

载 siRNA 的纳米制剂研究进展^Δ

王锐*, 曲炳楠, 杨婧[#](黑龙江中医药大学药学院, 哈尔滨 150040)

中图分类号 R944.9 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)31-4452-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.31.34

摘要 目的:为小干扰RNA(siRNA)纳米制剂递送的研究提供参考。方法:以“基因治疗”“RNA干扰”“小干扰RNA”“载体系统”“siRNA”“Gene therapy”“RNA interference”“Protamine”等为关键词,组合查询1996—2016年在PubMed、中国知网、万方、维普等数据库中的相关文献,对载siRNA的纳米制剂的导入方法、载体类型及影响递送过程的主要因素进行综述。结果:共检索到相关文献500余篇,其中有效文献40篇。载siRNA的纳米制剂导入方法主要分为物理化学法和载体介导法。在载体介导法中的非病毒载体,不仅克服了siRNA半衰期短、生物利用度低等缺点,而且在一定程度上提高了siRNA的递送效率,是现代药剂学研究的一个热点。常用非病毒载体包括阳离子脂质体、二元复合物纳米载体、三元复合物纳米载体。载体靶向性修饰、粒径与表面电荷是递送siRNA纳米载体主要影响因素。siRNA的高效递送依赖于新的高效、低免疫原性载体的开发以及纳米制剂递送系统的优化。因此,可载siRNA的高效、低免疫原性纳米制剂的研究任重而道远。

关键词 基因治疗;RNA干扰;小干扰RNA;载体系统

基因治疗(Gene therapy)是指将外源正常基因导入靶细胞,以纠正或补偿因基因缺陷和异常引起的疾病,从而达到治疗目的^[1]。基因治疗利用生物或非生物的方法,将特定基因封闭抑制或者激活来达到治疗目的,可以从根源上修正引起疾病的异常基因,使治疗手段从传统的手术、放疗以及化疗扩大到分子水平。基因治疗可以选择性地治疗多种严重威胁人类健康的疾病,尤其在遗传病、恶性肿瘤以及心血管疾病等方面取得了可喜的治疗效果。其中,运用RNA干扰(RNA interference, RNAi)技术所研发的制剂更是受到医药专业研究人员的高度重视,被公认为在基因治疗中具有巨大的研究潜力。而小干扰RNA(Small interfering RNA, siRNA)在RNAi技术中起到核心作用,但如何将siRNA运送到靶细胞则是研究的重点和难点。笔者以“基因治疗”“RNA干扰”“小干扰RNA”“载体系统”“siRNA”“Gene therapy”“RNA interference”“Protamine”等为关键词,组合查询1996—2016年在PubMed、中国知网、万方、维普等数据库中的相关文献。结果,共检索到相关文献500余篇,其中有效文献40篇。现对载siRNA的纳米制剂的导入方法、载体类型及影响递送过程的主要因素进行综述,以期为siRNA纳米制剂递送的研究提供参考。

1 siRNA的定义与作用机制

基因沉默(Gene silencing)是指生物体中特定基因由于种种原因不表达或者是表达减少的现象。在生物体内,正常基因活动几乎不产生双链RNA(Double-stranded RNA, dsRNA),而异常基因活动常常伴有dsRNA的出现。近年来,研究表明真核生物利用遗传基

因活动产生的dsRNA为模版,抑制与异常基因dsRNA有同源性的基因表达,产生特异性的基因沉默,这种由dsRNA诱导产生的特异性基因沉默称为dsRNA介导的基因干扰,简称RNAi。而siRNA则以专一性的方式,通过介导哺乳动物细胞的RNAi过程来沉默特定连接的靶基因的表达。

siRNA是由内源性或者外源性dsRNA进入细胞后,在细胞质中被Dicer酶加工而成的由21~23个核苷酸组成的短链RNA^[2]。siRNA与细胞内特定的蛋白质形成RNA诱导沉默复合物(RNA-induced silencing complex, RISC),继而siRNA解旋,并以RISC上的siRNA序列为向导,结合特定序列的mRNA,对mRNA进行酶切。酶切后的mRNA片段通过细胞质内核酸酶的非特异性降解,使特定的基因片段无法表达,从而实现基因沉默^[3]。因为不同疾病的致病基因序列不同,所以siRNA针对不同疾病起治疗作用时的基因序列也不同。

