



适配体功能化外泌体在肿瘤靶向治疗中的应用*

杜梦寒^{1)**} 王 敬^{1)**} 华胜妮^{2,3)} 石玉生^{2,3)***} 张兴梅^{1)***}⁽¹⁾ 南方医科大学基础医学院神经生物学教研室, 广州 510515; ⁽²⁾ 暨南大学附属珠海医院珠海市人民医院放疗科, 珠海 519000;⁽³⁾ 暨南大学附属珠海医院珠海市人民医院广东省肿瘤介入诊治研究重点实验室, 珠海 519000)

摘要 传统的肿瘤治疗方法因缺乏足够的靶向性而产生严重的毒副作用。外泌体 (exosome) 是一种天然的纳米囊泡, 参与细胞间的信息传递, 并且作为药物递送载体具有出色的性能优势, 包括低免疫原性、低毒性和能够穿越天然屏障等特点。然而以外泌体为载体的药物递送系统的靶向能力仍有不足。适配体 (aptamer) 是一类化学合成的单链核酸分子, 具有分子质量小、易于修饰和免疫原性低等特点, 可作为亲和性配体与靶向分子特异性结合。通过在外泌体表面修饰适配体, 药物可以被精确递送到肿瘤细胞发生部位, 从而实现对肿瘤的靶向治疗, 提高肿瘤治疗效果, 减少毒副作用。本篇综述将重点讨论适配体功能化外泌体药物靶向递送系统在各种肿瘤治疗方面的应用, 并对其未来的挑战和机遇进行阐述。

关键词 适配体, 外泌体, 肿瘤, 靶向治疗**中图分类号** Q52, R730.5, R943**DOI:** 10.16476/j.pibb.2023.0281

肿瘤作为一种恶性疾病, 存在多种治疗方法, 包括放疗和化疗等。然而常规的放化疗方法具有较大的毒副作用, 既能杀死癌细胞, 也会对正常细胞造成损伤^[1]。近年来, 许多研究已经证明外泌体 (exosome) 可以作为肿瘤治疗药物的递送载体, 提高肿瘤治疗效果^[2-3]。外泌体是由活细胞分泌产生的一种纳米囊泡, 其直径约为 100 nm, 被双层脂质膜所包裹, 内部含有脂质、蛋白质、糖类和一些代谢物质等, 参与细胞间的信息交流, 具有尺寸小、稳定性好、安全性高和半衰期长的优点^[4]。因此外泌体具备天然的药物装载能力, 可将肿瘤治疗药物装载到内部, 帮助其到达肿瘤病变部位, 从而达到肿瘤治疗效果。然而这种以外泌体为载体的药物递送系统的靶向能力仍有不足。通过将外泌体与一些亲和性分子结合, 可以增强药物递送系统的靶向性^[5]。

为了寻找这一具有靶向性的物质, 有机小分子、蛋白质以及核酸分子被探索作为靶向配体作用于特定的生物标志物, 以实现肿瘤的靶向治疗。其中核酸适配体 (aptamer) 和抗体作为潜力分子引起了广泛关注。抗体和适配体都可以作为亲和性配体与靶向分子结合, 然而与抗体相比, 适配体具有

分子质量小、易于修饰、免疫原性低和毒性低的特点^[6]。适配体是一类短的单链寡核酸分子, 自身可以折叠形成三级结构, 从而实现与靶标分子的高度特异性结合。通过化学修饰将适配体结合在外泌体表面, 不仅提高了适配体的稳定性, 并且赋予了以外泌体为载体的药物递送系统靶向性能^[4, 7]。

适配体功能化外泌体药物递送系统 (图 1) 不仅能够有效地装载药物, 而且具备对肿瘤组织的靶向能力。由于适配体和外泌体均具有低免疫原性的特点, 该系统在生物体内不易引起免疫反应。本文将介绍适配体功能化外泌体药物靶向递送系统在肿瘤治疗中的应用, 并对其未来面临的挑战和机遇进行论述。

* 国家自然科学基金 (82073340, 81871418), 广东省肿瘤介入诊治研究重点实验室开放基金 (广东省科技计划) (2021B1212040004), 广东省基础与应用基础研究基金 (2023A1515011148) 和珠海市人民医院科研启动基金 (2020KYQD-01) 资助项目。

