

磁性白蛋白纳米球作为基因载体的研究

侯欣欣 王 静 侯 听 邢秀玲 张敬霞

摘 要 **目的** 制备载基因的磁性白蛋白纳米球,评估磁性白蛋白纳米球作为基因载体的可行性及体外的磁靶向性。**方法** 采用去溶剂化-交联法制备载基因磁性白蛋白纳米球,分别运用透射电镜(TEM)、动态光散射分析(DLS)对其形态、粒径进行表征。应用绿色荧光蛋白基因系统(pGFP),观察载基因磁性白蛋白纳米球体外释放基因速率的情况及转染细胞的情况。运用普鲁士蓝染色法观察磁性纳米球的体外磁靶向性。**结果** 载基因磁性纳米球在 TEM 检测下为球形,大小均匀,并且在载基因磁性纳米球中明显地观察到在电子密度较低的白蛋白纳米球中包裹着电子密度较高的磁性纳米粒。DLS 显示载基因免疫磁性纳米球的水合粒径约为 209nm。体外动态释放基因速率,计算其累积释放率显示,该材料 13h 释放基因为 95.25%,曲线平缓;转染实验结果显示载基因磁性纳米球能够有效转染 SMMC-7721 细胞,且转染效率高于载基因纳米球。普鲁士蓝染色实验结果显示磁靶向组细胞内的铁颗粒明显多于非靶向组。**结论** 成功制备了载基因磁性白蛋白纳米球,具有缓释基因的作用,并且能高效转染人肝癌细胞 SMMC-7721。磁性白蛋白纳米球基因载体具有体外靶向性,有望作为一种潜在的靶向基因载体应用到生物医学领域。

关键词 载基因磁性白蛋白纳米球 基因载体 磁靶向

中图分类号 R3 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.02.040

Research of Magnetic Albumin Nanoparticles as Gene Vector. Hou Xinxin, Wang Jing, Hou Ting, et al. Medical School of Henan Polytechnic University, Henan 454000, China

Abstract **Objective** To study the preparation of gene-loaded magnetic albumin nanospheres, to evaluate the feasibility of magnetic albumin nanoparticles as gene vector and its magnetic targeting in vitro. **Methods** Gene-loaded magnetic albumin nanospheres were prepared by desolvation-crosslinking method. TEM and DLS were used to characterize the shape and particle size of the nanospheres. Plasmid release rate in vitro was dynamically evaluated. The transfection efficiency of gene-loaded magnetic albumin nanospheres was observed by using it to transfect the SMMC-7721 cells. We observed the magnetic targeting of the magnetic albumin nanospheres through prussian blue staining. **Results** TEM analysis showed that gene-loaded magnetic albumin nanospheres were approximately spherical and uniform in size. It was clearly demonstrated that the magnetite materials with high electron density were well-incorporated in the core of albumin nanospheres. DLS showed the hydrated particle size of the gene-loaded magnetic albumin nanospheres was about 209nm. The nanospheres cumulative release rate was 95.25% by calculating dynamic release rate of thirteen hours in vitro and the curve was flat. The gene-loaded magnetic albumin nanospheres can carry the plasmid to SMMC-7721 cells and its transfection efficiency was higher than the gene-loaded albumin nanospheres. Prussian blue staining demonstrated that after the magnetic targeting group incubated with SMMC-7721 cells, more blue-stained iron particles were observed in the cells than in the cells of the non-targeting group. **Conclusion** Gene-loaded magnetic albumin nanospheres were prepared successfully, the gene-loaded magnetic albumin nanospheres can transfect SMMC-7721 cells with high efficiency and slowly release the plasmid. The gene vector have magnetic targeting and could be a promising targeting gene vector supplied in biomedicine field.

