



浅析纳米载体靶向药物递送系统: 误区、壁垒与对策

梅兴国^{†*}, 李明媛[†], 高广宇, 马丝雨, 刘承, 胡小琴

军事医学科学院毒物药物研究所, 北京 100850

[†] 同等贡献

* 联系人, E-mail: newdds@126.com

收稿日期: 2016-06-05; 接受日期: 2016-08-24; 网络版发表日期: 2016-11-04

摘要 纳米载体靶向药物递送系统早已受到各国的广泛关注, 虽然这一研究方向的论文发表量呈指数增加, 却基本没有成药性. 本文基于物理化学和生物学原理分析, 通过对不同材料和粒径纳米载体扩散系数的实验研究, 探讨分子与纳米粒子在水介质中依数性和扩散能力的差异、纳米载体在体内的寻靶过程, 从根本上剖析了纳米载体靶向药物递送系统理论中存在的种种误区, 揭示了主动靶向修饰的纳米载体并不能够按照载体设计的初衷提高对肿瘤组织的靶向效率的缺陷. 证明EPR效应只适用于药物分子与具有足够扩散能力的纳米载体, 并提出依靠环境特异性响应的靶向释药、提高纳米载体扩散能力、利用巨噬细胞固有的吞噬作用捕获NPs实现靶向药物递送以及逐级靶向等更具有可行性的靶向递送新策略.

关键词 纳米载体, 主动靶向, 高效靶头, 扩散系数, EPR效应

世界各国尤其是科技强国都已将发展纳米科技作为国家战略, 发达国家已经形成了从探索纳米尺度新结构、新性能的基础与应用研究, 到全力打造纳米技术的产业链. 目前已经有许多纳米技术进入市场, 纳米科技及产业化正处于快速发展期, 未来在新兴技术领域具有巨大潜力和发展空间.

如表1所示已上市纳米载体药物, 在时间轴上的优势是其能够改变药物释放速率, 包括对于难溶性药物的增溶作用及对于药物的缓释或控释作用; 从空间轴上来说, 其能够改变药物的体内分布, 使药物在某些靶器官组织蓄积, 在一定程度上减小某些敏感组织和细胞的毒副作用^[1~3]. 因而, 纳米载体药物递送系统

已然成为各国政府药物研发的重要支出, 以及众多出版物和专利申请的焦点.

表1中所列的纳米载体药物均为成功上市的新制剂^[4]. 这些制剂的确发挥了增溶作用, 改变了药物的体内分布特点, 提高药效, 然而药物对于肿瘤组织的靶向效率并未达到设计的预期目标. 如何在此基础上进一步提高药物对于肿瘤组织的靶向能力呢? 无数科研工作者将目光聚焦于纳米载体靶向药物递送系统.

1 纳米载体主动靶向药物递送系统: 盛名之下, 其实难副

肿瘤细胞与正常细胞在基因及基因表达方面存

引用格式: 梅兴国, 李明媛, 高广宇, 等. 浅析纳米载体靶向药物递送系统: 误区、壁垒与对策. 中国科学: 生命科学, 2016, 46: 1249–1258
Mei X G, Li M Y, Gao G Y, et al. Initial analysis of nano carrier targeted drug delivery system: misunderstanding, barriers and strategy. Sci Sin Vitae, 2016, 46: 1249–1258, doi: 10.1360/N052016-00219

表 1 已上市纳米载体药物

产品(公司)	载体	药物	适应性	上市时间 (国家或地区)
Abraxane [®] (Abraxis/Celgene)	白蛋白纳米粒	紫杉醇	乳腺癌、胰腺癌、非小细胞肺癌	2005年
DaunoXome [®] (Galen)	脂质体	柔红霉素	卡波西肉瘤	1996年
DepoCyt [®] (Pacira)	脂质体	阿糖胞苷	淋巴瘤脑膜炎	1999年
Doxil [®] /Caelyx [®] (Johnson & Johnson)	脂质体	阿霉素	卡波西肉瘤、卵巢癌 乳腺癌、多种骨髓瘤	1995年; 1999年 (欧洲; 加拿大)
Genexol-PM [®] (Samyang Biopharm)	聚合物胶束	紫杉醇	乳腺癌、肺癌、卵巢癌	2007年(韩国)
Lipo-Dox [®] (Taiwan Liposome)	脂质体	阿霉素	卡波西肉瘤、乳腺与卵巢癌	1998年(台湾)
Marqibo [®] (Talon)	脂质体	长春新碱	急性淋巴性白血病	2012年(美国)
Mepact [®] (Takeda)	脂质体	米伐木肽	骨肉瘤	2009年(欧洲)
Myocet [®] (Cephalon)	脂质体	阿霉素	乳腺癌	2000年(欧洲)

在差异,使其细胞表面或新生血管表面具有一系列特异或过度表达受体(如叶酸、低密度脂蛋白等),这些受体与肿瘤生长和增殖密切相关(如恶性肿瘤细胞呈现出失控性增殖,对负性生长调控不敏感,血管生成,组织侵袭和转移,凋亡逃逸等生理特性)。基于此,设计出可以与这些肿瘤细胞表面高表达受体发生特异性结合的高效靶头,如叶酸、单精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(moArg-Gly-Asp, moRGD)、双精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(diArg-Gly-Asp, diRGD)、环状精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(circularArg-Gly-Asp, cRGD)、天冬酰胺-甘氨酸-精氨酸(Asn-Gly-Arg, NGR)、转铁蛋白等。将这些高效靶头连接于磷脂的PEG链端,制备成为纳米载体,就形成了表面具有靶头修饰的纳米载体靶向药物递送系统,也就是通常所说的主动靶向纳米载体。此类载体的设计初衷是:当载体进入血液循环,高效靶头可带领纳米载体趋近肿瘤组织,进而载体表面靶头与肿瘤细胞表面高表达受体发生特异性结合,纳米载体被锚定,药物释放于肿瘤组织内部,实现药物于肿瘤组织更高效率的靶向蓄积。近年来,这一给药系统被认为是肿瘤治疗最有前景的研究方向,甚至被冠以“魔弹”、“生物导弹”之名。几乎所有相关论文的研究结果都是:主动靶向纳米载体不论体外细胞实验还是体内肿瘤抑制实验,都有着显著优势。

