

· 论 文 ·

## 化学-光热联合治疗的靶向铂药纳米微球的构建及体外评价

唐瑾<sup>1</sup>, 王宇<sup>1</sup>, 杨岁<sup>1</sup>, 孙玉<sup>1,2\*</sup>( <sup>1</sup>皖南医学院药学院, 芜湖 241002; <sup>2</sup>皖南医学院医用材料合成应用研究所, 芜湖 241002 )

**摘 要** 为提高顺铂的治疗效果并减少副作用, 构建了一种具有化学-光热联合疗效的靶向铂药递送体系。以聚乙二醇-聚乳酸共聚物为载体, 采用超声乳化法制备负载顺铂和光敏剂吲哚菁绿的纳米微球, 再由西妥昔单抗进行表面修饰, 从而制备西妥昔单抗修饰的近红外活化的载药纳米微球(CPINPs)。通过表征平均粒径、Zeta 电位、单抗偶联率、光热效应等考察其理化性质; 通过激光共聚焦显微镜测定体外细胞摄取情况; 通过 CCK8 实验评价体外抗肿瘤活性。结果表明, 所制备的 CPINPs 纳米微球平均粒径为  $(263.9 \pm 3.73)$  nm, 多分散指数为  $0.18 \pm 0.03$ , Zeta 电位为  $-(23.43 \pm 0.42)$  mV, 单抗偶联率为  $(44.0 \pm 1.72)\%$ ; 体外光热实验显示, 经近红外光照射后的 CPINPs 会产生导致肿瘤细胞死亡的光热效应; 体外细胞摄取实验结果表明, 近红外光对细胞摄取有促进作用, A549 细胞会选择性地摄取更多受近红外照射过的 CPINPs; 体外细胞毒性实验表明, 近红外光照射处理的 CPINPs 具有化学-光热联合治疗效果, 其抑制 A549 细胞增殖的能力高过游离顺铂和无光照处理组, 给药 24 h 的  $IC_{50}$  为  $(8.67 \pm 0.04)$   $\mu$ mol/L。实验结果表明, 本研究构建的多功能给药系统有望成为一种更为高效的肺癌靶向治疗方法。

**关键词** 化学-光热治疗; 靶向运输; 西妥昔单抗; 顺铂; 纳米微球

中图分类号 R945 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2021)06-0684-08

doi: 10.11665/j.issn.1000-5048.20210605

引用本文 唐瑾, 王宇, 杨岁, 等. 化学-光热联合治疗的靶向铂药纳米微球的构建及体外评价[J]. 中国药科大学学报, 2021, 52(6): 684 - 691.

Cite this article as: TANG Jin, WANG Yu, YANG Sui, et al. Construction and *in vitro* evaluation of targeted cisplatin-loaded nanoparticles for chemo-photothermal cancer therapy[J]. J China Pharm Univ, 2021, 52(6): 684 - 691.

Construction and *in vitro* evaluation of targeted cisplatin-loaded nanoparticles for chemo-photothermal cancer therapyTANG Jin<sup>1</sup>, WANG Yu<sup>1</sup>, YANG Sui<sup>1</sup>, SUN Yu<sup>1,2\*</sup><sup>1</sup>School of Pharmacy, Wannan Medical College, Wuhu 241002;<sup>2</sup>Institute of Synthesis and Application of Medical Materials, Wannan Medical College, Wuhu 241002, China

**Abstract** To improve the therapeutic effect of cisplatin and reduce its side effects, a multifunctional drug delivery system with targeted and chemo-photothermal effect was constructed. Using polyethylene glycol polylactic acid block copolymer as a carrier, nanoparticles loaded with antitumor drug cisplatin and photosensitizer indocyanine green were prepared by ultrasonic emulsification, and the surface was then modified by cetuximab to prepare cetuximab-decorated and near-infrared (NIR)-activated nanoparticles (CPINPs). The physicochemical properties were characterized by mean particle size, Zeta potential, mAb conjugating rate and photothermal effect; the *in vitro* cell uptake was measured by laser confocal microscopy; and the *in vitro* antitumor activity was evaluated by CCK8 assay. The results indicated that CPINPs had mean particle diameter of  $(263.9 \pm 3.73)$  nm, polydispersity index of  $0.18 \pm 0.03$ , Zeta potential of  $-(23.43 \pm 0.42)$  mV, and cetuximab conjugating rate of  $(44.0 \pm 1.72)\%$ . The *in vitro* photothermal experiments showed that CPINPs upon NIR irradiation induced a photothermal effect,

收稿日期 2021-07-01 \* 通信作者 Tel: 0553-3932026 E-mail: whsunyu@wnmc.edu.cn

基金项目 安徽省高校科学研究资助项目(No. KJ2020A0613); 皖南医学院第三批学术和技术带头人及后备人选资助项目(No. 201908)

thus destroying the tumor cells. The *in vitro* cell uptake experiments demonstrated that NIR irradiation could promote cell uptake, and that more CPINPs were effectively internalized into A549 cells. The *in vitro* cytotoxicity test indicated that CPINPs treated with NIR irradiation had the effect of combined chemo-photothermal therapy, leading to higher cytotoxicity than that of free cisplatin or treatment without NIR, with  $IC_{50}$  values being  $(8.67 \pm 0.04) \mu\text{mol/L}$  for 24 h incubation. To sum up the multifunctional drug delivery system constructed in the current work expected to be a more efficient targeted therapy strategy for lung cancer.