2 siRNA的研究现状

siRNA的发现使分子生物学、医学、药学等在研究方法上有了突破,与此同时,发展和完善药物制剂、药物吸收、转运机制以及给药系统等研究成为最热门的研究点。但是由于裸siRNA生物半衰期短、细胞靶向性差,且在血液、组织或者细胞质中存在时容易被酶类所降解,生物利用度低;并且在生理情况下,其是带有较强负电性的高度亲水的大分子物质,若直接导入机体内难以穿透细胞膜作用于靶细胞^[4-5],所以还需特定的方法将治疗基因有效地导入靶细胞中。因此,寻找可载siRNA的高效、低免疫原性的纳米制剂载体,成为研究的前提和基础,是一个亟待突破的研究领域。

3 载siRNA的纳米制剂的导入方法

目前,基因导入主要分为物理化学导入法和载体介导导入法。

3.1 物理化学法

物理化学导入法包括DNA直接注射法、基因枪法、

^Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81603418);哈尔滨市应用技术与开发项目(No.2016RAQXJ197)

* 副教授,硕士生导师,博士。研究方向:新药及新剂型。电话:0451-87266893。E-mail: wrdx@sina.com

[#] 通信作者:副教授,硕士生导师,博士。研究方向:新药开发。电话:0451-82195940。E-mail: yangjingdx@sina.com

电穿孔法、颗粒轰击法等,这些方法都各存在其优势和局限性。例如,DNA直接注射法虽然操作简单,但注入数量有限,且肿瘤细胞转化率低,一般需局部多点注射给药;磷酸钙共沉淀法会对细胞产生毒性作用;显微注射法每次只能转染一个细胞,费时、费力,只适用于转染受精卵或早期胚胎细胞,而不能用于转染大量细胞。

3.2 载体介导法

载体介导法是将目的基因以病毒或非病毒为载体递送至靶组织或靶细胞的方法,按照载体来源可分为病毒载体和非病毒载体两类^[6]。

3.2.1 病毒载体 病毒载体常用的载体病毒类型较多,如逆转录病毒、腺病毒、单纯疱疹病毒等^[7]。病毒载体最大的优势在于其递送效率高,但是同时也面临着在体内容易发生严重的机体免疫反应的副作用,而且生产成本过高、载体组装困难、应用范围有限、可控性差等缺点,限制了其应用^[8]。例如,以腺病毒为载体的p53基因转移治疗恶性肿瘤的方案中,只能将腺病毒注射到肿瘤局部;若静脉注射,病毒颗粒将很快被清除,能到达肿瘤组织的很少,难以达到治疗效果,甚至会增加副作用^[9]。而且,针对遗传性疾病的基因治疗方案大多采用逆转录病毒载体,其插入或整合到染色体的位置是随机的,有引起插入突变及细胞恶性转化的潜在危险^[10]。因此,研究一种可操控的、低免疫原性、稳定性好、生产方便且高转染率的载体刻不容缓。

3.2.2 非病毒载体 以脂质体和阳离子聚合物为代表的新型非病毒载体,因其在体内的稳定性得到改善,且具有较好的靶向性和包封效果,降低了免疫刺激等优点,得到广泛的认可和深入的研究。现就几种常用非病毒载体进行介绍。

(1)阳离子脂质体。阳离子脂质体是典型的非病毒载体^[11],具有可重复转染、无免疫原性、可自然降解、制备方法较成熟等^[12]优点,是目前研究者关注的热点^[13]。将siRNA递送到靶细胞中诱导基因沉默,虽然裸siRNA不能通过细胞膜进入靶细胞,但可以通过阳离子脂质体的递送来实现^[14-16]。臧新龙等^[17]制备可装载逆转肿瘤多药耐药功能的siRNA阳离子脂质体,通过载体的有效传递,抑制肿瘤耐药性,增强肿瘤对化疗药物的敏感性,且包封率高,具有良好的阴离子抵御能力,实现了最佳治疗效果。

脂质体是一种人工合成的磷脂载体^[18],根据磷脂的不同将脂质体分成中性脂质体、正电性脂质体和负电性脂质体。正电荷磷脂主要有N-[1-(2,3-二油酰氯)丙基]-N,N,N-氯化三甲铵、(2,3-二油氧基丙基)三甲基氯化铵、十八烷基二甲基溴化铵等^[19]。阳离子脂质体由1个阳离子两亲化合物(又称作细胞转染素)和1个辅助脂质构成的。阳离子脂质体的转染率与辅助脂质成分的组合密切相关。由于单独用细胞转染素形成的脂质体的稳定性、膜融合性、转染率均较差,所以需要添加中性或者兼性的辅助脂质与之结合。其中,使用二油酰基磷脂酰乙醇胺比使用二油酰基磷脂酰胆碱、胆固醇所制得

