

· 药咖论坛 ·

脂质体药物体内过程研究进展

刘梦园¹, 钱隽¹, 占昌友^{1,2*}

(1. 复旦大学药学院智能化递药教育部重点实验室, 上海 201203; 2. 复旦大学基础医学院药理学系, 上海 200032)

[摘要] 得益于优良的生物相容性、低毒性和低免疫原性, 脂质体已被广泛用于抗肿瘤药物、抗感染药物等高效递送。尽管涉及脂质体药物的新技术和新类型不断涌现, 但其体内过程尚未完全明晰, 极大限制了脂质体药物的临床转化和应用。揭示脂质体药物体内血液循环、生物分布、代谢和排泄等过程, 全面阐释机体对该过程的调控作用与机制, 发掘潜在构效关系, 将助力脂质体药物合理设计, 加快临床转化进程, 助推临床精准应用。重点从脂质体药物体内过程、影响因素和调控策略三方面进行综述, 期望为脂质体药物相关研究提供参考。

[关键词] 脂质体; 蛋白冠; 体内过程; 生物学效应

[中图分类号] R944

[文献标志码] A

[文章编号] 1001-5094 (2024) 10-0735-12

DOI: 10.20053/j.issn1001-5094.2024.10.003

Advances in the Study of *in Vivo* Processes of Liposomal DrugsLIU Mengyuan¹, QIAN Jun¹, ZHAN Changyou^{1,2}

(1. Ministry of Education Key Laboratory of Smart Drug Delivery, School of Pharmacy, Fudan University, Shanghai 201203, China;

2. Department of Pharmacology, School of Basic Medical Sciences, Fudan University, Shanghai 200032, China)

[Abstract] Due to their excellent biocompatibility, low toxicity, and minimal immunogenicity, liposomes have been extensively utilized for the efficient delivery of antitumor agents, antimicrobial agents, among many others. However, despite the advancement in liposome technologies, the *in vivo* behaviors of liposomes remain insufficiently understood, posing significant challenges to their clinical translation and application. A comprehensive understanding of the processes involved in blood circulation, biodistribution, metabolism, and excretion of liposomal therapeutics—along with a thorough elucidation of the underlying regulatory mechanisms and potential 'composition-efficacy' relationships—would greatly aid in the rational design of liposome-based therapies. This review provides an overview of the *in vivo* delivery processes, influencing factors, and regulatory strategies of liposomal drugs, serving as reference for future research in the field.

[Key words] liposome; protein corona; *in vivo* process; biological effect

自1965年被Bangham发现以来, 脂质体已逐渐成为研究最广泛的纳米载体之一^[1]。与其他纳米载体相比, 脂质体毒性低, 免疫原性低, 生物相容性良好, 可包载小分子、蛋白质和核酸等不同类型药物。研究人员已在脂质体药物的开发和优化上取得诸多进展, 如开发隐形脂质体以延长循环时间, 设计免疫脂质体以实现主动靶向递送或物理刺激响应脂质体实现包载药物的控释等^[2-4]。目前已有逾20款基于脂质纳米载体的原研药获批上市(见表1)。新冠疫情期间脂质纳米粒被用于递送mRNA新冠疫苗也充分展示了脂质体等脂质纳米载体应用前景^[5]。

尽管涉及脂质体药物的新技术和新药物类型不断涌现, 但其临床转化和应用仍有待提升。如主动靶向脂质体药物在临床前研究中十分活跃, 但至今仍未实现临床转化应用, 已上市的脂质体药物几乎均为被动靶向脂质体药物。一些通过抗体、配体功能化的脂质体药物虽然在临床前研究中表现出良好药效, 但在临床研究中至今尚未有成功案例。如将抗人表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor 2, HER2)单克隆抗体偶联至聚乙二醇(PEG)化脂质体阿霉素(sLip/Dox)表面的MM-302, 其临床前研究结果显示在乳腺癌治疗中较sLip/Dox具有更强的抗肿瘤活性, 且联用曲妥珠单抗有协同作用。然而, III期临床试验因MM-302联合曲妥珠单抗对患者总体生存期并无明显改善而终止^[2,6]。同时, 手足综合征、超敏反应等不良反应的出现对已上市脂质体药物的临床应用也有所限制^[7]。

接受日期: 2024-08-15

项目资助: 国家自然科学基金(No. 32330058, No. 82273866)

***通信作者:** 占昌友, 教授, 博士生导师;

研究方向: 脂质纳米药物基础与转化研究;

E-mail: cyzhan@fudan.edu.cn

如首个上市的脂质体抗肿瘤药物-PEG 化脂质体阿霉素 Doxil® 已广泛应用于临床, 且显示出包括心脏毒性降低和血药循环时间延长等优势, 但随之产生的手足综合征严重影响患者用药后生存质量^[8]。同时, 现有研究发现, 人体中广泛存在预存抗 PEG 抗体, 该抗体可导致 PEG 化脂质体、mRNA- 脂质纳米颗粒药物/疫苗等 PEG 化纳米制剂体内血液清除效应

加速和类过敏反应等, 显著影响脂质体药物的临床应用^[9-10]。临床转化率不高和不良反应机制不明均亟需明晰脂质体药物的体内过程与机体调控机制。理解脂质体药物体内血液循环、生物分布、代谢和排泄等过程, 全面阐释机体对该过程的调控作用与机制, 发掘潜在构效关系, 将助力脂质体药物合理设计, 加快临床转化进程, 并助推临床精准应用。

表 1 已上市的原研脂质纳米药物 (截至 2024 年 7 月)

Table 1 Marketed original lipid-based nanomedicine (up to July 2024)

商品名	封装药物	给药途径	上市年份 (国家及地区)	适应证
Doxil/Caelyx	阿霉素	静脉	1995 (美国) 1997 (欧盟)	卵巢癌、卡波西肉瘤、骨髓性黑素瘤
DaunoXome	柔红霉素	静脉	1996 (美国)	卡波西肉瘤
AmBisome	两性霉素 B	静脉	1997 (美国) 1990 (欧盟)	深度真菌感染
DepoCyte	阿糖胞苷	鞘内	1999 (美国)	淋巴瘤致脑膜炎
Myocet	阿霉素	静脉	1995 (美国)	转移性乳腺癌、卡波西肉瘤
DepoDur	硫酸吗啡	硬膜外	2004 (美国)	术后疼痛
Exparel	布比卡因	局部浸润	2011 (美国)	术后疼痛
Visudyne	维替泊芬	静脉	2000 (美国)	湿性老年性黄斑变性
Epaxal	甲肝灭活疫苗	肌肉	1994 (欧盟)	甲型病毒性肝炎
Inflexal V	流感病毒	肌肉	1997 (欧盟)	流感
Marqibo	长春新碱	静脉	2012 (美国)	急性髓细胞白血病
NecLip-pdF VIII	凝血因子 VIII	静脉	2012 (俄国)	血友病
Mepact	米伐木肽	静脉	2009 (欧盟)	非转移性骨肉瘤
Onivyde	伊立替康	静脉	2015 (美国)	转移性晚期胰腺癌
Vyxos	柔红霉素、阿糖胞苷	静脉	2017 (美国)	急性髓细胞白血病
Onpattro	siRNA	静脉	2018 (美国)	遗传家族性淀粉样变性
Arikavce	阿米卡星	吸入	2018 (美国)	肺部感染
Shingrix	重组带状疱疹疫苗	静脉	2018 (欧盟)	带状疱疹和疱疹后神经痛
力朴素	紫杉醇	静脉	2003 (中国)	卵巢癌、非小细胞肺癌、乳腺癌
多恩达	米托蒽醌	静脉	2022 (中国)	外周 T 细胞淋巴瘤
Comirnaty	mRNA	肌肉	2020 (美国)	COVID-19
Spikevax	mRNA	肌肉	2020 (美国)	COVID-19
度恩泰	mRNA	肌肉	2023 (中国)	COVID-19
沃蓝安安	mRNA	肌肉	2023 (中国)	COVID-19
mRESVIA	mRNA	肌肉	2024 (美国)	呼吸道合胞病毒

siRNA: 小干扰 RNA; mRNA: 信使 RNA; COVID-19: 新型冠状病毒感染

狭义上, 药物的体内过程即指“ADME”过程, 包括药物的体内吸收 (absorption)、分布 (distribution)、代谢 (metabolism) 和排泄 (excretion) 4 个主要阶段^[11]。然而对于脂质体药物等纳米药物

