

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2013.01.015

· 基础研究 ·

载 IL-2 磁性纳米粒的制备及其联合体外磁场在肿瘤组织中的靶向富集作用

沈爱蓉^{1,2}, 郭全义¹, 袁玫¹, 王桂琴², 卢世璧¹(1. 解放军总医院 骨科研究所, 北京 100853; 2. 山西医科大学 微生物学和免疫学教研室, 山西 太原 030001)

[摘要] **目的:**以 Fe₃O₄ 磁性纳米粒(Fe₃O₄ magnetic nanoparticle, Fe₃O₄-MNP)和聚乳酸-聚乙醇酸共聚物(poly lactide-co-glycolide, PLGA)为材料,制备载 IL-2 磁性纳米颗粒(IL-2-loaded magnetic nanoparticle, IL-2-Fe₃O₄-PLGA),观察其在肿瘤免疫治疗中的靶向富集作用。**方法:**采用复乳法制备 IL-2-Fe₃O₄-PLGA,激光粒度分析仪和扫描电镜观察其大小和形态。ELISA 检测 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 的包封率、体外释药特性;MTT 法检测其释放 IL-2 的生物学活性。构建 S180 肉瘤细胞小鼠肿瘤模型,研究其瘤体内注射联合体外磁场对 S180 细胞移植瘤生长的影响,普鲁士蓝染色观察 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 在肿瘤组织以及肝脏和肾脏组织中的富集和分布。**结果:**成功制备了 IL-2-Fe₃O₄-PLGA,IL-2-Fe₃O₄-PLGA 呈圆球形,平均粒径为(697 ± 0.51)nm,包封率为(83.76 ± 1.24)%。IL-2-Fe₃O₄-PLGA 突释期释放的 IL-2 质量浓度为 100 ng/ml,第 15 d 后质量浓度为 180 ng/ml,并且保持原有生物学活性的 85% ~ 55%。在肿瘤组织中,IL-2-Fe₃O₄-PLGA 联合体外磁场组可见大量的普鲁士蓝染色阳性 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 颗粒沉积,IL-2-Fe₃O₄-PLGA 组只有少量的 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 阳性颗粒沉积;两组肝脏中均可偶见少量阳性颗粒沉积,而肾脏几乎未见 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 颗粒沉积。**结论:**载 IL-2 磁性纳米颗粒 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 具有缓释 IL-2 的功能,联合体外磁场可有效富集于肿瘤组织中。

[关键词] IL-2;磁性纳米颗粒;聚乳酸-聚乙醇酸共聚物;药物缓释;S180 肉瘤;肿瘤靶向富集

[中图分类号] R979.1; R730.5

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2013)01-0087-06

Preparation of IL-2-loaded magnetic nanoparticle and its targeting accumulation in tumor tissues combining with external magnetic field

Shen Airong^{1,2}, Guo Quanyi¹, Yuan Mei¹, Wang Guiqin², Lu Shibi¹(1. Institute of Orthopaedics, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China; 2. Department of Microbiology and Immunology, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi, China)

[Abstract] **Objective:** To prepare IL-2-loaded magnetic nanoparticle (IL-2-Fe₃O₄-PLGA) with Fe₃O₄ magnetic nanoparticle (Fe₃O₄-MNP) and poly lactide-co-glycolide (PLGA), and to investigate its targeted accumulation function in tumor immunotherapy. **Methods:** The double emulsion method was employed for preparation of IL-2-Fe₃O₄-PLGA, its size and morphology were observed with a laser particle size analyzer and under a scanning electron microscope, respectively. In addition, the drug encapsulation efficiency and releasing characteristics of IL-2-Fe₃O₄-PLGA *in vitro* were measured with ELISA. The biological activity of the IL-2 released from the IL-2-Fe₃O₄-PLGA was evaluated by MTT assay. Sarcoma 180 cell-transplanted tumor mouse model was established to study the effect of IL-2-Fe₃O₄-PLGA in combination with external magnetic field on the growth of Sarcoma 180 tumors. The tumor, liver and kidney tissues were examined by Prussian blue staining to determine the accumulation and distribution of the IL-2-Fe₃O₄-PLGA in the tissue sections. **Results:** IL-2-Fe₃O₄-PLGA was constructed successfully, and was spherical with a mean diameter of (697 ± 0.51) nm as well as a drug encapsulation efficiency of (83.76 ± 1.24)%. In the drug release test *in vitro*, the mass concentration of released IL-2 was 100 ng/ml during the burst release phase and rose to 180 ng/ml at the end of 15 d. Moreover, the released IL-2 remained 85% - 55% of its original activity during the releasing period. A strong IL-2-Fe₃O₄-PLGA positive reaction was

