elicitation of potent neutralizing antibody responses by designed protein nanoparticle vaccines for SARS-CoV-2. *Cell*, 2020, 183(5): 1367-1382.e17
- [34] Frascotti G, Galbiati E, Mazzucchelli M, et al. The vault nanoparticle: a gigantic ribonucleoprotein assembly involved in diverse physiological and pathological phenomena and an ideal nanovector for drug delivery and therapy. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(4): 707
- [35] Yang X, Yu T, Zeng Y, et al. pH-responsive biomimetic polymeric micelles as lymph node-targeting vaccines for enhanced antitumor immune responses. *Biomacromolecules*, 2020, 21(7): 2818-2828
- [36] 赵宇, 曹琬晴, 刘阳. 聚合物纳米药物载体的研究进展. 高等学校化学学报, 2020, 41(5): 909-923
- [37] 王定福, 仇晓雷, 郝丽桦, 等. 聚古罗糖醛酸硫酸酯-铜纳米胶束制备及抗肿瘤活性研究. 中国海洋药物, 2022, 41(2): 55-61
- [38] 尹明星, 谭松巍. 双重pH响应载药胶束用于肿瘤化疗、免疫联合治疗[C]. 中国化学会2017全国高分子学术论文集报告会摘要集—主题G: 药物控释载体高分子. 中国化学会高分子学科委员会: 中国化学会, 2017: 12
- [39] Jiménez-Sánchez G, Pavot V, Chane-Haong C, et al. Preparation and *in vitro* evaluation of imiquimod loaded polylactide-based micelles as potential vaccine adjuvants. *Pharm Res*, 2015, 32(1): 311-320
- [40] Poon C, Chowdhuri S, Kuo CH, et al. Protein mimetic and anticancer properties of monocyte-targeting peptide amphiphile micelles. *ACS Biomater Sci Eng*, 2017, 3(12): 3273-3282

- [41] Nisini R, Poerio N, Mariotti S, et al. The multi role of liposomes in therapy and prevention of infectious diseases. *Front Immunol*, 2018, 9: 1-23
- [42] Singha S, Shao K, Ellestad KK, et al. Nanoparticles for immune stimulation against infection, cancer, and autoimmunity. *ACS Nano*, 2018, 12(11): 10621-10635
- [43] Whitener R, Henchir JJ, Miller TA, et al. Localization of multi-Lamellar vesicle nanoparticles to injured brain tissue in a controlled cortical impact injury model of traumatic brain injury in rodents. *Neurotrauma Rep*, 2022, 3(1): 158-167
- [44] 刘艳红, 赵祥月, 谢青昕, 等. DC-Chol阳离子脂质体佐剂对流感疫苗免疫效果的影响. *昆明医科大学学报*, 2021, 42(3): 1-4
- [45] Kaur R, Henriksen-Lacey M, Wilkhu J, et al. Effect of incorporating cholesterol into DDA:TDB liposomal adjuvants on bilayer properties, biodistribution, and immune responses. *Mol Pharm*, 2014, 11(1): 197-207
- [46] Chatzikleanthous D, O'Hagan DT, Adamo R. Lipid-based nanoparticles for delivery of vaccine adjuvants and antigens: toward multicomponent vaccines. *Mol Pharm*, 2021, 18(8): 2867-2888
- [47] Feng Q, Yang X, Hao Y, et al. Cancer cell membrane-biomimetic nanoplatfrom for enhanced sonodynamic therapy on breast cancer via autophagy regulation strategy. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11(36): 32729-32738
- [48] 陈信锦, 王忠良, 黄瑜, 等. 纳米材料在渔用疫苗中的研究进展. *广东农业科学*, 2021, 48(1): 134-141
- [49] 李屹, 吴雨径, 刘惠亮. 碳纳米管作为药物及基因递送载体的研究. *中国医学文摘(耳鼻咽喉科学)*, 2015, 30(3): 150-154
- [50] Thiruvengadam M, Rajakumar G, Swetha V, et al. Recent insights and multifactorial applications of carbon nanotubes. *Micromachines*, 2021, 12(12): 1502
- [51] de Carvalho Lima EN, Diaz RS, Justo JF, et al. Advances and perspectives in the use of carbon nanotubes in vaccine development. *Int J Nanomedicine*, 2021, 16: 5411-5435
- [52] Hassan HAFM, Smyth L, Rubio N, et al. Carbon nanotubes' surface chemistry determines their potency as vaccine nanocarriers *in vitro* and *in vivo*. *J Control Release*, 2016, 225: 205-216
- [53] Lv H, Yuan Y, Xu Q, et al. Carbon quantum dots anchoring MnO₂/graphene aerogel exhibits excellent performance as electrode materials for supercapacitor. *J Power Sources*, 2018, 398: 167-174
- [54] Sengupta A, Azharuddin M, Al-Otaibi N, et al. Efficacy and immune response elicited by gold nanoparticle- based nanovaccines against infectious diseases. *Vaccines (Basel)*, 2022, 10(4): 505
- [55] Dykman LA, Khlebtsov NG. Immunological properties of gold nanoparticles. *Chem Sci*, 2017, 8(3): 1719-1735
- [56] Assis NRG, Caires AJ, Figueiredo BC, et al. The use of gold nanorods as a new vaccine platform against schistosomiasis. *J Control Release*, 2018, 275: 40-52
- [57] Teng Z, Sun S, Chen H, et al. Golden-star nanoparticles as adjuvant effectively promotes immune response to foot-and-mouth disease virus-like particles vaccine. *Vaccine*, 2018, 36(45): 6752-6760
- [58] Jafari S, Derakhshankhah H, Alaei L, et al. Mesoporous silica nanoparticles for therapeutic/diagnostic applications. *Biomed pharmacother*, 2019, 109: 1100-1111
- [59] 苏新, 闫丹, 杨云裳. 多孔硅纳米材料作为疫苗载体和佐剂研究进展. *中兽医医药杂志*, 2017, 36(1): 20-23
- [60] He Q, Mitchell A, Morcol T, et al. Calcium phosphate nanoparticles induce mucosal immunity and protection against herpes simplex virus type 2. *Clin Diagn Lab Immunol*, 2002, 9(5): 1021-1024
- [61] 毕毓彤, 周萌萌, 李承禹, 等. 聚合物纳米材料在疫苗佐剂领域的应用进展. *现代畜牧兽医*, 2021(4): 78-83
- [62] Prego C, Paolicelli P, Díaz B, et al. Chitosan-based nanoparticles for improving immunization against hepatitis B infection. *Vaccine*, 2010, 28(14): 2607-2614
- [63] Li J, Yu J, Xu S, et al. Immunogenicity of porcine circovirus type 2 nucleic acid vaccine containing CpG motif for mice. *Virology*, 2016, 13(1): 185
- [64] Wang H, Han Q, Zhao H, et al. Single dose HBsAg CS-γ-PGA nanogels induce potent protective immune responses against HBV infection. *Eur J Pharm Biopharm*, 2018, 124: 82-88
- [65] 杨坤, 李承晔, 魏凡华. PLGA纳米微球作为DNA疫苗载体的研究进展. *中国兽医科学*, 2021, 51(6): 746-753
- [66] Taha-Abdelaziz K, Hodgins DC, Alkie TN, et al. Oral administration of PLGA-encapsulated CpG ODN and *Campylobacter jejuni* lysate reduces cecal colonization by *Campylobacter jejuni* in chickens. *Vaccine*, 2018, 36(3): 388-394