

基于递送载体的纳米疫苗在传染病和癌症防治中的应用与展望

林锦闲^{1,2}, 张屹坤¹, 卜佳玉¹, 黄芝瑛², 耿兴超¹, 李芊芊¹, 潘东升^{1*}

1. 中国食品药品检定研究院 安全评价研究所, 药物非临床安全评价研究北京市重点实验室, 北京 100176

2. 中山大学 药学院, 广东 广州 510006

摘要: 传统灭活、减毒疫苗的感染风险和亚单位疫苗的低免疫原性限制了疫苗的临床应用, 近年来, 基于纳米递送载体的疫苗因其优秀的靶向递送、抗原呈递效果受到广泛关注。通过调控纳米递送载体的物理化学性质, 基于纳米递送载体的疫苗可以模拟天然感染过程, 精准将特异性抗原快速递送到淋巴结或靶部位, 促进抗原呈递细胞的成熟和抗原的交叉呈递, 激活效应免疫细胞, 诱导强大的免疫反应, 纳米疫苗还能与免疫检查点抑制剂、肿瘤血管生成抑制剂等药物进行联合治疗, 预防疾病的复发, 降低其不良反应。综述了纳米递送载体的被动靶向、生物相容性、主动靶向、改善免疫应答和诱导黏膜免疫应答的功能, 以及近年来基于纳米递送载体的疫苗在肿瘤免疫治疗、自身免疫性疾病和传染病预防等方面的应用进展, 并讨论其未来发展与面临的挑战。

关键词: 纳米递送载体; 纳米疫苗; 免疫应答; 免疫治疗; 传染病预防

中图分类号: R979.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376 (2024) 09-2168-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2024.09.025

Applications and perspectives of delivery vector-based nanovaccines in infectious disease and cancer control

LIN Jinxian^{1,2}, ZHANG Yikun¹, BU Jiayu¹, HUANG Zhiying², GENG Xingchao¹, LI Qianqian¹, PAN Dongsheng¹

1. Beijing Key Laboratory of Non-clinical Safety Evaluation of Drugs, National Center for Safety Evaluation of Drugs, National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100176, China

2. School of Pharmaceutical Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510006, China

Abstract: The infection risk of traditional inactivated and attenuated vaccines and the low immunogenicity of subunit vaccines have limited the clinical application of vaccines. In recent years, vaccines based on nano-delivery carriers have attracted widespread attention for their excellent targeted delivery and antigen presentation. By regulating the physicochemical properties of nano-delivery carriers, nano-delivery carrier-based vaccines can mimic the natural infection process, accurately and rapidly deliver specific antigens to lymph nodes or target sites, promote cross-presentation of antigens, activate effector immune cells, and induce strong immune responses. Nanovaccines can also be combined with drugs such as immune checkpoint inhibitors and tumor angiogenesis inhibitors to prevent disease recurrence and reduce their adverse effects. This paper reviews the passive targeting, biocompatibility, active targeting, immune response improvement and mucosal immune response induction functions of nano-delivery vectors, as well as the progress of the application of nano-delivery vector-based vaccines in the immunotherapy of tumors, autoimmune diseases and prevention of infectious diseases in recent years, and discusses their future development and challenges.

Key words: nanodelivery vectors; nanovaccine; immune response; immunotherapy; infectious disease prevention

疫苗是目前预防传染病最重要的手段之一, 它利用人类的免疫系统发挥作用。现有的疫苗根据抗原来源的不同可分为传统疫苗、基因工程疫苗和

核酸疫苗。传统疫苗主要是指灭活疫苗如流感疫苗和减毒活疫苗如卡介苗^[1]等, 灭活疫苗注射后产生的免疫力不高, 往往需要进行加强免疫, 甚至需

收稿日期: 2024-04-22

基金项目: 中国食品药品检定研究院关键技术研究基金项目(GJJS-2022-6-4)

第一作者: 林锦闲, 女, 硕士研究生, 研究方向为药物安全性评价。E-mail: linjx223@mail2.sysu.edu.cn

*通信作者: 潘东升, 女, 副研究员, 研究方向为药物非临床安全性评价。E-mail: pandongsheng@nifdc.org.cn

要长期进行加强免疫才能产生较为满意的免疫效果。减毒疫苗其本身性质不稳定,进入人体后可能会恢复毒性使人致病,因此研究人员趋向于开发更安全的疫苗。基因工程疫苗只含有病原体中可以诱发免疫反应的抗原,如亚单位疫苗、重组基因工程活疫苗等。亚单位疫苗的低免疫原性^[2]使其不能够引起机体对病原体的强大和持久的保护效果,因此研究人员考虑添加免疫佐剂来突破亚单位疫苗低免疫原性的局限性,探究特异性抗原和免疫佐剂的共同递送^[3]。

