

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2010.01.021

联合细胞穿膜肽的肿瘤靶向载体

施伟杰, 毕丽伟, 许瑞安(华侨大学 分子药理学研究所, 教育部分子药物工程研究中心, 福建 362021)

[摘要] 靶向载体研究是近年来肿瘤靶向治疗中的热点。肿瘤靶向载体具有特异性高、毒副作用小的特点, 但其无法穿透细胞膜的缺点限制了其对于许多在细胞内起效的抗肿瘤药物的应用。新近发现的细胞穿膜肽(cell-penetrating peptides, CPPs) 具有无可比拟的转导活细胞能力。将 CPPs 和靶向载体联合应用, 可综合两者的优点、克服各自缺陷, 从而提高肿瘤靶向治疗疗效。依据两者的作用原理和结合方式, 可分为自身具有靶向功能的 CPPs 载体、融合靶向配基的载体、联结 CPPs 的纳米载体、对肿瘤微环境敏感的 CPPs 靶向载体和联结其他特殊功能载体的 CPPs 等 5 类。不断提高 CPPs 靶向载体的细胞内化效率和所载药物的释放率, 则是将其过度到临床应用必须解决的技术难点。引入 CPPs 的肿瘤靶向载体的出现, 将为抗癌药物的研发和临床肿瘤治疗提供一个新的手段。

[关键词] 细胞穿膜肽; 肿瘤治疗; 靶向载体

[中图分类号] R730.54; Q27 [文献标志码] A [文章编号] 1007-385X(2010)01-0104-06

Tumor-targeting carrier equipped with cell-penetrating peptides

SHI Wei-jie, BI Li-wei, XU Rui-an (Institute of Molecular Medicine, Huaqiao University; Engineering Research Center of Molecular Medicines of Education Ministry, Fuzhou 362021, Fujian, China)

[Abstract] Equipping tumor-targeting carrier with cell-penetrating peptide with high transduction efficacy has become a trend. According to the fusion modes and tumor-targeting mechanisms, cell-penetrating peptides can be divided into five categories: first, self-targeting cell-penetrating peptides; second, fusion carriers made of targeting ligands and cell-penetrating peptides; third, cell-penetrating peptide-modified nano-carrier; fourth, tumor-microenvironment-targeting cell-penetrating peptides; fifth, other special cell-penetrating peptides. Fusion carriers, which can not be effectively released into the cytoplasm after transduced into target cells, can be further modified to increase their efficacy. In all, cell-penetrating peptide introduced into tumor-targeting carrier should provide a new era for anti-tumor pharmacy research and cancer therapy.

[Key words] cell-penetrating peptide; tumor therapy; targeting carrier

[Chin J Cancer Biother, 2010, 17(1): 104-108]

细胞穿膜肽(cell-penetrating peptides, CPPs) 又称为蛋白转导域或膜转导肽, 是一种由 30 个或者更少氨基酸组成的能够穿透细胞膜的多肽, 能够运载包括药物在内的许多物质。CPPs 主要分为阳离子型和两性分子型。部分研究者认为穿膜肽能够直接转导细胞^[1-2], 但绝大多数研究者更倾向于穿膜肽通过一种能量依赖型细胞内吞作用以囊泡形式进入细胞内^[3]。穿膜肽作为有效转导细胞的工具, 运载不同的药物分子进入不同的细胞中, 在穿膜的过程中并不会影响细胞的活力。穿膜肽能够转导各种类型的药物(DNA、蛋白、化合物) 进入各种细胞(癌细胞或正常细胞、贴壁细胞或悬浮细胞) 中, 虽然在某些方面广谱性是其优点, 但因缺乏细胞特异性, 体内应用时产生较大的不良反应, 故在应用前必须改进使其具有细胞选择性。

靶向治疗能够减少药物对于正常组织和细胞的

毒害作用, 使药物更有效的发挥应有功能。许多药物(如 DNA 烷化剂) 需要进入到细胞内或在特定的细胞器内(如线粒体、细胞核) 才能发挥作用, 并且药物进入细胞后能使一些原本耐药的细胞对药物敏感, 但细胞膜只允许疏水的、小于 600 000 的小分子进入, 一些常用的抗癌药物无法进入细胞。因此, 将靶向与穿膜结合起来成为一种趋势。本研究就目前联合穿膜肽的肿瘤靶向治疗载体进行综述。

