

• 综述 •

植物来源囊泡防治炎症性肠病的疗效、机制评价及药用开发前景

任媛¹, 贺敏¹, 曾千¹, 曾雯¹, 何维维¹, 何永恒², 汤晓娟^{2*}, 李勇敏^{2*}

1. 湖南中医药大学, 湖南长沙 410208

2. 湖南省中西医结合医院 (湖南省中医药研究院附属医院), 湖南长沙 410006

摘要: 炎症性肠病 (inflammatory bowel disease, IBD) 是一种发病机制尚未明确的慢性肠道疾病, 临床药物疗效有限且不良反应多, 亟需开发安全、有效的治疗手段及药物, 目前大量研究表明植物来源囊泡 (plant-derived vesicles, PDVs) 治疗 IBD 有巨大的潜力及开发前景, 是新药研发的热点。通过综述不同来源 PDVs 治疗 IBD 的研究进展、疗效评价, 发现其可通过核因子- κ B、单磷酸腺苷活化的蛋白激酶等信号通路及 PDVs 中的微小 RNA 维持 M₁/M₂ 巨噬细胞平衡、调节免疫失衡、肠道微生物稳态及修复肠道屏障等治疗 IBD。并进一步探讨 PDVs 作为新型载药系统的潜力及开发前景, 为 PDVs 的药用开发及治疗 IBD 的临床转化提供理论依据。

关键词: 炎症性肠病; 植物来源囊泡; 免疫调节; 肠道屏障; 载药系统

中图分类号: R285 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)23-8208-14

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.23.026

Efficacy and mechanism evaluation, and medicinal development prospects of plant-derived vesicles in therapeutics of inflammatory bowel disease

REN Yuan¹, HE Min¹, ZENG Qian¹, ZENG Wen¹, HE Weiwei¹, HE Yongheng², TANG Xiaojuan², LI Yongmin²

1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

2. Hunan Province Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Hospital (Affiliated Hospital of Hunan Academy of Traditional Chinese Medicine), Changsha 410006, China

Abstract: Inflammatory bowel disease (IBD) is a chronic intestinal disease with an unclear pathogenesis. Clinical drugs are limited and have serious side effects. There is an urgent need to develop safe and effective treatment methods and drugs. At present, a large number of studies have shown that plant derived vesicles (PDVs) have great potential and development prospects for treating IBD, and are a hot research topic in drug development. This study reviewed the research progress of PDVs from different plants for treating IBD and evaluated their efficacies. It was found that they can maintain balance of M₁/M₂ macrophage, regulate dysfunction of immune system, modulate intestinal microbiota homeostasis, and repair intestinal barriers through nuclear factor- κ B, adenosine monophosphate activated protein kinase and other inflammation related signaling pathways, as well as microRNAs in PDVs for treatment of IBD. In addition, the potential and development prospect of PDVs in novel drug delivery systems have been discussed, providing theoretical basis for development of PDVs and clinical transformation of IBD treatment.

Key words: inflammatory bowel disease; plant-derived vesicles; immune regulation; intestinal barrier; drug delivery systems

炎症性肠病 (inflammatory bowel disease, IBD) (Crohn's disease, CD) 和溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) [1]。IBD 的发病机制与遗传、环境、微

收稿日期: 2024-05-22

基金项目: 湖南省卫生健康委重点课题 (C202302048602); 湖南省卫生健康委一般课题 (W20243256); 湖南省中医药管理局一般课题 (B2024031); 湖南省自然科学基金青年项目 (2024JJ6286)

作者简介: 任媛, 女, 硕士研究生, 研究方向为中药药效物质基础及机制。E-mail: 17392363870@163.com

*通信作者: 汤晓娟, 女, 博士/博士后, 助理研究员, 从事中医药防治肛肠疾病的临床和基础研究。E-mail: txj19920112@outlook.com

李勇敏, 男, 研究员, 硕士生导师, 从事中医药与囊泡信息传递研究。E-mail: lym0937@126.com

生物和免疫密切相关^[2], 药物干预和手术切除为常见的治疗手段, 临床常用药物包括氨基水杨酸、皮质类固醇、免疫调节剂等^[3]。但上述治疗方法疗效有限且不良反应多, 因此, 亟需寻找安全有效的治疗方法及药物。

植物来源囊泡 (plant-derived vesicles, PDVs) 是一类由植物细胞分泌的细胞外囊泡, 携带多种生物活性成分 (蛋白质、脂质、核酸等), 具有抗炎^[4]、抗肿瘤^[5]、免疫调节^[6]等作用。PDVs 来源广泛、成本低廉, 且有良好的安全性、稳定性及组织趋向性等优点, 在生物医疗领域具有巨大的应用前景^[7]。目前, PDVs 已在结直肠癌^[8]、口腔黏膜炎、多囊卵巢综合症相关的慢性炎症等疾病中展开了临床试验, 初步证明其巨大的临床应用价值。近年来, PDVs 已被证明可用于治疗 IBD^[9], 但其疗效和具体作用机制还有待阐明。本文通过评价 PDVs 对 IBD 的疗效, 阐明其作用机制, 并深入探讨 PDVs 作为载药系统的应用前景, 为 PDVs 治疗 IBD 的临床应用和提高 PDVs 的应用价值提供理论依据。

1 PDVs 的特点及在 IBD 中的治疗作用

PDVs 的优势主要体现在安全性、低免疫原性、组织趋向性、稳定性等方面。PDVs 主要从天然药用或食用植物中提取, 目前已进行的临床和实验研究中均未见报道明显的不良反应, 表明其安全性较好^[10]。区别于体细胞来源的细胞外囊泡, PDVs 不会激活宿主免疫反应, 从而导致其他病理损害, 体现其低免疫原性的特点^[11]。PDVs 可通过细胞内吞作用、吞噬作用和膜融合等方式穿越不同的生物屏障 (如血脑屏障、肠屏障等), 随后被受体细胞吸收, 靶向炎症结肠区域, 发挥治疗作用^[12]。此外, 多项研究已证实, PDVs 的修饰和改造及其粒径大小可影响 PDVs 的组织趋向性及靶向性^[13-14], 如有研究将柠檬来源囊泡的氨基与环肽肝素的羧基进行反应制备新型纳米囊泡, 再装载阿霉素 (doxorubicin, DOX) 制备纳米药物 (heparin-cRGD-EVs-DOX, HRED)。结果表明, DOX 耐药或敏感的卵巢癌细胞对 HRED 的摄取能力优于单独柠檬来源囊泡装载 DOX 的纳米药物 (Evs-DOX, ED)。进一步通过动物实验发现 HRED 的荧光分布多聚集于肿瘤部位, 具有更好的组织趋向性^[13]。Liu 等^[14]从姜黄中分离出粒径分别为 204.6、177.9 nm 的囊泡, 并对 2 种囊泡进行细胞膜荧光染料标记, ig 于 IBD 小鼠后发现, 177.9 nm 的姜黄来源囊泡在结肠部位的荧

光强度高于对照组和 204.6 nm 的姜黄囊泡组, 且在肠系膜淋巴结和心、肝、脾、肺、肾等器官的富集程度也高于 204.6 nm 的姜黄囊泡组, 表明粒径小的姜黄来源囊泡具有更好的靶向性。

PDVs 口服可直接经胃肠道吸收, 具有较好的稳定性, 到达受体细胞发挥治疗作用。有研究报道小花山柰来源的 PDVs 可耐受胃酸和酶的消化, 在 -20、-80 °C 环境下可稳定保存 8 周, 且冻融对其活性影响较小^[15]。目前, 人参、生姜、葡萄、柠檬、西兰花、番茄等 PDVs 的药用价值在 IBD 中被广泛讨论。本文根据药用部位将目前应用于 IBD 的 PDVs 分为根茎类、果实类和花类 3 类, 阐述其在 IBD 中疗效, 挖掘其潜在作用机制, 总结 PDVs 治疗 IBD 的特点及规律, 为 PDVs 治疗 IBD 的临床转化提供参考。

1.1 根茎类来源囊泡

1.1.1 人参 人参为五加科植物人参的根及根茎, 具有大补元气、补脾益肺、生津止渴等功效, 临床常用的六君子汤、归脾丸等均含有人参, 与其他配伍药物共同发挥调节胃肠道功能的作用^[16]。现代药理研究进一步明确了人参有效成分具有抗炎、抗肿瘤、免疫调节和抗骨质疏松等作用^[17]。其中, 人参皂苷 Rg₁ 被证明对 IBD 具有良好的治疗作用, 该成分可通过调节滤泡性辅助性 T 细胞 (helper T cell, Th) /调节性 T 细胞 (regulatory T cells, Treg) 平衡从而改善葡聚糖硫酸钠 (dextran sulfate sodium, DSS) 诱导的 IBD 小鼠免疫状态失衡^[18]。近年来, 人参来源囊泡因其独特的磷脂双分子层结构及丰富的生物信息——微小 RNA (microRNA, miRNA)、蛋白、脂质体等, 成为目前 IBD 治疗研究的热点。研究报道, 将 0.02 g 冷冻干燥的人参来源囊泡溶于 200 μL 磷酸盐缓冲液中, 并在 IBD 造模前 ig 于 BALB/c 小鼠, 发现人参来源囊泡可保护 IBD 小鼠体质量、增加结肠长度, 降低疾病活动指数、结肠壁厚度、提高小鼠存活率^[10], 其原因在于人参来源囊泡可降低小鼠血清中炎症因子的表达, 抑制肠道炎症反应。细胞实验进一步证明其可调节脂多糖诱导的小鼠单核巨噬细胞白血病 RAW264.7 细胞 M₁/M₂ 型极化, 降低人结肠腺癌 Caco-2 细胞中炎症因子白细胞介素-8 (interleukin-8, IL-8)、IL-1β、肿瘤坏死因子-α (tumor necrosis factor-α, TNF-α)、诱导型一氧化氮合酶 (inducible nitric oxide synthase, iNOS) 的表达, 减少炎症细胞中活性氧、一氧化氮

