

# 纳米载体系统治疗恶性胶质瘤研究进展

张振宇, 徐健 综述 钟平\* 审校

复旦大学附属华山医院神经外科, 上海市 200040

**摘要:** 恶性胶质瘤是最常见的原发性颅内恶性肿瘤, 具有无限增生的特点, 现有的手术及放化疗对其治疗效果有限。纳米载体系统可以负载药物通过血脑屏障 (blood-brain barrier, BBB), 对肿瘤细胞具有特异靶向性, 有缓释控释药物的作用, 并能联合化疗、放疗、热疗、基因治疗等多种治疗方法, 因而成为恶性胶质瘤治疗研究的前沿热点, 其中集诊断、治疗及疗效评价的多功能纳米载体系统具有良好的发展前景。

**关键词:** 纳米载体; 恶性胶质瘤; 靶向; 治疗

恶性胶质瘤被 WHO 归类于 III 或 IV 级颅内恶性肿瘤, 具有高度侵袭性, 手术难以完全切除, 患者平均生存期仅为 9.5 个月<sup>[1]</sup>。虽然有资料<sup>[2]</sup>显示术后放疗联合替莫唑胺化疗可以使胶质母细胞瘤 (IV 级) 患者的平均生存期延长至 19.6 个月, 但恶性胶质瘤仍然是预后最差的肿瘤之一。恶性胶质瘤与其他部位肿瘤的区别之一就是血脑屏障的保护, 后者只允许分子量小于 500 道尔顿的脂溶性分子通过, 因此大部分药物不易通过 BBB<sup>[3]</sup>。此外, 传统化疗药物靶向性低, 不能高度富集于肿瘤组织而对正常人体组织产生毒副作用。纳米载体系统在很大程度上解决了这些难题, 成为恶性胶质瘤治疗研究的热点之一。

纳米颗粒 (nanoparticle, NP) 是一类大小介于 10 ~ 1000 nm 的固体胶状颗粒, 而纳米医学主要研究 200 nm 以内的 NP, 药物可被溶解、包裹于 NP 基质<sup>[4]</sup>。NP 作为载体, 在实现负载并缓释控释化疗药物、穿透 BBB、特异性结合肿瘤细胞的同时, 还具有增加药物的生物相容性、延长药物半衰期、减少毒副反应、降低肿瘤耐药性等优点。

## 1 纳米载体分类

纳米载体种类繁多, 目前主要用于恶性胶质瘤治疗研究的有: 聚合物纳米颗粒; 共聚物胶束; 磁性纳米颗粒; 树枝状聚合物; 脂质体等。

### 1.1 聚合物纳米颗粒

聚合物 NP 是由高分子聚合物制备的纳米级药物载体, 在药物投递研究中的应用相当广泛, 经表面修饰的聚合物 NP 可长时间存在于血液循环并

能携带药物通过 BBB。近几年用于胶质瘤给药研究的聚合物 NP 有聚乳酸羟乙酸纳米颗粒 (PLGA NP)<sup>[5]</sup>、聚乳酸纳米颗粒 (PLA NP)<sup>[6]</sup>、聚氰基丙烯酸正丁酯纳米颗粒 (PBCA NP)<sup>[7]</sup> 等。

### 1.2 共聚物胶束

共聚物胶束能够在液体环境中自我组装, 其疏水基团聚成内核并被亲水嵌段构成的栅栏包围, 形成核心-壳结构的两亲性嵌段共聚物, 直径为 10 ~ 100 nm。内核可作为“容器”储存疏水性药物, 外壳可保护药物免受血浆蛋白的粘附和巨噬细胞的吞噬。疏水核心可为聚己内酯 (PCL)<sup>[8]</sup>、壳多糖、PLA、PLGA 等, 而亲水外壳多为聚乙二醇 (PEG)。

### 1.3 磁性纳米颗粒 (magnetic nanoparticle, MNP)

MNP 凭借其独特的物理及生物学特性正在作为新一代 MRI 对比剂、药物载体和磁流热疗的活性粒子而应用于胶质瘤的诊断和治疗<sup>[9]</sup>。其中, 超顺磁性铁氧化物 (SPIO) 和超小超顺磁性铁氧化物 (USPIO) 具有易于合成、生物相容性好、毒性小、表面可被功能性修饰的特点, 是广泛应用的 MNP。SPIO 和 USPIO 一般由  $Fe_3O_4$  或  $\gamma-Fe_2O_3$  纳米晶体外覆聚合物分子组成。生物降解以后, 铁离子贮存在体内, 并最终作为血红素的合成原料被消耗, 体内使用安全<sup>[9,10]</sup>。

