

# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2003年11月15日 第11卷 第11期 (Volume 11 Number 11)



**11/2003**

ISSN 1009-3079



9 771009 307001

名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

World Journal of Gastroenterology, 被 SCI®-E, Research Alert®, Current Contents®/Clinical Medicine, Journal Citation Reports® Index Medicus, MEDLINE, Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica 收录。2002 年 JCR® 报告 WJG 影响因子 2.532。世界华人消化杂志® 被 Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica 收录。2001 年中国科技期刊引证报告: 世界华人消化杂志® 影响因子 3.733, WJG 影响因子 2.920。

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2003 年 11 月 15 日 第 11 卷 第 11 期 (总第 115 期)

述 评	<p>1661 创办具有中国特色的国际先进水平的 WJG: 2004 年由月刊改为半月刊 马连生, 潘伯荣, 马景云, 徐家祚, 应协中, 王先林, 陆汉明, 夏华向, 张建中, 苏勤, 任师颜, 朱立, 朱丽虹, 吕有勇</p> <p>1665 细胞分化与食管鳞状细胞癌 孔建平, 刘芝华, 吴昊</p> <p>1670 轮状病毒致病机制研究进展 王大燕, 王健伟, 于修平, 洪涛</p>
肝 癌	<p>1674 小鼠甲胎蛋白基因的克隆真核表达载体构建及表达鉴定 田耕, 马继林</p> <p>1677 原发性肝细胞癌中 PITG 和 c-myc 基因表达的研究 金中元, 程瑞雪, 郑长黎, 郑晖</p> <p>1682 肝细胞癌变过程中 cyclin D1 的异常表达与端粒酶活性的相关分析及意义 李宝杰, 王新红, 曲波</p> <p>1686 HCC 合并阻塞性黄疸 ERCP164 例 樊彪, 潘亚敏, 沈丽, 胡冰, 吴萍, 王书智, 周岱云</p>
基础研究	<p>1690 巨噬细胞 Smad4 反义基因转移及对细胞外基质合成的抑制作用 徐新保, 冷希圣, 何振平, 梁志清</p> <p>1694 冷冻保存再灌注期间离体肝组织内氧自由基及 <math>[Ca^{2+}]_i</math> 对 p38MAPK 激活的影响 王西, 田伏洲, 汤礼军, 张晓璋</p> <p>1699 大黄素对大鼠结肠环行平滑肌细胞 <math>[Ca^{2+}]_i</math> 的影响 马涛, 齐清会, 简序, 费乃昕</p> <p>1703 大肠癌细胞可产生趋化因子 IP-10 杨春康, 陈道达, 田源, 张景辉</p> <p>1706 干扰素对野生型 p53 转染的结肠癌细胞株 SW480 的影响 张桂英, 徐美华, 谢兆霞, 何春梅</p> <p>1711 大鼠胃黏膜损伤修复时早期应答基因 c-Jun 及 c-met 的表达 姚永莉, 徐波, 宋子刚, 张万岱</p>
临床研究	<p>1715 功能性消化不良患者症状分型、胃排空功能、胃肠激素水平的相关性 唐虹卫, 黄裕新, 徐海峰, 高巍, 周润锁, 尚磊, 王庆莉, 高峰, 安晓丽</p> <p>1720 肝硬化患者血清和腹水 CA125 升高 肖文斌, 刘玉兰</p> <p>1723 <math>\alpha</math>-2b 干扰素治疗慢性乙型肝炎的前瞻性研究 熊锦华, 胡大荣, 张成平, 范公愚, 刘勇, 闻炜</p>
焦点论坛	<p>1727 胃干细胞 王天德, 展玉涛</p> <p>1730 肠道干细胞 姜佳丽, 王虹, 展玉涛</p> <p>1732 胃肠道间质瘤干细胞 王虹, 展玉涛</p> <p>1735 肝性干细胞 展玉涛, 任继萍</p> <p>1738 肝脏干细胞 展玉涛, 毕泰山</p> <p>1740 胰腺干细胞 姜佳丽, 万小平, 张敏, 展玉涛</p>
文献综述	<p>1743 乙型肝炎病毒 e 抗原阴性慢性乙型肝炎患者抗病毒治疗 董青, 成军</p> <p>1749 HGF/SF、c-met 基因信号异常与胃肠道恶性肿瘤 李宏武, 单吉贤</p> <p>1752 幽门螺杆菌对胃激素的影响 郭王, 郭霞, 姚希贤</p> <p>1755 胃癌组织生长抑素及其受体的表达与 EGF、VEGF 的影响 李秋萍, 徐军全, 李红梅, 张利华</p> <p>1760 结、直肠癌临床病理分期系统及其临床意义 卿三华</p> <p>1764 铂佐剂机制及其纳米化前景 何萍, 吕凤林, 任建敏, 何凤慈</p> <p>1769 RNA 干扰的抗病毒效应 李中, 范学工</p> <p>1773 Peutz-Jeghers 综合征 赵喜荣, 康进春, 吕有勇</p> <p>1777 食管癌中的等位基因缺失 李洁, 刘芝华</p> <p>1782 溃疡性结肠炎发病机制及其研究进展 周琦, 林平, 潘慧, 梅林</p> <p>1787 蛋白酶激活受体-2 与胃癌疾病的研究进展 朱雄伟, 王强, 温光保, 李兆申</p>
研究快报	<p>1793 轮状病毒胃肠炎与表皮生长因子关系初步研究 吴建春, 姚英民</p> <p>1794 尿毒症患者透析前后胃肌电活动的研究 武立群, 王虹, 顾清, 张悦, 李松扬</p> <p>1796 消炎痛和幽门螺杆菌在胃溃疡致病中的相互作用研究 迟晶, 赵金满, 于继红, 傅宝玉</p> <p>1797 原发性肝癌乙型肝炎病毒 mRNA 的表达及其意义 陈晓晓, 刘颖斌, 时开同, 彭淑娟, 彭承宏, 史留斌, 沈宏伟</p> <p>1800 MDM2 基因扩增和蛋白表达与胃癌相关性的研究 孙利平, 李岩, 张宁, 姜乃佳, 付伟, 薛一雷</p> <p>1802 HBsAg 疫苗对非溶细胞性和溶细胞性细胞免疫应答的影响 熊一力, 贾彦征, 施理, 张宜俊</p>

## 研究快报

- 1804 P27kip1、CyclinE 和 CyclinA 在胃癌中的表达及意义 金顺花, 朴熙雄, 金海峰, 朴凤顺, 许强  
1807 血管紧张素 II 对大鼠 HSC 合成 PAI-I 的影响及 NO 的干预作用 张磊, 李定国, 尤汉宇, 刘清华, 宗喜华, 陆汉明

