铝佐剂研究进展

张 冉，闫向波，石献华 *
（北京智飞绿竹生物制药有限公司生产中心，北京 100176）

摘要：铝佐剂具有高安全性、耐受性和成本低等优点，是疫苗佐剂的首选方案。但是，目前铝佐剂促进机体免疫的具体机制仍不明确。文章总结了铝佐剂的特点、不同铝佐剂的差异和应用，整理了近些年来关于铝佐剂如何促进机体免疫反应的各种机制研究，以帮助研究者深入了解铝佐剂，为新型佐剂的开发提供参考。

关键词：铝佐剂；疫苗；免疫；研究进展
中图分类号：R186 **文献标志码**：A **文章编号**：1001-8255(2025)02-0163-07
引用：张 冉，闫向波，石献华．铝佐剂研究进展[J]．中国医药工业杂志，2025, 56(2)：163-169．DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2025.02.003

Research Progress of Aluminum-containing Adjuvants

ZHANG Ran, YAN Xiangbo, SHI Xianhua*
(*Production Center, Beijing Zhifei Lvzhu Biopharmaceutical Co., Ltd., Beijing 100176*)

ABSTRACT: Aluminum-containing adjuvants have the advantages of high safety, tolerance, and low cost, making them the preferred option for vaccine adjuvants. However, the mechanism of aluminum-containing adjuvants to elicit the immune system remains elusive. The article summarizes the characteristics of aluminum-containing adjuvants, the differences and applications of various aluminum-containing adjuvants, and organizes various mechanisms research on how aluminum-containing adjuvants promote immune responses in recent years, providing a deeper understanding of aluminum-containing adjuvants and offering references for the development of new adjuvants.

Key Words: aluminum-containing adjuvant; vaccine; immune; research progress

佐剂是添加在疫苗中的一类免疫调节剂，可通过物理或化学的方法与抗原结合，增强抗原的免疫原性，促进机体产生抗原特异性的免疫反应。1926年，GLENNY等[1]发现将白喉类毒素用铝盐溶液（明矾）沉淀后对豚鼠进行免疫，诱导产生的特异性免疫反应比单独使用白喉类毒素进行免疫的对照组高，提示铝盐具有增强免疫的效果。这一开创性研究推动了铝佐剂在疫苗中的广泛应用。目前，铝佐剂已经成功在百日咳、白喉、破伤风、甲型肝炎、乙型肝炎和狂犬病等疫苗中应用，数以亿计含有铝佐剂的疫苗帮助人们预防了多种疾病，为人类健康提供了坚实的保障[2]。铝佐剂具有成本低、安全性高的特点，是各种新型疫苗的首选佐剂成分[3]。过去几十年中，人们尝试研发了各种新型疫苗佐剂，但铝佐剂的应用仍然最为广泛。近些年，人们对铝佐剂的认知越来越深入，但是铝佐剂仍有很多秘密尚未被揭示。铝佐剂在刺激机体免疫方面也具有提升空间。本文将从铝佐剂的种类、影响铝佐剂免疫效果的主要因素和铝佐剂促进免疫机制的研究进展3个方面进行综述，以期为新型佐剂的开发提供参考。

1 铝佐剂的种类

目前，获批上市的人用疫苗中的铝佐剂主要有氢氧化铝（aluminum hydroxide，AH）佐剂、磷酸

收稿日期：2024-09-09
作者简介：张 冉（1985—），男，生物制药工程师，本科，从事药品生产管理工作。
通信作者：石献华（1982—），女，生物制药工程师，从事药品生产管理工作。
E-mail：shixianhua@zhifeishengwu.com

