

• 综述 •

巨噬细胞的抗结核纳米递药系统的应用进展

向海滨 梁求真 李新霞 宋兴华

【摘要】 结核分枝杆菌作为一种巨噬细胞胞内寄生菌,传统药物治疗存在治疗周期长、生物利用度低、毒性大甚至耐药性增加等局限性问题。抗结核纳米递药系统作为一种抗结核新剂型,可将经济廉价的药物通过主动或被动方式递送到巨噬细胞内,以杀死正在复制或潜伏期的结核分枝杆菌。在此框架下,笔者探讨了抗结核纳米递药系统对巨噬细胞主被动靶向机制,及用于组装纳米递药系统的先进材料。此外,总结了影响靶向递送效率的因素及面临的挑战。

【关键词】 结核; 巨噬细胞; 药物载体; 分子靶向治疗; 综述文献(主题); 纳米递药系统

Advances in the application of anti-tuberculosis nanoscale drug delivery system targeting macrophages XIANG Hai-bin*, LIANG Qiu-zhen, LI Xin-xia, SONG Xing-hua. * Department of Orthopedics, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China
Corresponding author: SONG Xing-hua, Email: songxinghua19@163.com

【Abstract】 *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) is a facultative intracellular parasite of macrophages, traditional anti-TB therapy have limitations such as long course of treatment, low bio-availability, high systemic toxicity and even may induce drug resistance. As a new method of anti-tuberculous drug administration, the nanoscale drug delivery system can deliver low-cost drugs into macrophages actively or passively to inhibit the replicate or latent MTB. This review explores the active and passive targeting mechanism of anti-tuberculosis nanoscale drug delivery system to macrophages, and advanced materials for assembling nanoscale delivery system. In addition, factors affecting targeted delivery efficiency and challenges are summarized.

【Key words】 Tuberculosis; Macrophages; Drug carriers; Molecular targeted therapy; Review literature as topic; Nanoscale drug delivery system

目前,结核病(tuberculosis, TB)仍是全球十大死亡原因之一,甚至已超过人类免疫缺陷病毒(HIV)感染成为传染病致死的主要原因。在 2019 年《全球结核病报告》^[1]中估算,2018 年我国新发结核病患者 86.6 万例(位居全球第二),而新发耐利福平结核病(RR-TB)及耐多药结核病(MDR-TB)6.6 万例(位居全球第二),我国也是全球结核病负担最重的 3 个国家之一。一般结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, MTB)经空气传播,可累及肺部或肺外器官,如骨骼、泌尿道、卵巢,甚至脑膜。MTB 是一种细胞内寄生菌,具有代谢缓慢、高度疏水性、细胞壁厚等特点,所以采用药物治疗其过程相当复杂且存在许多局限性^[2]。近年来,应用纳米技术设

计出许多新的药物递送策略,使得药物在病灶有效积累,以确保患者依从性增加、药物不良反应降低、耐药率降低等。笔者以 MTB 的致病机制为背景,对基于巨噬细胞的抗结核纳米递药系统的研究进展进行综述。

一、MTB 的致病机制

首先 MTB 上的病原体相关分子模式(pathogen associated molecular patterns, PAMPs)被巨噬细胞上的模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)所识别,诱导一系列巨噬细胞的自噬。但在这一过程中巨噬细胞有时不能杀死 MTB,因为 MTB 可以抑制巨噬细胞中的噬菌体-溶酶体融合机制^[3-4]。接着未被杀死的 MTB 在巨噬细胞中繁殖并最终使其裂解,导致细胞损伤又激发血液中单核细胞等移行到该区域。而单核细胞分化为巨噬细胞后再次吞噬细菌并被裂解,形成一个恶性循环。在感染后 2~3 周结核特异性抗原传递到 T 淋巴细胞时,辅助性 T 淋巴细胞(Th)1 分泌的 γ -干扰素和 MTB 表面的脂多糖共同刺激巨噬细胞极化为 M1 型巨噬细胞并分泌白细胞介素(IL)-12、IL-8、肿瘤坏死因子(TNF)- α 、活性氮、活性氧等,促进炎症反应造成组织破坏。同时极化的 M2 型巨噬细胞分泌 IL-10、IL-1、转化生长因子 β (TGF- β)等抑制炎症反应并促进组织修复愈合。因此, M1 型巨噬细胞抑制 MTB 继续生长,而 M2 型巨噬细胞抑制炎症造成 MTB 免疫逃逸,最后达到一种动态平衡^[5-6]。



开放科学(资源服务)标识码(OSID)的开放科学计划以二维码为入口,提供丰富的线上扩展功能,包括作者对论文背景的语音介绍、该研究的附加说明、与读者的交互问答、拓展学术圈等。读者“扫一扫”此二维码即可获得上述增值服务。

doi:10.3969/j.issn.1000-6621.2020.04.018

基金项目:国家自然科学基金(81860394)

作者单位:830054 乌鲁木齐,新疆医科大学第一附属医院骨科(向海滨、梁求真);新疆医科大学药学院(李新霞);暨南大学第一附属医院骨科(宋兴华)

