

## 脂蛋白纳米药物传输系统研究进展

王若宁<sup>1,2</sup>, 刘聪燕<sup>1,2</sup>, 周建平<sup>1,2\*</sup>, 陈 键<sup>3</sup>, 王 伟<sup>1,2\*\*</sup>

(<sup>1</sup>中国药科大学天然药物活性组分与药效国家重点实验室, 南京 210009; <sup>2</sup>中国药科大学药剂学教研室, 南京 210009; <sup>3</sup>复旦大学药学院智能化递药教育部重点实验室, 上海 201203)

**摘 要** 脂蛋白作为一种内源性纳米颗粒, 具有生物相容性好、可彻底生物降解、无免疫原性、不被体内网状内皮系统识别而快速清除等优点, 是一种极具前景的靶向药物载体。本文综述了近年来基于脂蛋白(乳糜微粒、极低密度脂蛋白、低密度脂蛋白和高密度脂蛋白)的纳米药物传输系统的最新研究进展。

**关键词** 脂蛋白; 纳米药物传输系统; 靶向; 进展

中图分类号 R944 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2014)01-0010-07

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20140102

## Advances in the research of lipoprotein-based nano scale drug delivery systems

WANG Ruoning<sup>1,2</sup>, LIU Congyan<sup>1,2</sup>, ZHOU Jianping<sup>1,2\*</sup>, CHEN Jian<sup>3</sup>, WANG Wei<sup>1,2\*\*</sup>

<sup>1</sup>State Key Laboratory of Natural Medicines, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009; <sup>2</sup>Department of Pharmaceutics, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009; <sup>3</sup>Key Laboratory of Smart Drug Delivery, Ministry of Education (Fudan University), School of Pharmacy, Fudan University, Shanghai 201203, China

**Abstract** Lipoproteins which are endogenous, biocompatible, completely biodegradable, and non-immunogenic, and can escape recognition and elimination by the reticuloendothelial system (RES) may well be studied as drug carriers. This article summarizes the advances in lipoprotein (chylomicrons, very low-density lipoprotein, low-density lipoprotein and high-density lipoprotein)-based nano scale drug delivery systems (LNDDS) in recent years.

**Key words** lipoprotein; nano scale drug delivery system; targeting; advances

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81102398, 81273469); the Natural Science Foundation of Jiangsu Province (No. BK2011624); the Open Project Program of Key Lab of Smart Drug Delivery (Fudan University) for Ministry of Education (No. SDD2012-03); and the Fundamental Research Funds for the Central Universities (No. JKVD2013011)

脂蛋白是由载脂蛋白和游离胆固醇的磷脂单层以及非极性的脂质核心组成的生物大分子, 其颗粒大小、脂质成分、载脂蛋白种类均有差异, 在体内脂质转运过程中发挥关键作用。根据密度不同, 可将血浆脂蛋白分为4种(表1): 乳糜微粒(chylomicrons, CM)、极低密度脂蛋白(very low-density lipoprotein, VLDL)、低密度脂蛋白(low-density lipopro-

tein, LDL) 和高密度脂蛋白(high-density lipoprotein, HDL)。由于脂蛋白结构中具有一个脂核, 并且 LDL 和 HDL 能被特定组织通过受体途径内吞吸收<sup>[1]</sup>, 设想如果将疏水性药物掺入到脂蛋白脂核部位, 取代其核心脂质而不改变天然脂蛋白的完整性, 则脂蛋白可作为载体将药物特异性传递到靶细胞。有研究表明, 脂蛋白脂核中的脂质能被疏水

\* 收稿日期 2013-12-01 通信作者 \* Tel: 025-83271102 E-mail: zhoujianp60@163.com

\*\* Tel: 025-83271102 E-mail: wangcpe@163.com

**基金项目** 国家自然科学基金资助项目(No. 81102398, 81273469); 江苏省自然科学基金资助项目(No. BK2011624); 复旦大学药学院和智能化递药教育部重点实验室(复旦大学)开放课题资助项目(No. SDD2012-03); 中央高校基本科研业务费专项基金资助项目(No. JKVD2013011)

性药物取代,不影响其细胞识别结合特性,且脂蛋白具有独特的亲水性-疏水性结构、内源性可完全降解以及不被网状内皮系统识别和清除等特性,使

脂蛋白纳米药物传输系统(lipoprotein based nano-scale drug delivery systems, LNDDS)越来越受到重视,已成为药剂学领域的研究热点和难点之一<sup>[2]</sup>。

表 1 血浆脂蛋白的性质<sup>[1]</sup>

脂蛋白	粒径/nm	表面成分/(摩尔分数,%)				核心脂质/(摩尔分数,%)	
		蛋白组成	蛋白	磷脂	胆固醇	胆固醇酯	甘油三酯
乳糜微粒(CM)	75~1 200	ApoB-48	2	63	35	5	95
极低密度脂蛋白(VLDL)	30~80	ApoB-100	2	55	43	24	76
低密度脂蛋白(LDL)	18~25	ApoB-100	2	58	42	19	81
高密度脂蛋白(HDL)	5~12	ApoA- I, A- II, E, C	2	72	23	82	18

