



doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.01.009
http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.1005-6947.2015.01.009
Chinese Journal of General Surgery, 2015, 24(1):45-51.

· 基础研究 ·

载 VEGF siRNA 环五肽 RGD 偶联纳米金颗粒的基本特性及在射频消融中的应用

熊青, 邹孟达, 邓青松, 李晓武, 马宽生, 别平

(第三军医大学附属西南医院 肝胆外科, 重庆 400038)

摘要

目的: 探讨 VEGF siRNA 环五肽 RGD 偶联纳米金颗粒 (GNP) 复合物 (GNP-TyrRGD-VEGFsiRNA) 的基本特性, 以及对肝脏射频消融 (RFA) 毁损效应的影响。

方法: 利用化学和静电吸附的方法合成 GNP-TyrRGD-VEGFsiRNA; 电镜观察复合物的离散性; 凝胶电泳检测复合物中 VEGF siRNA 的稳定性; 采用 CCK-8 法检测复合物对正常肝细胞的细胞毒性; 电镜检测复合物与正常肝细胞、肝癌细胞共孵育后的结合能力; 在离体猪肝上检测复合物对 RFA 毁损效果的影响。

结果: 复合物较单纯 GNP 有更好的离散性; 复合物所含 VEGF siRNA 量基本等于最初 VEGF siRNA 加入量; 复合物与单纯 GNP 在 30% 的浓度以下均对正常肝细胞几乎无毒性; 复合物对肝癌细胞的结合力明显高于正常肝细胞 ($P < 0.05$), 而单纯 GNP 对两种细胞的结合力无明显差异 ($P > 0.05$); 经射频针注入复合物的射频毁损直径明显大于注入生理盐水的对照组 [(2.19 ± 0.24) cm vs. (1.71 ± 0.14) cm, $P < 0.05$)。

结论: GNP-TyrRGD-VEGFsiRNA 复合物集靶向浓集与靶向治疗于一体, 且可能有助于增强肝癌 RFA 的疗效。

关键词

肝肿瘤; 纳米复合物; 药物载体; 导管消融术
中图分类号: R735.7

General properties and application of VEGF siRNA-loaded RGD-conjugated gold nanoparticles in radiofrequency ablation

XIONG Qing, ZOU Mengda, DENG Qingsong, LI Xiaowu, MA Kuansheng, BIE Ping

(Department of Hepatobiliary Surgery, the Affiliated Southwest Hospital, the Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract

Objective: To investigate the general properties of the complexes of VEGF siRNA-loaded RGD-conjugated gold nanoparticles (GNPs) (GNPs-TyrRGD-VEGFsiRNA) and their impact on necrotic effect of radiofrequency ablation (RFA) in the liver.

Methods: GNPs-TyrRGD-VEGFsiRNA complexes were synthesized by chemical and electrostatic adsorption methods and the discreteness of the complexes was examined by electron microscope. The stability of the VEGF siRNA in the complexes was tested by gel electrophoresis, the cytotoxicity of complexes to normal hepatic cells

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81272688)。

收稿日期: 2014-11-04; 修订日期: 2014-12-24。

作者简介: 熊青, 第三军医大学附属西南医院住院医师, 主要从事肝癌射频消融术机理方面的研究。

通信作者: 马宽生, Email: makuansheng@vip.sina.com

was determined by CCK-8 assay, the binding capacities of the complexes to normal hepatic cells and liver cancer cells after co-incubation were analyzed by using electron microscopy, and the impact of the complexes on the necrotic effect of RFA were observed in the in-vitro pig liver.

Results: The complexes showed a higher discreteness than the naked GNPs and the content of VEGF siRNA in the complexes was approximately equal to the initially loaded content. Both the complexes and naked GNPs exhibited almost no cytotoxicity to the normal hepatic cells at a concentration below 30% and the binding ability of the complexes to the liver cancer cells was significantly greater than that to the normal hepatic cells ($P<0.05$), but the naked GNPs showed no difference between binding ability to the two types of cells ($P>0.05$). The lesion diameter induced by RFA with the complexes injected through radiofrequency needle was significantly larger than that in control group with saline injection [(2.19±0.24) cm vs. (1.71±0.14) cm, $P<0.05$].

Conclusion: GNPs-TryRGD-VEGFsiRNA complexes can integrate targeted concentration and targeted therapy as a whole, and may also be helpful for enhancing the efficacy of liver cancer RFA treatment.

