



## 脂质体递药系统的靶向修饰\*

杜 桑 崔韶晖\*\* 陈星妍 张树彪\*\*

(大连民族大学生命科学学院, 生物技术与资源利用教育部重点实验室, 大连 116600)

**摘要** 作为药物递送载体, 脂质体 (LPs) 由于免疫原性低、稳定性好、毒性低和成本低而被认为是有前途的纳米药物递送系统。然而, LPs 的靶向递送效果并不理想, 往往会对正常的机体细胞造成伤害, 因此, 如何优化 LPs 药物, 使其具有靶向性仍然是当前研究的重点。本文结合近年来国内外相关研究进展, 重点介绍了多肽、抗体、糖类、配体, 以及核酸适配体等靶向修饰物对 LPs 功能的影响, 并归纳总结了各种靶向修饰目前存在的优势与挑战, 以期对 LPs 给药系统的进一步研究提供科学参考及新药研发提供理论依据。

**关键词** 脂质体, 靶向修饰, 递药系统, 肿瘤, 治疗

**中图分类号** Q819, R730.54

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2022.0182

脂质体 (liposomes, LPs) 是由脂质双层膜构成的中空小球, 在水相中, 脂质分子通常会自发聚集, 以疏水尾部“尾对尾”、亲水头部“肩并肩”的形式形成一个双层的中空囊泡, 其中空的部分可以装载亲水性的药物<sup>[1]</sup>, 同时, 其脂双层之间又可以装载亲脂性药物。由于 LPs 的这种特点, 被认为是一种良好的药物载体。此外, LPs 还有许多其他优点, 如粒径可调控、稳定性较好、具有缓释作用、毒性低、生物相容性好、无免疫原性、造价低等<sup>[2]</sup>。LPs 作为药物载体, 能够很好地保护药物免

受外部介质的伤害, 可以减少药物所引起的副作用, 但是由于缺乏肿瘤靶向性, 使得 LPs 药物难以达到良好的治疗效果。为了克服该缺点, 研究者们开发出多种靶向修饰 LPs。肿瘤细胞会高表达一些受体, 靶向 LPs 就是在 LPs 表面插入可以与肿瘤细胞表面受体识别的修饰物, 利用修饰物与受体的特异性识别与结合作用, 将 LPs 携带的药物递送进肿瘤细胞, 进而达到治疗肿瘤的目的<sup>[3]</sup>。根据靶向修饰物的类型不同, 可分为多肽类、抗体类、糖类、配体类、核酸适配体类 5 个主要类型 (图 1)。

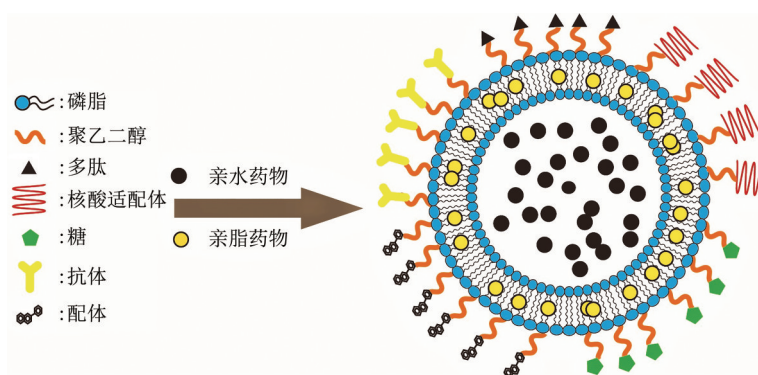


Fig. 1 Schematic diagram of the main types of targeting modified liposomes

图1 靶向修饰脂质体主要类型的示意图

\* 国家自然科学基金 (21606041) 资助项目。

\*\* 通讯联系人。

崔韶晖 Tel: 13704268350, E-mail: csh@dlnu.edu.cn

张树彪 Tel: 13898484611, E-mail: zsb@dlnu.edu.cn

收稿日期: 2022-04-24, 接受日期: 2022-08-10

本文依据这5类, 就近几年来国内外有关靶向修饰LPs递药系统的研究进展进行综述。

## 1 多肽修饰的脂质体

多肽分子是机体内一类重要的生物活性物质, 参与机体的生长发育以及代谢, 同时也是蛋白质水解的中间产物。多肽具有高特异性、高选择性、尺寸小、易修饰和高生物相容性等优点, 此外, 由于没有三级结构, 多肽通常会更加稳定, 因此, 多肽在靶向给药方面具有非常广阔的应用前景<sup>[4]</sup>。按照多肽功能可大致分为靶向细胞多肽、细胞穿膜肽和靶向细胞穿膜肽三类<sup>[5]</sup>。

### 1.1 靶向细胞多肽修饰的脂质体

靶向细胞多肽 (homing peptide, HP) 也称归巢肽, 是一类与肿瘤细胞或肿瘤微环境因子结合的特异性多肽<sup>[4]</sup>。HP已被广泛应用于药物递送领域, 其中以精氨酸(R)-甘氨酸(G)-天冬氨酸(D)三肽

(RGD)组成的靶向活性肽最为典型。RGD能与整合素受体( $\alpha_v\beta_3$ 、 $\alpha_v\beta_5$ 和 $\alpha_v\beta_1$ )选择性结合, 进而促使RGD修饰的LPs与细胞外基质和细胞膜发生相互作用。此外, 有研究表明, 相比于线状的RGD肽, 环状的RGD肽(cyclic RGD、cRGD)与整合素结合的效果更好<sup>[6-7]</sup>。

Fu等<sup>[6]</sup>用自主合成的三肽头部的类脂N,N-双十四烷氧酰胺乙基三聚鸟氨酸酰胺(CDO14)和二油酰磷脂酰乙醇胺(dioleoylphosphatidylethanolamine, DOPE)为基础, 制备了cRGD修饰的LPs(cRGD/CD), 同时搭载阿霉素(doxorubicin, DOX)用以靶向治疗肺癌(图2)。cRGD/CD-DOX的细胞摄入率更高, 因为cRGD能实现肺癌细胞靶向性, 同时CDO14脂质体具有酸不稳定性, 即在溶酶体的酸性环境下, 能够解组装, 并实现溶酶体逃逸, 从而释放DOX以达到杀死肿瘤细胞的目的。体内外研究结果均表明, 相比于对照组, cRGD/CD-DOX有更强的抗肿瘤活性。

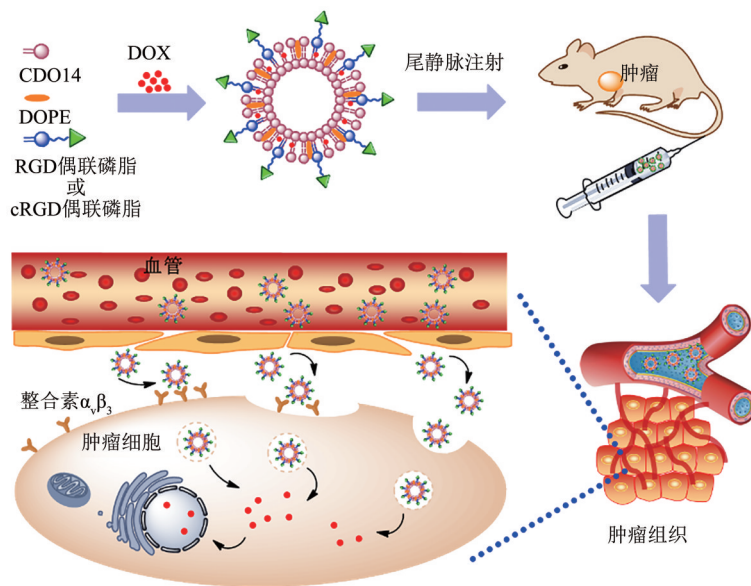


Fig. 2 Schematic diagram of cRGD modified liposomes targeting tumors<sup>[6]</sup>

图2 cRGD修饰的脂质体靶向肿瘤示意图<sup>[6]</sup>

由天冬酰胺(N)-甘氨酸(G)-精氨酸(R)组成的三肽NGR可以与肿瘤细胞膜上的氨基肽酶N(aminopeptidase N, CD13)特异性结合, 因此也被用于LPs靶向修饰<sup>[8]</sup>。Gu等<sup>[9]</sup>将NGR肽插入到包载紫杉醇(paclitaxel, PTX)的pH敏感LPs表面, 以CD13高表达的人纤维肉瘤细胞HT-1080为实验对象, 实验结果证实, NGR肽修饰的LPs能

特异性靶向HT-1080细胞, 并显著提高LPs的抗肿瘤活性。

HP通过与细胞表面的受体结合, 能有效将其修饰的LPs携带进入肿瘤细胞, 显示出HP修饰的LPs在肿瘤治疗中具有巨大潜力。然而, 目前HP修饰LPs的应用仍然受到限制, 其中关键的问题在于这些多肽的受体主要存在于肿瘤血管内皮细胞,

并不具有肿瘤治疗的普适性。因此,提高对HP普适性筛选的研究十分重要。

## 1.2 细胞穿透肽修饰的脂质体

细胞穿透肽 (cell-penetrating peptide, CPP) 是一类体积小、氨基酸序列短的多肽序列。其与脂质双层具有高亲和力,当CPP与细胞膜结合时,这些多肽序列能够负责膜转位,进而使CPP内化进入细胞内<sup>[10]</sup>。CPP具有将药物载体快速、高效、无毒地输送到细胞中的巨大前景,为解决因进入细胞受阻的治疗方式提供了新方向<sup>[11]</sup>。