1 基于 CM 的纳米药物传输系统

CM 是人血浆中体积最大、密度最小的一种脂蛋白,由小肠黏膜上皮细胞生成,粒径为 75~1 200 nm,它以甘油三酯(triglyceride, TG)和胆固醇酯等非极性物质为核心,周围以磷脂单分子层为外壳,磷脂层上镶嵌有极性较大的载脂蛋白(如 ApoB-48),并分布着一些游离的胆固醇。一些高度亲脂性的药物及外源亲脂性物质(如脂溶性维生素)可通过结合甘油三酯(亲脂性药物或物质取代甘油三酯的 2 位脂肪酸),从而形成前药,再进一步形成 CM 被小肠淋巴系统吸收。Gershkovich 等<sup>[3]</sup>对药物与大鼠离体 CM 结合进行探索,考察了 9 种脂溶性药物和大鼠体外分离血浆中的 CM 的结合能力,将之与相应药物的小肠淋巴转运的生物利用度相比较,发现体外实验与体内淋巴生物利用度之间有很好的相关性( $r^2=0.94, P<0.0001$ ),说明 CM 在淋巴转运中起着重要作用。Dierling 等<sup>[4]</sup>在体外将抗癌药伯氨喹(PQ)与 CM 进行重组,形成重组 CM 乳剂。结果表明,重组 CM 乳剂与游离 PQ 相比,具有更好的体外血清稳定性;该乳剂经静脉注射后,PQ 在肝脏的浓度显著提高,有效解决了 PQ 在体内分布特异性差、不良反应大的问题。CM 作为药物载体可直接由人血浆分离提纯得到,同时也可利用胆固醇、胆固醇酯、卵磷脂、橄榄油等重组形成,目前暂无商品化 CM 产品供应。

2 基于 VLDL 的纳米药物传输系统

VLDL 是一种密度非常低(0.95~1.006 g/mL)的血浆脂蛋白,在肝脏合成,约含 10% 蛋白质和 50% 甘油三酯,颗粒粒径为 30~80 nm,在血液中起转运内源性甘油三酯的作用。关于 VLDL 作

为药物载体的研究鲜见报道,Kader 等<sup>[5]</sup>曾将 5-氟尿嘧啶(5-FU)、5-碘脱氧尿苷(IUdR)、多柔比星(Dox)和长春地辛(Vindesine)4 种临床常用的细胞毒药物掺入到 VLDL(VLDL 可由人血浆分离纯化得到,或者直接从试剂公司,如 Sigma-Aldrich 公司,购买商品化产品),并以电镜观察药物掺入后的 VLDL 形态及大小,以 HPLC 分析 VLDL 掺入药物的稳定性。结果显示,4 种药物均能以较高的载药量与 VLDL 结合,且对脂蛋白颗粒的大小和形态无明显影响,脂核的热变温度( $T_m$ )、焓变( $\Delta H$ )及药物的稳定性也无显著变化,说明药物的掺入并没有明显改变 VLDL 颗粒的完整性。而人宫颈癌 HeLa 细胞和人乳腺癌 MCF-7 细胞实验结果表明,与游离药物相比,VLDL-药物复合物的  $IC_{50}$  没有显著差异,且 LDL-药物复合物和 HDL-药物复合物的  $IC_{50}$  明显降低,这可能是由于 VLDL-药物复合物不能有效地通过受体介导途径被这两种细胞内吞。由此推断,VLDL 基本上不适合作为药物载体。

3 基于 LDL 的纳米药物传输系统

LDL 是存在于人类血浆中含量最多的脂蛋白,携带人体血液中 2/3 以上的胆固醇,在血浆中以球形颗粒存在,粒径为 18~25 nm,密度为 1.019~1.063 g/mL,主要通过特异性受体识别 LDL 中的载脂蛋白 B-100(ApoB-100)进行体内代谢,在血浆中起转运内源性胆固醇及胆固醇酯的作用。在一些恶性肿瘤细胞(如急性骨髓性白血病、直肠癌、肾上腺癌、肺癌、脑癌、转移性前列腺癌细胞)上过量表达 LDL 受体,这些细胞需要 LDL 转运大量胆固醇以供细胞膜合成<sup>[6]</sup>。LDL 作为一种内源性纳米颗粒,具有相对较长的血浆半衰期,其大容量脂核可为脂溶性药物提供稳定的载药空间,可通过特异性受体

识别途径将药物转运到特定的靶细胞、组织或器官,是一种值得研究的主动靶向药物载体。LDL 作为药物载体可采用人血浆分离纯化的天然 LDL 或者直接从试剂公司(如 Sigma-Aldrich 公司)购买商品化产品,也可利用人工合成的重组 LDL。目前,LDL 作为靶向药物载体的研究已申请美国专利<sup>[7]</sup>。

