

## MUC4、MUC16 在卵巢上皮癌细胞系 SKOV-3、OVCAR-3、CAOV-3 和组织中的表达及临床意义

孔祥, 陆荣, 钱静, 郑英, 王志学\*

(扬州大学临床医学院妇产科, 江苏 扬州 225001)

**[摘要]** 目的: 研究 MUC4、MUC16 在卵巢上皮癌细胞系 SKOV-3、OVAR-3、CAOV-3 和卵巢上皮癌组织的表达及与临床病理特征关系。方法: ①培养卵巢癌 SKOV-3、OVAR-3、CAOV-3 细胞系, 行免疫细胞化学 SABC 法和 Western blot 观察 MUC4、MUC16 蛋白表达; ②对临床卵巢癌组织采用免疫组织化学 SP 两步法检测正常卵巢组织和肿瘤组织中 MUC4、MUC16 表达与临床病理特征关系。结果: ①经免疫细胞化学和 Western blot 研究发现 MUC4 在人卵巢癌 SKOV-3 和 OVCAR-3 细胞中不表达, 而在 CAOV-3 细胞中有表达; MUC16 在人卵巢癌 OVCAR-3 细胞中表达量最高, 其次是 CAOV-3 细胞, 在 SKOV-3 细胞表达量最低; ②在正常卵巢组织和卵巢良性肿瘤中, MUC4 和 MUC16 表达量均较低。但在卵巢交界性肿瘤和卵巢癌中, MUC4 和 MUC16 表达非常明显; ③MUC4 在卵巢浆液性和黏液性上皮癌中表达无差异(86.36% vs 75.00%), 而 MUC16 在浆液性卵巢癌中阳性表达率(81.81%)明显高于黏液性卵巢癌(25.00%)( $P < 0.05$ )。MUC4 在早期卵巢癌表达偏高, 达 91.67%, 而 MUC16 在晚期卵巢癌表达(85.70%)明显高于早期(50.00%)。结论: 不同卵巢癌细胞 MUC4 和 MUC16 表达不同; 联合 MUC4 和 MUC16 的检测有助于卵巢癌的病理分型、临床诊断及预后的判断。

**[关键词]** 卵巢癌; 细胞系; 蛋白表达; 临床意义

**[中图分类号]** R737.31

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2014)11-1498-05

**doi:** 10.7655/NYDXBNS2014108

### The expression and the clinical significance of MUC4 and MUC16 in epithelial ovarian cancer cell line SKOV-3, OVCAR-3, CAOV-3 and tissues

Kong Xiang, Lu Rong, Qian Jing, Zheng Ying, Wang Zhixue\*

(Department of Obstetrics & Gynecology, Clinical College of Medical, Yangzhou University, Yangzhou 225001, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate relationship between expression of MUC4 and MUC16 and clinical pathological characteristics in ovarian cancer cell line SKOV-3, OVAR-3, CAOV-3 and epithelial ovarian cancer (EOC) tissues. **Methods:** ①Ovarian cell line SKOV-3, OVAR-3 and CAOV-3 were cultured, and then immunocytochemistry and Western Blot analysis were taken to detect the protein expression of MUC4 and MUC16; ②Ovarian normal and epithelial cancer tissues were collected. IHC was used to detect the protein expression of MUC4 and MUC16 in ovarian normal and cancer tissues. **Results:** ①The immunocytochemistry and Western blot analysis showed that the expression of MUC4 protein was not detected in SKOV-3 and OVCAR-3 cell lines, but it was observed in CAOV-3. While, the expression of MUC16 protein was detected in three ovarian cancer cell lines. Moreover, the level of MUC16 was highest in OVCAR-3 cell line, second in CAOV-3 and the lowest in SKOV-3. The differences were statistically significant( $P < 0.05$ ); ②The positive expression of MUC4 and MUC16 was low in normal ovarian tissue and benign ovarian tumor, but was high in border line ovarian tumor and EOC; ③the positive expression rate of MUC4 and MUC16 among different subtypes including serous tumor (86.36%, 75%); mucinous tumor was (75%, 25%) respectively. The positive expression rate of MUC4 and MUC16 at different tumor stages was including early stage(91.67%, 50%) and advanced stage (75%, 85.7%). **Conclusion:** ① There were different expressions of MUC4 and MUC16 in ovarian epithelial cancer cell lines; ② MUC4 alone or together with MUC16 may be as a good diagnosis and

