

PLGA-伊曲康唑纳米粒的抗真菌研究

卢见行(广东省深圳市石岩医院药剂科 430000)

【摘要】 目的 研究用聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)(acid)包裹有疏水的抗真菌药伊曲康唑(ITZ)的纳米粒抗真菌的效果。方法 用水包油乳化蒸发合成 PLGA-ITZ 纳米粒。分别用透射电镜和动态光散射检测其形态、粒径大小和 Zeta 电位。紫外-可见光谱检测包封率,药物释放和抗真菌活性。结果 PLGA-ITZ 纳米粒的大小为直径为 220 nm,浓度为 0.03 mg/mL 能在第 9 天完全抑制,该剂量相当于 3 mg/mL,即 100 倍 ITZ 的抗真菌的效果。结论 PLGA-ITZ 纳米粒能改善 ITZ 的水分散度,提高生物适合度和增加抗真菌的效果。

【关键词】 聚乳酸-羟基乙酸共聚物; 伊曲康唑; 纳米粒

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.12.022 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)12-1455-03

Study on the antifungal effect of PLGA nanoparticles containing the ITZ LU Jian-xing (Shiyan Hospital of Shenzhen City, Guangdong 430000, China)

【Abstract】 Objective To study the antifungal effect of Poly(lactic-co-glycolic) acid (PLGA) nanoparticles containing the hydrophobic antifungal itraconazole (ITZ). **Methods** PLGA-ITZ nanoparticles were synthesized using an oil-in-water emulsion evaporation method. Nanoparticle morphology and size zeta potential was detected by transmission electron microscopy and dynamic light scattering, respectively. Encapsulation efficiency, released profile and antifungal activity were characterized by UV-visible spectroscopy. **Results** PLGA-ITZ nanoparticles (220 nm in diameter) completely inhibited *Candida albicans* growth over 9 days at 0.03 mg/mL ITZ; a similar effect was achieved at $\times 100$ ITZ concentrations (3 mg/mL) in emulsified form. The ITZ in water formulation had the least antifungal effect, inhibiting growth for only 2 days at 3 mg/mL ITZ. **Conclusion** This system will increase bioavailability of ITZ by improving aqueous dispersibility and increasing antifungal penetration, thereby increasing antifungal.

【Key words】 PLGA; ITZ; nanoparticles

由于 HIV/AIDS、移植手术、癌症和其他疾病的增加^[1],免疫缺陷的患者易于感染真菌。感染者的增加也与费用的增加相关,有必要发展高效、低毒的抗真菌药物。伊曲康唑(ITZ)是广谱用于治疗 and 阻止真菌感染的药物。两性霉素 B 是常见的治疗局部真菌感染的,但它引起如肾毒性的严重的不良反应^[2-3]。其他抗真菌药,如氟康唑、伏立康唑和酮康唑,也可使用。但伊曲康唑被证明有较好的疗效,对各种真菌很少耐药^[4]。

伊曲康唑主要缺点较低的口服吸收。伊曲康唑存在一个高度疏水的弱碱基,在 pH7 大约 1 ng/mL 的较低的水溶性^[4-5]。酸性基质,如胃中便于其溶解(pH1 时 4 $\mu\text{g/mL}$),这也增加 ITZ 的吸收^[5]。因此,ITZ 与食物一起服用,刺激胃液的分泌,这增加 ITZ 的生物适合度^[6]。但对于恶心、呕吐、胃肠道疾患和化疗的患者限制 ITZ 的服用。患者最担心的问题是肾病并发症。为了克服这些缺陷,有必要发展更有效的最大载 ITZ,在生理 pH 增加其分布。