[基金项目] 国家高技术研究发展计划(863计划)资助项目(No. 2007AA021806)。Project supported by the National High Technology Research and Development Program (863 Program) (No. 2007AA021806)

[作者简介] 沈爱蓉(1977-),女,湖北省仙桃市人,硕士,主要从事肿瘤免疫方面的研究。E-mail:shenairong@163.com

[通信作者] 郭全义(Guo Quanyi, corresponding author),Email:doctorguo@163.com

observed in IL-2-Fe₃O₄-PLGA-treated mice combined with an external magnetic field, but only a weak reaction in mice injected with IL-2-Fe₃O₄-PLGA alone. Furthermore, in both groups, Prussian blue-stained liver showed occasionally light IL-2-Fe₃O₄-PLGA positive staining, while IL-2-Fe₃O₄-PLGA positive reaction was rarely detected in the kidneys. **Conclusion:** IL-2 loaded magnetic nanoparticle IL-2-Fe₃O₄-PLGA has controlled IL-2-release function and targeting accumulation capability in tumor tissues when combined with an external magnetic field.

[**Key words**] IL-2; magnetic nanoparticle; PLGA; controlled release of drug; sarcoma S180; tumor targeted accumulation

[Chin J Cancer Biother, 2013, 20(1): 87-92]

IL-2 是一种常用的免疫治疗肿瘤的细胞因子, 它能促进 T、B 细胞活化、增殖和分化; 能活化 NK 细胞, 并增强 NK 细胞杀伤肿瘤的细胞毒作用^[1], 广泛应用于肿瘤的治疗^[2-3]。IL-2 稳定性差、易失活、生物半衰期短, 因此, 临床上常使用大剂量 IL-2 进行抗肿瘤治疗, 但反复大剂量应用 IL-2 会导致严重的毒性作用^[4-5], 限制了其在肿瘤治疗中的应用。近年来磁性纳米技术的发展为抗肿瘤用药提供了新的技术路径, 很多纳米载药可提高药物进入肿瘤细胞的程度, 从而增强化疗药物对肿瘤的杀伤作用。利用磁性纳米颗粒的磁性特点, 在外磁场作用下可将药物富集于肿瘤区, 从而实现靶向作用、减低药物的毒性作用^[6-7]。聚乳酸-聚乙醇酸共聚物 (poly lactide-co-glycolide, PLGA) 应用于药物的缓释也具有良好的效果, 可降低 IL-2 治疗肿瘤时出现的毒性作用^[8-10]。为了使 IL-2 富集于肿瘤区, 减少其在全身分布, 同时利用缓释机制避免大剂量给药带来的毒性作用, 本研究采用复乳法制备 PLGA 包载 IL-2 磁性纳米颗粒 (IL-2-Fe₃O₄-PLGA), 希望能为肿瘤的免疫治疗提供新药, 以改进治疗效果。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与设备

小鼠重组 IL-2 和小鼠重组 IL-2 ELISA 诊断试剂盒购自美国 R&D 公司, PLGA (MW: 15000, LA/GA: 75/25) 由山东医疗器械研究所生产, Fe₃O₄ 由中国科学院理化技术研究所自制, MTT 购自 Sigma 公司。BALB/c 小鼠 6~8 周龄、重量 16~20 g、雌性, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司 [合格证号: S(京)20067-0009SCXK]。S180 肉瘤细胞由军事医学科学院放射医学研究所王玉芝教授赠送。Nicom380 激光粒度仪购自美国 PSS 公司, EVO18 扫描电镜购自德国卡尔蔡司公司。