**[基金项目]** 国家自然科学基金(31371174); 江苏省自然科学基金资助(BK20131230)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: xkong@hotmail.com

prognosis marker for EOC.

[Key words] ovarian cancer; cell lines; expression of protein; clinical significance

[Acta Univ Med Nanjing, 2014, 34(10): 1498-1502]

卵巢上皮癌 (epithelial ovarian cancer, EOC) 是目前最致命的妇科恶性肿瘤。70% 的卵巢癌患者诊断时已达晚期<sup>[1]</sup>。卵巢癌难以及时和早期诊断的因素是缺少特征性临床表现及特异性标志物<sup>[2]</sup>。卵巢上皮癌起源于卵巢上皮表面组织, 黏蛋白 (mucin, MUC) 是有诊断价值的生物学标志物<sup>[3]</sup>。目前阴道超声检查和血浆 CA125 水平是最常用的卵巢癌筛查方法<sup>[4]</sup>。但由于缺少特异性, 临床应用这些方法监测早期卵巢癌效果受到限制。近 50% 早期卵巢癌患者 CA125 水平未出现上升甚至部分卵巢癌晚期患者 CA125 水平也未上升, 且 CA125 水平上升也发生于其他恶性肿瘤和良性病变<sup>[3,5]</sup>, 因此 CA125 (MUC16) 作为早期诊断卵巢癌标志物存在明显不足, 寻找新的血浆标志物配合 CA125 有可能促进早期诊断。MUC4 是黏蛋白家族的成员之一, 在组织再生和分化、信号转导、肿瘤生长和转移中均发挥重要作用<sup>[6]</sup>。本研究目的是了解 MUC4、MUC16 在卵巢癌细胞系 SKOV-3、OVCAR-3、CAOV-3 和卵巢癌组织的表达, 探索 MUC4、MUC16 基因在卵巢癌细胞系和卵巢癌组织表达与临床病理特征的关系。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

卵巢癌细胞株 SKOV-3、OVCAR-3、CAOV-3 (南京凯基生物科技公司); 鼠抗人 MUC4 单克隆抗体 (Abcam 公司, 英国); 兔抗人 MUC16 多克隆抗体 (北京博奥森生物技术有限公司); SABC 免疫细胞化学染色试剂盒 (武汉博士德生物工程有限公司)。SP 两步法免疫细胞化学试剂盒 (即用型, 北京中杉生物技术有限公司)。

人卵巢癌 SKOV-3 细胞、OVCAR-3 细胞培养于 DMEM 培养液中, 人卵巢癌 CAOV-3 细胞培养于 McCoy's 5A 培养液中, 3 种细胞均置于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。当细胞生长达到对数生长期时进行蛋白质提取。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 组织标本免疫组化检测

选取 2005 年 1 月~2010 年 12 月在扬州大学临

床医学院住院患者共 80 例, 平均年龄 54 岁 (18~67 岁), 肿瘤标本分类见表 1。诊断标准根据参考文献 [8] 制定。所有正常对照组和卵巢肿瘤组人群排除其他疾患, 卵巢癌患者未曾接受过放化疗。上述标本均采用 10% 福尔马林固定 24 h 后常规石蜡包埋、保存。采用免疫组织化学 SP 两步法检测正常卵巢组织和肿瘤组织中 MUC4、MUC16 (按照试剂盒说明书操作)。实验中一抗的工作浓度: MUC4 为 1:100, MUC16 为 1:50。每次染色均设空白对照 (采用 PBS 代替一抗)。

