

·综述·

聚乙二醇修饰脂质体的 ABC 现象研究进展

徐 缓¹, 王凯乾², 黄微崑², 邓意辉^{2*}, 陈大为²

(1. 辽宁师范大学化学化工学院, 辽宁 大连 116029; 2. 沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016)

摘要: 通常聚乙二醇 (polyethylene glycol, PEG) 修饰脂质体被认为几乎没有或仅有很低的免疫原性。最新的文献报道, 重复注射 PEG 修饰脂质体发生了免疫反应。当向同一动物体内重复注射 (间隔几天) PEG 化脂质体时, 二次注射的 PEG 化脂质体导致体内循环时间降低, 于肝和脾的聚集量增加, 这种现象称为“加速血液清除” (accelerated blood clearance, ABC) 现象。该免疫反应使 PEG 化制剂的发展和临床应用面临严峻的挑战, 可能造成药物或基因治疗效率的下降, 甚至引起临床的毒副作用。本文综述了 ABC 现象的定义、验证 ABC 现象的方法和手段、ABC 现象成因的研究进展及影响因素, 并对其他 PEG 修饰载体是否也会发生 ABC 现象进行了探讨。

关键词: 聚乙二醇; 脂质体; 加速血液清除; 抗-聚乙二醇免疫球蛋白 M

中图分类号: R943

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2010) 06-0677-07

Recent advances in the study of accelerated blood clearance phenomenon of PEGylated liposomes

XU Huan¹, WANG Kai-qian², HUANG Wei-wei², DENG Yi-hui^{2*}, CHEN Da-wei²

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Liaoning Normal University, Dalian 116029, China;

2. China School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract: It is generally believed that liposomes modified with polyethylene glycol (PEG) have no or lower immunogenicity. However, based on many recent literatures, when the PEGylated liposomes were repeatedly applied to the same animal, the immune responses occurred. The first injection of PEGylated liposomes resulted in a reduction in the circulation time and an increase in hepatic and splenic accumulation of the second dose of PEGylated liposomes in a time-interval, which was called “accelerated blood clearance (ABC)” phenomenon. Such immunogenicity of PEGylated liposomes presents a barrier in the research of liposomal formulations and their use in the clinics. This review focused on the definition, the method of verification, the development of the reason for ABC phenomenon, influencing factors of ABC phenomenon, and discussed if other PEGylated nanocarriers also induce ABC phenomenon.

Key words: polyethylene glycol; liposome; accelerated blood clearance; anti- polyethylene glycol IgM

普通脂质体作为药物递送载体较易被单核巨噬细胞系统 (mononuclear phagocyte system, MPS) 吞噬而迅速从血液循环中消失, 为了解决此问题, 研究人员将聚乙二醇 (polyethylene glycol, PEG) 类脂质衍生物修饰于脂质体表面, 利用 PEG 的亲水性和柔

顺性, 延长脂质体体内循环时间, 减少 MPS 的分布量, 增强靶向性, 同时也明显提高了脂质体及药物的物理、化学和生物学稳定性。PEG 化脂质体的临床研究已有多年历史, PEG 化脂质体以及相关产品的开发成为目前脂质体研究领域中的热点。

临床使用时 PEG 化脂质体需要重复注射, 然而目前关于体内重复注射 PEG 化脂质体的药动学资料比较缺乏。一直以来, PEG 化脂质体都被认为没

收稿日期: 2009-10-13.

*通讯作者 Tel: 86-24-23986316, Fax: 86-24-62561042,

E-mail: dds-666-happy@163.com

有免疫原性,但是脂质体在体内的行为可能比预想的更为复杂。有研究者发现,当向同一动物体内重复注射(间隔几天)PEG化脂质体时,二次注射的PEG化脂质体丧失长循环特性,这一现象被称之为ABC现象^[1-3]。这种脂质体药动力学特性的改变在其临床应用中是一个重大缺陷,如果脂质体包封的药物具有细胞毒性,那么脂质体在肝脏巨噬细胞的聚集会导致这些细胞的凋亡和坏死。而肝脏Kupffer细胞的恢复需要2周时间,Kupffer细胞缺失的这段时间会引起菌血症,对于癌症患者是致命的。ABC现象也会造成药物或基因治疗效率的下降, Semple等^[4]的研究表明,重复注射包封寡核苷酸、pDNA或RNA核酶的PEG化脂质体会诱导强烈的免疫应答,导致制剂血液循环时间缩短和小鼠死亡率显著增加。

