

· 药学前沿 ·

蛋白质类纳米载体材料的研究进展

陶琳琳^{1,2}, 霍美蓉², 徐巍^{1*}

(¹山东第一医科大学第一附属医院(山东省千佛山医院), 山东大学附属千佛山医院,
山东 250014; ²中国药科大学药学院, 南京 210009)

摘要 纳米技术为制药领域、特别是药物输送领域提供了新的策略, 其中, 蛋白质作为药物分子的纳米载体备受关注。蛋白质纳米载药系统是以动物、植物或重组蛋白质为载体, 与药物共同组成的纳米载药体系, 具有良好的生物相容性、生物降解性、低抗原性、较高的稳定性及载药性等优点, 在临床治疗尤其是肿瘤的靶向治疗等领域具有重要意义。本文从动物来源的蛋白质、植物来源的蛋白质以及重组蛋白质的理化性质、功能特性介绍入手, 总结了蛋白质类纳米载体在药物递送载体中的应用现状, 并探讨了蛋白质纳米载体的发展方向。

关键词 药物递送; 蛋白质; 天然高分子; 纳米载体; 纳米粒

中图分类号 R944 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2020)02-0121-09

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20200201

引用本文 陶琳琳, 霍美蓉, 徐巍. 蛋白质类纳米载体材料的研究进展[J]. 中国药科大学学报, 2020, 51(2):121–129.
Cite this article as: TAO Linlin, HUO Meirong, XU Wei. Advances in the research of protein nanocarrier materials[J]. J China Pharm Univ, 2020, 51(2):121–129.

Advances in the research of protein nanocarrier materials

TAO Linlin^{1,2}, HUO Meirong², XU Wei^{1*}

¹Shandong Provincial Qianfoshan Hospital, the First Hospital Affiliated with Shandong First Medical University, Shandong Provincial Qianfoshan Hospital, Shandong University; ²School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract Nanotechnology has brought new strategies in the area of pharmaceutical sciences, especially in the drug delivery system. Among them, the application of protein as drug carriers has drawn extensive attention. A wide variety of proteins that have been used for drug delivery system including the common animal- and plant-based proteins, as well as the recombinant protein nanoparticles, which possess many advantages such as biocompatibility, biodegradability, low antigenicity, higher stability and drug loading property. This system is of great significance in the fields of clinical treatment, especially targeted therapy of tumors. In this paper, the fabrication of nanoparticles from animal, botanical, and recombinant proteins are described. And then, trend of development in protein-based nanocarriers is also prospected.

Key words drug delivery; proteins; natural polymers; nanocarriers; nanoparticles

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81503261, No. 81872424); the Key Research and Development Program of Shandong Province (No. 2017GSF218016); the Natural Science Foundation of Shandong Province (No. ZR2013HQ011); the Traditional Chinese Medicine Science and Technology Development Program of Shandong Province (No. 2019-0372); Academic Promotion Program of Shandong First Medical University (No. 2019LJ005)

收稿日期 2019-08-03 *通信作者 Tel:0531-89268365 E-mail:weixu@sdu.edu.cn

基金项目 国家自然科学基金资助项目(No. 81503261, No. 81872424); 山东省重点研发计划资助项目(No. 2017GSF218016); 山东省自然科学基金资助项目(No. ZR2013HQ011); 山东省中医药科技发展计划资助项目(No. 2019-0372); 山东第一医科大学“学术提升计划”资助项目(No. 2019LJ005)

纳米技术促进许多新型药物载体的发展,使其能够靶向递送和控制释放多种治疗分子,如蛋白质、肽、基因、白细胞介素、生长因子和各种化学药物。作为一种天然生物分子,蛋白质由于其安全性和生物相容性可成为合成聚合物的替代物^[1]。

通常用于纳米载体的蛋白质包括动物来源的蛋白质(例如白蛋白、乳清蛋白、脂蛋白)或植物来源的蛋白质(例如玉米醇溶蛋白、麦醇溶蛋白、大豆蛋白)以及重组蛋白质(例如重组铁蛋白和丝蛋白)。本文综述了不同来源的蛋白质分子的物理化学和功能特性,讨论了其作为药物递送载体的潜力,探讨了蛋白质纳米载体的发展方向。

1 动物蛋白纳米载体

基于动物的蛋白质来源丰富,可从肉、鱼、乳制品和其他动物组织中获得,并且具有生物相容性和低毒性,已被广泛用作蛋白质纳米载体。

1.1 白蛋白

白蛋白(albumin)是血液中最丰富的血浆蛋白(35~50 g/L 血清),主要在肝脏中合成,用于维持渗透压和血浆 pH,运输和分配各种内源性和外源性配体^[2]。常见的有人血清白蛋白(human serum albumin, HSA)、牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)。其中 HSA 结构明确(图 1),具有多个配体结合位点,可通过共价、非共价结合或融合表达将药物搭载到白蛋白上^[3](图 2),是递送疏水性物质的理想载体^[4],HSA 还可与细胞表面受体(包括 gp18、gp30、gp60、FcRn)相互作用,实现肿瘤组织靶向^[5]。BSA 与 HSA 结构及理化性质相似,可替代 HSA 用于纳米载药系统的研究。

Celgene 公司开发的紫杉醇白蛋白纳米结合颗粒(Abraxane)选用 HSA 作为载体,通过白蛋白在体内的天然转运通路(白蛋白结合受体蛋白和窖蛋白的作用),在肿瘤组织中迅速分布并聚集,增加化疗疗效的同时降低毒性^[6]。

Zhao 等^[7]制备了 HSA 融合白细胞介素-28B(HSA-IL28B),发现在 IL-28B 的 N 末端融合 HSA,可保留 IL-28B 的生物学活性,通过膜受体 IL28R1 和 IL10R2 抑制丙型肝炎病毒感染。与天然 IL-28B 相比,HSA-IL28B 融合蛋白稳定性增强,更耐蛋白酶降解,皮下给药后迅速吸收,半衰期约为 48 h,而天然 IL-28B 半衰期为 15 h。