通信作者:宋兴华, Email: songxinghua19@163.com

再经过一段时间,病灶中的上皮样细胞和淋巴细胞聚集形成肉芽肿,MTB 暂时进入潜伏期。当机体营养不良、免疫下降、类固醇使用或 HIV 感染等因素可破坏这种平衡,重新变成活动性结核病^[7]。所以巨噬细胞是结核病发病机制的重要一环,这也是抗结核药物设计的重要组成部分^[8]。

二、传统治疗方案的局限性

根据世界卫生组织的抗结核治疗指南,敏感性结核病治疗的标准方案包括:每天服用异烟肼(INH)、利福平(RFP)、吡嗪酰胺(PZA)和乙胺丁醇(EMB)2 个月,然后每天服用 INH 和 RFP 4 个月。但是在 MTB 的进化过程中,由于其基因突变、染色体改变、细胞包膜的不渗透性、药物外排、药物降解和修饰等耐药性机制,出现了耐 RFP、耐多药、广泛耐药结核病(XDR-TB)^[9]。而目前对 RR/MDR-TB 的治疗长达 18~24 个月,且至少需要 5 种药物联合给药,大大增加了药物不良反应及降低了患者依从性^[10]。因此,传统药物仍然存在一些局限性,包括:(1)多药联合治疗,治疗时间长,增加耐药性等;(2)有些抗生素为高亲水性而细胞渗透性差,如β-内酰胺和氨基糖苷类抗生素;(3)有些抗生素能够轻松地进入细胞,但细胞内滞留时间短,如氟喹诺酮类抗生素^[11];(4)传统药物递送肝脏首过消除效应大;(5)由于生物屏障的选择性通透会抑制药物向一些部位有效递送,例如血-脑、血-骨髓屏障;(6)高血药浓度给药到达治疗效果,就存在不良反应且降低患者的依从性,如神经毒性、眼毒性、肾毒性和耳毒性。所以亟需开发新的药物递药策略,将药物直接有效地递送到受感染的巨噬细胞,来实现精准医疗。

三、被动靶向递药系统

纳米递药系统利用某些载体负载一种或多种药物递送到目标器官或组织,常见的纳米递药系统包括纳米颗粒、纳米囊泡、纳米乳剂、纳米脂质体、纳米悬浮液、纳米晶体、胶束等^[12-13]。被动靶向纳米递药系统主要是利用其理化特性来实现体内药物差异性分布。根据粒度、形状、表面电荷等理化特性的不同,纳米递药系统被巨噬细胞内吞,形成吞噬体的机制也有所不同,包括吞噬作用、网格蛋白介导的胞饮、小窝蛋白介导的胞饮、非网格蛋白及小窝蛋白依赖的胞饮、巨胞饮作用等 5 种^[14-15]。此外,纳米递药系统还可被特异性配体修饰后,通过配体-受体相互作用主动介导巨噬细胞内吞

作用。但无论何种靶向机制都需要载体来负载药物,这些载体优缺点各异(表 1)。

(一) 聚合物纳米载体

聚合物是纳米递药系统中使用最广泛的药物载体。聚合物的生物稳定性高可用于各种途径给药,而且合成工艺简单并可轻松地调控药物的粒径、形状、Zeta 电位等理化特性来控制药物释放速度及靶向效率^[16]。

1. 聚乳酸-羟基乙酸共聚物:是应用最为广泛的合成聚合物载体,因为其水解代谢物为乳酸和乙醇酸,可以通过 Krebs 循环(即三羧酸循环)被身体代谢,所以也是全身毒性最小的聚合物载体。其次,PLGA 纳米粒子的药物释放速率也可以通过控制乳酸和乙醇酸单体比例,以及相对分子质量来调节^[17]。目前,PLGA 已经正式被美国食品药品监督管理局(FDA)和欧洲药品管理局(EMA)批准,用于人类的各种药物输送系统^[18]。在 2003 年 Pandey 等^[19]就报道了负载 RFP、INH、PZA 的 PLGA 纳米粒子,其封装效率分别达到 56%、66%、68%。在通过灌胃给药的小鼠模型中,药代动力学表明血浆中 RFP 持续释放达 6 d 以上,而 INH 和 PZA 释放更是长达 9 d 以上,相比之下单纯药物组的半衰期明显较短(RFP:2 h;INH:2~3 h)。这足以说明纳米粒延长半衰期以降低给药频率,来有效地解决传统抗结核药物治疗的局限性。而 PLGA 等作为亲脂性聚合物,负载 INH 等亲水药物时会降低药物封装率,从而增加制备成本及降低疗效。在该研究中使用双乳液挥发法制备 PLGA 纳米粒,虽然有效解决这一问题,但同样降低了亲脂性 RFP 的封装率。所以在制备过程中应根据药物性质调整工艺及配方,以提高治疗效果。此外,对于口服或吸入等经黏膜给药途径,还可利用对黏膜中的 N-乙酰-D-氨基葡萄糖和唾液酸等具有高亲和力的小麦胚芽凝集素,将其修饰在 PLGA 载体上以增加黏膜对纳米粒的吸收来提高药物生物利用度^[20]。Marcianes 等^[21]还报道了负载加替沙星的 PLGA 纳米递药系统用于穿过血脑屏障治疗颅脑结核。他们用荧光剂罗丹明标记药物,在经尾静脉给药 60 min 后处死大鼠,观察到了荧光剂在大脑皮层组织持续蓄积而肺和肝脏较少。这种利用纳米递药系统小粒径特征来克服体内生物屏障的抗结核递药方式极具开发前景。