而言, 纳米载体不仅参与药物体内过程, 而且其自身也会产生生物学活性 (如纳米载体激活补体产生类过敏反应等), 使得纳米药物的体内过程与机体调控机制显著异于传统药物分子^[7]。目前临床上已

用或在研脂质体药物多为静脉给药, 脂质纳米载体参与药物血液循环、组织分布、代谢和排泄等过程^[12]。在体内过程中, 脂质体作为外源性粒子与机体相互作用, 产生复杂生物学效应。如血液、组织间液、细胞质中的生物介质不可避免地吸附于脂质体药物表面, 形成“生物冠”调控其体内过程^[13]。然而, 脂质体药物进入体内后, 药物的多种存在形式(游离型和包载型)、与机体多种生物介质/细胞相互作用以及生理和病理差异等, 使其体内过程和机体调控机制研究面临巨大挑战^[14-15]。本文就脂质体体内过程研究中的重点、难点, 机体调控脂质体药物体内过程的相关机制以及基于机制的脂质体药物合理设计策略进展进行简述。

1 脂质体药物体内过程

1.1 血液循环

大多数脂质体药物经血管内给药, 无吸收过程, 制剂入血后直接与血浆蛋白及血细胞发生相互作用。其他途径给药(如肌肉注射等)的脂质体药物, 则经过局部毛细血管渗透或淋巴循环等方式进入血液循环^[16-17]。在血液循环中, 各种血浆蛋白可吸附至脂质体药物表面形成“蛋白冠”^[18]。人血浆蛋白种类多样, 且功能和含量各异, 使得蛋白冠的组成受生理环境的影响更具复杂性, 以致蛋白冠对脂质体药物体内过程的影响呈多面性^[19]。

1.2 组织分布

与可通过毛细血管壁扩散至组织中的小分子药物不同, 脂质体药物无法穿透多数器官中致密血管壁, 而在肝脏、脾脏、骨髓、炎症组织和肿瘤等特殊器官组织及病灶部位蓄积^[20]。其中, 肝脏因复杂的血管孔径、高灌注量及丰富的组织驻留巨噬细胞, 成为脂质体药物经静注后蓄积最多的部位^[21]。在肿瘤和炎症组织中, 较大的内皮空隙和多孔的毛细血管壁增加了脂质体药物的蓄积^[22]。此外, 部分脂质体药物在血液循环中可被循环髓系细胞(如中性粒细胞)吞噬并随细胞转运, 穿过血管屏障, 促进脂质体在炎症组织、肿瘤及皮肤等部位的蓄积^[23]。值得注意的是, 静脉注射后脂质体药物在皮肤中存在显著分布, 导致包封药物(如阿霉素)到达真皮层,

引起手足综合征等毒性反应^[24]。Ding等^[25]研究发现, 脂质体与中性粒细胞相互作用是其皮肤蓄积的主要诱因, 阻断补体激活以减少中性粒细胞吞噬, 可有效降低脂质体药物的皮肤分布。

1.3 代谢和排泄

直径小于5.5 nm的亲水性分子一般通过肾脏排泄。疏水性分子或高蛋白结合的分子一般先在肝脏转化为亲水化合物, 继而排泄到胆汁或尿液中^[26]。尽管目前肝胆途径已被公认为脂质体药物的主要代谢排泄途径^[21], 但脂质体药物的肝内转运和代谢过程, 尤其是载体对药物肝内命运的影响尚未明晰。以sLip/Dox为例, 血液循环中sLip/Dox大部分呈完整纳米颗粒形式进入肝脏, Jiang等^[27]对sLip/Dox入肝后的转运、分布、代谢和排泄进行了定量研究, 系统揭示了sLip/Dox的肝内转运和代谢排泄过程。进入肝脏后脂质体药物主要被肝脏枯否细胞和肝窦内皮细胞捕获, 其中枯否细胞占主导地位, 倾向于快速捕获并降解sLip/Dox以释放Dox。被释放的Dox随后进入肝实质细胞并沿小叶中心轴呈带状分布特征, 之后Dox和代谢物(主要是Doxol)进入胆囊, 随胆汁分泌至肠道, 并在*R. planticola*菌群作用下代谢为7-Deo, 最终随粪便排出体外。

2 脂质体理化性质对体内过程的影响

脂质体的理化性质包括粒径、形貌、刚性和表面电荷等, 影响其与血浆蛋白及免疫系统的相互作用, 调控其体内命运和生物学效应。

2.1 粒径

脂质体的粒径影响其血液循环时间和组织分布等。当脂质体粒径超过内皮间隙时, 其组织渗透力会降低。肝窦内皮窗孔直径为100~150 nm, 通常情况下, 粒径小于100 nm的纳米粒子更易通过内皮间隙到达肝脏进行肝胆清除^[28]。Liu等^[29]研究了粒径对脂质体肝脏蓄积量的影响, 发现粒径小于50 nm的脂质体的肝脏蓄积远高于粒径大于100或250 nm的脂质体。另有研究表明, 脂质体粒径为100 nm是实现肿瘤被动靶向的最佳尺寸^[22]。Uchiyama等^[30]研究了直径范围40~400 nm内不同粒径脂质体的肿瘤摄取清除率, 发现虽然小型刚性

脂质体 (直径 ≤ 100 nm) 的肿瘤蓄积量和血液循环量优于同等大小的流体脂质体, 但这 2 种形态脂质体的肿瘤摄取清除率无论粒径大小均无差异, 表明脂质体从血管到肿瘤间质的转移主要由粒径决定, 而与膜流动性和血液循环时间无关。

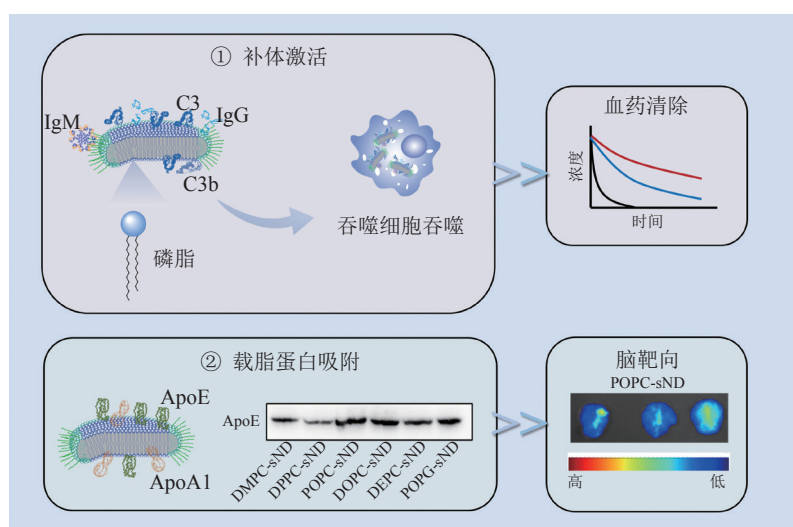
2.2 脂质组成和表面电荷

脂质体表面电荷可通过改变脂质组成或掺入特定配体调控, 如掺入 1, 2-二油酰基-3-三甲基丙烷铵 (DOTAP)、二甲基二十八烷基溴化铵 (DDAB) 等分子可使脂质体呈正电性^[31]。有研究发现, 由 DOTAP/1, 2-双十六酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱/胆固醇组成的载姜黄素阳离子脂质体 (C-LS/Cur), 能借助静电相互作用靶向带负电荷的细菌^[32]。在脂质体制剂中加入酸性磷脂, 如磷脂酰丝氨酸 (PS)、磷脂酸 (PA)、磷脂酰肌醇 (PI) 等可使脂质体呈负电性^[33-34]。Allen 等^[33,35] 研究表明, PS 和 PA 组成的阴离子脂质体会迅速从循环系统清除并蓄积至单核巨噬系统 (mononuclear phagocytes system, MPS) 中; 相比之下, 由神经节苷脂 (GM1) 和 PI 组成的脂质体同样带负电荷, 能抑制 MPS 摄取并延长循环时间。因此, 表面电荷对脂质体药物体内过