[基金项目] 国家高技术研究发展计划(863 计划)(No. 2005 AA216050, 2008A A02Z194); 华侨大学校基金(No. 06y0045)。Project supported by the National High Technology Research and Development Program (863 Program) (No. 2005 AA216050, 2008A A02Z194), and the Foundation of Huaqiao University (No. 06y0045)

[作者简介] 施伟杰(1984 -), 男, 福建省厦门市人, 硕士, 主要从事肿瘤分子治疗方面的研究。E-mail: xuezhou@163.com

[通信作者] 许瑞安(XU Rui-an, corresponding author), E-mail: ruiyanxu@hqu.edu.cn

1 自身具有靶向功能的 CPPs 载体

穿膜肽的氨基酸序列含有转导细胞膜的功能序列,理想的穿膜肽应同时具有靶向序列。这些多肽就其来源而言可分为两类:一类是从自然界蛋白中衍生出来的,一类是人工合成肽。

自然界中存在一些能够特异的转导癌细胞的蛋白,对其结构和功能进行分析之后,得到了兼具靶向和穿膜功能的穿膜肽。例如,Azurin 属于铜氧化还原蛋白家族的一员,它在不影响正常细胞的情况下对肿瘤细胞产生细胞毒的杀伤作用。对 Azurin 分析后,得到的两性分子型的功能肽段 p18、p28,它们能够特异的进入肿瘤细胞中(黑素瘤、前列腺癌、肺癌等),通过 cavesome 介导和不依赖 cavesome 的细胞内吞方式进入细胞内,在肿瘤细胞的累积量是正常细胞的数倍。对肿瘤细胞的特异性可能与肿瘤细胞过量表达一种未知的 N 糖基化细胞受体蛋白有关。p28 在 p18 的基础上保留 azurin 蛋白的部分细胞毒性^[4]。从 Histone 2A 中衍生得到的抗菌肽 Buforin IIb 通过癌细胞表面的鞘糖脂 gangliosides 而靶向肿瘤细胞,进入后大部分累积到核内,进而引起线粒体依赖型细胞凋亡。在鼠皮下建立肿瘤模型中,静脉给药 Buforin IIb 能明显抑制肿瘤生长^[5]。

对于人工合成肽,首先要得到具有目的功能的功能肽段序列,目前的手段主要是应用噬菌体表面展示技术(Phage display),从随机的多肽库中筛选与特异配体或细胞结合的环形多肽,对筛选中得到的多肽的研究发现,有些多肽同时具有穿膜的作用。葡萄糖调控蛋白相对分子质量 78 000(即 GRP78)存在于多种恶性肿瘤细胞的表面,而对于正常细胞则在内质网膜中。利用噬菌体表面展示技术得到特异与 GRP78 结合的具有穿膜作用的十三肽 Pep42,用能被 cathepsin B(存在于溶酶体中的)切割的连接肽(Val-Cit motif)连接载体和药物 Taxol 或 Doxorubicin,使其能在溶酶体中释放药物^[6]。同样经过噬菌体表面展示技术筛选得到的环形七肽(CAYHRLR-RC),能特异地穿透白血病细胞/淋巴瘤细胞而不是其他实体瘤细胞或者是正常的白细胞,穿透是通过巨大胞饮作用实现的,通过偶联促凋亡的多肽能够特异的将白血病细胞/淋巴瘤细胞杀死^[7]。

应用这些具有靶向功能的穿膜肽,通过与药物分子直接连接后,可以通过静脉注射或者局部给药治疗肿瘤。连接蛋白或化学药物(含芳香基团)均可以用氨基酸组成的连接肽通过肽键连接,连接肽有普通的,如-GG-;也有在特定情况下能断开,如溶

