لیپوزوم‌های هدف‌گیری شده (قسمت دوم)

دکتر مجتبی سرکندی

٤. لیپوزوم‌های کاربردی

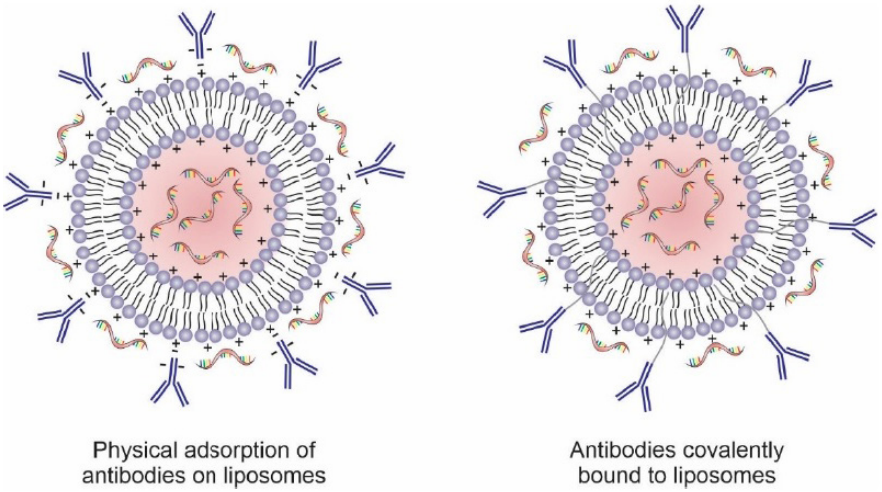
٤-١. آنتی‌بادی‌ها

آنتی‌بادی‌های منوکلونال (mAbs) اجزای مرتبط در درمان سرطان هستند که گیرنده‌های سلول تومور را هدف قرار می‌دهند و همزمان باعث ایجاد پاسخ ایمنی طولانی مدت می‌شوند. این خاصیت و وابستگی آنتی‌بادی‌ها منجر به توسعه درمان‌هایی با اثربخشی بالینی در درمان، از جمله تأیید داروهای مورد استفاده در درمان سرطان شده است (۱). در سال ۱۹۹۷، سازمان غذا و داروی آمریکا اولین mAb را برای درمان لنفوم غیرهودجکین، ریتوکسیماب، یک آنتی‌بادی منوکلونال ضدکیمریک anti-CD20 IgG1 تأیید کرد(۲). این ویژگی چند وجهی، استفاده از آنتی‌بادی‌ها و قطعات آن‌ها را در مهندسی نانوسیستم‌های دارو رسانی به محل هدف خود هدایت کرده است.

آنتی‌بادی‌ها می‌توانند به‌صورت فیزیکی یا کوالانت به سطح این نانوسیستم‌ها از جمله لیپوزوم‌ها متصل شوند (شکل ۴). اصلاح سطح لیپوزوم‌ها با mAbs باعث افزایش جذب درون سلولی از طریق اندوسیتوز از طریق تشخیص خاص پروتئین‌های سطح سلولی یا گیرنده‌های بیش از حد بیان شده در غشای سلول سرطانی یا در محیط کوچک تومور می‌شود (۳). چند نشانگر سطح سلول تومور به‌عنوان اهداف خاص و انتخابی برای درمان ضد سرطان شناسایی شده و نتایج امیدوارکننده‌ای را به‌عنوان عوامل هدف قرار دادن در نانوسیستم‌هایی مانند CD147، CD44، CD133 و CD321 ارایه می‌دهند. علاوه بر آنتی‌بادی‌های کامل، قطعات آن‌ها (به‌عنوان مثال، ds-ScFv، Ds-Fv، ScFv و sdAb) نیز برای هدف قرار دادن نانوسیستم‌ها به سلول‌های تومور استفاده شده است. این قطعات حاوی حداقل یک منطقه اتصال آنتی‌ژنی برای حفظ هدف‌گیری فعال هستند و مزیت آن ایمنی‌زایی کمتر و پایداری بیشتر نسبت به آنتی‌بادی‌های کامل است (۴).

CDD4 یک گلیکوپروتئین سطح سلولی چند ساختاری است که روی تعداد زیادی از انواع سلول‌های پستانداران بیان می‌شود. این ماده در فعالیت‌های فیزیولوژیک بقای سلول‌های طبیعی مانند تکثیر سلول، تمایز، چسبندگی، مهاجرت سلول، رگ‌زایی، ارایه سیتوکین و عوامل رشد دخیل است. ایزوفرم‌های مختلف (CD44v) CD44 که از نظر عملکردی از ایزوفرم استاندارد (CD44s) متمایز هستند، می‌توانند از طریق پیوند جایگزین، مرتبط با رشد تومور و متاستاز تشکیل شوند. در سرطان‌زایی، فعال‌سازی نسخه‌برداری ژن CD44 تا حدی از طریق مسیر سیگنال‌دهی Wnt رخ می‌دهد (مجموعه‌ای از مسیرهای انتقال سیگنال که در آن پروتئین‌ها سیگنال‌ها را از طریق گیرنده‌های سطح سلولی به سلول منتقل می‌کنند)(۵). هیالورون‌ها لیگاندهای اصلی CD44 هستند، اما برخی از ایزوفرم‌ها به لیگاندهای اضافی متصل می‌شوند که رگ‌زایی، رشد تومور و حمله را تنظیم می‌کنند. به‌عنوان مثال، ایزوفرم CD44v6 به عامل رشد هپاتوسیت و عامل رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) متصل می‌شود. ایزوفرم CD44v3 می‌تواند فاکتور رشد فیبروبلاست را به گیرنده خود در سلول‌های هدف ارایه دهد، در حالی که ایزوفرم‌های CD44v6 و v10 مهاجرت سلول‌های سرطانی پروستات (PC3) را افزایش می‌دهند (۶). از آنجا که CD44 یک مولکول چند منظوره است، عوامل ضد CD44 در سلول‌های مختلف تومور پتانسیل درمانی دارند.

وانگ (Wang) و همکارانش یک لیپوزوم کاتیونی ضد CD44 با واسطه آنتی‌بادی مرتبط با یک ژن همجوشی سه گانه حاوی تیمیدین کیناز کوتاه شده ویروس هرپس سیمپلکس (HSV-ttk)، رنیلا لوسیفراز و پروتئین فلورسنت قرمز را توسعه دادند. محققان



شکل ٤- نمایش شماتیک آنتی‌بادی‌های جذب شده به‌صورت فیزیکی و کووالانسی به سطح لیپوزوم‌های حاوی اسیدهای نوکلئیک.

پتانسیل لیپوزوم‌ها را برای ایجاد آپوپتوز در سرطان سلولی کبدی (HepG2) ارزیابی کردند و در عین حال، پیشرفت تومور را با استفاده از یک تکنیک تصویربرداری ارزیابی کردند. لیپوزوم‌های هدفمند (Lipo-CD44-RB) پس از یک ساعت انکوباسیون، جذب سلولی بالایی در سلول‌های HepG2 نشان دادند، در حالی که لیپوزوم‌های هدفمند حتی پس از ۱۲ ساعت داخلی نشدند. موش‌های NOD/SCID با لیپوزوم‌های سه گانه همجوشی/گانسیکلوویر (Lipo-CD44-TF/GCV) و لیپوزوم‌های غیرهدف (Lipo-TF/GCV) درمان شدند. سیگنال‌های بیولومینسانس (BLI) نشان دادند که Lipo-CD44-TF می‌تواند به‌طور خاص تومور را با تشخیص آنتی‌ژن CD44 هدف قرار دهد، در حالی که Lipo-TF/GCV سلول‌های سرطانی را هدف قرار نمی‌دهد. اثربخشی لیپوزوم‌ها از طریق یک آزمایش بیولومینسانس in vivo ارزیابی شد که در آن گروه Lipo-CD44-TF/GVC رشد تومور را در مقایسه با گروه Lipo-TF/GVC و گروه کنترل کاهش داد. نتایج نشان دادند که Lipo-CD44-TF می‌تواند همجوشی سه گانه را به‌طور خاص به تومور ارایه دهد، اما رشد آن را به‌طور کامل مهار نمی‌کند. این امر را می‌توان با وقوع سلول‌های مبدل مقاوم به GCV به دلیل حذف در HSV-tkk توضیح داد، زیرا HSV-tkk، در ترکیب با گانسیکلوویر، آن را به یک عامل سمی تبدیل می‌کند که باعث مرگ سلولی می‌شود(۷).

