

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2009.04.016

替莫唑胺缓释微球局部植入治疗大鼠脑胶质瘤的疗效

张煜辉¹, 岳志健^{1*}, 刘建民^{1*}, 张 翮², 高 申²(1. 第二军医大学附属长海医院 神经外科, 上海 200433; 2. 第二军医大学 药学院 药剂学教研室, 上海 200433)

[摘要] 目的: 研究替莫唑胺缓释微球(temozolomide/PLGA microsphere, TM-MS)局部植入对大鼠 C6 胶质瘤的治疗效果。方法: 将 C6 大鼠胶质瘤细胞接种于鼠脑左侧尾状核, 制备大鼠脑胶质瘤模型。分别用替莫唑胺(temozolomide, TM)口服及 TM-MS 肿瘤局部植入治疗, 观察大鼠的一般情况、生存期、肿瘤体积大小、病理学变化; 免疫组织化学染色检测胶质瘤组织中增殖细胞核抗原(proliferation cell nuclear antigen, PCNA)蛋白的表达; TUNEL 法检测胶质瘤组织细胞的凋亡。结果: TM-MS 治疗大鼠的生存期较假手术组、空载体组、替莫唑胺口服组明显延长[(31.2 ± 6.21) d vs (20.7 ± 4.83), (19.2 ± 6.23), (24.7 ± 6.31) d; $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$]。MRI 检查显示经 TM-MS 治疗后脑内瘤灶体积较假手术组、空载体组、替莫唑胺口服组明显缩小[(28.8 ± 6.41) mm³ vs (56.4 ± 6.92), (58.2 ± 5.36), (46.7 ± 7.28) mm³; $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$]; TM-MS 治疗后肿瘤细胞 PCNA 表达率较假手术组、空载体组、替莫唑胺口服组显著降低[(20.2 ± 4.33)% vs (63.2 ± 5.91)%, (62.1 ± 7.88)%, (41.7 ± 6.71)%; $P < 0.01$], 细胞凋亡率也明显增高[(32.31 ± 3.17)% vs (8.63 ± 1.52)%, (9.25 ± 2.31)%, (16.14 ± 3.42)%; $P < 0.01$]。结论: TM-MS 局部植入治疗大鼠脑胶质瘤能显著抑制脑胶质瘤细胞增殖、诱导肿瘤细胞凋亡、延长大鼠生存期, 具有潜在的临床应用价值。

[关键词] 替莫唑胺缓释微球; 神经胶质瘤; 增殖抑制; 细胞凋亡

[中图分类号] R739.41; I R730.58 [文献标志码] A [文章编号] 1007-385X(2009)04-0396-05

Therapeutic effect of local implantation with temozolomide/PLGA microsphere in treatment of rat C6 glioma *in vivo*

ZHANG Yu-hui¹, YUE Zhi-jian^{1*}, LIU Jian-min^{1*}, ZHANG He², GAO Shen²(1. Department of Neurosurgery, Chang-hai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[Abstract] **Objective:** To study the therapeutic effect of local implantation with temozolomide/PLGA microsphere (TM-MS) on rat C6 glioma *in vivo*. **Methods:** C6 glioma cells were implanted stereotaxically to rat caudate nucleus of left cerebrum to establish C6 glioma-rat model. C6 glioma-rats were treated with oral temozolomide or with TM-MS (implanted in cerebral tumor foci). The general manifestation, survival time, tumor size and pathological changes were observed in each group. The expression of proliferation cell nuclear antigen (PCNA) in glioma tissues was examined by immunohistochemistry method. Apoptosis of glioma cells was measured by TUNEL. **Results:** The survival period of C6 glioma-rats in TM-MS group was longer than those in the sham group, blank microsphere group and oral Temozolomide group (being [31.2 ± 6.21] vs [20.7 ± 4.83], [19.2 ± 6.23] and [24.7 ± 6.31] d, respectively, $P < 0.05$ or $P < 0.01$). MRI results demonstrated that the volume of glioma in interstitial TM-MS group was smaller than those in the sham group, blank microsphere group and oral Temozolomide group (being [28.8 ± 6.41] vs [56.4 ± 6.92], [58.2 ± 5.36] and [46.7 ± 7.28] mm³, respectively, $P < 0.05$ or $P < 0.01$). PCNA expression in glioma tissues of TM-MS group was significantly lower compared with those in the sham group, blank microsphere group and oral Temozolomide group (being [20.2 ± 4.33]% vs [63.2 ± 5.91]%, [62.1 ± 7.88]% and [41.7 ± 6.71]%, respectively, $P < 0.01$). Apoptosis rate of glioma cells in TM-MS group was markedly higher compared with those in the sham group, blank microsphere group and oral Temozolomide group (being [32.31 ± 3.17]% vs [8.63 ± 1.52]%, [9.25 ± 2.31]% and [16.14 ± 3.42]%, respectively, $P < 0.01$). **Conclusion:** Interstitial TM-MS therapy effectively inhibits proliferation and induces apoptosis of glioma cells in mice, and it has a potential in clinic tumor therapy.

