

铝佐剂作用机制及其在人用 H5N1 灭活疫苗中的辅佐作用

梁存军¹, 王健², 吕凤林³, 黎晓敏¹, 熊仲良², 张一¹

1 西南大学动物科技学院, 重庆, 400716

2 重庆市农业局, 重庆市防治高致病性禽流感指挥部办公室, 重庆 401147

3 第三军医大学大坪医院野战外科研究所, 重庆 400042

摘要: 氢氧化铝佐剂已经使用了 80 余年, 其免疫增强作用已经被人们证实, 但是其详细的机理以及在使用中存在的问题尚未彻底阐明。HPAIV H5N1 在世界范围内的发生引起人们的广泛关注与焦虑。有效的控制措施就是进行预防接种, 但是目前使用的人用 HPAIV H5N1 灭活疫苗尚在研究当中, 也存在一些问题。研究证实氢氧化铝佐剂的加入使该疫苗在达到相同抗体滴度的情况下可以减少抗原的用量。综述了 HPAIV H5N1 在氢氧化铝辅佐下的一些新认识, 并对辅佐新型疫苗的开发应用前景进行了展望。

关键词: 氢氧化铝佐剂, 磷酸铝佐剂, 机理

Mechanism of Aluminum-containing Adjuvant and Its Effect on Inactivated Influenza A (H5N1) Vaccine in Medicine—a mini review

Cunjun Liang¹, Jian Wang², Fenglin Lü³, Xiaomin Li¹, Zhongliang Xiong², and Yi Zhang¹

1 College of Animal Science and Veterinary Medicine, Southwest University, Chongqing 400716, China

2 Chongqing Agricultural Bureau, Office of HPAI Prevention and Control, Chongqing, 401147, China

3 Research Institute of Surgery, The 3rd Military Medical University, Chongqing 400042, China

Abstract: Aluminum-containing adjuvants have been used over 80 years and play a very important role in many vaccines. However, the mechanism of aluminum-containing adjuvants as well as the problems existing in their application remain uncertain. HPAIV H5N1 arouses people's attention and anxiety worldwide. Vaccination is an effective control measure. The use of aluminum hydroxide adjuvant will decrease the dosage of antigen whereas the vaccine reaches the same antibody titer. This paper summarizes some recent developments in HPAIV H5N1 with aluminium-hydroxide adjuvant, and assesses the prospect of this new adjuvant vaccine.

Keywords: aluminium hydroxide adjuvant, aluminum phosphate adjuvant, mechanism, HPAIV H5N1

Received: April 4, 2007; **Accepted:** June 15, 2007

Supported by: the Key Sci & Tech Research Project by Scientific Committee of Chongqing (No. 2006AC1014).

Corresponding author: Xiaomin Li. Tel: +86-23-66306189; Fax: +86-23-89117298; E-mail: lixiaomin662@sina.com

重庆市科委攻关课题 (No. 2006AC1014)。

高致病性禽流感(Highly pathogenic avian influenza, HPAI)已经在亚洲、非洲、欧洲等地域呈世界范围内流行,引起家禽和野生候鸟乃至人类的严重疾病甚至死亡。截至2006年8月23日,WHO已经收到241例人感染禽流感H5N1的病例,其中141例死亡^[1,2]。鉴于禽流感先对人类造成的危害,目前已经在世界范围内引起人们的广泛关注。进行有效的免疫预防是防制HPAI暴发的重要措施之一,而防制工作中使用的疫苗以HPAI(H5N1)全病毒灭活苗为主,主要抗原成分是血凝素(HA)和神经氨酸酶(NA),而HA能够诱导机体产生有效的中和抗体,从而在流行期间阻止病毒对机体的侵害。但是禽流感HA抗原比人流感HA抗原的免疫原性低,更需要加入免疫佐剂。尽管人们对各类免疫佐剂进行的研究非常广泛,但是氢氧化铝作为美国FDA批准的唯一人用疫苗佐剂,在疫苗中使用不仅可以提高机体的免疫应答而且具有较好的安全性。目前人们已经将氢氧化铝作为人用HPAI(H5N1)疫苗的佐剂进行人体临床研究,但是其作用机制、存在的问题可能与其他疫苗还有诸多不同之处。本文对人用HPAI(H5N1)抗原与铝佐剂作用性质、吸附机制、临床应用,以及存在问题与改进措施进行了综述。

