

·综述·

用于基因传递系统控制释放的可生物降解高分子材料^{*}

付慧莉 程巳雪^{**} 卓仁禧

(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 综述了用于基因传递系统控制释放的各类高分子材料包括天然高分子及其衍生物、合成高分子,并介绍了它们在基因治疗和组织工程领域中的应用.

关键词 可生物降解高分子, 基因传递, 组织工程

基因治疗指将遗传信息(即基因)传递到特定的细胞以指导合成特定的蛋白^[1],修正遗传疾病中故障基因的影响,可以治疗癌症等重大疾病,也可以通过编码特定抗原成分的基因的表达,以疫苗的形式来预防疾病.

众所周知,裸 DNA 很难进入细胞进行表达,基因传递系统可以将治疗基因运送到细胞以实现基因表达.基因载体主要分为病毒载体、非病毒载体.病毒载体的效率高,目前依然是研究最多也是最有效的基因传递系统,进行临床研究的基因治疗方案中病毒载体也占大多数.尽管如此,基于病毒载体的基因治疗面临的一个严峻挑战就是安全问题.非病毒载体安全、易于制造,是将来载体的发展方向.高分子和脂质体是最重要的两种非病毒基因载体^[1].

随着对基因治疗研究的深入,人们发现基因治疗领域存在的主要问题是有效性和安全性,如果直接用载体/DNA 复合物进行基因传递,载体/DNA 复合物虽然能够避免质粒 DNA 被降解和有利于 DNA 被细胞内吞,但在复杂的体内传递过程当中,载体/DNA 复合物容易聚集,且很快被降解、清除,基因传递系统真正能够到达病损组织的很少,难以达到理想的治疗效果.并且不可避免的会对非靶向细胞产生毒性,还有可能引起免疫反应^[2].

为了克服上述基因传递的细胞外屏障,并实现基因的可控持续释放,人们将控制释放技术应用到基因传递上.为了尽量减少副作用,理想的基因治疗应能根据病变的性质和严重程度不同,调

控治疗基因在适当的组织器官内、以适当的水平表达^[2].控制释放基因或载体/DNA 复合物并介导基因传递的高分子一般为具有良好生物相容性和生物可降解性的高分子材料.

控制释放基因传递系统的高分子基质有多种不同的形式,如纳米粒子^[3]、微球^[4]和可植入的基质和支架等^[5].包裹 DNA 的可降解高分子纳米粒子和小尺寸微球被细胞内吞后,可在胞内释放 DNA.较大尺寸的微球不能被细胞内吞,可以截留在组织里细胞外的空间,通过扩散和高分子降解释放 DNA 或载体/DNA 复合物到细胞微环境中,被细胞内吞,转染传递位点的细胞.通过基质或支架传递基因的方法称为基质介导传递(substrate-mediated delivery)^[2].DNA 或载体/DNA 复合物通过非特异性表面吸附、特异性受体-配体相互作用、共价键接或包埋等方法负载到高分子基质的表面或内部.将这种基质植入体内靠近靶细胞,粘附在高分子基质上的细胞直接内吞表面的 DNA 或载体/DNA 复合物,或内吞从表面分离出来的 DNA 或载体/DNA 复合物^[2],能够以较少量 DNA 或 DNA 复合物和较低的毒性、达到与静脉注射较多剂量相当的转染效果^[6].另外,通过调控系统的降解速率还可获得 DNA 或载体/DNA 复合物的可控持续释放^[7].将这种基质介导基因传递应用到组织工程的支架上,还可以促进和引导支架上干细胞或祖细胞的分化致使功能化组织的形成,或引导受损组织的修复^[8].

用于基因传递系统控制释放的高分子材料可分为天然高分子和合成高分子两大类,具体情况

^{*} 2008-09-02 收稿,2008-10-17 修稿;^{**} 通讯联系人,E-mail: chengsixue@hotmail.com

如下.

1 天然高分子及其衍生物

天然高分子及其衍生物的最大优点在于它们优良的生物相容性. 作为细胞外基质成分的衍生物, 天然高分子本身具有与细胞相互作用的能力和可降解的性质, 使其在组织工程中具有非常广泛的用途^[9]. 此外, 很多亲水性的天然高分子可以在体外制成水凝胶, 或注射入体内后原位形成凝胶, 在这些凝胶中包裹基因载体可以用于组织工程中促进骨、肌肉、血管、神经等组织的修复.

常用的这类天然高分子有胶原、去端肽胶原、明胶、纤维蛋白、糖胺多糖、壳聚糖、藻酸盐和琼脂糖等.

