

肖慎华, 阿得力江·吾斯曼, 刘振广, 等. PLGA 纳米疫苗佐剂的研究进展[J]. 江苏农业学报, 2022, 38(6): 1715-1721.  
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2022.06.031

## PLGA 纳米疫苗佐剂的研究进展

肖慎华<sup>1</sup>, 阿得力江·吾斯曼<sup>2,3</sup>, 刘振广<sup>2</sup>

(1. 南京农业大学动物科技学院, 江苏 南京 210095; 2. 南京农业大学动物医学院, 江苏 南京 210095; 3. 新疆农业大学动物医学学院, 新疆 乌鲁木齐 830052)

**摘要:** 聚乳酸-羟基乙酸共聚物[poly(*D,L*-lactic-co-glycolic acid), PLGA]也称聚乙丙交酯,是由单体乳酸(LA)和羟基乙酸(GA)在催化剂的作用下化学合成的具有生物相容性及生物可降解性的高分子聚合物。PLGA具有药物控释和缓释、低细胞毒性、组织和细胞生物相容性及靶向递送等一系列特性。本文从PLGA纳米粒的制备方法、检测技术、纳米佐剂作用及存在的问题和解决策略等方面对PLGA纳米粒的相关问题进行了综述。重点介绍了PLGA纳米粒作为疫苗佐剂方面的应用,并提出了PLGA疫苗佐剂存在的问题及解决策略。

**关键词:** 聚乳酸-羟基乙酸共聚物; 佐剂; 纳米材料

**中图分类号:** S853.73 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2022)06-1715-07

## Research progress of PLGA nano vaccine adjuvant

XIAO Shen-hua<sup>1</sup>, WUSIMAN Adelijiang<sup>2,3</sup>, LIU Zhen-guang<sup>2</sup>

(1. College of Animal Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 3. College of Veterinary Medicine, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China)

**Abstract:** Poly(*D,L*-lactic-co-glycolic acid), known as PLGA, is a biocompatible and biodegradable polymer chemically synthesized by the monomer lactic acid (LA) and glycolic acid (GA) in the presence of catalyst. PLGA has several interesting properties such as controlled and sustained release of drugs, low cytotoxicity, tissue and cell biocompatibility, and targeted delivery. The main aim of this review was to comprehensively address the issues related to PLGA-based nanoparticles focusing on the methods of preparation, detection technology, the action of nano-adjuvant, the existing problems and solution strategy. The application of PLGA nanoparticles as vaccine adjuvant was introduced, and the problems and solutions of PLGA vaccine adjuvant were put forward.

**Key words:** poly(*D,L*-lactic-co-glycolic acid); adjuvant; nanomaterials

近年来,随着纳米材料技术的快速发展,纳米材料在疫苗佐剂方面的应用对疫苗的发展起到了一定的推进作用。纳米佐剂的优势在于其良好的生物相

容性、纳米尺寸效应、抗原负载能力、抗原缓释效应及靶向性等<sup>[1-2]</sup>。与传统佐剂相比,聚乳酸-羟基乙酸共聚物、聚乳酸共聚物、聚( $\epsilon$ -己内酯)、聚羟基丁酸酯等纳米材料制备出的纳米粒或微球可将抗原包裹或吸附在颗粒中形成良好的纳米疫苗佐剂<sup>[3-5]</sup>。聚乳酸-羟基乙酸共聚物[poly(*D,L*-lactic-co-glycolic acid), PLGA]因其良好的安全性、生物相容性、药物包封效果及药物缓释作用在疫苗佐剂领域得到了广泛关注<sup>[6-7]</sup>。PLGA纳米粒可将药物或抗原包封在纳米颗粒中,不但可保护药物或抗原免受酶解,还能

收稿日期: 2022-07-15

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(31902312); 江苏省自然科学基金青年基金项目(BK20190521); 中国博士后科学基金面上资助项目(2018M642272)