然而,通过对大量文献资料进行整理研究,不难发现在海量有关纳米载体的文献中涉及临床试验的研

究很少。1902年~2016年4月, PubMed数据库中“与“纳米载体”相关的发表物共有1703347件。根据临床试验管理机构登记的数据(<http://clinicaltrials.gov>),共有1854件纳米医药制剂(搜索名词:脂质体/纳米粒/胶束)的临床试验^[5],这些制剂中1381件是癌症治疗领域,仅占总发表量的0.08%^[6]。而抗肿瘤纳米载体上市制剂中,纳米粒^[7,8]、胶束^[9]和脂质体^[10~16]的上市量分别是2, 1和10种。而主动靶向的纳米载体难以进入临床试验阶段,能够通过临床III期研究的少之又少,基本没有成药性。

根据这一现状,本研究组比较了大量主动靶向修饰的聚合物胶束、纳米粒和脂质体药物在肿瘤部位与体内重要组织的分布,并与其他制剂比较。发现其靶向效率($t_e = \text{AUC}_{\text{组织}} / \text{AUC}_{\text{Plasma}}$)与肿瘤组织的相对摄取率($R_{\text{肿瘤}} = \text{AUC}_{\text{纳米载体}} / \text{AUC}_{\text{注射液}}$)^[17]均较低,与被动靶向纳米给药系统及注射液相比,并无显著的肿瘤靶向性优势。

以脂质体为例, Christopher等人^[18]研究构建了一种包含叶酸靶头修饰的紫杉醇脂质体,与普通的紫杉醇脂质体做比较。按照预期,靶头修饰的紫杉醇脂质体在肿瘤部位的药物蓄积应当远高于普通的紫杉醇脂质体。但实验结果证明,二者在肿瘤组织的药物蓄积量并没有显著性差异。这与设计该主动靶向纳米载体的初衷相悖,是靶头不起作用吗?显然不是。

与此相反,同样是靶头修饰的分子主动靶向药物递送系统,却获得了很大的成功,如表2所示,目前已

表 2 已获批上市的ADC

	产品公司	ADC	作用靶点	药物	适应症	获批时间
连接细胞毒药物	Mylotarg® (Pfizer/Wyeth)	Gemtuzumabozogamicin	CD33	刺孢霉素	急性白血病	2001年
	Adcetris® (Seattle Genetics)	Brentuximabvedotin	CD30	MMAE	非霍奇金淋巴瘤	2011年
	Kadcyla® (Roche/Genentech/ImmunoGen)	Trastuzumabemtansine	HER2	DMI	乳腺癌	2013年
连接放射性核素	Zevalin® (IDEC/Spectrum)	Ibritumomabtiuxetan	CD20	钇-90	非霍奇金淋巴瘤	2002年
	Bexxar® (Corixa/Glaxo-SmithKline)	Tositumomab	CD20	碘-131	非霍奇金淋巴瘤	2003年

有多种药物上市. 以抗体-药物结合物(antibody drug conjugates, ADC)为例, 可将抗体靶头连接多种细胞毒药物以及多种放射性核素.

虽然目前有数以万计的文章研究主动靶向纳米载体给药系统, 但关于肿瘤组织靶向效率的数据却很少. 即使一些文章表明了载体靶向给药的有效性, 其在肿瘤部位的靶向效率也没有显著地增加^[18]. 纳米载体表面的靶头修饰, 仅是个装饰, 并不能有效提高药物靶向效率.

同为靶向药物递送系统, 为什么分子靶向取得了巨大成功, 载体主动靶向却难以成药? 现有的纳米载体靶向药物递送系统的设计理论依据是否存在着不容忽视的缺陷?

2 纳米载体靶向药物递送系统存在理论缺陷

2.1 水介质中的分子与纳米颗粒大相径庭

纳米粒子与分子不同, 它们以物理颗粒的形式悬浮于水介质中, 并不能形成稳定均一的溶液. 小分子药物与纳米粒子在水介质中的差异主要是扩散行为的差异. 溶质粒子在介质中由高浓度区向低浓度区迁移的现象称为扩散. 扩散过程中, 物质向化学势低的区域转移, 系统的Gibbs能降低; 扩散的结果是系统趋于均态, 无序度增加, 熵值增大, 因此扩散是自发进行的过程. 根据斐克第一定律, 扩散速度 $dn/dt = -DA dc/dx$, A 为横截面积, dc/dx 为浓度梯度. 比例系数 D 称为扩散系数, 其物理意义是在单位浓度梯度下、单位时间内通过单位截面积的粒子的量. 在Brown运动中, 当粒径在微米级时, 液体分子从各个方向对微粒撞击可以彼此抵消, 扩散作用不明显; 但如果粒径是纳米级的, 某

一瞬间液体分子从各个方向对微粒的撞击就不会彼此抵消, 粒子呈现不规则Brown运动.

通过测定Brown运动的位移求出扩散系数,

得 $D = RT/L \times 1/6\pi\eta r$.

由此可见, 纳米粒子的扩散能力与其大小成反比, 粒径越大, 扩散能力越弱. 因此纳米载体从肿瘤血管间隙进入肿瘤组织很困难.