铝（aluminum phosphate，AP）佐剂和无定型羟基磷酸铝硫酸盐（amorphous aluminum hydroxyphosphate sulfate，AAHS）佐剂。AH佐剂和AP佐剂的配制方法不同，导致它们在理化性质和生物特性上存在很大差异。AH佐剂是通过向含有Al^{3+}的溶液（通常为氯化铝或硫酸铝钾）中加入氢氧化钠溶液混合制备而成的。制备过程中的温度、溶液浓度和混合速度等条件对AH佐剂的生成至关重要[3]。微观上，AH佐剂是一种由纳米纤维构成的松散微粒聚集体[4]。不同制备工艺制得的AH佐剂在物理特性、吸附能力等方面也会存在差异[5]。AP佐剂通过在存在磷酸盐的碱性条件下沉淀铝离子而得。磷酸根离子的加入可导致羟基磷酸铝［$Al(OH)_x(PO_4)_y$］的形成，即一定比例的氢氧根被磷酸根取代。同时，磷酸根离子会干扰结晶过程，使AP佐剂以无定型状态存在[3]，微观上呈现为由直径约50 nm的球形纳米颗粒构成的松散微粒聚集体[6]。研究[7]显示，AH佐剂和AP佐剂诱导机体产生的免疫反应也有差异。在疫苗中选用AP佐剂还是AH佐剂是由多种因素决定的，例如疫苗所针对的疾病类型、抗原的理化特性和接种疫苗的人群特征等。在FDA批准的疫苗中，有一些同时含有AP佐剂和AH佐剂。据统计[3]，在上市疫苗中，AH佐剂和AP佐剂的使用数量相当。

除了AH佐剂和AP佐剂，美国Thermo Fisher Scientific公司开发了一款铝佐剂，Imject™ Alum。这种佐剂是由无定型羟基碳酸铝和氢氧化镁晶体组成，能促进机体免疫应答向Th1型极化[8]。但也有研究[9]通过对比试验证明AH佐剂诱导机体产生的免疫应答效果比Imject™ Alum好。因此，Imject™ Alum目前主要应用于临床前研究。德国Merck公司研发了另一款商业化铝佐剂AAHS，其形态与AP佐剂类似，呈现为纳米颗粒组成的松散聚集体，在pH 7.0条件下不带电荷[10]。AAHS佐剂目前已应用于几种商业化疫苗中，如预防乙型肝炎病毒感染的Recombivax，人乳头瘤病毒疫苗Gardasil，以及预防白喉、破伤风、百日咳、脊髓灰质炎、乙型肝炎以及由B型流感嗜血杆菌引起的侵袭性疾病的六联疫苗Vaxelis等[3]。

2　影响铝佐剂免疫效果的主要因素

铝佐剂的制备工艺多种多样，细微的工艺差异都会导致铝佐剂理化特性的不同，继而影响免疫效果。除了铝佐剂本身的物理化学特点以外，其他一些因素也会影响铝佐剂的免疫效果。下面主要从吸附能力、颗粒大小、抗原类型和免疫剂量4个方面分析、总结铝佐剂的免疫效果。

2.1　吸附能力

铝佐剂对抗原的吸附能力是决定其免疫效果的重要因素。通常认为，吸附能力较强的铝佐剂，可在体内形成足量的抗原库，实现抗原的缓慢释放，持续刺激机体的免疫机制，以产生较好的免疫促进效果。而铝佐剂的吸附能力受多种因素影响，如铝佐剂本身的表面积、相互作用力和表面电荷等。铝佐剂的比表面积通常较大，有利于提升吸附抗原的能力和容量[10]。一般情况下，疫苗中抗原的总量低于铝佐剂的吸附容量。铝佐剂吸附抗原涉及多种物理和化学相互作用，包括静电作用、疏水作用以及配体交换等[11]。其中，主要的作用机制是抗原中的磷酸基团与铝佐剂中的—OH发生替换，形成复合物。疫苗中抗原的磷酸根浓度对铝佐剂的吸附能力影响较大。有研究[12]表明，抗原中含有高浓度磷酸根会降低铝佐剂对抗原的吸附作用，但会促进免疫反应，提升抗原特异性抗体的滴度。同时，静电作用对吸附也起重要作用。静电作用的强弱取决于铝佐剂的表面电荷，而铝佐剂的表面电荷受pH值的影响。AH佐剂的零电荷点约为11.4，在生理pH条件下带正电荷，可吸附带负电荷的抗原，通常用带负电荷的蛋白（牛血清白蛋白、卵清蛋白等）测定其吸附能力。AP佐剂中，一部分磷酸根替代了氢氧根，二者比例为1.1∶1至1.15∶1，因此其零电荷点约为5，在生理pH条件下带负电荷，可吸附带正电荷的抗原，通常用带正电荷的蛋白（溶菌酶等）测定其吸附能力[13]。另外，铝佐剂的吸附能力也受抗原类型、溶液（pH值、离子强度和组成成分等）和赋形剂（稳定剂、表面活性剂）等的影响[3,14]。