### 3.1 LDL 作为抗肿瘤药物载体

脂溶性抗肿瘤药物与 LDL 结合形成的复合物可高效递释药物至肿瘤细胞,使抗肿瘤药的细胞毒作用增强,而对正常组织细胞的不良反应减弱。Kopecka 等<sup>[8]</sup>制备 Dox 的仿 LDL 脂质体,在体外脂质载体与 LDL 受体结合肽(ApoB-100 片段)进行结合,并载入 Dox 重组形成 Apo-Lipodox。结果表明,Apo-Lipodox 由 LDL 受体介导的胞吞途径特异性地将 Dox 转运到肿瘤细胞,且当其与他汀类药物合用时,Dox 药效显著提高。Nikanjam 等<sup>[9]</sup>成功构建纳米-LDL(nLDL),其由人工合成的 LDL 类似物与一个同时含有脂质结合区域和 LDL 受体结合区域的双功能肽组成;将脂溶性很强的紫杉醇油酸酯(PO)载入 nLDL 核心,形成 nLDL-PO;nLDL-PO 可通过受体途径内吞进入细胞并能有效抑制 LDL 受体高表达的多形性胶质母细胞瘤(GBM)细胞增殖。Jin 等<sup>[10]</sup>将亲脂性胆固醇修饰的 siRNA(Chol-siRNA)包载入 LDL,形成 LDL-Chol-siRNA 纳米粒。该纳米粒可通过 LDL 受体介导内吞途径将 Chol-siRNA 高效导入肿瘤细胞并有效抑制肿瘤生长。以上研究结果显示,LDL 可作为抗肿瘤药物的有效运输载体,并显示良好的应用前景。

### 3.2 LDL 作为光敏剂载体

疏水性光敏剂较易进入 LDL 的非极性脂质核,且不影响 LDL 受体识别功能,其自身理化性质与生物特性基本不发生改变,利用 LDL 作为光敏剂运输和释放的载体可提高光敏剂对肿瘤组织的靶向性。Marotta 等<sup>[11]</sup>制备了包载有光敏剂菌绿素(Bchl-BOA)的重组 LDL 纳米粒(r-Bchl-BOA-LDL),通过肿瘤应答实验研究 r-Bchl-BOA-LDL 对肿瘤细胞的光动力学治疗(photodynamictherapy, PDT)效应。结果表明,经光照强度为 125、150 或 175 J/cm<sup>2</sup> 的光照射后,r-Bchl-BOA-LDL 治疗组(静脉注射剂剂量:2 μmol/kg)的小鼠肿瘤生长较对照组明显受到抑制。随着光照强度的增大,r-Bchl-BOA-LDL 对正常组织细胞的毒性也在增

加,但在最小的光照强度下,r-Bchl-BOA-LDL 对正常组织细胞的毒性显著降低。这些数据表明,LDL 可将光敏剂有效地靶向至 LDL 受体过度表达的肿瘤部位,并发挥 PDT 效应。

### 3.3 LDL 作为 X 线断层扫描(computed tomography,CT)分子成像造影剂载体

LDL 的天然纳米结构及其所具备的主动靶向性,可将临床上广泛应用的造影剂有效地运送到 LDL 受体高度表达的肿瘤部位。Hill 等<sup>[12]</sup>合成脂溶性的聚碘化甘油三酯(ITG)并载入 LDL 脂核,制备一种 LDL 受体靶向的新型 CT 分子成像造影剂(rITG)LDL。体外研究表明,(rITG)LDL 既保留有天然 LDL 相似的粒径和表面电荷,又保留有 LDL 受体介导的细胞结合和内吞的功能。体外 HepG2 细胞实验结果表明,与对照组相比,(rITG)LDL 组细胞的 CT 影像强度显著增大;在较低的 X 线能量下,(rITG)LDL 具备人体胸部和小动物的 CT 成像潜力。但在体内(rITG)LDL 的肿瘤摄取量是否足以增强 CT 分子成像还有待验证。

### 3.4 LDL 作为药物载体的其他应用

LDL 也可作为核磁共振造影剂(如 Gd)的载体,Gd-LDL 可用于 LDL 受体过量表达肿瘤的定位和诊断,还可用于早期动脉粥样硬化的诊断和家族性高胆固醇血症基因治疗的预后等<sup>[13]</sup>。放射性核素(如<sup>123</sup>I、<sup>125</sup>I、<sup>131</sup>I、<sup>111</sup>In、<sup>99m</sup>Tc、<sup>68</sup>Ga、<sup>18</sup>F、<sup>153</sup>Gd 等)标记的 LDL 可作为体内良好的示踪剂,其与特定恶性肿瘤细胞上的 LDL 受体结合,从而使肿瘤部位得以显像<sup>[14]</sup>。研究人员将 Au 纳米晶体包载入 LDL 构建 Au-LDL 复合物,并进行 LDL 肿瘤摄取情况的小鼠肿瘤模型在体成像研究<sup>[15]</sup>。将 LDL 进行葡聚糖化学修饰可增加 LDL 作为疏水性及两亲性药物载体的肿瘤细胞靶向性<sup>[16]</sup>,并在 LDL 磷脂单层中插入近红外染料,从而形成近红外荧光探针,将有可能实现特定恶性肿瘤的近红外成像,从而达到实时无损在体监测恶性肿瘤的目的<sup>[1,17]</sup>。

