

肿瘤微环境刺激响应聚合物纳米递药系统的研究进展

张钰, 尹少平, 徐佳楠, 李娟*

(中国药科大学药学院药剂系, 江苏 南京 210009)

[摘要] 近年来聚合物纳米递药系统在肿瘤靶向治疗中的应用非常广泛。与正常组织不同, 肿瘤组织具有低 pH、高浓度还原型谷胱甘肽、局部缺氧、大量新生血管、血流灌注不规则等特异性微环境。根据肿瘤组织微环境设计的刺激响应聚合物纳米递药系统, 可实现肿瘤部位的深层穿透, 提高肿瘤细胞的摄取, 加速胞内药物释放, 进而提高抗肿瘤效果。综述肿瘤微环境刺激响应纳米递药系统的设计与构建、体内作用机制及其在肿瘤靶向治疗中的研究现状, 为其由基础研究向临床应用转化提供一定参考。

[关键词] 肿瘤微环境; 刺激响应; 纳米载体; 靶向; 作用机制

[中图分类号] R944

[文献标志码] A

[文章编号] 1001-5094 (2018) 05-0366-09

Research Advances in Tumor Microenvironment Responsive Polymeric Nano-drug Delivery System

ZHANG Yu, YIN Shaoping, XU Jianan, LI Juan

(College of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

[Abstract] Polymeric nano-drug delivery system has been widely used for tumor targeting. The microenvironment of tumor tissues, different from normal tissues, is characterized by acidic pH, abundant glutathione (GSH), local hypoxia, extensive angiogenesis, irregular blood perfusion, etc. Polymeric nano-drug delivery system, designed on the basis of the characters of tumor microenvironment, could achieve deep penetration into tumor tissues, improved cellular uptake, accelerated intracellular drug release, thus increasing the anti-tumor efficacy. In this review, we mainly focused on the design principles and action mechanisms of tumor microenvironment responsive polymeric nano-drug delivery system, so as to provide reference for transformation from basic research to clinical practice.

[Key words] tumor microenvironment; stimuli response; nanocarrier; targeting; action mechanism

随着全球生态环境的日益恶化, 人们生活节奏的加快和工作压力的日益增大, 肿瘤的发病率和病死率逐年增加, 严重威胁着人类的健康与生命^[1]。恶性肿瘤由于易复发、易转移和易产生耐药性, 临床治疗难度较大^[2]。传统化疗药物靶向性低, 易产生不良反应, 严重限制其临床应用。纳米递药系统能增加药物溶解性、改变药物体内分布、提高药物靶向性, 从而提高治疗效果, 降低不良反应发生率, 成为肿瘤靶向治疗的研究热点。但由于体内稳定性差、肿瘤部位蓄积少、肿瘤穿透性差、细胞摄取率低和药物释放不完全, 纳米递药系统仍需不断完善, 以实现临床需求。

肿瘤组织具有较高的细胞密度、血管分布不均匀, 受肿瘤组织挤压导致血流量低于正常组织, 具有较高间质压 (interstitial fluid pressure, IFP), 阻碍药物跨越

血管壁; 肿瘤细胞间质中高含量的胶原纤维通过增加黏度阻碍纳米药物扩散, 使药物难以递送至肿瘤深层发挥疗效。根据肿瘤微环境设计的肿瘤靶向纳米递药系统能增加对肿瘤的穿透作用, 提高细胞摄取, 加速药物胞内释放, 实现肿瘤部位的高效递药, 显示出良好的治疗效果, 受到众多研究者的高度重视。本文主要从设计原理和体内作用机制 2 个方面, 综述了肿瘤微环境刺激响应纳米递药系统的研究进展, 并列出了从基础研究向临床转化的实例, 旨在为开发高效、安全、可临床应用的纳米给药系统提供理论和实验依据。

1 肿瘤微环境刺激响应聚合物纳米递药系统的设计与构建

根据肿瘤微环境设计构建的纳米递药系统能在血液循环中保持稳定, 将药物高效递送至肿瘤部位, 控制性释放药物, 减少对正常组织的不良反应, 提高治疗指数^[3]。目前研究报道的肿瘤微环境刺激响应信号包括肿瘤组织、内涵体和溶酶体的低 pH 环境, 肿瘤细胞外基质金属蛋白酶, 溶酶体酶, 线粒体生成的活性氧 (reactive

接受日期: 2017-11-16

项目资助: 国家自然科学基金 (No. 31373363); “十二五”重大新药创制专项 (No. 2015ZX09501001)

* **通讯作者:** 李娟, 教授;

研究方向: 新型药用高分子材料与靶向释药系统;

Tel: 025-83271287; **E-mail:** lijuancpu@163.com

oxygen species, ROS), 肿瘤细胞内的大量还原型谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 等 (见图 1)^[4]。

