

核酸适配体在肿瘤靶向治疗中应用的研究进展

刘珍宝*, 石依倩, 陈长仁, 段林花, 王薪茹

中南大学药学院药剂系, 长沙 410013

* 联系人, E-mail: zhenbaoliu@csu.edu.cn

2014-01-05 收稿, 2014-02-18 接受, 2014-04-02 网络版发表

国家自然科学基金(81301258)、湖南省自然科学基金(13JJ4029)、高等学校博士学科点专项科研基金(20130162120078)、中国博士后科学基金(2013M540644)、中南大学科学研究基金(124896)和中南大学自由探索计划(2282013bks106)资助

摘要 核酸适配体是一类能够特异性地和靶物质结合的寡核苷酸序列。它可作用于蛋白质、金属离子、小分子化合物、细胞膜表面受体等靶标。其结合能力可与抗体相当甚至更强,同时具有低免疫原性、稳定性好等特点,并可结合各种药物及载体构建多元复合靶向给药系统用于肿瘤靶向治疗,在生物医学领域引起了极大的关注。本文综述了核酸适配体结合化疗药物,或以聚合物、无机纳米粒子(碳纳米管、氧化石墨烯、金纳米粒、介孔二氧化硅、量子点和磁性纳米粒)、树枝状分子、脂质体、胶束等纳米粒子为载体的药物传递系统用于肿瘤靶向治疗的最新研究进展。

关键词

核酸适配体
药物传递系统
靶向给药
肿瘤靶向治疗
纳米粒子

1990 年, Ellington 与 Szostak^[1]及 Tuerk 与 Gold^[2]筛选出了能与 T4 DNA 聚合酶高亲和力和特异性结合的随机寡核苷酸,并命名为核酸适配体(aptamer, Apt),来源于希腊语 aptus,意为 to fit。该筛选方法被命名为指数富集的配体系统进化技术(systematic evolution of ligands by exponential enrichment, SELEX),原理是首先构建容量巨大的随机寡核苷酸序列库,然后经过多轮结合和洗脱,从中筛选得到能够和靶标物质高亲和力结合的寡核苷酸。核酸适配体是通过折叠形成特定空间结构而与靶标结合,其亲和力可与抗体相当,亲和常数(K_d)可达纳摩尔或皮摩尔水平^[3]。筛选核酸适配体的靶分子最初集中在核酸结合蛋白(如复制酶、DNA 聚合酶、逆转录酶等),随着筛选技术的发展,逐步扩展到非核酸结合蛋白(如蛋白激酶、血管内皮生长因子、核仁素、胰岛素等)、小分子有机物(如 ATP、氨基酸等)、金属离子(钾离子、铅离子等)、细胞膜蛋白、黏蛋白(mucin 1, MUC1)、腱糖蛋白-C、癌胚抗原、前列腺特异膜抗原等^[4-6]。

近年来,核酸适配体受到科学家的广泛关注,由

于其分子量较小、可化学合成、生物相容性好等优点,其在基础、临床、药物开发中的研究不断增多^[7]。越来越多的针对生命活动中重要分子的适配体被筛选出来,各种基于核酸适配体的分析方法和技术也有报道,核酸适配体在生物医学、疾病诊疗领域已显示出广阔的应用前景。第一个核酸适配体药物哌加他尼钠(Macugen)也已于 2004 年被美国食品和药物管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准上市用于治疗年龄相关性黄斑变性。然而,核酸适配体的实际应用还处在起步阶段,正面临着更大的发展。

靶向配体在抗肿瘤药物靶向传递方面有很大的应用潜能。其对靶分子结合的选择性可赋予抗癌药物靶向特异性,同时增加药物在病变组织内的富集。目前研究比较多的配体包括抗体、多肽、小分子等。抗体通常对靶点具有高亲和力,但免疫原性高。多肽分子量小且易于合成,但多肽在体循环中易于酶解,不适合在体内应用。小分子化合物,如叶酸(folic acid, FA),分子量小,稳定性好,但对肿瘤靶向性不高,因为肾近端小管和脑血管脉丛同样有高表达的叶

引用格式: 刘珍宝, 石依倩, 陈长仁, 等. 核酸适配体在肿瘤靶向治疗中应用的研究进展. 科学通报, 2014, 59: 1267-1279

Liu Z B, Shi Y Q, Chen Z R, et al. Current progress towards the use of aptamers in targeted cancer therapy (in Chinese). Chin Sci Bull (Chin Ver), 2014, 59: 1267-1279, doi: 10.1360/972013-1046

酸受体. 和这些配体相比, 核酸适配体可体外合成且易于修饰, 同时因其带负电荷, 在体循环中很少参加非特异性相互作用. 它们对靶物质可高亲和力并特异性地结合, 使其具有高的穿透性. DNA 核酸适配体可以在合适的条件下维持稳定且不被降解^[8]. 而 RNA 核酸适配体, 易被体内的核酸酶降解, 但经化学修饰后, 可以延长其在体内的半衰期^[9]. 抗肿瘤药物一般都是在细胞内发挥作用, 提高药物摄取量是其有效性的关键. 纳米粒子能通过细胞内吞途径进入细胞, 如果将核酸适配体连接到纳米粒子表面, 药物靶向肿瘤细胞后, 可介导内吞发生, 有利于提高药物摄取量, 这种给药方式成为目前研究的热点. 由于核酸适配体连接药物或载体种类的不同, 其结合方式也多种多样, 以达到不同的作用效果, 满足不同的需求. 以下综述了核酸适配体在肿瘤靶向治疗中的研究进展.

1 核酸适配体与药物直接结合

1.1 非共价结合(嵌入)

将化疗药物嵌入核酸适配体是一种简单而有效的靶向递药方式(图 1). 这种嵌入条件通常是温和的, 且不需要对药物或配体进行任何化学修饰, 药物和核酸适配体都能保持生物活性且能达到高的载药量. 这种结合方式中的核酸适配体既是靶向配体又是药物载体. 阿霉素(doxorubicin, Dox)是一种细胞毒类药物, 因其具有平面的四环结构, 从而可以嵌入 DNA 相邻碱基对之间, 使 DNA 的复制受到阻碍, 导致细胞不能正常增殖而死亡. 其主要缺点是能像杀伤肿瘤细胞一样损害正常细胞, 这种强副作用成为 Dox 肿瘤治疗的瓶颈. 为了降低 Dox 的毒副作用, 研究者利用它的特性, 将其嵌入核酸适配体, 进而运送到肿瘤部位. Bagalkot 等人^[10]将 Dox 嵌入到核酸适配体 A10 二级结构形成的双链中. A10 是单链 RNA 序列(含 71 个碱基), 它可构成独特的空间结构, 高亲和力和特异性地与人前列腺癌细胞(LNCaP)上过表达的前列腺特异性膜抗原(prostate specific membrane antigen, PSMA)蛋白结合, 以此来介导 Dox 靶向肿瘤部位. 由于这种结合是物理的相互作用, Dox 和 A10 的化学结构都没有发生改变, 因此不会降低药效. Shieh 等人^[11]通过简单嵌入光敏剂 TMPyP4 到 AS1411 核酸适配体中, 用于靶向乳腺癌 MCF-7 细胞. AS1411 是一个富含鸟苷酸的含有 26 个碱基的 DNA 寡核苷酸,

它可形成 G-四链体结构. 研究表明, AS1411-TMPyP4 复合物对 MCF-7 细胞的光毒性约是 TMPyP4 的 2 倍, 且对正常上皮细胞(M10)的光毒性只有 TMPyP4 的 1/2. 人类表皮生长因子受体 2(human epidermal growth factor receptor 2, HER2)适配体 HB5 是新发现的、可与乳腺癌细胞上过表达的 HER2 蛋白的表位肽结合的配体, Liu 等人^[12]将 Dox 嵌入 HB5 适配体中, 并利用其将 Dox 选择性靶向乳腺癌细胞, 同时降低对 HER2 阴性细胞的毒性. MUC1 黏蛋白因为在腺瘤的过度表达而在抗癌药物传递中成为一个吸引人的靶点. Hu 等人^[13]开发了一个含 86 个碱基的 DNA 核酸适配体 MA3, 能和 MUC1 黏蛋白的表位肽结合. 他们将 Dox 插入 MA3 的双链结构中, 发现其对 MCF-7 细胞具有靶向性杀伤作用. Subramanian 等人^[14]将 Dox 插入 EpDT3 适配体 GC 和 CG 序列之间, 其可以靶向视网膜母细胞瘤(retinoblastoma, RB)上皮细胞黏附分子(epithelial cell adhesion molecule, Ep-CAM), 达到靶向治疗的目的, 从而提高化疗疗效. Zhang 等人^[15]合成了一种新的 poly-Apt-drug 结构, 通过将多个核酸适配体通过滚环扩展形成多价化疗药物, 然后在适配体中嵌入 Dox. 该结构采用的适配体可靶向白血病细胞, 提高了对白血病细胞杀伤, 同时降低副作用.