的脂质融合性和转染率更高。但研究发现,在转染过程中阳离子脂质体仍然含有一定的细胞毒性^[20],且阳离子脂质体的细胞毒性主要与阳离子磷脂的性质有关。Zhao Y等^[21]通过合理的化学修饰,用肽头部取代季铵盐头部,不仅增强了生物相容性,更降低了细胞毒性。阳离子脂质体头部结构的修饰,不仅使其能运载不同类型的药物或基因,而且已经实现了其在诊断和诊疗学中的应用。

在转染过程中,阳离子脂质体转染复合物表面带有正电荷,细胞表面带有负电荷,二者通过静电作用而相互附着,通过内涵体内吞作用进入细胞。在内涵体中,阳离子脂质体与带有负电荷的膜脂质发生静电作用,带有负电荷的膜脂质由内涵体的腔外翻转,与正电荷脂质形成中性离子对,基因治疗药物脱离阳离子脂质体后进入细胞核,进行转录翻译表达成蛋白质^[22]。

(2)二元复合物纳米载体。将阳离子脂质体与DNA构建在一起,组成阳离子脂质体-DNA复合物(Cationic liposome-DNA complexes, CLDC)。与单独使用阳离子脂质体比较,CLDC除具有阳离子脂质体的优点外,还可以运载大小不同的重组基因,提高了基因的运载量,具有良好的生物相容性,有效地克服了体内核酸酶的降解,从而达到延缓基因降解的效果^[23]。在CLDC中,核酸或短的单链寡核苷酸被囊泡覆盖。由于DNA是高度带电分子,故可附着在带正电荷的脂质体表面或被脂质体囊泡包封形成复合物。阳离子脂质体与DNA的自组装可以产生多种纳米结构和形态,多层复合物由相对脂双层之间的DNA插层制成。因此,准确地掌握复合物的结构和形态在生物学的研究过程中(例如基因递送)是非常重要的^[24]。另一种使DNA与脂质体融合的方法是在带负电荷的含水的脂质体内捕捉DNA,这在低温时偶尔可使脂质体膜不稳定。据此,脂质体可分为两种类型:①带正电荷的阳离子脂质体;②带负电荷的阳离子脂质体。当脂质带正电荷时,容易与带负电荷的细胞表面结合,具有较高的转染率。

CLDC纳米载体转染机制主要分为三步:首先,在脂质与细胞融合时,带正电的阳离子脂质体与带负电荷的DNA或RNA通过静电作用相互结合,形成脂质-基因复合物。其次,表面过剩的正电荷与带负电的细胞膜通过静电作用而相互吸附^[25],由于脂质体本身具有亲脂性,使得脂质-基因复合物可通过细胞内吞或细胞膜融合作用进入细胞内形成内涵体。最后,脂质-基因复合物进入细胞后,在细胞质中或进一步传递到细胞核内释放基因,完成细胞内的转录和翻译,脂质体被降解为磷脂,其降解产物可被细胞生物膜再利用^[26]。

(3)三元复合物纳米载体。脂质体-鱼精蛋白-DNA复合纳米粒(Liposome-protamine-DNA nanoparticle, LPD-NP)是近年来在CLDC的基础上发展起来的又一种新型非病毒载体。与CLDC比较,LPD-NP的优点在于能更有效地缩合DNA,显著提高细胞的转染率,同时减弱核酸酶对DNA的酶解作用。经典的LPD-NP载体系

统的聚阳离子是多聚赖氨酸。近年来,鱼精蛋白已被美国FDA认证可以作为聚阳离子供临床使用。鱼精蛋白是一种高正电荷的肽,充当DNA缩合剂,通过增加鱼精蛋白浓度,提高制剂的递送率。但鱼精蛋白的浓度过高,会改变鱼精蛋白-DNA复合物的电荷,干扰其与阳离子脂质体的相互作用,反而降低所得制剂的递送效率。Mukherjee S等^[27]在对LPD-NP复合物纳米载体系统进行研究时发现,质粒DNA中含有CpG基因序列,使所得制剂存在高度免疫原性^[27]。透明质酸(HA)是在脊椎动物上皮、神经和结缔组织的细胞外基质中发现的多糖聚阴离子,其不仅提供了多价电荷,而且不含免疫刺激的CpG基序,可降低免疫毒性和改善纳米颗粒的形成^[28]。此外,HA是毒性相对较低的聚合物,并被美国FDA认证用于注射剂,所以脂质体-鱼精蛋白-透明质酸复合纳米粒(Liposome-protamine-hyaluronic acid nanoparticle, LPH-NP)成为新型非病毒载体而备受关注。Chono S等^[29]已经开发了LPH-NP制剂并将siRNA成功输送至转移性肿瘤细胞中,靶向性的LPH-NP同非靶向性的LPD-NP比较,虽然均表现出相似的特征和基因沉默,但靶向性的LPH-NP治疗窗显著扩大至少2.7倍。

