

[文章编号] 1007-385X(2008)02-0129-04

· 研究快报 ·

载双歧杆菌胞外多糖纳米粒子诱导人胃癌裸鼠移植瘤细胞的凋亡

张宇,李玉涛,侯任穷,刘宁*(东北农业大学食品学院乳品科学教育部重点实验室,哈尔滨 150030)

[摘要] 目的:制备载双歧杆菌胞外多糖纳米粒子(*Bifidobacterium* exopolysaccharide-loaded nanoparticles, *B. EPS*-NPs),探讨 *B. EPS*-NPs 对人胃癌细胞裸鼠移植瘤增殖和凋亡的影响。方法:取 Fe_3O_4 纳米粒子和 *B. EPS*,采用乳化高温固化法制备 *B. EPS*-NPs。建立人源胃癌细胞(BGC-823)裸鼠移植瘤模型,接种 6 d 后随机分为 5 组,分别以生理盐水、NPs、环磷酰胺(cytoxan, CTX)、游离 *B. EPS* 及 *B. EPS*-NPs 进行灌胃治疗。观察各组瘤体的生长情况, TUNEL 法检测细胞凋亡,透射电镜观察细胞超微结构,免疫组化法检测增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)及凋亡调控基因 *bcl-2*、*bax* 蛋白表达水平。结果:空载 NPs 和 *B. EPS*-NPs 平均粒径分别为 (560 ± 21) nm、 (960 ± 32) nm, *B. EPS*-NPs 载药率为 30%。*B. EPS*-NPs 对移植瘤的抑瘤率为 $(46.4 \pm 2.94)\%$, 高于游离 *B. EPS* 组的 $(32.0 \pm 1.62)\%$ 和 NPs 组的 $(4.9 \pm 0.98)\%$ 。*B. EPS*-NPs 组移植瘤细胞凋亡指数明显高于 *B. EPS* 组 $[(66.8 \pm 5.58)\% \text{ vs } (41.3 \pm 4.26)\%]$ ($P < 0.01$)。透射电镜观察到 *B. EPS*-NPs 治疗后的移植瘤细胞核染色质凝集成块状,出现了典型的凋亡特征。与 *B. EPS* 相比, *B. EPS*-NPs 组 PCNA 及 *bcl-2* 的表达水平有所降低 ($P < 0.01$), *bax* 的表达水平有所提高 ($P < 0.01$)。结论:纳米粒子运载 *B. EPS* 增强了后者对胃癌细胞(BGC-823)移植瘤的增殖抑制作用和促凋亡作用,提高了 *B. EPS* 的抗肿瘤活性。

[关键词] 纳米粒子;双歧杆菌;胞外多糖;胃癌;凋亡

[中图分类号] R735.2; R730.54 [中图分类号] A

Bifidobacterium exopolysaccharide-loaded nanoparticles induces apoptosis of human gastric cancer cells transplanted into nude mice

ZHANG Yu, LI Yu-tao, HOU Ren-qiong, LIU Ning* (Key Laboratory of Dairy Science of Ministry of Education, College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

[Abstract] Objective: To prepare *Bifidobacterium* exopolysaccharide-loaded nanoparticles (*B. EPS*-NPs) and to investigate the effect of *B. EPS*-NPs on the proliferation and apoptosis of human gastric cancer cells transplanted in nude mice. **Methods:** *B. EPS* and nanoparticles of Fe_3O_4 were used to prepare *B. EPS*-NPs by the method of emulsion polymerization. Transplant models of human gastric cancer cells BGC-823 were established in nude mice and were divided into 5 groups after 6 days, namely, the normal saline group, nanoparticle group (NPs), cytoxan (CTX) group, *B. EPS* group, and *B. EPS*-NPs group. The corresponding agents were used for gastric lavage. The growth of tumor was observed and cell apoptosis was detected by TUNEL. The ultra-microstructure of tumor cells was observed under TEM, expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA), *bcl-2* and *bax* was examined by immunohistochemistry method. **Results:** The diameters of the empty-loaded NPs and *B. EPS*-NPs were (560 ± 21) nm and (960 ± 32) nm, respectively; the drug-loading capacity of *B. EPS* was 30%. The growth of the transplanted tumor was inhibited in *B. EPS*-NPs group, with the inhibitory rate being $(46.4 \pm 2.94)\%$, which was higher than that of the *B. EPS* group $[(32.0 \pm 1.62)\%]$ and NPs group $[(4.9 \pm 0.98)\%]$. The apoptosis index in *B. EPS*-NPs group $[(66.8 \pm 5.58)\%]$ was significantly higher than that of the *B. EPS* group $[(41.3 \pm 4.26)\%]$, $P < 0.01$. TEM showed typical apoptotic structures in *B. EPS*-NPs group. Compared with *B. EPS* group, *B. EPS*-NPs group had markedly lower expression of PCNA and *bcl-2* ($P < 0.01$) and higher expression of *bax* ($P < 0.01$). **Conclusion:** Nanoparticles can enhance the inhibitory effect and pro-apoptosis effect of *B. EPS* for human gastric cancer (BGC-823) transplanted tumor.

