

DOI: 10.11830/ISSN.1000-5013.202401016



# 采用 Cell-SELEX 技术的核酸适配体 在肿瘤靶向治疗的研究进展

成志云, 陈佳怡, 白如玉, 杨会勇, MOHSAN Ullah, 刁勇

(华侨大学 医学院, 福建 泉州 362021)

**摘要:** 阐述细胞-配体指数富集系统进化(Cell-SELEX)技术特点,以及通过该技术筛选得到的核酸适配体在肿瘤靶向治疗中的应用进展和挑战,通过查阅近年的相关文献,综述核酸适配体作为药物及药物载体在肿瘤靶向治疗中的应用研究进展。结果表明:基于 Cell-SELEX 技术筛选得到的核酸适配体在肿瘤靶向治疗中的疗效显著,可开发成为肿瘤靶向治疗的潜力药物及良好的药物载体。

**关键词:** 核酸适配体; 细胞-配体指数富集系统进化(Cell-SELEX)技术; 肿瘤; 靶向治疗

**中图分类号:** R 944 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-5013(2024)04-0439-06

## Research Progress of Aptamers Using Cell-SELEX Technology in Cancer Targeted Treatment

CHENG Zhiyun, CHEN Jiayi, BAI Ruyu,  
YANG Huiyong, MOHSAN Ullah, DIAO Yong

(School of Medicine, Huaqiao University, Quanzhou 362021, China)

**Abstract:** The characteristics of cell-systematic evolution of ligands by exponential enrichment (Cell-SELEX) technology as well as the application progress and challenges of screened aptamers in cancer-targeted treatment through this technology were expounded. And the research progress about cancer-targeted treatment applications of aptamers as drugs or drug carriers were reviewed by consulting relevant literature in recent years. The results show that the aptamers screened based on Cell-SELEX technology have significant therapeutic effects and can be developed as potential drugs and good drug carriers in cancer-targeted treatment.

**Keywords:** aptamers; cell-systematic evolution of ligands by exponential enrichment (Cell-SELEX) technology; cancer; targeted treatment

核酸适配体又称适配子、适体、化学抗体,是通过配体指数富集系统进化(SELEX)技术筛选获得的能与靶分子专一、高效结合的单链脱氧核糖核酸(ssDNA)或核糖核酸(RNA),一般由 20~80 个碱基构成。与传统蛋白抗体相比,核酸适配体具有制备方便、稳定性好、靶标广泛、无免疫原性、易渗透入组织内部等多项独特优势。

20 多年来,核酸适配体在多个领域得到了普遍关注和广泛应用,大量疾病相关分子的核酸适配体被筛选出来,并被应用于疾病诊断及药物研发。第 1 个核酸适配体药物 Pegaptanib(商品名为 Macugen)已于 2004 年通过美国食品药品监督管理局(FDA)批准上市<sup>[1]</sup>,它是针对血管内皮细胞生长因子

**收稿日期:** 2024-01-29

**通信作者:** 刁勇(1967-),男,教授,博士,博士生导师,主要从事基因药物的研究。E-mail: diaoyong@hqu.edu.cn。

**基金项目:** 国家自然科学基金资助项目(20141ZA003);福建省泉州市高层次人才创新项目(20221ZC061)

(VEGF)设计,用于治疗老年性黄斑变性,成为核酸适配体研究领域的一个里程碑。由于癌变细胞基因突变,其表面分子类型及表达水平发生变化,故筛选得到的核酸适配体具有高度的肿瘤细胞特异性,从而在肿瘤的早期诊断和靶向治疗中显示出巨大的潜能和优越性。