[基金项目] 上海市科委重点科技攻关计划项目(No.08411953600)。Supported by the Key Scientific and Technological Project of Shanghai Scientific and Technological Commission(No.08411953600)

[作者简介] 张煜辉(1979-),男,江苏省丹阳市人,博士,主治医师,主要从事胶质瘤的基础和临床研究

* 通信作者(Corresponding author)。刘建民, E-mail: liujm8@163.com; 岳志健, E-mail: yuezj638@163.com

[**Key words**] Temozolomide/PLGA microspheres; glioma; proliferation; apoptosis

[Chin J Cancer Biother, 2009, 16(4): 396-400]

恶性胶质瘤是中枢神经系统肿瘤中较为常见的一种肿瘤,呈局部浸润性生长,侵袭性强,富血运,容易复发,预后较差^[1-3],目前恶性胶质瘤患者中位生存期仍短于1年^[4-7]。化疗在恶性胶质瘤的治疗中起到辅助治疗作用,但容易出现了耐药现象^[8-10]。脑瘤局部缓释药物间质化疗有如下优势:(1)缓释制剂直接作用于肿瘤部位,避开了血脑屏障,增加了脑瘤化疗药物选择范围;(2)能提高局部药物浓度,减少全身毒性作用;(3)胶质瘤常为局部复发,其90%均在原发肿瘤切除部位外围的2 cm范围内^[11],这就使其非常适合进行局部缓释化疗。

替莫唑胺(temozolomide, TM)是一种咪唑四嗪类药物,较易透过血脑屏障到达脑组织,是目前较好的治疗脑胶质瘤药物^[12-14],但是目前临床应用只有口服剂型。第二军医大学药学院以乳酸-羟基乙酸共聚物[poly(lactide-co-glycolide), PLGA]为载体,制备了可供脑部植入用的替莫唑胺缓释微球(temozolomide/PLGA microsphere, TM-MS)制剂,体外实验显示该缓释微球能缓慢释放12 h,与单纯替莫唑胺相比,替莫唑胺缓释微球有更强的细胞毒性^[15]。本研究以TM-MS局部植入治疗大鼠恶性胶质瘤,希望能获得较好的疗效。

1 材料与方法

1.1 材料

C6鼠胶质瘤细胞系由中国科学院上海细胞所提供。替莫唑胺原药购自北京莱瑞森医药科技有限公司,替莫唑胺缓释微球由第二军医大学药学院药剂教研室研制和提供。细胞培养液购自杭州四季青生物工程材料有限公司,小牛血清购自美国Gibco公司。PCNA兔抗鼠单克隆抗体购自美国Chemicon公司,原位细胞凋亡检测试剂盒购自德国Roche公司,ABC免疫组化试剂盒及抗体购自美国SantaCruz公司。主要仪器:江湾II型脑立体定向仪购自第二军医大学,磁共振仪购自德国Siemens公司。雄性SD大鼠,体重200~300 g,共80只,由第二军医大学实验动物中心提供,实验动物许可证号:SYXK(沪)2007-0003。

