



肿瘤微环境响应聚合物胶束在肿瘤诊疗中的应用

许智谦, 颜可昕, 杨承英杰, 邓雨琪, 刘坚华*, 何伟娜*

上海交通大学医学院, 上海 200025

* 联系人, E-mail: jhliu7912@sjtu.edu.cn; hewn0319@sjtu.edu.cn

2023-07-13 收稿, 2023-09-04 修回, 2023-09-06 接受, 2023-09-07 网络版发表

上海交通大学医学院第16期大学生创新训练计划(1622Y033)资助

摘要 肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)是一种在肿瘤发生发展过程中,由肿瘤细胞与浸润的免疫细胞、基质细胞、血管、细胞外基质和分泌因子等共同构成的特殊生理环境,表现出乏氧、弱酸性、高内源性过氧化氢(H_2O_2)浓度、高谷胱甘肽(glutathione, GSH)含量,以及部分酶过度表达等特征。目前,基于TME响应聚合物胶束(polymeric micelles, PMs)体系为药物的精准递送提供了新思路,在纳米医学领域引起了越来越多的关注。TME响应PMs,在正常生理环境(如血液)中保持结构稳定,而到达肿瘤组织后,可通过质子化、界面电性翻转、化学键水解等物理化学变化来响应TME的生理特性,提高对肿瘤组织的靶向能力,实现在肿瘤组织中的有效富集。本文回顾了近年来TME响应PMs的研究进展,重点介绍了TME响应PMs的设计思路、响应机制和靶向策略。在对各响应策略进行归纳整理之后,总结比较了各响应策略的优势及其不足。并在此基础上,探讨了TME响应PMs在肿瘤精准诊疗中更多的应用前景。

关键词 肿瘤微环境, 纳米递送系统, 聚合物胶束, 肿瘤靶向, 环境刺激响应

时至今日,肿瘤已成为威胁人类健康和生命的头号“杀手”,肿瘤的预防、诊断和治疗备受人们关注。随着医学界对肿瘤认识的不断深入,以及肿瘤诊断技术的不断发展与成熟,肿瘤诊疗已经由“经验医学”迈入“精准医学”新时代。肿瘤的精准诊断和治疗已成为一个热门的研究领域。虽然目前已开发多种肿瘤显影剂及靶向抗癌药物,但其在临床诊断和治疗中的应用仍受限于靶向性不足带来的显像和治疗效果不佳以及脱靶造成的严重毒副作用等问题^[1,2]。因此,如何进一步提高肿瘤诊疗的靶向性是亟待解决的关键问题之一。

在正常组织中,基质是抗肿瘤产生的天然屏障。当正常组织发生癌变后,其组织环境会发生一系列变化,最终转化为可促进肿瘤血管生成,有利于肿瘤生长和转移的肿瘤微环境(tumor microenvironment, TME)^[3]。

TME是在肿瘤发生发展过程中由癌细胞过度增殖和代谢紊乱所形成的一种特殊的生理环境,由肿瘤细胞与浸润的免疫细胞、基质细胞、血管、细胞外基质和分泌因子等共同构成,表现为乏氧^[4]、弱酸性^[5]、高内源性过氧化氢(H_2O_2)浓度、高谷胱甘肽(glutathione, GSH)含量,以及部分酶的过度表达等生理特征。传统的肿瘤治疗手段,无论是化疗、放疗、手术,抑或是新兴的肿瘤基因靶向疗法,疗效的持久性和抗复发性都会不同程度地受到TME的干扰^[6]。因此,立足于TME与正常组织环境的诸多差异所提出的多种新型肿瘤显像和靶向干预治疗方案^[7-9]将体现出较大的临床应用优势。

在众多基于TME的显像和治疗方案中,运用纳米材料搭载显像剂或治疗药物是一种被广泛研究并被寄予厚望的策略。纳米材料是指至少有一维处于纳米尺

引用格式: 许智谦, 颜可昕, 杨承英杰, 等. 肿瘤微环境响应聚合物胶束在肿瘤诊疗中的应用. 科学通报, 2023, 68: 4968–4981

Xu Z Q, Yan K X, Yang C Y J, et al. Application of TME-responsive polymeric micelles in tumor diagnosis and treatment (in Chinese). Chin Sci Bull, 2023, 68: 4968–4981, doi: [10.1360/TB-2023-0495](https://doi.org/10.1360/TB-2023-0495)

寸(1~100 nm), 或由它们作为基本单元所构成的材料^[10]. 纳米材料具有小尺寸效应、表面效应、量子尺寸效应、宏观量子隧道效应、介电限域等基本特征, 使其在力学、电学、磁学、热学、光学等方面呈现出特殊的物理性质, 在生物医药领域展现出广阔的应用前景.

根据组成成分的不同, 纳米材料可分为金属纳米材料、无机纳米材料、有机纳米材料和有机/无机杂化纳米材料. 有机纳米材料具有易制备、易调控、生物相容性好等优势, 在生物医学领域受到研究者的更多关注. 其中, 能够响应TME的聚合物胶束(polymeric micelles, PMs)为显像剂/化疗药物的靶向递释提供了理想的“智能”载体^[3]. TME响应PMs, 在正常生理环境(如血液)中保持稳定. 而当其抵达肿瘤组织后, 在TME中可发生化学键或氢键的生成/断裂、质子化/去质子化等变化, 进而促使组装体在形貌、亲疏水性、表面电荷、聚集态等^[5,11]物化特性方面发生改变, 实现肿瘤处富集和/或肿瘤内崩解释放“货物”的目的, 最终提升肿瘤靶向诊疗效果.

本文总结了TME响应PMs用于肿瘤精准诊疗的设计思路、响应机制及靶向策略; 在简介TME响应PMs的响应原理和设计思路之后, 分类介绍了响应于乏氧、弱酸性、高内源性H₂O₂浓度、过量GSH和部分酶过度表达的PMs在肿瘤靶向递送中的应用, 对近几年的相关研究进行梳理总结; 最后, 对TME响应PMs用于肿瘤精准诊疗的局限性和未来研究方向进行了分析、讨论与预测.

1 PMs

1.1 PMs简介

PMs是两亲性嵌段共聚物分散于选择性溶剂中, 在

浓度高于其临界胶束浓度(critical micelle concentration, CMC)时所形成的组装体^[12], 是在药物递送研究中应用最广泛的有机纳米组装体. PMs尺寸为10~100 nm, 具有“核-壳”基本结构^[13]. 根据制备工艺的不同, PMs可呈现出球状、棒状、蠕虫状、片状、囊泡状等多种形貌. PMs内核由共聚物中的疏水链段组成, 有利于亲脂性药物的“增溶”, 所以内核被称为“货物空间”^[14]. 内核的外围则是由共聚物中的亲水链段组成的形似“电晕”的壳层^[15], 如图1所示. 这种特殊的“核-壳”结构是两亲性嵌段共聚物于选择性溶剂中在疏水相互作用下自组装形成的能量最低、最稳定的状态. 在生物医学领域, PMs在药物靶向递送及释放、生物体成像、细胞标记、生物传感器以及再生医学等方面展现出越来越多的应用优势^[16].

1.2 PMs的特征

PMs应用于显像剂/化疗药物的负载和递送时, 具有以下优点.

第一, PMs可以利用其特殊的“核-壳”结构, 通过包埋、物理吸附、化学结合等多种方式负载药物^[17], 如图1所示, 避免药物提前作用于正常组织或被清除至体外, 实现药物的有效递送.

第二, PMs可通过壳层亲水性和电负性的调控, 减少单核吞噬细胞系统和正常组织对胶束的非特异性摄取. 一方面, 聚乙二醇(PEG)^[18]等亲水性链段所形成的具有生理“隐身”功能的亲水壳层, 能较大程度地抑制调理素的黏附, 帮助PMs逃避免疫监视, 避免被单核吞噬细胞系统中的巨噬细胞大量摄取, 使PMs具有较长的体内循环时间^[17-20]; 另一方面, 通过表面修饰2,3-二甲基马来酸酐(DMA)等基团, 可以提高胶体表面的电负性, 利用其与细胞膜的静电排斥力, 避免其被正常组织中的细胞所摄取, 同样也可以达到延长体内循环时间

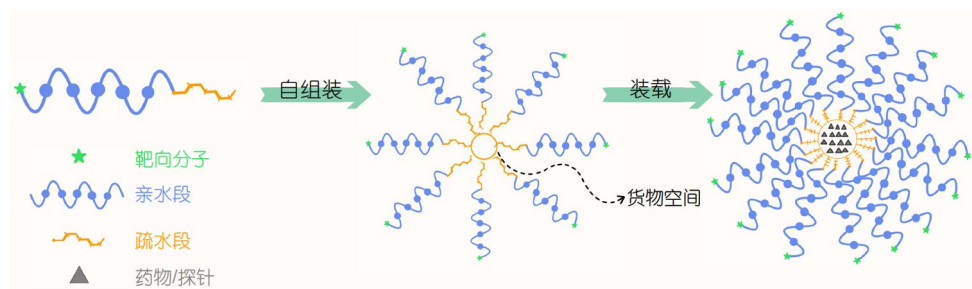


图1 (网络版彩色) 聚合物胶束的形成及载药机制示意图

Figure 1 (Color online) Schematic diagram of the formation mechanism of drug-loaded PMs

的目的,同时降低所载药物对正常组织的细胞毒性^[3,5].而较长的体内循环时间正是构建肿瘤靶向纳米药物递送系统并保证其在肿瘤组织中有效积累的重要前提.

