

# 疫苗输送系统研究进展

王新卫<sup>1,2</sup> 何宏轩<sup>2△</sup>

(1 河南农业大学牧医工程学院 河南 郑州 450002 2 中国科学院动物所 北京 100101)

**摘要** 随着疫苗学的发展,疫苗配方出现改进,疫苗内除含有抗原与佐剂成份外,还有输送系统。疫苗输送系统对于蛋白亚单位、核酸等疫苗的作用尤为重要,其除具有与其它佐剂一样能增强免疫应答外,可以较长时间内刺激动物免疫系统,减少免疫次数,从而降低费用。疫苗输送系统对开发防控人类和动物疫病的新疫苗具有重要的理论与现实意义。笔者就近年来疫苗输送系统的研究进展做一综述。

**关键词** 疫苗 输送系统 进展

中图分类号:R457.2 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2009)06-1192-03

## Advancement on the Study for Vaccine Delivery System

WANG Xin-Wei<sup>1,2</sup>, HE Hong-Xuan<sup>2</sup>

(1 College of Animal Husbandry and Veterinary, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China;

2 Institute of Zoology, Chinese Academy of Science, Beijing, 100080, China)

**ABSTRACT:** With development of vaccinology, vaccine formulation has been improved. Vaccine delivery system becomes a part of vaccines besides adjuvant and antigen. Vaccine delivery system plays a great role in the vaccines such as subunit protein and DNA vaccine. It could not only promote the immune response like other adjuvant but also stimulate the immunity system of animals in a longer time. As a result, vaccine delivery system could lessen the times of immune inoculation and cut down the cost in practical application. It would display both theoretical and realistic significance in exploiting novel vaccines against diseases of human and animal. Therefore the present advancement on the study for vaccine delivery system was summarized in this review.

**Key words:** Vaccine; Delivery system; Progress

**Chinese Library Classification:** R457.2 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2009)06-1192-03

近年来,以缓释给药、靶向给药等为代表的三、四代给药系统成为药物新技术和新剂型研究的热点,并取得了一定成果[1]。在人类和动物传染病防控领域,疫苗输送系统(vaccine delivery system, VDS)的研究也得到发展,其内涵是指一类物质能将抗原携带至机体的免疫系统,并在较长时间内贮存抗原使其发挥作用的物质。因此,VDS就是具有物理结构的运送工具,确保将疫苗递呈给抗原递呈细胞(antigen-presenting cell, APC),或者起到长时间稳定抗原和缓释抗原活性的作用。目前已研究出有多种VDS,如缓释VDS、口服VDS、黏膜VDS等<sup>[1]</sup>,这些VDS在减少疫苗接种次数和降低接种脱漏率、提高疫苗储运管理效率以及简化接种方式、减低费用等方面具有重要意义。

### 1 脂质体

脂质体是人工合成外被脂双层的微球,抗原包被在其内,即可用于疫苗传递工具,也可以用于佐剂。脂质体适合作为膜蛋白和可溶性抗原的载体,可稳定膜蛋白结构或保护可溶性蛋白不被过早降解。脂质体的效能取决于脂双层的数量、电荷、组成以及制备方法<sup>[2-4]</sup>。其作用机制为:大多数真核细胞带负电荷,

因此带正电荷的脂质体可结合于抗原呈递细胞(APC)和其他细胞,使之更好地摄取抗原并诱导体内细胞毒性T淋巴细胞和体液免疫应答。结合使用APC特异性配体或抗体作受体,包括甘露糖受体、Fc受体、表面IgG或主要组织相容性复合体(MHC)分子,可提高抗原对APC的特异性。近年来的研究表明,通过选择脂质体的脂质成分,表面耦合脂质类的抗原可用于构建肿瘤疫苗--传递肿瘤抗原到APC和诱导抗肿瘤免疫反应。诱导耦合脂质体抗原的交叉递呈能力较由不饱和脂肪酸组成的抗原高。这在体内CTL的诱导和小鼠肿瘤消除实验中进一步得以证实<sup>[5]</sup>。

