

转铁蛋白修饰紫杉醇脂质体的制备及其抑瘤作用[△]

靳彩玲^{1*}, 赵树鹏², 张敏¹, 王颖¹, 寇小格¹, 路平^{1#} (1. 新乡医学院第一附属医院肿瘤科, 河南卫辉 453100; 2. 新乡医学院第一附属医院神经外科, 河南卫辉 453100)

中图分类号 R943 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)01-0044-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.01.14

摘要 目的: 制备转铁蛋白(TF)修饰紫杉醇(PTX)脂质体(TF-PTX-LP), 并研究其抑瘤作用。方法: 采用薄膜分散法制备TF-PTX-LP并观察其形态; 定性和定量考察肝癌HepG2细胞对TF-LP和LP的摄取情况; 检测PTX、PTX-LP和TF-PTX-LP分别处理HepG2细胞24、48、72 h后细胞的增殖抑制率; 以HepG2细胞制备肿瘤球, 考察生理盐水、PTX、PTX-LP和TF-PTX-LP分别处理0、1、2、4、5、6、7 d对肿瘤球体积的影响; 复制HepG2荷瘤裸鼠模型, 考察生理盐水、PTX、PTX-LP和TF-PTX-LP(以PTX计8.5 mg/kg)对荷瘤裸鼠移植瘤的抑制作用。结果: TF-PTX-LP均呈均一球状, 粒径在100~120 nm。TF-LP处理后细胞的荧光强度强于LP($P < 0.01$)。与PTX、PTX-LP比较, TF-PTX-LP处理后细胞的增殖抑制率更高($P < 0.01$)。与生理盐水、PTX、PTX-LP比较, TF-PTX-LP处理后肿瘤球体积更小, 对荷瘤裸鼠的抑瘤率更高, 且6、7 d后抑瘤率差异有统计学意义($P < 0.01$)。增殖抑制率和肿瘤球体积变化呈时间依赖性。结论: 成功制得具有良好抑瘤作用的TF-PTX-LP。

关键词 转铁蛋白; 紫杉醇; 脂质体; 肝癌HepG2细胞; 裸鼠; 增殖抑制率; 抑瘤率

Preparation and Tumor Inhibition Effect of Transferrin Modified Paclitaxel-loaded Liposome

JIN Cailing¹, ZHAO Shupeng², ZHANG Min¹, WANG Ying¹, KOU Xiaoge¹, LU Ping¹ (1. Dept. of Oncology, the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Henan Weihui 453100, China; 2. Dept. of Neurosurgery, the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Henan Weihui 453100, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To prepare transferrin modified paclitaxel-loaded liposome (TF-PTX-LP), and to study the tumor inhibition effect. METHODS: TF-PTX-LP was prepared by thin-film method, and morphology of TF-PTX-LP was observed. Qualitative and quantitative investigation were used to value the uptake efficiency of TF-LP and LP by HepG2 cells. The proliferation inhibition rate of HepG2 cells was investigated after treated with PTX, PTX-LP and TF-PTX-LP for 24, 48 and 72 h. Tumor spheres were prepared by using HepG2 cells. Effects of normal saline, PTX, PTX-LP and TF-PTX-LP on the volume of tumor spheres were investigated after 0, 1, 2, 4, 5, 6 and 7 d treatment. HepG2 tumor-bearing nude mice model was induced. Inhibitory effects of normal saline, PTX, PTX-LP and TF-PTX-LP (8.5 mg/kg by PTX) on transplantable tumor of tumor-bearing nude mice were investigated. RESULTS: TF-PTX-LP showed uniform spherical shape, with particle size of 100-120 nm. The fluorescence intensity of HepG2 cells treated with TF-LP was stronger than that treated with LP ($P < 0.01$). Compared with PTX and PTX-LP, TF-PTX-LP showed higher proliferation inhibition rate ($P < 0.01$). Compared with normal saline, PTX and PTX-LP, tumor spheres were smaller in volume after treated with TF-PTX-LP, and inhibition rate of tumor was higher in tumor-bearing nude mice; there were statistical significance after treated for 6, 7 d ($P < 0.01$). The proliferation inhibition rate and tumor spheres volume changed in time-dependent manner. CONCLUSIONS: TF-PTX-LP which owns good tumor inhibition effect is prepared successfully.