2.2　颗粒大小

铝佐剂颗粒的大小和均一度对其免疫刺激效

果有一定影响。有研究[15]分别用粒径约200和600 nm的铝佐剂等量吸附白喉类毒素后免疫小鼠。5周后的检测结果显示，含粒径200 nm铝佐剂的疫苗免疫小鼠后产生的抗体滴度高于含粒径600 nm铝佐剂的疫苗。文献[3]也报道小粒径的铝佐剂具有更好的理化特性和吸附效率。另外，铝佐剂的颗粒尺寸还会影响机体免疫细胞对抗原的摄取效果。

2.3 抗原类型

疫苗中的抗原特性会显著影响铝佐剂的免疫效果。抗原特性决定了疾病类型。不同含量的抗原，或者同一病原的不同抗原都会诱导机体产生不同的免疫反应；即使是同一抗原，利用不同的表达系统表达后，表达产物诱导机体产生的免疫效果也有所不同。

目前，铝佐剂虽已广泛应用于各种疫苗且具有良好的免疫效果，但并不是所有的抗原都适合用铝佐剂。铝佐剂可以促进机体产生很强的体液免疫反应，介导机体产生大量抗原特异性的免疫球蛋白（immunoglobulin，Ig）G_1[16]。但是，铝佐剂不倾向于诱导机体产生Th1型免疫应答[17]。因此，一些依赖细胞免疫才能起到免疫保护作用的疾病，如HIV、疟疾和肺结核等疫苗不能用铝佐剂。铝佐剂更适于诱导出抗体即可产生保护性免疫的疾病，如HBV、白喉和破伤风等病原。

2.4 免疫剂量

每剂疫苗中铝佐剂的含量对于免疫反应的激发至关重要。WHO推荐每剂疫苗中铝佐剂含量≤1.25 mg。疫苗中铝佐剂的剂量太低，不能充分吸附抗原，也不能有效地激活机体免疫反应；铝佐剂的剂量太高，反而会抑制抗原释放，间接抑制免疫应答[2]。同时，铝佐剂剂量太高也会引起细胞损伤。目前，FDA批准的疫苗中铝佐剂 Al^{3+} 的含量一般为0.13 ～ 0.6 mg[3]。

3 铝佐剂促进免疫机制的研究进展

通常情况下，铝佐剂会促进机体固有免疫细胞的募集和激活，如促进抗原递呈细胞（antigen-presenting cells，APCs）对抗原的摄取、加工和递呈，增加淋巴细胞在引流淋巴结中的聚集，以及加快免疫发生中心的成熟并延长其持续时间。研究[18]表明，铝佐剂主要促进机体产生Th2型免疫反应，但具体机制尚不完全清楚。下面从库效应、促进抗原被免疫细胞摄取、核苷酸结合结构域富含亮氨酸重复序列和含热蛋白结构域受体3（nucleotide-binding domain leucine-rich repeat and pyrin domain-containing receptor 3，NLRP3）通路、磷脂酰肌醇3激酶（phosphoinositide 3-kinase，PI3K）通路、补体途径、危险信号等方面，对近年来铝佐剂在激活机体免疫系统具体机制方面的研究进展进行综述。

