

基于透明质酸的纳米递药系统在肿瘤靶向治疗中的研究进展

陈奋¹, 杨月², 张玲³, 潘卫三^{2*} (1.辽宁中医药大学中医脏象理论及应用教育部重点实验室, 沈阳 110847; 2.沈阳药科大学药学院药剂系, 沈阳 110016; 3.中国医科大学附属第一医院, 沈阳 110001)

摘要: 近年来, 透明质酸(hyaluronic acid, HA)作为一种高效的肿瘤靶向递送载体引起了人们的广泛关注。HA 的优越性主要体现在其具备良好的生物相容性、生物可降解性和特殊的 CD44 受体结合能力。本文针对 HA 的结构修饰、作为肿瘤特异性药物载体的基础理论以及基于 HA 纳米递药系统的研究成果进行了综述, 并展望了其应用前景。

关键词: 透明质酸; 肿瘤靶向递送载体; 结构修饰; 纳米递药系统

中图分类号: R94 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2019)13-1704-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.13.022

引用本文: 陈奋, 杨月, 张玲, 等. 基于透明质酸的纳米递药系统在肿瘤靶向治疗中的研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(13): 1704-1710.

Research Progress of Hyaluronic Acid-based Nanodrug Delivery Systems in Targeted Cancer Therapy

CHEN Fen¹, YANG Yue², ZHANG Ling³, PAN Weisan^{2*} (1.Key Laboratory of Ministry of Education for TCM Viscera-State Theory and Applications, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847, China; 2.Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China; 3.The First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, China)

ABSTRACT: Hyaluronic acid(HA) has coming before the public in recent years for its potential application as an efficient tumor-targeting delivery vehicle. The superiority of HA is reflected as its great biocompatibility, biodegradability and special binding ability to CD44 receptor. Thus, in this review, the discussion is focused on the structural modification of HA, the rationale for the use of HA as tumor-specific carrier for drug delivery and research achievements in the field of HA-based nanodrug delivery systems. In addition, the application prospect of HA is prospected.

KEYWORDS: hyaluronic acid; tumor-targeting delivery vehicle; structural modification; nanodrug delivery systems

透明质酸(hyaluronic acid, HA), 又名糖醛酸、玻尿酸, 是以 D-葡萄糖醛酸和 N-乙酰葡萄糖胺为双糖单元, 通过 β -1,3 和 β -1,4 糖苷键重复连接而成的一种酸性黏多糖^[1-2]。它广泛分布于机体的体液、组织和细胞间质中^[3], 在细胞的迁移、增殖、分化及基因表达等方面发挥着重要作用^[4-5]。因其具有良好的生物相容性、生物可降解性、无毒性、非免疫原性、受体结合性, HA 及其衍生物已被广泛地应用于生物医学和药学中, 如组织工程^[6]、关节炎治疗^[7]、眼科手术^[8]、药物递送^[9]和分子成像^[10]等。HA 的结构中存在多种活性基团, 可对其进行物理或化学修饰制备衍生物, 使其作为递送药物的良好载体材料。此外, HA 及其衍生物可

以与细胞表面的特异性受体结合, 作为靶向给药的基础。人体内存在多种 HA 受体, 如 CD44 受体、HA-介导能动性受体(receptor for hyaluronate-mediated motility, RHAMM)、HA 内吞受体(hyaluronan receptor for endocytosis, HARE)、淋巴管内皮细胞 HA 受体-1(lymphatic vessel endothelial hyaluronan receptor 1, LYVE-1)^[11-12]。其中, CD44 和 RHAMM 受体在多种肿瘤细胞表面过度表达, 可与 HA 修饰载体结合, 利用配体-受体结合机制实现肿瘤靶向传递药物的目的。本文就 HA 的结构修饰、作为肿瘤特异性药物载体的基础理论及其在肿瘤药物纳米递药系统的研究作一总结。

基金项目: 国家自然科学基金青年项目(81703709, 81703425); 辽宁省科技厅博士科研启动基金项目(201601186); 中国博士后科学基金资助项目(2018M641716)

作者简介: 陈奋, 男, 博士, 实验师 Tel: (024)31207125 E-mail: chenfen1121@163.com *通信作者: 潘卫三, 男, 博士, 教授 Tel: (024)23986313 E-mail: pppwwwsss@163.com

1 HA 的结构修饰

1934年, Meyer和Palmer首次从牛眼玻璃体中分离得到HA。此后,卡尔·迈耶实验室阐明了HA的化学结构,其是由D-葡萄糖醛酸和N-乙酰葡萄糖胺为双糖单元构成的连续重复的线性分子。

纯HA易溶于水,吸收迅速,在体内的滞留时间短,这大大地限制了其广泛应用。但是,HA分子结构中含有丰富的羟基、羧基、酰胺基等官能团,可作为修饰位点,通过酰胺化、酯化、开环、交联和复合等方法对HA进行化学改性,从而制备功能化的HA衍生物,扩大其在医学领域的应用范围。见图1。

