

蛋白冠对纳米颗粒与单核巨噬细胞相互作用的影响

冒淙秀^{1,2,3*}, 翟启明^{1,2,3}, 何清清^{1,2,3}, 陈陶^{1,2,3#}

¹重庆医科大学附属口腔医院, 重庆

²口腔疾病与生物医学重庆市重点实验室, 重庆

³重庆市高等教育口腔生物医学工程重点实验室, 重庆

收稿日期: 2024年6月23日; 录用日期: 2024年7月16日; 发布日期: 2024年7月23日

摘要

纳米颗粒凭借其独特的物理和化学性质, 在药物递送和疾病诊断领域展现出巨大潜力。然而, 尽管纳米颗粒研究广泛, 但目前仅有部分纳米疗法成功应用于临床, 这主要归因于当前研究对纳米颗粒与生物流体环境复杂交互作用的忽视。在纳米颗粒进入生物体后, 其与免疫系统的相互作用成为决定治疗效果的关键因素。单核巨噬细胞, 作为免疫系统的先锋, 对纳米颗粒的识别和响应直接影响治疗的效果和安全性。此外, 纳米颗粒进入生物环境后其表面会形成由多种蛋白质构成的复杂蛋白冠, 这不仅为纳米颗粒带来了独特的物理化学特性, 还为其与生物体互作提供了全新界面。蛋白冠的形成对纳米颗粒在生物体内的行为产生深远影响, 进而决定了纳米医学治疗的最终效果。因此, 本文聚焦于纳米颗粒-蛋白冠复合体与单核巨噬细胞间的相互作用, 深入探讨了蛋白冠的形成对纳米颗粒治疗效果的具体影响。这一研究不仅有助于优化纳米药物的设计, 更对提高纳米医学的临床应用水平具有重要的理论和实践意义。

关键词

蛋白冠, 纳米颗粒, 巨噬细胞

Effect of Protein Corona on the Interaction between Nanoparticles and Mononuclear Macrophages

Congxiu Mao^{1,2,3*}, Qiming Zhai^{1,2,3}, Qingqing He^{1,2,3}, Tao Chen^{1,2,3#}

¹Stomatological Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing

²Chongqing Key Laboratory of Oral Diseases and Biomedical Sciences, Chongqing

*第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 冒淙秀, 翟启明, 何清清, 陈陶. 蛋白冠对纳米颗粒与单核巨噬细胞相互作用的影响[J]. 临床医学进展, 2024, 14(7): 1117-1127. DOI: 10.12677/acm.2024.1472121

Abstract

Nanoparticles exhibit tremendous potential in the fields of drug delivery and disease diagnosis due to their unique physical and chemical properties. However, despite extensive research on nanoparticles, only a few nanotherapies have been successfully applied in clinical practice, mainly due to the current lack of attention to the complex interactions between nanoparticles and biological fluid environments. After nanoparticles enter the organism, their interaction with the immune system becomes a crucial factor determining therapeutic efficacy. Mononuclear macrophages, as the frontline of the immune system, directly influence the therapeutic effect and safety through their recognition and response to nanoparticles. Additionally, a complex protein corona composed of various proteins forms on the surface of nanoparticles upon entering the biological environment. This not only brings unique physicochemical properties to nanoparticles but also provides a new interface for their interaction with the organism. The formation of the protein corona has a profound impact on the behavior of nanoparticles in the body, ultimately determining the final effect of nanomedicine treatment. Therefore, this review focuses on the interaction between nanoparticle-protein corona complexes and mononuclear macrophages, delving into the specific impact of protein corona formation on the therapeutic effect of nanoparticles. This research not only contributes to optimizing the design of nanomedicines, but also has significant theoretical and practical implications for improving the clinical application level of nanomedicine.

Keywords

Protein Corona, Nanoparticles, Macrophages

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

纳米医学的兴起为疾病的诊断与治疗带来了新的可能性[1][2]。纳米医学颗粒凭借其独特的尺寸效应和理化性质,在生物医学领域具有广阔的应用前景。当前,众多研究致力于通过优化纳米颗粒的生物靶向性、药物释放效率、生物利用度等方面来提高其疗效,却忽视了纳米颗粒与免疫系统之间复杂的交互作用[3][4],这可能是纳米颗粒临床应用中转化困难的重要原因。纳米颗粒一旦进入机体内环境后,即刻触发免疫系统对其进行识别与响应。单核巨噬细胞作为免疫系统的先锋,具有极高的响应灵敏度和强大的吞噬功能,能迅速识别纳米颗粒并启动免疫反应[5]。纳米颗粒与单核巨噬细胞间的相互作用直接影响纳米颗粒在生物体内的治疗效果和安全性[6]。

不容忽视的是,纳米颗粒在生物体内会暴露于复杂的生物环境中,进而与各种生物成分(主要是蛋白质)产生相互作用,在这一过程中,纳米颗粒的表面形成“蛋白冠”。蛋白冠的形成受到纳米颗粒自身特性以及外部生物环境的双重影响,其中蛋白冠内蛋白质的类型、数量和构象等特性不仅改变了纳米颗粒的理化属性,而且为纳米颗粒与单核巨噬细胞间的相互作用提供了全新界面。

尤为重要的是,蛋白冠的形成深刻影响了纳米颗粒与单核巨噬细胞之间互作的生物学行为和生物学效应,介导巨噬细胞对纳米颗粒免疫应答的激活、抑制或屏蔽等效应,最终决定纳米医学的治疗效果[7] [8]。由此可见,蛋白冠作为纳米颗粒在生物体内的新型生物标志物,在介导纳米颗粒与单核巨噬细胞互作中扮演至关重要的角色。因此,探究纳米颗粒表面蛋白冠的形成及其与单核巨噬细胞互作的过程非常重要。

在本文中,我们全面综述蛋白冠的形成及其影响因素,以及蛋白冠对纳米颗粒理化性能和生物学行为的影响,并重点聚焦纳米颗粒-蛋白冠复合体与单核巨噬细胞之间的相互作用及产生的免疫学效应。本文旨在通过深入剖析这些交互作用,为纳米医学材料的设计提供更为精准有效的策略,以期推动纳米医学在疾病治疗领域的广泛应用,最终提升纳米医学在临床实践中的效用和水平。

