

## 脂质纳米药物体内递送过程及调控机制

丁天皓<sup>1</sup>, 吴尔灿<sup>2</sup>, 占昌友<sup>1,2\*</sup>

(1. 复旦大学基础医学院, 上海 200032; 2. 复旦大学药学院, 上海 201203)

**摘要:** 脂质纳米载体是经典的药物递送系统之一, 具有良好的生物相容性和生物可降解性, 可以有效降低抗肿瘤和抗感染药物的毒副作用, 但在增强治疗效果上远未满足临床需求, 临床应用仍然十分局限。脂质纳米药物体内过程复杂, 与机体发生相互作用后载体自身也会诱发机制不明的生物学效应, 导致药物体内性能异于设计预期, 严重阻碍临床转化。深入研究脂质纳米药物本征性质、体内递送过程及机体调控机制, 不仅为载体的理性设计提供指导, 也将助推新型脂质纳米药物的临床转化及精准用药。本文分别从脂质纳米药物体内递送过程、影响因素和调控手段三个方面进行综述, 为脂质纳米药物相关研究提供参考。

**关键词:** 脂质纳米药物; 体内递送过程; 蛋白冠; 调控机制; 干预策略

中图分类号: R944 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2023)08-2283-09

## *In vivo* delivery process and regulating mechanisms of lipid-based nanomedicines

DING Tian-hao<sup>1</sup>, WU Er-can<sup>2</sup>, ZHAN Chang-you<sup>1,2\*</sup>

(1. School of Basic Medical Sciences, Fudan University, Shanghai 200032, China; 2. School of Pharmacy, Fudan University, Shanghai 201203, China)

**Abstract:** Lipid-based nanocarrier is a classic drug delivery system with great biocompatibility and biodegradability. It can effectively reduce the toxicity of anti-tumor and anti-infective drugs in clinical practice. However, it has not yet met the clinical demand for enhanced therapeutic efficacy, and the clinical application is still very limited. The complex *in vivo* delivery process of lipid-based nanomedicine and the reciprocal interactions with body lead to unexpected changes in *in vivo* performance of nanomedicine and seriously hinder clinical translation. Therefore, the in-depth study of the relationships among intrinsic properties of lipid-based nanomedicine, the *in vivo* delivery process, and the regulatory mechanisms will not only provide guidance for the rational design of nanocarriers, but also promote the clinical translation and precision medicine of new lipid-based nanomedicine. In this review, we summarize the *in vivo* delivery process, regulating factors and intervention strategies for the *in vivo* delivery of lipid-based nanomedicine.

**Key words:** lipid-based nanomedicine; *in vivo* delivery process; protein corona; regulatory mechanism; intervention strategy

在过去的几十年中, 基于脂质的纳米递送系统的问世使得纳米药物领域的研究到达了新高度。纳米载

体能够封装不同类型的药物分子, 具有改善药物溶解度、延长循环、实现药物缓控释和靶向递送等优势。脂质是生物体重要成分, 包括脂肪、磷脂、固醇类等, 其中, 磷脂、固醇类是生物膜的主要成分。与其他纳米制剂相比, 基于脂质的纳米载体具有良好的生物相容性和完全的生物可降解性, 载体毒性和免疫原性低, 在治疗各种疾病的临床实践中具有巨大潜力。目前上市的

收稿日期: 2023-04-11; 修回日期: 2023-06-14.

基金项目: 国家自然科学基金杰出青年基金资助项目 (82125035); 上海市教委重大项目 (2021-01-07-00-07-E00081).

\*通讯作者 Tel: 86-21-54237379, E-mail: cyzhan@fudan.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2023-0453

纳米药物大多是以脂质体、脂质纳米粒 (lipid nanoparticles, LNP) 为代表的基于脂质的纳米递送系统, 被广泛用于癌症治疗、病毒或真菌感染、镇痛和基因递送等诸多领域。

尽管脂质纳米药物的研究已历经几十年, 但其体内递送过程及与生物体之间的相互作用仍未阐明。脂质纳米药物临床应用或在研产品大多数采用注射途径给药, 脂质纳米载体携带药物进入全身血液循环 (或由淋巴回流进入全身血液循环) 后向病灶部位转运, 所涉及的体内过程极其复杂, 不仅可通过改变包载药物的药动学、生物分布、胞内递送、释放、代谢和排泄等特征影响药物体内性能, 载体作为外源性“颗粒”也会与机体互作产生机制复杂的生物学效应, 影响脂质纳米药物的临床转化与精准用药<sup>[1]</sup>。例如, 长循环多柔比星脂质体可以有效降低游离多柔比星注射相关的心肌毒性, 但长期注射会产生手足综合征、注射反应等机制不明的不良反应<sup>[2]</sup>; 多种脂质纳米药物 (包括 mRNA 新冠疫苗) 临床使用过程中产生超敏反应<sup>[3]</sup>等, 均与脂质纳米载体机体互作相关。随新冠 mRNA 疫苗的广泛接种, 有临床数据显示该疫苗可诱导产生自身免疫性肝炎, 但相关机制尚不明确<sup>[4]</sup>。脂质纳米载体在体内转运过程中, 吸附血液、组织液或胞浆中内源性大分子 (蛋白质、脂质等) 形成“生物冠”, 很大程度上影响脂质纳米载体与机体互作, 且由于生物冠组成极为复杂, 增加了脂质纳米载体体内生物学效应的不确定性<sup>[5]</sup>。相比于其他无机纳米载体, 脂质纳米载体多数是自组装系统, 其体内的完整性较难实时动态追踪, 主要组成成分 (磷脂、胆固醇等) 与细胞膜类似, 探究其与细胞以及组织之间的相互作用更是难上加难, 至今缺乏深入系统研究。因此, 厘清脂质纳米药物体内过程, 揭示过程相关生物学效应, 进而基于体内过程及生物学效应机制, 通过脂质纳米载体设计、机体生理病理环境调控等手段, 主动精准调控脂质纳米载体体内性能, 将极大推动脂质纳米药物临床转化及精准用药。

## 1 脂质纳米药物体内递送过程

### 1.1 吸收入血

除最常见的静脉给药 (静注、推注) 途径外, 脂质纳米药物同样广泛应用于口服、肌肉注射 (皮下、皮内、肌内)、经鼻吸入和滴眼等, 但无论采用何种途径给药, 脂质纳米药物都会通过血液或淋巴循环进入靶组织和脱靶组织<sup>[6]</sup>。口服给药的脂质纳米药物通过肠道黏膜黏附、跨黏液层易位后, 被派氏结 M 细胞内吞经淋巴进入血液循环<sup>[7]</sup>。肌肉注射的脂质纳米药物少数通过毛细血管渗透进入血液循环, 大部分被注射部位的毛细淋巴管吸收, 未被淋巴管捕获的脂质纳米药物

