专家述评

基于黏膜免疫的胃肠道感染疫苗佐剂及递送系统的研究现状与展望

李海波,王兆亿 陆军军医大学(第三军医大学)药学与检验医学系微生物与生化药学教研室,国家免疫生物制品工程技术研究中心,重庆

［摘要］ 疫苗是预防胃肠道感染最经济且有效的手段,而佐剂在增强和调控免疫应答方面发挥着至关重要的作用。本文评述了诱导胃肠道黏膜免疫应答的分子佐剂以及兼具佐剂效应递送系统的作用机制及优缺点,分析了当前在该类佐剂研发过程中面临的主要挑战,包括安全性、效能以及适应性等问题。此外,本文对基于黏膜免疫的胃肠道感染疫苗佐剂的未来研究方向进行了展望,包括靶向胃肠道特定受体的程序化佐剂设计、协同递送系统与佐剂的复合策略以及面向特殊人群的佐剂优化等。

［关键词］ 胃肠道感染;疫苗;佐剂;递送系统
［中图法分类号］ R392.7; R969.2 ［文献标志码］ A

Current status and prospects of mucosal immunity-based vaccine adjuvants and delivery systems for gastrointestinal vaccines

LI Haibo, WANG Zhaoyi Department of Microbiology and Biochemical Pharmacy, National Engineering Research Center of Immunobiological Products, College of Pharmacy and Laboratory Medicine, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, China

［**Abstract**］ Vaccines represent the most cost-effective and efficacious approach for preventing gastrointestinal infections, and adjuvants play a pivotal role in enhancing and modulating immune responses. In this article, we summarize the mechanisms, advantages, and limitations of molecular adjuvants that induce gastrointestinal mucosal immune responses, as well as of delivery systems with dual adjuvant and carrier functions. We also analyze the principal challenges encountered in the development of such adjuvants, encompassing issues related to safety, efficacy, and adaptability. Furthermore, this article provides perspectives on future research directions for mucosal immunity-based adjuvants for gastrointestinal vaccines, including design of programmed adjuvants targeting specific gastrointestinal receptors, composite strategies integrating delivery systems with adjuvants, and adjuvant optimization tailored for special populations.

［**Key words**］ gastrointestinal infections; vaccine; adjuvant; delivery system

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (32270988) and the General Project of Natural Science Foundation of Chongqing (CSTB2024NSCQ-MSX0981). Corresponding author: LI Haibo, E-mail: lihaibo@tmmu.edu.cn

［基金项目］ 国家自然科学基金面上项目(32270988);重庆市自然科学基金面上项目(CSTB2024NSCQ-MSX0981)

［通信作者］ 李海波,陆军军医大学国家免疫生物制品工程技术研究中心教授,博士生导师。中国疫苗行业协会细菌感染与疫苗研究专委会委员,军队生物安全战略智库委员会专家组秘书和重庆药理学会理事。主持国家、军队和省部级课题或项目14项,包括国家自然科学基金、重庆市自然科学基金重点项目、国防基础科研计划项目和军队生物安全专项子课题等;获“创新杯”国防科技创新大赛优胜奖,陆军军医大学优秀教员;主编或参编(译)专著7部;获国家发明专利授权9项,主笔撰写的多篇研究咨询报告被中央军委机关采纳,以第一作者或通信作者发表SCI论文30余篇。主要从事疫苗佐剂的发现和分子设计研究。E-mail: lihaibo@tmmu.edu.cn

2097-0927/Copyright © 2026, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议 (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

引用格式:李海波,王兆亿. 基于黏膜免疫的胃肠道感染疫苗佐剂及递送系统的研究现状与展望[J]. 陆军军医大学学报,2026,48(08):971-979. DOI:10.16016/j.2097-0927.202512117.

Citation: LI H B, WANG Z Y. Current status and prospect of mucosal immunity-based vaccine adjuvants and delivery systems for gastrointestinal vaccines[J]. J Army Med Univ,2026,48(08):971-979. DOI:10.16016/j.2097-0927.202512117.

胃肠道感染主要由细菌(如霍乱弧菌、产毒性大肠杆菌和志贺氏菌等)、病毒(如轮状病毒、诺如病毒等)和寄生虫引起,已逐渐成为一项全球性的重大公共卫生挑战[1]。据国家卫健委全国法定传染病疫情数据显示,2021年全年丙类感染性腹泻发病数达到1 329 790例,发病率为94/100 000人,居丙类传染病报告第2位,且有逐年增高的趋势[2]。胃肠道感染作为5岁以下儿童死亡的主要原因之一,除引发急性发病外,还可能导致营养不良、生育迟缓等长期后遗症,进而对家庭和社会带来沉重的疾病负担和经济损失[3]。由于临床抗生素的滥用,越来越多的胃肠道病原体对抗生素产生耐药性。世界卫生组织(World Health Organization, WHO)发布的《2025年全球抗生素耐药监测报告》显示,全球胃肠道感染的抗生素抗药性形势严峻,尤其是志贺氏菌对氟喹诺酮类和阿奇霉素具有高抵抗率,此外沙门氏菌对环丙沙星抵抗率逐年上升[4]。因此,研发安全有效的疫苗已成为防治胃肠道感染的关键。

胃肠道感染病原体大多数通过消化道黏膜入侵。因此,理想的胃肠道疫苗应在胃肠道的黏膜部位诱导有效的保护性免疫应答。这一应答主要依赖分泌型免疫球蛋白A(secretory immunoglobulin A, sIgA)和组织驻留记忆T细胞(tissue-resident memory T cells, Trm)构建局部防御屏障,从而在病原体入侵的第一门户提供即时、有效的免疫保护[5]。然而,传统肌肉注射疫苗通常难以在胃肠道黏膜诱导有效的免疫应答。黏膜递送需克服胃肠道固有的免疫耐受机制及胃酸、消化酶等苛刻的理化环境,这些困难共同制约了胃肠道黏膜疫苗的研发进程和临床转化[6]。