白蛋白对脂溶性分子具有较高亲和性。维生素 E 是一种脂溶性油,具有 P-糖蛋白(P-gp)抑制能力,可有效被白蛋白包裹。Tang 等^[8]以 BSA 为载体,制备了装有紫杉醇及维生素 E 的白蛋白纳米粒(paclitaxel-VE nanoparticles, PTX-VE NPs),以改善多药耐药(multidrug resistance, MDR)乳腺癌的化疗疗效。结果表明,与没有维生素 E 的紫杉醇白蛋白纳米粒相比,其共载纳米粒 MDR 细胞摄取显著增加,细胞毒性增强约 1.5 倍,在 MCF-7/ADR 肿瘤异种移植模型中显示出更高的抗肿瘤疗效。

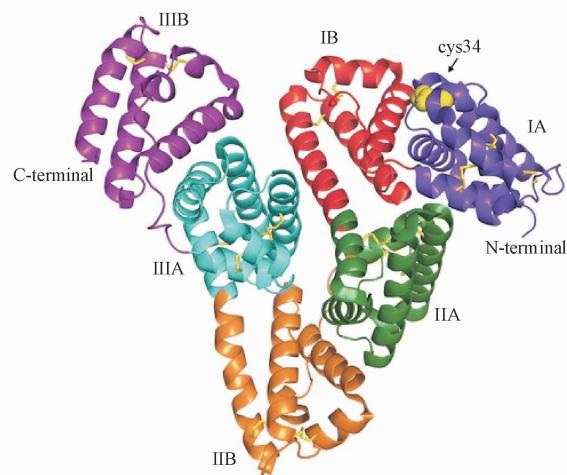


图 1 HSA 的晶体结构及结合位点^[3]

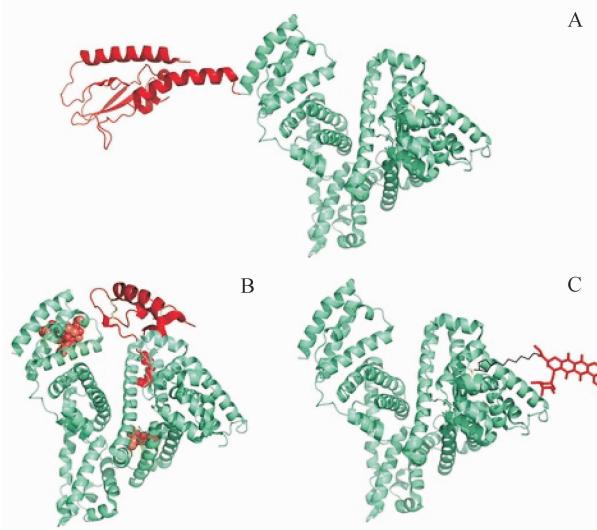


图 2 基于白蛋白的药物递送策略
A:与白蛋白融合;B:与白蛋白非共价结合(左上为紫杉醇结合,右上为地特胰岛素结合,右下为华法林结合);C:通过 Cys-34 与白蛋白共价缀合^[3]

为进一步改善白蛋白输送药物的疗效及靶向性,还可在白蛋白纳米粒上修饰抗体或配体^[9]。

神经激肽-1 (neurokinin-1, NK-1) 受体在一些恶性肿瘤中过表达, Ruan 等^[10] 利用 SP 肽对 NK-1 受体的靶向能力, 将 SP 肽共价锚定在 HSA-PTX 纳米粒 (SP-HSA-PTX NPs) 上, 显著改善了 PTX 在胶质瘤部位的肿瘤累积。Chen 等^[11] 将 HSA、紫杉醇和吲哚菁绿 (indocyanine green, ICG) 自组装成多功能 Abraxane 样纳米药物, 在近红外成像诱导下, 高效结合光热和化学疗法, 可有效消除皮下肿瘤并显著抑制转移性肿瘤的发展。

1.2 乳清蛋白

乳清蛋白 (lactalbumin) 是具有多种功能特性的球状蛋白质的混合物, 主要成分包括 α -乳白蛋白、 β -乳球蛋白 (图 3), 其中 β -乳球蛋白约占 65%。乳清蛋白具有出色的乳化和胶凝性质, 可以与疏水性成分结合, 实现包括维生素、脂肪酸、类胡萝卜素、多酚和一些抗菌剂的包封和递送, 可提高生物活性分子的溶解度和稳定性^[12]。目前市场上乳清蛋白产品主要有乳清蛋白浓缩物 (whey protein concentrate, WPC) 和乳清蛋白分离物 (whey proteins isolate, WPI)^[13]。

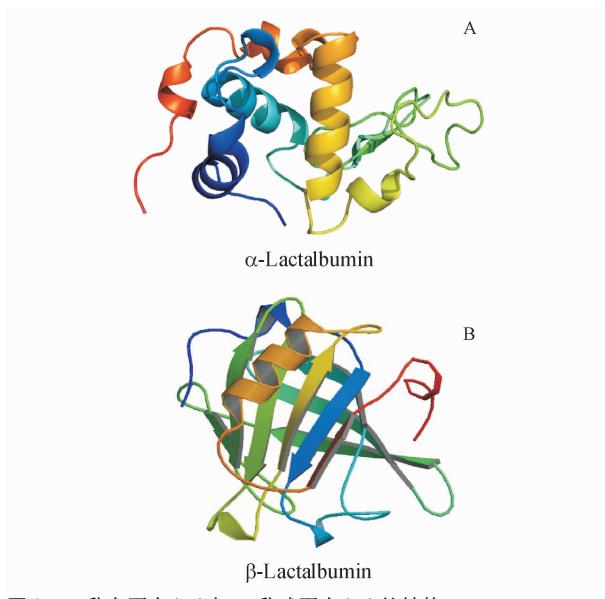


图 3 α -乳白蛋白(A)与 β -乳球蛋白(B)的结构

乳清蛋白纳米颗粒的制备工艺主要有超声波辅助、热诱导、去溶剂或改变 pH。Zhao 等^[14] 采用高强度超声波辅助技术制备负载叶黄素的 WPI 纳米乳液, 结果显示叶黄素的化学稳定性显著提高。Lv 等^[15] 通过热诱导乳清蛋白与大豆昔元共组装形成纳米复合物, 有效抑制大豆昔元的沉淀/结晶。Jayaprakasha 等^[16] 采用去溶剂法制备乳清蛋白包