最近,纳米药物载药系统的许多进展能改进各种药物的效率。由于它们的小尺寸,这些纳米维度的结构能够克服生物屏障,改进药物在靶位的生物适合度^[7]。聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)纳米粒常常用于药物载体,因为其可降解性和生物相容性以及可控性^[7-8]。把具有生物活性成分,如 ITZ 包裹到这些纳米粒中,能阻止药物过早降解,增加药物分散性和渐渐地释放而达到治疗浓度^[9]。这些因子的联合效果能导致增加生物可行性和有效性。PLGA 也常作为运载化学治疗性和抗菌药的载体,在感染部位达到治疗浓度。研究表明,PLGA 纳米粒的细胞吸收有抗癌效应,提高药物疗效和减少在外周组织

的沉积^[10-14]。Esmaeili 用 PLGA 纳米粒载利福平,并证明比游离的利福平 4 倍的抗菌活性;他们推测这可能加强了细菌细胞的渗透^[15]。真菌孢子的细胞吸收尚未阐明;但是,研究表明以 PLGA 作为载体增加抗真菌的疗效。例如,载两性霉素 B 的 PLGA 纳米粒改进了口服生物适合度和减少毒性^[16]。有文献报道用 PLGA 纳米粒载伏立康唑也得到相似的结果^[17]。这表明 PLGA 多聚体具有增加生物适合度和增加靶位的药物浓度,是具有吸引力的药物载体^[18-19]。

本研究旨在用 PLGA 作为疏水药物 ITZ 的纳米药物载体系统,并在体外评估该纳米粒的抗真菌能力。

1 材料与方法

1.1 材料 伊曲康唑购自 Merk 公司,PLGA(50/50)相对分子质量为 4 万,二氯甲烷(DCM),PVA(31-50kDa)和 Triton X-100 购自 Sigma 公司(MO, USA)。PDA(patato dextrose agar)购自 Oxide 公司。

1.2 PLGA-ITZ 纳米粒的制备 空的 PLGA 和载 ITZ 的 PLGA 纳米粒用乳化-溶剂蒸发法制备,用透析纯化,冷冻干燥后进一步分析。PLGA-ITZ 纳米粒制备的方法如下:1% PLGA (20 mg)和 ITZ 6.4 mg 溶解在 5 mL DCM 为有机相,有机相加到 50 mL 0.3% (W/V) PVA,在漩涡器混匀,然后以 600 W 超声 10 min(间歇 10 s)。蒸发有机相形成纳米粒,ITZ 包裹在 PLGA 多聚体中。空的 PLGA 纳米粒的制备同上,除了没有 ITZ 外。纳米粒形成后以 NP:水为 100:1 立即进行透析(MW 100 kDa)8 h,4 h 后换水。纯化后,冷冻干燥从纳米粒中除去水,NP 保存在 -8°C 。

1.3 纳米的表征 用透射电子显微镜(JEOL USA Inc., MA,

USA)研究 NP 的形状。用动态光散射仪检测其大小,Zeta 电位。

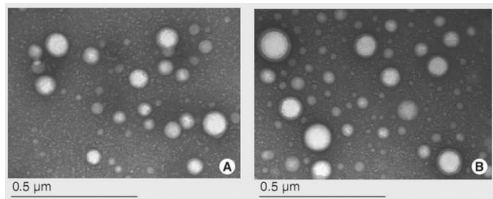
1.4 包封率的检测 3 mg NP 溶解在 1 mL 乙腈溶液 (95%),超声 20 s,破坏 NP,以 30 000 r/min 离心 30 min,除去被破坏的多聚体,用分光光度计在 300 nm 检测 ITZ,计算 ITZ 的包封率。

1.5 药物释放 3 mg/mL NP 的在 PBS(pH7)确定药物的释放。然后,1 mL 的 NP 悬液在 37 °C,150 r/min 振荡 0,8,24,32,48,56,72,80,96 和 104 h,以 30 000 r/min 离心 1 h,按照上述方法检测 ITZ。

1.6 抗真菌试验 Petri 平板对白色念球菌的生长抑制:用 1×10^5 个/mL 孢子的细胞悬液涂平板。3 种不同的药物处理平板,即水溶性的 ITZ(0.3 mg/mL),Tx-ITZ(0.3 mg/mL)和 PLGA-ITZ 纳米粒悬液 10 mg/mL 和 1 mg/mL (分别相当于 0.3 和 0.03 mg/mL 的 ITZ)。平板在 37 °C 孵育。用数码相机记录抗真菌的效果。

