

# 微胶囊及其在生物医学领域的应用

刘袖洞 何洋 刘群 雄鹰 付颖丽 马小军\* 虞星炬 袁权

(中国科学院大连化学物理研究所, 大连 116023. \* 联系人, Email: maxj@dicp.ac.cn)

**摘要** 微胶囊因其优良的免疫隔离性能和控制释放性能有望成为生物工程上游研究成果实用化、产业化的重要工具,推动组织细胞或重组细胞移植技术、基因治疗和蛋白质、多肽类生化药物尽快走向临床应用,为保障人类健康和生活质量做出积极贡献.对微胶囊的制备材料、方法及其结构、性能表征等基础研究和生物医学领域应用研究现状进行了评述,并对微胶囊的研究作了展望.

**关键词** 微胶囊 性能表征 免疫隔离 人工细胞 控制释放

微囊化技术是把分散的固体物质颗粒、液滴或气体完全包封在一层膜中形成球状微胶囊的一种技术. 20 世纪 50 年代 Green<sup>[1]</sup>在研制多纸复印系统时制备了包含染料的 NCR 型微胶囊. 60 年代,微囊化技术开始被广泛应用于制药业和日用化学工业,微囊化药物、燃料、香料、黏合剂等产品的研究日益增多. 它们基本上属于不透膜微胶囊,膜仅起隔离作用,只有在外部作用破坏掉微胶囊膜后,内含物才被释放出来. Chang<sup>[2]</sup>于 1957 年首次报道了生物活性物质的微囊化研究,将酶、蛋白质和激素等生物活性物质包封在选择性透过膜中,形成球状微胶囊,称之为“生物微胶囊”.通过微胶囊膜的选择透过作用,使囊外大于某一分子量的物质不能扩散进入,而生物环境中的营养成分和囊内生物活性物质或细胞分泌的小分子产物可以自由出入微胶囊,从而达到免疫隔离目的(图 1). 60 年代中期,Chang<sup>[3]</sup>又指出了生物微胶囊在临床及其他生物学应用上的可行性. 80 年代初, Lim 等人<sup>[4]</sup>将微囊化技术与组织细胞移植相结合,制备了具有良好生物相容性的海藻酸钠/聚赖氨酸(APA)微胶囊作为免疫隔离工具,包埋猪胰岛细胞形成“人工细胞”,并移植入糖尿病大鼠体内,结果表明该“人工细胞”成功地调节了血糖水平,代行了大鼠胰腺功能,因而被称为“人工胰腺”.这一研究成果较好地解决了组织细胞移植过程的免疫排斥问题,避免或减少了昂贵的免疫抑制剂的使用,为组织细胞移植治疗神经/内分泌系统疾病提供了新思路. 90 年代以来,医学界开始尝试以微胶囊作为基因重组细胞的免疫隔离和运载工具<sup>[5]</sup>,利用重组细胞的代谢产物调节机体生理功能,治疗相关疾病.目前,微胶囊的应用研究还涉及药物控制释放<sup>[6~9]</sup>、动植物细胞培养<sup>[10~13]</sup>、细胞和酶的固定化<sup>[14~17]</sup>以及生化物质分离<sup>[18~21]</sup>等领域,已经成为材料、化学、化工、生物和医学等多学科领域工作者的研究热点,具有广阔的应用前景.

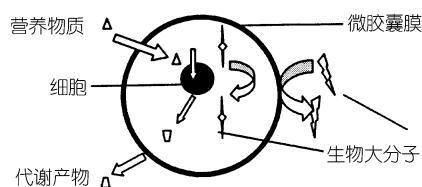


图 1 微胶囊示意图

## 1 微胶囊的制备

### 1.1 材料

材料是决定微胶囊性能的关键因素之一. 一般要求其成膜性能好,与包封物不发生反应,而且应具有一定的机械强度、稳定性;对于生物环境中应用的微胶囊,材料还要具备很好的生物相容性;有些情况下(如药物控释)则需要具有生物可降解性. 目前研究报道中使用的微

胶囊材料主要有天然、半合成和合成高分子 3 大类数十种(表 1).

| 表 1 微胶囊制备材料 |         |                                         |
|-------------|---------|-----------------------------------------|
|             | 类型      | 材料                                      |
| 天然          | 脂质      | 卵磷脂、神经鞘髓磷脂等                             |
|             | 多糖      | 海藻酸盐、壳聚糖、琼脂、淀粉等                         |
|             | 蛋白质     | 明胶、白蛋白、纤维蛋白                             |
| 半合成         | 纤维素类衍生物 | 羧甲基纤维素钠、已基纤维素、醋酸纤维素及其酯等                 |
| 合成          | 可降解型    | 乳酸/乙醇酸共聚物、聚正酯、聚内酯、聚酐、聚烷基氰基丙烯酸酯、聚氨基酸     |
|             | 非降解型    | 聚甲基丙烯酸甲酯、聚丙烯酰胺、聚酰胺、聚苯乙烯、乙烯醋酸乙酯共聚物、聚氯乙烯等 |

天然材料一般无毒、免疫原性低、生物相容性好、可降解且产物无毒副作用，是最常用的微胶囊制备材料，其中海藻酸盐、壳聚糖等天然多糖资源丰富、制备简单、价格便宜，极具开发潜力. 合成材料一般化学稳定性和成膜性好，应用研究较多的主要是乳酸/乙醇酸共聚物，它是目前惟一获准可用于人体的一类合成控(缓)释制剂材料<sup>[22]</sup>. 将天然材料与合成高分子混合作为微胶囊材料，既利用合成材料弥补天然材料强度上的不足，又利用天然材料弥补合成材料生物相容性较差的缺点，典型代表是海藻酸钠/聚赖氨酸微胶囊<sup>[4]</sup>，在动物实验中使用这种微胶囊包埋不同细胞形成的“人工细胞”取得了良好的治疗效果.

