

· 综 述 ·

多途径靶向给药系统在骨肉瘤治疗中的研究进展

章 磊, 流小舟, 孙 畅 综述, 黎承军 审校

[摘要] 骨肉瘤是好发于儿童及青少年的恶性骨肿瘤, 由于骨组织硬度大、渗透性差和生理生化过程的特殊性, 抗肿瘤药物在骨组织很难达到有效的药物浓度。选择增加药物剂量不仅提高了药物毒副反应的发生率, 也给患者在治疗过程中带来心理及经济上的压力。实验研究发现了多种途径能使抗肿瘤药物通过自我导向或在外界环境诱导下选择性地与肿瘤组织结合, 其中包括通过骨诱导剂(双膦酸盐类)偶联化疗药物、纳米药物载体封装化疗药物以及小分子核糖核酸结合化疗药物等方式。本文就目前国内研究抗肿瘤药物通过靶向给药系统治疗骨肉瘤的实验成果、理论机制及治疗方向作综述。

[关键词] 骨肉瘤; 靶向给药系统; 骨诱导剂; 纳米载体; 小分子 RNA

[中图分类号] R738.1 [文献标志码] A doi:10.3969/j.issn.1672-271X.2016.06.020

骨肉瘤是最常见的原发恶性骨肿瘤, 好发于儿童及青少年的长骨干骺端^[1-2]。随着新辅助化疗及手术的联合治疗, 骨肉瘤患者的生存周期显著提高^[3]。但由于骨肉瘤易发生转移, 5 年生存率仍不超过 60%^[4]。骨肉瘤患者在治疗上需要经历长期的化疗过程, 而恶性骨肿瘤异质性明显, 也易产生抗肿瘤药物耐药性, 化疗药物的毒副反应(恶心呕吐、骨髓抑制、组织器官毒性)使得一些患者难以接受甚至被迫中止治疗。Paul Ehrlich 首次提出“靶向给药”的概念^[5], 即药物在靶组织细胞或亚细胞水平发生反应, 可控性分布并缓慢释放, 增加局部药物浓度, 从而提高药物疗效并减少对机体的毒副作用。近年来针对如何实现抗肿瘤药物治疗骨肉瘤的研究成为热点, 合成的多种药物也处于实验及临床试验阶段, 并取得了显著的进展。

1 骨诱导剂的主动靶向

双膦酸盐类是天然焦磷酸的类似物, 对骨组织表面的羟基磷灰石具有良好的亲和性。研究发现双膦酸盐具有抑制破骨细胞骨吸收的功能^[6], 临床及预临床数据提示含氮膦酸盐(唑来膦酸、阿仑膦酸盐)具有直接抗肿瘤及抑制血管生成的作用^[7-8]。近期, 儿童肿瘤协会证实, 对于发生骨肉瘤远处转移的患者, 双膦酸盐(唑来膦酸)与常规化疗药物的

联合使用是安全有效的^[9]。Kozicki 等^[10]报道卡铂治疗四肢骨肉瘤加入帕米膦酸盐不会影响药物疗效。双膦酸盐与骨组织具有良好的亲和性, 而在骨肉瘤的治疗中发现膦酸盐能与化疗药物(阿霉素、甲氨蝶呤)发挥协同作用, 因此双膦酸盐被作为携带化疗药物进入肿瘤组织的重要诱导剂^[11-12]。Erez 等^[13]设计合成两种含有双膦酸盐且具有水解活性的化疗药物, 一种是通过药物中的羟基与双膦酸类化合物形成具有活性的酯键连接, 另一类是利用药物分子中的氨基官能团与双膦酸类化合物通过活性的碳酸酯键相连。羟基磷灰石结合实验证实双膦酸盐在两种前体药物中起到定位导向的作用。Yang 等^[14]成功合成甲氨蝶呤-偕二膦酸靶向抗肿瘤偶联物, 在体外靶向试验中证实偶联物对羟基磷灰石具有良好的吸附性, 对成骨细胞生长无影响, 并能对骨肉瘤 MG63 细胞有较强的诱导凋亡作用, 诱导作用的强度有时间及浓度依赖性。