水平, 保护细胞线粒体。该研究还通过检测丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST) 含量证实人参来源囊泡对 IBD 小鼠肝功能无明显不良反应, 且在肠道滞留时间长达 48 h, 具有较好的稳定性, 进一步证明人参来源囊泡在 IBD 中的巨大应用潜力。此外, 除抑制全身及肠道炎症反应外, 人参来源囊泡还可以通过促进肠道干细胞增殖、增加拟杆菌门和厚壁菌门的比例, 改善肠道菌群结构从而修复肠道屏障损伤以治疗 IBD^[19]。由此可见, 人参来源囊泡对 IBD 的治疗作用是多细胞、多途径、多靶点共同作用的结果, 并进一步佐证人参在防治肠道疾病中广泛应用的科学性。

1.1.2 生姜 生姜作为一种重要的药食两用中药, 具有解表散寒、温中止呕、温肺止咳、解毒的功效。研究发现, 生姜中含有的多种成分具有抑菌、抗炎镇痛、抗氧化和抗肿瘤等作用^[20], 可防治多种慢性炎症疾病和肿瘤。随着对生姜药用价值的深入研究, 生姜来源囊泡被证明对三阴性乳腺癌、慢性牙周炎、酒精性肝损伤及 IBD 等疾病有良好的治疗作用^[21-24]。生姜来源囊泡可通过降低脂钙蛋白-2 表达、抑制促炎因子 (IL-6、TNF- α) 的释放、增加抗炎因子 IL-10、IL-22 的表达, 减少局部炎症反应、促进肠道黏膜愈合从而保护 IBD 小鼠结肠长度、降低疾病活动指数、改善脾亢等症状^[22]。生姜来源囊泡治疗 IBD 的另一种重要途径是调控肠道微生物平衡, 研究表明生姜中富集拟南芥来源的 miR167a 可直接调控鼠李糖乳杆菌 Pili 基因 *SpaC* 的表达, 从而防止肠道黏膜中鼠李糖乳杆菌的积聚, 缓解小鼠肠道炎症反应^[25]。目前, TNF- α 抑制剂静脉注射导致的严重不良反应是限制该药临床应用的关键, 为解决这一问题, 有研究将抗 TNF- α 抗体 (英夫利昔单抗) 包载于生姜来源囊泡与无机材料组成的仿生纳米颗粒, 该途径与静脉注射英夫利昔单抗相比具有胃肠道稳定性、结肠靶向性及肠上皮高通透性等特点, 在治疗小鼠肠道炎症方面显示出更优越的疗效。进一步研究显示, 该颗粒是通过阻断 NOD 样受体热蛋白结构域 3 (NOD like receptor family pyrin domain containing 3, NLRP3) 激活从而抑制炎症反应^[26]。由上可知, 生姜来源囊泡无论是直接发挥治疗作用还是作为药物递送载体在防治 IBD 方面均展现出其巨大的作用潜力, 此外, 囊泡中含有的重要生物活性物质, 如蛋白质、核酸、脂质等也值得

进一步研究。

1.1.3 姜黄 除生姜外, 同属姜科植物的姜黄也是治疗 IBD 的一种有效选择。研究发现, 姜黄来源囊泡可以通过调节肠道巨噬细胞标记物 (CD16/32、CD206) 水平, 维持 M₁/M₂ 巨噬细胞平衡从而抑制炎症。还可通过增加益生菌 (乳酸菌、双歧杆菌) 和减少有害菌 (志贺氏杆菌、幽门螺杆菌) 的相对丰度从而调节肠道微生物平衡, 改善小鼠疾病评分指数、增强小鼠免疫功能。值得注意的是, 5-氨基水杨酸组小鼠在治疗过程中伴有胃肠道反应, 而姜黄来源囊泡组在治疗过程中并未出现此不良反应^[27], 体现出姜黄来源囊泡具有更好的安全性。此外, 具有特定群体的姜黄衍生纳米颗粒 (turmeric derived nanoparticles 2, TDNPs 2) 被证实具有明显的抗炎作用, 质谱分析发现 TDNPs 2 含有高水平的脂质和蛋白质。此外, TDNPs 2 中也被检测出其携带姜黄的有效成分——姜黄素。在 IBD 小鼠模型中, TDNPs 2 靶向炎症结肠区域, 并通过调节促炎因子 (TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β) 及抗氧化基因血红素加氧酶-1 (heme oxygenase-1, HO-1) 的表达改善小鼠结肠炎症状和病理。该研究进一步通过核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B)-RE-Luc 的转基因小鼠验证 TDNPs 2 的作用机制, 发现 TDNPs 2 介导的 NF- κ B 途径的失活是 TDNPs 2 发挥抗结肠炎的重要机制。由此可知, 来自可食用姜黄的 TDNPs 2 可能是一种新的天然结肠靶向疗法, 可以预防结肠炎并促进结肠炎的病变区域修复, 同时在低毒性和易于大规模生产方面优于人工纳米颗粒^[14]。以上均是姜黄来源囊泡在组织、细胞、肠道菌群发挥治疗作用的重要体现, 但其治疗 IBD 的具体分子机制仍有待进一步探索。

1.1.4 大蒜 大蒜是一种人们常食用的调味料, 现代药理研究发现, 大蒜具有抗炎、抗菌、免疫调节等作用^[28], 其药理作用可佐证大蒜可能是治疗肠道炎症疾病的潜在药物。而 PDVs 的深入研究为大蒜的药用开发提供可行的方案, 已成为目前大蒜药用研究开发的热点。有研究已证实, 大蒜来源囊泡可有效防治炎症相关性疾病。在高脂饮食诱导的脑部炎症小鼠模型中, 大蒜来源囊泡可优先被小胶质细胞摄取, 并通过抑制炎症因子 IL-1 β 、IL-6、IL-17、 γ 干扰素、TNF- α 的表达、降低线粒体膜的通透性发挥抗炎作用^[29]。此外, 大蒜来源囊泡还可通过抑制 NLRP3 的激活缓解急性肝损伤或肥胖引起的炎症反应^[30]。为进一步探明大蒜来源囊泡的药理机

制, 有研究对大蒜来源囊泡中的生物活性成分进行了全面分析, 数据显示, 大蒜来源囊泡中含有 26 种脂质、61 种蛋白质和 127 种已知的 miRNA, 其中 miR630-5p 被明显富集。在 IBD 的动物模型中, 大蒜来源囊泡 100 mg/kg 预处理可有效改善 DSS 诱导的结肠组织的炎症改变、肠道病理损伤和紧密连接蛋白功能障碍。进一步检测发现, 大蒜来源囊泡显著下调肠道组织 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4)、髓样分化因子 88 (myeloid differentiation factor 88, MyD88) 和 NF- κ B 的表达以抑制下游级联反应。此外, 大蒜来源囊泡还可通过恢复钩端螺旋杆菌科的相对丰度和降低幽门螺杆菌的相对丰度, 调节 IBD 小鼠的肠道微生物群失衡。此外, 大蒜来源囊泡可显著上调脂多糖诱导的 Caco-2 细胞屏障相关蛋白的降低, 并抑制促炎因子的产生, 证明大蒜来源囊泡中的 miR630-5p 可与 TLR4 的 3'非翻译区结合, 从而抑制 TLR4 的表达。因此, 大蒜来源囊泡可能通过抑制 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路和调节肠道微生物群来保护结肠免受 DSS 诱导的损伤^[31]。该研究阐明了大蒜来源囊泡的 miRNA 在抗结肠炎中的作用, 并证明了大蒜来源囊泡在预防 IBD 方面的巨大应用前景。

1.2 果实类来源囊泡

1.2.1 柑橘属植物

饮食不节是诱发 IBD 的重要病因之一, 保持良好的饮食习惯是防治 IBD 的重要策略。大量的研究表明, 水果中富含的维生素、叶酸、微量元素等可调节肠道免疫平衡, 发挥抗炎作用^[32]。日常生活中常食用的柑橘、柠檬、葡萄柚等都属于芸香科柑橘属植物, 现代药理学研究发现其大多都具有抗肿瘤、抗炎、抗氧化等作用^[33-35]。PDVs 研究的兴起及研究方法的逐渐成熟, 为开发水果来源的囊泡保健品制剂或药品, 并将其用于慢性肠道疾病的防治提供了新的思路。Bruno 等^[36]发现 TNF- α 、IL-1 β 和 γ 干扰素组成的炎症因子混合物诱导的 Caco-2 细胞炎症模型中, 柑橘来源囊泡作用 6 h 后可显著上调紧密连接基因 (Occludin、Claudin-1) 表达、下调肌球蛋白轻链激酶 (myosin light-chain kinase, MLCK) 和细胞间黏附分子-1 (intercellular cell adhesion molecule-1, ICAM-1) 基因表达, 从而保护 Caco-2 细胞的通透性, 发挥治疗作用。

而在抑制肠道炎症方面, Raimondo 等^[37]研究发现柠檬来源囊泡可抑制 M₁ 型的 RAW264.7 细胞中促炎因子 (IL-6、IL-1 β 、TNF- α) 的表达, 维持

M₁/M₂ 型巨噬细胞平衡, 减少 NF- κ B 核易位及磷酸化, 从而发挥强大的抗炎作用。此外, 葡萄柚来源囊泡可靶向肠道巨噬细胞, 诱导 HO-1 表达, 抑制炎症因子释放, 改善肠道炎症反应^[38]。且葡萄柚来源囊泡还可以作为载体递送抗炎药物发挥作用^[39], 如装载抗炎药物甲氨蝶呤 (methotrexate, MTX) 的葡萄柚来源囊泡能直接递送药物靶向递送至小鼠肠道巨噬细胞, 发挥抗小鼠结肠炎的作用, 进一步佐证了 PDVs 的组织趋向性和细胞靶向性。