1.1 胶原

胶原(collagen)是动物体内含量最丰富的蛋白质, 也是细胞外基质的成分之一. 因此在用于基因传递的组织工程支架中, 胶原也是研究最早和最多的天然高分子. 胶原可生物降解, 可以制成多种不同的形式, 包括溶液、海绵、纤维和在生理温度下成凝胶等.

胶原基质中可以负载各种形式的载体/DNA 复合物, 诱导基因表达和修复各种组织. 研究发现负载在胶原中的聚乙烯亚胺(PEI)/DNA 复合物和阳离子脂质体/DNA 复合物比裸 DNA 的基因表达效果要好^[10,11]. 此外保护性高分子 PROCOP 的添加有利于提高 PEI/DNA 复合物的转染能力^[10]. 用聚赖氨酸(poly(L-lysine), PLL)修饰胶原可以增强胶原基质和质粒 DNA 的非特异性相互作用, 提高转染能力^[11]. 用胶原海绵负载 pMat-1 质粒 DNA, 体内实验表明可应用于狗的断骨修复^[12]. 类似的研究发现将胶原基质负载编码甲状旁腺激素的质粒用于局部基因传递与注射给药相结合能达到协同作用, 更好地修复大鼠腿骨裂口, 使骨矿物质密度、骨矿物质成分和骨面积显著增加^[13]. 负载编码成纤维细胞生长因子 FGF2、脑源性神经营养因子 BDNF 和神经营养因子 NT3 的质粒的胶原基质可用于大鼠的视觉神经的修复^[14]. 治疗后, 与对照相比, 视网膜神经节细胞的存活率增高. 同时也发现神经胶质细胞迁移到胶原基质当中, 确认了在转基因的过程中, 进入基质内部并内吞基质所传递的质粒的迁移细胞起到了重要的作用. 尽管从长期的安全性上考虑, 使用病毒载体进行转染具有很大隐患, 将携带 DNA 的病毒载体包封在胶

原中也有报道. 如在兔模型中通过负载携带编码人血小板源性生长因子 PDGF-B 的腺病毒的胶原敷在伤口处可产生免疫球蛋白 G(IgG)反应^[15].

1.2 去端肽胶原

去端肽胶原(atelocollagen)是把胶原上的抗原决定基去掉后的一种变性的胶原, 与胶原相比, 它的免疫原性更低.

去端肽胶原已被用于负载多种质粒 DNA 和 siRNA. 例如, 负载编码 HST-1/FGF-4 的质粒的去端肽胶原微粒注射到小鼠体内可缓释基因, 通过基因表达使小鼠体内的血小板数持续增加^[16]. 用去端肽胶原包埋 FGF-4 siRNA 注射入小鼠体内可抑制肿瘤产生 FGF-4 长达 20 天, 从而抑制肿瘤生长^[17].

1.3 明胶及其衍生物

明胶(gelatin)是胶原的衍生物, 可由胶原热变性或者经物理、化学降解得到. 明胶具有良好的生物相容性和生物可降解性, 降解产物易被吸收而不产生炎症反应. 胶原在生理条件下具有一定的抗原性, 明胶则无抗原性. 明胶还具有溶胶-凝胶的可逆转换性和好的成膜性能.

明胶可作为负载 DNA 的基质制备基因微阵列(gene microarray), 将编码不同基因的 DNA 分别与明胶混合, 点在载玻片上排成微阵列, 在每个明胶点中加入转染试剂后, 在载玻片上培养细胞, 转染表达的结果用免疫荧光来检测, 可达到筛选基因的目的^[18]. 将携带编码白介素 IL-2、IL-12 和肿瘤坏死因子 TNF- α 的病毒载体负载在明胶海绵内, 注射入小鼠体内, 可抑制肿瘤生长^[19]. 将一种明胶衍生物涂覆在金属支架表面, 通过光交联可形成交联凝胶层, 负载携带编码 β -半乳糖苷酶的腺病毒载体用于局部基因传递^[20, 21], 基因从凝胶中释放的速率可以通过交联的不同程度来调整, 可用于动脉硬化的基因治疗^[20]. 用乙二胺将明胶阳离子化并用交联剂交联制备阳离子明胶凝胶, 用来复合编码 pSV-LacZ 的质粒 DNA. 凝胶植入小鼠体内后, DNA 的释放速率主要由凝胶的含水量和交联程度决定, 植入后在小鼠体内可持续检测到基因的表达^[22, 23]. 在缺血心肌组织模型中, 编码成纤维细胞生长因子 FGF-2 的病毒载体被混合到胶原-明胶基质中并被注射到猪的心肌中的缺血区域, 与对照组相比, 治疗组的缺血区域血管生成增加, 而且新形成的血管直径更大, 血管壁更厚^[24].