表 1 不同分类递送药物纳米载体的优缺点

分类	纳米载体	优点	缺点
聚合物	明胶、聚乳酸-羟基乙酸共聚物、聚乳酸、聚酸酐、聚丙烯酸酯、树枝状大分子	工艺简单;理化特性可控;生物稳定性高;多途径给药	体内降解速度慢;易蓄积;有机溶剂残留毒性
脂质体	长循环脂质体、糖基脂质体、pH 敏感性脂质体	技术成熟;无有机溶剂制备;生物降解性及相容性高	物理稳定性差;半衰期短;药物负载能力低
多糖	藻酸盐、直链淀粉、壳聚糖、透明质酸、环糊精	本质为碳水化合物;毒性极低;廉价;生物相容性高;生物可降解性好	载药量和释放效率低
碳纳米	石墨、氧化石墨烯、碳纳米管、富勒烯和金刚石	载体表面可诱捕细菌且存在大量官能团;易被配体修饰	生物利用度低;生物稳定性差;急性炎症反应和进行性纤维化等毒性
金属载体	银纳米颗粒、镓纳米颗粒、金纳米颗粒、铁纳米颗粒	可干扰 MTB 代谢;具有抗菌活性	生物利用度低;时间相关的细胞毒性;重金属中毒

2. 树枝状大分子聚合物:是新型单分散超支化的合成聚合物体系,具有中心核和星形分支结构,其表面存在许多不同官能团可用来附着药物、配体、聚乙二醇等。而树枝状聚合物内部空隙空间也比较大,可用于封装或掺入小分子药物来靶向递送到巨噬细胞^[22]。但因为树枝状大分子聚合物的粒径一般在 10 nm 左右,雾化吸入后也极易被呼出体外,所以不适合于经呼吸道给药。Bellini 等^[23]利用负载 RFP 的第 4 代聚酰胺基胺(G4-PAMAM)树枝状聚合物表现了出色的稳定性和 pH 值依赖性,其仅在酸性 pH 值下纳米颗粒破裂释放 RFP。因为巨噬细胞吞噬 MTB 后达到动态平衡,这使得细胞内呈现出低氧和低 pH 值状态。所以当药物通过静脉给药时,通过中性 pH 值的血液及组织液中运输而避免降解,随后被巨噬细胞吞噬并在酸性 pH 值下释放,以实现抗结核药物的“智能”靶向递送。尽管如此,这项研究并没有评估树枝状聚合物在体内的生物相容性。而另一项研究中就报道了负载 RFP 的第五代 PAMAM 聚合物中季铵基团与红细胞产生溶血毒性(11.6%~15.3%)^[24]。尽管使用聚乙二醇修饰树枝状聚合载体后可明显降低这种毒性(2.5%),但如应用在未来临床中仍是致命的毒性。

(二) 脂质体纳米载体

脂质体是在 1965 年被发现,由亲水性的磷脂双层构成的囊泡结构,多年来一直作为纳米载体被广泛研究。早在 1990 年首次报道了负载庆大霉素脂质体通过静脉内给药作用于鸟分枝杆菌感染的小鼠模型,并观察到在肝和脾中细菌计数明显减少^[25]。在现代药物递送系统中,因为脂质体具有独特的双层核壳结构,对其进行改性后可负载亲水性、亲脂性、两亲性药物。目前主要有固体脂质纳米颗粒(SLN)和纳米结构脂质载体(NLC)两种类型。NLC 作为克服 SLN 缺点的新一代脂质纳米颗粒,其是固态和液态脂质的混合物,从而提供了更好的包封率和防止在储存期间药物溶出,这是获得良好疗效的前提^[26]。Pinheiro 等^[27]就设计负载利福布丁的 NLC,其包封率达到 90%,并用甘露糖加以修饰,以实现被动和主动靶向至肺泡巨噬细胞。此外,载药 NLC 中还添加了硬脂胺,表面 Zeta 电位从(-17.9±1.9) mV 变为(37.6±1.0) mV,这个将倾向于被带负电的巨噬细胞所吸附以达到被动靶向递药的目的。但不足的是作者当时并没有通过体内或体外实验来验证巨噬细胞靶向机制。

由于脂质体对肠道脂肪酶敏感,因此必须通过呼吸道或静脉内途径给药。其中经呼吸道吸入给药是脂质体的常用方式,与聚合物相比气溶胶脂质体更加稳定且安全。其不但能绕过胃肠道降解且不具有首过消除效应,还能通过表面积大且血管富集的肺泡吸收蓄积,甚至代替静脉注射达到全身给药。虽然纳米脂质体因其粒径小更易被肺泡巨噬细胞内吞,以实现被动靶向机制,但根据气道粒子沉积的惯性撞击、重力沉降、布朗扩散等机制,纳米粒太小会导致大部分悬浮在气流中而被呼出,从而降低了疗效^[28]。即使纳米粒可有效地在下呼吸道中沉积,还需要颗粒表面特性以克服肺泡壁黏液屏障来促进渗透。总之与传统药物相比,可吸入纳米脂

