

论著·基础研究

基于光诱导的粒径可变阿霉素纳米递送系统

来 星, 方 超

上海交通大学基础医学院药理学与化学生物学系, 上海 200025

[摘要] **目的**·制备在近红外光诱导下实现粒径可变(大变小)的阿霉素(doxorubicin, DOX)纳米递送系统,并考察其光促粒径转换性能及细胞毒性。**方法**·通过滴加法合成载DOX的聚乙二醇-聚乳酸[poly(ethylene glycol)-polylactide, PEG-PLA]纳米粒,采用薄膜水化法将PEG-PLA-DOX包载入脂质体(liposome, LP)内水腔,并在LP双分子层间加入光敏剂维替泊芬(verteporfin, VP),合成对近红外光敏感的纳米粒(PEG-PLA-DOX@LP)。利用透射电子显微镜观察各步骤纳米粒形态结构;动态光散射激光粒度仪检测各阶段纳米粒的粒径;评估纳米粒的载药性能和光诱导下的纳米粒尺寸可变行为;考察纳米粒的稳定性及光诱导粒径变化对小鼠黑色素瘤B16F10细胞活力的影响。**结果**·成功合成了PEG-PLA-DOX@LP光敏感纳米粒,其粒径为 (194.83 ± 5.70) nm, Zeta表面电势为 (-1.43 ± 0.32) mV, DOX载药量2.82%, VP载药量1.16%;光照前LP结构完整,光照后可明显看到粒径为 (37.42 ± 8.67) nm的PEG-PLA-DOX从LP中释放;载药纳米粒尺寸显著缩小,产生更有效杀伤肿瘤细胞的作用。**结论**·构建的新型DOX纳米递送系统可在近红外光诱导下,使药物粒径快速由大变小,增强对肿瘤细胞的杀伤作用。

[关键词] 近红外光;阿霉素;纳米粒;粒径可变

[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2019.04.003 **[中图分类号]** R943 **[文献标志码]** A

Light-induced size-switchable nanosystem for doxorubicin delivery

LAI Xing, FANG Chao

Department of Pharmacology and Chemical Biology, Shanghai Jiao Tong University College of Basic Medical Sciences, Shanghai 200025, China

[Abstract] **Objective**·To engineer a light-induced size-switchable (large to small) nanosystem for doxorubicin (DOX) delivery and characterize its light-induced size change and cytotoxicity. **Methods**·The poly(ethylene glycol)-polylactide nanoparticles loading DOX (PEG-PLA-DOX) were fabricated with the dropwise addition method. Then the nanoparticles were encapsulated into the inner cavity of liposome (LP), and a photosensitizer (verteporfin, VP) was loaded in the bilayers of the LP to engineer the near-infrared light-sensitive core-shell nanoparticles (PEG-PLA-DOX@LP). The morphology of the nanoparticles was observed under a transmission electron microscope. Dynamic light scattering was used to examine the particle size at each stage. The size-switchable property of the nanoparticles and its influence on viability of murine melanoma B16F10 cells under near-infrared light were evaluated. The stability of the nanoparticles was also investigated. **Results**·PEG-PLA-DOX@LP, the light-sensitive nanoparticles, were successfully developed. The nanoparticles had a particle size of (194.83 ± 5.70) nm and Zeta potential of (-1.43 ± 0.32) mV. The drug loading was 2.82% for DOX, and 1.16% for VP. The small-sized PEG-PLA-DOX [(37.42 ± 8.67) nm] was quickly released from the nanoparticles upon light for enhanced toxicity to B16F10 murine melanoma cells. **Conclusion**·The particle size of the novel DOX delivery nanosystem rapidly changes from large size to small size upon the irradiation of near-infrared light, and thus the cytotoxic effect on tumor cells can be enhanced.

[Key words] near-infrared light; doxorubicin; nanoparticle; size-switchable

恶性肿瘤的发病率在全世界逐年上升。除去传统的治疗手段,纳米载体已经被证实是有希望的抗肿瘤药物递送载体,可在各个层面上使得药物发挥最大疗效^[1-2]。

纳米载体作为一种可以携带多种药物或显像剂的纳米级尺寸材料,可递送药物至肿瘤部位,解决游离药物递送可能带来的不完全的肿瘤杀伤及高剂量的不良反应^[3-4]。通常,这些纳米载体的直径约100 nm,与传统治疗手段相比,其通过增强的渗透和保留(enhanced permeability and

retention, EPR)效应优先在肿瘤脉管系统的渗漏区域周围积聚^[5-6],从而大大降低了对正常组织的损伤。但是,仍然存在的问题是,纳米粒的较大尺寸向致密胶原基质的渗透较差^[7-8],因此只有很少一部分可扩散至肿瘤血管。此外,肿瘤组织较高的间质液压力使得药物转运到灌注不良区域只能通过扩散作用,比对流传递的转运过程慢了很多,也会使得已经滞留在其中的大分子药物外渗而疗效降低^[6,9]。相反,直径小的纳米颗粒可以更容易地扩散到整

