

抗肿瘤热敏靶向脂质体的研究进展

陈 军*

(南京中医药大学药学院药剂学教研室, 江苏 南京 210046)

摘要: 脂质体具有靶向传递药物进入肿瘤部位的优势, 被广泛用于肿瘤的临床治疗, 但是靶向传递并不能保证药物在肿瘤部位被生物利用。为了解决此问题, 热敏靶向脂质体 (TTL) 已经成为目前的研究热点。TTL 既能提高药物在肿瘤部位的浓度, 又能在加热条件下触发释放所载药物, 从而显著改善所载药物的抗肿瘤效果。本文主要综述了近年来该领域的研究进展。

关键词: 脂质体; 靶向给药; 抗肿瘤药物; 触发释放

中图分类号: R944

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2011) 05-0502-05

Development of targeting thermosensitive liposomes for tumor treatment

CHEN Jun*

(Department of Pharmaceutics, College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

Abstract: Liposomes which offer the advantage of the enhanced drug accumulation at tumor sites are currently applied extensively in the clinical treatment of tumor. However, accumulation of the liposomes in the tumor area cannot guarantee the drug bioavailability. To resolve the question, thermosensitive targeting liposomes (TTL) have been the hotspot of current studies. TTL can enhance drug accumulation at tumor sites and be triggered to release their contents upon hyperthermia. By applying these two strategies, antitumor efficacy of encapsulated drug can be significantly improved. The present paper reviews the development of TTL in recent years.

Key words: liposome; drug targeting; antitumor drug; triggered release

脂质体 (liposomes) 是一种结构和组成都类似于生物膜的超微型药物载体, 在过去 40 年中作为抗肿瘤药物的载体得到了广泛的发展, 已经临床应用了近 20 年。近年来, 结合了物理化学靶向、主动靶向传递效果以及脉冲释药性能的热敏靶向脂质体 (thermosensitive targeting liposomes, TTL) 在抗肿瘤领域越来越引起重视。

抗肿瘤 TTL 是指采用温度敏感材料和主动靶向修饰材料 (如隐形修饰材料 DSPE-PEG2000 即二硬脂酰磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇 2000, 1, 2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine-N-PEG2000) 制成的

载药脂质体, 给药后通过对肿瘤部位局部加热, 选择性地在肿瘤部位释放药物, 从而实现了对肿瘤细胞最大程度的杀伤作用。TTL 增强抗肿瘤作用的机制除了选择性释放药物外, 还包括通过加热增加肿瘤血管的通透性, 从而增加 TTL 在肿瘤部位的聚集^[1]。

本文从抗肿瘤脂质体所面临的问题入手, 主要介绍了 TTL 在增强抗肿瘤作用的机制、释放药物的影响因素、新型材料的研究进展、常用研究方法与技术、临床研究进展等 5 个主要方面的研究进展, 并对 TTL 存在的主要问题进行了分析, 介绍了最新的研究动向。

1 抗肿瘤脂质体研究所面临的问题

目前的抗肿瘤脂质体以隐形脂质体 (stealth liposomes, SL) 为主。SL 经 DSPE-PEG2000 修饰具

收稿日期: 2011-01-05.

基金项目: 江苏省青蓝工程资助项目.

