



在线全文

聚苯乙烯纳米塑料的暴露途径介导其细胞分布和毒性*

李 静¹, 鲍其雪¹, 李泽艳¹, 姚于勤¹, 伍东升², 彭莉君³, 刘振溢⁴, 李 林^{4,5}, 张 凌^{1,5}

1. 四川大学华西公共卫生学院/四川大学华西第四医院 卫生毒理与病理学系(成都 610041); 2. 四川大学华西公共卫生学院/四川大学华西第四医院 放射科(成都 610041); 3. 四川大学华西公共卫生学院/四川大学华西第四医院 尘肺科(成都 610041); 4. 四川大学华西公共卫生学院/四川大学华西第四医院 儿少卫生与妇幼保健学系(成都 610041); 5. 四川大学高分子科学与工程学院 医用高分子材料系(成都 610065)

【摘要】 目的 探究暴露途径是否影响聚苯乙烯纳米塑料(polystyrene nanoplastics, PSNPs)在肝脏细胞亚群的分布及毒性。**方法** 以雄性C57BL/6J野生型健康小鼠(6~8周, 18~22 g)为实验动物, 首先采用活体成像系统(*in vivo* imaging system, IVIS)追踪灌胃与尾静脉注射PSNPs在小鼠主要脏器的分布, 并通过免疫荧光联合透射电子显微镜(transmission electron microscopy, TEM)解析其在肝细胞亚群(肝实质细胞与Kupffer细胞)的定位规律。利用300 nm PSNPs分别进行灌胃与尾静脉注射、利用70 nm PSNPs进行肝门静脉注射, 通过免疫荧光分析其细胞分布。随后, 以小鼠正常肝细胞系AML-12细胞为肝实质细胞模型, 通过共聚焦激光扫描显微镜(confocal laser scanning microscopy, CLSM)观察AML-12细胞对PSNPs的摄取, 利用流式细胞术定量, 分析其内吞机制; 应用IVIS探究肝实质细胞的体内摄取特征。最后, 以AML-12细胞为肝实质细胞模型、小鼠巨噬细胞系RAW264.7为Kupffer细胞模型, 通过转录组学与代谢组学联合分析100 μ g/mL PSNPs暴露引发的细胞类型特异性的毒性效应。**结果** IVIS结果显示, 灌胃及尾静脉注射的PSNPs均主要在肝组织分布, 免疫荧光及TEM结果显示, 灌胃组PSNPs主要定位于肝实质细胞, 而尾静脉注射组则主要富集于Kupffer细胞。粒径差异(300 nm vs. 70 nm)未改变PSNPs的细胞分布规律, 而肝门静脉注射实验显示PSNPs主要在Kupffer细胞中分布, 表明PSNPs的细胞类型特异性分布与PSNPs粒径无关, 可能与其在胃肠道中的转运有关。流式分析表明, AML-12对PSNPs的摄取呈现时间依赖性, 其内吞机制涉及网格蛋白($P<0.0001$)、巨胞饮($P=0.0026$)及脂筏($P<0.0001$)介导的途径; PSNPs血液分布结果表明, 肝实质细胞对PSNPs的摄取存在速率限制。多组学联合分析揭示, PSNPs在AML-12细胞中扰动脂质代谢通路和神经递质稳态, 但在RAW264.7细胞中, 主要诱导炎症和氧化应激。**结论** PSNPs暴露途径调控其肝内细胞分布, 进而改变PSNPs暴露诱导的毒性效应。

【关键词】 微塑料 环境暴露 细胞毒性

Exposure Pathways of Polystyrene Nanoplastics Mediate Their Cellular Distribution and Toxicity

LI Jing¹, BAO Qixue¹, LI Zeyan¹, YAO Yuqin¹, WU Dongsheng², PENG Lijun³, LIU Zhenmi⁴, LI Lin^{4,5}, ZHANG Ling^{1,5}. 1. Department of Toxicology and Pathology, West China School of Public Health and West China Fourth Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Department of Radiology, West China School of Public Health and West China Fourth Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 3. Department of Pneumoconiosis, West China School of Public Health and West China Fourth Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 4. Department of Child and Adolescent Health and Maternal and Child Health Care, West China School of Public Health and West China Fourth Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 5. Department of Medical Polymer Materials, College of Polymer Science and Engineering, Sichuan University, Chengdu 610065, China

△ Corresponding author, LI Lin, E-mail: lilin93@scu.edu.cn; ZHANG Ling, E-mail: zhangling83@scu.edu.cn

[Abstract] Objective To investigate whether exposure pathways influence the distribution pattern and toxicity of polystyrene nanoplastics (PSNPs) in hepatic cells. **Methods** Male C57BL/6J wild-type healthy mice aged 6 to 8 weeks old and weighed 18 to 22 g were administered with PSNPs via gavage or tail vein injection. Then, we tracked PSNPs distribution in the major organs of mice via an *in vivo* imaging system (IVIS). After that, we analyzed the cellular accumulation patterns in hepatic cell subpopulations (hepatocytes and Kupffer cells) using immunofluorescence and

* 国家重点研发计划(No. 2023YFC2509302)、区域创新发展联合基金(No. U23A20495)、国家自然科学基金(No. 82304402)、四川大学“医学+材料”中心“医学+X”创新项目(No. MCM202103)、高分子材料工程重点实验室(No. sklpm2022-3-19)、中国博士后科学基金(No. 2024T170607)和中央高校基本科研项目(No. 2023SCU12034)资助

△ 通信作者, 李林, E-mail: lilin93@scu.edu.cn; 张凌, E-mail: zhangling83@scu.edu.cn

出版日期: 2025-05-20

transmission electron microscopy (TEM). 300 nm PSNPs were administered via gastric gavage or tail vein injection, and 70 nm PSNPs were injected via the portal vein. The cellular localization of PSNPs in the liver was analyzed using immunofluorescence. Subsequently, using AML-12 cells, a normal mouse liver cell line, as the parenchymal hepatocyte model, the uptake of PSNPs in AML-12 cells was analyzed by confocal laser scanning microscope (CLSM). Flow cytometry was performed to observe and quantify PSNPs uptake, and to analyze the underlying endocytosis mechanisms. IVIS was used to analyze PSNPs uptake features *in vivo*. Finally, using mouse macrophage line RAW264.7 as a Kupffer cell model and AML-12 cells as a parenchymal hepatocyte model, the cell-type-specific toxic effects induced by 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ PSNPs were examined through transcriptomics and metabolomics analyses. **Results** IVIS revealed predominant hepatic accumulation of PSNPs regardless of exposure pathways via intragastric gavage or tail vein injection. Immunofluorescence/TEM demonstrated exposure pathway-dependent cellular distribution: intragastric PSNPs were localized mainly in hepatocytes, while intravenous PSNPs were accumulated in Kupffer cells. Changes in particle size (300 nm vs. 70 nm) did not alter the cellular distribution pattern, while 70 nm PSNPs injected via the portal vein accumulated in Kupffer cells, which suggested that the cell-type-specific distribution of PSNPs in the liver was independent of PSNPs size and might be related to the transport of PSNPs in the gastrointestinal tract. Flow cytometry showed that PSNPs uptake by AML-12 was time-dependent and that the underlying endocytosis mechanism involved pathways mediated by clathrin ($P < 0.0001$), macropinocytosis ($P = 0.0026$), and lipid rafts ($P < 0.0001$). Findings on PSNPs distribution in blood revealed that the uptake of PSNPs by hepatocytes exhibited a rate saturation phenomenon. Multi-omics analysis identified distinct toxicity patterns: PSNPs disrupted lipid metabolism and neurotransmitter homeostasis in AML-12 cells and induced inflammation and oxidative stress in Kupffer cells. **Conclusion** Exposure pathways mediate the hepatic cell-type-specific distribution of PSNPs, thereby altering the downstream toxicological consequences induced by exposure to PSNPs.

