

三氧化二砷复合物抑制人脑胶质瘤 U87 细胞生长的机制研究

陆燕平¹, 史东明¹, 朱志红^{2*} (1. 杭州市富阳区第一人民医院, 杭州 311400; 2. 浙江中医药大学, 杭州 311400)

摘要: 目的 研究三氧化二砷复合物对人脑胶质瘤 U87 细胞凋亡的影响, 并进一步探讨其作用机制。方法 采用激光共聚焦技术研究三氧化二砷各复合物进入细胞的方式; 采用细胞划痕愈合试验观察其对 U87 细胞迁移能力的影响; 采用血管形成试验观察其对新生血管形成能力的影响; 流式细胞仪检测各组细胞周期及细胞凋亡; 免疫蛋白印迹法检测凋亡相关蛋白 Bcl-2、Bax 和 caspase-3 的表达情况。结果 三氧化二砷复合物主要通过内吞方式进入细胞, 能显著抑制 U87 细胞的迁移以及新生血管的形成; 其可诱导 U87 细胞周期阻滞于 G2/M 期, 促进细胞发生凋亡; 三氧化二砷复合物促进 Bax 和 caspase-3 的表达, 抑制 Bcl-2 的表达。结论 三氧化二砷复合物对 U87 细胞的抑制作用机制可能是通过内吞方式进入细胞后, 上调 Bax 的表达, 下调 Bcl-2 的表达, 最终诱导细胞发生凋亡。

关键词: 三氧化二砷复合物; 人脑胶质瘤 U87 细胞; 细胞凋亡; 机制

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2022)05-0602-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.05.006

引用本文: 陆燕平, 史东明, 朱志红. 三氧化二砷复合物抑制人脑胶质瘤 U87 细胞生长的机制研究[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(5): 602-607.

Study on the Mechanism of Arsenic Trioxide Complex Inhibiting the Growth of Human Glioma Cell Line U87

LU Yanping¹, SHI Dongming¹, ZHU Zhihong^{2*} (1. The First People's Hospital of Fuyang Hangzhou, Hangzhou 311400, China; 2. Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 311400, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the effect of arsenic trioxide complex on the apoptosis of human glioma U87 cells and further explore its mechanism. **METHODS** Laser confocal method was used to study the way of arsenic trioxide complex entering cells. Cell scratch healing experiment was used to observe the effect on migration ability of U87 cells. Angiogenesis experiment was used to observe the ability of influencing neovascularization. Cell cycle and apoptosis were detected by flow cytometer. Immunoblotting method was used to detect the apoptosis related proteins of Bcl-2, Bax and caspase-3. **RESULTS** Arsenic trioxides mainly entered the cells by endocytosis, which could significantly inhibit the migration ability and neovascularization of U87 cells. Arsenic trioxides blocked the cell cycle of U87 cells at the G2/M phase, and promoted the early apoptosis of cells. Arsenic trioxides promoted the expression of Bax and caspase-3, and inhibited the expression of Bcl-2. **CONCLUSION** The inhibition mechanism of arsenic trioxide complex on U87 cells may be up-regulation of Bax expression and down-regulation of Bcl-2 expression after entering cells by endocytosis, leading to cell apoptosis.

KEYWORDS: arsenic trioxide complex; human glioma U87 cells; cell apoptosis; mechanism

脑胶质瘤是死亡率最高的原发性脑肿瘤之一, 胶质瘤的预后差, 以血管增生和坏死为组织学特征。然而由于其浸润性生长和特殊的生长位置, 要完全区分肿瘤组织与正常的脑组织非常困难, 所以仅通过手术切除难以完全治愈^[1-3]。其联合化学治疗是治疗脑胶质瘤常用的手段之一, 然而普通的化疗药物又难以通过血脑屏障(blood brain barrier, BBB), 因此针对肿瘤部位受体与配体的特异性识别, 设计一种既可以穿透 BBB, 又可以靶向脑胶质瘤的递药系统具有重要意义^[4]。选择 TGN 肽作为脑靶向功能基, iRGD 肽作为肿瘤

靶向功能基, 聚酰胺-胺树状大分子(polyamidoamine dendrimer, PAMAM)为基础载体材料, 可构建具有双重靶向作用的 iRGD/TGN-PEG-PAMAM 载体^[5-6], 通过载体包载并运输药物以期更好地治疗脑胶质瘤。

