

# 2022 年臺灣國際科學展覽會 優勝作品專輯

作品編號 090008

參展科別 醫學與健康科學

作品名稱 利用鐵鉑奈米粒子做為新穎藥物來治療對於標  
靶藥物產生抗藥性之肺癌細胞及其死亡機制

得獎獎項

就讀學校 屏東縣立枋寮高級中學

指導教師 蔡宗霖、李承典

作者姓名 陳柏玄、張銘栩、陳喆歲

關鍵詞 鐵鉑奈米粒子、標靶藥物抗性、肺癌細胞

## 作者簡介



陳喆崙、張銘栩、陳柏玄(從左而右)

我們來自屏東縣立枋寮高中，身在偏遠地區的學校，能有這樣的機會進入研究室進行科學實驗著實是一個難能可貴的經驗，這兩年多的實驗點滴、經歷及過程都在我們的高中生涯中佔了非常大的份量，有幸能夠站在臺灣國際科展的舞台上，一切都要感謝帶領我們的指導教授以及老師的不辭辛勞。

## 摘要

癌症已巖然成為全球人類最難克服的一種疾病，而其中治療後對於藥物產生抗藥性的難題，依然是一個很難突破的瓶頸。因此於本研究中，我們將利用鐵鉑 (FePt) 奈米粒子來當成一新穎的治療方式，並觀察在具有對標靶藥物 Gefitinib(GEF)產生抗藥性的肺癌細胞中，是否可以產生毒殺的效果。我們從感應耦合電漿光學發射光譜儀(ICP-OES)的結果中發現，具有標靶抗藥性的肺癌細胞 GR+對比不具抗性的 HCC827 細胞，會有著較高的奈米粒子吞噬量，並從細胞群落形成試驗(Colony formation assay)中觀察到，GR+細胞在接受奈米粒子後開始走向死亡，並伴隨活性氧化物質的產生。進而從西方墨點法的實驗結果中發現，GR+細胞的死亡機制為鐵凋亡(Ferroptosis)，綜觀以上結果，我們發現鐵鉑奈米粒子確實具有成為克服標靶藥物抗性藥物的潛力。

## Abstract

Cancer is become a leading cause of death worldwide. Drug resistance continues to be the principal bottleneck for clinical cancer treatment. In this study, using iron platinum alloy nanoparticles (FePt NPs) as a novel strategy to induce cellular cytotoxicity and overcome the resistance in Gefitinib, a tyrosine kinase inhibitor (TKI), resistant lung cancer cells was processed. According to the result acquired from Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy (ICP-OES), GR+ cells, more resistant to Gefitinib, exhibited higher cellular uptake of nanoparticles then parent HCC827 cells was found. Furthermore, by using colony formation assay, the survival of GR+ cells were declined after FePt NPs treatment which accompanied with the generation of reactive oxygen species (ROS). Meanwhile, the death mechanism in FePt NPs treated GR+ cells was also identified as ferroptosis by western blotting assay. Collectively, these findings suggested that FePt NPs exhibited great potential to become a nanodrug to overcome TKI resistance in lung cancer.

# 壹、前言

## 一、研究動機

近幾十年來，肺癌一直高居我國癌症死因榜首，嚴然已成為我們「台灣的新國病」，每年約有 1.5 萬人新確診且六成已是末期，導致存活率大大降低[1]。現在臨床醫療針對癌症疾病已經有許多對抗的方法，除了早期的手術摘除或是合併化學及放射線治療外，亦有許多新的治療手法被發展出，其中傳統的治療手法，因為常伴隨著許多不良的副作用及不適感，往往使病人卻步而延誤就醫，但隨著醫療技術的發展及藥物的開發，新一代標靶藥物(TKI)的開發著實給了醫療人員新的利器，可惜的是隨著癌症的演進，雖然目前標靶藥物已經發展到第三代，但是病人癌細胞突變演化的速度遠大於人們發現抗藥性及測試藥物的速度，導致接受標靶藥物治療的病人後續依然會產生抗藥性而導致效果不佳[2]，且不是每個病患都適用標靶藥物，所以我們想要找出其他藥物來對抗已經有抗藥性的肺癌細胞。近年來，奈米技術在醫學上的應用廣泛，相較於其他的抗癌藥物，奈米級的藥物有其發展性與獨特性，不僅具備特殊的物理特徵可被用來當成顯影[3]或增敏劑[4]外，亦可利用其巨大的體表面積比來當成藥物攜帶的載體，因此本研究希望透過探討鐵鉑合金奈米粒子的給予，來探討是否能夠應用於克服產生標靶藥物抗性的肺癌治療相關研究上。

## 二、研究目的

- (一) 確認不同肺癌細胞對於標靶藥物的抗藥性程度。
- (二) 觀察比較具不同抗藥性的肺癌細胞對於 FePt 奈米粒子吞噬量的差異。
- (三) 觀察 FePt 奈米粒子對於具不同抗藥性的肺癌細胞是否會造成死亡。
- (四) 解析 FePt 奈米粒子造成細胞死亡的機制。

## 貳、研究過程或方法

### 壹、研究設備及器材

#### (一) 藥品及材料

##### 1. 6-7nm FePt nanoparticle synthesis

- (1) 乙醯丙酮鉑(II) (Platinum(II) acetylacetonate)
- (2) 1,2-十六烷二醇
- (3) 油胺(Oleylamine)
- (4) 油酸(Oleic acid)
- (5) 二辛基醚(Dioctyl ether)
- (6) 五羰基鐵( $\text{Fe}(\text{CO})_5$ )
- (7) 半胱胺(Cysteamine)

##### 2. Cell sub-culture

- (1) 培養基(RPMI medium)
- (2) 磷酸鹽緩衝生理鹽水 1x PBS (for cell culture)
- (3) 胰蛋白酶(1x 0.05% Trypsin-EDTA)
- (4) 胎牛血清 FBS (Fetal bovine serum)
- (5) 青黴素/鏈黴素雙抗生素 P/S (Penicillin & Streptomycin)
- (6) 標靶藥物(Gefitinib)

##### 3. MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay

- (1) MTT (3-[4,5-Dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide)
- (2) DMSO

##### 4. Western blot

- (1) 蛋白質裂解液 Lysis buffer: (RIPA buffer)
- (2) Protease inhibitors tablet (Roche)
- (3) Loading buffer: 6x Sample buffer
- (4) Bio-Rad Protein assay buffer
- (5) Running buffer (pH8.3)
- (6) Transfer buffer (pH8.3)
- (7) Tris-buffered saline with Tween 20 (TBST) buffer

