

DOI:10.12025/j.issn.1008-6358.2019.20171121

纳米颗粒靶向策略在动脉粥样硬化诊断与治疗中的研究进展

张 宁, 陈 婧, 宋亚楠, 黄浙勇*

复旦大学附属中山医院心内科, 上海市心血管病研究所, 上海 200032

[摘要] 我国心血管疾病的患病率和致死率逐年上升。其中, 动脉粥样硬化(AS)斑块不稳定和破裂是我国心血管疾病患者死亡的主要原因。随着纳米医学的进步, 借助纳米颗粒(NPs)靶向诊治 AS 凸显出优势, 近年来受到研究者的关注。

[关键词] 动脉粥样硬化; 纳米颗粒; 靶向治疗

[中图分类号] R 543.5 **[文献标志码]** A

Research progress of nanoparticle targeting strategy in diagnosis and treatment of atherosclerosis

ZHANG Ning, CHEN Jing, SONG Ya-nan, HUANG Zhe-yong*

Department of Cardiology, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai Institute of Cardiovascular Diseases, Shanghai 200032, China

[Abstract] The morbidity and mortality of cardiovascular diseases in China are increasing year by year. The unstable atherosclerosis (AS) plaque and plaque rupture are major factors leading to death in patients with cardiovascular diseases. With the progress of nanomedicine, targeted diagnosis and treatment of AS with nanoparticles (NPs) has shown its advantages and has attracted researchers' attention in recent years.

[Key Words] atherosclerosis; nanoparticles; targeting therapy

动脉粥样硬化(AS)性心脏病的发病率和致死率逐年上升, 其不良事件所造成的医疗负担随之加重^[1]。基于纳米医学的靶向技术较其他方法在 AS 的早期诊治中呈现明显优势。本文对近期纳米颗粒(NPs)靶向诊治 AS 的发展作一综述。

1 AS 斑块形成过程中的重要靶点

AS 的形成由一系列细胞、分子等共同参与, 导致斑块进展和不稳定的主要原因是持续炎症和脂质沉积。在这两者中, 巨噬细胞扮演着重要角色, 而巨噬细胞的增殖、富集、致炎和摄脂过程需要多种分子、酶、基因等的参与, 这些都是靶向治疗 AS 潜在靶点。血小板在 AS 发生发展过程中的作用已得到广泛认可。生物靶向研究证实, 斑块特别是不稳定斑块中存在较多血小板; 此外, 血管内皮细胞活化和失能过程、胶原和纤维蛋白减少也是斑块不稳定和破裂的促成因素^[2-4]。因此, 这些细胞和分子均可作为 AS 的治疗靶点。

2 NPs 的种类和组成

目前, 应用于 AS 的 NPs 主要有胶束、脂质体、树枝状分子、聚合物、金属纳米材料、生物纳米材料。胶束一般由脂质和两性分子自然聚合而成, 粒径为 10~100 nm, 通过修饰可增加其疏水性。脂质体主要以脂质分子为核心, 表面修饰靶向分子, 直径为数百到数千纳米。树枝状结构属于大分子聚合物, 通常由 1 个核心向外聚合延伸, 因高度分支形似树枝而得名, 大小因聚合和分支程度不同而不同^[5]。金属 NPs 主要为铁 NPs 和金 NPs; 前者是直径为数十纳米的超顺磁性氧化铁颗粒, 由铁离子盐溶液和聚合物碱性沉淀组成, 主要用于造影^[6]; 后者由金晶体颗粒(AuNP)加载靶向分子和药物, 因其能吸收近红外光且能发出光和热而应用于等离子体光热治疗^[7]。生物 NPs 主要包括仿生颗粒和病毒颗粒; 前者是利用生物膜修饰纳米复合物; 后者通过改造病毒载体达到靶向递送的目的。

[收稿日期] 2017-12-12 **[接受日期]** 2018-11-12

[基金项目] 国家自然科学基金(81570223, 81500201). Supported by National Natural Science Foundation of China(81570223, 81500201).