Key words Gene-loaded magnetic albumin nanospheres; Gene vector; Magnetic targeting

将基因导入到人体细胞中进行基因治疗,就要求基因载体能够安全、有效地将 DNA 传输到预设的细胞中。裸露的 DNA 不适合在体内传输,因为血清中

的核酸酶能够把它迅速地降解。因此,一种理想的基因载体是能够在血清中稳定存在,并且能保护 DNA 免受核酸酶的降解。白蛋白是血浆中含量最多的蛋白质,作为内源性物质,并且是一种不具有调理作用的蛋白,早期的研究发现,将其包覆于纳米粒或脂质体表面,可降低微粒对巨噬细胞的亲和力,从而延长循环时间,提高治疗效率^[1]。白蛋白纳米粒最

基金项目:河南理工大学青年基金资助项目(Q2015-4)

作者单位:454000 焦作,河南理工大学医学院(侯欣欣、王静、邢秀玲、张敬霞);454001 焦作,河南理工大学第一附属医院(侯听)

通讯作者:侯欣欣,电子信箱:hxx110216@163.com

初被广泛应用于制备缓释以及控释药物方面的研究^[2]。研究表明由于白蛋白内源性的特点,白蛋白纳米粒具有良好的生物相容性和缓释功能,易被生物降解,无免疫原性,从而推动了白蛋白纳米粒用作基因载体的研究^[3]。

为了实现将治疗基因靶向性地输送到特定的器官或组织,减少对其他组织的不良反应,提高基因的利用率,靶向基因载体的探索势在必行。磁性纳米颗粒具有纳米效应,几乎没有细胞毒性,生物相容性好的特点,具有磁响应性,在外加磁场的情况下可以实现磁靶向性^[4,5]。因此近年来被广泛地应用到生物医学领域,比如应用于磁共振显像、磁热疗和肿瘤的诊断等研究^[6-8]。磁性白蛋白纳米球是结合了磁性纳米粒和白蛋白纳米球两方面优势应运而生的纳米传输系统。本研究制备了磁性白蛋白纳米颗粒,对其性质进行了表征,并探究其作为基因载体的可行性及磁靶向性。

材料与方法

1. 实验材料: SMMC-7721 细胞株(人肝癌细胞)购自中科院上海细胞研究所。表达绿色荧光蛋白的质粒 pGFP 购自上海 GenePharma 公司,氯化铁($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)、氯化亚铁($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)、戊二醛等化学试剂均为分析纯,购自中国医药上海化学试剂采购供应站。牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)购自美国 Sigma 公司。DMEM 和胎牛血清购自美国 Gibco 公司。

2. Fe_3O_4 磁性纳米粒的制备: Fe_3O_4 磁性纳米粒的制备参照文献[9],采用化学共沉淀法制备:① 分别称量 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 与 $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 各 10.8g 和 4.37g,放入广口瓶内,溶解于 200ml 三蒸水内;② 100ml 的 1mol/l 的氨水迅速倒入广口瓶;③ 将液体置于加通气口塞的广口瓶放在磁力搅拌器上,放入搅拌子,充入 N_2 保护,设定反应温度为 50°C ,设定搅拌速度为 3000r/min,搅拌 30min 后停止。自然冷却,液体倒入烧杯,然后用强磁铁吸住烧杯底部,倾去上层废液,用去离子水反复冲洗生成物,洗涤 3 次,将生成物真空干燥备用。

3. 白蛋白纳米球(ANS)及载基因磁性白蛋白纳米球的制备:白蛋白纳米球的制备工艺参照文献[10,11],经过实验条件的摸索,确定了白蛋白纳米球的制备工艺如下:精密称取适量 BSA 100mg, Fe_3O_4 磁性纳米粒 40mg,加 4ml 三蒸水充分搅拌混匀成磁性材料、白蛋白混合液,调节 pH 值至 9;乙醇以 1ml/min 的速度滴至上述已经孵化好的材料与白蛋

白混合溶液中,继续搅拌,该过程为去溶剂化过程,纳米粒形成;向纳米粒溶液中缓慢滴加 50 μl 25% 戊二醛溶液,室温磁力搅拌 12~24h,使纳米粒交联固化,制得固化的白蛋白纳米球(albumin nanospheres, ANS)溶液。将纳米球溶液以 12000r/min 的转速高速离心,倾去上清液,加水至原体积,超声分散。洗涤 3 次,以去除制备中加入的有机溶剂。将 Fe_3O_4 磁性纳米粒悬液与质粒 pGFP 按 30:1 的质量比混匀,再与 100mg BSA 混合搅拌均匀。待完全溶解后按上述制备方法制备载基因磁性白蛋白纳米球(pGFP-magnetic albumin nanospheres, pGFP-MANS)。将质粒与 100mg BSA 直接混匀后按上述方法制备成载基因白蛋白纳米球(pGFP-ANS)。

