

基于微针的经皮免疫的应用现状及研究进展

李月, 王菁, 金志颖, 万伟, 白雪欣, 胡宸艺, 李岩伟, 辛文文, 康琳, 杨浩, 王景林, 高姗

军事科学院 军事医学研究院 微生物流行病学研究所, 北京 100071

李月, 王菁, 金志颖, 万伟, 白雪欣, 胡宸艺, 李岩伟, 辛文文, 康琳, 杨浩, 王景林, 高姗. 基于微针的经皮免疫的应用现状及研究进展. 生物工程学报, 2022, 38(9): 3301-3315.

LI Y, WANG J, JIN ZY, WAN W, BAI XX, HU CY, LI YW, XIN WW, KANG L, YANG H, WANG JL, GAO S. Microneedle-based percutaneous immunity: a review. Chin J Biotech, 2022, 38(9): 3301-3315.

摘 要: 微针经皮免疫借助微针刺破皮肤的角质层, 使疫苗高效地被抗原提呈细胞识别后引起特异性免疫应答, 从而实现疫苗的经皮免疫。由于微针的经皮免疫所具有的高效诱导免疫应答、低痛感、易储存等优点, 近年来被广泛应用于多种疫苗免疫接种。本综述对用于经皮免疫的各类微针(固体微针、空心微针、涂层微针和可溶性微针)的制备材料、在经皮免疫的应用、领域的研究热点与尚需要解决的问题进行探讨, 以期为研究者的制备和应用提供参考和借鉴。

关键词: 微针; 疫苗; 经皮免疫; citespace

Microneedle-based percutaneous immunity: a review

LI Yue, WANG Jing, JIN Zhiying, WAN Wei, BAI Xuexin, HU Chenyi, LI Yanwei, XIN Wenwen, KANG Lin, YANG Hao, WANG Jinglin, GAO Shan

Institute of Microbiology and Epidemiology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100071, China

Abstract: Microneedle percutaneous immunization is achieved by puncturing the stratum corneum of the skin with microneedles so that the vaccine is efficiently recognized by antigen-presenting cells to induce a specific immune response. Due to the advantages of efficient induction of immune response, low pain and easy storage, transdermal immunization by microneedles has been widely used for immunization of various vaccines in recent years. This review summarizes the materials of microneedles, application for

Received: February 27, 2022; **Accepted:** May 12, 2022; **Published online:** May 18, 2022

Supported by: Beijing Nova Program, China (Z201100006820028)

Corresponding authors: WANG Jinglin. E-mail: wangjlin@bmi.ac.cn
GAO Shan. E-mail: gaoshan845@163.com

基金项目: 北京市科技新星计划 (Z201100006820028)

transcutaneous immunization, as well as the challenges that need to be addressed.

Keywords: microneedle; vaccine; percutaneous immunity; citespace

自 2019 年以来, 新冠肺炎的大流行对人类健康造成重大威胁, 据世界卫生组织报道截至 2022 年 4 月 14 日已经有超过 5 亿人被确诊感染新冠病毒, 619 多万人死亡, 疫情导致的停工停产等也给全球经济造成了重大损失, 而目前唯一有效的应对措施就是大规模人群的疫苗接种。疫苗接种可显著降低传染病的发病率和死亡率, 在健康、经济和社会层面都产生了巨大效益^[1]。例如天花疫苗的发明使全球在 1980 年彻底消灭了在人类历史上肆虐了长达 3 000 多年的天花; 乙肝疫苗的计划免疫也大大减少了人群中乙肝的发病率, 进而降低了乙肝向肝癌和肝硬化转变的风险。但疫苗接种需要专业医护人员、疫苗制剂普遍热稳定性差、对运输条件要求高、生产和储存成本高及部分人对针头恐惧的现象等问题都限制了疫苗的全球普及^[2-3]。

微针由微米级别的细小针头以阵列的形式连接在基座上构成 (图 1A、1B), 可以通过控制微针的针头长度使其穿透角质层在表皮及真皮中形成微通道的同时不伤及神经或血管, 从而达到经皮疫苗接种的目的^[4]。与传统

的疫苗接种方式相比, 微针接种具有以下优势: (1) 在生产制造环节可节约疫苗用量, 由于皮肤中具有丰富的抗原提呈细胞, 因此仅需微量疫苗抗原即可引起机体的免疫应答^[5]; (2) 在运输与储存环节可节约经济成本, 由于微针疫苗具有热稳定性而无冷链运输的严格要求; (3) 在疫苗接种环节可有效提高接种效率, 因其操作简便、基本无痛且可自行给药, 因此接种者依从性较好。此外, 可溶性微针疫苗还具有无需专门的锐器回收与处理的优势。因此微针的经皮免疫被视为传统疫苗接种的潜在替代方式并具有良好的发展及应用前景。

近年来微针介导的疫苗接种在诸多类型疾病中的研究日益增多, 如流感^[6]、乙肝^[7]、脊髓灰质炎^[8]和新冠肺炎^[9]等病毒性疾病; 淋病奈瑟菌^[10]、艰难梭菌和志贺氏菌^[11]等细菌性疾病; 由疟原虫寄生引起的^[12]寄生虫性疾病; 破伤风和白喉^[13]等毒素导致的疾病; 黑色素瘤^[14]、宫颈癌^[15]和卵巢癌^[16]等癌症相关疾病。本文对与使用微针进行经皮免疫的相关研究进行综述, 期待为微针在疫苗接种方面的研究与应用提供参考。

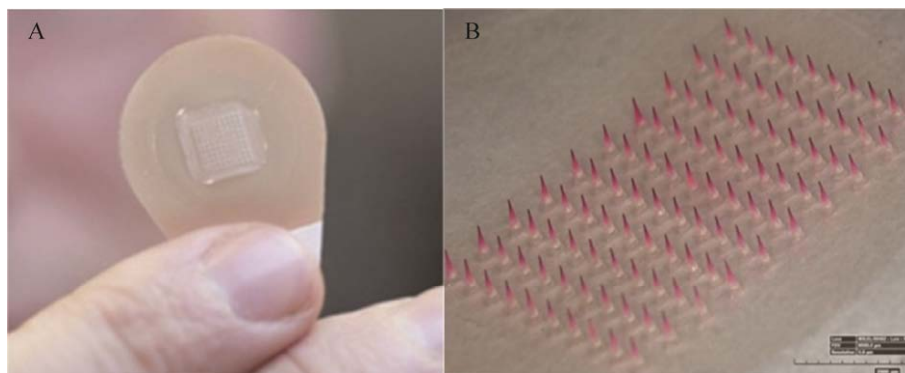


图 1 可用于疫苗接种的微针贴片^[17] A: 微针贴片; B: 粉色染料模拟疫苗的微针阵列

Figure 1 A microneedle patch for vaccination^[17]. (A) Microneedle patch. (B) An array of microneedles containing pink dye to simulate vaccine.