- (8) Blocking buffer (5% non-fat milk)
- (9) SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis) Gel  
(Resolving Gels and 5% Stacking Gels: 30% Acrylamide/Bis (29:1) 、 Tris pH8.8,  
tris pH6.8, 10% SDS 、 TEMED 、 APS)
- (10) ECL substrate solution
- (11) Polyvinylidene fluoride (PVDF) membrane
- (12) Kodak films

## (二) 設備及器材

### 1. 6-7nm FePt nanoparticle synthesis

- (1) 攪拌器
- (2) 控溫器
- (3) 碗型加熱包
- (4) 三口燒瓶
- (5) 逆流冷凝管。

### 2. Cell sub-culture

- (1) 細胞培養皿
- (2) 37°C培養箱
- (3) 無菌操作台
- (4) 離心管
- (5) 無菌過濾膜
- (6) 電子天秤
- (7) 酸鹼度測定儀
- (8) 恆溫水浴槽
- (9) 混合震盪器
- (10) 桌上型離心機
- (11) 倒立式相位差顯微鏡
- (12) 高速離心機

### 3. MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay

- (1) 96 孔盤
- (2) Thermo Scientific Multiskan EX reader (酵素免疫測讀機)

### 4. Western blot

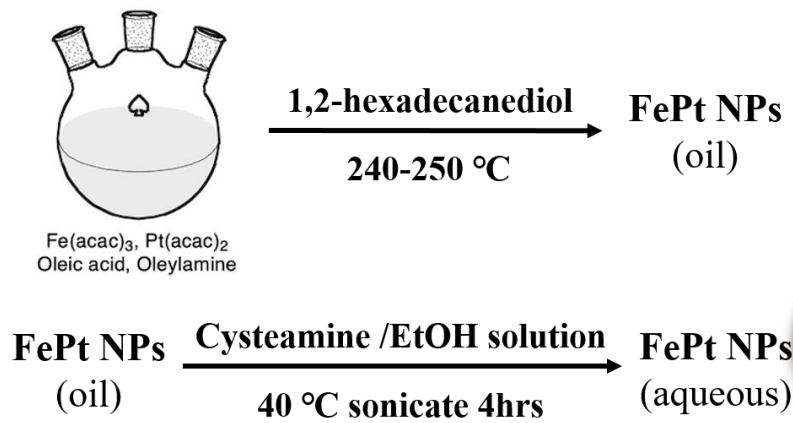
- (1) 微量吸管分注器 (Pipette)
- (2) 電動吸管 (pipette aid)
- (3) SDS-PAGE 電泳槽
- (4) Bio-Rad 迷你濕式轉漬槽
- (5) 洗片機

## 貳、研究過程或方法

### (一) FePt 奈米粒子合成

奈米藥物以化學合成法合成。Platinum (II) acetylacetonate、1, 2-hexadecandiol、Oleylamine、Oleic acid、Diocetyl ether、Iron pentacarbonyl 依序加入三口燒瓶中，持續以磁石攪拌。在氮氣環境中，以每分鐘 15°C 升溫至 240°C，維持 30 分鐘後，自然冷卻到室溫。收集混合溶液，以正己烷(Hexane)/乙醇(EtOH)清洗三次，真空抽氣，將有機溶液抽至乾燥，室溫保存。





**FePt 奈米粒子合成示意圖**

## (二) 細胞培養(Cell culture)

RPMI-1640 粉狀培養基溶於去離子純水(900  $\mu\text{l}$ )，加入 2g  $\text{NaHCO}_3$  混合均勻，調整 pH 值至 7.2，最後補水至 1 公升。通過 0.22  $\mu\text{m}$  的無菌過濾膜過濾，再加入 5% 胎牛血清(Fetal Bovine Sera, FBS)及 1% 抗生素(penicillin-streptomycin)，混合後保存於 4 $^\circ\text{C}$  冰箱。

繼代培養: 移除 medium，以 PBS 緩衝液沖洗一次，加入 0.05% Trypsin-EDTA 浸潤培養皿，並置於 37 $^\circ\text{C}$  反應 1 分鐘後，加等量的 medium 終止 Trypsin 作用。並將細胞液移至離心管中 1200 rpm, 3 分鐘離心。去除上清液，加入適量 medium，將細胞均勻打散。取適量細胞懸浮液計數，將細胞懸浮液均勻種至新的培養皿，培養於 37 $^\circ\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  環境。

## (三) 細胞存活率(MTT)試驗

先將細胞培養於 96 孔盤中，每孔接種 3000 顆細胞，培養於 5%  $\text{CO}_2$ 、37 $^\circ\text{C}$  培養箱。待隔日細胞貼合後，依序加入不同濃度 FePt 奈米粒子作用 24 小時，於每孔洞加入最終濃度為 0.5 mg/mL MTT solution 反應兩小時，移去 medium，加入 200 $\mu\text{l}$  DMSO，放置酵素免疫測讀機分析，震盪 5 分鐘，OD<sub>490nm</sub> 偵測各孔的吸光值。

## (四) 細胞群落形成試驗 (colony forming assay)

分別每孔洞種入  $2 \times 10^5$  細胞於 6 well plate 培養盤，待隔日細胞貼合後，依序加入不同濃度 FePt 奈米藥物作用 24 小時。爾後將細胞以 trypsin 作用，取適量細胞懸浮液計數 1500 顆細胞，將細胞回種至 10cm 培養皿，培養於 37 $^\circ\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  環境，約 8~9 日，直到細胞群落形成適當的大小。最後以 methanol/冰醋酸混合的固定液作用兩個小時，再以 0.5% crystal violet 染色兩個小時。以去離子水將多餘染劑洗去，掃描存檔。實驗以 ImageJ 軟體分析細胞群落大小。



## (五) 流式細胞儀(flow cytometry)分析試驗

將 GR+細胞種  $2 \times 10^5$  在 6 well plate 培養 24 小時，於隔天加入 FePt 奈米粒子(1.0 mg/mL) 後分別作用 0.5、1.0、2.0 及 4.0 小時，等時間到後，利用 Trypsin 將細胞打成懸浮狀態，並加入 10  $\mu$ M 的 H2DCFDA 於低溫 4 度下避光染色 30 分鐘，之後使用冰的 1 X PBS 洗滌細胞 3 次，回溶成 500  $\mu$ l 細胞懸浮液利用流式細胞儀上偵測活性氧化物質(ROS)的生成量。