## 临床经验

- 1809 TTF1 在正常及损伤胃黏膜中的表达改变 任建林, 卢维正, 王琳, 陈建民, 施华芳, 叶震世, 吴艳环, 钟燕, 林进江, 林琛, 潘金水, 罗金燕  
1811 肝性脊髓病 8 例 王春平, 冯永毅, 苏淑慧, 李迎新, 彭晓君  
1812 直肠癌前哨淋巴结检测 102 例 魏寿江, 王树树, 赵国刚, 侯华芳  
1814 功能性消化不良患者胃排空障碍与胃肠激素的关系 何美蓉, 宋子刚, 何春容  
1816 上消化道流行病学研究 黄中平  
1818 胃液抗 Hp IgA 测定对 Hp 根除治疗效果的判断 谢勇, 吕农华, 黄德强, 陈江, 徐泽, 王崇文  
1820 原发性十二指肠癌 16 例 谢磊, 刘之武, 王志川  
1822 丙型肝炎病毒母婴传播及羊水、乳汁和唾液的作用 王占英, 牛美智, 曹学强, 李颖, 乔光彦  
1824 十二指肠癌 120 例 吴江, 邓长生  
1825 乙肝病毒感染相关原发性肝癌 320 例 苏淑慧, 王春平, 李迎新, 冯永毅  
1827 胆管癌组织 p53 和血管内皮生长因子表达与血管生成的相关性研究 陈勇军, 俞亚红, 丁志强  
1830 奥曲肽治疗肠梗阻 25 例 张长青, 张荣珍, 吴伟岗, 黄贵毅  
1832 理学检查慢性胃十二指肠炎症 280 例 谭允熙, 李增芬, 谭汇泉  
1835 艾滋病患者中 HCV、HBV 及 HGV 的感染状况 骆嘉社, 桂希恩, 庄柯  
1837 胆心反射及胆心综合征的诊治 卫洪波, 汪壮流, 杨柳, 李文胜, 陈勇, 唐秋林  
1839 陕西部分农村 0-18 月婴幼儿肠道内微生物菌群状况研究 孙晓魁, 刘黎明, 郝炳华, 杨文方, 贾梅, Acheson K  
1841 糖尿病患者胆囊排空功能与胃肠激素的关系 王艳军, 徐永泉, 林艳, 李士星  
1843 慢性小肠性腹泻中的 IBS 吴杰, 邓昊, 贾贵贵, 陈时  
1844 矿区居民幽门螺杆菌感染状况及危险因素分析 雷静静, 周力, 谭玉洁, 杨斌, 刘星峰, 杜纪恩  
1848 直视微创胆道手术 52 例 姜伟青, 周建明, 陆军

## 病例报告

- 1851 分体联合手术治疗小儿原发性肝静脉海绵样变 1 例 方艳华, 朱新勇, 方石岗  
1852 马内非青霉素 1 例 尹雯, 汪光强, 郑晓平, 彭国林  
1853 胰性胸内 8 例 王平, 崔彦, 古敏, 刘子沛, 李锐鸣  
1855 胃移植术后回肠结肠并出血、梗阻 1 例报告 金红旭, 张雪峰, 王正强

## 读者来信

- 1698 徐新保  
1705 Ferenc SZALAY

## 封面故事

- 1664 复方健脾胃散 II 期临床研究方案讨论会在福州举行

## 世界华人消化杂志

## Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

- 吴阶平 题写封面刊名  
陈可冀 题写版权刊名  
(月刊)  
创刊 1993-01-15  
改刊 1998-01-25  
出版 2003-11-15  
原名 新消化病学杂志

- 总编辑 陈可冀  
黄家骝  
黄志强  
廖介寿  
刘耕陶  
袁法强  
汤树敏  
王宝恩  
危北海  
关益超  
关成中

- 社长兼编辑 马进荣  
中文编辑 潘柏松  
王理晖  
英文编辑 朱丽红  
排版 廖少华  
校对 李天华

## 编辑 世界华人消化杂志编辑委员会

030001, 山西省太原市迎泽西大街 77 号  
E-mail: wjgd@wjgnet.com

## 出版 世界胃肠病学杂志社

100023, 北京市 2345 信箱  
E-mail: wjgd@wjgnet.com  
http://www.wjgnet.com  
电话 010185381892  
传真 010185381893

## 印刷 北京科德印刷厂

发行 国内 北京报刊发行局  
国外 中国图书贸易总公司  
(100044, 北京 399 信箱)

## 订购 全国各地邮局

邮购 世界胃肠病学杂志社发行部  
(100023, 北京市 2345 信箱)

电话: 010185381892  
传真: 010185381893

2003 年版权归世界胃肠病学杂志社所有

## 本刊已被国内外

## 检索系统收录

美国《化学文摘(CA)》  
荷兰《医学文摘/医学文摘(EM)》  
俄罗斯《文摘杂志(PJ)》  
中国科技论文统计与分析  
中国学术期刊文摘  
中国中医药信息网  
中国生物医学文献光盘数据库  
《中文科技资料目录(医药卫生)》  
中国生物医学期刊目录数据库  
中国医学文摘外科学分册(英文版)  
中国医学文摘内科学分册(英文版)

## 特别声明

本刊刊登的所有文章不代表世界胃肠病学杂志社和本刊编委会的观点, 除非特别声明。本刊如有印刷质量问题, 请向本刊编辑部联系。

ISSN 1009-3079  
CN 14-1260/R

邮发代号 82-262  
国外代号 M 4481

国内定价 每册 24.00 元 全年 288.00 元

广告经营许可证  
1401004001

www.wjgnet.com

# 铝佐剂机制及其纳米化前景

何 萍, 吕凤林, 任建敏, 何凤慈

何萍, 吕凤林, 任建敏, 何凤慈, 中国人民解放军第三军医大学大坪医院野战外科研究所 重庆市 400042  
国家自然科学基金资助课题, No. 30170884  
项目负责人: 吕凤林, 400042, 重庆市, 中国人民解放军第三军医大学大坪医院野战外科研究所. lufenglin@hotmail.com  
电话: 023-68804699 传真: 023-68757451  
收稿日期: 2003-04-07 接受日期: 2003-05-30

## 摘要

铝佐剂是得到公认的疫苗佐剂,但其具体作用机制不甚明了.随着新型疫苗和人工合成多肽疫苗的出现,常规铝佐剂暴露出一些缺点,其应用受到了限制.人们不得不寻找新型的疫苗佐剂或对现有佐剂予以改良.若将铝佐剂纳米化,因其比表面积大、黏附力强,在增强佐剂活性的同时,可提高抗原的靶向投递、大大降低副作用,不失为一个崭新而有前景的研究方向.还有可能进一步提高黏附和刺激抗原提呈细胞(APC)细胞吞噬的能力,以此为新型的疫苗佐剂将是可行的.本文在对铝佐剂机制进行分析探讨的基础上,联系其应用现状、发展趋势以及化学特性,展望纳米铝佐剂的可能性及应用前景.