肿瘤相关蛋白如蛋白酪氨酸磷酸酶受体、血小板源性生长因子(PDGFR)、蛋白酪氨酸激酶 7 (PTK7)、核转录因子  $\text{kB}$ 、VEGF、整合素  $\alpha 4$ 、高密度脂蛋白结合蛋白、应激诱导磷蛋白 1、c-Kit 蛋白、唾液酸结合免疫球蛋白样凝集素 5、组织蛋白酶 D、酪氨酸蛋白激酶蛋白 117(CD117)、转铁蛋白受体 CD71(CD71)、白细胞分化抗原 109(CD109)等的核酸适配体已被筛选出并应用于肿瘤诊断及治疗中<sup>[2-7]</sup>,这些核酸适配体大部分是通过细胞-配体指数富集系统进化(Cell-SELEX)技术筛选得到,得到的核酸适配体可直接用于肿瘤的靶向治疗,也可作为肿瘤治疗药物的载体。

基于此,本文对采用 Cell-SELEX 技术的核酸适配体在肿瘤靶向治疗的研究进展进行综述。

## 1 Cell-SELEX 技术及其特点

Cell-SELEX 是一种将整个活细胞作为靶标筛选核酸适配体的技术。目前,常用肿瘤细胞作为正筛靶标,相应正常细胞作为反筛靶标,从而得到肿瘤细胞特异性核酸适配体。

### 1.1 筛选的基本步骤

核酸适配体的筛选有以下 5 个步骤。

**步骤 1** 将 ssDNA 随机文库与肿瘤细胞孵育,进行正向筛选。

**步骤 2** 洗涤细胞,去除未结合的 ssDNA,然后高温加热,离心得到与靶细胞结合的 ssDNA。

**步骤 3** 将得到的 ssDNA 与对应正常细胞孵育,进行反向筛选,去除与肿瘤细胞非特异性结合的 ssDNA。

**步骤 4** 将步骤 3 未结合的 ssDNA 作为模板,进行大规模不对称聚合酶链式反应(PCR)扩增,分离单链,得到次级文库,用于下一轮筛选。

**步骤 5** 步骤 1~4 循环,一般经过 15~20 轮正向与反向筛选,即可得到与肿瘤细胞特异性结合的 ssDNA,即特异性核酸适配体(图 1)。然后,克隆、测序,对筛选得到的核酸适配体进行亲和力等特性检测并验证。

### 1.2 Cell-SELEX 技术特点

相较于 SELEX 技术筛选得到的核酸适配体,以整个活细胞为靶标筛选得到的核酸适配体具有多种独特优势,Cell-SELEX 技术不需了解靶分子的种类、数量、分布及构象,使工作量减少;Cell-SELEX 技术以整个活细胞为靶标,可实现多靶点的筛选。肿瘤 Cell-SELEX 技术的核心是利用任意两种完整活细胞膜表面所有分子水平之间的差异(不是单个或几个纯化的靶分子)来筛选能特异性识别靶细胞的核酸适配体,从而准确地区分正常细胞和肿瘤细胞<sup>[8]</sup>。

Calzada 等<sup>[9]</sup>通过对急性 T 淋巴细胞白血病前体细胞 CCRF-CEM 的筛选,得到核酸适配体 sgc8,通过质谱分析证实其靶蛋白为 PTK7,与正常骨髓细胞相比,PTK7 在 CCRF-CEM 上特异性高表达,在白血病发展过程中起重要作用,利用 AlexaFluor647 和 6-hydrazinonicotinamide 两种荧光染料标记该适配体,在荷瘤小鼠中成功对黑色素瘤和淋巴瘤细胞进行标记,表明 Cell-SELEX 技术用于筛选肿瘤细胞特异性核酸适配可行、可靠。

Dharmasiri 等<sup>[10]</sup>用前列腺特异性膜抗原适配体捕获前列腺癌细胞,得到高达 96% 的捕获率。同时,Xu 等<sup>[11]</sup>利用固定的核酸适配体在“S”形微流体装置中富集多种血浆中低浓度的肿瘤细胞,细胞纯度可达 96%。这些研究显示肿瘤细胞特异性核酸适配体具有高亲和力、靶向性和区分细胞的能力,为此技术用于肿瘤靶向、精准治疗提供了依据。