## (六) 西方墨點(western blotting)分析法

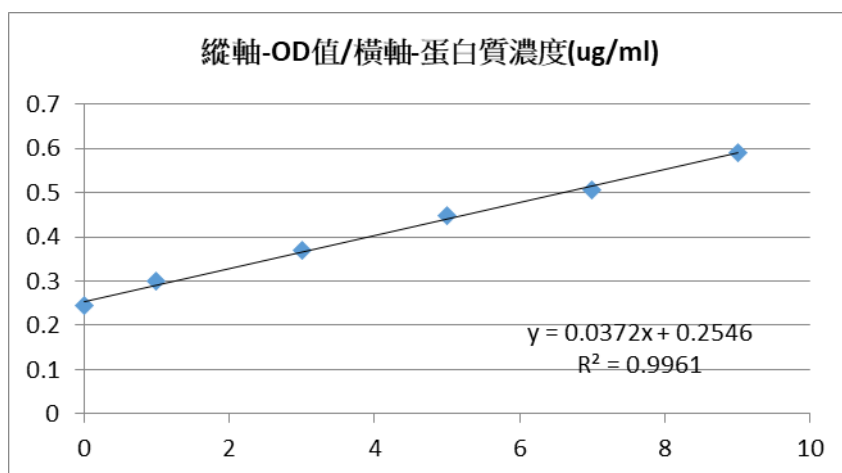
以 PBS 沖洗細胞，6cm 培養皿加入 40  $\mu$ l RIPA buffer，刮杓刮下細胞後，放在冰上作用 30 分鐘，以 13000 rpm 離心 15 分鐘，取出上清液，以 Bio-Rad protein assay buffer 定量蛋白質濃度。

取 40 $\mu$ g 蛋白混合 6X protein loading dye，在乾浴機上 100 °C 加熱 10 分鐘使蛋白變性。將定量的蛋白質及 protein marker 注入 8~12% SDS-PAGE 電泳膠片槽溝中，以 100 伏特電壓電泳約 90 分鐘，直至不同分子量大小的蛋白質分離。

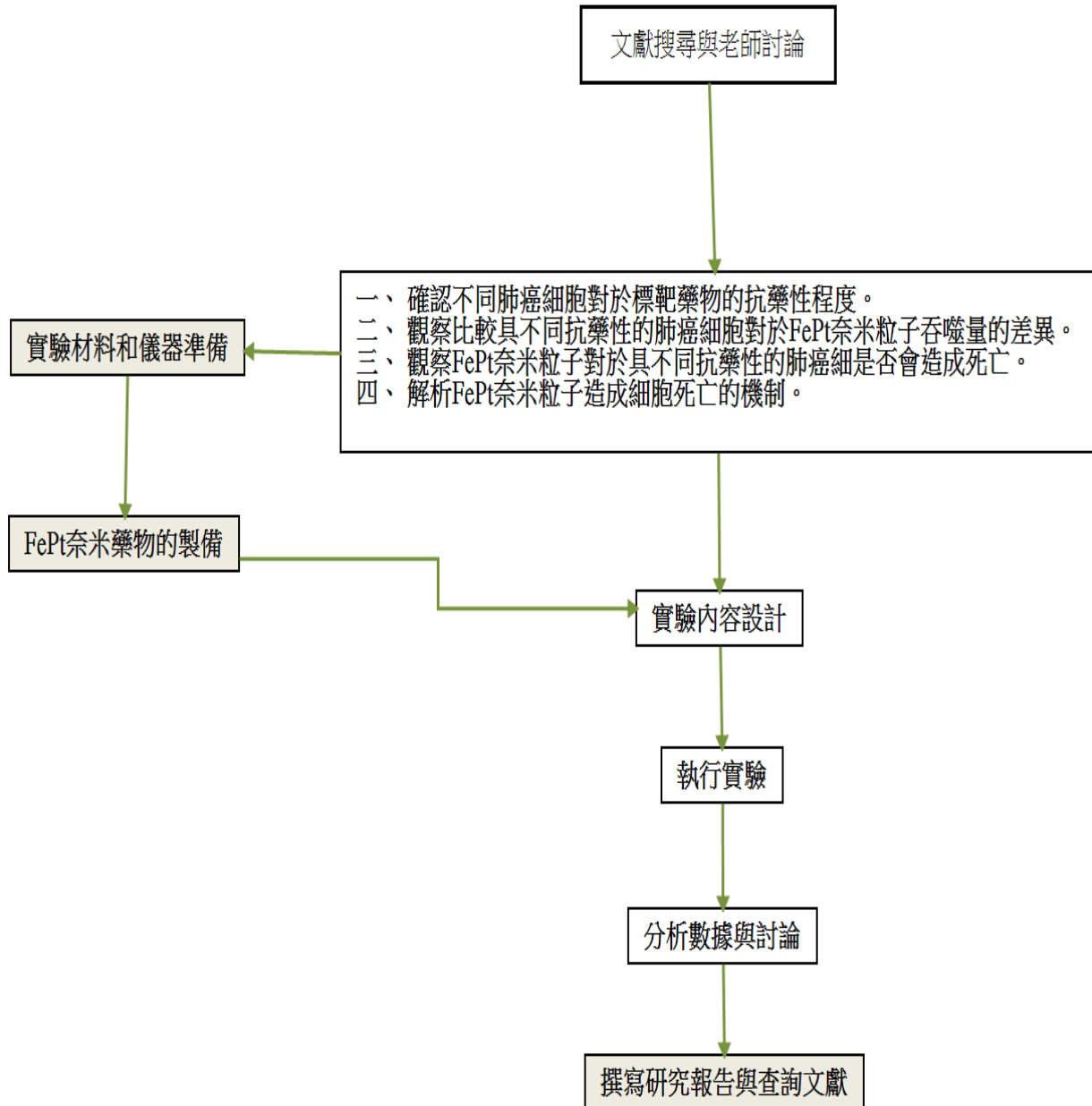
分離的蛋白以 100 伏特電壓轉漬約 90 分鐘，固定於 PVDF 膜上。PVDF 膜以 5% non-fat milk/TBST blocking 後，加入一級抗體(Primary antibody)，使之與蛋白質反應，再加入二級抗體(Secondary antibody)與一級抗體結合，經由 ECL substrate 呈色顯影，最後以底片壓片洗片。以底片上顯影來判別分離出來的蛋白質表現增加或減少。