第三,PMs可以借助实体肿瘤的高渗透性和滞留效应(enhanced permeability and retention effect, EPR),实现对肿瘤组织的被动靶向.正常组织微血管的内皮间隙致密且结构完整,使得胶束和大分子物质难以通过.而实体肿瘤中血管丰富,血管壁间隙较宽、结构完整性差,导致血液淋巴回流缺失,使得胶束和大分子表现出高渗透性和长滞留性.而PMs尺寸介于10~100 nm之间时,易于渗透并滞留于肿瘤细胞间隙的空间内^[21,22],从而将所载药物或显像剂递送至实体瘤组织中^[23].

最后,也是最重要的,PMs的结构具有很高的可塑性.结构优化后的PMs能够感知周围环境的变化,从而在尺寸、形貌、组装/解组装、表面电荷等结构特点和行为特征上做出相应的改变.针对肿瘤组织特殊的TME,可通过合理的结构设计,赋予PMs对TME做出响应的能力,以进一步提升PMs对肿瘤部位的靶向性,降低其对正常细胞、组织的毒副作用.

基于上述优点,利用PMs构建TME响应纳米递送系统是十分有效的策略,在生物医药领域具有广泛的应用前景.

2 TME响应PMs

目前,药物递送系统的TME响应策略有:pH响应、活性氧(ROS)响应、酶响应、GSH响应、乏氧响应以及建立在单一响应模式之上的多重响应等^[3].

2.1 pH响应PMs

正常组织和TME的酸碱性和具有一定的差异性.正常组织及血液中的pH在7.4左右.而肿瘤细胞生长、分裂速度较快,代谢旺盛,在其组织体积较大时,常出现乏氧的情况.此时肿瘤组织的代谢以无氧呼吸为主,产生大量乳酸.这导致TME呈弱酸性,pH维持在6.5~7.2之间^[24].利用这一特性,便可以实现PMs对肿瘤组织的特异性靶向富集以及所载“货物”的定点释放.

在PMs的设计中,可以通过在TME中碱性官能团发生质子化或是酸敏感化学键断裂引起胶束电性转变,促进PMs在肿瘤组织处的特异性摄取.呈负电性的PMs不易被正常细胞内吞.而在肿瘤组织的弱酸环境下,随着质子化程度的增加或酸敏感化学键的断裂,胶束表面从负电性转换为正电性,变得易被肿瘤细胞摄取,从

而实现胶束于肿瘤组织处的有效富集.目前被广泛应用、可实现电荷反转的酸敏感化学键有亚胺键和 β -羧基酰胺键等,其中 β -羧基酰胺键又可细分为2,3-二甲基马来酸酰胺键^[5]、柠檬酸酰胺键^[25]、1,2-二羧酸环己烯酸酰胺键^[26]和羧二甲基酸酰胺键^[27]等.由于结构中往往存在羧基,使含 β -羧基酰胺键的PMs在生理pH条件下通常带负电,而 β -羧基酰胺键在TME微酸环境中可水解成相应的胺衍生物和羧酸或二羧酸,生成的胺发生质子化可使PMs所带电荷由原本的负电荷转变为正电荷^[28].

对于PMs定点释放“货物”,则可采用以下策略:(1)酸敏感化学键在酸性条件下断裂,释放化学共价连接的“货物”;(2)酸敏感官能团于酸性环境中发生质子化,引起胶束电性变化或亲疏水性的变化,引发胶束溶胀或解离,释放“货物”;(3)酸敏感化学键在酸性条件下断裂,引起胶束亲疏水性的变化,引发胶束溶胀或解离,释放“货物”.

Guo等人^[29]开发了一种同时负载阿霉素(doxorubicin, DOX)和拉帕替尼(Lapatinib, LAP)的双pH响应聚碳酸酯胶束(DOX+LAP-M).DOX是一种广泛使用的抗癌药物,主要通过嵌入癌细胞DNA导致细胞死亡.LAP是一种双酪氨酸激酶抑制剂,具有抑制表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)和人表皮受体2(human epidermal growth factor receptor 2, HER-2)的活性,已被证明对肿瘤生长和转移具有潜在抑制作用,尤其适用于蒽环类药物、紫杉醇(paclitaxel, PTX)或曲妥珠单抗治疗后晚期或转移性乳腺癌的临床治疗.DOX和LAP的联合使用有望提升DOX的化学敏感性并达到协同抗癌效果.在胶束的设计上,DOX通过可于酸性条件下水解的亚胺键共价偶联于聚碳酸酯PMs上,而LAP则被物理封装在胶束内.在弱酸性TME中,胶束中的叔胺结构发生质子化,实现胶束表面从负电性转为正电性,从而增强其细胞内吞摄取;而内吞发生后,亚胺键在细胞内酸性环境中迅速断裂,释放DOX,同时由于胶束中的聚碳酸酯水解,使得胶束亲水性增加,发生膨胀释放所载LAP,实现抗癌药物DOX和LAP的同步释放,协同抑制细胞增殖.该靶向递药系统对小鼠乳腺癌细胞系4T1具有明显的抗增殖作用,同时有望降低4T1肿瘤的转移风险.

Tang等人^[5]用2,3-二甲基马来酸酐(dimethylmaleic anhydride, DMA)、聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)-聚[(1,4-丁二醇)-二丙烯酸酯-*b*-5-氨基-1-戊醇]

(PDHA)嵌段共聚物和聚乙烯亚胺(polyethyleneimine, PEI)-PDHA嵌段共聚物共组装构建了一种负载PTX的双pH响应PMs(dual-pH sensitive micelle, DPM), 用于肿瘤的治疗。在DPM结构中, PEG可延长胶束在血液中的循环时间; DMA可为胶束提供负电荷, 避免被正常组织内吞; 而PEI在酸性条件下是一种聚阳离子电解质, 使胶束带正电荷。当DPM进入肿瘤组织后, 由于DMA中酸敏感酰胺键断裂以及PEI的质子化, 使得胶束表面带正电荷, 进而被肿瘤细胞摄取。而在DPM被内吞入肿瘤细胞后, PDHA链段迅速发生质子化, 分子链由疏水性转变为亲水性, 实现DPM的解离和所载药物的快速释放。在DPM的结构设计中, DMA外壳的TME响应脱落, 有助于DPM在肿瘤组织中的有效累积及肿瘤细胞的内吞摄取。其与pH触发的药物快速释放相结合, 使得该载药系统在4T1荷瘤小鼠上显示出更为明显的抗肿瘤效果, 有望实现转移性乳腺癌的精准治疗。DPM作为一类新型TME响应PMs, 大大减少了药物在正常组织中的分布, 适用于输送毒副作用较大的药物。

此外, 多肽分子在不同的环境下发生电性变化从而引发组装体降解也是应用较广的药物递送策略。Zhu等人^[30]设计并合成了两亲性多肽P14(AAAFFHHHGRGD), 该多肽具有出色的肿瘤靶向性和pH敏感性。RGD片段可以实现肿瘤靶向, 苯丙氨酸残基可以增加P14肽的疏水性和载药量, 而组氨酸可以提高P14肽的pH敏感性。组氨酸的侧链结构中含有咪唑基团, 在中性条件下基本不带电, 而进入弱酸性的TME和酸性更强的肿瘤内涵体之后, 组氨酸侧链发生质子化并携带正电荷, 残基之间的静电排斥明显增大, 进而破坏两亲性多肽自组装结构的稳定性, 实现胶束解离和药物DOX释放, 从而有效促进人乳腺癌细胞MCF-7的凋亡。与游离DOX相比, 多肽载药体系在体外实验中表现出更强的抑制肿瘤细胞生长和促进肿瘤凋亡的能力。

在上述3个例子中, 研究人员都是利用酸敏感官能团的质子化引发胶束亲疏水性的变化, 最终引起胶束的解离实现“货物”的释放。利用酸敏感化学键的断裂引起胶束亲疏水性变化从而触发胶束溶胀或解组装是另一个常见的策略。针对TME的弱酸性环境和肿瘤细胞内涵体的酸性环境, 可将亲水性链段和疏水性链段采用酸敏感化学键进行连接, 如缩醛基团^[31]、亚胺键^[32]、胺键^[33~35]、希夫碱基^[36]、 β -硫代丙酸酯键^[37]等。此类胶束在进入肿瘤组织后由于酸敏感化学键的

断裂实现胶束解离和药物释放; 也可使用上述酸性敏感化学键将亲水部分暂时“伪装”成疏水部分, 在TME或内涵体的环境中, 发生酸敏感化学键的断裂, 导致PMs亲疏水的变化, 发生溶胀, 引发药物释放。

