

# 抗体介导肝靶向抗肿瘤给药系统的研究进展<sup>Δ</sup>

王丹丹\*,朱 静,张 玮,吴 卫\*(桂林医学院药学院,广西桂林 541004)

中图分类号 R944 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)01-0138-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.01.34

**摘要** 目的:为肝靶向给药制剂的研发提供参考。方法:以“抗体介导”“肝靶向抗肿瘤给药系统”“主动靶向”“药物载体”“Antibody mediated”“Liver targeted antitumor drug delivery system”“Active targeting”“Drug carriers”等为关键词,组合查询2005年1月—2017年10月在PubMed、Web of Science、中国知网、万方、维普等数据库中的相关文献,对部分作用于不同靶点的肝靶向抗体,对以抗体为靶标的免疫纳米粒、免疫脂质体及复合物等进行综述。结果与结论:共检索到相关文献142篇,其中有效文献29篇。目前全世界已有超过150种单抗应用于临床或正处于临床研究阶段,单抗主要的作用靶点有肝细胞癌(HCC)相关抗原、某些生长因子及其受体、某些癌基因产物以及HCC发展信号途径等。肝靶向给药系统主要有免疫纳米粒、免疫脂质体及复合物3种,具有增强药物靶向性、减少免疫原性、特异性高、杀瘤效应强等优点。抗体的人源化、小型化、高度特异性、作用靶点的多样性、药物的高效性和低毒性等可能是今后抗体介导给药的进一步研究方向与研究热点。

**关键词** 抗体介导;肝靶向抗肿瘤给药系统;主动靶向;药物载体

肝细胞癌(Hepatocellular carcinoma, HCC)严重危害人类健康,是最常见的恶性肿瘤之一<sup>[1]</sup>。目前对HCC的治疗措施主要有手术和药物,然而临床上用于治疗HCC的药物,由于存在在肝分布少、对正常器官毒副作用大以及在体内性质不稳定等问题,使其临床应用受到很大限制<sup>[2]</sup>。肝靶向给药系统(Hepatic targeted drug delivery system, HTDDS)可将药物有效地运载至肝,提高药效,降低不良反应<sup>[3]</sup>。HTDDS主要有受体或抗体介导的主动靶向、微粒吞噬作用的被动靶向以及pH敏感、热敏感等物理化学靶向。抗体介导肝靶向给药系统利用抗体-抗原特异性结合的原理,将药物导向肝病部位。与其他两种靶向系统比较,抗体介导的靶向系统能更有效地运载药物至肝病部位。笔者以“抗体介导”“肝靶向抗肿瘤给药系统”“主动靶向”“药物载体”“Antibody mediated”“Liver targeted antitumor drug delivery system”“Active targeting”“Drug carriers”等为关键词,组合查询2005年1月—2017年10月在PubMed、Web of Science、中国知网、万方、维普等数据库中的相关文献。结果,共检索到相关文献142篇,其中有效文献29篇。现对部分作用于不同靶点的肝靶向抗体,对以抗体为靶标的3种肝靶向给药系统免疫纳米粒、免疫脂质体及复合物等进行综述,以期对肝靶向给药制剂的研发提供参考。

## 1 作用于不同靶点的抗体

单克隆抗体(单抗)介导的HCC靶向治疗近年来发展迅速,受到越来越多的关注。目前,全世界有超过150

种单抗应用于临床或正处于临床研究阶段。单抗具有高度的靶向特异性,HCC相关抗原、某些生长因子及其受体、某些癌基因产物以及HCC发展信号途径等均可能成为HCC的作用靶点<sup>[4]</sup>。针对这些作用于不同靶点的抗体,笔者整理文献[5-12],总结了部分抗体的靶向特性,见表1。

