



电子、语音版

·综述·

凋亡小体作为靶向递送载体在胶质母细胞瘤诊断及治疗中的研究进展

刘诗雅¹, 董兴丽², 赵伯言², 吴佳宁², 张若天³, 靳津¹, 张程⁴, 赵世光^{1,2}

1. 深圳大学医学部, 广东 深圳 518000
2. 深圳大学总医院, 广东 深圳 518000
3. 哈尔滨医科大学附属第一医院, 黑龙江 哈尔滨 150001
4. 多伦多大学士嘉堡分校, 加拿大 安大略省 多伦多 M1C 1A4

摘要: 胶质母细胞瘤 (GBM) 恶性程度高, 预后较差。对于治疗 GBM 的某些药物而言, 血脑屏障 (BBB) 的高限制性和复杂性是其进入大脑的阻碍。细胞外囊泡 (EVs) 是一种来源于细胞的纳米级囊泡结构, 其中的外泌体和微泡已被证实具有很高的生物屏障渗透性。因此, EVs 已经被用作非侵入性药物的递送载体来治疗 GBM。凋亡小体 (AB) 是一类特殊的 EVs, 由凋亡细胞释放, 相比微泡和外泌体, 制备 AB 更加可控和简便。然而, AB 的应用价值迄今尚未得到充分探索。该文概述了 AB 作为药物递送载体, 克服 BBB 并靶向治疗 GBM 的研究现状, 其体现出低毒性、低免疫原性和可控性的特点。

关键词: 胶质母细胞瘤; 血脑屏障; 凋亡小体; 靶向递送

中图分类号: R739.41

DOI: 10.16636/j.cnki.jinn.1673-2642.2025.06.013

Research advances in apoptotic bodies as targeted delivery vehicles in diagnosis and treatment of glioblastoma multiforme

LIU Shiya¹, DONG Xingli², ZHAO Boyan², WU Jianing², ZHANG Ruotian³, JIN Jin¹, ZHANG Cheng⁴, ZHAO Shiguang^{1,2}

1. Shenzhen University School of Medicine, Shenzhen, Guangdong 518000, China
2. Shenzhen University General Hospital, Shenzhen, Guangdong 518000, China
3. The First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang 150001, China
4. University of Toronto Scarborough, Toronto, Ontario M1C 1A4, Canada

Corresponding author: ZHAO Shiguang, Email: guangsz@hotmail.com

Abstract: Glioblastoma multiforme (GBM) has a high degree of malignancy and a poor prognosis. For some drugs used to treat GBM, the highly restrictive and complex features of the blood-brain barrier (BBB) prevents them from entering the brain. Extracellular vesicles (EVs) are cell-derived nanoscale vesicle structures, among which exosomes and microvesicles have been shown to have high biological barrier permeability. Therefore, EVs have been used as noninvasive drug delivery vehicles for the treatment of GBM. Apoptotic bodies (AB) are a special type of EVs released by apoptotic cells, and compared with microvesicles and exosomes, the preparation of AB is more controllable and convenient. However, the application value of AB has not been fully explored so far. This article reviews the current status of research on the potential of AB as a drug delivery vehicle to overcome the BBB and treat GBM as targeted therapy, with the characteristics of low

基金项目: 国家自然科学基金 (NO. 82272885); 深圳市科技计划资助 (JCYJ20210324100001004); 深圳市科技计划资助 (JCYJ20230808105205011); 广东省普通高校重点领域专项项目 (2021ZDZX2020)。

收稿日期: 2024-09-20; 修回日期: 2025-10-14

作者简介: 刘诗雅, 女, 汉族, 硕士研究生, 研究方向为跨血脑屏障递送研究。

通信作者: 赵世光, 男, 汉族, 教授, 博士生导师, 研究方向为脑胶质瘤诊断与治疗。Email: guangsz@hotmail.com。

toxicity, low immunogenicity, and controllability.

Keywords: glioblastoma multiforme; blood-brain barrier; apoptotic bodies; targeted delivery

胶质母细胞瘤(glioblastoma multiforme, GBM)是大脑中最常见、最具侵袭性的恶性肿瘤,其在中国患者的5年生存率仅为9%^[1]。大多数GBM患者接受相同的治疗方式,包括手术切除、放疗和化疗等,常用的治疗药物是替莫唑胺^[2]。然而,由于肿瘤的侵袭性生长以及血脑屏障(blood brain barrier, BBB)的存在,目前针对GBM的靶向治疗较少。因此,迫切需要开发高效的跨BBB递送系统提高胶质瘤治疗的靶向性^[3]。

基于GBM治疗面临的严峻挑战,特别是BBB对药物递送的阻碍,研究人员正在积极探索新的治疗策略。其中,利用生物膜系统实现药物的跨BBB递送已成为一个极具前景的研究方向。生物膜递送系统具有多项优势,使其成为克服BBB障碍的理想选择,包括其生物相容性好、可修饰性强、载药量大、延长药物在体内的半衰期、跨膜能力强^[4]。鉴于这些优势,研究人员正在开发多种基于生物膜的递送系统,如脂质体、外泌体、细胞膜包被纳米粒等,以提高抗GBM药物的脑部递送效率。这些创新性递送策略有望突破BBB这一长期困扰GBM治疗的瓶颈,为患者带来新的治疗希望。在本综述中,我们详细总结了细胞外囊泡(extracellular vesicles, EVs)中的凋亡小体(apoptotic body, AB)作为跨BBB药物递送系统的研究进展。

