

· 药学前沿 ·

改善肿瘤乏氧环境及乏氧应激释药型抗肿瘤药 纳米递送系统研究进展

梁金来¹, 徐巍², 殷婷婕^{1*}, 霍美蓉^{1**}

(¹中国药科大学天然药物活性组分与药效国家重点实验室, 南京 210009; ²山东省千佛山医院, 济南 250014)

摘要 乏氧是多数实体肿瘤的特征之一, 影响肿瘤的侵袭和转移, 是抗肿瘤药产生耐药性的一个主要原因。基于高压氧或是血液代用品递送 O₂ 至肿瘤部位或是设计能催化肿瘤内源性 H₂O₂ 分解产生 O₂ 的治疗方法, 提高肿瘤组织中的含氧量, 改善肿瘤乏氧环境, 有助于肿瘤治疗。此外, 基于肿瘤乏氧微环境设计乏氧应激释药型纳米递送体系, 提高靶点药物浓度, 提高药物疗效并降低其不良反应。本文主要从缓解肿瘤乏氧微环境以及肿瘤乏氧微环境响应型纳米靶向递药体系进行详细综述, 为研究和开发新型抗肿瘤药提供方法学借鉴。

关键词 乏氧; O₂ 递送; H₂O₂; 乏氧环境; 乏氧应激; 纳米载体; 抗肿瘤

中图分类号 R944 **文献标志码** A **文章编号** 1000–5048(2018)03–0255–08

doi:10.11665/j.issn.1000–5048.20180301

引用本文 梁金来, 徐巍, 殷婷婕, 等. 改善肿瘤乏氧环境及乏氧应激释药型抗肿瘤药纳米递送系统研究进展[J]. 中国药科大学学报, 2018, 49(3): 255–262.

Cite this article as: LIANG Jinlai, XU Wei, YIN Tingjie, *et al.* Advances in the hypoxia-responsive antitumor drug nanocarriers and tumor hypoxia relieve[J]. *J China Pharm Univ*, 2018, 49(3): 255–262.

Advances in the hypoxia-responsive antitumor drug nanocarriers and tumor hypoxia relieve

LIANG Jinlai¹, XU Wei², YIN Tingjie^{1*}, HUO Meirong^{1**}

¹State Key Laboratory of Natural Medicines, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009;

²Shandong Provincial Qianfoshan Hospital, Jinan 250014, China

Abstract Hypoxia, a salient feature of solid tumors, is often associated with invasiveness, metastasis and resistance to anticancer drugs. The strategies including the use of oxygen-carriers based on hyperbaric oxygen and blood substitutes to transport oxygen into tumors or *in situ* generation of O₂ from the tumor microenvironment endogenous H₂O₂ have been explored to relieve the tumor hypoxia and to improve therapeutic efficiency. In addition, it is potential to design hypoxia-responsive nanocarriers based on tumor hypoxia microenvironment to deliver anticancer drugs to the targeted tumor site, thereby improve drug concentrations in targeted site, significantly increase the antitumor efficiency and reduce the side-effects of drugs. This review gives an overview of the advances in relieving tumor hypoxia and hypoxia-responsive nanocarriers for tumor to provide a reference for the research and development of new antitumor drugs.

Key words hypoxia; oxygen delivery; H₂O₂; hypoxia environment; hypoxia-responsive; nanocarriers; antitumor

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China(No. 81703442, No. 81102397, 81503261)

收稿日期 2018-03-28 * 通信作者 * Tel: 025–83271102 E-mail: cookey_89ytj@163.com

** Tel: 025–83271102 E-mail: huomeirongcpu@163.com

基金项目 国家自然科学基金资助项目(No. 81703442, No. 81102397, No. 81503261)

正常生理条件下,平均氧分压为 40 mmHg,当环境氧分压小于或等于 14 mmHg 时,被称为乏氧环境^[1]。肿瘤新陈代谢旺盛、生长迅速,肿瘤细胞数量增多,体积增大,在这种无限增殖过程中氧耗量增加,导致肿瘤细胞的生长环境局部乏氧。乏氧是多数实体肿瘤的特征之一,在肿瘤的发生、发展和转移中起着重要作用,亦是肿瘤化学治疗和放射治疗产生耐药的一个主要原因^[1–3]。

针对肿瘤独特的乏氧环境及其病理作用,一方面可向肿瘤组织递送氧气(O_2)或设计能催化肿瘤内源性 H_2O_2 分解产生 O_2 的药物递送体系,增加肿瘤组织中的含氧量,从而显著改善乏氧环境,使肿瘤细胞恢复对药物的敏感性,提高肿瘤治疗效果;另一方面,亦可以设计乏氧微环境响应型纳米靶向递药系统,在肿瘤乏氧微环境中特异性释放药物,提高靶点药物浓度,增强药物抗肿瘤活性并降低其不良反应^[4–5]。本论文将就如何改善肿瘤乏氧微环境以及如何利用肿瘤乏氧微环境设计具备定位释药功能的纳米体系展开详细综述。

1 改善肿瘤乏氧微环境

肿瘤乏氧微环境支持肿瘤生长,诱导肿瘤细胞产生耐药,促使肿瘤复发,阻碍肿瘤的有效治疗。因此,提高肿瘤组织中的含氧量,改善肿瘤乏氧环境,有望提高抗肿瘤作用。

目前提高肿瘤组织的含氧量主要有两种方式:一是基于高压氧(hyperbaric oxygen, HBO)^[6]或是血液代用品^[7]递送 O_2 至肿瘤组织内,其中常见的血液代用品有全氟化碳、血红蛋白等^[8–9];二是设计能催化肿瘤内源性过氧化氢(H_2O_2)分解产生 O_2 的药物递送系统,例如基于二氧化锰或过氧化氢酶的纳米粒触发肿瘤内源性 H_2O_2 分解生成 O_2 ^[10–11]。