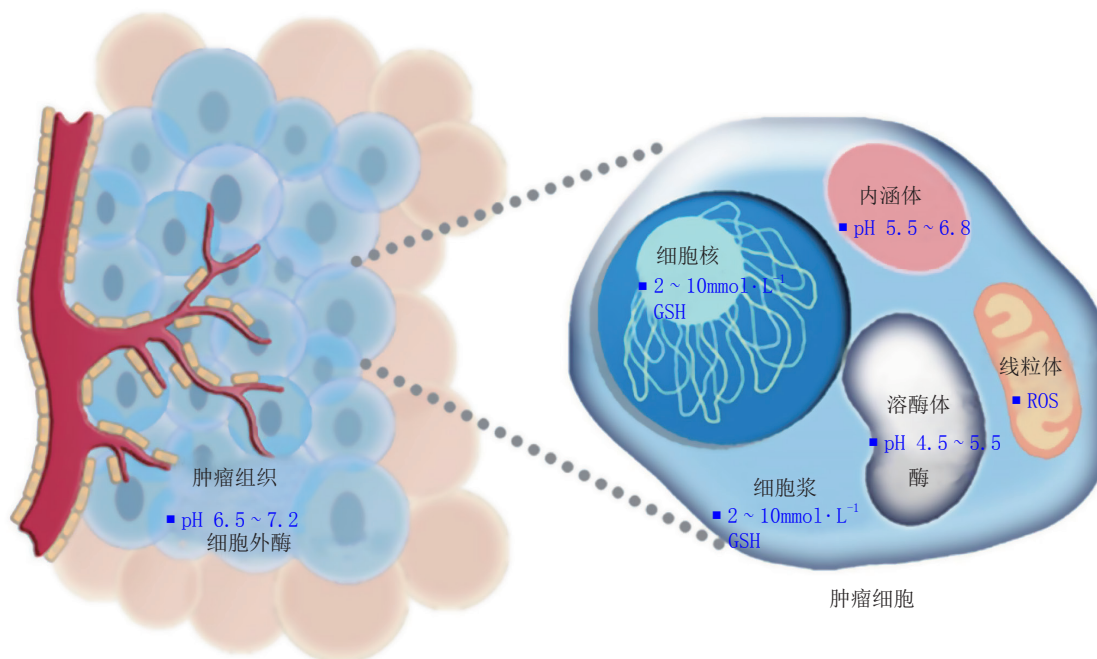


图1 肿瘤微环境刺激响应生物信号

Figure 1 Bio-signals in tumor microenvironments

1.1 pH 响应型聚合物纳米递药系统

肿瘤细胞外组织和内涵体/溶酶体的 pH 低于正常组织和血液 (pH 7.4)^[5], 因此, 利用这种 pH 的差异来设计聚合物纳米递药系统以触发释放与环境变化相关的药物。主要策略包括设计聚合物载体随 pH 改变发生构象或溶解性变化、电荷反转、质子海绵作用或化学键断裂等。

Liu 等^[6] 合成了一个 pH 敏感的嵌段共聚物聚甲基丙烯酸-聚(聚乙二醇甲基丙烯酸酯-共聚-氟硼二吡咯) [PMAA-b-p(PEGMA-coBODIPY)], 与阿霉素 (DOX) 通过静电作用自组装形成胶束, 以 PMAA/DOX 复合物作为胶束内核, PEGMA 为亲水外壳。当 pH 降低时, PMAA 的羧基质子化, 与 DOX 解离, 导致胶束结构崩塌, 加速 DOX 释放。Ju 等^[7] 设计了一个具有电荷反转能力的两性聚合物 *N*-赖氨酸基-*N*-琥珀酰基壳聚糖 (NLSC), 与聚异丙基丙烯酰胺和牛血清白蛋白 (BSA) 共同组装成多细胞传递的纳米凝胶, 能响应肿瘤微环境 pH 的改变作出相应的溶胀-收缩, 并“开关式”地控制药物释放, 逐层杀死肿瘤细胞。Chiper 等^[8] 将芳香伯胺-水杨酰胺连接至相对分子质量为 1 800 的聚乙烯亚胺 (PEI) 上, 在肿瘤组织的酸性条件下, PEI 发挥质子海绵效应, 发生内涵体逃逸, 促进核酸释放。

通过引入 pH 触发断裂的化学键是 pH 响应型纳米递药系统应用最广泛的一种策略。常用的 pH 敏感键包括苯甲基亚胺键、2,3-二甲基马来酸酐、胺键、硫代丙酸酯键、亚胺键、原酸酯键、缩酮、柠康酸酐、乙缩醛和环乙缩醛等。这些化学键可以在酸性环境下断裂, 使载体降解, 进而增加肿瘤细胞的摄取或加速药物释放。Yu 等^[9] 首先通过铜催化叠氮点击化学反应合成聚乳酸-接枝-乙醛/聚乙二醇 (PLA-g-ALD/PEG), 再通过酸敏感席夫碱基将 DOX 连接到该聚合物上, 合成刷状聚合物-药物偶联物纳米递药系统 BPDC。该纳米粒在 pH 5.5 条件下的释放速率显著快于 pH 7.4, 具有明显的 pH 敏感性。Kang 等^[10] 通过 pH 敏感胺键将 DOX 和树枝状聚轮烷结合, 构建了一种两亲性 pH 敏感的树枝状聚轮烷-药物偶联物 PR-g-DOX。该胶束在生理条件下 (pH 7.4), 未出现明显突释现象, 在酸性环境 (pH 6.0、pH 5.0) 下, DOX 释放显著加快, 能够在一定程度上逆转肿瘤细胞多药耐药性。

1.2 酶响应型聚合物纳米递药系统

肿瘤组织微环境中存在多种酶, 在肿瘤的生长、入侵和转移过程中发挥着重要作用, 其浓度和活性均远高于正常组织^[11]。针对肿瘤组织多种高浓度的酶, 如组织蛋白酶、糖苷酶、基质金属蛋白酶 (MMP)、

酯酶等,可以设计酶响应型聚合物纳米递药系统,通过改变特异性酶的表达,介导药物释放。

Wei等^[12]通过可逆加成-断裂链转移(RAFT)聚合反应将组织蛋白酶B敏感多肽(GFLGK)连接到聚[N-(2-羟丙基)甲基丙烯酰胺](HPMA)上,合成了酶敏感支化聚HPMA-阿霉素偶联物。该聚合物在水性介质中自组装成纳米粒,其动态光散射粒径为102 nm,扫描电子显微镜粒径为95 nm;能被木瓜蛋白酶和组织蛋白酶B降解为低相对分子质量产物。Chen等^[13]构建了糖苷酶触发的透明质酸(HA)共轭介孔硅纳米粒(MSP),用于递送抗肿瘤药物。该纳米粒在糖苷水解酶透明质酸酶-1(Hyal-1)作用下,降解HA,诱导药物从MSP孔中释放。Li等^[14]将抗肿瘤药物喜树碱(CPT)通过pH和酯酶响应的酯键结合到pH敏感两性离子聚合物聚羧酸甜菜碱(PCB)上,合成聚合物前药CPT-PCB。该聚合物前药与阳离子脂质材料双十二烷基二甲基溴化铵(DDAB)结合并负载针对Polo样激酶1(PLK1)的小干扰RNA(siRNA)药物(siPlk1),制备的双敏感CPT-PCB/siPlk1脂质体由于PCB在内涵体/溶酶体中发生质子化,在4 h后快速释放siRNA;聚合物前药CPT-PCB中的酯键在溶酶体中低pH和酯酶作用下缓慢释放CPT,与siPlk1协同抑制肿瘤生长,具有良好的抗肿瘤效果。