封姜黄素的纳米颗粒, 与游离姜黄素相比, 其结肠癌细胞和前列腺癌细胞的摄取明显增加。另外, Mehdi 等^[17] 研究发现, 在 pH 2.0 条件下 85 ℃ 加热 WPI 溶液 5 h, 可产生乳清蛋白纳米纤维 (whey protein nanofibrils, WPN), 该纳米纤维的表面疏水性是天然乳清蛋白的 3 倍以上, 因而显示出更强的姜黄素络合能力, 与游离药物和姜黄素-WPI 复合物相比, 其复合物药物溶解度, 分别提高了 1 200 倍和 7 倍, 具有较好的应用前景。

1.3 胶原蛋白

胶原蛋白 (collagen) 是细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 中的主要结构蛋白, 位于皮肤和其他结缔组织中。胶原蛋白富含甘氨酸和脯氨酸残基, 一般以甘氨酸-脯氨酸-羟脯氨酸三联交替排列。在空间上, 3 条相互独立的胶原蛋白肽链主要通过链间氢键稳定结合在一起以产生紧密堆积的三螺旋结构 (图 4), 胶原分子的三螺旋 α -结构域决定其独特形状和机械强度^[18]。胶原蛋白具有生物相容性、可生物降解性、非免疫原性等特点^[19], 可介导细胞黏附、迁移、组织修复/再生^[19]。

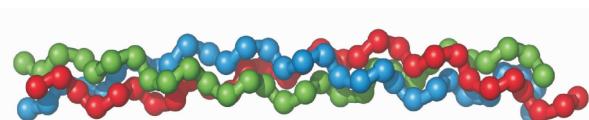


图 4 胶原蛋白的三螺旋结构

目前, 胶原蛋白已被广泛用作伤口愈合材料, 可制备成水凝胶、薄膜、海绵等, 用于生长激素、抗生素、局部麻醉剂等药物的递送^[20]。胶原蛋白可包覆载药纳米粒子, 控制药物的释放。Andrea 等^[21] 制备了装载庆大霉素和利福霉素的二氧化硅纳米粒子, 载药纳米粒进行胶原凝胶化后, 药物释放时间长达 10 d。Sudip 等^[22] 利用胶原蛋白与金-羟基磷灰石 (Au-HAp) 纳米粒子之间的静电相互作用形成稳定的纳米结构, 载药量可达 58%, 并在 pH 4.5 条件下响应性释放。

1.4 丝蛋白

蚕丝主要由 70% ~ 80% 的纤维状丝素蛋白 (fibroin) 和 20% ~ 30% 的黏性丝胶蛋白 (sericin) 组成, 其中丝素蛋白是蚕丝的结构中心, 是一种不溶于水的蛋白质, 由反平行 β 折叠层组成, 其一级结构主要是重复出现的氨基酸序列 ($\text{Gly-Ser-Gly-Ala-Ala}$)_n^[23]。由于其良好的生物相容性、降

解性和无毒性^[24],丝素蛋白(SF)纳米颗粒可用于递送各种药物,包括小分子药物^[25]、蛋白质药物和基因药物^[23]等,可显著改善药物的生物利用度。

Suktham 等^[26]通过无溶剂沉淀技术制备负载白藜芦醇的丝素蛋白纳米粒子,最大包封率为 76%,且高包封率的纳米颗粒具有缓释作用,体外持续释放超过 72 h。Wu 等^[27]通过室温下自组装制备了紫杉醇-丝素蛋白纳米粒(PTX-SF-NPs)用于局部胃癌治疗,纳米粒可被人胃癌细胞特异性摄取,可显著抑制肿瘤的发展。此外,丝素蛋白亦可用于构建 pH 响应性药物递送系统,含有 50% 丝素蛋白的人血清白蛋白纳米胶囊在较低 pH 响应下快速释放药物,而不含丝素蛋白的人血清白蛋白纳米胶囊,不显示任何 pH 响应性药物释放^[28]。

1.5 铁蛋白

人铁蛋白(ferritin)是体内主要的铁储存蛋白,由 24 个亚基自组装成球形笼状结构,其中有两种亚基-重亚基(21 kD)和轻亚基(19 kD),内部和外部尺寸分别为 8 和 12 nm^[29]。转铁蛋白具有 pH 可逆自组装特性,即在生理条件下,铁蛋白为稳定的笼式结构,在偏酸性(pH 2~3)或碱性(pH 10~12)环境中解离,中性环境中重新组装,利用这一特征可在铁蛋白腔内包封药物分子^[30]。转铁蛋白受体 1(trans-

ferrin receptor 1, TfR1)在肿瘤细胞及血脑屏障中的表达水平明显高于正常细胞组织,可协助重链铁蛋白(HFn)在细胞和血脑屏障(blood brain barrier, BBB)内外转运。因此,铁蛋白是一种优良的治疗肿瘤及脑部疾病的药物递送载体^[31]。