三氧化二砷(arsenic trioxide, ATO)为中药砒霜的主要有效成分, 对肝癌、乳腺癌、肺癌、淋巴瘤、脑胶质瘤等多种恶性肿瘤均具有显著的抑制作用, 属于周期特异性药物^[7-10]。目前临床上应用的 ATO 治疗肿瘤的主要剂型是注射液, 以亚砷酸为主要成分, 在肿瘤递药系统方面研究广泛^[11-12]。

作者简介: 陆燕平, 女, 硕士, 药师 E-mail: 1217287243@qq.com

*通信作者: 朱志红, 女, 博士, 讲师 E-mail: zzhjanny@163.com

但因其体内消除快、毒性大、体内分布缺乏特异性、BBB 透过率低等缺陷,使得 ATO 到达脑胶质瘤部位的药物浓度相对较低,影响治疗效果并带来严重的不良反应^[13-14]。前期研究发现制备的 ATO 复合物在体外具有较好的跨越 BBB 以及抑制 U87 细胞活性的能力,然而关于其对脑胶质瘤的治疗机制仍需要进一步深入研究。本研究旨在探索具有靶向作用的 ATO 复合物进入 U87 细胞的方式、对 U87 细胞的靶向效果以及 ATO 复合物对 U87 细胞的细胞周期及凋亡影响,并探讨其作用机制,为临床应用及新药开发提供参考。

1 仪器与试剂

ME204 电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司); CO₂ 培养箱(美国 Thermo 公司); Guava Easycyte 流式细胞仪(德国 Merck Millipore 公司); OLS5000 激光共聚焦显微镜(日本 Olympus 公司); US61M/ELITE3000 蛋白质电泳仪(美国 Wealtec 公司); GenoSens 1850 凝胶成像系统(上海勤翔科学仪器有限公司); Odyssey 双色红外凝胶成像系统(美国 LI-COR 公司)。

DAPI(美国 Sigma 公司,批号: 083M4157V); RPMI 1640 培养液、0.25%胰蛋白酶、FBS 胎牛血清均购自美国 Gibco 公司;青-链霉素溶液(杭州四季青公司,批号: 20180921); PBS(中国杭州诺森德生物技术有限公司); 4%多聚甲醛(中国北京鼎国昌盛生物技术有限公司); 细胞周期与细胞凋亡检测试剂盒(碧云天生物技术有限公司); Bax、Bcl-2、Cleaved-Caspase-3 抗体(上海 Abcam 公司,批号: ab32503, ab196495, ab13847); 免疫印迹试验材料购自上海生工,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 ATO 复合物的制备

ATO 复合物 iRGD-PEG-PAMAM、TGN-PEG-PAMAM 和 iRGD/TGN-PEG-PAMAM 的制备及其荧光标记和 ATO 载药的相关步骤参考前期实验^[6,15]。

精密称取马来酰亚胺-聚乙二醇-琥珀酰亚胺琥珀酸酯(maleimide-PEG-NHS ester, MAL-PEG-NHS, 3 500 Da, 9.2 μmol), 迅速加入含有 iRGD (950.06 Da, 9.2 μmol) 的 NaAc-HAc 缓冲液中(0.1 mol·L⁻¹, pH 6.0), 涡旋 30 s; 将上述反应液加入含有 0.2 μmol PAMAM 的 0.05 mol·L⁻¹ 硼砂-NaOH 缓冲液(pH 9.2)中, 使其最终摩尔比为

iRGD : MAL-PEG-NHS : PAMAM=45 : 45 : 1。反应过夜后, 调节 pH 至 7.0, 并加入 9.2 μL β-巯基乙醇。继续反应 1 h 后, 将反应液收集于超滤管(10 K), 4 000 r·min⁻¹ 离心 20 min, 反复离心至无游离的 PEG。收集离心浓缩后的产物复溶于 pH 8.0 的磷酸盐缓冲液中, 向其中加入 mPEG3000-NHS, 使 PAMAM 与 PEG 的最终反应摩尔比为 1 : 64。反应 48 h 后超滤离心除去未反应的 PEG, 冷冻干燥得到白色疏松固体 iRGD-PEG-PAMAM。TGN-PEG-PAMAM 和 iRGD/TGN-PEG-PAMAM 的合成类似。

