

放射特异性重组肽 HVGGSSV 在胰腺癌移植瘤模型中的研究

乐雨银¹, 黄磊娟², 贺俊彦³, 李金奎³, 吴君心³

(1. 福建省福州肺科医院, 福建 福州 350000; 2. 福建省漳州市医院, 福建 漳州 363000;

3. 福建省肿瘤医院, 福建 福州 350014)

摘要: [目的] 探讨放射特异性重组肽 HVGGSSV 靶向结合胰腺癌移植瘤的生物功能。[方法] 合成可以识别肿瘤组织放射损伤的重组肽 HVGGSSV, 利用游离荧光染料 Cy7-NHS ester 标记, 制备具有肿瘤特异性的荧光靶向载体复合物 Cy7-HVGGSSV 颗粒。建立人胰腺癌裸鼠双后肢移植瘤模型, 右后肢接受单次放射 4Gy, 随机分组, 放射后 5h, 实验组接受 Cy7-HVGGSSV 处理, 对照组接受 Cy7-NHS ester 处理。应用小动物活体成像系统观察负瘤小鼠双后肢肿瘤区域的荧光分布情况。[结果] 小动物活体成像系统显示给药后 1h、6h、12h、24h、48h, 实验组右后肢肿瘤荧光强度分别比左后肢肿瘤分别提高 $6.440 \times 10^7 \pm 1.803 \times 10^7$ phontos/s/cm² ($t=-8.958, P<0.001$), $8.044 \times 10^7 \pm 1.001 \times 10^7$ phontos/s/cm² ($t=-8.802, P<0.001$), $3.879 \times 10^8 \pm 6.26 \times 10^7$ phontos/s/cm² ($t=-14.082, P<0.001$), $5.732 \times 10^8 \pm 4.762 \times 10^7$ phontos/s/cm² ($t=-24.375, P<0.001$), $7.836 \times 10^7 \pm 3.50 \times 10^6$ phontos/s/cm² ($t=-4.831, P=0.001$)。实验组较对照组右后肢肿瘤荧光强度在各时间点分别提高 $1.918 \times 10^8 \pm 3.011 \times 10^7$ ($t=-11.554, P<0.001$) phontos/s/cm², $1.301 \times 10^8 \pm 7.884 \times 10^7$ phontos/s/cm² ($t=-3.954, P=0.004$), $5.486 \times 10^8 \pm 7.242 \times 10^7$ phontos/s/cm² ($t=-18.001, P<0.001$), $6.149 \times 10^8 \pm 5.398 \times 10^7$ phontos/s/cm² ($t=-24.454, P<0.001$), $1.473 \times 10^8 \pm 3.050 \times 10^7$ ($t=-9.681, P<0.001$) phontos/s/cm²。实验组较对照组左后肢肿瘤荧光强度各时间点分别提高 $1.287 \times 10^8 \pm 2.702 \times 10^7$ ($t=-8.767, P<0.001$) phontos/s/cm², $5.690 \times 10^7 \pm 7.511 \times 10^7$ phontos/s/cm² ($t=-1.627, P=0.142$), $1.612 \times 10^8 \pm 2.619 \times 10^7$ phontos/s/cm² ($t=-7.916, P<0.001$), $4.260 \times 10^7 \pm 2.398 \times 10^7$ phontos/s/cm² ($t=-3.966, P=0.004$), $6.913 \times 10^7 \pm 1.130 \times 10^7$ ($t=-12.35, P<0.001$) phontos/s/cm²。[结论] 初步研究显示重组肽 HVGGSSV 可特异性结合放射损伤的胰腺癌移植瘤, 为胰腺癌药物靶向治疗提供新思路。

关键词: 重组肽 HVGGSSV; 放射特异性引导; 药物靶向; 胰腺肿瘤

中图分类号: R735.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2017)06-0502-06

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2017.06.B009

Recombinant Peptide HVGGSSV Targeting to Irradiated Human Pancreatic Carcinoma in Nude Mice

LE Yu-yin¹, HUANG Lei-juan², HE Jun-yan³, et al.

(1. Fuzhou Pulmonary Hospital of Fujian, Fuzhou 350000, China; 2. Zhangzhou Municipal Hospital of Fujian Province, Zhangzhou 363000, China; 3. Fujian Provincial Cancer Hospital, Fuzhou 350000, China.)