反式激活转录蛋白 (transactivating transcription protein, TAT) 是从人类免疫缺陷病毒中发现的一个富含精氨酸序列的多肽,具有CPP的性质。Kuai等<sup>[12]</sup>设计了一种由聚乙二醇 (polyethylene glycol, PEG) 和TAT修饰的可控LPs。其中PEG由二硫键连接,可以保护性遮挡TAT,当添加完全裂解剂L-半胱氨酸 (L-Cys) 时可以断裂二硫键,释放PEG的空间位阻,从而暴露“功能分子”TAT,TAT可以提高LPs的细胞摄取,进而实现细胞对LPs摄入的控制。由于CPP本身缺乏靶向性,单独修饰CPP的LPs往往无法实现靶向肿瘤目的,为了解决这个问题,Shi等<sup>[13]</sup>设计了一种同时具有主动靶向整合素 $\alpha_v\beta_3$ 和细胞穿膜功能的多肽,它是由cRGD和CPP组成的串联肽。研究结果显示,该串联肽修饰的紫杉醇LPs对荷瘤小鼠的抑瘤率达到85.04%,且小鼠的存活率明显高于其他各对照组。

CPP具有很强的细胞穿透能力。用CPP修饰载药的LPs能有效提高细胞摄入率,但是由于CPP不能特异识别肿瘤组织细胞,可能存在对正常组织细胞产生伤害的风险。因此,往往需要对CPP进行进一步的设计或是同时联合靶向基因共修饰LPs,以达到既增强靶向作用又能提高癌细胞摄入率的目的。

## 1.3 靶向细胞穿膜肽修饰的脂质体

靶向细胞穿膜肽 (cell-penetrating homing peptides, CPHPs) 同时拥有细胞靶向和细胞穿膜的功能。Sugahara等<sup>[14]</sup>筛选出一种靶向细胞穿膜肽 (internalizing RGD, iRGD), iRGD是指内化RGD,其氨基酸序列为CRGDKGPDC,能主动靶向识别高表达整合素 $\alpha_v\beta_3$ 受体的肿瘤细胞,且具有穿膜作用。iRGD遵循多步肿瘤靶向机制,首先完整的肽结合到表达整合素 $\alpha_v\beta_3$ 受体的细胞表面,随后被蛋白质水解,产生CRGDK片段,CRGDK片

段对整合素 $\alpha_v\beta_3$ 受体亲和力较低而对神经黏连蛋白1亲和力较高,促使CRGDK从整合素 $\alpha_v\beta_3$ 受体转移到神经黏连蛋白1,由此产生了穿膜活性<sup>[14]</sup>。

Deng等<sup>[15]</sup>制备了iRGD修饰的包载DOX的LPs (iRGD-LTSL-DOX)。该LPs利用iRGD的靶向性和细胞穿透性,将药物载体带入肿瘤细胞,释放DOX以达到杀伤肿瘤细胞的作用。体外实验比较了对 $\alpha_v\beta_3$ 表达程度不同的细胞靶向能力,结果显示,iRGD-LTSL-DOX在高表达 $\alpha_v\beta_3$ 的细胞中,其靶向能力是LTSL-DOX的1.8~2倍。该结果表明,iRGD修饰的LPs能有效靶向到肿瘤细胞中并实现肿瘤细胞的杀伤作用。Yu等<sup>[16]</sup>利用修饰有iRGD的空间稳定性LPs (iRGD-SSL-DOX) 进行黑色素瘤的治疗。黑色素瘤细胞B16-F10过表达 $\alpha_v$ 整合素受体,能识别iRGD修饰的LPs。体外以及体内实验结果表明,iRGD修饰的LPs具有更高的肿瘤靶向性和肿瘤穿透活性。体内抗肿瘤结果表明,iRGD-SSL-DOX对B16-F10荷瘤小鼠的抗黑色素瘤作用强于SSL-DOX。

利用多肽修饰LPs将药物输送到癌细胞的研究越来越受关注,体内外的研究也都显示着良好的结果<sup>[17]</sup>。多肽修饰的LPs可以增加所携带药物在肿瘤细胞中的富集,提高肿瘤治疗的效果,显示出其良好的研究价值和应用前景。但是由于多肽自身存在一些限制因素,如缺乏靶向性、靶向普适性等。因此,如何解决多肽存在的限制因素是未来研究的重要关键。

## 2 抗体修饰的脂质体

抗体修饰的LPs即免疫脂质体 (immunoliposomes, IL),是将单抗或抗体功能化片段插入LPs表面,借助抗体与靶细胞表面抗原特异性结合,从而使LPs递药系统富集于靶细胞,减少药物副作用<sup>[18]</sup>。IL依据靶头抗体可分为完整抗体、单克隆抗体、抗体Fab片段和单链抗体 (single chain fragment variable, scFv)<sup>[18-19]</sup>。其中完整抗体由于体积过于巨大,不利于LPs的体内循环,且专一性不强,所以目前很少使用完整抗体作为修饰体。

### 2.1 单克隆抗体修饰的脂质体

利用杂交瘤技术将骨髓瘤细胞和可分泌抗体的B淋巴细胞融合,再经过筛选和克隆化得到大量单克隆细胞株,该细胞株产生的高度均一、仅针对某一特定抗原的抗体即为单克隆抗体。单克隆抗体具

有灵敏度高、特异性强、交叉反应少的优点。

Petrilli 等<sup>[20]</sup>将西妥昔单抗与荷载 5-氟尿嘧啶 (5-fluorouracil, 5-FU) 的 LPs 连接, 制备成装载 5-FU 的 IL, 用于靶向表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptors, EGFR) 高表达的鳞状细胞癌细胞 SCC。通过 IL 与普通 LPs 对比研究发现, SCC 细胞对西妥昔单抗修饰的 IL 的摄取是非修饰 LPs 的 3.5 倍。在体内, 皮下注射 IL 与阴性对照相比, 肿瘤体积减少了 60% 以上; 与游离 5-FU 溶液和对照 LPs 治疗相比, 肿瘤体积减少约 50%。Survivin 抑制剂 YM155<sup>[21]</sup> 是一种有前途的治疗神经细胞瘤的药物, 但其利用率低限制了其使用。Gholizadeh 等<sup>[21]</sup>利用二棕榈酰磷脂酰胆碱 (1, 2-dihexadecanoyl-rac-glycero-3-phosphocholine, DPPC) 为脂质载体装载 YM155, 同时修饰上抗二唾液酸神经节苷脂 (monoclonal anti-disialoganglioside, GD2) 单克隆抗体, 使 LPs 具有特异性识别成神经肿瘤细胞的功能。细胞实验结果表明, GD2 修饰的 LPs 与成神经细胞瘤细胞的结合能力增加了 4 倍, 并且, 由于 LPs 的保护, 使得 YM155 在血浆中维持较高的水平, 能有效杀伤神经瘤细胞。

单克隆抗体在靶向修饰药物载体研究方面具有较好的应用前景, 利用其专一性与抗原结合的特点, 可以精准地将药物载体带入到靶细胞内。但单克隆抗体的制备对于技术有一定的要求, 这限制了其大规模的应用。此外, 对于单克隆抗体自身所带来的细胞毒性也还缺乏较为深入的研究。

## 2.2 抗体 Fab 片段修饰的脂质体

抗体 Fab 片段是抗体在蛋白水解酶的作用下切割而来, 由重链可变区、重链恒定区、轻链可变区、轻链恒定区以及一个二硫键组成<sup>[18, 22]</sup>。Fab 片段的尺寸较小, 相比于整个抗体, 其拥有更高的表面密度, 更多的单位面积上可结合部位数量, 以及优秀的组织穿透能力<sup>[23]</sup>。

Khan 等<sup>[24]</sup>制备了可以靶向治疗人表皮生长因子受体 2 (human EGFR 2, HER2) 过表达的乳腺癌 IL。LPs 表面插入 HER2 抗体的 Fab 片段, 同时装载脂肪酸合成酶 (fatty acid synthase, FASN) 的 siRNA 用于抑制乳腺癌细胞的增殖。对 HER2 过表达的乳腺癌 SK-BR3 细胞进行治疗, 结果显示, 制备的 FASN-siRNA 修饰的 LPs 都表现出明显更高的细胞摄取和内化效率, 细胞的存活率降至 20%, 而对于 HER-2 低表达的乳腺癌 MCF-7 细胞, 其存活

率则降至 36%。该结果显示出抗体 Fab 片段修饰的 LPs 具有良好的肿瘤靶向能力。同样针对乳腺癌, Li 等<sup>[25]</sup>制备了修饰有 ErbB2 抗体 Fab 片段的 LPs, 可以通过乳腺癌细胞上的 ErbB2 受体达到靶向目的, 得到较好的治疗效果。

抗体 Fab 片段体积小、穿透力高, 且由于没有 Fc 片段, 不会受到巨噬细胞和 B 细胞等免疫细胞上 Fc 受体的影响, 能躲避机体的免疫监控, 将所携带的药物载体运送至靶细胞。当然, 由于没有 Fc 片段, 抗体 Fab 片段的降解速度也会加快, 因此, 如何提高抗体 Fab 片段的稳定性, 减缓其在体内的降解速度将是抗体 Fab 片段使用的一个亟需解决的问题。

