

· 综述 ·

用于基因和药物传递的多肽及聚多肽材料*

陈荆晓 王慧媛 许小丁 陈巍海 张先正**

(武汉大学化学与分子科学学院 生物医用高分子材料教育部重点实验室 武汉 430072)

摘 要 多肽和聚多肽作为一类新型的生物医用材料,由于其具有良好的生物活性、生物可降解性以及生物相容性而备受瞩目.将具有特殊生理功能的多肽作为基因或药物载体、或用于药物修饰等,可以提高基因转染效率,增强药物的靶向治疗效果,降低药物的毒副作用.本文综述了近年来多肽及聚多肽材料在这些生物医学领域的应用及进展,对部分活性肽的作用机制和特点进行了介绍,并进一步对生物活性多肽材料在癌症治疗领域的应用前景进行了展望.

关键词 多肽,聚多肽,基因载体,药物传递,癌症治疗

自神农尝百草,行医用药以来,人类一直致力于解决健康问题.一系列新的治疗手段和方法随科技进步而逐步进入人们的视野,这也给许多疑难病症的治疗带来了希望.目前,基于修复受损基因的基因治疗以及利用纳米载体对基因和药物进行传递释放已成为生物医学领域的研究热点^[1-4].

多肽是由20种天然氨基酸组成,具有特殊物理、化学性质,能调节体内系统和体细胞间生理功能,可快速被机体主动吸收并参与循环代谢的活性物质,已成为一类具有广阔应用前景的新型生物医用材料^[5].随着大量具有特殊生物活性多肽的分离及测序工作的完成,其作用机制得到了相应的研究,应用范围也从早期单纯利用聚多肽的生物可降解性,发展到利用多肽特殊的生理功能和生物活性等.目前,研究人员进一步将目光集中于整合具有不同活性功能、可互补的多肽片段,构建多功能嵌合肽(chimeric peptide),其在癌症治疗及组织工程等领域的应用取得了显著的成果.本文综述了多肽及聚多肽材料作为基因和药物载体以及对药物进行修饰的最新研究进展,并对部分活性肽的作用机制和特点进行了介绍.

1 用于基因治疗的多肽及聚多肽材料

基因治疗是利用分子生物学方法将目的基因

导入患者体内,使之在靶部位表达,修复受损基因从而使疾病得到治疗,为现代医学和分子生物学相结合而诞生的新技术.由于体内环境复杂,在基因传递的过程中存在各种障碍,如图1所示^[6],这也给用于传递基因的载体提出了相应的要求:(1)为防止目的基因被血液和细胞中含有的大量核酸酶所降解,要求载体能包载并压缩DNA,形成稳定复合物;(2)为了将DNA准确送入靶细胞及靶组织,一般还要求载体不仅能够对靶细胞识别,还可有效经细胞内吞(endocytosis)进入细胞;(3)由于DNA在具有较低pH值的溶酶体(lysosome)中会被酶降解失去作用,因而载体应具有良好的缓冲能力,使DNA能够从内涵体(endosome)逃逸,进入细胞质;(4)DNA能通过转运进入细胞核并高效表达,达到治疗目的.目前使用的传统型病毒载体(viral vector)生物安全性差^[7],而以阳离子高分子为代表的非病毒载体(non-viral vector)又存在转染效率不高的缺陷.尽管分子量为25 kDa的枝化聚乙烯亚胺(polyethylenimines, PEI)在多种细胞系中均可高效介导基因转染,但由于生物可降解性差及细胞毒性较高限制了其临床应用^[8].目前,多肽类基因载体越来越引起人们的关注,特别是富含赖氨酸、组氨酸及精氨酸的阳离子多肽.在利用聚多肽载体良好生物可降解性和生物相容性的基础上,具有生物活性的多肽材料更成为如今基因载体研

* 庆祝卓仁禧院士80华诞专稿;2011-04-11收稿,2011-04-27修稿;国家重点基础研究发展计划(973计划,项目号2009CB930300,2011CB606202)资助; ** 通讯联系人, E-mail: xz-zhang@whu.edu.cn
doi:10.3724/SP.J.1105.2011.11100

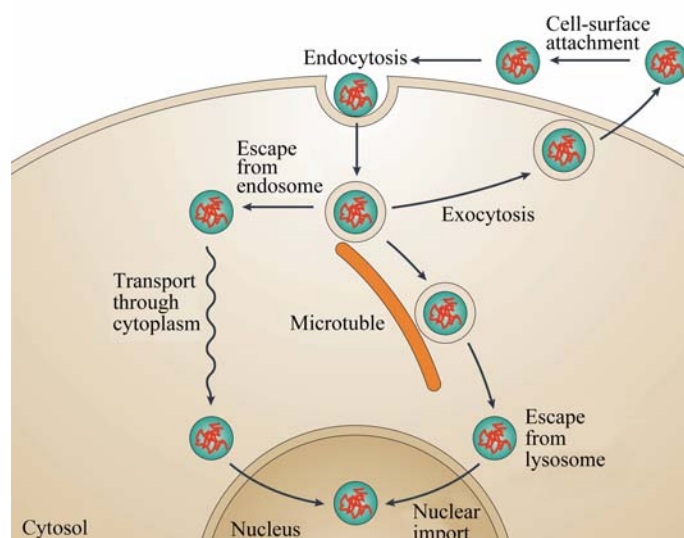


Fig. 1 Main processes and barriers in gene delivery^[6] (Copyright Nature Publishing Group; Reproduced with permission)

究的重要方向.

1.1 传统的聚多肽基因载体

线型聚赖氨酸 (poly (L-lysine), PLL) 是最早用于基因治疗的聚多肽载体, 由于其生物可降解性而受到大量研究^[9]. PLL 对 DNA 的复合能力主要来自于赖氨酸侧基上的伯胺基团, 由于其 pK_a 值 (约 10.8) 不高, 一般认为分子量大于 3000 Da 的 PLL 才可有效包载 DNA, 形成稳定复合物, 但分子量的增加也会导致材料细胞毒性的增加. 为解决这一问题, 有研究将分子量较低的寡聚赖氨酸通过二硫键连接起来, 不仅可实现对 DNA 的包载, 还因为大量存在于细胞内的谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 能还原降解二硫键而显著降低了材料毒性^[10,11]. 但在体内循环时, PLL 很容易与血浆蛋白结合而被清除, 在单独使用或未经任何修饰的情况下, 用 PLL 很难获得较高的转染效率^[12]. 经聚乙二醇 (polyethyleneglycol, PEG) 修饰后, 利用包裹在表面的亲水 PEG 链, 不仅能拮抗血清延长其体内代谢时间, 更能降低毒性并可获得较理想的转染效率^[13,14]. 同样地, 用连续交替的甘氨酸和丙氨酸对其进行修饰也获得了类似的效果^[15]. Langer 等在对 PLL/DNA 复合物的细胞吞噬过程的研究中发现, 在生理环境下, PLL 侧基上的伯胺很容易质子化, 导致 DNA 难以从内涵体逃逸而被溶酶体降解^[16]. 为改善 PLL 的这一不足, 常加入氯喹扰乱内涵体膜层, 帮助 DNA 逃逸, 以提高转染效率^[17]. 也有研究用具有出色 pH 缓冲能力的寡聚组氨酸修饰 PLL, 提高 DNA 和载体从内涵体逃逸的能力^[18,19]. 这主要源于组氨酸侧

基上含有一个既可作为质子供体, 又可作为质子受体的咪唑杂环, 其供出和接受质子的速度很快且几乎相等. 不过聚组氨酸自身对 DNA 复合能力较弱, 一般在研究中都是利用其被称为“质子海绵效应”的缓冲能力来帮助 DNA 从内涵体逃逸, 进而增加转染效率^[20,21].

由于聚赖氨酸对 DNA 复合能力不佳, 且细胞毒性偏高, 近年来, 研究人员逐渐将目光集中于具有更强 DNA 复合能力, 更容易进入细胞的聚精氨酸上. 精氨酸侧基上胍基的 pK_a 值约为 12.5, 并易形成多重氢键, 连续 9~15 个精氨酸寡聚体可有效包裹 DNA, 且无明显细胞抑制作用^[22~24]. Futaki 等在对含 4~16 个精氨酸的寡肽转染能力进行研究时发现, R8 肽即可介导较高效的基因转染, 而转染效率并未随精氨酸数目的继续增加而增加, 这主要是由于紧密包裹的 DNA 难以释放造成的^[25]. 此后的进一步研究中又发现寡聚精氨酸具有穿透细胞膜的能力, 可提高材料和基因的细胞内摄取作用 (internalization).