Key words

Liver Neoplasms; Nanocomposites; Drug Carriers; Catheter Ablation

CLC number: R735.7

肝癌（包括原发性和继发性）是我国的常见病^[1]。射频消融（radiofrequency ablation, RFA）是常用的肝癌微创治疗方法^[2]。一次性毁损体积有限而造成较大肿瘤治疗后病灶毁损不全（以下简称残癌）是RFA的主要技术缺陷^[3]。临床研究证明小肝癌（直径≤3 cm）RFA与手术切除相比5年生存率无显著差异，但无瘤生存率较低^[4-5]。直径5 cm左右的肝癌RFA后残癌发生率可达30%~50%^[6]。因此，如何扩大RFA一次性毁损体积、抑制残癌生长已成为改善RFA疗效的关键。

$\alpha v \beta 3$ 是细胞表面受体家族-整合素中重要的一员。肿瘤细胞和肿瘤内新生血管内皮细胞特异高表达 $\alpha v \beta 3$ ，而正常组织血管几乎不存在 $\alpha v \beta 3$ ^[7]。RGD肽是存在于纤连蛋白和某些细胞外基质蛋白肽链中的“精氨酸（R）-甘氨酸（G）-天冬氨酸（D）”三肽序列，是 $\alpha v \beta 3$ 与配体结合的位点。环五肽RGD[cyclo-（Arg-Gly-Asp-D-Tyr-Lys），TyrRGD]是在保留RGD特性的基础上增加Tyr-Lys两个氨基酸并形成的环状五肽，该环肽可以更容易、更牢固的与活化的血管内皮细胞和肿瘤细胞膜上 $\alpha v \beta 3$ 特异结合，与血小板整合素以及普遍存在的细胞受体无交叉反应^[8]。TyrRGD成了各种载体或造影剂实现靶向定位肿瘤细胞及血管并达到诊疗目的的重要分子工具^[9]。

血管内皮生长因子（VEGF）及其受体在肝癌中高表达，并在肝癌新生血管形成、癌细胞浸润转移过程起重要作用，靶向肿瘤新生血管治疗为目前研究热点^[10-11]。小干扰RNA（siRNA）能结

合并降解与之有同源系列的mRNA，使该基因沉默而抑制其表达。最新研究发现siRNA在40~60℃左右的环境下仍然稳定，且具有温度敏感性^[12]；而这正是在肝癌射频消融过渡区的温度范围，理论上VEGF siRNA在此区域更易发挥作用。此外，研究发现VEGF siRNA在体内能抑制肝癌生长和血管新生。

RFA的基本原理是利用病灶内的离子在交变的射频电场中快速往返移动，摩擦产热，形成高温，使肿瘤细胞发生凝固性坏死^[13]。研究发现增强癌灶内离子浓度、减少癌灶内血供可明显提高RFA的损伤效应，目前的主要方法有高渗盐水的应用、联合肝动脉、门静脉化疗栓塞、醋酸或酒精注射等^[14]。纳米金颗粒（gold nanoparticles, GNP）主要是指利用化学和物理技术合成的直径在1~200 nm之间的金微小颗粒。本研究选择GNP既作为增加癌灶内离子浓度的材料，又作为载体携带VEGF siRNA，利用靶向分子环五肽RGD修饰GNP，靶向携带有VEGF siRNA基因的复合物达肿瘤部位。既可显著提高RFA时癌灶内离子浓度，导热性能良好；又可损伤肿瘤病灶血管内皮细胞从而影响血流，减少较大病灶行RFA时的残留；也可抑制残癌细胞增殖和血管新生，从而明显增强RFA的损伤效应，提高RFA疗效。

本文探索了化学合成载VEGF siRNA环五肽RGD偶联GNP复合物，并研究复合物对肝癌细胞的生物学特性的影响，初步探讨该复合物在肝癌射频消融中的作用。

1 材料与方 法

1.1 主要材料与试剂

GNP, 3, 4-二羟苯基丙酸 (3, 4-dihydroxyhydrocinnamic acid, DHCA), 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐[1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride, EDC], 乙氧基化的聚乙烯亚胺 (polyethylenimine, PEI) 均购买于Sigma-Aldrich公司 (美国), 甲氧基聚乙二醇巯基 (Thiolated methoxy-poly(ethylene glycol), mPEG-SH) 购买于Seebio公司 (中国上海), 细胞计数试剂盒 (cell counting kit-8, CCK-8) 购于Beyotime公司 (中国江苏)。RGD 购买于上海楚肽生物公司 (中国上海)。VEGF siRNA序列为5'-AAU UCU CCG AAC GUG UCA CGU-3' (基因序列), 5'-ACG UGA CAC GUU CGG AGA AUU-3' (反义基因序列)。其他试剂均为分析纯, 由西南医院肝胆外科实验室提供。

