

载抗肿瘤药物的壳聚糖纳米粒氨基化靶向修饰物的研究进展[△]

陈雨晴*,李 燕,马博乐,祝星宇,陈洋洋,曹力源,阎雪莹[#](黑龙江中医药大学药学院,哈尔滨 150040)

中图分类号 R943 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)13-1850-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.13.29

摘要 目的:为寻找或开发更优的载抗肿瘤药物的壳聚糖纳米粒靶向修饰物提供参考。方法:以“壳聚糖”“纳米粒”“氨基”“靶向修饰”“抗肿瘤”“Chitosan”“Nanoparticles”“Amino”“Targeting modification”“Antitumor”等为关键词,组合查询2005年1月—2018年3月在中国知网、万方、维普、PubMed、Web of Science、Elsevier、SpringerLink等数据库中的相关文献,对载抗肿瘤药物的壳聚糖纳米粒氨基化靶向修饰物从大分子和小分子配体两方面进行论述。结果与结论:共检索到相关文献300篇,其中有效文献36篇。对壳聚糖纳米粒表面的氨基进行修饰,可以获得具有主动寻靶作用的壳聚糖纳米粒,现有的靶向修饰配体有小分子的叶酸、生物素、乳糖酸、甘草酸等,大分子的透明质酸、鱼精蛋白、转铁蛋白、缬氨酸-精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸-谷氨酸环肽、CD59特异性配体肽、促黄体生成素释放激素及MUC1等。未来研究重点应利用壳聚糖纳米粒氨基这一表面特性,寻找或开发出更优的壳聚糖纳米粒的靶向修饰物,进一步提高壳聚糖纳米粒对肿瘤细胞的靶向效率。

关键词 壳聚糖;纳米粒;氨基;靶向修饰;抗肿瘤

主动靶向纳米给药系统,即对纳米粒表面进行靶向特异性修饰,使其靶向于细胞表面特异性表达或过表达的某种受体而实现靶向,该靶向系统可将药物定向递送于病变部位,达到降低毒副作用、增强疗效的目的^[1-2]。壳聚糖是目前自然界中发现的唯一一个碱性多糖^[3],含量仅次于维生素。壳聚糖纳米粒作为一种新型的给药系统,能够保护药物的稳定性,延长药物在体内的循环时间,有效提高药物利用率,并且具有良好的生物相容性和生物可降解性,因此,在药剂学中备受青睐^[4]。此外,壳聚糖分子结构中的氨基使其具有许多特殊功能,可进行多功能基化学反应和立体结构修饰,如将具有主动寻靶作用的单抗或配体通过化学修饰与之相结合,可获得具有定位传输功能的主动靶向制剂^[5]。近年来,研究人员利用壳聚糖的这一特性对壳聚糖纳米粒进行多样化的靶向修饰,如将小分子的叶酸(FA)^[6]、生物素^[7]、乳糖酸(LA)^[8]等,大分子的透明质酸(HA)^[9]、CD59特异性配体肽(CD59sp)^[10]、鱼精蛋白(PS)^[11]等对其进行修饰,以提高壳聚糖纳米粒对肿瘤细胞的靶向效率。因此,笔者以“壳聚糖”“纳米粒”“氨基”“靶向修饰”“抗肿瘤”“Chitosan”“Nanoparticles”“Amino”“Targeting modification”“Antitumor”等为关键词,组合查询2005年1月—2018年3月在中国知网、万方、维普、PubMed、Web of Science、Elsevier、SpringerLink等数据库中的相关文献。结果,共检索到相关文献300篇,其中有效文献36

