

Pulmonary Delivery and Mechanism of Action of Tuberculosis DNA Vaccine Liposomes

Xiaomian Cao Lisha Hao Beibei Ni Yuanyuan Li Chan Li*

CSPC Zhongqi Pharmaceutical Technology (Shijiazhuang) Co., Ltd., Shijiazhuang, Hebei, 050031, China

Abstract

Tuberculosis is a global infectious disease caused by *Mycobacterium tuberculosis*, which remains a major public health challenge, especially in developing countries. Traditional vaccines such as BCG have limited protective effect on adult tuberculosis, prompting researchers to seek more effective vaccine strategies. DNA vaccine is considered as an important direction for future vaccine development due to its unique immunogenicity and stability. However, the effective delivery of DNA vaccines remains a major obstacle to their clinical application. Liposomes, as a new drug delivery system, provide a possible solution for the delivery of DNA vaccines by virtue of their targeting and ability to protect DNA structure. This paper reviews the research on pulmonary delivery of tuberculosis DNA vaccine liposomes, analyzes its mechanism of action and performance in anti-tuberculosis immunity, and aims to provide theoretical basis for the research of tuberculosis vaccines.

Keywords

tuberculosis; DNA vaccine; liposomes; pulmonary delivery; immune mechanism

结核 DNA 疫苗脂质体肺部递送及其作用机制

曹晓绵 郝丽莎 倪蓓蓓 李园园 李蝉*

石药集团中奇制药技术(石家庄)有限公司, 中国·河北 石家庄 050031

摘要

结核病是由结核分枝杆菌引起的全球性传染病, 尤其在发展中国家依然是公共卫生的重大挑战。传统的疫苗如卡介苗对成人结核的防护效果有限, 促使研究人员寻求更有效的疫苗策略。DNA疫苗以其独特的免疫原性和稳定性被认为是未来疫苗发展的重要方向。DNA疫苗的有效递送仍然是其临床应用的主要障碍。脂质体作为一种新型药物递送系统, 凭借其靶向性和保护DNA结构的能力, 为DNA疫苗的递送提供了可能的解决方案。论文通过综述结核DNA疫苗脂质体肺部递送的研究, 分析其作用机制和在抗结核免疫中的表现, 以期对结核病疫苗的研究提供理论依据。

关键词

结核病; DNA疫苗; 脂质体; 肺部递送; 免疫机制

1 引言

虽然现有的卡介苗在预防儿童结核方面具有一定效果, 但对于成人结核, 尤其是肺结核的预防, 效果有限, 且耐药性结核菌株的出现进一步加剧了防治难度。因此, 开发新型更为有效的疫苗成为应对这一全球性健康挑战的迫切需求。DNA疫苗因其特有的免疫原性、稳定性和生产便捷性逐渐成为结核病疫苗研究的热点。但DNA疫苗的有效递送是实现其免疫效果的关键问题, 如何确保疫苗在靶部位的高效递送和稳定性仍需深入探索。

【作者简介】曹晓绵(1990-), 女, 中国河北邢台人, 硕士, 工程师, 从事纳米制剂研究。

【通讯作者】李蝉(1987-), 女, 中国河北邢台人, 硕士, 高级工程师, 从事细胞治疗研究。

2 脂质体作为肺部递送载体的特性与优势

2.1 脂质体的基本结构与功能

脂质体的基本结构由磷脂双分子层组成, 这种双层结构与生物膜非常相似, 具有良好的生物相容性。磷脂双分子层的形成是因为磷脂分子具有两性特性: 亲水性的头部和疏水性的尾部。当磷脂分子处于水相环境中时, 疏水性的尾部会聚集在一起, 形成脂质双层, 而亲水性的头部则朝向外部水相。这种双分子层结构能够封装水溶性药物于其内部水相中, 同时将脂溶性药物包裹在双层膜中, 形成一种有效的药物载体^[1]。

脂质体可以通过改变磷脂的组成来调节其大小、载药量和释放特性, 从而实现药物的可控释放。由于脂质体的双层结构与细胞膜的结构相似, 因此能够通过膜融合的方式进入细胞, 将包裹的药物直接递送至细胞内部, 显著提高药物的生物利用度。这一特性使脂质体成为一种极具潜力的药物