程和生物学效应的调控具有复杂性, 脂质材料的不同也会影响表面蛋白冠的组成与功能, 进而改变脂质体药物体内过程。Shao 等^[36] 研究发现, 磷脂酰甘油组成的阴离子脂质体 (DSPG sLip) 表面沉积大量补体蛋白, 增加了 DSPG sLip 对浮游菌和细菌生物膜的亲和力, 有望应用于金黄色葡萄球菌感染的治疗。

2.3 形貌

形貌是影响脂质体与血浆蛋白及免疫细胞相互作用的关键因素之一。常见的脂质纳米载体多为球形, 非球形结构可能改变吸附在纳米载体表面的血浆蛋白丰度和构象, 从而导致不同的体内过程^[37]。Chen 等^[38] 研究发现, 脂质纳米圆盘因表面 PEG 主要呈现边缘分布, 吸附的抗 PEG 免疫球蛋白 M (IgM) 无法呈现合适构象, 难以充分暴露结合位点以供先天免疫补体蛋白 C1q 附着, 削弱了脂质纳米圆盘的补体激活程度。Pan 等^[39] 研究发现, 脂质纳米圆盘可大量吸附载脂蛋白, 且改变磷脂组分也不影响这一现象。由磷脂材料为 1-棕榈酰基-2-油酰基卵磷脂 (1-palmitoyl-2-oleoyl-glycero-3-phosphocholine, POPC) 制备的脂质纳米圆盘具有较强的吸附载脂蛋白 E 的能力, 提升了脑靶向递送效率 (见图 1)。



IgM: 免疫球蛋白 M; IgG: 免疫球蛋白 G; C3: 补体 3; C3b: 补体 3b; ApoE: 载脂蛋白 E; ApoA1: 载脂蛋白 A1; DMPC-sND: 以二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱 (DMPC) 为磷脂成分制备的脂质纳米圆盘; DPPC-sND: 以 1, 2-双十六酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱 (DPPC) 为磷脂成分制备的脂质纳米圆盘; POPC-sND: 以 1-棕榈酰基-2-油酰基卵磷脂 (POPC) 为磷脂成分制备的脂质纳米圆盘; DOPC-sND: 以 1, 2-二油酰-锡-甘油基-3-磷酸胆碱 (DOPC) 为磷脂成分制备的脂质纳米圆盘; DEPC-sND: 以焦碳酸二乙酯 (DEPC) 为磷脂成分制备的脂质纳米圆盘; POPG-sND: 以 1-棕榈酰-2-油烯基-sn-甘油-3-磷酸-rac-(1-甘油) 钠盐 (POPG) 为磷脂成分制备的脂质纳米圆盘

图 1 形貌调控脂质纳米圆盘的蛋白冠组成和生物学效应^[39]

Figure 1 Phospholipid type regulates protein corona composition and biological effect of lipid nanodiscs

3 脂质体药物体内过程关键生物学调控因素

除自身理化性质外, 脂质体药物的体内过程还受机体环境调控。血浆蛋白和 MPS 是机体环境中调控脂质体性能的两大关键因素。脂质体药物进入血液循环后往往吸附血浆蛋白, 形成蛋白冠。MPS 是人体免疫系统的重要组成, 负责吞噬和清除外来物质。蛋白冠中的补体蛋白、免疫球蛋白等调理素蛋白可促进 MPS 识别脂质体并引起相应免疫反应^[13]。

3.1 与血浆蛋白相互作用

与其他纳米载体类似, 脂质体进入血液循环后会和血浆蛋白相互作用, 形成的蛋白冠是调控脂质体药物体内过程最重要因素之一。脂质体与血浆蛋白的相互作用主要取决于血浆蛋白丰度和与脂质体结合的亲和力^[40]。脂质体表面蛋白冠可分为“硬蛋白冠”和“软蛋白冠”。具有高亲和力和慢解离速率的蛋白会形成“硬蛋白冠”, 而具有低亲和力和快解离速率的蛋白则形成“软蛋白冠”^[41]。多层蛋白冠尤其是外层“软蛋白冠”直接参与调控脂质体药物体内过程及生物学效应。脂质体蛋白冠通常包括白蛋白、补体蛋白、免疫球蛋白、载脂蛋白、纤维蛋白原等^[19]。其中补体蛋白和免疫球蛋白被归类为调理素, 是促进 MPS 捕获脂质体药物的主要因素^[42]。多项研究强调了天然 IgM 介导的补体激活在脂质体药物体内过程中的重要作用^[42-43]。增加脂质体表面天然 IgM 吸附可激活补体途径, 从而加速脂质体药物血液清除^[44]。相反, 如蛋白冠富含非调理素蛋白(如白蛋白或载脂蛋白), 其体内循环时间会延长^[45-46]。

脂质体的表面电荷、粒径等物理化学性质影响其蛋白冠的形成。如阳离子脂质体倾向于吸附等电点 (PI) 小于 5.5 的血浆蛋白, 而阴离子脂质体则更易与 PI 大于 5.5 的血浆蛋白相互作用。粒径大的脂质体具有较大的表面曲率和表面积, 能实现更大程度的血浆蛋白吸附^[19]。载药量也会影响脂质体的蛋白冠组成, 进而影响其体内行为。Yu 等^[47]评估了 2 种不同载药量的 sLip/Dox [高载药量: 12.9% Dox/ 磷脂 (w/w); 低载药量: 2.4% Dox/ 磷脂 (w/w)] 蛋白冠组成, 发现负载较少 Dox 的单位脂质体表面吸附的 IgM 和补体蛋白量较少, 可有效延长血液循环时间。

Guan 等^[48]研究发现, 不同品系小鼠因血浆蛋白和 MPS 吞噬能力的不同, 导致脂质体药代动力学的品系间差异, 并进一步评价了不同物种模型中脂质体药物表面蛋白冠和药代动力学性能的差异; 另有研究发现, 免疫球蛋白和补体蛋白的差异是导致脂质体药物呈现物种差异的主要原因, 其中大型动物 (比格犬) 因补体含量高, 其由抗 PEG 抗体引起的加速血液清除 (ABC) 现象和超敏反应较啮齿类小动物 (小鼠和大鼠) 更显著^[49], 上述研究结果为脂质体药物临床前评价的研究模型选择提供了重要信息 (见图 2)。

