红细胞作为药物递送系统的研究进展

郭美瑜，王　璐，齐晓丹*
（河北医科大学药学院药剂教研室，河北石家庄 050017）

摘要：传统的治疗药物存在稳定性差、摄取效率低、细胞毒性大以及靶向能力差等缺点。因此需要安全的药物传递系统来延长药物在体内的循环和暴露。以红细胞为载体的新型药物递送系统凭借其良好的生物相容性、低免疫原性以及长循环时间而逐渐成为理想的药物递送平台。基于红细胞的药物递送系统包括多种类型，主要有红细胞膜包裹纳米颗粒载药系统和基因工程红细胞等。另外，对红细胞进行功能化修饰，可显著增强靶向性，进一步开发和扩大红细胞载药体系在多种疾病治疗中的应用。本研究介绍了以红细胞为载体的化学药物及疫苗的递送方法，重点讨论了仿生纳米红细胞药物递送系统及其对机体各部位的靶向性研究，并且总结了近年来基因工程红细胞策略的研究进展。

关键词：靶向性；基因工程红细胞；药物递送系统；仿生纳米药物递送系统
中图分类号：TQ460.4；TB383.1　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1001-8255 (2023) 04-0496-08
DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2023.04.004

Advances in Red Blood Cells as Drug Delivery Systems

GUO Meiyu, WANG Lu, QI Xiaodan*
(*Pharmacy Dept., School of Pharmacy, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017*)

ABSTRACT: Traditional therapeutic drugs have many shortcomings, such as poor stability, low uptake efficiency, high cytotoxicity and poor targeting ability. Therefore, safe drug delivery systems are needed to prolong drug circulation and exposure *in vivo*. New drug delivery systems based on red blood cells have gradually become ideal platforms for drug delivery due to their good biocompatibility, low immunogenicity and long circulation time. There are various types of drug delivery systems based on red blood cells, such as red blood cell membrane-encapsulated nanoparticle drug delivery systems and genetically engineered red blood cells. In addition, the functional modification of red blood cells can significantly enhance the targeting of red blood cell-based drug delivery systems to further develop and expand their applications in the treatment of various diseases. This review introduces the delivery methods of chemical drugs and vaccines using red blood cell-based carriers, focuses on bionic nano drug delivery systems and their targeting properties to various body positions. And the research progress of genetically engineered red blood cell-based strategy in recent years is summarized.

Key Words: targeting; genetically engineered red blood cell; drug delivery system; bionic nano drug delivery system

传统药物载体通常存在生物分布差、血液循环时间短、药物传递效率低等问题。为避免此类问题，亲水性聚合物被广泛用于修饰药物载体以获得长循环时间[1]。但亲水性修饰常会导致低的细胞黏附作用，降低细胞内化。脂质体、纳米粒、水凝胶等均是具有纳米结构的药物载体[2—4]，可改变药物的药动学及生物分布，但易被网状内皮系统识别为外来物质而清除[5]，以至于无法到达预期的靶部位。

近年来，以细胞和细胞膜为基础的仿生载药系统成为了药物递送领域的研究热点[6]，其中基于红细胞（red blood cell，RBC）的载药体系在循环时

收稿日期：2022-05-30
作者简介：郭美瑜（1999—），女，硕士研究生，专业方向：药物新剂型与新技术。
通信作者：齐晓丹（1975—），女，副教授，从事药物制剂新剂型、新技术的研究与开发。
E-mail：dzihwt@sina.com

间、生物降解性和非免疫原性方面都优于其他合成载药系统，且能接触多种血管内细胞，作用于多种血管内靶点[7]。一些血管外部位，如肝窦和脾滤泡，通常也可供RBC进入。通过对仿生纳米RBC体系进行表面功能化[8—9]，可获得主动靶向特定组织或器官的能力。本研究将从药物表面包覆RBC[10]、RBC负载纳米颗粒（nanoparticles，NPs）[11]、RBC搭便车（RBC-hitchhiking）[12]、基于RBC的疫苗递送和基因工程RBC[13—14]等方面综述其递送化学药物及疫苗的研究进展，并重点讨论仿生纳米RBC药物递送系统及其对机体各部位的靶向性研究。

1 RBC体系的载药方法

RBC给药系统针对不同疾病与药物有不同的载药方式及方法，包括胞内载药法（低渗法、电穿孔法、内吞法、膜穿透肽法）及药物的胞外偶联法（共价修饰、吸附作用）[12,15]。其中，低渗法较常见，包括低渗预膨胀法和低渗透析法[16—19]，但该法所得制品的缺陷是药物释放不完全或不受控制。RBC表面修饰工程近年来得到了广泛应用，其中生物素-亲和素法较为常用，因为生物素化RBC的结构恢复率高。RBC的体外装载是一种多步骤、破坏性的方法，需要经过细胞分离、载药和回输[20]。除传统化疗药物外，疫苗也可包封于RBC内或偶联在RBC膜（red blood cell membrane，RBCM）表面，在治疗感染、炎症和自身免疫性疾病等方面显示出良好的效果[21]。