1.2 方法

Chang<sup>[2]</sup>于 1957 年首次报道了乳化、喷雾干燥和静电法 3 种微胶囊制备方法以来，微胶囊制备的新方法、新技术一直是众多研究者的方向之一. 目前已形成化学法、物理化学法和物理法 3 大类多种制备方法(表 2). 图 2 是对 80 年代以来研究报道中所使用的微胶囊制备方法的统计结果.

| 表 2 微胶囊的制备方法 |                        |
|--------------|------------------------|
|              | 制备方法                   |
| 化学法          | 界面聚合法、乳化法、辐射化学法        |
| 物理化学法        | 相分离法、溶剂蒸发法、界面沉积法、喷雾干燥法 |
| 物理法          | 静电沉积法、气相沉积法、流化床喷雾包衣法   |

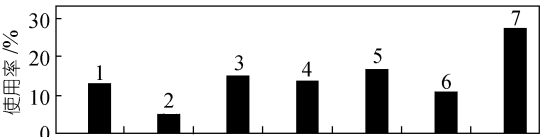


图 2 制备方法使用率比较  
1——乳化法, 2——静电法, 3——聚合法, 4——沉积法, 5——相分离法, 6——喷雾干燥法, 7——溶剂蒸发法

图 2 表明, 研究者多以溶剂蒸发法、相分离法、界面沉积法和喷雾干燥法等物理化学法以及聚合法和乳化法等化学法制备微胶囊. 这些方法通常需要高温条件, 或者使用破坏性有机溶剂, 而且反应剧烈, 对于那些日用化工行业内含物性质较稳定的体系而言基本上没有不良影响. 然而这些条件很难满足医药工业和生物技术领域中保持生物物质活性的要求. 另外, 一般应用中要求微胶囊尺寸均匀, 即具有较窄的粒径分布, 而上述方法制备的微胶囊通常粒径分布宽, 需要筛分过滤, 增加了工艺步骤和设备投资. 静电法通过电场中离子型物质间反应制备微胶囊, 过程比较温和. 然而应用并不普遍, 主要原因是该方法规模小, 产量通常为每小时数十毫升, 而且微胶囊粒径在 200 μm 以上, 不能满足对小粒径微胶囊的需要.

Lencki 等人<sup>[23]</sup>以离子型多糖物质为材料,提出了乳化/内部凝胶化方法,即以海藻酸盐和难溶钙盐混合悬浮液为分散相,以含有酸的油相为分散介质,形成乳化液,利用酸溶解难溶钙盐释放出  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  再与海藻酸盐生成海藻酸钙凝胶珠,实现了较温和条件下小粒径微胶囊的规模生产.

Benedetti 等人<sup>[24]</sup>利用超临界流体技术制得粒径小于  $20\text{ }\mu\text{m}$ , 甚至平均直径只有  $0.5\text{ }\mu\text{m}$  的微粒,并指出了该方法在制备药物释放体系中的应用前景.他们发现:超临界反溶剂  $\text{CO}_2$  为连续流体时,导致微粒聚结和纤维结构的形成,而为间歇流体时则形成球形微米粒子;温度实际上对粒子的形状和尺寸影响并不显著;而溶质浓度越高,生成的粒子聚结程度越低.

Nakashima 等人<sup>[25]</sup>制备出一种微孔玻璃膜(SPG),采用膜乳化方法制备出单分散性乳化液滴.受此启发,Muramatsu 等人<sup>[26]</sup>以白蛋白溶液为分散相,含有表面活性剂的煤油为分散介质制备出尺寸均一的乳化液滴,再经过加热使之变性固化得到白蛋白微球.研究发现,加热变性过程并不影响微球单分散性;白蛋白浓度越高,微球尺寸分布越宽,而浓度较低易形成非球形粒子;另外较高的变性温度利于形成较小的粒子.众多研究均表明就单分散性来说,膜乳化法优于任何传统的方法,而且通过选择膜孔径可以控制微胶囊的尺寸.

## 2 微胶囊结构与性能的特征

### 2.1 微胶囊膜结构及表面性质

微胶囊膜结构及表面性质的表征对了解微胶囊膜渗透性具有重要作用.利用传统的光学显微镜和扫描电子显微镜(SEM)<sup>[27]</sup>可以观测微胶囊形态、大小、膜厚、表面及断面显微结构.

近年来,出现借助现代仪器分析方法开展微胶囊膜结构及表面性质的研究报道. Levy 等人<sup>[28, 29]</sup>利用 Fourier 变换红外光谱(FTIR)分别考察了人血清白蛋白与对苯二酰氯表面交联制备微胶囊过程中 pH(5.9~11)、交联反应时间(2~60 min)对表面酞基、酯基、羧基等功能团吸收峰的影响. pH 升高导致酞基和酯基峰增强而羧基峰减弱,且在 pH=9 时得到表面粗糙直径  $< 15\text{ }\mu\text{m}$  的微胶囊;微胶囊进一步在 pH = 7.5 缓冲液中浸泡导致酞基消失而羧基增强酯基减弱,相应的微胶囊膜表面变得光滑,直径明显增大. 延长反应时间导致酯基、酞基峰增强而羧基峰减弱,反应 2 min 得到形状很好的球形颗粒,冻干后为表面光滑完整的卵形颗粒;反应 5 min 后为表面粗糙的球形颗粒,且时间越长,膜表面粒状物越多.