1.2 实验方法

1.2.1 载 VEGF siRNA 环五肽 RGD 偶联 GNP 复合物的合成 合成方法参考 Lee 等^[15]。将 3.0 g 的 DHCA, 2.71 g 的 EDC 和 3 g 的 PEI 分别溶解在 10 mL、10 mL 和 100 mL 的 pH 值为 5.0 的 PBS 溶液中。将 DHCA 溶液加入到 PEI 溶液中, 混匀, 静置 1 h, 然后将 EDC 加入到混合液中, 混匀, 用 HCl 溶液将混合液 pH 调整到 5.0, 常温放置 4 h, 将反应后的混合液先后置于 pH 5.0 的 HCl 溶液和去离子水中透析 48 h 和 1 h, -40 °C 冻干, 得到儿茶酚共轭 PEI (PEI-C)。取 0.2 mL 的 PEI-C 溶液 (5 mg/mL) 加入到 2 mL 的 1 mM 水合四氯金酸溶液 (hydrogen tetrachloroaurate solution) 在沸腾状态下快速搅拌 5 min, 常温下冷却, 加入 2 mL 的 mPEG-SH 溶液 (0.001 mM)。透析混合液 (MWCO: 50 kDa), 得到 PEI-C-GNP。环五肽 RGD (TyrRGD) 与 N-羟基琥珀酰亚胺-乙烯基砜 (PEG) 在无水 N, N-二甲基亚砜中通过三乙基胺偶联, 得到 TyrRGD-PEG, TyrRGD-PEG 加入线性 PEI (BPEI) 溶液在 pH 9.0 的碳酸钠缓冲液 (sodium carbonate buffer) 中互相轭合, 在常温下孵育过夜, 透析纯化并冷冻干燥后得到 PEI-G-PEG-TyrRGD。参考文献按照 N/P (nitrogen of PEI-G-PEG-RGD/phosphate of siRNA) 比为 10 的混匀, 复合物的性质最稳定, 具体为取 7 ng 的 VEGF siRNA 加入到 11.5 ng 的 PEI-G-PEG-

TyrRGD 中, 在 5% 的葡萄糖溶液中, 常温环境孵育 30 min, 得到 PEI-G-PEG-TyrRGD/VEGFsiRNA 复合物 (N/P=10)。将 PEI-C-GNP 溶液与 PEI-G-PEG-TyrRGD/VEGFsiRNA 溶液混匀, 常温下放置 4 h, 将反应后的混合液先后置于 pH 5.0 的 HCl 溶液和去离子水中透析 48 h 和 1 h, -40 °C 冻干, 得到 GNP-C-PEI-G-PEG-TyrRGD/VEGFsiRNA 复合物 (简称为 GNP-TyrRGD-VEGFsiRNA)。

1.2.2 VEGF siRNA 在复合物中稳定性检测 取 5 g GNP-TyrRGD-VEGFsiRNA 样本溶解在 1 mL 不含 RNA 酶的水中, 取 1 μ L VEGF siRNA 原液稀释在 1.34 mL 不含 RNA 酶的水中 (作为对照), 调整样品浓度和 VEGF siRNA 原液稀释后浓度是根据两者 RNA 的浓度检测值来进行, 确保两者溶液中含有相同浓度的 RNA。将它们在 100 V 通过凝胶电泳 (3% 琼脂糖), 30 min 后在紫外线下显影, 条带采用 Gel-Doc system (BioRad, Hercules, CA) 分析。RNase-free water (泳道 1), VEGFsiRNA (泳道 2), GNP-TyrRGD-VEGFsiRNA (泳道 3)。

1.2.3 细胞毒性评估 L02 细胞以 1×10^4 /孔的密度种植到 96 孔板中, 37 °C 环境中放置 24 h。然后将含有预定重量比的 GNP-TyrRGD-VEGFsiRNA 复合物的 DMEM 培养基 (10%FBS, 1% 青霉素-链霉素) 加入到 96 孔板中, 孵育 4 h, 换用新鲜的培养基培养 2 d。细胞存活率由 CCK-8 法检测细胞内线粒体脱氢酶活性, 简言之, 取 10 μ L 的 CCK-8 试剂加入到 100 μ L 的 DMEM 培养基中, 混匀后依次加入到 96 孔板中, 在 37 °C 将细胞孵育 1 h, 然后在吸光度为 450 nm 处使用 Bio-Rad 酶标仪进行检测。