## 4 基于 HDL 的纳米药物传输系统

HDL 也是脂蛋白家族中的重要一员,具有非极性的脂质核心和特异性受体识别途径,不存在免疫原性,能避开网状内皮系统的识别,在“胆固醇逆转运”过程中发挥关键作用<sup>[18]</sup>(表 2)。HDL 受体在前列腺癌、卵巢癌和乳腺癌等多种癌细胞表面

高度表达,有利于通过受体 SR-BI 介导途径进行肿瘤靶向治疗<sup>[19]</sup>,因此,基于 HDL 的纳米药物传输系统研究越来越受到重视,然而,血浆提取以及直接购买商品化 HDL 产品(Sigma-Aldrich 公司)代价过高限制了其作为药物载体的发展潜力。重组 HDL(reconstituted HDL,rHDL)是天然 HDL 的体外合成形式,由内源性分离、利用基因工程的方法制

备或直接购买的 ApoA-I 与卵磷脂等在体外重组形成,其在生化特性和功能上与内源性 HDL 类似,拥有天然 HDL 作为疏水性药物载体的多种优良特性,具有明显的“仿生”特征;在制备 rHDL 时,可以避免遇到天然 HDL 制备时出现的难题。因此,目前利用 HDL 作为药物载体的研究一般采用仿生型纳米载体 rHDL<sup>[20]</sup>。

表 2 高密度脂蛋白的特点和作用<sup>[18]</sup>

特点	作用
高效运载性	HDL 具有非极性的脂质核心及极性的外层磷脂单层,有利于减少运载药物与机体环境的接触,保护运载药物免于破坏。这种两性结构也有利于亲水性和疏水性两种药物的包装,从而扩大了药物运载的范围。
高度安全性	HDL 是内源性物质,可以完全被生物降解而不引发免疫反应。同时,HDL 可以避免网状内皮组织的识别和清除,具有更长的半衰期。
特异靶向性	HDL 的代谢及功能发挥过程通过特异的高亲和性受体进行,因此增加了药物运载的靶向性。
极强穿透性	HDL 的直径只有 5~12 nm,更容易穿过血管壁进入血管外组织。

4.1 HDL 作为化学药物载体

现有疾病治疗药物以化学药物为主,但其普遍对疾病敏感性弱及对正常组织器官选择性差,所以存在临床疗效低、不良反应大、患者顺应性差等问题。人体内源性蛋白 HDL 作为一种潜在的化学药物高效靶向性仿生型载体,具有针对性强、效果显著、不良反应低等优势,受到越来越多的重视,具有巨大的发展潜力及应用前景。

4.1.1 HDL 作为抗肿瘤药物载体 HDL 作为高效的药物传递系统可有效改善抗肿瘤药物普遍存在的肿瘤组织选择性差、不良反应大等缺点,从而成为近年来国内外研究的热点。Lacko 等<sup>[21]</sup>通过体外重组将紫杉醇(PTX)载入 rHDL 形成 rHDL/PTX 复合物,该复合物能够与肿瘤细胞有效结合并具有与 PTX 相似的细胞毒作用,但药物化疗过程中的不良反应则显著降低。McConathy<sup>[22]</sup>等进一步研究发现,rHDL/PTX 复合物对多种肿瘤细胞株(DU145、MCF7、OVCAR-3 和 OV1063)具有更强的细胞毒性,IC<sub>50</sub>明显小于游离 PTX;小鼠实验证明 rHDL/PTX 复合物比相同剂量的 Taxol 或紫杉醇蛋白颗粒结合注射悬液(Abraxane)具有更好的机体耐受性。楼滨等<sup>[23]</sup>制备的 rHDL-ACM 复合物保留了天然 HDL 的物理和生物学特性,且对人肝癌细胞 SMMC-7721 的杀伤作用明显强于人正常肝细胞 L02,提示 rHDL 作为药物载体对肿瘤细胞具有选择性,可以减少正常组织的药物损伤。Ghosh 等<sup>[24]</sup>制备的 rHDL-姜黄素复合物对人肝癌 HepG2 细胞的杀伤作用明显强于游离姜黄素。反式维甲酸

以 rHDL 作为药物载体<sup>[25]</sup>,比传统的载药方式更容易导致肿瘤细胞死亡。有研究表明,将 10-羟基喜树碱(HCPT)载入 rHDL 形成 rHDL-HCPT<sup>[26]</sup>,在其表面孵育 ApoAI<sub>Milano</sub>(apoAI<sub>M</sub>)制得 rHDL<sub>M</sub>-HCPT 复合物。该复合物在体外缓释效果良好和在主要器官药物浓度较高,与游离 HCPT 相比,rHDL<sub>M</sub>-HCPT 复合物对肿瘤细胞株 SKOV-3 及 HCT-116 的细胞毒性提高了 50~70 倍。此外,本课题组刘聪燕等<sup>[27]</sup>采用胆酸钠法制备藤黄酸(GA)重组高密度脂蛋白纳米粒(GA-rHDL-NPs),其肝肿瘤细胞(HepG2)摄取能力明显强于正常肝细胞。