گیرنده ترانسفرین یک گلیکوپروتئین غشاء می‌باشد که توسط ژن گیرنده ترانسفرین (TFRC) کدگذاری شده و مسؤول داخلی‌سازی پروتئین ترانسفرین مرتبط با آهن از طریق اندوسیتوز با واسطه کلاترین (clathrin–mediated endocytosis) است. گیرنده ترانسفرین اغلب در سلول‌های سرطانی (به‌عنوان مثال، مغز، کبد، سینه، ریه و روده بزرگ) بیش از حد بیان می‌شود، زیرا آهن با تکثیر و بقای سلول‌های تومور همراه است. بنابراین، عملکرد لیپوزوم‌ها با ترانسفرین می‌تواند انتقال ژن‌ها را در سلول‌های سرطانی مختلف، از جمله تومورهای مغزی، سرطان سلول‌های اسکواموس، هپاتوکارسینوم، فیبروسارکوم، لوسمی، سرطان دهانه رحم و ... افزایش دهد. عملکرد گیرنده ترانسفرین برای افزایش تحویل لیپوزوم‌ها توسط آنتی‌بادی‌های گیرنده آنتی‌ترانسفرین مانند OX26 و RI7217 به کار می رود.

برای انتقال DNA پلاسمید از طریق سد خونی- مغزی (BBB) و هدف گلیوما، یو و همکاران (Yue et al) ایمونولیپوزوم‌های اصلاح شده با آنتی‌بادی OX26 و پپتید کلروتوکسین با پلاسمید IRES2-EGFP/hTERTC27 (OX26/CTX-PL/pC27) توسعه داده‌اند. سیتوتوکسیسیتی OX26/CTX-PL/pC27 در سلول‌های گلیوما (C6) در مقایسه با لیپوزوم‌های اصلاح نشده (PL/pC27) تقریبا ۱/۴ برابر بیشتر بود، اما تفاوت قابل توجهی با لیپوزوم‌های اصلاح شده با پپتید کلروتوکسین (OX26-PL / pC27) نداشت. هیچ تفاوتی در کارآیی انتقال در سلول‌های HEK293T برای OX26-PL/pC27، PL/pC27 و OX26/CTX-PL/pC27 نشان داده نشد. با این حال، OX26/CTX-PL/pC27 انتقال ژن در سلول‌های C6 و F98 را در مقایسه با PL/pC27 افزایش داد، که نشان‌دهنده تحویل انتخابی لیپوزوم‌ها به سلول‌های C6 است که گیرنده ترانسفرین و MMP-2 (گیرنده پپتید کلروتوکسین) را بیش از حد بیان می‌کند. OX26/CTX-PL / pC27 توانست از مدل BBB به شکل in vitro عبور کند و قابلیت دوام سلول‌های C6 را به ۴۶/۰ درصد کاهش دهد و سیتوتوکسیک‌تر از لیپوزوم‌های اصلاح نشده باشد. اثرات درمانی دوگانه با کاهش حجم تومور (18.81 mm3) و افزایش میانگین زمان بقا (۴۶ روز) در موش‌های حامل گلیوم C6 تأیید شد(۹).

چند گیرنده عامل رشد، از جمله HER2، EGFR/HER1 و FGFR، در سطح سلول‌های مختلف سرطانی بیش از حد بیان شده‌اند. گیرنده عامل رشد اپیدرم (EGFR) یکی از قوی‌ترین آنکوژن‌ها است که معمولا در سرطان‌ها بیش از حد بیان می‌شود. سیگنالینگ از طریق عامل رشد اپیدرم (EGF) منجر به تکثیر، مهاجرت و حمله سلول‌های تومور با ایجاد دیمریزاسیون EGFR، یک گیرنده تیروزین کیناز می‌شود. آنتی‌بادی Anti–EGFR (به‌عنوان مثال، Cetuximab و Panitumumab) در

فرمولاسیون‌های لیپوزومی برای ایجاد آپوپتوز در سلول‌های تومور با مسدود کردن پیوند لیگاند و دیمرزاسیون گیرنده ترکیب می‌شوند. علاوه بر این، EGRF توزیع زیر سلولی گیرنده ترانسفرین را از طریق فعالیت تیروزین کیناز تنظیم می‌کند. بنابراین، غیرفعال شدن آن بیان گیرنده ترانسفرین را با سرکوب واردات آهن سلولی و تاخیر در پیشرفت تومور کاهش می‌دهد(۱۰).

کیم و همکارانش (Kim et al) لیپوزوم‌های منفی عملکردی، ویروسوم‌های منفی، لیپوپلکس و ویروزوم‌های (virosomes) کاتیونی (viroplex) با Anti–EGFR (cetuximab)) برای هدف قرار دادن دو siRNA برای سلول‌های سرطانی که EGFR را بیان می‌کنند. محققان از siRNA علیه جانوس کینازهای (Janus kinases)، پروتئین ضروری برای تکثیر و بقا سلولی و ویمنتین (vimentin)، پروتئین ساختاری مرتبط با چسبندگی تومور، مهاجرت و بقا استفاده کردند. ویروپلکس و ویروزوم‌ها با قرار دادن پروتئین Sendai virus F/HN در طول تولید لیپوزوم‌ها تولید شدند. ایمونولیپوپلکس در مقایسه با ایمونولیپوزوم‌ها و لیپوزوم‌های غیرفعال، پیوند سلولی بیشتری به سلول‌های SKOV-3 (EGFR-positive) نشان داد، در حالی که به سلول‌های EGFR-negative B16BL6 کمتر نشان دادند. پیش درمان با سیتوکسیماب آزاد، جذب ایمونولیپوپلکس توسط سلول‌های سرطانی را در تجزیه و تحلیل سیتومتری کاهش داد، که نشان می‌دهد توانایی هدف قرار دادن ایمونولیپوپلکس به دلیل اتصال خاص بین سیتوکسیماب و EGFRs بیش از حد بیان شده در سطح سلول سرطانی است. لیپوپلکس‌های هدفمند کارآیی انتقال بالاتر را در سلول‌های SKOV-3 نشان دادند، در حالی که لیپوپلکس‌های غیرهدف انتقال بالا را در سلول‌های B16BL6 نشان دادند. با تجزیه و تحلیل میکروسکوپ فلورسنت، موش‌های برهنه BALB / c با تومورهای SKOV-3 که با فرمولاسیون‌های Anti–EGFR با برچسب رودامین درمان شده‌اند، شدت فلورسنت را در منطقه تومور افزایش داده‌اند و هدف‌گیری خاصی را نشان می‌دهند. علاوه بر این، ترکیب دوکسوروبیسین و ایمونولیپوپلکس/ ایمونوویروپلکس حاوی هر دو siRNA اثر ضدتوموری قابل توجهی، با کاهش قابل توجهی در حجم تومور، داشت (۱۱).