会通过淋巴循环进入血液<sup>[8]</sup>。经鼻腔吸入和滴眼等黏膜给药的脂质纳米药物虽然大部分在局部发挥药效, 但是也会少量通过鼻黏膜、视网膜进入血液<sup>[9,10]</sup>。

### 1.2 血液循环

脂质纳米药物经不同的吸收途径或直接静脉输注进入血液循环后, 表面的吉布斯自由能较高, 导致血浆中的生物分子 (蛋白质、脂质、糖类) 顺势能梯度吸附在其表面形成生物冠<sup>[11]</sup>。血浆中蛋白含量高, 在血液循环中脂质纳米颗粒吸附的生物分子以蛋白为主。丰度较高的血浆蛋白在 30 s 内快速结合在脂质纳米颗粒表面, 随着时间的推移, 逐渐被对颗粒表面亲和力更高的蛋白质所取代<sup>[12]</sup>。吸附蛋白冠后, 部分纳米药物被循环白细胞吞噬, 随细胞迁移至其他区域, 其余纳米药物随血液循环至全身各处。

### 1.3 血管渗透

血液循环的脂质纳米药物有多种血管外渗途径。① 被动运输: 在生理状态下, 不同器官的毛细血管存在大小不一的间隙, 允许特定大小的纳米颗粒从血液中逸出<sup>[13]</sup>; ② 主动运输: 通过配体直接修饰或间接吸附功能性血浆蛋白后, 脂质纳米药物可以通过血管内皮细胞对应的膜受体介导内吞转运出血管<sup>[14]</sup>; ③ 白细胞介导: 由于血液循环白细胞具有吞噬、趋化能力, 在外周血中可直接捕获脂质纳米颗粒, 并携带其外渗出血管进入组织<sup>[15]</sup>。同时, 在白细胞外渗的过程中, 血管壁被短暂打开, 造成纳米颗粒随之顺浓度梯度外渗<sup>[16]</sup>。血管渗透对脂质纳米药物在靶组织 (如肿瘤) 的富集和发挥药效至关重要, 但是在非靶部位的渗透也可能引发意料之外的不良反应 (如脂质体多柔比星临床皮肤毒性)。

### 1.4 组织间质转运

外渗出血管后, 脂质纳米药物进入了充满间质液的细胞外基质 (extracellular matrix, ECM)。ECM 是由胶原蛋白、糖胺聚糖、纤连蛋白、层粘连蛋白和其余糖蛋白组成的非细胞三维大分子网络, 其网状结构阻止大粒径脂质纳米颗粒的渗透和与细胞的进一步接触<sup>[17]</sup>。

### 1.5 细胞结合

脂质纳米药物结构与组成与细胞膜类似, 故可直接通过膜融合方式进入细胞并释放包载的药物或基因<sup>[18]</sup>, 其表面修饰了靶分子、吸附了功能性血浆蛋白或调理素后, 脂质纳米药物可以通过受体介导的胞饮作用 (网格蛋白依赖性<sup>[19]</sup>、小窝蛋白依赖性<sup>[19]</sup>和巨胞饮<sup>[20]</sup>等) 进入细胞, 继而并发挥药效或产生免疫反应。

### 1.6 胞内转运

通过网格蛋白介导入胞的脂质纳米药物起初会进入早期内涵体囊泡, 随后融合形成内体分选转运复合

物,并转移至溶酶体<sup>[21]</sup>;而通过小窝蛋白依赖性内吞作用入胞的纳米药物开始会进入非溶酶体的亚细胞区室中,最终扩散到细胞质中并进入高尔基体和内质网<sup>[22]</sup>。通过巨胞饮途径内化的脂质纳米药物有两种转运途径:少量脂质纳米药物从巨噬小体转运到内吞循环室,最终分泌到细胞外;而大多数药物直接进入晚期内体,并被溶酶体降解或通过内质网-高尔基体途径以及外泌体分泌途径转运出细胞<sup>[23]</sup>。

### 1.7 体内清除

外周血中的脂质纳米药物主要通过肾脏排泄和肝胆排泄两种途径排出体外<sup>[24]</sup>。在血液循环过程中,部分脂质纳米颗粒被生物酶降解,经肾脏滤过并从尿液排出体外;而未被降解的脂质纳米药物在血液循环中会吸附调理素蛋白,快速地被肝脏非实质细胞(肝窦内皮细胞、库否细胞)内吞,随后被溶酶体中水解酶降解并最终随胆汁排泄到肠道。

## 2 影响脂质纳米药物体内递送过程的因素

### 2.1 蛋白冠

血液循环的脂质纳米药物吸附蛋白质形成蛋白冠后,表面性质随之改变。蛋白冠是影响纳米药物与生物体相互作用模式和体内递送过程的最重要的因素,脂质纳米颗粒自身性质、机体的环境均可通过影响蛋白冠的组成调控纳米颗粒的体内递送过程。蛋白冠可通过以下途径影响脂质纳米药物的体内递送过程:①改变脂质纳米药物体内分散状态,产生聚集现象,颗粒变大,增强单核吞噬细胞系统(mononuclear phagocyte system, MPS)识别,加速药物清除<sup>[25]</sup>;②改变脂质纳米药物的结构和组成,导致聚乙二醇(PEG)修饰的脂质脱落,加速药物清除<sup>[26]</sup>;③改变脂质纳米药物表面吸附血浆蛋白的构象及活性,刺激机体产生免疫反应,提高药物清除速率<sup>[27]</sup>;④蛋白冠中的调理素(如免疫球蛋白和补体蛋白等)可通过调理作用增强MPS对脂质纳米药物的识别并引起免疫反应<sup>[28]</sup>;⑤脂质纳米药物表面吸附的非调理素类蛋白(如载脂蛋白和白蛋白等),可减缓MPS对脂质纳米载体的清除作用,延长药物血循环时间<sup>[29]</sup>;⑥非功能性蛋白依附在载体表面后会屏蔽靶分子的受体结合位点,减少药物在病灶部位和靶细胞中的分布<sup>[30]</sup>;⑦功能性蛋白(如载脂蛋白、玻连蛋白等)依附在载体表面后可直接与靶细胞的膜受体结合,而后通过网格蛋白介导的内吞作用提升细胞内化水平,从而实现靶向递送<sup>[31]</sup>。本文将从纳米颗粒自身特性和机体环境两方面,介绍其通过调控蛋白冠组成对脂质纳米药物的体内递送的影响。