作者简介: 肖慎华(1963-),男,江苏丰县人,副研究馆员,主要从事动物营养学研究, (E-mail) jSnjXSh@tom.com

通讯作者: 刘振广, (E-mail) lzg199011@163.com

够使药物或抗原长期缓慢释放,从而达到药物长期作用或抗原长效免疫保护的目的<sup>[7-8]</sup>。

近年来,随着对 PLGA 纳米材料的深入理解和纳米材料制备工艺的快速发展,学者们制备出了一系列不同相对分子质量、不同性质的 PLGA 原材料。PLGA 是一种线性分子,水解后可分解为单体乳酸和羟基乙酸,由于这两种单体是内源性的,很容易通过三羧酸循环在人体内代谢,因此以 PLGA 为载体进行药物输送或作为生物材料应用于机体所产生的毒性非常微弱<sup>[9-10]</sup>。PLGA 通常用 LGA 表示 PLGA 材料中的乳酸和羟基乙酸比,如 LGA 为 7 525,表示材料中乳酸含量为 75%、羟基乙酸含量为 25%。目前市场上常见的 PLGA 相对分子质量在 5 000 至 150 000 之间,其降解时间从几个月到几年不等,具体取决于 PLGA 的相对分子质量、共聚物比例和环境因素<sup>[11-12]</sup>。通常情况下 PLGA 相对分子质量越低,降解越快,因其末端羧酸的聚集和自身催化会导致纳米粒的快速降解;LGA 越低,材料亲水性越强、降解速率越高;酸性和碱性环境也会加速 PLGA 纳米粒降解,相对而言 PLGA 纳米粒在中性环境中具有良好的稳定性。PLGA 不溶于水,但在常用有机溶剂如二氯甲烷、丙酮、氯仿、苯甲醇、乙酸乙酯中有良好的溶解性<sup>[13]</sup>。随着对 PLGA 纳米材料性质的全面了解和制备技术的发展,研究人员制备出了一系列不同大小、形状和表面属性的 PLGA 纳米粒,并对这些纳米粒进行了抗原负载方式、负载能力、佐剂活性及相关机理的检测和评价<sup>[14-15]</sup>。本文以 PLGA 纳米材料为研究对象,结合近年来 PLGA 纳米粒作为疫苗佐剂存在的问题及相关解决方案,对 PLGA 纳米粒的制备、检测方法及其影响其疫苗佐剂效果各因素进行了全面分析总结,并展望未来发展趋势,以期为该领域的科研工作者提供理论基础。

## 1 PLGA 纳米粒

### 1.1 PLGA 纳米粒的制备方法

纳米粒制备过程不同,纳米粒的结构有所差异。PLGA 纳米粒的常用制备方法有乳化-溶剂挥发法、乳化-盐析法和喷雾干燥法<sup>[16]</sup>。

乳化-溶剂挥发法,是制备 PLGA 纳米粒最常用的方法,常用于制备单层或双层纳米粒<sup>[17]</sup>。该方法首先是将 PLGA 溶于二氯甲烷、丙酮或乙酸乙酯等有机溶剂中,然后将药物水溶液单独或混合表面活

性剂聚乙烯醇、聚山梨酯 80 或泊洛沙姆等一起均质,从而产生稳定的初乳或单层 PLGA 纳米粒。双层纳米粒的制备方法是,形成初乳后再向初乳中加入表面活性剂,均质后得到稳定的双层 PLGA 纳米粒<sup>[17-18]</sup>。单层或双层纳米粒中的有机溶剂可通过磁力搅拌或低压旋蒸的方法去除,除去有机溶剂后得到稳定的 PLGA 纳米粒溶液。该方法操作简单、可重复性良好,是实验室制备 PLGA 纳米粒最常用的方法,但该方法在大规模工业化生产中只适合于包封脂溶性药物的 PLGA 纳米粒生产,且均质过程耗能较高(图 2)<sup>[18]</sup>。

乳化-盐析法,首先将含有 PLGA 和药物的有机相加入到含盐析剂(氯化镁或氯化钙)或胶体稳定剂(聚乙烯吡咯烷酮)的水溶液中,均质形成水包油 O/W 乳液,用大量的水进一步稀释 O/W,有机溶剂在水中迅速扩散,形成纳米粒<sup>[19]</sup>。残留溶剂和盐析剂或胶体稳定剂可通过过滤去除。该方法制备的 PLGA 纳米粒具有包封热敏感性药物(蛋白质、DNA 和 RNA)的优势,但制备过程中由于有机溶剂在水中快速扩散,在纳米粒形成后其表面常会产生小孔,容易导致药物的渗漏<sup>[19]</sup>。

喷雾干燥法,是制备 PLGA 纳米粒的新方法。该方法是将药物分散在溶有 PLGA 的有机相中,将该混合体系喷洒在热气流中,形成纳米粒气溶胶,最后通过干燥气溶胶的方式收集纳米粒<sup>[21]</sup>。该方法具有快速、高效、实现工艺参数少等优点。但纳米粒制备过程中会和热气流对撞,不利于对蛋白质、RNA 等药物的包封制备<sup>[20]</sup>。

