南京农业大学学报 2026,49(3):587-592
Journal of Nanjing Agricultural University
http://nauxb.njau.edu.cn
DOI:10.7685/jnau.202412003

侯立婷,于晓明,杜露平,等. 锰纳米颗粒的制备及其增强免疫功能研究[J]. 南京农业大学学报,2026,49(3):587-592.
Hou L T,Yu X M,Du L P,et al. Manganese nanoparticles:synthesis and application as an immunopotentiator[J]. Journal of Nanjing Agricultural University,2026,49(3):587-592.

锰纳米颗粒的制备及其增强免疫功能研究

侯立婷[1,2],于晓明[1,2],杜露平[1,2],秦竹[1,2],王义伟[1,2],
杨利[1,2],陈瑾[1,2*],郑其升[1,2*]

(1.江苏省农业科学院动物免疫工程研究所/国家兽用生物制品工程技术研究中心,江苏 南京 210014;
2.兽用生物制品(泰州)国泰技术创新中心,江苏 泰州 225300)

摘要:[**目的**]本文旨在研究锰纳米颗粒(Mn^{nan})的制备方法,进一步探究其对抗原递呈细胞的激活及对 H9N2 疫苗的免疫增强效力。[**方法**]首先用鸡血清白蛋白和氯化锰制备了锰纳米颗粒,然后通过纳米颗粒相关表征方法对锰纳米颗粒进行了鉴定,最后将其作为免疫增强剂,分析其对抗原递呈细胞的激活和对 H9N2 疫苗的免疫增强效果。[**结果**]利用鸡血清白蛋白和氯化锰制备的锰纳米颗粒粒径为 50 nm 左右,呈立方体状,4 ℃放置 60 d 仍呈现较好的稳定性。X 射线衍射(XRD)分析显示制备的锰纳米颗粒为四氧化三锰(Mn_3O_4)。体外试验显示,锰纳米颗粒能够激活 RAW-Blue 细胞的 NF-κB 信号通路,并且诱导了 *IFN-γ*、*IFN-β*、*IL-12*、*TNF-α* mRNA 的表达。通过免疫鸡后发现锰纳米颗粒能提高 H9N2 病毒免疫后特异性的血凝抗体水平。[**结论**]成功制备了锰纳米颗粒,证实了其在体内外均有良好的免疫刺激活性。研究结果为兽用纳米级免疫增强剂的研发奠定了基础。

关键词:锰纳米颗粒;免疫增强剂;抗原递呈细胞的激活;H9N2 灭活苗
中图分类号:S852.4 **文献标志码**:A **文章编号**:1000-2030(2026)03-0587-06

Manganese nanoparticles:preparation and application as an immunopotentiator

HOU Liting[1,2],YU Xiaoming[1,2],DU Luping[1,2],QIN Zhu[1,2],WANG Yiwei[1,2],
YANG Li[1,2],CHEN Jin[1,2*],ZHENG Qisheng[1,2*]

(1.Institute of Veterinary Immunology & Engineering/National Research Center of Veterinary Biological Engineering and Technology,Jiangsu Academy of Agricultural Sciences,Nanjing 210014,China;
2.Guotai(Taizhou)Center of Technology Innovation for Veterinary Biologicals,Taizhou 225300,China)

Abstract:[**Objectives**]The paper aimed to study the activation of manganese nanoparticles(Mn^{nan})on antigen presenting cells and the immune enhancing efficacy of the H9N2 vaccine. [**Methods**]This research prepared nanoparticles with chicken serum albumin and manganese chloride, and then identified manganese nanoparticles by nanoparticle correlation characterization method. Finally, manganese nanoparticles were used as immunopotentiator. The activation of antigen presenting cells and the immune enhancing efficacy of the H9N2 vaccine were analyzed. [**Results**]The size of manganese nanoparticles was about 50 nm,and the shape was like a cube. It showed good stability after being placed at 4 ℃ for 60 days. X-ray diffraction(XRD)data showed that the prepared manganese nanoparticles were manganic tetroxide. *In vitro* experiments showed that manganese nanoparticles could activate the NF-κB signaling pathway of RAW-Blue cells and induce the expression of *IFN-γ*,*IFN-β*,*IL-12* and *TNF-α* mRNA. Manganese nanoparticles could increase the specific hemagglutination inhibition antibody level after H9N2 virus immunization in chickens. [**Conclusions**]Manganese nanoparticles were successfully prepared in this study,which proved that they had good immunostimulating activity *in vivo* and *in vitro*. The results of this study laid a foundation for the research and development of nanoscale immunopotentiator for veterinary use.

