

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research硼替佐米诱导施万细胞氧化应激与线粒体
依赖性凋亡的机制研究

Research of bortezomib on oxidative stress and apoptosis in RSC96 cells

张 权, 宋彦奇, 王爱迪,
马 霖, 刘宝山

(天津医科大学 总医院 中医科, 天津 300041)

ZHANG Quan, SONG Yan - qi,
WANG Ai - di, MA Lin,
LIU Bao - shan(Department of Traditional Chinese
Medicine, Tianjin Medical University
General Hospital, Tianjin 300041,
China)基金 项目: 国家自然科学基金资助项目
(82305127)作者简介: 张权(1998年-), 男, 硕士研究生,
主要从事中西医结合血液与肿瘤疾
病研究通信作者: 刘宝山, 主任医师, 主要从事中西医
结合血液与肿瘤疾病研究
Tel: (022)60362762
E - mail: liubaoshanzyy@163. com

摘要:目的 探究硼替佐米(BTZ)对施万细胞氧化应激、线粒体损伤和细胞凋亡的影响和机制。方法 体外培养大鼠 RSC96 施万细胞, 用不同浓度硼替佐米处理 RSC96 细胞, 建立硼替佐米损伤的 RSC96 细胞神经毒性模型, CCK - 8 法检测细胞活力, 用倒置显微镜观察各组细胞形态变化, 用 DCFH - DA 和 Hoechst 染色法结合荧光显微镜检测荧光强度以确定细胞活性氧(ROS)产生水平, 用 JC - 1 荧光探针试剂盒检测线粒体膜电位(MMP), 用荧光显微镜检测线粒体通透性转换孔开放程度(MPTP)与 Ca^{2+} 浓度, 用 Annexin V - FITC/PI 双标记法检测细胞凋亡水平, 用 ELISA 法检测炎症因子 TNF - α 、IL - 1β 及 IL - 6 含量。结果 与正常 RSC96 细胞相比, 不同浓度硼替佐米处理后, RSC96 细胞存活率呈剂量依赖性降低, 细胞间隙增大, 数目明显减少, 核固缩, 细胞呈凋亡典型特征。硼替佐米剂量依赖性诱导 RSC96 细胞活性氧爆发, 线粒体膜电位去极化, 细胞 Ca^{2+} 超载, 线粒体通透性转换孔持续开放, RSC96 细胞凋亡率显著升高。结论 硼替佐米通过激活氧化应激 - 线粒体损伤 - 细胞凋亡轴(OMAA)触发施万细胞程序性死亡, 氧化应激和线粒体损伤可能是硼替佐米引起细胞毒性的关键机制, 为 BIPN 的靶向干预提供新靶点。

关键词: 硼替佐米; 施万细胞; 氧化应激; 线粒体损伤; 细胞凋亡**DOI:** 10. 13699/j. cnki. 1001 - 6821. 2025. 19. 008**中图分类号:** R733. 3 **文献标志码:** A**文章编号:** 1001 - 6821(2025)19 - 2741 - 08

Abstract: Objective To investigate the temporal association and molecular mechanism of bortezomib - induced mitochondrial oxidative stress and apoptosis in Schwann cells. **Methods** Rat Schwann RSC96 cells were cultured *in vitro* and treated with different concentrations of bortezomib to establish an *in vitro* model of bortezomib damaged RSC96 cells. The assessment of cell viability was conducted by means of the CCK - 8 method, and the morphological alterations observed in each group of cells were documented through inverted microscope analysis. DCFH - DA and Hoechst staining were combined with fluorescence microscopy to determine the content of reactive oxygen species. JC - 1 staining was used to detect mitochondrial membrane potential level, and the degree of mitochondrial permeability transition pore opening and Ca^{2+} concentration were detected by fluorescence microscope. Annexin V - FITC/PI dual labeling was used to detect cell apoptosis. ELISA was used to detect the levels of inflammatory factors TNF - α , IL - 1β , and IL - 6. **Results** In comparison with the control group, as the bortezomib concentration increased, the viability of RSC96 cells decreased in a

concentration – dependent manner. The cell gap increased, the number of cells decreased significantly, the nucleus solidified, and the cells exhibited typical characteristics of apoptosis. Furthermore, bortezomib induced a reactive oxygen species burst in RSC96 cells in a dose – dependent manner, resulting in depolarization of mitochondrial membrane potential, cytosolic Ca^{2+} overload, continuous opening of the mitochondrial permeability transition pore, and a significant increase in the apoptosis rate of RSC96 cells. **Conclusion** Bortezomib has been shown to induce programmed cell death apoptosis in Schwann cells by activating an axis involving oxidative stress, mitochondrial damage, and subsequent apoptosis. This finding suggests that oxidative stress and mitochondrial damage may represent pivotal mechanisms of bortezomib – induced toxicity, thus providing a novel target for the intervention of BIPN.

