

长循环纳米粒与肿瘤的细胞靶向研究进展

张诗琴, 孙 燕(广东潮州第一八八医院 药剂科 潮州 515600)

摘要:可用作抗肿瘤药物研究中的载药纳米粒包括脂质体、聚合物胶束、脂复合物及一些聚合物。为保证纳米粒的成功靶向,需要延长其在血液中的循环时间。长循环纳米粒可以达到这一效果,其最常用的修饰聚合物是聚乙二醇(PEG)。这一类聚合物可以将粒子表面隐藏起来,从而“躲过”单核吞噬细胞系统(MPS)的吸收和血浆蛋白的调理,增加在血液中的循环时间,达到缓释的效果。与此同时,纳米粒在到达病理靶部位时,将采取一定方式裂解、释药或直接与肿瘤细胞结合并内化,达到控释效果,起到相应的治疗作用,本文就长循环纳米粒靶向肿瘤细胞这方面的相关研究做一综述。

关键词:长循环;纳米;脂质体;PEG;肿瘤;主动靶向

中图分类号:R944 **文献标识码:**A **文章编号:**1006-3765(2009)-06-0015-03

抗肿瘤药物的靶向给药可以提高癌症治疗指数,减少副作用,增加患者的依从性。早期的脂质体可以达到比较好的效果,已经进入临床应用^[1]。但由于其易于被 MPS 清除,且包裹率也不是很理想,直接导致了长循环纳米粒的出现。长循环纳米粒性能更为稳定,循环半衰期更长,可在肿瘤部位富集^[2]。最常用的聚合物包膜是聚乙二醇(PEG),利用 PEG 对纳米粒子进行表面修饰,可以减少 MPS 的吸收,增加在血液中的滞留时间^[3]。然而,增加纳米粒子在血液中的半衰期以达到缓释效果和要求在肿瘤部位富集药物达到控释效果似乎总是不能两全,长循环纳米粒在达到肿瘤部位时往往不能顺利的裂解、释药或与肿瘤细胞结合内化。因此,在此基础上,产生了新一代的主动靶向长循环纳米粒,包括生物敏感性长循环纳米粒、配体靶向长循环纳米粒^[4]。在 PEG 对纳米粒进行表面修饰的基础之上,利用配体与肿瘤部位高表达的受体进行结合,可以达到较好的主动靶向作用,能够穿过肿瘤血管壁外渗到肿瘤组织间隙,在肿瘤部位富集,与肿瘤细胞结合,胞外释药或经内化作用进入胞内释药,达到杀伤肿瘤细胞,发挥药物疗效的作用。具备长循环与配体靶向功能的纳米粒靶向细胞是本文的关注焦点。

1 肿瘤组织生理特性

大多数实体瘤的病理生理特征与正常组织器官相比有显著差别:具体表现为肿瘤组织血管生长迅速,外膜细胞缺乏,基底膜变形,淋巴管道回流系统缺损,大量血管渗透性调节剂(缓激肽、血管内皮生长因子、NO、前列腺素和基质金属蛋白酶等)的生成^[5]。这些病理生理方面的变化一方面有利于迅速增长的肿瘤组织获取大量营养物质和氧气。同时这也导致了肿瘤血管渗透性的增加,进而产生了 EPR 效应(enhanced permeability and retention effect)。大分子药物、药物载体如纳米粒等可以穿透肿瘤缺损的血管内皮进入肿瘤组织,并且富集在肿瘤组织中,一般认为分子量大于 50kD 的分子或与其相当的粒子有明显的 EPR 效应^[6]。EPR 效应也为长循环纳米粒的被动靶向提供了理论基础。

