

纳米药物肿瘤聚集性和渗透性的主要进展

高熲玉^{1,2}, 付婧欣², 王向涛^{1,2*}

(1. 河南中医药大学, 河南 郑州 450046; 2. 中国医学科学院、北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193)

摘要: 纳米药物在肿瘤治疗中有巨大的潜力, 但复杂的肿瘤微环境给纳米药物向肿瘤的递送带来了很大障碍。纳米药物从入血到在肿瘤中发挥作用, 需要经历循环、聚集、渗透、内化和释放5个步骤, 其中聚集和渗透环节更重要。本文综述了纳米药物在提高肿瘤聚集性和渗透性方面的新进展, 尤其是近5年出现或发展的技术手段。

关键词: 肿瘤; 纳米药物; 肿瘤微环境; 肿瘤聚集; 肿瘤渗透

中图分类号: R943 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2021)01-0138-08

Major progress in tumor accumulation and penetration of nanomedicine

GAO Man-yu^{1,2}, FU Jing-xin², WANG Xiang-tao^{1,2*}

(1. Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China; 2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China)

Abstract: Nanomedicine has great potential in cancer therapy, but the complex tumor microenvironment greatly prevents nanomedicine from being effectively delivered into tumor *in vivo*. It has been widely accepted that the encapsulated drugs in the nanoparticles have to go through five major cascading steps, including blood circulation, accumulation in tumor, penetration into the depth of tumor tissue, internalization by tumor cells and then intracellular drug release, before they can exert the anti-tumor efficacy. Among the five steps, drug accumulation in tumor and penetration in the depth of tumor have been the two major issues undermines the antitumor efficacy of nanomedicine. This paper summarizes the new major progress in improving the tumor accumulation and penetration of nanomedicine, especially the technologies that appeared or developed in the last five years.

Key words: tumor; nanomedicine; tumor microenvironment; tumor accumulation; tumor penetration

自纳米技术用于给药系统研究以来, 针对不同的用药需求及药物性质, 已发展了胶束、脂质体、微乳、自乳化给药系统、聚合物纳米粒、固体脂质纳米粒、纳米晶和纳米混悬剂等药物递送系统, 可满足口服、注射或外用等不同的给药途径。纳米技术可显著改善难溶药物的溶解性, 因其粒径效应静脉注射后对肿瘤和炎症部位具有聚集性, 在肿瘤治疗领域广为研究^[1,2]。多柔比星 (doxorubicin, DOX) 长循环脂质体和紫杉醇白蛋

白纳米粒的上市, 有效降低了DOX注射液和紫杉醇注射液的毒副作用, 提高了患者的顺应性。遗憾的是, 抗肿瘤疗效并没有得到明显的提高^[3-5], 这是因为纳米药物进入体内后需要经历血液循环、肿瘤积累、深层穿透、细胞内化和药物释放等5个主要步骤才能有效地杀死肿瘤细胞, 任何环节受到限制都会影响药物的整体治疗效果 (图1)^[6]。有些纳米药物看似在肿瘤部位有较高的聚集性, 但多数只是聚集在肿瘤毛细血管附近或肿瘤表层, 未能渗透到肿瘤深层被肿瘤细胞摄取^[7]。

随着聚乙二醇 (polyethylene glycol, PEG) 化等纳米药物亲水性修饰技术的发展和针对不同特性纳米粒在

收稿日期: 2020-07-08; 修回日期: 2020-08-25.

基金项目: 中国医学科学院医学与健康创新工程 (2016-12M-1-012).

*通讯作者 Tel: 86-10-57833266, Fax: 86-10-57833264,

E-mail: xtaowang@163.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2020-1149

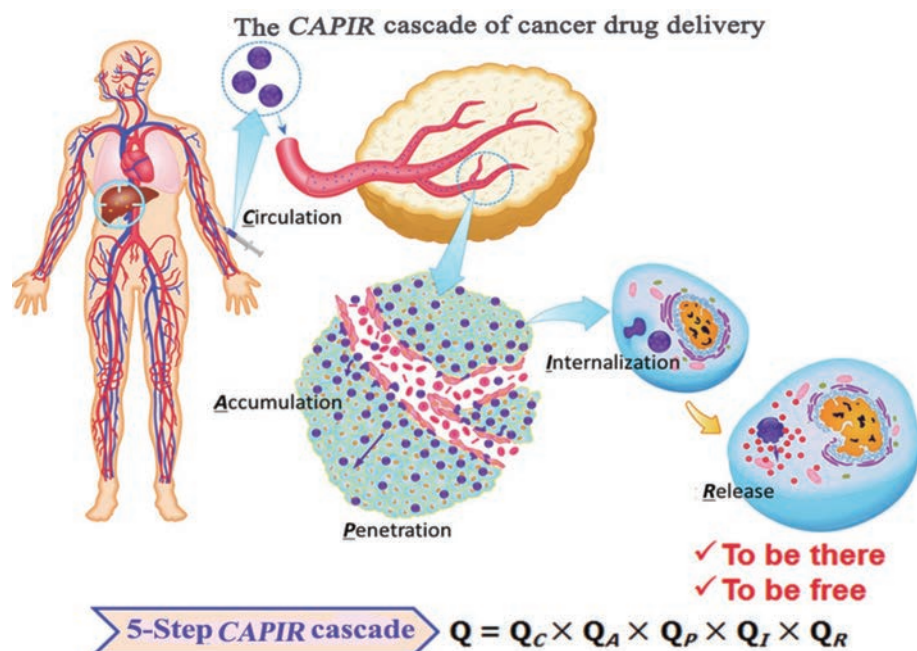


Figure 1 Schematic illustration of the five cascading steps (circulation, accumulation, penetration, internalization, drug release, CAPIR) that drug-loaded nanoparticles undergo from intravenous injection to into tumor cells. (Adapted from Ref. 6 with permission. Copyright © 2017 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim)