Abstract: [Objective] To evaluate the application of recombinant peptide HVGGSSV targeting to irradiated human pancreatic carcinoma in nude mice. [Methods] The HVGGSSV peptide was labeled with Cy7-NHS ester for fluorescence imaging. Human SW1990 pancreatic carcinoma was implanted in nude mice on both hind limbs; the tumor on right side received a 4Gy radiation, while the left side was spared from radiation. The mice were randomized into two groups with 5 in each; 5h after radiation fluorescence-conjugated Cy7-HVGGSSV was injected in experimental group and Cy7-NHS was injected in control group. All mice were anesthetized and examined with the Caliper Luminal IVIS II small animal imaging system at 1h, 6h, 12h, 24h, 48h after injection, respectively. [Results] The near-infrared images were acquired at 1h, 6h, 12h, 24h and 48h after injection, images of the experimental group showed maximum radiance, whereas untreated (0Gy) control tumors showed lower levels of radiance across all treatment groups. Irradiated tumors treated with Cy7 labeled-HVGGSSV showed $6.440 \times 10^7 \pm 1.803 \times 10^7$ phontos/s/cm² ($t=-8.958, P<0.001$), $8.044 \times 10^7 \pm 1.001 \times 10^7$ phontos/s/cm² ($t=-8.802, P<0.001$), $3.879 \times 10^8 \pm 6.26 \times 10^7$ phontos/s/cm² ($t=-14.082, P<0.001$), $5.732 \times 10^8 \pm 4.762 \times 10^7$ phontos/s/cm² ($t=-24.375, P<0.001$) and $7.836 \times 10^7 \pm 3.50 \times 10^6$ phontos/s/cm² ($t=-4.831, P<0.001$) higher radiance compared to untreated tumors at 1, 6, 12, 24 and 48 h, respectively. For the experimental group, the fluorescence intensities of the tu-

基金项目: 福建省自然科学基金 (2012J01331; 2016J01437)

通讯作者: 吴君心, 主任, 主任医师, 博士; 福建省肿瘤医院放疗科, 福州市

晋安区福马路 420 号 (350014); E-mail: junxinwu@126.com

收稿日期: 2016-10-08; **修回日期:** 2017-01-10

mor in the right hind limb were $1.918 \times 10^8 \pm 3.011 \times 10^7$ ($t = -11.554, P < 0.001$) phontos/s/cm², $1.301 \times 10^8 \pm 7.884 \times 10^7$ phontos/s/cm² ($t = -3.954, P = 0.004$), $5.486 \times 10^8 \pm 7.242 \times 10^7$ phontos/s/cm² ($t = -18.001, P < 0.001$), $6.149 \times 10^8 \pm 5.398 \times 10^7$ phontos/s/cm² ($t = -24.454, P < 0.001$) and $1.473 \times 10^8 \pm 3.050 \times 10^7$ ($t = -9.681, P < 0.001$) phontos/s/cm² higher than those in group Cy7 alone at all time points, respectively. And the fluorescence intensities of the tumor in the left hind limb were $1.287 \times 10^8 \pm 2.702 \times 10^7$ ($t = -8.767, P < 0.001$) phontos/s/cm², $5.690 \times 10^7 \pm 7.511 \times 10^7$ phontos/s/cm² ($t = -1.627, P = 0.142$), $1.612 \times 10^8 \pm 2.619 \times 10^7$ phontos/s/cm² ($t = -7.916, P < 0.001$), $4.260 \times 10^7 \pm 2.398 \times 10^7$ phontos/s/cm² ($t = -3.966, P = 0.004$), $6.913 \times 10^7 \pm 1.130 \times 10^7$ ($t = -12.35, P < 0.001$) phontos/s/cm² higher than those in the control group. [Conclusion] The study demonstrates the remarkable capability of the HVGSSV peptide of selectively binding to irradiated tumors, which might provide a new way for radiation-guided delivery of anticancer drugs.

Subject words: peptide HVGSSV; radiation-guided peptide delivery; tumor targeting therapy; pancreatic carcinoma xenograft model

肿瘤分子靶向治疗是根据肿瘤组织特殊的生理病理结构特点,利用具有一定特异性的载体,构建对肿瘤组织具有靶向定位功能的药物传送系统,将药物或其他活性物质靶向运输到肿瘤部位,而其他正常细胞、组织或器官分布少,从而提高疗效、减小副作用的一种方法^[1-4]。肿瘤分子靶向治疗具有高特异性、安全、分子量小、肿瘤细胞摄取高等优点,已成为肿瘤治疗的重要部分。寻找合适的靶向载体是该类研究的一个难点,也是目前肿瘤研究中的热点^[5]。Passarella等^[6]和Lowery^[7]利用噬菌体库展示技术筛选出能够特异性结合放射损伤肿瘤的重组肽(GIRLRG, AARLY, HMWRDSQ, HVGSSV)。Wang等^[8]进一步解释HVGSSV能够特异性结合放射损伤的肿瘤细胞原理,为肿瘤靶向载体研究提供一种思路。