分别称取适量冷冻干燥的 3 种载体复合物溶于 2 mL 超纯水中, 分别加入 2 mL ATO 溶液(1 mg·mL⁻¹), 搅拌反应过夜。于截流分子量为 3 000 的 Millipore 超滤离心管中, 超滤除去游离砷盐, 冷冻干燥后分别得到 iRGD-PEG-PAMAM@ATO、TGN-PEG-PAMAM@ATO 和 iRGD/TGN-PEG-PAMAM@ATO(以下简称复合物 iPPA、TPPA、iTTPA), 于-80 °C 保存备用。

2.2 载体摄取机制考察

取对数生长期的 U87 细胞以每孔 4×10⁴ 个接种于专用玻璃小室中, 培养 24 h 后吸弃培养液, 加入含内吞抑制剂的培养液: 秋水仙碱(0.5 μmol·L⁻¹), 菲力平(0.1 mg·mL⁻¹), 氧化苯砷(0.5 μmol·L⁻¹), 于 37 °C 孵育 10 min 后弃去含抑制剂的培养液, 加入经 FITC 标记的 iRGD/TGN-PEG-PAMAM, 继续培养 4 h 后用预冷的 PBS 漂洗 3 次。4%多聚甲醛固定 15 min 后弃去, PBS 漂洗 3 次, 加入 Phalloidin 孵育 20 min, PBS 漂洗 3 次, 随后加入 0.5 mL DAPI(0.2 μg·mL⁻¹) 孵育 20 min 后弃去, PBS 漂洗 3 次, 于激光共聚焦显微镜下观察载体的分布情况。

通过激光共聚焦显微镜直观观察到在各种抑制剂作用下, 细胞对 PAMAM 复合物摄取的变化以及细胞内分布情况, 结果见图 1。3 种抑制剂均能抑制 U87 细胞对纳米载体的摄取。而秋水仙碱、氧化苯砷显著抑制了细胞摄取, 推测内吞可能是 iRGD/TGN-PEG-PAMAM 复合物摄取入胞的主要途径。

2.3 Transwell 划痕愈合试验

采用细胞划痕试验观察 ATO 对 U87 细胞迁移能力的影响。取对数生长期的 U87 细胞, 以 2×10⁵·mL⁻¹ 接种于 6 孔板, 37 °C 培养 24 h 后用移

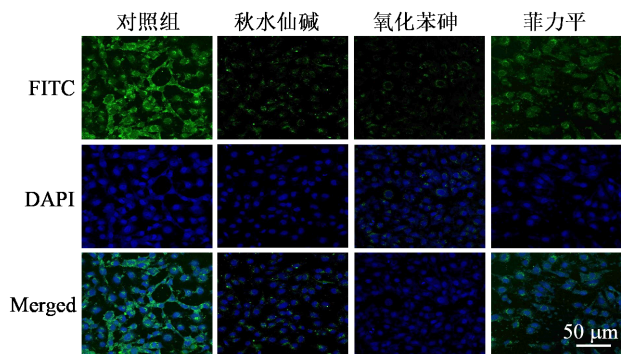


图 1 iRGD/TGN-PEG-PAMAM 在内吞抑制剂存在下在 U87 细胞内的分布情况

Fig. 1 Distribution of iRGD/TGN-PEG-PAMAM on U87 cells in the presence of endocytosis inhibitors

液器吸头沿 6 孔板中间直线划痕。PBS 洗去划下的细胞，分别加入含 $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ATO 的二氧化二砷溶液(arsenic solution, ATO-sol)、iPPA、TPPA 以及 iTPPA 培养基。于 0, 6, 12 h 在显微镜下观察并拍照。结果见图 2。