1 ABC现象的提出

PEG化脂质体重复注射于同一动物体内时会发生异常的药代动力学的改变,一般表现为二次注射的PEG化脂质体血液清除速度加快,在肝和脾的聚集量增加。Dams等^[1]以^{99m}Tc标记脂质体,研究大鼠重复注射PEG化脂质体的情况。结果发现,二次注射的脂质体血浆水平明显降低,且肝摄取量从(8.1±0.8)%升至(46.2±9.8)%。对恒河猴进行考察时也产生明显的ABC现象,脂质体的半衰期由87.5h减至14.2h,而肝摄取量由17.6%增至41.2%^[2]。该项研究者首次提出ABC现象。

目前研究一般将ABC现象分为两相^[2]:诱导相(induction-phase)——首次注射脂质体后生物体已接触抗原(表明某种可传输血清因子形成);完成相(effectuation-phase)——二次注射后PEG化脂质体从血液循环中迅速消除(图1)。

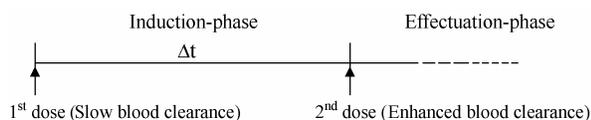


Figure 1 Schematic representation of the time frame of the two phases of the so-called enhanced clearance effect

2 验证ABC现象的方法和手段

在研究ABC现象时,研究人员通过将二次注射的PEG化脂质体进行示踪标记——利用钨标记PEG(^{99m}Tc-PEG)^[1, 2]或³H-CHE^[3]标记脂质体中脂质组分等手段来确定二次注射脂质体的药动力学行为和组织分布的变化。ABC现象研究中应用的动物模型多为

大鼠^[2, 3],一般处理过程是经大鼠的右股静脉首次给药,乙醚麻醉后左股静脉和动脉插管,将标记的PEG化脂质体通过股静脉插管注入,进行二次给药。在不同的时间间隔经股动脉插管将血浆样品取出,最后将大鼠处死,取出脏器,测定PEG化脂质体的组织分布情况。也有人采用小鼠、恒河猴等作为动物模型^[1, 5]。肝脏清除率能够反映Kupffer细胞对脂质体的摄取活性,是一个很好的比较ABC现象程度的参数^[6, 7]。

近年来普遍认为免疫球蛋白或补体与ABC现象的诱导有密切关系,因此测定免疫球蛋白M(IgM)或补体也成为研究ABC现象的手段之一。可利用IgM酶联免疫吸附定量试剂盒测定大鼠血清中与脂质体结合的IgM^[3]。另外,为了验证血清中是否含有诱导ABC现象的血清因子,有人将经预注射PEG化脂质体的大鼠血清加热至56℃(30min)发现,该血清可以抑制所有的补体活性^[8]。

3 ABC现象成因的研究进展

有研究人员提出ABC现象是由于PEG层从脂质体表面脱离引起,认为摩尔比为5%的PEG脂质修饰脂质体缺乏长循环特性的原因是:当PEG化脂质体以这样的低浓度出现在大体积的血浆中时,可能造成PEG与脂质体的分离^[6]。但是,Parr等^[9]的研究表明静注PEG化脂质体24h后,PEG-二硬脂酰磷脂酰胆碱(PEG-DSPE)也很少或几乎没有从脂质体表面脱离,该研究采用脂质体的处方与研究ABC现象时所用处方是相似的。这一结论被Silvius等^[10]支持:PEG-DSPE(其中PEG的相对分子质量为1900)从脂质双分子层的交换半衰期为70h。因此,PEG脂质从脂质体表面的脱离不可能是产生ABC现象的主要原因。

Laverman等^[2]推测ABC现象的产生是由于肝脾巨噬细胞分泌了一种不耐热的血清因子,而巨噬细胞对脂质体的吞噬与这种血清因子的产生有关。将经过预注射脂质体的大鼠血清通过抗大鼠IgM琼脂糖层析柱后,得到IgM-衰竭的血清,洗脱琼脂糖层析柱则得到IgM级分。当向大鼠灌注该IgM级分时并没有引起二次注射PEG化脂质体药动力学的异常变化,而注射IgM-衰竭的血清则引起其清除加快,因此得出结论:ABC现象并不是由IgM诱导的。这与一些ABC现象相关的研究结论^[5, 11]相悖,其原因可能是IgM-衰竭血清中残留的IgM(约20%)被浓缩在脂质体表面,通过与PEG的选择性结合,激活了C系统——继而通过酶促反应串联被极大地放大。Ishida

