

抗肿瘤药物脂质体粒径对肿瘤靶向性的影响

杨莉斌, 胡 荣

(扬州大学医学院药理学系, 江苏 扬州 225001)

摘要: 脂质体抗癌药物的粒径在它将药物运载到肿瘤组织的过程中是一个重要的因素。在本文中, 脂质体粒径在药代动力学中所发挥的作用从以下几方面进行了研究: (1) 脂质体在血液中的分布和滞留时间; (2) 脂质体在肿瘤组织中的积聚; (3) 脂质体从肿瘤毛细血管中渗漏和它们在肿瘤组织中的滞留。最后, 讨论了脂质体粒径在设计抗肿瘤脂质体药物时的重要性。

关键词: 脂质体; 粒径; 肿瘤; 药物释放

中图分类号: R979.1; R944 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0971(2007)03-0174-04

The size of liposomes: a factor which affects their targeting efficiency to tumors

YANG Li-bin, HU Rong

(Pharmaceutical Institute, Medical School, Yangzhou University, Yangzhou 225001, China)

Abstract: The size of liposomes has been shown to be an important factor in the efficient delivery of an antitumor agent to tumors. In this paper, the effects of the size of liposomes on the pharmacokinetics of liposomes and liposome-encapsulated drugs are discussed with reference to: (1) the circulation amount and residence time of liposomes in the blood; (2) the accumulation of liposomes in the tumor; (3) permeation of liposomes through tumor capillaries and their retention in tumor tissue. Finally the importance of the size of liposome in the design of an effective liposomal antitumor preparation is discussed.

Key words: liposome; vesicle size; tumor; drug release

1 引言

脂质体抗癌药物被定位于肿瘤组织中是由如下因素决定的: (1) 脂质体在血液中的分布和滞留时间; (2) 脂质体从血液到肿瘤组织中的转移; (3) 脂质体在肿瘤组织中的积聚。脂质体抗癌药物的靶向性主要取决于脂质体载体的药代动力学特性和药物的渗漏率。因此, 这些药代动力学信息在设计一个更有效的脂质体抗癌药物时是重要的。

脂质体在血液中的分布已被广泛研究。除磷脂组成外, 脂质体粒径也会影响其在血液中的分布。通过对脂质体在肿瘤组织中定位的研究发现, 脂质体是能够穿过血管壁而进入肿瘤组织的^[1-3]。

2 脂质体的血液循环特征

2.1 在血液中的分布及单核吞噬细胞系统的摄取

最近关于脂质体在血液中分布的数据分析显示^[1, 4], 脂质体的粒径与它们从血液中被清除的数量之间有很大的关系。脂质体的粒径会影响它们在血液中的分布, 这主要由于脂质体能被单核吞噬细胞系统(MPS)摄取。MPS的摄取是通过多种血液蛋白(如免疫球蛋白和补体)所介导的, 脂质体粒径的减小就降低了被血液中补体识别的可能性, 脂质体在血液中还受到磷脂组成的影响, 饱和磷脂、胆固醇、神经鞘磷脂可以减少脂质体膜的流动性, 延长脂质体的血循环时间; 而磷脂酰甘油、磷脂酰丝氨酸、磷酸二鲸蜡酯等带负电的磷脂可缩短循环时间。

2.2 长循环脂质体

为将药物运送至特定靶点, 就必须避免脂质体被MPS所摄取。至今已经发现了几种类脂制成的

收稿日期: 2006-10-17

作者简介: 杨莉斌, 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 药物制剂,
Tel: 0514-7996265, E-mail: yanglibin0106@126.com

脂质体能够避免被 MPS 所摄取,它们包括单唾液酸神经节苷脂(monosialoganglioside, GM1)、髓鞘磷脂(sphingomyelin)、肌醇磷脂、聚乙二醇(polyethyleneglycol, PEG) 连结的磷脂、十六烷基葡萄糖醛酸(palmityl-*D*-glucuronic acid, PGlcUA)、唾液酸。与普通脂质体相比,包含有这些类脂的脂质体显示了更长的血液循环时间。GM1 和 PEG 连结的 100 ~ 200 nm 的脂质体显示了最长的血浆半衰期,这提示 GM1 通过减少脂质体表面所吸附的血液蛋白而减少了被 MPS 的识别和摄取,GM1 结构的特殊性可能是这个特性的原因。对于 PEG 脂质体,PEG 层的空间障碍和表面亲水性减少了连结到脂质体上的血液蛋白,从而也减少了被 MPS 的摄取。