MMPs尤其是MMP2和MMP9,几乎在所有类型的人类肿瘤组织中表达,与肿瘤的发展和转移相关^[15]。利用MMPs的底物肽构建肿瘤微环境响应纳米递药系统可用于递送基因和药物。Yu等^[16]针对肿瘤微环境中MMP2和MMP9敏感的共聚物单甲氧基聚乙二醇-MMP2/9敏感连接键-聚ε-己内酯(mPEG-Pep-PCL)和叶酸(FA)受体靶向的共聚物FA-PEG-PCL,制备了一种具有长循环和靶向特性的“三明治”型MMP响应纳米粒。肿瘤微环境中该纳米载药系统的PEG外层在MMP2和MMP9诱导作用下脱离,露出主动靶头FA,促进细胞内化,加速喜树碱的胞内释放,增强抗肿瘤效果。Tu等^[17]构建了一种新型金属蛋白酶敏感纳米递送系统聚乙二醇-MMP2敏感细胞穿膜肽连接键-阿霉素(PEG-ppTAT-DOX),在肿瘤微环境MMP2作用下,去PEG化,露出TAT,穿透肿瘤细胞膜,通过溶酶体逃逸,释放药物DOX,发挥抗肿瘤效果。

1.3 ROS响应型聚合物纳米递药系统

ROS由线粒体产生,是细胞内的一类自由基,参

与多种生理和病理过程的调节,过多产生的ROS可损伤DNA、蛋白质和脂质,导致老化、神经系统损伤和肿瘤等疾病。肿瘤细胞多处基因发生突变,快速增殖和代谢率高,整个细胞处于氧化应激状态,产生过多的ROS,导致肿瘤耐药性增加^[18]。ROS响应型聚合物纳米递药系统能与ROS反应,降低细胞内ROS水平,达到治疗疾病的作用;利用ROS的响应性,还能实现细胞靶向给药,提高安全性。常见的ROS响应基团一般含有硫、硼和碲3种元素。

Qiao等^[19]引入细胞毒性肽(KLAK)构建的两亲性聚(β-硫酯)共聚物H-P-K,通过疏水作用自组装成以共聚物主链为核,PEG和KLAK为壳的胶束型纳米粒。该纳米粒能有效中断线粒体产生ROS,显示出较高的抗肿瘤活性。Ren等^[20]制备了一种由含硒醚的疏水聚氨酯段和2个亲水PEG段构成的ROS敏感的三嵌段共聚物PEG-PUSe-PEG。该共聚物组装形成的纳米粒,可在高浓度ROS作用下发生氧化断裂,10 h内累积释放药物达72%。Su等^[21]将D-α-生育酚琥珀酸聚乙二醇酯(TPGS)和HA通过芳基硼酸酯键连接制备成两亲性ROS敏感聚合物(TBH),再组装形成纳米粒。该纳米粒的芳基硼酸酯键在细胞内ROS诱导下断裂,纳米粒降解,迅速释放出TPGS和药物,TPGS和线粒体呼吸复合物II作用,不断产生ROS,以维持纳米粒持续高速降解。

1.4 还原响应型聚合物纳米递药系统

肿瘤细胞质中GSH浓度(2~10 mmol·L⁻¹)远高于细胞外GSH浓度(2~20 μmol·L⁻¹),且是正常细胞质中GSH浓度的7~10倍^[22]。二硫键是氧化还原体系中应用最广泛的化学键,可以被引入载体的骨架、侧链或作为交联剂使用,其在细胞外稳定,进入肿瘤细胞质中被GSH还原成巯基,导致纳米粒解体,快速释放荷载药物^[23]。Davoodi等^[24]将低相对分子质量的聚乙烯亚胺和聚己内酯通过二硫键偶联,构建了还原响应型聚合物纳米递送系统PEI-ss-PCL-ss-PEI。该纳米粒在还原剂GSH作用下,二硫键迅速断裂,释放出大量的DOX,发挥抗肿瘤作用。Chuan等^[25]合成了聚乙二醇-二硫键-紫杉醇(PTX)聚合物前药,并载入游离PTX,获得聚合物前药PEG-SS-PTX/PTX,其中PTX的载药量为15.7%,包封率为93.3%。该递药系统在正常条件下比较稳定,但在还原环境下则快速解组装,释放化疗药物。

二硒键也是氧化还原敏感键,具有与二硫键相似

的化学性质, 但键能更小, 敏感性更强。Li 等^[26]分别合成了含双硒键、双硫键和碳碳键的 PEG 化聚乙烯亚胺 mPEG-SeSe-PEL、mPEG-SS-PEL 和 mPEG-PEI, 用于 DNA 递送。研究发现, 相同 GSP 还原条件下, 双硒键比双硫键更易断裂, PEG 壳层能有效脱离, 载体快速逃离溶酶体, 可显著提高基因转染效率。Wang 等^[27]将含二硒键的正电性共聚物 PSe1900 与负电性聚合物脂质 PEG-PE, 通过静电吸附作用构建了含二硒键的氧化还原响应体系, 可在低浓度 H_2O_2 (质量分数为 0.1%) 或 GSH ($0.05 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 作用下发生断裂, 从而释放包裹的分子, 可见二硒键在药物控制释放领域具有潜在应用价值。

2 肿瘤微环境刺激响应聚合物纳米递药系统的体内作用机制

许多药物的作用靶点均在肿瘤细胞内的胞浆、细胞器或细胞核中, 药物由给药部位转运至肿瘤细胞内靶点需克服各级生理屏障: 从血液循环系统到达肿瘤细胞间质 (器官水平)、在肿瘤细胞间质扩散并与肿瘤细胞膜结合 (组织水平)、细胞膜转运 (细胞水平) 和胞内递送 (细胞器水平)。肿瘤组织与正常组织不同, 存在很

多异常的病理生理特性, 阻碍药物递送, 如肿瘤组织中血管分布不均匀, 受肿瘤组织挤压导致血流量低于正常组织, 具有较高的 IFP 等阻碍药物跨越血管壁; 肿瘤细胞间质中高含量的胶原纤维增加黏度, 阻碍纳米药物扩散^[28-29]。肿瘤微环境刺激响应纳米递药系统能增强肿瘤穿透性、促进细胞摄取和增加药物胞内释放, 进而提高肿瘤靶向性、抗肿瘤效果和载体安全性 (见图 2)^[30]。