2. 纳米颗粒蛋白冠的形成及影响因素

2.1. 纳米颗粒-蛋白冠复合体的形成过程

纳米颗粒一旦进入生物体内,其表面可通过静电、范德华力及疏水键等作用吸附生物环境中的蛋白质形成独特的结构称为蛋白冠[9]。此过程通常包括三个关键阶段:首先是蛋白质的初始迅速吸附,紧接着是蛋白质间的竞争替换,最后达到一种动态平衡状态。纳米颗粒表面的蛋白质会经历持续的交换,即遵循“Vroman 效应”。“Vroman 效应”的时间跨度可从几分钟到数月不等,这取决于纳米颗粒的特性、蛋白质的种类、数量和浓度差异,以及它们之间的结合亲和力。初期,丰度较高、亲和力较低且结构较为松散的蛋白质往往率先吸附,形成所谓的“软蛋白冠”。随着时间的推移,这些蛋白质逐渐被丰度较低但结合亲和力较高的蛋白质所取代,形成更加稳定的“硬蛋白冠”[10] [11]。理论上,后续形成的更为稳定的“硬蛋白冠”对纳米颗粒的生物学特性和行为具有至关重要的调节作用。总体来说,纳米颗粒-蛋白冠复合体的形成是一个随时间演变的复杂动态过程,这对深入探究纳米颗粒与生物体相互作用具有重要参考意义,也为纳米医学领域的研究开辟新的思路。

2.2. 蛋白冠形成的影响因素

蛋白冠的形成是一个受多因素影响的复杂过程,主要取决于纳米颗粒的自身特性和外部生物环境特征[12] [13]。例如纳米颗粒的尺寸、形状、表面化学性质等特性以及外部生物环境的温度、PH、离子强度、疾病特异性标志物等特征都会对蛋白冠的形成产生综合性的影响[14] [15]。

2.2.1. 纳米颗粒自身特性

纳米颗粒的尺寸决定了表面曲率、空间位阻和可用于蛋白质结合的表面积,直接影响蛋白质的吸附量。一项针对金纳米颗粒(AuNPs)的研究表明,随着 AuNPs 的尺寸从 3.5 nm 增加至 150 nm,其表面的蛋白冠层厚度亦呈现增厚的趋势,但并非严格的线性关系[16]。另一项研究则发现,较小尺寸的 AuNPs 表面倾向形成更厚的蛋白冠层[17]。对于不同类型的纳米颗粒,Lima 等人发现在不同尺寸的羧化聚苯乙烯纳米颗粒(26, 80 和 200 nm)中,直径为 80 nm 的颗粒在蛋白冠的吸附方面优于其他两种颗粒[18]。这些发现均凸显纳米颗粒的尺寸对蛋白冠的形成具有重要影响,但同一类型甚至不同类型纳米颗粒尺寸差异对蛋白冠形成的影响研究结果尚存矛盾。

除纳米颗粒尺寸外,纳米颗粒的形状对蛋白质在其表面的吸附行为具有显著影响[19]。研究表明,相比球形二氧化硅纳米颗粒,棒形二氧化硅纳米颗粒吸附更多的血浆和血清蛋白质,主要归因于其表面吸附的免疫球蛋白数量相对更多,且在总蛋白数量中占有绝对优势[20]。棒形相较于球形纳米颗粒能吸附更多蛋白质,还在于棒形纳米颗粒的圆柱形或纵向轴面相对平坦,提供了更高的蛋白质堆积密度,从而使得吸附的蛋白质总量更庞大[21]。此外,纳米颗粒的形状还可能影响蛋白质在其表面的排列方式和构象,

进一步改变蛋白冠的功能,例如干扰纳米颗粒与细胞间的相互作用,或导致蛋白质内部原本隐藏的结合位点暴露,进而影响纳米颗粒在生物体内的行为[22]。

表面电荷在决定蛋白质与纳米颗粒表面结合以及稳定性方面也起着关键作用[23]。带正电荷的纳米颗粒,不论其类型,倾向于吸附更多的蛋白质。主要归因于阳离子纳米颗粒与带负电的蛋白质间的静电相互作用[24]。然而,生物环境中的高离子强度可能会削弱这种静电吸附力[25]。此外,纳米颗粒表面电荷的变化还会改变蛋白质的构象,具有更高电荷密度的纳米颗粒更易使蛋白质构象改变,进而影响纳米颗粒在生物体内的行为[26]。

除上述因素外,纳米颗粒的亲疏水性、表面粗糙度及力学性能等特性也影响蛋白冠的形成。这些发现为理解纳米颗粒与蛋白质的相互作用提供了更多的视角,且为后续调控纳米颗粒-蛋白冠复合体的形成并运用于纳米医学领域提供重要参考。

2.2.2. 外部生物环境

蛋白冠的形成还深受外部生物环境的影响,如温度、pH 值、离子强度等环境特征以及生物环境的流体组成等。

人的体温会在一定范围内发生变化,而蛋白质与纳米颗粒的吸附显著受温度影响[27]。Wolfgang 等人报道血清蛋白如白蛋白、血清转铁蛋白等可以形成温度依赖性蛋白冠。同时,体内不同部位的 pH 值差异显著,纳米颗粒在体内可经历不同 pH 环境[28]。pH 的变化不仅影响纳米颗粒与蛋白质的结合亲和力,还可引起蛋白质的构象和电荷变化。Shan 等人检测发现 pH 变化可影响二氧化钛纳米颗粒周围吸附的乳清蛋白结构,从而改变纳米颗粒周围蛋白冠的特性和纳米颗粒的聚集状态[29]。

外部生物环境的流体组成,特别是血浆和血清,因其富含多样的蛋白质组分成为研究纳米颗粒与蛋白质在体内相互作用的理想模型,且对蛋白冠的形成起主导作用。Schottler 等人比较了纳米颗粒在人血浆、人血清和胎牛血清中的蛋白质吸附情况,发现不论在何种生物流体环境中,白蛋白始终是蛋白冠中的主要蛋白质,其他蛋白质成分则存在显著差异[30]。此外,不仅同种血浆及血清中的蛋白冠有所不同,不同物种间,如人与小鼠,其血浆中形成蛋白冠也存在差异[31]。