[Key words] nanoparticle; *Bifidobacterium*; exopolysaccharide; gastric cancer; apoptosis

[Chin J Cancer Biother, 2008, 15(2): 129-133]

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 30371055). Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30371055)

[作者简介] 张宇(1982-),女,黑龙江省哈尔滨市人,硕士研究生,主要从事益生菌抗肿瘤方面的研究

* Corresponding author. E-mail: ningliu6666@yahoo.com.cn

双歧杆菌胞外多糖(*Bifidobacterium exopolysaccharide*, B. EPS)是双歧杆菌发酵产生于细胞外的一种水溶性多糖。大量药理及临床研究表明乳酸菌多糖类化合物是一种免疫调节剂,能激活免疫功能,在用于癌症的辅助治疗中具有毒性作用小、安全性高、抑瘤效果好等优点^[1]。虽然近年来许多研究都对EPS的合成条件进行了优化,但产量仍然较低^[2],且在体内易分散,影响了其抗肿瘤应用价值。纳米技术的发展为解决这一问题提供了新的思路,以纳米粒子(nanoparticles, NPs)为载体的给药系统能够提高药物生物利用率、降低毒性作用、减少用药剂量^[3]。本实验制备以纳米粒子作为药物载体的载B. EPS纳米粒子B. EPS-NPs,将B. EPS-NPs作用于人胃癌细胞裸鼠移植瘤,观察其对于胃癌移植瘤细胞增殖和凋亡的影响,并与游离的B. EPS作用效果进行比较。

1 材料与方法

1.1 实验动物和试剂

BALB/c 裸鼠 50 只,3~4 周龄,体重 18~19 g, 购买自中国医学科学院实验动物中心,实验动物合格证号为 SCXK(京)2002~2003。 Fe_3O_4 纳米粒子(平均粒径为 20 nm)^[4]和双歧杆菌胞外多糖均由东北农业大学乳品科学教育部重点实验室制备。棉籽油由常德市油脂公司生产,人血清白蛋白购买自北京索莱宝公司。人胃癌细胞株 BGC-823 由哈尔滨医科大学肿瘤研究所提供,为人胃低分化腺癌。鼠抗人 bcl-2、bax、增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)单克隆抗体均购买自美国 Merk 公司,TUNEL 检测试剂盒购买自凯基生物公司。细胞培养液 M1640(Gibco)、胎牛血清购买自杭州四季青公司。

1.2 B. EPS-NPs 的制备

将 Fe_3O_4 纳米粒子 90 mg、B. EPS 50 mg、人血清白蛋白 300 mg、精制棉籽油 50 ml 混合,滴入少许 Tween-80,混合液超声乳化 3 min,以 100 滴/min 左右的速度滴入已预热至 130 °C 的 200 ml 精制棉籽油中,1 500 r/min 的转速搅拌,恒温固化 30 min 左右,冷却至室温,无水乙醚洗涤 4 次,即获得 B. EPS-NPs,4 °C 下贮存备用。空载 NPs 制备方法同上,不添加 B. EPS。用 GSL-101B1 激光粒径测量仪测定药物纳米粒子平均粒径。用高效液相色谱(HPLC)测定 B. EPS-NPs 中 B. EPS 的含量,载药率按如下公式计算:载药率(%) = B. EPS 含量/B. EPS-NPs 总量 × 100%。

