微流控流体动力聚焦技术制备的脂质体及靶向乳腺癌的新策略

金 毅[1]，苏明珠[2]，郭 静[1]，吕松伟[1]，蔡志强[1]*

（1. 常州大学药学院，江苏常州 213164；2. 常州市武进人民医院，江苏常州 213017）

摘要：脂质体是具有磷脂双分子层结构的囊泡，能够装载多种药物，并在靶向肿瘤的药物递送中具有独特优势，但其在可控制备与靶向效率方面面临重要挑战。本综述聚焦微流控流体动力聚焦制备脂质体的方法，介绍了不同种类的微流控芯片，以及相关过程参数对脂质体性能的影响。另外，着重介绍了脂质体在靶向乳腺癌方面的不同递送策略，为脂质体研究提供一种先进的制备技术与新颖的靶向策略。

关键词：脂质体；微流控术；流体动力聚焦；乳腺癌；靶向治疗

中图分类号：R944.9 **文献标志码**：A **文章编号**：1001-8255(2022)06-0801-10

DOI：10.16522/j.cnki.cjph.2022.06.005

Preparation of Liposomes by Microfluidic Hydrodynamic Focusing Technology and Application in the Treatment of Breast Cancer

JIN Yi[1], SU Mingzhu[2], GUO Jing[1], LYU Songwei[1], CAI Zhiqiang[1]*

(*1. School of Pharmacy, Changzhou University, Changzhou 213164; 2. Changzhou Wujin People's Hospital, Changzhou 213017*)

ABSTRACT: Liposomes are vesicles with a phospholipid bilayer structure capable of loading a wide range of drugs and offer unique advantages in targeted tumor drug delivery. However, they face significant challenges in controllable preparation and targeting efficiency. This review focuses on the preparation of liposomes by microfluidic hydrodynamic focusing techniques, introducing different types of microfluidic chips, and the influences of relevant process parameters on liposome properties. Further, different delivery strategies of liposomes for targeting breast cancer are highlighted to provide an advanced preparation technique and novel targeting strategy for liposome research.

Key Words: liposome; microfluidics; hydrodynamic focusing; breast cancer; targeted therapy

脂质体是一种内部为亲水空心核、周围环绕着由两亲性脂质双分子层的球状结构，粒径范围为25 nm至2.5 μm；其生物相容性良好，能包裹不同性质药物并克服细胞和组织摄取障碍，增加药物稳定性并提高生物利用度与靶向性，在增强疗效的同时能减轻不良反应。

制备脂质体的方法多样且相对简单，载药大多通过物理过程，不会破坏和改变药物分子的活性与结构。制备方法在很大程度上决定了所得脂质体的粒径、包封率、载药量、ζ电位、多分散性指数（PDI）及稳定性，所以选取适宜的脂质体制备方法可有效控制脂质体的质量指标。

脂质体的传统制备方法有溶剂注入法、薄膜分散法、逆相蒸发法和洗涤剂消耗法等[1—4]。总体都操作简单，对设备精密度要求低，多用于实验室制备，缺点是无法精确控制脂质体的大小分布，需要通过超声、挤压或过滤等方法减小粒径，且被动包载亲水性化合物的包封率较低[5]、批间重现性差、后续操作优化较为困难。为了克服传统方法的缺陷，近年来报道了膜接触法、超临界流体法、冷冻干燥法、微流控技术等方法[6—8]。其中，微流控术

收稿日期：2021-03-29

作者简介：金 毅(1995—)，男，硕士研究生，专业方向：药物纳米递送。

通信作者：蔡志强(1975—)，男，博士，从事现代生物技术、发酵工程和药物纳米递送的研究。

E-mail：zhqcai@cczu.edu.cn

使用毫米级乃至微米级的微型装置操纵微小流体，所用装置又称为微流控芯片。微流控流体动力聚焦（microfluidic hydrodynamic focusing，MHF）技术就是使有机相与水相在芯片内汇聚并自发组装成脂质体的新技术。

基于脂质体的药物递送系统具有被动靶向性能，并且通过表面修饰不同的基团可获得长循环、主动靶向等性能，减少药物在正常组织中的释放、增加肿瘤细胞中的药物浓度、提高抗肿瘤药的治疗指数。本综述聚焦 MHF 技术，介绍了不同种类的微流控芯片，以及相关过程参数对脂质体性能的影响。另外，介绍了脂质体靶向乳腺癌的几种新策略，以期为脂质体研究提供一种先进的制备技术与新颖的靶向策略。

1　MHF 法

微流控芯片一般由 2 个或以上入口和 1 个出口组成，最常见的是十字型 [9]。通常，将磷脂溶于异丙醇作为有机相引入中间通道，两侧通道注入水性缓冲液，两相溶液在通道内汇聚形成一个狭小的溶剂混合区域，由于缓冲液的稀释使醇浓度降低，导致脂质溶解度低于临界点而自发组装成脂质体。

在上述研究基础上，JAHN 等又提出了一种含 5 个进口和 3 个出口的 MHF 装置（示意图见图 1），旨在研究两相溶液总流速（total rate ratio，TFR）和水相与有机相的流速比（flow rate ratio，FRR）对制备脂质体的影响 [10]。结果表明，在恒定 FRR 的条件下改变 TFR 对脂质体的粒径大小和尺寸分布没有显著影响。进一步研究表明，FRR 越小，则脂质体粒径越大、尺寸分布越分散。所以 MHF 技术可通过调节 FRR 来控制脂质体的粒径大小和尺寸分布，这是其相较于传统脂质体制备技术的突破性优点之一。

DELAMA 等首次采用 MHF 技术制备了碘海醇脂质体 [11]，优化后包封率达到 70％以上（比其他方法制备的碘海醇脂质体高 3 倍 [12]），减少了造影时药物对肾脏的毒性。

