

# 纳米技术识别和调控肿瘤微环境用于肿瘤诊疗的研究进展

丁艳萍<sup>†</sup>, 季天骄<sup>†</sup>, 宋晓, 聂广军<sup>\*</sup>

国家纳米科学中心, 中国科学院纳米生物效应与安全性重点实验室, 北京 100190

<sup>†</sup> 同等贡献

<sup>\*</sup> 联系人, E-mail: niegj@nanoctr.cn

2012-11-27 收稿, 2013-01-31 接受, 2013-06-06 网络版发表

国家重点基础研究发展计划(2012CB934000)资助

**摘要** 肿瘤是由肿瘤细胞及其周围的基质细胞和非细胞组分构成的复合体. 肿瘤微环境在肿瘤的生长与转移过程中发挥至关重要的作用, 因此越来越多的研究致力于探索靶向或调控肿瘤微环境的诊断试剂和治疗药物. 新兴的纳米技术为肿瘤的精确定位和早期诊断、靶向、长效和联合治疗提供了重要的研发平台, 为克服传统药物非特异性靶向和非选择性损伤机体组织的瓶颈问题提供了可能. 本文概述了肿瘤微环境的组成、特性及关键调控因子, 总结了目前针对肿瘤微环境的抗肿瘤药物研究进展, 阐述了靶向型和调控型纳米材料诊断肿瘤微环境的最新进展, 同时对靶向和调控肿瘤微环境的纳米材料在肿瘤治疗方面的应用进行综述. 提高纳米药物和诊断试剂的特异性及诊疗一体化, 将是未来的重要发展方向之一.

## 关键词

纳米技术  
肿瘤  
微环境  
诊断  
治疗

肿瘤并不是一个孤岛, 而是由肿瘤细胞、多种基质细胞以及细胞外基质构成的有机体. 肿瘤细胞是核心, 其周围的细胞及非细胞组分构成“肿瘤微环境”, 它们与肿瘤细胞相互作用, 对肿瘤生长和转移及抗癌药物疗效等方面有重要的影响<sup>[1,2]</sup>. 一百多年前, Paget<sup>[3]</sup>即提出肿瘤“种子与土壤”的假说: 肿瘤细胞作为“种子”, 其发生和转移依赖于周围的微环境“土壤”. 尽管如此, 人们对肿瘤细胞的研究和认识要远远多于肿瘤微环境, 抗癌药物和肿瘤诊断试剂的研发也多数靶向肿瘤细胞. 但肿瘤细胞具有异质性, 易发生基因突变和表观遗传变化, 引发耐药性. 而微环境细胞组成稳定, 有固定的特化方向, 易受环境因素影响, 不易产生抗药性, 逐渐引起研究者的关注. 因此, 抑制肿瘤微环境能在一定程度上遏制肿瘤进展, 并增强传统疗法的疗效. 目前, 同时靶向肿瘤细胞及多种微环境细胞的不同组合疗法越来越被倡导,

已成为新的肿瘤诊疗的趋势. 同时, 纳米技术的快速发展则为肿瘤的早期诊断和靶向、长效和联合治疗提供了良好的平台, 针对肿瘤细胞及其微环境的纳米药物和诊断试剂的研发, 将为肿瘤的诊疗方法提供新思路. 本文将重点介绍肿瘤微环境的基本特征, 回顾靶向肿瘤微环境的纳米药物和诊断试剂的研究进展, 并简要总结该领域的发展前景.

## 1 肿瘤微环境的基本特征

肿瘤微环境主要由细胞外基质、成纤维细胞、血管/淋巴管和免疫细胞组成, 它们与肿瘤细胞相互作用, 共同促进肿瘤的生长与转移. 肿瘤细胞通过分泌生长因子和蛋白酶等, 作用于微环境, 被“驯化”的微环境细胞则回馈肿瘤细胞, 使肿瘤组织代谢具有组织缺氧、酸中毒、组织间高液压、大量生长因子和蛋白水解酶的产生及免疫炎症反应等特性<sup>[4-6]</sup>. 深入了

**引用格式:** 丁艳萍, 季天骄, 宋晓, 等. 纳米技术识别和调控肿瘤微环境用于肿瘤诊疗的研究进展. 科学通报, 2013, 58: 2436-2448

Ding Y P, Ji T J, Song X, et al. Applications of nanotechnology in targeting and regulating the tumor microenvironment (in Chinese). Chin Sci Bull (Chin Ver), 2013, 58: 2436-2448, doi: 10.1360/972012-1633

解肿瘤微环境的基本特征及微环境与肿瘤细胞的相互作用, 将为抗肿瘤药物和诊断试剂的研发提供有力的理论基础。

### 1.1 细胞外基质

细胞外基质(extracellular matrix, ECM)由蛋白、糖蛋白、蛋白聚糖和多糖等多种组分构成, 它们在上皮和内皮周围形成基底膜, 并在细胞间形成间质, 既为各组织提供结构支撑, 又作为细胞间信息的传递者。已被广泛研究的细胞外基质主要包括胶原蛋白、层粘连蛋白、纤连蛋白和硫酸乙酰肝素蛋白聚糖等<sup>[7]</sup>。在正常组织和发育过程中, 细胞外基质被严格调控, 其中的连接蛋白和黏附蛋白使细胞间紧密接触, 维持组织和器官稳态; 而在肿瘤组织中, 某些胞外基质调控酶的表达或功能变化导致细胞外基质重构异常, 影响细胞的迁移和侵袭, 并通过释放细胞外基质中包裹的生长因子激活其信号通路, 促进肿瘤发生和恶性进展<sup>[8]</sup>。

细胞外基质重构主要受基质降解酶调控, 如基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)、丝氨酸/半胱氨酸蛋白酶等<sup>[9]</sup>。细胞外基质降解是肿瘤新生血管生成、肿瘤细胞侵袭和转移的必要条件。MMP在肿瘤进展中发挥关键的调控作用, 几乎能降解细胞外基质中的各种蛋白。MMP-9和MMP-3被发现通过降解某些蛋白(如E-cadherin等)促进肿瘤细胞增殖和上皮-间质转化(epithelial mesenchymal transition, EMT)<sup>[10,11]</sup>; MMP-7通过水解某些促凋亡因子(如Fas配体等)抑制肿瘤细胞凋亡<sup>[12]</sup>; 多种MMP(如MMP-2和MMP-9等)通过降解胞外基质为肿瘤细胞和基质细胞迁移开辟路径, 并释放血管新生相关生长因子和抑制因子, 打破血管生成平衡, 促进肿瘤血管新生<sup>[13]</sup>; MMP-9还能调控肿瘤组织中骨髓细胞介导的血管从头生成过程<sup>[14]</sup>; 多种MMP还可以影响血管通透性和稳定性, 介导转移灶形成<sup>[15,16]</sup>, 并参与肿瘤淋巴管生成和淋巴转移过程<sup>[17,18]</sup>。

整合素(integrin)是细胞外基质与细胞间信息的传递者, 该家族成员是一类由 $\alpha$ 和 $\beta$ 亚基组成的异二聚体, 在肿瘤细胞及血管内皮细胞表面高表达, 也影响某些免疫细胞和成纤维细胞的功能。作为黏附分子和多种蛋白的受体, 整合素通过介导细胞间、细胞与胞外基质间的相互作用, 以及胞外基质分子的信号转导过程, 影响细胞迁移、分化和生存<sup>[19,20]</sup>。多数

肿瘤组织中的整合素表达和功能异常, 在肿瘤转移的各阶段均发挥重要作用<sup>[21~24]</sup>。整合素 $\alpha_v\beta_3$ 、 $\alpha_v\beta_5$ 和 $\alpha_5\beta_1$ 等被发现特异表达于新生血管表面, 调控肿瘤血管新生, 靶向这些分子的抗体和肽段能明显降低肿瘤血管密度和肿瘤进展, 相关的药物研发目前已进入临床试验阶段<sup>[25,26]</sup>; 肿瘤细胞表面的整合素通过激活下游的黏着斑激酶引起下游多条信号通路变化, 在肿瘤细胞迁移过程中调节细胞的突出和黏附<sup>[27,28]</sup>; 整合素还能介导多种基质降解酶如MMP和尿激酶型纤溶酶原激活物(uPA)的表达, 影响肿瘤细胞侵袭<sup>[29]</sup>。