Xu 等人<sup>[30]</sup>利用原子力显微镜(AFM)对处于液体环境中的微胶囊表面三维形态进行了观测,考察了表面不同摩尔比的反凝胶和凝胶离子( $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ )对其表面形态和粗糙度的影响.  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  比值越高(分别为 0.9/1, 2.5/0.6, 4.5/0.6),微胶囊表面垂直方向最大高度( $Z_{\text{max}}$ )越低(相应为 488, 369 和 263 nm);且比值为 0.9/1, 2.5/0.6 的样品表面有皱缩,4.5/0.6 的样品则是光滑的,而光学显微镜仅观测到 0.9/1 的样品有皱缩,无法区分后两个样品. 我们使用两个参数,平面在垂直方向的偏离度( $R_a$ )及其平方根(RMS),对微胶囊表面粗糙度进行了定量评价,结果对应于  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  比值升高,  $R_a$  和 RMS 均降低,即微胶囊表面粗糙度降低.

Asaki 等人<sup>[31]</sup>制备了含有海藻酸作为水溶性大分子配基的聚酰胺微胶囊,萃取铜、钴、镍、银等金属离子,实验中发现不仅微胶囊内部的配基,而且微胶囊膜本身都能够吸附累积金属离子. 他们利用 X 射线光电子谱(XPS)分析了微胶囊表面组成,发现海藻酸配基的一些功能团穿过微胶囊膜分布于表面,所以膜表面也能富集金属离子.

## 2.2 微胶囊的物理化学性能

微胶囊膜具有保护膜内物质和控制膜内、外物质跨膜传递的双重作用,是微胶囊物理化学性能的决定因素.膜强度和膜渗透性是通常用于表征微胶囊膜物理化学性能的主要参数.

**2.2.1 微胶囊膜强度** 膜强度大小决定了微胶囊在生物环境停留期间能否保持基本完整,从而保证囊内细胞或物质活性,是微胶囊的重要性能之一,但至今仍未建立微胶囊膜强度的直接测试方法.

Jay 等人<sup>[32]</sup>采用泡形弹性计对含有血红蛋白的聚己撑癸二酰胺微胶囊的膜强度进行了定量研究,他将与可调水银柱相连通的微量滴管伸到悬浮在水中的微胶囊表面上,通过改变汞柱高度的方法将膜的小舌吸入微量滴管内,测定膜表面张力,从而表征膜强度.

Zhang 等人<sup>[33]</sup>把测定细胞强度的微控制方法引入微胶囊膜强度的测定研究,即将微胶囊置于两水平探头间,采用挤压方法测定破碎微胶囊所需的破碎力.测得典型微胶囊的破碎力一般在  $5\sim 20\ \mu\text{N}$ ,而且还给出了单个微胶囊的直径.

一般认为,微胶囊膜强度是膜厚和膜弹性的综合结果,而相同条件下制备的微胶囊,其膜强度与膜厚之间成正比关系,所以通过对微胶囊膜厚的评价即可定性地表征微胶囊膜的强度.马小军等人<sup>[34]</sup>在假设微胶囊尺寸均匀和膜内液体密度  $D_i$  与微胶囊密度  $D_w$  相等的情况下,建立了微胶囊湿态膜厚的定量计算方法:

$$L = R\{1 - [(W_w - W_m) / W_w]^{1/3}\},$$

通过实验手段测定微胶囊总重  $W_w$ ,微胶囊湿态膜重  $W_m$  和微胶囊平均半径  $R$ ,即可确定微胶囊湿态膜厚  $L$ ,从而定性表征膜强度.而且,他们还发现:微胶囊制备过程中体积膨胀率与膜厚之间成反比关系,进而可以推出体积膨胀率与膜强度成反比关系,定义体积膨胀率为

$$S(\%) = 100 [(V(\text{胶囊}) - V(\text{胶珠}) / V(\text{胶珠})],$$

通过实验手段测定微胶囊体积  $V(\text{胶囊})$  和胶珠体积  $V(\text{胶珠})$ ,即可计算出体积膨胀率,同样可定性表征膜强度.

**2.2.2 微胶囊膜渗透性** 膜的渗透性是微胶囊的另一重要性能,尤其对于生物环境中应用的微胶囊来说,了解膜渗透性更为重要.生物环境中营养物质能否扩散进入微胶囊,细胞代谢产物能否扩散出微胶囊,微胶囊能否隔离具有杀伤性的抗体等性能都将影响微胶囊内生物物质的活性.因而膜的渗透性是决定微囊化技术能否用于临床移植治疗或细胞培养的关键.目前,国际上普遍使用截留分子量<sup>[35]</sup>,即不能透过微胶囊膜的蛋白质的最低分子量,来衡量微胶囊的渗透特性.但是,截留分子量只反映了微胶囊膜对不同分子量溶质的阻隔能力,不能反映低于截留分子量的各种溶质的渗透速率等特性,因而它作为表征微胶囊膜渗透特性的手段显得不够准确也不够全面.

Jalsenjak 和 Uno 等人<sup>[36, 37]</sup>建立了平板膜模型,使用渗透率来衡量微胶囊膜的渗透性,分别利用 NaCl 扩散进入水相分离法制备的明胶——阿拉伯树胶微胶囊以及苯巴比妥扩散进入乙基纤维素微胶囊的实验数据对模型进行了验证,认为物质扩散通过微胶囊膜的机理主要是溶解-扩散作用.