除了化疗药物直接与骨诱导剂结合的方式外, 还可以借助载体系统实现靶向运输。Morton 等^[15]通过水溶性聚合电解质(聚丙烯酸)修饰纳米载药粒子表面, 侧链连接阿仑膦酸盐合成具有层层模块化结构的特异性运载工具。研究发现将含阿霉素脂质体的靶向模块结构注射到骨肉瘤 143B 裸鼠原位移植模型能增加药物在肿瘤部位的累积, 通过测量肿瘤大小及肿瘤细胞坏死率, 评价药物治疗的有效性。Wu 等^[16]研究指出亚甲基二膦酸盐(methylenediphosphonate, MDP)可以通过氢键与阿霉素脂质体(adriamycin liposomes, LADMs)结合形成药物 MDP-LADMs, MDP-LADMs 毒性试验致死剂量显著高于单独使用的阿霉素(ADM)或 LADMs。在对

基金项目: 江苏省自然科学基金面上项目(BK20151372)

作者单位: 210002 江苏南京, 南京大学医学院附属金陵医院(南京军区南京总医院)骨科

通讯作者: 黎承军, E-mail: 48933897@qq.com

引用格式: 章 磊, 流小舟, 孙 畅, 等. 多途径靶向给药系统在骨肉瘤治疗中的研究进展[J]. 东南国防医药, 2016, 18(6): 632-635.

骨肉瘤细胞(UMR106 和 SOSP-M)及小鼠移植模型的实验中证实 MDP-LADMs 能显著抑制肿瘤细胞的生长及提高小鼠的生存周期。以上结果表明利用骨诱导剂双膦酸盐与化疗药物偶联具备毒性低、特异靶向性及疗效肯定等特点。

2 纳米药物运载系统

2.1 被动靶向运输 纳米药物载体凭借较好的溶解度、生物相容性及表面易修饰性与化疗药物通过物理或化学的方式结合,从而发挥药物缓控释及靶向运载药物等特点。其中被动靶向的机制在于实体瘤组织内部血管分布较正常组织丰富、血管壁通透性增高、结构完整性降低、淋巴回流障碍,造成大分子类物质和脂质颗粒在肿瘤血管较长时间滞留,即“增强渗透与滞留效应”(enhanced permeability and retention effect, EPR)^[17]。常用的载体有脂质体、纳米胶束、纳米粒子等,脂质体作为药物运载系统(drug delivery system, DDS)被人们研究得较早,具有缓释及靶向作用的脂质体运载顺铂已进入药物临床试验阶段^[18]。Masaka 等^[19]将脂质体改良后设计了一种新的脂类似物(脂肽),脂肽与血管活性长肽(VIP)连接后封装阿霉素,合成抗肿瘤药物 VIP-Lips-DOX 作用于高表达 VIP 受体的骨肉瘤细胞 Saos-2。作者认为脂肽有望作为一种新的 DDS 用于骨肉瘤的治疗。Sun 等^[20]设计了聚乙二醇脂质体装载多西他赛(DTX)及吉西他滨(GEM)两种化疗药物后的合成物(DTX/GEM-L),通过评价 DTX/GEM-L 对骨肉瘤细胞 MG-63 及裸鼠原位移植模型的疗效证实,DTX/GEM-L 通过 EPR 效应运输到骨肉瘤肿瘤间质内,显著增加细胞凋亡、抑制肿瘤的生长、提高组合药物的疗效。另外,国内报道了利用以带有氨基末端的聚乙二醇引发亮氨酸 N-内羧酸酐(Leu NCA)开环聚合反应合成二嵌段聚乙二醇-寡聚亮氨酸形成的胶束,体内外实验证实此种载阿霉素胶束经内吞后富集于骨肉瘤细胞(MG-63 及 Saos-2)并在抗肿瘤效率及生物安全性存在优势^[21]。Low 等^[22]利用亲水性 D-天冬氨酸八肽作为靶向剂,在阿霉素及 D-天冬氨酸八肽之间插入脂肪烃链及短链 PEG 间隔基合成泊洛沙姆胶束,研究发现该胶束能被羟基磷灰石快速吸附并依靠骨肉瘤独特的肿瘤微环境释放药物。对于纳米粒子作为载体的研究,Chen 等^[23]以合成异环磷酰胺负载聚(乳酸-羟基乙酸共聚物)-葡聚糖聚合物纳米粒子(PD/IFS),实验证实 PD/IFS 具有高载药及依赖 pH 缓释的能力,并能显著诱导骨肉瘤细胞凋亡。

