

[文章编号] 1007-7669(2024)10-0736-07

[DOI号] 10.14109/j.cnki.xyylc.2024.10.03

聚乙二醇化药物免疫原性的研究进展

潘永红¹, 张玉凤¹, 唐海玲²

(1. 青岛市即墨区人民医院, 山东 青岛 266228; 2. 广西中医药大学, 广西 南宁 530200)

[关键词] 聚乙二醇; 免疫原性; 生物药学; 纳米药物; PEG 化药物; 抗 PEG 抗体

[摘要] 利用聚乙二醇(PEG)修饰药物或纳米药物载体是目前被广泛接受的可有效提高药物体内治疗效果的方法, 但 PEG 化药物多具有体内免疫原性。PEG 化药物通过胸腺依赖或非胸腺依赖途径引发抗 PEG 免疫球蛋白 IgG 和 IgM 的分泌, 导致药物在血液中的清除效率显著增高并引发超敏反应。PEG 分子、药物或药物载体的理化特性会影响抗 PEG 抗体的分泌, PEG 化修饰密度、给药频率等也会影响 PEG 化药物的免疫原性。优化 PEG 化药物免疫原性的产生原因及影响因素是改善其体内免疫原性的有效方法, PEG 可替代生物材料是药物研发的新方向。

[中图分类号] R967; R979

[文献标志码] A

Research progress on immunogenicity of PEGylated drugs

PAN Yong-hong¹, ZHANG Yu-feng¹, TANG Hai-ling²

(1. The People's Hospital of Jimo. Qingdao, Qingdao SHANDONG 266228, China; 2. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning GUANGXI 530200, China)

[KEY WORDS] polyethylene glycol; immunogenicity; biopharmaceutics; nanomedicine; PEGylated drugs; anti-PEG antibodies

[ABSTRACT] The use of polyethylene glycol (PEG) modified drugs or nano-carriers is a widely accepted method that can effectively improve therapeutic effects of drugs *in vivo*. However, PEGylated drugs are usually immunogenic *in vivo* and can trigger the secretion of anti-PEG immunoglobulin IgG and IgM, leading to a significant increase in blood clearance efficiency of drugs and the occurrence of hypersensitivity reactions. The physicochemical properties of PEG molecules, drugs, or drug carriers will affect the secretion of anti-PEG antibodies, and the PEG modification density and administration frequency will also affect the immunogenicity of PEGylated drugs. Optimizing the causes and influencing factors is an effective method to improve the immunogenicity of PEGylated drugs *in vivo*. PEG alternative biomaterial is a new direction of drug research and development.

聚乙二醇 (polyethylene glycol, PEG) 是一类具有良好生物相容性的合成聚合物分子, 已在医药领域得到了广泛的应用, 例如作为容积性泻剂的 PEG-

4000^[1]、修复受伤神经和细胞膜的促融剂 PEG3350^[2] 等。PEG 与纳米生物药物以共价键或非共价键连接, 可以增加药物分子的水溶性和水合动力学粒径, 从而

[收稿日期] 2023-05-11 [接受日期] 2024-06-13

[基金项目] 广西中医药大学校级博士课题科研启动基金 (2019BS010); 广西高校中青年教师科研基础能力提升项目 (2020KY0747); 广西中医药大学自然科学研究面上项目 (2020MS002)

[作者简介] 潘永红, 女, 副主任医师, 硕士, 主要从事妇科肿瘤及盆底专业的研究, E-mail: zjhpyh@163.com。唐海玲, 女, 助理研究员, 博士, 主要从事肿瘤综合治疗和新型给药载体系统的研究, E-mail: hltang2010@163.com

[责任作者] 唐海玲

减少药物分子自身间的聚集, 以及与血液中蛋白和单核吞噬系统细胞的结合^[3]。这些 PEG 化纳米生物药物, 既包括了抗体、酶和核酸药物, 也包括了装载药物的递送载体系统如脂质体、胶束、树枝状高聚物、聚合物纳米粒子、固体脂质纳米粒等^[4]。对于药物递送载体, PEG 通常是修饰在载体的表面, 增加药物制剂在体内外的稳定性, 减少在血液循环过程中的单核巨噬系统清除率, 提高体内的循环时间和药物治疗效果^[5]。