*通讯作者 Tel: 86-25-85811050, Fax: 86-25-85811524,

E-mail: chenjun75@163.com

有良好的肿瘤靶向性, 通过 EPR 效应 (enhanced permeation and retention effect) 将药物选择性地输送进入肿瘤部位。文献^[2]报道, 与游离药物相比, 顺铂 SL 给药后在肿瘤中药物的 AUC (area under the curve) 提高了 28 倍, 但临床试验研究结果表明其抗肿瘤效果并不理想, 因此中止了进一步的产品化开发^[3]。多柔比星 SL (Caelyx[®]) 虽然开发成产品上市, 但其主要作用是降低毒副作用, 抗肿瘤效果与游离药物相比没有显著差别^[4]。进一步的研究发现, 多柔比星游离药物注射给予荷瘤小鼠后, 肿瘤部位药量的 95% 能与肿瘤细胞核 DNA 结合, 而多柔比星 SL 给药后, 与肿瘤细胞核 DNA 结合的药物比例只有 27%~49%^[5], SL 中的药物实际发挥作用的比非常有限。说明抗肿瘤 SL 一般具有良好的稳定性以保证在靶向传递过程中尽可能不泄漏药物, 同时也造成 SL 到达肿瘤部位后释药过于缓慢, 不利于抗肿瘤效果的发挥。以商品化的多柔比星 SL (Doxil[®]) 为例, 给药后肿瘤部位的药物浓度在 48 h 达到最高, 而整个释药过程可以维持 175 h^[6]。

2 热敏靶向脂质体提高抗肿瘤效果的机制

2.1 温度触发释放

抗肿瘤脂质体到达肿瘤部位后, 药物必须从脂质体中释放出来, 才能充分发挥抗肿瘤效果, 因此抗肿瘤脂质体在肿瘤部位的浓集并不意味着就会自动提升抗肿瘤药效^[7]。此观点可以解释抗肿瘤 SL 药效与靶向性不匹配的现象, 同时也意味着抗肿瘤脂质体能否在肿瘤部位迅速释放是决定抗肿瘤药效的关键因素。因此, 靶向分布进入肿瘤后能实现温度触发释放 (temperature-triggered release) 的 TTL 成为继 SL 后抗肿瘤脂质体研究的热点。

TTL 的相变温度 (T_m) 被设定为略高于体温的温度 (41 °C)。给药后, 将肿瘤组织加热到相变温度以上 (43 °C), 到达肿瘤部位的 TTL 在温度高于相变温度的情况下, 磷脂双分子层从固晶相 (solid gel phase) 变成了无序液晶相 (liquid disordered phase), 磷脂烷基链中的 C-C 单键由全反式构象转变为邻位交叉式构象, 导致烃链所占的总体积大幅度增加, 从而导致脂质体膜通透性随之急剧增加, 药物从 TTL 中快速、完全地释放出来即脉冲释放 (图 1)。在肿瘤部位, 药物从脂质体中脉冲释放将非常有利于其抗肿瘤药效的发挥。

2.2 提高脂质体的肿瘤靶向性

除了采用热敏材料作为膜材外, 隐形材料 DSPE-PEG2000 修饰目前被广泛应用于抗肿瘤 TTL 中。隐形材料修饰可以实现

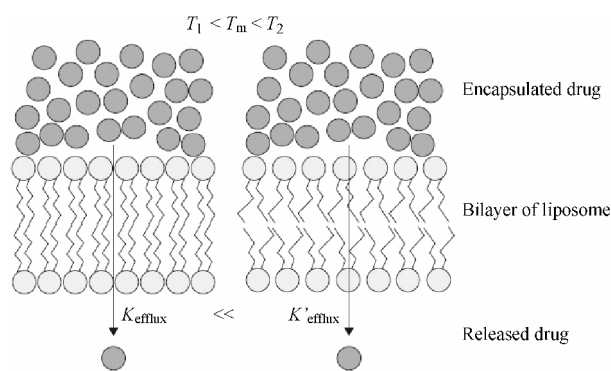


Figure 1 Illustration of the solid gel (left) to liquid disordered (right) phase change

脂质体长时间滞留在血液循环中, 并且通过 EPR 效应浓集于肿瘤组织中。对肿瘤部位加热除了能触发 TTL 释放外, 还能增加肿瘤血管的通透性和血流灌注。将荷 FaDu 瘤小鼠的肿瘤部位分别放置在室温和 42 °C 各 1 h, 测定比较肿瘤微血管通透性, 结果发现在加热后提高了 9 倍^[8]。