3.1 库效应

GLENNY等[1]研究显示，用经铝盐沉淀的白喉类毒素免疫豚鼠，可促进豚鼠产生白喉类毒素的特异性抗体，同时在豚鼠的注射部位形成小囊肿。将该小囊肿组织切下来，经浸泡处理后再免疫新的豚鼠，也会使其产生白喉类毒素的特异性抗体。基于此，研究人员推测铝佐剂吸附抗原后可起到储存和缓慢释放的作用（即库效应），进而促进机体持续产生特异性免疫反应。HARRISON[19]研究显示，经铝盐沉淀的白喉类毒素在注射位点可存在至少7周，佐证了库效应的假说。然而，库效应假说并不能完全解释铝佐剂增强机体免疫的作用机制。GUPTA等[20]将 ^{14}C 标记的破伤风毒素吸附至铝佐剂表面，并作用于免疫小鼠，结果显示破伤风毒素很快从铝佐剂表面释放。也有研究[2]显示，将破伤风毒素、卵清蛋白和HIV-gp120等多种抗原分别与铝佐剂混合并注入体内，这些抗原均会在组织液中迅速从铝佐剂表面释放出来。HUTCHISON等[21]用含铝佐剂的抗原对小鼠进行免疫，2 h后切除注射部位的组织，结果显示这并不影响小鼠产生抗原特异性的免疫反应。另有研究[22]显示，注射部位的小囊肿主要是铝与纤维蛋白原在注射4 h内相互作用而形成的。对纤维蛋白原缺陷型小鼠注射含铝佐剂的抗原，其注射部位不会形成小囊肿，但在该类小鼠体内仍可检出抗原特异性的IgG，并且IgG水平与正常小鼠无显著差异。以上研究结果使得“库效应”假说的准确性变得难以确定。但铝佐剂吸附抗原后，确实提升了注射部位的抗原浓度，促进了APCs对抗原的识别和摄取，进而促进了机体免疫应答。

3.2 促进抗原被免疫细胞摄取

APCs 对抗原的吞噬、加工和递呈功能对于激活机体特异性免疫反应十分重要。铝佐剂可直接或间接地激活 APCs，促进 APCs 对抗原的摄取。有研究[23]将破伤风毒素与铝佐剂混合后刺激单核细胞。结果显示，与单独的破伤风毒素处理组相比，铝佐剂显著促进了 APCs 对抗原的摄取，同时促进了 IL-1 的释放，进而促进了抗原特异性 T 细胞增殖。相似研究[24]显示，铝佐剂会促进外周血单个核细胞（peripheral blood monocytes，PBMCs）上调主要组织相容性复合体（major histocompatibility complex，MHC）-Ⅱ和一些共刺激因子，同时上调 IL-1、IL-4、TNF 和 IL-6 的 mRNA 水平。另外，RIMANIOL 等[25]在体外研究了巨噬细胞与铝佐剂之间的相互作用关系，结果表明铝佐剂可促进巨噬细胞产生 MHC-Ⅱ型特异性免疫记忆反应，延长免疫保护的时间。也有研究[26—27]显示，铝佐剂与抗原混合后可显著促进巨噬细胞对抗原的吞噬。

3.3 NLRP3 通路

近些年的一些研究[28—29]显示，铝佐剂可通过 NLRP3 通路激活炎症小体，进而促进机体免疫反应。例如，有研究[30]报道将铝佐剂和卵清蛋白混合后免疫小鼠，可通过 NLRP3 炎症小体激活小鼠的先天性和获得性免疫反应。当使用铝佐剂和卵清蛋白对 NLRP3 缺陷型小鼠进行免疫时，这些缺陷型小鼠的先天性和获得性免疫反应的激活水平显著降低，并且接种位点的免疫细胞募集能力降低、IL-1β 释放减少、抗原特异性 IgG1 水平降低。此外，激活 NLRP3 通路需要凋亡相关斑点样蛋白（apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD，ASC）、NLRP3 和胱天蛋白酶（caspase）1 共同作用形成炎症小体复合物，从而激活胱天蛋白酶 1，促使巨噬细胞释放 IL-1β、IL-18 等炎症性细胞因子，以加强机体的免疫应答。敲除 NLRP3 基因的细胞中不会分泌这些促炎性因子，因而铝佐剂对 NLRP3 缺陷型小鼠的免疫效果较差。然而，另一些研究[31—32]却表明，caspase-1 缺陷型小鼠、NLRP3 缺陷型小鼠和正常小鼠用含有铝佐剂的抗原免疫后，针对抗原产生的免疫反应水平并无显著差异。因此，铝佐剂是否通过激活 NLRP3 通路来促进机体免疫的机制也变得难以确定。这种结果差异也可能是实验室环境、接种程序、接种剂量和检测手段的差异导致的。