质体已成为一种极具吸引力的策略,因为其提供了最大化治疗效果,是可降低全身毒性的非侵入性治疗手段^[29-30]。但是如何控制其粒径大小,使得既能有效在肺部沉积又能更加高效地靶向至巨噬细胞等问题亟待解决。

(三) 多糖纳米载体

多糖是来源于植物、动物、藻类、微生物等的一类独特天然高分子材料,并通过单糖之间的糖苷键形成的。其具有以下独特的优势^[31-32]:(1)多糖可以阴离子、阳离子、中性电荷状态存在;(2)其本身就有抗菌特性并可能与抗生素类药物产生协同作用,如壳聚糖;(3)含有羟基多糖可对上皮和黏膜等产生非共价生物黏附性;(4)具有极低的毒性和较高的生物相容性;(5)是廉价的可再生自然资源。Lu 等^[33]已经制备了负载氨基糖苷类药物(链霉素、庆大霉素、妥布霉素)的壳聚糖纳米颗粒,药物包封率分别为 60%、63%、38%。为了提高壳聚糖基纳米粒的抗生素负载效率,使用了硫酸右旋糖酐作为抗衡离子,以保护氨基糖苷类药物的正电荷。体内实验结果表明,口服负载链霉素的纳米粒治疗肺结核模型小鼠,3 周之后处死小鼠并将肺组织匀浆后平铺在 7H11 琼脂平板上,细菌生长减少了 1 log(CFU/ml)(CFU:菌落形成单位)。这有效地证明了利用壳聚糖载体采用离子凝胶技术来负载抗结核药物给予口服给药,其疗效是确切的。但是当模拟胃酸性条件时(pH=1.2),3 种不同载药壳聚糖纳米粒的突释效应都明显增大,笔者认为这是因为壳聚糖的 β -1,4-糖苷键在酸性环境中水解使得药物过早释放。此外,壳聚糖载体用于抗结核治疗,还可以将壳聚糖作涂层修饰其他载体形成壳聚糖基纳米复合材料来负载药物。用多糖(壳聚糖)覆盖铁纳米以在其表面上加载抗生素(如链霉素)会产生一种具有各种特性的新型磁性纳米复合材料,作为诊断和治疗结核感染的潜在工具^[34]。

(四) 碳纳米载体

碳纳米材料是一类新型材料,已在包括药物输送、组织工程、癌症治疗等各种生物医学中应用^[35]。目前,研究最为广泛的碳纳米无疑是碳石墨烯二维薄膜材料,其氧化形式为氧化石墨烯^[36]。氧化石墨烯载体的起皱表面粗糙度约为 845 nm,可以捕获细菌并黏附,达到抑制细菌生长的目的。De Maio 等^[37]为了证实这种捕获作用,将氧化石墨烯载体与 MTB 共培养后,用超声裂解氧化石墨烯薄片以释放细菌;结果随超声处理的时间增加,MTB 的 CFU 也增加。虽然 De Maio 等的实验未观察到氧化石墨烯载体对 MTB 的直接杀菌作用,但是这种“诱捕”独特机制为将来结核病治疗提供了新的思路。与氧化石墨烯相比,氧化石墨烯的还原形式直接对 H37Ra 标准株的 MTB 具有抗结核活性,其最小抑菌浓度为 200 μ g/ml。因此,氧化石墨烯的扁平特性使该材料能够像纳米刀一样来切割细菌膜,并引起膜干扰和诱导氧化还原反应^[38]。尽管碳纳米载体通过呼吸道给药存在早期肉芽肿反应、急性炎症反应、进行性纤维化等不良反应^[39],但是碳纳米载体作为一种新型抗结核策略,除了可以负载抗结核药物达到双重治疗效果,还可以有效避免结核耐药的负担。

(五)金属纳米载体

银已被用作了几个世纪的抗菌剂,当它作为纳米制剂时因穿透细胞膜作用增强,抗菌功能也随之提高。Singh 等^[40]报道了银和金纳米颗粒作为 MTB 的比较研究,银纳米颗粒在 3 μg/ml 的浓度下可抑制 90% 的 MTB 生长,而金纳米颗粒在 100 μg/ml 都没有这种活性。尽管银纳米颗粒具有较高的抗结核活性,但与标准抗结核药 RFP 最小抑菌浓度(0.4 μg/ml)相比仍有差距。Olanmi 等^[41]报道了在鼠结核模型中用硝酸镓腹腔注射后,肺、肝和脾脏中的 MTB 的 CFU 明显减少。这是因为铁是 MTB 代谢生长中必不可少的物质,所以在 MTB 的酶活性位点上可用镓代替铁使其失去功能,这是金属粒子抗结核治疗的另外一个机制。Narayana-samy 等^[42]更是将镓制备成纳米制剂并被动靶向到受感染的巨噬细胞内,连续释放药物 15 d,并有效抑制 MTB 及 HIV 的生长。他们还发现镓纳米颗粒还可以通过调节 IκB 激酶-β 激活核因子 κB(nuclear factor kappa-B, NF-κB)途径,诱导巨噬细胞降低 IL-6 和 IL-8 的分泌水平^[43]。为了增加抗结核金属粒子的水溶性,Sato 等^[44]制备了用二价铜离子共价结合 INH 后,用纳米脂质体载体包裹。在作者研究的结果中,使用脂质体负载后不但提高了 27.3~55.4 倍抗结核活性,而且降低了游离金属粒的毒性。但是实验仅仅只是粗略地评估了急性死亡事件及血液生化指标,对于该系统慢性毒性并未继续研究。所以金属纳米粒同样作为新型抗结核载体,其较低的抑菌浓度有望成为治疗 MDR-TB、XDR-TB 的有力手段,但针对其解决慢性重金属毒性问题仍需大量研究。