Qi等人^[35]设计了一种含胺键的聚乙二醇-聚乳酸三嵌段共聚物胶束(PEG-DiHyd-PLA PMs)递药系统。在中性环境中递药系统稳定存在, 而在弱酸TME及被细胞内吞后, 胺键断裂, PMs解离, 促使其释放所负载的DOX, 以杀死MCF-7和HepG-2细胞。该递药体系具有较高的抗肿瘤活性和更高的生物安全性。

Domíński等人^[38]制备聚乙二醇-*b*-聚碳酸酯-*b*-寡聚[R]-3-羟基丁酸(PEG-PKPC-oPHB)PMs用于靶向递送DOX、8-羟基喹啉-葡萄糖(8HQ-Glu)偶联物或8-羟基喹啉-半乳糖(8HQ-Gal)偶联物。弱酸性TME引发PMs中的缩酮基团水解为两个羟基, 增加了疏水性胶束核心的亲水性, 导致胶束溶胀, 从而释放所负载药物。噻唑蓝比色法(MTT)实验结果表明, 该胶束本身安全无毒, 而载药后胶束对人结肠腺癌细胞系HCT-116显示出明显的抑制效果, 实现了pH响应且可控的药物释放。该pH响应性PMs可通过肿瘤靶向释药提高抗癌药物的生物安全性, 有望成为抗肿瘤药物的新型靶向载体。

2.2 还原响应PMs

血液或正常细胞外基质中GSH的浓度约为2~20 $\mu\text{mol/L}$, 由于肿瘤细胞的快速增殖, TME中GSH的浓度大大增加, 可达0.5~10 mmol/L^[39]。此外, 肿瘤细胞内GSH的浓度也是正常细胞内GSH浓度的4~7倍^[40]。正是基于正常组织和肿瘤组织中GSH含量的较大差异, 一系列还原响应型PMs被成功构建, 并在药物靶向递送方面得到了应用。还原响应PMs中常用的还原敏感化学键主要有二硫键(S-S)^[41~43]和二硒键(Se-Se)^[44]等。在正常组织及血液中, GSH浓度较低, S-S键和Se-Se键不发生断裂, 该类PMs稳定存在; 当胶束进入肿瘤组织后, 高GSH浓度促使S-S或Se-Se发生断裂, 进而引发胶束结构变化, 实现所载药物的释放。

Sun等人^[45]通过S-S键将亲水性肝素前体(heparosan, HEP)与疏水性脱氧胆酸(deoxycholic acid, DA)偶联形成GSH响应型两亲性聚糖偶联物(HSD)。自组装成胶束后, HSD能够穿透人咽鳞状细胞癌细胞系(FaDu细胞)的细胞膜, 靶向递送抗肿瘤药物DOX。在HSD胶束中, 电中性且生物可降解的HEP具有类似PEG的“隐形”特性, 可有效降低免疫反应并延长药物的血液循环时

间。同时, HEP可以通过网格蛋白(clathrin)介导的内吞作用诱导胶束被肿瘤细胞快速、特异性摄取。而胶束进入肿瘤细胞内涵体后, 胶束结构中S-S键被高浓度GSH触发断裂, 成功释放所载疏水性药物, 最终杀死癌细胞。HSD胶束在咽喉癌的临床治疗中具有相当大的潜力。

Behroozi等人^[46]报道了一种基于两亲性聚乙二醇-聚己内酯-聚乙二醇三嵌段共聚物[PCL-(Se-Se-mPEG)₂]的新型可脱壳胶束, 用于负载疏水性抗癌药物PTX。其中位于亲水嵌段和疏水嵌段之间的Se-Se键作为还原敏感键, 在高浓度GSH存在时可发生断裂以引起胶束的脱壳变化, 进而实现在TME中有效释放PTX。此外, 研究者还将叶酸修饰于此类PMs表面, 通过其与4T1乳腺癌细胞过表达叶酸受体 α 的特异性结合增强PMs在肿瘤组织处的富集。此类PMs将“主动靶向”和“TME激活释放”两种策略相结合, 在小鼠腹膜内注射后显示出较好的乳腺癌抑制效果, 同时具有较低的正常组织毒性。

研究表明, 与S-S键(键能268 kJ/mol)相比, Se-Se键具有更低的键能(172 kJ/mol), 使其更易在还原环境中发生化学键的断裂^[47]; 同时与含有S-S键的化合物相比, 含Se-Se化合物还能产生ROS, 从而提高化合物的肿瘤抑制性^[48]。更强的还原敏感性和更高的肿瘤抑制性, 决定了Se-Se是设计还原响应PMs的更佳选项。

此外, 对毒性较小的含碲PMs亦有少量研究^[49]。比如, Cao等人^[50]设计制备了一种含碲的聚乙二醇-含碲聚氨酯-聚乙二醇(PEG-PUTe-PEG)PMs, 作为药物递送载体。

除了上述还原敏感化学键, 硫醚键也常作为交联剂参与还原敏感PMs的制备, 其通过GSH的硫解作用实现TME响应。值得一提的是, 硫醚键显示出氧化还原的双重反应性^[51], 为开发氧化还原双敏感聚合物用于高效递送抗癌药物提供了可能性。

2.3 氧化响应PMs

活性氧(reactive oxygen species, ROS)是一类具有较强氧化能力的分子, 是生物体内有氧代谢的天然副产物, 并且在细胞信号传导和体内平衡中具有重要作用。生物体内的ROS主要包括H₂O₂、单线态氧(¹O₂)、超氧自由基($\cdot$ O₂⁻)、羟基自由基($\cdot$ OH)和一氧化氮(NO)等^[52]。H₂O₂是最典型的ROS, TME中的H₂O₂含量约为100 μ mol/L, 比正常组织中含量高100倍^[3,20]。因此,

H₂O₂含量的明显差异可作为设计构建氧化响应PMs的重要理论依据。

TME中的ROS可引发氧化反应, 造成键的断裂。聚合物分子结构中引入硫醚基团可以赋予PMs氧化响应性, 因为硫醚可被氧化为亲水性亚砷和砷基, 进而增强PMs的亲水性, 从而导致两亲性嵌段共聚物的CMC增大, 胶束更易发生解离, 从而释药, 类似的基团还有硒醚和碲醚^[53]。Xiao等人^[54]通过聚乙二醇二丙烯酸酯(PEGDA)和1,2-乙二硫醇(EDT)单体的硫醇-烯聚合, 获得在生理状态下稳定的PMs。而硫醚结构在TME中的氧化会改变聚合物的亲/疏水平衡, 最终导致胶束的解离。将尼罗红封装到上述PMs核心中, 通过氧化可触发PMs解离并释放尼罗红。这种可氧化触发的硫醚基团, 使PEG-EDT有望用于ROS响应性药物递送。Li等人^[55]以含碲嵌段共聚物PEG-PUTe-PEG(PU聚氨酯)为载体, 实现抗肿瘤药物顺铂的氧化响应释放。Liu等人^[56]合成了由疏水性的硒醚链段与亲水性磷酸盐链段组成的超支化聚合物(dendrimer)。由于疏水性硒醚结构在TME中被氧化为亲水性硒亚砷或硒砷基, 导致dendrimer在肿瘤组织处发生特异性解离, 进而释药, 结合含硒化合物能够增强免疫应答, 同时产生抗癌的代谢物, 进一步增强了对HeLa细胞的杀伤能力。

除上述含氧族元素的基团外, ROS同样可以引起芳基硼酸酯的断裂。Dong等人^[57]在PEG和PTX之间插入响应ROS的苄基硼酸酯连接物, 得到生理条件下稳定的PEG-B-PTX两亲性嵌段共聚物。而当该胶束富集于肿瘤处时, 高浓度的ROS氧化苄基硼酸酯, 致使胶束裂解, 释放PTX。该胶束裂解的同时会发生1,4-消除反应生成醌, 而生成的醌会消耗肿瘤细胞内的GSH, 进一步杀伤U251人胶质瘤细胞和MCF-7乳腺癌细胞。

由于炎症、感染、慢性疾病也会导致机体其他组织ROS升高, 氧化还原响应的策略存在脱靶递送的可能^[58-60]。

2.4 酶响应PMs

TME中存在一些过度表达的酶, 如基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)、人分泌型磷脂酶A2(secreted phospholipase A2, sPLA2)、透明质酸酶(hyaluronidase, HAase)等。这些过度表达的酶可作为靶向开关, 用来构建酶响应PMs, 实现显像剂和抗癌药物的有效递送^[3]。

Liu等人^[61]将细胞毒性肽KLAK、细胞穿透肽

TAT、基质金属蛋白酶2(MMP2)敏感肽-聚乙二醇偶联到聚酰胺-胺树枝状聚合物(PAMAM)上, 制备得到PAMAM-PKT-S-PEG偶联物, 成功构建超分子胶束。在其结构中, PEG链有利于: 1) 调控胶束尺寸以保障其EPR效应; 2) 稳定胶束结构; 3) 保护KLAK肽在正常组织处免受酶降解; 4) 屏蔽正电荷以延长血液循环时间的作用。在TME中, MMP2敏感肽被高浓度的MMP2切割, 触发PEG链的脱除, 导致胶束尺寸减小以及KLAK和TAT的暴露。尺寸的减小有利于胶束向肿瘤深部渗透, 并且TAT的存在使尺寸变小的胶束通过膜穿透和内存作用等途径进入癌细胞。胶束内化后, KLAK可有效破坏线粒体膜, 从而有效地诱导人原发性胶质母细胞瘤U87凋亡, 展示出高抗肿瘤能力。与非MMP2敏感PAMAM-PKT-PEG PMs相比, PAMAM-PKT-S-PEG PMs展示出更高的肿瘤富集度、更强的肿瘤穿透能力、显著增强的细胞内递送性能及抗肿瘤功效。与之类似, Chen等人^[62]设计的Biotin-PEG-b-PLL(Mal)-peptide-DOX同样响应于癌细胞过量分泌的蛋白酶MMP-2, 通过响应结构GPLGIAGQ的断裂使胶束主结构断裂, 达到释放药物的目的。