1.1 将 O_2 递送到肿瘤组织的治疗方法

1.1.1 基于 HBO 递送 O_2 的治疗方法 HBO 系指机体在超过一个大气压的环境中吸入纯氧而增加血浆中含氧量的治疗方法^[6]。基于 HBO 递送 O_2 的治疗方法,增加肿瘤组织中的氧分压,改善肿瘤乏氧微环境,使肿瘤细胞恢复对化学治疗、放射治疗(radiotherapy, RT)的敏感性,提高肿瘤治疗效果^[6,12]。针对 HBO 这一特性,Peng 等^[13]以肝癌细胞为模型,体外研究 HBO 对抗肿瘤药索拉非尼

(sorafenib)治疗作用的影响,研究表明,HBO 提高肿瘤氧分压,增强索拉非尼的治疗效果。Lu 等^[14]在人脑胶质瘤裸鼠模型中,研究抗肿瘤药尼莫司丁与 HBO 的协同作用,实验结果表明 HBO 显著提高肿瘤细胞对尼莫司丁敏感度,从而显著提高其抗肿瘤作用。此外,Hartmann 等^[15]以横纹肌肉瘤 R₁H 为模型,研究 HBO 对 RT 治疗效果的影响,研究表明 HBO 促进肿瘤氧合,改善 R₁H 肿瘤细胞对 RT 的敏感度,从而提高肿瘤放射治疗效果。

1.1.2 基于血液代用品递送 O_2 的治疗方法 人体血液的主要生理功能是通过可逆结合与分离 O_2 和 CO_2 ,向组织细胞提供 O_2 并带走 CO_2 。为了克服血源不足,血液存贮时间短等缺点,具有携氧功能的血液代用品成为增加组织含氧量的研究热点。目前常见的血液代用品主要有血红蛋白和全氟化碳类^[16–17]。其中,血红蛋白输送 O_2 的原理是依靠氧分子与血红素的铁原子之间形成稳定的局部化学配位键,通过共价结合方式,实现 O_2 的递送作用;而全氟化碳是通过疏松、非定向的范德华力交互作用,物理溶解 O_2 ,实现 O_2 递送作用;两者对 O_2 的溶解和结合机制见图 1^[18]。

血液代用品具有良好的 O_2 输送功能,可将 O_2 递送至肿瘤组织,有望改善肿瘤乏氧微环境,提高肿瘤细胞对抗肿瘤药的敏感性,从而提高药物的抗肿瘤作用。作为一种常见血液代用品,全氟化碳(perfluorocarbon, PFC)是碳氢化合物中的氢原子被氟原子取代后形成的一类化合物,是无色无味、无毒的透明液体,化学性质稳定,但不溶于水,需要经过乳化变为可溶性乳剂;该乳剂具有良好的溶解非极性气体的功能,可以作为 O_2 和 CO_2 的运载体^[8,17–18]。液态氟碳(perfluorooctylbromide, PFOB)是全氟化碳的一种,具有良好的扩散性、低表面张力、低黏度、高气体溶解度,而被广泛研究。Li 等^[19]以脂质体复合物为载体,负载化疗药物埃罗替尼和 PFOB,旨在考察 PFOB 对埃罗替尼抗肿瘤活性的影响。研究结果表明,PFOB 促进肿瘤细胞恢复对药物的敏感性,克服了低氧诱导的肺癌药物耐药性,从而提高了埃罗替尼的抗肿瘤作用。

光动力学治疗(photodynamic therapy, PDT)是一种肿瘤治疗新技术,其原理是利用光敏剂在特定波长激发光作用下,与 O_2 作用,产生具有细胞毒性的活性氧类物质,导致肿瘤细胞坏死和凋亡。因肿

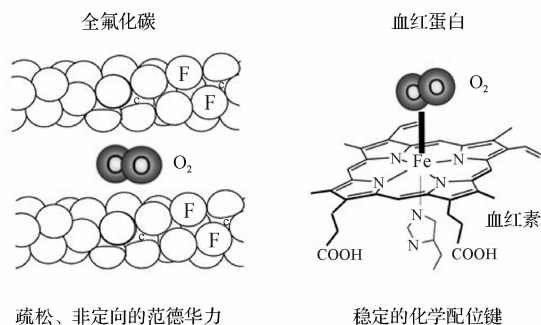


图 1 全氟化碳和血红蛋白对 O_2 的溶解和结合机制^[18]