在LPH-NP复合纳米载体组装过程中,HA与siRNA通过化学连接形成HA-siRNA复合物^[30]。HA-siRNA复合物整体带负电,再与带正电的鱼精蛋白通过电荷作用自组装原理相连接。调整鱼精蛋白和复合物的用量,使之形成带负电的络合物,最后与空白的阳离子脂质体混合均匀,即完成了LPH-NP载体组装过程。Park K等^[31]分别合成可分解的和不可分解的HA-siRNA纳米复合物(HA-siRNA/LPEI),平均粒径为250 nm,表面呈负电性或中性。可分解的HA-siRNA/LPEI体外基因沉默效果明显优于不可分解的HA-siRNA/LPEI复合物。同时制得载有干扰载脂蛋白B(siApoB)的HA-siApoB/LPEI,能靶向递送至肝,对载脂蛋白B的mRNA沉默呈剂量依赖性。

4 影响siRNA纳米载体递送的主要因素

4.1 载体靶向性修饰

在正常细胞与癌细胞之间,维生素、生长因子的受体表达存在差异性。因此,配体可将主动靶向的脂质体特异性传递到相应受体过表达的细胞、组织或者器官。Sigma受体是一类对于抗精神病药具有较高亲和力的膜结合蛋白,在正常组织中有表达,在黑色素瘤、前列腺癌和非小细胞肺癌的肿瘤组织中过表达。通过表面吸附、半抗原捆绑、免疫球蛋白共价结合以及聚乙二醇(PEG)接枝等方法将单克隆抗体连接到脂质体上,可调节药物在体内的分布及细胞靶向的作用。Banerjee R等^[32]首次证明了使用靶向性Sigma配体-茴香酰胺可以有效地介导脂溶性药物递送至Sigma受体过表达的前列腺癌细胞。

虽然脂质体/核酸复合物表面的配体可以增加对带有相应受体的细胞的转染,但配体阻止复合物与大多数非靶细胞的反应,所以将PEG接枝到复合物表面可形成一个PEG的立体屏障,可有效地改善阳离子脂质体与血清蛋白之间的非特异性吸附^[33],能抑制巨噬细胞的吞饮

和赋予复合物较长的循环时间,提高生物利用度和阳离子脂质体复合物的被动靶向性。然而这种方法的局限性在于,PEG立体屏障会阻碍药物的传递,从而抑制其活性^[34]。Li SD等^[35-36]将茴香酰胺与PEG2000用化学方法合成DSPE-PEG2000-茴香酰胺,并用其对LPD-NP表面进行修饰。经表面修饰的LPH-NP可将siRNA选择性递送至Sigma受体阳性细胞,发挥显著诱导RNAi效应而产生抗肿瘤作用。经过修饰的脂质体,既可将目的基因靶向导入体内的预期位点,也可直接引导药物远离那些对毒性作用特别敏感的体内位点,以增强药物的疗效。

4.2 粒径与表面电荷

靶向性是脂质体作为药物载体的一个重要特征,粒径和表面电荷是影响脂质体在体内被动靶向的重要理化因素。脂质体进入体内血液循环,通过被动靶向作用聚集于网状内皮系统比较丰富的器官。在体内,无论何种给药过程,纳米给药系统都要经历跨越极性上皮细胞的过程,上皮细胞所构成的单层细胞一般是纳米载体能否顺利到达靶部位的第一道屏障^[37]。研究表明,粒子在100 nm内具有高透膜性,在100~200 nm内具有较高的透膜性,纳米粒的透膜性随粒径的增加而减小^[38]。Zeta电位是脂质体作为药物载体的另一重要的物理性质。随着Zeta电位的增大,阳离子脂质体的毒性也可能随之增加。因此,载体的Zeta电位必须控制在一定的范围内^[39-40]。