Key words: bortezomib; Schwann cells; oxidative stress; mitochondrial damage; apoptosis

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是一种克隆浆细胞异常增殖所致的血液恶性肿瘤,发病率仅次于恶性淋巴瘤,是第2常见的血液系统恶性疾病,占全部恶性肿瘤的1%^[1-2]。MM的核心病理改变为单克隆浆细胞的恶性增殖,从而引发高钙血症、肾功能损害、贫血、及溶骨性病变。此外,M蛋白引发高粘滞血症,同时多克隆免疫球蛋白减少致使反复感染^[3-4]。硼替佐米(bortezomib, BTZ)是一种蛋白酶体抑制剂,是MM的一线治疗药物^[5-7]。BTZ可抑制26S蛋白酶体苏氨酸位点,干扰NF- κ B信号通路,引起肿瘤细胞周期阻滞和凋亡,抑制血管生成,发挥抗肿瘤作用^[8-10]。然而在临床应用过程中,多数MM患者由于BTZ治疗产生相关的剂量限制性外周神经毒性并引发周围神经病变(bortezomib – induced peripheral neuropathy, BIPN)而被迫中断治疗^[11-12],全球Ⅲ期临床试验显示,BIPN发生率高达68%,其中 ≥ 3 级神经毒性导致超过30%患者减量或停药。BIPN以感觉功能障碍为特征,其症状包括神经性疼痛、四肢麻木、感觉异常、感觉丧失、烧灼感等,其中神经性疼痛是最显著的特征^[13-15]。

目前,BIPN潜在的分子机制尚未完全明确。蛋白酶体功能抑制可以引发神经元线粒体中多泛素化蛋白异常蓄积,通过破坏线粒体蛋白稳态诱发跨膜电位丢失,活性氧(reactive oxygen species, ROS)生成显著增加,过量ROS进一步诱导线粒体通透性改变以及电子传递链功能障碍,形成氧化应激 – 线粒体损伤自我强化性病理环路^[16-17]。研究表明,BTZ特异性干扰 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶离子转运功能,导致轴突内 Na^+ 稳态失衡,诱发膜电位持续性去极化,该电生理紊乱可以进一步激活电压门控钙通道,进而加剧BIPN相关痛觉传导异常^[18]。同时,BTZ通过抑制蛋白酶体,使得线粒体中氧化还原失衡,特别是在复合物I和复合物Ⅲ处电子的泄漏增加,导致超氧阴离子和其

他ROS的过量产生。恢复线粒体功能的治疗可以保护BTZ诱导的神经病理性疼痛^[19]。此外,全身给予ROS清除剂可减轻BTZ诱导的机械性痛觉过敏,改善BIPN相关的疼痛症状^[20]。因此,BTZ的应用对神经元线粒体造成损伤,然而BTZ诱导神经毒性的分子机制与线粒体损伤及细胞凋亡的关联仍需系统验证。本研究通过构建BTZ损伤的施万细胞神经毒性模型,首次在施万细胞模型中系统论证与氧化应激 – 线粒体损伤 – 细胞凋亡轴(oxidative stress – mitochondrial dysfunction – apoptosis axis, OMAA)的关系,揭示BTZ通过ROS/MPTP/凋亡信号轴导致轴突退变从而损伤施万细胞。研究结果将为靶向OMAA轴的BIPN治疗策略提供机制导向的干预靶点及转化医学证据。

材料和方法

1 材料

动物 大鼠RSC96施万细胞、细胞培养基购买自武汉普诺赛公司。

试剂 硼替佐米、细胞存活率CCK-8检测试剂盒、线粒体通透性转换孔(MPTP)检测试剂盒、Fluo-4钙离子检测试剂盒以及Annexin V-FITC/PI凋亡检测试剂盒购买于上海碧云天生物技术股份有限公司。细胞活性氧检测试剂、JC-1线粒体膜电位检测试剂均购自北京索莱宝科技有限公司。TNF- α 、IL-1 β 以及IL-6检测试剂盒购自凡科维科技有限公司。

仪器 酶标仪(厂家:BioTek;型号:Synergy Lx);倒置荧光显微镜(厂家:OLYMPUS;型号:OLYMPUS IX71);流式细胞仪(厂家:BD Biosciences;型号:BD LSRFortessa)。

2 方法

2.1 细胞培养、分组与处理

将RSC96细胞系于标准化培养条件下进行扩增,

配置好含 10% FBS 和 1% 青霉素 - 链霉素的 DMEM 培养基,加入培养基将细胞置于 37 ℃、5% CO₂ 培养箱中培养处理,待细胞生长密度约 80% ~ 90% 时,取出细胞用胰蛋白酶消化液消化 3 min,加入全培终止消化后离心得到细胞沉淀,将细胞重悬计数并取适量细胞进行传代,后续取生长良好的 RSC96 细胞进行后续加药干预处理。

2.2 CCK-8 法检测 RSC96 细胞存活率

于 96 孔板中加入 RSC96 细胞 24 h 过夜培养。每孔 3×10^3 个细胞,待细胞贴壁后用不同浓度 BTZ (0.5、10、15、20 nM) 分别处理 RSC96 细胞 24 和 48 h,处理结束后每个孔各加入 CCK-8 溶液 10 μ L,放入细胞培养箱孵育 30 min,孵育结束后立即放入多功能荧光酶标仪测量 450 nm 处的吸光度。CCK-8 法检测细胞活性,筛选出诱导 RSC96 细胞模型的最佳作用时间为 48 h。

2.3 RSC96 细胞数量及一般状态观察

将 RSC96 细胞接种在 6 孔板培养过夜,用 BTZ 处理 48 h 弃去培养液,PBS 洗涤细胞后加入新鲜培养基,于显微镜下观察给药后 RSC96 细胞数量及形态改变并拍照。