4.1.2 HDL 作为心血管药物载体 Zhang 等<sup>[28]</sup>制备了心血管药物丹参酮 II 的纳米结构脂质载体(Tanshinone IIA-loaded nanostructured lipid carriers,TA-NLC);选取 HDL 的脂质成分,采用乳化蒸发法制备 NLC,将 TA 载入 NLC 核心形成 TA-NLC;将 TA-NLC 与天然 HDL 孵育后制备了结合载脂蛋白 ApoA-I 的 TA-NLC-apo;与 TA-NLC 相比,TA-NLC-apo 在 TA-NLC 表面孵育 ApoA-I 制备仿天然 HDL 载药纳米粒,从而具备避免引发免疫应答与巨噬细胞识别吞噬的特性。TA-NLC-apo 使药物作用、载体功能与机体靶点三者有机结合,通过仿天然 HDL 逆向转运胆固醇的功能,将抗动脉粥样硬化的作用与心血管药物的药效结合,产生治疗的协同作用。

4.1.3 HDL 作为抗病毒与抗真菌药物载体 诺西肽是一种有效的抗乙肝病毒药物,但其肝分布较差,限制了其临床应用。冯美卿等<sup>[29]</sup>制备的 rHDL-诺西肽复合物包封率大于 80%,粒径小于

30 nm。体外细胞毒性实验表明, 0.63  $\mu\text{g/mL}$  rHDL-诺西肽复合物对乙肝病毒的抑制率达 50%, 而要达到相同的抑制率需要 40 倍浓度的诺西肽脂质体 (2.5  $\mu\text{g/mL}$ ) 和 200 倍浓度的游离诺西肽 (12.5  $\mu\text{g/mL}$ )。体内大鼠实验表明, rHDL-诺西肽复合物经静注给药后, 30 min 内就已有大部分药物集中在肝脏。提示 rHDL 作为药物载体对肝脏具有高度选择性, 可用于乙型肝炎、肝癌等肝脏相关疾病的靶向治疗。抗真菌药物两性霉素 B (AMB) 与 rHDL 包装形成的 rHDL-AMB 复合物增强了 AMB 的疗效, 并降低其不良反应, 实验结果显示, 0.14 和 1 mg/L rHDL-AMB 复合物对酿酒酵母的生长抑制率分别达到 50% 和 90%, 对白色念珠菌、新型隐球菌等临床致病真菌具有相似的生长抑制作用; 体外研究表明, rHDL-AMB 复合物的红细胞溶血和肝细胞毒性作用显著降低, 10 mg/kg rHDL-AMB 复合物在小鼠体内未表现出明显的不良反应<sup>[30]</sup>。

#### 4.2 HDL 作为基因治疗药物载体

基因治疗是通过向靶细胞或组织引入外源基因片段, 纠正或补偿缺陷基因, 关闭或抑制异常表达的基因, 从而达到治疗目的的一种生物医学技术。虽然基因治疗显示出巨大的临床应用潜力, 但单独使用基因作为药物在实际应用中并不成功。非极性疏水细胞膜等细胞结构对于 DNA 和 RNA 的转运都形成了障碍, 限制了基因转染效率。理想的药物载体不仅能辅助 DNA 和 RNA 穿过各种生理屏障, 而且能最大限度地将其靶向递送到组织与细胞中, 并减少在非靶向组织和细胞的摄取。因此, 递送载体是基因治疗有效性的重要因素。目前, 利用 HDL 作为基因治疗药物载体受到了广泛关注。

4.2.1 HDL 作为小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 载体 RNA 干扰 (RNA interference, RNAi) 是双链 RNA 介导的转录后基因沉默过程, 是一种高效、高特异性的抑制基因表达的新途径, 但安全并有效地递送治疗性 siRNA 仍是阻碍 RNAi 技术临床应用的最大障碍<sup>[31]</sup>。Wolfrum 等<sup>[32]</sup>以天然 HDL 为载体介导 siRNA 进行体内基因沉默, 结果显示其可将 siRNA 递送到 SR-BI 受体高表达的组织器官。本实验室的丁杨等<sup>[33]</sup>将胆固醇修饰的 siRNA (Chol-siRNA) 包载入 rHDL, 形成 rHDL/Chol-siRNA 纳米粒 (图 1)。体内外研究结果表明, 该纳米粒包封率高, 具有理想的粒径和血清稳定

性, 可通过 SR-BI 受体介导被人肝癌细胞 HepG2 高效摄取, 实现 Chol-siRNA 的特异性细胞浆传递, 显著减少 Pokemon 和 Bcl-2 蛋白的表达, 有效抑制肿瘤生长。Rui 等<sup>[34]</sup>采用阳离子聚合物压缩 siRNA 并包载入 rHDL 形成复合物, 体外转染人肝癌细胞 SMMC-7721, 可显著减少萤光素酶的表达, 基因沉默效率高达 70%。结果表明, HDL 的包载不影响 siRNA 的靶基因识别特异性, 且可有效增加 siRNA 的递送靶向性及基因沉默效率。张智红等<sup>[35]</sup>近期开发出一种仿 HDL 纳米载体 (HDL-like peptide-phospholipid scaffold, HPPS), 它由磷脂、胆固醇酯和模拟 ApoA-I 蛋白的 18 个氨基酸序列的多肽构成, 抗凋亡基因 *bcl-2* 为靶基因, 将 Chol-si-bcl-2 插入到 HPPS 的磷脂单分子层中, 形成稳定的 HPPS-Chol-si-bcl-2 纳米复合体; HPPS 具有运载 Chol-siRNA 的能力, 并能特异性地将 Chol-siRNA 直接释放到细胞浆中。HPPS 运载 Chol-si-bcl-2 时, 蛋白抑制率和促凋亡能力分别是 Chol-si-bcl-2 组的 2.3 和 2.5 倍。这种特殊的胞浆直接运输方式, 使得 HPPS 成为高效的 siRNA 运输工具。

