聚合物纳米药物用于治疗脑胶质瘤的最新研究进展

孙雅静, 王一斌, 刘艳杰, 邹艳*, 郑蒙, 师冰洋*

河南大学生命科学学院, 河南大学-麦考瑞生物医学联合创新中心, 开封 475004

* 联系人, E-mail: bs@henu.edu.cn; yzou@henu.edu.cn

收稿日期: 2019-11-12; 接受日期: 2019-12-06; 网络版发表日期: 2020-05-12

摘要 脑胶质瘤是颅内最常见的原发性恶性肿瘤, 死亡率极高. 目前针对脑胶质瘤的治疗手段预后差, 难以实现良好的治疗效果. 基于高分子聚合物的纳米药物以其良好的生物相容性、便于设计合成、易于靶向修饰以及较高的血脑屏障穿透效率等特性为脑胶质瘤的治疗开辟了新思路. 基于高分子聚合物的纳米载体通过包载或键合等方式与小分子抗癌药物、核酸(DNA, siRNA)、蛋白质等治疗类物质结合提高抗肿瘤效果. 本文综述了近年来对脑胶质瘤采用的化学治疗、基因治疗、免疫治疗、协同治疗等多种治疗方式及刺激响应性聚合物纳米载体的研究进展, 并对其未来发展进行了展望.

关键词 聚合物, 纳米药物, 脑胶质瘤, 治疗方式

脑胶质瘤作为威胁人类健康的癌症之一, 是中枢神经系统最常见和最具有侵袭性的原发性恶性肿瘤, 并且其发病率呈逐年上升的趋势^[1]. 胶质瘤患者的中位生存期一般小于一年, 即使在最有利的条件下治疗, 患者的术后生存期仅为2年^[2,3]. 目前, 手术切除、放射治疗和化学治疗是脑胶质瘤的主要治疗手段. 虽然手术切除与放化疗在一定程度上改善了中位生存期, 但脑胶质瘤患者的预后仍然很差(中位生存期最高为14个月)^[4,5]. 其预后如此差主要归因于: (i) 胶质瘤呈侵袭性生长, 通常正常组织与肿瘤组织没有明显的界限, 无法完全切除病灶组织; (ii) 放、化疗往往只能杀死一定比例的肿瘤细胞, 并且对正常组织带来严重的副作用, 造成患者免疫力下降^[6]; (iii) 血脑屏障(blood

brain barrier, BBB)和血管脑肿瘤屏障(blood brain tumor barrier, BBTB)将绝大多数抗癌药物阻滞在外, 致使肿瘤部位药物浓度过低以致无法杀死肿瘤细胞^[7,8]; (iv) 由于肿瘤干细胞和耐药性问题的存在, 胶质瘤极易复发^[9]. 因此, 克服目前肿瘤治疗的局限性, 设计和制备安全高效的治疗方式刻不容缓.

近年来, 纳米药物的飞速发展作为脑胶质瘤的治疗带来了新的希望. 纳米药物以纳米尺寸的分子作为载体, 以包裹或键合等方式与抗癌药物结合. 与游离的小分子抗肿瘤药物相比, 纳米药物具有表面积大、药代动力学稳定性增强及毒副作用显著降低等特点, 在提高抗癌药物的生物利用率、穿透BBB、控制释放和降低耐药性等许多方面均有不可替代的优越性, 具有

引用格式: 孙雅静, 王一斌, 刘艳杰, 等. 聚合物纳米药物用于治疗脑胶质瘤的最新研究进展. 中国科学: 生命科学, 2021, 51: 819–835
Sun Y J, Wang Y B, Liu Y J, et al. Recent advances in polymeric nanomedicines for glioblastoma therapy (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2021, 51: 819–835, doi: 10.1360/SSV-2019-0212

十分广阔的研究和开发前景^[10-12]。

基于高分子聚合物的纳米载体具有极大的优势,如便利的设计与合成、适当的粒径和粒形、良好的生物相容性、较高的载药效率、可生物降解性等,因此,其引起了研究者的广泛关注。常见的聚合物纳米载体根据结构的不同可分为胶束、囊泡、纳米凝胶等。为了提高聚合物纳米药物的药物释放,一系列基于pH敏感、还原敏感、酶敏感、光敏感、超声敏感等内在或外界刺激响应的聚合物纳米载体被开发并用于治疗包括胶质瘤在内的多种癌症,从而有效实现抗癌药物的控制释放^[13-15]。相比于其他部位的肿瘤,脑胶质瘤的治疗由于BBB和BBTB的存在更为棘手。BBB是一道维持脑内环境稳定和阻挡有害物质入侵的天然屏障,由毛细血管内皮细胞通过紧密连接形成,能够限制100%的大分子药物和98%的小分子药物进入脑内^[16-18]。随着脑胶质瘤的发展,BBB的完整性受到一定程度的破坏而形成BBTB。BBTB存在于脑胶质瘤细胞和毛细血管之间,阻碍了纳米载体进入肿瘤的有效运输^[19]。因此,大多数用于治疗脑胶质瘤的药物都不能穿透BBB与BBTB进入脑内,从而难以治愈脑胶质瘤患者。目前,研究者大多通过在纳米载体表面修饰抗体、多肽、核酸适配体等分子以实现主动靶向并穿透BBB和BBTB的目的,从而达到更好的脑胶质瘤治疗效果。

如图1所示,本文从聚合物纳米载体的角度出发,简要叙述了目前对脑胶质瘤采用的化学治疗、基因治

疗、免疫治疗和协同治疗等多种治疗方式的研究进展,并对目前广泛采用的化学治疗进行了较为详细的评述。

1 化学治疗

近年来,化学治疗显著提高了脑胶质瘤患者的生存率,在脑胶质瘤的综合治疗中占有极其重要的地位。化学治疗始于20世纪40年代末~50年代初,随着新型抗癌药物的出现而不断进步。化学治疗一般用于手术切除后或与放疗同时进行。长期以来,由于化学药物体内易代谢、难以穿透BBB与BBTB、严重的毒副作用以及耐药机制等问题的存在,该治疗方式对脑胶质瘤的治疗效果不尽人意。近些年,纳米技术的出现及不断发展为化学治疗提供了新的机遇。基于高分子纳米药物的化学治疗出现最早,并且仍然是当前研究最热的治疗方式之一。将治疗脑胶质瘤的化学药物以包裹或键合等方式与聚合物纳米载体结合,形成的纳米药物通过血液循环到达胶质瘤部位,有效穿透BBB和BBTB并进行响应释放,从而杀死肿瘤细胞来抑制胶质瘤生长并最终延长患者的生存周期。现阶段,不计其数的化疗药物用于与纳米技术联合治疗脑胶质瘤,例如,目前纳米载体包裹的常见化疗药物包括替莫唑胺、阿霉素、顺铂等。研究表明,与自由药物相比,包裹后的纳米药物在体内外均有明显提升的治疗效果(表1)。

图1 聚合物纳米药物用于脑胶质瘤的治疗。A: 聚合物纳米载体的分类; B: 聚合物纳米药物通过不同的疗法,如化学治疗、基因治疗、免疫治疗用于脑胶质瘤治疗的示意图(网络版彩图)

Figure 1 Polymeric nanomedicines for the treatment of glioblastoma (GBM). A: Classification of polymeric nanocarriers; B: schematic illustration of polymeric nanomedicines treating glioblastoma via various therapy methods such as chemotherapy, gene therapy, and immunotherapy (Color online)