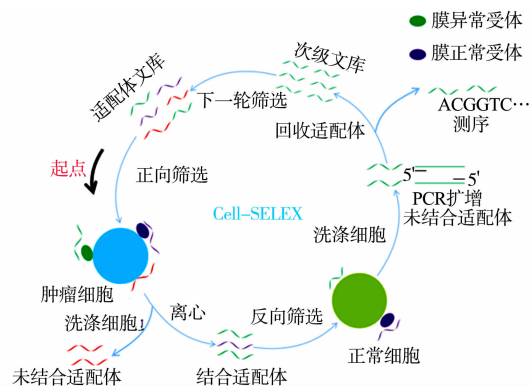


图 1 Cell-SELEX 技术过程

Fig. 1 Cell-SELEX technology process

## 2 经 Cell-SELEX 技术筛选的核酸适配体在肿瘤治疗中的应用

在肿瘤治疗中,特异性靶向药物具有治疗效果显著、毒副作用低的优点,采用 Cell-SELEX 技术筛选得到的核酸适配体具有高度的肿瘤特异性,在肿瘤靶向治疗方面有巨大的潜能。

### 2.1 Cell-SELEX 技术筛选核酸适配体直接作为靶向药物

与抗体药物相比,核酸适配体药物因具有高稳定性、耐高温、低免疫原性、低成本、短周期等优点而备受关注,针对肿瘤细胞和正常细胞表达差异的 VEGF、核仁素、细胞粘素 C 等蛋白的核酸适配体药物已陆续筛选出来<sup>[12]</sup>。然而,Cell-SELEX 技术开发和应用之后,更多更具意义的肿瘤标志物被鉴定出来,相应的核酸适配体药物也随之开发。Rong 等<sup>[13]</sup>以具有转移潜能的肝癌细胞 MHCC97L 作为模型,以具有高转移潜能的肝癌细胞 HCCLM9 为对象,采用 Cell-SELEX 技术进行筛选,得到特异性适配体 LY-1。LY-1 可直接作用于 HCCLM9,体外实验表明 HCCLM9 迁移和侵袭性能降低,而体内实验表明 HCCLM9 抑制了肿瘤的生长。核酸适配体还可作为信号分子影响细胞生长、凋亡相关信号通路。Cercia 等<sup>[14]</sup>采用 Cell-SELEX 技术筛选得到了分泌腺肿瘤的核酸适配体,其靶标为人受体酪氨酸激酶 RET,识别 RET 胞外结构域,不但能抑制 RET 的激活,还能有效抑制 RET 介导的信号通路,影响细胞生长和分化,起到治疗作用,又将恶性人神经胶质瘤细胞系 U87MG 作为正向筛选细胞,将致癌性差的神经胶质瘤细胞系 T98G 作为反向筛选细胞,得到 U87MG 的特异核酸适配体,其可通过抑制细胞增殖中关键分子 ERK1/2 和 cyclin D1 的活性,影响胞内信号转导从而抑制肿瘤细胞增殖。上述研究为以膜受体为靶点进行肿瘤治疗提供了方法。Zueva 等<sup>[15]</sup>根据恶性仓鼠细胞细胞系 HET-SR-1(HM)和 HET-SR(LM)致癌性和生长性相同,但前者体内更容易转移的特性,采用 Cell-SELEX 技术将 HM 作为正向筛选靶标,LM 作为反向筛选靶标,得到两个特异性结合高侵袭细胞系 HM 的核酸适配体 E10 和 E37。实验表明,E10 主要作用于细胞膜,而 E37 作用于细胞内,两者通过改变酪氨酸激酶的磷酸化抑制肿瘤细胞的迁移,抑制率高达 85%,仅 E10 对肿瘤细胞也有高达 75%的侵袭抑制率。E37 虽不具有抑制迁移的作用,但其可被细胞摄取的特性能用于胞内成像和药物传递。同时,研究人员发现 E10 和 E37 无论是对人乳腺癌细胞系 MDA-MB231,还是小鼠永生成纤维细胞系 NIH3T3 都没有结合作用,表明不同种属或同种属不同器官的肿瘤细胞具有不同的转移相关分子,进一步说明了采用 Cell-SELEX 技术可筛选出针对特定肿瘤细胞的高特异性核酸适配,靶向性精确,不会对其他细胞造成损伤。核酸适配体和传统化疗药物联合使用,可达到协同增效的目的,如以非小细胞肺癌细胞 A549 为靶标,通过 Cell-SELEX 技术获得能以高亲和力结合表皮生长因子受体(EGFR)的核酸适配体 CL4,它可通过抑制 EGFR 活性及其介导的信号通路诱导 EGFR 阳性肿瘤细胞的凋亡,但对 EGFR 阴性细胞没有作用。A549 细胞对 EGFR 常用抑制剂吉非替尼和西妥昔单抗显示耐药性,体外和小鼠体内移植瘤实验证明,联合使用 CL4 和西妥昔单抗在诱导细胞凋亡方面有协同作用<sup>[16]</sup>。Mahlknecht 等<sup>[17]</sup>筛选得到 N87 胃癌细胞异常分子 ErbB-2/HER2 的核酸适配体 2-2(t),实验表明,其在体外具有抑制癌细胞生长,体内有降低人胃癌移植瘤生长率的作用,抑瘤效果为 ErbB-2/HER2 单克隆抗体的两倍。以埃利希氏腹水瘤细胞为阳性细胞,采用 Cell-SELEX 技术经过 10 轮筛选,得到核酸适配体 AS-14 和 AS-9,体外细胞实验表明,AS-14 对腺癌细胞具有诱导凋亡的作用,AS-9 具有抑制增殖的作用,AS-14 对应的靶标为肿瘤发展和细胞增殖过程中的关键分子 filamin A,AS-9 的靶标为线粒体 ATP 合成酶  $\alpha$  亚基,为线粒体氧化磷酸化的重要组成部分<sup>[18]</sup>。Camorani 等<sup>[19]</sup>采用 Cell-SELEX 技术,以恶性胶质瘤细胞为靶标,经过 14 轮筛选得到可特异性结合于 PDGFR $\beta$  胞外结构域的核酸适配体 Gint4. T,其可抑制人胶质瘤细胞上 PDGFR 的激活及下游信号的传递,在体内 Gint4. T 通过抑制肿瘤细胞增殖和迁移,抑制肿瘤的生长。联合应用适配体 Gint4. T 与 CL4 抑肿瘤效果增强,说明靶点不同的核酸适配体可联合使用,多靶点抑制肿瘤生长。

