

肿瘤微环境 MMP 酶响应性纳米给药系统研究进展

谢智奇, 皇甫铭一, 韩旻* (浙江大学药学院, 杭州 310058)

摘要: 肿瘤靶向纳米制剂的研究是近些年医药领域内的研究热点之一。其中, 肿瘤微环境在肿瘤增殖、侵袭和转移中发挥关键性作用, 肿瘤微环境响应性纳米制剂的研究日益受到关注。研究发现, 以基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)为代表的酶类在多种肿瘤微环境中高度表达, 其底物可被设计应用于药物传递及成像系统, 并显示出了对肿瘤微环境中 MMP 的高度响应。本文对肿瘤微环境中以 MMP 为代表的高表达酶为靶点的纳米给药系统的研究进展作一概述。

关键词: 肿瘤微环境; 基质金属蛋白酶; 酶响应性; 纳米给药系统

中图分类号: R977.3 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2017)06-0903-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2017.06.027

引用本文: 谢智奇, 皇甫铭一, 韩旻. 肿瘤微环境 MMP 酶响应性纳米给药系统研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2017, 34(6): 903-906.

MMP Enzyme in Tumor Micro-environment: A Promising Target for Nano-medicine Delivery

XIE Zhiqi, HUANGFU Mingyi, HAN Min* (College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

ABSTRACT: Recently, plenty of researches have been done on the tumor targeting nano-medicines. As the study on tumor progression, invasion and metastasis deepens, tumor micro-environment responsive nano-preparations become an issue of increasing concern. Enzymes represented by matrix metalloproteinase(MMP) are highly expressed within the tumor micro-environment. Therefore, its substance can be designed for drug delivery and imaging. In this review, nano-delivery system responding to MMP and other highly expressed enzymes are generally introduced.

KEY WORDS: tumor micro-environment; MMP; enzyme responsive; nanomedicine delivery system.

癌症是引起人类死亡的第二大原因。肿瘤发病率和死亡率居高不下, 使其成为医疗领域的重大挑战之一^[1]。化疗、外科手术和放射治疗、靶向治疗、免疫治疗等是治疗恶性肿瘤的主要方法^[2]。其中化疗仍然是目前最主要的治疗手段, 但传统的化疗药物往往全身分布, 不良反应明显。纳米传递系统的出现提高了对肿瘤部位的靶向性, 使得药物更多得聚集于肿瘤部位, 从而大大降低了对其他正常组织器官的不良反应。

肿瘤及肿瘤微环境的相关研究发现, 肿瘤微环境对肿瘤的增殖、侵袭和转移起到关键作用^[3]。利用肿瘤微环境中低氧、偏酸、高压, 并常伴随相关因子异常表达和炎症反应等特点, 研究者已经设计出许多纳米给药系统, 如低氧敏感纳米给药系统、pH 敏感纳米给药系统和酶响应性纳米给

药系统等^[2]。通常, 在血液循环和正常细胞处这些纳米给药系统不发挥作用, 经过破损的肿瘤部位血管组织后穿出或溢入肿瘤细胞间隙后, 在肿瘤微环境的低氧、低 pH、高浓度酶等的刺激下, 会大量释放药物, 进而产生抑瘤效果。这类纳米给药系统集合了被动靶向与主动靶向的优势, 发挥疗效的范围更广, 更加利于成像与治疗^[4]。

由于酶具有高选择性, 酶响应性纳米给药系统显示出一系列的优势。常用的介导药物释放的酶类多存在于肿瘤细胞外环境, 研究较多的包括基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)、组织蛋白酶、磷脂酶 C、磷脂酶 A2 等。以肿瘤微环境的酶为引发剂设计药物递送系统以期实现肿瘤的成像和治疗是目前研究较热的内容之一。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81373346, 81673022)

作者简介: 谢智奇, 男 Tel: (0571)88208440 E-mail: xiezhiqi0714@gmail.com *通信作者: 韩旻, 男, 博士, 副教授 Tel: (0571)88208437 E-mail: hanmin@zju.edu.cn

