DOI:10.12025/j.issn.1008-6358.2019.20190266

·综　　述·

血小板及其膜仿生学在动脉粥样硬化中的应用进展

李琦玉，张　宁，陈　婧，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］　血小板在动脉粥样硬化(atherosclerosis，AS)的发生发展中起重要作用，活化的血小板黏附受损内皮并聚集，释放多种炎症介质参与 AS 形成。斑块破裂后，血小板的聚集反应不断放大形成致命性血栓，导致心肌梗死。因此研究者们将活化的血小板能够聚集到损伤血管处的特性应用到药物递送系统中，单纯地将血小板作为药物载体或利用其表面蛋白的独特性与纳米材料结合靶向运送药物到指定部位，这在动脉粥样硬化的治疗上极具价值。本文就血小板及其膜仿生学的发展现状及其在动脉粥样硬化中的应用作一综述。

［关键词］　血小板；细胞膜；纳米材料；药物递送系统；动脉粥样硬化

［中图分类号］　R 714.252　　［文献标志码］　A

Application of platelet and its membrane biomimetics in atherosclerosis

LI Qi-yu, ZHANG Ning, CHEN Jing, HUANG Zhe-yong*

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

［**Abstract**］　Platelets play an important role in the initiation and progression of atherosclerosis (AS). Activated platelets adhere and aggregate to the injured endothelium, releasing a variety of inflammatory mediators to participate in the formation of AS. The aggregation will be amplified to form fatal thrombosis after plaque rupture, resulting in myocardial infarction. Therefore, the characteristic of activated platelets aggregating at injured blood vessels can be applied to drug delivery systems. Platelets simply as drug carriers or using the exclusive surface proteins combined with nanomaterials to deliver drugs to specific sites are of great value in the treatment of AS. This review summarizes the current situation of platelet and its membrane biomimetics and its application prospect in AS.

［**Key Words**］　platelet; cell membrane; nanomaterial; drug delivery system; atherosclerosis

动脉粥样硬化(AS)在全球范围内仍是心血管疾病最常见最重要的病因，而血小板在动脉粥样硬化的多个发展阶段中发挥了重要作用。血小板是一种直径在 1～3 μm 的小的、盘状的、无核的血细胞，来源于骨髓中的巨核细胞[1]，通常负责维持体内的止血功能[2]。静息血小板在血液中循环维持血管完整性，但在内皮功能障碍时可迅速激活，随后黏附于受损血管处[3]。血小板还可以与炎症细胞结合，起到募集炎症细胞聚集到炎症内皮处的作用，并强有力地黏附于内皮下基质[4]。斑块破裂后会诱发血小板放大聚集反应，在病理条件下，血小板大量聚集会引发致命性血栓形成，导致心肌梗死[5]。而血小板的这种功能多样性主要来源于其独特的表面成分，主要负责免疫逃逸、内皮下黏附、病原体相互作用[6]。其中，血小板抵达受损血管是通过胶原受体 $\alpha_2\beta_1$ 和糖蛋白受体 GPⅥ、Ⅰb-Ⅴ-Ⅸ和 vWF 受体等黏附内皮下基质[7]。所以根据血小板的诸多特性，可以直接利用血小板搭载药物，或利用血小板膜的特性与纳米颗粒结合，提高纳米颗粒的循环周期和靶向运送效率。典型的纳米颗粒(nanoparticle，NP)直径通常在 1～100 nm，可以由有机材料如脂质、金属、无机材料或上述材料混合而成[8]。NP 可以包裹药物等运送到人体的靶点，是一种更安全、更有效的药物递送方式，而细胞膜-纳米颗粒在药物运送、疫苗和解毒方面也不断发展[9]。本文将着重介绍血小板在药物递送系统中的应用，血小板膜仿生学和纳米颗粒结合的发展以及这些技术在动脉粥样硬化中的应用前景。

［收稿日期］　2019-03-01　　［接受日期］　2019-04-10

［基金项目］　国家自然科学基金(81570223，81870269). Supported by National Natural Science Foundation of China (81570223，81870269).