等^[11]通过二维聚丙烯酰胺凝胶电泳法 (2D-PAGE) 和十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳法 (SDS-PAGE) 证明在预处理血清中与 PEG 化脂质体结合的血清蛋白是 IgM。

可诱导免疫反应的二级抗原 (TI-2) 由细菌的细胞壁和荚膜多糖组成, 不依赖胸腺, 具有高度重复结构^[5]。该抗原有可能与 B 细胞表面的免疫球蛋白广泛交联, 导致 B 细胞分泌 IgM 和 IgG。当 TI-2 激活 B 细胞时, 抗原决定簇的密度是关键。密度过低不足以激活细胞; 密度过高则细胞反应性反而降低。PEG 聚合物也具有高度重复结构, 低剂量的 PEG 化脂质体能够诱导 ABC 现象, 表明在此条件下抗原决定簇 (PEG) 的密度足以激活 B 细胞。一旦 PEG 化脂质体到达脾脏, 与被 PEG (或 PEG 化脂质体) 激活的 B 细胞表面的抗原结合、交联, 导致抗-PEG IgM 的产生^[3]。

众所周知, 脾在免疫反应中扮演着重要角色。首次注射 PEG 化脂质体之前将脾切除, 则二次注射 PEG 化脂质体的 ABC 现象完全消失; 未切除脾的对照组中大鼠血清与脂质体结合的 IgM 量比脾切除组高 8 倍, 这表明脂质体与 IgM 的结合是诱导 ABC 现象的关键因素^[12]。PEG 化脂质体充当脾脏中 B 细胞的活化剂。

综合目前的研究, ABC 现象是通过以下机制产生^[5, 11-13]: 首次注射的脂质体在脾脏产生抗-PEG IgM, 该血清因子选择性结合到几天后注射的 PEG 化脂质体表面的 PEG 上, 并随后激活补体系统, 导致补体 C3 片段对脂质体的调理作用, 结果增强了肝脏 Kupffer 细胞对脂质体的摄取, 于是产生了 ABC 现象。

除此之外, 关于 ABC 现象尚有其他解释^[4, 14]: 首次注射的 PEG 化脂质体引发了胸腺和/或血液中淋

巴细胞的免疫应答, 导致细胞因子和/或化学增活素的大量产生^[15, 16], 因此导致非调理素依赖的 Kupffer 细胞吞噬作用, 引起试验剂量的 PEG 化脂质体摄取的增加, 而该过程中并没有抗 PEG IgM 的产生, 但是相关证据并不充足。

4 ABC 现象的影响因素

4.1 首次注射脂质体是否有 PEG 包衣 ABC 现象的早期研究认为仅当首次注射 PEG 化脂质体才能引起二次注射 PEG 化脂质体的加速清除, 但是 Wang 等^[17]发现首剂量的常规脂质体 (conventional liposome, CL) 也能诱导强烈的 ABC 现象。与 PEG 化脂质体或 CL 结合的 IgM 的量及其伴随的由这些脂质体激发的补体激活作用与脂质体的加速清除反应强度之间存在着良好的对应关系。预先注射 CL (磷脂剂量 $5 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$), 则二次注射 PEG 化脂质体的循环时间急剧减少, 最强的 ABC 反应出现在两次注射间隔为 7 天的实验组。首次注射 CL 14 天后进行二次给药仍能观察到明显的 ABC 现象, 并伴有脾聚集量的增加, 但其增加程度小于肝脏 (图 2)^[6]。

ABC 现象的产生是由于首次注射脂质体诱导抗 PEG IgM 产生, 以及二次注射的由 PEG 修饰而不是 CL 激发的补体激活, 因此 ABC 现象可被多种脂质体组分诱导, 但仅 PEG 修饰脂质体对该现象的完成相敏感。另外, 注射 PEG₂₀₀₀-DSPE (无脂质体) 不会诱导 ABC 现象^[1], 这进一步说明脂质体组分可能是激发免疫球蛋白分泌的主要原因。

4.2 磷脂剂量的影响

Ishida 等^[5]发现 PEG 化脂质体的首剂量与 ABC 现象发生的程度存在明显的反相关。大鼠首次注射 PEG 化脂质体, 磷脂剂量分别为 0 (HEPES 盐缓冲液)、0.001、0.01、0.1、1 和 $5 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$,