2 药物表面直接包覆RBC

以完整RBC包覆药物载体，可减少对RBC结构及功能的破坏，保持其固有的生物相容性及低免疫原性[22]。正常情况下的RBC具有同源性，一旦受损或死亡，则会被免疫系统清除，利用此性质可达到靶向巨噬细胞给药的目的。YEW等[23]将苯丙氨酸羟化酶（PAH）包裹到RBC中，并成功证明其具有在血液中维持酶活性的能力，单次注射可使正常小鼠的苯丙氨酸水平降低近80%。静脉给予小鼠的游离PAH会迅速（几小时内）从血液中消除，但包裹入RBC后，PAH的循环时间至少可持续10 d。CHENG等[17]将盐酸小檗碱包裹在RBC中，通过一系列体内外评估试验表明，载药RBC呈现出与天然RBC相似的形态和渗透脆性，且可在血浆中循环9 d以上，具有持续降血脂作用。

3 仿生纳米RBC药物递送系统的研究

利用RBC的结构、物理和生物学特性，已有研究[22—24]制备了仿生纳米RBC的药物递送系统，包括RBCM包裹的NPs以及纳米RBC载体。

3.1 RBCM包覆的载药NPs

完整的RBC为微米尺寸，直接利用RBC载药来治疗实体瘤，会限制药物的体外扩散能力、降低肿瘤靶向性[22]。RBCM包裹的NPs药物递送系统结合了NPs控制药物释放的功能以及天然RBCM表面蛋白（如跨膜糖蛋白CD47、同源限制蛋白等）的低免疫原性及长循环特征[25—27]。有研究[28]报道RBCM包覆的给药系统存在先天靶向性，可作为纳米疫苗实现对恶性肿瘤的免疫治疗。衰老或受损的RBC会被脾脏内的巨噬细胞吞噬[29]，可利用该性质将肿瘤相关抗原输送到抗原呈递细胞（antigen-presenting cell，APC），并产生强烈的免疫反应[30]。但RBC的先天靶向性主要针对网状内皮系统、肝脏和脾脏细胞，若要将RBCM靶向其他组织和器官，需对RBCM进行功能化修饰与改造[31]。

3.2 RBCM的功能化修饰

目前已有各种策略对RBCM纳米载体进行修饰与改造，如RBC仿生重建、化学修饰、脂质插入、RBC搭便车、混合膜等[32—35]。

3.2.1 脂质插入技术

脂质插入技术可在不破坏RBCM表面蛋白的同时，将可特异性结合到肿瘤细胞的配体插入RBCM中以改善药物靶向性[34]。常见的靶向配体包括叶酸、三苯基膦（TPP）和精氨酰-甘氨酰-天冬氨酸（RGD）肽等[9,11,36—37]。GUO等[38]将二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺（DSPE）-聚乙二醇（PEG）-甘露糖插入RBCM包裹的聚乳酸-乙醇酸共聚物（PLGA）纳米粒表面，并用其包裹抗原肽和Ⅰ型受体跨膜蛋白质（Toll样受体4）激动药，这些被包裹的纳米疫苗通过甘露糖受体介导的细胞摄取，能主动靶向淋巴器官中的APC，具有较高的APC摄取率，

可在淋巴结中停留较长时间。

3.2.2 生物素 - 亲和素法

生物素 - 亲和素法是修饰 RBCM 纳米载体的常用功能化方法。亲和素被引入 RBCM 后可屏蔽肽的正电荷和细胞膜负电荷之间的静电作用，克服脂质插入技术仅限于修饰中性分子和弱正电荷分子的局限性 [39]。WANG 等 [9] 利用生物素 - 亲和素法将环 RGD（cRGD）修饰在 RBC 药物载体表面，并证明该载药系统具备良好的靶向性和细胞增殖抑制性。

3.2.3 RBC 搭便车技术

RBC 搭便车技术是将纳米药物载体直接连接在 RBC 表面，通过选择导管注射部位可靶向至任何器官 [12]。目前，RBC 搭便车技术已成功用于从肺栓塞到恶性肿瘤转移的多种临床前疾病模型研究 [40]。经血管内注射途径给药时，吸附在 RBC 上的 NPs 可通过微血管的剪切力解吸附，从而到达靶器官；与未修饰的纳米载体相比，其静脉注射后可使药物在肺中的蓄积量显著增加，经颈动脉注射后则可显著增加药物在脑内的蓄积。由于不同 NPs 的再分布效应，RBC 搭便车纳米粒（RH-NPs）可针对不同的给药需求，实现不同的积累率和循环时间。ANSELMO 等 [41] 将涂有靶向抗体的杆状 NPs 连接到 RBC 表面，利用 RBC 显著的免疫逃避能力，增强了药物的肺部靶向传递。ZHENG 等 [42] 制备了载伊维菌素的 PLGA-NPs 和壳聚糖（CS）涂层 NPs，分别用 RBC 搭便车技术进行递送。结果表明，2 种 NPs 均能增强伊维菌素的肺部输送，但 CS-NPs 的循环时间更长，抗炎活性更好。ZELEPUKIN 等 [12] 将包裹多柔比星（DOX）的 CS-NPs 通过静电作用吸附在 RBC 表面，通过搭便车技术给药后可显著抑制肺转移性黑色素瘤。

