

• 基础研究 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2024.20.001

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20240530.0924.004\(2024-05-30\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20240530.0924.004(2024-05-30))

红细胞膜伪装的吉非替尼纳米药物对肺癌荷瘤裸鼠的抑制效应研究*

范运秀, 杨波, 周丽, 黄小平[△]

(重庆大学附属三峡医院肿瘤中心, 重庆 404100)

[摘要] 目的 制备红细胞膜伪装的吉非替尼(GEF)纳米药物, 并应用肺癌荷瘤裸鼠模型观察药物体内半衰期和血药浓度, 探讨其抑瘤作用和抑瘤机制。方法 采用高效液相色谱(HPLC)建立 GEF 标准曲线。构建 A549 荷瘤裸鼠, 分为 GEF 组、GEF 纳米粒组(GEF-NPs 组)、红细胞伪装 GEF 纳米粒组(RBC@GEF-NPs 组)。使用 HPLC 检测不同时间点的血药浓度、流式细胞技术检测细胞周期、TUNEL 法检测肿瘤细胞凋亡。结果 RBC@GEF-NPs 组肿瘤体积较 GEF 组和 GEF-NPs 组更小($P < 0.05$)。RBC@GEF-NPs 组体内 GEF 半衰期较 GEF 组和 GEF-NPs 组更长(18.90 h vs. 2.44 h vs. 10.50 h), 差异有统计学意义($P < 0.05$)。RBC@GEF-NPs 组肿瘤组织 GEF 药物浓度为 48.5 ng/mg, 约为 GEF-NPs 组(24.7 ng/mg)的 2 倍, 约为 GEF 组(10.8 ng/mg)的 5 倍($P < 0.05$)。与 GEF 组比较, RBC@GEF-NPs 组 G_0/G_1 期细胞比例从 55.5% 上升到 71.35%, G_2/M 期从 10.05% 下降到 4.22%, S 期从 34.62% 下降到 24.43%($P < 0.05$)。RBC@GEF-NPs 组细胞凋亡指数明显高于 GEF 组和 GEF-NPs 组[(23.42 ± 2.47)% vs. (8.34 ± 1.32)% vs. (14.32 ± 2.59)%], 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 RBC@GEF-NPs 可提高 A549 肺癌荷瘤裸鼠中药物半衰期及血药浓度, 并通过促进肿瘤细胞凋亡及 G_1 期阻滞抑制肺癌的生长。

[关键词] 红细胞膜伪装; 吉非替尼; 纳米药物; 肺癌细胞; 荷瘤裸鼠

[中图法分类号] R965 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2024)20-3041-07

Study on inhibitory effect of erythrocyte membrane camouflaged gefitinib nanoparticles on lung cancer-bearing nude mice*

FAN Yunxiu, YANG Bo, ZHOU Li, HUANG Xiaoping[△]

(Department of Oncology, Affiliated Three Gorges Hospital of Chongqing University, Chongqing 404100, China)

[Abstract] **Objective** To prepare the erythrocyte membrane camouflaged gefitinib (GEF) nanomedicine, and to observe its in vivo half-life and blood drug concentration by using the lung cancer bearing nude mouse model and explore its tumor suppression effect and tumor suppression mechanism. **Methods** The GEF standard curve was established by HPLC. A549 tumor bearing nude mice were constructed and divided into the GEF group, GEF nanoparticles group (GEF-NPs group), erythrocyte camouflaged GEF nanoparticles group (RBC@GEF-NPs group). The plasma drug concentration at different time points was detected by HPLC, the cell cycle was detected by flow cytometry and the tumor cellular apoptosis was detected by TUNEL. **Results** The tumor volume in the RBC@GEF-NPs group was significantly smaller than that in the GEF group and GEF-NPs group ($P < 0.05$); the in vivo half-life period in the RBC@GEF-NPs group was significantly longer than the GEF group and GEF-NPs group (18.90 h vs. 2.44 h vs. 10.50 h, $P < 0.05$), and the difference was statistically significant ($P < 0.05$); the GEF drug concentration in the tumor tissues of the RBC@GEF-NPs group was 48.5 ng/mg, which was 5 times and 2 times of that in the GEF group (10.8 ng/mg) and GEF-NPs group (24.7 ng/mg) respectively ($P < 0.05$). Compared with the GEF group, the proportion of G_0/G_1 phase cells in the RBC@GEF-NPs group was increased from 55.5% to 71.35% ($P < 0.05$) and which in the G_2/M stage was decreased from 10.05% to 4.22% ($P < 0.05$), which in the S stage was decreased from 34.62% to 24.43% ($P < 0.05$); the cellular apoptosis index in the RBC@GEF-NPs group was significantly higher than that in the GEF group and GEF-NPs group [(23.42 ± 2.47)% vs. (8.34 ± 1.32)% vs. (14.32 ± 2.59)%], and the differences were statistically significant. **Conclusion** RBC@GEF-NPs could in-

* 基金项目:重庆市自然科学基金面上项目(cstc2020jcyj-msxmX1037)。 △ 通信作者, E-mail: huangxiaoping2020@cqu.edu.cn。

crease the half-life and blood concentration of A549 lung cancer bearing nude mice, block and inhibit the lung cancer growth by promoting tumor cell apoptosis and G₁ phase arrest.