递送系统,尤其在需要靶向递送和控制释放的场景下,具有重要的应用价值。脂质体不仅能够携带和保护脆弱的药物分子,还能够通过调节其表面的修饰,实现对特定靶向组织的识别和聚集。例如,通过在脂质体表面修饰聚乙二醇(PEG),可以增加脂质体在体内循环的时间,减少其在肝脏和脾脏中的清除,提高药物在血液中的浓度。除此之外,脂质体还能够通过在其表面修饰靶向配体,如抗体、肽或糖分子,实现对特定细胞或组织的靶向递送,从而提高药物的治疗效果,并减少对健康组织的副作用。

2.2 脂质体在药物递送中的应用概述

脂质体在抗癌药物递送中的应用最为广泛。抗癌药物通常具有较强的毒性和副作用,通过将这些药物封装在脂质体中,可以显著减少其在健康组织中的分布,增加其在肿瘤部位的浓度,从而提高药物的疗效并降低副作用。脂质体可以通过被动靶向和主动靶向两种方式聚集在肿瘤部位。被动靶向是通过肿瘤血管的高通透性和滞留效应,使脂质体被动地积累在肿瘤组织中;主动靶向则是通过在脂质体表面修饰特异性配体,如抗体、肽段等,实现对肿瘤细胞的选择性识别和高效递送^[2]。在抗感染药物递送方面,脂质体也展现了显著的优势。抗生素药物在治疗细菌感染时,常因其水溶性差或易被代谢而难以达到有效浓度。脂质体能够包裹抗生素,使其在体内稳定存在,并能够缓慢释放药物,延长药物的作用时间。通过将脂质体靶向于感染部位,可以提高抗生素在感染组织中的浓度,从而增强药物的抗菌效果。脂质体抗生素在治疗慢性细菌感染和抗生素耐药菌感染方面,展现了良好的前景,为解决抗生素耐药问题提供了新的思路。

2.3 脂质体肺部递送的机制与优势

脂质体在肺部递送中主要依靠其与肺泡表面的相互作用及其与肺泡巨噬细胞的摄取来实现药物的靶向递送。脂质体进入肺部后,可以通过与肺泡表面的上皮细胞相互作用,增强药物的吸收。脂质体还能够被肺泡巨噬细胞摄取,尤其是在递送抗结核药物时,脂质体能够通过巨噬细胞将药物递送至肺部的结核菌感染部位,实现精确的靶向治疗^[3]。脂质体的肺部递送机制还体现在其对药物释放的控制上。脂质体能够通过改变其脂质组成和结构,实现对药物释放速率的精确调控。这种控制释放的能力在肺部递送中尤为重要,因为肺部药物的递送需要在短时间内达到有效浓度,并在较长时间内维持药物的疗效。通过优化脂质体的膜结构,可以实现药物的快速释放或缓慢释放,从而根据治疗需求调整药物在肺部的作用时间。

2.4 脂质体在结核 DNA 疫苗递送中的作用

脂质体在结核 DNA 疫苗递送中的作用首先体现在其对 DNA 分子的保护作用上。DNA 分子在体内易受到酶的降解,特别是在外周血液和组织中,存在大量的核酸酶,这些酶会迅速降解游离的 DNA,从而降低疫苗的有效性。脂质体能够将 DNA 分子封装在其磷脂双分子层中,形成一个保护性

屏障,避免 DNA 分子暴露于外部环境中,防止其被降解^[4]。脂质体还能够促进 DNA 疫苗的细胞摄取和表达。DNA 疫苗要发挥作用,必须进入靶细胞并在细胞核中表达抗原蛋白。裸露的 DNA 分子难以穿过细胞膜,进入细胞内部。脂质体由于其与细胞膜相似的双分子层结构,能够通过膜融合的方式与靶细胞膜结合,将包裹的 DNA 分子直接递送至细胞内部。脂质体与细胞膜的融合不仅提高了 DNA 分子的转染效率,还促进了抗原蛋白的表达,从而增强了疫苗的免疫原性。