### 1.4 树枝状聚合物

树枝状聚合物是具有多个外周基团的球形大分子, 药物可位于其中心与外周的空隙内, 或通过共价键与其表面的功能基团相连<sup>[11]</sup>。树枝状聚合物是一类尺寸较小的 NP, 因此更容易通过 BBB。

稿日期: 2011-01-22; 修回日期: 2011-04-06

作者简介: 张振宇 (1986-), 男, 硕士, 主要从事纳米载体治疗胶质瘤方面的研究。

通讯作者: 钟平 (1964-), 男, 临床医学博士, 教授, 硕导, 主要从事颅底外科, 颅内压监护和纳米载体治疗胶质瘤方面的研究。

近几年树枝状聚合物广泛用于恶性胶质瘤的治疗研究,其中以聚酰胺-胺树枝状聚合物(PAMAM dendrimer)最为重要。

### 1.5 脂质体

脂质体是最早用于脑靶向给药的 NP<sup>[12]</sup>,它由两性磷脂分子构成,在水溶液中形成一层或多层囊泡。经 PEG 和靶向分子修饰后脂质体的稳定性和靶向性增加,药物或核苷酸被包裹于其内可顺利通过人体的“生理屏障”(如蛋白酶、核酸酶的降解作用)并特异性聚集于肿瘤细胞,因此在胶质瘤治疗研究中占有重要地位。

## 2 纳米载体靶向

### 2.1 被动靶向

被动靶向是指纳米载体通过正常生理过程,从毛细血管渗透到胶质瘤组织中。纳米载体在体内的长时间循环和增强渗透与保留(Enhanced Permeability and Retention, EPR)效应是影响其被动靶向的重要因素。

一般情况下, NP 进入血液后易与调理素结合,随后被网状内皮系统(RES)识别和吞噬<sup>[3,4]</sup>,因此纳米载体需经表面活性剂修饰使其“隐形”。修饰后的 NP 亲水性增加,减少了血浆成分的吸附,进而降低了免疫系统的识别和摄取。常用的表面活性剂有 PEG 和吐温 80。经过吐温 80 修饰的 PBCA NP 还能通过 BBB,其机制可能是 PBCA 诱导 BBB 通透性非特异性增加,而吐温 80 对此有协同作用,这也表明 PBCA 对 BBB 有损害作用,其毒性需要引起重视<sup>[13]</sup>。另外,纳米载体是否能长时间循环也与其大小有关: NP 过小(小于 10 nm)易经肾脏清除,过大(大于 100 nm)则易被吞噬细胞识别<sup>[3]</sup>。最后,纳米载体的表面电荷也影响着其半衰期的长短,目前认为表面电荷接近中性的 NP 有较长的循环时间<sup>[9]</sup>。

载药 NP 有了足够的血液循环时间,就可以凭借 EPR 效应积聚于肿瘤组织。与正常组织相比,肿瘤组织血管的渗透性增高并且淋巴回流不良,粒径在 10~500 nm 的 NP 可以从异常渗漏的血管外溢到肿瘤组织中,却不能被受损的淋巴回流所清除<sup>[9]</sup>,因此 EPR 效应延长了载药 NP 和肿瘤细胞的作用时间,提高了治疗效果。

### 2.2 主动靶向

主动靶向是将能与目标细胞(如胶质瘤细胞, BBB 血管内皮细胞)特异性结合的配体如抗体、核

苷酸适配子、蛋白质、肽链等连于纳米载体表面,使其准确地进入这些细胞中。如转铁蛋白(Tf)受体在 BBB 毛细血管内皮细胞管腔膜和恶性胶质瘤细胞表面过度表达,而其他组织中却很少表达,因此 Tf 作为配体不仅可以协助 NP 穿过 BBB,还可使肿瘤细胞以受体介导的胞吞作用摄取 NP<sup>[5]</sup>。近年来在恶性胶质瘤治疗研究中连于纳米载体的配体还有精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(RGD)三肽<sup>[14]</sup>、氯毒素<sup>[15]</sup>、表皮生长因子受体三型突变体(EGFR-vIII)抗体<sup>[16]</sup>、叶酸等。