铁蛋白纳米粒的药物负载策略包括 pH 诱导的铁蛋白的解离/重组、扩散包封以及药物与铁蛋白表面直接结合^[32]。

目前已经开发了铁蛋白纳米笼加载阿霉素^[33]、顺铂^[34]、姜黄素^[35]等小分子的纳米制剂,铁蛋白还可用于金属纳米粒的包封,如抗菌银纳米粒、金纳米粒、钌纳米复合物等^[36]。Falvo 等^[37]基于 pH 的解离/重组策略,将顺铂包封于铁蛋白后与 PEG 连接的 EP1 单克隆抗体缀合,与单独载有顺铂的铁蛋白纳米颗粒相比,其对黑色素瘤细胞的靶向性增加 25 倍。Fan 等^[38]制备的 HFn 纳米载体通过 TfR1 的介导转运(图 5),可有效克服 BBB 并特异性的靶向神经胶质瘤细胞,肿瘤区域中蓄积的 HFn 纳米载体比健康脑组织中蓄积的 HFn 纳米载体高 10 倍以上,此外,原位胶质瘤动物模型药效学结果表明,负载 DOX 的铁蛋白纳米粒子(HFn-Dox)可显著抑制肿瘤生长并延长荷瘤小鼠的生存时间,其中位生存期为 30 d,而游离 DOX 组的中位生存期为 16 d。

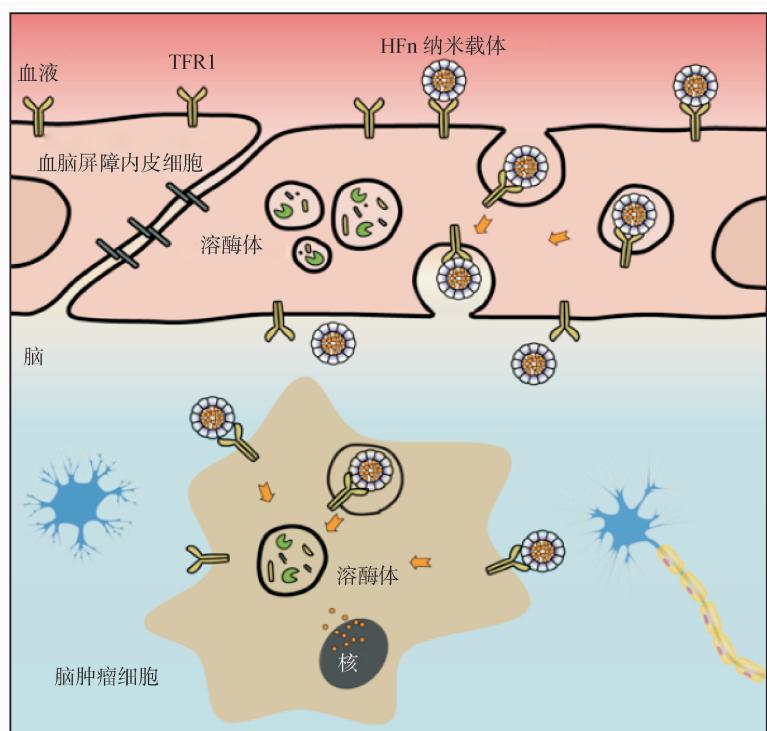


图 5 铁蛋白纳米载体穿越血脑屏障(BBB)并靶向肿瘤组织^[38]

1.6 脂蛋白

脂蛋白(lipoprotein)主要由富含固醇酯、甘油三酯的疏水内核和由蛋白质、磷脂、胆固醇组成的亲水外壳构成,对脂质的包装、储存、运输和代谢起着重要作用。脂蛋白是人体内源性物质,可避免网状内皮系统的识别和清除,是靶向递送各类药物、成像剂的优异载体。其中高密度脂蛋白(high-density lipoprotein, HDL)和低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)是研究最广泛的脂蛋白载体。

HDL是最小的脂蛋白,直径范围为8~13 nm,密度为1.063~1.210 g/cm³^[39]。载脂蛋白A-I(ApoA-I)是HDL的主要蛋白质组分,决定HDL的结构和功能。清道夫受体B类I型(scavenger receptor type BI receptor, SR-BI受体)是HDL的重要受体^[40],HDL可以通过此受体途径将药物转运到特定的靶细胞、组织或器官,如高表达SR-BI受体的肝细胞及多种肿瘤细胞。

LDL是血浆中数量最多的脂蛋白,粒径大小为18~25 nm,密度为1.019~1.063 g/cm³^[41]。载脂蛋白b-100(Apob-100)作为LDL受体(low density lipoprotein receptors, LDLRs)的结合域,占LDL蛋白质的95%以上并暴露于LDL表面。已有研究表明,LDLR在多种肿瘤细胞上过表达,因此,LDL可用作靶向肿瘤细胞的载体材料^[42]。

脂蛋白作为多种药物及成像剂的有效载体,可通过脂质核心、共价修饰或表面装载的方式进行递送。

Pater等^[43]研究了负载氟尿嘧啶(5-FU)、5-碘脱氧尿苷、多柔比星和长春地辛的HDL复合物,药物根据其理化性质,稳定存在于脂蛋白疏水脂质核心或其亲水性磷脂外壳中,HDL复合物与游离药物相比细胞毒性普遍增强。

Kascakova等^[44]研究表明,LDL能通过LDLR途径增加光敏剂金丝桃素(hypericin, Hyp)在神经胶质瘤U-87MG细胞的摄取。此外,该课题组还将葡聚糖涂覆于LDL表面,防止LDL过量加载的Hyp重新分布到其他游离脂蛋白中,并且不影响LDLR的识别及肿瘤细胞的摄取,显著改善基于LDL的药物递送系统的有效性和稳定性。Li等^[45]通过脂质核心加载方式将多不饱和脂肪酸二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)载入LDL形成DHA-LDL纳米粒,与天然LDL和游离DHA相

比,DHA-LDL纳米粒表现出良好的稳定性和细胞毒性。Zhang等^[46]利用壳聚糖(chitosan, CS)和LDL表面静电力作用制备了负载阿霉素的CS-LDL自组装纳米粒,药物释放时间延长,与游离药物相比,其细胞摄取显著增加。