3.2.4 RBC 仿生重建

RBCM 修饰的一个缺点是会使膜蛋白结构失效，从而影响其原有的免疫逃逸功能。因此，GUO 等 [43] 模拟了天然 RBC 的特性，然后对 RBC 进行仿生重建，并通过一系列分析证明了 RBC 形状、大小和膜结构的重现性；在微流控毛细血管模型中进行的流动变形研究证实了重建产物具备重组变形和通过小缝隙的能力；最后将其以类似天然 RBC 的方式进行自我重组。小鼠体内重组 RBC（rRBC）的循环研究表明，rRBC 要实现长循环需要具有变形性和天然细胞的膜表面蛋白。为赋予 rRBC 一些非天然功能，该课题组开发了模块化程序，用于在 rRBC 内部装载功能性物质，如药物、磁性 NPs 和生物传感器，从而实现药物递送、磁操纵和毒素生物传感。此外，有研究 [44] 通过分离天然 RBC 中的内源性蛋白质和脂质制备仿生 rRBC，使其具有天然 RBC 所拥有的完整特征，再将近红外染料 IR780 装载在 rRBC 中形成 IR780-rRBC-NPs。结果表明，与游离 IR780 相比，IR780-rRBC-NPs 的毒性降低、循环能力延长、体内光热治疗效率提高。

3.2.5 混合细胞膜的使用

混合细胞膜是一种赋予仿生 NPs 免疫逃避和主动靶向性等多种功能的新方法 [45]。JIANG 等 [35] 将 RBCM 与人乳腺癌细胞（MCF-7 细胞）进行膜融合，再用以包裹黑色素 NPs。体外细胞摄取分析表明，该载药系统对 MCF-7 细胞有显著的靶向性。推测靶向作用主要基于以下机制：① MCF-7 细胞膜上含有同源的自识别生物标志物，可提高肿瘤细胞的同源靶向性；② RBCM 上高表达的 CD47 可保护药物避免被巨噬细胞吞噬。

3.3 功能化修饰 RBC 载体的靶向性研究

3.3.1 肿瘤部位靶向给药

HUANG 等 [37] 制备了以 DOX 为核心的介孔二氧化硅纳米颗粒（MSN），并在 MSN 表面涂覆经环状肿瘤穿透肽（iRGD）修饰的 RBCM，成功制备了 iRGD-RBCM-（DOX/MSN）。细胞摄取研究表明，该递药系统可准确地靶向三阴性乳腺癌。WANG 等 [9] 利用生物素 - 亲和素法将 cRGD 和吲哚菁绿修饰于 RBC 表面以增加靶向性和光热效应；并对其靶向性和联合治疗效果进行评价，观察到该递药系统能将 DOX 输送到病变部位，有效抑制肿瘤生长。

3.3.2 肝脏靶向给药

RBC 衰老时会发生分解，产生一些代谢变化，使细胞失去弹性、下调 CD47 等因子的表达，

导致其被网状内皮系统吞噬并蓄积于肝脏。YAO等[46]利用老化的RBCM将解毒剂二巯基琥珀酸（dimercaptosuccinate，DMSA）靶向递送至肝脏。试验表明，该纳米载体能有效实现肝铬中毒的靶向脱毒。另一研究[11]以叶酸和PEG修饰的纳米RBC为载体，开发了新型肿瘤靶向给药系统。结果显示，与DOX注射液相比，该给药系统能显著延长药物的体内循环时间，提高肿瘤组织中的药物浓度，对肝癌具有较强的靶向治疗效果。

3.3.3 血管内的靶向给药

延长载药系统在血液中的保留时间有利于血管内的靶向给药，对血凝块的溶解十分有效。ZAITSEV等[20]将突变纤溶酶原激活剂（tPA）与小鼠RBC上具有糖蛋白a特异性的单链抗体片段融合，用其制备的靶向给药系统可特异性结合小鼠RBC和激活纤溶酶原，且血管内循环时间延长、纤溶活性显著增强。此外，用RBCM包裹载西罗莫司的PLGA-NPs，可得到具有高度复杂功能化生物界面的纳米复合物，从而增强动脉粥样硬化斑块中NPs的累积、实现靶向药物释放、降低动脉粥样硬化的发生[47]。