何萍, 吕凤林, 任建敏, 何凤慈. 铝佐剂机制及其纳米化前景. 世界华人消化杂志 2003;11(11):1764-1768  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1764.asp>

## 0 引言

铝佐剂是目前最重要的疫苗佐剂.自1926年Glenny首先应用铝盐黏附白喉类毒素至今,已广泛应用于人、兽疫苗<sup>[1-28]</sup>.近年来,随着分子生物学的快速发展,多肽疫苗、亚单位疫苗不断涌现,无论在数量上还是质量上,对疫苗佐剂的要求都愈来愈高了,人们在寻找新型佐剂的同时,对常规佐剂的改良研究也更加重视起来,虽已涌现不少新型佐剂,但大多尚处于实验研究阶段<sup>[29-39]</sup>,所以目前铝佐剂仍是应用最多、最重要的疫苗佐剂,他包括磷酸铝和氢氧化铝两种佐剂,但目前普遍使用、以及通常的铝佐剂是指氢氧化铝佐剂.铝佐剂对合成多肽疫苗的辅佐效应不太明显,并且还存在着以下缺点<sup>[40-44]</sup>:不能诱导细胞免疫,常常增加同源细胞互向性抗体水平,不适用于针对病毒、胞内菌和胞内寄生虫的疫苗抗原;注射部位偶有严重的局部反应,出现红斑、皮下结节、接触性过敏和肉芽肿性炎症;吸引嗜酸性细胞到注射部位,增加特异性抗原的水平,和总IgE抗体,诱导IgE介导的变态反应,从而有可能增加易感个体的敏感性等.因此,在铝佐剂有效性和安全性得到公认的前提下,从佐剂效应机制入手,对

其予以纳米化改进,具有一定的可行性和实际意义.

天然的氢氧化铝有上百种存在形式,例如 $\text{Al}(\text{OH})_3$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{AlOOH}$ 等.而商品化的氢氧化铝佐剂,实际上是 $\text{Al}(\text{OH})_3$ 的不完全脱水产物,即纤维状结晶形态的偏氢氧化铝 $\text{AlO}(\text{OH})$ .使用中,由于商业氢氧化铝佐剂的不同生产批次之间的差异,目前以丹麦生产的Alhydrogel®为公认标准,其胶粒大小为 $3.07\text{ }\mu\text{m}$ .

## 1 铝佐剂的辅佐效应机制

氢氧化铝佐剂的有效性和安全性已得到了实践的验证和人们的公认,他的普遍应用与其自身的优点是分不开的:比较于油类佐剂,具有安全性和低反应性,甚至于抗体应答也优于前者.并且可联合其他佐剂以增强免疫应答.通常人用疫苗含量为 $0.5\text{ mg/剂量}$ ,WHO推荐最高不超过 $1.25\text{ mg/剂量}$ .

目前,获批准应用于商业性的疫苗主要有<sup>[45]</sup>:(1)儿童疫苗:白百破三联疫苗(DTP)、B型流感嗜血杆菌疫苗、乙肝疫苗(HBV)、进行性风疹全脑炎-乳清苷酸(PRP-OMP)等;(2)成人疫苗:甲肝疫苗(HAV),莱姆病疫苗(Lyme)、炭疽疫苗(Anthrax)等.

商业产品的佐剂氢氧化铝为近乎透明的溶胶,黏附疫苗抗原后,抗原被限定在胶体形成的特定网格结构中,而冷冻会破坏该结构,所以,不能冷冻其黏附后的疫苗.虽然铝佐剂应用历史很长,但其具体作用机制不明,特别是选择性诱导免疫应答的特点.目前认为主要是“储存库效应”和“免疫刺激效应”两种机制.

### 1.1 储存库效应

抗原提呈细胞(APC)在对抗原摄取、加工、处理过程中,抗原与免疫细胞作用时间越长,就越有利于后续的免疫应答.氢氧化铝黏附疫苗抗原后,在其表面和内部高度浓聚着许多抗原,物理性的呈递给免疫细胞,而不改变其化学结构,以便于免疫细胞能充分地、高水平地、长时间地与疫苗抗原接触作用,从而使有意义的免疫应答被诱导,这种作用机制通常称为“储存库效应”.

佐剂黏附可溶性疫苗抗原后,可改变后者的物理性状,形成抗原储存库,主要归功于组成结构的物理特性,即表面积、电荷和形态结构等.氢氧化铝的等电点 $\text{pI}(\text{isoelectric point, iep})=11.4$ ,在机体 $\text{pH}=7.4$ 的间质液中带正电荷,能很好的黏附酸性蛋白疫苗.进入机体后,首先是黏附在表面的疫苗抗原与APC作用,激发免疫应答,随后氢氧化铝崩解,位于内部的抗原释放出来,延长了作用时间,有利于疫苗抗原缓慢释放,从

而延长疫苗抗原在体内的滞留时间.

Glenny et al (1926 年)首次发现铝盐佐剂效应, 随后 (1931 年)又报道了氢氧化铝黏附疫苗抗原所形成的沉淀, 有利于降低在注射部位的疫苗清除率, 他们把含氢氧化铝佐剂的白喉类毒素注射在豚鼠身上, 3 d 后, 切除注射部位、浸软处理后, 第二次注入未免疫的豚鼠身上, 后者也获得了免疫反应. 这表明含氢氧化铝佐剂的白喉类毒素沉淀从注射部位缓慢释放, 延长了疫苗与免疫细胞作用的时间并获得了较好的免疫应答. 最近, Shi et al<sup>[46]</sup>证实: 在 pH=7.4, 25 °C 条件下, 含氢氧化铝佐剂的内毒素兰米尔黏附等温线 (langmuir adsorption isotherms) 表明, 氢氧化铝佐剂有巨大的黏附能力 (283 g/mgAl) 和黏附系数 ( $1.3 \times 10$  mL/g). 而且通过非氮气黏附的傅立叶红外光谱法 (fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)<sup>[47]</sup>测得氢氧化铝佐剂具有极大的比表面积, 约为 514 m<sup>2</sup>/g. 这使其可以黏附大量的抗原, 在注射局部形成抗原储存库, 促进抗原与 APC 的相互作用, 从而提高免疫应答. 所以其储存库效应, 即氢氧化铝佐剂通过非特异性地与疫苗结合黏附, 从而捕获、聚集疫苗成为较大的粒子, 缓慢而持续的释放疫苗, 这是目前较普遍接受的作用机制<sup>[48-52]</sup>.