篇。现对载抗肿瘤药物的壳聚糖纳米粒靶向修饰物从大分子和小分子配体两方面进行综述,以期寻找或开发更优的载抗肿瘤药物的壳聚糖纳米粒靶向修饰物提供参考。

1 小分子配体

1.1 FA

FA的分子量为441 Da,是人体在利用糖分和氨基酸时的必需物质,是机体细胞分裂、增殖以及某些生物大分子合成、代谢的必要物质^[12]。FA受体(Folate receptor, FR)是一种介导细胞内化,将FA摄入真核细胞细胞质的高亲和力的受体。由于肿瘤细胞不断增殖需要大量的FA,因此FR在肿瘤组织中高表达,而在正常组织中低表达或不表达^[13]。FR包括FR- α 、FR- β 、FR- γ 3种亚型。有研究表明,FR的 α 、 β 亚型受体在多种肿瘤细胞表面高表达,FR的这一特性使其成为肿瘤细胞靶向性传递研究的热点^[14]。此外,FA与大分子物质共价结合后仍然与FR保持高亲和力。因此,利用FA羧基与壳聚糖氨基之间的酰胺反应,制备FA壳聚糖纳米粒成为壳聚糖主动靶向纳米传递系统的研究热点^[6,14]。

Wang FQ等^[6]利用FA和聚乙二醇(PEG)与壳聚糖的酰胺反应,制备了表面修饰有FA和PEG的吉西他滨(GEM)壳聚糖纳米粒(FA-PEG-GEM-NPs),在细胞毒性试验中将4种质量浓度(0.1、1、10、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的GEM、PEG-GEM-NPs和FA-PEG-GEM-NPs分别作用于人非小细胞肺癌A549细胞72 h,MTT法检测各组细胞活性。结果显示,在上述4种浓度下,FA-PEG-GEM-NPs较GEM及PEG-GEM-NPs具有更高的细胞毒性($P < 0.01$),体现了FA修饰的纳米粒对肿瘤细胞具有较高的

[△] 基金项目:黑龙江省自然科学基金资助项目(No.ZD2016019)

* 硕士研究生。研究方向:缓控释制剂、中药体内代谢、中药新药研发。电话:0451-87266988。E-mail:1205714707@qq.com

[#] 通信作者:教授,博士。研究方向:缓控释制剂、中药体内代谢、中药新药研发。电话:0451-87266988。E-mail:15159267@qq.com

选择性和较大的毒性。此外,细胞吸收试验和细胞竞争性抑制试验也进一步证实,FA-PEG-GEM-NPs经肿瘤细胞表面FR介导实现了更高的细胞吸收和更大的细胞毒性。将上述3种药物经小鼠尾静脉注射后测定各药动学参数,结果显示,GEM组的半衰期($t_{1/2}$)为(0.45±0.04)h,而PEG-GEM-NPs和FA-PEG-GEM-NPs的 $t_{1/2}$ 分别为(3.89±0.13)h和(4.05±0.23)h,三者的药-时曲线下面积(AUC)分别为(36.79±1.45)、(179.88±2.63)、(187.24±0.19)μg·h/mL。说明与GEM比较,PEG-GEM-NPs和FA-PEG-GEM-NPs大大改善了GEM的药动学特性,且与PEG-GEM-NPs比较,FA-PEG-GEM-NPs对GEM药动学特性的改善程度略有提高。Fathi M等^[15]将N-异丙基丙烯酰胺(NIPAAm)、油酸(OA)及FA与壳聚糖偶联,制备成靶向性的壳聚糖纳米胶束[FA-(PNIPAAm-co-OA)-g-CSNPs],同时包载厄洛替尼(ETB),得到主动靶向纳米粒。在细胞毒性试验中,将FR高表达的人卵巢癌OVCAR-3细胞及FR低表达的人非小细胞肺癌A549细胞与浓度分别为30、40、50 μmol/L的ETB溶液、(PNIPAAm-co-OA)-g-CSNPs、FA-(PNIPAAm-co-OA)-g-CSNPs及包载ETB的FA-(PNIPAAm-co-OA)-g-CSNPs共同孵育24、48、72 h,MTT法检测各组细胞活性。结果显示,与ETB溶液组比较,包载ETB的FA-(PNIPAAm-co-OA)-g-CSNPs组具有较高的细胞毒性($P<0.05$)。与人非小细胞肺癌A549细胞比较,包载ETB的FA-(PNIPAAm-co-OA)-g-CSNPs对人卵巢癌OVCAR-3细胞具有更高的细胞毒性,差异具有统计学意义($P<0.05$)。这一结果也证明了FA受体修饰的纳米粒对肿瘤细胞的靶向性。与未修饰FA的壳聚糖纳米粒比较,无论从肿瘤靶向性还是药动学的角度来看,FA修饰的壳聚糖纳米粒都具有明显的优势。