3.4 PI3K 通路

近期研究[33]显示，利用蛋白酶将细胞表面的蛋白降解后，树突状细胞（dendritic cells，DCs）仍可识别铝佐剂。基于此，推测 DCs 与铝佐剂的相互作用不依赖细胞表面的受体蛋白，而是依赖于细胞膜中的脂类，并激活了 PI3K 通路。铝佐剂会通过激活 PI3K 通路来抑制 APCs 表达 IL-12p35 和 IL-12p70 等细胞因子；而 IL-12p70 会诱导 T 细胞向 Th1 型免疫反应转换[34]。另外，铝佐剂可以通过脾酪氨酸激酶（spleen tyrosine kinase，Syk）和 p38-MAPK 通路上调前列腺素 E_2（prostaglandin E_2，PGE_2）的表达，而 PGE_2 则会抑制 Th1 型免疫反应。以上研究证明了 PI3K 通路在铝佐剂激活机体免疫中的作用，也解释了铝佐剂不激活 Th1 型免疫反应的部分原因。

3.5 补体途径

铝佐剂可以激活补体途径。补体裂解片段（complement component 3b，C3b）的形成不会被乙二胺四乙酸（ethylene diamine tetraacetic acid，EDTA）抑制，证明铝佐剂对补体途径的激活不依赖经典途径和旁路途径，但依赖纤维蛋白溶酶原[19]。补体在调控 B 细胞反应和调节 Th1、Th2 型免疫反应的平衡方面有重要作用。在机体免疫过程中，当 IL-12 存在时，DCs 主要诱导 $CD4^+$ 细胞分化成 Th1 型细胞；当无 IL-12 时，DCs 主要诱导机体产生 Th2 型免疫反应，在 IL-12 缺陷型小鼠中也不会产生 Th1 型免疫反应。因此，IL-12 对 Th1 型免疫反应的激活有重要作用。研究[35]表明，单核细胞和巨噬细胞可表达补体 C3b 和 C5a 的受体，它们的相互作用会抑制 IL-12 的表达，进而促进 Th2 型免疫反应。但铝佐剂通过补体途径调控机体免疫的机制还需更多的试验数据证明。

3.6 危险信号

铝佐剂会在注射部位引起局部肌肉组织坏死，根据危险信号假说，推测机体免疫系统会对危险信

号（如压力、损伤和细胞凋亡等）做出免疫应答反应[36]。进一步研究[37—38]表明，铝佐剂诱导机体释放的危险信号主要是尿酸和宿主DNA。KOOL等[39]研究表明，铝佐剂在接种小鼠2 h内会诱导机体产生尿酸，若接种前用尿酸酶预处理，会降低抗原特异性免疫反应。同样，铝佐剂接种小鼠3 h内会释放宿主DNA，在接种前用DNA酶预处理也会减少抗原特异性抗体的产生，抑制抗原特异性CD4 T细胞的增殖。然而，将DNA介导免疫反应的信号通路中的关键分子干扰素基因刺激因子（stimulator of interferon genes，STING）或干扰素调节因子3（interferon regulatory factor 3，IRF3）敲除后，却并不影响抗原特异性抗体的滴度，只有抗原特异性IgE反应降低[40]。

4 总结与展望

铝佐剂在人类控制传染病方面起了重要作用。它可以增强机体针对抗原产生的特异性免疫反应，且安全性好、耐受性高、成本低。但是，铝佐剂也有一定的局限性。例如：①含铝佐剂的疫苗不能冻存，不便于疫苗的贮存和运输；②铝佐剂免疫会引起不良反应[2]；③铝佐剂对Th1型免疫反应的刺激能力很弱，不适用于需要激活T细胞免疫才能产生保护作用的疾病（如结核杆菌感染）；④铝佐剂并不适用于所有抗原，如灭活的流感病毒等。

近年来，越来越多的研究致力于提升铝佐剂对机体Th1型免疫反应的激活作用，以期扩展铝佐剂的应用范围。这些研究主要集中于纳米铝佐剂和复合型铝佐剂两方面。纳米铝佐剂比传统铝佐剂粒径更小，形态也有所变化，可以诱导机体产生更强的体液免疫反应，并使免疫反应向Th1/Th17转化[41—42]。复合型铝佐剂由铝佐剂和免疫刺激分子或免疫激动药混合制成。例如，AS04佐剂是铝佐剂和Toll样受体（Toll-like receptor，TLR）4的激动药3-*O*-去酰基-4'-单磷酰基脂质A（3-*O*-desacyl-4'-monophosphoryl lipid A，MPL）形成的一种复合型佐剂；AS37佐剂是铝佐剂和TLR7激动药小分子免疫增强剂（small-molecule immune potentiator，SMIP）形成的一种复合型佐剂；铝佐剂和TLR9激动药胞嘧啶-鸟嘌呤寡脱氧核苷酸（cytosine/guanosine oligodeoxynucleotide，CpG ODN）也可以形成复合型佐剂[43]。这几种复合型佐剂都已成功应用于上市的人用疫苗中，给创新型铝佐剂带来了希望。