1.2 制备 IL-2-Fe₃O₄-PLGA

用复乳挥发法制备载 IL-2 磁性纳米颗粒: 采用 100 μl 蒸馏水溶解 10 μg IL-2 获得内水相; 将 118

mg 的 PLGA 溶于 1 ml 二氯甲烷中, 与 150 μl Fe₃O₄ 磁性颗粒混合得油相; 将油相倒入内水相中, 冰浴下 50~100 W 超声处理 30 s, 得初乳; 将初乳加入 2 ml 1% 聚乙烯醇 (polyvinyl alcohol, PVA) 中, 于 100 W 冰浴下超声处理 30 s 得复乳; 将复乳缓慢加入 100 ml 0.1% PVA 中, 放入恒温磁力搅拌器上搅匀, 室温放置摇床上过夜; 再将乳液在低温离心机上离心 15 min (19 000 × g, 4 °C), 用蒸馏水洗涤 3 遍, 沉淀物即为 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 纳米颗粒, 用无菌水超声分散, 得胶体溶液, 放入 4 °C 无菌保存。收集上清液待测其包封率。

1.3 激光粒度分析仪和扫描电镜观察 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 的形态

取少量 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 磁性纳米颗粒悬液, 采用激光粒度分析仪测定其粒径。将 1~2 滴 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 纳米粒子胶体液滴入到载玻片上, 待其自然干燥后放置于贴有双面胶的金属板上, 喷碳制备成扫描电镜标本, 观察 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 纳米粒的表面形态。

1.4 ELISA 法检测 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 的包封率和体外释药特性

取收集到的上清液, 用 ELISA 方法按照试剂盒说明书进行操作。在 450 nm 波长下检测光密度值 (D 值), 每种样品设置 3 个复孔, 取平均值, 通过与标准曲线比对, 可得到相应的 IL-2 的质量浓度。包封率通过下面公式计算: 包封率 (%) = (IL-2-Fe₃O₄-PLGA 中 IL-2 含量 / IL-2-Fe₃O₄-PLGA 制备时 IL-2 投入量) × 100%。

精确吸取 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 悬液 1 ml, 离心、吸去上清液, 补充等量 pH 为 7.4 的 PBS 溶液装入离心管内, 将离心管置于 37 °C 的恒温振荡器内 (72 r/min) 间隔不同时间 (0.5、1、2、3、4、5、6、7、10、15 d) 分别离心, 收集上清液, 采用 ELISA 法测定 IL-2 含量, 绘制出 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 释放 IL-2 的曲线。

1.5 MTT 法检测 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 释放的 IL-2 的

生物学活性

ConA 活化的 T 淋巴母细胞作为 IL-2 活性的检测细胞,用 RPMI 1640 培养液洗涤淋巴细胞 2 次,去除原液中的 ConA 及 IL-2;用含 10% FCS 的 RPMI 1640 完全培养液调整细胞密度为 $1 \times 10^6/\text{ml}$,接种至 96 孔板,100 $\mu\text{l}/\text{孔}$;将 IL-2 标准品、待测样本和对照标本做倍比稀释,分别加入到 96 孔板,100 $\mu\text{l}/\text{孔}$,设 3 个复孔;置 5% CO_2 、37 $^\circ\text{C}$ 培养箱中培养 48 h,各孔加入 MTT 溶液(10 $\mu\text{l}/\text{孔}$)后继续培养 4 h,取出培养板,从各孔中轻轻吸出 150 μl 上清液,弃去;再加入二甲基亚砜 100 $\mu\text{l}/\text{孔}$,置于室温 10 ~ 20 min,吹打震荡,充分混匀,直到所有的紫色结晶溶解,酶标仪检测波长 570 nm 处各孔吸光度 D 值,绘制标准曲线检测待测样本水平,比较 IL-2 原液和 IL-2- Fe_3O_4 -PLGA 释放的 IL-2 的活性。

