

核酸适配体在靶向药物传递中的研究进展*

张悦¹⁾ 邢仕歌¹⁾ 王震¹⁾ 康庆贺²⁾ 凌云¹⁾ 姚美伊¹⁾
 何彦平¹⁾ 金涌^{1)**} 储晓刚^{1)**}

(¹⁾中国检验检疫科学研究院, 北京 100176; (²⁾黑龙江出入境检验检疫局, 哈尔滨 150001)

摘要 抗癌药物的毒副作用限制了其临床应用, 纳米药物载体可实现药物在病灶部位的聚集而不影响正常组织, 从而降低药物毒副作用. 在药物载体表面修饰靶向配体, 以提高药物载体主动靶向进入到细胞的能力, 可有效地将药物释放到靶细胞, 大大提高药效. 核酸适配体(aptamer)作为一种新型的靶向分子, 近几年已被运用到靶向药物传递的研究中. 本文介绍了几种适配体靶向载药体系, 如适配体-药物、适配体-脂质体、适配体-聚合物胶束、适配体-聚合物纳米颗粒、适配体-金属颗粒以及适配体-支化聚合物等载药体系, 并对当前研究的热点以及存在的问题和不足进行了评述.

关键词 核酸适配体, 靶向药物传递, 纳米颗粒, 抗癌治疗
学科分类号 Q527, O631

DOI: 10.16476/j.pibb.2014.0297

在临床治疗中, 抗癌药物的毒副作用大, 使病人承受了巨大的痛苦. 随着纳米技术的发展, 研究者发现, 纳米颗粒具有 EPR 效应 (enhanced permeation and retention effect), 这使得脂质体、胶束、聚合物纳米颗粒等可以携带药物进入到疾病部位的血管或炎症组织处而不影响正常组织, 从而减少毒副作用的发生^[1-3]. 近年来, 研究的热点是在纳米颗粒表面修饰靶向配体, 以提高药物载体主动靶向进入到细胞的能力, 从而有效地将药物释放到特定细胞^[4], 实现药物的靶向传递, 大大降低药物的毒副作用, 减轻病人痛苦. 目前, 已经有靶向药物体系进入临床三期, 如 Tf-CRM 107^[5-6], 也有些体系已经被 FDA 批准用于治疗癌症^[7].

药物传递体系的靶向配体通常包括小分子、糖类分子、多肽、蛋白质和抗体等, 这些配体的靶标不同, 靶向进入细胞的方式也不同, 但是在抗癌治疗的研究中均显示出了较好的效果^[8-12]. 核酸适配体(aptamer)是一种新型的靶向分子, 所识别的靶标非常广泛, 包括小分子物质、蛋白质、细胞等, 因此可将其广泛应用于生物传感器、医学诊断以及靶向药物传递等^[13-14]. 近年来, aptamer 在靶向药物传递中的应用越来越受到关注. 本文将就 aptamer 在靶向药物传递中的应用进行综述.

1 适配体

适配体(aptamer)是指一小段能以高亲和力与靶分子专一性紧密结合的单链寡核苷酸分子(RNA 或 DNA), 通过指数富集配体系统进化技术(SELEX)在随机合成的不同寡核苷酸核酸分子库中筛选出, aptamer 可以通过二、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^[14-15], 如图 1 所示. SELEX 技术主要包括以下几个基本步骤^[16]: a. 建立一个含 $10^{12} \sim 10^{15}$ 个不同寡核苷酸构成的文库, 在文库中加入目标分子, 实现二者的结合孵育; b. 用物理方法除去未结合的适配体, 分离得到靶分子-适配体复合物; c. 洗脱收集结合序列, 并用干扰物质对其进行反筛, 排除非特异结合的竞争; d. 将确定与靶分子结合的

* 北京市科委科技计划项目(Z131110000613066), 国家质检总局科技计划项目(2014K085)和国家质检总局科研课题(2007IK177)资助项目.

** 通讯联系人. Tel: 010-53897114, Fax: 010-53897676

金涌. E-mail: kimjy020815@hotmail.com

储晓刚. E-mail: xgchu@vip.sina.com

收稿日期: 2014-10-14, 接受日期: 2015-01-07

aptamer 进行 PCR 扩增并富集纯化, 筛选出能够识别特定靶分子的 aptamer.

适配体又被称为“化学抗体”, 与靶分子的识别作用与抗体非常相似, 但优势明显: a. 亲和力非常高. 适配体的解离常数通常在 pmol~μmol 级^[17], 对目标靶分子的特异性更强, 可识别分子不同的基团以及不同构象等^[18]. b. 靶分子种类繁多, 如金属离子^[19-20]、小分子代谢物^[21-22]、蛋白质^[23-24]、糖分子^[25-26]、脂类^[27]、细胞^[28-29]等. c. 容易进行化学合成、改造与标记, 生物化学稳定性好, 利于储存^[30-31]. d. 适配体的获取更加容易, 可在体外筛选而不依赖生物体系^[32], 制备方法更为简单快捷, 与单克隆抗体 3~6 个月的制备周期相比, 大量合成仅需几周到十几周, 价格也更加便宜、合理^[33]. e. 无免疫原性, 可重复使用^[34-35]. 这些优点使得以适配体为识别基础的分析技术发展迅速, 如生物传感器、医学诊断、细胞追踪等^[36-37]. 近几年, 研究者发现, aptamer 作为靶向配体在靶向药物传递中也显示出了较高的靶向性, aptamer 可与药物直接结合形成靶向药物传递体系, 也可作为靶向基团修饰到药物载体表面, 从而实现药物的靶向传递, 为提高药物的临床疗效提供了一种可行的方法.

