

基于肿瘤异常结构的纳米药物设计

胡笑梅^{1, 2)*} 黄渝然^{2)*} 薛雪²⁾ 赵元元²⁾
 庄小溪²⁾ 梁兴杰^{2)**} 杨静玉^{1)**}

(¹) 沈阳药科大学药理教研室, 沈阳 110016; (²) 国家纳米科学中心纳米生物效应与安全性实验室, 北京 100190)

摘要 肿瘤组织的血液供给在时间和空间上存在的非均质性、血管的高渗性、淋巴排出功能的低效性共同形成肿瘤微环境, 阻碍治疗药物有效地运输到肿瘤, 从而影响其疗效。与传统药物相比, 纳米药物能优先递送到肿瘤, 并具有多药载药与靶向运输等功能。但肿瘤中特有生理屏障的存在阻碍了纳米药物以有效浓度均匀地运输到肿瘤组织。一些美国食品药品监督管理局批准的纳米药物疗效并不显著, 可能与这些生理屏障的阻碍有关。本文概述了肿瘤治疗时药物需跨过的生理屏障, 并总结了克服这些生理屏障的方法, 探讨了纳米药物研发时针对肿瘤异常结构优化药物递送需考虑的因素。

关键词 纳米药物, 肿瘤治疗, 生理屏障
学科分类号 R979.1, R73, Q46

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2013.00278

纳米技术的快速发展使纳米颗粒实现了多药治疗、成像以及靶向治疗等方面的应用, 这为癌症的临床检测、预防以及治疗提供了新的希望。在肿瘤治疗方面, 纳米药物较传统药物显示了独特的优势, 原因在于, 肿瘤组织提高的渗透和保留(EPR)效应使纳米载体具有将药物被动靶向输送到肿瘤的潜力。此外, 纳米药物还具有以下优势: 负载多种药物发挥药物的联合治疗作用, 靶向运输特异药物至肿瘤细胞以及肿瘤微环境, 基于新型成像技术同步可视化肿瘤治疗效应, 延长药物循环时间, 控制药物释放, 以及最优化治疗方案以提高病人的顺应性^[1]。值得一提的是, 许多广泛运用的传统化疗药物(如紫杉醇及阿霉素)均有较强的副作用, 并使多种肿瘤对其产生耐药突变, 这为肿瘤的治疗带来了新的挑战。而现有的多项研究表明纳米药物具有克服上述问题的潜力。

目前, 美国食品药品监督管理局(FDA)批准用于临床治疗的纳米药物已超过 20 种, 例如表 1 中所列出的几种^[2]。其中用于治疗实体瘤的纳米药物包括: 脂质体(如聚乙二醇修饰的脂质体阿霉素以及脂质体柔红霉素)、紫杉醇的白蛋白纳米粒、聚合物纳米颗粒(如甲氧基聚乙烯紫杉醇)以及其他处于临床前实验或临床实验的剂型^[3]。虽与传统药物相

比, 纳米药物能降低副作用, 但其潜在危害仍不能忽视, 例如聚乙二醇修饰的脂质体阿霉素可引起口腔炎和手足综合征, 紫杉醇的白蛋白纳米粒会导致

Table 1 FDA-approved nanoparticle therapeutics^[2]
表 1 FDA 批准可用于临床的纳米药物^[2]

| 组成 | 商品名 | 适应症 |
|-------------|--------------|----------------|
| 脂质体阿霉素 | Myocet | 转移性乳腺癌 |
| 脂质体吗啡 | DepoDur | 术后麻醉 |
| 脂质体柔红霉素 | DaunoXome | HIV 相关的卡波西氏肉瘤 |
| 脂质体聚乙二醇化阿霉素 | Doxil/Caelyx | 转移性乳腺癌, 转移性卵巢癌 |
| 聚乙二醇化 GCSF | Neulasta | 化疗相关嗜中性白血球减少症 |
| 聚乙二醇化 HGF | Somavert | 肢端肥大症 |
| 紫杉醇的白蛋白纳米粒 | Abraxane | 转移性乳腺癌 |
| 西罗莫司的纳米晶体 | Rapamune | 用于免疫抑制 |

HIV: 人免疫缺陷病毒; GCSF: 粒细胞集落刺激因子; HGF: 肝细胞生长因子。

* 共同第一作者。

** 通讯联系人。

杨静玉. Tel: 024-23986340, E-mail: yangjingyu2006@gmail.com

梁兴杰. Tel: 010-82545569, E-mail: liangxj@nanoctr.cn

收稿日期: 2013-06-19, 接受日期: 2013-07-22

感觉神经异常及恶心。另外纳米载体造价昂贵, 其治疗效果也并未显著增强^[6]。以上表明, 深入理解阻碍纳米颗粒有效均一地运输到肿瘤的生理屏障是开发新型纳米药物的关键之一。

治疗药物通过全身循环进入肿瘤细胞需要以下三步: a. 纳米颗粒通过血管到达肿瘤的不同部位; b. 透过血管壁; c. 穿过细胞间隙最终达到靶细胞。由于结构上的差异, 诊断和治疗药物进入肿瘤组织和正常组织的方式有很大区别^[9]。肿瘤脉管系统的不规则结构使血管弯曲且存在漏洞, 其血流速度也不均一。肿瘤因为功能性淋巴管的缺乏以及血管的高渗性引起间质性高血压。这种不均一升高的间质流体压力(IFP)使对流运输降低, 同时致密的细胞外基质会阻碍药物的扩散^[9]。本文将详细论述纳米医学递送中的生理屏障, 并总结现有的克服这些屏障的方法, 最后提出纳米材料的设计考虑以优化纳米药物到实体瘤的递送方案。