1.2 共价结合

药物可经化学修饰形成稳定的酯、胺和二硫键结合至核酸适配体上或通过连接子共价结合(图 1). 这些共价结合相对稳定, 使得药物输送到特定的靶点

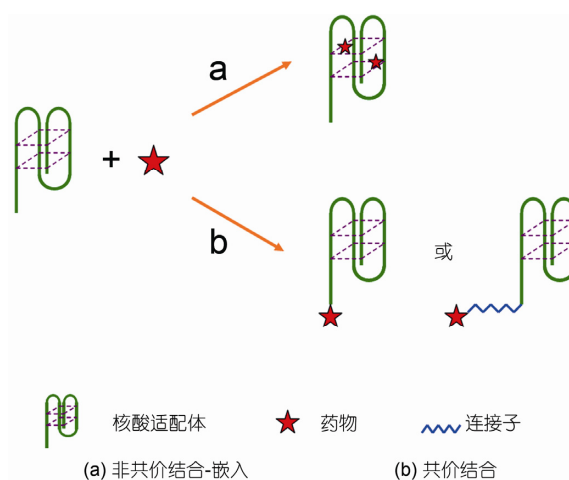


图 1 (网络版彩色)核酸适配体与药物结合的方式

之前不会被释放. Huang 等人^[16]将 Dox 化学共价结合到 DNA 核酸适配体(sgc8c)上, sgc8c 能特异性靶向人急性淋巴细胞白血病 T 淋巴细胞(CCRF-CEM)中的酪氨酸蛋白激酶 7(protein tyrosine kinase 7, PTK7), 与 Dox 化学偶联形成一个酸不稳定腺键, 在特异性地靶向 CCRF-CEM 细胞后, 偶联物被内吞方式摄取到肿瘤细胞的内涵体内, 腺键在低 pH 下断裂从而释放药物, sgc8c-Dox 复合物对 CCRF-CEM 细胞的毒性为非靶向细胞的 6.7 倍. Boyacioglu 等人^[17]则筛选出了新的靶向 PSMA 的核酸适配体(SZTI01), 含有 48 个核苷酸, 他们将其连接成二聚体复合物(dimeric aptamer complexes, DACs), 复合物富含 CpG 位点, 并通过可逆连接器共价连接 Dox 形成 DAC-Dox 复合物, 靶向 PSMA 高表达的前列腺癌细胞(C4-2)产生细胞毒性, 而对 PSMA 低表达的人前列腺癌细胞(PC-3)毒性很低.

2 核酸适配体偶联药物载体

由于核酸适配体可经化学合成, 因此可在其末端修饰不同的化学基团, 使之与药物载体连接, 制备

出不同功能的药物传递系统. 纳米粒子在传递系统中具有特殊的优势, 其大的表面区域可提供足够多的空间来结合多种配体. 以下总结了核酸适配体和聚合物、无机纳米粒子、树枝状分子、脂质体、胶束的连接作为药物传递系统的研究(图 2).

2.1 核酸适配体与聚合物连接

聚乳酸-羟基乙酸共聚物(poly(lactic-co-glycolic acid), PLGA)是一种可降解的功能高分子有机化合物, 具有无毒、良好的生物相容性和成囊、成膜性能, 且已被 FDA 批准用于临床. PLGA 纳米粒经过聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)修饰后可显著降低其体内清除率并增强穿透性. PEG 末端经羧基修饰, 可以进一步和核酸适配体结合. Farokhzad 等人^[9,18]及 Cheng 等人^[19]利用具有羧基末端的 PLGA-b-PEG-COOH 聚合物包裹多西他赛(docetaxel, Dtxl)制备纳米粒子, 再与 2'-氟嘧啶修饰的 A10 通过酰胺键共价结合, 用于靶向传递药物. 体外实验发现, 其和 LNCaP 细胞孵育 2 h 后, 相比未修饰核酸适配体的纳米粒子细胞毒性

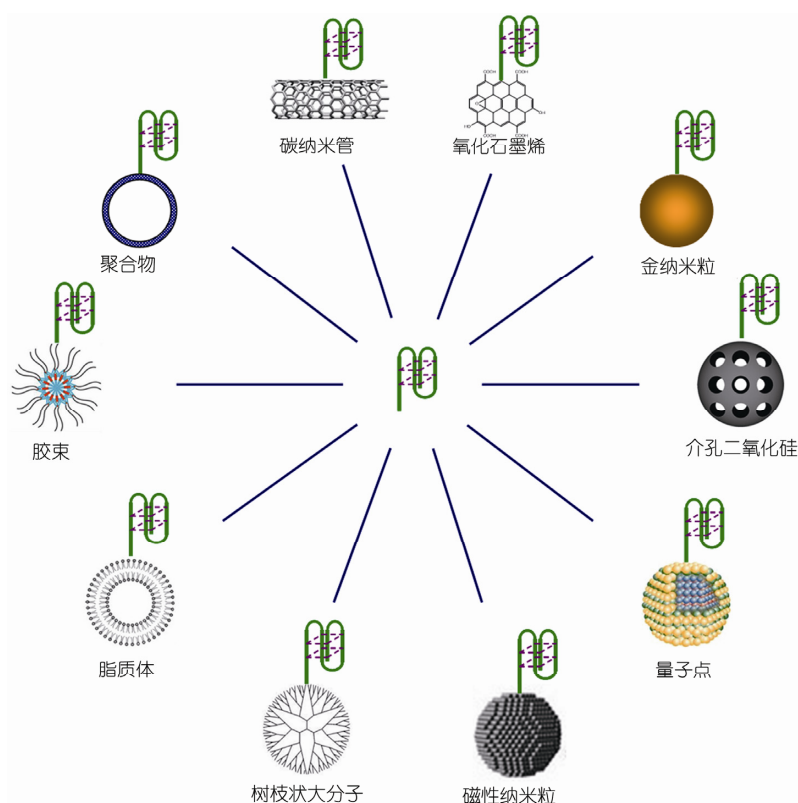


图 2 (网络版彩色)核酸适配体和纳米粒子连接作为药物传递系统

增加 1.6 倍, 瘤内注射也可以观察到抗肿瘤作用和毒性降低. 2008 年, Dhar 等人^[20]合成了 PLGA-b-PEG 包载顺铂 Pt(IV) 的纳米粒子, 通过将纳米粒表面 PEG 羧基末端偶联 A10 靶向 LNCaP 细胞, 该系统结构稳定并可将顺铂以缓释的方式释放. 纳米粒对 LNCaP 细胞的半数抑制率浓度(half maximal inhibitory concentration, IC_{50})值显著低于对 PC-3 细胞的 IC_{50} 值, 未结合适配体的纳米粒子对 LNCaP 细胞的 IC_{50} 为适配体修饰纳米粒子的 4.3 倍, 说明结合适配体能提高疗效. 后来的体内研究^[21]表明, 其在血液中的滞留时间延长, 并且肾脏堆积降低. A10 功能化的 PLGA-PEG 纳米粒子顺铂用量只有普通顺铂治疗组的 0.3 倍, 表明其在治疗前列腺肿瘤中有显著效果. Zhang 等人^[22]进一步研究了采用 A10 嵌合 Dox 与聚合物包封 Dtxl 的共递送疏水性和亲水性药物的递药系统. 结果显示, 疏水性和亲水性药物被有效地传递到 LNCaP 细胞, 而在 PC-3 细胞中几乎没有. Gu 等人^[23]还将 PLGA-PEG 和 A10 先共价连接形成两亲性嵌段共聚物, 再将 Dtxl 和 PLGA-PEG-A10 自组装形成稳定的载药纳米粒, 通过控制其加入的比例, 来精确控制适配体的密度. 并且可通过体外和体内实验确定最佳细胞摄取时的比例. Tong 等人^[24]采用 PLA-PEG-PLA、紫杉醇(paclitaxel, PTX)和 PLA 的结合物(PTX-PLA)在磷酸缓冲液(phosphate buffer solution, PBS)中共沉淀构建了载药纳米粒子, 该粒子稳定且能够长时间贮存, 进一步结合适配体后可靶向前列腺癌细胞. Yu 等人^[25]采用乳化方法合成了装载 PTX 的 PLGA 纳米粒子, 再将 MUC1 适配体共轭结合到粒子的表面, 利用 MCF-7 乳腺癌细胞为模型, 证明了 MUC1 适配体增加了靶细胞对纳米粒子的摄取, 且对 MUC1(+)细胞有更强的细胞毒性, 说明该适配体在靶向给药系统中有着巨大的应用潜力. Guo 等人^[26]利用 DNA 适配体 AS1411 结合 PEG-PLGA 纳米粒子, 最后合成了 Apt-PTX-nanoparticles 用于靶向 C6 胶质瘤, 表明 AS1411 功能化的纳米粒子在治疗胶质瘤方面有着潜在利用价值. 核酸适配体 GMT8 是一个短的 DNA 序列, 能靶向胶质母细胞瘤细胞(U87), 与 PEG 修饰的聚 ϵ -己内酯(PEG-polycaprolactam, PEG-PCL)制备的纳米粒子表面官能团结合, 能增强肿瘤渗透和对胶质母细胞瘤(glioblastoma, GBM)靶向治疗^[27]. Aravind 等人^[28]则合成了磁流体/紫杉醇/尼罗红/(聚乳酸-羟基乙酸共聚物)(magnetic fluid/