［作者简介］　李琦玉，硕士生. E-mail：qiyuli123@163.com

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

1 血小板载体

NP 的大小、形状、表面电荷、稳定性和其他各种特性都可以被调整，以最大程度发挥其在体内的优点，但是水溶性低、生物利用度差、代谢快、特异性有限和不良反应等限制仍需改善[10]。与 NP 相比，循环细胞有许多优点。它们具有高度的生物相容性和可移动性，具有较长的循环寿命，生物可降解性，天然的靶向细胞/组织，具有较高的载药能力，在循环中非常稳定，能够跨越生物屏障[11]。各种类型的细胞被研究用于药物递送系统，包括巨噬细胞、T 细胞、中性粒细胞、干细胞、红细胞和血小板[12]。血小板载体因其在凝血止血、机体固有免疫应答、肿瘤转移等方面的关键作用而受到越来越多的关注。此外，血小板的循环寿命仅为 8～10 d，这种快速的循环时间可以避免不必要的体内积累，负载的药物可在血小板活化时自然释放[13]。Xu 等[14]利用天然血小板负载阿霉素（doxorubicin，DOX）治疗淋巴瘤并降低了 DOX 的心脏毒性，血小板负荷 DOX 还具有高载药量、高包封效率的特点。但由于血小板在血栓形成和肿瘤发展中的负面作用，全血小板产品有限的保质期来维持其生物功能，意想不到的血小板活化的发生等，会显著影响治疗稳定性[15]。因此，天然的血小板负荷抗 AS 药物可能仍待商讨，或者简单地用血小板膜进行工程处理是解决上述问题的一种方法。

2 血小板模拟运送系统

血小板的作用主要是通过其膜表面蛋白实现的，所以研究者利用纳米技术和生物结构（如功能肽、模拟细胞膜受体或整个细胞膜本身）来设计仿生 NP，以更好地实现靶向运送药物的可能。Kona 等[16]将 GPⅠb 偶联到 NP 上以模拟血小板黏附损伤动脉壁，以提高 NP 在流体剪切力作用下对炎症内皮细胞和损伤动脉壁的黏附和靶向性。GPⅠb 偶联的 NP 可以控制负载药物在血管受损处的释放，这对于 AS 的治疗是具有应用价值的，但是该修饰颗粒是否会和血小板发生竞争有待进一步研究。此外，血小板会与活化的单核细胞相互作用靶向到梗死区域，所以 Cheng 等[17]收集血小板膜蛋白组，整合到脂质体膜上以制备类血小板蛋白脂质体（platelet-like proteoliposome，PLP）。与不经血小板膜蛋白修饰的脂质体相比，PLP 能够特异性结合单核细胞，靶向损伤组织而非内皮细胞。Anselmo 等[18]用胶原结合肽、vWF 结合肽和线性纤维蛋白原模拟肽修饰血小板样纳米颗粒来靶向血管损伤部位。血小板模拟运送系统为设计具有良好生物相容性的仿生颗粒提供了一种新的策略，且利用血小板通过表面膜蛋白聚集到受损血管处的性质为抗 AS 的治疗提供新的可能。

3 血小板膜包裹纳米颗粒（platelet membrane-cloaked nanoparticles，PNP）

PNP 是血小板膜和 100 nm 的聚乳酸-羟基乙酸[poly（lactic-co-glycolic acid），PLGA]纳米颗粒融合而成，所得的 PNP 尺寸约比裸露的 NP 大 15 nm，但具有与血小板和血小板膜源囊泡相同的表面电荷[19]。与未包裹的 NP 相比，PNP 减少了巨噬细胞样细胞对 NP 的摄取，且没有诱导补体活化[20]，循环时间明显延长，半衰期超过 24 h[21]。这种 PNP 保留了类似血小板的特性，如选择性地黏附于受损血管[22]。由于外表面有大量带负电荷的唾液酸分子，血小板膜的外表面和内表面之间存在着电荷分布的差异。Hu 等[19-23]使他们的纳米颗粒带负电荷。因此，通过与血小板外膜的静电排斥，纳米颗粒优先与内膜结合，保证外膜的受体在体内发挥作用。

实现模拟受体结合纳米颗粒所需要的复杂化学修饰可能会破坏蛋白质结构，且结合一种或几种蛋白质并不能完全模拟血小板的生物功能[24]。因此研究者利用细胞膜包裹纳米颗粒来构建仿生纳米材料。Hu 等[19]开发了血小板膜包裹纳米颗粒，并首先证实了血小板膜蛋白的完整性。Dehaini 等[25]成功制备了一种结合了两种不同细胞类型功能的新型细胞膜包裹纳米颗粒，其保留了血小板膜和红细胞膜各自的特性，而红细胞膜可以显著延长循环周期。Wei 等[26]发现在小鼠模型中注射 PNP 可以靶向抵达 AS 斑块区域和有发生斑块倾向的区域，这给靶向治疗动脉粥样硬化和早期发现 AS 带来了可能性；又利用 Gd 修饰的 PNP，作为 MRI 的造影剂，在注射 1 h 后，发现斑块区和潜在的 AS 处都有显著的信号。Song 等[27]给 apolipoprotein E-deficient（$ApoE^{-/-}$）小鼠模型注射 PNP，其运载的雷帕霉素可以有效靶向 AS 斑块，延缓 AS 进展，稳定 AS 斑块。PNP 作为药物递送系统，可以在减少药物的系统毒性和延长循环周期的同时，靶向运送