1 微针经皮免疫的基本原理

1.1 皮肤的基本结构

皮肤作为人体最外层的器官，是抵御外来微生物感染和某些理化危害的第一道防线。它由表皮、真皮、皮下组织 3 层基本结构组成^[18]。角质层位于表皮的最上层，由 5-20 层已经死亡的扁平细胞构成，是经皮免疫需要穿透的关键结构。而同一种族人群身体不同部位之间的皮肤厚度差异较大，皮肤厚度的性别差异也较大，女性的表皮比男性薄^[19]。

1.2 经皮免疫的基本过程

皮肤中参与免疫应答的细胞主要有朗格汉斯细胞、巨噬细胞、肥大细胞和淋巴细胞等^[20]。

皮肤免疫的专职抗原提呈细胞 (antigen-presenting cell, APC) 主要是树突状细胞，其中

分布在表皮的树突状细胞为朗格汉斯细胞，其树枝状突起在角质形成细胞间隙之间进行延伸，构成网状结构。其主要功能是免疫识别和抗原提呈^[21]。外来抗原进入皮肤后被 APC 识别并摄取，在细胞内形成稳定的抗原肽-MHC II 类分子复合物后转运到细胞膜。活化后的 APC 迁移到引流淋巴结，将抗原肽提呈给 $CD4^+$ T 淋巴细胞使其激活从而发挥免疫效应，启动适应性免疫应答。抗原提呈细胞除诱导免疫应答外，在记忆性免疫应答中同样发挥重要作用^[22-23]。

角质形成细胞、巨噬细胞及肥大细胞通过释放各种细胞因子和黏附分子以调节免疫细胞的定向驱化运动、促进淋巴细胞的增殖分化和免疫细胞间的协作^[24] (图 2)。角质形成细胞作为表皮中含量最多的细胞，不仅可以维持表

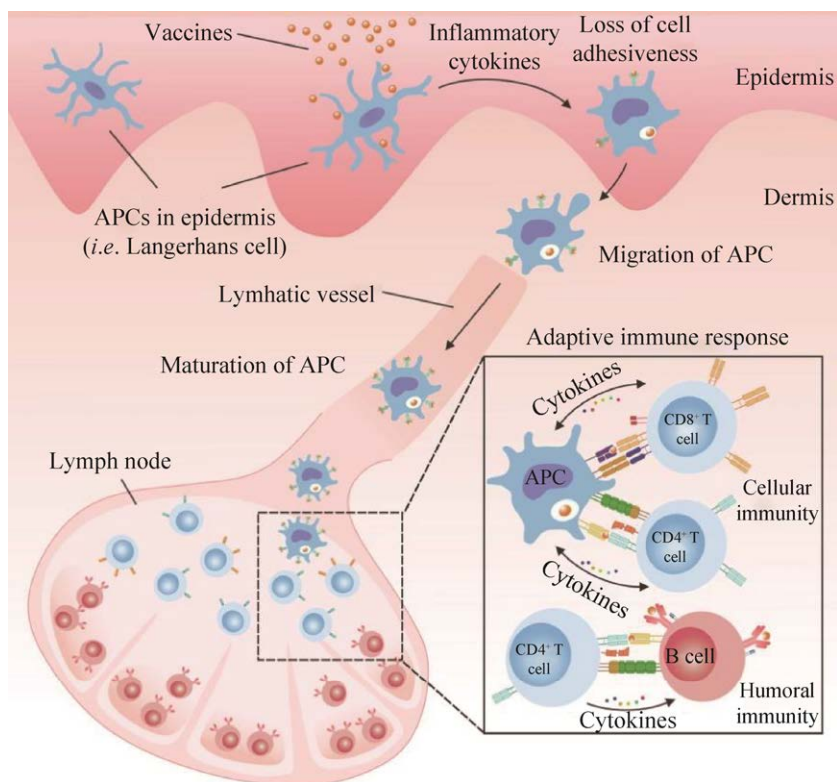


图 2 经皮免疫的基本过程^[22]

Figure 2 The basic process of percutaneous immunization^[22].

皮结构和正常的生理功能,其细胞膜上还表达模式识别受体 (pattern recognition receptor, PRR),如甘露糖受体、清道夫受体和 toll 样受体,通过识别病原体相关分子模式 (pathogen-associated molecular pattern, PAMP) 识别外来性抗原,并参与抗原的处理与呈递^[25-26];巨噬细胞作为专职 APC 除抗原提呈作用外,还具有免疫调节的功能,可以通过分泌干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)、上调朗格汉斯细胞的抗原提呈能力,分泌白介素-12 (interleukin-12, IL-12)、白介素-18 (interleukin-18, IL-18) 等促进 T 淋巴细胞的增殖分化^[27-28]。肥大细胞广泛分布在皮肤微血管周围,经 IgE 诱导后可以分泌组胺和白三烯激活免疫细胞,从而产生大量的细胞因子^[29-30]。

2 微针分类及其介导的疫苗接种

2.1 固体微针介导的疫苗接种

固体微针 (solid microneedle) 最常用的材料是金属和硅。固体微针通常作为一种医疗器械使用,微针本身并不装载药物。固体微针刺入皮肤后产生微通道,然后局部涂抹疫苗溶液或疫苗水凝胶,疫苗通过微通道由被动扩散的方式透过角质层^[31],在离子或超声等的辅助下可促进疫苗扩散^[32-33],从而提高透过率 (图 3)。目前已报道的使用固体微针递送的疫苗有类毒素疫苗^[34]、亚单位疫苗^[35]、DNA 疫苗^[36]和腺病毒载体疫苗等^[37]。

Guo 等将乙肝疫苗水凝胶贴片与固体微针结合,制造出由 484 根 150 μm 长的单晶硅微针阵列。该水凝胶贴片疫苗含有乙型肝炎表面抗原 (HBsAg) 并用霍乱毒素 B 为佐剂,在猪耳与小鼠腹部皮肤进行了渗透研究,研究显示与传统的肌肉注射相比,该接种系统能显著提高 HBsAg 的渗透率,且能维持较长时间的免疫

球蛋白 (IgG) 滴度稳定。与液体制剂相比,水凝胶疫苗具有更好的热稳定性,在经过 37 $^{\circ}\text{C}$ 保存 3 周后,液体疫苗中的 HBsAg 的抗原活性降低约 35%,而水凝胶疫苗的抗原活性降低约 25%^[7]。

2.2 空心微针介导的疫苗接种

空心微针 (hollow microneedle) 内部结构中空,可以作为皮下注射针使用。制造时在针体侧壁留下孔洞,当微针刺入皮肤时,液体疫苗会在外加压力下 (如注射器的推力) 通过微孔洞注入皮肤^[38],可以开发出定量、精确和速度可控的疫苗输送系统 (图 3)。由于其递送原理与针头基本一致,所以理论上可使用针头递送的疫苗均适用于空心微针,其中文献报道的主要有灭活疫苗^[8]、重组疫苗^[39]与合成肽疫苗^[40]等。

Van Der Maaden 等利用氢氟酸腐蚀熔融二氧化硅毛细管制备空心微针以实现脊髓灰质炎病毒灭活疫苗 (inactivated poliovirus vaccine, IPV) 的接种,结果显示该空心微针可以成功刺入大鼠皮肤,未发生针体断裂或针头堵塞,与肌肉注射相比,经空心微针注射的疫苗可诱导相似的免疫应答^[8]。同一研究团队使用空心微针进行人乳头瘤病毒疫苗的接种以治疗癌症,与肌肉注射相比微量的疫苗即诱导了小鼠体内 CD4⁺ T 与 CD8⁺ T 细胞的增殖分化,显著激活细胞免疫并诱导出大量的细胞毒性 T 细胞与 Th 细胞^[40]。

Pamornpathomkul 等使用司盘 20、胆固醇与 N¹,N¹-二十四烷基乙氧基精胺以 2.5 : 2.5 : 0.5 mmol/L 的摩尔比制备了一种新型阳离子类脂质体,包裹了编码卵清蛋白的质粒,利用空心微针 (由 25 根 900 μm 针长的不锈钢针组成) 接种后成功地激活了小鼠的免疫反应, IgG 滴度明显增高, IL-4 和 IFN- γ 等细胞因子含量增

多并且没有出现感染或出血等不良反应^[41]。

2.3 涂层微针介导的疫苗接种

涂层微针 (coated microneedle) 通过在固体微针表面涂抹疫苗制成^[42], 当微针刺入皮肤以后, 微针上的疫苗成分逐渐释放, 诱导免疫反应^[43], 与固体微针相比省去了疫苗涂抹的过程使接种更加方便。但因其表面积较小, 存在疫苗载量受限的问题 (图 3)。目前已报道的使用涂层微针递送的疫苗主要有亚单位疫苗^[43]、灭活疫苗^[44]、DNA 疫苗^[45]和减毒疫苗^[46]。

Kines 等使用乳头状瘤病毒样颗粒 (human papilloma virus-like particle, HPV VLP) 包被微针对小鼠进行疫苗接种, 结果表明经涂层微针介导的免疫反应在体内产生的中和抗体水平与肌肉注射相近^[47]。此外微针涂层中 HPV 疫苗在室温条件下同样可以保持较好的稳定性, 大大降低了运输与储存的经济成本。