1.2 基于穿膜肽的多肽载体

在基因及药物载体方面研究最为活跃的活性多肽当属具有高效细胞膜穿透能力的穿膜肽 (cell-penetrating peptide, CPP), 也被称为蛋白质转导域 (protein transduction domain, PTD)^[26,27]. 研究表明, 不仅其自身能穿过细胞膜, 更可有效携带包括 DNA 及药物分子在内的外源性物质, 在不损伤细胞膜的情况下, 快速穿过细胞膜进入细胞质内. 部分穿膜肽在修饰后, 还具有跨越血脑屏障 (blood brain barrier, BBB) 的能力^[28,29]. 由于其性

能不受细胞类型限制,并且有多种穿膜肽均可复合 DNA,因而在基因传递领域具有巨大的潜力.目前在基因载体研究中应用较多的穿膜肽主要包括阳离子型和两亲型,常用的穿膜肽及其有效序列如表 1 所示.

Table 1 Example of cell-penetrating peptides used as non-viral gene vectors for gene therapy

Classes	Peptides	Sequences
Basic	HIV-1 Tat (48 – 60) [31]	GRKKRRQRRRPPQ
	HIV-1 Tat (47 – 57) [31]	YGRKKKKRRQRRR
	Oligoarginine [38]	RRRRRRRR (Rn, n = 5 ~ 11)
	Decalysine [31]	KKKKKKKKKK (K10)
	Antp (43 ~ 58) [62]	RQIKIWFAQRRMKWKK
	pVEC [30]	LLILRRRIRKQAHASK
Amphiphilic	MAP [45]	KLALKAKLAKLAALKLA
	KALA [46]	WEAKLAKALAKALAKHLAKALAKALKACEA

Tat 肽是最早报道并得到研究的一种穿膜肽,来源于艾滋病毒转录反式激活因子 (HIV trans-activation of transcriptional activator),目前应用较多的是第 48 ~ 60 位以及 47 ~ 57 位这两段序列 [30,31]. 由于其自身电荷密度偏低, DNA 复合能力较弱,一般都用于载体修饰,以增加材料的细胞内摄化作用 [32]. 有研究将其与分子量 600 Da 的 PEI 连接,即可得到接近于 25 kDa PEI 的转染效果,并且可显著降低材料的细胞毒性 [33]. 另外,利用双硫键制备聚 Tat 增强对 DNA 的复合能力也取得了较好的效果 [34]. 而在用聚精氨酸增加 Tat

肽复合能力的研究中,进一步发现材料可以有效跨越血脑屏障 [35,36]. 为增强 Tat 肽的缓冲能力, Wang 等在 Tat 肽片段上连接 10 个连续组氨酸残基,可显著提高转染效果,与单纯 Tat 肽介导的转染效率相比可提高近 7000 倍 [37]. 之后,在对 Tat 肽跨膜机制的深入研究中,发现精氨酸的数目对其跨膜性能起决定性作用,减少精氨酸残基数目会大幅度减弱 Tat 肽的跨膜作用,因而研究者们开始尝试将寡聚精氨酸作为穿膜肽用于基因载体的研究.

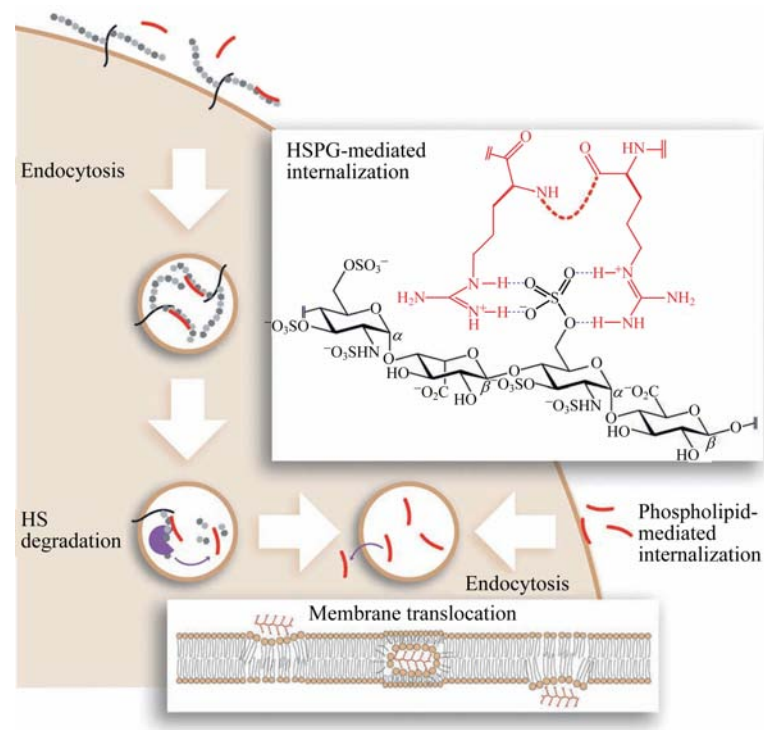


Fig. 2 Multiple hydrogen bonds of oligoarginine CPP and the mechanism of its cellular internalization [38] (Copyright Springer; Reproduced with permission)

研究人员发现,当连续精氨酸数目在 5~11 个之间时,多肽分子即可表现出穿膜性能,而 R8 和 R9 肽也被证实具有最好的穿膜效果^[38]. 如图 2 所示,其穿膜能力主要是由于精氨酸可以与细胞膜表面所含有的大量富含电荷的多糖及磷脂作用,胍基会与这些羧基、磷酸基、磺酰基形成较强的多重氢键,有效跨膜内吞^[39]. Yang 等制备了一系列基于低聚精氨酸的基因载体,不仅引入连续组氨酸残基增加载体缓冲能力,更连接疏水性片段提高复合物的稳定性,在体外和体内介导基因转染均获得了较好的效果,而且材料均未表现出明显的细胞抑制作用^[40~42]. Kumar 等将 R9 肽与狂犬病毒的糖蛋白连接起来,用于转导 siRNA 至神经元细胞时,还发现材料在体内可有效跨越血脑屏障,在脑组织中有效表达出基因沉默(gene silencing),持续治疗的过程中也未出现相应的抗体及炎症反应,生物相容性良好^[43].

除阳离子型穿膜肽以外,还有一类两亲性多肽也具有好的穿膜性能,如 MAP 肽和 KALA 肽^[44,45]. KALA 肽,也称为基因融合肽(fusogenic peptide),其在水介质中(pH 7.4)以 α -螺旋(α -helix)的二级结构存在,当 pH 值下降至 5.0,该多肽链段构象会转变为无规卷曲(random coil). 由于这一构象转变能扰乱溶酶体的膜层,可有效帮助 DNA 逃逸进入细胞质,替代细胞毒性较高的氯喹^[46]. Mok 等直接用双硫键将多个 KALA 肽连接成长肽,用于介导经 PEG 修饰过的 siRNA 的研究. 值得一提的是,经 PEG 修饰,siRNA 也能有效拮抗血清,在生理环境下获得高效的基因表达,并由于二硫键在细胞内断裂,材料无明显的细胞毒性^[47].

1.3 多肽配体、核定位信号及嵌合肽载体

尽管利用穿膜肽已得到了良好的基因传递效果,研究人员为进一步提高治疗的靶向性,又研究了各种多肽配体及核定位信号,并将其与载体连接起来,制备成兼具多种功能的嵌合肽.

利用与癌细胞表面受体(receptor)具有识别作用的多肽配体(ligand),增加对肿瘤组织的靶向是提高疗效的一个常用策略. 在构建基因或药物载体时,常将具有靶向功能的配体,或与受体相对应的抗体直接连接到载体上,也有将这类配体修饰到抗癌药物分子上,以增加其治疗选择性的研究. 目前应用较多的多肽配体主要包括:(1) RGD,序列来自于纤连蛋白(fibronectin),能与癌

细胞表面过度表达的整合素(integrin) $\alpha_v\beta_3$ 和 $\alpha_5\beta_1$ 特异性识别,并可有效促进细胞黏附^[48]. 也有报道制备环状 RGD (cRGD),通过限制其翻转和构象,可增强靶向识别的效果^[49]. (2) NGR,具有包括整合素 $\alpha_3\beta_1$,和肿瘤血管内皮细胞中过度表达的氨肽酶 N(aminopeptidase N, CD13)在内的两个独立识别位点,并且在细胞黏附方面也发挥着重要的作用^[50,51]. (3) YIGSR,是层粘连蛋白(laminin) $\beta 1$ 链的活性有效部分,可与癌细胞表面大量的层粘连蛋白受体识别^[52]. 上述几种多肽配体因具有对癌细胞的非特异性识别作用而广泛应用于基因及药物载体的研究领域. 我们就曾将 RGD 三肽用于增强由 PEI 介导的基因转染研究^[53]. 另外,我们还将 RGD 修饰在高分子链段上用作药物传递体系,获得了显著的癌细胞靶向和细胞内摄取效果^[54~56].