本研究拟合成放射特异性重组肽HVGSSV,并用Cy7-NHS ester标记,制备具有肿瘤特异性荧光靶向载体复合物: Cy7-HVGSSV。通过实验证实该多肽特异性识别放射损伤后肿瘤的能力,为其后期作为化疗药物靶向载体研究提供试验基础和理论依据。

1 材料与方 法

1.1 胰腺癌移植瘤模型建立

人胰腺癌SW1990细胞,由福建省肿瘤医院肿瘤放射生物研究室提供,在含有10%胎牛血清(FBS)的DMEM培养液培养、传代,置于温度为37℃,CO₂

含量为5%的培养箱培养,定期更换培养液。并用倒置显微镜逐日观察细胞生长状态。待细胞长成单层,用0.25%胰酶消化、传代、分瓶扩增。取对数生长期细胞用于实验。取4~5周的SPF级的雄性裸鼠,体重约18~20g。腹腔注射100μl水合氯醛(浓度:40mg/ml)麻醉,取0.1ml细胞悬浮液(浓度为 1×10^7 个/ml)接种于每只小鼠的双后肢大腿根部皮下,约1~2周后,肿瘤长至约1cm直径,开始做体内多肽靶向实验。

1.2 Cy7 mono NHS ester 标记 HVGSSV

荧光染料Cy7 mono NHS ester上的琥珀酰亚胺基能够连接重组肽HVGSSV上的末端赖氨酸的集团以及侧链氨基,形成Cy7-HVGSSV荧光多肽复合物。利用SephadexG-15分离纯化上述多肽复合物,先后得到两个谱带: Cy7-HVGSSV(标记耦联物);游离的Cy7(凝胶柱上端未标记)。冷冻干燥处理后,用分光光度计测量耦联产物Cy7-HVGSSV的吸收光谱。

1.3 HVGSSV 靶向性研究

1.3.1 靶向研究动物模型的建立

分组处理: 将实验小鼠随机分为2组,每组5只,水合氯醛腹腔麻醉后,用胶带固定在热塑膜内,将右后肢腋下肿瘤及其外缘0.5cm作为照射野,左后肢肿瘤未接受照射野,应用瑞典医科达Compact直线加速器6MV-X射线按实验分组分别给予照射4Gy。放射处理后5h,对照组和实验组小鼠从尾静脉分别注射游离0.1ml Cy7、0.1ml Cy7-HVGSSV溶液。

1.3.2 HVGSSV 靶向结合放射损伤肿瘤的研究

小动物活体成像系统(Caliper Luminal IVIS II)

上进行活体成像研究,观察负瘤小鼠双后肢肿瘤区域的荧光分布情况。以游离的 Cy7 荧光分子作为对照,实验动物禁食 6h,注射药物 1、6、12、24、48h 后,利用小动物活体成像系统观察、测量负瘤小鼠全身的荧光分布情况,尤其是双后肢肿瘤区域,并通过计算机软件分析比较各组的荧光分布情况,对比相同部位荧光量子随时间变化情况。

1.4 小动物活体成像系统说明

根据 Caliper 公司关于动物活体成像系统 (Caliper Luminal IVIS II) 的说明,荧光图中的彩色斑块是电脑在消除背景噪音、通过不同区域的荧光强度进行模拟生成,可以通过测量荧光量子进行比较,而如果这两个区域分别在不同荧光上,只能通过测量这两个区域的荧光量子强度对比。

本实验通过活体内的荧光扫描图像分析裸鼠体内的荧光标记的多肽分布情况。

1.5 统计学处理

数据分析采用 SPSS 20.0 软件,采用重复测量的方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 荧光光谱分析结果

最大激发波长 $\text{Ex}: 747\text{nm}$; 最大发射波长 $\text{Em}: 750\text{nm}$ 。光谱结果如 Figure 1 所示,考虑荧光探针标记生物分子后其发射峰、激发发峰通常都会略有移