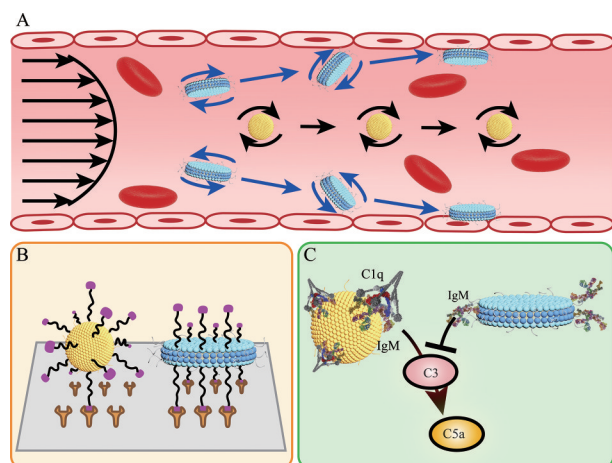
### 2.2 脂质纳米颗粒本征性质

**2.2.1 粒径** 粒径是脂质纳米药物重要的本征性质,

可以直接影响纳米颗粒的组织分布和溶酶体逃逸。据报道,直径小于400 nm的脂质体可以通过肿瘤毛细血管的孔隙进入癌组织,从而增加在肿瘤组织的药物浓度和保留时间<sup>[32]</sup>;直径为30 nm或更小的LNP虽然对肿瘤等病变组织的渗透能力较强,但小粒径的LNP在血浆中稳定性较低,氨基脂质的快速解离减弱了其溶酶体逃逸的能力,导致基因表达效力低<sup>[33]</sup>。粒径还可以通过影响蛋白冠吸附间接改变脂质纳米药物血液循环时间和体内清除。例如,对于未经修饰的脂质纳米药物,粒径的减小会降低血浆中补体和免疫球蛋白对脂质纳米药物的识别,从而延长了血液循环时间<sup>[34]</sup>;然而,研究<sup>[35]</sup>表明,粒径约为70 nm的PEG化脂质体相比于150~200 nm的脂质体,其表面曲率和PEG链间距较大,导致空间位阻减小,调理素蛋白吸附增加,最终体内清除加快。因此,粒径对不同的脂质纳米药物体内命运的影响存在很大差异。

**2.2.2 形状** 脂质纳米药物的形状对其血液循环时间、血管渗透和细胞内化有显著影响。常见的脂质纳米药物载体(如脂质体、LNP、胶束等)大多是球形颗粒,由于各向同性受到的横向作用力较小,因此随红细胞在血管中心部位流动,难以靠近血管壁并与血管内皮细胞接触(图1A);而呈现扁圆形的脂质纳米圆盘在血流中会受到扭矩力的影响产生翻滚、旋转等现象,增加与血管内皮细胞靠近的几率,同时其可供黏附的面积更大,因此可以牢固地附着于血管壁表面<sup>[36]</sup>(图1B)。本课题组近期研究发现,脂质纳米药物的形状可以通过影响吸附蛋白质的模式和功能规避体内清除和改变组织、细胞分布情况。Chen等<sup>[37]</sup>发现,相比于球形的脂质纳米载体,脂质纳米圆盘中PEG主要分布于狭窄的边缘区域,具有五聚体结构的免疫球蛋白M(immunoglobulin M, IgM)无法呈现正确的构象,难以暴露结合位点供补体因子C1q附着,从而较少激活补体并规避MPS吞噬(图1C);同时脂质圆盘在血循环中选择性吸附载脂蛋白,通过结合脑血管内皮细胞上的低密度脂蛋白受体实现靶向。Wang等<sup>[38]</sup>同样发现,由于脂质纳米圆盘吸附的IgM处于非活性构象,规避了重复注射导致的加速血液清除现象(accelerated blood clearance phenomenon, ABC现象),并保留了靶分子受体结合活性和靶向肿瘤能力。

**2.2.3 脂质组成和表面电位** 影响脂质纳米药物体内递送过程的另一个重要因素是制备载体的材料,其直接决定了表面电位、亲疏水性等自身特征。带正电荷的阳离子脂质纳米载体与带负电荷的细胞膜间的静电作用提高了细胞对载体的内化;同时,阳离子脂质与阴离子内体膜的融合促进了内体逃逸,从而改善了核酸



**Figure 1** Effects of particle shape on the *in vivo* delivery process of lipid-based nanomedicines. A: Discoid-shaped nanoparticles are subjected to torque forces in blood flow, undergo drift and tend to be close to the vessel walls, whereas spherical particles tend to flow in the center of the blood vessel; B: Lipid nanodiscs have larger surface area in contact with the endothelium, allowing more targeting ligands to interact with receptors; C: Due to the denser edge distribution of PEG in lipid nanodiscs, the bound anti-PEG IgM antibody can not present the correct conformation to fully expose binding sites for subsequent C1q attachment, resulting in weak complement activation, and therefore evade accelerated blood clearance phenomenon

药物的递送<sup>[39]</sup>。阳离子脂质体可以与肿瘤或慢性炎症部位的新生成血管内皮细胞表面的糖蛋白、蛋白聚糖等发生静电吸引,导致其在病灶区域的大量蓄积<sup>[40]</sup>。

除直接影响外,脂质材料的不同也会影响蛋白冠的形成。与中性脂质纳米药物相比,荷电脂质纳米药物(负电或正电)更容易吸附大量蛋白质。DOTAP和DC-胆固醇等阳离子脂质倾向于吸附带负电荷的血浆蛋白,例如玻连蛋白、凝血酶原和纤维蛋白原等;而负电荷磷脂(如DOPE)倾向于吸附更多的载脂蛋白和血清白蛋白,可能导致肝细胞摄取的增加<sup>[41,42]</sup>。荷电脂质纳米药物虽然都更容易激活血浆中的补体系统,从而加快血液清除,但激活途径不同:阳离子脂质体主要通过经典途径激活补体,而带负电荷的脂质体主要通过旁路和凝集素途径激活补体<sup>[43]</sup>。不同激活途径可能受到材料本身和蛋白冠的影响:Guan等<sup>[44]</sup>发现,表面电位偏正的脂质体通过静电作用大量吸附血浆中天然IgM,形成抗原-抗体复合物,可能通过经典途径激活补体,缩短脂质体血液循环时间;Reddy等<sup>[45]</sup>合成了表面带有大量羟基的纳米粒子,可强烈激活补体,表明羟基可以与补体成分C3b中暴露的硫酸酯结合,通过替代途径激活补体。