表1 抗体及其作用靶点

抗体	作用靶点	靶向特性	参考文献
单链抗体 scFv15	人乙肝表面抗原(HBsAg)	单抗介导的免疫促凋亡化合物能专属性地作用于HBsAg,选择性地使HBsAg阳性HCC细胞凋亡	[5-6]
人源化抗磷脂酰肌醇聚糖3(GPC3)抗体	GPC3	对抗-GPC3抗体具有高亲和力,且对裸鼠肝癌移植瘤的生长具有抑制作用	[7]
人肝细胞癌表面抗原抗体	Hab18	在肿瘤组织中磁共振免疫成像信号强度明显降低,其靶向性明显增强	[8]
抗血管内皮生长因子受体2(VEGFR-2)抗体片段	VEGF	抗VEGFR-2的scFv片段,显著抑制血管生成,防止肝癌移植瘤的恶化	[9]
人源化HGF抗体	HGF	抗体YYB-101在体外抑制cMet的激活,抑制胶质瘤原位小鼠模型肿瘤的生长	[10]
抗体片段 Ab27和Ab79	TM4SF5	Ab27和Ab79可抑制TM4SF5阳性肝癌、结肠癌细胞的增殖和侵袭,可有效抑制肝癌移植瘤的生长	[11]
抗表皮生长因子受体(EGFR)抗体	EGFR	能特异性识别高表达EGFR的癌细胞,增加抗EGFR免疫脂质体的摄取	[12]

单抗是复杂大分子,难以渗透到实体瘤中,而单链抗体体积小,与完整的抗体比较,其表现出更好的细胞穿透能力<sup>[13]</sup>。如抗EGFR抗体Fab'片段,比完整的抗体的免疫原性低,改善药物代谢分布,延长血液循环周期<sup>[14]</sup>,这促使更多的研究者去研究单链抗体或抗体片段来提高治疗效果。笔者认为,在肝靶向给药方面,研究者需要通过寻找合适的肝靶向抗体,使药物能直接到达肝细胞及其受体特异性位点。此外,一些新的分子靶点的出现如TM4SF5<sup>[11]</sup>,不仅是一种潜在的肝靶向作用位点,而且对于HCC的预防和治疗也有帮助。因此,抗体由于其

<sup>Δ</sup> 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81560653);广西自然科学基金资助项目(No.2016GXNSFAA380081)

\* 硕士研究生。研究方向:药物研发与转化。电话:0773-2295251。E-mail:1439336574@qq.com

# 通信作者:副教授,博士。研究方向:药物制剂的开发与研究。电话:0773-2295251。E-mail:wuwei\_2007@126.com

靶向特异性,在药物发挥肝靶向性及药效方面起着至关重要的作用。

## 2 肝靶向给药系统研究

### 2.1 免疫纳米粒

纳米粒可将药物输送至细胞表面或内部而不干扰其功能<sup>[15]</sup>。利用纳米载体包封药物,可提高药物溶解性和生物利用度。将具有免疫活性的抗体,如单克隆抗体或抗体片段偶联在纳米粒上,不仅可增强药物靶向性,还能减少免疫原性<sup>[16]</sup>。

目前,临床上使用的大部分药物到达体内后会被快速地消除,而免疫纳米粒具有靶向性强、毒副作用小、半衰期长等优点<sup>[17]</sup>。有研究<sup>[18]</sup>采用化学偶联技术将抗人甲胎蛋白单克隆抗体与马钱子碱纳米粒结合,制备出具有抗肿瘤免疫靶向特点的马钱子碱免疫纳米粒。结果表明,马钱子碱免疫纳米粒不仅半衰期变长,而且能靶向至肝癌细胞SMMC-7721的细胞膜,能有效地抑制该细胞的生长、黏附、侵袭和转移,表现出了明显的肝靶向性。