储存库效应似乎可以较好地解释氢氧化铝佐剂的机制, 然而, 事实并非完全如此. 针对 Glenny et al 的实验, 首次被 Holt et al<sup>[53]</sup> (1950 年)提出挑战: 若 7 d 后, 将豚鼠注射部位切除, 并未干涉机体免疫应答. 最近也有实验表明: 在间质液中, 大部分抗原将会快速地从其表面解黏附, 例如 HIV-gp120、破伤风类毒素、卵清蛋白<sup>[54]</sup>等. 而且在与间质液类似的绵羊淋巴液中也可观察到类似现象<sup>[46]</sup>. 这可能是由于间质液 (包括磷酸盐、柠檬酸盐和纤维蛋白原等) 的解黏附作用所致<sup>[55]</sup>. 从这些实验来看, 黏附形成储存库作用似乎并非是铝佐剂必须的, 只要注射局部的抗原浓度足够高, 能够被树突状细胞 (DC) 有效摄取即可.

由此可见, 储存库效应虽然不能完美解释氢氧化铝佐剂的机制, 但其黏附疫苗抗原, 确保注射局部疫苗高度浓聚以提高 APC 的摄取, 在这段时间内, 抗原充分的激活免疫细胞, 从而进一步提高免疫应答, 这一作用是存在的.

**1.2 免疫刺激效应** 氢氧化铝佐剂的储存库效应增加了疫苗与免疫细胞接触反应时间. 然而仅此作用, 是不能保证诱导特异性免疫应答的, 氢氧化铝佐剂能诱导 II 型免疫应答, 但不诱导 CTL 和细胞免疫. 想要获得最佳佐剂效应, 需要适度过量的氢氧化铝佐剂. 动物实验表明, 在适度过量的范围内, 氢氧化铝剂量与佐剂效应成正态分布, 其最大效应的波峰处对应于最佳剂量. 虽然不知该现象的原因, 但通常认为过量的氢氧化铝刺激了巨噬细胞并诱导了 Th 细胞的分化. 当然, 黏附疫苗的氢氧化铝佐剂剂量既不能过低也不能过高, 过低的剂量不能有效黏附疫苗, 达不到最佳免疫效果; 过多的剂

量可能因为完全覆盖疫苗抗原而抑制免疫, 并造成对巨噬细胞的毒性<sup>[56]</sup>.

在机体抗原提呈过程中, 主要由 DC 把疫苗从注射部位运送到淋巴结, 并将抗原肽呈递给特异性 T 细胞<sup>[57]</sup>. 而且, DC 能从注射部位把信息传送到淋巴结的 T 细胞, 指导 CD<sub>4</sub><sup>+</sup> Th 分化为 Th1 和 Th2. IL-12 在诱导 Th1 和 Th2 细胞分化中扮演了重要的角色<sup>[58-60]</sup>. 存在 IL-12 诱导刺激信号时, DC 成熟并诱导 CD<sub>4</sub><sup>+</sup> Th 分化为 Th1, 反之, 若缺少 IL-12, DC 诱导 Th2 分化. 实验证实, IL-12 缺陷小鼠产生 II 型免疫应答. 某些因子如 IL-10, PGE<sub>2</sub> 和补体产物 iC3b 和 C5a<sup>[61]</sup>会抑制 DC 分泌 IL-12. 人们很早就观察到将氢氧化铝与可溶性抗原注射在小鼠的不同部位, 也可提高免疫应答, 可能是因为通过免疫活性细胞释放了炎症因子. 最近研究表明: 氢氧化铝佐剂能够激活补体, 并提高 MHC-II 类分子和共刺激分子的表达, 这些共刺激分子在外周单核细胞上, 可提高 IL-4 的 mRNA 水平<sup>[62]</sup>和 IL-1、TNF 和 IL-6 的表达<sup>[63]</sup>. 所以, 被氢氧化铝佐剂激活的补体和细胞因子可诱导 II 型免疫应答.

虽然目前对氢氧化铝佐剂的效应机制仍然知之甚少, 但随着关于宿主和病原体相互作用认识的增加, 我们完全有能力知道疫苗引导免疫应答的本质. 从而, 最终了解佐剂的作用机制, 为疫苗免疫作出进一步的贡献.

## 2 铝佐剂的改良及其前景展望

氢氧化铝佐剂的应用时间较长, 但对其具体作用机制、拓展应用于更多疫苗等问题, 仍需进一步研究. 虽然人们对此进行了不懈的努力, 由于种种原因, 所取得的进步不大, 并且以前的研究方法绝大多数未从氢氧化铝佐剂自身进行本质的探讨. 所以, 迫切需要一些新的手段和方法!

近 20 a 所发展起来的纳米技术可能会给该领域带来新的希望. 因为纳米级物质介于宏观和微观状态, 在该过渡状态的物质具有神奇而诱人的现象, 仅在生物医学领域就获得广泛应用: 粒径介于 20-100 nm 之间、呈均匀分散性的纳米粒子具备杀死癌细胞、不破坏正常细胞的奇特功效, 例如具有这种“钟馗”秉性的羟基磷灰石纳米材料; 纳米微粒载体可携带抗体、受体和核酸等, 通过抗原-抗体和受体-配体的特异性结合, 在体内起着“生物导弹”的作用. 将纳米技术应用于佐剂方面, 主要是利用其表面效应: 即纳米粒子表面原子与总原子数之比随粒径的变小而急剧增大后引起的性质上的变化. 表 1 列出了纳米粒子尺寸与表面原子数的关系.

医学领域的纳米粒子 (nanoparticles, NP) 也称毫微粒, 即纳米球 (Nanospheres) 与纳米囊 (Nanocapsules) 的统称, 他是粒径大小介于 10-1 000 nm 的固态胶体颗粒. 血液中的红血球大小为 6 000-9 000 nm, 一般细菌的长度为 2 000-3 000 nm, 引起人体发病的病毒尺寸一般为几十纳米, 因此, 纳米粒的尺寸比生物体内的细

胞、红血球小的多,这就为生物学研究提供了一个新的研究途径.纳米颗粒的比表面积大、表面反应活性高、表面活性中心多、黏附能力强等这些优异性质,为疫苗研究提供了新的研究思路.

