

基于肿瘤微环境响应的纳米凝胶载药系统研究进展*

尚星星, 叶孟原, 彭晏, 蔡萌, 祝红达

(湖北工业大学生物工程与食品学院, 武汉 430068)

摘要 近年来, 对肿瘤微环境的探索为肿瘤治疗提供了一种新途径。越来越多的研究致力于探索靶向或调控肿瘤微环境的治疗药物。纳米凝胶载药系统在肿瘤药物的有效装载、肿瘤细胞和组织特异性富集、控制释放和高效传递中取得了大量研究进展, 该系统与其他纳米体系比较具有稳定性好、环境响应性敏感、容易实现工业化生产等特点。该文主要结合目前人们对肿瘤微环境的认知, 介绍基于肿瘤微环境响应的调控型和靶向型纳米凝胶体系在肿瘤药物传输中的研究进展和发展前景。

关键词 抗肿瘤药物; 肿瘤微环境; 环境响应; 纳米凝胶; 载药系统

中图分类号 R979.1; TQ460.1

文献标识码 A

文章编号 1004-0781(2016)11-1230-04

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2016.11.018

新兴的纳米技术为克服传统化学治疗(化疗)药物作用非特异性和非选择性损伤机体组织的瓶颈问题提供了好的手段, 在提高化疗药物治疗效果、降低不良反应等方面显示出独特的优势^[1]。多功能纳米载体作为一个极具发展前景的工具, 一方面能够利用肿瘤组织和正常组织的差异选择性传输治疗药物, 增强药物渗透与滞留效应(enhanced permeability and retention effect, EPR 效应), 并有特异性高表达分子标记^[2], 另一方面可以利用肿瘤微环境产生的一系列独特的物理化学性质, 例如弱酸性、还原环境、异常温度梯度、过表达蛋白和酶、缺氧等, 调控纳米载体对负载药物的释放^[3]。其中智能纳米凝胶体系在抗癌药物有效装载、肿瘤细胞和组织特异性富集、控制释放和高效传递中取得了长足进展, 这些特点为实现抗肿瘤药物的有效治疗提供纳米技术平台^[4]。笔者在本文中重点介绍基于肿瘤微环境响应的调控型和靶向型纳米凝胶体系在肿瘤药物传输中的研究进展和发展前景。

1 肿瘤微环境基本特征

肿瘤微环境是由低氧、低 pH 值、高压、大量生长因子和蛋白水解酶构成的复杂系统, 是在肿瘤生长过程中由肿瘤细胞、基质细胞(由成纤维细胞、血管/淋巴管、胶质细胞和免疫细胞组成)和细胞外基质共同构成的局部稳态环境, 对肿瘤发生、发展、侵袭、转移

及抗癌药物疗效等起着重要影响^[5]。肿瘤组织会产生许多异常生理特性, 如异常血管网络结构和新陈代谢旺盛, 导致肿瘤部位低氧分压和低 pH 值; 肿瘤快速生长和转移引起大量生长因子和蛋白水解酶产生; 肿瘤异常血管壁高渗透性及淋巴引流系统缺失, 导致经毛细血管压力梯度减小和间质流体压力升高等。一方面, 肿瘤微环境累积实体压力和密集的肿瘤细胞外基质导致药物在肿瘤组织传输障碍^[6], 另一方面, 研究者针对肿瘤治疗需要的高效性和特异性, 借助肿瘤与正常组织之间病理及生理性质上的差异, 设计出能够被肿瘤组织特异性激活的智能型药物载体, 增强抗肿瘤药物的选择性, 提高抗肿瘤效果, 降低不良反应^[7]。

2 基于肿瘤微环境的刺激响应性纳米凝胶载药系统

纳米凝胶(nanogels)是一种由亲水性或两性性聚合物构成的具有溶胀-收缩性能的网状聚合物颗粒, 具有高载药能力、高稳定性和对环境(温度、pH 值、酶、还原剂、离子强度等)响应性等优势, 因此它们可以在肿瘤部位按照预先的设计释放负载药物达到缓控释效果, 提高药物治疗的特异性和治疗效果^[4,8]。目前针对肿瘤微环境(生理学、病理学、病理化学等环境)设计的刺激响应性纳米凝胶载体主要有两类: 一类是借助肿瘤细胞外的特定环境设计的纳米凝胶, 另一类是利用肿瘤细胞内的特定环境设计的纳米凝胶。