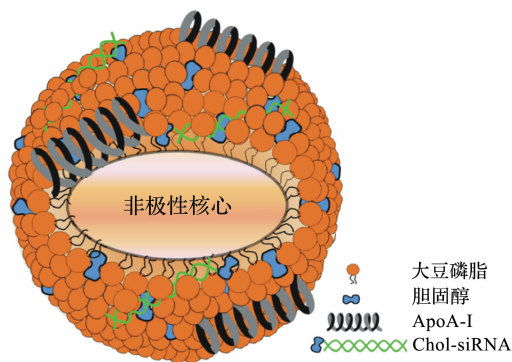


图 1 rHDL/Chol-siRNA 复合物的结构示意图

rHDL/Chol-siRNA 复合物包含一个由胆固醇酯构成的非极性核心, 和一个包绕在核心表面的外壳 [由大豆磷脂、胆固醇、载脂蛋白 A-I (ApoA-I) 和 Chol-siRNA 组成的], 采用一种亲脂的锚 (胆固醇) 对 siRNA 进行化学修饰, 得到的两亲性 Chol-siRNA 更容易包载入重组高密度脂蛋白<sup>[33]</sup>

4.2.2 HDL 作为 DNA 载体 DNA 在体液中呈负电性, 与带负电荷的细胞膜产生静电斥力而不易进入细胞, 同时 DNA 的生物稳定性不佳, 易受各种酶的降解, 因而单独使用 DNA 进行基因治疗的效果很差。在利用 DNA 进行基因治疗时, DNA 在载体的帮助下导入靶细胞而达到治疗目的。McMahon<sup>[36]</sup>等将 DNA 进行胆固醇修饰形成胆固醇化 DNA

(Chol-DNA), 利用 Au 纳米粒子重组 HDL (rHDL AuNPs) 作为其载体。研究表明, 该载体可吸附 Chol-DNA, 制备得 Chol-DNA-rHDL AuNPs 复合物。进一步研究发现, 该复合物包封率高, 具有理想的粒径和血清稳定性, 可将 Chol-DNA 高效转运至肿瘤细胞, 有效调节靶基因的表达, 抑制肿瘤生长。

#### 4.3 HDL 作为药物载体的其他应用

HDL 也可作为斑块显影剂 (如 Gd、P2fA2) 的载体。HDL 与巨噬细胞的相互作用使其携带显影剂进入斑块内, 可进行动脉粥样硬化的无创诊断和治疗监测<sup>[37]</sup>。研究人员使用氧化亚铁 (FeO) 作为脂蛋白的核心模板, 成功地制备了 FeO-rHDL 纳米粒, 该纳米粒可用做动脉粥样硬化血管的 MRI 成像<sup>[38]</sup>。Chao 等<sup>[39]</sup>制备了包载有新型菌绿素类似物 (Bchl-BOA) 的 rHDL 纳米粒 (rHDL-Bchl-BOA), 即 Bchl-BOA 载入 rHDL 形成近红外荧光探针, 实现特定恶性肿瘤的近红外荧光成像, 且 rHDL 介导光敏剂 Bchl-BOA 对前列腺癌进行 PDT 治疗也显示出极大的潜力。对 HDL 进行化学修饰 (EFR<sup>[40]</sup>、RGD<sup>[41]</sup> 和叶酸<sup>[42]</sup>) 以赋予其新的识别标志可以增加 HDL 药物载体的靶向性。

## 5 结 语

脂蛋白本身无毒且具有可生物降解性, 对疏水性或亲水性药物都可实现良好的载药效果。脂蛋白纳米载体有着较长的发展历程, 可用来运载多种类型的药物, 包括化疗药物、基因治疗药物、光敏剂、荧光探针、MR 探针、CT 探针以及放射性示踪剂等, 不仅可用于肿瘤等疾病的早期诊断, 还可用于一些疾病的治疗, 因此基于脂蛋白的纳米药物传输系统具有巨大的发展潜力及应用前景。这主要是基于脂蛋白作为纳米药物载体的独特优势: ①脂蛋白是血浆天然成分, 具有相对较长的半衰期; ②脂蛋白颗粒粒径在纳米级范围, 易从血管内扩散至血管外; ③脂蛋白可通过受体介导被细胞特异性识别并内吞, 靶向性高; ④脂蛋白的大容量脂质核可作为脂溶性药物储存的场所, 可有效避免所载药物被血浆中成分相互作用而分解破坏; ⑤脂蛋白是内源性物质, 可完全被生物降解, 不会引发免疫反应, 能避免被网状内皮系统识别和消除, 克服药物水溶性和耐受性差、不良反应大的缺陷。研究证明天然脂蛋白和脂蛋白-药物复合物具有相似的理化性质