1.2 生物素

生物素,又称维生素H、辅酶R,是分子量为244 Da的小分子水溶性维生素,是一种维持人体自然生长、发育和正常人体机能健康必要的营养素,在细胞分裂(包括肿瘤细胞的分裂)中发挥着重要作用^[16]。由于肿瘤细胞快速增殖需要大量的营养素,生物素受体在某些肿瘤细胞中过表达。这就导致与正常细胞比较,某些肿瘤细胞对生物素具有更高的结合能力^[16]。此外,生物素分子中的羧基可以有效地与壳聚糖纳米粒表面的氨基发生酰胺反应,达到修饰壳聚糖纳米粒并增加其靶向性的作用。近年来,生物素已经广泛地被用于癌症靶向配体修饰聚合物前药和纳米药物载体。

Cheng MR等^[7]用生物素修饰了包裹质粒DNA的壳聚糖纳米粒(Bio-CS/plasmid DNA-NPs),并用异硫氰酸荧光素(FITC)对其进行荧光标记,作用于人肝癌SMMC-7721细胞和人正常肝细胞LO2,在荧光共聚焦

显微镜下观察发现,在人肝癌SMMC-7721细胞内,其荧光强度明显高于人正常肝细胞LO2($P<0.01$),并且Bio-CS/plasmid DNA-NPs组在人肝癌SMMC-7721细胞和人正常肝细胞LO2内的荧光强度都明显大于CS/plasmid DNA-NPs,差异具有统计学意义($P<0.01$)。Chen HL等^[17]利用生物素化壳聚糖(Bio-CS)对包载表柔比星(EPB)的聚乳酸-羟基乙酸(PLGA)纳米粒进行修饰,获得粒径为(248.4±21.0)nm的主动靶向纳米粒(Bio-CS-PLGA-EPB-NPs)。在体外细胞毒性试验中,将人乳腺癌MCF-7细胞分别与质量浓度为10 μg/mL的EPB溶液、CS-PLGA-EPB-NPs、Bio-CS-PLGA-EPB-NPs共同孵育24、48、72、96、120 h,MTS法检测细胞活性。结果显示,与EPB溶液组比较,CS-PLGA-EPB-NPs组、Bio-CS-PLGA-EPB-NPs组在48、72、96、120 h时的细胞毒性均较高($P<0.05$),且Bio-CS-PLGA-EPB-NPs组的细胞毒性高于CS-PLGA-EPB-NPs组($P<0.01$)。这些结果都表明,与未修饰生物素的壳聚糖纳米粒比较,生物素修饰的壳聚糖纳米粒对肿瘤细胞具有更高的靶向性。

1.3 LA

去唾液酸糖蛋白受体(ASGRP)是一种高效的内吞型受体,在肝细胞尤其是肝癌细胞中特异性表达,能特异性识别和结合半乳糖残基和N-乙酰半乳糖胺残基^[18]。LA是分子量为358 Da且含有半乳糖残基的小分子物质,对ASGRP具有高度亲和性^[8],因此其具有明确的肝靶向性。近年来,LA作为靶向分子修饰纳米药物载体在抗肿瘤药物的肝靶向递送方面取得了新的发展,其中利用LA的羧基与壳聚糖纳米粒氨基之间的酰胺反应成功制备出修饰有LA的壳聚糖纳米粒成为研究的热点^[19]。

