

DOI:10.3724/SP.J.1008.2015.00888

非病毒类载体靶向治疗前列腺癌研究进展

姚 翀¹, 武 鑫^{1,2}, 张丽娟¹, 高 申^{1*}

1. 第二军医大学长海医院药学部, 上海 200433
2. 上海交通大学附属第一人民医院临床药学科, 上海 200080

[摘要] 在治疗前列腺癌的各种传统方法中, 普遍存在着杀伤癌细胞的同时对正常组织器官造成损伤的现象。近年来兴起的靶向治疗在一定程度上能很好地解决这一问题。但作为靶向治疗的载体, 病毒类载体存在免疫原性大、毒性大等缺点, 而非病毒类载体靶向治疗前列腺癌往往能克服这些缺点。本文综述了以阳离子聚合物、脂质体和壳聚糖聚合物为主的非病毒类载体包裹基因药物靶向治疗前列腺癌的研究进展。

[关键词] 前列腺肿瘤; 靶向治疗; 非病毒类载体; 基因药物

[中图分类号] R 737.25 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2015)08-0888-05

Non-viral vectors for targeted therapy of prostate cancer: recent advance

YAO Chong¹, WU Xin^{1,2}, ZHANG Li-juan¹, GAO Shen^{1*}

1. Department of Pharmacy, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China
2. Department of Pharmaceutics, The First People's Hospital of Shanghai, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200080, China

[Abstract] The current therapies for treating prostate cancer, in many cases, also cause damage to normal tissues and organs at the same time when killing cancer cells. The recent development of targeted therapy to some extent, may be a good solution to this problem. As vectors in targeted therapy, viral vectors have strong immunogenicity, toxicity and other disadvantages, and non-viral vectors for targeted therapy of prostate cancer may overcome these drawbacks. This review summarized the recent application of cationic polymers, liposomes and polymeric chitosan as non-viral vectors of gene drug for targeted therapy of prostate cancer.

[Key words] prostatic neoplasms; targeted therapy; non-viral vectors; gene drug

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2015, 36(8):888-892]

在美国, 前列腺癌较常见, 每年约有 23 万人被确诊为前列腺癌, 其中死亡人数约为 3.2 万^[1]。在我国, 前列腺癌的发病也呈逐渐上升的态势。目前前列腺癌的治疗方法有手术切除、放疗、雄激素阻断等^[2], 其中化疗药物治疗占据着主导地位, 但是其毒副作用大、在杀伤肿瘤细胞的同时对正常组织器官同样造成损害。针对这一问题, 靶向治疗逐渐成为研究的热点。在合适载体的递送下, 药物在特定的时间在人体特定的部位产生作用。靶向治疗的关键在于选择合适的载体, 目前的载体材料包括病毒类和非病毒类两类。病毒类载体材料主要用于靶向基因治疗, 利用其递送基因组进入其他细胞进行感染

的分子机制来影响有关前列腺癌的特异性基因, 从而达到治疗前列腺癌的目的。但是病毒类载体具有免疫原性、毒性大、不能携带大量基因、不易制备等缺点。因此, 具有低免疫原反应、低毒性、能携带大量基因的非病毒类载体成为目前研究的热点。本文综述了以阳离子聚合物、脂质体和壳聚糖聚合物为主的非病毒类载体包裹基因药物治疗前列腺癌的研究进展。

1 阳离子聚合物

1.1 PAMAM 作为树状高分子聚合物, PAMAM 在 1985 年由 Tomalia 等首次合成后在生物医药领

[收稿日期] 2015-04-14 **[接受日期]** 2015-05-19

[基金项目] 国家自然科学基金(81372762, 81302212), Supported by National Natural Science Foundation of China (81372762, 81302212).