通过以上研究可知,针对肿瘤细胞的 Cell-SELEX 技术筛选核酸适配体切实可行,且筛选得到的适配体对肿瘤靶的向性高,抑制作用显著。适配体通过对肿瘤细胞表面失调分子的抑制,进一步调控下游信号通路来影响肿瘤细胞的增殖、迁移、侵袭等活动,以实现抗肿瘤作用。此外,核酸适配体之间或其他药物联合用药,可发挥协同作用,抑瘤效果增强。

2.2 Cell-SELEX 技术筛选核酸适配体作为药物靶向载体

采用 Cell-SELEX 技术筛选得到特异识别肿瘤细胞的核酸适配体,将其与抗肿瘤单克隆抗体、siRNA、脂质体、胶束、纳米粒和纳米管等具有抗肿瘤作用的药物通过物理结合或化学键合,定点导向于肿瘤细胞,药物特异性地在肿瘤细胞周围或细胞内富集,药物浓度增加,停留时间延长,可提高治疗效力。

2.2.1 核酸适配体偶联药物 核酸适配体和药物偶联的方式有化学的共价结合和物理的分子间相互作用力结合两种方式,将药物靶向递送到肿瘤细胞。Esposito 等<sup>[20]</sup>采用 Cell-SELEX 技术筛选得到可特异性结合 CD19 蛋白的核酸适配体 B85. T2,其对纯化的人重组 CD19 糖蛋白的解离常数为 $(49.9 \pm 13.0) \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,可特异性结合表达 CD19 的慢性淋巴细胞白血病细胞,且能够内化进入 CD19 阳性细胞,和 miRNA 互补杂交非共价偶联后处理肿瘤细胞,显著抑制细胞增殖,诱导细胞凋亡,说明适配体靶向性运载药物到肿瘤细胞是可行的。Meraviglia-Crivelli 等<sup>[21]</sup>构建 AS1411 和 RNAi 缀合物 AS1411-SMG1 AsiCs,无论是局部给药还是系统给药,结合体都可显著抑制肿瘤生长,且无毒副作用。

