

文章编号 1006-8147(2021)03-0229-05

论 著

负载化疗药物的外泌体对肝癌的靶向治疗研究

张杨,游阿彬,齐寒,张缘,左冰峰,尹海芳

(天津医科大学基础医学院细胞生物学系,天津 300070)

摘要 目的:在小鼠肝癌皮下瘤模型中探究肝癌靶向肽介导负载甲氨蝶呤(MTX)的肝癌细胞来源外泌体(tumor-derived exosome-TEX)的抗肿瘤效果及不良反应。方法:利用超速离心法收集负载 MTX 的小鼠肝癌细胞来源的外泌体(TEX_{MTX});利用外泌体特异锚定短肽 CP05 将肝癌靶向肽 SP94 修饰在 TEX_{MTX} 表面,活体成像检测靶向肽修饰的 TEX_{MTX} 能否高效靶向肝癌组织;通过尾静脉注射荷瘤鼠,评估该靶向肽修饰的 TEX_{MTX} 的抑瘤效果,同时检测治疗后各组小鼠血生化指标及组织形态学染色,评估该药物生物安全性。结果:负载 MTX 并不影响外泌体的基本结构和形态特征;SP94 可将 TEX_{MTX} 高效靶向运输到肿瘤部位;在皮下抑瘤实验中,与 PBS 组相比,SP94-CP05-TEX_{MTX} 能够显著抑制小鼠肝癌皮下瘤的生长($t=5.811, P<0.01$),与 MTX 组和 TEX_{MTX} 组相比,SP94-CP05-TEX_{MTX} 组肿瘤体积也显著减小($t=2.573, 3.152$, 均 $P<0.05$);血生化指标和病理指标显示,与 PBS 组相比,MTX 组和 TEX_{MTX} 组小鼠血清谷草转氨酶水平显著升高($t=7.084, 5.260$, 均 $P<0.05$)。与 MTX 组和 TEX_{MTX} 组相比,SP94-CP05-TEX_{MTX} 组小鼠谷草转氨酶水平显著下降($t=6.241, 4.955$, 均 $P<0.05$);SP94-CP05-TEX_{MTX} 组与 MTX 组相比,小鼠血清肌酸激酶水平也显著下降($t=5.073, P<0.05$)。结论:肝癌靶向肽修饰的 TEX_{MTX} 可将 MTX 靶向运输到肝细胞癌组织,有效抑制肿瘤生长,提高化疗药物的生物安全性。

关键词 肝细胞癌;外泌体;化疗药物;靶向治疗

中图分类号 Q291

文献标志码 A

Tumor-derived exosomes mediate targeted therapy in hepatocellular carcinoma mice

ZHANG Yang, YOU A-bin, QI Han, ZHANG Yuan, ZUO Bing-feng, YIN Hai-fang

(Department of Cell Biology, School of Basic Medical Sciences, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

Abstract Objective: To investigate the anti-tumor and adverse reactions of hepatocellular carcinoma(HCC)-targeting peptide modified tumor-derived exosomes(TEX) loaded with methotrexate(MTX) cargoes in a mouse model of subcutaneous HCC. **Methods:** Tumor-derived exosomes(TEX_{MTX}) loaded with methotrexate was collected by ultracentrifugation. HCC-targeting peptides SP94 were modified on TEX_{MTX} by using exosomal-specific anchoring peptide CP05. *In vivo* imaging was used to detect whether targeting peptide-modified TEX_{MTX} could efficiently target HCC tissues. The tumor-bearing mice were injected through the tail vein to compare the anti-tumor effects of TEX_{MTX} in each group. At the same time, the blood biochemical indexes and histomorphological staining of each group after treatment were detected to assess the biological safety of the drug. **Results:** Loading MTX did not affect the basic structure and morphological characteristics of exosomes. TEX_{MTX} modified with SP94 improved the delivery efficiency of chemotherapy drugs into targeted HCC tumor tissue. In the subcutaneous tumor suppression experiment, compared with the PBS group, SP94-CP05-TEX_{MTX} could significantly inhibit the growth of liver cancer subcutaneous tumors in mice($t=5.811, P<0.01$). Compared with the MTX group and the TEX_{MTX} group, the tumor volume in the SP94-CP05-TEX_{MTX} group was also significantly reduced($t=2.573, 3.152$, both $P<0.05$). Blood biochemical indicators and pathological indicators showed that compared with the PBS group, the serum aspartate aminotransferase levels of mice in the MTX group and TEX_{MTX} group were significantly increased($t=7.084, 5.260$, both $P<0.05$). Compared with the MTX group and the TEX_{MTX} group, the level of aspartate aminotransferase in mice of the SP94-CP05-TEX_{MTX} group decreased significantly($t=6.241, 4.955$, both $P<0.05$). Compared with the MTX group, the SP94-CP05-TEX_{MTX} group also showed a significant decrease in serum creatine kinase levels($t=5.073, P<0.05$). **Conclusion:** HCC-targeting peptide modified TEX_{MTX} can target MTX to hepatocellular carcinoma tissues, effectively inhibit the tumor growth, and improve the biological safety of chemotherapy drugs.