瘤组织本身处于乏氧状态, PDT 治疗过程消耗氧气将会导致肿瘤微环境乏氧程度加重, 不利于肿瘤治疗。针对 PDT 治疗存在的弊端, Luo 等^[20] 制备了一种仿生脂质聚合物纳米粒, 用于负载光敏剂吲哚菁绿 (ICG) 和载氧物血红蛋白 (Hb); 体系中 Hb 与 O_2 共价结合, 实现 O_2 递送作用, 增加肿瘤局部氧浓度, 改善肿瘤乏氧环境, 同时也为光敏剂提供 O_2 , 提高 PDT 效果。此外, 基于 PFC 具有较好携氧功能, Cheng 等^[21] 将脂质体作为载体, 用于光敏剂 IR780 和 PFC 的靶向递送; 该脂质体利用肿瘤的高通透性和滞留 (enhanced permeability and retention, EPR) 效应在肿瘤组织蓄积, 体系中 PFC 物理溶解大量 O_2 , 为体系中的光敏剂光动力学治疗过程提供 O_2 , 确保 PDT 的作用; PFC 并将 O_2 递送至肿瘤组织内, 提高了肿瘤组织内 O_2 含量, 改善肿瘤乏氧微环境, 促使肿瘤细胞恢复对 PDT 的敏感性, 进一步提高 PDT 抗肿瘤作用。PFC 虽然对 O_2 的溶解性较好, 但其仅依靠氧浓度梯度, 通过扩散来释放 O_2 , 其 O_2 释放效率较低; 为了提高 PFC 的释 O_2 效果, Song 等^[22] 利用高强度超声波触发 PFC 释放 O_2 , 旨在提高其 O_2 释放效率。研究者制备了人血清白蛋白修饰的 PFC 纳米乳剂, 并将其分别与 PDT、RT 联合使用, 利用高强度超声波触发纳米乳剂中 PFC 释放 O_2 , 考察其对抗肿瘤作用的影响。实验结果表明, 高强度超声促进 PFC 快速释放 O_2 , 有效地逆转肿瘤乏氧相关的耐药性, 显著提高 PDT 和 RT 治疗效果。

1.2 催化肿瘤内源性 H_2O_2 分解产生 O_2 的纳米递送体系

由于肿瘤组织的血管异常, 且多数肿瘤细胞处于远离肿瘤血管的位置, 导致氧运转不足, 因此, 通过将 O_2 递送至肿瘤组织内以改善肿瘤乏氧微环境

的方法具有一定局限性。近年来研究者致力于开发一类新型纳米递送系统, 该体系能催化肿瘤内源性 H_2O_2 分解产生 O_2 , 从而提高肿瘤组织的含氧量, 改善肿瘤乏氧微环境。

活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 是分子氧被单电子还原后生成的化学性质活泼的氧代谢产物及其衍生物的总称, 主要包括超氧阴离子、 H_2O_2 、羟基自由、氢过氧基、单线态氧等^[23-24]。在正常细胞内, 氧化与抗氧化系统维持在相对平衡的状态, 促氧化水平的升高或者抗氧化能力的减弱都会导致体内 ROS 含量的升高。肿瘤细胞因代谢异常, 其 ROS 水平较正常细胞高, 处于氧化应激状态, 对 ROS 的敏感度较正常细胞高。 H_2O_2 位于超氧阴离子和羟基自由基附近, 是 ROS 的一个重要成分; 可见, 细胞内 H_2O_2 浓度升高是肿瘤细胞特有的生化特性^[23-25]。而且 H_2O_2 分解产生的 O_2 , 能够提高肿瘤组织内含氧量, 从而改善肿瘤乏氧环境, 有望克服低氧诱导的细胞耐药性, 从而提高药物治疗效果。目前有文献报道, 过氧化氢酶 (catalase, CAT)^[26] 或二氧化锰 (MnO_2)^[27] 纳米粒可作为催化剂, 诱导肿瘤组织内 H_2O_2 分解产生 O_2 , 从而提高肿瘤组织含氧量, 改善肿瘤乏氧微环境。

1.2.1 基于 CAT 催化 H_2O_2 分解产生 O_2 的纳米递送体系 CAT 能够快速将 H_2O_2 分解为 H_2O 和 O_2 。针对 CAT 这一特性, Chen 等^[28] 利用聚乳酸-羟基乙酸共聚物 [poly (lactic-co-glycolic acid), PLGA] 作为载体, 同时负载 CAT 和顺铂; 该纳米体系进入肿瘤细胞后, 与胞内的 H_2O_2 接触, 使 H_2O_2 穿透进入 PLGA 壳内并与纳米体系中 CAT 相互作用, 导致 H_2O_2 分解产生 O_2 泡。研究表明, 体系产生的 O_2 泡一方面破坏纳米粒结构, 促进化疗药物顺铂释放, 发挥抗肿瘤作用; 另一方面提高了周围环境的含氧量, 改善肿瘤乏氧环境, 有助于克服肿瘤细胞乏氧诱导的耐药性, 进一步提高了顺铂的治疗作用。鉴于 c(RGDfK) 肽靶向作用于 $\alpha_v\beta_3$ 整合素高表达的肿瘤细胞, Chen 等^[29] 利用 c(RGDfK) 修饰纳米粒表面, 制备了一种肿瘤靶向纳米粒 (HAOP NP), 并用于负载光敏剂和 CAT, 考察 CAT 对光敏剂治疗效果的影响。实验结果证实了, 材料中 CAT 催化肿瘤细胞内 H_2O_2 分解产生 O_2 , 显著提高了 PDT 在乏氧细胞中的治疗效果。

此外, 为了考察改善肿瘤乏氧环境对肿瘤放射

治疗的影响, Song 等^[30] 利用氧化钨纳米微球包裹 CAT, 整合形成生物纳米反应器, 考察其对 RT 治疗效果的影响; 结果显示, 体系中 CAT 能够促进肿瘤内的 H_2O_2 分解产生 O_2 , 提高肿瘤组织内含氧量, 改善肿瘤乏氧环境, 提高 RT 的治疗作用。