佐剂是疫苗诱导胃肠道黏膜免疫的关键成分。单独抗原递送往往难以突破黏膜免疫耐受,而佐剂可通过增强抗原呈递细胞的活化和成熟,同时引导免疫效应细胞归巢至肠道,并帮助抗原突破固有的免疫抑制环境,促进黏膜免疫应答,在胃肠道黏膜建立稳固持久的免疫屏障[7]。因此,新型佐剂的开发已成为突破当前胃肠道疫苗研发瓶颈的关键[8]。本文将系统评述当前胃肠道疫苗佐剂的主要种类、优势与局限性,并对胃肠道疫苗佐剂的未来研究方向进行展望。

1 胃肠道疫苗分子佐剂概念与分类

分子佐剂是一类化学结构明确、免疫调节机制清晰的小分子或寡核苷酸化合物。与传统矿物佐剂(如铝盐)和生物佐剂(如灭活细菌)不同,其核心特征是能够通过精准的分子靶点直接调控免疫信号通路,进而增强抗原的免疫原性或改变免疫应答的偏向性。根据其作用靶点与来源,胃肠道疫苗中常用的分子佐剂主要包括以下几类,具体见表1。

2 胃肠道感染疫苗佐剂的研究现状

目前,针对胃肠道感染疫苗的佐剂研究主要围绕两大方向展开:一是具有免疫激活功能的分子佐剂;二是兼具抗原递送与免疫调节功能的递送系统。二者相辅相成,共同推动黏膜疫苗效能提升。

2.1 分子佐剂

在分子佐剂方面,研究者致力于挖掘能够特异性激活黏膜免疫应答的小分子或寡核苷酸化合物。这类佐剂不仅可增强抗原呈递与淋巴细胞活化,还能引导产生偏向于黏膜保护的免疫反应(如sIgA应答)。分子佐剂可通过模拟病原相关分子模式或调节黏膜归巢信号,增强疫苗在胃肠道的免疫原性与保护效力。在胃肠道感染疫苗研发中,以下几类分子佐剂备受关注:

2.1.1 Toll样受体(Toll-like receptors, TLRs)激动剂 TLRs是先天免疫系统中重要的模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)之一,能够识别各种病原体相关分子模式并启动下游免疫应答信号通路,早期研究确立了TLR信号作为连接固有与适应性免疫的桥梁[20]。TLRs激动剂通过模拟病原体成分激活天然免疫系统,在启动抗感染免疫应答中发挥核心作用[21],承载着打破传统疫苗佐剂的希望。

在胃肠道黏膜疫苗中,AS04(铝盐+单磷酸酯脂质A)中有效成分单磷酸酯脂质A(monophosphoryl lipid A, MPLA)可通过局部短暂的炎症激活,实现了系统性IgG与sIgA的共同提升。然而,AS04的铝盐成分在高剂量下仍可能引发局部组织反应,提示在大规模口服或鼻内接种时需要权衡安全性与效能[9]。SLA-NE是一种经结构-功能优化的六芳基化脂质A类似物,可选择性激活TLR4通路。LIANG等[10]在小鼠模型中将SLA-NE与肠产毒素性大肠杆菌(enterotoxigenic *Escherichia coli*, ETEC)抗原CfaEB联合肌肉注射,显著提高系统性IgG与胃肠道sIgA水平,并有效抑制ETEC对肠上皮的黏附,展现了其在非黏膜给药条件下的佐剂特性。不过,SLA-SE的安全窗口仍受限于单剂量的局部给药,需通过递送系统实现缓释,以降低瞬时激活强度。相较之下,TLR2/6二聚体配体Pam_2Cys及其衍生物因结构简洁、合成成本低受到关注。已有研究显示Pam_2Cys通过TLR2/6异源二聚体激活NF-κB,诱导Th1/Th17细胞极化,并在包含本团

表1 各类胃肠道疫苗的代表性分子佐剂

Table 1 Representative molecular adjuvants for various types of gastrointestinal vaccines

Classification	Name	Mechanism of action	Advantages	Disadvantages
Toll-like receptor agonists	AS04[9]	TLR4 activation (MPL); antigen depot	Enhancing Th1 response; Good safety profile	Strong local reactions; weak cellular immunity promotion
	SLA-NE[10]	SLA-NE activates TLR4-TRIF signaling pathway, enhances antigen presentation capacity	Enhancing Th1 response; blocking pathogen adhesion	Structural instability; May cause local inflammatory reactions
	Pam_2Cys serie[11-13]	Pam_2Cys series activates NF-κB via TLR2/6 heterodimer, induces Th1/Th17 cells	Potently inducing Th17 response; enhancing antigen delivery efficiency	Easily degraded by proteases *in vivo*, poor stability
	CpG ODN[14-15]	CpG motif recognized by TLR9, activates MyD88 pathway, induces IFN-α/β and IL-12 secretion, drives Th1/CTL response	Potently promoting cellular immunity; sequence designable, easy synthesis	Easily degraded, requires carrier encapsulation; high doses may cause systemic inflammation
Stimulator of interferon genes agonists	Ag85a[16]	Ag85a Activates cGAS-STING pathway, induces large amounts of type Ⅰ interferons, promotes dendritic cell maturation and cross-presentation	Natural protein component, good safety profile; enhancing $CD8^+$ T cell response	Systemic administration may cause inflammation and other side effects
Retinoic acid receptor agonists	All-trans retinoic acid[17]	All-trans retinoic acid activates RARs, upregulates gut-homing receptors CCR9 and $\alpha_4\beta_7$ expression, guides activated T/B cells to migrate to intestinal mucosa	Enhancing mucosal immune memory and sIgA persistence	Poor water solubility, low bioavailability, rapid metabolism *in vivo*
	TB/P2C-NE[18]	TB activates RAR, upregulates gut-homing receptors CCR9, $\alpha_4\beta_7$; Pam_2CSK_4 activates MyD88-NF-κB pathway	Enhancing mucosal, humoral, and cellular immune responses, and immune memory	Complex process, high cost; safety requires further validation
Mucosa-targeting toxin derivatives	double-mutant heat-labile enterotoxin[19]	dmLT activates adenylate cyclase-cAMP pathway, enhances antigen uptake and presentation	Strong mucosal targeting; inducing robust mucosal immune response	May cause mild diarrhea; virulence reversion