[作者简介] 张 宁, 硕士生. E-mail: zn930712@126.com

* 通信作者(Corresponding author). Tel: 021-64041990; E-mail: zheyonghuang@126.com

3 NPs在AS中的应用

3.1 基于胶束的NPs在AS中的应用 胶束运载体的出现能克服一般药物运载体的疏水性和基因运载体的易水解等不足,但胶束的化学结构在循环中的不稳定问题又限制了其进一步利用。为此,Gu等^[8]对胶束进行糖基化改造,改造后的NPs理化性质稳定性和生物学功能均得到强化。Lewis等的研究^[9]进一步表明,糖基化胶束可以竞争性阻断巨噬细胞清道夫受体MSR1和CD36,减少其对氧化脂蛋白(oxLDL)的吸收,减轻脂质蓄积。另有研究^[10]用甘露糖修饰聚合胶束,靶向巨噬细胞甘露糖受体CD206,携带针对巨噬细胞的干扰RNA,从而显著下调靶基因表达水平。

3.2 树枝状分子在AS中的应用 自发聚合的树枝状分子属于高分子聚合物的一种类型,聚合程度决定其分子大小^[11]。树枝状分子在AS中主要用于增强造影。LyP-1是一种环状9肽,能与斑块中巨噬细胞p32蛋白特异结合。Seo等^[12]以赖氨酸为核心,并用荧光探针将树枝状结构与赖氨酸缀合,同时进行Cu-64标记,PET/CT和荧光成像均证实树枝状分子在斑块处聚集。除了靶向成像效果外,造影剂的生物清除和潜在毒性也值得关注。为此有研究^[13]将锰(⁷⁵⁸Mn)离子和靶向赖氨酸表位丙二醛(MDA)的抗体MDA2与树枝状分子缀合,光谱分析证实靶向颗粒的清除减少,在斑块处聚集。研究^[14]用聚乙二醇(PEG)修饰树枝状分子获得了更好的生物相容性和对巨噬细胞内溶酶体特异的靶向性。研究^[15]则指出,在满足巨噬细胞靶向性的同时,以叶酸为靶向的树枝状分子在提高载货量方面更有优势,这为减轻口服药物的剂量相关不良反应和提高利用率低等提供了新思路。

3.3 聚合物NPs在AS中的应用 除了上述树枝状分子,聚合物NPs的种类还有很多。目前研究多集中在生物可降解聚合物,如聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)、PEG等。有研究^[16]利用自组装的PLGA-b-PEG携带肝脏X受体(LXR)激动剂GW3965,治疗AS小鼠模型,发现该纳米粒较常规GW3965能更好地聚集于巨噬细胞内,并通过LXR介导靶基因和炎症因子表达的改变,使CD68巨噬细胞显著减少,肝脂肪基因及血脂也未见升高。Yu等^[17]和Yin等^[18]分别从生物学功能和相容性角度对PEG进行了优化,前者利用GW3965联合胶原IV(Col IV)对制剂参数进行系统优化,获得了对AS

病灶更强的靶向性^[17];后者对PEG进行糖基化改造,改造后的PEG未引起溶血、血小板激活、血栓形成和内皮细胞改变,加入抗血管细胞粘附分子-1(VCAM-1)抗体后,PEG内皮靶向性显著增强^[18]。

Dou等^[19]根据 β -环糊精(Ac-bCD)水解后无副产物的特点,将其联合雷帕霉素(RAP)制备成NPs(RAP-NPs),结果显示:RAP-NPs皮下注射可获得长期、持续、稳定的药物浓度;此外,RAP-NPs能选择性抑制mTORC1,在减少斑块形成和破裂的同时,减少了游离RAP对mTORC1非选择性抑制所致的一系列不良反应。