1 MMP

细胞外基质(extracellular matrix, ECM)中含有胶原蛋白、弹性蛋白、蛋白聚糖、纤维蛋白等大分子。它们的正常比例对遏制细胞癌变有重要作用。以 MMP2 为代表的 MMP 是在人类多个部位的癌细胞中都发现的一类高表达蛋白。一系列 MMP 敏感性底物在药物传递和成像系统中都显示出对 MMP 的响应。MMP 酶系拥有 20 余种酶,主要通过胶原蛋白 IV 和层黏连蛋白降解 ECM,使得肿瘤细胞可以跨越基质膜屏障,侵染和转移到周围的组织^[5]。同时研究发现 MMP 可利用降解 ECM 所得的空间引导形成新生血管并释放多种血管生长因子,并且 MMP 在肿瘤增殖,炎症反应,细胞凋亡等方面发挥重要作用^[6]。

特别的, MMP2 和 MMP9 被发现存在于多种肿瘤细胞中,包括胃癌、乳腺癌、前列腺癌、直肠癌、肺癌和卵巢癌^[7]。所以 MMP2 和 MMP9 常被选作为靶点广谱靶向肿瘤微环境以提升纳米颗粒的归巢准确性并提高疗效。

2 MMP 酶响应性纳米给药系统设计

目前的酶响应性纳米给药系统设计往往同时基于“被动靶向”和“主动靶向”。纳米粒的粒径为 10~200 nm^[8],且在体内的循环时间>6 h^[9],则可通过 EPR 效应被动在肿瘤部位富集^[10-11]。进而通过靶向肿瘤微环境高表达的 MMP 实现药物释放,增加肿瘤穿透性等。下面将列举几种典型的 MMP 酶响应性纳米给药系统设计。

2.1 药物以酶敏感键结合于载体上

抗癌药物通过酶敏感键连接于高分子聚合物或蛋白等载体上得到纳米颗粒,在肿瘤部位被高表达的酶识别、切断酶敏感键后释放药物。Mansour 等^[12]研究了水溶性多柔比星衍生物连接 MMP2 敏感的八肽(Gly-Pro-Leu-Gly-Ile-Ala-Gly-Gln),随后结合至蛋白上。一旦该蛋白药物前体到达肿瘤部位,八肽序列被高表达的 MMP2 切断为 2 个四肽,释放出带四肽的多柔比星从而杀死肿瘤。这种方法的缺点是释放的药物带有多肽序列,可能对药物的疗效产生影响。

2.2 药物物理包埋于酶敏感的载体中

介孔硅(MSNs)是具有 2~50 nm 孔径的无定形氧化硅材料。MSN 可以作为药物载体包埋药物后,用可被 MMP2 切断的生物大分子包裹表面。到达肿瘤部位后表面的生物大分子被 MMP2 识别

切断,从而实现包埋药物的释放^[13]。由于 MSNs 拥有高密度空隙内部结构,所以 1 g 介孔硅可携带 200~200 mg 药物,最高甚至可达 600 mg。与“2.1”项中的方法比较,这种方法可释放药物原药。

其他一些高分子材料亦可制备酶敏感载体。如聚酰胺-胺型树枝状高分子 PAMAM,其具有 <10 nm 的粒径,表面富含的正电荷,以及内部空腔的存在等优势可有效携带药物并渗透入胞。将 PAMAM 以响应性多肽作为连接键结合亲水性大分子透明质酸(HA)、聚乙二醇(PEG)等可有效传递药物。

2.3 “航母”纳米传递系统

纳米颗粒的直径越小越容易穿透进入肿瘤细胞,但如果直径过小(<10 nm)又容易被肝清除出体外同样难以到达肿瘤部位。所以 Wong 等^[14]将 10 nm 左右的药物纳米颗粒载于 100 nm 的明胶纳米胶束上构建成类似“航母”的药物传递系统,通过 EPR 效应聚集于肿瘤部位后,明胶纳米粒被 MMP2、MMP9 等分解释放出 10 nm 的药物纳米颗粒,从而增加药物渗透入肿瘤的能力。

2.4 连接穿透蛋白

Lin 等^[15]以 PEG1000-磷酸乙醇胺(PE)结合物,作为前药和 MMP2 敏感部分 PEG2000-紫杉醇配合体以及穿膜肽修饰的多肽-PEG1000-PE 结合物制备出一种肿瘤靶向型胶束。其中,药物包载于胶束的疏水核中,外部被亲水的多肽-PEG1000-PE 包裹。研究表明该胶束利用 EPR 效应聚集于肿瘤组织,并在肿瘤微环境下,其 PEG2000-紫杉醇配合体被过度表达的 MMP 切断,使紫杉醇释放并暴露出促进细胞穿透的穿膜肽 TATp,在体内外中证实了此胶束的抗肿瘤效果优于不含穿膜肽的给药系统。