Key words hepatocellular carcinoma; exosomes; chemotherapeutics; targeted therapy

肝细胞癌是当前危害人类生命健康的恶性肿瘤之一,肝癌死亡率排名世界第三,发病率也位居

基金项目 天津市教科科研计划项目(2017KJ222)

作者简介 张杨(1994-),男,硕士在读,研究方向:外泌体与肿瘤免疫治疗;通信作者:尹海芳, E-mail: haifangyin@tmu.edu.cn;左冰峰, E-mail: zuobingfeng@tmu.edu.cn。

全球第六^[1]。目前,化学治疗(化疗)是治疗肝癌的主要方法之一。但是由于化疗药物在体内很难被递送到肝癌部位,导致其治疗效果不佳,且对机体产生许多不良反应。因此,靶向肝癌递送化疗药物策略对化疗具有重要意义^[2-3]。

外泌体(exosome)作为一种直径在100 nm左右的生物纳米囊泡^[4],因其免疫原性低、生物相容度高、稳定性好以及较好的组织倾向性和可修饰性^[5-6],可作为高效的药物运输载体被广泛应用于药物运输^[7-8]、疾病治疗^[9-10]等研究领域。本课题组前期通过噬菌体展示技术,获得了一种新型的外泌体特异锚定短肽CP05,通过该短肽可实现对外泌体进行高效捕获、靶向及功能化修饰^[7]。因此,本研究利用负载甲氨蝶呤(MTX)的肝癌细胞来源的外泌体 TEX_{MTX} ,在体外通过外泌体特异锚定肽CP05结合肝癌特异性靶向肽SP94^[11],对 TEX_{MTX} 进行靶向修饰,在小鼠皮下肝癌模型中,系统探究该生物纳米药物抑瘤作用及机体不良反应。

1 材料与方法

1.1 动物与材料 小鼠肝癌细胞系Hepa1-6来自C57/BL6(H-2b),购买于中国武汉博士德生物工程有限公司。MTX(美国,Sigma公司)、PKH67荧光染料(美国,Sigma公司)、兔源CD63多克隆抗体(美国,Santa Cruz公司)、羊源Alix多克隆抗体(美国,Santa Cruz公司)、兔源Cytochrome C单克隆抗体(美国,CST公司)、HRP标记的羊抗兔抗体(美国,Sigma公司)、HRP标记的兔抗羊抗体(美国,Sigma公司)。

清洁级6~8周的C57BL/6健康雄鼠50只,体重在18~20 g,购于南京模式动物研究所,合格证号:201700764,生产许可证号:SCXK(苏)2015-0001。