1.6 IL-2- Fe_3O_4 -PLGA 在肿瘤组织、肝脏和肾脏中的富集和分布

肿瘤动物模型的建立:用 DMEM 将 S180 肉瘤细胞调整至 $5 \times 10^5/\text{ml}$,以 0.1 ml 注射于 BALB/c 小鼠背部皮下,一周后开始出现肿瘤。将模型小鼠随机分为 4 组,每组 10 只,分别给药(给药方法均为肿瘤部位瘤内注射),分组如下:(1) IL-2- Fe_3O_4 -PLGA + 体外磁场组:注射 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ IL-2- Fe_3O_4 -PLGA 悬液 0.1 ml,然后立即在肿瘤局部施加约 0.2 特斯拉(tesla, T)的外磁场 24 h;(2) IL-2- Fe_3O_4 -PLGA 组:注射 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ IL-2- Fe_3O_4 -PLGA 悬液 0.1 ml;(3) IL-2 组:注射 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ IL-2 溶液 0.1 ml;(4) 空白对照组,注射生理盐水 0.1 ml。均于注射后第 25 天处死小鼠,取出肿瘤组织、肝脏和肾脏,经 10% 甲醛液固定,常规石蜡包埋,切片,普鲁士蓝及 H-E 染色观察 IL-2- Fe_3O_4 -PLGA 在肿瘤组织、肝脏和肾脏的富集和分布,同时测量肿瘤组织的重量。

1.7 统计学处理

采用 SPSS13.0 软件,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,实验结果采用单因素方差分析(One-way ANOVA)组间比较采用 LSD 法分析, $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 IL-2- Fe_3O_4 -PLGA 的粒径与形态

激光粒度分析仪所测 IL-2- Fe_3O_4 -PLGA 的粒径为 150 ~ 2 000 nm,主要集中在 500 ~ 700 nm,平均直径为(697 \pm 0.51)nm(图 1)。利用透射电镜可以观察到, Fe_3O_4 磁性纳米颗粒在未与 IL-2 和 PLGA 偶联之前,粒径大约为 10 nm,由于 Fe_3O_4 具有一定

的磁性,所有颗粒间相互粘连(图 2A)。当 Fe_3O_4 磁性纳米颗粒和 PLGA、IL-2 包载制备成 IL-2- Fe_3O_4 -PLGA 纳米复合物以后,扫描电镜下见 IL-2- Fe_3O_4 -PLGA 形态规则呈圆球形,球体均匀度较好,颗粒之间粘连较少(图 2B)。

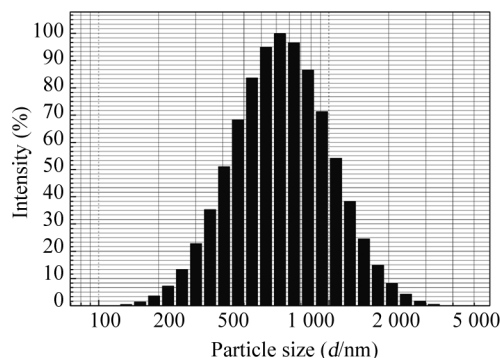


图 1 IL-2- Fe_3O_4 -PLGA 的粒径分布

Fig. 1 Particle diameter distribution of IL-2- Fe_3O_4 -PLGA

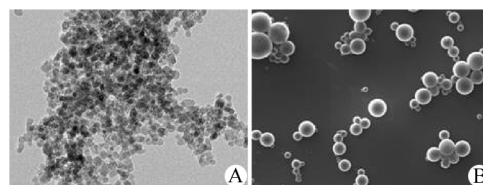


图 2 IL-2- Fe_3O_4 -PLGA 的形态

Fig. 2 Morphology of IL-2- Fe_3O_4 -PLGA

A: Transmission electron microscope ($\times 150\ 000$);

B: Scanning electron microscope ($\times 5\ 000$)

2.2 IL-2- Fe_3O_4 -PLGA 包封率及缓释效果

IL-2- Fe_3O_4 -PLGA 包封率为(83.76 \pm 1.24)%,该纳米粒在 pH 为 7.4 的磷酸盐缓冲溶液中能持续释放 IL-2,第 1 天释放的 IL-2 为 100 ng/ml,具有突释作用,以后持续缓慢地释放,15 d 累积释放的 IL-2 的质量浓度为 180 ng/ml,累积释放的释药曲线(图 3)显示:IL-2- Fe_3O_4 -PLGA 体外能够持续释放 IL-2,具有明显缓释效果。

