

聚合物胶束在动脉粥样硬化诊断和治疗中的应用进展

卢志扬¹, 李昊城¹, 程勤^{1,2}, 金一¹, 奉建芳¹, 涂亮星^{1*} (1.江西中医药大学中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 南昌 330006; 2.江西中医药大学附属医院, 南昌 330006)

摘要: 随着人类疾病谱的变化, 动脉粥样硬化在全世界范围内呈现高发态势。动脉粥样硬化性疾病及其所导致的其他疾病, 如冠状动脉病、心绞痛、心脏病发作和中风等已成为人类主要的致死病因。目前, 已有众多的研究者将纳米技术用于动脉粥样硬化的诊断和治疗中, 以实现动脉粥样硬化病变部位的可视化、提高药物靶向治疗效果和延长药物体内循环时间等功效。在这些纳米技术中, 聚合物胶束因其对药物的包封率高、制备方便、体内滞留时间长、生物相容性好等优点得到了广泛的应用。因此, 本文综述了聚合物胶束在动脉粥样硬化中的成像技术及结合成像技术进行诊断的应用, 并对胶束在靶向内皮细胞、巨噬细胞、斑块的纤维帽、氧化应激等治疗动脉粥样硬化的策略方面进行了总结, 并提出了建议和展望。

关键词: 动脉粥样硬化; 胶束; 治疗; 诊断

中图分类号: R943

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2023)04-0569-08

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2023.04.022

引用本文: 卢志扬, 李昊城, 程勤, 等. 聚合物胶束在动脉粥样硬化诊断和治疗中的应用进展[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(4): 569-576.

Application Progress of Polymeric Micelles for the Diagnosis and Treatment of Atherosclerosis

LU Zhiyang¹, LI Haocheng¹, CHENG Meng^{1,2}, JIN Yi¹, FENG Jianfang¹, TU Liangxing^{1*} (1. National Pharmaceutical Engineering Center for Solid Preparation in Chinese Herb Medicine, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330006, China; 2. Affiliated Hospital of Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330006, China)

ABSTRACT: With the change of the human disease spectrum, atherosclerosis shows a high incidence worldwide. Atherosclerosis diseases and other diseases caused by atherosclerosis, such as coronary artery disease, angina pectoris, heart attacks and stroke, have become the main cause of death in human beings. At present, numerous researchers have applied nanotechnology on the diagnosis and treatment of atherosclerosis, to realize visualization of atherosclerotic lesions, and enhance target efficacy and circulation time. Among these nanotechnologies, polymeric micelles have been used widely because of their high encapsulation efficiency of drugs, convenient fabrication, prolonged retention time and good biocompatibility. Therefore, this review summarized the imaging technology of polymer micelles in atherosclerosis and the application of imaging techniques in the diagnosis of atherosclerosis, and summarized the strategies of micelles in targeting endothelial cells, macrophages, the fibrous cap of plaques and oxidative stress in the treatment of atherosclerosis, proposed suggestions and perspectives.

KEYWORDS: atherosclerosis; micelles; diagnosis; treatment

动脉粥样硬化是大部分不良心血管疾病如冠心病、心脏病和中风等的主要诱因^[1]。动脉粥样硬化是一种复杂的疾病, 受遗传、环境和系统因素等因素的影响, 其发生涉及许多过程, 包括低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)滞留, 炎症细胞募集, 泡沫细胞的形成、凋亡和坏死, 平滑肌细胞的增殖和基质的合成, 钙化, 血管生成, 动脉重塑, 纤维帽破裂, 血栓形成等^[2]。慢性炎症是动脉粥样硬化的主要特征之一^[3]。炎症反应首先损伤正常内皮细胞, 引起动脉粥样硬化形成, 然后参与斑块形成和斑块破裂的过程^[4]。目前, 治疗动

脉粥样硬化的方法包括使用胆固醇调节药物(如他汀、依折麦布和 PCSK9 单克隆抗体)、抗凝药物(如利伐沙班和华法林)、抗血小板药物(如阿司匹林和氯吡格雷)以及健康的生活方式(如戒烟、合理饮食和体育锻炼)^[5]。然而由于如他汀类药物引起的肌痛和抗血小板药物引起的出血等不可避免的不良反应, 导致动脉粥样硬化患者的这些治疗方法受到了较大的影响。

树枝状大分子^[6]、脂质体^[7]、氧化铁纳米颗粒^[8]、量子点^[9]和胶束等纳米粒子都已被用于动脉粥样硬化的治疗和诊断, 可用来提高治疗效果和减

基金项目: 江西省卫生健康委科技计划项目(202131038); 江西中医药大学“1050”青年人才工程项目(5142001012)

作者简介: 卢志扬, 男, 硕士生

E-mail: 1136429509@163.com

*通信作者: 涂亮星, 男, 博士, 副教授

E-mail: tufrankie@163.com

少不良反应。在这些纳米粒子中，聚合物胶束(polymeric micelles, PM)因其包封率高、制备方便、保留时间长和良好的生物相容性从而得到广泛应用^[10]。Taniguchi 等^[11]将粒径为 40~100 nm 的胶束，静脉注射到颈动脉损伤的大鼠体内，结果发现胶束可以利用病变内膜细胞外基质中的亚微米间隙提高药物在损伤处的高度蓄积，从而提高药物的抗动脉粥样硬化效果。此外，由于胶束具有良好的生物相容性和体内外稳定性等特点，正在吸引越来越多研究者的关注。

目前已有许多针对动脉粥样硬化病变部位的靶向胶束的新兴方法被开发出来，如胶束与配体、肽或碳水化合物的结合等策略已被证实可实现病变部位的有效靶向递送^[12-13]，此外，胶束与诊断试剂相结合可能是实现动脉粥样硬化实时影像诊断的有效途径。本文结合动脉粥样硬化的特点，对 PM 在动脉粥样硬化诊断和治疗中的应用进行综述。