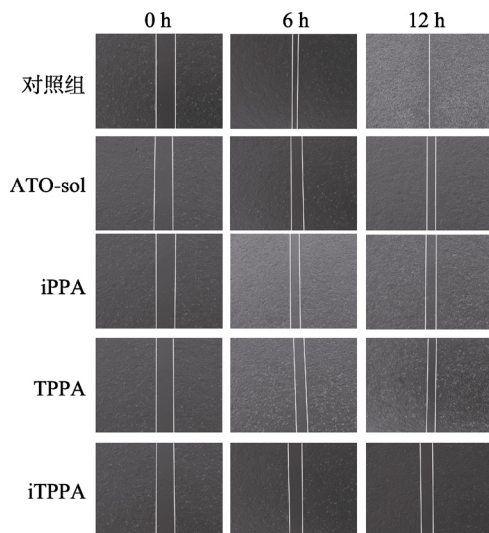


图 2 ATO-sol、iPPA、TPPA 以及 iTPPA 对 U87 细胞愈合考察结果($n=3$)

Fig. 2 Healing assay result of U87 cells after treated with free ATO-sol, iPPA, TPPA and iTPPA ($n=3$)

与对照组相比，分别经 ATO-sol、iPPA、TPPA 以及 iTPPA 处理的给药组在 6 h 时就可以明显减少 U87 细胞的迁移愈合。与 ATO-sol 处理组相比，iPPA、TPPA 以及 iTPPA 处理组没有明显的差异。12 h 时各处理组可以使 U87 细胞的迁移能力显著下降，这表明 ATO 及其递药系统可以在体外较好地抑制 U87 的迁移。

2.4 促血管形成试验

血管形成试验可以考察药物对肿瘤血管生成能力的影响^[16]。将 Matrigel 胶于 4°C 过夜使其处

于熔融状态，随后在冰上将每孔 $100 \mu\text{L}$ Matrigel 胶加入预冷的 96 孔板，于 37°C 培养箱中包被 30 min 使其凝固；0.25%胰酶消化 HUVECs 细胞，分别以空白培养基或含 ATO-sol、iPPA、TPPA 以及 iTPPA 的培养基调整细胞浓度为每孔 1×10^4 个加入 96 孔板内胶面上， 37°C 培养 8 h 后显微镜观察脉管形成并照相；计数小管的数量每孔 4 个随机视野计数进行分析。

利用小管形成试验考察 ATO-sol、iPPA、TPPA 以及 iTPPA 对 HUVEC 细胞体外小管形成能力的影响，结果见图 3。对照组中的 HUVEC 细胞能够形成明显的小管，而 ATO-sol、iPPA、TPPA 以及 iTPPA 处理组形成的小管数明显减少，这说明各处理组可以干扰 HUVEC 细胞体外小管的形成，均具有抑制肿瘤血管新生能力的作用。

2.5 细胞周期试验

取对数生长期的 U87 细胞平铺于 6 孔板(每孔 2×10^5 个)。置于培养箱中，当细胞的融合度达到 70%~80%时，弃去原培养液，分别加入 ATO-sol、iPPA、TPPA 以及 iTPPA(以 ATO 计， $3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)，继续培养 24 h。按照细胞周期试剂盒的方法进行操作：用胰酶消化后离心，吸弃原培养基，Buffer A 溶液洗 1 次，离心($2000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 5 min)；弃上清，加入预冷的 75%乙醇 $500 \mu\text{L}$ ；待细胞固定后，离心收集细胞，并将其上清液去除，再加入 1 mL 的 PBS 重悬细胞；离心($1500 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, 5 min)吸去上清液，加入 RNase A $100 \mu\text{L}$ ，使其终浓度为 $0.25 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ， 37°C ，反应 30 min；再加入 $5 \mu\text{L}$ 碘化丙啶染色液(PI)室温避光孵育 30 min；之后行流式细胞仪检测，结果见图 4。

ATO 是周期特异性药物，本研究考察了 ATO-sol 以及各复合物对 U87 细胞周期的影响^[17]。结果表明，经过 iTPPA 处理后，细胞周期被阻滞在 G2/M 期的 U87 细胞较多，同时 iPPA、TPPA 以及 iTPPA 没有显著性差异。与对照组相比，ATO-sol 处理后，较多的细胞处于 G2/M 期，且 ATO-sol、iPPA、TPPA 以及 iTPPA 与对照组相比均具有显著性差异。这表明载体的包载对 ATO 阻滞 U87 细胞周期的效果并没有明显影响。