[Key words] red blood cell camouflage; gefitinib; nano-drug; lung cancer cell; tumor bearing nude mice

肺癌已成为我国发病率和病死率最高的恶性肿瘤^[1],严重威胁人民的健康和预期寿命。化疗作为肺癌非手术治疗主要手段,化疗药物不良反应严重、耐药等问题在临床实践中受到越来越大的挑战^[2-3]。各种新兴的突破性治疗手段和分子靶向药物的发展日新月异,在精准医学理念指导下的综合治疗为提升肺癌诊疗带来了更多希望和契机。

以红细胞为基础的载药体系已被应用于抗肿瘤药物运载。与其他载体相比,红细胞具有天然的生物相容性、生物降解性,且无生物免疫性^[4-7]。因此,经过红细胞膜伪装保护的药物不仅能保持被运载物质的活性,且其在体内的循环时间更长。吉非替尼(GEF)是一种口服的表皮生长因子受体(EGFR)酪氨酸激酶抑制剂(TKI),是治疗 EGFR 敏感突变晚期非小细胞肺癌的有效靶向药物之一。但由于 GEF 原药水溶性差,临床使用的口服片剂很难在肿瘤组织达到较高的有效作用浓度,且可能会引起间质性肺病、肠道及皮肤损伤等较大的毒副反应^[8-11]。随着纳米技术在医药学领域的运用,构建纳米药物传输体系正日益广泛地应用于肿瘤治疗,其优点主要体现在控制药物释放速率,延长药物在血液中的半衰期,利用小尺寸效应富集到肿瘤组织等^[12-14]。目前已有一些纳米药物如白蛋白紫杉醇等成功进入临床使用,但这些药物主要依靠自身的被动靶向功能(EPR 效应)在肿瘤组织中富集,不具有特异性识别肿瘤细胞的主动靶向功能^[15-18]。因此,制备和开发具有主动靶向功能的分子靶向药物传输体系对提高肿瘤治疗效果具有重要意义。

前期研究中,本课题组制备了 GEF 纳米药物并研究了其对肺癌细胞的体内外抗肿瘤作用及不良反应^[19]。因此,本研究拟构建 A549 肺癌荷瘤裸鼠模型,采用白蛋白作为载体制备水溶性的 GEF 纳米粒子,进而用红细胞膜对其表面进行伪装修饰,利用红细胞膜修饰的主动靶向纳米粒子特异性地持续将 GEF 纳米粒子递送至肿瘤组织内,探讨红细胞膜伪装 GEF 纳米颗粒(RBC@GEF-NPs)在裸鼠体内半衰期、血药浓度和对细胞增殖、凋亡的效果,以期为肺癌的分子靶向治疗提供更加安全有效的治疗方案,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞与实验动物

人非小细胞肺癌 A549 细胞株购自武汉普诺赛生命科技有限公司,使用新鲜 DMEM 培养基(含有 10% 胎牛血清+1% 青链霉素)中,37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养。15 只 4~6 周龄、体重 14~18 g 的雄性

BALB/c 裸鼠购自北京维通利华实验动物技术有限公司,生产许可证号:SCXK(京)2021-0011。动物实验经本院伦理委员会批准(审批号:SXYWDW2021-089),符合实验室动物管理与使用准则。

1.1.2 药物与试剂

GEF 购自齐鲁制药(海南)有限公司;胎牛血清、DMEM(高糖)培养基、0.25% 胰蛋白酶和青链霉素购自美国 Gibco 公司;甲醇、磷酸二氢钾、磷酸购自上海杰星生物科技有限公司;RBC@GEF-NPs 由本院实验室制备。

1.1.3 仪器与设备

Agilent C18 高效液相色谱(HPLC,美国安捷伦科技有限公司),D-37520 型台式高速离心机(美国 Thermo 公司),DW-861626 型-80 °C 低温冰箱(青岛海尔公司),流式细胞仪(美国 BD FACSVerse 公司),BC-5000vet 型迈瑞兽用全自动血液细胞分析仪(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司),ELWD 0.3T1-SNCP 倒置显微镜(日本 Nikon 公司),Sorvall ST 16R 小型台式离心机(美国 ThermoFisher 公司),AFS-100AFS-100 摆匀器(杭州天钊科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 GEF 标准曲线的建立

结合相关文献记录及预实验结果确定最佳色谱条件,再建立标准曲线。精确称取干燥恒重的 2 mg GEF 标准品,溶于 20 mL 的流动相(8 mL 甲醇+12 mL 磷酸二氢钾溶液),制成 100 μg/mL 的浓度,再稀释成 10、20、30、50、70、80 μg/mL 的 10~100 μg/mL 线性浓度,采用 HPLC 进行测定。

