

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.11.015

· 综述 ·

细胞穿透肽修饰脂质体的抗肿瘤靶向给药研究进展

Advances in targeted drug delivery of cell-penetrating peptide-modified liposomes

彭志荣 综述; 夏新华, 颜红 审阅 (湖南中医药大学 药学院, 湖南 长沙 410208)

[摘要] 细胞穿透肽是一类对细胞膜具有强力穿透作用的短肽, 可促进细胞摄取, 经细胞穿透肽修饰的脂质体可提高脂质体的入胞率, 是目前靶向给药载体研究的新方向。作者查阅了近年来国内外的相关文献, 就细胞穿透肽的种类、穿膜机制和细胞穿透肽与多肽、叶酸等大分子组成共修饰脂质体及保护性细胞穿透肽提高对肿瘤细胞的穿透稳定性等在抗肿瘤领域的应用展开综述, 以为脂质体的抗肿瘤靶向给药研究提供参考。

[关键词] 细胞穿透肽; 脂质体; 穿膜; 靶向给药; 抗肿瘤

[中图分类号] R730.5; R979.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2019)11-1275-06

细胞膜是细胞与细胞外环境的主要屏障, 发挥着选择透过性的作用, 对维持细胞内环境的稳定发挥着重要作用。也正因为存在细胞膜这一天然屏障, 许多生物大分子难以透过细胞膜进入细胞, 是现阶段靶向给药的一大障碍。细胞穿透肽 (cell-penetrating peptides, CPPs)^[1-2] 是一类对细胞膜具有强力穿透作用的短肽, 可用来修饰脂质体、纳米粒等微粒给药系统, 促进细胞摄取, 目前在药物递送领域受到了广泛关注。脂质体是目前已用于临床的相对成熟的靶向制剂, 是靶向制剂的代表品种之一。普通脂质体的入胞能力有限, 经 CPPs 修饰的脂质体能够提高脂质体的入胞率, 是提高靶向给药效果的有力工具。本文综述了近年来细胞穿透肽修饰的脂质体靶向给药及其抗肿瘤中应用的研究进展, 旨在为脂质体的肿瘤靶向给药提供新的参考。

1 细胞穿透肽

CPPs 是一类具有特殊细胞膜穿透作用的短肽^[1-2], 能够促进大分子转运至细胞, 以下主要对其种类及穿膜机制进行介绍。

1.1 细胞穿透肽的种类

根据 CPPs 在疏水性、极性等物理性质上的差异可将基础 CPPs 分为三类: 阳离子型多肽 (cationic peptides)、疏水型多肽 (hydrophobic peptides) 及两亲性多肽 (amphipathic peptides)^[3-4]。此外还有 pH 敏感型 CPPs、光敏型 CPPs 等, 以下仅对基础 CPPs 进行介绍。

1.1.1 阳离子型多肽 阳离子型细胞穿透肽是一类分子序列主要包含精氨酸、赖氨酸及组氨酸的短肽, 具有高度净正电荷且几乎不含酸性氨基酸残基^[5-7]。此类短肽主要依靠本身的正电荷与细胞膜上负电荷之间的作用, 以非受体依赖的方式进入细胞。如反式激活转录

蛋白 (transactivating transcription protein, TAT) 多肽、抗菌肽 (antimicrobial peptides, AMPs) 等均为阳离子型细胞穿透肽。TAT 多肽是来源于人免疫缺陷病毒 (HIV-1) 的反式激活转录蛋白中的一个富含精氨酸序列的多肽, 能够高效地将药物传递进入细胞。WENDER 等^[8] 等发现其发挥细胞穿透作用主要是因为阳离子型氨基酸残基的存在。AMPs 是一种抗菌肽, 也称为宿主防御肽, 可选择性地与带负电的癌细胞膜相结合进而发挥细胞毒性, 不会伤害正常细胞也不会引起严重的耐药性^[3]。PAN 等^[9] 评估了 3 种合成 AMPs 与两种天然存在的 AMPs 对胃癌细胞的细胞毒性, 发现 AMPs 在前期可通过诱导胃癌细胞的自噬与凋亡、抑制癌细胞的增殖, 在后期可通过抑制癌细胞的自噬进一步增加胃癌细胞的凋亡。

1.1.2 疏水型多肽 疏水型细胞穿透肽是一类仅含非极性氨基酸残基的多肽, 净电荷低, 品种较少^[10-11]。目前已发现的疏水型 CPPs 有成纤维细胞生长因子 (K-FGF)^[12]、C105Y 肽^[13]、Pep-7 肽^[14] 等。