[作者简介] 姚 翀, 硕士生. E-mail: smmuyc@163.com

* 通信作者 (Corresponding author). Tel: 021-31162697, E-mail: liullk@126.com

域引起了极大的关注。PAMAM 的四大特点使其具备了作为载体的条件: (1) 具有良好的生物相容性; (2) 毒性较低, 尤其是无遗传毒性以及在较低分子量时无显著细胞毒性; (3) 末端氨基带正电荷, 并且可以通过对其进行修饰从而增强载体的主动靶向性; (4) 具有特定的三维结构可以包裹大量药物。PAMAM 是球形呈树枝状的化合物, 以乙二胺为核, 以丙烯酸甲酯为原料, 经 Michael 加成, 可采用多种方法合成。

PAMAM 末端的氨基可以通过静电力与 DNA 结合, 从而形成一种可运载基因的阳离子多聚物。Chen 等^[3]的研究显示第 5 代 PAMAM 可以有效携带重组质粒靶向前列腺癌细胞。他们构建了重组质粒 pCMV-TK-Cx43 并使用第 5 代 PAMAM 转染 PC-3 细胞。他们将细胞分成 A 和 B 组 (含 G5-PAMAM-D/pCMV-TK-Cx43)、C 和 D 组 (含 G5-PAMAM-D/pCMV-TK)、E 组 (含 G5-PAMAM-D)、F 组 (含 pCMV-TK-Cx43)、G 组 (空白对照), 采用 PCR 和蛋白质印迹方法检测发现 A、B、C、D 组均表达 TK 基因, A、B 组表达 Cx43 基因, 而 E、G 组上述两个基因均不表达。细胞凋亡检测显示 A 组凋亡率 12.51%, F 组 1.57%, G 组 1.44%, A 组显著高于其他组 ($P < 0.01$)。由此可以看出使用第 5 代 PAMAM 作为载体可以使 HSV-TK 和 Cx43 成功表达, 进而有效抑制前列腺癌细胞的增殖。此外, PAMAM 末端的活性基团为进行相应修饰进而增强载体的主动靶向性提供了可能。Huang 等^[4]将小分子谷氨酸连接至 PAMAM 作为靶头进而合成出一种治疗前列腺癌的复合物。相关实验表明, 通过小分子谷氨酸修饰后该复合物可以主动靶向至表达前列腺特异性膜抗原 (PSMA) 的细胞并抑制其二肽酶的活性, 从而治疗前列腺癌。

1.2 聚乙酰胺 (PEI)

PEI 是一种水溶性高分子聚合物, 分为线性和分枝状两种。线状 PEI 包含的全是仲胺; 而分枝状 PEI 中含有伯胺、仲胺、叔胺基, 从而可以与 DNA 和 RNA 中带有负电荷的磷酸基团相结合。PEI 具有价格低廉、无污染、使用方便等特点。在所有聚合物材料中, PEI 是一种最有效的基因载体。

Xue 等^[5]研究指出将 PEI 作为 siRNA 的载体应用于前列腺癌治疗可以提高转染效率, 尤其是将固体脂质体和 PEI 制成纳米复合物来递送 siRNA

能达到更好的效果。实验表明: (1) 该复合物可以降低 siRNA 在细胞基质外的损失; (2) 可以促进 siRNA 入胞后的释放; (3) 降低急性毒性和细胞毒性。目前相对分子量为 25 000 的 PEI 是非病毒基因转染的推荐选择^[6]。高分子量的 PEI 会破坏细胞膜, 并通过破坏线粒体膜的稳定造成细胞凋亡。降低 PEI 毒性的方法之一就是降低 PEI 的分子量, 尽管 PEI 分子量降低后仍能起到靶向作用, 但是无论是体内还是体外实验^[7]均表明此时转染效率受到影响。针对 PEI 的毒性问题, Xun 等^[8]由 Michael 加成反应合成出一种可降解的 PEI 600。琼脂糖凝胶阻滞电泳显示该物质与 DNA 有很强的结合能力, 细胞毒性实验显示普通 PEI 在浓度 20 mg/mL 时只有 20% 的细胞存活, 然而这种低分子量的 PEI 在其浓度为 40 mg/mL 时仍然未显示出毒性。并且在普通 PEI 和 DNA 的氮磷比为 10 时, 低分子量的 PEI 与 DNA 的质量比从 3.2~9.6 都显示出较普通 PEI 高出几倍甚至几十倍的转染效率。这种低分子量的 PEI 有望成为一种高效低毒的载体。在增强 PEI 的主动靶向性方面, 由于前列腺癌细胞含转铁蛋白受体, 刘冉录等^[9]的研究表明将 PEI 偶联转铁蛋白 Tf 可以起到很好的主动靶向作用, 他们通过检测其对前列腺癌细胞核干因子表达的抑制情况发现, 在 LNCaP 细胞系中, 经过 Tf 修饰的 PEI、单独的 PEI 以及对照组的核干蛋白表达分别为 0.306 ± 0.015 、 0.812 ± 0.035 和 0.838 ± 0.04 , 差异有统计学意义 ($F = 245.637, P < 0.01$), 从中可以看出 PEI 偶联转铁蛋白 Tf 显著抑制了前列腺癌细胞核干因子的表达, 这为增强 PEI 主动靶向性提供了一种思路。