1.2.2 红细胞膜的提取及红细胞膜囊泡的制备

取裸鼠眼眶中血液 2 mL,转移至装好肝素钠的离心管中,向离心管加入适量磷酸盐缓冲液(PBS,1×)进行离心(4 °C,720 r/min,5 min),离心后弃去上清液,用 PBS(1×)沉淀中的红细胞清洗 3 次(5 000 r/min,10 min),直至上层为无色澄清透明液体,收集沉淀的红细胞。用低渗溶液 PBS(0.25×)将红细胞在 4 °C 下孵育 2 h,然后充分溶血,离心(9 000 r/min,15 min)后弃去上清液。使用 PBS(0.25×)将上清液清洗至无色,进而得到红细胞膜。把得到的红细胞膜用适量的去离子水悬浮备用。提取的红细胞膜超声 10 min(功率 200 W),混匀后使用脂质体挤出机分别通过 400、200、100 nm 的聚碳酸酯膜将细胞膜滤出,在每种孔径的膜下挤压>9 次进而获得红细胞膜的囊泡,用 PBS 将得到的红细胞膜囊泡悬浮后在 4 °C 的条件下储存备用。

1.2.3 RBC@GEF-NPs 的制备及形态

把红细胞膜囊泡与前期制备的 GEF-NPs 按照体积比 3:1 进行混合超声 3 min, 然后使用脂质体挤出仪在 200 nm 的聚碳酸酯膜下反复挤压超过 9 次得到 RBC@GEF-NPs。用 PBS 把制备得到的 RBC@GEF-NPs 分散后超声混匀, 取适量混匀后溶液滴于铜网上, 经磷钨酸染色后, 室温的条件下干燥后, 通过透射电子显微镜观察 RBC@GEF-NPs 的形态。

1.2.4 分组给药及处理

将 A549 细胞用含 15% 胎牛血清的 DMEM(高糖)培养后制成细胞悬液(细胞计数为 1×10^7), 在裸鼠右腿皮下接种细胞悬液(0.2 mL/只), 待肿瘤体积长至约 100 mm³ 时, 筛选出 15 只 BALB/c 裸鼠, 使用对数期 A549 细胞构建肺癌荷瘤裸鼠模型, 并分为 GEF 组、GEF-NPs 组、RBC@GEF-NPs 组, 每组 5 只。通过裸鼠尾静脉分别注射 GEF 相应的制剂, 各组中的有效药物剂量保持一致(GEF 浓度为 5 mg/kg)。注射药物后, 在 0、0.5、1.0、2.0、4.0、8.0、12.0、24.0、48.0 h 不同时间点分别经裸鼠内眦静脉取血标本 200 μL。

为了评估 RBC@GEF-NPs 对 A549 肺癌皮下移植瘤模型的长期疗效, 观察并记录每组裸鼠的肿瘤体积变化, 每 2 天测量 1 次肿瘤体积, 观察时间共 1 个月。

1.2.5 血液标本处理

吸取 200 μL 裸鼠血浆, 加入乙酸乙酯 2 mL, 涡旋 5 min, 以 4 000 r/min 的速度离心 10 min。取出乙酸乙酯层, 在氮气下干燥, 将残余物溶于 100 μL 流动相溶液中, 并涡旋 5 min。10 000 r/min 速度离心 10 min, 取上清液 20 μL 进行测定。

1.2.6 组织标本处理

收取处死的裸鼠肿瘤组织然后用生理盐水冲洗, 称重后制作组织匀浆液。吸取 200 μL 组织匀浆液, 加入乙酸乙酯 2 mL, 混合后涡旋 5 min, 以 4 000 r/min 速度离心 10 min。取出乙酸乙酯层, 在氮气下干燥, 将残余物溶解于 100 μL 流动相溶液, 并涡旋混合 5 min, 10 000 r/min 速度离心 10 min, 最后取上清液 20 μL 进行测定。同时, 收取等量的癌旁组织, 采用上述方法处理。

1.2.7 HPLC 检测血药浓度

使用 HPLC 检测各组裸鼠肿瘤组织及癌旁组织中 GEF 的药物浓度。十八烷基硅烷柱(4.6 mm × 150.0 mm, 5 μm), 流动相(因流动相使用高浓度的磷酸盐, 容易堵塞 HPLC 的管道, 综合文献及预实验, 需对流动相过滤后按以下比例进行): 甲醇 0.1 mol/L, 磷酸二氢钾(体积比 40:60; 用磷酸调节 pH 至 3.2), 流速为 1 mL/min, 温度为 30 °C, 进样量为 20 μL, 紫外检测波长为 254 nm。

1.2.8 流式细胞技术检测细胞周期

将取得的新鲜肿瘤组织剪碎后用 1 mL 的

0.25% 胰蛋白酶进行消化, 每隔 5 min 震荡 1 次, 37 °C 消化 40 min 后加入含胎牛血清的培养基终止消化, 1 000 r/min 离心 2 min 后弃掉上清液, PBS 清洗细胞 2 次彻底去除血清, 重悬后再用 70 μm 孔径的尼龙膜过滤除去未消化的肿瘤组织, 然后再次将细胞悬液离心 2 min, 离心速度为 1 000 r/min, 离心后用碘化丙啶(50 μg/mL) 和 RNaseA(20 μg/mL) 重悬 30 min 后, 流式细胞仪进样检测以了解细胞周期分布。

