

[5] MAEMONDO M,INOUE A,KOBAYASHI K,et al. Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR[J]. N Engl J Med,2010,362(25): 2380-2388.

[6] 张爱丽,孙宇,徐少艳,等. 免疫组化在肺小活检中对鳞状细胞癌和腺癌的鉴别诊断意义[J]. 诊断病理学杂志, 2016,23(1):70-73.

[7] JIN G Z,DONG H,YU W L,et al. A novel panel of bio-markers in distinction of small well-differentiated HCC from dysplastic nodules and outcome values [J]. BMC Cancer,2013,13:161-171.

[8] 刘畅,蔡璐,钟殿胜,等. 免疫组化法检测 EML4-ALK 融合突变价值的 meta 分析[J]. 中国肺癌杂志,2016,19(1):38-45.

[9] JENNETTE J C,OLSON J L,SCHWARTS M M,et al. Heptinstall's pathology of the kidney[M]. 6th ed. Philadelphia:Lippincott Raven,2006:853-910.

[10] 赖英荣,刘俊峰,谢文林,等. 免疫组化方法在检测肾淀粉样变中的应用[J]. 中山大学学报(医学科学版),2014,35(6):897-900.

[11] 王艳勤,李荣山. 老年膜性肾病诊断进展[J]. 中国药物与临床,2017,17(4):529-532.

[12] OHTANI H,WAKUI H,KOMATSUDA A,et al. Distribution of glomerular IgG subclass deposits in malignancy-associated membranous nephropathy [J]. Nephrol Dial Transplant,2004,19(3):574-579.

[13] BHIMMA R,COOVADIA H M. Hepatitis B virus-associated nephropathy[J]. Am J Nephrol,2004,24(2):198-211.

[14] 高娜,王祥,黄燕萍. IgA 肾病发生及进展恶化相关机制的研究进展[J]. 中国妇幼健康研究,2015,26(5):1092-1094.

[15] HIKI Y,HORIE A,YASUDA Y,et al. IgA nephropathy and tonsils-an approach from the structure of IgA1 produced by tonsillar lymphocytes[J]. Acta Otolaryngol Suppl,2004,124(555):28-31.

[16] 徐翠,王涛,周平. 儿童幽门螺杆菌免疫组化染色检测分析[J]. 山东大学学报(医学版),2014,52(9):81-84.

[17] 金晓霞,李巍,高辉. 有关 48 例胎盘早剥临床分析[J]. 中国实用医药,2010,5(14):130.

[18] 陈坚平,康凯夫,吴国标,等. 液基细胞学联合细胞块免疫组化检测对肺癌诊断价值研究[J]. 临床肺科杂志,2016,21(1):16-19.

[19] 马洪星. 液基细胞学联合细胞块免疫组化检测在肺癌组织诊断中的应用研究[J]. 实用中西医结合临床,2017,17(3):109-111.

[20] SHI S R,TAYLOR C R. Antigen retrieval immunohistochemistry based research and diagnostics [J]. Wiley, 2010,56(3):87-99.

[21] YAMASHITA S. pH or ionic strength of the antigen retrieval solution;a potential role for refolding during heating treatment[M]. Hoboken:John Wiley,2010:303-321.

[22] O'LEARY T J,FOWLER C B,EVERS D L,et al. Commentary: future directions [M]. Hoboken: John Wiley, 2010:323-331.

[23] CHOI Y S,YANG H I,CHO S,et al. Serum asymmetric dimethylarginine,apelin, and tumor necrosis factor-alpha levels in non-obese women with polycystic ovary syndrome[J]. Steroids,2012,77(13):1352-1358.

[24] MATTYASOVSKY S G,HOFMANN A,BROCHHAUSEN C,et al. The effect of the pro-inflammatory cytokine tumor necrosis factor-alpha on human joint capsule myofibroblasts[J]. Arthritis Res Ther,2010,12(1):R4.

[25] 张瑞瑞,冯丽萍,雍志强,等. 补肾化瘀方对 PCOS 模型大鼠中 TNF- α 表达的影响[J]. 中国药理学通报,2016,32(9):1331-1332.