四、主动靶向递药系统

主动靶向递药系统就是纳米载体与细胞组织之间的配体-受体相互作用。这些配体一般可缀合在药物递送系统的表面,然后通过巨噬细胞 PRRs 识别并介导内吞作用。PRRs 一般包括 C 型凝集素受体、Toll 样受体(TLR)、Nod

样受体(NLR)、清道夫受体、Fc 受体。其中的 C 型凝集素受体可识别富含碳水化合物的分子。甘露糖受体就是 C 型凝集素中的一个受体,还可以识别 MTB 细胞壁上面的脂阿拉伯甘露聚糖^[3]。因此利用甘露糖作为配体修饰纳米递药系统目前已经被许多研究报道。Vicira 等^[45]开发了甘露糖基化的脂质纳米递药系统来负载 RFP 以改善结核病治疗,研究结果表明甘露糖化纳米脂质纳米粒对人骨髓来源的巨噬细胞摄取增加,并能有效抑制细胞内 MTB 的生长。此外他们还还对纳米粒的内吞机制做了研究,分别用氯丙嗪和非律平限制网格蛋白和小窝依赖性内吞作用,而细胞松弛素 D 限制大胞饮作用,结果巨噬细胞对甘露糖化脂质体纳米粒摄取减少,分别为 65%、20%、25%。Maretti 等^[46]同样报道了在体外实验中使用负载 RFP 的甘露糖化纳米脂质体,在鼠 J774 巨噬细胞中摄取增强。

目前还有其他用于巨噬细胞主动靶向的配体研究,例如:透明质酸、乳糖、聚乙二醇、霉菌酸(表 2)。透明质酸是一种酸性黏多糖。Gao 等^[47]用透明质酸-生育酚琥珀酸酯胶束负载利福喷丁,通过吞噬作用和受体介导的内吞作用被小鼠肺泡巨噬细胞摄取,且具有时间和剂量依赖性。Gao 等还指出透明质酸修饰的纳米胶束还能诱导 Th1 细胞释放高浓度细胞因子,这将有助于增强抗结核效应。另外一个靶向配体为分枝杆菌酸,又称为霉菌酸,其是从 MTB 细胞壁分离下来的脂体。Lemmer 等^[48]利用双乳溶剂挥发法将霉菌酸及 INH 包封在 PLGA 纳米粒中,结果表明霉菌酸在纳米颗粒表面表达,显著增加了巨噬细胞的内吞作用。聚乙二醇作为抗结核主动靶向递药系统的重要组成部分,是一种常见“隐形”聚合物,可通过简单的有机合成来修饰纳米递药系统。聚乙二醇虽然延长了载药纳米递药系统的血液循环和减少了给药频次,但是同样抑制了巨噬细胞的识别和吞噬作用^[49]。但是至少解决了一些无机纳米载体的低生物利用度和较短的循环时间问题^[50]。

表 2 巨噬细胞主动靶向的纳米递药系统的相关报道

文献发表年份	配体	纳米载体	药物	粒径(nm)	电位(mV)	包封率(%)	载药率(%)	靶向细胞
2019	甘露糖	氧化石墨烯	利福平	50~300	-25	-b	-b	恒河猴巨噬细胞 ^[51]
2018	甘露糖	硬脂胺-脂质体	利福平	160~250	25.7	95.5	3.5	人 THP1 巨噬细胞系 ^[45]
2018	甘露糖	硬脂胺-脂质体	异烟肼	452~530	26.9~38.6	34.0~50.2	1.6~2.3	人 THP1 巨噬细胞系 ^[52]
2018	β-葡聚糖	PLGA	利福平	283.1	-28.6	-b	1.1	人 THP1 巨噬细胞系 ^[53]
2017	聚乙二醇	PLGA	莫西沙星	112.16	4.76	76.55	86.75	巨噬细胞 ^[49]
2017	甘露糖	脂质体	利福平	720~1380	44.4~63.7 ^a	25.5~44.3	6.75~14.53	鼠 J774 巨噬细胞系 ^[46]
2016	甘露糖	硬脂胺-脂质体	利福布汀	213	37.6	90	-b	鼠 RAW264.7 细胞系 ^[27]
2015	甘露糖	阳离子脂质	利福平	157.4	34.3	91.6	38.4~42.2	鼠肺泡 NR8383 细胞 ^[54]
2015	霉菌酸	PLGA	异烟肼	253~929	23.3~21.4 ^a	-b	-b	鼠骨髓巨噬细胞 ^[48]
2015	透明质酸	生育酚琥珀酸酯胶束	利福平	238~299	23.7~30.9 ^a	-b	70.01~79.09	鼠肺泡 MH-S 巨噬细胞 ^[47]
2011	甘露糖	明胶	异烟肼	343	13.17	43.2	-b	鼠 J774 巨噬细胞系 ^[55]
2010	乳糖	PLGA	利福平	184	-3.2	42.2	78.4±1.14	肺泡巨噬细胞 ^[56]