适配体与蛋白偶联是通过适配体的核苷酸与蛋白质中氨基酸侧链的氢键、盐桥、范德华力等非共价键相互作用。植物毒素 Gelonin 可通过破坏 rRNA 的糖苷键,阻断蛋白质的合成,有效杀死肿瘤细胞,但其缺少移位结构域,不易入胞达到有效的杀伤浓度。Kelly 等<sup>[22]</sup>将 Gelonin 蛋白与核酸适配体 A9 偶联,不但克服了 Gelonin 不易入胞的缺点,其对前列腺癌细胞的杀伤力是单用 Gelonin 的 180 倍,还减少了其对正常细胞的毒性,适配体扮演了“护卫”的角色。

Qiao 等<sup>[23]</sup>以紫杉醇耐药的食管鳞状细胞癌(ESCC)细胞系为靶标,采用 Cell-SELEX 技术筛选靶向阻抑素-2 的核酸适配体 SYL-6。阿霉素(Dox)能够嵌入 DNA 的-GC-富集区域阻断 DNA 复制导致细胞死亡,是常用肿瘤化疗药物,将 Dox 插入 SYL-6 中,通过非共价结合形成 SYL-6-Dox 偶联药物,体内实验证明,SYL-6-Dox 组可显著抑制肿瘤生长,且副作用较 Dox 单独用药组更低,说明核酸适配体 SYL-6 可作用化疗药物的有效载体。研究人员采用 Cell-SELEX 技术筛选得到靶向蛋白酪氨酸激酶 7 (PTK7)的核酸适配体 sgc8c,sgc8c 通过 PH 敏感的脲键共价连接 Dox,形成 sgc8c-Dox 络合物,在肿瘤组织的酸性微环境中,脲键断裂,靶向释放药物到目标组织<sup>[24]</sup>。

2.2.2 核酸适配体-生物材料结合 将包裹紫杉醇的聚乙二醇纳米粒子与适配体 Apt(S1.5)连接形成复合物 Apt(S1.5)-PTX-NP,Apt(S1.5)靶向乳腺癌中高度表达的乙酰肝素酶。相较于非靶向的 PTX-NP,复合物具有更强的抗侵袭和抗血管生成能力,是一种有前途的三阴性乳腺癌治疗的靶向药物<sup>[25]</sup>。

脂质体是一种将药物包装于脂质或类脂质双分子层内形成的微型囊泡,AS1411 适配体可以特异性地与癌细胞表面过表达的核仁蛋白结合,研究人员将 AS1411 核酸适配体偶联脂质体靶向结直肠癌细胞,递送 siRNA 干扰 COL1A1 基因表达,提高了肿瘤细胞对化疗药物的敏感性<sup>[26]</sup>。研究还发现核酸适配体可以增强肿瘤细胞对药物的敏感性,AS1411 与金纳米粒子连接,S1411 适配体增强了金纳米颗粒向癌细胞的传递,并增强了辐射诱导的癌细胞死亡<sup>[27]</sup>,为适配体的又一临床应用提供了依据。Wang 等<sup>[28]</sup>利用红细胞膜制备囊泡包裹 siRNA 和阿霉素,用于治疗多药耐药的肿瘤。修饰在囊泡上的适配体赋予了囊泡肿瘤靶向能力,通过 P-gp 沉默和 Dox 诱导的生长抑制作用,成功克服耐药问题,协同杀伤肿瘤细胞。这种靶向思路为肿瘤耐药提供了一种克服策略。