Kwok 等人<sup>[38]</sup>建立了海藻酸钠/聚赖氨酸微胶囊的物质扩散模型,对物质跨膜传递现象作

了理论预测. 他们利用牛血清白蛋白扩散实验数据与模型计算所得扩散系数进行了对比, 结果比较吻合.

解玉冰等人<sup>[39]</sup>综合膜分离技术中表示超滤、微滤和透析过程分离透过特性的物化参数, 使用膜相扩散系数、截留率、截留分子量等参数较为全面地表征了微胶囊膜的渗透性, 并建立了非稳态球形渗透扩散模型, 从理论上对微胶囊膜的物质传递特性进行了分析, 认为 APA 微胶囊内外物质扩散阻力主要集中在膜上. 进而利用葡萄糖扩散进入海藻酸钠/聚赖氨酸微胶囊的实验数据拟合, 求算出其膜相有效扩散系数, 从而对葡萄糖的膜内浓度分布有所了解.

何洋等人<sup>[40]</sup>在非稳态球形渗透扩散模型基础上, 提出膜扩散阻力特性参数和膜内基质分配系数, 重新建立了蛋白质在 APA 微胶囊中的扩散数学模型. 该模型一方面消除了原模型在编程差分拟合中需调整初值以防结果发散的问题, 利于大批数据处理; 另一方面清晰地反映出制备条件对物质扩散性质的影响, 为 APA 微胶囊制备条件的优化提供了重要的理论依据.

但是上述基础研究大都是对微胶囊膜性能初步的、静态的表征, 相关的应用环境中微胶囊膜行为动态过程规律的研究是相对薄弱的一环, 这一方面的研究工作有待加强.

### 2.3 微胶囊生物相容性

对于生物环境中应用的微胶囊来说, 其主要目的是保护并运载生物活性物质或细胞进入生物体内发挥一定的功能, 因而其材料除应具备一定的物理化学性能外, 还必须具备生物相容性, 即材料在特定应用环境中, 引起适当宿主反应和产生有效作用的能力. 它决定于材料和活体系统间的相互作用, 要求材料尽可能不引起生物体异常反应(如炎症、过敏等), 生物体对材料性能也不产生较大影响(如强度降低、老化等).

Miller 等人<sup>[41]</sup>通过体外细胞培养和动物体内模型考察了组织/材料界面的细胞相互作用, 发现一些材料能不同程度地激活单细胞/巨噬细胞分泌具有不同生物活性的蛋白质, 如白细胞介素-1 和一种促纤维细胞增殖及胶原质合成的调节因子, 而正是这些物质在宿主反应中起了决定性作用.

Gin 等人<sup>[42]</sup>分别考察了植入大鼠腹腔和脾脏的聚丙烯酰胺微胶囊的生物相容性. 微胶囊在整个 20 周植入期内每 4 周回收检测一次, 结果发现腹腔中微胶囊保持很好的独立性, 而脾脏中的微胶囊引起了轻微的炎症反应, 进而发现这是微胶囊吸附了纤维细胞并促进其生长的结果.

研究表明, 在微囊化 Langerhans 胰岛细胞移植实验中囊周宿主反应常最终导致移植失败. Robitaille 等人<sup>[43]</sup>将海藻酸钠/聚赖氨酸微胶囊移植入大鼠附睾脂肪垫, 考察了细胞因子在宿主反应机理中的作用. 在移植 14 d 后检测了转生长因子 $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ ) 基因的表达情况, 发现在囊周浸润物包含的细胞中细胞因子 TGF- $\beta_1$  mRNA 水平明显高于非移植组织细胞和盐水注射组织细胞中的水平. 这表明 TGF- $\beta_1$  在宿主反应中起了一定的作用. 同样的方法可用于研究其他成纤维细胞因子的作用机理, 从而可通过控制其水平而控制囊周宿主反应, 以获得理想的移植效果.

由于生物相容性的研究涉及多学科交叉的综合性因素, 是十分复杂的, 所以人们对生物相容性的认识基本上还是经验性的. 如何从本质上认识生物相容性问题, 进而指导成膜材料的选择仍将是微胶囊研究中的主要课题之一.

3 微胶囊在生物医学领域的应用研究

3.1 在临床医学中的应用研究

人体器官和组织缺损或衰竭正日益成为威胁人类健康乃至生命的突出问题. 同种或异种器官移植是世界医学界对付器官衰竭的主要手段, 当前心脏和肾脏等器官整体移植手术的成功率已经相当高, 挽救了许多患者的生命. 但是供体来源有限和机体免疫排斥反应限制了其应用和发展. 在器官供体来源严重匮乏的情况下, 人们研制了人工器官, 即人造的装置或机器(如人工心脏和人工肾), 它们可以替代人体有缺陷的部位, 完成复杂的任务以维持生命. 另一方面, 糖尿病、帕金森氏症、早老性痴呆、肝功能障碍、甲状腺功能减退和侏儒症等神经/内分泌系统疾病则是部分组织细胞功能丧失引起的, 如糖尿病是因为患者自身免疫系统选择性地破坏了分泌胰岛素的胰腺细胞, 导致胰岛素分泌不足, 血糖水平升高<sup>[30]</sup>. 对此类疾病目前尚无法实现相关的整体器官移植, 只能期望通过组织细胞水平移植得以治疗. 这时裸露的组织细胞移植入体内又将遇到强烈的机体免疫排斥反应. 微胶囊则依靠膜的隔离保护性能和选择透过作用, 可以保证生物活性物质扩散通过, 抗体或免疫细胞被截留隔离, 从而在生理上避免了个体的免疫排斥, 成为解决组织细胞移植过程免疫排斥问题的理想手段, 因而引起众多研究者的兴趣(表 3).