[Key words] Microplastics Environmental exposure Cytotoxicity

近年来,已在多种环境及人类生物样本中检出微/纳塑料(microplastics/nanoplastics, MNPs)^[1-5],引发社会各界对于MNPs潜在健康危害的高度关注^[6-7]。肝脏因其独特的器官结构和血流特征成为纳米颗粒分布的主要靶器官^[8],但目前的研究仅停留在器官水平,针对不同途径暴露的纳米塑料在肝脏细胞水平上的分布鲜有报道。

肝脏作为最大的实体器官,协调多种生物学过程,包括胆汁形成和分泌、代谢、外源物质脱毒、糖原合成和分解以及蛋白质合成等^[9],其功能的复杂性突出细胞水平研究的重要性。结构上,肝脏由肝实质细胞(约60%~80%)和非实质细胞(约20%~40%)组成。非实质细胞包含6种细胞:肝窦内皮细胞(liver sinusoidal endothelial cells, LSECs)(约50%),库普弗细胞(Kupffer cells, KCs)(约20%),淋巴细胞(约25%),肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)(约1%~8%)和胆道细胞(约5%)^[10]。肝实质细胞是肝脏中最丰富的细胞,负责药物代谢、胆汁合成和糖原储存^[11];KCs主要调节免疫、吞噬和清除抗原颗粒^[12]。由于细胞功能的异质性,不同类型的肝细胞摄取PSNPs后可能诱导细胞特异性的毒性效应。

本研究拟以聚苯乙烯纳米塑料(polystyrene nanoplastics, PSNPs)为模型,通过免疫荧光、透射电子显微镜(transmission electron microscopy, TEM)、多组学技术探究MNPs经不同途径暴露后在肝脏的细胞分布及其诱导的毒性效应,构建PSNPs暴露途径-细胞分布-细胞毒性的研究框架,为

MNPs的毒理机制阐释及安全风险评估提供数据支撑。

1 材料与方法

1.1 实验试剂与仪器

苯乙烯、2.5%戊二醛溶液、(2-羟丙基)- β -环糊精购于上海麦克林生化科技股份有限公司,十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)、过硫酸钾购于Adamas-beta,罗丹明B、地塞米松、盐酸氯丙嗪购于北京索莱宝科技有限公司,胎牛血清购于美国Zeta Life公司,ITS液体培养基补充剂购于中国大连美伦生物技术有限公司,唾液酸糖蛋白受体1(asialoglycoprotein receptor 1, ASGR1)、F4/80和CoraLite 488偶联的山羊抗兔IgG (H+L)抗体购于武汉三鹰生物技术有限公司,盐酸阿米洛利购于北京沃凯生物科技有限公司,细胞松弛素D购于美国Life Technologies公司。

扫描电子显微镜(scanning electron microscopy, SEM)为美国Thermo Fisher Scientific产品,激光粒度仪为英国Malvern公司产品,小动物活体成像系统为美国Perkin Elmer公司产品,冰冻切片机为德国Leica公司产品,TEM为日本日立公司产品,共聚焦激光扫描显微镜(confocal laser scanning microscopy, CLSM)为德国Zeiss公司产品,流式细胞仪为美国BD公司产品,基因测序仪为美国Illumina公司产品,液相色谱-质谱联用仪为美国Waters公司产品等。

1.2 PSNPs的合成及表征

以苯乙烯为单体, SDS为乳化剂, 过硫酸钾为引发剂, 采用乳液聚合^[13]制备PSNPs。70 nm PSNPs的合成: 分别配制油、水两相, 油相包含2 mL苯乙烯和150 μ L正十六烷, 水相包含20 mL超纯水和20 mg SDS。SDS溶解后, 将其转移至50 mL圆底烧瓶中, 在搅拌下向油相中逐滴加入水相。将圆底烧瓶置于油浴中, 加入80 mg过硫酸钾, 72 $^{\circ}$ C反应12~16 h。反应结束后, 收集PSNPs至活化的透析袋中, 透析纯化3~7 d。300 nm PSNPs的合成: 将SDS的用量减少至1 mg, 过硫酸钾的用量调整至20 mg, 其他操作同前。罗丹明B标记的荧光PSNPs的合成: 将8 mg罗丹明B溶解至水相中, 其他操作同前。通过SEM观察PSNPs的形貌, 以激光粒度仪测定PSNPs的水合粒径及其在水中的zeta电位。

1.3 实验动物

雄性C57BL/6J野生型健康小鼠(6~8周, 18~22 g)购于江苏集萃药康生物科技股份有限公司, 动物许可证号为SCXK(川)2020-0034。小鼠饲养于无特定病原体的设施中, 设置环境温度为(22 $\pm$ 0.5) $^{\circ}$ C, 湿度为50%, 遵循12 h光照/12 h黑暗昼夜规律。61只小鼠适应性喂养1周后, 采用随机数字表法将小鼠随机分组, 按照不同的研究目的进行对应的处理, 未设立纳入、排除标准, 所有小鼠均纳入分析。由于不同的实验分组需要给予不同的处理, 所以实验的整个过程, 包括分配、实验实施及数据分析对于操作人员是公开的, 实验过程中未控制小鼠处理顺序及鼠笼放置位置等混杂因素。本研究中的动物实验均经四川大学动物保护与伦理委员会批准(批件号: Gwll2023076)。

1.4 细胞

小鼠正常肝细胞(alpha mouse liver 12, AML-12)和小鼠巨噬细胞RAW264.7均来自美国典型培养物保藏中心。标准细胞培养条件(37 $^{\circ}$ C, 体积分数为5%CO₂)下, AML-12细胞在DMEM/F12完全生长培养基(含10%胎牛血清、1%ITS、1%青霉素-链霉素和40 ng/mL地塞米松)中维持培养, RAW264.7细胞在DMEM完全生长培养基(含10%胎牛血清和1%青霉素-链霉素)中维持培养。

1.5 小动物活体成像分析PSNPs的脏器分布

为探究不同暴露途径下PSNPs的脏器分布, 将12只小鼠随机分为灌胃对照组(IG-H₂O组)、灌胃组(IG-PSNPs组)、尾静脉注射对照组(IV-H₂O组)和尾静脉注射组(IV-PSNPs组), 每组3只(根据既往文献及“3R”原则确定)。IG-PSNPs组和IV-PSNPs组小鼠分别灌胃和尾静脉注射50 mg/kg荧光PSNPs(70 nm)(分散于水中)。对照组小鼠根据体质量灌胃或尾静脉注射对应体积的H₂O。3 h后,

将小鼠安乐死, 收集主要脏器, 使用小动物活体成像系统分析脏器中PSNPs的分布。

1.6 免疫荧光染色分析PSNPs在肝内的细胞分布

为探究不同暴露途径下PSNPs在肝脏中的细胞分布, 对1.5中收集的IG-PSNPs组和IV-PSNPs组的肝组织进行免疫荧光染色分析。将新鲜肝脏包埋于OCT包埋剂中, 设置切片厚度为12 μ m, 使用冷冻切片机进行切片, 将形态完好的切片黏附于载玻片上, 向切片上缓慢滴加体积分数为4%多聚甲醛以浸没组织。10 min后弃去多聚甲醛, PBS洗涤切片3次, 滴加5%BSA溶液封闭30 min。以免免疫组化笔圈出切片, 向圈内滴加稀释的ASGR1(1:250)和IF4/80(1:250)抗体, 4 $^{\circ}$ C孵育过夜。次日收集抗体, 以PBS洗涤切片3次, 滴加CoraLite 488偶联的山羊抗兔IgG(H+L)(1:500)二抗, 室温孵育2 h后, 收集二抗, 以PBS洗涤切片3次, 使用4', 6-二氨基-2-苯基吲哚(4', 6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)对细胞核进行染色。指甲油封片后, 通过CLSM观察记录PSNPs在肝实质细胞及Kupffer细胞中的分布。

为探究PSNPs粒径对PSNPs细胞分布的影响, 以50 mg/kg荧光PSNPs(300 nm)灌胃或尾静脉注射小鼠(每组3只, 根据既往文献及“3R”原则确定)。3 h后, 安乐死小鼠, 按照上述免疫荧光染色方法分析肝组织中荧光PSNPs(300 nm)的细胞分布。

1.7 TEM分析PSNPs在肝内的细胞分布

为进一步观察灌胃及尾静脉注射后PSNPs在肝内的细胞分布, 将12只小鼠随机分为IG-H₂O组、IG-PSNPs组、IV-H₂O组和IV-PSNPs组, 每组3只(根据既往文献及“3R”原则确定)。IG-PSNPs组灌胃50 mg/kg非荧光PSNPs(70 nm), IG-H₂O组灌胃对应体积的水; IV-PSNPs组尾静脉注射50 mg/kg非荧光PSNPs(70 nm), IV-H₂O组尾静脉注射对应体积的水。3 h后, 安乐死小鼠, 快速收集芝麻粒大小肝组织于2.5%戊二醛固定液中。通过TEM观察记录非荧光PSNPs在肝实质细胞和Kupffer细胞中的分布。

1.8 肝门静脉注射

经口摄入的PSNPs首先进入胃肠道, 在胃肠道吸收后, 经肝门静脉进入肝脏。因此, 其体内转运过程可粗略分为两个部分: 胃肠道部分和肝门静脉部分。通过直接向肝门静脉注射PSNPs, 分析其在肝脏的细胞分布, 可探究PSNPs在肝门静脉中的转运过程对PSNPs在肝脏的细胞分布的影响。以剃毛刀去除小鼠腹部毛发后, 异氟烷吸入麻醉小鼠, 将小鼠仰卧, 固定, 用酒精棉球对脱毛区域进行消毒; 剪开皮肤, 暴露腹腔, 用棉签小心将大小肠等内容物拉出腹腔, 在胃下面肝方向有一条明显的血管

即为肝门静脉。使用胰岛素注射器向肝门静脉内注射 50 mg/kg 荧光 PSNPs (70 nm) (以尾静脉注射 50 mg/kg 荧光 PSNPs 的小鼠作为对照, 每组 3 只, 根据既往文献及“3R”原则确定)。注射完成后开始计时, 缝合小鼠腹部, 将其转移至棉花上, 保持小鼠身体足够温暖以利于苏醒。1 h 后将小鼠安乐死, 收集肝脏, 按照上述免疫荧光染色方法分析肝组织中荧光 PSNPs 的细胞分布。