1.2.2 基于二氧化锰 (MnO_2) 催化 H_2O_2 分解产生 O_2 的纳米递送体系 MnO_2 对 H_2O_2 亦有较好的催化分解作用。Prasad 等^[27] 利用聚电解质-白蛋白复合物和 MnO_2 纳米粒组成一个混合纳米粒, 并在小鼠乳腺癌肿瘤模型中, 研究 MnO_2 与肿瘤内源性 H_2O_2 的反应情况。结果表明, 该体系中 MnO_2 与 H_2O_2 反应后, 使肿瘤内氧合率增加了 45%, 显著提高了肿瘤含氧量, 改善了肿瘤乏氧环境。

借助 MnO_2 催化 H_2O_2 分解产生 O_2 的特性, MnO_2 纳米粒 (MnO_2 NP) 与光敏剂联合应用, 为光敏剂提供了 O_2 , 提高 PDT 作用。Zhu 等^[31] 先将光敏剂 Ce6 共价结合到 MnO_2 NP 上, 再利用聚乙二醇 (PEG) 对该纳米粒进行表面修饰, 制备成 CE6@ MnO_2 -PEG。体系中 MnO_2 纳米粒与肿瘤细胞内 H_2O_2 反应, 产生 O_2 , 为体系中的 Ce6 提供氧气, 提高其 PDT 治疗作用。此外, Gao 等^[32] 以透明质酸纳米粒为核心, 先通过共价结合方式将 ICG 引入到纳米粒表面, 再物理包裹 MnO_2 NP, 最终形成一种具有产 O_2 功能的混合纳米粒, 评价该体系的 PDT 治疗作用。结果表明, 该混合纳米粒进入肿瘤细胞后, 体系中透明质酸 (HA) 被内源性 HA 酶分解, 导致纳米体系解体, 促进纳米粒中 MnO_2 与 H_2O_2 反应产生 O_2 , 提高肿瘤细胞内含氧量, 从而提高 ICG 的 PDT 治疗效果。

2 基于乏氧微环境的定位释药体系

除了高压氧输送或是催化 H_2O_2 分解产生 O_2 的纳米递送体系等治疗方法外, 乏氧应激型纳米体系也被广泛用于克服乏氧诱导的耐药性。因其在乏氧微环境中特异性释放药物, 提高靶点药物浓度, 克服乏氧诱导的耐药性, 提高药物疗效并降低其不良反应, 而备受关注。目前基于乏氧微环境的定位释药体系主要有两种: 一种是靶向递送乏氧激活前药的纳米递送体系, 其中乏氧激活前药选择性杀死乏氧细胞; 另外一种是在乏氧微环境响应型定位释药体系, 该体系含有乏氧敏感片段, 其选择性在

乏氧环境下载体解聚, 有效控制药物释放于肿瘤部位, 有望实现肿瘤靶向治疗。

2.1 基于乏氧激活前药的定位释药纳米体系

乏氧激活的前药 (hypoxia-activated prodrugs, HAPs) 也称为生物还原药物, 逐渐引起人们的关注。HAPs 是一类本身无毒性的前药, 在乏氧细胞中借助特定还原酶还原生成毒性药物以达到治疗作用, 可选择性杀死乏氧的肿瘤细胞^[33–35]; 正常组织中, HAPs 在单电子还原酶作用下, 发生单电子可逆还原反应, 生成单电子还原产物即氧敏感的中间体; 该中间体与周围的 O_2 作用, 获得电子, 又被氧化生成 HAPs 母体, 进行了氧化还原的循环反应, 导致 HAPs 没有发挥治疗作用。相较于正常组织, 乏氧组织具有高水平还原酶表达, 促使上述的单电子还原产物进一步发生不可逆的还原反应, 生成具有细胞毒性的产物, 发挥抗肿瘤作用^[36–37]。HAPs 在正常组织中和乏氧条件下的激活机制如图 2 所示。

近年来, HAPs 已经被广泛的研究, 其主要分为 5 类, 分别是硝基 (杂) 环化合物、芳香氮氧化物、脂肪族 N-氧化物、醌类、金属配合物^[1, 33–34]。目前已有 HAPs 药物正在进行临床 II 期、临床 III 期评估, 例如阿帕齐醌 (Apaziquone, EO9)、TH-302、替拉扎明 (Tirapazamine, SR 4233)、巴诺蒽醌 (Banoxantrone, AQ4N)。这些药物的结构以及作用机制见表 1^[1]。

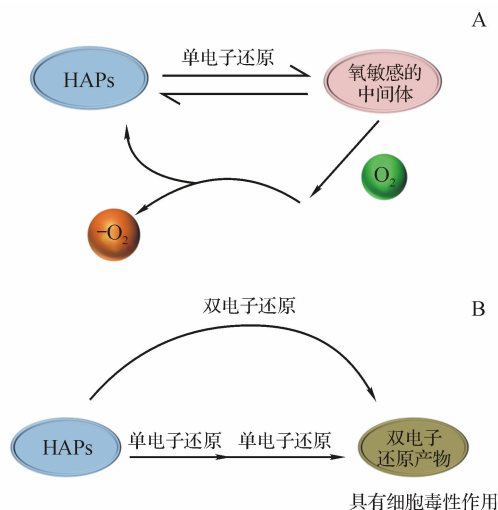
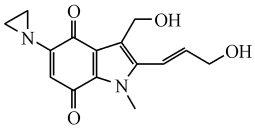
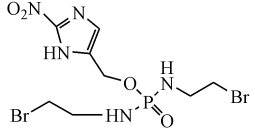
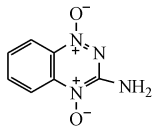
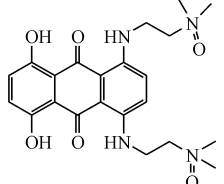


图 2 HAPs 在正常组织中激活机制 (A) 及其在乏氧条件下还原机制 (B)