1.2 SD大鼠C6脑胶质瘤模型的建立

参照文献^[16-17],C6胶质瘤细胞以含10%小牛血清的DMEM液培养。根据Barker法确定切口和钻孔位置,在大鼠脑立体定位仪上选取大鼠脑左

侧尾状核区为靶点,其坐标为:前凶中点后1.0 mm,矢状缝右旁开3.5 mm,硬膜下5.0 mm。立体定向植入对数期生长C6肿瘤细胞 2×10^6 个。术后5 d内每只大鼠每天给予青霉素10万U腹腔注射。术后第5天行头颅MRI增强扫描,证明大鼠颅内肿瘤生长,确证模型建立成功。该模型在接种后3 d有肿瘤形成,5 d后肿瘤直径约为3 mm,并进入肿瘤细胞增殖指数期,治疗时机以5~14 d为宜^[18]。

1.3 动物分组与治疗

接种C6胶质瘤细胞后观察大鼠活动,6 d后将80只SD大鼠随机分为4组,每组20只。分组具体如下:(1)假手术组,切除肿瘤组织表面脑组织(直径约3 mm)。(2)空载体植入组,切除肿瘤组织表面脑组织(直径约3 mm)后,植入空白缓释微球16 mg。(3)口服替莫唑胺(TM)组:切除肿瘤组织表面脑组织(直径约3 mm),口服替莫唑胺50 mg/kg,连服5 d。(4)替莫唑胺微球(TM-MS)植入组,切除肿瘤组织表面脑组织(直径约3 mm)后,植入替莫唑胺缓释微球16 mg(含替莫唑胺1 mg)。分组后各组进行相应治疗,治疗14 d后参照文献^[16]方法,行冠状面和矢状面T1WI平扫及增强扫描,扫描后各组处死10只,剩余10只用于观察生存期。

1.4 MRI成像及检测方法

参照文献^[16]方法,在各组治疗14 d时行冠状面和矢状面T1WI平扫及增强扫描。肿瘤体积计算:根据强化影像在冠状扫描最大肿瘤平面测量肿瘤最大长径(L)及宽径(W),在矢状扫描最大肿瘤平面测量高径(H),代入公式: $V = (4/3 \times \pi \times L \times W \times H) \times 1/8$ 。

1.5 C6胶质瘤的病理学观察

各组动物在处死时行标本灌注,甲醛溶液固定16~24 h后进行石蜡包埋,随后对各组肿瘤组织蜡块行层厚8 μm 切片,梯度酒精脱蜡至水,H-E染色,光镜下病理观察肿瘤组织。

1.6 免疫组织化学染色检测C6胶质瘤组织中增殖细胞核抗原蛋白的表达

肿瘤石蜡切片脱蜡后,均经0.1 mol/L PBS冲洗2~3 h,3% H_2O_2 灭活内源性过氧化物酶10 min,正常山羊血清封闭25 min,晾干不洗。加入增殖细胞核抗原(proliferation cell nuclear antigen, PCNA)单抗,37 $^{\circ}\text{C}$ 1 h过夜。用链霉亲和素-生物素-过氧化氢酶复合物法(streptavidin-biotin complex, SABC)显色,根据组织切

片显色情况确定终止时间,一般为 5~10 min。同时作阴性对照实验。在高倍(400 倍)视野下分别计数 PCNA 阳性细胞数和总细胞数,计算 PCNA 阳性率。PCNA 阳性率(%) = 阳性细胞数/总细胞数 × 100%。

1.7 TUNEL 法检测鼠 C6 胶质瘤细胞的凋亡

按照试剂盒说明步骤操作。石蜡切片常规脱蜡脱水,蛋白酶 K 消化、TUNEL 反应混合溶液标记, DAB 底物反应,苏木精复染,脱水、透明、封片。显微镜下分析结果:随机选取 5 个高倍镜视野(>1 000 个细胞),在光镜下分别计数凋亡细胞数和总细胞数,凋亡率(%) = 凋亡细胞数/总细胞数 × 100%。

1.8 统计学处理

实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SAS 9.1.3 统计分析软件进行 Kaplan-Meier 生存分析及方差分析。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 TM-MS 治疗脑胶质瘤大鼠的一般疗效