2.3 IL-2- Fe_3O_4 -PLGA 释放的 IL-2 促进淋巴细胞增殖

MTT 法检测 IL-2- Fe_3O_4 -PLGA 在体外释放的 IL-2 对淋巴细胞增殖的影响,结果(表 1)显示,与空白对照组相比,IL-2- Fe_3O_4 -PLGA 释放的 IL-2 在体外 15 d 内明显增加($P < 0.01$),且 IL-2- Fe_3O_4 -PLGA 释放的 IL-2 仍旧有活性,能够促进淋巴细胞增殖;第 1 天和第 3 天释放的 IL-2 与 IL-2 原液相比,差异

无统计学意义 ($P > 0.05$)。随着时间的延长, IL-2-Fe₃O₄-PLGA 在体外释放 IL-2 的活性逐渐降低, 其活性分别为 IL-2 原液的 85% ~ 55%。这可能是纳米材料在包裹蛋白类药物时, 或在制备、储存及释放药物的过程中, 蛋白质受到一定程度的破坏。

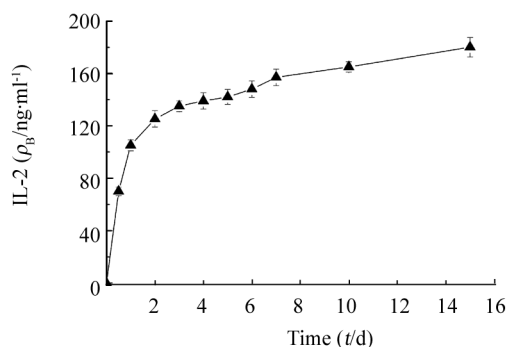


图 3 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 释放 IL-2
Fig. 3 Release of IL-2 by IL-2-Fe₃O₄-PLGA

表 1 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 释放的 IL-2 对淋巴细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s, \%$)

Tab. 1 Effect of IL-2 released from IL-2-Fe₃O₄-PLGA on lymphocyte proliferation ($\bar{x} \pm s, \%$)

Group	Proliferation (D_{570})	Activity (%)
Control	0.03 ± 0.01	
IL-2	0.31 ± 0.05 **	
IL-2-Fe ₃ O ₄ -PLGA(1 d)	0.27 ± 0.03 **	85 ± 9.5
IL-2-Fe ₃ O ₄ -PLGA(3 d)	0.26 ± 0.06 **	83 ± 10.9
IL-2-Fe ₃ O ₄ -PLGA(5 d)	0.23 ± 0.04 **	75 ± 9.7
IL-2-Fe ₃ O ₄ -PLGA(7 d)	0.19 ± 0.02 **	63 ± 9.9
IL-2-Fe ₃ O ₄ -PLGA(15 d)	0.17 ± 0.03 **	55 ± 7.4

** $P < 0.01$ vs control group

2.4 体外磁场加强 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 在肿瘤组织的富集作用

用普鲁士蓝染色观察: IL-2-Fe₃O₄-PLGA 在肿瘤区的富集作用, 结果(图 4)显示, IL-2-Fe₃O₄-PLGA + 体外磁场组可见肿瘤组织内大量普鲁士蓝染色阳性颗粒, 提示 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 沉积, 且伴随周围肿瘤细胞坏死。IL-2-Fe₃O₄-PLGA 组也有 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 颗粒沉积, 但较少, IL-2-Fe₃O₄-PLGA 颗粒大部分沉积在血管周围, 此颗粒粒径大, 不易再进入微血管而进入血液循环。

H-E 染色结果(图 5)显示: IL-2-Fe₃O₄-PLGA +

体外磁场组可见肿瘤组织中出现炎症细胞灶, 可能为 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 通过释放 IL-2 招募炎症细胞, 参与肿瘤细胞的杀伤; 而 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 组, IL-2 组及对照组均未见炎症细胞灶, 表明 IL-2-Fe₃O₄-PLGA + 体外磁场组可能使更多的 IL-2 在局部持续释放, 从而诱发了炎症细胞的聚集。然而在肿瘤细胞生长至 25 d 时, 肿瘤的质量在各组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