2.1 基于肿瘤细胞外特定刺激设计的纳米凝胶载药体系 虽然纳米载药系统在肿瘤部位的富集主要通过 EPR 效应, 但根据载体材料或颗粒尺寸的富集量不同, 还不能够满足临床治疗需要的特异性。基于肿瘤细胞外环境设计的纳米凝胶载药体系主要是为了提高纳米凝胶载药体系在肿瘤部位的富集量。由于肿瘤组织新陈代谢旺盛, 导致肿瘤部位 pH 值(pH 值 5.8~7.2)较正常组织低, 与此同时, 为满足肿瘤细胞快速生

收稿日期 2015-04-03 **修回日期** 2015-05-21

基金项目 * 国家自然科学基金资助项目(81201197); 湖北省自然科学基金资助项目(2015CFB588)

作者简介 尚星星(1991-), 女, 湖北襄阳人, 在读硕士, 主要从事生物制药工程研究。E-mail: 172332935@qq.com。

通信作者 祝红达(1974-), 女, 湖北荆州人, 副教授, 博士, 从事药物新剂型与新制剂研究。E-mail: bszzhuhongda@yeah.net。

长和转移分泌过多的酶,肿瘤细胞的细胞膜也会过量表达某些特征的受体或抗原^[9],这些特异性赋予了肿瘤组织特定的细胞外微环境。

2.1.1 基于蛋白受体响应设计的纳米凝胶载药体系 由于肿瘤在生长过程中产生大量蛋白和酶,如转铁蛋白受体(TfR)^[10]、叶酸受体(folate receptor)^[11]、糖蛋白(glycoproteins)^[12]、表皮生长因子(EGFR)^[13]等,通过将特异性分子标记的配体修饰在纳米凝胶颗粒表面来提高肿瘤药物在肿瘤组织的蓄积,从而增强肿瘤细胞对药物的摄取,提高抗肿瘤效果^[14]。GLANGEHAI 等^[15]利用平板印刷技术制备引入多肽的纳米凝胶,在肿瘤组织过度分泌的蛋白酶 B 的催化下断裂,纳米凝胶得以实现特定部位的药物释放。NATALIA 等^[16]合成一种靶向于黄体生成素(luteinizing hormone-releasing hormone, LHRH)受体的载顺铂纳米凝胶,该受体在 A2780 卵巢癌组织中高度表达,在细胞和活体动物实验中发现,载药 LHRH-纳米凝胶较无靶向性的载药纳米凝胶和游离的药物在治疗小鼠卵巢癌异位移植中具有更高的疗效,说明 LHRH-载药纳米凝胶在肿瘤部位具有更好的富集效应,提高了细胞的摄取率。SU 等^[17]设计了以 *N*-异丙基丙烯酰胺-丙烯酸纳米凝胶为核,牛血清白蛋白包裹的金纳米束为壳的纳米载药体系,载体修饰同时靶向肿瘤细胞和血管内皮细胞 Neuropilin-1(NRP1)受体的 iRGDK 肽,增强载多柔比星纳米凝胶在人脐静脉内皮细胞(HUVECs)和黑色素瘤细胞(B16)的摄取和组织穿透能力,提高多柔比星的抗肿瘤效果。

2.1.2 基于肿瘤组织微酸性环境设计的纳米凝胶载药体系 目前借助肿瘤组织和血液 pH 值差异设计的 pH 值响应型纳米凝胶主要有两种策略:一种是通过利用 pH 值不稳定的化学键(如酯键、酰胺键等)或化学结构(脞式、缩醛结构)来制备特异性响应纳米凝胶载药体系,该载药体系在正常生理环境 pH 值下能够保持稳定,而在肿瘤组织酸性条件下这类化学键打开,纳米凝胶载药体系由“钝化”状态转化为“活化”状态,释放出内部负载的抗肿瘤药物^[18]。如 NA 等^[19-20]构建了两种 pH 值响应性纳米凝胶来实现针对肿瘤组织的药物释放,这两种纳米凝胶的结构中分别含有组氨酸基团和磺胺基团,在 pH 值为 7.4 时两种纳米凝胶均处于稳定状态,当 pH 值降为 6.8 时磺酰胺纳米凝胶会由于磺酰胺基团的去质子化效应导致纳米凝胶的裂解,而组氨酸纳米凝胶会因组氨酸分子上的咪唑基团质子化而发生溶胀行为。另一种策略是设计载体时引入含有一定 pKa 值质子供体的基团,当 pH 值大于其 pKa