** 并列第一作者。

*** 通讯联系人。

石玉生 Tel: 0756-2122621, E-mail: syszxm@hotmail.com

张兴梅 Tel: 020-61648215, E-mail: zxmray@hotmail.com

收稿日期: 2023-07-07, 接受日期: 2023-08-16

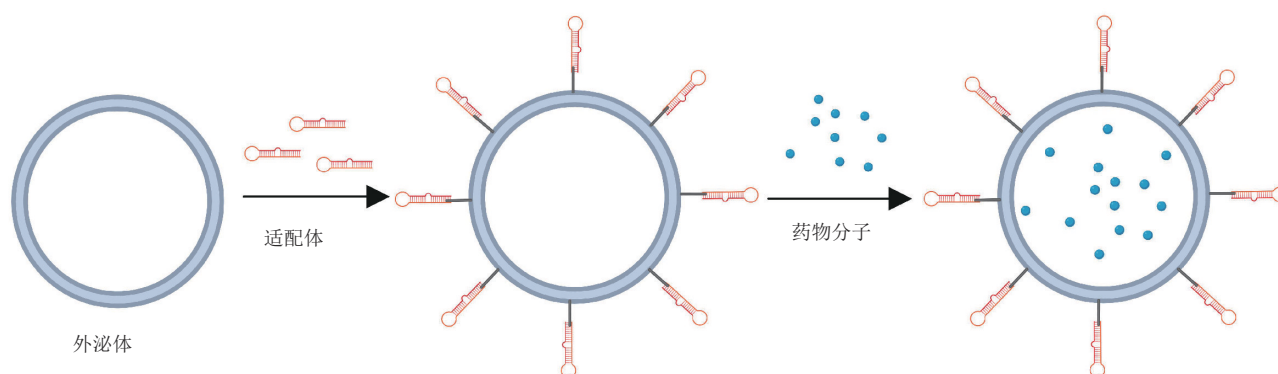


Fig. 1 Aptamer-functionalized exosome drug delivery system

图1 适配体功能化外泌体药物递送系统示意图

本图使用MedPeer (www.medpeer.cn) 绘制。

1 外泌体

外泌体是细胞分泌产生的直径为 100 nm 左右的由双层脂质膜包裹的椭圆形囊泡, 携带有各种生物分子, 如蛋白质、脂质、糖类及各种代谢物质等, 参与细胞及组织之间的交流。在正常生理状态和病理状态下, 外泌体均发挥着重要的作用^[8]。外泌体是细胞外囊泡 (extracellular vesicles, EVs) 的一种, 细胞外囊泡主要分为两大类, 即外泌体和核外颗粒体 (ectosome)。二者最主要的区别是来源不同, 外泌体由膜的内陷形成, 质膜内陷形成早期内体, 早期内体进一步与其他膜细胞器融合构成多囊泡体 (multivesicular bodies, MVBs), 多囊泡体与质膜融合释放外泌体^[5]; 而核外颗粒体是通过细胞质膜向外出芽形成的^[9]。

外泌体在生物体中发挥着多种多样的作用。有研究显示, 外泌体参与神经退行性疾病发生过程中有毒蛋白质的扩散^[7]; 肿瘤细胞与正常细胞相比, 会分泌更多的外泌体, 且肿瘤细胞来源的外泌体中含有一些生物标志物如 miRNA、程序性死亡受体-配体 1 (programmed cell death-ligand 1, PD-L1)、双链 DNA 等可以用于肿瘤的早期检测和预后效果的评估^[5, 10]; 外泌体的粒径优势以及其低毒性的特点, 使其成为了药物递送系统的理想载体^[4]。

传统的药物递送载体 (如金属颗粒、纳米凝胶和脂质体等) 虽已广泛应用, 但其合成成本高、稳定性差。相比之下, 外泌体是一种源自生物体的天然材料, 具备优良的生物相容性、低的免疫原性和卓越的稳定性, 这些优势使得外泌体成为理想的药物递送系统载体^[11]。许多以外泌体为载体的药物

递送系统被用于疾病的治疗。Dong 等^[12] 通过外泌体递送药物淫羊藿苷 (icariin, ICA), 提高了骨质疏松的治疗效果; Tang 等^[13] 使用外泌体负载甲基莲心碱, 顺利通过大脑屏障, 有效地改善了阿尔茨海默病患者的病理特征和行为特征; Niu 等^[14] 构建了负载阿霉素的肝素基纳米颗粒-外泌体复合物, 极大地提高了阿霉素的装载效率, 优化了胶质瘤的靶向治疗效果。这些以外泌体为载体的药物递送系统极大地提高了药物的传递效率, 改善了疾病的病理特征, 起到了很好的治疗效果。

2 适配体

适配体是一类通过指数富集的配体系统进化技术 (systematic evolution of ligands by exponential enrichment, SELEX) 筛选产生的具有特异靶向功能的单链 DNA 或者 RNA 分子, 又被称为“化学抗体”, 可与多肽、蛋白质、细胞或组织等多种成分进行特异性结合, 具有高度的靶向性和亲和性^[15-17]。与抗体分子类似, 适配体经常被用作靶向配体, 具有高度的亲和和特异性。此外, 适配体还具有分子质量小、易于修饰、批次稳定性、低毒性、低免疫原性和便于大规模生产的特点, 是一种更为理想的亲和性配体^[4, 18]。

适配体的靶向性特性赋予了其多种多样的能力。首先, 适配体可以作为靶向配体协助药物分子靶向到靶细胞, 提高药物作用的有效性。Geng 等^[18] 将适配体靶向在具有抗肿瘤作用的细菌表面, 促进了细菌在肿瘤组织中的聚集, 大大提高了细菌在抗肿瘤治疗中的效果。适配体与核酸分子结合, 可以帮助带有负电荷的核酸分子, 如 siRNA、

shRNA、saRNA、miRNA等,进入细胞内部,实现对有关蛋白质合成的调节和控制,从而达到治疗疾病的目的^[19]。适配体与光敏感剂结合,可以增加光敏感剂在肿瘤细胞中的聚集,以提升光动力治疗肿瘤的效率^[20]。其次,适配体可以用于构造生物传感器,进行疾病诊断和环境监测,并且利用适配体能够放大信号的优势,生物传感器的灵敏度得到提高^[21-23]。此外,适配体作为亲和性配体与外泌体表面标志物结合可以用于分离纯化外泌体^[24]。在SELEX技术基础上,Xuan等^[6]研发出了cell-SELEX技术,该技术是基于细胞群体之间蛋白质含量表达差异筛选特异性靶向某一种细胞群体的适配体的方法。采用cell-SELEX技术筛选出的适配体可以用于检测肿瘤细胞表面高表达蛋白质,进行肿瘤诊断,如AptaC2可以与Caov-3细胞结合,用于此种卵巢癌的诊断^[25]。最后,适配体自身也具有治疗作用,已经有很多适配体靶向药物被研发。第一个应用于临床的适配体药物是靶向血管内皮生长因子的RNA适配体哌加他尼(Pegaptanib),用于治疗年龄相关性黄斑变性^[26]。Li等^[27]还构建了一种双功能适配体药物,通过将转铁蛋白受体(transferrin receptor, TfR)的适配体与tau蛋白的适配体连接起来构成tau-TfR双功能适配体,用来治疗大脑中与tau蛋白相关的疾病。适配体自身的优势引起了各界的广泛关注,正在被广泛应用于疾病治疗、诊断和构建药物递送系统。