队设计的多个小鼠鼻内免疫模型中显著提升血清IgG_{2a}与胃黏膜sIgA水平,进而降低幽门螺杆菌定植[11-12]。进一步的结构-活性研究表明,N-乙酰化的Pam2Cys模拟物利用N-乙酰半胱氨酸,在保持TLR2/6激活的同时显著降低合成成本,为临床大规模生产提供了可行路径[13]。然而,TLR2激动剂的Th2倾向在某些病原模型中可能削弱细胞毒性T细胞应答。所以,在设计多抗原疫苗时,可以结合其他受体激动剂实现免疫偏向的精细调控。

TLR9激动剂CpG寡脱氧核苷酸(CpG oligodeoxynucleotides, CpG ODN)作为非甲基化CpG基序的模拟物,已被证实在鼻、口及黏膜给药时能够诱导Th1型及黏膜免疫应答,且在与胆汁毒素或类毒素的协同作用可进一步提升保护效力[14]。尽管CpG ODN在阐释肠道免疫反应中的潜力方面取得了一定成绩,但其单独使用的临床转化仍然受限。一方面,其多聚阴离子性质亦使其在体内转运的效率和存活率低;另一方面,磷硫酸酯骨架的CpG ODN在高剂量时会导致系统性脾肿大等副作用。所以,研究者们试图探索更为复杂的递送系统以改善其生物利用。然而,纳米颗粒或阳离子脂质体的包封策略虽能降低毒性,却增加了制剂复杂程度和成本[15]。

2.1.2 干扰素基因刺激蛋白(stimulator of interferon genes, STING)激动剂 STING是细胞内一种关键的天然免疫信号蛋白,负责感知胞质异常DNA并启动下游防御反应。当细胞内的DNA感受器cGAS识别到病毒或细菌来源的DNA后,会催化合成cGAMP。cGAMP进一步结合并激活STING,进而募集TBK1和IRF3,触发Ⅰ型干扰素和细胞因子产生[22]。基于此机制,DANG等[16]将STING激动剂Ag85a与布鲁氏菌S2疫苗株共递送,成功构建了新型口服疫苗Ag85a-S2。研究显示,该疫苗在小肠上皮细胞中显著激活cGAS-STING信号,提升局部IFN-γ^+Th1细胞比例和系统性血清特异性IgG水平,展示了STING佐剂在胃肠道疫苗中的潜在优势。然而,这一工作仍停留在单一激动剂-单株模型,缺乏与传统黏膜佐剂或其他STING激动

剂的直接效果比较,难以评估其相对增益。近期的一项研究表明,将STING激动剂封装于锌环二磷酸盐纳米颗粒可实现胃肠道特异性释放并增强内吞后细胞质递送,从而在动物模型中提升抗原特异性T细胞应答且显著降低全身炎症标记[23]。这一策略提示,仅靠口服递送难以避免系统性激活的风险,必须通过载体实现黏膜定向。更重要的是,现有文献尚未系统评估长期记忆B/T细胞的形成、二次挑战保护以及在人类肠道微生物环境中的安全性,这些是推动基于STING激动剂的胃肠道疫苗从概念走向临床的关键瓶颈。

2.1.3 维甲酸受体(retinoic acid receptors, RARs)激动剂 全反式维甲酸(all-trans retinoic acid, ATRA)作为维生素A的活性代谢物,除用于治疗痤疮和急性早幼粒细胞白血病外,亦展现出良好的佐剂潜能[24]。ATRA能在肠道树突状细胞中诱导RALDH表达,通过激活维甲酸受体,上调免疫细胞表面肠道归巢受体CCR9与$\alpha_4\beta_7$整合素的表达,进而实现肠道归巢[25]。IWATA等[17]进一步证实,单独的ATRA刺激即可在体外将原始T细胞程序化为具肠道趋向性的效应细胞。然而,ATRA作为佐剂有一定缺陷,其有效剂量高、疏水性强、在体内易代谢失活,极大地限制了其临床转化潜力。为克服上述瓶颈,本团队通过纳米乳(nanoemulsion, NE)技术将高效RAR激动剂他米巴罗汀(tamibarotene, TB)与TLR2/6激动剂Pam_2CSK_4共组装成一种复合纳米乳佐剂(TB/P2C-NE),实现了2条信号的同步放大:一方面,纳米颗粒在肠上皮细胞内释放TB,快速上调CCR9表达并增强淋巴细胞的黏膜迁移;另一方面,Pam_2CSK_4触发MyD88-NF-κB通路,促使树突细胞分泌IL-6,进一步放大Th1/Th17极化。相较于传统CT/LT佐剂,TB/P2C-NE在动物模型中显著提升了黏膜sIgA与系统IgG,且全身炎症标记(IL-1β、TNF-α)保持在基线水平,显示出更佳的安全窗口。同时,该复合佐剂诱导强大的系统性体液与细胞免疫及长期免疫记忆,在EHEC O157:H7攻毒模型中提供了71%的保护率[18]。但现有数据仅限于单一剂量(10 μg TB)和小鼠模型,缺乏剂量梯度与跨种属验证;纳米乳的体内分布尚未通过成像或组织定量明确,难以排除肝脾非特异性蓄积导致的潜在毒性以及长期记忆尚未评估。