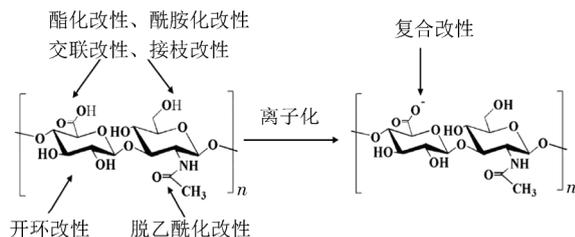


图1 透明质酸的结构及改性修饰位点

Fig. 1 Chemical structure and modification sites of hyaluronic acid

HA的酯化改性主要包括以下3种形式:羧基酯化、羟基酯化和自身内部酯化。目前广泛应用的酯化活化剂主要有1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺[1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride, EDC]、二环己基碳二亚胺(dicyclohexyl carbodiimide, DCC)、4-二甲氨基吡啶(4-dimethylaminopyridine, DMAP)和N,N'-羰基二咪唑(N,N'-carbonyldiimidazole, CDI)。Wang等^[13]采用EDC和DMAP为活化剂,成功地将紫杉醇(paclitaxel, PTX)的羟基与HA主链上的羧基进行连接,并在HA表面修饰上tLyP-1肽,制备了tLyP-1-HA-PTX偶联物。该偶联物在水溶液中可以自组装成聚合物给药系统,用于PTX的抗肿瘤治疗。HA主链上的6位伯羟基的活性高于碳链骨架上的羟基活性,其可在活化剂催化作用下与酸或酸酐类物质形成HA衍生物。龚清格等^[14]采用4-苯基丁酸(4-phenylbutyric acid, 4-PBA)的羧基与HA的6位羟基酯化结合,制备新型载体前药HA-PBA。首先,HA先与十六烷基三甲基溴化铵(cetyltrimethylammonium bromide, CTAB)反应形成HA-CTAB盐从而增加HA的疏水性,使其能溶解在N,N'-二甲基乙酰胺中,再与CDI活化的

4-PBA进行反应,通过HA的羟基与4-PBA的羧基间的酯化反应合成得到HA-PBA载体前药。另外,HA分子也可以发生内部酯化反应,通过HA主链上的羟基和羧基在分子间和分子内的键合作用实现。

HA的羧基不仅可以发生酯化反应,还可以与许多胺类化合物在活化剂的催化下发生酰胺反应,对HA进行化学修饰。Flavia^[15]和Qiu^[16]等分别利用十六胺和硬脂胺与HA羧基反应,均成功引入疏水基团,生成两亲性HA衍生物。HA的乙酰氨基通过脱乙酰化还原为游离氨基后,亦可与羧酸类化合物反应生成酰胺化衍生物。但是,经脱乙酰化处理后,HA容易发生的降解反应,因此,通常不采用此种方法对HA进行改性修饰^[17]。

在一定氧化剂存在的条件下,HA的主链可以发生开环反应,产生醛基封端的HA衍生物,从而可引入新的修饰位点。Sahiner等^[18]采用高碘酸钠为氧化剂,使HA的主链开环引入醛基,对HA的水凝胶颗粒进行交联,从而提高HA凝胶的黏弹性,使其机械强度增加,延长其降解时间。

除上述的化学修饰外,HA作为非抗原性分子,可以与其他材料进行复合,达到优势互补的效果。例如,田延瑾等^[19]将HA与壳聚糖进行复合,制备了具有pH敏感性的复合水凝胶。课题组通过扫描电镜考察了不同HA加入量对凝胶结构的影响,随着HA的加入量增加,凝胶的孔隙变多、变大,引起了药物释放速率的变化。此外,HA还可以与明胶复合制备具有高亲水性、可控抗压强度的复合支架材料^[20]。

2 HA作为肿瘤特异性药物载体的基础理论

CD44是一组分布广泛,分子量范围为85~250 kD的多分子形式的膜整合蛋白,是细胞表面最重要的HA受体,广泛分布于淋巴细胞、单核细胞、内皮细胞等的表面。CD44是由一个可变的胞外区域,一个单跨膜区域和一个胞质区域组成。胞外区域靠近N端约100个氨基酸范围内有6个半胱氨酸,组成3个二硫键,形成1个球形结构,称为连接组件,其可结合HA及多种细胞外间质。CD44在很多种肿瘤细胞的表达比相应正常组织高^[21-22],对于大多数的正常细胞表面的CD44处于相对静止状态,与HA的亲合力较差;而肿瘤细胞表面的CD44处于高度活化状态,从而使其能与HA结合,导致肿瘤细胞的免疫逃逸,促进肿瘤的

发生、发展、侵袭和转移^[23-24]。因此，以 HA 作为靶向配体，与肿瘤细胞表面过表达的 CD44 受体特异性结合后，增加药物肿瘤部位的蓄积，增加治疗效果，减少不良反应。

HA 酶(hyaluronidase, HAase)是一组降解 HA 的内源性糖苷酶的总称，为内切-β-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶，通过作用于 β-1,4 糖苷键将高分子量 HA 降解为低分子量 HA。目前人体内已检测到 6 种 HAase 基因，分别为 HYAL1、HYAL2、HYAL3、HYAIA、PH20 和 HYALPI。其中 HYAL1 型是最早从人的血浆和尿液中纯化出来的 HAase，其酶活性最佳 pH 范围为 4.0~4.3，是体内及肿瘤组织中最重要 HAase^[25]。HYAL-2 型是一种溶酶体 HAase，在 pH<4 的酸性条件下发挥活性作用，主要是水解高分子量的 HA^[26]。HA 纳米制剂的细胞内降解过程是：肿瘤细胞通过胞吞作用于以 HA 为载体的纳米药物递送系统，HYAL-2 在 HA 胞吞时启动水解作用，之后溶酶体内的 HYAL-1 进一步促进了 HA 降解，从而保证了化疗药物快速的释放进入肿瘤细胞质发挥作用^[27]。据报道^[28]，HAase 活性在各种肿瘤细胞(卵巢癌、子宫内膜癌、前列腺癌、膀胱癌和转移性乳腺癌)中显著升高，因此，HAase 可以成功地促进 HA 纳米制剂的靶向递送。