## 2.3 单链抗体修饰的脂质体

scFv 是由抗体重链高变区和轻链高变区两部分通过一个短肽连接而成的抗体, scFv 含有完整的抗原结合位点, 是具有抗体活性的最小功能结构单位, 因其结构稳定、穿透能力强并且制备成本低而成为目前最先进的 IL 靶头抗体形式<sup>[26]</sup>。

头颈部鳞状细胞癌 (squamous cell carcinoma of head and neck, SCCHN) 是世界第 5 大常见癌症, 由于该区域的解剖学复杂性, 完全手术切除几乎是不可能的。Wang 等<sup>[27]</sup>制备了一种可以靶向 SCCHN 的 IL, 该 LPs 利用抗 EGFR 人源 scFv 作为靶向修饰物, 包载 DOX 用以杀伤肿瘤细胞。体外的实验结果显示, 相比于非靶向 LPs, IL 增强了 SCCHN 细胞的内吞作用, 并显著降低药物递送载体的半数抑制浓度 ( $IC_{50}$ )。小鼠实验结果显示, 利用 IL 治疗的小鼠中位存活时间显著延长, 且没有明显的全身毒性增加。Saeed 等<sup>[28]</sup>利用黑色素瘤抗原 A1 的 T 细胞受体样抗体的 scFv 片段, 修饰包载 DOX 的 LPs 用于靶向治疗黑色素瘤, 通过对比非靶向 LPs, 黑色素瘤细胞在体外对 IL 的结合和内化更明显。细胞毒性结果显示, 虽然非靶向 LPs 和靶向 LPs 体内药代动力学相似, 但是靶向 LPs 的蓄积量要明显高于非靶向 LPs, 抗肿瘤活性也更优于非靶向 LPs。

上述研究将抗体与 LPs 结合, 利用抗体与抗原具有强专一性, 设计出针对肿瘤治疗的 IL, 既能减少药物的副作用, 又能提高疗效<sup>[18]</sup>。抗体作为靶向修饰物制备 IL 似乎是提高 LPs 靶向不足的有效方法<sup>[19]</sup>。目前, 对于 IL 的研究仍有不足, 需要考虑到抗体的半衰期较短, 且储存条件较为苛刻, 不利于 LPs 递药系统的大规模应用, 同时, 当抗体与

抗原结合时,其自身就会产生细胞毒性,这些细胞毒性是否影响IL的功能还需要进一步的研究。相信随着技术的发展,IL的临床应用也有望成为现实。

### 3 糖基修饰的脂质体

糖类是细胞能量的主要来源,细胞通过糖酵解产生ATP来供给能量。肿瘤细胞相比于正常细胞,失去生长控制能力,因此需要摄入大量的ATP来维持生存,而细胞膜表面葡萄糖转运体(glucose transporters, GLUT)的表达增加可以满足这一要求, GLUT不仅特异性转运葡萄糖,还能转运半乳糖、甘露糖及其衍生物等<sup>[29]</sup>,同时,糖类还参与细胞的许多代谢过程。此外,基于不同细胞的特点,细胞表面还会特异性表达多种糖受体,这提示,可以将糖基作为配体来修饰LPs,实现靶向肿瘤细胞目的。

#### 3.1 葡萄糖及其衍生物修饰的脂质体

葡萄糖是细胞能量来源的基本物质,一般细胞表面都会表达GLUT用于摄入葡萄糖,由于肿瘤失去生长控制能力,对于能量的需求极大,这就导致肿瘤细胞表面会过量表达GLUT来维持其能量需求,葡萄糖修饰的LPs就是利用肿瘤细胞表面过表达的GLUT为靶向目标来实现肿瘤细胞的精准靶向药物递送<sup>[30]</sup>。Mu等<sup>[31]</sup>设计了一种新型功能性葡萄糖偶联材料TPGS1000-Glu,由葡萄糖衍生物4-氨基苯基-D-吡喃葡萄糖苷(4-aminophenyl- $\beta$ -D-glucopyranoside, Glu)和维生素E衍生物D- $\alpha$ -生育酚聚乙二醇1000琥珀酸酯(D- $\alpha$ -tocopherol polyethylene glycol 1000 succinate, TPGS1000)组成, Glu具有肿瘤靶向性,TPGS1000具有抑制肿瘤药物外排和改善药物溶解性的作用,TPGS1000-Glu通过插入到LPs以实现肿瘤靶向的目的,同时LPs携带表阿霉素用于治疗脑胶质瘤。实验结果表明,TPGS1000-Glu修饰的表阿霉素LPs包封率高且多分散指数小,与非靶向LPs对比,其不仅能够跨过血脑屏障(blood brain barrier, BBB),同时具有更强的药物摄取和抗胶质瘤作用。Shen等<sup>[32]</sup>利用烷基葡萄糖苷的葡萄糖片段作为靶向头部对LPs进行修饰,包载双氢青蒿素(dihydroartemisinin, DHA)用于抗肝癌治疗。实验结果显示,该LPs对人肝癌细胞HepG2具有良好的靶向性,抗肿瘤活性明显增加。

利用葡萄糖作为靶向配体是一种很有前途的修

饰方式,葡萄糖来源广、价格低,且GLUT在肿瘤细胞上高表达,这为葡萄糖的应用提供了可能性。当然,目前关于葡萄糖作为靶向配体的研究还比较少,且研究多以体外实验进行,仍需要进行更多的相关性实验来对这种修饰方式进行检验。

#### 3.2 半乳糖及其衍生物修饰的脂质体

半乳糖(galactose, Gal)是广泛存在于奶产品或甜菜中的一种单糖,是某些糖蛋白的重要成分。肝细胞表面存在一类半乳糖受体,也被称为唾液酸糖蛋白受体(asialoglycoprotein receptor, ASGPR),可以特异性与Gal结合,以受体介导的胞吞作用大量摄入Gal进行分解代谢和再循环<sup>[33-34]</sup>。因此Gal可以作为靶向修饰物,实现药物载体的肝癌细胞靶向。

Liu等<sup>[35]</sup>制备了包载去甲斑蝥素片的ASGPR靶向LPs。该LPs是利用二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇(1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine-Poly, DSPE-PEG)与Gal结合形成半乳糖化LPs(Gal-Lipo)。GAL-Lipo通过其LPs外侧的Gal末端分子和HepG2细胞上的ASGPR选择性结合,然后利用受体介导的胞吞作用将携带药物的LPs摄入HepG2细胞内达到富集药物的作用。体外实验表明,相比于未经Gal修饰的LPs, GAL-Lipo被显著地内化到HepG2细胞中,这也意味着更多的药物能被输送到细胞内。Wang等<sup>[36]</sup>制备了以Gal修饰的LPs,以热激活延迟荧光(thermally activated delayed fluorescence, TADF)为荧光探针评价LPs靶向肿瘤细胞的能力,共聚焦显微镜和流式细胞仪检测结果表明,与空白PEG-DSPE修饰的LPs相比, HepG2细胞对Gal-PEG-DSPE修饰的LPs的摄取效率更高。

Gal修饰的LPs展现出了其优异的肝癌细胞靶向能力,通过与ASGPR结合,将LPs以受体介导的胞吞作用摄入细胞。因此, Gal是肝癌细胞靶向载体理想的修饰物。当然, Gal修饰的LPs也存在需要解决的问题,虽然, Gal修饰的LPs可以相对精准定位于肝癌细胞,但是在肝癌治疗中,如何避免对正常肝细胞损伤还需要更为深入的研究。

#### 3.3 甘露糖及其衍生物修饰的脂质体

甘露糖(mannose, Man)是一种单糖,是多种多糖的重要组成成分,在人体代谢过程中,具有重要作用。Man可以与甘露糖受体(mannose receptor, MR)结合,用于修饰药物载体进行癌症治疗<sup>[30]</sup>。MR是一种高效的内源性受体。其功能

包括清除内源性分子、促进抗原提呈、调节细胞活化和运输。它在肿瘤转移和免疫逃避中也起着重要作用<sup>[37-38]</sup>。

Xiong 等<sup>[38]</sup>以包载 PTX 的 LPs 为基础, 通过在 LPs 表面插入 Man, 制备了 Man 修饰的紫杉醇 LPs (PTX-Man Lips), 该 LPs 能够靶向 MR, 用于提高 PTX 对 MR 高表达的结直肠癌的治疗作用。小鼠体内实验结果显示, 在治疗 21 d 后, 相比生理盐水组、PTX-Lips 组、Man Lips 组和 PTX-Lips 组, PTX-Man Lips 显示出更高的抗肿瘤活性, 同时与生理盐水对照组相比, PTX-Man Lips 肿瘤抑制率为 69.79%。表明 Man 修饰的 LPs 有可能成为结直

肠癌靶向治疗的潜在给药系统。

天然糖类物质具有较好的生物安全性和生物降解性, 获取来源广, 价格低廉, 有良好的靶向功能, 因此具有广泛的应用前景<sup>[34]</sup>。表 1 例举了以糖类为靶向修饰物的相关信息。利用细胞膜表面的糖受体与糖类物质特异性结合是该修饰的关键。在研究中, 需要考虑细胞表面相应糖受体表达的差异性。此外, 糖类修饰的 LPs 所产生的细胞毒性还未见系统性报道。目前, 糖类修饰 LPs 的研究尚处于初步阶段, 仍有大量问题需要解决, 但是相信随着技术的发展, 糖类修饰的 LPs 可以取得更大进步。