پیش از این، کیم و همکارانش. لیپوزوم‌های عملکردی (بار سطحی خنثی) و لیپوپلکس با ژن‌های Anti–EGFR تا سالموزین بارگذاری شده و انترلوکین ۱۲ (IL12) برای درمان آدنوکارسینوم تخمدان انسانی (SKOV-3)، آدنوکارسینوم ریه (A549) و سرطان پستان (MCF-7) و ملانوم موش (B16BL6) را بررسی کردند. IL-12 و سالموزین عملکرد ضد رگزایی (antiangiogenic) دارند. علاوه بر این، IL12 سلول‌های NK و سلول‌های T سیتوتوکسیک را فعال می‌کند. فرمولاسیون‌های هدفمند وابستگی سلولی

بیشتری به سلول‌های A549 و SKOV-3 (EGFR– مثبت) نسبت به سلول‌های MCF-7 و b16nl6 (EGFR-negative) نشان دادند که نشان‌دهنده انتخاب هر دو فرمولاسیون برای EGFR است. علاوه بر این، فرمولاسیون هدفمند، وابستگی اتصال بالایی به تمام خطوط سلولی نشان داد. براساس نتایج بیان لوسیفراز، سلول‌های EGFR–positive به‌طور موثر توسط ایمونولیپوپلکس‌های Anti–EGFR منتقل شدند، اما سلول‌های EGFR–negative نبودند، زیرا ایمونولیپوپلکس‌ها کارآمدتر از ایمونولیپوزوم‌ها بودند. تجزیه و تحلیل هیستولوژیک موش‌های برهنه SKOV-3-xenografted تحت درمان با فرمولاسیون‌ها نشان دادند که ایمونولیپوپلکس‌های حاوی pIL12/pSal حجم تومور و متاستاز ریه را کاهش می‌دهند (۱۲).

مشابه EGFR، بیان بیش از حد HER2 در تومورها، عمدتا سرطان پستان انسان، با بیماری‌های تهاجمی‌تر و پیش‌بینی ضعیف همراه است. HER2 یک گیرنده تیروزین کیناز است که هیچ لیگاند خاصی ندارد و با هترودیمریزاسیون با سایر گیرنده‌های فاکتور رشد فعال می‌شود و با مقاومت در برابر درمان غدد درون‌ریز همراه است که باعث می‌شود مسیرهای گیرنده و گیرنده هورمون تیروزین کیناز باعث تحریک تکثیر سلول‌های تومور شود. بیان بیش از حد این گیرنده در تومورها اجازه می‌دهد تا از آن به‌عنوان هدف برای ژن‌های بارگذاری نانوسیستم استفاده گردد(۱۳).

هدف قرار دادن نانوسیستم‌ها به محیط کوچک تومور استراتژی دیگری است که مزایای درمان ضدسرطان را ارایه می‌دهد. محیط کوچک تومور شامل عواملی هستند که در مهار پاسخ ایمنی ضدتومور، رشد سلول‌های تومور و القای رگ‌زایی طرفدار تومور دخیل می‌باشند. هو و همکارانش ایمونولیپوزوم‌های کاتیونی که با پروتئین همجوشی RDBV-IgGG1 Fc (LPPC) آنتی‌آنژیوژن کمپلکس شده توسعه داده‌اند. یک پلاسمید (pRBDV) برای ارزیابی تداخل با مسیر سیگنال‌دهی محور VEGF–VEGFR که باعث رگ‌زایی می‌شود، به لیپوزوم‌های کاتیونی کمپلکس شد. کمپلکس LPPC در سلول‌های VEGFR–positive (سلول‌های B16-F10) نسبت به سلول‌های VEGFR–negative (سلول‌های BALB/3t3) شدت فلوروسنت بالاتری را نشان می‌دهد و بیانگر آن است که LPPC به‌طور خاص گیرنده‌های VEGF را هدف قرار داده است. کمپلکس LPPC انتقال خون را در سلول‌های B16-F10 در مقایسه با لیپوزوم هدفمند در تجزیه و تحلیل سیتومتری جریان ۳/۵ برابر افزایش داد. ترانسفکتانت‌های مثبت RBDV، VEGFR–positive را پس از انتقال (1–μg·ml 4 پروتئین در ۴۸ ساعت) بیان کردند که نشان داده شد از طریق سیتوتوکسیسیتی سلولی وابسته به آنتی‌بادی و سیتوتوکسیسیتی وابسته به مکمل فعال زیستی است. تصویربرداری در موش‌های نر C57BL/6 (آزمایش بیولومینسانس) نشان

داد کـه کمپلکس‌هـای LPPC می‌تواننـد در ۷۲ سـاعت بـه تومورهـای B16-F10 برسـند و در سـایر اندام‌هـا جمـع نشـوند. پـس از درمـان LPPC/pRBDV/RBDV، موش‌هـا پروتئین‌هـای ترکیـب مجـدد را بـه مـدت ۷ روز بیـان کردنـد، رشـد تومـور را مهـار کردنـد و زمـان بقـا را بهبـود بخشـیدند (۱۰۰ درصـد در ۳۵ روز) (۱۴).

سـلول‌های اندوتلیـال مرتبـط بـا تومـور بـه دلیـل نقـش اساسـی رگ‌زایـی در رشـد و انتشـار تومـور بـه سـرعت تکثیـر می‌شـوند. اندوگلیـن (Endoglin) یـک غشـای سـلولی اندوتلیـال گلیکوپروتئیـن (همچنیـن به‌عنـوان CD105 شـناخته می‌شـود) اسـت کـه به‌طـور فعـال در رشـد رگ‌هـای خونـی شـرکت می‌کنـد و یکـی دیگـر از اهـداف امیـدوار کننـده در درمان سـرطان می‌باشـد(۱۵).

ژو و همکارانـش (Zhuo et al) ایمونولیپوزوم‌هـای کاتیونـی (ایمونولیپوزوم‌هـا/ pcDNA) کـه بـا آنتی‌بـادی anti-CD105 اصـلاح شـده و بـا ژن pcDNA3.1-CSF1- اندوسـتاتین بـرای تصویربـرداری خـاص تومـور و فعالیـت ضدآنژیـوژن بارگـذاری شـده، به‌وجـود آورده‌انـد. جـذب سـلولی ایمونولیپوزوم‌هـا / pcDNA در سـلول‌های اندوتلیـال CD105 positive بـا اسـتفاده از کلسـین (calcein) تعییـن شـد. ایمونولیپوزوم‌هـا/pcDNA توسـط سـلول‌های اندوتلیـال بـا محلی‌سـازی جزیـی در هسـته شناسـایی و درونـی شـد کـه نشـان‌دهنده انتقـال فعـال سـلول به سـلول بـا تجزیـه و تحلیل مرتب‌سـازی سـلول‌های فعـال فلورسـانس در سـلول‌های اندوتلیـال میکروواسـکولار حاصـل از تومورهـای اولیـه (CD105 positive) اسـت. کارآیـی انتقـال ژن ایمونولیپوزوم‌هـا/pcDNA در مقایسـه بـا لیپوزوم‌هـای کاتیونـی اصـلاح نشـده (لیپوزوم‌هـا / pcDNA) ۳۵ درصـد افزایـش یافتـه اسـت. هیـچ اثـر سـمی در موش‌هـا، ۵ و ۱۷ روز پـس از تزریق لیپـوزوم /pcDNA یـا ایمونولیپوزوم /pcDNA مشـاهده نشـد. مـوش برهنـه بلبرینـگ MDA-MB-231-Luc xenografts افزایـش تدریجـی فلوروسـنت تـا ۱۲ سـاعت را نشـان داد کـه بیـش از ۷۲ سـاعت ادامـه داشـت، در حالـی کـه سـیگنال فلوروسـنت در اندام‌هـای سیسـتم فاگوسـیتیک تـک هسـته‌ای در فلوروسـنت چنـد طیفی، لومینسـنت و تجزیه و تحلیل ظرفیت اشـعه ایکـس دیجیتـال در یـک سیسـتم واحد به سـطوح نزدیـک بـه پایـه کاهـش یافت. انـدازه تومـور پس از ۴۲ روز بعـد از تزریق ایمونولیپـوزوم/pcDNA در مقایسـه بـا PBS، 2.6 برابـر کاهـش یافـت (۱۶).

آنتی‌بادی‌هـای منوکلونـال در عمـل بالینـی علیـه سـرطان مهـم هسـتند، امـا مقاومـت درمانی هنـوز یـک چالـش اسـت. ترکیـب خاصیـت آنتی‌بادی‌هـای منوکلونـال بـا تطبیق‌پذیـری سیسـتم‌های لیپوزومـی نشـان داده کـه گزینه‌های امیـدوار کننـده‌ای بـرای بـه حداکثـر رسـاندن سـود اسـتفاده از لیپوزوم‌هـا و آنتی‌بادی‌هـای منوکلونـال در ژن درمانـی سـرطان بـا افزایـش عملکـرد لیپوزوم‌هـا و جبهه‌هـای درمانـی در درمـان سـرطان وجـود دارد. همان‌طـور کـه در بالا ذکـر شـد، ایمونولیپوزوم‌هـا توانایـی فعـال کـردن سیتوتوکسیسـیتی سـلولی وابسـته بـه آنتی‌بـادی

را دارنـد، در حالـی کـه به‌طـور مسـتقیم یـک یـا چنـد اسـید نوکلئیـک را بـه سـلول هـدف می‌رسـانند، اثـرات سـمی را کاهـش می‌دهنـد، اثربخشـی را افزایـش می‌دهنـد و پاسـخ ایمنـی ضدتومـور ایجـاد می‌کننـد.