計算蛋白質的方法大抵是透過 BIO-RAD 蛋白質定量法，以濃度為 10 mg/ml 的 BSA(牛血清白蛋白)與 ddH<sub>2</sub>O 做成 BSA sample，並稀釋 BIO-RAD DYE REAGENT(5X)，和 sample 混合，加入 96 well dish 中送酵素免疫測讀機檢測 OD<sub>595nm</sub> 之活性氧化物質數據。檢測完的數據便可以彙整成標準曲線圖。其中縱軸是蛋白質和 BIO-RAD 反應後，在酵素免疫測讀機下檢測出的吸光值，橫軸是 BSA sample 的蛋白質濃度  $\mu$ g/mL。

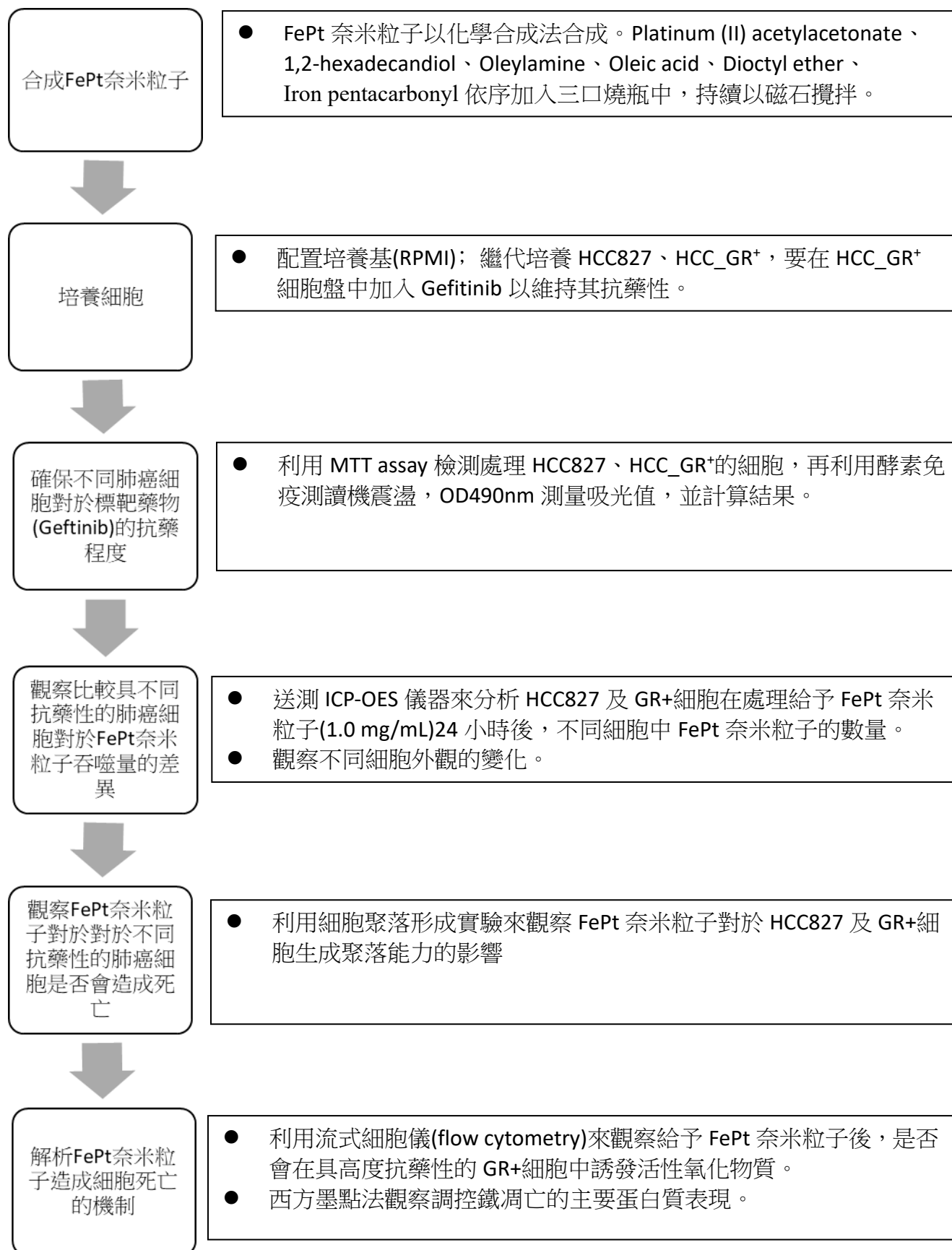
依照標準曲線，將癌細胞蛋白質和 6x sample buffer、RIPA<sup>+</sup> buffer 混合成 western blot sample。