1.3 多聚赖氨酸 (PLL)

PLL 是亲水性的聚氨基酸, 为一类可生物降解的高分子, 目前广泛用于食品保鲜和包裹药物。作为最早用于基因导入的阳离子聚合物, PLL 除了具有无免疫原性、可携带大片段 DNA 外, 还可以增强药物的入胞作用。

PLL 富含阳离子, 可以与 DNA 或 RNA 结合并将其浓缩成便于运输的小单元, 进而实现基因递送的目的。但由于其本身的毒性和相对低的转染效率, 目前一般用修饰过的 PLL 来实现基因递送。Guo 等^[10]研究发现依赖 pH 的 PLL 纳米复合物可以递送 siRNA 进而抑制前列腺癌细胞生长, 他们使用经过 PEG 修饰的 PLL 同 siRNA 结合, 很好地延长了药物在体内的循环时间; 利用小鼠的前列腺癌

移植瘤模型发现其靶向性良好,转染效率较高,一定程度上抑制了前列腺癌细胞的生长。在增强药物入胞作用方面,Cui等^[11]的研究表明经过PLL修饰的 Fe_2O_3 纳米复合物可以有效携带 siRNA 进入神经细胞和胃癌细胞,FAM 荧光染料标记 siRNA 发现 siRNA 大多进入了细胞内部,推测这与 PLL 可以增强复合物的入胞作用有关。PLL 和 Fe_2O_3 复合物携带 siRNA 进入细胞后,蛋白质印迹实验可发现靶蛋白显著减少,靶基因沉默效果良好。

1.4 聚精氨酸(PArg) PArg 是另一种聚氨基酸,由于其生物相容性较好,在人体内能被降解为可被二次利用的精氨酸、可与带负电荷的 DNA 或 RNA 结合以及优良的穿膜特性,被广泛用于生物医药研究。

Weiseh 等^[12]研究发现,富含阳离子的 PArg 在递送 siRNA 治疗前列腺癌方面优于 PLL。他们分别考察了 PArg 的纳米复合物和 PLL 的纳米复合物递送 siRNA 对前列腺癌基因 TC2/GFP⁺ 的抑制效果以及两种复合物的毒性,结果发现 PArg 纳米复合物对前列腺癌基因 TC2/GFP⁺ 沉默效率为 27%,PLL 纳米复合物为 15%,PArg 纳米复合物对前列腺癌基因的抑制效果优于 PLL 纳米复合物;细胞存活实验结果显示前者存活率为 104.3%,后者为 77.5%,PArg 纳米复合物毒性较 PLL 纳米复合物低,这为递送 siRNA 治疗前列腺癌提供了新的选择。PArg 作为载体的优势在于其毒性低和具有穿膜作用,Vorhies 等^[13]发现 PArg 较 PEI 和 PAMAM 毒性低,生物相容性好;Schmidt 等^[14]的研究则表明,PArg 优良的穿膜性能使其能高效地递送 siRNA,作为穿膜肽,PArg 可以递送比自身大几十倍的物质穿透细胞膜进入细胞,从而避免了经由内吞作用入胞而导致的分布不均。

2 脂质体

脂质体是一种双分子层结构的人工膜,既可以包裹亲水性化学药物也可以包裹基因药物。与其他纳米载体相比,脂质体具有更容易制备、生物可降解以及无毒性的特点,当其用于载药时,粒径一般限制为 50~150 nm^[15]。

基于脂质体的纳米材料是目前应用最为广泛、研究最为深入的基因载体^[16],其中阳离子脂质体被广泛用于递送核酸,尤其是递送 siRNA^[17]。阳离子脂质体具有如下优点:(1)与带负电荷的 RNA 或