除利用配体提高载体对肿瘤细胞的识别和黏附作用帮助细胞内吞外,基因治疗成功的另一个关键能否将基因准确传递进入细胞核. 普通的阳离子载体很难将 DNA 直接载入细胞核内,这主要是由核转运机制决定的. 虽然小分子通过扩散即可入核,但 DNA 这样分子量较大的物质则很难通过核孔,常需要依靠核定位信号(nuclear localization signal, NLS)与核转运蛋白(importin, Imp)之间的作用才能进入细胞核^[57]. 一般情况下,入核过程由核转运蛋白 α/β 异源二聚体(Imp α/β heterodimer)介导,如图 3(a)所示, NLS 首先与 Imp- α 识别,之后由 Imp- β 和核孔蛋白转运进入细胞核;也有少量机理中无需 Imp- α 参与,仅依靠 Imp- β 即可完成转运,如图 3(c)所示;此外,还有需依靠活性物质催化及能量交换才能完成的转运过程,如图 3(b)所示. 尽管已发现多种 NLS,但效率最高,结构最简单,目前研究最多的 NLS 当属 PKKKRKV,这是个来源于 SV40 病毒大 T 抗原的碱性七肽^[58,59]. 由于具有介导外源性物质跨膜转运入核的能力,因而有研究人员利用含有 NLS 的载体,直接对核靶向,以提高复合物的入核及转染效率^[60]. 例如将 NLS 与连续组氨酸片段通过二硫键交联,制备嵌段型聚多肽用于基因转染^[61].

近年来,研究工作逐渐集中于整合包括穿膜肽、靶向配体以及核定位信号在内,具有不同功能的多肽片段,制备嵌合肽用于生物医学研究. 相较于传统的高分子载体和功能较为单一的多肽载体,可大幅度提高传递效率和治疗效果. Min 等将

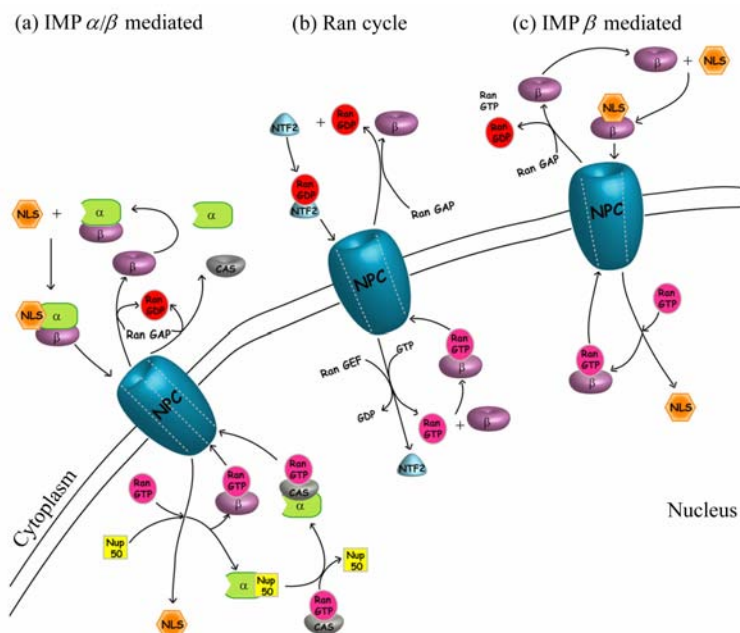


Fig. 3 Nuclear import pathways mediated by proteins containing nuclear localization sequences (NLSs) and its recognition by the cytosolic importin (Imp) α/β heterodimer^[57] (Copyright Elsevier; Reproduced with permission)

既具有穿膜能力,又可以对核定位的 Antp 肽 (antennapedia) 与 KALA 融合肽连接起来,与用 Antp 修饰的 PLL 相比,其介导的基因转染效率可提高 400 ~ 600 倍^[62]. 我们也制备了一系列基于 R8 穿膜肽的多功能嵌合型基因载体,其结构和作用原理如图 4 所示. 通过在羧基端连接 RGD 序列可以增加载体对肿瘤细胞的靶向识别作用,在氨基端键合疏水性烷基链用于增强载体对 DNA 的包裹能力,提高复合物稳定性. 实验表明,与普通的 R8 肽及未经 RGD 修饰的多肽载体相比,这种载体介导对肿瘤细胞的基因转染效率具有显著的提高,并且生物相容性良好,未表现出明显的细胞毒性^[63]. 此后,我们又将核定位信号 PKKKRKV 连接到 R8 肽上,构建核靶向载体,并用疏水性的硬脂酸对其修饰. 该载体上的 NLS 片段可与核转运蛋白 Imp- α 识别,并通过 Imp- β 介导进入核孔,在用激光共聚焦显微镜观测复合物的细胞内摄取过程中发现载体可有效携带基因进入细胞核,从而获得理想的基因转染结果^[64].

2 用于药物治疗的多肽及聚多肽材料

除作为基因载体,多肽及聚多肽在药物传递和药物修饰方面也显示出了独特的优势. 由于目前使用的合成类抗癌药物普遍具有水溶性不佳,

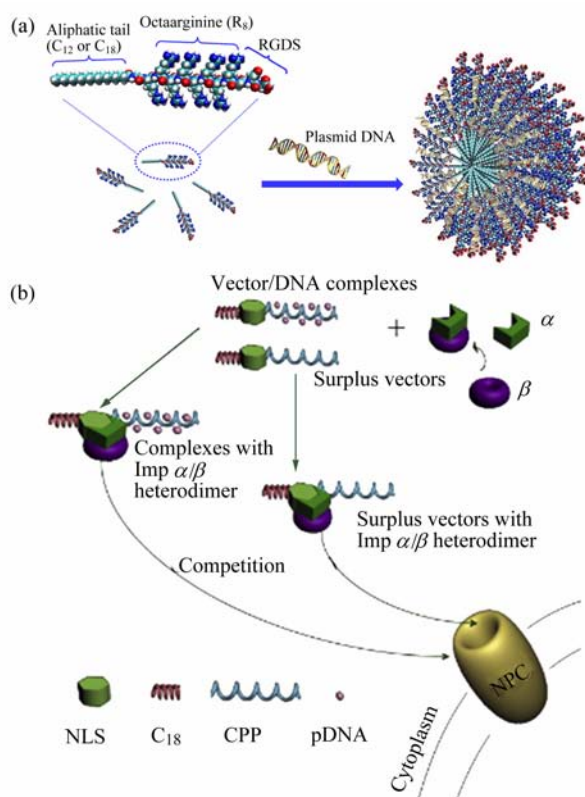


Fig. 4 (a) Tumor-targeting chimeric peptide gene vector^[63] (Reproduced by permission of The Royal Society of Chemistry); (b) Chimeric peptide gene carrier with NLS and its delivery mechanism^[64] (Copyright Elsevier; Reproduced with permission)

缺乏治疗专一性和选择性,细胞毒性高的缺点.受限于新药开发的漫长周期和高昂费用,用载体提高药物疗效和利用率,降低毒性显得更为便捷和可靠^[65].尽管传统的高分子载体对药物具有良好的缓释效果,但其生物可降解性差,难以代谢排出体外,长期使用会产生积累毒性.多肽及聚多肽类材料可以弥补这一缺点,同时,分解后的短肽和氨基酸还能被人体吸收.而利用前面提到的多肽配体修饰药物,主动对肿瘤靶向来提高治疗的选择性也是传统高分子材料难以企及的.

目前对药物包载的策略主要分为两种:一是利用两亲性材料通过分子间非共价作用力对药物进行包载传递,这一方法较为方便,但药物包载量普遍不高;另一种则是将药物通过化学键连接到载体上,传递到靶组织后断键释放药物,也称为前体药物(prodrug).其主要缺点是制备较为复杂,但可显著降低毒副作用,提高药物利用率及靶向性^[66-69].近年来,研究人员多利用可通过肿瘤区域特殊微环境引发断键释放药物的腙键^[70,71],以及细胞内由 GSH 还原降解的双硫键来连接药物分子^[72].在设计药物载体时,还依循被动靶向(passive targeting)原理,也称作增强渗透滞留效应(enhanced permeability and retention effect, EPR effect)^[73].目前,通过对多肽自组装机理的研究,已制备出包括胶束、囊泡、纳米纤维、水凝胶在内,具有不同尺寸,能适应不同用途的多肽药物释放体系^[74-79].