[基金项目] 国家自然科学基金(81773274);上海地方高水平大学(一流学科-药学)专项资助[National Natural Science Foundation of China, 81773274; Foundation of Shanghai Local High Level University (First-class Discipline-Pharmacy)]。

[作者简介] 来 星(1994—),女,硕士生;电子信箱:lx438687459@163.com。

[通信作者] 方 超,电子信箱:fangchao32@sjtu.edu.cn。

个肿瘤的间质空间。因此,基于以上概念,我们试图构建一种粒径可变(大变小)的具有核壳结构的载药纳米粒。根据不同的生理屏障,纳米粒尺寸产生相应变化。接近 200 nm 的核壳结构纳米颗粒由于 EPR 效应优先富集到肿瘤脉管系统的渗漏区域;进一步向肿瘤组织渗透时,将核壳结构破坏,纳米粒缩小至 40 nm 左右,进而能有效通过间质基质中的扩散作用进入肿瘤深部,不易被清除,从而缓慢释放药物,增强药效。

那么,如何使得纳米载体合理地大变小后精准控释药物显得尤为重要。纳米递送系统需要在适当的时间、靶位点产生结构改变,从而避免非靶组织处的药物积累,减少药物的无效递送。从常规角度出发,依靠肿瘤微环境的内在药物释放触发手段(酶、pH 值、温度)不论是在动物模型和人类中还是在不同个体之间,药物释放触发也是不尽相同的,从而使其应用受到限制^[10]。相反,外源性触发因素(例如光、温度和超声波)可以在时间和空间上控制药物何时何地释放,使药物发挥更高药效。红光或近红外光波长范围为 650 ~ 950 nm,因其组织穿透性较大、散射较少、光毒性较小、对组织和器官的损伤小的性能,更适合生物医学应用^[11]。

本研究旨在构建一种新型光刺激响应纳米系统,通过近红外光诱导纳米结构的尺寸改变达到药物释放的目的。大粒径脂质体(liposome, LP)携带小纳米粒通过 EPR 效应实现其在肿瘤部位的积聚增强,结构改变后的小粒径载药纳米粒可向肿瘤深部渗透,逐步释放化学治疗(化疗)药物,达到最佳的释药效果。这种有效的药物递送系统有望为临床药物递送带来新方向。

1 材料与方法

1.1 实验试剂与药品

聚乙二醇-聚乳酸[poly(ethylene glycol)-polylactide, PEG-PLA]、胆固醇、维替泊芬(verteporfin, VP)购自美国 Sigma-Aldrich 公司;N,N-二甲基甲酰胺(N,N-dimethylformamide, DMF)购自上海麦克林生化科技有限公司;二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)、三乙胺均购自上海阿拉丁试剂公司;甲醇购自上海大合化学有限公司;蔗糖、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠均购自生工生物工程(上海)股份有限公司;二棕榈酰基卵磷脂、二油酰基卵磷脂均购自美国 Avanti 公司;胎牛血清购自美国 Gemini 公司;磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)购自上海源培生物科技股份有限公司;三氯甲烷购自国药化学试剂公司;盐酸阿霉素购自北京华联博科技有限公司;CCK-8 试

剂盒购自东仁化学科技(上海)有限公司。

1.2 实验仪器

Malvern Zetasizer Nano ZS 动态光散射(dynamic light scattering, DLS)激光粒度仪购自英国 Malvern 公司;R-200 旋转蒸发仪购自瑞士 Buchi 公司;脂质体挤出器购自美国 Avanti 公司;XS205s 型电子天平购自梅特勒特利多公司;MS2 型涡旋振荡器、IKA-Rtc basic 温控加热搅拌器均购自德国 IKA 公司;XS205 型电子天平购自瑞士 Mettler Toledo 公司;CM-120 透射电子显微镜(transmission electron microscope, TEM)购自荷兰 Philips 公司;Sorvall ST16 冷冻离心机、酶标仪购自美国 Thermo Fisher 公司;ZQTY-70 振荡培养箱购自上海知楚仪器有限公司;干式恒温器购自杭州奥盛仪器有限公司。