Sun等人^[63]设计了一种可响应于成纤维细胞活化蛋白- α (FAP- α)实现药物释放的纳米递送系统PCP@R848/DOX。PCP单体由3个不同功能的片段组成: PD-L1靶向肽序列PPA-1、FAP- α (fibroblast activation protein- α)响应底物GPAK以及PD-1结合肽PL120131。两亲性PD-1/PD-L1肽单体通过一步共组合法包裹药物DOX和Toll样受体激动剂瑞西莫德(R848), 实现抗肿瘤药物和免疫调节剂的同步负载。PCP@R848/DOX到达肿瘤组织后, 前药纳米结构中的特殊肽链结构被FAP- α 识别并分解, PD-1结合肽及PD-L1靶向肽得以释放, 从而阻断PD-L1通路, 增强细胞毒性T淋巴细胞的活化。DOX和R848在肿瘤组织中局部释放, DOX触发免疫原性细胞死亡(immunogenic cell death, ICD), 在杀伤肿瘤细胞的同时, 将肿瘤细胞转变为免疫原性进而介导机体产生抗肿瘤免疫应答; R848可以诱导骨髓来源的抑制细胞转化为抗原呈递细胞, 能刺激M1型巨噬细胞, 并使肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophage, TAM)从M2型转变为M1型, 以增强宿主对肿瘤的免疫反应。因此, PCP@R848/DOX是一种可实现三模态治疗癌症的TME响应的前药纳米颗粒, 在PD-1/PD-L1阻断治疗相结合的同时激活ICD并改变TAM的表型, 从而有效引发强烈的全身抗肿瘤免疫

反应。

除此之外, 利用TME中透明质酸酶高表达的特点, He等人^[64]设计了由可靶向CD44的透明质酸外壳HA-DOX和可靶向线粒体的LTPT、LND二聚体纳米颗粒内核组成的级联靶向纳米聚合物胶束DLTPT。DLTPT由于其肿瘤归巢效应和透明质酸所带的负电荷, 可延长血液循环时间, 并实现于肿瘤组织处的有效富集。随后, HA-DOX壳被TME中高表达的透明质酸酶降解, 导致颗粒尺寸减小, 电荷逆转, 进而增加肿瘤的渗透和内化。

2.5 乏氧响应PMs

由于癌细胞的异常增殖和肿瘤血管的畸形发育, 实体瘤组织中会出现乏氧现象^[3]。实体瘤的供氧不足将直接导致癌症的恶性进展, 甚至干扰癌症治疗。因此, 开发一种有效的乏氧响应型PMs, 对癌症诊断、治疗具有重要意义。

Xu等人^[65]研发了一种由叶酸(folic acid, FA)和2-(2-硝基咪唑)乙胺(NI)共轭聚合物自组装形成的、同时负载紫杉醇和量子点(quantum dot, QD)的双改性混合胶束(PHDS-NF/PQ PMs), 实现肿瘤靶向递送和乏氧微环境成像。其中, 胶束PHDS是由2-甲基丙烯酸羟乙酯(2-hydroxyethyl methacrylate, HEMA)、甲基丙烯酸二甲氨基乙酯(MDAM)和苯乙烯(St)共聚而成。硝基咪唑是典型的乏氧敏感基团, 在乏氧微环境中, 该结构会被硝基还原酶催化还原, 转变为亲水性氨基咪唑, 进而改变含硝基咪唑基团组装体的聚集态, 实现抗肿瘤药物的靶向递送。同时, 由于FA受体在正常上皮上表达水平较低, 但在许多恶性肿瘤中的表达水平明显增加, 因此, FA可作为靶向配体, 实现对肿瘤的主动靶向, 加速胶束在肿瘤中的富集和内化。基于此, Xu等人^[65]将乏氧敏感基团NI、主动靶向组分FA和光学成像QD结合, 从而实现疏水负载物的乏氧响应靶向释放。体外细胞实验表明, 由于FA介导的主动靶向作用和NI诱导的乏氧反应释放, 混合胶束表现出增强的肿瘤抑制效果, 改善了细胞摄取。体内实验进一步证明, 混合胶束具有优异的肿瘤靶向性和乏氧响应性。此外, 载药胶束显示出优异的抗肿瘤效果, 同时可以实现实时体内成像。该研究中PTX和QDs共负载的双修饰混合胶束为肿瘤治疗和成像提供了一种新的方法, 可实现靶向药物的有效递送和乏氧组织的实时成像。

Sun等人^[66]研发了一种基于偶氮键乏氧响应的

PMs, 通过偶氮键在乏氧环境下的断键, 促使胶束裂解, 释放所搭载的探针和/或药物, 该胶束在乏氧环境下展示出对HepG2肝癌细胞极大的杀伤效果. 与之类似, Kang等人^[67]合成了一种乏氧可裂解聚合物——聚(乙二醇)-偶氮-聚(L-赖氨酸)(PEG-azo-PLL), 并通过PEG-azo-PLL和聚(I:C)^[68]的简单共混来制备纳米复合物胶束载体. 与Sun等人^[66]的工作相同, Kang等人^[67]也采用了偶氮苯结构作为连结, 该连接结构可以在乏氧条件下被偶氮还原酶选择性地还原为苯胺, 使PEG从纳米复合物中脱离, 导致胶束解离.

2.6 多重响应PMs

多重响应PMs通过整合TME中各种刺激源, 设计级联响应的PMs, 可实现递送药物在肿瘤部位的有效蓄积, 细胞及细胞器的靶向、缓释、控释等功能, 从而克服单一响应的局限, 明显提高药物的精准释放能力^[69]. 如今, 多种双重响应和多重响应(如pH/GSH、pH/H₂O₂、ROS/GSH、pH/GSH/H₂O₂和多种酶)PMs的设计策略已经得到了验证^[36]. 随着研究的进一步深入, 利用PMs的多重响应可实现化学治疗与光热治疗等疗法的联合应用, 极大提升治疗的效果^[65].

多重响应PMs的多样性不仅体现在多种不同TME响应策略的结合上, 也体现在响应方式应用的多种可能性上. 肿瘤酸性微环境可以改变胶束表面所带正电荷密度, 有利于肿瘤细胞的摄取; 而在酸性环境中酸敏感化学键的裂解, 有利于改变/调控PMs尺寸, 使原本有利于更长血液循环时间的大尺寸纳米颗粒改变成为更容易穿透血管和间质空间的较小粒径颗粒. 这两种不同的对酸性环境响应的策略可以分别用来调整PMs的粒径或表面电荷, 以实现更有效的药物输送. 而这两种策略又可与不同乏氧响应性的策略组合, 逐级响应, 实现较好的药物递送与释放.

Liu等人^[70]通过在牛血清蛋白上原位矿化得到MnO₂纳米颗粒, 然后将铈(Hf)离子与顺铂前药(DSP)组装形成的纳米配位聚合物(NCPs)包裹在其表面, 从而得到了BM@NCP(DSP)纳米颗粒. 进一步PEG修饰后, 得到BM@NCP(DSP)-PEG PMs. 在此复合纳米系统中, 由于Hf的强X射线衰减能力, NCP壳不但可用作放射增敏剂, 同时也可以还原诱导释放化疗剂顺铂. 此外, 在该体系中, MnO₂内核可以催化癌细胞产生的H₂O₂分解产生O₂, 从而克服乏氧导致的放疗耐受性, 进一步提高放疗的疗效. 在对小鼠进行全身给药后, BM@NCP

(DSP)-PEG PMs在肿瘤内表现出特异性积聚, O₂水平亦明显升高. 该研究将“肿瘤酸性微环境响应”策略与“高GSH环境触发药物释放”策略结合, 用于癌症协同/联合治疗, 增强了肿瘤放化疗的靶向治疗效果.

Li等人^[71]将酸敏感化学键2-丙酸-3-甲基马来酸酐(CDM)桥连的聚己内酯-聚酰胺树枝状大分子(PCL-CDM-PAMAM)、聚乙二醇-聚己内酯嵌段共聚物(PEG-*b*-PCL)和聚己内酯(PCL)共组装制备得到pH/GSH双响应的簇状聚合物胶束(iCluster), 用于负载Pt前药, 以实现肿瘤靶向治疗. 在iCluster结构中, CDM与PAMAM偶联形成了pH敏感的酰胺键结构单元. 在血液和正常组织中, iCluster的粒径为100 nm左右, 展示出较长的血液循环时间和由EPR效应带来的肿瘤富集能力. 当暴露于TME中, 酰胺键在微酸环境中裂解, 释放出PAMAM/Pt. iCluster也随之裂解为粒径为5 nm的小颗粒, 大大加速所载Pt前药的内化. 内化后的Pt前药在胞内被还原释放顺铂从而杀死肿瘤细胞. 此研究将“pH诱发解组装”策略与“氧化还原触发药物激活”策略相结合, 使得PMs表现出较高的肿瘤富集能力和较小的正常组织毒性.