3.4 以脂质为基础的NPs在AS中的应用 以脂质为核心的NPs是AS中研究最多的一种NPs和纳米药物递送系统(nano-DDS)^[20]。基于高密度脂蛋白逆向转运胆固醇的功能,很多研究者将重组高密度脂蛋白(rHDL)用于抗AS。Duivenvoorden等^[21]用rHDL包埋他汀类药物,既解决了他汀类吸收差、利用率低等不足,又有效发挥了他汀类药物抑制炎症的作用。Zhao等^[22]对其进行改进,将他汀药物与硫酸葡聚糖(DXS)组成新的核心,DXS与巨噬细胞清道夫受体AI结合抑制炎症,与他汀抗炎互补;rHDL的载脂蛋白A-I(apoA-I)则可介导巨噬细胞内胆固醇流出。Zhang等^[23]则以PLGA为核心,将其与透明质酸(HA)共价锚定脂质外膜,组成脂质体HA-(C)-PLGA-rHDL,其中HA能靶向结合斑块内皮细胞内过度表达的CD44受体,同时斑块处存在的大量HA酶水解HA后,apoA-I被暴露,进而介导巨噬细胞归巢和胆固醇流出。Sigalov等^[24]利用apoA-I自发的甲硫氨酸氧化反应将其与钆(Gd)重组,MRI与荧光成像均证实巨噬细胞对其摄取率高于对照3倍。

除rHDL外,脂质体家族还有其他结构和成分更为复杂的成员。Calin等^[25]用脂质体包裹单核细胞趋化因子受体2(CCR2)拮抗剂、PEG和靶向VCAM-1的偶联肽,将其靶向结合内皮后释放拮抗剂,有效抑制了CCR2介导的单核细胞炎症趋化。Kheirloomoom等^[26]用正电性脂质体包裹抗miRNA712抗体,有效减少了RNA的脱靶和降解,同时正电性使内皮亲和肽(VHPK)更易结合内皮表面的VCAM-1,使miRNA712表达下调,靶基因表达上调,从而抑制金属蛋白酶活性和AS的进展。Alaarg等^[27]则用 ω -3脂肪酸合成 ω -脂质体,靶向抑制巨噬细胞释放活性氧(ROS)和活性氮(RNS),降低TNF- α 和MCP-1水平,进而抑制炎症反应。

3.5 金属 NPs 在 AS 中的应用 金属 NPs 主要应用于造影,但生物相容性较差。Wagner 等^[28]用柠檬酸包裹超小顺磁性氧化铁颗粒(VSOP)靶向 AS,MR 可见斑块信号明显增强,形态学证实 VSOP 与斑块内巨噬细胞、钙化微泡聚集。另有研究^[29]用重组人 IgG4 抗体使 VSOP 功能化,靶向 AS 后,MR 也见增强的斑块高密度影。Chaudhary 等^[30]对 VSOP 进一步改造,内核掺入锌,外加牛乳铁蛋白、PEG 和热休克蛋白抗体,发现造影效果进一步增强。

金属 NPs 具有粒径小、稳定性佳等优点。Meyers 等^[31]用肽类荧光基团修饰 AuNPs 后, AuNP 能靶向损伤血管的胶原蛋白,且未见内皮激活或失能和肝肾功能改变。Rizwan 等^[32]发现, AuNPs 能抑制巨噬细胞内 NF- κ B 的活化,进而抑制炎症和细胞凋亡。

3.6 量子点 NPs 在 AS 中的应用 量子点 NPs 也受到研究者的关注。Ding 等^[33]研发了量子点-碘油双模态造影剂,CT 和荧光检测显示其既有高分辨率、高敏感度特征,又有利于显示 NPs 与巨噬细胞的共聚集情况。研究^[34]指出,二氢卟吩 e6 与 HA 结合后,在巨噬细胞内可被活化的 ROS 激活,表现出高荧光和光毒性(光毒性与光度和剂量相关),而细胞外、成纤维细胞和未活化细胞内均无此特点。