目前已有较多 PEG 化药物进入临床试验阶段, 见表 1。与精氨酸脱氨酶、叶酸等相连接的 PEG 分子量一般在 2 000~40 000 范围内。经 PEG 修饰的纳米生物药物可以通过 PEG 遮掩具有免疫原性的抗原表位, 从而降低药物的免疫原性。但是, 随着越来越多的不同 PEG 修饰的纳米药物制剂进入临床试验, 研究人员发现在动物模型和患者体内都会产生抗 PEG 的免疫球蛋白 IgM 和 IgG 抗体^[6]。抗 PEG 抗体可能会显著降低药物的治疗效果, 并引起严重的免疫副作用^[7]。抗 PEG 抗体还会针对性地加速 PEG 化药物的血液清除 (accelerate blood clearance, ABC 效应), 引发超敏反应^[8], 患者可能发生过敏性休克, 甚至死亡。因此, 对 PEG 的免疫原性及其诱导的 ABC 效应和超敏反应的免疫机制进行研究, 将有助于更深入地了解 and 认识 PEG 化纳米生物药物临床应用的安全性和有效性。

PEG 化药物的化学结构特点

1 共价连接键 PEG 类分子是一类高度灵活的线性或树枝状的亲水性聚合物分子, 分子量在 400~40 000 之间, 两端可以与不同的官能基团连接。其中一个末端基团可与生物大分子或药物递送载体材料中的游离羧基 (-COOH)、氨基 (-NH₂)、巯基 (-SH) 等通过共价键结合的方式实现 PEG 表面修饰。二硬脂酰磷脂酰乙醇胺 (DSPE)-PEGs 是制备靶向脂质体, 对

脂质体进行蛋白、多肽、核酸适体等配体表面修饰的关键功能性辅料^[9]。以 DSPE-PEGs 为例, 对 PEG 分子修饰药物或载体材料时使用的功能性官能基团进行罗列, 见图 1。PEG 分子一端的 -COOH 与二磷脂酰胺的 -NH₂ 通过缩合反应形成酰胺键 (-NH-CO-), 另一端的末端基团可选择功能性官能基团, 如琥珀酰胺基、马来酰胺基等, 实现与带巯基、羧基、氨基等官能基团的多肽、蛋白、核酸适体的共价键连接。也可以利用生物素修饰 PEG 聚合物分子, 再与相应的亲和素通过非共价键作用实现相应抗体的 PEG 修饰。

2 结构特点的分子动力学模拟 经 PEG 修饰的药物可以利用 PEG 长链在空间上遮掩包封的药物, 避免药物与血流中的血浆蛋白结合, 从而延长药物在体内的循环时间。第一个 PEG 化的蛋白药物是 Adagen[®], PEG5000 修饰的腺苷脱氨酶, 于 1990 年被美国食品和药物管理局 (FDA) 批准应用于临床^[10]。尽管 PEG 化药物在医药领域得到了成功的应用, 但是关于 PEG 链长的尺寸、构象及 PEG 与药物的结合密度对药物递送效率的影响还未能从分子水平上得到很好的解释^[11]。最早进行 PEG 化药物开发的研究者通过将 PEG 修饰在重组蛋白上, 降低了重组蛋白的免疫原性, 同时延长了其体内的循环时间和活性效果, 并认为亲水性聚合物分子修饰的蛋白表面是不易被免疫系统识别的^[12]。HOFFMAN 等^[13]深入研究了 PEG 修饰表面阻碍血液中蛋白吸附的机制, 认为 PEG 化的表面与血液中的蛋白吸附是受 PEG 结合水驱动的。利用差示热扫描可以观察到 PEG 的水合峰, 当 PEG 分子量小于 500 时, PEG 的水合峰会消失。一般一个乙二醇的结构单元可以吸附 2~3 个水分子。当与 PEG 结合的水分子出现解吸附时, 熵增和自由能的下降会促使蛋白吸附的增加。PEG 分子量的增加可导致自发折叠形成自由的卷曲结构, 将结合的水分子包封在卷曲结构中, 可以有效地阻碍纤维蛋白的吸附, 产生熵排