2.1 增强肿瘤组织穿透性

肿瘤组织微环境中细胞密度高, 新生血管密集, 血流灌注不规则, 细胞浆间质压较高; 复杂的生理因素形成的药物递送生理屏障, 使聚合物纳米递药系统难以穿透肿瘤深入到肿瘤组织内部, 治疗范围仅局限于靠近脉管系统的肿瘤组织周边, 是肿瘤治疗效果差的关键问题之一^[31]。聚合物纳米递药系统在恶性肿瘤组织的渗透作用与纳米粒的粒径及与实体瘤周边细胞的亲和力相关。通过调节聚合物纳米递药系统的理化性质, 如粒径、表面电性、表面组成等, 可控制纳米药物载体在肿瘤中的行为, 实现其在肿瘤中的深入渗透。据文献报道, 粒径为 50 nm 的药物载体对肿瘤组织的穿透性较差, 而粒径为 10~15 nm 的药物载体从血管扩散的阻力则最小^[32]。

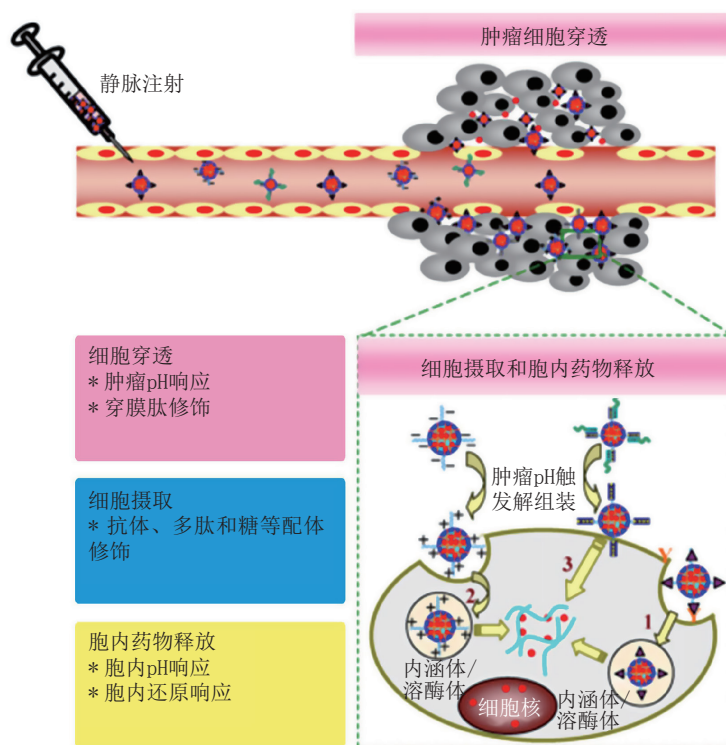


图 2 聚合物纳米递药系统实现肿瘤靶向、安全和有效治疗的新策略

Figure 2 Novel strategies of polymeric nano-drug delivery system for targeted, safe and efficient cancer therapy

pH 响应的电荷翻转类纳米载体可根据肿瘤组织的 pH 环境调节表面电性, 促进肿瘤穿透。Ju 等^[33] 设计合成了等电点为 6.0、具有电荷反转作用的 *N*-赖氨酸基-*N*-琥珀酰壳聚糖 (NLSC), 与聚 *N*-异丙基丙烯酰胺 (PNIPAM) 和 BSA 组装成可深层穿透肿瘤的纳米凝胶。该纳米凝胶进入肿瘤细胞内溶酶体/溶酶体后, 电荷翻转为正电, 粒径增大, 涨破溶酶体进入细胞浆, 后粒径减小, 可继续向肿瘤深层细胞递送, 逐层杀死肿瘤细胞, 显著提高 DOX 的肿瘤穿透能力和抑瘤效果。Yuan 等^[34] 设计合成的具有电荷翻转能力的两性离子聚合物聚己内酯-聚(磷酸丙基乙烯-巯基乙胺-琥珀二氯) [PCL-P(AEP-g-TMA/DMA)], 也可以在肿瘤组织 (pH 6.8) 翻转带正电, 与带负电的细胞膜结合, 进而增加 DOX 的肿瘤穿透能力。

利用具有深层穿透能力的配体修饰聚合物纳米递药系统是应用最广泛的增强肿瘤穿透的策略之一。Lelle 等^[35] 通过二硫键将穿膜肽 (CPP) 与 DOX 连接制备了聚合物纳米粒, 其中 CPP 介导的内吞促进纳米粒进入细胞, 增加抗肿瘤效果。Xiang 等^[36] 设计了一种用于递送 siRNA 的新型酸敏感细胞穿透肽 (activated cell-penetrating peptide, ACPP) 修饰脂质体, 其中 ACPP 由 CPP、酸敏感胺键和聚阴离子结构域 (包括谷氨酸和组氨酸) 组成。在体循环 (pH 7.4) 中, 该递送系统的 CPP 表面聚阳离子部分被屏蔽, 当处于肿瘤组织低 pH 环境时, ACPP 中胺键发生断裂, 暴露出 CPP, 促进细胞穿透。许多研究均证实, 序列为 -CRGDK/RGPD- 的环状多肽 iRGD 可穿透细胞膜, 其修饰的递药系统能够识别整合素 $\alpha\beta 3$ 受体, 靶向肿瘤部位, 经酶切作用, 露出 CRGDK/R 片段, 特异性识别肿瘤细胞高度表达的神经纤毛蛋白-1 (neuropilin-1, NRP-1) 受体, 显著提高其肿瘤组织穿透能力^[37-38]。

2.2 提高肿瘤细胞摄取

细胞摄取对于药物进入肿瘤细胞发挥疗效具有至关重要的作用。细胞摄取途径主要包括吞噬作用和胞饮作用 (见图 3)^[39]。直径大于 500 nm 的纳米粒一般是通过吞噬作用进入细胞, 直径小于 500 nm 的纳米粒则通过胞饮作用进入细胞。胞饮作用可分为网格蛋白介导的内吞作用、小窝蛋白介导的内吞作用及巨胞饮作用。影响纳米粒细胞摄取的因素包括纳米粒的粒径、表面电荷和表面修饰。表面带有正电荷的纳米粒更易通过网格蛋白介导的内吞作用进入细胞内, 也有一些