**Key words** chemo-photothermal therapy; targeted delivery; cetuximab; cisplatin; nanoparticles

This study was supported by the Scientific Research Project of Universities in Anhui Province (No. KJ2020A0613); and the Foundation for the Third Batch of Academic and Technical Leaders and Reserve Candidates of Wannan Medical College (No. 201908)

化疗因其较高的治疗效率被公认为是肿瘤治疗的主要手段,但传统的化疗药物因选择性差、副作用大,无法满足临床需求。靶向纳米给药系统克服了传统治疗方法的局限性,在给药灵活性、低毒性和药物控释等方面显示出高于游离药物的临床优势。通过在纳米粒(NPs)的表面偶联抗体、核酸适配体、多肽等靶向因子,纳米粒的特异性能得到显著增强,能实现主动靶向给药目的,使肿瘤治疗进入精准靶向治疗时代<sup>[1-3]</sup>。单克隆抗体是一个应用非常成功的靶向因子,经单抗修饰的纳米粒能识别细胞表面生物标志物并将药物递送至靶组织,从而启动载药纳米粒的受体内吞作用,提高药物治疗效果<sup>[4-5]</sup>。西妥昔单抗(cetuximab, C225, 爱必妥®)是FDA批准上市的人/鼠嵌合型抗EGFR的IgG1型单克隆抗体,主要用于转移性结直肠癌、局部晚期或复发/转移性头颈部鳞状细胞癌、晚期非小细胞肺癌及其他恶性实体瘤的治疗<sup>[6]</sup>。目前,西妥昔单抗还被用于纳米粒表面的修饰,从而实现肿瘤药物的靶向释放、克服肿瘤对单克隆抗体的耐药性、降低药物的非特异性毒性等<sup>[7-8]</sup>。

光热疗法(PTT)是一种新型的非侵袭性肿瘤治疗方法。其利用光热剂在肿瘤中聚集的特性,通过激光照射刺激造影剂引起肿瘤细胞热损伤,进而导致肿瘤细胞变性坏死,具有时空选择性好、副作用小、侵袭性小等优点<sup>[9-10]</sup>。将光热疗法和化疗联合使用的化学-光热联合疗法是一种有着广阔应用前景的治疗方法<sup>[11-13]</sup>,该方法中光热疗法以协同方式增强化疗药物的细胞毒性,共同抑制肿瘤的发展;该方法能最大限度地减少光热剂和化学药物的使用,从而减少剂量相关副作用以及热疗引起的组织损伤和炎症。为实现化学-光热联合治

疗,最常采用的策略是将两种或多种不同的治疗药物与光敏剂包裹在一起制成纳米颗粒进行体内运输。吲哚菁绿(ICG)是FDA批准用于临床的近红外成像试剂,也是光热疗法中常用的造影剂。将ICG包裹或掺杂进纳米粒中,能避免ICG的自淬灭,提高稳定性和循环时间,促进ICG在肿瘤中的积聚<sup>[14]</sup>。而如果这些纳米粒负载了化疗药物且又被靶向配体所修饰,则可实现肿瘤特异性靶向,实现化学-光疗联合治疗<sup>[15-17]</sup>。

顺铂(cisplatin, CDDP)是1978年被FDA批准上市的第1个铂类抗肿瘤药物,广泛用于卵巢癌、乳腺癌、肺癌、头颈癌等实体瘤的治疗<sup>[18]</sup>。但其水溶性小、不良反应大、易产生耐药性,应用范围和治疗效果受到限制<sup>[19]</sup>。因此,为提高顺铂的治疗效果、降低不良反应,本研究构建了一种能被近红外光激发、表面由西妥昔单抗修饰、核内载有顺铂和吲哚菁绿的纳米微球,并表征其理化性质、评价其体外活性。

## 1 材料

### 1.1 药品与试剂

顺铂(99%, 山东铂源药业有限公司);西妥昔单抗(5 mg/mL, 大连美仑生物技术有限公司);马来酰亚胺-聚乙二醇<sub>3400</sub>-聚乳酸<sub>34000</sub>(Mal-PEG<sub>3400</sub>-PLA<sub>34000</sub>)和甲氧基-聚乙二醇<sub>2000</sub>-聚乳酸<sub>8000</sub>(MPEG<sub>2000</sub>-PLA<sub>8000</sub>)(上海芃硕生物科技有限公司);CCK8试剂盒和DAPI染色液(碧云天生物技术研究);annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒(美国BD公司);其他试剂均为市售分析纯。

### 1.2 仪器

HT7700型透射电子显微镜(日本Hitachi公司);Nano ZS90型纳米粒度电位仪(英国Malvern

Zetasizer公司); Ultrospec 7000型紫外可见分光光度计(美国GE公司); Optima 8000电感耦合等离子光谱质谱仪(美国PE公司); SP8激光共聚焦显微镜(德国Leica公司); FACSVerse流式细胞仪(美国BD公司); XthermT3红外热成像仪(合肥英睿系统技术有限公司)。