Keywords:manganese nanoparticle;immunopotentiator;activation of antigen-presenting cells;H9N2 inactivated vaccine

疫苗免疫是预防和控制动物传染病的有效措施之一,对养殖业的健康发展、社会的稳定及公共卫生安全具有重要意义[1]。免疫增强剂能够在不改变疫苗剂型和免疫剂量的前提下,快速提升疫苗的免疫效

收稿日期:2024-12-02
基金项目:国家重点研发计划项目(2022YFD1800800);江苏省农业自主创新专项[CX(24)3079]
*通信作者:陈瑾,副研究员,主要从事动物疫苗免疫增强技术研究,E-mail:chenjin@jaas.ac.cn;郑其升,研究员,主要从事动物疫苗免疫增强技术研究,E-mail:immun_tech@163.com。

力[2]。随着纳米技术的飞速发展,无机纳米颗粒被广泛开发[3-5]。纳米颗粒因其使用剂量低,安全性好,靶向性强,成本低,在兽用疫苗领域中应用前景广阔,但目前尚无商品化的纳米颗粒免疫增强剂应用于兽用疫苗。功能性纳米材料独特的尺寸和表面性质有助于将疫苗成分(抗原和佐剂)递送到关键的免疫细胞或淋巴组织[6-7]。血清白蛋白易于获得、价格低廉,它可以将疫苗的有效成分靶向递送到淋巴结,从而诱导有效的免疫反应[8-9]。Mn^{2+}作为一种先天免疫刺激因子,能够与 cGAS 结合,并提高其对双链 DNA 识别的敏感度,增强 cGAMP 和干扰素刺激因子(STING)的结合亲和力,进而激活 cGAS-STING 信号通路,诱导Ⅰ型干扰素和细胞因子的产生,增强生物体的固有免疫反应[10-11]。研究显示,以 $MnCl_2$ 的形式将游离的 Mn^{2+}引入机体,会被很快代谢掉或引起神经毒性[12],因此可设计一种易获得、成本低、生物相容性好的锰纳米免疫增强剂应用于兽用疫苗,来提升现有疫苗的免疫效力。

本研究利用鸡血清白蛋白和氯化锰成功地制备出锰纳米颗粒,并作为免疫增强剂,评价其对 RAW-Blue 细胞的激活作用及对 H9N2 疫苗的免疫增强效力。该研究为兽用纳米级免疫增强剂的制备及应用提供了数据支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1 日龄海兰褐蛋鸡购自江苏南京某孵化场,普通环境中饲养。禽流感(H9N2)检测抗原购自南京钧宇生物科技有限公司;鸡血清白蛋白购自上海源叶生物科技有限公司;氯化锰、氢氧化钠购自国药集团化学试剂有限公司。RAW-Blue 细胞、Normocin 抗生素、Zeocin 抗生素及 Quanti-blue™ Solution 购自 InvivoGen 公司。

1.2 锰纳米颗粒的制备

称取 0.25 g 鸡血清白蛋白于 9 mL 超纯水中,溶解后加入 1 mL 0.1 $mol\cdot L^{-1}$的 $MnCl_2$,充分搅拌后加入 NaOH 调节 pH 值至 10,37 ℃、1 000 $r\cdot min^{-1}$反应 8 h。取样品加入透析袋中,置于超纯水中透析 2 d,随后将样品进行冻干。

1.3 锰纳米颗粒参数表征

1.3.1 锰纳米颗粒的粒径、多分散指数(PDI)及稳定性测定 采用动态光散射线仪器检测锰纳米颗粒样品的粒径、PDI。将样品放入动态光散射线仪器的样品槽内进行检测,通过 Zetasizer Software 软件计算 PDI。用超纯水将锰纳米颗粒冻干粉末充分溶解后置于 4 ℃条件下,定期观察样品的质地、均一度等,检查样品是否聚沉、分层。