PTX/Nile red/PLGA)纳米粒子, 再结合核酸适配体用于靶向 MCF-7 细胞. Kolishetti 等人^[29]将顺铂和 Dtxl 共递送到前列腺癌细胞. 顺铂(IV)是亲水性的, 可通过酰胺键和 PLA 共价连接. Dtxl 是疏水性的, 可使用纳米沉淀法将其包封在 PLGA-PEG 纳米颗粒内. 该纳米粒子的表面连接 A10 后, 对 LNCaP 细胞的 IC_{50} 只有非靶向纳米粒子的 1/2, 而对 PC-3 细胞表现出较低的细胞毒性. Zhou 等人^[30]研究采用 AS1411 还能靶向核仁素的特点, 通过制备带有羧基末端的 PLGA-PEG 长春瑞滨纳米粒子, 然后将带有氨基末端的 AS1411 偶联粒子, 用于靶向杀伤乳腺癌(MDA-MB-231)细胞. 倒置荧光显微镜显示, MDA-MB-231 细胞摄取纳米粒子多于 MCF-10A 正常上皮细胞. 细胞毒性实验显示, AS1411 修饰的纳米粒子毒性明显大于非靶向纳米粒子, 而对 MCF-10A 正常上皮细胞的毒性, 两者没有明显差别. Gao 等人^[31]开发了一个双靶向给药系统. 他们采用带有羧基末端的 PEG 修饰的聚 ϵ -己内酯(PCL-PEG-COOH)为材料制备纳米粒子, 再用 AS1411 和 TGN 肽(一条序列为 TGNYK-ALHPHNG 的展示肽)修饰, 前者用来靶向脑胶质瘤, 后者用来靶向血脑屏障(blood brain barrier, BBB), 并模拟肿瘤微环境证明了该纳米粒子能被内皮细胞和神经胶质瘤细胞摄取, 且能穿过血脑屏障到达脑胶质瘤细胞发挥作用. Kurosaki 等人^[32]将质粒 DNA(plasmid DNA, pDNA)和聚乙烯亚胺(polyethylenimine, PEI)形成复合物, 然后再和 MUC1 适配体偶联用于靶向人肺癌(A549)细胞, 发现其比非靶向的纳米粒子细胞摄取作用更显著. Kim 等人^[33]发现, 支链聚乙烯亚胺(PEI)经 PEG 修饰可作为抗 *Bcl-xL* 基因的小发夹 RNA(small hairpin RNA, shRNA)的载体, 进一步修饰能靶向 PSMA 的 RNA 核酸适配体, 同时将 Dox 插入到适配体形成(shRNA/PEI-PEG-Apt/Dox)共递送复合物, 其 IC_{50} 值低于(shRNA/脂质体+Dox)的简单混合物约 17 倍, 表明核酸适配体介导的共递送抗癌药物和 shRNA 能提高对肿瘤细胞的选择性杀伤. 该类递药系统合成简单, 可生物降解, 细胞毒性低, 可携带药物种类多, 是目前药物载体主要的研究方向.

2.2 核酸适配体和无机纳米粒子连接

无机纳米粒子作为新型的载体, 在药物传递系统中也有着不可忽视的作用. 它们具有功能丰富、易

于跨膜转运、载药量高等特点^[34]。无机材料主要有碳纳米管、氧化石墨烯、介孔二氧化硅、金纳米粒、量子点、磁性氧化铁纳米粒等。

碳纳米管(carbon nanotubes, CNTs)是由碳原子层卷曲而成的无缝中空管体,可分为单壁碳纳米管(single-walled carbon nanotubes, SWCNTs)和多壁碳纳米管(multi-walled carbon nanotubes, MWCNTs)^[35]。由于CNTs独特的物理化学性质,如近红外的荧光、光热、光声和拉曼特性,易于表面官能化、高细胞膜穿透性、高药物装载容量、热稳定性好等特性,CNTs成为备受关注的纳米材料^[36]。Niu等人^[37]将SWCNTs表面偶联聚乙二醇修饰的叶酸(PEG-FA),同时吸附Dox于表面,其中性pH下具有很好的稳定性,但在肿瘤细胞的低pH下能有效释放Dox,同时在叶酸的帮助下,SWCNTs能选择性地附着于肿瘤细胞,通过网格蛋白途径内吞进入溶酶体和内涵体,释放药物,从而提高了输送药物的效率,并降低了毒副作用。Taghdisi等人^[38]合成了一种道诺霉素-适配体-SWCNTs的三体复合物,用于靶向人急性淋巴细胞白血病(Molt-4)细胞,复合物以pH依耐性释放道诺霉素(在pH 5.5释放效率最高),同时其细胞毒性也减弱。Zhu等人^[39]将适配体吸附到SWCNTs的表面,作为光动力疗法的开关,以控制药物的释放。光敏剂(Ce6)被共价连接到适配体的一端。在靶物质存在时,适配体和靶分子结合造成适配体从SWCNTs表面脱落,从而导致单线态氧的形成,发挥光动力治疗的作用。虽然SWCNTs递药系统有着很好的前景,但CNTs的毒理影响也应予以考虑。浓度、物理形态、官能化程度和聚集状态都可能影响CNTs的毒性和体内行为。因此,在将它们应用于临床前,CNTs的毒性研究是必不可少的。

氧化石墨烯(graphene oxide, GO)是石墨烯的氧化物,不仅保留了石墨烯的层状结构,同时具有两亲性,在物理、化学、纳米技术、材料科学等方面成为了研究的热点。Hu等人^[40]合成了GO-aptamer复合物,提高了其稳定性,并能选择性地催化蛋白质和核酸,也为其在药物传递系统中的作用奠定了一定的基础。

金是一种化学性质稳定的元素,而且纳米金具有特殊的性能。(i)纳米金是一种惰性、无毒、生物相容性好的材料;(ii)金纳米粒子(gold nanoparticles, AuNPs)粒径小可广泛分布在体内,优先聚集在具有渗透和滞留增强效应(enhanced permeability and re-