1.4 纤维蛋白

纤维蛋白(fibrin)是纤维蛋白原经激活后形成的聚合物凝胶.纤维蛋白原是血浆中含量较高的大分子蛋白质,因此纤维蛋白具有良好的生物相容性和很低的免疫原性.纤维蛋白可生物降解,而且降解速率较快.注射负载 PTN 多效生长因子质粒的纤维蛋白胶到心肌梗塞的大鼠心脏,比单独注射 PTN 质粒的对照组更高密度的血管生成^[25].

1.5 糖胺多糖

糖胺多糖(glycosaminoglycans, GAGs)带负电,具有展开的构型,因此导致溶液态的高黏度.GAGs 主要分布于细胞表层或细胞外基质中,其韧性足以支撑细胞结构的完整性及提供细胞移动的孔道.具有生理重要性的 GAGs 包括透明质酸(hyaluronic acid, HA)、硫酸软骨素(chondroitin sulfate)等.

HA 可负载多种基因传递系统,其 DNA 释放速率受 HA 凝胶交联度的影响^[26].交联 HA 膜可负载编码透明质酸合成酶 Has2 的 DNA,对其进行缓释,转染细胞,在被转染的细胞中能检测到更多 HA 的生成^[27].通过生物素-蛋白素(biotin-avidin)作用或非特异性吸附作用在交联的透明质酸-胶原水凝胶表面可以负载 PEI/DNA 复合物,对细胞进行转染^[28].

用负载荧光素酶质粒(pLuc)的胶原-糖胺多糖基质来转染软骨细胞,pLuc 从基质中释放出来,能成功地介导基因表达^[29].

1.6 壳聚糖

壳聚糖(chitosan)是直链阳离子聚合物,由甲壳素(chitin)经脱乙酰化反应制备而成.壳聚糖中的 *N*-乙酰基吡喃可被溶菌酶缓慢降解为无毒的氨基葡萄糖后被人体完全吸收,因此具有良好的生物相容性和生物活性.

利用包埋编码转化生长因子 TGF- β 的质粒的壳聚糖-明胶多孔支架上培养、转染软骨细胞,能够在 3 周内表达 TGF- β 蛋白^[30].

1.7 藻酸盐

藻酸盐(alginate)是存在于褐藻类海洋生物中的一种线型阴离子天然多糖,具有良好的生物相容性和生物安全性.

用水溶性改性甲壳素/藻酸盐复合纤维包裹 PEI/DNA 复合物,用针冲压技术将纤维制成三维的无纺布支架,在支架上培养的 HEK293 和 HDF

细胞,直到 2 星期后还有明显的基因转染表达.这种含有编码碱性成纤维细胞生长因子 bFGF 的质粒的纤维支架可使生长在上方的成纤维细胞更长时间分泌更高水平的 bFGF^[31].

1.8 琼脂糖

琼脂糖(agarose)是琼脂中不带电荷的中性组成成分,主要成分为多聚半乳糖.有文献报道在大鼠皮下注射包裹有 PLL/DNA 复合物的琼脂糖凝胶可产生长达 35 天的荧光素酶表达^[32].

2 合成高分子

合成高分子突出的优点在于它们易于改性和加工成型,且降解速率可调控.常用作负载基因载体基质的合成高分子有聚(丙交酯-co-乙交酯)、聚乳酸、聚原酸酯、聚 β -氨基酯、聚酸酐、聚氨酯和聚(乙烯-co-醋酸乙烯酯)等.

2.1 聚(丙交酯-co-乙交酯)

聚(丙交酯-co-乙交酯)(poly(lactide-co-glycolide), PLG)是一种通过 FDA 认证可用于人体的共聚物,在体内可水解降解,是研究最多的用作负载基因传递系统的基质. PLG 可以制成纳米球、微球、支架和可注射等不同形式的基质来负载一系列病毒或非病毒基因载体/DNA 复合物^[33~35].基质释放基因载体/DNA 复合物的速率由基质的制备方法和降解速率等决定,其中降解速率可通过高分子的分子量和共聚单元组成来调节.

