

HER-2 靶向光敏免疫脂质体增强乳腺癌化疗效果的实验研究

何 力,李 娟

(四川省人民医院城东病区甲状腺乳腺外科,四川 成都 610000)

[摘要] 目的:构建对紫外线反应的靶向人类表皮生长因子 2(human epidermal growth factor receptor 2, HER-2)的免疫脂质体,提高化疗药物对乳腺癌细胞的杀伤效果。**方法:**薄膜分散法制备脂质体,表面修饰上抗 HER-2 抗体(曲妥珠单抗)的 Fab 片段,并将脂质体用紫外线进行交联,制备光敏免疫脂质体。透射电镜观察脂质体的形态,动态光散射测定脂质体的粒径和血液学稳定性,倒置荧光显微镜和流式细胞术检测乳腺癌细胞 MCF-7 对脂质体药物的摄取能力,CCK-8 试剂盒测定并比较脂质体与游离药物对乳腺癌细胞的体外杀伤效应,皮下肿瘤抑制实验比较脂质体药物与游离药物对乳腺癌细胞的体内杀伤效应。**结果:**本研究制备出的对紫外线敏感的 HER-2 靶向脂质体具有规整的球状结构、合适的粒径大小和较强的稳定性。乳腺癌细胞 MCF-7 对免疫脂质体的摄取能力较非靶向脂质体和游离 DOX 显著增强(P 均 <0.05)。进一步研究显示,光敏免疫脂质体药物对 MCF-7 细胞的体外杀伤能力明显优于非靶向脂质体药物和游离药物(P 均 <0.05)。体内研究结果显示,与非靶向脂质体药物和游离药物相比,免疫脂质体药物能够显著降低荷瘤小鼠的皮下肿瘤负荷(P 均 <0.05)。**结论:**本研究制备的靶向 HER-2 的光敏免疫脂质体拥有较好的稳定性和极强的肿瘤杀伤效果,具有广阔的临床应用前景。

[关键词] 乳腺癌;trastuzumab;化疗;光敏免疫脂质体;血清稳定性

[中图分类号] R737.9

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2017)06-659-06

doi:10.7655/NYDXBNS20170602

Construction and characterization of a trastuzumab Fab conjugated UV-responsive immunoliposome on improvement of tumor suppressing efficacy of chemotherapy

He Li, Li Juan

(Department of Thyroid and Breast Surgery, East Inpatient Area, Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610000, China)

[Abstract] **Objective:** To construct a UV-responsive human epidermal growth factor receptor 2 (HER-2)-targeting immunoliposome, and investigate the improvement of chemotherapy efficacy on breast cancer. **Methods:** We fabricated the trastuzumab Fab fragment-decorated immunoliposome by thin film-dispersion method, which formed intermolecular cross-linking through the diacetylenic group by ultra-violet (UV) irradiation. The liposomal morphology was observed with transmission electron microscope. The particle size distribution and serum stability were evaluated by dynamic light scattering. Flow cytometry was performed to compare the intracellular uptake of liposomal and free drugs. The *in vitro* and *in vivo* anti-tumor efficacy of liposomal drugs against MCF-7 cells were evaluated by CCK-8 and subcutaneous tumor inhibition analysis, respectively. **Results:** After UV irradiation, the immunoliposome exhibited a fine spherical structure, better serum stability and slower drug release with a decreased mean diameter of (88.1 ± 13.2) nm. The cellular uptake of immunoliposome(PC-DOX-Fab) was significantly enhanced comparing with non-targeting liposomes(PC-DOX-BSA) and free drug (DOX)($P < 0.05$). Cytotoxicity assays against HER-2⁺ cancer cells showed that the tumor suppressing efficacy of immunoliposomal drugs was significantly improved comparing with PC-DOX-BSA and free DOX at the same condition($P < 0.05$). *In vivo* studies demonstrated that the treatment of PC-DOX-Fab significantly reduced the tumor growth compared with that of PC-DOX-BSA and free DOX ($P < 0.05$). **Conclusion:** In this study, we identified a novel liposomal drug delivery system for improved chemotherapy against HER-2-positive breast cancer cells, which owned a fine spherical structure and excellent serum stability. The *in vitro* and *in vivo* experimental results clearly suggested that this UV-responsive immunoliposome exhibits potent tumor suppressing activities, which deserved further investigation for clinical application.