1.2.9 检测肿瘤细胞凋亡

TUNEL 将脱氧核糖核苷酸和荧光素、过氧化物酶、碱性磷酸化酶或生物素形成的衍生物标记到 DNA 的 3'-末端, 用荧光显微镜观察实验结果。利用显微病理图像分析系统采集心肌组织显微图像, 每个标本做两张切片, 每张切片随机选取 5 个视野, 用相关分析软件, 选择积分灰度、平均灰度, 分别对各治疗组肿瘤细胞核 DNA 含量进行分析。

1.3 统计学处理

采用 SPSS23.0 软件进行数据分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 比较采用 t 检验或方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 GEF 标准曲线线性关系明显

筛选并确定的最佳检测条件见表 1。GEF 标准品 HPLC 见图 1, 主峰保留时间 8.8 min。依据该标准色谱图采用加权最小二乘法, 峰面积(Y)对进样浓度(X)进行线性回归, 得到标准曲线方程: $Y = 42.226X + 76.956$ ($r = 0.9991$), 结果表明 GEF 在 10~100 μg/mL 内线性关系良好, 见图 2。

2.2 RBC@GEF-NPs 形态

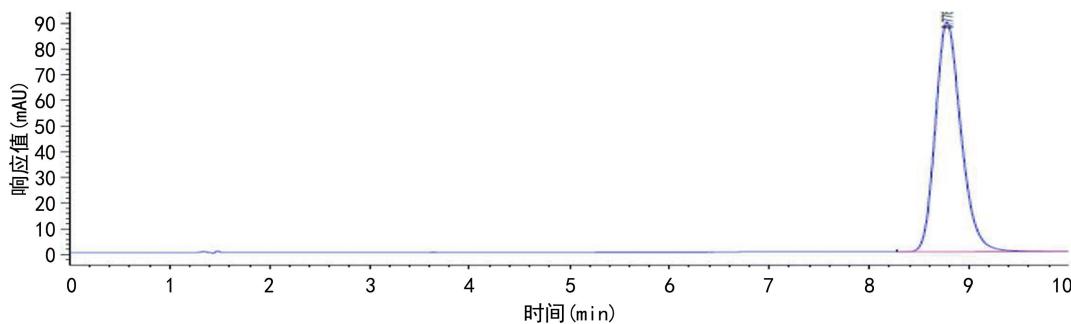
透射电镜下可以清晰观察到红细胞膜包裹在 GEF-NPs 外形成膜-壳状的球状结构, 见图 3。

2.3 RBC@GEF-NPs 和 GEF-NPs 明显抑制裸鼠 A549 细胞移植瘤生长速度

RBC@GEF-NPs 组肿瘤体积较 GEF 组和 GEF-NPs 组更小, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 见图 4。

表 1 GEF 高效液相流动相随时间关系的比例变化(%)

时间	流动相 A	流动相 B
0~<10 min	95	5
10~<15 min	90	10
15~<20 min	85	15
20~<25 min	80	20
25~<30 min	75	25
30~<35 min	70	30
35~<40 min	65	35
≥40 min	60	40
最后 20 min	95	5
密封列	0	100



主峰: GEF。

图 1 GEF 标准品的 HPLC

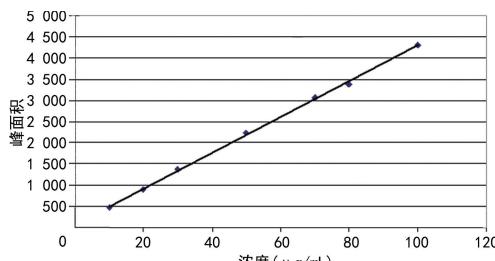


图 2 GEF 标准曲线

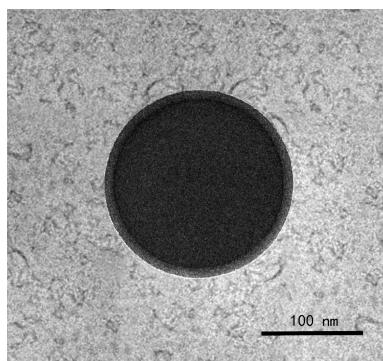


图 3 RBC@GEF-NPs 形态

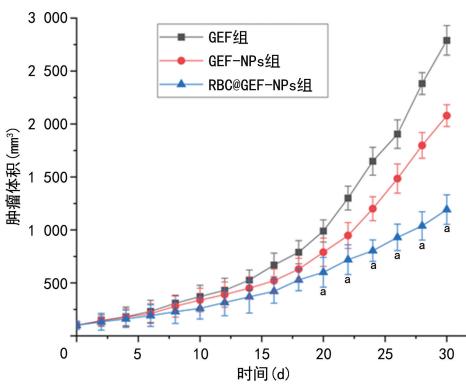
^a: $P < 0.05$, 与 GEF 组和 GEF-NPs 组比较。

图 4 3 组给药后裸鼠肿瘤体积变化情况

2.4 RBC@GEF-NPs 明显增加 GEF 体内半衰期

RBC@GEF-NPs 组 GEF 半衰期较 GEF 组和 GEF-NPs 组明显延长(18.90 h vs. 2.44 h vs. 10.50 h), 差异有统计学意义($P < 0.05$), 见图 5。

2.5 RBC@GEF-NPs 增加裸鼠 A549 细胞移植瘤组织药物浓度

经过 48 h 代谢, RBC@GEF-NPs 组肿瘤组织 GEF 药物浓度为 $48.5 \text{ ng}/\text{mg}$, 约为 GEF-NPs 组