1 肿瘤的正常结构

癌症是继心血管疾病和感染之后, 致死率排名世界第三的疾病。近年来, 随着资金的大量投入和对癌症研究的深入, 人们加深了对癌症的了解, 也发明了更先进的治疗手段。但是, 仅2008年, 肿瘤导致的死亡人数仍达750万, 提示对更新更有效的治疗策略的急切需求。目前, 限制癌症治疗的原因之一是肿瘤组织中结构异常形成生理屏障, 降低药物进入肿瘤细胞的效率。肿瘤组织的异常结构主要表现在以下几个方面(图1)。

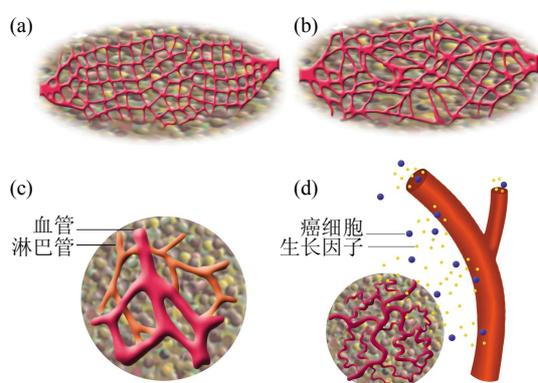


Fig. 1 Structure differences between normal tissue and tumor

图1 肿瘤组织与正常组织在结构上的不同

(a) 正常组织的血管网络是规则有序的。(b) 肿瘤血管分布多样化, 血管网络紊乱。(c) 正常组织中, 血管和淋巴管同时存在, 淋巴管用于运输组织液体。(d) 肿瘤组织中, 增殖的癌细胞会压缩淋巴管导致其坍塌。功能性淋巴管仅存在于肿瘤外周, 主要用于运输液体、生长因子和癌症细胞。

1.1 异常的血管和淋巴系统

血流速度和血管形态(即血管的几何排布、直径、长度及数量)会影响物质在血管中的移动。与正常组织的血管相比, 肿瘤部位的血管不能由大血管有序规则地分支成小血管形成规则的血管网络。肿瘤血管分布多样化, 使各血管之间的空间形状各异^[7]。此外, 由于广泛的内皮细胞间连接、厚薄不一的基底膜、由囊泡形成大量的膜孔和跨内皮细胞通道以及直径达几百纳米的气孔的存在^[8], 肿瘤血管壁在某些区域存在漏洞且高渗。增生的肿瘤细胞和间质细胞会产生固体压力进而压缩血管, 最终可能导致血管坍塌。

脉管系统黏性和空间阻力的上升会降低肿瘤血流速度, 因此, 肿瘤血管中红血球的平均流速比正常血管慢, 整体灌注率(即每单位体积的血流速率)较许多正常组织有所下降。此外, 与正常组织不同, 肿瘤部位的血流速度与血管直径及不均匀分布无关, 使肿瘤形成低灌注或非灌注区。非灌注区域的存在将导致恶性肿瘤微环境的形成(如局部氧低压、低pH以及组织坏死), 从而导致肿瘤的耐药性并诱发肿瘤的恶化^[9]。

正常的淋巴系统将多余的液体排出组织以维持组织间隙的流体平衡。在肿瘤组织, 尤其是肿瘤组织中心, 增殖的癌细胞会压缩淋巴管导致其坍塌。因此, 功能性淋巴管仅存在于肿瘤外周, 主要用于运输液体、生长因子和癌症细胞, 并介导肿瘤转移^[10]。肿瘤组织中心的液体不能有效排除, 往往伴随有肿瘤血管的流体渗漏, 导致间质高压。间质高压和受损的血液供给会降低药物在实体瘤中的递送及药效。肿瘤细胞中随后产生的缺氧不仅降低其对放疗的耐受能力, 还将导致对化疗药物的耐药性。缺氧诱导的基因不稳定性有细胞选择性, 使肿瘤转移的可能性增加。缺氧和低pH也会降低渗入肿瘤的免疫细胞的免疫功能。脆弱的肿瘤血管促进癌细胞脱落进入循环, 成为肿瘤转移的基础, 但是肿瘤微环境的异常并不会影响癌细胞的存活^[11]。

综上所述, 血液供给在时间和空间上的非均质性、血管的高渗性以及伴随的淋巴排出功能的低效性有助于创造异常的肿瘤微环境, 损害药物在肿瘤的均一递送和疗效。

1.2 异常的血管屏障

由于肿瘤血管上存在大于正常血管的孔隙, 其血管的渗透能力明显高于正常组织, 这也是EPR效应的基础。而纳米颗粒则能从肿瘤血管大孔隙存

在之处渗出进入肿瘤组织,且血管的渗透性将随着纳米颗粒尺寸的增加而降低^[12].此外,与阴离子和中性纳米颗粒相比,阳离子纳米颗粒能优先靶向肿瘤血管并具有更高的渗透性.血管的渗透性不仅与颗粒的性质有关,还取决于血管的生理特性^[13].当把EPR效应作为纳米颗粒的优势时,并不是所有的肿瘤血管都存在漏洞这个事实常被忽略,气孔的大小不一,因此渗出和转运也不一致.此外,肿瘤模型的渗透性还与移植的部位有关,并随着时间和治疗的进行发生变化.