2.1.4 黏膜靶向性毒素衍生物 霍乱毒素(cholera toxin, CT)和大肠杆菌不耐热肠毒素(heat-labile enterotoxin, LT)是已知最强效的黏膜佐剂之一,但强毒性限制了其直接应用[26]。其机制主要体现在2个方面:B亚单位特异性结合肠道单唾液酸神经节苷脂GM1受体,将疫苗精准锚定于黏膜;同时,A亚单位则在胞内激活G蛋白,催化细胞内cAMP级联,进而驱动抗原提呈细胞成熟并促进Th17应答[27]。为降低毒性,研究者构建了多种脱毒的突变体,如双突变不耐热肠毒素(double-mutant heat-labile enterotoxin, dmLT)(R192G/L211A)和CT S61F,它们在保留B亚单位受体结合的同时,失去ADP核糖基转移活性,仍能在口服或鼻内给药时显著提升黏膜sIgA与系统IgG水平[19]。然而,这类突变体的评估停留在的单一模型,也缺乏经典佐剂的对比。最近的一些研究表明,特定佐剂(包括CT-B)即使经系统途径给药,也能驱动抗原特异性B细胞向派尔集合淋巴管迁移并完成同种型转换,提示"非黏膜-黏膜桥接"策略可突破递送局限,但仍需在胃肠道感染模型中验证其持久记忆与保护效应[28]。然而,实际临床推进仍面临挑战,剂量-递送窗口未系统化,尤其在不同给药途径间的安全阈值差异尚未明确。例如,在由LUNDGREN等[29]进行的Ⅰ期临床试验中,将口服灭活多价ETEC疫苗(MEV)与dmLT佐剂联用,诱导了强烈的胃肠道黏膜与系统体液免疫应答。研究结果显示,疫苗单独使用时,74%受试者对5种抗原(CFA/I, CS3, CS5, CS6, LCTBA)均产生黏膜免疫应答,联用10 μg dmLT后该比例提升至83%。但最新的多中心Ⅰ/Ⅱ期dmLT-InvaplexAR-Detox联合试验仅在0.1 μg低剂量下报告了可接受的安全性,更高剂量的炎症风险仍未排除[30]。

2.2 递送系统

递送系统在疫苗研发中是指能够高效装载、保护并精准运输抗原至特定作用位点的技术平台或载体,其本身亦常兼具佐剂活性。其核心价值在于其通过物理包裹或化学修饰,使疫苗抗原在复杂生物体内环境中保持稳定,并控制其释放行为,从而提升免疫应答的效率和特异性。因此,理想的胃肠道递送系统需克服胃酸、消化酶等极端环境,实现抗原的靶向递送与缓释。根据其来源与性质,可大致分为以下几类:①微生物来源递送系统/载体,如病毒载体(流感病毒载体)、细菌载体(枯草芽孢杆菌孢子、减毒沙门氏菌、重组乳酸菌);②纳米递送系统/载体,如脂质体(包括阳离子脂质体生物材料递送系统/载体),海藻酸盐、壳聚糖微球等。本文主要就研究较为集中的几类进行阐述。

2.2.1 脂质体 脂质体作为疫苗递送系统和佐剂,在解决亚单位疫苗和核酸疫苗免疫原性弱、稳定性差等关键问题方面展现出巨大潜力。这类系统的核心优势在于能够高效包裹并递送抗原/核酸至抗原

提呈细胞,实现抗原的缓释效应,从而促进疫苗诱导持续且强大的免疫应答[31]。

传统脂质体的佐剂效力与其表面电荷特性密切相关。阳离子脂质体(如CAF®01)可通过静电作用高效吸附至带负电荷的抗原呈递细胞膜上,展现出比中性或阴离子脂质体更强的免疫刺激能力[32]。然而,口服LNP在胃酸、胆汁盐以及肠道微生物酶的多重攻击下极易失活,导致抗原或mRNA的生物利用度很低,仅靠被动渗透难以实现有效的上皮细胞摄取[33]。在此背景下,为进一步提升递送效率与免疫效果,ABHYANKAR等[34]将黏膜定向的糖蛋白片段LecA与TLR2/6激动剂GLA-3M-052共装于脂质体中(LecA+GLA-3M-052 liposomes),通过鼻内或肌肉注射途径实现了局部(肠道、唾液、生殖道)sIgA与系统IgG的同步升高,且在恒河猴模型中观察到持续8周的记忆B细胞扩增和对多价ETEC抗原的交叉保护。尽管未进行体内攻毒实验,但其诱导的免疫反应特征与人类感染后获得的保护性免疫高度一致,提示该蛋白疫苗具备成为抗阿米巴病候选疫苗的潜力,具备进入临床试验的价值。同时,对于脂质体佐剂的开发,还需注意提升其制剂稳定性,使其在外部环境下不易降解和浑浊。

2.2.2 病毒载体 病毒载体疫苗利用经过基因改造的复制缺陷型病毒作为递送工具,将编码目标抗原的基因导入宿主细胞,使抗原在体内高效表达并模拟自然感染过程。该平台兼具良好的安全性和强大的免疫原性,已在应对多种病原体中展现出卓越效果,如ChAdOx1 nCoV-19与Ad26.COV2.S等腺病毒载体新冠疫苗[35]。利用流感病毒作为载体的策略进一步拓宽了黏膜疫苗的应用前景。武汉大学朱应团队[36]构建了表达幽门螺杆菌NapA抗原的重组流感病毒载体疫苗(WSN-NapA/PR8-NapA)。鼻内免疫即可在小鼠胃黏膜诱导高水平sIgA,同时胃组织中NapA特异性Th1和Th17细胞应答显著增强,伴随IFN-γ和IL-17A等细胞因子分泌增加。在预防性免疫实验中,疫苗使胃组织中幽门螺杆菌定植量下降95%,胃炎病理评分明显降低,保护率达95%。更重要的是,在治疗性免疫条件下,已感染小鼠的细菌定植量仍可降低79%~85%,并明显缓解胃黏膜炎症。这些数据表明,该疫苗能有效诱导胃黏膜免疫应答,既具备优异的预防效果,也展现出显著的治疗潜力,为黏膜感染性疾病提供了新思路。尽管如此,在实现临床转化前,必须同步解决其胃肠环境的递送稳定性、宿主存在的预免疫环境以及生产过程的安全性问题。