3.3.4 脑靶向给药

仿生纳米RBC载药系统可有效穿透血脑屏障（blood brain barrier，BBB），增加靶点药物浓度。CHAI等[48]开发了载DOX的RBCM-PLGA-NPs，但该制品对BBB的渗透和靶向能力较差；继而在RBCM表面修饰有靶向能力的人源肿瘤细胞系异种移植肽（CDX），结果显示所得给药系统可成功穿过BBB，在靶向胶质瘤的治疗中显示出良好疗效。将姜黄素封装在RBCM包裹的人血清白蛋白NPs中，并在RBCM表面修饰TPP分子，所得制品不仅能穿透BBB，还能靶向神经细胞，进一步定位于线粒体，保护神经元[49]。

3.3.5 心肌靶向给药

利用膜分散-超声法制备的脂质体可经RBCM、反式激活蛋白（TAT）、心肌细胞特异性靶向肽（PCM）的共修饰得到一种新型载药系统，从而获得更长的平均停留时间和更多的心脏蓄积[50]。由此可见，该双配体修饰的RBCM载药脂质体可能具有更好的心肌靶向性和长循环能力，可用于治疗心肌缺血。

3.3.6 肺靶向给药

肺是NPs进入静脉后的首个毛细血管床[51]，因此静脉注射RBC-NPs可使肺中的脂质体摄取增加约40倍。DING等[40]制备了CS-NPs负载甲基强的松龙（MPSS），并通过静电作用吸附于RBC上，通过评价RBC-MPSS-CS-NPs的体内生物分布，发现其可增加肺内药物累积、延长循环时间。还有研究[12]通过建立侵袭性黑色素瘤的转移模型，证明采用RBC搭便车技术递送DOX-NPs后，转移性淋巴结总数减少2/3，淋巴结平均体积显著减小。

3.3.7 脾靶向给药

携带免疫调节剂的纳米载体可通过RH-NPs靶向传递到肺，并调节局部免疫环境[28,52]。通过控制纳米载体与RBC的比率，可减少肺蓄积，促进其有效输送到脾脏中的APC[28]，用于脾部疾病治疗。

综上所述，通过对RBCM进行功能化修饰，可实现对机体不同部位的靶向给药，达到治疗多种疾病的目的。肿瘤、肝癌、血管内、脑、心肌等器官或组织的主动靶向肽，以及肺和脾的被动靶向原理汇总结果如表1所示。

4 基因工程RBC

近年来，干细胞来源的工程化RBC载药策略逐渐发展起来[53]。与成熟的RBC改造技术相比，利用造血干细胞（hematopoietic stem cell，HSC）和基因编辑技术创造新的RBC是一项新技术，即从健康O型阴性供体中收集$CD34^+$造血前体细胞，用慢病毒载体或基因盒进行基因工程改造，然后将这些细胞进行扩张和分化，使细胞核脱落到胞外，形成网织RBC，药物则留在胞内或膜上，用于治疗不同疾病，包括酶替代、抗肿瘤、自身免疫性疾病、抗菌、抗病毒等治疗。该技术能使同种异体RBC在胞内或表面表达治疗性蛋白质或酶。

4.1 酶替代治疗

BAX等[54]用慢病毒载体对异基因$CD34^+$细胞进行基因修饰，随细胞的分化扩张，细胞核被排出，

表 1　不同器官或组织的靶向肽及靶向原理

Tab.1　Peptides for Targeting to Vairous Organs or Tissues and the Targeting Mechanisms

器官或组织	靶向肽	靶向原理	参考文献
肿瘤	iRGD、cRGD	iRGD 为环状肿瘤穿透肽，其序列中的 RGD 模块可与肿瘤血管内皮细胞中特异性表达的 $\alpha_v\beta_3$ 或 $\alpha_v\beta_5$ 整合素相结合	[9,37]
肝癌	叶酸	肿瘤细胞中存在高表达的叶酸受体，可与 RBC 表面的叶酸配体结合，主动靶向肿瘤细胞	[11]
血管内	糖蛋白 a 特异性的单链抗体片段	tPA 与人补体受体Ⅰ型特异性单克隆抗体结合，可附着在循环 RBC 上，为血栓模型小鼠提供血栓预防	[20]
脑	CDX 肽、TPP 分子	CDX 肽与烟碱乙酰胆碱受体有高结合亲和力，可穿过 BBB；TPP 是线粒体靶向配体，可利用线粒体膜电位的负电性靶向到线粒体	[48—49]
心肌	TAT、PCM	PCM 是由 20 个氨基酸组成的肽，可特异性结合心肌细胞；TAT 为细胞穿透肽，可将各小分子和大分子引入细胞，而不影响细胞正常结构和功能	[50]
肺	RBC	利用 RBC 的被动靶向性，通过搭便车技术实现	[12,40]
脾	RBC	利用 RBC 的被动靶向性，通过搭便车技术实现	[28,52]