Zha Q等^[8]成功制备了包裹多柔比星(DOX)的羧甲基壳聚糖-甲基丙烯酸酐纳米凝胶,并用LA对其修饰,获得粒径为168.2 nm的主动靶向纳米凝胶(LA-NG/DOX)。在体外抗肿瘤试验中,将NG、LA-NG、DOX、NG/DOX、LA-NG/DOX同时与人肝癌HepG2细胞和人神经母细胞瘤SH-SY5Y细胞的多细胞肿瘤球体(MCTS)模型共孵育7 d,以新鲜的空白培养基作为对照,以MCTS的直径作为检测指标。在荧光倒置显微镜下观察,对照组、NG组和LA-NG组共孵育的MCTS呈现出直径的连续增长,表明NG组和LA-NG组具有良好的生物相容性。而DOX、NG/DOX、LA-NG/DOX在1周内对MCTS的生长有一定的抑制作用($P<0.01$),且LA-NG/DOX较NG/DOX在1周内对MCTS生长的抑制作用更强($P<0.05$)。Zhao R等^[19]将熊果酸(UA)和索拉非尼(SO)共载入介孔二氧化硅中(US-MNs-COOH-NPs),并采用乳糖酸化的壳聚糖(CS-LA)对其进行修饰,得到主动靶向纳米粒(US-MNs-CS-LA-NPs)。在体外细胞吸收试验中,将经FITC染色的质量浓度为50

$\mu\text{g/mL}$ 的 FITC-MNs-COOH-NPs、FITC-MNs-CS-LA-NPs、FITC-MNs-COOH-NPs+LA 组与人肝癌 SMMC-7721 细胞在 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 下共孵育 2 h,以磷酸盐缓冲液(PBS)作为对照,流式细胞仪检测各组人肝癌 SMMC-7721 细胞内的荧光强度,以考察 LA 修饰纳米粒的靶向性。结果显示, FITC-MNs-CS-LA-NPs 组及 FITC-MNs-COOH-NPs+LA 组细胞的平均荧光强度明显高于对照组 ($P<0.001$), FITC-MNs-COOH-NPs 组细胞的荧光强度也高于对照组 ($P<0.05$),且 FITC-MNs-CS-LA-NPs 组荧光强度高于 FITC-MNs-COOH-NPs+LA 组 ($P<0.01$)。上述结果表明,与未修饰 LA 的壳聚糖纳米粒比较,LA 配体修饰后的壳聚糖纳米粒对肿瘤细胞的靶向性更高。

2 大分子配体

2.1 HA

CD44 是一种结构多样、功能复杂的细胞表面分子,参与细胞的增殖、分化、迁移、血管形成以及细胞信号的传导。与正常细胞比较,CD44 在肺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、胃癌、结肠癌等多种肿瘤细胞的表达水平较高^[20]。HA 又称玻尿酸,是一种线性多糖,由 *N*-乙酰氨基葡萄糖和葡萄糖醛酸交替重复构成,分子量的范围为 $100\sim 10\ 000\ \text{kDa}$ ^[21]。由于 HA 表面的羧基及特异性靶向 CD44 受体的能力,HA 常被用来修饰壳聚糖纳米粒,从而增强抗肿瘤药物对 CD44 过表达肿瘤细胞的靶向递送效率。

Yang L 等^[22]将 HA 通过其阴离子羧基与壳聚糖纳米粒表面的阳离子氨基静电结合,成功制备出包裹姜黄素(CUR)的主动靶向聚电解质复合物纳米粒(HA-CS-CUR-NPs)。在细胞毒性试验中,将不同浓度的 CUR 溶液、HA-CS-NPs 及 HA-CS-CUR-NPs 分别与人神经胶质瘤 C6 细胞共孵育,MTT 法检测细胞活性。结果显示,在考察的浓度范围内,HA-CS-NPs 对人神经胶质瘤 C6 细胞活性没有影响,表明该纳米粒有良好的生物相容性。CUR 溶液与 HA-CS-CUR-NPs 对人神经胶质瘤 C6 细胞的细胞毒性呈浓度依赖性,当 CUR 浓度低于 $2.5\ \mu\text{g/mL}$ 时,两者之间对人神经胶质瘤 C6 细胞的细胞毒性没有显著性差异,当 CUR 浓度高于 $5\ \mu\text{g/mL}$ 时,HA-CS-CUR-NPs 对人神经胶质瘤 C6 细胞的细胞毒性明显高于 CUR 溶液 ($P<0.05$)。为了进一步验证 HA-CS-CUR-NPs 的主动靶向性,在竞争性抑制实验中将 HA-CS-CUR-NPs 组及 HA-CS-CUR-NPs+HA 组与人神经胶质瘤 C6 细胞共孵育 4 h。结果显示,HA-CS-CUR-NPs+HA 组相对细胞吸收率明显低于 HA-CS-CUR-NPs 组 ($P<0.01$)。Campos J 等^[23]通过高压均热法制备包载紫杉醇(PAX)的固体脂质纳米粒(SLN),并利用 SLN 表面的负电性将带正电的壳聚糖溶液及带负电的 HA 溶液对 SLN 进行层层包裹,形成具有主动靶向的单双层纳米粒