3 基于 HA 的纳米递药系统

基于 HA 可以识别肿瘤细胞表面过表达的特异性受体，目前 HA 已成为肿瘤靶向药物递送系统的研究热点。HA 分子结构中具有多个修饰位点，研究者们利用其可修饰性设计了多种 HA 纳米递药系统用于肿瘤的治疗，主要类型包括：HA-药物偶联物；HA 及其衍生物表面修饰纳米给药系统；HA 纳米胶束；HA 纳米凝胶；HA 聚合物纳米粒，见图 2。因此，本文对基于 HA 的纳米递药系统在肿瘤治疗中的应用进行综述，结果见表 1。

3.1 HA-药物偶联物

HA-药物偶联物是利用可消除的化学键将药物与 HA 偶联制备成前药，以改善药物的溶解度和药动学性质。这些前药在血液循环中有足够的稳定性，不易被破坏，而到达靶部位后通过水解或酶解作用释放出完整的药物分子发挥治疗作用。HA 主链上具有羧基、羟基和酰胺基等可修饰化学官能团，可以保证不同的抗肿瘤药物通过化学键与 HA 偶联制备前药。

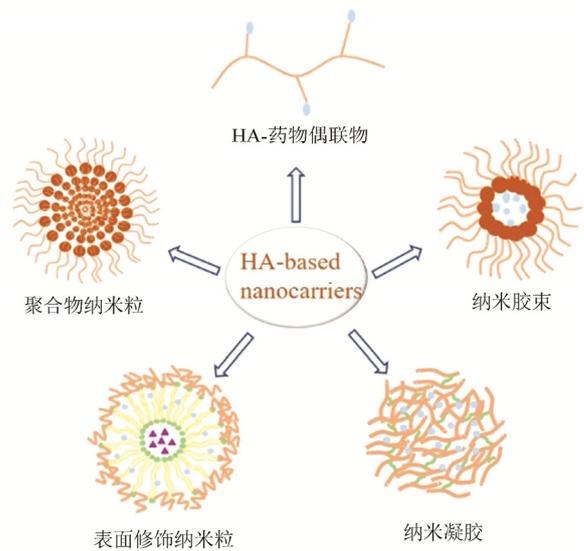


图 2 透明质酸的纳米药物递送系统^[29]

Fig. 2 Hyaluronic acid-based nanodrug delivery systems^[29]

表 1 基于透明质酸的抗肿瘤纳米递药系统的总结

Tab. 1 Summary of hyaluronic acid-based nanodrug delivery systems for antitumor therapy

制剂类型	载体组成	研究药物	动物模型	参考文献
HA-药物偶联物	HA	紫杉醇	肝癌	[30]
HA-药物偶联物	HA	喜树碱	乳腺癌	[31]
HA 表面修饰纳米系统	HA, 胆固醇半琥珀酸酯	多西他赛	乳腺癌	[32]
HA 表面修饰纳米系统	HA, 卵磷脂, 胆固醇	丝裂霉素 C	实体瘤, 肺癌 转移性肺癌	[33]
HA 表面修饰纳米系统	HA, 氧化铁	阿霉素	-	[34]
HA 表面修饰纳米系统	HA, 介孔二氧化硅	阿霉素	-	[35]
HA 纳米胶束	HA, 脱氧胆酸, 组氨酸	紫杉醇	异种移植乳 腺癌	[36]
HA 纳米胶束	HA, 聚组氨酸, TPGS, Her 2 肽	阿霉素	异种移植乳 腺癌	[37]
HA 纳米凝胶	HA-SH	siRNA	-	[38]
HA 纳米凝胶	HA, 聚(β-氨基酯)	吡哆昔绿	-	[39]
HA 聚合物纳米粒	HA, 甲基丙烯酸二甲胺乙酯	siRNA	鳞状细胞癌 黑色素瘤	[41]
HA 聚合物纳米粒	HA, 聚乳酸-羟基乙酸共聚物	阿霉素, 环巴胺	乳腺癌	[42]
HA 聚合物纳米粒	HA, 5β-胆烷酸	Cy5.5	鳞状细胞癌	[43]
HA 聚合物纳米粒	HA, 5β-胆烷酸, 聚乙二醇 5000	Cy5.5	鳞状细胞癌	[44]

PTX 是从太平洋红豆杉的树皮中分离得到，具有广谱抗肿瘤作用，但因其较差的水溶性和较高的全身不良反应限制了它的临床应用。Xu 等^[30]合成了 HA-PTX 前药，以期提高 PTX 的抗肿瘤治疗作用。相比于泰素(Taxol)，HA-PTX 前药使 H22 细胞的细胞凋亡增加了 5 倍，并且在 CD44 受体介

