

· 综述 ·

纳米载药系统逆转肿瘤及骨肉瘤多药耐药的研究进展

陈自强¹, 张 玮², 李玉平², 王晓宇³ (1. 第二军医大学附属长海医院骨科, 上海 200433; 2. 同济大学附属上海市肺科医院药剂科, 上海 200433; 3. 第二军医大学附属长海医院药学部, 上海 200433)

[摘要] 多药耐药是肿瘤化疗中的重要难题, 多药耐药的机制复杂, 目前尚无有效的治疗策略。纳米载药系统具有靶向性、载药种类多样等优点, 近年来成为对抗肿瘤多药耐药的递药载体的重要研究方向。对肿瘤抑制的不同机制进行讨论, 并对纳米载药系统逆转骨肉瘤多药耐药的研究进展进行综述。

[关键词] 肿瘤; 骨肉瘤; 多药耐药; 纳米载药系统

[中图分类号] R738.9; R94 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2016)02-0103-03

[DOI] 10.3969/j.issn.1006-0111.2016.02.002

Progress on nano-sized drug delivery system reversing tumor and multidrug resistance of osteosarcoma

CHEN Ziqiang¹, ZHANG Wei², LI Yuping², WANG Xiaoyu³ (1. Department of Orthopaedics, Changhai Hospital Affiliated to Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Department of Pharmacy, Shanghai Pulmonary Hospital Affiliated to Tongji University, Shanghai 200433, China; 3. Department of Pharmacy, Changhai Hospital Affiliated to Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] Multidrug resistance (MDR) of tumor cell is the major problem for chemotherapy. However, there is no effective strategy to overcome MDR due to the complicated mechanism. The nano-sized drug delivery system could target to the tumor cell. Moreover, it could delivery different kinds of drugs. Therefore, the nano-sized drug delivery system has become a promising approach to reverse MDR. The nano-sized drug delivery system which is applied to treat the MDR of tumor (osteosarcoma) was summarized and the reverse mechanism was discussed.

[Key words] tumor; osteosarcoma; MDR; nano-sized drug delivery system

目前, 在肿瘤的治疗过程中, 化学疗法是除手术外最重要的治疗手段, 然而, 肿瘤细胞对化疗药物所产生的多药耐药 (multidrug resistance, MDR) 是导致化疗失败的重要原因。纳米载药系统具有被动或主动靶向性以及载药种类多样等优点, 近年来成为逆转 MDR 给药载体的重要研究方向。本文根据不同机制抑制肿瘤及骨肉瘤 MDR 的纳米载药系统进行综述。

1 肿瘤多药耐药机制^[1,2]

1.1 P-糖蛋白 (MDR1/P-gp) 导致药物外排 P-gp 具有细胞膜离子泵样作用, 依赖于三磷酸腺苷 (ATP) 水解释放的能量, 识别进入细胞膜的亲脂性药物, 并将药物泵出细胞外。肿瘤细胞中 P-gp 过量

表达导致的药物外排增加, 被认为是最重要的产生 MDR 的机制。

1.2 细胞内环境的改变降低药物疗效 包括: ①细胞凋亡通路的异常, 如: *Bcl-2* 基因表达增强抑制细胞凋亡; ②谷胱甘肽 (GSH) 和谷胱甘肽-S-转移酶对化疗药物代谢解毒能力的增加; ③与肿瘤耐药相关的分子改变, 从抗细胞凋亡、药泵机制等多方面促进 MDR 的发生, 如: 神经酰胺代谢异常、核转录因子 *NF-κB* 的活性异常、缺氧诱导因子 (hypoxia inducible factor-1, HIF-1) 的作用等; ④细胞内 pH 值降低; ⑤其他。

2 纳米载体逆转肿瘤 MDR

纳米载体是指粒径 $< 1 \mu\text{m}$ 的载药系统, 主要包括: 高分子纳米粒、固体脂质纳米粒、脂质体以及聚合物胶束等, 依据 MDR 的发生机制, 纳米载药系统逆转 MDR 主要有两种策略: 一是减少药物被肿瘤细胞外排, 二是针对肿瘤内环境变化进行调节。