假手术组和空载体组大鼠活动量明显减少,食物和水的消耗量降低,皮毛失去光泽,有不同程度的腹泻;接种 2 周时大多出现明显的颅内高压症状,表现为偏瘫,眼周淤血;接种后第 3 周时开始发生死亡,至第 4 周时全部死亡。假手术组和空载体组大鼠平均生存期分别为(20.4 ± 4.83) d 和(19.6 ± 6.23) d;给药 TM 后大鼠生存状态稍有改善,皮毛枯燥,较萎靡,接种后 17 d 时开始发生死亡,至第 36 天时全部死亡,平均生存期为(24.5 ± 6.30) d;给药 TM-MS 后大鼠生存状态明显改善,皮毛较光鲜,仅有轻度萎靡,平均生存期为(30.8 ± 6.21) d。4 组大鼠的生存曲线如图 1,分析显示:TM-MS 治疗大鼠的生存期较其他各组显著延长($P < 0.05$)。

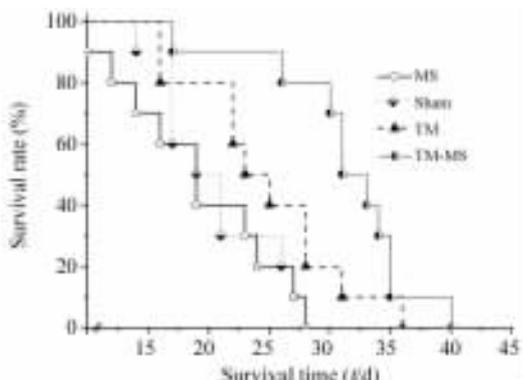


图 1 各治疗组荷 C6 胶质瘤大鼠生存曲线

Fig.1 Survival curves of C6 glioma-rats in different therapy groups

2.2 TM-MS 对大鼠脑胶质瘤生长的影响

荷瘤大鼠组头颅 MRI 平扫 + 增强(图 2)提示:颅内基底节区类圆形占位,长 T1 长 T2 均明显强化,脑室受压,中线结构有移位。假手术组和空载体组肿瘤体积分别为(56.4 ± 6.92) mm³ 和(58.2 ± 5.36) mm³,两者之间无明显差异($P > 0.05$)。经 TM 治疗后肿瘤体积有所缩小,为(46.7 ± 7.28) mm³,与假手术组之间有明显差异($P < 0.05$)。经 TM-MS 治疗后肿瘤体积显著缩小,为(31.2 ± 6.21) mm³,与假手术组之间有明显差异($P < 0.05$),与 TM 治疗组相比,也有显著差异($P < 0.05$)。4 组大鼠肿瘤体积之间有差异(方差分析: $F = 34.3851, P = 0.0032$)。

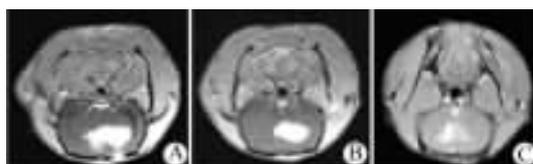


图 2 TM-MS 治疗后大鼠脑胶质瘤体的变化
Fig.2 Changes of C6 glioma after TM-MS therapy
A: Sham; B: TM; C: TM-MS

2.3 大鼠脑胶质瘤组织的病理变化

光镜下 H-E 染色观察各只大鼠均可见到胶质瘤,细胞呈假栅栏状或珊瑚状排列,密集成群,并向正常脑组织浸润生长。脑组织与肿瘤交界处可见肿瘤细胞侵入脑实质,边界较模糊。经 TM 或 TM-MS 治疗后瘤组织中常可见到坏死和囊变灶。

2.4 TM-MS 对脑胶质瘤组织 PCNA 表达的抑制

采用 PCNA 表达阳性率作为肿瘤细胞增殖活性测定的指标,结果(图 3)显示,PCNA 阳性细胞的胞核或(和)胞质中出现了棕黄色颗粒。假手术组和空载体组肿瘤 PCNA 表达阳性率分别为(63.2 ± 5.9)% 和(62.1 ± 7.8)%,两者之间无明显差异($P > 0.05$)。经 TM 治疗后,肿瘤 PCNA 表达阳性率有所减少,为(41.7 ± 6.7)%,与假手术组之间有明显差异($P < 0.01$)。经 TM-MS 治疗后,肿瘤 PCNA 表达阳性率显著减少,为(20.2 ± 4.3)%,与假手术组之间有明显差异($P < 0.01$),与 TM 治疗组相比也有显著差异($P < 0.05$)。

