

· 药学前沿 ·

肿瘤微环境响应型智能纳米药物载体的研究进展

刘艳红, 周建平, 霍美蓉*

(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)

摘要 随着纳米技术的发展及肿瘤微环境研究的深入, 基于肿瘤微环境设计的刺激响应型智能纳米药物载体在抗肿瘤药物递送系统中受到了广泛瞩目。该智能纳米药物载体可在体内稳定转运, 抵达肿瘤靶组织或靶细胞后在肿瘤微环境刺激下载体结构发生响应, 有效控制负载药物的转运部位和释放速度, 从而显著提高靶点药物浓度, 增加其抗肿瘤活性并降低其不良反应。常见的肿瘤微环境刺激因子有: pH、还原物质、酶浓度、活性氧(reactive oxygen species, ROS)、三磷酸腺苷(adenosine-5'-triphosphate, ATP)等。本文主要从 pH 响应型、酶响应型、还原响应型、ROS 响应型、ATP 响应型智能给药系统 5 个方面, 综述了肿瘤微环境刺激响应型智能纳米药物载体在抗肿瘤领域的新研究与新进展, 并对其未来的研究方向进行了展望。

关键词 刺激响应型; 肿瘤微环境; 纳米药物递送载体; 抗肿瘤; 进展

中图分类号 R944 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2016)02-0125-09

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20160201

引用本文 刘艳红, 周建平, 霍美蓉. 肿瘤微环境响应型智能纳米药物载体的研究进展[J]. 中国药科大学学报, 2016, 47(2):125-133.
Cite this article as: LIU Yanhong, ZHOU Jianping, HUO Meirong. Advances in the tumor microenvironment-responsive smart drug delivery nanosystem[J]. *J China Pharm Univ*, 2016, 47(2):125-133.

Advances in the tumor microenvironment-responsive smart drug delivery nanosystem

LIU Yanhong, ZHOU Jianping, HUO Meirong*

State Key Laboratory of Natural Medicines, Department of Pharmaceutics, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China

Abstract With the rapid development of nanotechnology and in-depth understanding of tumor microenvironment, stimuli-responsive smart drug delivery nanosystem based on tumor microenvironment (TME) has received extensive attention. TME-responsive smart delivery nanosystem can transport antitumor drug in circulation stably, after arriving in tumor tissue or targeted cells, the structure of nanocarriers changes under the stimuli of TME. Improved drug concentrations in targeted site significantly increase the antitumor efficiency and reduce the side effects of drugs. The stimulating factors in the TME include pH, redox potential, enzyme, reactive oxygen species (ROS), adenosine-5'-triphosphate (ATP) and so on. This review mainly gives a comprehensive overview in the latest research and new development in TME-responsive smart drug delivery nanosystems for efficient tumor therapy, mainly based on pH response type, enzyme response, reduction response, ROS response, and ATP response smart drug delivery nanosystems. Moreover, research directions in the future are pointed out in this review.

Key words stimuli-responsive; tumor microenvironment; drug delivery nanosystem; antitumor; advances

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81102397); the Natural Science Foundation of

收稿日期 2016-04-10 *通信作者 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. 81102397);江苏省自然科学基金资助项目(No. BK2012761);江苏省高校“青蓝工程”资助项目(No. 02432009);中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(No. JKPZ2013004);中国药科大学天然药物活性组分与药效国家重点实验室资助项目(No. JKGQ201107)

Jiangsu Province (No. BK2012761); the "Qing-Lan" Project of Jiangsu Province (No. 02432009); the Fundamental Research Funds for the Central Universities (No. JKPZ2013004); and the Project Program of State Key Laboratory of Natural Medicines, China Pharmaceutical University (No. JKGQ201107)

药物递送系统 (drug delivery system, DDS) 是采用多学科的手段将药物有效地递送到目的部位, 从而调节药物的代谢动力学、药效、毒性、免疫原性、生物识别等。20 世纪 70 年代, 随着纳米材料和纳米技术的发展, 纳米药物递送系统被逐步应用于药学领域, 其中, 抗肿瘤纳米药物递送系统 (anti-tumor nano drug delivery system, ATNDDS) 的研究已成为该领域的重点和热点。与传统抗肿瘤制剂相比, ATNDDS 具有很多优势^[1-4]: ①将抗肿瘤药物封装入纳米级载体中, 显著改善药物的溶解度, 提高药物的稳定性, 延长其血液循环从而提高药物疗效; ②通过主动靶向或实体瘤的高通透性和滞留效应 (enhanced permeability and retention effect, EPR), 提高药物对肿瘤细胞的特异选择性, 增加靶区药物浓度, 降低其在非靶向部位的分布, 减少不良反应; ③克服临床研究普遍存在的多药耐药难题; ④实现机制不同的多种药物共载, 发挥协同增效的作用等。

然而, 随着研究的深入, 亦发现现有纳米药物载体存在着很多不足之处, 如: 靶向性低、肿瘤渗透

性差、药物释放位置无选择性、释放速度不受控制等, 从而阻碍了纳米载体在抗肿瘤领域中的进一步发展和应用。

肿瘤组织由于肿瘤细胞生长失控、基因表达异常等特点, 因而表现出与正常组织显著不同的生理特征^[5-7] (如图 1 所示): ①肿瘤细胞外及肿瘤细胞内溶酶体、内涵体的弱酸性环境; ②肿瘤细胞外及肿瘤细胞内过度表达的酶, 如基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase 2, MMP-2 和 matrix metalloproteinase 9, MMP-9)、酯酶、 α -淀粉酶、组织蛋白酶 B (Cathepsin B, CaB) 等; ④肿瘤细胞线粒体中存在的高水平活性氧 (reactive oxygen species, ROS); ④肿瘤细胞内高浓度还原物质; ⑤肿瘤细胞质富含三磷酸腺苷 (adenosine-5'-triphosphate, ATP) 等。基于以上肿瘤组织独特的生理基础, 设计肿瘤微环境响应型智能纳米药物载体, 有望有效解决纳米载体的体内稳定转运、靶向递送、高渗透、靶点定位释药等难题。近几年该领域已取得较大的研究进展。本文将对该领域的研究进行综述。