蛋白冠的表征与分析是阐明脂质纳米药物体内过程及调控机制的关键环节之一, 有效分离是蛋白冠准确表征与分析的重要前提。表 2 列举了几种常见的纳米药物蛋白冠分离技术。其中应用最广的离心法, 因反复高速离心和连续洗脱而难以获得表面结合松散的“软蛋白冠”^[50]。尺寸排阻色谱法是利用样品粒径差异分离蛋白冠的技术, 但在样品和柱填充材料间剪切力作用下, 结合较松散的“软蛋白冠”也可能被去除^[51]。非对称场流色谱法是利用样品扩散系数和粒径分离蛋白冠, 条件温和, 对样品施加的剪切力低, “软蛋白冠”更易保留, 但耗时长, 可能导致蛋白冠成分在体内-体外环境转移时出现变化^[52-53]。理论上, 利用粒径差异分离蛋白冠的技术均难以排除血浆中与脂质体粒径相当的多种内源性生物囊泡和蛋白聚集体等的影响^[55-56]。Chu 等^[54]基于抗 PEG 单链抗体片段 (抗 PEG-scFv) 特异性结合 PEG 开发了亲和诱捕分离法, 可实现精确分离 PEG 化脂质体药物表面蛋白冠, 避免内源性囊泡和蛋白质聚集体等对蛋白冠的污染。

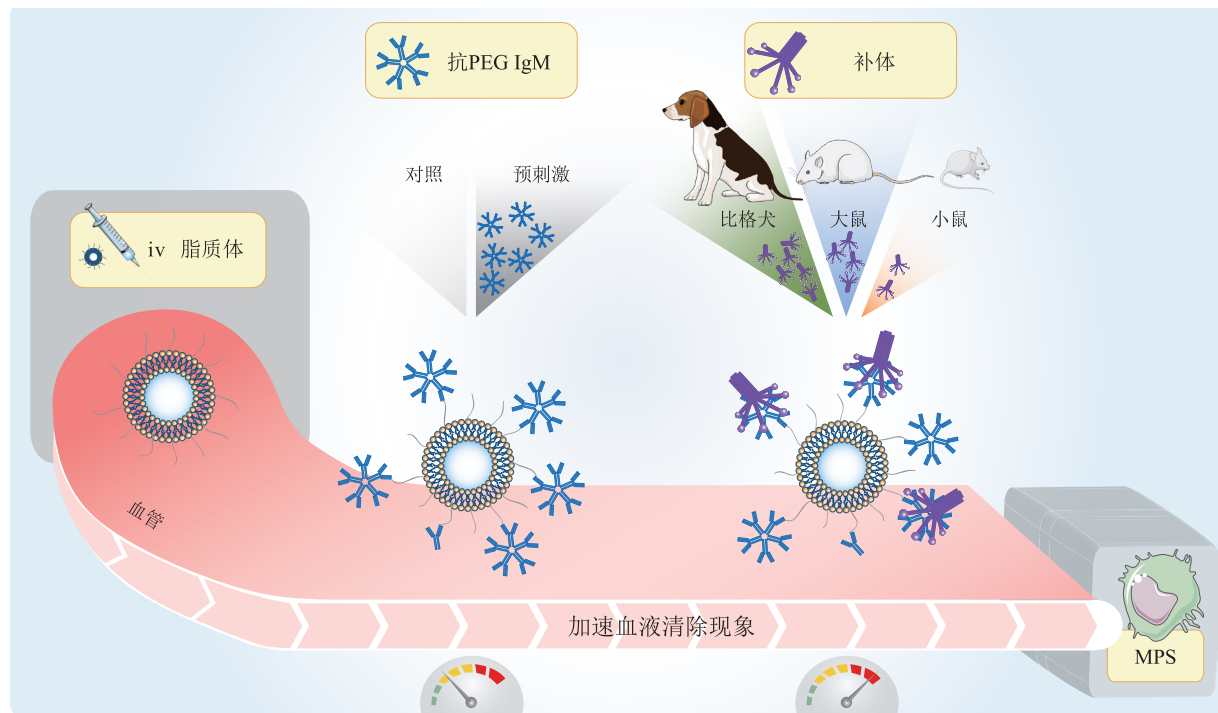
3.2 与单核巨噬系统相互作用

MPS 是人体先天免疫系统的重要组成。如上文所述, 当脂质体药物进入血液后, 吸附至脂质体表面的调理素 (如抗体、补体) 易被巨噬细胞、单核细胞、中性粒细胞和淋巴细胞等捕获, 进而促使脂质体药物清除^[15]。

巨噬细胞是 MPS 中调控脂质体药物体内过程的关键免疫细胞。脂质体药物在肝脏、脾脏的大量蓄积可归因于肝脾巨噬细胞强摄取能力^[27]。其中, 肝

脏巨噬细胞包括驻留枯否细胞 (ResKCs) 和由单核细胞衍生的巨噬细胞 (MoMFs)。前者来源于胚胎发育过程中产生的前体细胞, 具有自我更新能力, 在生理状态下是肝巨噬细胞的主要组分^[57]。然而在肝脏病理环境下, 大量 MoMFs 被募集至肝脏,

改变肝脏巨噬细胞组成并影响脂质体的肝脏蓄积。Liu 等^[58] 鉴定了在药物性肝损伤条件下肝脏不同细胞对脂质体药物的摄取能力, 发现被募集至肝脏的 MoMFs 对脂质体药物显示更强吞噬能力, 使得大量脂质体药物蓄积于肝脏, 可能加剧患者肝损伤。



iv: 静脉注射; PEG IgM: 聚乙二醇免疫球蛋白 M; MPS: 单核巨噬系统

图2 补体系统差异所致物种间脂质体药动学性能各异^[49]

Figure 2 Differences in the strength of the complement system lead to different pharmacokinetic properties of liposomes between species

表2 不同脂质体蛋白冠的分离方法比较

Table 2 Comparison of isolation methods of different protein corona on liposomes

分离方法	原理	特点	参考文献
离心法	沉淀纳米载体-蛋白质复合物	简单, 通用, 结合松散的软蛋白冠不易保留, 存在内源性污染	[50]
尺寸排阻色谱法	样品尺寸差异	结合松散的软蛋白冠不易保留, 存在内源性污染	[51]
非对称场流色谱法	流体动力学尺寸差异	施加剪切力低, 温和, 耗时长, 可能改变蛋白冠组成	[52-53]
scFv 亲和诱捕法	抗 PEG-scFv 可与 PEG 结合	避免内源性污染, 目前适用于 PEG 化纳米药物	[54]