1.2.4 GNP-TyrRGD-VEGFsiRNA 复合物与肝癌细胞、肝细胞共培养 HEPG2 和 L02 细胞株购于中国科学院细胞库 (中国上海)。取 1×10^6 个/mL 的 HEPG2 和 L02 细胞以 0.4 mL/孔接种到 6 孔板里 (HEG2 和 L02 细胞株各占 3 个孔), 分两组。将 GNP-TyrRGD-VEGFsiRNA 复合物和 GNP 按一定量分别加入到 HEPG2 和 L02 细胞中, 37 °C, 5%CO₂ 培养箱培养。12 h 后胰酶消化, PBS 清洗, 装入 1.5 mL EP 管中, 以 4 800 r/min 的速度离心细胞成团, 加戊二醛固定细胞后冷冻、切片、电镜下观察。

1.2.5 射频消融 新鲜离体猪肝取自于小型猪 (由肝胆外科动物实验中心提供), 6 个新鲜离体猪肝修剪成适当大小后置于电极板上, 每组 3 个, 将单

极注水型电极垂直插入猪肝内约 2.5 cm, 以 45 W 开始射频消融, 每分钟功率提高 10 W, 直至阻抗自动上升, 功率自动下降为止。在射频消融过程中, 从针尖的另一端以 1 mL/min 的速度向射频灶内注射 GNP-TyrRGD-VEGFsiRNA, 以同种方法注射生理盐水作为对照。操作完成后大致沿着射频针方向切开肝脏, 以白色变性区域为射频消融热毁损区, 测出热毁损区长轴和纵轴。

1.3 统计学处理

采用 IBM SPSS 21 软件进行数据统计学分析, 数据以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$), $P < 0.05$ 为差异统计学意义。

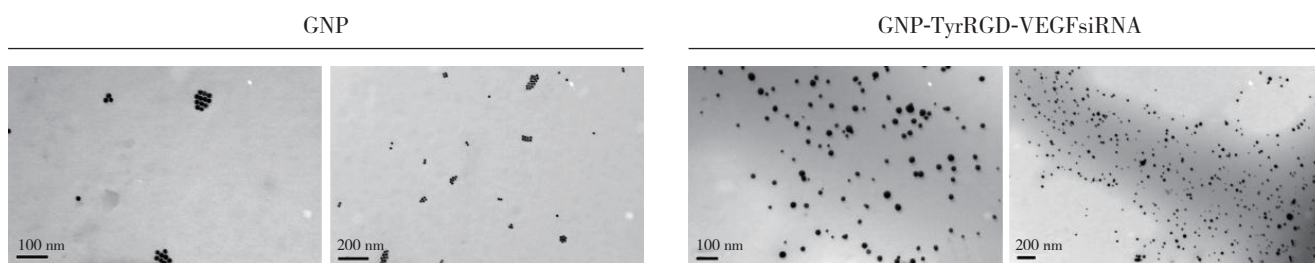


图1 GNP 和 GNP-TyrRGD-VEGFsiRNA 复合物电镜下所见

Figure 1 Electron microscopic views of GNPs and GNPs-TyrRGD-VEGFsiRNA

2.2 VEGF siRNA 在复合物中的稳定性

复合物凝胶电泳结果可以看出, GNP-TyrRGD-VEGFsiRNA 复合物所含 VEGF siRNA 量约等于最初 VEGF siRNA 加入量 (图2)。

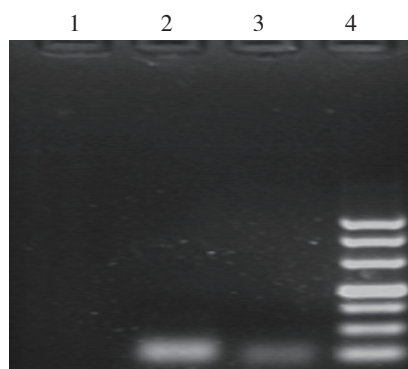


图2 凝胶电泳结果 1: 空白对照; 2: 等量 VEGF siRNA; 3: GNP-TyrRGD-VEGFsiRNA 复合物 (VEGF siRNA 游离处理); 4: 分子量标记

Figure 2 Results of gel electrophoresis 1: Blank control; 2: Equivalent VEGF siRNA; 3: GNP-TyrRGD-VEGFsiRNA (after VEGF siRNA dissociation); 4: Marker