2.1 两亲性多肽及聚多肽药物载体

聚多肽是一类受到广泛研究的药物载体,具有良好的生物可降解性^[80,81].普遍采用的合成方式是通过引发 α -氨基酸-*N*-羧基-环内酸酐(α -amino acid-*N*-carboxyanhydrides, NCAs)的开环聚合^[82,83].利用 Deming 等开发的新型金属引发剂所制备的聚多肽,不仅分子量可控($500 < M_n < 5.0 \times 10^5$),分子量分布也较窄($M_w/M_n < 1.2$)^[84].由于聚多肽的链段在水中大多以 α -螺旋的二级结构存在,具有较强的刚性^[85,86],在组装成胶束或是囊泡时不利于结构稳定,一般通过连接柔性的 PEG 链,即可有效改善这一不足. Kataoka 等早期曾利用聚乙二醇-聚(β -苯甲基-*L*-天冬氨酸)(PEG-PBLA)对抗癌药物阿霉素(doxorubicin, Dox)进行包载,但药物包载量偏低^[87].此后他们将部分阿霉素直接连接到天冬氨酸的侧基上,利用疏水性药物分子赋予链段疏水

性即能形成稳定胶束,再利用苯环间的 π - π 作用以及阿霉素分子容易形成二聚体的特性,提高对游离阿霉素的包载,可将药物包封率从 10% 提高至 65%^[88-90].我们也制备了一系列聚多肽用于药物包载及控释.通过控制分子结构,调控亲疏水作用,我们设计合成的 ABA 型三嵌段聚合物聚亮氨酸-聚乙二醇-聚亮氨酸(PLLeu-PEG-PLLeu),以及在 PEG 链两端连接侧基用苄氧羰基保护的聚赖氨酸制备的四臂型聚合物 $PzLL_2$ -PEG- $PzLL_2$,可分别在水溶液中组装成胶束和囊泡,如图 5(a), 5(b)所示,在对疏水药物和亲水药物进行包载传递的研究中均显示出了良好的控释性能^[91,92].我们进一步利用卟啉分子引发开环,制备内核功能化的聚多肽胶束,如图 5(c)所示,将其用于光动力学治疗(photodynamic therapy)^[93].而后制备的聚乙二醇-聚赖氨酸-聚苯丙氨酸(PEG-PLL-PLP)更对疏水性药物和 DNA 均具有包载能力,可同时用于药物和基因的传递^[94].

近年来,通过对小分子多肽自组装机理的研究,用两亲性寡肽形成的胶束对药物包载的工作也有报道^[95].尽管能有效改善常规聚多肽缺乏生物活性,难以实现多功能化的不足,但其临界胶束浓度(critical micelle concentration, CMC)偏高,进入体内易解离,此外药物包载量偏低也是其应用的最大障碍.最近,我们设计合成了带有 4 条疏水烷基链的类表面活性剂型嵌合肽,如图 5(d)所示.由于具有较强的疏水作用,在较低浓度即可有效形成稳定胶束,而且药物包载量也得到显著提高.此外,亲水段的 R8 肽可有效促进载体携带药物穿膜, RGD 残基还可增加对癌细胞的靶向作用,在传递卟啉用于光动力学治疗的实验中也获得了良好的效果,更有望将此材料用于药物和基因的协同治疗^[96].除胶束结构外,我们还利用两亲性寡肽分子间的非共价键作用力制备了多肽超分子凝胶(peptide hydrogel),用于药物的包埋及控释研究.将该种包裹抗增生药物的多肽凝胶注射到兔眼中可以有效地抑制青光眼滤过手术后疤痕的形成,对青光眼起到长期持续的治疗效果^[97-99].

2.2 具有刺激-响应功能的多肽及聚多肽药物载体

肿瘤区域具有区别于正常组织的特殊微环境如 pH 值偏低、温度偏高($pH < 6.0$, 约 $39 \sim 42^\circ\text{C}$)以及部分酶过度表达等特点,用具有刺激-响应功

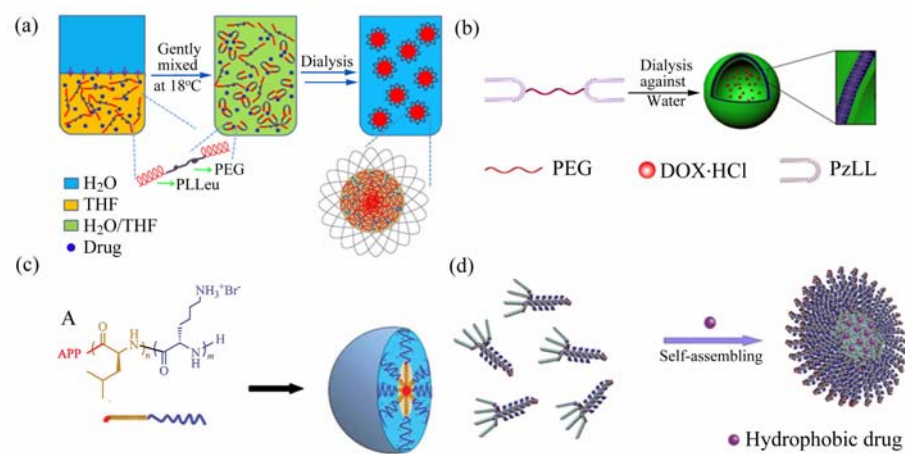


Fig. 5 (a) ABA-type polypeptide micelles as DDS^[91] (Copyright Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. ; Reproduced with permission); (b) Star-armed polypeptide vesicles for hydrophilic drug controlled releasing^[92] (Copyright Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. ; Reproduced with permission); (c) Porphyrin functional polypeptide micelles for photodynamic therapy^[93] (Copyright Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. ; Reproduced with permission); (d) Surfactant-like chimeric peptide in drug delivery and releasing^[96] (Copyright Elsevier; Reproduced with permission)

能的智能型载体靶向传递释放药物,可有效提高抗肿瘤疗效.自然界和人体中存在一类智能型多肽^[100,101],表2列出了具有环境敏感性的多肽及其序列.由于细胞内的溶酶体相比于血液也具有类似的低pH环境(pH约5.0),在利用材料pH敏感性能时,为获得较好的响应效果,一般要求载体的 pK_a 值范围在4.5~6.5之间^[102].聚组氨酸由于其侧基咪唑环 pK_a 值为6.0,可满足这一要求.在生理环境下为疏水性,而在低pH条件下会质子化转变为亲水性,利用这一特性,Bae等制备了一系列pH敏感型聚多肽胶束^[103~105].他们也曾报道一种“花型”胶束,在肿瘤pH环境可显著

提高药物释放速率^[106],并进一步利用连接有Tat肽的载体增加药物在肿瘤部位的渗透率,有效抑制肿瘤生长^[107].还有一类多肽,其pH敏感性能主要来自于随pH值变化引发的构象转变,如前面已介绍过用于基因传递的KALA肽.另有一种与之构象转变刚好相反的GALA肽,包含4个EALA残基重复单元.当pH值从7.4变为5.7,其分子链构象会由亲水的无规卷曲转变为两亲性的 α -螺旋,并能与脂质体双层膜结合,帮助药物跨过脂质体层,进入细胞^[108,109],在近年对多肽药物传递体系的研究中逐渐崭露头角.

Table 2 Environment responsive peptides

Classes	Peptides	Sequences
pH-sensitive	Polyhistidine ^[103]	(His) _n
	GALA ^[108]	WEAALAEALAEALAEHLAEALAEALAEALAA
	KALA ^[46]	WEAKLAKALAKALAKHLAKALAKALKACEA
Thermally-sensitive	ELP ^[110]	(VPGXG) _n (X = X amino acid)
	SLP ^[112]	(GAGAGS) _n
	CLP ^[113]	(GPP ^{OH}) _n
Enzyme-sensitive	ALAL ^[124]	RRALAL
	GFLG ^[125]	GGFLGF

目前对温度敏感性多肽的研究则主要集中于源自人体基质蛋白的弹性蛋白肽(elastin-like polypeptide, ELP)^[110,111]、丝蛋白肽(silk-like polypeptide, SLP)^[112]和胶原蛋白肽(collagen-like polypeptide, CLP)^[113],这当中又属ELP的相关研

究最为活跃.如表2所示,通过替换第四位X氨基酸调整多肽链段的亲疏水性能,即可制备具有不同相转变温度(transition temperature, T_i)的弹性蛋白肽,并且链段亲水性越好,相转变温度越高^[114,115].Urry等对其物理、化学性能,及二级结