[26] 郭继龙. 乌梅煎剂抑制小鼠 S180 肉瘤血管生成机理的实验研究[J]. 世界中西医结合杂志,2017,12(6):779-782.

• 综 述 •

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2018.14.052

纳米粒药物载体靶向模体在治疗肿瘤方面的研究进展

郭永川 综述,许建利,帅磊渊[△]审校
(重庆市江津区中心医院普通外科 402283)

关键词:纳米粒; 药物载体; 癌症; 靶向治疗
中图分类号:R917 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2018)14-2181-04

癌症仍然是导致人类死亡的主要原因,严重影响了人类健康。虽然过去几十年对癌症的生物学行为有了进一步的认识,并产生了一系列更好的诊断和治疗方法,但是癌症的病死率仍居高不下。有研究表明,我国 2015 年癌症的新发病例和死亡病例可能分别高达 429.2 万人和 281.4 万人^[1]。化疗药物能够

高效地杀死肿瘤细胞,但是由于缺乏特异性,致使化疗药物很难集中在肿瘤组织发挥作用,因此也产生严重的不良反应^[2]。纳米医学是随着纳米生物医药发展起来用纳米技术解决医学问题的学科,由于纳米颗粒径小、成分多变、表面功能稳定,为靶向肿瘤微环境及其相互作用提供了可能,弥补了传统化疗药物的局

[△] 通信作者,E-mail:2481515173@qq.com.

限性,为靶向肿瘤细胞提供了一个理想的平台^[3]。纳米靶向可以通过两种方式实现:被动靶向和主动靶向。本文将对目前癌症靶向纳米策略进行综述。

1 被动靶向

被动靶向是指通过减少与非靶器官、组织及细胞的非特异性相互作用来增加靶部位/非靶部位的药物水平比例^[4]。纳米粒的被动靶向功能主要是利用了肿瘤的生理学特性和组织结构异常,这些异常能够导致高渗透、长滞留效应。新生的肿瘤血管通透性大、淋巴管少,使得大分子的纳米粒滞留聚集在肿瘤微环境,浓度明显提高^[4]。只有当这些大分子没有被肾脏清除或者免疫细胞摄取,这种累积效果才能够起到治疗的作用^[3-4]。高效的纳米载体具有两个重要的特性:一是能够长时间保留在血液循环中,二是能够靶向特异性的识别组织和细胞^[3]。尽管被动靶向通过调节纳米粒的大小、形状和表面修饰等,可以实现第一点,然而,由于缺乏主动靶向,不能区分健康组织和肿瘤组织,导致治疗效果不佳、不良反应大等^[2]。

2 主动靶向

主动靶向是利用配体-受体、抗原-抗体及其他形式的分子识别方式将药物递送到特定的组织器官^[5]。主动靶向利用肿瘤过表达的受体,如叶酸受体,用于靶向治疗,能够明显地提高治疗效果并减少潜在的不良反应^[6]。下文主要阐述了与肿瘤主动靶向相关的配体,包括叶酸、转铁蛋白、寡核苷酸适配子、抗体以及多肽。

2.1 叶酸 叶酸是靶向肿瘤递送系统中使用最为广泛的配体之一^[6]。叶酸受体在多种肿瘤组织中表达上调,如宫颈癌和脑癌等,在绝大多数的正常组织中表达很低^[7-8]。所有的叶酸受体对叶酸都有高亲和力^[8]。 α 叶酸受体对 N5-甲基四氢叶酸的亲和力与对叶酸一样具有较高的亲和力,然而 β 叶酸受体对 N5-甲基四氢叶酸的亲和力比对叶酸的亲和力低 50 倍。 α 叶酸受体过表达于 40% 的肿瘤细胞,而 β 叶酸受体主要过表达于恶性造血细胞^[8]。这些受体分布的差异和对不同配体的特异性,可以用于设计基于叶酸的靶向组织选择靶向递送系统^[7]。PERES-FILHO 等^[9] 的研究表明叶酸受体靶向脂质体搭载的化疗药物,能够增加细胞的摄取和细胞毒性。实验表明,在急性髓性白血病细胞中 β 叶酸受体上调,叶酸修饰的脂质体阿霉素,在全身给药后,能够快速清除肿瘤细胞。叶酸修饰的金纳米粒也能够增强过表达叶酸受体的肿瘤细胞的摄取,进而增强了化疗药物的靶向性,提升化疗药物的疗效^[5]。此外叶酸修饰的超顺磁纳米粒和量子点在肿瘤诊断方面也有应用,LUO 等^[10] 的研究表明叶酸修饰的超顺磁氧化铁纳米粒可以协助核磁共振(MRI)对胃癌的诊断以及对程序性死亡配体-1(PD-L1)的靶向沉默作用。