导内吞作用下增加了细胞摄取。课题组采用荧光染料异硫氰酸荧光素(FITC)标记 HA-PTX, 采用小动物活体成像技术研究纳米粒子在小鼠体内的分布特性。结果显示, 该纳米粒子在肿瘤部位有强烈的荧光信号, 增加了肿瘤靶向性。

小分子抗肿瘤药物除了可以和 HA 直接偶联外, 还可以通过功能性交联剂偶联制备 HA-药物偶联物。Chen 等^[31]将喜树碱(CPT)通过二硫代二丙酸连接臂接枝到 HA 上形成不同取代度的 HA-SS-CPT, 其在水中自组装形成 120~210 nm 的纳米粒。由于二硫键的存在, 该纳米粒被肿瘤细胞中高浓度的谷胱甘肽(glutathione, GSH)降解, 从而加快药物的释放。细胞实验表明, 该纳米粒显著地增加了 4T1 细胞中的摄取量和细胞毒性, 表明其可通过 CD44 受体介导的细胞内吞进入肿瘤细胞发挥作用。体内荷瘤裸鼠药效学实验表明, HA-SS-CPT 纳米粒显著降低了肿瘤体积, 提高了小鼠的存活率, 有效地抑制了肿瘤的生长。因此, 采用不同的交联剂, 可以根据肿瘤微环境特点更好的调节药物释放速率, 从而为 HA-药物偶联物的制备提供更多选择。

3.2 HA 表面修饰纳米系统

除直接制备 HA-药物偶联物载体外, HA 还可作为表面修饰材料对脂质体、碳纳米管、树枝状大分子等纳米粒子进行修饰, 不但可以提高纳米制剂的靶向性, 而且可相对延长药物的体内循环时间。此外, 在小鼠异种移植瘤模型中 HA 修饰纳米制剂显示出比游离药物更高的抗肿瘤效果。Song 等^[32]利用静电吸附作用制备了 HA 包衣的多西他赛(docetaxel, DTX)胆固醇半琥珀酸酯囊泡, 提高了药物的包封率和血浆稳定性。体外细胞活性实验表明, HA 包衣囊泡对 CD44 过表达的 A549 和 MCF-7 细胞的细胞毒性(IC₅₀)分别是 Taxotere[®] 的 46.3 和 51.6 倍。组织分布和药效实验显示 HA 包衣囊泡增加了 DTX 在 BALB/c 小鼠肿瘤部位的分布, 呈现了更高的抗肿瘤效果和更低的系统毒性。

为了提高脂质体抗肿瘤靶向性, Peer 等^[33]利用 HA 修饰载丝裂霉素 C(mitomycin C, MMC)的脂质体制备了 tHA-LIP 脂质体, 将脂质体的电荷由正电荷转换为负电荷, 延长了药物的血液循环时间。经 B16F10.9 荷瘤小鼠体内静脉注射给药后发现, tHA-LIP 脂质体在肿瘤部位的富集能力是未经修饰脂质体 nt-LIP 的 4 倍, 是游离 MMC 的 30 倍。此外, 组织分布实验显示, tHA-LIP 脂质体显

著降低了药物的肝脏和肺部的摄取量, 减轻了药物对正常组织的毒性。

无机纳米颗粒, 如氧化铁纳米颗粒、金纳米颗粒和半导体量子点, 作为诊断各种疾病的造影剂具有很高的潜力。然而, 裸露的无机纳米颗粒在生理条件下高度不稳定, 会形成大的聚集体, 迅速从体内清除。因此, 采用天然的或合成的聚合物包覆在无机纳米颗粒表面, 从而增加这些颗粒的生物相容性和体内循环时间, 并且肿瘤靶向特异性聚合物材料的使用还可增加无机纳米颗粒的主动靶向性。El-Dakdouki 等^[34]制备了 HA 包衣的超磁性氧化铁纳米粒子(HASPIION)用于药物的肿瘤靶向递送和磁共振成像。该无机纳米颗粒包衣阿霉素(doxorubicin, DOX)后, 对正常肿瘤细胞和多药耐药性肿瘤细胞均产生杀伤力。Zhang 等^[35]通过采用二硫键将 HA 修饰于介孔二氧化硅表面, 制备了具有氧化还原敏感性的纳米载体材料(MSNs/SS/HA)。该纳米材料通过静电吸附作用将 DOX 包衣进入介孔二氧化硅的孔道中, 载药量高达 14.1%。该纳米粒在模拟肿瘤细胞内高 GSH 含量的释放条件下, 呈现快速的药物释放。体外细胞实验中, 该纳米制剂在 CD44 过表达的 Hela 细胞的摄取量和细胞毒性均高于 CD44 低表达的 LO2 细胞。