基于纳米递送载体的疫苗为共同递送抗原和免疫佐剂提供了新思路,纳米疫苗以纳米颗粒为载体,递送特异性抗原和佐剂。新型冠状病毒肺炎(COVID-19)大流行期间,基于脂质纳米颗粒的mRNA疫苗^[4-5]的开发和应用为基于纳米递送载体的疫苗提供了广阔的应用前景。纳米技术可能是解决严重急性呼吸系统综合征冠状病毒2型(SARS-CoV-2)变异株^[6-7]挑战的关键,因此研究人员探索利用纳米技术达到更多疾病预防与治疗的可能性。除了传染病,纳米疫苗在肿瘤治疗方面也表现出一定的潜力,2010年美国食品药品监督管理局批准的首个癌症治疗疫苗PROVENGE(sipuleucel-T)^[8]用于晚期前列腺癌的治疗,开创了癌症免疫治疗的新时代。纳米疫苗在传染病的预防和肿瘤的免疫治疗中能提高抗原到靶部位的递送效率,大大增强抗原的交叉呈递和免疫细胞的活化作用,纳米疫苗还可以结合其他治疗策略,如免疫调节剂^[9]、药物^[10-11]等,实现组合治疗的效果,对预防和治疗感染性疾病、癌症以及自身免疫性疾病具有重要意义。与传统疫苗相比,纳米疫苗在靶向递送、剂量设置、用药安全和接种效果方面都有着明显的优势。

1 纳米递送载体在疫苗开发中的应用

1.1 纳米递送载体的被动靶向性

近年来,癌症免疫疗法,如免疫检查点抑制剂、嵌合抗原受体T细胞和肿瘤疫苗能通过增强机体对肿瘤细胞的免疫应答来提高抗肿瘤效果,然而肿瘤组织内部的物理生理障碍阻碍了抗体和免疫细胞的浸润,对上述药物的应答率并不高。纳米疫苗基于纳米尺度效应和高渗透长滞留效应可以将抗原和佐剂特异性地输送到淋巴结(LN)归巢聚集和保留,促进纳米疫苗在肿瘤组织中被选择性地分布^[12],激发特异性免疫反应,减少疫苗的脱靶效应,还可以减少抗原载量,降低全身不良反应。淋巴管

内皮细胞的细胞间隙为20~100 nm,因此纳米疫苗能否进入淋巴管取决于其粒径大小^[13]。Liang等^[14]合理设计了1种pH值响应型囊泡纳米颗粒用于递送新抗原肽和佐剂,形成的囊状纳米粒子直径为70~90 nm,多分散指数低至0.1~0.2,能够在注射后实现淋巴引流和淋巴结积聚,被抗原呈递细胞(APCs)摄取。研究表明,设计10~100 nm的疫苗递送系统能够实现更好的淋巴结靶向和改善疫苗诱导的免疫反应^[15]。

1.2 促进细胞内吞,延长体内滞留时间

与天然抗原相比,经过纳米递送载体包裹后,纳米疫苗可以保护抗原不被降解或过早释放。根据抗原、药物溶解性的不同,纳米递送载体可以设计成对应的纳米外壳,外壳的化学性质会影响纳米载体与生物膜的相互作用和细胞内化速度,可以改善治疗药物的溶解性,提高生物利用度。通过利用不同的纳米材料,如应用pH值敏感性材料^[16],由于肿瘤微环境(TME)的微酸性^[17],可以使外层材料被缓慢清除,在靶组织缓慢释放抗原,增加体内滞留时间,延长疫苗作用时间。

疫苗递送系统主要通过水通道在细胞间质中运输,这要求纳米递送载体的表面需要具有亲水性^[15],纳米递送载体的亲水性有利于淋巴吸收和保留。Xu等^[18]开发了1种以甘露聚糖为壳、聚乳酸-聚乙炔亚胺(PLA-PEI)组装的纳米粒子为核的类病原体聚合物纳米疫苗,亲水性材料甘露聚糖的修饰能大大提高纳米疫苗的淋巴结引流,增加疫苗在CD8⁺树突状细胞(DCs)中的分布,从而激发强大的肿瘤特异性免疫反应。

此外,纳米递送载体可以调节疫苗的释放速率和分布,通过控制纳米递送载体的物理化学性质和结构特征实现对疫苗抗原的缓慢释放和定向分布,从而延长疫苗的作用时间,增强其免疫效果。Liu等^[19]将聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)工程化为核壳微结构,构建了干扰素刺激因子(STING)激动剂递送系统,该纳米疫苗可以保留在注射部位,在预定时间点模拟多次注射数天至数周脉冲释放单独剂量的STING激动剂。该平台通过对纳米递送载体的修饰达到了减少药物重复注射、降低肿瘤转移风险的效果,不同的修饰还可以使其在不同时间输送多种药物,用于癌症联合疗法。

1.3 表面功能修饰的智能药物递送系统

纳米递送载体还具有可调控性,可以通过改变其物理化学性质、结构设计和组装方式等来实现针

对不同细胞类型和治疗需求的精确调节。物理化学性质可变的纳米材料^[20]在增强肿瘤免疫疗法中发挥着至关重要的作用,可以通过多种协调方式增强癌症免疫治疗,这些方法包括生物屏障穿透的尺寸调整或形状变形^[21],可控释放免疫调节剂的电荷反转或亲水性-疏水性转变,免疫信号通路激活的结构转变等。

由于间质的成分主要含有带负电荷的糖胺聚糖,带正电荷的载体系统可能会被困在间质中,疫苗向淋巴毛细管的运输将受到很大阻碍,带负电荷的材料作为疫苗递送载体更有利于在间质中移动。Zhou等^[22]制备了mRNA和环鸟苷酸-腺苷酸单磷酸(cGAMP)的聚合物纳米复合物,用阴离子脂质包裹获得了纳米疫苗,促进了mRNA和cGAMP的淋巴转运和胞质传递,保护了mRNA和cGAMP免受降解,有效激活STING,诱导肿瘤微环境中的T细胞活化。