KEYWORDS Transferrin; Paclitaxel; Liposome; Lung cancer HepG2 cell; Nude mice; Proliferation inhibition rate; Tumor inhibition rate

原发性肝癌(Primary hepatic carcinoma, PHC)是由肝细胞或肝内胆管上皮细胞发生的恶性肿瘤^[1]。在我国,原发性肝癌是最常见的恶性肿瘤之一,每年约导致36万人发病、35万人死亡,现已成为位居所有肿瘤年病死率第2位的疾病^[2-3]。当前肝癌的治疗以手术为主、化疗为辅。然而化疗药物的副作用严重影响了肝癌的治疗,因此探讨具有靶向性的肿瘤给药系统成为了当前研究的热点^[4-6]。本研究以脂质体(LP)为药物载体,以临床常用的紫杉醇(PTX)为模型药物,在脂质体表面连接转铁蛋白(TF),探讨TF修饰PTX-LP(TF-PTX-LP)对肝癌细胞增殖的抑制作用。

[△] 基金项目:河南省医学科技攻关计划项目(No.2011020091)

* 主治医师,硕士。研究方向:肿瘤基础与临床治疗研究。电话:0373-4402543。E-mail:jincailing1978@163.com

通信作者:主任医师,博士。研究方向:肿瘤基础与临床治疗研究。电话:0373-4402543。E-mail:lupingxxmu@126.com

1 材料

1.1 仪器

Varioskan Flash酶标仪(美国Thermo公司);TGW16离心机(长沙英泰仪器有限公司,离心半径:12 cm);电子分析天平(德国Sartorius公司);ZQF-85旋转蒸发仪(上海医疗器械厂);数控浴式超声仪(昆山市超声仪器有限公司);Leica 7CS SP5双扫描激光共聚焦显微镜(美国Leica公司)。

1.2 药品与试剂

紫杉醇原料药(江苏恒瑞药业公司,批号:14102,纯度:99.8%);卵磷脂(EPC,德国Lipoid GmbH公司);胆固醇(Chol,美国Pharmacia Biotech公司);RPMI 1640培养基和胎牛血清(美国Gibco公司);二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇2000(DSPE-PEG2000)购自美国Avanti polar lipids公司;TF修饰的DSPE-PEG2000(TF-DSPE-PEG2000)购自上海强耀生物科技

有限责任公司。

1.3 细胞与动物

人肝癌HepG2细胞来源于美国ATCC细胞库。裸鼠,♂,体质量20~30 g,购自新乡医学院实验动物中心,动物许可证号:HNDW201308-2。本研究得到了新乡医学院伦理道德委员会批准。

2 方法

2.1 PTX-LP和TF-PTX-LP的制备

按质量比2.27:0.65:0.98:0.13取EPC、胆固醇、DSPE-PEG2000和PTX,置于50 ml梨形瓶中,加适量氯仿溶解,37℃减压蒸发有机溶剂得到透明脂膜。精密吸取适量pH 7.4的磷酸盐缓冲液(PBS)加入梨形瓶中,37℃恒温空气浴摇床,2 000 r/min水化1 h,超声(120 W,10 s×5 s×10次),得到PTX-LP,并于4℃室冷藏备用。将TF-DSPE-PEG2000制备成胶束,将PTX-LP与TF-DSPE-PEG2000胶束混合后,37℃避光反应1 h,反应后除去游离的TF-DSPE-PEG2000,得到TF-PTX-LP。