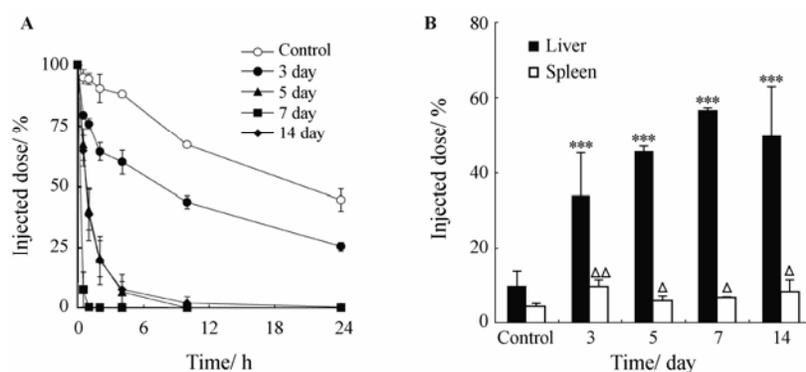


Figure 2 Induction of the ABC phenomenon by non-PEGylated liposomes^[6]. A: Blood clearance profile of subsequently injected radio-labeled mPEG2000-liposomes; B: Hepatic and splenic accumulation of subsequently injected radiolabeled mPEG2000-liposomes at 24 h following the injection. *** $P < 0.001$ vs control (liver); $\triangle P < 0.05$, $\triangle\triangle P < 0.01$ vs control (spleen)

5 d 后注射放射标记的 PEG 化脂质体 (磷脂剂量 $5 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$), 结果表明二次注射 PEG 化脂质体的血液清除程度与肝聚集量随首剂量的降低而明显增加。当首剂量磷脂大于 $1 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时, 二次注射的 PEG 化脂质体血液清除速度不再继续加快。在与 IgM 结合的实验中发现, PEG 化脂质体和 IgM 的结合量与首次注射 PEG 化脂质体的浓度呈反相关^[11]: 低首剂量 (磷脂剂量 $0.001 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$), 每 $1 \mu\text{mol}$ 磷脂会产生约 $9 \mu\text{g}$ IgM, 而高首剂量 (磷脂剂量 $5 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$) 时, 每 $1 \mu\text{mol}$ 磷脂仅产生约 $4 \mu\text{g}$ IgM。首次注射 CL, 仅在高剂量时才会导致 IgM 结合量明显增加。

而 Laverman 等^[2]的研究与上述 Ishida 的结果存在一定矛盾。首次注射磷脂剂量分别为 0.05 、 0.5 和 $5.0 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$, 二次注射 PEG 化脂质体 (磷脂剂量 $5.0 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$) 时均能产生 ABC 现象^[7]。当固定首次注射磷脂剂量为 $5.0 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$, 二次注射的 PEG 化脂质体磷脂剂量为 15 或 $50 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时, 产生的 ABC 现象比 $5.0 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组明显减弱 (图 3)。

上述研究表明首剂量对 ABC 现象影响的结论并不一致。这两组研究采用的磷脂类型不同, 前者应用的是氢化卵磷脂 (HEPC), 后者是部分氢化卵磷脂 (PHEPC)。在 ABC 现象的研究中, 脂质体的处方多由 HEPC、胆固醇和 PEG-DSPE 组成^[2, 5, 12], 或以氢化大豆磷脂 (HSPC) 代替 HEPC^[3], 但是目前还没有实验数据证明磷脂类型对 ABC 现象的影响, 值得进一步研究和确证。

4.3 PEG-DSPE 浓度的影响 目前能够诱导产生 ABC 现象的 PEG 化脂质体均以 PEG-DSPE 为长循环材料, 因此有研究者考察了 PEG-DSPE 在处方中的比例对 ABC 现象的影响。首次注射 PEG 化脂质体中 PEG-DSPE 占处方脂质摩尔比分别为 0% 、 5% 、 10%