表 1 目前处于临床试验 I ~ III 期的聚乙二醇 (PEG) 化药物

药物名称	适应证	临床试验阶段	NCT 编号
ADI-PEG20 (PEG20000 偶联精氨酸脱氨酶)	肝癌	III 期	NCT01287585
Uricase-PEG20 (PEG20000 偶联尿酸酶)	高尿酸血症	I 期	NCT01038947
[¹⁸ F] fluoro-PEG-folate (¹⁸ F 标记的 PEG 偶联叶酸)	卵巢上皮癌诊断	I 期	NCT05215496
PEG3350	外周神经损伤	I 期	NCT02359825
PEG5000 偶联尿酸氧化酶	高尿酸血症	I 期	NCT05226013
cRGDY-PEG-Cy5.5 标记的纳米粒	头颈部黑色素瘤	I 期	NCT02106598
PEG-rhG-CSF (PEG20000 偶联的重组人粒细胞集落刺激因子)	复发或转移性鼻咽癌	I 期	NCT05222009
PEG-rhGH (PEG40000 偶联重组人生长激素)	特发性矮小症	II 期	NCT03255694
PEG 重组人凝血因子 VIII Fc 融合蛋白	严重血友病 A	III 期	NCT01775618
PEG 偶联干扰素 α	慢性乙型肝炎	II 期	NCT05734807

信息来自 ClinicalTrials.gov 网站, 以 pegylated drug 为关键词检索

血浆蛋白结合,使包封的药物更加稳定。Alexander - de Gennes 理论可用于解释脂质体表面 PEG 聚合物分子链在蘑菇状 (mushroom) 和刷状 (bush) 构象之间的转变机制。低密度 PEG 存在于脂质体表面时,PEG 链向水环境伸展成为独立的链,导致了蘑菇状构象的形成;当高密度 PEG 存在于脂质体表面时,PEG 链间因为拥挤,导致了 PEG 的刷状交互作用结构的形成。SZLEIFER 等^[20]通过自由能计算,发现优化 PEG 表面密度较优化 PEG 链长更能抵抗蛋白的吸附。PEG 结合密度的增加可以抑制小蛋白的吸附,增加 PEG 厚度可以抑制大蛋白的吸附。PAL 等^[21]对 PEG 化脂质双层进行了全原子模拟和自由能计算,结果表明 PEG 和双层的脂质头基有很强的相互作用。MAGARKAR 等^[22]利用马提尼粗粒化模拟发现,PEG 化脂质可以促使脂质双层构象向胶束相转变。

脂质和 PEG 化脂质的混合物在不同的摩尔比例下会影响自组装脂质体和胶束形成。对 PEG 链的粗粒化模拟,捕获刷状和蘑菇状的构象转变过程,展示了分子模拟和 Alexander - de Gennes 理论很好的一致性。对比分析不同 PEG 分子量和表面修饰密度对脂质体膜表面蛋白吸附的影响,发现 PEG 刷状结构相比蘑菇状结构更能抑制蛋白的吸附^[23]。这些通过分子动力学模拟对 PEG 链长、结构和结合密度的优化,为理性设计 PEG 化药物输送系统提供了有利工具。

PEG 化药物免疫原性产生的原因和机制

1 胸腺依赖性抗原反应 PEG 化蛋白和多肽类药物可通过经典的 T 细胞依赖路径引发抗 PEG 抗体响应。当 B 细胞受体 (B cell receptors, BCRs) 与 PEG 骨架特异性结合时, B 细胞被激活分化为浆母细胞,分泌抗 PEG 的 IgM 抗体。而如果要分泌抗 PEG 的 IgG 抗体,则 B 细胞需要接受来自 CD4⁺ T 细胞的信号,这种 CD4⁺ T 细胞被称为次级淋巴器官中的滤泡辅助 T 细胞 (T_{FH} 细胞)。T_{FH} 细胞的 CD40L 与 B 细胞的 CD40 相互作用可以诱导胞苷脱氨酶的表达^[24]。B 细胞通过内吞大量的 PEG 偶联物,在膜表面产生多肽的主要组织相容性复合体 (major histocompatibility complex, MHC),使 B 细胞更容易与 T_{FH} 细胞发生相互作用。B 细胞通过分泌抗 PEG 抗体来识别 PEG 偶联物的 PEG 结构, T_{FH} 细胞可以识别 PEG 偶联物的非人源治疗蛋白产生免疫应答。这是胸腺依赖的抗 PEG 抗体产生的原因和机制。