适配体不仅可做载体,特异性核酸适配体还能募集免疫细胞调动自身免疫系统对肿瘤细胞进行杀伤,Boltz 等<sup>[29]</sup>采用 Cell-SELEX 技术,以 CD16 阳性的 Jurkat 细胞为正向筛选细胞,得到的核酸适配体成功将 NK 细胞募集靶向定位于人肺癌细胞 EBC-1、人胃癌细胞 GTL-16 和 MKN-45,说明采用 Cell-SELEX 技术筛选高特异性核酸适配体不仅可作为肿瘤靶向治疗药物或药物运载体,还可以募集免疫细胞趋于癌变细胞,为肿瘤的免疫治疗提供了新的策略。

3 总结与展望

核酸适配体由于高特异性、亲和性、易体外合成等优点,广泛应用于蛋白检测、生物传感器和药物筛选中,而采用 Cell-SELEX 技术可筛选靶向肿瘤细胞表面未知蛋白的核酸适配体,进而用于肿瘤细胞的富集、检测、成像及肿瘤治疗<sup>[30]</sup>。采用 Cell-SELEX 技术筛选适配体用于肿瘤的靶向治疗日益受到关注,并已在体内和体外研究中显示出对肿瘤细胞的高靶向作用。采用 Cell-SELEX 技术,实验室可以筛

选高亲和力和特异性的靶向剂,使之成为一种有前途的研究工具,也是应用适配体到个体化诊断和医学应用的第一步。

在多年的研究中,研究人员已经克服了适配体应用中的多个缺点,但在肿瘤靶向治疗这一领域,核酸适配体仍然面临多方面的挑战。

首先,在技术层面,Cell-SELEX 技术以活细胞为靶标,筛选过程受细胞生长温度改变、死细胞、细胞表面分子结构改变等因素的影响,导致假阳性甚至筛选失败,研究人员虽通过技术避免这个问题,但其仍是 Cell-SELEX 技术的困扰。

其次,核酸适配体作为靶向药物而言,对细胞功能性方面的研究较少,核酸适配体作为靶向递送载体而言,与药物偶联方式及其递释系统的有效性有待进一步考察。

最后,作为治疗药物的核酸适配体较少进入临床试验阶段,更少应用于临床,其在体内的稳定性、可能的副作用、体内清除率都还未研究清楚,这使临床应用受到了限制,核酸适配体的稳定性、非特异性结合及安全性等问题仍需进一步研究考察<sup>[31]</sup>。

采用 Cell-SELEX 技术筛选得到的细胞特异性适配体在治疗人类疾病方面展现了巨大的潜力和优势,但也面临诸多挑战,相信随着研究的深入,Cell-SELEX 筛选技术的不断完善,这些问题将会一一解决,从而使 Cell-SELEX 技术筛选核酸适配体技术在肿瘤的靶向治疗方面发挥更大的作用。

# 参考文献:

[1] NG E W M,SHIMA D T,CALIAS P,*et al.* Pegaptanib, a targeted anti-VEGF aptamer for ocular vascular disease [J]. *Nature Reviews Drug Discovery*,2006,5(2):123-132. DOI:10. 1038/nrd1955.

[2] BING Tao,SHANGGUAN Dihua,WANG Yinsheng. Facile discovery of cell-surface protein targets of cancer cell aptamers[J]. *Molecular and Cellular Proteomics*,2015,14(10):2692-2700. DOI:10. 1074/mcp. m115. 051243.

[3] ZHOU Wei,ZHAO Libo,YUAN Hongyu,*et al.* A new small cell lung cancer biomarker identified by Cell-SELEX generated aptamers[J]. *Experimental Cell Research*,2019,382(2/3):111478. DOI:10. 1016/j. yexcr. 2019. 06. 023.

[4] LYU Jing,ZHEN Xiaoxiao,LI Dandan,*et al.* Generation of an aptamer targeting receptor-type tyrosine protein phosphatase F[J]. *Analytical Chemistry*,2023,95(2):1228-1233. DOI:10. 1021/acs. analchem. 2c03988.

[5] ZAMAY G S,KOLOVSKAYA O S,ZAMAY T N,*et al.* Aptamers selected to postoperative lung adenocarcinoma detect circulating tumor cells in human blood[J]. *Molecular Therapy*,2015,23(9):1486-1496. DOI:10. 1038/mt. 2015. 108.