3 MMP 酶响应性纳米给药系统的应用

酶的高选择性使得 MMP 酶响应性纳米制剂在成像和抗肿瘤方面都有一定的优势并积累了大量经验。

成像方面,Wang 等^[16]制备的高效低毒纳米探针可用于探测 MMP2 高表达的细胞和肿瘤。纳米探针静脉注射后,通过 EPR 效应富集在肿瘤部位,MMP2 多肽底物被切断后,纳米探针脱去 QSY21 荧光淬灭剂,释放 QD 荧光显像。该纳米探针在人纤维肉瘤和皮下神经胶质瘤移植模型中效果显著,并且在结合铁传递蛋白受体靶向肽(T7 多肽)后可穿越血脑屏障实现脑部肿瘤的实时荧光观

察。Sachiko 等^[17]制备了一个壳核结构纳米载体：疏水内核-MMP2 底物多肽-亲水外壳(PEG)。底物多肽被肿瘤部位的 MMP2 切断后，纳米载体脱去 PEG 外壳，而后疏水内核相互聚集提升 T2 弛豫效能，从而有望被应用于核磁成像技术中。Juan 等^[18]也合成了类似功能的 MMP2/9 响应性的氧化铁纳米粒。

同样，利用 MMP 酶响应性纳米制剂进行抗肿瘤的研究层出不穷。Lin 等^[19]合成的 MMP2 敏感脂质体可携带多柔吡星(DOX)治疗乳腺癌。并在体外实验中取得良好效果，敏感脂质体的穿透能力是非敏感脂质体的 3 倍。另外，Cheng 等^[20]将 MMP2 敏感穿透肽(R9GPLGLAGE8, ACPP)与原卟啉结合形成胶束用于光动力学治疗。Lim 等^[21]

利用 MMP 敏感多肽连接 MPEG 与抗肿瘤药物 ADR 形成 MPEG-peptide-ADR 三段式化合物，发现抑瘤效果优于 ADR 药物溶液。材料方面，新兴的 MSNs 表面覆盖 MMP2 底物 PLGLAR 被应用于肿瘤治疗^[22]。同时，研究者发现 MMP2 敏感键可应用于纳米聚合物凝胶用于肿瘤调控^[23]。如 Huang 等^[24]合成的纳米制剂在神经胶质瘤荷瘤小鼠中显示出肿瘤靶向性和优越的穿透性，可用于抑制肿瘤血管生成与凋亡调控。另外，利用 PEG，MMP2 底物多肽和胆固醇(PPC)合成的纳米载体用于携带腺病毒(ADs)，比单纯的 Ads 拥有更低的免疫原性和较小的肝毒性，可作为基因治疗的载体靶向肿瘤部位^[25]。

目前一些相关文献研究实例见表 1。

表 1 酶响应性药物递送系统研究实例

Tab. 1 Case study of enzyme responsive drug delivery system

材料组成及制剂	响应性酶	酶敏感键	细胞/动物模型	文献出处
纳米探针	MMP2	MMP 酶多肽底物 KGGPLGVRRGVSRRRRRRGRRRR	人纤维肉瘤，皮下胶质瘤	[16]
疏水端-多肽-聚乙二醇	MMP2	FAM-Lys-Pro-Leu-Gly-Leu-Ala-Gly-Ahx-Ahx-Ahx-Cys-NH ₂ , FAM: 5(6)-carboxyfluorescein,Ahx: 6-aminohexanoic acid	/	[17]
氧化铁纳米粒	MMP2,9	DNP-Pro-Leu-Gly-Met-Trp-Ser-Arg	U87.CD4.CXCR4 细胞系	[18]
细胞穿透肽-原卟啉	MMP2	R ₉ GPLGLAGE ₈ , ACPP	纤维肉瘤	[20]
热凝胶聚合物	MMP2	Gly-Pro-Val-Gly-Leu-Ile-Gly-Lys	纤维肉瘤	[21]
纳米脂质体	MMP2	MMP2 敏感底物(Gly-Pro-Leu-Gly-Ile-Ala-Gly-Gln)	SCC7 细胞系	[26]
介孔硅	MMP	MMP 敏感生物大分子	HepG2, Raw264.7 细胞系	[22]
纳米脂质体	MMP2	MMP2 敏感八肽(Gly-Pro-Leu-Gly-Ile-Ala-Gly-Gln)	4T1 乳腺癌细胞系	[19]
铁蛋白纳米粒	MMP2,9,13,14,16	MMP 酶底物 Cy5.5-GPLGVRRGC	UM-SCC-22B 细胞系	[27]
MnFe ₂ O ₄ 磁性纳米晶体	MT1-MMP	MT1-MMP 底物 Cy5.5-GPLPLRSWGLK(BHQ-3)	HT1080 fibrosarcoma cells	[28]
金纳米粒	MMP2,3,7,13	MMP 酶底物 Cy5.5-GPLGVRRGC-(amide)	SCC7 细胞系	[29]
金纳米粒	MMP2	MMP 酶底物 Cy5.5-GPLGVRRGC(BHQ)GG	HT-29 结肠癌细胞系	[30]
GO-peptide-QDs 纳米探针	MMP2	MMP 酶底物 GKGGLVPRGSGC 和 GPLGVRRGC	/	[31]