在纳米载体上修饰天然或人工合成的配体如多肽、抗体等可以实现主动靶向淋巴结、肿瘤组织等功能,其中,免疫细胞衍生的膜因其固有的免疫调节功能和良好的生物相容性引起了广泛的关注。Wang等^[23]通过DCs来源的细胞膜囊泡(biNV)来高效递送白细胞介素-15(IL-15),其合适的粒径(110 nm)和丰富的表面膜受体使biNV在淋巴结中广泛分布,其纳米级的粒径结构延长了biNV-IL-15的血液循环半衰期和在淋巴器官中的滞留时间,增强了抗肿瘤效果。传统的细胞因子疗法通常会产剂量限制性毒性,该策略提供了一种更安全、更高效的细胞毒性T细胞免疫应答,显著提高治疗效果,也为细胞因子的递送提供了一种可推广的方法^[23]。

1.4 改善免疫应答

纳米递送载体还可以改善疫苗的免疫应答^[24]。递送载体本身具有一定的免疫调节功能,粒径通常在20~100 nm,可直接进入淋巴管或细胞间隙将疫苗递送至淋巴结,提高APCs对抗原的摄取效率促进抗原呈递,还可以调控免疫系统的反应类型和免疫细胞的活化状态,增强机体对疫苗抗原的免疫应答,这类纳米载体主要包括无机纳米颗粒^[25]、聚合物纳米颗粒如PLGA^[26]、脂质体以及病毒样颗粒^[27-28]等。通过应用无机纳米颗粒,如基于锰^[29]、铁^[30]的纳米疫苗,协同光热疗法^[31]或光动力疗法^[32]促进DCs成熟;也可以控制磁性纳米颗粒主动移动到靶组织中^[33],增强抗原呈递;

纳米递送载体还可以调控机体免疫应答的过程,有利于溶酶体逃逸^[34-35],促进抗原呈递。

1.5 诱导黏膜免疫应答

传统的黏膜疫苗要到达黏膜免疫系统,需要克服多重黏膜屏障,如胃肠道的酸性环境,疫苗的快速清除和覆盖在黏膜上皮细胞的致密黏液层。壳聚糖^[36]、木葡聚糖^[37]等以黏液黏附性聚合物为基础的纳米疫苗可以增加抗原在黏液层表面的停留时间,持续刺激机体产生黏膜免疫和细胞免疫等免疫应答。

加入适当的佐剂可以促进黏膜纳米疫苗的免疫活化,Wang等^[38]报道了1种可吸入的混合纳米疫苗(NVRBD-MLipo)用于增强机体对SARS-CoV-2感染的保护性免疫。NVRBD-MLipo具有病毒仿生结构,通过吸入可以有效地进入肺泡巨噬细胞(AM),通过单磷酸脂质A激活的Toll样受体4(TLR4)/核因子- κ B(NF- κ B)信号通路引起AM活化。此外,NVRBD-MLipo还能诱导T细胞和B细胞活化,分泌高水平的抗受体结合结构域(RBD)特异性免疫球蛋白G(IgG)和分泌性IgA,从而增强机体的保护性黏膜免疫应答和全身免疫应答,同时减少不良反应。

2 基于纳米递送载体的疫苗在免疫治疗中的应用

纳米疫苗通过纳米递送载体共同递送抗原和佐剂,其作为一种新型的纳米制剂已被广泛用于主动免疫治疗中,可以有效补充被动免疫治疗的不足。

2.1 基于纳米递送载体的疫苗在基因治疗中的应用

基因治疗是一种利用基因技术来修复或替代患者体内缺陷基因的治疗方法,纳米疫苗作为一种特殊的递送载体,可以携带mRNA^[22,39]、DNA^[40-41]和siRNA^[42]等核酸片段进入机体诱导肿瘤细胞的凋亡和肿瘤特异性抗原的释放,触发强大的免疫应答,纳米疫苗的特殊结构和表面特性可以增强其在体内的稳定性和生物相容性,从而提高基因递送的效率 and 安全性,纳米疫苗还可以在表面引入特定的配体,使其选择性地结合于目标细胞的受体上,从而提高基因递送效率。Liu等^[43]使用甘露糖修饰的脂质/钙/磷酸盐纳米颗粒递送系统,将编码黏蛋白1(MUC1)的mRNA递送到淋巴结中的DCs细胞;将抗细胞毒T淋巴细胞相关抗原4(CTLA-4)单克隆抗体与mRNA疫苗结合使用,通过靶向T细胞的调节途径来增强抗肿瘤免疫应答。经过修饰的

纳米递送载体可以递送肿瘤特异性核酸,还可以通过联合治疗提高抗肿瘤效果。

2.2 基于纳米递送载体的疫苗在肿瘤免疫中的应用

肿瘤疫苗利用肿瘤特异性抗原或肿瘤相关抗原激活肿瘤特异性淋巴细胞,增强机体对癌症的免疫能力,然而,肿瘤疫苗的有效性受到肿瘤异质性、低免疫原性和免疫逃避机制的限制。纳米疫苗体积小、稳定性高、精准靶向和表面可修饰的优点,可以靶向肿瘤部位,重塑免疫抑制性肿瘤微环境,增强机体的抗肿瘤免疫反应。Liu等^[44]设计了1种基于胆固醇修饰的阳离子肽(DP7-C)的原位纳米疫苗用于癌症免疫治疗,该纳米疫苗混合多重 siRNA 和免疫佐剂含有非甲基化的胞嘧啶鸟嘌呤二核苷酸(CpG)的寡脱氧核苷酸(ODN)(CpG ODN),诱导肿瘤细胞凋亡以释放肿瘤相关抗原并促进 DCs 细胞的成熟,引发肿瘤相关抗原的交叉呈递和强大的效应 T 细胞反应。纳米疫苗可以通过携带多重抗原达到多价效应,多价效应使纳米疫苗减轻了 TME 中的免疫抑制,提高了抗肿瘤效果,引发更强的体液和细胞免疫反应。