DNA 结合后有效提高转染效率的同时保护 RNA 或者 DNA;(2)转染方便;(3)与基因复合的过程相对比较容易,可以大量复制;(4)可以携带较大的 DNA 片段并转运至特定部位。Shao 等^[18]将脂质体和 siRNA 结合并靶向前列腺癌细胞中的 *TMPRSS2/ERG* 融合基因,结果显示肿瘤的生长明显被抑制,并且抑制程度与 *TMPRSS2/ERG* 融合基因被敲除的程度相关,从而证明在体内使用脂质体载 siRNA 靶向 *TMPRSS2/ERG* 融合基因是一种有前景的前列腺癌治疗方案。

为了有效提高脂质体的主动靶向性,Xiang 等^[19]合成出一种多功能的脂质体,这种脂质体连接有靶向 PSA 的多肽和靶向 PSMA 的叶酸,他们用 Cy5 标记的 siRNA 实验后发现实验组、普通脂质体组、单纯用靶向 PSA 的多肽修饰组、叶酸修饰组的荧光强度分别为 120、55、60、70,实验组明显高于其他组,这说明前列腺癌细胞 PC-3 对这一主动靶向载体的摄取良好;并且转染后实验组、普通脂质体组、叶酸修饰组、阴性对照组 mRNA 表达量分别为 30、78、50、110,实验组明显低于其他组,表明该载体和 siRNA 结合后可以起到有效的干扰作用,进而抑制前列腺癌细胞的增殖。

此外,在脂质体递送基因的过程中,Bai 等^[20]研究发现采用脂质体转染 PC-3 细胞时的效率可能与低频和低能超声以及微型气泡有关。他们将 PC-3 细胞悬液用超声处理 5 min 后分为两组,一组加超声造影剂,一组不加超声造影剂,然后用数字声波降解器处理。处理完立即计算细胞存活率和膜损伤情况,接着铺板并转染细胞。结果显示脂质体同时接受低频和低能超声结合微型气泡处理后对 PC-3 的平均转染效率为 20.30%,远高于对照组,这提示可以在采用脂质体转染细胞的同时结合低频、低能超声以及微型气泡来提高脂质体的转染效率,进而用于治疗前列腺癌。

3 壳聚糖聚合物

壳聚糖由甲壳素经过脱乙酰基生成,是一种天然存在的多糖类纤维素,主要存在于虾、蟹和昆虫的外壳中。它具有无毒、可降解以及生物相容性强等优点^[21]。壳聚糖聚合物在很多领域中都有着广泛的应用,如药物递送、基因递送、组织工程、创伤愈合等^[22-24]。

壳聚糖的优良特性使其在包裹基因药物方面发挥着一定作用。由于壳聚糖聚合物带正电而DNA带负电,因此二者可以通过静电作用很好地结合在一起。Yao等^[25]前期研究发现壳聚糖聚合物作为基因载体可以经由小鼠黏膜上皮细胞有效提高抗原的摄取和内化^[26]。但在这一过程中壳聚糖聚合物的转染效率仍然不令人满意,进一步的研究表明用甘露醇修饰壳聚糖聚合物后可以通过甘露醇受体介导的细胞内吞作用实现主动靶向,进而提高转染效率。他们将 anti-GRP DNA 疫苗(pGRP)与经甘露醇修饰的壳聚糖聚合物结合形成 MCS/pGRP 纳米复合物,并采用小鼠前列腺癌移植瘤模型通过鼻内给药的方式来观察 MCS/pGRP 纳米复合物对前列腺癌细胞的抑制效果。结果发现 anti-GRP 的滴度持续了 11 周,显著高于不经甘露醇修饰的壳聚糖聚合物与 pGRP 形成的纳米复合物(CS/pGRP)组($P < 0.01$)以及单独的 pGRP 给药组($P < 0.05$)。MCS/pGRP 同样可以抑制前列腺癌细胞的生长,实验组肿瘤经治疗后质量为 (0.79 ± 0.30) g,显著低于 CS/pGRP 组 (1.69 ± 0.15) g($P < 0.01$)以及 pGRP 组 (1.12 ± 0.37) g($P < 0.05$)。