2.6 细胞凋亡试验

采用 Annexin V-FITC/PI 双染色法进行凋亡试验，取对数生长期的 U87 细胞平铺于 12 孔板(每

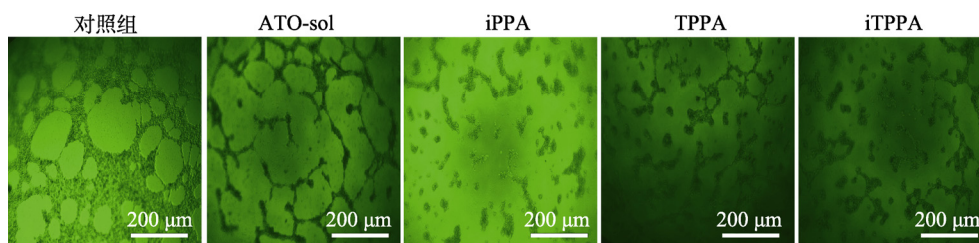


图3 ATO-sol、iPPA、TPPA 和 iTPPA 对 HUVEC 血管形成的影响
Fig. 3 Effect of ATO-sol, iPPA, TPPA and iTPPA on angiogenesis of HUVEC

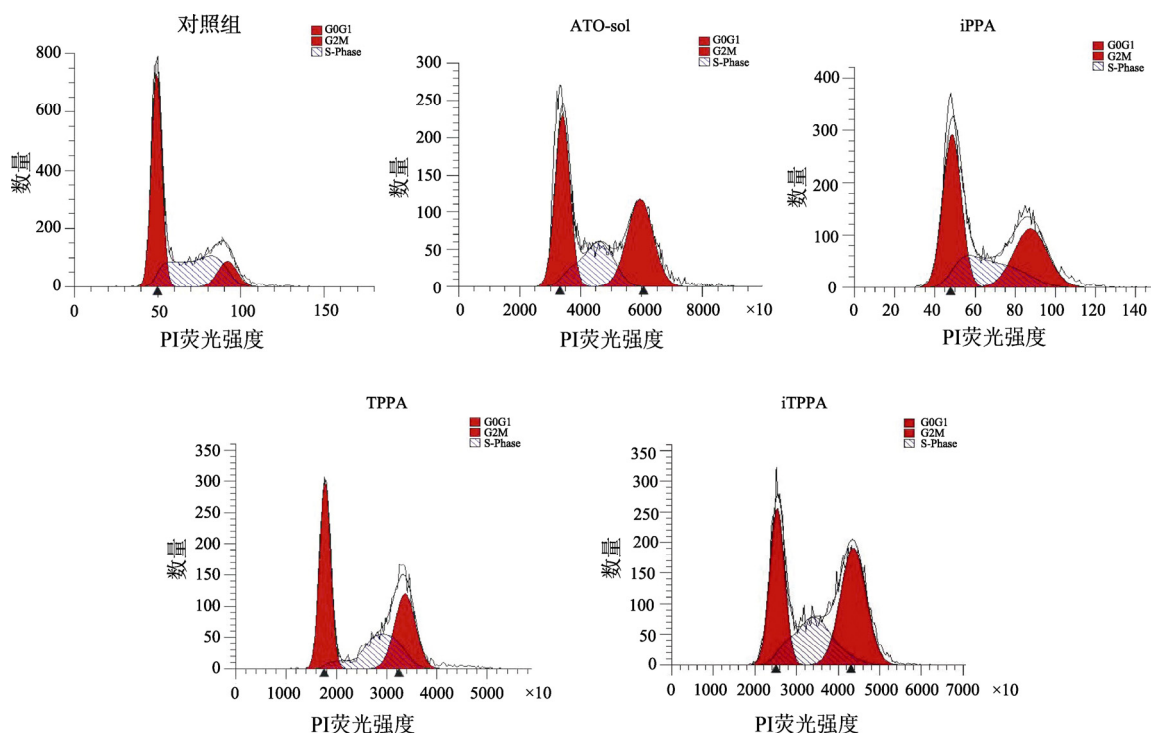


图4 ATO-sol、iPPA、TPPA 和 iTPPA 对 U87 细胞周期分布考察结果($n=3$)
Fig. 4 Results of U87 cell cycle distribution of ATO-sol, iPPA, TPPA and iTPPA ($n=3$)