1.3 纳米粒的构建与表征

1.3.1 载药小纳米粒的合成 用滴加法合成装载化疗药阿霉素(doxorubicin, DOX)的载药小纳米粒(PEG-PLA-DOX)。根据文献^[12]的方法经改良后,实验步骤如下:①称取 15 mg PEG-PLA 溶于 1 mL DMF,置于涡旋振荡器振荡均匀。②称取 15 mg DOX 溶于 2 mL DMSO,以 3 倍摩尔比的比例加入三乙胺,使 DOX 脱盐。③在溶解后的 PEG-PLA 中以 6% 比例加入步骤 2 中的脱盐 DOX。④磷酸盐透析液配制,分别配制 0.5 mol/L 的磷酸氢二钠和磷酸二氢钠溶液,将两者混合并调节 pH 值至 7.4。⑤取 4 mL 磷酸盐透析液(pH 7.4)于 10 mL 玻璃瓶中,在高速搅拌条件下将其逐滴加至步骤③所得的聚合物溶液中。⑥高速搅拌 4 h。⑦待搅拌完成后,将溶液置换于截留相对分子质量为 35 000 的透析袋中,外水相为磷酸盐透析液(pH 7.4),透析 24 h(更换透析液 4 次)。⑧透析结束后,用 0.22 μ m 滤膜过滤溶液,除去较大的药物聚集体和纳米粒聚集体。⑨用截留相对分子质量为 10 000 的超滤管,4 500 \times g 离心 20 min 以浓缩溶液,溶液终体积为 0.5 mL。⑩随后对 PEG-PLA-DOX 进行恒重称量。采用干式恒温器将离心管干燥 2 h,冷却至室温后称量第 1 次质量。重复操作并再次称量其质量。当 2 次称量质量差不超过 0.3 mg 时,证明离心管已恒重,记录空管质量。取 50 μ L PEG-PLA-DOX 加入已经恒重的空管,采用上述方法处理并称量其总质量,减去空管质量即可得到 PEG-PLA-DOX 的质量。

1.3.2 载药纳米结构的合成 采用薄膜水化法^[13]制备载药的纳米结构(PEG-PLA-DOX@LP),具体实验步骤如下。①旋蒸:称取总质量为 10 mg 的混合物于 500 mL 圆底烧瓶中(混合物中各物质摩尔比为二棕榈酰基卵磷脂:

二油酰基卵磷脂:胆固醇:VP=10:38:50:2),以三氯甲烷和甲醇(体积比3:1)溶解,60℃水浴条件下真空旋转蒸发1 h。②将圆底烧瓶放入真空干燥箱中过夜干燥。③隔日取出圆底烧瓶,将混合物与小纳米粒以质量比2:1的比例加入圆底烧瓶中,再加入2 mL PBS,于振荡培养箱60℃水化30 min。④使用脂质体挤出器在60℃条件下,通过孔径为200 nm的聚碳酸酯滤膜挤出上述溶液。

利用酶标仪检测系统中的荧光分析建立DOX标准曲线和VP标准曲线,并通过标准曲线检测纳米粒中DOX和VP的载药量。计算公式如下:

载药量(%)=(包封于纳米粒中的DOX或VP质量)/(载DOX或VP纳米粒的总质量)×100%。

1.3.3 纳米粒的表征方法 用DLS激光粒度仪检测纳米粒在溶液中的粒径与Zeta表面电势。用TEM观察纳米粒形态与尺寸:样品制备时需要将纳米粒稀释后滴加至铜网上,待其干燥后观察。

1.3.4 光诱导纳米粒的崩解行为 纳米粒制备后置于PBS体系中浓缩至1 mL,取200 μL于96孔板中进行光诱导释放实验^[14-15]。采用激光校准器使纳米粒在波长690 nm、功率0.2 W/cm²下照射10 min。分别取照射前与照射后纳米粒在DLS下测量粒径改变,并制备TEM样品,于TEM下观察纳米粒的形态改变,即小纳米粒PEG-PLA-DOX从LP中的释放情况。

1.3.5 纳米粒的稳定性 取制备得到的载药纳米粒分别分散于PBS和含10%胎牛血清的PBS中,37℃振荡孵育48 h^[16]。在0、2、4、8、12、24、48 h时间点取出200 μL溶液,使用DLS测量其粒径。

1.4 纳米粒对肿瘤细胞的毒性

设置载DOX纳米粒光照预处理组与光照未处理组。小鼠黑色素瘤B16F10细胞(购自Caliper Life Science公司)以10⁴个/mL的密度接种至96孔板,分别加入200 μL含光照预处理组或光照未处理组纳米粒(DOX浓

度为10 μg/mL)的细胞培养液。将96孔板置于37℃细胞培养箱内,24 h后更换培养基,用PBS洗涤1次,随后加入CCK-8试剂100 μL,放入37℃恒温箱中孵育0.5~1 h后,酶标仪中检测450 nm处的吸光度。