## 3 纳米载体系统治疗恶性胶质瘤

### 3.1 纳米载体化疗

纳米载体能携带多种化疗药物,从传统的阿霉素<sup>[7]</sup>、紫杉醇<sup>[17]</sup>、卡莫司汀<sup>[18]</sup>等到新采用的吡喹美辛<sup>[19]</sup>、白藜芦醇<sup>[8]</sup>等都不同程度地显示出对胶质瘤细胞的抑制作用。国内研究者<sup>[8]</sup>把亲脂性中草药白藜芦醇和甲氧基聚乙二醇-聚己内酯(mPEG-PCL)共聚物胶束结合制成载药 NP。相比于同等浓度的游离白藜芦醇,载药 NP 对恶性胶质瘤细胞表现出更强的毒性。此项研究也将纳米载体治疗胶质瘤可能携带的药物扩展到祖国中药领域。

替莫唑胺具有可口服,可通过 BBB 的独特优点,是目前治疗恶性胶质瘤最好的化疗药物之一。但是替莫唑胺体内半衰期短, O<sup>6</sup>-甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶(MGMT)的表达还可使胶质瘤细胞对其产生的耐药性,从而降低了替莫唑胺的疗效。纳米载体系统所具有的缓释性、靶向性、逆转耐药性等优点可弥补以上不足。Patil 等<sup>[20]</sup>以聚 β 苹果酸为纳米载体,将替莫唑胺、Tf 受体抗体、PEG 等连于其上,制成直径在 6.5~14.8 nm 的载药 NP,其血浆半衰期(5~7 h)为游离替莫唑胺半衰期(1.8 h)的 3~4 倍。与对照组相比,载药 NP 对胶质瘤细胞的抑制作用更强,还能显著抑制对替莫唑胺耐药的 T98G 胶质瘤细胞的生长。

### 3.2 纳米颗粒热疗

Maier-Hauff 及其合作者近年来正积极利用 NP 进行恶性胶质瘤热疗的研究。他们在 2003~2005 年期间完成了世界上首次利用铁氧化 NP 热疗恶性胶质瘤患者(即磁流热疗)的一期临床试验。铁氧化 NP 被注入到 14 名患者的肿瘤组织中,在外加交变电场的作用下吸收电磁波产生热量,使瘤内平均最高温度达 44.6°C,患者的肿瘤得到有效控制,生存期延长,几乎没有不良反应<sup>[21]</sup>。随后他们

研究了其中三位患者死后的神经病理标本,发现瘤内注射的 NP 仅局限于注射的几个部位而并没有均匀分布于肿瘤组织,这强调了多部位多路线注射的重要性<sup>[22]</sup>。从 2005 到 2009 年,他们又进行了有 66 位恶性胶质瘤患者参加的磁流热疗二期临床试验,其治疗效果优于传统疗法。

### 3.3 纳米载体基因治疗

在肿瘤基因治疗中, RNA 干扰 (RNAi) 是研究热点之一。RNAi 是以双链 RNA 降解靶基因转录出的 mRNA 从而抑制蛋白表达的现象。目前小干扰 RNA 的载体主要是病毒,但其安全性低、载药量小、靶向性差、易引起免疫反应,而纳米载体能在一定程度上改善这些问题。Han 等<sup>[23]</sup>将聚酰胺-胺树枝状聚合物、细菌磁性纳米颗粒和靶向配体 Tat 肽链组成纳米载体 (Tat-BMPs-PAMAM),以脂质体 2000 作为对照,分别携带对 EGFR 基因有沉默作用的小干扰 RNA 质粒 (psiRNA-EGFR),观察它们在体外和动物实验中对胶质瘤细胞的作用。与对照组相比, Tat-BMPs-PAMAM/psiRNA-EGFR 能更有效地抑制肿瘤细胞中 EGFR 的表达,并在 48 小时后诱导肿瘤细胞凋亡。

### 3.4 纳米载体化疗联合放疗

Passarella 等<sup>[17]</sup>利用放射治疗诱导胶质瘤细胞表达的 GRP78 受体可以与甘氨酸-异亮氨酸-精氨酸-亮氨酸-精氨酸-甘氨酸 (GIRLRG) 肽链特异性结合的特点,将携带有紫杉醇 (PTX) 和 GIRLRG 的 NP 注入经过放疗后的 GL261 胶质瘤动物模型,与对照组相比,放疗后给予 GIRLRG-PTX-NP 的这一组中胶质瘤生长速度明显减慢,表明放疗后诱导表达的 GRP78 受体能作为纳米载体靶向的目标,提高药物对胶质瘤的治疗作用。