体内过程认识的深入, 目前纳米药物在血液中长循环这一问题已基本得到解决, 但由于肿瘤病理生理屏障的阻碍, 纳米药物在肿瘤中渗透性差一直是肿瘤药物递送的突出问题。另外, 肿瘤的聚集性也亟待提高, 需要纳米药物能在不同生物环境做出响应性调整或转变, 如水化层脱落、电荷反转、粒径可变以及多药载药、序贯释放等来克服肿瘤生物屏障, 实现深层递药, 或将化疗与光热治疗、光动力学治疗等不同治疗手段联用^[8-10]。

1 肿瘤组织生理屏障

随着肿瘤细胞的生长, 为满足细胞对营养成分和氧气等快速摄取的需求, 肿瘤新生血管增加, 但其排列混乱、结构扭曲^[11], 肿瘤毛细血管通透性增加, 部分血浆蛋白等大分子外流, 同时淋巴循环不畅, 导致间质液压力升高^[12,13]。此外, 因对流不畅导致药物更多地聚集于肿瘤的边缘组织, 难以进入中心部位^[14-16]。在肿瘤组织中, 细胞外基质中蛋白多糖、生长因子和透明质酸等的含量升高, 胶原水平增加^[17], 同时赖氨酸氧化酶含量增加, 与胶原的共价交联能力增强^[18,19], 造成流动性差、致密的内部环境, 这导致药物在肿瘤部位扩散缓慢。肿瘤部位细胞大量增殖, 细胞密度增大, 可能会造成肿瘤血管压迫, 给药物传输带来障碍^[20]。异常的肿瘤血管、较高的间质压、较大的肿瘤细胞密度和致密的细胞外基质等给纳米药物在肿瘤部位的渗透带来了重重屏障 (图2)^[21]。同时, 远离血管的乏氧肿瘤细胞具有

很强的耐药性且易转移, 这使得纳米药物很难到达肿瘤深层部位^[22]。

肿瘤微环境 (tumor microenvironment, TME) 中不仅有肿瘤细胞, 还有大量常驻和招募的宿主细胞 (肿瘤相关巨噬细胞、NK 细胞、T 细胞和成纤维细胞等) 及其分泌产物 (细胞因子、趋化因子、过氧化氢和乳酸等) 以及细胞外基质, 形成缺氧、弱酸性和高间质压等特定环境^[23]。纳米药物到达肿瘤毛细血管后短暂聚集在毛细血管, 随后重新进入大循环, 只有部分能渗出毛细血管, 而渗出的纳米药物, 一部分被肿瘤微环境中的巨噬细胞摄取 (其中部分作为药物储库再释放到微环境中); 另一部分被肿瘤胞外基质所滞留, 只有少部分能够穿越微环境中胞外基质达到肿瘤细胞附近被摄取。纳米药物如何穿过毛细血管壁到达肿瘤组织表层、在高间质压下穿越肿瘤复杂的微环境基质到达肿瘤深层, 成为目前抗肿瘤纳米药物研究领域面临的重要问题。

2 提高纳米药物肿瘤聚集性

将纳米药物有效递送到肿瘤组织中对于肿瘤的诊断和治疗至关重要。Wilhelm 等^[24]研究发现, 在纳米药物的给药剂量中只有 0.7% 能被递送到实体瘤中, 这一分析结果对纳米药物研究前景不乐观, 同时也提示纳米药物的临床转化较难实现。最近, Lauren 等^[25]用经典的药代动力学指标对这些数据进行了重新分析, 结果显示肿瘤中的纳米药物按照药时曲线下面积 (area under curve, AUC) 计算占血液 AUC 的 70%, 提高

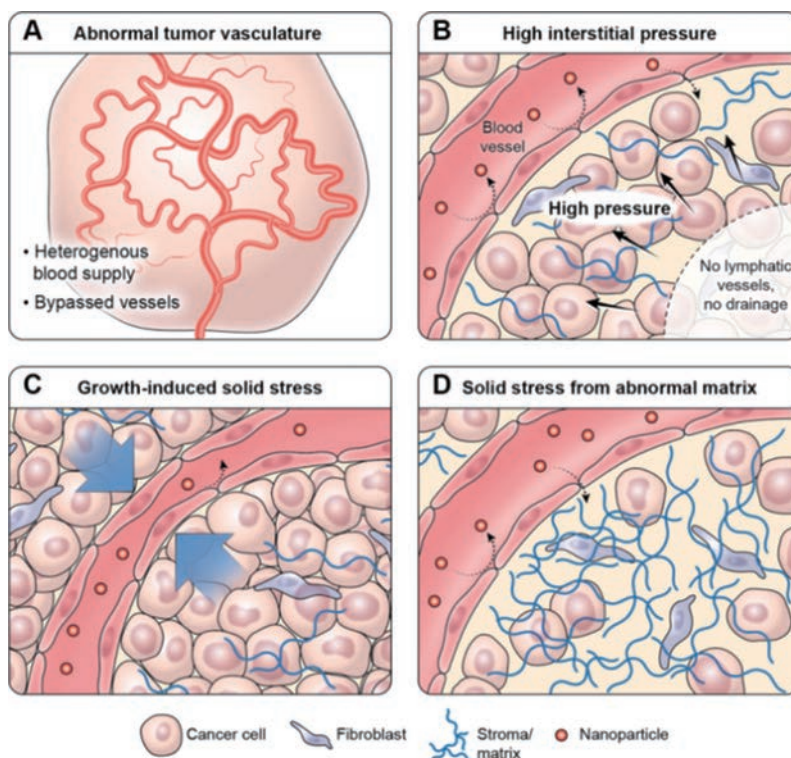


Figure 2 Barriers of nanoparticles into tumor tissue. A: Abnormal tumor vasculature; B: High interstitial pressure; C: Growth-induced solid stress; D: Solid stress from abnormal matrix. (Adapted from Ref. 21 with permission. Copyright © 1998 American Chemical Society)