3 适配体与外泌体的连接方式

适配体修饰在外泌体表面,可以增加药物递送系统的靶向性,其连接方法主要有以下几种:a. 外

泌体表面存在很多靶标分子(如CD63),适配体作为一类亲和性配体,通过受体-配体结合可以连接在外泌体表面,用于外泌体的高效分离和修饰^[28-29]; b. 被胆固醇修饰的适配体可以与外泌体表面的脂质通过疏水键连接形成适配体功能化外泌体药物递送系统用于药物的靶向递送^[30-32]; c. 通过在适配体和外泌体之间插入一个两性分子如DSPE-PEG2000-Mal实现二者的连接^[33-34]; d. 通过EDC/NHS化学交联反应可以将外泌体表面的氨基和羧基修饰的适配体通过酰胺键连接^[35-37]; e. 通过点击化学的方法也可以将适配体功能化在外泌体表面,该方法具有反应时间短,对外泌体大小和性质影响小的特点^[4, 38]。适配体与外泌体连接方式的多样性,为适配体功能化外泌体药物递送系统的研发应用奠定了坚实基础。

4 适配体功能化外泌体在肿瘤治疗中的应用

外泌体作为一种性能优良的递送载体,可以通过生物屏障,将药物运送到生物体内。但是以外泌体为基础构建形成的药物递送系统往往缺乏靶向性,会携带药物到达一些非目标组织中,从而产生毒副作用。适配体是一种化学合成的具有靶向能力的单链核酸分子,分子质量小、免疫原性低、便于合成、易于修饰,与外泌体分子结合可以增加药物传递系统的靶向性。在肿瘤治疗过程中,化疗和放疗非靶向性产生的副作用给癌症患者带来了巨大的痛苦,靶向药物递送系统的使用将有望改善该现状,提升肿瘤治疗的靶向性和高效性。表1中列举了适配体功能化外泌体在肿瘤靶向治疗中应用的主

Table 1 Summary of the application of aptamer-functionalized exosomes in tumor-targeted therapy

表1 适配体功能化外泌体在肿瘤靶向治疗中的应用汇总

肿瘤名称	靶向位点	适配体名称	适配体类型	适配体与外泌体的连接方式	参考文献
胶质瘤	核仁素	AS1411	DNA	疏水键	[30]
胶质瘤	LRP-1	An2	DNA	DSPE-PEG2000-Mal连接	[34]
胶质瘤	CD133	CD133适配体	RNA	DSPE-PEG2000-Mal连接	[34]
乳腺癌	EpCAM	EpCAM适配体	RNA	受体-配体结合	[29, 39]
乳腺癌	EGFR	CL4	RNA	疏水键	[31]
肺癌	EGFR	EGFR适配体	RNA	点击化学	[38]
结直肠癌	核仁素	AS1411	DNA	酰胺键	[35]
结直肠癌	MUC1	5TR1	DNA	酰胺键	[36]
结直肠癌	MUC1	MUC1适配体	DNA	酰胺键	[37]
黑色素瘤	CD20	ACDC	DNA	DSPE-PEG2000-Mal连接	[33]
前列腺癌	前列腺癌细胞	E3	RNA	疏水键	[32]

要信息。下面将就适配体功能化外泌体药物递送系统在一些肿瘤中的应用进行介绍。

4.1 胶质瘤

胶质瘤是起源于神经胶质细胞的一种颅内恶性肿瘤, 而多形性胶质母细胞瘤是最常见的一种胶质瘤, 具有增殖率高、弥漫性和浸润性强的特点^[40]。在胶质瘤的治疗过程中, 主要以手术切除和放化疗结合为主^[41]。虽然传统疗法取得了一些效果, 但是由于血脑屏障的存在, 放化疗药物很难通过由脑微血管内皮细胞和周围的星形胶质细胞组成的紧密屏障, 到达胶质瘤组织。由于预后不佳, 胶质瘤患者五年的生存率仅仅只有3%~5%^[42-44]。除此之外, 放化疗药物在治疗过程中不具有靶向作用, 作用于胶质瘤的同时, 也会到达正常的组织^[45]。所以在胶质瘤的治疗过程中, 血脑屏障的阻碍作用以及低效的靶向性是影响治疗效率的主要因素。

为了解决胶质瘤治疗的难题, 纳米药物递送系统受到广泛关注, 包括胶束、微乳液、树枝状大分子、四面体结构核酸分子、脂质体和外泌体等^[46-49]。外泌体作为一种天然的生物纳米囊泡, 可装载亲水和亲脂性药物穿过血脑屏障、到达胶质瘤发生部位。它具备分子尺寸小、稳定性高和良好的生物相容性等特点, 是胶质瘤治疗中极具潜力的药物载体^[50]。然而这种药物递送系统缺乏靶向性, 可能将药物递送至正常细胞, 产生副作用。