脂质体是较好的抗原递呈系统。脂质包裹DNA和蛋白质的协同效应已经证明,并超过了已知DNA和脂质体的佐剂效应。免疫的新途径被称为“共传递”,它可同时经由MHC I类(DNA)和MHC II类(蛋白质)途径递呈到CD8<sup>+</sup>和CD4<sup>+</sup>细胞,这种递呈模式也开辟了其新的用途<sup>[6]</sup>,但其稳定性、制造技术、质量等问题已成为阻碍脂质体用作输送系统或者佐剂的主要因素,需要进一步研究。

### 2 聚合微球

在微粒和多聚物系统中,多聚微球(1~100 $\mu$ m)已经被深入研究。也有一些具有生物相容性和生物可降解性的能结合不同抗原的纳米微球。其优点之一是能通过改变其组分的相对浓度操纵降解机制,从而控制抗原的释放时间<sup>[7,8]</sup>。其作用表现在<sup>[9]</sup>:

作者简介:王新卫,博士后,从事分子免疫学研究,

Email:xinweiciff@126.com

△通讯作者:何宏轩,研究员, Tel:010-64807118, hehx@ioz.ac.cn

(收稿日期:2008-10-12 接受日期:2008-11-25)

(1)作为真正的传递载体,阻止抗原过早降解,这时粒子必须小得可被APC处理,即 $<10\mu\text{m}$ 。(2)起控释作用。微球体存留于注射部位,通过抗原扩散、微球体分解或聚合物降解,抗原被释放并被免疫系统识别。抗原释放可以是连续的,或多或少模拟感染时的状态,或脉冲释放,类似加强注射。虽然在体外可以模拟每一种释放模式,但免疫抗原是否依赖于释放模式或可被释放模式所改变还不清楚。例如,现在还不清楚脉冲释放还是持续释放可产生最佳免疫应答。其原因可能是:(1)存在大量 $<10\mu\text{m}$ 的可吞噬小微球体--这些小粒子有助于产生免疫应答。(2)围绕注射部位形成纤维囊和胶原沉积--可使最后阶段抗原释放减少。(3)抗原的不稳定性--由于高温和蛋白水解酶的存在,抗原注射后可能会变质。(4)由微球体、聚合物或其片段产生的附加佐剂效果。这些因素妨碍了对最佳释放方式进行清晰的评估,但也不应忽略抗原释放动力学对免疫应答的作用。

近年来的研究表明,一种表面吸附抗原的聚丙乙交酯(poly lactide co-glycolide, PLG)微粒子也能用于传递抗原到APC,用做疫苗传递系统,是可吸附多种抗原包括质粒DNA、重组蛋白和免疫调控寡核苷酸的阳离子,比明矾制剂更为显著地刺激动物肌体产生免疫反应。并在与多肽疫苗、核酸疫苗和重组的HIV抗原等合用中是安全的,而且能增强体液和细胞免疫反应。因此,在疫苗设计中,表面吸附微球提供一种替代选择和新的抗原递呈途径<sup>[10]</sup>,应进一步深入研究。

### 3 纳米粒子

以前的研究表明,应用表面吸附抗原的惰性固相粒子可以刺激 $\text{CD}8^+$ 细胞免疫反应,最理想的粒子直径在1微米,小于0.5微米的粒子在为MHC I类限制性递呈中,把抗原传递到T细胞的效果较差<sup>[11]</sup>。近年来,又有报道:惰性固相纳米粒子(直径在0.04-0.05微米)是可用于达到有效抗原传递(到APC)作用最理想的粒子,其可以产生强烈的复合型免疫反应,如体液和 $\text{CD}8^+$ 细胞免疫反应<sup>[12]</sup>,也同样被认为是刺激免疫反应的主要佐剂。通过在肿瘤攻毒实验中,抗原聚合物纳米珠不仅能抗肿瘤,也可在一次免疫后2周内清除大部分已经建立的肿瘤细胞块<sup>[12]</sup>,这证实了这种新型纳米疫苗的不同寻常的潜力。大量动物实验表明,与明矾佐剂相比,纳米佐剂诱导细胞介导的免疫反应,并伴有适度的体液免疫反应。一些纳米颗粒与流感、HIV等抗原合用,有很好的佐剂效果。将纳米颗粒用于口服、注射、植入等传递系统,可以提高药物和疫苗的生物利用度,取得了不少成果。因此,纳米颗粒具有用于人类细胞内病原的免疫(的治疗性和预防性疫苗中)的潜力,同样也可用于动物<sup>[13]</sup>,为研制新型动物疫苗奠定了基础。