### 1.3 细胞株

人非小细胞肺癌细胞系A549、人乳腺癌细胞系MCF-7购自中科院上海细胞所。

## 2 方法

### 2.1 靶向载药微球CPINPs的制备

首先制备巯基化西妥昔单抗(Cetuximab-SH): 向西妥昔单抗溶液(100  $\mu\text{L}$ , 5 mg/mL)中加入20倍过量的14 mmol/L 2-亚氨基噻吩(Traut's试剂)室温反应1 h, 加适量EDTA缓冲液(pH 8)透析、离心, 用Ellmann's试剂测定巯基数目。然后, 参考文献[20-21]并略作修改后制备靶向载药微球CPINPs: 用二氯甲烷配制1 mg/mL的聚合物溶液(由MPEG-PLA和Mal-PEG-PLA按质量比1:1组成), 用去离子水配制1 mg/mL的ICG溶液和1 mg/mL的CDDP溶液。取去离子水6 mL, 加入ICG和CDDP溶液各1 mL, 混匀, 超声下(20 kHz, 285 W)滴加聚合物溶液2 mL, 继续超声乳化6 min, 然后将乳液室温避光敞口搅拌24 h。将乳液转入超滤管(3 000 MWC, 15 mL)中离心(5 000 r/min, 4  $^{\circ}\text{C}$ , 25 min), 除去残留的有机溶剂和未被包裹的药物, 得未偶联单抗的载药微球PINPs。将超滤后的微球乳液用适量PBS(pH 7.4)稀释, 加上述巯基化处理后的西妥昔单抗溶液30  $\mu\text{L}$ , 冰水浴下避光反应24 h。之后加入2-巯基乙醇1  $\mu\text{L}$ , 继续反应15 min。再次将乳液超滤20 min, 即制得西妥昔单抗修饰的载药微球CPINPs。

### 2.2 靶向载药微球CPINPs的表征

超滤后的微球用磷钨酸溶液负染, 自然晾干, 用透射电子显微镜(TEM)观察其表观形态。用纳米粒度电位仪(DLS)测定25  $^{\circ}\text{C}$ 时微球的粒径、粒径分布、Zeta电位。用紫外-可见分光光度计测定微球中ICG的含量: 取上述CPINPs溶液100  $\mu\text{L}$ 加入二甲亚砜(DMSO)3 mL超声, 直至其结构被完全破坏为均一溶液, 用紫外-可见分光光度计测定779 nm处的吸收度。用电感耦合等离子光谱质谱

仪(ICP-MS)测定微球溶液中的铂元素含量, 核算顺铂含量。包封率(EE)=(包裹的药物质量/最初加入的药物质量) $\times 100\%$ , 载药量(LE)=(包裹的药物质量/微球的质量) $\times 100\%$ 。

### 2.3 微球表面单抗偶联率测定

用BCA试剂盒测定CPINPs中西妥昔单抗的偶联率<sup>[22-23]</sup>。按试剂盒说明配制BCA工作液和不同浓度标准蛋白溶液, 用酶标仪测定562 nm处的吸收度, 绘制标准蛋白曲线。同法配制CPINPs样品溶液, 测定吸收度, 根据标准曲线计算样品中的单抗含量和偶联率。

### 2.4 光热效应测定

分别将CPINPs溶液(ICG质量浓度为40  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 1 mL、游离ICG溶液(40  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )、PBS溶液(pH 7.4)置1.5 mL离心管中, 用近红外光(808 nm, 1.6 W/ $\text{cm}^2$ )照射, 用红外热成像仪记录各溶液的温度-时间变化曲线, 评价光热效应。

### 2.5 细胞培养

选用EGFR抗原高表达的人非小细胞肺癌细胞株A549以及EGFR抗原阴性表达的人乳腺癌细胞株MCF-7进行细胞实验<sup>[24-25]</sup>。A549、MCF-7细胞均贴壁生长, 采用含10%胎牛血清、1%双抗的RPMI 1640完全培养基, 于37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$ 培养箱中培养, 每3~4天传代, 取对数生长期细胞进行实验。

### 2.6 体外细胞摄取

采用激光共聚焦显微镜(CLSM)观测靶向载药微球的细胞内在化过程及细胞内的分布情况。具体操作如下: 将A549和MCF-7细胞按每孔 $5 \times 10^4$ 个细胞的密度接种到共聚焦培养皿( $\phi = 20 \text{ mm}$ )中, 用RPMI 1640 2 mL孵育24 h。移去培养基, 分别加入含有CPINPs或游离ICG(ICG质量浓度均为20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )的新鲜培养基1.5 mL, 37  $^{\circ}\text{C}$ 继续孵育3 h, 然后用PBS冲洗细胞2次, 用多聚甲醛溶液(4%)固定细胞20 min。再用DAPI 1 mL染色细胞核5 min, PBS冲洗3次, 最后用激光共聚焦显微镜观察细胞。荧光成像中, DAPI的激发波长 $\lambda_{\text{EX}} = 405 \text{ nm}$ , ICG的激发波长 $\lambda_{\text{EX}} = 561 \text{ nm}$ 。为研究光热效应对细胞摄取的影响, 当细胞加入含有CPINPs的新鲜培养基后, 先用近红外光(808 nm, 1.6 W/ $\text{cm}^2$ )照射3 min, 再按上述步骤进行孵育、染色、观察细胞摄取过程。