### 1.2 成纤维细胞

成纤维细胞是肿瘤微环境与肿瘤细胞间的重要调控者。正常组织中的成纤维细胞处于静息状态, 而在肿瘤组织中, 肿瘤细胞能分泌多种生长因子如转化生长因子(transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )和血小板源生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)等, 使成纤维细胞激活并分化为成肌纤维细胞(myofibroblast), 其形态和功能均发生改变, 通常又被称为肿瘤相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblast, CAF)<sup>[30~32]</sup>。CAF呈梭形, 大量增殖, 并特异高表达 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA)、成纤维细胞激活蛋白(fibroblast activation protein, FAP)和血小板源生长因子受体(platelet-derived growth factor receptor, PDGFR)等<sup>[33~35]</sup>。CAF是肿瘤微环境中生长因子、趋化因子、胞外基质蛋白和基质降解酶的主要来源, 它通过分泌多种胞外基质组分(如生腱蛋白等)促进肿瘤细胞迁移<sup>[36]</sup>, 通过表达丝氨酸蛋白酶、纤维酶原激活物和MMP等水解并重构胞外基质<sup>[37,38]</sup>, 并产生多种生长因子和细胞因子等促进肿瘤细胞的生存与侵袭<sup>[39]</sup>。除肿瘤细胞外, CAF还能表达多种细胞因子和蛋白酶, 如血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemotactic protein-1, MCP-1)和MMP等, 作用于微环境中的其他细胞如内皮细胞、免疫细胞等, 促进血管新生或炎症反应, 间接影响肿瘤的生长与转移<sup>[40,41]</sup>。

### 1.3 血管/淋巴管

肿瘤微环境中含有丰富的血管和淋巴管, 它们分别为肿瘤组织提供营养和排除废物。当肿瘤生长

至直径大于 1~2 mm 时,单靠组织渗透已不能满足肿瘤细胞对营养和氧气的需要,必须诱发新生血管,为肿瘤生长提供养料,并为远端转移提供路径<sup>[42]</sup>.肿瘤内部的血管主要来源于新生血管,即从已有血管的基础上出芽生长出的新血管,也有部分由骨髓来源细胞或肿瘤干细胞分化而成,存在于几乎所有的原发瘤及转移灶中<sup>[43~45]</sup>.肿瘤血管主要由内皮细胞、周细胞和基底膜构成,内皮细胞构成血管管腔的主体,周细胞为内皮细胞提供生长信号和结构支撑<sup>[46]</sup>.血管新生过程复杂,由多种细胞和生长因子参与:原有血管周围包被的周细胞脱离,血管膨胀,基底膜和细胞外基质降解,血管内皮细胞受血管生成调控因子影响迁移并增殖,松散排列的内皮细胞黏附形成管腔,继而被重新形成的基底膜和周细胞包被,小血管之间相互融合构成新的血管系统<sup>[43]</sup>.与生理状态相比,肿瘤内部的血管生成促进因子和抑制因子平衡紊乱,启动血管生成“开关”,新生血管不断生成,血管形状、重构、成熟及稳定性也发生改变,且血流缓慢<sup>[43,47,48]</sup>.肿瘤细胞产生的大量促血管生成因子如 VEGF-A、成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)、PDGF 和血管生成素(angiopoietin)等,能促进内皮细胞增殖、迁移、生存和分化,增强血管通透性,并通过表达蛋白酶降解基底膜和细胞外基质<sup>[49~52]</sup>;肿瘤细胞分泌的 PDGF, angiopoietin 和 TGF 等还能作用于周细胞,影响血管成熟及完整性<sup>[53]</sup>;而血管内皮抑制素(endostatin)、血管抑素(angiostatin)和肿瘤抑素(tumstatin)等抑制因子则阻碍内皮细胞功能<sup>[54~56]</sup>.

肿瘤淋巴管由单层淋巴内皮细胞组成,被不连续的基底膜包裹,其外周无周细胞或平滑肌细胞支撑<sup>[57]</sup>.淋巴管独特的结构为肿瘤侵袭提供了有利条件,大量研究表明,淋巴管生成在肿瘤淋巴结转移和远端转移过程中发挥重要作用<sup>[58]</sup>.肿瘤淋巴管生成由肿瘤细胞及多种基质细胞分泌的生长因子调控,以 VEGF-C 和 VEGF-D 作用最显著,它们均识别淋巴内皮细胞表面的血管内皮生长因子受体-3(vascular endothelial growth factor receptor-3, VEGFR-3)<sup>[59]</sup>.当用蛋白或抗体阻碍 VEGFR-3 信号通路时,肿瘤淋巴管生成和淋巴转移均被抑制<sup>[60]</sup>.此外,VEGF-A, angiopoietin 和 PDGF-BB 等也均被报道能促进肿瘤淋巴管生成,而 endostatin 则可以抑制淋巴管生成和淋巴转移<sup>[61~63]</sup>.

## 1.4 免疫细胞

肿瘤微环境中的免疫细胞组成复杂,在肿瘤进展的各阶段发挥不同的作用.适应性免疫细胞如 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> T 细胞通常有助于肿瘤的预后<sup>[64]</sup>.先天免疫细胞绝大部分来源于骨髓,由肿瘤分泌的趋化性因子如单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemotactic protein-1, MCP-1)、胎盘生长因子(placental growth factor, PlGF)和基质衍生因子(stromal cell-derived factor, SDF)等招募至肿瘤组织,进一步分化为巨噬细胞、树突状细胞、中性粒细胞、肥大细胞、自然杀伤细胞、淋巴细胞和髓源性抑制细胞等多种类型,其中以巨噬细胞在肿瘤组织中数量最多,对肿瘤调控作用最显著<sup>[65]</sup>.肿瘤相关免疫细胞是一把“双刃剑”,既能作为“M1 型”细胞,识别肿瘤抗原,吞噬或杀伤肿瘤细胞<sup>[66]</sup>;又可以被肿瘤微环境“驯化”为“M2 型”细胞,引发免疫耐受,这些细胞能产生高浓度的活性氧和氮化物,作用于 DNA,导致表皮细胞及周围正常细胞发生基因突变<sup>[67]</sup>,并通过产生大量的生长因子(如 VEGF, FGF 和 TGF)、炎性因子(如肿瘤坏死因子 TNF- $\alpha$  和白介素 interleukin)和蛋白酶(如 MMP 和环氧合酶 cyclooxygenase)等,刺激肿瘤细胞的增殖和迁移能力,降解基底膜,促进肿瘤侵袭,并诱发血管新生<sup>[68]</sup>.免疫细胞与炎症反应普遍存在于绝大多数肿瘤中,其中胰腺癌、肝癌、宫颈癌和结直肠癌等多种癌症主要由炎症进展产生.

## 1.5 转移微环境

不同类型的肿瘤细胞转移具有一定的器官偏好性,例如黑色素瘤易发生肺转移,结直肠癌易转移至肝,乳腺癌在肺、骨骼和脑中均易被检测到转移灶,这说明不同肿瘤细胞适应的转移微环境各异,因此鉴定转移微环境的变化有助于寻找抑制肿瘤转移的新靶点<sup>[69]</sup>.研究表明,在肿瘤细胞转移前,一些肿瘤转移偏好组织处的微环境已经产生变化,多种细胞因子和蛋白酶表达改变,导致骨髓细胞招募和血管通透性增强,为肿瘤细胞着陆提供合适的“前转移微环境”.例如, Hiratsuka 等人<sup>[70]</sup>发现肺组织中的 MMP-9 在肿瘤转移前表达升高; Kaplan 等人<sup>[71]</sup>研究表明,骨髓来源的 VEGFR-1 阳性细胞在肿瘤细胞转移前,即被招募至肿瘤偏好的远端器官处,并创造适宜的前转移微环境; Huang 等人<sup>[16]</sup>报道在黑色素瘤转移前,肺中的 angiopoietin-2, MMP-3 和 MMP-10 表达

上调, 血管通透性增加, 导致肿瘤细胞的浸润和生存能力增强。

## 2 针对肿瘤微环境的药物研发进展

鉴于肿瘤微环境在肿瘤生长与转移过程中的重要作用, 越来越多的研究致力于寻找肿瘤微环境中的新靶点, 随之出现的肿瘤微环境靶向药物也与日俱增, 主要包括蛋白、抗体和小分子化疗药等。

抗新生血管生成药物的研发是一个热点, 它们与化疗联用, 已在临床上取得一定进展<sup>[1]</sup>。贝伐单抗 (bevacizumab), 即抗 VEGF-A 的单克隆抗体, 是美国第一个获批上市的抗肿瘤血管新生药物, 用于治疗结肠癌、肺癌、乳腺癌、神经胶质瘤和肾癌; 舒尼替尼 (sunitinib) 靶向受体酪氨酸激酶, 通过抑制 VEGFR、血小板源生长因子受体 (PDGFR)、干细胞因子受体 (KIT) 和 Fms 样酪氨酸激酶 3 (FLT3) 影响血管新生; 索拉非尼 (sorafenib) 为多激酶抑制剂, 通过抑制 Raf, VEGFR, PDGFR, FLT-3 和 KIT 能同时抑制肿瘤细胞增殖和血管新生, 已应用于肾癌和肝癌<sup>[72]</sup>; 重组人血管内皮抑制素 (endostatin) 是首个内源性血管抑制剂类药物, 阻碍内皮细胞的增殖、迁移并诱导凋亡<sup>[73,74]</sup>, 已被中国 CFDA 批准为晚期非小细胞肺癌的一线治疗药物。