۲-٤. پپتیدها

پپتیدهـا زنجیره‌هـای اسـیدآمینه کوتـاه هسـتند کـه اغلـب کمتـر از ۴۰ واحـد هسـتند و منشأ آن‌هـا از منابـع طبیعـی یـا مصنوعـی اسـت. در طـول چنـد دهـه گذشـته، عملکـرد لیپوزوم‌هـا بـا پپتیدهـا بـه دلیـل توانایـی آن‌هـا در بهبـود انتقـال نانـوذرات از طریـق غشـاهای بیولوژیـک و افزایـش داخلـی سـازی سـلولی مـورد توجـه قـرار گرفتـه اسـت(۱۷). در مقایسـه بـا آنتی‌بادی‌هـا، پپتیدهـا هزینـه تولیـد کمتـری، توانایـی نفـوذ بیشـتر و ایمنـی کمتـری دارنـد. علیرغـم وابسـتگی اتصـال پایین‌تـر (۱۰~۱ درصـد) در مقایسـه بـا آنتی‌بادی‌هـا، وزن مولکولـی کوچک‌تـر آن‌هـا چنـد نسـخه را قـادر می‌سـازد تـا در سـطح لیپوزوم‌هـا گنجانـده شـوند، کـه وابسـتگی اتصـال آن‌هـا را افزایـش می‌دهـد(۱۸). به‌طـور کلـی، پپتیدهـا را می‌تـوان بـه پپتیدهـای نفوذکننـده بـه سـلول (CPP) و پپتیدهـای هدفمنـد/ هدفمنـد تومـور طبقه‌بنـدی کـرد. CPPs پپتیدهـای کاتیونـی، آمفـی پاتیـک یـا هیدروفوبیـک [به‌عنـوان مثـال، فعال‌کننـده پپتیـد ترانسکرپشـن (TAT)، پنتراتیـن، پپتیـد ناشـی از ویـروس هـاری، قطعـه گلیکوپروتئیـن ویـروس هـاری کیمریـک و پپتیـد اکتارژنیـن] هسـتند کـه بـرای افزایـش جـذب سـلولی لیپوزوم‌هـا بـرای ارایـه عوامـل درمانـی اسـتفاده شـده‌اند. هنـوز مشـخص نیسـت کـه آیـا CPPs جـذب سـلولی توسـط گیرنده‌هـای سـلولی خـاص واسـطه شـده‌اند یـا نـه. در مقابـل، پپتیدهـای هدفمنـد تومـور/ هومینـگ (homing) (به‌عنـوان مثـال، RGD، آنژیوپـپ-۲، لیـپ-۱ و پپتیدهـای GE11) را می‌تـوان توسـط گیرنده‌هـای خـاص در سـلول‌های تومـور یـا میکـرو محیـط تومـور تشـخیص داد و قـادر بـه تمایـز تومـور و سـلول‌های طبیعـی بـود(۱۹).

دهکـردی و همکارانـش(Dehkordi et al) یـک فرمولاسـیون لیپوزومـی بـا پوشـش TAT و trastuzumab بـرای بهبـود حمـل و نقـل درون سـلولی siRNA در برابـر مقاومـت چنـد دارویـی (MDR1) بـرای حساسـیت مجـدد سـلول‌ها بـه داروی داونوروبیسـین سـاخته شـده اسـت. محققـان توانایـی TAT را بـرای بهبـود جـذب سـلولی و فـرار لیزوزومـی لیپوزوم‌هـا بـا هدف‌گیـری فعـال ترویـج شـده توسـط trastuzumab از طریـق گیرنده‌هـای HER-2 کـه در سـلول‌های سـرطان پسـتان بیـش از حـد بیـان شـده اسـت، ترکیـب کردنـد. نتایـج in vitro نشـان داد کـه لیپوزوم‌هـای اصلاح شـده بـا تـات، تحویـل siRNA را در خطـوط سـلولی MDA-MB-231RDB (مقـاوم بـه داونوروبیسـین) و EPG85.257EDB در مقایسـه بـا فرمولاسـیون اصـلاح نشـده افزایـش می‌دهنـد. عـلاوه بـر ایـن، ترکیـب TAT و trastuzumab می‌توانـد باعـث جـذب siRNA شـود. ایـن تغییـر سـطح دوگانـه

۱۲۸ برابر اثر خاموش کننده MDR1 بیشتر و تنظیم پایین پروتئین را در حدود ۵۰ برابر نشان داد و حساسیت شیمیایی به داونوروبیسین را ۴/۷۳ برابر بالاتر از درمان با داروی آزاد بدون فرار ناگهانی لیپوزوم‌های اصلاح شده tat–trastuzumab افزایش داد.

فیشر و همکارانش پتانسیل لیپوزوم‌های غیرکاتیونی پر از CPP را برای تحویل siRNA برای کاربردهای پزشکی بررسی کرده‌اند، زیرا لیپیدهای کاتیونی می‌توانند باعث سیتوتوکسیسیتی و ایمنی در vivo شوند. محققان از پپتید اکتارژینین، یک CPP، برای بهبود ظرفیت انتقال siRNA و به حداکثر رساندن حفظ siRNA و کارآیی کپسول استفاده کردند. برای این منظور، ترکیب پپتید اکتارژینین با استفاده از تغییرات از طریق پیش تزریق، پس از تزریق و پس از پیوند انجام شد. آن‌ها مشخص کردند که تکنیک پیش از قرار دادن کارآمدترین روش برای تولید لیپوزوم‌ها با کارآیی بالای کپسول siRNA (~55%) است. علاوه بر این، لیپوزوم‌های پر از اکتارژینین تولید شده توسط این روش ظرفیت انتقال بیشتری نسبت به لیپوزوم‌های اصلاح نشده نشان دادند. این مطالعه پتانسیل CPP را برای افزایش ترکیب siRNA در لیپوزوم‌ها و بهبود توانایی انتقال، که نقش مهمی در کاربردهای پزشکی دارد، نشان داد (۱۹).

در میان پپتیدهای هومینگ، RGD خطی و چرخه‌ای بیشترین استفاده را برای عملکرد نانوسیستم‌ها داشته‌اند. RGD خطی می‌تواند به چند اینتگرین متصل شود، از جمله اینتگرین avß3، که بیش از حد در سلول‌های اندوتلیال تومور neovasculature و سلول‌های تومور بیان می‌شود. پپتیدهای RGD چرخه‌ای (به‌عنوان مثال، cRGD و iRGD) می‌توانند به‌طور انتخابی و قوی‌تر به اینتگرین‌ها نسبت به RGD خطی متصل شوند. علاوه بر این، iRGD به neuropilin-1 متصل می‌شود، یک گیرنده نیز در سلول‌های تومور بیش از حد بیان گردیده است (۲۱).