孔 2×10^5)。置于培养箱中,当细胞的融合度达到 70%~80%时,弃去原培养液,加入 ATO-sol、iPPA、TPPA 以及 iTPPA(以 ATO 计, $3 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$),继续培养 4 h。按照细胞凋亡试剂盒的方法进行操作:将细胞培养液吸出至离心管中,用 PBS 洗涤贴壁细胞 2 次,用不含 EDTA 的胰酶消化并收集细胞于离心管中, $2\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min 弃去上清液,加入 500 μL 结合液轻轻重悬细胞;继续加入 5 μL Annexin V-FITC 试剂以轻轻混匀;最后加入 5 μL PI,轻轻混匀后,室温避光条件下孵育 15 min;之后行流式细胞仪检测。

利用 Annexin V-FITC/PI 凋亡试剂盒定量分析 U87 细胞的凋亡情况,结果见图 5。与对照组相比,ATO-sol 以及 iPPA、TPPA 以及 iTPPA 均能显著诱导 U87 细胞发生凋亡($P<0.05$)。

2.7 Western blotting 试验

取对数生长期的 U87 细胞平铺于 12 孔板(每孔 2×10^5 个)。置于培养箱中,当细胞的融合度达到 70%~80%时,弃去原培养液,加入 ATO-sol、iPPA、TPPA 以及 iTPPA(以 ATO 计, $3 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$),继续培养 24 h 后分别收集细胞进行蛋白的提取。聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白样品后,进行转膜、封闭。一抗 Bax、Bcl-2、Cleaved-caspase-3 孵育过夜,次日孵育二抗后用双色凝胶成像系统显影。

Bcl-2 是细胞凋亡的抑制基因,而 Bax 可以拮抗 Bcl-2 抑制凋亡的作用,具有促进细胞凋亡的功能。结果显示,经过 ATO-sol、iPPA、TPPA 以及 iTPPA 处理之后,Bcl-2 表达水平显著下调,而 Bax 表达水平明显上调,从而导致 Cleaved-caspase-3 表达水平也有所上调。结果见图 6。

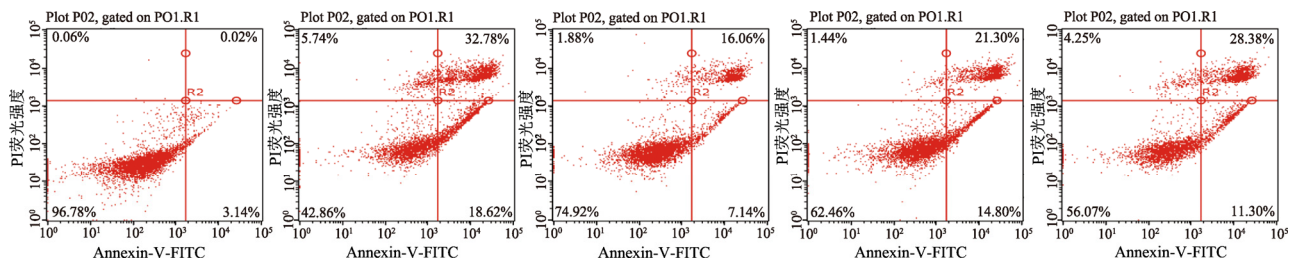


图5 ATO-sol、iPPA、TPPA 和 iTPPA 对 U87 细胞凋亡的影响($n=3$)

Fig. 5 Effect of ATO-sol, iPPA, TPPA and iTPPA on U87 cell apoptosis($n=3$)

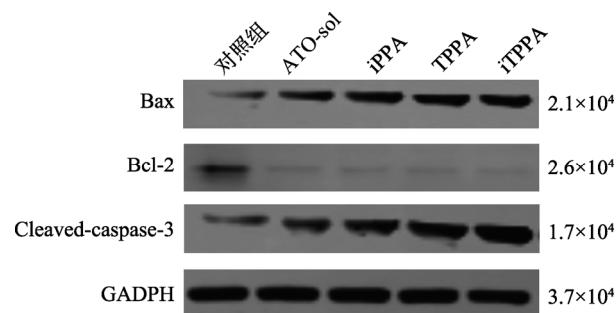


图6 ATO-sol、iPPA、TPPA 和 iTPPA 对 U87 细胞蛋白表达的考察结果

Fig. 6 Results of protein expression of U87 cells with ATO-sol, iPPA, TPPA and iTPPA