此外, 科学家们也不断寻找影响和调控细胞外基质、成纤维细胞和免疫细胞等其他微环境组分的方法。靶向肿瘤细胞和血管内皮细胞表面整合素的西仑吉肽 (cilengitide), 通过阻断整合素与细胞外基质的相互作用, 抑制肿瘤生长和新生血管生成, 目前正在多种肿瘤模型中进行临床试验<sup>[75]</sup>。与舒尼替尼类似, 伊马替尼 (imatinib) 也靶向受体酪氨酸激酶, 除新生血管外, 它们还能抑制高表达此类激酶的成纤维细胞和周细胞等<sup>[76]</sup>。

然而, 以上提到的抗肿瘤药物多为小分子, 即使是抗体类药物, 在体内循环过程中也通常会被某些水解酶降解, 致使它们在生物体内的半衰期较短, 甚至到达肿瘤部位时其剂量不够对肿瘤造成威胁。因此, 科研人员希望借助一种载体将药物特异带到肿瘤部位, 使药物在肿瘤部位富集并释放, 从而不损伤正常组织, 同时延长药物在体内的半衰期。此外, 目前临床上应用的肿瘤诊断方法主要针对肿瘤细胞及其分泌物, 而以肿瘤微环境为基础的肿瘤诊断尚缺乏广泛应用。面对这两个关键的难题, 纳米技术体现

了它的独特作用。下面我们将简单介绍纳米技术针对肿瘤微环境, 进行诊断和治疗的一些代表性工作。

## 3 纳米材料在肿瘤诊断方面的应用

肿瘤诊断是肿瘤治疗的前提, 选择合适的诊断剂, 将肿瘤可视化, 精确定位肿瘤及其扩散范围, 对于肿瘤治疗具有重要的意义。由于纳米可谓是宏观与微观的纽带, 在纳米尺度上开发新型诊断剂是一个极具前景的研究。用于诊断肿瘤的纳米材料通常被称为肿瘤纳米探针 (nanoprobe), 目前用于肿瘤成像的纳米探针主要分为两类, 一类是通过靶向肿瘤微环境的受体实现诊断, 另一类则是通过对肿瘤微环境的响应, 被肿瘤微环境激活, 从而实现对肿瘤的诊断。预计在未来, 纳米材料对肿瘤的诊断将集成更多的功能, 以其更特异的靶向性和更敏感的反应性, 实现对肿瘤的精确定位及早期检测<sup>[77]</sup>。

### 3.1 靶向型纳米材料对肿瘤微环境的诊断

肿瘤靶向包括“被动靶向”和“主动靶向”。被动靶向通常是利用肿瘤血管的高通透性和高滞留效应 (enhanced permeability and retention, EPR)<sup>[78,79]</sup>, 使一定尺度的纳米粒子可以在肿瘤部位富集; 主动靶向则是将靶向基因 (如小分子、肽和抗体) 充当配体, 共价连接或吸附在纳米材料的表面, 促进纳米材料与肿瘤基质细胞高表达的受体结合<sup>[79]</sup>, 从而实现信号的特异性富集。

核磁共振成像 (magnetic resonance imaging, MRI) 是一种临床常用的成像手段, 其与纳米技术结合, 已经取得了一定的进展。Harisinghani 等人<sup>[80]</sup>利用修饰了右旋糖酐的超顺磁氧化铁纳米粒子 (superparamagnetic iron oxide nanoparticles, SPIONs) 在淋巴结处的累积, 实现了对前列腺癌的节点诊断; Sugahara 等人<sup>[81]</sup>则将 SPIONs 连接环肽 iRGD (CRGDKGPDC), 使其能够与高表达整合素  $\alpha_v\beta_3/\beta_5$  的肿瘤新生血管结合, 从而实现生物体内肿瘤的特异成像; 钆 (gadolinium), 也是一种常用的 MRI 造影剂, 同样可以被整合到在功能性的纳米材料上, Crich 等人<sup>[82]</sup>将钆加载到去铁铁蛋白的纳米空腔中, 以此作为探针, 在肿瘤新生血管部位产生很好的磁共振信号。

X 射线断层扫描 (CT) 技术也是生物成像的重要工具, 但是其造影剂碘、金或铋在体内的半衰期较短。若将这些造影剂制备成纳米粒子, 将其表面修饰上

相应的靶向基团,可以增强它在肿瘤部位的富集,减少用量,提高成像对比度.具有靶向肿瘤细胞及肿瘤淋巴管的环肽 LyP-1(CGKTRTRGC)已经被用于增加铋硫化物( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ )纳米粒子在高表达细胞表面受体 p32 的肿瘤组织的富集<sup>[83]</sup>,它能产生足够的对比度以提供定量和高保真 CT 图像,注射一个星期内都可以检测出较强的信号.

此外,正电子发射断层扫描(positron emission tomography, PET)也逐渐与肿瘤诊断相结合.肿瘤新生血管表面特异高表达 CD105, Hong 等人<sup>[84]</sup>最近报道,将氧化石墨烯(graphene oxide, GO)与 CD105 的抗体结合,可特异标记肿瘤血管,对肿瘤进行靶向定位,再将  $^{64}\text{Cu}$  螯合剂连接到 GO 上,便可以通过配位作用螯合  $^{64}\text{Cu}$ ,这种基于 GO 的纳米材料即可在肿瘤部位产生 PET 信号,从而实现肿瘤的诊断.

同时科学家们致力于设计具有双重造影功能的纳米材料,即集两种成像技术于一体,为肿瘤诊断提供更准确和完整的信息,降低误诊概率.近红外荧光(near-infrared fluorescence, NIRF)成像和 PET 成像通常是一对默契的组合<sup>[85,86]</sup>.Chen 课题组<sup>[87]</sup>将去铁铁蛋白的外表面连接了肿瘤靶向的多肽 RGD4C 和近红外的荧光染料 Cy5.5,再将  $^{64}\text{Cu}$  加载到去铁铁蛋白的内腔,以此利用 RGD4C 将材料靶向到肿瘤部位,并分别利用 NIRF 成像和 PET 成像技术对肿瘤进行定位.尽管成像效果还需进一步提高,但此设计可以为肿瘤的诊断方法提供新的思路.

### 3.2 响应型纳米材料对肿瘤微环境的诊断

基于纳米技术的肿瘤诊断,除了靶向成像外,另一种策略是设计“可激活”的纳米探针,这类探针在生物体的全身循环中处于静息状态,一旦到达肿瘤部位,它们就会被肿瘤特异的微环境特征激活,从而产生信号.

肿瘤微环境通常体现为乳酸水平增加,细胞外基质的 pH 较低<sup>[79]</sup>.Crayton 等人<sup>[88]</sup>将乙二醇壳聚糖连接到 SPIONs 的表面作为 MRI 的造影剂诊断肿瘤,此纳米粒子具有 pH 响应的外表面,在正常体内循环中,纳米粒子不带电荷,一旦接触到肿瘤组织的微酸性环境,其表面将带正电荷,带正电的纳米粒子会在肿瘤部位与肿瘤细胞发生作用,使粒子在肿瘤部位更多积累,从而加强了 MRI 的信号.

某些蛋白酶的过度表达也是肿瘤的一个特征,

同样可以用来设计响应型材料用于诊断肿瘤的发生<sup>[89]</sup>.基质金属蛋白酶(MMPs)就是目前被应用较为广泛的肿瘤标志物,有很多纳米探针也围绕 MMPs 而设计<sup>[89-93]</sup>.Chen 课题组<sup>[89]</sup>利用拆卸/重组去铁铁蛋白,设计合成了一种同时连有荧光基团(Cy5.5)和淬灭剂(BHO-3)的杂合去铁铁蛋白,其中荧光基团是通过一段 MMP 酶的底物肽段连接到蛋白表面的,以此作为纳米探针检测肿瘤.由于能量共振转移效应,在正常状态下,连接在蛋白表面的 Cy5.5 处于被淬灭的状态,当探针到达 MMP 酶丰富的肿瘤部位(MMP-2, -9, -13, -14 和 -16)时,连接荧光基团的多肽被 MMP 酶切断,导致 Cy5.5 从蛋白表面脱离,恢复荧光,从而产生信号,这个探针的实用性在头颈鳞状细胞癌异种移植瘤模型中得到了验证.

## 4 纳米材料针对肿瘤及其微环境的抗肿瘤策略

基于纳米材料靶向肿瘤的治疗涉及多种途径,从传统的小分子药物(阿霉素、紫杉醇等)到生物分子(治疗性抗体或核酸等),以至利用纳米颗粒本身的光热效应杀伤肿瘤,都已有相关工作报道.将药物加载到纳米粒子内部或修饰到表面,以纳米粒子为载体进入生物体内,比起单纯的将药物分子直接用于生物体具有很多优势,例如可以增加靶向性<sup>[79]</sup>,加强感应性<sup>[94,95]</sup>,延长半衰期<sup>[77]</sup>等.纳米材料还可以提供更复杂的运载系统,可同时运载多种药物<sup>[96-100]</sup>,这在此前的工作中已经验证,Wang 等人<sup>[99]</sup>利用 mPEG-PLGA 纳米粒子同时运载抗肿瘤的亲水性药物阿霉素和输水性药物紫杉醇,纳米体系可较好地进入肿瘤细胞,达到远好于单种药物治疗的效果(图 1).