tention effect, EPR)的肿瘤部位;(iii)它们有功能化的表面,能通过巯基修饰,且能与抗肿瘤药物结合^[41],而且当AuNPs和核酸适配体结合时,使得AuNPs拥有主动靶向功能^[42]。因此AuNPs在药物传递方面获得了广泛的关注。AuNPs能运送shRNA和DNA寡核苷酸进入细胞核,在Ryou等人^[43]的研究中,他们通过制备一种能靶向 β -连环蛋白的RNA适配体抑制 β -连环蛋白结合核转录因子(nuclear factor- κ B, NF- κ B)的p50亚基,和人肝癌HepG2细胞孵育后,发现功能化的金纳米粒子比脂质体可更高效地输送RNA进入细胞。此外,他们还使用功能化的AuNPs运送另一种能靶向NF- κ B的p50亚基的RNA适配体至A549细胞,发现可以诱导细胞凋亡。Sundaram等人^[44]用DNA核酸适配体和新霉素形成的复合物通过DNA的5'端带有的巯基共价结合AuNPs。在核酸适配体的另一端,还可以加载化疗药物。在Luo等人^[45]的研究中,他们构建了核酸适配体/发夹修饰的DNA-金纳米粒子复合物(Apt/hairpin-AuNP),该复合物以金纳米粒为核心,表面通过巯基共价修饰与PTK7具有高亲和力的DNA核酸适配体sgc8c。sgc8c的另一端是重复的d(CGATCG)序列,该序列用于装载Dox。Au-Apt-Dox复合物对CCRF-CEM细胞有良好的治疗作用,且在近红外光照后释放Dox。原子吸收光谱表明,在最佳的条件下,Apt/hairpin-AuNP到达靶细胞的数量是hairpin-AuNP的3.7倍。AuNPs的应用通常和光热效应有关,特别是金纳米棒(gold nanorods, AuNRs)。在其与核酸适配体连接后,对特定位置进行近红外光照射后可引起光热效应,造成药物大量释放,也在一定程度上起到了控释作用。Wang等人^[46]利用靶向前列腺癌(DU145)细胞的核酸适配体CSC13对AuNRs的表面进行修饰,因适配体的靶向性和AuNRs的光热效应等作用,能成功地杀死癌细胞和癌干细胞,说明可以通过该方法对肿瘤进行杀伤,为肿瘤的治疗提供新方法。因此,基于金纳米粒子的复合物为肿瘤光动力治疗提供了一个理想的平台。

介孔二氧化硅纳米粒(mesoporous silica nanoparticles, MSNs)是一种无机纳米材料,因其具有巨大的比表面积、独特的网状孔道结构、孔径分布窄且可调节、易于表面修饰等特性,可用作药物载体。MSNs表面经核酸适配体修饰后可实现药物的靶向传递。Yang等人^[47]开发了一种新型的对近红外敏感的光激发药物释放的递药系统。该平台是利用了金纳米棒

和核酸适配体的特性,系统的核心是一个金纳米棒,外层依次有介孔二氧化硅框架、药物及 DNA 核酸适配体 AS1411. 核酸适配体在 3'端有 12 个碱基延伸,可与二氧化硅外部共价连接的另外 12 个互补碱基的寡核苷酸杂交. 在光激发下可使其升温,并导致双链 DNA 变性,使得包裹的药物释放. 对小鼠(*Mus musculus*)胚胎成纤维细胞系 NIH3T3 细胞(正常细胞)和 MCF-7(人乳腺癌)的实验发现, MCF-7 细胞与异硫氰酸荧光素 (fluorescein isothiocyanate, FITC) 标记的 AuNPs 孵育相对 NIH3T3 细胞中的信号显示出较强的荧光,说明能靶向人乳腺癌细胞. 在细胞毒性实验中,装载 Dox 的 Ap-AuNPs 在没有近红外光的照射下对 MCF-7 细胞的毒性低,这表明双链 DNA 作为加帽结构是稳定的,同时在红外光激发下,用 Dox-Ap-AuNPs 处理的细胞的生存力急剧下降.

量子点(quantum dot, QD)是一种半导体纳米晶体,它有着独特的光学性质,在窄发光谱上有宽吸收、高量子产率、荧光不易漂白、耐化学降解作用^[48]等特点. 在药物传递系统中, QD 则是一种新型的纳米给药系统,功能化的量子点能被抗体、小分子、多肽、适配体等生物分子所修饰,在诊断和治疗方面运用广泛. Savla 等人^[49]合成了 QD 和 DNA 适配体复合物来靶向 MUC1 过度表达的细胞,该复合物是由 pH 敏感脲键键合的方法连接 Dox 与 QD,在中性和碱性条件下稳定,在肿瘤细胞内酸性环境快速水解释放药物,从而达到治疗卵巢癌的作用. 这种复合物在体内血液循环比游离 Dox 有更好的稳定性,且对多耐药(multiple drug resistance, MDR)细胞有更强的细胞毒性. 这项研究也为 QD 在药物传递系统中的利用提供了新的领域. 在人脑胶质细胞瘤细胞膜表面含有细胞外基质蛋白-腱生蛋白 C, GBI-10 能够与其特异性结合. Li 等人^[50]使用了树枝状聚合物对量子点进行改性修饰,提高其在水溶液中的溶解度. 树枝状聚合物修饰的量子点共价结合 DNA 适配体,可特异性地靶向人脑胶质瘤(U251)细胞.

磁性纳米粒(magnetic nanoparticle, MNP)在成像和治疗方面有着很大的应用潜力. 最有前途的磁性纳米粒子之一是超顺磁性氧化铁纳米粒(superparamagnetic iron oxide nanoparticles, SPION),其生物相容性好,也可以通过和有机聚合物或无机金属结合来改性,以达到与各种靶向配体结合的能力. Wang 等人^[51]报道了一种新的、多功能的、热交联 SPION

(thermo crosslinked-SPION, TCL-SPION)与 A10 结合后,既可以检测前列腺癌(prostatic cancer, PCa)细胞,又可直接递送化疗药物到前列腺癌细胞内. 在 TCL-SPION-Apt 复合物中, Dox 被嵌入核酸适配体 CG 序列中. TCL-SPION-Apt 复合物可在给药 3 h 后被摄取,并以时间依赖的方式逐渐增加. TCL-SPION-Apt 复合物对 LNCaP 细胞的毒性是 PC-3 细胞的 1.5 倍. 然而,铁氧化物的使用可能会导致一定的神经系统毒性作用,因此,当其作为靶向递送系统在体内使用时,需要进一步确定其安全性.

2.3 核酸适配体与树枝状分子(dendrimers, DEN)连接

树枝状分子具有中央内核,外面包围多层重复单元. 树枝状分子是由重复增长反应合成而来的、具有高度支化且结构精确的分子,相比其他许多材料,在肿瘤组织或细胞中,它具有较强的滞留或穿透能力. 其作为一类新型、高效、生物相容的高分子载体在生物医药领域有着极为广阔的应用前景^[52]. 树枝状分子用来输送药物可通过两种方式实现,一个是疏水性药物插入内部有疏水结构的树枝状分子,另一个则是药物通过共价结合方式结合至树枝状分子表面^[53]. 由于树枝状单位终端有大量的分支,很容易结合多种受体^[54]. Lee 等人^[55]研究了 A9 适配体和聚酰胺-胺型(polyamidoamine, PAMAM)琥珀酰胺酸树枝状分子共价结合用于肿瘤治疗,利用阿霉素插入双链核苷酸 CG 碱基对上,然后再将其连接到树枝状分子的纳米结构上,用于输送药物. 体内前列腺癌实验发现核酸适配体偶联物治疗组的肿瘤大小为未结合物组的 1/2. Lee 等人^[56]进一步合成了一种双链寡核苷酸(duplex oligodeoxynucleotides, dODNs)与 DEN 结合物靶向乳腺癌细胞. 该 dODNs-DEN 共轭物和 Dox 能形成稳定的复合物,体外和体内实验表明药物以缓释方式释放. 药代动力学的研究表明,载药 dODNs-DEN 结合物从血浆中清除的速度比游离 Dox 要慢得多. 此外,同一剂量的复合物相对游离 Dox 更易进入小鼠体内肿瘤. 在移植 4T1 乳腺癌的小鼠中,树枝状复合物在 Dox 浓度为 1 mg/kg,比同等的游离 Dox 在相同浓度药效更高,肿瘤减少的大小相当于使用 4 mg/kg 游离 Dox,并且没有观察到复合物导致严重的毒性,表明复合物可用于 Dox 给药. Liu 等人^[57]将第 4 代 PAMAM 树枝状分子表面通过叠氮化

物或炔烃修饰来结合 DNA 单链, DNA 控制叠氮化物和炔烃分子交替自组装在 DNA 模板上, 使得树枝状大分子共价结合成二聚体、三聚体和四聚体. DNA-树枝状大分子复合物还能在 DNA 折纸结构上装配成一个圆形的结构, 并可通过原子力显微镜观察到. 然而, 树枝状聚合物也有局限性, 所涉及的合成和加工的树状纳米粒子的程序复杂且昂贵. 另外, 树突状纳米材料的体内分布也需深入研究, 使其成功从实验室转化到临床.