1.3 人胃癌细胞裸鼠移植瘤模型的建立和分组

收集对数生长期细胞,调整密度为 2×10^7 /ml,于每只裸鼠右前腋皮下注射肿瘤细胞悬液 0.2 ml。接种后 6 d,将肿瘤模型裸鼠随机分为 5 组:生理盐水组(normal saline, NS)、环磷酰胺组(cytoxan, CTX; 50 mg/ml)、空载纳米粒子组(NPs, 1.15 mg/ml)、B. EPS 组(0.5 mg/ml)、B. EPS-NPs 组(1.65 mg/ml, 相当于含 B. EPS 0.5 mg/ml),各组均隔天经口灌胃 1 次,每次 0.2 ml,共 7 次。

1.4 肿瘤生长情况及抑瘤效果的观察

给药日起,每 3 d 测量瘤体的最长径(a)和最短径(b),根据公式 $V = ab^2/2$ 计算肿瘤体积,绘制肿瘤生长曲线。最后一次灌胃 24 h 后剥离瘤体,计算抑瘤率:抑瘤率(%) = (对照组瘤体积 - 实验组瘤体积)/对照组瘤体积 × 100%^[5]。

1.5 免疫组化法检测肿瘤组织中 PCNA 和 bcl-2、bax 的表达

将瘤体于 4% 中性甲醛中固定,常规石蜡包埋,切片。按照免疫组化二步法^[6]进行操作:切片脱蜡至水后,滴加 3% H_2O_2 封闭内源性过氧化物酶 10 min,高压修复抗原,分别滴加 PCNA、bcl-2、bax 等一抗,4 °C 过夜,PBS 洗 3 次每次 5 min,滴加鼠抗人二抗,室温静置 1 h;DAB 显色,苏木精复染,常规脱水透明。阴性对照用 PBS 代替 I 抗,阳性对照用已知阳性片。用 Image-Pro[®] Plus 科学图像分析软件(Media Cybernetics 公司)对阳性染色部位进行光密度测定。

1.6 TUNEL 法检测细胞凋亡

组织切片按照常规方法进行脱蜡及水合,其余步骤按照 TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒说明进行:滴加末端转移酶(terminal deoxynucleotidyl transferase, TdT)反应液 60 min,PBS 洗 3 次每次 5 min;滴加 Anti-fluorescein antibody 工作液 30 min,DAB 显色,苏木精复染后漂洗脱水。细胞核中出现棕黄色颗粒为阳性细胞,随机选 10 个视野,每个视野观察 100 个细胞,计数阳性细胞数,计算凋亡指数(apoptotic index, AI)(%) = 阳性细胞数/观察细胞总数 × 100%。

1.7 透射电镜观察细胞超微结构

肿瘤组织取材后放入 2.5% 戊二醛缓冲液中,1~3 h 后彻底洗去醛类溶液,1% 锇酸固定 1~2 h 后进行超薄切片,电子染色^[7],在 1220 型透射电镜(日本电子公司)下观察肿瘤细胞的超微结构形态。

1.8 统计学处理

采用 SAS9.13 统计软件,肿瘤体积数据比较采

用一般线形模型重复测量方差分析处理, PCNA、bcl-2、bax 的表达和 TUNEL 检测结果采用多样本方差分析并进行多重比较。

2 结果

2.1 B. EPS-NPs 的载药特性

成功制备的 B. EPS-NPs 经激光粒度测量仪和 HPLC 检测, 显示空载 NPs 和 B. EPS-NPs 的粒径分别为(560 ± 21)nm、(960 ± 32)nm, B. EPS-NPs 的载药率为 30%。

2.2 B. EPS-NPs 对胃癌移植瘤生长的抑制

治疗前各组裸鼠生理状态无明显差异。分组治疗 9 d 后, 各组肿瘤体积均有所增长, 除 NS 组和 NPs 组外, 其他几组肿瘤的生长速度明显减慢(图 1)。其中以 CTX 组生长速度最为缓慢, 其次是 B. EPS-NPs 组。但 CTX 组裸鼠与其他几组相比生理状态较差, 且体质量严重下降。各组用药治疗后的抑瘤率计算结果见表 1, B. EPS-NPs 组抑瘤率为(46.4 ± 2.94)%, 高于游离 B. EPS 组的(32.0 ± 1.62)% ($P < 0.01$), 而空载纳米粒子的抑瘤率仅为(4.9 ± 0.98)%。