透血管运输的另一个重要障碍是升高的间质流体压力会降低跨血管壁的压力梯度.正常组织的间质流体压力接近于毫米汞柱,而肿瘤的间质流体压力由于血管的高渗性和肿瘤间隙功能性淋巴管的缺乏而偏高^[14],导致肿瘤内部间质流体压力升高的幅度不一致,其值与相应的微血管压力相当.然而,在肿瘤边缘间质流体压力急速降至正常水平,使压力梯度更大.间质流体压力升高引起的一个直接结果是尺寸大的颗粒主要通过扩散透过血管壁,而扩散的速度比对流的速度要慢很多.还有一个可能是肿瘤内的间质流体压力会瞬间超过微血管压力,引起物质内渗进入血管.最终,由于间质流体压力的急速下降,间质液体携带纳米药物和生长因子(如血管内皮生长因子A、血管内皮生长因子C、血小板源性生长因子A以及血小板源性生长因子C)以及一些转移性癌细胞从肿瘤外周进入周围的正常组织,加速肿瘤的发展^[15].

此外,我们还应注意的,即便在肿瘤发生的初期也存在EPR效应(即血管渗漏增加和淋巴功能受损).因此,纳米颗粒可以用于检测术后转移的小病灶.然而,血管和淋巴管的损伤会阻碍纳米颗粒均一分布到这些病灶.因此,大尺寸的纳米颗粒以及肿瘤内均一上升的间质流体压力会阻碍跨血管的运输、削弱EPR效应的优势^[16].

1.3 异常的间质屏障

纳米颗粒在肿瘤内的间质运输取决于扩散和对流.均一上升的间质流体压力可以消除肿瘤血管壁和肿瘤内的压力梯度.因此,肿瘤内物质运输的主要机制是扩散.肿瘤间隙基质包含高度连接的胶原纤维网,可以与黏蛋白和黏多糖相互作用^[17].纳米颗粒在肿瘤中的移动取决于它的尺寸、表面电荷、结构以及间隙基质的物理化学性质.小分子药物(如一些尺寸为几个纳米的化疗药物)在肿瘤间隙中扩散得相当快.而一些直径达到几百纳米的颗粒,

如脂质体和病毒,因为与间隙基质相互作用,其扩散系数降低^[18].此外,在许多癌症中,直径大于60 nm的颗粒不能有效地扩散到胶原基质.这些颗粒从血管壁渗出,但是不能透过肿瘤间隙而在血管周围富集,仅产生局部作用.带电粒子因静电吸附或与间隙中其他的带电物质相排斥而扩散更慢,线性的大分子由于可弯曲性比同尺寸的刚性球体颗粒扩散得快^[19].

胶原蛋白的含量是决定间隙运输的主要因素.富含胶原蛋白的肿瘤比胶原蛋白含量少的肿瘤抑制扩散的程度高.同时,肿瘤发生的位点在肿瘤运输特征中扮演重要角色^[20].同一种肿瘤种植到小鼠的不同部位,可能由于胶原蛋白含量的不同具有不同的扩散系数.此外,胶原纤维在中性pH下带少量正电荷,能与带负电的纳米颗粒作用形成聚合物.另一个影响基质运输的因素是硫酸化黏多糖的含量,这些细长的纤维不仅能显著增加基质液体的黏性,而且带有大量的负电荷,即使在低浓度下也能通过形成聚合物而抑制物质的运输.例如,纳米颗粒和肝素磷酸盐之间的静电结合降低粒子的扩散系数.但是这种结合是可逆转的,肝素硫酸盐酶解后能恢复颗粒的流动性^[21].

最终,肿瘤间隙基质中物质的不均匀分布将基质分离成油相和水相.油相富含胶原纤维,能显著抑制颗粒的流动.水相中胶原纤维含量少,颗粒的扩散率与在水中相当.肿瘤基质中运输介质的两种相态形成双组分扩散^[22].因此,这两种相态的分布对纳米颗粒在肿瘤中分布的影响极大.

综上所述,实体瘤中细胞外基质的密集以及结构的多样化阻断了纳米药物治疗,使纳米颗粒分布不均.

2 肿瘤治疗环境的正常化

纳米颗粒在肿瘤中的低效转运与肿瘤血管结构以及功能异常、基质稠密相关.因此,提高药物转运可通过将肿瘤血管恢复正常状态以增加血管系统的效率,以及使间隙基质正常化确保纳米颗粒快且深地渗入肿瘤.

2.1 肿瘤血管的正常化

促血管生长因子和抗血管生长因子间的失衡导致肿瘤新血管的形成^[24].在正常组织中,这些因子保持平衡以维持血管系统的正常结构、确保最佳的功能.然而在肿瘤中,促血管生长因子(如血管内皮生长因子、成纤维细胞生长因子和血小板源性生

长因子)过表达使平衡向血管生长方向转移, 导致无序血管的生成. 因此, 巧妙运用抗血管生长物质能还原平衡, 使血管系统恢复到较正常的状态.