2.4 核酸适配体与脂质体(liposomes)连接

脂质体作为一种人工膜, 具有很好的生物相容性, 在药物传递系统中起着非常重要的作用. 脂质体既可以封装亲水性治疗药物, 还可以负载疏水性药物在其脂质双层膜中. 以脂质体为基础的给药系统已获 FDA 批准^[58]. 脂质体表面用 PEG 进行改性, 可以延长其在全身循环的寿命, 并促进在肿瘤部位积累. 与核酸适配体连接后能靶向肿瘤细胞, 被内吞到细胞释放药物. 能提高疗效并减少传统治疗方法带来的副作用. Palaniyandi 等人^[59]研究证明, 结合了适配体的复合物比未结合的复合物在乳腺癌干细胞(breast cancer stem, BCS)上有更高效的内吞作用, 同时减少了副作用. Wang 等人^[60]的研究中, 制备了适配体修饰的加载阿霉素的声波液滴, 该系统以液体全氟化合物为核心、以脂质为外壳材料, 通过将这种液滴与 sgc8c 适配体偶联, 可高效靶向 CCRF-CEM 细胞, 他们利用合成的声波液滴和高强度聚焦超声技术可对癌细胞进行造影, 靶向癌细胞后可加大超声强度破坏液滴来特异性释放药物, 从而在影像和治疗方面起作用. Kang 等人^[61]成功制备了一种加载葡聚糖-异硫氰酸荧光素(dextran-FITC)的 sgc8 适配体与脂质体的偶联物, 它们是以 PEG 为间隔臂将 sgc8 适配体共价连接到脂质体上. 该物质能高效且特异地将药物输送到 CCRF-CEM 细胞. 结果表明, 在温育 30 min 后, sgc8 适配体-脂质体偶联物可以特异地结合到白血病 CEM-CCRF 细胞, 而没有结合到急性早幼粒细胞白血病细胞(NB4)上. 另外, Cao 等人^[62]开发了适配体-脂质体生物偶联物, 它可以特异性靶向癌细胞, 传递顺铂以达到治疗目的. Xing 等人^[63]用脂质体装载阿霉素, 再连接 AS1411 核酸适配体形成复合物, 靶向乳腺癌 MCF-7 细胞, 增加了 MCF-7 细胞对该复合物的摄取, 实现了特异性和靶向性给药.

2.5 核酸适配体与胶束(micelles)连接

胶束在药物输送领域已被广泛研究, 它由两亲性分子构成, 当疏水性链段与亲水链段的比例在合适的范围内时, 可以在水性环境中自组装而成, 药物分子能通过疏水作用掺入胶束内核. 胶束作为药物载体通常有几种明显的优势. (i) 胶束往往分布尺寸窄; (ii) 胶束释药缓慢, 药物的释放行为可以调节; (iii) 可以提高疏水性药物在水中的溶解性和生物利用度. Xu 等人^[64]将核酸适配体偶联载有 Dox 的单分子胶束来靶向治疗前列腺癌. 该单分子胶束是由超支化聚合物组成, 包括树枝状 H40 超支化聚合物为核心, 外面包围有约 25 个两亲性 PLA-PEG 的嵌段共聚物. 此外, Wu 等人^[65]制备了一种自组装适配体-胶束偶联纳米粒, 将脂质尾巴亚磷酸胺疏水部分与 PEG 连接, PEG 的另一端连接一个 DNA 适配体 TDO5. TDO5 可靶向 B-细胞淋巴瘤细胞株(Ramos), 并且作为脂质壳外的亲水层. 该两亲性物质可以自组装成胶束. 在 37℃ 时, TDO5 适配体-胶束进入靶细胞的荧光强度比单纯的胶束增强 45 倍. Pearce 等人^[66]第一次将 ssDNA 核酸适配体作为头部, 疏水基团作为尾部, 中间用间隔臂连接形成两亲性物质, 当中间无间隔臂或间隔臂为亲水性时, 合成了球状胶束; 当间隔臂为疏水性时, 合成了纳米双层结构, 他们称为 Bilayer Nanotapes.

3 核酸适配体结合 siRNA 药物

RNA 干扰(RNA interference, RNAi)是由小双链 RNAs(double stranded RNAs, dsRNAs)引起的特异性基因沉默现象^[67]. 最令人感兴趣的 dsRNAs 是小干扰 RNA(small interfering RNA, siRNA), 它是一类 20~28 nt 长的 RNA 分子, 可通过细胞质途径特异性地降解 mRNA. 研究发现, 与基因相关的疾病, 如遗传疾病、癌症、病毒感染等都可采用 siRNA 技术进行治疗, siRNA 类治疗药物在临床上有着广泛的应用前景^[68]. 但由于 siRNA 在血液中稳定性差, 容易被清除, 导致半衰期短, 不易进入细胞. 而且体外合成的 siRNA 存在一定的免疫原性, 因此, 如何特异、有效地递送治疗性的 siRNA 仍是目前需要解决的问题. 适配体对肿瘤细胞某些表面受体具有高亲和力, 因此可以考虑用核酸适配体介导 siRNA 靶向肿瘤细胞^[69], 提高药物或 siRNA 对靶细胞的杀伤作用^[70].

以下总结了核酸适配体和 siRNA 结合的方式(图 3).

3.1 Apt-siRNA 嵌合体

由于核酸适配体和 siRNA 都是核苷酸, 因此可以直接相连形成嵌合体(Apt-siRNA), 与大多数传递方式不同, 这是一个完全以核酸为基础的特异性传递 siRNA 的方法. McNamara 等人^[71]描述了第一代 Apt-siRNA 嵌合体(图 3(a)). A10 被共价连接到 polo 样激酶 1(polo-like kinase 1, Plk1)和 B 细胞淋巴瘤-2(B cell lymphoma-2, Bcl-2)的 siRNA, 然后 siRNA 的模板链经过退火处理形成一个功能的 siRNA 双链体. 该 siRNA 嵌合体并不影响适配体的结合能力, 并且在体外实验该嵌合体能靶向前列腺癌细胞, 下调 Plk1 mRNA 和 Bcl-2 mRNA 的表达, 并有效地促进细胞死亡. 当嵌合体被注射入瘤内, 前列腺癌异种移植小鼠模型的肿瘤体积减少. 随后, Dassie 等人^[72]优化了 Apt-siRNA 嵌合体用于体内给药, 从而出现了第二代嵌合体(图 3(b)). 首先, 他们减少嵌合体的适配体部分的核苷酸, 从 71 个减少至 39 个以促进化学合

成, 这并不影响特异性和对 PSMA 的高亲和力. 为了提高沉默活性和特异性, siRNA 双链 3'末端设计了一个含 2 个尿嘧啶的突出部分. 通过聚乙二醇修饰, Apt-siRNA 嵌合体肾清除率减少. 由于这些修饰, 优化的第二代 Apt-siRNA 嵌合体在小鼠腹膜内给药后, 可使得前列腺肿瘤明显地消退. Liu 等人^[73]合成了小而简单的含有 2 个功能结构域的蛋白标签能增加嵌合体的化疗和靶向功能. (i) 双链 RNA 结合结构域(dsRNA binding domain, dsRBD)用于 siRNA 停靠; (ii) pH 依赖型的多组氨酸结构域用于破坏内涵体膜结构. 该蛋白标签能选择性地标记嵌合体中的 siRNA, 使得复合物更小、具有组织穿透能力, 并发现该核酸适配体部分具有靶向识别能力. 增加蛋白标签中多组氨酸片段的 C-末端至 18 个氨基酸能阻止 dsRBD 的 RNA 结合功能.