2.7 TME响应PMs设计思路总结

如图2所示, 我们总结了TME响应PMs的设计思路, 并将本文中讨论的设计策略及相关的研究进展进行了归纳总结, 见表1, 以期为更多新型TME响应PMs的设计提供基本思路.

表1中, 除了响应的TME类型, 以及相应的TME敏感化学结构, 我们将PMs的应用分为“(肿瘤组织中)富集”和“(肿瘤组织中药物)释放”两种. 其中“富集”指的是该胶束在正常组织中不易摄取, 而在响应于TME后易被肿瘤组织摄取并逐渐积聚. 如前文提到的Tang等人^[5]组装构建的双pH敏感PMs (DPM), DMA可为DPM提供负电荷, 使其表面呈负电性, 避免被正常组织内吞, 而在pH响应中DMA被切割, 胶束表面电性转正, 提高肿瘤细胞对DPM的摄取. “释放”指的是该胶束在非目标环境中稳定地负载药物, 而在响应TME后可快速释放所载药物. 如前文提到的Kang等人^[67]合成的乏氧可裂解聚合物PEG-azo-PLL和聚(I:C)配制的纳米复合物胶束载体. 在乏氧TME下, 偶氮苯中N=N键断裂, 胶束解离, 所载药物得以释放. 经过对不同响应机制的分析, 我们将响应策略在化学键变化层面分为“断链型响应”和“非断链型响应”两种. “断链型响应”指的是该胶束在

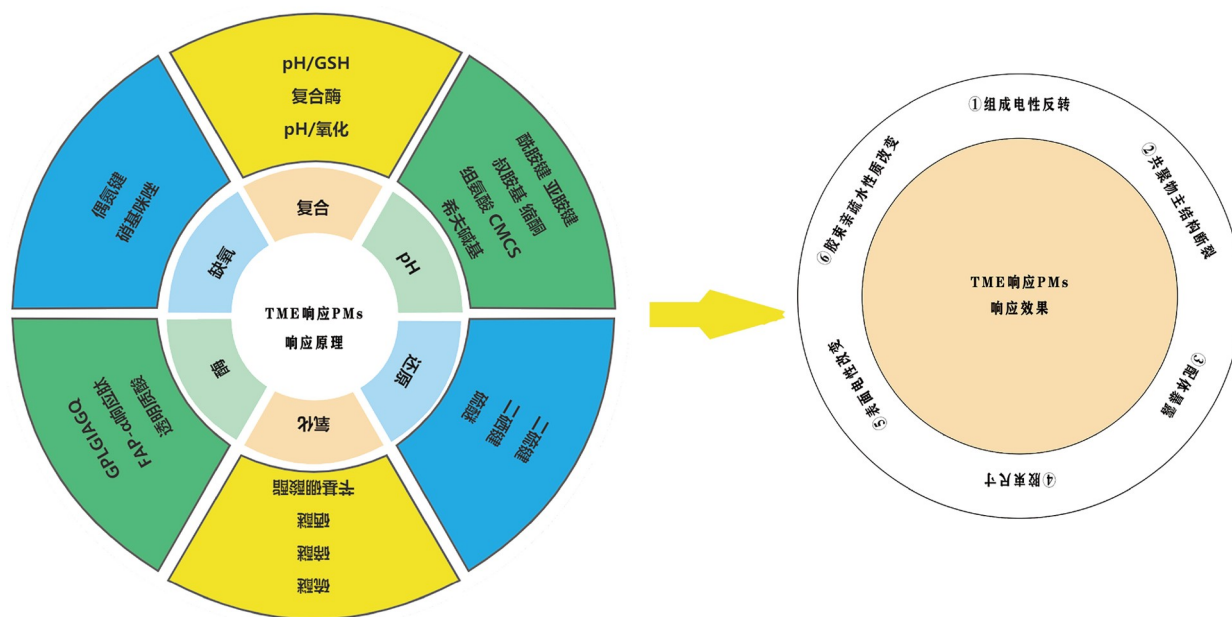


图2 (网络版彩色)TME响应PMs的设计思路总结

Figure 2 (Color online) The design idea, possible application purpose and direction of TME in response to PMs

表1 TME响应PMs的设计策略总结

Table 1 Summary of design strategies of TME-responsive PMs

TME	响应组分	PMs	目的		策略		途径
			富集	释放	断链型	非断链型	
pH	酰胺键	DPM ^[5]	●		●		表面电性改变
		iCluster ^[71]		●	●		胶束主结构断裂
	亚胺键	PNB ^[32]		●	●		胶束主结构断裂
	叔胺基	DOX+LAP-M ^[29]	●			●	表面电性改变
	缩酮	PEG-PKPC-oPHB ^[38]		●		●	胶束亲疏水性改变
	组氨酸	P14 ^[30]		●		●	组成分子电性反转
	希夫碱基	SPNI ^[36]		●	●		胶束主结构断裂
还原	二硫键	HSD ^[45]		●	●		胶束主结构断裂
	二硒键	PCL-(Se-Se-mPEG) ₂ ^[46]		●	●		胶束主结构断裂
	硫醚	PTX-S-OA ^[51]		●	●		胶束主结构断裂
氧化	硫醚	硫醚连接聚乙二醇二丙烯酸酯 ^[54]		●		●	胶束亲疏水性改变
	碲醚	PEG-PUTe-PEG ^[55]		●		●	胶束亲疏水性改变
	碲醚	碲醚超支化聚合物 ^[56]		●		●	胶束亲疏水性改变
	苄基硼酸酯	PEG-B-PTX ^[57]		●	●		胶束主结构断裂
酶	GPLGIAGQ	PAMAM-PKT-S-PEG ^[61]	●		●		尺寸改变、配体暴露
		Biotin-PEG-b-PLL(Mal)-peptide-DOX ^[62]		●	●		胶束主结构断裂
	FAP-α响应肽	PCP@R848/DOX ^[63]		●	●		胶束主结构断裂
	透明质酸	DLTPT ^[64]	●		●		尺寸改变、表面电性改变
乏氧	偶氮键	偶氮键乏氧响应纳米胶束 ^[66]		●	●		胶束主结构断裂
	硝基咪唑	PHDS-NF/PQ ^[65]		●		●	胶束亲疏水性改变

响应TME时胶束分子的主链发生断裂,从而带来胶束的物化性质的变化,以达到“富集”或“释放”的目的.如前文提到的Sun等人^[45]合成的GSH响应型两性亲糖偶联物(HSD),其胶束进入肿瘤细胞内涵体后,胶束结构中S-S键被高浓度GSH触发断裂,胶束解离,释放所载药物.“非断链型响应”指的是该胶束在响应TME时胶束分子的主链并不发生断裂,而是通过部分基团的物理性质的转变从而影响胶束的物化性质,以达到“富集”或“释放”的目的.如前文提到的Xiao等人^[54]通过疏水性硫醚连接聚乙二醇二丙烯酸酯嵌段,生理状态下,胶束稳定存在.而硫醚在TME中的氧化会改变聚合物的亲/疏水平衡导致胶束解离.对响应策略进一步细化可分为6个不同的实现途径,分别为“尺寸改变”“表面电性改变”“胶束主结构断裂”“胶束亲疏水性质改变”“组装体电性反转”和“配体暴露”.其中“尺寸改变”指的是胶束在响应TME后粒子粒径产生变化;“表面电性改变”指的是响应TME后胶束粒子表面电性发生了转变;“胶束主结构断裂”指的是响应TME后组成胶束的胶粒单体结构的亲水和疏水部分中间发生断裂分离,从而破坏胶束的稳定性;“胶束亲疏水性质改变”指的是响应TME后组成胶束的胶粒单体结构的亲水或疏水部分的亲疏水性质反转,从而破坏胶束的稳定性;“组成分子电性反转”指的是响应TME后组成胶束的胶粒单体结构的电荷性质改变,通过相同电荷相斥破坏胶束的稳定性;“配体暴露”指的是响应TME后胶束中能与肿瘤靶点特异性识别的配体更加裸露,更有利于胶束与肿瘤细胞的结合.