近期有研究[44—46]报道铝佐剂会产生一些不良反应，如促进机体产生炎症反应、神经毒性和巨噬细胞肌筋膜炎（macrophagic myofasciitis，MMF）等，引发了人们对铝佐剂安全性的讨论。虽然铝佐剂的临床应用已经十分广泛，但其引起的偶发不良反应也是亟待解决的问题。目前，铝佐剂如何促进机体免疫的具体机制仍不明确，需要科研人员继续深入研究，以便为进一步优化和改造铝佐剂打下坚实的基础。

参考文献：

[1] GLENNY A T, POPE P C, WADDINGTON H, *et al*. Immunological notes. Ⅹ Ⅶ - Ⅹ Ⅹ Ⅳ [J]. *J Pathol Bacteriol*, 1926, **29**: 31-40.

[2] HE P, ZOU Y N, HU Z Y. Advances in aluminum hydroxide-based adjuvant research and its mechanism [J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2015, **11**(2): 477-488.

[3] LAERA D, HOGENESCH H, O'HAGAN D T. Aluminum adjuvants—'back to the future' [J]. *Pharmaceutics*, 2023, **15**(7): 1884.

[4] VRIELING H, KOOIJMAN S, DE RIDDER J W, *et al*. Activation of human monocytes by colloidal aluminum salts [J]. *J Pharm Sci*, 2020, **109**(1): 750-760.

[5] ART J F, VANDER STRAETEN A, DUPONT-GILLAIN C C. Immobilization of aluminum hydroxide particles on quartz crystal microbalance sensors to elucidate antigen-adjuvant interaction mechanisms in vaccines [J]. *Anal Chem*, 2018, **90**(2): 1168-1176.

[6] KOWAL P, FUNG G, GEMMITI G, *et al*. Application of PAT probes in aluminum phosphate adjuvant manufacturing [J]. *Pharm Res*, 2024, **41**(2): 375-385.

[7] KOOIJMAN S, VRIELING H, VERHAGEN L, *et al*. Aluminum hydroxide and aluminum phosphate adjuvants elicit a different innate immune response [J]. *J Pharm Sci*, 2022, **111**(4): 982-990.

[8] JIA Y B, HU J, ZHU C J, *et al*. Engineered NanoAlum from aluminum turns cold tumor hot for potentiating cancer

metalloimmunotherapy［J］. *J Control Release*, 2023, **354**: 770-783.

［9］ NIES I, HIDALGO K, BONDY S C, *et al*. Distinctive cellular response to aluminum based adjuvants［J］. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2020, **78**: 103404.

［10］ HOGENESCH H, O'HAGAN D T, FOX C B. Optimizing the utilization of aluminum adjuvants in vaccines: you might just get what you want［J］. *NPJ Vaccines*, 2018, **3**: 51.

［11］ CHEN A X, GUAN J J, HU R R, *et al*. Enhanced phosphate adsorption studies on several metal-modified aluminum sludge: preparation optimization, adsorption behavior, and mechanistic insight［J］. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2023, **30**(19): 54628-54643.

［12］ HAER M, STRAHLENDORF K, PAYNE J, *et al*. PAT solutions to monitor adsorption of Tetanus Toxoid with aluminum adjuvants［J］. *J Pharm Biomed Anal*, 2021, **198**: 114013.

［13］ BO C P, WEI X L, WANG X, *et al*. Physicochemical properties and adsorption state of aluminum adjuvants with different processes in vaccines［J］. *Heliyon*, 2023, **9**(8): e18800.

［14］ 刘　超, 张艳艳. 影响含铝佐剂疫苗吸附率和解离率的因素分析［J］. 中国医药工业杂志, 2023, **54**(5): 719-725.