## 2.3 体内环境

### 2.3.1 免疫系统

免疫系统由免疫器官、免疫细胞和免疫活性物质组成,是机体执行免疫应答及免疫功能的重要系统,具有免疫监视、防御和调控的作用。作为外来物质,脂质纳米药物在体内的递送过程受到免疫系统的严格调控。

免疫器官是免疫活性细胞定居、增殖和对抗原刺激发生免疫应答的场所,其中存在淋巴细胞、单核细胞及其成熟的组织驻留细胞(如巨噬细胞)、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、多形核中性粒细胞、树突细胞和自然杀伤细胞。巨噬细胞的吞噬能力最强,细胞膜表面具有多种识别血浆蛋白的受体,主要负责纳米颗粒的体内清除。树突状细胞是专职抗原提呈细胞,吞噬脂质纳米颗粒后与T细胞和B细胞相互作用,进行抗原提呈并产生调理素,加速脂质纳米颗粒的清除。

免疫活性物质包括抗体、补体、淋巴因子、溶菌酶等,对脂质纳米药物的体内递送有着重要影响。抗体由活化的B细胞分泌或表达,一般受到T细胞的调节,但PEG化脂质纳米药物也可以直接刺激脾脏边缘B细胞,通过T细胞非依赖的途径产生抗PEG抗体,加快机体MPS对PEG化纳米药物的摄取,使其快速从血液中清除<sup>[46]</sup>。目前临床获批的脂质纳米药物虽然没有ABC现象的报道,但除刺激产生的特异性抗体外,正常人或者临床患者在没有使用过含PEG的药物或者药物载体前提下,体内预先存在抗PEG抗体,可能与PEG作为添加剂在食品、化妆品中广泛应用密切相关,且随着时间推移抗PEG抗体阳性率在人群中呈现增高趋势<sup>[47]</sup>,由1984年的0.2%<sup>[48]</sup>增加到2016年的40%<sup>[47]</sup>。人体内预存的抗PEG抗体不仅会加速脂质纳米药物体内清除以及降低疗效,而且还会导致严重的过敏等不良反应。除抗PEG抗体外,生物体内天然的IgM普遍吸附在脂质纳米药物表面,负调控其体内性能<sup>[49]</sup>。补体蛋白主要通过调理作用,吸附在脂质纳米药物表面,与吞噬细胞膜受体结合,加速脂质纳米药物的血液清除;补体的级联激活,也可以导致膜攻击复合物的形成,破坏脂质膜的完整性,导致包载的药物大量释放<sup>[50]</sup>。除加速血液清除外,本课题组还发现,长循环脂质体表面会吸附补体裂解片段iC3b,与中性粒细胞膜上的补体受体3结合后介导入胞,使脂质体随中性粒细胞跨越血管壁进入皮肤真皮层,增加脂质体的皮肤蓄积。

### 2.3.2 病理状态

脂质纳米药物已广泛应用于抗肿瘤、抗感染、疫苗递送和镇痛治疗等领域。病理状态下,机体环境发生改变,直接影响脂质纳米药物的递送过程(图2)。大多数正常组织中的血管是无缝隙的毛细血管,由单层内皮细胞组成,紧密连接。相比之下,肿瘤部位

的新生血管密度较高, 存在大量的由囊泡组成的窗孔(尺寸高达  $4.7 \mu\text{m}$ ) 和跨内皮通道, 基底膜不连续, 通常缺乏平滑肌层和周细胞, 尺寸达数百纳米的脂质纳米药物可直接穿过内皮细胞间隙外渗血管<sup>[51]</sup>; 此外, 由于肿瘤组织中淋巴引流较少, 渗透出血管的脂质纳米药物会长期滞留在肿瘤间质中, 这种现象被称为增强的通透性与滞留性 (enhanced permeability and retention effect, EPR) 效应。感染引起的炎症也存在类似于 EPR 效应的特征, 在感染的急性早期, 毛细血管通透性增加, 造成纳米药物在感染区域的快速聚集<sup>[52]</sup>。然而, 淋巴引流系统的缺失会造成肿瘤中的液体滞留以及间质液压升高现象, 尤其在肿瘤的核心更为明显, 导致血管塌陷, 血流灌注效率低, 减弱脂质纳米药物的渗透<sup>[53]</sup>。除组织液压力外, 肿瘤相关成纤维细胞产生大量的纤维状胶原蛋白和透明质酸, 增加 ECM 的密度, 压迫肿瘤脉管系统, 阻止纳米药物从血管深入肿瘤间质, 实体瘤中的 ECM 网格孔径范围在  $20 \sim 40 \text{ nm}$ , 阻止较大的纳米颗粒通过 ECM 扩散; 间质空间的曲折特质延长了纳米药物到肿瘤细胞的扩散路径, 有限的间质体积限制了纳米药物的对流<sup>[54]</sup>。进一步抑制脂质纳米药物通过肿瘤间质与肿瘤细胞接触, 造成药物和脂质纳米载体分布的异质性。

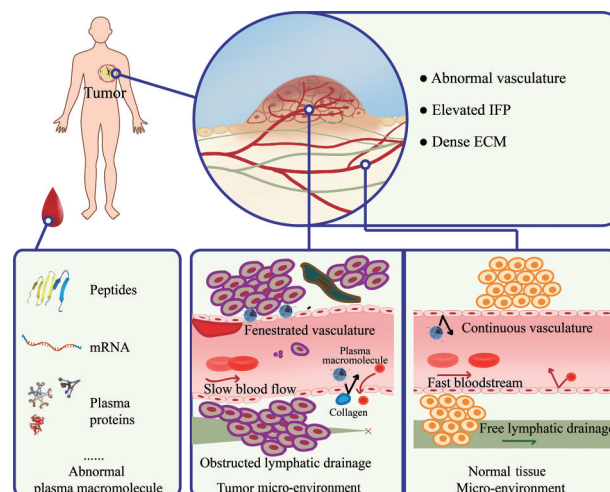
与健康人相比, 癌症患者的免疫系统紊乱, 血浆蛋白成分差异大, 影响脂质纳米药物的蛋白冠组成。Colapicchioni 等<sup>[55]</sup>研究表明, 相比于乳腺癌或胃癌, 暴露在胰腺癌患者血清的脂质体形成的蛋白冠成分更丰富, IgA 和 IgG 更多, 可能与针对癌症发展的自身抗体产生有关。Ding 等<sup>[49]</sup>发现, 不同肺癌患者血浆中 IgM 含量差异很大, 最高相差 20 倍, 与脂质体的结合活性显著影响补体激活水平, 吸附量与体内性能呈负相关。