表 3 微胶囊临床前应用研究

| 细胞        | 病症       | 对象   | 效果                                | 文献   |
|-----------|----------|------|-----------------------------------|------|
| 胰岛细胞      | 糖尿病      | 大鼠   | 成功调节血糖浓度, 维持一定时期                  | [4]  |
| 肝细胞       | 肝功能障碍    | 大鼠   | 肝功能明显好转                           | [44] |
| 甲状腺细胞     | 甲状旁腺功能低下 | 大鼠   | 血钙浓度等指标接近正常                       | [45] |
| PC12 细胞   | 帕金森氏症    | 猪、大鼠 | 存活 > 4 周, 明显纠正异常旋转行为              | [46] |
| 胰岛细胞      | 糖尿病      | 猴    | 控制了血糖水平, 改善了糖基化血红蛋白、血浆胆固醇水平及肾、眼功能 | [47] |
| 肾上腺髓质嗜铬细胞 | 癌症疼痛     | 人    | 患者疼痛减轻, 杜冷丁注射次数减少, 持续时间 > 60 d    | [48] |

继糖尿病大鼠模型取得进展之后, Sun 等人<sup>[47]</sup>实验室又进行了灵长类糖尿病动物模型的研究. 他们将 APA 微囊化猪胰岛细胞移植入 9 只自发性糖尿病猴的腹腔中, 7 只病猴在不注射胰岛素的情况下维持正常血糖水平 4 个月以上, 最长达 804 d. 进一步检测发现受试猴体内葡萄糖清除率和胰岛素分泌量明显高于移植前. 血糖正常 3 个月后从两只病猴体内回收得到完整的微胶囊且没有细胞过度生长的迹象, 囊内胰岛清晰可见. 而且移植入体内长达两年的微胶囊对两只病猴器官无不良影响.

薛毅珑等人<sup>[49]</sup>以右侧帕金森氏症病样大鼠和猴为模型, 分别将 APA 微囊化和非微囊化牛肾上腺嗜铬细胞(BCC)及空微囊定向植入右侧脑纹状体内, 结果表明植入的微囊化 BCC 能在动物脑内存活、分泌多巴胺(一种神经化学信号物质, 帕金森氏症就是中脑黑质多巴胺能神经元变性减少, 不能正常分泌多巴胺造成的)等单胺类物质并纠正帕金森病样大鼠和猴的异常行为(偏侧旋转), 作用超过 10 个月. 非囊化 BCC 仅能改变部分动物的偏侧旋转, 且作用时间基本只能持续 1 个月; 空微囊组则与对照组模型一样, 症状没有改善.

甲状腺功能减退症是由多种原因引起的甲状腺激素(TH)合成、分泌或生物效应不足所致

的一种内分泌疾病. 其中占 90%以上的是由免疫反应或病毒感染、放疗和缺碘等引起的甲状腺组织破坏. 吴美慧等人<sup>[50]</sup>以甲状腺功能减退大鼠为模型, 进行 APA 微囊化和非微胶囊化猪甲状腺组织移植治疗. 微囊化甲状腺组织显著提高了受体  $T_3$ ,  $T_4$  水平, 降低了促甲状腺激素 (TSH) 水平且作用持续超过 40 周, 且微胶囊回收率 100%, 回收的微囊化甲状腺组织存活率达 80%. 非囊化甲状腺组织在初期也明显改善上述指标, 但 9 周后均回复到了移植前的水平.

上述临床前动物研究均表明: 采用一定材料、方法制成的微胶囊本身并不具备治疗疾病的作用, 但能保证囊内包埋的细胞存活且正常代谢、应答式分泌有效物质, 如胰岛素、多巴胺和甲状腺激素等, 从而达到治疗疾病的目的; 微胶囊膜的选择透过作用可以保证细胞分泌的有效物质扩散进入生物体内发挥生理功能, 而将免疫球蛋白等抗体阻隔在囊外, 避免了异种移植中最棘手的免疫排斥问题. 临床应用的主要技术问题一是获取高产量、高活性、高纯度的供体组织细胞; 二是作为免疫隔离工具的微胶囊材料的生物相容性; 三是微囊化细胞的大规模培养和保存.

### 3.2 在生化药物控制释放中的应用研究

蛋白质和多肽类大分子生化物质(如生长激素、胰岛素、肝素、干扰素、白细胞介素等)由于在侏儒症、糖尿病、肝硬化以及许多癌症等难以治愈疾病的治疗过程中表现出药理作用强、副作用少且很少引起过敏反应的特点而备受重视. 另一方面, 重组 DNA 技术的出现使得具有疗效的蛋白质的规模生产成为现实<sup>[51]</sup>. 然而由于此类生化药物稳定性差, 采用传统口服给药后在人体胃肠道内易被酶降解, 所以目前多限于注射给药, 如胰岛素在其被发现 75 年之后仍只是以注射途径治疗糖尿病<sup>[52]</sup>. 另外, 此类药物体内半衰期短, 以至于不得不多次注射以维持疗效. 此外在非保护状态下这类药物的生物利用度通常很低( $< 5\%$ ), 不能获得满意的疗效. 所以, 开发适于蛋白质和多肽类生化药物的释放体系已成为重要的研究方向. 微胶囊膜能最大程度地保持囊内生化物质活性, 且通过调节制备条件可以控制微胶囊膜的厚度和孔尺寸, 从而实现囊内生化药物的控释或缓释.