利用纳米材料载带药物不仅是一种新的治疗肿瘤的策略,也是一个重要的革新,可以大大增加抗肿瘤药物的疗效.同时,不将肿瘤细胞孤立,调节肿瘤微环境来抑制肿瘤,是纳米技术在肿瘤治疗领域的新方向.

### 4.1 纳米材料靶向肿瘤微环境的策略

肿瘤治疗的关键是精确引导纳米材料到达肿瘤微环境中的特定细胞或非细胞组分,这通常需要对纳米材料进行特异的化学或生物修饰.肿瘤基质细胞通常过量或特异表达某些细胞表面分子和分泌因子<sup>[77]</sup>,这为纳米材料的设计提供了广阔的思路.靶

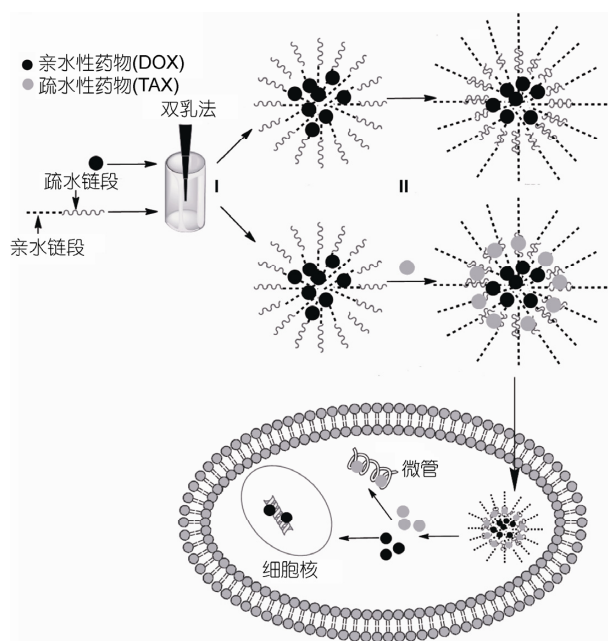


图1 利用纳米材料运载多种药物的一种思路<sup>[99]</sup>

向这些分子可以增加基质细胞对纳米材料的摄入,并减少对正常细胞的副作用,这方面的研究已被广泛报道。

(i) 靶向肿瘤血管内皮细胞. 血管内皮细胞是肿瘤微环境的重要组成部分,一些主动靶向肿瘤血管内皮细胞的纳米材料被广泛地设计及研究. 利用连有配体的纳米材料靶向并抑制肿瘤新生血管可间接遏制肿瘤的生长与转移,该项策略具有多种优点: (1) 无须纳米材料克服生物屏障到达肿瘤核心区域; (2) 内皮细胞的遗传稳定性可以降低肿瘤产生耐药性的风险; (3) 某些血管内皮细胞的标志物也在肿瘤细胞中表达,靶向肿瘤血管也会是一种双管齐下的疗法<sup>[79]</sup>.

最近的一些报道证实,靶向整合素治疗的纳米材料可载带化疗药物、核酸及一些复杂的生物分子来抑制肿瘤的脉管结构<sup>[101]</sup>. 早在2002年, Hood等人<sup>[102]</sup>研究发现,利用靶向整合素  $\alpha_v\beta_3$  的纳米粒子运载一个突变的 Raf 基因到肿瘤脉管,可导致内皮细胞凋亡及肿瘤退化. 后来多项研究表明,将载带化疗药物(阿霉素或紫杉醇)、siRNA、治疗性抗体的纳米粒子修饰上线型或环状 RGD 的寡肽充当配体,对抑制整合素  $\alpha_v\beta_3$  阳性表达的肿瘤血管及肿瘤细胞都起到了较好的作用,同时降低了药物对正常组织的毒性,也减少了药物在体内循环的损失<sup>[103-106]</sup>. 同时,一些纳

米粒子能够抑制肿瘤转移,说明靶向整合素的治疗手段也是纳米技术在抑制肿瘤转移方面非常有前景的设计思路<sup>[103]</sup>.

一些纳米材料将 VEGF/VEGFR 作为靶标来调节肿瘤血管生成,通过靶向 VEGFR 来抑制 VEGF 与内皮细胞的结合<sup>[107]</sup>,或通过靶向 VEGF 从而降低 VEGF 与其受体的结合<sup>[108]</sup>,这两种方法均有较好的效果. 血管细胞黏附分子-1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)也是重要的血管生成调控因子,它分布于血管内皮细胞表面,在多种肿瘤中(如白血病、肺癌、乳腺癌、黑色素瘤、肾细胞癌、胃癌和肾胚胎瘤)都有高表达<sup>[79,109]</sup>,诱导内皮细胞的黏附. Gosk 等人<sup>[110]</sup>报道了连接有 VCAM-1 抗体的脂质体可作用于肿瘤血管内皮细胞,使内皮细胞的形态和功能发生改变,从而达到治疗的效果.

(ii) 靶向肿瘤微环境及肿瘤细胞的协同疗法. 肿瘤组织中的一些靶点,如整合素  $\alpha_v\beta_3$  和膜型基质金属蛋白酶-1(MT1-MMP),不仅在肿瘤细胞中高表达,也在肿瘤基质细胞中大量表达,尽管该特点曾经让科学工作者为不能锁定特定细胞而困扰,但是越来越多的证据表明,肿瘤组织的这一特点为共同抑制肿瘤微环境与肿瘤细胞提供了机会. 修饰了相应配体的纳米材料<sup>[81,96,111]</sup>,可以载带抗肿瘤药物对肿瘤微环境的间质细胞与肿瘤细胞共同杀伤.

修饰两种或多种配体的纳米材料可以同时对抗肿瘤细胞及间质细胞起到抑制作用,这是协同治疗的另一种思路. Pastorino 等人<sup>[97]</sup>将两种配体连接到脂质体上,一种是可以结合肿瘤新生血管标志物 CD13 的 NGR 多肽,另一种则是靶向肿瘤细胞 GD2 受体的抗体,同时在脂质体中加载阿霉素实现对肿瘤血管及肿瘤细胞的联合治疗,此法大大延长了荷瘤小鼠的存活时间. 该研究组还报道了更简单的方法<sup>[98]</sup>,就是将脂质体只修饰 NGR 肽段,载带阿霉素对肿瘤进行治疗,此法间接地通过摧毁肿瘤内皮细胞而抑制肿瘤,同时利用存在于微环境中的化疗药物对肿瘤细胞直接杀伤. 这种协同疗法可以在很大程度上克服传统化疗药物的局限.

近期 Agemy 等人<sup>[112]</sup>设计了一种多功能的诊疗纳米粒子,其包含3个要素:用于MRI诊断的氧化铁纳米粒子(IONPs),可使 IONPs 进入血管内皮细胞线粒体的肿瘤归巢肽(CGKRK),再将通过作用于线粒体的凋亡肽(D[KLAKLAK]<sub>2</sub>)连接到 CGKRK. 这种纳

米粒子延缓了胶质母细胞瘤的生长,甚至杀灭了大部分的肿瘤细胞.此外,该纳米粒子与肿瘤穿透肽 iRGD 共同注射的治疗效果得到了进一步提高,这可能是因为 iRGD<sup>[81,111]</sup>可以使纳米粒子到达肿瘤细胞本身,而不仅是肿瘤血管.

提高打靶效率,是纳米载体在肿瘤治疗方面面临的巨大挑战之一.最近, Li 等人<sup>[113]</sup>报道了一种利用硅纳米粒子载带阿霉素靶向骨髓间充质干细胞 (mesenchymal stem cell, MSC) 的药物载体,其通过特异的单克隆抗体有效地将纳米粒子锚定到 MSCs 的膜蛋白 CD73 和 CD90, MSCs 便可携带纳米粒子有效地追踪到神经胶质瘤细胞,并将载带的阿霉素作用于肿瘤细胞,此法提高了靶向效率并延长了药物在肿瘤微环境中的半衰期,从而进一步促进了肿瘤细胞的凋亡.这种利用 MSCs 的 tumor-tropic 治疗策略将是一种非常有前景的肿瘤协同疗法.

#### 4.2 纳米材料调节肿瘤微环境的策略

指导纳米粒子克服生物屏障,到达肿瘤微环境进而发挥作用是一个极大的挑战,前面提到的工作已经解决了一定的问题,但这些纳米材料都是包载或修饰了某些药物而发挥作用的,我们还能通过其他方式使纳米粒子到达肿瘤或是发挥疗效吗?纳米材料本身是否也可以作为肿瘤治疗的制剂呢?答案是肯定的.科研人员利用一些纳米材料在光、电、磁方面的性质,将其研发为肿瘤抑制剂,如在有磁场存在的条件下,IONPs 在肿瘤部位富集的情况比不加磁场高 9.6 倍<sup>[77,114]</sup>, Maltzahn 等人<sup>[115,116]</sup>的策略则是利用纳米材料的“智能通信系统”进行“信号应答”,这个系统由“信令”纳米材料和“接收”纳米材料组成,“信令”纳米材料靶向到肿瘤部位,对“接收”纳米材料进行召集,这种“通信系统”既可以作为肿瘤定位的手段,也可以利用这种应答进行肿瘤的治疗,由于信号产生的特异应答,治疗的效率比无应答的系统要高 40 倍.