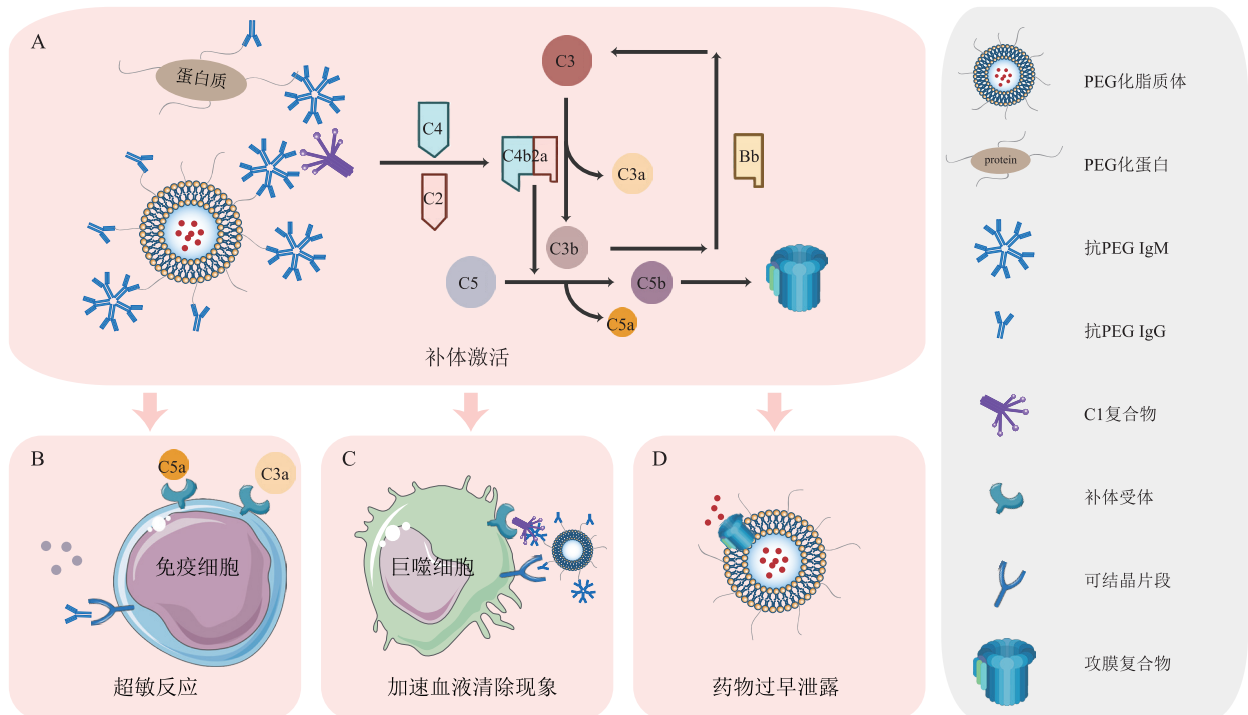
利用脂质体的 MPS 趋向性特点可针对性设计 MPS 相关疾病的靶向制剂。如 AmBisome[®] 是将治疗利什曼病 (肝脏和脾脏巨噬细胞中的利什曼原虫感染) 的两性霉素 B 封装于脂质体中, 利用 MPS 对脂质体的快速摄取提高药物浓度进而增强药效^[59]。Maradana 等^[60] 利用非酒精性脂肪肝进展过程中募

集的巨噬细胞和树突状细胞优先摄取脂质体的特征, 将脂质体姜黄素靶向递送至肝脏, 可有效减少肝脏炎症、纤维化和脂肪堆积。然而, 对于其他疾病类型, 特别是肿瘤, MPS 对脂质体的快速摄取并随之将其从循环中清除的现象则是脂质体在药物递送系统领域应用的主要挑战。

在脂质体表面修饰亲水聚合物 PEG 是最常用的规避 MPS 摄取的方法^[61]。PEG 可通过在脂质体表面形成亲水性保护层, 阻碍调理素在脂质体表面的吸附, 从而减少 MPS 对脂质体的摄取, 延长脂质体及所承载治疗药物的体内循环时间。目前 PEG 化脂质体阿霉素、PEG 化脂质体伊替立康等已被应用于临床实践^[62]。然而, 越来越多的研究发现在人体内普遍存在抗 PEG 抗体^[63-64], 报道显示已在 72% 人类血清样本中发现了抗 PEG 抗体^[63]。抗 PEG 抗体除了由 PEG 化药物本身诱导产生之外, 还有来自生活中接触的化妆品、食用的加工食物等。由于这类物质中广泛存在类乙二醇结构, 导致有一定比例的即便未接受过 PEG 化药物治疗的人体内也存在抗 PEG 抗体^[65]。有调查显示, 在 200 名未接触过 PEG 化药物的健康献血者中, 抗 PEG 抗体阳性率高达 97.5%^[64]。

抗 PEG 抗体, 尤其是抗 PEG IgM 与 PEG 化制剂 (如 PEG 化脂质体、PEG 化脂质纳米颗粒等) 之间的相互作用对纳米制剂的体内性能具有显著影响,

包括诱发加速血液清除现象、超敏反应、药物过早泄露等^[66]。其中, 加速血液清除现象是指抗 PEG 抗体与 PEG 化纳米药物表面结合后引起补体激活, 大大加快药物在体内的清除速率^[15]。Abu Lila 等^[10]研究证实, 由首剂 PEG 化脂质体诱导的抗 PEG IgM 及引发的补体激活是大鼠加速血液清除现象的原因。以这种方式产生的 IgM 可选择性结合在二剂静注入体内的脂质体表面, 激活补体并促进 MPS 吞噬脂质体, 导致脂质体在肝脏和脾脏的大量积累^[10]。补体蛋白 (如 C3a 和 C5a) 还可与先天免疫细胞上的补体受体结合, 进而释放各种过敏因子, 如组胺、类胰蛋白酶和血小板活化因子, 引起超敏反应症状^[67]。另外, 研究还发现补体激活可介导 PEG 化纳米制剂的过早药物泄露^[68-69] (见图 3)。这些现象发生的严重程度不一, 但在临床前模型和临床用药中均得到证实, 会导致 PEG 化纳米药物药效不佳和引发毒副作用。因此需要寻找可以规避预存抗 PEG 抗体影响的有效途径, 下文将详细阐述规避预存抗 PEG 抗体的可能策略。



PEG: 聚乙二醇; IgM: 免疫球蛋白 M; IgG: 免疫球蛋白 G; C1: 补体 1; C3a: 补体 3a; C3b: 补体 3b; C5: 补体 5; C5a: 补体 5a; C5b: 补体 5b; Bb: 补体 Bb

图 3 抗 PEG 抗体影响 PEG 化纳米药物的体内行为^[69]

Figure 3 Anti-PEG antibodies affect the *in vivo* behaviors of PEGylated nanomedicines

4 基于体内过程和调控机制的脂质体药物优化策略

4.1 调控免疫反应以规避预存抗 PEG 抗体潜在影响

由于抗 PEG IgM 本身 (PEG 体内抗体的主要类型) 具有时效性, 所以延长给药间隔时间是临床上减少抗 PEG 抗体影响最常见的手段, 但较长给药间隔难以维持有效血药浓度^[69]。因此, 在选择合适给药间隔的临床研究时需要综合考虑药效和副作用两方面因素。此外, 还可以利用免疫调节剂调节相关免疫反应, 如近期有研究发现叶酸 (FA) 通过靶向脾脏边缘区 B 细胞上单体膜结合型 IgM (mIgM), 破坏 mIgM-B 细胞受体复合物的稳定性以阻断免疫反应。基于此机制, FA 有望成为一种安全有效的免疫抑制剂, 能够部分抑制抗 PEG 抗体的产生^[70]。

目前已有一些通过规避预存抗 PEG IgM 以改善加速血液清除现象的手段。如预先注射具有低相对分子质量和高 PEG 结合力的抗 PEG-scFv 以竞争性抑制预存抗 PEG IgM 对脂质体的吸附, 可以改善加速血液清除现象^[71]。抗 PEG-scFv 与 PEG 具有高亲和力, 因此易于沉积在 sLip 表面, 但由于缺乏 Fc 片段, 无法激活补体, 故可有效竞争性抑制低剂量脂质体预刺激产生的抗 PEG IgM 的结合。通过改变脂质纳米载体的形貌也可规避加速血液清除效应, 如上文所述, 脂质纳米圆盘的特殊形貌使其表面吸附的抗 PEG IgM 抗体无法呈现正确构象供后续 C1q 附着, 减弱补体激活, 进而可以规避加速血液清除现象。

改造 PEG 端基是规避预存抗 PEG 抗体的另一有效方法。目前已上市的 PEG 化药物主要采用带有甲氧基端基 PEG (mPEG), 笔者课题组测定了临床血液样本的抗 mPEG 抗体和抗 HO-PEG 抗体, 发现其阳性率有显著差异, 这表明人血中预存抗 PEG IgM 对 PEG 端基具有选择性^[69,72]。基于此, 笔者课题组已开发 HO-PEG 修饰的脂质纳米颗粒, 可有效规避人血中预存抗 PEG 抗体识别, 在不影响靶细胞摄取的同时显著降低巨噬细胞吞噬比例^[73]。