经噬菌体展示技术发现, 疏水型细胞穿透肽分子序列与分泌生长因子和细胞因子的前导序列相似, 这些分子序列及疏水型 CPPs 对细胞膜疏水结构

[基金项目] 湖南中医药大学一流学科项目资助 (No. 201803); 国家自然科学基金面上项目 (No. 81573621); 湖南省重点研发计划项目 (No. 2017SK2122)。Project supported the First-Class Discipline Project of Hunan University of Chinese Medicine (No. 201803), the National Natural Science Foundation of China (No. 81573621), and the Key Research and Development Program of Hunan Province (No. 2017SK2122)

[作者简介] 彭志荣 (1996-), 男, 硕士生, 主要从事药物新剂型的研究, E-mail: 920097734@qq.com

[通信作者] 颜红 (YAN Hong, corresponding author), 女, 硕士生导师, 副教授, 主要从事药物新剂型与新技术的研究, E-mail: yh8632@126.com

域的高亲和力对细胞内化过程至关重要^[15]。有研究者^[16]提出疏水型 CPPs 能够以能量独立的方式自发地穿膜转运,表现出与其他类别 CPPs 不同的转运方式,从而避免了内体对其的降解,但其具体的摄取机制研究尚少。

1.1.3 两亲性多肽 两亲性 CPPs 是一种嵌合肽^[17], 此类多肽同时包含氨基酸的极性(亲水)结构域及非极性(疏水)结构域,分子序列除分布在整个序列中的赖氨酸及精氨酸等亲水性残基外,还富含缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、丙氨酸等疏水性残基。同时具有的疏水性与亲水性残基,能介导其他大分子通过细胞膜进入细胞^[18-20]。两亲性 CPPs 能够同时表现出疏水与亲水两种特性,关键在于其一级结构与二级结构^[21-22]。CPPs 的一级结构含有疏水性的 C 端与亲水性的 N 端,如蛋白来源的 Pvec 肽、Pep-1 肽及 MPG 肽均属于一级结构两亲性 CPPs。CPPs 的二级结构即分子特定的构象— α -螺旋空间构象,其所包含的亲水性及疏水性残基分别分布在螺旋结构的不同表面,如 MAP 肽、KALA 肽及 PPTG 肽均属于二级结构两亲性 CPPs。两亲性 CPPs 的分子序列富含脯氨酸及多聚脯氨酸序列,是此类肽的代表性特征。脯氨酸的吡咯烷结构连接疏水性基团后,能够显著提高 CPPs 的细胞内化能力^[23]。

1.2 细胞穿透肽的穿膜机制

自 CPPs 发现以来,其穿膜转运机制一直是研究热点,但因 CPPs 的组成及其结构的多样性,其进入细胞的方式及效率不一。到目前为止,其确切的穿膜转运机制仍未完全清晰,但大致可分为 3 类:直接穿膜进入细胞、内吞介导的内化方式进入细胞及通过形成某种穿膜结构进入细胞^[24-26]。

1.2.1 直接穿膜进入细胞 此种机制为非能量依赖性及非温度依赖性的穿膜转运机制^[27],VEACH 等^[28]通过研究发现,在被删除 ATP(腺苷三磷酸)的细胞中对于 CPPs 的摄取仍没有停止,且 CPPs 在 4 °C 与 37 °C 下的内化效率相同。MAI 等^[29]发现,在温度为 4 °C,且几乎没有任何 ATP 的情况下,阳离子型 CPPs 仍然能够穿膜进入细胞,这些都表明 CPPs 可以不依赖能量与温度直接穿膜进入细胞。

1.2.2 内吞介导的内化方式进入细胞 内吞是 CPPs 穿膜进入细胞的主要机制^[30-31],此种机制与直接穿膜进入细胞不同,它依赖于能量,内吞包括网格与非网格蛋白介导的内吞及胞饮作用,当外源分子与细胞膜上的受体结合时,细胞膜内陷,覆盖细胞内侧膜上的网格蛋白,形成小囊泡进入细胞,此为网格蛋白介导的内吞作用。CPPs 在所有细胞中均有胞饮作用。巨胞饮属于胞饮的一种,主要摄取大分子但并非选

择性,在 CPPs 的巨胞饮过程中,细胞膜会发生褶皱,产生大且不规则的原始内吞小泡——巨胞饮体进入细胞。巨胞饮体在几乎所有的细胞中均有出现,有研究者认为巨胞饮是 CPPs 内化的主要途径。