2.2 TF-PTX-LP的形态观察

取TF-PTX-LP分散液适量稀释至合适浓度,滴至覆有支持膜的铜筛网上,用2%磷钨酸染色,自然干燥后,用透射电镜观察其形态。

2.3 HepG2细胞对TF-LP摄取情况的检测

按“2.1”项下方法,用适量的香豆素6取代PTX制备得到载香豆素6的脂质体,即LP-香豆素6和TF-LP-香豆素6。取HepG2细胞按 2×10^5 个/孔的密度接种于放有洁净盖玻片的6孔细胞板中,用含血清的培养基培养,37℃、5%CO₂及饱和湿度条件下培养24 h,弃去孔内培养基,每个细胞孔加入新鲜含血清培养基,再分别加入LP-香豆素6和TF-LP-香豆素6。将细胞板置于37℃、5%CO₂条件下孵育4 h后,用冷PBS洗细胞3次,4%多聚甲醛固定15 min,弃去多聚甲醛,用冷PBS洗细胞2次,再每孔加入0.5 ml 4',6-二脒基-2-苯基吲哚(DAPI)染液(5 μg/ml)室温避光染色10 min,再用冷PBS洗细胞2次,将盖玻片取出倒置于载玻片上,用甘油封片。使用激光共聚焦荧光倒置显微镜观察细胞内荧光强度并拍照。

将对数生长期的HepG2细胞以 5×10^5 个/孔的密度接种于6孔培养板中,37℃培养24 h后,每孔分别加入适量的LP或TF-LP,37℃孵育1、2、4 h,除去含脂质体培养基,PBS洗3次。荧光分光光度法测定HepG2细胞荧光强度,激发波长为465 nm,吸收波长为502 nm。

2.4 细胞活性的检测

分别考察PTX、PTX-LP、TF-PTX-LP对HepG2细胞的细胞毒性。将对数生长期的HepG2细胞以1 500个/孔的密度接种于96孔细胞板中,在37℃、5%CO₂及饱和湿度条件下培养24 h,待细胞完全贴壁生长后,更换孔内培养基,每个细胞孔加入170 μl新鲜含血清培养基,再分别加入含生理盐水(空白对照)、PTX、PTX-LP、TF-PTX-LP的新鲜含血清培养基,加入量以PTX计为20 μg/ml,于37℃、5%CO₂条件下孵育24、48、72 h。吸出孔板内液体,每孔内加入5 mg/ml MTT-PBS溶液200 μl,37℃、5%CO₂条件下孵育4 h,小心吸出孔板内液体,每孔加入200 μl二甲基亚砜(DMSO)溶解生成的甲臜,放置孔板于摇床中,37℃、75 r/min,孵育20 min。取出晾冷至常温后,用酶标仪检测各孔在490 nm波长处的光密度(OD),计算增殖抑制率[增殖抑制率(%)=(空白对照OD-加药孔OD)/空白对照OD×100%],每组设5个复孔。

2.5 肿瘤球体积的检测

将2%的琼脂糖加入不含血清的RPMI 1640培养基中灭菌(121℃,30 min)后趁热加入至96孔板中(80 μl/孔),冷却至室温。以 2×10^4 个/孔的密度将HepG2细胞接种入上述培养基,在37℃、5%CO₂条件下培养5 d后,选大小均一的肿瘤球,分别加入生理盐水、PTX、PTX-LP、TF-PTX-LP,加入量以PTX计为20 μg/ml。分别于给药后0、1、2、4、5、6、7 d用显微镜观察并测量肿瘤球的长径和短径,计算体积($V = \text{长径} \times \text{短径}^2 \times 0.52$),以当天体积与给药0 d时的体积之比为指标评价细胞毒性。

2.6 体内抗肿瘤研究

将HepG2细胞用含100 mg/L青霉素和链霉素的双抗、10%胎牛血清的DMEM培养基,于37℃、5%CO₂饱和湿度条件下培养。取裸鼠,将HepG2细胞悬液皮下接种于裸鼠背部,7 d后出现米粒大肿瘤则证实接种成功。取荷瘤裸鼠40只,随机均分为生理盐水组、PTX组、PTX-LP组和TF-PTX-LP组,分别于第3、6、9、12 d尾iv相应药物,给药剂量以PTX计为8.5 mg/kg。每2天观察各组荷瘤裸鼠的活动和饮食情况,测量第20天瘤质量(m),并计算抑瘤率[抑瘤率(%)=(1-加药组 m_{20d} /生理盐水组 m_{20d})×100%]。