Choi 等使用由天花病毒包被聚乳酸 (poly(lactic acid), PLA) 制成的微针贴片对小鼠进行免疫, 于 3 周后在小鼠体内检测到中和抗体并可持续 12 周, 且干扰素- γ 的分泌量持续增加。此外, 不同干燥方法对天花疫苗稳定性影响较大, 与自然蒸发相比真空干燥法更有利于其维持稳定性, 例如涂覆于微针上的天花疫苗经真空干燥后可以在 -20°C 的条件下储存长达 6 个月^[48]。

Vaxxas 公司设计了两种涂层微针, 其中一种微针基底由硅晶片通过干法蚀刻制备, 命名为 Nanopatch, 在其上涂覆甲型 H1N1 流感疫苗, 通过 61 名健康成年人的随机对照试验结果证明, 该微针疫苗安全性和耐受性良好, 仅有应用部位瘙痒、头痛等轻至中度不良反应^[49]。另一种是由医用级聚合物制备的高密度微针贴片, 命名为 HD-MAPs, 经涂覆相同病毒疫苗后, 在 60 名健康成年人中进行 I 期临床试验, 结果显示当 HD-MAPs 的接种剂量仅为肌肉注射剂

量的 1/6 时, 即可引起相似的免疫应答^[50]。

2.4 可溶性微针介导的疫苗接种

可溶性微针 (dissolvable microneedle) 在刺入皮肤后逐渐溶解的同时实现针体中疫苗的释放。可溶性微针由机械强度适中且生物相容性良好的水溶性生物大分子物质制备而成, 如: 海藻糖、羧甲基纤维素、麦芽糖、葡萄糖、透明质酸等^[51] (图 3)。使用可溶性微针递送的疫苗主要有亚单位疫苗^[52]、多糖疫苗^[53]、灭活疫苗^[54]、重组疫苗^[9]和 DNA 疫苗^[55]等。

Sullivan 等使用聚乙烯吡咯烷酮为材料制备了可溶性微针用于流感病毒疫苗接种, 该微针在刺入小鼠背部皮肤 5 min 后溶解约 85%, 且能诱导有效的体液免疫应答, 在免疫 28 d 后小鼠体内 IgG 滴度与肌肉注射相比差异无统计学意义; T 淋巴细胞分泌较多的白介素-4 (IL-4) 和干扰素- γ (IFN- γ); 90 d 后其记忆性免疫应答可迅速发挥作用, 降低病毒滴度, 增加肺病毒清除率^[56]。Kim 等使用羧甲基纤维素制备可溶性微针递送 SARS-CoV-2 S1 亚单位疫苗, 两周后小鼠体内的特异性抗体明显增多^[9]。

在不良反应方面, Rouphael 等研制的可溶性微针流感疫苗在成年人中接受程度较高且安全性良好, 在 I 期临床试验中仅出现了压痛、瘙痒和红斑等轻微的不良反应, 持续 2-3 d 后可自行缓解^[57]。Hirobe 等使用透明质酸制造的可溶性微针在进行流感疫苗接种时未检测到严重的不良反应^[58]。

在微针疫苗的制备过程中存在稳定性降低的问题, 延长其稳定性的方法主要有冷冻干燥技术的应用、与纳米医学的结合、添加辅助材料、优化微针制备工艺等。微针的制备材料也可以影响疫苗的免疫原性, 如大分子可降解的生物材料^[59]及其分子量^[60]。Bonificio 等将流感疫苗浓缩冻干后制备尖端可溶的微针疫苗,

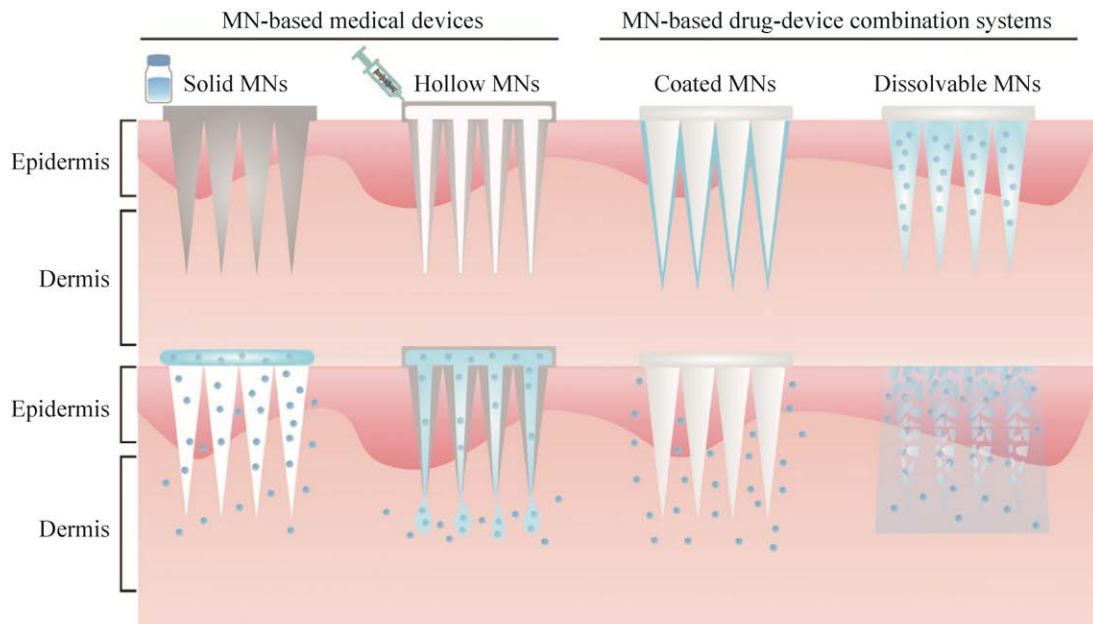


图3 不同类型的微针及其疫苗递送方式^[22]

Figure 3 Different types of microneedles and the vaccine delivery methods^[22].

并可以在 2–8 °C 的条件下储存长达 12 个月；在 25 °C、相对湿度 60% 的条件下储存 6 个月^[61]。Schepens 等制备纳米微粒用于 H1N1 流感疫苗的微针接种，经该疫苗免疫的小鼠可在体内检出高水平的特异性中和抗体^[62]。

3 微针递送的影响因素

3.1 微针的几何形状

作为肌肉注射疫苗最有前景的替代方式，微针首先需要解决的难题即是如何成功穿透角质层且针头不变形或断裂。影响微针穿透角质层的因素主要有阵列中微针的长度、间距、针形、数量、针尖和针底的直径等^[63]。研究人员始终在探索适宜的微针长度，Shikida 等认为针长在 50–200 μm 之间为宜^[64]，而 Mansoor 等认为针长必须长于 100 μm^[65]。针长与针密度对载药量的影响较大，虽然针体越长携带的药物剂量越多，但 Li 等的研究结果表明 800 μm 微针的剂量递送效率反而高于 1 000、1 200、

1 500 μm 长的微针^[66]。此外针长度的增加会导致其痛感增加，Mantegazza 等的 I 期临床试验结果显示，当针长为 650 μm 时，受试人员能感受到轻微的疼痛^[67]。通过增加针密度提高载药量是可行的方法，但过于密集的针头可能会导致“钉板效应”使得针尖难以刺透皮肤^[68]。

多个微米级针尖以阵列的形式组成微针贴片 (图 4A、4B)，针尖部的形状同样影响其力学性能，如圆锥形针尖比方形针尖的力学性能更好^[69]，六边形的针尖比正方形和三角形的针尖承受的压力更大^[70]。近年来随着制备工艺的发展，新型的仿生学微针日渐增多，如仿毒蛇的蛇牙结构制备的多凹槽微针，储存在背衬中的药物当受到轻微压力时即可沿着凹槽流入皮肤^[71] (图 4C)；仿昆虫触角上的感受器制备的锥形仿生涂层微针^[72] (图 4D)；为改善微针贴合皮肤性能，仿螳螂腿结构制备的卡扣水凝胶微针^[73] (图 4E) 与仿章鱼的吸盘结构的高粘附性微针^[74] (图 4F)。