($24.7 \text{ ng}/\text{mg}$) 的 2 倍, 约为 GEF 组($10.8 \text{ ng}/\text{mg}$) 的 5 倍($P < 0.05$), 见图 6。而在瘤旁组织中, RBC@GEF-NPs 组 GEF 水平也有所增加, 但增加幅度不明显, 反映了良好的靶向性。

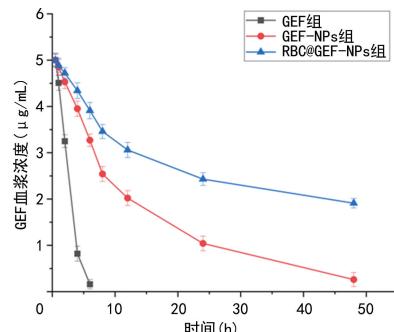


图 5 裸鼠体内 GEF 血浆浓度变化情况

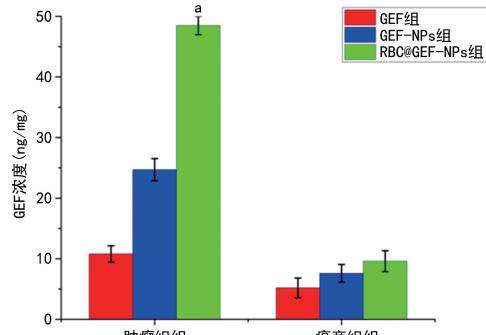
^a: $P < 0.05$, 与 GEF 组和 GEF-NPs 组比较。

图 6 肿瘤组织及瘤旁组织中的 GEF 含量

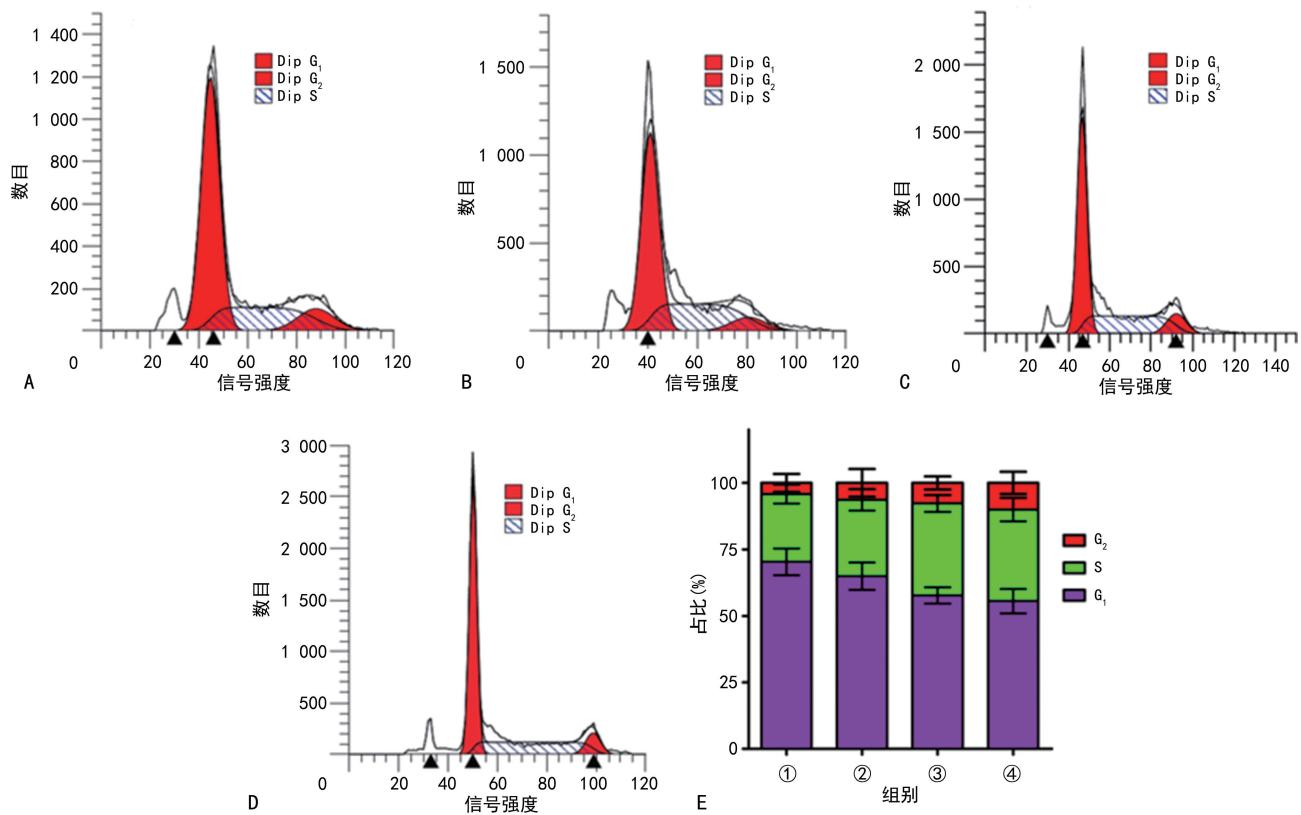
2.6 RBC@GEF-NPs 抑制裸鼠 A549 细胞移植瘤细胞增殖

流式细胞计数结果显示, 与 GEF 组比较, RBC@GEF-NPs 组 G_0/G_1 期细胞比例从 55.5% 上升到 71.35% , G_2/M 期从 10.05% 下降到 4.22% , S 期从 34.62% 下降到 24.43% ($P < 0.05$), 见图 7。此外, GEF 组和 GEF-NPs 组出现了 $\text{sub-}G_1$ 峰, 此峰与细胞凋亡有关, 此结果也验证了细胞凋亡结果。