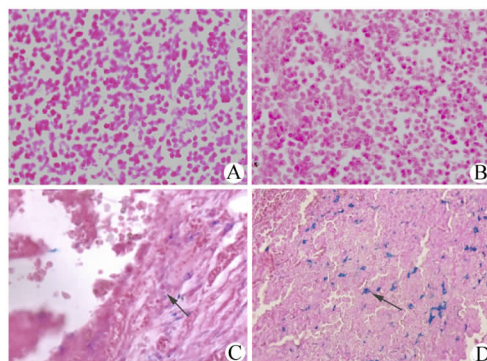


图 4 普鲁士蓝染色检测 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 在肿瘤组织的富集(×200)

Fig. 4 Accumulation of IL-2-Fe₃O₄-PLGA in tumor tissues detected by Prussian blue staining (×200)

A: Control; B: IL-2; C: IL-2-Fe₃O₄-PLGA; D: IL-2-Fe₃O₄-PLGA and external magnetic field

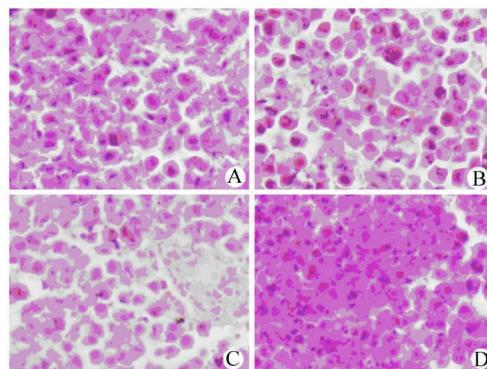


图 5 H-E 染色检测炎症细胞在肿瘤组织的浸润(×400)

Fig. 5 Infiltration of inflammatory cells in tumor tissues detected by H-E staining (×400)

A: Control; B: IL-2; C: IL-2-Fe₃O₄-PLGA; D: IL-2-Fe₃O₄-PLGA and external magnetic field

普鲁士蓝染色还显示, 发现与对照组相比, IL-2-Fe₃O₄-PLGA + 体外磁场组和 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 组的肝脏组织内可偶见少量的普鲁士蓝染色阳性 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 颗粒沉积(图 6)。而在肾脏, 各组

均未见 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 颗粒沉积。结果揭示了 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 更容易被单核巨噬系统丰富的组织器官所摄取。

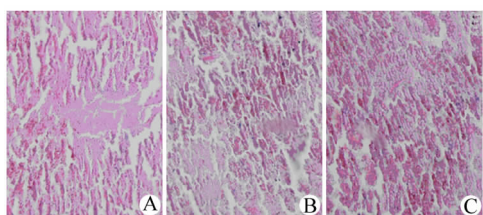


图6 普鲁士蓝染色检测 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 在肝脏的分布(×200)

Fig.6 Distribution of IL-2-Fe₃O₄-PLGA in liver detected by Prussian blue staining (×200)

A: Control; B: IL-2-Fe₃O₄-PLGA;

C: IL-2-Fe₃O₄-PLGA and external magnetic field

3 讨论

目前肿瘤的发病率不断上升,随着纳米技术的发展,纳米药物克服了传统化疗药物的缺点,使药物靶向于肿瘤组织,已成为目前治疗肿瘤的有效策略^[11]。在过去的数十年内,PLGA 在肿瘤学上引起了广泛的关注,近些年来被大量用作分子药物的载体,包括小分子复合物、蛋白质和多肽、生长因子药物等,它也是美国 FDA 批准可用于人体的高分子聚合物。由于 PLGA 具有生物可降解性和生物相容性,而且能包裹纳米颗粒形成具有缓释功能的纳米复合物,因此成为治疗肿瘤的常用的载药纳米材料之一^[12]。Fe₃O₄ 作为一种氧化铁纳米颗粒,具有易合成、大小可控、低毒的优点,常用于载药磁性纳米材料的首选之一^[13-14]。