#### 1.2.2 免疫细胞化学 SABC 法

制作细胞爬片: 在 24 孔板圆形爬片, 滴加细胞悬液, 在培养箱中孵育 24 h 后用多聚甲醛固定。按照所购试剂盒说明书操作。孵育一抗、二抗、DAB 显色, 复染, 脱水, 封片, 镜下观察。

#### 1.2.3 Western blot 实验

提取 3 种细胞蛋白, 制备蛋白样本, 蛋白质提取物分别进行 SDS-PAGE 凝胶电泳、转膜、封闭、抗体孵育、显色, 以  $\beta$ -actin 作为内参, 标本显影通过标准 E-CL 方法, 检测目的蛋白。

#### 1.2.4 免疫组化结果判断

采用双盲方法阅片, 根据 JEDA801D 形态学图像分析系统软件进行结果分析。免疫细胞化学染色在细胞质、胞膜或胞核内有棕黄色颗粒者则为阳性细胞。每张切片在显微镜下随机选 5 个 200 倍视野。染色强度按着色计分分为 4 个等级 (0~3 分)。阳性细胞按百分率计算分为 0~4 分; 分值计算采用与阳性细胞百分比的乘积, 0 表示阴性 (-), 1~4 分表示弱阳性 (+), 5~8 分表示阳性 (++) , 9~12 分为强阳性 (+++)。统计阳性率时, - 和 + 为阴性表达, ++ 和 +++ 为阳性表达。

### 1.3 统计学方法

应用 SPSS17.0 统计分析软件, 实验数据以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 经统计分析方差齐性, 故多组间均数比较采用单因素方差分析, 两两均数比较采用 S-N-K 法 (Student-Newman-Keuls), 检验水准  $\alpha = 0.05$ ; 对于分类资料的比较, 选用  $\chi^2$  检验或精确概率计算法。

## 2 结果

### 2.1 免疫细胞化学实验

免疫细胞化学实验结果显示:MUC4 在人卵巢癌 SKOV-3、OVCAR-3 中不表达,在 CAOV-3 中有表达;MUC16 在卵巢癌细胞 SKOV-3、OVCAR-3 及 CAOV-3 中均有表达,且 MUC16 在 OVCAR-3 中的平均光密度值最高,CAOV-3 在 SKOV-3 中表达量最低,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ,表 1)。

表 1 免疫细胞化学法检测人卵巢癌细胞 SKOV-3、OVCAR-3、CAOV-3 中 MUC4、MUC16 表达情况

Table 1 The expression of MUC4 in SKOV-3, OVCAR-3 and CAOV-3 in immunocytochemistry ( $\bar{x} \pm s$ )

细胞名称	平均光密度值	
	MUC4	MUC16
SKOV-3	0	0.294 ± 0.068
OVCAR-3	0	0.353 ± 0.184
CAOV-3	0.377 ± 0.030	0.316 ± 0.030

### 2.2 Western blot 法检测

Western blot 结果提示 MUC4 在人卵巢癌细胞 SKOV-3 和 OVCAR-3 中不表达,在 CAOV-3 中有表达;MUC16 在人卵巢癌 OVCAR-3 中表达量最高,在 CAOV-3 中次之,在 SKOV-3 中表达量最低(图 1)。

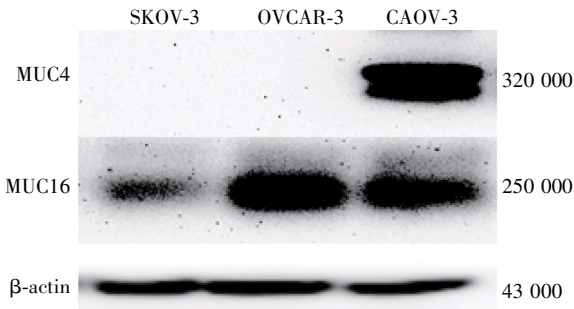


图 1 MUC4 及 MUC16 蛋白在人卵巢癌 SKOV-3、OVCAR-3、CAOV-3 细胞中表达

Figure 1 The expression of MUC4 and MUC16 in SKOV-3, OVCAR-3 and CAOV-3 by Western blot