注 ^a: 代表 Zeta 电位为负电位; ^b: “-”指该指标未在原始文献中评估; PLGA 为聚乳酸-羟基乙酸共聚物

五、影响靶向递送效率的因素

巨噬细胞作为 MTB 的储存库,而纳米递药系统作为一种靶向细胞内的抗结核新剂型,其旨在:(1)改善药物溶解度及稳定性;(2)控制释放速率、延长循环时间、缩短给药时间以提高患者依从性;(3)将药物有效地递送到巨噬细胞中,以降低药物的全身毒性;(4)还可透过各组织器官的天然屏障到达目标区域。

目前,研究通过以下几点来改善纳米递药系统针对巨噬细胞的药物递送效率:(1)可以通过调节纳米粒子的大小,一般 20~100 nm 的中等大小聚合物纳米粒子更容易被细胞内吞^[15];(2)纳米粒子几何形状也是一个不可忽略的因素,圆形、椭圆形粒子更容易被巨噬细胞内吞,而增加粒子长宽比会降低内吞作用^[57];(3)带正电的纳米颗粒与巨噬细胞的阴离子质膜相互作用而更易被内吞^[54];(4)调节纳米递药系统与血浆蛋白(调理素)的相互作用;(5)通过缀合配体主动靶向到巨噬细胞。此外,还报道了在纳米递药系统中添加细胞穿透肽,以通过网格蛋白介导的内吞作用和巨胞饮作用来增强细胞内吞^[58]。

六、小结

尽管医学水平在高速发展,但结核病对于公共医疗保健仍然是一个巨大威胁。按照世界卫生组织提出的在 2035 年消除全球结核病负担这一目标,目前仍需要做大量工作。尤其针对 MDR-TB 和 XDR-TB 的出现,更加迫切地需要新的抗结核药物。目前,人们已经探索了多种纳米载体和生物材料用于抗结核病的单药和多药输送,如聚合物、脂质体、多糖、金属、碳等纳米递药系统。上述纳米递药系统涵盖了化学、材料学、物理学、医药学和工程学等多个学科,系列实验研究不仅证明了纳米投药系统可克服药物本身的物理化学局限性、改善药物递送速率,而且可通过主动或被动靶向至受感染的巨噬细胞中(MTB 的细胞储存库)。尽管这些纳米递药系统已经取得许多良好的体内实验结果,但如果将其用于临床还需要严格进行质量控制及参数评估,如粒径、形状、表面电荷、表面成分、药物包封率、稳定性、载体代谢后毒性等。此外,还需要考虑纳米递药系统所处环境因素的影响,如 pH 值、温度、生物介质中特殊物质的相互作用等。这些参数的协调是非常复杂且至关重要的,可能是一个长期而艰难的过程,就像脂质体的发现到 FDA 的批准成为药物制剂用了 30 多年一样。