2.7 统计学方法

采用SPSS 20.0软件对数据进行统计分析。正态计量资料采用均数±标准差进行描述,组间比较采用方差分析,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 TF-PTX-LP的形态特征

镜下,TF-PTX-LP形态规则,粒径大约在100~120 nm,呈均一球状。TF-PTX-LP的透射电镜图见图1。

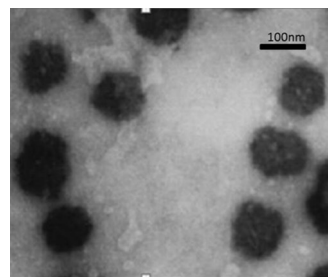


图1 TF-PTX-LP的透射电镜图

Fig 1 TEM of TF-PTX-LP

3.2 HepG2细胞对TF-LP的摄取情况

结果表明,TF-LP-香豆素6细胞的荧光强度强于LP-香豆素6,其荧光强度是LP-香豆素6的2.9倍,差异有统计学意义($P < 0.01$),且各作用时间比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。HepG2细胞对TF-LP和LP摄取的荧光图及二者叠加后效果见图2,荧光强度测定结果见图3。

3.3 细胞活性变化

与PTX、PTX-LP比较,TF-PTX-LP对细胞增殖的抑制率更高($P < 0.01$),各作用时间比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。不同PTX样品处理后细胞的增殖抑制率测定结果见图4。

3.4 肿瘤球体积变化

与生理盐水、PTX、PTX-LP比较,TF-PTX-LP处理后肿瘤球体积更小。不同PTX样品处理后肿瘤球的体积见表1。

3.5 体内抗肿瘤作用

与生理盐水组、PTX组、PTX-LP组比较,TF-PTX-LP组荷瘤裸鼠的肿瘤质量减轻,抑瘤率增加($P < 0.01$)。不同PTX样品处理后的抑瘤率测定结果见表2。

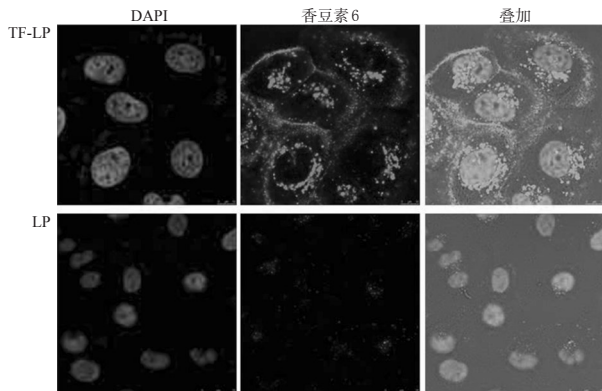


图2 HepG2细胞对TF-LP和LP摄取的荧光图

图2 Fluorescence spectrophotometry of the uptake of TF-LP and LP in HepG2 cells

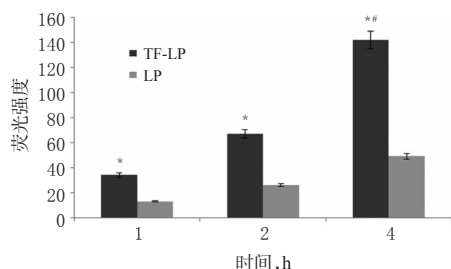


图3 TF-LP或LP处理后HepG2细胞的荧光强度测定结果

注:与LP比较,* $P<0.01$;与1,2 h比较,# $P<0.01$

图3 Results of fluorescence intensity of HepG2 cells after treated with TF-LP or LP