对肿瘤微环境进行调节,除利用纳米材料自身性质外,改善肿瘤微环境中的间质细胞及非细胞成分也是一种有效的治疗肿瘤的方法<sup>[117,118]</sup>.半胱氨酸蛋白酶有助于肿瘤的发展<sup>[117,118]</sup>,可作为肿瘤治疗的一个有效靶点,而半胱氨酸蛋白酶多来源于肿瘤微环境中的间质细胞<sup>[119]</sup>.Mikhaylov 等人<sup>[117]</sup>近期利用装载了磁性纳米簇的脂质体(Ferri-liposome),同时载带半胱氨酸蛋白酶的抑制剂,在外加磁场的作用下,

将脂质体注射到乳腺癌荷瘤小鼠体内,既使肿瘤体积明显减小,又抑制了肿瘤侵袭.

另一种增加抗肿瘤纳米材料功效的策略则是调节微环境中的 ECM,这一策略最突出的优点是 ECM 没有质膜包被,因此,纳米粒子可以不受限制地到达这些部位<sup>[120]</sup>.由于肿瘤的形成和发展在很大程度上受到 ECM 结构和机械性能改变的影响<sup>[121,122]</sup>,而研究表明肿瘤的增殖和分化也可以被胚胎 ECM 所抑制<sup>[123,124]</sup>,因此利用纳米材料加载可以调节肿瘤 ECM 物理性能的药物,很有可能会抑制肿瘤生长.Kanapathipillai 等人<sup>[120]</sup>最近研究表明,利用 PLGA-b-PEG 纳米颗粒连接一种抑制 ECM-修饰酶赖氨酰氧化酶(Lysyl oxidase, LOX)的抗体,可以使纳米颗粒结合到 ECM,对 ECM 进行调节,体内外试验均显示,乳腺癌细胞的生长和侵袭被显著抑制.此外,这些靶向肿瘤 ECM 的纳米颗粒也可以与造影剂结合,使肿瘤微环境可视化,这也将为肿瘤治疗开辟新的途径.

与此同时,免疫疗法在肿瘤治疗中也开始显现<sup>[125]</sup>.近年来,免疫治疗作为一种安全有效的肿瘤治疗方式被人们广泛接受.现阶段肿瘤免疫治疗以细胞免疫为基础,通过回输负载肿瘤抗原的免疫细胞达到治疗效果.该方法简单易行,但是免疫细胞在体外不能有效增殖,且不易长期保存,对于需要多次治疗的患者带来治疗成本与身体上的多重障碍,故该方法没有得到很好的推广.Exosome 的发现解决了上述问题<sup>[126]</sup>.Exosome 是细胞主动分泌的膜泡,大小为 30~100 nm.研究表明,树突状细胞能够连续分泌 exosome, exosome 具备比母细胞更强的免疫调节作用,且能够在 -80℃ 中保存长达 6 个月而保持功能稳定.

Tian 等人<sup>[127]</sup>在前人工作基础上,制备并获得了一种能够有效预防两种肿瘤的细胞膜泡疫苗,如图 2 所示.首先将小鼠黑色素瘤和路易斯肺癌来源的肿瘤抗原与树突状细胞混合,利用树突状细胞的抗原摄取与加工能力,获得同时负载上述两种肿瘤抗原的树突状细胞;随后分离纯化该树突状细胞分泌的 exosome,通过这种方法获得的 exosome 含有小鼠黑色素瘤与路易斯肺癌来源的肿瘤抗原;最后,将纯化得到的 exosome 作为免疫疫苗预防小鼠黑色素瘤与路易斯肺癌.研究结果表明,同时负载两种肿瘤抗原的 exosome 能够有效抑制上述两种肿瘤的发生,并且具有协同增强效果.该研究表明,负载不同肿瘤来源

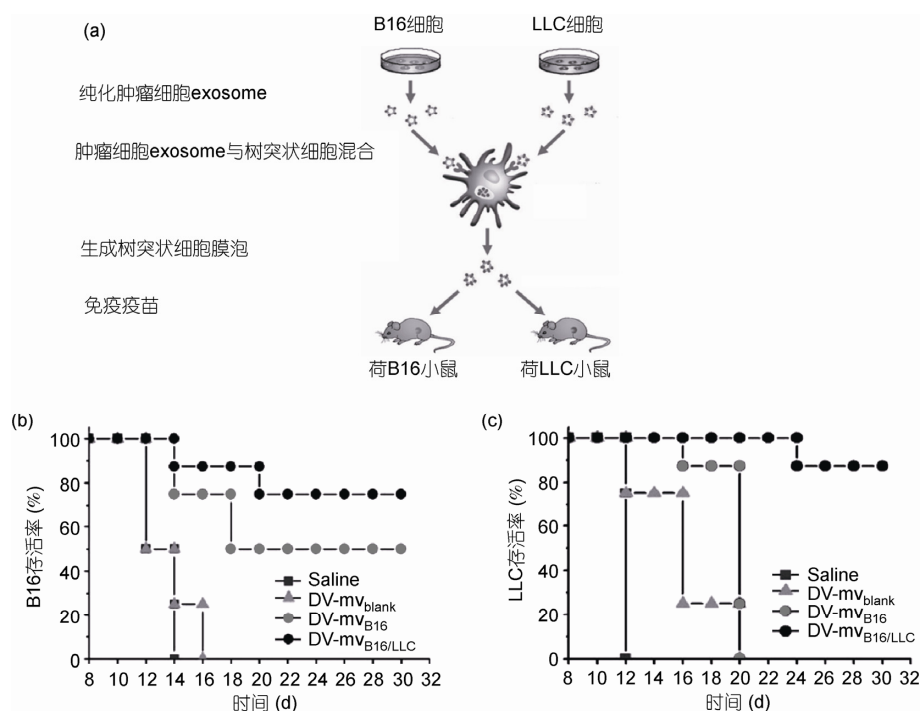


图 2 利用 exosome 进行免疫调节肿瘤微环境的疗法<sup>[127]</sup>

抗原的 exosome 具有同时抑制多种肿瘤发生的潜在应用, 为肿瘤疫苗的设计与优化提供了新思路。

某些功能纳米材料本身便可以调节肿瘤微环境中一些成分, 而不需要连接生物功能分子, 最近多项研究表明<sup>[128-130]</sup>, 含有钆金属的富勒烯纳米粒子已被证明对正常细胞没有毒性, 但却能抑制肿瘤的生长和转移. 进一步探索作用机制发现, 这种金属富勒烯纳米粒子可以作为一种有效的抗血管生成抑制剂, 可同时作用于多种血管生成因子, 从而使肿瘤微血管密度下降<sup>[129]</sup>; 它还能显著降低 MMPs 的活性, 促进形成纤维笼, 作为阻断肿瘤细胞与肿瘤相关巨噬细胞相互传导信号的物理屏障<sup>[130]</sup>.

## 5 展望

肿瘤在全球范围依然是人类健康的最大威胁之一, 迫切需要提出新的应对策略. 尽管现代医疗已经在肿瘤的诊断和治疗方面取得了长足进展, 但是在

肿瘤的早期诊断和晚期治疗方面, 还有很长的路要走. 面对复杂的肿瘤组织, 多功能纳米材料作为一个极具发展前景的工具, 已经受到诸多科学工作者的关注, 在肿瘤的诊断和治疗方面, 也正逐步应用于临床. 尽管在实验室研究中, 利用纳米材料诊断和治疗肿瘤已经取得了显著的进展, 但有效地到达肿瘤核心区对于抗肿瘤纳米材料的研发仍然是个巨大的挑战. 因此, 靶向肿瘤微环境成为一个可行的策略, 可以克服输运障碍, 提高肿瘤诊断和治疗的效率. 肿瘤微环境的生物学特性, 特别是它在肿瘤进展中每个环节发挥的作用, 也将成为纳米材料设计的重要依据. 而肿瘤微环境各种组分的理化性质与正常组织之间的微妙差异, 也给纳米材料提出了更高的要求, 针对肿瘤诊断和治疗的纳米材料应具有更高的特异性和环境响应性. 此外, “诊疗”(theranostics)作为一个新兴词汇开始进入到肿瘤医学领域, 诊断和治疗一体化将是纳米材料的一个重要发展方向.