为了增强药物递送系统的靶向性, 适配体通过化学修饰结合在外泌体表面, 使外泌体递送系统靶向作用于胶质瘤细胞, 进而可以提高肿瘤治疗效果^[51]。目前研究人员已经开发了许多适配体功能化外泌体的靶向药物递送系统, 用于胶质瘤的治疗。声动力疗法作为胶质瘤治疗一种潜力疗法, 具有高组织渗透性和低副作用, 但血脑屏障的存在以及胶质瘤缺氧的微环境限制了其治疗效果^[52]。研究人员将过氧化氢酶 (catalase, CAT) 与可降解的二氧化硅 (SiO₂) 纳米颗粒结合, 形成的CAT@SiO₂用于缓解肿瘤缺氧, 然后将其与声敏剂吲哚菁绿 (indocyanine green, ICG) 连接形成CSI, CSI进一步被核仁素 (nucleolin) 的适配体 (AS1411) 修饰的外泌体负载形成CSI@Ex-A。该药物递送系统解决了缺氧微环境对声动力疗法的限制, 且具有高效的血脑屏障穿透性和良好的癌细胞靶向能力^[30]。另外替莫唑胺 (temozolomide, TMZ) 是胶质瘤术后化疗的主要药物, 但脑中高活性的O⁶-烷基鸟嘌呤-DNA烷基转移酶会修复

TMZ引起的DNA损伤, 影响化疗效果^[53]。研究人员筛选出针对低密度脂蛋白受体相关蛋白1 (LDL receptor related protein 1, LRP-1) 的适配体An2和针对CD133的RNA适配体, 将其功能化在外泌体囊泡表面, 构成的药物递送系统具有靶向性和穿越血脑屏障的能力。这种药物递送系统递送药物TMZ和O⁶-苄基鸟嘌呤至胶质瘤细胞, 可以提高TMZ的治疗效率, 极大地促进胶质瘤细胞的凋亡^[34]。将传统治疗方法与适配体功能化的外泌体递送系统结合, 能帮助药物穿越血脑屏障, 靶向胶质瘤发生部位, 提高药物作用效率, 改善病人的预后效果。

4.2 乳腺癌

乳腺癌是女性的常见肿瘤之一, 患者多为年轻女性, 其发病率逐年上升, 严重威胁着女性群体的生命安全^[54]。根据乳腺癌分子学特征的不同, 可以将其分为3大类。不同类型的乳腺癌采取的传统治疗策略也稍有不同: 针对表达激素受体或者孕激素受体的乳腺癌, 主要采取激素治疗的方法; 表达人类表皮受体2的乳腺癌, 采取单克隆抗体与化疗结合的方法; 以上3种物质均不表达的乳腺癌, 被归为第三类, 主要采用化疗的方法进行治疗^[55]。

然而在乳腺癌的治疗过程中, 包括激素治疗和化疗在内的传统治疗方法效果欠佳, 需要一种新的治疗方式来提高治疗效果。阿司匹林 (Aspirin) 作为一种抗癌药物因水溶性差导致在病变位点浓度极低^[56]。将其与POX407 (poloxamer 407) 和TPGS (D- α -tocopherol polyethylene glycol) 连接形成具有亲-疏水两性的纳米颗粒可以提高药物水溶性。外泌体递送该纳米颗粒至癌变部位, 可以实现抗癌药物的被动靶向运输。上皮细胞黏附分子 (epithelial cell adhesion molecule, EpCAM) 是乳腺癌细胞膜上高表达的一种生物标志物^[57]。将EpCAM适配体功能化在上述外泌体表面, 可以提高药物递送系统的主动靶向能力。该药物递送系统通过将被动靶向与主动靶向结合, 可以增加药物在肿瘤部位的浓度, 加快乳腺癌细胞的清除^[29]。Liu等^[31]构建了EGFR的适配体 (CL4) 功能化外泌体药物递送系统, 用于靶向递送天冬氨酰-tRNA合成酶-反义RNA 1小干扰RNA (aspartyl-tRNA synthetase-antisense RNA 1 small interfering RNA, DARS-AS1 siRNA) 和阿霉素至三阴性乳腺癌细胞, 显著抑制了癌细胞增殖和迁移, 促进了癌细胞凋亡。适配体功能化外泌体药物递送系统递送治疗药物到乳腺癌

组织的新治疗策略,为乳腺癌患者带来了新的曙光。

4.3 肺癌

根据全国流行病学报告,肺癌是世界上第二常见的癌症类型,也是致死率最高的癌症^[58]。非小细胞肺癌占据了肺癌总发病数的80%。传统的治疗方法包括化疗、免疫治疗和靶向治疗等。在传统的化疗过程中,非小细胞肺癌患者可能会产生药物耐受性,从而导致治疗效果不佳^[59]。

为了解决这个问题,Li等^[38]设计了一种适配体功能化外泌体的药物递送系统。siRNA作为RNA干扰技术中的小分子,可以与特定基因的mRNA分子通过碱基互补配对原则结合,抑制相关基因的表达^[60]。研究表明,患者对化疗药物的耐受性与编码存活蛋白(survivin)的*BIRC5*基因在肿瘤细胞中的表达上调有关^[61]。通过使用RNA干扰技术降低survivin表达,可以诱导癌细胞凋亡。然而siRNA作为一种小核酸分子,容易被血液中的核酸酶降解。将siRNA包被在外泌体的双层膜中可以防止其被核酸酶降解^[62]。外泌体作为载体的靶向性较低,通过筛选特异性靶向表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)的适配体,并将其连接在外泌体的表面,可以增加药物递送系统的靶向性^[38]。这种EGFR适配体功能化外泌体与RNA干扰技术结合的新策略,提高了非小细胞肺癌治疗的靶向性和有效性,巧妙地解决了患者对药物耐受性的问题,给非小细胞肺癌患者带来了新的希望。

4.4 结直肠癌

结直肠癌是世界上第三常见和死亡率排名第四的癌症,不易发现且容易致命^[63]。随着医疗技术的进步,液体活检可以快速检测出体液中结直肠癌的相关生物标志物,实现疾病的快速检测,为疾病的治疗争取更多时间并方便预后观察^[64]。同时新治疗手段的发展使结直肠癌治愈成为了可能,适配体功能化外泌体药物靶向递送系统就是其中之一。