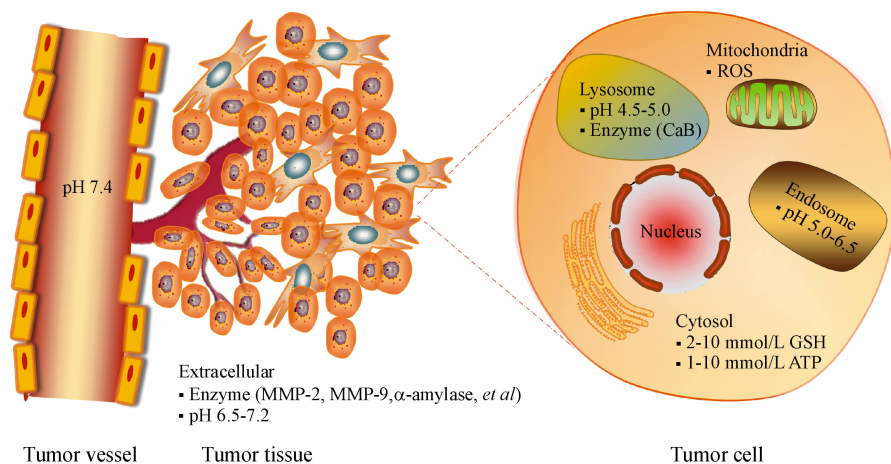


图 1 肿瘤组织以及肿瘤细胞内存在的生物刺激响应信号

1 pH 响应型纳米药物载体

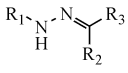
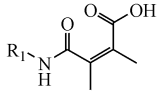
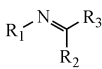
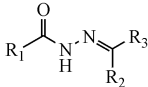

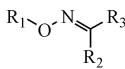
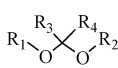
pH 响应型纳米药物载体主要是利用肿瘤组织与正常组织生理 pH 的差异, 将化疗药物靶向递送

或定位释放于肿瘤靶组织, 是一个具有良好发展前景的抗肿瘤递药系统。该体系主要类型包括: pH 敏感脂质体、聚合物纳米粒、胶束及树枝状聚合物等。pH 响应型纳米药物载体的设计有两种方

式^[8]:一是利用含有 pH 敏感基团构建载体;二是利用 pH 敏感化学键构建纳米载体。肿瘤微环境

各个部位 pH 及其相应的 pH 敏感结构、pH 敏感载体功能如表 1 所示。

表 1 肿瘤微环境各个部位 pH 及其相应的 pH 敏感结构、pH 敏感载体功能

肿瘤微环境 pH	pH 敏感结构		pH 敏感载体功能	
	pH 敏感基团	pH 敏感键		
肿瘤细胞外 pH 6.5 ~ 7.2	1) 聚组氨酸 2) 聚磺酰胺 3) 聚 β-氨基酯 (PAE) 4) 聚(2-N,N-二乙胺)乙基甲基丙烯酸酯 (PDEA)	1) 亚胺键 (pH < 5 ~ 7) 	2) 马来酸二甲酯键 (pH < 6.8) 	1) pH 响应释药 2) 靶点暴露靶分子或穿膜肽促进载体摄取 3) 电荷翻转促进载体摄取
肿瘤细胞内 内涵体: pH 5.0 ~ 6.5 溶酶体: pH 4.5 ~ 5.0	1) 马来酸衍生物 2) 羧化聚缩水甘油 3) 丙烯酸衍生物	1) 脲键 (pH < 5)  2) 酰胺脲键 (pH < 5)  3) 原酸酯键 ((pH < 5) 	4) 脲键 (pH < 5)  5) 缩醛/缩酮键 (pH < 4 ~ 5) 	1) 胞内载体降解实现胞内快速释药 2) 质子海绵作用促进内涵体逃逸

Koren 等^[9]以核小体特异性单克隆抗体 (2C5)-PEG3400-(脲键)-磷脂偶联物以及细胞穿透肽 (TATp)-PEG1000-磷脂偶联物制备了一种多功能靶向穿膜脂质体系统,用于化疗药物的靶向递送。该体系在血液循环中 (pH 7.4) 脲键保持稳定, TATp 片段被长链 PEG3400 有效屏蔽,而抵达肿瘤细胞外酸性环境时,脲键被有效水解从而脱去 PEG3400 长链,暴露出 TATp,从而高效介导脂质体穿入靶细胞,有效解决了细胞穿透肽对正常组织的不特异性穿膜而导致的系统毒性。