表1 纳米粒子尺寸与表面原子数的关系

粒径 (nm)	包含的原子数 (个)	表面原子所占比例 (%)
20	$2.5 \times 10^5$	10
10	$3.0 \times 10^4$	20
5	$4.0 \times 10^3$	40
2	$2.5 \times 10^2$	80
1	30	99

从免疫学观点来看,纳米佐剂均匀性好,包裹或黏附的抗原颗粒正是巨噬细胞(M $\phi$ )和D C的首选吞噬目标,为实现机体有效的免疫反应完成了重要的一步<sup>[64]</sup>;而且纳米佐剂与多肽抗原和DNA疫苗连接后,可以避免常规佐剂的载体效应发生,保护抗原.研究表明<sup>[65]</sup>,颗粒粒径( $\Phi$ )与其在体内导向存在密切的关系: $\Phi < 50$  nm,能穿透肝脏内皮或通过淋巴细胞传输到脾,也可到达肿瘤组织,最终到达肺; $100 \text{ nm} < \Phi < 200$  nm,可被单核系统的巨噬细胞吞噬; $200 \text{ nm} < \Phi < 1\,000$  nm,是白细胞最易吞噬的物质尺寸.德国科学家 Kreuter et al (1982年)首次将纳米技术应用于疫苗佐剂,他们用流感病毒抗原与纳米多聚甲基丙烯酸酯(PLC)聚合后免疫小鼠,发现该疫苗可以保护小鼠免受鼠流感病毒的侵袭.而且,该疫苗比一般佐剂和未使用佐剂的疫苗对温度变化更稳定.但是,直到1990年代初,纳米技术才获得了快速发展<sup>[66-68]</sup>,纳米生物学领域才有了长足的进步<sup>[69-72]</sup>.大量研究表明,纳米粒子与抗原的结合并不是共价键而是弱库仑作用的离子键,因此制造稳定的复合体工艺比较复杂,但选择适当条件或共价偶联,可以制造多种纳米粒-抗原的稳定复合体.

由于分子生物学的快速发展和“表位生物学”概念的形成,具有安全性好、容易获得、纯度高等优点的多肽疫苗受到人们的广泛重视,并呈现极大的发展空间.但是,表位多肽分子量小、免疫原性较弱,难以刺激甚至根本不能刺激产生有效的免疫应答,还有,多肽抗原大多是一种半抗原,需要与适当载体相连接后才能诱导有效的免疫应答,但载体效应又很难避免,机体对半抗原的再次免疫应答有赖于对半抗原记忆B细胞和对载体记忆T细胞的同时存在.使用纳米无机物作为半抗原的载体,可以避免载体效应的发生.目前纳米磷酸钙佐剂已经获得专利,磷酸钙是机体的天然成分,具有良好的组织相容性和吸收性,He et al<sup>[73]</sup>研究证实:纳米磷酸钙佐剂与常规铝佐剂相比,更能诱导机体对II型单纯疱疹病毒和EB病毒的免疫应答.纳米磷酸钙既可减少注射局部的炎症反应,而且还能诱导Th1细胞反应,具有比传统氢氧化铝佐剂更强的优

势,因此得到了美国专利委员会的授权.

将氢氧化铝佐剂纳米化,实际上是纳米材料学在纳米生物学领域的应用,这就不得不从化学角度,对氢氧化铝自身进行探讨:(1)从制备角度来看,通常氢氧化铝可以用两种方法得到.实验中,向铝盐溶液中加入碱性液,可得到白色絮状沉淀;若铝盐首先与过量强碱反应得到铝酸盐溶液,然后滴加强酸或通入CO<sub>2</sub>气体,可得细粉状沉淀.从溶液中析出的胶状氢氧化铝既可以与酸也可与强碱反应,但其碱性稍强于酸性,故视为弱碱.(2)从其化学结构式来看,这些沉淀实质上是氧化铝的水合物,特点为组成不均匀、含水量不定,统称水合氧化铝,即为通常的氢氧化铝,此时化学式Al(OH)<sub>3</sub>已经不能反应其结构性,而应该以Al(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>(OH)<sub>3</sub>或Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>·nH<sub>2</sub>O作为代表式.(3)从Al的电荷与化学键角度来看,在铝盐溶液中,Al<sup>3+</sup>的电荷高半径小,对负电荷有很强的吸引作用,可以吸引极性水分子的氧端,和水分子形成八面体的水合配离子[Al(H<sub>2</sub>O)<sub>6</sub>]<sup>3+</sup>,加入碱液后,生成不带电荷的中性Al(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>(OH)<sub>3</sub>,相互聚集而形成沉淀.有时还会通过羟桥键发生双分子和多分子缩聚的大分子.由于含有较多的配位水,松散的聚集在一起,因此铝盐加碱得到蓬松的絮状氢氧化铝沉淀.而铝盐加酸后,通过[Al(OH)<sub>6</sub>]<sup>3-</sup>连续离解出OH<sup>-</sup>而生成电中性的Al(OH)<sub>3</sub>聚集成紧密的细粉状颗粒而沉淀下来.(4)从其晶型角度来看,真正晶态氢氧化铝Al(OH)<sub>3</sub>称为正氢氧化铝.而将铝盐溶液中加入碱性液得到的白色絮状沉淀静置或在100℃以下分子内脱水,可得到晶态偏氢氧化铝AlO(OH),此时才为真正的、目前商业产品的氢氧化铝佐剂.

由此可见,氢氧化铝在水中,因结构多样而复杂,不能仅以Al(OH)<sub>3</sub>简单界定.而通常的佐剂氢氧化铝(aluminum hydroxide, Al(OH)<sub>3</sub>)实际为偏氢氧化铝(aluminum oxyhydroxide, AlO(OH)).其制备方法较多,影响产品质量的因素也很多,导致黏度和颗粒粗细相差很大,目前的产品几乎都为微米级的粒径,主要是受到制备条件的影响.近20a来,纳米制备技术的快速发展,已使氢氧化铝纳米化成为现实.

纳米氢氧化铝因其粒径小,比表面积大,在增强佐剂活性的同时,可提高抗原等的靶向投递、大大降低副作用,不失为一个崭新而有前景的研究方向.已有相关的Al(OH)<sub>3</sub>煅烧产物纳米Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>佐剂效应的报导,Frey et al<sup>[74]</sup>将HIV-1gp120的C4区首尾连接成多肽同聚物,共价偶联于纳米Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>佐剂上,比较于佐剂MDP(亲水性胞壁酰二肽),结果发现纳米三氧化二铝佐剂可诱导最强的抗体滴度,并对HIV-1gp120感染的细胞具有最强的反应性,所以,纳米佐剂对构象性表位多肽疫苗可起到很好的佐剂效应.由此可见,如果从氢氧化铝的化学特性出发,并运用纳米技术,将氢氧化铝佐剂纳米化,为探讨其机制和对其佐剂效应进行改良,该思路和方法不仅可行,而且为佐剂研究本身开辟了一条崭新的道路.