1.2.3 形成某种穿膜结构进入细胞 地毯式模型是 CPPs 进入细胞的一种较为常见的穿膜结构^[32],CPPs 上的正电荷与细胞膜上的负电荷发生作用,引起 CPPs 的分子构象发生变化,使得 CPPs 的分子构象如地毯包覆整个细胞表面,之后 CPPs 插入细胞的磷脂膜中,改变磷脂膜的膜张力,破坏膜稳定性使得细胞膜的通透性短暂增加,从而内化 CPPs^[33]。除地毯式模型外,有研究者还发现有反转微团模型及 barrel-stave 打孔模型。

2 脂质体

传统的抗肿瘤药物进入体循环后会迅速分布至全身,缺乏肿瘤组织特异性,肿瘤组织中的药物浓度低、疗效差;且化疗药物多为细胞毒性很强的药物,在杀死肿瘤细胞的同时,也会对正常细胞造成损伤。靶向制剂以其能特定靶向病变器官、组织或细胞,具有重要的临床意义^[34-36],脂质体是靶向制剂的代表品种,经由细胞穿透肽修饰的脂质体能够提高脂质体的入胞率,从而发挥更好的抗肿瘤效果。

脂质体是将药物包封于类脂质双分子层薄膜中间所形成的超微球形载体制剂^[37]。膜材主要为类脂成分,包括磷脂与胆固醇等。由于脂质体的结构与细胞膜相似,脂质体可同时负载水溶性和脂溶性的药物^[38]。采用脂质体递送药物相比传统的给药方式能够减缓药物的释放速度、降低毒性、减轻变态反应及免疫反应,更重要的是能够改变药物在机体内的分布,达到靶向给药的目的^[39]。

脂质体按性能可分为普通脂质体、长循环脂质体、特殊功能脂质体。在普通脂质体表面修饰神经节苷脂、聚乙二醇(PEG)等亲水聚合物,神经节苷脂、PEG 交错重叠覆盖在脂质体表面形成空间位阻,能够有效避免网状内皮系统的吞噬,延长在体内的循环时间,此种脂质体为长循环脂质体^[40]。此外,通过在普通脂质体的脂质双分子层上修饰配体、抗体或采用特殊敏感性生物高分子材料制备脂质体,获得主动靶向或物理化学靶向性,称此种脂质体为特殊功能脂质体。特殊功能脂质体包括配体修饰脂质体、免疫脂质体、热敏脂质体、pH 敏感脂质体、磁性脂质体等。配体修饰的脂质体使用较为广泛,常用的配体有叶酸、肽、糖基、蛋白等。

3 细胞穿透肽修饰脂质体在抗肿瘤领域的应用

细胞穿透肽修饰脂质体在抗肿瘤领域的应用,目前主要侧重于与其他大分子(多肽、叶酸、转铁蛋白等)共修饰脂质体及保护性CPPs,以提高对肿瘤细胞的穿透稳定性。

3.1 细胞穿透肽与多肽类配体共修饰的脂质体

CPPs本身缺乏对肿瘤受体的特异性,采用CPPs单修饰脂质体不能准确靶向至靶组织,因此与具有肿瘤组织特异性的多肽如:精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸序列短肽(RGD肽)、门冬酰胺-精氨酸-甘氨酸序列短肽(NGR肽)及脑肿瘤靶向肽(T7肽)等共修饰脂质体得以应用,其中RGD肽使用较多。

SHI等^[41]采用整合素配体RGD肽与细胞穿透肽TH肽共修饰载紫杉醇(PTX)脂质体,形成了一种分子序列为c(RGDFK)-AGYLLGHINLHHLAHL(Aib)HHIL-Cys的pH响应型细胞穿透肽(TR肽)。黑色素瘤细胞经PTX-TR-Lip处理后的凋亡率比PTX-PEG-Lip、PTX-RGD-Lip、PTX-TH-Lip及游离药物分别高1.8、1.45、1.3及1.15倍。经红色荧光染料(DID)标记的TR-Lip在肿瘤区域的荧光强度比PEG-Lip、RGD-Lip及TH-Lip分别高8.1、1.61及1.81倍,PTX-TR-Lip所治疗的体内荷瘤小鼠瘤体体积最小,存活时间也最长。蔺伟等^[42]采用RGD及TAT共修饰载miR-34a的脂质体用于治疗骨肉瘤。体外培养的骨肉瘤MG63细胞经载药脂质体处理后,生存率分别为RGD/TAT-miRNA(18.5%)、RGD-miRNA(44.8%)及TAT-miRNA(36.1%)。MEI等^[43]也用RGD与TAT共修饰脂质体,研究结果显示共修饰脂质体的细胞摄取率更高。TAKARA等^[44]用NGR肽与细胞穿透肽R4(多聚精氨酸)组成双配体脂质体,相比于单修饰,双配体载多柔比星脂质体更有效地抑制了异体移植瘤(OS-RC-2)小鼠体内肿瘤的生长。T7肽为脑肿瘤细胞上高表达的转铁蛋白受体的特异性配体,发挥主动靶向性作用。YUAN等^[45]采用TAT及脑肿瘤靶向肽T7共修饰脂质体用于脑肿瘤细胞的靶向药物递送,结果发现脑肿瘤C6细胞对共修饰脂质体的摄取率明显高于TAT或T7肽单修饰的脂质体,分别是1.68与1.39倍。以上实例证实靶向性多肽与细胞穿透肽共修饰脂质体能够发挥更好的抗肿瘤效果。