1.2 方法

1.2.1 Hepa1-6细胞外泌体及负载MTX的外泌体分离和收集 选用小鼠肝癌细胞系Hepa1-6作为肿瘤外泌体(tumor exosome,以下简称TEX)的来源细胞,培养基为10%胎牛血清(去除血清自身含有的外泌体)的DMEM。在肝癌细胞中加入100 $\mu\text{g/mL}$ 的MTX,将培养皿置于紫外线下(UBV,300 Jm^{-2})照射1 h^[13],转入细胞培养箱(37℃恒温、体积分数5% CO_2)中培养。48 h后,收集肿瘤细胞上清,将上清进行梯度离心(2 000 $\times g$ 离心20 min,10 000 $\times g$ 离心30 min)去除细胞碎片,过0.22 μm 滤器除去大囊泡;再将滤液100 000 $\times g$ 离心70 min,弃去上清,用干净的100 μL DPBS重悬离心管底部,回收外泌体,-80℃冰箱保存备用。

1.2.2 醋酸铀染色及透射电镜观察 将超速离心得到的10 μL 外泌体悬液加入到等体积的4%多聚甲醛溶液中冰上固定20 min;吸取固定好的外泌体滴到铜网上,室温放置20 min;吸去多余的溶液,向铜网滴加50 μL 1%戊二醛溶液,室温孵育5 min;

吸去戊二醛溶液,滴加100 μL 去离子水洗涤铜网,每次洗2 min,洗8次;向铜网滴加50 μL 草酸铀溶液负染5 min;吸去多余溶液,向铜网上滴加50 μL 甲基纤维素-乙酸双氧铀溶液,置于冰上染色10 min;吸去多余的溶液,置于滤纸上晾干铜网,透射电镜观察。

1.2.3 Western 印迹检测外泌体标志性蛋白(CD63、Alix)的表达 取一个铺满10 cm细胞培养皿的肝癌细胞,消化、洗涤、离心得到肿瘤细胞,加入细胞裂解液,提取肝癌细胞总蛋白。按30 μg 上样,进行SDS-PAGE电泳、转膜,分别孵育一抗鼠源CD63单克隆抗体、一抗鼠源Alix单克隆抗体和一抗兔源Cytochrome C单克隆抗体,4℃孵育过夜。次日,用质量分数为5%的脱脂牛奶洗涤PVDF膜3次,每次洗涤10 min;加入二抗,4℃摇床孵育2 h;PBST洗涤3次,每次10 min;最后滴上发光液,压片曝光。

1.2.4 肝癌靶向肽SP94修饰外泌体及小动物成像检测体内组织分布 在本课题组的前期研究中,采用噬菌体库筛选研发了一种能够与外泌体表面的CD63分子特异结合的锚定肽CP05(CRHSQMTVT-SRL)^[7]。将之前文献中报道的一种肝癌细胞靶向肽SP94(SFSIIHTPILPL),通过连接肽G4S(GGGGS)与外泌体锚定肽CP05连接得到SP94-CP05短肽。使用PKH67荧光染料标记 TEX_{MTX} ,将标记好的 TEX_{MTX} 与SP94-CP05短肽或SP94裸肽(无菌的PBS溶解)与 TEX_{MTX} 按质量比1:2进行孵育置于4℃摇床孵育6 h。

小鼠腹股沟皮下接种 5×10^5 Hepa1-6细胞21 d后,将荷瘤小鼠按随机数字表法随机分成4组:空白对照组(NC)、负载甲氨蝶呤的外泌体组(TEX_{MTX})、肝癌靶向肽未修饰的负载甲氨蝶呤的外泌体组(SP94+ TEX_{MTX})、肝癌靶向肽修饰的负载甲氨蝶呤的外泌体组(SP94-CP05- TEX_{MTX})。将 TEX_{MTX} 按以上分组经尾静脉注射皮下瘤小鼠(80 μg TEX/只),2 h后,取小鼠组织和器官,小动物成像系统观察不同组外泌体在肿瘤组织中的靶向情况。