在所有已知的促血管生长因子中, 血管内皮生长因子(VEGF)最为重要, 同时也是许多研究的焦点. 阻断 VEGF 引起未成熟血管的修剪、血管密度和直径的减小, 并将血管系统重建为标准结构. 更为重要的是, 从物质运输的角度出发, 阻断 VEGF 后, 肿瘤血管的弯曲程度减小、灌注增加, 间质流体压力显著下降. 这些可以使跨血管壁的压力梯度恢复, 分子更深地渗透进肿瘤, 氧化作用提升^[23]. 因此, 能改善药物在肿瘤血管中的运输.

具有间接抗血管生成作用的物质也能使血管趋于正常. 例如, 曲妥单抗能显著降低肿瘤血管的直径、体积和渗透性. 服用贝伐单抗的直肠癌患者和服用过西地尼布的复发性脑胶质瘤患者均能观察到肿瘤血管的好转. 单次滴注贝伐单抗 12 天后, 间质流体压力下降 70%, 血管密度下降 50%, 使肿瘤微环境得到改善, 氟代脱氧葡萄糖的转运效率升高. 复发性脑胶质瘤患者治疗后血管渗透性和血管大小显著减小, 肿瘤微环境急速好转^[24].

由于血管壁气孔变小, 血管的恢复对于大尺寸纳米颗粒的跨血管运输可能没有改善. 气孔尺寸减小会降低血管通透性以及液体传导率, 并增加反射系数. 这些参数的改变使颗粒通过血管壁的量减小, 削弱通过增加灌流和降低透壁压力差所带来的优势. 从另一个方面考虑, 血管均质化是短暂的, 因此抗肿瘤药物必须在均质化期间给予^[14, 23]. 除了使异常血管的结构和功能恢复正常, 肿瘤中被压缩的血管也能通过杀死血管周的癌细胞和间质细胞扩张, 但当癌细胞或间质再增生时这些血管又将被压缩.

2.2 肿瘤基质的恢复

药物分子和纳米颗粒在肿瘤中的穿透力取决于细胞外基质组分的体积分数, 特别是胶原蛋白和黏多糖的比例. 为了提高药物渗透量曾试图降解胶原蛋白和黏多糖以增加间隙空间. 在胶原含量高的肿瘤(如 HSTS26T 肉瘤和 Mu89 黑色素瘤)中用细菌胶原酶降解胶原基质, 引起 IgG(水合半径为 4.5 nm)等抗体扩散加倍, 而单纯性疱疹病毒(HSV, 水合半径为 75 nm)的分布呈 3 倍增长^[25]. 基质中金属蛋白酶 1(MMP-1)和金属蛋白酶 8(MMP-8), 能降低肿瘤黏多糖的水平并增强对流. 这两种酶的异常表达能增加 HSV 的分布. 细菌胶原酶、MMP-1、

MMP-8 能显著提高溶瘤细胞 HSV 的抗癌作用. 激素松弛素通过调节胶原纤维的结构提高运输效率. 最新发现的肿瘤穿透肽 iRGD 也能通过提高间隙运输增加纳米药物在实体瘤中的分布^[26]. 综上所述, 通过酶解降低肿瘤基质中胶原蛋白和黏多糖的含量以及在纳米颗粒上连接肽均能加速纳米药物穿过基质达到肿瘤细胞.

3 纳米药物研发

为了改善纳米药物在肿瘤中的运输, 除了改变血管及肿瘤基质的状态, 还可以对纳米材料的表现性质进行修饰, 改变其与生物体的相互作用以提高药物进入肿瘤细胞的效率.

血液是一种非常复杂的液体, 包含盐、糖、蛋白质、酶以及氨基酸等物质, 它们使纳米颗粒的结构不稳定引起聚集和栓塞. 此外, 血液中的免疫细胞(如单核细胞)能识别外界物质并将其排出体外. 纳米颗粒必须高度稳定且能避免免疫系统的识别, 以延长血液半衰期, 更有效地进入肿瘤. 这些通常采用生物相容性的聚合物修饰纳米颗粒表面来实现^[27]. 例如, 聚乙二醇修饰的氧化铁纳米颗粒在生物环境下能稳定存放 5 个月. 这些聚合物在纳米颗粒表面形成刷状缘, 从而阻止纳米颗粒聚合及被免疫系统识别. 而且, 这些聚合物在血液成分和带电纳米颗粒表面形成物理屏障以降低纳米颗粒的表面电荷使其趋向中性. 富含阳离子的纳米颗粒易与血液中带阴离子的蛋白结合, 导致结构不稳定而被免疫系统识别. 因此, 不带电荷的纳米颗粒能更好地在血液中保持稳定^[28]. 血液中的酶会降解纳米颗粒以及负载的治疗药物. 利用生物相容性的聚合物修饰纳米颗粒表面也能保护纳米颗粒免受酶的降解. 此外, 将治疗药物包载在纳米颗粒的内部能防止酶对药物的降解. 高效的纳米药物应该能克服以上生理阻碍, 具有较长的血液循环时间、低免疫原性、高效细胞内吞及肿瘤富集等. 纳米颗粒的特性如图 2 所示, 对于药物递送要设计出合理高效的纳米药物需要从以下几个方面考虑.