除了以上三种常见制备方法外,人们还通过将溶解有 PLGA 的有机相放置在透析管内,通过透析袋内溶剂发生置换方式制备出了均质的 PLGA 纳米粒<sup>[21]</sup>。有研究人员将溶质溶解在超临界流体中,使压力快速降低,达到高度饱和后导致纳米粒的膨胀定型<sup>[22]</sup>。

### 1.2 PLGA 纳米粒的检测方法

纳米粒表征及稳定性等相关检测对研究纳米粒作用机制及纳米粒的推广使用具有重要意义。纳米粒的大小有助于学者们确定纳米粒的使用途径、功效、药物释放情况和降解模式。用动态光散射、扫描电子显微镜、透射电子显微镜和原子力显微镜等检测手段可确定纳米粒大小、分布和形态等参数<sup>[23-24]</sup>。研究结果显示,PLGA 的相对分子质量对

纳米粒的粒径、包封率和降解速度均有一定的影响。当 PLGA 相对分子质量较低时,末端羧酸含量相对较高,大量羧酸会导致 PLGA 纳米粒的自身催化,从而加快纳米粒的降解速率。PLGA 纳米粒的相对分子质量可通过尺寸排阻色谱法进行检测<sup>[25]</sup>。研究结果显示,纳米粒 Zeta 电荷对纳米粒体外释放、黏附性、稳定性以及纳米粒在机体和细胞内转运特性具有重要意义<sup>[26-27]</sup>。纳米粒的分散系数(PDI)可直接反应纳米粒的分散状态。纳米粒的 Zeta 电荷、PDI 及粒径均可通过马尔文 Zeta 电位仪进行检测。纳米粒在机体中的转运分布情况很大程度上取决于其疏水性<sup>[28-29]</sup>。研究结果表明,亲水性颗粒的滞留时间比疏水性颗粒要长,通过检测纳米粒表面化学官能团,如通过 X 射线光电子能谱、傅立叶变换红外光谱和核磁共振光谱等,可判断纳米粒疏水性能的强弱<sup>[30-31]</sup>。傅立叶变换红外光谱和核磁共振光谱等方法同样可用于检测 PLGA 纳米粒中药物的包封情况及表面修饰 PLGA 纳米粒的修饰程度和修饰物用量<sup>[32-33]</sup>。

## 2 以 PLGA 为基础的纳米佐剂

研究结果<sup>[34-35]</sup>表明,负载抗原的纳米粒注入机体后可增强对机体抗原呈递细胞(APC)的募集效果,纳米粒能够有效被大量 APC 摄取,从而增强机体对抗原的摄取率,与抗原单独使用或传统油佐剂相比,纳米粒用作佐剂具有更好的免疫或治疗效果。除了 APC 的高摄取率外,基于以 PLGA 为基础的疫苗佐剂包封抗原后,因良好的缓释效果能够长时间释放抗原,为机体提供更有效的免疫保护反应,能够减少免疫次数,达到经济有效保护机体的目的<sup>[35-36]</sup>。PLGA 纳米粒作为载体可负载单独抗原或几个不同的抗原<sup>[37]</sup>。研究结果<sup>[38]</sup>证明,抗原和佐剂共同传递,才能同时被细胞有效内化。此外,当抗原和 PLGA 浓度较低时就能够有效刺激机体诱导强烈的 T 细胞免疫反应<sup>[39-40]</sup>。因此,从抗原使用剂量角度而言,PLGA 包封的抗原能够有效节约抗原用量。基于 PLGA 纳米良好的安全性及佐剂效应,该纳米佐剂引起了学者们广泛关注。已知,纳米粒的大小、形状及表面电荷等均对纳米粒佐剂活性的发挥有着重要影响<sup>[41-42]</sup>。因此,学者们围绕 PLGA 纳米粒展开了一系列研究,优化其粒径、形状及表面电荷,以求制备出更为有效的纳米佐剂。