[Key words] breast cancer;trastuzumab;chemotherapy;UV-responsive immunoliposome;serum stability

[Acta Univ Med Nanjing, 2017, 37(06):659-664]

乳腺癌是女性常见的恶性肿瘤之一,其发病率呈逐年上升趋势^[1-2]。2015年我国肿瘤登记地区乳腺癌发病率位居女性恶性肿瘤的第1位,成为威胁女性健康的头号杀手^[2-3]。

近年来,随着对乳腺癌发病机制的深入研究,化疗在其治疗中发挥着越来越重要的作用^[4]。目前,化疗在乳腺癌治疗中的应用主要包括手术前新辅助化疗、术后辅助化疗及晚期姑息性化疗^[4]。尽管目前研究表明,许多化疗药物在临床前实验中能够很好地杀伤肿瘤细胞,然而其不良反应太大,限制了临床应用。

纳米医学是一门新兴的科学,其利用肿瘤组织和正常组织在血管内皮细胞间隙上的差异,通过增强渗透与滞留效应(enhanced permeability and retention effect, EPR)将药物靶向输送到肿瘤组织内部,大大提高了恶性肿瘤的治疗效果并降低了不良反应^[5-7]。目前,常用的纳米载药体系主要包括脂质体、胶束、囊泡和凝胶等^[8]。

研究表明,纳米药物的稳定性是影响纳米药物治疗效果的重要因素^[8]。本研究通过薄膜水化法,制备出了一种对紫外线敏感的免疫脂质体,其具有很好的生物学稳定性和组织相容性,能够在肿瘤细胞内部大量富集,在体内外研究中表现出很强的淋巴瘤杀伤效应。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 细胞

人乳腺癌细胞株 MCF-7 购自美国模式培养物集存库(ATCC),保存于本实验室。细胞用含 10%胎牛血清的 DMEM 培养基(Gibco 公司,美国)于 37℃、5%CO₂ 的细胞培养箱内正常传代培养。

1.1.2 主要试剂

脂质体制备所用的磷脂 DC8,9PC 和 mal-PEG (Avanti Polar Lipids 公司,美国),人类表皮生长因子 2(human epidermal growth factor receptor 2, HER-2) 的抗体曲妥珠单抗(trastuzumab, Roche 公司,美国),牛血清白蛋白(BSA)及 CCK-8(Cell Counting Kit-8) 细胞增殖与活性检测试剂盒(杭州碧云天生物技术有限公司),盐酸多柔比星(doxorubicin, DOX)(大连美仑生物科技有限公司)。

1.1.3 实验动物

4 周龄的 BALB/c 裸鼠购自成都达硕实验动物公司,于无特定病原菌(specific-pathogen-free, SPF) 的条件下饲养,所有动物实验均经过四川省人民医

院伦理委员会的同意,并严格按照四川省人民医院实验动物章程进行操作。

1.2 方法

1.2.1 曲妥珠单抗 Fab 片段的制备及硫醇化修饰

参照文献[8],将 10 mg/mL 的曲妥珠单抗与胃蛋白酶 37℃ 共育 6 h 后,用葡聚糖凝胶层析柱(Sephadex G-150 column)进行纯化,得到曲妥珠单抗的 F(ab)₂ 片段,将其用木瓜蛋白酶进行水解,并用葡聚糖凝胶层析柱进行纯化后得到抗体的 Fab 片段。将曲妥珠单抗的 Fab 片段与 2-亚氨基噻吩(2-iminothiolane, Sigma-Aldrich 公司,美国)按照 1:0.15(质量比),于室温下混合后轻轻振荡反应 2 h,并用透析法除去游离的 2-亚氨基噻吩,得到硫醇化修饰的曲妥珠单抗的 Fab 片段(Fab-SH)。同样的方法制备硫醇化修饰的 BSA(BSA-SH)后备后续实验使用。