GM1 和 PEG 脂质体粒径在 100 nm 左右时,血液循环时间最长。可能由于粒径超过 100 nm 的脂质体容易被肝、脾 MPS 摄取,而粒径远远小于 100 nm 的脂质体易被肝实质细胞摄取,这是由于肝窦毛细血管上有一些大小在 100 nm 左右的小孔,脂质体通过后易与肝实质细胞发生相互作用。Litzinger 等^[5]在肝实质细胞中已发现有远小于 100 nm 的 PEG 脂质体。

3 脂质体在肿瘤组织中的积聚

3.1 脂质体的肿瘤积聚性及其血液循环特点

与正常组织相比,在肿瘤组织中,毛细血管内皮的通透性增加,淋巴组织不发达^[6,7]。较小的脂质体从毛细血管中渗漏入肿瘤组织中的几率很高。研究者比较了 100 nm 左右的 GM1 脂质体^[8]、PEG 脂质体^[9]、普通脂质体在肿瘤组织中的积聚程度,发现这些长循环脂质体比普通脂质体有更强的肿瘤积聚性能。

研究者探讨了脂质体的粒径和它对肿瘤的靶向性之间的关系。Liu 等^[10]研究了脂质体的粒径对肿瘤靶向性的影响以及 GM1 脂质体在荷瘤小鼠中的血液循环特点。认为脂质体的肿瘤积聚量与它们在血液循环中的循环时间有关。PGlcUA 脂质体和普通脂质体的最大肿瘤积聚粒径是 100 nm。

Uchiyama 等^[11,12]发现脂质体的肿瘤积聚性并不总与血液循环时间相联系,脂质体的粒径在决定它们的肿瘤积聚性时可能是一个优先考虑的因素。然而,Zou 等^[13]认为包封药物的长循环脂质体(粒径 50 nm)和普通小单层脂质体(粒径 30 nm)在血液中循环时间与肿瘤积聚量呈负相关。Parr 等^[14]报道 100 nm 的 PEG 多柔比星脂质体提高了血药浓

度,增加了循环半衰期,但并没有提高在肿瘤中积聚的浓度。Charrois 等^[15]比较了不同粒径的多柔比星脂质体注射后不同时间点实体肿瘤、皮肤、鼠爪的积聚量,发现 100 nm 左右的脂质体在实体肿瘤中的积聚量是最高的,在皮肤和鼠爪中的积聚量最小。

由于肿瘤类型不同,脂质体的肿瘤积聚性不能完全由它们的血液循环时间和它们的粒径来决定,但是脂质体通过肿瘤毛细血管渗漏入肿瘤的过程是由粒径决定的。

3.2 脂质体从肿瘤毛细血管到肿瘤的转运

为了更准确地研究脂质体从血液到肿瘤中的过程,Uchiyama 等^[11]研究了 40 ~ 400 nm 不同粒径的软硬两种脂质体的肿瘤清除率。肿瘤清除率等于肿瘤中积聚的药物脂质体的量与相应的 AUC(血药浓度-时间曲线下面积)的比值。表示单位时间从肿瘤组织中清除的药物脂质体的量,这个药代动力学参数能分辨脂质体是在肿瘤毛细血管还是在肿瘤组织中积聚,它代表了脂质体从毛细血管到肿瘤组织中的实际聚积量。

研究显示,虽然 100 nm 的硬脂质体在肿瘤和血液循环中积聚量都比相同粒径的软脂质体高,但两种脂质体在粒径 100 nm 时的肿瘤清除率都是最高的。这提示脂质体从肿瘤毛细血管到肿瘤组织的过程可能是由它们的粒径决定的。研究发现,50 和 100 nm 由不同类脂组成的脂质体的肿瘤清除率基本相同,说明脂质体由血液到肿瘤中的转运过程可能与类脂组成无关。Weissig 等^[16]比较了脂质体和微结合蛋白在荷瘤小鼠的体内分布和肿瘤积聚,认为脂质体被动扩散到实体瘤的效率与肿瘤毛细血管渗出率和脂质体粒径有关。