3 讨论

前期实验结果表明笔者所在课题组制备的 iRGD/TGN-PEG-PAMAM/ATO 递药系统具有较高的封装率,在体外具有较好的抑制 U87 细胞生长的效果,另外在体外实验中也表现出较好的体外跨 BBB 抑制 U87 细胞生长的作用^[6,15]。在本实验中进一步研究递药系统的摄取途径以及抑制 U87 细胞作用的相关机制。

纳米载体进入肿瘤细胞的方式主要包括网格蛋白介导的内吞途径、细胞膜穴样内陷介导的内吞途径和巨胞饮途径。有文献报道, PAMAM 可通过细胞膜穴样内陷依赖性内吞和巨胞饮途径进入细胞,此为高分子的性质所致^[18]。为了阐明 iRGD/TGN-PEG-PAMAM 复合物进入细胞内的途径,本实验采用多种抑制剂来考察细胞的摄取机理。菲律为细胞膜穴样内陷介导的内吞抑制剂,能够结合固醇,选择性抑制细胞膜穴样内陷介导的内吞;秋水仙素为巨胞饮途径的选择性抑制剂;氧化苯砷可使网格蛋白和 AP-2 蛋白复合物从细胞表面脱落而聚集于溶酶体上从而特异性地抑制网格蛋白介导的内吞^[19-20]。

其中 iTPPA 复合物能很好地被 U87 细胞摄取,分别经过秋水仙碱、菲律平、氧化苯砷处理之后, iTPPA 复合物的摄取量明显减小,其中秋水仙碱、

氧化苯砷能显著影响 U87 细胞对复合物的摄取,表明其摄取途径可能是经过内吞途径进入细胞。在细胞迁移实验中, ATO 的 3 种复合物均能较好地抑制 U87 细胞的迁移,与 ATO-sol 组相比, iPPA、TPPA 以及 iTPPA 对 U87 细胞迁移的能力没有显著性差异,表明 ATO 经过载体包载之后,对其抑制 U87 细胞迁移的能力没有影响,且由载体中释放的 ATO 足够多。本研究进一步利用小管形成试验观察 ATO-sol、iPPA、TPPA 以及 iTPPA 对 HUVEC 细胞体外小管形成能力的影响,与对照组相比,经过 ATO-sol、iPPA、TPPA 以及 iTPPA 处理后,形成的小管数量明显减少,可以明显抑制肿瘤细胞血管新生能力,这对抑制肿瘤生长具有重要意义。同时 ATO-sol、iPPA、TPPA 以及 iTPPA 均能阻滞 U87 细胞在 G2/M 期,且能明显诱导细胞发生凋亡。除此之外, Bcl-2 和 Bax 是 Bcl 家族中的重要成员, Bcl-2 下调可以抑制细胞凋亡,而 Bax 上调可以诱发细胞的凋亡。Western blotting 试验结果表明, ATO-sol、iPPA、TPPA 以及 iTPPA 能较好地抑制 U87 细胞凋亡。

综上分析表明,在靶向多肽 iRGD、TGN 的修饰以及 PAMAM 载体的包载之后, ATO 复合物具有较好的抑制 U87 脑胶质瘤细胞生长的作用,并促进其凋亡,从而能进一步抑制肿瘤生长。由此猜想 ATO 在经过 PAMAM 载体复合物包载之后亦能较好地释放出来,且其抑制肿瘤细胞的能力并没有减弱,同时在靶头的“牵引”之下通过内吞途径靶向进入 U87 细胞,且将 U87 细胞阻滞在 G2/M 期,激活 Cleaved-caspase-3 凋亡途径,继而促进 U87 细胞的凋亡。本研究结果为进一步探索脑胶质瘤的治疗提供了有力支持和新策略。

REFERENCES

- [1] FERRARIS C, CAVALLI R, PANCANI P P, et al. Overcoming the blood-brain barrier: Successes and challenges