表 1 聚合物纳米载体用于人脑胶质瘤的化学治疗

Table 1 Summary of polymeric nanoparticles applied for glioblastoma chemotherapy

药物	聚合物载体	靶向配体	粒径(nm)	细胞/动物模型	抗肿瘤效果	参考文献
替莫唑胺 temozolomide (TMZ, 疏水)	甲基丙烯酸酯聚合物 polyMPC	—	7 24~38	U87MG T98G(体外)	半衰期约为游离TMZ的 2~19倍, 提高抗肿瘤效率	[20]
	聚乳酸-羟基乙酸 PLGA	OX26型转铁蛋白 受体单克隆抗体	194±1	U251 U87MG(体外)	IC ₅₀ 减小至游离TMZ的1/ 4((15±2) μmol/L), 有效抑 制肿瘤细胞生长	[21]
TMZ 6-苄基鸟嘌呤 O ⁶ -benzylguanine(亲水)	PLGA	—	<200	—	TMZ包封率提高(56.7%) 并降低其耐药性	[22]
阿霉素 doxorubicin (Dox, 疏水)	PLGA	白蛋白	135±11	U87MG(体外)	细胞内吞比游离Dox提 高4.9倍, 凋亡基因的表 达量增高至原来的(5.4 ±0.8)倍, 有效杀死肿瘤 细胞	[23]
	PLGA	聚羟亚烃188	120±1	U87MG(体外)	受体介导高效穿透BBB, 抑制肿瘤细胞的增殖	[24]
Dox lexiscan (Lex, 疏水)	缩醛葡聚糖 Ac-DEX	angiopep-2	约200	U87MG原位荷瘤 裸鼠(体内外)	延长血液循环时间, 提高 BBB穿透性, 显著延长中 位生存期(38天)	[25]
甲氨蝶呤 methotrexate (MTX, 疏水)	PLGA	—	150~200	U87MG(体外)	细胞毒性增强(35.2%), 显著降低对MTX的IC ₅₀ 值(0.7 μg/mL)	[26]
	PLGA	聚羟亚烃188 聚乙醇醇	170~330	—	尺寸和理化性质更合适, 进一步提高抗肿瘤活性	[27]
	PLGA	转铁蛋白 叶酸	109±2	C6原位荷瘤大鼠 (体内外)	高效穿透BBB, 肿瘤体积 为非靶向修饰组的1/3	[28]
紫杉醇 paclitaxel (PTX, 疏水)	甲氧基聚乙二醇-聚己 内酯-己内酰胺 MPEG	—	73±2	C6原位荷瘤裸鼠 (体内外)	改善PTX水溶性差的问 题, 延长生存中值(26天)	[29]
	聚乙二醇化聚(L-γ-谷 氨酰谷氨酰胺) PEG-PGG	肿瘤穿透肽 RGERPPR	90	U87MG原位荷瘤 裸鼠(体内外)	肿瘤部位大量积累, 较强 的细胞杀伤作用, 显著延 长中位生存期(47天)	[30]
PTX TMZ	纳米水凝胶 (基于聚乙二醇)	—	190±4	U87MG肿瘤切除 裸鼠(体内外)	耐受良好, 有效抑制肿瘤 复发, 实现长期存活	[31]
顺铂 cisplatin (CDDP, 疏水)	聚氧基丙烯酸丁酯 PBCA	—	451±11	A172 (体外)	显著减小对CDDP的IC ₅₀ 值((25.4±3.1) μmol/L), 有 效诱导肿瘤细胞的凋亡	[32]
	聚乳酸- <i>b</i> -聚乙二醇 PLGA- <i>b</i> -PEG	终端三苯基膦	未提及	J2TBG和SDT3G胶 质瘤荷瘤小鼠	肿瘤铂积累量较高, 有效 降低线粒体活性, 且对正 常组织无毒副作用	[33]

1.1 抗肿瘤烷化剂——替莫唑胺

替莫唑胺(temozolomide, TMZ)是治疗脑胶质瘤的一线化疗药物。TMZ作为一种DNA烷基化剂, 可使DNA的鸟嘌呤和腺嘌呤碱基甲基化, 导致DNA双链断裂, 细胞周期阻滞, 最终诱导细胞凋亡。

Emrick课题组^[20]采用可逆加成-断裂链转移聚合(reversible addition-fragmentation chain-transfer, RAFT)

的方式将含有TMZ的甲基丙烯酸酯单体合成一系列分子量不同的聚合物-药物偶联物。结果表明, 该偶联纳米药物具有良好的纳米结构(粒径7 nm或24~38 nm)和较高的TMZ载药量, 并且稳定性强, 在水溶液中的半衰期是游离TMZ的2~19倍。随后分别在TMZ敏感U87MG与TMZ耐药T98G两种胶质瘤细胞中, 证明了该纳米药物与自由TMZ相比, 具有更好的内吞效果及

更高的抗肿瘤效率。

Pereira课题组^[21]报道了受体介导的包载TMZ的聚乳酸-乙醇酸纳米粒子用于多形性脑胶质瘤的治疗。OX26型转铁蛋白受体单克隆抗体修饰的纳米载体,可以主动靶向胶质瘤细胞,使TMZ在肿瘤部位积累足够的量。他们利用U251和U87MG两种脑胶质瘤细胞系对药物的体外BBB穿透和细胞毒性进行了评估,结果表明,与自由TMZ相比,该纳米药物能够较好地穿透BBB,并且在U251细胞系中,IC₅₀(半抑制浓度,本文是指凋亡细胞与全部细胞数比值为50%时所对应的药物浓度)值显著减小((15±2) μmol/L),细胞毒性更强,有效抑制了肿瘤细胞的生长。

然而, TMZ在脑胶质瘤的治疗中效果并不理想,这归因于高水平表达O⁶-甲基鸟嘌呤-DNA甲基化转移酶(O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase, MGMT)的存在, MGMT可以修复TMZ甲基化的DNA,使脑胶质瘤细胞对TMZ产生耐药性^[34,35]。Pereira课题组^[22]采用优化聚乳酸-羟基乙酸(poly(D,L-lactic-co-glycolic), PLGA)纳米载体共递送TMZ和O⁶-苄基鸟嘌呤(O⁶-benzylguanine)用于脑胶质瘤的治疗。通过分数因子设计得到最优化的PLGA纳米制剂,该载体可以同时递送TMZ和O⁶-苄基鸟嘌呤至脑胶质瘤部位。细胞实验结果表明, O⁶-苄基鸟嘌呤为强效的MGMT抑制剂,能够降低MGMT的稳定性及对DNA的亲合力,增加其对蛋白酶的敏感性,有效改善脑胶质瘤细胞对TMZ的敏感性。该多功能纳米系统能有效缓解MGMT高表达引发的TMZ耐药性难题,为脑胶质瘤的治疗带来了曙光。

1.2 抗肿瘤抗生素——阿霉素

阿霉素(doxorubicin, Dox或adriamycin, ADR), 蒽环类抗肿瘤抗生素, 是一种广谱类抗癌药物。Dox具有极强的细胞毒性, 主要通过其结构中的蒽醌嵌入DNA分子中, 引起DNA裂解, 从而抑制核糖核酸的合成, 达到杀死肿瘤细胞的目的^[36,37]。研究表明, Dox被包裹进入纳米载体后, 能有效改变其体内药代动力学, 延长循环时间, 增加血药浓度, 减小肿瘤细胞的耐药性, 从而提高抗肿瘤效果。

Tekade课题组^[23]报道了采用树枝状阳离子聚合物与白蛋白杂合得到的纳米粒子, 其能有效提高BBB的穿透性和Dox的抗肿瘤活性。细胞实验结果证明, 经该纳米药物处理后的细胞毒性(66%)明显高于自由Dox,

且BBB穿透能力高约十倍。在360 min内细胞摄取率为73.6%, 相比非改性纳米粒子提高了1.6倍, 比游离Dox提高了4.9倍。细胞凋亡基因的表达量增高至原来的(5.4±0.8)倍, 能有效杀死肿瘤细胞。

Gelperina课题组^[24]通过聚羟亚烃188包裹负载Dox的PLGA纳米粒子, 以增强其BBB穿透性。大量研究表明, 聚羟亚烃188涂层能够锚定血液载脂蛋白(ApoE, ApoA-I等), 这些载脂蛋白随后与脑毛细血管内皮细胞表面的相关受体相互作用, 从而引发纳米颗粒的BBB高效转运。研究结果表明, 负载Dox的PLGA纳米药物通过网格蛋白介导的内吞作用, 有效被人脑胶质瘤U87MG细胞摄取, 在溶酶体内微酸环境下降解并释放Dox, 最终有效降低肿瘤细胞的存活率。

为了进一步解决BBB穿透的难题, 本课题组^[25]近期构建了一种同时包载Dox和lexiscan(Lex)的仿生靶向纳米药物(Ang-RBCm@NM-(Dox/Lex))。红细胞膜包裹可改善纳米药物的生物相容性, 其表面修饰的Angiopep-2通过与BBB内皮细胞和脑胶质瘤细胞表面过表达的低密度脂蛋白受体(low density lipoprotein receptor-1, LPR-1)特异识别而有效穿透BBB和靶向肿瘤部位。同时, Lex能短暂打开BBB, 进一步提高Ang-RBCm@NM-(Dox/Lex)的BBB穿透能力。该仿生纳米药物内核由缩醛链接枝的葡聚糖组成, 能在内涵体的酸性环境下水解, 快速释放负载的Lex和Dox。Lex短暂地打开BBB, 进一步促进该纳米颗粒的脑穿透, 从而形成一个递增循环, 更好地穿透BBB并在肿瘤部位积聚, 最终有效杀死肿瘤细胞。体内实验结果表明, 该纳米药物具有明显延长血液循环时间、提高BBB穿透性、改善肿瘤积累和滞留能力等优点。更重要的是, Ang-RBCm@NM-(Dox/Lex)能有效抑制U87MG原位荷瘤裸鼠肿瘤增长, 存活时间显著延长(中位生存期为38天)且无毒副作用(图2)。

1.3 抗肿瘤抗代谢药物——甲氨蝶呤

甲氨蝶呤(methotrexate, MTX)为抗叶酸类抗肿瘤药物, 主要通过抑制二氢叶酸还原酶的活性而阻碍DNA的合成, 进而影响代谢过程, 抑制肿瘤细胞的生长和增殖。

Khosravani课题组^[26]制备了负载MTX的PLGA纳米系统, 粒径为150~200 nm, 可以实现MTX的缓慢持续释放。体外实验结果表明, 与自由MTX相比, 该纳米

图 2 通过一种多功能仿生纳米药物有效和有针对性地治疗人原位脑胶质瘤。A: Ang-RBCm@NM-(Dox/Lex)的合成过程示意图; B: Ang-RBCm@NM-(Dox/Lex)治疗U87MG原位脑胶质瘤裸鼠肿瘤的生物荧光示意图; 治疗期间裸鼠的(C)体重变化及(D)生存时间^[25](网络版彩图)