3.1 纳米颗粒物理化学性质

纳米颗粒的尺寸会影响其在血流中的循环时间. 为了降低纳米药物对正常组织的毒性, 延长其在血液中的半衰期具有重要意义. 肝脏、脾脏和肾脏的外排将纳米颗粒的水合直径限制在 10~100 nm 之间. 肝脏和脾脏的巨噬细胞(如肝脏中的库普弗细胞)容易将血液中大于 100 nm 的物质

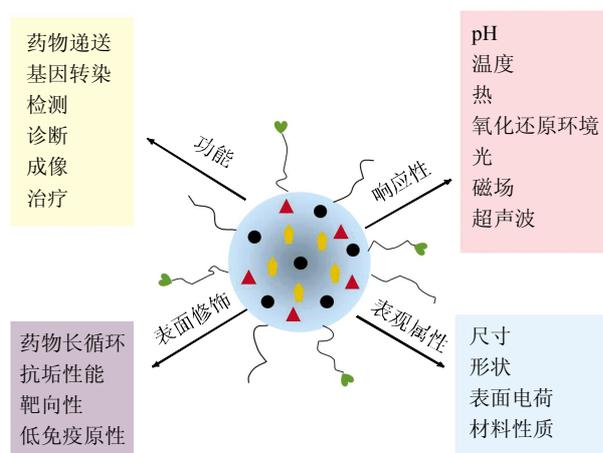


Fig. 2 Features of nanoparticles

图2 纳米颗粒的特性

清除出去。因此，尺寸小于 100 nm 的颗粒有较少的肝脏和脾脏摄取。肾脏通过间距约为 10 nm 的基膜过滤代谢物以及毒素。水合直径大于 10 nm 的颗粒有较少的肾滤过^[9]。纳米颗粒的形状对循环时间也有影响，研究证明纤维状胶束在体内的循环时间是其球状对照纳米颗粒的 10 倍，而小于 2 nm 超小尺寸的纤维状纳米管能快速被肾脏清除，其体内循环时间小于 3 h。此外，纳米颗粒与肝脏及脾脏的网状内皮系统的相互作用对纳米颗粒的清除也具有重要影响。经网状内皮系统的清除速率不仅与纳米颗粒尺寸相关，还与不同类型纳米颗粒的表面修饰相关。当表面电位增大(不论正电荷或负电荷)，纳米颗粒与网状内皮系统的相互作用也随之增大，从而导致更多纳米颗粒被清除。聚乙二醇表面接枝化修饰是目前延长纳米颗粒体内循环时间最为常见的方法。表面接枝聚乙二醇可在空间结构上稳定纳米颗粒，并使其表面电位趋于中性，即轻微的正电性或负电性。空间结构的稳定可防止血清蛋白的调理作用及降低库普弗细胞或肝细胞的吞噬作用^[29]。

除了尺寸，纳米颗粒的表面电荷性质及其形状对颗粒的渗出及间质运输也具有重要作用。一方面，研究已证明相比于中性及阴离子纳米颗粒，阳离子纳米颗粒优先靶向肿瘤内皮细胞，并表现出更高的血管穿透能力。另一方面，因为阳离子和阴离子纳米颗粒与负电性(如透明质酸)或正电性(如胶原蛋白)基质分子发生聚集，中性纳米颗粒相比于二者在肿瘤内部空间分散得更快更均匀。此外，研究表明，具有线性，可半弯曲构型的大分子相对于与其尺寸相当的刚性球形纳米颗粒在肿瘤内部基质中

能更加有效地分散^[30]。

3.2 纳米颗粒进入细胞的方式

纳米颗粒从血液渗出进入肿瘤位点后必须进入肿瘤细胞才能递送所载药物。细胞膜由带负电的磷脂双分子层组成，将细胞内环境与胞外空间隔开。颗粒进入细胞的方式分为直接透过细胞膜及多种形式的内吞。

脂性的小分子物质能直接透过细胞膜，由于纳米颗粒的尺寸较大而难以直接透过细胞膜，在纳米颗粒上连接特定的细胞穿透肽可以实现直接穿透。例如，多聚精氨酸连接的载有小干扰 RNA (siRNA) 的氧化铁纳米颗粒能穿透细胞膜直接接触细胞质^[31]。

大多数纳米颗粒通过内吞机制进入细胞，包括受体介导的内吞以及网格蛋白的吸附作用。纳米颗粒的摄取机制对随后细胞内的活动起决定作用。例如，通过网格蛋白吸附作用摄取的纳米颗粒会进入酸性的内涵体或溶酶体，这两个细胞器中的低 pH 能激活酶的活性。阳离子纳米颗粒因为与细胞膜的静电作用通过吸附进入细胞，阴离子纳米颗粒因为与嵌入在细胞膜表面带正电的蛋白相互作用也通过吸附进入细胞。表面电位为 +59 mV 和 -60 mV 的聚苯乙烯纳米颗粒，二者进入细胞的方式相似^[32]。在纳米颗粒表面连接上一个能被细胞表面受体识别的分子能实现受体介导的内吞，这也是纳米颗粒靶向递送的策略。纳米颗粒与细胞表面受体结合后，细胞通过用细胞膜包裹纳米颗粒将其内吞。然而，单独运用靶向分子并不能使纳米颗粒的内吞最优化。原因在于，尺寸也会影响受体介导的纳米颗粒的内吞。尺寸在 50 nm 左右的颗粒通过受体介导的内吞途径时有最优的摄取^[33]。尺寸依赖的摄取取决于细胞完全吞噬纳米颗粒所需的包裹时间。小于 50 nm 的颗粒缺少用于完全包裹纳米颗粒的能量，而大于 50 nm 的颗粒由于较低的受体扩散系数而需要较长的包裹时间。