### 4 免疫刺激复合物

免疫刺激复合物是由皂草甙(Quil A)、类脂、胆固醇和抗原组成的40nm粒子,其靠前三成分间的疏水作用结合在一起。胆固醇是配基,可以结合到皂草甙(Quil A)形成12nm环。这些环通过类脂可被固定在一起形成球形纳米微粒。疏水或者两性分子抗原能被整合到该复合物。他们是灵活的多种用途传递系统,并可以提高抗原递呈到B细胞的效率和被APC的吸

收<sup>[14]</sup>。

除了不含有抗原成分外,ISCOMATRIX免疫复合物介质与免疫刺激复合物ISCOMs相同。该佐剂可混合抗原,也具有一些ISCOMs的优点,如优先递呈抗原到APC。在动物实验中,ISCOMATRIX?基础上的疫苗可刺激产生IgA粘膜免疫<sup>[15]</sup>。然而,获得免疫反应不同于ISCOMs<sup>®</sup>,因为ISCOMATRIX?诱导Th2样细胞免疫反应是基于ISCOMs<sup>®</sup>的疫苗诱导混合型Th1/Th2免疫反应。

皂草甙(Quil A)在ISCOMs<sup>®</sup>-疫苗上的应用保留了皂草甙成分的佐剂活性,其毒性降低。皂草甙佐剂微粒疫苗具有发展为一种新型疫苗的巨大潜力。最近的综述阐述了其实际应用<sup>[16,17]</sup>。可见,免疫刺激复合物介质有望成为另一种具有潜在应用价值的疫苗输送系统,给新型疫苗的研制提供了又一新的输送系统。

### 5 病毒样粒子

病毒样粒子是空的病毒衣壳,不含有病毒本身的DNA/RNA。然而,他们仍保留病毒的结构和能被附加抗原。与病毒大小形状类似的以及通过基因工程获得的含有病毒/非病毒抗原的粒子也可称为病毒样粒子。病毒样粒子展示的抗原可有效地被树突状细胞吸收,在注射、粘膜和经皮免疫接种后,能引起动物机体的强免疫应答<sup>[18-19]</sup>。在病毒样粒子上,重复载荷抗原,如一些病毒衣壳上的抗原,可有效地结合B细胞受体,因此可以诱导强IgG反应。近来的研究表明,从变应原Der p 1到来自噬菌体(Qbeta-Der p 1)的病毒样粒子的共价耦合肽,其免疫原性增强,提高了变应原特异性免疫治疗的效果<sup>[20]</sup>。在疫苗学发展历史上,最典型的例子是重组乙肝表面抗原--在酿酒酵母和毕赤酵母系统生产的病毒样粒子。作为一个可有效预防乙肝的疫苗,它已经被应用了15年以上。2006年6月8日,美国的食物药品管理局(FDA)通过/允许人类乳头瘤病毒(HPV)疫苗用于临床,该疫苗是含有HPV 6、11、16、18的重组病毒样粒子并含有铝佐剂。对接受抗原作为病毒样粒子用于设计新疫苗,具有很大的进步。