(PAX-HA-CS-SLN)。在细胞毒性试验中,将 PAX 溶液组、PAX-SLN 组及 PAX-HA-CS-SLN 组分别与人乳腺癌 MCF-7 细胞共孵育 72 h,MTT 法检测细胞活性。结果显示,PAX-HA-CS-SLN 组细胞活性明显低于 PAX 溶液组及 PAX-SLN 组 ($P<0.05$)。上述结果表明,壳聚糖纳米粒经 HA 修饰后可显著提高肿瘤细胞对纳米粒的吸收率。

2.2 CD59sp

CD59 是一种膜补体调节蛋白,在癌症中的过度表达是肿瘤细胞逃避清除的重要原因。CD59sp 是 Li B 等^[24]用噬菌体肽库筛选出的可以与 CD59 有效结合的一种特异性配体肽,分子量为 $3\ 500\ \text{Da}$ ^[25]。CD59sp 可实现抗肿瘤药物的靶向递送,是一种非常有前景的配体。

Yang P 等^[11]将 CD59sp 与装载 C-藻蓝蛋白(C-PC)的羧甲基壳聚糖纳米粒表面氨基(C-PC/CMC-NPs)共价结合,成功制备主动靶向的 C-PC/CMC-CD59sp-NPs。将该纳米粒作用于人宫颈癌 HeLa 细胞和小鼠成纤维细胞 L929,激光共聚焦显微镜下观测 C-藻蓝蛋白自发的红色荧光,流式细胞仪检测荧光强度。结果显示,人宫颈癌 HeLa 细胞内的荧光强度明显强于小鼠成纤维细胞 L929 ($P<0.05$),而且在小鼠成纤维细胞 L929 中,大部分荧光集中于细胞质,而在人宫颈癌 HeLa 细胞的细胞核与细胞质中都有明显的荧光分布。结果表明,与小鼠成纤维细胞 L929 比较,C-PC/CMC-CD59sp-NPs 对人宫颈癌 HeLa 细胞有较高的选择性和较强的渗透性。Wang Y 等^[26]将 CMC-NPs、C-PC/CMC-NPs、C-PC/CMC-CD59sp-NPs 每隔 2 天 1 次分别注射于人宫颈癌 HeLa 细胞异种移植瘤裸鼠的肿瘤部位,以未经任何处理的人宫颈癌 HeLa 细胞异种移植瘤裸鼠为对照组,20 d 后观察肿瘤的生长情况,以肿瘤的体积作为检测指标。结果显示,与对照组比较,C-PC/CMC-NPs 组与 C-PC/CMC-CD59sp-NPs 组对裸鼠的肿瘤生长均有明显的抑制 ($P<0.001$),且 C-PC/CMC-CD59sp-NPs 组对裸鼠的肿瘤生长抑制更显著 ($P<0.01$)。上述结果表明,CD59sp 介导的壳聚糖纳米粒可以增强纳米粒对人宫颈癌 HeLa 细胞的选择性和渗透性,从而抑制肿瘤的生长。

2.3 PS

PS 的平均分子量约为 $5\ 100\ \text{Da}$,是由一个或多个短序列的带正电荷的赖氨酸和精氨酸组成的氨基酸序列,是含有一个核定位信号的核蛋白。因此,利用 PS 修饰作用于肿瘤细胞核的化疗药物可以大大提高其在细胞核的靶向吸收效率^[27]。

吉非替尼(GFB)是临床上治疗转移性非小细胞肺癌的药物。王子臣^[28]用 PS 修饰了包载 GFB 的壳聚糖纳米粒(PS-CS-GFB-NPs),并将 GFB 溶液与 PS-CS-GFB-NPs 溶液分别作用于昆明小鼠体内,进行小鼠体内分布