## 2.7 体外细胞毒性及光热治疗效果

采用 CCK8 实验测定靶向载药纳米微球 CPINPs 的细胞毒性,以顺铂和游离 ICG 为阳性对照,用 GraphPad Prism 软件计算  $IC_{50}$ 。具体操作如下:将 A549 细胞株按每孔  $5 \times 10^3$  个细胞的密度接种到 96 孔板中,用 RPMI 1640 100  $\mu$ L 培养基孵育 24 h。移去培养基,将含相等铂药浓度的 CPINPs 和 CDDP、等光敏剂浓度的游离 ICG 用新鲜培养基等比稀释后加入各孔,孵育 24 h。没有给药的细胞作为空白对照组,加样后先用近红外光照射处理 (808 nm, 1.6 W/cm<sup>2</sup>, 1 min) 的细胞作为光热治疗组。然后向每孔中加入增强型 CCK8 溶液 10  $\mu$ L 并轻轻混匀,培养 3 h,用酶标仪测定每孔 450 nm 处的吸收度,细胞存活率 =  $[(A_{\text{测试}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}})] \times 100\%$ 。

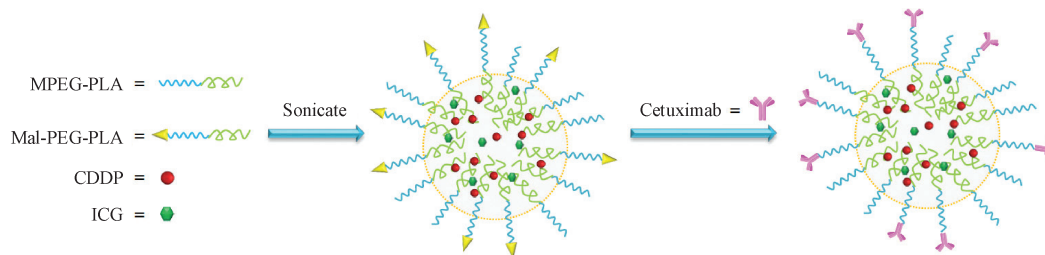
## 3 结果与讨论

### 3.1 CPINPs 的制备及表征结果

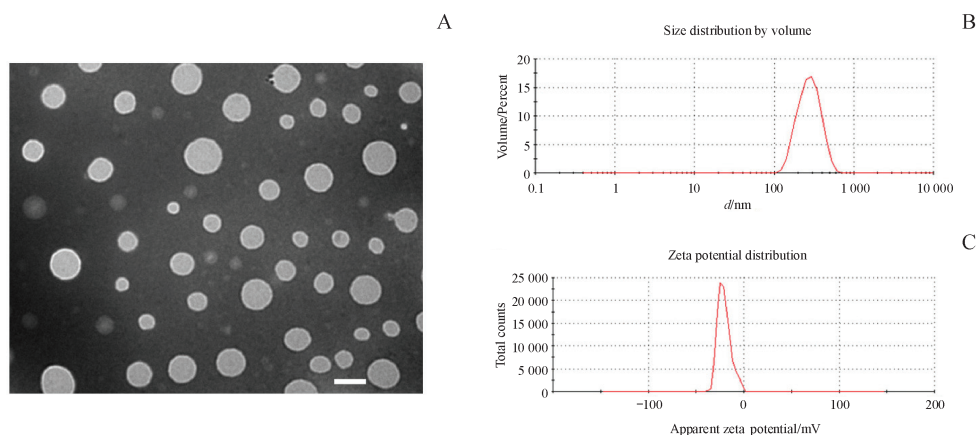
采用自组装超声乳化法制备了基于西妥昔单抗的靶向载药微球 CPINPs:超声下 MPEG-PLA 和

Mal-PEG-PLA 能很快在 DCM 溶液中混为均一透明溶液,当滴加进 ICG 和顺铂水溶液时,顺铂和 ICG 被包裹进入微球中,反应液逐渐变为均一、清澈的墨绿色。后经室温搅拌挥发除去 DCM 后,溶液仍为墨绿色。加入巯基化单抗与之反应,部分微球发生了团聚,但溶液颜色不变。如图 1 所示, MPEG-PLA 与 Mal-PEG-PLA 中的疏水性 PLA 链段包裹顺铂和 ICG 形成内核,当加入巯基化西妥昔单抗后,马来酰亚胺基与巯基发生偶联,西妥昔单抗与 PEG 链段一起形成微球的亲水性外壳。PEG 链段的引入使得微球具有隐匿性,可延长其体内循环时间<sup>[26]</sup>;西妥昔单抗的引入既可发挥与顺铂的联合治疗,又使微球具有主动靶向性。

微球的表观形态、粒径分布和 Zeta 电位如图 2 所示:TEM 图显示微球 CPINPs 为规则的球形,粒径在 100 nm 左右。DLS 测得微球 CPINPs 的平均粒径为  $(263.9 \pm 3.73)$  nm,多分散指数(PDI)为  $0.18 \pm 0.03$ , Zeta 电位为  $-(23.43 \pm 0.42)$  mV。TEM 所得的粒径比 DLS 所得的粒径偏小,其原因是由于 TEM 显示的是干燥后的微球形态和粒



**Figure 1** Preparation scheme of cetuximab-decorated and near-infrared (NIR)-activated nanoparticles (CPINPs)  
MPEG-PLA: MPEG<sub>2000</sub>-PLA<sub>8000</sub>; Mal-PEG-PLA: Mal-PEG<sub>3400</sub>-PLA<sub>34000</sub>; CDDP: cisplatin; ICG: Indocyanine Green



**Figure 2** Characterization of CPINPs

A: TEM images (bars represent 100 nm); B: Particle size distribution determined by DLS; C: Zeta potential distribution