Table 1 Summary of targeting liposomes with glycosylation modifications  
表1 糖基化修饰的靶向脂质体汇总

| 糖类              | 作用靶点  | 药物    | 性能                                                                 | 参考文献 |
|-----------------|-------|-------|--------------------------------------------------------------------|------|
| 葡萄糖             | GLUT  | PTX   | 葡萄糖修饰的LPs能有效穿过BBB, 具有高效的脑靶向性能                                      | [39] |
| 4-氨基苯基-D-吡喃葡萄糖苷 | GLUT  | 表阿霉素  | 用胶质瘤细胞U87-MG在体外模拟BBB, 结果表明, 修饰后的LPs体外跨BBB转运后显示出较强的药物摄取和抗胶质瘤效果      | [31] |
| 正辛基-β-D-吡喃葡萄糖苷  | GLUT  | 双氢青蒿素 | 修饰后的LPs粒径小, 包封率较高, 稳定性较好, 对人肝癌细胞具有良好靶向性, 同时具有抗肿瘤活性                 | [32] |
| 半乳糖             | ASGPR | 去甲斑蝥素 | Gal修饰的LPs对HepG2细胞的毒作用强于未修饰的LPs和游离的药物, 且降低了肾脏毒性                     | [35] |
| 半乳糖             | GLUT  | TADF  | 以TADF为荧光探针, 评价Gal修饰的LPs靶向肿瘤细胞的能力, 结果显示, 与空载体相比, Gal修饰的LPs对细胞摄取效率更高 | [36] |
| 甘露糖             | MR    | PTX   | 对比不同MR表达量的细胞, 结果显示Man修饰的LPs在MR高表达的细胞中具有更高的摄取率                      | [38] |

4 配体修饰的脂质体

由于癌细胞基因表达的改变, 不同癌细胞会过度表达一些特殊的受体, 而正常细胞低表达或不表达这些受体。因此, 在 LPs 表面修饰上可以与这些受体结合的配体, 能够使 LPs 特异性地识别这些癌细胞或组织, 实现靶向递送<sup>[40]</sup>。目前, 基于细胞表面受体特异性结合的配体研究主要集中于叶酸 (folic acid, FA)、表皮生长因子 (epidermal growth factor, EGF) 及转铁蛋白 (transferrin, TF) 等。

4.1 叶酸修饰的脂质体

FA 是一种水溶性维生素, 是机体中参与一碳单位转移的重要辅助因子, 也是基因复制的必需物质。叶酸受体 (folate receptor, FAR) 是细胞有效摄入 FA 而特异性表达的糖蛋白膜受体, 对 FA 具有高亲和力。当 FA 与靶细胞上 FAR 特异性结合时, 能通过受体介导的内吞作用被内化进入细胞, 研究

发现在一些肿瘤细胞表面会高表达 FAR, 以便摄取更多的 FA, 这提示 FAR 可以作为潜在的靶点用于肿瘤靶向治疗<sup>[41-42]</sup>。

Nguyen 等<sup>[43]</sup>制备了 FA 修饰的靶向 LPs (FA@AuNR-DOX-LPs) 协同化疗和光热疗法治疗乳腺癌。如图 3 所示, 该 LPs 表面修饰 FA, 内部包裹金纳米棒 (AuNR) 和 DOX。通过对比 FA 修饰的 LPs 与非靶向 LPs 的实验结果表明, FA 修饰的 LPs 具有更高的细胞摄入率, 表明其具有更强的靶向能力。此外, 荷瘤小鼠体内实验表明, 靶向 LPs 联合治疗可以有效抑制肿瘤的生长。Tie 等<sup>[44]</sup>则利用 FA 修饰的 LPs (F-PLP/pBIM) 递送 BIM-S 基因来治疗肺癌。BIM-S 基因翻译促凋亡蛋白 BIM, BIM 已被证明是细胞凋亡的关键调节因子。实验结果显示, F-PLP/pBIM 能特异性抑制肺癌生长, 减少肿瘤结节数, 减轻肿瘤重量。

FA 作为靶向修饰物的研究已经受到广泛的关注, 因为 FAR 在多种肿瘤细胞中高表达。许多研

究证明, FA 可以非常高效地将 LPs 携带进入肿瘤细胞。虽然, FA 修饰的 LPs 研究取得了较大的进展, 但是仍有一些问题有待解决, 例如, FA 修饰

的 LPs 进入细胞后的释放机制仍不明确, 由此所带来的可能的细胞毒性也需要进一步的阐明。

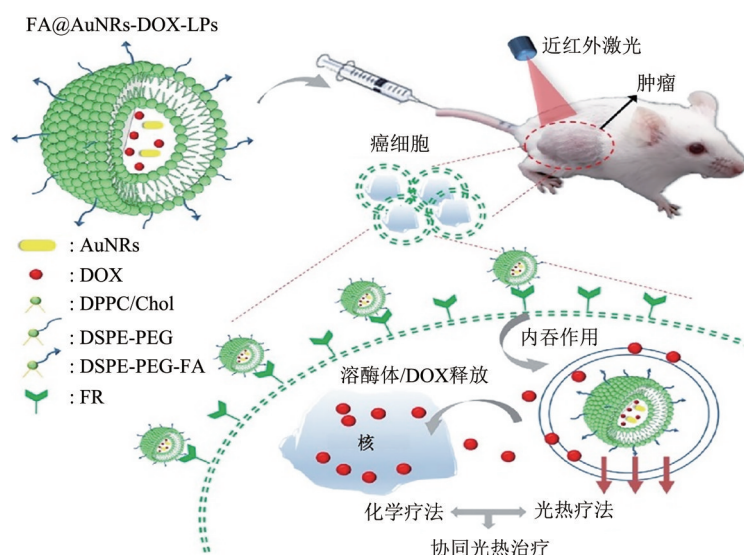


Fig. 3 Schematic of FA-modified liposomes co-encapsulated by AuNR and DOX for treating breast cancer<sup>[43]</sup>

图3 AuNR和DOX共同包封的FA修饰的脂质体治疗乳腺癌示意图<sup>[43]</sup>

#### 4.2 表皮生长因子修饰的脂质体

EGFR 是细胞生理的重要调节因子, 在细胞增殖、存活和分化过程中起着重要的调节作用<sup>[45]</sup>。当 EGF 结合 EGFR 后, 会引发 EGFR 的二聚化和内源性激酶的激活, 然后通过网格蛋白依赖的胞吞作用内化 EGF。EGFR 的激活通常会导致细胞生长和增殖。研究表明, 当细胞发生癌变时, EGFR 过表达, 正常细胞一般每个细胞表达  $4 \times 10^4 \sim 1 \times 10^5$  个 EGFR, 而肿瘤细胞每个细胞可表达  $2 \times 10^6$  个 EGFR, 导致肿瘤细胞快速增殖, 这使得 EGFR 成为理想的靶向研究位点<sup>[46]</sup>。

Thomas 等<sup>[47]</sup>报道了一种具有 EGFR 靶向能力的 LPs ( $^{111}\text{In}$ -EGF-LP-DOX), 该 LPs 装载 DOX 的同时进行高剂量的放射性  $^{111}\text{In}$  标记。研究对比了 EGFR 高表达的 MDA-MB-468 和低表达的 MCF-7 两种细胞的细胞摄取差异,  $^{111}\text{In}$ -EGF-LP-DOX 在 MDA-MB-468 细胞中摄取量更多, 且联合治疗的实验组对肿瘤细胞杀伤效果更好。Wang 等<sup>[48]</sup>为了克服顺铂 (cisplatin, CDDP) 的毒副作用和低水溶解性, 使用海藻酸钠 (sodium alginate, SA) 包裹 CDDP, 构建了以顺铂-海藻酸钠 (CS) 为偶联物的 LPs (CS-EGF-Lip), 并在 LPs 上插入 EGF 用于靶向治疗 EGFR 高表达的卵巢癌。实验结果显

示, 对比非靶向的 LPs 和游离的 CDDP, CS-EGF-Lip 能明显抑制肿瘤的生长和迁移, 基本不会影响小鼠的体重, 且肾毒性较低。Huang 等<sup>[49]</sup>将酵母胞嘧啶脱氨酶 (yeast cytosine deaminase, Fcy) 和人表皮生长因子 (human EGF, hEGF) 利用基因工程技术形成融合蛋白 Fcy-hEGF, 然后将 Fcy-hEGF 插入到包裹治疗用放射性核素  $^{188}\text{Re}$  的 LPs 表面, 构建了新型 LPs ( $^{188}\text{Re}$ -liposome-Fcy-hEGF)。融合蛋白 Fcy-hEGF 能够与 EGFR 结合, 同时, Fcy 可以将 5-氟胞嘧啶 (5-fluorocytosine, 5-FC) 酶促转化为 1 000 倍毒性的 5-FU 以达到杀伤肿瘤细胞的效果。

#### 4.3 转铁蛋白修饰的脂质体

TF 是一种能够以高亲和力可逆结合三价铁原子的蛋白质, 通过与细胞膜上的转铁蛋白受体 (transferrin receptor, TFR) 结合从而将结合的铁原子内化进细胞<sup>[50]</sup>。TFR 在各种正常组织上普遍表达, 反映了细胞对铁的代谢需求。多项研究表明相对于正常细胞, 肿瘤细胞表面的 TFR 表达上调<sup>[51]</sup>, 这使得 TF 成为精准治疗的有效靶点。

Jhaveri 等<sup>[52]</sup>设计了修饰有 TF 的 LPs (TF-RES-L), 将包载的药物白藜芦醇 (resveratrol, Res) 靶向到神经胶质母细胞瘤