动,激发波长和发射波长与文献提供的游离的 Cy7 存在差异。

2.2 荧光多肽靶向结合放射损伤肿瘤研究结果

利用计算机软件进行分析处理,消除背景噪音的干扰后,采用小动物活体成像系统分别对小鼠全身及肿瘤部位在不同的时间点荧光扫描及采集。

2.2.1 Cy7-HVGGSSV 组肿瘤区域的荧光信号

选择左右后肢肿瘤区域勾画 ROI 并测量其荧光信号, Cy7-HVGGSSV 组双后肢荧光信号强度差异有统计学意义。各个时间点 (1~48h) 左后肢肿瘤荧光区域较右后肢分别减少 $6.440 \times 10^7 \pm 1.803 \times 10^7$ phontos/s/cm² ($t = -8.958, P < 0.001$)、 $8.044 \times 10^7 \pm 1.001 \times 10^7$ phontos/s/cm² ($t = -8.802, P < 0.001$)、 $3.879 \times 10^8 \pm 6.26 \times 10^7$ phontos/s/cm² ($t = -14.082, P < 0.001$)、 $5.732 \times 10^8 \pm 4.762 \times 10^7$ phontos/s/cm² ($t = -24.375, P < 0.001$)、 $7.836 \times 10^7 \pm 3.50 \times 10^6$ phontos/s/cm² ($t = -4.831, P < 0.001$)。见 Table 1, Figure 2。

2.2.2 Cy7 组肿瘤区域的荧光信号

Cy7 组各时间点小鼠双后肢肿瘤区域的荧光信号比较差异均无统计学意义,见 Table 2。

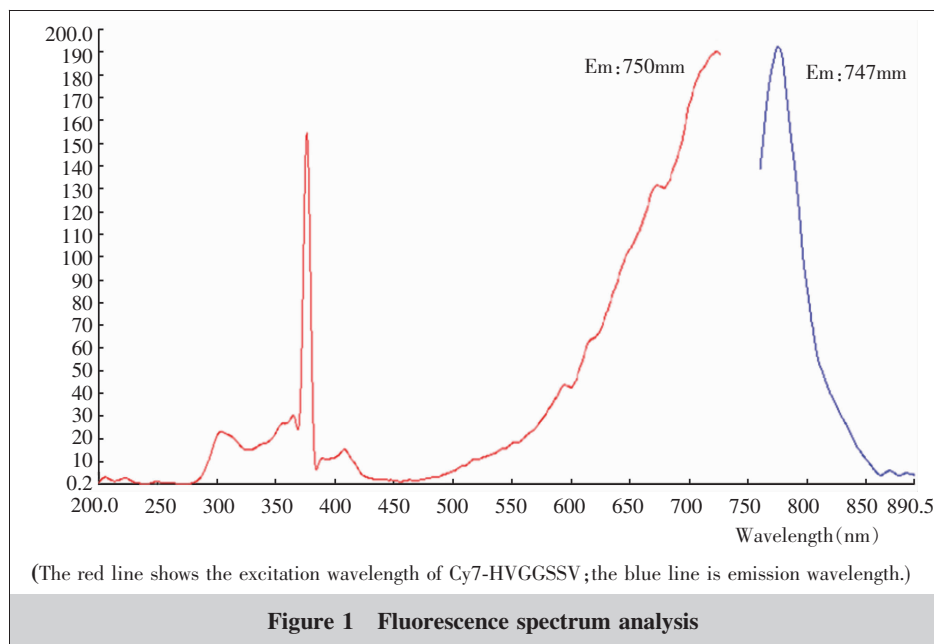
2.2.3 Cy7 组与 Cy7-HVGGSSV 组右后肢荧光信号比较

Cy7 组右后肢肿瘤荧光信号在各观察点均较 Cy7-HVGGSSV 组弱,在各观察点分别降低 $1.918 \times 10^8 \pm 3.011 \times 10^7$ ($t = -11.554, P < 0.001$) phontos/s/cm²、 $1.301 \times 10^8 \pm 7.884 \times 10^7$ phontos/s/cm² ($t = -3.954, P = 0.004$)、

$5.486 \times 10^8 \pm 7.242 \times 10^7$ phontos/s/cm² ($t = -18.001, P < 0.001$)、 $6.149 \times 10^8 \pm 5.398 \times 10^7$ phontos/s/cm² ($t = -24.454, P < 0.001$)、 $1.473 \times 10^8 \pm 3.050 \times 10^7$ ($t = -9.681, P < 0.001$) phontos/s/cm²。见 Table 3, Figure 3。

2.2.4 Cy7 组与 Cy7-HVGGSSV 组左后肢荧光信号比较

Cy7 组左后肢肿瘤荧光信号在各观察点均较 Cy7-HVGGSSV 组弱,在各观察点分别降低 $1.287 \times 10^8 \pm 2.702 \times 10^7$ ($t = -8.767, P < 0.001$) phontos/s/cm²、 $5.690 \times 10^7 \pm 7.511 \times$