### 2.1 粒径对纳米粒佐剂效果的影响

为了制备出最佳疫苗载体,学者们对纳米粒粒径进行了优化,并对其机体作用途径进行了检测。An 等<sup>[43]</sup>以 PLGA 纳米粒为基础,制备出了粒径分别为 20 nm、40 nm 和 100 nm 的 3 种粒径纳米粒,比较不同粒径纳米粒淋巴结传送效率及淋巴结内树突状细胞(DC)的有效靶向性。3 种纳米粒中,20 nm 粒径的纳米粒最快进入淋巴结,且高效地被 DC 所摄取,进而快速诱导有效的免疫反应;40 nm 粒径的纳米粒也能够快速进入淋巴结,但被 DC 摄取效率低于前者,因此所诱导的免疫强度弱于前者;而 100 nm 粒径的纳米粒,进入淋巴结中的时间较长,但其免疫持续时间要强于前两者<sup>[43]</sup>。经检测发现,3 种不同粒径纳米粒,进入淋巴结的时间和方式有所不同,因此介导的免疫反应强弱和持续时间均有所差异。粒径为 20~100 nm 的纳米粒,可直接进入淋巴管或细胞间隙将疫苗递送至淋巴结,产生强烈免疫反应,即为细胞旁路途径<sup>[44]</sup>。粒径大于 100 nm 的纳米粒,能够在注射部位产生募集效应,经大量 APC 摄取后,将疫苗迁移至淋巴结中而产生长效免疫反应,即为细胞载体途径<sup>[44-45]</sup>。不同粒径纳米粒对机体免疫反应类型的影响检测试验结果发现,粒径在 200~600 nm 大小的纳米粒介导能够诱导机体 IFN- $\gamma$  高水平分泌,免疫类型偏向 T helper 1(Th1)型免疫反应;粒径在 2 000~8 000 nm 的纳米粒介导,则诱导机体 IL-4 高水平分泌,免疫类型偏向 Th2 型免疫反应<sup>[45]</sup>。以上结果表明,PLGA 纳米粒的作用途径及介导的免疫反应类型和免疫反应强弱均可通过控制颗粒大小进行调节。因此,纳米粒大小对 PLGA 纳米粒疫苗佐剂效应的发挥具有重要意义。

### 2.2 电荷对纳米粒佐剂效果的影响

将抗原包封在 PLGA 纳米粒中,能够为机体提供长效而持久的抗原刺激,因此 PLGA 纳米粒是一种良好的疫苗佐剂<sup>[46]</sup>。但有学者<sup>[47]</sup>发现,PLGA 纳米粒抗原包封过程中抗原和油相中有机溶剂直接接触,对抗原活性产生一定影响,且单一的包封策略限制了纳米粒的抗原负载效率。为了加强纳米粒的抗原负载率,对 PLGA 纳米粒采取了表面阳离子修饰策略<sup>[48]</sup>。常用阳离子修饰物有壳聚糖、聚赖氨酸、聚乙烯亚胺、聚多巴胺和阳离子脂质体双十八烷基溴化铵等<sup>[49]</sup>。这些阳离子可直接通过静电吸附对 PLGA 纳米粒进行修饰,从而提高 PLGA 纳米粒的



抗原负载率<sup>[49-50]</sup>。经一系列的试验发现,纳米粒表面经阳离子修饰后,不但能够通过静电吸附负载更多的抗原,还能加强诱导机体产生强烈的细胞免疫活性<sup>[49]</sup>。纳米粒的表面电荷对细胞的摄取作用具有重要影响<sup>[39]</sup>。试验结果显示,带正电的纳米粒更容易发生细胞内化,因为带正电的纳米粒更容易通过静电作用被带负电的细胞膜所摄取<sup>[50-51]</sup>。此外,带正电荷的纳米粒进入溶酶体后,能够快速消耗溶酶体中大量  $H^+$ ,从而使细胞质中大量盐离子内流,导致溶酶体破裂,产生有效溶酶体逃逸,而逃逸出的纳米粒,通过 MHC I 分子呈递,有效诱导 Th1 型细胞活化,产生强烈细胞免疫应答<sup>[52]</sup>。

### 2.3 形状对纳米粒佐剂效果的影响

纳米粒形状对其佐剂活性强弱也有一定的影响。纳米粒形状不同,导致不同纳米粒和细胞膜接触后形成的角度不同,被 APC 摄取的效率也不同。Niikura 等<sup>[53]</sup>分别对圆球状、橄榄球状及棒状纳米粒进行了 APC 细胞的摄取率检测,结果显示,棒状或橄榄球状纳米粒竖直和细胞膜接触时所产生的阻力最小,易被吞噬,但当棒状或橄榄球状纳米粒横向接触细胞膜时所产生的阻力要远大于圆球状纳米粒,且纳米粒接触细胞膜时,因表面张力的作用,使棒状或橄榄球状纳米粒更容易以横向方式和细胞膜接触。因此相对棒状或橄榄球状纳米粒,圆球状更容易被 APC 摄取<sup>[54]</sup>。因此,合理设计纳米粒的形状,对其在机体内发挥有效的免疫效果具有重要意义。