3.7 病毒颗粒在 AS 中的应用 用药物、造影剂和靶向分子修饰后的病毒颗粒,有天然的生物相容性和对宿主更强的靶向性。Bruckman 等^[35]用 Gd 离子造影剂和荧光染料 Cy5.5 嵌入烟草花叶病毒内腔,表面修饰靶向内皮 VCAM-1 的分子,结果显示,MR 对斑块的显影效果提高,对更微小的斑块也能显像,并且减少了造影剂的用量。因此,病毒载体经靶向修饰后携带目的核酸,转染斑块处靶细胞,上调(或下调)有利(或有害)因子的策略,将具有广阔的前景^[36]。

3.8 仿生 NPs 在 AS 中的应用 相对传统递送系统,仿生 NPs 具有独特的优势。颗粒表面包裹细胞膜等膜性结构使其具有良好的生物相容性,还能模仿细胞部分生物学功能,如灵活变形、躲避免疫清除、特异识别等。Anselmo 等^[37]设计的血小板样 NPs(PLNs),能凭借其关键特性(盘状形态、机械柔性、靶向聚集和多价异构配体)发挥血小板样功能,如向损伤血管迁移和聚集、促进凝血等。PLNs 给临床 NPs 的设计及应用提供新思路,提示可以针对 AS 病理生理过程中的细胞及分子通路设计更多的仿生 NPs,进而开展 AS 的靶向诊治。

4 讨论

随着纳米医学的不断进步,NPs 靶向诊治 AS 的研究越来越多,且 NPs 已从单一结构演变成多种结构组合的复合纳米材料。NPs 临床应用的长期安全性已得到初步证实^[38],但传统 NPs 的生物相容性、半衰期、粒径等因素对清除率和穿透力的影响使其在短期内难以广泛应用于临床。病毒颗粒和仿生颗粒的天然优势给 NPs 的应用提供了更多可能。今后利用仿生颗粒携带更多种类药物实现精准治疗,利用病毒载体特别是逆转录病毒转染靶细胞实现其基因水平的改变将成为两个治疗 AS 的潜在策略。另外,NPs 针对细胞器水平特别是线粒体、溶酶体的靶向策略在今后 AS 诊治方面也值得深入探究。

参考文献

- [1] 中国心血管病报告编写组.《中国心血管病报告 2016》概要[J]. 中国循环杂志, 2017, 32(6): 5215-5230.
- [2] 张运, 陈文强. 中国动脉粥样硬化研究的历史回顾和展望[J]. 中华心血管病杂志, 2017, 45(8): 668-674.
- [3] TIBAUT M, MEKIS D, PETROVIC D. Pathophysiology of myocardial infarction and acute management strategies[J]. Cardiovasc Hematol Agents Med Chem, 2017, 14(3): 150-159.
- [4] 陈婧, 宋亚楠, 黄浙勇. 血小板致动脉粥样硬化作用机制的研究进展[J]. 中国临床医学, 2017, 24(4): 638-643.
- [5] DANHIER F, ANSORENA E, SILVA J M, et al. PLGA-based nanoparticles: an overview of biomedical applications[J]. J Control Release, 2012, 161(2): 505-522.
- [6] MODY V V, SIWALE R, SINGH A, et al. Introduction to metallic nanoparticles[J]. J Pharm Bioallied Sci, 2010, 2(4): 282-289.
- [7] MOGHIMI S M, HUNTER A C, MURRAY J C. Nanomedicine: current status and future prospects[J]. FASEB J, 2005, 19(3): 311-330.
- [8] GU L, FAIG A, ABDELHAMID D, et al. Sugar-based amphiphilic polymers for biomedical applications: from nanocarriers to therapeutics[J]. Acc Chem Res, 2014, 47(10): 2867-2877.
- [9] LEWIS D R, PETERSEN L K, YORK A W, et al. Sugar-based amphiphilic nanoparticles arrest atherosclerosis *in vivo* [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2015, 112(9): 2693-2698.
- [10] YU S S, LAU C M, BARHAM W J, et al. Macrophage-specific RNA interference targeting *via* "click", mannoseylated polymeric micelles[J]. Mol Pharm, 2013, 10(3): 975-987.
- [11] MORGAN M T, CARNAHAN M A, FINKELSTEIN S, et al. Dendritic supramolecular assemblies for drug delivery[J]. Chem Commun (Camb), 2005, (34): 4309-4311.
- [12] SEO J W, BAEK H, MAHAKIAN L M, et al. (64)Cu-labeled LyP-1-dendrimer for PET-CT imaging of atherosclerotic plaque[J]. Bioconjug Chem, 2014, 25(2):