2 普通长循环纳米粒

长循环纳米粒粒径一般控制在 100nm 左右,并用亲水性

材料如神经节苷脂(GM1)、PEG 等进行表面修饰。在静脉注射后具备半衰期显著延长即长循环的特点,对减少肝、脾等部位巨噬细胞对药物的吞噬、提高药物靶向性、阻碍血浆蛋白对粒子的调理、延长体内循环时间等具有重要作用。将纳米粒用作药物载体,基于 EPR 效应可富集到肿瘤组织中,最终实现被动靶向肿瘤治疗的目的。目前关于 PEG 能够延长长循环纳米粒在血液中的滞留时间的作用机制还不是很清楚,基本上可以认为有以下 3 个方面^[7]:(1)PEG 在粒子表面形成的高分子隔离带可以有效阻断或者延缓血中的脂蛋白或血浆蛋白与粒子的相互作用,减少磷脂交换、聚合物包膜的破坏和溶解;(2)高分子隔离带阻断了粒子与细胞的直接作用;(3)高分子隔离带阻断或延缓了血浆蛋白在粒子表面的吸附、有效阻止了其表面的调理作用,降低了 MPS 对粒子的亲和力,达到长循环效果。以聚乙二醇-磷脂酰乙醇胺(PEG-PE)制得的聚合物胶束,粒径可控制在 7-35nm。在对小细胞肺癌的研究中发现,聚合物胶束凭借其更小的粒径,较之脂质体更易通过 EPR 效应到达肿瘤部位^[8]。但是,以 PEG 为代表的聚合物包膜,由于其空间结构的阻碍作用,在传递药物到达靶部位后可能会反过来阻止药物的释放与细胞靶向^[9,10]。

3 新型长循环纳米粒

综合肿瘤组织的生理病理特征以及长循环纳米粒的自身特性,主要应从以下几个方面考虑长循环纳米粒对肿瘤的细胞靶向:(1)粒径:长循环纳米粒在血液中可以获得更长的循环时间,凭借更小的粒径获得更大的表面积,荷载更多的药物,且有机会从毛细血管通透性较高的部位进入瘤体表层,富集在病灶部位,增加与肿瘤细胞的结合,胞外释药或内化入胞;(2)表面电荷:正电荷纳米粒能够选择性地靶向到肿瘤的新生血管内皮细胞,更有利于治疗^[11];(3)以何种方式入胞:长循环纳米粒在到达靶部位时,如何才能入胞?如果是配体靶向长循环纳米粒,PEG 膜如何裂解、脱落,暴露靶配体,并促进与靶细胞的结合、内化、释药^[12]?从以上几点出发,近年陆续出现几种新型长循环纳米粒,可以有效解决靶点释药,增加对肿瘤细胞的靶向。

3.1 生物敏感性长循环纳米粒 生物敏感因素主要包括 pH、温度、氧化还原微环境^[13-15]。

3.1.1 热敏感长循环纳米粒:在长循环纳米粒的基础上,将

作者简介:张诗琴,女,29岁,毕业学校:第一军医大学(现南方医科大学)。职称:药师。联系电话:07683819962

热敏技术引入,可以增加其靶向性,提高疗效。Maruyama等^[16]利用 GM1 修饰阿霉素热敏脂质体表面,结果表明在细胞结合、肿瘤部位靶向能力等方面,新型热敏感长循环脂质体明显优于普通长循环脂质体或热敏脂质体。但是这种方法存在的问题是,亲水性高分子材料的修饰作用由于其空间位阻作用可能会降低脂质体的热敏性靶向作用,因此在实际操作中要注意对长循环性与靶向性的综合考查。

3.1.2 pH敏感长循环纳米粒:实体瘤的病理组织部位,pH值呈现典型的酸性环境(约6.5)^[17],相应的内体和溶酶体内的pH值也要低于细胞浆的pH值^[18]。因此可利用低pH值的微环境,设计pH敏感长循环纳米粒,促使纳米粒在低pH条件下能够与核内体、溶酶体酶的融合,将包裹的药物转运至胞浆中,增加靶细胞对药物的摄取。Maruyama等^[19]制备了米托蒽醌长循环pH敏感脂质体,该脂质体到达靶部位时,低pH值的微环境使类脂成分二油酰磷脂酰乙醇胺(DOPE)降解,导致脂质体裂解、释药。进一步的动物实验表明,这种脂质体的抑瘤效果优于普通长循环脂质体。

