

基于硝基化 T 细胞表位的 PD-L1 疫苗佐剂的筛选

周虹佑, 高向东, 姚文兵, 田 泓*

(中国药科大学生命科学与技术学院 江苏省生物药物成药性研究重点实验室, 南京 211198)

摘 要 为了充分发挥本课题组前期设计的基于硝基化 T 表位的靶向 PD-L1 的肿瘤疫苗 (PD-L1-NitraTh) 的抑瘤活性, 选择了作用机制不同的几种佐剂进行比较, 以期筛选出最适用于此类疫苗的佐剂。研究结果显示, Poly(I:C)、CPG1018、肿节风多糖 SGP2 及 GM-CSF 等佐剂均可以提高 PD-L1-NitraTh 疫苗的免疫原性, 其中, Poly(I:C) 组诱导产生的抗体滴度最高。对 T 细胞分化相关转录因子的 qPCR 检测结果显示, Poly(I:C) 减少了 GATA3 和 FoxP3 的表达, 提示对 CD4⁺T 细胞分化有较强烈的影响。同时, 相比其他佐剂, Poly(I:C) 可以辅助 PD-L1-NitraTh 增加肿瘤内 T 淋巴细胞以及 CD11b⁺ 细胞浸润, 提示 Poly(I:C) 佐剂可能适用于以硝基化 T 表位为基础的肿瘤疫苗。

关键词 肿瘤疫苗; 佐剂; Toll 样受体; Poly(I:C)

中图分类号 R186;R967 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2024)03-0397-07

doi: 10.11665/j.issn.1000-5048.2023032801

引用本文 周虹佑, 高向东, 姚文兵, 等. 基于硝基化 T 细胞表位的 PD-L1 疫苗佐剂的筛选 [J]. 中国药科大学学报, 2024, 55(3): 397–403.

Cite this article as: ZHOU Hongyou, GAO Xiangdong, YAO Wenbing, et al. Screening of adjuvant for PD-L1 vaccine based on nitrated T cell epitope[J]. *J China Pharm Univ*, 2024, 55(3): 397–403.

Screening of adjuvant for PD-L1 vaccine based on nitrated T cell epitope

ZHOU Hongyou, GAO Xiangdong, YAO Wenbing, TIAN Hong*

Jiangsu Key Laboratory of Druggability of Biopharmaceuticals, School of Life Science and Technology, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China

Abstract To enhance the anti-tumor activity of tumor vaccine targeting PD-L1 based on the nitrated T-epitope (PD-L1-NitraTh), this research compared several adjuvants with different mechanisms to screen out the adjuvant most suitable for PD-L1-NitraTh. The results showed that Poly(I:C), CPG1018, swollen knotted polysaccharide SGP2 and GM-CSF could enhance the immunogenicity of PD-L1-NitraTh when used as adjuvants, with the Poly(I:C) group inducing the highest antibody titer. The results of qPCR for T cell differentiation-related cytokines showed that Poly(I:C) reduced the expression of GATA3 and FoxP3, indicating a strong effect on CD4⁺ T cell differentiation. Besides, compared with other adjuvants, Poly(I:C) could assist PD-L1-NitraTh to increase the infiltration of T cells as well as CD11b⁺ cells within tumor, suggesting that Poly(I:C) may be the suitable adjuvant for tumor vaccines based on the nitrated T epitopes.

Key words tumor vaccine; adjuvant; Toll-like receptor; Poly(I:C)

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.81973222, No.82073754) and the Key Research and Development Program of Xinjiang Uygur Autonomous Region (No.2020B03003)

治疗性肿瘤疫苗利用患者的免疫系统诱导产生持续的抗肿瘤免疫能力, 从而治疗和预防肿瘤复发及转移^[1-2], 由于具备作用特异性强、毒性小、可诱导机体产生免疫记忆等优点而受到广泛的关注^[3-5]。佐剂是疫苗的重要组成部分, 可以通过增强机体对抗原的免疫应答反应来提高疫苗的保护作

收稿日期 2023-03-28 * 通信作者 Tel: 025-83271543 E-mail: tinaheiw@139.com

基金项目 国家自然科学基金项目 (No.81973222, No.82073754); 新疆维吾尔自治区重点研发计划项目 (No.2020B03003)