和 15% (磷脂剂量为 $0.001 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$), 5 d 后注射 PEG 化脂质体 (磷脂剂量为 $5.0 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$, PEG-DSPE 在处方中的摩尔比例为 5%)。结果发现, ABC 现象发生的程度与 PEG-DSPE 的比例存在明显的反相关。PEG-DSPE 比例为 0 的脂质体 (即普通脂质体) 不产生 ABC 现象; 含有 5% PEG-DSPE 的脂质体可以诱导产生明显的 ABC 现象, 且伴随肝聚集量显著增加; 进一步增加 PEG-DSPE 的含量 (10% 和 15%), 与 5% 组相比, 二次注射脂质体的清除速率与肝聚集呈现降低趋势 ($P < 0.01$), 但仍显著高于对照组^[6]。结果表明 ABC 现象发生的程度与 PEG 的密度有关。

Ishida 等^[18]也发现增加 PEG-DSPE 的比例能减弱 PEG 化脂质体对 ABC 现象的诱导。与首次剂量中 PEG-DSPE 含量低 (摩尔比小于 5%) 的脂质体相比, 若首次注射脂质体中 PEG-DSPE 含量高 (摩尔比大于 10%), 则其后注射的 PEG 化脂质体的肝脏蓄积量减少。

4.4 PEG 的分子量 研究表明, 首次注射摩尔比均为 5% 的 PEG₂₀₀₀-DSPE 和 PEG₅₀₀₀-DSPE 修饰脂质体 (磷脂剂量 $0.001 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$), 5 天后注射 PEG₂₀₀₀-DSPE 修饰的标记脂质体 (磷脂剂量 $5 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$), 均产生明显的 ABC 现象 (未考察二次注射 PEG₅₀₀₀-DSPE 修饰脂质体)^[6], 因此认为 PEG 的分子量对诱导 ABC 现象没有影响。

Ishida 等^[18]的结论恰恰相反: 首次注射 PEG₅₀₀₀-DSPE 修饰脂质体诱导 ABC 现象的程度远远低于首次注射 PEG₂₀₀₀-DSPE 修饰脂质体, PEG₅₀₀₀-DSPE 和 PEG₂₀₀₀-DSPE 修饰脂质体组的肝聚集量分别为 $(35.3 \pm 3.8)\%$ 和 $(78.7 \pm 8.8)\%$ ^[11], 表明首次注射脂质体中 PEG 分子量的增加可以减弱 ABC 现象。

以上两组实验的区别是前者的动物模型为大鼠,

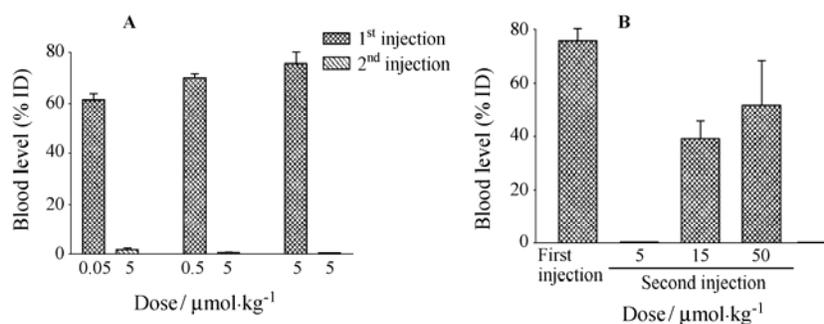


Figure 3 Effect of lipid dose on the pharmacokinetics of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labeled PEG-liposomes^[2]. A: Blood levels of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PEG-liposomes 4 h after a first dose of 0.05 , 0.5 , and $5.0 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$ and after a second dose of $5 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$ given 1 week later. Blood levels were measured 4 h p.i.; B: Blood level of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -PEG-liposomes 4 h after a first injection of $5 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$. One week later rats were injected with lipid doses of 5 , 15 , and $50 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}$, respectively

后者为小鼠。因此 PEG 分子量对 ABC 现象的影响尚没有统一的结论, 亟待对其进行进一步的研究。

4.5 粒径和表面电荷的影响 在 ABC 现象研究中所应用的 PEG 化脂质体 (首次和二次注射) 粒径多为 100 nm 左右^[6, 11, 17, 18], 有人考察了粒径对 ABC 现象的影响。Dams 等^[1]研究表明, ABC 现象与首次注射 PEG 化脂质体的粒径、表面性质和放射性标记均无关。未标记的小 (85 nm) 或大 (400 nm) PEG 化脂质体或小的 (100 nm) 非 PEG 化脂质体均会引起二次注射的标记 PEG 化脂质体产生相似的 ABC 现象。