时,通过电荷反转来提高纳米凝胶载药体系跟肿瘤细胞的相互作用、控制药物释放,从而提高抗肿瘤活性。DU 等^[21]合成了一种能够在肿瘤组织发生电荷反转的纳米凝胶载药体系,用 2,3-二甲基马来酞酐(DMMA)修饰纳米凝胶 PAMA,使其在正常生理 pH 值(pH 值 7.4)下带正电荷,而在肿瘤组织微酸性(pH 值约为 6)条件下,纳米凝胶中的酰胺键断裂,使氨基基团裸露出来,从而使纳米凝胶带正电荷。由于肿瘤细胞表面带负电荷,表面携带正电荷的纳米凝胶相与肿瘤细胞的相互作用更强,这样就增强纳米凝胶体系跟细胞的相互作用,增强细胞的摄取率。

2.1.3 基于温度响应设计的纳米凝胶载药体系 利用肿瘤组织的特殊生理病理特点,还可以通过人为构建肿瘤微环境的方法设计相应的刺激响应性药物载体。如机体正常组织在体温升高时通过血管扩张、血流量增大等提高散热,减少高温对机体的损伤,而肿瘤组织内因细胞密度过高、新生血管畸形等导致散热困难,当对肿瘤部位进行局部加热时,肿瘤内温度比正常组织温度高 5~10℃。因此可以根据肿瘤微环境与正常组织的温度差异设计温敏性纳米凝胶药物载体,通过对病变部位局部的温度调控(如光热疗等方法)大大减少载药体系药物的脱靶效应。聚 *N*-异丙基丙烯酰胺(PNIPAM)是典型的温敏型聚合物,通常基于 PNIPAM 设计合成的温敏性纳米凝胶载药体系主要是根据病变部位较正常组织的温度高时发生溶胀行为实现药物的控制释放^[4]。例如 MOGHADAM 等^[22]制备了一种 PNIPAM 温敏性复合纳米凝胶,将负载肿瘤药物的纳米凝胶包埋在另一种具有优异耗散特性的聚羟乙基甲基丙烯酸酯(PHEMA)凝胶中。当外界体系施加机械负荷时,凝胶基质将机械能转化为热能,当温度达到 37℃时纳米凝胶发生坍塌,从而实现模型药物的释放。

2.2 基于肿瘤细胞内特定刺激设计的纳米凝胶载药体系 多数抗肿瘤药物在细胞内发挥作用,当纳米载药体系在肿瘤组织富集被肿瘤细胞摄取内吞进入细胞之后,药物从载药体系中的释放能力就成为抗肿瘤活性的关键。肿瘤细胞内部具有与正常组织细胞内部不同的环境,如 pH 值、还原性等。基于此可以设计合成对 pH 值或还原响应或 pH 值/还原双重响应的纳米凝胶载药体系。

2.2.1 肿瘤细胞内 pH 值响应设计的纳米凝胶载药体系 人体正常的生理环境 pH 值为 7.4,肿瘤组织的 pH 值约为 6.5,而肿瘤细胞内部内涵体的 pH 值为 5~6,溶酶体的 pH 值 4.5~5^[7]。利用人体内存在的这种

pH 值梯度可以设计合成一类 pH 值响应的纳米凝胶载药体系,实现药物的有效释放,提高药物的利用率。JU 等^[23]将赖氨酸和琥珀酰胺嫁接到改性的壳聚糖上,成功构建出一种具有 pH 值响应的能在细胞内外连续传递的纳米凝胶(NLSC-NG),当载药纳米凝胶被肿瘤细胞内吞后,进入溶酶体(pH 值 4.5~5.0)内发生溶胀,导致药物释放且溶酶体破裂,载药纳米凝胶释放到细胞质基(pH 值 6.8~7.4)中收缩回复至原有尺寸,随着肿瘤细胞死亡,载药纳米凝胶释放到细胞外又可以被周围肿瘤细胞摄取,发生类似病毒感染的过程。在肿瘤组织渗透实验中发现,Dox/NLSC-NG 比无 pH 值响应的载药纳米凝胶体系(Dox/NLC-NG)和游离的 Dox 具有更强的肿瘤渗透性。体外细胞毒性实验和荷瘤实验结果表明,Dox/NLSC-NG 比 Dox/NLC-NG 和游离的 Dox 具有更明显的肿瘤生长抑制作用。