- 231-239.
- [13] NGUYEN T H, BRYANT H, SHAPSA A, et al. Manganese G8 dendrimers targeted to oxidation-specific epitopes; *in vivo* MR imaging of atherosclerosis [J]. J Magn Reson Imaging, 2015, 41(3): 797-805.
- [14] YE K, QIN J, PENG Z, et al. Polyethylene glycol-modified dendrimer-entrapped gold nanoparticles enhance CT imaging of blood pool in atherosclerotic mice[J]. Nanoscale Res Lett, 2014, 9(1): 529.
- [15] POH S, PUTT K S, LOW P S. Folate-targeted dendrimers selectively accumulate at sites of inflammation in mouse models of ulcerative colitis and atherosclerosis [J]. Biomacromolecules, 2017, 18(10): 3082-3088.
- [16] ZHANG X Q, EVEN-OR O, XU X, et al. Nanoparticles containing a liver X receptor agonist inhibit inflammation and atherosclerosis [J]. Adv Healthc Mater, 2015, 4(2): 228-236.
- [17] YU M, AMENGUAL J, MENON A, et al. Targeted nanotherapeutics encapsulating liver X receptor agonist GW3965 enhance antiatherogenic effects without adverse effects on hepatic lipid metabolism in *ldlr*^{-/-} mice[J]. Adv Healthc Mater, 2017, 6(20). Epub 2017 Jul 21.
- [18] YIN W, LI W, RUBENSTEIN D A, et al. Biocompatible and target specific hydrophobically modified glycol chitosan nanoparticles[J]. Biointerphases, 2016, 11(4): 04B301.
- [19] DOU Y, GUO J, CHEN Y, et al. Sustained delivery by a cyclodextrin material-based nanocarrier potentiates antiatherosclerotic activity of rapamycin *via* selectively inhibiting mTORC1 in mice [J]. J Control Release, 2016, 235: 48-62.
- [20] MATOBA T, KOGA J I, NAKANO K, et al. Nanoparticle-mediated drug delivery system for atherosclerotic cardiovascular disease[J]. J Cardiol, 2017, 70(3): 206-211.
- [21] DUIVENVOORDEN R, TANG J, CORMODE D P, et al. A statin-loaded reconstituted high-density lipoprotein nanoparticle inhibits atherosclerotic plaque inflammation[J]. Nat Commun, 2014, 5: 3065.
- [22] ZHAO Y, JIANG C, HE J, et al. Multifunctional dextran sulfate-coated reconstituted high density lipoproteins target macrophages and promote beneficial antiatherosclerotic mechanisms[J]. Bioconj Chem, 2017, 28(2): 438-448.
- [23] ZHANG M, HE J, JIANG C, et al. Plaque-hyaluronidase-responsive high-density-lipoprotein-mimetic nanoparticles for multistage intimal-macrophage-targeted drug delivery and enhanced anti-atherosclerotic therapy [J]. Int J Nanomedicine, 2017, 12: 533-558.
- [24] SIGALOV A B. Nature-inspired nanoformulations for contrast-enhanced *in vivo* MR imaging of macrophages[J]. Contrast Media Mol Imaging, 2014, 9(5): 372-382.
- [25] CALIN M, STAN D, SCHLESINGER M, et al. VCAM-1 directed target-sensitive liposomes carrying CCR2 antagonists bind to activated endothelium and reduce adhesion and transmigration of monocytes[J]. Eur J Pharm Biopharm, 2015, 89: 18-29.