Figure 2 Effective and targeted human orthotopic GBM xenograft therapy via a multifunctional biomimetic nanomedicine. A: Schematic illustration of formation of Ang-RBCm@NM-(Dox/Lex); B: the biofluorescence changes of U87MG orthotopic human glioblastoma tumor bearing nude mice following treatment with Ang-RBCm@NM-(Dox/Lex); (C) body weight change and, (D) survival rate during treatment^[25] (Color online)

药物不仅对U87MG具有更高的细胞毒性, 且还能降低U87MG细胞的 IC_{50} 值($0.7 \mu\text{g/mL}$)。随后, 该课题组分别用聚羟亚烃188与聚乙烯醇(poly vinyl alcohol, PVA)两种表面活性剂^[27], 修饰该纳米粒子, 使其具有更合适的尺寸和理化性质, 从而进一步提高其抗肿瘤活性。由于MTX的BBB穿透能力较差, 限制了它在脑胶质瘤的治疗中的应用。Sharma课题组^[28]报道了转铁蛋白和叶酸共同修饰负载MTX的聚合物纳米载体, 以克服难以跨越BBB这一难题。修饰后的纳米粒子通过受体介导的内吞作用能有效靶向并胞吞进入脑肿瘤细胞, 转铁蛋白分子作为一个归巢信号, 使得MTX在靶区域分布并积累足够的剂量。同时还采用吐温80表面活性剂修饰该纳米粒子, 增强其稳定性。在C6原位脑胶质瘤大鼠模型中, 该纳米药物能够高效穿透BBB(约87%), 对C6胶质瘤细胞具有较强的抑制和凋亡作用。经尾静

脉注射该功能化纳米药物后, 肿瘤体积显著减小73.6%, 最终非靶向组肿瘤体积约是靶向组的3.5倍。此外, 吐温80的包裹使该纳米药物在体内的循环时间显著延长, 是一种有效的胶质瘤预后治疗方式。

1.4 植物类抗肿瘤药物——紫杉醇

紫杉醇(paclitaxel, PTX)是双萜类化合物, 通过稳定微管蛋白抑制微管的分解, 使细胞分裂阻断在G2期和M期, 导致肿瘤细胞无法分裂而凋亡。然而, PTX的极疏水、难以通过BBB等特性, 在一定程度上限制了其在脑胶质瘤临床化疗中的应用^[38]。因此, 改善PTX的溶解性并使其靶向作用对其用于脑胶质瘤的化疗研究意义重大。

Fang课题组^[29]构建了聚乙二醇化聚己内酯(poly-ethyleneglycol-polycaprolactone, PEG-PCL)负载PTX的

纳米药物,并探索了其抗脑胶质瘤效果.制备得到的纳米粒子结构稳定,在4℃条件下存放21天粒径无明显变化.该纳米药物不仅有效改善了PTX的溶解性,而且具有更强的细胞毒性,IC₅₀值显著减小((1.4±0.2) μg/mL).相应地,相比于注射自由PTX的脑胶质瘤荷瘤小鼠,使用该纳米颗粒治疗的小鼠存活时间延长了9天.该纳米药物成功地解决了PTX水溶性差的问题,从而提高了其肿瘤治疗效果.

近年来,大量研究表明,靶向配体修饰的纳米粒子能够显著提高纳米药物的肿瘤靶向能力.Yu课题组^[30]提出利用肿瘤穿透肽共轭修饰负载PTX的聚合物纳米颗粒,使其具有主动靶向肿瘤部位的能力.体外与体内实验结果证明,修饰后的纳米粒子被内皮细胞以及U87MG细胞的摄取明显增加.与之相对应地,PTX在肿瘤部位的积累量显著增加,产生更强的细胞杀伤力,显著延长了荷瘤小鼠的中位生存期(47天).

脑胶质瘤具有高度浸润性,术后极易复发,这也成为治疗脑胶质瘤的重大难题.Préat课题组^[31]通过可光解的纳米水凝胶(PEG-DMA/PLGA)同时负载PTX和TMZ用于预防手术切除后脑胶质瘤的复发.PEG-DMA/PLGA可以在光照条件下水解,释放出PTX和TMZ,实现肿瘤部位药物快速释放.高剂量的TMZ对正常骨髓有一定抑制作用,而PTX与TMZ具有不同的作用机制,不重叠的毒性以及不同的耐药机制.众所周知,不同作用机制的化疗药物联合使用有助于提高抗肿瘤效果,达到协同治疗的目的.体外实验结果证明,PTX与TMZ具有增效/协同作用.在U87MG脑胶质瘤切除小鼠模型中,该纳米系统对小鼠脑部耐受良好,能有效抑制肿瘤复发,并实现小鼠长期存活.

1.5 其他类药物

除上述的几种常见抗癌化学药物外,用于脑胶质瘤的化疗药物还包括生物反应调节剂、细胞分化诱导剂、顺铂类配合物以及近几年兴起的新型靶向抗肿瘤药物等,其中顺铂类配合物是目前应用最为广泛的抗肿瘤药物.以顺铂(cisplatin, CDDP)为例, CDDP是首个具有抗肿瘤作用的重金属络合物,为有效的化疗药物之一.其作用机制主要是:解离后形成的CDDP水合阳离子,与DNA共价结合形成加合物,从而阻止DNA的复制和RNA及蛋白质的合成(高浓度)^[39].在治疗脑

胶质瘤的应用中, CDDP受到严重的全身毒性和BBB穿透效率低下等限制^[40,41].研究者们采取了多种策略解决上述难题,目前最有效和最有前景的策略是通过纳米系统定向递送CDDP至脑胶质瘤部位.

Khiyavi课题组^[32]报道了负载CDDP的聚氰基丙烯酸丁酯纳米药物(PBCA-CDDP)用于治疗脑胶质瘤.有证据表明, PBCA是首个用于将药物输送到中枢神经系统的聚合物纳米载体,相比于其他聚合物纳米载体, PBCA具有体积小、体外稳定性好、穿透BBB能力强等优点.该纳米颗粒进入A172胶质瘤细胞后,能够快速释放CDDP,进而引发肿瘤细胞凋亡.细胞实验结果表明,该纳米药物显著减小脑胶质瘤细胞对CDDP的IC₅₀值((25.4±3.1) μmol/L),相对于游离CDDP,该纳米体系能有效诱导肿瘤细胞的凋亡,产生较好的胶质瘤治疗效果.

Dhar课题组^[33]采用末端三苯基膦(triphenylphosphine, TPP)功能化高分子亲脂性聚乳酸-*b*-聚乙二醇(PLGA-*b*-PEG)纳米载体负载经修饰的CDDP前药形成线粒体靶向纳米粒,并证明该纳米颗粒能够穿透BBB到达线粒体部位,随后CDDP前药被还原为CDDP,与线粒体DNA交联,阻断线粒体DNA核苷酸切除修复系统,从而迫使过活跃的肿瘤细胞凋亡.静脉注射该纳米药物至健康成年小猎犬模型,14天的器官分布分析表明,纳米药物组在大脑中具有更高水平的铂积累,而在其他正常器官中几乎没有.并且根据定期神经学检查和脑脊液分析,均未观察到神经毒性.

2 基因治疗

基因治疗是目前最具有前瞻性的治疗手段之一,通过纳米载体将治疗核酸(DNA, message RNA (mRNA), small interfering RNA (siRNA), microRNA等)导入目标组织或细胞的染色体中,调控或替代异常基因,弥补肿瘤细胞的缺陷,最终达到杀死肿瘤细胞的目的^[42,43].在过去的几十年里,超过2000个利用基因治疗的临床实验通过调节癌变基因的表达或纠正突变基因获得批准,证明了基因治疗的特异性和高效性^[43].基因治疗主要包括三种方式:基因的直接表达(DNA或mRNA)、利用RNA干扰技术进行基因敲除(siRNA或microRNA)以及CRISPR/Cas9(clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR)/associated

protein 9)基因编辑技术。

基因的直接表达是指将肿瘤细胞内突变或缺失基因的DNA或mRNA转入,直接表达合成相应的蛋白质,抑制肿瘤的生长。Han课题组^[44]报道了组氨酸和精氨酸功能化的聚氨基酸树突状大分子递送凋亡素DNA分子,在体外诱导GBL-14和U373-MG原发性脑胶质瘤细胞凋亡。聚氨基酸树突状大分子是一种结构灵活的合成阳离子聚合物,其基因表达量高、免疫原性低,被广泛用作非病毒基因和药物载体。组氨酸和精氨酸的修饰使得该聚合物载体具有更强的缓冲能力,进而克服溶酶体难逃离的问题,增强细胞内释放,提高转染凋亡素DNA活性,充分发挥细胞毒性。聚氨基酸树突状大分子中的一级和三级内胺基被质子化,并通过静电相互作用与带负电荷的凋亡素DNA形成纳米复合物。当其进入细胞后,肽键被水解断裂,释放负载的DNA。实验结果证明,功能化的纳米复合物在人类原发性胶质瘤细胞GBL-14凋亡期的积聚量远高于非功能化组。凋亡素能够有效诱导胶质瘤细胞凋亡(36.2%),且对正常成纤维细胞没有毒副作用。