## 参考文献

- Joyce J A. Therapeutic targeting of the tumor microenvironment. *Cancer Cell*, 2005, 7: 513-520
- Galmarini C M, Galmarini F C. Multidrug resistance in cancer therapy: Role of the microenvironment. *Curr Opin Investig Drugs*, 2003, 4: 1416-1421



- 3 Paget S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast. *Cancer Metastasis Rev*, 1889, 8: 98–101
- 4 Cardenas-Navia L I, Richardson R A, Dewhirst M W. Targeting the molecular effects of a hypoxic tumor microenvironment. *Front Biosci*, 2007, 12: 4061–4078
- 5 Fukumura D, Jain R K. Tumor microenvironment abnormalities: Causes, consequences, and strategies to normalize. *J Cell Biochem*, 2007, 101: 937–949
- 6 Cardone R A, Casavola V, Reshkin S J. The role of disturbed pH dynamics and the Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger in metastasis. *Nat Rev Cancer*, 2005, 5: 786–795
- 7 Kalluri R. Basement membranes: Structure, assembly and role in tumour angiogenesis. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3: 422–433
- 8 Lu P, Weaver V M, Werb Z. The extracellular matrix: A dynamic niche in cancer progression. *J Cell Biol*, 2012, 196: 395–406
- 9 Lu P, Takai K, Weaver V M, et al. Extracellular matrix degradation and remodeling in development and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2011, 3: a005058
- 10 Cowden Dahl K D, Symowicz J, Ning Y, et al. Matrix metalloproteinase 9 is a mediator of epidermal growth factor-dependent E-cadherin loss in ovarian carcinoma cells. *Cancer Res*, 2008, 68: 4606–4613
- 11 Radisky D C, Levy D D, Littlepage L E, et al. Rac1b and reactive oxygen species mediate MMP-3-induced EMT and genomic instability. *Nature*, 2005, 436: 123–127
- 12 Mitsiades N, Yu W H, Poulaki V, et al. Matrix metalloproteinase-7-mediated cleavage of Fas ligand protects tumor cells from chemotherapeutic drug cytotoxicity. *Cancer Res*, 2001, 61: 577–581
- 13 Littlepage L E, Sternlicht M D, Rougier N, et al. Matrix metalloproteinases contribute distinct roles in neuroendocrine prostate carcinogenesis, metastasis, and angiogenesis progression. *Cancer Res*, 2010, 70: 2224–2234
- 14 Ahn G O, Brown J M. Matrix metalloproteinase-9 is required for tumor vasculogenesis but not for angiogenesis: Role of bone marrow-derived myelomonocytic cells. *Cancer Cell*, 2008, 13: 193–205
- 15 Sounni N E, Dehne K, van Kempen L, et al. Stromal regulation of vessel stability by MMP14 and TGF-beta. *Dis Model Mech*, 2010, 3: 317–332
- 16 Huang Y, Song N, Ding Y, et al. Pulmonary vascular destabilization in the premetastatic phase facilitates lung metastasis. *Cancer Res*, 2009, 69: 7529–7537
- 17 Bruyère F, Melen-Lamalle L, Blacher S, et al. Modeling lymphangiogenesis in a three-dimensional culture system. *Nat Methods*, 2008, 5: 431–437
- 18 Langenskiöld M, Holmdahl L, Falk P, et al. Increased plasma MMP-2 protein expression in lymph node-positive patients with colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis*, 2005, 20: 245–252
- 19 Hynes R O. Integrins: Bidirectional, allosteric signaling machines. *Cell*, 2002, 110: 673–687
- 20 Luo B H, Carman C V, Springer T A. Structural basis of integrin regulation and signaling. *Ann Rev Immunol*, 2007, 25: 619–647
- 21 Folgiero V, Bachelder R E, Bon G, et al. The alpha6beta4 integrin can regulate ErbB-3 expression: Implications for alpha6beta4 signaling and function. *Cancer Res*, 2007, 67: 1645–1652
- 22 Kielosto M, Nummela P, Jarvinen K, et al. Identification of integrins alpha6 and beta7 as c-Jun- and transformation-relevant genes in highly invasive fibrosarcoma cells. *Int J Cancer*, 2009, 125: 1065–1073
- 23 Desgrosellier J S, Barnes L A, Shields D J, et al. An integrin alpha(v)beta(3)-c-*Src* oncogenic unit promotes anchorage independence and tumor progression. *Nat Med*, 2009, 15: 1163–1169
- 24 Zhao R, Liu X Q, Wu X P, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) enhances gastric carcinoma invasiveness via integrin alpha(v)beta6. *Cancer Lett*, 2010, 287: 150–156
- 25 Eliceiri B P, Cheresh D A. Adhesion events in angiogenesis. *Curr Opin Cell Biol*, 2001, 13: 563–568
- 26 Hynes R O. A reevaluation of integrins as regulators of angiogenesis. *Nat Med*, 2002, 8: 918–921
- 27 Huttenlocher A, Horwitz A R. Integrins in cell migration. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2011, 3: a005074
- 28 Luo M, Guan J L. Focal adhesion kinase: A prominent determinant in breast cancer initiation, progression and metastasis. *Cancer Lett*, 2010, 289: 127–139
- 29 Ahmed N, Pansino F, Clyde R, et al. Overexpression of alpha(v)beta6 integrin in serous epithelial ovarian cancer regulates extracellular matrix degradation via the plasminogen activation cascade. *Carcinogenesis*, 2002, 23: 237–244
- 30 Lohr M, Schmidt C, Ringel J, et al. Transforming growth factor-beta1 induces desmoplasia in an experimental model of human pancreatic carcinoma. *Cancer Res*, 2001, 61: 550–555
- 31 Lewis M P, Lygoe K A, Nystrom M L, et al. Tumour-derived TGF-beta1 modulates myofibroblast differentiation and promotes HGF/SF-dependent invasion of squamous carcinoma cells. *Br J Cancer*, 2004, 90: 822–832
- 32 Shao Z M, Nguyen M, Barsky S H. Human breast carcinoma desmoplasia is PDGF initiated. *Oncogene*, 2000, 19: 4337–4345

- 33 Sugimoto H, Mundel T M, Kieran M W, et al. Identification of fibroblast heterogeneity in the tumor microenvironment. *Cancer Biol Ther*, 2006, 5: 1640–1646
- 34 Kalluri R, Zeisberg M. Fibroblasts in cancer. *Nat Rev Cancer*, 2006, 6: 392–401
- 35 Östman A. PDGF receptors-mediators of autocrine tumor growth and regulators of tumor vasculature and stroma. *Cytok Growth Factor Rev*, 2004, 15: 275–286
- 36 De Wever O, Nguyen Q D, Van Hoorde L, et al. Tenascin-C and SF/HGF produced by myofibroblasts in vitro provide convergent pro-invasive signals to human colon cancer cells through RhoA and Rac. *FASEB J*, 2004, 18: 1016–1018
- 37 Sieuwerts A M, Klijn J G, Henzen-Logmand S C, et al. Urokinase-type-plasminogen-activator (uPA) production by human breast (myo) fibroblasts in vitro: influence of transforming growth factor-beta(1) (TGF beta(1)) compared with factor(s) released by human epithelial-carcinoma cells. *Int J Cancer*, 1998, 76: 829–835
- 38 Sato T, Sakai T, Noguchi Y, et al. Tumor-stromal cell contact promotes invasion of human uterine cervical carcinoma cells by augmenting the expression and activation of stromal matrix metalloproteinases. *Gynecol Oncol*, 2004, 92: 47–56
- 39 Li G, Satyamoorthy K, Meier F, et al. Function and regulation of melanoma-stromal fibroblast interactions: When seeds meet soil. *Oncogene*, 2003, 22: 3162–3171
- 40 Guo X, Oshima H, Kitmura T, et al. Stromal fibroblasts activated by tumor cells promote angiogenesis in mouse gastric cancer. *J Biol Chem*, 2008, 283: 19864–19871
- 41 Zhang J, Chen L, Xiao M, et al. FSP1+ fibroblasts promote skin carcinogenesis by maintaining MCP-1-mediated macrophage infiltration and chronic inflammation. *Am J Pathol*, 2011, 178: 382–390
- 42 Folkman J. Tumor angiogenesis: Therapeutic implications. *New Engl J Med*, 1971, 285: 1182–1186
- 43 Bergers G, Benjamin L E. Tumorigenesis and the angiogenic switch. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3: 401–410
- 44 Ding Y T, Kumar S, Yu D C. The role of endothelial progenitor cells in tumour vasculogenesis. *Pathobiology*, 2008, 75: 265–273
- 45 Lyden D, Hattori K, Dias S, et al. Impaired recruitment of bone-marrow derived endothelial and hematopoietic precursor cells blocks tumor angiogenesis and growth. *Nat Med*, 2001, 7: 1194–1201
- 46 Ribatti D, Nico B, Crivellato E, et al. The structure of the vascular network of tumors. *Cancer Lett*, 2007, 248: 18–23
- 47 Nagy J A, Chang S H, Dvorak A M, et al. Why are tumour blood vessels abnormal and why is it important to know? *Br J Cancer*, 2009, 100: 865–869
- 48 Jain R K. Molecular regulation of vessel maturation. *Nat Med*, 2003, 9: 685–693
- 49 Connolly D T, Heuvelman D M, Nelson R, et al. Tumor vascular permeability factor stimulates endothelial cell growth and angiogenesis. *J Clin Invest*, 1989, 84: 1470–1478
- 50 Gospodarowicz D. Humoral control of cell proliferation: The role of fibroblast growth factor in regeneration, angiogenesis, wound healing, and neoplastic growth. *Prog Clin Biol Res*, 1976, 9: 1–19
- 51 Anan K, Morisaki T, Katano M, et al. Vascular endothelial growth factor and platelet-derived growth factor are potential angiogenic and metastatic factors in human breast cancer. *Surgery*, 1996, 119: 333–339
- 52 Stratmann A, Risau W, Plate K H. Cell type-specific expression of angiopoietin-1 and angiopoietin-2 suggests a role in glioblastoma angiogenesis. *Am J Pathol*, 1998, 153: 1459–1466
- 53 Nishishita T, Lin P C. Angiopoietin 1, PDGF-B, and TGF-beta gene regulation in endothelial cell and smooth muscle cell interaction. *J Cell Biochem*, 2004, 91: 584–593
- 54 O'Reilly M S, Boehm T, Shing Y, et al. Endostatin: An endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. *Cell*, 1997, 88: 277–285
- 55 O'Reilly M S. Angiostatin: An endogenous inhibitor of angiogenesis and of tumor growth. *EXS*, 1997, 79: 273–294
- 56 Maeshima Y, Manfredi M, Reimer C, et al. Identification of the anti-angiogenic site within vascular basement membrane-derived tumstatin. *J Biol Chem*, 2001, 276: 15240–15248
- 57 Witte M H, Jones K, Wilting J, et al. Structure function relationships in the lymphatic system and implications for cancer biology. *Cancer Metast Rev*, 2006, 25: 159–184
- 58 Stacker S A, Achen M G, Jussila L, et al. Lymphangiogenesis and cancer metastasis. *Nat Rev Cancer*, 2002, 2: 573–583
- 59 Jussila L, Alitalo K. Vascular growth factors and lymphangiogenesis. *Physiol Rev*, 2002, 82: 673–700
- 60 He Y, Kozaki K, Karpanen T, et al. Suppression of tumor lymphangiogenesis and lymph node metastasis by blocking vascular endothelial growth factor receptor 3 signaling. *J Natl Cancer Inst*, 2002, 94: 819–825
- 61 Fagiani E, Lorentz P, Kopfstein L, et al. Angiopoietin-1 and -2 exert antagonistic functions in tumor angiogenesis, yet both induce lymphangiogenesis. *Cancer Res*, 2011, 71: 5717–5727
- 62 Cao R, Björndahl M A, Religa P, et al. PDGF-BB induces intratumoral lymphangiogenesis and promotes lymphatic metastasis. *Cancer Cell*, 2004, 6: 333–345
- 63 Zhuo W, Luo C, Wang X, et al. Endostatin inhibits tumour lymphangiogenesis and lymphatic metastasis via cell surface nucleolin on lymphangiogenic endothelial cells. *J Pathol*, 2010, 222: 249–260