以上芸香科植物多为日常食用的水果, 来源广泛、易获得, 具有保护肠道健康的作用。实验研究进一步证实芸香科植物来源的囊泡具有多细胞、多途径、多靶点的抗炎作用, 其中靶向抑制巨噬细胞的炎症反应是该类囊泡的重要作用机制, 此外, 芸香科植物中富含的 D-柠檬烯被证明可显著抑制炎症反应^[40], 可能是该类植物肠道保护作用的物质基础, 以上为进一步将柑橘属类 PDVs 用于 IBD 的治疗提供翔实的实验数据。

1.2.2 葡萄和番茄

葡萄和番茄均具有生津止渴、开胃消食、降压调脂、抗炎等作用^[41]。随着对 PDVs 的深入研究, 葡萄和番茄来源囊泡被发现可以通过多种途径治疗 IBD。葡萄来源囊泡里含有丰富的生物活性物质, 包括蛋白质、脂质、RNA (mRNAs、miRNAs 和 lncRNAs) 和天然小分子化合物 (原花青素、多酚), 可被转运至受体细胞并发挥生物作用, 在细胞间或跨物种交流中充当信使^[42]。此外, 据报道^[43], 葡萄来源囊泡中的 miRNA 大多来自 miR169 家族, 该家族与人源 miRNA 共享 2 个序列 (miR-4480 和 miR-4662a-5p)。进一步的研究表明, 一些 miRNA 可以直接靶向炎症因子基因如 IL-6、IL-2、IL-5 和 IL-1 的表达, 发挥直接抗炎作用。ig 葡萄来源囊泡 2 mg/d, 可保护小鼠结肠长度和绒毛高度, 证实该囊泡可被 Lgr5⁺干细胞吸收, 促进其增殖, 促进小肠黏膜的再生, 修复肠道结构达到修复肠道屏障的作用, 其机制与葡萄来源囊泡激活 Wnt/ β -连环蛋白 (β -catenin) 信号通路进而诱导多种调节肠道干细胞生长基因的表达密切相关^[43]。

番茄是一种健康、具有多种功能 (提高抗氧化能力和降低患炎症性疾病风险) 的常见蔬果, 通过差速超速离心法从番茄果酱中分离的囊泡具有抑制炎症反应的潜在作用^[44]。在人单核细胞白血病 THP-1 细胞模型中, 番茄来源囊泡 2、5 μ g/mL 可抑制脂多糖诱导的 THP-1 细胞 IL-1 β mRNA 的表达。

为增加该囊泡的抗炎活性，该研究采用直接孵育、超声处理和挤压的方法将姜黄素装载于番茄来源囊泡，结果显示，直接孵育产生了最高的包封效率和负载能力值，负载姜黄素的番茄来源囊泡在降低炎症因子 (IL-1 β 和 IL-6) 上比单纯番茄来源囊泡和姜黄素更具优势^[45]。该项细胞实验为今后进一步探索番茄来源囊泡治疗 IBD 及作为药物载体的药效和机制研究提供了技术支撑和前期数据支持。

1.3 花类来源囊泡

西兰花来源囊泡也具有 PDVs 的共同优势，如稳定性好、生物活性良好及靶向性等，也是目前 PDVs 药用研究的热点植物之一，是防治 IBD 的潜在药物^[46]。研究表明，ig 西兰花来源囊泡于小鼠 10 d，可有效阻止 DSS 诱导的 IBD 小鼠体质量减轻，减少小鼠黏膜中的炎症浸润，增加结肠杯状细胞，抑制结肠缩短。进一步检测结肠组织中炎症相关基因的表达发现，西兰花来源囊泡可阻断 DSS 诱导的 TNF- α 、IL-17A 和 γ 干扰素表达增强和 IL-10 的表达减少。在 IBD 小鼠适应性免疫调控过程中，西兰花来源囊泡也发挥重要作用，该研究将初始 T 细胞 (naïve T cell, T_n) 转入 Rag1 缺陷小鼠中。T 细胞转入 4 周后，小鼠表现出结肠炎症状，但西兰花来源囊泡治疗组小鼠未发展为结肠炎，结肠质量与长度、黏膜壁厚度和组织学评分的比值降低证明了这一点。在 T 细胞转入后第 35 天，西兰花来源囊泡处理组的小鼠的肠系膜淋巴结 (mesenteric lymph nodes, MLNs) 和固有层淋巴细胞 (lamina propria lymphocytes, LPL) 中的 CD4⁺ T 细胞数量显著降低，且小鼠结肠中 TNF- α 、IL-17A、 γ 干扰素 mRNA 的表达量显著减少。在组织趋向性和细胞靶向性方面，该研究还证实西兰花来源囊泡可被小鼠 MLNs 和结肠中的树突状细胞 (dendritic cells, DCs) 吸收，并可激活 DCs 的腺苷酸活化蛋白激酶 (adenosine monophosphate activated protein kinase, AMPK) 通路发挥保护小鼠结肠炎的作用^[47]。

有研究将可降解高分子化合物聚乳酸-羟基乙酸共聚物包载虾青素装载在西兰花来源囊泡中治疗 IBD 小鼠，可降低小鼠结肠 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 表达，并减少 p38、细胞外调节蛋白激酶 (extracellular regulated protein kinase, ERK) 磷酸化发挥抗炎作用，还可抑制小鼠超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活性、丙二醛表达缓解氧化应激反应^[46]。还有研究指出用西兰花来源囊

泡装载磺胺酸可提高磺胺酸在体内外的稳定性和半衰期，显著抑制 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 的分泌，抑制脂多糖诱导的炎症反应^[48]。以上研究结果显示，西兰花来源囊泡不仅可直接发挥抗 IBD 的作用，还可作为递送药物的常用载体发挥治疗作用，且其易获得性及良好的生物活性、靶向性为开发西兰花相关的仿生纳米颗粒并用于 IBD 及其他疾病的治疗提供可能性，值得进一步研究。

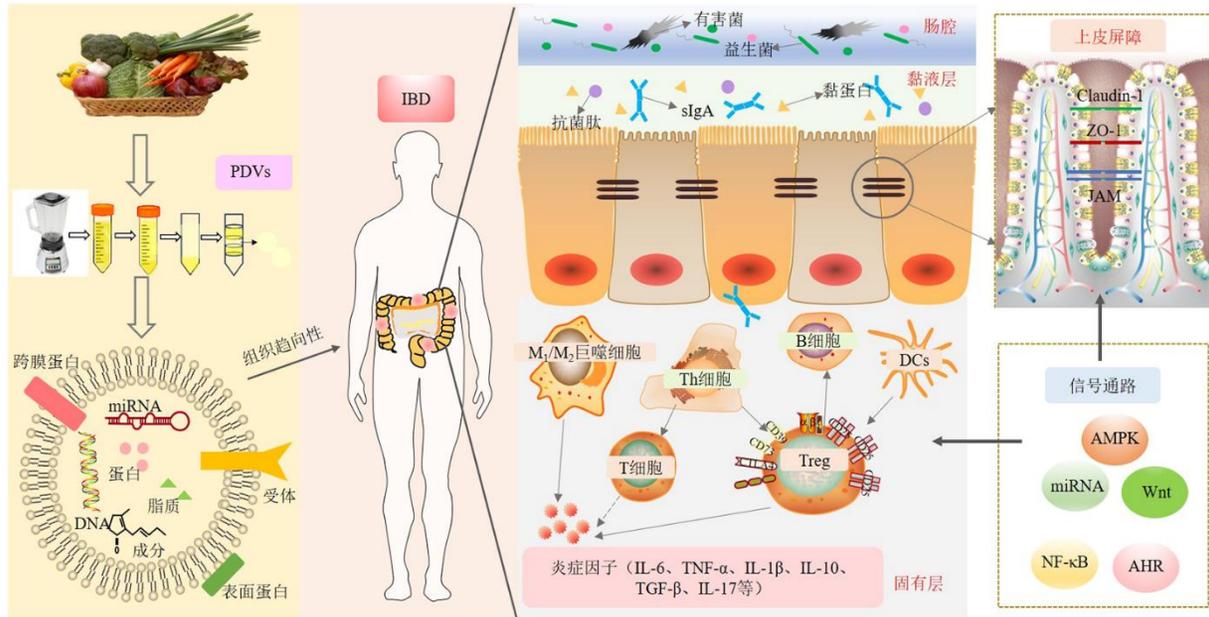
2 PDVs 治疗 IBD 的相关分子机制

目前，研究证实 PDVs 对 IBD 具有较好的防治作用，但不同来源的 PDVs 作用机制不尽相同。免疫调节、维持肠道微生物平衡、修复肠屏障和抑制巨噬细胞介导的炎症反应是 PDVs 治疗 IBD 主要途径，NF- κ B、AMPK、Wnt 等是参与 IBD 的发生、发展的关键信号通路。此外，miRNA 作为 PDVs 的重要活性物质，其对炎症相关信号通路和靶点的调控也是 PDVs 发挥治疗 IBD 作用的重要机制。目前，大量的实验研究发现 PDVs 通过调控上述信号通路，阻断 IBD 的相关病理过程 (图 1)。因此，进一步阐明 PDVs 治疗 IBD 的潜在途径及分子机制，有助于解释 PDVs 治疗 IBD 的药理作用，更为 PDVs 进一步药用开发奠定基础。

2.1 PDVs 激活 AMPK 信号通路

AMPK 是一种三聚体复合物，通过调节细胞代谢维持能量稳态，参与细胞炎症、免疫反应^[49]。此外，AMPK 在多种免疫细胞中表达，包括巨噬细胞、淋巴细胞、中性粒细胞和树突状细胞，调控免疫细胞功能，是维持免疫功能正常的重要通路^[50]。