## 3 PLGA 纳米佐剂存在的问题和解决策略

尽管有关 PLGA 纳米粒的研究很多,也从多方面面对该纳米粒的佐剂作用机制进行了全面分析,但 PLGA 纳米粒在临床运用却很少<sup>[55]</sup>。其中,限制 PLGA 纳米粒大规模应用的因素有以下几点:(1)纳米粒载药量低,通常情况下 PLGA 纳米粒具有良好的包封效果对大多数药物和抗原均具有较高的包封率,如对雌二醇或黄原酮的包封率为 60%~70%,但 PLGA 纳米粒的载药量却很低,约 1% 左右,意味着 100 mg 质量的 PLGA 纳米粒只能负载 1 mg 药物。(2)抗原负载方式不完善,PLGA 纳米粒以包封的方式负载抗原,但纳米粒制备过程中将会使抗原和油相中的有机溶剂直接接触,影响抗原的活性。(3)

无法做到纳米粒和抗原分开保存使用,实际应用中佐剂和抗原的分开保存,通过简单混合后就可使用,无疑是佐剂使用的最佳方式<sup>[56-57]</sup>。但 PLGA 纳米粒以包封的方式存在显然无法做到纳米粒和抗原分开保存,为此,解决 PLGA 纳米粒的抗原负载率,将其制备成类似于铝佐剂的方便型疫苗佐剂,是推广利用以 PLGA 为基础的纳米疫苗佐剂的关键技术问题。

近年来,有报道,可利用阳离子对 PLGA 纳米粒进行修饰,使原来带负电荷的 PLGA 纳米粒表面经阳离子修饰后变为正电荷,再通过电荷吸附作用使纳米粒负载带负电荷的疫苗抗原<sup>[58]</sup>。阳离子修饰 PLGA 纳米粒的抗原负载量和表面电荷有关,表面正电荷越强抗原负载率越高,但过高的正电荷会导致较大的细胞毒性<sup>[59]</sup>。因此,在较为安全的细胞毒性范围内,阳离子修饰 PLGA 纳米粒的抗原负载率受到了极大限制。

为了进一步改善 PLGA 纳米粒的抗原负载率和抗原负载方式,有学者将 PLGA 纳米粒和油乳液进行了组装,将 PLGA 纳米粒组装成复合纳米粒,从而提高纳米粒抗原负载率、加强纳米粒 APC 募集效果及诱导强烈细胞及体液免疫应答<sup>[60]</sup>。Xia 等<sup>[60]</sup>以 PLGA 纳米粒为外壳,以角鲨烯为油相,制备出了新型组装 Pickering 乳液,复合纳米粒佐剂结合了油佐剂和 PLGA 纳米粒的优点。检测得知, Pickering 乳液表面为草莓样结构,可为抗原提供巨大的比表面积,这种特殊的表面结构可有效利用乳液表面 PLGA 纳米粒之间的缝隙吸附大量抗原,从而提高纳米粒抗原负载率,加大载药量;这种复合纳米粒在乳液界面形成了一层壳状覆盖,便于抗原的缓慢释放和传递; Pickering 乳液凹凸的表面更有利于 APC 的摄取; Pickering 乳液具有柔软的角鲨烯内核,因此和 APC 接触时因变形作用,接触面积增加, APC 在纳米粒表面密集抗原的作用下引发多级免疫识别,产生强烈的免疫应答反应<sup>[58]</sup>。Song 等<sup>[61]</sup>以 poly(ethylene glycol)-block-poly(lactide-co- $\epsilon$ -caprolactone) (PEG-b-PLACL) 纳米粒为外壳,以柠檬酸/角鲨烯为内核,制备出了复合纳米粒。试验发现,该复合纳米粒佐剂具有良好的 APC 募集及抗原负载效果,同时还能诱导机体产生强烈的细胞免疫应答,对人卵巢癌细胞诱导的肿瘤具有良好的治愈效果<sup>[61]</sup>。

PLGA 纳米材料是具有生物相容性的良好疫苗

载体。因此,合理地设计 PLGA 纳米粒,通过阳离子修饰或组装的方式对 PLGA 纳米粒进行进一步处理,使 PLGA 纳米粒成为具有高抗原负载率、高 APC 募集效果及铝佐剂样混合吸附抗原特性,是攻克 PLGA 纳米粒的低抗原负载率,不完善的抗原负载方式等缺陷的有效策略。PLGA 纳米粒表面阳离子修饰或与油乳液等组装将成为 PLGA 纳米佐剂研究的新方向。