[6] WU Xiaoqiu,LIU Honglin,HAN Dongmei,*et al.* Elucidation and structural modeling of CD71 as a molecular target for cell-specific aptamer binding[J]. *Journal of the American Chemical Society*,2019,141(27):10760-10769. DOI:10. 1021/jacs. 9b03720.

[7] JIA Wenting,REN Caiping,WAN Lei,*et al.* CD109 is identified as a potential nasopharyngeal carcinoma biomarker using aptamer selected by cell-SELEX[J]. *Oncotarget*,2016,7(34):55328-55342. DOI:10. 18632/oncotarget. 10530.

[8] WANG Guodong,LIU Jun,CHEN Ke,*et al.* Selection and characterization of DNA aptamer against glucagon receptor by cell-SELEX[J]. *Scientific Reports*,2017,7(1):7179. DOI:10. 1038/s41598-017-05840-w.

[9] CALZADA V,MORENO M,NEWTON J,*et al.* Development of new PTK7-targeting aptamer-fluorescent and radiolabelled probes for evaluation as molecular imaging agents; Lymphoma and melanoma *in vivo* proof of concept[J]. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*,2017,25(3):1163-1171. DOI:10. 1016/j. bmc. 2016. 12. 026.

[10] DHARMASIRI U,BALAMURUGAN S,ADAMS A A,*et al.* Highly efficient capture and enumeration of low abundance prostate cancer cells using prostate-specific membrane antigen aptamers immobilized to a polymeric microfluidic device[J]. *Electrophoresis*,2009,30(18):3289-3300. DOI:10. 1002/elps. 200900141.

[11] XU Ye,PHILLIPS J A,YAN Jilin,*et al.* Aptamer-based microfluidic device for enrichment, sorting, and detection of multiple cancer cells[J]. *Analytical Chemistry*,2009,81(17):7436-7442. DOI:10. 1021/ac9012072.

[12] 刁勇,王立强,邱飞. 抗肿瘤适体药物的研究进展[J]. *中国生化药物杂志*,2009,30(6):415-418.

[13] RONG Yuan,CHEN Hao,ZHOU Xuefeng,*et al.* Identification of an aptamer through whole cell-SELEX for targeting high metastatic liver cancers[J]. *Oncotarget*,2016,7(7):8282-8294. DOI:10. 18632/oncotarget. 6988.

[14] CERCHIA L,DUCONGÉ F,PESTOURIE C,*et al.* Neutralizing aptamers from whole-cell SELEX inhibit the RET receptor tyrosine kinase[J]. *Plos Biology*,2005,3(4):697-704. DOI:10. 1371/journal. pbio. 0030123.