PLG 微球可通过乳液法来制备,微球中包封 DNA^[36]或 PLL/DNA 复合物^[37].DNA 的释放速率与 PLG 和 DNA 分子量和 DNA 浓度有关^[36].在 PLG 表面引入阳离子如 PEI^[38]、十六烷基三甲基溴化铵(cetyl trimethyl ammonium bromide, CTAB)^[39]等,可以通过静电相互作用将 DNA 吸附到微球表面,这样可以避免包封 DNA 时 DNA 受到的剪切力,减少 DNA 的降解.另外,还可以使 DNA 快速释放,因此在引起免疫反应方面,表面吸附 DNA 的阳离子 PLG 微球比裸 DNA 和包封 DNA 的微球更具有优势^[39].

PLG 也常被用作组织工程中的支架,支架的降解速率可通过高分子的分子量和乳酸单元、羟基乙酸单元的比例来调节.用气体发泡的方法可制备包封 DNA 的 PLGA 多孔支架^[40],DNA 从支架中的释放可持续四周,体外细胞实验及大鼠动物实验表明此支架能够介导基因表达.

与包封裸 DNA 相比,包裹载体/DNA 复合物

可提高转染效率. 负载 PEI/DNA 复合物的 PLG 多孔支架可实现有效的体外和体内转染^[41~43]. 将 PEI/DNA 复合物包埋在 PLG 多孔支架里可以实现细胞长达 15 周的 β -半乳糖苷酶基因表达^[42]. 在大鼠的骨再生实验中, 负载 PEI/DNA 复合物的 PLG 支架表达了骨形态发生蛋白 BMP-4 基因, 而且骨再生的程度比只负载裸 DNA 支架和空白支架都要高^[43]. 在 PLG 支架负载 PEI/DNA 复合物可成功地对细胞进行转染, 基因表达效果不低于溶液相的转染^[44]. 在 PLG 膜表面负载 PAMAM/DNA 作为固相转染时, 加入 1% ~ 5% 的亲水性磷脂酰甘油, 体外实验表明可达到提高细胞转染的效果^[45]. 将包封有编码绿色荧光蛋白 GFP 质粒的 PLGA 涂覆在血管支架表面在动物实验中可实现猪体内基因的持续表达^[46]. 包裹 pDL-1 等多种质粒 DNA 的可注射形式的 PLG 四氢呋喃聚乙二醇醚 (glycofurol) 溶液皮下注射入小鼠体内, 可实现 4 周的基因表达^[47]. 同时负载释放血管内皮生长因子 VEGF-165 和血小板源性生长因子 PDGF-BB 多孔 PLG 支架植入大鼠体内, 可在支架里和周围形成发育完好的血管网络^[48].

2.2 聚乳酸及其衍生物

聚乳酸 (poly (lactic acid), PLA) 又称聚丙交酯, 是获得美国 FDA 认证, 并已广泛应用于临床的一类可生物降解的合成高分子. PLA 在作为基因传递基质方面也有比较广泛的应用.

通过乳化法可用不同分子量和组成的 PLA 和 PLG 制备包裹 pGL3 的纳米球, 在 MCF-7 和 PC-3 细胞中进行转染. 基因表达的效果与 DNA 的释放量、高分子的分子量、组成以及聚乙烯醇 PVA 的加入相关^[49]. 将阳离子高分子壳聚糖、PEI 和聚甲基丙烯酸-*N,N*-二甲氨基乙酯 (poly(2-dimethylamino) ethyl methacrylate, PDMAEMA) 分别吸附到用乳化法制备的 PLA 纳米粒子上, 可得到的阳离子纳米球, 用来复合 pGL3 质粒 DNA, 体外细胞实验表明吸附 PDMAEMA 的纳米粒子对 DNA 释放能力和转染效率最好^[50].

PLA 的衍生物也被广泛用作控制释放基因的载体. 例如用乳化法及溶剂挥发法可制备用于黏膜给药的包封 tetanus toxoid (TT) 或 PCMV/B-gal 质粒 DNA 的嵌段共聚物 PLA-PEG 纳米粒子, 大鼠动物实验表明纳米粒子可介导基因传递, 引起明显的抗体反应^[51]. 用高分子沉淀的方法在阳离子脂质体/pRc/CMV-HBs(S) 质粒复合物表面包裹 PLA,

通过注射给药到小鼠体内, 可引起比未修饰的阳离子脂质体/DNA 复合物或裸 DNA 更强的持续有效的免疫反应^[52]. 通过紫外光交联两端含功能基团的 PLA-PEG-PLA, 在水溶液中交联制备水凝胶, 包封多种 DNA 复合物如 PEI/DNA 复合物、脂质体 DNA 复合物, 细胞实验表明其可实现有效的基因转染^[53].