10^7 phontos/s/cm² ($t=-1.627, P=0.142$)、 $1.612 \times 10^8 \pm 2.619 \times 10^7$ phontos/s/cm² ($t=-7.916, P<0.001$)、 $4.260 \times 10^7 \pm 2.398 \times 10^7$ phontos/s/cm² ($t=-3.966, P=0.004$)、 $6.913 \times 10^7 \pm 1.130 \times 10^7$ ($t=-12.35, P<0.001$)phontos/s/cm²。见 Table 4。

Table 1 Comparison of fluorescence signals in Cy7-HVGGSSV group

Time(h)	Left hind limb tumor region (phontos/s/cm ²)	Right hind limb tumor region (phontos/s/cm ²)	Difference value (phontos/s/cm ²)	<i>t</i>	<i>P</i>
1	$2.458 \times 10^8 \pm 1.152 \times 10^7$	$3.102 \times 10^8 \pm 1.121 \times 10^7$	$6.440 \times 10^7 \pm 1.804 \times 10^7$	-8.958	<0.001
6	$2.838 \times 10^8 \pm 1.051 \times 10^7$	$3.642 \times 10^8 \pm 1.753 \times 10^7$	$8.044 \times 10^7 \pm 1.001 \times 10^7$	-8.802	<0.001
12	$2.388 \times 10^8 \pm 2.618 \times 10^7$	$6.268 \times 10^8 \pm 5.576 \times 10^7$	$3.879 \times 10^8 \pm 6.260 \times 10^7$	-14.082	<0.001
24	$8.778 \times 10^7 \pm 9.706 \times 10^6$	$6.610 \times 10^8 \pm 5.168 \times 10^7$	$5.732 \times 10^8 \pm 4.763 \times 10^7$	-24.375	<0.001
48	$6.998 \times 10^7 \pm 1.251 \times 10^6$	$1.483 \times 10^8 \pm 3.404 \times 10^7$	$7.836 \times 10^7 \pm 3.500 \times 10^7$	-4.831	0.001

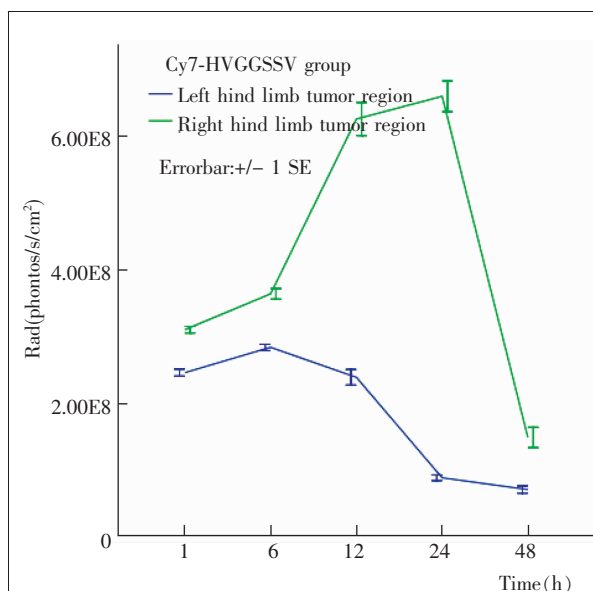


Figure 2 Differences in fluorescence signals in Cy7-HVGGSSV group

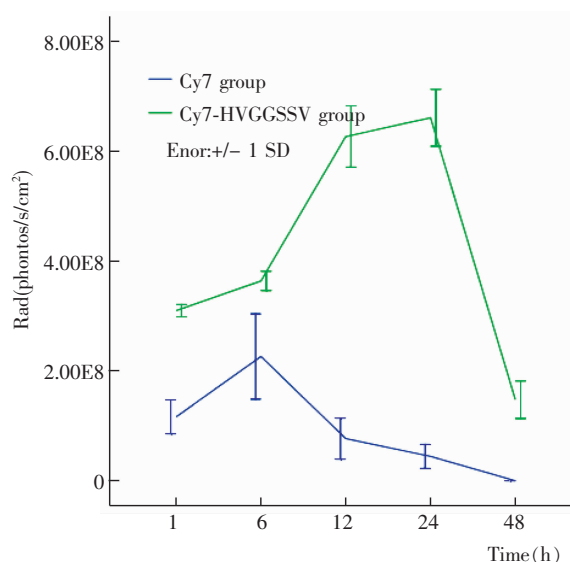


Figure 3 Differences in fluorescence signals of right hind limb tumors between Cy7-HVGGSSV group and Cy7 group