用^[6]。目前的佐剂大致可以分为 5 类: (1) 矿物盐类佐剂, 可以介导强烈的体液免疫, 但也因此增加了患者对其产生过敏反应的风险^[7]; (2) 油乳剂佐剂, 能够刺激机体产生很强的细胞和体液免疫, 其中弗氏佐剂是目前动物实验中运用最为广泛的佐剂, 但其不易被机体代谢, 毒性较强^[8]; (3) 抗原递送类佐剂, 该类佐剂可以利用载体控制抗原在免疫系统中的时空呈现, 从而提高疫苗的靶向性并促进疫苗持续释放, 但因制备技术性较高, 其所需费用也较高^[9]; (4) 细胞因子佐剂, 这类佐剂具有广泛的生物活性, 在较低水平时就可表现出生物学活性, 但其有一定的剂量相关毒性、免疫原性弱等原因也使其使用受到了一定的限制^[10]; (5) 靶向模式识别受体的佐剂, 模式识别受体在多种细胞上表达, 所以机体在自然状态下就可对其产生效应, 可以诱发较强的细胞免疫, 且生产成本低^[11]。不同类型的佐剂以不同的方式刺激免疫系统, 因此针对不同的疫苗, 其最佳佐剂也各不相同。佐剂的合理使用是影响治疗性疫苗疗效的关键因素之一^[12]。

本课题组前期设计了一种基于硝基化表位的 PD-L1 疫苗 PD-L1-NitraTh^[13-14], 可以诱导小鼠产生 PD-L1 特异性的体液免疫和细胞免疫, 在小鼠 B16F10 黑色素瘤肺转移、小鼠 CT26 结肠癌皮下移植瘤等模型中体现出一定的抑瘤活性。为了筛选出适用于该疫苗的佐剂, 本研究分别选择了 TLR3 激动剂 Poly(I:C)、TLR4 激动剂肿节风多糖 SGP2、TLR9 激动剂 CPG1018 及粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)作为佐剂, 对不同佐剂增强 PD-L1-NitraTh 疫苗免疫原性和抑瘤活性的能力进行比较, 为 PD-L1-NitraTh 疫苗的开发提供有效的佐剂选择。

1 材料

1.1 试剂

CPG1018(北京擎科生物科技有限公司); Poly(I:C)(美国 InvivoGen 公司); 肿节风多糖 SGP2(课题组前期表达纯化); GM-CSF(PerpoTech 生物科技有限公司); PD-L1-NitraTh(课题组前期表达纯化); 辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗小鼠 IgG(北京中杉金桥生物技术有限公司); TMB(Solarbio)、EasyPure RNA Kit 试剂盒、RPMI 1640 培养基(北京全式金生物技术有限公司); 2×Cham Quantity

Universal SYBR qPCR Master Mix、HiScript III RT SuperMix for qPCR(南京诺唯赞生物科技公司); 肿瘤消化试剂盒(德国美天旎生物技术公司); 红细胞裂解液、APC 标记的抗小鼠 CD3 抗体、PE 标记的抗小鼠 F4/80 抗体、FITC 标记的抗小鼠 CD11b 抗体(美国 BD 公司); 鼠干扰素- γ ELISPOT 试剂盒(德国 AID 公司); DMEM 高糖培养基(武汉普诺赛生命科技有限公司); 胎牛血清(FBS, 美国 Gibco 公司)。

1.2 仪器

Nanodrop ND-2000 分光光度计、PCR 仪、qPCR 仪 QuantStudio、高速冷冻离心机(美国赛默飞公司); 水平离心机(湖南湘仪离心机仪器有限公司); Spectra Max 190 酶标仪(美谷分子仪器有限公司); Countstar 全自动细胞计数仪(上海泽权仪器设备有限公司); Accuri C6 流式细胞仪(美国 BD 公司); Countstar 全自动细胞计数仪(上海泽权仪器设备有限公司)。

1.3 动物

清洁级 C57BL/6J 雌性小鼠(6~8 周龄)购自杭州子源实验动物科技有限公司, 合格证号: SYXK(苏)2018-0019。所有动物实验均符合动物伦理委员会标准。

1.4 细胞株

小鼠黑色素瘤细胞株 B16F10(中国药科大学江苏省生物药物成药性研究重点实验室保存)。细胞在使用前通过 Hoechst 染色检测支原体, 并且从解冻到植入最多经历 3 次传代。

2 方法

2.1 ELISA 检测 PD-L1-NitraTh 特异性抗血清滴度

将 30 只 6~8 周龄雌性 C57BL/6J 小鼠随机分为 6 组, 每组 5 只, 每只皮下注射一定剂量佐剂和 PD-L1-NitraTh 蛋白。具体分组和免疫剂量见表 1。每周免疫 1 次, 共 3 次, 最后 1 次免疫 1 周后, 眼眶取血分离血清。PD-L1-NitraTh 蛋白作为抗原包被于酶标条中, 37 °C 孵育 2 h; PBST 清洗 5 次; 然后每孔用 3% BSA 200 μ L 于 4 °C 孵育过夜; PBST 清洗 5 次; 每孔加入稀释后的小鼠血清 100 μ L; 37 °C 孵育 2 h; PBST 清洗 6 次; 每孔用稀释后的 HRP 标记的山羊抗小鼠 IgG 100 μ L, 37 °C 孵育 30 min; PBST 清洗 6 次; 加入 TMB 底物反应液 100 μ L 显