鉴于纳米颗粒在医疗领域的广泛应用,以及患者体液中蛋白质的多样性和特异性,疾病状态下流体环境对纳米颗粒表面蛋白冠的形成尤为重要。研究表明,疾病状态下的蛋白冠具有疾病特异性和个体差异性。例如,高胆固醇血症患者血液中的高水平胆固醇会改变蛋白质与纳米颗粒的结合亲和力,导致蛋白冠中载脂蛋白增多而补体蛋白减少[32]。这种基于疾病背景的蛋白冠研究不仅揭示了纳米颗粒与生物体的复杂交互作用,也为设计高效、安全、精准的纳米医疗提供了重要依据。

3. 蛋白冠对纳米颗粒体内命运的影响

蛋白冠的形成会改变纳米颗粒的多种特性,涵盖其尺寸、形状、表面电荷、亲疏水性、力学性能等各种理化性能,并深刻影响纳米颗粒在生物体内的行为和命运。

3.1. 蛋白冠影响纳米颗粒的理化性能

蛋白冠的形成通常导致纳米颗粒的粒径增大,这是由于蛋白质倾向于吸附在纳米颗粒的表面,从而增加其外部尺寸,进而影响细胞摄取的途径和速率[33]。此外,蛋白质本身通常带电荷,因此吸附作用会进一步改变纳米颗粒的表面电荷[34],电荷的变化会影响纳米颗粒与生物分子间的相互作用。蛋白冠的形成还可能会破坏纳米颗粒表面的亲疏水性平衡,从而影响纳米颗粒的稳定性和靶向能力。同时,蛋白冠也对纳米颗粒的力学性能即表面弹性产生影响,这对纳米颗粒在血液循环、细胞摄取中至关重要。体外研究表明,较软的颗粒具有更少的巨噬细胞摄取和更长的血液循环时间[35]。总体而言,蛋白冠的形成对

纳米颗粒的各种理化性质都有显著影响，理化性质的改变进而会影响纳米颗粒的生物学行为和体内的最终命运。

3.2. 蛋白冠影响纳米颗粒的生物学行为

纳米颗粒进入生物体内后，作为外源性物质会被免疫系统迅速识别。单核巨噬细胞作为免疫系统的先锋，在纳米颗粒的识别摄取以及免疫应答的启动和调控中发挥关键作用。而单核巨噬细胞与纳米颗粒的交互作用深刻影响纳米颗粒在体内的分布、代谢、清除以及各种生物学行为及命运[6] [36]。值得注意的是，由于蛋白冠的形成，单核巨噬细胞识别的是被蛋白冠所包覆的纳米颗粒表面。蛋白冠不仅改变纳米颗粒的理化性能，还赋予其全新的生物学身份，为其与单核巨噬细胞相互作用提供全新界面。纳米颗粒表面的原始结构可以被隐藏或者改变，导致单核巨噬细胞更多通过与蛋白冠上的蛋白质相互作用来进行识别。蛋白冠中的特定蛋白质能够与单核巨噬细胞表面的受体相结合，从而影响单核巨噬细胞对原始纳米颗粒的识别、摄取和内吞行为，进而可能激活、抑制或屏蔽相关的免疫效应[37] [38]。这些复杂交互最终决定纳米颗粒在机体内的生物学行为与命运。然而，目前关于纳米颗粒-蛋白冠复合体与单核巨噬细胞之间相互作用的具体机制及带来的免疫效应尚未完全阐明。对此进行深入探究，有助于精准调控纳米颗粒的生物学行为及掌控其体内命运，进而优化其在纳米医学领域的应用效果。

4. 蛋白冠对纳米颗粒与单核巨噬细胞互作的影响

4.1. 蛋白冠影响单核巨噬细胞对纳米颗粒的摄取和内吞

蛋白冠显著改变了纳米颗粒的理化特性，且蛋白冠中吸附的蛋白质种类繁多。这些变化共同影响单核巨噬细胞对纳米颗粒的识别、摄取和内吞，进而干扰巨噬细胞对纳米颗粒-蛋白冠复合体的免疫效应。

在探讨纳米颗粒与巨噬细胞相互作用时，首要关注蛋白冠形成后纳米颗粒理化性能的变化带来的影响。当生理环境 pH 值为 7.4 时，多数血浆蛋白带负电荷，由此形成的纳米颗粒-蛋白冠复合体也呈负电性。这种负电表面与巨噬细胞膜上同带负电荷的磷脂分子相互排斥，降低了巨噬细胞对纳米颗粒的摄取[39]。蛋白冠介导的纳米颗粒理化性质的类似改变直接影响细胞的摄取行为。

在考虑蛋白冠中吸附蛋白质的具体组分时，例如，当超顺磁性氧化铁纳米颗粒被免疫球蛋白包裹时，显著促进巨噬细胞对其进行摄取，总体摄取效率提高了 10 倍[40]。Chad 等人发现当球形核酸(SNAs)吸附补体蛋白后，通过与巨噬细胞上的补体受体特异性识别，也促进纳米颗粒的内化。这类研究中报道的蛋白冠组分例如免疫球蛋白和补体等被称为调理素蛋白，能显著增强巨噬细胞的摄取能力[41] [42]。而当纳米颗粒表面吸附非调理素蛋白，例如白蛋白、载脂蛋白和凝血类蛋白质等，则减少巨噬细胞对其进行摄取。

除了影响细胞摄取，蛋白冠还对内吞过程产生显著影响[43] [44]。通过与巨噬细胞膜上受体相互结合，可改变纳米颗粒的内吞途径。在 AuNPs 的研究中，蛋白冠干扰了清道夫受体和小窝蛋白介导的内吞途径，却促进了网格蛋白介导的内吞，使纳米颗粒更倾向于该途径进入细胞。