Note: vs. LP, * $P<0.01$; vs. 1, 2 h, # $P<0.01$

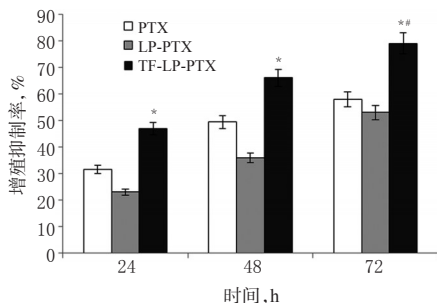


图4 不同PTX样品处理后细胞的增殖抑制率测定结果

注:与PTX,PTX-LP比较,* $P<0.01$;与24,48 h比较,# $P<0.01$

图4 Cell proliferation inhibition rate after treated with different PTX samples

Note: vs. PTX and PTX-LP, * $P<0.01$; vs. 24, 48 h, # $P<0.01$

表1 不同PTX样品处理后肿瘤球的体积变化率($\bar{x} \pm s, n=3$)

Tab 1 The rate of volume change of tumor spheres after treated with different PTX samples ($\bar{x} \pm s, n=3$)

样品	1d	2d	3d	4d	5d	6d	7d
生理盐水	1.01±0.02	1.12±0.03	1.18±0.05	1.24±0.06	1.29±0.10	1.34±0.13	1.44±0.11
PTX	0.99±0.03	0.95±0.04	0.88±0.07*	0.81±0.11*	0.78±0.05*	0.75±0.04*	0.69±0.05*
PTX-LP	1.01±0.03	0.97±0.04	0.93±0.02*	0.85±0.06*	0.81±0.03*	0.77±0.11*	0.72±0.03*
TF-PTX-LP	0.93±0.05	0.86±0.06	0.78±0.08	0.71±0.07	0.67±0.04	0.62±0.08**	0.55±0.05**

注:与生理盐水比较,* $P<0.01$;与PTX,PTX-LP比较,# $P<0.01$

Note: vs. normal saline, * $P<0.01$; vs. PTX,PTX-LP, # $P<0.01$

4 讨论

目前转铁蛋白受体(Transferrin receptor, TFR)是基于受体

表2 不同PTX样品处理后的抑瘤率测定结果($\bar{x} \pm s, n=10$)

Tab 2 The inhibition rate of transplantable tumor after treated with different PTX samples ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	肿瘤质量, g	抑瘤率, %
生理盐水组	4.85±0.24	0
PTX组	3.49±0.18*	28.0±2.1
PTX-LP组	2.66±0.17*	45.2±1.4
TF-PTX-LP组	1.28±0.12**	73.6±2.7**

注:与生理盐水组比较,* $P<0.01$;与PTX组、PTX-LP组比较,# $P<0.01$

Note: vs. normal saline group, * $P<0.01$; vs. PTX group and PTX-LP group, # $P<0.01$

介导途径的肿瘤靶向传递策略中研究较为广泛的受体^[7-8]。TFR在肝癌细胞表面高度表达,将其天然配体TF连接于LP可以介导LP实现肿瘤主动靶向^[9-10]。PTX是一种有效的抗肿瘤药物,对多种实体肿瘤有效,然而由于其严重的毒副作用,临床应用受到了一定的限制^[11-13]。因此本研究将TF连接到LP表面,制备了TF-PTX-LP。

本研究采用的薄膜分散法制备PTX-LP是目前常用的制备方法。透射电镜观察结果显示,本研究制备的TF-PTX-LP粒径均一,粒径在100~120 nm,这有利于其通过EPR效应到达肿瘤组织^[14-15]。细胞摄取试验证实,TF能够增强LP被肝癌细胞吞噬的作用,这是由肿瘤细胞表面的TFR介导作用所致。肿瘤细胞对TF-LP的摄取与时间呈正相关,这与体外MTT试验和体外肿瘤球生长抑制试验的结果一致。在MTT试验中,笔者发现PTX的细胞增殖抑制率高于PTX-LP,这可能是由于PTX的溶剂(乙醇)毒性导致的。荷瘤裸鼠的实验结果表明,TF-PTX-LP对肿瘤的抑瘤作用最强,此外PTX-LP的抑瘤作用强于PTX,这可能是由于PTX-LP在实体瘤中的高通透性和EPR效应使其蓄积到肿瘤组织,实现了PTX在肿瘤组织中的高浓度蓄积,并且有效地降低了PTX全身分布带来的毒副作用。