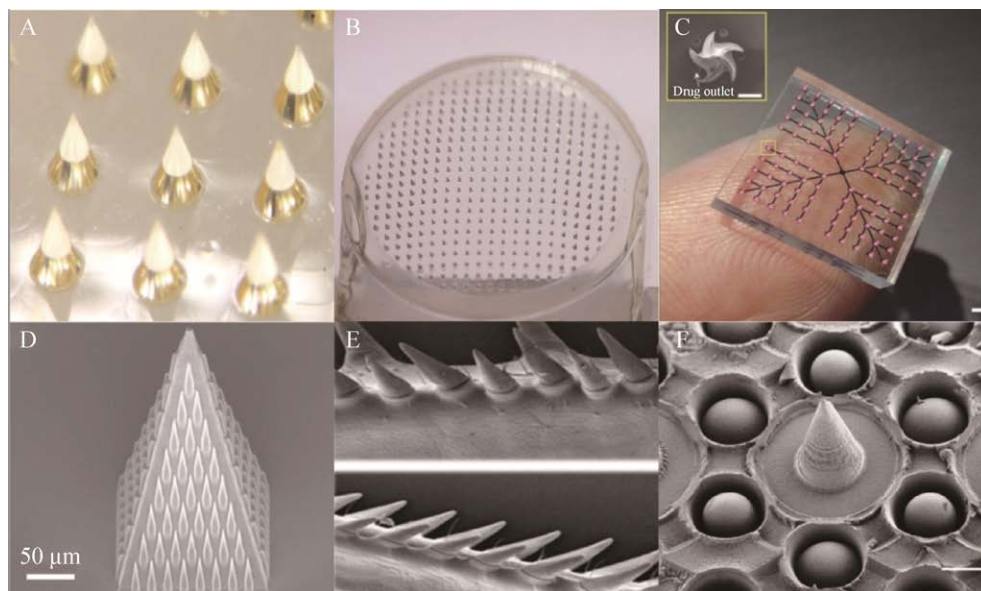


图4 微针的构造 A: 微针阵列; B: 圆形微针贴片; C: 蛇牙仿生微针^[71]; D: 昆虫感受器仿生微针^[72]; E: 螳螂腿仿生微针^[73]; F: 章鱼吸盘仿生微针^[74]

Figure 4 Structure of microneedles. (A) Microneedle array. (B) Circular microneedle patch. (C) Snake tooth biomimetic microneedle^[71]. (D) Insect sensor biomimetic microneedle^[72]. (E) Mantis leg biomimetic microneedles^[73]. (F) Octopus cup biomimetic microneedle^[74].

3.2 微针的材料

用于制造微针的材料主要有硅^[75]、玻璃^[42]、金属^[76]、陶瓷^[77]、碳水化合物^[52]和高分子聚合物等^[78]。硅能够灵活地制成各种大小和形状,实验室利用率较高,其机械强度高,能较容易地刺透角质层而不断裂^[79]。玻璃微针能够导致肉芽肿等副作用而限制了其应用^[80]。钛和不锈钢等金属由于较好的机械强度和生物相容性,已经被广泛应用于皮下注射针头的制造,是制造微针的合适材料^[42]。由于碳水化合物的安全性较高且成本低也常用来制备微针,缺点在于碳水化合物制造微针的机械强度不高可能导致微针无法达到目的深度^[81-82],还可能由于热稳定性较差,在制造、运输和储存等方面存在一定的局限性^[83]。生物大分子物质如聚乳酸等由于其较好的生物相容性、可溶性及韧性等也常用于微针制备^[84]。

在涂层微针的制备中,赋形剂对疫苗在基质中的分散均匀性及疫苗活性和稳定性至关重要,它主要包括表面活性剂、增稠剂和稳定剂。Lutrol F-68、Poloxamer 188、吐温 20、吐温 80 为常用的表面活性剂;聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、海藻酸钠、羧甲基纤维素钠、透明质酸等常作为增稠剂使用;海藻糖、蔗糖等冻干保护剂可作为稳定剂保护疫苗活性^[85]。赋形剂的选择主要有 3 条原则:首先是安全性原则,应选择被相关监管机构批准的药品或注射用品的添加剂;其次,赋形剂用量应该合理,防止因用量过大导致的涂层中疫苗含量降低;此外,赋形剂不能影响疫苗活性,如羧甲基纤维素钠能够抑制蛋白的活性^[86]。

3.3 微针的辅助材料

有研究发现,微针中承载的药物会降低微针的机械强度^[87],而在微针基质中加入金属等

材料会增加其机械强度^[88],在微针中加入纳米颗粒可以在不影响溶出率的情况下增加微针的机械强度,通过弹性和硬度的测量发现添加5%的层状双氢氧化物纳米颗粒对微针机械强度的提高最为明显^[89]。此外有研究表明,虽然在微针基质材料中加入辅助材料会增加其机械强度,但改变辅助材料的浓度,其机械强度不一定会改变^[90]。

4 基于citespace的微针介导的疫苗接种研究现状分析

4.1 纳入文献概述

本研究以“microneedle”和“vaccines”为主题词,“article”和“review”为文献类型,“English”为语种在Web of Science (WOS)核心数据库进行文献检索,检索截止日期为2021年12月7日,共检索文献612篇,发表的时间为2000–2021年。2003至2018年文献发表数量持续上升,2009年后增长明显,其中2018年发文量最多(75篇);2019–2020年短暂减少后,

2021年恢复上升趋势(图5)。

4.2 关键词共现与聚类分析

使用citespace 5.8.R3对纳入文献进行可视化分析,选择1年为一个时间切片,阈值、模型的设置均为默认值,剪枝策略选择“pathfinder”,“PruningSlice Network”与“pruning the merged network”联合使用。通过关键词共现与突现检测识别热门话题与前沿领域。

领域内的研究热点会产生高频与高中介中心性的关键词,当中介中心性大于0.1时(取值为0–1),判断该节点在研究领域内起到关键作用^[91]。关键词共现结果显示,中介中心性大于0.1的关键词为“transcutaneous immunization”“drug delivery”“cell”“*in vivo*”“DNA vaccine”“efficacy”“challenge”“adult”“hepatitis”“vaccine”。高频关键词主要有“immunization”“*in vivo*”“adjuvant”“fabrication”“antigen”(图6A);其中出现频次最多的为“immunization”(123次),其次为“drug delivery”(108次),“adjuvant”(40次)。

关键词聚类的模块化Q为0.73(>0.3),说

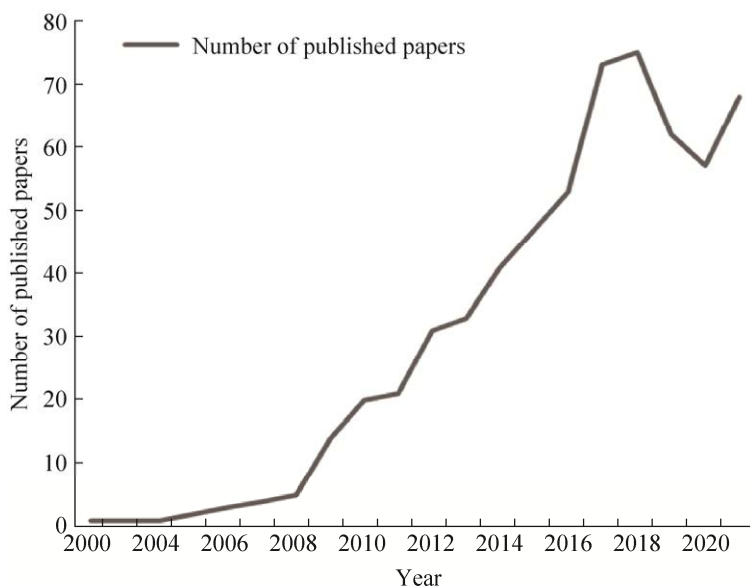


图5 WOS数据库文献发表数量

Figure 5 Number of literature published in WOS.