从1998年以来,病毒样粒子疫苗得到迅速发展。如作为通过鼻粘膜治疗性疫苗的代表--基于表面和核乙肝病毒抗原治疗慢性乙肝。小鼠实验表明,该疫苗可诱导产生较强的免疫力,细胞和体液免疫反应能力优于商业疫苗。这些结果进一步地证实和支持发展控制HBV的Th1免疫应答治疗疫苗希望<sup>[21,22]</sup>。近年来,一期临床试验已经证实该鼻接种疫苗,以相对接种剂量较低,具有较好的安全性和免疫原性。这也是第一个通过鼻接种治疗乙肝,利用含在配方内病毒样粒子的交叉佐剂与传递效应疫苗的典型例子<sup>[21-23]</sup>。

### 6 菌影系统

菌影系统是一种新型的疫苗传递系统,也具有内在的佐剂作用<sup>[24]</sup>。菌影是一种无生命的革兰氏阴性菌包膜,无胞质内容物,但保持了细胞形态和天然表面抗原结构,包括生物黏附特性。用PhiX174蛋白E裂解革兰氏阴性菌能获得菌影。菌影制剂的内在佐剂性能增强包括包膜结合抗原的免疫应答,包括T细胞活化和黏膜免疫。由于在PhiX174蛋白E介导的裂解之

前,天然和外源性抗原能在菌影复合物上表达,因此,多种来源的抗原可同时递呈给免疫系统。而且,扩展的菌影系统为将DNA编码的抗原特异性导向APC提供了技术平台。这种新的疫苗传递系统安全、价廉,特别适合用于制备联合疫苗,有望成为进一步研究的热点。

## 7 结语

疫苗输送系统主要决定于在诱导免疫反应中抗原递呈系统是否成功,如微粒性质。疫苗的化学成分决定什么型的免疫反应发生,如B细胞将产生哪种抗体、T细胞将分泌什么细胞因子,或者免疫反应受混合入抗原内的免疫调控或者共刺激分子的控制<sup>[25]</sup>。抗原微粒递呈系统如脂质体、多聚微球、纳米珠、免疫刺激复合物、病毒样粒子、菌影系统等已经被广泛地用作蛋白质亚单位和DNA疫苗的运输载体。但应进一步研究和阐明其在疫苗配方设计中的比例以及与其尺寸大小和化学本质有关的生物学作用及其作用机制<sup>[26]</sup>,为发展与研制防控人类和动物疫病的新疫苗提供优质输送系统。

### 参考文献(References)

[1] 董德祥.疫苗技术基础与应用(第一版)[M].北京:化学工业出版社,2002:64-65  
Dong De-xiang. Vaccine technique base and application (First Edition) [M]. Beijing. Chemistry industry publishing press, 2002, 64-65

[2] Allison AC, Gregoriadis G. Liposomes as immunological adjuvants [J]. Nature, 1974, 252:252-8

[3] Mariusz Kępczyński, Kinga Nawalany, Marta Kumorek, et al. Which physical and structural factors of liposome carriers control their drug-loading efficiency? [J]. Chemistry and Physics of Lipids. 2008, 155(1): 7-15

[4] Ulrich Massing, Sanja Cicko, Vittorio Ziroli. Dual asymmetric centrifugation (DAC)-A new technique for liposome preparation [J]. Journal of Controlled Release, 2008, 125(1):16-24

[5] Taneichi M, Ishida H, Kajino K, et al. Antigen chemically coupled to the surface of liposomes are crosspresented to CD8<sup>+</sup> T cells and induce potent antitumor immunity [J]. J Immunol, 2006, 177:2324-30

[6] Laing P, Bacon A, McCormack B, et al. The co-delivery approach to liposomal vaccines: application to the development of influenza-A and hepatitis-B vaccine candidates [J]. J Liposome Res, 2006, 16: 229-35

[7] Eldrige JH, Staas JK, Meulbroek JA, et al. Biodegradable microspheres as a vaccine delivery system [J]. Mol Immunol, 1991, 28:287-90