1 PM 制备方法

PM 通常是由两亲性嵌段共聚体自组装形成的疏水内核和亲水外壳的核-壳结构。大多数用于药物释放的 PM 是由两嵌段(亲水-疏水)、三嵌段(亲水-疏水-亲水/疏水)和多嵌段(亲水-疏水-疏水)共聚物组成的^[14]。PM 制备的常用方法有直接溶解法、薄膜水化法、透析法和 O/W 乳化法，见图 1。

2 胶束在动脉粥样硬化成像和诊断中的应用

2.1 基于磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)/计算机断层扫描(computed tomography, CT)/正电子发射断层成像(positron-emission tomography, PET)的分子成像

目前，科学家已经研究了各种非侵入性成像技术来评估血管壁的物理和形态属性，用来诊断动脉粥样硬化^[15]。这些技术包括 MRI、CT、超声、单光子发射计算机断层成像和 PET，每种技术都有自身的一些优势和局限性，见表 1^[6,16-19]。

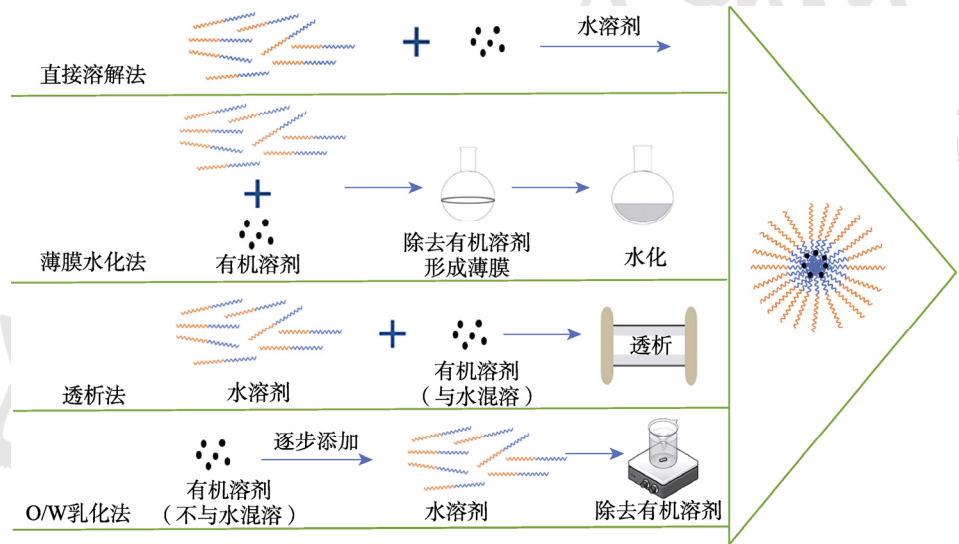


图 1 制备聚合物胶束的常用方法

Fig. 1 Common methods used to form polymeric micelles

表 1 动脉粥样硬化非侵入性诊断技术的优势与局限性

Tab. 1 Advantages and limitations of non-invasive diagnostic techniques for atherosclerosis

成像技术	优势	局限性	参考文献
磁共振成像	斑块的解剖和功能特征；血管壁斑块和动脉硬化的高分辨率评估；无辐射；优异的软组织对比度	扫描时间长、成本高、灵敏度低；不适合带金属装置的患者	[15,17]
X 射线计算机断层扫描	钙化斑块检测；建立了特异性高和预测性好的分子成像模式；空间分辨率高	需要较长的采集和后处理时间；需要辐射曝光和碘化造影剂	[6,17]
超声	安全、方便快捷；时间分辨率高；颈动脉内膜中层厚度的精确测量	异质斑块易损性的困难评估；区分斑块成分和形态的能力有限	[18-19]
单光子发射计算机断层成像	建立了动脉粥样硬化斑块炎症的分子成像方法；放射性示踪剂的半衰期很长，可达 6 h；与正电子发射断层成像相比成本更低，可用性更高	要求放射性示踪剂；图像质量差；空间分辨率比正电子发射断层成像低	[6]
正电子发射断层成像	建立了动脉粥样硬化斑块炎症识别和定量的分子成像方法	需要短半衰期仅为 75 s 的放射性示踪剂，需要技术人员非常迅速地工作；与计算机断层扫描和磁共振成像相比，空间分辨率较低；成本高	[16]

目前已批准的MRI造影剂Gd和CT造影剂碘化物等都是小分子化合物，能迅速从血管中渗出，因此对斑块的选择性成像能力有限。目前已有一系列纳米粒子被开发出来，在动脉粥样硬化的检测和诊断中能够提供增强靶向和成像的能力。这些纳米粒子包括用于MRI的含有Gd螯合剂或氧化铁纳米晶体的纳米颗粒^[20]，用于CT成像的纳米颗粒中所包含诸如金和碘的电子致密材料^[21]，用于单光子发射计算机断层成像的纳米颗粒上标记诸如¹⁸F的可放射性物质^[22]，以及用于光学成像的荧光团或量子点^[23]。

Yoo等^[24]设计与纤维蛋白结合的双光学和MRI肽段两亲性胶束(PAMS)，由DSPE-PEG(2000)-CREKA、DSPE-PEG(2000)-Cy7和DSPE-PEG(2000)-DTPA(Gd)组成，其中CREKA为靶肽，Cy7为荧光载体，DTPA(Gd)为MRI造影剂。在这项研究中，纤维蛋白靶向PAM、非靶向胶束和造影剂DTPA-BSA(Gd)在体外和ApoE^{-/-}小鼠上进行了评价，纤维蛋白靶向PAM表现出更强的部位特异性和成像能力。凋亡的淋巴细胞和巨噬细胞、活化的血小板和其他受损细胞的表面以带负电荷的磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PS)为特征，在Ca²⁺存在的情况下，膜联蛋白A5与暴露在凋亡细胞膜上的PS特异性结合^[25]。因此，使用膜联蛋白A5靶向的非侵入性诊断成像识别PS将有助于区分易损斑块。放射性金属元素，如锝(^{99m}Tc)和铟(¹¹¹In)均已被用来标记膜联蛋白A5，从而用于易损斑块的成像。载脂蛋白B-100(ApoB-100)是LDL的主要结构蛋白，与斑块的形成直接相关。磷脂酰胆碱特异性磷脂酶C在动脉粥样硬化斑块中表达上调，并且参与动脉粥样硬