径,而DLS测试的是溶液中微球的水合粒径,其包含微球表面的PEG水合层,故相对偏大。

采用电感耦合等离子光谱质谱仪测定了微球CPINPs中的铂元素含量,采用紫外-可见分光光度计测定了微球中的ICG含量,经计算:药物(以Pt计)包封率为 $(2.95 \pm 0.21)\%$ ,载药率为 $(0.34 \pm 0.08)\%$ ;ICG包封率为 $(61.5 \pm 1.41)\%$ ,载药率为 $(7.70 \pm 0.41)\%$ 。采用BCA试剂盒测得CPINPs微球表面西妥昔单抗的偶联率为 $(44.0 \pm 1.72)\%$ 。

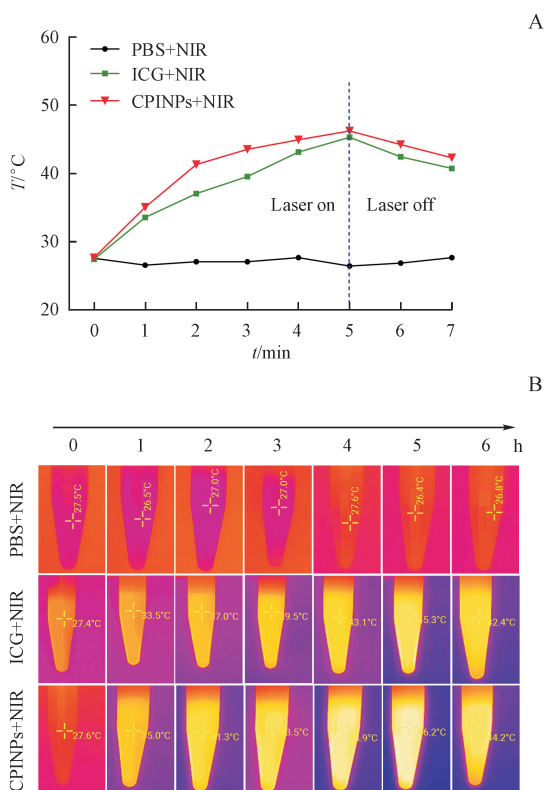
### 3.2 光热实验结果

以PBS缓冲液(pH 7.4)和ICG溶液为对照,用红外热成像仪记录近红外光(808 nm,  $1.6 \text{ W/cm}^2$ )照射下的CPINPs微球溶液(相同ICG浓度)的温度变化过程,研究微球的光热效应。如图3所示,经近红外光照射后,PBS溶液的温度几乎不变,而CPINPs和ICG溶液的温度却显著升高。照射4 min时,PBS溶液的温度保留在室温 $27^\circ\text{C}$ 附近,而CPINPs和ICG溶液的温度则超过了 $43^\circ\text{C}$ ,此温度会导致细胞不可逆损伤<sup>[27-28]</sup>。继续NIR照射,

CPINPs和ICG溶液温度进一步上升。照射5 min后,CPINPs及ICG溶液的温度分别达到了 $46.2^\circ\text{C}$ 和 $45.3^\circ\text{C}$ ,该温度则会进一步导致肿瘤细胞的巨大损伤。并且,近红外光照射下CPINPs的温度变化幅度明显大于游离ICG,这与文献报道<sup>[29-30]</sup>一致。这可能是由于热辐射受到微球的截留,使得近红外照射下的CPINPs具有较高的热效应和较低的散热,从而导致温度响应幅度增加。