4 展望

目前针对肿瘤微环境的主动靶向纳米制剂研究很多，但并没有上市的产品。以肿瘤微环境的高表达的酶为药物释放的引发剂在肿瘤成像和治疗方面已有一定的研究积累和成果。但主要问题是肿瘤微环境的酶在不同肿瘤类型和不同肿瘤部位甚至肿瘤的不同时期表达都不尽相同，这要求对肿瘤部位酶的水平有充分的了解。而解决了不同时间、部位肿瘤微环境内酶的表达水平，将有助于设计药物更精准得靶向和治疗肿瘤，以期实现纳米制剂对肿瘤的临床应用。另外，克服肿瘤

部位胞外基质致密和高渗透压的特点实现纳米制剂的高渗透性，以及克服恶性肿瘤易产生耐药性的问题同样是实现纳米制剂临床应用的关键。

REFERENCES

- [1] STEWART B, WILD C P. World cancer report 2014 [R]. World Health Organization.
- [2] KLEMM F, JOYCE J A. Microenvironmental regulation of therapeutic response in cancer [J]. Trends Cell Biol, 2014, 25(4): 198-213.
- [3] PAYNE S J, JONES L. Influence of the tumor microenvironment on angiogenesis [J]. Future Oncol, 2011, 7(3): 395-408.
- [4] JI T, ZHAO Y, DING Y, et al. Using functional nanomaterials