مطالعات ذکر شده مزایای استفاده از پپتیدها را برای هدف‌گیری فعال لیپوزوم‌ها برای ژن درمانی نشان داده‌اند. با این حال، مهم است ذکر شود که توسعه لیپوزوم‌های اصلاح شده با پپتید دارای برخی محدودیت‌ها و چالش‌هایی است که باید برطرف گردند. این محدودیت‌ها عبارتند از:

I. تغییر از مقیاس کوچک به تولید در مقیاس صنعتی لیپوزوم‌های عملکردی که ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خود را حفظ می‌کنند،

II. توسعه روش‌های مناسب برای تعیین تعداد دقیق پپتیدها در لیپوزوم‌ها،

III. تجمع لیپوزوم‌ها به دلیل تراکم لیگاند بالا و

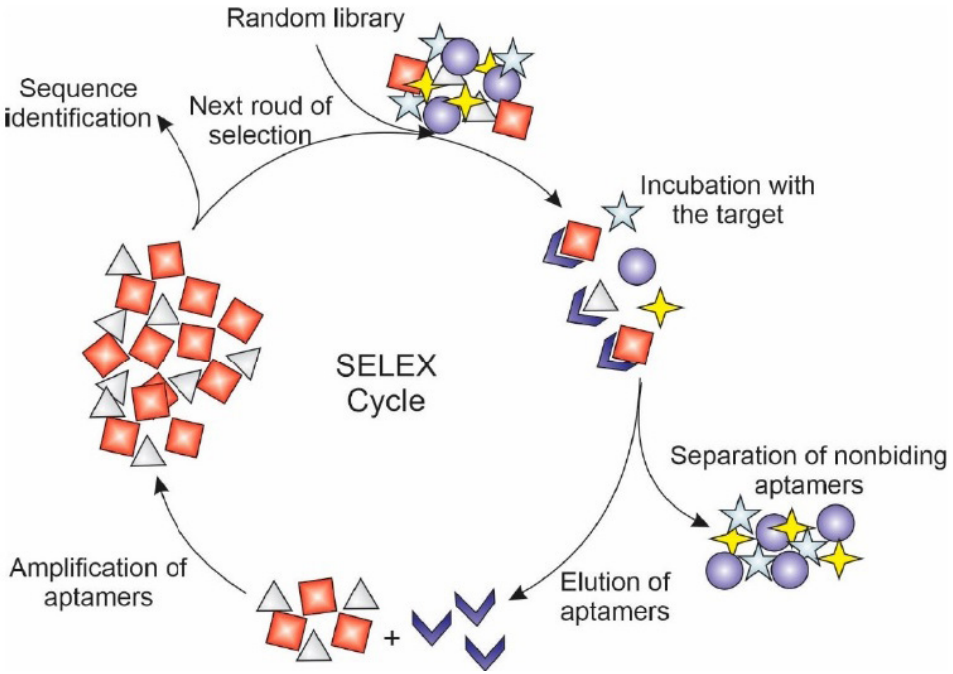
IV. اتصال غیرخاص پروتئین‌های سرم به پپتیدها در سطح لیپوزوم‌ها (۱۷).

در این زمینه، تلاش‌های بیشتری برای طراحی لیپوزوم‌های اصلاح شده پپتیدها و غلبه بر این محدودیت‌ها لازم است، با توجه به این که عملکرد پپتیدها پتانسیل زیادی

برای ژن درمانی سرطان نشان داده است.

۳-٤. آپتامرها (Aptamers)

آپتامرها الیگونوکلئوتیدها یا پپتیدهایی هستند که معمولا با انتخاب آن‌ها از یک مجموعه توالی تصادفی از طریق فرآیندی به نام تکامل متوالی لیگاندها با غنی‌سازی نمایی (SELEX) سنتز می‌شوند (شکل ۵). با توجه به ترکیب آن‌ها، آپتامرها را می‌توان به‌عنوان آپتامر اسید نوکلئیک و آپتامر پپتید طبقه‌بندی کرد. آپتامر اسید نوکلئیک یک رشته کوتاه از الیگونوکلئوتیدهای RNA یا DNA است، در حالی که آپتامرهای پپتید از یک توالی کوتاه اسیدهای آمینه متصل به یک داربست پروتئین پایدار تشکیل شده است(۱۵). ساختار سه بعدی آن‌ها می‌تواند با وابستگی و خاصیت بالا به گیرنده‌های بیان شده در سلول‌های سرطانی متصل شود، که آن‌ها را به کاندیداهای عالی برای عملکرد لیپوزوم‌ها برای ژن درمانی سرطان تبدیل می‌کند(۲۲).



شکل ۵- نمایش شماتیک تکامل متوالی لیگاندها با غنی‌سازی نمایی (SELEX) که برای انتخاب آپتامرهای با میل ترکیبی و ویژگی بالا توسط گیرنده‌های بیان شده بیش از حد در سلول‌های تومور استفاده می‌شود.

علاوه بر این، آپتامرها دارای اندازه کوچک، ایمنی کم، هزینه تولید نسبتا کم و سهولت ذخیره‌سازی هستند که آن‌ها را به نامزدهای عالی برای ترویج هدف‌گذاری فعال NAs به سلول‌های سرطانی تبدیل می‌کند (۲۳).

Aptamer AS1411 یکی از توصیف شده‌ترین و پرکاربردترین آپتامر برای هدف قرار دادن داروها یا ژن‌ها به سلول‌های تومور به دلیل خاصیت آن برای گیرنده‌های نوکلئولین (nucleolin) می‌باشد که در چند خط سلولی سرطانی بیش از حد بیان شده است. آپتامر AS1411 با bcl-2 mRNA برای ارایه به نوکلئولین رقابت می‌کند، باعث ایجاد آپوپتوز و کاهش تکثیر سلولی، میتوژنز و رگزایی سلول‌های تومور می‌شود (۲۴). Aptamer AS1411 برای عملکرد لیپوزوم کاتیونی همپوشانی شده با polo-like kinase 1 siRNA و paclitaxel برای درمان سرطان پستان استفاده شد. ژن درمانی با استفاده از polo-like kinase 1 siRNA، یک استراتژی امیدوار کننده می‌باشد و با توجه به این که بیان بیش از حد این پروتئین در سلول‌های سرطانی با تکثیر سلولی، متاستاز و رگزایی مرتبط است، صورت می‌پذیرد. لیپوزوم‌های هدفمند در مقایسه با لیپوزوم‌های بدون تغییر، سیتوتوکسیسیتی و جذب سلولی بیشتری، با مقدار IC50 ۶/۵ برابر سیتوتوکسیک لیپوزوم‌های غیرفعال، در سلول‌های MCF-7 نشان دادند، این درمان همچنین به‌طور موثر polo-like kinase 1 mRNA (۷۹ درصد) را در سلول‌های MCF-7 از بین برد. مدل تومور xenograft به شکل in vivo علاوه بر افزایش بقای حیوانات (تقریباً ۴۸ روز)، ۶۲ درصد مهار رشد تومور را در مقایسه با لیپوزوم غیرفعال (تقریباً ۲۶ روز) نشان داد (۲۵).

Gharaibeh و همکاران. همچنین از aptamer AS1411 برای هدف قرار دادن لیپوزوم‌های کاتیونی با siRNA برای درمان سرطان پستان استفاده کرد. پژوهندگان از siRNA برای خاموش کردن پروتئین Notch 1 استفاده کردند که مربوط به تکثیر سلول‌های تومور است. آزمایشات نشان دادند که لیپوزوم‌های عملکردی دو برابر بیشتر جذب می‌شوند و عمدتا در سیتوپلاسم سلول‌های MDA-MB-231 قرار دارند. علاوه بر این، لیپوزوم‌های هدفمند به‌طور قابل توجهی بیان Notch 1 را در سلول‌های MDA-MB-231 کاهش دادند، در حالی که لیپوزوم‌های غیرفعال بیان آن‌ها را کاهش ندادند. لی و همکارانش از همان آپتامر برای عملکرد لیپوزوم‌های کاتیونی بارگذاری شده از anti-BRAF siRNA برای درمان ملانوم استفاده کرد. BRAF ژن‌های جهش یافته‌ای هستند که در سلول‌های ملانوم بیان می‌شوند و با قابلیت دوام و تبدیل سلول‌های تومور همراه هستند. آزمایشات in vitro نشان دادند که لیپوزوم‌های هدفمند در سلول‌های A375 داخلی شده‌اند و نتیجه آن اثر از بین برندگی در ژن BRAF (تقریبا ۳۴/۱۳ درصد) و تنظیم پایین بیان پروتئین BRAF است. علاوه بر این، لیپوزوم‌های

هدفمند تجمع بیشتری در بافت تومور نسبت به لیپوزوم‌های اصلاح نشده نشان دادند (۲۴).