Hanes课题组^[45]采用聚(β -氨基酯)与PEG包覆DNA形成纳米复合物,并用于F98和9L GS两种原位脑肿瘤的治疗。高度聚乙二醇化的聚合物可以产生紧密的和胶体稳态的DNA纳米颗粒,有效避免其黏附并滞留于内皮细胞上,从而在肿瘤组织快速渗透,这对给药后在体内实现原位脑肿瘤中转基因表达至关重要。实验结果证明,在两种侵袭性原位脑胶质瘤模型中,与未包覆纳米粒子中装载相同量DNA相比,该纳米药物能显著延长大鼠的中位生存期(39天)。

mRNA是一种天然的生物分子,介导从DNA编码的基因到位于细胞各处的蛋白质的翻译。与DNA不同,mRNA只需要到达细胞质即可诱导蛋白表达,而且不存在插入突变的明显风险^[46]。有关mRNA的研究已有半个多世纪的历史,但由于其可感知的不稳定性、易降解性、翻译性不足以及免疫刺激作用,导致mRNA在肿瘤治疗中的应用受到了限制。近年来,随着对mRNA的结构与其稳定性的关系有了更深的理解,以及各种化学修饰方法的发展,人们对mRNA的癌症治疗潜力越来越感兴趣^[47]。有报道称,由阳离子聚合物制备的纳米粒子可有效传递核酸^[48]。然而,相对于已开发的DNA递送技术,mRNA递送策略仍然需要更多

的改进和测试。

RNA干扰(RNA interference, RNAi)是通过小干扰RNA(siRNA)实现目标mRNA特异性表达沉默的现象^[49]。Zhou课题组^[50]报道了采用磁体和转铁蛋白共同修饰的主动靶向性聚乙二醇-聚(L-赖氨酸)(polyethylene glycol-poly(L-lysine), PEG-PLL)纳米载体负载抗Polo样蛋白激酶(polo-like kinase 1, PLK1)siRNA,利用RNAi技术治疗U87MG原发性脑胶质瘤。磁体的修饰能够使该纳米颗粒富集到脑胶质瘤部位,转铁蛋白通过与脑毛细血管内皮细胞表面高表达的转铁蛋白受体结合实现高效穿透BBB。PLK1,高表达于包括脑胶质瘤细胞在内的多种肿瘤细胞,与脑胶质瘤预后差、易复发密切相关。该纳米粒子的粒径约为60 nm,能够将siPLK1高效递送至脑胶质瘤细胞。该纳米药物能有效穿透BBB并诱导基因沉默,进而杀死肿瘤细胞。在U87MG原位脑胶质瘤小鼠模型中,经该纳米载体递送siPLK1治疗的小鼠肿瘤体积显著变小,且具有最长的生存时间(>90天)。

迄今为止,在脑胶质瘤的基因治疗策略中,研究最多的siRNA递送系统包括阳离子聚合物、阳离子脂质体、阳离子无机纳米颗粒。这些阳离子材料能够通过电荷相互作用与带负电荷的siRNA结合成纳米颗粒,并保护siRNA在体内不被RNA核糖核酸酶降解。然而,由于这些阳离子载体表面带有较高的正电荷,通常会破坏细胞膜的稳定性,并对正常组织产生严重的细胞毒性。为了解决这一难题,本课题组^[51]通过还原敏感的二硫键将Zn(II)-二吡啶胺偶联到透明质酸聚合物上形成配位聚合物,从而开发了一种安全的siRNA递送系统,Zn(II)-二吡啶胺选择性地与siRNA离子磷酸根的配位络合,形成稳定的siRNA纳米药物。该功能化纳米载体与传统的阳离子载体相比,具有较低的正电荷,对正常细胞/组织的毒性较弱。该纳米药物被U87MG脑胶质瘤细胞摄取后,在细胞内过量表达的谷胱甘肽(glutathione, GSH)下触发释放siRNA,从而产生RNA干扰效应。实验结果表明,该聚合物纳米载体具有较好的生物相容性,适用于siRNA的递送。目标纳米粒子的内化能力最高,约是游离siRNA内吞能力的40倍。在U87MG-luc脑胶质瘤异位小鼠模型中,该纳米药物基因沉默效果最好,血液循环时间最长(消除半衰期34.7 min),脑部积累量比自由荧光染料高5倍。此外,该纳米药物有效抑制了肿瘤体积的增长,抗肿瘤效果

良好。

除此之外, 血液中大量带电荷生物大分子的存在, 会干扰阳离子聚合物与siRNA之间的结合, 使仅依赖于静电相互作用维持稳定的siRNA纳米药物在体内处于濒临分解的状态, 从而缩短血液循环时间, 阻碍RNA干扰治疗效果。鉴于此, 本课题组^[52]近期构建了一种由静电、氢键和疏水作用三重相互作用稳定的聚合siRNA纳米药物(3I-NM@siRNA)。与仅依赖静电相互作用的siRNA纳米制剂相比, 加入额外的氢键和疏水相互作用显著提高了生理稳定性(图3)。同时, 3I-NM@siRNA显示出由肿瘤活性氧引发其序列不稳定, 导致负载siRNA的快速释放。此外, 经angiopep-2修饰获得主动靶向性的Ang-3I-NM@siRNA, 表现出较高的BBB穿透效率和肿瘤聚集与积累。该脑靶向纳米载体

共载siPLK1和抗血管内皮生长因子受体-2 siRNA, 可以同时下调靶基因的表达, 有效地延缓胶质瘤的生长。Ang-3I-NM@siRNA的BBB穿透与肿瘤积聚分别为非靶向组和游离siRNA的2.3和6倍。Ang-3I-NM@siRNA联合靶向RNA干扰, 能够有效抑制肿瘤生长, 显著延长了U87MG原位脑胶质瘤荷瘤裸鼠的生存时间(中位生存期为36天)。

CRISPR/Cas9技术是近些年发展起来的最有前途的基因组编辑技术之一。该技术使用一种经过特定设计的单链向导RNA(single-guide RNA, sgRNA)将Cas9核酸酶导向至其互补区域, Cas9在该区域裂解靶DNA并发生双链断裂, 导致特定目的基因组位点的插入或缺失。与RNAi技术不同, 该技术诱导的基因组敲除是永久地消除靶基因的DNA水平。近年来, 灵活高效的

图3 三重作用力稳定的ROS响应性聚合siRNA纳米药物用于恶性胶质母细胞瘤的联合RNAi治疗。A: Ang-3I-NM@siRNA的形成示意图, 由静电、氢键和疏水相互作用三种“三相作用”力稳定; B: 肿瘤的主动摄取和联合RNAi治疗; C: ROS触发siRNA释放的机制^[52](网络版彩图)

Figure 3 ROS-responsive polymeric siRNA nanomedicine stabilized by triple interactions for the robust GBM combinational RNAi therapy. A: Schematic illustration of formation of Ang-3I-NM@siRNA stabilized by the three “triple-interaction” forces, namely, electrostatic, hydrogen bond, and hydrophobic interactions; B: active tumor uptake and combinational RNAi therapy; C: mechanisms of ROS triggered siRNA release^[52] (Color online)

CRISPR/Cas9基因编辑技术已被探索用于转录调控和基因组编辑等生物调节过程, 具有巨大的脑胶质瘤基因治疗潜力. Zhou课题组^[53]报道了通过水凝胶纳米颗粒靶向递送微环DNA、Cas9蛋白和sgRNA, 利用CRISPR/Cas9基因编辑技术治疗脑胶质瘤. 该纳米药物粒径为95 nm, 细胞穿透肽iRGD的修饰使其具有更高的细胞摄取率及较高的基因转染效率. 体外实验结果表明, iRGD修饰的纳米颗粒可以被U87MG细胞和GS5脑肿瘤干细胞高效率内吞, 效率高达100%. 以PLK1为基因模型, 与该纳米粒子共孵育的肿瘤细胞, PLK1的表达量显著下调, 有效抑制了U87MG细胞和脑肿瘤干细胞的增殖. 经尾静脉注射进入脑胶质瘤荷瘤小鼠体内, 该纳米药物治疗组小鼠肿瘤体积为PBS组的23.5%, PKL1表达量仅为对照组的36.3%, 并且核质比明显下降.

3 免疫治疗

随着免疫学的快速发展, 免疫治疗为脑胶质瘤的治疗带来了新的希望. 免疫治疗主要是通过增强免疫系统的功能, 进而杀死肿瘤细胞, 达到治疗脑胶质瘤的目的. 免疫治疗策略包括免疫检查点、功能化T细胞、癌症疫苗、自然杀伤细胞以及单克隆抗体或重组蛋白等. 免疫治疗能够引起持久的临床反应, 弥补中枢神经系统的免疫豁免性^[54,55]. 免疫治疗提供了一种不同于化学治疗和基因治疗的方法, 为脑胶质瘤的治疗带来了新的希望.

免疫逃逸机制的存在阻止了足够的特异性细胞毒性T细胞在脑胶质瘤细胞周围聚集, 造成该部位抗肿瘤活性较低或几乎没有. 因此, 招募足够的脑胶质瘤特异性的细胞毒性T细胞至病灶部位, 增强脑胶质瘤细胞的免疫反应具有极其重要的意义. Jiang课题组^[56]报道了Angiopep-2和IP10-EGFRvIIIscFv融合蛋白修饰的PLGA纳米颗粒穿透BBB并在脑组织中积累, 与细胞毒性T细胞相联合, 增强机体免疫反应和抗肿瘤活性. Angiopep-2通过与内皮细胞和脑胶质瘤细胞表面高表达的LPR-1结合, 介导纳米颗粒穿透BBB到达肿瘤部位. IP10-EGFRvIIIscFv融合蛋白具有特异性结合脑胶质瘤细胞表面EGFRvIII抗原的潜力, 进而招募活化的CD8⁺ T淋巴细胞定位于脑胶质瘤细胞. 实验结果表明, 该纳米粒子能够被较好地内吞, 并在脑胶质瘤部

位积累. 经该纳米药物治疗的脑胶质瘤荷瘤小鼠表现出较强的抗肿瘤活性, 肿瘤体积显著减小, 生存时间明显延长(>100天).