### 2.3 MUC4、MUC16 在正常卵巢组织、良性卵巢肿瘤和卵巢癌表达情况

随着恶变程度的加重,MUC4 和 MUC16 表达量明显升高。虽然,二者卵巢良性肿瘤表达量分别达 10%和 20%,但经精确计算概率法比较,与正常卵巢组织无统计学差异 ( $P > 0.05$ );在交界性肿瘤中,MUC16 阳性率达 60%,并与良性肿瘤呈现统计学差异,而 MUC4 阳性率无统计学差异,可能是因样本例数较少;在卵巢癌中,MUC4 和 MUC16 阳性率分

别高达 90.0%和 87.5%,明显高于交界性肿瘤,经  $\chi^2$  检验发现有明显统计学差异( $P < 0.01$ ,表 2)。

表 2 正常卵巢组织和不同卵巢肿瘤中 MUC4、MUC16 表达  
Table 2 The expression of MUC4 and MUC16 in normal, benign, borderline tissue and ovarian epithelial cancer [n(%)]

类别	例数	MUC4 阳性	MUC16 阳性
正常卵巢	10	0(0.0)	1(10.0)
良性肿瘤	20	2(10.0)	4(20.0)
交界性肿瘤	10	4(40.0)	6(60.0)
卵巢癌	40	36(90.0)	35(87.5)

### 2.4 卵巢癌不同亚型和不同分期的 MUC4 和 MUC16 表达情况

MUC4 在卵巢浆液性和黏液性上皮癌的表达,经精确概率计算法检验发现差异无统计学意义( $P = 0.211$ ),而 MUC16 表达在浆液性卵巢癌中阳性率明显高于黏液性 ( $P = 0.002$ );在临床分期中,虽然 MUC4 在早期卵巢癌(I~II期)偏高,达 91.67%,但经统计分析与晚期卵巢癌(III~IV期)无统计学差异( $\chi^2_{\text{校}} = 0.603, P = 0.438$ ),而晚期卵巢癌 MUC16 表达(85.70%)明显高于早期(50.00%)( $\chi^2_{\text{校}} = 3.968, P = 0.046$ ,表 3)。

表 3 MUC4、MUC16 的表达与卵巢癌临床组织学类型和分期关系

Table 3 The relationship between the expression of MUC4, MUC16 and Clinical types and stages of ovarian cancer [n(%)]

类别	例数	MUC4 阳性	MUC16 阳性
组织类型			
浆液性	22	19(86.36)	18(81.81)
黏液性	12	8(75.00)	3(25.00)
临床分期			
I~II期	12	11(91.67)	6(50.00)
III~IV期	28	21(75.00)	24(85.70)

## 3 讨论

1991 年,MUC4 cDNA 首先从人支气管 cDNA 文库中分离得到。MUC4 蛋白具有 3 种亚型:膜结合型、分泌型和无特征结构型。由 2 个亚基组成,黏蛋白亚基 MUC4 $\alpha$  和跨膜亚基 MUC4 $\beta$ <sup>[8]</sup>。MUC4 是黏蛋白家族成员之一,在细胞黏附、组织再生和分化、信号转导、肿瘤生长和转移中均起到重要作用<sup>[6,8]</sup>。Komatsu 等<sup>[9]</sup>通过体内和体外实验观察 MUC4 表达与细胞凋亡的关系,结果显示 MUC4 过表达的细胞其