2.4 细胞 ROS 含量检测

将 1×10^5 密度 RSC96 细胞接种于 6 孔板中,在含 10% FBS 的高糖 DMEM 培养基中 37 ℃、5% CO₂ 培养 24 h 至完全贴壁。吸弃原培养基,各组分别加入不同浓度 BTZ 溶液 2 mL,处理 48 h。终止处理后去除细胞培养液并用 PBS 清洗 2 次,各孔分别加入 DCFH-DA 及 Hoechst 33342 探针混合液染色。立即将 6 孔板放入 37 ℃ 细胞培养箱内避光孵育 30 min。孵育完成后吸弃探针混合溶液,使用不含血清的细胞培养液清洗各孔中细胞 3 次,使未进入细胞的残留探针液充分去除。完成后立刻使用荧光显微镜进行观察并拍照保存,用 Image J 软件进行后续数据分析。

2.5 JC-1 检测细胞 MMP 改变

取适量 JC-1 母液加入染色缓冲液按比例稀释 JC-1,并用移液器吹打使其充分混匀。BTZ 处理组与对照组细胞经 48 h 暴露后,吸弃培养液,PBS 清洗细胞,加入染色工作液后将其置于 37 ℃ 培养箱中避光孵育 20 min,孵育结束后 JC-1 染色缓冲液清洗 2 次,加入 2 mL 细胞培养液。荧光显微镜下观察红绿荧光强弱并拍照。

2.6 细胞 MPTP 检测

将各组处理后的细胞用 PBS 清洗之后,按

Calcein AM 检测试剂盒说明书配制适当体积的 Calcein AM 染色液和 CoCl₂ 荧光淬灭工作液,向细胞培养瓶中缓慢加入,轻摇培养瓶确保染色液充分接触细胞。随后转移至 37 ℃、5% CO₂ 培养箱进行首次避光孵育 30 min。培养结束后吸除探针孵育液,加入预温至 37 ℃ 的完全培养基,放入培养箱中进行二次孵育 30 min,促使胞内酯酶充分切割 Calcein AM 酯键生成具有膜通透性的荧光素 Calcein。结束后吸除细胞培养基,加入 PBS 清洗残留的探针染色液 2 次,最后加入 MPTP 检测缓冲液充分覆盖细胞。于 30 min 内使用 488 nm 激发光进行荧光成像分析,根据胞质绿色荧光强度量化线粒体通透性转换孔开放水平,其中荧光信号强度与 MPTP 开放度呈负相关。

2.7 细胞内 Ca²⁺ 浓度检测

按说明书配置好 Fluo-4 染液,将各组处理后的细胞吸除原培养基,PBS 清洗细胞 1 次,向 6 孔板中各孔加入配置好的 Fluo-4 染液,将 6 孔板置于 37 ℃ 培养箱中避光孵育 30 min,待孵育结束后,PBS 清洗 1 次,在荧光显微镜下观察染色效果。

2.8 Annexin V-FITC/PI 检测细胞凋亡

BTZ 处理 RSC96 细胞 48 h 后,收集培养液上清至离心管,贴壁细胞经 PBS 清洗 1 次,加入胰蛋白酶-EDTA 消化液 37 ℃ 孵育 2 min。立即用预收集培养上清终止消化,轻柔吹打制成单细胞悬液转移到离心管内,1 000 $\times$ g 离心 5 min,去除上清后收集细胞,用 PBS 重悬细胞并进行计数,调整细胞密度至每毫升 1×10^6 ,后续取 100 μ L 细胞悬液于流式专用管,1 000 $\times$ g 离心 5 min 弃除上清,根据 Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒说明加入试剂轻轻混匀,室温避光孵育 20 min,流式细胞仪上机检测。

2.9 ELISA 试剂盒检测 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 含量

胰蛋白酶消化各组细胞后,收集细胞。加入 ELISA 试剂盒中的细胞裂解液裂解并收集上清液,进行双抗夹心酶联免疫吸附实验,用酶标仪在 450 nm 波长下测定光密度,根据标准品绘制出标准曲线,并计算 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 含量。

4 统计学处理

所有实验均独立重复 3 次。本实验所有数据均通过 Graphpad Prism 10 软件进行分析统计,实验数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间的比较采用单因素方差分析 (ANOVA)。

结 果

1 BTZ 对 RSC96 细胞存活率的影响

根据前期预实验结果,当 BTZ 处理 24 h 后 RSC96 细胞存活率开始下降,当处理 48 h 后 RSC96 细胞存活率下降明显。用不同浓度 BTZ (5、10、15、20 nM) 处理 RSC96 细胞 24 和 48 h,酶标仪检测各孔 OD 值,计算出细胞存活率。结果表明在不同浓度 BTZ 作用下,处理 24 和 48 h 后 RSC96 细胞存活率均呈剂量依赖性降低,见图 1。与对照组相比,BTZ 处理 48 h 后,随着 BTZ 浓度的增加,细胞活力抑制显著,当 BTZ 浓度超过 15 nM 时,细胞活力下降超过 40%。因此确定后续实验 BTZ (5、10、15、20 nM) 处理 48 h 作为实验干预条件。

2 BTZ 对 RSC96 细胞一般状态的影响

RSC96 细胞是原代培养的大鼠施万细胞经长时间培养后自发转化而成的。镜下观察对照组细胞贴壁生长,细胞状态良好,细胞生长密集,形态均一,呈圆形或椭圆形。与对照组相比,随着 BTZ 浓度增加,细胞形态发生明显改变,细胞间隙较前明显增大,细胞碎片增多,细胞密度呈剂量依赖性下降,表明 BTZ 能够影响 RSC96 细胞正常形态,见图 2。