## (七) 研究過程與方法流程圖



## (八) 實驗流程



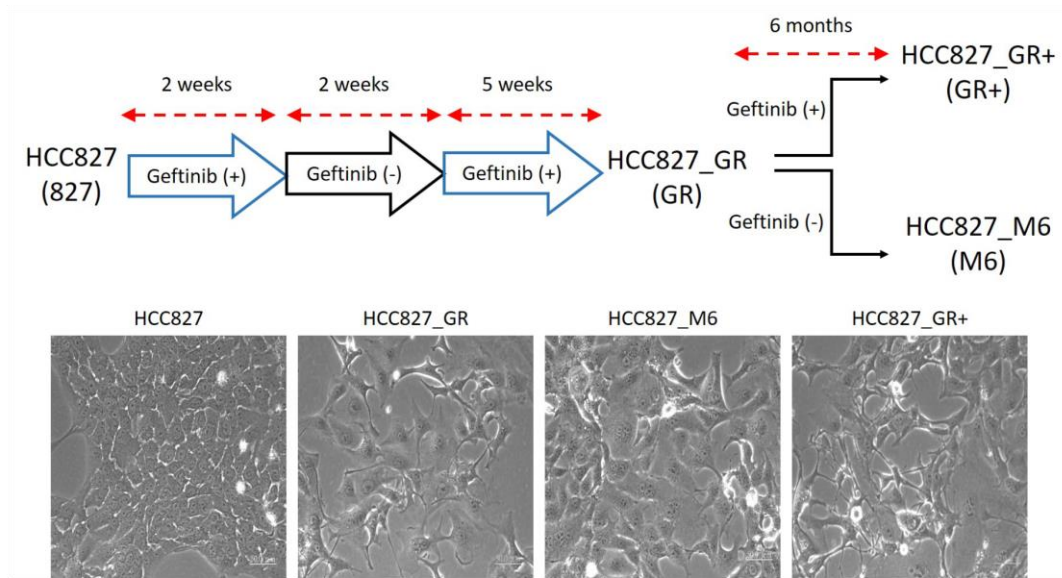
## 參、研究結果與討論

### (一) 建立具有 Gefitinib 標靶藥物抗性的肺癌細胞並確認其抗藥性。

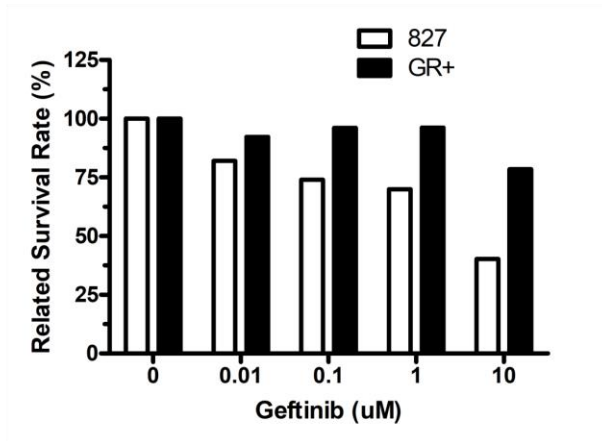
於本研究中，為了驗證 FePt 奈米粒子是否具有克服標靶藥物抗性的功能，我們利用 HCC827 細胞(肺腺癌且帶有 *EGFR exon 19* 突變基因)在長時間給予 Gefitinib (1  $\mu\text{M}$ )的環境下進行篩選，其篩選流程如圖一 A.所示，首先將不具抗藥性的 HCC827 細胞利用 Gefitinib 藥物篩選 2 周，於此期間將會使得大部分的癌細胞死亡，之後將藥物移除並培養存活的細胞 2 周，然後接續將已生長之癌細胞打散稀釋再給予 Gefitinib 培養 5 周，並把此組群癌細胞命名為 GR，為了建立不同程度抗藥性癌細胞，實驗中將 GR 細胞分成兩個次組群(subline)，一次組群將持續給予藥物 6 個月並命名為 GR+，另一次組群在這後續 6 個月則不再給予藥物並命名為 M6，所建立的不同組群細胞則利用光學顯微鏡來觀察細胞表徵(morphology)的變化，從圖像中可觀察到，具有高度抗藥性的 GR+細胞會產生紡錘狀(spindle like)及長觸角的型態，反之，起始且不具抗藥性的 HCC827 細胞則較為圓形及團聚生長，而上述觀察到的變化也符合其他研究報告的敘述[5]。

此外除了細胞外觀的變化外，我們亦利用細胞存活率(MTT)試驗來再次確認 HCC827、M6 及 GR+細胞對於標靶藥物的抗性，首先，我們將不同抗藥性的肺癌細胞分別給予不同濃度(0、0.01、0.1、1 及 10 $\mu\text{M}$ )的 Gefitinib 標靶藥物並培養 24 小時(圖一 B)，或固定濃度(1 $\mu\text{M}$ )但分別培養 24 及 48 小時的實驗條件來做比較(圖一 C)，從實驗結果中可以發現，隨著 Gefitinib 藥物濃度的提高，不具抗藥性的 HCC827 細胞其存活率會從 100%下降到 40.22%，而具抗藥性的 GR+細胞則只有些微的下降(100%降到 78.54%)，而相同的毒殺現象亦可從不同的時間點可以觀察到，由此可知，所建立的抗藥性肺癌細胞對於標靶藥物 Gefitinib 有著濃度及培養時間上依存的關係，從上述的結果中可以證實我們已成功建立具標靶藥物抗藥性的肺癌細胞模型。

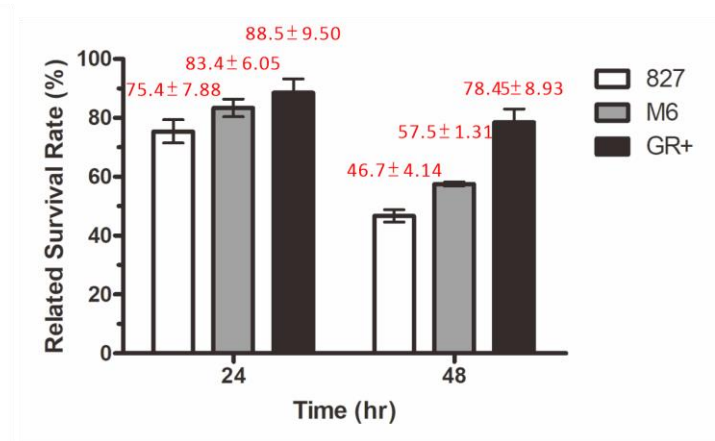
A.



B.



C.



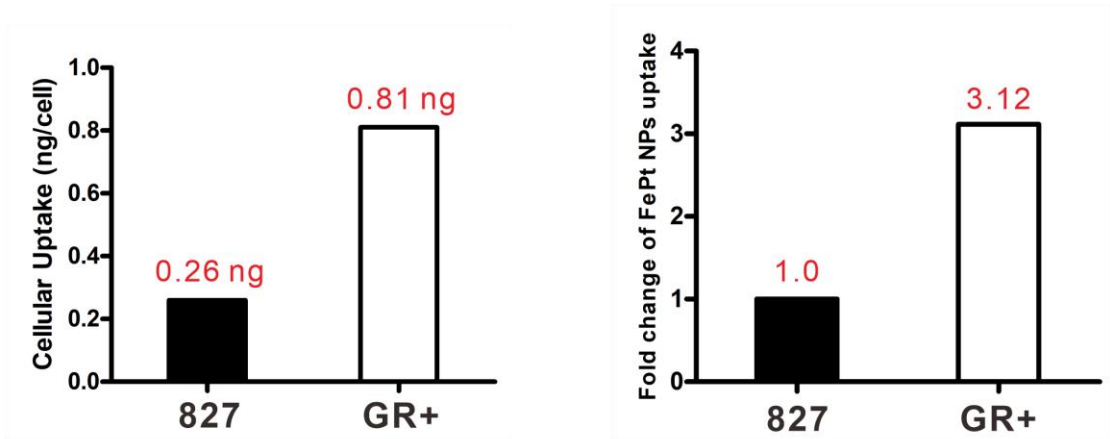
圖一、抗標靶藥物的肺癌細胞建立及其對 Gefitinib 藥物治療後存活率分析。(A.) 利用 HCC827 細胞建立具抗標靶藥物 Gefitinib 細胞模型流程圖，及其各階段細胞型態變化。(B.) 利用細胞存活率(MTT)試驗來確認不同抗藥性細胞於不同濃度，及(C.)固定濃度在 24 及 48 小時下的細胞存活率。