此外,纳米疫苗和免疫检查点抑制剂、细胞因子等治疗药物的联合应用可以进一步增强抗肿瘤免疫应答。Liu等^[35]整合了 CD47KO/CRT 双生物工程 B16F10 癌细胞膜和未甲基化的 CpG 佐剂来构建双生物工程癌细胞膜包被的纳米颗粒(DBE@CCNPs),该疫苗能促进小鼠骨髓来源树突状细胞对抗原和佐剂的内吞作用,有效刺激 APCs,诱导其成熟和抗原交叉呈递,刺激肿瘤特异性效应 CD8⁺T 细胞,产生强大的抗肿瘤免疫应答,同时引入免疫检查点抑制剂抗程序性死亡受体配体 1(PD-L1),进一步阻断肿瘤组织对 T 细胞的免疫抑制作用。

小分子佐剂、寡脱氧核苷酸(ODN)佐剂和大分子肽抗原的药动学和物理化学性质的差异仍然是目前基于疫苗的癌症免疫治疗的主要障碍,利用纳米载体对这些药物进行包裹可以有效地进行协同递送。Ni等^[45]设计了双佐剂(R848、CpG ODN)新抗原纳米疫苗共同递送佐剂及肽新抗原,促进其向 LNs 和 LNs 驻留 APCs 的共同传递,增强先天性免疫应答并驱动适应性免疫应答。利用纳米载体将特异性抗原和佐剂合并在一起协同治疗不仅改善了新抗原在 LNs 中的滞留,还提高了 APCs 对双重佐剂的摄取。

肿瘤细胞受到外界刺激发生死亡的同时,由非免疫原性转变为免疫原性而介导机体产生抗肿瘤免疫应答的过程称为免疫原性细胞死亡(ICD),纳米疫苗还可以携带 ICD 诱导剂刺激肿瘤细胞死亡,释放抗原产生 ICD 效应协同免疫检查点抑制剂等药物放大抗肿瘤效果。Li等^[46]将 ICD 诱导剂表阿霉素(EPI)、氯化血红素(Hemin)和葡萄糖氧化酶(Gox)包埋在沸石咪唑酯骨架(ZIF-8)纳米粒中制备 EHGZ 纳米载药系统,并以钙网蛋白过表达的肿瘤细胞膜作为最外层制备 mEHGZ 纳米载药系统。mEHGZ 可以诱导级联扩增的 ICD 效应以促进 DCs 成熟和细胞毒性 T 细胞浸润到肿瘤部位以激活肿瘤免疫微环境,提高抗 PD-L1 抗体对三阴性乳腺癌恶性肿瘤的治疗效果。

2.3 基于纳米递送载体的疫苗在自身免疫性疾病中的应用

先天免疫和适应性免疫功能障碍导致自身免疫耐受性的破坏,是导致自身免疫性疾病发病的基本原因,治疗自身免疫性疾病的理想效果是消除自身抗原特异性自发免疫反应而不干扰针对其他抗原的免疫反应。治疗性纳米疫苗由于其独特的物理化学特性,可以装载自身抗原诱导产生耐受性 DCs,诱导的耐受性 DCs 可以提供非特异性免疫抑制,诱导强大的免疫反应。通过调整纳米疫苗的粒径和表面电荷可以增强 DCs 的靶向性。除了自身抗原外,纳米疫苗中还会添加雷帕霉素、地塞米松、维生素 D3 等免疫抑制剂或免疫调节剂诱导免疫耐受,提高耐受性疫苗的功效^[47]。

不同类型的纳米颗粒(NPs)如 PLGA-NPs、脂质 NPs、介孔二氧化硅 NPs 和聚多巴胺 NPs 已被研究用于治疗多发性硬化症。Phan等^[48]提出了1种耐受性治疗疫苗用于治疗多发性硬化症,该纳米疫苗基于木质素纳米颗粒装载了多发性硬化症自身抗原,可以清除活性氧抑制自由基作为细胞内信号介质的作用,诱导具有低水平调控分子表达的耐受性 DCs 和抗原特异性调节 T 细胞,产生持久的抗原特异性免疫耐受。

I 型糖尿病是一种 T 细胞依赖性自身免疫性疾病,胰岛 β 细胞被人体自身免疫系统破坏,导致胰岛素缺乏^[49]。目前正在临床试验中研究的利用免疫疗法预防或治愈 I 型糖尿病的尝试包括非抗原特异性疗法如 T/B 细胞耗竭疗法、抗炎疗法或细胞疗法和抗原特异性疗法如口服/鼻用胰岛素、明矾制 GAD65、胰岛素原肽或 DiaPep277^[50]。Chen^[51]开发

了1种基于M细胞靶向肽精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸和DCs靶向配体甘露糖修饰的壳聚糖纳米颗粒的递送系统,用于促进抗原热休克蛋白65-6xP277(H6P)向肠道Peyer斑中的DCs递送,诱导T细胞耐受以预防自身免疫性糖尿病,为口服递送自身抗原诱导耐受性提供了一个理想平台。