### 3 脂质纳米药物体内递送过程调控手段

脂质纳米药物体内递送过程主要受到自身性质和机体环境两方面的影响, 因此也可以通过这两个方向进行调控, 本节主要介绍目前关于调控脂质纳米药物体内递送过程的相关研究。

#### 3.1 载体设计

**3.1.1 PEG 修饰** 通过表面修饰调节脂质纳米药物体内命运是目前研究的主流方向。最为成功的是通过亲水性聚合物包裹脂质纳米颗粒来逃避 MPS 识别。早期研究人员<sup>[56]</sup>利用神经节苷脂和磷脂酰肌醇作为脂质体的惰性涂层模拟天然细胞多糖涂层, 延长血液循环时间。后来研究人员<sup>[57]</sup>发现, 添加 PEG 化脂质也可以改善纳米药物的表面性质, 特别是表面电荷和水合作用, 可以抑制脂质纳米颗粒聚集和非特异性相互作用。此外, PEG 聚合物可以在脂质纳米药物表面形成



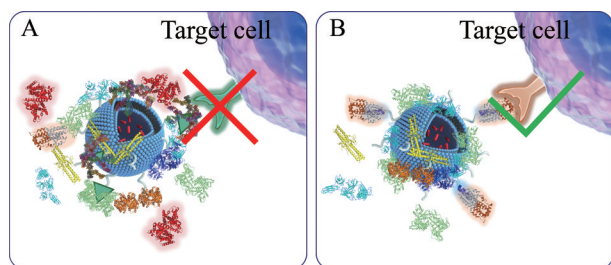
**Figure 2** Effects of tumor pathological conditions on lipid-based nanomedicines delivery. The plasma macromolecules in cancer patients are significantly different from those in healthy people, resulting in distinct bio-corona composition. The tumor interstitial fluid pressure is elevated due to the abnormal blood vessels and obstructed lymphatic drainage, which restricts nanomedicines extravasation. Besides, the extracellular matrix in the tumor are dense and stiff, hindering vascular, trans-vascular, and interstitial transport of nanomedicines. Reprinted with permission from reference<sup>[70]</sup>, copyright Elsevier

亲水保护层从而减少调理素的吸附, 延长脂质纳米药物体内血液循环时间。

PEG 化材料的应用虽然延长了粒子的血液循环时间, 但也会屏蔽纳米载体与细胞的结合, 减少靶细胞摄取; 同时, PEG 也降低了脂质纳米药物与细胞膜、溶酶体膜的融合能力, 导致脂质纳米载体难以将包载的药物释放到细胞质中。当纳米药物摄取到肿瘤间质或进入肿瘤溶酶体时, 颗粒暴露在酸性和还原性环境, PEG 通过化学键断裂从载体表面脱落, 促进纳米载体与细胞的结合和后续溶酶体逃逸<sup>[58]</sup>。LNP 与脂质体不同, 其修饰的 PEG 脂质是通过较短的烷基链 (C14) 固定在表面, 在血液循环中可以快速脱落, 从而吸附更多的载脂蛋白, 提高了肝实质细胞的摄取和核酸的细胞内递送, 并减少抗 PEG IgM 的产生<sup>[59]</sup>。

**3.1.2 靶向分子修饰** 主动靶向递送策略最早在 1980 年代提出, 通过脂质纳米药物表面所修饰的靶向分子识别对应的细胞表面受体以增加病灶部位的药物分布<sup>[60]</sup>。目前修饰的靶向分子已发展为多肽、核酸适配体、蛋白质、抗体及抗体片段和小分子等, 相比普通脂质纳米药物, 主动靶向因其选择性细胞结合能力, 有增加疗效并降低全身毒性的潜力<sup>[61]</sup>。不幸的是, 靶分子修饰后改变递药系统表面性质, 随之改变的还有载

体与机体内环境(血浆蛋白、组织间液、生物膜和细胞内液等)的相互作用,导致体内性能异于设计预期。蛋白冠是影响主动靶向型脂质纳米药物体内递送的最大障碍,可以通过屏蔽受体识别、激活免疫系统、加速血液清除等方面影响靶向递送(图3A)。



**Figure 3** Effect of protein corona on the interaction between ligand-modified lipid-based nanomedicines and target cells. A: Protein corona blocks the binding sites of targeted ligands, reducing the distribution of lipid-based nanomedicines in target cells; B: Functional proteins deposited on the surface of lipid-based nanomedicines can bind to corresponding membrane receptors outside the target cells

由于体外靶分子修饰会因蛋白冠吸附影响体内性能,通过在体内募集特定的血浆蛋白形成功能化蛋白冠,有望增强脂质纳米药物的靶向递送效率(图3B)。Zhang等<sup>[14]</sup>基于 $\beta$ -淀粉样蛋白的结构,开发了一种无毒短肽SP,可与载脂蛋白脂质结合域特异性结合。体内实验证明,SP修饰的脂质体可显著吸附血浆中载脂蛋白,暴露受体结合域,通过多种内皮细胞受体(LRP1/LRP2/SR-B1),实现高效的脑靶向递送效率。Jiang等<sup>[62]</sup>选用带正电荷的<sup>D</sup>CDX多肽作为脂质体疫苗的配体,通过静电作用吸附大量IgM,靶向到脾脏边缘B细胞,产生的免疫效应应具有较好的长效性和安全性。

**3.1.3 脂质材料变化** 除靶分子修饰外,通过脂质材料的变化也可以做到器官和细胞的选择性递送。研究者<sup>[63]</sup>开发了一种选择性器官靶向策略,通过添加带有季铵头基的阳离子脂质(DOTAP、DDAB、EPC)、阴离子脂质(14PA、18BMP)或可电离阳离子脂质,调控蛋白冠的吸附,并借助细胞受体在不同器官中表达的异质性实现将包载基因药物的LNP精准递送至肺、脾脏和肝脏。研究<sup>[64]</sup>发现,含有酰胺键尾部可电离脂质的LNP(N系列)选择性将mRNA递送到小鼠肺部,而含有酯键的LNP(O系列)倾向于递送到肝脏;同时,通过调整N系列LNP的头基结构可以实现不同肺细胞类型的靶向。总之,通过脂质材料的改变,可以调控蛋白冠吸附,从而借助受体表达的异质性靶向不同器官或细胞。