凋亡细胞数量下降,说明 MUC4 表达水平上调抑制了细胞凋亡,并促进了肿瘤细胞生长。在诊断学方面,MUC4 表达水平反映了患者肿瘤活跃程度,有可能成为判断肿瘤早期转移和预后的指标,用于临床监测治疗效果和及时发现肿瘤复发。Chauhan 等<sup>[10]</sup>采用免疫组织化学方法研究不同时期卵巢癌患者组织,发现 MUC4 在所有早期卵巢癌(I、II 期)中过表达,在非卵巢癌中几乎不表达。研究还发现 MUC4 与 MUC16(CA125)联合检测能提高卵巢癌晚期(III、IV 期)患者的诊断敏感性。近来有研究表明,经过手术和化疗后,肿瘤细胞生长、扩散和复发的能力与残留肿瘤细胞数量密切相关<sup>[11]</sup>。因此,针对残留肿瘤细胞进行靶向治疗十分必要。而 MUC4 在卵巢癌出现变异、突变,导致卵巢癌侵犯和转移。Ponnusamy 等<sup>[11]</sup>将 MUC4 基因转入 MUC4 表达阴性的卵巢癌 SKOV-3 细胞株,用 RT-PCR 法检测比较 MUC4 转染后的 SKOV-3 细胞和未转染 MUC4 细胞中 ErbB2 转录水平的表达量,发现无明显改变;Western blot 结果发现 MUC4 转染的 SKOV-3 细胞中 ErbB2 表达量增加,提示 MUC4 对 ErbB2 的调节可能发生在转录后水平,MUC4 可能直接或间接通过 HER2 促进残留肿瘤细胞生长,因此,针对靶基因 MUC4 有助于临床卵巢癌的治疗。

本研究结果发现 MUC4 在卵巢癌出现过度表达。MUC4 与卵巢癌的发生发展有关;MUC4 在早期卵巢癌表达明显,MUC4 单独或联合 MUC16 检测是用于卵巢癌早期诊断和晚期预后判断的好方法。黏液性卵巢癌 MUC4 的阳性表达率明显高于 MUC16,MUC4 有可能用于临床黏液性卵巢癌诊断和鉴别诊断;Chauhan 等<sup>[12]</sup>研究结果与本研究相同,MUC4 的过度表达可能是卵巢癌不良预后的指标。MUC4 通常定位于细胞膜和细胞浆,且具有较强的免疫原性,因而 MUC4 有可能成为基因治疗的新靶点和卵巢癌等难治性肿瘤免疫治疗的靶抗原<sup>[12]</sup>。探寻 MUC4 活化肿瘤细胞的信号通路,就可以通过阻断信号通路控制肿瘤发展。总之,随着对 MUC4 研究深入,在肿瘤诊断和治疗领域,MUC4 可能拥有广泛的应用前景。

CA125 基因被克隆在 2001 年,由于它的产物与黏蛋白家族蛋白类似被称之为 MUC16<sup>[13]</sup>。CA125 在细胞黏附、侵犯和腹腔转移中发挥作用。CA125 在不同组织都有所表达<sup>[3,14]</sup>,CA125 水平上升也见于良性妇科疾病和非妇科恶性肿瘤,包括腹腔、胸腔的肿瘤,肝脏疾病,乳腺肿瘤等<sup>[15]</sup>。目前卵巢癌早期诊断策略是妇科检查同时联合 CA125 检测和阴道

B 超检查,尽管推荐在 35 岁以上妇女常规 6 个月检查 1 次,但在卵巢癌早期诊断和降低病死率方面并未有明显作用。CA125 作为肿瘤标志物对卵巢癌诊断特异性存在明显不足,且假阳性率较高。另外,接近 1/2 的 I 期卵巢癌患者和部分晚期卵巢癌患者的血浆 CA125 水平无明显升高甚至正常,对此至今还不能明确解释 CA125 在卵巢癌患者中的变化。本研究发现,不同卵巢癌细胞株出现不同的 MUC16(CA125)表达,从而导致临床卵巢癌患者不同的血浆 CA125 水平,甚至导致不同的卵巢癌组织类型和不同临床期别出现 CA125 血浆水平正常。所以寻找高度敏感、高度特异性和有效的生物学标志物用于早期诊断卵巢癌十分重要,这有助于减少卵巢癌患者的病死率。本研究结果显示 MUC16(CA125)在浆液性卵巢癌阳性表达明显,但黏液性卵巢癌阳性表达率较低。MUC16 在早期卵巢癌表达低于晚期卵巢癌,单独检测 CA125 用于卵巢癌的早期诊断缺少特异性,目前许多生物学标志物单独或联合 CA125 用于临床监测卵巢癌研究成为热点,有可能促进卵巢癌早期诊断的有效性,同时也能明显促进患者的预后<sup>[16-17]</sup>。