2 植物蛋白纳米载体

天然植物蛋白可从多种植物或其代谢物中获得,通常比动物蛋白价廉易得,并且易于吸附或共价偶联具有靶向性质的分子,可提高药物分子的稳定性并延缓释放。最常用的植物蛋白有玉米醇溶蛋白和大豆蛋白。

2.1 玉米醇溶蛋白

玉米醇溶蛋白(zein)是从玉米中分离的植物蛋白,其相对分子质量为22~27 kD,等电点pI为6.228,由大量疏水性氨基酸组成(>50%),例如脯氨酸、谷氨酰胺和天冬酰胺^[47],分子链上可反应的官能团(如氨基、羧基、羟基等)可作为化学修饰位点,实现对玉米醇溶蛋白的改性修饰。玉米醇溶蛋白具有良好的生物相容性、生物可降解性^[48]、较强的疏水性,可用作控制疏水性药物释放的载体。

目前已经通过相分离程序(纳米沉淀)、超临界反溶剂技术、自组装等技术成功制备含抗肿瘤药物包括紫杉醇、姜黄素、槲皮素、大豆昔的玉米醇溶蛋白纳米粒。Li等^[49]以茶多糖为生物聚合物壳,玉米醇溶蛋白为核心制备了负载紫杉醇的纳米颗粒,紫杉醇通过O—H和C=O与玉米醇溶蛋白和多糖相互作用并持续缓慢释放。研究表明,玉米醇溶蛋白具有一定的抗胃酸分解特性并且由于结肠微生物的作用而易于降解,有鉴于此,Wang等^[50]开发了基于玉米醇溶蛋白自组装微载体的结肠靶向递送系统,通过玉米醇溶蛋白和吲哚美辛(indomethacin, Indo)分子内和/或分子间相互作用进行自组装,表面修饰聚多巴胺(polydopamine, PDA),进一步延长药物释放,实现结肠靶向。

为了扩大玉米醇溶蛋白的应用范围,可利用小分子或亲水性强的大分子,如葡萄糖、木糖、单甲氧基聚乙二醇等^[51],对玉米醇溶蛋白进行亲水性修饰,为药物传输提供良好的载体。随着研究的不断深入,玉米醇溶蛋白在药物递送系统和组织工程领域中具有良好的应用前景^[52]。

2.2 麦醇溶蛋白

麦醇溶蛋白(gliadin)是一种在小麦中发现的谷蛋白,其中心结构域(central area, CA)富含亲水性氨基酸谷氨酰胺和疏水性氨基酸脯氨酸,而其末端区域(terminal area, TA)通常富含疏水性氨基酸。这两个结构域赋予麦醇溶蛋白两亲性质^[53]。此外,麦醇溶蛋白富含中性和亲脂性氨基酸,可以通过氢键和疏水相互作用吸附于黏膜表面和富含脂质的组织^[54],因此具有良好的生物黏附特性,已被用于口服和局部药物递送。

Lopes 等^[55]利用麦醇溶蛋白纳米粒子具有胃肠道的亲和力和胃黏膜的渗透性及对抗生素的保护作用,通过去溶剂化方法制备含克拉霉素和奥美拉唑的麦醇溶蛋白纳米颗粒,该纳米颗粒对幽门螺旋杆菌具有较好的抗感染治疗效果。Sonekar 等^[56]通过去溶剂化法制备叶酸缀合的姜黄素-麦醇溶蛋白纳米粒,可口服递送并靶向结肠癌细胞。另有研究表明,通过修饰阴离子多糖(果胶),在某些条件下可防止麦醇溶蛋白纳米粒子聚集,提高其稳定性^[57]。

2.3 大豆分离蛋白

大豆是目前最丰富的植物蛋白来源之一,大豆分离蛋白(soy protein isolate, SPI)主要有4种蛋白质亚型,分别为2S, 7S, 11S 和 15S, 其中大豆球蛋白(11S 蛋白)和 β -伴大豆球蛋白(7S 蛋白)占80%以上^[58]。SPI由极性,非极性和带电氨基酸组成,可负载多种药物,同时具有生物降解性、生物相容性,以及良好的乳化性能和优异的凝胶特性,是理想的纳米药物载体^[59]。

大豆分离蛋白纳米颗粒可直接用于包封疏水性药物。Pujara 等^[60]使用简单的旋转蒸发技术制备载有白藜芦醇的大豆分离蛋白纳米颗粒,与游离白藜芦醇相比,其溶解度提高2.3倍,稳定性显著增加。

此外,可对大豆分离蛋白纳米颗粒进行修饰改性,用于特定的靶向药物输送。Cheng 等^[61]将甲基化的大豆蛋白与酸不稳定的原酸酯交联剂交联,然后用乳糖酸(lactobionic acid, LA)修饰,得到可酸降解的纳米凝胶,在中性环境中表现出优异的稳定性,而在酸性条件下原酸酯键断裂,显示出pH响应的降解行为,并成功负载阿霉素实现肿瘤靶向。SPI被复合酶水解,可得到水溶性低分子大豆

蛋白(soy protein, SP), FA修饰的SP在水溶液中与N-3-丙烯酰胺基苯硼酸(acrylamidophenylboronic acid, APBA)单体聚合,得到FA改性纳米颗粒(FA-SP NPs),呈直径约200 nm的均匀球形,并显示出优异的稳定性及靶向性^[62]。

3 重组蛋白质纳米载体

蛋白质递送载体具有诸多优点,然而天然蛋白质存在提取困难、易污染等问题,限制了其作为药物递送载体的应用。例如,HSA、HDL等蛋白质从人血浆中分离和纯化的成本过高,存在血源性病原体污染的潜在风险;BSA是一种外源性大分子,是能引起人类过敏的潜在免疫原性^[63];丝蛋白使用常规方法很难进行大规模生产,利用重组方法生产丝蛋白替代天然蛋白可能更具可持续性。重组蛋白质是重复天然氨基酸序列组成的一类聚合物,通过基因工程及生物合成生产具有精准特性的蛋白质聚合物,获得具体的结构和功能特征,例如二级结构、疏水性等,以改善细胞与组织、药物的相互作用和分布,同时具有高度的生物相容性、生物可降解性,能够实现大规模低成本生产,满足市场需求^[64]。