酶体中断开的-VC-。但因药物为多肽类物质,可能在体内的半衰期较短。

2 融合 CPPs 和靶向配基的靶向载体

有些肿瘤靶向的配基如多肽、抗体虽具靶向肿瘤组织或细胞,减少毒副作用,但却缺乏穿透细胞的能力。而有转导能力的穿膜肽却没有细胞选择性,因此,倘若将两者融合,优势互补,就能在具备穿膜能力的同时又靶向肿瘤组织或细胞。Myrberg 研究小组^[8]将能够靶向乳癌外植鼠模型中靶向乳癌的环形多肽 PEGA 与穿膜肽 pVEC 连接,在保留靶向功能同时又能有效的进入肿瘤细胞中(可能是借由细胞内吞作用)。之后这个小组又将能在体内靶向乳癌小鼠模型中肿瘤脉管分子标志物的五肽 CREKA 共价偶联 pVEC,从而靶向穿透乳癌细胞。线性多肽的优点是能够通过线性的固相合成方法合成而不用通过环化,减少化学合成步骤从而降低靶向肽的消耗,增加了产物的得率^[9],类似的还有靶向过表达 ErbB2 乳癌细胞的 AHNP 与 TAT 连用^[10];靶向层黏连蛋白受体 LR 的 YIGSR 和 TAT 共用^[11];用酪蛋白激酶 2 的环形 15 肽抑制剂 P15 与 TAT 连接后靶向肺癌上皮细胞 TC-1 的肿瘤部位^[12]等。另一种靶向配基是大家熟知的抗体。单链抗体 scFv 与完整的抗体相比具有体积小、血清中半衰期短和在肿瘤中积累快速的优点被应用于肿瘤靶向,但在肿瘤中的沉积量(因保持时间的不够)还是不足以使药物对肿瘤发挥有效的治疗作用,采用穿膜肽与 scFv 共注射的方式,使 scFv 能很好的保持在肿瘤细胞内,延长了其在肿瘤内存在的时间^[13]。系统应用抗体和穿膜肽转运酶治疗肿瘤的方法有穿膜肽修饰的抗体靶向激活带电修饰药物前体法(antibody targeted triggered electrically modified prodrug type strategy, ATTEMPTS)。近年来发展的抗体靶向酶前体药物法(antibody directed enzyme prodrug therapy, ADEPT),通过抗体介导的酶解前药疗法,在靶向运输过程中以药物前体形式存在,到达靶位点后形成有活性的药物,从而降低了靶向过程中的毒副作用。ADEPT 只能完成小分子的运送,ATTEMPTS 是在此基础上的改进,通过可逆地阻碍酶的活性位点,运送整个酶的大分子。穿膜肽修饰的 ATTEMPTS 则是在运送过程中可逆地阻碍穿膜肽转导功能的发挥,而到达靶位点后,使穿膜肽重新获得穿膜能力。可应用如下方法:通过二硫键将活性药物(酶)与阳离子型的穿膜肽连接形成活性药物半体,另一半体则由特异抗体和带负电肝素连接;再借由异电相吸的

原理使这两个半体结合, 结合后抑制了穿膜肽的转导活性。完成药物的准备即可进行注射, 注射后经过一段时间使药物累积在靶位置后(此时可注射钝化剂清除血浆中残留的药物)注射鱼精蛋白, 因鱼精蛋白与肝素结合力高, 通过夺取肝素使与药物偶联的穿膜肽活性恢复, 从而穿透靶点位置的细胞使药物在细胞内发挥作用, 其中鱼精蛋白和肝素都是临床用药^[14]。

若是在 CPPs 与肿瘤靶向配基连接的基础上添加靶向细胞器的配基, 则可以进一步靶向亚细胞结构。常见的如添加核定位序列即 NLS(nuclear localization sequence)靶向细胞核^[3], 此外还有靶向线粒体的寡聚胍盐的穿膜载体^[15]等。