3.1.3 光敏感长循环纳米粒:PEG修饰的纳米粒优点和缺点同样突出,其空间屏蔽作用一方面可以降低MPS对药物的调理和吞噬,另一方面却可以因为空间结构的原因在靶部位沉积,导致药物释放缓慢。而含有光敏感磷脂(bis-SorbPC)的PEG修饰纳米粒在紫外光照射下,脂质体膜的通透性可以增加200倍,释药迅速^[20]。所以光敏脂质体可以在特定光源的诱导下主动靶向给药。

3.1.4 此外,制备含有磁性颗粒的纳米粒,当其进入体内后,利用体外磁场的作用,引导其在靶部位富集,增加与细胞的结合,使诊断、治疗更为准确、迅速^[21];还有声波敏感性长循环纳米粒,在靶部位实施声振荡,可以使含敏感分子的药物在靶部位处释放,更好的增加靶细胞对药物的摄取,药物在靶部位富集^[22]。

3.2 配体靶向长循环纳米粒 在长循环纳米粒基础上,连接上配体,通过配体分子的特异性和专一性,与靶细胞表面的受体分子进行特异性结合,可通过胞外释药或内化后胞内释药过程达到细胞靶向。常用的配体分子包括抗体分子、抗体片段以及肿瘤细胞高表达受体对应的配体如叶酸等物质。

3.2.1 单克隆抗体是目前研究最为广泛的靶向长循环纳米粒配体^[23,24],具有细胞特异性,可以有效地将载有药物的纳米粒运送到靶细胞,借助抗体与靶抗原的特异性结合,细胞吞噬内化进入细胞内,有效地杀灭肿瘤细胞,规避伤及其他正常细胞。长循环纳米粒还可以克服普通免疫纳米粒子在肝脏中富集的缺点。侯新朴等^[25]制备载阿霉素的配体靶向长循环纳米粒,研究体内外寻靶、抑瘤效果。发现人膀胱癌单抗与聚乙二醇羧酸端相联,使构成的脂质体既充分发挥PEG的保护功能,延长药物在血液中滞留时间,又使单抗伸展在外部充分发挥其寻靶作用,配体靶向长循环纳米粒以单抗制导可以达到主动细胞靶向。Tao Yang等^[26]成功制备荷紫杉醇的配体靶向长循环脂质体,采用巯基化曲妥珠单抗作为配体,连接在PEG-磷脂的马来酰肼末端,结果显示,该粒子可以通过受体介导途径进入肿瘤细胞内,可以应用于高表达人表皮生

长因子受体2(HER2)的乳腺癌细胞的靶向给药。

值得注意的是,Abra等^[27]指出,配体靶向长循环纳米粒必须综合考虑靶向、长循环以及药物的装载与稳定性等多方面的平衡,才能够在肿瘤细胞靶向中起到相应的作用。

3.2.2 叶酸受体(folate receptor, FR)在多种肿瘤(如卵巢、鼻咽、子宫内膜、肾和宫颈癌等)细胞膜上有高表达和高活性^[28]。其它正常组织细胞上FR的表达和活性均低于上述肿瘤细胞。FR在多种肿瘤细胞上的高表达和高活性使之成为抗肿瘤药物靶向释放的靶点。因此,将其配体叶酸与长循环纳米粒偶合,可作为靶向肿瘤细胞的途径之一。刘敏等^[29]制备多柔比星叶酸长循环脂质体,观察对荷瘤裸鼠肿瘤生长的抑制作用。结果表明,叶酸长循环脂质体对荷瘤裸鼠具有显著的抑瘤效果。

3.2.3 转铁蛋白受体(transferring receptor, TFR)肿瘤细胞对铁离子的需求高于正常细胞,TFR在肿瘤细胞和突变细胞上高表达,且在脑组织的毛细血管内皮细胞也有较高水平表达,因此可以考虑将转铁蛋白(TF)作为特异性配体制备长循环纳米粒靶向肿瘤细胞。Eavarone DA等^[30]制备荷载阿霉素的配体靶向长循环纳米粒,将TF连接在PEG末端,结果发现阿霉素的TF-PEG纳米粒与细胞的结合情况最好,可被靶细胞吸收70%,而相应普通脂质体、长循环脂质体、普通蛋白长循环脂质体的细胞摄取率分别为54%,14%,和34%。