重组人血清白蛋白(recombinant HSA, rHSA)可直接制成包含药物的纳米制剂,或经过修饰与配体及药物相连,实现药物的靶向递送。Sharma 等^[65]利用rHSA递送5-FU治疗结肠癌,聚乙二醇锚定的5-FU-rHSA-PEG-NPs,显著改善细胞毒性和药代动力学特征。

Zhang 等^[66]制备了丹参酮ⅡA的仿生HDL纳米脂质载体,可避免引发免疫应答并逃避巨噬细胞的识别。Wang 等^[67]通过胆酸钠透析法制备了PTX和P-gp介导的MDR逆转剂共载的重组高密度脂蛋白纳米粒,药物包封率高达90%,纳米复合物具有良好的血液相容性,可用于静脉注射,与紫杉醇注射剂相比具有更好的抗肿瘤能力。

Xu 等^[68]制备的重组蜘蛛丝蛋白具有高热稳定性和可逆性,并在生理条件下形成自组装纳米颗粒。重组蜘蛛丝蛋白聚阴离子eADF4(C16)制成的颗粒可以有效地装载带正电和中性电荷的模型物质,聚阳离子eADF4(κ16)可装载带负电荷的物质,如核酸^[69]。

4 总结与展望

基于蛋白质为载体材料的递送系统正在不断发展, 这些天然的生物载体具有良好的相容性、生物降解性、可再生性和优异的靶向能力等特性, 是递送药物、基因、成像剂及构建组织工程的理想载体。本文概述了基于动物和植物蛋白, 以及重组蛋白质制备的纳米递送系统, 强调了蛋白质纳米粒作为载体的优势和应用。白蛋白在药物递送中的应用最为广泛, 植物蛋白及重组蛋白纳米材料的应用正在不断兴起。未来的研究应该确定这些材料及制备方法在大规模生产中是否经济可行, 蛋白质纳米粒子能否安全有效地将治疗剂递送到靶点部位。总之, 随着蛋白组学、分子生物学及重组技术的发展, 基于蛋白质的递送系统具有广阔的应用前景。

参 考 文 献

- [1] Lohcharoenkal W, Wang L, Chen YC, et al. Protein nanoparticles as drug delivery carriers for cancer therapy [J]. *Bio Med Res Inter*, 2014, **2014**: 1–12.
- [2] An FF, Zhang XH. Strategies for preparing albumin-based nanoparticles for multifunctional bioimaging and drug delivery [J]. *Theranostics*, 2017, **7**(15): 3667–3689.
- [3] Larsen MT, Kuhlmann M, Hvam ML, et al. Albumin-based drug delivery: harnessing nature to cure disease [J]. *Mol Cell Ther*, 2016, **4**(1): 3–15.
- [4] Ichimizu S, Watanabe H, Maeda H, et al. Design and tuning of a cell-penetrating albumin derivative as a versatile nanovehicle for intracellular drug delivery [J]. *J Control Release*, 2018, **277**: 23–34.
- [5] Tan YL, Ho HK. Navigating albumin-based nanoparticles through various drug delivery routes [J]. *Drug Discov Today*, 2018, **23**(5): 1108–1114.
- [6] Van WA, Sontum PC, Healey A, et al. Acoustic Cluster Therapy (ACT) enhances the therapeutic efficacy of paclitaxel and abraxane for treatment of human prostate adenocarcinoma in mice [J]. *J Control Release*, 2016, **236**: 15–21.
- [7] Jin Z, Youhui S, Min C, et al. Albumin fusion of interleukin-28B: production and characterization of its biological activities and protein stability [J]. *PLoS One*, 2013, **8**(5): e64301.
- [8] Tang B, Qian Y, Gou Y, et al. VE-albumin core-shell nanoparticles for paclitaxel delivery to treat MDR breast cancer [J]. *Molecules*, 2018, **23**(11): 2760–2770.
- [9] Chen Q, Wang X, Wang C, et al. Drug-induced self-assembly of modified albumins as nano-theranostics for tumor-targeted combination therapy [J]. *ACS Nano*, 2015, **9**: 5223–5233.
- [10] Ruan C, Liu L, Lu Y, et al. Substance P-modified human serum albumin nanoparticles loaded with paclitaxel for targeted therapy of glioma [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2018, **8**(1): 85–96.
- [11] Chen Q, Liang C, Wang C, et al. An imagable and photothermal “Abraxane-like” nanodrug for combination cancer therapy to treat subcutaneous and metastatic breast tumors [J]. *Adv Mater*, 2015, **27**(5): 903–910.
- [12] Jain A, Sharma G, Ghoshal G, et al. Lycopene loaded whey protein isolate nanoparticles: an innovative endeavor for enhanced bioavailability of lycopene and anti-cancer activity [J]. *Int J Pharm*, 2018, **546**(1/2): 97–105.
- [13] Jiang S, Cheng J, Jiang Z, et al. Effect of heat treatment on physicochemical and emulsifying properties of polymerized whey protein concentrate and polymerized whey protein isolate [J]. *LWT*, 2018, **98**: 134–140.
- [14] Zhao C, Shen X, Guo M. Stability of lutein encapsulated whey protein nano-emulsion during storage [J]. *PLoS One*, 2018, **13**(2): e0192511.
- [15] Lv L, Fu C, Zhang F, et al. Thermally-induced whey protein isolate-daidzein co-assemblies: protein-based nanocomplexes as an inhibitor of precipitation/crystallization for hydrophobic drug [J]. *Food Chem*, 2019, **275**: 273–281.
- [16] Jayaprakasha GK, Murthy KNC, Patil BS. Enhanced colon cancer chemoprevention of curcumin by nanoencapsulation with whey protein [J]. *Eur J Pharmacol*, 2016, **789**: 291–300.
- [17] Mohammadian M, Salami M, Momen S, et al. Enhancing the aqueous solubility of curcumin at acidic condition through the complexation with whey protein nanofibrils [J]. *Food Hydrocoll*, 2019, **87**: 902–914.
- [18] Luo T, David MA, Dunshee LC, et al. Thermoresponsive elastin-b-collagen-like peptide bi conjugate nanovesicles for targeted drug delivery to collagen-containing matrices [J]. *Biomacromolecules*, 2017, **18**(8): 2539–2551.
- [19] Gil CSB, Gil VSB, Carvalho SM, et al. Recycled collagen films as biomaterials for controlled drug delivery [J]. *New J Chem*, 2016, **40**(10): 8502–8510.
- [20] Li YM, Huang YD, Xiang Q, et al. Preparation and *in vitro/in vivo* pharmacological studies of bFGF/collagen composite sponge [J]. *J China Pharm Univ (中国药科大学学报)*, 2010, **41**(1): 35–39.
- [21] Lam PL, Kok HL, Bian ZX, et al. Collagen-silica nanocomposites as dermal dressings preventing infection *in vivo* [J]. *Mater Sci Eng C*, 2018, **93**: 170–177.
- [22] Mondal S, Hoang G, Manivasagan P, et al. Rapid microwave-assisted synthesis of gold loaded hydroxyapatite collagen nano-bio materials for drug delivery and tissue engineering application [J]. *Ceram Int*, 2019, **45**(3): 2977–2988.
- [23] Crivelli B, Perteghella S, Bari E, et al. Silk nanoparticles: from inert supports to bioactive natural carriers for drug delivery [J]. *Soft Matter*, 2018, **14**(4): 546–557.
- [24] Mao B, Liu C, Zheng W, et al. Cyclic cRGDFk peptide and chlorin

