

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.35.051

磁性纳米技术在癌症基因治疗中的应用*

黄琳琳 张学鹏 白 勇 袁万博 张金梅[△]

(华中科技大学同济医学院附属荆州医院 湖北 荆州 434020)

摘要: 癌症基因组的最新进展使直接针对癌症基因进行治疗具有极大的可能性。然而,需要新的基因传递方法使这种潜力向临床应用转化,为治疗病人服务。磁性纳米技术是通过外部磁场选择性地高效传递治疗基因,还能同时用影像监测体内的传递过程。相比传统的基因传递方法,这种技术能明显提高人类移植肿瘤和不同的内脏器官如肝、肾及中枢神经系统的基因传递效率。因此,磁性纳米技术使活体内癌症的基因治疗进入到新的前沿领域。

关键词: 磁性纳米技术;基因治疗;靶向;癌症;传递方法

中图分类号: Q64;R730.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2014)35-6990-03

The Application of Magnetic Nanoparticle Technology in Cancer Gene Therapy*

HUANG Lin-lin, ZHANG Xue-peng, BAI Yong, YUAN Wan-bo, ZHANG Jin-mei[△]

(Centre Hospital affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Jingzhou, Hubei, 434020, China)

ABSTRACT: Recent advances in cancer genomics have opened up unlimited potential for treating cancer by directly targeting culprit genes. However, novel delivery methods are needed in order for this potential to be translated into clinically viable treatments for patients. Magnetic nanoparticle technology offers the potential to achieve selective and efficient delivery of therapeutic genes by using external magnetic fields, and also allows simultaneous imaging to monitor the delivery in vivo. Compared to conventional gene delivery strategies, this technique has been shown to significantly increase gene delivery to human xenograft tumors models, as well as various internal organs (e.g. liver, kidney) and the central nervous system. Magnetic nanoparticle technology, therefore, has the potential to turn the challenge of gene therapy in vivo into a new frontier for cancer treatment.

Key words: Magnetic nanoparticle technology; Gene Therapy; Targeting; Cancer; Delivery method

Chinese Library Classification: Q64; R730.5 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)35-6990-03

前言

癌症从本质上说是一个多基因疾病。基因治疗能直接从根部上调或下调导致癌症的靶基因,为癌症的治疗提供了很大的可能性。但基因治疗最大的困难是体内的基因传递^[1-3]。由于血液中核酸酶的存在和机体对外源核酸的免疫排斥反应,DNA和RNA在循环系统中的半衰期非常短^[4],导致治疗基因因不能到达体内目标靶点而失去治疗效果。已有几种传递方法是通过增加治疗基因的半衰期,尤其是用聚乙二醇(PEG)形成“隐形的”传递系统。PEG是聚合物,和核酸形成复合物,能保护蛋白质和核酸免被宿主免疫系统识别^[5]。聚乙二醇化能增加核酸的分子大小,减小它们被肾脏的清除率。由于当前的基因传递技术对到达目标靶点的选择性不足,即便增加了治疗基因在循环中的半衰期,基因及其载体仍然会产生严重的副作用^[6]。

基因靶向癌症组织的研究主要集中在将治疗基因与抗体或配体结合^[7],但这些方法受限于对肿瘤特异性抗原或配体的识别。本文我们主要介绍采用磁性纳米粒子的基因传递系统。

1 磁性纳米技术

用于传递药物的磁性纳米粒子直径通常为5-20nm,这些晶体一般是铁的,最常见的是磁铁矿或磁赤铁^[8]。有几种方法合成这些晶体,最常用的是共沉淀Fe(III)和Fe(II)^[9]。

磁性纳米粒子与被传递的基因和药物混合封装以促进细胞吸收。用于磁性纳米技术的有聚合物、病毒和非病毒,此外,还有形成这些复合物的输水相互作用^[10]和静电作用^[11]。

由于要靶向体内,被处理的纳米复合物通过静脉注射、动脉注射或腹腔内注射,用一个外部磁场(通常用一个小的稀土磁体)附近的目标区域以创造一个局部磁场。随着药物在血液中流动,磁场对带药的磁性纳米粒子产生作用,驱动它们分布到目标组织中^[12]。