2.2.3 细菌载体 益生菌或减毒致病菌(如枯草芽孢杆菌、沙门氏菌和乳酸菌)因其优异的黏膜黏附与定植能力,可将抗原有效递送给黏膜相关的淋巴组织,从而诱导全身和黏膜局部的免疫应答,已成为理想的抗原递送载体。枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)孢子是其中最具代表性的递送系统。*Bacillus subtilis*孢子可通过非重组方式吸附热可溶性肠毒素B亚基,保持五聚体构象并在鼻腔给药后诱导血清IgG、粪便sIgA及肠系膜淋巴结IFN-γ,展示了孢子载体的高效性和诱导Th1偏向性免疫应答[37];然而,野生型孢子表层的无序吸附会限制剂量,需要提升吸附量。同类研究进一步指出,孢子本身的多层涂层在胃酸环境中保持完整,为口服递送提供天然保护[38]。沙门氏菌(*Salmonella*)作为活菌载体能够在小肠上皮内复制并同步表达足叶蹄疫病毒VP1,口服免疫后产生持久的粪便sIgA与系统IgG,且在攻毒实验中显著降低病毒载量[39]。口服*Salmonella* RMT减毒株虽能在小鼠肠道内表达FMDV VP1并实现100%保护,但在已暴露于同源*Salmonella*的动物中抗体中和率显著下降,提示预免疫屏蔽是不可忽视的安全瓶颈。乳酸菌(*Lactobacillus*, LAB)活体载体则通过基因工程表达外源抗原,口服后在小鼠模型中诱导强烈的Th17/Th1细胞应答并实现对$F4^+$ETEC的完全保护,且兼具调节肠道微生态的双重优势[40]。所以,细菌载体的研发应同步推进结构化抗原展示平台以确保天然寡聚体保持以及对免疫前体内预存免疫的评估。

3 胃肠道疫苗佐剂研发所面临的挑战

3.1 胃肠道环境的特殊性

胃肠道中的胃酸和消化酶易降解蛋白类抗原与佐剂,同时其黏液层与上皮屏障也阻碍抗原递送;此外,肠道内复杂的菌群及其代谢酶可能加速抗原降解,并与疫苗成分竞争和黏附位点[41]。因此,抗原与佐剂能否抵御胃肠道苛刻的理化环境,完整抵达肠道部位,依赖于耐酸微胶囊、脂质体或纳米颗粒等递送系统的保护。同时,理想的递送系统需能主动识别并锚定于肠道特定区域(如派尔集合淋巴结),将其携带的抗原与佐剂精准递送给M细胞或树突状细胞,实现程序化释放。虽然在实验室中有许多表现卓越的纳米递送系统,但因其生产工艺复杂、成本高昂,使其难以从实验室转化到临床。

3.2 黏膜免疫系统的独特性

与引发全身性IgG抗体的传统注射疫苗不同,理想的胃肠道疫苗需要在感染门户—胃肠道黏膜诱导

产生高水平的sIgA和Trm细胞,以建立牢固的第一道防线。然而,由于肠道免疫系统因长期接触食物与菌群而处于“免疫耐受”状态,这要求佐剂既要“打破”对病原体的耐受,同时又必须严格维持对有益抗原的原有耐受,避免引发炎症性肠病等自身免疫问题。此外,肠道黏膜免疫应答存在固有的Th2偏向性,如何通过佐剂精准调控免疫应答类型(如增强Th1或Th17应答以对抗某些胞内病原体),同时避免不必要的免疫病理反应是另一大难点[42]。

3.3 佐剂本身的安全性

佐剂的安全性是胃肠道疫苗研发的核心考量之一。佐剂在产生强烈的免疫应答的同时也可能引发严重的炎症反应,如腹泻、腹痛等。这一点在强效的细菌毒素类佐剂(如CT、LT)上尤为明显[24]。此外,若佐剂成分或抗原-佐剂复合物通过因炎症或其他原因受损的肠道屏障进入全身循环,还可能引起发热等系统性不良反应。

3.4 佐剂与疫苗抗原/剂型的适配性

疫苗的最终效果高度依赖于“抗原-佐剂-递送剂型”三者的协同作用。佐剂需与抗原的理化特性(如分子大小、电荷、稳定性)高度匹配,并适应特定的给药途径(如口服、鼻内)。例如,对于易于降解的多肽抗原,可能需要与能提供保护并促进摄取的纳米载体结合使用[43];而对于核酸抗原,则需考虑佐剂与递送系统(如脂质纳米粒)的相容性与共递送策略[44]。适配不当可能导致免疫原性不足、抗原降解或不良反应增加。

4 研究展望

4.1 靶向胃肠道特定免疫受体的程序化佐剂设计

未来胃肠道疫苗佐剂的理性设计核心在于“程序化定制”,即通过精准靶向肠道内特定的PPR或归巢受体以及特定细胞(如M细胞、肠上皮细胞、树突状细胞亚群),来精确控制产生的免疫反应类型与部位,确保佐剂-抗原复合物高效穿过黏液层,并被定向摄取至肠道相关淋巴组织[45]。例如,联合使用能激活TLR通路并驱动高水平sIgA产生的dmLT[19]、作为NOD2配体并可增强黏膜屏障的胞壁酰二肽[46],以及靶向M细胞表面$\alpha_4\beta_7$整合素的分子等可协同确保疫苗成分被精准递送至肠道免疫诱导部位(如派尔集合淋巴结)的佐剂,从而实现对肠道黏膜免疫的定向与高效激活。此外,还可以设计针对肠道特定生理信号(如低pH、酶、还原物质、菌群)敏感的智能响应材料作为载体,实现抗原和佐剂的定时定点释放。