加热后肿瘤的这一变化十分有利于 TTL 靶向分布进入肿瘤发挥药效。分别将肿瘤部位温度控制在 34 °C 和 42 °C, 给荷瘤小鼠静脉注射多柔比星 TTL 后, 肿瘤部位的药物浓度分别为 2.25 和 25.61 ng·mg⁻¹, 肿瘤生长时间从 11.4 d 延长到 51.4 d, 加热对靶向性分布和药效的影响极为显著^[9]。Yarmolenko 等^[10]比较了多柔比星 TTL 在加热或不加热条件下 5 种肿瘤模型小鼠体内的靶向性分布和抗肿瘤药效。结果表明, 加热后肿瘤中的药物浓度提高了 4.7 倍~15.4 倍。由此可见, 热敏与靶向作用是密不可分的, 加热在触发释放的同时也提高了靶向性。

2.3 对肿瘤细胞的作用

同时必须指出的是, 加热本身就可以使肿瘤对化疗药物更加敏感, 并且有利于阻止肿瘤细胞 DNA 的自我修复^[11]。

2.4 热敏靶向脂质体与隐形脂质体的抗肿瘤效果比较

Wu 等^[11]比较了表柔比星 (epirubicin) 两种脂质体的抗肿瘤效果, 磷脂材料主要有 DPPC (1, 2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine)、MSPC (myristoyllyso-glycerophosphocholine)、DSPG (distearoylglycerophosphoglycerol) 和 HSPC (hydrogenated soy phosphatidylcholine)。这两种脂质体分别是 TTL (DPPC/MSPC/DSPG/DSPE-PEG2000 = 82 : 8 : 10 : 4, 摩尔比, 下同) 和 SL (HSPC/DSPG/胆固醇/DSPE-PEG2000 = 90 : 10 : 10 : 4)。两种脂质体膜的 T_m 分别为 42.76 °C 和 52.93 °C, 包封率与粒径均无明显差异。对 Lewis 肺癌小鼠的抗肿瘤结果表明, 表柔比星溶液、SL 和

TTL 的抑瘤率分别为 43.1%、39.6%和 61.1%。TTL 的抗肿瘤效果显著优于 SL。

3 释放药物的影响因素

3.1 DSPE-PEG2000 对热敏释放的影响 作为隐形材料, DSPE-PEG2000 在磷脂材料中的比例达到 5% 摩尔比即可产生足够的隐形修饰效果。Li 等^[12]考察了不同比例 DSPE-PEG2000 对热敏释放的影响。脂质体双分子层由 DPPC/DSPC (1, 2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine)/DSPE-PEG2000 按 80 : (20-x) : x (x= 1, 3, 4, 5, 6, 10) 摩尔比组成。结果表明, 改变 DSPE-PEG2000 比例对脂质体膜的 T_m 没有影响 (均为 43 °C), 对脂质体的粒径也没有明显影响 (75~84 nm)。当 DSPE-PEG2000 比例达到 10% 时, 脂质体对羧基荧光素 (carboxyfluorescein, CF) 的包封率显著下降, 达到 6% 以上脂质体在 37 °C 的泄漏明显增加, 并考察了温度 (37~45 °C) 对 TTL 在 90% 胎牛血清 (fetal calf serum, FCS) 中 CF 的释放度。综合比较结果表明, 含 5% 摩尔比 DSPE-PEG2000 的 TTL 释放性能最好。在 37 °C 几乎不释放; 随温度升高, 释放增加, 在 42 °C 释放最多最快 (1 min 内释放 62%, 1 h 内释放 98%); 当温度升温到 43~45 °C 时, 由于液晶相的均一化, 释放又明显下降。

3.2 溶血磷脂的影响 决定热敏释放的主要因素是脂质体膜材的选择。起初 TTL 主要选择相变温度为 41 °C 的 DPPC 作为膜材, 但其热敏释放性能不佳, 目前通过添加溶血磷脂 (lysolipid) 如 MSPC 来改善热敏释放性质。