2.2 转铁蛋白 转铁蛋白是一种血清糖蛋白,能够

结合于细胞表面的转铁蛋白受体,通过受体介导的内吞作用将铁离子转运到细胞内^[11]。转铁蛋白受体在恶性肿瘤细胞中表达上调,其表达可能比正常细胞高 100 倍,利用这一差异可以用于肿瘤药物的靶向递送^[12]。一些研究显示,转铁蛋白连接的脂质体能够有效地将药物递送到表达转铁蛋白受体的肿瘤细胞。机制研究表明,这些靶向脂质体是通过受体依赖的内吞途径入胞的,因而能够克服 P 糖蛋白介导的药物外排导致的耐药性^[11-12]。肺癌细胞中,转铁蛋白受体表达高于正常肺泡细胞,GUO 等^[13] 进行了转铁蛋白修饰的脂质体阿霉素在肺癌吸入治疗中的研究,结果显示转铁蛋白修饰的阿霉素可以提升阿霉素的抗癌作用。此外,一些研究表明,转铁蛋白受体靶向的聚乳酸-羟基乙酸共聚物搭载的紫杉醇,在体内外研究中均显示出了较好的抗肿瘤效果,增加了荷瘤小鼠的存活时间^[13]。

2.3 单克隆抗体 抗体能够与细胞膜上特定的抗原结合。在过去 10 多年,科学家们利用抗体作为靶向模体进行了广泛的研究。未结合的单克隆抗体在淋巴瘤、乳腺癌、结直肠癌、慢性淋巴细胞白血病等肿瘤显示出了治疗效果,并且已经广泛应用于临床^[14]。表皮生长因子受体(EGFR)在许多癌症中过表达,它能够与两种配体结合:表皮生长因子(EGF)及转化生长因子 α ,进而刺激肿瘤细胞生长与增殖^[15]。西妥昔单抗是一种嵌合人鼠单克隆抗体,通过竞争性结合 EGFR 产生抗肿瘤效果。实验显示西妥昔单抗修饰的金纳米粒能够特异性的靶向治疗 EGFR 阳性的胰腺癌和结直肠癌细胞系^[14-15]。随后将靶细胞暴露于非线性射频消融能量,通过金纳米粒产生热能将肿瘤细胞消融^[5]。人表皮生长因子受体 2(HER2)过表达于约 25% 的侵袭性乳腺癌中,但是在正常组织中表达很低^[15]。体内外实验表明,曲妥珠单抗结合的纳米粒能够特异性的靶向不同的细胞系^[12]。结合曲妥珠单抗的超顺磁氧化铁纳米粒可以用作 MRI 显像的对比增强剂,用于检测 HER2 阳性的肿瘤^[10,16]。过表达 HER2 的肿瘤在 T2 加权像显示出了增强的信号,提高癌症的检测能力。这些结果表明曲妥珠单抗结合的磁性纳米粒是一种潜在的疾病诊断试剂,可以用于乳腺癌的早期诊断^[12]。此外,除了靶向纳米粒用于疾病诊断外,研究者也探索了曲妥珠单抗用于药物递送。目前临床中针对 HER2 阳性晚期转移性乳腺癌的曲妥珠单抗和细胞毒素剂的偶联制剂 T-DM1 已经获得美国食品药品监督管理局的批准^[12,16]。