化斑块的发展，此外这种酶可以选择性地从磷酸盐部分中去除磷脂甘油(极性头部)。Lechuga-Vieco等^[26]将ApoB-100插入氧化铁纳米胶束的电晕中，观察菌斑，制备了ApoB-100修饰的氧化铁纳米胶束。ApoB-100在氧化铁纳米胶束表面的存在使这些胶束类似于LDL，从而增加了它们在斑块中的定位。同时，在斑块中高表达的磷脂酰胆碱特异性磷脂酶C选择性地去除ApoB-100中的磷脂甘油，产生疏水性更强的纳米胶束，从而促进斑块中的蓄积。这项研究最显著的结果是MRI显示了ApoE^{-/-}小鼠主动脉斑块的显著特征，其弛豫2(r₂)值高达147.4 mmol·L⁻¹·s⁻¹，具有很大的平移潜力。

目前临床上批准用于CT的造影剂主要是含重元素的小分子化合物，如钡和碘化物，因此需要为肾脏受损患者和对碘化物对比剂过敏的患者开发新型CT造影剂。此外，CT还可以用来对主动脉和心脏进行成像，以评估当前的血流状态，并且能够发现动脉粥样硬化病变或血栓引起的血流异常^[27]。Alaarg等^[28]比较了3种临床相关的纳米药物，包括高密度脂蛋白、PM和脂质体，均负载模型药物辛伐他汀[S]，并用放射性标记物锆-89(⁸⁹Zr)进行标记，通过PET/CT对病变部位进行成像。在3种纳米药物中，[S]-PM在降低ApoE^{-/-}小鼠晚期动脉粥样硬化斑块的巨噬细胞负荷和病变特异性方面显示较好的疗效。

综上所述，人们对使用胶束负载造影剂来增强体内特异性动脉粥样硬化斑块的分子成像的研究逐渐增加。然而，目前含有造影剂的靶向胶束主要应用于MRI技术，而在其他分子成像技术中的应用要少得多，见表2^[24-25,29-35]。

表2 使用胶束诊断动脉粥样硬化的磁共振成像

Tab. 2 Diagnostic magnetic resonance imaging of atherosclerosis using micelles

目标名称	目标元素	聚合物胶束	造影剂	体外/活体模型	参考文献
膜磷脂酰丝氨酸	膜联蛋白A5	Cy5.5-PEG2000-DSPE	Gd-DTPA-BSA	ApoE ^{-/-} 小鼠	[25]
氧化特异性表位	小鼠单克隆IgG抗体MDA2	PEG2000-DSPE	锰[Mn(II)]	ApoE ^{-/-} 小鼠和LDLR ^{-/-} 小鼠	[29]
CB2-R; NGAL(24p3)	HU-308MAB1857(24p3 Abs)	DOPE-PEG1000; DSPE-PEG2000	Gd-DTPA-BSA	ApoE ^{-/-} /eNOS ^{-/-} 小鼠	[30-31]
脂质	酪氨酸	PEG2000-DSPE; L-Tyro-methylester- PEG-DSPE	Gd-DTPA-BSA	ApoE ^{-/-} 小鼠	[32]
纤维蛋白	CREKA肽	DSPE-PEG2000	Gd-DTPA氧化	三氯化铝诱导的小鼠颈动脉血栓模型	[24]
	WQPCPAESWT-Cha-CWDP肽	PEG2000-DSPE	铁纳米颗粒		[33]
巨噬细胞	巨噬细胞抗体CD204	PEG2000-DSPE	Gd-DTPA-BSA	ApoE ^{-/-} 小鼠	[34]
基质金属蛋白酶	NAP9肽	DSPE-PEG2000	Gd-DTPA-BSA	NOS3 ^{-/-} /ApoE ^{-/-} 小鼠	[35]

2.2 动脉粥样硬化的诊断策略

自从具有聚集诱导发射(aggregation-induced-emission, AIE)效应的荧光团被报道以来, 荧光成像已被广泛用于观察体内的微结构^[36]。与单光子荧光成像相比, 双光子 AIE 荧光成像能够提供清晰的空间分辨率和更深的组织穿透力, 并且具有更少的自发荧光干扰。Ma 等^[37]构建了一种具有活性氧(reactive oxygen species, ROS)响应性和生物成像功能的热疗胶束, 用于炎症的立体诊断和靶向治疗。在该研究中, 模型药物泼尼松龙通过 ROS 响应键连接到一个双光子 AIE 荧光团(TP)上, 形成 ROS 敏感化合物 TPP, 再由 ROS 敏感聚合物 PMC-PMEMA(PMM)自组装成胶束(TPP@PMM)。TPP@PMM 具有较好的体外抗泡沫细胞形成能力、较强的抗炎作用和良好的抗动脉粥样硬化作用, 对 ApoE^{-/-}小鼠具有良好的抗动脉粥样硬化作用, 并且能够清晰地观察到不同成像深度的动脉斑块的双照片图像。Fang 等^[38]制备了具有过氧化氢敏感型的靶向荧光载药纳米胶束(HEMA-SimFPEG-ISO-1)。该纳米胶束利用过氧化氢敏感性进行可控释药, 使之能够靶向巨噬细胞, 同时改进传统聚乙二醇仅作亲水链的特点, 合成具有荧光功能的聚乙二醇, 使聚合物无需修饰荧光物质便拥有探针能力, 适于动脉粥样硬化的诊疗。研究表明该纳米胶束显示出较好的生物相容性、过氧化氢敏感性及荧光能力, 为发展动脉粥样硬化的诊疗一体的纳米体系提供新材料。随着电离辐射的安全性受到越来越多的关注, 科学家们正在探索其他安全性高、使用方便的纳米粒子平台