上述研究结果表明，蛋白冠在介导巨噬细胞对纳米颗粒的摄取和内吞过程中发挥关键作用，这与后续巨噬细胞对纳米颗粒-蛋白冠复合体的免疫应答息息相关。在巨噬细胞摄取颗粒入胞、以及随后的胞内呈递过程，巨噬细胞能够感知并响应这些“颗粒”，通过激活一系列下游信号通路影响其基因表达，进而影响巨噬细胞的极化状态及功能。

4.2. 蛋白冠介导巨噬细胞对纳米颗粒免疫应答的激活效应

蛋白冠介导纳米颗粒与巨噬细胞之间的互作能够增强巨噬细胞的免疫反应，上调促炎基因的表达，

并触发多种炎症因子的释放。

多项研究已揭示纳米颗粒-蛋白冠复合体具备直接诱导巨噬细胞促炎极化免疫反应的能力。最新研究表明,碲化镉量子点(CdTe QD)在胎牛血清(FBS)中形成的蛋白冠相较于单纯的碲化镉量子点本身,可通过激活 NOD 样受体信号通路和 TNF 信号通路诱导巨噬细胞向炎症表型 M1 型极化,从而加剧炎症反应[45]。类似地,二氧化硅纳米颗粒(SiO₂ NPs)在 FBS 中形成的纳米颗粒-蛋白冠复合体亦能在数小时内激活巨噬细胞,并诱导其向 M1 型极化,而裸露 SiO₂ NPs 和同等剂量的 FBS 蛋白质则无此效应[46]。在纳米医学领域广泛应用的纳米颗粒类型中,聚合物纳米颗粒表面的蛋白冠同样对巨噬细胞的免疫原性产生影响。Obst 等人的研究针对热响应型枝状聚甘油(dPG)纳米凝胶(NGs)展开,发现吸附蛋白冠的聚合物纳米颗粒能显著促进巨噬细胞释放白细胞介素-6 (IL6)、白细胞介素-8 (IL8)等炎症细胞因子[47]。

另一方面,蛋白冠中的特定蛋白质能与巨噬细胞表面受体特异性结合,提升免疫原性并促进免疫反应[48]。例如,黑磷纳米颗粒(BPQDs)的蛋白冠主要由免疫相关蛋白构成(70%~76%),这些蛋白质与巨噬细胞表面受体结合,进而促进纳米颗粒的摄取,并显著刺激炎症细胞因子包括白细胞介素-1 β (IL1 β)、IL6 和 IL8 等的释放[49]。进一步从体外模拟血清到人血清,Cai 等人研究了人血清蛋白冠的形成对暴露 AuNPs-蛋白冠复合体的巨噬细胞吞噬和免疫的影响。结果表明,与原始纳米颗粒相比,AuNPs 表面的蛋白冠能够与巨噬细胞膜上的特定受体相互作用,从而改变 AuNPs 的内化途径,且蛋白冠中特定蛋白质如急性期蛋白、补体蛋白和免疫球蛋白的丰度与促炎细胞因子如 IL-1 β 的释放水平呈正相关[50]。上述结果均表明,蛋白冠在纳米生物效应及免疫反应中的重要作用。

在纳米医学实际应用中,必须考虑各种疾病背景下的机体内环境。在这些特定环境中,纳米颗粒能与疾病相关的蛋白质结合,形成个性化、疾病特异性的蛋白冠,这些蛋白冠可影响巨噬细胞对纳米颗粒-蛋白冠复合体的免疫反应,且与疾病的发展相关[51]。例如,当纳米医学应用于治疗与心血管疾病和脑血管疾病等多种人类疾病密切相关的高胆固醇血症时,患者血液内高水平的胆固醇通过调节蛋白质与纳米颗粒的结合强度,导致蛋白冠组成发生特异性变化,其中载脂蛋白的丰度显著提高而补体蛋白含量相应减少。与正常生理环境下的蛋白冠相比,这种胆固醇介导形成的蛋白冠极大增强巨噬细胞上脂蛋白受体对纳米颗粒-蛋白冠复合体的识别能力,这一变化不仅增加了纳米颗粒的摄取,还诱导巨噬细胞产生更为强烈的炎症反应。因此,高胆固醇病理环境下形成的纳米颗粒-蛋白冠复合体可诱导巨噬细胞对纳米颗粒产生更强烈的免疫应答[32]。

蛋白冠中蛋白质的结构并非静态[40],而是呈现出动态变化的特点。已有研究表明,蛋白冠的构象变化在免疫细胞对纳米颗粒的免疫应答中起着重要作用[52] [53]。Jun-Young 等人的研究结果显示,纳米颗粒-未折叠蛋白冠复合体与正常蛋白冠复合体相比显著促进巨噬细胞炎症介质活性氧(ROS)的产生,并促进肿瘤坏死因子(TNF)、IL1- β 和 IL-6 等促炎细胞因子的释放。这些促炎标志物的激活表明,结构变性的蛋白冠具有增强巨噬细胞促炎表达的能力[54]。

4.3. 蛋白冠介导巨噬细胞对纳米颗粒免疫应答的抑制效应

也有研究表明,蛋白冠的形成在抑制纳米颗粒本身对巨噬细胞的促炎效应上发挥显著作用,此效应通过抑制炎症相关的表达来实现,进而有效减少纳米颗粒引发的炎症反应。

当 SiO₂ NPs 进入机体内环境后常加剧肺部炎症,其中不乏与巨噬细胞相互作用并激活炎症反应等促炎过程。相较于裸露的 SiO₂ NPs 相比,蛋白冠覆盖的 SiO₂ NPs 虽在巨噬细胞中摄取量增加,却显著减少肿瘤坏死因子 α (TNF- α)等促炎细胞因子的产生和释放,有效抑制炎症反应[55]。同样,在纳米医学领域广泛应用的脂质纳米颗粒,经 Debnath 等人研究发现,其表面形成的血清蛋白冠能降低纳米颗粒引发的免疫反应。这种蛋白冠参与纳米颗粒的内吞途径,并通过抑制 NLRP3 炎性复合体的激活来调节巨噬细胞