研究表明，西兰花来源囊泡可通过激活 AMPK 信号通路发挥治疗小鼠 IBD 的作用^[47]，为明确西兰花来源囊泡与 AMPK 信号通路在 IBD 小鼠治疗中的相互作用，研究采用西兰花来源囊泡治疗经 DSS 处理的 AMPK α 1^{-/-} IBD 小鼠。虽然西兰花来源囊泡在 AMPK 野生型对照中可保护由 DSS 导致的体质量下降、结肠损伤和结肠长度缩短，并抑制促炎因子和趋化因子的产生，但对 AMPK α 1^{-/-} 小鼠没有明显的治疗作用，由此可知，AMPK α 1 的激活对西兰花来源囊泡治疗作用的发挥至关重要。为进一步证明西兰花来源囊泡介导的耐受性 DCs 诱导是否依赖于 DCs-AMPK 的激活，将西兰花来源囊泡处理的小鼠骨髓来源树突状细胞 (bone marrow-derived dendritic cells, BMDC) 移植入 IBD 小鼠中。与未经西兰花来源囊泡处理的 BMDC 相比，西兰花来



slgA-分泌型免疫球蛋白A; TGF-β-转化生长因子-β; ZO-1-闭锁小带蛋白-1; JAM-连接黏附分子; AHR-芳香烃受体。

slgA-secretory immunoglobulin A; TGF-β-transforming growth factor-β; ZO-1-zonula occludens-1; JAM-junctional adhesion molecule; AHR-aryl hydrocarbon receptor.

图 1 PDVs 治疗 IBD 的分子机制

Fig. 1 Mechanism of PDVs in treatment of IBD

源囊泡处理的 BMDC 可阻止 IBD 小鼠疾病的进展。由此可知，激活 DCs 细胞中 AMPK 通路是西兰花来源囊泡治疗 IBD 的关键途径。另一项研究也指出，西兰花来源囊泡组处理后的炎症性小鼠结肠组织中 pAMPK 蛋白含量明显升高，磷酸化的 S6 激酶的水平降低，且 γ 干扰素、IL-17、TNF- α 的表达显著降低，揭示 AMPK 的激活与炎症相关因子的表达呈负相关，但 AMPK 与炎症相关蛋白在西兰花来源囊泡干预下的相互调控作用仍有待进一步研究^[46]，由上可得知，AMPK 通路的激活是介导西兰花来源囊泡发挥治疗作用的关键途径。

2.2 PDVs 抑制 NF- κ B 信号通路

NF- κ B 是一类二聚体核转录因子，参与调控多种基因的表达，是炎症反应和免疫反应关键调节通路^[51]。其功能在肿瘤、IBD 及其他疾病中被广泛验证，是炎症相关疾病治疗中的核心通路。近年的研究也表明，NF- κ B 及其相关信号通路也是 PDVs 治疗 IBD 的重要机制之一。

细胞实验结果显示，脂多糖可诱导 NF- κ B 依赖性萤光素酶报告基因的表达（增加 1.6 倍），而 TDNPs 2 可呈剂量相关性抑制 NF- κ B 萤光素酶活性，并影响 NF- κ B-p65 向细胞核的易位。为研究 TDNPs 2 在体内对 NF- κ B 通路的抑制作用，使用

NF- κ B-RE-Luc 转基因小鼠研究 TDNPs 2 的作用及与 NF- κ B 相互关系。荧光成像结果显示，各组 NF- κ B-RE-Luc 小鼠重要器官（心脏、肝脏、脾脏、肾脏和肺部）的生物发光信号相似，而 DSS 组小鼠结肠生物发光信号明显增强，TDNPs 2 处理组结肠的生物发光信号明显降低，该研究进一步从体内外层面证实 NF- κ B 通路在 IBD 发生及治疗中的潜在作用，也是 PDVs 发挥治疗作用的关键通路^[14]。

此外，PDVs 中含有的蛋白质、核酸、脂质等活性成分也可通过调控 NF- κ B 通路，在治疗 IBD 中起到至关重要的作用，如大蒜来源囊泡中富集向日葵来源的 miR3630-5p 可进入 Caco-2 细胞并与细胞中 TLR4 的 3'非翻译区结合，靶向抑制 TLR4 的表达从而下调 MyD88 和抑制 NF- κ B 通路的激活，阻断下游级联反应和促炎因子的分泌，改善小鼠肠道炎症反应，恢复微生物菌群平衡，从而发挥治疗 IBD 的作用^[31]。

2.3 PDVs 激活 Wnt 信号通路

Wnt 信号通路是肠干细胞的关键调节因子，在肠上皮生长与增殖中起着重要作用^[52]。 β -catenin 是 Wnt 信号通路的功能效应分子，其修饰和降解是 Wnt 信号通路中的关键环节^[53]。调节 Wnt 信号通路与肠道屏障的修复密切相关，因此，Wnt 信号通路

是抑制 IBD 的重要环节之一。

miRNA 是 PDVs 重要的生物活性成分,且能被哺乳动物细胞摄取。通路分析表明,西兰花中富集的 miRNA(miR159a、miR159b、miR166a 和 miR403)参与 Wnt 信号通路相关的生物过程^[54],该项结果可在今后 IBD 的动物和细胞实验中被验证。葡萄来源囊泡在 IBD 中的治疗作用也与调控 Wnt 介导的肠道干细胞增殖密切相关,研究证实葡萄来源囊泡可穿过肠道黏液屏障,被小鼠肠道干细胞摄取,并通过促进 β -catenin 的核积累激活 Wnt 通路,显著诱导肠道 Lgr5⁺干细胞增殖,有效缓解 DSS 导致的小鼠肠屏障损伤^[43]。以上研究表明,PDVs 对 IBD 肠屏障的保护及肠道干细胞的增殖作用与调控 Wnt 信号通路密切相关,PDVs 中富集的 miRNA 可能是介导该治疗过程的重要物质。

2.4 PDVs 中 miRNA 介导的相关信号通路参与 IBD 发生与发展

miRNA 是 20~22 个核苷酸长的非编码 RNA,通过参与 mRNA 的翻译发挥其生物学功能^[55]。PDVs 中含有丰富的 miRNA,是介导 PDVs 发挥生物学作用的重要物质。大量研究报道 PDVs 中的 miRNA 可进入受体细胞,激活/抑制相关信号通路,参与炎症相关疾病的发生和发展^[56]。如在 IBD 的治疗中,PDVs 来源 miRNA 可进入结肠上皮细胞,靶向抑制 TLR4 的表达,进而抑制 MyD88/NF- κ B 信号通路的激活,发挥抑制 IBD 进展的作用^[31]。研究还发现,PDVs 中的 miRNA 可以通过胃肠道进入血液,在组织中积累,并通过靶向目的基因表达,调节相关通路参与疾病的发生发展^[57-59]。

目前多使用 RNA 测序的方法挖掘 PDVs 中富集的 miRNA,并验证其对 IBD 炎症相关通路和靶点的调控作用。如一项对西兰花中 miRNA 的 RNA 测序分析表明,西兰花中以 miR159a、miR159b、miR166a 和 miR403 等富集明显,进一步生物信息分析表明,以上 miRNA 主要通过调控 Wnt 和胰岛素/胰岛素样生长因子(insulin like growth factor, IGF)等信号通路发挥作用^[54]。通过对生姜来源囊泡进行 RNA 测序分析,发现生姜来源囊泡含有大量 miRNA,其中映射到 NCBI 植物 miRNA 数据库的有 109 个成熟 miRNA。进一步研究表明,生姜来源囊泡中含有的总 RNA 通过激活芳香烃受体 AHR 诱导 IL-22 表达,有效抑制鼠李糖乳杆菌介导的小鼠结肠炎^[25],机制实验则证明生姜来源囊泡中的拟

南芥来源的 miR167a 是调控鼠李糖乳杆菌功能的重要 miRNA,该基因通过下调鼠李糖乳杆菌 Pili 基因 SpaC 的表达,从而防止肠道黏膜中鼠李糖乳杆菌的积聚,缓解小鼠肠道炎症反应。此外,对大蒜来源囊泡进行 RNA 测序分析发现有 127 种 miRNA 被富集,其中向日葵来源的 miR3630-5p 是大蒜来源囊泡发挥治疗 IBD 的重要分子,机制实验进一步揭示 Han-miR3630-5p 通过结合 TLR4 的 3'非翻译区,抑制 TLR4 的表达,减少 DSS 诱导的促炎因子的分泌,有效缓解小鼠结肠组织病理损伤并保护肠道屏障,在 IBD 防治中展现良好的治疗效果^[31]。

以上提示,miRNA 是 PDVs 发挥功能的重要物质,PDVs 来源的 miRNA 进入受体细胞如肠上皮、免疫细胞等介导的复杂信号网络,抑制炎症信号通路,在阻断 IBD 的进展中发挥重要作用。此外,随着多组学技术、现代药理学和分子生物学的发展,为进一步挖掘 PDVs 中的 miRNA 的生物学功能并揭示其潜在作用机制提供了可行的方案,可进一步阐明 PDVs 治疗 IBD 的作用机制。

2.5 PDVs 治疗 IBD 的其他相关信号通路

IBD 的发生、发展涉及到复杂的信号网络,PDVs 中的多种生物活性物质,尤其是 PDVs 中的 miRNA 可靶向调控数千种 mRNA 的表达,在转录后水平影响炎症相关蛋白的翻译^[31]。因此,除上述提到的信号通路外,PDVs 对 IBD 的治疗作用也涉及对其他炎症相关通路的调控作用。如在大蒜来源囊泡治疗 DSS 诱导的 IBD 小鼠的动物实验研究中,该囊泡除调控 NF- κ B 通路外,还可同时抑制 TLR4/MyD88 信号通路,从而发挥治疗作用^[31]。柠檬来源的囊泡可抑制人原代 T 淋巴细胞中促炎因子,并增加抗炎分子的表达,该囊泡抗炎作用与抑制 NF- κ B 和 ERK 通路的活化有关,机制实验证明,ERK1/2 磷酸化的减少可诱导 NF- κ B 通路的失活^[37]。此外,洋葱来源囊泡可抑制 NLRP3 炎症小体介导的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-1 自我裂解,抑制炎症相关疾病发生^[30]。随着生信分析与组学技术的飞速发展,有助于深入探索 PDVs 治疗 IBD 的潜在分子机制。