Wang 等^[19]发现, 首次注射 CL 的理化性质对 ABC 现象的诱导有显著的影响。与 PEG 化脂质体相比, 首次注射中性或荷电的 CL (粒径 110 nm 左右) 时, 都不会引起明显的 ABC 现象, 进一步减小荷电 (正电和负电) CL 的粒径 (60 nm) 时, ABC 现象明显增强, 中性 CL 则没有此现象。结果表明, 当 CL 诱导 ABC 现象时, 粒径是一个主要的影响因素。通过减小首剂量 CL 的粒径使 ABC 现象增强。

4.6 药物——阿霉素的影响 包封阿霉素的长循环脂质体已上市, 但首次注射 PEG 化阿霉素脂质体不会引起二次注射 PEG 化脂质体的 ABC 现象^[3]。阿霉素脂质体能够抑制 ABC 现象可能是因为阿霉素从脂质体释放后进入脾脏, 伤害脾细胞而减少了抗-PEG IgM 的产生, 进而抑制 B 细胞的增殖和/或杀害 B 细胞, 阻止了二次注射 PEG 化脂质体的加速清除。因此在考察 ABC 现象的时候不能选择阿霉素作为模型药物。

4.7 注射时间间隔以及连续注射的影响 Dams 等^[1]发现能够诱导 ABC 现象的两次注射最小时间间隔为 5 d; Ishida 等^[5]证明两次注射间隔为 7 d 时 ABC 现象最强。另有研究报道, 大鼠间隔 35 d 第 2 次注射 PEG 化脂质体后, 再间隔 4 或 7 d 进行第 3 次注射 PEG 化

脂质体, 其血液清除速度虽略有增加, 但无显著性差异, 而在肝脾的聚集量没有变化, 说明多次重复注射并不能继续引发 ABC 现象 (图 4)。而每天注射 PEG 化脂质体直至第 4 次均未产生 ABC 现象。三次注射或两次注射的间隔时间延长都会使 ABC 现象消失, 表明接受 PEG 化脂质体的动物不能产生 ABC 作用的免疫记忆, 或者它们获得了对 PEG 化脂质体的免疫耐受性。具有长循环性质的 PEG 化脂质体可能导致一种缓和持续的对淋巴细胞或巨噬细胞的刺激^[7]。

4.8 不同动物模型 Dams 等^[1]研究表明, 大鼠和恒河猴均可以产生 ABC 现象, 小鼠则不能。Ishida 等^[18]的结果表明小鼠体内能够产生明显的 ABC 现象, Tagami 等^[20]也采用小鼠为动物模型, 验证重复注射包封小干扰 RNA (siRNA) 的 PEG 化脂质体产生了 ABC 现象。Goins 等^[21]报道家兔两次给药间隔为 6 周时, 二次注射与首次注射后的药动学参数相似, 表明未产生 ABC 现象, 这与 Dams 的结果一致: ABC 现象仅发生在两次给药间隔相对短的时间内 (4 周)。Oussoren 等^[22, 23]报道的大鼠连续 4 次给药, 间隔为 1 或 2 d, 也未改变脂质体的药动学参数。这一结论与 Dams 的实验并不矛盾: 两次注射间隔一周左右才能发生 ABC 现象。不同种属对 ABC 现象的影响是存在的, 但是目前尚未见完整的数据。

5 其他 PEG 修饰载体发生的 ABC 现象

由 ABC 现象猜想其他 PEG 化纳米载体, 甚至 PEG 化的蛋白质或 DNA 等制剂都可能发生这种意外的免疫反应。Lu 等^[24]研究表明, 重复注射阳离子牛血清白蛋白修饰的 PEG 与 PLA 交联形成的纳米粒 (CBSA-NP) 产生了 ABC 现象。两次注射间隔时间越长 (10 d 及 10 d 内), ABC 现象越明显, 二次注射的纳米粒肝聚集量越多。免疫印记结果表明, 首次注射普通纳米粒或是 CBSA-NP 产生的 IgM 能够识别纳米粒