表 1 乏氧激活前药的结构及作用机制^[1]

前药	结构式	类别	作用机制
阿帕齐醌 (Apaziquone, EO9)		醌类	引起 DNA 交联;产生 ROS
TH-302		硝基芳烃类	引起 DNA 交联;产生 ROS
替拉扎明 (Tirapazamine, SR 4233)		芳香氮氧化物	引起 DNA 损伤;产生 ROS
巴诺蒽醌 (Banoxantrone, AQ4N)		蒽醌类	抑制拓扑酶 II ;引起 DNA 交联

一方面 HAPs 可选择性杀死乏氧的肿瘤细胞,另一方面 PDT 治疗过程消耗氧气。结合这两方面研究者们设计出 PDT 与 HAPs 联合应用的治疗方案,即 PDT 治疗过程消耗氧气,导致肿瘤环境乏氧恶化,将进一步促进 HAPs 被激活发挥抗肿瘤作用,实现 HAPs 与 PDT 联合治疗。Feng 等^[38]利用脂质体作为载体,将其同时负载光敏剂 Ce6 和亲水性 AQ4N,再用聚乙二醇(PEG)对该脂质体表面进行修饰,最后利用 Ce6 与⁶⁴Cu 同位素螯合,制备成具有成像作用的 AQ4N-⁶⁴Cu-hCe6 脂质体。脂质体表面亲水性 PEG 避免纳米体系体内被蛋白水解,提高体系血液稳定性,进而促进体系蓄积于肿瘤组织。给予激光照射,体系中 Ce6 与周围氧气反应,产生 ROS,诱导肿瘤细胞凋亡,这一过程导致肿瘤乏氧环境恶化,促进体系中乏氧激活前药 AQ4N 被激活,还原成具有细胞毒性产物,能够有效杀伤肿瘤细胞,并与 Ce6 产生协同抗肿瘤作用,从而显著提高肿瘤治疗效果。

另有文献报道,肿瘤细胞膜仿生纳米粒具有免疫逃避和源细胞特异性,可靶向作用于肿瘤细胞。Li 等^[39]先将替拉扎明(TPZ)包埋于卟啉金属有机框架 PCN-224(PCN 代表多孔配位网络),再将其与一种肿瘤细胞膜仿生修饰的纳米粒混合组装成 TPZ@PCN@Mem。静脉注射后,具有免疫逃避和源细胞特异性的 TPZ@PCN@MEM 能够选择性地

蓄积于肿瘤组织中;给予激光照射后,体系中 PCN-224 被激发产生 ROS,发挥 PDT 作用;PDT 过程消耗氧气,诱导肿瘤乏氧环境恶化,将进一步促进 TPZ 激活,有望实现连续性的生物还原药治疗。

肿瘤穿透力弱是纳米体系治疗肿瘤的一个极大挑战。而且肿瘤组织中,多数肿瘤细胞远离血管,导致 HAPs 不能充分接触到肿瘤细胞,易产生耐药,不利于肿瘤治疗。针对上述问题,Wang 等^[40]成功合成了表面修饰有 iRGD 的纳米粒,用于负载光敏剂 ICG 和乏氧激活前药 TPZ。该 iRGD 靶向肽序列中具有整合素靶向功能,能够靶向到整合素高表达的肿瘤部位,且还能通过细胞表面受体介导细胞膜穿透效应,达到主动靶向至肿瘤组织并提高纳米粒的肿瘤组织穿透能力。给予近红外激光照射后,位于肿瘤部位的纳米体系,其 ICG 发挥 PDT 作用,诱导肿瘤乏氧环境恶化,激活 TPZ 的抗肿瘤活性,实现抗肿瘤的协同作用。

2.2 乏氧微环境响应型定位释药体系

相较于肿瘤组织,正常组织中很少存在乏氧现象,利用肿瘤组织与正常组织中含氧量的显著差别,设计乏氧微环境响应型定位释药体系,从而提高肿瘤部位游离药物的浓度,提高其抗肿瘤活性并降低其不良反应。乏氧微环境响应型纳米载体其修饰有乏氧敏感基团,在低氧环境中该敏感部分被激活,功能结构改变,导致纳米体系结构稳定性被

破坏,从而导致体系解体,释放出药物。目前已被广泛研究的乏氧敏感基团主要有硝基咪唑类、偶氮苯类^[1,41];在乏氧条件下,疏水性的硝基咪唑类化合物还原生成亲水性的氨基咪唑类产物,而偶氮苯类化合物其结构中偶氮键断裂,产生苯胺类还原产物;两者在乏氧环境中的还原机制如图 3 所示^[41]。

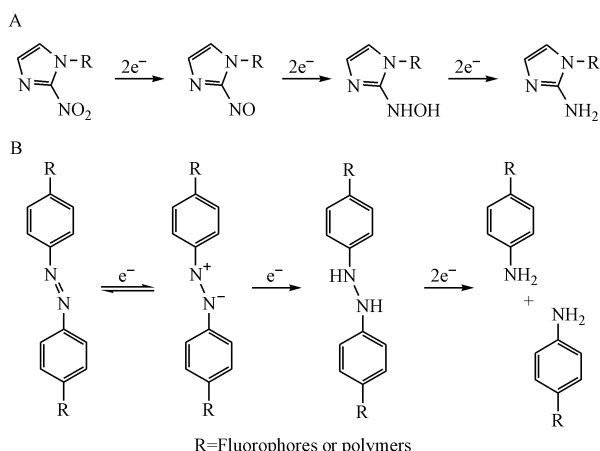


图 3 硝基咪唑类(A)、偶氮苯类(B)在乏氧环境中的还原机制^[41]