3.2 细胞穿透肽与叶酸、转铁蛋白等配体共修饰的脂质体

CPPs除与多肽类共修饰脂质体外,还可与叶酸、转铁蛋白等靶向配体共修饰脂质体。ZHAO等^[46]通过设计一种叶酸(FA)与TAT共修饰载紫杉醇的脂质体,研究其对紫杉醇的递送效力。在鼻咽癌KB细胞摄取实验中,在激光扫描共聚焦显微镜下观察到,经钙黄绿素标记的TAT-FA-Lip、TAT-Lip及FA-Lip这3类脂质体中TAT-FA-Lip具有最高的荧光强度,KB细

胞对共修饰脂质体的摄取率明显高于FA或TAT单修饰的脂质体。且在叶酸受体(FR)低表达的肺癌A549细胞摄取实验中,载有紫杉醇的普通脂质体及载有紫杉醇的FA修饰的脂质体对A549细胞的增殖无影响,而FA-TAT双修饰及TAT单修饰的脂质体抑制了细胞的增殖,表明TAT肽在促进细胞摄取的过程中起到了关键作用。ZHU等^[47]也选用FA与TAT共修饰多柔比星脂质体,发现FA与TAT在促进脂质体的细胞转运过程起到了协同作用。

ZHENG等^[48]采用转铁蛋白(Tf)与TAT肽共修饰多柔比星脂质体以靶向胶质瘤,薄膜分散法制备的脂质体粒径均在130 nm左右,包封率达95%,包封效果良好。体外细胞摄取实验显示,U87细胞对Tf/TAT-Lip-DOX的摄取分别是Tf-Lip-DOX与TAT-Lip-DOX的4.7及2.2倍,体内荷瘤小鼠经不同脂质体处理后,Tf/TAT-Lip-DOX组存活59 d、Tf-Lip-DOX组存活42 d、TAT-Lip-DOX组存活50 d,表明TAT与Tf共修饰脂质体能够实现更好的抗肿瘤效果。SHARMA等^[49]将Tf与细胞穿透肽聚-L-精氨酸(PR)分别修饰到PEG链的末端再将PEG链修饰到包裹质粒DNA的脂质体表面,结果显示较PEG-Lip与Tf-PEG-Lip,Tf-PR-PEG-Lip有更高的血脑屏障穿透率及DNA转染率,TANG等^[50]用类似的方法将Tf与细胞穿透肽TAT修饰到长循环脂质体上,发现共修饰同时提高了靶向准确性与细胞摄取量。

3.3 保护性细胞穿透肽可提高对肿瘤细胞的穿透稳定性

虽CPPs能高效输送药物进入细胞,但存在被血浆中酶降解的风险,故研究者利用肿瘤微环境的特点设计了一系列修饰CPPs,在CPPs到达靶点之前掩盖其穿膜活性,既可以在CPPs到达靶点之前不被降解,也能够屏蔽掉CPPs对正常组织细胞的穿透功能,以提高对肿瘤细胞的穿透稳定性。在到达靶点之后再激活CPPs,实现抗肿瘤靶向治疗。

XIANG等^[51]采用pH敏感型细胞穿透肽(activatable cell-penetrating peptide, ACPP)修饰载有siRNA的脂质体,siRNA可以沉默与肿瘤发生和生长有关的关键基因从而使肿瘤细胞凋亡,ACPP由细胞穿透肽(八聚精氨酸R8)、酸不稳定接头(脘键)及聚阴离子结构域(组氨酸、谷氨酸)组成,其中脘键对CPPs起到了保护作用。脂质体在体循环(pH=7.4)中ACPP表面的阳离子与聚阴离子结构域发生静电相互作用,从而屏蔽ACPP。当脂质体经EPR效应到达肿瘤部位时,因微酸性环境,ACPP的脘键位点经酸催化断裂,静电相互作用消失,被激活的细胞穿透肽促进脂质体进入细胞发挥抗肿瘤作用。YANG等^[52]设计了