通常 PLA 具有本体降解特性, 通过功能化制备的星型 PLA, 在一定分子量范围内具有表面降解的特性, 可以快速释放所负载的 PAMAM/DNA 复合物, 高效地实现细胞转染^[54]. 水溶性的高分子 α, β -聚(2-羟乙基)-*L*-天冬酰胺 (PHEA) 的加入能够在制备过程中保护 PAMAM/DNA 复合物的活性, 显著提高基因表达水平^[54].

2.3 聚原酸酯

聚原酸酯 (poly (orthoester) s, POEs) 为可生物降解高分子材料, 降解受 pH 的影响显著. POEs 在 pH > 7 时通常很稳定, 而在较低的 pH 值下迅速降解^[55].

当包裹 DNA 疫苗的 POE 微球被免疫系统的抗原呈递细胞 APCs 吞噬以后, 吞噬体内较低 pH 的环境使得微球迅速降解放出 DNA, 从而起到提高抗原表达水平和增强免疫反应的作用. 在小鼠动物实验中, POEs 微球释放针对肿瘤抗原的 DNA 疫苗引起了明显的免疫反应, 并抑制了肿瘤细胞的生长^[56].

2.4 聚 β -氨基酸

聚 β -氨基酸酯 (poly (β -amino ester) s, PBAEs) 的降解也受 pH 的影响显著. 聚 β -氨基酸酯最初是被用作阳离子基因载体^[57]. 在还没有质子化的状态下, PBAEs 比较疏水, 可用来制备包封 DNA 的微球, 也可与 PLG 混合制备微球用于 DNA 疫苗的传递^[58, 59]. 微球被 APCs 吞噬以后, 聚 β -氨基酸酯在低 pH 环境下质子化, 可与质粒 DNA 静电复合形成纳米复合物, 减少 DNA 在细胞内的降解, 使得更多的质粒参与转染. 在癌症的动物模型中, 其抑制肿瘤生长的效果也比 PLG 微球有显著提高^[59].

2.5 聚酸酐

聚酸酐 (polyanhydrides) 是一类具有良好生物相容性的可降解的合成高分子材料, 已被广泛应用于药物传递^[60]. 聚酸酐具有表面侵蚀的降解特性, 可以持续稳定地释放所包封的药物^[61, 62].

用聚(富马酸-*co*-癸二酸) (poly (fumaric acid-*co*-sebacic acid), P(FA-*co*-SA), 包封质粒 pCMV/ β -

gal 制备的口服微球在动物实验表明可导致体内转染^[63]。大鼠口服负载 DNA 的微球数天后在小肠和肝中可观察到比对照(比裸质粒 DNA 和空白微球)更高的 β -牛乳糖活性。含双功能基团的单体光交联可形成的网络状聚酸酐基质,也具有表面侵蚀的降解特性,用来包封 DNA 可实现 DNA 持续稳定的释放,但释放出来的 DNA 只有部分保持原形态;用藻酸盐微粒先包封 DNA,再包埋在聚酸酐基质中,可以减少高分子降解对 DNA 的破坏^[64]。这种聚酸酐基质可用于组织工程和整形生物材料。

2.6 聚氨酯

聚氨酯(polyurethanes)是一种弹性体,具有良好的生物相容性和高拉伸强度,易成型加工,在组织工程的各个领域都得到了广泛应用^[65]。通过化学反应在聚氨酯分子链引入抗腺病毒抗体,用来结合 GFP 的病毒载体,这种聚氨酯膜涂覆在血管支架上可用于心血管疾病的基因治疗,猪动物模型试验中表明其可以实现 GFP 在血管内特定定位点的基因传递^[66]。

2.7 聚(乙烯-co-醋酸乙烯酯)

聚(乙烯-co-醋酸乙烯酯)(poly(ethylene-co-vinylacetate), EVAc) 是一类不可完全降解的合成高分子,具有良好的柔软性和加工性能,已被广泛用于不可降解的药物控制释放系统^[67]。

EVAc 制成多孔支架,可被用于局部持续控制释放 DNA,当水渗透入支架后,里面包封的 DNA 可扩散释放出来^[66]。用 EVAc 基质负载 pcDNA3/LDH-C4 质粒 DNA 通过黏膜给药实现了局部可控

的持续的 DNA 疫苗释放,小鼠动物实验表明释放的 DNA 保持功能活性和转染能力,并能引起比裸 DNA 更强的长期局部免疫^[68]。

3 结语

用高分子基质对基因或基因/载体复合物进行控制释放,可以增强基因或基因/载体复合物在传递过程中的稳定性,维持所需基因或基因/载体复合物的浓度,从而提高转染效率,并且减少剂量和降低毒性。各种不同性能的可生物降解高分子材料可以制备为多种不同形式和功能的基因传递系统控制释放体系,在基因治疗过程中发挥各自重要的作用。