纳米药物的肿瘤聚集性仍然值得关注。

2.1 加大剂量提高纳米药物肿瘤递送效率 Ouyang 等^[26]新近研究发现, 无需对纳米粒进行复杂的修饰和调控 (大小、形状和表面化学等), 只需将单次给药剂量超过纳米粒数量阈值 (对于小鼠为 1 万亿个纳米粒), 即可轻松改善纳米粒向肿瘤的递送效率, 达到小鼠注射剂量的 12%, 并推测人体内纳米粒制剂的给药剂量应超过 1 500 万亿纳米粒的阈值。而且这一阈值效应与纳米粒的大小、组成和肿瘤模型无关, 其原因是短时间内大量高出阈值的纳米药物快速超过了 Kupffer 细胞摄取速率, 减少被肝脏清除, 使纳米药物持续在血液中循环。细胞水平研究揭示, 纳米粒的剂量阈值与 Kupffer 细胞上特定可用受体的数量和结合位点有关。科研人员早期就尝试过阻断网状内皮系统 (reticuloendothelial system, RES) 或单核巨噬系统的功能, 或者预先给予大量空白纳米粒饱和肝脾摄取, 降低对后续静脉注射的载药纳米粒的清除, 从而提高肿瘤递送效率。但前者具有很大的潜在风险, 后者因效果不佳逐渐淡出人们的视野。Ouyang 团队^[26]找到了其收效不佳的原因, 以纳米粒的数量为相关指标, 得到显著起效的剂量阈值, 还以空白纳米粒为递送促进剂 (delivery enhancer), 对比了序贯给药和共给药对目标纳米粒肿瘤分布的影响, 令人意外的是, 共给药的肿瘤聚集性显

著优于序贯给药。研究还发现, 共给药超过阈值的空白脂质体可显著提高 DOX 脂质体在肿瘤中的聚集, DOX 脂质体单次给药就能有效抑制肿瘤生长, 长达 20 天以上, 但纳米金则效果不佳, 提示不是所有的空白纳米粒都能起到递送促进剂的作用, 原因是不同种类纳米粒因表面性质、入血后吸附血浆蛋白的蛋白冠不同, 导致与 Kupffer 细胞作用受体或位点各异, 从而清除途径有所不同。Ouyang 等^[26]揭示的规律给纳米药物的肿瘤治疗带来新的活力, 将在未来几年推动纳米药物在肿瘤递送领域的快速发展。在不改变治疗性药物剂量的条件下, 通过调整单次给药纳米粒的数目来提高纳米药物的肿瘤聚集性, 同时兼顾肿瘤渗透性, 这种简便有效的方法如果被证明具有普适性, 将会在很大程度上推动纳米药物的肿瘤递送和抗肿瘤治疗的发展。然而基础研究领域的成果并非意味着能快速临床转化。大量无机纳米粒的多次静脉注射给药会带来很多安全隐患。同时, 为实现同类纳米粒超过纳米粒阈值的给药, 将人为引入大量合成材料, 也会引起对免疫原性的影响。构成脂质体的材料主要是内源性的磷脂和胆固醇, 脂质体类抗肿瘤药物的研发有望能率先借助于这一技术取得进展。

2.2 降低肝脾摄取, 提高肿瘤聚集性 Wang 等^[27]首先报道了用聚氧丁烯-聚氧乙烯 (PBO-PEO) 封装药物

制备的纳米粒能降低网状内皮系统的吞噬, 提高肿瘤聚集性。在静脉注射 6 h 后, DiR 标记的 PBO-PEO 纳米粒在肿瘤中的荧光强度为肝脏中的 2 倍, 而相似粒径的 PLA₂₀₀₀-PEG₂₀₀₀ 纳米粒肿瘤中的荧光强度和肝脏中相近, 显示 PBO-PEO 形成的纳米粒具有躲避肝脾摄取的能力。随后, Cheng 等^[28]用 PBO-PEO 装载 SN-38 的亚油酸共轭物, 体内分布上也重现了以上结果, 但 PBO-PEO 降低肝脾摄取的机制尚不清楚。选用这种低剂量下能降低肝脾摄取的 PBO-PEO 纳米粒与上述剂量调整策略相结合, 有望降低纳米粒数量阈值剂量, 实现更有效的肿瘤聚集。以 PBO-PEO 为线索, 结合 Kupffer 细胞的摄取测试, 寻找能有效降低肝脾摄取的新型纳米材料制备纳米粒, 可能是提高纳米药物肿瘤聚集性的另一条路径。

3 增强纳米药物肿瘤渗透性

对肿瘤部位的生理屏障, 一般通过两个思路来增强纳米药物的渗透性, 如表 1 所示。一是改善肿瘤微环境, 解决肿瘤部位细胞外基质僵硬、血管异常和间质压高等问题; 二是从纳米药物着手, 合理设计纳米粒。通过对药物的表面电荷、尺寸大小及力学性质等方面进行调整, 增强其在肿瘤部位的渗透能力。另外, 最新研究表明, 通过调整纳米药物的剂量, 大幅度提高肿瘤的聚集性, 也可以提升纳米药物的聚集性^[26]。纳米药物进入肿瘤组织后, 由于载药体系不同, 一般分为跨细胞传递和穿过肿瘤间质传递两种途径。Zhou^[22]发现小颗粒药物更倾向于在细胞间隙穿梭, 而大颗粒则更容易在细胞间传递。根据具体的需求控制尺寸和电荷等, 选择合适的药物渗透方式, 或将很大程度上提高纳米药物的肿瘤渗透性。