2.3 B. EPS-NPs 对移植瘤组织 PCNA、bcl-2 和 bax 表达的影响

B. EPS-NPs 移植瘤组织免疫组化结果见图 2。图 2A、2D 分别为 NS 组、B. EPS-NPs 组 PCNA 在细胞核的表达, 阳性产物为棕黄色; 图 2A 中阳性细胞

呈弥散性分布, 多数细胞呈高强度特异性染色; 图 2D 中虽也有零散分布的阳性细胞, 但染色强度较弱。图 2B、2E 和 2C、2F 分别显示肿瘤细胞中 bcl 和 bax 的表达, bcl-2 和 bax 均于胞质中表达。图 2B 中 bcl-2 呈阳性表达的细胞明显多于图 2E; 图 2C 中 bax 阳性表达细胞明显少于图 2F。图像光密度检测显示(表 1), CTX 阳性对照组、B. EPS-NPs 和 B. EPS 组 PCNA 和 bcl-2 光密度均低于 NS 组($P < 0.01$), bax 的表达情况则相反; NPs 组与 NS 组间则无显著性差异($P > 0.05$); B. EPS-NPs 组中 PCNA 和 bcl-2 光密度值比 B. EPS 组显著降低($P < 0.01$), bax 则显著增加($P < 0.01$), 与免疫组化检测图片观察结果一致。

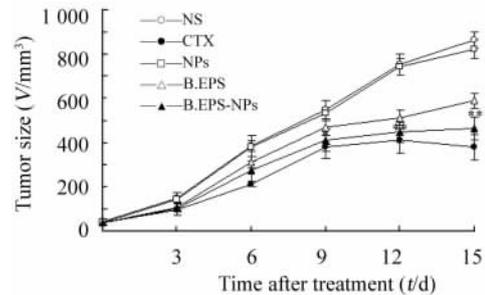


图 1 B. EPS-NPs 对胃癌细胞移植瘤生长的抑制
Fig. 1 Inhibitory effect of B. EPS-NPs on growth of transplanted gastric cancer

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs NS or NPs

表 1 B. EPS-NPs 治疗后的抑瘤率、细胞凋亡指数及移植瘤组织中 PCNA、bcl-2、bax 的表达($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Inhibitory rate, apoptosis index and expression of PCNA, bcl-2, bax in transplanted tumor tissue of different groups after treatment with B. EPS-NPs ($n = 10, \bar{x} \pm s$)

Group	Positive expression ($\times 10^{-2}, D$)			Apoptotic index (%)	Tumor inhibitory rate (%)
	PCNA	bcl-2	bax		
NS	14.4 ± 0.77	12.9 ± 0.98	7.8 ± 0.37	3.8 ± 1.31	-
CTX	9.1 ± 0.60 ^{**△△}	9.7 ± 0.79 ^{**△△}	15.8 ± 0.44 ^{**△△}	71.4 ± 6.62 ^{**△△}	56.0 ± 3.25 ^{**△△}
NPs	14.4 ± 0.96 ^{△△}	12.7 ± 0.88 ^{△△}	7.7 ± 0.74 ^{△△}	4.0 ± 1.12 ^{△△}	4.9 ± 0.98 ^{△△}
B. EPS	11.6 ± 0.34	11.3 ± 0.62	13.7 ± 0.51	41.3 ± 4.26	32.0 ± 1.62
B. EPS-NPs	9.9 ± 0.88 ^{**△△}	10.4 ± 0.78 ^{**△△}	14.7 ± 0.33 ^{**△△}	66.8 ± 5.58 ^{**△△}	46.4 ± 2.94 ^{**△△}

** $P < 0.01$ vs NS or NPs group; ^{△△} $P < 0.01$ vs B. EPS

2.4 B. EPS-NPs 对胃癌移植瘤细胞凋亡的影响

TUNEL 检测阳性染色主要分布在细胞核内。与 B. EPS 组相比, B. EPS-NPs 组移植瘤组织 TUNEL 染色阳性细胞数量增多, 凋亡阳性细胞密集成片; NS 组中虽然也有一些细胞呈阳性, 但数量较少且零

