



REVIEW ARTICLE

방광암 치료를 위한 나노의약품

송채은¹, 장승주¹, 전우혁¹, 맹세정², 태종현², 장인호²

¹중앙대학교 의과대학 의학부, ²중앙대학교 의과대학 비뇨의학교실

Nanomedicines for Therapy of Bladder Cancer

Che Eun Song¹, Seung Ju Jang¹, Woo Hyeok Jeon¹, Sejung Maeng², Jong Hyun Tae², In Ho Chang²

¹Department of Medicine, Chung-Ang University College of Medicine, Seoul, Korea

²Department of Urology, Chung-Ang University College of Medicine, Seoul, Korea

Bladder cancer is one of most common malignant urinary tract tumor types, and transurethral resection of nonmuscle invasive bladder cancer followed by intravesical instillation of immunochemotherapy is the standard treatment approach to minimize recurrence and delay progression of bladder cancer. In general, conventional intravesical immunochemotherapy lacks selectivity for tumor tissues and the effect of drug is reduced with the excretion of urine leading to frequent administration and bladder irritation symptoms. Recently, nanomedicines which adhere to the bladder tumors for a long time, and continuously and efficiently release drug to bladder cancers may overcome all the above problems. Moreover, the advances in nanomedicine based targeted therapy have led to significant improvements in drug efficacy and precision of targeted drug delivery. This review shows the available nano-systems of targeted drug delivery to bladder cancer tissues.

Key Words: Bladder cancer, Nanoparticle, Intravesical instillation, Chemotherapy

Received September 14, 2022

Accepted September 26, 2022

Corresponding author:

In Ho Chang

Email: caucih@cau.ac.kr

https://orcid.org/0000-0003-0240-1310

서론

재발률을 줄이고 종양 진행을 예방하는 것은 방광암 연구 분야에서 여전히 중요한 과제로 남아 있다. 비근침윤성 방광암에 대한 표준 치료법은 경요도 절제술과 수술 후 방광 내 약물을 주입하는 보조적 면역항암요법으로 재발을 줄이고 근침습성 질환으로의 진행을 지연시키거나 예방하는 것이다. 항암제과 면역제제는 식염수에 용해시켜 방광에 직접 주입할 수 있다. 항암제로 에피루비신, 테트라하이드로피라닐-아드리아마이신, 젠시타빈 및 미토마이신 C를 주로 포함하며, 종양 세포 핵산 합성을 억제하고 세포 주기에 영향을 주어 세포 사멸을 유도함으로써 효과를 발휘한다.¹⁻³ Bacillus Calmette-Guérin (BCG)은 면역제제로 오랜 기간 승인되었으며, BCG의 작용 기전은 방광 내

점적 후 BCG에 의해 생성된 사이토카인의 흡수, 내재화 및 후속 유도이며 적응 면역 및 항종양 효과를 통해 방광암의 재발 및 진행을 감소시킨다.⁴⁻⁶

일반적으로 방광 내 약물주입요법은 종양 재발률을 감소시킬 수 있으나, 치료 효과가 예상보다 현저히 낮다면 다음과 같은 요인이 원인일 수 있다. (1) 약물은 종양 세포에 대한 선택성이 부족하여 종양 사멸 효과가 제한되고 정상 방광 점막에 상당한 독성 효과를 나타내는 경우,⁷ (2) 지속적인 소변 생성으로 인해 방광암 조직 내 약물 농도가 감소하고 지속적인 소변 배설로 약물이 체외로 배설되어 방광 내 체류시간이 단축되는 경우,⁸ (3) 약물 효능이 방광 요로상피의 생물학적 장벽에 의해 제한되는 경우,⁹ (4) 빈번한 투여 및 심한 국소 자극 증상으로 인해 일부 환자는 지속적인 방광 내 점적을 견딜 수 없는 경우로 분류할



수 있다. 따라서 치료를 위한 최적의 전략은 약물이 방광암 조직을 인식하는 능력을 향상시키고 표적 표면에서 머무르는 시간을 연장하는 것과 약물이 종양 세포에 효율적으로 내재화되고 흡수되어 정확한 표적 세포 사멸을 달성해 종양 재발의 진행을 최대로 억제하고 국소 부작용을 감소하는 것이다.

표적 약물 전달 시스템은 화학 물질을 조직에 선택적으로 전달함으로써 방광암 치료에 상당한 이점을 제공하나 막을 통해 치료 약물의 전달이 종양 세포 또는 조직에 특이적이고 정상 세포에 손상을 주지 않고 표적 종양으로 약물을 방출하는 것은 여전히 중요한 과제로 남아 있다.¹⁰ 연구자들은 1-200 nm 크기의 나노입자를 전달 수단으로 사용하여 이 문제를 해결하려고 시도해왔다.¹¹⁻¹³ 나노기술의 개념이 1959년 Richard Feynman에 의해 처음 소개된 이후로 화학, 물리학, 생물학 및 의학을 포함한 여러 분야에서 상당한 성공을 거두면서 수십 년 동안 급속한 발전이 이루어졌다.¹⁴ 의학 분야에서 나노 기술은 분자 수준에서 나노 물질의 특성과 물리적 특성을 사용하여 질병을 진단하고 치료하는 데 성공적으로 적용되었다.^{15,16} 나노물질은 큰 비표면적, 강한 흡착력, 높은 생체이용률, 정확한 표적화 특성, 약물의 방출 속도 조절 등의 특징을 가지고 있다.¹⁷ 나노기술은 생물학적 장벽을 통해 치료 약물을 암세포로 운반하는 약물 전달 시스템을 제공하는 표적 운반체를 효과적으로 설계하고 개발하는데 사용되었으며, 현재까지 U.S. Food and Drug Administration은 51개의 나노의약품에 대하여 임상 사용을 허가하였으며 임상시험용으로 77개의 제품을 승인했다.¹⁸

항암약물 운반체로 사용되는 나노 입자는 마이셀, 덴드

리머, 리포솜, 바이러스 나노입자 및 유기금속 화합물과 같은 고분자를 포함한 다양한 재료를 사용하여 생성된 장치 또는 서브미크론 크기의 입자(3-200 nm)이며, 나노 물질 표면은 일반적으로 향상된 생체 적합성과 표적화를 위해 다양한 폴리머 또는 특정 생체 인식 분자로 코팅된다.¹⁹ 방광암 치료 시스템의 경우 나노 입자는 비특이적 및 특이적 표적치료의 두 가지 유형으로 나눈다(Fig. 1). 비특이적 표적치료는 세포막 표면에 작용하는 상호작용력을 통해 표면 전하를 포함한 약물을 방출하는 방식으로 환원 반응성 나노입자가 비특이적 표적 나노입자의 한 유형이며, 특이적 표적치료는 효율적인 암표적치료를 달성하기 위해 펩타이드 또는 단백질 등을 사용한다(Table 1).