3 PDVs 作为天然药物递送系统在疾病治疗中的潜力

大多数药物在临床应用中常受限于生物利用度低、不良反应大及溶解度低等问题,严重影响疗效。而 PDVs 具有高的生物相容性、安全性、靶向性及稳定性,有望成为各类药物治疗疾病的最佳运

输载体^[60]，目前已被广泛研究。此外，PDVs 还可通过与纳米材料结合修饰后装载药物，进一步增强药效，提高靶向性和稳定性等，是未来 PDVs 药用开发的重要方向。

3.1 增强药物稳定性、疗效，减轻药物毒性

PDVs 作为药物载体，因其具有组织趋向性和细胞靶向性有助于提高药效，比非载体治疗疗效更佳^[48]。将化疗药物 DOX 负载在白菜或红白菜来源的囊泡中，并作用于人结肠癌 SW480 细胞，与单独使用 DOX 相比，能更好地抑制 SW480 细胞存活率，表明 PDVs 可以有效负载 DOX 至癌细胞且发挥更好的抗肿瘤效果^[61]。在改善药物稳定性方面，用西兰花来源囊泡装载磺胺酸可提高磺胺酸在体内、外的稳定性和半衰期，更好地抑制脂多糖诱导的巨噬细胞炎症反应^[48]。此外，将姜黄素包载于的番茄来源囊泡，相较于单纯姜黄素和番茄来源囊泡具有更好的抗炎作用^[45]。PDVs 不仅能增加药物疗效，还能降低药物不良反应从而达到最佳治疗效果，采用生姜来源囊泡与无机材料组成的仿生纳米颗粒包载抗 TNF- α 抗体（英夫利昔单抗）可经口服给药，与英夫利昔单抗注射相比，无明显不良反应，且具有胃肠道稳定性、结肠靶向性及肠上皮高通透性等特点，并在 IBD 小鼠治疗上显示出更好的疗效^[26]。此外，将 MTX 装载在葡萄柚来源囊泡，不仅可显著降低 MTX 的毒性，还能提高对 IBD 小鼠结的治疗作用^[38]。

3.2 纳米材料修饰 PDVs 具有更好的载药性能及药效

PDVs 多为口服，但由于胃肠道相关因素，如胃酸、消化酶、肠道微生物群和物理、化学、生物屏障的影响，限制了 PDVs 生物功能的发挥^[62]。对 PDVs 进行相关修饰和改造，如表面修饰，合成仿生纳米材料，PDVs 内物质修饰等可解决上述问题。此外，PDVs 与其他无机纳米载体的结合为提高 PDVs 的载药性能、增加药物靶向治疗能力，减轻免疫反应提供了新的思路^[63]。因此，将纳米材料修饰技术用于 PDVs 的研究，可将二者的优势放大，实现最大的临床应用价值。

3.2.1 PDVs 来源的脂质体经修饰后具有更好的载药性能 合成纳米颗粒，如脂质体和脂质纳米颗粒，已被用作实验研究和临床应用的药物载体，但毒性和免疫原性、生物分布差和大规模生产成本高的问题仍是有待解决的问题^[64]。尽管自体衍生的囊

泡或可解决以上问题，但肿瘤或具有特定病原体的患者并不适用此途径^[65]。因此利用 Bligh 和 Dyer 方法提取 PDVs 脂质来设计新型的纳米载药系统为合成纳米颗粒的发展提供了新的选择。脂质体不仅能与其他囊泡结合形成新的纳米囊泡提高载药性能，也能与功能化的多糖、氨基酸构建功能化的仿生纳米颗粒载体，极大地提高载药系统的靶向性及生物相容性。如提取西柚来源的囊泡中的脂质并合成新的纳米颗粒，装载抗肿瘤药物 JSI-124 后表现出良好的抗肿瘤作用^[66]。

在 IBD 的治疗中，PDVs 常常会面临被肝脏或肾脏代谢清除的问题，通过对 PDVs 来源的脂质进行修饰，可克服上述难题，并增强其在炎症部位的滞留时间从而增强药效。Wang 等^[67]研究发现将活化的白细胞质膜包裹在葡萄柚来源囊泡的脂质表面并装载姜黄素组成新型纳米颗粒，将其静脉注射到 DSS 诱导的结肠炎小鼠中，激活的白细胞运输途径能使其纳米颗粒免受肝肾代谢的干扰，增加在肠道组织的蓄积，提高对炎症组织的靶向性。值得注意的是，通过修饰改造后，该颗粒在结肠炎症部位的滞留时间超过 24 h，更有利于药效的发挥。该项研究采用的脂质体修饰、装载有效药物构成新的纳米颗粒的修饰方法为今后对改造囊泡的功能，使其更加靶向 IBD 的治疗提供了思路和依据。

目前，针对靶向肠道肿瘤的 PDVs 脂质体囊泡的修饰也为靶向 IBD 的治疗提供了新思路。Zhang 等^[68]设计了以褐藻聚糖为外层， ϵ -聚赖氨酸为内层，生姜来源的脂质囊泡为内核的新型纳米颗粒，负载 DOX 纳米颗粒治疗结肠癌，发现其可在 2 种用于筛选抗癌效果的动物模型（Luc-HT-29 和 HCT-116 异种移植物模型）发挥治疗作用。其机制在于该纳米颗粒可以通过靶向内皮细胞上 P-选择素介导渗透到肿瘤组织中，在肿瘤微环境中逐层降解，并通过内化进入肿瘤细胞，发挥治疗作用，且表现出比游离的 DOX 更好的治疗效果。更重要的是，其能大大降低游离 DOX 的心脏毒性，逆转结肠癌细胞对游离 DOX 的耐药性，表现出良好的生物相容性。基于此，通过修饰 PDVs 脂质囊泡，靶向 IBD 受损肠道组织（如肠上皮细胞、巨噬细胞等）的特异性标志物，既能增加药物疗效，又能减轻治疗的不良反应，为今后 IBD 的高效、低毒治疗提供可行方案。

3.2.2 PDVs 的表面修饰可增加药物靶向性，减轻治疗不良反应 PDVs 表面丰富的生物活性物质为

表面修饰提供了大量的结合位点。在此基础上, 可以将特异性生物活性分子固定在 PDVs 表面, 开发基于 PDVs 的主动靶向给药系统, 如将叶酸等靶向配体结合到 PDVs 表面, 可选择性识别肿瘤细胞表面过表达的靶向受体, 从而高效杀伤肿瘤细胞^[69]。除增加药物的靶向性, 研究也发现可以通过对 PDVs 表面修饰后逆转肿瘤多重耐药性, 增强化疗药的抗肿瘤作用。Xiao 等^[13]将功能化的肝素修饰在柠檬来源的 PDVs 表面, 负载 DOX 后构建纳米药物仿生药物递送系统, 发现其能够通过小窝蛋白和网格蛋白介导的内吞、胞饮作用有效进入 DOX 耐药的卵巢癌细胞中, 并表现出优异的细胞摄取能力, 进一步研究发现该载药系统可下调细胞内小窝蛋白-1 (caveolin-1, CAV-1) 的表达, 减少三磷酸腺苷的产生, 增加活性氧水平, 从而有效逆转卵巢癌体内多重耐药。研究还发现将具有优异生物相容性的合成多孔功能材料金属有机框架装载在囊泡中, 能极大地促使装载药物进入受体细胞, 发挥药效^[70]。

在 IBD 的治疗中, 上皮炎症的渗漏和黏膜层的损伤, 导致口服纳米药物首先被动到达被破坏的肠道屏障和固有层, 为 PDVs 的表面修饰增加治疗 IBD 的靶向性提供重要线索^[43]。结合既往成熟的 PDVs 表面修饰靶向肿瘤细胞表面过表达受体的成功经验, 可通过现代高通量测序和芯片技术^[54], 筛选出 IBD 中调控肠道屏障和固有层免疫炎症的关键受体蛋白, 研发针对该蛋白的配体, 并将其修饰于 PDVs 表面, 可直接靶向受损肠道屏障及固有层的炎症反应, 发挥精准治疗的作用。

由上可知, PDVs 作为载药系统可为改良目前临床用药的不良反应, 提升药效提供有效策略, 而通过脂质体修饰、表面修饰等方法可克服 PDVs 治疗 IBD 的不足。但目前尚无相关增强对胃酸、消化酶耐受性的 PDVs 修饰的方案, 亟待后续研究以完善方案。

3.3 PDVs 作为载药系统工业化制备的思考

尽管工程化的 PDVs 具有优越的药物递送功能, 但 PDVs 的产率较低, 且其纯度在临床转化阶段无法保证。尤其是 PDVs 的提取、纯化工艺、所携带的成分、药物的装载方式及不同 PDVs 的蛋白组学差异是否会影响其载药性能一直是广大研究者关注的问题。明确 PDVs 提取、纯化、鉴定及不同装载方法的标准化流程的是建立、健全 PDVs 载药系统的重要需求。