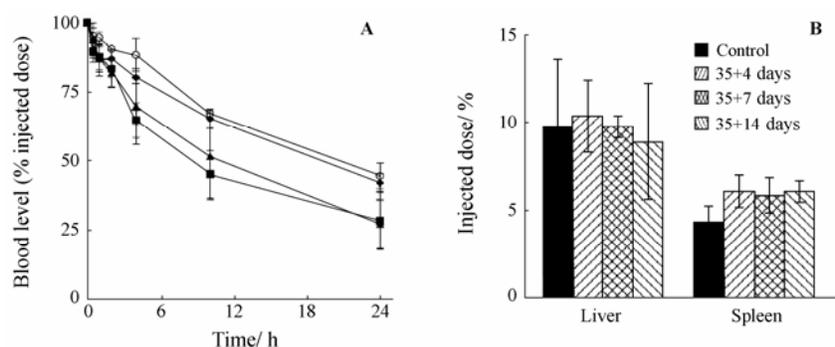


Figure 4 Blood clearance profile (A) and hepatic and splenic accumulation (B) for the third dose of ^[3H]CHE-labeled PEGylated liposomes in rats^[7]

表面的 PEG 结构中的决定子。Ishihara 等^[25]发现重复注射 PEG 修饰的 PLA 纳米粒引起 ABC 现象: 间隔时间为 7 d 时 ABC 现象最明显, 而抗 PEG-IgM 的量也是在注射 7 d 后最高, 这些 PEG 化纳米粒的研究与 PEG 化脂质体诱导 ABC 现象的研究结论基本一致。

6 结语

药物或辅料具有免疫原性是一个非常严重的问题, 因为抗体的产生会严重降低药物的安全性和效力, 这已经阻碍了一些药物的发展, 包括以蛋白质为基础的疗法, 如单克隆抗体和带有致免疫成分的病毒载体。随着基因药物治疗的发展, 脂质体作为基因药物载体得到了广泛而深入的研究, 甚至在美国已经进入 I 期临床试验。ABC 现象表明, 非病毒载体致免疫的潜在危险, 特别是当这些载体携带免疫刺激因子 (如质粒 DNA) 时, 可以充当强的免疫佐剂。因此, 深入细致地研究 PEG 化脂质体以及其他药物递送系统重复应用于生物体内时的药动学行为以及组织分布具有十分重要的理论意义和实际应用价值。

References

- [1] Dams ETM, Laverman P, Oyen WJG, et al. Accelerated blood clearance and altered biodistribution of repeated injections of sterically stabilized liposomes [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2000, 292:1071-1079.
- [2] Laverman P, Carstens MG, Boerman OC, et al. Factors affecting the accelerated blood clearance of polyethylene glycol-liposomes upon repeated injection [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2001, 298: 607-612.
- [3] Ishida T, Atobe K, Wang XY, et al. Accelerated blood clearance of PEGylated liposomes upon repeated injections: effect of doxorubicin-encapsulation and high-dose first injection [J]. *J Control Release*, 2006, 115: 251-258.
- [4] Semple SC, Harasym TO, Clow KA, et al. Immunogenicity and rapid blood clearance of liposomes containing polyethylene glycol-lipid conjugates and nucleic acid [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2005, 312: 1020-1026.
- [5] Ishida T, Masuda K, Ichikawa T, et al. Accelerated clearance of a second injection of PEGylated liposomes in mice [J]. *Int J Pharm*, 2003, 255: 167-174.
- [6] Ishida T, Harada M, Wang XY, et al. Accelerated blood clearance of PEGylated liposomes following preceding liposome injection: effects of lipid dose and PEG surface-density and chain length of the first-dose liposomes [J]. *J Control Release*, 2005, 105: 305-317.
- [7] Ishida T, Maeda R, Ichihara M, et al. Accelerated clearance of PEGylated liposomes in rats after repeated injections [J]. *J Control Release*, 2003, 88: 35-42.
- [8] Ishida T, Kashima S, Kiwada H. The contribution of phagocytic activity of liver macrophages to the accelerated blood clearance (ABC) phenomenon of PEGylated liposomes in rats [J]. *J Control Release*, 2008, 126: 162-165.
- [9] Parr MJ, Ansell SM, Choi LS, et al. Factors influencing the retention and chemical stability of poly(ethylene glycol)-lipid conjugates incorporated into large unilamellar vesicles [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1994, 1195: 21-30.
- [10] Silvius JR, Zuckermann MJ. Interbilayer transfer of phospholipid-anchored macromolecules *via* monomer diffusion [J]. *Biochemistry*, 1993, 32: 3153-3161.
- [11] Ishida T, Ichihara M, Wang XY, et al. Injection of PEGylated liposomes in rats elicits PEG-specific IgM, which is responsible for rapid elimination of a second dose of PEGylated liposomes [J]. *J Control Release*, 2006, 112: 15-25.
- [12] Ishida T, Ichihara M, Wang XY, et al. Spleen plays an important role in the induction of accelerated blood clearance of PEGylated liposomes [J]. *J Control Release*, 2006, 115: 243-250.
- [13] Ishida T, Kiwada H. Accelerated blood clearance (ABC) phenomenon upon repeated injection of PEGylated liposomes [J]. *Int J Pharm*, 2008, 354: 56-62.
- [14] Judge A, McClintock K, Phelps JR, et al. Hypersensitivity and loss of disease site targeting caused by antibody responses to PEGylated liposomes [J]. *Mol Ther*, 2006, 13: 328-337.
- [15] Milner EC, Anolik J, Cappione A, et al. Human innate B cells: a link between host defense and autoimmunity? [J]. *Springer Semin Immunopathol*, 2005, 26: 433-452.
- [16] Mizoguchi A, Bhan AK. A case for regulatory B cells [J]. *J Immunol*, 2006, 176: 705-710.
- [17] Wang XY, Ishida T, Kiwada H. Anti-PEG IgM elicited by injection of liposomes is involved in the enhanced blood clearance of a subsequent dose of PEGylated liposomes [J]. *J Control Release*, 2007, 119: 236-244.
- [18] Ishida T, Ichikawa T, Ichihara M, et al. Effect of the physicochemical properties of initially injected liposomes on the clearance of subsequently injected PEGylated liposomes in mice [J]. *J Control Release*, 2004, 95: 403-412.
- [19] Wang XY, Ishida T, Ichihara M, et al. Influence of the physicochemical properties of liposomes on the accelerated blood clearance phenomenon in rats [J]. *J Control Release*, 2005, 104: 91-102.

