

· 前沿与进展 ·

ADVANCES IN
PHARMACEUTICAL SCIENCES

RNA 药物递送系统抗三阴性乳腺癌的研究进展

刘恺悦^{1,2}, 李亚平³, 王爱萍^{1*}, 郎天群^{2**}

(1. 烟台大学药学院, 山东 烟台 264003; 2. 临港实验室, 上海 200031; 3. 中国科学院上海药物研究所, 上海 201203)

[摘要] 三阴性乳腺癌 (TNBC) 作为最具侵袭性的乳腺癌亚型, 具有复发率高、死亡率高、治疗方法少等特点。核糖核酸干扰 (RNA interference, RNAi) 疗法可高效地调控靶标基因及相关下游通路, 与化疗药物等联合应用, 能够显著改善 TNBC 治疗效果, 对基因调控和疾病治疗有重要意义。然而, RNA 作为药物易被核酸酶降解、易被免疫系统识别及难以进行跨膜运输, 因此设计靶向药物递送系统是 RNA 药物开发的重要目标。通过对抗 TNBC 的 RNA 药物递送系统进行综述并对其未来发展方向进行展望, 以期为 RNA 药物的研发提供参考, 促进 RNA 药物临床转化。

[关键词] RNA; 三阴性乳腺癌; 药物递送系统**[中图分类号]** R979.1**[文献标志码]** A**[文章编号]** 1001-5094 (2024) 05-0378-12

DOI: 10.20053/j.issn1001-5094.2024.05.006

Research Progress of RNA Drug Delivery System
Against Triple Negative Breast CancerLIU Kaiyue^{1,2}, LI Yaping³, WANG Aiping¹, LANG Tianqun²

(1. School of Pharmacy, Yantai University, Shandong 264005, China; 2. Lingang Laboratory, Shanghai 200031, China; 3. Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201203, China)

[Abstract] Triple negative breast cancer (TNBC) as the most aggressive subtype of breast cancer, is characterized by high recurrence rate, high mortality, and few treatment methods. RNA interference (RNAi) therapy can efficiently regulate target genes and related downstream pathways, and combined with chemotherapy drugs, improving therapy of TNBC, which is of great significance for gene regulation and disease treatment. However, RNA is easily degraded by nucleases, recognized by the immune system, and is difficult to transport across membranes. Therefore, designing precise targeting drug delivery systems is an important goal in the development of RNA drugs. The paper provides a comprehensive review of the anti-TNBC RNA drug delivery system and offers insights into its future development direction, aiming to serve as a valuable reference for RNA drug research and development, as well as to facilitate the clinical translation of RNA drugs.

[Key words] RNA; triple negative breast cancer; drug delivery system

乳腺癌是我国女性发病率最高的癌症之一, 其中约 15%~20% 的乳腺癌为三阴性乳腺癌 (triple

negative breast cancer, TNBC)^[1]。TNBC 是指雌激素受体 (estrogen receptor, ER)、孕激素受体 (progesterone receptor, PR) 和人类表皮生长因子受体 2 (human epidermal growth factor receptor 2, HER-2) 均为阴性的乳腺癌类型^[2]。TNBC 通常发生于年轻女性, 其进展快、高度异质性、复发率高、易转移并且预后较差, 患者 5 年生存率低于 15%, 上述问题导致 TNBC 的临床治疗面临重重困难, 亟待解决^[3]。

目前, 针对 TNBC 已经建立基于手术治疗、放

接受日期: 2023-11-22**项目资助:** 上海市启明星项目 (扬帆专项) (No. 22YF1460500)*** 通信作者:** 王爱萍, 副教授;**研究方向:** 长效缓释制剂、经鼻脑靶向制剂等新型给药系统研究;**E-mail:** wangaipingytu@163.com**** 通信作者:** 郎天群, 青年研究员;**研究方向:** 肿瘤微环境响应性前药及智能型纳米递药系统研究;**E-mail:** langtq@lglab.ac.cn

疗、化疗、靶向治疗、新辅助治疗及免疫治疗等临床治疗策略。然而, TNBC 手术治疗不能避免肿瘤局部复发与转移; 化疗必须根据疾病的具体特征和其他患者因素进行个体化治疗^[4]; 放疗则需加强局部精细化^[5]。新辅助治疗需要联合其他治疗手段如手术治疗改善早期 TNBC 预后, 缺乏个体特异性治疗方案^[6]; 由于缺乏 ER、PR 和 HER-2 受体表达, 常规靶向治疗手段受限。随着肿瘤临床治疗手段的不断发展, 较传统疗法有更高的特异性、更广泛的靶点范围等多种优势的 RNA 疗法出现^[7]。RNA 疗法是指使用基于 RNA 的分子来治疗或预防疾病, 能够抑制涉及肿瘤细胞增殖、迁移和生存途径的基因表达, 有效降低肿瘤细胞的耐药性, 抑制晚期肿瘤的生长^[7]。RNA 治疗主要分为靶向核酸疗法、靶向蛋白质疗法以及编码蛋白质疗法^[8]。作为一种内源性机制, 靶向核酸疗法中核糖核酸干扰 (RNA interference, RNAi) 疗法是指 RNA 分子降解信使 RNA (messenger RNA, mRNA) 并阻止其翻译成蛋白质的生物学过程^[8], 主要利用小干扰核糖核酸 (small interfering RNA, siRNA) 和微小核糖核酸 (microRNA, miRNA) 进行基因沉默效应^[9]。由于 RNA 的不稳定性、负电性以及亲水性等特征, 使其难以透过细胞膜, 导致其体内应用受限。近年来, 基于聚合物、脂质以及纳米复合物等新型 RNA 递送系统发展迅速^[10], 利用这些新型递送系统包载 RNA 递送至细胞内, 可以有效防止 RNA 被循环系统中的酶降解, 实现精准主动靶向递送, 增强肿瘤细胞渗透性及减少肿瘤细胞耐药性等^[11]。

1 三阴性乳腺癌概述

1.1 三阴性乳腺癌的分子分型

TNBC 分子分型有助于确定每个亚型中新的驱动信号通路, 更好地了解 TNBC 肿瘤异质性。2021 年 Lehmann 等^[12]根据 *k* 均值聚类算法和亚型相关性分析将 TNBC 分为 5 类: 1) 间充质型 (mesenchymal, M); 2) 混合有 M 和基底样亚型 1 (basal-like-1, BL1); 3) BL1 和免疫调节型 (immunomodulatory, IM); 4) 基底样亚型 2 (basal-like-2, BL2); 5) 管样雄激素受体型 (luminal androgen receptor,

LAR)。这 5 种亚型具有不同的基因表达模式和免疫调节浸润方式。BL1 亚型参与细胞周期和细胞分裂以及 DNA 损伤反应通路的基因富集^[13]。BL2 亚型参与生长因子信号传导、糖酵解和糖异生以及肌上皮标记物表达。M 亚型在细胞运动性的基因表达中富集^[14]。LAR 亚型参与雄激素受体信号转导, 其基因本体在激素调节途径中大量富集, 包括类固醇合成、卟啉代谢等^[13]。与 BL2 和 LAR 亚型相比, BL1 和 M 亚型具有较多突变可能, 但只有 BL1 型肿瘤与存活率显著相关, 这表明标准化疗后亚型特异性长期结果存在差异; 与其他免疫浸润的 TNBC 亚型相比, M 亚型特征性地表达参与上皮间质转化基因, 而涉及抗原加工和呈递相关基因表达较低, 促使其能够逃避免疫反应, 对化疗效果有限且预后较差^[15]。该分类方法为探究 TNBC 的有效靶向治疗提供理论依据, 是标准化治疗的关键。