[作者简介] 陈自强, 博士研究生, 主治医师, 讲师。研究方向: 脊柱畸形治疗和骨肉瘤靶向治疗。Tel: 13764993804; E-mail: Ziqiang_chen81@126.com

2.1 减少药物外排

2.1.1 沉默MDR1/P-gp Patil等^[3]制备了包载紫杉醇和P-gp靶向的siRNA的聚乳酸(PLGA)-聚乙烯亚胺(PEI)复合物纳米粒。体外细胞实验结果显示,共载紫杉醇和siRNA的纳米粒组中,P-gp的表达显著降低,紫杉醇在细胞内的浓度明显增加,共载纳米粒的细胞毒作用比紫杉醇纳米粒显著增大。以上研究结果均显示,对药物外排基因MDR1/P-gp的沉默可降低肿瘤细胞的药物外排,增加药物在细胞内的浓度,从而提高药物对肿瘤细胞的作用,可有效逆转MDR。

2.1.2 P-gp蛋白抑制剂 P-gp蛋白抑制剂主要包括:维拉帕米(WER)、奎尼丁、环孢素及其同系物伐司扑达等药物,以及聚氧乙烯硬脂酸酯(Brij 78)和D- α -生育酚聚乙二醇琥珀酸酯(TPGS)等表面活性剂。Song等^[4]制备了共载长春新碱(VCR)和维拉帕米的PLGA纳米粒,用乳腺癌耐药株MCF7/ADR细胞系评价其药效,实验结果显示:共载纳米粒的抗肿瘤效果优于游离VCR+游离WER组、游离VCR+WER纳米粒组及游离WER+VCR纳米粒组。在制备纳米载药系统的聚合物中加入表面活性剂,可造成细胞膜亲脂性环境被破坏,使P-gp的二级结构与三级结构发生可逆变化而丧失功能,可逆转肿瘤的MDR。Khdair等^[5]用表面活性剂丁二酸二辛酯磺酸钠(aerosol OT, AOT)修饰的藻酸盐聚合物(AOT-alginate)纳米粒共载DOX和亚甲蓝(既是P-gp抑制剂,又可作为光动力治疗剂),提高了药物在乳腺癌细胞胞液和细胞核的浓度,增大了药物毒性,诱导细胞凋亡增加,有效地逆转了乳腺癌细胞的MDR。

2.2 应用具有抗耐药特性的纳米载体 此类纳米载体包括一些智能敏感型纳米载体和多功能金属纳米粒。其中,金属纳米粒子又可作为显影剂,共载化疗药物后,形成具有诊断和治疗双重功效的药物。

2.2.1 智能敏感型纳米载体 肿瘤组织具有酸性微环境,可以作为触发递药载体在肿瘤部位或肿瘤细胞内释放药物的信号,用于设计特定pH值响应的纳米递药载体。TAT多肽(transactivator of transcription, TAT)是穿膜肽系中的一种,它可以促进纳米复合物进入细胞,增加药物的递送量。Lee等^[6]设计了TAT修饰的pH敏感型胶束,在体循环过程中,TAT靶头隐藏在胶束的PEG链中,在肿瘤组织的微酸环境中,胶束质子化,暴露TAT,促进胶束进入肿瘤细胞,细胞内的酸性环境进一步使胶束彻底裂解,释放药物。体外实验结果显示,与无

TAT修饰的胶束比较,TAT修饰胶束能够更有效地杀死耐药肿瘤细胞;体内实验显示,混合胶束对肿瘤部位的靶向性和抗肿瘤活性均优于对照的非pH敏感胶束。这证实了pH敏感或TAT修饰等对增加纳米载体的药物递送量均有明显效果,有利于逆转MDR。

2.2.2 多功能金属纳米粒 金属纳米载体可作为靶向特定组织的药物载体和用于磁场作用下的辅助放疗,主要应用的有Fe₃O₄纳米粒(MNPs)。Chen等进行的系列研究中^[7-9],用MNPs载化疗药多柔比星(Dox)或柔红霉素在红白血病细胞K562/A02耐药株上进行实验,结果显示化疗药在细胞内的浓度明显增加,促进肿瘤细胞凋亡,并可明显抑制荷瘤小鼠移植瘤的增殖,研究者认为MNPs逆转MDR的作用可能是由于MNPs的Fe³⁺有助于化疗药与DNA的作用,阻碍转录因子对DNA的识别和转录。