4.2 协同递送系统与佐剂的复合策略

突破单一佐剂局限性的关键策略在于发展“一体化”的复合制剂,即将分子佐剂与先进的递送系统进行联合,同时解决递送与增效的难题。例如,将ATRA封装于LNP中,该系统既可提供抵御胃酸,又能同时传递免疫刺激信号,产生协同增效[47]。利用可程序化的纳米笼(如铁蛋白或SpyTag/SpyCatcher组装的多价载体)将抗原与强效TLR激动剂同步呈递,可在单颗粒内实现空间分离、时序释放,从而显著提升sIgA与系统IgG的同步产生[48]。此外,也可将作用机制不同的佐剂进行联合使用以达到协同增效,弥补各自短板的作用。但是,在实际应用过程中需要考虑到三个方面的问题:第一,无机纳米载体若长期残留可能会有潜在毒性;第二,不同作用机制的佐剂联合应用各自剂量的限制会导致药物安全窗口的模糊;第三,生产过程中批次间的稳定性以及对肠道微生态的影响。

4.3 面向特殊人群的佐剂策略

胃肠道疫苗的佐剂必须同时兼顾安全与免疫效能,而婴幼儿与老年人两类特异人群在黏膜免疫成熟度、炎症阈值和微生物生态上存在根本差异,这决定了传统佐剂已难以满足临床需求。针对婴幼儿,研究表明dmLT能在低剂量下显著提升IL-1β驱动的Th17以及IgA产生,且对6~11个月婴儿的单核细胞活性并不产生过度的IFN-γ,显示出良好的耐受窗口[49]。针对婴幼儿的佐剂系统需采用更加温和、持久的免疫刺激,不能影响免疫系统正常发育。老年人黏膜上皮屏障变薄、TLR信号下调及系统性炎症易激活,单一PPR激动剂往往不能起效,反而导致炎症因子的飙升。因此,构建低剂量多组分复合佐剂系统以弥补特定免疫环节的功能缺陷,从而在此类人群中实现安全与效力的平衡[50]。

5 总结

胃肠道感染疫苗佐剂的研发正经历从传统佐剂向黏膜定向、机制驱动型策略的深刻转型,其核心聚焦于能够精准调控免疫信号的分子佐剂(如TLR、STING及RAR激动剂)与兼具递送及免疫调节功能的递送系统(如脂质体、病毒载体);当前研究前沿已呈现出“抗原-佐剂-递送体”一体化协同设计的趋势,旨在同步解决靶向、增效与安全性问题。然而,该领域仍面临胃肠道苛刻环境下的稳定性、强效佐剂的炎症风险以及动物模型向临床转化等多重挑战。总而言之,未来佐剂设计将依赖于免疫学、纳米技术与临床医学的深度融合与协作,实现“程序化”与“个体化”设

计,即通过开发智能响应材料实现时空精准免疫调控,并针对不同人群定制安全高效的方案。

利益冲突 本文所有作者声明不存在利益冲突

参考文献:

[1] FANG X Y, AI J, LIU W D, *et al*. Epidemiology of infectious diarrhoea and the relationship with etiological and meteorological factors in Jiangsu Province, China[J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 19571. DOI: 10.1038/s41598-019-56207-2.

[2] 国家卫生健康委员会. 2021年全国法定传染病疫情概况[EB/OL]. (2022-04-22)[2026-03-03]. https://www.nhc.gov.cn/jkj/c100062/202204/0b60fa3ee5674b11a589a4b1dcb15e45.shtml.

National Health Commission of the People's Republic of China. Overview of national notifiable infectious diseases in China, 2021[EB/OL]. (2022-04-22)[2026-03-03]. https://www.nhc.gov.cn/jkj/c100062/202204/0b60fa3ee5674b11a589a4b1dcb15e45.shtml.

[3] PERNICA J M, ARSCOTT-MILLS T, STEENHOFF A P, *et al*. Optimising the management of childhood acute diarrhoeal disease using a rapid test-and- treat strategy and/or *Lactobacillus reuteri* DSM 17938: a multicentre, randomised, controlled, factorial trial in Botswana[J]. BMJ Glob Health, 2022, 7(4): e007826. DOI: 10.1136/bmjgh-2021-007826.

[4] WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global antibiotic resistance surveillance report 2025: WHO Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System (GLASS) Summary [M/OL]. Geneva: World Health Organization, 2025[2026-03-03]. DOI:10.2471/b09585.

[5] LAVELLE E C, WARD R W. Mucosal vaccines: fortifying the frontiers[J]. Nat Rev Immunol, 2022, 22(4): 236-250. DOI:10.1038/s41577-021-00583-2.

[6] MIQUEL-CLOPÉS A, BENTLEY E G, STEWART J P, *et al*. Mucosal vaccines and technology[J]. Clin Exp Immunol, 2019, 196(2): 205-214. DOI:10.1111/cei.13285.

[7] PULENDRAN B, S ARUNACHALAM P, O'HAGAN D T. Emerging concepts in the science of vaccine adjuvants[J]. Nat Rev Drug Discov, 2021, 20(6): 454-475. DOI:10.1038/s41573-021-00163-y.

[8] LÓPEZ-SAGASETA J, MALITO E, RAPPUOLI R, *et al*. Self-assembling protein nanoparticles in the design of vaccines[J]. Comput Struct Biotechnol J, 2015, 14: 58-68. DOI: 10.1016/j.csbj.2015.11.001.

[9] DIDIERLAURENT A M, MOREL S, LOCKMAN L, *et al*. AS04, an aluminum salt- and TLR4 agonist-based adjuvant system, induces a transient localized innate immune response leading to enhanced adaptive immunity[J]. J Immunol, 2009, 183(10): 6186-6197. DOI: 10.4049/jimmunol.0901474.