［15］ CLAUSI A, CUMMISKEY J, MERKLEY S, *et al*. Influence of particle size and antigen binding on effectiveness of aluminum salt adjuvants in a model lysozyme vaccine［J］. *J Pharm Sci*, 2008, **97**(12): 5252-5262.

［16］ QIAO N, WANG H R, XU Y H, *et al*. A MnAl double adjuvant nanovaccine to induce strong humoral and cellular immune responses［J］. *J Control Release*, 2023, **358**: 190-203.

［17］ ZHANG T Y, MAGAZINE N, MCGEE M C, *et al*. Th2 and Th17-associated immunopathology following SARS-CoV-2 breakthrough infection in Spike-vaccinated ACE2-humanized mice［J］. *J Med Virol*, 2024, **96**(1): e29408.

［18］ MARRACK P, MCKEE A S, MUNKS M W. Towards an understanding of the adjuvant action of aluminium［J］. *Nat Rev Immunol*, 2009, **9**(4): 287-293.

［19］ HARRISON W T. Some observations on the use of alum precipitated diphtheria toxoid［J］. *Am J Public Health Nations Health*, 1935, **25**(3): 298-300.

［20］ GUPTA R K, CHANG A C, GRIFFIN P, *et al*. *In vivo* distribution of radioactivity in mice after injection of biodegradable polymer microspheres containing ^{14}C-labeled tetanus toxoid［J］. *Vaccine*, 1996, **14**(15): 1412-1416.

［21］ HUTCHISON S, BENSON R A, GIBSON V B, *et al*. Antigen depot is not required for alum adjuvanticity［J］. *FASEB J*, 2012, **26**(3): 1272-1279.

［22］ MUNKS M W, MCKEE A S, MACLEOD M K, *et al*. Aluminum adjuvants elicit fibrin-dependent extracellular traps *in vivo*［J］. *Blood*, 2010, **116**(24): 5191-5199.

［23］ MASSON J D, BADRAN G, DOMDOM M A, *et al*. Advances on the early cellular events occurring upon exposure of human macrophages to aluminum oxyhydroxide adjuvant［J］. *Sci Rep*, 2023, **13**(1): 3198.

［24］ ULANOVA M, TARKOWSKI A, HAHN-ZORIC M, *et al*. The common vaccine adjuvant aluminum hydroxide up-regulates accessory properties of human monocytes via an interleukin-4-dependent mechanism［J］. *Infect Immun*, 2001, **69**(2): 1151-1159.

［25］ RIMANIOL A C, GRAS G, VERDIER F, *et al*. Aluminum hydroxide adjuvant induces macrophage differentiation towards a specialized antigen-presenting cell type［J］. *Vaccine*, 2004, **22**(23/24): 3127-3135.

［26］ JALDIN-FINCATI J, MOUSSAOUI S, GIMENEZ M C, *et al*. Aluminum hydroxide adjuvant diverts the uptake and trafficking of genetically detoxified pertussis toxin to lysosomes in macrophages［J］. *Mol Microbiol*, 2022, **117**(5): 1173-1195.

［27］ DANIELSSON R, FEREY N, MILE I, *et al*. Metabolic reprogramming of macrophages upon *in vitro* incubation with aluminum-based adjuvant［J］. *Int J Mol Sci*, 2023, **24**(5): 4409.

［28］ RINCON J C, HAWKINS R B, HOLLEN M, *et al*. Aluminum adjuvant improves survival via NLRP3 inflammasome and myeloid non-granulocytic cells in a murine model of neonatal sepsis［J］. *Shock*, 2021, **55**(2): 274-282.

［29］ VANDEBRIEL R J, STALPERS C A L, VERMEULEN J P, *et al*. Development of a cell line-based *in vitro* assay for assessment of Diphtheria, Tetanus and acellular Pertussis (DTaP)-induced inflammasome activation［J］. *Vaccine*, 2022, **40**(38): 5601-5607.

［30］ KOOL M, PÉTRILLI V, DE SMEDT T, *et al*. Cutting edge: alum adjuvant stimulates inflammatory dendritic cells through activation of the NALP3 inflammasome［J］. *J Immunol*, 2008, **181**(6): 3755-3759.