2.3 增强肿瘤细胞的凋亡 抗凋亡基因Bcl-2在多种肿瘤中高表达,增强了细胞的耐药性,对Bcl-2的基因沉默可以有效逆转MDR。Chen等^[10]以第二代聚酰胺-胺型树枝状高分子修饰的介孔二氧化硅(G2-MSN)为载体材料,制备了共载Dox和Bcl-2 siRNA的纳米粒(G2-MSN-Dox/siRNA),给药于耐药性人卵巢癌细胞A2780/AD。实验结果显示,游离Dox对细胞的半数致死量(IC₅₀)为2.25 μ mol/L,G2-MSN-Dox的IC₅₀为1.07 μ mol/L,而G2-MSN/Dox+siRNA的IC₅₀为0.017 μ mol/L,说明对Bcl-2的基因沉默增加了细胞的凋亡,对逆转细胞的耐药具有显著作用。

2.4 调节细胞因子 在Wang等^[11]的实验中,Dox和沉默HIF-1 α 的mRNA转录的反义寡核苷酸(ASO)共载于PEG化的脂质体(liposomal Dox+ASO)中,用于治疗小鼠异种移植的MDR人卵巢癌。结果显示,与Dox组、liposomal Dox组、liposomal ASO组比较,liposomal Dox+ASO组对肿瘤的生长抑制作用显著增加。

三苯氧胺(TAM)是具有抑制P-gp的药物外排及抑制神经酰胺糖基化作用的雌激素拮抗剂。Devalapally等^[12]制备了TAM和紫杉醇共载的PEO-PCL聚合物纳米粒,对卵巢癌细胞进行逆转MDR实验。体外细胞实验显示,TAM和紫杉醇共同给药使得紫杉醇的IC₅₀值在SKOV3细胞的耐药株与敏感株中均显著降低。当用共载药物的纳米粒给药时,体内外实验结果均显示,共载纳米粒具有显著的抗肿瘤作用。

Fan 等^[13]制备了叶酸修饰的共载 Dox 和 NF- κ B 抑制剂吡咯烷二硫基甲酸铵盐 (PDTC) 的壳聚糖纳米粒。在对叶酸受体高表达的耐药 HepG-2 肝癌细胞实验中,不同载体形式的药物的 IC₅₀ 值从高至低依次为:游离 Dox>载 Dox 纳米粒>叶酸修饰载 Dox 纳米粒>叶酸修饰 Dox+PDTC 纳米粒,共载纳米粒比其他药物载体显示出更强的药物作用,说明 PDTC 对 NF- κ B 的活性抑制起到了有效作用。

3 纳米载药系统在逆转骨肉瘤 MDR 中的应用

MDR 是导致骨肉瘤治疗失败的重要原因,其耐药机制与前文所述相似。近年来,纳米载体递送药物用于逆转骨肉瘤 MDR 的研究也有了新的进展。Susa 等^[14]制备了载 Dox 的脂质-右旋糖酐聚合物纳米粒作用于骨肉瘤细胞,与游离 Dox 比较,纳米粒组中细胞内 Dox 蓄积量显著增加,对细胞的增殖抑制作用明显增强。Susa 等^[15]制备的载 MDR1-siRNA 纳米粒对细胞的 P-gp 表达具有明显的抑制作用,可促进 Dox 在细胞内的蓄积,对细胞的毒性明显增强。以上实验结果证实,纳米载体的应用有利于逆转骨肉瘤的 MDR。

4 总结和展望

纳米载药系统的优点在于具有被动或主动靶向性,载药种类多样等,其在逆转肿瘤的 MDR 中具有良好的应用前景。但肿瘤细胞 MDR 的发生机制十分复杂,对抗单一机制的药物载体已经难以达到治疗的需要。因此,有学者提出要建立多功能的纳米载药系统,从多途径、多层次、多靶点对抗肿瘤细胞的 MDR,但这还有待于纳米载药技术的进一步发展。