3.2 通过连接子连接

链霉亲和素(streptavidin, SAV)是在 1963 年培养链霉菌 *avidinii* 和链霉菌 *lavendulae* 的培养基上清液

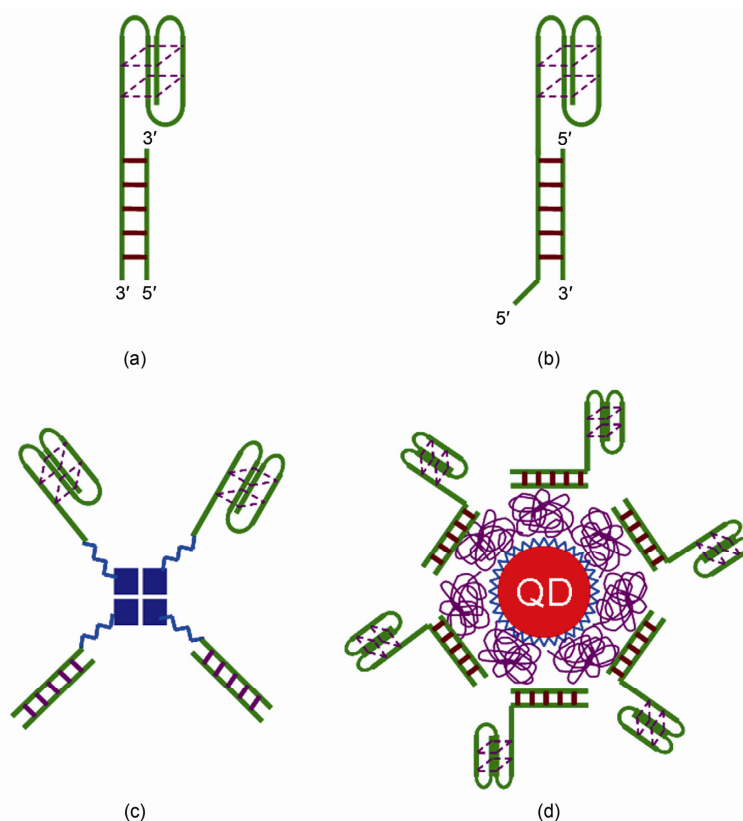


图 3 (网络版彩色)核酸适配体和 siRNA 结合的方式

中发现的一个四聚体蛋白质. SAV 对生物素有极高的亲和性, K_d 高达 $10\sim 15\text{ mol/L}$. 四聚体蛋白的每个亚基可以结合一分子生物素. 基于这个特点, Chu 等人^[74]开发了一种多价的用链霉亲和素作为连接子的 Apt-siRNA 结构(图 3(c)), 将 2 分子生物素化的核酸适配体(A9)和 2 分子生物素化的、能和核纤层蛋白 A/C 特异结合的 siRNA 连接, 该复合物能特异性抑制 LNCaP 细胞生长. 对基因表达抑制作用与 A9-脂质体偶联物类似. 为增强内化后 siRNA 的释放, 在 siRNA 的有义链和生物素基因之间设计了一个可还原的二硫键连接子. 该偶联物被 LNCaP 细胞有效地内吞并快速抑制基因表达. Wullner 等人^[75]用 siRNA 作为连接子, 两端分别连接一个核酸适配体, 构建了双核酸适配体-人真核细胞延伸因子 2(eukaryotic cells extended factor of 2, EEF2)-siRNA 复合物. siRNA 序列充当一个连接子, 连接 2 个适配体, 或连接适配体二聚物短发夹 RNA(short hairpin RNA, shRNA)的 3'末端. Western 印迹分析表明, 在 PSMA 阳性 LNCaP 细胞内, 二聚体嵌合体促进 siRNA 内化并增强对 EEF2 的沉默.

3.3 纳米粒子递送 siRNA 和适配体

转铁蛋白受体 CD71 在癌细胞和血脑屏障均有高表达, 有人研究通过靶向 CD71 的适配体偶联装载 siRNA 的脂质体, 跨越血脑屏障输送药物, 靶向治疗癌症^[76]. 聚乙烯亚胺(polyethylenimine, PEI)是一种高效的基因和 siRNA 递送载体, 许多体外和体内的转染研究也已有报道, 此外, 它可诱导内涵体破裂^[77,78]. Zhao 等人^[79]将带正电荷的 PEI 与带负电荷的柠檬酸钠混合, 通过静电吸引作用以形成一个纳米粒. 适配体和 siRNA 通过非共价键被掺入 PEI-柠檬酸核中, 以形成纳米复合物. 该复合物可靶向人间变性大细胞型淋巴瘤(anaplastic large cell lymphoma, ALCL)并特异性沉默间变性淋巴瘤激酶(anaplastic lymphoma kinase, ALK)基因的表达, 导致生长停滞和细胞凋亡. Bagalkot 等人^[80]使用量子点 QD-PEI 作为核心, 外围通过物理吸附作用非共价结合 siRNA, 然后 siRNA 再连接核酸适配体(图 3(d)). 在此项研究中, 量子点主要起核心支撑点的作用, 便于通过静电相互作用, 进而组装整个递药系统. 将 siRNA 固定到 QD-PEI 纳米颗粒以促进细胞内释放和减少纳米颗粒表面的变化, 再以原有的构象和高亲和力偶合 siRNA

和适配体, 从而进行有效的 RNA 干扰.

4 存在的问题

核酸适配体用于肿瘤的靶向治疗已初步显示出一定的优越性. 适配体可以特异性结合各种分子靶点, 然而核酸适体需要首先逃脱网状内皮系统和肾的清除, 然后才能积聚在肿瘤部位并和肿瘤细胞上的受体相互作用, 介导纳米粒子进入肿瘤细胞. 这种靶向只有在在适配体和受体接触时, 靶向功能才能发挥. 核酸适配体的构象改变也不能被忽视. 核酸适配体结合靶标依赖于它们的二级或三级构造, 随着核酸适配体所在的环境不同. 各种破坏二级或三级构造的因素(如温度、pH、离子强度等)都可能影响其结合能力, 并限制核酸适配体的应用. 此外, 体内靶物质的构象不像体外实验的靶物质一样保持恒定不变. 如果体内靶细胞的表面发生小的变化, 适配体可能无法和靶物质结合.

核酸适配体的化学稳定性也是一个重要因素. 核酸适配体在血液中可能被血清核酸酶降解, 有些未修饰的核酸适配体在血液中的半衰期很短, 如何修饰使其不易降解是值得考虑的, RNA 核酸适配体经化学修饰后能提高其稳定性, 然而成本会大大增加. 同时采用 PEG 修饰可以提高其在体内的稳定性和循环时间, 避免网状内皮系统吞噬.

Apt-siRNA 嵌合体具有很小的免疫原性, 易于化学合成, 然而其细胞转染效率低. 采用纳米粒子可以帮助 siRNA 通过 EPR 效应来增加对肿瘤部位的积累, 并提高细胞跨膜效率, 但粒子大小, 特别是带电情况, 有可能影响 siRNA 递送的效率. 嵌合体最大的挑战是细胞质递送. 它们必须在进入溶酶体之前成功地从内涵体逃逸, 而溶酶体中的核酸酶和低 pH 条件下的存在有可能导致 siRNA 的降解并释放到细胞质中^[81]. 纳米粒子和 siRNA 的结合可在某种程度上通过空间位阻效应保护其免受降解. 此外, 嵌合体的 RNAi 效力可能不同于未改性的 siRNA^[82].

5 前景与展望

随着核酸适配体在肿瘤靶向治疗中的不断研究, 基于细胞的 SELEX 技术是以后的主要发展方向, 简单的适配体和药物或 siRNA 结合策略应是首选, 但纳米粒子结合能提高其肿瘤细胞摄取量. 采用组合疗法将 siRNA 和嵌有化疗药物的核酸适配体共递送是一种可增加药效的策略, 达到协同或相加的目的.

不同靶向的核酸适配体同时运用, 构建双靶向或多靶向的递药系统, 能提高抗肿瘤效果. 将核酸适配体形成聚合物或多个核酸适配体构建成纳米器件再嵌入化疗药物, 是比较新的递药思路. 根据肿瘤的类型、药物的性质可以选择合适的剂型. 如何对核酸适配体进行修饰以增加其稳定性, 如何筛选具有更高亲和力和新型广谱肿瘤靶向性的核酸适配体, 如何提高核酸适配体和药物载体的跨膜性能, 探讨核酸适配体的细胞内转运机制及生物学效应, 研究其动物体内的代谢动力学、体内稳定性、肿瘤靶向性等将

是今后适配体在生物医学领域的研究重点和热点. 目前大多数研究还处于基础研究阶段, 要把核酸适配体变成药物用于临床还需要进一步确定其有效性和安全性. 核酸适配体介导的靶向给药系统虽然不够完善, 但随着研究的更加深入和技术的不断完善, 核酸适配体将会在疾病的治疗中发挥重要的作用且具有广阔的发展空间. 有机结合医学、药学、生物学、化学、物理学和纳米科学等领域的知识和技术, 系统地开展研究, 将会推动核酸适配体走向实际应用, 从而发展肿瘤靶向治疗的新技术和新药物.