1 现有跨BBB递送生物膜系统及研究局限性

BBB具有高度选择性,是为了防止神经毒性血浆成分、血细胞和病原体进入大脑^[5]。此外,BBB的基本结构是通过人脑微血管内皮细胞(human brain microvascular endothelial cells, HBMEC)的紧密堆积,来形成连续细胞层和紧密连接蛋白,不仅如此,通过周细胞和星形胶质细胞围绕BBB,来调节其通透性并维持结构完整性^[6]。HBMEC的紧密连接结构形成物理屏障,仅允许水、氧气和二氧化碳等小分子物质以自由扩散的方式穿过BBB。相比之下,对于蛋白和肽这些较大分子,则由HBMEC上膜转运蛋白和囊泡机制形成的转运屏障来进行主动转运(如载体介导的转运蛋白或受体介导的内吞作用^[7])。简而言之,尺寸和亲脂性是决定一些药物能否通过BBB的决定性因素,虽然具有高亲脂性或是分子足够小的物质能提高BBB的渗透率,但是一些亲脂性低、亲水性高的极性分子或大蛋白质等物质不能通过BBB。总之,BBB可阻止几乎所有的大分子药物(>400 Da)和约98%的小分子药物进入中枢神经系统^[8]。

目前为了提高GBM治疗药物的药效,许多研究采取的主要方法包括:对药物进行分子修饰、建立药物递送平台、针对绕过亲脂屏障的改良(如加载BBB穿透肽等)^[9]。

尤其是许多研究主要集中在纳米粒子介导的药物递送,例如脂质、聚合物和无机纳米粒子,特别是外泌体,其具有优异的生物屏障穿透能力,同时具有较低的生物毒性,并且已被证实参与细胞间运输和信息传递^[9]。目前对于外泌体在GBM中诊断及治疗研究通常包括药物负载、核苷酸负载以及遗传性负载。由于外泌体可以穿透BBB,因此其可以将许多BBB排斥的药物递送到大脑和神经胶质瘤等部位。有研究表明,脑内皮细胞中分离的外泌体在负载紫杉醇和阿霉素后可以有效治疗GBM^[10]。同样,有研究人员用跨膜糖蛋白Neuropilin-1靶向肽(RGERPPR, RGE)修饰外泌体表面,并负载姜黄素和超顺磁性氧化铁纳米颗粒^[11],这一方法不仅可以提高GBM影像诊断水平,并且可以通过磁辐射和姜黄素对其进行靶向热疗。另外也有研究^[12]表明,负载抗miRNA-9的外泌体可以恢复GBM对化疗药物的敏感性。不仅如此,从脂多糖和 γ 干扰素激活的小胶质细胞中分离的外泌体可以通过上调炎症相关基因从而抑制GBM生长^[13]。尽管有许多关于外泌体作为药物递送载体方面的研究,但是由于外泌体的分离方法低效、表征困难以及缺乏特定生物标志物等不足,外泌体的临床应用进展受到阻碍^[14],目前仍然未有研究外泌体作为药物递送载体的临床试验,也没有美国食品药品监督管理局批准的外泌体递送剂^[5]。

现在大家已知EVs分为外泌体、微泡和AB,当细胞发生凋亡时,以此经历细胞膜收缩、分裂并包裹细胞质等一系列过程,最终产生AB^[15]。有研究基于细胞囊泡的研究探索了利用来源脑转移癌细胞的AB进行脑靶向药物递送的潜力^[16]。之所以AB作为载体能通过细胞内吞作用,可以让一些亲水性药物克服其在肿瘤细胞中内化作用较低的缺陷,是因为AB是生物膜系统成员^[17]。AB与传统金属纳米载体相比具有以下优势:首先,AB可通过生物屏障,同时体内网状内皮系统清除率低,因此具有更高的生物利用度;其次,AB能够由机体清除,因此蓄积毒性低^[16]。与此同时,AB与同样作为生物膜系统成员的外泌体相比具有以下优点:第一,AB具有更容易制备、制备效率更高以及更大的药物装载量;第二,在药物加载方面,AB可以通过标准化操作完全控制细胞凋亡过程,所以药物加载到AB中的效率比外泌体更高^[18];第三,AB膜源于细胞膜,故而用于介导大脑传递的膜蛋白较外泌体更丰富;第四,细胞生成AB的数量相较于外泌体要多得多^[19]。而对比微泡,AB则具有如下优势:首先,AB是由凋亡细胞自然形成的,具有天然生物相容性和较低的免疫原性,微泡则更可能引发免疫反应^[20];其次,AB能够

被巨噬细胞有效识别并摄取,在促进免疫反应和修复受损组织方面具有优势,而微泡的靶向性相对较弱,可能无法高效吸引免疫细胞^[21];然而,目前关于AB的研究远少于外泌体和微泡,并且很少有关于AB靶向胶质瘤的相关研究。

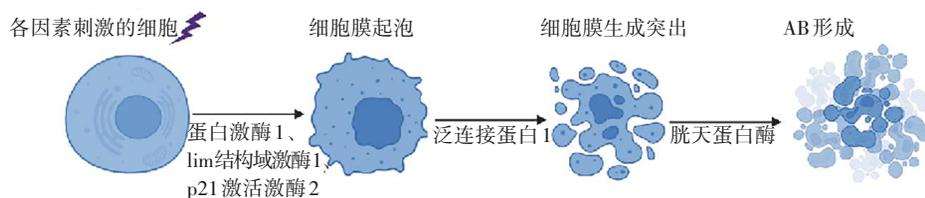
鉴于此,笔者不仅介绍AB的生物发生、组成和功能,而且重点分析AB的制备和修饰方法。我们探讨AB作为新型药物递送载体克服BBB,通过靶向GBM,提高药物在GBM内的有效浓度,来达到提高GBM治疗效果的目的。总而言之,AB有望作为治疗GBM的新兴药物载体,具有改善GBM患者诊断和治疗的巨大潜力,也可为脑药物载体方面的同类研究提供重要的参考依据。