的潜力。Chin 等^[39]开发了利用羟基磷灰石结合肽作为靶向配体与羟基磷灰石结合以鉴定斑块中发现的微钙化的 PAM, 同时将异硫氰酸荧光素或荧光染料(花菁染料 CY7)附着在胶束上, 利用近红外检测和成像钙化。羟基磷灰石 PAM 在体内外均表现出明显的特异性结合能力, 然而主动脉的荧光信号强度和图像是在体外获得的。因此, 如果该诊断平台能够结合临床相关的成像功能, 将具有很大的临床价值。

综上, 将胶束和成像技术进行结合用来诊断动脉粥样硬化的优势在于增加病变部位的造影剂或荧光团的浓度, 从而提高图像分辨率, 并减少对其他器官的不良反应。此外, 胶束可以结合不同的配体或抗体, 这些配体或抗体与动脉粥样硬化进展过程中表达的特定受体高度结合, 从而能够区分早期和晚期动脉粥样硬化^[40]。

3 胶束治疗动脉粥样硬化的策略

各种靶向元件, 包括肽、抗体和 ROS 响应性连接物, 均已被用来提高胶束在动脉粥样硬化斑块不同成分中的靶向效率, 见表 3^[12,41-51]。另外, 抗炎或抗血管生成药物、多肽和基因也已被载入到靶向胶束中用来改善动脉粥样硬化的治疗。对此, 以下将对胶束在靶向内皮细胞、巨噬细胞、斑块的纤维帽、ROS 治疗动脉粥样硬化的策略方面进行详细的介绍。

3.1 靶向内皮细胞

血管的动态平衡得益于内皮细胞对血管相当大的保护作用, 如扩张血管、抑制炎症反应和抑制平滑肌细胞生长^[52]。血管造影技术或其他诊断

表 3 靶向胶束在动脉粥样硬化治疗中的应用

Tab. 3 Targeting micelles applied in the treatment of atherosclerosis

目标	目标元素	聚合物胶束	药物	体外/活体模型	参考文献
内皮细胞 (VCAM-1)	肽 VHPKQHR	DSPE-PEG2000 PEG2000-DSPE	— PPAR δ 激动剂	ApoE ^{-/-} 小鼠 氧化低密度脂蛋白诱导 的 HAVSMCs	[41] [42]
纤维蛋白	单核细胞趋化因子-1	MCG PAMs	多肽 VPMS-MRGG	ApoE ^{-/-} 小鼠	[44]
基质金属蛋白 酶(MMPs)	NH ₂ -GGGGCTTHWG FTLC-CONH ₂	mPEG-DSPE 和 PEG-DSPE-succinyl	—	U937 细胞与心肌梗死小 鼠模型	[12]
巨噬细胞	光动力 CD206 抗体	Ben-PCL-mPEG poly(BMA-co-PAA-co-DMAEMA)-bl -poly(DMAEMA)-bl-poly(AzEMA)	替莫唑胺 siRNA	RAW264.7 巨噬细胞 巨噬细胞	[49] [43]
血小板(整合素 GPIIb-IIIa) 活性氧	单链抗体 ScFv	类弹性蛋白多肽蛋白胶束 PEG-PPS PEG-PPS PPS-b-PDMA-b-PNIPAAm poly (PS74-b-DMA310)	血栓调节蛋白结构域 穿心莲内酯 雷公藤红素 — DiI 和 DiO	激光损伤致小动脉血栓 LDLR ^{-/-} 小鼠 小鼠成纤维细胞 Balb/c 小鼠 RAW264.7 巨噬细胞	[50] [46] [48] [47] [45]
CD44 受体		OHA-TKL-Fc	姜黄素	ApoE ^{-/-} 小鼠	[51]

技术可以检测到内皮功能障碍。炎症内皮细胞之间存在很大的间隙,因此,在动脉粥样硬化期间利用胶束的“被动靶向”效应靶向受损内皮细胞是最简单的方法^[53]。然而与纳米粒子在肿瘤研究中的应用相似,这些纳米粒子通过被动靶向只有一小部分会积聚在病变部位,这可能是由于单核吞噬细胞系统、实体瘤和内皮损伤的多重物理屏障所致。另外考虑到动脉中血液流动的速度较快,利用纳米粒子被动靶向到受损内皮细胞是一个巨大的挑战,因此通过主动靶向用来治疗动脉粥样硬化是另一种不错的选择。白细胞通过附着、黏附、迁移到血管系统和炎症反应中的趋化性到达炎症部位。这些过程由血管黏附分子调节,内皮细胞在炎症介质存在的情况下增加血管黏附分子的表达^[54]。血管黏附分子包括选择素(P、E和L)、细胞间黏附分子、血管细胞黏附分子和血小板内皮细胞黏附分子-1。因此,将血管黏附分子受体作为靶点结合到胶束表面可以提高胶束靶向效率。此外,一些血清炎症标志物,如纤维蛋白原和白细胞介素-6 也已被证明可以可靠地预测斑块的存在和特征^[55]。

总之,生物标志物和炎症标志物均可作为动脉粥样硬化治疗的靶点。Mlinar 等^[41]证实了 VCAM-1 靶向多肽胶束在早、中期 ApoE^{-/-}小鼠的动脉粥样硬化斑块中特异性积聚。Wei 等^[42]研究了 VCAM-1 靶向和负载过氧化物酶体增殖物激活受体 δ (peroxisome proliferators-activated receptors δ , PPAR δ)激动剂的胶束,这项研究不仅显示了 VCAM-1 靶向胶束靶向氧化 LDL 诱导的血管平滑肌细胞,还证明了 PPAR δ 激动剂能够抑制氧化 LDL 诱导的血管平滑肌细胞的凋亡和迁移。