随着疫苗的进一步纯化和人工合成多肽疫苗的大

量出现, 常规氢氧化铝佐剂暴露出一些缺点, 其应用受到了限制. 人们不得不寻找新型的疫苗佐剂或对现有佐剂予以改良, 然而, 实践中却出现了新佐剂研发赶不上新疫苗要求的尴尬局面, 究其原因, 主要是对佐剂的具体作用机制不明. 所以, 如果了解了常规氢氧化铝佐剂的作用机制, 必然会对整个佐剂研究以及免疫学产生深远影响.

建立一种新的研究方法来探讨氢氧化铝佐剂的作用机制, 是势在必行的, 而纳米技术已显出端倪, 纳米佐剂对一些疾病的动物模型已呈现较好的效果, 但目前的研究刚刚开始, 而且佐剂研究本身还存在一些方法学上的问题, 如模型抗原、动物模型、检测方法等较少, 所以, 纳米氢氧化铝佐剂的研究还需作更多的工作. 可以相信, 随着对佐剂研究的不断深入, 提高纳米氢氧化铝佐剂的可靠性、实用性, 可能使对佐剂机制的研究产生突破性的进步.

### 3 参考文献

- 1 叶琳, 刘敦良, 赵田, 梁雯, 邹建国, 张磊, 曾秀明, 苏林. 两种配方的氢氧化铝吸附基因工程乙肝疫苗的效果比较. 微生物学免疫学进展 1999;27:51-54
- 2 林海祥, Perrin P. 铝佐剂对实验狂犬病疫苗的影响. 中华实验和临床病毒学杂志 1999;13:133-135
- 3 蒋仁生, 宁一文, 黄科良, 杨进业, 凌文武, 苏光湛, 李少北, 黄健强, 袁佩娜, 董思国, 吴建平, 罗建辉, 王秉瑞, 江丽君, 王燕, 陈锦荣. O139 型霍乱菌苗人群副反应观察报告. 微生物学免疫学进展 1997;25:1-5
- 4 Kanra G, Viviani S, Yurdakok K, Ozmert E, Anemona A, YalcIn S, Demiralp O, Bilgili N, Kara A, Cengiz AB, Mutlu B, Baldini A, Marchetti E, Podda A. Effect of aluminum adjuvants on safety and immunogenicity of Haemophilus influenzae type b-CRM197 conjugate vaccine. *Pediatr Int* 2003; 45:314-318
- 5 Jendrek S, Little SF, Hem S, Mitra G, Giardina S. Evaluation of the compatibility of a second generation recombinant anthrax vaccine with aluminum-containing adjuvants. *Vaccine* 2003; 21:3011-3018
- 6 De Bont J, Claerebout E, Riveau G, Schacht AM, Smets K, Conder G, Brake DA, Capron A, Vercruysse J. Failure of a recombinant Schistosoma bovis-derived glutathione S-transferase to protect cattle against experimental Fasciola hepatica infection. *Vet Parasitol* 2003;113:135-144
- 7 Eisenberg JC, Czinn SJ, Garhart CA, Redline RW, Bartholomae WC, Gottwein JM, Nedrud JG, Emancipator SE, Boehm BB, Lehmann PV, Blanchard TG. Protective efficacy of anti-*Helicobacter pylori* immunity following systemic immunization of neonatal mice. *Infect Immun* 2003;71:1820-1827
- 8 Gonzalez G, Crombet T, Torres F, Catala M, Alfonso L, Osorio M, Neninger E, Garcia B, Mulet A, Perez R, Lage R. Epidermal growth factor-based cancer vaccine for non-small-cell lung cancer therapy. *Ann Oncol* 2003;14:461-466
- 9 Moreno CA, Rodriguez R, Oliveira GA, Ferreira V, Nussenzweig RS, Moya Castro ZR, Calvo-Calle JM, Nardin E. Preclinical evaluation of a synthetic plasmodium falciparum MAP malaria vaccine in aotus monkeys and mice. *Vaccine* 1999;18:89-99
- 10 Deml L, Schirmbeck R, Reimann J, Wolf H, Wagner R. Immunostimulatory CpG motifs trigger a T helper-1 immune response to human immunodeficiency virus type-1 (HIV-1) gp 160 envelope proteins. *Clin Chem Lab Med* 1999;37:199-204
- 11 Sturgess AW, Rush K, Charbonneau RJ, Lee JJ, West DJ, Sitrin RD, Hennessy JP Jr. Haemophilus influenzae type b conjugate vaccine stability: catalytic depolymerization of PRP in the presence of aluminum hydroxide. *Vaccine* 1999;17:1169-1178
- 12 Ulmer JB, DeWitt CM, Chastain M, Friedman A, Donnelly JJ, McClements WL, Caulfield MJ, Bohannon KE, Volkin DB, Evans RK. Enhancement of DNA vaccine potency using conventional aluminum adjuvants. *Vaccine* 1999;18:18-28
- 13 Lee CK, Soike K, Giannasca P, Hill J, Weltzin R, Kleanthous H, Blanchard J, Monath TP. Immunization of rhesus monkeys with a mucosal prime, parenteral boost strategy protects against infection with *Helicobacter pylori*. *Vaccine* 1999;17:3072-3082
- 14 Raya NE, Quintana D, Carrazana Y, Gomez CE, Duarte CA. A prime-boost regime that combines Montanide ISA720 and Alhydrogel to induce antibodies against the HIV-1 derived multiepitope polypeptide TAB9. *Vaccine* 1999;17:2646-2650
- 15 Santos WR, Paraguai de Souza E, Palatnik M, Palatnik de Sousa CB. Vaccination of Swiss Albino mice against experimental visceral leishmaniasis with the FML antigen of Leishmania donovani. *Vaccine* 1999;17:2554-2561
- 16 Rivera E, Hu S, Concha C. Ginseng and aluminium hydroxide act synergistically as vaccine adjuvants. *Vaccine* 2003;21:1149-1157
- 17 Rivera E, Dagfeldt A, Hu S. Ginseng extract in aluminium hydroxide adjuvanted vaccines improves the antibody response of pigs to porcine parvovirus and Erysipelothrix rhusiopathiae. *Vet Immunol Immunopathol* 2003;91:19-27
- 18 Patil PK, Bayry J, Ramakrishna C, Hugar B, Misra LD, Prabhudas K, Natarajan C. Immune responses of sheep to quadrivalent double emulsion foot-and-mouth disease vaccines: rate of development of immunity and variations among other ruminants. *J Clin Microbiol* 2002;40:4367-4371
- 19 Pittman PR. Aluminum-containing vaccine associated adverse events: role of route of administration and gender. *Vaccine* 2002;20(Suppl 3):48-50
- 20 Dagouassat N, Robillard V, Haeuw JF, Plotnicky-Gilquin H, Power UF, Corvaia N, Nguyen T, Bonnefoy JY, Beck A. A novel bipolar mode of attachment to aluminium-containing adjuvants by BBG2Na, a recombinant subunit hRSV vaccine. *Vaccine* 2001;19:4143-4152
- 21 Gottwein JM, Blanchard TG, Targoni OS, Eisenberg JC, Zagorski BM, Redline RW, Nedrud JG, Tary-Lehmann M, Lehmann PV, Czinn SJ. Protective anti-*Helicobacter* immunity is induced with aluminum hydroxide or complete Freund's adjuvant by systemic immunization. *J Infect Dis* 2001;184: 308-314
- 22 Ebhardt MB, Shive CL, Guardia R, Gapin L, Boehm BO, Forsthuber TG. Immunological adjuvants efficiently induce antigen-specific T cell responses in old mice: implications for vaccine adjuvant development in aged individuals. *Cell Immunol* 2002;215:87-97
- 23 Jolley KA, Appleby L, Wright JC, Christodoulides M, Heckels JE. Immunization with recombinant Opc outer membrane protein from Neisseria meningitidis: influence of sequence variation and levels of expression on the bactericidal immune response against meningococci. *Infect Immun* 2001;69:3809-3816
- 24 Higaki M, Azechi Y, Takase T, Igarashi R, Nagahara S, Sano A, Fujioka K, Nakagawa N, Aizawa C, Mizushima Y. Collagen minipellet as a controlled release delivery system for tetanus and diphtheria toxoid. *Vaccine* 2001;19:3091-3096
- 25 Lambert JS, Keefer M, Mulligan MJ, Schwartz D, Mestecky J, Weinhold K, Smith C, Hsieh R, Moldoveanu Z, Fast P, Forrest B, Koff W. A phase I safety and immunogenicity trial of UBI microparticulate monovalent HIV-1 MN oral peptide immunogen with parenteral boost in HIV-1 seronegative human subjects. *Vaccine* 2001;19:3033-3042
- 26 Higgins DA, Henry RR, Kounev ZV. Duck immune responses to Riemerella anatipestifer vaccines. *Dev Comp Immunol* 2000; 24:153-167
- 27 Li F, Riddell MA, Seow HF, Takeda N, Miyamura T, Anderson DA. Recombinant subunit ORF2.1 antigen and induction of antibody against immunodominant epitopes in the hepatitis E virus capsid protein. *J Med Virol* 2000;60:379-386
- 28 Chang Y, Novosol V, McDonough SP, Chang CF, Jacobson RH, Divers T, Quimby FW, Shin S, Lein DH. Vaccination against Lyme disease with recombinant Borrelia burgdorferi outer-surface protein A (rOspA) in horses. *Vaccine* 1999;18: 540-548
- 29 吴晓蓉, 贾文祥, 刘莉, 张再蓉, 邝玉, 李孝红, 邓先模. PELA 微球乙型肝炎疫苗的免疫原性研究. 生命科学研究 2000;4:167-172