参考文献

- 1 Ellington A D, Szostak J W. *In vitro* selection of RNA molecules that bind specific ligands. *Nature*, 1990, 346: 818–822
- 2 Tuerk C, Gold L. Systematic evolution of ligands by exponential enrichment: RNA ligands to bacteriophage T4 DNA polymerase. *Science*, 1990, 249: 505–510
- 3 Hermann T, Patel D J. Adaptive recognition by nucleic acid aptamers. *Science*, 2000, 287: 820–825
- 4 Shangguan D, Meng L, Cao Z C, et al. Identification of liver cancer-specific aptamers using whole live cells. *Anal Chem*, 2008, 80: 721–728
- 5 Xiao Z, Shangguan D, Cao Z, et al. Cell-specific internalization study of an aptamer from whole cell selection. *Chemistry*, 2008, 14: 1769–1775
- 6 Chen F, Zhou J, Luo F, et al. Aptamer from whole-bacterium SELEX as new therapeutic reagent against virulent *Mycobacterium tuberculosis*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 357: 743–748
- 7 Eaton B E. The joys of *in vitro* selection: Chemically dressing oligonucleotides to satiate protein targets. *Curr Opin Chem Biol*, 1997, 1: 10–16
- 8 Levy-Nissenbaum E, Radovic-Moreno A F, Wang A Z, et al. Nanotechnology and aptamers: Applications in drug delivery. *Trends Biotechnol*, 2008, 26: 442–449
- 9 Farokhzad O C, Cheng J, Tepley B A, et al. Targeted nanoparticle-aptamer bioconjugates for cancer chemotherapy *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 6315–6320
- 10 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: 8149–8152
- 11 Shieh Y A, Yang S J, Wei M F, et al. Aptamer-based tumor-targeted drug delivery for photodynamic therapy. *ACS Nano*, 2010, 4: 1433–1442
- 12 Liu Z, Duan J H, Song Y M, et al. Novel HER2 aptamer selectively delivers cytotoxic drug to HER2-positive breast cancer cells *in vitro*. *J Transl Med*, 2012, 10: 148
- 13 Hu Y, Duan J, Zhan Q, et al. Novel MUC1 aptamer selectively delivers cytotoxic agent to cancer cells *in vitro*. *PLoS One*, 2012, 7: e31970
- 14 Subramanian N, Raghunathan V, Kanwar J R, et al. Target-specific delivery of doxorubicin to retinoblastoma using epithelial cell adhesion molecule aptamer. *Mol Vis*, 2012, 18: 2783–2795
- 15 Zhang Z, Ali M M, Eckert M A, et al. A polyvalent aptamer system for targeted drug delivery. *Biomaterials*, 2013, 34: 9728–9735
- 16 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: 862–868
- 17 Boyacioglu O, Stuart C H, Kulik G, et al. Dimeric DNA aptamer complexes for high-capacity-targeted drug delivery using pH-sensitive covalent linkages. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2013, 2: e107
- 18 Farokhzad O C, Jon S, Khademhosseini A, et al. Nanoparticle-aptamer bioconjugates: A new approach for targeting prostate cancer cells. *Cancer Res*, 2004, 64: 7668–7672
- 19 Cheng J, Tepley B A, Sherifi I, et al. Formulation of functionalized PLGA-PEG nanoparticles for *in vivo* targeted drug delivery. *Biomaterials*, 2007, 28: 869–876
- 20 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: 17356–17361

- 21 Dhar S, Kolishetti N, Lippard 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: 1850–1855
- 22 Zhang L, Radovic-Moreno A F, Alexis F, et al. Co-delivery of hydrophobic and hydrophilic drugs from nanoparticle-aptamer bioconjugates. *ChemMedChem*, 2007, 2: 1268–1271
- 23 Gu F, Zhang L, Teply B A, et al. Precise engineering of targeted nanoparticles by using self-assembled biointegrated block copolymers. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 2586–2591
- 24 Tong R, Yala L, Fan T M, et al. The formulation of aptamer-coated paclitaxel-poly(lactide) nanoconjugates and their targeting to cancer cells. *Biomaterials*, 2010, 31: 3043–3053
- 25 Yu C, Hu Y, Duan J, et al. Novel aptamer-nanoparticle bioconjugates enhances delivery of anticancer drug to MUC1-positive cancer cells *in vitro*. *PLoS One*, 2011, 6: e24077
- 26 Guo J, Gao X, Su L, et al. Aptamer-functionalized PEG-PLGA nanoparticles for enhanced anti-glioma drug delivery. *Biomaterials*, 2011, 32: 8010–8020
- 27 Gao H, Qian J, Yang Z, et al. Whole-cell SELEX aptamer-functionalised poly(ethyleneglycol)-poly(epsilon-caprolactone) nanoparticles for enhanced targeted glioblastoma therapy. *Biomaterials*, 2012, 33: 6264–6272
- 28 Aravind A, Nair R, Raveendran S, et al. Aptamer conjugated paclitaxel and magnetic fluid loaded fluorescently tagged PLGA nanoparticles for targeted cancer therapy. *J Magn Magn Mater*, 2013, 344: 116–123
- 29 Kolishetti N, Dhar S, Valencia P M, et al. Engineering of self-assembled nanoparticle platform for precisely controlled combination drug therapy. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 17939–17944
- 30 Zhou W, Zhou Y, Wu J, et al. Aptamer-nanoparticle bioconjugates enhance intracellular delivery of vinorelbine to breast cancer cells. *J Drug Target*, 2014, 22: 57–66
- 31 Gao H, Yang Z, Zhang S, et al. Study and evaluation of mechanisms of dual targeting drug delivery system with tumor microenvironment assays compared with normal assays. *Acta Biomater*, 2013, 10: 858–867
- 32 Kurosaki T, Higuchi N, Kawakami S, et al. Self-assemble gene delivery system for molecular targeting using nucleic acid aptamer. *Gene*, 2012, 491: 205–209
- 33 Kim E, Jung Y, Choi H, et al. Prostate cancer cell death produced by the co-delivery of Bcl-xL shRNA and doxorubicin using an aptamer-conjugated polyplex. *Biomaterials*, 2010, 31: 4592–4599
- 34 Xu Z P, Zeng Q H, Lu G Q, et al. Inorganic nanoparticles as carriers for efficient cellular delivery. *Chem Eng Sci*, 2006, 61: 1027–1040
- 35 Madani S Y, Naderi N, Dissanayake O, et al. A new era of cancer treatment: Carbon nanotubes as drug delivery tools. *Int J Nanomed*, 2011, 6: 2963–2979
- 36 Meng L, Zhang X, Lu Q, et al. Single walled carbon nanotubes as drug delivery vehicles: Targeting doxorubicin to tumors. *Biomaterials*, 2012, 33: 1689–1698
- 37 Niu L, Meng L, Lu Q. Folate-conjugated PEG on single walled carbon nanotubes for targeting delivery of doxorubicin to cancer cells. *Macromol Biosci*, 2013, 13: 735–744
- 38 Taghdisi S M, Lavace P, Ramezani M, et al. Reversible targeting and controlled release delivery of daunorubicin to cancer cells by aptamer-wrapped carbon nanotubes. *Eur J Pharm Biopharm*, 2011, 77: 200–206
- 39 Zhu Z, Tang Z, Phillips J A, et al. Regulation of singlet oxygen generation using single-walled carbon nanotubes. *J Am Chem Soc*, 2008, 130: 10856–10857
- 40 Hu X, Mu L, Wen J, et al. Covalently synthesized graphene oxide-aptamer nanosheets for efficient visible-light photocatalysis of nucleic acids and proteins of viruses. *Carbon*, 2012, 50: 2772–2781
- 41 Pissuwan D, Niidome T, Cortie M B. The forthcoming applications of gold nanoparticles in drug and gene delivery systems. *J Control Release*, 2011, 149: 65–71
- 42 Rana S, Bajaj A, Mout R, et al. Monolayer coated gold nanoparticles for delivery applications. *Adv Drug Deliv Rev*, 2012, 64: 200–216
- 43 Ryou S M, Kim J M, Yeom J H, et al. Gold nanoparticle-assisted delivery of small, highly structured RNA into the nuclei of human cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 416: 178–183
- 44 Sundaram P, Wower J, Byrne M E. A nanoscale drug delivery carrier using nucleic acid aptamers for extended release of therapeutic. *Nanomedicine*, 2012, 8: 1143–1151
- 45 Luo Y L, Shiao Y S, Huang Y F. Release of photoactivatable drugs from plasmonic nanoparticles for targeted cancer therapy. *ACS Nano*, 2011, 5: 7796–7804
- 46 Wang J, Sefah K, Altman M B, et al. Aptamer-conjugated nanorods for targeted photothermal therapy of prostate cancer stem cells. *Chem Asian J*, 2013, 8: 2417–2422
- 47 Yang X, Liu X, Liu Z, et al. Near-infrared light-triggered, targeted drug delivery to cancer cells by aptamer gated nanovehicles. *Adv Mater*, 2012, 24: 2890–2895