- [26] KHEIROLOMOOM A, KIM C W, SEO J W, et al. Multifunctional nanoparticles facilitate molecular targeting and mirna delivery to inhibit atherosclerosis in *apoe*(-/-) mice [J]. ACS Nano, 2015, 9(9): 8885-8897.
- [27] ALAARG A, JORDAN N Y, VERHOEF J J, et al. Docosahexaenoic acid liposomes for targeting chronic inflammatory diseases and cancer; an *in vitro* assessment[J]. Int J Nanomedicine, 2016, 11: 5027-5040.
- [28] WAGNER S, SCHNORR J, LUDWIG A, et al. Contrast-enhanced MR imaging of atherosclerosis using citrate-coated superparamagnetic iron oxide nanoparticles; calcifying microvesicles as imaging target for plaque characterization [J]. Int J Nanomedicine, 2013, 8: 767-779.
- [29] JACOBIN-VALAT M J, LAROCHE-TRAINEAU J, LARIVIÈRE M, et al. Nanoparticles functionalised with an anti-platelet human antibody for *in vivo* detection of atherosclerotic plaque by magnetic resonance imaging [J]. Nanomedicine, 2015, 11(4): 927-937.
- [30] CHAUDHARY R, ROY K, KANWAR R K, et al. Engineered atherosclerosis-specific zinc ferrite nanocomplex-based MRI contrast agents[J]. J Nanobiotechnology, 2016, 14: 6.
- [31] MEYERS M W, RINK J S, JIANG Q, et al. Systemically administered collagen-targeted gold nanoparticles bind to arterial injury following vascular interventions[J]. Physiol Rep, 2017, 5(4). pii: e13128.
- [32] RIZWAN H, MOHANTA J, SI S, et al. Gold nanoparticles reduce high glucose-induced oxidative-nitrosative stress regulated inflammation and apoptosis *via* tuberlin-mTOR/NF- κ B pathways in macrophages[J]. Int J Nanomedicine, 2017, 12: 5841-5862.
- [33] DING J, WANG Y, MA M, et al. CT/fluorescence dual-modal nanoemulsion platform for investigating atherosclerotic plaques[J]. Biomaterials, 2013, 34(1): 209-216.
- [34] KIM H, KIM Y, KIM I H, et al. ROS-responsive activatable photosensitizing agent for imaging and photodynamic therapy of activated macrophages [J]. Theranostics, 2013, 4(1): 1-11.
- [35] BRUCKMAN M A, JIANG K, SIMPSON E J, et al. Dual-modal magnetic resonance and fluorescence imaging of atherosclerotic plaques *in vivo* using VCAM-1 targeted tobacco mosaic virus [J]. Nano Lett, 2014, 14(3): 1551-1558.
- [36] MAHESHWARI R, TEKADE M, SHARMA P A, et al. Nanocarriers assisted siRNA gene therapy for the management of cardiovascular disorders [J]. Curr Pharm Des, 2015, 21(30): 4427-4440.
- [37] ANSELMO A C, MODERY-PAWLOWSKI C L, MENEGATTI S, et al. Platelet-like nanoparticles: mimicking shape, flexibility, and surface biology of platelets to target vascular injuries[J]. ACS Nano, 2014, 8(11): 11243-11253.
- [38] KHARLAMOV A N, FEINSTEIN J A, CRAMER J A, et al. Plasmonic photothermal therapy of atherosclerosis with nanoparticles: long-term outcomes and safety in NANOM-FIM trial[J]. Future Cardiol, 2017, 13(4): 345-363.