

超顺磁性氧化铁纳米粒子在肿瘤靶向诊断治疗中的应用进展

孙汉文, 张彦聪, 宋新峰, 孙春彦

(德州学院医药与护理学院, 山东 德州 253023)



孙汉文

摘要: 超顺磁性纳米粒子 (SPIONs) 具有超顺磁性、良好的生物相容性, 在肿瘤的诊断和治疗方面有很大潜力。肿瘤细胞表面会特异性的表达某些表面标志物, 因此以磁性纳米颗粒为核心的分子探针与肿瘤细胞表面的特异性分子标志物相结合, 可特异性的识别肿瘤并形成磁共振影像。SPIONs 经特定的配体修饰, 可赋予其组织器官靶向性, 通过高渗透性以及外加磁场双效靶向来提高药物在肿瘤部位的生物利用度, 从而减少对正常细胞的毒性, 提高肿瘤局部的药物浓度。SPIONs 具有很高的磁热效应, 可通过导热量杀死肿瘤细胞而被用于热疗, 热疗较放疗和化疗的副作用小。因此功能化的 SPIONs 必将成为临床深受欢迎的造影剂和基于 MRI 的诊断和治疗试剂。总结了 SPIONs 在肿瘤诊断和治疗方面的应用, 同时探讨 SPIONs 的性质、合成方法和表面修饰。

关键词: 氧化铁; MRI; 造影剂; 靶向

中图分类号: TB34 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-3962(2016)03-0233-04

The Application Progress of Super-Paramagnetic Iron Oxide Nanoparticles in Tumor Targeting Diagnosis and Treatment

SUN Hanwen, ZHANG Yancong, SONG Xinfeng, SUN Chunyan

(College of Medicine and Nursing, Dezhou University, Dezhou 253023, China)

Abstract: Superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs) have shown immense potential to contrast agents for the magnetic resonance imaging diagnosis and cancer theranostics. There are specific expression of some surface markers in the tumor cell surface, so the molecule probe with magnetic nanoparticles as the core with a specific molecular markers on the surface of the tumor cells can identify the tumor and form a magnetic resonance imaging. The surface grafted with various targeting ligands affects the particles tissue distribution and pharmacokinetics. The bioavailability of drug in the tumor site is improved through the high permeability and doubled targeting magnetic field, reducing the toxicity to normal cells and increasing tumor local drug concentration. SPIONs have the very high magnetocaloric effect, which can kill tumor cells by heating, and the side effects are smaller than that of radiotherapy and chemotherapy. Functionalized SPIONs will become popular negative contrast materials for magnetic resonance imaging-based diagnosis and therapy. This review aims to focus on the ability of SPIONs used in the field of cancer diagnosis and targeting therapy as well as the synthesis, modification and the characteristics of SPIONs.

Key words: iron oxide; magnetic resonance imaging (MRI); contrast agent; targeting

1 前言

纳米粒子由于其在合成和生物设计上的优越性, 成为肿瘤诊断和治疗中倍受欢迎的材料。超顺磁性氧化铁纳米粒子由于其独特的磁响应性、良好的生物相容性以及低毒

性而被广泛应用于制备造影剂^[1-2]、分子探针^[3-4]、药物载体^[5]等。SPIONs 可以在外加磁场的作用下靶向定位到目标部位, 其具有场不可逆性、高的磁化率, 磁场移除后磁性也消失等独特性质。近年来, 国内外学者不断优化 SPIONs 合成方法及表面设计, 制成分子探针实现抗癌作用、用作靶向药物载体以期望减少细胞毒性药物的系统分布从而降低副作用, 减少用药剂量, 增强药物局部作用^[6]等。为了达到 SPIONs 用于生物体内诊断和治疗的目的, SPIONs 的结构通常设计成 Fe_3O_4 内核表面包覆高分子聚合物, 高分子聚合物一方面可减少纳米粒的聚合, 另一方

收稿日期: 2014-12-25

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (51273033)

第一作者: 孙汉文, 男, 1972 年生, 博士, 教授, Email: hanwen916@163.com

DOI: 10.7502/j.issn.1674-3962.2016.03.10

面其暴露的羟基、羧基可供生物素、蛋白、多肽、药物以及其它分子结合从而实现靶向性及载药等目的^[7]。本文旨在针对 SPIONs 的性能以及其在肿瘤诊断和治疗方面的应用进展进行综述。