一种双重靶向热敏脂质体(thermosensitive liposome, TSL), TSL是采用热敏材料二棕榈酰磷脂胆碱制备所得的对热敏感的新型脂质体,可以通过对靶标进行加热,使其发生相变从而释放包封的药物。该研究中将NGR配体修饰到TSL表面,NGR配体能够靶向肿瘤血管高表达的氨肽酶N(CD13),而TSL又能够靶向预热的肿瘤部位从而实现双靶向,为了保护细胞穿透肽,在其研究中将CPPs与抗癌药物多柔比星通过交联剂3-马来酰亚胺基丙酸琥珀酰亚胺酯连接在一起,一同包封入脂质体中。研究发现该递送系统经TSL与NGR配体主动靶向到肿瘤部位后, CPPs被激活,活化的CPPs介导多柔比星通过靶细胞膜进入细胞质及细胞核,促使肿瘤细胞凋亡。YANG^[53]等制备了一种光敏型细胞穿透肽(photo-responsive cell-penetrating peptides, pCPP),其分子序列为CKRRMK^{Nvoc}WK^{Nvoc}K^{Nvoc},采用光不稳定保护基团(Nvoc限制肽)掩蔽普通CPPs序列中的赖氨酸制备所得, Nvoc对紫外光很敏感,当紫外光照射靶点时, CPPs才会暴露从而发挥细胞穿透作用。

4 结 语

虽然细胞穿透肽修饰的脂质体在靶向给药方面显示出了巨大的潜力,但在临床应用中也存在着一些局限性,如细胞穿透肽缺乏靶向性,不能特异性识别肿瘤组织,存在被血浆酶降解的风险。针对这一问题,研究者将细胞穿透肽与其他的生物大分子等靶向配体共修饰脂质体,或制成pH敏感型细胞穿透肽、光敏型细胞穿透肽等修饰脂质体,以提高其靶向效率。此外,当细胞内吞摄取细胞穿透肽修饰的脂质体后,细胞中的内体(膜包裹的囊泡结构)会立即包裹内化后的细胞穿透肽及脂质体使其与细胞质分隔,导致所携带的药物无法释放。近年来针对这一问题的研究已取得了一些进展,如采用光化学内化技术将定位于内体膜的光敏剂(如TPPS₄、TPPS_{2a}、AIPcS_{2a}等)与脂质体共同作用于靶器官、组织或细胞,光敏剂能够自发浓集在肿瘤组织内,当脂质体被内吞后,光敏剂会与内体膜上的穿膜蛋白相结合,再经由光源照射激活光敏剂,发生光化学反应产生活性氧,活性氧能够破坏内体膜,从而实现内体逃逸。

综上,细胞穿透肽修饰的脂质体具有良好的发展前景,既能发挥细胞穿透肽的膜透过性,也弥补了细胞穿透肽临床应用的不足,使脂质体更大地发挥靶向效果,为抗肿瘤的生物大分子或化疗药物高效进入肿瘤细胞提供了良好载体。随着研究的不断深

入,相信细胞穿透肽修饰的脂质体会在抗肿瘤治疗中发挥越来越重要的作用。

[参 考 文 献]