1.2 三阴性乳腺癌的相关信号通路和靶点

TNBC 的生长受多个信号通路的调节, Webb 等^[16]确定了 TNBC 细胞运动调节、代谢、细胞增殖、迁移和存活等 10 条主要信号通路, 如丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK) 通路、果蝇双翅边缘缺刻同源基因 (drosophila doublewing margin nicked homologous gene, Notch) 通路、磷脂酰肌醇 3-激酶 (phosphatidylinositide 3-kinases, PI3K)/蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB, 也称 AKT)/哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 信号通路等。Wang 等^[17]发现 MAPK 通路参与 TNBC 细胞系人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 的异常增殖和凋亡, 阻断瞬时受体电位异构体 3 (transient receptor potential canonical 3, TRPC3) 通道的钙离子内流能够降低 MDA-MB-231 细胞质膜中大鼠肉瘤病毒鸟苷三磷酸酶活化蛋白 4 (rat sarcoma GTPase-activating protein 4, RASA4) 的表达, 从而激活 MAPK 通路。此发现揭示了 TNBC 细胞中新的 TRPC3-RASA4-MAPK 信号级联, 因此 TRPC3 可能被用作 TNBC 的潜在治疗靶点。PI3K/AKT/mTOR 通路是参与 TNBC 化疗耐药的重要通路之一, PI3K 是来自脂质激酶家族的异二聚体分子, 由催化亚基 (p110) 和调节亚基 (p85) 组成^[18]。

PI3K 信号转导通路的激活是由生长因子或配体与许多膜相关受体酪氨酸激酶 (receptor tyrosine kinases, RTKs) 结合产生。AKT 的激活则通过结节性硬化症复合体激活下游效应子 mTOR, 促进蛋白质合成和细胞生长。PI3K/AKT/mTOR 通路对免疫细胞产生脱靶效应, 抑制免疫途径, 增强肿瘤免疫监视^[19]。除上述通路外, Notch 通路也在 TNBC 肿瘤起始和进展中起到关键作用, Notch 通路通过促进上皮细胞-间充质转化 (epithelial-mesenchymal transition, EMT) 将癌细胞扩散至次级器官, 维持肿瘤干细胞化疗耐药性。已有相关临床研究涉及用 γ 分泌酶抑制剂 (γ -secretase inhibitors, GSI) 或抗 Notch 受体的单克隆抗体靶向 Notch 通路, 这 2 种抗体是 Notch 信号通路的主要治疗靶点^[20]。GSI 通过阻止 Notch 受体的裂解来发挥作用, 进而抑制转录活性。抗 Notch 受体的单克隆抗体如他瑞妥单抗可阻断 Notch2 和 Notch3 通路, 抑制 Notch 靶基因表达, 影响肿瘤脉管系统中周细胞功能, 实现 Notch 通路的精确靶向治疗^[21]。

1.3 三阴性乳腺癌的临床治疗现状

外科手术是临床针对 TNBC 局部治疗的首选方案, 包括保乳术和全乳房切除术。手术治疗创伤明显, 手术操作可伤及周围组织血管, 增加术后并发症发生风险^[22]。TNBC 手术切除治疗效果有限, 肿瘤易复发和转移, 预后不良^[5]。化疗是 TNBC 患者接受手术治疗后的主要治疗手段, 化疗药物主要包括蒽环类、紫杉烷类和铂类药物等。对于早期手术治疗、局部晚期无法实施手术治疗患者, 可以应用新辅助化疗方案治疗, 控制患者局部病灶^[23]。由于 TNBC 基因组不稳定且突变率较高, 造成 TNBC 具有高免疫原性^[24]。免疫治疗通过分析相关基因的免疫表达, 了解其基因变化情况; 同时, 通过检测细胞表达水平, 对免疫细胞的免疫情况作出分析^[25]。靶向治疗具有定位准确、高效、低毒等优点, 信号通路上的各个节点都有可能成为药物的潜在靶点, 如 PI3K/AKT/mTOR、RTKs 信号通路相关蛋白等。TNBC 的代表性靶向治疗药物为帕博利珠单抗注射液、戈沙妥珠单抗注射液、他拉唑帕利等。TNBC 靶向治疗有较高的临床应用价值, 能够针对患者情

况, 定制个性化治疗方案^[26]。

2 抗三阴性乳腺癌的 RNA 药物

2.1 RNA 参与三阴性乳腺癌耐药机制

在长期接受化疗后, 患者逐渐产生多药耐药 (multiple drug resistance, MDR); MDR 是指癌细胞减少抗癌药物的摄取或增强抗癌药物流出现象, 具体表现为外排转运蛋白过度表达, 增强外排或减少肿瘤细胞对药物的摄取等, 造成肿瘤治疗失败^[27]。长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 已被证实是 MDR 的关键介质, lncRNA 参与多种与癌症发生和耐药性相关的细胞和基因组^[27]。如 RNA 518 (linc00518) 在 TNBC 中显著上调, linc00518 是 miR-199a 的内源竞争 RNA, 能够增加多药耐药蛋白 1 (multidrug resistance protein 1, MRP1) 靶基因的表达, 减少阿霉素 (doxorubicin, Dox)、长春新碱和紫杉醇 (paclitaxel, PTX) 等诱导的细胞凋亡, 进而增加人乳腺癌 MCF-7 细胞对 Dox 等药物耐药性^[27]。

miRNA 的异常表达会诱导细胞凋亡抵抗和细胞周期停滞, 进而促进化疗耐药。如 miR-5195-3p 在 PTX 耐药的肿瘤组织和耐药的 TNBC 细胞系中表达较低。miR-5195-3p 上调能够增强 TNBC 耐药细胞对 PTX 的敏感性^[28]。

10~12 个环状核糖核酸 (circular RNA, circRNA) 是包括肝癌和其他癌症在内的许多疾病的潜在生物标志物。circRNA 是 miRNA 的抑制因子, 如 circ CDR1as 竞争性抑制 miR-7, 进一步调节细胞周期蛋白 E1 并促进乳腺癌细胞, 特别是 TNBC 细胞对化疗药物 5-氟尿嘧啶的耐药性^[29]。针对 RNA 分子对 MDR 相关蛋白的表达调控机制进行研究, 可以为解决 TNBC 耐药问题提供新方向。

2.2 RNA 抗三阴性乳腺癌的优势

基因突变率高是 TNBC 有效治疗的根本障碍。靶向抑制癌基因表达是癌症治疗中最重要的策略之一, RNA 疗法在抑制癌细胞中基因异常过表达及沉默蛋白质等方面显示出巨大的潜力。RNA 抗 TNBC 的优势可归纳为以下 5 点: 1) 对靶标具有高度特异性^[30]。siRNA 与 RNA 诱导沉默复合物 (RNA-induced

silencing complex, RISC) 结合并激活 RISC, 激活的 RISC 与靶基因编码区的特定区域结合并诱导靶基因降解。2) 替换 RNA 序列可进行模块化的开发^[31]。RNA 序列设计具有模块化, 可在 5' 端添加不同的功能模块。3) 药代动力学和药效学的可预测性^[31]。目前, 已逐步建立了在体内外分析 RNA 药物的药代动力学和药效学方法。4) 与抗体或蛋白质药物开发相比更具有经济性^[30]。蛋白质由质粒中的基因合成, 而后对蛋白质表达和纯化进行优化, 与之相比, RNA 可在寡核苷酸合成仪中合成, 可针对不同蛋白质或基因定制 RNA 分子。5) RNA 药物相对安全, 多数 RNA 参与转录、加工及翻译, 不改变机体基因组^[31]。与 DNA 和病毒载体相比, mRNA 不会插入基因组, 只是瞬时表达编码蛋白。