4 脂质体从肿瘤毛细血管中的渗漏和它们在肿瘤组织中的滞留

4.1 脂质体从肿瘤毛细血管中渗漏的依据

脂质体从血液循环中渗漏入肿瘤组织中的第一个依据是在显微镜下用 100 nm 的 PEG 脂质体在 1991 年通过实验研究得到的^[9]。Yuan 等^[17]研究了长循环脂质体(100 nm PEG 脂质体)从肿瘤血管中的渗漏,脂质体的血管渗漏率是 $2 \times 10^{-8} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ 或者 $3.4 \times 10^{-7} \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$,是白蛋白的 1/5 ~ 1/2。Wu 等^[18]还发现相同粒径的 PEG 脂质体(和普通脂质体相比)在肿瘤组织中的渗漏率比在非肿瘤组织中高。

4.2 脂质体从血液到肿瘤中的转运机制

脂质体从血管到肿瘤间质的可能转运机制如下:(1)从毛细血管的裂隙中渗透;(2)跨内皮细胞囊泡转运;(3)白细胞介导的外渗。最近对 100 nm 的 PEG 脂质体显微镜检查显示,它们是通过血管内皮细胞的裂隙渗透的。显微镜观察发现,肿瘤内皮细胞上有一些 50 nm 的裂隙,如果是大于 50 nm 的脂质体,则需一种推动力促使它们通过此类肿瘤细胞裂隙。

Daemen 等^[19]用“血细胞介导的滤过动力”(blood cell-mediated force sieving)解释脂质体异常的肝内分布,400 nm 的脂质体在肝实质细胞和非肝实质细胞滞留的一样多,虽然脂质体的粒径比仅有 100 nm 的肝窦毛细血管上的筛孔大,研究者认为血细胞的相互摩擦推动 400 nm 的脂质体从肝窦毛细血管上的筛孔中出去,增加了脂质体在肝实质细胞中的滞留。特别是在肿瘤中,血细胞可以很容易地推动那些粒径小于 100 nm 的脂质体通过血管内皮细胞的裂隙,除此以外,脂质体的弹性变形特点也可以推动它们挤过血管内皮细胞的裂隙^[20]。

Hobbs 等^[21]用 PEG 脂质体等度量了各种各样肿瘤微血管内皮上的最大裂隙,绝大多数肿瘤有 380~700 nm 的血管裂隙^[21, 22]。正是肿瘤血管壁上存在这些大小不同的裂隙,才可以使脂质体从血液循环中转运至肿瘤中来。

4.3 脂质体在肿瘤中滞留的可能机制

显微镜检查显示^[17],100 nm 的 PEG 脂质体在肿瘤组织中可存在一周以上,除 PEG 脂质体外^[8, 17],100 nm 的 GM1 脂质体^[8]也能渗入围绕着毛细血管内皮细胞的肿瘤间质。粒径较小(<100 nm)的脂质体更容易自肿瘤毛细血管的裂隙间进出,但是由于在肿瘤间质中存在一些胶原蛋白和纤维结缔组织,100 nm 的脂质体较更小的脂质体在肿瘤间质中的运动更容易被限制。进一步说明 100 nm 粒径的脂质体也许适合在肿瘤组织中滞留,且不容易从肿瘤中清除。

5 结论

在脂质体穿过肿瘤毛细血管壁和在肿瘤组织中滞留时,它的粒径都是一个重要的影响因素。粒径大于 300 nm 的脂质体缺乏血管通透性,易被网状内皮系统吞噬,难以离开循环系统,而 100~300 nm 的脂质体易被淋巴系统清除。100 nm 左右的脂质体最为合适,它们在血-瘤转换时更有效,而且在肿瘤

组织中有较长的滞留时间^[21]。也应该看到,肿瘤血管壁上的孔隙大小是随着肿瘤类型、肿瘤生长期和肿瘤生长状况的不同而不同的。100 nm 脂质体可能不适合进行最有效的血-瘤转换,但却有利于靶向肿瘤,因为它们最有效地延长了在肿瘤中的滞留时间。