3.1 改善肿瘤微环境 通过调整肿瘤血管使血管趋向正常, 能够一定程度地改善药物的渗透。正常化的肿瘤血管弯曲程度较小, 有利于血流灌注, 从而使间质压降低^[29]。正常组织的血管系统依靠促血管生成和抗血管生成因子之间的平衡来维持, 若平衡打破则会导

致血管异常^[30,31]。通过使用抗血管生成剂或间接抗血管生成的药物来促进纳米药物肿瘤渗透取得了一定成果, 但血管正常化的时间窗有待提高。Luan 等^[32]将 F56 肽修饰紫杉醇纳米粒与节拍器化疗法联合使用, 主动靶向到肿瘤新生血管内皮细胞 (endothelial cells, ECs), 诱导 ECs 分泌血小板反应素-1, 使基底膜和周细胞覆盖增加, 肿瘤血管正常化时间可超过 9 天。

细胞外基质中含有丰富的胶原和糖胺聚糖等成分, 可用透明质酸酶和胶原酶调整微环境中透明质酸和胶原的含量, 增加胞外基质流动性^[33-35]。基质金属蛋白酶 MMP-1 和 MMP-8 也可用来调节胞外基质流动性, 改善药物渗透。Mok 等^[36]用 MMP-1 和 MMP-8 质粒稳定转染人软组织肉瘤 HSTS26T 细胞, 构建荷瘤鼠模型, 在肿瘤部位注射单纯疱疹病毒 (HSV) 载体, 结果发现与未转染 HSTS26T 荷瘤鼠相比, HSV 颗粒在转染的肿瘤模型中的中心部位分布更多, 药物治疗效果显著提高, 且肿瘤中透明质酸含量明显降低。Murty 等^[37]用胶原酶修饰金纳米粒增加了纳米粒的肿瘤渗透。Wang 等^[38]通过酸敏感键将透明质酸酶与纳米药物连接, 到达微酸性的肿瘤部位后释放出具有活性的透明质酸酶, 提高了细胞外基质的流动性, 增强纳米药物的肿瘤渗透作用。

通过改善肿瘤微环境使肿瘤间质压力下降、细胞外基质流动性增强, 起到了很好的抗肿瘤作用。但是肿瘤微环境的改善是短暂的, 在此阶段配合有效的抗癌药物才能使抗癌效果最大化。此外, 血管正常化导致血管孔径减小、血管可塑性降低, 可能会降低药物在肿瘤部位的积累量, 这对于整体抗肿瘤作用不利。

3.2 带正电纳米粒的转胞吞 一直以来, 科学家们都认为高通透性和滞留 (enhanced permeability and retention, EPR) 效应是纳米粒从毛细血管渗入肿瘤组织的主要机制, 基于 EPR 效应的抗肿瘤药物在 小鼠体内得到很好的效果, 但人体试验却屡屡失败, 使得人们对人体肿瘤 EPR 效应产生了质疑。Sindhwani 等^[39]首次揭示, 内

Table 1 Methods of enhancing the penetration of nanoparticles in tumor tissues

| Aim | Method | Mechanism | Advantage | Disadvantage |
|-----------------------------------|---------------------------------------|---|--|-------------------------------------|
| Reducing physiological barriers | Normalization of tumor vessels | Increase perfusion and decrease interstitial pressure | Solving the problem of penetration from the root | Short normalization time |
| | Normalization of extracellular matrix | Degradation or inhibition of proteoglycan, hyaluronic acid and collagen in extracellular matrix | | |
| Overcoming physiological barriers | Charge transformation | Tumor microenvironment response | <i>In vivo</i> adaptive transformation | Higher requirements for drug design |
| | Size change | Strong deformability is beneficial to deep penetration | Easy infiltration and accumulation | This area needs further exploration |
| | Adjustment of mechanical properties | Reducing the uptake rate of Kupffer cells | Significant enhancement of tumor aggregation | May pose a safety hazard |
| | Delivery beyond threshold dose | | | |

皮间隙并不是纳米粒进入实体肿瘤的原因,通过内皮细胞的主动转胞吞过程才是纳米粒进入肿瘤的主要途径。这一结论颠覆了以往认知,受到研究者广泛关注,可能会对将来纳米药物的研究产生深远的影响。巧合的是,带正电的纳米粒具有极好的转胞吞作用。Zhou等^[40]利用肿瘤内细胞密度高这一特点,设计血液循环时带负电,在肿瘤血管附近酶响应性水解聚合物上的 γ -谷氨酰基,产生胺基正电的偶联药物的聚合物纳米粒PBEAGA-CPT(喜树碱),电荷反转带正电,触发血管内皮细胞的内吞快速进入肿瘤,被肿瘤细胞吞噬,整体上从另一侧胞吐纳米粒到细胞间液,再由邻层的细胞重复内吞和外排,沿纳米粒浓度梯度方向,在细胞间传递纳米药物到肿瘤深层。这种细胞间转胞吞作用的肿瘤渗透机制,与原来传统的纳米药物通过细胞间液扩散的方式完全不同,不受纳米药物粒径和力学性质等的影响,而且更加简便高效。体内渗透实验显示,小鼠尾静脉注射10 min后,该纳米药物PBEAGA-CPT的红色荧光就已经外渗出肿瘤毛细血管并遍布整个肿瘤区域,不到1 h整个肿瘤组织内的药物浓度与肿瘤血管内的浓度相当。该纳米药物静脉注射不仅能完全治愈体积为100 mm³小肿瘤,也能迅速压制处于指数生长期的难治性的大肿瘤(500 mm³),停药15天后也未见明显反弹,抑瘤率高达98%。