1 铝佐剂

1.1 铝佐剂的性质

铝佐剂(aluminum-containing adjuvants)包括:氢氧化铝佐剂(aluminium hydroxide adjuvant)和磷酸铝佐剂(aluminium phosphate)两种。在使用过程中氢氧化铝以其本身的特点而使用更加广泛。氢氧化铝佐剂是以 $4.5\text{ nm} \times 2.2\text{ nm} \times 10\text{ nm}$ 存在的纤维状粒子^[3],等电点(ipe)11.4^[4]。这种粒子聚集后以松散的 $1\sim 10\text{ }\mu\text{m}$ 大小的形式存在^[5]。在化学上氢氧化铝佐剂是以铝羟基形式存在的^[6],其羟基可以提供或接受质子,从而表现为两性化合物。在pH 7.4的溶液中呈阳离子形式存在,是阴离子抗原的良好吸附剂。磷酸铝佐剂不是单一的物质,而是羟基磷酸铝复合物,磷酸基团对羟基地置换程度取决于反应物和沉淀的条件及其等电点,商品磷酸铝佐剂的等电点是5.0,在pH 7.4的溶液中呈阴离子形式存在,是阳离子抗原的良好吸附剂^[7]。

Stanley等^[8]通过铝同位素 ^{26}Al , ^{27}Al 标记的方法对氢氧化铝和磷酸铝佐剂进行了研究。体外分解和体内吸收研究表明:通过肌肉注射的铝佐剂被 γ -羟羧酸溶解在组织间液,再吸收入血液,分布到组织,最后在尿液中排除。

1.2 铝佐剂的制苗前准备

铝佐剂在制备疫苗之前必须是无菌的,经常使用的灭菌技术是高压高温灭菌(autoclaving)^[9]。Lana等^[10]在121, 30和60 min 高压灭菌处理磷酸铝佐剂和氢氧化铝佐剂证实:磷酸铝佐剂保持无定形态,而随着pH值的降低,两种铝佐剂都发生去质子化/脱水反应。从蛋白吸附率,pH 2.5时酸中和率和零电荷点(point of zero charge, PZC)降低表明:去质子化/脱水反应导致其表面积降低,用X射线衍射表明氢氧化铝佐剂经过高压灭菌后结晶度升高。灭菌过程中减少高温高压的处理时间与处理次数,可以保证与表面积相关的蛋白吸附率、酸中和率、PZC和黏性等降低的性质变化。Lana等^[11]又进一步证实氢氧化铝和磷酸铝佐剂在室温放置有利于晶体形成,从而导致蛋白吸附量降低。因此铝佐剂沉淀合成后,尽快使用有好的效果。

Lana等^[11]对蛋白在佐剂中的分布机制进行了深入的研究:稀释的佐剂在存放过程中发生了两个过程:1)通过双羟基电桥(double hydroxide bridge)使晶体生长;2)游离的和吸附在佐剂上的磷酸基团的平衡-再平衡。在稀释过程中,磷酸基团会达到新的溶解和吸附平衡,在达到最大的有序性后双羟基电桥停止发挥作用。从而呈现出:稀释后起初由磷酸基团的再平衡作用占优势到6个月后双羟基电桥占优势。磷酸基团与铝的比率可以反映pH降低的程度,这主要是由于磷酸基团在稀释的过程中所起的作用而决定的。未稀释的磷酸铝佐剂对Lysozyme的吸附率在15个月的存储期内,统计学上降低显著(0.80 mg/mg Al到0.54 mg/mg Al)。而稀释的磷酸铝佐剂对Lysozyme的吸附率在统计学上差异不显著。未稀释的磷酸铝佐剂的PZC在存放过程中没有发生明显的变化。而稀释的磷酸铝佐剂PZC值在存放过程中比稀释前更高(由于磷酸基团的再平衡作用)。稀释的磷酸铝佐剂的PZC值在6~15个月的存储期中没有明显的变化。磷酸基团在非晶体羟基磷酸铝中

起到减缓晶体形成的作用。

1.3 铝佐剂的作用机理

铝佐剂在生产和使用过程中经历两种环境: 佐剂吸附抗原的疫苗环境; 皮下或肌肉注射后的组织间液环境。Glenny 等^[12]证实铝佐剂作用时发现在疫苗的上清液中没有白喉类毒素, 得出结论: 抗原吸附率在提高免疫应答方面很重要。因此人们在疫苗的成分选择和制备过程中一个重要的目标是提高抗原对佐剂的吸附率。Vogel 等^[13]研究表明: 抗原与铝佐剂的吸附作用主要是依靠静电引力、疏水作用和配体交换。三种作用力可以通过以下方法进行测定: 吸附量与离子强度的改变反映静电引力的大小; 吸附量与乙二醇量的改变说明疏水作用的强弱; 配体交换强度可以用组织液中的洗脱情况来定量^[14]。氢氧化铝佐剂表面的羟基提供抗原吸附的基础: 在抗原和佐剂具有相反电荷的情况下, 静电引力发挥重要作用; 当抗原中含有磷酸基团时, 磷酸基团和铝佐剂表面的羟基发生配体交换, 诱导蛋白构象发生变化, 使磷酸基团易于和表面的铝离子发生作用形成内球复合体(inner-sphere complex)。不含磷酸基团的蛋白抗原与铝佐剂的吸附机制以静电吸附作用为主。三种作用力中静电吸附最普遍, 而配体交换作用最强^[15,16]。