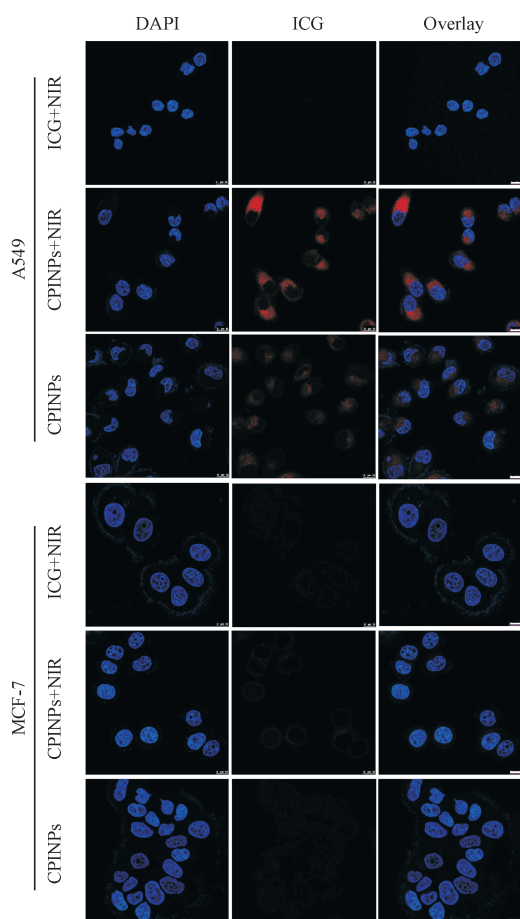
### 3.3 细胞摄取实验结果

西妥昔单抗能够通过抗体-抗原的特异性亲和作用有效地识别EGFR抗原高表达的肿瘤细胞,故本研究选择EGFR高表达的A549细胞和低表达的MCF-7细胞作对照实验,用CLSM检测微球CPINPs中西妥昔单抗的靶向能力及微球在近红外光激发下产生的光热效应。当向培养皿里的A549和MCF-7细胞中分别加入含相同ICG浓度的ICG或CPINPs溶液孵育3 h后,用DAPI对细胞核进行染色,用CLSM观测细胞形态和荧光。如图4所示,细胞核被DAPI染色后呈现蓝色荧光,微球因包裹ICG呈现红色荧光。研究发现:游离ICG作用的A549和MCF-7实验组细胞内几乎没有红色荧光,说明游离ICG溶液难被肿瘤细胞摄取到细胞质中。而载药微球CPINPs作用的A549细胞内的红色荧光强度略高于其作用MCF-7细胞内的荧光强度,说明受西妥昔单抗与细胞表面的EGFR受体的特异性结合影响,CPINPs能更多地进入EGFR受体高表达的A549细胞内。进一步对比研究近红外光照射对细胞摄取的影响后发现,当CPINPs经NIR照射激发后,与其一起孵育的A549细胞内的红色荧光明显强于无光照处理组,表明NIR能促使更多的CPINPs进入到细胞质中,使细胞内在化效率变高。推测其原因可能与以下两方面有关:一是在近红外光的激发下,ICG产生热效应,随着温度升高细胞变得活跃,从而增加肿瘤组织对化疗药物的敏感性以及药物摄取等,直到过热开始造成细胞损伤<sup>[10,30]</sup>;二是温度升高增加了细胞的通透性,从而增强了药物在肿瘤细胞内的积聚<sup>[31-32]</sup>。由此可见,经西妥昔单抗修饰后的微球更易于与EGFR高表达的肿瘤细胞结合并被摄取进入细胞内,说明其具有主动靶向性,而且近红外光的照射能有效促进A549细胞摄取CPINPs的过程。



**Figure 3** Photothermal effect of PBS, free ICG and CPINPs (NIR: 808 nm,  $1.6 \text{ W/cm}^2$ )

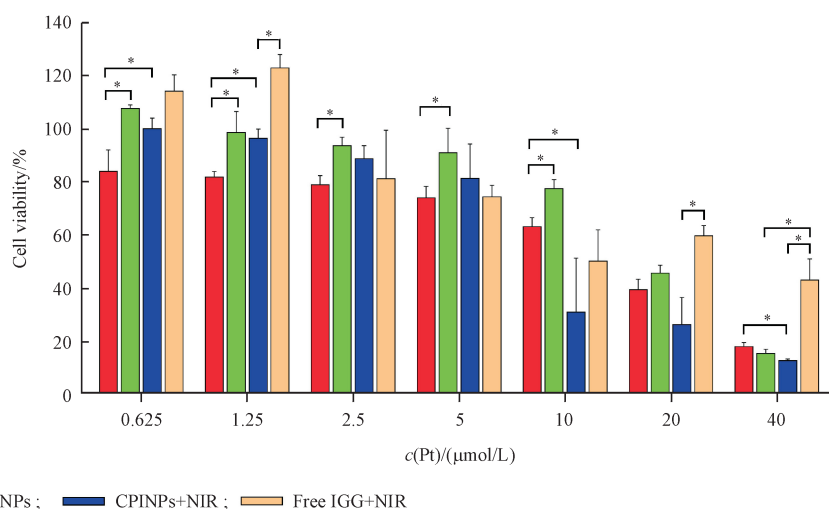
A: Time-dependent temperature increase profiles; B: Infrared thermographic images



**Figure 4** Cellular uptake of A549 cells and MCF-7 cells treated with free ICG, CPINPs (with or without NIR laser irradiation) observed by CLSM (Scale bars = 10  $\mu\text{m}$ )

### 3.4 体外细胞毒性结果

以 CDDP 和 ICG 为阳性对照,采用 CCK8 实验考察靶向纳米载药微球 CPINPs 抑制 A549 细胞增殖的能力。如图 5 所示,加药孵育 24 h 后,随着给药浓度增加,细胞存活率均明显降低。当给药浓度不是很高时( $c_{\text{Pt}} \leq 20 \mu\text{mol/L}$ ),CPINPs 的细胞毒性小于游离铂药 CDDP,推测其原因可能与微球中的铂药被包裹在核内,需缓慢释放到核外发挥作用有关。但随着给药浓度增加,两者差距逐渐减小。进一步对比研究近红外光照射对细胞毒性的影响后发现:近红外光照射能激发 ICG 产生光热效应,从而增强 CPINPs 的细胞毒性,尤其是包裹的 ICG 浓度越大,这种热效应更为明显。当给药浓度  $c_{\text{Pt}} \geq 10 \mu\text{mol/L}$  时,受化学-光热联合作用, NIR 照射的 CPINPs 的细胞存活率明显低于含相同光敏剂浓度的游离 ICG 对照组、含相同铂药浓度的 CDDP 对照组、以及无光照处理的微球组。当给药浓度为  $40 \mu\text{mol/L}$  时, NIR 光照处理的 CPINPs 组的细胞存活率仅为  $(12.50 \pm 0.68)\%$ ,明显低于 CDDP 组的  $(17.92 \pm 1.51)\%$ 、无光照 CPINPs 组的  $(15.27 \pm 1.61)\%$ 、光照 ICG 组的  $(42.97 \pm 7.89)\%$ 。进一步计算得 CDDP 组、CPINPs 组和 NIR 光照处理的 CPINPs 组的  $\text{IC}_{50}$  分别为  $(12.37 \pm 0.05) \mu\text{mol/L}$ 、 $(17.96 \pm 0.02) \mu\text{mol/L}$ 、 $(8.67 \pm 0.04) \mu\text{mol/L}$ 。由此可见,微球核内包裹