LIN 等使用 MHF 技术制备异硫氰酸荧光素修饰的右旋糖酐和尼罗红（分别模拟亲水性药物和疏水性药物）脂质体，并探究 FRR 对脂质体大小和载药效率的影响 [13]。结果表明，亲水性模型药的载药量随着 FRR 的增加而增加，最终稳态约为 90％；当 FRR 为 10 ～ 50 时，疏水性模型药的载药量与 FRR 呈正相关，脂质体大小与 FRR 呈负相关。可能由于亲水性药物包封在亲水核中，疏水性药物负载于脂质双分子层中，所以共载亲水性和疏水性模型药时，两者的载药量与单独载药时一致，2 种性质药物互不影响，且包封亲水性模型药对脂质体大小没有影响，但包封疏水性模型药会略微增加脂质体的粒径。

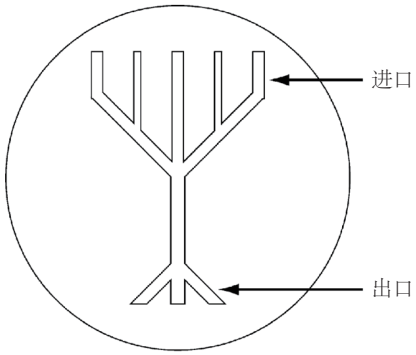


图 1　含 5 个进口和 3 个出口的微流控装置示意图

Fig.1　Schematic Diagram of a Microfluidic Device with Five Inlets and Three Outlets

有研究者在 MHF 技术基础上开发了一种具有 2 个流体汇聚点的 MHF 装置（示意图见图 2），该装置有 3 个进口，将 2 条有机相流和 3 条水相流进行聚焦，增加了扩散界面面积 [14]。与单一 MHF 装置（仅有 1 个流体汇聚点）相比，本装置制备的脂质体粒径相对较小，生产效率较高。研究还表明，在 FRR 和 TFR 高、总脂质浓度低、脂质材料单一的情况下，得到的脂质体粒径较小。

MICHELON 等制造了 4 种宽高比（1 ∶ 1、2 ∶ 1、4 ∶ 1、6 ∶ 1）的十字形 MHF 装置（见图 3），用其研究通道宽高比对脂质体生产效率的影响 [15]。结果表明，较大的通道宽高比可提高脂质体的生产效率，各条件下所得制品的粒径变化不大，但 PDI 随宽高比增大而显著降低。

GARCÍA-MANRIQUE 等使用 3D 打印技术开

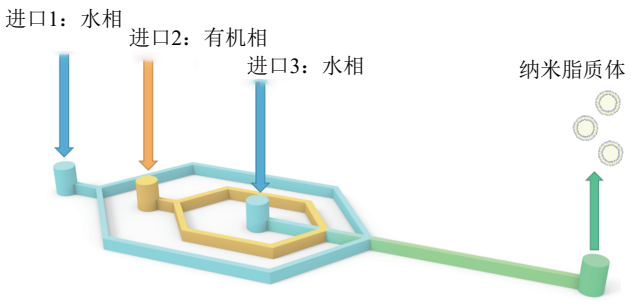


图 2 双流体动力聚焦微流控装置示意图

Fig.2 Schematic Diagram of a Double Flow Focusing Microfluidic Device

发了一种恒温 MHF 装置，通过控制温度来研究其他操作参数对脂质体最终形态特征的影响[16]。结果显示，只有在 FRR 较低的情况下，TFR 才会产生轻微影响；一般情况下，脂质体粒径会随 FRR 的增加而减小；并且，乙醇溶液中的脂质浓度越高，所得脂质体的粒径越大、PDI 越小。此外，研究了 30、40、50 和 60 ℃下聚焦流的宽度、纳米粒子的粒径及多分散性的影响，结果并没有发现明显的变化趋势。由于不同的磷脂具有不同的相变温度，这种能控制温度的 MHF 装置可根据磷脂的种类来设定最佳的温度参数，在不同温度环境下实现稳定的工业化生产。

SUN 等使用聚二甲基硅氧烷（polydimethylsiloxane，PDMS）制造了一种有 4 个进口的二级微流控芯片[17]。该装置具有 2 个流体汇聚点，将流体汇聚分为 2 个阶段。在第一汇聚点注入水相与含有聚乳酸 - 羟基乙酸共聚物（PLGA）的有机相，产生了 PLGA 纳米粒；然后在第二汇聚点的进口注入含有磷脂的有机相，可在纳米粒外部包裹一层磷脂单分子层。接着，他们通过调整注入顺序，改变了脂质纳米粒的含水量：在第一汇聚点注入水相与含有磷脂的有机相，产生了脂质体；然后在第二汇聚点注入含 PLGA 的有机相，生成了亲水性中心包裹了脂质体的脂质纳米粒，增加了含水量。如图 4 所示，这 2 种注入顺序制备出的纳米粒具有相同的化学成分、尺寸与表面属性，但含水量的不同使其具有不同的表面刚性。进一步研究表明，含水量少的纳米粒更“硬”，相较于含水量多的纳米粒更易进入细胞。模拟结果显示，“软”的纳米粒更易形变，在能量层面上不利于细胞的摄取。

AL-AMIN 等分别用传统的薄膜分散法与 MHF 法制备空白脂质体，并采用主动载药法包载地塞米松，旨在对比 2 种方法的优劣[18]。结果表明，MHF 法制备的脂质体具有较高的载药量与包封率，体外释放试验显示 MHF 制品中的药物释放量略高，包裹地塞米松后抗炎效果优于薄膜分散法制品。

综上所述，MHF 制品便于控制粒径、可重复性高，可实现连续化生产和按需生产，不需挤压等后处理，可一步得到尺寸均匀的脂质体。表 1 总结了不同微流控芯片的特点。但目前大部分 MHF 装置都是使用 PDMS 材料制作的，在高流速下易形变，限制了工业生产的效率。由于 MHF 制备过程中需要用水相剪切有机相，并且水相的流速在正常情况下都高于有机相，这就造成制品浓度比传统方法低，并且含有一定量的有机溶剂，后期需要浓缩与去除