3.2 靶向巨噬细胞

巨噬细胞在动脉粥样硬化发展过程中的脂肪条纹形成的初期,纤维帽的炎症降解过程,以及最终导致侵蚀或破裂以及随后的血栓形成过程中均扮演着不同的角色^[56]。巨噬细胞不仅影响先天免疫和获得性免疫,而且在组织修复和动态平衡方面也发挥作用。有研究表明,血浆脂蛋白的浸润和积聚会驱动动脉粥样硬化病变生长,而在发展的斑块中清除这些脂蛋白是内膜巨噬细胞的主要功能^[57]。另一方面,动脉粥样硬化斑块中功能失调的巨噬细胞中充满了胆固醇酯,这些胆固醇酯不能消退炎症,但有助于动脉粥样硬化斑块的生成和生长。交替激活的 M2 巨噬细胞具有免疫抑

制作用,它们可以促进组织修复和再生,并通过产生抗炎细胞因子来化解斑块炎症。因此,靶向调节功能障碍的巨噬细胞或促进 M2 巨噬细胞的募集是一种很有前景的治疗策略。

各种巨噬细胞特异性表面受体,包括叶酸受体,甘露糖受体和清道夫受体,都可以附着在胶束上进行有效的靶向。Yu 等^[43]设计了含有甘露糖受体 CD206 和 siRNA 的 pH 响应型 PM,该胶束将 siRNA 递送至巨噬细胞的能力提高了 4 倍,并使模型基因在巨噬细胞中的抑制率达到 (87 $\pm$ 10)%。Chin 等^[44]的研究开发了单核细胞结合、胶原酶抑制和 MRI 可视化的多模式抗癌多肽两亲性胶束(PAMs),在该多模式胶束中,单核细胞趋化因子-1 作为单核细胞的配体,胶原酶裂解肽用于增加纤维帽的厚度,Gd 和 DTPA 的螯合剂作为斑块 MRI 的造影剂。结果显示多模式 PAMs 成功在病变部位蓄积,显著增加了纤维帽厚度,并实时识别了 ApoE^{-/-}小鼠的主动脉斑块。

3.3 靶向斑块的纤维帽

若斑块具有较厚的纤维帽和较少的胆固醇则被认为是稳定的,因此不容易发生严重心脏事件^[58]。相比之下,具有较薄的纤维帽、含有大量的巨噬细胞和泡沫细胞、脂质核较大的斑块是不稳定且脆弱的。Kuo 等^[59]比较了纤维蛋白靶向胶束(含 REKA 肽)和 VCAM-1 靶向胶束(含 VHPKQHR 肽)2 种靶向胶束,带负电荷的 miRNA 抑制剂加入这 2 种胶束中,以抑制动脉粥样硬化相关疾病细胞中调节失调的 miRNA。然后,分别在小鼠巨噬细胞和人主动脉内皮细胞上研究了动脉粥样硬化病变特异性靶向的体外效果和效率。结果表明,纤维蛋白靶向胶束和 VCAM-1 靶向胶束均可用于携带和输送 miRNA 抑制剂进入动脉粥样硬化病变部位。

斑块中的细胞外基质由胶原、弹性蛋白和蛋白多糖组成,它们有助于稳定斑块。此外,动脉粥样硬化斑块的特征还与血清基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)水平密切相关,因此 MMPs 是动脉粥样硬化的潜在靶点。MMPs 可以加速基质的降解,降低 MMP-2、MMP-9 和 MMP-12 等金属蛋白酶的活性,并且对纤维帽起到一定的稳定作用。细胞外基质金属蛋白酶诱导物(EMMPRIN, CD147)是一种糖蛋白,能够调节单核细胞、巨噬细胞和其他类型细胞中 MMP 的表达^[35]。

Nguyen 等^[60]设计了一种含有基质金属蛋白酶靶向多肽(MMP-TP)的胶束载体,通过对 C57BL/6 小鼠在心肌梗死后 1, 3, 7 d 分别静脉注射 MMP-TP 胶束和普通胶束。与阴性对照肽胶束相比, MMP-TP 胶束在心肌梗死后第 3 天和第 7 天在心脏坏死区的蓄积明显增加。另外心脏组织切片免疫组化显示 MMP-TP 胶束与 MMPs 和浸润的巨噬细胞共存。

3.4 靶向 ROS

高浓度的 ROS 是动脉粥样硬化斑块氧化应激的典型特征^[61]。ROS 的产生,如 O_2^{2-} , 迅速转化为中性的 H_2O_2 , 自由地渗透到细胞膜上,导致内皮功能障碍和炎症的产生^[62]。在氧化应激条件下高浓度的 ROS 会非特异性地攻击内皮,从而导致 DNA、脂质、糖原和蛋白质的损伤或变性^[63],进而涉及多种疾病,如肿瘤、神经退行性疾病、心血管疾病等。高浓度的 ROS 可诱导炎症,激活血小板和白细胞,氧化 LDL,并通过对这些变化的反应机制启动宿主细胞内的信号传递过程。动脉粥样硬化斑块中高浓度的 ROS 与动脉粥样硬化的发生和发展密切相关,因此靶向 ROS 是一种很有前景的斑块治疗策略。

目前已有用于治疗动脉粥样硬化的各种 ROS 响应性胶束被开发和研究^[45-46],其中亲水性和疏水性聚合物大多由 ROS 响应性连接物偶联,用于胶束设计的典型 ROS 响应性连接物是硫醚基和硫代缩酮键。高浓度的 ROS 会引起这些 ROS 反应连接物的分解,并导致它们从疏水相到亲水相的相变,从而导致胶束破裂和药物释放。Gupta 等^[47]合成了一种 ABC 三嵌段聚合物,并将其组装成胶束,该胶束包括在疏水核心的 ROS 响应单元和硫化丙烯(PPS)以及在外晕上的温度响应单元,具有 ROS 响应性药物释放特性,减少了 ROS 介导的体外对正常细胞的非特异性损伤,另外皮下注射 ROS 反应胶束将模型药物在体内的局部释放延长了 14 d。Allen 等^[48]构建了 ROS 响应型纳米载体聚乙二醇-b-聚丙硫醚(PEG-b-PPS)胶束,其核心含有抗炎药雷公藤红素。与游离雷公藤红素相比,雷公藤红素胶束可显著降低细胞毒性,提高抗炎效果,显著减少动脉粥样硬化斑块中炎症单核细胞和中性粒细胞的数量,从而成功缩小了 LDLR^{-/-}小鼠的斑块面积。Sheng^[64]开发了可以同时响应动脉粥样硬化斑块处 ROS 和剪切应力微环境的智能响应系统(SV MC@RBCs),该系统由 RBCs 和聚甲