大量研究表明, 导致免疫治疗效果不佳的主要原因是严重的免疫抑制微环境, 这是脑胶质瘤的一个显著特征, 与其预后差密切相关. 为了实现抗脑胶质瘤免疫治疗的预期, 破坏免疫抑制微环境变得十分必要. Chen课题组^[57]开发了一种聚甘油功能化的纳米复合物包载Dox, 用于脑胶质瘤的治疗. 有报道称, 聚甘油具有良好的生物相容性、亲水性和较长的等离子半衰期, 可以有效延长纳米复合物的体内循环时间. 该纳米药物通过激活脑胶质瘤细胞的免疫原性, 有效调节脑胶质瘤的免疫抑制微环境. 更重要的是, 该纳米药物增强了树突状细胞的活化, 激活了脑胶质瘤细胞自噬, 进而激活树突状细胞及其抗原的表达, 增强抗脑胶质瘤免疫反应. 该研究为通过纳米技术调节脑胶质瘤的免疫微环境提供了新的视角.

抗原递呈细胞中抗原积累量低是阻碍脑胶质瘤有效免疫治疗的障碍之一. 为了解决这一问题, Zhang课题组^[58]以双重诱导响应的三嵌段共聚物聚碳酸盐-聚(N-(2-(2-吡啶二硫代)甲基丙烯酰胺乙酯(PCB-S-S-PDM-PDA)纳米颗粒为基础, 研制了一种具有高抗原载量的混合“团弹”纳米疫苗. 三嵌段共聚物主链和侧链的双重还原维持了该纳米粒子在生理环境中的稳定性. 在脑胶质瘤细胞内外GSH浓度显著不同的情况下, 二硫键断裂释放负载的人工抗原与佐剂. 实验结果证明, 该纳米疫苗明显提高了抗原递呈细胞的抗原积累量, 有效促进了抗原递呈细胞即树突状细胞的成熟, 进而激活抗原特异性CD8⁺和CD4⁺ T细胞反应, 增强胶质瘤细胞免疫和体液免疫, 从而间接提高脑胶质瘤治疗的疗效.

细胞毒性T淋巴细胞相关抗原-4(cytotoxic T lymphocyte antigen 4, CTLA-4)和程序性死亡分子-1(programmed death 1, PD-1)均为临床常用的免疫检查点, 表达于T细胞表面. 通常情况下, 抑制T细胞的激活或成熟会造成肿瘤细胞的免疫逃逸. 阻断特定免疫检查点, 可以有效增强抗肿瘤免疫反应. Ljubimova课题组^[59]基于聚(β-L-苹果酸)天然生物聚合物支架开发了纳米免疫偶联物, 用于共价结合CTLA-4和PD-1抑制剂穿透BBB, 激活脑胶质瘤荷瘤小鼠脑局部抗肿瘤免疫反应(图4). 实验结果表明, 经该纳米颗粒治疗的原位

图 4 纳米免疫偶联物穿透血脑屏障激活局部脑肿瘤免疫系统治疗脑胶质瘤。A: 纳米药物穿透血脑屏障及a-CTLA-4和a-PD-1抗体协同治疗脑胶质瘤的机制; B: 采用PBS, P/a-CTLA-4/P/a-PD-1治疗组的生存时间; P/a-PD-1和P/a-CTLA-4/P/a-PD-1治疗导致肿瘤部位CD8⁺淋巴细胞显著增多(C), CD4⁺ FoxP3⁺淋巴细胞显著减少(D)^[59]。*: $P > 0.05$; **: $P > 0.01$; ***: $P > 0.001$ (单因素方差分析+图基事后检验)(网络版彩图)

Figure 4 Nano immunoconjugates crossing BBB activate local brain tumor immune system for GBM treatment. A: The proposed mechanism of synergistic treatment with a-CTLA-4 and a-PD-1 mAbs when they cross BBB as part of a nano-immunodrug; B: survival time after treatment with P/a-CTLA-4/P/a-PD-1; treatments with P/a-PD-1 and P/a-CTLA-4/P/a-PD-1 result in a statistically significant increase of CD8⁺ lymphocytes (C), and decrease of the number of CD4⁺FoxP3⁺ lymphocytes in the tumor (D)^[59]. *: $P > 0.05$; **: $P > 0.01$; ***: $P > 0.001$ (oneway ANOVA+Tukey's post-hoc test) (Color online)

GL261脑胶质瘤荷瘤小鼠, 脑肿瘤区CD8⁺ T细胞增多, 调节T细胞减少, 并触发多种细胞因子的释放, 从而对脑胶质瘤细胞产生免疫应答。与游离CTLA-4和PD-1抑制剂以及单载纳米药物治疗的小鼠相比, 该纳米药物较好的治疗效果主要表现在免疫应答强度和中位生存期(46天)上。

4 其他治疗

光热疗法(photothermal therapy, PTT)是指利用光诱导产生高热量杀死肿瘤细胞的治疗方式。近年来, PTT因其对肿瘤的治疗效果好、对正常组织的损伤小而备受关注。Liu课题组^[60]开发了一种双靶向配体修饰的有机聚合物纳米颗粒来识别脑胶质瘤边缘, 并实现高效的光热治疗, 抑制胶质瘤的生长。该纳米颗粒具有较好的光学性能, 较强的肿瘤边缘及内部靶向能力。光热疗法对U87MG细胞体外杀伤效果良好, 体内能够

有效抑制肿瘤的生长, 且对神经元细胞的不良影响可忽略不计。Cai课题组^[61]报道了采用氨基化巨噬细胞膜包裹聚合物纳米载体, 包载近红外荧光染料IR-792形成可用于脑胶质瘤诊断与治疗的纳米药物(图5)。巨噬细胞膜包裹使该纳米颗粒具有较好的生物相容性和较强的BBB穿透能力。近红外成像可以成功诊断原位脑胶质瘤。此外, 该纳米药物加激光治疗能有效诱导U87MG细胞死亡, 抑制原位脑胶质瘤生长, 延长荷瘤小鼠生存时间, 起到较好的抗肿瘤作用。

光动力疗法(photodynamic therapy, PDT)是一种基于光敏剂、光和分子氧三个关键成分的微创局部治疗方式。通过适当的波长诱导光激发光敏剂与周围的氧(或其他)分子发生光动力学反应, 从而产生活性氧^[62]。光敏剂本身具有较低的全身毒性, 只有在光照下才具有药理活性。因此, PDT具有对正常组织损伤小、不良反应少等优势。与化疗不同的是, PDT也可以在同一部位重复进行, 终生不受剂量限制。Molinari课题

图 5 巨噬细胞仿生支架穿透血脑屏障对脑胶质瘤NIR-Ib成像诱导光热治疗. A: 纳米药物MDINPs制备示意图及通过近红外光光热治疗脑胶质瘤; 荷瘤小鼠的肿瘤生物荧光成像(B)和生存周期(C)^[61](网络版彩图)

Figure 5 Scaffolds biomimicking macrophages for a GBM NIR-Ib imaging guided photothermal therapeutic strategy by crossing BBB. A: Schematic illustration of the preparation of nanomedicines MDINPs and PTT anti-glioblastoma effect; tumor bioluminescence (B) and survival time (C) of tumor-bearing mice^[61] (Color online)

组^[63]报道了采用PLGA纳米载体包载疏水性光敏剂, 用于脑胶质瘤的光动力治疗. 该纳米颗粒粒径约为120 nm, 并且在5天内结构稳定. 该纳米药物在非光照条件下对C6脑胶质瘤细胞不具有毒性. 而在激光照射后, 产生较强的细胞毒性, 细胞死亡率高达90%.

声动力治疗(sonodynamic therapy, SDT)是指使用集中超声波, 加热局部组织, 产生辐射力, 使肿瘤患者立刻缓解并尽可能地避免损伤的治疗方式. 与PDT类似, SDT也是通过超声激发产生活性氧来杀伤肿瘤细胞. 此外, SDT具有光动力治疗所不具备的力学效应, 可以克服光激发治疗的深度限制, 在临床应用上优于PDT^[64]. Wei课题组^[65]于2010年首次报道了超声可以有效增强BBB的穿透, 有助于化疗药物更好地治疗脑胶质瘤. 此外, 可通过激活一些超声敏化剂, 如卟啉、5-氨基乙酰丙酸等产生活性氧促使胶质瘤细胞凋亡, 这使得SDT为脑胶质瘤的治疗提供了新策略^[66].