颗粒抗原是通过胞吞作用, 可溶性抗原是通过胞饮被抗原呈递细胞(antigen present cells, APCs)作用, 抗原的吞噬机制影响抗原的加工过程^[17]。铝佐剂吸附的抗原与溶解的抗原量关系是否影响免疫应答, 仍需进一步研究。百日咳等疫苗在使用铝佐剂时没有效果可能与此有关。铝佐剂诱导的免疫增强作用机制之一推测是把可溶性抗原与其结合成颗粒形式利于 APCs 吞噬^[18]。无论是吸附在佐剂上还是释放到组织间液中的抗原均可以被 APCs 吞噬。Seema 等^[17]认为铝佐剂的免疫增强作用不在于其吸附的量, 而主要是有助于 APCs 的吞噬, 如: 树突状细胞和巨噬细胞对抗原的吞噬和加工。Rimaniol 等^[19]研究了铝佐剂与体外巨噬细胞的机制: 载铝巨噬细胞表现出表现型和功能的改变。由于它们表达骨髓炎样树突状细胞的典型特征和表现诱导 MHC- 抗原特异性记忆反应的能力, 表明巨噬细胞对氢氧化铝佐剂疫苗有反应性, 有助于成熟的巨噬细胞构建记忆性免疫应答, 从而产生长期的免疫保护。

氢氧化铝佐剂作用比较一致的观点是: 1)注射位点的沉积作用^[20]; 2)诱导动物模型的 Th2 型免疫应答^[21]; 3)体外诱导 T 细胞显著增殖; 4)人的 PBMC 受到氢氧化铝佐剂的作用可以诱导单核细胞分化为成熟的 CD83⁺ DC; 5)可以在体内延长和增殖鼠由骨髓衍生的巨噬细胞。最近证实磷酸铝佐剂对 DNA 疫苗效果良好, 认为磷酸铝佐剂对 DNA 疫苗和蛋白疫苗区别主要有以下不同: 1)抗原与佐剂的结合方式: 蛋白疫苗必须与佐剂结合, 而 DNA 疫苗则以游离的形式发挥作用^[22]; 2)引发的应答方式: 蛋白疫苗主要是诱发体液免疫, 而 DNA 疫苗主要是细胞免疫^[23,24]; 3)佐剂在疫苗中应该达到一定的量才能诱发蛋白疫苗的效力, 而 DNA 疫苗可以用低剂量的佐剂达到高水平免疫的效果, 并且佐剂不影响 DNA 疫苗的转染^[25]。

2 铝佐剂在人用 HPAI(H5N1)疫苗中的应用

2.1 铝佐剂辅佐禽流感 H5N1 灭活疫苗

HPAI(H5N1)在世界范围内的流行, 已经引起了众多学者探索针对其的防制研究, 其中使用灭活疫苗进行免疫是一种有效的措施。但是灭活疫苗的免疫原性低、抗体应答慢也制约了其广泛应用。人们通过在 HPAI(H5N1)灭活病毒中加入氢氧化铝佐剂进行人体临床试验, 证实能够显著地降低抗原用量, 提高免疫应答。Treanor 等^[26]采用 A/Vietnam/1203/2004 (H5N1)和 A/PR/8/34(H1N1)为基础通过删除关键氨基酸得到重组毒株, 增殖后经过离心纯化病毒, 用福尔马林灭活病毒, Triton X-100 裂解病毒, 过滤除菌。三角肌注射接种 18~64 岁 451 名男女志愿者, 按照 2 : 2 : 2 : 2 : 1 的比例分组, HA 抗原量(无佐剂)分别为 7.5 μg 、15 μg 、45 μg 、90 μg 和安慰剂(生理盐水)进行免疫, 28 d 加强免疫, 分别在 28, 56 d 采血进行微量中和试验和血凝抑制试验测定抗体。结果显示: 90 μg 组 56% 的受试者达到中和抗体滴度 1 : 80, 45 μg 组也有抗体应答, 而低剂量组没有致免疫性; 表现明显的抗原与抗体的产生呈现剂量依赖关系。Bresson 等^[27]采用 A/Vietnam/1194/2004/ (H5N1)和 A/PR/8/34(H1N1)经过删除关键氨基酸得到的 NIBRG14 株进行病毒灭活处理, 以 HA 抗原含量 7.5 μg 、15 μg 、30 μg , 分为加氢氧化铝佐剂(0.6 mg/剂量)组和不加佐剂组, 共 6 组, 每组 50 人, 三角肌免疫接种 18~40