该药物到斑块处，这在 AS 的治疗上发挥了重要作用。

4　应用与展望

当血小板黏附在血管损伤部位并被激活时，血小板会瞬间产生肌动球蛋白介导的肌肉样收缩，这种收缩会显著降低血栓的总体大小，同时这种激活依赖的收缩反应可以用于控制药物的释放[28-29]。Hansen 等[30] 因此构建了聚电解质多层(polyelectrolyte multilayer，PEM)胶囊，其外表面含有纤维蛋白原，进入体内后与 αⅡbβ3 结合并形成血小板-杂交 PEMs。然后利用血小板收缩力，在血管受损处裂解释放载荷Ⅷ因子止血。这种利用血小板收缩力和血流剪切力的纳米材料同样可以运用到 AS 的治疗中，相比于膜包裹的纳米颗粒可以在靶向运送药物的同时快速实现药物释放。

血小板微粒(platelet microparticles，PMPs)是从活化的血小板上脱落下来的直径 0.1～1 μm 的磷脂双分子层碎片，表面的整合素 GPⅡb-Ⅲa 和 P-选择素片段促进了与纤维蛋白原、纤维蛋白、活化血小板和白细胞的结合[31-32]。Pawlowski 等[33] 利用 PMPs 的性质设计了脂质体纳米颗粒，模仿 PMPs 的多价配体受体作用，摈弃了其促血栓促炎等不良反应，靶向运送溶栓药物到 AS 所致血栓处。

血小板膜的应用主要是最近几年兴起的，在证实了血小板膜的生物特性后发现其应用于生物材料领域的价值。血小板由于天然的生理性质可以直接作为药物载体，但也正是因为其功能多样性和不易保存等特点，某种程度限制了其应用。而生物工程利用其细胞膜表面蛋白的性质，模仿血小板表面膜蛋白修饰纳米颗粒，或血小板膜包裹纳米颗粒可以完整地保留膜蛋白，或利用受体配体作用结合体内血小板，又或是利用血小板分泌的微粒的特性设计纳米颗粒等，这些生物工程的应用，给靶向递送药物到 AS 所致血管损伤和血栓处带来了极大的应用价值。尽管如此，这些生物材料的安全性和有效性还需要大量的动物实验和进一步的临床试验的验证。

参考文献

[1] WU M D, ATKINSON T M, LINDNER J R. Platelets and von Willebrand factor in atherogenesis[J]. Blood, 2017, 129(11): 1415-1419.

[2] HUO Y, SCHOBER A, FORLOW S B, et al. Circulating activated platelets exacerbate atherosclerosis in mice deficient in apolipoprotein E[J]. Nat Med, 2003, 9(1): 61-67.

[3] LU Y, HU Q, JIANG C, et al. Platelet for drug delivery[J]. Curr Opin Biotechnol, 2018, 58: 81-91.

[4] GROVER S P, BERGMEIER W, MACKMAN N. Platelet signaling pathways and new inhibitors[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2018, 38(4): e28-e35.

[5] HOLINSTAT M. Normal platelet function[J]. Cancer Metastasis Rev, 2017, 36(2): 195-198.

[6] FITZGERALD J R, FOSTER T J, COX D. The interaction of bacterial pathogens with platelets[J]. Nat Rev Microbiol, 2006, 4(6): 445-457.

[7] LI Z, HU S, CHENG K. Platelets and their biomimetics for regenerative medicine and cancer therapies[J]. J Mater Chem B, 2018, 6(45): 7354-7365.

[8] KIM B Y S, RUTKA J T, CHAN W C W. Current concepts: Nanomedicine[J]. N Engl J Med, 2010, 363(25): 2434-2443.

[9] FANG R H, KROLL A V, GAO W, et al. Cell membrane coating nanotechnology[J]. Adv Mater, 2018, 30(23): e1706759.

[10] FAROKHZAD O C, LANGER R. Impact of nanotechnology on drug delivery[J]. ACS Nano, 2009, 3(1): 16-20.

[11] BURNOUF T, BURNOUF P A, WU Y W, et al. Circulatory-cell-mediated nanotherapeutic approaches in disease targeting[J]. Drug Discov Today, 2018, 23(5): 934-943.

[12] AGRAHARI V, AGRAHARI V, MITRA A K. Next generation drug delivery: circulatory cells-mediated nanotherapeutic approaches[J]. Expert Opin Drug Deliv, 2017, 14(3): 285-289.