3 联结 CPPs 的纳米载体

纳米技术对于生物医药影响重大, 在肿瘤的诊断、检测和治疗中应用广泛。纳米粒子载体种类繁多, 包括脂质体、niosome、固体脂质粒子、胶束、量子点、树突状多聚物、微胶囊、脂蛋白和其他的纳米聚合物等^[16]。纳米载体能根据药物溶解度、人体循环中的半衰期、粒子大小, 提供不同的载体, 如利用胶束来运送低溶解度的抗癌药物; 通过包裹方式运载药物使其免于体内酶等物质的作用等。使用纳米粒子载体能够减少药物降解和失活, 防止副作用, 增加药物的生物利用度和病理部位的药物运送^[17]。已知大分子药物(大于相对分子质量 40 000)能够通过较强的高通透、高滞留效应即 EPR 累积在病理部位, 如肿瘤和血管栓塞位置。EPR 主要是由于病理部位的血管不同于正常的血管, 一些大分子或小粒子能够从这些病理区的血管渗出, 从而积累在肿瘤组织。并且正常血管能够通过淋巴系统将这些大分子排出, 而病理区发育不完全的血管并不具备这种功能。有研究发现能借助 EPR 作用的粒子直径为 200 ~ 600 nm。为了更进一步地靶向, 有些纳米粒子上添加了特异的单抗或者其他配基。纳米粒子作为药物载体虽然具有如此多的优点, 但是由于被细胞膜阻止穿过, 其应用受到了限制。虽然有些载体(脂质体等)能够通过载体分子与细胞膜表面作用而进入细胞, 但转导效果并不好, 且进入内涵体后无法逃脱, 最后导致药物在溶酶体中被分解。这些载体如脂质体因在人体中半衰期短, 需用 PEG 进行修饰, 而修饰后则丧失了转导的功能。引入的 CPPs 虽然也可进入内涵体中, 但其自身具有释放到胞质的功能。因而, 为了保证纳米粒子具有靶向癌细胞表面, 还能够将药物运载到细胞内部, 采用穿膜肽即

可很好地解决这个难题^[16]。Sawant 等^[18]在胶束上添加了 TAT, 增加了穿膜能力, 提高了紫杉醇对乳腺癌细胞的药效; Moon^[19]则用穿膜肽低分子量鱼精蛋白修饰多聚轮烷, 明显增加了内化的效率; Nori 等^[20]在 N-(2-羟基)异丁烯酰胺的共聚物上添加 TAT, 使得原本只存在于细胞内溶酶体中的共聚物载体进入到胞质和细胞核中, 但溶酶体中含量还是比较高; TSENG 等^[21]在 PEG 修饰的脂质体外连接了 TAT, 指出虽然增加了内化效率, 但是药效并无显著提高, 可能是由于药物最终进入了溶酶体中。这些应用的结果都说明了该方法使原本细胞内化效率低的药物载体能更有效的转导癌细胞。应用这种方法, 通过肿瘤微血管的 EPR(enhanced permeability and retention)效应使药物载体聚集在癌组织和细胞表面, 通过 CPPs 穿透癌细胞, 从而达到治疗的目的。药物发挥药效还要考虑进入胞质中, 对于药物进入细胞内从内涵体的释放将在后面进行讨论。

4 对肿瘤微环境敏感的 CPPs 靶向载体

利用刺激敏感型的载体靶向肿瘤也是最近的研究热点^[16]。主要利用肿瘤组织微环境不同于正常组织, 在肿瘤位置的 pH 值较低、偏酸性, 温度也较正常组织高。可以利用特定载体, 在进入这些不同的微环境时释放药物, 使药物发挥作用杀伤肿瘤细胞, 从而达到靶向的功能。而在使药物发挥作用的同时, 需要借助 CPPs 的穿膜作用。恶性肿瘤的温度明显高于临近的正常组织的温度, 针对高温的载体有 CPPs 修饰的 ELP(Elastin-like polypeptide)。ELP 是类弹性蛋白多聚肽, ELP 是由 Val-Pro-Gly-Xaa-Gly(其中 Xaa 是除了脯氨酸以外的任何氨基酸)五肽重复而形成的多聚物, 通过变换 Xaa 的组成及五肽的聚合数目能影响 ELP 的转化温度, ELP 的转化会使其聚集成 100 nm 颗粒并进一步聚集成微米颗粒, 累积在此高温部位。通过调整五肽结构组成使转化温度适合靶向肿瘤部位。通过体内实验验证了 ELP 能够有效的作为高温的肿瘤部位的载体。而在此基础上, 将 CPPs 与 ELP 融合, 添加的 CPPs 如 TAT、penetratin、antp、MTS 等使 ELP 载体具有穿透细胞膜的能力。体外实验还发现在高温下内化的效率比在正常温度下提高了数倍甚至 10 倍, 尽管如此, 靶向穿膜的实际效果还需动物实验的进一步验证^[22]。还有一类刺激敏感型的靶向载体是针对肿瘤的微酸环境。肿瘤里由于氧气不充分, 发生无氧糖酵解, 产生乳酸累积在肿瘤组织中, 从而使肿瘤显酸性, 而正常组织一般为中性, 正常血浆中呈弱