## (二) 具高度抗藥性的 GR+細胞對於 FePt 奈米粒子有著較高的吞嚥量。

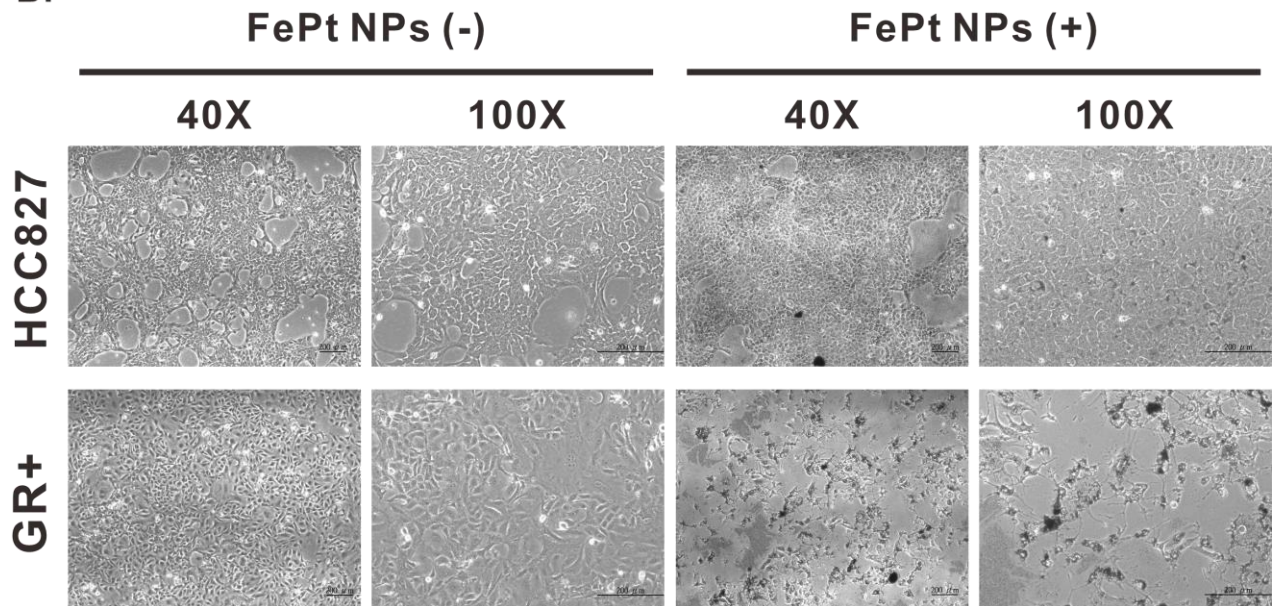
在癌症疾病治療的觀點上，藥物是否可以有效的被細胞吞嚥是影響後續治療效果的一大關鍵，因此，FePt 奈米粒子是否可以有效的治療具標靶藥物抗藥性的肺癌細胞，其相對的細胞吞嚥效果至關重要，有鑑於此，我們利用 ICP-OES 儀器來分析 HCC827 及 GR+細胞在處理給予 FePt 奈米粒子(1.0 mg/mL)24 小時後，不同細胞中 FePt 奈米粒子的數量。一開始分別將細胞收集下來並計數細胞數量，之後與所得不同細胞中所吞嚥總量來進行換算，便可得到每一顆細胞中所吞嚥的 FePt 奈

米粒子數量(圖二 A)，從結果中可以發現，不具抗藥性的 HCC827 細胞其吞嚥量在單一細胞僅只有 0.26 ng，而具高度抗藥性的 GR+細胞其單一細胞可以吞嚥高達 0.81 ng，足足是 HCC827 細胞的 3.12 倍。而且除了吞嚥量的差異外，經由光學顯微鏡的觀察，亦發現吞嚥大量 FePt 奈米粒子的 GR+細胞其外觀呈現皺縮並開始漂浮，均顯示出肺癌細胞開始走向死亡(圖二 B)，因此，我們可以判定具高度抗藥性的 GR+細胞會因為大量吞嚥 FePt 奈米粒子而產生死亡的現象。

A.



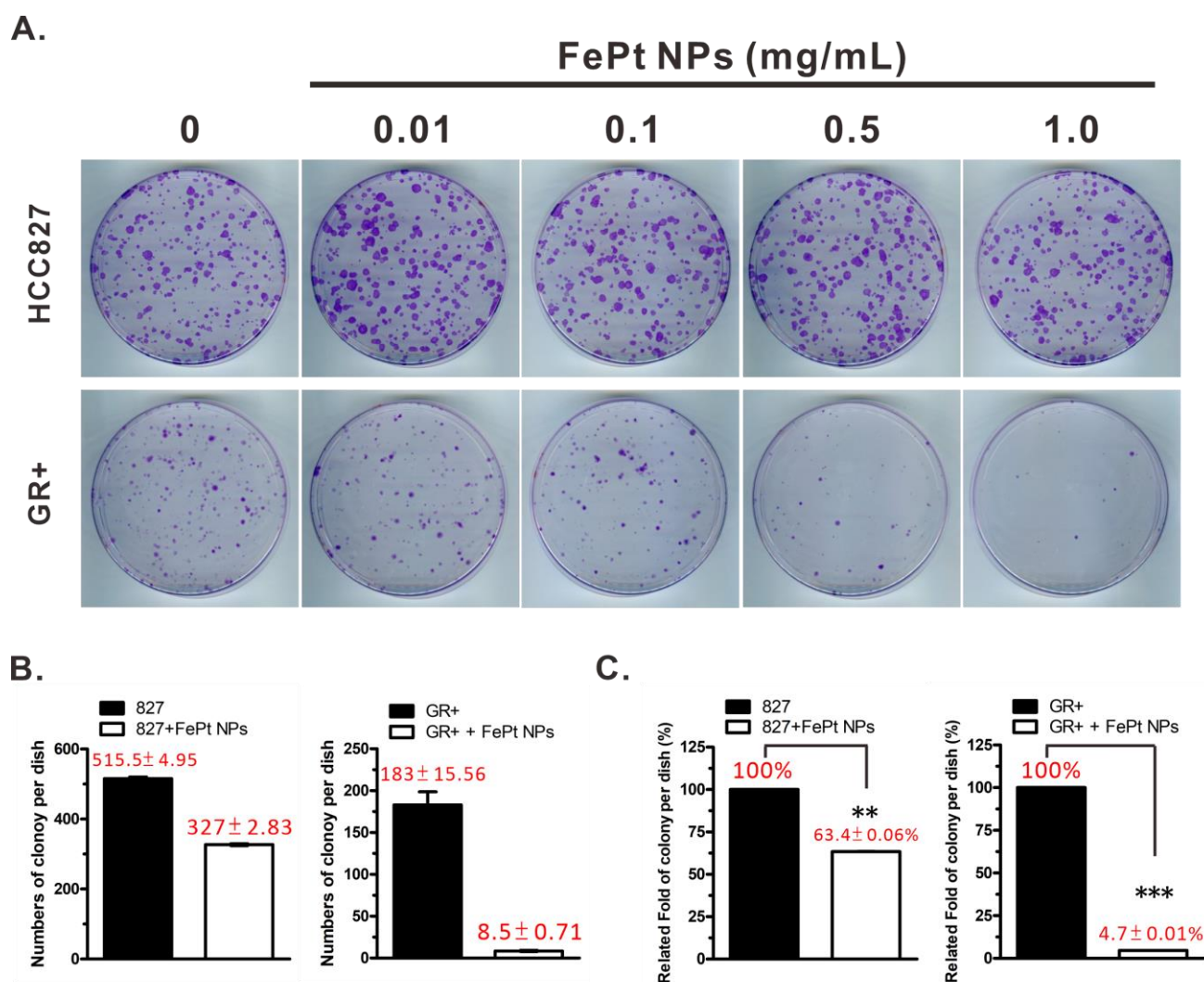
B.