纳米颗粒被细胞摄取后，若能适当地达到胞内的作用靶点可以显著提高递送药物的疗效。首先，如果纳米颗粒通过内吞途径进入细胞，必须在酶被溶酶体低 pH 激活前逃逸出内涵体；其次，纳米颗粒需定位到胞内的靶点，如细胞质、细胞核、线粒体、高尔基体或细胞骨架；最后，药物以纳米颗粒负载的形式或卸载后的游离形式与靶点作用。

能够实现内涵体逃逸的材料有许多种，并且机制各不一样。阳离子脂质体通过与内涵体膜结合释

放脂质体成分实现内涵体逃逸。双亲性的膜融合肽也用于逃逸出内涵体。这些肽在低 pH 环境下结构从惰性状态变为疏水性的 α 螺旋状, 能与内涵体膜结合将其破坏从而进入细胞质。最后, 含有叔胺基团与低解离值的聚合物通过质子海绵效应(质子的汇集降低内涵体或溶酶体的 pH)逃逸出内涵体。汇集之后反离子会破坏内涵体和细胞质间的渗透平衡, 引起内涵体膨胀和破裂将内吞的纳米颗粒释放到细胞质^[34]。

3.3 纳米颗粒靶向肿瘤

与标准的化学疗法相比, 基于纳米颗粒的治疗因为能被动或主动靶向运输药物到肿瘤而具有显著优势。纳米颗粒因 EPR 效应能被动聚集到肿瘤, 聚乙二醇修饰能增强这种效应。在纳米颗粒上接上靶向配体能促进细胞摄取和在肿瘤中的分布。纳米设计也可以利用光、pH、超声波和磁力实现靶向肿瘤分布。纳米颗粒通过 EPR 效应要达到最大的肿瘤摄取, 通常通过在表面修饰聚乙二醇延长在血液中的循环时间实现。阿霉素脂质体、阿霉素的聚乙二醇化脂质体形式, 对于转移性乳腺癌患者的疗效并没有提高。这可能是由于药物渗透进入肿瘤的量太少, 只对小部分的肿瘤细胞有效。在阿霉素脂质体表面加上肿瘤靶向抗体能优化肿瘤细胞对其摄取而改善疗效^[35]。

主动靶向包括在纳米颗粒表面接上靶向配体, 这些配体能被肿瘤细胞上高表达的受体识别。靶向配体包含抗体、抗体片段、多肽、核酸适体以及诸如靶向肿瘤细胞新陈代谢的叶酸和葡萄糖等小分子^[36]。例如, 磷脂酰肌醇蛋白多糖 3(GPC3)在正常成熟的组织中不表达, 但在 80% 的肝癌细胞表面高表达^[37]。还有许多抗体能靶向肿瘤细胞表面高表达的受体, 例如人表皮生长因子受体 2(HER2/neu)、EGFR、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)以及 VEGF, 将它们连接到纳米颗粒上能实现癌细胞靶向治疗^[38]。

主动肿瘤靶向还可以通过纳米颗粒的表观设计改变肿瘤穿透性质而实现。肿瘤三维模拟研究表明, 阳离子纳米颗粒容易被肿瘤细胞摄取, 但不能渗透到肿瘤的中心, 而阴离子纳米颗粒易于渗透到肿瘤深处, 却较难被肿瘤细胞摄取^[39]。为了增强肿瘤渗透并促进细胞摄取, 纳米颗粒可以设计成在肿瘤酸性环境下能发生电荷逆转^[40]。电荷逆转策略可通过 pH 敏感结合保护纳米颗粒表面的氨基使纳米颗粒带负电或呈中性, 从而较好地体内运输。当纳米颗粒进入肿瘤的酸性环境, 氨基去保护后颗粒

带上正电荷, 易于被细胞摄取。

4 结 论

尽管纳米技术已经有重大的进展, 但仍是一个相对崭新的领域, 人们对长期使用纳米材料的结果知之甚少, 特别是纳米材料在肝脏、脾脏及肾脏的清除。此外, 各种可用的纳米材料的潜在毒性从无毒到高毒变化, 这就减慢了纳米材料在临床的应用。为了加速这个极具潜力的领域的发展, 需聚焦于这些材料的安全性。这依赖于表征工具和方法论的发展以及更多的可重复的合成策略, 由此可得到准确和广泛的结论: 包括纳米颗粒的大小、形状以及表面电荷, 同样也有功能基团的数量、载药能力和释放机制。

随着越来越多旨在检测及治疗肿瘤的纳米颗粒进入临床前及临床实验研究, 对生理屏障阻碍递送效果的研究以及提出克服这些屏障阻碍的策略也变得越来越重要。协调这两种途径将有助于决定优化递送的设计参数。而考虑到肿瘤微环境的高异质性及持续性变化的特质, 纳米颗粒的最优化设计应该针对于特定的疾病类型。这是一个非常艰难的任务, 尤其当考虑到不同肿瘤之间的差异, 早期肿瘤与转移肿瘤之间的差异, 同一肿瘤中不同时间之间的差异以及治疗引发肿瘤产生的变化。在本综述中, 我们针对纳米治疗药物的构造提出了一些基本的意见和建议, 以期在可预见的未来能设计出提高肿瘤治疗效率的纳米药物。