[10] LIANG H, PONCET D, SEYDOUX E, *et al*. The TLR4 agonist adjuvant SLA-SE promotes functional mucosal antibodies against a parenterally delivered ETEC vaccine[J]. NPJ Vaccines, 2019, 4: 19. DOI: 10.1038/s41541-019-0116-6.

[11] XUE R Y, GUO M F, GUO L, *et al*. Synthetic lipopeptide enhances protective immunity against *Helicobacter pylori* infection[J]. Front Immunol, 2019, 10: 1372. DOI: 10.3389/fimmu.2019.01372.

[12] XUE R Y, CHANG L, WANG J Q, *et al*. Synthetic self-adjuvanted lipopeptide vaccines conferred protection against *Helicobacter pylori* infection[J]. Adv Healthc Mater, 2023, 12(23): e2300085. DOI:10.1002/adhm.202300085.

[13] ZHOU Y, BANDAY A H, HRUBY V J, *et al*. Development of N-acetylated dipalmitoyl-S-glyceryl cysteine analogs as efficient TLR2/TLR6 agonists[J]. Molecules, 2019, 24(19): 3512. DOI:10.3390/molecules24193512.

[14] KAYRAKLIOGLU N, HORULUOGLU B, KLINMAN D M. CpG oligonucleotides as vaccine adjuvants[J]. Methods Mol Biol, 2021, 2197: 51-85. DOI:10.1007/978-1-0716-0872-2_4.

[15] KLINMAN D M. Use of CpG oligodeoxynucleotides as immunoprotective agents[J]. Expert Opin Biol Ther, 2004, 4(6): 937-946. DOI:10.1517/14712598.4.6.937.

[16] DANG S, LI W Y, WEN S B, *et al*. Ag85a-S2 activates cGAS-STING signaling pathway in intestinal mucosal cells[J]. Vaccines, 2022, 10(12): 2170. DOI: 10.3390/vaccines10122170.

[17] IWATA M, HIRAKIYAMA A, ESHIMA Y, *et al*. Retinoic acid imprints gut-homing specificity on T cells[J]. Immunity, 2004, 21(4): 527-538. DOI: 10.1016/j.immuni.2004.08.011.

[18] DENG Y, CHENG H, ZHU J, *et al*. Tamibarotene-loaded nanoemulsion incorporating Toll-like receptor 2/6 agonist as an intramuscular adjuvant system enhances gastrointestinal mucosal immunity[J]. ACS Nano, 2025, 19(20): 19149-19167. DOI:10.1021/acsnano.5c00563.

[19] CLEMENTS J D, NORTON E B. The mucosal vaccine adjuvant LT(R192G/L211A) or dmLT[J]. mSphere, 2018, 3(4): e00215-e00218. DOI:10.1128/msphere.00215-18.

[20] KAWASAKI T, KAWAI T. Toll-like receptor signaling pathways[J]. Front Immunol, 2014, 5: 461. DOI:10.3389/fimmu.2014.00461.

[21] O'NEILL L A J, GOLENBOCK D, BOWIE A G. The history of Toll-like receptors: redefining innate immunity

[J]. Nat Rev Immunol, 2013, 13(6): 453-460. DOI: 10.1038/nri3446.

[22] LI T, CHEN Z J. The cGAS-cGAMP-STING pathway connects DNA damage to inflammation, senescence, and cancer[J]. J Exp Med, 2018, 215(5): 1287-1299. DOI: 10.1084/jem.20180139.

[23] TAN Z L, SHI J Y, ZHANG S Y, *et al*. The role of cGAS-STING signaling in the liver and gastrointestinal system: from signaling networks to target intervention [J]. Front Immunol, 2025, 16: 1682992. DOI: 10.3389/fimmu. 2025. 1682992.

[24] LARANGE A, CHEROUTRE H. Retinoic acid and retinoic acid receptors as pleiotropic modulators of the immune system[J]. Annu Rev Immunol, 2016, 34: 369-394. DOI: 10.1146/annurev-immunol-041015-055427.

[25] LARANGE A, TAKAZAWA I, KAKUGAWA K, *et al*. A regulatory circuit controlled by extranuclear and nuclear retinoic acid receptor α determines T cell activation and function [J]. Immunity, 2023, 56(9): 2054-2069. e10. DOI: 10.1016/j.immuni.2023.07.017.

[26] SANCHEZ J, HOLMGREN J. Cholera toxin—a foe & a friend[J]. Indian J Med Res, 2011, 133(2): 153-163.

[27] PASETTI M F, MILLETICH P L, WHITE J A, *et al*. Safety and immunogenicity in humans of enterotoxigenic *Escherichia coli* double mutant heat-labile toxin administered intradermally [J]. NPJ Vaccines, 2025, 10(1): 23. DOI: 10.1038/s41541-025-01071-7.

[28] PRIOR J T, LIMBERT V M, HOROWITZ R M, *et al*. Establishment of isotype-switched, antigen-specific B cells in multiple mucosal tissues using non-mucosal immunization [J]. NPJ Vaccines, 2023, 8(1): 80. DOI: 10.1038/s41541-023-00677-z.

[29] LUNDGREN A, BOURGEOIS L, CARLIN N, *et al*. Safety and immunogenicity of an improved oral inactivated multivalent enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) vaccine administered alone and together with dmLT adjuvant in a double-blind, randomized, placebo-controlled Phase I study [J]. Vaccine, 2014, 32(52): 7077-7084. DOI: 10.1016/j. vaccine.2014.10.069.