방광암 치료를 위한 비특이 표적치료용 나노운반체

방광암에 대한 기존 방광 내 주입 면역항암요법의 효과는 약물의 종양 도달 능력제한에 의해 영향을 받는다.²⁰ 이를 극복하기 위하여 치료 과정에서 방광에 약을 반복적으로 주입해야 하는 경우가 많으므로 기존 화학요법제의 단점을 극복하기 위해서는 종양에 대한 표적 효과를 달성하는 것이 필요하다. 최근 연구는 나노기술 기반 표적 약물 방출로 종양 부위에 화학요법 약물을 방출하여 비종양 부위의 축적을 줄이고 치료 효과를 높이는 데 도움이 된다.²¹⁻²³ 비특이 표적치료용 나노운반체의 설계는 표적 약물 전달을 강화하기 위해 운반체의 특성을 기반으로 하며 다수의 양전하 약물 운반체와 환원 반응성을 갖는 나노 운반체가 비특이 약물 전달 운반체로 자주 사용된다.²⁴⁻²⁸

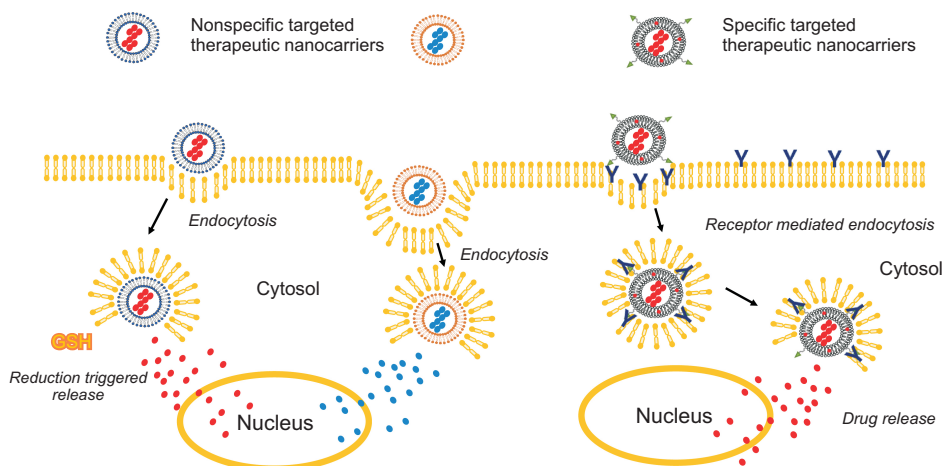


Fig. 1. Nonspecific and specific targeted therapeutic nanocarriers for treatment of bladder cancer. GSH: glutathione.

Table 1. The mechanism of nonspecific and specific targeted therapeutic nanocarriers for treatment of cancer

Nanocarriers type	Nanocarriers properties	Material type
Nonspecific targeted NPs	Positively NPs	CAT-TCPP/FCS CS-PCL (PLL-P (LP-co-LC))
	Reduction responsive NPs	P (LP-co-LC)
Specific targeted NPs	Small molecules-modified	FA-conjugated Au@TNA/MB
	Peptides-modified	Bld-1-KLA MSNs@PDA-PEP PLZ4-PNP PLZ4-DNR/PTX MPI/F-PEI PCL-b-PEO
	Protein-modified	C225 antibody
	Hyaluronic acid-modified	siRNA@CS-HAD

NP: nanoparticle.

1. 양전하 나노입자 운반체

나노 운반체는 표면 전하의 성질 차이에 따라 양전하, 중성전하, 음전하 나노입자로 구분되며, 방광암 세포 표면에는 많은 음전하가 존재한다.^{29,30} 양전하 나노입자가 세포 내로 진입하는 두 가지 주요 방법은 구체적으로 세포내 재화와 세포막 천공이며, 양성 나노 운반체는 이를 통하여 세포 내로 약물은 운반한다.³¹⁻³³ 양전하 나노입자 운반체는 다른 나노입자 운반체에 비해 세포에 대한 결합력이 높고, 세포내로 약물을 효과적으로 진입시킨다.³⁴

키토산(polyglucosamine (1-4)-2-amino-BD glucose)은 키틴의 탈아세틸화 산물로 무독성, 양호한 생체 적합성 및 쉬운 분해가 특징이며 임상적으로 사용할 수 있는 유일한 다당류이다.³⁵ 키토산 나노입자는 그 양이온 특성에 기초하여 음이온과 가교 결합될 수 있어 DNA 및 단백질을 포함한 항암제의 표적 전달에 일반적으로 사용되는 운반체 중 하나이다. 키토산의 특성을 포함한 다양한 화학적 변형을 가하여 여러 용도에 유용한 특성을 갖는 파생물을 제작하였는데, 현재까지 α -카르복시메틸 키토산, 글리콜 키토산, 그래프트 공중합 키토산 및 가교 키토산 유도체를 포함하여 여러 유도체가 개발되었다.³⁶⁻⁴³

내부 방광 표면에는 약물의 침투를 막는 생물학적 장벽이 있는데 이는 점성이 있는 하이드로겔에 분산된 글리코사미노글리칸 사슬과 정렬된 방광 점막을 코팅하는 두꺼운 점액 겔 층에 의해 발생한다.⁴⁴ Li 등⁴⁵은 자율적으로 점막 내 산소를 생성하는 음파역학적 치료(sonodynamic therapy, SDT) 점막 플랫폼을 제작하였는데, 플로오르화 키토산에 meso-tetra(4-carboxyphenyl) porphine-

cojugated catalase (CAT-TCPP)를 적재한 형태(CAT-TCPP/FCS)이다. 방광에 주입된 CAT-TCPP/FCS 나노입자 운반체는 우수한 투과막 및 종양 침투 능력을 보였으며 표적 종양 부위에 H_2O_2 를 촉매하여 촉매효소를 통해 O_2 를 생성함으로써 종양 내 저산소증을 완화하고 방광암 절제면에서 초음파하 SDT의 치료 효과를 향상시켰다.⁴⁵ 유리 CAT-TCPP로 처리된 방광암 세포와 비교하여, CAT-TCPP/FCS 나노입자 운반체로 처리된 세포에서 더 강한 CAT-TCPP 형광이 관찰되었으며, 체내 방광 주입 실험에서 CAT-TCPP/FCS 나노입자 운반체를 주입한 방광은 더 강한 CAT-TPP 형광과 더 깊은 형광 침투를 보였다.⁴⁵ 불소화 키토산은 키토산 기반 나노입자 운반체 외에도 약물의 체내 주입을 위한 유망한 플랫폼으로 간주된다. Bilensoy 등⁴⁶의 연구에서는 키토산이 코팅된 양전하 폴리 카프로락톤(poly-caprolactone coated with chitosan, CS-PCL)에 미토마이신 C (mitomycin C, MMC)를 주입하였으며, CS-PLC 나노입자 운반체는 방광에 오랫동안 남아 방광 종양에 축적되었으며 소변 배설 중 약물 손실을 방지함을 보고하였다.

양전하를 띤 키토산계 나노입자 이외에, 양전하를 띤 나노입자 운반체로 폴리-L-리신(poly-L-lysine, PLL)과 같은 폴리아미노산 나노입자가 사용되고 있다.^{47,48} PLL은 단량체 리신 단위를 포함하는 수용성 양성 생체고분자로 비항원성, 생체적합성 및 생분해성과 같은 고유한 자연적 특성으로 인해 여러 생물의학 및 제약 분야에서 널리 적용되고 있다.⁴⁹ PLL은 고분자 나노입자의 전형적인 특성을 갖는다. 상기 아민기는 나노입자 형성 시 친유성 약물이 효과적으로 캡슐화되도록 카르복실기와 소수성 물질과 화학

적으로 결합될 수 있다.⁵⁰ PLL의 아미노기의 또 다른 중요한 특징은 특정 조건에서 특성이 변화한다는 것인데, 산성 환경에서 아미노기는 정전기적 상호작용을 통해 방광암 세포막과 상호 작용할 수 있는 양전하를 띤 친수성 아미노기로 전환된다.⁵¹ Guo 등^{47,48}의 연구에서 10-히드록시캄포테신(10-HCPT) 포함 양이온성 펩타이드 나노겔(PLL-P(LP-co-LC)) (NP/HCP)은 10-히드록시캄포테신(10-HCPT)을 방광 내 주입 시 방광암에 전달하도록 제작되었는데 체외에서 NP/HCP는 약물의 세포내재화를 촉진하고 세포독성을 보였으며, 동물실험에서는 NP/HCP가 가안 방광 점막 부착력과 세포투과능력을 보였다.