1.9 体外分析肝实质细胞对 PSNPs 的摄取

将 AML-12 细胞接种于 15 mm 玻底细胞培养皿中, 37 °C 培养过夜。次日弃去培养皿内完全生长培养基, 以无血清培养基洗涤细胞一次, 向其中加入无血清培养基稀释的荧光 PSNPs (70 nm) (工作质量浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$)。6 h 后, 弃去培养皿内 PSNPs, 以预冷 PBS 快速洗涤细胞一次, 加入体积分数为 4% 多聚甲醛, 室温固定 10 min 后弃去固定液, 以 PBS 洗涤三次。使用 DAPI 染色细胞核, 以 CLSM 观察并记录 AML-12 细胞对 PSNPs 的摄取。

为量化 AML-12 细胞对 PSNPs 的摄取, 将 AML-12 细胞接种于 12 孔板中, 37 °C 培养至细胞融合度约 70% ~ 80%。弃去孔板内的完全生长培养基, 以无血清培养基洗涤细胞一次, 向其中加入无血清培养基稀释的荧光 PSNPs (70 nm) (工作质量浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$), 孵育不同时间 (0、0.5、1、2 h) 后收集细胞, 采用流式细胞仪检测 PSNPs 阳性细胞百分比。

为进一步探究 AML-12 细胞摄取 PSNPs 的机制, 将 AML-12 细胞接种于 12 孔板内, 37 °C 培养至细胞融合度约 70% ~ 80%。弃去孔板内的完全生长培养基, 分别于各孔内加入完全培养基稀释的内吞抑制剂: 盐酸氯丙嗪 (工作质量浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$, 抑制网格蛋白介导的内吞作用)、阿米洛利 (工作浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$, 抑制巨胞饮)、细胞松弛素 D (工作质量浓度为 2.5 $\mu\text{g/mL}$, 抑制肌动蛋白聚合) 及 β -环糊精 (工作质量浓度为 2.5 mg/mL, 抑制脂筏)。37 °C 孵育 3 h 后, 弃去孔板内内吞抑制剂, 以无血清培养基洗涤细胞一次, 向孔板内加入无血清培养基稀释的荧光 PSNPs (70 nm) (工作质量浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$), 继续孵育 1 h。收集细胞, 采用流式细胞仪检测 PSNPs 阳性细胞百分比。

1.10 体内分析肝实质细胞对 PSNPs 的摄取

为体内分析肝实质细胞摄取 PSNPs 的特征, 将 15 只小鼠随机分为 3 组: 对照 (Control) 组、容量 (Capacity) 组和速率 (Rate) 组, 每组 5 只 (根据既往文献及“3R”原则, 结合统计学分析要求确定)。Capacity 组小鼠预先灌胃 100 mg/kg 非荧光 PSNPs (70 nm) (用于饱和肝实质细胞容量), Control 组及 Rate 组小鼠预先灌胃相应体积的 H_2O 。3 h (PSNPs 灌胃后在肝脏分布峰值对应的时间点) 后, Control 组及

Capacity 组小鼠灌胃 50 mg/kg 荧光 PSNPs (70 nm), Rate 组小鼠灌胃含有 100 mg/kg 非荧光 PSNPs (用于竞争肝细胞对荧光 PSNPs 的摄取) 和 50 mg/kg 荧光 PSNPs 的混合物。0.5 h 后安乐死各组小鼠, 使用小动物活体成像系统分析肝脏及血清中荧光 PSNPs 的分布。为进一步提升速率饱和和效果, 将 Rate 组中的非荧光 PSNPs 剂量提高至 400 mg/kg, 其他处理同 Rate 组小鼠。

1.11 转录组及代谢组联合分析 PSNPs 的细胞毒性

将 AML-12 细胞和 RAW264.7 细胞接种于 6 孔板, 37 °C 培养细胞至融合度约 80%, 弃去孔板内完全生长培养基, 以无血清培养基洗涤细胞一次, 向其中加入无血清培养基稀释的非荧光 PSNPs (70 nm) (工作质量浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$)。孵育 2 h 后, 弃去 PSNPs, 以 PBS 轻柔洗涤细胞。每孔内加入 1 mL PBS, 使用细胞刮刀剥离细胞, 并将其收集至无酶管中, 2 500 $\times$ g 离心 5 min, 收集细胞沉淀进行总 RNA 提取和测序分析。

为进行代谢组学分析, 将 AML-12 细胞和 RAW264.7 细胞接种于 10 cm 细胞培养皿中, PSNPs 的处理过程同上。2 h 后, 消化并收集细胞, 以细胞计数器计数细胞数量, 根据测定的结果, 移取等量细胞至另一干净离心管内, 2 500 $\times$ g 离心 5 min, 收集细胞沉淀, 采用液相色谱-质谱法检测细胞内代谢物。

1.12 统计学方法

采用 GraphPad Prism 统计软件进行统计学分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。当数据满足正态分布和方差齐性假设时, 多组间比较采用单因素方差分析, 若组间差异显著, 采用 Bonferroni 法进行事后检验以比较差异组别; 当数据不能同时满足正态分布和方差齐性假设时, 采用 Kruskal-Wallis H 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同途径暴露后, PSNPs 的脏器及细胞分布

通过 SEM 观察合成的 PSNPs 在水中的形貌, 结果如图 1A 所示, PSNPs 粒径均一, 呈规则球形。动态光散射分析显示, PSNPs 在水中的平均直径约为 70 nm (图 1B), 平均 zeta 电位约为 -30 mV (图 1C)。PSNPs 的器官分布结果显示, 无论灌胃还是尾静脉注射, 肝脏都是 PSNPs 聚集的主要器官 (图 1D)。免疫荧光染色结果显示尾静脉注射的 PSNPs 大量分布在 Kupffer 细胞中, 但经口摄入的 PSNPs 主要在肝实质细胞中分布 (图 1E、1F)。肝脏的 TEM 分析结果进一步证实了这种细胞类型特异性的分布, 如图 1G 所示, 在对照组小鼠肝脏 (IG- H_2O 和 IV- H_2O) 中未发现 PSNPs, PSNPs 灌胃的小鼠 (IG-PSNPs) 的肝实质细胞中观察到明