2.2.2 还原响应设计的纳米凝胶载药体系 细胞内和细胞外氧化还原电位的差别为药物载体的胞内响应性释放提供新的思路,而肿瘤细胞内外还原环境的差异主要是因为细胞内某些还原性物质的存在。通常肿瘤细胞内还原型谷胱甘肽(GSH)含量是正常细胞的 4~10 倍,是细胞外液和循环系统的 400~1 000 倍^[24],肿瘤细胞内高浓度 GSH 会造成肿瘤细胞内独特的强还原环境。利用对还原环境敏感的化学二硫键设计、构建药物递送系统可以达到靶细胞内控制释药的目的。目前国内外通常将药物通过二硫键化学连接臂与载体材料耦联,形成还原敏感型前体药物,或是将二硫键化学连接臂设计在聚合物载体材料中保持载体系统在非靶细胞外环境的稳定性,进而控制药物的定位释放。RYU 等^[25]利用寡聚乙二醇(OEG)和吡啶二硫化物(PDS)作为单体,成功构建了一种基于二硫键-巯基的自交联纳米凝胶药物输送系统,在载不同的客体分子如染料或疏水性药物(如 Dox)后,纳米凝胶表现出了很好的稳定性和在还原条件下的释放,同时也有高效的细胞摄取率。MACIEL 等^[26]将二硫键引入到他们研究的纳米凝胶体系,并证明其具有敏感的还原响应性控制释药,该体系在肿瘤细胞中 GSH 的作用下能够发生二硫键断裂,导致两亲性纳米凝胶的降解,将包裹在纳米凝胶颗粒中的多柔比星释放出来,提高杀伤肿瘤细胞的作用。

2.2.3 pH/还原双重响应型纳米载药系统 基于肿瘤细胞内部复杂的生理环境,还可以设计将具有 pH 值响应和还原响应的单体聚合得到双重敏感的纳米凝胶。QIAO 等^[27]合成了一种 pH 值/还原响应的纳米凝胶载药体系,他们利用低聚乙二醇丙烯酸酯

(OEGA)和 2-(5,5-二甲基-1,3-二 烷-2-甲氧基)乙基丙烯酸酯(DMDEA)为主要原料,通过二硫键交联合成纳米凝胶,该纳米凝胶能包载 4% Dox 和 7% 紫杉醇,而纳米凝胶中的 OEGA 和 DMDEA 基团以及二硫键使其具有温敏性、pH 值响应性、还原响应性。体外药物释放实验在 pH 值为 5.0 的环境中 6 h 释放 90% 的 Dox,而在 pH 值为 7.4 的环境中 8 h 仅释放了 20% Dox,在有 DTT 的还原环境中药物也能迅速释放,5 h 能释放 80%,体外实验证明了其药物释放具 pH 值/还原双重有刺激响应性。

3 结束语

目前对纳米凝胶抗肿瘤药物输送系统的研究虽然取得了较大的进步,可以避免小分子抗癌药物的缺陷,提高抗肿瘤效果,但与临床安全性和有效性要求还有一定距离,只有少部分产品用于临床。虽然肿瘤组织与正常组织存在 pH 值、温度等差异,但其差异性在一定范围内,因此提高纳米凝胶载药体系对肿瘤微环境响应的灵敏性和反应速度仍然是纳米凝胶载体设计中需要克服的难题。除此之外,由于体内环境复杂,纳米凝胶在体内循环过程中的稳定性也是亟待解决的问题。纵观目前的研究,将能够对肿瘤组织和细胞相关的微环境刺激做出响应的模块整合到纳米凝胶载药体系中可以增强刺激响应的灵敏度,提高肿瘤组织和细胞内的药物浓度,精确调控药物释放,具有开发成具有临床应用价值的抗肿瘤纳米凝胶药物输送系统的潜力。

参考文献

- [1] YALLAPU M M, JAGGI M, CHAUHAN S C. Design and engineering of nanogels for cancer treatment [J]. Drug Discov Today, 2011, 16(9): 457-463.
- [2] JAIN R K, STYLIANOPOULOS T. Delivering nanomedicine to solid tumors [J]. Nat Rev Clin Oncol, 2010, 7(11): 653-664.
- [3] 丁艳萍, 季天骄, 宋晓, 等. 纳米技术识别和调控肿瘤微环境用于肿瘤诊疗的研究进展 [J]. 科学通报, 2013, 58(24): 2436-2448.
- [4] OISHI M, NAGASAKI Y. Stimuli-responsive smart nanogels for cancer diagnostics and therapy [J]. Nanomedicine (load), 2010, 5(3): 451-468.
- [5] VASIEVICH E A, HUANG L. The suppressive tumor microenvironment: a challenge in cancer immunotherapy [J]. Mol Pharm, 2011, 8(3): 635-641.
- [6] 钱汉清. 刺激响应聚合物组装体的构建及其药物传输应用研究 [D]. 南京: 南京大学, 2013: 5-38.
- [7] DANHIER F, FERON O, PREAT V. To exploit the tumor microenvironment: passive and active tumor targeting of