2 非胸腺依赖性抗原反应 在动物模型中,体内的 B 细胞和 T 细胞因为将 PEG 化人源蛋白作为外源蛋白,产生了免疫应答。非蛋白类的抗原都可被划分为

非胸腺依赖性抗原,可以诱导体内抗体响应,包括分泌 IgM、IgG、IgA 抗体。这些非蛋白类抗原包括核酸、空白脂质体、纳米粒、包封细胞毒药物的脂质体、核酸纳米粒等。与多肽 MHC II 抗原不同,非胸腺依赖型 II 型抗原 (thymus-independent type 2 antigens, TI-2 抗原) 具有多价性,可以与 B 细胞表面的 BCRs 交联。单链 PEG 聚合链存在多个可与抗体结合的表型位点,因此可以被作为 TI-2 抗原。边缘 B 细胞主要承担了对 TI-2 抗原的抗体响应。交互作用的 BCRs 提供了初始信号,固有免疫细胞还可利用 Toll 样受体 (toll-like receptors, TLR) 提供额外的激活信号,其中就包括重要的 B 细胞信号激活因子肿瘤坏死因子家族^[25]。对于非 T 细胞依赖性抗原,小鼠边缘 B 细胞主要产生 IgM、IgG2b、IgG3、IgA 抗体,人边缘 B 细胞主要产生 IgM、IgG1、IgG2 和 IgA2 抗体。PEG 化药物引起体内抗 PEG 抗体产生的潜在能力与 PEG 化药物的物理属性密切相关。

PEG 化药物的体内 ABC 效应 随着聚合物分子 PEG 在化妆品领域和食品领域的广泛使用,许多正常健康个体血液中可检测到抗 PEG 抗体。一项研究分析了 2 404 名汉族健康受试者的血液样品,采用人源化抗 PEG 的 IgM 和 IgG 单克隆抗体作为参照标准,观察健康受试者体内抗 PEG 抗体的表达。发现其中有 634 名受试者的血液中含抗 PEG 的 IgM 抗体,601 名受试者的血液中含抗 PEG 的 IgG 抗体,199 名受试者血液中同时含有抗 PEG 的 IgM 和 IgG 抗体,抗 PEG 抗体的整体响应率为 43.1%;女性受试者体内同时表达抗 PEG 的 IgM 和 IgG 抗体的概率要高于男性;所有抗 PEG 抗体阳性受试者体内抗 PEG 的 IgM 抗体的浓度范围为 0.2~57 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,抗 PEG 的 IgG 抗体的浓度范围为 0.3~238 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ^[26]。

动物模型和患者体内的抗 PEG 抗体会引起 PEG 化药物的快速清除和药效的降低,即 ABC 效应^[27]。注射空白的脂质体可以诱导体内抗 PEG 抗体的产生,当重复注射 PEG 化脂质体时,就会产生 ABC 效应。人体内抗 PEG 的 IgM 和 IgG 抗体会引起 PEG 化多柔比星脂质体体内明显的 ABC 效应,导致药物在肿瘤组织聚集减少、抗肿瘤活性降低^[28]。但是,一些同样 PEG 化的胶束或白蛋白纳米粒注入体内后,却很少观察到 ABC 效应。这也引起了研究者对 ABC 效应影响因素及其机制的深入研究,包括 PEG 化纳米粒和蛋白的不同空间结构与抗 PEG 抗体的结合差异,PEG 化药物粒径对抗 PEG 抗体清除的影响,抗 PEG 的 IgM 抗体对 PEG 不同特异性和表型的亲和力,亲

水性 PEG 链和疏水性共嵌段结构与抗 PEG 抗体的界面结合属性等。抗 PEG 抗体的摩尔浓度直接影响 ABC 效应^[29]。单个 PEG 化药物结合的抗 PEG 抗体的数目越多, 就越容易在体内被清除。因此, PEG 化药物的体内 ABC 效应, 与给药剂量、给药频率是密切相关的。