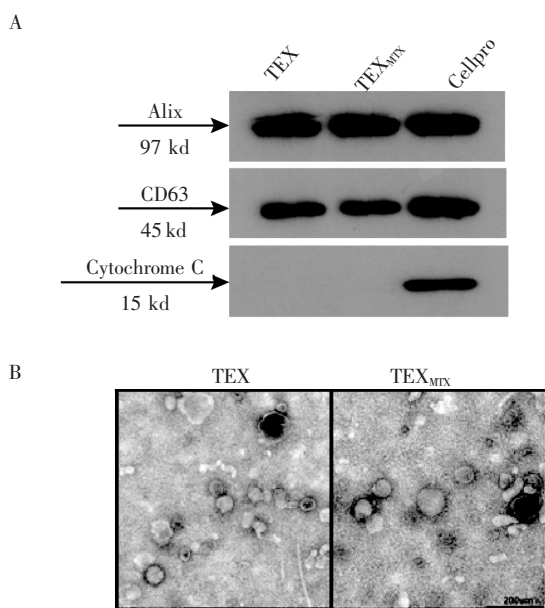
1.2.5 小鼠肝癌皮下瘤模型的建立及体内系统治疗 将Hepa1-6细胞消化、洗涤、计数,每只小鼠皮下腹股沟接种 5×10^5 个细胞,接种后第7天开始治疗。将荷瘤鼠随机分成4组:PBS缓冲溶液治疗组(PBS)、甲氨蝶呤单独治疗组(MTX)、负载甲氨蝶呤的外泌体治疗组(TEX_{MTX})、肝癌靶向肽修饰的负载甲氨蝶呤的外泌体治疗组(SP94-CP05- TEX_{MTX}),每组5只。各组MTX给药剂量为5 mg/kg ^[12],尾静脉给药,定期检测小鼠皮下瘤体积。肿瘤体积= $1/2\times D_{\text{max}}\times (D_{\text{min}})^2$ 。

1.2.6 HE 染色观察评估安全性 使用自动石蜡切片机将不同治疗组小鼠心脏、肝脏、肾脏、肿瘤石蜡组织块切成厚度约 7 mm 石蜡片,并黏附于新的载玻片上,将载玻片置于 65℃烘箱中烘烤 1.5 h,二甲苯进行脱蜡 45 min,按体积分数从高到低进行酒精梯度水化,每个梯度浸泡 5 min;使用苏木红染液对切片进行染色 13 min,蒸馏水中进行反蓝;再用伊红染液对组织细胞质染色 30 s,使用蒸馏水洗去未结合的伊红染液;按体积分数从低到高依次进行酒精梯度脱水,二甲苯浸泡 13 min 继续脱水,使其透明;中性树胶封片,风干后置于正置显微镜下观察拍照。

1.3 统计学处理 所有数据使用 SPSS16.0 进行统计分析,符合正态分布的计量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间均数比较采用独立样本 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 负载 MTX 的 Hepa1-6 细胞来源外泌体表征 Western 印迹检测外泌体特征蛋白 CD63 的表达,结果显示,MTX 的负载并不影响外泌体中 CD63 蛋白表达丰度(图 1A)。进一步利用透射电镜检测 TEX 和 TEX_{MTX}(图 1B),显示 TEX_{MTX} 呈典型的碗状双层膜结构,结构完整、大小均一,与 TEX 的形态无明显区别。



注:A:Western 印迹检测 TEX_{MTX} 表面特征蛋白表达;B:透射电镜检测 TEX_{MTX} 的形态特征;TEX:Hepa1-6 细胞来源的外泌体;TEX_{MTX}:负载甲氨蝶呤的 Hepa1-6 细胞来源的外泌体;Cellpro:Hepa1-6 细胞蛋白

图 1 负载 MTX 的 Hepa1-6 细胞来源外泌体表征

Fig 1 Characterization of exosomes derived from Hepa1-6 cells loaded with MTX

2.2 肝癌细胞来源外泌体可有效装载 MTX 采用 HPLC 测定外泌体中 MTX 的药物浓度,结果显示:MTX 的保留时间约为 4.12 min(图 2A),外泌体中 MTX 浓度为 0.5 μg/μL(图 2B)。