Guan 等^[10]设计了一种肿瘤细胞外 pH 响应智能电荷翻转的纳米药物载体,可显著促进肿瘤细胞对纳米载体的摄取。该体系将顺乌头酸改性形成的酸敏感阿霉素 (CAD) 与带正电荷的聚乙烯亚胺 (PEI) 吸附形成阳离子 PEI/CAD 复合物,进一步和生理环境下带负电荷的聚乙烯亚胺-聚(L-赖氨酸)-聚(L-谷氨酸) (PELG) 复合。该复合物 (PELG/PEI/CAD) 在正常血液循环下带负电从而稳定转运,抵达肿瘤细胞外微酸环境时,PELG 发生电荷翻转而带正电荷,从 PEI/CAD 复合物表面脱除,暴露阳离子 PEI/CAD 复合物,从而促进肿瘤细胞对 PEI/CAD 复合物吞噬。入胞后, CAD 进一步被内吞体和溶酶体内的更强的酸裂解,释放出 DOX。

Hu 等^[11]设计了一种基于聚(组氨酸)-聚乙烯亚胺两亲聚合物的阳离子胶束,该胶束进一步与血液环境下带负电的聚磺胺地托辛-聚乙二醇 (PSD-b-PEG) 静电复合,包载抗肿瘤药物紫杉醇。该体系由于 pH 敏感基团聚磺胺地托辛和聚(组氨酸)存在,同时具有肿瘤细胞外 pH 发的电荷翻转和肿瘤细胞内溶酶体/内涵体 pH 触发释药功能。

另有文献报道,基于肿瘤细胞内内涵体 (pH 5.0 ~ 6.5) 和溶酶体 (pH 4.5 ~ 5.0) 酸性条件设计的 pH 响应型纳米药物载体,可用于抗肿瘤药物的细胞内快速释放和促进药物的内涵体/溶酶体逃逸。Pourjavadi 等^[12]设计了一种基于 pH 敏感聚(丙烯酸-co-衣康酸)和白蛋白 (HSA) 的双层涂层的介孔二氧化硅纳米粒 (MCM-41),用来控制释放抗癌药吉西他滨。其中,聚(丙烯酸-co-衣康酸)作为 pH 敏感的内涂层, HSA 作为外涂层。实验结果显示在内涵体 pH 5.5 环境下,双层壳坍塌,吉西他滨的释放量达到最大,因此该载体具有胞内 pH 响应的快速释药能力。

GALA 肽是由 30 个氨基酸组成的 pH 响应蛋白,中性条件下的无序结构可转变为弱酸性 (pH 6.0) 条件的 α 螺旋。GALA 螺旋可与质膜复合,当达到一定浓度时可在膜上形成致孔效应,有利于内涵体/溶酶体逃逸。Nakase 等^[13]制备了一种

偶联有阳离子脂质和 pH 敏感膜融合肽的外泌体 (exosomes), 用来封装葡聚糖分子, 该载体有效克服了外泌体封装药物分子的胞内释放效率低下的难题。GALA 肽和阳离子脂质体通过增强细胞膜融合进而促进外泌体被细胞摄取, 内吞作用入胞后, 在内涵体的酸性 (pH 5.5) 下, GALA 大量转变成螺旋状态, 具有膜致孔效应, 从而促进内涵体逃逸及外泌体的膜裂解以快速释放封装分子。

表 2 肿瘤组织异常表达的酶类型及其特异性裂解底物、相应的载体功能

酶类型	高表达部位	特异性裂解底物	载体设计和功能
基质金属蛋白酶 (MMP-2 和 MMP-9 又称明胶酶类)	肿瘤细胞外微环境	多肽 GPLGIAGQ、GPLGV、PVGLIG	1) 靶点暴露靶分子或穿膜肽 ^[15] 2) 肿瘤细胞外酶响应释药 ^[16] 3) 靶点肿瘤大粒径载体降解为小粒径载体, 有利于肿瘤深部渗透 ^[17] 4) 靶点脱去 PEG 外壳, 提高肿瘤细胞对纳米载体的摄取 ^[18]
前列腺特异性抗原 (PSA)	前列腺癌细胞外微环境	多肽 MuHSSKLQL、AcOmASKLQSL、AcHypSSChgQSSP	1) 前体药物靶点快速释放 ^[19] 2) 前列腺癌诊断 ^[20]
组织蛋白酶 B (CaB)	肿瘤细胞内溶酶体中	多肽 GFLG	1) 肿瘤细胞内快速释药 ^[21] 2) 酶活化纳米探针用于诊断治疗 ^[22]
分泌型磷脂酶 A2 (PLA2)	肿瘤细胞外微环境或炎症部位	水解磷脂的 sn-2 位酯键, 生成溶血磷脂和脂肪酸。如: DPPC、DSPE、DSPG、POPC、PLA、PCL 等	1) 酶响应释药 ^[23] 2) 磷脂酶传感器 ^[24] 3) 靶向药物输送 ^[25]
α -淀粉酶	肿瘤细胞外微环境或坏死肿瘤区域	催化多糖形成小分子葡萄糖。如: β -环糊精, 糖酸等	酶促作用的药物释放 ^[26]
赖氨酰基氧化酶 (LOX)	高度表达于肿瘤细胞外基质 (ECM)	抗体	靶向肿瘤细胞外基质的赖氨酰氧化酶 (LOX), 进而改变 ECM 结构, 抑制肿瘤的生长和侵袭 ^[27]
β -葡萄糖醛酸苷酶	坏死性肿瘤区域	葡萄糖醛酸	酶促作用的药物释放 ^[28]
成纤维细胞活化蛋白 (FAP)	肿瘤相关成纤维细胞 (CAF) 表面	水解 N 端被封闭的 Pro-X 键	靶向 CAF, 杀灭肿瘤细胞赖以生存的微环境, 进而杀灭肿瘤细胞 ^[29]