对纳米颗粒的免疫响应,进而减少 IL-1 β 等炎性细胞因子的释放[56]。

近年来,纳米颗粒的研究已超越其固有特性的利用,转而通过表面或结构修饰以实现更广泛的功能性和适应性,然而改性过程常常伴随免疫原性的增强,源于新化学基团、电荷或表面形貌的引入,增强了与免疫系统的相互作用。以聚乙二醇(PEG)表面修饰的四氧化三铁纳米颗粒(IONP)为例[57],尽管 PEG 修饰旨在提升生物相容性,但研究发现其可诱导巨噬细胞促炎反应,表现为 ROS 水平升高及炎性因子如 IL-1 β 和 TNF- α 的释放。然而,当 IONP 形成蛋白冠后,这一促炎效应被显著抑制。在纳米颗粒改性中,表面接枝化学基团亦是一种常见策略。张等人发现原始的羧基化多壁碳纳米管(MWCNTs-COOH)可触发巨噬细胞释放 IL-1 β 和 TNF- α 。然而,当 MWCNTs-COOH 形成纳米颗粒-蛋白冠复合体后,其诱导的炎性细胞因子显著减少。这归因于蛋白冠降低了纳米颗粒在巨噬细胞中的摄取[58]。这一发现不仅证实了蛋白冠能有效抑制纳米颗粒诱导的巨噬细胞促炎反应,还进一步表明蛋白冠介导巨噬细胞对纳米颗粒的摄取减少可以从初始阶段抑制纳米颗粒诱导的免疫反应。

4.4. 蛋白冠介导巨噬细胞对纳米颗粒免疫应答的屏蔽效应

除了与巨噬细胞相互作用调节免疫反应外,纳米颗粒表面的蛋白冠还具有免疫屏蔽的效应。这种效应表现为纳米颗粒表面的分子或抗原被蛋白冠部分或全部覆盖,从而阻碍其与巨噬细胞表面特定受体的相互作用,影响后续的免疫应答。

在纳米医学领域,近年来的研究聚焦于利用纳米颗粒自身的免疫原性等特性或将纳米颗粒作为药物载体靶向巨噬细胞,以期实现其免疫激活作用,以此改善“冷肿瘤”的免疫抑制微环境的状态。使得“冷”肿瘤的低免疫原性状态转变为更具免疫活性的状态,即熟知的“热”肿瘤疗法[59]。但根据先前的研究表明,部分蛋白冠的形成可能无法导致免疫系统的激活,即不会诱导巨噬细胞等产生活性氧或促炎细胞因子。另一方面,根据前文所述,蛋白冠中若吸附了白蛋白、载脂蛋白和凝血类蛋白质等,可以减少巨噬细胞对纳米颗粒进行摄取,进而无法引发后续的免疫效应[60]。且这些蛋白质可以覆盖蛋白冠中已有的活性位点,进一步逃避巨噬细胞的识别。例如,Giulimondi 等人已经证明,脂质体纳米颗粒表面形成蛋白冠后会减少巨噬细胞的摄取,从而降低脂质体纳米颗粒的免疫原性[61]。

当纳米颗粒作为药物载体靶向巨噬细胞以实现免疫效应时,蛋白冠的形成可以改变纳米颗粒的药物释放动力学。具体表现为蛋白冠的存在构成一道屏障,占据原本用于药物释放的通道或位点,从而减缓或者阻碍药物分子从纳米载体中有效释放。这种效应不仅削弱了纳米颗粒作为药物载体与巨噬细胞相互作用并发挥特定免疫效应的治疗潜力,从免疫学视角来看,更呈现为一种免疫屏蔽效应,对纳米药物在体内的治疗效果产生不利影响[62]。

5. 总结与展望

本文对纳米颗粒表面蛋白冠的形成及其影响因素,以及蛋白冠的形成对纳米颗粒理化特性和生物学行为的影响进行全面综述,并聚焦于纳米颗粒-蛋白冠复合体与单核巨噬细胞相互作用,从巨噬细胞的摄取、内吞以及后续引发的免疫应答激活、抑制和屏蔽效应等角度深入剖析蛋白冠所介导的纳米颗粒的生物学行为和体内命运。借此深入剖析,一方面,在后续纳米医学的研究应用中可以规避蛋白冠介导的纳米颗粒与单核巨噬细胞互作可能带来的不利影响;另一方面,可从调控蛋白冠的角度为纳米医学材料的设计提供更为精准且高效的策略。这不仅有助于实现对纳米颗粒免疫效应的精确调控,还有望推动纳米医学与免疫学的深度融合,最终推动纳米医学在疾病治疗领域的广泛应用。

参考文献

- [1] Shi, Y. and Lammers, T. (2019) Combining Nanomedicine and Immunotherapy. *Accounts of Chemical Research*, 52,