3 总结与展望

PMs是由两亲性嵌段共聚物在选择性溶剂中形成的纳米组装体,具有粒径和形貌可控、生物安全性高、被动靶向(EPR)特性等优势,且能够负载多种药物,因此PMs成为肿瘤靶向治疗的理想药物载体之一.其中,TME响应PMs由于其能够在肿瘤组织处表现出特异性转变(如尺寸、形貌、表面电荷、聚集状态等方面的变化),从而进一步提高药物递送的靶向性,达到更好的治疗效果.TME响应PMs的基本研究已经取得了一定的进展,本文介绍了包括pH响应、还原响应、氧化响应、酶响应、乏氧响应以及多重响应在内的多种TME响应PMs在肿瘤药物靶向递送中的应用,并对该类PMs的设计思路进行了分析总结.目前,已有部分PMs进入临床应用阶段^[72],如《中华医学会肺癌临床

诊疗指南(2022版)》^[73]中,紫杉醇PMs联合顺铂药物被推荐用于非鳞状细胞癌驱动基因阴性患者及鳞状细胞癌驱动基因阴性患者的一线治疗.而TME响应PMs大多仍处在研发设计阶段,但其中pH响应PMs NC-6300已纳入临床试验,并取得较好的试验结果,NC-6300对既往未接受蒽环类药物治疗的血管肉瘤患者具有良好的耐受性并显示出良好的活性(ClinicalTrials.gov, Identifier: NCT03168061).

在PMs的进一步临床应用中,将通过更有针对性的结构设计,更好地解决亲水层的保护屏障与肿瘤靶向识别之间、被动富集与深度渗透之间的矛盾.

首先,呈电中性的亲水聚合物(如PEG)常用以构建TME响应PMs,形成PMs壳层.在PMs中,此类聚合物形成致密的“构象云”,产生较大的空间位阻效应,可减少胶束与蛋白质的不良黏附^[18],缓解单核吞噬细胞系统中的巨噬细胞对胶束的摄取,从而延长胶束在血浆中的循环时间.然而,PEG等长链分子所产生的空间位阻,会降低靶向分子与靶标相结合的可能性,不利于细胞对胶束的摄取,进而影响胶束的体内分布.为了解决这个矛盾,科研人员在构建TME时引入可由TME诱发断裂的肽键^[74]、二硫键^[75]、乙烯基醚键、胺键^[76]和酯键^[77]等官能团,实现材料中PEG等亲水壳层的应激“脱除”.但同时随着亲水壳层的脱除,PMs可能会产生亲疏水性质的改变,进而导致尺寸、凝聚态发生不利于后续应用的变化.针对这一问题,可考虑在亲水和疏水部分之间增设亲水性靶向过渡层,使胶束在PEG亲水壳层脱除后仍保持一定稳定性,增强PMs的内体逃逸以及肿瘤细胞对剩余PMs的摄取^[78].

其次,尺寸位于10~100 nm的PMs,能够借助EPR效应一定程度地富集于肿瘤处,但是在肿瘤内扩散能力有限,不利于治疗过程中对深层肿瘤组织实现药物递送^[79],而10 nm以下的超小尺寸纳米颗粒虽然有利于渗透进入肿瘤的深层,但在血液循环中却易被肾脏代谢迅速排出体外^[80].因此,为突破PMs在药物靶向递送应用中的单一尺寸局限性,科研人员研发了响应于TME发生尺寸变化的PMs进行药物的靶向递送.当载药PMs抵达肿瘤组织处后,胶束响应于TME,从有利于肿瘤组织富集的较大尺寸转变为易于肿瘤组织内扩散的较小尺寸,以更好地实现肿瘤组织富集和瘤内扩散^[81,82].

除此之外,在TME响应PMs的设计中如何精巧地平衡不同的性能指标以获得理想的PMs;在临床应用中,如何提高PMs体内循环稳定性及肿瘤富集效

率、降低解离产物的毒性都有待进一步研究。

目前,除了肿瘤治疗药物之外,TME响应PMs可搭载多类功能分子,如光学探针、成像对比剂、免疫刺激剂、DNA/siRNA等,以实现高性能肿瘤成像、靶向治疗、免疫治疗、基因治疗、光热治疗及疗效监测等^[83]。随着肿瘤诊断技术的发展及多种新型肿瘤靶向探针的开发,TME响应PMs可发挥多模块集成和多重响应性的优势,同时搭载诊断探针及治疗药物,促使肿

瘤诊疗一体化平台的构建,实现图像引导治疗,极大推动相关肿瘤三级预防工作的开展。

尽管还存在不少有待解决的问题,TME响应PMs的设计和开发是癌症治疗研究领域一个极具吸引力与转化前景的方向。与普通纳米载体相比,这些TME响应PMs表现出了更好的靶向性和安全性。随着响应策略的不断优化完善,将来一定会有越来越多的TME响应PMs实现临床转化,用于癌症的精准诊断与治疗。

参考文献

- Ning H, Liu Y, Zhang Y H, et al. Prevention and management of common ADRs induced by antitumor drugs (in Chinese). *Eval Anal Drug-Use Hosp China*, 2007, 7: 76–79 [宁华, 刘颖, 张艳华, 等. 抗肿瘤药的常见不良反应及防治. *中国医院用药评价与分析*, 2007, 7: 76–79]
- Šimůnek T, Štěrbá M, Popelová O, et al. Anthracycline-induced cardiotoxicity: Overview of studies examining the roles of oxidative stress and free cellular iron. *Pharmacol Rep*, 2009, 61: 154–171
- Gong F, Yang N, Wang X, et al. Tumor microenvironment-responsive intelligent nanoplatforms for cancer theranostics. *Nano Today*, 2020, 32: 100851
- Casazza A, Di Conza G, Wenes M, et al. Tumor stroma: A complexity dictated by the hypoxic tumor microenvironment. *Oncogene*, 2014, 33: 1743–1754
- Tang S, Meng Q, Sun H, et al. Dual pH-sensitive micelles with charge-switch for controlling cellular uptake and drug release to treat metastatic breast cancer. *Biomaterials*, 2017, 114: 44–53
- Junttila M R, de Sauvage F J. Influence of tumour micro-environment heterogeneity on therapeutic response. *Nature*, 2013, 501: 346–354
- Krummel M, Hu K, de Vries E G E, et al. Visualizing cancer. *Cancer Cell*, 2020, 38: 753–756
- Song G, Chen Y, Liang C, et al. Catalase-loaded TaOx nanoshells as bio-nanoreactors combining high-Z element and enzyme delivery for enhancing radiotherapy. *Adv Mater*, 2016, 28: 7143–7148
- Song G, Ji C, Liang C, et al. TaO_x decorated perfluorocarbon nanodroplets as oxygen reservoirs to overcome tumor hypoxia and enhance cancer radiotherapy. *Biomaterials*, 2017, 112: 257–263
- Lin L, Deng S T, Lu J Y, et al. Application of magnetic iron oxide nanomaterials in tumor imaging (in Chinese). *Chin Sci Bull*, 2020, 65: 4200–4212 [林琳, 邓姝婷, 陆佳奕, 等. 磁性铁氧化物纳米材料在肿瘤成像中的应用. *科学通报*, 2020, 65: 4200–4212]
- Tang B, Zaro J L, Shen Y, et al. Acid-sensitive hybrid polymeric micelles containing a reversibly activatable cell-penetrating peptide for tumor-specific cytoplasm targeting. *J Control Release*, 2018, 279: 147–156
- Sun L. Design, synthesis and *in vitro* anti-tumor evaluations of tumor microenvironment-responsive polymeric micelles (in Chinese). Doctor Dissertation. Lanzhou: Lanzhou University, 2020 [孙露. 肿瘤微环境敏感性聚合物胶束的设计、合成及其体外抗肿瘤性能的研究. 博士学位论文. 兰州: 兰州大学, 2020]
- Ding H, Wang X, Zhang S, et al. Applications of polymeric micelles with tumor targeted in chemotherapy. *J Nanopart Res*, 2012, 14: 1254–1266
- Lavasanifar A, Samuel J, Kwon G S. Poly(ethylene oxide)-block-poly(l-amino acid) micelles for drug delivery. *Adv Drug Deliver Rev*, 2002, 54: 169–190
- Gothwal A, Khan I, Gupta U. Polymeric micelles: Recent advancements in the delivery of anticancer drugs. *Pharm Res*, 2016, 33: 18–39
- Kedar U, Phutane P, Shidhaye S, et al. Advances in polymeric micelles for drug delivery and tumor targeting. *Nanomed-Nanotechnol Biol Med*, 2010, 6: 714–729
- Letchford K, Burt H. A review of the formation and classification of amphiphilic block copolymer nanoparticulate structures: Micelles, nanospheres, nanocapsules and polymersomes. *Eur J Pharm BioPharm*, 2007, 65: 259–269
- Hirn S, Semmler-Behnke M, Schleh C, et al. Particle size-dependent and surface charge-dependent biodistribution of gold nanoparticles after intravenous administration. *Eur J Pharm BioPharm*, 2011, 77: 407–416
- Bazile D, Prud'homme C, Bassoullet M T, et al. Stealth me. PEG-PLA nanoparticles avoid uptake by the mononuclear phagocytes system. *J Pharm Sci*, 1995, 84: 493–498
- Gref R, Minamitate Y, Peracchia M T, et al. Biodegradable long-circulating polymeric nanospheres. *Science*, 1994, 263: 1600–1603
- Nagy J A, Dvorak H F. Heterogeneity of the tumor vasculature: The need for new tumor blood vessel type-specific targets. *Clin Exp Metastasis*,