2 AB的生物学特性

Kerr等^[21]最先对细胞凋亡做出了详细的描述:当细胞发生凋亡时,会经历一系列形态上的显著改变,并最终解体形成不同大小的小泡,这些小泡后来通常被称作AB。细胞凋亡分为以下步骤(见图1):首先发生凋亡的细胞膜起泡,由胱天蛋白酶3介导,包括含有蛋白激酶1、lim结构域激酶1的rho相关卷曲螺旋和p21激活激酶2^[22-23]。接着薄膜突起形成,通过胱天蛋白酶3/7激活的泛连接蛋白1通道和囊泡运输形成凋亡伪足、珠状凋亡伪足和微管尖峰。最终凋亡细胞由胱天蛋白酶来辅助裂解释放AB,这些AB的直径通常在1~5 μm^[21, 24]。除了这些AB外,细胞在凋亡过程中还会释放直径<1 μm的AB,然而,这种

小直径AB的分子形成机制尚未完全清楚,有分析指出可能是通过膜出芽形成^[15, 19]。

AB除了表达外泌体的标志蛋白(如CD63、CD9、CD81和热休克蛋白70等)外^[25],还表达凋亡细胞中的蛋白,这是由于AB继承了凋亡细胞的细胞器、核酸、脂质、蛋白质和凋亡相关分子(如胱天蛋白酶3的表达和磷脂酰丝氨酸的暴露)^[26]。AB的独特生物学特性取决于源细胞的类型和生存环境。因此,虽然目前还没有一个系统性的AB标志物分析,但单个AB可以根据RNA图谱和蛋白质组学来检查其成分^[27]。目前,AB及其内容物的具体作用机制尚未完全明确,但研究认为AB能够介导吞噬细胞对其识别和清除,并在调控免疫应答中发挥重要作用。近年来的研究还发现,AB参与肿瘤的进展、转移及肿瘤微环境的形成。例如,AB可将致癌基因转移至p53缺陷的受体细胞中,从而促进肿瘤的发生^[28]。除核酸外,AB还能将蛋白质转移至巨噬细胞等吞噬细胞中,赋予后者免疫调节功能^[29]。总之,AB作为富含多种生物活性物质的信息载体,其负载药物在治疗应用中具有潜在价值。然而,由于AB的功能高度依赖于其内容物及来源细胞类型,这一特性可能带来一定的不确定性。为规避此类风险,可优选影响较小的细胞类型用于AB制备。例如,在针对肿瘤的AB载药治疗中,可采用非肿瘤细胞作为来源细胞制备AB,以降低潜在不良反应。



首先,在蛋白激酶1、lim结构域激酶1和p21激活激酶2等激酶调节下,凋亡细胞的细胞骨架质膜破裂,导致细胞凋亡膜起泡,同时质膜中磷脂不对称性的丧失也会引发膜起泡。然后,凋亡膜在泛连接蛋白1等的影响下以不同类型突出,包括微管刺突、凋亡足和珠状凋亡足。最终,凋亡细胞在胱天蛋白酶的催化下破碎并生成AB。

图1 AB的形成(图片经由BioRender.com创建)

3 药物载体AB的制备

3.1 药物载体AB的常规制备步骤

3.1.1 凋亡方法的选择

目前实验室最常用的2种促进细胞凋亡的方法是化学方法和物理方法的结合。用0.5 μmol/L蛋白激酶抑制剂处理细胞3~12 h,以及使细胞暴露于一定强度紫外线下(150 mJ/cm²)^[27]。需要考虑的是,在制备药物载体的过程中,使用药物诱导细胞凋亡时,药物的毒性和其他可能会在后续实验中引起的副作用。例如,尽管紫外线照射是促进细胞凋亡的高效物理方法,但是紫外线照射也有

导致健康细胞发生突变的可能^[27]。除此之外,血清饥饿法(无血清培养4 h)和热孵育法(56 °C水浴30 min),也可以作为细胞凋亡的诱导方法^[27]。这些方法不仅能够有效诱导凋亡,还能促进AB的形成,增强药物传递系统的效果。但是这些方法各有不同的机制和适用范围,具体选择通常取决于目标细胞类型和研究目的,例如刘卫军等^[30]利用一叶秋碱诱导K562细胞凋亡以分离AB,李晓丹等^[31]利用紫外线照射诱导体外血管平滑肌细胞凋亡以分离AB。尽管如此,迄今仍亟须广泛而深入地研究,以发掘更多创新手段,进一步优化细胞凋亡的诱导效率,并

提升AB的产量与应用潜能。

3.1.2 AB的分离技术

差速超速离心法是分离AB的经典方法。首先,在低速离心中逐步除去凋亡细胞(2 000 r/min, 10 min)和细胞碎片(6 000 r/min, 20 min);接着,使用高速离心将AB富集(17 000 r/min, 30 min),这个方法能收获>90%的AB^[32-33]。然而,收获的产物纯度不足,是由于获取AB的过程中,产物可能会混合少量细胞碎片和外泌体。基于