4. 电镜形态学观察:取出少量制备的 Fe_3O_4 磁性纳米粒,加无水乙醇超声分散 15min,滴有膜铜网,制得电镜样品;分别取白蛋白纳米球与载基因磁性白蛋白纳米球溶液 5 μl ,滴有膜铜网,制得电镜样品在 JEM-2010 型 TEM 下观察。

5. 动态光散射分析(DLS):纳米球的平均粒径和粒径分布通过动态光散射仪用 ZETA SIZER 3000 激光粒度分析仪进行测定,激光的入射波长为 633nm,入射角为 90° ,应用动态光散射软件进行数据处理,记录平均粒径、多分散性指数及粒径分布,每个样本重复 3 次。

6. 体外动态释放基因速率的动态测定:用动态透析法考察载基因磁性白蛋白纳米球的体外释药。取 15ml 的样品置入已经处理好的透析袋中,扎紧两端,置于装有 100ml 醋酸盐缓冲液的烧杯中,在 37°C 恒温摇床中并以 150r/min 的速度进行震荡,分别于固定时间定时取出 5ml 上清液同时补充相等量的缓冲液。测定释放液中 DNA 的含量,绘制时间与累积释放质粒浓度曲线。

7. 细胞转染实验:将肝癌细胞 SMMC-7721 接种于 6 孔板中,每孔 3×10^5 个细胞,常规培养在 DMEM 培养液中, 37°C 、5% CO_2 ,内含 10% 胎牛血清、青、链霉素,孵育 18h 后(细胞有 80% 融合),用无血清培养基洗 2 次,在无血清培养基下,加入以下纳米粒混悬液,分成 pGFP-MANS 组、pGFP-ANS 组和空白蛋白纳米球(ANS)组。置于强磁铁上(Magneto FCTOR plate, chemicell 德国)上转染 4h 后,每孔换成含血清的正常培养基继续培养 48h 后于倒置荧光显微镜下观察转染效率。

8. 普鲁士蓝染色观察磁靶向性:取对数生长长期的

SMMC-7721 细胞接种于两块 6cm 培养皿中,每块约含细胞 3×10^5 , 24h 细胞贴壁后,均加入 pGFP-MANS 溶液与 SMMC-7721 共孵育,一块置于强磁铁上,一块不做任何处理,继续培养 24h。然后通过普鲁士蓝染色观察 SMMC-7721 细胞内含铁的情况,检测纳米球被细胞吸收情况。普鲁士蓝染色步骤如下:①培养皿倒掉培养液,PBS 洗 3 遍;② 10% 甲醛固定 30 min,PBS 洗 3 遍;③ 取 4% 亚铁氰化钾水溶液和 4% 盐酸水溶液等份混合,滴在切片上,37℃ 培养箱孵育 30 min;④ PBS 洗 3 遍,倒置相差显微镜观察拍照。

结 果

1. 电镜形态学检测:用透射电镜观察,制备的 Fe_3O_4 磁性纳米粒在无水乙醇超声分散后,近似圆形,电子密度高,大小较一致,呈散在分布或聚集成片(图 1)。载基因磁性纳米球在 TEM 检测下为大小均匀,直径在 200nm 的实心纳米球,并且在图 1B 中明显观察到电子密度较高的磁性纳米颗粒包裹在白蛋白纳米球的基质中。也证明本实验成功制备了载基因的磁性纳米粒。