5 协同治疗

化学治疗、基因治疗和免疫治疗等方式在脑胶质瘤的治疗中已经取得较大的进展. 然而, 由于脑胶质瘤

的发病机制、临床症状及患者的身体状况各不相同, 仅用单一的治疗方法并不能达到理想效果, 这就需要合理有机地结合多种治疗手段得到更高的治疗效率. 因此, 协同疗法的出现对脑胶质瘤的临床治疗具有极大的意义.

Lee课题组^[67]报道了通过脱氧胆酸偶联聚乙炔亚胺纳米胶束共载姜黄素和microRNA-21(miR-21)反义寡核苷酸用于脑胶质瘤的治疗(图6). 脑胶质瘤细胞高表达miR-21, 而miR-21会抑制促凋亡基因(如*PTEN*, *PDCD4*等)的表达. 因此, miR-21被反义寡核苷酸敲低, 可诱导促凋亡基因表达, 从而增加脑胶质瘤细胞的死亡. 姜黄素, 一种从姜黄根中提取的活性天然疏水多酚分子, 已被证明对脑胶质瘤具有肿瘤抑制作用^[68~70]. 该纳米复合物结构稳定, 粒径约为132 nm. 体内与体外实验结果证明, 该纳米药物能够有效降低miR21水平, 诱导脑胶质瘤细胞大量凋亡, 显著减小肿瘤体积, 产生较好的治疗效果.

Shuai课题组^[71]以叶酸靶向的三嵌段共聚物(poly(ethylene glycol)-polyetherimide-poly(ϵ -caprolactone), PEG-PEI-PCL)为载体, 结合TMZ和抗BCL-2 siRNA, 以实现更好的胶质瘤治疗. BCL-2是一种主要的抗凋

图6 miR21ASO/DP-Cur复合物制备示意图以及不同实验组肿瘤大小占总脑的比重^[67](网络版彩图)

Figure 6 Schematic diagram of the preparation of the miR21ASO/DP-Cur complex and the proportion of tumor size in total brain in different experimental groups^[67] (Color online)

亡蛋白, 能够阻碍凋亡激活因子的释放和线粒体细胞色素C启动细胞凋亡蛋白酶的级联反应。体内和体外实验结果表明, 该纳米药物能被C6胶质瘤细胞较好地内吞, 通过沉默*BCL-2*基因, 同时激活促凋亡*Bax*基因, 使肿瘤细胞产生强烈的凋亡反应, 进而抑制肿瘤生长, 具有良好的抗胶质瘤作用。以上研究结果均证明, 使用化疗药物和基因治疗的联合治疗已显示出可以提高抗脑胶质瘤效果的潜力。

Tedesco课题组^[72]报道了采用生物素和罗丹明-B功能化嵌合P123/F127胶束共递送维替泊芬与TMZ, 用于实现对脑胶质瘤的诊断与协同治疗一体化。生物素赋予该嵌段聚合物以主动靶向性, 罗丹明-B用于脑胶质瘤的诊断, 维替泊芬能够实现化学治疗的辅助光动力治疗。精确控制维替泊芬与TMZ的最佳配比, 可对脑胶质瘤细胞产生最有效的协同抗肿瘤作用。实验结果表明, 该纳米药物能够被T98G, U87MG, U343胶质瘤细胞有效摄取, 产生较强的细胞毒作用。光动力治疗与TMZ化疗的协同作用能够有效杀死肿瘤细胞, 同时也克服了交叉耐药性。这些结果表明, 光动力疗法辅助治疗是改善以TMZ为基础的脑胶质瘤治疗的一种有前景的策略。

Yu课题组^[73]开发了一种基于高强度聚焦超声响应释药的双靶向PLGA聚合物纳米载体, 负载Dox用于增强脑胶质瘤的有效治疗。Angiopep-2是一种公认的脑肿瘤靶向递送的双靶向分子, 高强度聚焦超声是一种理想的药物释放触发器, 具有超高的能量和聚焦能力。在该项研究中, PLGA纳米颗粒具有良好的机械强度和热稳定性, 被认为是较好的高强度聚焦超声响应载体。实验结果表明, 与未修饰的纳米粒子相比, 该双靶向纳米药物BBB转运及脑胶质瘤内特异性积累分别提高了17倍和13.4倍。在高强度聚焦超声的作用下, 该纳米复合物可在2 min内释放47%的药物, 诱导大多数肿瘤细胞凋亡。高强度聚焦超声触发抗癌药物的瞬时释放, 使得经该纳米药物治疗的脑胶质瘤荷瘤小鼠肿瘤大小占总脑的比重最小, 显示出较好的抗胶质瘤效果。聚焦超声结合化疗无疑为脑胶质瘤的治疗提供了一条新途径, 具有很大的临床应用潜力。

6 刺激响应性聚合物纳米载体用于脑胶质瘤的治疗

聚合物纳米载体通过化学治疗、基因治疗、免疫

治疗等治疗方式极大地推进了其在脑胶质瘤治疗领域中的应用. 然而, 随着研究的深入, 人们亦发现传统聚合物纳米载体存在很多不足, 例如, 药物释放位置无选择性、释放缓慢且不受控制等, 造成抗癌药物的生物利用率低、毒副作用大、易产生耐药性, 严重阻碍了聚合物纳米载体抗脑胶质瘤的进一步发展.

研究表明, 肿瘤组织具有多种与正常组织显著不同的生理特征: 肿瘤组织(pH 6.5~7.2)和溶酶体/内涵体(pH 5.0~6.5)比正常组织(pH 7.4)偏酸; 肿瘤组织微环境中酶浓度及活性均远远高于正常组织; 肿瘤细胞中GSH浓度(2~10 mmol/L)约为细胞外液体和血液中(2~20 nmol/L)的100~1000倍. 基于此, 研究者们设计了一系列基于pH敏感、还原敏感、酶敏感等刺激响应性聚合物纳米载体, 在血液环境下稳定, 而在肿瘤组织/肿瘤细胞内纳米载体快速降解, 触发释放药物, 最终提高脑胶质瘤的抗肿瘤活性. Zhou课题组^[74]以pH和GSH双响应性共聚物为原料构建了一种对肿瘤微环境敏感的聚合物纳米胶束. 在肿瘤细胞溶酶体酸性条件下, 胶束中的3-(二丁基氨基)丙胺(3-(dibutylamino) propylamine, DBP)由疏水状态转化为亲水状态, 可以大大促进Dox的释放. 随后, 高浓度的GSH通过裂解胶束中大量存在的二硫键导致负载的Dox和PLK1特异性shRNA快速释放, 有效地实现了充分发挥抗肿瘤作用的同时对正常组织产生较小的毒副作用.

除根据肿瘤组织/细胞微环境特色设计的内在刺激响应体系外, 光敏感、超声敏感等外在刺激响应性

聚合物纳米载体也被开发并用于脑胶质瘤的治疗. 但由于脑胶质瘤的特殊性, 近红外等光源渗透深度有限, 但超声响应体系渗透能力大大加强, 可有效解决这一难题. Yu课题组^[73]设计了基于高强度聚焦超声响应释药的双靶向PLGA聚合物纳米载体. 聚焦超声有效诱导该纳米载体迅速释放负载的Dox, 使其在肿瘤部位积累足够的剂量, 进而达到杀死肿瘤细胞的目的. 根据刺激信号的不同, 本文中涉及到的刺激响应性纳米药物主要包括pH敏感、还原敏感、光敏感、超声敏感等多种类型(表2).

7 结语与展望

截至目前, 脑胶质瘤的治疗依然面临着巨大的挑战. 聚合物纳米药物基于其能够增加药物稳定性与靶向性、提高药物生物利用率、提高BBB和BBTB穿透性等优势, 在脑胶质瘤的治疗中具有广阔的应用前景. 聚合物纳米药物可以通过多种方式治疗脑胶质瘤, 本文简要介绍了通过化学疗法、基因疗法、免疫疗法、其他疗法、联合疗法及刺激响应性聚合物纳米药物用于治疗脑胶质瘤所做的研究工作. 每一种治疗方式都能不同程度有效改善脑胶质瘤模型的中位生存期, 然而, 将其用于临床胶质瘤治疗仍然有多种困难需要克服. 首先, 脑靶向效率低是纳米药物面临的首要问题, 尽管通过靶向剂修饰的纳米载体提高了其靶向性, 但BBB和BBTB对纳米递送系统的屏障作用仍然很强, 大

表 2 刺激响应性聚合物纳米载体类型汇总

Table 2 Summary of the classification of stimulation-responsive polymeric nanocarriers

刺激响应因素	敏感结构/物质	聚合物载体	参考文献
pH	缩醛键	Ac-DEX	[25]
	二硫化物	polyMPC	[20]
还原性谷胱甘肽(GSH)	二硫键	透明质酸-S-S-二吡啶胺(锌) (HA-S-S-DPA(Zn))	[51]
	二硫键	聚羧酸甜菜碱-聚(N-(2-(2-吡啶二硫代)甲基丙烯酰胺乙酯 (PCB-S-S-PDM-PDA)	[58]
pH, GSH	3-(二丁基氨基)丙胺(DBP)二硫键	聚(环氧丙烷)- <i>b</i> -聚(γ -苄基-L-谷氨酸)- <i>b</i> -聚(乙二醇)三嵌段三元共聚物(PPO- <i>b</i> -PBLG- <i>b</i> -PEG)	[74]
活性氧ROS	苯硼酮酯基	聚乙二醇-聚(氯化N-(3-甲基丙烯酰氨基)胍, 4-(4, 4, 5, 5-四甲基-[1, 3, 2]二噁硼烷-2-基)-丙烯酸苄酯(PEG - <i>b</i> -P(Gu/Hb)	[52]
光照	Lucirin TPO [®]	纳米水凝胶(PEG-DMA/PLGA)	[31]
高强度聚焦超声(HIFU)	全氟溴辛烷(PFOB)	PLGA	[73]