此,许多实验室提出了荧光激活细胞分选结合差速离心法来提纯AB,荧光激活细胞分选法是根据AB的表面特性使用不同的荧光抗体进行免疫结合,经相应的荧光通道分选出AB,该法获得的AB纯度高达99%^[32, 34]。另外,有关AB的分离方法几乎都来源于外泌体的分离方法,这样一来,大家需要基于不同的实验目的使用不同的外泌体分离技术来提取AB(见表1)。

表1 不同AB分离技术的比较

方法	原理	优点	缺点	参考文献
差速超速离心/密度梯度超速离心	尺寸、密度	金标准方法、对于仪器试剂的要求低	耗时耗力、样品损耗大、不适用于大规模生成样品	[32-33]
荧光细胞分选	尺寸、表面特性、免疫亲和法	快速、高纯度、产量高	需要配备流式分选仪、所需要的成本较高	[32,34-35]
超滤	尺寸、分子量	快速、成本低	膜堵塞、损失大尺寸样品、粒径不均	[36]
聚合物沉淀	溶解度、表面电荷	简单、产量高	纯度低、成本高	[37]
色谱法	尺寸、分子量	高纯度	需相应仪器	[36]

3.1.3 将药物装载到AB中

一般来说,共孵育法是将治疗药物装载到AB中最简单的方法。将收获的AB与药物在特定温度(22/25/37 °C)下孵育一段时间,药物从高浓度的溶液扩散到低浓度的AB内,这种方法非常简单、便宜,并且对AB完整性仅造成轻微损害,尽管如此,该法受限于其较低的装载效率^[38]。除了共孵育法,常见的报道将药物装载到AB中的方法还包括转染法、电穿孔、超声处理、挤压法、冻融和原位嵌合。这些方法各有其优势与局限性,目前选择适宜的药物装载策略,需综合考量药物自身特性、AB的类型及实际生产规模。例如,陈刚等^[39]的研究表明,采用电穿孔技术将氧化铁纳米颗粒装载至细胞源性微囊泡,或通过超声波处理实现装载,均属于较为高效的手段,但这类物理作用方式可能对AB的结构或功能造成一定损伤;而Wang^[40]等研究者则采用共孵育法,将紫杉醇、阿霉素与多种人源肿瘤细胞(如人乳腺癌细胞MCF7、卵巢癌细胞A2780等)共同培养后,从培养基上清中分离获取载药AB,该方法操作流程更为简便,然而其药物装载效率与载药后AB的稳定性通常较低。因此随着未来药物传递系统的选择的不断优化,对于AB损伤的不断降低,电穿孔和超声处理可能具有一定优势,但是最终具体选择哪种方法还需结合具体的应用场景进行综合评估(技术汇总见表2)。

3.2 AB跨BBB的主要策略

目前的研究表明,AB可能通过两种机制穿透BBB。一是通过破坏BBB的紧密连接结构来绕过HBMEC;二是通过被HBMEC吞噬然后分泌到BBB另一侧^[16]。有研究证实,AB不仅能够通过HBMEC的转胞吞作用来穿透BBB,而且在这一过程中没有对BBB结构进行破坏^[16]。

表2 将药物装载到AB中的技术

方法	优点	缺点	参考文献
共孵育	简单、AB相对完整	适用于低毒性、易渗透的药物	[41]
转染	AB相对完整	效率低、转染剂有毒	[42-43]
电穿孔	简单	需要设备、可能导致AB聚集	[44]
超声处理	效率高	可能导致AB膜的破坏和AB聚集	[45-46]
挤压	效率高、大小均一	可能导致AB膜的破坏	[45]
冻融	简单	效率低、可能导致AB聚集和蛋白失活	[45]
原位嵌合	AB相对完整	限制性高、操作复杂	[16]

3.2.1 AB粒径选择

研究发现,随着微粒尺寸的减小,通过BBB间隙的渗透性会增加,而在200 nm以上的微粒基本上没有BBB渗透性^[47]。由此可见,尺寸较小的微粒更有可能穿过BBB;然而,并非微粒尺寸越小越好,例如,过小的微粒可能会被肾脏清除(肾脏的滤过作用可快速清除<5 nm的微粒)^[48]。再者,研究表明在3、15和120 nm的微粒中,15 nm微粒表现出更高的BBB渗透性^[48]。因而,大多数跨BBB药物输送的研究都使用直径为10~100 nm的药物载体^[49]。

3.2.2 加载靶向肽

将能够穿透BBB的靶向肽加载到EVs中,是常用的增强EVs对BBB渗透性的方法^[50]。归因于肽尺寸小、易于生成且特异性高,具有显著的序列灵活性,可以通过基因修饰或化学方式与其他分子缀合^[51]。基于此,将靶向肽连接到AB膜表面,通过针对BBB上的特定细胞受体,

可以改善AB的转胞吞作用。在这里,笔者根据文献查阅(见表3)。整理出一些常见的用于纳米药物载体转运的BBB穿透肽

表3 穿透BBB的肽

名称	序列	靶点	参考文献
Angiopep-2(ANG2)	TFFYGGSRGKRNNFKTEEY-OH	低密度脂蛋白受体相关蛋白1	[52]
ApoE	(LRKLRKRL)2	低密度脂蛋白受体和相关蛋白1/2	[53]
Peptide-22	Ac-C(&)MPRLRGC(&)-NH2	低密度脂蛋白受体	[54]
THR	THRPPMWSVPVWP-NH2	转铁蛋白受体1	[55-56]
THR retro-enantio	PWVPSWMPPRHT-NH2	转铁蛋白受体1	[57]
RVG29	YTIWMPENPRPGTPCDIFTNSRGKRASNG	烟碱乙酰胆碱受体	[58]
DCDX	GREIRTGRAERWSEKF-OH	烟碱乙酰胆碱受体	[59]
Apamin	C(&1)NC(&2)KAPETALC(&1)-AR-RC(&2)QQH-NH2	可能是钙激活钾通道	[60]
MiniAp-4	[Dap](&)KAPETALD(&)	可能是钙激活钾通道	[61]
GSH	γ -L-GLUTAMYL-CG-OH	谷胱甘肽转运体	[62]
G23	HLNILSTLWKYRC	神经节苷脂	[63]
g7	GFiGFLS(O- β -Glc)-NH2	未知	[64]
TGN	TCNYKALHPHNG	未知	[65]
TAT	YGRKKRRQRRR-NH2	转转运蛋白	[66]