是通过巨胞饮作用; 表面带有负电荷的纳米粒则多通过小窝蛋白依赖的内吞作用进入细胞^[40]。

肿瘤细胞常过量表达某些特异性受体, 纳米递药系统经特异性配体或抗体修饰后, 能主动识别肿瘤细胞, 介导纳米粒与受体特异性结合, 促进细胞摄取。这些特异性配体的浓度、空间分布及相对分子质量均会对纳米粒的细胞摄取产生影响^[41]。单克隆抗体 (mAb) 由于其靶向的高度特异性和亲和力, 广泛用于构建肿瘤主动靶向递药系统。迄今约 30 个单抗药物被批准用于临床^[42]。常见的肿瘤及肿瘤内皮细胞表面高表达的特异性受体包括整合素受体、半乳糖受体、CD44、叶酸受体等。经环状多肽 cRGD 修饰的负载 DOX 的 PEG-PCL 胶束可特异性识别整合素受体, 显著增强肿瘤细胞摄取^[43]。Yan 等^[44] 设计了半乳糖接枝的超 pH 敏感药物载体聚原酸酯-接枝-乳酸-阿霉素 (POEAd-g-LA-DOX), 通过其胶束表面的半乳糖配体与肝癌细胞膜表面的受体结合, 介导药物载体靶向肝癌细胞, 增强了瘤内药物蓄积, 提高了抑瘤效果。Noh 等^[45] 将聚(L-赖氨酸)-羧酸酯紫杉醇 (PLL-PTX) 和透明质酸-吉西他滨偶联物 (HA-GEM) 制备成胶束, 通过其特异性识别胆管癌细胞表面 CD44, 促进肿瘤细胞摄取, 提高抗肿瘤效果。FA 受体在正常组织细胞表达较少, 而在大部分恶性肿瘤中几乎都能表达^[46]。Alibolandi 等^[47] 制备的载多西他赛的纳米粒 FA-DEX-PLGA, 在 4T1 和 MCF-7 细胞中摄取能力显著强于纳米粒 DEX-PLGA。

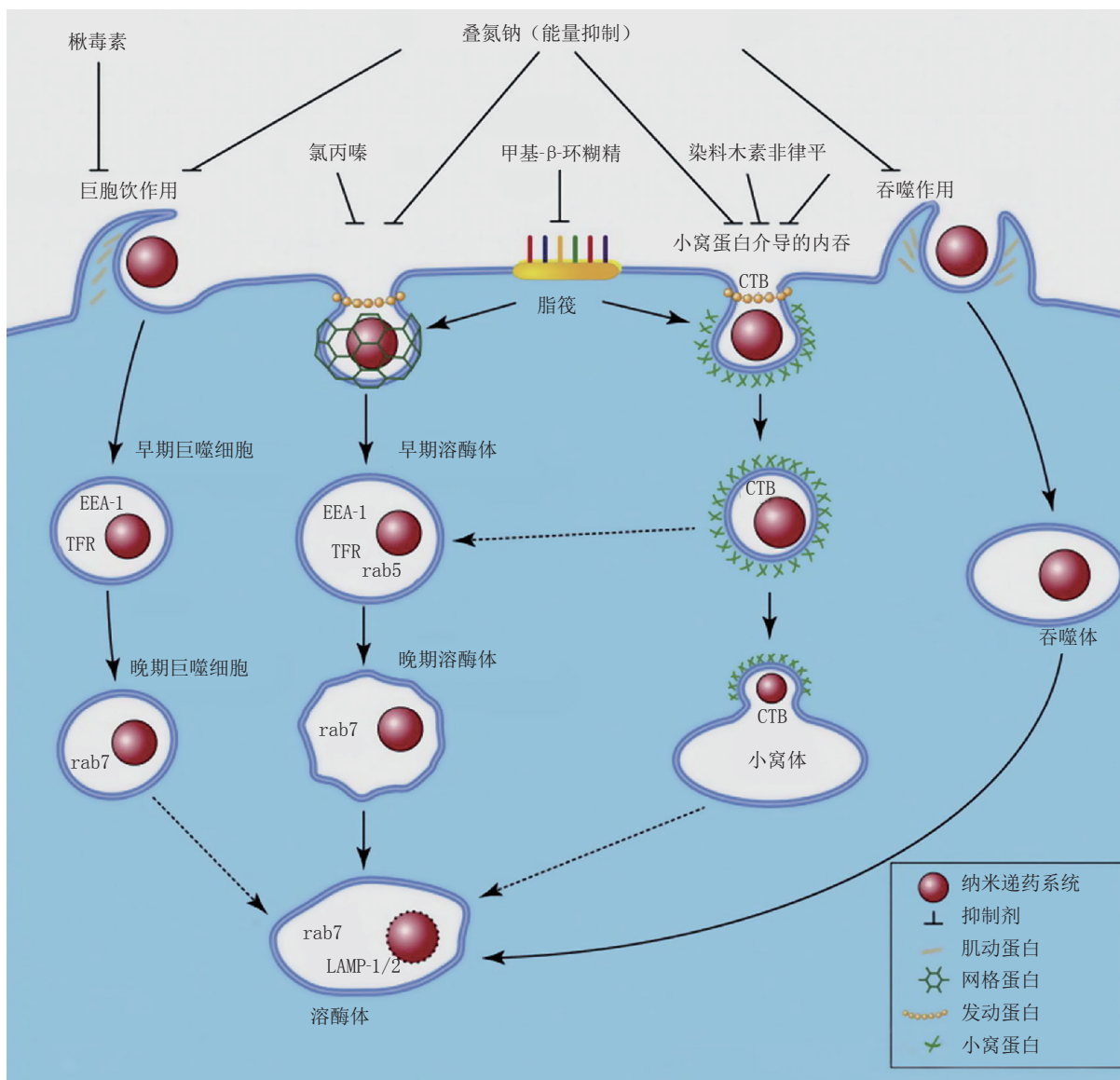
2.3 加速胞内药物释放

纳米递药系统可包载疏水性药物, 通过高通透性和滞留 (enhanced permeability and retention, EPR) 效应在肿瘤组织中蓄积, 经靶向配体修饰可实现主动靶向递送, 成为肿瘤靶向治疗的研究热点。但该递药系统仍存在一些缺陷, 如载药水平有限, 体内稳定性较差, 在肿瘤组织或细胞中的药物释放缓慢或不完全等^[48-49]。肿瘤微环境响应纳米递药系统在提高药物体内稳定性和加速药物胞内释放方面显示出独特的优势, 其中内溶酶体/溶酶体 pH 响应和还原敏感响应是最常用的 2 种设计策略^[50]。