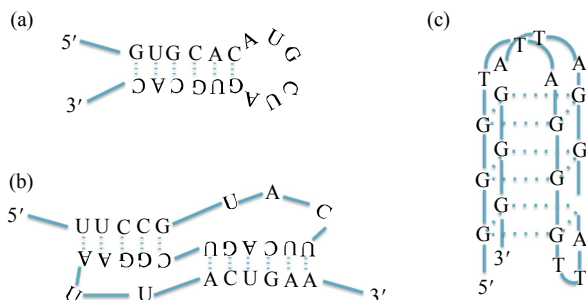


Fig. 1 Aptamer structures Schematic secondary structures of aptamer
图 1 适配体二级结构图

A: 腺嘌呤; T: 胸腺嘧啶; C: 胞嘧啶; G: 鸟嘌呤; U: 尿嘧啶.

到 DNA 分子, 因此可利用这一特性将 Dox 与 aptamer 以非共价键结合, 形成靶向药物传递体系, 用于传递 Dox. Bagalkot 等^[39]将 Dox 嵌入到 A10 2'- 氟尿嘧啶 RNA 适配体形成靶向药物传递体系(图 2a). A10 2'- 氟尿嘧啶 RNA 适配体能够特异地结合前列腺癌细胞大量表达的前列腺特异性膜抗原 PSMA, 此体系可有效地将 Dox 靶向传递到 PSMA 过表达的前列腺癌细胞 LNCaP, 同时保持了 Dox 的药效. 然而, 由于药物插入到 DNA 分子中, 使得 aptamer 的结构可能会被破坏, 这可能会影响其与细胞的结合, 因此细胞对药物摄取效率将会受到影响.

Aptamer 也可与药物通过共价键结合形成共聚物的形式. Huang 等^[40]将 Dox 与 DNA aptamer (sgc8c)通过脒键共价连接形成共聚物(图 2b), sgc8c 能够特异性识别人急性淋巴细胞白血病 T 淋巴细胞 CCRF-CEM 表面过表达的蛋白激酶 7 (PTK7), 在靶向识别的作用下, aptamer-Dox 共聚物通过胞吞作用进入细胞, 脒键在内涵体(endosome)的酸性条件下断裂释放出 Dox, 起到抑制肿瘤细胞的作用. 需要注意的是, 由于这一结合物分子质量较小, 在体内可能会被迅速清除, 因此体内的靶向效率可能会大大降低.

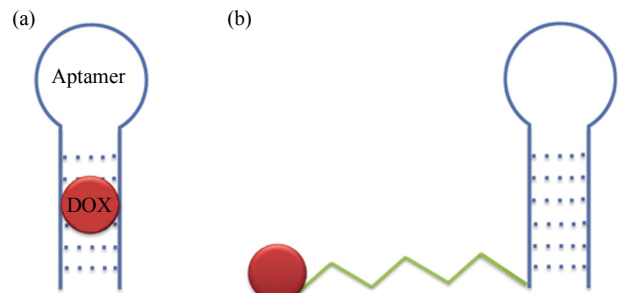


Fig. 2 Structures of aptamer-Dox
图 2 适配体-Dox 结构
(a) 非共价结合. (b) 共价结合.

2 适配体靶向药物传递体系

2.1 适配体-药物

阿霉素(Dox)通常用来治疗各种白血病和淋巴瘤, 它能够嵌入 DNA 分子, 阻止 DNA 复制, 起到杀死肿瘤细胞的作用^[38]. 由于 Dox 能够直接嵌入

2.2 适配体-脂质体载药体系

脂质体(liposome)是一种较为成功的药物载体, 既可以载疏水药物, 也可以载亲水药物. 为了提高脂质体载药体系的稳定性, 研究者将聚乙二醇(PEG)引入脂质体载药体系以增强脂质体在体内的循环时间, 另外, 在 PEG 上修饰靶向分子如抗体、叶酸、肽等以增强脂质体载药体系的靶向性, 目前

已有许多脂质体载药体系被 FDA 批准用于临床治疗^[41]. 近几年, 研究者将 aptamer 修饰到脂质体上, 以提高更加特定的靶向作用. Kang 等^[42]将 sgc8c 修饰到脂质体上, 以荧光分子 FITC-Dextran 作为药物分子模型. 研究表明, 这种脂质体具有较好的稳定性, 同时能够通过靶向识别作用特异性地进入到 CEM 细胞中. Mann 等^[43]将硫代磷酸酯适配体 (thioaptamer) 修饰到长循环脂质体的表面形成 ESTA-lip (图 3), thioaptamer 可特异性识别 E-selectin(选择性表达于晚期肿瘤的炎症血管). 动物实验显示, 静脉注射的给药方式可使 ESTA-lip 有效地聚集在异体移植的乳腺癌的部位.