2.4 多肽 类似于抗体,多肽也能够与对应的受体相互作用,影响细胞的增殖,并且,同抗体相比,多肽的制备价格更低廉、工序更简单。精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(RGD)三肽序列,是 $\alpha 5 \beta 1$ 整合素的必要识别位点。在肿瘤细胞中,特定的整合素表达增强对于促进肿瘤转移、血管生成、增殖、迁移和侵袭非常关键,

并且参与细胞外基质的水解^[17]。整合素的过表达以及其在不同肿瘤中的重要作用,使其成为治疗干预和药物递送的靶点^[18]。RGD 能够被 24 种已知的整合素中的一半识别,并且整合素对 RGD 的识别通过晶体结构进行了确认,因此是一种十分有前景的靶向配体^[17-18]。其他高效的 RGD 类似物包括九肽 RGD、iRGD 及西仑吉肽^[17]。研究者将 9-RGD 共轭连接到纳米粒,携带阿霉素用于乳腺癌的治疗,实验表明,该药物明显提升了荷瘤小鼠的生存期^[18]。DANHIER 等^[18]将 RGD 连接到 PEG-PCL 的聚乙二醇链上,与 PEG-PLGA 一起制备成纳米粒,体外实验表明 RGD 修饰的纳米粒能够很好的结合于人脐静脉内皮细胞上的整合素。体内试验表明该纳米粒同样能够靶向治疗肿瘤血管,给予搭载紫杉的纳米后,抑制了肿瘤的生长,延长了荷瘤小鼠的生存时间。目前西仑吉肽用于治疗胶质细胞瘤,已经进入 III 期临床试验,对于许多其他肿瘤也进入了 II 期临床试验,在这些病例中,西仑吉肽作为一种高效的整合素拮抗剂发挥作用^[19]。此外,与激素相关的癌症,比如前列腺癌、乳腺癌等,高表达黄体生成素释放激素类似物受体同其他的细胞毒性药物或者药物递送系统进行偶联,可以用于癌症的靶向治疗^[20]。多肽配体中,RGD 研究最多,除了前面提及的两种配体,其他还包括生长抑素、蛙皮素及血管肽等,也可以用作靶向治疗的模体^[17,19]。

2.5 寡核苷酸适配子 寡核苷酸适配子是单链 DNA 或者 RNA 寡核苷酸,可以折叠成为二级、三级三维结构,使其能够和特异的生物靶点结合,主要是与蛋白质结合。针对特异靶点的适配子,是通过“指数富集配体系统进化”的方法进行筛选的^[21]。该方法是首先制备大量随机的单链 DNA 和单链 RNA 序列库,然后将这些适配子暴露于靶分子,并筛选出能够特异性结合的适配子,最后通过聚合酶链式反应进行富集。同抗体之类的靶向模体相比,寡核苷酸适配子具有许多潜在的优势。该核酸适配子可以化学合成,因此可以大规模生产,成本低,批次之间差异小。由于适配子中加入了骨架,使其更耐受热、更稳定。这些特性,使其在纳米粒制备过程中,能够承受不同的实验条件;合成后,可以在常温下运输,并长期保存而保持稳定^[22]。最后,同抗体相比,适配子更小(<10 kDa),更容易穿透肿瘤组织。FAROKHZAD 等^[23]首次报道 A10 RNA 适配子能够识别前列腺特异性膜抗原的胞外域,他们使用该适配子偶联的纳米粒用于药物递送。同非靶向纳米粒相比,使用该适配子修饰的纳米粒靶向递送多西他赛,其明显增强了体外细胞毒性。DHAR 等^[24]报告了类似的策略,使用靶向前列腺特异性膜抗原(PSMA)的适配子靶向纳米粒包裹铂(IV),用于前列腺癌的治疗。其他学者发现,利用配体靶向纳米粒,进行双药靶向递送抗肿瘤治疗,能够增强抗肿瘤效果,并最小化剂量相关毒性^[21-22]。

YU 等^[25]使用 PSMA 靶向 RNA 适配子制备一种靶向超顺磁氧化铁纳米粒,并载有多柔比星化疗药,具有诊断和治疗疾病两种功能。除了 A10 RNA 适配子外,还有针对表皮生长因子受体的适配子,靶向核仁的适配子(AS1411),靶向 MUC1 蛋白的适配子等^[24,26],这些适配子可能在其他肿瘤的诊疗中扮演重要作用。