A10 RNA aptamer می‌تواند به‌طور خاص شناخته شود و به آنتی‌ژن غشای خاص پروستات که در سلول‌های سرطانی پروستات بسیار بیان شده است، متصل گردد. این آپتامر توسط ژن (Zhen) و همکارانش برای عملکرد لیپوزوم‌های کاتیونی بارگذاری شده با CRISPR / Cas9 در سلول‌های سرطانی پروستات استفاده شده است. CRISPR / cas9 gRNA برای هدف قرار دادن ژن پیش بقا (prosurvival) مانند polo-like kinase 1 به کار رفت. عملکرد با aptamer A10 کاهش ۶۳ درصدی در سطح بیان polo-like kinase 1 mRNA را با افزایش جذب سلولی، سیتوتوکسیسیتی و آپوپتوز در آزمایشگاه فراهم کرد. علاوه بر این، لیپوزوم‌های هدفمند کاهش ۲/۶ برابر تومور زنوگرافی (xenographic) به شکل in vivo را در مقایسه با لیپوزوم‌های غیرفعال نشان دادند (۲۷).

آپتامر EGFR می‌تواند به‌طور خاص به EGFR متصل شود و به‌عنوان یک لیگاند هدف‌گیری برای ترویج هدف‌گیری فعال نانوسیستم‌ها به سلول‌های سرطانی با بیان بیش از حد آن استفاده می‌شود. دونگ و همکارانش(Dong et al) آپتامر EGFR برای هدف قرار دادن لیپوزوم‌های کاتیونی بارگذاری شده با SATB1 siRNA به سلول‌های کوریوکارسینوم استفاده می‌شود. پروتئین ۱ (SATB1) که به‌طور خاص به توالی غنی متصل می‌شود، به رشد سرطان و متاستاز کمک می‌کند، که تنظیم پایین آن توسط siRNA را به یک استراتژی امیدوار کننده برای درمان سرطان تبدیل می‌سازد. آزمایش in vitro نشان داد که انتقال قابل توجهی از لیپوزوم‌های هدفمند، با کاهش قابل توجهی در بیان پروتئین SATB1 (تقریبا ۸۰ درصد)، در حالی که لیپوزوم‌های هدفمند بیان را حدود ۲۵ درصد مهار کردند. علاوه بر این، لیپوزوم‌های هدفمند، القای آپوپتوز بیشتری را نشان دادند (تقریبا ۲/۳ برابر بیشتر در مقایسه با لیپوزوم‌های اصلاح نشده). سرکوب SATB1 همچنین در مطالعات in vivo با استفاده از موش‌های دارای کوریوکارسینوم JEC-3 با تقریبا ۸۰ درصد و تقریبا ۳۰ درصد برای لیپوزوم‌های هدفمند و غیرهدفمند تأیید شد. علاوه بر این، لیپوزوم‌های هدفمند حجم و مهار وزن تومور (به‌ترتیب ۷۹/۴ و ۸۱/۴ درصد) بیشتر از فرمولاسیون هدفمند (به‌ترتیب ۴۶/۹ و ۴۸/۹ درصد) را نشان دادند (۲۸).

مولکول چسبندگی سلولی اپی‌تلیال (EpCAM) یک گلیکوپروتئین غشاء است که در تومورهای جامد بیش از حد بیان می‌شود. بنابراین، اپتامر EpCAM را می‌توان با لیپوزوم‌های کاتیونی ترکیب کرد تا به‌طور خاص سلول‌های تومور هدف را افزایش دهد. ژائو و همکارانش لیپوزوم‌های کاتیونی اصلاح شده EpCAM aptamer که با miR-139-5P (DiR-ANPs) برای درمان سرطان روده بزرگ بارگذاری شده‌اند.

MiR-139-5P توسط لیپوزوم‌ها برای ترویج بیان مجدد در سلول‌های سرطانی روده بزرگ ارایه شد، با توجه به این که تنظیم پایین آن در سلول‌های سرطانی با مهاجرت و حمله سلولی همراه است. آزمایشات in vitro نشان دادند که لیپوزوم‌های هدفمند در سلول‌های EpCAM-positive (HCT8 و HCT116) بیشتر از سلول‌های EpCAM-negative (HeLa) درونی شده‌اند، با فرار اندوزومی بعدی miR-139-5P. مطالعات In vivo با استفاده از مدل موش تحمل کننده تومور HCT8 نشان دادند که Dir–ANPs تجمع بیشتری در بافت تومور دارند و مهار تومور سرطان روده بزرگ زینوگرافت را سه برابر می‌کنند (۲۹).

CD44 یکی دیگر از گلیکوپروتئین‌های غشاء است که به شدت در تومورهای جامد بیان می‌شود. این امر مربوط به چسبندگی سلول‌های تومور، مهاجرت، تکثیر و تمایز است. بنابراین، آلشائر و همکارانش(Alshaer et al) لیپوزوم‌های منفی را که با آپتامر CD44 Apt1 (همچنین به نام Apt1) عمل می‌کنند، توسعه دادند که با CD44 siRNA برای هدف‌گیری فعال و سکوت ژن در سلول‌های سرطان پستان بارگذاری شده‌اند. لیپوزوم‌های هدفمند ۱/۸ برابر افزایش مهار mRNA در سلول‌های MDA-MB-231 نسبت به لیپوزوم‌های اصلاح نشده را نشان دادند. خاموش کردن mRNA در مدل سرطان پستان ارتوتوپ در vivo تأیید شد، که در نتیجه تجمع لیپوزوم‌های عملکردی در تومور ایجاد گردید(۳۰).

مطالعات فوق اهمیت آپتامرها را برای هدف قرار دادن خاص نانو حامل‌ها به سلول‌های تومور تقویت کرده است. برای اطمینان از موفقیت این درمان‌های هدفمند، مهم است ذکر شود که همبستگی آپتامرها با لیپوزوم‌ها می‌تواند خاصیت و وابستگی آن‌ها را با سلول‌های تومور تغییر دهد. بنابراین، در طول تولید لیپوزوم‌های اصلاح شده با آپتامر، محققان باید تأثیر بار و تراکم آپتامرها را بر سطوح لیپوزوم در نظر بگیرند تا توانایی اتصال آپتامر را بهینه کنند.

٤-٤. فولات

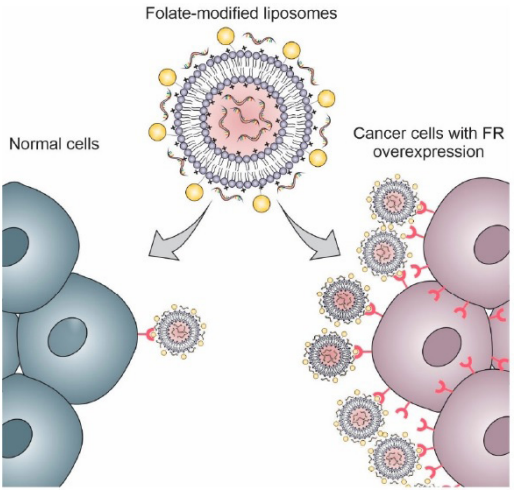
فولات (ویتامین B9) یک مولکول کوچک است که برای سنتز پورین‌ها و پیریمیدین‌ها ضروری است و در نتیجه، نقش مهمی در تقسیم سلولی و رشد دارد. انتقال این مولکول به سلول‌ها توسط چهار ایزوفرم گیرنده فولات (FRα, FRβ, FRγ, FRδ) رخ می‌دهد. در میان این ایزوفرم‌ها، FRα بیشترین پتانسیل را برای هدف‌گیری فعال دارد، که در سرطان‌های پستان، تخمدان، ریه، مغز، پروستات، روده بزرگ، گلو و بینی بیش از حد بیان می‌شود. گزارش شده که گیرنده‌های فولات در سلول‌های تومور ۳۰۰–۱۰۰ برابر بیشتر از سلول‌های طبیعی بیان می‌شوند (شکل ۶). علاوه بر وابستگی بالای فولات توسط FRα، این مولکول دارای مزایای ارزان، غیرایمنی، پایدار، به راحتی تولید شده و آسان برای اتصال به نانوسیستم‌ها است. به این ترتیب، عملکرد با فولات یک استراتژی

جالب برای هدف قرار دادن فعال لیپوزوم‌ها برای ژن درمانی سرطان است (۳۱).