### 参考文献:

- [1] 孔玉芳,杨毅梅. 纳米佐剂疫苗的特点与应用[J]. 医药导报, 2017(6):654-658.
- [2] 赵思俊,孙晓亮,曲志娜,等. 新型免疫佐剂研究进展[J]. 中国动物检疫,2016(7):58-61.
- [3] PEGGY R, KAI S, THOMAS E, et al. Vaccine adjuvants; Key tools for innovative vaccine design [J]. Current Topics in Medicinal Chemistry, 2013, 13(20):2562-2580.
- [4] ANDERSON J M, SHIVE M S. Biodegradation and biocompatibility of PLA and PLGA microspheres[J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2012, 64:72-82.
- [5] TREGONING J S, RUSSELL R F, KINNEAR E. Adjuvanted influenza vaccines[J]. Human Vaccines & Immunotherapeutics, 2017, 12:1-15.
- [6] LUO L, ZHENG S, HUANG Y, et al. Preparation and characterization of Chinese yam polysaccharide PLGA nanoparticles and their immunological activity[J]. International Journal of Pharmaceutics, 2016, 511:140-150.
- [7] SUN B, XIA T. Nanomaterial-based vaccine adjuvants[J]. Journal of Materials Chemistry B, 2016, 10:5496-5509.
- [8] 李林芝,刘梅,常颖. 姜黄素-PLGA 纳米粒温敏原位凝胶的制备及其在兔眼房水中的药动学研究[J]. 中国药房, 2018, 29(5):640-643.
- [9] MIR M, AHMED N, UR-REHMAN A. Rehman, recent applications of PLGA based nanostructures in drug delivery[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2017, 159:217-231.
- [10] RATZINGER G, FILLAFER C, KERLETA V, et al. The role of surface functionalization in the design of PLGA micro and nanoparticles[J]. Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 2010, 27(1):70-83.
- [11] 王珊,花亚冰,高翔,等. 注射用乳酸-羟基乙酸共聚物微球的体内外相关性研究进展[J]. 药科学报, 2020, 56(1):158-168.
- [12] GENTILE P, CHIONO V, CARMAGNOLA I, et al. An overview of poly(lactic-co-glycolic) acid (PLGA)-based biomaterials for bone tissue engineering[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2014, 15(3):3640-3659.
- [13] MAKADIA H K, SIEGEL S J. Poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) as biodegradable controlled drug delivery carrier[J]. Polymers, 2011, 3(4):1377-1397.
- [14] CRUZ L J, TACKEN P J, EICH C, et al. Controlled release of antigen and Toll-like receptor ligands from PLGA nanoparticles enhances immunogenicity [J]. Nanomedicine, 2017, 12(5):491-510.
- [15] 王健群,张斌. 聚乳酸-羟基乙酸共聚物微球在骨组织工程中的应用[J]. 口腔医学研究, 2020(9):817-820.
- [16] MUNDARGI R C, BABU V R, RANGASWAMY V, et al. Nano/micro technologies for delivering macromolecular therapeutics using poly(D, L-lactide-co-glycolide) and its derivatives[J]. Journal of Controlled Release, 2008, 125(3):193-209.
- [17] SHARMA S, PARMAR A, KORI S, et al. PLGA-based nanoparticles: A new paradigm in biomedical applications[J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2015, 80:30-40.
- [18] MIRAKABAD F S T, NEJATI-KOSHKI K, AKBARZADEH A, et al. PLGA-based nanoparticles as cancer drug delivery systems[J]. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 2014, 15(2):517-535.
- [19] SOPPIMATH K S, AMINABHAVI T M, KULKARNI A R, et al. Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices [J]. Journal of Controlled Release, 2001, 29:1-20.
- [20] NIE H, LEE L Y, TONG H, et al. PLGA/chitosan composites from a combination of spray drying and supercritical fluid foaming techniques; New carriers for DNA delivery [J]. Journal of Controlled Release, 2008, 129(3):207-214.
- [21] CHOURASIYA V, BOHREY S, PANDEY A. Hydrochlorothiazide containing PLGA nanoparticles: Design, characterization, *in-vitro* drug release and release kinetic study[J]. Polymer Science, 2015, 57(6):645-653.
- [22] MARKOCIC E, BOTIC T, KAVCIC S, et al. *In vitro* degradation of poly(D, L lactide-co-glycolide) foams processed with supercritical fluids [J]. Industrial & Engineering Chemistry Research, 2015, 54(7):2114-2119.
- [23] HUANG W, ZHANG C M. Tuning the size of poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) nanoparticles fabricated by nanoprecipitation [J]. Biotechnology Journal, 2018, 13(1):10.
- [24] LUO L, QIN T. Exploring the immunopotential of Chinese yam polysaccharide poly(lactic-co-glycolic acid) nanoparticles in an ovalbumin vaccine formulation *in vivo* [J]. Drug Delivery, 2017, 24(1):1099-1111.
- [25] LI J, NEMES P, GUO J. Mapping intermediate degradation products of poly(lactic-co-glycolic acid) *in vitro* [J]. Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials, 2018, 106(3):1129-1137.
- [26] ZHONG Q, MAO Q, YAN J, et al. Real-time *in situ* monitoring of poly(lactide-co-glycolide) coating of coronary stents using electrochemical impedance spectroscopy[J]. Journal of Biomedical Materials Research Part B Applied Biomaterials, 2015, 103(3):691-699.
- [27] JALIL A H, PYELL U. Quantification of zeta-potential and electro-