2. 나노입자 운반체의 약물 방출

동일한 조건에서 종양 조직은 정상 조직과 비교하여 높은 안정성을 가지는데,⁵² 이는 높은 농도의 글루타티온(glutathione, GSH)이 원인으로 생각되고 있으며, 방광암 세포에는 미세환경을 회복할 수 있는 GSH가 고농도 함유되어 있다.^{53,54} GSH는 세포 내 자극을 활성화하여 세포 내 나노입자 운반체를 파괴하고 약물 방출을 유도한다.⁵⁵ 환원 특성을 갖는 나노입자 운반체는 보다 정확하고 신속하게 약물 방출을 할 수 있는데 이는 높은 GSH 조건 하에서 이황화 결합은 환원 반응으로 설피하이드릴기로 환원되어 고분자가 분해되어 적재된 약물을 방출한다.⁵⁶⁻⁵⁸ 지난 몇 년 동안 환원 민감성 및 가역적 가교 고분자의 급속한 개발로 다양한 환원 민감성 시스템은 다양한 약성 종양에 대해 상당한 활성을 보였다.^{55,59,60} Guo 등⁶¹은 폴리(L-phenylalanine-co-L-cystine)를 기반으로 한 이황화물 결합 가교 나노겔을 제작하였는데, 나노겔은 인간 방광암 세포주 5637에서 항암효과를 보였으며, 방광암 동물모델에서 10-HCPT의 방광 내 체류 시간이 길어짐에 따라 방광 벽으로의 침투 능력이 향상되어 항암효과를 보였다.

방광암을 위한 특정 치료용 나노입자 운반체

전통적인 투여 방법, 즉 직접 방광 내 약물 주입 요법에 비해 나노 운반체나 생물학적 제제가 종양을 제거하고 종양 성장을 억제하는 데 더 큰 효과를 발휘하지만, 일반적인 나노 소재에는 단점이 있다. 나노입자 운반체의 작용 원리는 약물의 보유 시간을 연장하고 방광 벽으로의 침투 능력을 향상시키는 것이나, 암세포의 표적화가 안되므로

약물의 최대 치료 효과에 따라 많은 관련 부작용이 보고된다.^{62,63} 방광암의 치료의 경우, 약물의 전달이나 수동적인 표적 치료를 위해 점막 접착력이 강한 나노입자 운반체를 사용하는 것 외에 능동적인 표적 치료를 위한 나노입자 운반체의 나노 캐리어를 매개로 하는 표적화가 연구되고 있다.⁶⁴

1. 소분자 변형 표적 나노입자 운반체

엽산(folic acid)은 DNA 메틸화, 생합성, 복구에 필수적인 역할을 하는 생물의 성장과 발달을 위한 중요한 영양소이며 다양한 과일과 채소에 널리 분포한다.⁶⁵ 엽산의 흡수의 기전은 주로 (1) 환원 엽산 운반체(reduced folate carrier)를 통한 환원된 엽산의 세포내 재재화와, (2) 고친화성 엽산 수용체 중재를 통한 세포에 의한 산화에 의하여 흡수가 된다. 이 경로를 통해 세포로 들어온 엽산은 엔도솜 산성화를 통해 세포질로 방출된다.⁶⁶ 엽산 수용체는 유방암, 난소암, 비소세포 폐암 등을 포함한 다수의 암에서 과잉 발현되며 방광암에서도 정상 방광 내피세포에 비해 과도하게 발현되며 표적 치료에 적용이 된다.⁶⁶

Hsu 등⁶⁷은 Au@TNA 코어-셸 나노 입자를 HAuCl₄ 환원된 탄닌산(tannic acid, TNA)을 제작하고 광증감제인 메틸렌 블루(methylene blue, MB)를 Au@TNA에 결합하여 Au@TNA@MB 나노입자 운반체를 생성하고, 엽산(FA)으로 나노입자 운반체를 변형시켜 FA-Au@TNA/MBNPs를 제작하였다. 새로 생성된 나노입자 운반체는 평균 크기가 26.43±3.7 nm인 두 종류의 나노 입자(구형 및 삼각형)로 구성되었으며, 시험관 내 실험에서 FA-Au@TNA/MBNPs는 정상 방광 내피세포주 SV-HUC-1에서는 독성을 보이지 않았으나, 방광암세포주 T24에서 암세포 생존율을 억제하였으며, 추후 방광암에 미치는 치료 효과와 부작용을 확인하기 위해서는 추가적인 동물 실험이 필요하다.⁶⁷

2. 펩타이드 변형 특정 표적 나노입자 운반체

다른 표적 치료법에 비해 펩타이드 변형 나노입자 운반체는 낮은 생산 비용, 상대적 안정성, 간편한 상용화, 간단한 조작, 면역 반응 감소 등 여러 가지 이점을 제공하며 수용체에 대한 펩타이드의 결합은 정확한 표적 치료를 달성할 수 있다. 또, 입자크기가 상대적으로 낮아 합성된 나노

입자의 물성 및 화학적 특성에 거의 영향을 미치지 않는다.⁶⁸

1) Bld-1-변형 표적 나노입자 운반체

최근 연구는 암의 선별에 초점을 맞추고 있으며 종양 특이 펩타이드는 페이지 디스플레이 라이브러리에서 10^{10} 개의 펩타이드가 식별되었다.⁶⁹⁻⁷¹ 한 가지 주목할 만한 예는 $\alpha\beta3$ 인테그린을 통해 종양 혈관 내피 세포를 결합하는 3개의 아미노산으로 구성된 arginine-glycine-aspartic acid (RGD) 모티프이다. 정상 세포와 비교하여, 종양 세포는 분자 표지자 역할을 할 수 있는 많은 성장인자 수용체의 활성화를 보여주는데 표피 성장인자 수용체인 요중당단백질과 $\alpha6\beta4$ 인테그린은 방광암에서 많이 발현된다.

Lee 등⁷²은 페이지 디스플레이 펩타이드 라이브러리를 사용하여 방광암 세포를 대상으로 하는 펩타이드를 식별하였으며, 공통 모티브인 CXNXDXRX/RC를 가진 여러 펩타이드 서열이 선별하였다. 방광의 내벽은 글리코사미노글리칸과 뮤신으로 구성된 특별한 보호층을 가지고 있어 농축된 소변에서 화학물질과 미생물의 부착으로부터 요로상피세포를 보호할 수 있지만, 방광 내 주입 요법의 투과를 방해하기도 한다. 선별된 펩타이드 중 하나(CSNRDARC)는 방광암 세포에 대한 강한 선택적 결합을 보였으며, 형광 표지 실험은 CSNRDARC가 방광암 조직에서 사이토크라틴과 같이 존재한다는 것을 보고하였다. 중요한 것은, 펩타이드가 정상적인 방광 조직과 다른 기관들에서 검출되지 않았다는 것이며 CSNRDARC의 종양 세포 선택성과 방광암의 특정 표적화는 방광암 표적 치료제로서의 이 펩타이드의 효용을 암시한다.⁷²

Jung 등⁷³은 방광암에 KLAKLAK peptide (KLA)를 선택적으로 전달하기 위해 표적 리간드로 CSNRDARC 펩타이드(Bld-1)를 활용했으며, 세포고사 펩타이드(KLA)를 사용한 방광종양 표적치료제로서 Bld-1-KLA 하이브리드 펩타이드의 활성을 조사했다. 하이브리드 펩타이드는 방광암 세포를 효과적으로 표적화하고 세포자살을 유도하여 우수한 방광 종양 표적화 세포고사 펩타이드 역할을 하였다. Bld-1 펩타이드 자체는 방광암에 대한 약물 전달을 위해 기존의 화학 치료제가 장착된 나노 운반체와 결합하여 표적 리간드로 적용될 수 있다. Wei 등⁷⁴은 폴리도파민(polydopamine, PDA)에 단순 표면 변형법을 적용하여 독소루비신이 탑재된 나노캐리어로서 메조다공성 실리카를 제작하고 펩타이드(CSNRDARC)와 결합된 방광암

표적 나노 운반 전달체(DOX-loaded MSN@PDA-PEP)를 개발하였다. 세포 실험 및 동물실험에 DOX-loaded MSN@PDA-PEP은 방광암 세포를 인식하고, 약물 독성을 증가시키며, 성장을 억제할 수 있다.