3.3 HA 纳米胶束

聚合物胶束是在一定温度和浓度条件下两亲性聚合物在溶液中自组装形成的一种具有热力学稳定的有序聚集体^[45]。近年来聚合物胶束作为一类具有新型核壳结构纳米药物载体, 具有生物相容性好、可修饰性强、可增溶难溶性药物和保护不稳定药物等优点而得到了药剂工作者的广泛关注。HA 由于其化学结构中存在多个活性官能团, 可将不同的疏水链修饰到 HA 骨架上或者末端, 以获得两亲性 HA 衍生物, 在溶液中自组装成核-壳结构的胶束, 将难溶于水的抗肿瘤药物包衣进入疏水核心, 提高药物的溶解度及稳定性。此外, 载药自组装聚合物胶束能以稳定的方式释放药物, 药物的释放速率取决于疏水基团的类型、取代度和药物的理化性质。Liu 等^[36]将疏水基团脱氧胆酸(deoxycholic acid, DOCA)和组氨酸(histidine, His)在 EDC 和 NHS 催化作用下偶联到 HA 骨架上, 制备了 pH 敏感性两亲性 HA 衍生物, 通过探头超声法将 PTX 包衣入疏水核心, 载药量高达 18.9%。采用香豆素 6 对 HA-DOCA-His 聚合物胶束进行荧

光标记, 细胞摄取实验表明, 该聚合物胶束主要是通过 CD44 受体介导的内吞作用, 增加药物在肿瘤细胞的摄取量。此外, 在 His 质子海绵效应的作用下, 聚合物胶束可以产生溶酶体逃逸, 快速地将药物释放到细胞浆发挥作用。Chen 等^[37]将 HA-聚 His(HA-Phis)聚合物与 Her2 肽修饰的聚乙二醇琥珀酸酯(pep-TPGS_{2k})混合制备载 DOX 的 pH 敏感性混合胶束。相比于其他对照组, 该胶束在 CD44 和 Her2 双受体介导内吞作用下, MDA-MB-231 和 MCF-7 细胞中的细胞摄取量和细胞毒性均显著性增加。在 MDA-MB-231 荷瘤小鼠体内药效学研究表明, 相比于游离阿霉素组, 尾静脉给予 pH 敏感性混合胶束后, 荷瘤小鼠的肿瘤体积减小了 2.31 倍, 增加了治疗效果。

3.4 HA 纳米凝胶

纳米凝胶作为一种新型的纳米载药系统, 是由含多官能团的亲水性或者两亲性聚合物通过物理或者化学交联形成的具有溶胀性、小粒径的三维网状系统, 可将药物包封于其内部结构中, 避免药物被外界环境破坏。Lee 等^[38]利用反向油包水乳液法, 在超声条件下, 将小干扰 RNA(siRNA)物理包载入 HA-SH 形成的纳米凝胶中。该纳米凝胶制备时不需要外加任何交联剂, 利用 HA-SH 中巯基相互交联作用生成的二硫键完成纳米凝胶的制备。细胞摄取实验表明, 由于受体介导的内吞作用, 该纳米凝胶易被结肠癌肿瘤细胞 HCT-116(HA 受体阳性细胞)摄取。此外, 由于纳米凝胶内部二硫键的存在, 在高 GSH 浓度条件(肿瘤细胞内 GSH 浓度)下, 该纳米凝胶可以快速的释放包载的 siRNA, 提高基因沉默效率。相比于化学交联法, 物理交联法可以利用离子、氢键或者疏水等作用以温和的方式包载药物, 减少对药物活性的影响。Park 等^[39]将 HA、吲哚菁绿(ICG)和聚(β-氨基酸)溶液混合搅拌后, 三者利用氢键作用形成了稳定的 pH-敏感型纳米凝胶。该纳米凝胶探针在肿瘤细胞外无荧光信号, 但进入内涵体和溶酶体后, 聚(β-氨基酸)在酸性条件下溶解, 从而释放出吲哚菁绿, 引起强烈的近红外荧光信号, 可用于肿瘤细胞显影。

3.5 HA 聚合物纳米粒

纳米粒, 也称为毫微粒, 是粒径大小介于 1~1 000 nm 的胶体颗粒。纳米粒具有粒径小、载药量高、控制药物释放、良好的肿瘤靶向性及较长的体内循环时间等优点, 成为了肿瘤治疗的热

门研究领域^[40]。近年来, siRNA 作为治疗肿瘤的生物疗法受到越来越多的关注。siRNA 可通过基因干扰技术进行有针对性的基因沉默, 其控制目标基因表达的能力为基因治疗肿瘤提供了新的希望。但由于 siRNA 的血清稳定性差, 先天免疫反应, 靶向性差、负电性和刚性结构限制了 siRNA 的广泛应用。纳米粒作为一种新型载体系统, 可以有效地包载 siRNA, 增加其血清稳定性、靶向性和基因转染效率。Yoon 等^[41]制备了生物还原性的 HA-甲基丙烯酸二甲胺乙酯(HA-graft-pDMAEMA, HPD)聚合物, 通过二硫键交联形成包载 siRNA 的纳米粒(C-siRNA-HPD)。与游离 siRNA 和未交联的 U-siRNA-HPD 纳米粒相比, C-siRNA-HPD 的体外 50%血清溶液中稳定性显著提高。体外细胞实验中, 相比于游离 siRNA, U-siRNA-HPD 和 C-siRNA-HPD 纳米粒在肿瘤细胞 RFP-B16F10 细胞中表现出高转染效率, 细胞内摄取表明 C-siRNA-HPD 能促进细胞摄取和 siRNA 的转运。