目前, 在众多酶响应型纳米载体中, 基质金属蛋白酶 (MMPs) 的研究最为活跃。研究发现, 胞外分泌型 MMP-2 和 MMP-9 在多种肿瘤基质中都过度表达, 如脑癌、乳腺癌、宫颈癌、结肠癌、胃癌、肺癌、皮肤癌和卵巢癌等。MMPs 通过降解细胞外基质中的各种蛋白质促进肿瘤的发展和转移^[30]。

Veiman 等^[15]以 MMP2 敏感肽 GPLGIAGQ 为连接臂, 将疏水阳离子穿透肽 PepFect14 和亲水链段 PEG 偶联, 构建了 MMP-2 响应型纳米胶束 PF14-MMP-PEG, 靶向递送基因 pDNA。该体系在血液条件下, 由于 PEG 有效遮蔽了阳离子穿透肽, 减少了穿膜肽非特异性穿膜的不良反应; 而到达肿瘤组织经过 MMP-2 活化后, PEG 外壳脱去, 暴露的阳离子穿透肽 PF14 介导胶束有效进

2 酶响应型纳米药物载体

在肿瘤组织中, 肿瘤的发生发展而及相关基因的表达, 会诱使肿瘤细胞内外环境中某些酶的表达和活性发生巨大的改变^[14]。利用这一特性, 可以设计针对特殊酶响应的智能纳米药物载体来实现载体性质的可控改变或药物的有效控制释放。肿瘤组织常见异常表达的酶类型及其特异性裂解底物、相应的载体功能, 如表 2 所示。

入靶细胞。

100 nm 的纳米载体能够有效将化学药物通过 EPR 效应被动靶向至肿瘤组织, 然而该粒径大小却不利于纳米载体进一步往致密的肿瘤基质深处渗透。Wong 等^[17]利用肿瘤基质中高表达的 MMP-2, 设计了一种 MMP-2 响应型“变大为小”的智能纳米药物载体。该体系以胶原蛋白为核心, 在其表面修饰多个 PEG 化量子点, 形成粒径为 100 nm 的大纳米粒。当该载体通过 EPR 效应靶向至肿瘤组织后, 胶原蛋白内核被 MMP-2 降解, 从而释放出粒径为 10 nm 的量子点, 小粒径的量子点在肿瘤中具有更强的渗透扩散能力。组织分布及瘤内扩散实验亦证实, 该智能纳米载体不仅具有较好的 EPR 效应, 而且具有较好的瘤内深部渗透作用。

当然,除了广泛研究的 MMPs 刺激响应型纳米载体外,其他酶如:前列腺酸性抗原、组织蛋白酶 B、酯酶、 α -淀粉酶、赖氨酰基氧化酶(LOX)、 β -葡萄糖醛酸苷酶等,亦可以用来设计肿瘤组织酶响应的纳米载体,其设计及功能如表 2 所示。

3 还原响应型纳米药物载体

肿瘤组织由于代谢异常,而导致肿瘤细胞内存在较强的还原环境。肿瘤细胞内的还原物质谷胱甘肽(GSH)(2~10 mmol/L)浓度是细胞外 GSH 浓度(2~20 μ mol/L)1 000 倍以上,且比正常细胞内浓度高 4 倍,尤其在一些耐药肿瘤细胞中,GSH 甚至要高出 10 倍^[31]。因此,这种肿瘤细胞内外还原性的差异为设计还原响应型纳米药物载体实现肿瘤细胞内响应性释药提供了一种

新的思路。肿瘤细胞内除了主要还原性物质 GSH 外,还存在有硫氧还原蛋白还原酶、二价铁离子(Fe^{2+})、溶酶体硫醇还原酶(GILT)、半胱氨酸等还原性物质。

近年来,还原响应型智能纳米药物载体受到了药物递送领域的广泛关注,并取得了令人鼓舞的研究进展。还原响应型智能纳米药物载体结构中常用的还原敏感化学键包括:二硒键^[32-33]、琥珀酰亚胺-硫醚键^[34]、二硫键^[35-40]等,其中二硫键研究最为广泛。目前报道的还原敏感纳米药物载体大多为聚合物胶束,二硫键可位于亲水和疏水链段连接处^[35]、药物和载体材料之间^[36]以及两亲性高分子材料的疏水链段^[37],亦可作为交联剂构建交联胶束^[38-40]。常见的还原敏感化学键种类、载体结构设计及相关功能如表 3 所示。

表 3 常见的还原敏感化学键种类、载体结构设计及相关功能

还原敏感化学键	特点	常见的还原敏感载体结构	功能
二硒键(Se-Se)	在氧化或还原环境中均易断裂	作为连接臂 ^[32-33]	实现胞内快速释药
琥珀酰亚胺-硫醚键	还原降解速度比二硫键慢	作为交联剂 ^[34]	实现胞内快速释药
二硫键(S-S)	灵敏的还原敏感性	作为连接臂 ^[35-37]	实现胞内快速释药
		作为交联剂 ^[38-40]	1) 提高纳米胶束稳定性 2) 赋予其还原响应性,实现胞内快速释药

— 亲水链段; — 疏水链段; — 还原敏感键; ● 药物

还原响应型纳米载体常用于化学药物的肿瘤细胞内触发释放。本课题组通过含有二硫键的连接臂将疏水脱氧胆酸(DOCA)偶联于亲水长链透明质酸(HA)得聚合物 HA-SS-DOCA,在水溶液中可自组装为还原响应型胶束,用于紫杉醇(PTX)的靶向递送及肿瘤细胞内还原敏感响应释药^[35]。体