2.3 GNP-TyrRGD-VEGFsiRNA 复合物细胞毒性

肝细胞在 GNP、GNP-TyrRGD-VEGFsiRNA

2 结果

2.1 GNP-TyrRGD-VEGFsiRNA 复合物与 GNP 离散性比较

电镜检测结果可以看出, GNP 在 100 nm 和 200 nm 视野中呈现出 3~12 个 GNP 颗粒聚集在一起成团状分布, 而 GNP-TyrRGD-VEGFsiRNA 复合物在 100 nm 和 200 nm 视野中几乎全部呈现出单个颗粒散在分布 (图1)。

环境中, 在 10% 浓度的样本中细胞存活率分别为 101.8% 和 100.4%, 在 30% 浓度的样本中细胞存活率分别为 99.1% 和 98.5%, 在 50% 浓度的样本中细胞存活率分别为 80.3% 和 73.1%, 在 70% 浓度的样本中细胞存活率分别为 57.4% 和 39.9%, 在 90% 浓度的样本中细胞存活率分别为 21.8% 和 14.2%, 细胞存活率在两组比较, 差异无统计学意义 ($P=0.063$) (图3)。

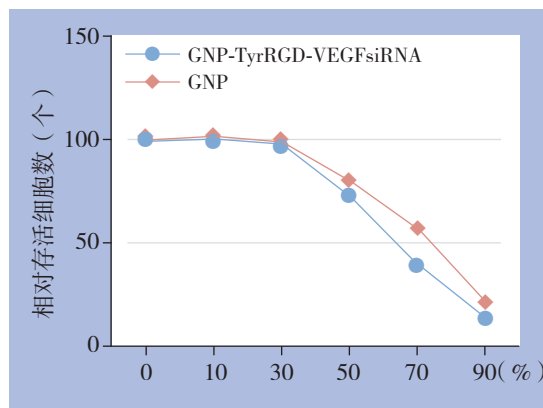


图3 GNP 和 GNP-TyrRGD-VEGFsiRNA 复合物对正常肝细胞的毒性检测

Figure 3 Detection of the toxicities of GNPs and GNPs-TyrRGD-VEGFsiRNA to normal hepatic cells

2.4 GNP-TyrRGD-VEGFsiRNA 复合物与肝癌细胞及正常肝细胞结合能力

GNP与正常肝细胞L02共培养,电镜下单个细胞所含GNP个数为(3.6±0.9)个;与肝癌细胞HEPG2共培养,电镜下单个细胞所含GNP个数为(3.9±0.5)个,两者差异无统计学意义

($P>0.05$)。GNP-TyrRGD-VEGFsiRNA复合物与正常肝细胞L02共培养,电镜下单个细胞所含复合物个数为(4.1±1.0)个;与肝癌细胞HEPG2共培养,电镜下单个细胞所含复合物个数为(29.2±4)个,两者差异有统计学意义($P<0.01$) (图4)。

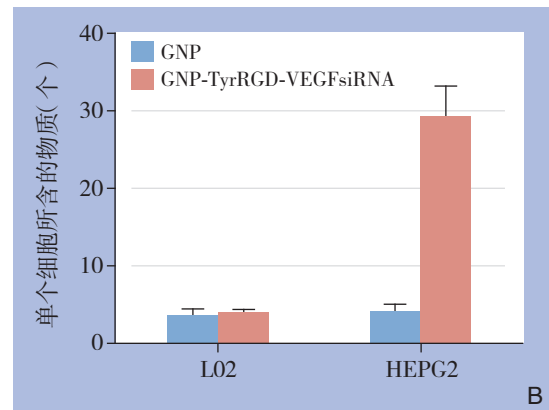
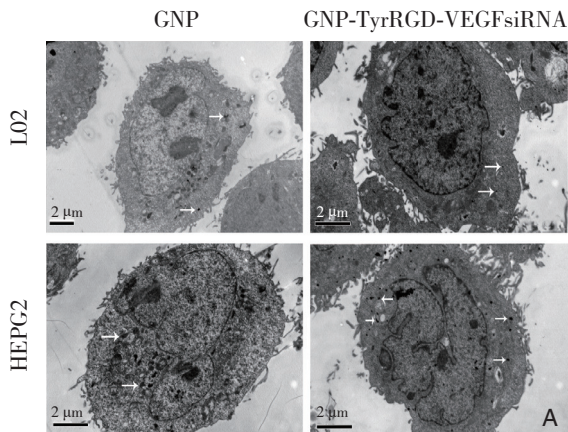


图4 GNP和GNP-TyrRGD-VEGFsiRNA复合物与正常肝细胞和肝癌细胞的结合力检测 A:电镜照片;B:GNP和GNP-TyrRGD-VEGFsiRNA复合物与两种细胞的结合力比较