2.7 RBC@GEF-NPs 增加裸鼠 A549 细胞移植瘤细胞凋亡

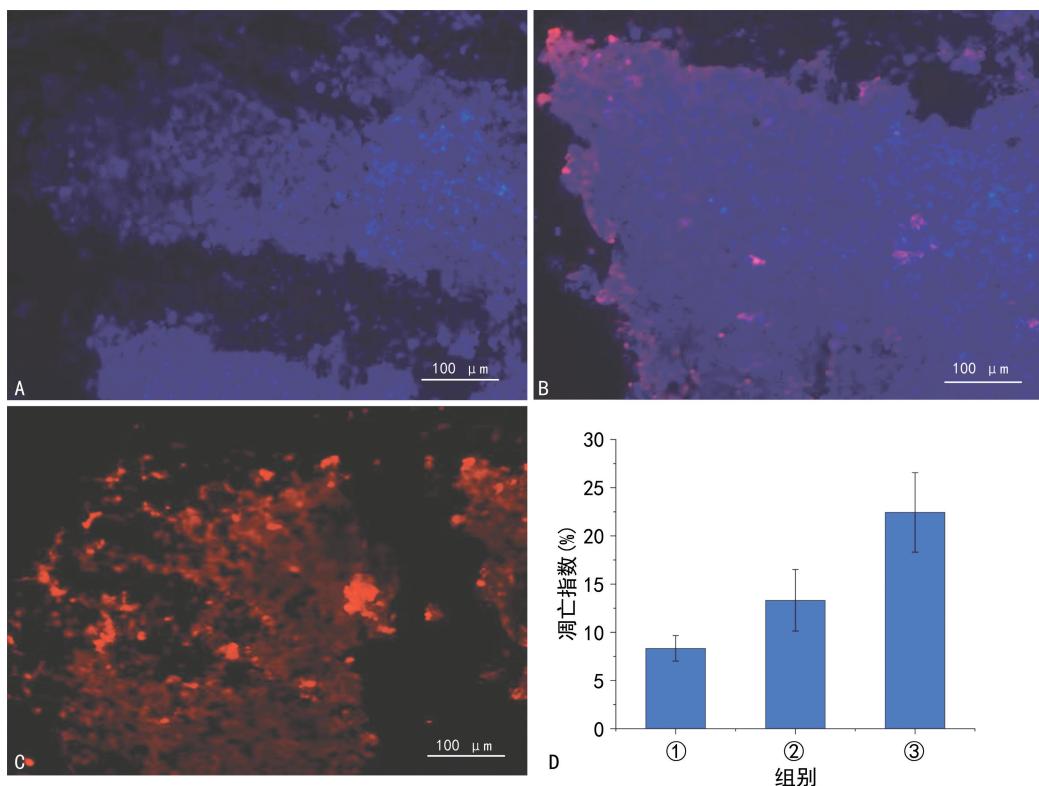
RBC@GEF-NPs 组细胞凋亡指数明显高于 GEF 组和 GEF-NPs 组 [$(23.42 \pm 2.47)\%$ vs. $(8.34 \pm 1.32)\%$ vs. $(14.32 \pm 2.59)\%$], 差异有统计学意义

($P < 0.05$), 见图 8。



A: 生理盐水处理; B: GEF 组; C: GEF-NPs 组; D: RBC@GEF-NPs 组; E: 定量分析各组细胞周期的分布; ①: RBC@GEF-NPs 组; ②: GEF-NPs 组; ③: GEF 组; ④: 生理盐水处理。

图 7 各组流式细胞图及细胞周期分布情况



A: GEF 组; B: GEF-NPs 组; C: RBC@GEF-NPs 组; D: 定量分析各组肿瘤组织细胞凋亡分布比例; ①: GEF 组; ②: GEF-NPs 组; ③: RBC@GEF-NPs 组。