1.3.2 锰纳米颗粒的 X 射线衍射(XRD)分析 将冻干的样品进行研磨后放置在衍射仪样品台上,调整样品与探测器之间的距离。调整仪器参数,采集数据,利用 Jade 和 Origin 软件进行数据分析。

1.3.3 透射电子显微镜(TEM)观察锰纳米颗粒的形态 用超纯水将锰纳米颗粒冻干粉末充分溶解,10 倍稀释后用移液枪准确吸取 10 μL 样品置于铜网上,晾干,置于透射电镜(HT7700,日立高新技术公司)下观察金属锰的基本形态。

1.3.4 原子吸收分光光度计测定锰元素含量 用超纯水将锰纳米颗粒冻干粉末充分溶解,利用原子吸收分光光度计(PinAAcle900T,美国 Perkin Elmer 公司)对锰元素的含量进行测定。

1.4 锰纳米颗粒对 RAW-Blue 细胞的激活

将 RAW-Blue 细胞用 DMEM 培养基稀释至 5×10^5 mL^{-1},接种 180 μL 于 96 孔板中。原子分光光度计测得锰元素含量为 434 $\mu g\cdot mL^{-1}$。加入 20 μL 锰纳米颗粒与 RAW-Blue 细胞共孵育的终浓度分别为 10、5、2、1 和 0.1 $\mu g\cdot mL^{-1}$。以无内毒素水为阴性对照。置于 5% CO_2 恒温培养箱 37 ℃培养 18~24 h。取 30 μL 细胞上清液与 90 μL 的 Quanti-blue™ Solution 混合,5% CO_2 恒温培养箱 37 ℃培养 4 h,测定 D_{650}值。

用含 10%胎牛血清(FBS)的 DMEM 培养基调整 RAW-Blue 细胞密度为 1×10^6 mL^{-1},接种 6 孔板,加入 5 $\mu g\cdot mL^{-1}$的锰纳米颗粒进行刺激,并设置细胞对照组。于 5% CO_2 恒温培养箱中培养 24 h 后收集细胞,用 TRIzol 裂解法提取 RNA,利用一步反转试剂盒获得 cDNA。根据 GenBank 中公布的相关序列设计引物,以 *β-actin* 作为内参基因,利用荧光定量 PCR(RT-qPCR)检测 *IFN-α*、*IFN-β*、*IL-12*、*TNF-α* 基因的表达水平。引物序列见表 1。

表 1　荧光定量 PCR 引物序列

Table 1　Sequences of primers for real-time PCR

目的基因 Target gene	引物对序列 Primer pairs sequences(5′→3′)
β-actin	CACTGCCGCATCCTCTTCC/CAATAGTGATGACCTGGCCGT
IFN-α	TGTGACCTTCCTCAGACTC/TCATTTGTACCAGGAGTGTC
IFN-β	GGCAGTGTAACTCTTCTGCAT/CAGCTCCAAGAAAGGACGAAC
IL-12	AACTCTTCACGGACCAAATCTCA/GGTCCCGGGCTTGCA
TNF-α	TTCTCATTCCTGCTTGTGG/TTGGGAACTTCTCATCCCT

1.5　疫苗制备及免疫效力评价

1.5.1　疫苗制备及鸡只免疫　禽流感 H9N2 灭活抗原使用量不低于每羽份 8.0 EID_{50},与白油按体积比 1∶2.5 的比例进行乳化,原子分光光度计测得锰元素的含量为 434 $\mu g \cdot mL^{-1}$。锰纳米颗粒的添加计量分别为每只 5(低剂量)、10(中剂量)、20(高剂量)μg,同时设置 $MnCl_2$ 对照组。14 日龄海兰褐蛋鸡分为 6 组,每组 8 只,分别为免疫 H9N2 灭活苗组、H9N2 灭活苗+低剂量组、H9N2 灭活苗+中剂量组、H9N2 灭活苗+高剂量组、H9N2 灭活苗+$MnCl_2$ 组、PBS 对照组,颈部皮下注射,每只 400 μL。