### 3.5 纳米载体化疗联合热疗

梁平等<sup>[18]</sup>研究 DMSA@ $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 纳米磁流体热疗联合卡莫司汀化疗对胶质瘤细胞的作用。他们将肿瘤细胞分为磁纳米热疗组、化疗组、磁纳米热疗联合化疗组 (热化疗组) 和对照组。结果热疗组、化疗组、热化疗组的细胞凋亡率分别为 13.75%、17.60% 和 35.27%,表明磁流体热疗和化疗对肿瘤细胞的杀伤作用存在协同效应。

### 3.6 纳米载体化疗联合基因治疗

Ren 等<sup>[24]</sup>将聚酰胺-胺树枝状聚合物、5-氟尿嘧啶和小 RNA-21 反义寡核苷酸 (as-miR-21) 制成兼有化疗和基因治疗双重功能的纳米载体系统。

小 RNA-21 在多种癌细胞中扮演重要角色,下调其水平可以抑制癌细胞生长。as-miR-21 和 5-氟尿嘧啶的共同投递增强了后者的细胞毒性,使 U251 胶质瘤细胞的凋亡率高达 20%。

### 3.7 多功能纳米载体

近年来,载药 NP 的研究正在向集“隐形”、诊断、治疗及疗效评价的多功能纳米载体系统方面发展。例如,在 MNP 外面以 PEG 包衣修饰,包衣外又可连接靶向配体,而显像剂、化疗药物、基因治疗的小干扰 RNA 等可携带于包衣内部,这样组装成的纳米载体具有多种功能<sup>[10]</sup>。Reddy 等<sup>[14]</sup>研制了一种多功能纳米载体,其主体为聚乙二醇-聚丙烯酰胺 (PEG-PAA),内部包裹有 MRI 对比剂 (铁氧化物颗粒) 和荧光剂,以及光敏素 (光动力治疗的活性成分),外部连接具有靶向作用的 F3 肽。研究者不仅能将这种纳米载体用于胶质瘤的光动力治疗,而且能观测其踪迹,了解其在肿瘤内的分布和药物动力学。

## 4 展望

纳米载体系统为恶性胶质瘤的诊断、治疗和疗效追踪提供了平台,因而集 NP、显像剂、化疗药物、靶向分子为一体的多功能纳米载体系统将是未来研究方向之一。另外,纳米载体还可将化疗、放疗、热疗、基因治疗等联合起来,这也是今后的研究方向。但是,目前绝大多数相关研究还停留在体外和动物实验阶段,纳米载体在人体内的代谢和毒副作用还不甚清楚,离大规模临床应用还有较远距离。而且,如何提高制备工艺使纳米载体的载药量更高和体内稳定性更好,如何发现更多与胶质瘤细胞亲和力高的靶向分子和如何保持连接后靶向分子的活性等还需要研究者不懈探索。相信纳米载体系统的不断发展将为人类最终攻克恶性胶质瘤做出重大贡献。

## 参 考 文 献

- [1] Scoccianti S, Magrini SM, Ricardi U, et al. Patterns of care and survival in a retrospective analysis of 1059 patients with glioblastoma multiforme treated between 2002 and 2007: a multicenter study by the Central Nervous System Study Group of Airo (Italian Association of Radiation Oncology). *Neurosurgery*, 2010, 67 (2): 446-458.
- [2] Grossman SA, Ye X, Piantadosi S, et al. Survival of patients with newly diagnosed glioblastoma treated with radiation and temozolomide in research studies in the United States.