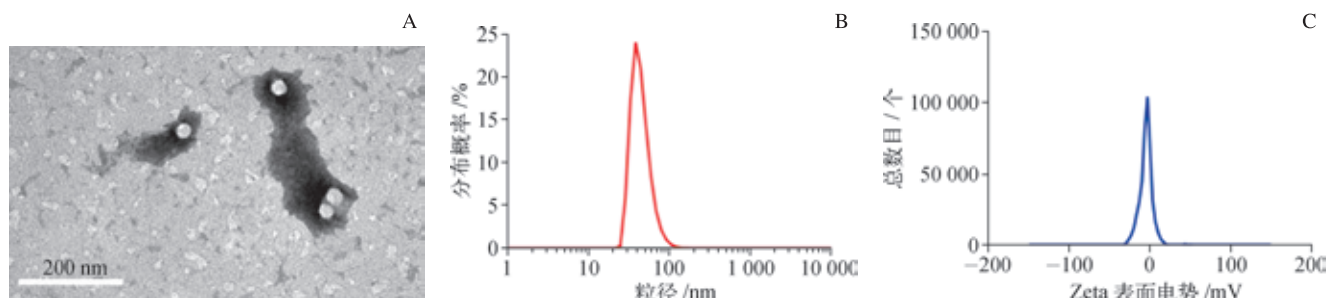
1.5 统计学分析

使用GraphPad Prism 7软件处理数据。以纳米粒尺寸为横坐标,采用指数函数作刻度转换,以分布概率百分比为纵坐标,拟合纳米粒的尺寸;以纳米粒Zeta表面电势为横坐标,以分布强度为纵坐标,拟合纳米粒的Zeta表面电势;以时间为横坐标,纳米粒尺寸为纵坐标,拟合纳米粒在血清中的稳定性。结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PEG-PLA-DOX的制备

由亲水嵌段和疏水嵌段组成的两嵌段共聚物PEG-PLA,其相对分子质量嵌段比为5 000:5 000。通过0.22 μm的滤膜和截流相对分子质量为10 000的超滤膜分离聚合物聚集体和游离DOX后,通过TEM观察纳米粒的形态结构(图1A)。深色染色包围的浅球形实体显示纳米粒的存在,尺寸约35 nm。可以看出,两嵌段共聚物形成具有小直径和窄尺寸分布的球形颗粒。DLS结果表明,PEG-PLA-DOX粒径平均值为(42.96±3.60) nm(图1B),与TEM测量结果一致。聚合物分散系数(polymer dispersion index, PDI)为0.174±0.008,Zeta表面电势为(-5.08±0.52) mV(图1C),提示合成的小纳米粒分散性较好,粒径均一性较高。该纳米尺寸可以向肿瘤深处渗透,增强实体肿瘤中的药物积聚,从而提高所包封化疗药物的治疗效果。并且,纳米粒亲水端PEG具有良好的生物相容性,无抗原性和免疫原性,可以消除免疫系统的排斥,延长药物及载体在体内的半衰期^[17-18]。



注:A. PEG-PLA-DOX的TEM图;B. PEG-PLA-DOX的粒径;C. PEG-PLA-DOX的Zeta表面电势。

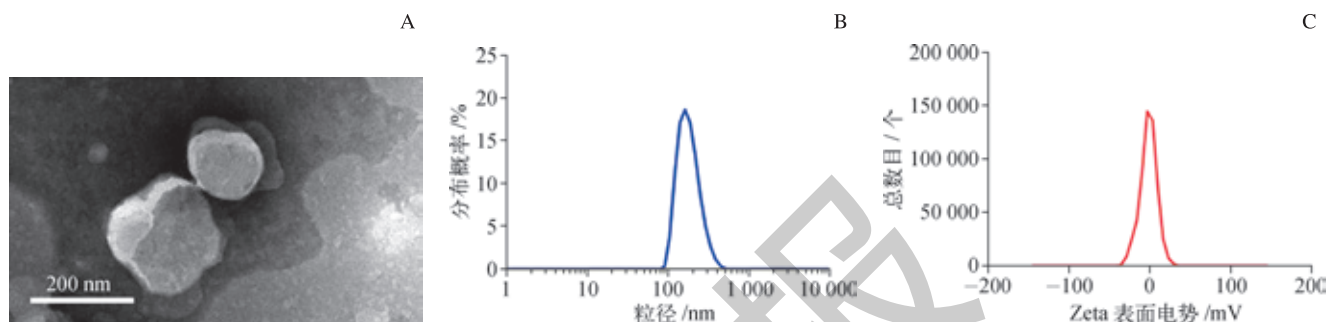
图1 PEG-PLA-DOX的表征

Fig 1 Characterization of PEG-PLA-DOX

2.2 PEG-PLA-DOX@LP 的制备

通过 LP 水化时加入小纳米粒 PEG-PLA-DOX 可以将其包封于 LP 内水腔中, 将其反复通过孔径为 200 nm 的聚碳酸酯滤膜挤压 20 次后得到了理想粒径的 LP 结构。经过复染法处理样品, TEM 下也能看到明显的 LP