图 8 各组荧光显微图及凋亡指数比较

3 讨 论

肺癌是我国发病率及病死率最高的肿瘤,其中85%为非小细胞肺癌,其治疗手段比较丰富,靶向治疗已经成为非小细胞肺癌治疗不可或缺的一种手段。GEF作为非小细胞肺癌靶向治疗常用药物,其原药水溶性差、口服片剂在肿瘤组织有效作用浓度不高,且可能会引起相关不良反应,临幊上急需解决这些问题。依靠纳米技术制备未修饰的纳米药物颗粒只能凭借药物体系自身的被动靶向功能(EPR效应)在肿瘤组织富集^[20-21],关于GEF纳米颗粒也有大量研究报道。AMIN等^[22]设计合成负载GEF的壳聚糖纳米颗粒(Gef-CSNPs),通过细胞实验发现Gef-CSNPs在A549细胞中摄取率和细胞凋亡率均较单纯GEF明显提升。AMIN等^[23]还设计合成了负载GEF的淀粉纳米颗粒(Gef-StNPs),通过细胞实验表明Gef-StNPs在A549细胞中摄取率和细胞凋亡率均较单纯GEF明显提升。KARIMI等^[24]采用溶剂蒸发法制备了GEF负载的醋酸丁酸纤维素纳米颗粒(Gnb-NPs),进而探究了Gnb-NPs对4T1乳腺癌细胞系的体外和对乳腺荷瘤裸鼠的体内药物释放情况和肿瘤细胞杀伤作用,结果显示Gnb-NPs导致药物释放速率降低,且体外和体内的药物细胞杀伤作用明显提高。但这种颗粒缺乏特异性识别功能,只能实现药物的被动靶向富集^[25-27],而利用天然的细胞膜对药物进行伪裝修饰不仅实现了天然细胞膜的主动靶向,且其与抗肿瘤药物相结合的生物靶向药物体系则是当前研究的热点和突破点。

红细胞不仅具有免疫功能,还可作为天然药物载体,具有增强抗肿瘤药物的靶向性、安全性等作用。由于红细胞膜表面有天然的“自身免疫标记蛋白”(CD47蛋白),因而其是一种理想的修饰材料^[28-29]。CD47蛋白发出“自己人”的信号,能够有效减少内皮系统的摄取,延长药物在循环系统中的停留时间^[26]。此外,成熟的红细胞内部没有细胞核和复杂的细胞器,更加方便提取和纯化。因此,红细胞膜非常便于用来作为修饰纳米颗粒的仿生材料,是目前生物医学领域中应用最广泛的天然载体之一^[30-31]。由于红细胞载体所具有的优势,越来越多的研究学者将红细胞载体应用于抗肿瘤治疗。近年来,直接将红细胞用于运载药物的研究已获得广泛认可,已有红细胞载体进入临床试验,而针对红细胞膜的修饰也具有一定的研究进展^[32-34],特别是新型红细胞膜载药系统的出现^[35-36]。

本研究采用白蛋白作为载体制备水溶性的GEF纳米颗粒,进而用红细胞膜对其表面进行伪裝修饰,探讨其在A549荷瘤裸鼠中药物半衰期和血药浓度改变、对肿瘤细胞增殖和凋亡的影响。本研究结果显示,RBC@GEF-NPs不但提升了GEF在A549荷瘤裸鼠肿瘤体内的半衰期(18.90 h),相较于GEF组

(2.44 h)和GEF-NPs组(10.50 h)明显延长,这就使得在红细胞膜伪装后,药物的持续作用时间大大延长。RBC@GEF-NPs组48 h药物在裸鼠肿瘤组织内的药物浓度达到48.5 ng/mg,相较于GEF组和GEF-NPs组也明显增加,而较瘤旁组织中药物浓度无差异,使得肿瘤组织对药物的摄取量明显提升且不增加对瘤旁组织的损伤;同时RBC@GEF-NPs还明显抑制了裸鼠肿瘤细胞的增殖,明显加速了裸鼠肿瘤细胞的凋亡,进一步表明红细胞膜伪装可以有效提高GEF的生物利用度。

综上所述,本研究不仅为肺癌的分子靶向治疗提供了更加安全有效的治疗方案,也为开发分子靶向药物的新剂型提供了研究基础。

参考文献

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] KIM E S. Chemotherapy resistance in lung cancer [J]. Adv Exp Med Biol, 2016, 893: 189-209.
- [3] WANG M, HAN J, MARCAR L, et al. Radiation resistance in KRAS-mutated lung cancer is enabled by stem-like properties mediated by an osteopontin-EGFR pathway [J]. Cancer Res, 2017, 77(8): 2018.
- [4] 赵林林,孔凡铭,杨仕蕊,等.987例晚期非小细胞肺癌化疗患者的生存分析[J].中草药,2024,55(8):2651-2666.
- [5] WU Y L, ZHANG L, FAN Y, et al. Pembrolizumab vs chemotherapy in Chinese patients with non-small cell lung cancer (NSCLC) and PD-L1 TPS $\geqslant 1\%$: 5-year update from KEYNOTE-042[J]. J Thorac Oncol, 2023, 18(Suppl. 4): 65-66.
- [6] ZHENG Q, MIN S, ZHOU Y. A network meta-analysis for efficacies and toxicities of different concurrent chemoradiotherapy regimens in the treatment of locally advanced non-small cell lung cancer[J]. BMC Cancer, 2022, 22(1): 674.
- [7] 芦希艳,姚家久,赵宁侠.中医辨证辅助化疗治疗非小细胞肺癌的临床疗效及对患者免疫功能和预后的影响[J].癌症进展,2022,20(8): 797-799.
- [8] NARITA M, SHIMURA E, NAGASAWA A, et al. Chronic treatment of non-small-cell lung cancer cells with gefitinib leads to an epigenetic