4.2 调控补体激活以干预皮肤毒性

皮肤毒性极大限制了脂质体阿霉素等的临床应用, 目前临床尚无有效的防治手段, 而包括延长给

药间隔、减少治疗剂量在内的干预措施均会降低临床疗效, 因此需要开发既不影响治疗效果又可控制脂质体皮肤毒性的策略^[74]。

研究表明, 中性粒细胞通过补体 3 (CR3) 与补体 3 裂解片段 (iC3b) 相互作用捕获脂质体并促进脂质体外渗至真皮层^[25]。基于此机制, 笔者课题组提出可通过提前给予补体抑制剂以减少 iC3b 在脂质体表面吸附, 抑制 CR3 和 iC3b 之间的相互作用, 减少中性粒细胞对脂质体的摄取与皮肤转运, 缓解脂质体药物的皮肤毒性。除医疗干预外, 笔者课题组还通过脂质体合理处方设计以调节补体激活和皮肤转运, 如发现甲氧基端基 PEG 化二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺 (mPEG-DSPE) 的阴离子加剧补体激活, 导致 iC3b 在脂质体表面的沉积增多, 并通过与 CR3 相互作用被中性粒细胞摄取。通过使用烯丙基溴阻断 mPEG-DSPE 中磷酸氧部分并消除其负电荷, 以此为材料制备的脂质体虽然在肝、脾和肾等脏器的分布和代谢等药代动力学性质未发生显著改变, 但其皮肤蓄积显著降低。因此, 可通过合理设计脂质结构以抑制补体激活和减轻中性粒细胞对脂质体的摄取来减少脂质体的皮肤外渗和沉积^[25]。

4.3 调控单核巨噬细胞摄取脂质体以避免过度肝脏积累

基于脂质纳米载体的嗜肝性为肝脏疾病靶向治疗提供了可能性, 但同时需重视药物的过度肝脏蓄积引起肝脏代谢负荷, 甚至是肝胆排泄途径相关细胞毒性^[58]。已有研究评估了不同粒径 (90、120 和 300 nm) sLip/Dox 肝内蓄积情况, 发现粒径较小的 sLip/Dox 在枯否细胞中积累显著低于粒径较大的 sLip/Dox; 在肝内枯否细胞耗竭状态下, 3 种尺寸的脂质体肝内蓄积均显著减少, 但相较于其他 2 种粒径的 sLip/Dox, 小粒径 (90 nm) sLip/Dox 在肝窦内皮细胞中分布显著增加, 提示枯否细胞可能对肝窦内皮细胞捕获小尺寸脂质体有屏蔽作用^[27]。基于肝脏枯否细胞在介导脂质体肝脏转运中的重要作用, 可通过调节肝脏枯否细胞捕获脂质体以控制脂质体在肝脏的转运代谢行为, 如设计较小尺寸的脂质体以降低枯否细胞对脂质体的捕获, 从而减少肝脏负担^[27]。同时, 考虑到肝病患者的枯否细胞表型变化引起吞噬脂质体能力的增强, 因此伴肝病患者使用脂

质体药物需更加谨慎^[58]。

5 结语与展望

受益于良好生物相容性、低毒性和低免疫原性, 脂质体药物受到广泛研究。脂质体药物的体内过程受到脂质体理化性质和机体生物环境等多方面影响。脂质体的表面电荷、粒径、形貌等因素均是影响脂质体药物体内过程和药代动力学特性的关键因素。同时, 脂质体与血液成分和免疫系统的相互作用也在其体内过程和生物学效应中发挥至关重要的作用。

本文简述了脂质体药物体内血液循环、生物分布、代谢和排泄等过程, 分析了影响脂质体药物体内过程的理化性质和调控脂质体体内行为的关键生物学因素, 讨论了基于机制的脂质体药物优化策略。揭示脂质体的体内过程需全面阐明脂质体载体以及包封药物在体内的整个药代动力学过程, 包括脂质体药物在循环系统的药代动力学特征、生物分布特征、亚细胞分布特征、靶组织中的微观释药机制、

药物代谢消除和载体降解机制、载体-生物相互作用机制等。尽管越来越多的研究聚焦于上述相关主题, 并发掘了一些重要调控机制, 但目前脂质体的体内递送和微观释药过程仍未被完全明晰地阐明, 限制了脂质体疗法的临床转化与应用。

当前脂质体药物体内过程研究的瓶颈之一是对在体环境脂质体的精确示踪及对脂质体-血浆蛋白相互作用的解析。目前常用的示踪技术包括荧光探针、放射性示踪剂等可能因生物介质作用、剪切应力等脱落而使结果偏离真实, 导致研究者对脂质体体内过程的误读^[75]。同时由于血浆蛋白种类繁多且含量差异大, 直接捕获脂质体与血浆蛋白之间的互作模式, 识别蛋白质构象变化具有挑战性^[76], 且生物环境中的蛋白冠处于动态平衡状态, 用非原位方法分析可能导致蛋白冠成分改变^[77]。因此, 准确示踪脂质体, 解析脂质体与血浆蛋白的相互作用, 揭示相关调控机制, 阐明脂质体体内过程, 最终实现更合理的脂质体设计与评估仍值得进一步探索。

[参考文献]

- [1] Bangham A D. Liposomes: the Babraham connection[J]. *Chem Phys Lipids*, 1993, 64(1/2/3): 275-285.
- [2] Munster P, Krop I E, LoRusso P, et al. Safety and pharmacokinetics of MM-302, a HER2-targeted antibody-liposomal doxorubicin conjugate, in patients with advanced HER2-positive breast cancer: a phase 1 dose-escalation study[J]. *Br J Cancer*, 2018, 119(9): 1086-1093.
- [3] Large D E, Abdelmessih R G, Fink E A, et al. Liposome composition in drug delivery design, synthesis, characterization, and clinical application[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2021, 176: 113851. DOI: 10.1016/j.addr.2021.113851.
- [4] Antoniou A I, Giofrè S, Seneci P, et al. Stimulus-responsive liposomes for biomedical applications[J]. *Drug Discov Today*, 2021, 26(8): 1794-1824.
- [5] Thi T T H, Suys E J A, Lee J S, et al. Lipid-based nanoparticles in the clinic and clinical trials: from cancer nanomedicine to COVID-19 vaccines[J]. *Vaccines (Basel)*, 2021, 9(4): 359. DOI: 10.3390/vaccines9040359.
- [6] Miller K, Cortes J, Hurvitz S A, et al. HERMIONE: a randomized phase 2 trial of MM-302 plus trastuzumab versus chemotherapy of physician's choice plus trastuzumab in patients with previously treated, anthracycline-naïve, HER2-positive, locally advanced/metastatic breast cancer[J]. *BMC Cancer*, 2016, 16: 352. DOI: 10.1186/s12885-016-2385-z.
- [7] Mohamed M, Abu Lila A S, Shimizu T, et al. PEGylated liposomes: immunological responses[J]. *Sci Technol Adv Mater*, 2019, 20(1): 710-724.
- [8] Lotem M, Hubert A, Lyass O, et al. Skin toxic effects of polyethylene glycol-coated liposomal doxorubicin[J]. *Arch Dermatol*, 2000, 136(12): 1475-1480.
- [9] Kozma G T, 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.
- [10] Abu Lila A S, Kiwada H, Ishida T. The accelerated blood clearance (ABC) phenomenon: clinical challenge and approaches to manage[J]. *J Control Release*, 2013, 172(1): 38-47.
- [11] Su C, Liu Y, Li R, et al. Absorption, distribution, metabolism and