【参考文献】

[1] Palakurthi S, Yellepeddi VK, Vangara KK. Recent trends in cancer drug resistance reversal strategies using nanoparticles [J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2012, 9(3): 287-301.
[2] Shapira A, Livney Y D, Broxterman H J, et al. Nanomedicine for targeted cancer therapy: towards the overcoming of drug resistance[J]. *Drug Resist Updat*, 2011, 14(3):150-163.
[3] Patil YB, Swaminathan SK, Sadhukha T, et al. The use of nanoparticle-mediated targeted gene silencing and drug delivery to overcome tumor drug resistance [J]. *Biomaterials*, 2010, 31(2):358-365.
[4] Song XR, Cai Z, Zheng Y, et al. Reversion of multidrug re-

sistance by coencapsulation of vincristine and verapamil in PLGA nanoparticles[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2009, 37(3-4): 300-305.
[5] Khair A, Handa H, Mao GZ, et al. Nanoparticle-mediated combination chemotherapy and photodynamic therapy overcomes tumor drug resistance *in vitro* [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2009, 71(2):214-222.
[6] Lee ES, Gao ZG, Kim D, et al. Super pH-sensitive multifunctional polymeric micelle for tumor pH (e)specific TAT exposure and multidrug resistance[J]. *J Control Rel*, 2008, 129(3):228.
[7] Chen B, Sun Q, Wang X, et al. Reversal in multidrug resistance by magnetic nanoparticle of Fe₃O₄ loaded with adriamycin and tetrandrine in K562/A02 leukemic cells [J]. *Int J Nanomedicine*, 2008, 3(2):277-286.
[8] Chen BA, Cheng J, Shen MF, et al. Magnetic nanoparticle of Fe₃O₄ and 5-bromotetrandrin interact synergistically to induce apoptosis by daunorubicin in leukemia cells [J]. *Int J Nanomedicine*, 2009, 4:65-71.
[9] Chen BA, Lai BB, Cheng J, et al. Daunorubicin-loaded magnetic nanoparticles of Fe₃O₄ overcome multidrug resistance and induce apoptosis of K562-n/VCR cells *in vivo* [J]. *Int J Nanomed*, 2009, 4: 201-208.
[10] Chen AM, Zhang M, Wei DG, et al. Co-delivery of doxorubicin and Bcl-2 siRNA by mesoporous silica nanoparticles enhances the efficacy of chemotherapy in multidrug-resistant cancer cells[J]. *Small*, 2009, 5(23):2673-2677.
[11] Wang Y, Saad M, Pakunlu RI, et al. Nonviral nanoscale-based delivery of antisense oligonucleotides targeted to hypoxia-inducible factor 1 alpha enhances the efficacy of chemotherapy in drug-resistant tumor [J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(11):3607-3616.
[12] Devalapally H, Duan ZF, Seiden MV, et al. Modulation of drug resistance in ovarian adenocarcinoma by enhancing intracellular ceramide using tamoxifen-loaded biodegradable polymeric nanoparticles [J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(10): 3193-3203.
[13] Fan L, Li F, Zhang HT, et al. Co-delivery of PDTC and doxorubicin by multifunctional micellar nanoparticles to achieve active targeted drug delivery and overcome multidrug resistance[J]. *Biomaterials*, 2010, 31(21):5634-5642.
[14] Susa M, Iyer AK, Ryu K, et al. Doxorubicin loaded polymeric nanoparticulate delivery system to overcome drug resistance in osteosarcoma [J]. *BMC Cancer*, 2009, 9:399.
[15] Susa M, Iyer AK, Ryu K, et al. Inhibition of ABCB1 (MDR1) expression by an siRNA nanoparticulate delivery system to overcome drug resistance in osteosarcoma [J]. *PLoS One*, 2010, 5(5): e10764.

[收稿日期] 2014-12-21 [修回日期] 2015-05-06
[本文编辑] 李睿旻