2.3 RNA 抗三阴性乳腺癌面临的挑战

未经修饰或载体包载的 RNA 进入体内发挥作用的过程会面对多重障碍。首先, RNA 易被核酸酶降解, 经由肾排出^[31]。RNA 进入血液后, 一部分被人体血液和组织液中大量存在的核糖核酸酶降解。另一部分 RNA 进入肾小球, 肾小球提供了物理过滤屏障, 可以使水和小分子进入新生尿液中, 而大分子保留在循环中; 肾小球滤过屏障的孔径约为 8 nm, RNA 如 siRNA 长度约为 7~8 nm, 直径约为 2~3 nm, 可被肾小球清除。被肾小球清除后的 RNA 在膀胱中积聚, 并在几分钟至半小时内迅速从体内排出, 进而阻止了其在靶组织或细胞中的积累^[32]。其次, RNA 易被免疫系统识别, 在体内的生物分布不理想。外源 RNA 具有免疫原性, 可被单核吞噬系统或网状内皮系统摄取, 进而主要分布在肝组织中, 影响 RNA 的血液循环时间及生物分布^[32]。此外, 具有负电性的 RNA 不易与血浆蛋白结合, 通常不具备特定器官和组织的靶向性^[33]。

RNA 带有负电荷且相对分子质量较大, 加上实体瘤血管系统混乱、结构差、分支多且在肿瘤中分布不均匀, 这些都影响 RNA 药物的积累和渗透^[34]。同时, RNA 进入目标组织后也很难进行跨膜运输, 即使进入靶细胞后也难以从内涵体逃逸。与正常组织相比, 较高的肿瘤间质液压力抑制了肿瘤间质空间的跨膜运输; 此外, RNA 不易通过被动扩散

穿过阴离子细胞膜^[35], 必须依赖细胞表面蛋白介导的内吞进入细胞^[34]。绝大部分 RNA 即便进入细胞后仍滞留在内体/溶酶体中, 只有相当少部分 RNA 能从内体/溶酶体中逃逸进入细胞质^[33]。上述问题给 RNA 体内递送提出巨大的挑战, 因此开发新型 RNA 递送系统显得尤为重要, 成为 RNA 药物改善 TNBC 治疗效果的关键因素。

3 抗三阴性乳腺癌的 RNA 药物递送系统

新型 RNA 药物递送系统 (drug delivery system, DDS) 包括病毒载体和非病毒载体 (见图 1)。病毒载体具有较高的基因转染能力, 但出于安全考虑, 病毒载体的使用受到限制。除病毒载体外, 毒性低、免疫反应低、易于大量制备的非病毒载体如基于聚合物的纳米颗粒、基于脂质的纳米颗粒和无机纳米颗粒等其他非病毒载体已被用于递送 RNA。

3.1 病毒载体

病毒载体是对病毒基因组进行操作和改造, 使其携带外源基因和相关基因元件, 并被包装成病毒颗粒^[36]。病毒载体可利用病毒的传染性将转基因递送至细胞。病毒系统具有高转染效力和治疗基因持续表达的优点; 然而, 大规模病毒生产、免疫原性、毒性和插入诱变等问题都造成其应用存在局限性^[37]。近 20 年来, 只有少数几种病毒如反转录病毒、腺病毒 (adenovirus, ADV) 及疱疹病毒 (herpesvirus, HV) 等被成功改造为基因递送载体。

Zhang 等^[38]构建了噬菌体 phi29 衍生的包装 RNA (packaging RNA, pRNA) 分子, 并组装了靶向适体的表皮生长因子受体 (epithelial growth factor receptor, EGFR) 和 X-盒结合蛋白 1 (X-box binding protein 1, XBP1) siRNA。phi29 pRNA 可作为载体携带 XBP1 siRNA, 其粒径约为 10 nm, 呈分支棘轮形状, 有利于肿瘤穿透, 其电负性可防止非特异性细胞靶向。phi29 pRNA 表现出良好的药代动力学特征, 在小鼠中具有高度延长的半衰期和出色的生物安全性, 静脉注射 16 h 后在瘤内有较强荧光信号。此外, phi29 pRNA 组装的 EGFR 靶向适体可特异性靶向 EGFR 过度表达的乳腺癌, 增强 phi29 pRNA 瘤内滞留。phi29 pRNA 可显著抑制 MDA-MB-231

细胞生长并促进化疗增敏, 和 Dox 联合治疗可进一步抑制肿瘤血管生成并下调缺氧诱导因子 1

靶标表达。上述结果表明, siRNA 与化疗药物能够协同作用, 增强基因沉默效果。



图 1 新型 RNA 药物递送系统 (本图由 Figdraw 绘制)

Figure 1 New RNA drug delivery system (by Figdraw)

3.2 聚合物纳米颗粒

聚合物纳米颗粒 (polymeric nanoparticle, PNP) 可由天然或合成材料构建, 也可由单体或预聚聚合物构建, 具有多种可能的结构和特征^[39]。PNP 最常见的形式为树枝状聚合物 (dendrimer) 和聚合物胶束 (micelle) 等^[39]。因 PNP 具有长循环、低免疫原性、不良反应小等优点, 得到了越来越多的关注, 已经成为纳米药物递送系统研究的热点。

3.2.1 树枝状聚合物 Kesharwani 等^[40] 利用聚酰胺胺 (polyamidoamine, PAMAM) 树枝状聚合物包裹 Dox、番茄红素 (lycopene, LCP) 以及凋亡抑制基因存活素 (survivin) siRNA。PAMAM 存在动态表面基团, 具有均匀分布的低多分散指数 (polymer dispersity index, PDI), 增强 Dox, LCP 及 survivin siRNA 在肿瘤部位的累积。PAMAM 疏水核心有助于包裹难溶于水的 Dox 和 LCP, 改善其

溶解性, 进而提高生物利用度; PAMAM 外围的亲水官能团帮助其与 survivin siRNA 产生静电作用形成 Dox survivin siRNA 纳米载体 (DLP /siRNA)。此外, PAMAM 外围的氨基可以通过质子海绵效应将 survivin siRNA 和 Dox 递送至细胞质, 增强抗 MDA-MB-231 细胞增殖作用。

Jain 等^[41] 制备了 Polo 样激酶 1 (polo-like kinases 1, PLK1) siRNA 即 siPLK1 与阳离子磷树枝状聚合物 (cationic phosphorus dendrimers, CPD) 和 PAMAM 结合的树枝状聚合物。CPD 与 PAMAM 协同作用增强表面电荷密度, 提供更多的表面基团用于与 siPLK1 静电作用; CPD 比 PAMAM 携带更多正电荷, 可更有效地被细胞摄取。CPD 与 PAMAM 在不同的生物条件下均可保护 siPLK1 并促进有效渗透, 进而提高 siPLK1 诱导细胞凋亡的功效, 增强抗 MDA-MB-231 细胞生长作用。