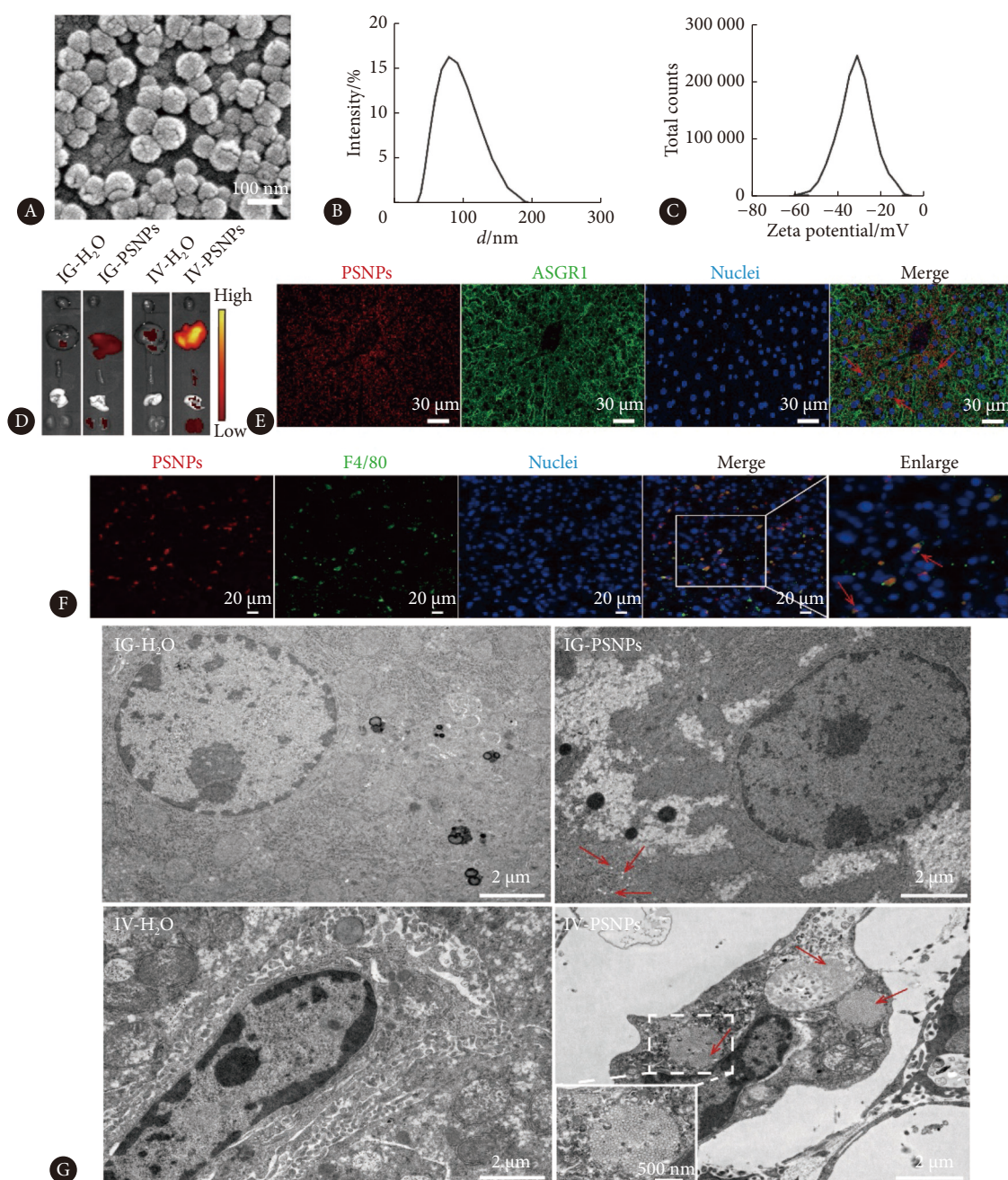


图1 PSNPs的表征及其在肝组织中的分布

Fig 1 PSNPs characterization and distribution in the liver

IG: intragastric; IV: intravenous; ASGR1: asialoglycoprotein receptor 1. A-C, Scanning electron microscopy (SEM) image (A), size distribution (B), and zeta potential distribution (C) of synthesized PSNPs. D, Fluorescent images showing PSNPs distribution in the major organs of mice with PSNPs treatment via intragastric gavage or intravenous injection ($n = 3$). E, Representative image of PSNPs distribution in hepatocytes after intragastric exposure to PSNPs for 3 h ($n = 3$). F, Representative image of PSNPs distribution in Kupffer cells after intravenous exposure to PSNPs for 3 h ($n = 3$). G, Representative transmission electron microscopy (TEM) image of PSNPs distribution in hepatocytes and Kupffer cells. The arrows point to PSNPs.

显的PSNPs颗粒, PSNPs尾静脉注射的小鼠(IV-PSNPs)的Kupffer细胞中观察到大量聚集性分布的PSNPs颗粒。

2.2 PSNPs粒径对PSNPs细胞分布的影响

随后利用大粒径PSNPs探究PSNPs粒径对其细胞分布的影响。合成的大粒径PSNPs在水中的平均粒径约为300 nm, zeta电位值与小粒径PSNPs接近(图2A~2C)。肝

组织免疫荧光染色结果显示, 不同的暴露途径导致PSNPs在肝脏分布的细胞类型不同, 经口摄入的PSNPs主要在肝实质细胞中分布, 而尾静脉注射的PSNPs主要在Kupffer细胞中分布(图2D、2E), 与小粒径PSNPs获得的结果一致。上述结果表明, 暴露途径介导PSNPs在肝脏的细胞分布, 且不受PSNPs粒径的影响。

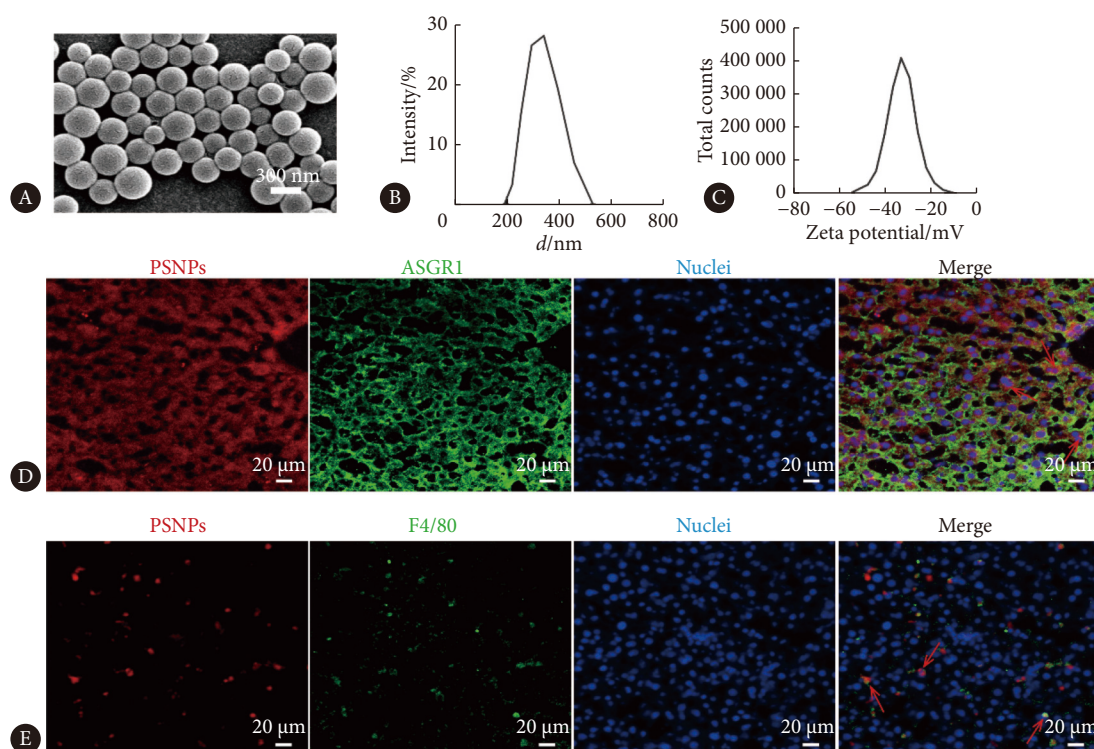


图 2 大粒径PSNPs的表征及其在肝组织中的分布

Fig 2 Larger PSNPs characterization and distribution in the liver

ASGR1: asialoglycoprotein receptor 1. A-C, SEM image (A), size distribution (B), and zeta potential distribution (C) of synthesized PSNPs with a diameter of 300 nm. D, Representative image of PSNPs distribution in hepatocytes after orally exposed to larger PSNPs for 3 h ($n = 3$). E, Representative image of PSNPs distribution in Kupffer cells after intravenous exposure to larger PSNPs for 3 h ($n = 3$). The arrows point to PSNPs.

2.3 肝门静脉注射后, PSNPs在肝内的细胞分布

结果如图3所示,肝门静脉注射的PSNPs主要在Kupffer细胞中分布,与尾静脉注射的PSNPs在肝脏细胞中的分布模式相同。这一结果表明,经口摄入PSNPs主要被肝实质细胞内化这一结果与PSNPs在肝门静脉中的转运过程无关,可能与PSNPs在胃肠道中的转运过程有关。

2.4 AML-12细胞对PSNPs的摄取

以AML-12为体外肝实质细胞模型,探究肝实质细胞摄取PSNPs的机制。CLSM分析展示了摄取进入AML-12细胞的PSNPs(图4A)。进一步通过流式细胞术分析肝实质细胞对PSNPs的动态摄取,结果显示,0.5 h时约有16%的AML-12细胞内化了荧光PSNPs,1 h时这一比例增