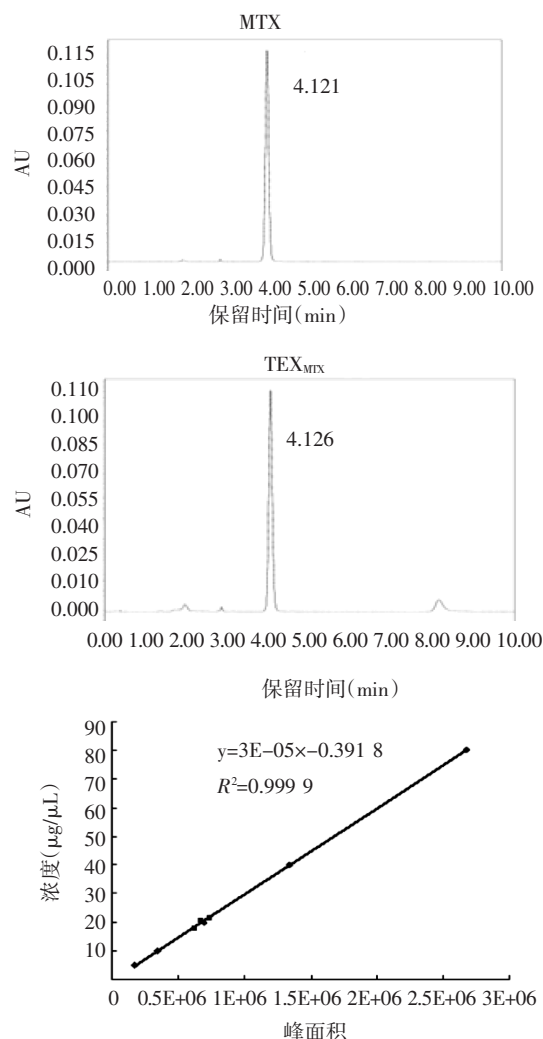


图 2 高效液相色谱(HPLC)检测 MTX 的装载浓度

Fig 2 High performance liquid chromatography(HPLC) detection of the loading efficiency of MTX

2.3 肝癌靶向肽修饰 TEX_{MTX} 靶向肿瘤组织 为了验证肝癌靶向肽 SP94 修饰的 TEX_{MTX} 的体内靶向性,小动物成像检测不同组织中 TEX_{MTX} 上标记的 PKH67 的荧光信号,结果显示,大多数 TEX_{MTX} 分布于肝脏,其他组织中荧光信号很弱。SP94-CP05-TEX_{MTX} 组小鼠皮下瘤组织中检测出很强的外泌体荧光信号,而进入其他组织的 TEX_{MTX} 与 NC 组无明显区别(图 3)。

2.4 SP94-CP05-TEX_{MTX} 有效抑制小鼠皮下肝细胞癌的生长 为了进一步研究外泌体锚定肽结合肝癌靶向肽 SP94 修饰的 TEX_{MTX} 体内抑瘤效果,建立了小鼠肝细胞癌皮下瘤模型,通过尾静脉给药,实时监测肿瘤大小,采用肿瘤平均体积曲线展示了各组

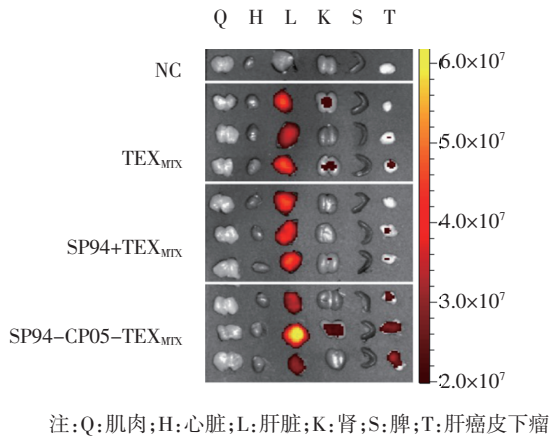
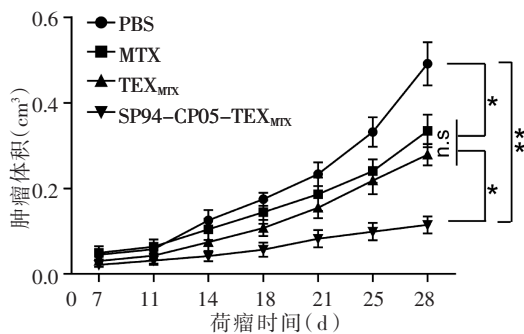