3.2.2 聚合物胶束 Dong 等^[42]将两亲性的二硬脂酰磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇 (distearoyl phosphatidyl ethanolamine polyethylene glycol, DSPE-PEG) 自组装成胶束并包裹亲脂性顺铂前药 (cisplatin prodrug, Pro-Pt), 随后通过生物矿化作用使钙离子和磷酸盐离子 CaP 在胶束表面自组装形成多孔壳, 最后利用物理吸附力和静电相互作用吸附 DNA 修复阻断剂 BRCA1 siRNA。BRCA1 siRNA 和 Pro-Pt 分别封装在胶束多孔外壳和疏水内核中, 具有极高的封装率和稳定性, 有效防止二者在循环过程中降解; DSPE-PEG 的亲水链可防止递送系统在血液循环中被血清蛋白沉淀或被核酸酶失活; 胶束的 CaP 外壳在溶酶体的酸性条件下可降解, 破裂溶酶体膜, 进而保证胶束从溶酶体中逃逸, 提高抗癌功效。

洪诗音^[43]构建了基于两性嵌段共聚物胶束的 siRNA 和 PTX 的共递送体系, 共聚物胶束上的荧光基团可追踪药物摄取情况, 实现诊疗一体化。两性嵌段共聚物胶束可稳定核-壳结构, 延长 PTX 和 siRNA 半衰期, 并通过高渗透滞留效应 (enhanced permeability and retention, EPR), 促进 PTX 和 siRNA 在肿瘤中的积累。

Zhao 等^[44]开发了新型生物相容性线性共聚物 [poly[bis(ϵ -Lys-PEI)Glut-PEG], PLEGP], 递送血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) siRNA 用于治疗 TNBC。PLEGP 将低分子量聚乙烯亚胺 (polyetherimide, PEI) 接枝到赖氨酸和戊二酸共聚物上, 形成带正电荷且可生物降解的胶束, 可有效地将 VEGF siRNA 压缩, 使得该胶束具有较高转染效率、生物相容性及 MDA-MB-231 肿瘤渗透性。与线性 PEI 相比, 接枝化 PEI 具有更高的电荷密度, 使得封装的 siRNA 循环时间延长至 24 h 以上, 有效延长 RNA 药物半衰期。

Wan 等^[45]设计了细胞穿膜肽 GALA 和半胱氨酸-精氨酸-谷氨酸-赖氨酸-丙氨酸 (cysteine-arginine-glutamic acid-lysine-alanine, CREKA) 修饰的聚乙二醇二硫键连接的 PEI 纳米颗粒, 将负载共靶向 EGFR 和含溴结构域蛋白 4 的 siRNA 递送至 TNBC 肿瘤。GALA 作为具有 30 个氨基酸残基的肽, 在中性环境中呈无规则卷曲, 酸性环境中转化为两亲

性的 α -螺旋, 与脂质膜结合协助 siRNA 进入细胞。CREKA 与沉积在肿瘤细胞外基质中的纤维蛋白凝块相结合, 增强制剂的肿瘤靶向功效。

3.3 脂质纳米颗粒

脂质纳米颗粒 (lipid nanoparticle, LNP) 是最常用的 RNA 递送载体之一, 可将亲水性分子 RNA 装载到核心。通过改变 LNP 的组成、大小、电荷和增加表面修饰可以提高 LNP 的循环时间和肿瘤细胞的摄取能力, 广泛用于 RNA 的递送。

Vaidya 等^[46]合成了含季铵化脂质 ETODO 和含邻氨基苯甲酸的脂类化合物 MEF, 可分别与 (2, 3-二油氧基丙基) 三甲基氯化铵 [(2, 3-dioleoyloxypropyl)-trimethylammonium-chloride, DOTAP] 自组装成 EDL 和 MDL 脂质纳米颗粒, 并将 survivin siRNA 运送到 TNBC 肿瘤中。ETODO 和 MEF 携带赖氨酸或精氨酸, 提高 survivin siRNA 转染效率、稳定性和抗癌活性。经过 EDL 和 MDL 治疗, 使小鼠乳腺癌 4T1 细胞停滞在 DNA 合成前期和 DNA 合成后期/分裂期, 显著降低了小鼠 4T1 肿瘤的生长速度和重量。

Liu 等^[47]构建了由树突状细胞表面受体抗细胞毒性 T 淋巴细胞相关蛋白 4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4, CTLA-4) 单抗为靶点的甘露糖修饰的 mRNA 疫苗, 将编码黏蛋白 1 (mucin protein 1, MUC1) 的 mRNA 疫苗递送至淋巴结的树突状细胞 (dendritic cell, DC), 以激活和扩大肿瘤特异性 T 细胞, 增强抗 TNBC 肿瘤免疫应答。其载体即脂质/钙/磷酸盐 (lipid/calcium/phosphate, LCP) 表面修饰的甘露糖作为 DC 上表达的甘露糖受体的配体, 促进 MUC1 mRNA 递送至 DC 的胞浆中, 进而诱导主要组织相容性复合体 I 类 (major histocompatibility complex class I, MHC-I) 限制性的 T 细胞耗竭反应; LCP 与抗 CTLA-4 单抗结合, 提高 DC 靶向递送, 显著增强抗肿瘤免疫应答。

Vaidya 等^[48]通过多功能氨基脂质 ECO、环状 RGD 肽-PEG 和分化拮抗非编码 (differentiation antagonizing non-coding RNA, DANCR) siRNA 自组装制备肿瘤靶向 RGD-PEG-ECO/siDANCR 纳米颗粒用于全身递送。ECO 与 siDANCR 发生静电络

合, 形成 ECO/siDANCR 纳米颗粒, 并通过油酸尾部的疏水性缩合和半胱氨酸残基氧化形成二硫键, 增加纳米颗粒稳定性; ECO/siDANCR 纳米颗粒不但可与聚乙二醇缀合, 改善生物相容性, 还能够与环状 RGD 肽缀合, 用于肿瘤靶向体内基因传递。ECO/siDANCR 纳米颗粒治疗荷 MDA-MB-231 和人乳腺管癌细胞 BT549 瘤裸鼠 5 周后瘤体积均小于 90 mm^3 , 显著抑制 MDA-MB-231 和 BT549 肿瘤生长。

Li 等^[49]开发了基于 LNP 系统的聚乙二醇化阳离子脂质纳米颗粒 (polyethylene glycol cationic lipid nanoparticles, pCLN), pCLN 中聚乙二醇化的阳离子脂质可有效地携带杆状病毒 IAP 重复序列 6 (baculoviral IAP repeat containing 6, BIRC6) siRNA 进而沉默人乳腺癌细胞 MDA-MB-468 中 BIRC6 的表达。pCLN 中 DOTAP 与 BIRC6 siRNA 静电相互作用形成稳定脂质纳米粒, 减少 BIRC6 siRNA 降解, pCLN 含有的二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺与聚乙二醇化磷脂协同改善血液循环时间; 此外, 通过流式细胞仪及共聚焦显微镜评估了 MDA-MB-468 细胞中 pCLN 花青素荧光染料 Cy3 siRNA 的细胞内摄取行为, 分析发现孵育 12 h 后 Cy3 siRNA 红色荧光细胞占 78.7% 且与代表溶酶体的蓝色荧光分离, 表明较多 pCLN 进入细胞, 同时 Cy3 siRNA 已从溶酶体逃逸到细胞质中。pCLN 持续治疗 6 周后荷 MDA-MB-468 裸鼠瘤体积小于 90 mm^3 , 显著抑制 MDA-MB-468 细胞的侵袭和增殖。

3.4 无机纳米颗粒

无机纳米颗粒 (inorganic nanoparticles, INPs) 具有独特的电、磁及光学特性, 其尺寸、结构及几何形状的可变性, 使其在诊断、成像和光热疗法等应用方面具有独特的优势。然而, 低溶解度和毒性问题限制了它们的临床应用。金、铁和二氧化硅等无机材料已被用于合成纳米结构材料, 用于各种药物输送和成像应用。