为了证实分子与纳米粒子水介质中扩散系数的差异, 本研究组实际测量了不同材料、不同大小纳米颗粒与扩散系数的关系(表3), 表4为几种小分子生物

表 3 不同材料纳米颗粒与扩散系数的关系

材料	平均粒径(nm)	扩散系数 $D(\mu\text{m}^2/\text{s})$
碳纳米管	817.19	0.60
	58.27	8.38
墨水	69.14	7.05
	101.01	4.84
AgCl	86.96	5.65
	114.12	4.31
	150.79	3.26
微乳	31.78	15.33
	60.21	8.11
	297.92	1.65
脂质体	29.84	16.57
	81.12	5.99
	110.44	4.41
	251.34	1.94
白蛋白纳米粒	87.43	5.52
	171.23	2.87
	208.37	2.36
	276.02	1.78

表 4 生物溶质在水溶液中的扩散系数

生物溶质	扩散系数($\mu\text{m}^2/\text{s}$)
尿素	1200
维生素C	1435
甘氨酸	1055

溶质在水溶液中的扩散系数. 将两表进行对比可知, 二者的扩散系数相差约3个数量级, 这就可以理解为纳米颗粒与分子在水中的扩散能力差异堪比人步行与超音速飞机的速度差别.

除扩散系数外, 浓度梯度对扩散行为也有影响, 可用单位时间内通过单位面积物质的数量的扩散通量 J 表征

$$J = -D \frac{dc}{dx},$$

其中, D 为扩散系数, dc/dx 为浓度梯度, 负号表示顺浓度梯度. 由公式可知扩散系数越大, 浓度梯度越大, 单位时间单位面积通过的物质数量越多.

纳米粒子与小分子药物的扩散行为的差别^[19]可表现为: (i) 扩散系数方面, 小分子扩散系数大, 扩散能力比纳米粒子强, 在溶液中扩散的更快更易达到平衡, 表现在静脉注射小分子药物血液分布十分迅速, 组织内药物浓度与血药浓度很快到达平衡. 而纳米粒子, 当扩散速度小于血流速度时其扩散主要通过血液带动, 体内分布在一定程度上受组织血流量和灌注量影响, 这也是血液灌注量较高的肾和肝脏积累更多的纳米粒子的部分原因; (ii) 浓度梯度方面, 纳米载体由于其高载药量, 所需载体数量相对于同等剂量的小分子药物大大降低, 即粒子浓度梯度减小, 整体上扩散通量减小. 导致能通过扩散进入肿瘤组织的纳米粒子数量很小, 概率降低. 即使少量的能够进入肿瘤组织的纳米粒子, 还必须通过充满大分子纤维和蛋白质交联度较高的细胞外基质, 其中粒径较大的纳米药物载体易被这些基质拦截.

采用这种静态的均相介质扩散模型而非非均相流体动力学模型来描述纳米粒子在体内的过程, 旨在阐明药物分子与纳米粒子水中行为的不同. 溶解于水中的药物分子进入血液循环之后, 能很快在循环系统中达到浓度平衡, 这不仅是因为血液的流动机械搅拌, 更重要的是药物分子的扩散行为. 而纳米粒子就不同

了, 其混悬在水介质中, “个头大”(相对于小分子)扩散能力很弱, 光靠血液流动机械搅拌是不足以使其均匀分布于血液中的. 血液循环是更为复杂的多相组织系统, 对于扩散过程有更多的阻碍. 这些阻碍对于分子扩散影响不大, 而对于纳米粒子的扩散影响很大. 除此之外, 在湍流的血液中, 纳米载体常常处于血流较快的血管中心部位, 而难以到达血流边缘, 与组织及细胞的接触比静态模型中更少. 综合以上, 药物分子与纳米粒子实际血液循环中的行为差异, 只能比在静态模型中更大.

2.2 EPR效应与纳米粒子风马牛不相及

肿瘤组织增殖生长得过快, 需要大量的营养物质供应, 正常血管的生成速度满足不了需求, 多由肿瘤细胞堆积形成拟肽血管, 具有不连续性和无序性, 血管壁上存在380~780 nm宽的缝隙^[20]. 同时, 平滑肌层和神经支配缺失, 导致肿瘤部位的血液动力学改变^[20], 对于1 cm³孤立肿瘤, 血液流动速率为0.1~0.2 $\mu\text{m/s}$ ^[21], 有利于溶解在血液中的药物分子及混悬在血液中的具有扩散动力的小粒径纳米载体扩散进入肿瘤间隙.

如图1所示, 肿瘤血管内与肿瘤组织的静水压相当, 二者间并无液体流动. 分布于肿瘤血管中的药物分子或纳米载体主要以扩散形式通过血管缝隙到达肿瘤间隙, 这就依赖于两个条件: 浓度梯度与扩散动力. 然而, 分子和纳米粒子在水介质的行为是不同的, 分子具有扩散能力, 而大部分纳米粒子基本没有扩散能力或扩散能力非常小. 有人认为肿瘤组织具有EPR效应, 只要小于肿瘤细胞缝隙的纳米载体(<380 nm)均