在以往的结直肠癌治疗中,化疗是常使用的一种手段,但其不具有靶向性且毒副作用较强,在治疗过程中给病人带来了巨大的痛苦。外泌体作为一种递送载体,同其他的纳米颗粒一样,可以将药物包被在其内部,通过提高药物稳定性来减少药物的毒副作用。适配体作为一种低免疫原性、低毒性的亲和性配体,装配在外泌体药物递送系统表面,可以提高其靶向性,降低药物给癌症患者带来的副作用。

Hosseini等^[35]利用AS1411适配体功能化的外泌体向结直肠癌部位递送阿霉素,帮助阿霉素到达核仁素阳性的癌细胞,提高药物作用效果。Bagheri等^[36]筛选出针对结直肠癌组织表面一种高度糖化的跨膜黏蛋白(MUC1)的适配体5TR1,并将其结合于外泌体表面,向癌变部位递送阿霉素。Pishavar等^[37]通过MUC1适配体功能化的外泌体递送药物7-乙基-10-羟基喜树碱(7-ethyl-10-hydroxycamptothecin, SN38)至结直肠癌细胞,有效促进药物在癌细胞的积累,加速癌细胞凋亡。这些适配体功能化的外泌体药物递送系统使结直肠癌治疗药物在病变部位更加集中,增强了对结直肠癌细胞的毒性,加快了癌细胞清除速度,在结直肠癌治疗中具有广阔的应用前景。

4.5 其他癌症

适配体功能化外泌体靶向药物递送系统正被广泛应用于精确递送多种肿瘤治疗药物,以达到高效靶向治疗的效果。这种系统不仅在胶质瘤、乳腺癌、肺癌和结直肠癌等领域发挥着重要作用,还适用于其他肿瘤的治疗。Chen等^[33]采用CD20适配体(ACDC)功能化外泌体药物递送系统装载阿霉素,用于黑色素瘤的治疗,显著增强了阿霉素的作用效果,并减低了对生物体系统整体的毒性,展现出巨大的肿瘤治疗应用潜力。Han等^[32]将适配体功能化的外泌体药物递送系统与RNA干扰技术结合,将siRNA分子包裹在E3适配体功能化的外泌体中,靶向递送至前列腺癌细胞,抑制SIRT6表达,进而抑制前列腺癌细胞的生长和增殖。这些适配体功能化外泌体递送系统显著提高了药物递送的靶向性,对肿瘤的生长和增殖起到有力的抑制作用,加速了癌细胞的清除,推动了肿瘤治疗进程。

5 展 望

适配体功能化外泌体作为一种新兴的靶向药物递送系统,可以装载肿瘤治疗药物并将其靶向递送至肿瘤发生部位,提高肿瘤治疗的高效性和靶向性。适配体功能化外泌体药物递送系统与传统治疗手段相结合,如声动力疗法、RNA干扰技术和化疗等,将主动靶向和被动靶向结合起来,可以发挥药物的最大效果,提高治疗效率。然而,该传递系统的应用还面临一些问题。首先,适配体的筛选过程较为复杂且耗时长。若能产生一种简单快速的智能化筛选方案,将会促进适配体在药物递送、疾病诊断治疗、外泌体提取等方面的应用。其次,

目前外泌体的提取分离方法主要包括密度梯度离心、差速离心、免疫沉淀和试剂盒提取等, 效率较低。面对大规模临床应用, 需要开发高效快速的外泌体制备方法。此外, 现阶段缺乏对适配体功能化外泌体药物递送系统临床应用安全性的研究。若要投入到临床应用, 需要进一步确定其安全性。未来如果能够解决这些问题并广泛应用这种治疗策略, 将会极大改善肿瘤患者的生活质量。同时也可将该靶向药物递送系统扩展到其他疾病的治疗中, 全面提高药物靶向治疗的准确性和高效性。