2.2.1 基于硝基咪唑基团的乏氧微环境响应型定位释药体系 疏水性的 2-硝基咪唑在乏氧环境中发生一系列的还原反应,转变成亲水性 2-氨基咪唑;因此,可利用 2-硝基咪唑在乏氧环境中还原断裂导致疏水-亲水转变的特点,设计针对乏氧响应的纳米药物载体来实现载体性质,有效控制药物释放,实现肿瘤靶向治疗,提高抗肿瘤作用。Thambi 等^[42]将疏水性的 2-硝基咪唑与亲水性的羧甲基葡聚糖共价结合,形成乏氧敏感的纳米粒,并用于负载抗肿瘤药阿霉素(DOX)。在肿瘤乏氧环境中,载体中疏水性的 2-硝基咪唑被还原成亲水性产物,导致载体结构被破坏,促进 DOX 释放,进而发挥抗肿瘤作用。体外研究显示,在生理条件下该纳米体系中 DOX 释放缓慢,但在乏氧条件下,DOX 释放显著增加,因此说明了 2-硝基咪唑基团修饰的纳米体系具有乏氧响应快速释药能力。

此外,Kang 等^[43]也是利用 2-硝基咪唑在乏氧环境中还原成亲水性的 2-氨基咪唑原理,设计一种肿瘤乏氧敏感的纳米体系。该体系以相对分子质量为 1800 的支链聚乙烯亚胺($bPEI_{1.8k}$)为核心,与烷基化的 2-硝基咪唑($NI-(CH_2)_5-COOCH_3$, C_6-NI)共价结合,形成两亲性的 $bPEI_{1.8k}-C_6-NI$ 聚阳离子;再通过静电吸附作用,有效的压缩凋亡抑制基

因 siRNA,最终制备成 $bPEI_{1.8k}-C_6-NI/siRNA$ 复合物。该纳米体系进入肿瘤细胞后,肿瘤乏氧环境诱导疏水性硝基还原成亲水性氨基,引起纳米体系结构改变,形成相对疏松的结构,导致体系中 siRNA 解离,最终提高基因沉默的效率。

Ahmad 等^[44]利用酰胺反应,将 6-(2-硝基咪唑)己基胺(NID)结合到甲氧基聚(乙二醇)-b-聚(谷氨酸)上,成功制备成乏氧敏感的纳米粒,用于负载化疗药物。该体系亲水性外壳聚乙二醇避免纳米体系体内被蛋白水解;NID 作为体系的疏水部分,促进材料胶束化,从而提高材料的载药能力,而且 NID 在乏氧条件下结构改变,导致整个纳米体系结构被破坏,从而促进药物释放,提高靶点药物浓度,增强其抗肿瘤作用。

2.2.2 基于偶氮苯基团的乏氧微环境响应型定位释药体系 除了硝基咪唑类,偶氮苯类基团也被广泛用于乏氧微环境响应型定位释药体系的研究。偶氮苯基团在乏氧环境中发生还原反应,结构中的偶氮键断裂,生成苯胺类物质。Liu 等^[45]设计了一种乏氧敏感的前药胶束,以偶氮键(AZO)为连接臂,将己硫醇化的 PEG(PEG-C6)与化疗药物康普瑞汀(combretastatin A4, CA4)共价结合,形成两亲性分子 PEG-C6-AZO-CA4。该两亲性分子在水中自组装成胶束,可用于负载化疗药物 DOX;胶束通过 EPR 效应,在肿瘤组织中蓄积,并在肿瘤乏氧环境作用下,体系中乏氧敏感的偶氮苯结构还原断裂,导致载体结构被破坏,引起胶束解体,促进药物 DOX 释放,实现 DOX 与 CA4 的协同抗肿瘤作用。Perche 等^[46]也是利用 AZO 作为连接臂,将 PEG₂₀₀₀与 PEI_{1800} -DOPE 结合,获得 PAPD 胶束纳米粒,再将其与 siRNA 缩合,制备成 PAPD/siRNA 复合物。该体系中 PEG₂₀₀₀作为亲水嵌段,提高体系的循环稳定性;PEI-DOPE 聚阳离子,通过静电吸附作用,缩合 siRNA,达到递送基因药物的目的。该体系中乏氧敏感连接臂 AZO 在肿瘤乏氧环境中断裂,导致 PEG 部分脱离纳米体系,暴露了 PEI 的正电性,促进残留体系 PEI-DOPE/siRNA 复合物内化进入肿瘤细胞,提高胞内基因药物浓度,从而提高其抗肿瘤作用。

另有文献报道,Kulkarni 等^[47]以偶氮苯结构作为连接臂,将聚乳酸和 PEG 共价结合,合成乏氧敏感的二嵌段共聚物;该聚合物在水溶液中自组装

形成囊泡,可用于包载抗肿瘤药吉西他滨和厄洛替尼,用于胰腺癌治疗研究。体外研究表明,在乏氧条件下 AZO 还原断裂,导致聚合物囊泡结构稳定性被破坏,从而快速释放吉西他滨和厄洛替尼,实现协同抗肿瘤作用。

3 结语及展望

综上所述,为了克服肿瘤乏氧诱导的耐药性而设计的将 O_2 递送至肿瘤部位或开发能催化肿瘤内源性 H_2O_2 分解产生 O_2 的药物递送系统,以及利用肿瘤乏氧微环境设计具备定位释药功能纳米体系的治疗手段,它们能够改善肿瘤含氧量,或者显著提高游离药物在肿瘤组织中的浓度,从而提高药物疗效,改善药物耐药性,在实体瘤的治疗中具有广阔的应用前景。然而,面对肿瘤微环境的复杂性和个体性差异引起的异质性,很多问题尚待进一步探讨和明晰。