2 SPIONs 的特性

SPIONs 具有超顺磁性、良好生物相容性,在外磁场作用下具有高的磁响应能力,磁场去除后磁性消失,体内 SPIONs 主要由网状内皮系统吞噬代谢,当粒径 $>200\text{ nm}$ 时易被网状内皮系统捕获,粒径在 $10\sim 100\text{ nm}$ 之间在血循环停留时间最长^[8]。SPIONs 悬液的稳定性取决于其亲水性、磁性及粒径等物理性能。在没有修饰的情况下,SPIONs 具有疏水的表面,由于纳米粒间的疏水作用,SPIONs 易于团聚成微米级的团块,微米集团块由于偶极作用进一步团聚并被临近团块磁化,外加磁场的存在可加剧这种磁化和团聚。通常纳米级颗粒的聚集是因为范德华力的存在,减少了表面能,由于聚集后颗粒表面积减少,所以载药率会下降。通过表面修饰维持 SPIONs 悬液的稳定性非常重要。表面修饰在 SPIONs 合成过程中以及合成后均可进行。用于维持 SPIONs 稳定性的分子应具有生物相容性和生物可降解性。常用的是一些表面活性剂如油酸,月桂酸等。表面活性剂介导的合成过程多在有机溶剂中进行,表面活性剂的疏水尾端在 SPIONs 表面形成一层壳。但是有机溶剂悬液不能用于人体,因此学者们提出用两亲性聚合物修饰 SPIONs 获得亲水性的表面,从而实现以水作为分散介质^[9]。

3 SPIONs 的制备方法

制备特性尺寸和形貌的磁性纳米粒子在技术上有很高的要求,物理方法有气相沉积法、电子束蚀刻技术等,但无法把粒径精确控制在纳米尺寸。相对而言,化学方法更加简单、可控、高效。目前用来制备 SPIONs 的化学方法有共沉淀法、微乳液法、热分解法等。

其中共沉淀法是一种已经应用非常成熟并且使用最广泛的方法,具体的实验方法为:以过量的 NaOH 或 $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 等碱溶液作为沉淀剂,将 Fe^{2+} 与 Fe^{3+} 盐按一定比例混合,在一定的温度和 pH 值下高速搅拌、高速离心、磁分离即得纳米颗粒。粒径的大小、形貌以及组成与所用盐的种类、 Fe^{2+} 与 Fe^{3+} 的比例、 pH 以及离子强度有关^[10-11]。

水包油微乳液法可得到粒径分布窄、物理化学性能均一的磁性纳米颗粒。其中不溶于水的非极性物质作为分散介质,反应物的水溶液为分散相,表面活性剂为乳化剂,形成水包油(O/W)型或油包水(W/O)型的微乳液。反应物的水相内核为纳米尺寸。由于微乳液滴结构的存在避免了颗粒之间地进一步团聚。在低温氮气保护下可得到尺寸

更小、更均一的纳米粒子。这种合成方法主要优势在于可以通过控制微乳液内核中的体积来控制粒径大小^[12]。

近年应用热分解法来制备 SPIONs 的报道较多。制备过程是将 $\text{Fe}(\text{CO})_5$ 或 $\text{Fe}(\text{acac})_3$ 溶解在某溶剂中,控制反应温度在溶剂的沸点,使反应物发生分解、沉淀四氧化三铁产物^[13-14]。

制备 SPIONs 的方法很多,而使用无毒、环境友好、可再生的溶剂进行纳米颗粒的制备已成为各种制备工艺改进追求的热点。

4 SPIONs 的靶向修饰

为了维持 SPIONs 悬液的稳定性以及实现靶向性,需要对颗粒表面进行修饰,很多生物分子如抗体、蛋白、靶向配体等均可通过氨基或酯键结合到 SPIONs 表面的高分子上,从而使 SPIONs 具有靶向性。

4.1 两亲性高聚物

SPIONs 注入到体内会吸附蛋白并被网状内皮系统吞噬清除,因此表面修饰不仅要解决其稳定的问题,同时还要避开免疫系统。两亲性高分子共聚物在体内具有很好的稳定性和生物相容性。其疏水端结合到纳米粒表面,可作为疏水性药物的载体,亲水的表面是纳米粒逆转为水溶性颗粒(如图 1),并且由于没有免疫原性,可降低免疫系统地识别。研究较多的两亲性高聚物有聚乙二醇(PEG),由于 PEG 可抵抗蛋白吸附,降低被网状内皮系统清除速率,从而延长 PEG 包裹的 SPIONs 在血液循环的存留时间,同时 PEG 无毒、亲水性强、无免疫原性而被广泛用于 SPIONs 的表面改性^[15-16]。