- 1543-1554. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.9b00148>
- [2] Mitchell, M.J., Billingsley, M.M., Haley, R.M., Wechsler, M.E., Peppas, N.A. and Langer, R. (2020) Engineering Precision Nanoparticles for Drug Delivery. *Nature Reviews Drug Discovery*, **20**, 101-124. <https://doi.org/10.1038/s41573-020-0090-8>
 - [3] Lu, W., Yao, J., Zhu, X. and Qi, Y. (2021) Nanomedicines: Redefining Traditional Medicine. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **134**, Article ID: 111103. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.111103>
 - [4] Sau, S., Dey, A., Pal, P., Das, B., Maity, K.K., Dash, S.K., *et al.* (2024) Immunomodulatory and Immune-Toxicological Role of Nanoparticles: Potential Therapeutic Applications. *International Immunopharmacology*, **135**, Article ID: 112251. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2024.112251>
 - [5] Aljabali, A.A., Obeid, M.A., Bashatwah, R.M., Serrano-Aroca, Á., Mishra, V., Mishra, Y., *et al.* (2023) Nanomaterials and Their Impact on the Immune System. *International Journal of Molecular Sciences*, **24**, Article No. 2008. <https://doi.org/10.3390/ijms24032008>
 - [6] Pondman, K., Le Gac, S. and Kishore, U. (2023) Nanoparticle-Induced Immune Response: Health Risk versus Treatment Opportunity? *Immunobiology*, **228**, Article ID: 152317. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2022.152317>
 - [7] Dawson, K.A. and Yan, Y. (2021) Current Understanding of Biological Identity at the Nanoscale and Future Prospects. *Nature Nanotechnology*, **16**, 229-242. <https://doi.org/10.1038/s41565-021-00860-0>
 - [8] Monopoli, M.P., Åberg, C., Salvati, A. and Dawson, K.A. (2012) Biomolecular Coronas Provide the Biological Identity of Nanosized Materials. *Nature Nanotechnology*, **7**, 779-786. <https://doi.org/10.1038/nnano.2012.207>
 - [9] Wang, S., Zhang, J., Zhou, H., Lu, Y.C., Jin, X., Luo, L., *et al.* (2023) The Role of Protein Corona on Nanodrugs for Organ-Targeting and Its Prospects of Application. *Journal of Controlled Release*, **360**, 15-43. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2023.06.014>
 - [10] Vroman, L. (1962) Effect of Adsorbed Proteins on the Wettability of Hydrophilic and Hydrophobic Solids. *Nature*, **196**, 476-477. <https://doi.org/10.1038/196476a0>
 - [11] Nienhaus, K. and Nienhaus, G.U. (2023) Mechanistic Understanding of Protein Corona Formation around Nanoparticles: Old Puzzles and New Insights. *Small*, **19**, Article ID: 2301663. <https://doi.org/10.1002/sml.202301663>
 - [12] Tomak, A., Cesmeli, S., Hanoglu, B.D., Winkler, D. and Oksel Karakus, C. (2021) Nanoparticle-Protein Corona Complex: Understanding Multiple Interactions between Environmental Factors, Corona Formation, and Biological Activity. *Nanotoxicology*, **15**, 1331-1357. <https://doi.org/10.1080/17435390.2022.2025467>
 - [13] Mahmoudi, M., Lynch, I., Ejtehadi, M.R., Monopoli, M.P., Bombelli, F.B. and Laurent, S. (2011) Protein-Nanoparticle Interactions: Opportunities and Challenges. *Chemical Reviews*, **111**, 5610-5637. <https://doi.org/10.1021/cr100440g>
 - [14] Tengjisi, Hui, Y., Fan, Y., Zou, D., Talbo, G.H., Yang, G., *et al.* (2022) Influence of Nanoparticle Mechanical Property on Protein Corona Formation. *Journal of Colloid and Interface Science*, **606**, 1737-1744. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2021.08.148>
 - [15] Pustulka, S.M., Ling, K., Pish, S.L. and Champion, J.A. (2020) Protein Nanoparticle Charge and Hydrophobicity Govern Protein Corona and Macrophage Uptake. *ACS Applied Materials & Interfaces*, **12**, 48284-48295. <https://doi.org/10.1021/acsami.0c12341>
 - [16] Piella, J., Bastús, N.G. and Puentes, V. (2016) Size-Dependent Protein-Nanoparticle Interactions in Citrate-Stabilized Gold Nanoparticles: The Emergence of the Protein Corona. *Bioconjugate Chemistry*, **28**, 88-97. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.6b00575>
 - [17] Schäffler, M., Semmler-Behnke, M., Sarioglu, H., Takenaka, S., Wenk, A., Schleh, C., *et al.* (2013) Serum Protein Identification and Quantification of the Corona of 5, 15 and 80 nm Gold Nanoparticles. *Nanotechnology*, **24**, Article No. 265103. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/24/26/265103>
 - [18] Lima, T., Bernfur, K., Vilanova, M. and Cedervall, T. (2020) Understanding the Lipid and Protein Corona Formation on Different Sized Polymeric Nanoparticles. *Scientific Reports*, **10**, Article No. 1129. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-57943-6>
 - [19] Bilardo, R., Traldi, F., Vdovchenko, A. and Resmini, M. (2022) Influence of Surface Chemistry and Morphology of Nanoparticles on Protein Corona Formation. *WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology*, **14**, e1788. <https://doi.org/10.1002/wnan.1788>
 - [20] Madathiparambil Visalakshan, R., González García, L.E., Benzigar, M.R., Ghazaryan, A., Simon, J., Mierczynska-Vasilev, A., *et al.* (2020) The Influence of Nanoparticle Shape on Protein Corona Formation. *Small*, **16**, Article ID: 2000285. <https://doi.org/10.1002/sml.202000285>
 - [21] Ren, J., Andrikopoulos, N., Velonia, K., Tang, H., Cai, R., Ding, F., *et al.* (2022) Chemical and Biophysical Signatures of the Protein Corona in Nanomedicine. *Journal of the American Chemical Society*, **144**, 9184-9205. <https://doi.org/10.1021/jacs.2c02277>