Table 2 Comparison of fluorescence signals in Cy7 group

Time(h)	Left hind limb tumor region (phontos/s/cm ²)	Right hind limb tumor region (phontos/s/cm ²)	Difference value (phontos/s/cm ²)	<i>t</i>	<i>P</i>
1	$1.170 \times 10^8 \pm 3.075 \times 10^7$	$1.183 \times 10^8 \pm 3.540 \times 10^7$	$1.280 \times 10^6 \pm 5.53 \times 10^7$	-0.061	0.953
6	$2.268 \times 10^8 \pm 7.749 \times 10^7$	$2.340 \times 10^8 \pm 7.148 \times 10^7$	$7.200 \times 10^6 \pm 8.726 \times 10^7$	-0.153	0.882
12	$7.754 \times 10^7 \pm 3.728 \times 10^7$	$7.814 \times 10^7 \pm 3.918 \times 10^7$	$6.000 \times 10^5 \pm 2.332 \times 10^5$	-0.025	0.981
24	$4.518 \times 10^7 \pm 2.197 \times 10^7$	$4.604 \times 10^7 \pm 2.215 \times 10^7$	$8.600 \times 10^5 \pm 2.357 \times 10^5$	-0.062	0.952
48	$8.499 \times 10^5 \pm 1.636 \times 10^5$	$9.633 \times 10^5 \pm 2.585 \times 10^5$	$1.134 \times 10^5 \pm 1.402 \times 10^5$	-0.829	0.431

Table 3 Comparison of fluorescence signals of right hind limb tumors between Cy7 group and Cy7-HVGGSSV group

Time(h)	Cy7 group (phontos/s/cm ²)	Cy7-HVGGSSV group (phontos/s/cm ²)	Difference value (phontos/s/cm ²)	<i>t</i>	<i>p</i>
1	$1.183 \times 10^8 \pm 3.540 \times 10^7$	$3.102 \times 10^8 \pm 1.121 \times 10^7$	$1.918 \times 10^8 \pm 3.011 \times 10^7$	-11.554	<0.001
6	$2.340 \times 10^8 \pm 7.148 \times 10^7$	$3.642 \times 10^8 \pm 1.753 \times 10^7$	$1.301 \times 10^8 \pm 7.884 \times 10^7$	-3.954	0.004
12	$7.814 \times 10^7 \pm 3.918 \times 10^7$	$6.268 \times 10^8 \pm 5.576 \times 10^7$	$5.486 \times 10^8 \pm 7.242 \times 10^7$	-18.001	<0.001
24	$4.604 \times 10^7 \pm 2.215 \times 10^7$	$6.610 \times 10^8 \pm 5.160 \times 10^7$	$6.149 \times 10^8 \pm 5.399 \times 10^7$	-24.454	<0.001
48	$9.633 \times 10^5 \pm 2.585 \times 10^5$	$1.483 \times 10^8 \pm 3.404 \times 10^7$	$1.473 \times 10^8 \pm 3.050 \times 10^7$	-9.681	<0.001

Table 4 Comparison of fluorescence signals of left hind limb tumors between Cy7 group and Cy7-HVGGSSV group

Time(h)	Cy7 group (phontos/s/cm ²)	Cy7-HVGGSSV group (phontos/s/cm ²)	Difference value (phontos/s/cm ²)	t	P
1	1.170×10 ⁸ ±3.075×10 ⁷	2.458×10 ⁸ ±1.152×10 ⁷	1.287×10 ⁸ ±2.702×10 ⁷	-8.767	<0.001
6	2.268×10 ⁸ ±7.749×10 ⁷	2.838×10 ⁸ ±1.050×10 ⁷	5.690×10 ⁷ ±7.511×10 ⁷	-1.627	0.142
12	7.754×10 ⁷ ±3.728×10 ⁷	2.388×10 ⁸ ±2.618×10 ⁷	1.612×10 ⁸ ±2.619×10 ⁷	-7.916	<0.001
24	4.518×10 ⁷ ±2.197×10 ⁷	8.778×10 ⁷ ±9.706×10 ⁶	4.260×10 ⁷ ±2.398×10 ⁷	-3.966	0.004
48	8.499×10 ⁵ ±1.636×10 ⁵	6.998×10 ⁷ ±1.251×10 ⁶	6.913×10 ⁷ ±1.131×10 ⁷	-12.350	<0.001