- Clin Cancer Res, 2010, 16(8): 2443-2449.
- [3] Koo YE, Reddy GR, Bhojani M, et al. Brain cancer diagnosis and therapy with nanoplasts, Adv Drug Deliv Rev, 2006, 58(14): 1556-1577.
- [4] Singh R, Lillard JW Jr. Nanoparticle-based targeted drug delivery. Exp Mol Pathol, 2009, 86(3): 215-223.
- [5] Shah N, Chaudhari K, Dantuluri P, et al. Paclitaxel-loaded PLGA nanoparticles surface modified with transferrin and Pluronic (R) P85, an in vitro cell line and in vivo biodistribution studies on rat model, J Drug Target, 2009, 17(7): 533-542.
- [6] Roger M, Clavreul A, Venier-Julienne MC, et al. Mesenchymal stem cells as cellular vehicles for delivery of nanoparticles to brain tumors. Biomaterials, 2010, 31(32): 8393-8401.
- [7] Ambruosi A, Gelperina S, Khalansky A, et al. Influence of surfactants, polymer and doxorubicin loading on the anti-tumour effect of poly (butyl cyanoacrylate) nanoparticles in a rat glioma model. J Microencapsul, 2006, 23(5): 582-592.
- [8] Shao J, Li X, Lu X, et al. Enhanced growth inhibition effect of resveratrol incorporated into biodegradable nanoparticles against glioma cells is mediated by the induction of intracellular reactive oxygen species levels. Colloids Surf B Biointerfaces, 2009, 72(1): 40-47.
- [9] Sun C, Lee JS, Zhang M. Magnetic nanoparticles in MR imaging and drug delivery. Adv Drug Deliv Rev, 2008, 60(11): 1252-1265.
- [10] Veisoh O, Gunn JW, Zhang M. Design and fabrication of magnetic nanoparticles for targeted drug delivery and imaging. Adv Drug Deliv Rev, 2010, 62(3): 284-304.
- [11] Wolinsky JB, Grinstaff MW. Therapeutic and diagnostic applications of dendrimers for cancer treatment. Adv Drug Deliv Rev, 2008, 60(9): 1037-1055.
- [12] 全毅, 赵春植, 韩东汉, 等. 药物透过血脑屏障靶向传递系统的研究. 国际神经病学神经外科学杂志, 2009, 36(5): 466-473.
- [13] 龙莉莉, 肖波. 纳米粒子—协助药物透过血脑屏障的靶向载体. 国际神经病学神经外科学杂志, 2006, 33(04): 308-311.
- [14] Reddy GR, Bhojani MS, McConville P, et al. Vascular targeted nanoparticles for imaging and treatment of brain tumors. Clin Cancer Res, 2006, 12(22): 6677-6686.
- [15] Veisoh O, Kievit FM, Fang C, et al. Chlorotoxin bound magnetic nanovector tailored for cancer cell targeting, imaging, and siRNA delivery. Biomaterials, 2010, 31(31): 8032-8042.
- [16] Hadjipanayis CG, Machaidze R, Kaluzova M, et al. EGFRvIII antibody-conjugated iron oxide nanoparticles for magnetic resonance imaging-guided convection-enhanced delivery and targeted therapy of glioblastoma. Cancer Res, 2010, 70(15): 6303-6312.
- [17] Passarella RJ, Spratt DE, van der Ende AE, et al. Targeted nanoparticles that deliver a sustained, specific release of Paclitaxel to irradiated tumors. Cancer Res, 2010, 70(11): 4550-4559.
- [18] 梁平, 杨天明, 易国庆. DMSA@ $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 纳米磁流体联合卡氮芥在交变磁场下对人胶质瘤细胞 U251 的影响. 现代医学, 2009, 37(3): 175-179
- [19] Bernardi A, Braganhol E, Jäger E, et al. Indomethacin-loaded nanocapsules treatment reduces in vivo glioblastoma growth in a rat glioma model. Cancer Lett, 2009, 281(1): 53-63.
- [20] Patil R, Portilla-Arias J, Ding H, et al. Temozolomide delivery to tumor cells by a multifunctional nano vehicle based on poly( $\beta$ -L-malic acid). Pharm Res, 2010, 27(11): 2317-2329.
- [21] Maier-Hauff K, Rothe R, Scholz R, et al. Intracranial thermotherapy using magnetic nanoparticles combined with external beam radiotherapy: results of a feasibility study on patients with glioblastoma multiforme. J Neurooncol, 2007, 81(1): 53-60.
- [22] van Landeghem FK, Maier-Hauff K, Jordan A, et al. Post-mortem studies in glioblastoma patients treated with thermotherapy using magnetic nanoparticles. Biomaterials, 2009, 30(1): 52-57.
- [23] Han L, Zhang A, Wang H, et al. Tat-BMPs-PAMAM conjugates enhance therapeutic effect of small interference RNA on U251 glioma cells in vitro and in vivo. Hum Gene Ther, 2010, 21(4): 417-426.
- [24] Ren Y, Kang CS, Yuan XB, et al. Co-delivery of as-miR-21 and 5-FU by poly(amidoamine) dendrimer attenuates human glioma cell growth in vitro. J Biomater Sci Polym Ed, 2010, 21(3): 303-314.