2.2 主动靶向运输 纳米药物载体主动靶向的方式主要有配体-受体、细胞因子等肿瘤细胞特异性靶点结合、物理化学因素的靶向诱导等。

2.2.1 人表皮生长因子受体-2(HER2)蛋白 HER2 蛋白是骨肉瘤治疗的理想靶点。郑亦静等^[24]采用壳聚糖衍生物乙二醇壳聚糖制备双抗体(抗壳聚糖抗体、抗 HER2 抗体)-阿霉素-壳聚糖(Abc-GC-Dox)纳米粒。实验证实该双抗体靶向阿霉素纳米粒的包封率为 89.73%,载药量为 9.96%,能提高抗肿瘤药物在骨肉瘤细胞内的靶向分布,并显著增加局部药物浓度。

2.2.2 磁性靶向给药系统 磁性靶向给药系统是将化疗药物和磁性材料包裹或吸附在载体材料中制成的药物靶向运输系统。药物通过体外磁场的引导通过血管选择性地到达并浓集于肿瘤区域发挥抗肿瘤作用。王栋峰等^[25]利用 $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、盐酸阿霉素、 α -氰基丙烯酸正丁酯等试剂合成磁性阿霉素聚氰基丙烯酸正丁酯纳米粒。该纳米粒的饱和磁化强度为 0.558 emu/g,可被 4250 Gs 的磁场所吸引以达到磁靶的效应,药物的包封率为 90.73%,载药量为 10.68%,且较 ADM 对 MG-63 人骨肉瘤细胞有更强的抑制作用。

2.2.3 物理化学因素靶向诱导 基于肿瘤组织特殊微环境(反常 pH 值或温度)的物理靶向,利用肿瘤组织周围较低 pH 值或较高温度刺激引起具有相应敏感性药物载体的分解。Shido 等^[26]给小鼠骨肉瘤模型注射磁性阳离子脂质体(MCLs),利用交替磁场诱导 MCLs 在肿瘤部位产生热效应。对照实验显示热疗组小鼠局部肿瘤体积显著减小,且具有控制肿瘤发生肺转移的效果。Gonçalves 等^[27]利用静电相互作用将阿霉素载到生物相容性阴离子型锂皂石(LP)上,并用天然高分子藻酸盐(AG)包裹,合成了纳米杂化抗肿瘤药物(LP/Dox/AG)的,依靠直接记录内容酶体的酸性环境释放药物。LP/Dox/AG 具有包封率高、pH 敏感及稳定释放等特点。实验证实骨肉瘤细胞 CAL-72 能有效内吞 LP/Dox/AG 从而使药物在细胞内发挥更高的细胞毒性。

3 小分子 RNA 与化疗药物的结合

小干扰 RNA 分子(siRNAs)对同质的化学结构具有较高特异性结合(序列介导的基因沉默)的能力^[28]。核因子 κ B 受体活化因子配体(RANKL)是刺激破骨细胞分化、活化及生存的效应分子。临床前研究表明可溶性受体通过阻断 RANKL 能有效阻止溶骨性破坏进而对骨肉瘤有抑制作用^[29]。