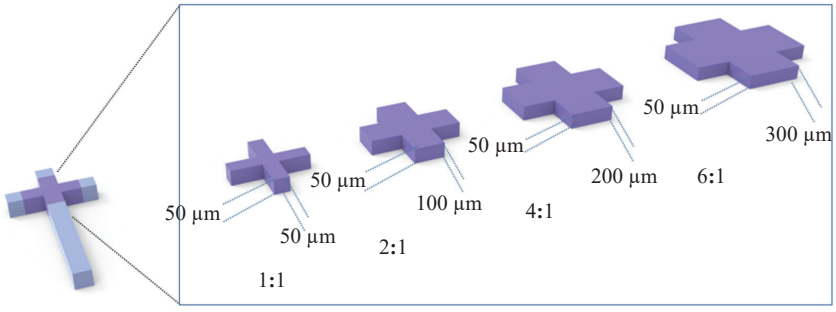


图 3 不同宽高比微流控装置的示意图

Fig.3 Schematic Diagrams of Microfluidic Devices with Different Aspect Ratios

有机溶剂的步骤，这也在一定程度上限制了其工业化发展。因此如何解决这些问题将是今后 MHF 工业化生产研究的热点。

2　脂质体靶向乳腺癌的研究进展

2.1　长循环型脂质体

由于肿瘤组织中血管丰富、血管壁间隙增大、淋巴引流不发达，纳米药物易从血管中进入病灶部位并聚积，这种被动靶向的原理被称为实体瘤的增强通透和滞留（EPR）效应。研究者发现在脂质体表面修饰聚乙二醇（PEG）能显著延长脂质体的体循环时间[19]；并且 PEG 能帮助脂质体逃避网状内皮系统的捕获[20]。此外，PEG 对人体无毒且易降解，其亲水性长链可以在脂质体表面形成屏障，减少脂质体之间的相互聚合，从而提高脂质体的稳定性。有研究报道 PEG 修饰的长循环脂质体具有更强的抗肿瘤活性和体内稳定性[21]。盐酸多柔比星脂质体注射液（Doxil）是首个获得 FDA 批准的纳米药物（于 1995 年上市），它在不影响多柔比星抗肿瘤活性的同时显著减轻了药物心脏毒性[22]。通过薄膜分散法制备的包裹长心卡帕藻提取物的叶酸偶联 PEG 脂质体具有优异的生物相容性和控释特性，能靶向人乳腺癌细胞（MCF-7 细胞）[23]。但有报道指出，长循环脂质体注射后会产生加速血液清除（accelerated blood clearance，ABC）现象[24]。尽管在 PEG 末端添加羟基可降低单次注射的免疫原性和抗原性，但在多次注射情况下还是无法避免大量 ABC 的发生[25]。JIAO 等研究结果显示影响 ABC 现象发生的重要因素是 PEG 的相对分子质量和体循环时间[26]。

2.2　配体靶向型脂质体

与正常细胞相比，某些受体或抗原在乳腺癌细胞上选择性表达或过表达。由于很少存在具有特异

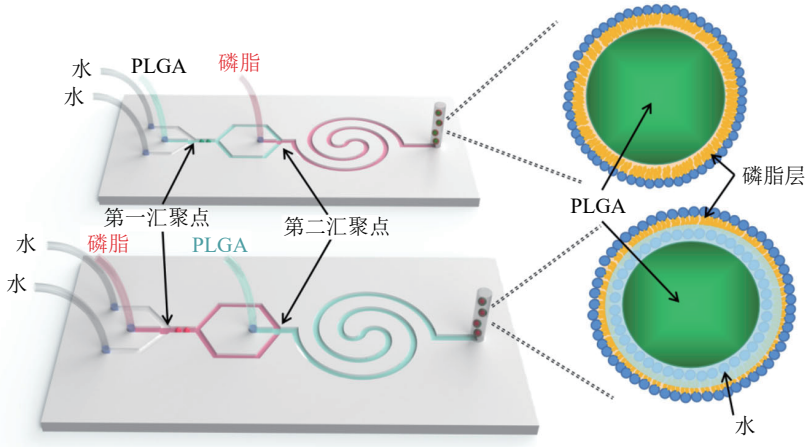


图 4　二级微流控平台组装具有不同含水量的聚合物 - 脂质混合纳米粒

Fig.4　The Two-stage Microfluidic Platforms for Assembling Polymer-lipid Hybrid Nanoparticles with Varying Amounts of Water

表 1　不同微流控芯片的特点

Tab.1　Characteristics of Different Microfluidic Chips

芯片种类	特点	参考文献
十字型混合器	最经典的混合器，微通道中的层流能够在脂质自组装成囊泡的液体界面处实现可控的扩散混合，通过调节磷脂溶液与水的流速之比可控制脂质体的粒径	[9,11,13]
有双流体汇聚点的混合器	增加了扩散界面的面积，提高生产效率；改变注入顺序可制备出不同类型的纳米粒	[14,17]
具备较大宽高比的十字型混合器	较高的通道宽高比可提高脂质体的生产效率，且所得制品粒径变化不大	[15]
控温混合器	可根据具有不同相变温度的磷脂材料调整合适的生产温度，提高生产稳定性	[16]