散分布(图 3)。各组细胞凋亡指数(AI) 结果见表 1, B. EPS-NPs 组凋亡指数为(66.8 ± 5.58)%, 明显高于 B. EPS 组的(41.3 ± 4.26)% ($P < 0.01$); NS 组和 NPs 组间无明显差异($P > 0.05$)。

2.5 B. EPS-NPs 对胃癌移植瘤组织超微结构的影响

图 4A 为透射电镜下观察到的 NS 组移植瘤细胞,可见细胞表面有微绒毛,核浆比大,核仁明显,基质密度低,其他细胞器均少。图 4B 为 *B. EPS-NPs*

组移植瘤细胞,可见细胞体积缩小,细胞膜完整,细胞表面突起,胞质内空泡增多,核内染色质凝聚,细胞发生了明显的凋亡,与 TUNEL 检测结果相一致。

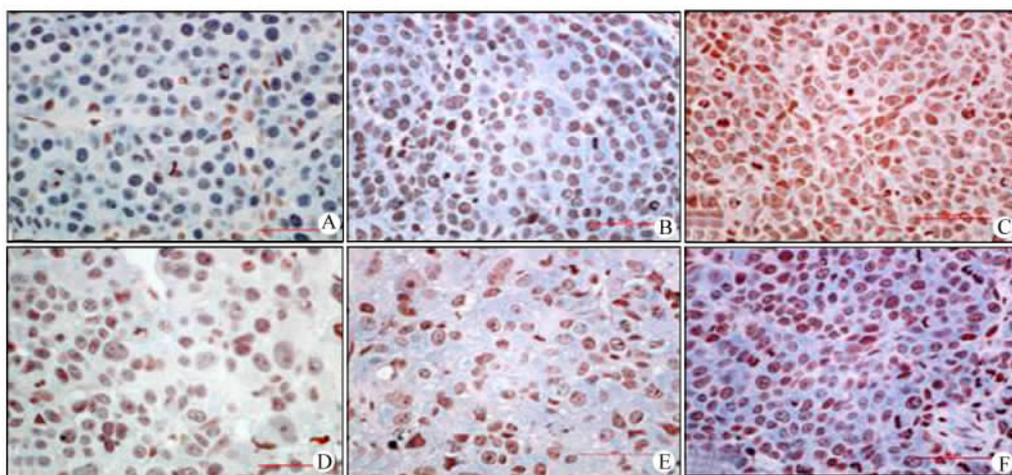


图 2 NS 组(A, B, C)和 *B. EPS-NPs* 组(D, E, F)瘤组织中 PCNA 及 bcl-2、bax 表达的比较(×200)
 Fig. 2 Expression of PCNA, bcl-2 and bax in tumor tissues from NS group (A, B, C)
 and *B. EPS-NPs* group (D, E, F) (×200)
 A, D: Expression of PCNA; B, E: Expression of bcl-2; C, F: Expression of bax

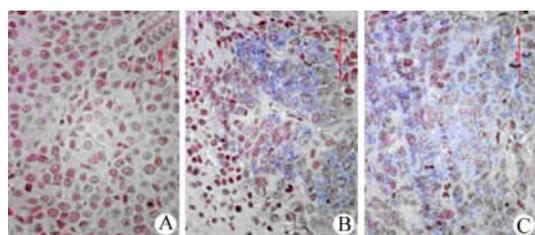


图 3 *B. EPS-NPs* 诱导胃癌移植瘤细胞的凋亡(×200)
 Fig. 3 *B. EPS-NPs*-induced apoptosis of transplanted gastric cancer cells(TUNEL, ×200)
 A: NS group; B: *B. EPS* group; C: *B. EPS-NPs* group

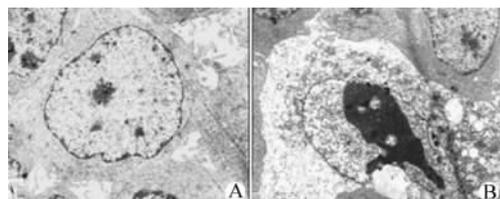


图 4 *B. EPS-NPs* 治疗后移植瘤组织超微结构的改变(×6000)
 Fig. 4 Ultrastructural changes of transplanted tumor tissue after treatment with *B. EPS-NPs* (×6000)
 A: NS group cells; B: *B. EPS-NPs* group cells