3 结核 DNA 疫苗脂质体肺部递送的作用机制研究

3.1 肺部递送的生物学基础与技术手段

肺部的生物学基础之一是其独特的屏障结构。肺泡壁由一层极薄的上皮细胞组成,紧密连接形成气血屏障。虽然这一屏障具有一定的选择性,但由于其厚度仅为 0.1~0.2 μm ,许多小分子药物和气溶胶形式的药物可以有效穿过这一屏障进入血液循环。这种高效的穿透能力使得肺部递送成为一种快速起效的药物递送方式,特别适用于需要快速作用的治疗,如哮喘急性发作和肺部感染的治疗。肺部的巨噬细胞在药物递送中也起着重要作用,特别是对于传染性疾病的治疗,肺泡巨噬细胞能够摄取药物载体,如脂质体,将药物递送至特定的病灶部位,增强局部药效^[5]。技术手段方面,气溶胶技术是实现肺部递送的重要工具。气溶胶技术通过将药物分散成微小的液滴或固体颗粒,使其能够随呼吸进入肺部。这些颗粒的大小通常在 1~5 μm 之间,能够有效沉积在肺泡区域,实现药物的高效吸收。喷雾器、干粉吸入器和超声雾化器是常用的气溶胶递送装置。喷雾器通过将液态药物分散成微小液滴,直接输送至呼吸道;干粉吸入器则将药物制成微粉,通过患者的吸气动作将药物输送至肺部;超声雾化器利用超声波将液体药物雾化成微小颗粒,适用于需要高剂量药物递送的场景。

3.2 结核 DNA 疫苗脂质体递送后的免疫应答机制

在脂质体递送后的初期阶段, DNA 疫苗进入抗原呈递细胞(APCs),如树突状细胞或巨噬细胞内。在 APCs 中, DNA 分子被转录并翻译为抗原蛋白。此过程发生在细胞核内,转录出的 mRNA 经过翻译形成抗原蛋白后,这些抗原被加工为短肽片段,并与主要组织相容性复合物(MHC)类分子结合。在结合完成后, MHC-抗原复合物被运输至 APCs 的细胞表面,在那里,它们可以被 T 细胞受体识别。这一阶段是免疫应答的关键步骤,通过将 DNA 疫苗编码的抗原展示给 T 细胞,激发了特异性免疫反应^[6]。当 MHC-抗原复合物被递送至 CD8⁺ T 细胞(细胞毒性 T 细胞)时,这些 T 细胞被激活并增殖。这些激活的 CD8⁺ T 细胞在体内广泛分布,并识别表达相同抗原的感染细胞或病原体,直接杀灭这些细胞。这种细胞介导的免疫反应对于防止结核分枝

杆菌在宿主体内的传播至关重要。CD8+T 细胞通过释放穿孔素和颗粒酶来诱导靶细胞的凋亡,从而抑制结核菌的扩散和感染的恶化。APCs 还可以将抗原呈递给 CD4+T 细胞(辅助性 T 细胞)。这些 T 细胞在被激活后,分泌多种细胞因子,如干扰素- γ (IFN- γ)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 和白介素-2 (IL-2)。这些细胞因子在增强和调节免疫应答中起着重要作用。IFN- γ 可以激活巨噬细胞,使其更有效地吞噬和杀灭结核分枝杆菌。TNF- α 则促进炎症反应,增强局部免疫细胞的招募和活化,形成对结核病原的有效抵抗。IL-2 在 T 细胞的增殖和活化中发挥关键作用,支持免疫系统的持续反应。

3.3 脂质体对宿主免疫系统的调节作用

脂质体作为一种纳米级的递送载体,不仅能够有效运输抗原,还能在多方面调节宿主的免疫系统,从而增强疫苗的整体免疫效应。脂质体在进入宿主体内后,通过与免疫细胞的相互作用,触发了复杂的免疫调节机制。脂质体的组成成分,如磷脂、胆固醇和表面修饰物质,可以通过与免疫细胞表面的受体结合,调节抗原的摄取和处理过程。脂质体在递送过程中能够通过促进树突状细胞的成熟和激活,提高抗原呈递的效率,并进一步激活 T 细胞,尤其是辅助性 T 细胞(Th 细胞)^[7]。这种激活不仅增强了体液免疫反应,还通过促进细胞因子的分泌,如 IL-2、IFN- γ 等,增强了细胞介导的免疫反应^[7]。脂质体在体内的缓慢释放特性使抗原能够长时间保持在免疫系统的活跃区域,从而延长免疫应答的持续时间,并进一步增强免疫记忆的形成。