岁的 300 名男女志愿者, 进行 1 期临床试验。21d 后加强免疫, 在 0、21、42 d 采集血样进行血凝抑制和微量中和试验测定抗体。结果显示: 加强免疫后 30 μg 组抗体滴度最高, 而使用佐剂组比不加佐剂组抗体滴度高。Lin 等^[28]采用 A/Vietnam/1194/2004 (H5N1)和 A/PR/8/34(H1N1)的重配株 NIBRG14 进行灭活处理, 经过层析仪浓缩和纯化病毒, 用 1.25 μg 、2.5 μg 、5 μg 、10 μg HA 抗原量/剂量与氢氧化铝佐剂混合至铝的终浓度 0.5 mg/mL, 进行 I 期临床试验, 三角肌接种 120 名 18~60 岁的 120 名男女志愿者, 分为 4 组, 依次接种 1.25 μg 、2.5 μg 、5 μg 、10 μg 、分别在 28 d 后加强免疫, 在 0、14、28、42、56 d 采集血样进行血凝抑制试验和病毒中和试验测定抗体, 结果显示: 首次免疫 14 d 后即可检测到抗体存在。加强免疫后 10 μg 组诱导最高的免疫应答, 血清阳性率 78%, 抗体滴度 1:40, 并且抗原与抗体之间存在剂量依赖关系。

以上试验证实了氢氧化铝佐剂对人体 HPAI (H5N1)抗原的免疫增强作用。同时, 也佐证了文献^[29-31]全病毒苗在首次免疫人群中比传统的裂解苗和亚单位疫苗有更高的免疫原性。在达到有效免疫的情况下, 氢氧化铝佐剂的加入使抗原使用剂量的降低具有深远的科学与实践意义, 一方面节约抗原量; 另一方面抗原量的降低可以使敏感人群降低致反应性, 据 WHO 公布: H5N1 感染死亡的病例中, 很大的比例是儿童^[32,33], 而全病毒灭活疫苗对儿童副作用更大^[34]。值得一提的是在进行免疫前和未接触过 H5N1 抗原的情况下, 个别受试者却存在抗 H5N1 抗体^[27,28]。

2.2 铝佐剂对人体的副作用

衡量佐剂能否使用的重要指标是佐剂的有效性和安全性。任何佐剂对机体都具有副作用。Bresson 等^[27]证实氢氧化铝佐剂(0.6 mg/mL)与抗原混合后的人体注射位点反应: 肿胀, 红斑, 疼痛, 硬结和淤斑, 佐剂组普遍高于无佐剂组, 尤其在加强免疫(21d)之后。佐剂组与不加佐剂组的全身反应几乎没有差异。Lin 等^[28]用福尔马林灭活 HPAI(H5N1)全病毒, 用层析仪浓缩和纯化病毒, 与氢氧化铝佐剂结合, 至 Al 的终浓度 0.5 mg/mL, 人体肌肉注射, 首免后记录 30 min 内和 3 d 内的副反应, 受试者局部反应情况: 疼痛、红斑、肿胀、局部发热和痒, 全身反应记录

发热、疲劳、肌痛、头痛、腹泻、咳嗽、呕吐、头晕、恶心等。在 0~56 d 的试验期内, 没有出现严重的副反应, 多数是轻度 and 暂时的局部和全身反应, 所有症状在 72 h 内可以恢复。在加强免疫(28 d)后反应更加轻微, 尽管有发热反应存在, 但是与对照组(安慰剂)没有差异。Treanor 等^[26]没有使用佐剂的副反应以注射位点的轻度疼痛最为普遍, 记录接种后 30 min 和以后的 7 d 的副反应, 局部疼痛和全身反应为发热, 肌痛, 头痛和恶心。以上试验说明氢氧化铝佐剂在 0.5, 0.6 mg/mL 用量下不仅有效, 而且对人体也是安全的: 使用佐剂组局部副反应普遍升高, 但是全身副反应和不使用佐剂组之间没有显著差异。

3 铝佐剂的改进措施

如果 HPAI 暴发, 疫苗是降低大流行期间发病率和死亡率的有效措施^[2]。疫苗投入生产应该从这样几个方面来衡量: 制作过程, 抗原含量和佐剂^[27]。提高 HPAI(H5N1)疫苗的免疫原性可以通过增加 HA 的量, 使用佐剂, 加强免疫和使用全病毒而不是裂解苗等措施。随着佐剂应用的要求逐渐提高, 佐剂的安全性与有效性研究更应该深入, 以最大限度地降低副作用。从目前的研究现状和铝佐剂的应用前景来看主要应从以下几个方面深入下去。