PEG 化药物免疫原性的影响因素

1 结构特性的影响 PEG 化药物的免疫原性与 PEG 分子、药物、药物载体系统的理化特性密切相关。RICHTER 等^[30]分析了不同分子量 PEG (3 000~6 000 000) 和 PEG 修饰的蛋白肌内注射后动物体内的抗 PEG 抗体的表达水平。结果表明即使辅以佛氏佐剂, 游离的低分子量的 PEG 分子不具有或只体现极微弱的免疫原性; 血清中抗 PEG 抗体对高分子量 (4 000~6 000 000)、高浓度 ($> 63 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) PEG 分子的免疫反应最为强烈。SAIFER 等^[31]对比了不同 PEG 分子结构与抗 PEG 抗体的亲和力特性, 发现末端官能基团分别是羟基和甲氧基的 PEG 体现了不同的免疫原性, 带疏水头基的甲氧基 PEG 蛋白药物会引起更强的免疫反应; 产生的抗 PEG 抗体体现出不同的结合特异性, 骨架特异性抗 PEG 抗体的结合亲和力主要取决于骨架的长度, 甲氧基特异性抗 PEG 抗体的亲和力大小取决于末端官能团的疏水性。

因诱导免疫机制的差别, 动物模型中或人体内产生的抗 PEG 抗体具有多样性特点。如前所述, 抗 PEG 抗体对 PEG 的骨架或末端基团具有不同的结合特点, PEG 骨架结构与抗 PEG 抗体的结合亲和力相对低, 且结合的抗体数量受 PEG 长度的限制。一般 PEG2000 可以结合 8~15 个 IgG 分子。不同 PEG 末端基团中, 与抗 PEG 抗体结合亲和力的强弱顺序为羟基 < 氨基 < 甲氧基 < 丁氧基 < 异丁氧基^[31]。

PEG 纳米药物内核的亲疏水性同样也是影响抗 PEG 抗体产生的重要因素。例如, 具有疏水性内核的 PEG 纳米药物可以诱导抗 PEG 的 IgM 免疫响应。但是尚无完全特异性的抗 PEG 单克隆或多克隆抗体, 表现出对 PEG 的末端基团、中间连接键或骨架结构具有绝对的特异性^[32]。

对于 PEG 化蛋白药物而言, 蛋白自身的免疫原性以协同的方式促使 PEG 特异性抗体 IgG 的分泌, 依赖于 T 细胞免疫途径, 在体内产生很强的免疫原性, 最终可能影响药物的临床应用^[33]。

2 表面修饰密度的影响 抗 PEG 抗体的分泌除了受 PEG 聚合物分子、PEG 偶联药物或药物载体的理化属性影响外, 蛋白和载体系统表面 PEG 化修饰的密

度是诱导免疫原性的另一个关键因素。PEG 化蛋白可以被多个 PEG 分子覆盖, PEG 药物载体系统与 PEG 的连接也可以存在多个结合位点。以 PEG 修饰的脂质体药物为例, PEG 分子在脂质体表面不同的空间结构构象由脂质体表面的 PEG 修饰密度决定。通常 PEG2000 脂质分子的摩尔百分比小于 4 mol% 时, 在脂质体表面呈蘑菇状构象结构, 厚度约为 3~4 nm。当 PEG2000 脂质分子的摩尔百分比达到 9~10 mol% 时, PEG 在脂质体的表面就会形成刷状结构, 厚度增加至 4~10 nm 连续的 PEG 层, 此时的 PEG 链之间会存在相互作用, 影响 PEG 化药物的体内免疫原性。

早在 19 世纪 70 年代, 已开展了关于蛋白表面 PEG 化程度对 PEG 化药物免疫原性影响的研究。研究观察了固定界面膜表面 PEG 修饰密度对 PEG 水化层纤维蛋白吸附能力的影响, 结果显示当膜表面连接的 PEG [HO-(CH₂-CH₂-O)₆-H] 达到 50~60 mol% 时, PEG 水化层对溶液蛋白的排斥效应显著提高, 进而降低蛋白的表面吸附^[13]。但 PEG 化药物体内的免疫原性依然不容易预测。LI 等^[34]发现 3 mol% 和 9 mol% PEG 修饰的脂质体静脉注射后, 可以诱导相同程度的抗 PEG IgM 的分泌。研究结果也显示 9 mol% PEG 修饰的脂质体再次注射后, 较 3 mol% PEG 修饰的脂质体, 有更快的体内清除率。