2 结 果

2.1 纳米粒的鉴定 纳米的大小、zeta 电位、形状、包封率和药物释放见图 1。空白的 PLGA 纳米粒的大小为 (201 ± 5) nm,以 12.5 和 25% 的 PLGA-ITZ 纳米粒分别为 (232 ± 1) nm 和 (223 ± 36) nm。多聚分散指数从 0.01~0.213,所有纳米粒均带负电荷,从 -28 mV 到 -33 mV。负电荷因为相互排斥有助于稳定粒子。TEM 图片证实了在形状上是球形,没有见到聚集(图 1)。但用动态光分散检测的粒径大小比 TEM 稍小些,因为纳米粒是干燥的颗粒,因此二者检测的结果存在差异。PLGA:ITZ 为 12.5% 的纳米粒获得的包封率大约。PLGA:ITZ 为 25% 包封率减少到 46%。因此,在后续的研究中用 12.5% 的 PLGA-ITZ 纳米粒。在 PBS(pH7)中从 PLGA 纳米悬液释放 ITZ 是双相的,在第 5 天之前仅 20% 的释出,在第 5 天释放 75%(图 2)。



注:A 为空白 PLGA 透射电镜图片;B 为载有 ITZ 的 PLGA 纳米透射图片。

图 1 透射电镜图片

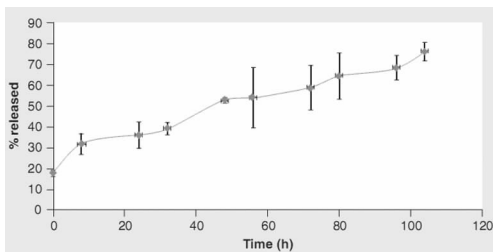
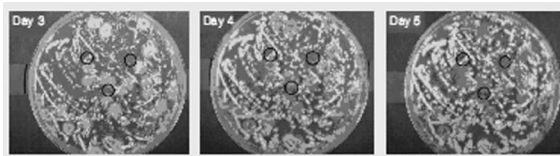


图 2 PLGA-ITZ 纳米粒药释放图

2.2 纳米粒的抗真菌作用 纳米粒对白色念球菌的抑菌作用的结果表明 PLGA-ITZ 的纳米粒(即相当于 ITZ0.03 mg/mL)就能达到乳剂 ITZ3 mg/mL 的效果,即 PLGA-ITZ 纳米粒的抗真菌的效果是乳剂 ITZ 的 100 倍。但 PLGA-ITZ 纳米粒的抗真菌是较缓慢的过程,对真菌的抑制到第 11 天达到最大抑制效果,而 ITZ 乳剂在第 2 天就能达到最大的抑菌效果,见

图 3。



注:A:ITZ 水溶液(10 μl);B:ITZ 在 Triton X-100 的乳剂(0.3 mg/ml);C:PLGA-ITZ 纳米粒(10mg/ml),相当于 0.30mg/ml 的 ITZ;D:PLGA-ITZ(1 mg/ml)相当于 0.03 mg/ml ITZ。圆圈表示药物放置点。

图 3 不同制剂对白色念珠菌的抑菌效果

3 讨 论

一般来说,小尺寸(约 100~500 nm)能聚集和穿过细胞膜,增加增加药物释放^[14,20]。因为在体外研究 PLGA:ITZ 为 12.5% 时其包封率为 96%,粒径为 232 nm。ITZ 从纳米粒释放为初期跳跃式,常常称为暴发效应,由于临近粒子表面的释放(图 2)。因此,药物通过分散和粒子降解联合释放^[21-22]。很明显 ITZ 的稳定剂量超过 5 d。能增加药物发挥疗效的期限。