Figure 4 Determination of binding abilities of GNPs and GNPs-TyrRGD-VEGFsiRNA to normal hepatic cells and liver cancer cells A: Electron microscopic images; B: Comparison of the binding abilities of GNPs and GNPs-TyrRGD-VEGFsiRNA to the two types of cells

2.5 GNP-TyrRGD-VEGFsiRNA对RFA毁损效应的影响

离体猪肝行RFA过程中,经射频针注水孔注入生理盐水和GNP-TyrRGD-VEGFsiRNA复合物,

5 min后,沿进针方向切开肝组织,生理盐水组毁损直径为(1.41±0.14)cm,复合物组毁损直径为(2.72±0.24)cm,生理盐水组和复合物组毁损直径有统计学差异($P=0.01$) (图5)。

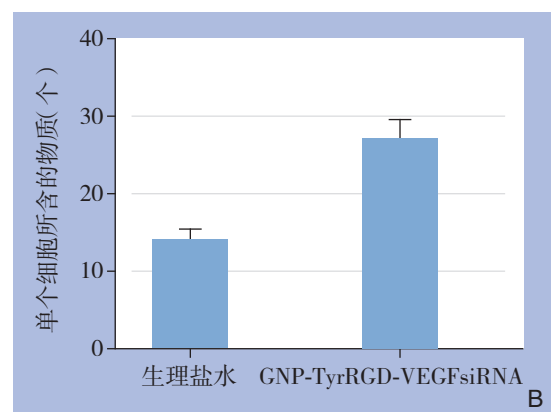
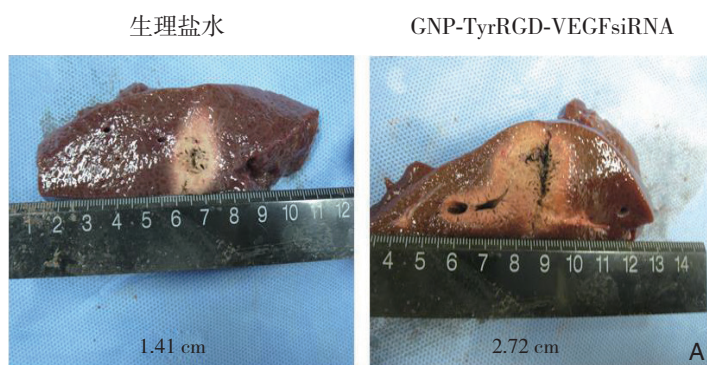


图5 GNP-TyrRGD-VEGFsiRNA对RFA毁损效应的影响 A:两组RFA后离体猪肝;B:两组毁损直径比较
Figure 5 Impact of GNPs-TyrRGD-VEGFsiRNA on the necrotic effect of RFA A: The two groups of pig liver after RFA in vitro; B: Comparison of the lesion diameters between the two groups

3 讨论

本研究发现,GNP-TyrRGD-VEGFsiRNA复合

物离散性比GNP好,复合物共轭的VEGFsiRNA稳定性较好,GNP和复合物对肝细胞毒性作用相近,两者在低于30%浓度时肝细胞几乎全部存活,高于

30%浓度时随着浓度的增加,肝细胞死亡率增加。很多文献报道GNP对细胞无毒性作用,本实验证明了GNP-TyrRGD-VEGFsiRNA和GNP对肝细胞影响作用相近,可以判断GNP-TyrRGD-VEGFsiRNA对肝细胞无毒性作用。高于30%浓度时随着浓度的增加,肝细胞死亡率增加的原因,可能是由于相应的培养基浓度低导致的。另外,复合物对肝癌细胞结合能力强于普通肝脏细胞,GNP-TyrRGD-VEGFsiRNA复合物还能增强肝癌RFA毁损直径。

一般来说,GNP经表面功能化修饰后与生物大分子结合,可以提高生物大分子传递效率,如GNP经PEG的功能化修饰后,促进了细胞对其摄取^[16],同时PEG还可对GNP起稳定剂作用,防止其聚集^[17]。Cheng等^[18]以琥珀酰亚胺-4-环己烷-1-碳酸酯(SMCC)作为偶联剂,用PEG功能化修饰GNP表面,再与抗肿瘤药物阿霉素(Dox)结合,形成轭合物Au-SMCC-Dox,其对HepG2细胞及多药耐药的HepG2-R细胞的细胞毒性均高于单纯Dox。另外,GNP作为一种带电荷的粒子,并有良好的导热性,在肝癌RFA过程中不但可增加局部离子浓度,达到增加射频毁损体积,而且还可以将温度较好的传导给周围组织,弥补了射频过程中肝癌局部变性坏死导致温度不容易传导的缺陷。