3.3.1 PDVs 提取、纯化工艺的比较 PDVs 的提取纯化工艺包括差速超高速离心法、聚合物共沉淀法、超滤法及尺寸排阻色谱等。差速超高速离心法操作简单, 是目前提取 PDVs 最常用的方法, 但离心过程中产生的损耗较大, 导致 PDVs 得率低, 此外, PDVs 还会由于高的离心力而破坏其纳米结构, 出现囊泡聚集等现象, 影响后续的分选和药理实验^[61]。聚合物共沉淀法是另一种提取分离常用的方法, 但其提取的 PDVs 会伴随着较高的蛋白质杂质, 影响纯度^[61]。超滤法可缩短提取时间, 且能解决由于滤过膜上大颗粒堆积而造成的堵塞问题, 但其操作方法复杂, 且会破坏囊泡的结构和完整性^[71]。尺寸排阻色谱所得囊泡的结构及完整性受损率低, 保留囊泡的天然生物活性, 但其设备昂贵、提取时间较长, 且需要额外的富集方法, 难以大规模产业化使用^[71]。

You 等^[61]为建立一种高产量、高纯度的 PDVs 提取分离方法, 选取超高速离心法、聚合物沉淀法、超滤法结合尺寸排阻色谱法对相同数量的白菜或红白菜进行提取分离。结果发现, 3 种提取方法所得 PDVs 的产量一致, 但超滤法结合尺寸排阻色谱法得到的 PDVs 的纯度优于其他 2 种方法。此外, 该研究又对黄瓜、辣椒、西红柿采用超滤法结合尺寸排阻色谱法分离得到 PDVs, 发现该方法在不同植物所得产量虽然不同, 但其所得 PDVs 纯度较高。因此, 结合该研究的结果, 超滤法结合尺寸排阻色谱法可能是 PDVs 提取纯化工艺的最佳方法。

在目前所获得的 PDVs 作为载体治疗 IBD 的文献中, 以上 3 种提取方法均有报道^[38,72], 如采用蔗糖密度梯度离心法提取的葡萄柚来源囊泡, 与甲氨蝶呤共孵育后可增强对肠道巨噬细胞的靶向能力从而对 IBD 小鼠有更好的治疗作用, 且与单独使用甲氨蝶呤相比, 装载于葡萄柚囊泡中的甲氨蝶呤具有更强的抗炎能力且不良反应小^[62]。但关于不同提取方法及纯度的 PDVs 是否会影响其载药性能, 目前尚无报道, 期待后续研究可进一步阐明该问题, 建立 PDVs 作为药物载体的标准化提取、纯化工艺。

3.3.2 PDVs 中携带的有效成分可与装载药物发挥协同治疗作用 目前已有多项研究表明分离纯化后的 PDVs 中携带着生物活性成分, 如对从姜黄分离得到的 PDVs 进行高效液相色谱法检测发现其内含有丰富的姜黄素, 进一步对其药理作用研究发现其能靶向 IBD 小鼠的结肠部位, 发挥抗炎、抗氧化

作用^[27]。因此,囊泡本身携带的活性成分是否会影响到装载药物的疗效也是应当考虑的问题。Li 等^[72]发现柑橘来源囊泡中富含新橙皮苷、三叶草素和白芷素,其中白芷素的含量最高。既往研究表明,白芷素和新橙皮苷均具有较强的抗炎及抗氧化作用^[73-74]。为评估柑橘来源囊泡中富含的活性成分是否影响该囊泡装载橘皮素的治疗作用,采用超声法将橘皮素装载在柑橘来源囊泡中,以单独使用橘皮素和单独使用柑橘来源囊泡为对照,发现装载有橘皮素的柑橘来源囊泡的抗炎、抗氧化能力明显增加^[72],由此可知,富含白芷素和新橙皮苷的柑橘来源囊泡可以增强橘皮素的抗炎、抗氧化作用,发挥协同治疗作用。

3.3.3 药物装载方式及 PDVs 的蛋白组学差异可能是影响药效的因素 除 PDVs 的提取工艺及其内含有的有效成分可能会影响 PDVs 在新型载体的应用外,装载药物与 PDVs 的装载方式也是影响 PDVs 装载性能的重要影响因素。目前药物的装载方式包括直接孵育法、超声法、挤压法等^[75]。直接孵育法是药物分子直接通过自由扩散穿过 PDVs 脂质双分子层进入 PDVs 中,这种方法简单易操作,但包封效率低^[45]。超声法是通过超声短暂破坏 PDVs 结构,使药物分子进入 PDVs 后再恢复其膜结构,此法能大大提高药物分子的包封率,但对于受损的膜结构存在着难以恢复的风险^[76]。挤压法是通过物理挤压使药物分子进入 PDVs 中,其优缺点与超声法相似^[76]。有研究分别采用以上 3 种装载方法将姜黄素装载于西红柿来源囊泡中,结果发现,使用超声法装载姜黄素后的番茄来源囊泡对脂多糖诱导的 THP-1 细胞炎症的抑制作用最明显^[45]。但除抗炎活性外,暂无其他相关的药理活性对比,今后还需进一步的深入研究,建立针对不同疾病的相应的标准化药物装载方式。

目前,如何选择不同来源的 PDVs 作为药物载体也是许多研究者关注的重点。PDVs 中富含蛋白质、脂质和核酸,在肝癌、慢性牙周炎、IBD 等疾病治疗中发挥重要作用^[21-24]。如对西兰花来源的囊泡进行蛋白组学分析,发现其富含结合活性、催化活性相关、核糖体结构成分相关的膜蛋白、参与跨膜运输的蛋白及具有抗氧化活性的蛋白。后续的细胞实验表明,装载磺胺酸后的西兰花来源囊泡,与单独使用磺胺酸和单独使用西兰花来源的囊泡相比,能明显减少人黑色素瘤 SK-MEL-28 细胞增殖,

并能增加细胞对磺胺酸的摄取率^[77],但其药效的增加与西兰花来源囊泡中富含的蛋白是否相关还有待进一步的研究证明。因此,通过对 PDVs 进行蛋白组学、脂质组学等分析,寻找不同 PDVs 富集蛋白和脂质,结合其蛋白或脂质的功能,或可为筛选药物最佳药物载体提供依据。多项蛋白组学研究发现,用于治疗 IBD 的 PDVs 富含多种蛋白质,但所富含的蛋白质是否影响载体的选择及载药性能尚未被揭示。因此,在后续研究中可结合 PDVs 中蛋白组学的差异,结合蛋白的功能、所载药物的需求及疾病的病理特点,针对性的选择适合不同疾病、不同药物的 PDVs 载体。

4 PDVs 临床开发与转化的前景

4.1 PDVs 作为新型纳米药物临床转化的前景

近年来,随着 PDVs 药理作用的深入研究,关于其临床开发与转化已成为研究者关注的重点。本文通过总结 PDVs 治疗 IBD 临床前研究,并结合国内外 PDVs 相关的临床试验,认为 PDVs 作为纳米药物发挥治疗作用,可从以下 2 方面考虑:(1)PDVs 具有良好的生物相容性、组织趋向性及较长的药物作用周期等优势^[12,26]。如姜黄来源囊泡和生姜来源囊泡均因以上优点发挥较好的抗 IBD 作用^[14,22]。尽管目前尚无 PDVs 治疗 IBD 的相关临床试验报道,但既往临床试验已证实,葡萄来源囊泡口服能有效降低头颈癌患者放疗化疗口腔黏膜炎的发生率,提供了一种安全、有效的抗炎剂(NCT01668849)。以上为 PDVs 治疗 IBD 的临床转化提供了翔实的实验数据和临床参考。(2)PDVs 独特的磷脂双分子层,可保护其内容物免受胃酸或其他酶的分解,确保其经口服后在胃肠道的稳定性,且其来源的植物大多为药食两用的植物,因此,将其制备成饮品,经口服后被肠道细胞吸收,并通过血液循环到达全身,可发挥保护肠道健康的作用,并调节全身炎症反应^[75],目前该领域已得到广泛关注,有望成为 PDVs 临床转化的重要方向。

4.2 PDVs 作为纳米载体临床转化的前景

除作为直接纳米药物外,PDVs 作为纳米载体也是今后临床转化的重要方向。如有临床试验表明,生姜来源囊泡负载姜黄素后可有效降低 IBD 患者的 DAI 评分、发挥明显的抗炎作用,其药效明显优于单独使用生姜来源囊泡和姜黄素,主要由于生姜来源囊泡能够增加姜黄素的稳定性、溶解度及生物利用度,发挥协同治疗 IBD 的作用

(NCT04879810)。另外一项临床研究也表明植物来源囊泡能将姜黄素输送至结肠癌患者的肿瘤组织，并能提高姜黄素的生物利用度，发挥抗肿瘤作用(NCT01294072)。以上临床研究为 PDVs 治疗肠道疾病的临床转化提供了翔实的数据。

PDVs 还可以凭借其良好的生物安全性成为未来癌症疫苗治疗的重要载体。有研究表明，新型纳米囊泡疫苗可通过抗原呈递细胞启动免疫系统识别并杀伤癌细胞^[78]，而 PDVs 相比于其他纳米囊泡具有更好的生物相容性，在未来的癌症疫苗开发上具有重要意义^[75]。此外，随着生物基因工程技术的成熟，基因编辑治疗已成为靶向治疗的重要技术，但安全有效的靶向递送系统一直是限制其临床使用的问题，PDVs 的出现可能是解决其安全有效递送的重要策略^[79]。由此可见，PDVs 也将在未来生物工程化治疗中发挥重要作用。

