

引用格式:杨丹,徐世瑾,周畅,等.生物素化微泡构建在肿瘤靶向治疗中的应用进展[J].巴楚医学,2025,8(4):119-123. DOI: 10.3969/j.issn.2096-6113.2025.04.018

Cite as: Yang Dan, Xu Shijin, Zhou Chang, et al. Progress on the Application of Biotinylated Microbubble Construction in Tumor-Targeted Therapy[J]. Bachu Medical Journal, 2025, 8(4): 119-123. DOI: 10.3969/j.issn.2096-6113.2025.04.018

生物素化微泡构建在肿瘤靶向治疗中的应用进展

杨丹¹ 徐世瑾¹ 周畅¹ 刘蓉¹ 刘芸^{1,2}

(1. 三峡大学第一临床医学院[宜昌市中心人民医院]超声科,湖北宜昌 443003; 2. 三峡大学肿瘤微环境与免疫治疗湖北省重点实验室,湖北宜昌 443002)

摘要: 以手术切除、放射治疗和化学治疗为代表的传统肿瘤治疗模式,在晚期实体瘤患者预后改善方面面临显著瓶颈。随着肿瘤分子生物学研究不断深入,多种关键分子靶点和异常激活信号转导通路被相继阐明,为个体化精准靶向治疗提供理论依据。在靶向治疗技术领域,超声联合生物素化微泡创新策略展现出广阔的应用前景。该技术体系将超声生物学效应与分子靶向巧妙融合,对微泡表面进行生物素化修饰后,利用生物素-亲和素系统桥梁,实现与亲和素偶联的肿瘤特异性配体/抗体定向组装。在此基础上,通过超声靶向微泡爆破技术,精准递送治疗性药物或基因至表达特异性抗原的肿瘤细胞。本文将从生物素化靶向微泡构建、靶向机制及其在肿瘤治疗中的应用进行系统性综述。

关键词: 生物素化; 微泡; 靶向治疗; 肿瘤

中图分类号: R73 **文献标志码:** A **文章编号:** 2096-6113(2025)04-0119-05

Progress on the Application of Biotinylated Microbubble Construction in Tumor-Targeted Therapy

Yang Dan¹ Xu Shijin¹ Zhou Chang¹ Liu Rong¹ Liu Yun^{1,2}

(1. Department of Ultrasound Imaging, Yichang Central People's Hospital, The First College of Clinical Medical Science, China Three Gorges University, Yichang 443003, China; 2. Hubei Key Laboratory of Tumor Microenvironment and Immunotherapy, China Three Gorges University, Yichang 443002, China)

Abstract Traditional cancer treatment modalities, including surgical resection, radiotherapy, and chemotherapy, face significant challenges in improving the prognosis of patients with advanced solid tumors. With the continuous progress in tumor molecular biology, multiple key molecular targets and aberrantly activated signaling pathways have been elucidated, providing a theoretical foundation for individualized precision-targeted therapy. In the field of targeted therapy, the innovative strategy of ultrasound-assisted biotinylated microbubbles has demonstrated promising application prospects. This technology integrates the biological effects of ultrasound with molecular targeting by modifying the microbubble surface with biotin. Utilizing the biotin-avidin system as a molecular bridge, tumor-specific ligands or antibodies conjugated with avidin can be directionally assembled onto the microbubble surface. Based on this approach, ultrasound-targeted microbubble destruction enables the precise delivery of therapeutic drugs or genes to tumor cells

基金项目: 湖北省自然科学基金青年项目(2023AFB137);湖北省教育厅青年人才项目(Q20231202);肿瘤微环境与免疫治疗湖北省重点实验室开放基金项目(2023KZL031)

作者简介: 杨丹,主治医师,E-mail: 93883067@qq.com

通信作者: 刘芸,副主任医师,E-mail: liuyun2015@foxmail.com

expressing specific antigens. This review provides a systematic overview of the construction of biotinylated targeted microbubbles, targeting mechanisms and applications in tumor therapy.