- 48 Wu W, Aiello M, Zhou T, et al. *In-situ* immobilization of quantum dots in polysaccharide-based nanogels for integration of optical pH-sensing, tumor cell imaging, and drug delivery. *Biomaterials*, 2010, 31: 3023–3031
- 49 Savla R, Taratula O, Garbuzenko O, et al. Tumor targeted quantum dot-mucin 1 aptamer-doxorubicin conjugate for imaging and treatment of cancer. *J Control Release*, 2011, 153: 16–22
- 50 Li Z, Huang P, He R, et al. Aptamer-conjugated dendrimer-modified quantum dots for cancer cell targeting and imaging. *Mater Lett*, 2010, 64: 375–378
- 51 Wang A Z, Bagalkot V, Vasilliou C C, et al. Superparamagnetic iron oxide nanoparticle-aptamer bioconjugates for combined prostate cancer imaging and therapy. *ChemMedChem*, 2008, 3: 1311–1315
- 52 Tekade R K, Dutta T, Gajbhiye V, et al. Exploring dendrimer towards dual drug delivery: pH responsive simultaneous drug-release kinetics. *J Microencapsul*, 2009, 26: 287–296
- 53 Samad A, Alam M I, Saxena K. Dendrimers: A class of polymers in the nanotechnology for the delivery of active pharmaceuticals. *Curr Pharm Des*, 2009, 15: 2958–2969
- 54 Quadir M A, Haag R. Biofunctional nanosystems based on dendritic polymers. *J Control Release*, 2012, 161: 484–495
- 55 Lee I H, An S, Yu M K, et al. Targeted chemoimmunotherapy using drug-loaded aptamer-dendrimer bioconjugates. *J Control Release*, 2011, 155: 435–441
- 56 Lee I H, Yu M K, Kim I H, et al. A duplex oligodeoxynucleotide-dendrimer bioconjugate as a novel delivery vehicle for doxorubicin in *in vivo* cancer therapy. *J Control Release*, 2011, 155: 88–95
- 57 Liu H, Topping T, Dong M, et al. DNA-templated covalent coupling of G4 PAMAM dendrimers. *J Am Chem Soc*, 2010, 132: 18054–18056
- 58 Wagner A, Platzgummer M, Kreismayr G, et al. GMP production of liposomes—A new industrial approach. *J Liposome Res*, 2006, 16: 311–319
- 59 Palaniyandi K, Pockaj B A, Gendler S J, et al. Human breast cancer stem cells have significantly higher rate of clathrin-independent and caveolin-independent endocytosis than the differentiated breast cancer cells. *J Cancer Sci Ther*, 2012, 4: 214–222
- 60 Wang C H, Kang S T, Lee Y H, et al. Aptamer-conjugated and drug-loaded acoustic droplets for ultrasound theranosis. *Biomaterials*, 2012, 33: 1939–1947
- 61 Kang H, O'Donoghue M B, Liu H, et al. A liposome-based nanostructure for aptamer directed delivery. *Chem Commun*, 2010, 46: 249–251
- 62 Cao Z, Tong R, Mishra A, et al. Reversible cell-specific drug delivery with aptamer-functionalized liposomes. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2009, 48: 6494–6498
- 63 Xing H, Tang L, Yang X, et al. Selective delivery of an anticancer drug with aptamer-functionalized liposomes to breast cancer cells *in vitro* and *in vivo*. *J Mater Chem B Mater Biol Med*, 2013, 1: 5288–5297
- 64 Xu W, Siddiqui I A, Nihal M, et al. Aptamer-conjugated and doxorubicin-loaded unimolecular micelles for targeted therapy of prostate cancer. *Biomaterials*, 2013, 34: 5244–5253
- 65 Wu Y, Sefah K, Liu H, et al. DNA aptamer-micelle as an efficient detection/delivery vehicle toward cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 5–10
- 66 Pearce T R, Waybrant B, Kokkoli E. The role of spacers on the self-assembly of DNA aptamer-amphiphiles into micelles and nanotapes. *Chem Commun*, 2013, 50: 210–212
- 67 Fire A, Xu S, Montgomery M K, et al. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 1998, 391: 806–811
- 68 Hannon G J, Rossi J J. Unlocking the potential of the human genome with RNA interference. *Nature*, 2004, 431: 371–378
- 69 Guo P, Coban O, Snead N M, et al. Engineering RNA for targeted siRNA delivery and medical application. *Adv Drug Deliv Rev*, 2010, 62: 650–666
- 70 王啸林, 王清清, 宋海峰. 适配子介导 siRNA 靶向递送系统的研究进展. *药学报*, 2012, 47: 850–855
- 71 McNamara J O II, Andrechek E R, Wang Y, et al. Cell type-specific delivery of siRNAs with aptamer-siRNA chimeras. *Nat Biotechnol*, 2006, 24: 1005–1015
- 72 Dassie J P, Liu X Y, Thomas G S, et al. Systemic administration of optimized aptamer-siRNA chimeras promotes regression of PSMA-expressing tumors. *Nat Biotechnol*, 2009, 27: 839–849
- 73 Liu H Y, Gao X. A Universal protein tag for delivery of siRNA-aptamer chimeras. *Sci Rep*, 2013, 3: 3129
- 74 Chu T C, Twu K Y, Ellington A D, et al. Aptamer mediated siRNA delivery. *Nucleic Acids Res*, 2006, 34: e73
- 75 Wullner U, Neef I, Eller A, et al. Cell-specific induction of apoptosis by rationally designed bivalent aptamer-siRNA transcripts silencing eukaryotic elongation factor 2. *Curr Cancer Drug Targets*, 2008, 8: 554–565

- 76 Kim Y H, Sung H J, Kim S, et al. An RNA aptamer that specifically binds pancreatic adenocarcinoma up-regulated factor inhibits migration and growth of pancreatic cancer cells. *Cancer Lett*, 2011, 313: 76–83
- 77 Zhao Q Q, Chen J L, Lv T F, et al. N/P ratio significantly influences the transfection efficiency and cytotoxicity of a polyethylenimine/chitosan/DNA complex. *Biol Pharm Bull*, 2009, 32: 706–710
- 78 Lee S Y, Huh M S, Lee S, et al. Stability and cellular uptake of polymerized siRNA (poly-siRNA)/polyethylenimine (PEI) complexes for efficient gene silencing. *J Control Release*, 2010, 141: 339–346
- 79 Zhao N, Bagaria H G, Wong M S, et al. A nanocomplex that is both tumor cell-selective and cancer gene-specific for anaplastic large cell lymphoma. *J Nanobiotechnology*, 2011, 9: 2
- 80 Bagalkot V, Gao X. siRNA-aptamer chimeras on nanoparticles: Preserving targeting functionality for effective gene silencing. *ACS Nano*, 2011, 5: 8131–8139
- 81 Dominska M, Dykxhoorn D M. Breaking down the barriers: siRNA delivery and endosome escape. *J Cell Sci*, 2010, 123: 1183–1189
- 82 Oh Y K, Park T G. siRNA delivery systems for cancer treatment. *Adv Drug Deliv Rev*, 2009, 61: 850–862

Current progress towards the use of aptamers in targeted cancer therapy

LIU ZhenBao, SHI YiQian, CHEN ZhangRen, DUAN LinHua & WANG XinRu

Department of Pharmaceutics, School of Pharmaceutical Sciences, Central South University, Changsha 410013, China

Aptamers are a class of oligonucleotides that can specifically bind to targeted molecules, such as proteins, ions, small compounds, and cell surface receptors. Their specificity and affinity properties are equal to those of antibodies and can be sometimes be stronger. Aptamers exhibit low immunogenicity and good stability, as well as the ability to conjugate with various drug carriers for the construction of targeted multi-element drug delivery systems. These systems have attracted considerable interest from researchers working in the field of biomedical research. This paper provides a review of the latest progress in research directed towards the use of aptamers bound to drugs or nanoparticle carriers, such polymers, inorganic nanoparticles (e.g., carbon nanotubes, graphene oxide, gold nanoparticles, mesoporous silica nanoparticles, quantum dots, and magnetic nanoparticles), dendrimers, liposomes, and micelles for the formation of targeted drug delivery systems for use in targeted cancer therapy.

aptamer, drug delivery system, targeted drug delivery, targeted cancer therapy, nanoparticles

doi: 10.1360/972013-1046