肿瘤干细胞是肿瘤组织中少数具有自我更新和无限增殖潜能的细胞, 具有转化成块状肿瘤细胞、促进肿瘤生长和建立肿瘤转移的能力。肿瘤干细胞与肿瘤治疗的耐药性、转移、复发以及低生存率有密切关系。因此, 通过设计合适的载体系统, 同时消灭已分化的肿瘤细胞和肿瘤干细胞对肿瘤治疗有着至关重要的作用。近年来, 纳米粒共载药系统引起药学工作者的关注, 可通过单一载体系统发挥 2 种药物的协同治疗作用。Hu 等^[42]采用二硫键作为连接键制备了 HA-SS-PLGA 聚合物。课题组采用复乳法将水溶性的 DOX 和难溶性的肿瘤干细胞信号通路抑制剂环巴胺(CYC)共包载到 HA-SS-PLGA 纳米粒中, 考察双载药纳米粒(HA-SS-PLGA-DOX-CYC)对 CD44 过表达的乳腺癌干细胞(MDA-MB-231 乳腺球、MCF-7 乳腺球和 MDA-MB-231)和 CD44 低表达的已分化乳腺癌细胞(MCF-7)的抑制作用。细胞毒实验表明, DOX 对乳腺癌干细胞和已分化乳腺癌细胞均具有杀伤作用, 而 CYC 主要杀死乳腺癌干细胞, 对已分化乳腺癌细胞的杀伤力较弱。由于乳腺癌干细胞表面 CD44 的高表达, 可以有效地介导 HA 纳米粒的内吞作用, HA-SS-PLGA-DOX-CYC 纳米粒的细胞毒性均高于其他纳米粒对照组。细胞增殖实验表明, 相比于单载药纳米粒, 双载药纳米粒可有效地减少乳腺球的数量和大小, 说明 DOX 和 CYC

联用对肿瘤干细胞可发挥更好的抑瘤作用。

Choi 等^[43]采用 HA-5 β -胆烷酸(HA-CA)聚合物为载体材料制备了粒径为 359~414 nm 的 HA 纳米粒(HA-NPs), 并将近红外荧光染料 Cy5.5 对 HA-NPs 进行标记, 用于细胞摄取和荷瘤小鼠体内的组织分布研究。体外细胞摄取研究表明, Cy5.5 标记 HA-NPs 在受体介导内吞作用下可以迅速摄取进入小鼠鳞状细胞癌细胞(SCC7 细胞)的细胞质。荷瘤小鼠体内的分布研究显示 Cy5.5 标记 HA-NPs 除了在肿瘤部位具有强烈的荧光信号, 在肝脏部位也呈现出较强的荧光信号。这可能是由于肝窦内皮细胞表面表达的 HARE 受体对 HA-NPs 的识别作用, 以及网状内皮吞噬系统的吞噬作用增加了 HA-NPs 在肝脏的摄取。Choi 等^[44]为了减少 HA-NPs 的肝脏摄取, 将聚乙二醇修饰到 HA-NPs 表面, 并考察了 PEG 的取代度对肝脏摄取的影响。细胞摄取研究结果表明, PEG 修饰 HA-NPs 在肿瘤细胞的摄取量虽然低于未修饰的 HA-NPs, 但仍高于正常细胞中的摄取量。小鼠体内分布结果证实, 相比于 HA-NPs, PEG 修饰的 HA-NPs 降低了 Cy5.5 的肝脏摄取, 并且随着 PEG 取代度的增加 Cy5.5 在肿瘤部位的蓄积逐渐增加, 而肝脏的摄取逐渐减少。因此, PEG 修饰是一种可使 HA 纳米粒避免吞噬细胞的吞噬以及肝脏 HARE 受体的识别内吞作用的方法。

4 结论与展望

目前, 改善纳米制剂的特异性肿瘤靶向性成为抗肿瘤治疗的主要挑战之一。近年来, HA 作为一种有前途的载体材料被广泛用于肿瘤靶向递送药物系统中。HA 除了具有良好的生物相容性、生物可降解性和受体特异性结合特性外, 还可以改善疏水性药物的水溶性, 并且延长药物的体内循环时间。HA 主链上具有羧基、羟基和酰胺基等可修饰化学官能团, 可以通过化学改性合成各种 HA-药物或者 HA-聚合物载体材料用于抗肿瘤药物和成像剂的递送。虽然 HA 作为药物载体已有很大的进展, 但 HA-药物或者 HA-聚合物材料由于缺乏简单的合成方法而应用受到限制。HA 分子骨架上的羧基具有 CD44 或者 RHAMM 等受体识别能力, 负责受体介导的肿瘤细胞的内吞过程。过多的药物或者疏水性结构与 HA 的羧基连接, 会大大地降低 HA 的靶向作用, 从而影响肿瘤细胞对药物的摄取能力。因此, 如何合理地控制 HA 骨架上的取代度, 在保证制剂长循环的同时也要保证制剂的靶

向性。目前, 许多基于 HA 的肿瘤微环境响应型纳米制剂被设计用于化疗药物的递送, 如具有酸敏感性、氧化还原敏感性等特性, 所得的纳米制剂可以在肿瘤组织的特殊条件快速的释放药物, 增加治疗效果。因此, 如何保证肿瘤微环境响应型纳米制剂在血液循环中保持良好的稳定性, 而到达肿瘤组织快速释药是药学工作者需要解决的问题。总之, HA 在抗肿瘤治疗中有着非常良好的应用前途。今后, 相信随着新材料和新技术的发展, HA 在靶向纳米给药系统中的应用前景将会更加广阔。