除组织、细胞分布外,脂质材料的改变还可以影响

脂质纳米药物体内逃逸能力。例如,阳离子脂质/可电离脂质可与内体膜上带负电的磷脂(如磷脂酰丝氨酸)相互静电吸附,促进脂质的混合和易位,核酸药物会通过半融合孔洞溢出进入细胞质。Miao等<sup>[65]</sup>研究表明,在可电离阳离子脂质的疏水尾部修饰不饱和炔烃可以加速其与内体膜的融合,促进LNP从内体中逃逸并释放mRNA。

### 3.2 药物干预

根据上述影响脂质纳米药物体内递送过程的环境因素,可以设计针对性干预药物以调控其体内递送并增强疗效,由于EPR效应的存在,脂质纳米药物被广泛应用于癌症治疗,然而肿瘤间质液压力较高、ECM致密以及肿瘤相关巨噬细胞的脱靶摄取,严重影响了脂质纳米药物的临床转化和应用<sup>[66]</sup>。目前,提高脂质纳米药物瘤内递送效率和治疗效果的一种有效措施是通过药物改善肿瘤微环境。通过药物修复肿瘤新生血管基底膜、增加周细胞的覆盖率,减少过多液体从血管外渗,可以降低间质液压力,进而恢复肿瘤血流,从而改善纳米药物血管转运。例如,血管内皮生长因子抑制剂(贝伐珠单抗)可以将肿瘤血管的异常结构恢复为更正常的表型,从而增加脂质纳米药物肿瘤保留<sup>[67]</sup>。临床试验表明,脂质体多柔比星与贝伐珠单抗的联合用药提高了前者的抗肿瘤活性。除血管正常化外,通过瘤内和静脉注射透明质酸酶,可以降解肿瘤部位致密的ECM并降低间质液压力。体内实验结果显示,注射透明质酸酶将肿瘤中脂质体含量提高了4倍,并促使脂质体通过组织间质进入肿瘤中心<sup>[68]</sup>。

除提高肿瘤蓄积外,干预药物还可以调控脂质纳米药物血液循环和血管渗漏过程。ABC现象主要由抗PEG IgM介导,是重复给药型PEG化脂质纳米药物工艺开发和临床转化的阻碍。Zhang等<sup>[69]</sup>利用无Fc片段(补体识别位点)的单链抗体PEG-scFv与脂质体预孵育,占据抗PEG IgM的结合位点,有效减轻补体激活和ABC现象。此外,脂质纳米药物跨血管皮肤蓄积是导致多柔比星脂质体皮肤毒性的重要原因,临床缺乏针对性干预手段。本课题组发现,提前给予不同种类补体抑制剂(蛋白类、多肽类、小分子类),可以抑制脂质体补体激活和iC3b吸附,减少中性粒细胞的摄取与跨血管转运,从而降低脂质体在皮肤中的蓄积,缓解临床高发的皮肤毒性反应。

## 4 总结与展望

基于脂质的纳米技术联合化学疗法和核酸疗法的广泛临床开发与应用,证明了脂质纳米药物在治疗癌症、抗感染、基因编辑方面的潜力。然而,成功上市的产品数量远远少于临床(前)试验中的制剂数量,这表

明脂质纳米药物从体外设计到体内性能验证、从动物到人体的临床转化存在困难和挑战。在上文中, 本综述讨论了脂质纳米药物的体内递送过程和阻碍, 并分析了调节脂质纳米药物体内命运的影响因素, 最后总结了调控体内递送过程的最新研究进展。

脂质纳米药物的体内递送过程受到多种因素的影响, 尽管已经发现了其中一些重要的影响因素 (如蛋白冠), 但大部分仍是一片蓝海。当前关于脂质纳米药物的体内递送研究主要集中在血液循环和组织分布过程, 而关于血管渗漏、跨间质运输和细胞内转运等方面的研究较为空缺, 脂质成分与细胞膜的相似性导致分析手段的缺乏是该领域的瓶颈。目前, 脂质纳米药物的体内追踪主要通过荧光染料或放射性标记的方法实现, 但生物介质、机械力 (如血流剪切力、与细胞的碰撞) 也会使标记脂质脱落、转移, 从而导致对其体内命运的误解。因此, 需要开发更精准的方法, 如利用基于单纳米粒子成像和生物正交成像的技术, 来跟踪脂质纳米药物的体内递送过程, 揭示分子调控机制, 提高对不同本征性质的脂质纳米药物体内命运的理解, 最终实现更好的纳米药物设计和评估。