3 BTZ 对 RSC96 细胞内 ROS 水平的影响

本研究探讨 BTZ 会引起细胞内产生过多的活性氧自由基,造成细胞氧化损伤,为了验证 BTZ 对 RSC96 细胞是否造成氧化损伤进行 ROS 水平检测。结果显示,与对照组相比,随着 BTZ 剂量的增加,RSC96 细胞内绿色荧光强度升高,表明细胞内 ROS 产

生增加,见图 3,BTZ 引起 RSC96 细胞发生氧化损伤,并从 15 nM 剂量开始,细胞内发生氧化损伤较为明显。

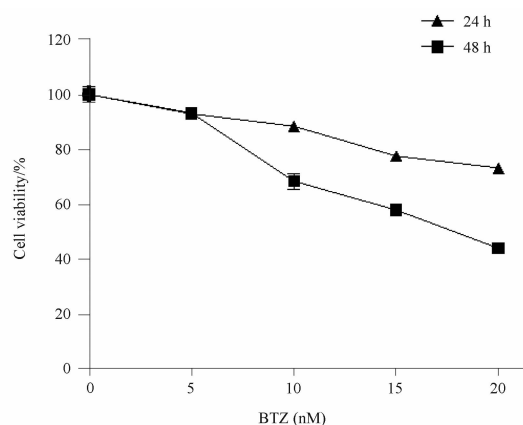


图 1 BTZ 处理对 RSC96 细胞存活率的影响

Figure 1 Effect of BTZ on the viability of RSC96 cells

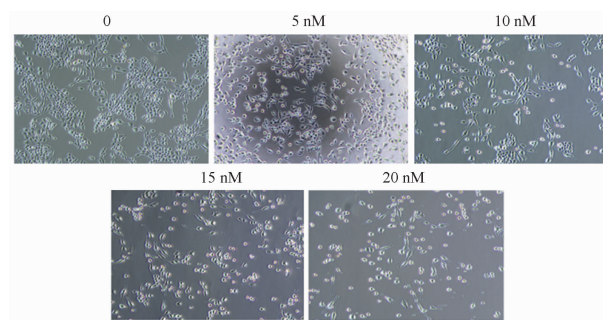


图 2 Effect of BTZ on the morphology of RSC96 cells (magnification $\times 100$)

Figure 2 BTZ 处理 48 h 对 RSC96 细胞形态的影响(放大倍数 $\times 100$)

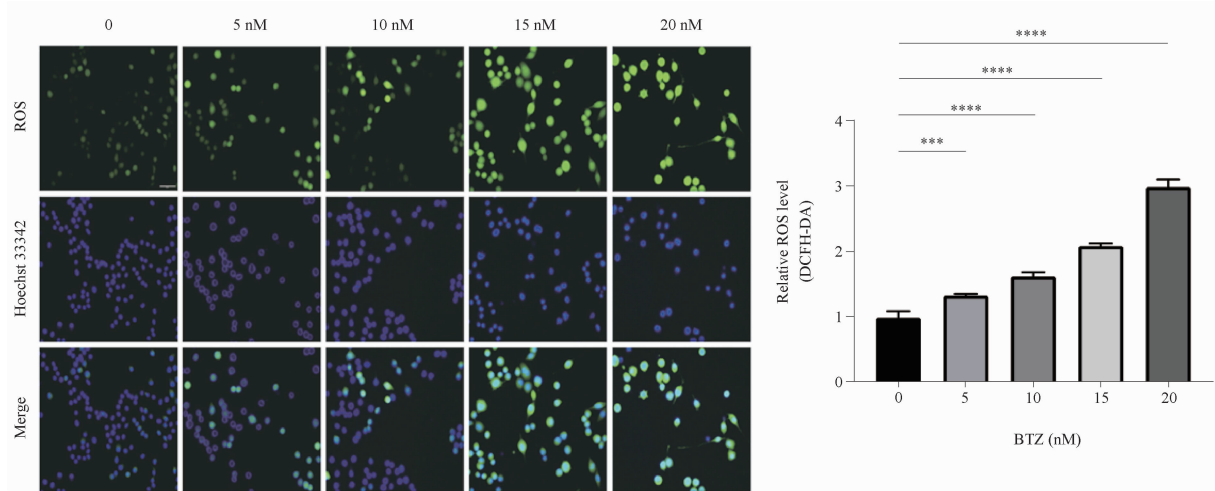


图 3 BTZ 处理 48 h 对 RSC96 细胞内 ROS 的影响(放大倍数 $\times 200$,标尺 50 μm)

Figure 3 Effect of BTZ on intracellular ROS levels in RSC96 cells (magnification $\times 200$, ruler 50 μm)

Compared with 1 nM. *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$.