Rousseau 等^[30]提出利用小干扰 RNA (siRNA) 靶向抑制 RNAKL 的表达并与化疗药物联合治疗骨肉瘤的新策略。实验显示 siRNAs 负载阴离子脂质体能抑制 RNAKL 的表达并降低裸鼠骨肉瘤模型骨质破坏的程度。siRNAs 联合化疗药物异环磷酰胺还能显著抑制骨肉瘤的生长。microRNA 是一类对基因具有调控功能的内源性非编码小分子 RNA, 具有对肿瘤靶基因的转录后调控的功能。miR-34a 在骨肉瘤肿瘤细胞中低表达, 引入肿瘤细胞后能抑制肿瘤细胞的生长。Zhao 等^[31]研究发现, 在骨肉瘤细胞 (143B 及 MG63) 小鼠原位移植模型中联合使用 miR-34a 前体与阿霉素抑制肿瘤效应优于单一化疗。

传统化疗方式由于药代动力学差及非特异性分布易引起严重的毒副作用。抗肿瘤药物必须满足安全性及有效性等基本要求, 本文介绍的三大类途径通过直接或间接的方式将化疗药物靶向运载到肿瘤部位。不仅显著增加了化疗药物在肿瘤组织局部蓄积, 长时间维持药物的有效浓度从而增强抗肿瘤效应, 还能降低化疗药物对机体的毒副作用。目前, 国内外已开展多项针对靶向性治疗骨肉瘤药物的研究, 包括载体构建、肿瘤模型的建立及药物合成等。但相关研究仍处在实验或者临床试验阶段, 由于个体化差异, 合成具有靶向性抗骨肉瘤药物是否对所有骨肉瘤患者都有效, 对于抗肿瘤靶向性药物使用的安全性尚无明确报道。因此在研制开发新的临床药物上还存在大量的难题需要研究者不断的攻克。综上所述, 靶向性给药方式相比传统化疗方式具备更多的优越特点, 未来, 随着骨肉瘤疾病机制研究的不断深入, 抗肿瘤药物靶向治疗有望成为骨肉瘤治疗过程中的重要手段之一。