除了上述作用外,壳聚糖在前列腺癌的基础研究领域同样有着应用。免疫疗法是治疗前列腺癌的一种有前景的方法,但是其在临床方面尚无太大进展,部分原因在于缺少一种具有代表性的体外肿瘤模型来模拟肿瘤细胞的微环境,进而充分研究前列腺癌细胞与免疫细胞之间的相互作用。Florczyk等^[27]研究发现壳聚糖聚合物在解决这个问题上起到了一定作用。他们使用壳聚糖和海藻酸盐构建了一个 3D 微孔支架来培养人前列腺癌细胞,结果发现培养 15 d 就可以在体外形成肿瘤球状体,培养 55 d 可用原位荧光显微法检测,表明通过该系统可以更好地在体外研究前列腺癌细胞与外周免疫细胞的相互作用,从而有助于寻找更加有效的方法来抑制肿瘤细胞的生长,进而达到治疗前列腺癌的目的。

4 问题与展望

传统的前列腺癌治疗方法在杀伤肿瘤细胞的同时也会对正常组织产生损害,造成免疫系统能力降低、肝肾毒性等不良反应。靶向治疗可以很好地解决这些。作为实现靶向治疗的非病毒类载体有如下特点:(1)低免疫原性;(2)载体容量较大;(3)材料来

源较为广泛;(4)化学结构稳定可控,易于大量制备。但是广泛应用阳离子聚合物、脂质体以及壳聚糖聚合物等还需要克服以下问题,如:阳离子脂质体的转染条件在体内和体外的差别,脂质体长期应用的安全性,寻找合适的基因修饰 PEI 以达到减弱毒性、增加转染效果的目的等。相信在不久的将来必定可以在现有基础上找到更好的高效低毒的载体以实现前列腺癌的靶向治疗。

[参考文献]

- [1] Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2012, 62: 10-29.
- [2] Karan D, Holzbeierlein J M, Van Veldhuizen P, Thrasher J B. Cancer immunotherapy: a paradigm shift for prostate cancer treatment[J]. Nat Rev Urol, 2012, 9: 376-385.
- [3] Chen Y, Wang G, Kong D, Zhang Z, Yang K, Liu R, et al. *In vitro* and *in vivo* double-enhanced suicide gene therapy mediated by generation 5 polyamidoamine dendrimers for PC-3 cell line[J]. World J Surg Oncol, 2012, 10: 3.
- [4] Huang B, Otis J, Joice M, Kotlyar A, Thomas T P. PSMA-targeted stably linked "dendrimer-glutamate urea-methotrexate" as a prostate cancer therapeutic [J]. Biomacromolecules, 2014, 15: 915-923.
- [5] Xue H Y, Wong H L. Solid lipid-PEI hybrid nanocarrier: an integrated approach to provide extended, targeted, and safer siRNA therapy of prostate cancer in an all-in-one manner[J]. ACS Nano, 2011, 5: 7034-7047.
- [6] Lungwitz U, Breunig M, Blunk T, Göpferich A. Polyethylenimine-based non-viral gene delivery systems [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2005, 60: 247-266.
- [7] Sarkar K, Debnath M, Kundu P P. Preparation of low toxic fluorescent chitosan-graft-polyethylenimine copolymer for gene carrier [J]. Carbohydr Polym, 2013, 92: 2048-2057.
- [8] Xun M M, Liu Y H, Guo Q, Zhang J, Zhang Q F, Wu W X, et al. Low molecular weight PEI-appended polyesters as non-viral gene delivery vectors[J]. Eur J Med Chem, 2014, 78: 118-125.
- [9] 刘冉录, 王文涵, 张志宏, 徐 勇. Tf-PEG-PEI 载细胞特异性干扰质粒靶向沉默前列腺癌核干因子的体外实验研究[J]. 中华肿瘤杂志, 2012, 34: 725-729.