چن و همکارانش (Chen et al) اصلاح یک فرمولاسیون لیپوزومی کاتیونی با اسید فولیک برای هدف‌گیری فعال هیپوکسی القایی factor-1α siRNA به ملانوم بدخیم از طریق گیرنده‌های فولات بیش از حد بیان شده را انجام دادند. هیپوکسی القایی factor-1α siRNA برای خاموش کردن بیان ژن هیپوکسی القایی factor-1α siRNA استفاده شد که در سلول‌های تومور تنظیم بالا شده و با رگ‌زایی مرتبط است. آزمایش انتقال in vitro با استفاده از سلول‌های ملانوم انسانی (A375) نشان داد که لیپوزوم‌های اصلاح شده فولات انتقال siRNA را در مقایسه با لیپوزوم‌های اصلاح نشده با شدت فلوروسنت متوسط مشابه لیپوفکتامین ™2000، یک واکنش دهنده انتقال افزایش می‌دهند. علاوه بر این، لیپوزوم‌های اصلاح شده فولات فعالیت ضد ملانوم in vitro و تنظیم پایین پروتئین factor-1α هیپوکسی القایی را نسبت به فرمولاسیون اصلاح نشده نشان دادند. بنابراین، نتایج پتانسیل عملکرد فولات برای بهبود انتقال لیپوزوم‌های بارگذاری شده با siRNA را نشان دادند (۳۲).

لیپوزوم‌های بارگذاری شده با Folate-modified anti-MDR1 siRNA که با فولات اصلاح شده‌اند، برای افزایش سکوت ژن مقاومت چند دارویی (MDR1) که در سلول‌های تومور تنظیم بالا گردیده‌اند، توسعه یافتند. برای این منظور، محققان یک لیپوکونژوگات حاوی فولات جدید را برای هدف قرار دادن لیپوزوم‌های بارگذاری شده با siRNA در سلول‌های تومور سنتز کردند. لیپوزوم‌های اصلاح شده فولات ۴-۳ برابر کارآیی انتقال بالاتر در سلول‌های تومور نسبت به لیپوزوم‌های اصلاح نشده داشتند. علاوه بر این، مطالعات in vivo تجمع بالای لیپوزوم‌های اصلاح شده فولات در تومورها (حدود ۱۸-۱۵ درصد) را نشان داد و به دنبال آن تنظیم مجدد کارآمد ژن MDR1 و بیان p-گلیکوپروتئین (تا ۴۰ درصد گروه کنترل) در تومورها، نشان دهنده پتانسیل بزرگ این فرمول برای درمان سرطان است (۳۳). گلادکیخ و همکارانش (Gladkikh et al) همچنین لیپوزوم‌های اصلاح شده فولات را برای تحویل MDR1-siRNA بررسی کرده‌اند و تجمع بیشتری از لیپوزوم‌های اصلاح شده فولات را در تومورهای متشکل از سلول‌هایی با بیان بالای گیرنده‌های فولات مشاهده نمودند و تأیید کردند که عملکرد با فولات یک استراتژی جالب برای افزایش هدف قرار دادن اسیدهای نوکلئیک می‌باشد(۳۴).

لی و همکارانش یک siRNA را در برابر ژن Bmi1 با اسید اورسولیک به سلول‌های تومور با استفاده از لیپوزوم‌های کاتیونی اصلاح شده با فولات هم رسانی کردند. تنظیم بالای ژن Bmi1 با خود تجدیدی و بدخیم بودن سلول‌های بنیادی مرتبط است.



شکل ٦- نمایش شماتیک بیان بیش از حد گیرنده‌های فولات (FR) در سلول‌های سرطانی در مقایسه با سلول‌های طبیعی.

بنابراین، تنظیم پایین ژن توسط siRNA همراه با فعالیت ضدتومور اسید اورسولیک یک استراتژی برای مهار رشد تومور است. آزمایشات نشان دادند که لیپوزوم‌های اصلاح شده فولات هم رسانی گردیده اسید اورسولیک و Mni1 siRNA (FA-UA/siRNA-L)، در مقایسه با لیپوزوم‌های اصلاح نشده، به خاطر اثر ضدتومور هم افزایی، به‌طور قابل توجهی جذب سلولی و اثرات سیتوتوکسیسیتی بیشتری دارند. علاوه بر این، آزمایش Western blotting بیان Bmi1 را به‌طور قابل توجهی پایین‌تر نشان داد، زمانی که FA-UA/siRNA-L با فرمولاسیون اصلاح نشده مقایسه گردید. مطالعات In vivo با استفاده از مدل موش‌های balb/c تحمل‌کننده تومور زیرپوستی نتایج ضدتومور مشاهده شده در آزمایشگاه را تقویت کردند و اثر ضدتومور هم‌افزایی FA-UA/siRNA-L را نشان دادند(۳۵).

۵. نتیجه‌گیری و دیدگاه‌ها

ژن درمانی به یک استراتژی امیدوار کننده برای درمان سرطان تبدیل شده است. برای این منظور، توسعه یک حامل ژن قادر به تحویل و انتقال اسید نوکلئیک به سلول‌های تومور نقش مهمی در موفقیت ژن درمانی دارد. در این زمینه، لیپوزوم‌های عملکردی توانایی زیادی برای انتقال سلول‌های تومور به دلیل تشخیص آن‌ها با خاصیت و وابستگی بالا توسط گیرنده‌های بیش از حد بیان شده در سلول‌های تومور نشان داده‌اند. در طراحی

ایـن نانوسیسـتم‌ها از لیپیدهـای مختلـف بـرای تولیـد لیپوزوم‌هـا (آنیونـی، کاتیونـی و خنثـی) اسـتفاده شـده اسـت. در میـان آن‌هـا، لیپیدهـا بـا گـروه سـر کاتیونـی ویژگی‌هـای بهتـری، از جملـه پیچیدگـی آسـان بیـن لیپیـد و ژن‌هـا بـا تعامـل الکترواسـتاتیک، تداخـل عالـی بـا غشـای سـلولی از طریـق تعامـل الکترواسـتاتیک و توانایـی فـرار از آندوزوم‌هـا بـا تداخلشـان و همجوشـی آن‌هـا بـا غشـای آنـدوزوم را بـرای رسـاندن ژن نشـان داده‌اند، . عـلاوه بـر ایـن، انتخـاب لیگانـد هـدف می‌توانـد بـر توانایـی لیپوزوم‌هـا بـرای انتقـال سـلول‌ها تأثیـر بگـذارد. در طـول انتخـاب لیگانـد (به‌عنـوان مثـال، آنتی‌بادی‌هـا، قطعـه آنتی‌بادی‌هـا، پپتیدهـا، آپتامرهـا، اسـید فولیـک و کربوهیدرات‌هـا)، ارزیابـی سـطح گیرنـده هـدف آن، جهت‌گیـری لیگانـد در سـطح لیپوزوم‌هـا و تراکـم لیگانـد بـرای تضمیـن اتصـال مناسـب بـه گیرنـده هـدف مهـم اسـت. مطالعـات in vitro و in vivo بـا اسـتفاده از لیگاندهـای هدفمنـد مختلـف نشـان داده‌انـد کـه عملکـرد لیپوزوم‌هـا می‌توانـد رسـاندن ژن‌هـا بـه سـلول‌های تومـور، بـا بهبـود فعالیـت ضدتومـور آن‌هـا در مقایسـه بـا لیپوزوم‌هـای اصـلاح نشـده، را افزایـش دهـد. بـا ایـن حـال، تـا جایـی کـه مـا می‌دانیـم، تـا بـه امـروز، تعـداد کمـی از آزمایشـات بالینـی بـا اسـتفاده از لیپوزوم‌هـای بارگـذاری شـده بـا اسـیدهای نوکلئیـک برای درمـان سـرطان انجام شـده اسـت. عـلاوه بـر ایـن، آزمایشـات بالینـی بـا اسـتفاده از لیپوزوم‌هـای کاربـردی هنـوز انجـام نگرفتـه، کـه نشـان دهنـده نیاز بـه مطالعات بیشـتر بـرای درک بیشـتر توانایـی هدف‌گیـری و پتانسـیل ضدتومـور لیپوزوم‌هـای کاربـردی بارگـذاری شـده بـا اسـیدهای نوکلئیـک اسـت.