综上所述,MUC4 和 MUC16 的研究在卵巢癌早期诊断和治疗方面已显示出潜在的重要性。联合黏蛋白的检测在卵巢癌诊断和治疗方面是有效和可靠的诊断策略<sup>[18]</sup>。以黏蛋白作为疫苗和靶标产生免疫反应,为卵巢癌治疗增加了新途径<sup>[19]</sup>。但目前黏蛋白在卵巢癌研究中结果存在不一致性,真正将黏蛋白应用于临床诊断和治疗还存在许多限制,但黏蛋白应用于临床对于卵巢癌的诊断治疗将可能产生较好的效果。

#### [参考文献]

- [1] Smolle E, Valentín T, Haybaeck J. Malignant ascites in ovarian cancer and the role of targeted therapeutics [J]. *Anticancer Res*, 2014, 34(4): 1553-1561
- [2] Boracchi P, Biganzoli EM, Panteghini M, et al. Serum human epididymis protein 4 vs carbohydrate antigen 125 for ovarian cancer diagnosis: a systematic review [J]. *J Clin Pathol*, 2013, 66(4): 273-281
- [3] Bafna S, Kaur S, Batra SK. Membrane-bound mucins: the mechanistic basis for alterations in the growth and survival of cancer cells [J]. *Oncogene*, 2010, 29(20): 2893-904
- [4] Moore RG, Maclaughlan S, Jr RC Bast. Current state of biomarker development for clinical application in epithelial ovarian cancer [J]. *Gynecol Oncol*, 2010, 116(2): 240-245
- [5] Moore RG, Maclaughlan S. Current clinical use of biomarkers for epithelial ovarian cancer [J]. *Current Opin*

- Oncology, 2010, 22(5):492-497
- [6] Ponnusamy MP, Lakshmanan I, Jain M, et al. MUC4 mucin-induced epithelial to mesenchymal transition; a novel mechanism for metastasis of human ovarian cancer cells[J]. *Oncogene*, 2010, 29(42):5741-5754
- [7] 谢辛, 荀文丽. 妇产科学[M]. 8版. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 321-328
- [8] Carraway KL, Theodoropoulos G, Kozloski GA, et al. Muc4/MUC4 functions and regulation in cancer[J]. *Future Oncol*, 2009, 5(10):1631-1640
- [9] Komatsu M, Jepson S, Arango ME, et al. Muc4/sialomucin complex an intramembrane modulator of ErbB2/HER2/Neu, potentiates primary tumor growth and suppresses apoptosis in xenotransplanted tumor[J]. *Oncogene*, 2001, 20(4):461-470
- [10] Chauhan SC, Singh AP, Ruiz F, et al. Aberrant expression of MUC4 in ovarian carcinoma; diagnostic significance alone and in combination with MUC1 and MUC16 (CA125)[J]. *Mod Pathol*, 2006, 19(10):1386-1394
- [11] Ponnusamy MP, Seshacharyulu P, Vaz A, et al. MUC4 stabilizes HER2 expression and maintains the cancer stem cell population in ovarian cancer cells[J]. *J Ovarian Res*, 2011, 4(1):7-13
- [12] Chauhan SC, Kumar D, Jaggi M. Mucins in ovarian cancer diagnosis and therapy[J]. *J Ovarian Res*, 2009, 2(1):21
- [13] Yin BWT, Lloyd KO. Molecular cloning of the Ca125 ovarian cancer antigen; identification as a new mucin, MUC16[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(29):27371-27375
- [14] Mimeault M, Batra SK. Molecular biomarkers of cancer stem/progenitor cells associated with progression, metastases, and treatment resistance of aggressive cancers[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2014, 23(2):234-254
- [15] Drescher CW, Hawley S, Thorpe AD, et al. Impact of screening test performance and cost on mortality reduction and cost-effectiveness of multimodal ovarian cancer screening[J]. *Cancer Prev Res*, 2012, 5(8):1015-1024
- [16] Kobayashi E, Ueda Y, Matsuzaki S, et al. Biomarkers for screening, diagnosis, and monitoring of ovarian cancer[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2012, 21(11):1902-1912
- [17] Pavlou MP, Diamandis EP, Blasutig IM. The long journey of cancer biomarkers from the bench to the clinic[J]. *Clin Chem*, 2013, 59(1):147-157
- [18] Romero I, Jr Bast RC. Minireview: human ovarian cancer: biology, current management, and paths to personalizing therapy[J]. *Endocrinology*, 2012, 153(4):1593-1602
- [19] Tse BWC, Collins A, Oehler MK, et al. Antibody-based immunotherapy for ovarian cancer; where are we at? [J]. *Ann Onc*, 2014, 25(2):322-331
- [收稿日期] 2014-05-27