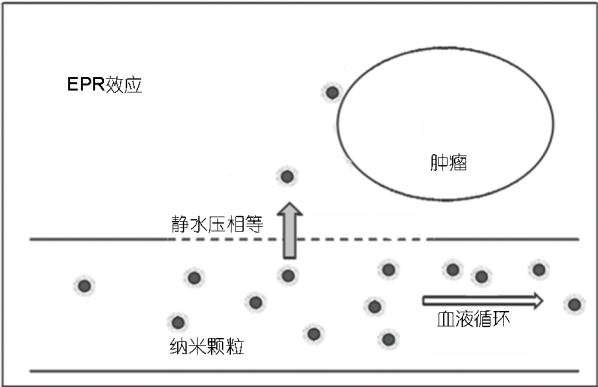


图 1 肿瘤组织EPR效应示意图

能够在肿瘤间隙实现蓄积,这只是个美丽传说,不具有扩散动力的纳米载体是难以基于EPR效应渗透进入肿瘤组织间隙的。

2.3 靶头与载体的大小比例相差悬殊,不符合相当相应法则

连接靶头的药物分子或纳米载体并不具有直接寻靶的能力^[22,23],在进入血液循环后靶头并不能感应到肿瘤组织中受体的位置并向其靠近,而是先通过血液循环进行全身分布.只有恰巧分布于肿瘤组织中的纳米载体,才有可能使修饰的靶头与肿瘤细胞表面或血管壁上的受体(包括酪氨酸蛋白激酶类、G蛋白偶联受体、离子通道偶联受体的膜受体等)发生随机的结合的可能(图2)^[19,24].靶头与受体的结合引起受体蛋白结构发生改变^[25,26],进而引发一系列的后续反应,最终影响细胞膜电位或是通过激酶途径开启基因.有些药物可以与细胞中的蛋白质(微管蛋白)或是酶(二氢叶酸还原酶)^[27,28],RNA相互作用从而影响细胞代谢或是干扰细胞分裂增殖.还有些药物通过胞饮作用进入细胞内,其中受体介导的胞饮作用效果明显大于非介导的胞饮作用.受体介导的物质^[29,30],一些生长因子类物质能作用于细胞核中的DNA改变碱基序列或结构干扰DNA复制^[31].

纳米材料与生物系统相互作用遵循相当相应法则,即空间体积相当或空间结构互补的纳米材料与生物结构之间易于产生接触扰动的相互作用,如卡嵌、栓塞、黏附和聚集等.如表5所示,为不同粒径纳米载体与组织、细胞相关孔道之间的作用联系.具体而言,纳米颗粒的尺寸与生物大分子、细胞器与细胞膜的

基本单元结构处在同一数量级水平上,具备了发生相互扰动作用的基础;然而纳米颗粒与分子靶头的尺寸相差几个数量级,其实难以发挥定向带动、锚定等物理作用^[1].

如图2所示,一般研究论文里关于主动靶向纳米载体的示意图中,靶头与载体的比例相差不超过2个数量级,似乎固定靶头后即可锚定纳米载体,然而这只是一个设想,事实并不是这样. Christopher等人^[18]构建了包含叶酸靶头修饰的脂质体,该靶头大小约0.58 nm,体积则为0.195 nm³,而直径200 nm的脂质体其体积约为4.2×10⁶ nm³,二者相差约3×10⁷倍.这就相当于试图让一只1 cm长的普通蚊子来带动或者锚定一个身高170 cm的人(二者之间体积相差约1×10⁷倍),这个过程是难以实现的.如图3所示,受体表面受体与靶头的结合难以将相对过于庞大的纳米颗粒锚定于细胞表面.

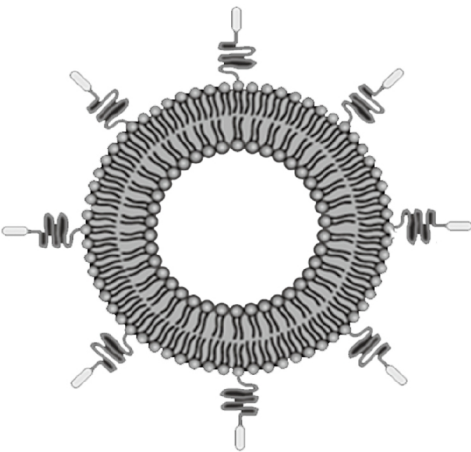


图 2 一般研究论文中主动靶向纳米载体示意图

表 5 粒径对于生物系统的影响

粒径	生物系统与备注
4~5 nm	存在于正常内皮组织的丰富的小孔 ^[32]
25 nm	存在于正常内皮组织的相对较少的大孔 ^[32]
20~50 nm	已上市聚合物胶束的一般粒径 ^[33]
100 nm	已上市载药脂质体的一般粒径 ^[33]
150 nm	粒子从肝脏溢出的横截面粒径 ^[34] ; 肝脏血管具有100~175 nm的开窗 ^[35]
200 nm	小于200 nm的纳米粒子具有明显较长的循环时间,因网状内皮系统的低摄取 ^[36,37]
380~780 nm	肿瘤依赖功能性小孔横截面大小从200 nm到1.2 μm,然而大多数肿瘤中多孔血管的孔截面为380~780 nm ^[38]
5 μm	最小毛细血管的直径 ^[39]
40 μm	大于40 μm的粒子被用来栓塞形成治疗 ^[40]

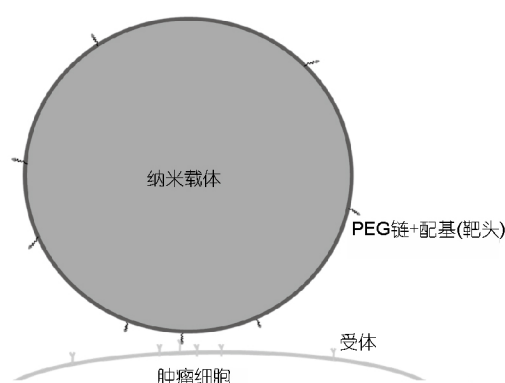


图3 实际体内靶头与受体结合过程示意图

2.4 纳米载体不具有依数性, 在体内不遵循分子的ADME规则

难挥发性溶质的稀溶液中溶剂的蒸气压、凝固点、沸点和渗透压的数值, 只与溶液中溶质粒子的数量有关, 与溶质本身无关, 称这些性质为稀溶液的依数性. 任何溶液都有渗透压, 通过实验发现, 当温度一定时, 稀溶液的渗透压 P 和溶质 B 的浓度 c_B 成正比; 当浓度不变时, 稀溶液的渗透压 P 和热力学温度 T 成正比, 即:

$$P = c_B RT,$$

式中, P 为渗透压, 单位为Pa; c_B 为溶质 B 的摩尔浓度; R 为摩尔气体常数, $R=8.315 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$; T 为热力学温度. 因故

$$PV = nBR,$$

表明稀溶液渗透压也和溶质粒子数有关而和溶质本性无关.