结构(图 2A)。经过 DLS 测量显示, PEG-PLA-DOX@LP 的粒径平均值为 (194.83 ± 5.70) nm (图 2B), PDI 为 0.157 ± 0.029 , 尺寸分布及 PDI 都显示出纳米粒具有良好的均一性。由于选用的卵磷脂均为中性磷脂, LP 的表面电势为 (-1.43 ± 0.32) mV (图 2C), 接近中性。



注: A. PEG-PLA-DOX @LP 的 TEM 图; B. PEG-PLA-DOX @LP 的粒径; C. PEG-PLA-DOX@LP 的 Zeta 表面电势。

图 2 PEG-PLA-DOX @LP 的表征

Fig 2 Characterization of PEG-PLA-DOX @LP

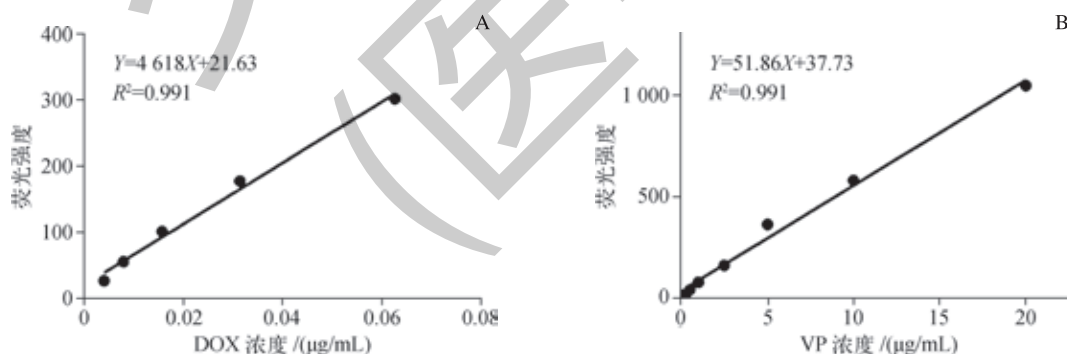
2.3 PEG-PLA-DOX@LP 的载药量评价

DOX 装载于 PEG-PLA 的疏水层, PEG-PLA-DOX 表面的 PEG 呈亲水性被包封于 LP 的内水腔中。尺寸较小的载药纳米粒被 LP 通过 EPR 效应带入肿瘤环境中, 从而有效避免小尺寸纳米粒在未到达肿瘤部位时就被清除的可能。

为了评价空白载体的载药能力, 使用酶标仪荧光定量检测 PEG-PLA-DOX@LP 中 DOX 的载药情况, 得到 DOX 标准曲线(图 3A)。样品经过破膜剂破坏后测

DOX 的荧光强度, 从而计算出 DOX 浓度, 得出载药量为 2.82%。载药数据结果显示, 药物很好地装载入空白载体中, 纳米粒具有较高的载药量。

此外, 在 LP 的磷脂双分子层中加入了光敏剂 VP, 作为近红外光控释纳米结构崩解的触发因素。为了实现光诱导崩解, 光敏剂的装载量必须足够, 从而在近红外光的作用下, 可以沉积足够的光子能量以促进光敏剂介导的光化学作用破坏 LP 的完整性^[19]。通过标准曲线(图 3B)得到 VP 的载药量为 1.16%, 保证了光诱导释放的成功。



注: A. DOX 的定量标准曲线; B. VP 的定量标准曲线。荧光强度以任意单位(arbitrary unit)表示。

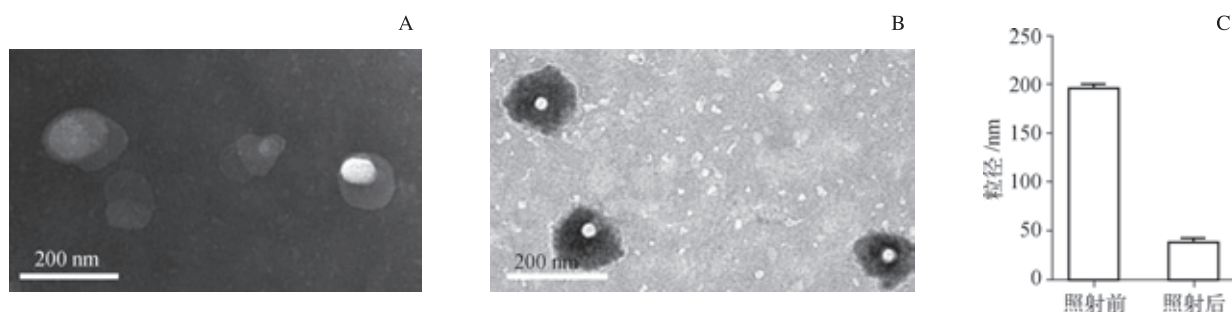
图 3 PEG-PLA-DOX@LP 的载药量

Fig 3 Drug loading of PEG-PLA-DOX@LP

2.4 光诱导 PEG-PLA-DOX@LP 释放

为了阐明光诱导释放的特性, 通过 DLS 及 TEM 显示近红外光作用下的 PEG-PLA-DOX@LP 变化。通过 TEM 在光照前(图 4A)能看到完整的 LP 结构, 而在光照后(图 4B)看到大面积的圆形小颗粒即小纳米粒。同时, 从