构转变机理进行了详细的研究,发现环境温度低于 T_i 时,其分子链多以亲水的无规卷曲结构存在;而在 T_i 以上,分子链会转变为疏水性的 β -螺旋(β -spiral)^[116]. 利用这一特性,Chilkoti 等提出多种策略将 ELP 用于药物传递研究^[117]: (1)“被动靶向”策略,将 T_i 高于人体温度(T_b)的亲水性 ELP 分子与疏水性药物连接,通过键合形成稳定的胶束结构,提高药物的水溶性,并可利用 EPR 效应被动增加药物在肿瘤部位的富集^[118]; (2)“热靶向”策略,将 T_i 介于 37 ~ 42℃ 之间的 ELP 与药物键合,在正常组织 ELP 表现为亲水性,可携带药物循环,而在肿瘤部位和经过热处理的靶区域,ELP 构象会发生转变表现为疏水性,并与药物一同沉积下来,实现药物靶向传递^[119]; (3)将两种具有不同 T_i 的 ELP 连接起来制备两亲嵌段型多肽, T_i 略高于 T_b 的 ELP-1 作为亲水段, T_i 低于 T_b 的 ELP-2 作为疏水段,在生理条件下形成胶束并包载药物,当载药胶束循环至过热的靶区域时,亲水段 ELP 也转变为疏水性,并将药物释放于靶部位^[120,121]; (4)将 ELP 设计为在室温为水溶性,而在生理温度则会转变为凝聚体的可注射材料,通过将键合有药物的这种 ELP 直接注射于肿瘤区域,即会在原位凝聚并阻滞药物移动至其他组织. 他们还将药物替换为具有放射性的核素(radionuclide),用于原位放疗,亦可显著抑制肿瘤生长^[122]. 与 ELP 具有类似功能的还包括 SLP 和 CLP,但目前应用研究较少,主要是以水凝胶的形式对药物进行包裹缓释.

此外,还有一类具有酶敏感性能的多肽,目前多用于前体药物方面的研究. 如广泛存在于血液中有有效转运各种内源性和外源性化合物的白蛋白(albumin),用其制备前体药物可有效延长药物循环时间,提高药物溶解性^[123]. 而在其肽链中分离出的一段 ALAL 肽序列,在研究中发现可由癌细胞溶酶体中大量存在的组织蛋白酶 B(cathepsin B)催化水解^[124],与之类似的还有 GFLG 肽^[125]. 研究人员在制备前体药物时,将这种多肽用于间隔载体和药物分子,既能保持药效,又可在前药分子进入靶细胞后通过酶解断键,释放出药物,可达到目前较常使用的脲键和双硫键的效果.

2.3 用于药物修饰的多肽

为在对实体瘤进行治疗时增强抗癌药物性能,提高其靶向能力和在瘤内的传递和渗透性,还

常会用具有特殊生物活性的多肽对药物分子进行修饰. 由多肽介导药物分子进入细胞或组织后,多肽可被体内存在的各种蛋白酶及肽酶水解,不会影响药物的效果. 许多研究利用穿膜肽,主要包括 Tat 肽和 R8 肽^[126-128],对药物分子进行化学修饰,可不经细胞内摄化作用,直接通过穿膜肽引导药物分子跨膜,非特异性进入细胞. 也有报道用 D-型氨基酸制备 D-R9 肽,可有效拮抗血清,避免酶解,能进一步延长药物的血液代谢时间和持续的跨膜效果^[129]. Huang 等将从鱼精蛋白中提取出的活性穿膜肽 VSRRRRRRGRRRR 与药物通过双硫键连接,制备了一种具有良好效果的透皮给药体系,可避免药物经消化系统吸收而产生的损耗,为药物传递提供了新途径^[130]. 除合成类抗癌药物外,用穿膜肽修饰具有治疗效果的金纳米粒子(gold nanoparticle)^[131],和用于诊断成像的磁性纳米粒子(magnetic nanoparticle)^[132]以及量子点(quantum dot)^[133]等都可显著提高诊疗效果.

近几年,利用多肽配体对药物进行修饰的研究工作非常活跃,一般集中于对体内实体瘤的针对性治疗^[134]. 大量的研究发现,药物经修饰后,除识别肿瘤外还可加强药物在肿瘤组织脉管中的渗透能力,有效进入癌细胞,提高药物治疗效果的同时还能保护治疗部位的血管系统以及其它正常组织,显著降低化疗过程中的毒副作用. 自 Ruoslahti 等最早报道利用噬菌体展示技术(phage display screening)从小鼠体内筛选得到对脑组织和肾脏部位的血管具有选择性的多肽后^[135,136],研究人员又相继发现了针对其他器官组织的归巢肽(homing peptide),如表 3 所示^[137-139]. 由于可以特异性靶向相应的组织和器官,人们可以将药物针对性传递到相应组织和器官,其中研究较多的如 SMS 肽,常用于对前列腺癌的靶向治疗研究^[140]. 不过目前除心、肺、单泡脂肪外,其它归巢肽所对应的配体尚不明确.

近年来,研究人员发现了更多的肿瘤归巢肽,详见表 4. RGD 和 NGR 都属于第一代肿瘤归巢肽,对肿瘤的识别具有非特异性,多用于增强载体及药物对肿瘤细胞的靶向作用^[141-143]. RGD 已作为抗癌药物批准上市,这主要是由于 RGD 对整合素的良好识别作用. 利用游离 RGD 占据癌细胞表面用于粘附细胞外基质的整合素位点,可有效阻滞癌细胞迁移和粘附生长,并杀灭肿瘤细胞^[144]. 也有研究认为 RGD 可激活癌细胞内的半胱氨酸

Table 3 Peptides homing to normal tissues

Names	Sequences	Target tissues	Target cells	Receptors
SRL	CLSSRLDAC ^[135]	Brain	—	—
—	CLPVASC ^[135]	Kidney	—	—
—	CARPAR ^[137]	Heart	Blood vasculature	EST
SMS	SMSIARL ^[140]	Prostate	—	—
GFE-1	CGFERVRQCPERC ^[137]	Lung	Alveolar capillaries	MDP
—	CPGPEGAGC ^[137]	Breast	Blood vasculature	Aminopeptidase P

蛋白酶,可促使靶蛋白水解,导致细胞程序性凋亡^[145,146].为进一步增强作用效果,研究人员对 RGD 进行了改造,制备了 RGD-4C^[147,148]及 iRGD (internalizing RGD)等.对于 iRGD 肽,其进入体内后,首先会与肿瘤血管中的整联蛋白作用并水解激活为 CRGDK 片段,再与跨膜蛋白 (neuropilin-

1)结合,调控血管内运输过程,帮助药物分子渗透.将 iRGD 肽与药物共同注射给药,即可在实体瘤部位反复作用,有效提高抗癌药物在实体瘤中的渗透性.其在对阿霉素和紫杉醇的增强渗透实验中均表现出了明显的促进作用,并且由于不与药物连接,不会对药性造成任何影响^[149,150].

Table 4 Tumor homing peptides

Names	Sequences	Target tissues	Target cells	Receptors
RGD-4C	CDCRGDCFC ^[147]	Several tumor type	Angiogenic blood vasculature	Integrin
iRGD	CRGDKGPC ^[149]	Several tumor type	Angiogenic blood vasculature	Integrin
NGR	CNGRCVSGCAGRC ^[147]	Several tumor type	Angiogenic blood vasculature	CD13
LyP-1	CGNKRTRGC ^[137]	MTV-PyMT breast tumor	Lymphatic endothelium	P32/gC1qR
REA	CREAGRKAC ^[137]	Prostate cancers	Lymphatic vessels	—
RSR	CRSRKG ^[137]	Angiogenic islets	Pericytes and endothelial cells	—

随着研究的深入,又相继发现了由 CREKA 肽、CLT1 肽 (CGLIIQKNEC) 和 CLT2 肽 (CNAGESSKNC) 为代表的新一代肿瘤归巢肽^[151].这类多肽可黏附于血浆中的凝块上,将修饰有这类多肽的荧光物质通过静脉注射给药,发现其大量富集于肿瘤细胞外的纤维网处.随后的研究表明,这类归巢肽可识别由凝块血浆蛋白形成的纤维蛋白-纤维连接蛋白 (fibrin-fibronectin) 复合物,并能渗透进入肿瘤及其它病变组织的血管外空隙区域.将其修饰于药物或载体,可有效识别间质肿瘤 (stromal tumor),显著提高针对性治疗效果^[152-155].