基丙烯酸缩水甘油酯-聚硫化丙烯(PGED-PPS)装载辛伐他汀(SV)形成的阳离子胶束(SV MC)组成,作为载体的 PGED-PPS 不仅具有降低 ROS 的作用,还可以与 SV 起到协同治疗动脉粥样硬化的作用。体外和体内实验结果表明,SV MC@RBCs 能够有效治疗动脉粥样硬化,并且可以避免出血的风险,具有更好的体内安全性。

4 结论与展望

在临床前研究中,胶束的应用给动脉粥样硬化的诊断和治疗带来了巨大的进步,含有 MRI 造影剂的靶向胶束在动脉粥样硬化的成像中得到了广泛的研究,胶束中包含的 MRI 造影剂包括 Gd-DTPA 两亲性粒子、氧化铁纳米颗粒和氧化锰纳米颗粒。CT 造影剂碘和 PET 造影剂 ^{89}Zr 被加至胶束和 MRI 造影剂中,成功地提高了动脉粥样硬化动物模型斑块成像的精确度和分辨率。随着新型荧光团的开发,可用来构建新型的多功能胶束,以提供更清晰的成像、更好的治疗效果以及更高的安全性。同时,PM 在靶向内皮细胞、巨噬细胞、斑块的纤维帽及活性氧等治疗动脉粥样硬化策略中表现出广阔的前景,临床前研究结果表明这些胶束能够提高给药效率、延长循环时间、降低主动脉斑块面积和促炎细胞因子水平。这些结果预兆着胶束在诊断和治疗动脉粥样硬化方面有望进入临床。

胶束在动脉粥样硬化的诊断和治疗中的发展是一个缓慢的过程,有些病例甚至可以追溯到 10 年前。而且,还远未将这些治疗进展和成像策略转化为临床。一些突出的挑战需要进一步关注,例如动物模型和人类之间的相关性;胶束在动物模型和人类中的体内命运;药物释放行为的控制;动脉粥样硬化的发病机制。尽管仍然存在一些挑战,但考虑到分子生物学和药物递送系统的发展,胶束在诊断和治疗动脉粥样硬化方面将会有更好的发展前景。

REFERENCES

- [1] CHARO I F, TAUB R. Anti-inflammatory therapeutics for the treatment of atherosclerosis[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2011, 10(5): 365-376.
- [2] WU C Q, DAUGHERTY A, LU H S. Updates on approaches for studying atherosclerosis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2019, 39(4): e108-e117.
- [3] BI Q Y, FENG L, MA Q X, et al. Research progress on the association of inflammatory factors in the pathogenesis of autoimmune diseases and atherosclerosis[J]. *Chin J Arterioscler*(中国动脉硬化杂志), 2022, 30(5): 437-441.