- excretion of the biomaterials used in nanocarrier drug delivery systems[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2019, 143: 97–114. DOI: 10.1016/j.addr.2019.06.008.
- [12] Giodini L, Re F L, Campagnol D, *et al.* Nanocarriers in cancer clinical practice: a pharmacokinetic issue[J]. *Nanomedicine*, 2017, 13(2): 583–599.
- [13] Jiang Z, Chu Y, Zhan C. Protein corona: challenges and opportunities for targeted delivery of nanomedicines[J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2022, 19(7): 833–846.
- [14] Li Y, Wang G, Griffin L, *et al.* Complement opsonization of nanoparticles: differences between humans and preclinical species[J]. *J Control Release*, 2021, 338: 548–556. DOI: 10.1016/j.jconrel.2021.08.048.
- [15] Zahednezhad F, Saadat M, Valizadeh H, *et al.* Liposome and immune system interplay: challenges and potentials[J]. *J Control Release*, 2019, 305: 194–209. DOI: 10.1016/j.jconrel.2019.05.030.
- [16] Oussoren C, Storm G. Liposomes to target the lymphatics by subcutaneous administration[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2001, 50(1/2): 143–156.
- [17] Kraft J C, Freeling J P, Wang Z, *et al.* Emerging research and clinical development trends of liposome and lipid nanoparticle drug delivery systems[J]. *J Pharm Sci*, 2014, 103(1): 29–52.
- [18] Karmali P P, Simberg D. Interactions of nanoparticles with plasma proteins: implication on clearance and toxicity of drug delivery systems[J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2011, 8(3): 343–357.
- [19] Yang M, Wu E, Tang W, *et al.* Interplay between nanomedicine and protein corona[J]. *J Mater Chem B*, 2021, 9(34): 6713–6727.
- [20] Li S D, Huang L. Pharmacokinetics and biodistribution of nanoparticles[J]. *Mol Pharm*, 2008, 5(4): 496–504.
- [21] Li J, Chen C, Xia T. Understanding nanomaterial-liver interactions to facilitate the development of safer nanoapplications[J]. *Adv Mater*, 2022, 34(11): e2106456. DOI: 10.1002/adma.202106456.
- [22] Nagayasu A, Uchiyama K, Kiwada H. The size of liposomes: a factor which affects their targeting efficiency to tumors and therapeutic activity of liposomal antitumor drugs[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 1999, 40(1/2): 75–87.
- [23] Deprez J, Verbeke R, Meulewaeter S, *et al.* Transport by circulating myeloid cells drives liposomal accumulation in inflamed synovium[J]. *Nat Nanotechnol*, 2023, 18(11): 1341–1350.
- [24] Griffin J I, Wang G, Smith W J, *et al.* Revealing dynamics of accumulation of systemically injected liposomes in the skin by intravital microscopy[J]. *ACS Nano*, 2017, 11(11): 11584–11593.
- [25] Ding T, Wang Y, Meng Y, *et al.* Reciprocal interaction with neutrophils facilitates cutaneous accumulation of liposomes[J]. *ACS Nano*, 2024, 18(28): 18769–18784.
- [26] Cabral H, Li J, Miyata K, *et al.* Controlling the biodistribution and clearance of nanomedicines[J]. *Nat Rev Bioeng*, 2024, 2(3): 214–232.
- [27] Jiang K, Tian K, Yu Y, *et al.* Kupffer cells determine intrahepatic traffic of PEGylated liposomal doxorubicin[J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 6136. DOI: 10.1038/s41467-024-50568-7.
- [28] Xu M, Qi Y, Liu G, *et al.* Size-dependent *in vivo* transport of nanoparticles: implications for delivery, targeting, and clearance[J]. *ACS Nano*, 2023, 17(21): 20825–20849.
- [29] Liu D, Mori A, Huang L. Role of liposome size and RES blockade in controlling biodistribution and tumor uptake of GM1-containing liposomes[J]. *Biochim Biophys Acta*, 1992, 1104(1): 95–101.
- [30] Uchiyama K, Nagayasu A, Yamagiwa Y, *et al.* Effects of the size and fluidity of liposomes on their accumulation in tumors: a presumption of their interaction with tumors[J]. *Int J Pharm*, 1995, 121(2): 195–203.
- [31] Sheikholeslami B, Lam N W, Dua K, *et al.* Exploring the impact of physicochemical properties of liposomal formulations on their *in vivo* fate[J]. *Life Sci*, 2022, 300: 120574. DOI: 10.1016/j.lfs.2022.120574.
- [32] Guo R, Liu Y, Li K, *et al.* Direct interactions between cationic liposomes and bacterial cells ameliorate the systemic treatment of invasive multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* infections[J]. *Nanomedicine*, 2021, 34: 102382. DOI: 10.1016/j.nano.2021.102382.
- [33] Allen T M, Williamson P, Schlegel R A. Phosphatidylserine as a determinant of reticuloendothelial recognition of liposome models of the erythrocyte surface[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1988, 85(21): 8067–8071.
- [34] Li J, Wang X, Zhang T, *et al.* A review on phospholipids and their main applications in drug delivery systems[J]. *Asian J Pharm Sci*, 2015, 10(2): 81–98.
- [35] Allen T M, Hansen C, Rutledge J. Liposomes with prolonged circulation times: factors affecting uptake by reticuloendothelial and other tissues[J]. *Biochim Biophys Acta Biomembr*, 1989, 981(1): 27–35.