［31］ MCKEE A S, MUNKS M W, MACLEOD M K, *et al*. Alum

induces innate immune responses through macrophage and mast cell sensors, but these sensors are not required for alum to act as an adjuvant for specific immunity［J］. *J Immunol*, 2009, **183**(7): 4403-4414.

［32］ FRANCHI L, NÚÑEZ G. The NLRP3 inflammasome is critical for aluminium hydroxide-mediated IL-1beta secretion but dispensable for adjuvant activity［J］. *Eur J Immunol*, 2008, **38**(8): 2085-2089.

［33］ FLACH T L, NG G, HARI A, *et al*. Alum interaction with dendritic cell membrane lipids is essential for its adjuvanticity［J］. *Nat Med*, 2011, **17**(4): 479-487.

［34］ MORI A, OLESZYCKA E, SHARP F A, *et al*. The vaccine adjuvant alum inhibits IL-12 by promoting PI3 kinase signaling while chitosan does not inhibit IL-12 and enhances Th1 and Th17 responses［J］. *Eur J Immunol*, 2012, **42**(10): 2709-2719.

［35］ KURODA E, ISHII K J, UEMATSU S, *et al*. Silica crystals and aluminum salts regulate the production of prostaglandin in macrophages via NALP3 inflammasome-independent mechanisms［J］. *Immunity*, 2011, **34**(4): 514-526.

［36］ GÜVEN E, DUUS K, LAURSEN I, *et al*. Aluminum hydroxide adjuvant differentially activates the three complement pathways with major involvement of the alternative pathway［J］. *PLoS One*, 2013, **8**(9): e74445.

［37］ SASAKI E, FURUHATA K, MIZUKAMI T, *et al*. An investigation and assessment of the muscle damage and inflammation at injection site of aluminum-adjuvanted vaccines in guinea pigs［J］. *J Toxicol Sci*, 2022, **47**(11): 439-451.

［38］ JACOBSON L S, LIMA H Jr, GOLDBERG M F, *et al*. Cathepsin-mediated necrosis controls the adaptive immune response by Th2(T helper type 2)-associated adjuvants［J］. *J Biol Chem*, 2013, **288**(11): 7481-7491.

［39］ KOOL M, SOULLIÉ T, VAN NIMWEGEN M, *et al*. Alum adjuvant boosts adaptive immunity by inducing uric acid and activating inflammatory dendritic cells［J］. *J Exp Med*, 2008, **205**(4): 869-882.

［40］ MCKEE A S, BURCHILL M A, MUNKS M W, *et al*. Host DNA released in response to aluminum adjuvant enhances MHC class Ⅱ-mediated antigen presentation and prolongs CD4 T-cell interactions with dendritic cells［J］. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, **110**(12): E1122-E1131.

［41］ KHANDHAR A P, LIANG H, SIMPSON A C, *et al*. Physicochemical structure of a polyacrylic acid stabilized nanoparticle alum(nanoalum) adjuvant governs TH1 differentiation of $CD4^+$ T cells［J］. *Nanoscale*, 2020, **12**(4): 2515-2523.

［42］ ORR M T, KHANDHAR A P, SEYDOUX E, *et al*. Reprogramming the adjuvant properties of aluminum oxyhydroxide with nanoparticle technology［J］. *NPJ Vaccines*, 2019, **4**: 1.

［43］ FACCIOLÀ A, VISALLI G, LAGANÀ A, *et al*. An overview of vaccine adjuvants: current evidence and future perspectives［J］. *Vaccines* (Basel), 2022, **10**(5): 819.

［44］ GOULLÉ J P, GRANGEOT-KEROS L. Aluminum and vaccines: current state of knowledge［J］. *Med Mal Infect*, 2020, **50**(1): 16-21.

［45］ GHERARDI R K, CRÉPEAUX G, AUTHIER F J. Myalgia and chronic fatigue syndrome following immunization: macrophagic myofasciitis and animal studies support linkage to aluminum adjuvant persistency and diffusion in the immune system［J］. *Autoimmun Rev*, 2019, **18**(7): 691-705.

［46］ CONKLIN L, HVIID A, ORENSTEIN W A, *et al*. Vaccine safety issues at the turn of the 21st century［J］. *BMJ Global Health*, 2021, **6**(Suppl 2): e004898.