- e6 functionalized silk fibroin nanoparticles for targeted drug delivery and photodynamic therapy [J]. *Biomaterials*, 2018, **161**: 306–320.
- [25] Montalbán MG, Coburn JM, Lozano-Pérez AA, et al. Production of curcumin-loaded silk fibroin nanoparticles for cancer therapy [J]. *Nanomaterials*, 2018, **8**(2): 126–143.
- [26] Suktham K, Koobkokkruad T, Wutikhun T, et al. Efficiency of resveratrol-loaded sericin nanoparticles: promising bionanocarriers for drug delivery [J]. *Int J Pharm*, 2018, **537**(1/2): 48–56.
- [27] Wu P, Liu Q, Li R, et al. Facile preparation of paclitaxel loaded silk fibroin nanoparticles for enhanced antitumor efficacy by locoregional drug delivery [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2013, **5**(23): 12638–12645.
- [28] Tallian C, Herrero-Rollett A, Stadler K, et al. Structural insights into pH-responsive drug release of self-assembling human serum albumin-silk fibroin nanocapsules [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2018, **133**: 176–187.
- [29] Lee NK, Lee EJ, Kim S, et al. Ferritin nanocage with intrinsically disordered proteins and affibody: a platform for tumor targeting with extended pharmacokinetics [J]. *J Control Release*, 2017, **267**: 172–180.
- [30] Truffi M, Fiandra L, Sorrentino L, et al. Ferritin nanocages: a biological platform for drug delivery, imaging and theranostics in cancer [J]. *Pharmacol Res*, 2016, **107**: 57–65.
- [31] He D, Marles-Wright J. Ferritin family proteins and their use in bionanotechnology [J]. *N Biotechnol*, 2015, **32**(6): 651–657.
- [32] Khoshnejad M, Parhiz H, Shubaev VV, et al. Ferritin-based drug delivery systems: hybrid nanocarriers for vascular immunotargeting [J]. *J Control Release*, 2018, **282**: 13–24.
- [33] Ki MR, Nguyen TKM, Jun HS, et al. Biosilica-enveloped ferritin cage for more efficient drug deliveries [J]. *Process Biochem*, 2018, **68**: 182–189.
- [34] Ferraro G, Petruk G, Maiore L, et al. Caged noble metals: encapsulation of a cytotoxic platinum (II)-gold (I) compound within the ferritin nanocage [J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, **115**: 1116–1121.
- [35] Tong H, Zhang W. Ultrasound-nanobubble-mediated collaborative therapy for glioma by dual targeting ferritin nanocages carrying curcumin [J]. *Nanomed Nanotechnol*, 2018, **14**(5): 1813.
- [36] Monti DM, Ferraro G, Merlini A. Ferritin-based anticancer metal-lodrug delivery: crystallographic, analytical and cytotoxicity studies [J]. *Nanomedicine*, 2019, **20**: 101997.
- [37] Falvo E, Tremante E, Fraioli R, et al. Antibody-drug conjugates: targeting melanoma with cisplatin encapsulated in protein-cage nanoparticles based on human ferritin [J]. *Nanoscale*, 2013, **5**(24): 12278–12285.
- [38] Fan K, Jia X, Zhou M, et al. Ferritin nanocarrier traverses the blood brain barrier and kills glioma [J]. *ACS Nano*, 2018, **12**(5): 4105–4115.
- [39] Liu X, Suo R, Xiong SL, et al. HDL drug carriers for targeted therapy [J]. *Clin Chim Acta*, 2013, **415**: 94–100.
- [40] Mo ZC, Ren K, Liu X, et al. A high-density lipoprotein-mediated drug delivery system [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2016, **106**: 132–147.
- [41] Liu C, Li SN, Wang Y, et al. Advances in research of high density lipoprotein and low density lipoprotein nano-complexes as anti-cancer drug targeting carriers [J]. *Chin J New Drugs (中国新药杂志)*, 2017, **26**(3): 285–290.
- [42] Zhang Y, Sun T, Jiang C. Biomacromolecules as carriers in drug delivery and tissue engineering [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2017, **8**(1): 34–50.
- [43] 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, **29**: 29–44.
- [44] 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.
- [45] Reynolds L, Mulik RS, Wen X, et al. Low-density lipoprotein-mediated delivery of docosahexaenoic acid selectively kills murine liver cancer cells [J]. *Nanomedicine*, 2014, **9**(14): 2123–2141.
- [46] Tian J, Xu S, Deng H, et al. Fabrication of self-assembled chitosan-dispersed LDL nanoparticles for drug delivery with a one-step green method [J]. *Int J Pharm*, 2017, **517**(1/2): 25–34.
- [47] Elzoghby AO, Elgohary MM, Kamel NM. Implications of protein- and peptide-based nanoparticles as potential vehicles for anticancer drugs [J]. *Adv Protein Chem Str*, 2015, **98**: 169–221.
- [48] Singh S, Gaikwad KK, Lee M, et al. Microwave-assisted micro-encapsulation of phase change material using zein for smart food packaging applications [J]. *J Therm Anal Calorim*, 2018, **131**(3): 2187–2195.
- [49] Li S, Wang X, Li W, et al. Preparation and characterization of a novel conformed biopolymer paclitaxel-nanoparticle using tea polysaccharides and zein [J]. *Carbohydr Polym*, 2016, **146**: 52–57.
- [50] Wang H, Zhang X, Zhu W, et al. Self-assembly of zein-based microcarrier system for colon-targeted oral drug delivery [J]. *Ind Eng Chem Res*, 2018, **57**(38): 12689–12699.
- [51] Mocanu G, Nichifor M, Sacarescu L. Dextran based polymeric micelles as carriers for delivery of hydrophobic drugs [J]. *Curr Drug Deliv*, 2017, **14**(3): 406–415.
- [52] Labib G. Overview on zein protein: a promising pharmaceutical excipient in drug delivery systems and tissue engineering [J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2018, **15**(1): 65–75.
- [53] Wang P, Tao H, Wu F, et al. Effect of frozen storage on the foaming properties of wheat gliadin [J]. *Food Chem*, 2014, **164**: 44–49.
- [54] Malekzad H, Mirshekari H, SahandiZangabad P, et al. Plant protein-based hydrophobic fine and ultrafine carrier particles in drug delivery systems [J]. *Crit Rev Biotechnol*, 2018, **38**(1): 47–67.