- kinetic surface charge density for colloidal silica nanoparticles dependent on type and concentration of the counterion; Probing the outer helmholtz plane[J]. *Journal of Physical Chemistry C*, 2018, 122(8):4437-4453.
- [28] SHI Y, XUE J, JIA L, et al. Surface-modified PLGA nanoparticles with chitosan for oral delivery of tolbutamide[J]. *Colloids & Surfaces B Biointerfaces*, 2018, 161:67-72.
- [29] GHALGAOUI A, DOUDIN N, KELDERER E, et al. 1,4-phenylene diisocyanide (PDI) interaction with low-coordinated gold sites: Dissociation and adsorbate-induced restructuring[J]. *Journal of Physical Chemistry C*, 2019, 123(13):7870-7878.
- [30] YU Z, HUANG L, WEN R, et al. Preparation and *in vivo* pharmacokinetics of rhGH-loaded PLGA microspheres[J]. *Pharmaceutical Development & Technology*, 2018, 24(4):1-7.
- [31] LIU P, SUN L, LIU P, et al. Surface modification of porous PLGA scaffolds with plasma for preventing dimensional shrinkage and promoting scaffold-cell/tissue interactions[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2018, 6:27-32.
- [32] LU M, CHENG X Q, JIANG J Z, et al. Dual-modal photoacoustic and magnetic resonance tracking of tendon stem cells with PLGA/iron oxide microparticles *in vitro*[J]. *PLoS One*, 2018, 13(4):e0193362.
- [33] JIE W, RUOCHEN W, NIANNIAN L, et al. High-performance reoxygenation from PLGA-PEG/PFOB emulsions: a feedback relationship between ROS and HIF-1 $\alpha$ [J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2018, 13:3027-3038.
- [34] RAY S, RAY S G, MANDAL S. Development of bicalutamide-loaded PLGA nanoparticles: preparation, characterization and *in-vitro* evaluation for the treatment of prostate cancer[J]. *Artificial Cells*, 2016, 45(5):1-11.
- [35] HAFNER A M, CORTHESEY B, TEXTOR M, et al. Surface-assembled poly(I:C) on PEGylated PLGA microspheres as vaccine adjuvant: APC activation and bystander cell stimulation[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2016, 514(1):176-188.
- [36] LIU L, CAO F, LIU X, et al. Hyaluronic acid-modified cationic lipid-PLGA hybrid nanoparticles as a nanovaccine induce robust humoral and cellular immune responses[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2016, 8(19):11969-11979.
- [37] ZHOU P, AN T, ZHAO C, et al. Lactosylated PLGA nanoparticles containing -polylysine for the sustained release and liver-targeted delivery of the negatively charged proteins[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2015, 478(2):633-643.
- [38] HAMDY S, MOLAVI O, MA Z, et al. Co-delivery of cancer-associated antigen and Toll-like receptor 4 ligand in PLGA nanoparticles induces potent CD8<sup>+</sup> T cell-mediated anti-tumor immunity[J]. *Vaccine*, 2008, 26(39):5050-5057.
- [39] LUO W H, YANG Y W. Activation of antigen-specific CD8<sup>+</sup>T cells by poly-DL-lactide/glycolide (PLGA) nanoparticle-primed gr-1<sup>high</sup> cells[J]. *Pharmaceutical Research*, 2016, 33(4):942-955.
- [40] DOLEN Y, KREUTZ M, GILEADI U, et al. Co-delivery of PLGA encapsulated invariant NKT cell agonist with antigenic protein induce strong T cell-mediated antitumor immune responses[J]. *Oncoimmunology*, 2016, 5(1):1-10.
- [41] YU K, ZHAO J, ZHANG Z, et al. Enhanced delivery of paclitaxel using electrostatically-conjugated herceptin-bearing PEI/PLGA nanoparticles against HER-positive breast cancer cells[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2016, 497(1):78-87.
- [42] HOWARD G P, VERMA G, KE X, et al. Critical size limit of biodegradable nanoparticles for enhanced lymph node trafficking and paracortex penetration[J]. *Nano Research*, 2019, 12(4):12-18.
- [43] AN M, LI M, XI J, et al. Silica nanoparticle as a lymph node targeting platform for vaccine delivery[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2017, 9(28):23466-23475.
- [44] GUTIERRO I, HERNANDEZ R M, IGARTUA M, et al. Size dependent immune response after subcutaneous, oral and intranasal administration of BSA loaded nanospheres[J]. *Vaccine*, 2002, 21:67-77.
- [45] GU P, XU S, ZHOU S, et al. Optimization of angelica sinensis polysaccharide-loaded Poly (lactic-co-glycolic acid) nanoparticles by RSM and its immunological activity *in vitro*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017, 107:222-229.
- [46] WUSIMAN A, GU P, LIU Z, et al. Cationic polymer modified PLGA nanoparticles encapsulating alhagi honey polysaccharides as a vaccine delivery system for ovalbumin to improve immune responses[J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2019, 14:3221-3234.
- [47] CHEN X, LIU Y, WANG L, et al. Enhanced humoral and cell-mediated immune responses generated by cationic polymer-coated PLA microspheres with adsorbed HBsAg[J]. *Molecular Pharmaceutics*, 2014, 11(6):1772-1784.
- [48] LIM H J, KIM J K, PARK J S. Complexation of apoptotic genes with polyethyleneimine (PEI)-Coated Poly-(DL)-Lactic-Co-Glycolic acid nanoparticles for cancer cell apoptosis[J]. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 2015, 11(2):211-225.
- [49] KANG B S, CHOI J S, LEE S E, et al. Enhancing the *in vitro* anticancer activity of albendazole incorporated into chitosan-coated PLGA nanoparticles[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2016, 159:39-47.
- [50] LEE S Y, JUNG E, PARK J H, et al. Transient aggregation of chitosan-modified poly(D,L-lactic-co-glycolic) acid nanoparticles in the blood stream and improved lung targeting efficiency[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2016, 480:102-108.
- [51] ROSE F, WERN J E, GAVINS F, et al. A strong adjuvant based on glycol-chitosan-coated lipid-polymer hybrid nanoparticles potentiates mucosal immune responses against the recombinant Chlamydia trachomatis fusion antigen CTH522[J]. *Journal of Controlled Release*, 2018, 271:88-97.
- [52] SONG C, NOH Y W, LIM Y T. Polymer nanoparticles for cross-presentation of exogenous antigens and enhanced cytotoxic T-lymphocyte immune response[J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2016, 11:3753-3764.