[8] Eldrige JH, Staas JK, Meulbroek JA, et al. Biodegradable and biocompatible poly (dl-lactide-co-glycolide) microspheres as an adjuvant for Staphylococcal enterotoxin B toxoid which enhances the level of toxin-neutralizing antibodies [J]. Infect Immun, 1991, 59:2978-83

[9] Zhao Zhi-jing. Antigen transmission system [J]. Journal of international biologicals. 2006, 29(2):74-75(In Chinese)

[10] Singh M, Kazzaz J, Ugozzoli M, et al. Polylactide-co-glycolide microparticles with surface adsorbed antigens as vaccine delivery sys-

tems [J]. Curr Drug Deliv, 2006, 3:115-20

[11] Falo Jr LD, Kovacovics-Bankowski M, Thompson K, et al. Targeting antigen into the phagocytic pathway in vivo induces protective tumour immunity [J]. Nat Med, 1995, 1:649-53

[12] Fifis T, Gamvrellis A, Crimeen-Irwin B, et al. Size-dependent immunogenicity: therapeutic and protective properties of nano-vaccines against tumors [J]. J Immunol, 2004, 173:3148-54

[13] Scheerlinck JP, Gloster S, Gamvrellis A, et al. Systemic immune responses in sheep, induced by a novel nano-bead adjuvant [J]. Vaccine, 2006, 24:1124-31

[14] Cox E, Verdonck F, Vanrompay D, et al. Adjuvants modulating mucosal immune responses or directing systemic responses towards the mucosa [J]. Vet Res, 2006, 37:511-39

[15] Pearse MJ, Drane D. ISCOMATRIX adjuvant for antigen delivery [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2005, 57:465-74

[16] Wikman M, Friedman M, Pinitkiatisakul S, et al. Achieving directed immunostimulating complexes incorporation [J]. Expert Rev Vaccines, 2006, 5:395-403

[17] Skene CD, Sutton P. Saponin-adjuvanted particulate vaccines for clinical use [J]. Methods, 2006, 40:53-9

[18] Young SL, Wilson M, Wilson S, et al. Transcutaneous vaccination with virus-like particles [J]. Vaccine, 2006, 24:5406-12

[19] Dell K, Koesters R, Linnebacher M, et al. Intranasal immunization with human papillomavirus type 16 capsomeres in the presence of non-toxic cholera toxin-based adjuvants elicits increased vaginal immunoglobulin levels [J]. Vaccine, 2006, 24:2238-47

[20] Kundig TM, Senti G, Schnetzler G, et al. Der p1 peptide on virus-like particles is safe and highly immunogenic in healthy adults [J]. J Allergy Clin Immunol, 2006, 117:1470-6

[21] Aguilar JC, Lobaina Y, Muzio V, et al. Development of a nasal vaccine for chronic hepatitis B infection that uses the ability of hepatitis B core antigen to stimulate a strong Th1 response against hepatitis B surface antigen [J]. Immunol Cell Biol, 2004, 82:539-46

[22] Lobaina Y, Palenzuela D, Pichardo D, et al. Immunological characterization of two hepatitis B core antigen variants and their immunoenhancing effect on co-delivered hepatitis B surface antigen [J]. Mol Immunol, 2005, 42:289-94

[23] Aguilar A, Gonzalez C, Cinza Z, et al. Phase I clinical trial in healthy adults of a nasal vaccine candidate containing recombinant Hepatitis B surface and core antigens [J]. Int J Infect Dis, 2007, 11(5):394-401

[24] 窦俊.疫苗工程学(第一版)[M].南京:东南大学出版社,2007:83  
Dou Jun. Vaccine engineering (First Edition) [M]. Nanjing. Southeast university publishing press. 2007, 83.

[25] Stormi T, Kundig TM, Senti G, et al. Immunity in response to particulate antigen-delivery systems [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2005, 57: 333-55

[26] Bramwell VW, Perrie Y. Particulate delivery systems for vaccines. [J] Crit Rev Ther Drug Carrier Syst, 2005, 22:151-214