[13] WU Y W, GOUBRAN H, SEGHATCHIAN J, et al. Smart blood cell and microvesicle-based Trojan horse drug delivery: Merging expertise in blood transfusion and biomedical engineering in the field of nanomedicine[J]. Transfus Apher Sci, 2016, 54(2): 309-318.

[14] XU P, ZUO H, CHEN B, et al. Doxorubicin-loaded platelets as a smart drug delivery system: An improved therapy for lymphoma[J]. Sci Rep, 2017, 7: 42632.

[15] GETZ T M, MONTGOMERY R K, BYNUM J A, et al. Storage of platelets at 4℃ in platelet additive solutions prevents aggregate formation and preserves platelet functional responses[J]. Transfusion, 2016, 56(6): 1320-1328.

[16] KONA S, DONG J F, LIU Y, et al. Biodegradable nanoparticles mimicking platelet binding as a targeted and controlled drug delivery system[J]. Int J Pharm, 2012, 423(2): 516-524.

[17] CHENG B, TOH E K W, CHEN K H, et al. Biomimicking platelet-monocyte interactions as a novel targeting strategy for heart healing[J]. Adv Healthc Mater, 2016, 5(20): 2686-2697.

[18] ANSELMO A C, LYNN MODERY-PAWLOWSKI C, 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.

[19] HU C M J, FANG R H, WANG K C, et al. Nanoparticle biointerfacing by platelet membrane cloaking[J]. Nature, 2015, 526(7571): 118-121.

[20] SU T, HUANG K, MA H, et al. Platelet-inspired nanocells for targeted heart repair after ischemia/reperfusion injury[J]. Adv Funct Mater, 2019, 29(4): 14.

[21] HU Q, SUN W, QIAN C, et al. Anticancer platelet-mimicking nanovehicles[J]. Adv Mater, 2015, 27(44): 7043-7050.

[22] TANG J, SU T, HUANG K, et al. Targeted repair of heart injury by stem cells fused with platelet nanovesicles[J]. Nat Biomed Eng, 2018, 2: 17-26.

[23] HU Q, BOMBA H N, GU Z. Engineering platelet-mimicking drug delivery vehicles[J]. Front Chem Sci Eng, 2017, 11(4): 624-632.

[24] AI X, HU M, WANG Z, et al. Recent advances of membrane-cloaked nanoplatforms for biomedical applications [J]. Bioconjug Chem, 2018, 29(4): 838-851.

[25] DEHAINI D, WEI X, FANG R H, et al. Erythrocyte-platelet hybrid membrane coating for enhanced nanoparticle functionalization[J]. Adv Mater, 2017, 29(16).

[26] WEI X, YING M, DEHAINI D, et al. Nanoparticle functionalization with platelet membrane enables multifactored biological targeting and detection of atherosclerosis[J]. ACS Nano, 2018, 12(1): 109-116.

[27] SONG Y, HUANG Z, LIU X, et al. Platelet membrane-coated nanoparticle-mediated targeting delivery of Rapamycin blocks atherosclerotic plaque development and stabilizes plaque in apolipoprotein E-deficient ($ApoE^{-/-}$) mice[J]. Nanomedicine, 2019, 15(1): 13-24.

[28] LAM W A, CHAUDHURI O, CROW A, et al. Mechanics and contraction dynamics of single platelets and implications for clot stiffening[J]. Nat Mater, 2011, 10(1): 61-66.

[29] HANSEN C E, QIU Y, MCCARTY O J T, et al. Platelet mechanotransduction[J]. Annu Rev Biomed Eng, 2018, 20: 253-275.

[30] HANSEN C E, MYERS D R, BALDWIN W H, et al. Platelet-microcapsule hybrids leverage contractile force for targeted delivery of hemostatic agents[J]. ACS Nano, 2017, 11(6): 5579-5589.

[31] BURNOUF T, GOUBRAN H A, CHOU M L, et al. Platelet microparticles: detection and assessment of their paradoxical functional roles in disease and regenerative medicine[J]. Blood Rev, 2014, 28(4): 155-166.

[32] CHEN Y, LI G, LIU M L. Microvesicles as emerging biomarkers and therapeutic targets in cardiometabolic diseases [J]. Genomics Proteomics Bioinformatics, 2018, 16(1): 50-62.

[33] PAWLOWSKI C L, LI W, SUN M, et al. Platelet microparticle-inspired clot-responsive nanomedicine for targeted fibrinolysis[J]. Biomaterials, 2017, 128: 94-108.

[本文编辑] 吴秀萍，贾泽军