3 展望

随着人们对各类疾病研究的不断深入,对于新型生物医用材料的要求不再单纯局限于生物相容性及生物可降解性,更多的应是利用材料的生理活性提高对疑难病症的治疗水平.通过对各种特殊活性肽的认识和了解,将有助于人们进一步从分子水平设计并制备结构明确、功能多样、满足各种生物医用需求的多肽材料.为加强治疗效果,改善治疗针对性不足,毒副作用偏高的缺点,提高

其对基因和药物的传递效率及准确性,主要通过以下几种途径实现:(1)整合具有不同互补功能的多肽片段,制备出能有效克服体内传递的各种障碍的载体,使其能够兼具肿瘤靶向、高效穿膜、良好的缓冲能力以及核定位性能,可以将基因有效传递到靶细胞内部使之得以表达;(2)结合能识别特定组织或肿瘤的归巢肽,以及可受体内生理环境变化调控的刺激-响应型多肽,制备可实现反复响应开关功能的智能型药物传递释放体系,对病患部位选择性治疗,保护正常组织器官;(3)将以上两种功能有机结合起来,同时传递基因及药物,协同作用治疗病症;(4)加强药物的性能,使其不仅能靶向肿瘤细胞,更能够有效黏附并在实体瘤内部渗透,达到标本兼治的效果.此外,嵌合型多肽材料在制备时不仅可以采用化学键连接的方式将不同功能集中于单一分子内,也可以将片段通过某种“媒介”集合起来,保持片段的独立功能避免相互影响,还能利用非共价作用力从分子间继续补充,完善体系功效.总而言之,通过对新型多肽类基因及药物载体的研究,必将对癌症治疗技术和水平的发展起到积极有益的推动作用.

REFERENCES

- 1 Huang L, Li S. *Gene Ther*, 2000, 7: 31 ~ 34
- 2 Uhrich K E. *Chem Rev*, 1999, 99: 3181 ~ 3198
- 3 Witt K A, Gillespie T J, Huber J D, Egleton R D, Davis T P. *Peptides*, 2001, 22: 2329 ~ 2343
- 4 Fu Huili (付慧莉), Cheng Sixue (程巳雪), Zhuo Renxi (卓仁禧). *Acta Polymerica Sinica* (高分子学报), 2009, (2): 97 ~ 103
- 5 Ganapathy V, Leibach F H. *J Biol Chem*, 1983, 258: 14189 ~ 14192
- 6 Pack D W, Hoffman A S, Pun S, Stayton P S. *Nat Rev Drug Discov*, 2005, 4: 581 ~ 593
- 7 Mintzer M A, Simanek E E. *Chem Rev*, 2009, 109: 259 ~ 302
- 8 Kircheis R, Wightman L, Wagner E. *Adv Drug Deliv Rev*, 2001, 53: 341 ~ 358
- 9 El-Aneed A. *J Control Release*, 2004, 94: 1 ~ 14
- 10 McKenzie D L, Kwok K Y, Rice K G. *J Biol Chem*, 2000, 275: 9970 ~ 9977
- 11 Read M L, Bremner K H, Oupick D, Green N K, Searle P F, Seymour L W. *J Gene Med*, 2003, 5: 232 ~ 245
- 12 Ward C M, Read M L, Seymour L W. *Blood*, 2001, 97: 2221 ~ 2229
- 13 Miyata K, Kakizawa Y, Nishiyama N, Harada A, Yamasaki Y, Koyama H, Kataoka K. *J Am Chem Soc*, 2004, 126: 2355 ~ 2361
- 14 Fukushima S, Miyata K, Nishiyama N, Kanayama N, Yamasaki Y, Kataoka K. *J Am Chem Soc*, 2005, 127: 2810 ~ 2811
- 15 Kim J, Chen C P, Rice K G. *Gene Ther*, 2005, 12: 1581 ~ 1590
- 16 Akinc A, Langer R. *Biotechnol Bioeng*, 2002, 78: 503 ~ 508
- 17 Wolfert M A, Seymour L W. *Gene Ther*, 1998, 5: 409 ~ 414
- 18 Bennis J M, Choi J S, Mahato R I, Park J S, Kim S W. *Bioconjug Chem*, 2000, 11: 637 ~ 645
- 19 Wiradharma N, Khan M, Tong Y W, Wang S, Yang Y Y. *Adv Funct Mater*, 2008, 18: 943 ~ 951
- 20 Kichler A, Mason A J, Bechinger B. *Biochim Biophys Acta*, 2006, 1758: 301 ~ 307
- 21 Pichon C, Goncalves C, Midoux P. *Adv Drug Deliv Rev*, 2001, 53: 75 ~ 94
- 22 Okuro K, Kinbara K, Tsumoto K, Ishii N, Aida T. *J Am Chem Soc*, 2009, 131: 1626 ~ 1627
- 23 Kim H H, Lee W S, Yang J M, Shin S. *Biochim Biophys Acta*, 2003, 1640: 129 ~ 136
- 24 Kim H H, Choi H S, Yang J M, Shin S. *Int J Pharm*, 2007, 335: 70 ~ 78
- 25 Futaki S, Ohashi W, Suzuki T, Niwa M, Tanaka S, Ueda K, Harashima H, Sugiura Y. *Bioconjug Chem*, 2001, 12: 1005 ~ 1011
- 26 Wadia J S, Dowdy S F. *Adv Drug Deliv Rev*, 2005, 57: 579 ~ 596
- 27 Nakase I, Takeuchi T, Tanaka G, Futaki S. *Adv Drug Deliv Rev*, 2008, 60: 598 ~ 607
- 28 Deshayes S, Morris M C, Divita G, Heitz F. *Cell Mol Life Sci*, 2005, 62: 1839 ~ 1849
- 29 Fonseca S B, Pereira M P, Kelley S O. *Adv Drug Deliv Rev*, 2009, 61: 953 ~ 964
- 30 Hansen M, Kilk K, Langel U. *Adv Drug Deliv Rev*, 2008, 60: 572 ~ 579
- 31 Endoh T, Ohtsuki T. *Adv Drug Deliv Rev*, 2009, 61: 704 ~ 709
- 32 Brooks H, Lebleu B, Vives E. *Adv Drug Deliv Rev*, 2005, 57: 559 ~ 577
- 33 Alexis F, Lo S L, Wang S. *Adv Mater*, 2006, 18: 2174 ~ 2178
- 34 Manickam D S, Bisht H S, Wan L, Mao G, Oupicky D. *J Control Release*, 2005, 102: 293 ~ 306
- 35 Liu L, Xu K, Wang H, Tan P K, Fan W, Venkatraman S S, Li L, Yang Y Y. *Nat Nanotechnol*, 2009, 4: 457 ~ 463
- 36 Wang H, Xu K, Liu L, Tan J P, Chen Y, Li Y, Fan W, Wei Z, Sheng J, Yang Y Y, Li L. *Biomaterials*, 2010, 31: 2874 ~ 2881
- 37 Lo S L, Wang S. *Biomaterials*, 2008, 29: 2408 ~ 2414
- 38 Fuchs S M, Raines R T. *Cell Mol Life Sci*, 2006, 63: 1819 ~ 1822
- 39 Rothbard J B, Jessop T C, Wender P A. *Adv Drug Deliv Rev*, 2005, 57: 495 ~ 504
- 40 Guo X D, Tandiono F, Wiradharma N, Khor D, Tan C G, Khan M, Qian Y, Yang Y Y. *Biomaterials*, 2008, 29: 4838 ~ 4846
- 41 Seow W Y, Yang Y Y. *Adv Mater*, 2009, 21: 86 ~ 90
- 42 Seow W Y, Yang Y Y, George A J. *Nucleic Acids Res*, 2009, 37: 6276 ~ 6289
- 43 Kumar P, Wu H, McBride J L, Jung K E, Kim M H, Davidson B L, Lee S K, Shankar P, Manjunath N. *Nature*, 2007, 448: 39 ~ 43
- 44 Wyman T B, Nicol F, Zelphati O, Scaria P V, Plank C, Szoka F C Jr. *Biochemistry*, 1997, 36: 3008 ~ 3017
- 45 Futaki S. *Adv Drug Deliv Rev*, 2005, 57: 547 ~ 558
- 46 Wadia J S, Stan R V, Dowdy S F. *Nat Med*, 2004, 10: 310 ~ 315
- 47 Mok H, Park T G. *Biopolymers*, 2008, 89: 881 ~ 888
- 48 Giancotti F G, Ruoslahti E. *Science*, 1999, 285: 1028 ~ 1032
- 49 Liu S. *Mol Pharm*, 2006, 3: 472 ~ 487
- 50 Corti A, Curnis F, Arap W, Pasqualini R. *Blood*, 2008, 112: 2628 ~ 2635