圖二、具高度抗藥性的 GR+細胞會吞嚥大量的 FePt 奈米粒子並走向死亡。(A.)利用 ICP-OES 儀器來分析 HCC827 及 GR+細胞吞嚥 FeP 奈米粒子的數量。(B.) 從光學顯微鏡來觀察吞嚥 FePt 奈米粒子後，不同細胞外觀的變化。

### (三) FePt 奈米粒子會對不同抗藥性的肺癌細胞產生差異性的毒殺效果。

為了更進一步地確認 FePt 奈米粒子對於不同抗藥性肺癌細胞所產生的毒殺效果，我們利用細胞群落形成試驗來觀察 FePt 奈米粒子對於 HCC827 及 GR+細胞生成群落能力的影響，當細胞不受藥物毒殺，便會隨生長的增生而形成單一群落，因此，當細胞被毒殺的效果越不好則形成群落數目變越多，反之，毒殺效果好則群落數目少，從圖三 A 中，我們確實可以發現 GR+細胞在給予 0.5 mg/mL 的劑量下便可以產生明顯的毒殺現象，群落數目從  $183 \pm 15.56$  顆每盤降至  $8.5 \pm 0.71$  (100% 降至  $4.7 \pm 0.71\%$ )，反觀 HCC827 細胞則需要較高的劑量(1.0 mg/mL)方有中幅度的下降從  $515.5 \pm 4.95$  顆每盤降至  $327 \pm 2.83$  (100% 降至  $63.4 \pm 0.06\%$ ) (圖三 B 及 C)，綜合所得實驗結果，確實發現具高度抗藥性 GR+肺癌細胞對於 FePt 奈米粒子有著較高的敏感性。



圖三、利用細胞群落形成試驗來確認 FePt 奈米粒子對於 HCC827 及 GR+肺癌細胞所產生的毒殺效果。(A.)HCC827 及 GR+肺癌細胞在給予不同濃度 FePt 奈米粒子其細胞群落生長的情形。在不同細胞給予固定劑量(1.0 mg/mL)FePt 奈米粒子 24 小時情況下，(B.)以存活細胞群落數對應每盤之統計表，及(C.)對應百分比之統計表。

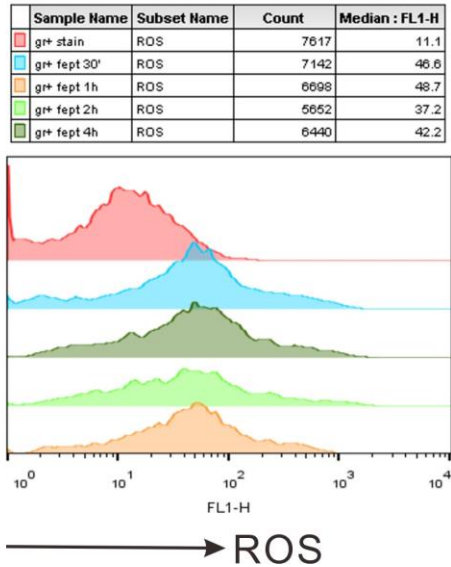
#### (四) FePt 奈米粒子會經由鐵凋亡(Ferroptosis)機制來造成 GR+肺癌細胞走向死亡。

粒線體是細胞中主要提供能量及產生活性氧化物質(ROS)的器官，是細胞存活不可或缺的關鍵，除此之外，許多細胞死亡也會經由產生氧化自由基的產生來啟動，因此，我們將利用流式細胞儀(flow cytometry)來觀察給予 FePt 奈米粒子後，是否會在具高度抗藥性的 GR+細胞中誘發活性氧化物質，首先我們將 GR+細胞給予 FePt 奈米粒子(1.0 mg/mL)後於不同的時間點(0.5, 1.0, 2.0 及 4.0 小時)觀察活性氧化物質產生的情況，從流式細胞儀的結果(圖四 A.)中發現，GR+細胞中再給予 FePt 奈米粒子後 0.5 個小時便可產生高量(MFI:46.6)的活性氧化物質，且可持續至 4 個小時之久(MFI=42.2)。