参 考 文 献

- [1] Allen P M, Liu W, Chauhan V P, *et al.* InAs (ZnCdS) quantum dots optimized for biological imaging in the near-infrared. *J Amer Chem Soc*, 2009, **132**(2): 470-471
- [2] Zhang L, Gu F X, Chan J M, *et al.* Nanoparticles in medicine: therapeutic applications and developments. *Clin Pharm Ther*, 2007, **83**(5): 761-769
- [3] Davis M E. Nanoparticle therapeutics: an emerging treatment modality for cancer. *Nat Rev Drug Disc*, 2008, **7**(9): 771-782
- [4] Cheng Z, Al Zaki A, Hui J Z, *et al.* Multifunctional nanoparticles: cost versus benefit of adding targeting and imaging capabilities. *Science*, 2012, **338**(6109): 903-910
- [5] Boucher Y, Baxter L T, Jain R K. Interstitial pressure gradients in tissue-isolated and subcutaneous tumors: implications for therapy. *Cancer Res*, 1990, **50**(15): 4478-4484
- [6] Jain R K. Transport of molecules in the tumor interstitium: a review. *Cancer Res*, 1987, **47**(12): 3039-3051
- [7] Vakoc B J, Fukumura D, Jain R K, *et al.* Cancer imaging by optical coherence tomography: preclinical progress and clinical potential. *Nat Rev Cancer*, 2012, **12**(5): 363-368

- [8] Hobbs S K, Monsky W L, Yuan F, *et al.* Regulation of transport pathways in tumor vessels: role of tumor type and microenvironment. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, **95**(8): 4607–4612
- [9] Kamoun W S, Chae S S, Lacorre D A, *et al.* Simultaneous measurement of RBC velocity, flux, hematocrit and shear rate in vascular networks. *Nature Methods*, 2010, **7**(8): 655–660
- [10] Hoshida T, Isaka N, Hagendoorn J, *et al.* Imaging steps of lymphatic metastasis reveals that vascular endothelial growth factor-C increases metastasis by increasing delivery of cancer cells to lymph nodes: therapeutic implications. *Cancer Res*, 2006, **66**(16): 8065–8075
- [11] Jain R K, Tong R T, Munn L L. Effect of vascular normalization by antiangiogenic therapy on interstitial hypertension, peritumor edema, and lymphatic metastasis: insights from a mathematical model. *Cancer Res*, 2007, **67**(6): 2729–2735
- [12] Yuan F, Dellian M, Fukumura D, *et al.* Vascular permeability in a human tumor xenograft: molecular size dependence and cutoff size. *Cancer Res*, 1995, **55**(17): 3752–3756
- [13] Campbell R B, Fukumura D, Brown E B, *et al.* Cationic charge determines the distribution of liposomes between the vascular and extravascular compartments of tumors. *Cancer Res*, 2002, **62**(23): 6831–6836
- [14] Jain R K. Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in antiangiogenic therapy. *Science*, 2005, **307**(5706): 58–62
- [15] Lichtenbeld H C, Yuan F, Michel C C, *et al.* Perfusion of single tumor microvessels: application to vascular permeability measurement. *Microcirculation*, 1996, **3**(4): 349–357
- [16] Olson E S, Jiang T, Aguilera T A, *et al.* Activatable cell penetrating peptides linked to nanoparticles as dual probes for *in vivo* fluorescence and MR imaging of proteases. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, **107**(9): 4311–4316
- [17] Kalluri R, Zeisberg M. Fibroblasts in cancer. *Nat Rev Cancer*, 2006, **6**(5): 392–401
- [18] Krol A, Maresca J, Dewhirst M W, *et al.* Available volume fraction of macromolecules in the extravascular space of a fibrosarcoma: implications for drug delivery. *Cancer Res*, 1999, **59**(16): 4136–4141
- [19] Pluen A, Netti P A, Jain R K, *et al.* Diffusion of macromolecules in agarose gels: comparison of linear and globular configurations. *Biophys J*, 1999, **77**(1): 542–552
- [20] Pluen A, Boucher Y, Ramanujan S, *et al.* Role of tumor-host interactions in interstitial diffusion of macromolecules: cranial *vs.* subcutaneous tumors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, **98**(8): 4628–4633
- [21] Mok W, Boucher Y, Jain R K. Matrix metalloproteinases-1 and-8 improve the distribution and efficacy of an oncolytic virus. *Cancer Res*, 2007, **67**(22): 10664–10668
- [22] Alexandrakis G, Brown E B, Tong R T, *et al.* Two-photon fluorescence correlation microscopy reveals the two-phase nature of transport in tumors. *Nat Med*, 2004, **10**(2): 203–207
- [23] Winkler F, Kozin S V, Tong R T, *et al.* Kinetics of vascular normalization by VEGFR2 blockade governs brain tumor response to radiation: role of oxygenation, angiopoietin-1, and matrix metalloproteinases. *Cancer Cell*, 2004, **6**(6): 553–563
- [24] Batchelor T T, Sorensen A G, di Tomaso E, *et al.* AZD2171, a pan-VEGF receptor tyrosine kinase inhibitor, normalizes tumor vasculature and alleviates edema in glioblastoma patients. *Cancer Cell*, 2007, **11**(1): 83–95
- [25] Netti P A, Berk D A, Swartz M A, *et al.* Role of extracellular matrix assembly in interstitial transport in solid tumors. *Cancer Res*, 2000, **60**(9): 2497–2503
- [26] Perentes J Y, McKee T D, Ley C D, *et al.* *In vivo* imaging of extracellular matrix remodeling by tumor-associated fibroblasts. *Nature Methods*, 2009, **6**(2): 143–145
- [27] Ma M, Liu W F, Hill P S, *et al.* Development of cationic polymer coatings to regulate foreign-body responses. *Adv Mat*, 2011, **23**(24): H189–H194
- [28] Kievit F M, Zhang M. Cancer nanotheranostics: improving imaging and therapy by targeted delivery across biological barriers. *Adv Mat*, 2011, **23**(36): H217–H247
- [29] Franzen S, Lommel S A. Targeting cancer with "smart bombs": equipping plant virus nanoparticles for a "seek and destroy" mission. *Nanomedicine*, 2009, **4**(5): 575–588
- [30] Pluen A, Netti P A, Jain R K, *et al.* Diffusion of macromolecules in agarose gels: comparison of linear and globular configurations. *Biophys J*, 1999, **77**(1): 542–552
- [31] Veiseh O, Kievit F M, Mok H, *et al.* Cell transcytosing poly-arginine coated magnetic nanovector for safe and effective siRNA delivery. *Biomaterials*, 2011, **32**(24): 5717–5725
- [32] Dausend J, Musyanovych A, Dass M, *et al.* Uptake mechanism of oppositely charged fluorescent nanoparticles in HeLa cells. *Macromolecular Bioscience*, 2008, **8**(12): 1135–1143
- [33] Jin H, Heller D A, Sharma R, *et al.* Size-dependent cellular uptake and expulsion of single-walled carbon nanotubes: single particle tracking and a generic uptake model for nanoparticles. *ACS Nano*, 2009, **3**(1): 149–158
- [34] Pack D W, Hoffman A S, Pun S, *et al.* Design and development of polymers for gene delivery. *Nat Rev Drug Disc*, 2005, **4**(7): 581–593
- [35] Lukyanov A N, Elbayoumi T A, Chakilam A R, *et al.* Tumor-targeted liposomes: doxorubicin-loaded long-circulating liposomes modified with anti-cancer antibody. *J Control Rel*, 2004, **100**(1): 135–144
- [36] Janib S M, Moses A S, MacKay J A. Imaging and drug delivery using theranostic nanoparticles. *Adv Drug Del Rev*, 2010, **62**(11): 1052–1063
- [37] Nakatsura T, Yoshitake Y, Senju S, *et al.* Glypican-3, overexpressed specifically in human hepatocellular carcinoma, is a novel tumor marker. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, **306**(1): 16–25
- [38] Vasir J K, Labhasetwar V. Targeted drug delivery in cancer therapy. *Technology in Cancer Research & Treatment*, 2005, **4**(4): 363–374
- [39] Kim B, Han G, Toley B J, *et al.* Tuning payload delivery in tumour cylindroids using gold nanoparticles. *Nat Nanotech*, 2010, **5**(6): 465–472
- [40] Xu P, Van Kirk E A, Zhan Y, *et al.* Targeted charge-reversal nanoparticles for nuclear drug delivery. *Angew Chem Inter Ed*, 2007, **46**(26): 4999–5002