传统的嵌合抗原受体(CAR)T细胞使用慢病毒或 γ 逆转录病毒载体对T细胞进行永久性基因修饰,存在基因毒性风险和监管挑战,且CAR-T细胞可能会永久存在于人体。基于mRNA的CAR-T细胞提供了一种策略,即向T细胞输送CAR编码的mRNA,而不永久改变其基因组。这种方法无需清淋治疗,具有可预测、可控制的药动学,允许门诊给药和可避免基因组整合和癌症转化的风险等优点。基于mRNA的CAR-T细胞的首次临床应用是针对B细胞成熟抗原(BCMA)治疗重症肌无力, Cartesian Therapeutics, Inc. 公布了mRNA细胞疗法先导候选药物Descartes-08在重症肌无力患者中进行的1b/2a期试验的12个月随访数据,在这项研究中,Descartes-08显示安全且耐受性良好,在长达9个月的随访中,Descartes-08输注后肌萎缩严重程度量表出现了有临床意义的下降^[52]。因此,基于mRNA的CAR-T疗法可以作为一种治疗重症肌无力和其他自身免疫性疾病的潜在新方法,具有广阔前景。

3 基于纳米递送载体的疫苗在传染病预防中的应用

纳米疫苗可以通过诱发机体免疫反应对多种病原体进行有效的预防和控制,如病毒、细菌和寄生虫等。对纳米递送载体进行表面修饰有助于加强抗原与黏膜组织中黏液层之间的相互作用,更有效地靶向黏膜免疫系统,选择合适的纳米材料可以使纳米疫苗黏附在黏膜上形成抗原库,持续刺激机体产生黏膜免疫。木葡聚糖表面带正电荷,可以通过静电作用与带负电的黏液表面结合。Vyas等^[37]开发了1种用于布鲁氏菌的亚单位纳米疫苗,采用了已知的可用于触发体液和细胞免疫的免疫佐剂皂苷^[53-54];该纳米疫苗通过包含木葡聚糖作为具有优异黏附潜力的载体,还可以长时间地增强免疫细胞活性、延长抗原呈递,布鲁氏菌病特有的黏膜和全身免疫反应可以通过鼻内给药得到有效加强。实验结果显示该纳米疫苗在雌性Balb/c小鼠体内引发长时间的体液免疫和细胞免疫,经鼻腔给药后,该纳米疫苗诱导了更高IgG2a水平的混合Th1/Th2

型免疫,从而产生了极化的Th1应答。Renu等^[55]将甘露糖配体与壳聚糖(mCS)结合,配制了灭活猪甲型流感病毒(SwIAV)抗原(KAg)包封的mCs NPs-KAg疫苗,在母源性抗体(MDA)阳性猪中,经鼻腔注射的mCS NPs-KAg疫苗能够增加同源性H1N2-OH10病毒特异性血清血凝抑制(HI)的滴度,增强细胞因子[IL-4、IL-10和 γ 干扰素(IFN- γ)]的基因表达以清除病毒。在该纳米疫苗中,壳聚糖以I型IFN受体依赖的方式促进DCs细胞成熟,从而增强T细胞反应。

纳米疫苗还可以增强免疫激活途径来提高免疫反应,如黏液黏附性纳米疫苗、M细胞和白细胞功能增强的纳米疫苗,经过配体修饰的纳米粒子具有更强的M细胞或DCs细胞靶向功能。Du等^[56]开发了一种包裹在荆豆凝集素1(UEA-1)修饰的PLGA NPs(UEA-1/PLGA-SynORF5)中的猪繁殖与呼吸综合征病毒(PRRSV)DNA疫苗,PLGA NPs可以保护PRRSV编码的糖蛋白(GP5)免于暴露于胃肠道,由M细胞有效运输,将抗原从肠腔运输到下方淋巴组织从而产生黏膜免疫反应,可以显著刺激小鼠和仔猪血清中的IgG水平和胃肠道IgA水平。

通过将病原体相关蛋白、表位或DNA/RNA等抗原与纳米材料结合,可以增强抗原的稳定性和免疫原性,提高疫苗预防和治疗的效果。铁蛋白易被修饰及良好的生物相容性和LNs靶向性使其在纳米疫苗中广泛应用,铁蛋白是由一定数目的亚基以对称内部为铁和磷酸盐分子构成的内核,具有很强的热稳定性和化学稳定性以及蛋白亚基解体(pH值2.66~3.40)后可重新恢复原结构(pH值7.0)的特性,铁蛋白亚基能够自组装成纳米笼,装载和运输药物^[57-58],一些铁蛋白载体候选疫苗已在临床试验中被证明是安全和免疫原性的(NCT03186781和NCT03814720)^[59]。Qiao等^[60]将血凝素茎杆部的CD螺旋和3个重复的基质蛋白2胞外结构域(M2e)在铁蛋白的n端分别或串联融合,通过E.coli表达系统得到融合蛋白(3MCD-f),并在小鼠模型中证明3MCD-f纳米疫苗能够诱导强大的体液和细胞免疫反应,包括大量的CD4⁺T、CD8⁺T细胞和Th1、Th2细胞因子反应,此外,铁蛋白NPs的自佐剂活性使该纳米疫苗引起了强大的免疫应答,诱导了对H1N1和H3N2病毒的交叉保护免疫反应。