性的肿瘤抗原，所以目前依靠肿瘤细胞上相对于正常细胞过表达的靶抗原和受体来选择相应的配体与脂质体偶联。配体靶向型脂质体是当今脂质体主动靶向研究的热点之一。

2.2.1 人表皮生长因子受体 -2（HER-2）

HER-2 属于人表皮生长因子受体（EGFR）家族，是目前研究较多的乳腺癌基因之一，也是肿瘤靶向治疗的一个重要靶点。有 25%～ 30%的乳腺癌患者呈 HER-2 阳性，且除三阴性乳腺癌（triple-negative breast cancer，TNBC）外，HER-2 阳性的乳腺癌细胞比大多数乳腺癌细胞易于生长和扩散[27]。表面修饰 HER-2 抗体的脂质体可将药物靶向递送至 HER-2 阳性的肿瘤细胞，如注射用曲妥珠单抗（赫赛汀）治疗 HER-2 阳性乳腺癌时有明显的临床获益[28]。TANG 等开发了一种新型的药物组合靶向递送系统，系将 HER-2 抗体用作靶向配体对脂质体进行表面修饰制得多柔比星免疫脂质体，其与贝伐珠单抗脂质体联合用药治疗 HER-2 阳性和多药耐药性乳腺癌，也体现出巨大的潜力[29]。另一项研究开发了双重靶向免疫脂质体，在多柔比星脂质体表面修饰了曲妥珠单抗和 OKT3（一种 CD3 抗体），既能靶向乳腺癌细胞上的 HER-2 受体，又能靶向 T 淋巴细胞上的 CD3 受体，增强了药物的抗肿瘤活性并减轻了心脏毒性[30]。

2.2.2 叶酸（FA）受体

水溶性维生素 FA 是合成核酸和许多氨基酸的必要前体。叶酸受体（FR）在乳腺、卵巢、脑、肾等部位的肿瘤细胞上都过表达，且 FR 与 FA 之间亲和力高、特异性强，FR 的密度还可能随着疾病的进展而增加[31]。研究者通过表面修饰 FA 成功制备了负载雷公藤红素和伊立替康的 FA 修饰靶向脂质体[32]。结果显示，该脂质体对 FR 阳性的乳腺癌细胞产生的毒性高于 FR 阴性的肺癌细胞，且不良反应明显减轻。有报道将光热疗法与化学疗法相结合，制备了封装金纳米棒和多柔比星的 FA 修饰脂质体，为 FR 过表达肿瘤的治疗提供了一种有效的药物递送策略[33]。试验证明，FA 修饰脂质体比普通脂质体具有更好的靶向能力；并且，在近红外光的照射下，金纳米棒将光能转化为热能，使多柔比星的释放增加，能产生协同高效的杀伤肿瘤细胞作用。然而有研究指出，FR 的 β 亚型（FR-β）在造血干细胞上高水平表达[34]，因此药物靶向该受体可能导致严重的骨髓毒性。

2.2.3 雌激素受体（estrogen receptor，ER）

ER 属于核受体超家族，分布在乳腺、子宫等组织中，在 85%的乳腺癌中过表达。雌酮（estrone，ES）对 ER 有高度的亲和力，可将药物靶向递送至 ER 阳性的乳腺癌细胞。PALIWAL 等开发了一种靶向 ER 的 pH 敏感型脂质体，即表面修饰 ES 的多柔比星脂质体，可靶向至乳腺癌细胞，以减轻全身不良反应[35]。他莫昔芬（tamoxifen，TMX）是一种 ER 拮抗药，与 ER 有高度的亲和力，也是一种激素类抗肿瘤药，因而具有抗肿瘤和靶向双重作用。JAIN 等把 TMX 修饰到脂质双分子膜上制备了 TMX- 多柔比星脂质体，结果显示 TMX 能与多柔比星产生协同作用，在抑制乳腺肿瘤细胞生长方面表现出优异性能[36]。另有研究开发了 ES 修饰、超声波触发的多柔比星脂质体，其在 ER 阳性乳腺癌细胞中的作用得到了证实（肿瘤细胞对该脂质体的摄取提高了 70%）[37]。

2.2.4 转铁蛋白

转铁蛋白是一种运输铁的血清糖蛋白，与转铁蛋白受体结合后可通过受体介导的内吞作用有效内化到细胞中，实现将铁输送到细胞中的目的。文献报道转铁蛋白受体在肿瘤细胞中的表达量比正常细胞高（与正常乳腺细胞相比，其在乳腺癌细胞中的表达增加了 4 ～ 5 倍）[38]。有研究制备了负载表柔比星的长循环脂质体，并将转铁蛋白作为配体进行表面修饰，结果显示药物向细胞内传递的能力得到增强，对 MCF-7 细胞显示出较高的细胞毒性[39]。

此外，其他多肽类配体（如 RGD 肽、透明质酸、SP90 肽、F3 肽、血管活性肠肽等[40—44]）修饰脂质体也可靶向乳腺癌细胞，此处不一一详述。

2.3 环境响应型脂质体

这是一种能根据周围环境变化做出特定响应的药物载体，环境条件的变化可以是生理上自然的变

化，也可以通过人为改变，旨在使脂质载体在特定部位释放药物。

2.3.1 温度敏感型脂质体

由于肿瘤内部环境温度高于正常组织，并且改变局部温度既方便又切实可行，温度敏感型脂质体一直是环境响应型脂质体研究的热门方向。有研究通过薄膜分散法制备了负载多西他赛的温敏型脂质体，并建立了荷人乳腺肿瘤小鼠模型，注射药物后给予肿瘤部位加热处理，药物的抗肿瘤作用明显增强[45]。此外，通过“热疗”等手段升高局部温度还可抑制 DNA 的合成和修复，对肿瘤细胞造成伤害[46]。研究者开发了共载 TMX 和伊马替尼的温度敏感型脂质体，使用了相变温度较高的材料 1,2- 二棕榈酰 -sn- 甘油 -3- 磷脂酰胆碱（DPPC）和单棕榈酰 -2- 羟基 -sn- 甘油 -3- 磷脂酰胆碱（MPPC），以及表面活性剂；该脂质体相变温度为 39.4 ℃，在高于相变温度时 30 min 内释放了 80％的药物，对乳腺癌细胞有显著抑制作用[47]。温敏型脂质体与局部热疗、高强度聚焦超声或其他加热手段相结合，能将药物靶向递送至实体肿瘤并实现药物的可控释放，具有良好的应用前景[48]。