【参考文献】

- [1] 章磊, 流小舟, 吴苏稼, 等. 外泌体在骨肉瘤发病机制中的研究进展[J]. 医学研究生学报, 2016, 29(2): 196-200.
- [2] 施鑫. 骨肉瘤诊断和治疗的现状与进展[J]. 医学研究生学报, 2012, 25(5): 449-452.
- [3] 黎承军, 流小舟, 赵建宁, 等. Survivin 基因与骨肉瘤关系的研究进展[J]. 东南国防医药, 2013, 15(3): 276-278.
- [4] O'Kane GM, Cadoo KA, Walsh EM, et al. Perioperative chemotherapy in the treatment of osteosarcoma: a 26-year single institution review[J]. Clin Sarcoma Res, 2015, 5: 17. doi: 10.1186/s13569-015-0032-0
- [5] Tavano L, Muzzalupo R. Multi-functional vesicles for cancer therapy: The ultimate magic bullet[J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2016, 147: 161-171.
- [6] Minisola S, Cipriani C, Scillitani A, et al. More on the use of bisphosphonates in the prevention and treatment of osteoporosis[J]. BMJ, 2015, 351:h5868.
- [7] Price AP, Abramson SJ, Hwang S, et al. Skeletal imaging effects of pamidronate therapy in osteosarcoma patients[J]. Pediatr Radiol, 2011, 41(4): 451-458.
- [8] Ribatti D, Nico B, Mangieri D, et al. Neridronate inhibits angiogenesis in vitro and in vivo[J]. Clin Rheumatol, 2007, 26(7): 1094-1098.
- [9] Goldsby RE, Fan TM, Villaluna D, et al. Feasibility and dose discovery analysis of zoledronic acid with concurrent chemotherapy in the treatment of newly diagnosed metastatic osteosarcoma: a report from the Children's Oncology Group[J]. Eur J Cancer, 2013, 49(10): 2384-2391.
- [10] Kozicki AR, Robat C, Chun R, et al. Adjuvant therapy with carboplatin and pamidronate for canine appendicular osteosarcoma[J]. Vet Comp Oncol, 2015, 13(3): 229-236.
- [11] Ohba T, Cates JM, Cole HA, et al. Pleiotropic effects of bisphosphonates on osteosarcoma[J]. Bone, 2014, 63(6): 110-120.
- [12] Meyers PA, Healey JH, Chou AJ, et al. Addition of pamidronate to chemotherapy for the treatment of osteosarcoma[J]. Cancer, 2011, 117(8): 1736-1744.
- [13] Erez R, Ebner S, Attali B, et al. Chemotherapeutic bone-targeted bisphosphonate prodrugs with hydrolytic mode of activation[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2008, 18(2): 816-820.
- [14] Yang XN, Zeng JC, Song YC, et al. Targeted Antiosteosarcoma Methotrexate-bisphosphonate Conjugate induces apoptosis of osteosarcoma cells in vitro[J]. Eur Rev Med Pharmacol, 2014, 18(15): 2116-2123.
- [15] Morton SW, Shah NJ, Quadir MA, et al. Osteotropic therapy via targeted layer-by-layer nanoparticles[J]. Adv Health Mater, 2014, 3(6): 867-875.
- [16] Wu D, Wan M. Methylene diphosphonate-conjugated adriamycin liposomes: preparation, characteristics, and targeted therapy for osteosarcomas in vitro and in vivo[J]. Biomed Microdevices, 2012, 14(3): 497-510.
- [17] Saisyo A, Nakamura H, Fang J, et al. pH-sensitive polymeric cisplatin-ion complex with styrene-maleic acid copolymer exhibits tumor-selective drug delivery and antitumor activity as a result of the enhanced permeability and retention effect[J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2016, 138: 128-137.
- [18] Babu A, Amreddy N, Ramesh R. Nanoparticle-based cisplatin therapy for cancer[J]. Ther Deliv, 2015, 6(2): 115-119.
- [19] Masaka T, Li Y, Kawatobi S, et al. Liposome modified with VIP-lipopeptide as a new drug delivery system[J]. Yakugaku Zasshi, 2014, 134(9): 987-995.
- [20] Sun L, Zhou DS, Zhang P, et al. Gemcitabine and γ -cyclodextrin/docetaxel inclusion complex-loaded liposome for highly effective combinational therapy of osteosarcoma[J]. Int J Pharm, 2015, 478(1): 308-317.
- [21] 李忱. 负载阿霉素的聚乙二醇-聚亮氨酸胶束在骨肉瘤治疗中的应用[D]. 吉林大学, 2014.
- [22] Low SA, Yang JY, Kopecek J. Bone-targeted acid-sensitive doxorubicin conjugate micelles as potential osteosarcoma therapeutics[J]. Bioconjug Chem, 2014, 25(11): 2012-2020.
- [23] Chen B, Yang JZ, Wang LF, et al. Ifosfamide-loaded poly(lactic-co-glycolic acid) PLGA-dextran polymeric nanoparticles to improve the antitumor efficacy in osteosarcoma[J]. BMC Cancer, 2015, 15: 752. doi: 10.1186/s12885-015-1735-6.
- [24] 郑亦静, 张小磊, 林焱, 等. 双抗体靶向阿霉素纳米药物的研制及其靶向抗骨肉瘤作用[J]. 温州医学院学报, 2015, 45(8): 547-551.
- [25] 王栋峰, 蔡林, 胡治平, 等. 磁性阿霉素聚氧基丙烯酸正丁酯纳米粒的合成及其对 MG-63 人骨肉瘤细胞的效应[J].

- 武汉大学学报(医学版), 2008, 29(5): 610-616.
- [26] Shido Y, Nishida Y, Suzuki Y, et al. Targeted hyperthermia using magnetite cationic liposomes and an alternating magnetic field in a mouse osteosarcoma model[J]. J Bone Joint Surg Br, 2010, 92(4): 580-585.
- [27] Gonçalves M, Figueira P, Maciel D, et al. pH-sensitive Laponite®/doxorubicin/alginate nanohybrids with improved anticancer efficacy[J]. Acta Biomater, 2014, 10(1): 300-307.
- [28] Haussecker D. The business of RNAi therapeutics in 2012[J]. Mol Ther Nucleic acids, 2012, 1(2): e8. doi: 10.1038/mtna.2011.9.
- [29] Rousseau J, Escriou V, Perrot P, et al. Advantages of bioluminescence imaging to follow siRNA or chemotherapeutic treatments in osteosarcoma preclinical models[J]. Cancer Gene Ther, 2010, 17(6): 387-397.
- [30] Rousseau J, Escriou V, Lamoureux F, et al. Formulated siRNAs targeting Rankl prevent osteolysis and enhance chemotherapeutic response in osteosarcoma models[J]. J Bone Miner Res, 2011, 26(10): 2452-2462.
- [31] Zhao Y, Tu MJ, Yu YF, et al. Combination therapy with bioengineered miR-34a prodrug and doxorubicin synergistically suppresses osteosarcoma growth[J]. Biochem Pharmacol, 2015, 98(4): 602-613.
- (收稿日期:2016-07-26;修回日期:2016-08-30)
(本文编辑:黄攸生)