3.4.1 磁纳米颗粒 磁性纳米粒子 (magnetic nanoparticles, MNPs) 具有独特的超顺磁性, 允许其在外部磁场引导下进行基因靶向递送^[50]。MNPs 的磁芯如: 铁、镍、钴及它们的氧化物在一定尺寸下具有超顺磁性, 这使得核酸递送成为可能^[50]。其中,

Fe_3O_4 或 Fe_2O_3 由于其生物相容性和生物降解性, 在核磁共振造影剂、药物输送载体和热疗法方面取得了一定进展。

Whitaker 等^[51]构建了 janus 纳米颗粒 (janus-nanoparticles, jNPs), 其核心为非对称结构的超小超顺磁性氧化铁纳米颗粒 (ultrasmall superparamagnetic iron oxide nanoparticles, USPIO), jNPs 表面分别装载 DNA/RNA 和抗体; jNPs 一面具备带有阳离子聚合物 PEI 的纳米颗粒, 另一面则是加载抗体的表面, 具有模块化瞄准、有效荷载传输和靶向成像功能; jNPs 相对稳定, 有助于在临床安全的超声能量 153 kpa 下, 以超声波辐照产生的空化效应及声孔效应将功能性 DNA/RNA 递送至 MDA-MB-231 异种移植瘤; jNPs 无需阳离子微泡结合 DNA/RNA, 消除了阳离子电荷诱导补体激活以及阳离子电荷静电结合到负电荷细胞膜产生的非特异性结合风险, 实现体外安全递送 DNA/RNA。

Lu 等^[52]设计了 Fe_3O_4 涡旋纳米棒的工程磁性纳米颗粒, 该纳米棒涂有巨噬细胞膜, 负载 Dox 和 zeste 增强子同源物 2 (enhancer of zeste homolog 2, EZH2) siRNA; Fe_3O_4 纳米颗粒具有高磁灵敏度, 可通过外部磁场控制使其在 TNBC 肿瘤聚集; 该磁性涡旋纳米棒具有独特的磁性结构, 使得剩磁和矫顽力可忽略不计或减少, 减少偶极-偶极相互作用, 提高制剂稳定性; 在外场作用下, 该磁性涡旋纳米棒经历磁矩反转过程并沿场方向快速移动, 使得磁性涡旋纳米棒表现出优异的磁性, 显著提高抗肿瘤疗效并降低了全身毒性。

Yang 等^[53]制备了磁性氧化铁纳米颗粒 (iron oxide nanoparticles, IONPs), 利用两亲性非离子表面活性剂聚山梨酯 80 改善 IONPs 水溶性及阳离子均聚物聚-L-赖氨酸 (poly-L-lysine, PLL) 与 miRNA34a 的静电相互作用, 有效抑制体外 TNBC 细胞迁移和细胞程序性死亡-配体 1 表达。

3.4.2 硅纳米颗粒 硅纳米颗粒 (silica nanoparticles, SiNPs) 主要包括元素硅和二氧化硅 2 种类型的纳米颗粒, SiNPs 具有可调节的粒径、理想的生物相容性、体内生物降解性和多功能表面改性等特性^[50]。其中介孔二氧化硅纳米颗粒和多孔硅纳米颗粒是用

于 RNA 递送的常见形式。

Wu 等^[54] 构建了盘状多孔硅微粒 (porous silicon, pSi) 并在其表面包裹了 3-氨基丙基三乙氧基硅烷, 然后利用 1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱 (1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine, DOPC) 中性脂质体包载 DNA 损伤修复蛋白 Rad51 siRNA, 构建 DOPC-siRNA 脂质体, 最后用 DOPC-siRNA 脂质体填充带正电的 pSi 的纳米孔形成 PS-DOPC/siRad51 纳米颗粒。与单一结构纳米粒相比, PS-DOPC/siRad51 纳米颗粒形成的级联释药平台可克服循环障碍, 显著增强药物在 TNBC 肿瘤组织的积聚。pSi 递药分了 3 个阶段: 第 1 阶段: pSi 可优先结合到肿瘤血管系统, 保护负载的药物不被降解; 第 2 阶段: pSi 降解, DOPC-siRNA 脂质体在 TNBC 肿瘤中释放, 防止 siRad51 被核酸酶降解, 促进其被摄取至 TNBC 肿瘤细胞; 第 3 阶段: siRad51 从 DOPC-siRNA 脂质体中释放。该递送系统实现 siRad51 高效给药, 为 TNBC 提供更有效的治疗方法。

Chen 等^[55] 率先将 Dox 插入多药耐药基因 1 (multi-drug resistance gene 1, MDR-1) siRNA 的双链区形成的 MDR-1 siRNA-Dox 物理复合体, 以该复合体作为新型阴离子表面活性剂, 用于制备以 3-氨基丙基三乙氧基硅烷为共结构介导剂, 以正硅酸乙酯为无机导向剂共缩合的 MDR-1 siRNA-Dox 二氧化硅纳米颗粒; 制备 MDR-1 siRNA-Dox 二氧化硅纳米颗粒仅需约 10 min, 无需事先制备无机材料, 也无需进行药物包埋; 这种共给药系统可提高 TNBC 细胞的化疗灵敏度, 增强 Dox 杀伤作用, 进而克服了耐药现象。

3.4.3 金纳米颗粒 金纳米颗粒 (gold nanoparticle, AuNP) 具有粒径和几何形状可调节、对生物分子亲和力和高、合成和修饰简单及成本低等优点, 其核心惰性、无毒且生物相容性高^[39]。AuNP 高表面积与体积比, 可最大限度地压缩 RNA 并提高有效载体比率。AuNP 单层覆盖修饰可调节电荷和疏水性, 提高转染效率, 降低细胞毒性。

Tunç 等^[56] 设计了基于非阳离子 AuNP 的多功能载体系统 Dox-B 淋巴瘤-2 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2) siRNAs-AuNP, 用于递送 Bcl-2

siRNAs 和 Dox。3' 端硫醇修饰的 Bcl-2 siRNA 组装在 AuNP 的表面, Dox 可直接嵌入 Bcl-2 siRNA 的核酸碱基对进而引入 AuNP 体系; AuNP 递送载体无需阳离子聚合物, 提高载体生物相容性; Dox-Bcl-2 siRNAs-AuNP 表面装载高密度 Bcl-2 siRNA, 提高递送效率并减少细胞毒性; 此外, Dox 无需复杂化学修饰直接嵌入至 Bcl-2 siRNA 中, 有效抑制乳腺癌细胞增殖和迁移, 为 TNBC 治疗提供了简单高效的递送系统。

Dang 等^[57] 将 miR-34a 与光响应金纳米壳 (gold nanoshell, GNS) 结合, 在连续波或纳秒脉冲近红外光激发下可以释放束缚的 miR34a, 控制 miR34a 释放。GNS 以二氧化硅为核心, AuNP 为外壳, 是理想的等离子体载体, 使用脉冲或近红外光照射细胞以诱导 miR34a 从纳米颗粒表面释放, 有效抑制 TNBC 细胞代谢活性、增殖和迁移。

3.5 其他非病毒载体

外泌体 (exosome, Exo) 是天然的细胞外纳米囊泡, 可运输调节蛋白质和核酸等功能分子, 是细胞间通信者之一^[50]。Exo 参与免疫系统和神经系统的各种生理和病理过程; Exo 为 RNA 递送提供了低免疫原性、介导内吞作用、良好的渗透性及优异的生物相容性等独特的生物学特性, 成为合适的 RNA 递送载体^[50]。