4 应用中存在的问题

在综合考虑靶向性、长循环、制剂稳定性等多方面因素的情况下,配体靶向长循环纳米粒可以在肿瘤细胞靶向上取得较好的效果,但是在如下几个方面还值得关注:(1)粒子表面的配体密度:配体高密度可以降低粒子表面配体分子间距离,对于开始信号转导是有利的,但是另一方面,高密度也可能影响整个纳米粒子的药动学行为,因此,在最初的处方设计和筛选中要予以关注,并适时调整。(2)体内/外稳定性差别也是配体靶向长循环纳米粒的研制过程中需要重点关注的问题。也许在体外能获得非常好的稳定性数据,但是在体内往往会因为PEG与配体的连接不稳定而迅速降解。因此,在具体的处方筛选和优化过程中,要综合考虑载药量、半衰期、粒径、稳定性等诸如多方面因素,同时也要关注体内和体外微环境的差别,实验室条件和工业化放大生产之间的距离,争取能够早日将这项极具应用前景的技术临床推向临床。

参考文献

- [1] Dmitri B. Kirpotin, Daryl C. Drummond, Yi Shao. Antibody Targeting of Long-Circulating Lipidic Nanoparticles Does Not Increase Tumor Localization but Does Increase Internalization in Animal Models [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(13): 6732-6740.
- [2] Allen TM, Cullis PR. Drug delivery systems: entering the mainstream [J]. *Science*, 2004, 303(5665): 1818-1822.
- [3] Woodle MC, Lasic DD. Sterically stabilized liposomes [J]. *Biochim Biophys Acta*. 1992, 1113(2): 171-199.
- [4] Noble CO, Kirpotin DB, Hayes ME, et al. Development of ligand-targeted liposomes for cancer therapy [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2004, 8(4): 335-353.
- [5] Maeda H. The enhanced permeability and retention(EPR)effect in tu-