3 讨论

胃癌是我国发病率和病死率均居前位的恶性肿

瘤,全世界约 35% 的病例发生在中国,每年我国死于胃癌的患者超过 17 万^[8]。目前胃癌治疗的方法有多种,其中微生态制剂对肿瘤的防治越来越受到人们的关注。双歧杆菌为人体肠道内的重要益生菌,具有生物学屏障、合成维生素、降低血胆固醇、抗肿瘤、抗感染等多种作用^[9]。双歧杆菌是乳酸菌属的一种,目前对乳酸菌胞外多糖的抗肿瘤作用机制研究得不是很透彻,一般认为主要是通过对机体免疫系统的促进和引起细胞凋亡发挥其抗肿瘤活性的。Vinderola 等^[10]研究发现马乳酒乳酸菌所产的胞外多糖能够调节免疫保护系统,使小肠和大肠中的免疫球蛋白 A(IgA)均有所增加。有学者^[11-12]发现酸乳 EPS 对肉瘤 S-180 具有较好的抑制作用。本课题组江虹锐等^[13]也证实双歧杆菌 EPS 能够激活巨噬细胞提高机体免疫力从而产生抗肿瘤作用。

虽然近年许多研究都对乳酸菌属产 EPS 的合成条件进行了优化,但其产量仍然较低,现有研究^[14]表明,乳酸菌产胞外多糖的最大量范围为 1 200 ~ 1 375 mg/L,而且在体内易分散,影响了其应用价值和抗肿瘤效果。纳米技术的发展为解决这些问题提供了新的思路。目前多个研究^[15-20]证明纳米粒子作为药物传递与控释的载体,能够使药物选择性富集于病灶,提高了药物生物的利用率,有效地减少了用药剂量。

本实验成功制备了以纳米粒子作为载体的载 *B. EPS* 纳米粒子。抑瘤实验结果表明, *B. EPS* 对肿瘤的生长产生了一定的抑制作用, 经 *B. EPS* 治疗的移植瘤细胞凋亡指数与 NS 组相比有明显的提高, 但与环磷酸胺对照组相比, 其对肿瘤的抑制作用很小。实验结果表明, *B. EPS*-NPs 对胃癌移植瘤的生长起到了明显的抑制作用, 其抑瘤率显著高于 *B. EPS* 组, 而空载 NPs 对肿瘤无明显抑制作用, 说明纳米粒子提高了 *B. EPS* 的抑瘤活性, 而 NPs 本身则不具有抗肿瘤作用。透射电镜观到 *B. EPS*-NPs 组移植瘤细胞发生了明显的凋亡, TUNEL 检测结果也表明 *B. EPS*-NPs 能够诱导细胞凋亡。PCNA 是一种核内蛋白质, 参与调节 DNA 的合成, 与细胞的增殖周期密切相关^[21]。bcl-2 和 bax 是重要的细胞凋亡调控基因, bcl-2 对其他许多因素引起的细胞凋亡具有抑制作用, bax 过量表达可抑制 bcl-2 的功能, 是凋亡诱导基因^[22-23], 细胞的生死最终取决于 bcl-2 和 bax 两种调控因子的平衡结果^[24]。本研究证实, *B. EPS* 能够通过下调 PCNA 的表达从而抑制细胞的增殖, 通过降低 bcl-2/bax 表达的比例来诱导细胞的凋亡, 在纳米粒子载体的作用下 *B. EPS* 对细胞增殖的抑制和对细胞凋亡促进能力均显著增强。

综上所述, 纳米粒子运载 *B. EPS* 增强了 *B. EPS* 对胃癌细胞(BGC-823)移植瘤的增殖抑制作用和促凋亡作用, 提高了 *B. EPS* 的抗肿瘤活性, 具有潜在的临床应用价值。

[参 考 文 献]