- in developing nanoparticle-mediated drug delivery systems for the treatment of brain tumours[J]. *Int J Nanomed*, 2020(15): 2999-3022.
- [2] YOUNG J S, GOGOS A J, MORSHED R A, et al. Molecular characteristics of diffuse lower grade gliomas: What neurosurgeons need to know[J]. *Acta Neurochir: Wien*, 2020, 162(8): 1929-1939.
 - [3] LUO C, XU S, DAI G, et al. Tumor treating fields for high-grade gliomas[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020(127): 110193.
 - [4] NOROUZI M. Gold nanoparticles in glioma theranostics[J]. *Pharmacol Res*, 2020(156): 104753.
 - [5] FANA M, GALLIEN J, SRINAGESHWAR B, et al. PAMAM dendrimer nanomolecules utilized as drug delivery systems for potential treatment of glioblastoma: A systematic review[J]. *Int J Nanomedicine*, 2020(15): 2789-2808.
 - [6] SHI X W, MA R, LU Y P, et al. iRGD and TGN co-modified PAMAM for multi-targeted delivery of ATO to gliomas[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 527(1): 117-123.
 - [7] AKHTAR A, XIAOYAN WANG S, GHALI L, et al. Recent advances in arsenic trioxide encapsulated nanoparticles as drug delivery agents to solid cancers[J]. *J Biomed Res*, 2017, 31(3): 177-188.
 - [8] SHEN X Y, LV B J, WU M. Research progress of arsenic trioxide-related combined therapy in the treatment of breast cancer[J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学)*, 2020,37(11):1392-1396.
 - [9] KANG Q, ZENG J, HUANG Q Q, et al. Research of arsenic trioxide anticancer agents based on patent perspective[J]. *Chin J New Drugs(中国新药杂志)*, 2020, 29(14): 1566-1571.
 - [10] ZENG Y, HAN H, YAN Y J, et al. Major chemotherapy regimens of arsenic trioxide combined with vitamin C in the treatment of 33 cases of elderly patients with relapsed/refractory multiple myeloma[J]. *Her Med(医药导报)*, 2019, 38(10): 1295-1299.
 - [11] ZHANG Y, FEI W D, TAO J Y, et al. Preparation and *in vitro* evaluation of arsenic trioxide-loaded phospholipid-capped mesoporous silica nanoparticles modified with Angiopep-2 as targeting drug delivery system[J]. *Chin Tradit Herb Drugs(中草药)*, 2018, 49(6): 1289-1297.
 - [12] MA R, TANG H X, LU Y P. Preparation and *in vitro* evaluation of redox-responsive silica-loaded arsenic trioxide nano-drug delivery system[J]. *Chin Tradit Herb Drugs(中草药)*, 2020, 51(6): 1508-1516.
 - [13] BURETA C, SAITOH Y, TOKUMOTO H, et al. Synergistic effect of arsenic trioxide, vismodegib and temozolomide on glioblastoma[J]. *Oncol Rep*, 2019, 41(6): 3404-3412.
 - [14] CIOLOBOC D, KURTZ D M. Targeted cancer cell delivery of arsenate as a reductively activated prodrug[J]. *J Biol Inorg Chem*, 2020, 25(3): 441-449.
 - [15] NI W J, MA R, LU Y P. Preparation and *in vitro* evaluation of arsenic trioxide-loaded glioma targeting drug delivery system iRGD/TGN-PEG-PAMAM/ATO[J]. *Chin Tradit Herb Drugs(中草药)*, 2019, 50(9): 2049-2056.
 - [16] BAI L, LU J Q, SUN Z. *In vitro* study on FoxO3a mediated anti-angiogenic effect of arsenic trioxide in breast cancer[J]. *J Nanjing Med Univ(Nat Sci)(南京医科大学学报: 自然科学版)*, 2017, 37(7): 842-846.
 - [17] JIAO G, REN T, GUO W, et al. Arsenic trioxide inhibits growth of human chondrosarcoma cells through G2/M arrest and apoptosis as well as autophagy[J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(5): 3969-3977.
 - [18] HUANG R Q, KE W L, HAN L, et al. Brain-targeting mechanisms of lactoferrin-modified DNA-loaded nanoparticles[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2009, 29(12): 1914-1923.
 - [19] LU W, SUN Q, WAN J, et al. Cationic albumin-conjugated pegylated nanoparticles allow gene delivery into brain tumors via intravenous administration[J]. *Cancer Res*, 2006, 66(24): 11878-11887.
 - [20] GAO H L. The design and evaluation of brain tumor targeted drug delivery system based on different strategies[D]. Shanghai: Fudan University, 2013.

收稿日期: 2020-11-11
(本文责编: 曹粤锋)