Woo 等^[13]比较了 3 种不同磷脂组成的顺铂脂质体的释放性质。3 种脂质体分别为含溶血磷脂 MSPC 的 TTL (lysolipid-containing thermosensitive targeting liposomes, LTTL, 磷脂组成为 DPPC/MSPC/DSPE-PEG2000 = 90 : 10 : 4)、TTL (磷脂组成为 DPPC/DSPE-PEG2000 = 100 : 4) 和 SL (磷脂组成为 DPPC/胆固醇/DSPE-PEG2000 = 55 : 45 : 4)。体外释放表明, 在 42 °C 下 LTTL 于 5 min 内释放顺铂 95%, 在 30 min 内释放 100%; 而 TTL 在 5 min 内仅释放 70%, 在 60 min 内释放不到 95%; SL 几乎不释放。此外, 与 TTL 相比, 加入 MSPC 后还能减少 LTTL 在 37 °C 的释放。溶血磷脂增加热敏释放的机制: 当达到 T_m 时, 溶血磷脂在部分融化的固晶相边缘形成孔隙, 造成脂质体膜的通透性显著增加^[14]。

Banno 等^[15]进一步比较了含 5 种不同比例 MSPC 的多柔比星 LTTL 热敏释放性质。LTTL 的磷脂组成比例分别为 DPPC/MSPC/DSPE-PEG2000=90 : 10 : 4,

95 : 5 : 4, 97.5 : 2.5 : 4, 99 : 1 : 4 和 100 : 0 : 4。结果表明, 在 37 °C 时均不释放药物, 但在 42 °C 时释放相差很大, 以含 MSPC 10% 和 5% 的比例释放最完全, 当 MSPC 比例低于 5% 时, 药物的释放随 MSPC 比例减少而明显减少。

3.3 粒径对热敏释放的影响 Hossann 等^[16]考察了不同粒径 TTL 的释放性质。结果表明, 粒径对脂质体膜的 T_m 值没有影响, 但粒径越小, 释放越快, 提示 TTL 如果粒径分布太宽或在放置过程中粒径发生变化, 都有可能影响到其热敏释放性能。

4 新型热敏材料的研究进展

Hossann 等^[17]合成了一种新型的、同时具有隐形修饰和热敏释放功能的材料 DPPGOG (1, 2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphoglyceroglycerol)。并且比较了两种 TTL (TTL-1, DPPC/DSPC/DPPGOG = 50 : 20 : 30; TTL-2, DPPC/P-lyso-PC/DSPE-PEG2000 = 90 : 10 : 4) 中包封的荧光物质 (CF) 的热敏释放性能。其中 P-lyso-PC (1-palmitoyl-2-hydroxy-sn-glycero-3-phosphatidylcholine) 为一种溶血磷脂。TTL-1 和 TTL-2 的 T_m 分别为 42.4 °C 和 40.9 °C, 两者在 37 °C 的 FCS 中均比较稳定, 1 h 后仅释放 3.9% 和 2.9%。当温度达到 T_m 后均能迅速释放, 在 60 s 内 TTL-1 和 TTL-2 分别释放 75.7% 和 88.1%。

5 常用研究方法与技术

5.1 体外热敏释放研究 体外热敏释放研究往往采用荧光物质或有荧光的药物 (如多柔比星) 作为模型药物, 通常要考察热敏靶向脂质体在不同温度下 (尤其是 T_m 附近的温度) 以及在某一温度下不同时间的释放度。释放介质可以采用缓冲液或血清, 实验前需要预热到指定温度。

以 CF-TTL 的释放为例^[17], 取脂质体混悬液 20 μ L 与 2% Trion X-100 水溶液 200 μ L, 在 45 °C 混合 15 min, 取 20 μ L, 用 Tris 缓冲液 (pH 8.0) 稀释到 1 mL, 测定荧光强度 (E_x 493 nm/ E_m 513 nm) 作为 100% 释放值 I_∞ 。取 TTL 混悬液 20 μ L 与 FCS 200 μ L 混合, 在恒温振荡器中 (不同温度) 放置, 设定时间点后取出 20 μ L, 加入 Tris 缓冲液 980 μ L, 测定释放后的荧光强度 I_t 。释放度计算公式为 $CF = (I_t - I_0) / (I_\infty - I_0) \times 100\%$, 其中 I_0 为荧光强度的基线值。