- 30 Near KA, Stowers AW, Jankovic D, Kaslow DC. Improved immunogenicity and efficacy of the recombinant 19-kilodalton merozoite surface protein 1 by the addition of oligodeoxynucleotide and aluminum hydroxide gel in a murine malaria vaccine model. *Infect Immun* 2002;70:692-701
- 31 Eastcott JW, Holmberg CJ, Dewhirst FE, Esch TR, Smith DJ, Taubman MA. Oligonucleotide containing CpG motifs enhances immune response to mucosally or systemically administered tetanus toxoid. *Vaccine* 2001;19:1636-1642
- 32 Jiang B, Estes MK, Barone C, Barniak V, O'Neal CM, Ottaiano A, Madore HP, Conner ME. Heterotypic protection from rotavirus infection in mice vaccinated with virus-like particles. *Vaccine* 1999;17:1005-1013
- 33 Goto N, Maeyama J, Yasuda Y, Isaka M, Matano K, Kozuka S, Taniguchi T, Miura Y, Ohkuma K, Tochikubo K. Safety evaluation of recombinant cholera toxin B subunit produced by *Bacillus brevis* as a mucosal adjuvant. *Vaccine* 2000;18:2164-2171
- 34 Larsson C, Stalhammar-Carlemalm M, Lindahl G. Protection against experimental infection with group B streptococcus by immunization with a bivalent protein vaccine. *Vaccine* 1999;17:454-458
- 35 Babai I, Samira S, Barenholz Y, Zakay-Rones Z, Kedar E. A novel influenza subunit vaccine composed of liposome-encapsulated haemagglutinin/neuraminidase and IL-2 or GM-CSF. I. Vaccine characterization and efficacy studies in mice. *Vaccine* 1999;17:1223-1238
- 36 Leibl H, Tomasits R, Bruhl P, Kerschbaum A, Eibl MM, Mannhalter JW. Humoral and cellular immunity induced by antigens adjuvanted with colloidal iron hydroxide. *Vaccine* 1999;17:1017-1023
- 37 Uzal FA, Wong JP, Kelly WR, Priest J. Antibody response in goats vaccinated with liposome-adjuvanted *Clostridium perfringens* type D epsilon toxoid. *Vet Res Commun* 1999;23:143-150
- 38 Giannati-Stefanou A, Koptopoulos G, Hatzopoulou E, Sarris K. A *Salmonella abortusovis* inactivated vaccine protects mice from abortion after challenge. *Vet Microbiol* 1999;66:285-290
- 39 Brunel F, Darbouret A, Ronco J. Cationic lipid DC-Chol induces an improved and balanced immunity able to overcome the unresponsiveness to the hepatitis B vaccine. *Vaccine* 1999;17:2192-2203
- 40 Duclos P. Safety of immunisation and adverse events following vaccination against hepatitis B. *Expert Opin Drug Saf* 2003;2:225-231
- 41 Bordet AL, Michenet P, Cohen C, Arbion F, Ekindi N, Bonneau C, Kerdraon R, Coville M. Post-vaccination granuloma due to aluminium hydroxide. *Ann Pathol* 2001;21:149-152
- 42 Kumar RK. How safe is hepatitis B vaccination at birth? *J Paediatr Child Health* 2000;36:611-612
- 43 Su L, Tucker R, Frey SE, Gress JO, Chan IS, Kuter BJ, Guess HA. Measuring injection-site pain associated with vaccine administration in adults: a randomised, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *J Epidemiol Biostat* 2000;5:359-365
- 44 Han HR, Park HM. Effects of adjuvants on the immune response of staphylococcal alpha toxin and capsular polysaccharide (CPS) in rabbit. *J Vet Med Sci* 2000;62:237-241
- 45 Baylor NW, Egan W, Richman P. Aluminum salts in vaccines-US perspective. *Vaccine* 2002;20(Suppl 3):18-23
- 46 Shi Y, HogenEsch H, Regnier FE, Hem SL. Detoxification of endotoxin by aluminum hydroxide adjuvant. *Vaccine* 2001;19:1747-1752
- 47 Johnston CT, Wang SL, Hem SL. Measuring the surface area of aluminum hydroxide adjuvant. *J Pharm Sci* 2002;91:1702-1706
- 48 Redhead K, Riley A, Selkirk S, Poole S, Miller E. The effect of adsorption with aluminium hydroxide on the reactogenicity of pertussis vaccines. *Biologicals* 1999;27:111
- 49 Iyer S, HogenEsch H, Hem SL. Relationship between the degree of antigen adsorption to aluminum hydroxide adjuvant in interstitial fluid and antibody production. *Vaccine* 2003;21:1219-1223
- 50 Chang M, Shi Y, Nail SL, HogenEsch H, Adams SB, White JL, Hem SL. Degree of antigen adsorption in the vaccine or interstitial fluid and its effect on the antibody response in rabbits. *Vaccine* 2001;19:2884-2889
- 51 Matheis W, Zott A, Schwanig M. The role of the adsorption process for production and control combined adsorbed vaccines. *Vaccine* 2001;20:67-73