外模拟血液、肿瘤胞浆还原环境下释放实验证实,该胶束在正常体液条件下稳定存在,但在 20 mmol/L GSH 还原条件下二硫键快速断裂,胶束解体,药物快速释放。体内外抗肿瘤实验结果亦表明,还原敏感胶束具有更强的细胞杀伤能力及抗肿瘤活性。

Wang 等^[36]以二硫代二丙基(DTDP)为还原敏感连接臂,将顺铂(Pt)偶联于两亲聚合物聚乙二醇-聚(L-谷氨酸)(PEG-PLG)的疏水链 PLG 上,制备了顺铂的还原敏感高分子前体药物 PEG-P(LG-DTDP-Pt)。研究表明,该胶束在 10 mmol/L GSH 存在的条件下,二硫键快速断裂,40 h 顺铂的释放量达 80%。卵巢癌移植荷瘤小鼠实验显示,与游离的 Pt 相比,该前体药物 PEG-P(LG-DTDP-Pt) 具有更强的抑制肿瘤生长的活性。

还原响应型纳米载体亦可以实现基因类药物的肿瘤细胞内触发释放。Dong 等^[37]通过二硫键将阳离子聚合物聚[2-甲基丙烯酸二甲氨基乙酯(PDMAEMA)]偶联于两亲聚合物聚乙二醇-聚己内酯(PEG-PCL)的疏水链段上,用于负载 siRNA。研究表明,在血液条件下,该纳米载体稳定,而进入富含还原物质的肿瘤细胞后,二硫键断裂,PDMAEMA/siRNA 从 PEG-PCL 上脱落,促进内涵体逃逸,并有效释放 siRNA。

通过还原敏感交联剂制备壳交联或核交联胶束,能够显著提高聚合物胶束在体内的稳定性及靶点药物释放的选择性。Zhang 等^[38]用 3,3'-二硫代二丙酸(DPA)作为交联剂,制备了一种基于聚(g-苜基-L-谷氨酸酯)-b-葡聚糖(PBLG-b-dextran)的壳交联纳米胶束,用于阿霉素(DOX)的肿瘤细胞内快速释放。该胶束在有 0.010 mol/L GSH 条件下,DOX 在 12 h 内释放量为 75%,而在无 GSH 条件下,DOX 在 59.5 h 才释放 30%。细胞毒性实验也表明,该胶束能显著抑制 HeLa 和 HepG2 肿瘤细胞的生长。

Huang 等^[39]制备了一种以 2,2'-二硫二乙醇-二丙烯酸酯为交联剂的核交联胶束,用于紫杉醇(PTX)的胞内还原敏感响应释放。研究表明,在无

还原剂二硫苏糖醇(DTT)的条件下,药物的释放缓慢,而在 10.0 mmol/L DTT 下,药物释放速率明显加快。细胞实验显示,与游离 PTX 和非还原敏感胶束相比,该核交联还原敏感胶束具有增强的抗肿瘤效果。

硫辛酸(LA)也常常用来制备二硫键交联的胶束。硫辛酸分子内含有一个二硫键,在微量还原物质 DTT 作用下,内部二硫键发生断裂,分子间巯基与巯基相互连接形成新的二硫键,用于胶束的交联。如 Chen 等^[40]报道了一种偶联硫辛酸(LA)-顺-环己烷二羧酸(CCA)的聚(乙二醇)-b-聚(赖氨酸)多肽嵌段共聚物[PEG-P(LL-CCA/LA)]。该多肽共聚物自组装形成具有还原和 pH 双重敏感的聚合物胶束,用于抗肿瘤药物 DOX 的肿瘤细胞内快速释放。侧链硫辛酸通过微量 DTT 进行催化,形成核交联胶束。研究表明,在生理条件下,该胶束稳定性良好,而在 10 mmol/L DTT 细胞内条件下快速解交联,加快 DOX 的释放。此外,在 pH 5.0 的内涵体酸性环境下,CCA 发生酸裂解,进一步加快 DOX 的释放,24 h 释放量达 96.7%。MTT 实验显示,和对照组相比,该胶束具有增强的抗肿瘤效果。

4 ROS 响应型纳米药物载体

活性氧(reactive oxygen species, ROS)是机体氧化应激时产生的主要分子,在多种生理和病理过程中都起着重要的作用,它主要从细胞内线粒体呼吸链中内生性地产生。大量的证据证明,正常情况下生物体内的 ROS 始终保持着极低的平衡水平,而在多种疾病如心血管疾病、糖尿病、肿瘤、炎症组织中的线粒体中 ROS 水平远大于正常细胞^[41-43]。目前国内外已报道的 ROS 敏感材料及响应机制如表 4 所示。

表 4 国内外已报道的活性氧(ROS)敏感材料及相关机制

ROS 敏感相关机制	材料	特点
ROS 刺激:发生疏水-亲水的转变	聚(丙烯-硫化物)(PPS) 含硒嵌段共聚物	PPS 在正常组织中高度疏水,在氧化状态下转变成强的亲水性 对 ROS 和还原剂 GSH 同时敏感,在 ROS 环境下,实现疏水向亲水的转变。 此外,Se-Se 键在氧化或还原环境中均容易发生断裂
	聚硫醚酮	具有 pH 和 ROS 双重敏感性,其中硫醚基 ROS 敏感性,可实现疏水向亲水的转变,缩酮基具有 pH 敏感性
ROS 刺激:发生降解	硼酸酯	常用作活性氧 ROS 降解保护基及纳米载体的交联剂,连接臂
	脯氨酸低聚物	ROS 刺激下,几周完全降解,与其他几个小时快速降解的 ROS 敏感材料相比,特别适用于组织工程和缓释控释载体的研究
	聚酮缩硫醇	在制备口服药物载体具有较强优势,不受胃肠道的酸,酶等影响,而在 ROS 刺激下,降解成丙酮和硫醇