(glioblastoma, GBM), 以实现肿瘤细胞的定向杀伤。细胞实验结果显示, 当 Res 浓度约为 200  $\mu\text{mol/L}$  时, 非靶向 LPs (Res-L) 处理的细胞存活率为 61.9%, TF-RES-L 处理的细胞存活率为 54.2%。体内实验表明, TF-RES-L 对裸鼠的肿瘤生长抑制作用明显优于对照组, 表明 TF 的修饰可以为 LPs 提供有效的靶向性。全乳铁蛋白 (holo-lactoferrin, Lf) 是一种天然的铁饱和乳铁蛋白, 具有多种生理功能, 可作为 TFR 的潜在配体<sup>[53]</sup>。Zhang 等<sup>[53]</sup> 利用全乳铁蛋白修饰包载 DOX 的 LPs (Lf-Liposome-Dox)。实验结果显示, 该 LPs 不仅可以靶向蓄积在 TFR 高表达的肿瘤细胞中, 还可以催化  $\text{H}_2\text{O}_2$  转化为氧气, 能有效缓解肿瘤缺氧微环境, 并可以结合在 X 射线 (X-ray) 的照射下增强其化疗效果, 显著抑制小鼠体内的肿瘤生长。该实验结果提示全乳铁蛋白 LPs 有巨大的肿瘤治疗潜力。

总之, 依赖于受体的主动靶向 LPs 很有临床应用前景, 但该系统有一个亟需解决的问题, 即受体是正常细胞存活所必需的, 当以肿瘤细胞过表达的受体为靶标时, 难免会因为正常细胞也存在本底水平的受体表达而被“误伤”。虽然配体修饰的 LPs 仍有很多尚未解决的问题, 但其已在靶向治疗研究中显示出巨大优势。

## 5 核酸适配体修饰的脂质体

核酸适配体 (aptamers) 是通过富集配体系统进化技术 (SELEX) 从随机的 DNA 或 RNA 文库中筛选出来的一类具有高特异性、强亲和力、能精准识别目标物的单链寡聚核苷酸<sup>[54-55]</sup>, aptamer 可通过二、三级结构的折叠形成特定的三维空间构型与靶分子高亲和性、高特异性地相互作用<sup>[56]</sup>。Aptamer 的目标物具有多样性, 不仅能与小分子结合, 甚至能与整个生物体结合<sup>[57]</sup>。相比于传统的抗体, aptamer 具有合成简单、分子质量更低、稳定性更高、毒性更低、程序可控等优点<sup>[58]</sup>。此外, 有研究表明, 在肿瘤学领域, aptamer 不会在全身给药中刺激免疫系统的 Fc 区域, 同时具有更高的肿瘤穿透性、保留性, 且能够均匀分布<sup>[59-61]</sup>。Aptamers 根据其合成类型可分为 DNA 和 RNA 两类。

### 5.1 DNA 核酸适配体修饰的脂质体

Cao 等<sup>[62]</sup> 于 2009 年第一次利用 aptamer 修饰 LPs, 用于药物的靶向递送治疗。该 LPs 包载顺铂,

表面修饰有适配体 AS1411 (5'-GGT GGT GGT GGT TGT GGT GGT GGT TTT TTT TTT TT-3')。AS1411 与核仁素有很高的亲和力, 核仁素在多种癌细胞表面过度表达, 利用这个特性, AS1411 修饰的 LPs 可以特异靶向癌细胞表面, 将杀伤性药物富集于癌细胞内, 达到精准治疗的目的。Yu 等<sup>[63]</sup> 同样利用适配体 AS1411 (5'-GGT GGT GGT GGT TGT GGT GGT GGT GG-3') 作为靶向修饰物制备出了 AS1411 适配体功能化 LPs (AS1411/Lipo-PTX-siPLK1), 该 LPs 同时包载有 PTX 和 PLK1 siRNA (siPLK1) 用于对乳腺癌的治疗。细胞实验结果显示, AS1411/Lipo-PTX-siPLK1 可以使 MCF-7 细胞的 PLK1 mRNA 表达下调约 79%, 而对照的 PBS 组 AS1411/Lipo-PTX-siCTR (非特异性 siRNA 组) 则无明显的下调作用。体内的抗肿瘤活性结果显示, 经 AS1411/Lipo-PTX-siPLK1 注射治疗后, 肿瘤生长明显受到抑制, 且荷瘤小鼠的存活时间延长。Ara 等<sup>[64]</sup> 分离到一个 DNA 适配体 AraHH001 (5'-ACG TAC CGA CTT CGT ATG CCA ACA GCC CTT TAT CCA CCT C-3'), AraHH001 可以特异性识别鼠肿瘤内皮细胞 (mouse tumor endothelial cells, mTECs), 并利用该适配体修饰 PEG 化 LPs 给药系统 (APT-PEG-LPs)。研究结果表明, 适配体能有效增强 mTECs 细胞对于 APT-PEG-LPs 的摄取, 并在一定程度上具有内体逃逸能力。CRISPR/Cas9 是一种功能强大的基因编辑工具, 具有特异性强、效率高等特点<sup>[65]</sup>。Liang 等<sup>[66]</sup> 将 CRISPR/Cas9 技术与靶向修饰 LPs 结合, 制备了一种可靶向骨肉瘤 (osteosarcoma, OS) 细胞的 LPs 递送系统, 该递送系统包裹编码血管内皮生长因子 A (vascular EGF A, VEGFA) gDNA 和 Cas9 的 CRISPR/Cas9 质粒, 表面修饰有靶向 OS 细胞的适配体 LC09 (5'-GCT AAG CGG GTG GGA CTT CCT AGT CCC ACC CGC TTA GCA AAG TAG CGT GCA CTT TTG-3')。实验结果表明, 该系统促进了 CRISPR/Cas9 在肺病变的原位 OS 组织和转移性 OS 组织中的选择性分布, 并且有效降低了 VEGFA 的表达和分泌, 抑制了原位 OS 的恶性肿瘤的转移, 减少血管生成, 且未检测到毒性。Song 等<sup>[67]</sup> 筛选出可以靶向识别 4T1 细胞的适配体 SRZ1 (5'-CCT GAC AGT CGA GAC-N30-CAC CGG GGT CCT AGG-3'), 将该适配体修饰于包载 DOX 的 LPs, 用于靶向递送药物到 4T1 细胞中以达到治疗目的。实验结果表明, SRZ1 修饰后的 LPs 相比于

空白 LPs 而言, 其细胞摄入率更高, 肿瘤杀伤力更强。

## 5.2 RNA核酸适配体修饰的脂质体

Baek 等<sup>[68]</sup>合成了一种与前列腺特异性膜抗原 (prostate specific membrane antigen, PSMA) 的 RNA 适配体 (5'-GGGAGGACGAUGCGGACCGA-AAAAGACCUGACUUCUAUACUAAGUCUACGUUCCCCAGACGACUCGCCCCGA-3') 偶联的 LPs (DOX-Aptamosome), 利用适配体与膜上抗原结合, 将包载 DOX 的 LPs 内吞进前列腺癌细胞 LNCaP, 以杀死癌细胞。细胞实验结果表明, 对比 PSMA 阴性细胞 PC-3, LNCaP 细胞内有明显的荧光, 而 PC-3 细胞则没有观察到荧光, 同时通过与缺乏 PSMA 适配体的对照 LPs 对比, 发现 DOX-Aptamosome 对 LNCaP 细胞的毒性明显更大。小鼠实验结果显示, DOX-Aptamosome 主要分布在肿瘤和肝、肾中, 并且随着时间推移, 肝、肾中的 DOX-Aptamosome 的分布在逐渐减少, 小鼠体内的肿瘤体积也在减小。这些结果表明, 通过将药物包裹在 RNA 适配体修饰的 LPs 中是一种潜在的靶向给药策略。Bandeekar 等<sup>[69]</sup>同样利用 PSMA 适配体 A10 作为靶向修饰物, 包载  $\alpha$  粒子生成器 225Ac, 利用 225Ac 的高放射性实现杀死肿瘤细胞的目的。实验结果表明, 每个 LPs 表面平均结合有 (9 $\pm$ 2) 个 A10, 平均粒径为 (107 $\pm$ 2) nm, 且能够很好地选择性结合、内化和杀死 PSMA 阳性的癌细胞。Zhen 等<sup>[70]</sup>利用 A10 作为靶向修饰物, 包载 PLK1 CRISPR/Cas9 系统, 该系统可以沉默肿瘤细胞中生存基因 Polo 样蛋白激酶 1, 进而实现杀死肿瘤细胞的目的。实验结果显示, A10-LPs-CRISPR/Cas9 递送嵌合体能有效地靶向肿瘤细胞, 在体外不仅具有显著的基因沉默能力, 同时在体内可以观察到明显的肿瘤消退作用, 且免疫应答低。Moosavian 等<sup>[71]</sup>制备了由 TSA14 (5'-GCTGGAGCATTATGG-ATGAACCTTGGACGGAA-3') 修饰的包载 DOX 的 LPs (aptamer-PL-Dox), TSA14 与 Tubo 细胞有很高的亲和力, Tubo 细胞是一种从 BALB-neuT 小鼠乳腺癌体外建立的克隆系, 过表达 HER-2 受体 (HER2/erb-2)。通过与非靶向 LPs 相比, aptamer-PL-Dox 在 Tubo 乳腺细胞系中的摄取率更高, 毒性作用更强, 肿瘤中 Dox 的蓄积也更多, 抗肿瘤能力也有很大提高。Ma 等<sup>[72]</sup>制备了适配体 A15 (5'-CCCUCCUACAUAAGGG-3') 修饰包载姜黄素的 LPs 用于前列腺癌治疗。CD133 是前列腺癌细胞