同小分子药物类似, 静脉注射纳米药物载体后, 纳米载体以物理颗粒的形式进入机体, 首先需要通过血液循环在体内进行全身分布. 与小分子药物不同, 纳米载体悬液不具有依数性, 基本无渗透压活性. 因此, 纳米载体在体内行为不同于小分子, 其分布不会遵循ADME规则. 本实验室测定了二氧化硅、二氧化钛、碳纳米管、纳米碳等材料的渗透压, 结果显示这些材料的渗透压均小于1 mmHg.

2.5 纳米载体的体内分布更多依赖于相关组织血流量与巨噬细胞的数量

影响纳米药物载体体内组织分布的因素有多种.

生理因素方面, 与组织器官的血液灌流速度和组织器官的毛细血管通透性有关, 如肝、肾等组织的血流灌注量较大且这些部位存在着血窦, 血管通透性较大, 导致一些纳米制剂的肝毒性和肾毒性. 纳米药物载体本身的因素, 如粒径大小、形状、表面性质等也影响着药物的分布, 如肺部毛细血管非常细且丰富, 较大体积的载体($>300 \text{ nm}$)易发生卡嵌和堆积. 到达肿瘤组织的纳米药物载体的比例难以达到5%^[23].

对于抗原物质而言, 分子量越大免疫原性越强^[41]. 纳米药物载体作为粒径较大的外源性物质, 比通常分子量大于或等于10 kD抗原大得多, 不可避免的易被机体免疫系统识别, 通过调理作用, 能被体内调理素标记后被吞噬细胞所识别吞噬. 影响吞噬细胞吞噬作用取决于纳米载体的粒径、形状以及表面性质. 大粒子在血液中的清除速率比小粒子清除快, 粒径大于200 nm的纳米载体可以被网状内皮系统轻易捕获^[42]. 粒子的带电情况和形状也影响着它们的摄取^[43]. Chu等人^[42]研究发现, 窄宽度的棒状纳米载体比相同粒径的球型载体肿瘤穿透能力更强.

肿瘤相关巨噬细胞占实体肿瘤质量的50%左右^[44], 是肿瘤微环境的重要组成部分, 能够促进肿瘤生长, 刺激血管生成和抑制免疫反应等. 在免疫活性条件下, 肿瘤相关巨噬细胞能够选择性捕获NPs, 将其分布到肿瘤的低氧区域, 增强纳米载体在肿瘤组织中的渗透性. 在转基因小鼠(*Mus musculus*)乳腺癌模型中, 核磁共振成像显示巨噬细胞能够携带氧化铁NPs, 深入地分布在肿瘤组织中^[44]. Madsen等人^[45]用双光子荧光技术证实了装载纳米粒的巨噬细胞能够有效地渗透到多细胞肿瘤球状体中, 并且发现巨噬细胞不仅可以在低氧区聚集也能够均匀地分布在球状体当中. Choi等人^[46]证实, 金NPs能够有效地被单核细胞内化, 并传递到肿瘤中含氧量低的部位. 被巨噬细胞内化的金NPs累积在肿瘤球状体中通过光辐射处理后诱导细胞死亡.

3 提高纳米载体药物靶向递送效率的新策略

对于纳米载体药物递送系统来说, 既然主动靶向策略存在一定缺陷, 有没有其他更具有可行性的策略呢?

3.1 利用环境特异性实现纳米载体在肿瘤部位靶向释药, 提高靶向效率

对特殊环境具有响应能力的纳米载体(如温度敏感、pH敏感等)的体内作用是两个过程: (i) 纳米载体随血流流经肿瘤组织微循环血管; (ii) 受环境特异性因素影响, 纳米载体发生相变或解聚, 释放药物, 形成肿瘤组织微循环局部的高药物浓度梯度, 借助EPR效应优势进入肿瘤细胞. 以热敏脂质体为例, 本课题组研究了阿霉素长循环热敏脂质体与酒石酸长春瑞滨脂质体, 其在37°C不释药, 而在采用热疗技术加热到(41±0.5)°C肿瘤组织血管中发生相变, 迅速释放药物于肿瘤部位, 发挥靶向药物递送作用^[47-49]. 阿霉素热敏脂质体在肿瘤组织的药物蓄积提高了15~25倍, 酒石酸长春瑞滨热敏脂质体提高了12.5倍. 由本课题组承担研发工作的热敏脂质体(ThermoDox)正在中国进行III期临床试验增补试验, 有望成为全球第一个上市热敏脂质体产品. 此外, 还有针对肿瘤组织较低的pH(5.8~6.5)研发的pH超级敏感的荧光显影胶束, 在血液循环中(pH 7.35~7.45)中胶束的荧光头聚集在一起, 荧光淬灭, 到肿瘤组织后胶束内部质子化而解离, 发出荧光, 准确标记肿瘤组织的位置和轮廓, 辅助外科手术切除, 具有极大的临床应用前景^[50-52]. 与光动力治疗结合的光敏载体, 将光敏剂与化疗药物一同载入脂质体, 在肿瘤部位给予近红外激光($\lambda=630\text{ nm}$)照射, 光敏剂受到激发, 脂质体破裂迅速释放药物, 靶向集中于肿瘤部位^[53].