图3 肝癌靶向肽修饰的外泌体体内靶向性验证

Fig 3 Tissue distribution of hepatocellular carcinoma (HCC) targeting peptide-modified exosomes

治疗效果,结果显示:与PBS组相比,MTX组和TEX_{MTX}组小鼠皮下瘤生长显著受抑制($t=2.485$ 、 3.727 ,均 $P<0.05$),TEX_{MTX}组较MTX组肿瘤体积减小,但两组间差异无统计学意义($P>0.05$);与PBS相比,SP94-CP05-TEX_{MTX}组肿瘤生长受抑制($t=5.811$, $P<0.01$),与MTX组和TEX_{MTX}组相比,SP94-CP05-TEX_{MTX}组肿瘤体积显著减小($t=2.573$ 、 3.152 ,均 $P<0.05$)(图4)。



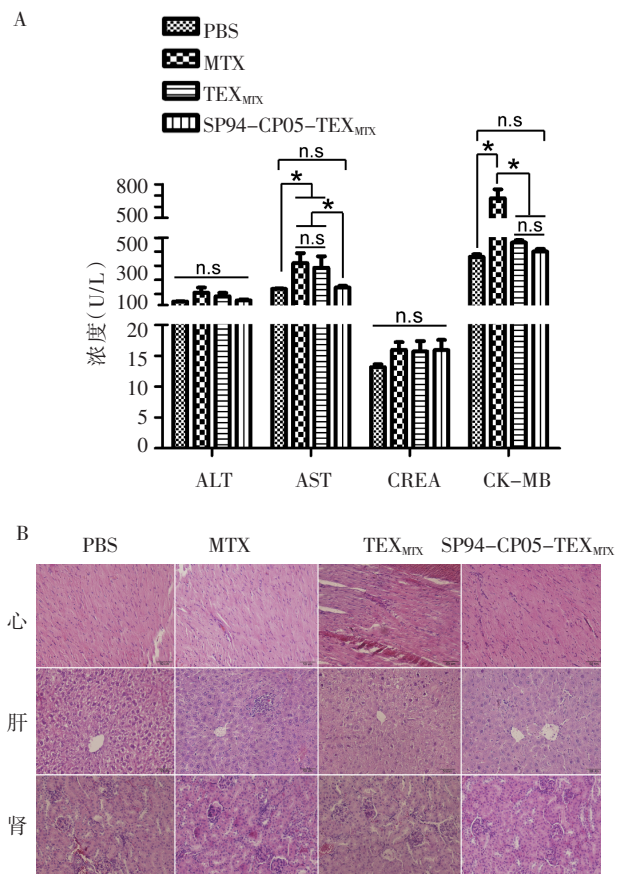
注: * $P<0.05$, ** $P<0.01$

图4 各治疗组小鼠皮下瘤生长曲线

Fig 4 Subcutaneous tumor growth curve of mice in each treatment group

2.5 SP94-CP05-TEX_{MTX}降低化疗药物不良反应 为了进一步评估SP94-CP05-TEX_{MTX}体内的生物安全性,收集治疗后不同治疗组小鼠血清样本、肝脏、肾脏、心脏组织,进行心脏、肾脏及肝脏功能相关生化指标的检测(图5A);血生化指标检测结果表明,与PBS组相比,MTX及TEX_{MTX}治疗组小鼠血清谷草转氨酶水平显著升高($t=7.084$ 、 5.260 ,均 $P<0.05$),但两治疗组谷草转氨酶水平变化没有明显区别($P>0.05$);与MTX组和TEX_{MTX}组相比,SP94-CP05-TEX_{MTX}治疗组小鼠谷草转氨酶水平显著下降($t=6.241$ 、 4.955 ,均 $P<0.05$),该治疗组谷草转氨酶水平与PBS