- 51 Bieker R, Kessler T, Schwoppe C, Padro T, Persigehl T, Bremer C, Dreischaluck J, Kolkmeier A, Heindel W, Mesters R M, Berdel W E. *Blood*, 2009, 113:5019 ~ 5027
- 52 Sarfati G, Dvir T, Elkabets M, Apte R N, Cohen S. *Biomaterials*, 2011, 32:152 ~ 161
- 53 Sun Y X, Zeng X, Meng Q F, Zhang X Z, Cheng S X, Zhuo R X. *Biomaterials*, 2008, 29:4356 ~ 4365
- 54 Quan C Y, Chang C, Wei H, Chen C S, Xu X D, Cheng S X, Zhang X Z, Zhuo R X. *Nanotechnology*, 2009, 20:335101 (10pp)
- 55 Xun W, Wu D Q, Li Z Y, Wang H Y, Huang F W, Cheng S X, Zhang X Z, Zhuo R X. *Macromol Biosci*, 2009, 9:1219 ~ 1226
- 56 Quan C Y, Chen J X, Wang H Y, Li C, Chang C, Zhang X Z, Zhuo R X. *ACS Nano*, 2010, 4:4211 ~ 4219
- 57 Pouton C W, Wagstaff K M, Roth D M, Moseley G W, Jans D A. *Adv Drug Deliv Rev*, 2007, 59:698 ~ 717
- 58 Kalderon D, Richardson W D, Markham A F, Smith A E. *Nature*, 1984, 311:33 ~ 38
- 59 Kalderon D, Roberts B L, Richardson W D, Smith A E. *Cell*, 1984, 39:499 ~ 509
- 60 Munkonge F M, Dean D A, Hillery E, Griesenbach U, Alton E W. *Adv Drug Deliv Rev*, 2003, 55:749 ~ 760
- 61 Manickam D S, Oupicky D. *Bioconjug Chem*, 2006, 17:1395 ~ 1403
- 62 Min S H, Kim D M, Kim M N, Ge J, Lee D C, Park I Y, Park K C, Hwang J S, Cho C W, Yeom Y I. *Biomaterials*, 2010, 31:1858 ~ 1864
- 63 Chen J X, Wang H Y, Quan C Y, Xu X D, Zhang X Z, Zhuo R X. *Org Biomol Chem*, 2010, 8:3142 ~ 3148
- 64 Wang H Y, Chen J X, Sun Y X, Deng J Z, Li C, Zhang X Z, Zhuo R X. *J Control Release*, 2011, doi:10.1016/j.jconrel.2010.12.009
- 65 Duncan R. *Nat Rev Drug Discov*, 2003, 2:347 ~ 360
- 66 Davis M E, Chen Z G, Shin D M. *Nat Rev Drug Discov*, 2008, 7:771 ~ 782
- 67 Hubbell J A. *Science*, 2003, 300:595 ~ 596
- 68 Soppimath K S, Aminabhavi T M, Kulkarni A R, Rudzinski W E. *J Control Release*, 2001, 70:1 ~ 20
- 69 Duncan R. *Nat Rev Cancer*, 2006, 6:688 ~ 701
- 70 Ponta A, Bae Y. *Pharm Res*, 2010, 27:2330 ~ 2342
- 71 Shamay Y, Adar L, Ashkenasy G, David A. *Biomaterials*, 2011, 32:1377 ~ 1386
- 72 Saito G, Swanson J A, Lee K D. *Adv Drug Deliv Rev*, 2003, 55:199 ~ 215
- 73 Maeda H, Matsumura Y. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*, 1989, 6:193 ~ 210
- 74 Zhao X, Pan F, Xu H, Yaseen M, Shan H, Hauser C A, Zhang S, Lu J R. *Chem Soc Rev*, 2010, 39:3480 ~ 3098
- 75 Xu Xiaoding(许小丁), Chen Changsheng(陈昌盛), Chen Jingxiao(陈荆晓), Zhang Xianzheng(张先正), Zhuo Renxi(卓仁禧). *Sci China Chem B(中国科学 B 辑 化学)*, 2011, 41:221 ~ 238
- 76 Jin Y, Xu X D, Chen C S, Cheng S X, Zhang X Z, Zhuo R X. *Macromol Rapid Commun*, 2008, 29:1726 ~ 1731
- 77 Xu X D, Chen C S, Lu B, Cheng S X, Zhang X Z, Zhuo R X. *J Phys Chem B*, 2010, 114:2365 ~ 2372
- 78 Xu X D, Jin Y, Liu Y, Zhang X Z, Zhuo R X. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2010, 81:329 ~ 335
- 79 Chen C S, Ji T J, Xu X D, Zhang X Z, Zhuo R X. *Macromol Rapid Commun*, 2010, 31:1903 ~ 1908
- 80 Deming T J. *Prog Polym Sci*, 2007, 32:858 ~ 875
- 81 Bae Y, Kataoka K. *Adv Drug Deliv Rev*, 2009, 61:768 ~ 784
- 82 Deming T J. *Nature*, 1997, 390:386 ~ 389
- 83 Deming T J. *Adv Drug Deliv Rev*, 2002, 54:1145 ~ 1155
- 84 Deming T J. *J Polym Sci Pol Chem*, 2000, 38:3011 ~ 3018
- 85 Bellomo E G, Wyrsta M D, Pakstis L, Pochan D J, Deming T J. *Nat Mater*, 2004, 3:244 ~ 248
- 86 Holowka E P, Pochan D J, Deming T J. *J Am Chem Soc*, 2005, 127:12423 ~ 12428
- 87 Yokoyama M, Okano T, Sakurai Y, Kataoka K. *J Control Release*, 1994, 32:269 ~ 277
- 88 Yokoyama M, Sugiyama T, Okano T, Sakurai Y, Naito M, Kataoka K. *Pharm Res*, 1993, 10:895 ~ 899
- 89 Yokoyama M, Fukushima S, Uehara R, Okamoto K, Kataoka K, Sakurai Y, Okano T. *J Control Release*, 1998, 50:79 ~ 92
- 90 Fukushima S, Machida M, Akutsu T, Skimizu K, Tanaka S, Okamoto K, Mashiba H, Yokoyama M, Okano T, Sakurai Y, Kataoka K. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 1999, 16:227 ~ 236
- 91 Hua S H, Li Y Y, Liu Y, Xiao W, Li C, Huang F W, Zhang X Z, Zhuo R X. *Macromol Rapid Commun*, 2010, 31:81 ~ 86
- 92 Wang K, Dong H Q, Wen H Y, Xu M, Li C, Li Y Y, Jones H N, Shi D L, Zhang X Z. *Macromol Biosci*, 2011, 11:65 ~ 71
- 93 Li Z Y, Wang H Y, Li C, Zhang X L, Wu X J, Qin S Y, Zhang X Z, Zhuo R X. *J Polym Sci Pol Chem*, 2010, 49:286 ~ 292
- 94 Li Y Y, Hua S H, Xiao W, Wang H Y, Luo X H, Li C, Cheng S X, Zhang X Z, Zhuo R X. *J Mater Chem*, 2011, 21:3100 ~ 3106
- 95 Wiradharma N, Tong Y W, Yang Y Y. *Biomaterials*, 2009, 30:3100 ~ 3109
- 96 Chen J X, Wang H Y, Li C, Han K, Zhang X Z, Zhuo R X. *Biomaterials*, 2011, 32:1678 ~ 1684
- 97 Xu X D, Liang L, Chen C S, Lu B, Wang N L, Jiang F G, Zhang X Z, Zhuo R X. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2010, 2:2663 ~ 2671
- 98 Liang L, Xu X D, Chen C S, Fang J H, Jiang F G, Zhang X Z, Zhuo R X. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2010, 93:324 ~ 332
- 99 Liang L, Xu X D, Zhang X Z, Feng M, Peng C, Jiang F G. *Biomed Mater*, 2010, 5:045008