**作者贡献:** 丁天皓和吴尔灿负责文献检索及论文撰写; 占昌友负责文章选题、指导写作和审阅修订。

**利益冲突:** 所有作者均声明不存在利益冲突。

## References

- [1] Zahednezhad F, Saadat M, Valizadeh H, et al. Liposome and immune system interplay: challenges and potentials [J]. *J Control Release*, 2019, 305: 194-209.
- [2] Nikolaou V, Syrigos K, Saif MW. Incidence and implications of chemotherapy related hand-foot syndrome [J]. *Expert Opin Drug Saf*, 2016, 15: 1625-1633.
- [3] Szebeni J, Storm G, Ljubimova JY, et al. Applying lessons learned from nanomedicines to understand rare hypersensitivity reactions to mRNA-based SARS-CoV-2 vaccines [J]. *Nat Nanotechnol*, 2022, 17: 337-346.
- [4] Boettler T, Csemalabics B, Salié H, et al. SARS-CoV-2 vaccination can elicit a CD8 T-cell dominant hepatitis [J]. *J Hepatol*, 2022, 77: 653-659.
- [5] Xiao Q, Zoulikha M, Qiu M, et al. The effects of protein corona on *in vivo* fate of nanocarriers [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2022, 186: 114356.
- [6] Kraft JC, Freeling JP, Wang Z, et al. Emerging research and clinical development trends of liposome and lipid nanoparticle drug delivery systems [J]. *J Pharm Sci*, 2014, 103: 29-52.
- [7] Florence AT. The oral absorption of micro- and nanoparticulates: neither exceptional nor unusual [J]. *Pharm Res*, 1997, 14: 259-266.
- [8] Oussoren C, Storm G. Liposomes to target the lymphatics by subcutaneous administration [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2001, 50: 143-156.
- [9] Behr J, Zimmermann G, Baumgartner R, et al. Lung deposition of a liposomal cyclosporine a inhalation solution in patients after lung transplantation [J]. *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv*, 2009, 22: 121-130.
- [10] Ebrahim S, Peyman GA, Lee PJ. Applications of liposomes in ophthalmology [J]. *Surv Ophthalmol*, 2005, 50: 167-182.
- [11] Walkey CD, Chan WCW. Understanding and controlling the interaction of nanomaterials with proteins in a physiological environment [J]. *Chem Soc Rev*, 2012, 41: 2780-2799.
- [12] Yang ST, Liu Y, Wang YW, et al. Biosafety and bioapplication of nanomaterials by designing protein - nanoparticle interactions [J]. *Small*, 2013, 9: 1635-1653.
- [13] Aird WC. Phenotypic heterogeneity of the endothelium [J]. *Circ Res*, 2007, 100: 158-173.
- [14] Zhang Z, Guan J, Jiang Z, et al. Brain-targeted drug delivery by manipulating protein corona functions [J]. *Nat Commun*, 2019, 10: 3561.
- [15] Jain S, Mishra V, Singh P, et al. RGD-anchored magnetic liposomes for monocytes/neutrophils-mediated brain targeting [J]. *Int J Pharm*, 2003, 261: 43-55.
- [16] Naumenko VA, Vlasova KY, Garanina AS, et al. Extravasating neutrophils open vascular barrier and improve liposomes delivery to tumors [J]. *ACS Nano*, 2019, 13: 12599-12612.
- [17] Jain RK, Stylianopoulos T. Delivering nanomedicine to solid tumors [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2010, 7: 653-664.
- [18] Papahadjopoulos D, Poste G, Schaeffer BE. Fusion of mammalian cells by unilamellar lipid vesicles: influence of lipid surface charge, fluidity and cholesterol [J]. *Biochim Biophys Acta Biomembr*, 1973, 323: 23-42.
- [19] Bareford LM, Swaan PW. Endocytic mechanisms for targeted drug delivery [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2007, 59: 748-758.
- [20] Lim JP, Gleeson PA. Macropinocytosis: an endocytic pathway for internalising large gulps [J]. *Immunol Cell Biol*, 2011, 89: 836-843.
- [21] D'Souza VM, Bareford LM, Ray A, et al. Cytoskeletal scaffolds regulate riboflavin endocytosis and recycling in placental trophoblasts [J]. *J Nutr Biochem*, 2006, 17: 821-829.
- [22] Paulo CSO, Pires das Neves R, Ferreira LS. Nanoparticles for intracellular-targeted drug delivery [J]. *Nanotechnology*, 2011, 22: 494002.
- [23] Sahay G, Querbes W, Alabi C, et al. Efficiency of siRNA delivery by lipid nanoparticles is limited by endocytic recycling [J]. *Nat Biotechnol*, 2013, 31: 653-658.
- [24] Poon W, Zhang YN, Ouyang B, et al. Elimination pathways of nanoparticles [J]. *ACS Nano*, 2019, 13: 5785-5798.
- [25] Corbo C, Molinaro R, Taraballi F, et al. Effects of the protein

- corona on liposome-liposome and liposome-cell interactions [J]. *Int J Nanomedicine*, 2016, 11: 3049-3063.
- [26] Sebastiani F, Yanez Arteta M, Lerche M, et al. Apolipoprotein E binding drives structural and compositional rearrangement of mRNA-containing lipid nanoparticles [J]. *ACS Nano*, 2021, 15: 6709-6722.
- [27] Lee YK, Choi EJ, Webster TJ, et al. Effect of the protein corona on nanoparticles for modulating cytotoxicity and immunotoxicity [J]. *Int J Nanomedicine*, 2015, 10: 97-113.
- [28] Vu VP, Gifford GB, Chen F, et al. Immunoglobulin deposition on biomolecule corona determines complement opsonization efficiency of preclinical and clinical nanoparticles [J]. *Nat Nanotechnol*, 2019, 14: 260-268.
- [29] Schöttler S, Becker G, Winzen S, et al. Protein adsorption is required for stealth effect of poly(ethylene glycol)- and poly(phosphoester)-coated nanocarriers [J]. *Nat Nanotechnol*, 2016, 11: 372-377.
- [30] Wang H, Ding T, Guan J, et al. Interrogation of folic acid-functionalized nanomedicines: the regulatory roles of plasma proteins reexamined [J]. *ACS Nano*, 2020, 14: 14779-14789.
- [31] Chen D, Parayath N, Ganesh S, et al. The role of apolipoprotein- and vitronectin-enriched protein corona on lipid nanoparticles for *in vivo* targeted delivery and transfection of oligonucleotides in murine tumor models [J]. *Nanoscale*, 2019, 11: 18806-18824.
- [32] Yuan F, Leunig M, Huang SK, et al. Microvascular permeability and interstitial penetration of sterically stabilized (stealth) liposomes in a human tumor xenograft [J]. *Cancer Res*, 1994, 54: 3352-3356.
- [33] Chen S, Tam YYC, Lin PJC, et al. Development of lipid nanoparticle formulations of siRNA for hepatocyte gene silencing following subcutaneous administration [J]. *J Control Release*, 2014, 196: 106-112.
- [34] Devine DV, Bradley AJ. The complement system in liposome clearance: can complement deposition be inhibited? [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 1998, 32: 19-29.
- [35] Litzinger DC, Buiting AMJ, van Rooijen N, et al. Effect of liposome size on the circulation time and intraorgan distribution of amphipathic poly(ethylene glycol)-containing liposomes [J]. *Biochim Biophys Acta Biomembr*, 1994, 1190: 99-107.
- [36] Bariwal J, Ma H, Altenberg GA, et al. Nanodiscs: a versatile nanocarrier platform for cancer diagnosis and treatment [J]. *Chem Soc Rev*, 2022, 51: 1702-1728.
- [37] Chen T, Pan F, Luo G, et al. Morphology-driven protein corona manipulation for preferential delivery of lipid nanodiscs [J]. *Nano Today*, 2022, 46: 101609.
- [38] Wang H, Lin S, Wang S, et al. Folic acid enables targeting delivery of lipodiscs by circumventing IgM-mediated opsonization [J]. *Nano Lett*, 2022, 22: 6516-6522.
- [39] Rayamajhi S, Marchitto J, Nguyen TDT, et al. pH-responsive cationic liposome for endosomal escape mediated drug delivery [J]. *Colloids Surf B*, 2020, 188: 110804.
- [40] Thurston G, McLean JW, Rizen M, et al. Cationic liposomes target angiogenic endothelial cells in tumors and chronic inflammation in mice [J]. *J Clin Investig*, 1998, 101: 1401-1413.
- [41] Caracciolo G, Pozzi D, Capriotti AL, et al. Effect of DOPE and cholesterol on the protein adsorption onto lipid nanoparticles [J]. *J Nanopart Res*, 2013, 15: 1498.
- [42] Tyrrell DA, Richardson VJ, Ryman BE. The effect of serum protein fractions on liposome-cell interactions in cultured cells and the perfused rat liver [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1977, 497: 469-480.
- [43] Szebeni J, Bedőcs P, Rozsnyay Z, et al. Liposome-induced complement activation and related cardiopulmonary distress in pigs: factors promoting reactogenicity of Doxil and AmBisome [J]. *Nanomed Nanotechnol Biol Med*, 2012, 8: 176-184.
- [44] Guan J, Shen Q, Zhang Z, et al. Enhanced immunocompatibility of ligand-targeted liposomes by attenuating natural IgM absorption [J]. *Nat Commun*, 2018, 9: 2982.
- [45] Reddy ST, van der Vlies AJ, Simeoni E, et al. Exploiting lymphatic transport and complement activation in nanoparticle vaccines [J]. *Nat Biotechnol*, 2007, 25: 1159-1164.
- [46] Abu Lila AS, Kiwada H, Ishida T. The accelerated blood clearance (ABC) phenomenon: clinical challenge and approaches to manage [J]. *J Control Release*, 2013, 172: 38-47.
- [47] Chen BM, Su YC, Chang CJ, et al. Measurement of pre-existing IgG and IgM antibodies against polyethylene glycol in healthy individuals [J]. *Anal Chem*, 2016, 88: 10661-10666.
- [48] Richter AW, Akerblom E. Polyethylene glycol reactive antibodies in man: titer distribution in allergic patients treated with monomethoxy polyethylene glycol modified allergens or placebo, and in healthy blood donors [J]. *Int Arch Allergy Appl Immunol*, 1984, 74: 36-39.
- [49] Ding T, Guan J, Wang M, et al. Natural IgM dominates *in vivo* performance of liposomes [J]. *J Control Release*, 2020, 319: 371-381.
- [50] Chen E, Chen BM, Su YC, et al. Premature drug release from polyethylene glycol (PEG)-coated liposomal doxorubicin *via* formation of the membrane attack complex [J]. *ACS Nano*, 2020, 14: 7808-7822.
- [51] Nagy JA, Chang SH, Dvorak AM, et al. Why are tumour blood vessels abnormal and why is it important to know? [J]. *Br J Cancer*, 2009, 100: 865-869.
- [52] Dams ET, Reijnen MM, Oyen WJ, et al. Imaging experimental intraabdominal abscesses with <sup>99m</sup>Tc-PEG liposomes and <sup>99m</sup>Tc-HYNIC IgG [J]. *Ann Surg*, 1999, 229: 551-557.
- [53] Boucher Y, Baxter LT, Jain RK. Interstitial pressure gradients in tissue-isolated and subcutaneous tumors: implications for therapy [J]. *Cancer Res*, 1990, 50: 4478-4484.
- [54] Chauhan VP, Lanning RM, Diop-Frimpong B, et al. Multiscale measurements distinguish cellular and interstitial hindrances to