1.5.2　免疫后血清中 HI 抗体效价检测　分别于免疫后 14、21、28 d 采集翅静脉血,2 000 *g* 离心 10 min,收集血清。用微量血凝抑制(hemagglutination inhibition,HI)试验方法检测血清中禽流感(H9N2)HI 抗体效价,统计各组 HI 效价的几何平均滴度值(geometric mean titer,GMT)。

2　结果与分析

2.1　锰纳米颗粒的粒径、PDI 及稳定性

利用动态光散射法对锰纳米颗粒进行测定,结果如图 1 所示,通过鸡血清白蛋白和 $MnCl_2$ 相互作用制备的纳米颗粒平均粒径为 50 nm(图 1-A)。将锰纳米颗粒溶液在 4 ℃放置 60 d,无聚沉、分层,平均粒径及 PDI 都无明显变化(图 1-B),表明该锰纳米颗粒尺寸较为均一,稳定性较好。外观显示加入 NaOH 反应前,溶液呈透明色;反应后溶液呈黑褐色(图 1-C),表明锰离子的价位发生了改变。

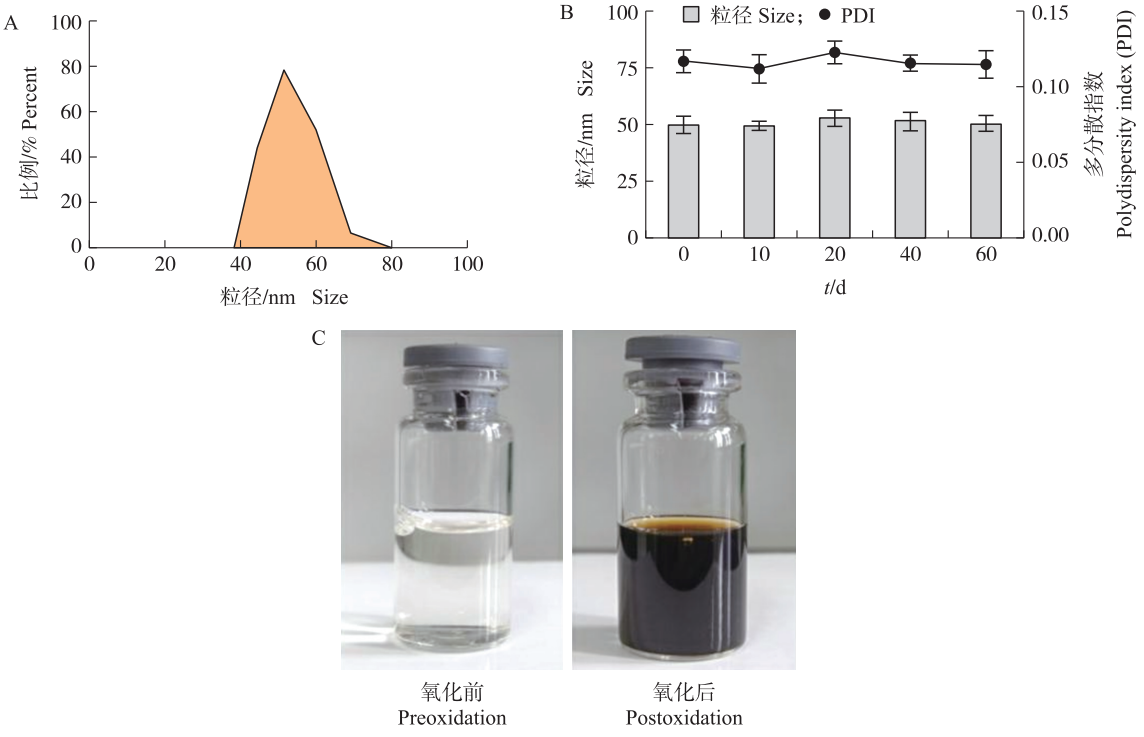

图 1　锰纳米颗粒(Mn^{nan})粒径、稳定性及表观表征

Fig. 1　Particle size, stability and characterization of manganese nanoparticles(Mn^{nan})