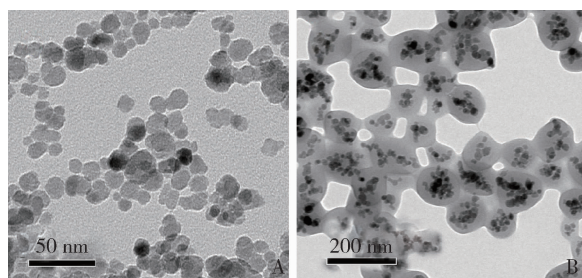


图 1 Fe_3O_4 磁性纳米粒载基因免疫

磁性纳米球的 TEM 图

A. Fe_3O_4 磁性纳米粒;B. 基因免疫磁性纳米球

2. DLS 分析:用去溶剂化法制备的载基因磁性白蛋白纳米球,进行 DLS 分析显示载基因免疫磁性纳米球的水合粒径约为 209nm(图 2)。

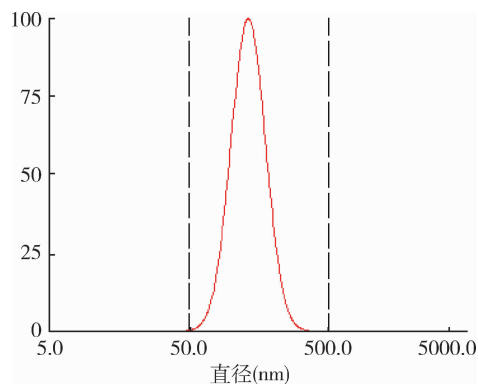


图 2 载基因磁性白蛋白纳米球的粒径分布图

3. 体外动态释放基因速率的动态测定:作为一个候选基因载体,能够在合适的体内外条件下有效、持久地释放 DNA,也有利于提高基因治疗的效果。本研究测定载基因磁性白蛋白纳米球体外动态释放 DNA 速率见图 3,计算其累积释放率显示,该材料 13h 释放 DNA 为 96.89%,之后曲线平缓,进入平台期。

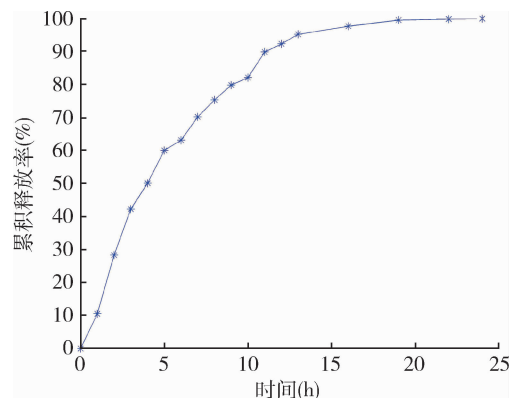


图 3 载基因磁性白蛋白纳米球体外释基因曲线

4. 载基因磁性纳米球转染效率的观察:细胞转染实验发现,pGFP-MANS 组、pGFP-ANS 组都能有效转移带有表达绿色荧光蛋白基因的质粒 pGFP 进入 SMMC-7721 细胞,倒置荧光显微镜下观察到亮绿色荧光蛋白(GFP)的表达(图 4),空白蛋白纳米球组未见绿色荧光蛋白的表达。但在同样条件下 pGFP-MANS 组的转染效率比 pGFP-ANS 组高。

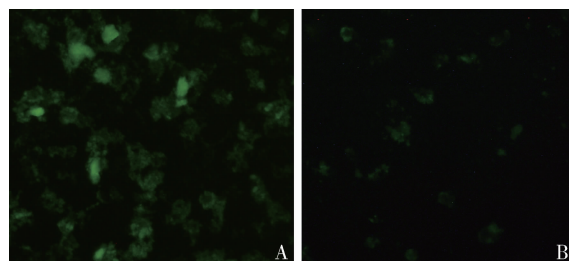


图 4 载基因纳米球转染效率的观察

A. pGFP-MANS 组;B. pGFP-ANS 组

5. 普鲁士蓝染色:普鲁士蓝染色是用来标记进入细胞内的铁颗粒,胞内的铁颗粒能够被普鲁士蓝染液染色成蓝色。为了形成颜色对比,通常细胞核用核固红染液进行染色呈红色。实验结果如图 5,显示加磁铁组的载基因纳米粒与 SMMC-7721 细胞共孵育后,细胞内大量铁存在,可以见到大量蓝染颗粒;而未加磁铁组的细胞内见少量蓝染铁颗粒。