表面高表达膜蛋白, 适配体 A15 可以和 CD133 特异性结合, 同时姜黄素作为一种植物化学物质在治疗前列腺癌方面显示出巨大的潜力。该 LPs 在体内外的实验结果都显示出其具有良好的靶向抗肿瘤效果。

Aptamers 作为一种人工合成的短的单链 DNA 或 RNA 分子, 可以高亲和力和特异性地与靶标结合。研究表明, 相比于抗体而言, aptamers 较小的体积使其拥有比抗体更高的肿瘤穿透性, 附着在纳米颗粒表面的过程也比抗体更容易和更具重复性<sup>[61]</sup>。目前 aptamers 已在癌症治疗研究方面受到关注, 作为一种新兴的技术手段, 仍有许多问题需要克服, 例如, aptamers 需要从随机单链核酸序列文库中筛选出来, 具有很强的随机性, 无法通过人工设计, 这显著提高了 aptamers 的制造成本。此外, 由于人体的循环系统中存在核糖核酸酶, 因此, aptamers 的稳定性也需要评估。期望随着研究的深入和技术的发展, aptamers 的应用迎来更好的前景。

## 6 多靶向修饰脂质体

单一靶向修饰的 LPs 发展至今已经比较成熟, 然而, 在临床应用中仍有不足之处。针对癌细胞受体的单靶向修饰往往会因为正常细胞也表达了相应受体而造成非选择性的毒性。为了解决这个问题, 研究者们探索出对 LPs 进行多靶点修饰的策略, 进一步提高了 LPs 递药系统的精准靶向性。

甘草次酸受体 (glycyrrhetic acid receptor, GA-R) 在大鼠肝实质细胞膜表面大量表达, 肝癌组织中的 GA-R 的表达是邻近正常肝组织的 1.5~5 倍<sup>[73]</sup>, 单独使用 GA 修饰的 LPs 可能会引起正常肝细胞的损伤。为了解决这个问题, Li 等<sup>[74]</sup>在 GA 修饰 DOX 脂质体的基础上, 将花生凝集素 (peanut agglutinin, PNA) 插入到 LPs 表面, PNA 可以与癌细胞上过表达的黏蛋白 1 (mucin 1, MUC1) 特异性结合, 利用 PNA 和 GA 制成双配体修饰的 LPs (DOX-GA/PNA-Lips), 从而实现对肝癌细胞的主动靶向, 避免对正常肝细胞的伤害。以 MUC1 阳性肝癌细胞株 SMMC07721 为靶细胞的体外实验结果表明, DOX-GA/PNA-Lips 对细胞的毒性作用最强, 其  $IC_{50}$  值为 (7.4 $\pm$ 0.79)  $\mu$ g/L, 是游离 DOX 的 1/7, 是无配体修饰 LPs 的 1/2, 是单配体修饰 LPs 的 2/3, 显示出双配体修饰的高靶向性和药物传递效率。

多靶向修饰除了能够提高LPs递药系统的靶向准确性, 还可以被设计用于层级靶向递送。脑胶质瘤是最常见的颅内肿瘤, 然而由于存在BBB, 因此常规的LPs无法精准到达脑部肿瘤部位。Gao等<sup>[75]</sup>开发了由FA和TF双修饰的LPs, 可以实现多级靶向, 将药物准确的送达脑胶质瘤。TF负责将LPs特异靶向到BBB上的TFR, 在穿过BBB之后, FA可以特异性的靶向脑胶质瘤细胞上过表达的FAR, 最终达到将LPs包封的药物运输到脑胶质瘤的目的。Wang等<sup>[76]</sup>设计了可以靶向肝癌细胞溶酶体的LPs (Gal-Mor-LPs), 该LPs表面修饰Gal和吗啉 (morpholine, Mor), 内部包载姜黄素。Gal可以识别肝癌细胞上过表达的半乳糖受体, Mor可以靶向溶酶体。实验结果显示, Gal-Mor-LPs比LPs和Gal-LPs有着更好的溶酶体靶向性, 且抗肿瘤作用也更强。

通过对LPs进行多靶向修饰设计, 使LPs具有更优异的细胞选择性、细胞摄取或肿瘤穿透能力, 在肿瘤靶向治疗中显示出巨大优势。但是, 在设计多靶向载体时应进行多方面评估, 如配体的密度、位置、与受体的亲和力等对靶向效果有较大影响的因素<sup>[77]</sup>。目前, 多靶向修饰已经受到研究人员的极大关注, 通过在纳米药物载体表面修饰不同靶标物, 不仅可以提高肿瘤靶向递送效果, 更能赋予纳米药物载体更多功能, 如克服BBB和靶向细胞器等。因此, 未来应更多地关注多靶向纳米药物载体的设计, 以促进其临床应用。

## 7 展 望

随着癌症发病率愈来愈高, 其治疗方法的研究也在不断提升, 然而, 癌细胞耐药性以及复发转移使得癌症的根治成为难点。精准杀死癌细胞是癌症治疗的最高目标。目前化疗药物是主要的癌症治疗方法之一, 但是化疗药物在产生作用时, 往往会波及到正常的细胞, 这使得癌症治疗的副作用比较大, 所以亟需对化疗药物进行组合优化研究。LPs作为一种药物载体, 有着巨大的应用潜力, 能将药物包裹起来, 通过对LPs的靶向修饰, 还可以使LPs拥有精准定位肿瘤细胞并释放药物的能力, 增强药物的有效利用率, 减少毒副作用。

本文概述了近年来靶向修饰LPs递送系统的研究进展, 并对其进行了分类综述。目前的LPs研究主要集中在对其表面进行靶向修饰, 也有很多结合其他治疗手段, 如化疗、光疗、免疫疗法等对肿瘤

细胞进行联合治疗。虽然靶向LPs递药系统的优点明显, 但是由于许多靶向受体在正常细胞中也存在本底表达, 这导致LPs递药系统也会被正常细胞识别摄入而引起不良反应。另外, LPs递药系统的精准控制释放也是个亟需解决的问题, 若能解决上述问题, LPs递药系统的研发和临床应用将获得更大提升, 也将进一步推动癌症治疗研究的发展。

## 参 考 文 献

- [1] Schiffelers R M, Storm G. Liposomal nanomedicines as anticancer therapeutics: beyond targeting tumor cells. *Int J Pharm*, 2008, **364**(2): 258-264
- [2] Zununi Vahed S, Salehi R, Davaran S, *et al.* Liposome-based drug co-delivery systems in cancer cells. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2017, **71**: 1327-1341
- [3] Brannon-Peppas L, Blanchette J O. Nanoparticle and targeted systems for cancer therapy. *Adv Drug Deliv Rev*, 2004, **56**(11): 1649-1659
- [4] Araste F, Abnous K, Hashemi M, *et al.* Peptide-based targeted therapeutics: focus on cancer treatment. *J Control Release*, 2018, **292**: 141-162
- [5] Svensen N, Walton J G A, Bradley M. Peptides for cell-selective drug delivery. *Trends Pharmacol Sci*, 2012, **33**(4): 186-192
- [6] Fu S, Zhao Y, Sun J, *et al.* Integrin  $\alpha\beta 3$ -targeted liposomal drug delivery system for enhanced lung cancer therapy. *Colloids Surf B*, 2021, **201**: 111623
- [7] Bogdanowich-Knipp S J, Chakrabarti S, Siahaan T J, *et al.* Solution stability of linear vs. cyclic RGD peptides. *J Pept Res*, 1999, **53**(5): 530-541
- [8] Corti A, Curnis F, Arap W, *et al.* The neovasculature homing motif NGR: more than meets the eye. *Blood*, 2008, **112**(7): 2628-2635
- [9] Gu Z, Chang M, Fan Y, *et al.* NGR-modified pH-sensitive liposomes for controlled release and tumor target delivery of docetaxel. *Colloids Surf B*, 2017, **160**: 395-405
- [10] Radis-Baptista G, Campelo I S, Morlighem J R L, *et al.* Cell-penetrating peptides (CPPs): from delivery of nucleic acids and antigens to transduction of engineered nucleases for application in transgenesis. *J Biotechnol*, 2017, **252**: 15-26
- [11] Lecher J C, Nowak S J, Mcmurry J L. Breaking in and busting out: cell-penetrating peptides and the endosomal escape problem. *Biomol Concepts*, 2017, **8**(3-4): 131-141
- [12] Kuai R, Yuan W, Qin Y, *et al.* Efficient delivery of payload into tumor cells in a controlled manner by TAT and thiolytic cleavable PEG co-modified liposomes. *Mol Pharm*, 2010, **7**(5): 1816-1826
- [13] Shi K, Li J, Cao Z, *et al.* A pH-responsive cell-penetrating peptide-modified liposomes with active recognizing of integrin  $\alpha\beta 3$  for the treatment of melanoma. *J Control Release*, 2015, **217**: 138-150
- [14] Sugahara K N, Teesalu T, Karmali P P, *et al.* Tissue-penetrating delivery of compounds and nanoparticles into tumors. *Cancer Cell*, 2009, **16**(6): 510-520
- [15] Deng Z, Xiao Y, Pan M, *et al.* Hyperthermia-triggered drug