3.3 肽修饰AB靶向GBM

笔者将靶向递送治疗GBM的肽可分为3个不同的类别:肿瘤归巢肽、针对异常细胞信号传导途径的肽和细胞穿透肽^[67]。其中,肿瘤归巢肽通过与癌细胞表面过度表达或特别表达的分子结合,来刺激或抑制癌细胞的信号传导途径;而针对异常细胞信号传导途径的肽,能够控制

癌细胞活性、细胞凋亡逃逸和肿瘤细胞增殖;细胞穿透肽可以穿透细胞膜蛋白质,由于存在非特异性,一般与其他靶向系统一起使用。将这些肽共价连接到各种药物载体上并用于药物递送,是靶向治疗GBM的常用技术^[68](见表4)。还有研究表明,肿瘤细胞对AB的巨胞饮作用有助于邻近效应的细胞间有效药物递送^[18]。

表4 靶向治疗GBM的肽

类别	名称	序列	靶点	参考文献
肿瘤归巢肽	ANG2	TFFYGGSRGKRNNFKTEEY-OH	低密度脂蛋白受体相关蛋白1	[69]
	Chlorotoxin	MCMPCFTTDHQMARDCCGCGKGRGKCYGPQLCR	氯离子通道和基质金属蛋白酶-2	[70]
	Pep1-L	ACGEMGWGWVRCGSLCW	白细胞介素13受体a2	[71]
针对异常细胞信号传导途径的肽	LP4	SWTWEKKLETAVNLAWTAGNSNKWTWK	靶向电压依赖性阴离子通道1	[72]
	NBD	TALDWSWLQTE	核因子- κ B必需调节剂	[73]
	H1	WPGSGNELKRAFAALRDQI	原癌基因c-Myc	[74]

4 结论与展望

由于GBM浸润性生长,胶质瘤患者在手术切除后复发风险仍然很高,手术切除范围是决定患者预后和个体化治疗的关键因素,一般GBM切除术后仍然需要化疗干预^[4]。然而,治疗药物通过BBB是一个巨大的挑战,为克服这一困难,许多研究者开发设计出不同的药物递送平台,但目前还未取得重大突破,许多纳米颗粒存在免疫原性、生物相容性、生物可降解性和安全性等方面的问题^[8-9]。

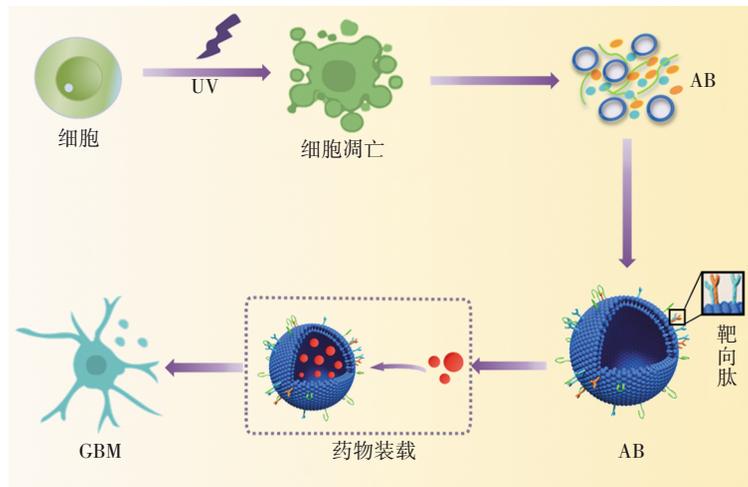
越来越多研究表明,AB在细胞间通信和各种生物功能中发挥着重要作用,更重要的是,AB被证实具有穿透生物屏障的能力,这表明AB有穿透BBB的潜力,如图2所示,这便为AB作为治疗脑部疾病的药物载体提供了理

论基础^[16]。除此之外,AB作为人体产生的内源性物质,能够在机体中降解并排出体外,不会在人体中蓄积并造成影响;相反的是,由人工合成的纳米载体(多数为化合物),需要考虑该纳米载体在机体中的蓄积毒性^[16-17]。最后,比起一些同样具有生物膜结构的药物载体(即外泌体),一方面,AB不仅发生更为可控且简单,而且提取AB耗时短、无需复杂设备,另一方面,AB膜表面蛋白的种类与数量通常取决于凋亡细胞,说明AB相较于外泌体的膜表面蛋白更加具有可预测性,大家可以利用该特点将AB与靶向肽进行连接^[16,18-19]。