形成了表达治疗性苯丙氨酸解氨酶的网织 RBC，可持续降低血液中苯丙氨酸水平并能有效防止认知发育衰竭。

4.2　抗肿瘤治疗

BANZ 等[30]根据人工 APC 的想法，提出了转基因 RBC（RCT-aAPC）的设想，用以表达针对肿瘤的免疫调节信号。这类细胞既载有肿瘤特异性抗原和共刺激分子，又在表面表达主要组织相容性复合物（MHC）-Ⅰ，可产生有效的肿瘤特异性 T 细胞反应。结果表明，小鼠在服用 RCT-aAPC 后的 d7，可观察到 60%的肿瘤生长抑制。

4.3　自身免疫性疾病治疗

有研究[55]报道利用基因工程 RTX-240（一种红细胞疗法）表达肿瘤坏死因子超家族受体（4-1BBL）和白细胞介素 15（IL-15）/IL-15Rα 融合蛋白（IL-15TP），可有效刺激 4-1BBL 和 IL-15 通路，从而有效促进 T 细胞和自然杀伤（NK）细胞的增殖，并诱导 NK 细胞对髓系白血病 K562 细胞产生更强的细胞毒性，证明 RTX-240 在激活 NK 细胞对抗急性髓系白血病细胞方面具有潜力。

4.4　抗菌、抗病毒作用

HUANG 等[56]将毒素中和剂单域抗体（VHHs）与编码 RBCM 上糖蛋白 A 的 cDNA 融合，在小鼠 RBC 细胞中表达这些 cDNA 并通过体外培养或干细胞移植产生 RBC。结果表明，携带抗肉毒杆菌神经毒素 A（BoNT/A）VHHs 的嵌合蛋白 RBC 的小鼠在 BoNT/A 达到致死剂量的 10 000 倍时仍有抵抗力。利用改良 $CD34^+$ 培养系统构建表达这些嵌合蛋白的人 RBC，并将其输注给予上述小鼠。结果表明，这些小鼠对高致死剂量的 BoNT/A 还具有抵抗力，证明表达 VHHs 的工程 RBC 可提供针对细菌毒素的长期预防性保护，且不会诱导抑制性免疫反应。

成体 RBC 解决了扩增问题，可大幅降低成本，但需与现有药物结合。HSC 来源的 RBC 虽成本高，但经过高效改造，可利用干细胞自身的转录与翻译系统表达相应药物；该方法利用了 RBC 在成熟过程中失去细胞核的特性[14]，因此携带药物的 RBC 没有异体排斥现象。目前，美国 Rubius Therapeutics 公司有 4 条研发管线正在进行临床试验，分别用于治疗苯丙酮尿症（PKU）、实体瘤、急性髓系白血病及人乳头瘤病毒（HPV）-16 阳性的恶性肿瘤[55]，但 RTX-134 在 PKU 的临床Ⅰb 期试验中出现了无法解释的数据[54]，研究者认为是由于使用的细胞剂量低、用于检测循环细胞的流式细胞术灵敏度不足所致。因此，美国 Rubius Therapeutics 公司宣布停止 RBC 疗法在 PKU 及其他罕见病上的临床试验。在治疗实体瘤方面，美国 Rubius Therapeutics 公司正针对 RTX-240 的Ⅰ/Ⅱ期临床试验，招募患有晚期实体瘤的患者。RTX-240 对急性髓系白血病患者的临床试验也到达第二阶段 1 期的评估阶段。临床前研究表明，RTX-240 在多个疾病领域有治疗潜力，可提高患者免疫能力及抗肿瘤能力，且无明显不良反应。RTX-321（RTX-aAPC）是一种人工合成的 APC，在 RBC 表面表达能与 MHC-Ⅰ结合的 HPV 多肽抗原，同时表达 4-1BBL 和白细胞介素 12（IL-12）激活 T 细胞，是一种可治疗 HPV 阳性肿

瘤的潜在疗法。RTX-T1D用于治疗自身免疫性疾病，适应证为1型糖尿病，其在细胞表面表达了能与MHC-Ⅱ结合的抗原，用于恢复机体对自身免疫性抗原的耐受。此外，国内西湖生物也有产品在进行临床前研究：人体外周血干细胞来源或成体RBC来源的有治疗功能的工程化RBC，其研发管线包括恶性肿瘤（肺癌、宫颈癌、脑癌）、免疫与代谢性疾病（痛风、PKU、多发性硬化、败血症）和传染病，其中对肺癌、宫颈癌及痛风的研究已进入临床前研究阶段。

5 总结与展望

制备RBCM包裹的NPs以及对RBC进行靶向性修饰与改造策略的主要目的是实现药物在治疗部位的高效递送。靶向给药、疫苗输送、基因工程RBC已逐渐成为RBC载药的研究热点。由于肿瘤复发涉及耐药效应和转移，单一化疗不能满足治疗需求，研究者探索了更复杂的载药策略，通过各种内外部刺激来实现药物的控制释放，如RBCM包裹的pH敏感系统、酶敏感系统、温度敏感系统，以及近红外介导的光热和磁热疗法[24,57—60]，使药物达到按需释放的目的。

RBC的高效递送和长循环的优势为各种疾病治疗方案的改进提供了新的思路，推动了RBC作为纳米载体的治疗进展。相信未来能设计出更科学的载药策略，实现更高效的药物装载和递送。

参考文献：

[1] DENG X, ZHAO J, LIU K, *et al*. Stealth PEGylated chitosan polyelectrolyte complex nanoparticles as drug delivery carrier [J]. *J Biomater Sci Polym Ed*, 2021, **32**(11): 1387-1405.