5 结语

作为一种新型治疗手段,siRNA不仅被广泛用作功能基因组研究的工具,更在引起基因异常表达或突变疾病的生物医学治疗领域表现出极大的潜力,为RNAi在生物医学方面的应用带来了革命性的变化。但在对siRNA与RNAi的研究过程中,仍有很多问题难以攻克,如在药物递送方面如何管理siRNA高效作用于体内靶组织或细胞中,是siRNA广泛使用的主要障碍。

在临床应用方面,除了考虑药物的有效性之外,基因治疗的安全性也是首要考虑的问题。采用基因治疗患者所承担的风险性并不比其他试验性治疗低,包括药物工业化生产难易程度、药物稳定性、质检问题以及临床应用方面药物的给药途径等都是无法回避的问题。因此,siRNA的高效递送依赖于新的高效、低免疫原性载体的开发及纳米制剂递送系统的优化。可装载siRNA的高效、低免疫原性纳米制剂的研究任重道远。

参考文献

- [1] 李岩. 基因治疗中基因权利的法律保护[D]. 济南: 山东大学, 2013.
- [2] Lee DJ, He D, Kessel E, *et al.* Tumoral gene silencing by receptor-targeted combinatorial siRNA polyplexes[J]. *J Control Release*, 2016, 244(Part B): 280-291.
- [3] 杨飞飞, 黄伟, 李云飞, 等. siRNA非病毒递送载体的研究现状[J]. *药学学报*, 2011, 46(12): 1436-1443.
- [4] 李凤燕, 欧瑜, 李谦. siRNA作为小分子药物的研究进展[J]. *药物生物技术*, 2014, 21(4): 381-384.
- [5] 赵云春, 张丽, 郑彩虹. siRNA体内递送的研究现状[J]. 中