2.3.2 光敏型脂质体

光可以作为一种物理刺激条件来激活脂质体释放其中包封的化合物。在 600 ～ 900 nm 波长范围内的光，具备低散射和吸收系数较小的特征，能深入、穿透生物组织且对生物机体较安全。光敏型脂质体需要使用到光敏剂，通过不同波长、强度的光激活后将能量转递给周围的氧，生成的活性氧（ROS）能直接杀死肿瘤细胞；被激活的光敏剂还可以启动脂质体释放抗肿瘤化学药。由于光敏剂组织通透性差、血浆半衰期短，所以脂质体常被用于增强这些药物的靶向性和稳定性[49]。JIN 等将光敏剂吲哚菁绿（ICG）和天然药物小白菊内酯（parthenolide，PTL）共载到光敏型脂质体中，用以靶向治疗 TNBC[50]。ICG 通过响应近红外光的照射，产生了大量 ROS 并启动脂质体释放药物，在 TNBC 的治疗中发挥协同作用。

2.3.3 pH 敏感型脂质体

由于肿瘤组织的 pH 值比正常组织略低（肿瘤组织细胞外 pH 值为 6.8 ～ 7.0，甚至有些可以低至 5.7），所以 pH 敏感型脂质体可用于特定环境部位的靶向释放。常用材料是合成磷脂 1,2- 二油酰基 -sn- 甘油 -3- 磷脂酰乙醇胺（DOPE），其官能团可以响应肿瘤部位的 pH 值刺激发生质子化 / 去质子化的变化，从而引起脂质双分子层形态上的变化，从层状相过渡到非层状相，使药物穿膜释放[51]。有研究报道通过薄膜分散法，使用磷脂酰乙醇胺制备了包封多西他赛（DTX）的 pH 敏感型脂质体（DTX-Lips）[52]。体外药物释放研究表明，该脂质体在 pH 5.0 时的药物释放速率是 pH 7.4 时的 1.3 倍，提示其具有 pH 特异性释药能力。DTX-Lips 在小鼠血浆中的半衰期和 AUC 相较于已上市的 DTX 注射剂（多帕菲）分别增加了 1.8 和 2.6 倍，这表明 DTX-Lips 具有持续稳定释放药物的优点[52]。有研究制备了一种酸可裂解的 FA 与血脑屏障转运穿透肽 dNP2 共同修饰的紫杉醇 pH 敏感型脂质体，不仅能增强 FR 阳性肿瘤细胞的摄取，也在乳腺癌脑转移模型中证实了增强疗效的作用[53]。

2.3.4 酶敏感型脂质体

乳腺癌是异质性的，其特征是不同蛋白激酶的过表达或活性的改变，例如 p21 活化激酶（p21-activated kinase-1，PAK-1）是一种丝氨酸 - 苏氨酸激酶，属于 PAK 家族[54]。超过 50％的人类乳腺癌表现出 PAK-1 的表达和活性改变，PAK-1 增加了肿瘤细胞的存活率，反之也表明其是一种潜在的治疗靶点[55]。NAJAHI-MISSAOUI 等研发了靶向 PAK-1 的脂质体，包裹 PAK-1 的别构抑制剂（IPA-3）后可降低转移性 TNBC 细胞的活力并诱导细胞凋亡[56]。细胞外基质（ECM）是肿瘤微环境的主要组成部分，其重塑作用促进了多种肿瘤进程。ECM 重塑蛋白 - 赖氨酸氧化酶 -1（LOX-1）在乳腺、胰腺和骨等部位的各种原发性和转移性肿瘤中都过表达[57]。DE VITA 等设计了用 LOX-1 抗体功能化的脂质囊泡，并用以负载表柔比星，结果显示该制品

能靶向肿瘤 ECM 中 LOX-1 并同时释放表柔比星，产生协同抗肿瘤效果[58]。这种多层面的给药方式是 TNBC 化疗的重大突破，可以显著减轻全身不良反应。

2.4 仿生制剂

随着纳米靶向递送和细胞生物学研究的不断发展，用天然的细胞膜修饰纳米颗粒以提高生物相容性和靶向性的仿生制剂成为近几年研究的热点，脂质体由于其较好的载药能力与较高的可修饰性而受到青睐。MA 等通过将红细胞膜与 pH 敏感型脂质体相结合，构建了仿生伪装体系，与其他药物制剂相比，这种用天然细胞膜包载的脂质体表现出更好的肿瘤抑制作用并表现出更好的生物安全性[59]。巨噬细胞在炎症部位有聚集的趋势，常被用于仿生递送系统开发，以靶向肿瘤或炎症部位[60]。GONG 等将巨噬细胞膜与乳腺癌细胞膜的碎片融合成混合仿生涂层对纳米粒进行修饰，并负载了多柔比星，该体系在治疗乳腺癌肺转移后表现出优异的化疗潜力，显示出了混合膜的多靶向能力[61]。近年来，还有利用嵌合抗原受体（CAR）-T 细胞和干细胞对纳米递送载体进行修饰的报道[62—63]。由于 CAR-T 细胞可以特异性地识别肿瘤抗原，增强了纳米粒靶向肿瘤的能力；而神经干细胞膜能使纳米粒在缺血性微环境中富集，以增强对大脑的穿透性。这种细胞膜涂层类仿生制剂制备时，都是通过破碎特定细胞来获取细胞膜碎片，然后修饰在纳米粒表面使其具有特异性靶向功能。

综上所述，脂质体药物递送系统可通过表面修饰不同的基团获得长循环、主动靶向等性能，能增加肿瘤细胞中的药物浓度，增强疗效。表 2 总结了不同的靶向乳腺癌方法的优势与不足，可针对不同需求选择不同的修饰策略。