REFERENCES

- [1] SALWOWSKA N M, BEBENEK K A, ŻĄDŁO D A, et al. Physicochemical properties and application of hyaluronic acid: a systematic review [J]. *J Cosmet Dermatol*, 2016, 15(4): 520-526.
- [2] DOSIO F, ARPICCO S, STELLA B, et al. Hyaluronic acid for anticancer drug and nucleic acid delivery [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2016(97): 204-236.
- [3] ROSTAMI S, PARSIAN H. Hyaluronic Acid: from biochemical characteristics to its clinical translation in assessment of liver fibrosis [J]. *Hepat Mon*, 2013, 13(12): e13787. Doi: 10.5812/hepatmon.13787.
- [4] SARAVANAKUMAR G, DEEPAGAN V G, JAYAKUMAR R, et al. Hyaluronic acid-based conjugates for tumor-targeted drug delivery and imaging [J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2014, 10(1): 17-31.
- [5] MISRA S, HELDIN P, HASCALL V C, et al. Hyaluronan-CD44 interactions as potential targets for cancer therapy [J]. *Febs J*, 2011, 278(9): 1429-1443.
- [6] IWASAKI N, KASAHARA Y, YAMANE S, et al. Chitosan-based hyaluronic acid hybrid polymer fibers as a scaffold biomaterial for cartilage tissue engineering [J]. *Polymers*, 2010, 3(1): 100-113.
- [7] KIM S E, LEE J Y, SHIM K S, et al. Attenuation of inflammation and cartilage degradation by sulfasalazine-containing hyaluronic acid on osteoarthritis rat model [J]. *Int J Biol Macromol*, 2018(114): 341-348.
- [8] ROLANDO M, VAGGE A. Safety and efficacy of cortisol phosphate in hyaluronic acid vehicle in the treatment of dry eye in sjogren syndrome [J]. *J Ocul Pharmacol Ther*, 2017, 33(5): 383-390.
- [9] SONG Y, CAI H, YIN T J, et al. Paclitaxel-loaded redox-sensitive nanoparticles based on hyaluronic acid-vitamin E succinate conjugates for improved lung cancer treatment [J]. *Int J Nanomedicine*, 2018(13): 1585-1600.
- [10] PARK J, KU M, KIM E, et al. CD44-specific supramolecular hydrogels for fluorescence molecular imaging of stem-like gastric cancer cells [J]. *Integr Biol(Camb)*, 2013, 5(4): 669-672.
- [11] ZHANG L W, GAO S, ZHANG F, et al. Activatable hyaluronic acid nanoparticle as a theranostic agent for optical/photoacoustic image-guided photothermal therapy [J]. *ACS Nano*, 2014, 8(12): 12250-12258.
- [12] ARPICCO S, MILLA P, STELLA B, et al. Hyaluronic acid conjugates as vectors for the active targeting of drugs, genes and nanocomposites in cancer treatment [J]. *Molecules*, 2014, 19(3): 3193-3230.