- 2012, 29: 657–662
- 22 Dai Y, Xu C, Sun X, et al. Nanoparticle design strategies for enhanced anticancer therapy by exploiting the tumour microenvironment. *Chem Soc Rev*, 2017, 46: 3830–3852
- 23 Wu J. The enhanced permeability and retention (EPR) effect: The significance of the concept and methods to enhance its application. *J Pers Med*, 2021, 11: 771–778
- 24 Stubbs M, McSheehy P M J, Griffiths J R, et al. Causes and consequences of tumour acidity and implications for treatment. *Mol Med Today*, 2000, 6: 15–19
- 25 Cheng F, Pan Q, Gao W, et al. Correction to “Reversing chemotherapy resistance by a synergy between lysosomal pH-activated mitochondrial drug delivery and erlotinib-mediated drug efflux inhibition”. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2022, 14: 19077
- 26 Pan M, Lu C, Zhang W, et al. Poly(l-ornithine)-based polymeric micelles as pH-responsive macromolecular anticancer agents. *Pharmaceutics*, 2023, 15: 1307
- 27 Tangsangaksakri M, Takemoto H, Naito M, et al. siRNA-loaded polyion complex micelle decorated with charge-conversional polymer tuned to undergo stepwise response to intra-tumoral and intra-endosomal pHs for exerting enhanced RNAi efficacy. *Biomacromolecules*, 2016, 17: 246–255
- 28 Zhang P, Chen D, Li L, et al. Charge reversal nano-systems for tumor therapy. *J Nanobiotechnol*, 2022, 20: 31
- 29 Guo Z, Liang E, Sui J, et al. Lapatinib-loaded acidity-triggered charge switchable polycarbonate-doxorubicin conjugate micelles for synergistic breast cancer chemotherapy. *Acta BioMater*, 2020, 118: 182–195
- 30 Zhu L B, Xu W L, Zhang W W, et al. *De novo* synthesis of pH-responsive, self-assembled, and targeted polypeptide nano-micelles for enhanced delivery of doxorubicin. *Nanotechnology*, 2021, 32: 295707
- 31 Zhou S, Fu S, Wang H, et al. Acetal-linked polymeric prodrug micelles based on aliphatic polycarbonates for paclitaxel delivery: Preparation, characterization, *in vitro* release and anti-proliferation effects. *J BioMater Sci Polym Ed*, 2020, 31: 2007–2023
- 32 Liao S C, Ting C W, Chiang W H. Functionalized polymeric nanogels with pH-sensitive benzoic-imine cross-linkages designed as vehicles for indocyanine green delivery. *J Colloid Interface Sci*, 2020, 561: 11–22
- 33 Domiński A, Domińska M, Skonieczna M, et al. Shell-sheddable micelles based on poly(ethylene glycol)-hydrazone-poly[R,S]-3-hydroxybutyrate copolymer loaded with 8-hydroxyquinoline glycoconjugates as a dual tumor-targeting drug delivery system. *Pharmaceutics*, 2022, 14: 290
- 34 Han Y, Pan J, Liang N, et al. A pH-sensitive polymeric micellar system based on chitosan derivative for efficient delivery of paclitaxel. *Int J Mol Sci*, 2021, 22: 6659
- 35 Qi P, Wu X, Liu L, et al. Hydrazone-containing triblock copolymeric micelles for pH-controlled drug delivery. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 12
- 36 Liu J, He S, Luo Y, et al. Tumor-Microenvironment-Activatable Polymer Nano-Immunomodulator for Precision Cancer Photoimmunotherapy. *Adv Mater*, 2022, 34: 2106654
- 37 Feng Q, Xu J, Liu X, et al. Targeted delivery by pH-responsive mPEG-S-PBLG micelles significantly enhances the anti-tumor efficacy of doxorubicin with reduced cardiotoxicity. *Drug Deliver*, 2021, 28: 2495–2509
- 38 Domiński A, Krawczyk M, Konieczny T, et al. Biodegradable pH-responsive micelles loaded with 8-hydroxyquinoline glycoconjugates for Warburg effect based tumor targeting. *Eur J Pharm BioPharm*, 2020, 154: 317–329
- 39 Kuppusamy P, Li H, Ilangoan G, et al. Noninvasive imaging of tumor redox status and its modification by tissue glutathione levels. *Cancer Res*, 2002, 62: 307–312
- 40 Song N, Liu W, Tu Q, et al. Preparation and *in vitro* properties of redox-responsive polymeric nanoparticles for paclitaxel delivery. *Colloids Surfs B-BioInterfaces*, 2011, 87: 454–463
- 41 Wan D, Li C, Pan J. Polymeric micelles with reduction-responsive function for targeted cancer chemotherapy. *ACS Appl Bio Mater*, 2020, 3: 1139–1146
- 42 Yan K, Feng Y, Gao K, et al. Fabrication of hyaluronic acid-based micelles with glutathione-responsiveness for targeted anticancer drug delivery. *J Colloid Interface Sci*, 2022, 606: 1586–1596
- 43 Meng L, Liu F, Du C, et al. Glucosamine-modified reduction-responsive polymeric micelles for liver cancer therapy. *Molecules*, 2023, 28: 3824
- 44 Siboro S A P, Salma S A, Kim H R, et al. Diselenide core cross-linked micelles of poly(ethylene oxide)-b-poly(glycidyl methacrylate) prepared through alkyne-azide click chemistry as a near-infrared controlled drug delivery system. *Materials*, 2020, 13: 2846
- 45 Sun C, Li X, Du X, et al. Redox-responsive micelles for triggered drug delivery and effective laryngopharyngeal cancer therapy. *Int J Biol Macromolecules*, 2018, 112: 65–73
- 46 Behroozi F, Abdkhodaie M J, Abandansari H S, et al. Engineering folate-targeting diselenide-containing triblock copolymer as a redox-responsive shell-sheddable micelle for antitumor therapy *in vivo*. *Acta BioMater*, 2018, 76: 239–256
- 47 Monteiro P F, Travanut A, Conte C, et al. Reduction-responsive polymers for drug delivery in cancer therapy—Is there anything new to discover? *WIREs Nanomed Nanobiotechnol*, 2021, 13: e1678
- 48 Sun B, Luo C, Zhang X, et al. Probing the impact of sulfur/selenium/carbon linkages on prodrug nanoassemblies for cancer therapy. *Nat Commun*,