- 52 Rosas JE, Hernandez RM, Gascon AR, Igartua M, Guzman F, Patarroyo ME, Pedraz JL. Biodegradable PLGA microspheres as a delivery system for malaria synthetic peptide SPf66. *Vaccine* 2001;19:4445-4451
- 53 Holt LB. Developments in diphtheria prophylaxis. London: *Heinemann* 1950:67-99
- 54 Shi Y, HogenEsch H, Hem SL. Change in the degree of adsorption of proteins by aluminum-containing adjuvants following exposure to interstitial fluid: freshly prepared and aged model vaccines. *Vaccine* 2002;20:80-85
- 55 Heimlich JM, Regnier FE, White JL, Hem SL. The in vitro displacement of adsorbed model antigens from aluminium-containing adjuvants by interstitial proteins. *Vaccine* 1999;17:2873-2881
- 56 Gherardi RK, Coquet M, Cherin P, Belec L, Moretto P, Dreyfus PA, Pellissier JF, Chariot P, Authier FJ. Macrophagic myofasciitis lesions assess long-term persistence of vaccine-derived aluminium hydroxide in muscle. *Brain* 2001;124:1821-1831
- 57 Gonser S, Stalder J, Folkers G. Vaccines and their transfection potency. *Vaccine* 1999;17:2113-2116
- 58 Hancock GE, Smith JD, Heers KM. The immunogenicity of subunit vaccines for respiratory syncytial virus after co-formulation with aluminum hydroxide adjuvant and recombinant interleukin-12. *Viral Immunol* 2000;13:57-72
- 59 Kenney RT, Sacks DL, Sypek JP, Vilela L, Gam AA, Evans-Davis K. Protective immunity using recombinant human IL-12 and alum as adjuvants in a primate model of cutaneous leishmaniasis. *J Immunol* 1999;163:4481-4488
- 60 Argiro L, Henri S, Dessein H, Dessein AJ, Bourgois A. Induction of a protective immunity against *Schistosoma mansoni* with ovalbumin-coupled Sm37-5 coadsorbed with granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) or IL-12 on alum. *Vaccine* 1999;17:13-18
- 61 Braun MC, Lahey E, Kelsall BL. Selective suppression of IL-12 production by chemoattractants. *J Immunol* 2000;164:3009-3017
- 62 Munson EL, Du Chateau BK, Jobe DA, Lovrich SD, Callister SM, Schell RF. Production of borrelial antibody to outer surface protein A *in vitro* and modulation by interleukin-4. *Infect Immun* 2000;68:5496-5501
- 63 Ulanova M, Tarkowski A, Hahn-Zoric M, Hanson LA. The common vaccine adjuvant aluminum hydroxide upregulates accessory properties of human monocytes via an interleukin-4-dependent mechanism. *Infect Immun* 2001;69:1151-1159
- 64 吕凤林, 何凤慈. 利用纳米材料制作多肽疫苗佐剂的思考. 生物化学和生物物理进展 2002;28:832-835
- 65 Akerman ME, Chan WC, Laakkonen P, Bhatia SN, Ruoslahti E. Nanocrystal targeting *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:12617-12621
- 66 Mao CD, Sun WQ, Shen ZY. A nanomechanical device based on the B-Z transition of DNA. *Nature* 1999;397:144-146
- 67 Macilwain C. US plans large funding boost to support nanotechnology boom. *Nature* 1999;400:95
- 68 Wang X, Li Y. Fullerene-Like rare-earth nanoparticles. *Angew Chem Int Ed Engl* 2003;42:3497-3500
- 69 Taton TA, Mirkin CA, Letsinger RL. Scanometric DNA array detection with nanoparticle probes. *Science* 2000;289:1757-1760
- 70 YunWei CC, Rongchao J, Mirkin CA. Nanoparticles with raman spectroscopic fingerprints for DNA and RNA detection. *Science* 2002;297:1536-1540
- 71 王九平, 白雪帆, 张三奇, 李谨华, 张颖, 张岩, 薛克昌, 顾宜, 王平忠, 骆抗先. 肝靶向十六酸拉咪味啉酯固体脂质纳米粒抗乙肝病毒的研究. 世界华人消化杂志 2003;11:191-194
- 72 Zhang ZR, He Q, Liao GT, Bai SH. Study on the anticarcinogenic effect and acute toxicity of liver-targeting mitoxantrone nanoparticles. *World J Gastroenterol* 1999;5:511-514
- 73 He Q, Mitchell AR, Johnson SL, Wagner-Bartak C, Morcol T, Bell SJ. Calcium phosphate nanoparticle adjuvant. *Clin Diagn Lab Immunol* 2000;7:899-903
- 74 Frey A, Mantis N, Kozlowski PA, Quayle AJ, Bajardi A, Perdomo JJ, Robey FA, Neutra MR. Immunization of mice with peptomers covalently coupled to aluminum oxide nanoparticle. *Vaccine* 1999;17:3007-3019





Published by **Baishideng Publishing Group Inc**  
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,  
CA 94588, USA  
Fax: +1-925-223-8242  
Telephone: +1-925-223-8243  
E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