Huang 等^[51] 将 DOX 通过胺键与丝胶蛋白共价连接合成聚合物偶联物丝胶蛋白-阿霉素 (sericin-DOX, SND), 共价连接 FA, 制备了 pH 敏感纳米粒 FA-SN。该纳米粒在酸性环境 (pH 5.0) 下其负载的 DOX 有效释放量比在中性条件 (pH 7.4) 下高 5 倍, 因其能

特异性靶向富含 FA 受体的 KB 细胞, 通过内吞进入溶酶体, 低 pH 刺激 DOX 快速释放, 发挥细胞毒性作用, 提高抗肿瘤疗效。笔者所在课题组以 HA 为主动靶头、PTX 为化疗药物, 设计构建了一种还原敏感聚合物前药 HA-ss-PTX; 通过细胞和动物实验证实该纳米递药系统在生理条件下稳定, 通过 HA 受体促进细胞摄取, 在胞内 GSH 作用下迅速降解, 加速药物释放, 提高抗

肿瘤效果和载体安全性^[52]。Wang 等^[53]基于甲氧基聚乙二醇-b-聚(6-O-甲基丙烯酸-D-吡喃半乳糖)共聚物制备的多功能聚合物胶束 mPEG-b-PMAGP-SS-DOX, 粒径为 (93±2.08) nm, 药物含量为 39.0%, 在低 pH 和高 GSH 条件下药物释放明显加快, 对 HepG2 细胞的抑制效果明显增强。



注: EEA 1: 早期内体抗原1; TFR: 转铁蛋白受体; rab: 大鼠中脑肉瘤 (ras) 相关蛋白; CTB: 霍乱毒素 β 链抗体; LAMP-1/2: 溶酶体相关膜蛋白-1/2

图3 聚合物纳米递药系统细胞内吞途径的抑制剂和标记物

Figure 3 Inhibitors and markers of each endocytic pathway of polymeric nano-drug delivery system

3 肿瘤微环境刺激响应纳米递药系统的临床应用研究

目前大部分肿瘤微环境响应纳米递药系统仍处于临床前研究,但有研究者已成功将其从实验室转化到临床应用研究,现集中于针对其急性、亚急性和慢性毒性研究,以确保产品的安全性^[54-55]。

NK012 胶束^[56]由 PEG-b-聚(L-谷氨酸)共聚物和化学药物 SN38 通过酯键偶联形成,主要用于治疗三阴性乳腺癌和小细胞肺癌。NK012 成功地将水不溶性药物 SN38 包载在大小约为 20 nm 的胶束内,载药量约为 20%;在 pH 7.3 磷酸盐缓冲液中释放迅速,在 pH 4.8 葡萄糖溶液中几乎无释放;日本和美国癌症中心进行的 NK012 I 期临床试验显示该制剂无严重的剂量依赖性毒性。K-912^[57]又称 NC-6300,是利用纳米技术开发的 DOX 前药,药物通过酸不稳定的胺键连接到聚乙二醇-b-聚天冬氨酸共聚物上。该聚合物前药在水中自组装形成大小为 40~80 nm 的胶束,具有良好的化学稳定性,通过 EPR 效应选择性地积聚在肿瘤组织,在酸性肿瘤组织中快速释放 DOX;NC-6300 的抗肿瘤功效与 NK911 相当,但心脏毒性明显降低;2013 年进行的

I 期临床研究考察了其安全性、耐受性和推荐剂量,以确定其在晚期或转移性实体肿瘤患者的临床治疗效果。

4 结语

纳米科技和高分子材料的迅速发展为肿瘤微环境刺激响应聚合物纳米递药系统的开发提供了坚实的基础,促进药物递送系统向多功能化、集成化方向发展。针对肿瘤组织的特异性,通过对纳米材料进行修饰及整合,设计和构建的多功能肿瘤微环境聚合物纳米递药系统,能增强肿瘤穿透性,提高细胞摄取,改善药物胞内释放,提高药物对肿瘤的治疗效果和载体安全性。但有关肿瘤微环境聚合物纳米递药系统的应用研究尚有许多亟待解决的问题,如聚合物纳米递药系统的入胞方式报道很少,胞内触发释药的具体部位还不明确等。环境响应聚合物纳米递药系统的研究还在不断探索中,其理论体系还需进一步地改进和完善,且离临床应用还有一定的距离。但可以相信,结合实验和临床研究,以及不同领域研究者的相互合作,成功开发出肿瘤微环境响应聚合物纳米递药系统用于肿瘤的临床治疗指日可待。

[参考文献]