Keywords biotinylated; microbubble; targeted therapy; tumors

超声微泡(microbubble, MB)作为一种新型药物递送载体,凭借其独特的理化性质与结构优势,具备高效负载药物和(或)基因的能力,现多应用于肿瘤的诊断及治疗^[1]。为实现将药物或基因靶向递送至特定肿瘤内部,增强抗肿瘤疗效,减轻药物毒副作用,常需对 MB 进行功能化修饰,而其中最常见修饰就是将 MB 生物素化。近年来,亲和素-生物素技术在 MB 靶向治疗肿瘤领域得到广泛应用^[2],通过将生物素修饰于 MB 表面,利用生物素与亲和素之间的高度特异性和极强亲和力,促进其与携带亲和素的肿瘤特异性配体或抗体发生紧密特异性结合反应,进而实现对肿瘤细胞表面特异性抗原或标志物精准识别与靶向结合。本文就生物素化 MB 构建和肿瘤靶向治疗方面的临床应用等进行综述,以期对肿瘤靶向 MB 的制备及选择提供有价值的信息。

1 “亲和素-生物素”系统及其优势

亲和素是一类高度稳定的四聚体糖蛋白,呈碱性,分子量约 66~69 kDa,末端含有 N-乙酰氨基葡萄糖和甘露糖基。每一个亲和素分子具备四个亚基,亲和素亚基由 8 个反平行体组成,形成桶状结构的分子链,宽端与生物素结合^[3]。然而,由于亲和素具备特定的碱性和糖基化特点,使得其在体内存在较强的非特异性结合及免疫原性。为了克服以上缺点,学者们通过基因工程制备出不同的亲和素衍生物。目前应用最广泛的亲和素衍生物是链霉菌亲和素(streptomyces avidini, SA)。SA 是一种非糖基化四聚体蛋白,其序列与亲和素有 30% 的同一性,但呈现出非常相似的二级、三级和四级结构^[4]。生物素,是一种水溶性维生素,由一个四氢噻吩环与一个脲(四氢亚胺)环熔合而成。在不同研究领域,通过筛选适配的生物素或衍生化合物,可以对含有胺和羧基的生物分子进行生物素化修饰^[5]。同时,在亲和素-生物素系统结合过程中,生物素因其特殊结构,能最大程度地减少对所结合物质生物活性的干扰,确保与之结合的聚合物、药物、蛋白质或细胞在分子构象、生物学功能以及代谢途径等方面,均维持原本的生物学活性状态^[6]。

生物素与 SA 之间的相互作用,展现出极低的解离常数,数值约为 10^{-14} M。这种近乎不可逆的结合模式,被视作自然界已知的最强非共价相互作用之

一。此外,两者的相互作用可以在体内复杂且恶劣条件下维持,如在低 pH 值、高温和酶解环境中仍能保持稳定^[7]。鉴于亲和素-链霉菌生物素系统具有极高的亲和力和特异性,它在生物医学领域发挥着关键作用,广泛应用于药物递送、免疫检测、细胞标记和信号放大等方面^[5]。

2 生物素化微泡构建及肿瘤靶向机制

MB 可通过多种机制实现靶器官或病灶内的局部聚集,主要包括淋巴回流、细胞吞噬和电荷吸附等作用。淋巴回流是一种基于淋巴系统生理功能的被动靶向机制,无需对 MB 进行复杂的表面修饰,具有天然的靶向性。细胞吞噬是一种主动靶向机制,依赖于 MB 与特定细胞(如巨噬细胞、肿瘤细胞或内皮细胞)之间的相互作用^[8]。电荷吸附是一种基于静电相互作用的靶向机制。MB 表面可通过化学修饰携带正电荷或负电荷,与带相反电荷的目标组织或细胞表面发生静电吸附,从而实现局部聚集^[9]。然而,因特异性靶向配体的缺失,MB 常出现与靶组织结合率及结合力低下状况。此外,研究显示^[10],肿瘤细胞存在生物素摄取系统显著上调的特征,这种过度表达致使癌细胞对细胞外生物素的摄取能力明显增强。经生物素修饰后的 MB,依托生物素-亲和素系统,可与生物素化抗体特异性结合,提高配体-抗体的连接率与结合强度,进而促进 MB 在靶向部位的主动聚集。基于上述特性,亲和素-生物素系统成为肿瘤靶向制剂的理想选择^[11](图 1)。

同时,肿瘤细胞表面或肿瘤相关血管表面常会高表达相关受体,这也为实现主动靶向提供了基础^[12]。不同肿瘤细胞表面常有不同特定抗原的表达,使用特定抗体靶向结合肿瘤细胞特异性抗原,有利于肿瘤细胞的检测及定性。SA 偶联抗体对肿瘤组织或恶性细胞具有高度选择性,一旦 SA 偶联抗体在目标位点聚集,携带药物或基因的生物素化 MB 就可通过生物素-SA 连接靶向至目标点^[13]。例如, $\alpha v \beta 3$ 整合素在血管生成和动脉粥样硬化期间表达,是肿瘤分子成像和抗肿瘤疗法的既定靶标^[14],Langeveld 等^[15]制备了生物素-SA 偶联功能化的 MB 靶向 $\alpha v \beta 3$ 整合素,发现配体分布均匀的靶向 MB 在体内和体外均比配体分布不均匀的 MB 具有更高的结合效率。