参考文献

- [1] Alimoradi H, Matikonda SS, Gamble AB, et al. Hypoxia responsive drug delivery systems in tumor therapy[J]. *Curr Pharm Des*, 2016, **22**(19):2808–2820.
- [2] Rapisarda A, Melillo G. Role of the hypoxic tumor microenvironment in the resistance to anti-angiogenic therapies[J]. *Drug Resist Updat*, 2009, **12**(3):74–80.
- [3] Bryant JL, Meredith SL, Williams KJ, et al. Targeting hypoxia in the treatment of small cell lung cancer[J]. *Lung Cancer*, 2014, **86**(2):126–32.
- [4] Du J, Lane LA, Nie S. Stimuli-responsive nanoparticles for targeting the tumor microenvironment[J]. *J Control Release*, 2015, **219**:205–214.
- [5] Khawar IA, Kim JH, Kuh HJ. Improving drug delivery to solid tumors: priming the tumor microenvironment[J]. *J Control Release*, 2015, **201**:78–89.
- [6] Moen I, Stuhr LE. Hyperbaric oxygen therapy and cancer—a review[J]. *Target Oncol*, 2012, **7**(4):233–242.
- [7] Alam F, Yadav N, Ahmad M, et al. Blood substitutes: possibilities with nanotechnology[J]. *Indian J Hematol Blood Transfus*, 2014, **30**(3):155–162.
- [8] Spahn DR. Blood substitutes. Artificial oxygen carriers: perfluorocarbon emulsions[J]. *Crit Care*, 1999, **3**(5):R93–97.
- [9] Greenburg AG, Kim HW. Hemoglobin-based oxygen carriers[J]. *Crit Care*, 2004, **8** (Suppl 2):S61–S64.
- [10] Yuan J, Cen Y, Kong XJ, et al. MnO_2 -nanosheet-modified upconversion nanosystem for sensitive turn-on fluorescence detection of H_2O_2 and glucose in blood[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2015, **7**(19):10548–10555.
- [11] Fan W, Bu W, Shen B, et al. Intelligent MnO_2 nanosheets anchored with upconversion nanoprobes for concurrent pH-/ H_2O_2 -responsive UCL imaging and oxygen-elevated synergistic therapy[J]. *Adv Mater*, 2015, **27**(28):4155–4161.
- [12] Stępień K, Ostrowski RP, Matyja E. Hyperbaric oxygen as an adjunctive therapy in treatment of malignancies, including brain tumours[J]. *Med Oncol*, 2016, **33**(9):101.
- [13] Peng HS, Liao MB, Zhang MY, et al. Synergistic inhibitory effect of hyperbaric oxygen combined with sorafenib on hepatoma cells[J]. *PLoS One*, 2014, **9**(6):e100814.
- [14] Lu Z, Ma J, Liu B, et al. Hyperbaric oxygen therapy sensitizes nimustine treatment for glioma in mice[J]. *Cancer Med*, 2016, **5**(11):3147–3155.
- [15] Hartmann KA, van der Kleij AJ, Carl UM, et al. Effects of hyperbaric oxygen and normobaric carbogen on the radiation response of the rat rhabdomyosarcoma R1H[J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2001, **51**(4):1037–1044.
- [16] Wu W, Yang Q, Li T, et al. Hemoglobin-based oxygen carriers combined with anticancer drugs may enhance sensitivity of radiotherapy and chemotherapy to solid tumors[J]. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol*, 2009, **37**(4):163–165.
- [17] Vásquez DM, Ortiz D, Alvarez OA, et al. Hemorheological implications of perfluorocarbon based oxygen carrier interaction with colloid plasma expanders and blood[J]. *Biotechnol Prog*, 2013, **29**(3):796–807.
- [18] Riess JG. Perfluorocarbon-based oxygen delivery[J]. *Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol*, 2006, **34**(6):567–580.
- [19] Li F, Mei H, Gao Y, et al. Co-delivery of oxygen and erlotinib by aptamer-modified liposomal complexes to reverse hypoxia-induced drug resistance in lung cancer[J]. *Biomaterials*, 2017, **145**:56–71.
- [20] Luo Z, Zheng M, Zhao P, et al. Self-monitoring artificial red cells with sufficient oxygen supply for enhanced photodynamic therapy[J]. *Sci Rep*, 2016, **6**:23393.
- [21] Cheng Y, Cheng H, Jiang C, et al. Perfluorocarbon nanoparticles enhance reactive oxygen levels and tumour growth inhibition in photodynamic therapy[J]. *Nat Commun*, 2015, **6**:8785.
- [22] Song X, Feng L, Liang C, et al. Ultrasound triggered tumor oxygenation with oxygen-shuttle nanoparticle perfluorocarbon to overcome hypoxia-associated resistance in cancer therapies[J]. *Nano Lett*, 2016, **16**(10):6145–6153.
- [23] Zhang L, Li J, Zong L, et al. Reactive oxygen species and targeted therapy for pancreatic cancer[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, **2016**(3):1616781.
- [24] Vilema-Enríquez G, Arroyo A, Grijalva M, et al. Molecular and cellular effects of hydrogen peroxide on human lung cancer cells: potential therapeutic implications[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, **2016**(6):1–12.
- [25] Lennicke C, Rahn J, Lichtenfels R, et al. Hydrogen peroxide-pro-