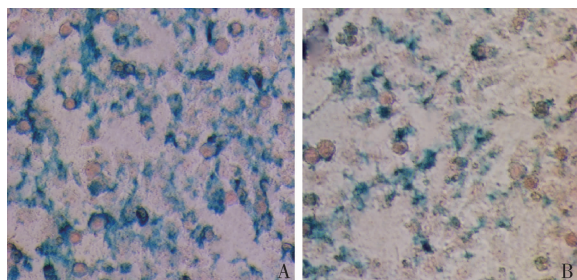


图 5 普鲁士蓝染色结果 (×100)

A. 磁靶向组; B. 非靶向组

讨 论

DNA 载体一般分为病毒载体和非病毒载体,共同缺点是缺乏靶向性。而且病毒载体还有病毒毒性和免疫原性、有限的 DNA 装载量等缺点,减弱了基因治疗的效果^[12]。纳米技术的发展为解决这些问题提供了新的思路。

纳米粒与基因结合有静电吸引、共价键结合及物理包裹 3 种方式。具体在结合过程中以哪种方式取决于载基因纳米粒制备的方法,即是一步法还是两步法^[13]。本研究采用的是一步法,直接在磁性纳米粒制备前就加入质粒,再制备成纳米粒。此种制备方法将核酸以物理包裹的方式与纳米粒结合,核酸被包裹到纳米球的基质中,更有利于保护核酸免受酶的降解,延长核酸在体内的作用时间^[14]。而两步法,则是先制备白蛋白纳米粒,再联核酸。此种制备方法,纳米粒与基因结合多以静电吸引和共价键结合的方式。

本实验与以往研究不同,之前白蛋白纳米球的应用绝大多数是用于药物载体,而本实验室在磁性纳米粒用于基因载体的基础上,将磁性纳米粒/质粒复合物包裹于白蛋白中,用于输送外源基因进入癌细胞,与一般的基因治疗不同,外源基因进入细胞时的转染分为瞬时转染和稳定转染,稳定转染株的筛选比较耗时不容易得到,所以一般用的都是瞬转,但是瞬转基因表达持续时间较短,难以达到治疗效果。本课题组用白蛋白包裹质粒起到缓释作用,体外释放基因曲线显示质粒从 pGFP-MANS 中的释放符合双相动力学规律,初期为快速释药,后期为缓慢释药,这符合临床需要,使靶部位迅速达治疗浓度,并长时间维持该浓度。能够持续高效的进行基因治疗作用^[15]。

作为基因载体能与核酸高效结合,体积小,能通过细胞膜进入细胞有效表达是必要条件。实验中制备的载基因磁性白蛋白纳米球,包裹的质粒 pGFP 携带能表达绿色荧光蛋白的基因,通过此报告基因的表达程度可以观察此基因载体系统转染细胞的效率。

转染实验结果显示,载基因磁性白蛋白纳米球组与载基因纳米球组都观察到亮绿色荧光蛋白,而空白蛋白纳米球组则没有,证实了是质粒携带绿色荧光蛋白的表达,也说明本研究制备的纳米粒成功地将质粒包裹到白蛋白纳米球基质中。并且观察到载基因磁性纳米球组在外加磁场的情况下比载基因纳米球组在相同条件下表达量要多,转染效率较高。也表明了复合物中的磁性纳米粒在外加磁场的情况下具有磁导向性,并且普鲁士蓝染色结果显示外加磁场组进入细胞内的磁性纳米粒更多,都反映了制备的磁性白蛋白纳米球具有磁靶向性。以往的体内外研究均显示,作为药物载体的磁性白蛋白纳米颗粒在外加磁场的情况下具有良好的靶向性,使靶组织中的药物水平大大提高^[16,17]。因此,磁性白蛋白纳米球既具有白蛋白纳米颗粒的无毒性,缓释作用,又具有磁性纳米颗粒的磁靶向性,可以实现基因安全靶向输送的目的,有望作为一种潜在的基因载体应用到生物医学领域。