- [1] Markovsky E, Baabur-Cohen H, Satchi-Fainaro R. Anticancer polymeric nanomedicine bearing synergistic drug combination is superior to a mixture of individually-conjugated drugs[J]. *J Control Release*, 2014, 187: 145-157.
- [2] Tu Y, Zhu L. Enhancing cancer targeting and anticancer activity by a stimulus-sensitive multifunctional polymer-drug conjugate[J]. *J Control Release*, 2015, 212: 94-102.
- [3] Li H J, Du J Z, Du X J, et al. Stimuli-responsive clustered nanoparticles for improved tumor penetration and therapeutic efficacy[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(15): 4164-4169.
- [4] Cheng R, Meng F, Deng C, et al. Bioresponsive polymeric nanotherapeutics for targeted cancer chemotherapy[J]. *Nano Today*, 2015, 10(5): 656-670.
- [5] Zou J, Zhang F, Zhang S, et al. Poly (ethylene oxide)-block-polyphosphoester-graft-paclitaxel conjugates with acid-labile linkages as a pH-sensitive and functional nanoscopic platform for paclitaxel delivery[J]. *Adv Health Mater*, 2014, 3(3): 441-448.
- [6] Liu X, Chen B, Li X, et al. Self-assembly of BODIPY based pH sensitive near-infrared polymeric micelles for drug controlled delivery and fluorescence imaging applications[J]. *Nanoscale*, 2015, 7(39): 16399-16416.
- [7] Ju C, Mo R, Xue J, et al. Sequential intra-intercellular nanoparticle delivery system for deep tumor penetration[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2014, 53(24): 6253-6258.
- [8] Chiper M, Tounsi N, Kole R, et al. Self-aggregating 1.8 kDa polyethylenimines with dissolution switch at endosomal acidic pH are delivery carriers for plasmid DNA, mRNA, siRNA and exon-skipping oligonucleotides[J]. *J Control Release*, 2017, 246: 60-70.
- [9] Yu Y, Chen C K, Law W C, et al. A degradable brush polymer-drug conjugate for pH-responsive release of doxorubicin[J]. *Polym Chem*, 2015, 6(6): 953-961.
- [10] Kang Y, Zhang X M, Zhang S, et al. pH-responsive dendritic polyrotaxane drug-polymer conjugates forming nanoparticles as efficient drug delivery system for cancer therapy[J]. *Polym Chem*, 2015, 6(11): 2098-2107.
- [11] Li N, Cai H, Jiang L, et al. Enzyme-sensitive and amphiphilic PEGylated dendrimer-paclitaxel prodrug-based nanoparticles for enhanced stability and anticancer efficacy[J]. *ACS Appl Mater*

- Interfaces*, 2017, 9(8): 6865-6877.
- [12] Wei X, Luo Q, Sun L, *et al.* Enzyme-and pH-sensitive branched polymer- doxorubicin conjugate-based nanoscale drug delivery system for cancer therapy[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2016, 8(18): 11765-11778.
- [13] Chen Z W, Li Z H, Lin Y H, *et al.* Bioresponsive hyaluronic acid-capped mesoporous silica nanoparticles for targeted drug delivery[J]. *Chemistry*, 2013, 19(5): 1778-1783.
- [14] Li Y, Liu R, Yang J, *et al.* Dual sensitive and temporally controlled camptothecin prodrug liposomes codelivery of siRNA for high efficiency tumor therapy[J]. *Biomaterials*, 2014, 35(36): 9731-9745.
- [15] Kessenbrock K, Plaks V, Werb Z. Matrix metalloproteinases: regulators of the tumor microenvironment[J]. *Cell*, 2010, 141(1): 52-67.
- [16] Yu H, Chen J, Liu S, *et al.* Enzyme sensitive, surface engineered nanoparticles for enhanced delivery of camptothecin[J]. *J Control Release*, 2015, 216: 111-120.
- [17] Tu Y, Zhu L. Enhancing cancer targeting and anticancer activity by a stimulus-sensitive multifunctional polymer-drug conjugate[J]. *J Control Release*, 2015, 212: 94-102.
- [18] Zorov D B, Juhaszova M, Sollott S J. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release[J]. *Physiol Rev*, 2014, 94(3): 909-950.
- [19] Qiao Z Y, Zhao W J, Cong Y, *et al.* Self-assembled ROS-sensitive polymer-peptide therapeutics incorporating built-in reporters for evaluation of treatment efficacy[J]. *Biomacromolecules*, 2016, 17(5): 1643-1652.
- [20] Ren H, Wu Y, Ma N, *et al.* Side-chain selenium-containing amphiphilic blockcopolymers: redox-controlled self-assembly and disassembly[J]. *Soft Matter*, 2012, 8(5): 1460-1466.
- [21] Su Z, Chen M, Xiao Y, *et al.* ROS-triggered and regenerating anticancer nanosystem: an effective strategy to subdue tumor's multidrug resistance[J]. *J Control Release*, 2014, 196: 370-383.
- [22] Yang X, Cai X, Yu A, *et al.* Redox-sensitive self-assembled nanoparticles based on alpha-tocopherol succinate-modified heparin for intracellular delivery of paclitaxel[J]. *J Colloid Interf Sci*, 2017, 496: 311-326.
- [23] Gaspar V M, Baril P, Costa E C, *et al.* Bioreducible poly (2-ethyl-2-oxazoline)- PLA-PEI-SS triblock copolymer micelles for co-delivery of DNA minicircles and doxorubicin[J]. *J Control Release*, 2015, 213: 175-191.
- [24] Davoodi P, Srinivasan M P, Wang C H. Synthesis of intracellular reduction-sensitive amphiphilic polyethyleneimine and poly (ϵ -caprolactone) graft copolymer for on-demand release of doxorubicin and p53 plasmid DNA[J]. *Acta Biomater*, 2016, 39: 79-93.
- [25] Chuan X, Song Q, Lin J, *et al.* Novel free-paclitaxel-loaded redox-responsive nanoparticles based on a disulfide-linked poly (ethylene glycol)-drug conjugate for intracellular drug delivery: synthesis, characterization, and antitumor activity *in vitro* and *in vivo*[J]. *Mol Pharm*, 2014, 11(10): 3656-3670.
- [26] Li, W, Du J, Zheng K, *et al.* Multifunctional nanoparticles via host-guest interactions: a universal platform for targeted imaging and light-regulated gene delivery[J]. *Chem Commun*, 2014, 50(13): 1579-1581.
- [27] Wang L, Cao W, Yi Y, *et al.* Dual redox responsive coassemblies of diselenide-containing block copolymers and polymer lipids[J]. *Langmuir*, 2014, 30(19): 5628-5636.
- [28] Quail D F, Joyce J A. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis[J]. *Nat Med*, 2013, 19(11): 1423-1437.
- [29] Overchuk M, Zheng G. Overcoming obstacles in the tumor microenvironment: recent advancements in nanoparticle delivery for cancer theranostics[J]. *Biomaterials*, 2018, 156: 217-237.
- [30] Deng C, Jiang Y, Cheng R, *et al.* Biodegradable polymeric micelles for targeted and controlled anticancer drug delivery: promises, progress and prospects[J]. *Nano Today*, 2012, 7 (5): 467-480.
- [31] Miao L, Wang Y, Huang L. Tumor microenvironment and nanodrug delivery[J]. *Nanomed-Nanotechnol*, 2016, 12(2): 452.
- [32] Cun X, Ruan S, Chen J, *et al.* A dual strategy to improve the penetration and treatment of breast cancer by combining shrinking nanoparticles with collagen depletion by losartan[J]. *Acta Biomater*, 2016, 31: 186-196.
- [33] Ju C, Mo R, Xue J, *et al.* Sequential intra-intercellular nanoparticle delivery system for deep tumor penetration[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2014, 53 (24): 6253-6258.
- [34] Yuan Y Y, Mao C Q, Du X J, *et al.* Surface charge switchable nanoparticles based on zwitterionic polymer for enhanced drug delivery to tumor[J]. *Adv Mater*, 2012, 24(40): 5476-5480.
- [35] Lelle M, Frick S U, Steinbrink K, *et al.* Novel cleavable cell-penetrating peptide-drug conjugates: synthesis and characterization[J]. *J Pept Sci*, 2014, 20(5): 323-333.
- [36] Xiang B, Jia X L, Qi J L, *et al.* Enhancing siRNA-based cancer therapy using a new pH-responsive activatable cell-penetrating peptide-modified liposomal system[J]. *Int J Nanomedicine*, 2017, 12: 2385-2405.
- [37] Teesalu T, Sugahara K N, Kotamraju V R, *et al.* C-end rule peptides