为探究免疫纳米粒的细胞毒性以及抗体靶向性,有研究<sup>[19]</sup>将CD147单抗与包载常春藤素的壳聚糖纳米粒偶联,结果显示,单抗介导的纳米粒对人肝癌细胞HepG2和SMMC-7721的半数抑制浓度低于游离的药物和无抗体介导的纳米粒,提示单抗介导的纳米粒毒性减小。将上述单抗介导和无单抗介导的纳米粒分别通过尾静脉注入小鼠体内,1 h后,近红外荧光活体实时成像结果显示,两种纳米粒子均分布到小鼠全身,但抗体介导纳米粒在肿瘤和肝细胞中的荧光比无抗体介导的纳米粒要强,提示抗体介导的药物主动靶向性更好。在另一项蛋白羟乙基壳聚糖纳米粒研究<sup>[20]</sup>中发现,纳米粒对H22细胞生长的抑制作用呈剂量依赖性,用DR5单链抗体介导的羟乙基壳聚糖纳米粒能使不同类型的肿瘤细胞死亡,并抑制体内和体外肿瘤的生长,提示免疫纳米粒具有较好的抑瘤作用。因此,免疫纳米粒不仅能提高药物的生物利用度,而且能降低药物毒性。同时,抗体修饰的抗癌药物纳米粒可通过特异性识别抗原发挥作用,进一步提高在肿瘤治疗方面的应用。

### 2.2 免疫脂质体

脂质体是将药物载于类脂质双分子层内而形成的微型囊泡<sup>[21]</sup>。将脂质体与特异性单抗偶联即成为免疫脂质体,免疫脂质体利用单抗与肿瘤细胞的特异结合性,具有特异性高、杀瘤效应强等优点<sup>[22]</sup>。

蜂毒肽(PBV)具有抗肿瘤等多种药理活性。有研究<sup>[23]</sup>以人源化抗肝癌单链抗体(hdsFv25)为配体,PBV为模型药,制备聚乙二醇(PEG)偶联hdsFv25免疫脂质体。结果显示,PEG-hdsFv25免疫脂质体对肝癌细胞SMMC-7721具有较强的亲和性和特异性,对该细胞具有较好的杀伤能力。EGFR是肿瘤治疗中一个很重要的靶分子。有研究<sup>[24]</sup>将EGFR单链抗体片段接在脂质体表面,使其特异性识别高表达EGFR的癌细胞。脂质体由于双分子层的特殊膜结构,能够有效地与细胞融合或被

细胞吞噬,抗体的连接使脂质体在肿瘤细胞中的摄取明显增加。

为探究脂质体表面同时偶联2种抗体或配体能否产生协同作用,有研究<sup>[25]</sup>使用抗体和配体同时对脂质体进行修饰。结果表明,与无修饰的脂质体比较,使用抗体和配体进行修饰的脂质体的细胞摄取率明显增加,在靶向细胞时产生了协同作用。有研究<sup>[26]</sup>以阿霉素(ADR)为模型药物制成脂质体,分别用叶酸和EGFR单抗进行修饰。结果表明,与未修饰的脂质体比较,叶酸-EGFR单抗修饰脂质体,药物更多地聚集于肿瘤部位,降低对正常组织的毒性,提高治疗效果。如果选择合适的抗体或配体,采用2种或多种联合修饰脂质体,将进一步增强药物的靶向性,提高抗肿瘤疗效。

### 2.3 复合物

在包裹复合物的载体表面嵌合抗体,不仅可发挥复合物联合治疗的作用,还能提高药物靶向性。有研究<sup>[27]</sup>用EGFR抗体片段Fab'偶联ADR和核糖核苷酸还原酶M2(RRM2)siRNA阳离子脂质体(LPD)制备得ADR-RRM2-LPD复合物。结果显示,ADR-RRM2-LPD复合物可以特异性靶向高表达EGFR的肝癌细胞,对肿瘤细胞显示出更强的增殖抑制和凋亡诱导活性。有研究<sup>[28]</sup>合成单链Fv抗体与ADR组成的ADM-Dex-ScFv-SA3复合物,进行研究后发现ADM-Dex-ScFv-SA3复合物可以选择性地结合到人肝癌细胞HepG2并抑制其增殖,同时荷瘤小鼠模型实验表明复合物能抑制肿瘤生长并延长小鼠生存时间。有研究<sup>[29]</sup>考察了载CD/TK双基因和 $\alpha_v\beta_3$ 整合素抗体的阳离子微泡(CMBs $\alpha_v\beta_3$ )对人肝癌细胞HepG2的影响,与无靶向作用的阳离子微泡比较,CMBs $\alpha_v\beta_3$ 能显著促进5-氟胞嘧啶/丙氧鸟苷在人肝癌细胞HepG2中诱导的细胞周期阻滞和细胞凋亡。结果表明,以抗体为靶标的复合物能够发挥联合治疗的作用,但这只是其中的一部分,是否有一些复合物会降低治疗作用仍需进一步探究。