- delivery from iRGD-modified temperature-sensitive liposomes enhances the anti-tumor efficacy using high intensity focused ultrasound. *J Control Release*, 2016, **243**: 333-341
- [16] Yu K F, Zhang W Q, Luo L M, *et al.* The antitumor activity of a doxorubicin loaded, iRGD-modified sterically-stabilized liposome on B16-F10 melanoma cells: *in vitro* and *in vivo* evaluation. *Int J Nanomedicine*, 2013, **8**: 2473-2485
- [17] Majumdar S, Siahaan T J. Peptide-mediated targeted drug delivery. *Med Res Rev*, 2012, **32**(3): 637-658
- [18] Eloy J O, Petrilli R, Trevizan L N F, *et al.* Immunoliposomes: a review on functionalization strategies and targets for drug delivery. *Colloids Surf B*, 2017, **159**: 454-467
- [19] Paszko E, Senge M O. Immunoliposomes. *Curr Med Chem*, 2012, **19**(31): 5239-5277
- [20] Petrilli R, Eloy J O, Saggioro F P, *et al.* Skin cancer treatment effectiveness is improved by iontophoresis of EGFR-targeted liposomes containing 5-FU compared with subcutaneous injection. *J Control Release*, 2018, **283**: 151-162
- [21] Gholizadeh S, Dolman E M, Wieriks R, *et al.* Anti-GD2 immunoliposomes for targeted delivery of the survivin inhibitor sepantronium bromide (YM155) to neuroblastoma tumor cells. *Pharm Res*, 2018, **35**(4): 85
- [22] Crivianu-Gaita V, Thompson M. Aptamers, antibody scFv, and antibody Fab' fragments: an overview and comparison of three of the most versatile biosensor biorecognition elements. *Biosens Bioelectron*, 2016, **85**: 32-45
- [23] Crivianu-Gaita V, Thompson M. Immobilization of Fab' fragments onto substrate surfaces: a survey of methods and applications. *Biosens Bioelectron*, 2015, **70**: 167-180
- [24] Khan A, Aljarbou A N, Aldebasi Y H, *et al.* Fatty acid synthase (FASN) siRNA-encapsulated-Her-2 targeted Fab'-immunoliposomes for gene silencing in breast cancer cells. *Int J Nanomedicine*, 2020, **15**: 5575-5589
- [25] Li T, Amari T, Semba K, *et al.* Construction and evaluation of pH-sensitive immunoliposomes for enhanced delivery of anticancer drug to ErbB2 over-expressing breast cancer cells. *Nanomedicine*, 2017, **13**(3): 1219-1227
- [26] 王贺丽, 韩文琦, 朱杰, 等. 免疫脂质体的研究进展. *生命科学*, 2015, **27**(5): 640-646  
Wang H L, Han W Q, Zhu J, *et al.* Chinese Bulletin of Life Sciences, 2015, **27**(5): 640-646
- [27] Wang Y P, Liu I J, Chung M J, *et al.* Novel anti-EGFR scFv human antibody-conjugated immunoliposomes enhance chemotherapeutic efficacy in squamous cell carcinoma of head and neck. *Oral Oncol*, 2020, **106**: 104689
- [28] Saeed M, Zalba S, Seynhaeve A L B, *et al.* Liposomes targeted to MHC-restricted antigen improve drug delivery and antimelanoma response. *Int J Nanomedicine*, 2019, **14**: 2069-2089
- [29] Calvaresi E C, Hergenrother P J. Glucose conjugation for the specific targeting and treatment of cancer. *Chem Sci*, 2013, **4**(6): 2319-2333
- [30] 白宇超, 支德福, 张树彪. 基于糖类化合物靶向药物载体的研究进展. *化学世界*, 2018, **59**(7): 393-399
- Bai Y C, Zhi D F, Zhang S B. *Chemical World*, 2018, **59**(7): 393-399
- [31] Mu L M, Wu J H, Xie H J, *et al.* The use of a new functional glucose conjugate material, TPGS1000-Glu, in treatment of brain glioma by incorporating into epirubicin liposomes. *J Chinese Pharm Sci*, 2016, **25**(4): 266-274
- [32] Shen S, Du M, Liu Q, *et al.* Development of GLUT1-targeting alkyl glucoside-modified dihydroartemisinin liposomes for cancer therapy. *Nanoscale*, 2020, **12**(42): 21901-21912
- [33] Naicker K, Ariatti M, Singh M. PEGylated galactosylated cationic liposomes for hepatocytic gene delivery. *Colloids Surf B*, 2014, **122**: 482-490
- [34] 杨梅, 高雨彤, 张馨予, 等. 糖类修饰的纳米递送系统. *生命的化学*, 2021, **41**(3): 452-461  
Yang M, Gao Y T, Zhang X Y, *et al.* *Chemistry of Life*, 2021, **41**(3): 452-461
- [35] Liu X, Han M, Xu J, *et al.* Asialoglycoprotein receptor-targeted liposomes loaded with a norcantharimide derivative for hepatocyte-selective targeting. *Int J Pharm*, 2017, **520**(1-2): 98-110
- [36] Wang C, Chen Z, Tang X, *et al.* Influences of galactose ligand on the uptake of TADF liposomes by HepG(2) cells. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2020, **32**: 102014
- [37] Martinez-Pomares L. The mannose receptor. *J Leukoc Biol*, 2012, **92**(6): 1177-1186
- [38] Xiong M, Lei Q, You X, *et al.* Mannosylated liposomes improve therapeutic effects of paclitaxel in colon cancer models. *J Microencapsul*, 2017, **34**(6): 513-521
- [39] Peng Y, Zhao Y, Chen Y, *et al.* Dual-targeting for brain-specific liposomes drug delivery system: synthesis and preliminary evaluation. *Bioorg Med Chem*, 2018, **26**(16): 4677-4686
- [40] 姜雅萌, 朱妍妍, 赵铁男, 等. 抗肿瘤靶向脂质体的研究进展. *生命科学*, 2016, **28**(9): 1016-1024  
Jiang Y M, Zhu Y Y, Zhao Y N, *et al.* *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2016, **28**(9): 1016-1024
- [41] Lu Y, Segal E, Leamon C P, *et al.* Folate receptor-targeted immunotherapy of cancer: mechanism and therapeutic potential. *Adv Drug Deliv Rev*, 2004, **56**(8): 1161-1176
- [42] Zhao X, Li H, Lee R J. Targeted drug delivery via folate receptors. *Expert Opin Drug Deliv*, 2008, **5**(3): 309-319
- [43] Nguyen V D, Min H K, Kim C S, *et al.* Folate receptor-targeted liposomal nanocomplex for effective synergistic photothermal-chemotherapy of breast cancer *in vivo*. *Colloids Surf B*, 2019, **173**: 539-548
- [44] Tie Y, Zheng H, He Z, *et al.* Targeting folate receptor  $\beta$  positive tumor-associated macrophages in lung cancer with a folate-modified liposomal complex. *Signal Transduct Target Ther*, 2020, **5**(1): 6
- [45] Yewale C, Baradia D, Vhora I, *et al.* Epidermal growth factor receptor targeting in cancer: a review of trends and strategies. *Biomaterials*, 2013, **34**(34): 8690-8707
- [46] Herbst R S, Shin D M. Monoclonal antibodies to target epidermal growth factor receptor-positive tumors: a new paradigm for cancer