另一种荧光物质钙黄绿素 (calcein) 也常作为考察 TTL 释放特性的模型药物, 其释放度测定方法与 CF 基本一致。为了防止钙离子导致钙黄绿素的淬灭, 在稀释用缓冲液中加入 2 mmol·L⁻¹ EDTA, 其测定波长为 E_x 490 nm/ E_m 515 nm^[18]。为了保证测定时间的

准确性, 取样后立即置于冰浴中冷却终止释放, 并在 4 °C 测定荧光强度^[19]。但是, 在测定指定温度下短时间内 (1 min) 的释放度时, 往往需要荧光分光光度计中自带恒温与搅拌装置, 能实现在线检测^[17]。

5.2 体外抗肿瘤实验 将肿瘤细胞在 96 孔板中孵育 24 h (37 °C, 5% CO₂), 每孔培养液 100 μL 中加入等体积的含 TTL 的培养液, 密闭, 在 37 °C 或 42 °C 水浴放置 15 min, 再培养细胞 24 h 后测定细胞活力^[20]。根据具体实验的要求, 加热温度和时间可以改变, 也有在 45 °C 放置 5 min 的报道^[21]。

5.3 体内抗肿瘤实验 Wu 等^[11]采用皮下接种 Lewis 肺癌小鼠考察 TTL 的抗肿瘤效果。取接种后 10 d、肿瘤体积为 7 mm×7 mm 的荷瘤小鼠进行实验。给药方案为腹腔注射 50 mg·kg⁻¹ 剂量苯巴比妥麻醉后, 静脉注射表柔比星 TTL 等制剂, 注射后立即将肿瘤部位浸没在 43 °C 水浴中 30 min, 每两天给药 1 次, 初次给药后第 9 天结束实验。必须指出的是, 为了保证肿瘤部位加热的效果, 需要提前麻醉动物。

为了保证加热温度的准确性, 也有报道^[10]指出, 水浴温度应该比设定的肿瘤加热温度高 1 °C, 同时监测动物的肛温是否保持在正常范围。

6 热敏靶向脂质体的临床研究

由 Celsion 公司开发的多柔比星热敏靶向脂质体 (商品名 ThermoDox[®]) 目前已经进入临床试验阶段 (治疗肝癌、前列腺癌和乳腺癌等)。ThermoDox[®] 的磷脂组成为 DPPC/P-lyso-PC/DSPE-PEG2000 = 90 : 10 : 4, 具有良好的热敏释药性质。在 41.3 °C 时能在 20 s 内释放 100% 药物, 临床试验结果表明, 其具有很好的耐受性, 最大耐受剂量为 0.93 mg·kg⁻¹^[22]。该产品被用于治疗中型 (3.1~5.0 cm) 或大型 (>5 cm) 肝脏肿瘤, 静脉滴注 30 min 给药, 在给药完成时血药浓度达到最高峰, 同时通过皮下或手术方法对肿瘤加热, 治疗结果良好, 并且表现出明显的量效关系^[23]。

7 存在的问题

TTL 存在的主要问题包括: ① 热敏材料是制备 TTL 的基础。目前的热敏材料普遍采用合成磷脂, 虽然稳定性好, 但品种少且价格昂贵, 限制了其推广使用。② TTL 必须与临床对肿瘤加热的装置合并使用, 但目前在前期研究中对临床加热条件的限制考虑较少, 条件不相匹配, 例如临床普遍应用的射频消融技术加热肿瘤温度普遍在 50 °C 以上, 明显高于 TTL 设定的释放温度。③ TTL 对粒径的要求比较高, 现有的制备工艺还不能完全保证粒径的均一化和重现性, 也会影响到 TTL 的肿瘤靶向效果。