这种基于转胞吞作用的肿瘤渗透,要求纳米药物能够被快速内吞,而带正电的纳米药物可通过静电作用吸附到细胞膜上,易触发转胞吞,增强载药纳米粒的肿瘤渗透能力^[41,42]。但带正电荷的纳米粒易与血液中的某些蛋白(如调理素)结合而被清除,影响在血液中的循环时间^[43],因而需要纳米粒在肿瘤微环境中具有电荷反转带正电的能力。常见的方法有pH值^[44]、还原^[45]、活性氧^[46]、酶^[47]及光响应性电荷反转等,绝大多数是进入肿瘤组织后才能微环境响应性带正电。Zhou等^[40]设计合成的谷氨酰转肽酶(GGT)响应性电荷反转的聚合物纳米粒,既能快速跨越毛细血管内皮渗入肿瘤组织,又能借助转胞吞作用实现向肿瘤深层渗透,兼顾了肿瘤聚集和肿瘤渗透两方面的作用,取得了非同一般的抗肿瘤效果。

借助于带正电纳米粒的转胞吞作用提高肿瘤渗透性,目前尚存在一些亟待探讨的问题。除肿瘤细胞外,肿瘤中大量存在巨噬细胞,带正电的纳米粒遇到巨噬细胞后能否也具有转胞吞作用,还是延迟转胞吞?这方面的研究还很欠缺。同样是电荷反转纳米粒,共价偶联的药物已经被证明可通过层层转胞吞而被递送到肿瘤深层,物理包封的药物是否具有同样的肿瘤渗透性,需要更多的对比研究来揭示纳米药物的肿瘤递送过程。

3.3 粒子大小转变 纳米粒的粒径会影响药物的体内循环、组织渗透及瘤内分布等^[48-50]。Sindhvani等^[39]在研究纳米粒进入实体瘤的主要机制时,分别对15、50和100 nm的3种纳米粒进行了考察,结果发现EPR效应所带来的积累量占比分别为12%、3%和25%。由此可见,纳米粒的尺寸与转运效率并不是呈简单的线性关系。为实现较长的在血液循环时间,纳米粒的粒径需要在100 nm以上,而为实现肿瘤组织良好的穿透性,纳米粒的粒径又需要小些(<50 nm),大的纳米粒难以穿过致密的胞外基质渗透到肿瘤组织深层^[51,52]。为此,科学家们研发了尺寸可变的智能纳米系统,在肿瘤微环境的触发下实现大小切换,提高药物在肿瘤中的渗透率和积累量。

常见的纳米粒尺寸动态变构方法可以概括为3种类型,分别为剥洋葱策略、表面运载策略和特洛伊木马策略^[53]。剥洋葱策略就是通过肿瘤微环境响应将大颗粒转变为小颗粒。Cong等^[54]报道了一种基于酸性肿瘤微环境和透明质酸酶响应的大小粒径可转化的纳米系统,两亲性的十六肽衍生物自组装形成带正电的小纳米粒(ICP-NPS, <30 nm),随后用由叶酸和多巴胺修饰的透明质酸包裹形成稳定的带负电的大纳米粒(HICP-NPS, ~130 nm)。HICP-NPS在叶酸和透明质酸的作用下,靶向作用于肿瘤细胞,微酸的肿瘤微环境和透明质酸酶触发HICP-NPS向小粒径的ICP-NPS的转变,从而实现尺寸的切换,增加渗透作用。Du等^[55]开发了一种pH/cathepsinb分级响应纳米系统(hierarchical-responsive nanoconjugates, HRNS),在肿瘤微环境中迅速转换为超小纳米粒(<6 nm)可深度穿透,能够系统性地克服传递过程中的所有屏障。小纳米粒附着在大纳米粒表面形成树莓状纳米结构被称为表面运载策略。Lei等^[56]通过酸性不稳定的苯甲酰亚胺键将小颗粒(tLyP-1修饰的WS2量子点)连接到负载DOX的介孔二氧化硅纳米粒上,在正常生理环境下稳定存在;当到达酸性肿瘤部位后,苯甲酰亚胺键断裂形成小颗粒,在DOX化疗和小量子点触发的光热消融共同作用下,有效抑制了肿瘤的生长。特洛伊木马策略即是小纳米粒隐藏在大纳米粒中,在某种条件的触发下释放出小纳米粒。研究者用超小型石墨烯量子点(graphene quantum dots, GQD)和pH敏感聚合物包封制备纳米粒^[57],到达肿瘤酸性环境中发生聚集形成150 nm左右的颗粒,在近红外照射的驱动下分解成5 nm的DOX/GQD,促进药物在肿瘤部位的深层渗透。简单来说,小纳米颗粒包覆、相连或隐藏在大纳米颗粒中,形成了纳米粒尺寸动态变构系统,这些纳米结构的稳定性和小颗粒快速释放是实现纳米粒大小粒径转换