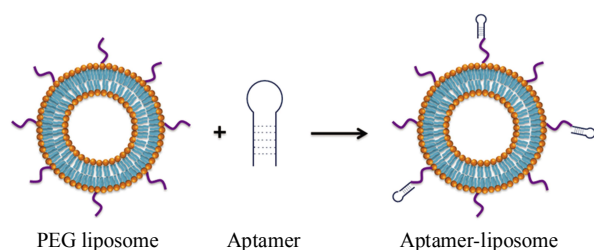


Fig. 3 Aptamer-liposome nanostructure for targeted delivery

图 3 适配体-脂质体药物载体

2.3 适配体-聚合物胶束载药体系

双亲性嵌段共聚物在特定条件下可自组装形成具有亲水表面和疏水核心的胶束结构, 药物可通过非共价或共价方式与之结合. 聚合物胶束作为药物载体有如下几个优点: a. 聚合物胶束往往具有较为均一的尺寸, 稳定性较好, 在血液中循环时间较长; b. 胶束可以提高疏水性药物在机体环境的水溶性; c. 聚合物胶束既可以实现对药物的缓释, 在某些情况下又可以对药物进行突放以满足特定的治疗需求, 近年来已广泛用于药物传递体系^[44].

核酸适配体的引入为靶向胶束载药体系提供了新的思路. Wu 等^[45]将脂质分子 lipids 与连有 TD05 的 PEG 结合, 结合后的分子通过自组装形成胶束结构(图 4), TD05 能够特异性识别 B 细胞淋巴瘤细胞(Ramos), 在这一体系中不仅起到靶向识别作用, 同时也作为胶束的组成成分参与胶束的形成. 在生理条件下, 与单独 TD05 相比, TD05 胶束体系显示出了非常显著的靶向识别能力, 这显示出

aptamer- 胶束体系体内靶向药物传递的潜能. Mu 等^[46]设计了一种 aptamer 修饰的 PEG-PLA(聚乳酸)胶束 (APP), 可特异性识别脑内皮细胞表面的转铁蛋白受体. 实验证实, APP 具有较高的载药量, 并且显著提高了载药体系转铁蛋白受体高表达的小鼠脑血管内皮细胞 bEND5 的靶向性.

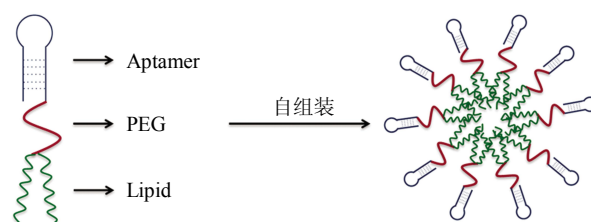


Fig. 4 Aptamer-micelle for targeted delivery

图 4 适配体-聚合物胶束药物载体

2.4 适配体-聚合物纳米颗粒载药体系

Aptamer 修饰的嵌段共聚物纳米颗粒也是一种潜在的靶向药物传递体系. 2006 年, Farokhzad 等^[47]首次证实了 aptamer 为基础的靶向药物传递体系在体内的应用研究. 他们制备了 A10 2'- 氟尿嘧啶 RNA 适配体修饰的 PLGA(聚乳酸-羟基乙酸共聚物)-PEG 纳米颗粒 (apt-NP), 选用多西紫杉醇 Dtx1 作为药物模型, 体内试验显示, 与 Dtx1-NP 相比, Dtx1-apt-NP 可有效地缩小肿瘤体积, 同时提高了小鼠的存活率, 降低了毒副作用. 随后他们将前药 Pt(IV) 载入 apt-NP, 体内外实验证实了 Pt(IV)-apt-NP 的靶向性及抗肿瘤作用^[48-49]. Guo 等^[50]将 DNA 适配体修饰到 PEG-PLGA 纳米颗粒, 体外实验显示, 此体系可特异性识别神经胶质瘤 C6 细胞, 同时可大大提高所包裹紫杉醇 (PTX) 的药效. 最近, Huang 等^[51]制备了一种新型的 aptamer 修饰的 PLGA 杂化纳米颗粒用来同时传递 DOX 和 PTX 两种不同作用机制的抗癌药物, 如图 5 所示. PLGA 和 lipid-PEG-aptamer (Sgc8)、卵磷脂 (lecithin)、DSPE(磷脂酰乙醇胺)-PEG 自组装形成具有核壳结构的纳米颗粒, 其中 PTX 包裹在 PLGA 形成的疏水核心内, DOX 嵌入到亲水表面的双链 DNA 中. 体外实验显示, 这一体系可被靶向细胞 CEM 特异性识别, 同时增强了 PTX 与 DOX 的抗肿瘤作用, 实现了两种药物的共传递.