4 BTZ 对 RSC96 细胞 MMP 水平的影响

对照组 RSC96 细胞线粒体膜电位红色荧光比较明显;与对照组相比,随着 BTZ 浓度的增加,绿色荧光显著增多,见图 4,细胞红/绿荧光比率降低,表明细胞 MMP 水平降低。

5 BTZ 对 RSC96 细胞 MPTP 开放程度的影响

与对照组相比,BTZ 处理后绿色荧光亮度随着 BTZ 浓度的增加显著减少,见图 5,表明 MPTP 的开放度明显增加。

6 BTZ 对 RSC96 细胞 Ca^{2+} 含量的影响

与对照组相比,随着 BTZ 浓度的增加,细胞内绿色荧光强度明显增加,表明细胞中 Ca^{2+} 含量显著增多,见图 6,表明 BTZ 诱导 Ca^{2+} 在细胞内蓄积。

7 BTZ 对 RSC96 细胞凋亡率的影响

与对照组相比,BTZ 处理后细胞凋亡率升高;并且随着 BTZ 浓度的增加细胞凋亡率呈显著上升趋势,见图 7,表明 BTZ 处理诱导 RSC96 细胞凋亡。

8 BTZ 对 RSC96 细胞炎症因子的影响

BTZ 处理 RSC96 细胞产生的过多的活性氧自由基可引发一系列炎症反应,进行促炎因子 $\text{TNF}-\alpha$ 、 $\text{IL}-1\beta$ 、 $\text{IL}-6$ 检测。与对照组相比,随着 BTZ 浓度增加,细胞 $\text{TNF}-\alpha$ 、 $\text{IL}-1\beta$ 、 $\text{IL}-6$ 分泌量均增多,见图 8,表明在 BTZ 的刺激下细胞产生了炎症反应,释放出炎症因子,细胞发生炎症损伤。

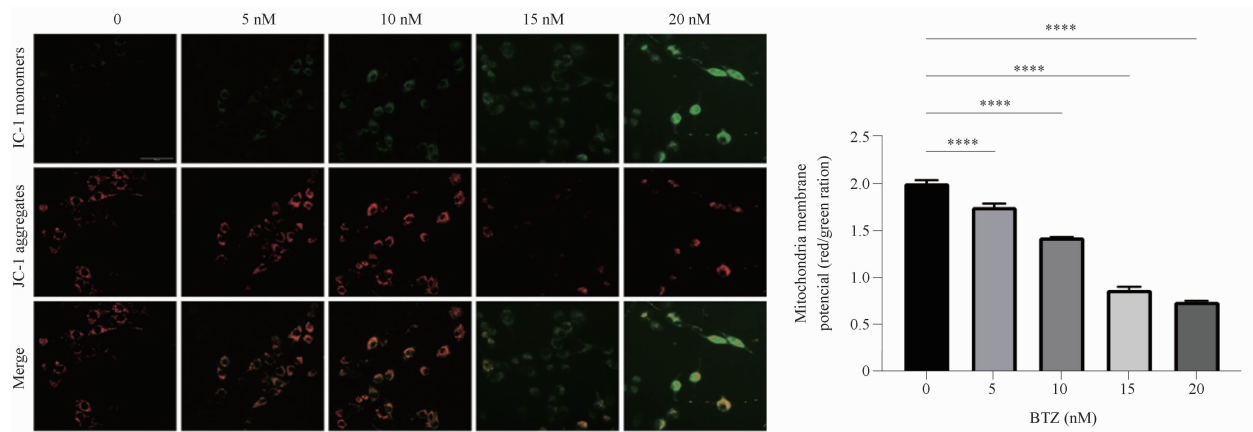


图 4 BTZ 处理 48 h 对 RSC96 细胞内 MMP 的影响(放大倍数 $\times 200$, 标尺 $50 \mu\text{m}$)

Figure 4 Effect of BTZ on MMP levels in RSC96 cells (magnification $\times 200$, ruler $50 \mu\text{m}$)

Compared with 0 nM, **** $P < 0.0001$.

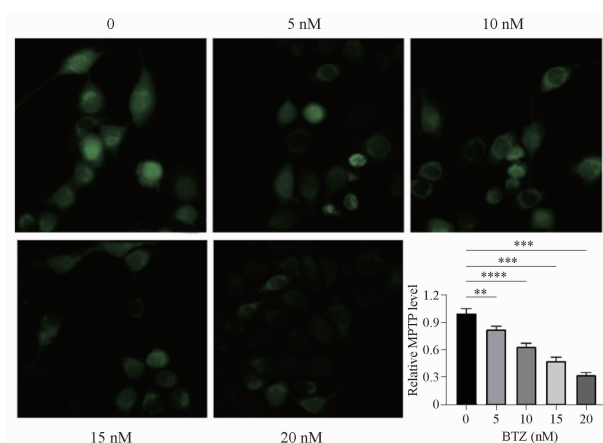


图 5 BTZ 处理 48 h 对 RSC96 细胞内 MPTP 开放程度的影响(放大倍数 $200\times$, 标尺 $50 \mu\text{m}$)

Figure 5 Effect of BTZ on MPTP opening in RSC96 cells. (magnification $200\times$, ruler $50 \mu\text{m}$)

注:与对照组相比, ** $P < 0.01$, **** $P < 0.0001$

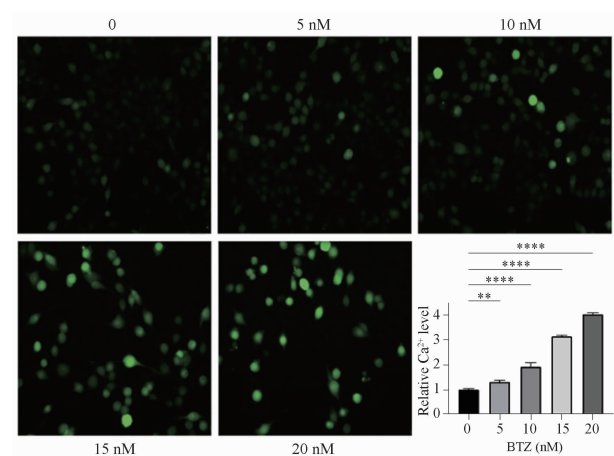


图 6 BTZ 处理 48 h 对 RSC96 细胞内 Ca^{2+} 含量的影响(放大倍数 $200\times$, 标尺 $50 \mu\text{m}$)