3.4 结核 DNA 疫苗脂质体递送的安全性与稳定性研究

脂质体作为一种递送载体,在肺部递送中的安全性和有效性备受关注。其安全性主要体现在生物相容性、免疫原性和毒性反应的控制上。脂质体由天然存在的磷脂和胆固醇等成分组成,这些成分具有良好的生物相容性,能够被宿主机体安全地代谢和清除。因此,在大多数情况下,脂质体不会引发显著的毒性反应或过敏反应,从而确保了其作为递送载体的安全性。为了进一步提高脂质体的安全性,研究人员通常会通过调整脂质体的组成、大小、表面电荷以及修饰材料,来控制其在体内的代谢路径和降解产物,减少可能对肺组织造成的刺激或损伤^[8]。有效性方面,脂质体在肺部递送中展现出了显著优势。通过吸入途径递送,脂质体能够直接作用于肺部黏膜和深层组织,从而迅速激发局部免疫反应。这种局部递送不仅减少了疫苗在全身分布过程中的损失,

还提高了抗原在目标区域的浓度,从而增强了免疫应答的效果。

4 结语

简而言之,结核 DNA 疫苗脂质体肺部递送的研究展示了其在增强免疫应答效果和提高抗结核疗效方面的重要作用。脂质体作为递送载体,不仅在肺部成功实现了 DNA 疫苗的有效递送,还显著提升了疫苗的稳定性和靶向性,进而增强了免疫反应的强度和持续性。研究表明脂质体递送能够在体内保持较长时间的药效,减少了疫苗的降解和失活风险,确保了疫苗在肺部的有效性和安全性。通过对这一递送系统的深入探讨,可以更好地理解脂质体在结核病预防中的实际应用价值,为结核病的防治提供了坚实的实验基础。

参考文献

- [1] 张丹阳,赵海媚,吴雪琼,等.结核DNA疫苗脂质体肺部递送及其作用机制的研究进展[C]//中国防痨协会,重庆智飞生物制品股份有限公司,厦门致善生物科技股份有限公司,中国防痨协会2023年第34届全国学术大会暨结核病诊治新技术推广应用论坛论文汇编,中国人民解放军总医院第八医学中心结核病医学部研究所,河北北方学院,2023:5.
- [2] 赵海媚.结核分枝杆菌ag85abDNA疫苗肌肉注射电导入和肺部递送两种途径的免疫原性比较研究[D].张家口:河北北方学院,2023.
- [3] 张丹阳,赵海媚,吴雪琼,等.结核DNA疫苗脂质体肺部递送及其作用机制的研究进展[C]//中国防痨协会,重庆智飞生物制品股份有限公司,厦门致善生物科技股份有限公司,中国防痨协会2023年第34届全国学术大会暨结核病诊治新技术推广应用论坛论文汇编,中国人民解放军总医院第八医学中心结核病医学部研究所,河北北方学院,2023:5.
- [4] 姚思,杨洁琼,杨雨欣,等.结核分枝杆菌ESAT6-FcDNA疫苗的免疫效应评价[J].中国生物制品学杂志,2023,36(8):897-901.
- [5] 谭奇凤,李婷,孔雯雯,等.结核DNA疫苗宿主蛋白残留检测方法的建立[J].海峡药学,2022,34(12):45-48.
- [6] 李鹏川.结核多抗原融合DNA疫苗W541预防小鼠结核潜伏感染效果的研究[D].张家口:河北北方学院,2021.
- [7] 李婷,谭奇凤,杨丽菲,等.结核DNA疫苗中卡那霉素残留的半定量检测法的建立及验证[J].今日药学,2021,31(9):678-681.
- [8] 杨丽菲,李婷,孔雯雯,等.半定量法检测结核DNA疫苗中SDS残留量的方法学验证[J].海峡药学,2022,34(6):27-29.