参考文献

- 1 Torchilin VP, Berdichevsky VR, Barsukov AA, *et al.* Coating liposomes with protein decreased their capture by macrophages[J]. *FEBS Lett*, 1980, 111: 184-188
- 2 Anhorn MG, Wagner S, Kreuter J, *et al.* Specific targeting of HER2 overexpressing breast cancer cells with doxorubicin-loaded trastuzumab-modified human serum albumin nanoparticles[J]. *Bioconjug Chem*, 2008, 19(12): 2321-2331
- 3 Spnkuch B, Steinhauser I. Downregulation of Plk1 expression by receptor-mediated uptake of antisense oligonucleotide-loaded nanoparticles[J]. *Neoplasia*, 2008, 10(3): 223-234
- 4 Dey S, Maiti TK. Superparamagnetic nanoparticles and RNAi-mediated gene silencing: evolving class of cancer diagnostics and biologics[J]. *J Nanomater*, 2012, 2012: 1-15
- 5 Laurent S, Mahmoudi M. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles: promises for diagnosis and treatment of cancer[J]. *Int J Mol Epidemiol Genet*, 2011, 2: 367-390
- 6 Liu D, Wu W, Chen X, *et al.* Conjugation of paclitaxel to iron oxide nanoparticles for tumor imaging and therapy[J]. *Nanoscale*, 2012, 4: 2306-2310
- 7 Zhao L, Huo M, Liu J, *et al.* In vitro investigation on the magnetic thermochemo therapy mediated by magnetic nanoparticles combined with methotrexate for breast cancer treatment[J]. *J Nanosci Nanotechnol*, 2013, 13: 741-745
- 8 Santhosh PB, Ulrich NP. Multifunctional superparamagnetic iron oxide nanoparticles: Promising tools in cancer theranostics[J]. *Cancer Lett*, 2013, 336: 8-17
- 9 Du Y, Zhang D, Liu H, Lai R. Thermochemotherapy effect of nanosized As₂O₃/Fe₃O₄ complex on experimental mouse tumors and its influence on the expression of CD44v6, VEGF-C and MMP-9[J]. *BMC Biotechnol*. 2009, 9: 1-12

(下转第 176 页)

胞凋亡,降低血清心肌酶(AST、CPK、LDH)和 cTnT 含量,提示葛根素对重度烧伤大鼠心肌组织损伤具有一定的抑制作用作用。

生理状态下,机体内氧自由基(ROS)能够维持动态平衡,当SOD、CAT活性降低而导致ROS过剩时即可诱发机体氧化应激损伤^[5,6]。MPO存在于中性粒细胞,能够清除一氧化氮(NO)等自由基而表现出抗氧化活性,所以SOD、CAT及MPO活性能够反映机体抗氧化能力;脂质过氧化终产物MDA含量水平则能够间接反映机体氧化应激损伤程度^[7,8]。

激活型caspase-3(cleaved caspase-3)能够激活多种凋亡刺激因子而参与调节细胞凋亡的整个过程;Bax和Bcl-2均为Bcl-2基因家族成员,其中Bax能够诱导线粒体内具有促细胞凋亡活性的细胞色素C释放并激活促凋亡蛋白caspase-9^[9]。Bcl-2则能够与凋亡刺激因子结合而阻滞其被cleaved caspase-3激活、抑制线粒体破裂而降低细胞色素C释放,并可与Bax形成二聚体而抑制其促凋亡作用^[10,11]。因此Bcl-2/Bax比值更加能够反映Bcl-2基因家族对细胞凋亡的调控作用^[12]。

本研究发现,经葛根素干预治疗能够有效改善重度烧伤大鼠心肌组织SOD、CAT、MPO活性并降低MDA含量,抑制重度烧伤大鼠心肌细胞凋亡并下调cleaved caspase-3和Bax表达、上调Bcl-2表达、提高Bcl-2/Bax比值,降低炎性细胞因子TNF- α 、IL-1、IL-6、IL-8含量并提高IL-10含量,提示葛根素具有抑制重度烧伤后心肌组织氧化应激、抑制心肌细胞凋亡的作用、抑制炎性反应的作用。

综上所述,葛根素对重度烧伤大鼠心肌组织损伤和炎性反应具有一定的抑制作用,其机制可能与葛根素能够有效改善抗氧化酶活性、调节凋亡相关蛋白表达以及调节炎性细胞因子表达有关。提示葛根素可能具有改善重度烧伤患者心肌组织损伤和炎性反应