- loss of epithelial properties associated with reductions in microRNA-155 and -200c[J]. PLoS One, 2017, 12(2):e0172115.
- [9] SHI J, KANTOFF P W, WOOSTER R, et al. Cancer nanomedicine: progress, challenges and opportunities[J]. Nat Rev Cancer, 2017, 17:20-37.
- [10] 朱艾, 刘家芸, 荀欣. 吉非替尼靶向治疗联合化疗治疗晚期非小细胞肺癌的有效性及安全性分析[J]. 临床和实验医学杂志, 2022, 21(13): 1372-1376.
- [11] KUMAR M, SARKAR A. Current therapeutic strategies and challenges in NSCLC treatment: a comprehensive review[J]. Exp Oncol, 2022, 44(1):7-16.
- [12] LIU X P, CHEN Y X, GENG D Y, et al. Aptamer-modified erythrocyte membrane-coated pH-sensitive nanoparticles for c-Met-targeted therapy of glioblastoma multiforme [J]. Membranes, 2022, 744(12):2-16.
- [13] ANCHORDOQUY T J, BARENHOLZ Y, BO-RASCHI D, et al. Mechanisms and barriers in cancer nanomedicine: addressing challenges, looking for solutions[J]. ACS Nano, 2017, 11: 12-18.
- [14] WANG Y X, ZHOU C P, WANG D T, et al. Unraveling the causal role of immune cells in gastrointestinal tract cancers: insights from a Mendelian randomization study[J]. Front Immunol, 2024, 15:1343512.
- [15] CHEN S M, JI X G, ZHAO M Y, et al. Construction of chitooligosaccharide-based nanoparticles of pH/redox cascade responsive for co-loading cyclosporin A and AZD9291[J]. Carbohydr Polym, 2022, 291:1119619.
- [16] XU B, ZENG F J, DENG J L, et al. A homologous and molecular dualtargeted biomimetic nanocarrier for EGFR-related non-small cell lung cancer therapy[J]. Bioact Mater, 2023, 27: 337-347.
- [17] CHEN X, FAN X, ZHANG Y, et al. Cooperative coordination-mediated multi-component self-assembly of “all-in-one” nanospike theranostic nano-platform for MRI-guided synergistic therapy against breast cancer[J]. Acta Pharm Sin B, 2022, 12(9):3710-3725.
- [18] PANDA J, SATAPATHY B S, SARKAR R, et al. A zinc ferrite nanodrug carrier for delivery of docetaxel: synthesis, characterization, and in vitro tests on C6 glioma cells[J]. J Microencapsul, 2022, 39(2):136-144.
- [19] NI X L, CHEN L X, ZHANG H, et al. In vitro and vivo anti-tumor effect of gefitinib nanoparticles on human lung cancer[J]. Drug Delivery, 2017, 24(1):1501-1512.
- [20] 杨洁容, 陈小平. 类黑色素纳米颗粒联合近红外光照射具有良好的抗卵巢癌作用[J]. 南方医科大学学报, 2022, 42(11):1681-1688.
- [21] DENG K, LIU D, WANG Z, et al. Surface-functionalized NdVO₄:Gd₃ + nanoplates as active agents for near-infrared-light-triggered and multimodal-imaging-guided photothermal therapy[J]. Pharmaceutics, 2022, 14(6):1217.
- [22] AMIN H, AMIN M A, OSMAN S K, et al. Chitosan nanoparticles as a smart nanocarrier for gefitinib for tackling lung cancer: design of experiment and in vitro cytotoxicity study [J/OL]. Int J Biol Macromol, 2023, 246:125638.
- [23] AMIN H, OSMAN S K, MOHAMMED A M, et al. Gefitinib-loaded starch nanoparticles for battling lung cancer: optimization by full factorial design and in vitro cytotoxicity evaluation [J]. Saudi Pharm J, 2023, 31(1):29-54.
- [24] KARIMI Z, TAYMOURI S, MINAIYAN M, et al. Evaluation of thermosensitive chitosan hydrogel containing gefitinib loaded cellulose acetate butyrate nanoparticles in a subcutaneous breast cancer model [J]. Int J Pharm, 2022, 624:122036.
- [25] LI H, LUO Q, ZHANG H, et al. Nanomedicine embraces cancer radio-immunotherapy: mechanism, design, recent advances, and clinical translation[J]. Chem Soc Rev, 2023, 52(1):47-96.
- [26] BHATIA S N, CHEN X, DOBROVOLSKAIA M A, et al. Cancer nanomedicine[J]. Nat Rev Cancer, 2022, 22(10):550-556.
- [27] ZHANG P F, XIAO Y F, SUN X, et al. Cancer nanomedicine toward clinical translation: obstacles, opportunities, and future prospects [J]. Med, 2023, 4(3):147-167.
- [28] ZHANG Y, ZHANG X, LI H, et al. Membrane-coated biomimetic nanoparticles: a state-of-the-art multifunctional weapon for tumor immunotherapy[J]. Membranes, 2022, 12(8):738-796.
- [29] ZHANG E, PHAN P, ALGARNI H A, et al. Red blood cell inspired strategies for drug delivery: emerging concepts and new advances [J]. Pharm Res, 2022, 39(11):2673-2698.
- [30] DAI J, CHEN Z, WANG S, et al.(下转第 3054 页)