与其它传递方法相比,磁性纳米粒子对药物的传递有许多优势,它显示出了外部磁场的反应,相对安全,用途更广。磁性纳米粒子被批准应用于临床作为磁共振成像的造影剂已有十多年了^[13],因此,是一种能根据病人安全性来被更好理解的纳

* 基金项目:湖北省科技厅软科学研究专项计划(2011IDEA031)

作者简介:黄琳琳(1969-),女,本科,副主任药师,主要从事制剂开发,电话:0716-8436264

△ 通讯作者:张金梅(1974-),女,硕士,药师,主要研究方向:药理学分子生物学,电话:0716-8497055, E-mail:964219414@qq.com

(收稿日期:2014-05-23 接受日期:2014-06-18)

米技术。此外,磁性纳米粒子与现有药物具有广泛的兼容性,能被用于有效传递各种各样的治疗药物^[14]。

2 使用磁性纳米粒子的体内基因靶向传递

磁性靶向传递技术是 1978 年被首次提出来的,这种方法类似于药物传递,对治疗基因的传递有着巨大的潜力,尽管该技术的应用必须适应核酸分子的大小和电荷数。有趣的是,磁性传递为解决当前基因治疗中的有效传递问题提供了很大的可能性。例如,将磁性纳米粒子与基因载体混合,治疗基因通过外部磁场被选择性地输送到肿瘤部位,增加了治疗基因的浓度,同时也减少了治疗基因在身体其它部位的停留。

2.1 局部给药系统

临床试验中肿瘤靶向给药一直是在肿瘤内或肿瘤附近注射给药^[15],磁转染在肿瘤局部给药中有两个可能的优势:第一、它能增加注射部位细胞对药物的吸收和滞留;Bhattarai 等人通过直接在空肠和气管内注射的方法向体内传递经过修饰的腺病毒载体表达结合了磁性纳米粒子的 LacZ 基因^[16],发现在磁性组中的肺部和空肠内 β -半乳糖苷酶的活性明显高于对照组。这表明在外部磁场下基因的滞留和表达都有所增强。虽然这种方法可能不适用于非侵入性肿瘤的治疗,但也显示了磁转染有提高注射基因在肿瘤内的滞留效果的可能。

在局部传递中磁转染的另一个优势就是对肿瘤的穿透性。目前的传递方法不能有效的将治疗基因传递到肿瘤块的所有区域,尤其是低氧中心,部分是由于许多肿瘤内部有复杂的脉管系统。另外,这被认为是一个进步,考虑到耐药性的问题。已证明磁转染粒子的局部传递能增加靶组织内的基因积累和基因对肿瘤内较小动脉的穿透力。Krotz 等人采用靶向提睾肌的股动脉注射带有荧光标记的寡聚脱氧核苷酸后发现磁性组的荧光强度增加,此外,在较小动脉内有很强的荧光^[17]。较小动脉内的荧光增强显示磁靶向能增加基因和药物的组织渗透性,说明了这种方法可能会增加经血液传递给肿瘤组织的基因和药物的渗透力。

2.2 全身给药系统

全身给药系统是研发新的传递技术的最终目标,因为它能被广泛的应用于各种临床适应症,也方便治疗。此外,小鼠的人类肿瘤移植模型提供了一种在活体内测试靶向给药以及在外控制磁转染的简单方法。尽管人类移植肿瘤能提供宝贵的信息,便于深入了解全身给药系统的效果,但是这些模型可能大大低估了在病人体内靶向给药的复杂性。