A. 锰纳米颗粒粒径表征;B. 锰纳米颗粒稳定性检测;C. 样品氧化反应前后的外观。

A. Size distribution of the Mn^{nan}; B. Stability of the Mn^{nan}; C. The appearance of the sample.

2.2 锰纳米颗粒形态观察

利用透射电子显微镜进行锰纳米颗粒的微观形貌观察,结果如图 2 所示,锰纳米颗粒的外观呈立方体状,颗粒大小为 40~80 nm。

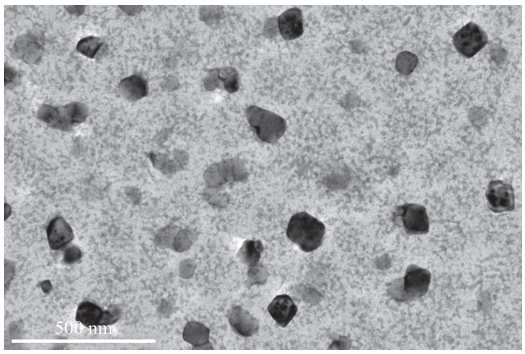

图 2 锰纳米颗粒(Mn^{nan})透射电镜形态观察结果

Fig. 2 Representative transmission electron microscope images of Mn^{nan}

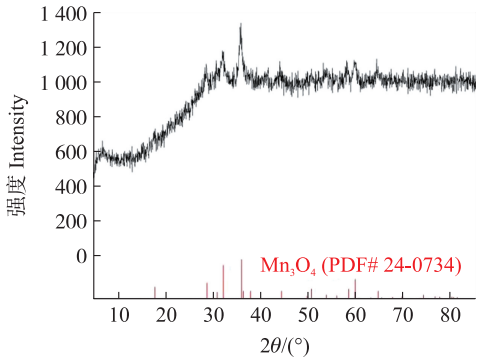

图 3 锰纳米颗粒(Mn^{nan})的 XRD 检测分析

Fig. 3 X-Ray diffraction(XRD) pattern of Mn^{nan}

2.3 锰纳米颗粒 X 射线衍射分析

利用 X 射线衍射仪对锰纳米颗粒进行了测试。结果如图 3 所示:衍射角 2θ 分别在 18°、28.8°、32.3°、36°、44.4°、58.5°、59.8°和 64.6°等附近的衍射峰分别对应 Mn_3O_4 的 101、112、103、211、220、321、224 和 400 等晶面,从 XRD 图谱可以看出,制备的纳米粒子为纯的四氧化三锰结构。该纳米颗粒对应的衍射峰与标准谱图中的位置相对应,表明该纳米颗粒制备成功。

2.4 锰纳米颗粒对 RAW-Blue 细胞的激活

利用 Quanti-blue™ Solution 检测锰纳米颗粒 RAW-Blue 细胞中 NF-κB 通路的激活能力。结果如图 4-A 所示:在锰纳米颗粒浓度范围为 1~10 μg·mL^{-1},随着锰纳米颗粒浓度的增加,NF-κB 通路的激活能力也在增强。同时,利用荧光定量 PCR 检测锰纳米颗粒对相关细胞因子的激活。结果如图 4-B 所示:添加锰纳米颗粒刺激后,与 RAW-Blue 细胞相比,*IFN-α*、*IFN-β*、*IL-12*、*TNF-α* mRNA 表达量极显著提高(P<0.000 1)。试验结果表明,锰纳米颗粒能够显著激活巨噬细胞,从而更好地促进后续的免疫应答反应。