目前,利用靶细胞内外 ROS 的含量差异,采用 ROS 敏感材料构建的 ROS 响应型智能纳米药物载体,用于控制药物分子的胞内释放,已有大量的研究报道。

Gupta 等^[44]设计了基于聚(丙烯-硫化物)-*b*-聚(*N,N*-二甲基丙烯酰胺) [poly(PS-*b*-DMA)] 的 ROS 敏感自组装纳米胶束,用于炎症组织的疏水药物释放。该胶束直径为 100 nm,在多种 ROS[过氧化氢(H_2O_2)、林西多明(SIN-1)和过氧硝酸盐]条件下,模型药物的释放速率皆呈现 ROS 浓度依赖性,分析原因是聚(丙烯-硫化物)(PPS)内核在正常组织中具有高度的疏水性,而在氧化状态下显示出强的亲水性,从而导致胶束的解体和药物的快速释放。

Cheng 等^[45]报道了一种由 ROS、pH 双重敏感的两亲多嵌段共聚物聚(醚-氨酯)(PEU)和 β -环糊精(β -CD)构成的超分子水凝胶,用于共载亲水和疏水药物,可显著促进药物的释放速率。其中,该两亲多嵌段共聚物 PEU 由 PEG,二羟甲基丙酸(DMPA),二(1-羟基乙烯)二硒醚(DiSe)构成,然后自组装形成纳米胶束,包载疏水药物吲哚美辛。该胶束的 PEG 链段进一步与 β -CD 偶联组成超分子水凝胶,包载亲水模型药物罗丹明 B。体外的释放实验显示,PEU 纳米胶束由于同时存在 pH 敏感结构 DMPA 和 ROS 敏感结构 DiSe 而具有 ROS、pH 双重响应释药特性,在高浓度的 H_2O_2 和 pH 刺激下,PEU 纳米胶束快速发生解体,进而导致超分子水凝胶降解,快速释放包载的亲水、疏水药物。

Song 等^[46]研究了一种基于芳基硼酸脂的 ROS 响应聚合物胶束。该胶束由疏水链段芳基硼酸脂-聚(氨基酯)与亲水链段 PEG 相偶联而构成。在 ROS 环境 H_2O_2 刺激下,芳基硼酸脂降解变成苯酚基团,进而触发疏水链段降解,胶束解体,促进包封的药物快速释放。

5 ATP 响应型纳米药物载体

ATP 是生命活动的直接供能物质,在胞内胞外都广泛存在,但胞内的浓度(1~10 mmol/L)远远大于胞外的浓度(<5 mmol/L),尤其在代谢旺盛的肿瘤细胞中更加明显^[6-7]。因此,利用肿瘤细胞内外明显的 ATP 浓度差异,构建 ATP 响应型

纳米载体,可用于抗肿瘤药物的胞内刺激响应释放。

He 等^[47]将 ATP 响应的核酸适配体(apptamer)与短单链 DNA(臂 ssDNA1 和臂 ssDNA2)互补杂交形成三明治结构 DNA,进一步偶联到介孔二氧化硅纳米颗粒表面,封堵孔口,可有效地抑制内部客分子联钉吡啶染料的释放。研究结果显示,在无 ATP 条件下,7 h 内染料释放量不足 10%,然而在 20 mmol/L ATP 条件下,核酸适配体由于与 ATP 具有较强的结合力而被竞争走,柔性臂 ssDNA1 和 ssDNA2 无法继续封堵孔口,7 h 内染料分子释放率高达 83%。

Mo 等^[48]用 ATP 响应的核酸适配体作为连接臂,将多个片状 DNA-氧化石墨烯纳米片层层偶接在一起,构成了结构稳定的杂化纳米粒,用于抗肿瘤药物阿霉素(DOX)的胞内 ATP 响应控制释放。体外摄取实验表明,该纳米粒在高浓度 ATP 环境下,ATP 核酸适配体被夺走,杂化纳米粒骨架分离,加快 DOX 从 GO 纳米片上的释放。

6 总结与展望

肿瘤微环境响应型智能纳米药物载体巧妙利用了肿瘤组织独特的微环境从而有效解决纳米载体的稳定转运、靶向递送、药物定位释放等难题,有效增加化疗药物的抗肿瘤效果,减少对正常组织的侵害,从而受到药学科工作者的广泛关注。当然,除了 pH、还原物质、酶等肿瘤微环境内在刺激因子外,还存在诸多外部刺激因子,如离子、磁场、超声、光等。在未来抗肿瘤药物递送领域研究中,多重刺激响应型药物载体如:pH/温度、pH/还原、还原/酶、pH/温度/磁场等将成为主要研究热点。该多重刺激响应体系更能充分发挥不同环境响应性物质之间的协同效应,进而克服化疗药物在传递过程中遇到的多个生理屏障,对实现药物的高效靶向递送具有举足轻重的意义。但多重刺激响应型药物载体亦存在载体材料设计、合成更加复杂,质量控制难度大等问题,相信随着高分子材料学、肿瘤药理学、分子生物学等学科的不断发展,此类问题将能够得到有效解决,并且智能纳米药物载体将向着更加精准化递药方向发展。