3 总结与展望

脂质体是一种生物相容性好、可负载亲水性和疏水性药物的纳米载体。目前辉瑞的新冠疫苗就是通过 MHF 技术制备的、负载 mRNA 的阳离子脂质体，这使得 MHF 技术工业化生产的研究愈发火热。目前许多研究都是在传统制备方法的基础上开发多种靶向策略的多功能脂质体，工艺重复性差，这使许多研究项目都止步于实验室阶段。MHF 技术的核心是将两相流体汇聚而形成纳米级颗粒，在两相中加入不同药物可以轻松实现双药物的负载；在有机相里增添功能化磷脂或与磷脂所连接的配体，也有希望一步制得多功能化脂质体。或许通过设计新的具有多个流体汇聚点的 MHF 装置，在其中一个汇聚点制备成脂质体，在其他汇聚点对脂质体内部或外部进行不同的修饰，可实现靶向修饰目的。在此基础上还可以对多个 MHF 装置进行改装、并联或串联，以提高包封率或生产效率。微流控芯片的选材也有待人们深入探索，期待能寻找到一种稳定的材料来解决 MHF 设备在长时间工业化生产和高流速时易形变的问题。因此，基于 MHF 技术的连续工业化生产的优化及与多功能脂质体相结合将是以后的热门研究方向。

表 2 不同的靶向乳腺癌方法的优势与不足

Tab.2 Strengths and Weaknesses of Different Breast Cancer-targeted Approaches

策略	实现途径	优势	不足	参考文献
长循环型	PEG修饰	延长体内循环时间	会产生ABC现象	[19—26]
配体靶向型	靶向HER-2 靶向FR 靶向ER 转铁蛋白修饰	将不同配体修饰在脂质体的表面，与乳腺癌过表达的抗原特异性结合，达到靶向肿瘤的目的	生物相容性差；不同患者肿瘤细胞过表达的抗原不同，个体差异比较大	[28—30] [31—34] [35—37] [38—39]
环境响应型	温度敏感 光敏感 pH敏感 酶敏感	这类脂质体能在特定的环境下选择性释放药物，使药物在乳腺癌肿瘤处聚集	微环境响应性不够好，容易被免疫系统清除，无法主动靶向肿瘤组织	[45—48] [49—50] [51—53] [54—58]
仿生型	红细胞膜 巨噬细胞膜和乳腺癌细胞膜 CAR-T细胞膜和神经干细胞膜	提高脂质体的生物相容性，防止被免疫系统清除，增强靶向性	与其他靶向策略相结合，可以提高其靶向能力	[59] [61] [62—63]

参考文献：

[1] JAAFAR-MAALEJ C, DIAB R, ANDRIEU V, *et al*. Ethanol injection method for hydrophilic and lipophilic drug-loaded liposome preparation [J]. *J Liposome Res*, 2010, **20**(3): 228-243.

[2] 白彩萍, 孙敬蒙, 张晓晨, 等. 薄膜分散法制备格列本脲类脂质体的工艺研究与质量评价[J]. 华西药学杂志, 2019, **34**(2): 125-130.

[3] SZOKA F Jr, PAPAHADJOPOULOS D. Procedure for preparation of liposomes with large internal aqueous space and high capture by reverse-phase evaporation [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1978, **75**(9): 4194-4198.

[4] MEURE L A, FOSTER N R, DEHGHANI F. Conventional and dense gas techniques for the production of liposomes: a review [J]. *AAPS PharmSciTech*, 2008, **9**(3): 798-809.

[5] TRUCILLO P, CAMPARDELLI R, REVERCHON E. Supercritical CO_2 assisted liposomes formation: optimization of the lipidic layer for an efficient hydrophilic drug loading [J]. *J CO_2 Util*, 2017, **18**: 181-188.

[6] JAAFAR-MAALEJ C, CHARCOSSET C, FESSI H. A new method for liposome preparation using a membrane contactor [J]. *J Liposome Res*, 2011, **21**(3): 213-220.

[7] WILLIAM B, NOÉMIE P, BRIGITTE E, *et al*. Supercritical fluid methods: an alternative to conventional methods to prepare liposomes [J]. *Chem Eng J*, 2020, **383**: 123106.

[8] LI C L, DENG Y J. A novel method for the preparation of liposomes: freeze drying of monophase solutions [J]. *J Pharm Sci*, 2004, **93**(6): 1403-1414.

[9] JAHN A, VREELAND W N, GAITAN M, *et al*. Controlled vesicle self-assembly in microfluidic channels with hydrodynamic focusing [J]. *J Am Chem Soc*, 2004, **126**(9): 2674-2675.

[10] JAHN A, VREELAND W N, DEVOE D L, *et al*. Microfluidic directed formation of liposomes of controlled size [J]. *Langmuir*, 2007, **23**(11): 6289-6293.

[11] DELAMA A, TEIXEIRA M I, DORATI R, *et al*. Microfluidic encapsulation method to produce stable liposomes containing iohexol [J]. *J Drug Deliv Sci Technol*, 2019, **54**: 101340.

[12] KAO C Y, HOFFMAN E A, BECK K C, *et al*. Long-residence-time nano-scale liposomal iohexol for X-ray-based blood pool imaging [J]. *Acad Radiol*, 2003, **10**(5): 475-483.

[13] LIN W S, MALMSTADT N. Liposome production and concurrent loading of drug simulants by microfluidic hydrodynamic focusing [J]. *Eur Biophys J*, 2019, **48**(6): 549-558.

[14] AGHAEI H, NAZAR A R S. Continuous production of the nanoscale liposome in a double flow-focusing microfluidic device [J]. *Ind Eng Chem Res*, 2019, **58**(51): 23032-23045.

[15] MICHELON M, OLIVEIRA D R B, DE FIGUEIREDO FURTADO G, *et al*. High-throughput continuous production of liposomes using hydrodynamic flow-focusing microfluidic devices [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2017, **156**: 349-357.

[16] GARCÍA-MANRIQUE P, GUTIÉRREZ G, MATOS M, *et al*. Continuous flow production of size-controllable niosomes using a thermostatic microreactor [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2019, **182**: 110378.