**Figure 5** *In vitro* cellular viability of A549 cells after 24 h incubation with CDDP, Free ICG and CPINPs (with or without NIR laser irradiation) ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$



ICG 并进行近红外光照射激发能显著提高细胞摄取药物的过程,提高其抑制肿瘤细胞增殖的能力。因此,近红外光照射下的 CPINPs 具有较好的化学-光热联合作用效果。

#### 4 结 论

靶向给药是降低抗肿瘤药物的副作用的有效手段,化学-光疗联合治疗是提高药物抗肿瘤活性的重要策略。本研究设计合成了一种新型的既能靶向 EGFR 高表达肿瘤细胞,又具有化学-光热疗效的抗肿瘤药物微球 CPINPs,并进行了体外评价。该微球是以 MPEG-PLA 和 Mal-PEG-PLA 为基材成核,核内包裹了小分子抗肿瘤药顺铂以及光敏剂吲哚菁绿,表面经西妥昔单抗修饰后而得。TEM 显示微球为规则的球形,DLS 测得平均粒径为  $(263.9 \pm 3.73) \text{ nm}$ 。在西妥昔单抗的作用下,CPINPs 能主动靶向 EGFR 抗原高表达的 A549 细胞并被其摄取进入细胞质;受 808 nm 近红外光激发核内 ICG 后,CPINPs 升温效应明显,能产生光热效应,并具有化学-光热联合治疗效果;A549 细胞给药 24 h 后  $IC_{50}$  为  $(8.67 \pm 0.04) \mu\text{mol/L}$ ,优于游离顺铂。本研究可为其他高活性靶向抗肿瘤药物运输体系研发提供新思路。

#### References

- [1] Guo X, Wei X, Chen Z, *et al.* Multifunctional nanoplateforms for subcellular delivery of drugs in cancer therapy[J]. *Prog Mater Sci*, 2020, **107**:100599.
- [2] Yoo J, Park C, Yi G, *et al.* Active targeting strategies using biological ligands for nanoparticle drug delivery systems[J]. *Cancers*, 2019, **11**(5):640.
- [3] Huang S, Shi M, He Y, *et al.* Construction an *in vitro* evaluation of DC-targeted aptamer-modified *Pseudomonas aeruginosa* DNA vaccine delivery system[J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2019, **50**:743-752.
- [4] Zhao Z, Ukidve A, Kim J, *et al.* Targeting strategies for tissue-specific drug delivery[J]. *Cell*, 2020, **181**(1):151-167.
- [5] Marques AC, Costa PJ, Velho S, *et al.* Functionalizing nanoparticles with cancer-targeting antibodies: a comparison of strategies[J]. *J Control Release*, 2020, **320**:180-200.
- [6] Wong SF. Cetuximab: an epidermal growth factor receptor monoclonal antibody for the treatment of colorectal cancer[J]. *Clinical Therapeutics*, 2005, **27**(6):684-694.
- [7] Sabra R, Billa N, Roberts CJ. Cetuximab-conjugated chitosan-pectinate (modified) composite nanoparticles for targeting colon cancer[J]. *Int J Pharm*, 2019, **572**:118775.
- [8] Santos EDS, Nogueira KAB, Fernandes LCC, *et al.* EGFR targeting for cancer therapy: pharmacology and immunoconjugates with drugs and nanoparticles[J]. *Int J Pharmaceut*, 2021, **592**:120082.
- [9] Mirrahimi M, Abed Z, Beik J, *et al.* A thermo-responsive alginate nanogel platform co-loaded with gold nanoparticles and cisplatin for combined cancer chemo-photothermal therapy[J]. *Pharmacol Res*, 2019, **143**:178-185.
- [10] Yu L, Dong A, Guo R, *et al.* DOX/ICG coencapsulated liposome-coated thermosensitive nanogels for NIR-triggered simultaneous drug release and photothermal effect[J]. *ACS Biomater Sci Eng*, 2018, **4**(7):2424-2434.
- [11] Duan LQ, Liu T, Chen T. Near-infrared laser-triggered drug release in a tellurium nanosystem for simultaneous chemo-photothermal cancer therapy[J]. *Biomater Sci*, 2021, **9**(5):1767-1778.
- [12] El-sherbiny RH, Hassan MM, El-Hossary WH, *et al.* Folate-targeted polymeric nanoparticles for efficient dual (chemo-photothermal) therapy of oral squamous carcinoma[J]. *Int J Polym Mater Po*, 2020, **70**(6):414-424.
- [13] Nam J, Son S, Ochyl LJ, *et al.* Chemo-photothermal therapy combination elicits anti-tumor immunity against advanced metastatic cancer[J]. *Nat Commun*, 2018, **9**(1):1074.
- [14] Egloff-Juras C, Bezdetnaya L, Dolivet G, *et al.* NIR fluorescence-guided tumor surgery: new strategies for the use of indocyanine green[J]. *Int J Nanomedicine*, 2019, **14**:7823-7838.
- [15] Sánchez-Ramírez DR, Domínguez-Ríos R, Juárez J, *et al.* Biodegradable photoresponsive nanoparticles for chemo-, photothermal- and photodynamic therapy of ovarian cancer[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2020, **116**:111196.
- [16] Wang HJ, Williams GR, Xie XT, *et al.* Stealth polydopamine-based nanoparticles with red blood cell membrane for the chemo-photothermal therapy of cancer[J]. *ACS Applied Bio Materials*, 2020, **3**(4):2350-2359.
- [17] Dai QX, Ren E, Xu DZ, *et al.* Indocyanine green-based nanodrugs: a portfolio strategy for precision medicine[J]. *Prog Nat Sci-Mater*, 2020, **30**(5):577-588.
- [18] Wheate NJ, Walker S, Craig GE, *et al.* The status of platinum anticancer drugs in the clinic and in clinical trials[J]. *Dalton Trans*, 2010, **39**(35):8113-8127.
- [19] Pinzani V, Bressolle F, Haug I, *et al.* Cisplatin-induced renal toxicity and toxicity-modulating strategies-a review[J]. *Cancer Chemoth Pharm*, 1994, **35**(1):1-9.
- [20] Chang MH, Pai CL, Chen YC, *et al.* Enhanced antitumor effects of epidermal growth factor receptor targetable cetuximab-conjugated polymeric micelles for photodynamic therapy[J]. *Nanomaterials*, 2018, **8**(2):121.
- [21] Wang Y, Zhang XM, Sun Y, *et al.* Cetuximab-decorated and