的关键点。

3.4 调节力学性能 近年来, 科学家发现力学性能对生物体内的相互作用有重要影响。研究报道^[58]未成熟的人类免疫缺陷病毒 (HIV) 颗粒比成熟颗粒硬度高 14 倍以上, 未成熟的刚性颗粒不能感染细胞, 而成熟的柔性颗粒则可以有效感染细胞。Li 等^[59]认为纳米药物的柔软性可以影响药物的传递效率和抗肿瘤效果。肿瘤细胞衍生的微粒 (microparticles, MPS) 也可作为化疗药物的载体抑制多种肿瘤细胞的生长^[60], 有学者^[61]发现 3D 培养的肿瘤细胞衍生微粒 (3D-MPS) 比常规的 2D-MPS 更柔软, 包载 DOX 后, 血浆 AUC 比 2D-MPS 增加了 3.1 倍; DOX@2D-MPS 中 DOX 大多分布在血管内, 而 DOX@3D-MPS 从血管外渗, 逐渐向血管外区域分布。柔性的 3D-MPS 具有良好的形变能力, 更易渗透到肿瘤组织中, 从而高效地递送抗癌药物。

3.5 超过阈值剂量的给药方式 Ouyang 等^[26]通过研究增加剂量对纳米粒与肿瘤细胞之间相互作用的影响发现超过阈值剂量给药能够显著增强纳米药物的渗透性。以往认为纳米药物肿瘤渗透性弱, 难以向肿瘤远端扩散是因为肿瘤微环境和基质本身的影响, 目前看来从毛细血管渗入肿瘤组织的载药纳米粒数量较少、纳米粒浓度梯度不足可能也是重要的原因。通过调整给药剂量不但能提高纳米药物的肿瘤聚集性, 而且还能突破肿瘤渗透性的瓶颈, 将是肿瘤纳米给药研究的一个热点。

4 总结和展望

由于肿瘤生理屏障的存在和肿瘤微环境的复杂性, 纳米载体对药物的肿瘤递送面临巨大的挑战, 如何提高肿瘤的聚集性和渗透作用, 成为纳米药物发挥抗肿瘤作用的关键。肿瘤血管正常化、提高胞外基质的流动性及使用柔性纳米粒提高纳米药物在肿瘤间隙的渗透性也取得了很大进展。为提高纳米药物抗肿瘤效能, 常将多种手段相结合实现协同增效, 但过于复杂的设计和繁琐的制备工艺, 会阻碍研究成果的实用性和临床转化可行性。

在药物实际给药剂量不变的情况下, 无论是使用低载药的纳米粒实现单次静脉注射纳米颗粒的数量超过阈值, 还是使用低廉安全的同类空白纳米粒为递送促进剂超过纳米粒数量阈值给药都是一种简便、高效地提高肿瘤聚集性, 同时兼顾肿瘤渗透性的策略, 有望能较快实现临床转化。设计具有肿瘤血管或肿瘤微环境响应性电荷反转作用的正电荷纳米粒, 结合主动胞吞作用, 包括使用肿瘤穿膜肽、设计阳离子聚合物偶联物和允许吸附介导的主动胞吞作用等, 也会成为纳米药物研究的热点。

作者贡献: 高曼玉负责文章的构思和撰写; 付婧欣负责粒子大小转变部分的整理; 王向涛负责文稿的统筹、补充和修改。

利益冲突: 全体作者无利益冲突。

References

- [1] Ping QN. Nanoparticulate systems for drug delivery [J]. *Chin J New Drugs* (中国新药杂志), 2002, 11: 42-46.
- [2] Wang ZY, Zhang DS. The advance in research of nanomedicine [J]. *J Southeast Univ Med Sci* (东南大学学报·医学版), 2004, 23: 131-135.
- [3] O'Brien MER, Wigler N, Inbar M, et al. Reduced cardiotoxicity and comparable efficacy in a phase III trial of pegylated liposomal doxorubicin HCl (CAELYX/Doxil) *versus* conventional doxorubicin for first-line treatment of metastatic breast cancer [J]. *Ann Oncol*, 2004, 15: 440-449.
- [4] Rifkin RM, Gregory SA, Mohrbacher A, et al. Pegylated liposomal doxorubicin, vincristine, and dexamethasone provide significant reduction in toxicity compared with doxorubicin, vincristine, and dexamethasone in patients with newly diagnosed multiple myeloma: a phase III multicenter randomized trial [J]. *Cancer*, 2006, 106: 848-858.
- [5] Lee SY, Park HS, Lee KY, et al. Paclitaxel-loaded polymeric micelle (230 mg·m⁻²) and cisplatin (60 mg·m⁻²) *vs* paclitaxel (175 mg·m⁻²) and cisplatin (60 mg·m⁻²) in advanced non-small-cell lung cancer: a multicenter randomized phase IIB trial [J]. *Clin Lung Cancer*, 2013, 14: 275-282.
- [6] Sun QH, Zhou ZX, Qiu NS, et al. Rational design of cancer nanomedicine: nanoproperty integration and synchronization [J]. *Adv Mater*, 2017. DOI: 10.1002/adma.201606628.
- [7] Maeda H, Wu J, Sawa T, et al. Tumor vascular permeability and the EPR effect in macromolecular therapeutics: a review [J]. *J Control Release*, 2000, 65: 271-284.
- [8] Chen WL. Construction of Nano-delivery System for Micro-Environmental Response Drugs/Gene and Its Anti-tumor Pharmacodynamics (肿瘤微环境响应型药物/基因纳米递送系统构建及其抗肿瘤药效学研究) [D]. Suzhou: Soochow University, 2018.
- [9] Huang CL, Zhu DW, Zhang LH. Research progress in stimuli-responsive mesoporous silica nano drug delivery systems for tumor therapy [J]. *Inter Natl J Biomed Eng* (国际生物医学工程杂志), 2019, 42: 66-70.
- [10] Qin ZG, Liu D, Yang F, et al. Advances in nanomedicine for cancer photodynamic therapy [J]. *Prog Pharm Sci* (药学进展), 2017, 41: 812-823.
- [11] Konerding MA, Miodonski AJ, Lametschwandtner A. Microvascular corrosion casting in the study of tumor vascularity: a review [J]. *Scanning Microsc*, 1995, 9: 1233-1244.
- [12] Jain RK. Determinants of tumor blood flow: a review [J]. *Cancer*