碱性^[23],因此根据肿瘤微环境的酸性设计靶向载体。这种载体一般由两部分组成,一部分是普通的大分子粒子载体如胶束,用于包裹药物,在该载体的表面具有带正电的穿膜肽如 TAT,另一部分则是 pH 敏感的材料,如多聚磺胺,这些 pH 敏感的材料在 pH 7.4 时带负电,通过电荷作用与正电的 CPPs 结合,可逆的阻碍了 CPPs 的功能。而当在肿瘤等环境中, pH < 7.0 时,这些材料变成中性,从而与 CPPs 分离,使其能够穿膜,从而达到靶向穿膜的作用。一般在这些 pH 敏感材料上还偶联了 PEG 等,在运输过程中位于药物载体的最外侧,用于保护载体在人体内运输过程中免于被降解,延长半衰期^[24]。Sethuraman 等^[25]研发了另一种 pH 敏感材料,多聚-L-半胱氨酸双酰胺-g-磺胺嘧啶 [poly(L-cystine bisamide-g-sulfadiazine), PCBS],用以代替多聚磺胺,可被人体中的半胱氨酸降解。PCBS 在 pH 7.0 ~ 8.0 时带负电,与阳离子型的 CPPs 结合,而在 pH 6.0 ~ 6.8 时呈中性,与带正电的 CPPs 分离后被半胱氨酸分解量显著增加了。以上针对肿瘤微环境而设计的载体都是由大分子物质组成,而大分子载体自身就能通过 EPR 而在肿瘤部位被动累积,因此所设计的载体具有双重靶向的功能^[26]。此外,还有另一类靶向肿瘤缺氧微环境的载体。肿瘤部位因生长过快、血液供氧不足,导致了肿瘤细胞内微环境的缺氧,缺氧也是肿瘤微环境的特异性之一。从低氧诱导因子(hypoxia-inducible factor, HIF)HIF-1 α 中分离出来的氧气依赖型降解结构域 ODD 短肽,在正常细胞中此肽会经过一系列的层叠反应而被蛋白酶体降解,而在细胞中的缺氧环境下则不被降解。将 CPPs(如 TAT)、ODD 和蛋白药物融合,能使药物只在肿瘤细胞中发挥作用,而在正常细胞中被分解,而减少毒副作用^[27]。

5 结合其他特殊功能的 CPPs 靶向载体

目前还存在一些其他的靶向治疗的方法,如将光敏剂通过与 CPPs 相连,也可再与一些特异靶向肿瘤组织或细胞的转运蛋白、寡核苷酸、单克隆抗体、短肽等相连,在肿瘤局部注射,再通过激光直接照射肿瘤,像导弹一样引爆癌细胞内的光敏剂,发生光化学反应,精确杀灭癌细胞。因只对照射区域起作用,而没照射的地方不引起细胞死亡。光敏剂在局部注射,局限了其分布范围,可以起到减少毒性作用的靶向效果^[28]。利用侵袭性肿瘤中表达的金属基质蛋白酶设计的特异地进入肿瘤细胞的载体,使药物前体在肿瘤位置转变为活性药物^[29-30],等等。

6 CPPs 细胞内药物释放的机制

目前对阳离子型的 CPPs 穿膜机制已研究的比较透彻,并且应用也较两性分子型的 CPPs 广泛。阳离子型的 CPPs,富含精氨酸细胞穿膜肽(arginine-rich cell-penetrating peptides, AR CPPs),若是 CPPs 通过直接转导到胞质中,则不存在药物释放这个问题。大部分研究认为 AR CPPs 主要通过细胞内吞作用进入细胞中,内吞必然要形成内涵体。细胞内内涵体主要有如下几种结局:借助于 clathrin 的内吞形成的内涵体,一部分回到浆膜而把物质排到细胞外,而另一部分则会形成晚期的内涵体并最终形成溶酶体;由 caveolin 介导的内吞,有些到达高尔基体,而另一些通过逆向运输进入到内质网中;而巨大胞吞作用的最后结果也是一部分形成溶酶体,一部分回到胞外。