1.2.2 负载 DOX 免疫脂质体的制备

分别称取 1.8 mg 的 DC8,9PC (以下简称 PC)和 0.2 mg 的 mal-PEG,混合溶解于氯仿与甲醛(体积比 1:1)的混合溶液中,静置 10 min 后,将该溶液转移至旋蒸瓶中,室温旋转蒸发至溶剂完全挥发,然后用含 0.5 mg/mL DOX 的 PBS 缓冲液在旋蒸瓶中缓慢旋转洗涤,得到负载 DOX 的脂质体溶液。然后将得到的脂质体溶液分别用 0.8、0.4、0.2 μm 的聚碳酸酯膜缓慢过滤,并用透析法(截留分子量 3 000 kDa)去除游离的 DOX 后,得到粒径均匀的脂质体。将制备的脂质体与 1.2.1 制备的 Fab-SH 或 BSA-SH 于 4℃ 反应 12 h,用透析法除去游离的抗体 Fab 片段或 BSA,得到 Fab 或 BSA 表面修饰的脂质体(在本文中分别标记为 PC-DOX-Fab 和 PC-DOX-BSA)。

1.2.3 免疫脂质体的紫外交联

将 1.2.2 制备的脂质体用紫外分光光度计(Stratalinker-UV 1800)照射,以进行交联。照射条件:紫外波长 254 nm,剂量 360 MJ/m²×20 个循环,反应条件 4℃^[9]。在透射电镜下观察成功制备的载药纳米脂质体形态,并用动态光散射(dynamic light scattering, DLS)仪检测其粒径大小。

1.2.4 光敏免疫脂质体的体外稳定性检测

用含 50%胎牛血清的 DMEM 缓冲液在体外模拟人体的血液环境,将脂质体分别置于其中,于 37℃ 进行孵育,不同时间点取出溶液, DLS 比较交联前后脂质体的粒径大小和分散系数的变化。

1.2.5 光敏免疫脂质体的药物释放检测

取 5 mL 负载 DOX 的光敏脂质体溶液(紫外分光光度计检测其浓度,标记为 C1),将其置于透析膜(截

留分子量 3 000 kDa) 内,将该体系置于含 500 mL PBS 缓冲液的烧杯中避光透析,分别于不同时间点取烧杯内的缓冲液 300 μ L,紫外分光光度计于 488 nm 检测其中 DOX 的浓度 C2,然后按照下面的公式计算从脂质体中释放的药物比例^[8]:释放的药物比例(%)=(C2 \times 500 mL)/(C1 \times 5 mL) \times 100%。

1.2.6 硫醇化修饰前后 Her-2 Fab 对 MCF-7 细胞的结合能力比较

取生长对数期的 MCF-7 细胞 1×10^5 个,将其分别与不同浓度(从 20 μ g/mL 倍比稀释至 0.312 5 μ g/mL)的 Her-2 Fab 及 Her-2 Fab-SH 室温孵育 2 h 后,PBS 洗涤细胞,加入 1:500 的 Alexa Fluor 488 Rabbit anti-human 的二抗(Invitrogen 公司,美国),4 $^{\circ}$ C 避光孵育 1 h 后,流式细胞术比较细胞表面的平均荧光强度。

1.2.7 乳腺癌细胞对光敏纳米脂质体的内吞能力

取生长对数期的 MCF-7 细胞(1×10^5 个),将其分别与浓度为 1 μ g/mL 的游离 DOX、PC-DOX-BSA 和 PC-DOX-Fab 于细胞培养箱中孵育,不含 DOX 的 DMEM 培养基作为阴性对照组,4 h 后,流式细胞术检测并比较乳腺癌细胞内红色荧光强度^[10]。

1.2.8 光敏免疫脂质体对肿瘤细胞的体外杀伤效果

取生长对数期的 MCF-7 细胞,将其均匀铺板于 96 孔细胞培养板中培养(3 000 个/孔),分别向其中加入不同浓度的游离 DOX、PC-DOX-BSA 和 PC-DOX-Fab,不含 DOX 的 DMEM 培养基作为阴性对照(Control),48 h 后,向每个孔中加入 10 μ L CCK-8,避光静置 2 h 后,酶标仪(Thermo Multiskan MK3, Thermo Scientific 公司,德国)读取每个孔在 450 nm 的吸光度值,并按照如下公式计算每个孔的细胞活力^[11]:细胞活力(%)=(实验组吸光度值-空白组吸光度值)/(对照组吸光度值-空白组吸光度值) \times 100%。