明聚类划分结构显著, 聚类有效; 平均轮廓值 S 为 0.79 (> 0.5), 显示聚类结果可信^[92]。关键词聚类显示的研究热点分别为 microneedle array(#1)、intra-dermal(#2)、acceptability(#3)、antibody response(#4)、vaccine stability(#5)、microneedles(#6)、diffusion(#7)、DNA vaccine(#8)、adjuvant(#9) (图 6B)。关键词共现与聚类分析结果推测该领域的研究热点为体内实现微针经皮免疫的试验效果与面临的挑战, 如降低微针断裂的风险、增加微针疫苗在不同体系与运输环境中的稳定性、提高群众的依从性等。

4.3 关键词突现分析

由于引入了时间维度, 关键词突现分析表明该关键词在短时间内出现次数显著增加, 可以判断某时间段内的研究热点与重点。关键词突现的起止时间以“begin”和“end”表示 (红色时间段); 突现强度以“strength”表示, 值越高表示该关键词的突现强度越大, 影响力也越大 (图 7)。

若以 1 年为一个时间跨度进行统计, 各个阶段的研究热点均不相同。在 2010 年之前, 仅有两个关键词突现, 且持续时间较长, 2004–

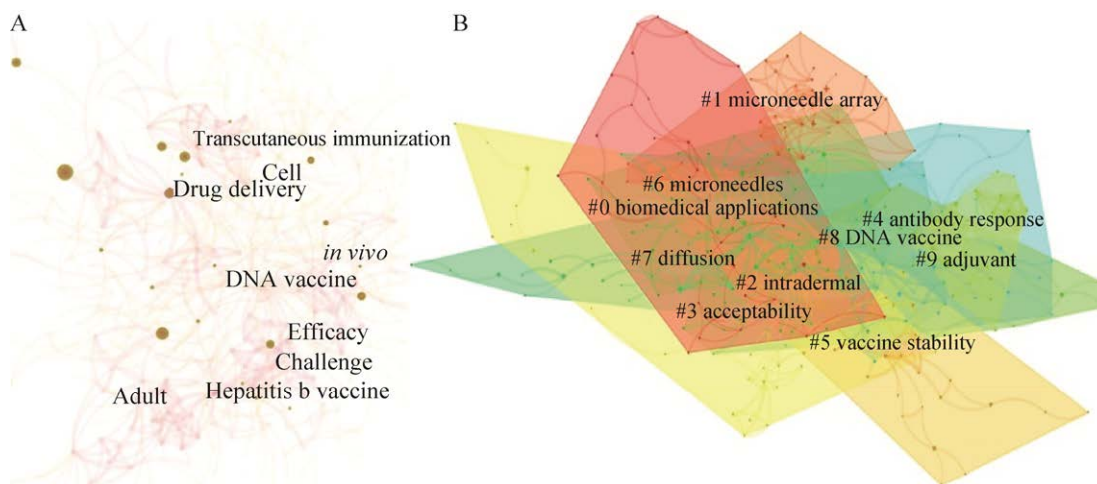


图 6 关键词分析图谱 A: 关键词共现图; B: 关键词聚类分析

Figure 6 Keyword analysis graph. (A) Keywords co-occurrence graph. (B) Keyword clustering analysis.

Keywords	Year	Strength	Begin	End	2000–2021
Injection	2000	4.57	2004	2010	
Antibody response	2000	4.62	2007	2010	
Virus like particle	2000	4.94	2012	2016	
Safety	2000	4.58	2013	2014	
Protection	2000	4.86	2015	2017	
Vaccine delivery	2000	6.16	2016	2018	
Microneedle patche	2000	7.51	2018	2021	

图 7 突现前 7 位的关键词

Figure 7 Highlights the top 7 keywords.

2010 为“injection”，2007–2010 为“antibody response”。自 2012 年起，关键词突现开始频繁，2012 年为“virus like particle”，2013 年为“safety”，2015 年为“protection”，2016 年为“vaccine delivery”，2018 年为“microneedle patch”，表明近几年使用微针进行疫苗接种才逐渐受到学者的高度关注。

5 研究领域尚需解决的问题

5.1 在微针的设计与制造方面

随着微针近年来的发展，微针的设计理念与制造方法逐渐增加的同时不断推陈出新，但仍存在以下瓶颈急需突破。首先，微针穿透皮肤时针头断裂和弯曲变形的问题急需解决，需要找到具有良好机械性能的材料，例如天然聚合物透明质酸、胶原、丝素蛋白、海藻酸钠；合成聚合物羧甲基纤维素钠、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚乙二醇、聚乳酸等，以上聚合物均具有良好生物相容性与机械强度，不仅成本较低还易于大规模生产制备具有较好的应用前景^[93]。其次，需要探索更加完善的微针制备工艺，以实现微针的迅速与精确制造从而解决其大规模商业化量产的难题。其中 3D 或 4D 打印微针由于能够一次成型克服了制备过程中两次离心或两次抽真空等步骤复杂烦琐的问题，具有良好的应用前景^[94-95]。再次，需要促进微针介导的纳米粒子辅助疫苗递送向临床转化，借助纳米粒子的包被作用提高疫苗的稳定性从而保护疫苗活性，以解决微针制备过程中疫苗活性降低的问题^[96]；通过纳米粒子的缓释作用延长疫苗释放时间，增强抗原提呈细胞对疫苗的摄取能力，从而提高疫苗的生物利用度和免疫效果。最后，微针设计要兼顾递送效率与被接种者的可接受度，针长越长递送效率越高，但痛感与副作用也越强。需要确保微针能够成

功实现免疫的同时在皮肤上产生的创面与痛感最小化，使红肿、瘙痒和色素沉着等不良反应发生的概率降低，提高患者依从性。因此可以借助计算机模型，结合皮肤的结构、微针的几何参数与机械性能优化微针经皮免疫的数学模型，探索微针参数设计与疫苗递送效率的关系，如针长、针密度对局部抗原提呈细胞活化及对所诱导免疫反应的影响，预测不同疫苗经皮免疫的最佳设计策略^[97]。

5.2 在微针的推广应用方面

微针的经皮免疫与传统疫苗接种方式相比具有巨大优势，但要达到有效推广与大规模应用之前，仍存在部分问题需要解决：第一，该领域中使用微针进行免疫接种的相关研究数量较少^[22]，目前使用微针递送的疫苗类型主要有亚单位疫苗^[98]、DNA 疫苗^[99]、灭活疫苗^[100]和减毒活疫苗^[101]等，但其他类型疫苗是否适宜以微针的方式进行接种仍需进一步关注，例如目前只检索到使用中空微针^[102]和可溶性微针^[103]进行 mRNA 疫苗递送的研究，且相关研究数量较少。第二，在接种剂量方面，需要探索适合不同人群经皮免疫的特定剂量，使其既能在安全剂量范围内高效地诱导人体的特异性免疫应答又不会引起不良反应。第三，微针诱导人体免疫应答的水平、在人体中长期应用的安全性、与毒性问题相关的临床试验较少，尤其是部分微针在制造过程中需要用到有机溶剂，因此其在人体的应用和推广需要更多的研究佐证。第四，在国内，微针相关的一系列产品的定义、国家标准与法律法规尚处于空白阶段，需要相关部门加大市场研发的监管力度，制定合适的国家标准以评估其安全性和有效性并推动行业发展。

6 总结与展望

使用微针进行经皮免疫不仅可以递送多种

疫苗、避免“首过效应”、有效、方便、微创、降低接种者的痛感、提高依从性、缓解医护人员的工作量，还具有减少接种剂量、降低生产成本、提高疫苗稳定性、简化供应链等优势，因此使用微针进行经皮免疫可以解决许多问题，如部分发展中国家疫苗需求量巨大与生产能力不足之间的冲突、疫苗运输过程中严格的冷链要求，因此微针的推广应用在促进全球疫苗接种方面拥有巨大潜力。