试验。结果显示,与GFB溶液比较,PS-CS-GFB-NPs在小鼠体内具有明显的肺组织靶向性($P < 0.01$)。5-氟尿嘧啶(5-FU)是抗嘧啶类药物,主要通过抑制胸腺嘧啶核苷酸合成酶而抑制DNA的合成,是一类典型的化学核靶向药物^[29]。Yu X等^[9]用PS修饰了包载5-FU的壳聚糖纳米粒(PS-CS-5-FU-NPs)。在细胞毒性试验中,将PS-CS-5-FU-NPs、CS-5-FU-NPs及5-FU溶液同时作用于人宫颈癌HeLa细胞及人肺癌A549细胞,MTT法检测各组细胞活性。结果显示,PS-CS-5-FU-NPs组对人宫颈癌HeLa细胞及人肺癌A549细胞的细胞毒性明显强于CS-5-FU-NPs组及5-FU溶液组($P < 0.05$)。在体外试验中,将PS-CS-NPs和CS-NPs用FITC进行荧光标记,同时作用于人宫颈癌HeLa细胞,并将细胞核用Hoechst 33258染色。结果显示,在用CS-NPs和PS-CS-NPs处理3 h后,FITC的绿色荧光在细胞表面累积,表明纳米粒与细胞膜的初始有效附着有利于纳米粒进一步被内吞进入细胞内。随着孵育时间的延长,CS-NPs的绿色荧光分散在整个细胞质中,只有少量弱绿色荧光点位于细胞核中。来自PS-CS-NPs的更强的绿色荧光主要集中在人宫颈癌HeLa细胞的细胞核上。结果显示,与CS-NPs比较,PS-CS-NPs有效地促进了核移位。在体内试验中,PS-CS-5-FU-NPs处理的HeLa宫颈癌移植瘤裸鼠肿瘤的体积较CS-5-FU-NPs及5-FU都有减小。因此,PS修饰的壳聚糖纳米粒,不仅增加了化疗药物对肿瘤细胞的靶向作用,而且对肿瘤细胞核的靶向性也有所提高。

3 结语

壳聚糖纳米粒良好的生物相容性和生物降解性已经广泛地应用于纳米给药系统,其表面带正电荷的氨基这一特性,为其靶向递送药物带来了新的进展。除了上述靶向配体外,小分子的甘草酸^[30],大分子的转铁蛋白^[31]、缬氨酸-精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸-谷氨酸环肽^[32]、促黄体生成素释放激素^[33]及MUC1^[34]等已应用于壳聚糖纳米粒的主动靶向修饰。其中,MUC1是一种异源二聚体跨膜糖蛋白,在多种上皮来源的肿瘤组织中异常表达,而在正常细胞中几乎不表达,因而成为一个引人注目的治疗靶标。然而,这种单个配体修饰的纳米粒在进行受体-配体相互作用时易受到肿瘤微环境动态性及异质性的影响,从而导致受体介导作用的部分失效^[35]。此外,并不是所有的靶向受体都仅仅在靶细胞上过量表达,这会导致单配体修饰纳米粒与靶向受体结合的不足^[36]。因此,未来研究的重点应对壳聚糖纳米粒表面进行精密的结构修饰以及多重靶点设计,从而进一步提高壳聚糖纳米粒的靶向性。

参考文献

[1] CHO K, WANG X, NIE S, et al. Therapeutic nanoparticles for drug delivery in cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2008,

14(5):1310-1316.