- [10] Guo J, Cheng W P, Gu J, Ding C, Qu X, Yang Z, et al. Systemic delivery of therapeutic small interfering RNA using a pH-triggered amphiphilic poly-L-lysine nanocarrier to suppress prostate cancer growth in mice [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2012, 45: 521-532.
- [11] Cui X, Liu R, Liu Z, Shen X, Wang Q, Tan X. Cationic Poly-L-Lysine-Fe₂O₃/SiO₂ nanoparticles loaded with small interference RNA; application to silencing gene expression in primary rat neurons[J]. *J Nanosci Nanotechnol*, 2014, 14: 2810-2815.
- [12] Veisheh O, Kievit F M, Mok H, Ayesh J, Clark C, Fang C, et al. Cell transcytosing poly-arginine coated magnetic nanovector for safe and effective siRNA delivery[J]. *Biomaterials*, 2011, 32: 5717-5725.
- [13] Vorhies J S, Nemunaitis J J. Synthetic vs. natural/biodegradable polymers for delivery of shRNA-based cancer therapies[J]. *Methods Mol Biol*, 2009, 480: 11-29.
- [14] Schmidt N, Mishra A, Lai G H, Wong G C. Arginine-rich cell-penetrating peptides [J]. *FEBS Lett*, 2010, 584: 1806-1813.
- [15] Fenske D B, Chonn A, Cullis P R. Liposomal nanomedicines; an emerging field[J]. *Toxicol Pathol*, 2008, 36: 21-29.
- [16] Moreira J N, Santos A, Moura V, Pedroso de Lima M C, Simões S. Non-viral lipid-based nanoparticles for targeted cancer systemic gene silencing[J]. *J Nanosci Nanotechnol*, 2008, 8: 2187-2204.
- [17] Simões S, Filipe A, Fanecca H, Mano M, Penacho N, Düzgünes N, et al. Cationic liposomes for gene delivery [J]. *Expert Opin Drug Deliv*, 2005, 2: 237-254.
- [18] Shao L, Tekedereli I, Wang J, Yuca E, Tsang S, Sood A, et al. Highly specific targeting of the TMPRSS2/ERG fusion gene using liposomal nanovectors[J]. *Clin Cancer Res*, 2012, 18: 6648-6657.
- [19] Xiang B, Dong D W, Shi N Q, Gao W, Yang Z Z, Cui Y, et al. PSA-responsive and PSMA-mediated multifunctional liposomes for targeted therapy of prostate cancer[J]. *Biomaterials*, 2013, 34: 6976-6991.
- [20] Bai W K, Wu Z H, Shen E, Zhang J Z, Hu B. The improvement of liposome-mediated transfection of pEGFP DNA into human prostate cancer cells by combining low-frequency and low-energy ultrasound with microbubbles[J]. *Oncol Rep*, 2012, 27: 475-480.
- [21] Arca H C, Günbeyaz M, Senel S. Chitosan-based systems for the delivery of vaccine antigens[J]. *Expert Rev Vaccines*, 2009, 8: 937-953.
- [22] Csaba N, Köping-Höggård M, Alonso M J. Ionically crosslinked chitosan/tripolyphosphate nanoparticles for oligonucleotide and plasmid DNA delivery [J]. *Int J Pharm*, 2009, 382(1-2): 205-214.
- [23] Jayakumar R, Prabakaran M, Sudheesh Kumar P T, Nair S V, Tamura H. Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications[J]. *Biotechnol Adv*, 2011, 29: 322-337.
- [24] Kumar P T, Lakshmanan V K, Anilkumar T V, Ramya C, Reshmi P, Unnikrishnan A G, et al. Flexible and microporous chitosan hydrogel/nano ZnO composite bandages for wound dressing: *in vitro* and *in vivo* evaluation[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2012, 4: 2618-2629.
- [25] Yao W, Peng Y, Du M, Luo J, Zong L. Preventative vaccine-loaded mannosylated chitosan nanoparticles intended for nasal mucosal delivery enhance immune responses and potent tumor immunity[J]. *Mol Pharm*, 2013, 10: 2904-2914.
- [26] Yang X, Yuan X, Cai D, Wang S, Zong L. Low molecular weight chitosan in DNA vaccine delivery via mucosa[J]. *Int J Pharm*, 2009, 375(1-2): 123-132.
- [27] Florczyk S J, Liu G, Kievit F M, Lewis A M, Wu J D, Zhang M. 3D porous chitosan-alginate scaffolds; a new matrix for studying prostate cancer cell-lymphocyte interactions *in vitro* [J]. *Adv Healthc Mater*, 2012, 1: 590-599.

[本文编辑] 周燕娟