参 考 文 献

- [1] Phan G, Herbert A, Cholet S, *et al.* Pharmacokinetics of DTPA entrapped in conventional and long-circulating liposomes of different size for plutonium decorporation [J]. *J Control Release*, 2005, 110 (1):177-188.
- [2] Awasthi VD, Garcia D, Goins BA, *et al.* Circulation and biodistribution profiles of long-circulating PEG-liposomes of various sizes in rabbits[J]. *Int J Pharm*, 2003, 253(1/2):121-132.
- [3] Kawahara K, Sekiguchi A, Kiyoki E, *et al.* Effect of TRX-liposomes size on their prolonged circulation in rats [J]. *Chem Pharm Bull(Tokyo)*, 2003, 51(3):336-338.
- [4] Harashima H, Kiwada H. Liposomal targeting and drug delivery: kinetic consideration[J]. *Adv Drug Deliv*, 1996, 19(1):425-444.
- [5] Litzinger DC, Buiting AM, van Rooijen N, *et al.* Effect of liposome size on the circulation time and intraorgan distribution of amphipathic poly(ethylene glycol)-containing liposomes [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1994, 1190(1):99-107.
- [6] Oku N, Namba Y. Long-circulating liposomes[J]. *Drug Carrier Syst*, 1994, 11(4):231-270.
- [7] Oku N, Tokudome Y, Tsukada H, *et al.* *In vivo* trafficking of long-circulating liposomes in tumor-bearing mice determined by positron emission tomography[J]. *Biopharm Drug Dispos*, 1996, 17(5):435-441.
- [8] Gabizon A, Papahadjopoulos D. Liposome formulations with prolonged circulation time in blood and enhanced uptake by tumors [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1988, 85(18):6949-6953.
- [9] Papahadjopoulos D, Allen TM, Gabizon E, *et al.* Sterically stabilized liposomes: improvements in pharmacokinetics and antitumor therapeutic efficacy[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88(24):11460-11464.
- [10] Liu D, Mori A, Huang L, *et al.* Role of liposome size and RES blockade in controlling biodistribution and tumor uptake of GM1-containing liposomes [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1992, 1104(1):95-101.
- [11] Uchiyama K, Nagayasu A, Yamagiwa Y, *et al.* Effects of the size and fluidity of liposomes on their accumulation in tumors; a presumption of their interaction with tumors[J]. *Int J Pharm*, 1995, 121:195-203.
- [12] Nagayasu A, Uchiyama K, Nishida T, *et al.* Is control of distribution of liposomes between tumors and bone marrow possible? [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1996, 1278(1):29-34.

- [6] Hirsch E, Filipovich Y, Mahendroo M, *et al.* Signaling via the type I IL-1 and TNF receptors is necessary for bacterially induced preterm labor in a murine model [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2006, 194(5):1334 – 1340.
- [7] Tammali R, Ramana KV, Singhal SS, *et al.* Aldose reductase regulates growth factor-induced cyclooxygenase-2 expression and prostaglandin e2 production in human colon cancer cells [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(19):9705 – 9713.
- [8] de Groot DJ, de Vries EG, Groen HJ, *et al.* Non-steroidal anti-inflammatory drugs to potentiate chemotherapy effects; from lab to clinic [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2007, 61(1):52 – 69.
- [9] Patel VA, Dunn MJ, Sorokin A, *et al.* Regulation of MDR-1 (P-glycoprotein) by cyclooxygenase-2 [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(41):38915 – 38920.
- [10] Spinella F, Rosano L, Di Castro V, *et al.* Endothelin-1 and endothelin-3 promote invasive behavior via hypoxia-inducible factor-1 α in human melanoma cells [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(4):1725 – 1734.
- [11] Sorokin A. Cyclooxygenase-2: potential role in regulation of drug efflux and multidrug resistance phenotype [J]. *Curr Pharm Des*, 2004, 10(6):647 – 657.
- [12] Fantappie O, Masini E, Sardi I, *et al.* The MDR phenotype is associated with the expression of COX-2 and iNOS in a human hepatocellular carcinoma cell line [J]. *Hepatology*, 2002, 35(4):843 – 852.
- [13] Ziemann C, Schafer D, Rudell G, *et al.* The cyclooxygenase system participates in functional mdr1b overexpression in primary rat hepatocyte cultures [J]. *Hepatology*, 2002, 35(3):579 – 588.
- [14] McCarty MF, Block KI. Preadministration of high-dose salicylates, suppressors of NF-kappaB activation, may increase the chemosensitivity of many cancers; an example of proapoptotic signal modulation therapy [J]. *Integr Cancer Ther*, 2006, 5(3):252 – 268.
- [15] Nardone G, Rocco A, Vaira D, *et al.* Expression of COX-2, mPGE-synthase 1, MDR-1 (P-gp), and Bcl-xL; a molecular pathway of H pylori-related gastric carcinogenesis [J]. *J Pathol*, 2004, 202(3):305 – 312.
- [16] Huang DS, Shen KZ, Wei JF, *et al.* Specific COX-2 inhibitor NS398 induces apoptosis in human liver cancer cell line HepG2 through BCL-2 [J]. *World J Gastroenterol*, 2005, 11(2):204 – 207.
- [17] Charles AG, Han TY, Liu YY, *et al.* Taxol-induced ceramide generation and apoptosis in human breast cancer cells [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2001, 47(5):444 – 450.
- [18] Gai XD, Li GL, Huang JZ, *et al.* Reversal of multidrug resistance of human hepatocellular carcinoma cells by wild-type p53 gene and related mechanisms [J]. *Ai Zheng*, 2006, 25(8):954 – 959.
- [19] Kang HK, Lee E, Pyo H, *et al.* Cyclooxygenase-independent down-regulation of multidrug resistance-associated protein-1 expression by celecoxib in human lung cancer cells [J]. *Mol Cancer Ther*, 2005, 4(9):1358 – 1363