的潜在价值,有待于进一步临床研究。

参考文献

- 王会敏,田炜,喇孝瑾,等. 葛根素、齐墩果酸及其配伍对T2DM大鼠氧化应激和炎症反应的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(15): 174-177
- 张玲,庞莉,高俊虹,等. 葛根素对糖尿病大鼠心肌细胞凋亡及相关蛋白表达的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2011, 17(3): 323-325
- 黄跃生. 烧伤后早期心肌损害的分子机制及防治研究进展[J]. 中华烧伤杂志, 2004, 20(5): 257-259
- 刘晟,陈旭林,蔡晨,等. 葛根素对烫伤大鼠早期心肌组织丙二醛、髓过氧化物酶的影响[J]. 中华急诊医学杂志, 2006, 15(8): 700-702
- Yoon GA, Park S. Antioxidant action of soy isoflavones on oxidative stress and antioxidant enzyme activities in exercised rats[J]. Nutr Res Pract, 2014, 8(6): 618-624
- Li G, Zhang HX, Wang YP, *et al.* Protective effect of phloroglucinol on renal ischemia and reperfusion injury[J]. Beijing Daxue Xuebao, 2015, 47(5): 743-748
- 刘振,王鹏飞,刘玲玲,等. 髓过氧化物酶在急性冠脉综合征危险分层中的临床意义[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2015, 5: 700-701
- Li J, Duan X, Dong D, *et al.* Hepatic and nephric NRF2 pathway Up-regulation, an early antioxidant response, in acute arsenic-exposed mice[J]. Int J Environ Res Public Health, 2015, 12(10): 12628-12642
- 段若望,李明新,宋炯. 不同血液pH值对大鼠肺移植时缺血再灌注损伤的影响[J]. 中华麻醉学杂志, 2010, 30(6): 685-687
- Ogura T, Tanaka Y, Tamaki H, *et al.* Docetaxel induces Bcl-2- and pro-apoptosis caspase-independent death of human prostate cancer DU145 cells[J]. Int J Oncol, 2016, 48(6): 2330-2338
- Farhadi F, Jahanpour S, Hazem K, *et al.* Garlic (*Allium sativum*) fresh juice induces apoptosis in human oral squamous cell carcinoma: the involvement of caspase-3, bax and bcl-2[J]. J Dent Res Dent Clin Dent Prospects, 2015, 9(4): 267-273
- Saeedi Borujeni MJ, Hami J, Haghir H, *et al.* Evaluation of Bax and Bcl-2 proteins expression in the rat hippocampus due to childhood febrile seizure[J]. Iran J Child Neurol, 2016, 10(1): 53-60
(收稿日期:2016-12-06)
(修回日期:2017-01-12)
- Williams DA. Gene therapy advances but struggles to interpret safety data in small animal models[J]. Mol Ther, 2006, 13(6): 1027-1028
- 张晓燕,平其能. 多西紫杉醇白蛋白纳米粒的制备及体外评价[J]. 药学进展, 2008, 32(5): 223-228
- 龚连生,张阳德,刘恕. 磁性阿霉素白蛋白纳米粒在移植性肝癌模型中的磁靶向性[J]. 中华肝胆外科杂志, 2003, 9(9): 543-546
- 董兰凤,宋淑霞,侯洁,等. rhIL-2与阿霉素白蛋白磁微球靶向治疗肿瘤的协同作用[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2003, 19(6): 557-559
(收稿日期:2017-05-15)
(修回日期:2017-05-26)
- 张良珂. 叶酸受体介导的米托蒽醌白蛋白纳米粒靶向卵巢癌细胞给药系统的研究[D]. 成都:四川大学华西药学院, 2004
- 李磊,赵秀丽,乔明曦,等. 贝伐单抗介导的阿霉素白蛋白纳米粒的制备与优化[J]. 中南药学, 2011, 9(9): 641-644
- Gazzaniga P, Gradilone A, Giuliani L, *et al.* Expression and prognostic significance of Livin, Survivin and other apoptosis related genes in the progression of superficial bladder cancer[J]. Ann Oncol, 2003, 14(1): 85-90
- 张阳德,郭妍,刘蔚东,等. 用白蛋白纳米粒做基因载体的体外研究[J]. 中华实验外科杂志, 2004, 21(12): 1456-1458

(上接第171页)