- [20] Tagami T, Nakamura K, Shimizu T, et al. Effect of siRNA in PEG-coated siRNA-lipoplex on anti-PEG IgM production [J]. *J Control Release*, 2009, 137: 234–240.
- [21] Goins B, Philips WT, Klipper R. Repeat injection studies of technetium-99m-labeled PEG-liposomes in the same animal [J]. *J Liposome Res*, 1998, 8: 265–281.
- [22] Oussoren C, Storm G. Lymphatic uptake and biodistribution of liposomes after subcutaneous injection: III. Influence of surface modification with poly(ethyleneglycol) [J]. *Pharm Res*, 1997, 14: 1479–1484.
- [23] Oussoren C, Storm G. Effect of repeated intravenous administration on circulation kinetics of poly(ethyleneglycol)-liposomes in rats [J]. *J Liposome Res*, 1999, 9: 349–355.
- [24] Lu W, Wan J, She ZJ, et al. Brain delivery property and accelerated blood clearance of cationic albumin conjugated pegylated nanoparticle [J]. *J Control Release*, 2007, 118: 38–53.
- [25] Ishihara T, Takeda M, Sakamoto H, et al. Accelerated blood clearance phenomenon upon repeated injection of PEG-modified PLA-nanoparticles [J]. *Pharm Res*, 2009, 26: 2270–2279.

第八届全国天然有机化学学术研讨会

经中国化学会批准, 决定于 2010 年 10 月 8 日至 10 日在济南召开第八届全国天然有机化学学术研讨会。本届研讨会将为我国的天然有机化学研究者提供一个良好的交流平台, 除邀请一批知名学者做大会报告及特邀报告外, 还将为从事天然有机化学研究的年轻学者提供学习和展示科研成果的机会, 将是一次学术盛会。

一、会议主题:

1. 具有生物活性的新颖结构的天然产物的发现及其功能;
2. 天然产物的结构修饰, 全合成和半合成;
3. 天然产物研究的新技术与新方法;
4. 天然产物的生物合成以及生物技术;
5. 其他天然有机化学相关领域。

二、会议组织机构

主办单位: 中国化学会

协办单位: 国家自然科学基金委员会

承办单位: 山东大学药学院

大会主席: 姚新生 院士

组委会主席: 娄红祥 教授

三、会议时间: 2010 年 10 月 8 日至 10 日

四、会议地点: 山东 济南

五、会议注册:

会议注册可采取网上注册或 E-mail 注册, 截止时间: 2010 年 8 月 31 日。

网上注册网址: <http://www.nprmeeting.sdu.edu.cn>

E-mail 注册: 请将参会回执发至 E-mail: xiaofan7903@yahoo.com.cn