Gong 等^[58] 通过用佛波醇 12-肉豆蔻酸酯 13-乙酸酯刺激人单核细胞白血病细胞, 增加 Exo 金属蛋白酶 15 (metalloproteinase 15, A15) 的表达并使其产生靶标特异性 Exo, 然后 A15-Exo 分别与 Dox 和胆固醇修饰的 miRNA-159 (cholesterol-modified miRNA-159, Cho-miR159) 孵育形成共递送系统。胆固醇修饰 miR159 的疏水部分, 提高其稳定性, 促进细胞内化和靶基因沉默。

Shojaei 等^[59] 从脂肪源性间充质干细胞中分离外泌体 (adipose-derived mesenchymal stem cells-exosome, ADMSC-Exo), 利用该 Exo 将 miR-381 递送至 MDA-MB-231 细胞。与间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSC) 相比, MSC 衍生的 ADMSC-Exo 具有无免疫原性、良好的扩散性及穿透组织的能力, 生物相容性更好。

Liu 等^[60]采用改良后的钙介导转染法将天冬氨酰-tRNA 合成酶-反义 RNA 1 (aspartyl-tRNA synthetase-antisense RNA 1, DARS-AS1) siRNA 递送至 Exo 中。与传统电穿孔法相比,改良后的钙介导转染法减少了对外泌体膜的损伤,提高 DARS-AS1 siRNA 稳定性,进而抑制了 TNBC 肿瘤的生长和转移。

4 结语与展望

多项研究表明, RNA 药物递送系统在抑制 TNBC 细胞增殖和肿瘤生长、抑制肿瘤侵袭和转移、抗血管生成及增强化疗疗效等方面取得了显著的成果。RNA 药物用于抗 TNBC 治疗相对于传统药物也表现出更大的应用潜力,具有可设计靶向、合成方便、瞬时沉默、靶点特异性强等优势^[32]。值得注意的是,已有载 RNA 纳米颗粒在临床试验中取得了成功。迄今为止,用于递送 RNA 的纳米颗粒如 JCXH-211, BNT114, CALAA-01, DCR-MYC 及 ALN-VSP02 等,已开始 I 期和 II 期临床试验,用于治疗多种实体癌,有望造福 TNBC 患者。

然而,目前仍有诸多因素限制了 RNA 药物递送系统抗 TNBC 的临床应用。首先, TNBC 肿瘤异质性和信号通路复杂性是 RNA 药物在临床前和临床研究之间差异的重要转化障碍。其不仅参与肿瘤的发生、进展及转移,还影响化疗耐药和不良临床结果等^[61]。其次, miRNA 缺乏靶向特异性,与靶 mRNA 的结合不完善, miRNA 可能会靶向并降解多组相似的靶 mRNA, 加剧不良反应。同时, 递送载

体所含辅料成分的安全性及毒性是决定 siRNA 治疗窗口的另一个重要因素^[62]。最后, RNA 药物实现临床应用还存在大批量制备困难、质量控制、超低温储存及运输环境等问题。RNA 递送系统尚未形成稳定可控的大规模生产供应链; RNA 递送系统如 Exo 由于内容物复杂,难以纯化,不易质控^[34]; RNA 药物极其不稳定,在室温下很快降解失效,储存条件苛刻;此外 RNA 递送系统如 LNP 还存在在低温冷冻条件下结晶而降低稳定性等问题。上述问题仍需考虑并亟待解决。

TNBC 是最具侵袭性、高耐药性且诊断较差的乳腺癌亚型。本文一方面讨论了 TNBC 的相关分子分型、PI3K/Akt/mTOR 等相关通路以及 MDR 耐药机制,为 TNBC 精准靶向治疗提供理论依据。另一方面由于 RNA 抗 TNBC 的巨大的优势和未经修饰 RNA 进入体内面对多重挑战,亟待开发递送效率高的 RNA 递送系统。随着 RNA 药物递送系统研究的深入, RNA 药物缺乏靶向特异性、生物相容性差、半衰期短、免疫原性高等问题正被逐步解决。RNA 药物具有广阔的应用前景,对 RNA 药物进行人工智能设计和精准调控,设计集靶向、示踪、与其他药物共递送于一体的多功能 RNA 药物递送系统实现协同增效是未来 RNA 药物的发展方向之一^[32]。此外,研究人员不断对 RNA 药物中 RNA 结构、稳定性和递送方法的优化,以及对个性化制剂、低制造成本以及可扩展生产等相关技术的改善,使得 RNA 药物正在发挥其作为未来 TNBC 治疗关键策略的潜力。

[参考文献]

- [1] Kim S B, Dent R, Im S A, *et al.* Ipatasertib plus paclitaxel versus placebo plus paclitaxel as first-line therapy for metastatic triple-negative breast cancer (LOTUS): a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2017, 18(10): 1360-1372.
- [2] 李清平, 王心强. 三阴性和非三阴性乳腺癌的临床病理特征及无瘤生存率对比 [J]. *中国地方病防治杂志*, 2017, 32(3): 342-343.
- [3] Lee J O, Kang M J, Byun W S, *et al.* Metformin overcomes resistance to cisplatin in triple-negative breast cancer (TNBC) cells by targeting RAD51[J/OL]. *Breast Cancer Res*, 2019, 21(1): 115[2023-12-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6805313/>. DOI: 10.1186/s13058-019-1204-2.
- [4] Newton E E, Mueller L E, Treadwell S M, *et al.* Molecular targets of triple-negative breast cancer: where do we stand?[J/OL]. *Cancers*, 2022, 14(3): 482[2023-12-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8833442/>. DOI: 10.3390/cancers14030482.
- [5] 李林容, 李炎, 孙强. 三阴性乳腺癌临床治疗进展 [J]. *协和医学杂志*, 2023, 14(1): 177-183.
- [6] 陈安莉, 沈浩元, 王舒. 三阴性乳腺癌新辅助治疗的临床研究进展 [J]. *现代肿瘤医学*, 2023, 31(3): 566-571.
- [7] Scoles D R, Minikel E V, Pulst S M. Antisense oligonucleotides: a primer[J/OL]. *Neurol Genet*, 2019, 5(2): e323[2023-12-15]. <https://>