- Res, 1988, 48: 2641-2658.
- [13] Michael A, Derek S, Chan DS, et al. Hyaluronan impairs vascular function and drug delivery in a mouse model of pancreatic cancer [J]. *Gut*, 2013, 62: 112-120.
- [14] Jain RK, Stylianopoulos T. Delivering nanomedicine to solid tumors [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2010, 7: 653-664.
- [15] Bouzin C, Feron O. Targeting tumor stroma and exploiting mature tumor vasculature to improve anti-cancer drug delivery [J]. *Drug Resist Updat*, 2007, 10: 109-120.
- [16] Boucher Y, Jain RK. Microvascular pressure is the principal driving force for interstitial hypertension in solid tumors: implications for vascular collapse [J]. *Cancer Res*, 1992, 52: 5110-5114.
- [17] Koláčná L, Bakešová J, Varga F, et al. Biochemical and biophysical aspects of collagen nanostructure in the extracellular matrix [J]. *Physiol Res*, 2007, 56 Suppl: S51-S60.
- [18] Levental KR, Yu H, Kass L, et al. Matrix crosslinking forces tumor progression by enhancing integrin signaling [J]. *Cell*, 2009, 139: 891-906.
- [19] Pfeiffer BJ, Franklin CL, Hsieh FH, et al. Alpha 2(I) collagen deficient mice have altered biomechanical integrity, collagen content, and collagen crosslinking of their thoracic aorta [J]. *Matrix Biol*, 2005, 24: 451-458.
- [20] Stylianopoulos T, Martin JD, Chauhan VP, et al. Causes, consequences, and remedies for growth-induced solid stress in murine and human tumors [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109: 15101-15108.
- [21] Nakamura Y, Mochida A, Choyke PL, et al. Nano-drug delivery: is the enhanced permeability and retention (EPR) effect sufficient for curing cancer [J]. *Bioconjug Chem*, 2016, 27: 2225-2238.
- [22] Zhou Q. Rational Design of γ -Glutamyl Transpeptidase-responsive Charge-reversal Polymers for Highly Effective Cancer Drug Delivery (γ -谷氨酰转肽酶响应电荷反转聚合物的设计与高效抗肿瘤纳米药物的构建) [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2018.
- [23] Tang Y, Zhang MM, Wang F, et al. The role of components in tumor microenvironment in tumorigenesis and development [J]. *China Med Herald (中国医药导报)*, 2018, 15: 39-43.
- [24] Wilhelm S, Tavares AJ, Dai Q, et al. Analysis of nanoparticle delivery to tumours [J]. *Nat Rev Mater*, 2016, 1: 751-760.
- [25] Lauren SLP, Stephan TS, Allison MD, et al. A reanalysis of nanoparticle tumor delivery using classical pharmacokinetic metrics [J]. *Sci Adv*, 2020, 6: eaay9249.
- [26] Ouyang B, Poon W, Zhang YN, et al. The dose threshold for nanoparticle tumor delivery [J]. *Nat Mater*, 2020. DOI: 10.1038/s41563-020-0755-z.
- [27] Wang LJ, Yao J, Zhang XM, et al. Delivery of paclitaxel using nanoparticles composed of poly(ethylene oxide)-*b*-poly(butylene oxide) (PEO-PBO) [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2018, 161: 464-470.
- [28] Cheng GL, Zhang XM, Chen YD, et al. Anticancer activity of polymeric nanoparticles containing linoleic acid-SN38 (LA-SN38) conjugate in a murine model of colorectal cancer [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2019, 181: 822-829.
- [29] Miao L, Huang L. Exploring the tumor microenvironment with nanoparticles [J]. *Cancer Treat Res*, 2015, 166: 193-226.
- [30] Jain RK. Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in antiangiogenic therapy [J]. *Science*, 2005, 307: 58-62.
- [31] Carmeliet P, Jain RK. Angiogenesis in cancer and other diseases [J]. *Nature*, 2000, 407: 249-257.
- [32] Luan X, Guan YY, Jonathan FL, et al. Tumor priming using metronomic chemotherapy with neovasculature-targeted, nanoparticulate paclitaxel [J]. *Biomaterials*, 2016, 95: 60-73.
- [33] McKee TD, Grandi P, Mok W, et al. Degradation of fibrillar collagen in a human melanoma xenograft improves the efficacy of an oncolytic herpes simplex virus vector [J]. *Cancer Res*, 2006, 66: 2509-2513.
- [34] Magzoub M, Jin S, Verkman AS. Enhanced macromolecule diffusion deep in tumors after enzymatic digestion of extracellular matrix collagen and its associated proteoglycan decorin [J]. *FASEB J*, 2008, 22: 276-284.
- [35] Mok W, Stylianopoulos T, Boucher Y, et al. Mathematical modeling of herpes simplex virus distribution in solid tumors: implications for cancer gene therapy [J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15: 2352-2360.
- [36] Mok W, Boucher Y, Jain RK. Matrix metalloproteinases-1 and -8 improve the distribution and efficacy of an oncolytic virus [J]. *Cancer Res*, 2007, 67: 10664-10668.
- [37] Murty S, Gilliland T, Qiao P, et al. Nanoparticles functionalized with collagenase exhibit improved tumor accumulation in a murine xenograft model [J]. *Part Part Syst Charact*, 2014, 31: 1307-1312.
- [38] Wang H, Han X, Dong Z, et al. Hyaluronidase with pH-responsive dextran modification as an adjuvant nanomedicine for enhanced photodynamic-immunotherapy of cancer [J]. *Adv Funct Mater*, 2019, 29: 1902440.1-1902440.11.
- [39] Sindhwani S, Syed AM, Ngai J, et al. The entry of nanoparticles into solid tumours [J]. *Nat Mater*, 2020, 19: 566-575.
- [40] Zhou Q, Shao SQ, Wang JQ, et al. Enzyme-activatable polymer-drug conjugate augments tumour penetration and treatment efficacy [J]. *Nat Nanotechnol*, 2019, 14: 799-809.
- [41] Chen X, Liu L, Jiang C. Charge-reversal nanoparticles: novel targeted drug delivery carriers [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2016, 6: 261-267.
- [42] Remant BKC, Chandrashekar V, Cheng B, et al. Redox potential ultrasensitive nanoparticle for the targeted delivery of camptothecin to HER2-positive cancer cells [J]. *Mol Pharm*, 2014, 11: 1897-1905.
- [43] Levchenko TS, Rammohan R, Lukyanov AN, et al. Liposome clearance in mice: the effect of a separate and combined presence of surface charge and polymer coating [J]. *Int J Pharm*,