此外, 通过隐形修饰 (属于主动靶向修饰) 达到靶向效果的 TTL 主要依赖于 EPR 效应靶向传递进入肿瘤部位, 但这种依赖于肿瘤自身结构的靶向作用还很不可靠, 因为各种肿瘤之间的血管壁通透性相差很大, 造成了目前实验报道的结果也存在很大差异。此外, 隐形修饰目前还存在多次注射丧失长循环效果的 ABC (accelerated blood clearance) 现象^[24], 不能完全保证靶向传递效果。

8 研究新动向

8.1 结合新型靶向技术 目前在 TTL 研究中已经出现利用抗体进行靶向修饰的报道^[18]。也有报道结合磁性靶向技术, 即根据磁性粒子在磁场作用下产生热量的原理, 将磁性粒子包裹进入 TTL, 实现双靶向 (磁敏 + 热敏) 进一步提高靶向分布的效果, 并且通过磁场触发释放, 在此基础上还可以再采用叶酸等主动靶向配体修饰同时实现对肿瘤细胞的主动靶向^[25]。

8.2 采用复合磷脂组成 为了进一步提高 TTL 的稳定性, 有研究报道在 DPPC 为基础的脂质体膜材中添加一定比例相变温度更高 (56 °C) 的 DSPC, 发现对相变温度没有显著影响。例如, 磷脂组成为 DPPC/DSPC/胆固醇/DSPE-PEG2000 = 67 : 15 : 13 : 5 的 TTL 测定其相变温度为 41.5 °C^[19], 与 DPPC 的相变温度几乎没有差别, 但加入 DSPC 对热敏释放性能的具体影响和最适用量还未见报道。此外, 也有将相变温度更低的天然磷脂与 DPPC 混合使用制备 TTL 的报道^[26]。

References

- [1] Koning GA, Eggermont AMM, Linder LH, et al. Hyperthermia and thermosensitive liposomes for improved delivery of chemotherapeutic drugs to solid tumors [J]. *Pharm Res*, 2010, 27: 1750-1754.
- [2] Newman MS, Colbern GT, Working PK, et al. Comparative pharmacokinetics, tissue distribution, and therapeutic effectiveness of cisplatin encapsulated in long-circulating, pegylated liposomes (SPI-077) in tumor-bearing mice [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 1999, 43: 1-7.
- [3] Harrington KJ, Lewanski CR, Northcote AD, et al. Phase I-II study of pegylated liposomal (SPI-077) in patients with inoperable head and neck cancer [J]. *Ann Oncol*, 2001, 12: 493-496.
- [4] Judson I, Radford JA, Harris M, et al. Randomised phase II trial of pegylated liposomal doxorubicin (DOXIL/CALYX) versus doxorubicin in the treatment of advanced or metastatic