参 考 文 献

- [1] World Health Organization. Global tuberculosis report 2019. Geneva: World Health Organization, 2019.
- [2] Kalscheuer R, Palacios A, Anso I, et al. The *Mycobacterium tuberculosis* capsule: a cell structure with key implications in pathogenesis. *Biochem J*, 2019, 476(14): 1995-2016.
- [3] Hmama Z, Pena-Diaz S, Joseph S, et al. Immuno-evasion and immunosuppression of the macrophage by *Mycobacterium tuberculosis*. *Immunol Rev*, 2015, 264(1): 220-232.
- [4] Mitchell G, Chen C, Portnoy DA. Strategies Used by Bacteria to Grow in Macrophages. *Microbiol Spectr*, 2016, 4(3). doi: 10.1128/microbiolspec.MCHD-0012-2015.
- [5] Cardona P, Cardona PJ. Regulatory T Cells in *Mycobacterium tuberculosis* Infection. *Front Immunol*, 2019, 10: 2139.
- [6] Chai Q, Lu Z, Liu CH. Host defense mechanisms against *Mycobacterium tuberculosis* (Review). *Cell Mol Life Sci*, 2019. [Epub ahead of print]
- [7] de Martino M, Lodi L, Galli L, et al. Immune Response to *Mycobacterium tuberculosis*: A Narrative Review (Review). *Front Pediatr*, 2019, 7: 350.
- [8] Weiss G, Schaible UE. Macrophage defense mechanisms against intracellular bacteria. *Immunol Rev*, 2015, 264(1): 182-203.
- [9] Singh R, Dwivedi SP, Gaharwar US, et al. Recent updates on drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* (Review). *J Appl Microbiol*, 2019. [Epub ahead of print]
- [10] Lange C, Dheda K, Chesov D, et al. Management of drug-resistant tuberculosis. *Lancet*, 2019, 394(10202): 953-966.
- [11] Delogu G, Goletti D. The spectrum of tuberculosis infection: new perspectives in the era of biologics. *J Rheumatol Suppl*, 2014, 91: 11-16.
- [12] Costa-Gouveia J, Ainsa JA, Brodin P, et al. How can nanoparticles contribute to antituberculosis therapy? *Drug Discov Today*, 2017, 22(3): 600-607.
- [13] Cheng H, Chawla A, Yang Y, et al. Development of nanomaterials for bone-targeted drug delivery. *Drug Discov Today*, 2017, 22(9): 1336-1350.
- [14] Sahay G, Alakhova DY, Kabanov AV. Endocytosis of nanomedicines. *J Control Release*, 2010, 145(3): 182-195.
- [15] Patel S, Kim J, Herrera M, et al. Brief update on endocytosis of nanomedicines. *Adv Drug Deliv Rev*, 2019, 144: 90-111.
- [16] Mir M, Ahmed N, Rehman AU. Recent applications of PLGA based nanostructures in drug delivery. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2017, 159: 217-231.
- [17] Ding D, Zhu Q. Recent advances of PLGA micro/nanoparticles for the delivery of biomacromolecular therapeutics. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2018, 92: 1041-1060.
- [18] Xu Y, Kim CS, Saylor DM, et al. Polymer degradation and drug delivery in PLGA-based drug-polymer applications: A review of experiments and theories. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2017, 105(6): 1692-1716.
- [19] Pandey R, Zahoor A, Sharma S, et al. Nanoparticle encapsulated antitubercular drugs as a potential oral drug delivery system against murine tuberculosis. *Tuberculosis (Edinb)*, 2003, 83(6): 373-378.
- [20] Sharma A, Sharma S, Khuller GK. Lectin-functionalized poly (lactide-co-glycolide) nanoparticles as oral/aerosolized antitubercular drug carriers for treatment of tuberculosis. *J Antimicrob Chemother*, 2004, 54(4): 761-766.
- [21] Marcianes P, Negro S, Garcia-Garcia L, et al. Surface-modified gatifloxacin nanoparticles with potential for treating central nervous system tuberculosis. *Int J Nanomedicine*, 2017, 12: 1959-1968.
- [22] Mignani S, Tripathi RP, Chen L, et al. New Ways to Treat Tuberculosis Using Dendrimers as Nanocarriers. *Pharmaceutics*, 2018, 10(3). pii: E105.
- [23] Bellini RG, Guimaraes AP, Pacheco MA, et al. Association of the anti-tuberculosis drug rifampicin with a PAMAM dendrimer. *J Mol Graph Model*, 2015, 60: 34-42.
- [24] Dineshkumar P, Panneerselvam T, Brundavani KD, et al. Formulation of Rifampicin Loaded PEGylated 5.0G EDA-PAMAM Dendrimers as Effective Long-Duration Release Drug Carriers. *Current Drug Therapy*, 2017, 12(2): 115-126.
- [25] Klemens SP, Cynamon MH, Swenson CE, et al. Liposome-encapsulated-gentamicin therapy of *Mycobacterium avium* complex infection in beige mice. *Antimicrob Agents Chemother*, 1990, 34(6): 967-970.