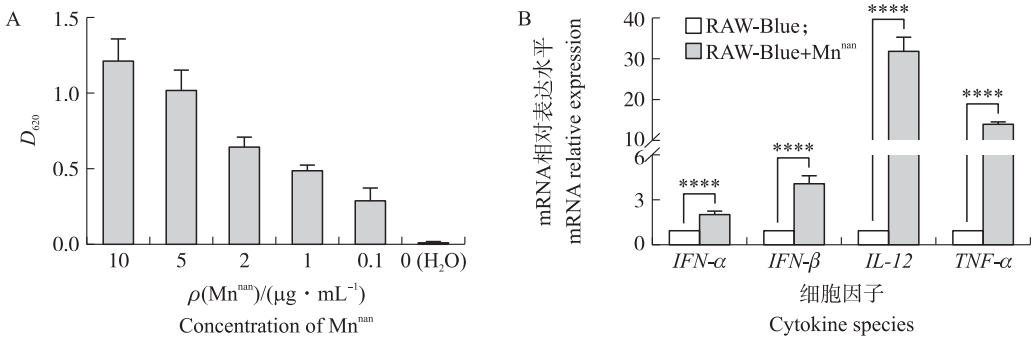

图 4 锰纳米颗粒(Mn^{nan})刺激后 NF-κB 通路(A)及相关细胞因子 mRNA 表达水平(B)检测

Fig. 4 Detection results of NF-κB(A) and related cytokines(B) in RAW-Blue stimulated by Mn^{nan}

**** P<0.000 1. The same as follows.

2.5 锰纳米颗粒对禽流感疫苗的免疫增强效力评价

利用微量血凝抑制试验方法对免疫后的血清进行抗体效价评估。结果如图 5 所示:免疫后 14 d,灭活苗对照组的平均 HI 效价为 3.5($\log_2$),添加高、中剂量的锰纳米颗粒免疫组的血清平均 HI 效价分别达到 4.5、5.25(P<0.001);免疫后 21 d,添加高、中剂量的锰纳米颗粒免疫组的血清平均 HI 效价分别达到 6.375(P<0.05)、7.625(P<0.000 1),显著高于灭活苗对照组的 4.75。在免疫后 28 d,高、中、低 3 个剂量组的血清平均 HI 效价均显著或极显著高于灭活苗对照组(P<0.05、P<0.001、P<0.000 1)。检测期间,H9N2 灭活苗+$MnCl_2$ 组的 HI 效价与灭活苗对照组无显著差异。试验结果表明,锰纳米颗粒对 H9N2 灭活疫苗具有较好的免疫增强效果。

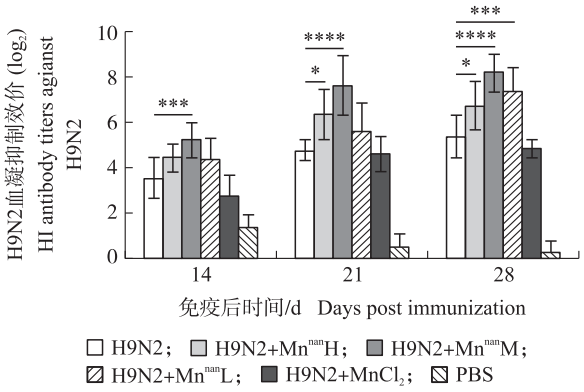

图 5　Mn^{nan}对 H9N2 疫苗免疫后血凝抑制效价的影响

Fig. 5　Effect of Mn^{nan} on serum HI antibody titers of immunization with H9N2 inactivated vaccines

$^{*}P<0.05$, $^{***}P<0.001$.

$Mn^{nan}H$、$Mn^{nan}M$、$Mn^{nan}L$ 分别表示高、中、低剂量的 Mn^{nan}.

$Mn^{nan}H$, $Mn^{nan}M$, $Mn^{nan}L$ mean high, medium, and low dosage of Mn^{nan}, respectively.

3　讨论

疫苗免疫作为预防和控制动物传染病的重要方式,其免疫效果对动物抵抗传染病尤为重要。对于一些免疫原性较差的灭活疫苗和亚单位来说,免疫增强剂是不可或缺的关键成分。随着纳米科技的兴起,纳米颗粒材料被开发用于人类疾病的造影成像及对抗各种病毒的疫苗免疫增强剂[13-17]。研究表明,纳米颗粒直径为 15~70 nm 时能够快速进入淋巴管并迁移到淋巴结,疫苗成分在淋巴结中的靶向性将对疫苗效力产生重大影响[18]。血清白蛋白具有淋巴结靶向作用,其含有丰富的官能团,可吸附金属离子,作为生物矿化模板被广泛应用[19]。金属离子在免疫信号传导过程中的作用不只限于第二信使,锰和锌离子具有激活先天免疫的能力,且为体内必需的金属元素,安全性好,被广泛应用[20]。因此,本研究选取鸡血清白蛋白和氯化锰,成功地制备了 Mn_3O_4,其粒径约 50 nm,呈立方体状。在 4 ℃放置 60 d 仍呈现较好的稳定性。与现有的四氧化三锰纳米颗粒制备相比,本研究采用低成本的生物分子鸡血清白蛋白作为模板,降低了制备的成本,并且该反应在常规温度下进行,不需要特殊的设备或高温条件,简化了制备流程,通过调节鸡血清白蛋白、$MnCl_2$ 的浓度和反应条件,可以有效控制生成 Mn_3O_4 的粒径和形貌。