参 考 文 献

- [1] Nasir A, Khan A, Li J, *et al.* Nanotechnology, a tool for diagnostics and treatment of cancer. *Curr Top Med Chem*, 2021, **21**(15): 1360-1376
- [2] Xie F, Huang Y, Zhan Y, *et al.* Exosomes as drug delivery system in gastrointestinal cancer. *Front Oncol*, 2023, **12**: 1101823
- [3] Zhao X, Wu D, Ma X, *et al.* Exosomes as drug carriers for cancer therapy and challenges regarding exosome uptake. *Biomed Pharmacother*, 2020, **128**: 110237
- [4] Tran P H L, Xiang D, Tran T T D, *et al.* Exosomes and nanoengineering: a match made for precision therapeutics. *Adv Mater*, 2020, **32**(18): e1904040
- [5] Zhang L, Yu D. Exosomes in cancer development, metastasis, and immunity. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2019, **1871**(2): 455-468
- [6] Xuan W, Peng Y, Deng Z, *et al.* A basic insight into aptamer-drug conjugates (ApDCs). *Biomaterials*, 2018, **182**: 216-226
- [7] Sekhon S S, Ahn G, Park G Y, *et al.* The role of aptamer loaded exosome complexes in the neurodegenerative diseases. *Toxicol Environ Health Sci*, 2019, **11**(2): 85-93
- [8] Zhang Y, Bi J, Huang J, *et al.* Exosome: a review of its classification, isolation techniques, storage, diagnostic and targeted therapy applications. *Int J Nanomedicine*, 2020, **15**: 6917-6934
- [9] Kalluri R, Lebleu V S. The biology, function, and biomedical applications of exosomes. *Science*, 2020, **367**(6478): eaau6977
- [10] Cheng L, Hill A F. Therapeutically harnessing extracellular vesicles. *Nat Rev Drug Discov*, 2022, **21**(5): 379-399
- [11] Meng W, He C, Hao Y, *et al.* Prospects and challenges of extracellular vesicle-based drug delivery system: considering cell source. *Drug Deliv*, 2020, **27**(1): 585-598
- [12] Dong M, Wu S, Xu H, *et al.* FBS-derived exosomes as a natural nano-scale carrier for icariin promote osteoblast proliferation. *Front Bioeng Biotechnol*, 2021, **9**: 615920
- [13] Tang B, Zeng W, Song L L, *et al.* Extracellular vesicle delivery of neferine for the attenuation of neurodegenerative disease proteins and motor deficit in an Alzheimer's disease mouse model. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2022, **15**(1): 83
- [14] Niu W, Xiao Q, Wang X, *et al.* A biomimetic drug delivery system by integrating grapefruit extracellular vesicles and doxorubicin-loaded heparin-based nanoparticles for glioma therapy. *Nano Lett*, 2021, **21**(3): 1484-1492
- [15] Duan Y, Zhang C, Wang Y, *et al.* Research progress of whole-cell-SELEX selection and the application of cell-targeting aptamer. *Mol Biol Rep*, 2022, **49**(8): 7979-7993
- [16] Agyei D, Acquah C, Tan K X, *et al.* Prospects in the use of aptamers for characterizing the structure and stability of bioactive proteins and peptides in food. *Anal Bioanal Chem*, 2018, **410**(2): 297-306
- [17] Srivastava S, Abraham P R, Mukhopadhyay S. Aptamers: an emerging tool for diagnosis and therapeutics in tuberculosis. *Front Cell Infect Microbiol*, 2021, **11**: 656421
- [18] Geng Z, Cao Z, Liu R, *et al.* Aptamer-assisted tumor localization of bacteria for enhanced biotherapy. *Nat Commun*, 2021, **12**(1): 6584
- [19] Xie S, Sun W, Fu T, *et al.* Aptamer-based targeted delivery of functional nucleic acids. *J Am Chem Soc*, 2023, **145**(14): 7677-7691
- [20] Yan J, Gao T, Lu Z, *et al.* Aptamer-targeted photodynamic platforms for tumor therapy. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2021, **13**(24): 27749-27773
- [21] Dadmehr M, Shahi S C, Malekkiani M, *et al.* A stem-loop like aptasensor for sensitive detection of aflatoxin based on graphene oxide/AuNPs nanocomposite platform. *Food Chem*, 2023, **402**: 134212
- [22] Wu L, Wang Y, Xu X, *et al.* Aptamer-based detection of circulating targets for precision medicine. *Chem Rev*, 2021, **121**(19): 12035-12105
- [23] Wang J, Chen D, Huang W, *et al.* Aptamer-functionalized field-effect transistor biosensors for disease diagnosis and environmental monitoring. *Exploration*, 2023, **3**(3): 20210027
- [24] Xu W M, Li A, Chen J J, *et al.* Research development on exosome separation technology. *J Membr Biol*, 2023, **256**(1): 25-34
- [25] Abreu R D S, Antunes D, Moreira A D S, *et al.* Next generation of ovarian cancer detection using aptamers. *Int J Mol Sci*, 2023, **24**(7): 6315
- [26] Xie S, Ai L, Cui C, *et al.* Functional aptamer-embedded nanomaterials for diagnostics and therapeutics. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2021, **13**(8): 9542-9560
- [27] Li X, Yang Y, Zhao H, *et al.* Enhanced *in vivo* blood-brain barrier penetration by circular tau-transferrin receptor bifunctional aptamer for tauopathy therapy. *J Am Chem Soc*, 2020, **142**(8): 3862-3872
- [28] Tang J, Jia X, Li Q, *et al.* A DNA-based hydrogel for exosome separation and biomedical applications. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2023, **120**(28): e2303822120
- [29] Tran P H L, Wang T, Yin W, *et al.* Aspirin-loaded nanoexosomes as cancer therapeutics. *Int J Pharm*, 2019, **572**: 118786
- [30] Wu T, Liu Y, Cao Y, *et al.* Engineering macrophage exosome disguised biodegradable nanoplatfor for enhanced sonodynamic therapy of glioblastoma. *Adv Mater*, 2022, **34**(15): e2110364
- [31] Liu X, Zhang G, Yu T, *et al.* CL4-modified exosomes deliver lncRNA DARS-AS1 siRNA to suppress triple-negative breast cancer progression and attenuate doxorubicin resistance by inhibiting autophagy. *Int J Biol Macromol*, 2023, **250**: 126147
- [32] Han Q, Xie Q R, Li F, *et al.* Targeted inhibition of SIRT6 *via* engineered exosomes impairs tumorigenesis and metastasis in prostate cancer. *Theranostics*, 2021, **11**(13): 6526-6541
- [33] Chen H, Jiang Y, Li X. Adriamycin-loaded exosome with anti-