- soft tissue sarcoma: a study by the EORTC soft tissue and bone sarcoma group [J]. *Eur J Cancer*, 2001, 37: 870–877.
- [5] Laginha KM, Verwoert S, Charrois GJR, et al. Determination of doxorubicin levels in whole tumor and tumor nuclei in murine breast cancer tumors [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11: 6944–6949.
- [6] Gabizon A, Shmeeda H, Barenholz Y. Pharmacokinetics of pegylated liposomal doxorubicin: review of animal and human studies [J]. *Clin Pharmacokinet*, 2003, 42: 419–436.
- [7] Lindner LH, Hossann M. Factors affecting drug release from liposomes [J]. *Curr Opin Drug Discov Devel*, 2010, 13: 111–123.
- [8] Chen Q, Krol A, Wright A, et al. Tumor microvascular permeability is a key determinant for antivasular effects of doxorubicin encapsulated in a temperature sensitive liposome [J]. *Int J Hyperthermia*, 2008, 24: 475–482.
- [9] Kong G, Anyarambhatla G, Petros WP, et al. Efficacy of liposomes and hyperthermia in a human tumor xenograft model: importance of triggered drug release [J]. *Cancer Res*, 2000, 60: 6950–6957.
- [10] Yarmolenko PS, Zhao YL, Landon C, et al. Comparative effects of the thermosensitive doxorubicin-containing liposomes and hyperthermia in human and murine tumours [J]. *Int J Hyperthermia*, 2010, 26: 485–498.
- [11] Wu Y, Wang Y, Zhang FC, et al. Epirubicin-encapsulated long-circulating thermosensitive liposome improves pharmacokinetics and antitumor therapeutic efficacy in animals [J]. *J Liposome Res*, 2010, DOI:10.3109/08982104.2010.520273.
- [12] Li L, Hagen TLM, Schipper D, et al. Triggered content release from optimized stealth thermosensitive liposomes using mild hyperthermia [J]. *J Control Release*, 2010, 143: 274–279.
- [13] Woo J, Chiu GNC, Karlsson G, et al. Use of a passive equilibration methodology to encapsulate cisplatin into performed thermosensitive liposomes [J]. *Int J Pharm*, 2008, 349: 38–46.
- [14] Mills JK, Needham D. Lysolipid incorporation in dipalmitoylphosphatidylcholine bilayer membranes enhances the ion permeability and drug release rates at the membrane phase transition [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2005, 1716: 77–96.
- [15] Banno B, Ickenstein LM, Chiu GNC, et al. The functional roles of poly(ethylene glycol)-lipid and lysolipid in the drug retention and release from lysolipid-containing thermosensitive liposomes *in vitro* and *in vivo* [J]. *J Pharm Sci*, 2010, 99: 2295–2308.
- [16] Hossann M, Wang T, Wiggenhorn M, et al. Size of thermosensitive liposomes influences content release [J]. *J Control Release*, 2010, 147: 436–443.
- [17] Hossann M, Wiggenhorn M, Schwerdt A, et al. *In vitro* stability and content release properties of phosphatidylglycerol containing thermosensitive liposomes [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1768: 2491–2499.
- [18] Kullberg M, Mann K, Owens JL. A two-component drug delivery system using Her-2-targeting thermosensitive liposomes [J]. *J Drug Target*, 2009, 17: 98–107.
- [19] Djanashvili K, ten Hagen TL, Blange R, et al. Development of a liposomal delivery system for temperature-triggered release of a tumor targeting agent, Ln(III)-DOTA- phenylboronate [J]. *Bioorg Med Chem*, 2011, 19: 1123–1130.
- [20] Lindner LH, Hossann M, Vogeser M, et al. Dual role of hexadecylphosphocholine (miltefosine) in thermosensitive liposomes: active ingredient and mediator of drug release [J]. *J Control Release*, 2008, 125: 112–120.
- [21] Kono K, Ozawa T, Yoshida T, et al. Highly temperature-sensitive liposomes based on a thermo block copolymer for tumor-specific chemotherapy [J]. *Biomaterials*, 2010, 31: 7096–7105.
- [22] Hauck ML, LaRue SM, Petros WP, et al. Phase I trial of doxorubicin-containing low temperature sensitive liposomes in spontaneous canine tumors [J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12: 4004–4010.
- [23] Poon RTP, Borys N. Lyso-thermosensitive liposomal doxorubicin: a novel approach to enhance efficacy of thermal ablation of liver cancer [J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2009, 10: 333–342.
- [24] Xu H, Wang KQ, Huang WW, et al. Recent advances in the study of accelerated blood clearance phenomenon of PEGylated liposomes [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2010, 45: 677–683.
- [25] Pradhan P, Giri J, Rieken F, et al. Targeted temperature sensitive magnetic liposomes for thermo-chemotherapy [J]. *J Control Release*, 2010, 142: 108–121.
- [26] Morita K, Zywiets F, Kakinuma K, et al. Efficacy of doxorubicin thermosensitive liposomes (40 °C) and local hyperthermia on rat rhabdomyosarcoma [J]. *Oncol Rep*, 2008, 20: 365–372.