Redding 等人<sup>[53]</sup>将黄体激素(LHRH)包埋于乳酸-乙醇酸共聚物(PLGA)微胶囊中, 采取肌肉注射途径实现该肽在大鼠体内持续释放 30 d 以上, 显著降低了雄激素依赖型前列腺瘤的重量和体积, 成功抑制了大鼠血清中睾酮水平, 而且效果优于每天皮下注射等量或双倍剂量的未包囊激素.

纤维原细胞生长因子具有刺激细胞生长和组织修复的功能, 传统的基于聚合物基质的释放体系虽然能实现缓释, 但其 99%的分裂活性将丧失. Edelman 等人<sup>[54]</sup>将其与肝素-琼脂糖凝胶珠键合以便于长期稳定保存, 再以海藻酸钠包囊, 然后在肝素酶酶解断键作用下实现了该因子以活性状态的控制释放.

Johnson 等人<sup>[55]</sup>将重组人生长激素包埋于 PLGA 微球中, 经皮下注射入大鼠和恒河猴体内, 实验结果表明微囊化激素性质稳定, 动物血清中重组人生长激素维持高水平达 30 d 以上, 是等量该激素以溶液形式经皮下注射后维持时间的 20 倍.

Takada 等人<sup>[56]</sup>设计了 leuporelin 的微胶囊控制释放体系, 以大鼠和狗为动物模型, 一次注射即可实现 30 d 内维持血清中稳定的 leuporelin 水平. 该微囊化 leuporelin 对前列腺癌、子宫内膜异位及性激素依赖型疾病的临床疗效已在 60 多个国家得到了证实.

Isobe 等人<sup>[57]</sup>将重组人骨形成蛋白包埋于乳酸-乙醇酸共聚物微胶囊中并移植入大鼠皮下,经组织化学检测发现随着骨形成蛋白的释放,具有碱性磷酸酶活性的骨诱导细胞出现在胶囊周围,而且在异位骨诱导形成过程中并不生成软骨,该结果表明骨形成蛋白的作用是诱导间质细胞分化为成骨细胞。

另外对干扰素<sup>[58]</sup>、促甲状腺素<sup>[59]</sup>、人类免疫缺损疫苗<sup>[60]</sup>等物质释放体系的研究结果均表明微胶囊(微球、微粒)可以起到控(缓)释作用,保护了药物的生物活性,延长了半衰期,提高了稳定性,不同程度地提高了药物的生物利用度。临床应用的主要技术问题一是如何更好地保持囊内蛋白质的生物活性;二是作为控制释放载体的微胶囊材料的生物相容性;三是开发条件温和且易于规模化生产的微胶囊制备技术。

## 4 展望

微胶囊包埋组织细胞或生化药物的临床前研究已经向人类展示了美好的应用前景,相信随着化学、化工、材料、生物和医学等学科领域的不断结合与发展,微胶囊技术研究必将取得重大进展。满足不同应用环境需求的材料开发及加工和改性技术日趋成熟,条件温和且易于规模化生产的制备技术及专项仪器与设备的开发成功将为微胶囊的临床应用提供更加有力的技术支持;对微胶囊制备条件-膜结构-性能的关系,应用环境中的动态行为变化规律,膜内外物质传递规律以及生物相容性的化学本质的认识更加深入,将为微胶囊的临床应用奠定坚实的理论基础。在基础研究的推动下,微胶囊的应用研究也将进入快速发展时期。未来 5~10 年内,微囊化人工细胞(人工器官)移植治疗帕金森氏症、糖尿病等神经/内分泌系统疾病有望进入临床实验;若干种微囊化生化药物、抗癌药物和伴终身类药物控释体系实现产业化;微囊化人工细胞及获取其代谢产物为生化药物的应用将进一步推动细胞培养技术的发展。同时微胶囊有望成为基因的运载工具,推动基因治疗的临床应用,如微囊化重组神经生长因子治疗老年性痴呆,微囊化重组人生长激素基因治疗侏儒症等。另外与微胶囊有关的生物材料的其他临床应用,如眼球填充用人工晶体,愈合性脑组织外膜、促牙龈外周组织生长用膜等以及微胶囊在生化分离、香精、香料和农药、化肥等其他领域中的研究和应用都将有所突破。

致谢 本工作为国家自然科学基金资助项目(批准号:29906011)。

## 参 考 文 献

- 1 Green B K. Pressure-sensitive record material. US Patent, 2,712, 507. 1955
- 2 Chang T M S. Hemoglobin corpuscles. Research Report for Honours Physiology. Medical Library, McGill University, 1957
- 3 Chang T M S. Semipermeable microcapsules. Science, 1964, 146: 524~525
- 4 Lim F, Sun A M. Microencapsulated islets as bioartificial endocrine pancreas. Science, 1980, 210: 908~909
- 5 Basic D, Vacek I, Sun A M. Microencapsulation and transplantation of genetically engineered cells: a new approach to somatic gene therapy. Art Cells Blood Subs Immob Biotechnol, 1996, 24(3): 219~255
- 6 Sanchez A, Gupta R K, Alonso M J, et al. Pulsed controlled-released system for potential use in vaccine delivery. J Pharm Sci, 1996, 85(6): 547~552
- 7 卢凤琦, 曹宗顺, 王春香, 等. 壳聚糖-海藻酸盐微囊对尼莫地平的缓释作用. 中国药学杂志, 1996, 31(9): 555~556
- 8 冯 鹏, 王亦农, 马建标, 等. 肽类药物口服剂型材料及控制释放性能研究: I. 壳聚糖-海藻酸盐微囊对胰岛素的控释作用. 离子交换与吸附, 1999, 15(1): 64~70
- 9 Kader A, Jalil R. Formulation factors affecting drug release from poly(lactic acid) (PLA) microcapsule tablets. Drug Dev Ind Pharm, 1999, 25(2): 141~151
- 10 Tyler J E. Microencapsulation of mammalian cells. Bioprocess Technol, 1990, 10: 343~361