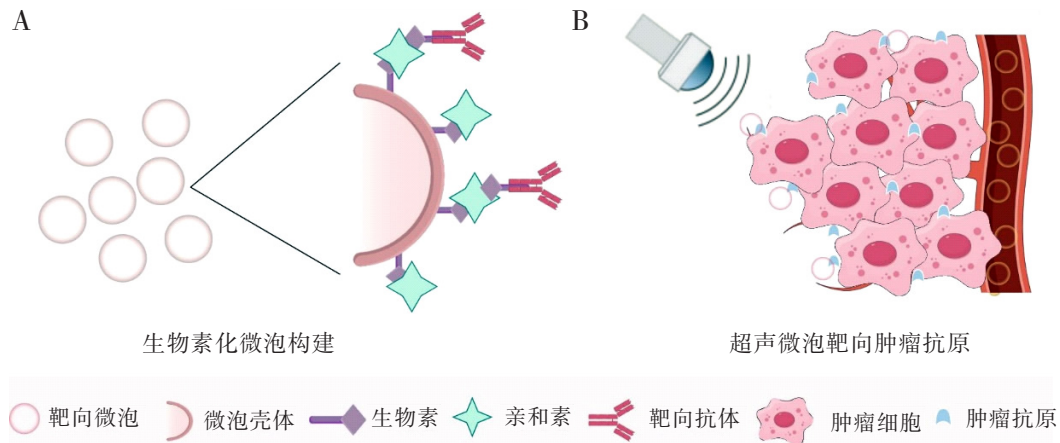


图 1 生物素化微泡构建及肿瘤靶向机制

3 生物素化微泡在肿瘤靶向治疗中的应用

3.1 生物素化微泡在肝癌中的应用

由于肝细胞癌血管密度较高,基于高渗透性和增强滞留效应的超声照射靶向 MB 可促进肿瘤血管和组织的通透性,增强 MB 在肿瘤组织中的积聚和靶向能力^[16]。近年来,利用亲和素-生物素连接技术制备的靶向肽偶联 MB 被应用于肝癌治疗中。杨健等^[17]采用机械振荡法和生物素-亲和素连接法制备了死亡受体 5 (death receptor 5, DR5) 介导的载多烯紫杉醇靶向脂质 MB,联合超声靶向微泡破坏 (ultrasound-targeted microbubble destruction, UTMD) 技术通过下调 B 淋巴细胞瘤-2 基因和核因子 κ B 表达、上调半胱氨酸蛋白酶-8 和 DR5 表达,增强对肝癌细胞的增殖抑制、凋亡诱导和细胞周期阻滞作用。Chen 等^[18]采用生物素-亲和素桥接技术,制备了负载程序性死亡配体-1 (programmed death-ligand 1, PD-L1) 和阿霉素的纳泡,显示超声介导的生物素化 PD-L1 靶向纳泡系统具有显著的协同抗肿瘤作用,为肝癌提供了一种潜在的联合免疫治疗策略。Liu 等^[19]通过将生物素化的 PD-L1 抗体精准连接至装载二氢卟吩 e6 (chlorin e6, Ce6) 的生物素化纳泡壳膜表面,构建的纳米药物递送系统可通过 PD-L1 抗体主动靶向表达 PD-L1 的肝癌细胞,促进 Ce6 在肿瘤部位聚集,发挥声敏效应与免疫检查点阻断机制的协同抗肿瘤作用,进而诱导肿瘤细胞发生凋亡和免疫原性死亡,有效促进 CD8⁺ T 向肿瘤组织浸润,增强机体对肿瘤细胞的免疫杀伤能力。