随着研究的进一步深入，该领域在研发与临床使用中尚存发展空间：(1) 当前微针的制备技术仍停留在实验室小规模制备阶段，且基于微加工平台的制造方法无法快速修改微针的参数设计，鉴于大规模量产是微针走向市场化与产品化的必经之路，因此需要进一步优化微针的制备工艺早日实现批量生产；(2) 微针的经皮免疫距离真正的临床推广与使用尚存一定距离，Clarke 等在 2021 年 5 月启动了一项双盲、随机对照的临床试验用于评估麻疹和风疹疫苗在成年人和儿童中的安全性和免疫原性，该研究预计于 2022 年 6 月结束，具体试验数据尚未公布 (NCT04394689)^[104]，因此需要更多的研究团队推动其由实验室向临床应用转化；(3) 为新兴的微针疫苗产品制定市场监管指南，推动微针的规范化生产，以便于微针免疫技术早日实现全面推广与普及。

REFERENCES

- [1] Bloom DE, Cadarette D, Ferranna M. The societal value of vaccination in the age of COVID-19. *Am J Public Health*, 2021, 111(6): 1049-1054.
- [2] Diekema DS. Improving childhood vaccination rates. *N Engl J Med*, 2012, 366(5): 391-393.
- [3] Songane M. Challenges for nationwide vaccine delivery in African countries. *Int J Health Econ Manag*, 2018, 18(2): 197-219.
- [4] Lane ME. Skin penetration enhancers. *Int J Pharm*, 2013, 447(1/2): 12-21.
- [5] Menon I, Bagwe P, Gomes KB, et al. Microneedles: a new generation vaccine delivery system. *Micromachines*, 2021, 12(4): 435.
- [6] Pamornpathomkul B, Ngawhirunpat T, Tekko IA, et al. Dissolving polymeric microneedle arrays for enhanced site-specific acyclovir delivery. *Eur J Pharm Sci*, 2018, 121: 200-209.
- [7] Guo L, Qiu YQ, Chen JM, et al. Effective transcutaneous immunization against hepatitis B virus by a combined approach of hydrogel patch formulation and microneedle arrays. *Biomed Microdevices*, 2013, 15(6): 1077-1085.
- [8] Van Der Maaden K, Trietsch SJ, Kraan H, et al. Novel hollow microneedle technology for depth-controlled microinjection-mediated dermal vaccination: a study with polio vaccine in rats. *Pharm Res*, 2014, 31(7): 1846-1854.
- [9] Kim E, Erdos G, Huang SH, et al. Microneedle array delivered recombinant coronavirus vaccines: immunogenicity and rapid translational development. *EBioMedicine*, 2020, 55: 102743.
- [10] Gala RP, Zaman RU, D'Souza MJ, et al. Novel whole-cell inactivated *Neisseria gonorrhoeae* microparticles as vaccine formulation in microneedle-based transdermal immunization. *Vaccines*, 2018, 6(3): 60.
- [11] Stinson JA, Raja WK, Lee SG, et al. Silk fibroin microneedles for transdermal vaccine delivery. *ACS Biomater Sci Eng*, 2017, 3(3): 360-369.
- [12] Yenkeidok-Douti L, Barillas-Mury C, Jewell CM. Design of dissolvable microneedles for delivery of a Pfs47-based malaria transmission-blocking vaccine. *ACS Biomater Sci Eng*, 2021, 7(5): 1854-1862.
- [13] Matsuo K, Hirobe S, Yokota Y, et al. Transcutaneous immunization using a dissolving microneedle array protects against tetanus, diphtheria, malaria, and influenza. *J Control Release*, 2012, 160(3): 495-501.
- [14] Pan JT, Ruan WY, Qin MY, et al. Intradermal delivery of STAT3 siRNA to treat melanoma via dissolving microneedles. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 1117.
- [15] Cole G, Ali AA, McCrudden CM, et al. DNA vaccination for cervical cancer: strategic optimisation of *RALA* mediated gene delivery from a biodegradable microneedle system. *Eur J Pharm Biopharm*, 2018, 127: 288-297.
- [16] Tawde SA, Chablani L, Akalkotkar A, et al. Evaluation of microparticulate ovarian cancer vaccine via transdermal route of delivery. *J Control Release*, 2016,

- 235: 147-154.
- [17] O'Shea J, Prausnitz MR, Roupheal N. Dissolvable microneedle patches to enable increased access to vaccines against SARS-CoV-2 and future pandemic outbreaks. *Vaccines*, 2021, 9(4): 320.
- [18] Jung EC, Maibach HI. Animal models for percutaneous absorption. *J Appl Toxicol*, 2015, 35(1): 1-10.
- [19] Robertson K, Rees JL. Variation in epidermal morphology in human skin at different body sites as measured by reflectance confocal microscopy. *Acta Derm Venereol*, 2010, 90(4): 368-373.
- [20] Korkmaz E, Balmert SC, Sumpter TL, et al. Microarray patches enable the development of skin-targeted vaccines against COVID-19. *Adv Drug Deliv Rev*, 2021, 171: 164-186.
- [21] Korkmaz E, Balmert SC, Carey CD, et al. Emerging skin-targeted drug delivery strategies to engineer immunity: a focus on infectious diseases. *Expert Opin Drug Deliv*, 2021, 18(2): 151-167.
- [22] Sheng T, Luo BW, Zhang WT, et al. Microneedle-mediated vaccination: innovation and translation. *Adv Drug Deliv Rev*, 2021, 179: 113919.
- [23] Lee MS, Pan CX, Nambudiri VE. Transdermal approaches to vaccinations in the COVID-19 pandemic era. *Ther Adv Vaccines Immunother*, 2021, 9: 25151355211039073.
- [24] Chambers ES, Vukmanovic-Stejić M. Skin barrier immunity and ageing. *Immunology*, 2020, 160(2): 116-125.
- [25] Li D, Wu M. Pattern recognition receptors in health and diseases. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6(1): 291.
- [26] Nestle FO, Di Meglio P, Qin JZ, et al. Skin immune sentinels in health and disease. *Nat Rev Immunol*, 2009, 9(10): 679-691.
- [27] Fiorentino DF, Zlotnik A, Mosmann TR, et al. IL-10 inhibits cytokine production by activated macrophages. *J Immunol*, 1991, 147(11): 3815-3822.
- [28] Tamoutounour S, Williams M, Montanana Sanchis F, et al. Origins and functional specialization of macrophages and of conventional and monocyte-derived dendritic cells in mouse skin. *Immunity*, 2013, 39(5): 925-938.
- [29] Marshall JS, Portales-Cervantes L, Leong E. Mast cell responses to viruses and pathogen products. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(17): 4241.
- [30] Sumpter TL, Balmert SC, Kaplan DH. Cutaneous immune responses mediated by dendritic cells and mast cells. *JCI Insight*, 2019, 4(1): e123947.
- [31] Aich K, Singh T, Dang S. Advances in microneedle-based transdermal delivery for drugs and peptides. *Drug Deliv Transl Res*, 2021: 2021Sep26.
- [32] Toyoda M, Hama S, Ikeda Y, et al. Anti-cancer vaccination by transdermal delivery of antigen peptide-loaded nanogels *via* iontophoresis. *Int J Pharm*, 2015, 483(1/2): 110-114.
- [33] Ma SS, Liu C, Li B, et al. Sonophoresis enhanced transdermal delivery of cisplatin in the xenografted tumor model of cervical cancer. *Onco Targets Ther*, 2020, 13: 889-902.
- [34] Bal SM, Ding Z, Kersten GFA, et al. Microneedle-based transcutaneous immunisation in mice with N-trimethyl chitosan adjuvanted diphtheria toxoid formulations. *Pharm Res*, 2010, 27(9): 1837-1847.
- [35] Ding Z, Verbaan FJ, Bivas-Benita M, et al. Microneedle arrays for the transcutaneous immunization of diphtheria and influenza in BALB/c mice. *J Control Release*, 2009, 136(1): 71-78.
- [36] Yin DF, Liang WQ, Xing SX, et al. Hepatitis B DNA vaccine-polycation nano-complexes enhancing immune response by percutaneous administration with microneedle. *Biol Pharm Bull*, 2013, 36(8): 1283-1291.
- [37] Carey JB, Vrdoljak A, O'Mahony C, et al. Microneedle-mediated immunization of an adenovirus-based malaria vaccine enhances antigen-specific antibody immunity and reduces anti-vector responses compared to the intradermal route. *Sci Rep*, 2014, 4: 6154.
- [38] Zuo WL, Li JY, Jiang WW, et al. Dose-sparing intradermal DTaP-sIPV immunization with a hollow microneedle leads to superior immune responses. *Front Microbiol*, 2021, 12: 757375.
- [39] Huang J, D'Souza AJ, Alarcon JB, et al. Protective immunity in mice achieved with dry powder formulation and alternative delivery of plague F1-V vaccine. *Clin Vaccine Immunol*, 2009, 16(5): 719-725.
- [40] Van Der Maaden K, Heuts J, Camps M, et al. Hollow microneedle-mediated micro-injections of a liposomal HPV E743-63 synthetic long peptide vaccine for efficient induction of cytotoxic and T-helper responses. *J Control Release*, 2018, 269: 347-354.
- [41] Pamornpathomkul B, Niyomtham N, Yingyongnarongkul BE, et al. Cationic niosomes for enhanced skin immunization of plasmid DNA-encoding ovalbumin *via* hollow microneedles. *AAPS PharmSciTech*, 2018,