3.2 赋予载体扩散能力: 控制纳米载体粒径及表面电荷

靶向制剂的靶向性是由于微粒在机体内部受到物理和生理的作用而有选择地聚集于肝、脾、肺、淋巴及肿瘤等组织器官中. 粒径对于生物系统的影响如表5所示. 纳米靶向药物载体平均粒径需大于10 nm, 若小于肾脏清除阈则主要通过肾脏将其清除. 根据2.5对于EPR效应的机理误区的揭示, 结合纳米载体于体内的扩散分布原理, 具有扩散动力的纳米载体的粒径(>10 nm)越小靶向效率越高^[54-57], 粒径大于肿瘤血管缝隙的纳米载体不能发生EPR效应, 粒径小于血管缝隙但不具有扩散动力的纳米载体依然难以利用EPR效应.

除载体粒径外, 其表面所带电荷对于体内循环时间也有重要影响. 肿瘤细胞表面和肿瘤微血管组织中糖蛋白、蛋白聚糖等均为阴离子分子, 使得阳离子药物载体因天然静电吸引成为抗肿瘤药物的优良靶向载体^[58]. Joshi等人^[59]报道, 在荷瘤小鼠模型中, 静脉注射3 h后, 阴离子药物载体即从肿瘤组织中清除, 而阳离子药物载体在肿瘤组织中保留时间长达6 h, 中性药物载体介于两者之间. 在分离的肿瘤组织灌流系统中, 阳离子药物载体也比中性粒子有较多的保留.

3.3 利用巨噬细胞固有的吞噬作用捕获NPs, 实现靶向药物递送

随着人们对巨噬细胞特别是肿瘤相关巨噬细胞的功能和特点的了解越来越深入, 推动了具有特殊作用方式的新型药物给药系统的发展^[60]. 利用巨噬细胞固有的吞噬作用来捕获NPs, 将药物传递到难以到达的部位, 如肿瘤低氧部位和中枢神经系统, 是发展新型细胞介导的纳米载体高效方法^[61]. 虽然针对肿瘤相关巨噬细胞治疗肿瘤的确切机制尚未清楚, 但是这些研究为纳米载体靶向肿瘤相关巨噬细胞治疗肿瘤的临床应用提供了新的思路.

3.4 将载体靶向与分子靶向结合起来的逐级靶向策略

分子靶向已取得巨大成功, 有很多上市药物. 然而, 对于某些大分子药物(如基因、蛋白等)来说, 直接进入血液循环后药物本身不稳定, 易被各种体内的酶降解. 这类药物的分子靶向可首先基于纳米载体的保护和递送, 实现逐级靶向. 例如, 杨艳芳等人^[47]将细胞穿膜肽与siRNA连接, 共同包载于热敏脂质体中, 脂质体结合热效应于肿瘤组织释药, 此时进入分子靶向阶段, 大大提高siRNA靶向进入肿瘤细胞发挥作用的效率.

4 总结与展望

细胞是生命体的基本单元, 而分子是基础. 从分子到分子通路、亚细胞结构、细胞结构、组织, 再到人体, 这是一个复杂的分子建筑. 生命的本质是溶解在水介质中的分子的有序化学运动, 生命活动的一切过程都是基于分子与分子间的相互作用. 纳米载体以

物理颗粒的形式进入机体, 其体内行为与药物分子大相径庭。在纳米载体表面修饰高效靶头, 试图提高肿瘤靶向效率的主动靶向设计虽然精巧完美, 但其作用却微乎其微, 并不能达到研究人员的设计预期。因此,