2.5 TM-MS 诱导胶质瘤细胞凋亡

TUNEL 法检测结果(图 4)显示,假手术治疗大鼠胶质瘤组织中可见少量细胞核呈棕黄染色,为凋亡细胞,细胞凋亡率为(8.63 ± 1.52)%;空载体治疗大鼠胶质瘤的细胞凋亡率为(9.25 ± 2.31)%;TM 治疗

大鼠胶质瘤出现稍多的凋亡细胞,细胞凋亡率为(16.14 ± 3.42)%;TM-MS 治疗大鼠胶质瘤细胞凋亡率为(32.31 ± 3.17)% ,凋亡率最高。三者间的差异有统

计学意义(方差分析: $F = 94.0543, P = 0.0012$)。结果说明 TM-MS 能显著诱导胶质瘤细胞凋亡。

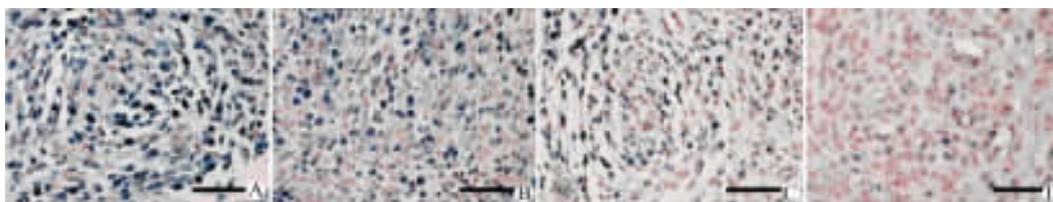


图3 免疫组织化学检测 TM-MS 对 C6 胶质瘤组织中 PCNA 蛋白表达的影响(标尺为 50 μm)

Fig. 3 Effects of TM-MS on PCNA protein expression in C6 glioma tissues as detected by immunohistochemistry (scale bar: 50 μm)

A: Sham; B: MS; C: TM; D: TM-MS

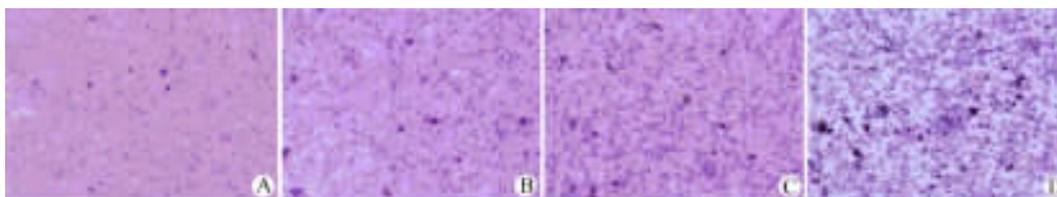


图4 TUNEL 法检测 TM-MS 对 C6 胶质瘤细胞凋亡的影响(×400)

Fig. 4 Effects of TM-MS on apoptosis of C6 glioma cells as detected by TUNEL (×400)

A: Sham; B: MS; C: TM; D: TM-MS

3 讨论

恶性胶质瘤手术切除后复发率高,预后差。目前对胶质瘤的治疗仍主张采用包括手术、放疗、化疗和免疫治疗等在内的综合治疗。药物治疗和治疗手段的改进是目前研究的重要方向之一。传统的全身药物有以下的局限性:(1)多数的化疗药物为水溶性,相对分子质量较大,难以透过血脑屏障;(2)以卡氮芥(BCNU)为代表的亚硝基脲类药物为脂溶性制剂,虽能透过血脑屏障但全身用药引起相当大的毒性作用;(3)半衰期短,在脑内难以维持稳定的有效浓度。