- duction, fate and role in redox signaling of tumor cells [J]. *Cell Commun Signal*, 2015, **13**:39.
- [26] Chen Q, Chen J, Liang C, *et al.* Drug-induced co-assembly of albumin/catalase as smart nano-theranostics for deep intra-tumoral penetration, hypoxia relieve, and synergistic combination therapy [J]. *J Control Release*, 2017, **263**:79–89.
- [27] Prasad P, Gordijo CR, Abbasi AZ, *et al.* Multifunctional albumin-MnO₂ nanoparticles modulate solid tumor microenvironment by attenuating hypoxia, acidosis, vascular endothelial growth factor and enhance radiation response [J]. *ACS Nano*, 2014, **8**(4):3202–3212.
- [28] Chen H, He W, Guo Z. An H₂O₂-responsive nanocarrier for dual-release of platinum anticancer drugs and O₂: controlled release and enhanced cytotoxicity against cisplatin resistant cancer cells [J]. *Chem Commun (Camb)*, 2014, **50**(68):9714–9717.
- [29] Chen H, Tian J, He W, *et al.* H₂O₂-activatable and O₂-evolving nanoparticles for highly efficient and selective photodynamic therapy against hypoxic tumor cells [J]. *J Am Chem Soc*, 2015, **137**(4):1539–1547.
- [30] Song G, Chen Y, Liang C, *et al.* Catalase-loaded TaOx nanoshells as bio-nanoreactors combining high-Z element and enzyme delivery for enhancing radiotherapy [J]. *Adv Mater*, 2016, **28**(33):7143–7148.
- [31] Zhu W, Dong Z, Fu T, *et al.* Modulation of hypoxia in solid tumor microenvironment with MnO₂ nanoparticles to enhance photodynamic therapy [J]. *Adv Funct Mater*, 2016, **26**(30):5490–5498.
- [32] Gao S, Wang G, Qin Z, *et al.* Oxygen-generating hybrid nanoparticles to enhance fluorescent/photoacoustic/ultrasound imaging guided tumor photodynamic therapy [J]. *Biomaterials*, 2017, **112**:324–335.
- [33] Phillips RM. Targeting the hypoxic fraction of tumours using hypoxia-activated prodrugs [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2016, **77**(3):441–457.
- [34] Guise CP, Mowday AM, Ashoorzadeh A, *et al.* Bioreductive prodrugs as cancer therapeutics; targeting tumor hypoxia [J]. *Chin J Cancer*, 2014, **33**(2):80–86.
- [35] Denny WA. Hypoxia-activated prodrugs in cancer therapy: progress to the clinic [J]. *Future Oncol*, 2010, **6**(3):419–428.
- [36] Denny WA, Wilson WR, Hay MP. Recent developments in the design of bioreductive drugs [J]. *Br J Cancer Suppl*, 1996, **27**:S32–S38.
- [37] Mistry IN, Thomas M, Calder EDD, *et al.* Clinical advances of hypoxia-activated prodrugs in combination with radiation therapy [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2017, **98**(5):1183–1196.
- [38] Feng L, Cheng L, Dong Z, *et al.* Theranostic liposomes with hypoxia-activated prodrug to effectively destruct hypoxic tumors post-photodynamic therapy [J]. *ACS Nano*, 2017, **11**(1):927–937.
- [39] Li SY, Cheng H, Qiu WX, *et al.* Cancer cell membrane-coated biomimetic platform for tumor targeted photodynamic therapy and hypoxia-amplified bioreductive therapy [J]. *Biomaterials*, 2017, **142**:149–161.
- [40] Wang Y, Xie Y, Li J, *et al.* Tumor-penetrating nanoparticles for enhanced anticancer activity of combined photodynamic and hypoxia-activated therapy [J]. *ACS Nano*, 2017, **11**(2):2227–2238.
- [41] Thambi T, Park JH, Lee DS. Hypoxia-responsive nanocarriers for cancer imaging and therapy: recent approaches and future perspectives [J]. *Chem Commun (Camb)*, 2016, **52**(55):8492–8500.
- [42] Thambi T, Deepagan VG, Yoon HY, *et al.* Hypoxia-responsive polymeric nanoparticles for tumor-targeted drug delivery [J]. *Biomaterials*, 2014, **35**(5):1735–1743.
- [43] Kang L, Fan B, Sun P, *et al.* An effective tumor-targeting strategy utilizing hypoxia-sensitive siRNA delivery system for improved anti-tumor outcome [J]. *Acta Biomater*, 2016, **44**:341–354.
- [44] Ahmad Z, Lv S, Tang Z, *et al.* Methoxy poly (ethylene glycol)-block-poly (glutamic acid)-graft-6-(2-nitroimidazole) hexyl amine nanoparticles for potential hypoxia-responsive delivery of doxorubicin [J]. *J Biomater Sci Polym Ed*, 2016, **27**(1):40–54.
- [45] Liu H, Zhang R, Niu Y, *et al.* Development of hypoxia-triggered prodrug micelles as doxorubicin carriers for tumor therapy [J]. *RSC Adv*, 2015, **5**(27):20848–20857.
- [46] Perche F, Biswas S, Wang T, *et al.* Hypoxia-targeted siRNA delivery [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2014, **53**(13):3362–3366.
- [47] Kulkarni P, Haldar MK, You S, *et al.* Hypoxia-responsive polymeric nanoparticles for drug delivery to hypoxic pancreatic cancer cells [J]. *Biomacromolecules*, 2016, **17**(8):2507–2513.