2) PLZ4-변형 표적 나노입자 운반체

페이지 표시 라이브러리에서 표적 방광암 치료에서 잠재적 유용성을 보여주는 동일한 DGR 모티브를 가진 여러 방광 특이 리간드를 식별하기 위해 1비드 1화합물 펩타이드 라이브러리 기술(one-bead one-compound combinatorial peptide library technology)을 적용하여 펩타이드를 선별하였을 때, 아미노산 서열 cQDGRMGFC를 갖는 고리형 PLZ4 펩타이드만이 방광암에 특이적이었다.⁷² PLZ4는 방광암 세포에서 $\alpha\beta3$ 인테그린에 특이적으로 결합할 수 있지만, 정상적인 요로 세포에는 결합할 수 없다.⁷⁵ Lin 등⁷⁶은 PLZ4 리간드로 변형된 다기능 나노포르피린(PLZ4-nanoporphyrin, PNP) 플랫폼을 개발하였는데, PNP는 근적외선 조사 시 형광/열/반응성 산소를 방출하는 나노입자로 PLZ4-PNP는 광역학적 진단, 광열 치료 및 표적 항암요법에 응용이 가능하다. 도세탈셀 단독주입과 비교하여 PLZ4-PNP 플랫폼은 방광암 마우스 모델에서 생존 기간을 연장함을 보고하여 PLZ4-PNP 플랫폼의 방광암 치료에 상당한 잠재력이 있음을 나타낸다.⁷⁶

Lin 등⁷⁷은 폴리에틸렌 글리콜의 일측 단부를 콜산 클러스터와 결합하고, 타측 단부를 PLZ4로 변형하려 제작한 마이셀에 daunorubicin (DNR)과 paclitaxel (PTX)를 봉합하여 약 23.2 ± 8.1 nm의 입자 크기의 PLZ4 변형 PLZ4-DNR/PTX 나노입자를 제작하였다. 비표적 나노 마이셀과 비교하여 PLZ4 변형 나노마이셀은 방광암 조직에 약물을 더 효과적으로 전달하고 방광으로부터의 나노마이셀 흡수를 촉진할 수 있다.⁷⁷ Pan 등⁷⁸은 항암약물인 PTX가 함유된 방광암 특이적 나노마이셀을 개발하였는데, 마이셀은 폴리에틸렌 글리콜, 콜산 및 PLZ4와 결합하고, PTX를 마이셀에 봉입 및 이황화물 가교를 유지하는 PLZ4 나노마이셀(DC-PNM-PTX)을 제작하였다. 생체 내 정맥 투여 시 DC-PNM-PTX는 방광암을 특이성은 보였다.⁷⁸

3) MPI-변형 표적 나노입자 운반체

폴리비아 마스토파란(polybia mastoparan)은 신열대 구 사회성 말벌 폴리비아 폴리스타의 독에서 정제된 새

로운 마스토파란 펩타이드이며 폴리비아 마스토파란 I (polybia mastoparan I, MPI)은 4번째, 5번째 및 11번째 위치에 아미드화된 탄소 말단과 3개의 리신 잔기가 있는 4차원 펩타이드이다.^{79,80} MPI의 아미노산 서열은 IDWKKLLDAKQ이며 MPI의 α -나선 구조는 세포사멸과 용해를 촉진한다. MPI는 방광암 세포의 증식을 선택적으로 억제하며, 고효율, 특이적 표적화, 생물학적 안전성, 우수한 생물학적 내성이 있다는 장점이 있으나, MPI의 높은 분자량 및 높은 친수성으로 인해 방광벽 투과성이 부족이 단점이다.^{9,81,82} Li 등⁹은 불소화도가 높은 고분자가 생체분자의 전달 효율을 향상시킬 수 있어 방광 내 약물운반체로 연구되고 있으며 MPI 폴리펩타이드와 수소 결합 및 정전기 상호작용을 통해 MPI/F-PEI를 제작하였다. 방광암 피하 종양 모델에 MPI, MMC, MPI/F-PEI 나노입자를 투여하였을 때, MPI/F-PEI 나노입자는 MPI와 MMC에 비해 종양 성장 억제 효과를 보여 불소화 고분자가 방광암 치료에 효과적인 약물 운반체로 효과적으로 사용될 것으로 기대하고 있다.⁸¹

4) c(RGDfK)- 변형 표적 나노입자 운반체

표적화 능력을 가진 아르기닌-글리신-아스파르트산 (RGD) 펩타이드 서열은 $\alpha v \beta 3$ 인테그린을 발현하는 세포와 상호 작용하며 종양 성장, 전이 및 혈관 생성에 중요한 조절 역할을 한다.⁸³ RGD 펩타이드와 종양 관련 인테그린 사이의 높은 친화성 상호 작용은 항암제 전달을 위한 활성화 표적화 시스템 구축에 널리 사용되었다.⁸⁴⁻⁸⁷ Zhou 등⁸⁸은 표재성 방광암에 대한 방광 내 주입 항암요법을 위한 표적 약물 전달시스템으로 친수성 블록의 양친매성 디블록 공중합체 폴리카프로락톤-b-폴리에틸렌옥사이드 (PCL-b-PEO), 환상 arginine-glycine-aspartic acid-D-phenylalanine-lysine (c(RGDfK)) 및 fluorescein을 공역하여 마이셀로 제작하였다. 시험관 내 세포독성 분석은 방광암 세포주 T-24에 독소루비신(doxorubicin) 고분자 마이셀로 처리하였을 때 T-24 세포에 대한 c(RGDfK) 변형 마이셀의 강한 친화력과 독소루비신 약물을 투여했을 때 항암효과를 보여 방광암에 대한 c(RGDfK)의 유용성을 보고하였다.⁸⁸

5) 단백질 변형 표적 나노입자 운반체

표피 성장인자 수용체(epidermal growth factor receptor, EGFR)는 tyrosine kinase 수용체 계열의 일

종으로, 비정상적인 발현은 과도한 세포 증식과 관련이 있으며, 종양에서 혈관신생을 촉진하고 종양 세포의 성장과 발달을 억제하는 것으로 보고되고 있다.⁸⁹ EGFR은 방광암에서 과잉 발현되며 종양 악성도, 진행 및 임상 지표와 관련이 있다. 두 가지 주요 EGFR 억제제로 단일클론 항체와 소분자 티로신 키네이스 억제제가 있으며, C225는 단일클론항체로 EGFR과의 결합을 위해 리간드와 경쟁하여 수용체의 활성화를 차단하여 치료 효과를 나타낸다.⁹⁰⁻⁹² Cho 등⁹³은 PEGylation을 통해 업컨버전스 나노입자(upconversion nanoparticles, UCNP)와 골드 나노로드(gold nanorod, AuNR)의 다기능 나노클러스터(UCNP-AuNR)를 합성하였고, C225 항체와 함께 기능화된 UCNP-AuNR을 제작하였다. 세포 실험에서, 기능화된 나노 클러스터는 항암효과를 보여 UCNP-AuNR를 이용한 단일클론 항체의 사용은 투여량을 효과적으로 줄이고 약물의 치료 효과를 극대화하기 위해 제안된다.⁹³

3. 히알루론산 변형 표적 나노입자 운반체

높은 친수성 및 팽창 용량과 같은 여러 생물학적 특성으로 인해 히알루론산(HA)은 다양한 약물 운반체 시스템에 활용된다.⁹⁴ HA는 세포 외 매트릭스에서 풍부하고 암세포에 의해 분비되는데, 방광암에서, 종양세포 기질과 종양세포는 HA를 합성할 수 있다.⁹⁵ CD44는 다양한 종양 세포에서 과도하게 발현되는 다기능 세포 표면 트랜스글리코프로틴 및 세포 접착 분자군의 일원이다.