有研究对新冠疫苗 Comirnaty® (一种 PEG 修饰的脂质纳米粒) 注射到体内后, 血液中抗 PEG 的 IgG、IgM、IgE 的表达水平进行了定量分析^[34]。接受 mRNA 脂质纳米粒 (lipid nanoparticles, LNP) 的 78 名受试者, 注射 3 周后, 体内 IgG 表达水平明显高于 IgM, IgE 未检出。与低密度 PEG (0.3 mol% DSPE-PEG 2000) 表面修饰的脂质纳米粒相比, 含 1.5 mol% PEG 的 Comirnaty® 与抗 PEG 抗体的亲和力明显减弱, 因为 Comirnaty® 使用的 ALC 0159 是由 C14 肉豆蔻酰构成的 PEG 脂质, 相比较 C18 硬脂酰 DSPE-PEG2000 更容易从脂膜上脱落。抗 PEG 抗体的分泌与 LNP 中的 PEG 表面修饰密度呈明显的浓度依赖性^[9]。

3 其他影响因素 除了 PEG 表面修饰密度, PEG 的链长也会影响抗 PEG 抗体的产生。PEG30000 修饰的白蛋白 (BSA) 和 PEG20000 修饰的卵清蛋白 (OVA), 与 PEG2000 修饰的 BSA 和 PEG5000 修饰的 OVA 相比, 可以诱导更高的体内抗 PEG IgM 响应。对于 PEG 修饰的纳米粒, 如果脂质体和腺病毒上的 PEG 链长相对较短 (分子量 < 2 000), PEG 链的刷状伸展并不能增加免疫原性。通过优化不同的化学共价连接键, 可以提高 PEG 化药物的水溶性^[35]。POPPENBORG 等^[36]的

研究显示, PEG 和天冬酰胺酶选择酰胺或琥珀酰胺键作为共价连接键, 诱导产生抗 PEG 抗体的程度相当, 并且可以同时检测到抗 PEG 抗体和抗琥珀酰胺抗体。此外, 给药途径、给药频率以及患者的免疫状态也都会影响体内抗 PEG 抗体的产生^[37, 38]。

小结 改善 PEG 化药物的免疫原性需要对 PEG 化药物的空间结构特性、连接键属性、治疗疾病的生理病理特点、PEG 免疫原性机制等有深入全面的了解。寻找 PEG 可替代的生物材料也是有效避免 PEG 化药物体内免疫原性的新方向。

[参考文献]