Table 1 Grouping situation and immune dose of mice

Group	Dose of PD-L1-NitraTh/ μ g	Adjuvant	Dose of adjuvant/ μ g
Blank	-	-	-
PD-L1	50	-	-
CPG1018	50	CPG1018	35
Poly(I:C)	50	Poly(I:C)	50
GM-CSF	50	GM-CSF	0.2
SGP2	50	SGP2	200

Blank group was inoculated with saline, PD-L1 group was inoculated with PD-L1-NitraTh only, and the other groups were inoculated with PD-L1-NitraTh mixed with the corresponding adjuvant respectively
GM-CSF: Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor ;SGP2: An acidic polysaccharide from *Sarcandra glabra*

色, 37 ℃ 避光孵育 15 min; 每孔加入 1 mol /LH₂SO₄ 100 μ L 终止反应, 然后, 立即在 450、630 nm 处读取吸光度。

2.2 ELISPOT 检测 PD-L1-NitraTh 特异性 T 细胞

最后 1 次免疫 1 周后, 处死小鼠, 提取小鼠脾淋巴细胞。准备 IFN- γ ELISPOT 试剂板, 用灭菌的 RPMI 1640 完全培养基活化 30 min。倒弃培养基, 随后在各孔中加入对应的刺激物, 阳性刺激物每孔 0.3 μ L, 刺激用蛋白 PD-L1-NitraTh 每孔 20 μ g。接着加入小鼠脾淋巴细胞悬液, 每孔 2 $\times$ 10⁶ 个细胞, 37 ℃、5% CO₂ 条件下培养 24 h。PBS 洗涤 5 次。加入稀释后的 IFN- γ 抗体, 室温孵育 2 h。PBS 洗涤 5 次, 加入显色液避光显色 20 min。用去离子水洗涤 IFN- γ ELISPOT 试剂板正反面及底座终止显色。将板条避光密封保存, 酶联免疫斑点分析仪读取数据。

2.3 不同佐剂联合 PD-L1-NitraTh 抑瘤活性评价

在含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基中于 37 ℃、5% CO₂ 条件下培养 B16F10 细胞。每只 C57BL/6J 小鼠右后肢靠背部接种 1 $\times$ 10⁵ 个 B16F10 细胞, 当肿瘤体积达到 10~30 mm³ 时, 将造模成功的小鼠分为 6 组, 每组 5 只, 每周免疫 1 次,

共 3 次, 分组及免疫剂量见表 1。从第 0 天开始, 每 2 天进行一次体重和肿瘤体积测量。

2.4 qRT-PCR 分析不同佐剂联合 PD-L1-NitraTh 对相关基因表达影响

使用 EasyPure RNA Kit 试剂盒从小鼠腹股沟淋巴结或肿瘤组织提取总 RNA, 使用分光光度计进行定量。根据说明书, 使用带有 gDNA 酶的 HiScript III RT SuperMix for qPCR 试剂盒将各样本的总 RNA 逆转录成 cDNA。TNF- α 、IFN- γ 、GATA3、CD11c、CD206、Foxp3、IL-17 和 β -肌动蛋白的转录水平通过 Cham Quantity Universal SYBR qPCR Master Mix 试剂盒进行检测。基因特异性引物序列见表 2。在以下循环条件下进行定量实时 PCR: 95 ℃ 3 min; 95 ℃ 10 s, 60 ℃ 30 s, 40 个循环; 95 ℃ 15 s, 60 ℃ 1 min, 95 ℃ 15 s。

2.5 流式细胞术分析不同佐剂联合 PD-L1-NitraTh 对小鼠瘤内细胞亚群的影响

取适量大小的肿瘤样本, 根据肿瘤消化试剂盒说明书将肿瘤组织制备成单细胞悬液, 加入红细胞裂解液孵育 15 min 后用 PBS 清洗, 所得细胞悬液经 70 μ m 筛网过滤, 收集滤液。设置单染组、空染组和实验组, 每个样本取 3 $\times$ 10⁶ 个细胞, 离心后用含有 1% BSA 的 PBS 1 mL 重悬, 再次离心后加入 APC 标记的抗小鼠 CD3 抗体、PE 标记的抗小鼠 F4/80 抗体、FITC 标记的抗小鼠 CD11b 抗体, CD3、F4/80、CD11b 单染管分别加入对应抗体, 4 ℃ 避光孵育 0.5 h 后用 PBS 清洗, 用 PBS 600 μ L 重悬细胞后经 200 目筛网过滤, 通过流式细胞仪进行检测。

2.6 统计学分析

使用 GraphPad Prism 7.0 软件进行统计学分析, 采用 One-Way ANOVA 及 Two-Way ANOVA 进行数据显著性比较, $P<0.05$ 为显著性差异, 具有统计学意义。