本研究利用 IL-2、PLGA 和 Fe₃O₄ 磁性纳米颗粒构建一种兼具缓释和靶向作用的多功能 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 磁性纳米复合物,探讨其对肿瘤的治疗作用。IL-2 是一类亲水性的细胞因子,目前对于蛋白类药物制备载药纳米微球一般采用复乳溶剂挥发法。本实验制备的 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 纳米微粒封装率高,在开始 24 h 具有突释作用,IL-2 的质量浓度约为 100 ng/ml,此后持续缓慢释放药物,15 d 时 IL-2 的累积质量浓度达到 180 ng/ml。IL-2-Fe₃O₄-PLGA 具有突释作用对于局部治疗肿瘤有利,因为体内一定始发浓度的 IL-2 对 T 细胞活化和增殖是必要的,而且高浓度 IL-2 必须维持一定的时间以确保继续活化 T 细胞,从而发挥其免疫作用^[15]。有研

究^[16-17]认为,纳米材料在包裹蛋白类药物时,在制备、储存及释放药物的过程中,蛋白质会遭到破坏,微球包封的过程中其活性会损失一半,这可能是有机溶剂的存在导致了蛋白的变性。本实验制备的 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 释放的 IL-2 的活性为 IL-2 原液活性的 85%~55%,其损失的过程还有待研究。

据文献^[18]报道,纳米药物的形状和大小对于其靶向性极其重要。本研究制备的 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 呈球形,平均粒径为(697±0.51)nm。为避免其在血循环中被单核细胞等吞噬,特采用了肿瘤内注射给药。动物体内实验结果表明:IL-2-Fe₃O₄-PLGA 可停留于肿瘤区,在体外磁场的作用下,25 d 后仍可见 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 在肿瘤区富集,而不加磁场时 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 颗粒沉积较少,而且大部分沉积在血管周围。肝脏和肾脏组织病理切片可以观察到 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 少量沉积在肝组织内,肾脏未见 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 颗粒沉积。这些结果表明:(1)IL-2-Fe₃O₄-PLGA 在外磁场作用下增强了药物向肿瘤区的富集,实现了靶向治疗作用。(2)一次给药后 25 d 仍有 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 颗粒沉积,表明 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 的粒径较大,不易再穿过肿瘤区微血管而停留于肿瘤区。(3)IL-2-Fe₃O₄-PLGA 更容易被单核巨噬系统丰富的组织器官所摄取,对正常的组织器官毒性较小。

IL-2-Fe₃O₄-PLGA 小鼠体内实验可见:外磁场作用下,增强了 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 颗粒的在肿瘤局部的聚集,也出现 IL-2 招募炎症细胞的作用,在 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 的周围可见大片的肿瘤组织坏死,但与对照组相比,未见肿瘤体积明显缩小,分析其原因可能为:(1)IL-2 用量及缓释出的量低,且随着时间的延长,其活性降低。从病理切片看,肿瘤区虽富集了炎症细胞,但其中淋巴细胞并不多,因而尚未能起到足够抑制肿瘤生长的作用。文献^[19]报道的局部 IL-2 瘤内给药,是多次,且剂量较大。(2)外磁场的强度不够,文献^[20]报道用于小鼠的外磁场的强度为 1.0 T 以上。因此,为进一步研究 IL-2-Fe₃O₄-PLGA 抑制肿瘤生长作用,需要筛选最佳给药量及磁场应用强度及时间。

综上所述,IL-2-Fe₃O₄-PLGA 制作简单,具有低毒、药物可控制释放等优点,在恶性肿瘤的免疫治疗方面具有潜在的应用前景。

[参考文献]

- [1] Liao W, Lin JX, Leonard WJ. IL-2 family cytokines: New insights into the complex roles of IL-2 as a broad regulator of T help-