- 19(1): 481-488.
- [42] Larrañeta E, Lutton REM, Woolfson AD, et al. Microneedle arrays as transdermal and intradermal drug delivery systems: materials science, manufacture and commercial development. *Mater Sci Eng R Rep*, 2016, 104: 1-32.
- [43] Kommareddy S, Baudner BC, Bonificio A, et al. Influenza subunit vaccine coated microneedle patches elicit comparable immune responses to intramuscular injection in Guinea pigs. *Vaccine*, 2013, 31(34): 3435-3441.
- [44] Jeong HR, Bae JY, Park JH, et al. Preclinical study of influenza bivalent vaccine delivered with a two compartmental microneedle array. *J Control Release*, 2020, 324: 280-288.
- [45] Chen XF, Kask AS, Crichton ML, et al. Improved DNA vaccination by skin-targeted delivery using dry-coated densely-packed microprojection arrays. *J Control Release*, 2010, 148(3): 327-333.
- [46] Edens C, Collins ML, Ayers J, et al. Measles vaccination using a microneedle patch. *Vaccine*, 2013, 31(34): 3403-3409.
- [47] Kines RC, Zarnitsyn V, Johnson TR, et al. Vaccination with human papillomavirus pseudovirus-encapsidated plasmids targeted to skin using microneedles. *PLoS ONE*, 2015, 10(3): e0120797.
- [48] Choi IJ, Cha HR, Hwang SJ, et al. Live vaccinia virus-coated microneedle array patches for smallpox vaccination and stockpiling. *Pharmaceutics*, 2021, 13(2): 209.
- [49] Fernando GJP, Hickling J, Jayashi Flores CM, et al. Safety, tolerability, acceptability and immunogenicity of an influenza vaccine delivered to human skin by a novel high-density microprojection array patch (Nanopatch™). *Vaccine*, 2018, 36(26): 3779-3788.
- [50] Forster AH, Witham K, Depelseñaire ACI, et al. Safety, tolerability, and immunogenicity of influenza vaccination with a high-density microarray patch: results from a randomized, controlled phase I clinical trial. *PLoS Med*, 2020, 17(3): e1003024.
- [51] Yalcintas EP, Ackerman DS, Korkmaz E, et al. Analysis of *in vitro* cytotoxicity of carbohydrate-based materials used for dissolvable microneedle arrays. *Pharm Res*, 2020, 37(3): 33.
- [52] Kuwentrai C, Yu JM, Rong L, et al. Intradermal delivery of receptor-binding domain of SARS-CoV-2 spike protein with dissolvable microneedles to induce humoral and cellular responses in mice. *Bioeng Transl Med*, 2021, 6(1): e10202.
- [53] Tran KTM, Gavitt TD, Farrell NJ, et al. Transdermal microneedles for the programmable burst release of multiple vaccine payloads. *Nat Biomed Eng*, 2021, 5(9): 998-1007.
- [54] Stinson JA, Palmer CR, Miller DP, et al. Thin silk fibroin films as a dried format for temperature stabilization of inactivated polio vaccine. *Vaccine*, 2020, 38(7): 1652-1660.
- [55] Yang HW, Ye L, Guo XD, et al. Ebola vaccination using a DNA vaccine coated on PLGA-PLL/γPGA nanoparticles administered using a microneedle patch. *Adv Healthcare Mater*, 2017, 6(1): 1600750.
- [56] Sullivan SP, Koutsonanos DG, Del Pilar Martin M, et al. Dissolving polymer microneedle patches for influenza vaccination. *Nat Med*, 2010, 16(8): 915-920.
- [57] Rouphael NG, Paine M, Mosley R, et al. The safety, immunogenicity, and acceptability of inactivated influenza vaccine delivered by microneedle patch (TIV-MNP 2015): a randomised, partly blinded, placebo-controlled, phase 1 trial. *Lancet*, 2017, 390(10095): 649-658.
- [58] Hirobe S, Azukizawa H, Hanafusa T, et al. Clinical study and stability assessment of a novel transcutaneous influenza vaccination using a dissolving microneedle patch. *Biomaterials*, 2015, 57: 50-58.
- [59] Yu ZQ, Cao WD, Gao XC, et al. With chitosan and PLGA as the delivery vehicle, *Toxoplasma gondii* oxidoreductase-based DNA vaccines decrease parasite burdens in mice. *Front Immunol*, 2021, 12: 726615.
- [60] Leone M, Romeijn S, Slütter B, et al. Hyaluronan molecular weight: effects on dissolution time of dissolving microneedles in the skin and on immunogenicity of antigen. *Eur J Pharm Sci*, 2020, 146: 105269.
- [61] Bonificio A, Ghartey-Tagoe E, Gallorini S, et al. Fabrication of cell culture-derived influenza vaccine dissolvable microstructures and evaluation of immunogenicity in Guinea pigs. *Vaccine*, 2015, 33(25): 2930-2938.
- [62] Schepens B, Vos PJ, Saelens X, et al. Vaccination with influenza hemagglutinin-loaded ceramic nanoporous microneedle arrays induces protective immune responses. *Eur J Pharm Biopharm*, 2019, 136: 259-266.
- [63] Davis SP, Prausnitz MR, Allen MG. Fabrication and characterization of laser micromachined hollow microneedles. *TRANSDUCERS' 03.12th International*

- Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems. Digest of Technical Papers (Cat. No.03TH8664). June 8-12, 2003, Boston, MA, USA. IEEE, 2003: 1435-1438.
- [64] Shikida M, Hasada T, Sato K. Fabrication of a hollow needle structure by dicing, wet etching and metal deposition. *J Micromech Microeng*, 2006, 16(10): 2230-2239.
- [65] Mansoor I, Liu Y, Häfeli UO, et al. Arrays of hollow out-of-plane microneedles made by metal electrodeposition onto solvent cast conductive polymer structures. *J Micromech Microeng*, 2013, 23(8): 085011.
- [66] Li W, Li S, Fan XY, et al. Microneedle patch designs to increase dose administered to human subjects. *J Control Release*, 2021, 339: 350-360.
- [67] Mantegazza AR, Savina A, Vermeulen M, et al. NADPH oxidase controls phagosomal pH and antigen cross-presentation in human dendritic cells. *Blood*, 2008, 112(12): 4712-4722.
- [68] Al-Qallaf B, Das DB, Davidson A. Transdermal drug delivery by coated microneedles: geometry effects on drug concentration in blood. *Asia Pac J Chem Eng*, 2009, 4(6): 845-857.
- [69] Aggarwal P, Johnston CR. Geometrical effects in mechanical characterizing of microneedle for biomedical applications. *Sens Actuat B Chem*, 2004, 102(2): 226-234.
- [70] Loizidou EZ, Inoue NT, Ashton-Barnett J, et al. Evaluation of geometrical effects of microneedles on skin penetration by CT scan and finite element analysis. *Eur J Pharm Biopharm*, 2016, 107: 1-6.
- [71] Bae WG, Ko H, So JY, et al. Snake fang-inspired stamping patch for transdermal delivery of liquid formulations. *Sci Transl Med*, 2019, 11(503): eaaw3329.
- [72] Plamadeala C, Gosain SR, Hischen F, et al. Bio-inspired microneedle design for efficient drug/vaccine coating. *Biomed Microdevices*, 2019, 22(1): 8.
- [73] Zhang X, Wang F, Yu Y, et al. Bio-inspired clamping microneedle arrays from flexible ferrofluid-configured moldings. *Chin Sci Bull*, 2019, 64(15): 1110-1117.
- [74] Zhang X, Chen G, Yu Y, et al. Bio-inspired adhesive and antibacterial microneedles for versatile transdermal drug delivery. *Research (Wash D C)*, 2020, 2020: 3672120.
- [75] Dervisevic M, Alba M, Adams TE, et al. Electrochemical immunosensor for breast cancer biomarker detection using high-density silicon microneedle array. *Biosens Bioelectron*. 2021; 192: 113496.
- [76] Dhanjai, Mugo SM, Lu WH. Modified stainless steel microneedle electrode for polyphenolics detection. *Anal Bioanal Chem*, 2020, 412(26): 7063-7072.
- [77] Cai B, Xia W, Bredenberg S, et al. Self-setting bioceramic microscopic protrusions for transdermal drug delivery. *J Mater Chem B*, 2014, 2(36): 5992-5998.
- [78] He ML, Yang GZ, Zhao XY, et al. Intradermal implantable PLGA microneedles for etonogestrel sustained release. *J Pharm Sci*, 2020, 109(6): 1958-1966.
- [79] Zainal Abidin HE, Ooi PC, Tiong TY, et al. Stress and deformation of optimally shaped silicon microneedles for transdermal drug delivery. *J Pharm Sci*, 2020, 109(8): 2485-2492.
- [80] Hou MH, Zhu WY, Ye YD. Cutaneous silica granuloma with generalized involvement of lymph nodes. *J Dermatol*, 2011, 38(7): 697-701.
- [81] Kolli CS, Banga AK. Characterization of solid maltose microneedles and their use for transdermal delivery. *Pharm Res*, 2008, 25(1): 104-113.
- [82] Li GH, Badkar A, Nema S, et al. *In vitro* transdermal delivery of therapeutic antibodies using maltose microneedles. *Int J Pharm*, 2009, 368(1/2): 109-115.
- [83] Donnelly RF, Morrow DIJ, Singh TRR, et al. Processing difficulties and instability of carbohydrate microneedle arrays. *Drug Dev Ind Pharm*, 2009, 35(10): 1242-1254.
- [84] Zhao J, Xu GY, Yao X, et al. Microneedle-based insulin transdermal delivery system: current status and translation challenges. *Drug Deliv Transl Res*, 2021: 1-25.
- [85] Ingrole RSJ, Gill HS. Microneedle coating methods: a review with a perspective. *J Pharmacol Exp Ther*, 2019, 370(3): 555-569.
- [86] Kim YC, Quan FS, Compans RW, et al. Formulation and coating of microneedles with inactivated influenza virus to improve vaccine stability and immunogenicity. *J Control Release*, 2010, 142(2): 187-195.
- [87] Chou SF, Woodrow KA. Relationships between mechanical properties and drug release from electrospun fibers of PCL and PLGA blends. *J Mech Behav Biomed Mater*, 2017, 65: 724-733.
- [88] Dong LY, Li YC, Li Z, et al. Au nanocage-strengthened

- dissolving microneedles for chemo-photothermal combined therapy of superficial skin tumors. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2018, 10(11): 9247-9256.
- [89] Yan L, Raphael AP, Zhu XY, et al. Nanocomposite-strengthened dissolving microneedles for improved transdermal delivery to human skin. *Adv Healthc Mater*, 2014, 3(4): 555-564.
- [90] Mc Crudden MTC, Larrañeta E, Clark A, et al. Design, formulation and evaluation of novel dissolving microarray patches containing a long-acting rilpivirine nanosuspension. *J Control Release*, 2018, 292: 119-129.
- [91] Chen CM, Hu ZG, Liu SB, et al. Emerging trends in regenerative medicine: a scientometric analysis in CiteSpace. *Expert Opin Biol Ther*, 2012, 12(5): 593-608.
- [92] 陈悦, 陈超美, 刘则渊, 等. CiteSpace 知识图谱的方法论功能. *科学学研究*, 2015, 33(2): 242-253.
Chen Y, Chen CM, Liu ZY, et al. The methodology function of CiteSpace mapping knowledge domains. *Stud Sci Sci*, 2015, 33(2): 242-253 (in Chinese).
- [93] Rajput A, Kulkarni M, Deshmukh P, et al. A key role by polymers in microneedle technology: a new era. *Drug Dev Ind Pharm*, 2022, 1-20.
- [94] Cordeiro AS, Tekko IA, Jomaa MH, et al. Two-photon polymerisation 3D printing of microneedle array templates with versatile designs: application in the development of polymeric drug delivery systems. *Pharm Res*, 2020, 37(9): 174.
- [95] Han D, Morde RS, Mariani S, et al. 4D printing of a bio-inspired microneedle array with backward-facing barbs for enhanced tissue adhesion. *Adv Funct Mater*, 2020, 30(11): 1909197.
- [96] Sully RE, Moore CJ, Garelick H, et al. Nanomedicines and microneedles: a guide to their analysis and application. *Anal Methods*, 2021, 13(30): 3326-3347.
- [97] Römogens AM, Bader DL, Bouwstra JA, et al. Predicting the optimal geometry of microneedles and their array for dermal vaccination using a computational model. *Comput Methods Biomech Biomed Engin*, 2016, 19(15): 1599-1609.
- [98] Koutsonanos DG, Esser ES, McMaster SR, et al. Enhanced immune responses by skin vaccination with influenza subunit vaccine in young hosts. *Vaccine*, 2015, 33(37): 4675-4682.
- [99] Cole G, Ali AA, McErlean E, et al. DNA vaccination via RALA nanoparticles in a microneedle delivery system induces a potent immune response against the endogenous prostate cancer stem cell antigen. *Acta Biomater*, 2019, 96: 480-490.
- [100] Chen YH, Lai KY, Chiu YH, et al. Implantable microneedles with an immune-boosting function for effective intradermal influenza vaccination. *Acta Biomater*, 2019, 97: 230-238.
- [101] Turvey ME, Uppu DSSM, Mohamed Sharif AR, et al. Microneedle-based intradermal delivery of stabilized dengue virus. *Bioeng Transl Med*, 2019, 4(2): e10127.
- [102] Golombek S, Pilz M, Steinle H, et al. Intradermal delivery of synthetic mRNA using hollow microneedles for efficient and rapid production of exogenous proteins in skin. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2018, 11: 382-392.
- [103] Koh KJ, Liu Y, Lim SH, et al. Formulation, characterization and evaluation of mRNA-loaded dissolvable polymeric microneedles (RNA patch). *Sci Rep*, 2018, 8(1): 11842.
- [104] Micron Biomedical, Inc. Measles and Rubella Vaccine Microneedle Patch Phase 1-2 Age De-escalation Trial[EB/OL]. [2022-03-23]. <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04394689>.

(本文责编 郝丽芳)