- [1] 占煜, 刘言, 温旭东, 等. 利那洛肽对比聚乙二醇 4000 治疗功能性便秘的前瞻性研究 [J] . 中国新药与临床杂志, 2023, 42 (12): 801-806. ZHAN Y, LIU Y, WEN XD, *et al.* A prospective study of linaclotide vs. macrogol 4000 in treatment of functional constipation [J] . Chin J New Drugs Clin Rem, 2023, 42 (12): 801-806.
- [2] 卫晶晶, 李晨阳, 王萍, 等. 聚乙二醇在神经功能重建领域应用及存在的问题 [J] . 中国组织工程研究, 2022, 26 (16): 2618-2624. WEI JJ, LI CY, WANG P, *et al.* Application and existing problems of polyethylene glycol in the field of neurological reconstruction [J] . Chin J Tissue Engin Res, 2022, 26 (16): 2618-2624.
- [3] XU M, BI J, LIANG B, *et al.* PEGylation prolongs the half-life of equine anti-SARS-CoV-2 specific F (ab')₂ [J] . Int J Mol Sci, 2023, 24 (4): 3387.
- [4] GABIZON A, SZEBENI J. Complement activation: a potential threat on the safety of poly (ethylene glycol) -coated nanomedicines [J] . ACS Nano, 2020, 14 (7): 7682-7688.
- [5] 朱荣玥, 蔡梦如, 姚宇, 等. PEG 化的金属有机骨架材料递药系统研究进展 [J] . 中国现代应用药学, 2022, 39 (20): 2684-2690. ZHU RY, CAI MR, YAO Y, *et al.* Advance of PEGylated metal-organic frameworks drug delivery systems [J] . Chin J Mod Appl Pharm, 2022, 39 (20): 2684-2690.
- [6] KOZMA GT, SHIMIZU T, ISHIDA T, *et al.* Anti-PEG antibodies: properties, formation, testing and role in adverse immune reactions to PEGylated nano-biopharmaceuticals [J] . Adv Drug Deliv Rev, 2020, 154-155: 163-175.
- [7] CHEN BM, CHENG TL, ROFFLER SR. Polyethylene glycol immunogenicity: theoretical, clinical, and practical aspects of anti-polyethylene glycol antibodies [J] . ACS Nano, 2021, 15 (9): 14022-14048.
- [8] RAU RE, DREYER Z, CHOI MR, *et al.* Outcome of pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia/lymphoblastic lymphoma with hypersensitivity to pegaspargase treated with PEGylated *Erwinia* asparaginase, pegcrisantaspase: a report from the Children's Oncology Group [J] . Pediatr Blood Cancer, 2018, 65 (3): e26873.
- [9] BAVLI Y, CHEN BM, GROSS G, *et al.* Anti-PEG antibodies before and after a first dose of Comirnaty® (mRNA-LNP-based SARS-CoV-2 vaccine) [J] . J Control Release, 2023, 354 : 316-322.
- [10] MURGUIA-FAVELA L, MIN W, LOVES R, *et al.* Comparison of elapegademase and pegademase in ADA-deficient patients and mice [J] . Clin Exp Immunol, 2020, 200 (2): 176-184.
- [11] FAN X, WANG X, LI Z, *et al.* ⁶⁸Ga-labeled TMTp1 derivatives with moderate hydrophilicity for positron emission tomography of hepatocellular carcinoma in high contrast [J] . J Med Chem, 2023, 66 (10): 6756-6765.
- [12] ABUCHOWSKI A, van ES T, PALCZUK NC, *et al.* Alteration of immunological properties of bovine serum albumin by covalent attachment of polyethylene glycol [J] . J Biol Chem, 1977, 252 (11): 3578-3581.
- [13] HOFFMAN AS. The early days of PEG and PEGylation (1970s-1990s) [J] . Acta Biomater, 2016, 40 : 1-5.
- [14] LEE H. Molecular simulations of PEGylated biomolecules, liposomes, and nanoparticles for drug delivery applications [J] . Pharmaceutics, 2020, 12 (6): 533.
- [15] MANJULA BN, TSAI A, UPADHYA R, *et al.* Site-specific PEGylation of hemoglobin at Cys-93 (beta) : correlation between the colligative properties of the PEGylated protein and the length of the conjugated PEG chain [J] . Bioconjug Chem, 2003, 14 (2): 464-472.
- [16] YANG C, LU D, LIU Z. How PEGylation enhances the stability and potency of insulin: a molecular dynamics simulation [J] . Biochemistry, 2011, 50 (13): 2585-2593.
- [17] KHAMENEH B, JAAFARI MR, HASSANZADEH-KHAYYAT M, *et al.* Preparation, characterization and molecular modeling of PEGylated human growth hormone with agonist activity [J] . Int J Biol Macromol, 2015, 80 : 400-409.
- [18] KURINOMARU T, KUWADA K, TOMITA S, *et al.* Noncovalent PEGylation through protein-polyelectrolyte interaction: kinetic experiment and molecular dynamics simulation [J] . J Phys Chem B, 2017, 121 (28): 6785-6791.
- [19] SINDHU R, PRADEEP H, MANONMANI HK. Polyethylene glycol acts as a mechanistic stabilizer of L-asparaginase: a computational probing [J] . Med Chem, 2019, 15 (6): 705-714.
- [20] SZLEIFER I. Protein adsorption on surfaces with grafted polymers: a theoretical approach [J] . Biophys J, 1997, 72 (2 Pt 1): 595-612.
- [21] PAL S, MILANO G, ROCCATANO D. Synthetic polymers and biomembranes. How do they interact? Atomistic molecular dynamics simulation study of PEO in contact with a DMPC lipid bilayer [J] . J Phys Chem B, 2006, 110 (51): 26170-26179.
- [22] MAGARKAR A, KARAKAS E, STEPNIIEWSKI M, *et al.* Molecular dynamics simulation of PEGylated bilayer interacting with salt ions: a model of the liposome surface in the bloodstream [J] . J Phys