3 小 结

目前,癌症的治疗手段多种多样,包括手术治疗、放疗、化疗及生物治疗等,但是,到目前为止还没有哪种治疗手段可以完全取代其他治疗方法,这说明每种治疗手段都各有利弊。纳米医学是随着纳米生物医药发展起来用纳米技术解决医学问题的学科,由于纳米粒具有粒径小、成分多变、表面功能稳定等特点,为靶向肿瘤微环境及其相互作用提供了可能。事实上,肿瘤靶向纳米载体已被用于肿瘤的早期诊断、治疗,甚至治疗后随访,具有广阔的应用前景。由于被动靶向治疗效果差,具有一定的盲目性,因此,主动靶向治疗显得尤为重要。本文综述了目前一些最为重要的主动靶向策略,如基于单克隆抗体的靶向模体对靶向受体具有高选择性和高亲和力,但是由于体内使用单克隆抗体的时候会产生免疫反应,这在一定程度上限制了单克隆抗体的应用。多肽和抗体非常类似,能够干扰肿瘤细胞的配体-受体相互作用,其经历了单功能靶向、双功能靶向、肿瘤穿透以及环境相应型靶向等发展过程。而寡核苷酸适配子具有免疫原性弱的特点,可以由化学物质合成,使其在体内高度稳定,并且寡核苷酸适配子可以靶向许多的靶点,包括生物大分子、有毒分子等。对于像转铁蛋白、叶酸这类靶向配体,可以靶向肿瘤细胞过度表达的转铁蛋白受体、叶酸受体,进而发挥抗肿瘤效应。虽然以上肿瘤主动靶向均有各自的优点,但是,到目前为止,仍未有最佳的靶向策略公布,每种策略都有其相应的弊端,还需要进一步的研究加以完善。也许可以采用组合策略来提高药物递送的准确性,为更为有效的个性化治疗奠定基础。

参考文献

- [1] CHEN W, ZHENG R, BAAD P D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- [2] WAGNER A D, SYN N L, MOEHLER M, et al. Chemotherapy for advanced gastric cancer[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2017, 8: CD004064.
- [3] MIR M, ISHTIAQ S, RABIA S, et al. Nanotechnology: from in vivo imaging system to controlled drug delivery[J]. Nanoscale Res Lett, 2017, 12(1): 500.
- [4] BUSTOS RHC, SANCHEZ M, DOMINGUEZ M A, et al. Nanotechnology in neurosciences: an approach[J]. Curr Pharm Des, 2017, 23(28): 4154-4169.