RGD肽能与血管内皮细胞上的整合素结合,与血小板整合素以及普遍存在的细胞受体无交叉反应^[19],同时还可以靶向标记定位肿瘤和靶向输送抗肿瘤药物,成为当今肿瘤靶向治疗的热点。高勇等^[20]用环五肽RGD(TyrRGD)修饰GNP载体聚乙二醇-聚乙烯亚胺(PEG-PEI),并研究其纳米特性、载药特性及体内外的肿瘤靶向特性。研究结果显示,合成的TyrRGD-PEG-PEI基因载体具有较好的纳米特性和高效的基因药物包封率,载有siRNA的TyrRGD-PEG-PEI纳米药物注射入小鼠体内24 h后,主要分布在肿瘤组织内,有可能成为核酸药物及其他抗肿瘤药物靶向治疗的一个非常有前景的纳米载体。Han等^[21]构建了一种RGD肽修饰的壳聚糖纳米粒(RGD-CH-NP),作为靶向多个生长促进基因(POSTN、FAK、PLXDC1)的siRNA输送载体,体外实验结果表明,载有siRNA的RGD-CH-NP(siRNA/RGD-CH-NP)可显著增强卵巢癌细胞内的siRNA转染效果,荷瘤小鼠的体内实验也显示,siRNA/RGD-CH-NP可显著抑制肿瘤细胞的生长。Zhao等^[22]构建了RGD肽修饰的阳离子脂质体(RGD-Lipo)作为靶向耐药相

关基因MDRI的siRNA输送载体。体外研究显示,RGD-Lipo-siRNA与Lipo-siRNA相比,能显著增强细胞黏附及细胞内siRNA的转染效果,并且可以逆转SKOV3细胞对阿霉素的耐药性。本研究构建GNP-TyrRGD-VEGFsiRNA复合物,利用RGD的上述生物学特性,将GNP和VEGFsiRNA靶向肝癌区域,既可以增加肝癌RFA毁损效果,又可以抑制肿瘤细胞的生长。但是,RGD肽在肿瘤靶向GNP-VEGFsiRNA系统中的研究还不够成熟,和临床应用还有一定距离。随着RGD肽衍生物的大量出现以及筛选技术的不断发展,相信可以得到与整合素亲和力更高的RGD肽,从而进一步推进RGD肽在肿瘤靶向治疗中的应用。

志谢:本研究由国家自然科学基金“TyrRGD靶向的GNPs-VEGFsiRNA增强肝癌RFA损伤效应的实验研究(81272688)”支持;所有的工作由西南医院肝胆科中心实验室和第三军医大学支持。

参考文献

- [1] Marzouka GR, Badheka A, Rodriguez AP, et al. Hepatocellular carcinoma to the right ventricle[J]. Case Rep Cardiol, 2014, 2014: 192737. doi: 10.1155/2014/192737.
- [2] Minami Y, Nishida N, Kudo M. Therapeutic response assessment of RFA for HCC: contrast-enhanced US, CT and MRI[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(15):4160-4166.
- [3] N'Kontchou G, Mahamoudi A, Aout M, et al. Radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma: long-term results and prognostic factors in 235 Western patients with cirrhosis[J]. Hepatology, 2009, 50(5):1475-1483.
- [4] 许浩,王家胜,杨恒,等.射频消融对比手术切除治疗孤立性结肠癌肝转移肿瘤的Meta分析[J].中国普通外科杂志,2013,22(7):835-840.
- [5] 曾鹏,周乐杜,王栋,等.射频消融治疗小肝癌疗效及预后因素分析[J].中国普通外科杂志,2014,23(7):904-909.
- [6] Kudo M. Radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma: updated review in 2010[J]. Oncology, 2010, 78(Suppl 1):113-124.
- [7] Kanchanawong P, Shtengel G, Pasapera A M, et al. Nanoscale architecture of integrin-based cell adhesions[J]. Nature, 2010, 468(7323):580-584.
- [8] Montet X, Montet-Abou K, Reynolds F, et al. Nanoparticle imaging of integrins on tumor cells[J]. Neoplasia, 2006, 8(3):214-222.
- [9] Wang F, Chen L, Zhang R, et al. RGD peptide conjugated liposomal drug delivery system for enhance therapeutic efficacy in treating bone metastasis from prostate cancer[J]. J Control Release, 2014, 196:222-233.