[17] SUN J S, ZHANG L, WANG J L, *et al*. Tunable rigidity of (polymeric core)-(lipid shell) nanoparticles for regulated cellular uptake [J]. *Adv Mater*, 2015, **27**(8): 1402-1407.

[18] AL-AMIN M D, BELLATO F, MASTROTTO F, *et al*. Dexamethasone loaded liposomes by thin-film hydration and microfluidic procedures: formulation challenges [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, **21**(5): 1611.

[19] KLIBANOV A L, MARUYAMA K, TORCHILIN V P, *et al*. Amphipathic polyethyleneglycols effectively prolong the circulation time of liposomes [J]. *FEBS Letters*, 1990, **268**(1): 235-237.

[20] GÓMEZ-VALLEJO V, PUIGIVILA M, PLAZA-GARCÍA S, *et al*. PEG-copolymer-coated iron oxide nanoparticles that avoid the reticuloendothelial system and act as kidney MRI contrast agents [J]. *Nanoscale*, 2018, **10**(29): 14153-14164.

[21] KIM C E, LIM S K, KIM J S. *In vivo* antitumor effect of cromolyn in PEGylated liposomes for pancreatic cancer [J]. *J Control Release*, 2012, **157**(2): 190-195.

[22] BARENHOLZ Y. Doxil® — the first FDA-approved nano-drug: lessons learned [J]. *J Control Release*, 2012, **160**(2): 117-134.

[23] BASKARARAJ S, PANNEERSELVAM T, GOVINDARAJ S, *et al*. Formulation and characterization of folate receptor-targeted PEGylated liposome encapsulating bioactive compounds from *Kappaphycus alvarezii* for cancer therapy

[J]. *3 Biotech*, 2020, **10**(3): 136.

[24] EL SAYED M M, TAKATA H, SHIMIZU T, *et al*. Hepatosplenic phagocytic cells indirectly contribute to anti-PEG IgM production in the accelerated blood clearance (ABC) phenomenon against PEGylated liposomes: appearance of an unexplained mechanism in the ABC phenomenon [J]. *J Control Release*, 2020, **323**: 102-109.

[25] SHIMIZU T, ABU LILA A S, FUJITA R, *et al*. A hydroxyl PEG version of PEGylated liposomes and its impact on anti-PEG IgM induction and on the accelerated clearance of PEGylated liposomes [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2018, **127**: 142-149.

[26] JIAO J, JIAO X Q, WANG C L, *et al*. The contribution of PEG molecular weights in PEGylated emulsions to the various phases in the accelerated blood clearance (ABC) phenomenon in rats [J]. *AAPS PharmSciTech*, 2020, **21**(8): 300.

[27] WU D, SI M J, XUE H Y, *et al*. Nanomedicine applications in the treatment of breast cancer: current state of the art [J]. *Int J Nanomedicine*, 2017, **12**: 5879-5892.

[28] GIANNI L, PIENKOWSKI T, IM Y H, *et al*. 5-year analysis of neoadjuvant pertuzumab and trastuzumab in patients with locally advanced, inflammatory, or early-stage HER2-positive breast cancer (NeoSphere): a multicentre, open-label, phase 2 randomised trial [J]. *Lancet Oncol*, 2016, **17**(6): 791-800.

[29] TANG Y, SOROUSH F, TONG Z H, *et al*. Targeted multidrug delivery system to overcome chemoresistance in breast cancer [J]. *Int J Nanomedicine*, 2017, **12**: 671-681.

[30] VAIDYA T, STRAUBINGER R M, AIT-OUDHIA S. Development and evaluation of tri-functional immunoliposomes for the treatment of HER2 positive breast cancer [J]. *Pharm Res*, 2018, **35**(5): 95.

[31] DIXIT V, VAN DEN BOSSCHE J, SHERMAN D M, *et al*. Synthesis and grafting of thioctic acid-PEG-folate conjugates onto Au nanoparticles for selective targeting of folate receptor-positive tumor cells [J]. *Bioconjug Chem*, 2006, **17**(3): 603-609.

[32] SOE Z C, THAPA R K, OU W Q, *et al*. Folate receptor-mediated celastrol and irinotecan combination delivery using liposomes for effective chemotherapy [J]. *Colloids Surf B: Biointerfaces*, 2018, **170**: 718-728.

[33] NGUYEN V D, MIN H K, KIM C S, *et al*. Folate receptor-targeted liposomal nanocomplex for effective synergistic photothermal-chemotherapy of breast cancer *in vivo* [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2019, **173**: 539-548.

[34] PAN X Q, ZHENG X, SHI G F, *et al*. Strategy for the treatment of acute myelogenous leukemia based on folate receptor β-targeted liposomal doxorubicin combined with receptor induction using all-trans retinoic acid [J]. *Blood*, 2002, **100**(2): 594-602.

[35] PALIWAL S R, PALIWAL R, PAL H C, *et al*. Estrogen-anchored pH-sensitive liposomes as nanomodule designed for site-specific delivery of doxorubicin in breast cancer therapy [J]. *Mol Pharm*, 2012, **9**(1): 176-186.

[36] JAIN A S, GOEL P N, SHAH S M, *et al*. Tamoxifen guided liposomes for targeting encapsulated anticancer agent to estrogen receptor positive breast cancer cells: *in vitro* and *in vivo* evaluation [J]. *Biomedicine Pharmacother*, 2014, **68**(4): 429-438.

[37] SALKHO N M, PAUL V, KAWAK P, *et al*. Ultrasonically controlled estrone-modified liposomes for estrogen-positive breast cancer therapy [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2018, **46**(Sup2): 462-472.

[38] PENG J L, WU S, ZHAO X P, *et al*. Downregulation of transferrin receptor surface expression by intracellular antibody [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, **354**(4): 864-871.

[39] GANDHI R, KHATRI N, BARADIA D, *et al*. Surface-modified Epirubicin-HCl liposomes and its *in vitro* assessment in breast cancer cell-line: MCF-7 [J]. *Drug deliv*, 2016, **23**(4): 1152-1162.