对于 CPPs 而言,能否从细胞内涵体中进入胞质中才是使药物发挥药效的关键。有研究发现,低浓度的 CPPs 不能进入到胞质和细胞核中,而提高 CPPs 浓度能使近一半的 CPPs 进入胞质中。这种结果可能是由于 CPPs 从内涵体中的释放而引起的。CPPs 的内涵体释放过程需要内涵体的酸化,酸化的抑制剂会明显抑制 CPPs 逃离内涵体。一般来说,内涵体需经过酸化形成晚期内涵体,最后形成溶酶体,但是也有研究发现从内涵体中释放出来的 CPPs 存在断裂的情况,因此不能排除因内涵体酸化引起 CPPs 降解使得被运送的物质逸出内涵体^[31]。就生物活性药物而言,特别是大分子量药物(主要通过内涵体途径进入细胞),药物的释放是发挥药效的前提,因此内涵体释放和保持药物生物活性同样重要。虽 CPPs 自身具有内涵体释放的能力,但还不是完善,特别是纳米载体的药物。目前,有许多手段能引发内涵体释放。如可以借助流感病毒红细胞凝聚素-2 的 N 末端结构域,通过与 CPPs 和目的蛋白融合,进入内涵体中在 pH 降低时能改变自身结构并破坏内涵体膜,从而帮助药物释放^[32];利用在溶酶体中降解的 GFLG(glycyphenylalanylleucylglycyl)或是 Vit-Cit 作为连接肽连接载体和药物,使其在溶酶体中释放药物,当然前体条件是药物能在溶酶体中保持稳定性。裂解内涵体的多聚物如 PEI,因渗透压作用使相应具有良好的缓冲能力。内涵体的酸化需要更多的 H⁺ 进入, H⁺ 借助质子泵进入,进入的同时伴随者 Cl⁻ 内流, PEI 的存在使得内涵体酸化需要更多的 H⁺ 和 Cl⁻ 进入,因渗透压作用使相应的水被吸收,从而引起囊泡的涨破^[32]。也可利

用光化学内化 PCI, 借助光敏剂在辐射下能够产生 ROS, 从而破坏内涵体^[33]。也可用 pH 敏感的载体, 根据大分子设计, 原理与靶向酸性肿瘤的大分子载体^[34]类似, 在此就不赘述。还有穿膜肽 penetratin 类似物 EB1 能在内涵体质子化中破坏内涵体^[35]。也有通过在 TAT 上添加组氨酸和半胱氨酸以增加释放^[36]。

7 结语

在近十年来, 为了解决小分子、基因治疗的缺陷, 出现了很多的大分子治疗药物, 如蛋白、多肽和核酸等。但是这些治疗药物细胞吸收率低, 靶向性不好, 使其应用时疗效大打折扣, 并且毒性作用大, 限制了其广泛的应用。尤其对于在细胞内发挥作用的抗癌药物来说, 载体的靶向和穿膜功能缺一不可, 通过靶向减少毒性作用, 通过穿膜使其发挥更大的疗效。

近 20 年来广泛研究的细胞内化效率高的穿膜肽 CPPs 则成为了有效的手段, 将 CPPs 与靶向结合起来应用到肿瘤治疗中, 具有广阔的应用前景, 但同时也面临的巨大挑战, 药物在人体内的代谢是极其复杂的过程, 需要进行深入的研究。CPPs 和靶向的联合将为肿瘤治疗打开一个新的途径。

[参 考 文 献]