4 展望

基于纳米递送载体的纳米疫苗是一种新兴的生物医学技术,具有广阔的应用前景,但仍然存在

一些局限性。首先,纳米疫苗的制备过程较为复杂,需要使用先进的纳米技术和材料,生产成本相比于传统疫苗较高,限制了纳米疫苗的大规模生产和普及。在安全性上,纳米疫苗需要选择合适的纳米材料作为载体,如何筛选合适的材料在保证其有效性的同时使其在稳定性、毒性和生物相容性上表现良好是亟需解决的问题,目前研究的纳米疫苗的体内免疫原性和安全性的评估暂时停留在啮齿类动物层面,对于载体的选择和安全性评估需要进行深入研究。此外,纳米疫苗在体外的稳定性和保存条件也有一定的挑战,需要考虑合理的包装和运输手段来确保其质量。

在过去几十年间,纳米技术的快速发展为纳米医学和疫苗的开发奠定了基础。如何进行外层纳米材料的设计对传染病预防和疾病治疗具有重要意义。除此之外,对于传染病预防来说,开发新型的免疫原以诱导更强大的记忆性免疫应答至关重要,而安全性和免疫系统的级联应答在肿瘤纳米疫苗的开发中也是需要关注的重点。将纳米材料与抗原、佐剂结合在一起,如何平衡疫苗整体的免疫原性和毒性是未来亟需考虑的重点。对于纳米疫苗的效果而言,其持续保护效果和预防复发还需要更多的实验和临床研究来验证。一些需要长期免疫保护的疾病如艾滋病、结核病等,纳米疫苗是否能够提供持久的保护还需要进一步的探索。

总之,纳米疫苗虽然具有许多潜力和优势,但在应用过程中仍面临一些技术上的限制。未来的研究仍需要不断进行科学研究和技术创新以确保纳米疫苗的安全性、有效性和质量可控,相信基于纳米载体的纳米疫苗将在传染病和肿瘤防治领域发挥重要作用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Fan X, Liang J. Recombinant Bacillus Calmette-Guerin vaccine contains Bacillus Calmette-Guerin vaccines overexpressing antigen 85A, antigen 85B, and antigen HspX, China: CN104474538-A [P]. [2015-01-02].
- [2] Couch R B, Decker W K, Utama B, et al. Evaluations for *in vitro* correlates of immunogenicity of inactivated influenza a H5, H7 and H9 vaccines in humans [J]. PLoS One, 2012, 7(12): e50830.
- [3] de Donato S, Granoff D, Minutello M, et al. Safety and immunogenicity of MF59-adjuvanted influenza vaccine in the elderly [J]. Vaccine, 1999, 17(23/24): 3094-3101.
- [4] Choi K C, Lee D H, Lee J W, et al. Novel lipid nanoparticles stable and efficient for mRNA transfection to antigen-presenting cells [J]. Int J Mol Sci, 2024, 25(3): 1388.
- [5] Elia U, Ramishetti S, Rosenfeld R, et al. Design of SARS-CoV-2 hFc-conjugated receptor-binding domain mRNA vaccine delivered via lipid nanoparticles [J]. ACS Nano, 2021, 15(6): 9627-9637.
- [6] Qin S G, Huang H, Xiao W, et al. A novel heterologous receptor-binding domain dodecamer universal mRNA vaccine against SARS-CoV-2 variants [J]. Acta Pharm Sin B, 2023, 13(10): 4291-4304.
- [7] Chen K P, Fan N, Huang H, et al. mRNA vaccines against SARS-CoV-2 variants delivered by lipid nanoparticles based on novel ionizable lipids [J]. Adv Funct Mater, 2022, 32(39): 2204692.
- [8] Sartor O. Sipuleucel-T (Provenge®) for castration-resistant prostate cancer [J]. BJU Int, 2012, 110(2 Pt 2): E105.
- [9] Jiang X Y, Wang J, Zheng X C, et al. Intratumoral administration of STING-activating nanovaccine enhances T cell immunotherapy [J]. J Immunother Cancer, 2022, 10(5): e003960.
- [10] Yang Y, Wang N, Tian X X, et al. Synergy of polydopamine nanovaccine and endostar alginate hydrogel for improving antitumor immune responses against colon tumor [J]. Int J Nanomed, 2022, 17: 4791-4805.
- [11] Matos A I, Peres C, Carreira B, et al. Polyoxazoline-based nanovaccine synergizes with tumor-associated macrophage targeting and anti-PD-1 immunotherapy against solid tumors [J]. Adv Sci, 2023, 10(25): e2300299.
- [12] Jain R K, Stylianopoulos T. Delivering nanomedicine to solid tumors [J]. Nat Rev Clin Oncol, 2010, 7(11): 653-664.
- [13] Cai T, Liu H N, Zhang S, et al. Delivery of nanovaccine towards lymphoid organs: Recent strategies in enhancing cancer immunotherapy [J]. J Nanobiotechnol, 2021, 19(1): 389.
- [14] Liang K F, Sun Y Z, Xie L Z, et al. Biologically self-assembled tumor cell-derived cancer nanovaccines as an all-in-one platform for cancer immunotherapy [J]. ACS Nano, 2024, 18(8): 6702-6717.
- [15] Jiang H, Wang Q, Sun X. Lymph node targeting strategies to improve vaccination efficacy [J]. J Control Release, 2017, 267: 47-56.
- [16] Ding Y, Yang J, Wei H, et al. Construction of pH-sensitive nanovaccines encapsulating tumor cell lysates and immune adjuvants for breast cancer therapy [J].