1.2.9 光敏免疫脂质体对荷瘤小鼠皮下肿瘤生长的抑制效果

将健康雌性 BALB/c 裸鼠饲养至 6 周龄,皮下注射 5×10^6 个 MCF-7 细胞,待皮下肿瘤生长至长径约 10 mm 后,将荷瘤小鼠随机分为 4 组,每组 4 只,分别经尾静脉注射游离 DOX、PC-DOX-BSA 和 PC-DOX-Fab(DOX 剂量为 5 mg/kg,隔日 1 次 \times 3 次)。尾静脉注射等体积的生理盐水作为阴性对照。然后密切观察小鼠生命体征,定期测量小鼠体重及皮下肿瘤体积。在整个试验周期(60 d)结束后,以颈椎脱臼法处死小鼠。小鼠肿瘤体积按照如下公式计算^[11]:肿瘤体积(V)=肿瘤长径 \times 短径²/2。

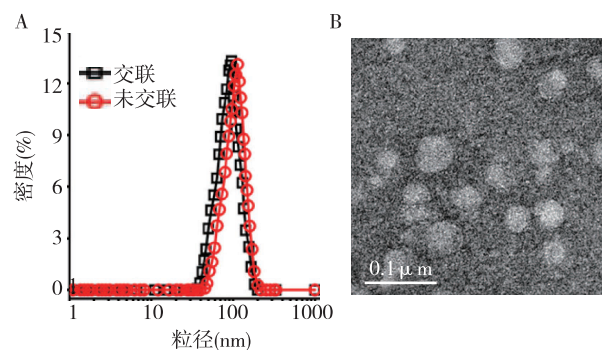
1.3 统计学方法

所有实验数据均采用 SPSS 11.0 进行统计学分析,对于两组均数的比较采用 *t* 检验进行分析;对于 3 组及以上均数的比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA)进行统计学分析,并以 Dunnett *t* 检验进行组间两两比较;对于小鼠皮下肿瘤体积采用重复测量的方差分析进行组间比较, $P\leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HER-2 靶向光敏脂质体的表征

DLS 结果显示(图 1A),紫外交联可以将脂质体的直径从未交联前的(102.3 ± 19.3)nm 降低至(88.1 ± 13.2)nm,这表明经过紫外交联后的脂质体,具有更加紧密的结构。透射电镜结果显示本研究制备的光敏免疫脂质体为均匀分布的球状,且具有清晰的核壳结构(图 1B)。用紫外分光光度计检测了脂质体溶液中 DOX 的终浓度为 0.16 mg/mL,而载体的浓度为 0.87 mg/mL,因此可计算出该脂质体的载药量约为 19.5%,包封率为 32.0%。



A: DLS 检测结果显示紫外交联后,脂质体的粒径有显著降低; B:透射电镜观察光敏免疫脂质体的形态。

图 1 HER-2 靶向光敏脂质体的表征

Figure 1 Characterizations of HER-2-targeting immunoliposome

2.2 紫外交联能显著提高光敏脂质体的稳定性

DLS 结果显示(表 1),将脂质体置于模拟血清环境中孵育 24 h 后,未交联的脂质体粒径从(102.3 ± 19.3)nm 增加至(176.2 ± 53.0)nm,变化率为(72.2 \pm 32.3)%,分散系数(polydispersity index, PDI)从 0.07 增加至 0.28,而交联后的脂质体,其粒径从(88.1 ± 13.2)nm 变化至(128.8 ± 28.6)nm,变化率为(46.2 \pm 20.1)%,与未交联组相比,差异有统计学意义($P=0.011$),PDI 从 0.06 变化至 0.14。可见交联后的脂质体,其粒径大小及分布的变化比未交联的脂质体

更小,显示出更强的血清稳定性。

表 1 紫外交联前后 HER-2 靶向光敏脂质体的稳定性比较
Table 1 *In vitro* stability of immunoliposomes before or after UV crosslink

时间	未交联		交联	
	粒径(nm)	PDI	粒径(nm)	PDI
0 h	102.3±19.3	0.07	88.1±13.2	0.06
4 h	122.9±23.5	0.11	92.6±20.1	0.08
8 h	153.5±41.1	0.19	120.4±23.0	0.12
24 h	176.2±53.0	0.28	128.8±28.6	0.14