- [1] RÁDIS-BAPTISTA G, CAMPELO I S, MORLIGHEM J R L, et al. Cell-penetrating peptides (CPPs): From delivery of nucleic acids and antigens to transduction of engineered nucleases for application in transgenesis[J]. *J Biotechnol*, 2017, 252: 15-26. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2017.05.002.
- [2] LECHER J C, NOWAK S J, MCMURRY J L. Breaking in and busting out: cell-penetrating peptides and the endosomal escape problem [J]. *Biomol Concepts*, 2017, 8(3/4): 131-141. DOI: 10.1515/bmc-2017-0023.
- [3] BUDAGAVI D P, CHUGH A. Antibacterial properties of Latarcin 1 derived cell-penetrating peptides[J]. *Eur J Pharm Sci*, 2018, 115: 43-49. DOI: 10.1016/j.ejps.2018.01.015.
- [4] DISSANAYAKE S, DENNY W A, GAMAGE S, et al. Recent developments in anticancer drug delivery using cell penetrating and tumor targeting peptides[J]. *J Control Release*, 2017, 250: 62-76. DOI: 10.1016/j.jconrel.2017.02.006.
- [5] DE FIGUEIREDO I R, FREIRE J M, FLORES L, et al. Cell-penetrating peptides: A tool for effective delivery in gene-targeted therapies[J]. *IUBMB Life*, 2014, 66(3): 182-194. DOI: 10.1002/iub.1257.
- [6] GRONEWOLD A, HORN M, RANĐELOVIĆ I, et al. Characterization of a cell-penetrating peptide with potential anticancer activity[J]. *Chem Med Chem*, 2017, 12(1): 42-49. DOI: 10.1002/cmde.201600498.
- [7] HIRATA A, NOKIHARA K. Construction of peptide-vehicles, bioconjugates having modules for cancer cell surface capture and cell-penetrating peptide with anticancer agents[J]. *Tetrahedron Lett*, 2014, 55(30): 4091-4094. DOI: 10.1016/j.tetlet.2014.05.086.
- [8] WENDER P A, MITCHELL D J, PATTABIRAMAN K, et al. The design, synthesis, and evaluation of molecules that enable or enhance cellular uptake: peptoid molecular transporters[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(24): 13003-13008. DOI: 10.1073/pnas.97.24.13003.
- [9] PAN W R, CHEN Y L, HSU H C, et al. Antimicrobial peptide GW-H1-induced apoptosis of human gastric cancer AGS cell line is enhanced by suppression of autophagy[J]. *Mol Cell Biochem*, 2015, 400(1/2): 77-86. DOI: 10.1007/s11010-014-2264-3.
- [10] JAIN A, SHAH S G, CHUGH A. Cell penetrating peptides as efficient nanocarriers for delivery of antifungal compound, natamycin for the treatment of fungal keratitis[J]. *Pharm Res*, 2015, 32(6): 1920-1930. DOI: 10.1007/s11095-014-1586-x.
- [11] ZHANG Q, WANG J, ZHANG H, et al. The anticancer efficacy of paclitaxel liposomes modified with low-toxicity hydrophobic cell-penetrating peptides in breast cancer: an in vitro and in vivo evaluation[J]. *RSC Adv*, 2018, 8(43): 24084-24093. DOI: 10.1039/c8ra03607a.
- [12] GUIDOTTI G, BRAMBILLA L, ROSSI D. Cell-penetrating peptides: from basic research to clinics[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2017, 38(4): 406-424. DOI: 10.1016/j.tips.2017.01.003.
- [13] RHEE M, DAVIS P. Mechanism of uptake of C105Y, a novel cell-penetrating peptide[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(2): 1233-1240. DOI: 10.1074/jbc.M509813200.
- [14] GAO C S, MAO S L, DITZEL H J, et al. A cell-penetrating peptide