Figure 6 Effect of BTZ on Ca^{2+} content of RSC96 cells (magnification $200\times$, ruler $50 \mu\text{m}$)

注:与对照组相比, ** $P < 0.01$, **** $P < 0.0001$

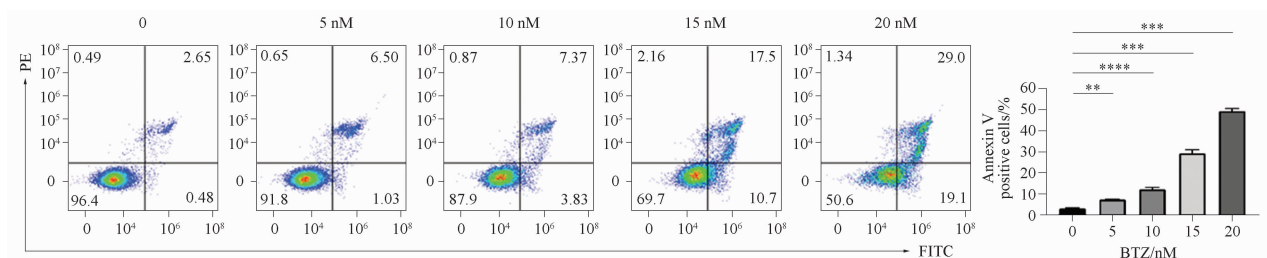


图7 BTZ处理48 h对RSC96细胞总凋亡率的影响

Figure 7 Effect of BTZ on apoptosis rate of RSC96 cells

Compared with 0 nM, * $P < 0.01$, *** $P < 0.0001$.

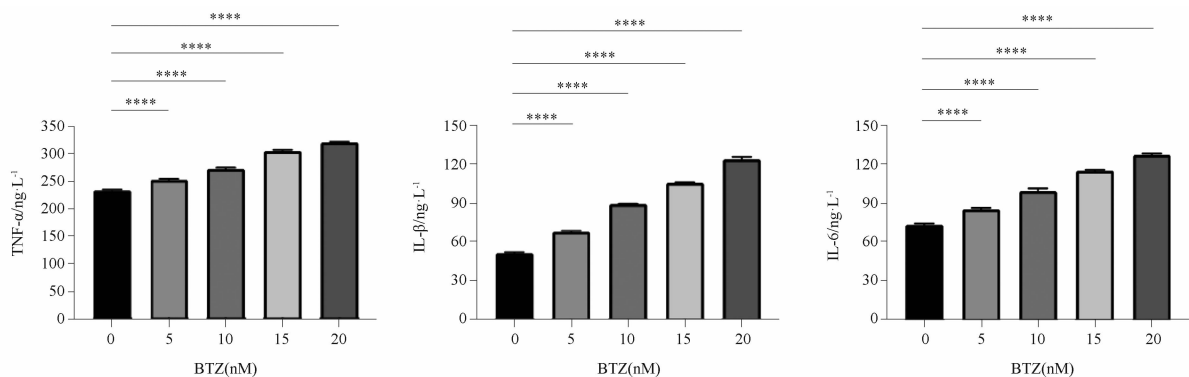


图8 BTZ处理48 h对RSC96细胞炎症因子水平的影响

Figure 8 Effect of BTZ on inflammatory factors in RSC96 cells

Compared with 0 nM, *** $P < 0.0001$.

讨论

BTZ作为特异性26S蛋白酶体抑制剂,在血液系统恶性肿瘤治疗中展现出显著疗效。然而,其剂量限制性并发症BIPN已成为制约临床用药的关键因素。数据显示,高达60%的接受标准剂量BTZ治疗的患者出现 ≥ 2 级BIPN,迫使临床采取剂量调整或间断给药策略,直接导致治疗应答率下降37.5%,无进展生存期缩短至8.2个月(*vs.* 正常治疗组14.6个月)。目前,对BIPN的神经毒性机制还尚未完全阐明,但可能涉及泛素化蛋白异常蓄积、神经元与轴突病变、线粒体及内质网损伤、氧化应激、微管动力学紊乱及离子通道异常等多种机制及病理改变^[21-23]。本研究所证实的氧化应激-线粒体功能障碍-细胞凋亡轴可能是阐明BTZ神经毒性机制的一个新的发现。

BTZ治疗可导致周围神经系统(peripheral nervous system, PNS)的形态学异常,虽然BTZ由于血脑屏障不能渗透到中枢神经系统(CNS),但它在背根