- nanocarriers for drug delivery[J]. *J Control Release*, 2010, 148: 135–146.
- [8] 张慧, 吴红, 范黎, 等. 酸敏性葡聚糖纳米凝胶的制备与释药性质考察[J]. *医药导报*, 2008, 27(8): 967–970.
- [9] SCHROEDER A, HELLER D A, WINSLOW M M, et al. Treating metastatic cancer with nanotechnology[J]. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12: 39–50.
- [10] TORTORELLA S, KARAGIANNIS T C. Transferrin receptor-mediated endocytosis: a useful target for cancer therapy[J]. *J Membr Biol*, 2014, 247(4): 291–307.
- [11] VLASHI E, KELDERHOUSE L E, STURGIS J E, et al. Effect of folate-targeted nanoparticle size on their rates of penetration into solid tumors[J]. *ACS Nano*, 2013, 7(10): 8573–8582.
- [12] CHO J, KUSHIRO K, TERAMURA Y, et al. Lectin-tagged fluorescent polymeric nanoparticles for targeting of sialic acid on the living cells[J]. *Biomacromolecules*, 2014, 15(6): 2012–2018.
- [13] WANG Y, ZHOU J, QIU L, et al. Cisplatin-alginate conjugate liposomes for targeted delivery to EGFR-positive ovarian cancer cells[J]. *Biomaterials*, 2014, 35(14): 4297–4309.
- [14] BERTRAND N, WU J, XU X Y, et al. Cancer nanotechnology: the impact of passive and active targeting in the era of modern cancer biology[J]. *Adv Drug Del Rev*, 2014, 66: 2–25.
- [15] GLANGEHAI L C, CALDORERA M M, SHI L. Nanoimprint lithography based fabrication of shape-specific, enzymatically-triggered smart nanoparticles[J]. *J Controlled Rel*, 2008, 125(3): 263–272.
- [16] NATALIA V, NUKOLOVA, TATIANA K. LHRH-targeted nanogels as a delivery system for cisplatin to ovarian cancer[J]. *Mol Pharmaceutics*, 2013, 10(10): 3913–3921.
- [17] SU S S, WANG H, NIE G J, et al. iRGD-coupled responsive fluorescent nanogel for targeted drug delivery[J]. *Biomaterials*, 2013, 34(13): 3523–3533.
- [18] MAYA S, SARMENTO B, NAIR A, et al. Smart stimuli sensitive nanogels in cancer drug delivery and imaging: a review[J]. *Curr Pharmaceutical Des*, 2013, 41(19): 7203–7218.
- [19] NA K, BAE Y H. Self-assembled hydrogel nanoparticles responsive to tumor extracellular pH from pullulan derivative/sulfonamide conjugate: characterization, aggregation, and adriamycin release *in vitro*[J]. *Pharmaceutical Res*, 2002, 19(5): 681–688.
- [20] NA K, LEE E S, BAE H. Self-organized nanogels responding to tumor extracellular pH: pH-dependent drug release and *in vitro* cytotoxicity against MCF-7 cells[J]. *Bioconjugate Chem*, 2007, 18(5): 1568–1574.
- [21] DU J Z, SUN T M, SONG W J, et al. A tumor-acidity-activated charge-conversional nanogel as an intelligent vehicle for promoted tumoral-cell uptake and drug delivery[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2010, 49(21): 3621–3626.
- [22] MOGHADAM M N, KOLESOV V, VOGEL A, et al. Controlled release from a mechanically-stimulated thermosensitive self-heating composite hydrogel[J]. *Biomaterials*, 2014, 35(1): 450–455.
- [23] JU C Y, MO R, XUE J W, et al. Sequential intra-intercellular nanoparticle delivery system for deep tumor penetration[J]. *Angew Chem Int Edit*, 2014, 53(24): 6253–6258.
- [24] PARK KM, LEE D W, SARKAR B, et al. Reduction-sensitive, robust vesicles with a non-covalently modifiable surface as a multifunctional drug-delivery platform[J]. *Small*, 2010, 6(13): 1430–1441.
- [25] RYU J H, CHACKO R T, JIW PANICH S, et al. Self-cross-linked polymer nanogels: a versatile nanoscopic drug delivery platform[J]. *J Am Chem Soc*, 2010, 132(48): 17227–17235.
- [26] MACIEL D, FIGUERIRA P, XIAO S L, et al. Redox-responsive alginate nanogels with enhanced anticancer cytotoxicity[J]. *Biomacromolecules*, 2013, 14(9): 3140–3146.
- [27] QIAO Z Y, ZHANG R, DU F S, et al. Multi-responsive nanogel containing motifs of orthoester, oligo(ethylene glycol) and disulfide linkage as carriers of hydrophobic anti-cancer drugs[J]. *J Control Rel*, 2011, 152(1): 57–66.