- from a novel pVII-pIX phage-displayed random peptide library[J]. *Bioorg Med Chem*, 2002, 10(12): 4057-4065. DOI:10.1016/s0968-0896(02)00340-1.
- [15] ZAHID M, ROBBINS P D. Cell-type specific penetrating peptides: therapeutic promises and challenges[J]. *Molecules*, 2015, 20(7): 13055-13070. DOI:10.3390/molecules200713055.
- [16] MARKS J R, PLACONE J, HRISTOVA K, et al. Spontaneous membrane-translocating peptides by orthogonal high-throughput screening[J]. *J Am Chem Soc*, 2011, 133(23): 8995-9004. DOI:10.1021/ja2017416.
- [17] SHAHBAZI S, BOLHASSANI A. Comparison of six cell penetrating peptides with different properties for in vitro and in vivo delivery of HPV16 E7 antigen in therapeutic vaccines[J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 62: 170-180. DOI:10.1016/j.intimp.2018.07.006.
- [18] ZHANG F, YANG D D, JIANG S S, et al. Current delivery strategies to improve the target of cell penetrating peptides used for tumor-related therapeutics[J]. *Curr Pharm Des*, 2018, 24(5): 541-548. DOI:10.2174/1381612823666170728094922.
- [19] REICHART F, HORN M, NEUNDORF I. Cyclization of a cell-penetrating peptide via click-chemistry increases proteolytic resistance and improves drug delivery[J]. *J Pept Sci*, 2016, 22(6): 421-426. DOI:10.1002/psc.2885.
- [20] BOISGUÉRIN P, DESHAYES S, GAIT M J, et al. Delivery of therapeutic oligonucleotides with cell penetrating peptides[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2015, 87: 52-67. DOI:10.1016/j.addr.2015.02.008.
- [21] QIAN Z Q, LAROCHELLE J R, JIANG B S, et al. Early endosomal escape of a cyclic cell-penetrating peptide allows effective cytosolic cargo delivery[J]. *Biochemistry*, 2014, 53(24): 4034-4046. DOI:10.1021/bi5004102.
- [22] NGUYEN L T, YANG X Z, DU X, et al. Enhancing tumor-specific intracellular delivering efficiency of cell-penetrating peptide by fusion with a peptide targeting to EGFR[J]. *Amino Acids*, 2015, 47(5): 997-1006. DOI:10.1007/s00726-015-1928-y.
- [23] BOLHASSANI A, JAFARZADE B S, MARDANI G. In vitro and in vivo delivery of therapeutic proteins using cell penetrating peptides[J]. *Peptides*, 2017, 87: 50-63. DOI: 10.1016 / j. peptides.2016.11.011.
- [24] WANG H, MA J L, YANG Y G, et al. Highly efficient delivery of functional cargoes by a novel cell-penetrating peptide derived from SP140-like protein[J]. *Bioconjug Chem*, 2016, 27(5): 1373-1381. DOI:10.1021/acs.bioconjugchem.6b00161.
- [25] TASHIMA T. Intelligent substance delivery into cells using cell-penetrating peptides[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2017, 27(2): 121-130. DOI:10.1016/j.bmcl.2016.11.083.
- [26] GESTIN M, DOWAIDAR M, LANGEL Ü. Uptake mechanism of cell-penetrating peptides[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 1030: 255-264. DOI:10.1007/978-3-319-66095-0_11.
- [27] PIANTAVIGNA S, ABDELHAMID M E, ZHAO C, et al. Mechanistic details of the membrane perforation and passive translocation of TAT peptides[J]. *ChemPlusChem*, 2015, 80(1): 83-90. DOI: 10.1002/cplu.201402209.
- [28] VEACH R A, LIU D Y, YAO S, et al. Receptor/transporter-independent targeting of functional peptides across the plasma membrane [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(12): 11425-11431. DOI:10.1074/jbc.M311089200.
- [29] MAI J C, SHEN H M, WATKINS S C, et al. Efficiency of protein transduction is cell type-dependent and is enhanced by dextran sulfate[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(33): 30208-30218. DOI:10.1074/jbc.M204202200.
- [30] YANDEK L E, POKORNY A, FLORÉN A, et al. Mechanism of the cell-penetrating peptide transportan 10 permeation of lipid bilayers [J]. *Biophys J*, 2007, 92(7): 2434-2444. DOI: 10.1529 / biophysj.106.100198.
- [31] MANO M, TEODÓSIO C, PAIVA A, et al. On the mechanisms of the internalization of S4(13) - PV cell-penetrating peptide[J]. *Biochem J*, 2005, 390(Pt 2): 603-612. DOI:10.1042/BJ20050577.
- [32] LUO Z, CAO X W, LI C, et al. The heparin-binding domain of HB-EGF as an efficient cell-penetrating peptide for drug delivery[J]. *J Pept Sci*, 2016, 22(11/12): 689-699. DOI:10.1002/psc.2932.
- [33] FEI L K, YAP L P, CONTI P S, et al. Tumor targeting of a cell penetrating peptide by fusing with a pH-sensitive histidine-glutamate co-oligopeptide[J]. *Biomaterials*, 2014, 35(13): 4082-4087. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2014.01.047.
- [34] ZUNUNI VAHED S, SALEHI R, DAVARAN S, et al. Liposome-based drug co-delivery systems in cancer cells[J]. *Mater Sci Eng: C*, 2017, 71: 1327-1341. DOI:10.1016/j.msec.2016.11.073.
- [35] ABU LILA A S, ISHIDA T. Liposomal delivery systems: design optimization and current applications[J]. *Biol Pharm Bull*, 2017, 40(1): 1-10. DOI:10.1248/bpb.b16-00624.
- [36] 姬颖华, 杨晓煜, 王萃楠, 等. 转铁蛋白和 RGD 肽共修饰脂质体的制备及其肺癌组织细胞的靶向性[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2015, 22(3): 299-303. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2015.03.003.
- [37] CHEN L J, YANG C X, YAN X P. Liposome-coated persistent luminescence nanoparticles as luminescence trackable drug carrier for chemotherapy[J]. *Anal Chem*, 2017, 89(13): 6936-6939. DOI: 10.1021/acs.analchem.7b01397.
- [38] ZONG W, HU Y, SU Y C, et al. Polydopamine-coated liposomes as pH-sensitive anticancer drug carriers[J]. *J Microencapsul*, 2016, 33(3): 257-262. DOI:10.3109/02652048.2016.1156176.
- [39] SHI C Y, GAO F, GAO X D, et al. A novel anti-VEGF165 monoclonal antibody-conjugated liposomal nanocarrier system: physical characterization and cellular uptake evaluation in vitro and in vivo [J]. *Biomedicine Pharmacother*, 2015, 69: 191-200. DOI:10.1016/j.biopha.2014.11.025.
- [40] ZHANG L J, KUANG Y, ZHUO R X, et al. Anionic long circulating liposomes for hepatic targeted delivery of cisplatin[J/OL]. *J Control Release*, 2015, 213: e72[2019-07-09]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27005219/>. DOI: 10.1016 / j. jconrel. 2015. 05.119.
- [41] SHI K R, LI J P, CAO Z L, et al. A pH-responsive cell-penetrating peptide-modified liposomes with active recognizing of integrin $\alpha\beta$ 3 for the treatment of melanoma[J]. *J Control Release*, 2015, 217: 138-150. DOI:10.1016/j.jconrel.2015.09.009.
- [42] 蔺伟, 李庭, 杜金瑞. RGD 与细胞穿膜肽共修饰 miRNA 脂质体的构建及抗肿瘤研究[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2015, 22(3): 179-183, 188. DOI:10.16073/j.cnki.cjcp.2015.03.005.
- [43] MEI L, FU L, SHI K R, et al. Increased tumor targeted delivery using a multistage liposome system functionalized with RGD, TAT and cleavable PEG[J]. *Int J Pharm*, 2014, 468(1/2): 26-38. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2014.04.008.