- 11 Knorr D, Pandya Y, Doernenburg H. Immobilization of plant cell cultures in complex coacervate capsules for secondary metabolite production. *Food Biotechnol*, 1990, 4(1): 409~420
- 12 吉鑫松, 陈国荣, 朱冬发, 等. 动物细胞的微囊化培养. 见: 刘国诨主编. 生物工程下游技术——细胞培养、分离纯化、分析检测. 北京: 化学工业出版社, 1993. 58~64
- 13 Yuet P K, Harris T J, Goosen M F A. Mathematical modelling of immobilized animal cell growth. *Art Cells Blood Subs Immob Biotechnol*, 1995, 23(1): 109~133
- 14 Chang H N, Seong G H, Yoo I K, et al. Microencapsulation of recombinant *Saccharomyces cerevisiae* cells with invertase activity in liquid-core alginate capsules. *Biotechnol Bioeng*, 1996, 51: 157~162
- 15 Awrey D E, Tse M, Hortelano G, et al. Permeability of alginate microcapsules to secretory recombinant gene products. *Biotechnol Bioeng*, 1996, 52: 472~484
- 16 Tin S S H, Boadi D K, Neufeld R J. DNA encapsulation by an air-alginate liquid-liquid mixer. *Biotechnol Bioeng*, 1997, 56: 464~470
- 17 姚善汪. 新型生物微胶囊体系的生物相容性研究. *生物工程学报*, 1998, 14(2): 193~197
- 18 Daugulis A J, Weight C P, Goosen M F A, et al. Affinity separations using microcapsules. In: Pyle D L, ed. *Sep Biotechnol*. 2nd ed. London: Elsevier, 1990. 315~324
- 19 Li Q, Zhu J, Daugulis A J, et al. Polysaccharide microcapsules and macroporous beads for enhanced chromatographic separation. *Biomater Artif Cells Immobilization Biotechnol*, 1993, 21(3): 391~398
- 20 Achaw O W, Goosen M F A. Affinity microcapsules: chitosan-alginate membrane stability and isolation of bovine serum albumin. *Polym Prepr*, 1994, 35(2): 75~76
- 21 Goosen M F A, Achaw O W, Grandmaison E W. Chitosan-alginate affinity microcapsules for isolation of bovine serum albumin. *Appl Chitin Chitosan*, 1997, 233~254
- 22 Cleland J L. Protein delivery from biodegradable microspheres. *Pharm Biotechnol*, 1997, 10: 1~43
- 23 Lencki R W J, Neufeld R J, Spinney T, et al. Microspheres and method of producing same. US Patent, 4,822, 534. 1989
- 24 Benedetti L, Bertuccio A, Pallado P, et al. Production of micronic particles of biocompatible polymer using supercritical carbon dioxide. *Biotechnol Bioeng*, 1997, 53: 232~237
- 25 Nakashima T, Shimizu M, Kukizaki M. Preparation of monodisperse w/o emulsion by membrane emulsification. In: Abstracts of 44th Symposium on Colloid and Interface Science. Tokyo: Chem Soc, 1991. 468~469
- 26 Muramatsu N, Shiga K, Kondo T. Preparation of polyamide microcapsules having narrow size distributions. *J Microencap*, 1994, 11(2): 171~178
- 27 Goosen M F A, O'Shea G M, Gharapetian H M, et al. Optimization of microencapsulation parameters: semipermeable microcapsules as a bioartificial pancreas. *Biotechnol Bioeng*, 1985, 27: 146~150
- 28 Levy M C, Lefebvre S, Rahmouni M, et al. Fourier transform infrared spectroscopic studies of human serum albumin microcapsules prepared by interfacial cross linking with terephthaloylchloride: influence of polycondensation pH on spectra and relation with microcapsule morphology and size. *J Pharm Sci*, 1991, 80(6): 578~585
- 29 Levy M C, Lefebvre S, Andry M C, et al. Fourier transform infrared spectroscopic studies of human serum albumin microcapsules: 2. Influence of reaction time on spectra and correlation with microcapsule morphology and size. *J Pharm Sci*, 1994, 83(3): 419~422
- 30 Xu K Y, Hercules D M, Lacik I, et al. Atomic force microscopy used for the surface characterization of microcapsule immunoisolation devices. *J Biomed Mater Res*, 1998, 41(3): 461~467
- 31 Asaki M, Ichinose T, Monjushiroh H, et al. Polyamide microcapsules containing alginic acid: extractability of metal ions and surface characterization by XPS. *J Microencap*, 1998, 15(4): 453~463
- 32 Jay A W L, Edwards M A. Mechanical properties of semipermeable microcapsules. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 1968, 46: 731~737
- 33 Zhang Z, Saunders R, Thomas C R. Micromanipulation measurement of the bursting strength of single microcapsule. The 1994 IChemE Research Event. Rugby: Inst Chem Eng, 1994. 722~724
- 34 马小军, 解玉冰, 周 丽, 等. APA 微胶囊的制备条件与膜强度的关系. *中华器官移植杂志*, 1995, 16(4): 159~161
- 35 Goosen M F A, King G A, Mcknight C A, et al. Animal cell culture engineering using alginate polycation microcapsules of controlled membrane molecular weight cut-off. *J Membr Sci*, 1989, 41: 323~343