除了提供 PLGA 纳米粒的时间-释放图谱,纳米粒帮助 ITZ 分散在水中,通过抑制细胞色素 P450-依赖的 14-固醇脱氢二醇合成的甲基化酶,一种真菌细胞膜的一个关键成分^[23]。Ergosterol 的合成发生在线粒体和内质网膜,需要 ITZ 的内化抑制合成^[23-24]。由于培养基表面是亲水的,而药物是疏水的,两者之间存在一个屏障,限制接触。但是,真菌具有称为疏水素蛋白,在亲水和疏水界面自组装的小分泌表面活性蛋白^[25]。当菌丝侵入到培养基,这些疏水素被分泌到菌丝顶端的培养基周围^[25]。一旦它们与疏水的环境,如 ITZ 相遇,它们与水环境面对的亲水边和朝向药物的疏水边,形成一个双亲膜^[26]。通过这种方式,药物和真菌之间的接触被加强,允许水-ITZ 的一些抑制效应(图 3a)。但是,随着时间这种效应可能减少,这可以在药物附近生长增加。既然纳米粒是水溶性的,在平板上与真菌孢子接触较其他治疗效果更好。这种事件与粒径有关。据报道较小粒径的纳米粒(100~500 nm)聚集在细胞壁表面,更容易内化^[7,14,20]。这些特征通过两种机制:细胞表面附近释放 ITZ 导致较快地内化,和细胞吸收纳米粒后 ITZ 释放到胞浆;但是,最近的文献表明前者更可能^[27]。这些机制的联合,在 PLGA-ITZ 纳米粒中 ITZ 随着时间的释放可以解释较大的抑菌圈,与水-ITZ 和 Tx-ITZ 比较(图 3)。水-ITZ 和 Tx-ITZ 的乳化提供起初高剂量的抗真菌,导致一些抑制效果;但是,由于药物被孢子消耗或被降解,浓度则下降。这种渐进式下降允许周围的孢子生长,并侵袭到加药处。另一方面,来自纳米粒中 ITZ 的渐进式释放,周围的孢子感受到不愉快和压力,引起菌丝不能在用药处生长,因而有较大的抑菌圈。

在本研究中,PLGA 作为抗真菌的载体已显示效果,但是,考虑体内载药的特殊方法不应该忽视。例如,口服过程中,纳米粒可能小肠的上皮,但是实际到达血流的纳米粒的百分比非常关键^[28]。这可能由黏膜层和纳米粒的特性和在进入胃肠道以前胃里的反应决定的。静脉注射也是常见的载药途径,纳米粒可能提供保护,避免过早的药物清除,但是,纳米粒的清除和它们是否到达靶位或感染部位是主要的兴趣点。其他直接途径,如肺部给药能实施,提供局部的治疗效应^[29-30]。在肺部纳米粒的清除和渗透是需要研究的问题。但是,多聚体纳米粒提供的好处,正如本研究所示,能大大改进治疗效应,保证深入研究。

纳米技术处于有效载药系统的前沿,能克服市场上传统药物药物的许多缺点。治疗许多疾病和感染的生物相容性技术是多聚体纳米粒能够成功的一个目标。在本研究中已确定的是 PLGA 纳米粒载抗真菌药物到真菌细胞,提供一个更有效的抗真菌治疗。这可视为减少过多剂量的副作用的靶向抗抗真菌的载药,方便治疗和在所有医学方面的恢复。还需要进一步研究纳米粒的运输和纳米粒-细胞之间的相互作用,和 PLGA-ITZ 纳米粒在真菌其他生长时期的抗真菌能力。此外,纳米粒特性(例如大小和组成)和它们对 ITZ 释放率的影响进一步观察能阐明抗真菌的效果。总之,这些研究可以预料提供更详细的作用机制。可以提供更直接和有效的抗真菌载药途径。当获得更多信息,纳米载药系统在基础水平如何发挥其作用将被揭示。

参考文献

[1] Kauffman CA: Fungal infections in immunocompromised hosts; focus on epidemiologic aspects of infection. National Foundation for Infectious Diseases 1(4), (1998) www.nfd.org/publications/fungal_archive/ fungal.