- [44] TAKARA K, HATAKEYAMA H, KIBRIA G, et al. Size-controlled, dual-ligand modified liposomes that target the tumor vasculature show promise for use in drug-resistant cancer therapy[J]. *J Control Release*, 2012, 162(1): 225-232. DOI:10.1016/j.jconrel.2012.06.019.
- [45] YUAN D F, ZONG T L, GAO H L, et al. Cell penetrating peptide TAT and brain tumor targeting peptide T7 dual modified liposome preparation and in vitro targeting evaluation[J]. *Acta Pharm Sin*, 2015, 50(1): 104-110.
- [46] ZHAO P Q, WANG H J, YU M, et al. Paclitaxel-loaded, folic-acid-targeted and TAT-peptide-conjugated polymeric liposomes: in vitro and in vivo evaluation[J]. *Pharm Res*, 2010, 27(9): 1914-1926. DOI: 10.1007/s11095-010-0196-5.
- [47] ZHU Y Q, CHENG L, CHENG L F, et al. Folate and TAT peptide co-modified liposomes exhibit receptor-dependent highly efficient intracellular transport of payload in vitro and in vivo[J]. *Pharm Res*, 2014, 31(12): 3289-3303. DOI:10.1007/s11095-014-1418-z.
- [48] ZHENG C Y, MA C Y, BAI E Q, et al. Transferrin and cell-penetrating peptide dual-functioned liposome for targeted drug delivery to glioma[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(2): 1658-1668.
- [49] SHARMA G, MODGIL A, LAYEK B, et al. Cell penetrating peptide tethered bi-ligand liposomes for delivery to brain in vivo : Biodistribution and transfection[J]. *J Control Release*, 2013, 167(1): 1-10. DOI:10.1016/j.jconrel.2013.01.016.
- [50] TANG J, ZHANG L, LIU Y Y, et al. Synergistic targeted delivery of payload into tumor cells by dual-ligand liposomes co-modified with cholesterol anchored transferrin and TAT[J]. *Int J Pharm*, 2013, 454(1): 31-40. DOI:10.1016/j.ijpharm.2013.06.048.
- [51] XIANG B, JIA X L, QI J L, et al. Enhancing siRNA-based cancer therapy using a new pH-responsive activatable cell-penetrating peptide-modified liposomal system[J/OL]. *Int J Nanomedicine*, 2017, 12: 2385-2405[2019-07-11]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5378471/>. DOI:10.2147/IJN.S129574.
- [52] YANG Y F, YANG Y, XIE X Y, et al. PEGylated liposomes with NGR ligand and heat-activable cell-penetrating peptide-doxorubicin conjugate for tumor-specific therapy[J]. *Biomaterials*, 2014, 35(14): 4368-4381. DOI:10.1016/j.biomaterials.2014.01.076.
- [53] YANG Y, YANG Y F, XIE X Y, et al. Preparation and characterization of photo-responsive cell-penetrating peptide-mediated nanostructured lipid carrier[J]. *J Drug Target*, 2014, 22(10): 891-900. DOI:10.3109/1061186X.2014.940589.

[收稿日期] 2019-07-20

[修回日期] 2019-10-25

[本文编辑] 黄静怡