3.2 生物素化微泡在肾细胞癌中的应用

G250 抗原在肾细胞癌 (renal cell carcinoma,

RCC) 中广泛表达,但在正常肾组织或良性肾肿瘤中不表达,使其成为 RCC 特异性诊断或治疗的潜在靶点^[20],纳泡通过生物素化技术偶联 G250 抗体在靶向 RCC 的诊断和治疗中的应用逐渐增多。Chen 等^[21]通过机械振荡将声敏剂吡啶管绿包封在纳泡脂质壳中,然后通过生物素-SA 桥接法将抗 G250 纳米体偶联在其表面,所构建的纳泡系统具有超声/光声/荧光多模态成像能力,为肾脏肿块的早期和鉴别诊断提供了一种潜在的可行方法。Yu 等^[22]利用亲和素-生物素系统特异性结合的高效性及稳定性,将 G250 抗体成功连接至脂质纳泡表面,且该抗体在纳泡表面呈均匀分布状态。经体内实验与体外实验充分验证,这种纳泡系统具备靶向肾癌细胞的能力,当其与超声治疗联合时能有效抑制 RCC 移植瘤生长,展现出良好的治疗潜力。

3.3 生物素化微泡在前列腺癌中的应用

前列腺癌的早期症状并不明显,超过 60% 的患者在首次诊断时已经有转移。因此,早期发现前列腺癌对于提高患者生存率具有重要的临床意义^[23]。然而,现有的肿瘤抗原检测方式和影像学检查技术均不能准确区分和诊断前列腺的良恶性病变,超声介导的生物素化纳泡成像技术的出现为肿瘤的早期诊断开辟了新的研究领域,并提高了超声引导下穿刺活检的准确性和敏感性。Ding 等^[24]通过膜水合和生物素-SA 偶联法制备负载前列腺特异性膜抗原 (prostate specific membrane antigen, PSMA) 单链可变片段的脂质纳泡,流式细胞术和肿瘤冷冻切片荧光成像均表明新型纳泡系统能够靶向表达 PSMA 的肿瘤细胞,不仅有可能实现有效和安全的分子成像,而且还可以作为靶向前列腺癌治疗的递送系统。此外,Wang 等^[25]采用机械振荡法制备负载吡啶管绿光声纳泡,然后通过生物素-亲和素方法将 PSMA 结合肽连接

到光声纳泡表面。制备的靶向光声纳泡可与 PSMA 阳性前列腺癌细胞特异性结合,并能增强 PSMA 阳性肿瘤异种移植物的超声、光声和荧光成像。光声成像可以直观地显示肿瘤区域中红色光声信号的强度,为靶向分子成像提供更直观的成像方式,该研究为前列腺癌的准确诊断和评估提供了一种潜在的多模式造影剂。

3.4 生物素化微泡在乳腺癌中的应用

近年来,为解决乳腺癌临床常用治疗药物相关的毒副作用和耐药性等问题,乳腺癌靶向纳泡造影剂成为超声分子影像学研究的重点领域,在早期肿瘤检测和治疗中具有良好应用前景。赵萍等^[26]将生物素化凋亡靶向肽-1 与生物素化纳泡连接得到靶向纳泡,体内外超声造影实验证实靶向系统在荷瘤小鼠肿瘤组织凋亡成像方面具有明显优势,有望为动态、实时、精准监测凋亡反应、评价早期抗肿瘤疗效以及优化肿瘤治疗方案提供更多的实验依据。Liu 等^[27]将利用生物素-亲和素系统开发出了整合素靶向穿膜肽和 CC 趋化因子受体 2 抗体联合的双靶向阳离子 MB,用于乳腺癌超声分子成像和靶向肿瘤基因治疗。与对照组相比,超声照射下双靶向阳离子 MB 组具有更高的基因转染效率,导致蛋白激酶 B2 表达显著降低,并且在体内和体外具有更强的肿瘤生长抑制作用。Zhu 等^[28]通过生物素-SA 桥接手段,将生物素化阳离子 MB 与声敏剂黑磷纳米片、磁性纳米颗粒进行复合,借助静电吸附作用,成功制备出稳定性良好且生物相容性优异的黑磷载磁 MB。在外部磁场作用下,该磁性黑磷 MB 能够在肿瘤部位实现靶向富集。当受到超声辐照时,MB 发生破坏,大量磁性黑磷 MB 得以进入癌细胞内部。这一过程不仅显著提升了超声信号强度,加快了黑磷纳米片被癌细胞摄取的速率,还增强了声动力治疗的效率,为肿瘤的声动力治疗提供了一种新的有效策略。