- er cell differentiation [J]. *Curr Opin Immunol*, 2011, 23(5): 598-604.
- [2] Quan WD Jr, Quan FM. Activity of continuous infusion + pulse interleukin-2 with famotidine in metastatic melanoma [J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2009, 24(1): 1-6.
- [3] Den Otter W, Jacobs JJ, Battermann JJ, et al. Local therapy of cancer with free IL-2 [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2008, 57(7): 931-950.
- [4] Westwood JA, Darcy PK, Guru PM, et al. Three agonist antibodies in combination with high-dose IL-2 eradicate orthotopic kidney cancer in mice [J]. *J Transl Med*, 2010, 8: 42-49.
- [5] Gallagher DC, Bhatt RS, Parikh SM, et al. Angiopoietin 2 is a potential mediator of high-dose interleukin 2-induced vascular leak [J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(7): 2115-2120.
- [6] Babincova M, Babinec P. Magnetic drug delivery and targeting principles and applications [J]. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 2009, 153(4): 243-250.
- [7] Yu MK, Park J, Jon S. Targeting strategies for multifunctional nanoparticles in cancer imaging and therapy [J]. *Theranostics*, 2012, 2(1): 3-44.
- [8] Ito F, Fujimori H, Honnami H, et al. Control of drug loading efficiency and drug release behavior in preparation of hydrophilic-drug-containing monodisperse PLGA [J]. *J Mater Sci Mater Med*, 2010, 1(5): 1563-1571.
- [9] Devrim B, Bozkir A, Canefe K. Preparation and evaluation of PLGA microparticles as carrier for the pulmonary delivery of rhIL-2: I. Effects of some formulation parameters on microparticle characteristics [J]. *J Microencapsul*, 2011, 28(6): 582-594.
- [10] Devrim B, Bozkir A, Canefe K. Preparation and evaluation of poly(lactic-co-glycolic acid) microparticles as a carrier for pulmonary delivery of recombinant human interleukin-2: II. *In vitro* studies on aerodynamic properties of dry powder inhaler formulations [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2011, 37(11): 1376-1386.
- [11] Acharya S, Sahoo SK. PLGA nanoparticles containing various anti-cancer agents and tumour delivery by EPR effect [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2011, 63(3): 170-183.
- [12] Ji W, Yang F, Seyednejad H, et al. Biocompatibility and degradation characteristics of PLGA-based electrospun nanofibrous scaffolds with nanoapatite incorporation [J]. *Biomaterials*, 2012, 33(28): 6604-6614.
- [13] Huang KW, Chieh JJ, Horng HE, et al. Characteristics of magnetic labeling on liver tumors with anti-alpha-fetoprotein-mediated Fe₃O₄ magnetic nanoparticles [J]. *Int J Nanomedicine*, 2012, 7: 2987-2996.
- [14] Hadjipanayis CG, Machaidze R, Kaluzova M, et al. EGFRvIII antibody-conjugated iron oxide nanoparticles for magnetic resonance imaging-guided convection-enhanced delivery and targeted therapy of glioblastoma [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(15): 6303-6312.
- [15] Qiao M, Chen D, Hao T, et al. Injectable thermosensitive PLGA-PEG-PLGA triblock copolymers-based hydrogels as carriers for interleukin-2 [J]. *Pharmazie*, 2008, 63(1): 27-30.
- [16] Egilmez NK, Jong YS, Iwanuma Y, et al. Cytokine immunotherapy of cancer with controlled release biodegradable microspheres in a human tumor xenograft /SCID mouse [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 1998, 46(1): 21-24.
- [17] van de Weert M, Hennink WE, Jiskoot W. Protein instability in poly(lactic-co-glycolic acid) microparticles [J]. *Pharm Res*, 2000, 17(10): 1159-1167.
- [18] Wang J, Byrne JD, Napier ME, et al. More effective nanomedicines through particle design [J]. *Small*, 2011, 7(14): 1919-1931.
- [19] Weide B, Eigentler TK, Pflugfelder A, et al. Survival after intratumoral interleukin-2 treatment of 72 melanoma patients and response upon the first chemotherapy during follow-up [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2011, 60(4): 487-493.
- [20] Alexiou C, Jurgons R, Seliger C, et al. Delivery of superparamagnetic nanoparticles for local chemotherapy after intraarterial infusion and magnetic drug targeting [J]. *Anticancer Res*, 2007, 27(4A): 2019-2022.
- [收稿日期] 2012 - 09 - 06 [修回日期] 2012 - 12 - 28
[本文编辑] 周玲琳

· 读者 · 作者 · 编者 ·

更正声明

《中国肿瘤生物治疗杂志》2012 年第 19 卷第 6 期 656 ~ 661 页刊登李巧珍等撰写的综述《幽门螺杆菌对树突状细胞功能影响的研究进展》，其中第一作者单位“福建医科大学 福总 174 临床医学院”应改为“福建医科大学 福总临床医学院”。特此更正！

(本刊编辑部)