5 结语与展望

目前已在植物中已经鉴定出不同类型的 PDVs，具有多种功能，包括细胞结构重组、发育、促进微生物之间的串扰、调节免疫和防御病原体等作用，且这些 PDVs 可从日常食用的瓜果蔬菜中获得，具有更高的生物相容性、生物可降解性和安全性，为 IBD 的治疗提供了新的思路。在 IBD 的临床前研究中，PDVs 发挥着重要的治疗作用，主要体现在增加小鼠存活率、保护体质量、增加结肠长度、减少结肠壁厚度、降低疾病活动指数、MPO 及脾脏重量等方面^[10,26]。其具体机制在于：(1) 抑制肠道炎症反应，包括抑制肠道促炎因子表达、降低线粒体膜通透性、阻断炎症小体 NLRP3 激活等^[26,29]；(2) 保护肠屏障，包括增加益生菌和减少有害菌的相对丰度从而调节肠道微生物平衡，保护微生物屏障^[27]；上调紧密连接蛋白表达从而保护上皮细胞组成的机械屏障^[36]；调节巨噬细胞极化、T 细胞分化，保护固有免疫屏障^[27]。此外，PDVs 不仅可直接发挥药效，其作为载药系统显示出优越的生物学作用，与传统比合成载体相比具有如增加疗效，减轻药物毒性，增加靶向性和药物稳定性等优势，为新型药物递送系统开辟了新的途径，是今后新药研发的重要方向。并且多组学技术的发展将有助于理解 PDVs 在人体中的生物学和药理学的作用。

尽管目前研究为 PDVs 作为纳米载体的药用开发开辟了一个新的途径，但只有少数基于 PDVs 的药物递送系统进入了临床试验，该项技术的临床转

化仍面临许多挑战。其中包括(1)适用于大规模生产的标准化分离技术及其高效纯化技术；(2)标准化的包载技术及包载效率的检测；(3)根据特定用途选择最合适的 PDVs 载体；以上均需要进一步解决的问题。因此，需要对 PDVs 在现有的技术方法的基础上探索、创新，找到适宜的提取、纯化工艺条件，建立 PDVs 作为纳米载体的标准流程，为后续的药理作用提供物质基础。此外，PDVs 作为新兴研究领域，目前对其纯化方法、鉴定及评价标准仍有待建立更完善的体系。另外，目前关于 PDVs 的研究多局限于临床前实验，尚缺乏临床数据的支持，临床治疗效果与动物、细胞实验结果是否一致，亟待进一步研究。

综上，本文通过对 PDVs 治疗 IBD 的疗效评价，并深入阐述其分子机制，讨论了 PDVs 作为新型载药系统治疗疾病的潜力及面临的挑战，为 PDVs 的药物开发及 IBD 临床治疗提供理论依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Fabián O, Kamaradová K. Morphology of inflammatory bowel diseases (IBD) [J]. *Cesk Patol*, 2022, 58(1): 27-37.
- [2] 孟欢, 侯晓婷, 张华敏, 等. 中药天然产物治疗炎症性肠病的研究进展 [J]. *中草药*, 2023, 54(10): 3349-3369.
- [3] Cai Z B, Wang S, Li J N. Treatment of inflammatory bowel disease: A comprehensive review [J]. *Front Med*, 2021, 8: 765474.
- [4] Zu M H, Xie D C, Canup B S B, et al. 'Green' nanotherapeutics from tea leaves for orally targeted prevention and alleviation of colon diseases [J]. *Biomaterials*, 2021, 279: 121178.
- [5] Raimondo S, Naselli F, Fontana S, et al. Citrus limon-derived nanovesicles inhibit cancer cell proliferation and suppress CML xenograft growth by inducing TRAIL-mediated cell death [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(23): 19514-19527.
- [6] Zhang Z Y, Yu Y, Zhu G X, et al. The emerging role of plant-derived exosomes-like nanoparticles in immune regulation and periodontitis treatment [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 896745.
- [7] Fang Z, Liu K H. Plant-derived extracellular vesicles as oral drug delivery carriers [J]. *J Control Release*, 2022, 350: 389-400.
- [8] Wu K R, Xing F, Wu S Y, et al. Extracellular vesicles as emerging targets in cancer: Recent development from

- bench to bedside [J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2017, 1868(2): 538-563.
- [9] Li D F, Tang Q, Yang M F, *et al.* Plant-derived exosomal nanoparticles: Potential therapeutic for inflammatory bowel disease [J]. *Nanoscale Adv*, 2023, 5(14): 3575-3588.
- [10] Kim J, Zhang S Y, Zhu Y, *et al.* Amelioration of colitis progression by ginseng-derived exosome-like nanoparticles through suppression of inflammatory cytokines [J]. *J Ginseng Res*, 2023, 47(5): 627-637.
- [11] Logozzi M, Di Raimo R, Mizzone D, *et al.* The potentiality of plant-derived nanovesicles in human health-a comparison with human exosomes and artificial nanoparticles [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(9): 4919.
- [12] Liu Y, Wu S, Koo Y, *et al.* Characterization of and isolation methods for plant leaf nanovesicles and small extracellular vesicles [J]. *Nanomed-Nanotechnol Biol Med*, 2020, 29: 102271.
- [13] Xiao Q, Zhao W, Wu C T, *et al.* Lemon-derived extracellular vesicles nanodrugs enable to efficiently overcome cancer multidrug resistance by endocytosis-triggered energy dissipation and energy production reduction [J]. *Adv Sci*, 2022, 9(20): e2105274.
- [14] Liu C, Yan X J, Zhang Y J, *et al.* Oral administration of turmeric-derived exosome-like nanovesicles with anti-inflammatory and pro-resolving bioactions for murine colitis therapy [J]. *J Nanobiotechnology*, 2022, 20(1): 206.
- [15] Nemidkanam V, Chaichanawongsaroj N. Characterizing *Kaempferia parviflora* extracellular vesicles, a nanomedicine candidate [J]. *PLoS One*, 2022, 17(1): e0262884.
- [16] Ni B Y, Song X T, Shi B L, *et al.* Research progress of ginseng in the treatment of gastrointestinal cancers [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13: 1036498.
- [17] Zhou G L, Wang C Z, Mohammadi S, *et al.* Pharmacological effects of ginseng: Multiple constituents and multiple actions on humans [J]. *Am J Chin Med*, 2023, 51(5): 1085-1104.
- [18] Jin J, Zhong Y B, Long J, *et al.* Ginsenoside Rg₁ relieves experimental colitis by regulating balanced differentiation of Tfh/Treg cells [J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 100: 108133.
- [19] 杨松. 人参外泌体的分离鉴定及其对炎症性肠病的干预作用和机制研究 [D]. 长春: 长春中医药大学, 2023.
- [20] 刘怡妙, 凌悦, 徐旭, 等. 生姜的研究进展及其质量标志物的预测分析 [J]. *中草药*, 2022, 53(9): 2912-2928.
- [21] Zhuang X Y, Deng Z B, Mu J Y, *et al.* Ginger-derived nanoparticles protect against alcohol-induced liver damage [J]. *J Extracell Vesicles*, 2015, 4: 28713.
- [22] Zhang M Z, Viennois E, Prasad M, *et al.* Edible ginger-derived nanoparticles: A novel therapeutic approach for the prevention and treatment of inflammatory bowel disease and colitis-associated cancer [J]. *Biomaterials*, 2016, 101: 321-340.
- [23] Sundaram K, Miller D P, Kumar A, *et al.* Plant-derived exosomal nanoparticles inhibit pathogenicity of *Porphyromonas gingivalis* [J]. *iScience*, 2020, 23(2): 100869.
- [24] Anusha R, Ashin M, Priya S. Ginger exosome-like nanoparticles (GELNs) induced apoptosis, cell cycle arrest, and anti-metastatic effects in triple-negative breast cancer MDA-MB-231 cells [J]. *Food Chem Toxicol*, 2023, 182: 114102.
- [25] Teng Y, Ren Y, Sayed M, *et al.* Plant-derived exosomal microRNAs shape the gut microbiota [J]. *Cell Host Microbe*, 2018, 24(5): 637-652.e8.
- [26] Mao Y L, Han M Q, Chen C S, *et al.* A biomimetic nanocomposite made of a ginger-derived exosome and an inorganic framework for high-performance delivery of oral antibodies [J]. *Nanoscale*, 2021, 13(47): 20157-20169.
- [27] Gao C F, Zhou Y Y, Chen Z J, *et al.* Turmeric-derived nanovesicles as novel nanobiologics for targeted therapy of ulcerative colitis [J]. *Theranostics*, 2022, 12(12): 5596-5614.
- [28] 沈金峰, 胡良伟, 胡芳, 等. 大蒜及大蒜素在防治肾脏疾病中的运用 [J]. *广州中医药大学学报*, 2022, 39(1): 224-228.
- [29] Sundaram K, Mu J Y, Kumar A, *et al.* Garlic exosome-like nanoparticles reverse high-fat diet induced obesity via the gut/brain axis [J]. *Theranostics*, 2022, 12(3): 1220-1246.
- [30] Liu B L, Li X Z, Yu H, *et al.* Therapeutic potential of garlic chive-derived vesicle-like nanoparticles in NLRP3 inflammasome-mediated inflammatory diseases [J]. *Theranostics*, 2021, 11(19): 9311-9330.
- [31] Zhu Z Z, Liao L Y, Gao M W, *et al.* Garlic-derived exosome-like nanovesicles alleviate dextran sulphate sodium-induced mouse colitis via the TLR4/MyD88/NF- κ B pathway and gut microbiota modulation [J]. *Food Funct*, 2023, 14(16): 7520-7534.
- [32] Ceballos D, Hernández-Camba A, Ramos L. Diet and microbiome in the beginning of the sequence of gut inflammation [J]. *World J Clin Cases*, 2021, 9(36): 11122-11147.
- [33] 田德丽. 柑橘黄酮的生物学作用研究进展 [J]. *云南医药*, 2022, 43(6): 95-97.
- [34] 刘黎明, 杨梅, 赵云龙, 等. 中药柠檬生物活性物质及