3.1 铝佐剂改性

在正常生理 pH 情况下, 氢氧化铝佐剂是良好的酸性蛋白吸附剂, 而对碱性蛋白的吸附不良。对氢氧化铝佐剂的缓冲液进行改变, 可以使其对碱性蛋白进行吸附^[35]。氢氧化铝用磷酸根离子处理可以降低等电点。商品氢氧化铝佐剂的 电位是 26 mV(pH7.4), 磷酸根离子(K_2HPO_4)浓度大于 2 mmol/L, 电位则为负。因而用磷酸根离子处理氢氧化铝佐剂后, 氢氧化铝发生的电性转变造成了在佐剂和吸附蛋白之间产生了静电引力。用 5 mmol/L 磷酸根离子处理氢氧化铝佐剂可以使 电位变成-16 mV, 吸附 Lysozyme 的能力由原来的 11%升高到 39%^[7]。Liu 等^[36]也证实疟疾疫苗中添加磷酸盐缓冲液可以提高抗原的吸附率。磷酸根离子的浓度和氢氧化铝佐剂晶粒的表面积是决定抗原吸附量的因素。磷酸铝佐剂在 pH 7.4 为阴离子形式, 添加磷酸基团可以提高表面的负电荷, 而不会改变吸附蛋白的种类^[7]。用磷酸根离子对氢氧化铝佐剂进行改性

虽然取得了一些进展,但是从机理角度分析,磷酸根离子的加入必然会对含磷酸基团的抗原与氢氧化铝佐剂的吸附造成一种竞争压力。从而限制其发挥更大的吸附作用。所以寻找一种代替磷酸根离子的化学物质对氢氧化铝佐剂改性可能是一种有效的途径。

3.2 铝佐剂纳米化

纳米化的氢氧化铝佐剂,一方面可以提供更大的比表面积,以供合适的抗原吸附,从而在携带等量抗原的情况下降低佐剂的用量,同时避免由于铝佐剂量较高对巨噬细胞的抑制作用;另一方面佐剂与抗原特别是可溶性抗原一起,更加有利于 APCs 对抗原的吞噬^[37],通过“爆释效应”等提前得到高滴度的中和抗体^[38]。此外,其低致反应性在人用疫苗中也具有很高的应用价值。可以相信纳米化氢氧化铝佐剂具有广阔的应用前景^[39]。关于佐剂纳米化的特性、纳米佐剂的优势与应用前研究参见文献^[40,41]。

4 应用展望

尽管 H5N1 亚单位疫苗和核酸疫苗还没有进入临床试验,但是人们已经针对其它病原体的疫苗进行了尝试。目前使用的乙肝表面抗原(HBsAg)是由蛋白质,碳水化合物和类脂构成的大分子复合物。HBsAg 的磷酸基团可以与氢氧化铝佐剂羟基发生配体交换,从而表现高的吸附系数^[14]。我国学者金博等^[42]以氢氧化铝佐剂辅佐 HCV-DNA 疫苗接种小鼠,通过测定 IL-2, IL-4, IFN- γ , 证实氢氧化铝佐剂可诱导较其它佐剂更强的 Th2 反应。Miguel 等^[43]用磷酸铝佐剂辅佐利什曼原虫(*Leishmania*)DNA 疫苗免疫小鼠证实对体液免疫没有影响,但是 IFN- γ 量的增加, CD8⁺ T 细胞数量的增加,以及特异性抗原刺激淋巴细胞增殖反应证实有助于提高细胞免疫。尽管铝佐剂不能有效地辅佐所有抗原,但是铝佐剂在辅佐 HPAI(H5N1)灭活疫苗中发挥提高体液免疫应答的重要作用已经被证实,相信通过以上方面的改进与发展,将来铝佐剂有可能在亚单位疫苗,核酸疫苗等新型疫苗中激发细胞免疫,从而更好地为人类健康服务。

REFERENCES

[1] WHO.Cumulative number of confirmed human cases of avian influenza A (H5N1) reported to WHO. http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/country/cases_table_2006_08_23/en/index.html (accessed Aug 23, 2006).