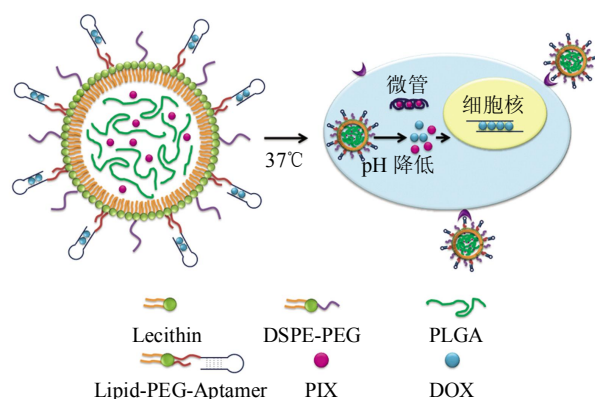


Fig. 5 Aptamer-nanoparticle for co-delivery
图 5 适配体-纳米颗粒共传递载药体系

Aptamer- 聚合物纳米颗粒载药体系具有较高的载药能力, 同时在体内的循环时间较长, 目前已显示出一些令人振奋的结果, 特别是在肿瘤治疗方面, 在进一步的研究中开发出具有显著临床效果的 aptamer- 聚合物纳米颗粒载药体系将是未来的研究热点.

2.5 适配体-金属颗粒载药体系

纳米金颗粒(AuNP)具有良好的生物相容性、易于修饰, 因此许多研究将其应用于药物传递^[52]. Luo 等^[53]将 Sgc8c aptamer、发夹结构 DNA (hp DNA) 与 AuNP 构建成靶向药物传递体系(图 6). 当 Sgc8c 与特异性细胞识别进入细胞后, AuNP 在特定波长激光的作用下, hp DNA 释放出包裹的 DOX, 起到靶向治疗的效果, 此研究为癌症治疗的光控靶向药物传递提供了一种新的思路. 有研究将 AuNP 表面包被多孔硅骨架, 形成新型金纳米棒结构(GNRs@mSiO₂), 并在其表面修饰 DNA 适配体, 此体系在近红外光的照射下能有效释放出 DOX, 体内试验显示出了良好的抗癌效果^[54].

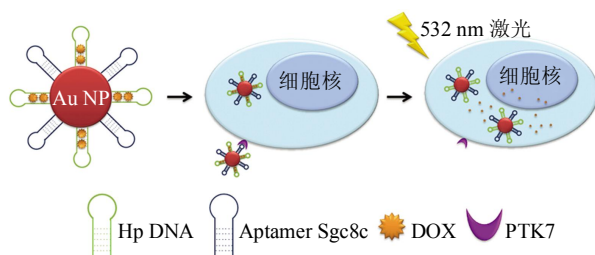


Fig. 6 Aptamer-AuNP for targeted drug delivery
图 6 适配体-纳米金颗粒载药体系

超顺磁性纳米颗粒(MNPs)生物相容性好, 具有磁靶向性, 在药物传递中显示出了较好的应用前景^[55]. 有研究者在 MNPs 表面包被一层葡聚糖, 同时修饰可特异识别人表皮生长因子受体(HER2)的 DNA 适配体, 用于抗肿瘤的研究. 体外实验显示, 此体系可选择性进入 HER2 高表达细胞 SK-BR3. 另外, 减少约 99%的给药量, 同时配合磁热治疗, 即可杀死 50%的 SK-BR3 细胞, 而对不表达 HER2 的 U-87 MG 细胞不存在毒性, 极大降低了毒副作用^[56].

Libutti 等^[57]首次将 AuNP 为基础的纳米医药进行了临床 I 期试验, 为 aptamer-AuNP 体系用于抗癌治疗提供良好的实验基础, 显示出了巨大的应用前景, 然而 aptamer-AuNP 载药体系目前还没有用于体内研究. 此外, 无机材料在体内的积累和潜在的长期毒性尚未经过严格评估, 仍需进一步研究.

2.6 适配体-支化物载药体系

支化物如树枝状聚合物(dendrimer)是将内部核心表面层层叠加重复单元形成的聚合物, 药物可通过氢键、范德华力等非共价作用结合到其内部的空腔. 支化物表面具有大量的活性基团(如氨基等), 易于修饰靶向基团, 在靶向药物传递方面显示出了良好的应用前景^[58]. Lee 等^[59]将氨基修饰的寡核苷酸(ONT)共价结合到表面为琥珀酰胺酸的 dendrimer 上, 随后通过核酸的碱基互补作用将 A9 aptamer 作为靶向分子引入到此体系形成 Apt-dONT-DEN, DOX 通过非共价键可嵌入到核酸分子内, 形成靶向药物传递体系(图 7). 体外试验显示, Apt-dONT-DEN 可将 DOX 有效地释放到特定肿瘤细胞, 动物模型实验显示此体系可有效缩小肿瘤体积.

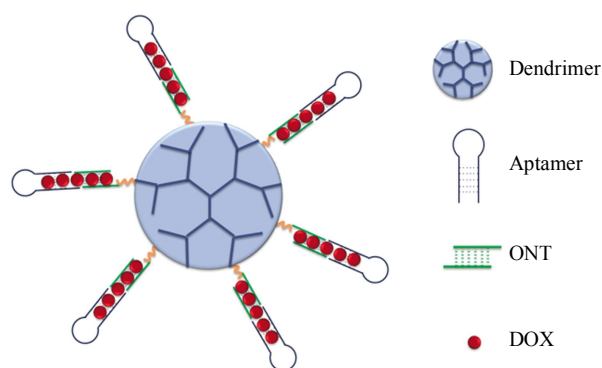


Fig. 7 Apt-dONT-DEN for targeted drug delivery
图 7 适配体-寡核苷酸-PAMAM 载药体系

最近, 有研究小组在超支化聚合物 H40 表面接上 PLA-PEG 嵌段共聚物, 同时在最外层的 PEG 部分修饰 aptamer, 形成靶向药物传递体系 H40-PLA-PEG-Apt (图 8). 他们将 DOX 包裹到 H40-PLA-PEG-Apt 的 PLA 部分, 细胞实验显示出此体系对靶细胞 CWR22R v1 细胞(前列腺癌细胞)具有较高的靶向性以及细胞毒性, 肿瘤动物模型实验也显示出了此体系可有效聚集在肿瘤组织部位^[60].