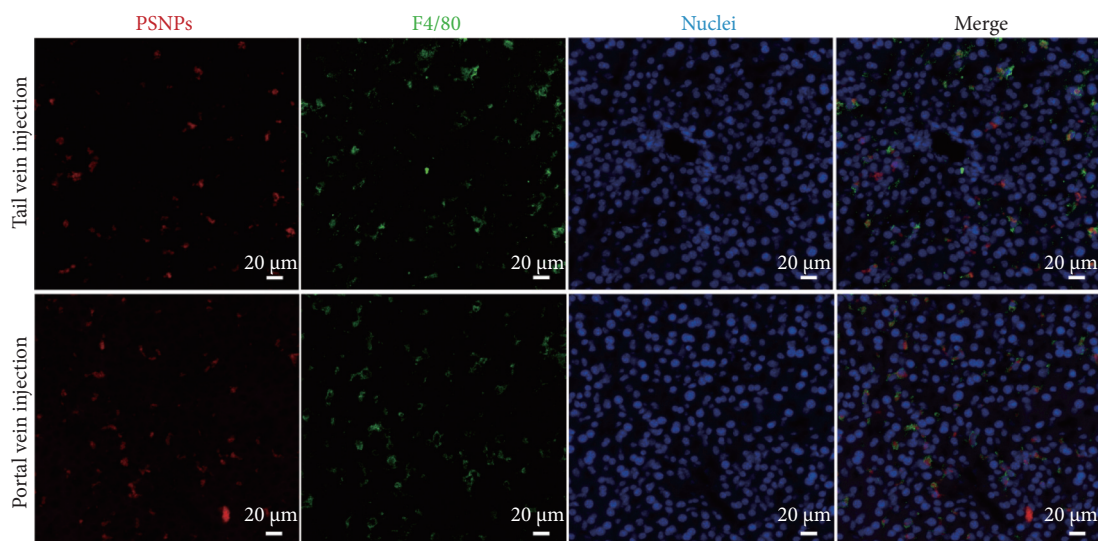


图 3 尾静脉及肝门静脉注射的PSNPs在Kupffer细胞中的分布

Fig 3 PSNPs distribution in Kupffer cells after tail and portal vein injection

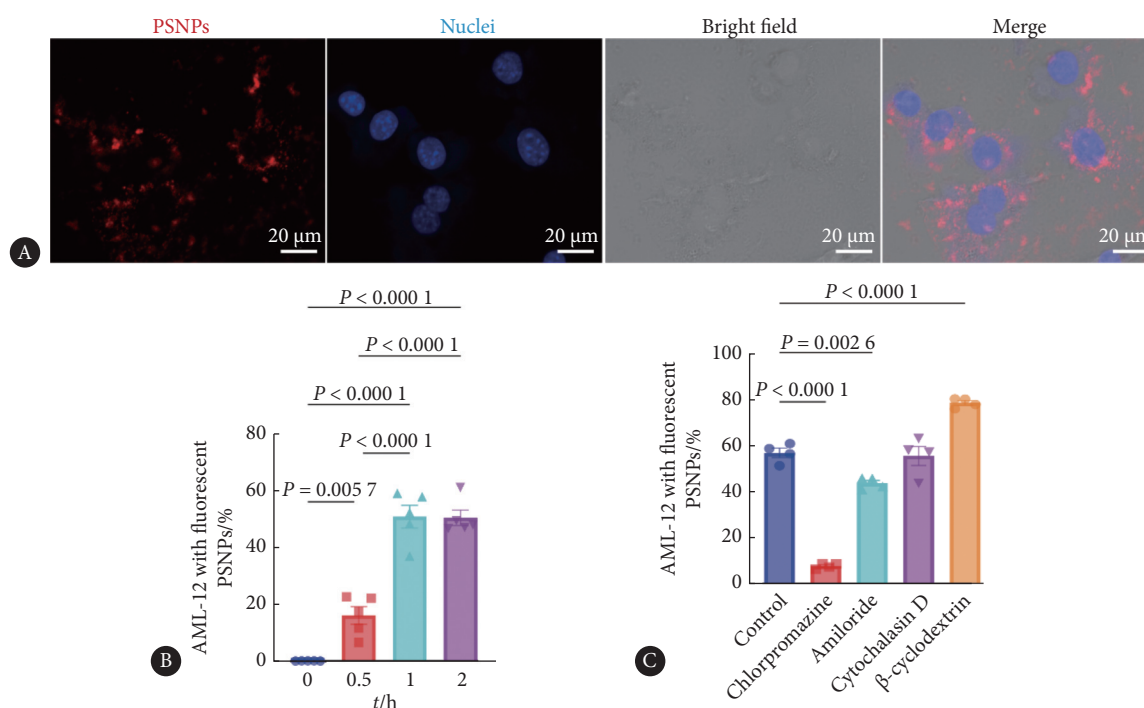


图4 AML-12细胞对PSNPs的摄取

Fig 4 PSNPs uptake by AML-12 cells

A, PSNPs internalization in AML-12 observed by confocal laser scanning microscopy (CLSM). B, The time-dependent change of PSNPs uptake by AML-12 ($n = 5$). C, The effect of endocytosis inhibitors on PSNPs uptake by AML-12 ($n = 4$).

加到50.94%(图4B)。为探究PSNPs的内吞机制,比较了多种内吞抑制剂对PSNPs摄取的影响。结果显示,盐酸氯丙嗪显著抑制AML-12细胞对PSNPs(70 nm)的摄取($P < 0.0001$)。巨胞饮抑制剂阿米洛利轻微影响PSNPs的摄取($P = 0.0026$),而肌动蛋白聚合抑制剂细胞松弛素D无明显的抑制作用($P = 0.9789$),除此之外, β -环糊精处理显著增加了PSNPs的摄取($P < 0.0001$)。这些结果表明,AML-12细胞对PSNPs的摄取涉及网格蛋白介导、巨胞饮以及脂筏介导的内吞途径(图4C)。

2.5 肝实质细胞摄取PSNPs的速率饱和现象

参照图5A中的实验流程,通过活体成像系统分析肝脏及血液中的PSNPs,以探究肝实质细胞摄取PSNPs的特征。结果显示(图5B~5D),经非荧光PSNPs预处理小鼠(Capacity组)和经水预处理小鼠(Control组)的肝脏和血液中荧光PSNPs的分布均无明显差异($P > 0.05$)。然而,与Control组($P = 0.0228$)和Capacity组($P = 0.0086$)小鼠相比,Rate组小鼠肝脏中荧光PSNPs分布无明显差异,但血液中荧光PSNPs水平升高,且随着非荧光PSNPs剂量的增加,血液中荧光PSNPs含量进一步升高(图5E),表明肝实质细胞对PSNPs的摄取存在速率饱和。

2.6 PSNPs暴露诱导细胞特异性的毒性效应

上述结果表明不同途径暴露的PSNPs在肝脏中的细

胞分布不同,而不同类型的细胞可能对PSNPs暴露的敏感性存在差异。因此,随后以AML-12细胞为肝实质细胞模型,以RAW264.7为Kupffer细胞模型,利用转录组学技术比较PSNPs暴露在两种细胞中诱导的细胞毒性差异。AML-12细胞: Top 20差异表达基因中, *Tas1r1*(taste 1 receptor member 1)、*Fos*、*Fosb*、*Jun*、*Arhgap8*(Rho GTPase activating protein 8)和*Angptl4*(angiopoietin-like 4)均上调。RAW264.7细胞: PSNPs处理导致*Dusp4*(dual specificity phosphatase 4)、*Dusp8*(dual specificity phosphatase 8, *Dusp8*)、*Maff*(MAF bZIP transcription factor F)、*C3ar1*(complement component 3a receptor 1)、*Cxcr4*(CXC-motif chemokine receptor 4)、*Klf10*(Kruppel-like factor 10)、*Bhlhe40*(basic helix-loop-helix family, member e40)、*Tnfrsf3*(tumor necrosis factor alpha-induced protein 3)、*Il1rn*(interleukin 1 receptor antagonist)、*Lima1*(LIM domain and actin binding 1)和*Zyx*等水平升高(图6)。

同时,利用代谢组学技术比较两种细胞中代谢物的变化。主成分分析结果显示,PSNPs处理均改变两种细胞的代谢物水平(图7A、7B)。差异代谢物的KEGG分析结果显示,尽管PSNPs处理改变AML-12和RAW264.7细胞中相同的通路,包括“Arginine and proline metabolism”“Choline metabolism in cancer”“Glycerophospholipid

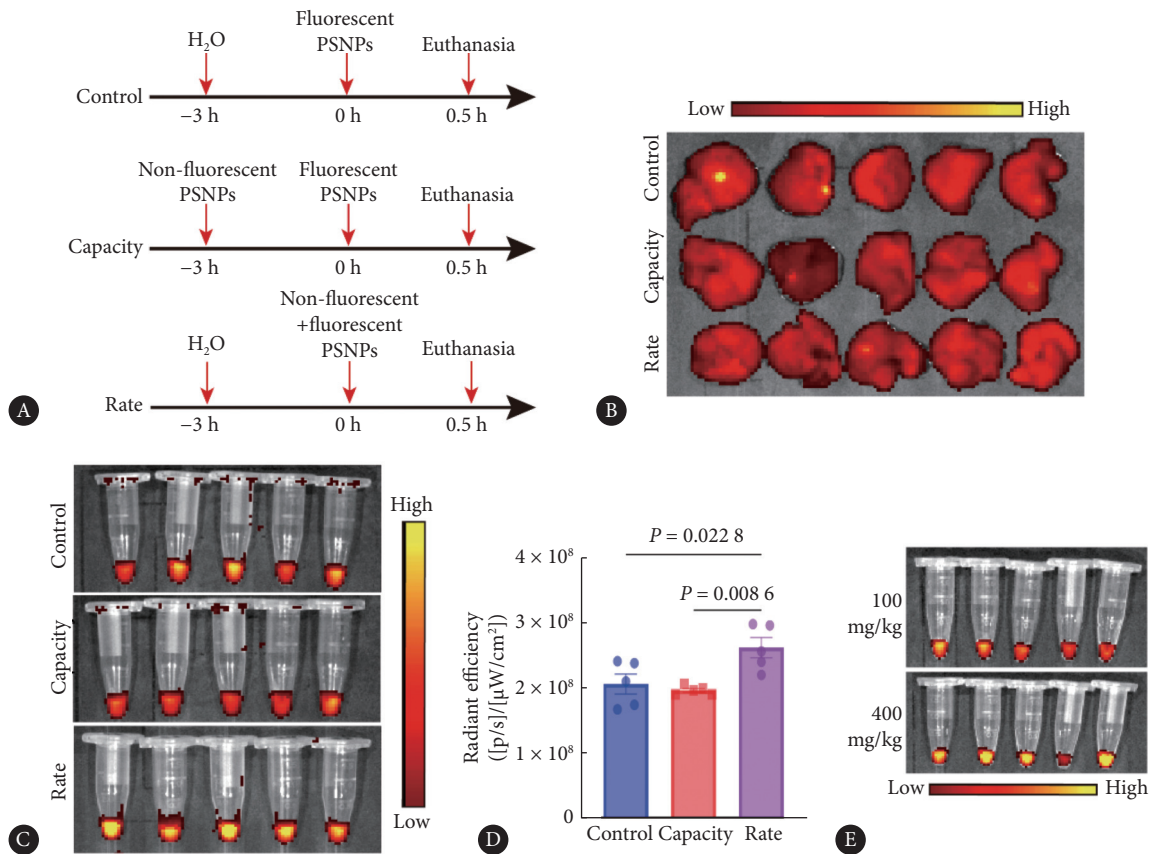


图 5 容量和速率饱和对血液中PSNPs分布的影响

Fig 5 The effect of capacity and rate saturation on PSNPs distribution in the blood