Liang 등⁹⁶은 방광암에서 정상 방광에 비해 현저하게 높은 CD44의 발현과 CD44는 α -리놀렌산의 특이적 수용체임을 보고하였다. HA와 CD44의 조합은 형태 변화를 유도하고 여덟 단백질 또는 세포골격 요소가 세포 내 도메인을 결합하도록 하여 세포 증식, 접착 및 전이를 위한 다중 신호 경로를 활성화시킬 수 있다.^{97,98} Liang 등⁹⁶ Bcl2 유전자를 간섭할 수 있는 siRNA를 설계하고 선별한 후 siRNA 전달을 위한 CD44를 대상으로 한 CS-HAD 나노입자를 준비했다. 이 시스템은 리간드 수용체 매개 표적화 기전을 통해 siRNA를 T24 방광암 세포에 전달하여 궁극적으로 세포고사 유전자 Bcl2의 발현을 방해한다. 상기 siRNA@CS-HAD 나노입자 운반체는 입자 크기가 100-200 nm이고, 안정성이 양호하며, 강력한 siRNA 캡슐화 능력을 가졌다. 생체 내 및 체외 실험 결과 siRNA@CS-HAD 나노입자 운반체는 생물학적 독성을 발휘하지

않고 방광암 성장을 효과적으로 억제하는 것으로 보고하였다. 생체 내에서 siRNA@CS-HAD 나노입자 운반체는 방광암 조직에 축적되었으며 표적 종양 유전자와 종양 성장에 강력한 억제 효과를 발휘하여 siRNA@CS-HAD 나노입자 운반체는 높은 CD44 발현으로 방광암의 표적 치료를 위한 효과적인 방법을 제시할 수 있다.⁹⁶

결론 및 향후 전망

방광암은 세계적으로 발병률이 높은 세계적인 질병이며 표재성 방광암의 치료는 일반적으로 외과적 제거와 함께 재발 방지를 위해 방광내 면역항암제를 주입하는 것이다. 그러나 기존의 면역항암제는 정상 조직 세포에 대해 선택적이지 않으며 자주 주입될 경우 수많은 부작용을 유발한다. 예를 들어, 방광에 기존의 면역항암제를 주입하는 것은 방광염과 혈뇨와 관련이 있으며, 심각도는 주입의 양과 빈도에 크게 좌우된다. 방광암의 높은 재발과 진행률로 인해 수술 후 장기적이고 반복적인 방광내 주입요법이 필요하지만 면역항암제의 빈번한 주입은 높은 비용 등의 문제와 관련이 있으며, 최근에는 이러한 문제점을 해결하기 위해 나노기술이 적용되어 방광암의 진단 및 치료에 실현 가능하고 효율적인 것으로 보고되고 있다.

나노입자 운반체는 특성에 따라 능동형 표적 나노입자 운반체와 수동형 표적 나노입자운반체로 구분된다. 수동형 표적 나노입자 운반체의 기본 원리는 enhanced permeability and retention 효과이며, 능동형 표적 나노입자 운반체는 운반체 표면을 변형하거나 특정 리간드를 운반체에 부착한다. 나노입자 운반체는 위의 기전을 이용하여 현재 종양의 기존 약물 치료의 한계를 극복할 수 있으며, 약물의 부작용 감소와 함께 항암효과의 향상으로 이어질 수 있다. 예를 들어, 나노입자 표면의 변형은 나노입자 운반체의 특성 및 주변 환경과의 상호작용에 변화를 유도함과 동시에 나노입자 운반체는 전하를 운반하며 정전기적 상호작용을 통해 종양에 비특이적으로 결합한다. 위에서 설명한 바와 같이, 키토산에 의해 형성된 양전하 나노 약물 전달 운반체는 음전하된 방광의 내벽에 비특이적으로 결합하여 약물의 전달을 강화하며, 방광벽에 부착하면 종양과의 접촉 시간이 길어지며 약물 효과가 연장된다. 점점 더 많은 연구가 종양에 특화된 표적 치료에 집중되어 왔으며, 추가적인 연구가 진행 중이다.

나노입자 표면에 결합된 리간드를 이용하여 암세포에

발현되는 수용체를 효율적으로 인식할 수 있어 방광암세포에 대한 항암요법의 선택성과 항암효과가 크게 개선된다. 표적 리간드는 일반적으로 단백질/펩타이드, 히알루론산, 엽산 및 다당류를 포함하며, 표적 리간드와 화학요법 약물을 마이셀함으로써 변형된 나노입자에 대한 수많은 생체 내 및 체외 실험을 통해 수용체 매개 암세포에 의한 항암제의 흡수를 증가시킨다는 것이 확인되었다. 표적 나노입자 운반체는 일반 나노입자 운반체에 비해 몇 가지 장점이 있다. 첫째, 방광암 세포에 선택성이 있어 정상적인 방광 조직 및 세포와의 결합을 감소시키고 방광 내 약물 주입에 의한 부작용을 감소시킨다. 둘째, 약물을 적재한 나노입자 운반체는 종양 표적에서 축적되고 약물을 방출하여 종양 조직 부위의 치료 약물 농도를 증가시킨다. 셋째, 특히 리간드-수용체 결합은 방광 내 약물 보유 시간을 연장하고 소변으로 배설되는 것을 방지할 수 있다. 넷째, 약물의 방출 시간과 속도는 약물의 여러 주입으로 인한 방광 자극을 줄이거나 피하도록 조절할 수 있다.

종양치료에서 표적 나노입자 운반체의 수많은 이점에도 불구하고, 예를 들어 나노의약품의 실험 단계와 임상제조의 변형, 나노의약품의 대규모 생산의 기술적 문제, 제조 기간 동안의 비용 관리 등 임상 적용 전에 몇 가지 문제가 해결되어야 한다. 면역 항암요법요법의 등장은 임상적 돌파구를 만들었고, 미래에 방광암에 적용될 수 있으며, 이는 방광암의 치료 효과를 크게 향상시킬 것으로 기대하고 있다.^{10,99,100} 요약하자면, 방광암에 대한 나노입자 운반체의 효능은 아직 입증되지 않았지만, 표적 치료와 약물 방출에 대한 잠재력은 방광암의 개인화된 치료에 적용할 수 있는 이론적이고 실용적인 근거를 제공한다.

NOTES

• Conflicts of Interest: 저자들은 이 논문과 관련하여 이해관계의 충돌이 없음을 명시합니다.

• Funding: 없음.