Nanomedicine Design Based on Abnormal Structure in Tumor

HU Xiao-Mei^{1,2)*}, HUANG Yu-Ran^{2)*}, XUE Xue²⁾, ZHAO Yuan-Yuan²⁾,
ZHUANG Xiao-Xi²⁾, LIANG Xing-Jie^{2)**}, YANG Jing-Yu^{1)**}

¹⁾ Department of Pharmacology, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China;

²⁾ Laboratory for Bio-Environmental Effects on Nanomaterials and Nanosafety, National Center for Nanoscience and Technology, Beijing 100190, China)

Abstract In tumors, the blood supply is anisotropic spatially and temporally, meanwhile the vascular permeability is high and the ability of fluid flowing from lymphangion is poor. These factors work together to create tumor microenvironment and block therapeutic agents from uniformly delivering into tumors. Compared to conventional medicine, nanomedicine has the potential to enable the preferential delivery of drugs to tumor, deliver more than one therapeutic agent, and bind drugs to target cancer cells specially. But the specific physiological barriers presented in tumor hinder efficient and uniform delivery of nanoparticles into tumors. This may account for moderate survival benefit obtained from FDA-approved nanomedicines. Here, we summarize these barriers existing in cancer therapy and researches aiming at conquering these barriers. Finally, we discuss factors in nanoparticles design to improve delivering efficiency for tumor.

Key words nanomedicine, cancer therapy, physiological barriers

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2013.00278

*These authors contributed equally to this work.

**Corresponding author.

YANG Jing-Yu. Tel: 86-24-23986340, E-mail: yangjingyu2006@gmail.com

LIANG Xing-Jie. Tel: 86-10-82545569, E-mail: liangxj@nanoctr.cn

Received: June 19, 2013 Accepted: July 22, 2013