[2] ALMEIDA B, NAG O K, ROGERS K E, *et al*. Recent progress in bioconjugation strategies for liposome-mediated drug delivery [J]. *Molecules*, 2020, **25**(23): 5672.

[3] DANIYAL M, JIAN Y Q, XIAO F, *et al*. Development of a nanodrug-delivery system, camouflaged by erythrocytes membrane for the chemo/phototherapy of cancer [J]. *Nanomedicine*, 2020, **15**(7): 691-709.

[4] XIAO Y, GU Y, QIN L, *et al*. Injectable thermosensitive hydrogel-based drug delivery system for local cancer therapy [J]. *Colloids Surf B*, 2021, **200**: 111581.

[5] HARISA G I, IBRAHIM M F, ALANAZI F, *et al*. Engineering erythrocytes as a novel carrier for the targeted delivery of the anticancer drug paclitaxel [J]. *Saudi Pharm J*, 2014, **22**(3): 223-230.

[6] MENG W, HE C, HAO Y, *et al*. Prospects and challenges of extracellular vesicle-based drug delivery system: considering cell source [J]. *Drug Deliv*, 2020, **27**(1): 585-598.

[7] SHARMA R, ZHAO H, AL-SALEEM F H, *et al*. Mechanisms of enhanced neutralization of botulinum neurotoxin by monoclonal antibodies conjugated to antibodies specific for the erythrocyte complement receptor [J]. *Mol Immunol*, 2014, **57**(2): 247-254.

[8] FANG R H, JIANG Y, FANG J C, *et al*. Cell membrane-derived nanomaterials for biomedical applications [J]. *Biomaterials*, 2017, **128**: 69-83.

[9] WANG C, HUANG J, ZHANG Y, *et al*. Construction and evaluation of red blood cells-based drug delivery system for chemo-photothermal therapy [J]. *Colloids Surf B*, 2021, **204**: 111789.

[10] ZHANG S Q, FU Q, ZHANG Y J, *et al*. Surface loading of nanoparticles on engineered or natural erythrocytes for prolonged circulation time: strategies and applications [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2021, **42**(7): 1040-1054.

[11] WANG Y, CHEN X, HE D, *et al*. Surface-modified nanoerythrocyte loading DOX for targeted liver cancer chemotherapy [J]. *Mol Pharm*, 2018, **15**(12): 5728-5740.

[12] ZELEPUKIN, YAREMENKO A V, SHIPUNOVA V O, *et al*. Nanoparticle-based drug delivery via RBC-hitchhiking for the inhibition of lung metastases growth [J]. *Nanoscale*, 2019, **11**(4): 1636-1646.

[13] WANG F, ZONG R, CHEN G. Erythrocyte-enabled immunomodulation for vaccine delivery [J]. *J Control Release*, 2022, **341**: 314-328.

[14] RANI N, ALZUBAIDI Z M, AZHARI H, *et al*. Novel engineering: biomimicking erythrocyte as a revolutionary platform for drugs and vaccines delivery [J]. *Eur J Pharm*, 2021, **900**: 174009.

[15] HE H, YE J, WANG Y, *et al*. Cell-penetrating peptides meditated encapsulation of protein therapeutics into intact red blood cells and its application [J]. *J Control Release*, 2014, **176**: 123-132.

[16] ZHANG X, QIU M, GUO P, *et al*. Autologous red blood cell delivery of betamethasone phosphate sodium for long anti-inflammation [J]. *Pharmaceutics*, 2018, **10**(4): 286.

[17] CHENG Z, LIU S, WU X, *et al*. Autologous erythrocytes delivery of berberine hydrochloride with long-acting effect for hypolipidemia treatment [J]. *Drug Delive*, 2020, **27**(1): 283-291.

[18] XU E, WU X, ZHANG X, *et al*. Study on the protection of dextran on erythrocytes during drug loading [J]. *Colloids Surf B*, 2020, **189**: 110882.

[19] CHEN Z, WU S, CHEN P, *et al*. Critical features for mesoporous silica nanoparticles encapsulated into erythrocytes [J]. *ACS Appl Mater Inter*, 2019, **11**(5): 4790-4798.

[20] ZAITSEV S, SPITZER D, MURCIANO J, *et al*. Targeting of a mutant plasminogen activator to circulating red blood cells for prophylactic fibrinolysis [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2010, **332**(3): 1022-1031.