[2] Jung SH, Lim DH, Lee JE, et al. Amphotericin B-entrapping lipid nanoparticles and their in vitro and in vivo characteristics[J]. Eur J Pharm Sci, 2009, 37(3-4): 13-320.

[3] Odds FC, Brown AJP, Gow NAR. Antifungal agents: mechanisms of action[J]. Trends Microbiol, 2003, 11(6): 272-279.

[4] Willems L, Van Der Geest R, De Beule K. Itraconazole oral solution and intravenous formulations: a review of pharmacokinetics and pharmacodynamics[J]. J Clin Pharm Ther, 2001, 26(3): 159-169.

[5] Peeters J, Neeskens P, Tollenaere JP, et al. Characterization of the interaction of 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin with itraconazole at pH 2, 4, and 7[J]. J Pharm Sci, 2002, 91(6): 1414-1422.

[6] De Beule K. Itraconazole: pharmacology, clinical experience and future development[J]. Int J Antimicrob Agents, 1996, 6(3): 175-181.

[7] Panyam J, Labhasetwar V. Biodegradable nanoparticles for drug and gene delivery to cells and tissue[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2003, 55(3): 329-347.

[8] Bala I, Hariharan S, Kumar M. PLGA nanoparticles in drug delivery: the state of the art[J]. Crit Rev Ther Drug Carrier Syst, 2004, 21(5): 387-422.

[9] Pandey R, Ahmad Z, Sharma S, et al. Nano-encapsulation of azole antifungals: Potential applications to improve oral drug delivery[J]. Int J Pharm, 2005, 301(1-2): 268-276.

[10] Brannon-Peppas L, Blanchette JO. Nanoparticle and targeted systems for cancer therapy[J]. Adv Drug Delivery Rev, 2004, 56(11): 1649-1659.

[11] Desai MP, Labhasetwar V, Walter E, et al. The mechanism of uptake of biodegradable microparticles in CaCO₂ cells is size dependent[J]. Pharmaceut Res, 1997, 14(11): 1568-1573.

[12] Panyam J, Zhou WZ, Prabha S, et al. Rapid endo-lysosomal

escape of poly (dl-lactide-co-glycolide) nanoparticles: implications for drug and gene delivery[J]. FASEB J, 2002, 16(10): 1217-1226.

[13] Vicari L, Musumeci T, Giannone I, et al. Paclitaxel loading in PLGA nanospheres affected the in vitro drug cell accumulation and antiproliferative activity[J]. BMC Cancer, 2008, 8(1): 212.

[14] Win KY, Feng SS. Effects of particle size and surface coating on cellular uptake of polymeric nanoparticles for oral delivery of anticancer drugs[J]. Biomaterials, 2005, 26(15): 2713-2722.

[15] Esmaeili F, Hosseini-Nasr M, Rad-Malekshahi M, et al. Preparation and antibacterial activity evaluation of rifampicin-loaded poly lactide-co-glycolide nanoparticles [J]. Nanomedicine, 2007, 3(2): 161-167.

[16] Italia JL, Yahya MM, Singh D, et al. Biodegradable nanoparticles improve oral bioavailability of amphotericin B and show reduced nephrotoxicity compared with intravenous fungizone[J]. Pharm Res (Dordrecht), 2009, 26(6): 1324-1331.

[17] Peng HS, Liu XJ, Lv GX, et al. Voriconazole into plga nanoparticles: improving agglomeration and antifungal efficacy[J]. Int J Pharm, 2008, 352(1-2): 29-35.

[18] Yang W, Wiederhold NP, Williams RO. Drug delivery strategies for improved azole antifungal action[J]. Expert Opin Drug Deliv, 2009, 5(11): 1199-1216.

[19] Kramer MR, Merin G, Rudis E, et al. Dose adjustment and cost of itraconazole prophylaxis in lung transplant recipients receiving cyclosporine and tacrolimus (fk 506). Transplant[J]. Proc, 1997, 29(6): 2657-2659.