支化物载药体的出现为抗癌治疗提供了一种新的方法, 然而支化物的合成步骤较为复杂, 花费成本较高, 因此限制了其进一步的应用. 此外, 研究者还应加强支化物载药体系在体内的分布以及最终去向的研究, 为进一步临床应用打下基础.

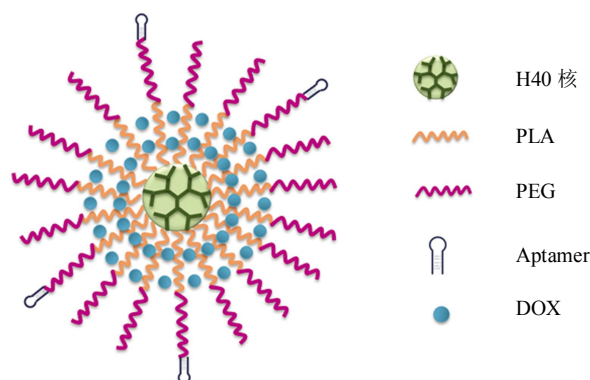


Fig. 8 H40-PLA-PEG-Apt for targeted drug delivery
图 8 适配体-超支化聚合物载药体系

3 当前存在的问题

尽管 aptamer 显示出了良好的靶向性能, 然而目前仍以体外研究为主, 要将 aptamer 用于体内进行靶向药物传递, 还需要考虑诸多因素. 首先要考虑的是其本身固有的性质, 如构象的灵活性、核酸酶的稳定性等, 这些问题不容忽视. Aptamer 主要通过形成二级或三级结构与靶标结合, 正确结构的形成会受到靶标周围环境的影响, 如温度、pH、离子强度等, 体内环境的微小变化很可能会影响到 aptamer 与靶标的结合, 从而限制 aptamer 在体内的应用. 此外, 靶标在体内的构象可能会与体外有所不同, 这种微小的变化可能会使 aptamer 无法正确识别靶标, 因而无法起到靶向作用. 在实际应用中, aptamer 的化学稳定性也是一个非常重要的因

素. 在血液中 aptamer 会迅速被血清核酸酶降解, 某些 aptamer 在血液中的半衰期甚至只有几分钟, 因此, 如何避免适配体被核酸酶降解, 也是研究者们需要注意的问题. 有研究显示, aptamer- 纳米颗粒共聚物能够在一定程度上保护 aptamer 不被核酸酶降解^[61], 虽然这一机制目前尚不清楚, 但是为适配体靶向药物传递体系的应用提供了一个思路.

除了上述自身特性, aptamer 要实现在体内靶向传递药物的功能, 仍存在与靶标结合的问题. 虽然 aptamer 能够特异性结合不同的靶标, 然而这种靶向作用只有在 aptamer 与靶标接触之后才会产生. 在体内, aptamer 要避免网状内皮系统和肾的清除聚集在肿瘤组织, 通过与肿瘤细胞上的受体靶标相互结合后才能介导纳米载药颗粒进入肿瘤细胞. 也就是说, 只有 aptamer 与受体在特定条件下结合之后, 才能发挥靶向功能, 增强细胞对纳米载药颗粒的摄取. 因此, 在实际的研究中, 考虑到 aptamer 体内的稳定性和循环时间, aptamer 与纳米载体的结合应更加牢固稳定, 以避免被 RES 清除, 同时可通过对 aptamer 纳米载药体系进行 PEG 化, 最大限度地发挥 EPR 效应, 以聚集在肿瘤部位.

此外, aptamer 的制造成本也应加以考虑. RNA-RNA 之间具有较强的链内作用, 因此 RNA aptamer 具有更加稳定的构象, 这使得 RNA aptamer 的筛选过程可能更快, 然而 RNA aptamer 需要寡核苷酸的修饰, 生产成本较高, 这也成为临床前开发的一个障碍. 在进一步的临床研究中, 也应注重开发更加有效的细胞 SELEX 技术以降低 aptamer 的成本.

4 结论与展望

近年来, 靶向药物传递体系在抗癌治疗中显示出了较好的应用前景, 一些体系也已经进入临床研究阶段. 适配体能够特异性识别靶细胞, 其作为药物传递体系的靶向分子越来越引起人们的注意, aptamer 既可通过共价或非共价作用与药物直接结合, 又可修饰到药物载体的表面, 形成靶向药物传递体系. Aptamer 靶向药物传递体系显示出了对肿瘤细胞较高的特定靶向性, 而且几乎不与正常细胞结合, 因此可极大地提高药效, 并降低药物副作用. 随着 SELEX 技术的不断提高, 核酸适配体的特异性也将进一步提高, 同时也将筛选出更多新型的 aptamer 用以靶向识别不同的病变细胞. 适配体与纳米技术结合将使靶向药物传递系统在肿瘤治疗

中产生显著的效果, 在未来几年, 适体靶向药物传递系统将会有有一个更加光明的未来.