基因治疗在组织工程当中一个非常有前景的应用是引导功能化组织的生成和修复。通过在可生物降解高分子支架上负载编码组织诱导因子的基因并对支架进行设计和优化,创造可控的环境,可以促进和引导支架上内源或植入的干细胞或祖细胞的分化,从而促进组织形成。然而功能化组织的形成非常复杂,往往需要在不同时间不同部位维持一定浓度的多种组织诱导因子,表达基因的细胞数量和表达范围都将影响组织的形成。通过对负载基因传递系统支架的控制释放性能进行精确调控,如对空间(从二维到三维的控制)、时间(前后不同细胞诱导因子的释放)、释放基因的浓度和持续时间等的控制,将是这一领域的研究热点。作为控制释放的载体,降解速率可调控、具有特定理化性能的高分子在这一领域具有广泛的应用前景。

REFERENCES

- 1 Putnam D. Nat Mater, 2006, 5: 439 ~ 451
- 2 Pannier A K, Shea L D. Mol Ther, 2004, 10: 19 ~ 26
- 3 Sandor M, Mehta S, Harris J, Thanos C, Weston R, Marshall J, Mathiowitz E. J Drug Target, 2002, 10: 497 ~ 506
- 4 Hedley M L, Curley J, Urban R. Nat Med, 1998, 4: 365 ~ 368
- 5 Laporte L D, Shea L D. Adv Drug Deliv Rev, 2007, 59: 292 ~ 307
- 6 Storrie H, Mooney D J. Adv Drug Deliv Rev, 2006, 58: 500 ~ 514
- 7 Wieland J, Houchin-Ray T, Shea L D. J Control Release, 2007, 120: 233 ~ 241
- 8 Rebar E J, Huang Y, Hickey R, Nath A K, Meoli D, Nath S, Chen B, Xu L, Liang Y, Jamieson A C, Zhang L, Spratt S K, Case C C, Wolffe A, Giordano F J. Nat Med, 2002, 8: 1427 ~ 1432
- 9 Lutolf M P, Hubbell J A. Nat Biotechnol, 2005, 23: 47 ~ 55
- 10 Scherer F, Schillinger U, Putz U, Stemberger A, Plank C J. Gene Med, 2002, 4: 634 ~ 643
- 11 Cohen-Sacks H, Elazar V, Gao J, Golomb A, Adwan H, Korchev N, Levy R J, Berger M R, Golomb G. J Control Release, 2004, 95: 309 ~ 320
- 12 Bonadio J, Smiley E, Patil P, Goldstein S. Nat Med, 1999, 5: 753 ~ 759
- 13 Chen H, Frankenburg E P, Goldstein S A, McCauley L K. Clin Orthop Relat R, 2003, 416: 291 ~ 302