综上所述,本研究成功制得了具有良好抑瘤作用的TF-PTX-LP。

参考文献

- [1] 樊嘉,史颖弘.原发性肝癌研究,基础与临床的转化[J]. 中华肝胆外科杂志,2011,17(5):357.
- [2] Chen JG, Zhang SW. Liver cancer epidemic in China: past, present and future[J]. *Seminars in Cancer Biology*, 2011,21(1):59.
- [3] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics[J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61(2): 69.
- [4] Qin Y, Chen H, Zhang Q, et al. Liposome formulated with TAT-modified cholesterol for improving brain delivery and therapeutic efficacy on brain glioma in animals [J]. *Inter J Pharm*, 2011, 420(2):304.
- [5] Zhang QY, Tang J, Fu L, et al. A pH-responsive a-helical cell penetrating peptide-mediated liposomal delivery system[J]. *Biomaterials*, 2013,34(32):7 980.
- [6] Yao Q, Chen H, Yuan W, et al. Liposome formulated with TAT-modified cholesterol for enhancing the brain delivery [J]. *Inter J Pharm*, 2011, 419(1):85.
- [7] Al Soraj M, He L, Peynshaert K, et al. siRNA and pharmacological inhibition of endocytic pathways to characterize the differential role of macropinocytosis and the actin

特异乳酸菌对环磷酰胺抗人大肠癌HCT116细胞作用的影响[△]

刘华清^{1*}, 林 蕤¹, 陈 永², 刘 睿¹, 黄 慧¹, 罗晓玲¹(1. 惠州市中医医院药学部, 广东惠州 516001; 2. 广东药学院附属第一医院药学部, 广州 510000)

中图分类号 R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)01-0047-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.01.15

摘要 目的: 研究特异乳酸菌(Lb-f)对环磷酰胺(CTX)体内外抗人大肠癌HCT116细胞作用的影响。方法: 体外培养HCT116细胞, MTT法考察4、2、1 μg/ml CTX与加入10 μg/ml Lb-f联用后对HCT116细胞存活率的影响。复制HCT116细胞异种移植瘤裸鼠模型, 考察100、50、25 mg/kg CTX与加入180 mg/kg Lb-f联用后对荷瘤鼠瘤体积、瘤质量及二者相对抑瘤率、化疗增敏效果(以 q 值表示)、外周血白细胞及血小板数量的影响。结果: 与单用CTX比较, CTX联用Lb-f对HCT116细胞的存活率, 对荷瘤裸鼠瘤体积相对抑瘤率、瘤质量相对抑瘤率和 q 值均无明显影响($P>0.05$), 能增加外周血白细胞及血小板数量($P<0.05$)。结论: Lb-f对CTX体内外HCT116细胞的抑制生长作用未见协同效应; 对CTX引起的HCT116细胞异种移植瘤裸小鼠外周血白细胞及血小板减少具有抑制作用。

关键词 特异乳酸菌; 环磷酰胺; 人大肠癌HCT116细胞; 裸小鼠; 细胞存活率; 抑瘤率

Effects of *Lactobacillus fermentum* on the Inhibition of Cytoxan on Human Colorectal Cancer HCT116 Cells