- CD20 aptamers selectively suppresses human CD20+ melanoma stem cells. *Skin Res Technol*, 2023, **29**(1): e13259
- [34] Liang S, Xu H, Ye B C. Membrane-decorated exosomes for combination drug delivery and improved glioma therapy. *Langmuir*, 2022, **38**(1): 299-308
- [35] Hosseini N F, Amini R, Ramezani M, *et al.* AS1411 aptamer-functionalized exosomes in the targeted delivery of doxorubicin in fighting colorectal cancer. *Biomed Pharmacother*, 2022, **155**: 113690
- [36] Bagheri E, Abnous K, Farzad S A, *et al.* Targeted doxorubicin-loaded mesenchymal stem cells-derived exosomes as a versatile platform for fighting against colorectal cancer. *Life Sci*, 2020, **261**: 118369
- [37] Pishavar E, Yazdian-Robati R, Abnous K, *et al.* Aptamer-functionalized mesenchymal stem cells-derived exosomes for targeted delivery of SN38 to colon cancer cells. *Iran J Basic Med Sci*, 2023, **26**(4): 388-394
- [38] Li Z, Yang L, Wang H, *et al.* Non-small-cell lung cancer regression by siRNA delivered through exosomes that display EGFR RNA aptamer. *Nucleic Acid Ther*, 2021, **31**(5): 364-374
- [39] Xiang D, Shigdar S, Bean A G, *et al.* Transforming doxorubicin into a cancer stem cell killer via EpCAM aptamer-mediated delivery. *Theranostics*, 2017, **7**(17): 4071-4086
- [40] Luiz M T, Delello Di Filippo L, Tofani L B, *et al.* Highlights in targeted nanoparticles as a delivery strategy for glioma treatment. *Int J Pharm*, 2021, **604**: 120758
- [41] Zhou Y S, Wang W, Chen N, *et al.* Research progress of anti-glioma chemotherapeutic drugs (Review). *Oncol Rep*, 2022, **47**(5): 101
- [42] Yin X, He Z, Ge W, *et al.* Application of aptamer functionalized nanomaterials in targeting therapeutics of typical tumors. *Front Bioeng Biotechnol*, 2023, **11**: 1092901
- [43] Mojarad-Jabali S, Farshbaf M, Walker P R, *et al.* An update on actively targeted liposomes in advanced drug delivery to glioma. *Int J Pharm*, 2021, **602**: 120645
- [44] Peng L, Liang Y, Zhong X, *et al.* Aptamer-conjugated gold nanoparticles targeting epidermal growth factor receptor variant III for the treatment of glioblastoma. *Int J Nanomedicine*, 2020, **15**: 1363-1372
- [45] Wang F, Zhou Y, Cheng S, *et al.* Gint4. T-modified DNA tetrahedrons loaded with doxorubicin inhibits glioma cell proliferation by targeting PDGFR β . *Nanoscale Res Lett*, 2020, **15**(1): 150
- [46] Shi S, Fu W, Lin S, *et al.* Targeted and effective glioblastoma therapy via aptamer-modified tetrahedral framework nucleic acid-paclitaxel nanoconjugates that can pass the blood brain barrier. *Nanomedicine*, 2019, **21**: 102061
- [47] Wang H, Zhu Z, Zhang G, *et al.* AS1411 aptamer/hyaluronic acid-bifunctionalized microemulsion co-loading shikonin and docetaxel for enhanced anti-glioma therapy. *J Pharm Sci*, 2019, **108**(11): 3684-3694
- [48] Zhou Y, Yang Q, Wang F, *et al.* Self-assembled DNA nanostructure as a carrier for targeted siRNA delivery in glioma cells. *Int J Nanomedicine*, 2021, **16**: 1805-1817
- [49] Smiley S B, Yun Y, Ayyagari P, *et al.* Development of CD133 targeting multi-drug polymer micellar nanoparticles for glioblastoma - *in vitro* evaluation in glioblastoma stem cells. *Pharm Res*, 2021, **38**(6): 1067-1079
- [50] Cheng J, Meng J, Zhu L, *et al.* Exosomal noncoding RNAs in glioma: biological functions and potential clinical applications. *Mol Cancer*, 2020, **19**(1): 66
- [51] Salunkhe S, Dheeraj, Basak M, *et al.* Surface functionalization of exosomes for target-specific delivery and *in vivo* imaging & tracking: strategies and significance. *J Control Release*, 2020, **326**: 599-614
- [52] Son S, Kim J H, Wang X, *et al.* Multifunctional sonosensitizers in sonodynamic cancer therapy. *Chem Soc Rev*, 2020, **49**(11): 3244-3261
- [53] Di Leandro L, Giansanti F, Mei S, *et al.* Aptamer-driven toxin gene delivery in U87 model glioblastoma cells. *Front Pharmacol*, 2021, **12**: 588306
- [54] Liu Z, Zhang W, Zhang X, *et al.* Microstructured optical fiber-enhanced light-matter interaction enables highly sensitive exosome-based liquid biopsy of breast cancer. *Anal Chem*, 2023, **95**(2): 1095-1105
- [55] Barzaman K, Karami J, Zarei Z, *et al.* Breast cancer: biology, biomarkers, and treatments. *Int Immunopharmacol*, 2020, **84**: 106535
- [56] Tran P H L, Wang T, Yin W, *et al.* Development of a nanoamorphous exosomal delivery system as an effective biological platform for improved encapsulation of hydrophobic drugs. *Int J Pharm*, 2019, **566**: 697-707
- [57] Zhang Y, Xie X, Yeganeh P N, *et al.* Immunotherapy for breast cancer using EpCAM aptamer tumor-targeted gene knockdown. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2021, **118**(9): e2022830118
- [58] Rodak O, Peris-Díaz M D, Olbromski M, *et al.* Current landscape of non-small cell lung cancer: epidemiology, histological classification, targeted therapies, and immunotherapy. *Cancers (Basel)*, 2021, **13**(18): 4705
- [59] Schabath M B, Cote M L. Cancer progress and priorities: lung cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2019, **28**(10): 1563-1579
- [60] Uddin N, Binzel D W, Shu D, *et al.* Targeted delivery of RNAi to cancer cells using RNA-ligand displaying exosome. *Acta Pharm Sin B*, 2023, **13**(4): 1383-1399
- [61] Zhu X, Zhou R, Lu Y, *et al.* Identification and validation of afatinib potential drug resistance gene BIRC5 in non-small cell lung cancer. *Front Oncol*, 2021, **11**: 763035
- [62] Subhan M A, Torchilin V P. Efficient nanocarriers of siRNA therapeutics for cancer treatment. *Transl Res*, 2019, **214**: 62-91
- [63] Buccafusca G, Proserpio I, Tralongo A C, *et al.* Early colorectal cancer: diagnosis, treatment and survivorship care. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2019, **136**: 20-30
- [64] Chinnappan R, Ramadan Q, Zourob M. An integrated lab-on-a-chip platform for pre-concentration and detection of colorectal cancer exosomes using anti-CD63 aptamer as a recognition element. *Biosens Bioelectron*, 2023, **220**: 114856