- [13] WANG W Q, LI M Y, ZHANG Z H, et al. Design, synthesis and evaluation of multi-functional tLyP-1-hyaluronic acid-paclitaxel conjugate endowed with broad anticancer scope [J]. *Carbohydr Polym*, 2017(156): 97-107.
- [14] 龚清格. 新型载体前药透明质酸苯丁酸酯的合成、表征及活性研究[D]. 济南: 山东大学, 2015.
- [15] BONGIOVÌ F, DI PRIMA G, PALUMBO F S, et al. Hyaluronic acid-based micelles as ocular platform to modulate the loading, release, and corneal permeation of corticosteroids [J]. *Macromol Biosci*, 2017, 17(12): 1700261. Doi: 10.1002/mabi.201700261.
- [16] QIU L P, ZHU M Q, HUANG Y, et al. Mechanisms of cellular uptake with hyaluronic acid: octadecylamine micelles as drug delivery nanocarriers [J]. *RSC Adv*, 2016, 6(46): 39896-39902.
- [17] ZHANG K, JIAN J, ZHANG Z P. Review of hyaluronan: its structure, properties, modifications and applications [J]. *Polym Bull(高分子通报)*, 2015(9): 217-226.
- [18] SAHINER N, JHA A K, NGUYEN D, et al. Fabrication and characterization of cross-linkable hydrogel particles based on hyaluronic acid: potential application in vocal fold regeneration [J]. *J Biomater Sci Polym Ed*, 2008, 19(2): 223-243.
- [19] TIAN T C, LI L, XIE C X, et al. Preparation and properties chitosan/hyaluronic acid composite hydrogels [J]. *Polym Mater Sci Eng(高分子材料科学与工程)*, 2017, 33(8): 129-133.
- [20] YANG Z M, ZHOU Z H, KONG L C, et al. Preparation and characterization of Gel/HA composite scaffold [J]. *Mater Sci Eng Powder Metall(粉末冶金材料科学与工程)*, 2012, 17(6): 810-817.
- [21] MISRA S, HELDIN P, HASCALL V C, et al. Hyaluronan-CD44 interactions as potential targets for cancer therapy [J]. *Febs J*, 2011, 278(9): 1429-1443.
- [22] CICHY J, PURÉ E. The liberation of CD44 [J]. *J Cell Biol*, 2003, 161(5): 839-843.
- [23] MARHABA R, ZÖLLER M. CD44 in cancer progression: adhesion, migration and growth regulation [J]. *J Mol Histol*, 2004, 35(3): 211-231.
- [24] NAOR D, NEDVETZKI S, GOLAN I, et al. CD44 in cancer [J]. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 2002, 39(6): 527-579.
- [25] FROST G I, CSÓKA A B, WONG T, et al. Purification, cloning, and expression of human plasma hyaluronidase [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1997, 236(1): 10-15.
- [26] LEPPERDINGER G, STROBL B, KREIL G. HYAL2, a human gene expressed in many cells, encodes a lysosomal hyaluronidase with a novel type of specificity [J]. *J Biol Chem*, 1998, 273(35): 22466-22470.
- [27] RAO N V, YOON H Y, HAN H S, et al. Recent developments in hyaluronic acid-based nanomedicine for targeted cancer treatment [J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2016, 13(2): 239-252.
- [28] 汪毅. 透明质酸酶及其在恶性肿瘤的转移与浸润中的作用 [J]. *实用肿瘤学杂志*, 2005, 19(2): 155-158.
- [29] CADETE A, ALONSO M J. Targeting cancer with hyaluronic acid-based nanocarriers: recent advances and translational perspectives [J]. *Nanomedicine(Lond)*, 2016, 11(17): 2341-2357.
- [30] XU C R, HE W, LV Y, et al. Self-assembled nanoparticles from hyaluronic acid-paclitaxel prodrugs for direct cytosolic delivery and enhanced antitumor activity [J]. *Int J Pharm*, 2015, 493(1/2): 172-181.
- [31] CHEN Z J, HE N, CHEN M H, et al. Tunable conjugation densities of camptothecin on hyaluronic acid for tumor targeting and reduction-triggered release [J]. *Acta Biomater*, 2016(43): 195-207.
- [32] SONG S S, CHEN F, QI H, et al. Multifunctional tumor-targeting nanocarriers based on hyaluronic acid-mediated and pH-sensitive properties for efficient delivery of docetaxel [J]. *Pharm Res*, 2014, 31(4): 1032-1045.
- [33] PEER D, MARGALIT R. Loading mitomycin C inside long circulating hyaluronan targeted nano-liposomes increases its antitumor activity in three mice tumor models [J]. *Int J Cancer*, 2004, 108(5): 780-789.
- [34] EL-DAKDOUKI M H, ZHU D C, EL-BOUBBOU K, et al. Development of multifunctional hyaluronan-coated nanoparticles for imaging and drug delivery to cancer cells [J]. *Biomacromolecules*, 2012, 13(4): 1144-1151.
- [35] ZHANG J, SUN Y J, TIAN B C, et al. Multifunctional mesoporous silica nanoparticles modified with tumor-shedable hyaluronic acid as carriers for doxorubicin [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2016(144): 293-302.
- [36] LIU Y H, ZHOU C M, WANG W P, et al. CD44 receptor targeting and endosomal pH-sensitive dual functional hyaluronic acid micelles for intracellular paclitaxel delivery [J]. *Mol Pharm*, 2016, 13(12): 4209-4221.
- [37] CHEN Q, LONG M M, QIU L P, et al. Decoration of pH-sensitive copolymer micelles with tumor-specific peptide for enhanced cellular uptake of doxorubicin [J]. *Int J Nanomedicine*, 2016, 11: 5415-5427.
- [38] LEE H, MOK H, LEE S, et al. Target-specific intracellular delivery of siRNA using degradable hyaluronic acid nanogels [J]. *J Control Release*, 2007, 119(2): 245-252.
- [39] PARK H S, LEE J E, CHO M Y, et al. Hyaluronic acid/poly(β -amino ester) polymer nanogels for cancer-cell-specific NIR fluorescence switch [J]. *Macromol Rapid Commun*, 2012, 33(18): 1549-1555.
- [40] ZHAO S, JI Y B, WANG X T, et al. Study on preparation, characterization, and anti-tumor activities of docetaxel nanoparticles [J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学)*, 2018, 35(2): 153-158.
- [41] YOON H Y, KIM H R, SARAVANAKUMAR G, et al. Bioreducible hyaluronic acid conjugates as siRNA carrier for tumor targeting [J]. *J Control Release*, 2013, 172(3): 653-661.
- [42] HU K L, ZHOU H G, LIU Y, et al. Hyaluronic acid functional amphiphatic and redox-responsive polymer particles for the co-delivery of doxorubicin and cyclophosphamide to eradicate breast cancer cells and cancer stem cells [J]. *Nanoscale*, 2015, 7(18): 8607-8618.
- [43] CHOI K Y, MIN K H, NA J H, et al. Self-assembled hyaluronic acid nanoparticles as a potential drug carrier for cancer therapy: synthesis, characterization, and *in vivo* biodistribution [J]. *J Mater Chem*, 2009, 19(24): 4102.
- [44] CHOI K Y, MIN K H, YOON H Y, et al. PEGylation of hyaluronic acid nanoparticles improves tumor targetability *in vivo* [J]. *Biomaterials*, 2011, 32(7): 1880-1889.
- [45] ZUN Q, QIU L Y. Nanoparticles self-assembled by thermoresponsive polymers for anticancer drug delivery [J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学)*, 2017, 34(6): 913-922.

收稿日期: 2018-10-26
(本文责编: 李艳芳)