- 36 Jalsenjak I, Kondo T. Effect of capsule size on permeability of gelatin-acacia microcapsules toward sodium chloride. *J Pharm Sci*, 1981, 70(4): 456~457
- 37 Uno K, Arakawa M, Kondo T, et al. Permeability of ethylcellulose microcapsules towards phenobarbital. *J Microencap*, 1984, 1(4): 335~341
- 38 Kwok W Y, Kiparissides C, Goosen M F A, et al. Mathematical modelling of protein diffusion in microcapsules: a comparison with experimental results. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 1991, 69: 361~370
- 39 解玉冰, 马小军, 王毓福, 等. 生物微胶囊传递模型的研究. *膜科学与技术*, 1997, 17(4): 51~56
- 40 何洋, 解玉冰, 王勇, 等. APA微胶囊扩散数学模型的改进. *高等学校化学学报*, 2000, 21(2): 278~282
- 41 Miller K M, Rose-Caprara V, Anderson J M. Generation of IL-1-like activity in response to biomedical polymer implants: a comparison of in vitro and in vivo model. *J Biomed Mater Res*, 1989, 23(9): 1007~1026
- 42 Gin H, Dupuy B, Bonnemaïson-Bourignon D, et al. Biocompatibility of polyacrylamide microcapsules implanted in peritoneal cavity or spleen of the rat. Effect on various inflammatory reactions in vitro. *Biomater Artif Cells Artif Organs*, 1990, 18(1): 25~42
- 43 Robitaille R, Leblond F A, Henley N, et al. Alginate-poly-L-lysine microcapsule biocompatibility: a novel RT-PCR method for cytokine gene expression analysis in pericapsular infiltrates. *J Biomed Mater Res*, 1999, 45(3): 223~230
- 44 Wang H, Chang T M S. The viability and regeneration of artificial cell microencapsulated rat hepatocyte xenograft transplants in mice. *Biomater Artif Cells Artif Organs*, 1988, 16: 731~739
- 45 Fu X W, Sun A M. Microencapsulated parathyroid cells as abioartificial parathyroid. In vivo studies. *Transplantation*, 1989, 47(3): 432~435
- 46 Winn S R, Tresco P A, Zielinski B, et al. Behavioral recovery following intrastriatal implantation of microencapsulated PC12 cells. *Exp Neurol*, 1991, 113(3): 322~329
- 47 Sun Y, Ma X, Sun A M, et al. Normalization of diabetes in spontaneously diabetic cynomolgus monkeys by xenografts of microencapsulated porcine islets without immunosuppression. *J Clin Invest*, 1996, 98(6): 1417~1422
- 48 何立敏, 薛毅琰, 黎立, 等. 微囊化牛嗜铬细胞移植于脊髓蛛网膜下镇痛作用的研究. *解放军医学杂志*, 1999, 24(4): 248~250
- 49 薛毅琰, 王振福, 李新建, 等. 微囊化牛肾上腺髓质嗜铬细胞脑内移植治疗偏侧帕金森病样大鼠及猴的实验研究. *解放军医学杂志*, 1999, 24(4): 238~241
- 50 吴美慧, 张晓梅, 郝金盛, 等. 微囊化猪甲状腺组织移植治疗甲状腺功能减退大鼠的实验研究. *解放军医学杂志*, 1999, 24(4): 242~244
- 51 Sadée W. Protein drugs: a revolution in therapy. *Pharm Res*, 1986, 3: 3~6
- 52 Davis S S. Delivery systems for biopharmaceuticals. *J Pharm Pharmacol*, 1992, 44(Suppl 1): 186~190
- 53 Redding T W, Schally A V, Tice T R, et al. Long-acting delivery systems for peptides: inhibition of rat prostate tumors by controlled release of [D-Trp6] luteinizing hormone-releasing hormone from injectable microcapsules. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1984, 81(18): 5845~5848
- 54 Edelman E R, Mathiowitz E, Langer R, et al. Controlled and modulated release of basic fibroblast growth factor. *Biomaterials*, 1991, 12(7): 619~626
- 55 Johnson O L, Jaworowicz W, Cleland J L, et al. The stabilization and encapsulation of human growth hormone into biodegradable microspheres. *Pharm Res*, 1997, 14(6): 730~735
- 56 Takada S, Ogawa Y. Design and development of controlled release of drugs from injectable microcapsules. *Nippon Rinsho*, 1998, 56(3): 675~679
- 57 Isobe M, Yamazaki Y, Mori M, et al. The role of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in PLGA capsules at an extraskeletal site of the rat. *J Biomed Mater Res*, 1999, 45(1): 36~41
- 58 Pitt C G. The controlled parenteral delivery of polypeptides and proteins. *Int J Pharm*, 1990, 59: 173~196
- 59 Heya T, Okada H, Ogawa Y, et al. Factors influencing the profiles of TRH release from copoly (D, L-lactic/glycolic acid) microspheres. *Int J Pharm*, 1991, 72: 199~205
- 60 Singh M, McGee J P, Li X M, et al. Biodegradable microparticles with an entrapped branched octameric peptide as a controlled-release HIV-1 vaccine. *J Pharm Sci*, 1997, 86(11): 1229~1233

(2000-03-20 收稿, 2000-08-14 收修改稿)