DLS 检测到光照后 PDI 增加, 粒径发生紊乱, 体系中出现小尺寸纳米粒, 且尺寸为 (37.42 ± 8.67) nm, 与 PEG-PLA 小纳米粒相符合(图 4C)。以上实验充分证明该光敏 LP 响应于近红外光的照射, 其 LP 完整结构被破坏, 包封于内水腔中的小纳米粒得以释放。



注: 光照前的 TEM 图; B. 光照后的 TEM 图; C. DLS 测量光照前后的粒径变化。

图 4 PEG-PLA-DOX@LP 光照前后的 TEM 图及粒径变化

Fig 4 TEM images and particle sizes of PEG-PLA-DOX@LP before and after irradiation

2.5 PEG-PLA-DOX@LP 的稳定性

纳米粒合成成功后, 必须要保证其进入血液经一定程度稀释后, 仍能保持原有形态结构, 这样才能真正达到所构建的递送模式。如图 5 所示, 载药纳米粒在 37 °C 的

PBS 以及含有 10% 胎牛血清的 PBS 中, 维持其原本粒径尺寸及 PDI 超过 48 h, 说明纳米结构的稳定性较好, 不会在体发生聚集或结构破坏等不稳定反应。

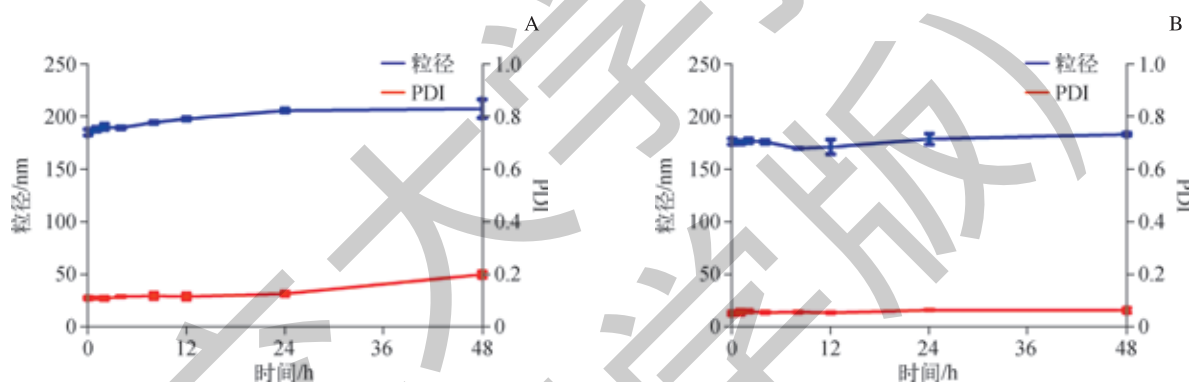


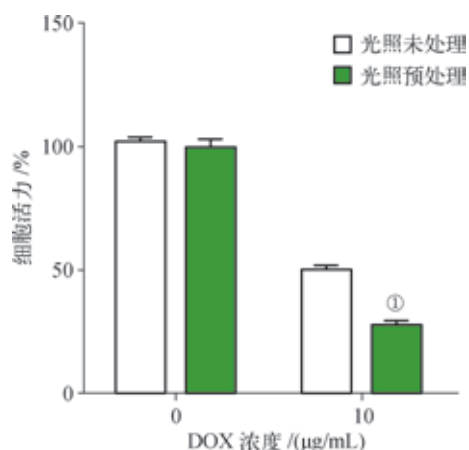
图 5 PEG-PLA-DOX@LP 在 37 °C 的含有 10% 胎牛血清的 PBS (A) 和单纯 PBS (B) 中的稳定性

Fig 5 Stability of PEG-PLA-DOX@LP in PBS contained 10% fetal bovine serum (A) and pure PBS (B) at 37 °C

2.6 纳米粒对肿瘤细胞的毒性

体外光照 (0.2 W/cm^2 , 10 min) 处理纳米粒后, 纳米粒的 LP 完整结构在光照响应后得以崩解, 携带 DOX 的小纳米粒释放, 从而进一步释放 DOX。将其与肿瘤细胞孵育, 从而产生更进一步杀伤肿瘤细胞的效果。