在抗病毒免疫应答过程中,纳米颗粒免疫增强剂有助于抗原递呈细胞的招募和激活,促进抗原的摄取和递呈,选择性诱导不同类型的免疫反应[21]。巨噬细胞核转录因子(NF-κB)信号转导通路的活化,在炎症反应、细胞凋亡和免疫反应过程中发挥了重要作用[22]。锰纳米颗粒在体外通过刺激 RAW-Blue 细胞,能够激活 NF-κB 通路并且显著提高 *IFN-α*、*IFN-β*、*IL-12*、*TNF-α* mRNA 的表达水平,表明其作为免疫增强剂能够有效促进抗原递呈细胞激活和对抗原的提呈。

H9N2 是一种低致病性禽流感病毒,对家禽产业构成严重危害,该病毒常伴随着其他呼吸道病毒的共同感染,造成家禽的高死亡率[23-25]。体液免疫,特别是 HI 抗体对于禽流感的防控具有重要的指导意义。在疫苗的免疫规程中,当 HI 抗体滴度高于 4 时,认为禽流感疫苗具有较好的保护效果[26]。本研究制备的锰纳米颗粒用作禽流感疫苗的免疫增强剂,选用同源的鸡血清白蛋白为模板,能够减少机体副反应、有效提高机体的利用度。在每只 5~20 μg 免疫鸡后,能够显著提高 H9N2 的 HI 抗体效价,并且中剂量组的 HI 抗体滴度在免后 28 d 极显著高于高剂量组,表明该免疫增强剂在该免疫剂量范围内是安全的,并且能够有效地提高现有禽流感疫苗的免疫效力。

综上所述,本研究成功制备了 50 nm 的锰纳米颗粒,体外试验表明其能够有效激活 RAW-Blue 细胞,并且显著增强 H9N2 灭活疫苗免疫后鸡体的特异性体液免疫反应。锰纳米颗粒可以作为禽流感疫苗的高效免疫增强剂,后续将继续验证该免疫增强剂对其他禽用疫苗的免疫增强效力。

参考文献 References:

[1]　Schijns V E, Lavelle E C. Trends in vaccine adjuvants[J]. Expert Review of Vaccines, 2011, 10(4): 539-550.

[2] 于辰龙,陈亮,吴丽威,等. 免疫增强剂对动物疫苗的应用效果[J]. 现代畜牧兽医,2022(10):83-85.
Yu L C,Chen L,Wu L W,et al. Application effect of immune enhancer on animal vaccine[J]. Modern Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine,2022(10):83-85(in Chinese).

[3] 高素素,王馨,王亚玲,等. 无机纳米佐剂的设计及其在人类冠状病毒疫苗免疫增效中的应用[J]. 大学化学,2022,37(3):84-97.
Gao S S,Wang X,Wang Y L,et al. Design and application of inorganic nanoadjuvant in immunostimulation of human coronavirus vaccine[J]. University Chemistry,2022,37(3):84-97(in Chinese).

[4] Fang S,Li X Y,Feng J X,et al. Periodic mesoporous organosilica as a nanoadjuvant for subunit vaccines elicits potent antigen-specific germinal center responses by activating naive B cells[J]. ACS Nano,2023,17:15424-15440.

[5] Deng B,He X M,Wang D D,et al. Designing selenium nanoadjuvant as universal agent for live-killed virus-based vaccine[J]. Small Methods,2023,7:2300293.

[6] Wang Y L,Cai R,Chen C. The nano-bio interactions of nanomedicines:understanding the biochemical driving forces and redox reactions[J]. Accounts of Chemical Research,2019,52(6):1507-1518.