- [2] LIN YS, LEE MY, YANG CH, et al. Active targeted drug delivery for microbes using nano-carriers[J]. *Curr Top Med Chem*, 2015, 15(15):1525-1531.
- [3] 张程亮, 孙纳. 壳聚糖用于抗肿瘤治疗的研究进展[J]. *中国药房*, 2005, 16(7):549-551.
- [4] KHOEE S, SAADATINIA A, BAFKARY R. Ultrasound-assisted synthesis of pH-responsive nanovector based on PEG/chitosan coated magnetite nanoparticles for 5-FU delivery[J]. *Ultrason Sonochem*, 2017. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2017.04.025.
- [5] 林爱华, 刘奕明, 平其能. 壳聚糖纳米粒表面游离氨基与纳米粒特性研究[J]. *药学学报*, 2007, 42(3):323-328.
- [6] WANG FQ, WANG Y, MA QZ, et al. Development and characterization of folic acid-conjugated chitosan nanoparticles for targeted and controlled delivery of gemcitabine in lung cancer therapeutics[J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2017, 45(8):1530-1538.
- [7] CHENG MR, ZHU WP, LI Q, et al. Anti-cancer efficacy of biotinylated chitosan nanoparticles in liver cancer[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(35):59068-59085.
- [8] ZHAO W, WANG X, CHENG X, et al. Acid-degradable carboxymethyl chitosan nanogels via an ortho ester linkage mediated improved penetration and growth inhibition of 3-D tumor spheroids in vitro[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2017. DOI: 10.1016/j.msec.2017.04.098.
- [9] WANG T, HOU J, SU C, et al. Hyaluronic acid-coated chitosan nanoparticles induce ROS-mediated tumor cell apoptosis and enhance antitumor efficiency by targeted drug delivery via CD44[J]. *J Nanobiotechnology*, 2017. DOI: 10.1186/s112951-016-0245-2.
- [10] YANG P, LI B, YIN QF, et al. Carboxymethyl chitosan nanoparticles coupled with CD59-specific ligand peptide for targeted delivery of C-phycocyanin to HeLa cells[J]. *Tumour Biol*, 2017. DOI: 10.1177/1010428317692267.
- [11] YU X, HOU J, SHI Y, et al. Preparation and characterization of novel chitosan-protamine nanoparticles for nucleus-targeted anticancer drug delivery[J]. *Int J Nanomedicine*, 2016. DOI: 10.2147/IJN.s117066.
- [12] 郭林峰, 蒋宗林, 李东红. 叶酸受体介导靶向药物载体的研究进展[J]. *现代肿瘤医学*, 2013, 21(5):1128-1131.
- [13] CUI X, GUAN X, ZHONG S, et al. Multi-stimuli responsive smart chitosan-based microcapsules for targeted drug delivery and triggered drug release[J]. *Ultrason Sonochem*, 2017. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2017.03.011.
- [14] 汪小乐, 简晓顺, 庞廷媛, 等. 叶酸偶联壳聚糖载多西他赛纳米粒的制备[J]. *中国药房*, 2014, 25(29):2740-2743.
- [15] FATHI M, ZANGABAD PS, AGHANEJAD A, et al. Folate-conjugated thermosensitive O-maleoyl modified chi-