近十年来,药物“缓释剂型”“瘤内给药”的方法为胶质瘤的治疗开辟了新途径^[16]。肿瘤内或间质内用药的优越性在于:(1)局部给药,避开了血脑屏障,提高了局部药物浓度,且药物的选择不再受其理化性质的影响;(2)药物直接与肿瘤细胞接触,全身毒性作用小;(3)使“峰谷现象”降低到最低程度;治疗时间短,费用少。临床观察发现,90%的恶性胶质瘤通常在肿瘤切除部位外围的2 cm 内复发,极少发生中枢神经以外的转移^[11]。这一特点为肿瘤内或间质内用药提供了治疗空间。

聚乳酸-羟基乙酸共聚物[poly(lactide-co-glycolide), PLGA]是近年来发展起来的一种由典型的 α -羟基酸聚合而成的一种无毒、无刺激性的完全生物降解性材料。由于其良好的生物相容性及生物降解性已被美国 FDA 批准为药用高分子材料使用。研究证实,PLGA 在脑组织中也具有很好的生物相容性和生物降解性^[19-20]。本研究将 PLGA 为载体,研究制备了可供脑部植入用的替莫唑胺缓释微球制剂(TM-MS)治疗脑胶质瘤。空载体组生存期与空白组之间无明显延长,说明 PLGA 对肿瘤的生长并无抑制作用。本研究结果显示:替莫唑胺口服治疗荷瘤大鼠,其大鼠的生存期明显长于对照组,实验结果与 Prados^[21]等在一项多中心 II 期临床试验中证实的 TM 能够明显延长患者无进展生存期、提高生存率、改善生活质量的报道吻合。肿瘤局部置入替莫唑胺缓释微球的荷瘤组大鼠,其生存期明显长于替莫唑胺口服组,其原因主要是由于替莫唑胺微球在肿瘤局部缓慢释放药物,使肿瘤局部获得了较高的替莫唑胺药物浓度;同时替莫唑胺微球缓慢释放延长了药物作用时间,使肿瘤细胞能更长期地受到药物作用。本研究头颅 MRI 影像学结果也显示,替莫唑胺微球组的肿瘤体积较替莫唑胺口服组明显缩

小, 该结果说明替莫唑胺缓释微球较替莫唑胺口服制剂更能抑制肿瘤的生长。

PCNA 是一种相对分子质量为 36 000 的多肽, 仅在增殖细胞中合成与表达, 被用于研究恶性肿瘤的细胞增殖和判断其恶性程度, 对肿瘤的治疗及预后的判断有重要意义。本研究检测结果提示, 各组间 PCNA 阳性率有显著差异, 替莫唑胺口服组较对照组为低, 说明替莫唑胺通过口服能抑制肿瘤细胞的增殖, 替莫唑胺缓释微球组较替莫唑胺口服组更低, 说明替莫唑胺微球在肿瘤局部的缓慢释放较该药物口服吸收更能有效地抑制肿瘤细胞的增殖。

替莫唑胺是一种咪唑四嗪类具有抗肿瘤活性的烷化剂, 通过诱导肿瘤细胞发生凋亡是其主要的作用机制。本研究通过 TUNEL 法研究各组肿瘤细胞凋亡情况, 研究结果显示, 替莫唑胺口服组肿瘤细胞凋亡率要明显高于对照组, 而替莫唑胺缓释微球组肿瘤细胞凋亡率则更高。该结果与替莫唑胺微球较替莫唑胺口服更能抑制肿瘤生长的结果相吻合, 考虑主要与替莫唑胺微球能使瘤床局部获得高药物浓度和替莫唑胺微球缓慢释放药物使药物能更长时间作用于肿瘤细胞有关。

研究结果初步表明, 替莫唑胺缓释微球间质植入治疗较替莫唑胺口服能促进肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤细胞增殖、缩小肿瘤体积、延长实验动物生存时间。替莫唑胺缓释微球有望成为局部治疗胶质瘤的优选药物。

[参 考 文 献]

[1] Maher EA, Furnari FB, Bachoo RM, *et al.* Malignant glioma: genetics and biology of a grave matter [J]. *Genes Dev*, 2001, 15 (11): 1311-1333.

[2] Colman H, Aldape K. Molecular predictors in glioblastoma: toward personalized therapy [J]. *Arch Neurol*, 2008, 65(7): 877-883.