The Application of Aptamer Functionalized Exosomes in Tumor-targeted Therapy*

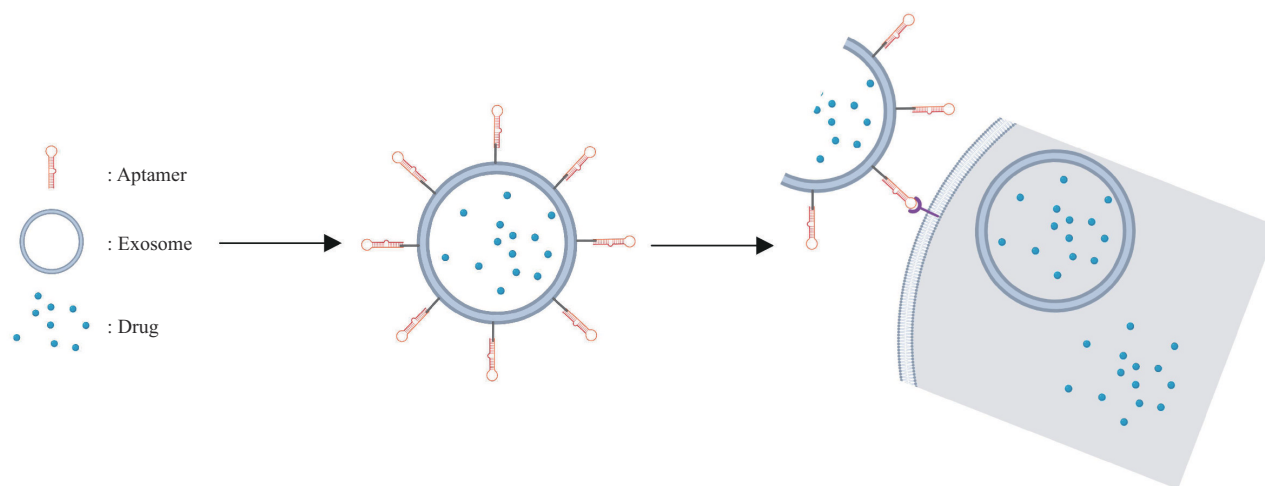
DU Meng-Han^{1)**}, WANG Jing^{1)**}, HUA Sheng-Ni^{2,3)}, SHI Yu-Sheng^{2,3)***}, ZHANG Xing-Mei^{1)***}

⁽¹⁾Department of Neurobiology, School of Basic Medical Sciences, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China;

⁽²⁾Department of Radiation Oncology, Zhuhai People's Hospital, Zhuhai Hospital Affiliated with Jinan University, Zhuhai 519000, China.;

⁽³⁾Guangdong Provincial Key Laboratory of Tumor Interventional Diagnosis and Treatment, Zhuhai People's Hospital, Zhuhai Hospital Affiliated with Jinan University, Zhuhai 519000, China)

Graphical abstract



Aptamer-functionalized exosome targeted tumor cells as a drug delivery system
(created with Medpeer (www.medpeer.cn))

Abstract Traditional tumor treatment methods lack sufficient targeting and can cause serious side effects. Exosomes are natural nanovesicles that carries a variety of biomolecules such as nucleic acids, proteins, metabolites, *etc.* They participate in intercellular communication and serve as drug delivery carriers with exceptional performance advantages, including low immunogenicity, low toxicity, and the ability to traverse natural barriers. However, targeting ability of exosome-based drug delivery systems is still insufficient. Aptamer

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (82073340, 81871418), Guangdong Provincial Key Laboratory of Tumor Interventional Diagnosis and Treatment (2021B1212040004), Guangdong Basic and Applied Basic Research Foundation (2023A1515011148), and Scientific Research Startup Foundation of Zhuhai People's Hospital (2020KYQD-01).

** These authors contributed equally to this work.

*** Corresponding author.

SHI Yu-Sheng. Tel: 86-756-2122621, E-mail: syszxm@hotmail.com

ZHANG Xing-Mei. Tel: 86-20-61648215, E-mail: zxmray@hotmail.com

Received: July 17, 2023 Accepted: August 16, 2023

is a class of chemically synthesized single-stranded nucleic acid molecules, which have the characteristics of small molecular mass, easy modification and low immunogenicity, and can be used as affinity ligands to specifically bind to targeted molecules. Aptamer-modified exosomes can precisely deliver drugs to the site where tumor cells occur, thereby achieving targeted treatment of tumors, enhancing the effectiveness of tumor therapy, and reducing adverse effects. Aptamers can modify exosomes in a variety of ways, mainly including receptor-ligand binding, hydrophobic interactions, DSPE-PEG2000-Mal conjugation, amide bonding, click chemistry, which lays a solid foundation for the development and application of aptamer functionalized exosome drug delivery systems. At present, the aptamer functionalized exosome drug delivery system still faces the following problems, such as the difficulty of aptamer screening, the low efficiency of exosome isolation and purification, and the lack of safety research on the use of aptamer-functionalized exosomes as drug-targeting delivery systems. As long as the above problems are solved, the role of aptamer functionalized exosomes in the treatment of tumors can be maximized. This review will focus on the application of aptamer functionalized exosome drug targeting delivery systems in various tumor treatments, and elaborate on their future challenges and opportunities.

Key words aptamer, exosome, tumor, targeted therapy

DOI: 10.16476/j.pibb.2023.0281