参 考 文 献

- [1] Iyer A K, Khaled G, Fang J, *et al.* Exploiting the enhanced permeability and retention effect for tumor targeting. *Drug Discovery Today*, 2006, **11**(17-18): 812-818
- [2] Greish K J. Enhanced permeability and retention of macromolecular drugs in solid tumors: a royal gate for targeted anticancer nanomedicines. *J Drug Target*, 2007, **15**(7-8): 457-464
- [3] 张悦, 于 昊, 王永健. 聚合物纳米体系在药物和基因载体中的应用. *化学进展*, 2008, **20**(5): 740-746
Zhang Y, Yu A, Wang Y J. *Pro In Chem*, 2008, **20**(5): 740-746
- [4] Nicolas J, Mura S, Brambilla D, *et al.* Design, functionalization strategies and biomedical applications of targeted biodegradable/biocompatible polymer-based nanocarriers for drug delivery. *Chem Soc Rev*, 2013, **42**(3): 1147-1235
- [5] Weaver M, Laske D W. Transferrin receptor ligand-targeted toxin conjugate (Tf-CRM 107) for therapy of malignant gliomas. *J Neurooncol*, 2003, **65**(1): 3-13
- [6] Laske D W, Youle R J, Oldfield E H. Tumor regression with regional distribution of the targeted toxin TF-CRM 107 in patients with malignant brain tumors. *Nat Med*, 1997, **3**(12): 1362-1368
- [7] Theurich S, Malcher J, Wennhold K, *et al.* Bergwelt-Baildon, Brentuximab vedotin combined with donor lymphocyte infusions for early relapse of hodgkin lymphoma after allogeneic stem-cell transplantation induces tumor-specific immunity and sustained clinical remission. *Am Soc Clin Oncol*, 2013, **31**(5): 59-63
- [8] Lu Y, Sega E, Leamon C P, *et al.* Folate receptor-targeted immunotherapy of cancer: mechanism and therapeutic potential. *Adv Drug Delivery Rev*, 2004, **56**(8): 1161-1176
- [9] White K L, Rades T, Furneaux R H, *et al.* Mannosylated liposomes as antigen delivery vehicles for targeting to dendritic cells. *J Pharm Pharmacol*, 2006, **58**(6): 729-737
- [10] Zhou J, Patel T R, Fu M, *et al.* Octa-functional PLGA nanoparticles for targeted and efficient siRNA delivery to tumors. *Biomaterials*, 2012, **33**(2): 583-591
- [11] Daniels T R, Bernabeu E, Rodriguez J A, *et al.* The transferrin receptor and the targeted delivery of therapeutic agents against cancer. *Biochim Biophys Acta*, 2012, **1820**(3): 291-316
- [12] Ulbrich K, Knobloch T, Kreuter J. Targeting the insulin receptor: nanoparticles for drug delivery across the blood-brain barrier (BBB). *J Drug Target*, 2011, **19**(2): 125-132
- [13] Radom F, Jurek P M, Mazurek M P, *et al.* Aptamers: molecules of great potential. *Biotechnol Adv*, 2013, **31**(8): 1260-1274
- [14] Li X, Zhao Q H, Qiu L Y. Smart ligand: aptamer-mediated targeted delivery of chemotherapeutic drug and siRNA for cancer. *J Controlled Release*, 2013, **171**(2): 152-162
- [15] Tuerk C, Gold L. Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase. *Science*, 1990, **249**(4968): 505-510
- [16] Šmuc T, Ahn I Y, Ulrich H. Nucleic acid aptamers as high affinity ligands in biotechnology and biosensorics. *J Pharm Biomed Anal*, 2013, **81-82**(1): 210-217
- [17] Liu J, Cao Z, Lu Y. Functional nucleic acid sensors. *Chem Rev*, 2009, **109**(5): 1948-1998
- [18] McKeague M, DeRosa M C. Challenges and opportunities for small molecule aptamer development. *J Nucleic Acids*, 2012, **2012**(748913): 1-20 (DOI: 10.1155/2012/748913)
- [19] Ciesiolka J, Gorski J, Yarus M. Selection of an RNA domain that binds Zn²⁺. *RNA*, 1995, **1**(5): 538-550
- [20] Hofmann H P, Limmer S, Hornung V, *et al.* Ni²⁺-binding RNA motifs with an asymmetric purine-rich internal loop and a G-A base pair. *RNA*, 1997, **3**(11): 1289-1300
- [21] Huizenga D E, Szostak J W. A DNA aptamer that binds adenosine and ATP. *Biochemistry*, 1995, **34**(2): 656-665
- [22] Miyachi Y, Shimizu N, Ogino C, *et al.* Selection of a DNA aptamer that binds 8-OHdG using GMP-agarose. *Bioorg Med Chem Lett*, 2009, **19**(13): 3619-3622
- [23] Savory N, Abe K, Sode K, *et al.* Selection of DNA aptamer against prostate specific antigen using a genetic algorithm and application to sensing. *Biosens Bioelectron*, 2010, **26**(4): 1386-1391
- [24] Toscano-Garibay J D, Benitez-Hess M L, Alvarez-Salas L M. Isolation and characterization of an RNA aptamer for the HPV-16 E7 oncoprotein. *Arch Med Res*, 2011, **42**(2): 88-96
- [25] Boese B J, Breaker R R. *In vitro* selection and characterization of cellulose-binding DNA aptamers. *Nucleic Acids Res*, 2007, **35**(19): 6378-6388
- [26] Jeong S, Eom T, Kim S, *et al.* *In vitro* selection of RNA aptamer against the Sialyl Lewis X and its inhibition of the cell adhesion. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, **281**(1): 237-243
- [27] Betat H, Vogel S, Struhalla M, *et al.* Aptamers that recognize the lipid moiety of the antibiotic moenomycin A. *Biol Chem*, 2003, **384**(10-11): 1497-1500
- [28] Chen H W, Medley C D, Sefah K, *et al.* Molecular recognition of small-cell lung cancer cells using aptamers. *ChemMedChem*, 2008, **3**(6): 991-1001
- [29] Dwivedi H P, Smiley R D, Jaykus L A. Selection and characterization of DNA aptamers with binding selectivity to *Campylobacter jejuni* using whole-cell SELEX. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2010, **87**(6): 2323-2334
- [30] Nery A A, Wrenger C, Ulrich H. Recognition of biomarkers and cell-specific molecular signatures: aptamers as capture agents. *J Sep Sci*, 2009, **32**(10): 1523-1530
- [31] Kuwahara M, Sugimoto N. Molecular evolution of functional nucleic acids with chemical modifications. *Molecules*, 2010, **15**(8): 5423-5444
- [32] Gold L, Janjic N, Jarvis T, *et al.* New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2012 (DOI: 10.1101/cshperspect.a003582)
- [33] 王一娴, 叶尊忠, 斯城燕, 等. 适配体生物传感器在病原微生物检测中的应用. *分析化学评述与进展*, 2012, **40**(4): 634-642
Wang Y X, Ye Z Z, Si C Y, *et al.* *Chin J Anal Chem*, 2012, **40**(4): 634-642
- [34] Eyetech Study Group. Preclinical and phase I A clinical evaluation