- to target and regulate the tumor microenvironment: diagnostic and therapeutic applications [J]. *Adv Mater*, 2013, 25(26): 3508-3525.
- [5] MADSEN M A, DERYUGINA E I, NIESSEN S, et al. Activity-based protein profiling implicates urokinase activation as a key step in human fibrosarcoma intravasation [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(23): 15997-16005.
- [6] KESSENBROCK K, PLAKS V, WERB Z. Matrix metalloproteinases: regulators of the tumor microenvironment. *Cell*, 2010, 141(1): 52-67.
- [7] ROOMI M W, MONTERREY J C, KALINOVSKY T, et al. Patterns of MMP-2 and MMP-9 expression in human cancer cell lines [J]. *Oncol Rep*, 2009, 21(5): 1323-1333.
- [8] IYER A K, KHALED G, FANG J, et al. Exploiting the enhanced permeability and retention effect for tumor targeting [J]. *Drug Discov Today*, 2006, 11(17-18): 812-818.
- [9] LONGMIRE M, CHOYKE P L, KOBAYASHI H. Clearance properties of nano-sized particles and molecules as imaging agents: considerations and caveats [J]. *Nanomedicine(Lond)*, 2008, 3(5): 703-717.
- [10] MARUYAMA K. Intracellular targeting delivery of liposomal drugs to solid tumors based on EPR effects [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2011, 63(3): 161-169.
- [11] MAEDA H, NAKAMURA H, FANG J. The EPR effect for macromolecular drug delivery to solid tumors: Improvement of tumor uptake, lowering of systemic toxicity, and distinct tumor imaging *in vivo* [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2013, 65(1): 71-79.
- [12] MANSOUR A M, DREVS J, ESSER N, et al. A new approach for the treatment of malignant melanoma: enhanced antitumor efficacy of an albumin-binding doxorubicin prodrug that is cleaved by matrix metalloproteinase 2 [J]. *Cancer Res*, 2003, 63(14): 4062-4066.
- [13] LIU Y, DING X, LI J, et al. Enzyme responsive drug delivery system based on mesoporous silica nanoparticles for tumor therapy *in vivo* [J]. *Nanotechnology*, 2015, 26(14): 145102.
- [14] WONG C, STYLIANOPOULOS T, CUI J, et al. Multistage nanoparticle delivery system for deep penetration into tumor tissue [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(6): 2426-2431.
- [15] ZHU L, WANG T, PERCHE F, et al. Enhanced anticancer activity of nanopreparation containing an MMP2-sensitive PEG-drug conjugate and cell-penetrating moiety [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(42): 17047-17052.
- [16] WANG Y P, LIN T T, ZHANG W Y, et al. A Prodrug-type, MMP-2-targeting nanoprobe for tumor detection and imaging [J]. *Theranostics*, 2015, 5(8): 787-795.
- [17] MATSUMURA S, AOKI I, SAGA T, et al. A tumor-environment-responsive nanocarrier that evolves its surface properties upon sensing matrix metalloproteinase-2 and initiates agglomeration to enhance T(2) relaxivity for magnetic resonance imaging [J]. *Mol Pharm*, 2011, 8(5): 1970-1974.
- [18] GALLO J, KAMALY NA, LAVDAS I, et al. CXCR4-targeted and MMP-responsive iron oxide nanoparticles for enhanced magnetic resonance imaging [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2014, 53(36): 9550-9554.
- [19] LIN Z, KATE P, TORCHILIN V P. Matrix metalloprotease 2-responsive multifunctional liposomal nanocarrier for enhanced tumor targeting [J]. *ACS Nano*, 2012, 6(4): 3491-3498.
- [20] CHENG H, ZHU J Y, XU X D, et al. Activable cell-penetrating peptide conjugated prodrug for tumor targeted drug delivery [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2015, 7(29): 16061-16069.
- [21] LIM S H, JEONG Y I, MOON K S, et al. Anticancer activity of PEGylated matrix metalloproteinase cleavable peptide-conjugated adriamycin against malignant glioma cells [J]. *Int J Pharm*, 2010, 387(1-2): p. 209-214.
- [22] LIU J, ZHANG B, LUO Z, et al. Enzyme responsive mesoporous silica nanoparticles for targeted tumor therapy *in vitro* and *in vivo* [J]. *Nanoscale*, 2015, 7(8): 3614-3626.
- [23] Garripelli, V. K. , et al. , Matrix metalloproteinase-sensitive thermogelling polymer for bioresponsive local drug delivery [J]. *Acta Biomater*, 2011, 7(5): 1984-1992.
- [24] HUANG S, SHAO K, LIU Y, et al. Tumor-targeting and microenvironment-responsive smart nanoparticles for combination therapy of antiangiogenesis and apoptosis [J]. *ACS Nano*, 2013, 7(3): 2860-2871.
- [25] WAN Y, HAN J, FAN G, et al. Enzyme-responsive liposomes modified adenoviral vectors for enhanced tumor cell transduction and reduced immunogenicity [J]. *Biomaterials*, 2013, 34(12): 3020-3030.
- [26] CHEN W H, LUO GF, LEI Q, et al. MMP-2 responsive polymeric micelles for cancer-targeted intracellular drug delivery [J]. *Chem Commun(Camb)*, 2015, 51(3): 465-468.
- [27] WEI L, LIN J X, LEONARD W J. IL-2 family cytokines: new insights into the complex roles of IL-2 as a broad regulator of T helper cell differentiation [J]. *Curr Opin Immunol*, 2011, 23(5): 598-604.
- [28] PARK J, YANG J, LIM E K, et al. Anchored proteinase-targetable optomagnetic nanoprobe for molecular imaging of invasive cancer cells [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2012, 51(4): 945-948.
- [29] LEE S B, CHA E J, LEE T S. Analysis of physical activities in Taekwondo Pumsae [J]. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*, 2008(2008): 5164-5167.
- [30] SUN I C, EUN D K, KOO H, et al. Tumor-targeting gold particles for dual computed tomography/optical cancer imaging [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2011, 50(40): 9348-9351.
- [31] PHIPPS A I, CHLEBOWSKI R T, PRENTICEET R, et al. Reproductive history and oral contraceptive use in relation to risk of triple-negative breast cancer [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2011, 103(6): 470-477.

收稿日期: 2016-11-17
(本文责编: 李艳芳)