组无明显区别($P>0.05$)。与PBS组相比,MTX组肌酸激酶水平显著升高($t=3.681$, $P<0.05$);与MTX组相比,SP94-CP05-TEX_{MTX}组肌酸激酶水平显著下降($t=5.073$, $P<0.05$),与PBS组差异无统计学意义($P>0.05$);而肝功能相关指标谷丙转氨酶以及肾功能相关指标血肌酐在4组小鼠血清中的变化差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。HE染色进一步检测治疗后小鼠心脏、肝脏及肾脏的病理表型,结果显示(图5B),MTX及TEX_{MTX}治疗组小鼠肝脏和心脏有明显损伤,产生明显炎症损伤部位,肾脏也有一定的炎症损伤聚集,而SP94-CP05-TEX_{MTX}组小鼠肝脏、肾脏及心脏中未见损伤区域。



注:A:血清中与肝脏、肾脏及心肌生理功能相关生化指标(* $P<0.05$);B:石蜡病理切片及苏木红-伊红染色评估治疗后不同组织器官病理表型(20 \times);ALT:谷丙转氨酶;AST:谷草转氨酶;CREA:血肌酐;CK-MB:肌酸激酶

图5 SP94-CP05-TEX_{MTX}治疗的生物安全性评估Fig 5 Biological safety assessment of SP94-CP05-TEX_{MTX} treatment

3 讨论

目前,化疗是肝癌的主要治疗手段之一,虽然化疗药物种类多,抑癌效果良好,但是由于化疗药物难以精准递送到肿瘤部位,增加了用药剂量的同时也给全身带来严重的不良反应,且长期给药导致

肿瘤细胞对化疗药物耐受并破坏自身免疫系统,降低了治疗效果^[13-14]。外泌体作为一种天然的生物纳米囊泡,由于其独特的生物安全性,是治疗药物输送的极佳潜在载体^[15]。前期实验笔者发现,外泌体具有遗传可修饰性,可通过体外靶向肽修饰赋予其靶向性;因此进一步对载药外泌体进行靶向修饰,赋予该纳米药物肿瘤靶向性,将化疗药物精准递送到肝癌组织,对于改善肝癌化疗的困境具有非常重要的意义^[16-17]。

本研究通过紫外线照射 MTX 处理的小鼠肝癌细胞成功获得高效负载 MTX 的外泌体 TEX_{MTX},高效液相色谱结果表明,MTX 负载效率与 MTX 处理剂量呈正相关。然后利用自主研发的外泌体锚定肽 CP05,将肝癌靶向肽 SP94 修饰到 TEX_{MTX} 表面,Western 印迹显示,TEX_{MTX} 并不影响外泌体上 CD63 蛋白表达,电镜结果显示 SP94 修饰的 TEX_{MTX} 并没有改变外泌体的基本结构和形态特征,表明 TEX_{MTX} 可用于外泌体锚定短肽 CP05 进行高效修饰。小动物活体成像结果显示,尾静脉注射 SP94 裸肽孵育的 TEX_{MTX},肝癌靶向性较差,通过外泌体锚定肽 CP05 将肝癌靶向肽 SP94 修饰到 TEX_{MTX} 表面后,能够将 TEX_{MTX} 高效靶向运输到肿瘤部位,肿瘤组织部位聚集大量外泌体荧光信号,这对于化学药物靶向治疗肝癌具有重要意义。体内抑瘤实验表明,与 PBS 组相比,SP94-CP05-TEX_{MTX} 显著抑制了小鼠皮下肝细胞癌的生长,抑瘤效果也显著优于 MTX 组和 TEX_{MTX} 组。血生化检测指标显示,SP94-CP05-TEX_{MTX} 治疗后,小鼠血清中的谷草转氨酶和肌酸激酶水平较 MTX 组显著降低,病理结果也显示 SP94-CP05-TEX_{MTX} 组小鼠肝和心脏组织炎症较 MTX 组也有所缓解,说明肝癌靶向肽修饰的负载 MTX 的外泌体能够改善单独使用 MTX 造成的肝肾毒性和心肌损伤,显著提高该药物的组织靶向性及安全性。表明该纳米靶向药物 SP94-CP05-TEX_{MTX} 能够改善临床化疗药用药剂量大,经血液循环难以到达肿瘤部位发挥作用的困境,进而提高化疗药物的抗肿瘤效果。