• ORCID

Cheeun Song: <https://orcid.org/0000-0001-5336-7998>

Seung Ju Jang: <https://orcid.org/0000-0002-1227-9868>

Woo Hyeok Jeon: <https://orcid.org/0000-0003-3360-4153>

Sejung Maeng: <https://orcid.org/0000-0002-0730-0300>

Jong Hyun Tae: <https://orcid.org/0000-0001-5826-3469>

In Ho Chang: <https://orcid.org/0000-0003-0240-1310>

REFERENCES

1. Chen G, He Y, Wu X, Zhang Y, Luo C, Jing P. In vitro and in vivo studies of pirarubicin-loaded SWNT for the treatment of bladder cancer. *Braz J Med Biol Res* 2012;45:771-6.
2. Böhle A, Leyh H, Frei C, Kühn M, Tschada R, Pottek T, et al. Single postoperative instillation of gemcitabine in patients with non-muscle-invasive transitional cell carcinoma of the bladder: a randomised, double-blind, placebo-controlled phase III multicentre study. *Eur Urol* 2009;56:495-503.
3. Schmidt S, Kunath F, Coles B, Draeger DL, Krabbe LM, Dersch R, et al. Intravesical bacillus Calmette-Guérin versus mitomycin C for Ta and T1 bladder cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2020;1:CD011935.
4. Guallar-Garrido S, Julián E. Bacillus Calmette-Guérin (BCG) therapy for bladder cancer: an update. *Immunotargets Ther* 2020;9:1-11.
5. Pettenati C, Ingersoll MA. Mechanisms of BCG immunotherapy and its outlook for bladder cancer. *Nat Rev Urol* 2018;15:615-25.
6. Han J, Gu X, Li Y, Wu Q. Mechanisms of BCG in the treatment of bladder cancer-current understanding and the prospect. *Biomed Pharmacother* 2020;129:110393.
7. Vasir JK, Labhassetwar V. Targeted drug delivery in cancer therapy. *Technol Cancer Res Treat* 2005;4:363-74.
8. GuhaSarkar S, More P, Banerjee R. Urothelium-adherent, ion-triggered liposome-in-gel system as a platform for intravesical drug delivery. *J Control Release* 2017;245:147-56.
9. Li G, Lei Q, Wang F, Deng D, Wang S, Tian L, et al. Fluorinated polymer mediated transmucosal peptide delivery for intravesical instillation therapy of bladder cancer. *Small* 2019;15:e1900936.
10. Zheng P, Ding B, Jiang Z, Xu W, Li G, Ding J, et al. Ultrasound-augmented mitochondrial calcium ion overload by calcium nanomodulator to induce immunogenic cell death. *Nano Lett* 2021;21:2088-93.
11. Pridgen EM, Langer R, Farokhzad OC. Biodegradable, polymeric nanoparticle delivery systems for cancer therapy. *Nanomedicine (Lond)* 2007;2:669-80.
12. Wang AZ, Langer R, Farokhzad OC. Nanoparticle delivery of cancer drugs. *Annu Rev Med* 2012;63:185-98.
13. Baetke SC, Lammers T, Kiessling F. Applications of nanoparticles for diagnosis and therapy of cancer. *Br J Radiol* 2015;88:20150207.
14. Bayda S, Adeel M, Tuccinardi T, Cordani M, Rizzolio F. The history of nanoscience and nanotechnology: from chemical-physical applications to nanomedicine. *Molecules* 2019;25:112.
15. Zhang H, Dong S, Li Z, Feng X, Xu W, Tuliniao CMS, et al. Biointerface engineering nanoplat-forms for cancer-targeted drug delivery. *Asian J Pharm Sci* 2020;15:397-415.
16. Kim BY, Rutka JT, Chan WC. Nanomedicine. *N Engl J Med* 2010;363:2434-43.
17. Sibuyi NRS, Moabelo KL, Meyer M, Onani MO, Dube A, Madiehe AM. Nanotechnology advances towards development of targeted-treatment for obesity. *J Nanobiotechnology* 2019;17:122.
18. Bobo D, Robinson KJ, Islam J, Thurecht KJ, Corrie SR. Nanoparticle-based medicines: a review of FDA-approved materials and clinical trials to date. *Pharm Res* 2016;33:2373-87.
19. Cho K, Wang X, Nie S, Chen ZG, Shin DM. Therapeutic nanoparticles for drug delivery in cancer. *Clin Cancer Res* 2008;14:1310-6.
20. Arranja AG, Pathak V, Lammers T, Shi Y. Tumor-targeted nanomedicines for cancer theranostics. *Pharmacol Res* 2017;115:87-95.
21. Moses MA, Brem H, Langer R. Advancing the field of drug delivery: taking aim at cancer. *Cancer Cell* 2003;4:337-41.
22. Maeda H, Nakamura H, Fang J. The EPR effect for macromolecular drug delivery to solid tumors: Improvement of tumor uptake, lowering of sys-

- temic toxicity, and distinct tumor imaging in vivo. *Adv Drug Deliv Rev* 2013;65:71-9.
23. Bertrand N, Wu J, Xu X, Kamaly N, Farokhzad OC. Cancer nanotechnology: the impact of passive and active targeting in the era of modern cancer biology. *Adv Drug Deliv Rev* 2014;66:2-25.
 24. Choi KO, Choe J, Suh S, Ko S. Positively charged nanostructured lipid carriers and their effect on the dissolution of poorly soluble drugs. *Molecules* 2016;21:672.
 25. Young JJ, Chen CC, Chen YC, Cheng KM, Yen HJ, Huang YC, et al. Positively and negatively surface-charged chondroitin sulfate-trimethylchitosan nanoparticles as protein carriers. *Carbohydr Polym* 2016;137:532-40.
 26. Hadi MM, Nesbitt H, Masood H, Sciscione F, Patel S, Ramesh BS, et al. Investigating the performance of a novel pH and cathepsin B sensitive, stimulus-responsive nanoparticle for optimised sonodynamic therapy in prostate cancer. *J Control Release* 2021;329:76-86.
 27. Kuang X, Chi D, Li J, Guo C, Yang Y, Zhou S, et al. Disulfide bond based cascade reduction-responsive Pt (IV) nanoassemblies for improved anti-tumor efficiency and biosafety. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2021;203:111766.
 28. Oluwasanmi A, Hoskins C. Potential use of the Diels-Alder reaction in biomedical and nanomedicine applications. *Int J Pharm* 2021;604:120727.
 29. Thomas TP, Majoros I, Kotlyar A, Mullen D, Holl MM, Baker JR Jr. Cationic poly(amidoamine) dendrimer induces lysosomal apoptotic pathway at therapeutically relevant concentrations. *Biomacromolecules* 2009;10:3207-14.
 30. Márquez-Miranda V, Peñaloza JP, Araya-Durán I, Reyes R, Vidaurre S, Romero V, et al. Effect of terminal groups of dendrimers in the complexation with antisense oligonucleotides and cell uptake. *Nanoscale Res Lett* 2016;11:66.
 31. Hong S, Leroueil PR, Janus EK, Peters JL, Kober MM, Islam MT, et al. Interaction of polycationic polymers with supported lipid bilayers and cells: nanoscale hole formation and enhanced membrane permeability. *Bioconjug Chem* 2006;17:728-34.
 32. Leroueil PR, Hong S, Mecke A, Baker JR Jr, Orr BG, Banaszak Holl MM. Nanoparticle interaction with biological membranes: does nanotechnology present a Janus face? *Acc Chem Res* 2007;40:335-42.
 33. Xiang S, Tong H, Shi Q, Fernandes JC, Jin T, Dai K, et al. Uptake mechanisms of non-viral gene delivery. *J Control Release* 2012;158:371-8.
 34. Wu L, Ni C, Zhang L, Shi G, Bai X, Zhou Y, et al. Surface charge convertible and biodegradable synthetic zwitterionic nanoparticles for enhancing cellular drug uptake. *Macromol Biosci* 2016;16:308-13.
 35. Zhang X, Yang X, Ji J, Liu A, Zhai G. Tumor targeting strategies for chitosan-based nanoparticles. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2016;148:460-73.
 36. Guo H, Li F, Qiu H, Zheng Q, Yang C, Tang C, et al. Chitosan-based nanogel enhances chemotherapeutic efficacy of 10-hydroxycamptothecin against human breast cancer cells. *Int J Polym Sci* 2019;2019:1914976.
 37. Guo H, Li F, Qiu H, Liu J, Qin S, Hou Y, et al. Preparation and characterization of chitosan nanoparticles for chemotherapy of melanoma through enhancing tumor penetration. *Front Pharmacol* 2020;11:317.
 38. Qiu H, Guo H, Li D, Hou Y, Kuang T, Ding J. Intravesical hydrogels as drug reservoirs. *Trends Biotechnol* 2020;38:579-83.
 39. Yue ZG, Wei W, Lv PP, Yue H, Wang LY, Su ZG, et al. Surface charge affects cellular uptake and intracellular trafficking of chitosan-based nanoparticles. *Biomacromolecules* 2011;12:2440-6.
 40. Saranya N, Moorthi A, Saravanan S, Devi MP, Selvamurugan N. Chitosan and its derivatives for gene delivery. *Int J Biol Macromol* 2011;48:234-8.
 41. Koo H, Min KH, Lee SC, Park JH, Park K, Jeong SY,