2.3 脂质体药物具有很好的生物相容性

如图 2 显示,未负载药物的空脂质体,在 0.062 5~12.000 0 μg/mL 浓度内,对 MCF-7 细胞无显著毒性。3.000 0、6.000 0、13.000 0 μg/mL 浓度下,靶向脂质体 PC-Fab 孵育后,MCF-7 细胞的活力要比非靶向脂质体 PC-BSA 孵育后下降,这与靶向脂质体表面修饰的曲妥珠单抗的 Fab 片段对肿瘤细胞的生长抑制作用有关。

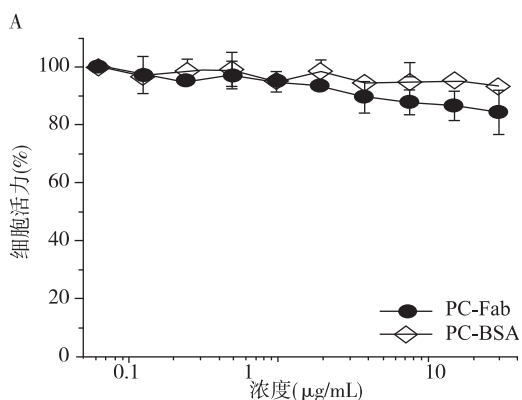


图 2 光敏免疫脂质体的细胞毒性检测

Figure 2 Cellular cytotoxicity of UV-responsive immunoliposomes

2.4 紫外交联不会影响脂质体内药物的释放

如图 3 所示,脂质体溶液静置 48、72 h 后,交联后的脂质体能分别将约 66.5%和 71.2%的 DOX 释放出来,而未交联的脂质体则分别能将约 81.3%和 82.8%的 DOX 释放出来。结果显示,紫外交联可以降低脂质体内药物的释放,但是由于>70%的药物在 48 h 后能够成功从脂质体中释放出来,因此这种药物的缓释并不会对脂质体药物的细胞毒作用造成显著影响。

2.5 硫醇化修饰不会影响 Her-2 Fab 对 MCF-7 细胞的结合能力

流式细胞术结果显示(图 4),相同浓度的 Fab

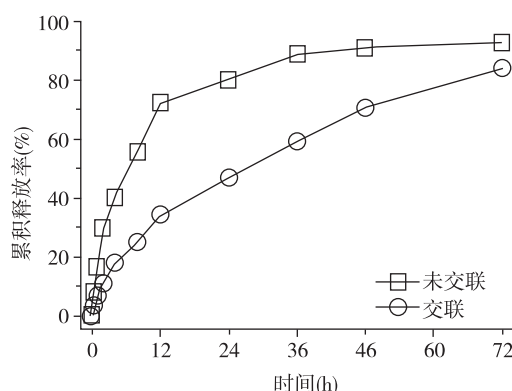


图 3 紫外交联前后脂质体内 DOX 的释放情况比较

Figure 3 Comparison of cumulative drug release from immunoliposomes before or after UV crosslink

片段与细胞结合后,再经过荧光二抗标记,细胞表面的平均荧光强度并没有显著变化($P>0.05$),这表明在实验浓度(0.312 5~20.000 0 μg/mL)下,硫醇化修饰对 Her-2 Fab 片段与 MCF 细胞的结合能力没有显著影响。