- 64 Galon J, Fridman W H, Pagès F. The adaptive immunologic microenvironment in colorectal cancer: A novel perspective. *Cancer Res*, 2007, 67: 1883–1886
- 65 Sica A, Porta C, Morlacchi S, et al. Origin and functions of tumor-associated myeloid cells (TAMCs). *Cancer Microenviron*, 2012, 5: 133–149
- 66 Biswas S K, Sica A, Lewis C E. Plasticity of macrophage function during tumor progression: Regulation by distinct molecular mechanisms. *J Immunol*, 2008, 180: 2011–2017
- 67 Alberti C. Genetic and microenvironmental implications in prostate cancer progression and metastasis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2008, 12: 167–175
- 68 Shiao S L, Ganesan A P, Rugo H S, et al. Immune microenvironments in solid tumors: New targets for therapy. *Genes Dev*, 2011, 25: 2559–2572
- 69 Carlini M J, De Lorenzo M S, Puricelli L. Cross-talk between tumor cells and the microenvironment at the metastatic niche. *Curr Pharm Biotechnol*, 2011, 12: 1900–1908
- 70 Hiratsuka S, Nakamura K, Iwai S, et al. MMP9 induction by vascular endothelial growth factor receptor-1 is involved in lung-specific metastasis. *Cancer Cell*, 2002, 2: 289–300
- 71 Kaplan R N, Riba R D, Zacharoulis S, et al. VEGFR1-positive haematopoietic bone marrow progenitors initiate the pre-metastatic niche. *Nature*, 2005, 438: 820–827
- 72 Chung A S, Lee J, Ferrara N. Targeting the tumour vasculature: Insights from physiological angiogenesis. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10: 505–514
- 73 Shi H, Huang Y, Zhou H, et al. Nucleolin is a receptor that mediates antiangiogenic and antitumor activity of endostatin. *Blood*, 2007, 110: 2899–2906
- 74 Yuan S, Fu Y, Wang X, et al. Voltage-dependent anion channel 1 is involved in endostatin-induced endothelial cell apoptosis. *FASEB J*, 2008, 22: 2809–2820
- 75 Burke P A, DeNardo S J, Miers L A, et al. Cilengitide targeting of alpha(v)beta(3) integrin receptor synergizes with radioimmunotherapy to increase efficacy and apoptosis in breast cancer xenografts. *Cancer Res*, 2002, 62: 4263–4272
- 76 Kinoshita K, Nakagawa K, Hamada J, et al. Imatinib mesylate inhibits the proliferation-stimulating effect of human lung cancer-associated stromal fibroblasts on lung cancer cells. *Int J Oncol*, 2010, 37: 869–877
- 77 Schroeder A, Heller D A, Winslow M M, et al. Treating metastatic cancer with nanotechnology. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12: 39–50
- 78 Moghimi S M, Hunter A C, Murray J C. Long-circulating and target-specific nanoparticles: Theory to practice. *Pharmacol Rev*, 2001, 53: 283–318
- 79 Danhier F, Feron O, Pr at V. To exploit the tumor microenvironment: Passive and active tumor targeting of nanocarriers for anti-cancer drug delivery. *J Control Release*, 2010, 148: 135–146
- 80 Harisinghani M G, Barentsz J, Hahn P F, et al. Noninvasive detection of clinically occult lymph-node metastases in prostate cancer. *New Engl J Med*, 2003, 348: 2491–2499
- 81 Sugahara K N, Teesalu T, Karmali P P, et al. Tissue-penetrating delivery of compounds and nanoparticles into tumors. *Cancer Cell*, 2009, 16: 510–520
- 82 Crich S G, Bussolati B, Tei L, et al. Magnetic resonance visualization of tumor angiogenesis by targeting neural cell adhesion molecules with the highly sensitive gadolinium-loaded apoferritin probe. *Cancer Res*, 2006, 66: 9196–9201
- 83 Kinsella J M, Jimenez R E, Karmali P P, et al. X-ray computed tomography imaging of breast cancer by using targeted peptide-labeled bismuth sulfide nanoparticles. *Angew Chem Int Ed*, 2011, 50: 12308–12311
- 84 Hong H, Yang K, Zhang Y, et al. *In vivo* targeting and imaging of tumor vasculature with radiolabeled, antibody-conjugated nanographene. *ACS Nano*, 2012, 6: 2361–2370
- 85 Xie J, Chen K, Huang J, et al. PET/NIRF/MRI triple functional iron oxide nanoparticles. *Biomaterials*, 2010, 31: 3016–3022
- 86 Lee S, Chen X. Dual-modality probes for *in vivo* molecular imaging. *Mol Imag*, 2009, 8: 87–100
- 87 Lin X, Xie J, Niu G, et al. Chimeric ferritin nanocages for multiple function loading and multimodal imaging. *Nano Lett*, 2011, 11: 814–819
- 88 Crayton S H, Tsourkas A. pH-titratable superparamagnetic iron oxide for improved nanoparticle accumulation in acidic tumor microenvironments. *ACS Nano*, 2011, 5: 9592–9601
- 89 Lin X, Xie J, Zhu L, et al. Hybrid ferritin nanoparticles as activatable probes for tumor imaging. *Angew Chem Int Ed*, 2011, 50: 1569–1572
- 90 Park J, Yang J, Lim E K, et al. Anchored proteinase-targetable optomagnetic nanoprobe for molecular imaging of invasive cancer cells. *Angew Chem Int Ed*, 2012, 51: 945–948