[7] Liu Y,Xu Y,Tian Y,et al. Functional nanomaterials can optimize the efficacy of vaccines[J]. Small,2014,10:4505-4520.

[8] Zhu G Z,Lynn G M,Jacobson O,et al. Albumin/vaccine nanocomplexes that assemble *in vivo* for combination cancer immunotherapy[J]. Nature Communications,2017,8(1):1954.

[9] Wang Y L,Xie Y P,Luo J,et al. Engineering a self-navigated MnARK nanovaccine for inducing potent protective immunity against novel coronavirus[J]. Nano Today,2021,38:101139.

[10] Wang C G,Guan Y K,Lv M Z,et al. Manganese increases the sensitivity of the cGAS-STING pathway for double-stranded DNA and Is required for the host defense against DNA viruses[J]. Immunity,2018,48(4):675-687.

[11] Zhao Z,Ma Z X,Wang B,et al. Mn directly activates cGAS and structural analysis suggests Mn induces a noncanonical catalytic synthesis of 2′3′-cGAMP[J]. Cell Report,2020,32:108053.

[12] Peres T V,Schettinger M R C,Chen P,et al. Manganese-induced neurotoxicity:a review of its behavioral consequences and neuroprotective strategies[J]. BMC Pharmacology & Toxicology,2016,17(1):57.

[13] Xie C K,Cen D,Ren Z H,et al. FeS@ BSA nanoclusters to enable H_2S-amplified ROS-based therapy with MRI guidance[J]. Advanced Science,2020,7(7):1903512.

[14] Wang Y,Yang T,Ke H T,et al. Smart albumin-biomineralized nanocomposites for multimodal imaging and photothermal tumor ablation[J]. Advanced Materials,2015,27,3874-3882.

[15] Zhou B Q,Song J,Wang M,et al. BSA-bioinspired gold nanorods loaded with immunoadjuvant for the treatment of melanoma by combining photothermal therapy and immunotherapy[J]. Nanoscale,2018,10(46):21640-21647.

[16] Xu D D,Hu J,Mei J W et al. Nanoadjuvant-triggered STING activation evokes systemic immunotherapy for repetitive implant-related infections [J]. Bioactive Materials,2024,35:82-98.

[17] Sun Y Z,Yin Y,Gong L D,et al. Manganese nanodepot augments host immune response against coronavirus. [J]. Nano Research,2021,14(5):1260-1272.

[18] Kim S Y,Noh Y W,Kang T H,et al. Synthetic vaccine nanoparticles target to lymph node triggering enhanced innate and adaptive antitumor immunity[J]. Biomaterials,2017,130:56-66.

[19] Xie J,Zheng Y,Ying J Y. Protein-directed synthesis of highly fluorescent gold nanoclusters[J]. Journal of the American Chemical Society,2009,131(3):888-889.

[20] Li X,Wang XP,Ito,et al. Tailoring inorganic nanoadjuvants towards next-generation vaccines[J]. Chemical Society Reviews,2018,47(13):4954-4980.

[21] Cox E,Verdonck F,Vanrompay D,et al. Adjuvants modulating mucosal immune responses or directing systemic responses towards the mucosa [J]. Veterinary Research,2006,37(3):511-539.

[22] Sakurai H.Targeting of TAK1 in inflammatory disorders and cancer[J]. Trends Pharmacol Science,2012,33(10):522-530.

[23] Kong L C,You R R,Zhang D C,et al. Infectious bronchitis virus infection increases pathogenicity of H9N2 avian influenza virus by inducing severe inflammatory response[J]. Frontiers in Veterinary Science,2021,8:824179.

[24] Wen H,Yang X F,Liu X Q,et al. The immune system of chicken and its response to the H9N2 avian influenza virus[J]. Veterinary Quarterly,2023,4343(1):1-14.

[25] Jia H,Zhang L H,Huang M,et al. H9N2 avian influenza viruses:challenges and the way forward[J]. The Lancet Microbe,2023,4(2):e70-e71.

[26] Zhang C,Zhou J,Liu Z,et al. Comparison of immunoadjuvant activities of four bursal peptides combined with H9N2 avian influenza virus vaccine[J]. Journal of Veterinary Science,2018,19(6):817-826.

责任编辑:周广礼