Table 2 Primer sequence for PCR

Gene	Forward primer sequence(5'→3')	Reverse primer sequence(5'→3')
<i>TNF-α</i>	CCCTCACACTCAGATCATCTTCT	GCTACGACGTGGGCTACAG
<i>INF-γ</i>	ATGAACGCTACACACTGCATC	CCATCCTTTTGCCAGTTTCCTC
<i>GATA3</i>	CTCGGCCATTTCGTACATGGAA	GGATACCTCTGCACCGTAGC
<i>CD11c</i>	CTGGATAGCCTTCTCTCTGCTG	GCACACTGTGTCCGAAGTCA
<i>CD206</i>	CTCTGTTTCAGCTATTGGACGC	CGGAATTCTGGGATTTCAGCTTC
<i>Foxp3</i>	CCCATCCCCAGGAGTCTTG	ACCATGACTAGGGGCACTGTA
<i>β-actin</i>	ACTCCTATGTGGGTGACGAG	CATCTTTTCACGGTTGGCCTTAG

3 结果

3.1 不同佐剂对 PD-L1-NitraTh 免疫原性的影响

用 PD-L1-NitraTh 分别与 4 种佐剂免疫 C57BL/6J 小鼠后眼眶取血, ELISA 法检测血清中抗体滴度。结果如图 1-A 所示, 与对照组相比, 各组小鼠均产生了高滴度的 PD-L1 特异性抗体。由于硝基化 T 细胞表位的作用, 在无佐剂的条件下 PD-L1-NitraTh 也能诱导 PD-L1 抗体产生, Poly(I:C)、CPG1018 和 GM-CSF 佐剂组均能使抗体滴度进一步升高, 其中 Poly(I:C) 佐剂组抗体滴度最高。

为了进一步分析不同佐剂对 PD-L1-NitraTh 疫苗活性的影响, 用 PD-L1-NitraTh 分别体外再刺激各组小鼠的脾细胞, ELISPOT 检测结果如图 1-B 所示, 与对照组相比, 各组小鼠脾细胞均能产生更多的特异性 IFN- γ 斑点, 提示这 4 种佐剂均能在一定程度上辅助 PD-L1-NitraTh 诱导小鼠激活更多 IFN- γ 分泌的效应 T 细胞。

3.2 不同佐剂对 PD-L1-NitraTh 抑瘤活性的影响

为验证不同佐剂对 PD-L1-NitraTh 抗肿瘤活性影响, 选择 PD-L1 高表达的 B16F10 黑色素瘤细胞株, 构建皮下移植瘤模型评价各佐剂对 PD-L1-NitraTh 疫苗抑瘤效果的影响。结果如图 2 所示, 在给药第 21 天, 无佐剂的 PD-L1 组与空白对照组相比无显著差异, 而 Poly(I:C) 佐剂组可以显著抑制肿瘤生长 ($P < 0.01$)。CPG1018 佐剂体现出一定增加抑瘤活性的作用, 但与 PD-L1 组相比差异无统计学意义。

3.3 Poly(I:C) 对疫苗免疫后小鼠淋巴结内基因表达情况影响

由于抑瘤实验结果显示 Poly(I:C) 作为佐剂时 PD-L1-NitraTh 显示出最强的抑瘤活性, 通过 qPCR 分析了 Poly(I:C) 佐剂组小鼠淋巴结中几种 T 细胞分化相关转录因子的 mRNA 水平, 结果如图 3 所示, 与 PD-L1 组相比, Poly(I:C) 组显著降低了小鼠淋巴结内 Foxp3 和 GATA3 的 mRNA 水平 ($P < 0.01$), 而 T-bet 的 mRNA 水平没有显著变化。

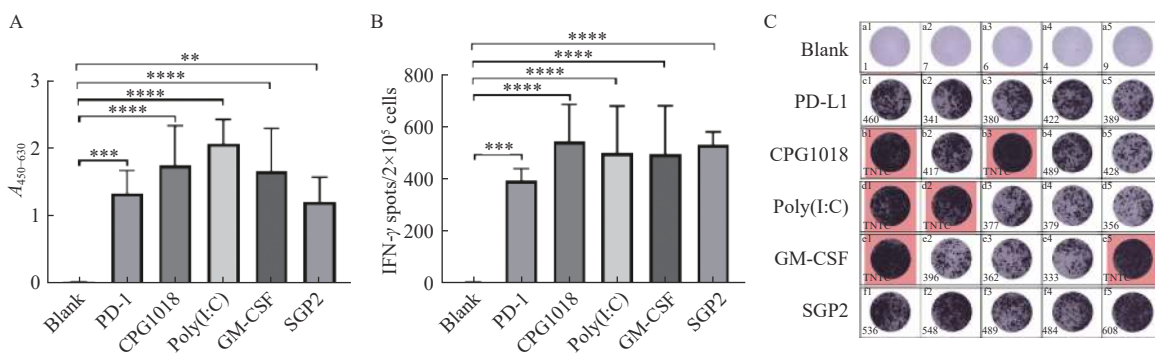


Figure 1 Immunogenicity of PD-L1-NitraTh with different adjuvants ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