[21] LORENTZ K M, KONTOS S, DIACERI G, *et al*. Engineered binding to erythrocytes induces immunological tolerance to *E. coli* asparaginase [J]. *Sci Adv*, 2015, **1**(6): e1500112.

[22] 陈　萌, 刘梦阳, 张　琦, 等. 红细胞膜药物递送系统的研究进展与反思[J]. 沈阳药科大学学报, 2020, **37**(6): 556-563.

[23] YEW N S, DUFOUR E, PRZYBYLSKA M, *et al*. Erythrocytes encapsulated with phenylalanine hydroxylase exhibit improved pharmacokinetics and lowered plasma phenylalanine levels in normal mice [J]. *Mol Genet Metab*, 2013, **109**(4): 339-344.

[24] 冯之资, 沈诗洋, 莫　然. 基于红细胞的仿生载体用于光热剂递送和肿瘤光热治疗的研究进展[J]. 中国医药工业杂志, 2022, **53**(1): 28-36.

[25] PAN D C, MYERSON J W, BRENNER J S, *et al*. Nanoparticle properties modulate their attachment and effect on carrier red blood cells [J]. *Sci Rep UK*, 2018, **8**(1): 1615.

[26] LI H, JIN K, LUO M, *et al*. Size dependency of circulation and biodistribution of biomimetic nanoparticles: red blood cell membrane-coated nanoparticles [J]. *Cells Basel*, 2019, **8**(8): 881.

[27] LIU J, ZHANG D, FANG G, *et al*. Erythrocyte membrane bioinspired near-infrared persistent luminescence nanocarriers for *in vivo* long-circulating bioimaging and drug delivery [J]. *Biomaterials*, 2018, **165**: 39-47.

[28] UKIDVE A, ZHAO Z, FEHNEL A, *et al*. Erythrocyte-driven immunization via biomimicry of their natural antigen-presenting function [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, **117**(30): 17727-17736.

[29] HAN X, SHEN S, FAN Q, *et al*. Red blood cell-derived nanoerythrosome for antigen delivery with enhanced cancer immunotherapy [J]. *Sci Adv*, 2019, **5**(10): w6870.

[30] BANZ A, CREMEL M, REMBERT A, *et al*. *In situ* targeting of dendritic cells by antigen-loaded red blood cells: a novel approach to cancer immunotherapy [J]. *Vaccine*, 2010, **28**(17): 2965-2972.

[31] XIA Q, ZHANG Y, LI Z, *et al*. Red blood cell membrane-camouflaged nanoparticles: a novel drug delivery system for antitumor application [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2019, **9**(4): 675-689.

[32] WANG M, YAN W, CHU M, *et al*. Erythrocyte membrane-wrapped magnetic nanotherapeutic agents for reduction and removal of blood Cr(Ⅳ) [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2020, **12**(25): 28014-28023.

[33] CHU J, SHAO C, HA S, *et al*. One-pot peptide cyclisation and surface modification of photosensitiser-loaded red blood cells for targeted photodynamic therapy [J]. *Biomater Sci*, 2021, **9**(23): 7832-7837.

[34] FANG R H, HU C J, CHEN K N H, *et al*. Lipid-insertion enables targeting functionalization of erythrocyte membrane-cloaked nanoparticles [J]. *Nanoscale*, 2013, **5**(19): 8884.

[35] JIANG Q, LIU Y, GUO R, *et al*. Erythrocyte-cancer hybrid membrane-camouflaged melanin nanoparticles for enhancing photothermal therapy efficacy in tumors [J]. *Biomaterials*, 2019, **192**: 292-308.

[36] CHEN Z, WANG W, LI Y, *et al*. Folic acid-modified erythrocyte membrane loading dual drug for targeted and chemo-photothermal synergistic cancer therapy [J]. *Mol Pharm*, 2021, **18**(1): 386-402.

[37] HUANG J, LAI W, WANG Q, *et al*. Effective triple-negative breast cancer targeted treatment using iRGD-modified RBC membrane-camouflaged nanoparticles [J]. *Int J Nanomed*, 2021, **16**: 7497-7515.

[38] GUO Y, WANG D, SONG Q, *et al*. Erythrocyte membrane-enveloped polymeric nanoparticles as nanovaccine for induction of antitumor immunity against melanoma [J]. *ACS Nano*, 2015, **9**(7): 6918-6933.

[39] CHAI Z, RAN D, LU L, *et al*. Ligand-modified cell

membrane enables the targeted delivery of drug nanocrystals to glioma [J]. *ACS Nano*, 2019, **13**(5): 5591-5601.

[40] DING Y, LV B, ZHENG J, *et al*. RBC-hitchhiking chitosan nanoparticles loading methylprednisolone for lung-targeting delivery [J]. *J Control Release*, 2022, **341**: 702-715.