迄今,已被验证的磁转染作为活体内癌症治疗最有前途的应用是在人类肿瘤移植的小鼠模型中。用磁性纳米粒子-脂质体复合物传递荧光素酶质粒,Namiki^[18]等人发现外部有磁铁并经过纳米粒子处理的动物组有很强的荧光素酶活性,传递相同剂量基因的其他的对照组却没有明显的表达。这个结果在肿瘤组织匀浆中的二次试验得到证实,那个实验是用 siRNA 干扰磁性组中的 EGF 受体,而在非磁性组中没用 siRNA。与有外部磁铁靶向的控制组相比,对照组中肿瘤块 EGF 受体的 siRNA 传递减少了 50%。还有一项研究也显示了不同的纳米复合物组分与疗效之间的差异。相比于之前使用的磁性复合物,新配方在非目标器官中 siRNA 的积累量减少 10 倍,提出增加配方的选择性可以提高对器官的靶向性。这可能是由于新配方的尺寸较小的缘故。总之,这些结果都是磁转染具有明确疗效强有力

的证据,除了用传递报告基因来证实外。

单核细胞由于其具有与肿瘤细胞天然的亲和力,也被用来作为癌症治疗的基因载体。一种方法是先将单核细胞在体外转染,再经过血液注射将治疗基因传递到肿瘤组织。这种方法虽然避免了非内源性载体引起的组织毒性,但问题一直是没有靶向足够数目的肿瘤细胞。Muthana 等人最新的研究检查了传递磁性纳米粒子基因的单核细胞在肿瘤组织中的生长能力^[18]。作者发现磁性组中 $16.9 \pm 4.2\%$ 的肿瘤细胞表达 GFP,而在非磁性组中肿瘤细胞 GFP 的表达大量增加,增量超过 $4.9 \pm 3.5\%$ 。没有数据显示这是否会导致单核细胞在肝脏中的减少,这项研究也没有显示任何治疗效果,它传递的是一个标志基因,它证明了磁性纳米粒子能被用于改善细胞作为基因载体的功能。

3 小结与展望

对磁靶向基因治疗的研究是个较新的领域,在基因治疗中有很大的应用前景,但是仍然面临许多挑战,最重要的是配方问题。如 Namiki 等显示的配方的不同能导致基因表达和选择性方面很大的变化^[19]。对外部磁场导向的优化是另一个方面,目前的方法是采用现存的磁铁,没有对磁铁的强度和摆放位置进行优化。通过优化这些重要参数,基因靶向治疗的效果可能会大大增强。一旦这些问题被解决,纳米复合物内在的多样化性质将会有助于产生多功能的治疗。纳米复合物靶向成分的增加能将治疗和诊断结合起来^[19]。利用癌细胞对叶酸有较高的吸收率,将叶酸作为靶向配体以增加对癌细胞的选择性^[20]。此外,抗体 Herceptin 也能被用于更好的提高选择性^[21]。

优化纳米复合物的配方可能会改善目前的治疗情况。综上所述,磁靶向能增加基因治疗的效果,使很有前途但目前仍受制于需要高剂量的问题得以解决。

参考文献(References)

- [1] Kole R, Krainer AR, Altman S. RNA therapeutics: beyond RNA interference and antisense oligonucleotides[J]. Nat Rev Drug Discov, 2012, 11(2):125-140
- [2] Li CX, Parker A, Menocal E, et al. Delivery of RNA interference[J]. Cell Cycle, 2006,5(18):2103-2109
- [3] Somia N, Verma IM. Gene therapy: trials and tribulations [J]. Nat Rev Genet, 2000,1(2):91-99
- [4] Schmidt-Wolf GD, Schmidt-Wolf IG. Non-viral and hybrid vectors in human gene therapy: an update[J]. Trends Mol Med,2003,9(2):67-72
- [5] Ogris M, Brunner S, Schuller S,et al. PEGylated DNA/transferrin-PEI complexes: reduced interaction with blood components, extended circulation in blood and potential for systemic gene delivery[J]. Gene Ther,1999, 6(4):595-605
- [6] Persengiev SP, Zhu X, Green MR. Nonspecific, concentration-dependent stimulation and repression of mammalian gene expression by small interfering RNAs (siRNAs)[J]. RNA, 2004, 10(1):12-18
- [7] Li SD, Huang L. Gene therapy progress and prospects: non-viral gene therapy by systemic delivery[J]. Gene Ther, 2006, 13(18):1313-1319
- [8] McBain SC, Yiu HH, Dobson J. Magnetic nanoparticles for gene and drug delivery[J]. Int J Nanomedicine, 2008, 3(2):169-180
- [9] Sun S, Zeng H. Size-controlled synthesis of magnetite nanoparticles[J]. J Am Chem Soc, 2002,124(28):8204-8205
- [10] Namiki Y, Namiki T, Yoshida H, et al. A novel magnetic crystal-lipid nanostructure for magnetically guided in vivo gene delivery [J]. Nat Nanotechnol, 2009, 4(9):598-606