- [36] Shao Q, Ding T, Pan F, *et al.* Protein corona mediated liposomal drug delivery for bacterial infection management[J]. *Asian J Pharm Sci*, 2022, 17(6): 855–866.
- [37] Bariwal J, Ma H, Altenberg G A, *et al.* Nanodiscs: a versatile nanocarrier platform for cancer diagnosis and treatment[J]. *Chem Soc Rev*, 2022, 51(5): 1702–1728.
- [38] 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. DOI: 10.1016/j.nantod.2022.101609.
- [39] Pan F, Liu M, Li G, *et al.* Phospholipid type regulates protein corona composition and *in vivo* performance of lipid nanodiscs[J]. *Mol Pharm*, 2024, 21(5): 2272–2283.
- [40] Pinals R L, Yang D, Lui A, *et al.* Corona exchange dynamics on carbon nanotubes by multiplexed fluorescence monitoring[J]. *J Am Chem Soc*, 2019, 142(3): 1254–1264.
- [41] Vu V P, Gifford G B, Chen F, *et al.* Immunoglobulin deposition on biomolecule corona determines complement opsonization efficiency of preclinical and clinical nanoparticles[J]. *Nat Nanotechnol*, 2019, 14(3): 260–268.
- [42] 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(16): 6516–6522.
- [43] Guan J, Shen Q, Zhang Z, *et al.* Enhanced immunocompatibility of ligand-targeted liposomes by attenuating natural IgM absorption[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 2982. DOI: 10.1038/s41467-018-05384-1.
- [44] Ding T, Guan J, Wang M, *et al.* Natural IgM dominates *in vivo* performance of liposomes[J]. *J Control Release*, 2020, 319: 371–381. DOI: 10.1016/j.jconrel.2020.01.018.
- [45] 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(40): 18806–18824.
- [46] Peng Q, Zhang S, Yang Q, *et al.* Preformed albumin corona, a protective coating for nanoparticles based drug delivery system[J]. *Biomaterials*, 2013, 34(33): 8521–8530.
- [47] Yu Y F, Wu E C, Lin S Q, *et al.* Reexamining the effects of drug loading on the *in vivo* performance of PEGylated liposomal doxorubicin[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2024, 45(3): 646–659.
- [48] Guan J, Wu E, Jin P, *et al.* Interrogating preclinical study of liposomes: the effect of mouse strain reexamined[J]. *J Control Release*, 2021, 334: 178–187. DOI: 10.1016/j.jconrel.2021.04.025.
- [49] Wu E, Guan J, Yu Y, *et al.* Exemplifying interspecies variation of liposome *in vivo* fate by the effects of anti-PEG antibodies[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2024. DOI: 10.1016/j.apsb.2024.07.009.
- [50] Lundqvist M, Stigler J, Elia G, *et al.* Nanoparticle size and surface properties determine the protein corona with possible implications for biological impacts[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(38): 14265–14270.
- [51] Tóth E Á, Turiák L, Visnovitz T, *et al.* Formation of a protein corona on the surface of extracellular vesicles in blood plasma[J]. *J Extracell Vesicles*, 2021, 10(11): e12140. DOI: 10.1002/jev2.12140.
- [52] Weber C, Simon J, Mailänder V, *et al.* Preservation of the soft protein corona in distinct flow allows identification of weakly bound proteins[J]. *Acta Biomater*, 2018, 76: 217–224. DOI: 10.1016/j.actbio.2018.05.057.
- [53] Fuentes-Cervantes A, Ruiz Allica J, Calderón Celis F, *et al.* The potential of ICP-MS as a complementary tool in nanoparticle-protein corona analysis[J]. *Nanomaterials*, 2023, 13(6): 1132. DOI: 10.3390/nano13061132.
- [54] Chu Y, Tang W, Zhang Z, *et al.* Deciphering protein corona by scFv-based affinity chromatography[J]. *Nano Lett*, 2021, 21(5): 2124–2131.
- [55] Francia V, Schiffelers R M, Cullis P R, *et al.* The biomolecular corona of lipid nanoparticles for gene therapy[J]. *Bioconjug Chem*, 2020, 31(9): 2046–2059.
- [56] Kristensen K, Münter R, Kempen P J, *et al.* Isolation methods commonly used to study the liposomal protein corona suffer from contamination issues[J]. *Acta Biomater*, 2021, 130: 460–472. DOI: 10.1016/j.actbio.2021.06.008.
- [57] Kinoshita M, Uchida T, Sato A, *et al.* Characterization of two F4/80-positive Kupffer cell subsets by their function and phenotype in mice[J]. *J Hepatol*, 2010, 53(5): 903–910.
- [58] Liu M, Wu E, Pan F, *et al.* Effects of drug-induced liver injury on the *in vivo* fate of liposomes[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2024, 201: 114389. DOI: 10.1016/j.ejpb.2024.114389.
- [59] Torrado J J, Espada R, Ballesteros M P, *et al.* Amphotericin B formulations and drug targeting[J]. *J Pharm Sci*, 2008, 97(7): 2405–2425.
- [60] Maradana M R, Yekollu S K, Zeng B, *et al.* Immunomodulatory

- liposomes targeting liver macrophages arrest progression of nonalcoholic steatohepatitis[J]. *Metabolism*, 2018, 78: 80–94. DOI: 10.1016/j.metabol.2017.09.002.
- [61] Prencipe G, Tabakman S M, Welsher K, *et al.* PEG branched polymer for functionalization of nanomaterials with ultralong blood circulation[J]. *J Am Chem Soc*, 2009, 131(13): 4783–4787.
- [62] Harris J M, Chess R B. Effect of pegylation on pharmaceuticals[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2003, 2(3): 214–221.
- [63] Yang Q, Jacobs T M, McCallen J D, *et al.* Analysis of pre-existing IgG and IgM antibodies against polyethylene glycol (PEG) in the general population[J]. *Anal Chem*, 2016, 88(23): 11804–11812.
- [64] Ehlinger C, Spear N, Doddareddy R, *et al.* A generic method for the detection of polyethylene glycol specific IgG and IgM antibodies in human serum[J]. *J Immunol Methods*, 2019, 474: 112669. DOI: 10.1016/j.jim.2019.112669.
- [65] Chen B M, Su Y C, Chang C J, *et al.* Measurement of pre-existing IgG and IgM antibodies against polyethylene glycol in healthy individuals[J]. *Anal Chem*, 2016, 88(21): 10661–10666.
- [66] Shiraishi K, Kawano K, Maitani Y, *et al.* Exploring the relationship between anti-PEG IgM behaviors and PEGylated nanoparticles and its significance for accelerated blood clearance[J]. *J Control Release*, 2016, 234: 59–67. DOI: 10.1016/j.jconrel.2016.05.010.
- [67] Dézsi L, Mészáros T, Kozma G, *et al.* A naturally hypersensitive porcine model may help understand the mechanism of COVID-19 mRNA vaccine-induced rare (pseudo) allergic reactions: complement activation as a possible contributing factor[J]. *Geroscience*, 2022, 44(2): 597–618.
- [68] Senti M E, de Jongh C A, Dijkxhoorn K, *et al.* Anti-PEG antibodies compromise the integrity of PEGylated lipid-based nanoparticles via complement[J]. *J Control Release*, 2022, 341: 475–486. DOI: 10.1016/j.jconrel.2021.11.042.
- [69] Fu J, Wu E, Li G, *et al.* Anti-PEG antibodies: current situation and countermeasures[J]. *Nano Today*, 2024, 55: 102163. DOI: 10.1016/j.nantod.2024.102163.
- [70] Wang H, Jiang Z, Guo Z, *et al.* mIgM-mediated splenic marginal zone B cells targeting of folic acid for immunological evasion[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2024, 14(2): 808–820.
- [71] 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. DOI: 10.1016/j.jconrel.2020.12.047.
- [72] Yang M, Zhang Z, Jin P, *et al.* Effects of PEG antibodies on *in vivo* performance of LNP-mRNA vaccines[J]. *Int J Pharm*, 2024, 650: 123695. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2023.123695.
- [73] Zai W, Yang M, Jiang K, *et al.* Optimized RNA interference therapeutics combined with interleukin-2 mRNA for treating hepatitis B virus infection[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2024, 9(1): 150. DOI: 10.1038/s41392-024-01871-8.
- [74] Kwakman J J M, Elshot Y S, Punt C J A, *et al.* Management of cytotoxic chemotherapy-induced hand-foot syndrome[J]. *Oncol Rev*, 2020, 14(1): 442. DOI: 10.4081/oncol.2020.442.
- [75] Hu X, Dong X, Lu Y, *et al.* Bioimaging of nanoparticles: the crucial role of discriminating nanoparticles from free probes[J]. *Drug Discov Today*, 2017, 22(2): 382–387.
- [76] Cai R, Chen C. The crown and the scepter: roles of the protein corona in nanomedicine[J]. *Adv Mater*, 2019, 31(45): e1805740. DOI: 10.1002/adma.201805740.
- [77] Cao M, Wang Y, Wang L, *et al.* *In situ* label-free X-ray imaging for visualizing the localization of nanomedicines and subcellular architecture in intact single cells[J]. *Nat Protoc*, 2024, 19(1): 30–59.



【专家介绍】 占昌友: 博士, 复旦大学二级教授、博士生导师, 国家杰出青年科学基金获得者、智能化递药教育部重点实验室副主任。长期从事脂质纳米药物基础与临床转化研究, 尤其聚焦脂质纳米药物体内过程与机体调控机制研究, 相关成果为脂质纳米药物的设计开发和临床应用提供参考。在本领域权威期刊发表论文 120 余篇, 被引 7 000 余次, 申请和授权中国发明专利及 PCT 专利 20 余项, 多项实现了转化/转让。主持国家自然科学基金重点项目、国家杰青基金和上海市重大项目等, 荣获 2022 年教育部青年科学奖等。