- [10] Scartozzi M, Faloppi L, Svegliati Baroni G, et al. VEGF and VEGFR genotyping in the prediction of clinical outcome for HCC patients receiving sorafenib: the ALICE-1 study[J]. *Int J Cancer*, 2014, 135(5):1247-1256.
- [11] 韩慧珍, 邹庞, 郭宝良. 分子靶向治疗药物的研究进展[J]. *中国普通外科杂志*, 2010, 19 (12): 1342-1346.
- [12] Zhao X, Liu Y, Song J, et al. Cationic lipids percentage and processing temperature are critical in designing siRNA lipid nanoparticles[J]. *J Drug Target*, 2012, 20(3): 281-289.
- [13] Tuttle R, Nurkin SJ, Hochwald SN. Ablative therapy for esophageal dysplasia and early malignancy: focus on RFA[J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 642063. doi: 10.1155/2014/642063.
- [14] Prunoiu V, Cirimbei C, Marincas M, et al. Extending indication for radiofrequency ablation (RFA) in cancer surgery[J]. *Chirurgia (Bucur)*, 2011, 106(5):585-589.
- [15] Lee Y, Lee SH, Kim JS, et al. Controlled synthesis of PEI-coated gold nanoparticles using reductive catechol chemistry for siRNA delivery[J]. *J Control Release*, 2011, 155(1): 3-10.
- [16] Guduru R, Liang P, Runowicz C, et al. Magneto-electric nanoparticles to enable field-controlled high-specificity drug delivery to eradicate ovarian cancer cells[J]. *Sci Rep*, 2013, 3:2953. doi: 10.1038/srep02953.
- [17] Dixit V, Van den Bossche J, Sherman DM, et al. Synthesis and grafting of thioctic acid-PEG-folate conjugates onto Au nanoparticles for selective targeting of folate receptor-positive tumor cells[J]. *Bioconjug Chem*, 2006, 17(3):603-609.
- [18] Cheng J, Gu YJ, Cheng SH, et al. Surface functionalized gold nanoparticles for drug delivery[J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2013, 9(8): 1362-1369.
- [19] Montet X, Montet-Abou K, Reynolds F, et al. Nanoparticle imaging of integrins on tumor cells[J]. *Neoplasia*, 2006, 8(3):214-222.
- [20] 高勇, 何胜利, 钟高仁, 等. 血管内皮细胞靶向性Tyr-RGD-PEG-PEI纳米基因载体的合成及其生物特性的初步研究[J]. *药理学学报*, 2009, 44(09):1034-1039.
- [21] Han HD, Mangala LS, Lee JW, et al. Targeted gene silencing using RGD-labeled chitosan nanoparticles[J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(15):3910-3922.
- [22] Zhao H, Wang JC, Sun QS, et al. RGD-based strategies for improving antitumor activity of paclitaxel-loaded liposomes in nude mice xenografted with human ovarian cancer[J]. *J Drug Target*, 2009, 17(1):10-18.

(本文编辑 宋涛)

本文引用格式: 熊青, 邹孟达, 邓青松, 等. 载VEGF siRNA环五肽RGD偶联纳米金颗粒的基本特性及在射频消融中的应用[J]. *中国普通外科杂志*, 2015, 24(1):45-51. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.01.009

Cite this article as: XIONG Q, ZOU MD, DENG QS, et al. General properties and application of VEGF siRNA-loaded RGD-conjugated gold nanoparticles in radiofrequency ablation[J]. *Chin J Gen Surg*, 2015, 24(1):45-51. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.01.009

本刊 2015 年各期重点内容安排

本刊 2015 年各期重点内容安排如下, 欢迎赐稿。

- | | |
|----------------------------|---------------------------|
| 第 1 期 肝脏移植技术及肝脏外科 | 第 7 期 肝脏肿瘤基础与临床研究 |
| 第 2 期 胆道肿瘤及其外科治疗 | 第 8 期 胆道疾病及胆道外科 |
| 第 3 期 急性胰腺炎基础与临床研究 | 第 9 期 胰腺肿瘤及胰腺外科 |
| 第 4 期 胃肠道肿瘤及其转移癌的外科治疗 | 第 10 期 消化道肿瘤及胃肠外科疾病 |
| 第 5 期 乳腺、甲状腺肿瘤基础与临床研究 | 第 11 期 乳腺、甲状腺疾病外科治疗及内分泌外科 |
| 第 6 期 主动脉及外周血管疾病的腔内治疗与杂交治疗 | 第 12 期 血管外科及其他 |

中国普通外科杂志编辑部