- 14 Berry M, Gonzalez A M, Clarke W, Greenlees L, Barrett L, Tsang W, Seymour L, Bonadio J, Logan A, Baird A. *Mol Cell Neurosci*, 2001, 17 706 ~ 716
- 15 Gu D, Nguyen T, Gonzalez A M, Printz M A, Pierce G F, Sosnowski B A, Phillips M L, Chandler L A. *Mol Ther*, 2004, 9 699 ~ 711
- 16 Ochiya T, Takahama Y, Nagahara S, Sumita Y, Hisada A, Itoh H, Nagai Y, Terada M. *Nat Med*, 1999, 5 707 ~ 710
- 17 Minakuchi Y, Takeshita F, Kosaka N, Sasaki H, Yamamoto Y, Kouno M, Honma K, Nagahara S, Hanai K, Sano A, Kato T, Terada M, Ochiya T. *Nucleic Acids Res*, 2004, 32 e109
- 18 Ziauddin J, Sabatini D M. *Nature*, 2001, 411 107 ~ 110
- 19 Siemens D R, Austin J C, Hedican S P, Taglia J, Ratliff T L. *J Natl Cancer Inst*, 2000, 92 403 ~ 412
- 20 Nakayama Y, Ji-Youn K, Nishi S, Ueno H, Matsuda T. *J Biomed Mater Res*, 2001, 57 559 ~ 566
- 21 Okino H, Manabe T, Tanaka M, Matsuda T. *J Biomed Mater Res A*, 2003, 66 643 ~ 651
- 22 Fukunaka Y, Iwanaga K, Morimoto K, Kakemi M, Tabata Y. *J Control Release*, 2002, 80 333 ~ 343
- 23 Kushibiki T, Tomoshige R, Fukunaka Y, Kakemi M, Tabata Y. *J Control Release*, 2003, 90 207 ~ 216
- 24 Horvath K A, Doukas J, Lu C Y, Belkind N, Greene R, Pierce G F, Fullerton D A. *Ann Thorac Surg*, 2002, 74 481 ~ 486
- 25 Christman K L, Fang Q, Yee M S, Johnson K R, Sievers R E, Lee R J. *Biomaterials*, 2005, 26 1139 ~ 1144
- 26 Kim A, Checkla D M, Dehazya P, Chen W. *J Control Release*, 2003, 90 81 ~ 95
- 27 Kim A P, Yellen P, Yun Y H, Azeloglu E, Chen W. *Biomaterials*, 2005, 26 1585 ~ 1593
- 28 Segura T, Chung P H, Shea L D. *Biomaterials*, 2005, 26 1575 ~ 1584
- 29 Samuel R E, Lee C R, Ghivizzani S C, Evans C H, Yannas I V, Olsen B R, Spector M. *Hum Gene Ther*, 2002, 13 791 ~ 802
- 30 Guo T, Zhao J, Chang J, Ding Z, Hong H, Chen J, Zhang J. *Biomaterials*, 2005, 27 1095 ~ 1103
- 31 Lim S H, Liao I-C, Leong K W. *Mol Ther*, 2006, 13 1163 ~ 1172
- 32 Meilander-Lin N J, Cheung P J, Wilson D L, Bellamkonda R V. *Tissue Eng*, 2005, 11 546 ~ 555
- 33 Jang J-H, Shea L D. *J Control Release*, 2003, 86 157 ~ 168
- 34 Beer S J, Hilfinger J M, Davidson B L. *Adv Drug Deliv Rev*, 1997, 27 59 ~ 66
- 35 Kofron M D, Laurencin C T. *Biomaterials*, 2004, 25 2637 ~ 2643
- 36 Luo D, Woodrow-Mumford K, Belcheva N, Saltzman W M. *Pharm Res*, 1999, 16 1300 ~ 1308
- 37 Capan Y, Woo B H, Gebrekidan S, Ahmed S, DeLuca P P. *Pharm Res*, 1999, 16 509 ~ 513
- 38 Kasturi S P, Qin H, Thomson K S, El-Bereir S, Cha S, Neelapu S, Kwak L W, Roy K. *J Control Release*, 2006, 113 261 ~ 270
- 39 O'Hagan D T, Singh M, Ulmer J B. *Immunol Rev*, 2004, 199 191 ~ 200
- 40 Shea L D, Smiley E, Bonadio J, Mooney D J. *Nat Biotechnol*, 1999, 17 551 ~ 554
- 41 Huang Y C, Connell M, Park Y, Mooney D J, Rice K G. *J Biomed Mater Res*, 2003, 67A 1384 ~ 1392
- 42 Huang Y C, Riddle K, Rice K G, Mooney D J. *Hum Gene Ther*, 2005, 16 609 ~ 617
- 43 Huang Y C, Simmons C, Kaigler D, Rice K G, Mooney D J. *Gene Ther*, 2005, 12 418 ~ 426
- 44 Jang J H, Bengali Z, Houchin T L, Shea L D. *J Biomed Mater Res A*, 2006, 77 50 ~ 58
- 45 Bielinska A U, Yen A, Wu H L, Zahos K M, Sun R, Weiner N D, Baker J R, Roessler B J. *Biomaterials*, 2000, 21 877 ~ 887
- 46 Klugherz B D, Jones P L, Cui X, Chen W, Meneveau N F, DeFelice S, Connolly J, Wilensky R L, Levy R J. *Nat Biotechnol*, 2000, 18 1181 ~ 1184
- 47 Eliaz R E, Szoka F C. *Gene Ther*, 2002, 9 1230 ~ 1237
- 48 Richardson T P, Peters M C, Ennett A B, Mooney D J. *Nat Biotechnol*, 2001, 19 1029 ~ 1034
- 49 Prabha S, Labhasetwar V. *Pharm Res*, 2004, 21 354 ~ 364
- 50 Munier S, Messai I, Delair T, Verrier B, Ataman-önal Y. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2005, 43 163 ~ 173
- 51 Vila A, Sánchez A, Pérez C, Alonso M J. *Polym Adv Tech*, 2003, 13 851 ~ 858
- 52 Bramwell V W, Eyles J E, Somavarapu S, Alpar H O. *Immunology*, 2002, 106 412 ~ 418
- 53 Quick D J, Anseth K S. *Pharm Res*, 2003, 20 1730 ~ 1737
- 54 Fu H L, Cheng S X, Zhang X Z, Zhuo R X. *J Control Release*, 2007, 124 181 ~ 188
- 55 Heller J, Barr J, Ng S Y, Abdellaoui K S, Gurny R. *Adv Drug Deliv Rev*, 2002, 54 1015 ~ 1039
- 56 Wang C, Ge Q, Ting D, Nguyen D, Shen H R, Chen J, Eisen H N, Heller J, Langer R, Putnam D. *Nat Mater*, 2004, 3 190 ~ 196
- 57 Akinc A, Anderson D G, Lynn D M, Langer R. *Bioconjugate Chem*, 2003, 14 979 ~ 988
- 58 Lynn D M, Amiji, M M, Langer R. *Angew Chem Int Edit*, 2001, 40 1707 ~ 1710
- 59 Little S R, Lynn D M, Ge Q, Anderson D G, Puram S V, Chen J Z, Eisen H N, Langer R. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101 9534 ~ 9539
- 60 Varde N K, Pack D W. *Expert Opin Biol Ther*, 2004, 4 35 ~ 51
- 61 Gopferich A, Tessmar J. *Adv Drug Deliv Rev*, 2002, 54 911 ~ 931
- 62 Kumar N, Langer R S, Domb A J. *Adv Drug Deliv Rev*, 2002, 54 889 ~ 910
- 63 Mathiowitz E, Jacob J S, Jong Y S, Carino G P, Chickering D E, Chaturvedi P, Santos C A, Vijayaraghavan K, Montgomery S, Bassett M, Morrell C. *Nature*, 1997, 386 410 ~ 414