- 2002, 240: 95-102.
- [44] Hu DF, Deng YY, Jia F, et al. Surface charge switchable supra-molecular nanocarriers for nitric oxide synergistic photodynamic eradication of biofilms [J]. *ACS Nano*, 2020, 14: 347-359.
- [45] Han LF, Wang YM, Huang XX, et al. A stage-specific cancer chemotherapy strategy through flexible combination of reduction-activated charge-conversional core-shell nanoparticles [J]. *Theranostics*, 2019, 9: 6532-6549.
- [46] Gao H, Zhu HJ, An JX, et al. A method for preparation of intelligent charge reverse gene carrier with reactive oxygen and pH responsiveness: CN, 109337084A [P]. 2019-02-15.
- [47] Zhang QZ. γ -Glutamyl-transferase-activated Charge-reversal Dendrimer for Camptothecin Delivery (γ -谷氨酰转肽酶响应型电荷反转树状大分子载体应用于喜树碱的输送) [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2017.
- [48] Perrault SD, Walkey C, Jennings T, et al. Mediating tumor targeting efficiency of nanoparticles through design [J]. *Nano Lett*, 2009, 9: 1909-1915.
- [49] Dreaden EC, Austin LA, Mackey MA, et al. Size matters: gold nanoparticles in targeted cancer drug delivery [J]. *Ther Deliv*, 2012, 3: 457-478.
- [50] Chauhan VP, Stylianopoulos T, Martin JD, et al. Normalization of tumour blood vessels improves the delivery of nanomedicines in a size-dependent manner [J]. *Nat Nanotechnol*, 2012, 7: 383-388.
- [51] Cabral H, Matsumoto Y, Mizuno K, et al. Accumulation of sub-100 nm polymeric micelles in poorly permeable tumors depends on size [J]. *Nat Nanotechnol*, 2011, 6: 815-823.
- [52] Cong ZQ, Yang FF, Cao L, et al. Multispectral optoacoustic tomography (MSOT) for imaging the particle size-dependent intratumoral distribution of polymeric micelles [J]. *Int J Nano-medicine*, 2018, 13: 8549-8560.
- [53] Niu YM, Zhu JH, Li Y, et al. Size shrinkable drug delivery nano-systems and priming the tumor microenvironment for deep intratumoral penetration of nanoparticles [J]. *J Control Release*, 2018, 277: 35-47.
- [54] Cong ZQ, Zhang L, Ma SQ, et al. Size-transformable hyaluronan stacked self-assembling peptide nanoparticles for improved trans-cellular tumor penetration and photo-chemo combination therapy [J]. *ACS Nano*, 2020, 14: 1958-1970.
- [55] Du HL, Zhao S, Wang YQ, et al. pH/cathepsin B hierarchical-responsive nanoconjugates for enhanced tumor penetration and chemo-immunotherapy [J]. *Adv Funct Mater*, 2020. DOI: 10.1002/adfm.202003757.
- [56] Lei Q, Wang SB, Hu JJ, et al. Stimuli-responsive "cluster bomb" for programmed tumor therapy [J]. *ACS Nano*, 2017, 11: 7201-7214.
- [57] Su YL, Yu TW, Chiang WH, et al. Hierarchically targeted and penetrated delivery of drugs to tumors by size-changeable graphene quantum dot nanoaircrafts for photolytic therapy [J]. *Adv Funct Mater*, 2017, 27: 1700056.
- [58] Kol N, Shi Y, Tsvitov M, et al. A stiffness switch in human immunodeficiency virus [J]. *Biophys J*, 2007, 92: 1777-1783.
- [59] Li Z, Xiao C, Yong T, et al. Influence of nanomedicine mechanical properties on tumor targeting delivery [J]. *Chem Soc Rev*, 2020, 49: 2272-2290.
- [60] Liu J, Tan YH, Zhang HF, et al. Soft fibrin gels promote selection and growth of tumorigenic cells [J]. *Nat Mater*, 2012, 11: 734-741.
- [61] Liang QG, Bie NN, Yong TY, et al. The softness of tumor-cell-derived microparticles regulates their drug-delivery efficiency [J]. *Nat Biomed Eng*, 2019, 3: 729-740.