[40] ZHAO Z, ZHAO Y, XIE C W, *et al*. Dual-active targeting liposomes drug delivery system for bone metastatic breast cancer: synthesis and biological evaluation [J]. *Chem Phys Lipids*, 2019, **223**: 104785.

[41] WANG J, LIU D, GUAN S, *et al*. Hyaluronic acid-modified liposomal honokiol nanocarrier: enhance anti-metastasis and antitumor efficacy against breast cancer [J]. *Carbohydr Polym*, 2020, **235**: 115981.

[42] LU R M, CHEN M S, CHANG D K, *et al*. Targeted drug delivery systems mediated by a novel peptide in breast cancer therapy and imaging [J]. *PloS One*, 2013, **8**(6): e66128.

[43] MOURA V, LACERDA M, FIGUEIREDO P, *et al*. Targeted and intracellular triggered delivery of therapeutics to cancer cells and the tumor microenvironment: impact on

the treatment of breast cancer [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2012, **133**(1): 61-73.

[44] DAGAR S, SEKOSAN M, LEE B S, *et al*. VIP receptors as molecular targets of breast cancer: implications for targeted imaging and drug delivery [J]. *J Control Release*, 2001, **74**(1): 129-134.

[45] ZHANG H, GONG W, WANG Z Y, *et al*. Preparation, characterization, and pharmacodynamics of thermosensitive liposomes containing docetaxel [J]. *J Pharm Sci*, 2014, **103**(7): 2177-2183.

[46] ZHOU Q, ZHANG L, YANG T H, *et al*. Stimuli-responsive polymeric micelles for drug delivery and cancer therapy [J]. *Int J Nanomedicine*, 2018, **13**: 2921-2942.

[47] JOSE A, NINAVE K M, KARNAM S, *et al*. Temperature-sensitive liposomes for co-delivery of tamoxifen and imatinib for synergistic breast cancer treatment [J]. *J Liposome Res*, 2019, **29**(2): 153-162.

[48] BI H, XUE J X, JIANG H, *et al*. Current developments in drug delivery with thermosensitive liposomes [J]. *Asian J Pharm Sci*, 2019, **14**(4): 365-379.

[49] LEE Y, THOMPSON D H. Stimuli-responsive liposomes for drug delivery [J]. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*, 2017, **9**(5): 10. 1002/wnan. 1450.

[50] JIN X, LU X Y, ZHANG Z H, *et al*. Indocyanine green-parthenolide thermosensitive liposome combination treatment for triple-negative breast cancer [J]. *Int J Nanomed*, 2020, **15**: 3193-3206.

[51] MONTEIRO L O F, LOPES S C A, BARROS A L B, *et al*. Phase behavior of dioleyphosphatidylethanolamine molecules in the presence of components of pH-sensitive liposomes and paclitaxel [J]. *Colloids Surf B: Biointerfaces*, 2016, **144**: 276-283.

[52] ZHANG H, LI R Y, LU X, *et al*. Docetaxel-loaded liposomes: preparation, pH sensitivity, pharmacokinetics, and tissue distribution [J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2012, **13**(12): 981-989.

[53] LI M, SHI K R, TANG X, *et al*. Synergistic tumor microenvironment targeting and blood-brain barrier penetration via a pH-responsive dual-ligand strategy for enhanced breast cancer and brain metastasis therapy [J]. *Nanomedicine*, 2018, **14**(6): 1833-1843.

[54] KICHINA J V, GOC A, AL-HUSEIN B, *et al*. PAK1 as a therapeutic target [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2010, **14**(7): 703-725.

[55] BALASENTHIL S, SAHIN A A, BARNES C J, *et al*. p21-activated kinase-1 signaling mediates cyclin D1 expression in mammary epithelial and cancer cells [J]. *J Biol Chem*, 2004, **279**(2): 1422-1428.

[56] NAJAHI-MISSAOUI W, QUACH N D, SOMANATH P R, *et al*. Liposomes targeting p21 activated kinase-1 (PAK-1) and selective for secretory phospholipase A_2 ($sPLA_2$) decrease cell viability and induce apoptosis in metastatic triple-negative breast cancer cells [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, **21**(24): 9396.

[57] COX T R, RUMNEY R M H, SCHOOF E M, *et al*. The hypoxic cancer secretome induces pre-metastatic bone lesions through lysyl oxidase [J]. *Nature*, 2015, **522**(7554): 106-110.

[58] DE VITA A, LIVERANI C, MOLINARO R, *et al*. Lysyl oxidase engineered lipid nanovesicles for the treatment of triple negative breast cancer [J]. *Sci Rep*, 2021, **11**(1): 5107-5107.

[59] MA W J, YANG Y T, ZHU J W, *et al*. Biomimetic nanoerythrosome-coated aptamer-DNA tetrahedron/maytansine conjugates: pH-responsive and targeted cytotoxicity for HER2-positive breast cancer [J]. *Adv Mater*, 2022: e2109609.

[60] LIANG B B, DENG T, LI J P, *et al*. Biomimetic theranostic strategy for anti-metastasis therapy of breast cancer via the macrophage membrane camouflaged superparticles [J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2020, **115**: 111097.

[61] GONG C N, YU X Y, YOU B M, *et al*. Macrophage-cancer hybrid membrane-coated nanoparticles for targeting lung metastasis in breast cancer therapy [J]. *J Nanobiotechnology*, 2020, **18**(1): 92-92.

[62] MA W J, ZHU D M, LI J H, *et al*. Coating biomimetic nanoparticles with chimeric antigen receptor T cell-membrane provides high specificity for hepatocellular carcinoma photothermal therapy treatment [J]. *Theranostics*, 2020, **10**(3): 1281-1295.

[63] MA J N, ZHANG S Q, LIU J, *et al*. Targeted drug delivery to stroke via chemotactic recruitment of nanoparticles coated with membrane of engineered neural stem cells [J]. *Small*, 2019, **15**(35): e1902011.