A: Determination of anti-PD-L1 antibody titer in mouse serum; B: Number of IFN- γ ELISPOT spots of mouse spleen cells; C: IFN- γ ELISPOT speckle pattern of mouse spleen cells

** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$

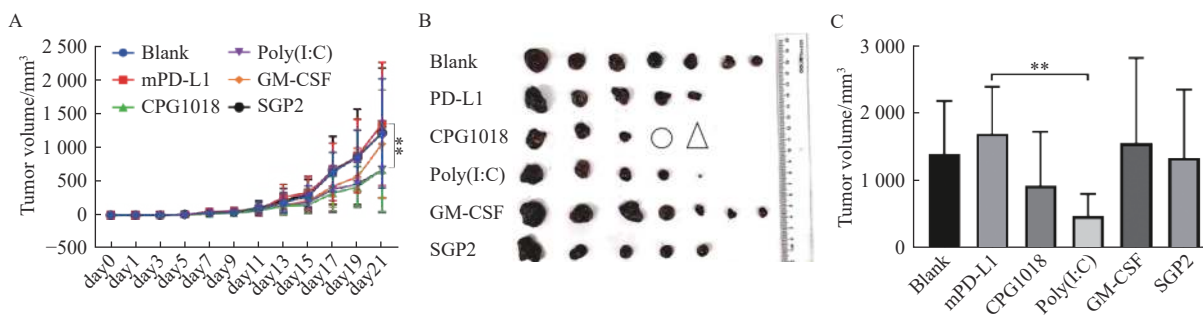


Figure 2 Antitumor activity of PD-L1-NitraTh with different adjuvants ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

A: Tumor volume measured from the beginning of PD-L1-NitraTh treatment; B: Volume of the tumors excised after the mice were sacrificed (circle indicates tumor regression; triangle represents the death of the mouse); C: Tumor volume of mice at the end of the experiment

** $P < 0.01$

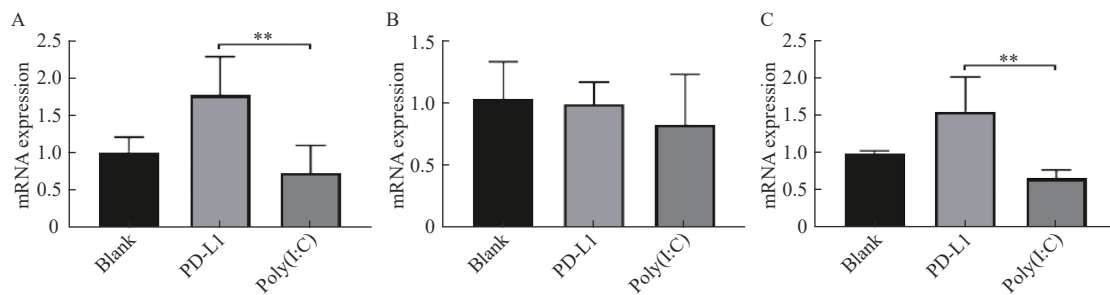


Figure 3 Detection of relevant proteins relative expression levels in lymph node cells by qRT-PCR ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

A: GATA3; B: Tbet; C: Foxp3

** $P < 0.01$

目前研究认为, $CD4^+$ T 细胞的分化方向主要是由几种转录因子分别决定的: T-bet 控制 T 细胞分化成为 Th1, GATA-3 控制 T 细胞分化成为 Th2, 而 Treg 的代表性转录因子是 FoxP3^[15], 提示 Poly(I:C) 佐剂可能影响 $CD4^+$ T 细胞分化, 减少 Treg 和 Th2 的比例, 从而提高 PD-L1-NitraTh 疫苗的抑瘤作用。

3.4 Poly(I:C) 增加肿瘤内免疫细胞浸润

为了进一步考察 Poly(I:C) 对肿瘤组织中免疫细胞浸润的影响, 用流式细胞术分析了各组肿瘤组织内各细胞亚群比例的变化。结果如图 4 所示, Poly(I:C) 组小鼠肿瘤中 $CD3^+$ T 细胞浸润明显增加, 与 PD-L1 组有显著性差异 ($P < 0.05$)。同时, 与 PD-L1 组相比, Poly(I:C) 也显著提高了肿瘤内 $CD11b^+$