[30] ROOZEN G V T, SUKWA N, CHIRWA M, *et al*. Safety, tolerability, and immunogenicity of the InvaplexAR-detox *Shigella vaccine* co-administered with the dmLT adjuvant in Dutch and Zambian adults: study protocol for a multi-center, randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation phase ia/b clinical trial [J]. Vaccines, 2025, 13(1): 48. DOI: 10.3390/vaccines13010048.

[31] ZONG Y, LIN Y, WEI T, *et al*. Lipid nanoparticle (LNP) enables mRNA delivery for cancer therapy[J]. Adv Mater, 2023, 35(51): 2303261. DOI: 10.1002/adma.202303261.

[32] WØRZNER K, HVANNASTEIN J, SCHMIDT S T, *et al*. Adsorption of protein antigen to the cationic liposome adjuvant CAF®01 is required for induction of Th1 and Th17 responses but not for antibody induction [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2021, 165: 293-305. DOI: 10.1016/j. ejpb.2021.05.020.

[33] ABBAS A M, GHANIM R, RUDDEN S, *et al*. Gastrointestinal delivery of mRNA lipid nanoparticles selectively targets the pancreas [J/OL]. bioRxiv, 2025 [2026-03-03]. DOI: 10.1101/2025.09.15.676190.

[34] ABHYANKAR M M, XU F F, CHAVEZ D, *et al*. Immunogenicity and safety of an *Entamoeba histolytica* adjuvanted protein vaccine candidate (LecA+GLA-3M-052 liposomes) in *Rhesus* macaques [J]. Hum Vaccines Immunother, 2024, 20(1): 2374147. DOI: 10.1080/21645515.2024.2374147.

[35] MCCANN N, O'CONNOR D, LAMBE T, *et al*. Viral vector vaccines [J]. Curr Opin Immunol, 2022, 77: 102210. DOI: 10.1016/j.coi.2022.102210.

[36] NIE L Y, HUANG Y, CHENG Z K, *et al*. An intranasal influenza virus vector vaccine protects against *Helicobacter pylori* in mice[J]. J Virol, 2024, 98(3): e01923-e01923. DOI: 10.1128/jvi.01923-23.

[37] ISTICATO R, SIREC T, TREPPICCIONE L, *et al*. Non-recombinant display of the B subunit of the heat labile toxin of *Escherichia coli* on wild type and mutant spores of *Bacillus subtilis*[J]. Microb Cell Fact, 2013, 12: 98. DOI: 10.1186/1475-2859-12-98.

[38] ISTICATO R. Bacterial spore-based delivery system: 20 years of a versatile approach for innovative vaccines [J]. Biomolecules, 2023, 13(6): 947. DOI: 10.3390/biom13060947.

[39] ZHI Y, JI H J, GUO H C, *et al*. *Salmonella* Vaccine vector system for foot-and-mouth disease virus and evaluation of its efficacy with virus-like particles [J]. Vaccines, 2021, 9(1): 22. DOI: 10.3390/vaccines9010022.

[40] YU J X, FU J Y, LIU H S, *et al*. Application of recombinant lactic acid bacteria (LAB) live vector oral vaccine in the prevention of F4+ enterotoxigenic *Escherichia coli* [J]. Vaccines, 2024, 12(3): 304. DOI: 10.3390/vaccines12030304.

[41] ENSIGN L M, CONE R, HANES J. Oral drug delivery with polymeric nanoparticles: the gastrointestinal mucus barriers [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2012, 64(6): 557-570. DOI: 10.1016/j.addr.2011.12.009.

[42] TSAI C J Y, LOH J M S, FUJIHASHI K, *et al*. Mucosal vaccination: onward and upward[J]. Expert Rev Vaccines,

2023, 22(1): 885-899. DOI: 10.1080/14760584.2023.2268724.

[43] CHEN F M, ZHANG H J, LI S Q, *et al*. Polypeptide sono-adjuvant for ultrasound-activatable regulation of innate immunity and cancer vaccination therapy[J]. Nat Commun, 2025, 17(1): 272. DOI:10.1038/s41467-025-66976-2.

[44] CHEN S Y, HUANG X G, XUE Y E, *et al*. Nanotechnology-based mRNA vaccines [J]. Nat Rev Methods Primers, 2023, 3(1): 63. DOI: 10.1038/s43586-023-00246-7.

[45] VERMA S K, MAHAJAN P, SINGH N K, *et al*. New-age vaccine adjuvants, their development, and future perspective[J]. Front Immunol, 2023, 14: 1043109. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1043109.

[46] WATANABE T, ASANO N, MURRAY P J, *et al*. Muramyl dipeptide activation of nucleotide-binding oligomerization domain 2 protects mice from experimental colitis[J]. J Clin Invest, 2008, 118(2): 545-559. DOI:10.1172/JCI33145.

[47] LI W, LI Y J, LI J J, *et al*. All-trans-retinoic acid-adjuvanted mRNA vaccine induces mucosal anti-tumor immune responses for treating colorectal cancer[J]. Adv Sci, 2024, 11(22): 2309770. DOI:10.1002/advs.202309770.

[48] NGUYEN T D, LE H D, DANG G C, *et al*. A combined adjuvant and ferritin nanocage based mucosal vaccine against *Streptococcus pneumoniae* induces protective immune responses in a murine model[J]. Nat Commun, 2025, 16(1): 2871. DOI:10.1038/s41467-025-58115-8.

[49] AKHTAR M, NIZAM N N, BASHER S R, *et al*. dmLT adjuvant enhances cytokine responses to T cell stimuli, whole cell vaccine antigens and lipopolysaccharide in both adults and infants[J]. Front Immunol, 2021, 12: 654872. DOI:10.3389/fimmu.2021.654872.

[50] DEMICHELI V, JEFFERSON T, DI PIETRANTONJ C, *et al*. Vaccines for preventing influenza in the elderly[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2018, 2(2): CD004876. DOI:10.1002/14651858.CD004876.pub4.

(**收稿**:2025-12-19;**修回**:2026-03-04)

(编辑 刘秋池)