[41] ANSELMO A C, KUMAR S, GUPTA V, *et al*. Exploiting shape, cellular-hitchhiking and antibodies to target nanoparticles to lung endothelium: synergy between physical, chemical and biological approaches [J]. *Biomaterials*, 2015, **68**: 1-8.

[42] ZHENG J, LU C, DING Y, *et al*. Red blood cell-hitchhiking mediated pulmonary delivery of ivermectin: effects of nanoparticle properties [J]. *Int J Pharm*, 2022, **619**: 121719.

[43] GUO J, AGOLA J O, SERDA R, *et al*. Biomimetic rebuilding of multifunctional red blood cells: modular design using functional components [J]. *ACS Nano*, 2020, **14**(7): 7847-7859.

[44] WU P, JIANG X, YIN S, *et al*. Biomimetic recombinant of red blood cell membranes for improved photothermal therapy [J]. *J Nanobiotechnol*, 2021, **19**(1): 213.

[45] DEHNIAI D, WEI X, FANG R H, *et al*. Erythrocyte-platelet hybrid membrane coating for enhanced nanoparticle functionalization [J]. *Adv Mater*, 2017, **29**(16): 1606209.

[46] YAO Q, YANG G, WANG H, *et al*. Aging erythrocyte membranes as biomimetic nanometer carriers of liver-targeting chromium poisoning treatment [J]. *Drug Deliv*, 2021, **28**(1): 1455-1465.

[47] WANG Y, ZHANG K, QIN X, *et al*. Biomimetic nanotherapies: red blood cell based core-shell structured nanocomplexes for atherosclerosis management [J]. *Adv Sci*, 2019, **6**(12): 1900172.

[48] CHAI Z, HU X, WEI X, *et al*. A facile approach to functionalizing cell membrane-coated nanoparticles with neurotoxin-derived peptide for brain-targeted drug delivery [J]. *J Control Release*, 2017, **264**: 102-111.

[49] GAO C, WANG Y, SUN J, *et al*. Neuronal mitochondria-targeted delivery of curcumin by biomimetic engineered nanosystems in Alzheimer's disease mice [J]. *Acta Biomater*, 2020, **108**: 285-299.

[50] IIU X, ZHANG L, JIANG W, *et al*. *In vitro* and *in vivo* evaluation of liposomes modified with polypeptides and red cell membrane as a novel drug delivery system for myocardium targeting [J]. *Drug Deliv*, 2020, **27**(1): 599-606.

[51] BRENNER J S, PAN D C, MYERSON J W, *et al*. Red blood cell-hitchhiking boosts delivery of nanocarriers to chosen organs by orders of magnitude [J]. *Nat Commun*, 2018, **9**(1): 2684.

[52] ZHAO Z, UKIDVE A, KRISHNAN V, *et al*. Systemic tumour suppression via the preferential accumulation of erythrocyte-anchored chemokine-encapsulating nanoparticles in lung metastases [J]. *Nat Biomed Eng*, 2021, **5**(5): 441-454.

[53] ZHOU P, OUCHARI M, XUE Y, *et al*. *In vitro* generation of red blood cells from stem cell and targeted therapy [J]. *Cell Transplant*, 2020, **29**: 1504.

[54] BAX B E. Erythrocytes as carriers of therapeutic enzymes [J]. *Pharmaceutics*, 2020, **12**(5): 435.

[55] MCARDEL S L, DUGAST A, HOOVER M E, *et al*. Anti-tumor effects of RTX-240: an engineered red blood cell expressing 4-1BB ligand and interleukin-15 [J]. *Cancer Immunol*, 2021, **70**(9): 2701-2719.

[56] HUANG N J, PISHESHA N, MUKHERJEE J, *et al*. Genetically engineered red cells expressing single domain camelid antibodies confer long-term protection against botulinum neurotoxin [J]. *Nat Commun*, 2017, **8**(1): 423.

[57] GAO L, WANG H, NAN L, *et al*. Erythrocyte membrane-wrapped pH sensitive polymeric nanoparticles for non-small cell lung cancer therapy [J]. *Bioconjug Chem*, 2017, **28**(10): 2591-2598.

[58] LI N, CAI H, JIANG L, *et al*. Enzyme-sensitive and amphiphilic PEGylated dendrimer-paclitaxel prodrug-based nanoparticles for enhanced stability and anticancer efficacy [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2017, **9**(8): 6865-6877.

[59] DENG X, CHEN Y, CHENG Z, *et al*. Rational design of a comprehensive cancer therapy platform using temperature-sensitive polymer grafted hollow gold nanospheres: simultaneous chemo/photothermal/photodynamic therapy triggered by a 650 nm laser with enhanced anti-tumor efficacy [J]. *Nanoscale*, 2016, **8**(12): 6837-6850.

[60] WANG L, CHEN S, PEI W, *et al*. Magnetically targeted erythrocyte membrane coated nanosystem for synergistic photothermal/chemotherapy of cancer [J]. *J Mater Chem B*, 2020, **8**(18): 4132-4142.