- [1] 杨永, 刘会平. 乳酸菌胞外多糖的研究进展[J]. 中国乳品工业, 2006, 34(10): 56-186.
- [2] Górska S, Grycko P, Rybka J, *et al.* Exopolysaccharides of lactic acid bacteria: structure and biosynthesis[J]. Postepy Hig Med Dosw, 2007, 14(61): 805-818.
- [3] Gelperina S, Kisich K, Iseman MD, *et al.* The potential advantages of nanoparticle drug delivery systems in chemotherapy of tuberculosis [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2005, 172(12): 1487-1490.
- [4] 董晶莹. Fe₃O₄ 纳米颗粒的制备及其急性毒性[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2005.
- [5] 雷丰丰, 赵健雄, 王学习. 红芪总多糖对小鼠 S180 瘤的抑制作用及其机制研究[J]. 中草药, 2007, 30(12): 1548-1551.
- [6] 倪灿荣, 马大烈, 戴益民. 免疫组织化学实验技术及应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006. 69.
- [7] 姜泊. 细胞凋亡基础与临床[M]. 北京人民军医出版社, 1999: 259-261.
- [8] 于志坚. 胃癌防治研究新进展[J]. 交通医学, 2007, 21, 3(2): 225-232.
- [9] 郭俊杰, 刘吉成, 王丽萍. 青春双歧杆菌细胞壁免疫调节作用及其对膀胱癌细胞抑制作用研究[J]. 医学研究杂志, 2008, 37(1): 76-79.
- [10] 刘宇, 孟祥晨. 乳酸菌胞外多糖及其抗肿瘤活性[J]. 中国乳品工业, 2008, 36(1): 39-43.
- [11] Vinderola G, Perdígón G, Duarte J, *et al.* Effects of the oral administration of the exopolysaccharide produced by *Lactobacillus kefirifaciens* on the gut mucosal immunity [J]. Cytokine, 2006, 36(5-6): 254-260.
- [12] 朱奇, 郭善利, 陈彦, 等. 酸乳中胞外多糖(EPS)的提取及抑瘤活性研究[J]. 乳品科学与技术, 2005, 3(112): 103-105.
- [13] 江虹锐, 梁延春, 马玉彦, 等. 双歧杆菌 LTA_EPS 对小鼠巨噬细胞活力的影响[J]. 中华微生物学和免疫学, 2007, 27(5): 422.
- [14] 欧阳清波, 李平兰. 长双歧杆菌 22-5 胞外多糖(EPS)合成条件的优化[J]. 中国乳品工业, 2005, 33(2): 12-15.
- [15] Gwinn MR, Vallyathan V. Nanoparticles: health--pros and cons [J]. Environ Health Perspect, 2006, 114(12): 1818-1825.
- [16] Farokhzad OC, Cheng JJ, Teplý BA, *et al.* Targeted nanoparticle-aptamer bioconjugates for cancer chemotherapy *in vivo* [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103(16): 6315-6320.
- [17] Farokhzad OC, Jon S, Hademhosseini A, *et al.* Nanoparticle-aptamer bioconjugates: a new approach for targeting prostate cancer cells [J]. Cancer Res, 2004, 64(21): 7668-7672.
- [18] Lacoëuille F, Garcion E, Benoit JP, *et al.* Lipid nanocapsules for intracellular drug delivery of anticancer drugs [J]. Nanosci Nanotechnol, 2007, 7(12): 4612-4617.
- [19] 肖宝来, 王剑明, 郑建伟. 纳米磁性靶向药囊对人肝癌裸鼠移植瘤 bcl-2/bax 蛋白表达的影响[J]. 中国现代医学, 2006, 16(20): 3041-3044.
- [20] 潘碧峰, 崔大祥, 徐萍, 等. 碳纳米管-树形分子载体递送 survivin 反义寡核苷酸对肝癌细胞增殖的作用[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2006, 13(3): 176-180.
- [21] 丁焕然, 曹树辉, 马立人. 增殖细胞核抗原及其在肺癌中的研究进展[J]. 中国煤炭工业医学. 2007, 10(5): 492-493.
- [22] Duan XX, Ou JS, Li Y, *et al.* Dynamic expression of apoptosis-related genes during development of laboratory hepatocellular carcinoma and its relation to apoptosis [J]. World J Gastroenterol, 2005, 11(30): 4740-4744.
- [23] Fernández-Luna JL. Apoptosis regulators as targets for cancer therapy [J]. Clin Transl Oncol, 2007, 9(9): 555-562.
- [24] 王卫东, 陈正堂. Bcl-2/Bax 比率与细胞“命运”[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2007, 14(4): 393-396.

[收稿日期] 2008 - 03 - 15

[修回日期] 2008 - 04 - 10

[本文编辑] 王莹