- [22] Wang, X., Lei, R., Li, L., Fei, X., Ju, R., Sun, X., *et al.* (2021) Rearrangement of Protein Structures on a Gold Nanoparticle Surface Is Regulated by Ligand Adsorption Modes. *Nanoscale*, **13**, 20425-20436. <https://doi.org/10.1039/d1nr04813a>
- [23] Arezki, Y., Delalande, F., Schaeffer-Reiss, C., Cianféroni, S., Rapp, M., Lebeau, L., *et al.* (2022) Surface Charge Influences Protein Corona, Cell Uptake and Biological Effects of Carbon Dots. *Nanoscale*, **14**, 14695-14710. <https://doi.org/10.1039/d2nr03611h>
- [24] Docter, D., Westmeier, D., Markiewicz, M., Stolte, S., Knauer, S.K. and Stauber, R.H. (2015) The Nanoparticle Bio-molecule Corona: Lessons Learned-Challenge Accepted? *Chemical Society Reviews*, **44**, 6094-6121. <https://doi.org/10.1039/c5cs00217f>
- [25] Treuel, L., Brandholt, S., Maffre, P., Wiegeler, S., Shang, L. and Nienhaus, G.U. (2014) Impact of Protein Modification on the Protein Corona on Nanoparticles and Nanoparticle-Cell Interactions. *ACS Nano*, **8**, 503-513. <https://doi.org/10.1021/nn405019v>
- [26] Almalik, A., Benabdelkamel, H., Masood, A., Alanazi, I.O., Alradwan, I., Majrashi, M.A., *et al.* (2017) Hyaluronic Acid Coated Chitosan Nanoparticles Reduced the Immunogenicity of the Formed Protein Corona. *Scientific Reports*, **7**, Article No. 10542. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10836-7>
- [27] Li, M., Zhang, X., Li, S., Shao, X., Chen, H., Lv, L., *et al.* (2021) Probing Protein Dissociation from Gold Nanoparticles and the Influence of Temperature from the Protein Corona Formation Mechanism. *RSC Advances*, **11**, 18198-18204. <https://doi.org/10.1039/d1ra02116h>
- [28] Xu, X., Liao, H., Liu, H., Chu, Y., He, Y. and Wang, Y. (2021) A Water-Soluble Photothermal Host-Guest Complex with pH-Sensitive Superlarge Redshift Absorption. *CCS Chemistry*, **3**, 2520-2529. <https://doi.org/10.31635/ccschem.020.202000505>
- [29] Shan, H., Zhao, Q., Guo, Y., Gao, M., Xu, X., McClements, D.J., *et al.* (2023) Impact of pH on the Formation and Properties of Whey Protein Coronas around TiO₂ Nanoparticles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **71**, 5756-5769. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c00073>
- [30] Schöttler, S., Landfester, K. and Mailänder, V. (2016) Controlling the Stealth Effect of Nanocarriers through Understanding the Protein Corona. *Angewandte Chemie International Edition*, **55**, 8806-8815. <https://doi.org/10.1002/anie.201602233>
- [31] Capolla, S., Colombo, F., De Maso, L., Mauro, P., Bertocin, P., Kähne, T., *et al.* (2023) Surface Antibody Changes Protein Corona both in Human and Mouse Serum but Not Final Opsonization and Elimination of Targeted Polymeric Nanoparticles. *Journal of Nanobiotechnology*, **21**, Article No. 376. <https://doi.org/10.1186/s12951-023-02134-4>
- [32] Tang, H., Zhang, Y., Yang, T., Wang, C., Zhu, Y., Qiu, L., *et al.* (2023) Cholesterol Modulates the Physiological Response to Nanoparticles by Changing the Composition of Protein Corona. *Nature Nanotechnology*, **18**, 1067-1077. <https://doi.org/10.1038/s41565-023-01455-7>
- [33] Han, S., da Costa Marques, R., Simon, J., Kaltbeitzel, A., Koynov, K., Landfester, K., *et al.* (2023) Endosomal Sorting Results in a Selective Separation of the Protein Corona from Nanoparticles. *Nature Communications*, **14**, Article No. 295. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-35902-9>
- [34] Tavakoli, S., Kari, O.K., Turunen, T., Lajunen, T., Schmitt, M., Lehtinen, J., *et al.* (2020) Diffusion and Protein Corona Formation of Lipid-Based Nanoparticles in the Vitreous Humor: Profiling and Pharmacokinetic Considerations. *Molecular Pharmaceutics*, **18**, 699-713. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.0c00411>
- [35] Agrahari, V., Burnouf, P., Burnouf, T. and Agrahari, V. (2019) Nanoformulation Properties, Characterization, and Behavior in Complex Biological Matrices: Challenges and Opportunities for Brain-Targeted Drug Delivery Applications and Enhanced Translational Potential. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **148**, 146-180. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2019.02.008>
- [36] Ngobili, T.A. and Daniele, M.A. (2016) Nanoparticles and Direct Immunosuppression. *Experimental Biology and Medicine*, **241**, 1064-1073. <https://doi.org/10.1177/1535370216650053>
- [37] Tran, T.T. and Roffler, S.R. (2023) Interactions between Nanoparticle Corona Proteins and the Immune System. *Current Opinion in Biotechnology*, **84**, Article ID: 103010. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2023.103010>
- [38] Wang, Y., Zhou, Y., Sun, J., Wang, X., Jia, Y., Ge, K., *et al.* (2022) The Yin and Yang of the Protein Corona on the Delivery Journey of Nanoparticles. *Nano Research*, **16**, 715-734. <https://doi.org/10.1007/s12274-022-4849-6>
- [39] Cai, R. and Chen, C. (2018) The Crown and the Scepter: Roles of the Protein Corona in Nanomedicine. *Advanced Materials*, **31**, Article ID: 1805740. <https://doi.org/10.1002/adma.201805740>
- [40] Lunov, O., Syrovets, T., Loos, C., Beil, J., Delacher, M., Tron, K., *et al.* (2011) Differential Uptake of Functionalized Polystyrene Nanoparticles by Human Macrophages and a Monocytic Cell Line. *ACS Nano*, **5**, 1657-1669. <https://doi.org/10.1021/nn2000756>
- [41] Chinen, A.B., Guan, C.M., Ko, C.H. and Mirkin, C.A. (2017) The Impact of Protein Corona Formation on the Macro-