- et al. Enhanced drug-loading and therapeutic efficacy of hydrotropic oligomer-conjugated glycol chitosan nanoparticles for tumor-targeted paclitaxel delivery. *J Control Release* 2013;172:823-31.
42. Prabakaran M. Chitosan-based nanoparticles for tumor-targeted drug delivery. *Int J Biol Macromol* 2015;72:1313-22.
 43. Amidi M, Mastrobattista E, Jiskoot W, Hennink WE. Chitosan-based delivery systems for protein therapeutics and antigens. *Adv Drug Deliv Rev* 2010;62:59-82.
 44. Erdoğan N, İskit AB, Eroğlu H, Sargon MF, Mungan NA, Bilensoy E. Antitumor efficacy of bacillus Calmette-Guerin loaded cationic nanoparticles for intravesical immunotherapy of bladder tumor induced rat model. *J Nanosci Nanotechnol* 2015;15:10156-64.
 45. Li G, Wang S, Deng D, Xiao Z, Dong Z, Wang Z, et al. Fluorinated chitosan to enhance transmucosal delivery of sonosensitizer-conjugated catalase for sonodynamic bladder cancer treatment post-intravesical instillation. *ACS Nano* 2020;14:1586-99.
 46. Bilensoy E, Sarisozen C, Esendağlı G, Doğan AL, Aktaş Y, Sen M, et al. Intravesical cationic nanoparticles of chitosan and polycaprolactone for the delivery of Mitomycin C to bladder tumors. *Int J Pharm* 2009;371:170-6.
 47. Guo H, Li F, Xu W, Chen J, Hou Y, Wang C, et al. Mucoadhesive cationic polypeptide nanogel with enhanced penetration for efficient intravesical chemotherapy of bladder cancer. *Adv Sci (Weinh)* 2018;5:1800004.
 48. Guo H, Xu W, Chen J, Yan L, Ding J, Hou Y, et al. Positively charged polypeptide nanogel enhances mucoadhesion and penetrability of 10-hydroxycamptothecin in orthotopic bladder carcinoma. *J Control Release* 2017;259:136-48.
 49. Zheng M, Pan M, Zhang W, Lin H, Wu S, Lu C, et al. Poly(α -l-lysine)-based nanomaterials for versatile biomedical applications: current advances and perspectives. *Bioact Mater* 2021;6:1878-909.
 50. Zhou Z, Tang J, Sun Q, Murdoch WJ, Shen Y. A multifunctional PEG-PLL drug conjugate forming redox-responsive nanoparticles for intracellular drug delivery. *J Mater Chem B* 2015;3:7594-603.
 51. Vasir JK, Labhasetwar V. Quantification of the force of nanoparticle-cell membrane interactions and its influence on intracellular trafficking of nanoparticles. *Biomaterials* 2008;29:4244-52.
 52. Karimi M, Ghasemi A, Zangabad PS, Rahighi R, Basri SMM, Mirshekari H, et al. Smart micro/nanoparticles in stimulus-responsive drug/gene delivery systems. *Chem Soc Rev* 2016;45:1457-501.
 53. Asantewaa G, Harris IS. Glutathione and its precursors in cancer. *Curr Opin Biotechnol* 2021;68:292-9.
 54. Bansal A, Simon MC. Glutathione metabolism in cancer progression and treatment resistance. *J Cell Biol* 2018;217:2291-8.
 55. Cheng R, Feng F, Meng F, Deng C, Feijen J, Zhong Z. Glutathione-responsive nano-vehicles as a promising platform for targeted intracellular drug and gene delivery. *J Control Release* 2011;152:2-12.
 56. Zhao D, Wu J, Li C, Zhang H, Li Z, Luan Y. Precise ratiometric loading of PTX and DOX based on redox-sensitive mixed micelles for cancer therapy. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2017;155:51-60.
 57. Hu J, Zhuang W, Ma B, Su X, Yu T, Li G, et al. Redox-responsive biomimetic polymeric micelle for simultaneous anticancer drug delivery and aggregation-induced emission active imaging. *Bioconjug Chem* 2018;29:1897-910.
 58. Yang JZ, Zou HY, Ding JX, Chen XS. Controlled synthesis and biomedical applications of cystine-based polypeptide nanomaterials. *Acta Polym Sin* 2021;52:960-77.
 59. Meng F, Hennink WE, Zhong Z. Reduction-sensitive polymers and bioconjugates for biomedical applications. *Biomaterials* 2009;30:2180-98.
 60. Feng X, Xu W, Xu X, Li G, Ding J, Chen X. Cystine proportion regulates fate of polypeptide nanogel as nanocarrier for chemotherapeutics. *Sci China*