- 2019, 10: 3211
- 49 Mirhadi E, Mashreghi M, Faal Maleki M, et al. Redox-sensitive nanoscale drug delivery systems for cancer treatment. *Int J Pharm*, 2020, 589: 119882
 - 50 Cao W, Gu Y, Meineck M, et al. Tellurium-containing polymer micelles: Competitive-ligand-regulated coordination responsive systems. *J Am Chem Soc*, 2014, 136: 5132–5137
 - 51 Luo C, Sun J, Liu D, et al. Self-assembled redox dual-responsive prodrug-nanosystem formed by single thioether-bridged paclitaxel-fatty acid conjugate for cancer chemotherapy. *Nano Lett*, 2016, 16: 5401–5408
 - 52 Sarmiento-Salinas F L, Perez-Gonzalez A, Acosta-Casique A, et al. Reactive oxygen species: Role in carcinogenesis, cancer cell signaling and tumor progression. *Life Sci*, 2021, 284: 119942
 - 53 Sun Y, Davis E. Nanoplatforams for targeted stimuli-responsive drug delivery: A review of platform materials and stimuli-responsive release and targeting mechanisms. *Nanomaterials*, 2021, 11: 746
 - 54 Xiao C, Ding J, Ma L, et al. Synthesis of thermal and oxidation dual responsive polymers for reactive oxygen species (ROS)-triggered drug release. *Polym Chem*, 2015, 6: 738–747
 - 55 Li F, Li T, Cao W, et al. Near-infrared light stimuli-responsive synergistic therapy nanoplatforams based on the coordination of tellurium-containing block polymer and cisplatin for cancer treatment. *Biomaterials*, 2017, 133: 208–218
 - 56 Liu J, Pang Y, Zhu Z, et al. Therapeutic nanocarriers with hydrogen peroxide-triggered drug release for cancer treatment. *Biomacromolecules*, 2013, 14: 1627–1636
 - 57 Dong C, Zhou Q, Xiang J, et al. Self-assembly of oxidation-responsive polyethylene glycol-paclitaxel prodrug for cancer chemotherapy. *J Control Release*, 2020, 321: 529–539
 - 58 Sugamura K, Keaney Jr J F. Reactive oxygen species in cardiovascular disease. *Free Radical Biol Med*, 2011, 51: 978–992
 - 59 Houstis N, Rosen E D, Lander E S. Reactive oxygen species have a causal role in multiple forms of insulin resistance. *Nature*, 2006, 440: 944–948
 - 60 LoPresti C, Lomas H, Massignani M, et al. Polymersomes: Nature inspired nanometer sized compartments. *J Mater Chem*, 2009, 19: 3576–3590
 - 61 Liu F H, Hou C Y, Zhang D, et al. Enzyme-sensitive cytotoxic peptide-dendrimer conjugates enhance cell apoptosis and deep tumor penetration. *BioMater Sci*, 2018, 6: 604–613
 - 62 Chen W H, Luo G F, Lei Q, et al. MMP-2 responsive polymeric micelles for cancer-targeted intracellular drug delivery. *Chem Commun*, 2015, 51: 465–468
 - 63 Sun M, Yao S, Fan L, et al. Fibroblast activation protein- α responsive peptide assembling prodrug nanoparticles for remodeling the immunosuppressive microenvironment and boosting cancer immunotherapy. *Small*, 2022, 18: e2106296
 - 64 He Y, Lei L, Cao J, et al. A combinational chemo-immune therapy using an enzyme-sensitive nanoplatforam for dual-drug delivery to specific sites by cascade targeting. *Sci Adv*, 2021, 7: eaba0776
 - 65 Xu Y, Chen P, Tang L, et al. Hypoxia responsive and tumor-targeted mixed micelles for enhanced cancer therapy and real-time imaging. *Colloids Surfs B-Biointerfaces*, 2022, 215: 112526
 - 66 Sun X S. Hypoxic-responsive intelligent nanocarriers for protein drug delivery and cancer therapy (in Chinese). Master Dissertation. Jilin: Jilin Institute of Chemical Technology, 2021 [孙新舜. 乏氧响应性智能纳米载体用于蛋白质药物传递和癌症治疗. 硕士学位论文. 吉林: 吉林化工学院, 2021]
 - 67 Kang Y, Lim J, Saravanakumar G, et al. Immunostimulation of tumor microenvironment by targeting tumor-associated macrophages with hypoxia-responsive nanocomplex for enhanced anti-tumor therapy. *J Control Release*, 2022, 343: 78–88
 - 68 Aznar M A, Planelles L, Perez-Olivares M, et al. Immunotherapeutic effects of intratumoral nanoplexed poly I:C. *J Immunother Cancer*, 2019, 7: 116
 - 69 Zhang W J. Preparation and drug release properties of multi-responsive nano-drug carriers (in Chinese). Master Dissertation. Beijing: Beijing University of Chemical Technology, 2019 [章卫瑾. 多重响应性纳米药物载体的制备及药物释放性研究. 硕士学位论文. 北京: 北京化工大学, 2019]
 - 70 Liu J, Chen Q, Zhu W, et al. Nanoscale-coordination-polymer-shelled manganese dioxide composite nanoparticles: A multistage redox/pH/H₂O₂-responsive cancer theranostic nanoplatforam. *Adv Funct Mater*, 2017, 27: 1605926
 - 71 Li H J, Du J Z, Du X J, et al. Stimuli-responsive clustered nanoparticles for improved tumor penetration and therapeutic efficacy. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: 4164–4169
 - 72 Hwang D, Ramsey J D, Kabanov A V. Polymeric micelles for the delivery of poorly soluble drugs: From nanoformulation to clinical approval. *Adv Drug Deliver Rev*, 2020, 156: 80–118
 - 73 Han B H, Zhong R B. Guidelines for clinical diagnosis and treatment of lung cancer of Chinese Medical Association (2022 Ed.). *Chin J Oncol*, 2022, 44: 457–490 [韩宝惠, 钟润波. 中华医学会肺癌临床诊疗指南(2022版). 中华肿瘤杂志, 2022, 44: 457–490]
 - 74 Kulkarni P S, Haldar M K, Nahire R R, et al. MMP-9 responsive PEG cleavable nanovesicles for efficient delivery of chemotherapeutics to

- pancreatic cancer. *Mol Pharm*, 2014, 11: 2390–2399
- 75 Wang L, Cao Q, Wang X, et al. Visible light triggered controlled formation of rapidly self-healing hydrogels based on thiol–disulfide exchange. *Soft Matter*, 2022, 18: 3004–3012
- 76 Kelly G J, Kia A F A, Hassan F, et al. Polymeric prodrug combination to exploit the therapeutic potential of antimicrobial peptides against cancer cells. *Org Biomol Chem*, 2016, 14: 9278–9286
- 77 Xu H, Deng Y, Chen D, et al. Esterase-catalyzed dePEGylation of pH-sensitive vesicles modified with cleavable PEG-lipid derivatives. *J Control Release*, 2008, 130: 238–245
- 78 Fang Y, Xue J, Gao S, et al. Cleavable PEGylation: A strategy for overcoming the “PEG dilemma” in efficient drug delivery. *Drug Deliver*, 2017, 24: 22–32
- 79 Matsumoto Y, Nichols J W, Toh K, et al. Vascular bursts enhance permeability of tumour blood vessels and improve nanoparticle delivery. *Nat Nanotech*, 2016, 11: 533–538
- 80 Blanco E, Shen H, Ferrari M. Principles of nanoparticle design for overcoming biological barriers to drug delivery. *Nat Biotechnol*, 2015, 33: 941–951
- 81 Sun Q, Sun X, Ma X, et al. Integration of nanoassembly functions for an effective delivery cascade for cancer drugs. *Adv Mater*, 2014, 26: 7615–7621
- 82 Tong R, Hemmati H D, Langer R, et al. Photoswitchable nanoparticles for triggered tissue penetration and drug delivery. *J Am Chem Soc*, 2012, 134: 8848–8855
- 83 Hari S K, Gauba A, Shrivastava N, et al. Polymeric micelles and cancer therapy: An ingenious multimodal tumor-targeted drug delivery system. *Drug Deliv Transl Res*, 2023, 13: 135–163

Summary for “肿瘤微环境响应聚合物胶束在肿瘤诊疗中的应用”

Application of TME-responsive polymeric micelles in tumor diagnosis and treatment

Zhiqian Xu, Kexin Yan, Chengyingjie Yang, Yuqi Deng, Jianhua Liu^{*} & Weina He^{*}

School of Medicine, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200025, China

^{*} Corresponding authors, E-mail: jhliu7912@sjtu.edu.cn; hewn0319@sjtu.edu.cn

The tumor microenvironment (TME) constitutes a unique biological environment comprising tumor cells, infiltrating immune cells, stromal cells, blood vessels, extracellular matrix, and secreted factors during tumor growth and development. Various essential physiological characteristics are present in the TME, such as hypoxia, slight acidity, a high concentration of endogenous hydrogen peroxide (H₂O₂), excess levels of glutathione (GSH), and overexpression of certain enzymes. TME-responsive nanomedicine delivery systems offer promising methods for precise drug delivery, gaining increasing attention in nanomedicine research. Among these nanomedicine systems, TME-responsive polymeric micelles (PMs) have emerged as a potential successful option for cancer diagnosis and therapy. These micelles exhibit remarkable biocompatibility, improved permeability, minimal toxicity to healthy cells, and the ability to dissolve various drugs in their micellar core. Due to their nano-size, they can accumulate in the TME and passively target tumor cells via the enhanced permeability and retention (EPR) effect. Consequently, TME-responsive PMs loaded with drugs hold significant potential for tumor diagnosis and treatment.

Currently, TME-responsive strategies for drug delivery systems include pH responsiveness, reactive oxygen species (ROS) responsiveness, enzyme responsiveness, GSH responsiveness, hypoxia responsiveness, and dual/multiple responsiveness, which combine different responsiveness modes. This section introduces several examples of PMs in each TME-responsive strategy, analyzing their design ideas, responsive mechanisms, and targeting strategies. TME-responsive polymeric micelles remain stable in the normal physiological environment, such as blood. However, upon reaching the tumor tissue, they undergo physicochemical changes like protonation, surface electrical transformation, and/or chemical bond hydrolysis, thus enhancing their targeting ability to tumor cells and achieving high enrichment in tumor tissues or drug release. Design ideas for TME-responsive PMs encompass the type of TME responsiveness, the corresponding TME-sensitive chemical structure, and further categorize responsive mechanisms into six approaches: Size change, surface electrical transformation, break of micelle main structures, switch between hydrophilicity and hydrophobicity, electrical inversion of micelles, and ligand exposure.

TME-responsive PMs undergo specific physicochemical changes in tumor tissue (e.g., size, morphology, surface charge, aggregation state) to improve drug targeting and enhance therapeutic effects. Besides carrying antitumor drugs, these PMs can accommodate various functional molecules like optical probes, imaging contrast agents, immune stimulators, or DNA/siRNA, enabling high-performance tumor imaging, targeted therapy, immunotherapy, gene therapy, photothermal therapy, or efficacy monitoring. With advancements in tumor diagnosis technology and research on various new tumor-targeting probes, TME-responsive PMs can achieve multi-module integration and multiple responsiveness. This enables loading diagnostic probes and therapeutic drugs together, constructing an integrated platform for tumor diagnosis and treatment, facilitating image-guided therapy, and significantly advancing related tertiary prevention for tumors.

Presently, most TME-responsive PMs are still in the research stage. pH-responsive PMs NC-6300, which have undergone clinical trials, demonstrated satisfactory experimental results. For further clinical application, researchers will explore more targeted structural designs to address the trade-off between the protective barrier of hydrophilic layers and tumor-targeted recognition, as well as between passive enrichment and deep infiltration. Additionally, further research efforts will focus on improving the internal circulation stability and tumor enrichment efficiency of PMs while reducing the toxicity of dissociated products.

tumor microenvironment, nanodelivery system, polymeric micelles, tumor targeting, environment responsive

doi: [10.1360/TB-2023-0495](https://doi.org/10.1360/TB-2023-0495)