大限制了抗癌药物在脑中的富集. 因此, 探寻新型高效的靶点或双重靶向系统的开发迫在眉睫. 其次, 脑胶质瘤耐药性的存在也是纳米药物需要考虑的问题. 协同治疗在一定程度解决了这个问题, 但是多药耐药性形成机制异常复杂, 加上耐药性可能涉及全身多个系统, 往往很难实现理想的耐药逆转. 因此, 如何将聚合物纳米载体更好地与抗癌药物结合, 如何将多种治疗方式更好地联合以及寻求更高效的刺激响应性制剂已成为当务之急. 再次, 如何在现有聚合物材料的基础上设计出更为简单多功能的纳米载体, 在实现高效治疗的同时

时又有利于产业化生产, 为聚合物纳米药物脑胶质瘤临床转化打下基础, 是人们需要考虑的另外一个问题. 最后, 目前的研究都仅在细胞、皮下或原位肿瘤移植鼠、犬等动物模型进行了效果验证, 但是鼠、犬与临床病人差异性大, 研究者们应致力于探究及应用更贴近病人的人源移植模型等进行抗肿瘤实验, 才能更快地筛选出合适的聚合物纳米制剂, 进行临床转化并实现脑胶质瘤的安全、高效治疗. 本文相信, 随着多种治疗方法的不断完善, 脑胶质瘤的治疗将达到新的高度, 这是一个艰巨而漫长的过程, 任重而道远.

参考文献

- Weller M, Wick W, Aldape K, et al. Glioma. *Nat Rev Dis Primers*, 2015, 1: 15017
- Saito T, Sugiyama K, Takeshima Y, et al. Prognostic implications of the subcellular localization of survivin in glioblastomas treated with radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide. *J Neurosurg*, 2017, 128: 679–684
- Delgado-López P D, Corrales-García E M. Survival in glioblastoma: A review on the impact of treatment modalities. *Clin Transl Oncol*, 2016, 18: 1062–1071
- Ogura K, Mizowaki T, Arakawa Y, et al. Initial and cumulative recurrence patterns of glioblastoma after temozolomide-based chemoradiotherapy and salvage treatment: A retrospective cohort study in a single institution. *Radiat Oncol*, 2013, 8: 97
- Herrlinger U, Tzaridis T, Mack F, et al. Lomustine-temozolomide combination therapy versus standard temozolomide therapy in patients with newly diagnosed glioblastoma with methylated *MGMT* promoter (CeTeG/NOA-09): A randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet*, 2019, 393: 678–688
- Peer D, Karp J M, Hong S, et al. Nanocarriers as an emerging platform for cancer therapy. *Nat Nanotech*, 2007, 2: 751–760
- Oddo A, Peng B, Tong Z, et al. Advances in microfluidic blood-brain barrier (BBB) models. *Trends Biotech*, 2019, 37: 1295–1314
- van Tellingen O, Yetkin-Arik B, de Gooijer M C, et al. Overcoming the blood-brain tumor barrier for effective glioblastoma treatment. *Drug Resist Update*, 2015, 19: 1–12
- Beier D, Schulz J B, Beier C P. Chemoresistance of glioblastoma cancer stem cells—Much more complex than expected. *Mol Cancer*, 2011, 10: 128
- Petros R A, DeSimone J M. Strategies in the design of nanoparticles for therapeutic applications. *Nat Rev Drug Discov*, 2010, 9: 615–627
- Davis M E, Chen Z G, Shin D M. Nanoparticle therapeutics: An emerging treatment modality for cancer. *Nat Rev Drug Discov*, 2008, 7: 771–782
- Shi J, Kantoff P W, Wooster R, et al. Cancer nanomedicine: Progress, challenges and opportunities. *Nat Rev Cancer*, 2016, 17: 20–37
- Banik B L, Fattahi P, Brown J L. Polymeric nanoparticles: The future of nanomedicine. *WIREs Nanomed Nanobiotechnol*, 2016, 8: 271–299
- Masood F. Polymeric nanoparticles for targeted drug delivery system for cancer therapy. *Mater Sci Eng C*, 2016, 60: 569–578
- Mura S, Nicolas J, Couvreur P. Stimuli-responsive nanocarriers for drug delivery. *Nat Mater*, 2013, 12: 991–1003
- Abbott N J, Rönnbäck L, Hansson E. Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier. *Nat Rev Neurosci*, 2006, 7: 41–53
- Abbott N J, Patabendige A A K, Dolman D E M, et al. Structure and function of the blood-brain barrier. *Neurobiol Dis*, 2010, 37: 13–25
- Pardridge W M. The blood-brain barrier: Bottleneck in brain drug development. *NeuroRx*, 2005, 2: 3–14
- Dai T, Jiang K, Lu W. Liposomes and lipid disks traverse the BBB and BBTB as intact forms as revealed by two-step Förster resonance energy transfer imaging. *Acta Pharm Sin B*, 2018, 8: 261–271
- Ward S M, Skinner M, Saha B, et al. Polymer-temozolomide conjugates as therapeutics for treating glioblastoma. *Mol Pharm*, 2018, 15: 5263–5276
- Ramalho M J, Sevin E, Gosselet F, et al. Receptor-mediated PLGA nanoparticles for glioblastoma multiforme treatment. *Int J Pharm*, 2018, 545: 84–92
- Ramalho M J, Loureiro J A, Coelho M A N, et al. Factorial design as a tool for the optimization of PLGA nanoparticles for the co-delivery of

- temozolomide and O6-benzylguanine. *Pharmaceutics*, 2019, 11: 401
- 23 Muniswamy V J, Raval N, Gondaliya P, et al. 'Dendrimer-Cationized-Albumin' encrusted polymeric nanoparticle improves BBB penetration and anticancer activity of doxorubicin. *Int J Pharm*, 2019, 555: 77–99
 - 24 Malinovskaya Y, Melnikov P, Baklaushev V, et al. Delivery of doxorubicin-loaded PLGA nanoparticles into U87 human glioblastoma cells. *Int J Pharm*, 2017, 524: 77–90
 - 25 Zou Y, Liu Y, Yang Z, et al. Effective and targeted human orthotopic glioblastoma xenograft therapy via a multifunctional biomimetic nanomedicine. *Adv Mater*, 2018, 30: 1803717
 - 26 Hassan M, Farid D, Mahdi A, et al. Methotrexate-loaded PLGA nanoparticles: Preparation, characterization and their cytotoxicity effect on human glioblastoma U87MG cells. *Int J Med Nano Res*, 2017, 4: 10–23937
 - 27 Madani F, Goodarzi A, Hashemi M. Preparation of methotrexate loaded PLGA nanoparticles coated with PVA and poloxamer188. *Nanomed Res J*, 2018, 3: 19–24
 - 28 Parmar A, Jain A, Uppal S, et al. Anti-proliferate and apoptosis triggering potential of methotrexate-transferrin conjugate encapsulated PLGA nanoparticles with enhanced cellular uptake by high-affinity folate receptors. *Artif Cells Nanomed Biotech*, 2018, 46: 704–719
 - 29 Xin H, Chen L, Gu J, et al. Enhanced anti-glioblastoma efficacy by PTX-loaded PEGylated poly(ϵ -caprolactone) nanoparticles: *In vitro* and *in vivo* evaluation. *Int J Pharm*, 2010, 402: 238–247
 - 30 Yu J, Sun L, Zhou J, et al. Self-assembled tumor-penetrating peptide-modified poly(L- γ -glutamylglutamine)-paclitaxel nanoparticles based on hydrophobic interaction for the treatment of glioblastoma. *Bioconjug Chem*, 2017, 28: 2823–2831
 - 31 Zhao M, Bozzato E, Joudiou N, et al. Codelivery of paclitaxel and temozolomide through a photopolymerizable hydrogel prevents glioblastoma recurrence after surgical resection. *J Control Release*, 2019, 309: 72–81
 - 32 Chiani M, Toofani Milani A, Nemati M, et al. Anticancer effect of cisplatin-loaded poly (Butylcyanoacrylate) nanoparticles on A172 brain cancer cells line. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2019, 20: 303–309
 - 33 Feldhaeuser B, Platt S R, Marrache S, et al. Evaluation of nanoparticle delivered cisplatin in beagles. *Nanoscale*, 2015, 7: 13822–13830
 - 34 Lee S Y. Temozolomide resistance in glioblastoma multiforme. *Genes Dis*, 2016, 3: 198–210
 - 35 Chen X, Zhang M, Gan H, et al. A novel enhancer regulates MGMT expression and promotes temozolomide resistance in glioblastoma. *Nat Commun*, 2018, 9: 2949
 - 36 Agudelo D, Bourassa P, Bérubé G, et al. Review on the binding of anticancer drug doxorubicin with DNA and tRNA: Structural models and antitumor activity. *J Photochem Photobiol B*, 2016, 158: 274–279
 - 37 Jawad B, Poudel L, Podgornik R, et al. Molecular mechanism and binding free energy of doxorubicin intercalation in DNA. *Phys Chem Chem Phys*, 2019, 21: 3877–3893
 - 38 Weaver B A. How taxol/paclitaxel kills cancer cells. *Mol Biol Cell*, 2014, 25: 2677–2681
 - 39 Dasari S, Bernard Tchounwou P. Cisplatin in cancer therapy: Molecular mechanisms of action. *Eur J Pharmacol*, 2014, 740: 364–378
 - 40 Zhu S, Pabla N, Tang C, et al. DNA damage response in cisplatin-induced nephrotoxicity. *Arch Toxicol*, 2015, 89: 2197–2205
 - 41 Miller R P, Tadagavadi R K, Ramesh G, et al. Mechanisms of cisplatin nephrotoxicity. *Toxins*, 2010, 2: 2490–2518
 - 42 Yin H, Kanasty R L, Eltoukhy A A, et al. Non-viral vectors for gene-based therapy. *Nat Rev Genet*, 2014, 15: 541–555
 - 43 Barbalat R, Ewald S E, Mouchess M L, et al. Nucleic acid recognition by the innate immune system. *Annu Rev Immunol*, 2011, 29: 185–214
 - 44 Bae Y, Thuy L T, Lee Y H, et al. Polyplexes of functional PAMAM dendrimer/apoptin gene induce apoptosis of human primary glioma cells *in vitro*. *Polymers*, 2019, 11: 296
 - 45 Mastorakos P, Zhang C, Song E, et al. Biodegradable brain-penetrating DNA nanocomplexes and their use to treat malignant brain tumors. *J Control Release*, 2017, 262: 37–46
 - 46 Yamamoto A, Kormann M, Rosenecker J, et al. Current prospects for mRNA gene delivery. *Eur J Pharm Biopharm*, 2009, 71: 484–489
 - 47 Sayour E, Grippin A, Mendez-Gomez H, et al. Immu-63. Overcoming glioblastoma resistance to immune checkpoint blockade via RNA-loaded nanoparticles. *Neuro Oncol*, 2017, 19: vi126–vi127
 - 48 Ibraheem D, Elaissari A, Fessi H. Gene therapy and DNA delivery systems. *Int J Pharm*, 2014, 459: 70–83
 - 49 Hannon G J. RNA interference. *Nature*, 2002, 418: 244–251
 - 50 Liu D Z, Cheng Y, Cai R Q, et al. The enhancement of siPLK1 penetration across BBB and its anti glioblastoma activity *in vivo* by magnet and transferrin co-modified nanoparticle. *Nanomedicine*, 2018, 14: 991–1003