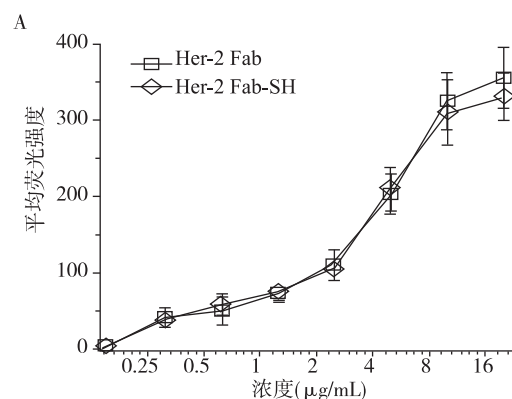


图 4 硫醇化修饰前后 Her-2 Fab 与 MCF-7 细胞结合能力比较

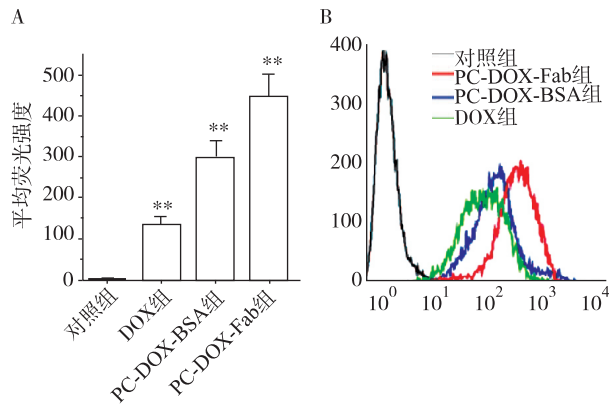
Figure 4 Cellular binding ability of anti-Her-2 Fab before or after thiolation

2.6 HER-2 靶向光敏脂质体能够显著增强细胞对药物的摄取

流式细胞术结果显示(图 5),脂质体药物处理过的 MCF-7 细胞内的平均红色荧光强度均较游离药物组(118.3±35.7)有显著增强(PC-DOX-BSA vs. DOX;Dunnett *t* test, $P=0.004$;PC-DOX-Fab vs. DOX;Dunnett *t* test, $P=0.008$),而相比之下,免疫脂质体孵育组(451.5±71.6)较非靶向脂质体孵育组(287.1±59.8)增加更多(Dunnett *t* test, $P=0.031$)。

2.7 光敏免疫脂质体药物具有较强的体外肿瘤杀伤效果

图 6A 显示,在各个实验浓度下,免疫脂质体组 MCF-7 细胞的细胞活力较游离 DOX 组以及非靶向脂质体组显著下降(PC-DOX-Fab vs. DOX;Dunnett *t* test,

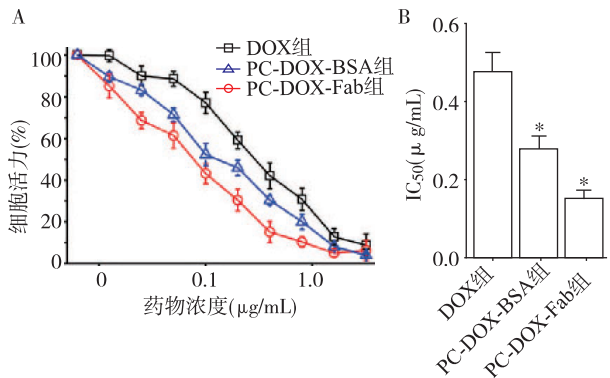


A:流式细胞术检测并比较 MCF-7 与游离 DOX 及脂质体药物孵育后,细胞内平均红色荧光强度的大小,与对照组比较, $P<0.05$;B: MCF-7 与游离 DOX 及脂质体药物孵育后,细胞内红色荧光分布图。

图 5 肿瘤细胞对脂质体药物内吞能力的检测

Figure 5 Cellular uptakes of immunoliposomes by MCF-7 cells

$P=0.006$, PC-DOX-Fab vs. PC-DOX-BSA; Dunnett *t* test, $P=0.018$)。图 6B 显示, PC-DOX-Fab 对 MCF-7 细胞的半数致死浓度(IC_{50})为 $0.17 \mu\text{g/mL}$,较 PC-DOX-BSA ($0.37 \mu\text{g/mL}$)及游离 DOX ($0.58 \mu\text{g/mL}$)有显著降低 (PC-DOX-Fab vs. DOX; Dunnett *t* test, $P=0.002$, PC-DOX-Fab vs. PC-DOX-BSA; Dunnett *t* test, $P=0.012$)。



A: MCF-7 细胞与游离药物及脂质体药物孵育 48 h 后细胞活力比较; B: 脂质体药物及游离药物对 MCF-7 细胞的 IC_{50} 比较,与 DOX 组比较, $P<0.05$ 。