- tosan micellar nanoparticles for targeted delivery of erlotinib[J]. *Carbohydr Polym*, 2017.DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.05.007.
- [16] TRIPODO G, MANDRACCHIA D, COLLINA S, et al. New perspectives in cancer therapy: the biotin-antitumor molecule conjugates[J]. *Angew Chem Int Ed*, 2014.DOI: 10.4172/2161-0444.s1-004.
- [17] CHEN HL, XIE LQ, QIN JW, et al. Surface modification of PLGA nanoparticles with biotinylated chitosan for the sustained in vitro release and the enhanced cytotoxicity of epirubicin[J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2015.DOI: 10.1016/j.colsurfb.2015.11.033.
- [18] ROGGENBUCK D, MYTILINAIU MG, LAPIN SV, et al. Asialoglycoprotein receptor (ASGPR) : a peculiar target of liver-specific autoimmunity[J]. *Auto Immun Highlights*, 2012, 3(3): 119-125.
- [19] ZHAO R, LI T, ZHENG G, et al. Simultaneous inhibition of growth and metastasis of hepatocellular carcinoma by co-delivery of ursolic acid and sorafenib using lactobionic acid modified and pH-sensitive chitosan-conjugated mesoporous silica nanocomplex[J]. *Biomaterials*, 2017, 143(2):1-16.
- [20] XU H, TIAN Y, YUAN X, et al. The role of CD44 in epithelial-mesenchymal transition and cancer development[J]. *Onco Targets Ther*, 2015.DOI:10.2147/OTT.895470.
- [21] 张蕾, 吴迪, 孙巍, 等. 透明质酸的制备及应用研究进展[J]. *微生物学杂志*, 2006, 26(2):100-103.
- [22] YANG L, GAO S, ASGHAR S, et al. Hyaluronic acid/chitosan nanoparticles for delivery of curcuminoid and its in vitro evaluation in glioma cells[J]. *Int J Biol Macromol*, 2015.DOI:10.1016/j.ijbiomac.2014.10.039.
- [23] CAMPOS J, VARAS-GODOY M, HAIDAR ZS. Physicochemical characterization of chitosan-hyaluronan-coated solid lipid nanoparticles for the targeted delivery of paclitaxel: a proof-of-concept study in breast cancer cells[J]. *Nanomedicine*, 2017, 12(5):473-490.
- [24] LI B, GAO MH, CHU XM, et al. Identification of a novel short peptide seal specific to CD59 and its effect on HeLa cell growth and apoptosis[J]. *Cell Oncol (Dordr)*, 2012, 35(5):355-365.
- [25] 李伟伟, 高美华, 张蓓, 等. CD59 配体肽真核表达系统的构建及对 PC-3 细胞活性的作用研究[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2010, 26(1):80-83.
- [26] WANG Y, JIANG L, YIN Q, et al. The targeted antitumor effects of C- PC/CMC-CD59sp nanoparticles on HeLa cells in vitro and in vivo[J]. *J Cancer*, 2017, 8(15): 3001-3013.
- [27] TONG HP, WANG LF, GUO YL, et al. Preparation of protamine cationic nanobubbles and experimental study of their physical properties and in vivo contrast enhancement [J]. *Ultrasound Med Biol*, 2013, 39(11):2147-2157.
- [28] 王子臣. 吉非替尼壳聚糖鱼精蛋白肺靶向纳米粒的制备及靶向性初步研究[D]. 锦州: 锦州医科大学, 2017.
- [29] MATSUSAKA S, LENZ HJ. Pharmacogenomics of fluorouracil-based chemotherapy toxicity[J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2015, 11(5):811-821.
- [30] TIAN Q, ZHANG CN, WANG XH, et al. Glycyrrhetic acid-modified chitosan/poly (ethylene glycol) nanoparticles for liver-targeted delivery[J]. *Biomaterials*, 2010, 31(17):4748-4756.
- [31] AGRAWAL P, SINGH RP, SONALI, et al. TPGS-chitosan cross-linked targeted nanoparticles for effective brain cancer therapy[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2017. DOI:10.1016/j.msec.2017.02.008.
- [32] CHEN Y, FENG S, LIU W, et al. Vitamin E succinate-grafted-chitosan oligosaccharide/RGD-conjugated TPGS mixed micelles loaded with paclitaxel for U87MG tumor therapy[J]. *Mol Pharm*, 2017, 14(4):1190-1203.
- [33] VARSHOSAZ J, HASSANZADEH F, ALIABADI HS, et al. Targeted delivery of doxorubicin to breast cancer cells by magnetic LHRH chitosan bioconjugated nanoparticles[J]. *Int J Biol Macromol*, 2016, 93(PtA): 1192-1205.
- [34] ESFANDYARI-MANESH M, MOHAMMADI A, ATYABI F, et al. Specific targeting delivery to MUC1 overexpressing tumors by albumin-chitosan nanoparticles conjugated to DNA aptamer[J]. *Int J Pharm*, 2016, 515(1/2): 607-615.
- [35] DOOLITTLE E, PEIRIS PM, DORON G, et al. Spatiotemporal targeting of a dual-ligand nanoparticle to cancer metastasis[J]. *ACS Nano*, 2015, 9(8):8012-8021.
- [36] KAKIMOTO S, MORIYAMA T, TANABE T, et al. Dual-ligand effect of transferrin and transforming growth factor alpha on polyethyleneimine-mediated gene delivery.[J]. *J Control Release*, 2007, 120(3):242-249.

(收稿日期:2018-03-26 修回日期:2018-05-18)

(编辑:余庆华)