及生物学特性<sup>[41]</sup>, 这对于基于脂蛋白的纳米药物传输系统是非常重要的。然而, 脂蛋白重组组分的大规模制备和生物安全性问题使脂蛋白作为药物载体的临床应用受到限制, 且基于脂蛋白的纳米药物传输系统的研究主要集中在 LDL 和 HDL。相信随着分子生物学重组技术的发展, 基于脂蛋白的纳米药物传输系统将显示出更为广阔的发展前景, 得到更为广泛的应用, 为新型药物递送系统的研究提供新方法与新思路。

## 参 考 文 献

- [1] Ng KK, Lovell JF, Zheng G. Lipoprotein-inspired nanoparticles for cancer theranostics[J]. *Acc Chem Res*, 2011, **44**(10): 1105–1113.
- [2] Thaxton CS, Daniel WL, Giljohann DA, et al. Templated spherical high density lipoprotein nanoparticles[J]. *J Am Chem Soc*, 2009, **131**(4): 1384–1385.
- [3] Gershovich P, Hoffman A. Uptake of lipophilic drugs by plasma derived isolated chylomicrons: linear correlation with intestinal lymphatic bioavailability[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2005, **26**(5): 394–404.
- [4] Dierling AM, Cui Z. Targeting primaquine into liver using chylomicron emulsions for potential vivax malaria therapy[J]. *Int J Pharm*, 2005, **303**(1): 143–152.
- [5] Kader A, Pater A. Loading anticancer drugs into HDL as well as LDL has little affect on properties of complexes and enhances cytotoxicity to human carcinoma cells[J]. *J Control Release*, 2002, **80**(1): 29–44.
- [6] Pieper-Furst U, Lammert F. Low-density lipoprotein receptors in liver: old acquaintances and a newcomer[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, **1831**(7): 1191–1198.
- [7] Nelson T, Quattrone A, Alkon D. Artificial low-density lipoprotein carriers for transport of substances across the blood-brain barrier: US, 802727[P]. 2004-06-17[2008-07-03].
- [8] Kopecka J, Campia I, Olivero P, et al. A LDL-masked liposomal-doxorubicin reverses drug resistance in human cancer cells[J]. *J Control Release*, 2011, **149**(2): 196–205.
- [9] Nikanjam M, Gibbs AR, Hunt CA, et al. Synthetic nano-LDL with paclitaxel oleate as a targeted drug delivery vehicle for glioblastoma multiforme[J]. *J Control Release*, 2007, **124**(3): 163–171.
- [10] Jin H, Lovell JF, Chen J, et al. Mechanistic insights into LDL nanoparticle-mediated siRNA delivery[J]. *Bioconjugate Chem*, 2011, **23**(1): 33–41.
- [11] Marotta DE, Cao W, Wileyto EP, et al. Evaluation of bacteriochlorophyll-reconstituted low-density lipoprotein nanoparticles for photodynamic therapy efficacy in vivo[J]. *Nanomedicine (Lond)*, 2011, **6**(3): 475–487.
- [12] Hill ML, Corbin IR, Levitin RB, et al. In vitro assessment of polyiodinated triglyceride reconstituted low-density lipoprotein: initial