- [55] Lopes D, Nunes C, Martins MC, et al. Eradication of helicobacter pylori: past, present and future [J]. *J Control Release*, 2014, **189**: 169 – 186.
- [56] Sonekar S, Mishra MK, Patel AK, et al. Formulation and evaluation of folic acid conjugated gliadin nanoparticles of curcumin for targeting colon cancer cells [J]. *J Appl Pharm Sci*, 2016, **6**(10) : 68 – 74.
- [57] Joye IJ, Nelis VA, McClements DJ. Gliadin-based nanoparticles: stabilization by post-production polysaccharide coating [J]. *Food Hydrocoll*, 2015, **43**:236 – 242.
- [58] Tang CH. Nanostructured soy proteins: fabrication and applications as delivery systems for bioactives [J]. *Food Hydrocoll*, 2019, **91**:92 – 116.
- [59] Tansaz S, Singh R, Cicha I, et al. Soy protein-based composite hydrogels: physico-chemical characterization and *in vitro* cytocompatibility [J]. *Polymers*, 2018, **10**(10) :1159 – 1176.
- [60] Pujara N, Jambhrunkar S, Wong KY, et al. Enhanced colloidal stability, solubility and rapid dissolution of resveratrol by nano-complexation with soy protein isolate [J]. *J Colloid Interface Sci*, 2017, **488**:303 – 308.
- [61] Cheng X, Qin J, Wang X, et al. Acid-degradable lactobionic acid-modified soy protein nanogels crosslinked by ortho ester linkage for efficient antitumor *in vivo* [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2018, **128**:247 – 258.
- [62] Cheng X, Wang X, Cao Z, et al. Folic acid-modified soy protein nanoparticles for enhanced targeting and inhibitory [J]. *Mat Sci Eng:C*, 2017, **71**:298 – 307.
- [63] Elzoghby AO, Elgohary MM, Kamel NM . Implications of protein- and peptide-based nanoparticles as potential vehicles for anticancer drugs [J]. *Adv Protein Chem Struct Biol*, 2015, **98**:169 – 221.
- [64] Wang ZT, Ma NN. The pharmaceutical application research progress of industrial production of human serum albumin [J]. *China Mod Med(中国当代医药)*, 2017, **24**(19) :11 – 14.
- [65] Sharma A, Kaur A, Jain UK, et al. Stealth recombinant human serum albumin nanoparticles conjugating 5-fluorouracil augmented drug delivery and cytotoxicity in human colon cancer, HT-29 cells [J]. *Colloid Surface B*, 2017, **155**:200 – 208.
- [66] 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.
- [67] Zhang F, Wang X, Xu X, et al. Reconstituted high density lipoprotein mediated targeted co-delivery of HZ08 and paclitaxel enhances the efficacy of paclitaxel in multidrug-resistant MCF-7 breast cancer cells [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2016, **92**:11 – 21.
- [68] Xu L, Tremblay ML, Orrell KE, et al. Nanoparticle self-assembly by a highly stable recombinant spider wrapping silk protein subunit [J]. *FEBS Lett*, 2013, **587**(19) :3273 – 3280.
- [69] Doblhofer E, Scheibel T. Engineering of recombinant spider silk proteins allows defined uptake and release of substances [J]. *J Pharm Sci*, 2015, **104**(3) :988 – 994.