- of an anti-VEGF pegylated aptamer (EYE001) for the treatment of exudative age-related macular degeneration. *Retina*, 2002, **22**(2): 143–152
- [35] Eyetech Study Group. Anti-vascular endothelial growth factor therapy for subfoveal choroidal neovascularization secondary to age-related macular degeneration: phase II study results. *Ophthalmology*, 2003, **110**(5): 979–986
- [36] Guo K T, Ziemer G, Paul A, *et al.* Cell-SELEX: Novel perspectives of aptamer-based therapeutics. *Int J Mol Sci*, 2008, **9**(4): 668–678
- [37] Lee J F, Stovall G M, Ellington A D. Aptamer therapeutics advance. *Curr Opin Chem Biol*, 2006, **10**(3): 282–289
- [38] Weiss R B, Sarosy G, Clagett-Carr K, *et al.* Anthracycline analogs: the past, present, and future. *Cancer Chemother Pharmacol*, 1986, **18**(3): 185–197
- [39] Bagalkot V, Farokhzad O C, Langer R, *et al.* An aptamer-doxorubicin physical conjugate as a novel targeted drug-delivery platform. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2006, **45**(48): 8149–8152
- [40] Huang Y F, Shangguan D, Liu H, *et al.* Molecular assembly of an aptamer-drug conjugate for targeted drug delivery to tumor cells. *Chembiochem*, 2009, **10**(5): 862–868
- [41] Wagner A, Platzgummer M, Kreismayr G, *et al.* GMP production of liposomes--a new industrial approach. *J Liposome Res*, 2006, **16**(3): 311–319
- [42] Kang H Z, O'Donoghue M B, Liu H P, *et al.* A liposome-based nanostructure for aptamer directed delivery. *Chem Commun*, 2010, **46**(2): 249–251
- [43] Mann A P, Bhavane R C, Somasunderam A, *et al.* Thioaptamer conjugated liposomes for tumor vasculature targeting. *Oncotarget*, 2011, **2**(4): 298–304
- [44] Mikhail A S, Allen C. Block copolymer micelles for delivery of cancer therapy: transport at the whole body, tissue and cellular levels. *J Control Release*, 2009, **138**(4): 214–304
- [45] Wu Y R, Sefah K, Liu H P, *et al.* DNA aptamer-micelle as an efficient detection/delivery vehicle toward cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, **107**(1): 5–10
- [46] Mu C F, Dave N, Hu J, *et al.* Solubilization of flurbiprofen into aptamer-modified PEG-PLA micelles for targeted delivery to brain-derived endothelial cells *in vitro*. *J Microencapsulation*, 2013, **30**(7): 701–708
- [47] Farokhzad O C, Cheng J, Teply B A, *et al.* Targeted nanoparticle-aptamer bioconjugates for cancer chemotherapy *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, **103**(16): 6315–6320
- [48] Dhar S, Gu F X, Langer R, *et al.* Targeted delivery of cisplatin to prostate cancer cells by aptamer functionalized Pt(IV) prodrug-PLGA-PEG nanoparticles. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, **105**(16): 17356–17361
- [49] Dhara S, Kolishettib N, Lipparda S J, *et al.* Targeted delivery of a cisplatin prodrug for safer and more effective prostate cancer therapy *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, **108**(5): 1850–1855
- [50] Guo J W, Gao X L, Su L N, *et al.* Aptamer-functionalized PEG-PLGA nanoparticles for enhanced anti-glioma drug delivery. *Biomaterials*, 2011, **32**(31): 8010–8020
- [51] Huang F J, You M X, Chen T, *et al.* Self-assembled hybrid nanoparticles for targeted co-delivery of two drugs into cancer cells. *Chem Commun*, 2014, **50**(23): 3103–3105
- [52] Rana S, Bajaj A, Mout R, *et al.* Monolayer coated gold nanoparticles for delivery applications. *Adv Drug Deliv Rev*, 2012, **64**(2): 200–216
- [53] Luo Y L, Shiao Y S, Huang Y F. Release of photoactivatable drugs from plasmonic nanoparticles for targeted cancer therapy. *ACS Nano*, 2011, **5**(10): 7796–7804
- [54] Yang X J, Liu X, Liu Z, *et al.* Near-infrared light-triggered, targeted drug delivery to cancer cells by aptamer gated nanovehicles. *Adv Mater*, 2012, **24**(21): 2890–2895
- [55] Bourrinet P, Bengele H H, Bonnemain B, *et al.* Preclinical safety and pharmacokinetic profile of ferumoxtran-10, an ultrasmall superparamagnetic iron oxide magnetic resonance contrast agent. *Radiol*, 2006, **41**(3): 313–324
- [56] Pala K, Serwotka A, Jeleń F, *et al.* Tumor-specific hyperthermia with aptamer-tagged superparamagnetic nanoparticles. *Int J Nanomedicine*, 2014, **9**(1): 67–76
- [57] Libutti S K, Paciotti G F, Byrnes A A, *et al.* Phase I and pharmacokinetic studies of CYT-6091, a novel PEGylated colloidal gold-rhTNF nanomedicine. *Clin Cancer Res*, 2010, **16**(24): 6139–6149
- [58] Khandare J, Calderon M, Dagia N M, *et al.* Multifunctional dendritic polymers in nanomedicine: opportunities and challenges. *Chem Soc Rev*, 2012, **41**(7): 2824–2848
- [59] Lee I H, An S, Yu M K, *et al.* Targeted chemoimmunotherapy using drug-loaded aptamer-dendrimer bioconjugates. *J Control Release*, 2011, **155**(3): 435–441
- [60] Xu W J, Siddiqui I A, Nihal M, *et al.* Aptamer-conjugated and doxorubicin-loaded unimolecular micelles for targeted therapy of prostate cancer. *Biomaterials*, 2013, **34**(21): 5244–5253
- [61] Seferos D S, Prigodich A E, Giljohann D A, *et al.* Mirkin, Polyvalent DNA nanoparticle conjugates stabilize nucleic acids. *Nano Lett*, 2009, **9**(1): 308–311