3.5 生物素化微泡在胰腺癌中的应用

在 21 种常见肿瘤中,胰腺癌起病隐匿且治疗难度极大,其 5 年生存率仅为 8.5%,严重威胁患者生命健康及生存质量^[29]。为提高化疗药物递送效率,Gao 等^[30]利用生物素-亲和素成功制备了负载伊立替康和奥沙利铂的 MB-脂质体复合物。与对照组相比,该复合物与 UTMD 联合治疗组肿瘤体积小于相同浓度单药治疗组 136%。Beguin 等^[31]借助生物素-亲和素系统制备了装载有化疗药物吉西他滨和声敏剂玫瑰苯甲酰的磁性 MB。运用磁声装置,协同磁场和超声波,可在目标区域实现磁性 MB 的聚集和激活。实验数据表明,这种药物递送方法在体外显著提升了药

物沉积量,在体内亦显著增强了肿瘤对治疗的应答反应,有望成为胰腺癌患者全新且有效的辅助治疗方案。

4 小结与展望

通过采用生物素对 MB 结构进行功能化修饰,构建的载药体系可凭借生物素与亲和素之间高度特异性结合作用,达成对肿瘤区域的特异性标记,并实现肿瘤靶向药物递送功能。然而就当前研究现状而言,生物素化 MB 靶向给药系统尚存在诸多亟待攻克的关键问题,如生物素修饰后的 MB 在体内的药代动力学特性及稳定性仍需进一步优化,其靶向效率的提升空间较大,且在临床转化过程中面临着生物安全性评估、制备工艺标准化等一系列挑战。未来通过对相应问题的解决,生物素化系统结合超声将在生物技术及临床肿瘤靶向治疗领域迎来更大的应用前景。

参考文献:

- [1] Na L, Fan F. Advances in nanobubbles for cancer theranostics: delivery, imaging and therapy [J]. *Biochem Pharmacol*, 2024, 226: 116341.
- [2] Balan V, Dodi G, Mihai C T, et al. Biotinylated chitosan macromolecule based nanosystems: a review from chemical design to biological targets[J]. *Int J Biol Macromol*, 2021, 188: 82-93.
- [3] McConnell D B. Biotin's lessons in drug design[J]. *J Med Chem*, 2021, 64(22): 16319-16327.
- [4] Lyu Y C, Martínez Á, D'Inca F, et al. The biotin-avidin interaction in biotinylated gold nanoparticles and the modulation of their aggregation [J]. *Nanomaterials (Basel)*, 2021, 11(6): 1559.
- [5] Guo M Z, Guo X N, Zhang C X, et al. Novel pneumococcal protein-polysaccharide conjugate vaccine based on biotin-streptavidin[J]. *Infect Immun*, 2022, 90(1): e0035221.
- [6] Alina T B, Nash V A, Spiller K L. Effects of biotin-avidin interactions on hydrogel swelling [J]. *Front Chem*, 2020, 8: 593422.
- [7] Deng D K, Li X, Zhang J J, et al. Biotin-avidin system-based delivery enhances the therapeutic performance of MSC-derived exosomes[J]. *ACS Nano*, 2023, 17(9): 8530-8550.
- [8] Alva A, Kim C, Premdas P, et al. Imaging of macrophage accumulation in solid tumors with ultrasound[J]. *Nat Commun*, 2025, 16(1): 6322.
- [9] Li X F, Khorsandi S, Wang Y F, et al. Cancer