- NIR-activated nanoparticles based on Platinum (IV) -prodrug: Preparation, characterization and *in-vitro* anticancer activity in epidermoid carcinoma cells [J]. *Iran J Pharm Res*, 2021, **20** (1):371-383.
- [22] Liao WS, Ho Y, Lin YW, *et al.* Targeting EGFR of triple-negative breast cancer enhances the therapeutic efficacy of paclitaxel- and cetuximab-conjugated nanodiamond nanocomposite [J]. *Acta Biomater*, 2019, **86**:395-405.
- [23] Mato E, Puras G, Bell O, *et al.* Selective antitumoral effect of sorafenib loaded PLGA nanoparticles conjugated with cetuximab on undifferentiated anaplastic thyroid carcinoma cells [J]. *J Nanomed Nanotechnol*, 2015, **6**(3):1000281.
- [24] Qian Y, Qiu M, Wu Q, *et al.* Enhanced cytotoxic activity of cetuximab in EGFR-positive lung cancer by conjugating with gold nanoparticles [J]. *Sci Rep*, 2014, **4**:7490.
- [25] Chen Y, Liu G, Guo L, *et al.* Enhancement of tumor uptake and therapeutic efficacy of EGFR-targeted antibody cetuximab and antibody-drug conjugates by cholesterol sequestration [J]. *Int J Cancer*, 2015, **136**(1):182-194.
- [26] Pasut G, Veronese FM. State of the art in PEGylation: the great versatility achieved after forty years of research [J]. *J Control Release*, 2012, **161**(2):461-472.
- [27] Zheng M, Yue C, Ma Y, *et al.* Single-step assembly of DOX/ICG loaded lipidpolymer nanoparticles for highly effective chemophotothermal combination therapy [J]. *ACS Nano*, 2013, **7**(3):2056-2067.
- [28] Lim YT, Noh YW, Han JH, *et al.* Biocompatible polymer-nanoparticle-based bimodal imaging contrast agents for the labeling and tracking of dendritic cells [J]. *Small*, 2008, **4** (10):1640-1645.
- [29] Li H, Li J, Ke W, *et al.* A near-infrared photothermal effect-responsive drug delivery system based on indocyanine green and doxorubicin-loaded polymeric micelles mediated by reversible diels-alder reaction [J]. *Macromol Rapid Commun*, 2015, **36**(20):1841-1849.
- [30] Chen Y, Li H, Deng Y, *et al.* Near-infrared light triggered drug delivery system for higher efficacy of combined chemo-photothermal treatment [J]. *Acta Biomater*, 2017, **51**:374-392.
- [31] Dong Z, Gong H, Gao M, *et al.* Polydopamine nanoparticles as a versatile molecular loading platform to enable imaging-guided cancer combination therapy [J]. *Theranostics*, 2016, **6** (7):1031-1042.
- [32] Tian B, Wang C, Zhang S, *et al.* Photothermally enhanced photodynamic therapy delivered by nano-graphene oxide [J]. *ACS Nano*, 2011, **5**(9):7000-7009.

## ·校园信息·

### 中国药科大学研究生教材喜获首届全国教材建设二等奖

国家教材委员会10月12日公布首届全国教材建设奖评选结果。我校来茂德教授主编的研究生教材《病理学》(出版单位:人民卫生出版社)喜获国家二等奖。

2020年,国家教材委员会启动首届全国教材建设奖评选工作。首届全国教材建设奖分设全国优秀教材(基础教育、职业教育与继续教育、高等教育三类)、全国教材建设先进集体、全国教材建设先进个人三个奖项。全国教材建设奖评选由国家教材委员会主办、教育部承办,每四年评审一次,是与教学成果奖、科技进步奖并列的三大奖项之一。

本次教材奖评选规格高、影响大,学校领导高度关注,研究生院充分动员、精心组织,严格按照评选标准,将政治方向和价值导向、立德树人成效作为评选推荐的首要条件,经学院申报、专家评审,积极推荐研究生教材参加评选。

此次获奖是我校研究生教育重大标志性成果,也是学院教师刻苦钻研、教书育人取得显著成效的具体体现。学校将以此为契机,充分发挥优秀教材的示范作用,进一步加大教材建设力度、有效提升研究生教材建设整体水平,推动研究生教育教学工作再上新台阶。

(来源:研究生院)