- 100 Aluri S, Janib S M, Mackay J A. *Adv Drug Deliv Rev*, 2009, 61: 940 ~ 952
- 101 MacEwan S R, Callahan D J, Chilkoti A. *Nanomedicine*, 2010, 5: 793 ~ 806
- 102 Gerweck L E, Vijayappa S, Kozin S. *Mol Cancer Ther*, 2006, 5: 1275 ~ 1279
- 103 Lee E S, Na K, Bae Y H. *J Control Release*, 2005, 103: 405 ~ 418
- 104 Oh K T, Lee E S, Kim D, Bae Y H. *Int J Pharm*, 2008, 358: 177 ~ 183
- 105 Yin H, Lee E S, Kim D, Lee K H, Oh K T, Bae Y H. *J Control Release*, 2008, 126: 130 ~ 138
- 106 Lee E S, Oh K T, Kim D, Youn Y S, Bae Y H. *J Control Release*, 2007, 123: 19 ~ 26
- 107 Lee E S, Gao Z, Kim D, Park K, Kwon I C, Bae Y H. *J Control Release*, 2008, 129: 228 ~ 236
- 108 Li W, Nicol F, Szoka F C Jr. *Adv Drug Deliv Rev*, 2004, 56: 967 ~ 985
- 109 Haas D H, Murphy R M. *J Pept Res*, 2004, 63: 9 ~ 16
- 110 Meyer D E, Shin B C, Kong G A, Dewhirst M W, Chilkoti A. *J Control Release*, 2001, 74: 213 ~ 224
- 111 Dreher M R, Simnick A J, Fischer K, Smith R J, Patel A, Schmidt M, Chilkoti A. *J Am Chem Soc*, 2008, 130: 687 ~ 694
- 112 Gil E S, Frankowski D J, Spontak R J, Hudson S M. *Biomacromolecules*, 2005, 6: 3079 ~ 3087
- 113 Mackary J A, Chilkoti A. *Int J Hyperthermia*, 2008, 24: 483 ~ 495
- 114 Urry D W, Luan C H, Parker T M, Gowda D C, Prasad K U, Reid M C, Safavy A. *J Am Chem Soc*, 1991, 113: 4346 ~ 4348
- 115 Kim W, Thevenot J, Ibarboure E, Lecommandoux S, Chaikof E L. *Angew Chem Int Ed*, 2010, 49: 4257 ~ 4760
- 116 Urry D W, Urry K D, Szaflarski W, Nowicki M. *Adv Drug Deliv Rev*, 2010, 62: 1404 ~ 1455
- 117 McDaniel J R, Callahan D J, Chilkoti A. *Adv Drug Deliv Rev*, 2010, 62: 1456 ~ 1467
- 118 MacKay J A, Chen M, McDaniel J R, Liu W, Simnick A J, Chilkoti A. *Nat Mater*, 2009, 8: 993 ~ 999
- 119 Dreher M R, Liu W, Michelich C R, Dewhirst M W, Chilkoti A. *Cancer Res*, 2007, 67: 4418 ~ 4424
- 120 Meyer D E, Kong G A, Dewhirst M W, Zalutsky M R, Chilkoti A. *Cancer Res*, 2001, 61: 1548 ~ 1554
- 121 Kim B, Chilkoti A. *J Am Chem Soc*, 2008, 130: 17867 ~ 17873
- 122 Liu W, MacKay J A, Dreher M R, Chen M, McDaniel J R, Simnick A J, Callahan D J, Zalutsky M R, Chilkoti A. *J Control Release*, 2010, 144: 2 ~ 9
- 123 Kratz F. *J Control Release*, 2008, 132: 171 ~ 183
- 124 Schmid B, Chung D E, Warnecke A, Fichtner I, Kratz F. *Bioconjug Chem*, 2007, 18: 702 ~ 716
- 125 Rejmanova P, Kopecek J, Duncan R, Lloyd J B. *Biomaterials*, 1985, 6: 45 ~ 48
- 126 Discher D E, Eisenberg A. *Science*, 2002, 297: 967 ~ 973
- 127 Berry C C. *Nanomedicine*, 2008, 3: 357 ~ 365
- 128 Torchilin V P. *Adv Drug Deliv Rev*, 2008, 60: 548 ~ 558
- 129 Saccardo P, Villaverde A, Gonzalez-Montalban N. *Biotechnol Adv*, 2009, 27: 432 ~ 438
- 130 Huang Y, Park Y S, Moon C, David A E, Chung H S, Yang V C. *Angew Chem Int Ed*, 2010, 49: 2724 ~ 2727
- 131 Kogan M J, Olmedo I, Hosta L, Guerrero A R, Cruz L J, Albericio F. *Nanomedicine*, 2007, 2: 287 ~ 306
- 132 Lewin M, Carlesso N, Tung C H, Tang X W, Cory D, Scadden D T, Weissleder R. *Nat Biotechnol*, 2000, 18: 410 ~ 414
- 133 Liu B R, Huang Y W, Chiang H J, Lee H J. *J Nanosci Nanotechnol*, 2010, 10: 7897 ~ 7905
- 134 Ruoslahti E, Bhatia S N, Sailor M J. *J Cell Biol*, 2010, 188: 759 ~ 768
- 135 Pasqualini R, Ruoslahti E. *Nature*, 1996, 380: 364 ~ 366
- 136 Ruoslahti E. *Nat Rev Cancer*, 2002, 2: 83 ~ 90
- 137 Laakkonen P, Vuorinen K. *Integr Biol*, 2010, 2: 326 ~ 337
- 138 Kolonin M G, Saha P K, Chan L, Pasqualini R, Arap W. *Nat Med*, 2004, 10: 625 ~ 632
- 139 Fan X, Venegas R, Fey R, van der Heyde H, Bernard M A, Lazarides E, Woods C M. *Pharm Res*, 2007, 24: 868 ~ 879
- 140 Arap W, Haedicke W, Bernasconi M, Kain R, Rajotte D, Krajewski S, Ellerby H M, Bredesen D E, Pasqualini R, Ruoslahti E. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 1527 ~ 1531
- 141 Fukumura D, Jain R K. *J Cell Biochem*, 2007, 101: 937 ~ 949
- 142 Baluk P, Hashizume H, McDonald D M. *Curr Opin Genet Dev*, 2005, 15: 102 ~ 111
- 143 Akerman M E, Pilch J, Peters D, Ruoslahti E. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102: 2040 ~ 2045
- 144 Ruoslahti E. *Science*, 1997, 276: 1345 ~ 1346
- 145 Ruoslahti E, Reed J. *Nature*, 1999, 397: 479 ~ 480
- 146 Buckley C D, Pilling D, Henriquez N V, Parsonage G, Threlfall K, Scheel-Toellner D, Simmons D L, Akbar A N, Lord J M, Salmon M. *Nature*, 1999, 397: 534 ~ 539
- 147 Arap W, Pasqualini R, Ruoslahti E. *Science*, 1998, 279: 377 ~ 380
- 148 Ellerby H M, Arap W, Ellerby L M, Kain R, Andrusiak R, Rio G D, Krajewski S, Lombardo C R, Rao R, Ruoslahti E, Bredesen D E,

- Pasqualini R. Nat Med, 1999, 5: 1032 ~ 1038
- 149 Sugahara K N, Teesalu T, Karmali P P, Kotamraju V R, Agemy L, Greenwald D R, Ruoslahti E. Science, 2010, 328: 1031 ~ 1035
- 150 Sugahara K N, Teesalu T, Karmali P P, Kotamraju V R, Agemy L, Girard O M, Hanahan D, Mattrey R F, Ruoslahti E. Cancer Cell, 2009, 16: 510 ~ 520
- 151 Simberg D, Duza T, Park J H, Essler M, Pilch J, Zhang L, Derfus A M, Yang M, Hoffman R M, Bhatia S, Sailor M J, Ruoslahti E. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104: 932 ~ 936
- 152 Park J H, von Maltzahn G, Xu M J, Fogal V, Kotamraju V R, Ruoslahti E, Bhatia S N, Sailor M J. Proc Natl Acad Sci USA, 2010, 107: 981 ~ 986
- 153 Pilch J, Brown D M, Komatsu M, Jarvinen T A, Yang M, Peters D, Hoffman R M, Ruoslahti E. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103: 2800 ~ 2804
- 154 Peters D, Kastantin M, Kotamraju V R, Karmali P P, Gujraty K, Tirrell M, Ruoslahti E. Proc Natl Acad Sci USA, 2009, 106: 9815 ~ 9819
- 155 Park J H, von Maltzahn G, Zhang L, Derfus A M, Simberg D, Harris T J, Ruoslahti E, Bhatia S N, Sailor M J. Small, 2009, 5: 694 ~ 700

PEPTIDES AND POLYPEPTIDES FOR GENE AND DRUG DELIVERY

CHEN Jingxiao, WANG Huiyuan, XU Xiaoding, CHEN Weihai, ZHANG Xianzheng

(Key Laboratory of Biomedical Polymers of Ministry of Education & Department of Chemistry, Wuhan University, Wuhan 430072)

Abstract Peptides and polypeptides have been widely used for gene and drug delivery due to their inherent bioactivity, biodegradability and well biocompatibility. Due to the specific bioactivity of peptides, peptide-based gene and drug delivery systems could achieve improved gene transfection efficiency, enhanced drug targeting property and reduced side-effect. This article reviews the recent progress in peptides and polypeptides as gene and drug carriers. The mechanism and characteristics of some bioactive peptides were also introduced. Finally, the prospect of bioactive peptides in cancer treatments was proposed.

Keywords Peptide, Polypeptide, Gene vector, Drug delivery, Cancer therapy