基于生命运动的客观规律, 依靠环境特异性的靶向释放和提高纳米载体扩散能力, 以及其他靶向药物递送策略, 才是更具有可行性的新策略。方向对了, 研究才有价值。

参考文献

- 1 高广宇, 陈美玲, 李明媛, 等. 纳米技术转化医学发展现状及前景展望. *药学报*, 2015, 50: 1–6
- 2 Greish K, Fang J, Inutsuka T, et al. Macromolecular therapeutics: advantages and prospects with special emphasis on solid tumor targeting. *Clin Pharmacokinet*, 2003, 42: 1089–1105
- 3 Lu bbea S, Alexiou C, Bercemann C. Clinical application of magnetic drug targeting. *Surg Res*, 2001, 95: 200–206
- 4 Wicki A, Witzigmann D, Balasubramanian V, et al. Nanomedicine in cancer therapy: challenges, opportunities, and clinical applications. *J Controlled Release*, 2015, 200: 138–157
- 5 A service of the U.S. National Institutes of Health Retrieved Dec. <http://clinicaltrials.gov.2016>
- 6 Venditto V J, Szoka Jr. F C. Cancer nanomedicines: so many papers and so few drugs! *Adv Drug Deliver Rev*, 2013, 65: 80–88
- 7 Gil P R, Hühn D, Mercato L L D, et al. Nanopharmacy: inorganicnanoscale devices as vectors and active compounds. *Pharmacol Res*, 2010, 62: 115–125
- 8 Desai N. Increased antitumor activity, intratumor paclitaxel concentrations, and endothelial cell transport of cremophor-free, albumin-bound paclitaxel, ABI-007, compared with cremophor-based paclitaxel. *Clin Cancer Res*, 2006, 12: 1317–1324
- 9 Lee K S, Chung H C, Im S A, et al. Multicenter phase II trial of Genexol-PM, a Cremophor-free, polymeric micelle formulation of paclitaxel, in patients with metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 2008, 108: 241–250
- 10 Rivera E. Liposomal anthracyclines in metastatic breast cancer: clinical update. *Oncologist*, 2003, 2: 3–9
- 11 Glantz M J, Jaeckle K A, Chamberlain M C, et al. A randomized controlled trial comparing intrathecal sustained-release cytarabine (DepoCyt) to intrathecal methotrexate in patients with neoplastic meningitis from solid tumors. *Clin Cancer Res*, 1999, 5: 3394–3402
- 12 Muggia F M, Hainsworth J D, Jeffers S, et al. Phase II study of liposomal doxorubicin in refractory ovarian cancer: antitumor activity and toxicity modification by liposomal encapsulation. *J Clin Oncol*, 1997, 15: 987–993
- 13 Khemapech N, Oranratanaphan S, Termrungruanglert W, et al. Salvage chemotherapy in recurrent platinum-resistant or refractory epithelial ovarian cancer with Carboplatin and distearoylphosphatidylcholinepegylated liposomal Doxorubicin (lipo-dox®). *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14: 2131–2135
- 14 Rodriguez M A, Pytlík R, Kozak T, et al. Vincristine sulfate liposomes injection (Marqibo) in heavily pretreated patients with refractory aggressive non-Hodgkin lymphoma. *Cancer*, 2009, 115: 3475–3482
- 15 Venkatakrishnan K, Liu Y, Noe D, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of liposomal mifamurtide in adult volunteers with mild or moderate hepatic impairment. *Br J Clin Pharmacol*, 2014, 77: 998–1010
- 16 Batist G, Ramakrishnan G, Rao C S, et al. Reduced cardiotoxicity and preserved antitumor efficacy of liposome. *Clin Cancer Res*, 2006, 12: 1317–1324
- 17 Ohmukai O. Lipo-VSAID preparation. *Adv Drug Delivery Rev*, 1996, 20: 203–220
- 18 Leamon C P, Cooper S R, Hardee G E. Folate-liposome-mediated antisense oligodeoxynucleotide targeting to cancer cells: evaluation *in vitro* and *in vivo*. *Bioconjug Chem*, 2003, 14: 738–747
- 19 Rk Jain. 1995 Whitaker Lecture: delivery of molecules, particles, and cells to solid tumors. *Ann Biomed Eng*, 1996, 24: 457–473
- 20 郝爱军, 张宁, 郭兴家, 等. EPR作用及其在抗肿瘤大分子药物研究中的应用. *中国新药杂志*, 2012, 21: 2516–2520
- 21 Jain R K. Transport of molecules in the tumor interstitium: a review. *Cancer Res*, 1987, 47: 3039–3051
- 22 Ruenaroengsak P, Cook J M, Florence A T. Nanosystem drug targeting: facing up to complex realities. *J Control Release*, 2010, 141: 265–276
- 23 Kwon I K, Lee S C, Han B, et al. Analysis on the current status of targeted drug delivery to tumors. *J Control Release*, 2012, 164: 108–114
- 24 Danquah M K, Zhang X A, Mahato R I. Extravasation of polymeric nanomedicines across tumor vasculature. *Adv Drug Deliver Rev*, 2011, 63: 623–639
- 25 Pitsikas N. The metabotropic glutamate receptors: potential drug targets for the treatment of anxiety disorders? *Eur J Pharmacol*, 2014, 723: 181–184

- 26 Limonta P, Manea M. Gonadotropin-releasing hormone receptors as molecular therapeutic targets in prostate cancer: current options and emerging strategies. *Cancer Treat Rev*, 2013, 39: 647–663
- 27 Liao D, Liu Z, Wrasidlo W, et al. Synthetic enzyme inhibitor: a novel targeting ligand for nanotherapeutic drug delivery inhibiting tumor growth without systemic toxicity. *Nanomedicine*, 2011, 7: 665–673
- 28 Andrýs R, Zemanová L, Lenčo J, et al. Carbonyl-reducing enzymes as targets of a drug-immobilised affinity carrier. *Chem Biol Interact*, 2015, 234: 169–177
- 29 Cerchia L, de Francis V. Targeting cancer cells with nucleic acid aptamers. *Trends Biotechnol*, 2010, 28: 517–525
- 30 Ohnmacht S A, Neidle S. Small-molecule quadruplex-targeted drug discovery. *Bioorg Med Chem Lett*, 2014, 24: 2602–2612
- 31 Bernat V, Disney M D. RNA structures as mediators of neurological diseases and as drug targets. *Neuron*, 2015, 87: 28–46
- 32 Rippe B, Rosengren B I, Carlsson O, et al. Transendothelial transport: the vesicle controversy. *J Vasc Res*, 2002, 39: 375–390
- 33 Lee S C, Huh K M, Lee J, et al. Hydrotropic polymeric micelles for enhanced paclitaxel solubility: *in vitro* and *in vivo* characterization. *Biomacromolecules*, 2007, 8: 202–208
- 34 Soppimath K S, Betageri G V. Nanostructures for cancer diagnostics and therapy. In: Gonsalves K, Halberstadt C, Laurencin C T, et al, eds. *Biomedical Nanostructures*. Hoboken: Wiley-Interscience, 2007. 409–437
- 35 Ballet F. Hepatic circulation: potential for therapeutic intervention. *Pharmacol Ther*, 1990, 47: 281–328
- 36 Lia Y P, Ying Y, Zhang X Y, et al. PEGylated PLGA nanoparticles as protein carriers: synthesis, preparation and biodistribution in rats. *J Control Release*, 2001, 71: 203–211
- 37 Owens D E, Peppas N A. Osonization, biodistribution, and pharmacokinetics of polymeric nanoparticles. *Int J Pharm*, 2006, 307: 93–102
- 38 Hobbs S K, Monsky W L, Yuan F, et al. Regulation of transport pathways in tumor vessels: role of tumor type and microenvironment. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 4607–4612
- 39 Guan J, He H, Yu B, et al. Polymeric nanoparticles and nanopore membranes for controlled drug and gene delivery. In: Gonsalves K, Halberstadt C, Laurencin C T, et al, eds. *Biomedical Nanostructures*. Hoboken: Wiley-Interscience, 2007. 115–137
- 40 Bastian P, Bartkowski R, Koehler H, et al. Chemo-embolization of experimental liver metastases. Part 1: distribution of biodegradable microspheres of different sizes in an animal model for the locoregional therapy. *Eur J Pharm Biopharm*, 1998, 46: 243–254
- 41 龚非力. 医学免疫学. 北京: 科学出版社, 2004. 18
- 42 Chu K S, Hasan W, Rawal S, et al. Plasma, tumor and tissue pharmacokinetics of Docetaxel delivered via nanoparticles of different sizes and shapes in mice bearing SKOV-3 human ovarian carcinoma xenograft. *Nanomedicine*, 2013, 9: 686–693
- 43 Bartneck M, Keul H A, Wambach M, et al. Effects of nanoparticle surface-coupled peptides, functional endgroups, and charge on intracellular distribution and functionality of human primary reticuloendothelial cells. *Nanomedicine*, 2012, 8: 1282–1292
- 44 Keliher E J, Yoo J, Nahrendorf M, et al. ^{89}Zr -labeled dextran nanoparticles allow *in vivo* macrophage imaging. *Bioconjugate Chem*, 2011, 22: 2383–2389
- 45 Madsen S J, Baek S K, Makkouk A R, et al. Macrophages as cell-based delivery systems for nanoshells in photothermal therapy. *Ann Biomed Eng*, 2012, 40: 507–515
- 46 Choi M R, Stanton-Maxey K J, Stanley J K, et al. A cellular trojan horse for delivery of therapeutic nanoparticles into tumors. *Nano Lett*, 2007, 7: 3759–3765
- 47 Yang Y, Yang Y, Xie X, et al. PEGylated liposomes with NGR ligand and heat-activable cell-penetrating peptide–doxorubicin conjugate for tumor-specific therapy. *Biomaterials*, 2014, 35: 4368–4381
- 48 Zhang H, Wang Z, Gong W, et al. Development and characteristics of temperature-sensitive liposomes for vinorelbine bitartrate. *Int J Pharm*, 2011, 414: 56–62
- 49 Zhang H, Gong W, Wang Z Y, et al. Preparation, characterization, and pharmacodynamics of thermosensitive liposomes containing docetaxel. *J Pharm Sci*, 2014, 103: 2177–2183
- 50 Wang Y, Zhou K, Huang G, et al. A nanoparticle-based strategy for the imaging of a broad range of tumours by nonlinear amplification of microenvironment signals. *Nat Mater*, 2013, 13: 204–212
- 51 Ma X, Wang Y, Zhao T, et al. Ultra-pH-sensitive nanoprobe library with broad pH tunability and fluorescence emissions. *J Am Chem Soc*, 2014, 136: 11085–11092
- 52 Zhou K J, Wang Y G, Huang X N, et al. Tunable ultra-sensitive pH responsive nanoparticles targeting specific endocytic organelles in living cells. *Angew Chem Int Ed*, 2011, 50: 6109–6114
- 53 Yang Y, Yang Y F, Xie X Y, et al. Dual-modified liposomes with a two-photon-sensitive cell penetrating peptide and NGR ligand for siRNA targeting delivery. *Biomaterials*, 2015, 48: 84–96