(上接第1490页)

- system[J]. *Nanomedicine*, 2011, 6(6):1709-1711
- [4] 樊继波, 陈永斌, 周洁, 等. 白蛋白微球的制备方法及其质量评价的研究进展[J]. *天津药学*, 2009, 21(3):58-61
- [5] 马满玲, 郭美华, 杨丽杰. 抑制剂靶向治疗恶性肿瘤的研究进展[J]. *中国药师*, 2010, 13(10):1427-1430
- [6] Chen DZ, Tang QS, Li XD, et al. Biocompatibility of magnetic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles and their cytotoxic effect on MCF-7 cells[J]. *Nanomedicine*, 2012, 7(1):4973-4982
- [7] 林梅, 王子予, 张东生, 等. As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 纳米粒的制备及其对肝癌 SMMC-7721 细胞的治疗作用[J]. *东南大学学报*, 2006, 36(2):298-302
- [8] 林晓芬, 陈爱政, 王士斌. 磁性氧化铁纳米颗粒的生物相容性研究进展[J]. *科学通报*, 2011, 56(26):2223-2228
- [9] Zhao Z, Zhao H, Yu R, et al. Synthesis and characterization of multifunctional Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> magnetic nanoparticles[J]. *Nanosci Nanotechnol*, 2012, 12(3):1946-1951
- [10] Dilnawza F, Singh A, Mohanty C, et al. Dual drug loaded superparamagnetic iron oxide nanoparticles for targeted cancer therapy[J]. *Biomaterial*, 2010, 31(13):3694-3706
- [11] Li YH, Zhu KL, Zeng WT. Reversal of drug resistance of hepatic carcinoma cells by arsenic trioxide[J]. *Clin Med*, 2009, 11(16):8-10
- [12] 陈蕾, 孙晓然, 杨光, 等. 蛋白质载药体系的研究进展及其应用[J]. *现代化工*, 2013, 33(7):46-52
- [13] Ak G, Yima ZH, Sanlier SH. Preparation of magnetically responsive albumin nanospheres and *in vitro* drug release studies[J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2014, 42(1):18-26
- [14] Zhang LK, Hou SX, Song XR, et al. Preparation and evaluation of a kind of albumin nanospheres[J]. *China Pharm*, 2007, 42(5):365-369
- [15] Lucciana E, Debora C, Flavia P, et al. Preliminary biocompatibility investigation of magnetic albumin nanosphere designed as a potential versatile drug delivery system[J]. *Nanomedicine*, 2011, 16(1):1709-1717
- [16] Manoocheheri S, Darvishi B, Kammalinia G, et al. Surface modification of PLGA nanoparticles via human serum albumin conjugation for controlled delivery of docetaxel[J]. *Daru*, 2013, 21(10):58-68
- [收稿日期] 2014-02-18