- [2] WHO.Responding to the avian influenza pandemic threat:recommended strategic actions. http://www.who.int/csr/resources/publications/influenza/WHO_CDS_CSR_GIP_05_8-EN.pdf (accessed Aug 17, 2006).
- [3] Johnston CT, Wang SL, Hem SL. Measuring the surface area of aluminum hydroxide adjuvant. *J Pharm Sci*, 2002, **91**: 1702-1706.
- [4] Seeber SJ, White JL, Hem SL. Predicting the adsorption of proteins by aluminum-containing adjuvants. *Vaccine*, 1991, **9**: 201-203.
- [5] Hem SL, White JL. In: Powell M, Newman M, editors. Vaccine design the subunit and adjuvant approach. New York: Plenum, 1995, 249-276.
- [6] Shirodkar S, Hutchinson RL, Perry DL, White JL, Hem SL. Aluminum compounds used as adjuvants in vaccines. *Pharm Res*, 1990, **7**: 1282-1288.
- [7] Joseph V Rinella Jr, Joe L White, Stanley L. Hem. Treatment of aluminium hydroxide adjuvant to optimize the adsorption of basic proteins. *Vaccine*, 1996, **14**(4): 298-300.
- [8] Stanley L. Hem.Elimination of aluminum adjuvants. *Vaccine*, 2002, **20**: S40-S43.
- [9] Joslyn LJ. In: Block SS, editor. Disinfection, Sterilization, and Preservation, 4th ed. Philadelphia: *Lea and Febiger*, 1991, 495-526.
- [10] Lana S Burrell, Erik B Lindblad, Joe L White, *et al.* Stability of aluminium-containing adjuvants to autoclaving. *Vaccine*, 1999, **17**: 2599-2603.
- [11] Lana S Burrell, Joe L White, Stanley L. Hem. Stability of aluminium-containing adjuvants during aging at room temperature. *Vaccine*, 2000, **18**: 2188-2192.
- [12] Glenn A, Pope C, Waddington H, Wallace U. The antigenic value of toxoid precipitated by potassium alum. *J Pathol Bacteriol*, 1926, **29**: 38-45.
- [13] Vogel FR, Hem SL. In: Plotkin SA, Orenstein MD, editors. Vaccines. 4th ed. New York: Sanders, 2003.
- [14] Iyer S, Robinett RS, HogenEsch H, *et al.* Mechanism of adsorption of hepatitis B surface antigen by aluminum hydroxide adjuvant. *Vaccine*, 2004, **22**: 1475-1479.
- [15] Vogel FR, Hem SL. In: Plotkin SA, Orenstein WA, editors. Vaccines, 4th ed. New York: Elsevier, 2003 (Chapter 6).
- [16] Yi Shi, Harm HogenEsch, Stanley L Hem, *et al.* 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.
- [17] Seema Iyer, Harm HogenEsch, Stanley L Hem. Relationship between the degree of antigen adsorption to aluminum hydroxide adjuvant in interstitial fluid and antibody production. *Vaccine*, 2003, **21**: 1219-1223.
- [18] Manhalter JW, Neychev HO, Zlabinger GJ, Ahmad R, Eibl MM. Modulation of the human immune response by the