[20] Prabha S, Zhou WZ, Panyam J, et al. Size-dependency of nanoparticle-mediated gene transfection: studies with fractionated nanoparticles[J]. Int J Pharm, 2002, 244(1-2): 105-115.

[21] Mccarron PA, Donnelly RF, Marouf W. Celecoxib-loaded poly(d, l-lactide-co-glycolide) nanoparticles prepared using a novel and controllable combination of diffusion and emulsification steps as part of the salting-out procedure [J]. J Microencapsul, 2006, 23(5): 480-498.

[22] Mittal G, Sahana DK, Bhardwaj V, et al. Estradiol loaded PLGA nanoparticles for oral administration: effect of polymer molecular weight and copolymer composition on release behavior in vitro and in vivo[J]. J Control Release, 2007, 119(1): 77-85.

[23] Yoshida Y. Cytochrome p450 of fungi: primary target for azole antifungal agents[J]. Curr Top Med Mycol, 1988, 2: 388-418.

[24] Vanden Bossche H, Marichal P, Le Jeune L, et al. Effects of itraconazole on cytochrome p-450-dependent sterol 14 α -demethylation and reduction of 3-ketosteroids in *Cryptococcus neoformans* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 1993, 37(10): 2101-2105.

[25] Wosten HAB, De Vocht ML. Hydrophobins, the fungal coat unravelled[J]. Biochim Biophys Acta, (下转第 1460 页)

途径是 T 淋巴细胞活化的主要协同刺激信号。CD83 是成熟 DC 的重要标志,目前认为只有成熟 DC 可以稳定的表达 CD83 分子^[5]。根据其成熟状态的不同,DC 具有着迥然相异的功能。未成熟 DC 与免疫抑制和免疫耐受过程密切相关,其机制是在未成熟期细胞表面虽表达 MHC-II 分子,但低水平表达共刺激分子 CD80 和 CD86,使 T 淋巴细胞缺少应答的第 2 信号,导致 T 淋巴细胞表现为低反应性或无能,因而诱导了免疫耐受的发生^[6]。因此在本研究中本文选择了 DC 相对特异性的成熟性标志 CD83 分子和与抗原递呈有关的表型 HLA-DR、CD86 分子的表达水平作为 DC 的成熟指标。

在以往的研究中,对于疟原虫感染后 DC 的功能是否正常存在诸多观点上的矛盾。有研究认为疟原虫感染后 DC 保持着完整的功能。DC 被疟原虫抗原诱导成熟,上调 MHCII 和共刺激分子,分泌 Th1 分化型细胞因子,表现为功能上的正向应答,从而决定了随后的整个保护性免疫状态的形成^[7-8],但也有研究显示疟原虫感染后 DC 功能抑制:Urban 等众多研究者都证实了疟疾感染和体外培养中 DC 的 MHC 分子、共刺激分子和分泌 IL-12 功能的缺失^[9],这种成熟缺陷的 DC 不能诱导初始的 T 淋巴细胞和继发的抗原特异性 T 淋巴细胞应答。本实验观察分析了负载 P. vAg 的 DC 在追加成熟诱导物 LPS 后表型的变化,结果显示 P. vAg 追加 LPS 诱导的各剂量组表型均升高。相对于未刺激组,除 P. vAg0. 1 μ g/mL + LPS 和 P. vAg 1. 0 μ g/mL + LPS 组的 HLA-DR 之外其他各组的升高均有统计学意义($P < 0. 01$ 或 $P < 0. 05$);与 LPS 诱导组比较, P. vAg 0. 1 μ g/mL + LPS 和 P. vAg 1. 0 μ g/mL + LPS 组的 CD86 也显著升高,差异有统计学意义($P < 0. 05$),表明特定的剂量范围内 P. vAg 对 LPS 的促成成熟作用具有协同的正向效应。