- [53] 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.
- [54] BENNE N, VAN-DUIJN J, KUIPER J, et al. Orchestrating immune responses; How size, shape and rigidity affect the immunogenicity of particulate vaccines[J]. Journal of Controlled Release, 2016, 234: 124-134.
- [55] SHAO K, SINGHA S, CLEMENTE-CASARES X, et al. Nanoparticle-based immunotherapy for cancer[J]. Acs Nano, 2015, 9(1): 16-30.
- [56] LOZOYA-AGULLO I, ARAUJO F, GONZALEZ-ALVAREZ I, et al. PLGA nanoparticles are effective to control the colonic release and absorption on ibuprofen[J]. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2018, 115: 119-128.
- [57] QI F, WU J, SUN G, et al. Systematic studies of pickering emulsions stabilized by uniform-sized PLGA particles; preparation and stabilization mechanism[J]. Journal of Materials Chemistry, 2014, 2(43): 7605-7611.
- [58] WUSIMAN A, GU P, LIU Z, et al. Cationic polymer modified PLGA nanoparticles encapsulating alhagi honey polysaccharides as a vaccine delivery system for ovalbumin to improve immune responses[J]. International Journal of Nanomedicine, 2019(14): 3221-3234.
- [59] MARTISKA J, SNEJDROVA E, DRASTIK M, et al. Terbinafine-loaded branched PLGA-based cationic nanoparticles with modifiable properties[J]. Pharmaceutical Development and Technology, 2019, 24(8): 1-32.
- [60] XIA Y, WU J, WEI W, et al. Exploiting the pliability and lateral mobility of pickering emulsion for enhanced vaccination[J]. Nature Materials, 2018, 17: 187-194.
- [61] SONG Y C, CHENG H Y, LENG C H, et al. A novel emulsion-type adjuvant containing CpG oligodeoxynucleotides enhances CD8<sup>+</sup> T-cell-mediated anti-tumor immunity[J]. Journal of Controlled Release, 2014, 173: 158-165.

(责任编辑:成纾寒)