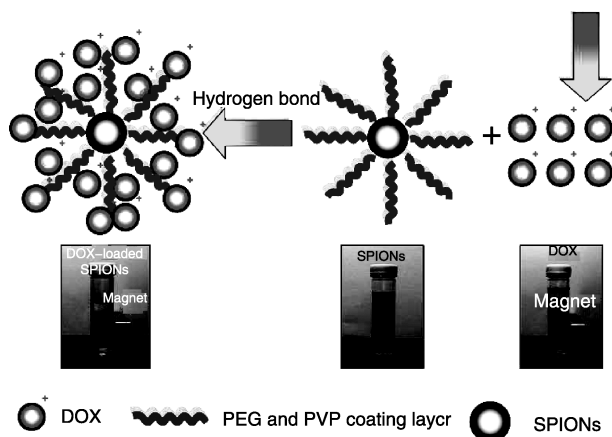


图 1 PEG/PVP 修饰的 SPIONs 负载阿霉素示意图^[16]

Fig. 1 Schematic diagram of the PEG/PVP modified SPIONs loaded with doxorubicin^[16]

4.2 阳离子高聚物

近年来肿瘤基因治疗的研究发展迅速,选择适当的载体将外源性目的基因导入靶细胞,外源性基因具有在

细胞内表达产物介导杀伤肿瘤的作用。阳离子高聚物作为基因载体通过静电作用结合 DNA, 并通过其表面结合的靶向配体或抗体结合到细胞膜表面, 将目的基因导入细胞。Ma 等^[17]用微乳化法一步合成了阳离子高聚物聚乙稀亚胺(PEI)修饰的 pEISPIONs, 证实所合成纳米粒子无免疫原性、能与 DNA 紧密结合, 保护 DNA 免受核酸酶的降解。阳离子多聚物具有易于合成和改性的性能, 除了聚乙稀亚胺, 常用的阳离子还有壳聚糖及其衍生物等^[18-19]。

4.3 靶向性高聚物

尽管针对提高 SPIONs 水溶性、胶束稳定性、无细胞毒性的表面修饰的研究很多, 比如 PEG、Dextran、PEI 等, 但是这些修饰没有组织特异性和细胞特异性, 因此 SPIONs 表面进行特异性的配体修饰后, 可使其具备组织器官靶向性。如 Yang 等^[20]合成了透明质酸修饰的 SPIONs 纳米粒子, 证实其具有高度的 HepG2 肝癌靶向性, 这种主动靶向磁性纳米粒子提高了造影剂肿瘤处的浓度, 减少了正常组织内造影剂的分布, 作为造影剂可在肿瘤局部产生强信号, 作为药物载体可提高负载药物在肿瘤内的浓度, 降低药物的毒性。

5 SPIONs 的靶向应用

5.1 肿瘤磁共振分子影像

肿瘤细胞表面会特异性的表达某些表面标志物, 因此以磁性纳米颗粒为核心的分子探针与肿瘤细胞表面的特异性分子标志物相结合, 可特异性的识别肿瘤并形成磁共振影像。有效的特异细胞标记方法是在 SPIONs 纳米粒表面接枝高亲和性的配体, 配体被细胞表面受体识别并内吞。分子影像学技术使追踪细胞的新陈代谢成为了可能^[21-22], 可用于细胞标记的配体有单克隆抗体、转铁蛋白、乳铁蛋白、白蛋白、胰岛素、生长因子等。这些受体通常不仅是细胞表面标记物, 还介导细胞的内吞,

同时这些配体的免疫原性极低。Zhang^[23]等发现 RGD-MNC 对 $\alpha v \beta 3$ 阳性细胞有高度敏感性, RGD-MNC 可特异性结合到 $\alpha v \beta 3$ 阳性细胞表面(图 2)。因此经 RGD-MNC 修饰的磁性纳米离子可用于分子影像技术对早期肿瘤和巨大肿瘤进行诊断, RGD-MNC 修饰的磁性纳米离子可被细胞内吞(图 3a), 从而产生磁共振影像(图 3b)。一旦纳米粒被细胞内吞进细胞即与受体脱离, 受体回到细胞表面, 这样细胞由于过多的吞噬了纳米粒而凋亡^[23]。因此可用于分子影像技术的 SPIONs 纳米粒必须能通过细胞表达的受体粘附于细胞膜表面才不会被内吞^[24]。然而分子探针技术只是针对某种肿瘤的标志物进行修饰, 目前还没发现能普遍适用多种肿瘤分子探针。