## 3 结语

抗体介导肝靶向抗肿瘤给药系统,能有效增强药物靶向性,提高在肝的药物浓度,减少对正常组织器官的毒性,从而增强药物疗效、减少毒副作用。单抗是抗体介导肝靶向抗肿瘤给药系统的核心组成部分,抗体靶向性的强弱直接影响其作用效果。近年来,随着分子生物学及基因工程技术的不断进步,将会有特异性更强、不良反应更小的单抗不断涌现。关于抗体介导给药,目前存在一些尚待解决的问题,如不同靶点的抗体作用机制各不相同,有的靶点还尚未明确,药物进入靶点部位的机制还有待进一步确认;药物与抗体、载体材料之间的相互作用;含药载体在生物体内的变化以及体内物质对药物载体是否有影响等。考虑到抗体修饰载体的安全性及合成载体的低转运率等问题,还需要设计更加理想的药物载体。抗体的人源化、小型化、高度特异性、作用靶点的多样性、药物的高效性和低毒性等可能是今后抗

体介导给药的进一步研究方向与研究热点。

## 参考文献

- [1] BRUIX J, HAN KH, GORES G, et al. Liver cancer: approaching a personalized care[J]. *J Hepatol*, 2015, 62(10): 144-156.
- [2] SAFDARI Y, AHMADZADEH V, KHALILI M, et al. Use of single-chain antibody derivatives for targeted drug delivery[J]. *Mol Med*, 2016, 22(1): 258-270.
- [3] 袁洁, 梁光义, 徐必学. 肝靶向给药系统的研究进展[J]. *中南药学*, 2014, 12(12): 1211-1216.
- [4] DUTTA R, MAHATO RI. Recent advances in hepatocellular carcinoma therapy[J]. *Pharmacol Ther*, 2017. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2017.02.010.
- [5] YAN B, OUYANG Q, ZHAO Z, et al. Potent killing of HBV-related hepatocellular carcinoma by a chimeric protein of anti-HBsAg single-chain antibody and truncated Bid[J]. *Biomaterials*, 2013, 34(20): 4880-4889.
- [6] WEN WH, QIN WJ, GAO H, et al. An hepatitis B virus surface antigen specific single chain of variable fragment derived from a natural immune antigen binding fragment phage display library is specifically internalized by HepG2.2.15 cells[J]. *J Viral Hepatitis*, 2007, 14(7): 512-519.
- [7] ZHANG YF, HO M. Humanization of high-affinity antibodies targeting glypican-3 in hepatocellular carcinoma[J]. *Sci Rep*, 2016. DOI: 10.1038/srep33878.
- [8] 刘燕丽, 宦怡, 魏光全, 等. Hab18-SPIO 磁共振造影剂的制备及其实验研究[J]. *实用放射学杂志*, 2006, 22(4): 385-389.
- [9] YIN XB, WU LQ, HUANG MW, et al. Humanized anti-VEGFR-2 ScFv-As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-stealth nanoparticles, an antibody conjugate with potent and selective anti-hepatocellular carcinoma activity[J]. *Biomed Pharmacother*, 2014, 68(5): 597-602.
- [10] KIM H, HONG SH, KIM JY, et al. Preclinical development of a humanized neutralizing antibody targeting HGF[J]. *Exp Mol Med*, 2017, 49(3): e309.
- [11] AHN HM, RYU J, SONG JM, et al. Anti-cancer activity of novel TM4SF5-tarteting antibodies through TM4SF5 neutralization and immune cell-mediated cytotoxicity[J]. *Theranostics*, 2017, 7(3): 594-613.
- [12] CHENG WWK, DAS D, SURESH M, et al. Expression and purification of two anti-CD19 single chain Fv fragments for targeting of liposomes to CD19-expressing cells[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1768(1): 21-29.
- [13] SCOTT AM, WOLCHOK JD, OLD LJ. Antibody therapy of cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12(4): 278-287.
- [14] SAPRA P, TYAGI P, ALLEN TM. Ligand-targeted liposomes for cancer treatment[J]. *Curr Drug Deliv*, 2005, 2(4): 369-381.