神经节(DRG)积聚并引起神经毒性^[24-25]。在DRG中积累后,BTZ间接导致中枢神经系统功能障碍,包括神经胶质激活、谷氨酸稳态破坏和炎症。观察到施万细胞的增大,这可能与其线粒体的损伤有关。线粒体既是细胞ROS的生成的重要来源,同时也是细胞氧化损伤的靶点。ROS是细胞正常代谢过程中不可避免的产物^[26],正常生理情况下,ROS的产生和清除处于平衡状态,当线粒体受损时,ROS过度产生,异常堆积,过量的ROS会加重线粒体氧化应激,导致线粒体膜电位异常,MPTP呈持续开放状态,导致Ca²⁺过载,形成恶性循环,最终发生细胞损伤或细胞凋亡^[27-28]。抗氧化剂N-乙酰半胱氨酸可减轻这种处理的细胞毒性作用^[29]。神经炎症通过靶向调控DRG病理重塑介导BIPN的痛觉敏化进程。BTZ激活DRG神经元NF- κ B信号通路,促进炎症因子TNF- α 与IL-6的上调,而应用NF- κ B抑制剂(如BAY11-7082)可显著抑制BIPN进展^[30-32]。本研究以BTZ处理的RSC96细胞作为BIPN体外模型,使用不同浓度(0、5、10、15、20 nM)BTZ处理RSC96细胞48 h,从而探究BTZ对RSC96细胞的氧化应激和细胞凋亡的影响,实验结果显示随着BTZ浓度的增加,RSC96细胞

活力降低,ROS 含量明显高于对照组,表明细胞处于氧化应激状态;且与对照组相比,BTZ 处理组 MMP 水平下降、MPTP 开放度明显增加、Ca²⁺ 水平升高,最终导致细胞凋亡。

在 BIPN 的病理机制研究中,线粒体氧化应激与炎症反应是周围神经病变发生的主要机制之一。本研究结果表明 BTZ 处理导致 RSC96 细胞氧化应激和细胞凋亡,初步探讨了 BIPN 的可能发生机制,为揭示 BTZ 引发施万细胞氧化应激-线粒体损伤-细胞凋亡轴改变导致神经毒性机制提供了体外实验依据。NF- κ B 信号通路作为主要的炎症反应通路之一,是否在 BIPN 的发病过程中对施万细胞凋亡发生了调控作用尚不明确,值得后续进一步研究。

参考文献:

- [1] COWAN A J, GREEN D J, KWOK M, *et al.* Diagnosis and management of multiple myeloma: A review [J]. *The Journal of the American Medical Association*, 2022, 327(5): 464—477.
- [2] RAJKUMAR S V. Multiple myeloma: 2024 update on diagnosis, risk-stratification, and management [J]. *American Journal of Hematology*, 2024, 99(9): 1802—1824.
- [3] CULLIS J. Haematology: Multiple myeloma [J]. *Clinical Medicine*, 2019, 19(2): 188.
- [4] YANG Y, LI J, WANG W, *et al.* The evolving diagnosis and treatment paradigms of multiple myeloma in China: 15 years' experience of 1256 patients in a national medical center [J]. *Cancer Medicine*, 2023, 12(8): 9604—9614.
- [5] YAMAMOTO S, EGASHIRA N. Pathological mechanisms of bortezomib-induced peripheral neuropathy [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(2): 888.
- [6] ALI M U, MAQSOOD S, MALIK M, *et al.* Central nervous system involvement in Multiple Myeloma - Diagnosis, treatment and outcome: A case report [J]. *The Journal of the Pakistan Medical Association*, 2021, 71(11): 2659—2661.
- [7] CENGİZ SEVAL G, BEKSAC M. The safety of bortezomib for the treatment of multiple myeloma [J]. *Expert Opinion on Drug Safety*, 2018, 17(9): 953—962.
- [8] GOLDBERG A L. Development of proteasome inhibitors as research tools and cancer drugs [J]. *The Journal of Cell Biology*, 2012, 199(4): 583—588.
- [9] SONNEVELD P, DIMOPOULOS M A, BOCCADORO M, *et al.* Daratumumab, bortezomib, lenalidomide, and dexamethasone for multiple myeloma [J]. *The New England Journal of Medicine*, 2024, 390(4): 301—313.
- [10] GONZÁLEZ-CALLE V, RODRÍGUEZ-OTERO P, SUREDA A, *et al.* Selinexor, daratumumab, bortezomib and dexamethasone for the treatment of patients with relapsed or refractory multiple myeloma: Results of the phase II, nonrandomized, multicenter GEM-SELIBORDARA study [J]. *Haematologica*, 2024, 109(7): 2219—2228.
- [11] ZHOU X, HAN S, CEBULLA N, *et al.* Bortezomib induced peripheral neuropathy and single nucleotide polymorphisms in PKNX1 [J]. *Biomarker Research*, 2023, 11(1): 52.
- [12] ŁUCZKOWSKA K, ROGIŃSKA D, KULIG P, *et al.* Bortezomib-induced epigenetic alterations in nerve cells: Focus on the mechanisms contributing to the peripheral neuropathy development [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(5): 2431.
- [13] MOREAU P, ATTAL M, HULIN C, *et al.* Bortezomib, thalidomide, and dexamethasone with or without daratumumab before and after autologous stem-cell transplantation for newly diagnosed multiple myeloma (CASSIOPEIA): A randomised, open-label, phase 3 study [J]. *Lancet*, 2019, 394(10192): 29—38.
- [14] LEE S E, CHOI K, HAN S, *et al.* Bortezomib pharmacokinetics in tumor response and peripheral neuropathy in multiple myeloma patients receiving bortezomib-containing therapy [J]. *Anti-Cancer Drugs*, 2017, 28(6): 660—668.
- [15] LI T, TIMMINS HC, KING T, *et al.* Characteristics and risk factors of bortezomib induced peripheral neuropathy: A systematic review of phase III trials [J]. *Hematological Oncology*, 2020, 38(3): 229—243.
- [16] JANES K, DOYLE T, BRYANT L, *et al.* Bioenergetic deficits in peripheral nerve sensory axons during chemotherapy-induced neuropathic pain resulting from peroxynitrite-mediated post-translational nitration of mitochondrial superoxide dismutase [J]. *Pain*, 2013, 154(11): 2432—2440.
- [17] MAHARJAN S, OKU M, TSUDA M, *et al.* Mitochondrial impairment triggers cytosolic oxidative stress and cell death following proteasome inhibition [J]. *Scientific Reports*, 2014, 4: 5896.
- [18] STAFF N P, PODRATZ J L, GRASSNER L, *et al.* Bortezomib alters microtubule polymerization and axonal transport in rat dorsal root ganglion neurons [J]. *Neurotoxicology*, 2013, 39 期: 124—131.
- [19] SABIRZHANOV B, LI Y, COLL-MIRO M, *et al.* Inhibition of NOX2 signaling limits pain-related behavior and improves motor function in male mice after spinal cord injury: Participation of IL-10/miR-155 pathways [J]. *Brain, Behavior, and Immunity*, 2019, 80 期: 73—87.
- [20] CHO K J, TRZASKA KA, GRECO S J, *et al.* Neurons derived from human mesenchymal stem cells show synaptic transmission and can be induced to produce the neurotransmitter substance P by interleukin-1 α [J]. *Stem Cells*, 2005, 23(3): 383—391.
- [21] OHSHIMA-HOSOYAMA S, DAVARE M A, HOSOYAMA T, *et al.* Bortezomib stabilizes NOXA and triggers ROS-associated apoptosis in medulloblastoma [J]. *Journal of Neuro-Oncology*, 2011, 105(3): 475—483.
- [22] CAVALETTI G, GILARDINI A, CANTA A, *et al.* Bortezomib-induced peripheral neurotoxicity: A neurophysiological and pathological study in the rat [J]. *Experimental Neurology*, 2007, 204(1): 317—325.
- [23] TANG Y, GU W, CHENG L. Evodiamine attenuates oxidative stress and ferroptosis by inhibiting the MAPK signaling to improve bortezomib-induced peripheral neurotoxicity [J]. *Environmental*