A, Schedule of mice treatment. B, Fluorescent image showing PSNPs distribution in liver. C, Fluorescent image showing PSNPs distribution in blood. D, Quantification of C ($n = 5$). E, Fluorescent image showing PSNPs distribution in the blood of mice in the rate group treated with an increased dose of non-fluorescent PSNPs (400 mg/kg).

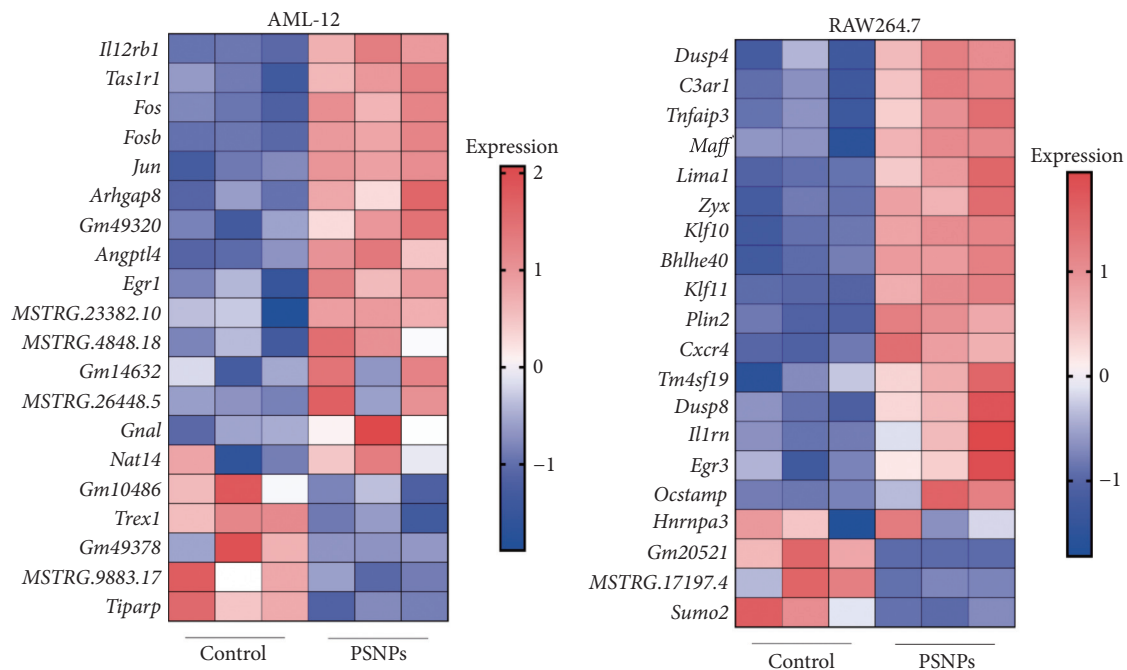


图 6 PSNPs处理的AML-12细胞和RAW264.7细胞的转录组学分析

Fig 6 Transcriptomics analysis of AML-12 and RAW264.7 cells after PSNPs exposure

Top 20 differentially expressed genes in AML-12 cells and RAW264.7 cells.

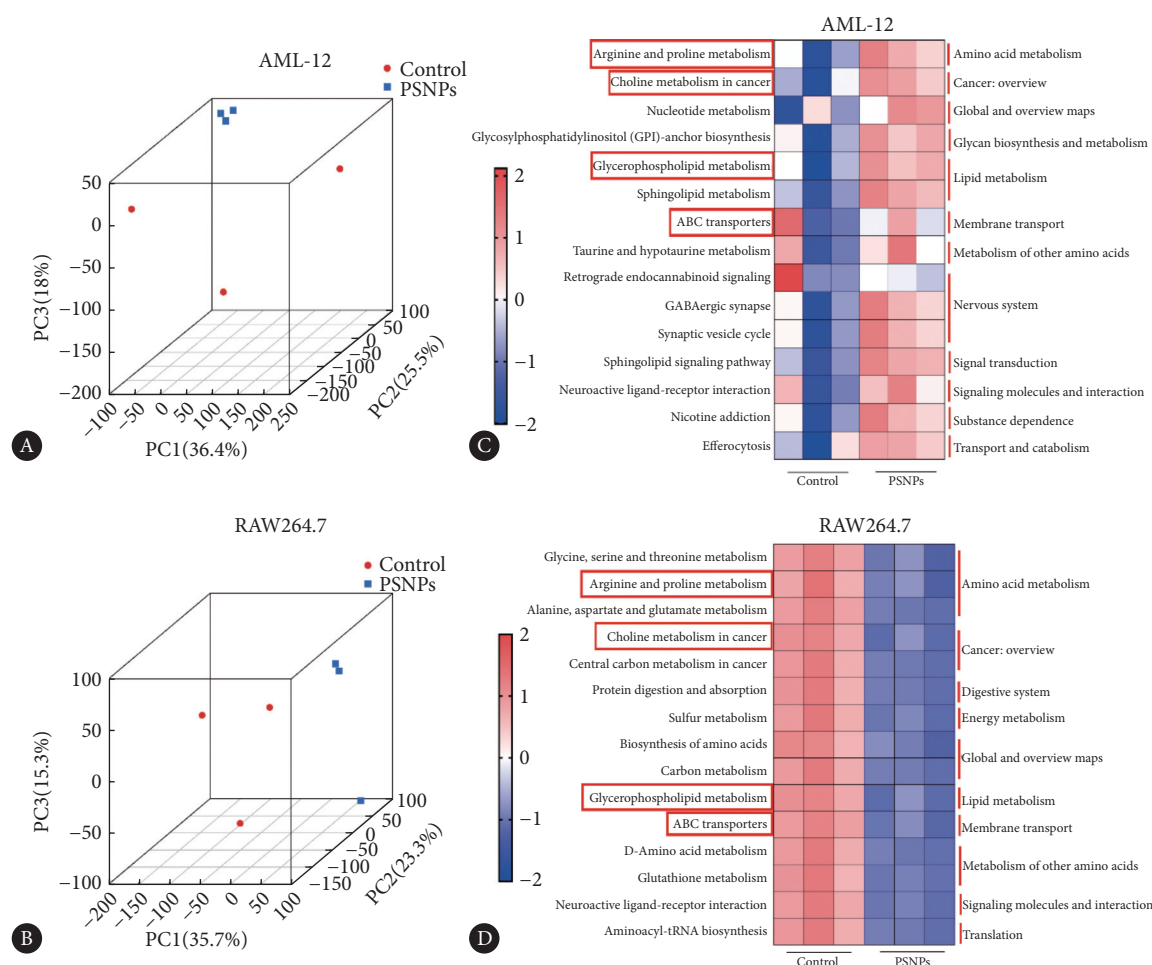


图7 PSNPs处理的AML-12细胞和RAW264.7细胞的代谢组学分析

Fig 7 Metabolomics analysis of AML-12 and RAW264.7 cells after PSNPs exposure

A and B, Principal component analysis of AML-12 cells (A) and RAW264.7 cells (B) with or without PSNPs. C and D, Top 15 KEGG pathways in AML-12 cells (C) and RAW264.7 cells (D).

metabolism”和“ABC transporters”,但作用相反。在AML-12细胞中,这四种通路均上调,而在RAW264.7细胞中,这四种通路均下调,表明两种细胞对PSNPs暴露的敏感性不同(图7C、7D)。

3 讨论

本研究揭示了PSNPs的暴露途径显著影响其在肝脏中的细胞分布,经口摄入的PSNPs主要被肝实质细胞捕获,这与LIU等^[14]报道的蜂蜜囊泡样纳米颗粒主要被Kupffer细胞摄取的结果存在差异;然而,与其他不同组成的纳米颗粒(如金纳米颗粒^[15]和奥贝胆酸纳米乳^[16])类似,尾静脉注射的PSNPs主要在Kupffer细胞中分布。纳米颗粒的大小可能影响纳米颗粒的细胞摄取。与小粒径纳米颗粒相比,大粒径纳米颗粒(>100 nm)与Kupffer细胞的相互作用更强,更容易被Kupffer细胞所摄取^[17]。因此,随后探究粒径对PSNPs细胞分布的影响,发现这种细胞类型特

