

紫杉醇搭载纳米颗粒给药体系在乳腺癌治疗的研究进展

李瑞许 铁峰^{通讯作者}

(海南医学院第一附属医院 海南省 海口市 570102)

摘要: 乳腺癌是全球范围内女性最常见的恶性肿瘤之一, 近年来, 国内外众多学者研究表明, 纳米药物可利用抗体及细胞膜表面受体的专一性作用作为导向, 在载体上与配位子结合, 并与表面的抗原识别器发生特异性结合, 使药物能更加精准地作用于靶向细胞。基于由白蛋白结合域 (ABD) 和无免疫原性弹性蛋白样多肽 (iTEP) 组成的新型纳米载药体系, 无免疫源弹性多肽 (immune-tolerant elastin-like polypeptides, iTEP) 作为有机纳米载体具有免疫耐受性、高降解率及可修改性的特点, 使紫杉醇搭载纳米颗粒靶向抑制乳腺癌细胞成为可能。ABD-iTEP 在药物纳米技术使药物配方和抗癌药物输送中遇到的问题得以解决, 并可能改变药物的代谢方式。纳米颗粒药物在肿瘤治疗中相较于传统化疗药物具有靶向性、高选择性、缓释药物, 药物毒性小, 患者依从性好等特点及相关领域都有其独特的优势。本文综述关于紫杉醇及相关纳米给药体系的研究现状并展望纳米给药体系在乳腺癌治疗中的应用前景。

关键词: 乳腺癌; 纳米颗粒; 紫杉醇; 无免疫源弹性多肽; EPR 效应; 药物靶向性

一、研究背景

乳腺癌是女性最常见且致死率最高的恶性肿瘤, 占所有女性恶性肿瘤的 24%, 至今仍是一个全球性的公共卫生问题[1]。年龄、妊娠、家族基因特征等方面都可能成为得本疾病的原因。无论科技和人类社会如何发展, 其发病率、死亡率均逐年增加[2]。乳腺特殊的是淋巴回流非常丰富, 肿瘤组织最易发生淋巴道转移。当前该病治疗方式通常采用根治性手术切除、放射疗法、化疗、生物相关因素干预等。然而这些治疗方式均存在大大小小不同的不良反应, 若肿瘤广泛双乳转移仅仅手术治疗难以切除干净肿瘤, 若进行放疗治疗则会出现血液抑制等, 当然, 每个患者机能不同, 对肿瘤耐受度也不同[3]。当前的临床使用的化疗药靶向性较低, 对人体细胞无差别伤害, 广泛存在于人体细胞内且作用时间较短, 对人体正常组织毒副作用较大, 且往往需要提高药物的量以达到并保持药物浓度。所以实现具有靶向性的药物载体, 精准打击肿瘤细胞, 建立较完备的靶向药物体系是研究者的艰巨探索。

二、化疗药物紫杉醇的作用机制

在治疗肿瘤的药物中最为成功的抗肿瘤药物紫杉醇的问世具有里程碑的意义, 其来源紫杉烷和生物碱是从植物中提取的化疗药物。1979 年 Susan Horwitz 报道了紫杉醇促进微管—由 α 和 β —微管蛋白异源二聚体的重复亚单位组成的聚合物的组装。紫杉醇降低了体外聚合成微管所需的纯化微管蛋白亚基的临界浓度, 并增加了微管蛋白亚基组装的百分比。此外, 在紫杉醇存在下聚合的微管可以防止通常由冷或钙处理引起的解体。这些作用与之前发现的微管毒素形成鲜明对比, 包括秋水仙碱和长春花碱, 它们阻止微管聚合与其对纯化微管蛋白的作用类似, 紫杉醇可促进活细胞中的微管聚合和稳定, 从而能够拮抗秋水仙碱和长春花碱的作用。典型地紫杉醇治疗在动物肿瘤模型和细胞培养中阻止了多种细胞类型的有丝分裂。到目前为止, 主流观点认为紫杉醇的抗肿瘤作用是由于它能阻止细胞在双极纺锤体的中期分裂。紫杉醇诱导的有丝分裂停止是由于有丝分裂检查点(也称为纺锤体组装检查点)的激活, 这是有丝分裂过程中防止染色体错误分离的主要细胞周期控制机制。有丝分裂检查点延迟了染色体的分离, 染色体作为复制的姐妹染色单体对进入有丝分裂, 直到每对染色体都稳定地附着在有丝分裂纺锤体的两极。这种安排确保每个子细胞将收到每个染色体的一个拷贝。染色单体通过动点连接到纺锤体微管, 动点是聚集在 DNA 着丝粒区域的蛋白质复合体。独立的动点还没有稳定地附着在微管上, 它激活了一个信号转导级联, 通过抑制促进有丝分裂的复合物/环体来延迟有丝分裂的进展。目前针对早期转移性乳腺癌应用最多的一线联合化疗药物是紫杉醇+蒽环类药物。紫杉醇中最主要药物是紫杉醇, 于世纪 60~70 年代发现, 一直广大学者研究。紫杉醇通过促进微管的构件 α 和 β 微管亚单位的组装及与之相结合的方式稳定微管聚合。微管的稳定性会干扰微管的动力学, 微管蛋白聚合物因其组装时所需要的微管蛋白最低值更低, 使其得到延伸。故, 细胞分裂在 G2 或 M 期停止。附着微管随紫杉醇的存在而消失。紫杉醇可以减