尽管目前已经有使用AB作为药物载体通过BBB,来进入脑组织用以治疗脑部疾病的研究,但是关于AB作为药物递送载体来治疗GBM的研究不多,再加上目前缺乏

标准化高通量的AB分离提取方法。综上所述,AB作为一种低成本、组装简单、性能稳定和高效率的优质药物输

送载体,在用以治疗GBM方面具有广阔的前景。



细胞通过外界或内部各种因素发生凋亡,最终分解为大小不等的AB。将药物装载入AB的囊泡内,最终作用于GBM中,达到靶向治疗的目的。

图2 AB的作用机制

参 考 文 献

- [1] MILLER KD, OSTROM QT, KRUCHKO C, et al. Brain and other central nervous system tumor statistics, 2021[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(5): 381-406.
- [2] YANG P, WANG YZ, PENG XX, et al. Management and survival rates in patients with glioma in China (2004-2010): a retrospective study from a single-institution[J]. J Neurooncol, 2013, 113(2): 259-266.
- [3] TAYLOR OG, BRZOZOWSKI JS, SKELDING KA. Glioblastoma multiforme: an overview of emerging therapeutic targets[J]. Front Oncol, 2019, 9: 963.
- [4] 尚立焕. 生物膜仿生纳米药物递送系统的设计及抗肿瘤研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2021: 1-163.
- [5] KHATAMI SH, KARAMI N, TAHERI-ANGANEH M, et al. Exosomes: promising delivery tools for overcoming blood-brain barrier and glioblastoma therapy[J]. Mol Neurobiol, 2023, 60(8): 4659-4678.
- [6] ABBOTT NJ, PATABENDIGE AAK, DOLMAN DEM, et al. Structure and function of the blood-brain barrier[J]. Neurobiol Dis, 2010, 37(1): 13-25.
- [7] SWEENEY MD, ZHAO Z, MONTAGNE A, et al. Blood-brain barrier: from physiology to disease and back[J]. Physiol Rev, 2019, 99(1): 21-78.
- [8] WU JN, LIN Y, LI H, et al. Zwitterionic stealth peptide-capped 5-aminolevulinic acid prodrug nanoparticles for targeted photodynamic therapy[J]. J Colloid Interface Sci, 2017, 485: 251-259.
- [9] BAEK G, CHOI H, KIM Y, et al. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles as therapeutics and as a drug delivery platform[J]. Stem Cells Transl Med, 2019, 8(9): 880-886.
- [10] YANG TZ, MARTIN P, FOGARTY B, et al. Exosome delivered anticancer drugs across the blood-brain barrier for brain cancer therapy in *Danio rerio*[J]. Pharm Res, 2015, 32(6): 2003-2014.
- [11] JIA G, HAN Y, AN YL, et al. NRP-1 targeted and cargo-loaded exosomes facilitate simultaneous imaging and therapy of glioma in vitro and in vivo[J]. Biomaterials, 2018, 178: 302-316.
- [12] MUNOZ JL, BLISS SA, GRECO SJ, et al. Delivery of functional anti-miR-9 by mesenchymal stem cell-derived exosomes to glioblastoma multiforme cells conferred chemosensitivity[J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2013, 2(10): e126.
- [13] GRIMALDI A, SERPE C, CHECE G, et al. Microglia-derived microvesicles affect microglia phenotype in glioma[J]. Front Cell Neurosci, 2019, 13: 41.
- [14] LI X, CORBETT AL, TAATIZADEH E, et al. Challenges and opportunities in exosome research-perspectives from biology, engineering, and cancer therapy[J]. APL Bioeng, 2019, 3(1): 011503.
- [15] CARUSO S, POON IKH. Apoptotic cell-derived extracellular vesicles: more than just debris[J]. Front Immunol, 2018, 9: 1486.
- [16] WANG YL, PANG JY, WANG QY, et al. Delivering antisense oligonucleotides across the blood-brain barrier by tumor cell-derived small apoptotic bodies[J]. Adv Sci (Weinh), 2021, 8(13): 2004929.
- [17] ZHAO DY, TAO WH, LI SH, et al. Apoptotic body-mediated intercellular delivery for enhanced drug penetration and whole tumor destruction[J]. Sci Adv, 2021, 7(16): eabg0880.
- [18] BAO LL, DOU G, TIAN R, et al. Engineered neutrophil