异性的分布模式与PSNPs的粒径大小无关。PSNPs被不同种类细胞摄取可从两个方面改变PSNPs的毒性:①与胆道系统对肝细胞中纳米颗粒的快速清除相比,Kupffer细胞中纳米颗粒的清除速度缓慢且不完全,这可能导致长期毒性^[18];②肝实质细胞和Kupffer细胞对PSNPs暴露的敏感性可能不同,从而诱导细胞类型特异性的毒性效应。转录组学结果显示PSNPs处理在AML-12和RAW264.7细胞中诱导不同的基因变化。AML-12细胞:*Tas1r1*编码的蛋白是一种调节Rho/Rho激酶信号通路的G蛋白偶联受体(G protein-coupled receptor, GPCR);*Fos*和*Jun*编码的蛋白可形成同源或异源二聚体——转录因子激活蛋白1(transcription factor activator protein 1, AP-1)。基于这些基因的功能,推测*Tas1r1*上调Rho/Rho激酶信号通路(上调的*Arhgap8*),随后激活AP-1(上调的*Fos*和*Jun*),调控多个靶基因的表达,如脂质合成和转运相关基因^[19]。*Angptl4*可直接或间接调控脂肪酸合成相关基因的表达^[20]。

综上, PSNPs暴露可调节AML-12细胞的脂质代谢。*Fosb*参与神经递质合成和释放的调控, 其过表达与抑郁、吸毒成瘾等神经系统疾病的发生有关。因此, *Fosb*的上调表明PSNPs暴露调节神经递质水平。RAW264.7细胞:*Dusp4*和*Dusp8*编码蛋白都是双特异性磷酸酶亚家族的成员, 可以调节丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路^[21-22]。氧化应激状态下, MAPK诱导*Maff*编码的蛋白的表达, 从而调控抗氧化基因的水平, 维持细胞内氧化还原平衡^[23]。因此, 上调的*Maff*提示PSNPs暴露刺激RAW264.7细胞产生氧化应激。*C3ar1*编码的蛋白和*Cxcr4*编码的蛋白均为GPCR家族成员^[24], 受炎症调控^[25]。PSNPs处理后, *C3ar1*和*Cxcr4*水平增加, 表明GPCR被激活。GPCR激活MAPK信号通路, 活化的MAPK可磷酸化KLF10(*Klf10*编码的蛋白), 增强KLF10对炎症相关基因的转录抑制作用。除了MAPK信号通路外, GPCR还可诱导*Bhlhe40*编码的蛋白的表达, 调节免疫应答。肿瘤坏死因子可诱导*Tnfaip3*编码的蛋白的表达, 从而在抗炎反应中发挥作用。*Il1rn*编码的蛋白抑制白细胞介素1 α 和白细胞介素1 β 的活性。因此, *Klf10*、*Bhlhe40*、*Tnfaip3*和*Il1rn*的上调表明PSNPs暴露诱导RAW264.7细胞产生炎症。*Lima1*编码蛋白和*Zyx*编码蛋白是肌动蛋白相关蛋白, 其水平的变化可能与RAW264.7细胞摄取PSNPs有关。代谢组学结果显示AML-12细胞中“Lipid metabolism”“Nervous system”和“Substance dependence”通路的变化, 与转录组学结果相符。在RAW264.7细胞中, “Amino acid metabolism”通路变化可能与炎症的产生有关。氨基酸代谢为免疫相关分子的合成提供能量和底物。例如, 精氨酸是一氧化氮合成的前体。转录组学结果显示, PSNPs抑制RAW264.7细胞中炎症因子的合成, 这可能解释了氨基酸代谢的减少。此外, 下调的“Glutathione metabolism”表明细胞内氧化还原平衡被打破, 与转录组学结果一致。上述结果共同揭示PSNPs处理在两种细胞中诱导不同的毒性效应, 在AML-12细胞中改变脂质代谢和神经递质水平, 而在RAW264.7细胞中刺激炎症和氧化应激产生, 提示评估纳米塑料的潜在毒性时, 确定纳米塑料内化的细胞类型的重要性。其他类型的纳米塑料(如聚乙烯纳米塑料)是否表现出类似的分布模式需要进一步的实验结果支撑。

经口摄入的PSNPs在胃肠道中的转运似乎是在肝实质细胞中大量分布的关键因素。生物流体中的成分对纳米颗粒的体内转运和命运的影响已经引发广泛关注。血液中的蛋白质^[26-28]和代谢物^[29]都已被证明可影响纳米颗粒的体内分布。相似地, WU等^[30]报道经口摄入的纳米

颗粒在糖尿病和结肠炎大鼠肠液中形成蛋白冠, 增加了口服纳米颗粒的吸收。与血液相比, 肠液的成分更为复杂, 但迄今为止受到的关注却较少。肠道中丰富的微生物及其代谢物可能影响口服纳米颗粒的摄取。笔者推测, PSNPs进入肠道后在其表面吸附肠肝循环相关代谢物, 借助肝实质细胞膜上表达的代谢物特异性转运载体选择性内化到肝实质细胞内。本研究仅展示了初步的结果, 胃肠道对经口摄入PSNPs体内命运的调节作用有待深入探究。

之前的一项研究报道了Kupffer细胞对纳米颗粒的摄取存在速率饱和现象^[15], 但肝实质细胞对PSNPs的摄取还未见报道。内皮网状系统对纳米颗粒的摄取存在容量限制^[31], 与此不同, 本研究揭示肝实质细胞对PSNPs的摄取存在速率限制。然而, 这两种机制均会在肝脏中导致相似的剂量阈值现象。PSNPs是一种重要的纳米塑料, 也是研究纳米载体与生物相互作用的代表性模型。因此, 这一结果具有两方面的重要意义: 一方面, 与多次低剂量接触相比, 单次高剂量接触纳米塑料更易增加其进入体循环的风险, 进而增加纳米塑料在其他器官的积累, 诱发多器官损伤; 另一方面, 基于速率饱和现象开发的策略可减少肝脏对口服纳米药物的清除作用, 增加到达靶器官的纳米颗粒数量, 提升治疗效果。

本研究主要通过免疫荧光定性分析了PSNPs在肝脏细胞中的分布情况, 缺乏PSNPs分布的具体细胞数量或百分比定量数据, 需进一步量化以准确比较不同暴露途径下PSNPs分布的细胞差异; 此外, 本研究通过改变PSNPs粒径及肝门静脉注射初步探究了PSNPs细胞特异性分布的原因, 指出PSNPs在胃肠道中的转运过程可能介导了经口摄入PSNPs在肝实质细胞中的聚集, 需进一步对上述推测进行验证。

* * *

作者贡献声明 李静负责论文构思、正式分析、调查研究、研究方法、可视化和初稿写作, 鲍其雪负责正式分析、调查研究、研究方法和可视化, 李泽艳负责正式分析、调查研究和研究方法, 姚于勤、伍东升、彭莉君和刘振溢负责提供资源, 李林负责数据审编、经费获取和监督指导, 张凌负责数据审编、经费获取、监督指导和审读与编辑写作。所有作者已经同意将文章提交给本刊, 且对将要发表版本进行最终定稿, 并同意对工作的所有方面负责。

Author contribution LI Jing is responsible for conceptualization, formal analysis, investigation, methodology, visualization, and writing--original draft. BAO Qixue is responsible for formal analysis, investigation, methodology, and visualization. LI Zeyan is responsible for formal analysis, investigation, and methodology. YAO Yuqin, WU Dongsheng, PENG Lijun, and LIU Zhenmi are responsible for resources. LI Lin is responsible for data curation, funding acquisition, and supervision. ZHANG Ling is responsible

for data curation, funding acquisition, supervision, and writing--review and editing. All authors consented to the submission of the article to the Journal. All authors approved the final version to be published and agreed to take responsibility for all aspects of the work.

利益冲突 本文作者刘振谧是本刊编委会编委, 张凌是本刊编委会青年编委。该文在编辑评审过程中所有流程严格按照期刊政策进行, 且未经其本人经手处理。除此之外, 所有作者均声明不存在利益冲突。

Declaration of Conflicting Interests LIU Zhenmi is a member of the Editorial Board of the journal. ZHANG Ling is a member of the Junior Editorial Board of the journal. All processes involved in the editing and reviewing of this article were carried out in strict compliance with the journal's policies and there was no inappropriate personal involvement by the authors. Other than this, all authors declare no competing interests.