3 讨论

本研究利用动物活体成像系统观察、分析 HVGGSSV 在胰腺癌移植瘤模型中的分布情况。比较实验组负瘤裸鼠双后肢肿瘤区域荧光强度,发现荧光重组肽在接受放射处理的右后肢肿瘤部位聚集,而未接受放射线照射的左后肢肿瘤分布较少。本研究初步结果表明,重组肽 HVGGSSV 能够特异性识别受放射线照射的肿瘤组织,为后续靶向药物研究提供新的实验依据。

虽然多肽作为肿瘤靶向治疗载体具有诸多的优势,但由于肿瘤异质性特点,而且肿瘤细胞表面分子不稳定,易伴随微环境而改变^[9,10],多肽的特异性在后期治疗中逐渐失去优势。寻找一种稳定的载体成为肿瘤靶向治疗的研究热点之一^[11]。Sugahara 等^[12]总结发现目前只有少数的多肽能高度特异性结合肿瘤细胞表面,可供靶向治疗作为载体。Gill 等^[13]以二硬脂酰磷脂酰乙醇胺(PEG5000-DSPE)为紫杉醇的靶向载体,他们的研究发现 PEG5000-DSPE 能够维持紫杉醇微粒在肺内的最大浓度,时间最长,靶向组 ACU 0~12 (药物在人体中被吸收利用的程度)是对照组药物浓度 3 倍,而药物副作用却未相应增加。Han 等^[4]利用噬菌体展示技术筛选出能特异靶向结合接受放射线处理或络氨酸激酶抑制剂处理的肺癌细胞的多肽 HVGGSSV,Lowery 等^[7]利用并成功的以 HVGGSSV 作为载体,靶向运输到肿瘤部位,减少非靶器官的药物分布。Wang 等^[9]研究进一步发现接受放射的肿瘤细胞及其血管表面的 PDZ-TIP-1 蛋白表达增加,TIP 配体通过 PDZ 蛋白同 HVGGSSV 特异性结合,Passarella 等^[6]发现通过放射或苏菲替尼能够使肿瘤细胞表面 PDZ-TIP-1 蛋白表达增加,抗 TIP 抗体通过抑制 TIP 蛋白表达,从而减少 HVGGSSV 蓄积在放射处理后的肿瘤区域。因此,放射处理可以上调肿瘤细胞表面 PDZ-TIP-1 表达,重组肽

HVGGSSV 可以考虑作为肿瘤靶向治疗的载体。我们的研究在 Lowery 的实验基础上,人工合成了 HVGGSSV,序列为 CGGGKKKGNGHVGGSSV,该多肽主要是通过两个半胱氨酸的二硫键交联而成,靠环形内的多肽与目标蛋白靶向性结合的。前期我们成功的在肝癌放疗模型中进行了该多肽特异性研究,初步发现其可能为放射引导的药物提供靶向运输载体^[14]。本研究利用类似方法在胰腺癌模型中进一步验证 HVGGSSV 能够特异性结合放射损伤肿瘤的生物特点。

本研究中实验组左后肢肿瘤区域较右后肢肿瘤荧光信号低,荧光衰减更快、更明显,提示该多肽在胰腺癌模型中,可靶向聚集于放射损伤肿瘤部位,在 48h 观察点 Cy7-HVGGSSV 组及 Cy7 组小鼠全身未见荧光信号,考虑可能因素:荧光多肽或游离 Cy-7 的荧光集团在实验小鼠体内被代谢,荧光染料分布小鼠体内,造成背景噪音较高,小动物活体成像系统无法有效显示肿瘤区域的荧光图。而 Lowery 利用 HVGGSSV 作为紫杉醇-脂质体靶向载体,在给药后 72h 放射损伤的肿瘤区域仍具有荧光分布,可能脂质体具有延缓微粒代谢的作用^[7]。因此有必要进一步观察荧光多肽及游离荧光在小鼠体内脏器的分布及代谢情况。

本实验发现,同样未接受放射处理的 Cy7-HVGGSSV 组及 Cy7 组左后肢肿瘤区域,Cy7-HVGGSSV 组荧光信号仍较 Cy7 组高,可能原因是肿瘤细胞表面 PDZ-TIP-1 蛋白基础表达,实验组因游离荧光携带 HVGGSSV 基因,同 PDZ-TIP-1 蛋白特异性结合,能够少量蓄积在未接受放射处理的左后肢肿瘤区域。

综上所述,本研究发现重组肽 HVGGSSV 可特异性结合放射损伤的胰腺癌移植瘤,且具有体内代谢快等特性,可能为胰腺癌药物靶向治疗提供新思路。

参考文献:

- [1] Alexander-Bryant AA, Vanden BW, Wen X. Bioengineering strategies for designing targeted cancer therapies [J]. Adv Cancer Res, 2013, 118: 1-59.
- [2] Bhise NS, Shmueli RB, Sunshine JC, et al. Drug delivery strategies for therapeutic angiogenesis and antiangiogenesis [J]. Expert Opin Drug Deliv, 2011, 8(4): 485-504.
- [3] Upadhyay RK. Drug delivery systems, CNS protection, and the blood brain barrier [J]. Biomed Res Int, 2014, 2014: 869269.
- [4] Han Z, Fu A, Wang H, et al. Noninvasive assessment of cancer response to therapy [J]. Nat Med, 2008, 14(3): 343-349.
- [5] Park JH, Cho HJ, Yoon HY, et al. Hyaluronic acid derivative-coated nanohybrid liposomes for cancer imaging and drug delivery [J]. J Control Release, 2014, 174: 98-108.
- [6] Passarella R J, Zhou L, Phillips J G, et al. Recombinant peptides as biomarkers for tumor response to molecular targeted therapy [J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(20): 6421-6429.
- [7] Lowery A, Onishko H, Hallahan DE, et al. Tumor-targeted delivery of liposome-encapsulated doxorubicin by use of a peptide that selectively binds to irradiated tumors [J]. J Control Release, 2011, 150(1): 117-124.
- [8] Wang H, Yan H, Fu A, et al. TIP-1 translocation onto the cell plasma membrane is a molecular biomarker of tumor response to ionizing radiation [J]. PLoS One, 2010, 5(8): e12051.
- [9] Wang F, Zhou XL, Yang QG, et al. A peptide that binds specifically to the beta-amyloid of Alzheimer's disease: selection and assessment of anti-beta-amyloid neurotoxic effects [J]. PLoS One, 2011, 6(11): e27649.
- [10] Noberini R, Mitra S, Salvucci O, et al. PEGylation potentiates the effectiveness of an antagonistic peptide that targets the EphB4 receptor with nanomolar affinity [J]. PLoS One, 2011, 6(12): e28611.
- [11] Lu X, Wang RF. Technetium-99m-Arg-Arg-Leu(g2): A modified peptide probe targeted to neovascularization in molecular tumor imaging [J]. Journal of Chinese Oncology, 2013(12): 925-929. [卢霞, 王荣福. 肿瘤血管靶向分子探针多肽 RRL(g2)的作用研究 [J]. 肿瘤学杂志, 2013(12): 925-929.]
- [12] Sugahara KN, Teesalu T, Karmali PP, et al. Tissue-penetrating delivery of compounds and nanoparticles into tumors [J]. Cancer Cell, 2009, 16(6): 510-520.
- [13] Gill KK, Nazzal S, Kaddoumi A. Paclitaxel loaded PEG (5000)-DSPE micelles as pulmonary delivery platform: formulation characterization, tissue distribution, plasma pharmacokinetics, and toxicological evaluation [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2011, 79(2): 276-284.
- [14] Wu JX, He JY, Le YY. Application of radiation-guided peptide delivery on radiotherapy and chemotherapy model of hepatic carcinoma [J]. Chinese Journal of Liver Diseases (Electronic Version), 2015(4): 54-58. [吴君心, 贺俊彦, 乐雨银, 等. 放射引导的多肽特异性传输在肝癌放疗化疗模型中的应用 [J]. 中国肝脏病杂志(电子版), 2015(4): 54-58.]

《肿瘤学杂志》关于“在线优先出版”的通告

为了加快学术论文传播速度,缩短出版周期,使作者研究成果的首发权及时得到确认,《肿瘤学杂志》自2016年实行“在线优先出版”,经同行评议通过采用的稿件,经编辑部加工处理后在中国知网(CNKI)实行电子版在线优先出版。具体如下:

(1)在线投稿接收之后,编辑部核实文稿的题目、作者、单位等版权信息,作者提供相关信息,供在线出版使用。此信息为文稿最终确认的出版信息,此后作者不再予以更改。

(2)在线出版的PDF全文是经作者最终校对的修改定稿。待编辑部完成整个校对流程后替换为正式出版稿,同时给出完整的发表年份、卷、期、起止页码和唯一的文献识别DOI号码。

(3)在线出版的文献是《肿瘤学杂志》印刷版本的在线优先网络版,完全满足国内外学术交流的在线检索和引用。

《肿瘤学杂志》编辑部