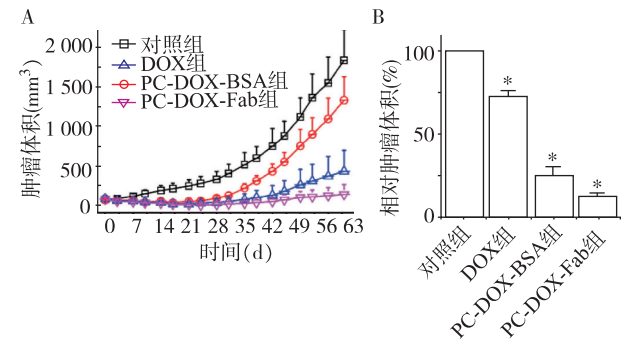
图 6 游离 DOX 及脂质体药物对 MCF-7 细胞体外杀伤能力的比较

Figure 6 In vitro cytotoxicity of free and liposomal DOX against MCF-7 cells

2.8 光敏免疫脂质体能显著降低荷瘤小鼠的皮下肿瘤负荷

皮下肿瘤抑制实验结果显示(图 7),在整个实验周期结束时, PBS 对照组小鼠肿瘤的体积为 $(1\ 803.5 \pm 377.4)\text{mm}^3$,与 PBS 对照组相比,游离 DOX 治疗能够将小鼠的皮下肿瘤体积有效降低至 $(1\ 317.8 \pm$

$287.6)\text{mm}^3$,为对照组的 $(73.1 \pm 3.4)\%$,差异有统计学意义 ($P=0.021$)。非靶向脂质体药物 PC-DOX-BSA 能够进一步降低荷瘤小鼠的皮下肿瘤负荷至肿瘤体积为 $(454.6 \pm 252.7)\text{mm}^3$,为对照组的 $(25.2 \pm 5.2)\%$,差异有统计学意义 ($P=0.010$)。而靶向脂质体对荷瘤小鼠皮下肿瘤的抑制作用较游离 DOX 治疗组和非靶向脂质体治疗组更强 (PC-DOX-Fab vs. PC-DOX-BSA, $P=0.011$; PC-DOX-Fab vs. PC-DOX-BSA, $P=0.006$),其处理后小鼠的肿瘤体积下降至 $(172.0 \pm 120.2)\text{mm}^3$,为对照组的 $(9.5 \pm 3.8)\%$,且其中有 1 只小鼠获得完全缓解 (complete remission, CR),即在 整个 试验 周期 结束后 该 小鼠 皮下 肿瘤 消失。



A: 脂质体及游离药物处理后荷瘤小鼠皮下肿瘤体积变化; B: 整个试验周期结束后各处理组相对于对照组的肿瘤体积。与对照组比较, $P<0.05$ 。

图 7 靶向脂质体能够显著降低荷瘤小鼠的皮下肿瘤负荷
Figure 7 In vivo tumor suppressing activity of free and liposomal DOX against MCF-7 cells

3 讨论

乳腺癌是危害女性健康的第一杀手,化疗是临床上乳腺癌治疗的重要手段之一,但化疗药物的不良反应大大限制了其临床应用^[1-2, 12]。近年来,纳米医学的发展,为解决化疗药物的不良反应提供了新的有效方法。研究表明,正常组织内,血管内皮细胞的间隙一般 $<7 \text{nm}$,而肿瘤组织内由于血管异型增生,其内皮细胞间隙增大,约为 $200\sim 700 \text{nm}$ 。因此,粒径在数十到数百纳米之间的纳米药物可以通过肿瘤组织的内皮细胞间隙,但却不能通过正常组织的内皮细胞间隙,这就使得其能够在肿瘤组织内部特异性富集,就是 ERP 效应^[13]。纳米药物的这种效应,使得其在肿瘤治疗领域得到了越来越广泛的应用。

研究表明,提高纳米药物的稳定性可增强其体内抗肿瘤效应^[8, 14]。为此,本研究利用 DC8,9PC 成功制备出一种对紫外线敏感的纳米脂质体。DC8,9PC 是一种二炔磷脂,其分子中的炔基在紫外线照射后