参 考 文 献

- [1] LESLIE H A, Van VELZEN M J M, BRANDSMA S H, *et al.* Discovery and quantification of plastic particle pollution in human blood. *Environ Int*, 2022, 163: 107199. doi: 10.1016/j.envint.2022.107199.
- [2] LIU Z, SOKRATIAN A, DUDA A M, *et al.* Anionic nanoplastic contaminants promote parkinson's disease-associated α -synuclein aggregation. *Sci Adv*, 2023, 9(46): eadi8716. doi: 10.1126/sciadv.adi8716.
- [3] MARFELLA R, PRATTICCHIZZO F, SARDO C, *et al.* Microplastics and nanoplastics in atheromas and cardiovascular events. *N Engl J Med*, 2024, 390(10): 900-910. doi: 10.1056/NEJMoa2309822.
- [4] AMATO-LOURENÇO L F, CARVALHO-OLIVEIRA R, JÚNIOR G R, *et al.* Presence of airborne microplastics in human lung tissue. *J Hazard Mater*, 2021, 416: 126124. doi: 10.1016/j.jhazmat.2021.126124.
- [5] RAGUSA A, SVELATO A, SANTACROCE C, *et al.* Plasticenta: first evidence of microplastics in human placenta. *Environ Int*, 2021, 146: 106274. doi: 10.1016/j.envint.2020.106274.
- [6] THOMPSON R C, COURTENE-JONES W, BOUCHER J, *et al.* Twenty years of microplastic pollution research-what have we learned? *Science*, 2024, 386(6720): eadl2746. doi: 10.1126/science.adl2746.
- [7] WINIARSKA E, JUTEL M, ZEMELKA-WIACEK M. The potential impact of nano- and microplastics on human health: understanding human health risks. *Environ Res*, 2024, 251(Pt 2): 118535. doi: 10.1016/j.envres.2024.118535.
- [8] TSOI K M, MACPARLAND S A, MA X Z, *et al.* Mechanism of hard-nanomaterial clearance by the liver. *Nat Mater*, 2016, 15(11): 1212-1221. doi: 10.1038/nmat4718.
- [9] TREFTS E, GANNON M, WASSERMAN D H. The liver. *Curr Biol*, 2017, 27(21): 1147-1151. doi: 10.1016/j.cub.2017.09.019.
- [10] LI J, CHEN C, XIA T. Understanding nanomaterial-liver interactions to facilitate the development of safer nanoapplications. *Adv Mater*, 2022, 34(11): e2106456. doi: 10.1002/adma.202106456.
- [11] VINKEN M, HENGSTLER J G. Characterization of hepatocyte-based in vitro systems for reliable toxicity testing. *Arch Toxicol*, 2018, 92(10): 2981-2986. doi: 10.1007/s00204-018-2297-6.
- [12] DOU L, SHI X, HE X, *et al.* Macrophage phenotype and function in liver disorder. *Front Immunol*, 2019, 10: 3112. doi: 10.3389/fimmu.2019.03112.
- [13] SUN X D, YUAN X Z, JIA Y, *et al.* Differentially charged nanoplastics demonstrate distinct accumulation in arabidopsis thaliana. *Nat Nanotechnol*, 2020, 15(9): 755-760. doi: 10.1038/s41565-020-0707-4.
- [14] LIU B, NGUYEN P L, YU H, *et al.* Honey vesicle-like nanoparticles protect aged liver from non-alcoholic steatohepatitis. *Acta Pharm Sin B*, 2024, 14(8): 3661-3679. doi: 10.1016/j.apsb.2024.05.002.
- [15] OUYANG B, POON W, ZHANG Y N, *et al.* The dose threshold for nanoparticle tumour delivery. *Nat Mater*, 2020, 19(12): 1362-1371. doi: 10.1038/s41563-020-0755-z.
- [16] JI G, MA L, YAO H, *et al.* Precise delivery of obeticholic acid via nanoapproach for triggering natural killer T cell-mediated liver cancer immunotherapy. *Acta Pharm Sin B*, 2020, 10(11): 2171-2182. doi: 10.1016/j.apsb.2020.09.004.
- [17] XU M, QI Y, LIU G, *et al.* Size-dependent in vivo transport of nanoparticles: implications for delivery, targeting, and clearance. *ACS Nano*, 2023, 17(21): 20825-20849. doi: 10.1021/acsnano.3c05853.
- [18] ZHANG H, GUO Y, JIAO J, *et al.* A hepatocyte-targeting nanoparticle for enhanced hepatobiliary magnetic resonance imaging. *Nat Biomed Eng*, 2023, 7(3): 221-235. doi: 10.1038/s41551-022-00975-2.
- [19] XIE D, ZHAO H, LU J, *et al.* High uric acid induces liver fat accumulation via ROS/JNK/AP-1 signaling. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2021, 320(6): 1032-1043. doi: 10.1152/ajpendo.00518.2020.
- [20] ARYAL B, PRICE N L, SUAREZ Y, *et al.* Angptl4 in metabolic and cardiovascular disease. *Trends Mol Med*, 2019, 25(8): 723-734. doi: 10.1016/j.molmed.2019.05.010.
- [21] 王潇娅, 徐庆宝, 何家全. Dusp8通过JNK/p38 MAPK通路来改善LPS诱导的巨噬细胞炎症反应. *中国生物化学与分子生物学报*, 2021, 37(2): 229-235. doi: 10.13865/j.cnki.cjbmb.2020.12.1439.
- [22] WANG X Y, XU Q B, HE J Q. DUSP8 Overexpression alleviates LPS-induced macrophage inflammatory responses through JNK/p38 MAPK pathways. *Chin J Biochem Mol Biol*, 2021, 37(2): 229-235. doi: 10.13865/j.cnki.cjbmb.2020.12.1439.
- [22] 王小年, 敖其, 黄海, 等. 双特异性磷酸酶在糖尿病肾病中的研究进展. *协和医学杂志*, 2025, 16(3): 730-738. doi: 10.12290/xyxzz.2024-0258.
- [23] WANG X N, AO Q, HUANG H, *et al.* Research progress of dual-specificity phosphatase in diabetic nephropathy. *Medical Journal of Peking Union Medical College Hospital*, 2025, 16(3): 730-738. doi: 10.12290/xyxzz.2024-0258.
- [23] WANG X X, ZHANG Y, WAN X K, *et al.* Responsive expression of maff to β -amyloid-induced oxidative stress. *Dis Markers*, 2020, 2020: 8861358. doi: 10.1155/2020/8861358.
- [24] HEUNINCK J, PERPIÑÁ VICIANO C, İŞBİLİR A, *et al.* Context-dependent signaling of Cx chemokine receptor 4 and atypical chemokine receptor 3. *Mol Pharmacol*, 2019, 96(6): 778-793. doi: 10.1124/mol.118.115477.
- [25] ZHANG L, WEI W. Anti-inflammatory and immunoregulatory effects of paeoniflorin and total glucosides of paeony. *Pharmacol Ther*, 2020, 207: 107452. doi: 10.1016/j.pharmthera.2019.107452.
- [26] XIAO Q, ZOULIKHA M, QIU M, *et al.* The effects of protein corona on in vivo fate of nanocarriers. *Adv Drug Deliv Rev*, 2022, 186: 114356. doi: 10.1016/j.addr.2022.114356.
- [27] EMILSSON G, LIU K, HÖÖK F, *et al.* The *in vivo* fate of polycatecholamine coated nanoparticles is determined by a fibrinogen enriched protein corona. *ACS Nano*, 2023, 17(24): 24725-24742. doi: 10.1021/acsnano.3c04968.
- [28] 丁天皓, 吴尔灿, 占昌友. 脂质纳米药物体内递送过程及调控机制. *药学报*, 2023, 58(8): 2283-2291. doi: 10.16438/j.0513-4870.2023-0453.
- [28] DING T H, WU E C, ZHAN C Y. *In vivo* delivery process and regulating mechanisms of lipid-based nanomedicines. *Acta Pharm Sin*, 2023, 58(8): 2283-2291. doi: 10.16438/j.0513-4870.2023-0453.
- [29] TANG H, ZHANG Y, YANG T, *et al.* Cholesterol modulates the physiological response to nanoparticles by changing the composition of protein corona. *Nat Nanotechnol*, 2023, 18(9): 1067-1077. doi: 10.1038/s41565-023-01455-7.
- [30] WU J, XING L, ZHENG Y, *et al.* Disease-specific protein corona formed in pathological intestine enhances the oral absorption of nanoparticles. *Acta Pharm Sin B*, 2023, 13(9): 3876-3891. doi: 10.1016/j.apsb.2023.02.012.
- [31] WEN P, KE W, DIRISALA A, *et al.* Stealth and pseudo-stealth nanocarriers. *Adv Drug Deliv Rev*, 2023, 198: 114895. doi: 10.1016/j.addr.2023.114895.

(2025-02-12收稿, 2025-04-17修回)

编辑 余琳



开放获取 本文使用遵循知识共享署名—非商业性使用4.0国际许可协议(CC BY-NC 4.0), 详细信息请访问

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>。

OPEN ACCESS This article is licensed for use under Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (CC BY-NC 4.0). For more information, visit <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>.

© 2025 《四川大学学报(医学版)》编辑部

Editorial Office of Journal of Sichuan University (Medical Sciences)