- Small, 2023, doi: 10.1002/sml.202301420.
- [17] Vaupel P, Kallinowski F, Okunieff P. Blood flow, oxygen and nutrient supply, and metabolic microenvironment of human tumors: A review [J]. *Cancer Res*, 1989, 49(23): 6449-6465.
- [18] Xu Y D, Ma S, Zhao J Y, et al. Mannan-decorated pathogen-like polymeric nanoparticles as nanovaccine carriers for eliciting superior anticancer immunity [J]. *Biomaterials*, 2022, 284: 121489.
- [19] Lu X G, Miao L, Gao W T, et al. Engineered PLGA microparticles for long-term, pulsatile release of STING agonist for cancer immunotherapy [J]. *Sci Transl Med*, 2020, 12(556): eaaz6606.
- [20] Ni Q K, Xu F F, Wang Y F, et al. Nanomaterials with changeable physicochemical property for boosting cancer immunotherapy [J]. *J Control Release*, 2022, 342: 210-227.
- [21] Niikura K, Matsunaga T, Suzuki T, et al. Gold nanoparticles as a vaccine platform: Influence of size and shape on immunological responses *in vitro* and *in vivo* [J]. *ACS Nano*, 2013, 7(5): 3926-3938.
- [22] Zhou L, Yi W Z, Zhang Z H, et al. STING agonist-boosted mRNA immunization via intelligent design of nanovaccines for enhancing cancer immunotherapy [J]. *Natl Sci Rev*, 2023, 10(10): nwad214.
- [23] Wang K Y, Zhang X B, Ye H, et al. Biomimetic nanovaccine-mediated multivalent IL-15 self-transpresentation (MIST) for potent and safe cancer immunotherapy [J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 6748.
- [24] Prego C, Paolicelli P, Díaz B, et al. Chitosan-based nanoparticles for improving immunization against hepatitis B infection [J]. *Vaccine*, 2010, 28(14): 2607-2614.
- [25] DeLong R K, Comer J, Mathew E N, et al. Comparative molecular immunological activity of physiological metal oxide nanoparticle and its anticancer peptide and RNA complexes [J]. *Nanomaterials*, 2019, 9(12): 1670.
- [26] Guo Y Y, Wang D, Song Q L, et al. Erythrocyte membrane-enveloped polymeric nanoparticles as nanovaccine for induction of antitumor immunity against melanoma [J]. *ACS Nano*, 2015, 9(7): 6918-6933.
- [27] Cho H, Lee H J, Heo Y K, et al. Immunogenicity of a trivalent human papillomavirus L1 DNA-encapsidated, non-replicable baculovirus nanovaccine [J]. *PLoS One*, 2014, 9(4): e95961.
- [28] Sheng Y N, Li Z J, Lin X, et al. *In situ* bio-mineralized Mn nanoadjuvant enhances anti-influenza immunity of recombinant virus-like particle vaccines [J]. *J Control Release*, 2024, 368: 275-289.
- [29] Zheng A X, Ning Z Y, Wang X R, et al. Human serum albumin as the carrier to fabricate STING-activating peptide nanovaccine for antitumor immunotherapy [J]. *Mater Today Bio*, 2024, 25: 100955.
- [30] Chang M Y, Wang M, Liu B, et al. A cancer nanovaccine based on an FeAl-layered double hydroxide framework for reactive oxygen species-augmented metalloimmunotherapy [J]. *ACS Nano*, 2024, 18(11): 8143-8156.
- [31] Huang D Q, Wu T, Lan S Y, et al. *In situ* photothermal nano-vaccine based on tumor cell membrane-coated black phosphorus-Au for photo-immunotherapy of metastatic breast tumors [J]. *Biomaterials*, 2022, 289: 121808.
- [32] Li J X, Hu B F, Chen Z L, et al. Mn(III)-mediated carbon-centered radicals generate an enhanced immunotherapeutic effect [J]. *Chem Sci*, 2024, 15(2): 765-777.
- [33] Huang L H, Liu Z H, Wu C J, et al. Magnetic nanoparticles enhance the cellular immune response of dendritic cell tumor vaccines by realizing the cytoplasmic delivery of tumor antigens [J]. *Bioeng Transl Med*, 2023, 8(2): e10400.
- [34] Liu Q, Chu Y H, Shao J, et al. Benefits of an immunogenic personalized neoantigen nanovaccine in patients with high-risk gastric/gastroesophageal junction cancer [J]. *Adv Sci*, 2022, 10(1): e2203298.
- [35] Liu S Y, Wu J Y, Feng Y J, et al. CD47KO/CRT dual-bioengineered cell membrane-coated nanovaccine combined with anti-PD-L1 antibody for boosting tumor immunotherapy [J]. *Bioact Mater*, 2023, 22: 211-224.
- [36] Zhuo S H, Wu J J, Zhao L, et al. A chitosan-mediated inhalable nanovaccine against SARS-CoV-2 [J]. *Nano Res*, 2022, 15(5): 4191-4200.
- [37] Vyas S, Dhoble S, Ghodake V, et al. Xyloglucan based mucosal nanovaccine for immunological protection against brucellosis developed by supercritical fluid technology [J]. *Int J Pharm X*, 2020, 2: 100053.
- [38] Wang S Q, Ding P Y, Shen L L, et al. Inhalable hybrid nanovaccines with virus-biomimetic structure boost protective immune responses against SARS-CoV-2 variants [J]. *J Nanobiotechnol*, 2024, 22(1): 76.
- [39] Shi L, Yang J X, Nie Y, et al. Hybrid mRNA nano vaccine potentiates antigenic peptide presentation and dendritic cell maturation for effective cancer vaccine therapy and enhances response to immune checkpoint blockade [J]. *Adv Healthc Mater*, 2023, 12(32): e2301261.
- [40] Guimaraes L C, Costa P A C, Scalzo Júnior S R A, et al. Nanoparticle-based DNA vaccine protects against SARS-