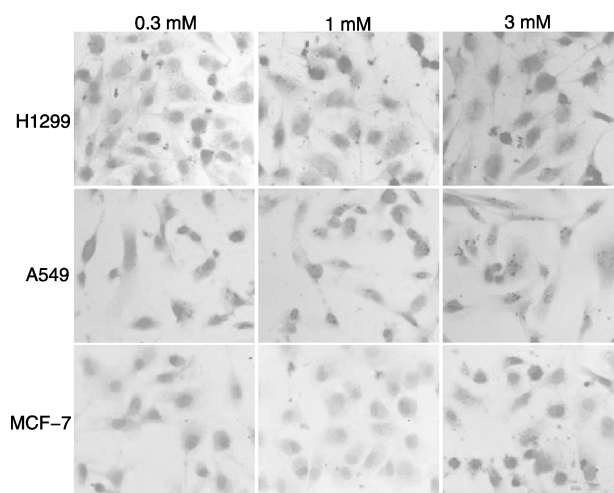


图2 RGD 修饰的 SPIONs 特异性选择整合素 $\alpha v \beta 3$ 阳性肿瘤细胞。不同的细胞系经 RGD-MNC 孵化 8 h 后(深灰色), 细胞核与核快速复染色红(浅灰色)^[23]

Fig. 2 RGD modified SPIONs specifically select integrin $\alpha v \beta 3$ positive tumor cells, prussian blue staining of different cell lines after incubation with RGD-MNC (dark grey) at different concentrations (in iron) for 8 h. Cell nuclei were counterstained with nuclear fast red (light grey)^[23]

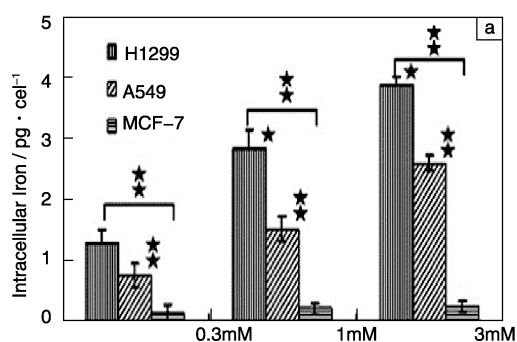
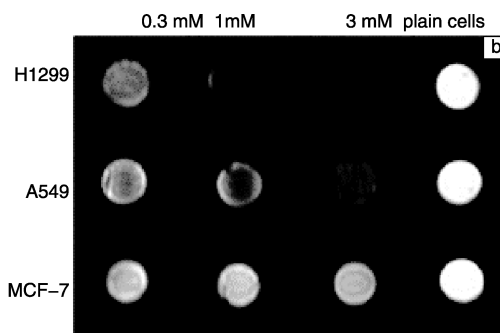


图3 (a)电感耦合等离子体原子发射光谱仪(ICP-OES)测量 RGD-MNC 孵化 8 h 后细胞内铁含量, (b)细胞在 T2 加权像的磁共振影像

Fig. 3 Inductively coupled plasma atom emission spectrometer (ICP-OES) measurements of intracellular iron content after incubation with RGD-MNC at different concentrations for 8 h(a) and T2-weighted MR images of cells(b).



5.2 靶向药物载体

磁性纳米颗粒作为一种新的纳米载体已被证实可用于抗癌药物的靶向载体,通过高渗透性以及外加磁场双效靶向来提高药物在肿瘤部位的生物利用度,从而减少对正常细胞的毒性,提高肿瘤局部的药物浓度^[25]。尽管 SPIONs 在肿瘤靶向治疗方面有广阔的前景,但是制备可重复利用、结构均一、载药量和释药率可控的纳米粒子仍然是一个技术上的挑战。Chen 等^[26]合成了 pH 敏感的 PBAE (Poly (Beta-Aminoester)) 包裹的 SPIONs 负载阿霉素纳米粒子,证实该载药粒子可重复性利用、释药率可控。