(上接第 176 页)

- [13] Zou Y, Ling YH, Reddy S, *et al.* Effects of vesicle size and lipid composition on the *in vivo* tumor selectivity and toxicity of the non-cross-resistant anthracycline annamycin incorporated in liposomes [J]. *Int J Cancer*, 1995, 61(5):666 – 671.
- [14] Parr MJ, Masin D, Cullis PR, *et al.* Accumulation of liposomal lipid and encapsulated doxorubicin in murine Lewis lung carcinoma; the lack of beneficial effects by coating liposomes with poly (ethylene glycol) [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1997, 280(3):1319 – 1327.
- [15] Charrois GJ, Allen TM. Rate of biodistribution of STEALTH liposomes to tumor and skin; influence of liposome diameter and implications for toxicity and therapeutic activity [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2003, 1609(1):102 – 108.
- [16] Weissig V, Whiteman KR, Torchilin VP. Accumulation of protein-loaded long-circulating micelles and liposomes in subcutaneous Lewis lung carcinoma in mice [J]. *Pharm Res*, 1998, 15(10):1552 – 1556.
- [17] Yuan F, Leuning M, Huang SK, *et al.* Microvascular permeability and interstitial penetration of sterically stabilized (Stealth) liposomes in a human tumor xenograft [J]. *Cancer Res*, 1994, 54(13):3352 – 3356.
- [18] Wu NZ, Da D, Rudoll TL. Increased microvascular permeability contributed to preferential accumulation of Stealth liposomes in tumor tissue [J]. *Cancer Res*, 1993, 53(16):3765 – 3770.
- [19] Daemen T, Velinova M, Regts J, *et al.* Different intrahepatic distribution of phosphatidylglycerol and phosphatidylserine liposomes in the rat [J]. *Hepatology*, 1997, 26(2):416 – 423.
- [20] Mayer LD, Tai LC, Ko DS, *et al.* Influence of vesicle size, lipid composition, and drug-to-lipid ratio on the biological activity of liposomal doxorubicin in mice [J]. *Cancer Res*, 1989, 49(21):5922 – 5930.
- [21] Hobbs SK, Monsky WL, Yuan F, *et al.* Regulation of transport pathways in tumor vessels; role of tumor type and microenvironment [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(8):4607 – 4612.
- [22] Hashizume H, Baluk P, Morikawa S, *et al.* Openings between defective endothelial cells explain tumor vessel leakiness [J]. *Am J Pathol*, 2000, 156(4):1363 – 1380.
- [23] Oku N, Tokudome Y, Tsukada H, *et al.* Real-time analysis of liposomal trafficking in tumor-bearing mice by use of positron emission tomography [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1995, 1238(1):86 – 90.