- 91 Lee S, Cha E J, Park K, et al. A near-infrared-fluorescence-quenched gold-nanoparticle imaging probe for *in vivo* drug screening and protease activity determination. *Angew Chem Int Ed*, 2008, 47: 2804–2807
- 92 Sun I C, Eun D K, Koo H, et al. Tumor-targeting gold particles for dual computed tomography/optical cancer imaging. *Angew Chem Int Ed*, 2011, 50: 9348–9351
- 93 Li J, Lu C H, Yao Q H, et al. A graphene oxide platform for energy transfer-based detection of protease activity. *Biosens Bioelectron*, 2011, 26: 3894–3899
- 94 Kievit F M, Zhang M. Cancer nanotheranostics: Improving imaging and therapy by targeted delivery across biological barriers. *Adv Mater*, 2011, 23: H217–H247
- 95 Aluri S, Janib S M, Mackay J A. Environmentally responsive peptides as anticancer drug carriers. *Adv Drug Deliv Rev*, 2009, 61: 940–952
- 96 Hatakeyama H, Akita H, Ishida E, et al. Tumor targeting of doxorubicin by anti-MT1-MMP antibody-modified PEG liposomes. *Int J Pharm*, 2007, 342: 194–200
- 97 Pastorino F, Brignole C, Paolo D D, et al. Targeting liposomal chemotherapy via both tumor cell-specific and tumor vasculature-specific ligands potentiates therapeutic efficacy. *Cancer Res*, 2006, 66: 10073–10082
- 98 Pastorino F, Brignole C, Marimpietri D, et al. Vascular damage and anti-angiogenic effects of tumor vessel-targeted liposomal chemotherapy. *Cancer Res*, 2003, 63: 7400–7409
- 99 Wang H, Zhao Y, Wu Y, et al. Enhanced anti-tumor efficacy by co-delivery of doxorubicin and paclitaxel with amphiphilic methoxy PEG-PLGA copolymer nanoparticles. *Biomaterials*, 2011, 32: 8281–8290
- 100 Wang H, Wu Y, Zhao R, et al. Engineering the assemblies of biomaterial nanocarriers for delivery of multiple theranostic agents with enhanced antitumor efficacy. *Adv Mater*, 2013, 25: 1616–1622
- 101 Desgrosellier J S, Cheresch D A. Integrins in cancer: Biological implications and therapeutic opportunities. *Nat Rev Cancer*, 2010, 10: 9–22
- 102 Hood J D, Bednarski M, Frausto R, et al. Tumor regression by targeted gene delivery to the neovasculature. *Science*, 2002, 296: 2404–2407
- 103 Murphy E A, Majeti B K, Barnes L A, et al. Nanoparticle-mediated drug delivery to tumor vasculature suppresses metastasis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 9343–9348
- 104 Danhier F, Vroman B, Lecouturier N, et al. Targeting of tumor endothelium by RGD-grafted PLGA-nanoparticles loaded with paclitaxel. *J Control Release*, 2009, 140: 166–173
- 105 Choi K, Choi S H, Jeon H, et al. Chimeric capsid protein as a nanocarrier for siRNA delivery: Stability and cellular uptake of encapsulated siRNA. *ACS Nano*, 2011, 5: 8690–8699
- 106 Winter P M, Schmieder A H, Caruthers S D, et al. Minute dosages of alpha(nu)beta3-targeted fumagillin nanoparticles impair Vx-2 tumor angiogenesis and development in rabbits. *FASEB J*, 2008, 22: 2758–2767
- 107 Li L, Wartchow C A, Danthi S N, et al. A novel antiangiogenesis therapy using an integrin antagonist or anti-Flk-1 antibody coated 90Y-labeled nanoparticles. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2004, 58: 1215–1227
- 108 Chen J, Wu H, Han D, et al. Using anti-VEGF McAb and magnetic nanoparticles as double-targeting vector for the radioimmunotherapy of liver cancer. *Cancer Lett*, 2006, 231: 169–175
- 109 Dienst A, Grunow A, Unruh M, et al. Specific occlusion of murine and human tumor vasculature by VCAM-1-targeted recombinant fusion proteins. *J Natl Cancer Inst*, 2005, 97: 733–747
- 110 Gosk S, Moos T, Gottstein C, et al. VCAM-1 directed immunoliposomes selectively target tumor vasculature *in vivo*. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1778: 854–863
- 111 Sugahara K N, Teesalu T, Karmali P P, et al. Coadministration of a tumor-penetrating peptide enhances the efficacy of cancer drugs. *Science*, 2010, 328: 1031–1035
- 112 Agemy L, Friedmann-Morvinski D, Kotamraju V R, et al. Targeted nanoparticle enhanced proapoptotic peptide as potential therapy for glioblastoma. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 17450–17455
- 113 Li L, Guan Y, Liu H, et al. Silica nanorattle-doxorubicin-anchored mesenchymal stem cells for tumor-tropic therapy. *ACS Nano*, 2011, 5: 7462–7470
- 114 Chertok B, David A E, Huang Y, et al. Glioma selectivity of magnetically targeted nanoparticles: A role of abnormal tumor hydrodynamics. *J Control Release*, 2007, 122: 315–323
- 115 Park J H, von Maltzahn G, Xu M J, et al. Cooperative nanomaterial system to sensitize, target, and treat tumors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 981–986
- 116 von Maltzahn G, Park J H, Lin K Y, et al. Nanoparticles that communicate *in vivo* to amplify tumour targeting. *Nat Mater*, 2011, 10: 545–552

- 117 Mikhaylov G, Mikac U, Magaev A A, et al. Ferri-liposomes as an MRI-visible drug-delivery system for targeting tumours and their microenvironment. *Nat Nanotech*, 2011, 6: 594–602
- 118 Turk V, Kos J, Turk B. Cysteine cathepsins (proteases)—On the main stage of cancer? *Cancer Cell*, 2004, 5: 409–410
- 119 Sloane B F, Yan S, Podgorski I, et al. Cathepsin B and tumor proteolysis: Contribution of the tumor microenvironment. *Semin Cancer Biol*, 2005, 15: 149–157
- 120 Kanapathipillai M, Mammoto A, Mammoto T, et al. Inhibition of mammary tumor growth using lysyl oxidase-targeting nanoparticles to modify extracellular matrix. *Nano Lett*, 2012, 12: 3213–3217
- 121 Ingber D E, Madri J A, Jamieson J D. Role of basal lamina in neoplastic disorganization of tissue architecture. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1981, 78: 3901–3905
- 122 Levental K R, Yu H, Kass L, et al. Matrix crosslinking forces tumor progression by enhancing integrin signaling. *Cell*, 2009, 139: 891–906
- 123 Ingber D E, Madri J A, Jamieson J D. Basement membrane as a spatial organizer of polarized epithelia. Exogenous basement membrane reorients pancreatic epithelial tumor cells *in vitro*. *Am J Pathol*, 1986, 122: 129–139
- 124 Reddy J K, Rao M S. Transplantable pancreatic carcinoma of the rat. *Science*, 1977, 198: 78–80
- 125 Rosenberg S A. Progress in human tumour immunology and immunotherapy. *Nature*, 2001, 411: 380–384
- 126 Thery C, Ostrowski M, Segura E. Membrane vesicles as conveyors of immune responses. *Nat Rev Immunol*, 2009, 9: 581–593
- 127 Tian X, Zhu M, Tian Y, et al. A membrane vesicle-based dual vaccine against melanoma and Lewis lung carcinoma. *Biomaterials*, 2012, 33: 6147–6154
- 128 Chen C Y, Xing G M, Wang J X, et al. Multihydroxylated  $[Gd@C_{82}(OH)_{22}]_n$  nanoparticles: Antineoplastic activity of high efficiency and low toxicity. *Nano Lett*, 2005, 5: 2050–2057
- 129 Meng H, Xing G M, Sun B Y, et al. Potent angiogenesis inhibition by the particulate form of fullerene derivatives. *ACS Nano*, 2010, 4: 2773–2783
- 130 Meng H, Xing G, Blanco E, et al. Gadolinium metallofullerenol nanoparticles inhibit cancer metastasis through matrix metalloproteinase inhibition: Imprisoning instead of poisoning cancer cells. *Nanomedicine*, 2012, 8: 136–146

---

## Applications of nanotechnology in targeting and regulating the tumor microenvironment

DING YanPing, JI TianJiao, SONG Xiao & NIE GuangJun

CAS Key Laboratory for Biomedical Effects of Nanomaterials and Nanosafety, National Center for Nanoscience and Technology, Beijing 100190, China

Tumor is an ensemble performance of tumor cells, the surrounding stromal cells and non-cellular components. Since tumor microenvironment plays fundamental roles in tumor growth and metastasis, emerging studies have been investigating diagnostic and therapeutic agents which can target or regulate the tumor stroma. Cancer nanotechnology, as an integrated platform, has the potential to accurately monitor tumor for early diagnosis and dramatically improve the targeted, long-lasting and combinational therapy. Compared with traditional therapeutics, nanomaterials can easily achieve the tumor areas. In the current review, we summarized the characteristics of the tumor microenvironment, current anti-tumor stroma drugs, and the recent progress on the applications of nanotechnology in tumor microenvironment-based diagnosis and therapeutics, showing our perspectives on achieving tumor specific recognition and integration of diagnostic and therapeutic functions into multifunctional nanomaterials.

**nanotechnology, tumor, microenvironment, therapy, diagnosis**

doi: 10.1360/972012-1633