- 54 Alexis F, Pridgen E, Molnar L K, et al. Factors affecting the clearance and biodistribution of polymeric nanoparticles. *Mol Pharm*, 2008, 5: 505–515
- 55 Liechty W B, Peppas N A. Expert opinion: responsive polymer nanoparticles in cancer therapy. *Eur J Pharm Biopharm*, 2012, 80: 241–246
- 56 Takara K, Hatakeyama H, Kibria G, et al. Size-controlled, dual-ligand modified liposomes that target the tumor vasculature show promise for use in drug-resistant cancer therapy. *J Control Release*, 2012, 162: 225–232
- 57 Nagayasu A, Uchiyama K, Kiwada H. The size of liposomes: a factor which affects their targeting efficiency to tumors and therapeutic activity of liposomal antitumor drugs. *Adv Drug Deliver Rev*, 1999, 40: 75–87
- 58 闫颖, 齐宪荣. 以叶酸受体为靶向的阳离子脂质体的制备与性质考察. *药学报*, 2008, 43: 1134–1139
- 59 Joshi M D, Unger W J, Storm G, et al. Targeting tumor antigens to dendritic cells using particulate carriers. *J Control Release*, 2012, 161: 25–37
- 60 Huang B. Tumor microenvironment: a mechanical force link. *Sci China Life Sci*, 2015, 58: 202–204
- 61 张思悦, 高洁, 解方圆, 等. 纳米载体靶向肿瘤相关巨噬细胞治疗肿瘤新策略. *第二军医大学学报*, 2016, 37: 477481

Initial analysis of nano carrier targeted drug delivery system: misunderstanding, barriers and strategy

MEI XingGuo, LI MingYuan, GAO GuangYu, MA SiYu, LIU Cheng & HU XiaoQin

Institute of Pharmacology and Toxicology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100850, China

Nano carrier targeted drug delivery system has been widely concerned by many countries. Although papers published in this field have increased exponentially, no drug has come into the market successfully. Based on physicochemical and biological principles and through diffusion coefficient determination of nano carriers in different materials and particle sizes, this paper studies the different diffusion capacity of molecules and nanoparticles in aqueous media, as well as *in vivo* targeting process of the nanoparticles. After fundamental analysis of various theoretical misunderstanding for nano carriers targeted drug delivery system, we reveal that active targeting nanoparticles could not improve tumor targeting efficiency as their original designations. Then we draw a conclusion that EPR effect is only applicable for drug molecules and nano carriers with sufficient diffusion capacity, and propose new strategies for more feasible nano carriers targeted delivery, including environment-specific responded targeting drug release, improving the nano carrier diffusion capacity, using macrophage phagocytosis capturing NPs to achieve the target drug delivery, and step-by-step targeting strategy.

nano carrier, active targeting, high efficient target, diffusion coefficient, EPR effect

doi: [10.1360/N052016-00219](https://doi.org/10.1360/N052016-00219)