5.3 靶向肿瘤热疗

SPIONs 具有很高的磁热效应,可用通过导热量杀死肿瘤细胞而被用于热疗,热疗较放疗和化疗的副作用小而成为肿瘤治疗研究的热点。将 SPIONs 注射或通过靶向定位到肿瘤内,在外加磁场存在的情况下 SPIONs 会在局部迅速产热,由于正常细胞比肿瘤细胞耐热,因此控制适宜的温度(45℃)可杀死肿瘤细胞而不损伤正常细胞^[27]。

6 结 语

SPIONs 在肿瘤的诊断和治疗上无疑具有很大的优势,尽管大量的研究不断的改进合成方法和修饰策略以获得尺寸适宜、胶束稳定、可再利用的纳米颗粒,但是 SPIONs 要真正的用于临床需解决的问题还很多,比如 SPIONs 在体内的转归、表面修饰物降解产物的毒性等,相信在未来的研究中会一一得到解决。

参考文献 References

- [1] Ma X, Gong A, Chen B, et al. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* [J], 2015, 126: 44-49.
- [2] Schweiger C, Gil P, Parak W, et al. *Journal of Controlled Release* [J], 2010, 148(1): e67-e68.
- [3] Dutta R K, Sahu S. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* [J], 2012, 82(1): 58-65.
- [4] Lam T, Pouliot P, Avti P K, et al. *Advances in Colloid and Interface Science* [J], 2013, 199: 95-113.
- [5] Anwar M, Asfer M, Prajapati A P, et al. *International Journal of Pharmaceutics* [J], 2014, 468(1): 158-164.
- [6] Yoo M I, Seo Y J, Choi K S, et al. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* [J], 2012, 97: 175-181.
- [7] Mahmoudi M, Sant S, Wang B, et al. *Advanced Drug Delivery Reviews* [J], 2011, 63(1): 24-46.
- [8] Rosen J E, Chan L, Shieh D B, et al. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* [J], 2012, 8(3): 275-290.
- [9] Muthiah M, Park I K, Cho C S. *Biotechnology Advances* [J], 2013, 31(8): 1 224-1 236.
- [10] Darroudi M, Hakimi M, Goodarzi E, et al. *Ceramics International* [J], 2014, 40(9): 14 641-14 645.
- [11] Anwar M, Asfer M, Prajapati A P, et al. *International Journal of Pharmaceutics* [J], 2014, 468(1-2): 158-164.
- [12] Maleki H, Simchi A, Imani M, et al. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* [J], 2012, 324(23): 3 997-4 005.
- [13] Demir A, Topkaya R, Baykal A. *Polyhedron* [J], 2013, 65: 282-287.
- [14] Araújo-Neto R P, Silva-Freitas E L, Carvalho J F, et al. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials* [J], 2014, 364: 72-79.
- [15] Khoe S, Hemati K. *Polymer* [J], 2013, 54(21): 574-5 585.
- [16] Tu Z, Zhang B, Yang G, et al. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* [J], 2013, 436: 854-861.
- [17] Ma Q, Lou B, Lin C. *Journal of Controlled Release* [J], 2013, 172(1): e98-e99.
- [18] Lee C M, Jeong H J, Kim S L, et al. *International Journal of Pharmaceutics* [J], 2009, 371(1-2): 163-169.
- [19] Lewandowska-Łańcucka J, Staszewska M, Szuwarzyński M, et al. *Journal of Alloys and Compounds* [J], 2014, 586: 45-51.
- [20] Yang R M, Fu C P, Li N N, et al. *Materials Science and Engineering: C* [J], 2014, 45: 556-563.
- [21] Vu-Quang H, Muthiah M, Lee H J, et al. *Carbohydrate Polymers* [J], 2012, 87(2): 1 159-1 168.
- [22] Santhosh P B, Ulrih N P. *Cancer Letters* [J], 2013, 336(1): 8-17.
- [23] Zhang C, Xie X, Liang S, et al. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine* [J], 2012, 8(6): 996-1 006.
- [24] Nair B G, Fukuda T, Mizuki T, et al. *Biochemical and Biophysical Research Communications* [J], 2012, 421(4): 763-767.
- [25] Scialabba C, Licciardi M, Mauro N, et al. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* [J], 2014, 88(3): 695-705.
- [26] Fang C, Kievit F M, Veisheh O, et al. *Journal of Controlled Release* [J], 2012, 162(1): 233-241.
- [27] Laurent S, Dutz S, Häfeli U O, et al. *Advances in Colloid and Interface Science* [J], 2011, 166(1-2): 8-23.

(编辑 盖少飞)