参考文献

- [1] Wicki A, Witzigmann D, Balasubramanian V, *et al.* Nanomedicine in cancer therapy: challenges, opportunities, and clinical applications [J]. *J Control Release*, 2015, **200**: 138-157.
- [2] Markman JL, Rekechenetskiy A, Holler E, *et al.* Nanomedicine therapeutic approaches to overcome cancer drug resistance [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2013, **65** (13/14): 1866-1879.
- [3] Shapira A, Livney YD, Broxterman HJ, *et al.* Nanomedicine for targeted cancer therapy: towards the overcoming of drug resistance [J]. *Drug Resist Updat*, 2011, **14** (3): 150-163.
- [4] Yin TJ, Wang L, Yin LF, *et al.* Co-delivery of hydrophobic paclitaxel and hydrophilic AURKA specific siRNA by redox-sensitive micelles for effective treatment of breast cancer [J]. *Biomaterials*, 2015, **61**: 10-25.
- [5] Cheng R, Meng F, Deng C, *et al.* Bioresponsive polymeric nanotherapeutics for targeted cancer chemotherapy [J]. *Nano Today*, 2015, **10** (5): 656-670.
- [6] Gribble FM, Loussouarn G, Tucker SJ, *et al.* A novel method for measurement of submembrane ATP concentration [J]. *J Biol Chem*, 2000, **275** (39): 30046-30049.
- [7] Gorman MW, Feigl EO, Buffington CW. Human plasma ATP concentration [J]. *Clin Chem*, 2007, **53** (2): 318-325.
- [8] Liu J, Huang Y, Kumar A, *et al.* pH-Sensitive nano-systems for drug delivery in cancer therapy [J]. *Biotechnol Adv*, 2014, **32** (4): 693-710.
- [9] Koren E, Apte A, Jani A, *et al.* Multifunctional PEGylated 2C5-immunoliposomes containing pH-sensitive bonds and TAT peptide for enhanced tumor cell internalization and cytotoxicity [J]. *J Control Release*, 2012, **160** (2): 264-273.
- [10] Guan XW, Li Y, Jiao ZX, *et al.* A pH-sensitive charge-conversion system for doxorubicin delivery [J]. *Acta Biomater*, 2013, **9** (8): 7672-7678.
- [11] Hu J, Miura S, Na K, *et al.* pH-responsive and charge shielded cationic micelle of poly(1-histidine)-block-short branched PEI for acidic cancer treatment [J]. *J Control Release*, 2013, **172** (1): 69-76.
- [12] Pourjavadi A, Tehrani ZM. Mesoporous silica nanoparticles with bilayer coating of poly(acrylic acid-co-itaconic acid) and human serum albumin (HSA): a pH-sensitive carrier for gemcitabine delivery [J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2016, **61**: 782-790.
- [13] Nakase I, Futaki S. Combined treatment with a pH-sensitive fusogenic peptide and cationic lipids achieves enhanced cytosolic delivery of exosomes [J]. *Sci Rep*, 2015, **5**: 10112.
- [14] de la Rica R, Aili D, Stevens MM. Enzyme-responsive nanoparticles for drug release and diagnostics [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2012, **64** (11): 967-978.
- [15] Veiman KL, Künnapuu K, Lehto T, *et al.* PEG shielded MMP sensitive CPPs for efficient and tumor specific gene delivery *in vivo* [J]. *J Control Release*, 2015, **209**: 238-247.
- [16] Liu JJ, Zhang BL, Luo Z, *et al.* Enzyme responsive mesoporous silica nanoparticles for targeted tumor therapy *in vitro* and *in vivo* [J]. *Nanoscale*, 2015, **7** (8): 3614-3626.
- [17] Wong C, Stylianopoulos T, Cui J, *et al.* Multistage nanoparticle delivery system for deep penetration into tumor tissue [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, **108** (6): 2426-2431.
- [18] Zhu L, Perche F, Wang T, *et al.* Matrix metalloproteinase 2-sensitive multifunctional polymeric micelles for tumor-specific co-delivery of siRNA and hydrophobic drugs [J]. *Biomaterials*, 2014, **35** (13): 4213-4222.
- [19] Jiang YY, Hu LQ. Peptide conjugates of 4-aminocyclophosphamide as prodrugs of phosphoramidate mustard for selective activation by prostate-specific antigen (PSA) [J]. *Bioorg Med Chem*, 2013, **21** (23): 7507-7514.
- [20] Kavosi B, Salimi A, Hallaj R, *et al.* A highly sensitive prostate-specific antigen immunosensor based on gold nanoparticles/PAMAM dendrimer loaded on MWCNTs/chitosan/ionic liquid nanocomposite [J]. *Biosens Bioelectron*, 2014, **52**: 20-28.
- [21] Cheng YJ, Luo GF, Zhu JY, *et al.* Enzyme-induced and tumor-targeted drug delivery system based on multifunctional mesoporous silica nanoparticles [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2015, **7** (17): 9078-9087.
- [22] Tian JW, Ding L, Wang QB, *et al.* Folate receptor-targeted and cathepsin B-activatable nanoprobe for *in situ* therapeutic monitoring of photosensitive cell death [J]. *Anal Chem*, 2015, **87** (7): 3841-3848.
- [23] Arouri A, Mouritsen OG. Phospholipase A(2)-susceptible liposomes of anticancer double lipid-prodrugs [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2012, **45** (4): 408-420.
- [24] Aili D, Mager M, Roche D, *et al.* Hybrid nanoparticle-liposome detection of phospholipase activity [J]. *Nano Lett*, 2011, **11** (4): 1401-1405.
- [25] Mock JN, Costyn LJ, Wilding SL, *et al.* Evidence for distinct mechanisms of uptake and antitumor activity of secretory phospholipase A2 responsive liposome in prostate cancer [J]. *Integr Biol (Camb)*, 2013, **5** (1): 172-182.
- [26] Bernardos A, Mondragon L, Aznar E, *et al.* Enzyme-responsive intracellular controlled release using nanometric silica mesoporous supports capped with "saccharides" [J]. *ACS Nano*, 2010, **4** (11): 6353-6368.
- [27] Kanathipillai M, Mammoto A, Mammoto T, *et al.* Inhibition of mammary tumor growth using lysyl oxidase-targeting nanoparticles to modify extracellular matrix [J]. *Nano Lett*, 2012, **12** (6): 3213-3217.
- [28] Talelli M, Morita K, Rijcken CJ. Synthesis and characterization of biodegradable and thermosensitive polymeric micelles with covalently bound doxorubicin-glucuronide prodrug via click chemistry [J]. *Bioconjug Chem*, 2011, (22): 2519-2530.