- immunotherapy based on image-guided STING activation by nucleotide nano complex-decorated ultrasound microbubbles[J]. *Nat Nanotechnol*, 2022, 17(8): 891-899.
- [10] Tripathi R, Guglani A, Ghorpade R, et al. Biotin conjugates in targeted drug delivery: is it mediated by a biotin transporter, a yet to be identified receptor, or (an)other unknown mechanism(s) [J]. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2023, 38(1): 2276663.
- [11] Peng Y L, Zhu L H, Wang L F, et al. Preparation of nanobubbles modified with A small-molecule CXCR4 antagonist for targeted drug delivery to tumors and enhanced ultrasound molecular imaging [J]. *Int J Nanomedicine*, 2019, 14: 9139-9157.
- [12] Shi P Z, Cheng Z R, Zhao K C, et al. Active targeting schemes for nano-drug delivery systems in osteosarcoma therapeutics[J]. *J Nanobiotechnology*, 2023, 21(1): 103.
- [13] Zhang Y Q, Deng Y F, Zhai Y W, et al. A bispecific nanosystem activates endogenous natural killer cells in the bone marrow for haematologic malignancies therapy [J]. *Nat Nanotechnol*, 2024, 19(10): 1558-1568.
- [14] Bogdanovic B, Fagret D, Ghezzi C, et al. Integrin targeting and beyond: enhancing cancer treatment with dual-targeting RGD (arginine-glycine-aspartate) strategies[J]. *Pharmaceutics*, 2024, 17(11): 1556.
- [15] Langeveld S A G, Meijlink B, Beekers I, et al. Theranostic microbubbles with homogeneous ligand distribution for higher binding efficacy [J]. *Pharmaceutics*, 2022, 14(2): 311.
- [16] 常瑞姣, 张悦, 周晓东, 等. 超声辐照载多西紫杉醇微泡对肝癌细胞裸鼠成瘤以及 PCNA 蛋白的影响[J]. *中国超声医学杂志*, 2021, 37(7): 822-826.
- [17] 杨健, 曾妍, 吴小翎, 等. DR5 介导的载多烯紫杉醇靶向脂质微泡联合超声靶向微泡破裂对人肝癌 HepG2 细胞凋亡及增殖的影响[J]. *南方医科大学学报*, 2021, 41(8): 1220-1225.
- [18] Chen Y Z, Luo X Q, Liu Y, et al. Targeted nanobubbles of PD-L1 MAbs combined with doxorubicin as a synergistic tumor repressor in hepatocarcinoma[J]. *Int J Nanomedicine*, 2022, 17: 3989-4008.
- [19] Liu Y, Yang S Q, Zhou Q, et al. Nanobubble-based anti-hepatocellular carcinoma therapy combining immune check inhibitors and sonodynamic therapy[J]. *Nanoscale Adv*, 2022, 4(22): 4847-4862.
- [20] Courcier J, de la Taille A, Nourieh M, et al. Carbonic anhydrase IX in renal cell carcinoma, implications for disease management[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(19): 7146.
- [21] Chen J J, Li J Y, Zhong C J, et al. Nanobody-loaded nanobubbles targeting the G250 antigen with ultrasound/photoacoustic/fluorescence multimodal imaging capabilities for specifically enhanced imaging of RCC[J]. *Nanoscale*, 2024, 16(1): 343-359.
- [22] Yu Z P, Wang Y X, Xu D, et al. G250 antigen-targeting drug-loaded nanobubbles combined with ultrasound targeted nanobubble destruction: a potential novel treatment for renal cell carcinoma [J]. *Int J Nanomedicine*, 2020, 15: 81-95.
- [23] Wang Z Y, Xu W H, Wan F N, et al. Prostate cancer in China: epidemiological trends, genomic insights, and future directions for optimized management[J]. *J Natl Cancer Cent*, 2025, 5(5): 474-485.
- [24] Ding Y, Cao Q F, Qian S B, et al. Optimized anti-prostate-specific membrane antigen single-chain variable fragment-loaded nanobubbles as a novel targeted ultrasound contrast agent for the diagnosis of prostate cancer[J]. *J Ultrasound Med*, 2020, 39(4): 761-773.
- [25] Wang Y X, Lan M M, Shen D J, et al. Targeted nanobubbles carrying indocyanine green for ultrasound, photoacoustic and fluorescence imaging of prostate cancer[J]. *Int J Nanomedicine*, 2020, 15: 4289-4309.
- [26] 赵萍, 马晓菊, 杨恒丽, 等. 携 ApoPep-1 纳米微泡靶向成像评价活体内肿瘤凋亡的实验研究[J]. *中国医学影像学杂志*, 2020, 28(12): 901-906.
- [27] Liu Y Y, Zhou Y L, Xu J F, et al. Ultrasound molecular imaging-guided tumor gene therapy through dual-targeted cationic microbubbles[J]. *Biomater Sci*, 2021, 9(7): 2454-2466.
- [28] Zhu Y, Arkin G, He T Z, et al. Ultrasound imaging guided targeted sonodynamic therapy enhanced by magnetophoretically controlled magnetic microbubbles [J]. *Int J Pharm*, 2024, 655: 124015.
- [29] Zeng H M, Zheng R S, Sun K X, et al. Cancer survival statistics in China 2019-2021: a multicenter, population-based study[J]. *J Natl Cancer Cent*, 2024, 4(3): 203-213.
- [30] Gao J H, Nesbitt H, Logan K, et al. An ultrasound responsive microbubble-liposome conjugate for targeted irinotecan-oxaliplatin treatment of pancreatic cancer[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2020, 157: 233-240.
- [31] Beguin E, Gray M D, Logan K A, et al. Magnetic microbubble mediated chemo-sonodynamic therapy using a combined magnetic-acoustic device [J]. *J Control Release*, 2020, 317: 23-33.

[收稿日期 2025-01-25]