- [15] ZUEVA E, RUBIO L I, DUCONGÉ F, *et al.* Metastasis-focused cell-based SELEX generates aptamers inhibiting cell migration and invasion[J]. *International Journal of Cancer*, 2011, 128(4): 797-804. DOI: 10. 1002/ijc. 25401.
- [16] ESPOSITO C L, PASSARO D, LONGOBARDO I, *et al.* A neutralizing RNA aptamer against EGFR causes selective apoptotic cell death[J]. *Plos One*, 2011, 6(9): e24071. DOI: 10. 1371/journal. pone. 0024071.
- [17] MAHLKNECHT G, MARON R, MANCINI M, *et al.* Aptamer to ErbB-2/HER2 enhances degradation of the target and inhibits tumorigenic growth[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(20): 8170-8175. DOI: 10. 1073/pnas. 1302594110.
- [18] KOLOVSKAYA O S, ZAMAY T N, ZAMAY A S, *et al.* DNA-aptamer/protein interaction as a cause of apoptosis and arrest of proliferation in ehrlich ascites adenocarcinoma cells[J]. *Biologicheskie Membrany*, 2013, 30(5/6): 398-411. DOI: 10. 7868/S023347551305006X.
- [19] CAMORANI S, ESPOSITO C L, RIENZO A, *et al.* Inhibition of receptor signaling and of glioblastoma-derived tumor growth by a novel PDGFR $\beta$  aptamer[J]. *Molecular Therapy*, 2014, 22(4): 828-841. DOI: 10. 1038/mt. 2013. 300.
- [20] ESPOSITO C L, VAN ROOSBROECK K, SANTAMARIA G, *et al.* Selection of a nuclease-resistant RNA aptamer targeting CD19[J]. *Cancers*, 2021, 13(20): 5220. DOI: 10. 3390/cancers13205220.
- [21] MERAVIGLIA-CRIVELLI D, VILLANUEVA H, MENON A P, *et al.* A pan-tumor-siRNA aptamer chimera to block nonsense-mediated mRNA decay inflames and suppresses tumor progression[J]. *Molecular Therapy-Nucleic Acids*, 2022, 29: 413-425. DOI: 10. 1016/j. omt. 2022. 07. 017.
- [22] KELLY L, KRATSCHEMER C, MAIER K E, *et al.* Improved synthesis and *in vitro* evaluation of an aptamer ribosomal toxin conjugate[J]. *Nucleic Acid Therapeutics*, 2016, 26(3): 156-165. DOI: 10. 1089/nat. 2015. 0599.
- [23] QIAO Yan, SHI Yanli, JI Mengmeng, *et al.* Selection and identification of a prohibitin 2-binding DNA aptamer for tumor tissue imaging and targeted chemotherapy[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 259: 129002. DOI: 10. 1016/j. ijbiomac. 2023. 129002.
- [24] GAO Fei, YIN Jianhui, CHEN Yan, *et al.* Recent advances in aptamer-based targeted drug delivery systems for cancer therapy[J]. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 2022, 10: 972933. DOI: 10. 3389/fbioe. 2022. 972933.
- [25] DUAN Tao, XU Zhuobin, SUN Fumo, *et al.* HPA aptamer functionalized paclitaxel-loaded PLGA nanoparticles for enhanced anticancer therapy through targeted effects and microenvironment modulation[J]. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 2019, 117: 109121. DOI: 10. 1016/j. biopha. 2019. 109121.
- [26] MANOOCHEHRI H, JALALI A, TANZADEHPANAH H, *et al.* Aptamer-conjugated nanoliposomes containing COL1A1 siRNA sensitize CRC cells to conventional chemotherapeutic drugs[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2022, 218: 112714. DOI: 10. 1016/j. colsurf. 2022. 112714.
- [27] MEHRNIA S S, HASHEMI B, MOWLA S J, *et al.* Radiosensitization of breast cancer cells using AS1411 aptamer-conjugated gold nanoparticles[J]. *Radiation Oncology*, 2021, 16(1): 33. DOI: 10. 1186/s13014-021-01751-3.
- [28] WANG Tengfei, LUO Yu, LYU Haiyin, *et al.* Aptamer-based erythrocyte-derived mimic vesicles loaded with siRNA and DOX for the targeted treatment of multidrug resistance tumors[J]. *ACS Applied Materials and Interface*, 2019, 11(49): 45455-45466. DOI: 10. 1021/acsami. 9b16637.
- [29] BOLTZ A, PIATER B, TOLEIKIS L, *et al.* Bi-specific aptamers mediating tumor cell lysis[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2011, 286(24): 21896-21905. DOI: 10. 1074/jbc. M111. 238261.
- [30] ZHU Huijie, LI Jin, ZHANG Xiaobin, *et al.* Nucleic acid aptamer-mediated drug delivery for targeted cancer therapy[J]. *ChemMedChem*, 2014, 10(1): 39-45. DOI: 10. 1002/cmdc. 201402312.
- [31] ZHONG Yi, ZHAO Jiayao, LI Jiazhao, *et al.* Advances of aptamers screened by Cell-SELEX in selection procedure, cancer diagnostics and therapeutics[J]. *Analytical Biochemistry*, 2020, 598: 113620. DOI: 10. 1016/j. ab. 2020. 113620.

(责任编辑: 钱筠 英文审校: 刘源岗)