- CoV-2 variants in female preclinical models [J]. Nat Commun, 2024, 15(1): 590.
- [41] Xu S G, Lan H L, Teng Q Y, et al. An immune-enhanced multivalent DNA nanovaccine to prevent H7 and H9 avian influenza virus in mice [J]. Int J Biol Macromol, 2023, 251: 126286.
- [42] Phung C D, Tran T H, Nguyen H T, et al. Nanovaccines silencing IL-10 production at priming phase for boosting immune responses to melanoma [J]. J Control Release, 2021, 338: 211-223.
- [43] Liu L N, Wang Y H, Miao L, et al. Combination immunotherapy of MUC1 mRNA nano-vaccine and CTLA-4 blockade effectively inhibits growth of triple negative breast cancer [J]. Mol Ther, 2018, 26(1): 45-55.
- [44] Liu M H, Xie D Y, Hu D, et al. *In situ* cocktail nanovaccine for cancer immunotherapy [J]. Adv Sci, 2023, 10(31): e2207697.
- [45] Ni Q Q, Zhang F W, Liu Y J, et al. A bi-adjutant nanovaccine that potentiates immunogenicity of neoantigen for combination immunotherapy of colorectal cancer [J]. Sci Adv, 2020, 6(12): eaaw6071.
- [46] Li Z L, Cai H, Li Z Q, et al. A tumor cell membrane-coated self-amplified nanosystem as a nanovaccine to boost the therapeutic effect of anti-PD-L1 antibody [J]. Bioact Mater, 2023, 21: 299-312.
- [47] Tang Y H, Li L L. The application of nanovaccines in autoimmune diseases [J]. Int J Nanomed, 2024, 19: 367-388.
- [48] Phan N M, Nguyen T L, Shin H, et al. ROS-scavenging lignin-based tolerogenic nanoparticle vaccine for treatment of multiple sclerosis [J]. ACS Nano, 2023, 17 (24): 24696-24709.
- [49] van Belle T L, Coppieters K T, von Herrath M G. Type 1 diabetes: Etiology, immunology, and therapeutic strategies [J]. Physiol Rev, 2011, 91(1): 79-118.
- [50] Lernmark A, Larsson H E. Immune therapy in type 1 diabetes mellitus [J]. Nat Rev Endocrinol, 2013, 9(2): 92-103.
- [51] Chen Y L, Wu J, Wang J J, et al. Targeted delivery of antigen to intestinal dendritic cells induces oral tolerance and prevents autoimmune diabetes in NOD mice [J]. Diabetologia, 2018, 61(6): 1384-1396.
- [52] Granit V, Benatar M, Kurtoglu M, et al. Safety and clinical activity of autologous RNA chimeric antigen receptor T-cell therapy in myasthenia gravis (MG-001): A prospective, multicentre, open-label, non-randomised phase 1b/2a study [J]. Lancet Neurol, 2023, 22(7): 578-590.
- [53] Cibulski S P, Silveira F, Mourglia-Ettlin G, et al. *Quillaja brasiliensis* saponins induce robust humoral and cellular responses in a bovine viral diarrhea virus vaccine in mice [J]. Comp Immunol Microbiol Infect Dis, 2016, 45: 1-8.
- [54] Cibulski S P, Mourglia-Ettlin G, Teixeira T F, et al. Novel ISCOMs from *Quillaja brasiliensis* saponins induce mucosal and systemic antibody production, T-cell responses and improved antigen uptake [J]. Vaccine, 2016, 34(9): 1162-1171.
- [55] Renu S, Feliciano-Ruiz N, Patil V, et al. Immunity and protective efficacy of mannose conjugated chitosan-based influenza nanovaccine in maternal antibody positive pigs [J]. Front Immunol, 2021, 12: 584299.
- [56] Du L P, Yu Z Y, Pang F J, et al. Targeted delivery of GP5 antigen of PRRSV to M cells enhances the antigen-specific systemic and mucosal immune responses [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2018, 8: 7.
- [57] Zhang Y, Orner B P. Self-assembly in the ferritin nanocage protein superfamily [J]. Int J Mol Sci, 2011, 12(8): 5406-5421.
- [58] Kim M, Rho Y, Jin K S, et al. pH-dependent structures of ferritin and apoferritin in solution: Disassembly and reassembly [J]. Biomacromolecules, 2011, 12(5): 1629-1640.
- [59] Powell A E, Zhang K M, Sanyal M, et al. A single immunization with spike-functionalized ferritin vaccines elicits neutralizing antibody responses against SARS-CoV-2 in mice [J]. ACS Cent Sci, 2021, 7(1): 183-199.
- [60] Qiao Y B, Zhang Y X, Chen J, et al. A biepitope, adjuvant-free, self-assembled influenza nanovaccine provides cross-protection against H3N2 and H1N1 viruses in mice [J]. Nano Res, 2022, 15(9): 8304-8314.

[责任编辑 刘东博]