- www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6501637/. DOI: 10.1212/NXG.000000000000323.
- [8] DeWeerd S. RNA therapies explained[J]. *Nature*, 2019, 574(7778): S2-S3.
- [9] Haque S, Cook K, Sahay G, et al. RNA-based therapeutics: current developments in targeted molecular therapy of triple-negative breast cancer[J/OL]. *Pharmaceutics*, 2021, 13(10): 1694[2023-12-15]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmc8537780/>. DOI: 10.3390/pharmaceutics13101694.
- [10] Ahmadzade T, Reid G, McKenzie D R. Fundamentals of siRNA and miRNA therapeutics and a review of targeted nanoparticle delivery systems in breast cancer[J]. *Biophys Rev*, 2018, 10(1): 69-86.
- [11] Chadar R, Afsana, Kesharwani P. Nanotechnology-based siRNA delivery strategies for treatment of triple negative breast cancer[J/OL]. *Int J Pharm*, 2021, 605: 120835[2023-12-15]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378517321006402?via%3Dihub>. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2021.120835.
- [12] Lehmann B D, Colaprico A, Silva T C, et al. Multi-omics analysis identifies therapeutic vulnerabilities in triple-negative breast cancer subtypes[J/OL]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 6276[2023-12-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8560912/>. DOI: 10.1038/s41467-021-26502-6.
- [13] Lehmann B D, Bauer J A, Chen X, et al. Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies[J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(7): 2750-2767.
- [14] He Y, Jiang Z H, Chen C, et al. Classification of triple-negative breast cancers based on immunogenomic profiling[J/OL]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1): 327[2023-12-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6310928/>. DOI: 10.1186/s13046-018-1002-1.
- [15] Mahmoud R, Ordóñez-Morán P, Allegrucci C. Challenges for triple negative breast cancer treatment: defeating heterogeneity and cancer stemness[J/OL]. *Cancers (Basel)*, 2022, 14(17): 4280[2023-12-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9454775/>. DOI: 10.3390/cancers14174280.
- [16] Webb M J, Kukard C. A review of natural therapies potentially relevant in triple negative breast cancer aimed at targeting cancer cell vulnerabilities[J/OL]. *Integr Cancer Ther*, 2020, 19: 1534735420975861[2023-12-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7705812/>. DOI: 10.1177/1534735420975861.
- [17] Wang Y, Qi Y X, Qi Z H, et al. TRPC3 regulates the proliferation and apoptosis resistance of triple negative breast cancer cells through the TRPC3/RASA4/MAPK pathway[J/OL]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11(4): 558[2023-12-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6520729/>. DOI: 10.3390/cancers11040558.
- [18] Mayer I A, Arteaga C L. The PI3K/AKT pathway as a target for cancer treatment[J/OL]. *Annu Rev Med*, 2016, 67: 11-28[2023-12-15]. <https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-med-062913-051343>. DOI: 10.1146/annurev-med-062913-051343.
- [19] O'Donnell J S, Massi D, Teng M W L, et al. PI3K-AKT-mTOR inhibition in cancer immunotherapy, redux[J/OL]. *Semin Cancer Biol*, 2018, 48: 91-103[2023-12-15]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1044579X1730113X?via%3Dihub>. DOI: 10.1016/j.semcancer.2017.04.015.
- [20] Giuli M V, Giuliani E, Screpanti I, et al. Notch signaling activation as a hallmark for triple-negative breast cancer subtype[J/OL]. *J Oncol*, 2019, 2019: 8707053[2023-12-15]. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2017.04.015>.
- [21] Yen W C, Fischer M M, Axelrod F, et al. Targeting Notch signaling with a Notch2/Notch3 antagonist (tarextumab) inhibits tumor growth and decreases tumor-initiating cell frequency[J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(9): 2084-2095.
- [22] 史源, 胡建民. 新辅助化疗联合 TNBC 手术切除治疗三阴性乳腺癌的效果[J]. *临床研究*, 2020, 28(6): 10-12.
- [23] 孙晓萌, 高社干. 三阴性乳腺癌的临床治疗现状及新进展[J]. *实用癌症杂志*, 2020, 35(6): 1037-1039.
- [24] 张恒乐, 任悦, 张晓宇. 三阴性乳腺癌治疗动向的研究进展[J]. *中国医学创新*, 2022, 19(24): 171-174.
- [25] 胡士杰. 三阴性乳腺癌治疗研究进展[J]. *中国城乡企业卫生*, 2022, 37(11): 39-41.
- [26] 边延林, 周跃鲜, 林桐, 等. 三阴性乳腺癌的精准治疗药物研究进展[J]. *中国医药工业杂志*, 2020, 51(10): 1217-1233.
- [27] Kansara S, Pandey V, Lobie P E, et al. Mechanistic involvement of long non-coding RNAs in oncotherapeutics resistance in triple-negative breast cancer[J/OL]. *Cells*, 2020, 9(6): 1511[2023-12-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7349003/>. DOI: 10.3390/cells9061511.
- [28] Chang L, Hu Z, Zhou Z Y, et al. Linc00518 contributes to multidrug resistance through regulating the MiR-199a/MRP1 axis in breast cancer[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 48(1): 16-28.
- [29] Liu M, Gong C, Xu R Y, et al. MicroRNA-5195-3p enhances the chemosensitivity of triple-negative breast cancer to paclitaxel by downregulating EIF4A2[J/OL]. *Cell Mol Biol Lett*, 2019, 24:

- 47[2023-12-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6604428/>. DOI: 10.1186/s11658-019-0168-7.
- [30] Yang W, Gu J, Wang X D, *et al.* Inhibition of circular RNA CDR1as increases chemosensitivity of 5-FU-resistant BC cells through up-regulating miR-7[J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(5): 3166–3177.
- [31] Sasso J M, Ambrose B J B, Tenchov R, *et al.* The progress and promise of RNA medicine-an arsenal of targeted treatments[J]. *J Med Chem*, 2022, 65(10): 6975–7015.
- [32] 张琼丹, 陈朝霞, 李芾瑶, 等. siRNA 纳米递送系统研究进展 [J]. *生物化学与生物物理进展*, 2022, 49(6): 1018–1035.
- [33] Gökirmak T, Nikan M, Wiechmann S, *et al.* Overcoming the challenges of tissue delivery for oligonucleotide therapeutics[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2021, 42(7): 588–604.
- [34] 李丹, 黄宇坤, 高小玲. RNA 药物递送研究进展 [J]. *药学报*, 2023, 58(3): 469–482.
- [35] Zhou Z X, Liu X R, Zhu D C, *et al.* Nonviral cancer gene therapy: delivery cascade and vector nanoproperty integration[J/OL]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2017, 115: 115–154[2023-12-15]. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2017.07.021>.
- [36] Wang J, Lu Z, Wientjes M G, *et al.* Delivery of siRNA therapeutics: barriers and carriers[J]. *AAPS J*, 2010, 12(4): 492–503.
- [37] Sayed N, Allawadhi P, Khurana A, *et al.* Gene therapy: comprehensive overview and therapeutic applications[J/OL]. *Life Sci*, 2022, 294: 120375[2023-12-15]. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2022.120375>.
- [38] Zhang L, Mu C F, Zhang T H, *et al.* Development of targeted therapy therapeutics to sensitize triple-negative breast cancer chemosensitivity utilizing bacteriophage phi29 derived packaging RNA[J/OL]. *J Nanobiotechnology*, 2021, 19(1): 13[2023-12-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7792131/>. DOI: 10.1186/s12951-020-00758-4.
- [39] Mitchell M J, Billingsley M M, Haley R M, *et al.* Engineering precision nanoparticles for drug delivery[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2021, 20(2): 101–124.
- [40] Kesharwani P, Sheikh A, Abourehab M A S, *et al.* A combinatorial delivery of survivin targeted siRNA using cancer selective nanoparticles for triple negative breast cancer therapy[J/OL]. *J Drug Deliv Sci Tec*, 2023, 80: 104164[2023-12-15]. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2023.104164>.
- [41] Jain A, Mahira S, Majoral J P, *et al.* Dendrimer mediated targeting of siRNA against polo-like kinase for the treatment of triple negative breast cancer[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2019, 107(9): 1933–1944.
- [42] Dong Y, Liao H Z, Fu H, *et al.* pH-sensitive shell-core platform block DNA repair pathway to amplify irreversible DNA damage of triple negative breast cancer[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11(42): 38417–38428.
- [43] 洪诗音. 聚合物胶束共递送紫杉醇和 siRNA 协同治疗三阴性乳腺癌的研究 [D/OL]. 长春: 吉林大学, 2024[2023-05-01]. https://kns.cnki.net/kcms2/article/abstract?v=MTbc36RhFpRSjvgy4a_86NocoiDbdunQgmQGJ-65Lz0KDr2tCg9LjSl6z0lpUHPo295MS-3CbpgEG2QVwgcDx-pZl8-c2sU3AhEhcrj_GQ-Ts6-hycOX0i1mUQc3nOAs8uzwgcSXVo=&uniplatform=NZKPT&language=CHS.
- [44] Zhao Z, Li Y K, Shukla R, *et al.* Development of a biocompatible copolymer nanocomplex to deliver VEGF siRNA for triple negative breast cancer[J]. *Theranostics*, 2019, 9(15): 4508–4524.
- [45] Wan X, Sun R Z, Bao Y, *et al.* *In vivo* delivery of siRNAs targeting EGFR and BRD4 expression by peptide-modified redox responsive PEG-PEI nanoparticles for the treatment of triple-negative breast cancer[J]. *Mol Pharm*, 2021, 18(11): 3990–3998.
- [46] Vaidya S, Mohod A, Eedara A C, *et al.* Synthesis and characterization of a new cationic lipid: efficient siRNA delivery and anticancer activity of survivin-siRNA lipoplexes for the treatment of lung and breast cancers[J/OL]. *ChemMedChem*, 2023, 18(16): e202300097[2023-12-15]. <https://chemistry-europe.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cmcd.202300097>. DOI: 10.1002/cmcd.202300097.
- [47] Liu L, Wang Y H, Miao L, *et al.* Combination immunotherapy of MUC1 mRNA nano-vaccine and CTLA-4 blockade effectively inhibits growth of triple negative breast cancer[J]. *Mol Ther*, 2018, 26(1): 45–55.
- [48] Vaidya A M, Sun Z H, Ayat N, *et al.* Systemic delivery of tumor-targeting siRNA nanoparticles against an oncogenic lncRNA facilitates effective triple-negative breast cancer therapy[J]. *Bioconj Chem*, 2019, 30(3): 907–919.
- [49] Li Y P, Tan Y N, Wen L J, *et al.* Overexpression of BIRC6 driven by EGF-JNK-HECTD1 signaling is a potential therapeutic target for triple-negative breast cancer[J/OL]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2021, 26: 798–812[2023-12-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8526501/>. DOI: 10.1016/j.omtn.2021.09.011.
- [50] Luo M H, Lee L K C, Peng B, *et al.* Delivering the promise of gene therapy with nanomedicines in treating central nervous system diseases[J/OL]. *Adv Sci (Weinh)*, 2022, 9(26): e2201740[2023-12-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9475540/>. DOI: 10.1002/adv.202201740.
- [51] Whitaker R D, Decano J L, Gormley C, *et al.* Janus USPIO modular