- 中药药理研究进展 [J]. 双足与保健, 2018, 27(18): 191-192.
- [35] 朱春华, 周先艳, 李进学, 等. 葡萄柚果实营养及健康功效研究进展 [J]. 中国医药导报, 2019, 16(15): 29-32.
- [36] Bruno S P, Paolini A, D'Oria V, *et al.* Extracellular vesicles derived from *Citrus sinensis* modulate inflammatory genes and tight junctions in a human model of intestinal epithelium [J]. *Front Nutr*, 2021, 8: 778998.
- [37] Raimondo S, Urzi O, Meraviglia S, *et al.* Anti-inflammatory properties of lemon-derived extracellular vesicles are achieved through the inhibition of ERK/NF- κ B signalling pathways [J]. *J Cell Mol Med*, 2022, 26(15): 4195-4209.
- [38] Wang B M, Zhuang X Y, Deng Z B, *et al.* Targeted drug delivery to intestinal macrophages by bioactive nanovesicles released from grapefruit [J]. *Mol Ther*, 2014, 22(3): 522-534.
- [39] 宋俊彦, 赵凯, 何文秀, 等. 食物来源外泌体口服制剂的医学应用 [J]. 中国新药杂志, 2023, 32(16): 1636-1643.
- [40] Anandakumar P, Kamaraj S, Vanitha M K. D-limonene: A multifunctional compound with potent therapeutic effects [J]. *J Food Biochem*, 2021, 45(1): e13566.
- [41] Totsch S K, Waite M E, Sorge R E. Dietary influence on pain via the immune system [J]. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2015, 131: 435-469.
- [42] Valadi H, Ekström K, Bossios A, *et al.* Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells [J]. *Nat Cell Biol*, 2007, 9(6): 654-659.
- [43] Ju S W, Mu J Y, Dokland T, *et al.* Grape exosome-like nanoparticles induce intestinal stem cells and protect mice from DSS-induced colitis [J]. *Mol Ther*, 2013, 21(7): 1345-1357.
- [44] Kilasoniya A, Garaeva L, Shtam T, *et al.* Potential of plant exosome vesicles from grapefruit (*Citrus × paradisi*) and tomato (*Solanum lycopersicum*) juices as functional ingredients and targeted drug delivery vehicles [J]. *Antioxidants*, 2023, 12(4): 943.
- [45] Mammadova R, Maggio S, Fiume I, *et al.* Protein biocargo and anti-inflammatory effect of tomato fruit-derived nanovesicles separated by density gradient ultracentrifugation and loaded with curcumin [J]. *Pharmaceutics*, 2023, 15(2): 333.
- [46] 宋奇. 西蓝花胞外囊泡载虾青素的优化制备及应用探索 [D]. 扬州: 扬州大学, 2022.
- [47] Deng Z B, Rong Y, Teng Y, *et al.* Broccoli-derived nanoparticle inhibits mouse colitis by activating dendritic cell AMP-activated protein kinase [J]. *Mol Ther*, 2017, 25(7): 1641-1654.
- [48] Ramírez-Pavez T, García-Peñaranda A, García-Ibañez P, *et al.* Potential of sulforaphane and broccoli membrane vesicles as regulators of M₁/M₂ human macrophage activity [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(19): 11141.
- [49] Trefts E, Shaw R J. AMPK: Restoring metabolic homeostasis over space and time [J]. *Mol Cell*, 2021, 81(18): 3677-3690.
- [50] Vasamsetti S B, Karnewar S, Kanugula A K, *et al.* Metformin inhibits monocyte-to-macrophage differentiation via AMPK-mediated inhibition of STAT3 activation: Potential role in atherosclerosis [J]. *Diabetes*, 2015, 64(6): 2028-2041.
- [51] 任晓丽, 皇甫和平, 王军, 等. 黄曲霉毒素 B1 激活核转录因子- κ B 信号通路引起牛乳腺上皮细胞发生炎症反应 [J]. 动物营养学报, 2023, 35(7): 4587-4595.
- [52] Ootani A, Li X N, Sangiorgi E, *et al.* Sustained *in vitro* intestinal epithelial culture within a Wnt-dependent stem cell niche [J]. *Nat Med*, 2009, 15(6): 701-706.
- [53] Zhao H, Ming T Q, Tang S, *et al.* Wnt signaling in colorectal cancer: Pathogenic role and therapeutic target [J]. *Mol Cancer*, 2022, 21(1): 144.
- [54] López de Las Hazas M D C, Tomé-Carneiro J, Balaguer L, *et al.* Dietary plant microRNAs as potential regulators of cellular cholesterol efflux [J]. *Clin Investig Arterioscler*, 2024: S0214-S9168(24)00021-4.
- [55] 陈焯, 单廷, 夏加增. 微小 RNA 在炎症性肠病诊断与治疗中的作用 [J]. 肠外与肠内营养, 2019, 26(2): 124-128.
- [56] Qiu F S, Wang J F, Guo M Y, *et al.* Rgi-exomiR-7972, a novel plant exosomal microRNA derived from fresh *Rehmanniae Radix*, ameliorated lipopolysaccharide-induced acute lung injury and gut dysbiosis [J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 165: 115007.
- [57] Zhang L, Hou D X, Chen X, *et al.* Exogenous plant miR168a specifically targets mammalian LDLRAP1: Evidence of cross-Kingdom regulation by microRNA [J]. *Cell Res*, 2012, 22(1): 107-126.
- [58] Yang J, Farmer L M, Agyekum A A, *et al.* Detection of an abundant plant-based small RNA in healthy consumers [J]. *PLoS One*, 2015, 10(9): e0137516.
- [59] Luo Y, Wang P J, Wang X, *et al.* Detection of dietetically absorbed maize-derived microRNAs in pigs [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 645.
- [60] Alfieri M, Leone A, Ambrosone A. Plant-derived nano and microvesicles for human health and therapeutic potential in nanomedicine [J]. *Pharmaceutics*, 2021, 13(4): 498.

- [61] You J Y, Kang S J, Rhee W J. Isolation of cabbage exosome-like nanovesicles and investigation of their biological activities in human cells [J]. *Bioact Mater*, 2021, 6(12): 4321-4332.
- [62] Li N C, Wang M J, Lyu Z X, *et al.* Medicinal plant-based drug delivery system for inflammatory bowel disease [J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14: 1158945.
- [63] Wang Y, Wu Y F, Shen S, *et al.* Engineered plant extracellular vesicles for natural delivery across physiological barriers [J]. *Food Funct*, 2024, 15(4): 1737-1757.
- [64] Shah S, Dhawan V, Holm R, *et al.* Liposomes: Advancements and innovation in the manufacturing process [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2020, 154/155: 102-122.
- [65] Peinado H, Alečković M, Lavotshkin S, *et al.* Melanoma exosomes educate bone marrow progenitor cells toward a pro-metastatic phenotype through MET [J]. *Nat Med*, 2012, 18(6): 883-891.
- [66] 赵梦, 李思敏, 张蕾, 等. 植物来源囊泡及其生物医学应用研究进展 [J]. *药学学报*, 2021, 56(8): 2039-2047.
- [67] Wang Q L, Ren Y, Mu J Y, *et al.* Grapefruit-derived nanovectors use an activated leukocyte trafficking pathway to deliver therapeutic agents to inflammatory tumor sites [J]. *Cancer Res*, 2015, 75(12): 2520-2529.
- [68] Zhang M Z, Yang C H, Yan X J, *et al.* Highly biocompatible functionalized layer-by-layer ginger lipid nano vectors targeting P-selectin for delivery of doxorubicin to treat colon cancer [J]. *Adv Ther*, 2019, 2(12): 1900129.
- [69] Narmani A, Rezvani M, Farhood B, *et al.* Folic acid functionalized nanoparticles as pharmaceutical carriers in drug delivery systems [J]. *Drug Dev Res*, 2019, 80(4): 404-424.
- [70] Gong W, Chen Z J, Dong J Q, *et al.* Chiral metal-organic frameworks [J]. *Chem Rev*, 2022, 122(9): 9078-9144.
- [71] Liu Y, Xiao S Q, Wang D B, *et al.* A review on separation and application of plant-derived exosome-like nanoparticles [J]. *J Sep Sci*, 2024, 47(8): e2300669.
- [72] Li S J, Ye Z M, Zhao L T, *et al.* Evaluation of antioxidant activity and drug delivery potential of cell-derived extracellular vesicles from *Citrus reticulata* blanco cv. 'dahongpao' [J]. *Antioxidants*, 2023, 12(9): 1706.
- [73] Wei D Z, Guo X Y, Lin L N, *et al.* Effects of angelicin on ovalbumin (OVA)-induced airway inflammation in a mouse model of asthma [J]. *Inflammation*, 2016, 39(6): 1876-1882.
- [74] Ortiz A C, Fideles S O M, Reis C H B, *et al.* Therapeutic effects of *Citrus* flavonoids neohesperidin, hesperidin and its aglycone, hesperetin on bone health [J]. *Biomolecules*, 2022, 12(5): 626.
- [75] Cao M, Diao N N, Cai X L, *et al.* Plant exosome nanovesicles (PENs): Green delivery platforms [J]. *Mater Horiz*, 2023, 10(10): 3879-3894.
- [76] Orefice N S, Di Raimo R, Mizzoni D, *et al.* Purposing plant-derived exosomes-like nanovesicles for drug delivery: Patents and literature review [J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2023, 33(2): 89-100.
- [77] Yepes-Molina L, Carvajal M. Nanoencapsulation of sulforaphane in broccoli membrane vesicles and their *in vitro* antiproliferative activity [J]. *Pharm Biol*, 2021, 59(1): 1490-1504.
- [78] Lopez-Cantu D O, Wang X C, Carrasco-Magallanes H, *et al.* From bench to the clinic: The path to translation of nanotechnology-enabled mRNA SARS-CoV-2 vaccines [J]. *Nanomicro Lett*, 2022, 14(1): 41.
- [79] Yang Z, Gao D, Zhao J, *et al.* Thermal immunonanomedicine in cancer [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2023, 20(2): 116-134.

[责任编辑 赵慧亮]