细胞的比例 ($P < 0.0001$), 提示以 Poly(I:C) 为佐剂可能有利于改善肿瘤免疫抑制性微环境。

3.5 Poly(I:C) 对疫苗免疫后小鼠肿瘤组织内基因表达情况影响

进一步通过 qPCR 分析肿瘤内相关基因表达情况, 结果如图 5 所示。与 PD-L1 组相比, Poly(I:C) 组小鼠肿瘤内 T-bet、IFN- γ 的 mRNA 表达均有增加趋势, 同时 Foxp3 的 mRNA 表达有下降趋势。

4 讨论

实验室前期设计了一种基于硝基化 T 细胞表位的 PD-L1-NitraTh 疫苗, 为了使其充分发挥抗肿瘤活性, 本研究选择了 TLR3 激动剂 Poly(I:C)、

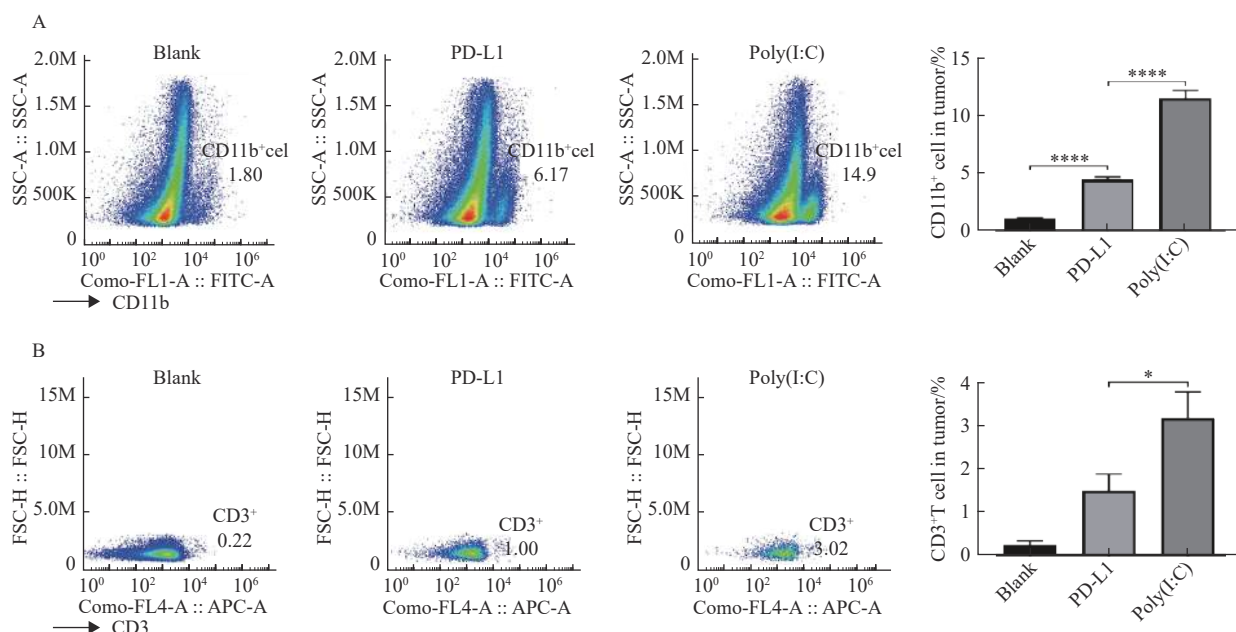


Figure 4 Detection of tumor-infiltrating immune cells in mouse tumor tissues ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

A: Frequency of $CD11b^+$ cells in tumor tissues after immunization; B: Frequency of $CD3^+$ cells in tumor tissues after immunization

* $P < 0.05$, **** $P < 0.0001$

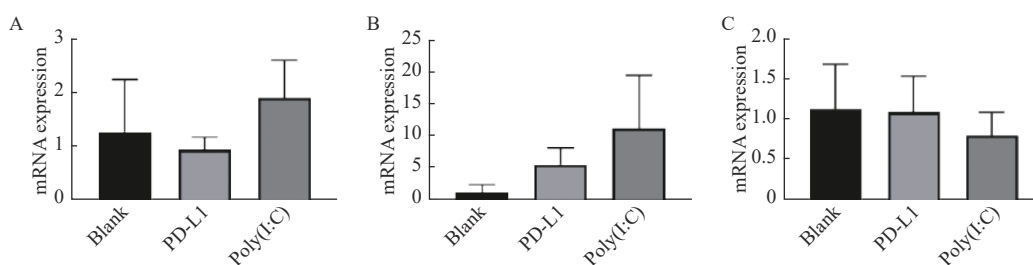


Figure 5 Detection of relevant proteins relative expression levels in tumor cells by qRT-PCR ($\bar{x} \pm s$, $n=5$)