- diffusion *in vivo* [J]. *Biophys J*, 2009, 97: 330-336.
- [55] Colapicchioni V, Tilio M, Digiacoimo L, et al. Personalized liposome-protein corona in the blood of breast, gastric and pancreatic cancer patients [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2016, 75: 180-187.
- [56] Klibanov AL, Maruyama K, Torchilin VP, et al. Amphipathic polyethyleneglycols effectively prolong the circulation time of liposomes [J]. *FEBS Lett*, 1990, 268: 235-237.
- [57] Allen TM. Liposomes [J]. *Drugs*, 1997, 54: 8-14.
- [58] Ishida T, Kirchmeier MJ, Moase EH, et al. Targeted delivery and triggered release of liposomal doxorubicin enhances cytotoxicity against human B lymphoma cells [J]. *Biochim Biophys Acta Biomembr*, 2001, 1515: 144-158.
- [59] Suzuki T, Suzuki Y, Hihara T, et al. PEG shedding-rate-dependent blood clearance of PEGylated lipid nanoparticles in mice: faster PEG shedding attenuates anti-PEG IgM production [J]. *Int J Pharm*, 2020, 588: 119792.
- [60] Huang A, Kennel SJ, Huang L. Immunoliposome labeling: a sensitive and specific method for cell surface labeling [J]. *J Immunol Methods*, 1981, 46: 141-151.
- [61] Jiang Z, Guan J, Qian J, et al. Peptide ligand-mediated targeted drug delivery of nanomedicines [J]. *Biomater Sci*, 2019, 7: 461-471.
- [62] Jiang Z, Liu J, Guan J, et al. Self-adjuvant effect by manipulating the bionano interface of liposome-based nanovaccines [J]. *Nano Lett*, 2021, 21: 4744-4752.
- [63] Cheng Q, Wei T, Farbiak L, et al. Selective organ targeting (SORT) nanoparticles for tissue-specific mRNA delivery and CRISPR - Cas gene editing [J]. *Nat Nanotechnol*, 2020, 15: 313-320.
- [64] Qiu M, Tang Y, Chen J, et al. Lung-selective mRNA delivery of synthetic lipid nanoparticles for the treatment of pulmonary lymphangioliomyomatosis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2022, 119: e2116271119.
- [65] Miao L, Lin J, Huang Y, et al. Synergistic lipid compositions for albumin receptor mediated delivery of mRNA to the liver [J]. *Nat Commun*, 2020, 11: 2424.
- [66] Stapleton S, Milosevic M, Tannock IF, et al. The intra-tumoral relationship between microcirculation, interstitial fluid pressure and liposome accumulation [J]. *J Control Release*, 2015, 211: 163-170.
- [67] Verschraegen CF, Czok S, Muller CY, et al. Phase II study of bevacizumab with liposomal doxorubicin for patients with platinum- and taxane-resistant ovarian cancer [J]. *Ann Oncol*, 2012, 23: 3104-3110.
- [68] Eikenes L, Tari M, Tufto I, et al. Hyaluronidase induces a transcapillary pressure gradient and improves the distribution and uptake of liposomal doxorubicin (Caelyx™) in human osteosarcoma xenografts [J]. *Br J Cancer*, 2005, 93: 81-88.
- [69] Zhang Z, Chu Y, Li C, et al. Anti-PEG scFv corona ameliorates accelerated blood clearance phenomenon of PEGylated nanomedicines [J]. *J Control Release*, 2021, 330: 493-501.
- [70] Guan J, Chen W, Yang M, et al. Regulation of *in vivo* delivery of nanomedicines by herbal medicines [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2021, 174: 210-228.