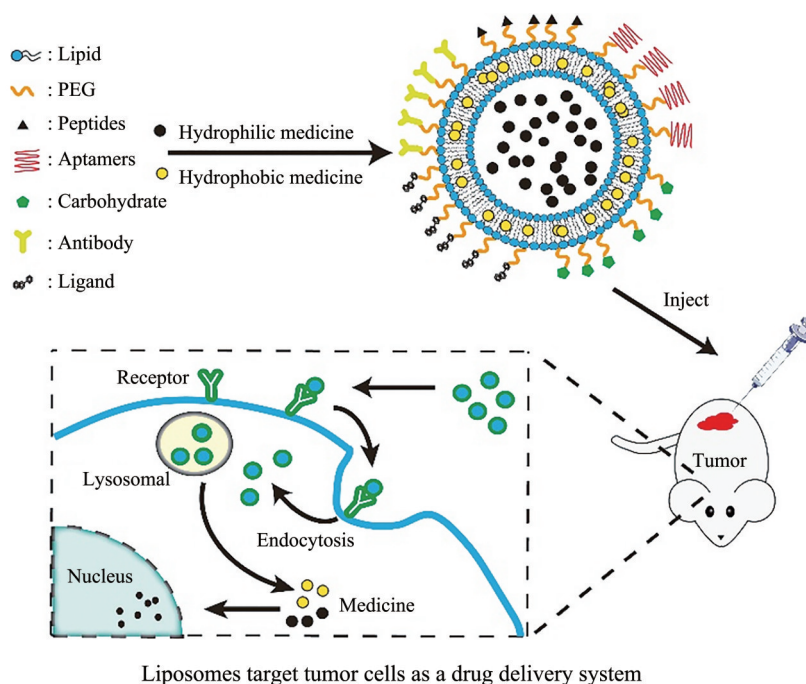
- therapy. *Cancer*, 2002, **94**(5): 1593-1611
- [47] Thomas E, Menon J U, Owen J, *et al.* Ultrasound-mediated cavitation enhances the delivery of an EGFR-targeting liposomal formulation designed for chemo-radionuclide therapy. *Theranostics*, 2019, **9**(19): 5595-5609
- [48] Wang Y, Zhou J, Qiu L, *et al.* Cisplatin-alginate conjugate liposomes for targeted delivery to EGFR-positive ovarian cancer cells. *Biomaterials*, 2014, **35**(14): 4297-4309
- [49] Huang Y S, Hsu W C, Lin C H, *et al.* Bi-functional radiotheranostics of <sup>188</sup>re-liposome-fcy-hEGF for radio- and chemo-therapy of EGFR-overexpressing cancer cells. *Int J Mol Sci*, 2021, **22**(4): 1902
- [50] Tortorella S, Karagiannis T C. Transferrin receptor-mediated endocytosis: a useful target for cancer therapy. *J Membr Biol*, 2014, **247**(4): 291-307
- [51] Calzolari A, Larocca L M, Deaglio S, *et al.* Transferrin receptor 2 is frequently and highly expressed in glioblastomas. *Transl Oncol*, 2010, **3**(2): 123-134
- [52] Jhaveri A, Deshpande P, Pattni B, *et al.* Transferrin-targeted, resveratrol-loaded liposomes for the treatment of glioblastoma. *J Control Release*, 2018, **277**: 89-101
- [53] Zhang Z, Yang J, Min Q, *et al.* Holo-lactoferrin modified liposome for relieving tumor hypoxia and enhancing radiochemotherapy of cancer. *Small*, 2019, **15**(6): e1803703
- [54] Li P, Yu Q, Zhou L, *et al.* Probing and characterizing the high specific sequences of ssDNA aptamer against SGIV-infected cells. *Virus Res*, 2018, **246**: 46-54
- [55] Wu J, Zhu Y, Xue F, *et al.* Recent trends in SELEX technique and its application to food safety monitoring. *Microchim Acta*, 2014, **181**(5-6): 479-491
- [56] 张悦, 邢仕歌, 王震, 等. 核酸适配体在靶向药物传递中的研究进展. *生物化学与生物物理进展*, 2015, **42**(3): 236-243  
Zhang Y, Xing S G, Wang Z, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2015, **42**(3): 236-243
- [57] 郭圆斌, 栗坤. 核酸适配体在癌症诊断中的研究进展. *化学通报*, 2021, **84**(1): 40-46  
Guo Y B, Li K. *Chemistry*, 2021, **84**(1): 40-46
- [58] Proske D, Blank M, Buhmann R, *et al.* Aptamers—basic research, drug development, and clinical applications. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2005, **69**(4): 367-374
- [59] Xiang D, Zheng C, Zhou S F, *et al.* Superior performance of aptamer in tumor penetration over antibody: implication of aptamer-based theranostics in solid tumors. *Theranostics*, 2015, **5**(10): 1083-1097
- [60] Lao Y H, Phua K K L, Leong K W. Aptamer nanomedicine for cancer therapeutics: barriers and potential for translation. *ACS Nano*, 2015, **9**(3): 2235-2254
- [61] Moosavian S A, Sahebkar A. Aptamer-functionalized liposomes for targeted cancer therapy. *Cancer Lett*, 2019, **448**: 144-154
- [62] Cao Z, Tong R, Mishra A, *et al.* Reversible cell-specific drug delivery with aptamer-functionalized liposomes. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2009, **48**(35): 6494-6498
- [63] Yu S, Bi X, Yang L, *et al.* Co-delivery of paclitaxel and PLK1-targeted siRNA using aptamer-functionalized cationic liposome for synergistic anti-breast cancer effects *in vivo*. *J Biomed Nanotechnol*, 2019, **15**(6): 1135-1148
- [64] Ara M N, Matsuda T, Hyodo M, *et al.* An aptamer ligand based liposomal nanocarrier system that targets tumor endothelial cells. *Biomaterials*, 2014, **35**(25): 7110-7120
- [65] 乔欢欢, 张晴皓, 明东. CRISPR/Cas9 系统纳米递送及其在肿瘤治疗中应用. *生物化学与生物物理进展*, 2021, **48**(5): 570-579  
Qiao H H, Zhang Q H, Ming D. *Prog Biochem Biophys*, 2021, **48**(5): 570-579
- [66] Liang C, Li F, Wang L, *et al.* Tumor cell-targeted delivery of CRISPR/Cas9 by aptamer-functionalized lipopolymer for therapeutic genome editing of VEGFA in osteosarcoma. *Biomaterials*, 2017, **147**: 68-85
- [67] Song X, Ren Y, Zhang J, *et al.* Targeted delivery of doxorubicin to breast cancer cells by aptamer functionalized DOTAP/DOPE liposomes. *Oncol Rep*, 2015, **34**(4): 1953-1960
- [68] Baek S E, Lee K H, Park Y S, *et al.* RNA aptamer-conjugated liposome as an efficient anticancer drug delivery vehicle targeting cancer cells *in vivo*. *J Control Release*, 2014, **196**: 234-242
- [69] Bandekar A, Zhu C, Jindal R, *et al.* Anti-prostate-specific membrane antigen liposomes loaded with 225Ac for potential targeted antivasculature alpha-particle therapy of cancer. *J Nucl Med*, 2014, **55**(1): 107-114
- [70] Zhen S, Takahashi Y, Narita S, *et al.* Targeted delivery of CRISPR/Cas9 to prostate cancer by modified gRNA using a flexible aptamer-cationic liposome. *Oncotarget*, 2017, **8**(6): 9375-9387
- [71] Moosavian S A, Abnous K, Badiie A, *et al.* Improvement in the drug delivery and anti-tumor efficacy of PEGylated liposomal doxorubicin by targeting RNA aptamers in mice bearing breast tumor model. *Colloids Surf B*, 2016, **139**: 228-236
- [72] Ma Q, Qian W, Tao W, *et al.* Delivery of curcumin nanoliposomes using surface modified with CD133 aptamers for prostate cancer. *Drug Des Devel Ther*, 2019, **13**: 4021-4033
- [73] Zhang L, Yao J, Zhou J, *et al.* Glycyrrhetic acid-graft-hyaluronic acid conjugate as a carrier for synergistic targeted delivery of antitumor drugs. *Int J Pharm*, 2013, **441**(1-2): 654-664
- [74] Li X, Diao W, Xue H, *et al.* Improved efficacy of doxorubicin delivery by a novel dual-ligand-modified liposome in hepatocellular carcinoma. *Cancer Lett*, 2020, **489**: 163-173
- [75] Gao J Q, Lv Q, Li L M, *et al.* Glioma targeting and blood-brain barrier penetration by dual-targeting doxorubicin liposomes. *Biomaterials*, 2013, **34**(22): 5628-5639
- [76] Wang Y, Ding R, Zhang Z, *et al.* Curcumin-loaded liposomes with the hepatic and lysosomal dual-targeted effects for therapy of hepatocellular carcinoma. *Int J Pharm*, 2021, **602**: 120628
- [77] Zhu Y, Feijen J, Zhong Z. Dual-targeted nanomedicines for enhanced tumor treatment. *Nano Today*, 2018, **18**: 65-85

## Targeting Modification of Liposome Drug Delivery System\*

DU Sang, CUI Shao-Hui\*\*, CHEN Xing-Yan, ZHANG Shu-Biao\*\*

(Key Laboratory of Biotechnology and Bioresources Utilization, Ministry of Education, College of Life Sciences,  
Dalian Minzu University, Dalian 116600, China)

### Graphical abstract



**Abstract** Liposomes are hollow spheres composed of lipids bilayer membranes, which can encapsulate and deliver hydrophilic and hydrophobic substances. Liposomes are promising nano-drug delivery systems due to low immunogenicity, good stability, low toxicity and cost. Currently, a variety of liposome drugs for tumor treatment have been listed. Liposomes can accumulate in tumor tissues *via* enhanced permeability and retention effect (EPR) and are internalized into tumor cells by endocytosis or pinocytosis. Subsequently, liposomes are intracellularly cleaved to release drugs, thereby killing tumor cells. Liposomes that rely on the EPR effect are called passive targeting liposomes, which lack the ability to specifically recognize target tissues. However, active targeting liposomes can achieve targeting delivery via the specific binding between the targeting modifiers on the surface of liposomes and receptors on the surface of tumor cells. These receptors such as peptides, carbohydrates, ligands, antibodies and nucleic acid aptamers on the surface of tumor cells overexpress due to rapid growth of

\* This work was supported by a grant from The National Natural Science Foundation of China (21606041).

\*\* Corresponding author.

CUI Shao-Hui. Tel: 86-13704268350, E-mail: csh@dlmu.edu.cn

ZHANG Shu-Biao. Tel: 86-13898484611, E-mail: zsb@dlmu.edu.cn

Received: April 24, 2022 Accepted: August 10, 2022

tumor cells and needs of nutrients and related growth factors. Thus, liposomes can be reasonably designed according to these specific receptors. Recent years, some studies have reported biomimetic liposomes by coating the cell membrane on the surface of liposomes, however, the research on biomimetic liposomes is still in its infancy, and there are still many problems to be solved. Additionally, since the length is limited, biomimetic liposomes are not reviewed in this paper. Taken together, liposomes as potential drug carriers, not only protect drugs, but also reduce side effects, importantly, they can precisely target tumor tissues through introducing targeting modifiers. In this work, we review the improvement of targeting function of liposome by five targeting modifiers including peptides, carbohydrates, ligands, antibodies and nucleic acid aptamers, and summarize the existing advantages and challenges of various targeting modifications. Finally, this review is expected to provide scientific reference for the LPs drug delivery system study and theoretical basis for the drug development.

**Key words** liposome, targeted modification, drug delivery system, tumor, therapy

**DOI:** 10.16476/j.pibb.2022.0182