可以在分子间形成共价键连接,大大增强了脂质体的稳定性^[9]。本研究结果表明,经过交联后的脂质体,在体外模拟血液的环境中拥有更强的稳定性。

HER-2 是表皮生长因子家族的重要成员,表达于 25%~30% 的乳腺癌细胞,与乳腺癌的预后密切相关^[15]。为增强脂质体药物的靶向性,本研究用靶向 HER-2 的单克隆抗体曲妥珠单抗的 Fab 片段对脂质体进行了表面修饰。研究表明,与游离药物及非靶向修饰的脂质体药物相比,靶向脂质体能够显著提高肿瘤细胞内的药物浓度,增强负载的化疗药物对肿瘤细胞的杀伤效应,且在体内研究中能够显著抑制小鼠的皮下肿瘤生长。光敏免疫脂质体较强的肿瘤杀伤效应可归功于如下原因:①脂质体药物稳定的球状结构增强了肿瘤细胞的摄取;②纳米药物通过 ERP 效应增强了在肿瘤组织内部的富集;③抗体 Fab 片段的表面修饰,使脂质体药物通过抗原-抗体的识别和结合,进一步增强了其在肿瘤组织内部的富集以及肿瘤细胞对脂质体药物的摄取。

综上所述,本研究制备的光敏免疫脂质体,拥有很好的稳定性,在体内外研究中显示出很强的乳腺癌杀伤效果,具有广阔的临床应用前景。

[参考文献]

- [1] Van Den Belt-Dusebout AW, Spaan M, Lambalk CB, et al. Ovarian stimulation for *in vitro* fertilization and long-term risk of breast cancer[J]. JAMA, 2016, 316(3): 300-312
- [2] Fan L, Strasser-Weippl K, Li JJ, et al. Breast cancer in China[J]. Lancet Oncol, 2014, 15(7):e279-e289
- [3] Huang Z, Wen W, Zheng Y, et al. Breast cancer incidence and mortality: trends over 40 years among women in Shanghai, China[J]. Ann Oncol, 2016, 27(6): 1129-1134
- [4] Shi J, Liang D, Jin J, et al. Female breast cancer burden was increasing during the 40 years in Hebei Province, China: a population-based study[J]. Arch Gynecol Obstet, 2016, 294(5):1063-1071
- [5] 罗小林, 易丹丹. 抗肿瘤药物纳米给药系统研究进展[J]. 医药导报, 2015, 34(2):218-222
- [6] Linton SS, Sherwood SG, Drews KC, et al. Targeting cancer cells in the tumor microenvironment: opportunities and challenges in combinatorial nanomedicine[J]. Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol, 2016, 8(2): 208-222
- [7] Goel S, Chen F, Cai W. Highlights from the latest articles in nanomedicine for deep tumor imaging and phototherapy [J]. Nanomedicine (Lond), 2015, 10(11):1681-1683
- [8] Li W, Zhao H, Qian W, et al. Chemotherapy for gastric cancer by finely tailoring anti-Her2 anchored dual targeting immunomicelles[J]. Biomaterials, 2012, 33(21): 5349-5362
- [9] Temprana CF, Duarte EL, Taira MC, et al. Structural characterization of photopolymerizable binary liposomes containing diacetylenic and saturated phospholipids [J]. Langmuir, 2010, 26(12):10084-10092
- [10] Camacho KM, Menegatti S, Vogus DR, et al. DAFODIL: A novel liposome-encapsulated synergistic combination of doxorubicin and 5FU for low dose chemotherapy [J]. J Control Release, 2016, 229:154-162
- [11] Wu C, Li H, Zhao H, et al. Potentiating antilymphoma efficacy of chemotherapy using a liposome for integration of CD20 targeting, ultra-violet irradiation polymerizing, and controlled drug delivery[J]. Nanoscale Res Lett, 2014, 9(1):447
- [12] Li H, Sun Y, Chen D, et al. Synergistic anti-tumor therapy by a comb-like multifunctional antibody nanoarray with exceptionally potent activity[J]. Sci Rep, 2015, 5:15712
- [13] Maruyama K. Intracellular targeting delivery of liposomal drugs to solid tumors based on EPR effects [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2011, 63(3):161-169
- [14] 刘晓谦, 王锦玉, 全燕, 等. 脂质体制备技术及其研究进展[J]. 中国药学杂志, 2011, 46(14):1084-1088
- [15] Li B, Meng Y, Zheng L, et al. Bispecific antibody to ErbB2 overcomes trastuzumab resistance through comprehensive blockade of ErbB2 heterodimerization [J]. Cancer Res, 2013, 73(21):6471-6483

[收稿日期] 2016-07-21

本刊邮发代号 28-61

网址: <http://jnmn.njmu.edu.cn>