LIU Huaqing¹, LIN Rui¹, CHEN Yong², LIU Rui¹, HUANG Hui¹, LUO Xiaoling¹ (1. Dept. of Pharmacy, Huizhou Hospital of TCM, Guangdong Huizhou 516001, China; 2. Dept. of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the effects of *Lactobacillus fermentum* (Lb-f) on inhibition of cytoxan (CTX) on HCT116 cells of human colorectal cancer *in vitro* and *in vivo*. METHODS: HCT116 cells were cultured *in vitro*. MTT assay was used to investigate the effects of 4, 2, 1 μg/ml CTX and combined with 10 μg/ml Lb-f on the survival rate of HCT116 cells. HCT116 cell xenograft tumor nude mice model was induced to investigate the effects of 100, 50, 25 mg/kg CTX and combined with 180 mg/kg Lb-f on tumor volume, tumor weight, relative tumor inhibition rate, the sensitization effect of chemotherapy (by q value), the number of peripheral blood leucocyte and platelet. RESULTS: Compared with CTX alone, CTX combined with Lb-f had no significant effect on survival rate of HCT116, relative inhibition rate of tumor volume in nude mice, relative inhibition rate of tumor weight and q value ($P>0.05$), but increased the number of peripheral blood leucocyte and platelet ($P<0.05$). CONCLUSIONS: No synergistic effects of Lb-f is found on the inhibition of CTX on the growth of HCT116 *in vitro* and *in vivo*; Lb-f can inhibit the decrease of peripheral blood leucocyte and platelet of HCT116 cell xenograft tumor nude mice induced by CTX.

KEYWORDS *Lactobacillus fermentum*; Cytoxan; Human colorectal cancer HCT116 cell; Nude mice; Survival rate; Inhibition rate

cytoskeleton on cellular uptake of dextran and cationic cell penetrating peptides octaarginine (R8) and HIV-Tat [J]. *J Control Release*, 2012, 161(1): 132.

[8] Tang J, Zhang L, Liu Y, *et al.* Synergistic targeted delivery of payload into tumor cells by dual-ligand liposomes co-modified with cholesterol anchored transferrin and TAT [J]. *Inter J Pharm*, 2013, 454(1): 31.

[9] Gao H, Yang Z, Cao S, *et al.* Tumor cells and neo-vasculature dual targeting delivery for glioblastoma treatment [J]. *Biomaterials*, 2014, 35(7): 2 374.

[10] Yin Y, Wu X, Yang Z, *et al.* The potential efficacy of R8-modified paclitaxel-loaded liposomes on pulmonary arterial hypertension[J]. *Pharm Res*, 2013, 30(8): 2 050.

[11] Du W, Fan Y, Zheng N, *et al.* Transferrin receptor specific nanocarriers conjugated with functional 7peptide for

oral drug delivery[J]. *Biomaterials*, 2013, 34(3): 794.

[12] 肖瑶, 柳琳, 朱潇冉, 等. 转铁蛋白受体单克隆抗体OX26修饰的眼镜蛇神经毒素脂质体的制备及其对小鼠的镇痛作用研究[J]. *中国药房*, 2015, 26(13): 1 827.

[13] Morgan MA, Sill MW, Fujiwara K, *et al.* A phase I study with an expanded cohort to assess the feasibility of intraperitoneal carboplatin and intravenous paclitaxel in untreated ovarian, fallopian tube, and primary peritoneal carcinoma: a Gynecologic Oncology Group study[J]. *Gynecol Oncol*, 2011, 121(2): 264.

[14] Wojtkowiak JW, Verduzco D, Schramm KJ, *et al.* Drug resistance and cellular adaptation to tumor acidic pH microenvironment[J]. *Mol Pharm*, 2011, 8(6): 2 032.

[15] Tian L, Bae YH. Cancer nanomedicines targeting tumor extracellular pH[J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2012, doi:10.1016/j.colsurfb.2011.10.039.

(收稿日期: 2015-06-30 修回日期: 2015-09-14)

(编辑: 邹丽娟)

△ 基金项目: 惠州市科技计划项目(No.2015Y107)

* 主管药师, 硕士。研究方向: 临床药学。电话: 0752-2189211。

E-mail: liuhuaqing3715@163.com