- mediate neuropilin-1-dependent cell, vascular, and tissue penetration[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106 (38): 16157-16162.
- [38] Wang K, Zhang X, Liu Y, *et al.* Tumor penetrability and anti-angiogenesis using iRGD-mediated delivery of doxorubicin-polymer conjugates[J]. *Biomaterials*, 2014, 35(30): 8735-8747.
- [39] Xiang S, Tong H, Shi Q, *et al.* Uptake mechanisms of non-viral gene delivery[J]. *J Control Release*, 2012, 158(3): 371-378.
- [40] Ribot M, von Schiller D, Marti E. Understanding pathways of dissimilatory and assimilatory dissolved inorganic nitrogen uptake in streams[J]. *Limnol Oceanogr*, 2017, 62(3): 1166-1183.
- [41] Ojeda E B, Corradi V, Gu R X, *et al.* P-gp lipid uptake pathways determined by coarse-grain molecular dynamic simulation[J]. *Biophys J*, 2017, 112(3): 386-394.
- [42] Shire S J. *Monoclonal antibodies: meeting the challenges in manufacturing, formulation, delivery and stability of final drug product* [M]. Witney: Woodhead Publishing, 2015: 131-138.
- [43] Danhier F, Feron O, Pr at V. To exploit the tumor microenvironment: passive and active tumor targeting of nanocarriers for anti-cancer drug delivery[J]. *J Control Release*, 2010, 148(2): 135-146.
- [44] Yan G, Wang J, Hu L, *et al.* Stepwise targeted drug delivery to liver cancer cells for enhanced therapeutic efficacy by galactose-grafted, ultra-pH-sensitive micelles[J]. *Acta Biomater*, 2017, 51: 363-373.
- [45] Noh I, Kim H O, Choi J, *et al.* Co-delivery of paclitaxel and gemcitabine via CD44-targeting nanocarriers as a prodrug with synergistic antitumor activity against human biliary cancer[J]. *Biomaterials*, 2015, 53: 763-774.
- [46] Schindler T, Rovin B, Furie R, *et al.* AB0423 nobility, a phase 2 trial to assess the safety and efficacy of obinutuzumab, a novel type 2 anti-CD20 monoclonal antibody (MAB), in patients (PTS) with ISN/RPS class III or IV lupus nephritis (LN)[J]. *Ann Rheum Dis*, 2016, 75(suppl 2): 1051.
- [47] Alibolandi M, Abnous K, Hadizadeh F, *et al.* Dextran-poly lactide-co-glycolide polymersomes decorated with folate-antennae for targeted delivery of docetaxel to breast adenocarcinoma *in vitro* and *in vivo*[J]. *J Control Release*, 2016, 241: 45-56.
- [48] Schroeder A, Heller D A, Winslow M M, *et al.* Treating metastatic cancer with nanotechnology[J]. *Nat Rev Cancer*, 2011, 12(1): 39-50.
- [49] Yang B, Lv Y, Zhu J Y, *et al.* A pH-responsive drug nanovehicle constructed by reversible attachment of cholesterol to PEGylated poly(L-lysine) via catechol-boronic acid ester formation[J]. *Acta Biomater*, 2014, 10(8): 3686-3695.
- [50] Mura S, Nicolas J, Couvreur P. Stimuli-responsive nanocarriers for drug delivery[J]. *Nat Mater*, 2013, 12 (11): 991-1003.
- [51] Huang L, Tao K, Liu J, *et al.* Design and fabrication of multifunctional sericin nanoparticles for tumor targeting and pH-responsive subcellular delivery of cancer chemotherapy drugs[J]. *ACS Appl Mater Inter*, 2016, 8(10): 6577-6585.
- [52] Yin S, Huai J, Chen X, *et al.* Intracellular delivery and antitumor effects of a redox-responsive polymeric paclitaxel conjugate based on hyaluronic acid[J]. *Acta Biomater*, 2015, 26: 274-285.
- [53] Wang L, Tian B, Zhang J, *et al.* Coordinated pH/redox dual-sensitive and hepatoma-targeted multifunctional polymeric micelle system for stimuli-triggered doxorubicin release: synthesis, characterization and *in vitro* evaluation[J]. *Int J Pharm*, 2016, 501(1/2): 221-235.
- [54] Cabral H, Kataoka K. Progress of drug-loaded polymeric micelles into clinical studies[J]. *J Control Release*, 2014, 190: 465-476.
- [55] Deshmukh A S, Chauhan P N, Noolvi M N, *et al.* Polymeric micelles: basic research to clinical practice[J]. *Int J Pharm*, 2017, 532(1): 249-268.
- [56] Jones S F, Burris H A, Infante J R, *et al.* A phase I study of NK012 in combination with 5-fluorouracil with or without leucovorin in patients (pts) with advanced solid tumors[J]. *J Clin Oncol*, 2012, 30(suppl 15): e13076.
- [57] Takahashi A, Yamamoto Y, Yasunaga M, *et al.* NC-6300, an epirubicin-incorporating micelle, extends the antitumor effect and reduces the cardiotoxicity of epirubicin[J]. *Cancer Sci*, 2013, 104(7): 920-925.