- Toxicology, 2024, 39(3):1556—1566.
- [24] MEREGALLI C, CHIORAZZI A, CAROZZI V A, *et al.* Evaluation of tubulin polymerization and chronic inhibition of proteasome as cytotoxicity mechanisms in bortezomib - induced peripheral neuropathy [J]. *Cell Cycle*, 2014, 13(4):612—621.
- [25] DIEZI M, BUCLIN T, KUNTZER T. Toxic and drug - induced peripheral neuropathies: Updates on causes, mechanisms and management [J]. *Current Opinion in Neurology*, 2013, 26(5):481—488.
- [26] HERNANSANZ - AGUSTÍN P, ENRÍQUEZ J A. Generation of reactive oxygen species by mitochondria [J]. *Antioxidants*, 2021, 10(3):415.
- [27] BERTERO E, MAACK C. Calcium signaling and reactive oxygen species in mitochondria [J]. *Circulation Research*, 2018, 122(10):1460—1478.
- [28] DAN DUNN J, ALVAREZ L A, ZHANG X, *et al.* Reactive oxygen species and mitochondria: A nexus of cellular homeostasis [J]. *Redox Biology*, 2015, 6:472—485.
- [29] STASKIEWICZ A, WONG E, TUCKER M, *et al.* Cytotoxic and apoptotic effects of pinostilbene and bortezomib combination treatment on human multiple myeloma cells [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(16):12590.
- [30] ALÉ A, BRUNA J, CALLS A, *et al.* Inhibition of the neuronal NF κ B pathway attenuates bortezomib - induced neuropathy in a mouse model [J]. *Neurotoxicology*, 2016, 55:58—64.
- [31] ZHAO W, WANG W, LI X, *et al.* Peripheral neuropathy following bortezomib therapy in multiple myeloma patients: Association with cumulative dose, heparanase, and TNF - α [J]. *Annals of Hematology*, 2019, 98(12):2793—2803.
- [32] ZHANG J, SU Y M, LI D, *et al.* TNF - α - mediated JNK activation in the dorsal root ganglion neurons contributes to bortezomib - induced peripheral neuropathy [J]. *Brain, Behavior, and Immunity*, 2014, 38期:185—191.
- (收稿日期 2025 - 03 - 06)

· 科学文摘 ·

一种新的用于胶质瘤治疗的纳米体驱动 蛋白冠状调节的双靶向策略

引自:ZHANG Y, *et al.* A novel dual - targeting strategy of nanobody - driven protein corona modulation for glioma therapy [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2025, 15(9):4917—4931.

四川大学宋相容团队提出了一种基于纳米抗体调控蛋白冠生成的新型双重靶向策略,可用于胶质瘤治疗。研究人员将抗纤维蛋白原纳米抗体修饰到载有疏水性顺铂前药的脂质纳米颗粒表面,形成纳米抗体。进入体循环后,该纳米抗体可高效特异地吸附血浆中的纤维蛋白原,形成独特的蛋白冠。该蛋白冠进一步与血脑屏障和胶质瘤细胞上高表达的低密度脂蛋白受体相关蛋白1?受体结合,利用“搭便车效应”,高效跨越血脑屏障并精确靶向肿瘤病灶。上述研究为胶质瘤治疗提供了新的思路,并展示了调控脂质纳米颗粒表面的蛋白冠生成在脑肿瘤以及其他脑部疾病治疗中的巨大潜力。