- [4] HUSAIN K, HERNANDEZ W, ANSARI R A, et al. Inflammation, oxidative stress and renin angiotensin system in atherosclerosis[J]. World J Biol Chem, 2015, 6(3): 209-217.
- [5] LIBBY P, BURING J E, BADIMON L, et al. Atherosclerosis[J]. Nat Rev Dis Primers, 2019, 5(1): 56.
- [6] ANWAIER G, CHEN C, CAO Y N, et al. A review of molecular imaging of atherosclerosis and the potential application of dendrimer in imaging of plaque[J]. Int J Nanomedicine, 2017(12): 7681-7693.
- [7] KIAIE N, GORABI A M, PENSON P E, et al. A new approach to the diagnosis and treatment of atherosclerosis: The era of the liposome[J]. Drug Discov Today, 2020, 25(1): 58-72.
- [8] SU Z H, LAI T X, ZHOU X P, et al. Preparation and characterization of atherosclerotic targeted MRI contrast agents[J]. Pharm Today(今日药), 2016, 26(7): 457-461.
- [9] AILUNO G, BALDASSARI S, ZUCCARI G, et al. Peptide-based nanosystems for vascular cell adhesion molecule-1 targeting: A real opportunity for therapeutic and diagnostic agents in inflammation associated disorders[J]. J Drug Deliv Sci Technol, 2020(55): 101461.
- [10] PIAZZINI V, VASARRI M, DEGL'INNOCENTI D, et al. Comparison of chitosan nanoparticles and soluplus micelles to optimize the bioactivity of *Posidonia oceanica* extract on human neuroblastoma cell migration[J]. Pharmaceutics, 2019, 11(12): 655.
- [11] TANIGUCHI R, MIURA Y, KOYAMA H, et al. Adequately-sized nanocarriers allow sustained targeted drug delivery to neointimal lesions in rat arteries[J]. Mol Pharm, 2016, 13(6): 2108-2116.
- [12] NGUYEN J, SIEVERS R, MOTION J P M, et al. Delivery of lipid micelles into infarcted myocardium using a lipid-linked matrix metalloproteinase targeting peptide[J]. Mol Pharm, 2015, 12(4): 1150-1157.
- [13] CHEN T E, TU L X, WANG G, et al. Multi-functional chitosan polymeric micelles as oral paclitaxel delivery systems for enhanced bioavailability and anti-tumor efficacy[J]. Int J Pharm, 2020(578): 119105.
- [14] DESHMUKH A S, CHAUHAN P N, NOOLVI M N, et al. Polymeric micelles: Basic research to clinical practice[J]. Int J Pharm, 2017, 532(1): 249-268.
- [15] MU Y L, CHEN X M, LIU X, et al. Recent advances in molecular imaging of atherosclerotic plaque[J]. Imag Sci Photochem(影像科学与光化学), 2019, 37(1): 7-17.
- [16] MUSHENKOVA N V, SUMMERHILL V I, ZHANG D W, et al. Current advances in the diagnostic imaging of atherosclerosis: Insights into the pathophysiology of vulnerable plaque[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(8): 2992.
- [17] WANG X K, KEITH J C Jr, STRUTHERS A D, et al. Assessment of arterial stiffness, a translational medicine biomarker system for evaluation of vascular risk[J]. Cardiovasc Ther, 2008, 26(3): 214-223.
- [18] LUKANOVA D V, NIKOLOV N K, GENOVA K Z, et al. The accuracy of noninvasive imaging techniques in diagnosis of carotid plaque morphology[J]. Open Access Maced J Med Sci, 2015, 3(2): 224-230.
- [19] JOSHI F R, LINDSAY A C, OBAID D R, et al. Non-invasive imaging of atherosclerosis[J]. Eur Heart J Cardiovasc Imaging, 2012, 13(3): 205-218.
- [20] TERRENO E, CASTELLI D D, VIALE A, et al. Challenges for molecular magnetic resonance imaging[J]. Chem Rev, 2010, 110(5): 3019-3042.
- [21] LIU H X, ZHAO F, MA Y L, et al. Research progress of nanometer contrast agent in tumor diagnosis[J]. Chin Pharm J(中国药理学杂志), 2021, 56(18): 1466-1475.
- [22] CHEN K, CONTI P S. Target-specific delivery of peptide-based probes for PET imaging[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2010, 62(11): 1005-1022.
- [23] KOBAYASHI H, OGAWA M, ALFORD R, et al. New strategies for fluorescent probe design in medical diagnostic imaging[J]. Chem Rev, 2010, 110(5): 2620-2640.
- [24] YOO S P, PINEDA F, BARRETT J C, et al. Gadolinium-functionalized peptide amphiphile micelles for multimodal imaging of atherosclerotic lesions[J]. ACS Omega, 2016, 1(5): 996-1003.
- [25] VAN TILBORG G A F, VUCIC E, STRIJKERS G J, et al. Annexin A5-functionalized bimodal nanoparticles for MRI and fluorescence imaging of atherosclerotic plaques[J]. Bioconjug Chem, 2010, 21(10): 1794-1803.
- [26] LECHUGA-VIECO A V, GROULT H, PELLICO J, et al. Protein corona and phospholipase activity drive selective accumulation of nanomicelles in atherosclerotic plaques[J]. Nanomedicine, 2018, 14(3): 643-650.
- [27] SABOURY B, ZIAI P Y, ALAVI A. Detection and quantification of molecular calcification by PET/computed tomography: A new paradigm in assessing atherosclerosis[J]. PET Clin, 2011, 6(4): 409-415.
- [28] ALAARG A, SENDERS M L, VARELA-MOREIRA A, et al. A systematic comparison of clinically viable nanomedicines targeting HMG-CoA reductase in inflammatory atherosclerosis[J]. J Control Release, 2017(262): 47-57.
- [29] BRILEY-SABOE K C, NGUYEN T H, SAEBOE A M, et al. *In vivo* detection of oxidation-specific epitopes in atherosclerotic lesions using biocompatible manganese molecular magnetic imaging probes[J]. J Am Coll Cardiol, 2012, 59(6): 616-626.
- [30] TE BOEKHORST B C, BOVENS S M, HELLINGS W E, et al. Molecular MRI of murine atherosclerotic plaque targeting NGAL: A protein associated with unstable human plaque characteristics[J]. Cardiovasc Res, 2011, 89(3): 680-688.
- [31] TE BOEKHORST B C M, BOVENS S M, RODRIGUES-FEO J, et al. Characterization and *in vitro* and *in vivo* testing of CB₂-receptor- and NGAL-targeted paramagnetic micelles for molecular MRI of vulnerable atherosclerotic plaque[J]. Mol Imaging Biol, 2010, 12(6): 635-651.
- [32] BEILVERT A, CORMODE DP, CHAUBET F, et al. Tyrosine polyethylene glycol(PEG)-micelle magnetic resonance contrast agent for the detection of lipid rich areas in atherosclerotic plaque[J]. Magn Reson Med, 2009, 62(5): 1195-1201.
- [33] STARMANS L W E, MOONEN R P M, AUSSEMS-CUSTERS E, et al. Evaluation of iron oxide nanoparticle micelles for magnetic particle imaging (MPI) of thrombosis[J]. PLoS One, 2015, 10(3): e0119257.
- [34] MULDER W J M, STRIJKERS G J, BRILEY-SABOE K C, et al. Molecular imaging of macrophages in atherosclerotic plaques using bimodal PEG-micelles[J]. Magn Reson Med, 2007, 58(6): 1164-1170.
- [35] RAMIREZ-CARRACEDO R, TESORO L, HERNANDEZ I, et al. Non-invasive detection of extracellular matrix metalloproteinase inducer EMMPRIN, a new therapeutic target against atherosclerosis, inhibited by endothelial nitric oxide[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(10): 3248.
- [36] MA Y C, QI C X, MA H C. Research advances in AIE fluorescent molecule probes[J]. Mod Chem Ind(现代化工), 2017, 37(11): 51-56.
- [37] MA B X, XU H, ZHUANG W H, et al. Reactive oxygen species responsive theranostic nanoplatfrom for two-photon aggregation-induced emission imaging and therapy of acute and chronic inflammation[J]. ACS Nano, 2020, 14(5): 575-585.

5862-5873.