- 国现代应用药学,2013,30(12):1366-1373.
- [6] 李泽豪,任小元,王世兵,等.介导 siRNA 传递的非病毒载体及其研究进展[J].生命科学,2014,26(4):392-399.
- [7] Choudhury SR, Hudry E, Maguire CA, *et al.* Viral vectors for therapy of neurologic diseases[J]. *Neuropharmacology*, 2016, doi:10.1016/j.neuropharm.2016.02.013.
- [8] 陈丽红,贾振宇.精准医疗:肿瘤基因治疗研究关注的问题[J].实用肿瘤杂志,2015,30(6):501-505.
- [9] 王瑜.阳离子/非离子表面活性剂自组装及其与 DNA 的相互作用[D].广州:华南理工大学,2012.
- [10] Falsini S, Ristori S. Lipoplexes from non-viral cationic vectors: dotap-dope liposomes and gemini micelles[J]. *Methods Mol Biol*, 2016, doi:10.1007/978-1-4939-3718-9_3.
- [11] Semple SC, Akinc A, Chen J, *et al.* Rational design of cationic lipids for siRNA delivery[J]. *Nat Biotechnol*, 2010, 28(2):172-176.
- [12] 高惠静,安惠霞,陈蓓,等.与纳米脂质体制备方法相关的中国发明专利[J].中国药房,2016,27(7):976-978.
- [13] 李婉迪,赵振民.非病毒载体在基因治疗中的研究进展[J].新乡医学院学报,2016,33(8):731-734.
- [14] Safinya CR, Ewert KK, Majzoub RN, *et al.* Cationic liposome-nucleic acid complexes for gene delivery and gene silencing[J]. *New J Chem*, 2014, 38(11):5164-5172.
- [15] Peng Z, Wang C, Fang E, *et al.* Co-delivery of doxorubicin and SATB1 shRNA by thermosensitive magnetic cationic liposomes for gastric cancer therapy[J]. *PLoS One*, 2014, 9(3):e92924.
- [16] Khatri N, Baradia D, Vhora I, *et al.* Development and characterization of siRNA lipoplexes: effect of different lipids, in vitro evaluation in cancerous cell lines and in vivo toxicity study[J]. *AAPS Pharm Sci Tech*, 2014, 15(6):1630-1643.
- [17] 臧新龙,李季,李晓巍,等.载 siRNA 阳离子脂质体的制备[J].沈阳药科大学学报,2015,32(7):510-514.
- [18] 李大伟,武玉敏,刘正平,等.肺部吸入纳米制剂治疗肺癌的研究进展[J].中国药房,2016,27(31):4460-4462.
- [19] Cui SH, Zhi DF, Zhao YN, *et al.* Cationic liposomes with folic acid as targeting ligand for gene delivery[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2016, 26(16):4025-4029.
- [20] 林泉,崔韶晖,赵轶男,等.阳离子脂质体的细胞毒性[J].生命的化学,2016,36(1):50-56.
- [21] Zhao Y, Zhang S, Zhang Y, *et al.* Tri-peptide cationic lipids for gene delivery[J]. *J Mater Chem B Mater Biol Med*, 2015, 3(1):119-126.
- [22] Liang Y, Liu Z, Shuai X, *et al.* Delivery of cationic polymer-siRNA nanoparticles for gene therapy in neural regeneration[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 421(4):690-695.
- [23] Wang Y, Li Z, Han Y, *et al.* Nanoparticle-based delivery system for application of siRNA in vivo[J]. *Current Drug Metabolism*, 2010, 11(2):182-196.
- [24] Amenitsch H, Caracciolo G, Foglia P, *et al.* Existence of hybrid structures in cationic liposome/DNA complexes revealed by their interaction with plasma proteins[J]. *Colloid Surface B*, 2011, 82(1):141-146.
- [25] Hoekstra D, Rejman J, Wasungu L, *et al.* Gene delivery by cationic lipids: in and out of an endosome[J]. *Biochem Soc Trans*, 2007, 35(1):68-71.
- [26] Caracciolo G, Amenitsch H. Cationic liposome/DNA complexes: from structure to interactions with cellular membranes[J]. *Eur Biophys J*, 2012, 41(10):815-829.
- [27] Mukherjee S, Siddiqui MA, Dayal S, *et al.* Epigallocatechin-3-gallate suppresses proinflammatory cytokines and chemokines induced by Toll-like receptor 9 agonists in prostate cancer cells[J]. *J Inflamm Res*, 2014, 7(1):89-101.
- [28] Sze JH, Brownlie JC, Love CA. Biotechnological production of hyaluronic acid: a mini review[J]. *Biotech*, 2016, 6(1):67.
- [29] Chono S, Li SD, Conwell CC, *et al.* An efficient and low immunostimulatory nanoparticle formulation for systemic siRNA delivery to the tumor[J]. *J Control Release*, 2008, 131(1):64-69.
- [30] 王天琪,张娜.透明质酸在肿瘤治疗中的应用[J].生命的化学,2014,34(5):690-695.
- [31] Park K, Yang JA, Lee MY, *et al.* Reducible hyaluronic acid-siRNA conjugate for target specific gene silencing[J]. *Bioconjug Chem*, 2013, 24(7):1201-1209.
- [32] Banerjee R, Tyagi P, Li S, *et al.* Anisamide-targeted stealth liposomes: a potent carrier for targeting doxorubicin to human prostate cancer cells[J]. *Int J Cancer*, 2004, 112(4):693-700.
- [33] Chan CL, Majzoub RN, Shirazi RS, *et al.* Endosomal escape and transfection efficiency of PEGylated cationic lipid-DNA complexes prepared with an acid-labile PEG-lipid[J]. *Biomaterials*, 2012, 33(19):4928-4935.
- [34] Majzoub RN, Chan CL, Ewert KK, *et al.* Uptake and transfection efficiency of PEGylated cationic liposome-DNA complexes with and without RGD-tagging[J]. *Biomaterials*, 2014, 35(18):4996-5005.
- [35] Li SD, Chen YC, Hackett MJ, *et al.* Tumor-targeted delivery of siRNA by self-assembled nanoparticles[J]. *Mol Ther*, 2008, 16(1):163-169.
- [36] Li SD, Chono S, Huang L. Efficient gene silencing in metastatic tumor by siRNA formulated in surface-modified nanoparticles[J]. *J Control Release*, 2008, 126(1):77-84.
- [37] Des RA, Fievez V, Théate I, *et al.* An improved in vitro model of human intestinal follicle-associated epithelium to study nanoparticle transport by M cells[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2007, 30(5):380-391.
- [38] Desai MP, Labhasetwar V, Amidon GL, *et al.* Gastrointestinal uptake of biodegradable microparticles: effect of particle size[J]. *Pharm Res*, 1996, 13(12):1838-1845.
- [39] 陈涛,王汝涛,王昭,等.非特异靶向荷正电高分子磷脂脂质体的构建和体外评价[J].药学学报,2010,45(3):359-364.
- [40] 巨佳.基于胆固醇的阳离子脂质材料的设计合成及其在基因转染中的应用研究[D].西安:第四军医大学,2015.

(收稿日期:2017-02-17 修回日期:2017-04-13)
(编辑:余庆华)