- 64 Quick D J, Macdonald K K, Anseth K S. *J Control Release*, 2004, 97: 333 ~ 343
- 65 Lamba N M K, Woodhouse K A, Cooper S L. *Polyurethanes in Biomedical Applications*. Washington D C: CRC Press, 1998. 205 ~ 241
- 66 Stachelek S J, Song C, Alferiev I, Defelice S, Cui X, Connolly J M, Bianco R W, Levy R J. *Gene Ther*, 2004, 11: 15 ~ 24
- 67 Langer R, Folkman J. *Nature*, 1976, 263: 797 ~ 800
- 68 Shen H, Goldberg E, Saltzman W M. *J Control Release*, 2003, 86: 339 ~ 348

BIODEGRADABLE POLYMERS FOR CONTROLLED RELEASE OF GENE DELIVERY SYSTEMS

FU Huili, CHENG Sixue, ZHUO Renxi

(Key Laboratory of Biomedical Polymers of Ministry of Education, College of Chemistry and Molecular Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072)

Abstract Gene therapy shows great promise to treat both acquired and inherited diseases. Numerous gene delivery systems based on viral and nonviral vectors have been developed to protect plasmid DNA and facilitate cell binding and internalization. Nevertheless, it is still a challenge to deliver DNA to target cell population and particular location by injection or systematic delivery due to the immune responses and DNA complex aggregation, degradation, and clearance from the tissue. Polymers loaded with gene or vector/gene complexes can realize the controlled release of gene delivery systems and direct gene delivery to target tissues. This technique, known as “substrate-mediated transfection”, overcomes the extracellular barriers of gene delivery, sustains the gene release, decreases the toxicity and consequently improves the gene transfection efficiency. Most commonly, the polymers for the controlled release of gene delivery systems are biodegradable polymers. Using these polymers, a variety of formulations of controlled release systems, including nanoparticles, microspheres, implantable matrices and scaffolds, can be fabricated. This review focuses on the recent developments in the polymers used for the controlled release of gene delivery systems, with emphasis on their applications in gene therapy and tissue engineering. These polymers are classified as natural polymers and their derivatives such as collagen, atelocollagen, gelatin, fibrin, glycosaminoglycans, chitosan, alginate, and agarose, and synthetic polymers including poly(lactide-co-glycolide), poly(lactic acid), functionalized poly(lactic acid), poly(orthoester)s, poly(β -amino ester)s, polyanhydrides, polyurethanes and poly(ethylene-co-vinylacetate). Looking to the future, through exquisite adjusting of the chemical and physical characteristics of the polymers, optimally engineered properties may be created to gain greater control over gene expression and cell growth.

Keywords Biodegradable polymers, Gene delivery, Tissue engineering