A: Tbet; B: IFN- γ ; C: Foxp3

TLR4 激动剂 SGP2、TLR9 激动剂 CPG1018 以及细胞因子 GM-CSF 作为佐剂, 对各佐剂的作用进行了比较。结果发现 TLR3 激动剂 Poly(I:C) 可以有效地增强 PD-L1-NitraTh 的免疫原性, 改善肿瘤免疫微环境, 使 PD-L1-NitraTh 更好地发挥抑瘤作用。

Toll 样受体 (TLRs) 在免疫细胞中广泛表达, 用于识别微生物病原体, 引发宿主对感染的反应。不同 TLR 激动剂通过 TLR 通路的激活诱导细胞因子和共刺激分子的表达, 从而激活和指导适应性免疫反应, 调节机体免疫功能^[16-17]。Poly(I:C) 是一种 TLR3 激动剂, 有研究指出, Poly(I:C) 可以诱导 IFN- γ 的分泌增加, 而 IL-5 的分泌不增加, 有利于 CD4⁺ T 细胞的 Th1 极化^[18]。研究人员发现, TLR3 激动剂可以诱导 CD4⁺ T 细胞向 Th1 型分化^[19-20]。本研究中, 与单用 PD-L1-NitraTh 相比, Poly(I:C) 显著降低了小鼠淋巴结内 GATA3 的 mRNA 表达, 同时使肿瘤内 Tbet、IFN- γ 的 mRNA 表达呈上调趋势, 提示 Poly(I:C) 可能影响 CD4⁺ T 细胞分化, 减少 Th2 细胞的比例, 使 Th1 细胞比例增加, 从而增强 PD-L1-NitraTh 疫苗的抑瘤活性。

另一方面, Treg 细胞是一种免疫抑制细胞, 可以通过分泌 TGF- β 抑制其他免疫细胞功能, 肿瘤内 Treg 细胞增加可以导致患者存活率下降^[21]。有研究指出, TLR3 受体激动剂可以下调 Treg 细胞比例^[22], 本研究发现, 作为 TLR3 受体激动剂的 Poly(I:C) 可以显著下调淋巴结内 Foxp3 的 mRNA 表达, 同时使肿瘤内 Foxp3 的表达呈下调趋势, 可能会降低 Treg 细胞的比例, 与文献报道一致。

另外, 通过流式细胞术分析发现, Poly(I:C) 作为佐剂时, 小鼠肿瘤内 CD11b⁺ 细胞比例显著上调, CD11b 表达于多种免疫细胞, 包括 NK 细胞、巨噬细胞、单核细胞等, 有文献报道 CD11b 的激活可以影响髓系细胞极化从而抑制肿瘤的生长^[23], 同时, Poly(I:C) 还上调了瘤内 CD3⁺ T 细胞的比例, 提示

了 Poly(I:C) 作为佐剂可能可以改善肿瘤抑制性微环境。

综上所述, Poly(I:C) 可以显著提高 PD-L1-NitraTh 疫苗免疫应答水平, 对基于硝基化 T 表位设计的肿瘤疫苗而言, Poly(I:C) 可能是一种有效的佐剂。

References

- [1] Igarashi Y, Sasada T. Cancer vaccines: toward the next breakthrough in cancer immunotherapy[J]. *J Immunol Res*, 2020, **2020**: 5825401.
- [2] Christofi T, Baritaki S, Falzone L, et al. Current perspectives in cancer immunotherapy[J]. *Cancers*, 2019, **11**(10): 1472.
- [3] Solinas C, Aiello M, Migliori E, et al. Breast cancer vaccines: Heeding the lessons of the past to guide a path forward[J]. *Cancer Treat Rev*, 2020, **84**: 101947.
- [4] Liu WS, Tang HC, Li LF, et al. Peptide-based therapeutic cancer vaccine: current trends in clinical application[J]. *Cell Prolif*, 2021, **54**(5): e13025.
- [5] He Q, Gao H, Gao M, et al. Immunogenicity and safety of a novel tetanus toxoid-conjugated anti-gastrin vaccine in BALB/c mice[J]. *Vaccine*, 2018, **36**(6): 847-852.
- [6] Pulendran B, Arunachalam PS, O'Hagan DT. Emerging concepts in the science of vaccine adjuvants[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2021, **20**(6): 454-475.
- [7] Petrovsky N. Comparative safety of vaccine adjuvants: a summary of current evidence and future needs[J]. *Drug Saf*, 2015, **38**(11): 1059-1074.
- [8] Cohet C, van der Most R, Bauchau V, et al. Safety of AS03-adjuvanted influenza vaccines: a review of the evidence[J]. *Vaccine*, 2019, **37**(23): 3006-3021.
- [9] Alving CR, Beck Z, Matyas GR, et al. Liposomal adjuvants for human vaccines[J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2016, **13**(6): 807-816.
- [10] Ma XL, Kadir Z, Li JY, et al. The effects of GM-CSF and IL-5 as molecular adjuvants on immune responses and contraception induced by mZP3 DNA vaccination[J]. *Am J Reprod Immunol*,