- [5] BEIK J, KHADEMI S, ATTARAN N, et al. A nanotechnology based strategy to increase the efficiency of cancer diagnosis and therapy: folate conjugated gold nanoparticles[J]. *Curr Med Chem*, 2017, 24(39): 4399-4416.
- [6] TAN H, HUANG Y, XU J, et al. Spider toxin peptide lyso-cosin-i functionalized gold nanoparticles for in vivo tumor targeting and therapy[J]. *Theranostics*, 2017, 7(12): 3168-3178.
- [7] CAI L, YU R, HAO X, et al. Folate Receptor-targeted Bioflavonoid Genistein-loaded Chitosan Nanoparticles for Enhanced Anticancer Effect in Cervical Cancers[J]. *Nanoscale Res Lett*, 2017, 12(1): 509.
- [8] GUO J, SCHLICH M, CRYAN J F, et al. Targeted Drug Delivery via Folate Receptors for the Treatment of Brain Cancer: Can the Promise Deliver[J]. *J Pharm Sci*, 2017, 106(12): 3413-3420.
- [9] PERES-FILHO M J, DOS SANTOS A P, NASCIMENTO T L, et al. Antiproliferative activity and VEGF expression reduction in MCF7 and PC-3 cancer cells by paclitaxel and imatinib co-encapsulation in folate-targeted liposomes[J]. *AAPS PharmSciTech*, 2017, 19(1): 201-212.
- [10] LUO X, PENG X, HOU J, et al. Folic acid-functionalized polyethylenimine superparamagnetic iron oxide nanoparticles as theranostic agents for magnetic resonance imaging and PD-L1 siRNA delivery for gastric cancer[J]. *Int J Nanomedicine*, 2017, 12: 5331-5343.
- [11] KAWABATA H, SAKAMOTO S, MASUDA T, et al. Roles of transferrin receptors in erythropoiesis[J]. *Rinsho Ketsueki*, 2016, 57(7): 951-958.
- [12] YANG D, YANG X, LEE R J, et al. Liposomes incorporating transferrin and stearic acid-modified octa-arginine for siRNA delivery[J]. *Anticancer Res*, 2017, 37(4): 1759-1764.
- [13] GUO Y, WANG L, LV P, et al. Transferrin-conjugated doxorubicin-loaded lipid-coated nanoparticles for the targeting and therapy of lung cancer[J]. *Oncol Lett*, 2015, 9(3): 1065-1072.
- [14] SHEPARD H M, PHILLIPS G L, D THANOS C, et al. Developments in therapy with monoclonal antibodies and related proteins[J]. *Clin Med (Lond)*, 2017, 17(3): 220-232.
- [15] MANIVASAGAN P, BHARATHIRAJA S, SANTHA MOORTHY M, et al. Anti-EGFR antibody conjugation of fucoidan-coated gold nanorods as novel photothermal ablation agents for cancer therapy[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2017, 9(17): 14633-14646.
- [16] OGHABIAN M A, JEDDI-TEHRANI M, ZOLFAGHARI A, et al. Detectability of Her2 positive tumors using monoclonal antibody conjugated iron oxide nanoparticles in MRI[J]. *J Nanosci Nanotechnol*, 2011, 11(6): 5340-5344.
- [17] CHEN K, CHEN X. Integrin targeted delivery of chemotherapeutics[J]. *Theranostics*, 2011, 1: 189-200.
- [18] DANHIER F, VROMAN B, LECOUTURIER N, et al. Targeting of tumor endothelium by RGD-grafted PLGA-nanoparticles loaded with paclitaxel[J]. *J Control Release*, 2009, 140(2): 166-173.
- [19] NALKIRAN H S, MCDONALD K L. Is neuroglial antigen 2 a potential contributor to cilengitide response in glioblastoma? [J]. *J Cancer Res Ther*, 2017, 13(2): 329-336.
- [20] COHEN-TANNOUDJI J, AVET C, GARREL G, et al. Decoding high Gonadotropin-releasing hormone pulsatility: a role for GnRH receptor coupling to the cAMP pathway? [J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2012, 3: 107.
- [21] WAN J, YE L, YANG X, et al. Cell-SELEX based selection and optimization of DNA aptamers for specific recognition of human cholangiocarcinoma QBC-939 cells[J]. *Analyst*, 2015, 140(17): 5992-5997.
- [22] LEE J H, YIGIT M V, MAZUMDAR D, et al. Molecular diagnostic and drug delivery agents based on aptamer-nanomaterial conjugates[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2010, 62(6): 592-605.
- [23] FAROKHZAD O C, JON S, KHADEMHOSEINI A, et al. Nanoparticle-aptamer bioconjugates: a new approach for targeting prostate cancer cells[J]. *Cancer Res*, 2004, 64(21): 7668-7672.
- [24] DHAR S, GU F X, LANGER R, et al. Targeted delivery of cisplatin to prostate cancer cells by aptamer functionalized Pt(IV) prodrug-PLGA-PEG nanoparticles[J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2008, 105(45): 17356-17361.
- [25] YU M K, KIM D, LEE I H, et al. Image-guided prostate cancer therapy using aptamer-functionalized thermally cross-linked superparamagnetic iron oxide nanoparticles[J]. *Small*, 2011, 7(15): 2241-2249.
- [26] ILKHANI H, SARPARAST M, NOORI A, et al. Electrochemical aptamer/antibody based sandwich immunosensor for the detection of EGFR, a cancer biomarker, using gold nanoparticles as a signaling probe[J]. *Biosens Bioelectron*, 2015(74): 491-497.

(收稿日期: 2017-12-26 修回日期: 2018-02-23)