- [11] Zheng X, Lu J, Deng L, et al. Preparation and characterization of magnetic cationic liposome in gene delivery[J]. *Int J Pharm*, 2009,366(1-2):211-217
- [12] Mikhaylov G, Mikac U, Magaeva AA, et al. Ferri-liposomes as an MRI-visible drug-delivery system for targeting tumours and their microenvironment[J]. *Nat Nanotechnol*, 2011,6(9):594-602
- [13] Reimer P, Balzer T. Ferucarbotran (Resovist): a new clinically approved RES-specific contrast agent for contrast-enhanced MRI of the liver: properties, clinical development, and applications [J]. *Eur Radiol*, 2003,13(6):1266-1276
- [14] Dave SR, Gao X. Monodisperse magnetic nanoparticles for biodetection, imaging, and drug delivery: a versatile and evolving technology[J]. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*, 2009,1(6):583-609
- [15] Sung MW, Yeh HC, Thung SN, et al. Intratumoral adenovirus-mediated suicide gene transfer for hepatic metastases from colorectal adenocarcinoma: results of a phase I clinical trial[J]. *Mol Ther*, 2001,4(3):182-191
- [16] Bhattarai SR, Kim SY, Jang KY, et al. N-hexanoyl chitosan-stabilized magnetic nanoparticles: enhancement of adenoviral-mediated gene expression both in vitro and in vivo [J]. *Nanomedicine*, 2008,4(2):146-154
- [17] Krotz F, de Wit C, Sohn HY, et al. Magnetofection--a highly efficient tool for antisense oligonucleotide delivery in vitro and in vivo[J]. *Mol Ther*, 2003,7(5 Pt 1):700-710
- [18] Muthana M, Scott SD, Farrow N, et al. A novel magnetic approach to enhance the efficacy of cell-based gene therapies[J]. *Gene Ther*, 2008,15(12):902-910
- [19] Fattahi H, Laurent S, Liu F, et al. Magnetoliposomes as multimodal contrast agents for molecular imaging and cancer nanotheragnostics [J]. *Nanomedicine (Lond)*, 2011,6(3):529-544
- [20] Wang F, Chen Y, Zhang D, et al. Folate-mediated targeted and intracellular delivery of paclitaxel using a novel deoxycholic acid-O-carboxymethylated chitosan-folic acid micelles [J]. *Int J Nanomedicine*, 2012,7:325-337
- [21] Yousefpour P, Atyabi F, Vasheghani-Farahani E, et al. Targeted delivery of doxorubicin-utilizing chitosan nanoparticles surface-functionalized with anti-Her2 trastuzumab [J]. *Int J Nanomedicine*, 2011,6:1977-1990

(上接第 6989 页)