- mor vasculature; the key role of tumor-selective macromolecular drug targeting [J]. *Adv Enzyme Regul*, 2001, 41:189.
- [6] H. Maeda, J. Wua, T. Sawaa. Tumor vascular permeability and the EPR effect in macromolecular therapeutics: a review [J]. *Journal of Controlled Release*, 2000, 65:271-284.
- [7] 邓英杰. 脂质体技术 [M]. 人民卫生出版社, 2007, 271.
- [8] Anatoly NL, Vladimir PT. Micelles from lipid derivatives of water-soluble polymers as delivery systems for poorly soluble drugs [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2004, 56:1273-1289.
- [9] R. L. Hong, C. J. Huang, Y. L. Tseng, et al. Direct comparison of liposomal doxorubicin with or without polyethylene glycol coating in C-26 tumor-bearing mice; is surface coating with polyethylene glycol beneficial [J]. *Clin. Cancer Res*. 1999, 5:3645-3652.
- [10] J. W. Holland, C. Hui, P. R. Cullis, et al. Poly(ethylene glycol) lipid conjugates regulate the calcium-induced fusion of liposomes composed of phosphatidylethanolamine and phosphatidylserine [J]. *Biochemistry*, 1996, 35:2618-2624.
- [11] Birgit Krasnici S, Werner A, Eichhorn ME, et al. Effect of the surface charge of liposomes on their uptake by angiogenic tumor vessels [J]. *Int. J. Cancer*, 2003, 105:561-567.
- [12] Romberg, Wim E. Hennink, Gert Storm. Sheddable Coatings for Long-Circulating Nanoparticles [J]. *Pharmaceutical Research*, 2008, 25(1):55-71.
- [13] D. Shenoy, S. Little, R. Langer, et al. Poly(ethylene oxide)-modified poly(beta-amino ester) nanoparticles as a pH-sensitive system for tumor-targeted delivery of hydrophobic drugs; part 2. In vivo distribution and tumor localization studies [J]. *Pharmaceutical Research*, 2005, 22(12):2107-2114.
- [14] D. Shenoy, S. Little, R. Langer, M. Amiji, Poly(ethylene oxide)-modified poly(beta-amino ester) nanoparticles as a pH-sensitive system for tumor-targeted delivery of hydrophobic drugs. 1. in vitro evaluations [J]. *Mol Pharmacol*, 2005, 2(5):357-366.
- [15] D. B. Shenoy, M. M. Amiji. Poly(ethylene oxide)-modified poly-(epsilon-caprolactone) nanoparticles for targeted delivery of tamoxifen in breast cancer [J]. *Int J Pharm*, 2005, 293(12):261-270.
- [16] Maruyama K, Unezaki S, Takahashi N, et al. Enhanced delivery of doxorubicin to tumor by long-circulating thermosensitive liposomes [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1993, 1149(2):209-216.
- [17] P. Vaupel, F. Kallinowski, P. Okunieff. Blood flow. Oxygen and nutrient supply, and metabolic microenvironment of human tumors: a review [J]. *Cancer Res*, 1989, 49(23):6449-6465.
- [18] Srinivas Ganta, Harikrishna Devalapally, Aliasgar Shahiwala, et al. A review of stimuli-responsive nanocarriers for drug and gene delivery [J]. *Journal of Controlled Release*, 2008, 126:187-204.
- [19] Maruyama K, Ishida O, Takizawa T, et al. Possibility of active targeting to tumor tissues with liposomes [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 1999, 40:89-120.
- [20] Bruce Bondurant, Anja Mueller, David F. O'Brien. Photoinitiated destabilization of sterically stabilized liposomes [J]. *Biochimica et Biophysica Acta(BBA) - Biomembranes*, 2001, 1511(1):113-122.
- [21] José L. Arias, M. Adolfin Ruiz, Visitación Gallardo, et al. Tefafur loading and release properties of magnetite/poly(alkylcyano-acrylate) (core/shell) nanoparticles [J]. *Journal of Controlled Release*, 2008, 125:50-58.
- [22] Bisby RH, Mead C, Morgan CG. Wavelength-programmed solute release from photosensitive liposomes [J]. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000, 276(1):169-73.
- [23] Park JW, Hong K, Kirpotin DB, et al. Anti-HER2 immunoliposomes: enhanced efficacy attributable to targeted delivery [J]. *Clin Cancer Res*, 2002, 8:1172-1181.
- [24] Wang SC, Zhang L, Hortobagyi GN, et al. Targeting HER2: recent developments and future directions for breast cancer patients [J]. *Semin Oncol*, 2001, 28:21-29.
- [25] 侯新朴, 张宇峰, 谢蜀生, 等. 第三代载药免疫脂质体及体内外寻靶研究 [J]. *药学报*, 2001, 36(7):539-542.
- [26] Tao Yang, Min-Koo Choi, Fu-De Cui, et al. Preparation and evaluation of paclitaxel-loaded PEGylated immunoliposome [J]. *Journal of Controlled Release*, 2007, 120:169-177.
- [27] Abra RM, Bankert RB, Chen F, et al. The next generation of liposome delivery systems: recent experience with tumor-targeted, sterically-stabilized immunoliposomes and active-loading gradients [J]. *J Liposome Res*, 2002, 12:1-3.
- [28] Sudimack J, Lee RJ. Targeted drug delivery via the folate receptor [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2000, 41(2):147-162.
- [29] 刘敏, 潘俊, 姚明. 多柔比星叶酸脂质体对 HeLa229 荷瘤裸鼠的抑瘤作用 [J]. *中国医药工业杂志*, 2007, 38(2):97-101.
- [30] Eavarone DA, Yu X, Bellamkonda RV. Targeted drug delivery to C6 glioma by transferrin-coupled liposomes [J]. *J Biomed Mater Res*, 2000, 51(1):10-4.

《海峡药学》月刊, 逢月末出版