慢细胞有丝分裂, 原因是其可以中断染色体两端分离, 阻止微管聚合, 从而使肿瘤细胞发生凋亡。最终抑制了肿瘤细胞的生长增殖。紫杉醇目前在许多恶性肿瘤治疗中被应用且具有一定治疗成效。临床目前使用的紫杉醇剂型有 3 种, 第一种是紫杉醇注射液(紫杉醇, Taxol); 第二种于 2008 年在我国上市使用的白蛋白结合型紫杉醇, 商品名: Abraxane, 其在肿瘤的化疗治疗领域有着特殊的意义。紫杉醇在常用的静脉输注液体中较难溶解, 其含有聚乙萘蓖麻油和乙醇的混合物作为溶剂来增加药物的溶解度, 会导致与溶剂相关的毒性, 如过敏反应和周围神经病变。临床上, 常通过长期服用类固醇激素和抗组胺药物来预防紫杉醇的药物副作用。纳米白蛋白结合紫杉醇是一种新型纳米颗粒, 最初开发的目的是避免与聚乙萘蓖麻油相关的毒性。白蛋白介导的给药方式可能增强 Nab-紫杉醇向乳腺癌组织周围的转运, 与相同摩尔剂量的紫杉醇相比, Nab-紫杉醇有更好的耐受性且所需输注时间更短及不需要预先用药等优势。在转移性乳腺癌(MBC)患者的一项 III 期试验中, 给药方式为 260 mg/m² 的 Nab-紫杉醇组比 175 mg/m² 紫杉醇 (每 3 周给药一次)表现出更长的生存期及较好的疗效。Nab-紫杉醇的安全性在大多数早期试验中都是可以接受的。第三种紫杉醇注射液商品名: 力扑素。紫杉醇用于癌症的治疗, 但毒副作用较大、水溶性差等缺点仍是肿瘤治疗过程中无法忽视的问题。近年来随着对纳米技术的研究, 紫杉醇联合其他药物有望成为治疗癌症的新方式。

三、ABD-iTEP 弹性蛋白多肽纳米给药体系的设计与特点

纳米颗粒药物 (Nanoparticles) 一般是指直径 10 ~ 300 nm 的固态胶体粒子, 通过采用多种合适的纳米材料连接目的药物所制得最终得纳米颗粒为难治性癌症的治疗指向了新的发展路线, ABD-iTEP 是无免疫原性弹性蛋白多肽, 本质是一种蛋白质。有白蛋白结合域于蛋白多肽 iTEP 组成。ABD 是由 46 残基组成, 其作为蛋白质工程的支架, 来源于自 G 蛋白。上述白蛋白结合域顾名思义其作为纳米颗粒提供白蛋白的结合位点供人血白蛋白特异性结合, 蛋白结合域与 HSA 有较高的亲和性, 利于纳米药物的靶向运输。iTEP 来源于一种特殊弹性蛋白样多肽(Elastin-like polypeptides, ELP)。弹性蛋白样多肽 (ELP) 是一种生物聚合物, 其本质是蛋白质。ELP 可以自组装成纳米颗粒(NP)。ELP 还有几个递送药物的额外特征。(1)基于蛋白质或多肽的基因相关药物可以利用基因工程的方法与 ELP 结合。(2)ELP 具备可以转移到 ELP-蛋白融合和 ELP-蛋白质融合上的特征。尽管 ELP 具有这些优质的特征, 但其体液免疫原性依旧是一个无法忽视的问题。有证据表明, 体液免疫原性载体危害其纳米药物有效载药的效力。然而, 这些免疫耐受 ELP 不能提供形成 NPs 所需的疏水性和长度。这一限制便提出了创建新型的免疫耐受 ELP 来满足药物递送的新要求。将携带 iTEP 或 iTEP 融合基因的 pET25b(+)表达载体转化感受态 BL21 大肠杆菌。单菌落转化子在含 100 μ g/ml 氨苄青霉素的 TB 培养基中 37 $^{\circ}$ C 培养 24 小时, 生长后收集大肠杆菌细胞, 细胞颗粒再悬浮于磷酸盐缓冲液(PBS)中, 超声裂解 3min/L 菌液。然后, 将 10%的聚乙萘亚胺(PEI)加入