- apoptotic bodies ameliorate myocardial infarction by promoting macrophage efferocytosis and inflammation resolution[J]. *Bioact Mater*, 2022, 9: 183-197.
- [19] KAKARLA R, HUR J, KIM YJ, et al. Apoptotic cell-derived exosomes: messages from dying cells[J]. *Exp Mol Med*, 2020, 52(1): 1-6.
- [20] LIU Y, HU DH, GAO DY, et al. Engineered apoptotic bodies hitchhiking across the blood-brain barrier achieved a combined photothermal-chemotherapeutic effect against glioma[J]. *Theranostics*, 2023, 13(9): 2966-2978.
- [21] KERR JF, WYLLIE AH, CURRIE AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics[J]. *Br J Cancer*, 1972, 26(4): 239-257.
- [22] ROCHELLE T, DAUBON T, VAN TROYS M, et al. p210ber-abl induces amoeboid motility by recruiting ADF/destrin through RhoA/ROCK1[J]. *FASEB J*, 2013, 27(1): 123-134.
- [23] ATKIN-SMITH GK, POON IKH. Disassembly of the dying: mechanisms and functions[J]. *Trends Cell Biol*, 2017, 27(2): 151-162.
- [24] ROGERS C, FERNANDES-ALNEMRI T, MAYES L, et al. Cleavage of DFNA5 by caspase-3 during apoptosis mediates progression to secondary necrotic/pyroptotic cell death[J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 14128.
- [25] COLOMBO M, RAPOSO G, THÉRY C. Biogenesis, secretion, and intercellular interactions of exosomes and other extracellular vesicles[J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2014, 30: 255-289.
- [26] SEGAWA K, NAGATA S. An apoptotic 'eat me' signal: phosphatidylserine exposure[J]. *Trends Cell Biol*, 2015, 25(11): 639-650.
- [27] ZHOU M, LI YJ, TANG YC, et al. Apoptotic bodies for advanced drug delivery and therapy[J]. *J Control Release*, 2022, 351: 394-406.
- [28] BERGSMEDH A, SZELES A, HENRIKSSON M, et al. Horizontal transfer of oncogenes by uptake of apoptotic bodies[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001, 98(11): 6407-6411.
- [29] TURIÁK L, MISJÁK P, SZABÓ TG, et al. Proteomic characterization of thymocyte-derived microvesicles and apoptotic bodies in BALB/c mice[J]. *J Proteomics*, 2011, 74(10): 2025-2033.
- [30] 刘卫军, 顾振纶. 一叶秋碱诱导 K562 细胞凋亡[J]. *中国药理学通报*, 1999, 15(2): 135.
- [31] 李晓丹, 李进. UV-C 诱导体外血管平滑肌细胞凋亡模型的建立[J]. *解放军广州医高专学报*, 1998, 21(1): 19-22.
- [32] PHAN TK, POON IK, ATKIN-SMITH GK. Detection and isolation of apoptotic bodies to high purity[J]. *J Vis Exp*, 2018(138): 58317.
- [33] TI DD, HAO HJ, TONG C, et al. LPS-preconditioned mesenchymal stromal cells modify macrophage polarization for resolution of chronic inflammation via exosome-shuttled let-7b[J]. *J Transl Med*, 2015, 13: 308.
- [34] ATKIN-SMITH GK, PAONE S, ZANKER DJ, et al. Isolation of cell type-specific apoptotic bodies by fluorescence-activated cell sorting[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 39846.
- [35] JIANG LZ, PAONE S, CARUSO S, et al. Determining the contents and cell origins of apoptotic bodies by flow cytometry[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 14444.
- [36] BENEDIKTER BJ, BOUWMAN FG, VAJEN T, et al. Ultrafiltration combined with size exclusion chromatography efficiently isolates extracellular vesicles from cell culture media for compositional and functional studies[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 15297.
- [37] BROWN PN, YIN H. Polymer-based purification of extracellular vesicles[J]. *Methods Mol Biol*, 2017, 1660: 91-103.
- [38] KIMIZ-GEBOLOGLU I, ONCEL SS. Exosomes: large-scale production, isolation, drug loading efficiency, and biodistribution and uptake[J]. *J Control Release*, 2022, 347: 533-543.
- [39] 陈刚. 细胞外囊泡与肿瘤发展及治疗[C]//第十四次中国口腔颌面外科学术会议论文集. 北京: 中华口腔医学会, 2018: 25.
- [40] WANG J, YEUNG BZ, CUI MJ, et al. Exosome is a mechanism of intercellular drug transfer: application of quantitative pharmacology[J]. *J Control Release*, 2017, 268: 147-158.
- [41] SANCHÓ-ALBERO M, ENCABO-BERZOSA MDM, BELTRÁN-VISIEDO M, et al. Efficient encapsulation of theranostic nanoparticles in cell-derived exosomes: leveraging the exosomal biogenesis pathway to obtain hollow gold nanoparticle-hybrids[J]. *Nanoscale*, 2019, 11(40): 18825-18836.
- [42] ZHU ZW, ZHANG D, LEE H, et al. Macrophage-derived apoptotic bodies promote the proliferation of the recipient cells via shuttling microRNA-221/222[J]. *J Leukoc Biol*, 2017, 101(6): 1349-1359.
- [43] DE FREITAS RCC, HIRATA RDC, HIRATA MH, et al. Circulating extracellular vesicles as biomarkers and drug delivery vehicles in cardiovascular diseases[J]. *Biomolecules*, 2021, 11(3): 388.
- [44] LENNAÁRD AJ, MAMAND DR, WIKLANDER RJ, et al. Optimised electroporation for loading of extracellular vesicles with doxorubicin[J]. *Pharmaceutics*, 2021, 14(1): 38.
- [45] BOSE RJC, THARMALINGAM N, GARCIA MARQUES FJ, et al. Reconstructed apoptotic bodies as targeted "nano decoys" to treat intracellular bacterial infections within macrophages and cancer cells[J]. *ACS Nano*, 2020, 14(5): 5818-5835.
- [46] WANG PP, WANG HH, HUANG QQ, et al. Exosomes from M1-polarized macrophages enhance paclitaxel antitumor activity by activating macrophages-mediated inflammation[J]. *Theranostics*, 2019, 9(6): 1714-1727.
- [47] KULKARNI SA, FENG SS. Effects of particle size and surface modification on cellular uptake and biodistribution of polymeric nanoparticles for drug delivery[J]. *Pharm Res*, 2013, 30(10): 2512-2522.
- [48] OHTA S, KIKUCHI E, ISHIJIMA A, et al. Investigating the