综上所述,本研究通过体外、体内研究,证实了肝癌靶向肽修饰的外泌体,可将负载的甲氨蝶呤精准递送到肿瘤组织,有效抑制肝癌生长,并且改善了化疗药物引发的不良反应,为肝癌的化学药物治疗提供了新的思路和策略。同时为了更好的模拟肝癌的发生和复杂的免疫微环境,后续研究中,笔者将在小鼠原位或原发肝癌模型中,进一步验证肝癌靶向肽修饰的负载化疗药物的外泌体的抗肿瘤效果。

参考文献:

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6):394
- [2] Schlachterman A, Craft W W, Jr Hilgenfeldt E, et al. Current and future treatments for hepatocellular carcinoma[J]. World J Gastroenterol, 2015, 21(28):8478
- [3] Omyła-Staszewska J, Deptała A. Effective therapeutic management of hepatocellular carcinoma – on the basis of a clinical case[J]. Contemp Oncol (Pozn), 2012, 16(1):60
- [4] Zhao X, Wu D, Ma X, et al. Exosomes as drug carriers for cancer therapy and challenges regarding exosome uptake[J]. Biomed Pharmacother, 2020, 128:110237
- [5] Zhang Y, Liu Y, Liu H, et al. Exosomes: biogenesis, biologic function and clinical potential[J]. Cell Biosci, 2019, 9:19
- [6] van der Meel R, Fens M H, Vader P, et al. Extracellular vesicles as drug delivery systems: lessons from the liposome field[J]. J Control Release, 2014, 195:72
- [7] Gao X, Ran N, Dong X, et al. Anchor peptide captures, targets, and loads exosomes of diverse origins for diagnostics and therapy[J]. Sci Transl Med, 2018, 10(444):eaat0195
- [8] Nie W, Wu G, Zhang J, et al. Responsive exosome nano-bioconjugates for synergistic cancer therapy[J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2020, 59(5):2018
- [9] Rao Q, Zuo B, Lu Z, et al. Tumor-derived exosomes elicit tumor suppression in murine hepatocellular carcinoma models and humans *in vitro*[J]. Hepatology, 2016, 64(2):456
- [10] 潘大宇, 宁广智, 冯世庆. 雪旺细胞外泌体影响胶质瘤形成修复小鼠脊髓损伤的实验研究[J]. 天津医科大学学报, 2020, 26(5):397
- [11] Lo A, Lin C T, Wu H C. Hepatocellular carcinoma cell-specific peptide ligand for targeted drug delivery[J]. Mol Cancer Ther, 2008, 7(3):579
- [12] Tang K, Zhang Y, Zhang H, et al. Delivery of chemotherapeutic drugs in tumour cell-derived microparticles[J]. Nat Commun, 2012, 3:1282
- [13] Pérez-Herrero E, Fernández-Medarde A. Advanced targeted therapies in cancer: drug nanocarriers, the future of chemotherapy[J]. Eur J Pharm Biopharm, 2015, 93:52
- [14] Peng Q, Zhang S, Yang Q, et al. Preformed albumin corona, a protective coating for nanoparticles based drug delivery system[J]. Biomaterials, 2013, 34(33):8521
- [15] Ma J, Zhang Y, Tang K, et al. Reversing drug resistance of soft tumor-repopulating cells by tumor cell-derived chemotherapeutic microparticles[J]. Cell Res, 2016, 26(6):713
- [16] Zhan Q, Yi K, Qi H, et al. Engineering blood exosomes for tumor-targeting efficient gene/chemo combination therapy[J]. Theranostics, 2020, 10(17):7889
- [17] Li S, Zhang Y, Ho S H, et al. Combination of tumour-infarction therapy and chemotherapy via the co-delivery of doxorubicin and thrombin encapsulated in tumour-targeted nanoparticles[J]. Nat Biomed Eng, 2020, 4(7):732

(2020-11-04 收稿)