Recent Research of Aptamer in Target Drug Delivery*

ZHANG Yue¹⁾, XING Shi-Ge¹⁾, WANG Zhen¹⁾, KANG Qing-He²⁾, LING Yun¹⁾, YAO Mei-Yi¹⁾,
HE Yan-Ping¹⁾, JIN Yong^{1)**}, CHU Xiao-Gang^{1)**}

¹⁾ Chinese Academy of Inspection and Quarantine(CAIQ), Beijing 100176, China;

²⁾ Heilongjiang Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Harbin 150001, China)

Abstract The toxicity of anticancer drug limits its clinical applications, nano drug carriers which accumulate and release drugs at the lesion without affecting the normal tissue, can greatly improve the efficacy and reduced toxicity. Target ligands modified drug carrier can enhance active targeting ability, then release the drug into the target cells effectively. Aptamers are kind of nucleic acid molecules which could recognize and bind specific targets. They can be obtained by SELEX (systematic evolution of ligands by exponential enrichment) technology *in vitro*. Aptamers are widespread recognition, easy to modification and good stability, they are called chemical antibodies. As novel target molecules studied in recent years, aptamers have been used in targeted drug delivery. This review described several aptamer targeted drug delivery systems, such as aptamer-drugs, aptamer-liposomes, aptamer-polymer micelles, aptamer-polymeric nanoparticles, aptamer-metal particles and aptamer-branched polymer drug delivery systems. The existing problems and shortcomings of the research hotspots in the current study were also reviewed.

Key words aptamer, target drug delivery, nanoparticles, anti cancer therapy

DOI: 10.16476/j.pibb.2014.0297

* This work was supported by grants from Science and Technology Foundation of Beijing Municipal Science & Technology Commission (Z131110000613066), Science and Technology Foundation of AQSIQ(2014IK085) and Science Foundation of AQSIQ(2007IK177).

**Corresponding author.

JIN Yong. Tel: 86-10-53897114, Fax: 86-10-53897676, E-mail: kimjy020815@hotmail.com

CHU Xiao-Gang. Tel: 86-10-53897114, Fax: 86-10-53897676, E-mail: xgchu@vip.sina.com

Received: October 14, 2014 Accepted: January 7, 2015