(上接第 608 页)

所得检测结果进行线性回归分析显示,所有项目斜率均在 0.97~1.03 之间,相关系数 r 均大于 0.975,检测结果表明 UPT-3A 检测结果与罗氏、雅培具有较好的可比性。在生物参考区间验证实验中,实验室参照 CLSI C28-A2 文件要求对厂家声明的生物参考区间进行验证,验证结果表明,三个检测项目所有结果均落在当前使用的参考区间范围之内,厂商提供的生物参考区间满足漳州地区常住人群。以此同时,在我院卫生装备贯彻“平战结合”的方针上,根据特点(体积小、快速、精确、稳定)符合方舱野战医院的特点,在应急保障能力上起到重要意义^[13]。

总之,笔者根据美国临床和实验室标准化协会(CLSI)的相关要求,通过对 UPT-3A 型上转发光免疫分析仪检测系统进行性能评价,结果表明该设备性能良好,引用的生物参考区间适用,可满足临床需求。

【参考文献】

- [1] 中国合格评定国家认可委员会.ISO1518:2007 医学实验室质量和能力认可准则[S].北京:中国合格评定国家认可委员会,2008.
- [2] Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline-Second Edition[S]. EP5-A2, CLSI, 2004.
- [3] Clinical and Laboratory Standards Institute. Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline-Second Edition[S]. EP9-A2, CLSI, 2002.
- [4] Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures; A Statistical Approach; Approved Guideline[S]. EP6-A, CLSI, 2003.
- [5] Clinical and Laboratory Standards Institute. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory [S]. C28-A2, CLSI, 2000;1-31.
- [6] Jneid H, Alam M, Virani SS, et al. Redefining myocardial infarction;what is new in the ESC/ACGF/AHA/WHF third universal definition of myocardial? [J] Methodist Debakey Cardiovasc J,2013,9(3):169-172.
- [7] Jaffe AS. Peri-operative myocardial infarction and high sensitive cardiac troponin;a start but by no means a finish [J].Heart,2012,98(19):1402-1403.
- [8] 朱星成,段 勇.降钙素原与感染性疾病的临床研究进展[J].医学综述,2014,20(2):231-233.
- [9] 张 庆,王泉旻,王素琴,等.血浆 NT-proBMP 在老年慢性充血性心力衰竭诊断中的价值及其与心功能的关系[J].实验与检验医学,2014,32(5):498-499.
- [10] 易红根,曾国强,肖金元,等.降钙素原测定在诊断儿童感染性疾病中的临床意义[J].实验与检验医学,2012,30(1):67-68.
- [11] 蔡利勋,陈 玉,郑剑峰,等.降钙素原在上呼吸道诊治中的应用[J].实验与检验医学,2012,30(6):546-547.
- [12] 双 田,丁雪燕,马丽萍,等.急性心肌梗死患者血清肌钙蛋白 I 抗体检测的临床意义[J].东南国防医药,2013,15(1):14-17.
- [13] 余 海,郁毅刚,胡永狮,等.方舱野战医院登陆场快速展开及保障能力生成探讨[J].东南国防医药,2015,17(1):103-104.
- (收稿日期:2016-04-10;修回日期:2016-10-28)
(本文编辑:叶华珍; 英文编辑:王建东)