从图 6 可见, 载有 DOX 的光敏感载药纳米粒在经近红外光预处理后相较于未经近红外光处理组, 对 B16F10 细胞的活力抑制作用产生明显差异, 充分说明载药纳米粒不仅能有效响应近红外光崩解, 又能在细胞实验中反映出 DOX 的完整释放, 从而有效杀伤肿瘤细胞。



注: ^① $P=0.007$, 与光照未处理组比较。

图 6 PEG-PLA-DOX@LP 对 B16F10 的增殖抑制作用

Fig 6 Inhibition on the B16F10 cancer cells of the PEG-PLA-DOX@LP with or without laser

3 讨论

肿瘤的复杂性需要药物递送体系的不断创新。聚合物和脂质因有着良好的生物相容性通常用作药物递送载体。目前,已有许多关于其在生物环境中的稳定性、药物封装和释放能力、与各种调控途径的兼容性,及其作为药物传递和靶向系统的潜在用途的研究^[20-22]。选用尺寸 200 nm 左右的 LP 作为纳米载体应用于肿瘤治疗中,可通过 EPR 效应实现其在肿瘤部位的积聚增强^[23]。LP 因其自组装中空囊泡结构,可达到亲水性和疏水性制剂的理想装载,已被临床广泛应用。PLA 作为完全生物可降解的化合物,也常常被用作药物缓释材料,生物相容性良好。纳米递送系统的关键在于采用何种高效可控的释药方式使得药物发挥最大疗效。目前,纳米药物释放手段一般分为内在因素(如 pH^[24]、酶^[25])和外在因素(如超声波^[26]、磁场^[27]和光^[28])调控。

基于以上研究背景,本研究设计一种光诱导药物释放的纳米载体,从而实现近红外光照射下的大变小结构转变,继而带来药物的靶向释放。采用滴加法合成具有良好生物相容性、生物可降解性、可载药的 PEG-PLA 小纳米粒。通过薄膜水化法制备 LP,充分利用 LP 自组装结构和其同时具有的亲水性及疏水性,将 VP 封装于 LP 的磷脂双分子层中,将外层有 PEG 包裹的小纳米粒 PEG-PLA 包封于 LP 的内水腔

中,使 2 种纳米结构结合,避免小纳米粒被快速清除的可能。精确把控每步合成中间步骤,保证所得纳米粒尺寸及形态的适当,实现大包小的结构构想。同时,药物装载于纳米粒的疏水端后进一步封装于 LP 内水腔,以获得理想的载药量。接着,我们通过光诱导的方式使得 LP 双分子膜破坏,释放出携带有化疗药物的小纳米粒,纳米颗粒尺寸瞬时从大变小。本研究结果证实了载药纳米体系构建成功并经光诱导后纳米粒结构改变,光照处理后纳米粒对肿瘤细胞的杀伤效果增强。但还需在动物水平验证药物释放的药效和机制。

综上所述,本研究成功探索并合成了粒径可变且光刺激响应后大变小的纳米粒,通过 DLS 和 TEM 分析观察纳米粒的形态结构及粒径,充分验证了纳米粒的形态结构完整和粒径均一。不论在 PBS 中还是血清中,纳米粒均具有较好的稳定性,其进入血液后在血浆中结构不会发生大幅度变化,能保持原有尺寸和 PDI,从而在体内更好地发挥载体作用。DOX 的载药实验不但证实纳米载体空腔具有装载小纳米粒的足够空间,还反映了 DOX 载入 PEG-PLA 后的稳定包封,侧面反映纳米粒结构的完整,同时,也说明该纳米载体有较好的药物包载效率和载药量。体外光照处理纳米粒后与肿瘤细胞孵育,对肿瘤细胞活力抑制作用增强,反映了释药方式的成立和药物的充分释放。该纳米粒有望作为一种全新的药物递送载体为肿瘤纳米制剂的开发提供参考。