- [3] 韩旭芳, 屠慧渭, 傅雅琴, 等. DMSO 对白血病肿瘤细胞 HL-60 增殖的影响[J]. 北京电力高等专科学校学报, 2010,10: 28
Han Xu-fang, Tu Hui-wei, Fu Ya-qin, et al. DMSO on HL-60 leukemia tumor cell proliferation [J]. *Beijing Electric Power College*, 2010,10:28
- [4] Kashino G, Liu Y, Suzuki M, et al. An alternative mechanism for radioprotection by dimethyl sulfoxide, possible facilitation of DNA double-strand break repair[J]. *Radiat Res*, 2010,51(6):733-740
- [5] Colucci, M, Maione, F, Bonito M. C, et al. New insights of dimethyl sulphoxide effects (DMSO) on experimental in vivo models of nociception and inflammation [J]. *Pharmacol Res*, 2008,57(6):419-425
- [6] Marks, P.A, R. Breslow. Dimethyl sulfoxide to vorinostat: development of this histone deacetylase inhibitor as an anticancer drug[J]. *Nat Biotechnol*, 2007,25(1):84-90
- [7] Eby WM, Tabatabai MA, Bursac Z. Hyperbolic modeling of tumor growth with a combined treatment of iodoacetate and dimethylsulphoxide[J]. *BMC Cancer*, 2010,10:509
- [8] Cona M, M, Li, J, Chen, F, et al. A safety study on single intravenous dose of tetrachloro-diphenyl glycoluril [iodogen] dissolved in dimethyl sulphoxide (DMSO)[J]. *Xenobiotica*, 2013,1(2):24-28
- [9] Vogin, E.E S.Carson, G. Cannon, et al. Linegar and L.F. Rubin. Chronic Toxicity of DMSO in Pri-mates [J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1970,16: 606-612
- [10] Hull, F.W, D.C. Wood, R.D. Brobyn. Eye Effects of DMSO: Report of Negative Results[J]. *Northwest Medicine*, 1969,1:39-41
- [11] Rengstorff RH, J.P. Petrali, V.M. Sim. Cataracts Induced in Guinea Pigs by Acetone, Cyclohexanone and Dimethyl Sulfoxide [J]. *American Journal Optometry*, 1972,49:308-319
- [12] de la Torre J.C., J.W. Sugeon T. Ernest, R. Wollman. Subacute Toxicity of Intravenous Dimethyl Sulfoxide in Rhesus Monkeys[J]. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 1981,7: 49-57
- [13] Brien S, Prescott P, Bashir N, et al. Systematic review of the nutritional supplements dimethyl sulfoxide (DMSO) and methylsulfonylmethane (MSM) in the treatment of osteoarthritis[J]. *Osteoarthritis Cartilage*, 2008,16(11):1277-1288
- [14] Physicians' Desk Reference (PDR). 48th Edition. Medical Economics Data Production Company[J]. Mont vale, NJ, 1994:1842-1843
- [15] Pearson T.W, Dawson, H.J, Lackey H.B. Natural Occurring Levels of Dimethyl Sulfoxide in Selected Fruits, Vegetables, Grains, and Beverages[J]. *Agric Food Chem*, 1981,29:1089-1091
- [16] Inh A, Caujolle F, Caujolle-Meynier D, et al. Comparative Actions of Aerosols of Dimethyl Sulfoxide, Dimethyl Sulfoxide and Dimethyl Sulfone on the Isolated Lung of Guinea Pig: Re-lation Between Chemical Structure and Biologic Activity [J]. *Arch. Int. Pharmac*, 1964, 152:3-4
- [17] Inh. B. Uramura, T. An Experimental Study on the Toxicity of Dimethyl Sulfoxide Used as a Solvent [J]. *Igaku Ken Kyu*, 1961,30: 2235-2261
- [18] Kapp, R. W., Jr, B.E. Eventoff. Mutagenicity of Dimethyl Sulfoxide (DMSO): in vivo Cytogenetics Study in the Rat [J]. *Teratog Carcinog Mutagen*, 1980,1(2):141-145
- [19] Brayton C.F. Dimethyl Sulfoxide (DMSO): a review[J]. *Cornell Vet*, 1986, 6:61-90
- [20] Hallare A.V, H.R. Kohler, R. Triebskorn. Developmental toxicity and stress protein responses in zebrafish embryos after exposure to diclofenac and its solvent, DMSO [J]. *Chemosphere*, 2004,56(7): 659-666
- [21] Zhang, S. Yu, X. Chen, Z, et al. Viscosities of the ternary solution dimethyl sulfoxide/water/sodium chloride at subzero temperatures and their application in cryopreservation[J]. *Cryobiology*, 2013,66(2): 186-191