- Chem 2021;64:293-301.
61. Guo H, Li F, Qiu H, Xu W, Li P, Hou Y, et al. Synergistically enhanced mucoadhesive and penetrable polypeptide nanogel for efficient drug delivery to orthotopic bladder cancer. *Research (Wash D C)* 2020;2020:8970135.
 62. Wei L, Chen J, Ding J. Sequentially stimuli-responsive anticancer nanomedicines. *Nanomedicine (Lond)* 2021;16:261-4.
 63. Ding J, Chen J, Gao L, Jiang Z, Zhang Y, Li M, et al. Engineered nanomedicines with enhanced tumor penetration. *Nano Today* 2019;29:100800.
 64. Xu X, Liu K, Jiao B, Luo K, Ren J, Zhang G, et al. Mucoadhesive nanoparticles based on ROS activated gambogic acid prodrug for safe and efficient intravesical instillation chemotherapy of bladder cancer. *J Control Release* 2020;324:493-504.
 65. Tu H, Dinney CP, Ye Y, Grossman HB, Lerner SP, Wu X. Is folic acid safe for non-muscle-invasive bladder cancer patients? An evidence-based cohort study. *Am J Clin Nutr* 2018;107:208-16.
 66. Godeshala S, Nitiyanandan R, Thompson B, Goklany S, Nielsen DR, Rege K. Folate receptor-targeted aminoglycoside-derived polymers for transgene expression in cancer cells. *Bioeng Transl Med* 2016;1:220-31.
 67. Hsu CW, Cheng NC, Liao MY, Cheng TY, Chiu YC. Development of folic acid-conjugated and methylene blue-adsorbed Au@TNA nanoparticles for enhanced photodynamic therapy of bladder cancer cells. *Nanomaterials (Basel)* 2020;10:1351.
 68. Zhong Y, Meng F, Deng C, Zhong Z. Ligand-directed active tumor-targeting polymeric nanoparticles for cancer chemotherapy. *Biomacromolecules* 2014;15:1955-69.
 69. Koivunen E, Arap W, Valtanen H, Rainisalo A, Medina OP, Heikkilä P, et al. Tumor targeting with a selective gelatinase inhibitor. *Nat Biotechnol* 1999;17:768-74.
 70. Smith GP. Filamentous fusion phage: novel expression vectors that display cloned antigens on the virion surface. *Science* 1985;228:1315-7.
 71. Joyce JA, Laakkonen P, Bernasconi M, Bergers G, Ruoslahti E, Hanahan D. Stage-specific vascular markers revealed by phage display in a mouse model of pancreatic islet tumorigenesis. *Cancer Cell* 2003;4:393-403.
 72. Lee SM, Lee EJ, Hong HY, Kwon MK, Kwon TH, Choi JY, et al. Targeting bladder tumor cells in vivo and in the urine with a peptide identified by phage display. *Mol Cancer Res* 2007;5:11-9.
 73. Jung HK, Kim S, Park RW, Park JY, Kim IS, Lee B. Bladder tumor-targeted delivery of pro-apoptotic peptide for cancer therapy. *J Control Release* 2016;235:259-67.
 74. Wei Y, Gao L, Wang L, Shi L, Wei E, Zhou B, et al. Polydopamine and peptide decorated doxorubicin-loaded mesoporous silica nanoparticles as a targeted drug delivery system for bladder cancer therapy. *Drug Deliv* 2017;24:681-91.
 75. Zhang H, Aina OH, Lam KS, de Vere White R, Evans C, Henderson P, et al. Identification of a bladder cancer-specific ligand using a combinatorial chemistry approach. *Urol Oncol* 2012;30:635-45.
 76. Lin TY, Li Y, Liu Q, Chen JL, Zhang H, Lac D, et al. Novel theranostic nanoporphyrins for photodynamic diagnosis and trimodal therapy for bladder cancer. *Biomaterials* 2016;104:339-51.
 77. Lin TY, Zhang H, Luo J, Li Y, Gao T, Lara PN Jr, et al. Multifunctional targeting micelle nanocarriers with both imaging and therapeutic potential for bladder cancer. *Int J Nanomedicine* 2012;7:2793-804.
 78. Pan A, Zhang H, Li Y, Lin TY, Wang F, Lee J, et al. Disulfide-crosslinked nanomicelles confer cancer-specific drug delivery and improve efficacy of paclitaxel in bladder cancer. *Nanotechnology* 2016;27:425103.
 79. de Souza BM, da Silva AV, Resende VM, Arcuri HA, Dos Santos Cabrera MP, Ruggiero Neto J, et al. Characterization of two novel polyfunctional

- mastoparan peptides from the venom of the social wasp *Polybia paulista*. *Peptides* 2009;30:1387-95.
80. Souza BM, Mendes MA, Santos LD, Marques MR, César LM, Almeida RN, et al. Structural and functional characterization of two novel peptide toxins isolated from the venom of the social wasp *Polybia paulista*. *Peptides* 2005;26:2157-64.
 81. Wang KR, Zhang BZ, Zhang W, Yan JX, Li J, Wang R. Antitumor effects, cell selectivity and structure-activity relationship of a novel antimicrobial peptide polybia-MPI. *Peptides* 2008;29:963-8.
 82. Oršolić N. Bee venom in cancer therapy. *Cancer Metastasis Rev* 2012;31:173-94.
 83. Zheng P, Liu Y, Chen J, Xu W, Li G, Ding J. Targeted pH-responsive polyion complex micelle for controlled intracellular drug delivery. *Chin Chem Lett* 2020;31:1178-82.
 84. Xiong XB, Mahmud A, Uludağ H, Lavasanifar A. Conjugation of arginine-glycine-aspartic acid peptides to poly(ethylene oxide)-b-poly(epsilon-caprolactone) micelles for enhanced intracellular drug delivery to metastatic tumor cells. *Biomacromolecules* 2007;8:874-84.
 85. Zhan C, Gu B, Xie C, Li J, Liu Y, Lu W. Cyclic RGD conjugated poly(ethylene glycol)-co-poly(lactic acid) micelle enhances paclitaxel anti-glioblastoma effect. *J Control Release* 2010;143:136-42.
 86. Tian H, Lin L, Chen J, Chen X, Park TG, Maruyama A. RGD targeting hyaluronic acid coating system for PEI-PBLG polycation gene carriers. *J Control Release* 2011;155:47-53.
 87. Chen Q, Wang X, Wang C, Feng L, Li Y, Liu Z. Drug-induced self-assembly of modified albumins as nano-theranostics for tumor-targeted combination therapy. *ACS Nano* 2015;9:5223-33.
 88. Zhou D, Zhang G, Gan Z. c(RGDfK) decorated micellar drug delivery system for intravesical instilled chemotherapy of superficial bladder cancer. *J Control Release* 2013;169:204-10.
 89. Yewale C, Baradia D, Vhora I, Patil S, Misra A. Epidermal growth factor receptor targeting in cancer: a review of trends and strategies. *Biomaterials* 2013;34:8690-707.
 90. Janmaat ML, Giaccone G. Small-molecule epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors. *Oncologist* 2003;8:576-86.
 91. Sartore-Bianchi A, Martini M, Molinari F, Veronese S, Nichelatti M, Artale S, et al. PIK3CA mutations in colorectal cancer are associated with clinical resistance to EGFR-targeted monoclonal antibodies. *Cancer Res* 2009;69:1851-7.
 92. Yao Z, Peng P, Xu D, Zhou X, Pan Z, Li Z, et al. EGFR inhibitor C225 increases the radio-sensitivity of human breast cancer cells. *Asian Pac J Cancer Prev* 2019;20:311-9.
 93. Cho SK, Su LJ, Mao C, Wolenski CD, Flaig TW, Park W. Multifunctional nanoclusters of NaYF₄:Yb(3+),Er(3+) upconversion nanoparticle and gold nanorod for simultaneous imaging and targeted chemotherapy of bladder cancer. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2019;97:784-92.
 94. Turcsányi Á, Varga N, Csapó E. Chitosan-modified hyaluronic acid-based nanosized drug carriers. *Int J Biol Macromol* 2020;148:218-25.
 95. Banerjee S, Modi S, McGinn O, Zhao X, Dudeja V, Ramakrishnan S, et al. Impaired synthesis of stromal components in response to minnelide improves vascular function, drug delivery, and survival in pancreatic cancer. *Clin Cancer Res* 2016;22:415-25.
 96. Liang Y, Wang Y, Wang L, Liang Z, Li D, Xu X, et al. Self-crosslinkable chitosan-hyaluronic acid dialdehyde nanoparticles for CD44-targeted siRNA delivery to treat bladder cancer. *Bioact Mater* 2021;6:433-46.
 97. Ponta H, Sherman L, Herrlich PA. CD44: from adhesion molecules to signalling regulators. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2003;4:33-45.
 98. Zöller M. CD44: can a cancer-initiating cell profit from an abundantly expressed molecule? *Nat Rev Cancer* 2011;11:254-67.
 99. Feng X, Xu W, Liu J, Li D, Li G, Ding J, et al. Poly-

peptide nanoformulation-induced immunogenic cell death and remission of immunosuppression for enhanced chemoimmunotherapy. *Sci Bull* 2021;66:362-73.

100. Sun Y, Feng X, Wan C, Lovell JF, Jin H, Ding J. Role of nanoparticle-mediated immunogenic cell death in cancer immunotherapy. *Asian J Pharm Sci* 2021;16:129-32.