参 · 考 · 文 · 献

- [1] Cai K, Wang AZ, Yin L, et al. Bio-nano interface: the impact of biological environment on nanomaterials and their delivery properties[J]. J Control Release, 2017, 263: 211-222.
- [2] Ryan SM, Brayden DJ. Progress in the delivery of nanoparticle constructs: towards clinical translation[J]. Curr Opin Pharmacol, 2014, 18(18): 120-128.
- [3] Duncan R. Polymer conjugates as anticancer nanomedicines[J]. Nat Rev Cancer, 2006, 6(9): 688-701.
- [4] LaVan DA, McGuire T, Langer R. Small-scale systems for *in vivo* drug delivery[J]. Nat Biotechnol, 2003, 21(10): 1184.
- [5] Perrault SD, Walkey C, Jennings T, et al. Mediating tumor targeting efficiency of nanoparticles through design[J]. Nano Lett, 2009, 9(5): 1909-1915.
- [6] Bertrand N, Wu J, Xu X, et al. Cancer nanotechnology: the impact of passive and active targeting in the era of modern cancer biology[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2014, 66(24): 2-25.
- [7] Khawar IA, Kim JH, Kuh HJ. Improving drug delivery to solid tumors: priming the tumor microenvironment[J]. J Control Release, 2015, 201: 78-89.
- [8] Trevor DM, Paola G, Wilson M, 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(5): 2509-2513.
- [9] Padera TP, Stoll BR, Tooredman JB, et al. Pathology: cancer cells compress intratumour vessels[J]. Nature, 2004, 427(6976): 695.
- [10] Rosenblum D, Joshi N, Tao W, et al. Progress and challenges towards targeted delivery of cancer therapeutics[J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 1410.
- [11] Walker MG, Jarman PJ, Gill MR, et al. A self-assembled metallomacrocyclic singlet oxygen sensitizer for photodynamic therapy[J]. Chemistry, 2016, 22(17): 5996-6000.
- [12] Yinan Z, Weijing Y, Huanli S, et al. Ligand-directed reduction-sensitive shell-sheddable biodegradable micelles actively deliver doxorubicin into the nuclei of target cancer cells[J]. Biomacromolecules, 2013, 14(10): 3723-3730.
- [13] Luo D, Carter KA, Razi A, et al. Doxorubicin encapsulated in stealth liposomes conferred with light-triggered drug release[J]. Biomaterials, 2016, 75: 193-202.
- [14] Carter KA, Shao S, Hoopes MI, et al. Porphyrin-phospholipid liposomes permeabilized by near-infrared light[J]. Nat Commun, 2014, 5(4): 3546.
- [15] Chitgupi U, Shao S, Carter KA, et al. Multicolor liposome mixtures for selective and selectable cargo release[J]. Nano Lett, 2018, 18(2): 1331-1336.
- [16] Raja MA, Katas H, Jing WT. Stability, intracellular delivery, and release of siRNA from chitosan nanoparticles using different cross-linkers[J]. PLoS One, 2015, 10(6): e0128963.
- [17] Yang Q, Lai SK. Anti-PEG immunity: emergence, characteristics, and unaddressed questions[J]. Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol, 2015, 7(5): 655-677.
- [18] Suk JS, Xu Q, Kim N, et al. PEGylation as a strategy for improving nanoparticle-based drug and gene delivery[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2016, 99(Pt A): 28-51.
- [19] Spring BQ, Sears RB, Lei ZZ, et al. A photoactivable multi-inhibitor nanoliposome for tumour control and simultaneous inhibition of treatment escape pathways[J]. Nat Nanotechnol, 2016, 11(4): 378-387.
- [20] Aznar E, Oroval M, Pascual L, et al. Gated materials for on-command release of guest molecules[J]. Chem Rev, 2016, 116(2): 561-718.
- [21] Zhang P, Wang Y, Lian J, et al. Drug delivery: engineering the surface of smart nanocarriers using a pH-/thermal-/GSH-responsive polymer zipper for precise tumor targeting therapy *in vivo*[J]. Adv Mater, 2017, 29(36). DOI: 10.1002/adma.201702311.
- [22] Qiao C, Yang J, Shen Q, et al. Traceable nanoparticles with dual targeting and ros response for RNAi-based immunotherapy of intracranial glioblastoma treatment[J]. Adv Mater, 2018, 30(18): e1705054.
- [23] Torchilin VP. Multifunctional, stimuli-sensitive nanoparticulate systems for drug delivery[J]. Nat Rev Drug Discov, 2014, 13(11): 813-827.
- [24] Liu J, Huang Y, Kumar A, et al. pH-sensitive nano-systems for drug delivery in cancer therapy[J]. Biotechnol Adv, 2014, 32(4): 693-710.
- [25] Quanyin H, Katti PS, Zhen G. Enzyme-responsive nanomaterials for controlled drug delivery[J]. Nanoscale, 2014, 6(21): 12273-12286.
- [26] Paris JL, M Victoria CA, Miguel M, et al. Polymer-grafted mesoporous silica nanoparticles as ultrasound-responsive drug carriers[J]. ACS Nano, 2015, 9(11): 11023.
- [27] Hu B, Zeng M, Chen J, et al. External magnetic field-induced targeted delivery of highly sensitive iron oxide nanocubes for MRI of myocardial infarction[J]. Small, 2016, 12(34): 4707-4712.
- [28] Akshaya B, Yong Z. Photocontrolled nanoparticle delivery systems for biomedical applications[J]. Acc Chem Res, 2014, 47(10): 3052-3060.

[收稿日期] 2018-12-26

[本文编辑] 崔黎明