- non-toxic and non-pyrogenic adjuvant aluminum hydroxide: effect of antigen uptake and antigen presentation. *Clin Exp Immunol*, 1985, **61**: 143–145.
- [19] Anne-Cécile Rimaniol, Gabriel Gras, François Verdier et al. Aluminum hydroxide adjuvant induces macrophage differentiation towards a specialized antigen-presenting cell type. *Vaccine*, 2004, **22**: 3127–3135.
- [20] Gupta RK, Rost BE, Relyveld E, Siber GR. Adjuvant properties of aluminum and calcium compounds. *Pharm Biotechnol*, 1995, **6**: 229–248.
- [21] Brewer JM, Conacher M, Satoskar A, Bluethmann H, Alexander J. In interleukin-4-deficient mice, alum not only generates T helper 1 responses equivalent to Freund's complete adjuvant, but continues to induce T helper 2 cytokine production. *Eur J Immunol*, 1996, **26**(9): 2062–2066
- [22] Wang S, Liu X, Fisher K, et al. Enhanced type I immune response to a hepatitis B DNA vaccine by formulation with calcium- or aluminium-phosphate. *Vaccine*, 2000, **18**: 1227–1235.
- [23] Gupta RK, Rost BE. Aluminium compounds as vaccine adjuvants. In: O'Hagan DT, editor. *Methods in molecular medicine*, vol. 42. Vaccine adjuvants: preparation methods and research protocols, vol. 42. Totowa: Humana Press Inc, 2000, 65–89.
- [24] Brewer JM, Conacher M, Hunter CA, Mohrs M, Brombacher F, Alexander J. Aluminium hydroxide adjuvant initiates strong antigenspecific Th2 responses in the absence of IL-4-or IL-13-mediated signaling. *J Immunol*, 1999, **163**: 6448–6454.
- [25] Manam S, Ledwith BJ, Barnum AB, et al. Plasmid DNA vaccines: tissue distribution and effects of DNA sequence, adjuvants and delivery method on integration into host DNA. *Intervirology*, 2000, **43**: 273–281.
- [26] Treanor JJ, Campbell JD, Zangwill KM, Rowe T, Wolff M. Safety and immunogenicity of an inactivated subvirion influenza A (H5N1), vaccine. *N Engl J Med*, 2006, **354**: 1343–1351.
- [27] Bresson JL, Perronne C, Launay O, et al. Safety and immunogenicity of an inactivated split-virion influenza A/Vietnam/1194/2004 (H5N1) vaccine: phase I randomised trial. *Lancet*, 2006, **367**: 1657–1664.
- [28] Lin JT, Zhang JS, Dong XP, et al. Safety and immunogenicity of an inactivated adjuvanted whole-virion influenza A (H5N1) vaccine: a phase I randomised controlled trial. *Lancet*, 2006, **368**: 991–997.
- [29] Nicholson KG, Tyrrell DAJ, Harrison C, et al. Clinical studies of monovalent inactivated whole virus and subunit A/USSR/77 (H1N1) vaccine: serological responses and clinical reactions. *J Biol Stand*, 1979, **7**: 123–136.
- [30] Stephenson I, Nicholson KG, Gluck R, et al. Safety and antigenicity of whole virus and subunit influenza A/Hong Kong/1073/99(H9N2) vaccine in healthy adults: phase I randomised trial. *Lancet*, 2003, **362**: 1959–1966.
- [31] Hehme N, Engelmann H, Kuenzel W, Neumeier E, Saenger R. Immunogenicity of a monovalent, aluminium-adjuvanted influenza whole virus vaccine for pandemic use. *Virus Res*, 2004, **103**: 163–171.
- [32] Cintra OA, Rey LC. Safety, immunogenicity and efficacy of influenza vaccine in children. *J Pediatr (Rio J)*, 2006, **82**: S83–90.
- [33] WHO. Communicable disease surveillance and response. http://www.wpro.who.int/sites/csr/data/data_Graphs.htm (accessed July 17, 2006).
- [34] al-Mazrou A, Scheifele DW, Soong T, Bjornson G. Comparison of adverse reactions to whole-virion and split-virion influenza vaccines in hospital personnel. *CMAJ*, 1991, **145**: 213–218.
- [35] Callahan PM, Shorter AL, Hem SL. The importance of surface charge in the optimization of antigen adjuvant interactions. *Pharm. Res*, 1991, **7**: 852–858.
- [36] Liu JC, Feldkamp JR, White JL, et al. Adsorption of phosphate by aluminum hydroxycarbonate. *J Pharm Sci*, 1984, **73**: 1355–1358.
- [37] Manhalter JW, Neychev HO, Zlabinger GJ, Ahmad R, Eibl MM. Modulation of the human immune response by the non-toxic and non-pyrogenic adjuvant aluminum hydroxide: effect of antigen uptake and antigen presentation. *Clin Exp Immunol*, 1985, **61**: 143–145.
- [38] He P, Lü FL, He FC, et al. Immune effect of HBsAg adsorbed by nanoparticulate alum adjuvant. *Chemical Research In Chinese Universities*, 2005, **26**(5): 886–888. 何萍, 吕凤林, 何凤慈, 等. 高等学校化学学报, 2005, **26**(5): 886–888.
- [39] Lü FL, He FC. Nanoparticles as adjuvants for the epitope peptide vaccines. *Progress In Biochemistry and Biophysics*, 2001, **28**(2): 832–835. 吕凤林, 何凤慈. 生物化学与生物物理进展, 2001, **28**(2): 832–835.
- [40] Liang CJ, Li XM, Lü FL. Updated advances in nanoparticulate-adjuvant of adjuvants. *Chin J Biologicals*, 2007, **20**(7): 543–546. 梁存军, 黎晓敏, 吕凤林. 中国生物制品学杂志, 2007, **20**(7): 543–546.
- [41] Liang CJ, Wang J, Li XM, et al. The comparative study of the physical and chemical attributes of nanoparticulated aluminum hydroxide adjuvant before and after autoclaving. *China Biotechnology*, 2007, **27**(5): 81–84. 梁存军, 王健, 黎晓敏, 等. 中国生物工程杂志, 2007, **27**(5): 81–84.
- [42] Jin B, Wang RYH, Cheng LF, et al. Immunological effect influence of immunological adjuvant on HCV nucleic acid vaccine [J]. *Modern Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine*, 2005, **14**(16): 2103–2107.