- [38] FANG C, ZHU H Y, LIU Y, et al. Synthesis and characterization of nanoparticles with hydrogen peroxide sensitivity, targeting and fluorescence for atherosclerosis[J]. Chemical Journal of Chinese Universities(高等学校化学学报), 2018, 39(9): 2071-2079.
- [39] CHIN D D, WANG J, MEL DE FONTENAY M, et al. Hydroxyapatite-binding micelles for the detection of vascular calcification in atherosclerosis[J]. J Mater Chem B, 2019, 7(41): 6449-6457.
- [40] POON C, SARKAR M, CHUNG E J. Synthesis of monocyte-targeting peptide amphiphile micelles for imaging of atherosclerosis[J]. J Vis Exp, 2017(129): 56625.
- [41] MLINAR L B, CHUNG E J, WONDER E A, et al. Active targeting of early and mid-stage atherosclerotic plaques using self-assembled peptide amphiphile micelles[J]. Biomaterials, 2014, 35(30): 8678-8686.
- [42] WEI G, HAO L G, LI X L, et al. VCAM-1-targeted and PPAR δ -agonist-loaded nanomicelles enhanced suppressing effects on apoptosis and migration of oxidized low-density lipoprotein-induced vascular smooth muscle cells[J]. Biosci Rep, 2020, 40(5): BSR20200559.
- [43] YU S S, LAU C M, BARHAM W J, et al. Macrophage-specific RNA interference targeting via "click", mannosylated polymeric micelles[J]. Mol Pharm, 2013, 10(3): 975-987.
- [44] CHIN D D, POON C, TRAC N, et al. Collagenase-cleavable peptide amphiphile micelles as a novel theranostic strategy in atherosclerosis[J]. Adv Ther, 2020, 3(3): 1900196.
- [45] GUPTA M K, MEYER T A, NELSON C E, et al. Poly(PS-b-DMA) micelles for reactive oxygen species triggered drug release[J]. J Control Release, 2012, 162(3): 591-598.
- [46] WU T, CHEN X Y, WANG Y, et al. Aortic plaque-targeted andrographolide delivery with oxidation-sensitive micelle effectively treats atherosclerosis via simultaneous ROS capture and anti-inflammation[J]. Nanomedicine, 2018, 14(7): 2215-2226.
- [47] GUPTA M K, MARTIN J R, WERFEL T A, et al. Cell protective, ABC triblock polymer-based thermoresponsive hydrogels with ROS-triggered degradation and drug release[J]. J Am Chem Soc, 2014, 136(42): 14896-14902.
- [48] ALLEN S D, LIU Y G, KIM T, et al. Celastrol-loaded PEG-b-PPS nanocarriers as an anti-inflammatory treatment for atherosclerosis[J]. Biomater Sci, 2019, 7(2): 657-668.
- [49] WENNINK J W H, LIU Y N, MÄKINEN P I, et al. Macrophage selective photodynamic therapy by meta-tetra (hydroxyphenyl)chlorin loaded polymeric micelles: A possible treatment for cardiovascular diseases[J]. Eur J Pharm Sci, 2017, 107: 112-125.
- [50] KIM W, HALLER C, DAI E B, et al. Targeted antithrombotic protein micelles[J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2015, 54(5): 1461-1465.
- [51] HOU X Y, LIN H, ZHOU X D, et al. Novel dual ROS-sensitive and CD44 receptor targeting nanomicelles based on oligomeric hyaluronic acid for the efficient therapy of atherosclerosis[J]. Carbohydr Polym, 2020(232): 115787.
- [52] POZNYAK A V, WU W K, MELNICHENKO A A, et al. Signaling pathways and key genes involved in regulation of foam cell formation in atherosclerosis[J]. Cells, 2020, 9(3): 584.
- [53] 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.
- [54] ROSENBLUM D, JOSHI N, TAO W, et al. Progress and challenges towards targeted delivery of cancer therapeutics[J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 1410.
- [55] AMMIRATI E, MORONI F, NORATA G D, et al. Markers of inflammation associated with plaque progression and instability in patients with carotid atherosclerosis[J]. Mediators Inflamm, 2015(2015): 718329.
- [56] LIPINSKI M J, AMIRBEKIAN V, FRIAS J C, et al. MRI to detect atherosclerosis with gadolinium-containing immunomicelles targeting the macrophage scavenger receptor[J]. Magn Reson Med, 2006, 56(3): 601-610.
- [57] BÄCK M, YURDAGUL A, TABAS I, et al. Inflammation and its resolution in atherosclerosis: Mediators and therapeutic opportunities[J]. Nat Rev Cardiol, 2019, 16(7): 389-406.
- [58] CUADRADO I, PIEDRAS M J G M, HERRUZO I, et al. EMMPRIN-targeted magnetic nanoparticles for *in vivo* visualization and regression of acute myocardial infarction[J]. Theranostics, 2016, 6(4): 545-557.
- [59] KUO C H, LEON L, CHUNG E J, et al. Inhibition of atherosclerosis-promoting microRNAs via targeted polyelectrolyte complex micelles[J]. J Mater Chem B, 2014, 2(46): 8142-8153.
- [60] NGUYEN L T H, MUKTABAR A, TANG J K, et al. Engineered nanoparticles for the detection, treatment and prevention of atherosclerosis: How close are we?[J]. Drug Discov Today, 2017, 22(9): 1438-1446.
- [61] QIN C, YANG X, WU Y B, et al. Matrix metalloproteinases sensitive multifunctional micelles for inhibition of metastatic tumor growth and metastasis[J]. Powder Technol, 2019(358): 3-12.
- [62] POZNYAK A V, GRECHKO A V, OREKHOVA V A, et al. NADPH oxidases and their role in atherosclerosis[J]. Biomedicines, 2020, 8(7): 206.
- [63] MITTAL M, SIDDIQUI M R, TRAN K, et al. Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury[J]. Antioxid Redox Signal, 2014, 20(7): 1126-1167.
- [64] SHENG M L. Research on drug delivery system with dual response of reactive oxygen species and shear stress for atherosclerosis treatment[D]. Changchun: Jilin University, 2021.

收稿日期: 2022-03-14

(本文责编: 沈倩)