- steps toward CT molecular imaging [J]. *Acad Radiol*, 2010, **17** (11): 1359–1365.
- [13] Crich SG, Lanzardo S, Alberti D, *et al.* Magnetic resonance imaging detection of tumor cells by targeting low-density lipoprotein receptors with Gd-loaded low-density lipoprotein particles [J]. *Neoplasia*, 2007, **9** (12): 1046–1056.
- [14] Frias JC, Lipinski MJ, Lipinski SE, *et al.* Modified lipoproteins as contrast agents for imaging of atherosclerosis [J]. *Contrast Media Mol Imaging*, 2007, **2** (1): 16–23.
- [15] Allijn IE, Leong W, Tang J, *et al.* Gold nanocrystal labeling allows low density lipoprotein imaging from the subcellular to macroscopic level [J]. *ACS Nano*, 2013, **7** (11): 9761–9770.
- [16] Huntosova V, Buzova D, Petrovajova D, *et al.* Development of a new LDL-based transport system for hydrophobic/amphiphilic drug delivery to cancer cells [J]. *Int J Pharm*, 2012, **436** (1/2): 463–471.
- [17] Chen J, Corbin IR, Li H, *et al.* Ligand conjugated low-density lipoprotein nanoparticles for enhanced optical cancer imaging *in vivo* [J]. *J Am Chem Soc*, 2007, **129** (18): 5798–5799.
- [18] Rensen PC, de Vreeh RL, Kuiper J, *et al.* Recombinant lipoproteins: lipoprotein-like lipid particles for drug targeting [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2001, **47** (2): 251–276.
- [19] Liu X, Suo R, Xiong SL, *et al.* HDL drug carriers for targeted therapy [J]. *Clin Chim Acta*, 2013, **415**: 94–100.
- [20] Davis ME, Chen ZG, Shin DM. Nanoparticle therapeutics: an emerging treatment modality for cancer [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2008, **7** (9): 771–782.
- [21] Lacko AG, Nair M, Paranjape S, *et al.* High density lipoprotein complexes as delivery vehicles for anticancer drugs [J]. *Anticancer Res*, 2002, **22** (4): 2045.
- [22] McConathy WJ, Nair MP, Paranjape S, *et al.* Evaluation of synthetic/reconstituted high-density lipoproteins as delivery vehicles for paclitaxel [J]. *Anti-cancer Drug*, 2008, **19** (2): 183–188.
- [23] Lou B, Liao XL, Wu MP, *et al.* High-density lipoprotein as a potential carrier for delivery of a lipophilic antitumoral drug into hepatoma cells [J]. *World J Gastroenterol*, 2005, **11** (7): 954–959.
- [24] Ghosh M, Singh AT, Xu W, *et al.* Curcumin nanodisks: formulation and characterization [J]. *Nanomedicine*, 2011, **7** (2): 162–167.
- [25] Singh AT, Evens AM, Anderson RJ, *et al.* All trans retinoic acid nanodisks enhance retinoic acid receptor mediated apoptosis and cell cycle arrest in mantle cell lymphoma [J]. *Brit J Haematol*, 2010, **150** (2): 158–169.
- [26] Zhang X, Chen B. Recombinant high density lipoprotein reconstituted with apolipoprotein AI cysteine mutants as delivery vehicles for 10-hydroxycamptothecin [J]. *Cancer Lett*, 2010, **298** (1): 26–33.
- [27] Liu CY, Wang W, Zhou JP, *et al.* Preparation and evaluation of gambogic acid loaded reconstituted high density lipoprotein nanoparticles [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2013, **44** (4): 311–315.
- [28] Zhang WL, Gu X, Bai H, *et al.* Nanostructured lipid carriers constituted from high-density lipoprotein components for delivery of a lipophilic cardiovascular drug [J]. *Int J Pharm*, 2010, **391** (1/2): 313–321.
- [29] Feng M, Cai Q, Shi X, *et al.* Recombinant high-density lipoprotein complex as a targeting system of nosiheptide to liver cells [J]. *J Drug Target*, 2008, **16** (6): 502–508.
- [30] Oda MN, Hargreaves PL, Beckstead JA, *et al.* Reconstituted high density lipoprotein enriched with the polyene antibiotic amphotericin B [J]. *J Lipid Res*, 2006, **47** (2): 260–267.
- [31] Dykxhoorn DM. RNA interference as an anticancer therapy: a patent perspective [J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2009, **19** (4): 475–491.
- [32] Wolfrum C, Shi S, Jayaprakash KN, *et al.* Mechanisms and optimization of *in vivo* delivery of lipophilic siRNAs [J]. *Nat Biotechnol*, 2007, **25** (10): 1149–1157.
- [33] Ding Y, Wang W, Feng M, *et al.* A biomimetic nanovector-mediated targeted cholesterol-conjugated siRNA delivery for tumor gene therapy [J]. *Biomaterials*, 2012, **33** (34): 8893–8905.
- [34] Rui M, Tang H, Li Y, *et al.* Recombinant high density lipoprotein nanoparticles for target-specific delivery of siRNA [J]. *Pharm Res*, 2013, **30** (5): 1203–1214.
- [35] Zhang Z, Cao W, Jin H, *et al.* Biomimetic nanocarrier for direct cytosolic drug delivery [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2009, **48** (48): 9171–9175.
- [36] McMahon KM, Mutharasan RK, Tripathy S, *et al.* Biomimetic high density lipoprotein nanoparticles for nucleic acid delivery [J]. *Nano Lett*, 2011, **11** (3): 1208–1214.
- [37] Chen W, Vucic E, Leupold E, *et al.* Incorporation of an apoE-derived lipopeptide in high-density lipoprotein MRI contrast agents for enhanced imaging of macrophages in atherosclerosis [J]. *Contrast Media Mol I*, 2008, **3** (6): 233–242.
- [38] Cormode DP, Skajaa T, van Schooneveld MM, *et al.* Nanocrystal core high-density lipoproteins: a multimodality contrast agent platform [J]. *Nano Lett*, 2008, **8** (11): 3715–3723.
- [39] Cao W, Ng KK, Corbin I, *et al.* Synthesis and evaluation of a stable bacteriochlorophyll-analog and its incorporation into high-density lipoprotein nanoparticles for tumor imaging [J]. *Bioconjugate Chem*, 2009, **20** (11): 2023–2031.
- [40] Zhang Z, Chen J, Ding L, *et al.* HDL - mimicking peptide-lipid nanoparticles with improved tumor targeting [J]. *Small*, 2010, **6** (3): 430–437.
- [41] Chen W, Jarzyna PA, van Tilborg GA, *et al.* RGD peptide functionalized and reconstituted high-density lipoprotein nanoparticles as a versatile and multimodal tumor targeting molecular imaging probe [J]. *FASEB J*, 2010, **24** (6): 1689–1699.
- [42] Corbin IR, Chen J, Cao W, *et al.* Enhanced cancer-targeted delivery using engineered high-density lipoprotein-based nanocarriers [J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2007, **3** (4): 367–376.