- 2012, **68**(6): 476-485.
- [11] Jackson S, Lentino J, Kopp J, *et al.* Immunogenicity of a two-dose investigational hepatitis B vaccine, HBsAg-1018, using a toll-like receptor 9 agonist adjuvant compared with a licensed hepatitis B vaccine in adults[J]. *Vaccine*, 2018, **36**(5): 668-674.
- [12] Stewart E, Triccas JA, Petrovsky N. Adjuvant strategies for more effective tuberculosis vaccine immunity[J]. *Microorganisms*, 2019, **7**(8): 255.
- [13] Tian H, He Y, Song XD, *et al.* Nitrated T helper cell epitopes enhance the immunogenicity of HER2 vaccine and induce anti-tumor immunity[J]. *Cancer Lett*, 2018, **430**: 79-87.
- [14] Tian H, Kang YL, Song XD, *et al.* PDL1-targeted vaccine exhibits potent antitumor activity by simultaneously blocking PDL1/PDL1 pathway and activating PDL1-specific immune responses[J]. *Cancer Lett*, 2020, **476**: 170-182.
- [15] Yu F, Sharma S, Edwards J, *et al.* Dynamic expression of transcription factors T-bet and GATA-3 by regulatory T cells maintains immunotolerance[J]. *Nat Immunol*, 2015, **16**(2): 197-206.
- [16] Uematsu S, Akira S. Toll-like receptors and type I interferons[J]. *J Biol Chem*, 2007, **282**(21): 15319-15323.
- [17] Lu FJ, Mosley YC, Carmichael B, *et al.* Formulation of aluminum hydroxide adjuvant with TLR agonists poly(I: C) and CpG enhances the magnitude and avidity of the humoral immune response[J]. *Vaccine*, 2019, **37**(14): 1945-1953.
- [18] Jack CS, Arbour N, Blain M, *et al.* Th1 polarization of CD4⁺ T cells by Toll-like receptor 3-activated human microglia[J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2007, **66**(9): 848-859.
- [19] Ko KH, Cha SB, Lee SH, *et al.* A novel defined TLR3 agonist as an effective vaccine adjuvant[J]. *Front Immunol*, 2023, **14**: 1075291.
- [20] Apostólico JS, Lunardelli VAS, Yamamoto MM, *et al.* Poly(I: C) potentiates T cell immunity to a dendritic cell targeted HIV-multiepitope vaccine[J]. *Front Immunol*, 2019, **10**: 843.
- [21] Facciabene A, Motz GT, Coukos G. T-regulatory cells: key players in tumor immune escape and angiogenesis[J]. *Cancer Res*, 2012, **72**(9): 2162-2171.
- [22] Seya T, Matsumoto M. The extrinsic RNA-sensing pathway for adjuvant immunotherapy of cancer[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2009, **58**(8): 1175-1184.
- [23] Schmid MC, Khan SQ, Kaneda MM, *et al.* Integrin CD11b activation drives anti-tumor innate immunity[J]. *Nat Commun*, 2018, **9**(1): 5379.

· 征订启事 ·

欢迎订阅 2024年《中国药科大学学报》

《中国药科大学学报》是由国家教育部主管,中国药科大学主办的药学中文核心期刊,主要刊登合成药物化学、天然药物化学、生药学、中药学、药剂学、药物分析、药代动力学、药物生物技术、药理学、药事管理等学科的原创新研究论著。

《中国药科大学学报》在药学界享有较高的学术声誉,目前已被国际上多家著名权威数据库(CA,IPA,SCOPUS,IST,IC,EMBASE,Excerpta Medica,CAs)等所收录,被国内权威数据库《中文核心期刊要目总览》(2023年版),中国科学引文数据库(CSCD核心库)、中国科技论文统计源数据库等列为药学类核心期刊,屡获原国家新闻出版总署、教育部、科技部等各种优秀期刊奖。

2022年,《中国药科大学学报》被评为中国高校百佳科技期刊,2021年被评为华东地区优秀期刊。根据中国知网《中国学术期刊影响因子年报》的数据显示:《中国药科大学学报》2023年最新复合影响因子为1.427,在药学期刊界的学术声誉和影响力持续不断攀升,在高等院校、科研机构、制药企业、医院等单位拥有众多读者。

本刊为双月刊,128页。国际标准开本,国内外公开发行。欢迎到当地邮局订阅,漏订者可直接与编辑部联系。

国内刊号:CN 32-1157/R

国内邮发代号:28-115

地址:南京市童家巷24号

电话:025-83271566

E-mail:xuebao@cpu.edu.cn

ISSN:1000-5048

定价:40元/期,全年240元

邮政编码:210009

<https://jcpcu.cpu.edu.cn>