[3] Benitez JA, Dominguez-Monzon G, Segovia J. Conventional and gene therapy strategies for the treatment of brain tumors [J]. *Curr Med Chem*, 15(8): 729-742.

[4] Fine HA, Dear KB, Loeffler JS, *et al.* Meta-analysis of radiation therapy with and without adjuvant chemotherapy for malignant gliomas in adults [J]. *Cancer*, 1993, 71(8): 2585-2597.

[5] Attenello FJ, Mukherjee D, Dato G, *et al.* Use of Gliadel (BCNU) wafer in the surgical treatment of malignant glioma: a 10-year institutional experience [J]. *Ann Surg Oncol*, 2008, 15(10): 2887-2893.

[6] Wen PY, Kesari S. Malignant gliomas in adults [J]. *N Engl J Med*, 2008, 359(5): 492-507.

[7] Combs SE, Wagner J, Bischof M, *et al.* Radiochemotherapy in

patients with primary glioblastoma comparing two temozolomide dose regimens [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2008, 71(4): 999-1005.

[8] Brandes AA. State-of-the-art treatment of high-grade brain tumors [J]. *Semin Oncol*, 2003, 30(6 Suppl 19): 4-9.

[9] Zawlik I, Vaccarella S, Kita D, *et al.* Promoter methylation and polymorphisms of the MGMT gene in glioblastomas: a population-based study [J]. *Neuroepidemiology*, 2009, 32(1): 21-29.

[10] Wu JY, Wang J, Lai JC, *et al.* Association of O6-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) promoter methylation with p53 mutation occurrence in non-small cell lung cancer with different histology, gender, and smoking status [J]. *Ann Surg Oncol*, 2008, 15(11): 3272-3277.

[11] Hochberg FH, Pruitt A. Assumptions in the radiotherapy of glioblastoma [J]. *Neurology*, 1980, 30(9): 907-911.

[12] Chang SM, Lamborn KR, Malec M, *et al.* Phase II study of temozolomide and thalidomide with radiation therapy for newly diagnosed glioblastoma multiforme [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2004, 60(2): 353-357.

[13] Bower M, Newlands ES, Bleehen NM, *et al.* Multicentre CRC phase II trial of temozolomide in recurrent or progressive high-grade glioma [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 1997, 40(6): 484-488.

[14] Friedman HS, Dolan ME, Pegg AE, *et al.* Activity of temozolomide in the treatment of central nervous system tumor xenografts [J]. *Cancer Res*, 1995, 55(13): 2853-2857.

[15] Zhang H, Gao S. Temozolomide/PLGA microparticles and anti-tumor activity against glioma C6 cancer cells *in vitro* [J]. *Int J Pharm*, 2007, 329(1-2): 122-128.

[16] 张云亭, 崔建岭. C6 鼠胶质瘤模型及表皮生长因子受体反义 RNA 治疗的 MRI 动态观察 [J]. *中华放射学杂志*, 1998, 32 (4): 260-263.

[17] 刘旭文, 浦佩云. 表皮生长因子受体反义 cDNA 对 C6 鼠脑胶质瘤体内治疗的研究 [J]. *中华肿瘤杂志*, 1998, 20(6): 422-424.

[18] 姬西团, 章翔, 费舟, 等. 颅内胶质瘤模型建立及肿瘤生长特征观察 [J]. *中华神经外科疾病研究杂志*, 2004, 3(1): 5-8.

[19] Fournier E, Passirani C, Montero-Menei CN, *et al.* Biocompatibility of implantable synthetic polymeric drug carriers: focus on brain biocompatibility [J]. *Biomaterials*, 2003, 24(19): 3311-3331.

[20] Emerich DF, Tracy MA, Ward KL, *et al.* Biocompatibility of poly (DL-lactide-co-glycolide) microspheres implanted into the brain [J]. *Cell Transplant*, 1999, 8(1): 47-58.

[21] Prados MD, Yung WK, Fine HA, *et al.* Phase 2 study of BCNU and temozolomide for recurrent glioblastoma multiforme: North American Brain Tumor Consortium Study [J]. *Neuro Oncol*, 2004, 6(1): 33-37.

[收稿日期] 2009 - 06 - 16 [修回日期] 2009 - 07 - 10

[本文编辑] 王莹