- [29] Huang SH, Fang R, Xu J, *et al.* Evaluation of the tumor targeting of a FAP α -based doxorubicin prodrug[J]. *J Drug Target*, 2011, **19**(7):487–496.
- [30] Zhang X, Gao XD. Tumor microenvironment: a novel target for antitumor activity of polysaccharides[J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2010, **41**(1):1–10.
- [31] Meng FH, Hennink WE, Zhong ZY. Reduction-sensitive polymers and bioconjugates for biomedical applications[J]. *Biomaterials*, 2009, **30**(12):2180–2198.
- [32] Ma N, Li Y, Xu HP, *et al.* Dual redox responsive assemblies formed from diselenide block copolymers[J]. *J Am Chem Soc*, 2010, **132**(2):442–443.
- [33] Zeng XL, Zhou XY, Li MY, *et al.* Redox poly(ethylene glycol)-b-poly(L-lactide) micelles containing diselenide bonds for effective drug delivery[J]. *J Mater Sci Mater Med*, 2015, **26**(9):234.
- [34] Baldwin AD, Kiick KL. Reversible maleimide-thiol adducts yield glutathione-sensitive poly(ethylene glycol)-heparin hydrogels[J]. *Polym Chem*, 2013, **4**(1):133–143.
- [35] Li J, Huo M, Wang J, *et al.* Redox-sensitive micelles self-assembled from amphiphilic hyaluronic acid-deoxycholic acid conjugates for targeted intracellular delivery of paclitaxel[J]. *Biomaterials*, 2012, **33**(7):2310–2320.
- [36] Wang Z, Liu H, Shu X, *et al.* A reduction-degradable polymer prodrug for cisplatin delivery: preparation, *in vitro* and *in vivo* evaluation[J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2015, **136**:160–167.
- [37] Lin D, Jiang Q, Cheng Q, *et al.* Polycation-detachable nanoparticles self-assembled from mPEG-PCL-g-SS-PDMAEMA for *in vitro* and *in vivo* siRNA delivery[J]. *Acta Biomater*, 2013, **9**(8):7746–7757.
- [38] Zhang A, Zhang Z, Shi F, *et al.* Redox-sensitive shell-crosslinked polypeptide-block-polysaccharide micelles for efficient intracellular anticancer drug delivery[J]. *Macromol Biosci*, 2013, **13**(9):1249–1258.
- [39] Huang Y, Sun R, Luo QJ, *et al.* *In situ* fabrication of paclitaxel-loaded core-crosslinked micelles via thiol-ene “click” chemistry for reduction-responsive drug release[J]. *J Polym Sci Part A: Polym Chem*, 2016, **54**(1):99–107.
- [40] Chen W, Zheng M, Meng FH, *et al.* *In situ* forming reduction-sensitive degradable nanogels for facile loading and triggered intracellular release of proteins[J]. *Biomacromolecules*, 2013, **14**(4):1214–1222.
- [41] Ohshima H, Tatemichi M, Sawa T. Chemical basis of inflammation-induced carcinogenesis[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2003, **417**(1):3–11.
- [42] Gupta SC, Hevia D, Patchva S, *et al.* Upsides and downsides of reactive oxygen species for cancer: the roles of reactive oxygen species in tumorigenesis, prevention, and therapy[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2012, **16**(11):1295–1322.
- [43] Lee SH, Gupta MK, Bang JB, *et al.* Current progress in reactive oxygen species (ROS)-responsive materials for biomedical applications[J]. *Adv Healthc Mater*, 2013, **2**(6):908–915.
- [44] Gupta MK, Meyer TA, Nelson CE, *et al.* Poly(PS-b-DMA) micelles for reactive oxygen species triggered drug release[J]. *J Control Release*, 2012, **162**(3):591–598.
- [45] Cheng X, Jin Y, Sun T, *et al.* An injectable, dual pH and oxidation-responsive supramolecular hydrogel for controlled dual drug delivery[J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2016, **141**:44–52.
- [46] Song CC, Ji R, Du FS, *et al.* Oxidation-responsive poly(amino ester)s containing arylboronic ester and self-immolative motif: synthesis and degradation study[J]. *Macromolecules*, 2013, **46**(21):8416–8425.
- [47] He X, Zhao Y, He D, *et al.* ATP-responsive controlled release system using aptamer-functionalized mesoporous silica nanoparticles[J]. *Langmuir*, 2012, **28**(35):12909–12915.
- [48] Mo R, Jiang T, Sun W, *et al.* ATP-responsive DNA-graphene hybrid nanoaggregates for anticancer drug delivery[J]. *Biomaterials*, 2015, **50**(1):67–74.