- Chem B, 2012, 116 (14) : 4212–4219.
- [23] LEE H, PASTOR RW. Coarse-grained model for PEGylated lipids: effect of PEGylation on the size and shape of self-assembled structures [J] . J Phys Chem B, 2011, 115 (24) : 7830–7837.
- [24] HEESTERS BA, CHATTERJEE P, KIM YA, *et al.* Endocytosis and recycling of immune complexes by follicular dendritic cells enhances B cell antigen binding and activation [J] . Immunity, 2013, 38 (6) : 1164–1175.
- [25] VINUESA CG, CHANG PP. Innate B cell helpers reveal novel types of antibody responses [J] . Nat Immunol, 2013, 14 (2) : 119–126.
- [26] 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 (21) : 10661–10666.
- [27] KHALIL A, WURTHWEIN G, GOLITSCH J, *et al.* Pre-existing antibodies against polyethylene glycol reduce asparaginase activities on first administration of pegylated *E. coli* asparaginase in children with acute lymphocytic leukemia [J] . Haematologica, 2022, 107 (1) : 49–57.
- [28] HSIEH YC, WANG HE, LIN WW, *et al.* Pre-existing anti-polyethylene glycol antibody reduces the therapeutic efficacy and pharmacokinetics of PEGylated liposomes [J] . Theranostics, 2018, 8 (11) : 3164–3175.
- [29] GRENIER P, VIANA IMO, LIMA EM, *et al.* Anti-polyethylene glycol antibodies alter the protein corona deposited on nanoparticles and the physiological pathways regulating their fate *in vivo* [J] . J Control Release, 2018, 287 : 121–131.
- [30] RICHTER AW, AKERBLOM E. Antibodies against polyethylene glycol produced in animals by immunization with monomethoxy polyethylene glycol modified proteins [J] . Int Arch Allergy Appl Immunol, 1983, 70 (2) : 124–131.
- [31] SAIFER MG, WILLIAMS LD, SOBCZYK MA, *et al.* Selectivity of binding of PEGs and PEG-like oligomers to anti-PEG antibodies induced by methoxyPEG-proteins [J] . Mol Immunol, 2014, 57 (2) : 236–246.
- [32] SHIRAISHI K, HAMANO M, MA H, *et al.* Hydrophobic blocks of PEG-conjugates play a significant role in the accelerated blood clearance (ABC) phenomenon [J] . J Control Release, 2013, 165 (3) : 183–190.
- [33] IBRAHIM M, RAMADAN E, ELSADEK NE, *et al.* Polyethylene glycol (PEG) : the nature, immunogenicity, and role in the hypersensitivity of PEGylated products [J] . J Control Release, 2022, 351 : 215–230.
- [34] LI C, CAO J, WANG Y, *et al.* Accelerated blood clearance of pegylated liposomal topotecan: influence of polyethylene glycol grafting density and animal species [J] . J Pharm Sci, 2012, 101 (10) : 3864–3876.
- [35] TENCHOV R, SASSO JM, ZHOU QA. PEGylated lipid nanoparticle formulations: immunological safety and efficiency perspective [J] . Bioconjug Chem, 2023, 34 (6) : 941–960.
- [36] POPPENBORG SM, WITTMANN J, WALTHER W, *et al.* Impact of anti-PEG IgM antibodies on the pharmacokinetics of pegylated asparaginase preparations in mice [J] . Eur J Pharm Sci, 2016, 91 : 122–130.
- [37] JU Y, LEE WS, PILKINGTON EH, *et al.* Anti-PEG antibodies boosted in humans by SARS-CoV-2 lipid nanoparticle mRNA vaccine [J] . ACS Nano, 2022, 16 (8) : 11769–11780.
- [38] GUERRINI G, GIORIA S, SAUER AV, *et al.* Monitoring anti-PEG antibodies level upon repeated lipid nanoparticle-based COVID-19 vaccine administration [J] . Int J Mol Sci, 2022, 23 (16) : 8838.