- platform (JUMP) for theranostic ultrasound-mediated targeted intratumoral microvascular imaging and DNA/miRNA delivery[J]. *Theranostics*, 2022, 12(18): 7646–7667.
- [52] Lu Y S, Gu F F, Ma Y W, *et al.* Simultaneous delivery of doxorubicin and EZH2-targeting siRNA by vortex magnetic nanorods synergistically improved anti-tumor efficacy in triple-negative breast cancer[J/OL]. *Small*, 2023, 19(43): e2301307[2023-12-15]. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/sml.202301307>. DOI: 10.1002/sml.202301307.
- [53] Yang S H, Son H Y, Park M, *et al.* Inhibition of PD-L1 and tumor growth in triple-negative breast cancer using a magnetic nanovector with microRNA34a[J/OL]. *Cancer Nanotechnol*, 2023, 14(1): 21[2023-12-15]. <https://cancer-nano.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12645-023-00171-0>. DOI: 10.1186/S12645-023-00171-0.
- [54] Wu Z L, Zhu L, Mai J H, *et al.* Silencing with siRNA delivered by porous silicon-based microparticle enhances the anti-cancer effect of doxorubicin in triple-negative breast cancer[J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2021, 17(12): 2351–2363.
- [55] Chen M C, Wang L, Wang F, *et al.* Quick synthesis of a novel combinatorial delivery system of siRNA and doxorubicin for a synergistic anticancer effect[J/OL]. *Int J Nanomedicine*, 2019, 14: 3557–3569[2023-12-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6526930/>. DOI: 10.2147/IJN.S198511.
- [56] Tunç C Ü, Aydin O. Co-delivery of Bcl-2 siRNA and doxorubicin through gold nanoparticle-based delivery system for a combined cancer therapy approach[J/OL]. *J Drug Deliv Sci Tec*, 2022, 74: 103603[2023-12-15]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1773224722005147?via%3Dihub>. DOI: 10.1016/J.JDDST.2022.103603.
- [57] Dang M N, Casas C G, Day E S. Photoresponsive miR-34a/nanoshell conjugates enable light-triggered gene regulation to impair the function of triple-negative breast cancer cells[J]. *Nano Lett*, 2021, 21(1): 68–76.
- [58] Gong C, Tian J, Wang Z, *et al.* Functional exosome-mediated co-delivery of doxorubicin and hydrophobically modified microRNA 159 for triple-negative breast cancer therapy[J/OL]. *J Nanobiotechnology*, 2019, 17(1): 93[2023-12-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6721253/>. DOI: 10.1186/s12951-019-0526-7.
- [59] Shojaei S, Hashemi S M, Ghanbarian H, *et al.* Delivery of miR-381-3p mimic by mesenchymal stem cell-derived exosomes inhibits triple negative breast cancer aggressiveness; an *in vitro* study[J]. *Stem Cell Rev Rep*, 2021, 17(3): 1027–1038.
- [60] Liu X L, Zhang G, Yu T Y, *et al.* Exosomes deliver lncRNA DARS-AS1 siRNA to inhibit chronic unpredictable mild stress-induced TNBC metastasis[J/OL]. *Cancer Lett*, 2022, 543: 215781[2023-12-15]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304383522002658?via%3Dihub>. DOI: 10.1016/J.CANLET.2022.215781.
- [61] Jiang K, Dong M T, Li C Y, *et al.* Unraveling heterogeneity of tumor cells and microenvironment and its clinical implications for triple negative breast cancer[J/OL]. *Front Oncol*, 2021, 11: 557477[2023-12-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8040954/>. DOI: 10.3389/FONC.2021.557477.
- [62] 卢安, 王向宇, 闫仪, 等. 小干扰 RNA 的非病毒载体: 从实验室走向临床[J]. *药学进展*, 2022, 46(4): 270–281.



[专家介绍] 王爱萍: 博士, 烟台大学药学院副教授, 硕士研究生导师; 主要从事长效缓释制剂、经鼻脑靶向制剂等新型给药系统等领域的研究。主持山东省自然科学基金项目 2 项, 山东省自然科学基金重大基础研究项目子课题 1 项, 作为骨干成员参与完成国家十一五“国家重大新药创制”项目 1 项, 973 计划项目子课题 1 项; 近 5 年获发明专利 2 项, 文章 12 篇。



[专家介绍] 郎天群: 博士, 临港实验室青年研究员, 研究团队负责人。主要从事智能型纳米递药系统的研究。担任中国抗癌协会纳米肿瘤学专业委员会青年委员, 上海市药学会基础药理学组组员。入选上海市“超级博士后”激励计划和上海市“启明星项目-扬帆专项”。在 *Adv Mater* 和 *Nat Commun* 等期刊发表论文 16 篇, 申请国家发明专利 1 项, 参与撰写英文专著 1 本。