- [1] Patel L, Zaro J, Shen WC. Cell penetrating peptides: intracellular pathways and pharmaceutical perspectives [J]. *Pharm Res*, 2007, 24(11): 1977-1992.
- [2] Xu RA, Ma X, Wang F. Molecular Medicine delivery route and absorption in gastro-intestine [M] // Xu RA, Chen L, Xiao WD. *Molecular Gene Medicine*. Peking: Peking University Press & Peking University Medical Press, 2008: 68-90.
- [3] Nori A, Kopecek J. Intracellular targeting of polymer-bound drugs for cancer chemotherapy [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2005, 57(4): 609-636.
- [4] Taylor BN, Mehta RR, Yamada T, Lekmine F, Christov K, Chakrabarty AM, *et al*. Noncationic peptides obtained from azurin preferentially enter cancer cells [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(2): 537-546.
- [5] Lee HS, Park CB, Kim JM, Jang SA, Park IY, Kim MS, *et al*. Mechanism of anticancer activity of buforin IIb, a histone H2A-derived peptide [J]. *Cancer Lett*, 2008, 271(1): 47-55.
- [6] Yoneda Y, Steiniger SC, Capková K, Mee JM, Liu Y, Kaufmann GF, *et al*. A cell-penetrating peptidic GRP78 ligand for tumor cell-specific prodrug therapy [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2008, 18(5): 1632-1636.
- [7] Nishimura S, Takahashi S, Kamikatahira H, Kuroki Y, Jaalouk DE, O'Brien S, *et al*. Combinatorial targeting of the macropinocytotic pathway in leukemia and lymphoma cells [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(17): 11752-11762.
- [8] Myrberg H, Zhang L, Mäe M, Langel U. Design of a tumor-homing cell-penetrating peptide [J]. *Bioconjug Chem*, 2008, 19(1): 70-75.
- [9] Mäe M, Myrberg H, El-Andaloussi S, Langel Ü. Design of a tumor homing cell-penetrating peptide for drug delivery [J]. *Int J Pept Res Ther*, 2009, 15(1): 11-15.
- [10] Tan M, Lan KH, Yao J, Lu CH, Sun M, Neal CL, *et al*. Selective inhibition of ErbB2-overexpressing breast cancer *in vivo* by a novel TAT-based ErbB2-targeting signal transducers and activators of transcription 3-blocking peptide [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(7): 3764-3772.
- [11] Saleh AF, Aojula HS, Pluen A. Enhancement of gene transfer using YIGSR analog of Tat-derived peptide [J]. *Biopolymers*, 2008, 89(1): 62-71.
- [12] Perera Y, Farina HG, Hernández I, Mendoza O, Serrano JM, Reyes O, *et al*. Systemic administration of a peptide that impairs the protein kinase (CK2) phosphorylation reduces solid tumor growth in mice [J]. *Int J Cancer*, 2008, 122(1): 57-62.
- [13] Staneloudi C, Smith KA, Hudson R, Malatesti N, Savoie H, Boyle RW, *et al*. Development and characterization of novel photosensitizer : scFv conjugates for use in photodynamic therapy of cancer [J]. *Immunology*, 2007, 120(4): 512-517.
- [14] Kwon YM, Li YT, Liang JF, Park YJ, Chang LC, Yang VC. PTD-modified ATTEMPTS system for enhanced asparaginase therapy: a proof-of-concept investigation [J]. *J Control Release*, 2008, 130(3): 252-258.
- [15] Fernández-Carneado J, Van Gool M, Martos V, Castel S, Prados P, de Mendoza J, *et al*. Highly efficient, nonpeptidic oligoguandinium vectors that selectively internalize into mitochondria [J]. *J Am Chem Soc*, 2005, 127(3): 869-874.
- [16] Torchilin VP. Targeted Pharmaceutical Nanocarriers for Cancer Therapy and Imaging [J]. *AAPS J*, 2007, 9(2): E128-147.
- [17] Jabbari E. Targeted delivery with peptidomimetic conjugated self-assembled nanoparticles [J]. *Pharm Res*, 2009, 26(3): 612-630.
- [18] Sawant RR, Torchilin VP. Enhanced cytotoxicity of TATp-bearing paclitaxel-loaded micelles *in vitro* and *in vivo* [J]. *Int J Pharm*, 2009, 374(1-2): 114-118.
- [19] Moon C, Kwon YM, Lee WK, Park YJ, Yang VC. *In vitro* assessment of a novel polyrotaxane-based drug delivery system integrated with a cell-penetrating peptide [J]. *J Control Release*, 2007, 124(1-2): 43-50.
- [20] Nori A, Jensen KD, Tijerina M, Kopecková P, Kopecek J. Tat-conjugated synthetic macromolecules facilitate cytoplasmic drug delivery to human ovarian carcinoma cells [J]. *Bioconjug Chem*, 2003, 14(1): 44-50.
- [21] Tseng YL, Liu JJ, Hong RL. Translocation of liposomes into cancer cells by cell-penetrating peptides penetratin and tat: a kinetic and efficacy study [J]. *Mol Pharmacol*, 2002, 62(4): 864-872.
- [22] Bidwell GL 3rd, Davis AN, Raucher D. Targeting a c-Myc inhibitory polypeptide to specific intracellular compartments using cell penetrating peptides [J]. *J Control Release*, 2009, 135(1): 2-10.