在以往恶性疟和鼠疟的研究中亦发现不同虫种的不同组分对 DC 功能产生不同影响的现象。如 Urban 等在恶性疟研究中发现恶性疟原虫感染的红细胞上膜蛋白成分 PFEMP1 对 DC 具有抑制效应^[10],另有来自其他诸多虫株的证据表明分离得到的膜蛋白并未改变 DC 对 LPS 的响应,而是表达正常的功能成熟^[11];从鼠疟原虫提取的可溶性蛋白能够有效诱导对疟原虫感染的保护性反应^[12]。本实验的结果表明间日疟原虫的可溶性蛋白在体外对 DC 并不产生抑制,证实了不同基因背景的疟疾种株的可溶性蛋白与宿主的相互作用效应是不同的。

参考文献

[1] 周水森,王漪,房文. 2007 年全国疟疾形势[J]. 中国寄生

虫学与寄生虫病杂志,2008,26 (6):401-403.

[2] 胡守锋,陶志勇,夏惠,等. 红内期间日疟原虫浓集纯化及免疫反应性研究[J]. 蚌埠医学院学报,2009,34 (8):653-654.

[3] 董薇,张兵,蔡美英,等. 脂多糖刺激树突状细胞前后 TLR2、3、4 基因表达的检测[J]. 航天医学与医学工程,2005,(18):3,216-218.

[4] 褚万立. Toll 样受体在免疫应答中的作用[J]. 医学综述,2006,12(15):899-900.

[5] Cao W, Lee SH, Lu J. CD83 is preformed inside monocytes, macrophages and dendritic cells, but it is only stably expressed on activated dendritic cells[J]. Biochem J, 2005,385(1):85-93.

[6] 张临友,杨英男,杨宝峰. 树突状细胞亚群及其功能[J]. 国外医学免疫学分册,2004,27(5):260-263.

[7] Perry JA, Rush A, Wilson RJ, et al. Dendritic cells from malaria-infected mice are fully functional APC[J]. J Immunol, 2004,172 (5):475-482.

[8] Seixas E, Cross C, Quin S, et al. Direct activation of dendritic cells by the malaria parasite, Plasmodium chabaudi chabaudi[J]. Eur J Immunol, 2001,31(4):2970-2978.

[9] Urban BC, Roberts DJ. Inhibition of T cell functioning during malaria: implications for immunology and vaccinology[J]. J Exp Med, 2003,197(2):137-141.

[10] Urban BC, Willcox N, Roberts DJ. A role for CD36 in the regulation of dendritic cell function[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2001,98(15):8750-8755.

[11] Millington OR, Di Lorenzo C, Phillips RS, et al. Suppression of adaptive immunity to heterologous antigens during Plasmodium infection through hemozoin-induced failure of dendritic cell function[J]. J Biol, 2006,5(2):5.

[12] Wunderlich F, Brenner HH, Helwig M. Plasmodium chabaudi malaria: protective immunization with surface membranes of infected erythrocytes[J]. Infect Immun, 1988,56 (12):3326-3328.

(收稿日期:2011-03-09)

(上接第 1457 页)

2000,1469(2):79-86.

[26] Wessels JGH. Hydrophobins, unique fungal proteins[J]. Mycologist, 2000,14(4):153-159.

[27] Xu PS, Gullotti E, Tong L, et al. Intracellular drug delivery by poly(lactic-co-glycolic acid) nanoparticles, revisited [J]. Mol Pharm, 2009,6(1):190-201.

[28] Italia JL, Bhatt DK, Bhardwaj V, et al. PLGA nanoparticles for oral delivery of cyclosporine: nephrotoxicity and pharmacokinetic studies in comparison to sandimmune

neural[J]. J Control Release, 2007,119(2):197-206.

[29] Bailey MM, Berkland C. Nanoparticle formulations in pulmonary drug delivery[J]. Med Res Rev, 2009,29(1):196-212.

[30] Beck-Broichsitter M, Gauss J, Packhauser CB, et al. Pulmonary drug delivery with aerosolizable nanoparticles in an ex vivo lung model[J]. Int J Pharm, 2009,367(1-2):169-178.

(收稿日期:2011-03-26)