细胞裂解液中沉淀大肠杆菌 DNA,最后通过逆转转换循环(ITC)从血清中纯化 iTEP。iTEP 被设计成弹性蛋白衍生的多肽聚合物。这些 iTEP 的一个关键标准是它们在小鼠和人类身上都应该是体液耐受的,这一特征可能会促进它们的临床前和临床应用。要使多肽具有体液免疫原性,它必须至少包含一个表位与 B 细胞受体(BCR)结合,另一个表位首先与 MHC II 类复合物结合,然后与 CD4+T 细胞上的同源 T 细胞受体(TCR)结合。

四、纳米药物的靶向性

现代医疗系统中对于肿瘤性疾病的治疗仍然以药物化疗为主。尽管近些年来在治疗肿瘤药物的新药研发方面已取得了一些进展,但是化疗性的肿瘤药物毒副作用依旧很明显,靶向肿瘤组织的特异性仍需进一步开发和研究。因肿瘤周围血管内皮细胞的间隙不断增大,明显大于正常血管内皮细胞间隙时这便为我们设计靶向肿瘤药物提供新思路。正常血管内皮细胞间隙通常在 30nm-50nm 左右,而因肿瘤快速增殖所致肿瘤周围供养血管的畸形发育,此处的血管内皮细胞间隙常大于 150nm,故而设计直径为 100nm 左右的纳米药物无法通过正常的血管内皮细胞而运送至肿瘤周围时因小于肿瘤血管内皮细胞间隙而被漏出,且无有效的血管及淋巴回流,最终导致肿瘤周围药物浓度显著提升,即被动靶向作用。与此同时,在纳米药物的某些特定基团上开发设计,使其成为人血清白蛋白极易连接锚定的结合位点即白蛋白结合域(ABD),通过连接人白蛋白(gp60),gp60 与 HSA 有较高的亲和性。HSA 进入血液循环后与之结合的药物通过内皮细胞,从基底外侧释放到细胞间隙,完成跨膜转运,特异性结合从而引导纳米药物靶向至肿瘤周围,增加药物浓度,即主动靶向作用。所设计的药物在碱性环境不释放或低浓度释放,而酸性环境下药物会有爆发性释放以此为依据可使纳米药物的靶向性进一步增强。尽管通过静脉给药,由于纳米药物以上的多种优秀特性,药物在身体中广泛分布也不会对正常机体造成较为严重的损伤,同时提高肿瘤周围药物浓度使肿瘤的高效治疗成为可能。

五、讨论与总结

纳米药物经过多年的研究与分析,其相关原理已被探究较为清

晰且制备工艺较为成熟,通过利用纳米药物各种优秀特性从而实现肿瘤的定向杀伤作用,EPR 效应体现在肿瘤组织中,肿瘤细胞的繁殖迅速,由于在肿瘤血管发生过程中,供给肿瘤生长养分的营养血管过度生长,在生长过程中,内皮细胞常因病理性原因生长不均,供给肿瘤生长养分的营养血管过度生长,在生长过程中,内皮细胞常因病理性原因生长不均,会使肿瘤部位的血管细胞在生长发育过程中产生影响,而且没有血管可以对肿瘤区域很好的引流这会使大的颗粒囤积于肿瘤的周围,并弥散入肿瘤组织间隙,即 EPR 效应,当下可制备的纳米药物基本都在 100nm 左右,这个直径大于正常血管壁间隙,药物便不会渗透至正常组织周围,而该直径又小于肿瘤血管间隙就会使药物囤积在此处从而实现药物靶向到肿瘤周围增加药物浓度,也即被动靶向作用。紫杉醇是临床常用的治疗恶性肿瘤的药物,因其在普通无机溶剂中溶质溶解的量很少,而且药物的不良反应较大。利用无免疫原性弹性蛋白多肽 iTEP 连接紫杉醇衍生物有着不可替代的效果,首先可以自组装成纳米颗粒这是其它纳米药物无法比拟的优势。其次该药载体部分为人体生物源性蛋白质,有较低的免疫原性不容易发生过敏反应。在发挥药物疗效的过程中该纳米药物不仅解决了紫杉醇低溶解性的问题而且附带了主动、被动靶向作用大大的增强了药物的效力及降低机体的不良反应。无免疫原性弹性蛋白多肽作为纳米颗粒载体,有广泛的应用前景,希望在未来药物的相关试验完善后可大范围的应用于临床治疗,为乳腺癌患者带来治疗希望造福患者。

参考文献

- [1]FERLAY J,COLOMBET M,SOERJOMATARAM I,et al. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018:GLOBOCAN sources and methods[J].Int J Cancer, 2019, 144(8):1941-53.
- [2]MCPHERSON K,STEEL C M,DIXON J M.ABC of breast diseases.Breast cancer-epidemiology,risk factors,and genetics [J].BMJ,2000,321(7261):624-8.
- [3]宋彦伟,李陶威,罗威.乳腺癌手术治疗以及综合治疗的效果分析[J].深圳中西医结合杂志,2020,30(04):127-8.