- [26] Merchant Z, Buckton G, Taylor KM, et al. A New Era of Pulmonary Delivery of Nano-antimicrobial Therapeutics to Treat Chronic Pulmonary Infections. *Curr Pharm Des*, 2016, 22(17): 2577-2598.
- [27] Pinheiro M, Ribeiro R, Vieira A, et al. Design of a nanostructured lipid carrier intended to improve the treatment of tuberculosis. *Drug Des Devel Ther*, 2016, 10: 2467-2475.
- [28] Costa A, Pinheiro M, Magalhaes J, et al. The formulation of nanomedicines for treating tuberculosis. *Adv Drug Deliv Rev*, 2016, 102: 102-115.
- [29] Anderson CF, Grimmett ME, Domalewski CJ, et al. Inhalable nanotherapeutics to improve treatment efficacy for common lung diseases. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*, 2020, 12(1): e1586.
- [30] Liang Z, Ni R, Zhou J, et al. Recent advances in controlled pulmonary drug delivery. *Drug Discov Today*, 2015, 20(3): 380-389.
- [31] Mosaib T, Farr DC, Kiefel MJ, et al. Carbohydrate-based nanocarriers and their application to target macrophages and deliver antimicrobial agents. *Adv Drug Deliv Rev*, 2019, 151/152: 94-129.
- [32] Shivangi, Meena LS. A Novel Approach in Treatment of Tuberculosis by Targeting Drugs to Infected Macrophages Using Biodegradable Nanoparticles. *Appl Biochem Biotechnol*, 2018, 185(3): 815-821.
- [33] Lu E, Franzblau S, Onyukel H, et al. Preparation of aminoglycoside-loaded chitosan nanoparticles using dextran sulphate as a counterion. *J Microencapsul*, 2009, 26(4): 346-354.
- [34] El Zowalaty ME, Hussein Al Ali SH, Hussein MI, et al. The ability of streptomycin-loaded chitosan-coated magnetic nanocomposites to possess antimicrobial and antituberculosis activities. *Int J Nanomedicine*, 2015, 10: 3269-3274.
- [35] Maiti D, Tong X, Mou X, et al. Carbon-Based Nanomaterials for Biomedical Applications: A Recent Study. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 1401.
- [36] Zou F, Zhou H, Jeong DY, et al. Wrinkled Surface-Mediated Antibacterial Activity of Graphene Oxide Nanosheets. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2017, 9(2): 1343-1351.
- [37] De Maio F, Palmieri V, Salustri A, et al. Graphene oxide prevents mycobacteria entry into macrophages through extracellular entrapment. *Nanoscale Adv*, 2019, 1(4): 1421-1431.
- [38] Palmieri V, Papi M, Conti C, et al. The future development of bacteria fighting medical devices: the role of graphene oxide. *Expert Rev Med Devices*, 2016, 13(11): 1013-1019.
- [39] De Maio F, Palmieri V, De Spirito M, et al. Carbon nanomaterials: a new way against tuberculosis. *Expert Rev Med Devices*, 2019, 16(10): 863-875.
- [40] Singh R, Nawale LU, Arkile M, et al. Chemical and biological metal nanoparticles as antimycobacterial agents: A comparative study. *Int J Antimicrob Agents*, 2015, 46(2): 183-188.
- [41] Olakanmi O, Kesavalu B, Pasula R, et al. Gallium nitrate is efficacious in murine models of tuberculosis and inhibits key bacterial Fe-dependent enzymes. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013, 57(12): 6074-6080.
- [42] Narayanasamy P, Switzer BL, Britigan BE. Prolonged-acting, multi-targeting gallium nanoparticles potently inhibit growth of both HIV and mycobacteria in co-infected human macrophages. *Sci Rep*, 2015, 5: 8824.
- [43] Choi SR, Britigan BE, Narayanasamy P. Ga(III) Nanoparticles Inhibit Growth of both *Mycobacterium tuberculosis* and HIV and Release of Interleukin-6 (IL-6) and IL-8 in Coinfected Macrophages. *Antimicrob Agents Chemother*, 2017, 61(4): pii: e02505-16.
- [44] Sato MR, Oshiro Junior JA, Machado RT, et al. Nanostructured lipid carriers for incorporation of copper(II) complexes to be used against *Mycobacterium tuberculosis*. *Drug Des Devel Ther*, 2017, 11: 909-921.
- [45] Vieira ACC, Chaves LL, Pinheiro M, et al. Mannosylated solid lipid nanoparticles for the selective delivery of rifampicin to macrophages. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2018, 46 Suppl 1: S 653-663.
- [46] Maretti E, Costantino L, Rustichelli C, et al. Surface engineering of Solid Lipid Nanoparticle assemblies by methyl alpha-D-mannopyranoside for the active targeting to macrophages in anti-tuberculosis inhalation therapy. *Int J Pharm*, 2017, 528 (1/2): 440-451.
- [47] Gao Y, Sarfraz MK, Clas SD, et al. Hyaluronic Acid-Tocopherol Succinate-Based Self-Assembling Micelles for Targeted Delivery of Rifampicin to Alveolar Macrophages. *J Biomed Nanotechnol*, 2015, 11(8): 1312-1329.
- [48] Lemmer Y, Kalombo L, Pietersen RD, et al. Mycolic acids, a promising mycobacterial ligand for targeting of nanoencapsulated drugs in tuberculosis. *J Control Release*, 2015, 211: 94-104.
- [49] Mustafa S, Devi VK, Pai RS. Effect of PEG and water-soluble chitosan coating on moxifloxacin-loaded PLGA long-circulating nanoparticles. *Drug Deliv Transl Res*, 2017, 7(1): 27-36.
- [50] Bharti S, Kaur G, Jain S, et al. Characteristics and mechanism associated with drug conjugated inorganic nanoparticles. *J Drug Target*, 2019, 27(8): 813-829.
- [51] Pi J, Shen L, Shen H, et al. Mannosylated graphene oxide as macrophage-targeted delivery system for enhanced intracellular *M. tuberculosis* killing efficiency. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2019, 103: 109777.
- [52] Costa A, Sarmento B, Seabra V. Mannose-functionalized solid lipid nanoparticles are effective in targeting alveolar macrophages. *Eur J Pharm Sci*, 2018, 114: 103-113.
- [53] Tukulula M, Gouveia L, Paixao P, et al. Functionalization of PLGA Nanoparticles with 1,3-β-glucan Enhances the Intracellular Pharmacokinetics of Rifampicin in Macrophages. *Pharm Res*, 2018, 35(6): 111.
- [54] Song X, Lin Q, Guo L, et al. Rifampicin loaded mannosylated cationic nanostructured lipid carriers for alveolar macrophage-specific delivery. *Pharm Res*, 2015, 32(5): 1741-1751.
- [55] Saraogi GK, Sharma B, Joshi B, et al. Mannosylated gelatin nanoparticles bearing isoniazid for effective management of tuberculosis. *J Drug Target*, 2011, 19(3): 219-227.
- [56] Jain SK, Gupta Y, Ramalingam L, et al. Lactose-Conjugated PLGA Nanoparticles for Enhanced Delivery of Rifampicin to the Lung for Effective Treatment of Pulmonary Tuberculosis. *PDA J Pharm Sci Technol*, 2010, 64(3): 278-287.
- [57] Doshi N, Mitragotri S. Macrophages recognize size and shape of their targets. *PLoS One*, 2010, 5(4): e10051.
- [58] Dua K, Rapalli VK, Shukla SD, et al. Multi-drug resistant *Mycobacterium tuberculosis* & oxidative stress complexity: Emerging need for novel drug delivery approaches. *Biomed Pharmacother*, 2018, 107: 1218-1229.

(收稿日期:2019-12-10)

(本文编辑:范永德)