- [15] HOSSEINI M, HAJI-FATAHALIHA M, JADIDI-NIARAGH F, et al. The use of nanoparticles as a promising therapeutic approach in cancer immunotherapy[J]. *Artif Cell Nanomed Biotechnol*, 2016, 44(4): 1051-1061.
- [16] WANG AZ, GU F, ZHANG L, et al. Biofunctionalized targeted nanoparticles for therapeutic applications[J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2008, 8(8): 1063-1070.
- [17] 管庆霞, 华晓丹, 李伟男, 等. 载中药肝靶向纳米给药系统的研究进展[J]. *中国药房*, 2015, 26(7): 1002-1005.
- [18] QIN JM, YIN PH, LI Q, et al. Anti-tumor effects of brucine immuno-nanoparticles on hepatocellular carcinoma[J]. *Inter J Nanomed*, 2012, 7(8): 369-379.
- [19] ZHU R, ZHANG CG, LIU Y, et al. CD147 monoclonal antibody mediated by chitosan nanoparticles loaded with  $\alpha$ -hederin enhances antineoplastic activity and cellular uptake in liver cancer cells[J]. *Sci Rep*, 2015. DOI: 10.1038/srep17904.
- [20] YANG J, HUANG X, LUO F, et al. Preparation and functional studies of hydroxyethyl chitosan nanoparticles loaded with anti-human death receptor 5 single-chain antibody[J]. *Oncotargets Ther*, 2014, 7(9): 779-787.
- [21] 季可非, 刘宏, 郭敏. 甲氨蝶呤给药系统的研究进展[J]. *中国药房*, 2016, 27(25): 3586-3588.
- [22] 沈俊俊, 姚登福. 单克隆抗体介导的肝癌靶向治疗[J]. *国际内科学杂志*, 2009, 36(1): 49-53.
- [23] HU H, CHEN D, LIU Y, et al. Preparation and targeted delivery of immunoliposomes bearing poly(ethylene glycol)-coupled humanized anti-hepatoma disulfide-stabilized Fv (hdsFv25) in vitro[J]. *Pharmazie*, 2006, 61(8): 685-688.
- [24] ZHOU Y, DRUMMOND DC, ZOU H, et al. Impact of single chain Fv antibody fragment affinity on nanoparticle targeting of epidermal growth factor receptor expressing tumor cells[J]. *J Mol Biol*, 2007, 371(4): 934-947.
- [25] GUNAWAN RC, AUGUSTE DT. The role of antibody synergy and membrane fluidity in the vascular targeting of immunoliposomes[J]. *Biomaterials*, 2010, 31(5): 900-907.
- [26] SAUL JM, ANNAPRAGADA AV, BELLAMKONDA RV. A dual-ligand approach for enhancing targeting selectivity of therapeutic nanocarriers[J]. *J Control Release*, 2006, 114(3): 277-287.
- [27] GAO J, CHEN H, YU Y, et al. Inhibition of hepatocellular carcinoma growth using immunoliposomes for co-delivery of adriamycin and ribonucleotide reductase M2 siRNA[J]. *Biomaterials*, 2013, 34(38): 10084-10098.
- [28] CHEN L, LIU YH, LI YH, et al. Anti-hepatoma human single-chain Fv antibody and adriamycin conjugates with potent antitumor activity[J]. *Int Immunopharmacol*, 2014, 18(1): 20-26.
- [29] LI J, ZHOU P, LI L, et al. Effects of cationic microbubble carrying CD/TK double suicide gene and  $\alpha_v\beta_3$  integrin antibody in human hepatocellular carcinoma HepG2 cells[J]. *PLoS One*, 2016, 11(7): e0158592.

(收稿日期: 2017-05-10 修回日期: 2017-11-06)

(编辑: 余庆华)