- phage Cellular Uptake and Biodistribution of Spherical Nucleic Acids. *Small*, **13**, Article ID: 1603847. <https://doi.org/10.1002/sml.201603847>
- [42] Marques, C., Hajipour, M.J., Marets, C., Oudot, A., Safavi-sohi, R., Guillemin, M., *et al.* (2023) Identification of the Proteins Determining the Blood Circulation Time of Nanoparticles. *ACS Nano*, **17**, 12458-12470. <https://doi.org/10.1021/acsnano.3c02041>
- [43] Cheng, X., Tian, X., Wu, A., Li, J., Tian, J., Chong, Y., *et al.* (2015) Protein Corona Influences Cellular Uptake of Gold Nanoparticles by Phagocytic and Nonphagocytic Cells in a Size-Dependent Manner. *ACS Applied Materials & Interfaces*, **7**, 20568-20575. <https://doi.org/10.1021/acsaami.5b04290>
- [44] Kim, H., Yuk, S.A., Dieterly, A.M., Kwon, S., Park, J., Meng, F., *et al.* (2021) Nanosac, a Noncationic and Soft Polyphenol Nanocapsule, Enables Systemic Delivery of siRNA to Solid Tumors. *ACS Nano*, **15**, 4576-4593. <https://doi.org/10.1021/acsnano.0c08694>
- [45] Liu, N., Liang, Y., Wei, T., Huang, X., Zhang, T. and Tang, M. (2024) Protein Corona Exacerbated Inflammatory Response in Macrophages Elicited by CdTe Quantum Dots. *NanoImpact*, **33**, Article ID: 100494. <https://doi.org/10.1016/j.impact.2024.100494>
- [46] Mohammad-Beigi, H., Scavenius, C., Jensen, P.B., Kjaer-Sorensen, K., Oxvig, C., Boesen, T., *et al.* (2020) Tracing the In Vivo Fate of Nanoparticles with a “Non-Self” Biological Identity. *ACS Nano*, **14**, 10666-10679. <https://doi.org/10.1021/acsnano.0c05178>
- [47] Obst, K., Yealland, G., Balzus, B., Miceli, E., Dimde, M., Weise, C., *et al.* (2017) Protein Corona Formation on Colloidal Polymeric Nanoparticles and Polymeric Nanogels: Impact on Cellular Uptake, Toxicity, Immunogenicity, and Drug Release Properties. *Biomacromolecules*, **18**, 1762-1771. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.7b00158>
- [48] Saha, K., Rahimi, M., Yazdani, M., Kim, S.T., Moyano, D.F., Hou, S., *et al.* (2016) Regulation of Macrophage Recognition through the Interplay of Nanoparticle Surface Functionality and Protein Corona. *ACS Nano*, **10**, 4421-4430. <https://doi.org/10.1021/acsnano.6b00053>
- [49] Mo, J., Xie, Q., Wei, W. and Zhao, J. (2018) Revealing the Immune Perturbation of Black Phosphorus Nanomaterials to Macrophages by Understanding the Protein Corona. *Nature Communications*, **9**, Article No. 2480. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04873-7>
- [50] Cai, R., Ren, J., Ji, Y., Wang, Y., Liu, Y., Chen, Z., *et al.* (2019) Corona of Thorns: The Surface Chemistry-Mediated Protein Corona Perturbs the Recognition and Immune Response of Macrophages. *ACS Applied Materials & Interfaces*, **12**, 1997-2008. <https://doi.org/10.1021/acsaami.9b15910>
- [51] Yang, M., Wu, E., Tang, W., Qian, J. and Zhan, C. (2021) Interplay between Nanomedicine and Protein Corona. *Journal of Materials Chemistry B*, **9**, 6713-6727. <https://doi.org/10.1039/d1tb01063h>
- [52] Duan, Y., Liu, Y., Shen, W. and Zhong, W. (2017) Fluorescamine Labeling for Assessment of Protein Conformational Change and Binding Affinity in Protein-Nanoparticle Interaction. *Analytical Chemistry*, **89**, 12160-12167. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b02810>
- [53] Raoufi, M., Hajipour, M.J., Kamali Shahri, S.M., Schoen, I., Linn, U. and Mahmoudi, M. (2018) Probing Fibronectin Conformation on a Protein Corona Layer around Nanoparticles. *Nanoscale*, **10**, 1228-1233. <https://doi.org/10.1039/c7nr06970g>
- [54] Park, J., Park, S.J., Park, J.Y., Kim, S., Kwon, S., Jung, Y., *et al.* (2021) Unfolded Protein Corona Surrounding Nanotubes Influence the Innate and Adaptive Immune System. *Advanced Science*, **8**, Article ID: 2004979. <https://doi.org/10.1002/adv.202004979>
- [55] Leibe, R., Hsiao, I., Fritsch-Decker, S., Kielmeier, U., Wagbo, A.M., Voss, B., *et al.* (2019) The Protein Corona Suppresses the Cytotoxic and Pro-Inflammatory Response in Lung Epithelial Cells and Macrophages upon Exposure to Nanosilica. *Archives of Toxicology*, **93**, 871-885. <https://doi.org/10.1007/s00204-019-02422-9>
- [56] Debnath, M., Forster, J., Ramesh, A. and Kulkarni, A. (2023) Protein Corona Formation on Lipid Nanoparticles Negatively Affects the NLRP3 Inflammasome Activation. *Bioconjugate Chemistry*, **34**, 1766-1779. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.3c00329>
- [57] Escamilla-Rivera, V., Uribe-Ramírez, M., González-Pozos, S., Lozano, O., Lucas, S. and De Vizcaya-Ruiz, A. (2016) Protein Corona Acts as a Protective Shield against Fe₃O₄-PEG Inflammation and ROS-Induced Toxicity in Human Macrophages. *Toxicology Letters*, **240**, 172-184. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2015.10.018>
- [58] Zhang, T., Tang, M., Yao, Y., Ma, Y. and Pu, Y. (2019) MWCNT Interactions with Protein: Surface-Induced Changes in Protein Adsorption and the Impact of Protein Corona on Cellular Uptake and Cytotoxicity. *International Journal of Nanomedicine*, **14**, 993-1009. <https://doi.org/10.2147/ijn.s191689>
- [59] Cheng, Z., Li, M., Dey, R. and Chen, Y. (2021) Nanomaterials for Cancer Therapy: Current Progress and Perspectives. *Journal of Hematology & Oncology*, **14**, Article No. 85. <https://doi.org/10.1186/s13045-021-01096-0>
- [60] Rezaei, G., Daghighi, S.M., Raoufi, M., Esfandiyari-Manesh, M., Rahimifard, M., Mobarakeh, V.I., *et al.* (2019) Syn-

-
- thetic and Biological Identities of Polymeric Nanoparticles Influencing the Cellular Delivery: An Immunological Link. *Journal of Colloid and Interface Science*, **556**, 476-491. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2019.08.060>
- [61] Giulimondi, F., Digiacomo, L., Pozzi, D., Palchetti, S., Vulpis, E., Capriotti, A.L., *et al.* (2019) Interplay of Protein Corona and Immune Cells Controls Blood Residency of Liposomes. *Nature Communications*, **10**, Article No. 3686. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-11642-7>
- [62] Moghimi, S.M., Simberg, D., Skotland, T., Yaghmur, A. and Hunter, A.C. (2019) The Interplay between Blood Proteins, Complement, and Macrophages on Nanomedicine Performance and Responses. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **370**, 581-592. <https://doi.org/10.1124/jpet.119.258012>