- 51 Zheng M, Yang Z, Chen S, et al. Bioreducible zinc(II)-dipicolylamine functionalized hyaluronic acid mediates safe siRNA delivery and effective glioblastoma RNAi therapy. *ACS Appl Bio Mater*, 2018, 2: 362–369
- 52 Zheng M, Liu Y, Wang Y, et al. ROS-responsive polymeric siRNA nanomedicine stabilized by triple interactions for the robust glioblastoma combinational RNAi therapy. *Adv Mater*, 2019, 31: 1903277
- 53 Chen Z, Liu F, Chen Y, et al. Targeted delivery of CRISPR/Cas9-mediated cancer gene therapy via liposome-templated hydrogel nanoparticles. *Adv Funct Mater*, 2017, 27: 1703036
- 54 Farkona S, Diamandis E P, Blasutig I M. Cancer immunotherapy: The beginning of the end of cancer? *BMC Med*, 2016, 14: 73
- 55 Sharma P, Allison J P. The future of immune checkpoint therapy. *Science*, 2015, 348: 56–61
- 56 Wang X, Xiong Z, Liu Z, et al. Angiopep-2/IP10-EGFRvIIIscFv modified nanoparticles and CTL synergistically inhibit malignant glioblastoma. *Sci Rep*, 2018, 8: 12827
- 57 Li T F, Xu Y H, Li K, et al. Doxorubicin-polyglycerol-nanodiamond composites stimulate glioblastoma cell immunogenicity through activation of autophagy. *Acta Biomater*, 2019, 86: 381–394
- 58 Shen Q, Yang J, Liu R, et al. Hybrid ‘clusterbombs’ as multifunctional nanoplateforms potentiate brain tumor immunotherapy. *Mater Horiz*, 2019, 6: 810–816
- 59 Galstyan A, Chiechi A, Korman A J, et al. Nano immunoconjugates crossing blood-brain barrier activate local brain tumor immune system for glioma treatment. *BioRxiv*, 2018
- 60 Cai X, Bandla A, Chuan C K, et al. Identifying glioblastoma margins using dual-targeted organic nanoparticles for efficient *in vivo* fluorescence image-guided photothermal therapy. *Mater Horiz*, 2019, 6: 311–317
- 61 Lai J, Deng G, Sun Z, et al. Scaffolds biomimicking macrophages for a glioblastoma NIR-Ib imaging guided photothermal therapeutic strategy by crossing blood-brain barrier. *Biomaterials*, 2019, 211: 48–56
- 62 Kessel D. Apoptosis, paraptosis and autophagy: death and survival pathways associated with photodynamic therapy. *Photochem Photobiol*, 2019, 95: 119–125
- 63 Bœuf-Muraille G, Rigaux G, Callewaert M, et al. Evaluation of mTHPC-loaded PLGA nanoparticles for *in vitro* photodynamic therapy on C6 glioma cell line. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2019, 25: 448–455
- 64 Rengeng L, Qianyu Z, Yuehong L, et al. Sonodynamic therapy, a treatment developing from photodynamic therapy. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2017, 19: 159–166
- 65 Liu H L, Hua M Y, Chen P Y, et al. Blood-brain barrier disruption with focused ultrasound enhances delivery of chemotherapeutic drugs for glioblastoma treatment. *Radiology*, 2010, 255: 415–425
- 66 You D G, Deepagan V G, Um W, et al. ROS-generating TiO₂ nanoparticles for non-invasive sonodynamic therapy of cancer. *Sci Rep*, 2016, 6: 23200
- 67 Tan X, Kim G, Lee D, et al. A curcumin-loaded polymeric micelle as a carrier of a microRNA-21 antisense-oligonucleotide for enhanced anti-tumor effects in a glioblastoma animal model. *Biomater Sci*, 2018, 6: 407–417
- 68 Zanutto-Filho A, Braganhol E, Edelweiss M I, et al. The curry spice curcumin selectively inhibits cancer cells growth in vitro and in preclinical model of glioblastoma. *J Nutr Biochem*, 2012, 23: 591–601
- 69 Dhandapani K M, Mahesh V B, Brann D W. Curcumin suppresses growth and chemoresistance of human glioblastoma cells via AP-1 and NFκB transcription factors. *J Neurochem*, 2007, 102: 522–538
- 70 Khaw A K, Hande M P, Kalthur G, et al. Curcumin inhibits telomerase and induces telomere shortening and apoptosis in brain tumour cells. *J Cell Biochem*, 2013, 114: 1257–1270
- 71 Peng Y, Huang J, Xiao H, et al. Codelivery of temozolomide and siRNA with polymeric nanocarrier for effective glioma treatment. *Int J Nanomedicine*, 2018, 13: 3467–3480
- 72 Pelloso D S, Paula L B, de Melo M T, et al. Targeted and synergic glioblastoma treatment: Multifunctional nanoparticles delivering verteporfin as adjuvant therapy for temozolomide chemotherapy. *Mol Pharm*, 2019, 16: 1009–1024
- 73 Luo Z, Jin K, Pang Q, et al. On-demand drug release from dual-targeting small nanoparticles triggered by high-intensity focused ultrasound enhanced glioblastoma-targeting therapy. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2017, 9: 31612–31625
- 74 Wang P, Yu N, Wang Y, et al. Co-delivery of PLK1-specific shRNA and doxorubicin via core-crosslinked pH-sensitive and redox ultra-sensitive micelles for glioma therapy. *J Mater Chem B*, 2018, 6: 112–124

Recent advances in polymeric nanomedicines for glioblastoma therapy

SUN YaJing, WANG YiBin, LIU YanJie, ZOU Yan, ZHENG Meng & SHI BingYang

International Joint Center for Biomedical Innovation, School of Life Sciences, Henan University, Kaifeng 475004, China

Glioblastoma (GBM) is the most common primary malignant tumor with high mortality. Currently, the treatment for GBM displays poor prognosis which is difficult to achieve a satisfied therapeutic effect. Nanomedicines based on polymers have opened up new strategies for GBM therapy due to their unique features such as good biocompatibility, easy designation and synthesis, feasible ligand functionalization, efficient blood brain barrier (BBB) penetration. Polymeric nanocarriers boost efficient antitumor efficacy via encapsulate/conjugate therapeutics including small molecule anticancer drugs, nucleic acids (DNA, siRNA) and proteins. Here, we review the research progress of chemotherapy, gene therapy, immunotherapy, synergistic therapy as well as various stimuli responsive polymeric nanosystems for GBM over recent years, and also prospect for their future development.

polymer, nanomedicine, glioblastoma (GBM), therapy methods

doi: [10.1360/SSV-2019-0212](https://engine.scichina.com/doi/10.1360/SSV-2019-0212)