منابع

1. Kaplon H. Reichert JM. Antibodies to watch in 2021. MAbs 2021; 13: 1860476.
2. Maloney DG. Grillo-López AJ. White CA. Bodkin D. IDEC-C2B8 (Rituximab) Anti-CD20 Monoclonal Antibody Therapy in Patients With Relapsed Low-Grade Non-Hodgkin's Lymphoma. Blood 1997; 90: 2188–2195.
3. Patel D. Wairkar S. Yergeri MC. Current Developments in Targeted Drug Delivery Systems for Glioma. Curr Pharm Des 2020; 26: 3973–3984.
4. Richards DA. Maruani A. Chudasama V. Antibody fragments as nanoparticle targeting ligands: A step in the right direction. Chem Sci 2017;8: 63–77.
5. Leite NT. Hillaireau H. Vergnaud J. Rivano M. Hyaluronic acid-conjugated lipoplexes for targeted delivery of siRNA in a murine metastatic lung cancer model. Int J Pharm 2016;514: 103–111.
6. Desai B. Ma T. Zhu J. Chellaiah MA. Characterization of the expression of variant and standard CD44 in prostate cancer cells: Identification of the possible molecular mechanism of CD44/MMP9 complex formation on the cell surface. J Cell Biochem 2009;108: 272–284.

7. Wang L. Su W. Liu Z. Zhou M. Chen S. Chen Y. CD44 antibody-targeted liposomal nanoparticles for molecular imaging and therapy of hepatocellular carcinoma. Biomaterials 2012;33: 5107–5114.
8. Kang S. Duan W. Zhang S. Chen D. Feng J. Qi N. Muscone/RI7217 co-modified upward messenger DTX liposomes enhanced permeability of blood–brain barrier and targeting glioma. Theranostics 2020;10: 4308–4322.
9. Yue PJ. He L. Qiu SW. Li Y. OX26/CTX-conjugated PEGylated liposome as a dual-targeting gene delivery system for brain glioma. Mol Cancer 2014;13: 1–13.
10. Thomas R. Weihua Z Rethink of EGFR in cancer with its kinase independent function on board. Front Oncol 2019;9: 1–16.
11. Kim JS. Kim MW. Kang SJ. Jeong HY. Tumor-specific delivery of therapeutic siRNAs by anti-EGFR immunonanoparticles. Int J Nanomed 2018;13: 4817–4828.
12. Kim JS. Kang SJ. Jeong HY. Kim MW. Park SI. Anti-EGFR immunonanoparticles containing IL12 and salmosin genes for targeted cancer gene therapy. Int J Oncol 2016;49: 1130–1138.
13. Behravan N. Zahedipour F. Jaafari MR. Johnston TP. Sahebkar A. Lipid-based nanoparticulate delivery systems for HER2-positive breast cancer immunotherapy. Life Sci 2022;291: 120294.
14. Gao L. Cao J. Fang W. Self-assembly of lamellar lipid-DNA complexes simulated by explicit solvent counterion model. J Phys Chem B 2010;114: 7261–7264.
15. Reverdatto S. Burz D. Shekhtman A. Peptide Aptamers: Development and Applications. Curr Top Med Chem 2015;15: 1082–1101.
16. Huang Y., Huang Y. He J. Wang H. PEGylated immunoliposome-loaded endoglin single-chain antibody enhances anti-tumor capacity of porcine α1,3GT gene. Biomaterials 2019;217: 119231.
17. Sonju JJ. Dahal A. Singh SS. Jois SD. Peptide-functionalized liposomes as therapeutic and diagnostic tools for cancer treatment. J Control Release 2021;329: 624–644.
18. Liu M. Fang X. Yang Y. Wang C. Peptide-Enabled Targeted Delivery Systems for Therapeutic Applications. Front Bioeng Biotechnol 2021;9: 1–15.
19. Fisher RK. West PC. Mattern-schain SI. Best MD. Advances in the formulation and assembly of non-cationic lipid nanoparticles for the medical application of gene therapeutics. Nanomaterials 2021;11: 825.
20. Dehkordi NG. Elahian F. Khosravian P. Mirzaei AA. Intelligent TAT-coupled anti-HER2 immunoliposomes knock downed MDR1 to chemosensitize phenotype of multidrug resistant carcinoma. J Cell Physiol 2019;234: 20769–20778.
21. Shi J. Wang F. Liu S. Radiolabeled cyclic RGD peptides as radiotracers for tumorimaging. Biophys Rep 2016;2: 1–20.
22. de Franciscis V. Challenging cancer targets for aptamer delivery. Biochimie 2018;145: 45–52.
23. Fu Z. Xiang J. Aptamer-functionalized nanoparticles in targeted delivery and cancer therapy. Int J Mol Sci 2020;21: 9123.
24. Li L. Hou J. Liu X. Guo Y. Wu Y. Nucleolin-targeting liposomes guided by aptamer AS1411 for the delivery of siRNA for the treatment of malignant melanomas. Biomaterials 2014;35: 3840–3850.
25. Alhakamy NA. Curiel DT. Berkland CJ. The era of gene therapy: From preclinical development to clinical application. Drug Discov Today 2021;26: 1602–1619.
26. Yu S. Bi X. Yang L. Wu S. Co-delivery of paclitaxel and PLK1-targeted siRNA using aptamer-functionalized cationic liposome for synergistic anti-breast cancer effects in vivo. J Biomed Nanotechnol 2019;15: 1135–1148.

27. Zhao Y. Xu J. Le VM. Gong Q. EpCAM Aptamer-Functionalized Cationic Liposome-Based Nanoparticles Loaded with miR-139-5p for Targeted Therapy in Colorectal Cancer. Mol Pharm 2019;16: 4696–4710.
28. Dong J. Cao Y. Shen H. Ma Q. EGFR aptamer-conjugated liposome-polycation-DNA complex for targeted delivery of SATB1 small interfering RNA to choriocarcinoma cells. Biomed Pharmacother 2018;107: 849–859.
29. Zhao Y. Xu J. Le VM. Gong Q. EpCAM Aptamer-Functionalized Cationic Liposome-Based Nanoparticles Loaded with miR-139-5p for Targeted Therapy in Colorectal Cancer. Mol Pharm 2019;16: 4696–4710.
30. Alshaer W. Hillaireau H. Vergnaud J. Mura S. Aptamer-guided siRNA-loaded nanomedicines for systemic gene silencing in CD-44 expressing murine triple-negative breast cancer model. J Control Release 2017;271: 98–106.
31. Argenziano M. Arpicco S. Brusa P. Cavalli R. Developing Actively Targeted Nanoparticles to Fight Cancer: Focus on Italian Research. Pharmaceutics 2021;13: 1538.
32. Chen Z. Zhang T. Wu B. Zhang X. Insights into the therapeutic potential of hypoxia-inducible factor-1α small interfering RNA in malignant melanoma delivered via folate-decorated cationic liposomes. Int J Nanomed 2016;11: 991–1002.
33. Kabilova TO. Shmendel EV. Gladkikh DV. Chernolovskaya EL. Targeted delivery of nucleic acids into xenograft tumors mediated by novel folate-equipped liposomes. Eur J Pharm Biopharm 2018;123: 59–70.
34. Gladkikh DV. Sen′ Kova AV. Chernikov IV. Kabilova TO. Folate-equipped cationic liposomes deliver anti-mdr1-sirna to the tumor and increase the efficiency of chemotherapy. Pharmaceutics 2021;13: 1252.
35. Li W. Yan R. Liu Y. He C. Xiang G. Co-delivery of Bmi1 small interfering RNA with ursolic acid by folate receptor-targeted cationic liposomes enhances anti-tumor activity of ursolic acid in vitro and in vivo. Drug Deliv 2019;26: 794–802.