金博, Recharad Yan-Hui Wang, 程留芳, 等. 现代中西医结合杂志, 2005, 14(16): 2103-2107.

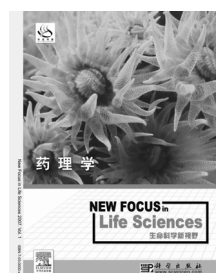
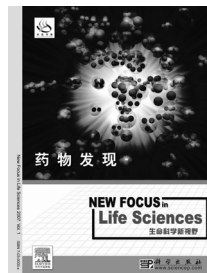
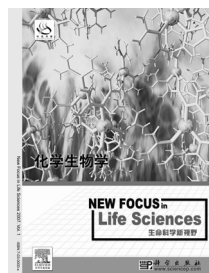
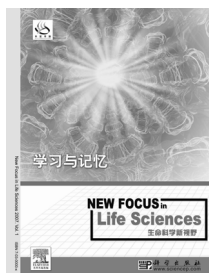
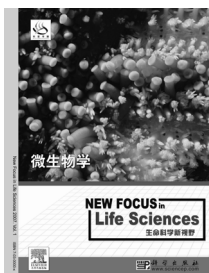
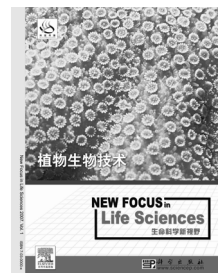
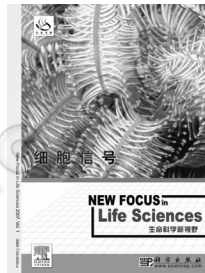
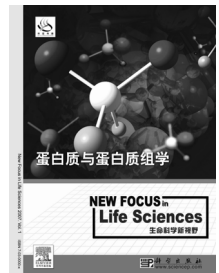
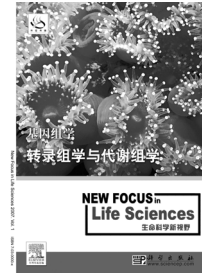
Rosario Garc'ia-Miss, Eric Dumonteil. Aluminium phosphate potentiates the efficacy of DNA vaccines against *Leishmania mexicana*. *Vaccine*, 2005, 23: 5372-5379.

[43] Miguel Rosado-Vallado, Mirza Mut-Martin, Maria del

科学出版社书讯:《生命科学新视野》(1~9 册)

本系列丛书精选 Elsevier 出版集团出版的 Trends、Current Opinion 和 Drug Discovery Today 等系列中近两年的部分综述文章(2005~2006 年), 由国内专家(杜冠华、高福、李葆明、林志彬、刘斌、刘春明、瞿礼嘉、王克夷、席真等)、Elsevier 资深编辑、科学出版社科爱传播中心编辑合力筛选, 以原文稍加中文注解的形式, 按专题编辑成册。版式新颖, 借鉴期刊风格, 每册书含部分彩印。本系列书将主要面向大学高年级学生、教师、研究生以及科研工作者, 供其参考和收藏。

本系列现已出版 9 册, 每册汇集 20 多篇综述文章。《生命科学新视野(1): 基因组学, 转录组学与代谢组学》主要涉及基因组学、转录组学、微阵列, 以及代谢组学等内容。《生命科学新视野(2): 蛋白质与蛋白质组学》主要涉及蛋白质与蛋白质组学的相关技术, 比如质谱分析、分馏法、纳米结晶学等内容, 另外还介绍了蛋白质组学在生物医药领域的应用前景。《生命科学新视野(3): 细胞信号》主要涉及信号转导、信号通路、信号转导网络等内容。《生命科学新视野(4): 植物生物技术》涉及植物基因工程、农作物改良、海洋植物、药物植物等内容。《生命科学新视野(5): 微生物学》涉及系统生物学、微生物与人类疾病、噬菌体多样性、基因转移与进化、生物修复与生物强化、III 型分泌系统等内容。《生命科学新视野(6): 学习与记忆》涉及婴幼儿认知发育、语言学习、正常与异常的记忆系统、学习与记忆过程中的信号传导等内容。《生命科学新视野(7): 化学生物学》主要涉及生物催化、生物转化等内容。《生命科学新视野(8): 药物发现》主要涉及疾病机理、疾病模型、治疗技术及治疗策略等内容。《生命科学新视野(9): 药理学》涉及药理研究各方面的最新进展。



咨询及购书可联系:

北京东黄城根北街 16 号(邮编 100717) 科学出版社 科爱传播中心 杨琴(收)

联系电话: 010-64006871; 传真: 010-64034056

E-mail: yangq@kbooks.cn, <http://www.kbooks.cn>