- optimum size of nanoparticles for their delivery into the brain assisted by focused ultrasound-induced blood-brain barrier opening[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 18220.
- [49] HERSH AM, ALOMARI S, TYLER BM. Crossing the blood-brain barrier: advances in nanoparticle technology for drug delivery in neuro-oncology[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(8): 4153.
- [50] OLLER-SALVIA B, SÁNCHEZ-NAVARRO M, GIRALT E, et al. Blood-brain barrier shuttle peptides: an emerging paradigm for brain delivery[J]. *Chem Soc Rev*, 2016, 45(17): 4690-4707.
- [51] ARCANGELI C, LICO C, BASCHIERI S, et al. Characterization of blood-brain barrier crossing and tumor homing peptides by molecular dynamics simulations[J]. *Int J Nanomedicine*, 2019, 14: 10123-10136.
- [52] HABIB S, SINGH M. Angiopep-2-modified nanoparticles for brain-directed delivery of therapeutics: a review[J]. *Polymers (Basel)*, 2022, 14(4): 712.
- [53] HANDATTU SP, MONROE CE, NAYYAR G, et al. *In vivo* and *in vitro* effects of an apolipoprotein e mimetic peptide on amyloid- β pathology[J]. *J Alzheimers Dis*, 2013, 36(2): 335-347.
- [54] ZHANG B, SUN XY, MEI H, et al. LDLR-mediated peptide-22-conjugated nanoparticles for dual-targeting therapy of brain glioma[J]. *Biomaterials*, 2013, 34(36): 9171-9182.
- [55] LEE JH, ENGLER JA, COLLAWN JF, et al. Receptor mediated uptake of peptides that bind the human transferrin receptor[J]. *Eur J Biochem*, 2001, 268(7): 2004-2012.
- [56] PRADES R, GUERRERO S, ARAYA E, et al. Delivery of gold nanoparticles to the brain by conjugation with a peptide that recognizes the transferrin receptor[J]. *Biomaterials*, 2012, 33(29): 7194-7205.
- [57] PRADES R, OLLER-SALVIA B, SCHWARZMAIER SM, et al. Applying the retro-enantio approach to obtain a peptide capable of overcoming the blood-brain barrier[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2015, 54(13): 3967-3972.
- [58] PINHEIRO RGR, GRANJA A, LOUREIRO JA, et al. RVG29-functionalized lipid nanoparticles for quercetin brain delivery and Alzheimer's disease[J]. *Pharm Res*, 2020, 37(7): 139.
- [59] YING M, ZHAN CY, WANG SL, et al. Liposome-based systemic glioma-targeted drug delivery enabled by all-d peptides[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2016, 8(44): 29977-29985.
- [60] DÍAZ-PERLAS C, OLLER-SALVIA B, SÁNCHEZ-NAVARRO M, et al. Branched BBB-shuttle peptides: chemoselective modification of proteins to enhance blood-brain barrier transport[J]. *Chem Sci*, 2018, 9(44): 8409-8415.
- [61] OLLER-SALVIA B, SÁNCHEZ-NAVARRO M, CIUDAD S, et al. MiniAp-4: a venom-inspired peptidomimetic for brain delivery[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2016, 55(2): 572-575.
- [62] MDZINARISHVILI A, SUTARIYA V, TALASILA PK, et al. Engineering triiodothyronine (T3) nanoparticle for use in ischemic brain stroke[J]. *Drug Deliv Transl Res*, 2013, 3(4): 309-317.
- [63] GEORGIEVA JV, BRINKHUIS RP, STOJANOV K, et al. Peptide-mediated blood-brain barrier transport of polymersomes[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2012, 51(33): 8339-8342.
- [64] PATHARAPANKAL EJ, AJIBOYE AL, MATTERN C, et al. Nose-to-brain (N2B) delivery: an alternative route for the delivery of biologics in the management and treatment of central nervous system disorders[J]. *Pharmaceutics*, 2023, 16(1): 66.
- [65] GUO Q, XU ST, YANG P, et al. A dual-ligand fusion peptide improves the brain-neuron targeting of nanocarriers in Alzheimer's disease mice[J]. *J Control Release*, 2020, 320: 347-362.
- [66] WU MC, WANG EY, LAI TW. TAT peptide at treatment-level concentrations crossed brain endothelial cell monolayer independent of receptor-mediated endocytosis or peptide-inflicted barrier disruption[J]. *PLoS One*, 2023, 18(10): e0292681.
- [67] RAUCHER D. Tumor targeting peptides: novel therapeutic strategies in glioblastoma[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2019, 47: 14-19.
- [68] KARAMI FATH M, BABAKHANIYAN K, ZOKAEI M, et al. Anti-cancer peptide-based therapeutic strategies in solid tumors[J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2022, 27(1): 33.
- [69] KONATE K, DUSSOT M, ALDRIAN G, et al. Peptide-based nanoparticles to rapidly and efficiently "wrap 'n roll" siRNA into cells[J]. *Bioconjug Chem*, 2019, 30(3): 592-603.
- [70] DARDEVET L, RANI D, AZIZ TAE, et al. Chlorotoxin: a helpful natural scorpion peptide to diagnose glioma and fight tumor invasion[J]. *Toxins (Basel)*, 2015, 7(4): 1079-1101.
- [71] ZHANG L, TENG F, XIN HJ, et al. A big prospect for hydrogel nano-system in glioma[J]. *Int J Nanomedicine*, 2024, 19: 5605-5618.
- [72] SHTEINFELDER-KUZMINE A, ARIF T, KRELIN Y, et al. Mitochondrial VDAC1-based peptides: attacking oncogenic properties in glioblastoma[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(19): 31329-31346.
- [73] SHI PF, XU J, CUI HJ. The recent research progress of NF- κ B signaling on the proliferation, migration, invasion, immune escape and drug resistance of glioblastoma[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(12): 10337.
- [74] ZHOU SL, ZHAO XY, YANG Z, et al. Neddylation inhibition upregulates PD-L1 expression and enhances the efficacy of immune checkpoint blockade in glioblastoma[J]. *Int J Cancer*, 2019, 145(3): 763-774.

责任编辑:王荣兵