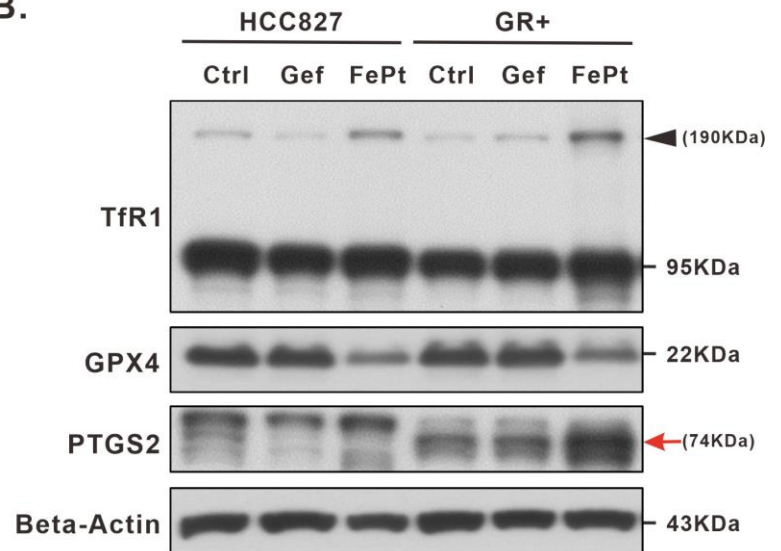
鐵凋亡為一種可被調控的細胞死亡機制，其特徵為經由鐵離子累積所造成的活性氧化物質產生來使得細胞死亡[6]，從先前的實驗中觀察到，GR+細胞中高度活性氧化物質的產生，確實會被 FePt 奈米粒子所誘發，以及 FePt 奈米粒子的組成成份，促使我們合理猜測鐵凋亡為 FePt 奈米粒子所激發的死亡機制，因此，我們利用西方墨點法來觀察調控鐵凋亡的主要蛋白質表現，從圖四 B 中我們可以觀察到上中下游的蛋白質表現均有被影響，於上游的 TfR1 蛋白質表現，給予 FePt 奈米粒子後會激發單一 TfR1 蛋白來形成通道(圖四 B，黑色箭頭)以利鐵離子輸送，再者於細胞內，GPX4 蛋白質扮演著主要調控鐵凋亡的角色，其活性的下降會促使細胞更易於走向鐵凋亡，從結果中我們可以發現，GPX4 蛋白質的表現確實顯著的下降，而於下游誘導細胞死亡的 PTGS2 蛋白質則只表現在給予 FePt 奈米粒子的 GR+細胞中(圖四 B，紅箭頭)，有趣的是，鐵凋亡現象的產生僅發生在給予 FePt 奈米粒子的細胞中，而在給予 Gefitinib 的組別則沒有相同現象發生。最後從我們實驗的結果中可以得知，FePt 奈米於高度抗藥性的 GR+細胞所誘導的死亡機制確實是經由鐵凋亡所造成。



A.



B.



圖四、FePt 奈米粒子的給予會導致具高度抗藥性 GR+細胞產生活性氧化物質(ROS)的累積並走向鐵凋亡。(A.) 利用流式細胞儀來觀察再給予 FePt 奈米粒子後，活性氧化物質於高度抗藥性 GR+細胞中不同時間點的變化。(B.) 經由西方墨點法來評估 HCC827 及 GR+細胞再分別給予 Gefitinib 及 FePt 奈米粒子 24 小時後，參與鐵凋亡死亡途徑中關鍵蛋白質的變化。

## 肆、結論

人類自從有文明以來對抗疾病已有數百年之久，但其中唯有癌症依然無法被克服，且屢居國人十大死因榜首達數十年，儘管隨著醫術及藥物的不斷推層出新，癌症仍會利用細胞本身基因的高突變率來產生抗藥性，而標靶藥物的後天抗藥性便是最佳臨床治療瓶頸的實例。團隊利用原本已知具 CT/MRI 雙顯影功能之 FePt 奈米粒子為主軸，基於 FePt 奈米粒子不僅具有顯影功能，且有著生物相容性高及低細胞毒性等特徵點，因此非常適合用於其他生醫應用如奈米藥物等方面上的開發。

利用 FePt 奈米粒子來處理具標靶藥物 Gefitinib 藥物抗藥性之 GR+細胞，並與原細胞 HCC827 細胞相比，確實發現 GR+細胞有著較高的標靶藥物抗藥性(圖一)，有趣的是隨著 FePt 奈米粒子給予，亦發現細胞吞噬 FePt 奈米粒子的能力與其抗藥性程度成正比，並導致高吞噬量的 GR+細胞外觀產生萎縮型變(圖二)，因此，從外觀的變化我們推估細胞已開始走向死亡，之後經由細胞群落形成試驗的結果，再次證實 FePt 奈米粒子對於 GR+細胞有著較顯著的細胞毒殺性(圖三)，並伴隨較高的活性氧化物質產生(圖四)，進而影響相關鐵凋亡指標蛋白質的表現(圖五)，且上述的實驗結果和標靶藥物抗性的程度一致，因

此，從實驗結果可以得知 FePt 奈米粒子確實具有專一毒殺具高度標靶藥物抗性的肺癌細胞的潛力，而毒殺的機制是與鐵凋亡相關，此研究也為癌症抗藥性的研究提出一個新的可行方針。

## 伍、參考資料及其他

1. 108 年國人死因統計結果，衛生福利部，取自 <https://www.mohw.gov.tw/cp-16-54482-1.html>.
2. Eric Santoni-Rugiu, Linea C. Melchior, Edyta M. Urbanska, Jan N. Jakobsen, Karin de Stricker, Morten Grauslund, and Jens B. Sorensen. Intrinsic resistance to EGFR-tyrosine kinase inhibitors in *EGFR*-mutant non-small cell lung cancer: differences and similarities with acquired resistance. *Cancers*, 2019; v.11(7).
3. Shang-Wei Chou, Yu-Hong Shau, Ping-Ching Wu, Yu-Sang Yang, Dar-Bin Shieh, and Chia-Chun Chen. In vitro and in vivo studies of FePt nanoparticles for dual modal CT/MRI molecular imaging. *J Am Chem Soc.* 2010; 132(38):13270-8.
4. Tsung-Lin Tsai, Yu-Hsuan Lai, Helen HW Chen, and Wu-Chou Su. Overcoming radiation resistance by iron-platinum metal alloy nanoparticles in human copper transport 1-overexpressing cancer cells via mitochondrial disturbance. *Int J Nanomedicine.* 2021; 16:2071-85.
5. Xuan Zhu, Lijie Chen, Ling Liu, and Xing Niu. EMT-mediated acquired EGFR-TKI resistance in NSCLC: mechanisms and strategies. *Front Oncol.* 2019; 9:1044.
6. Xin Chen, Rui Kang, Guido Kroemer, and Daolin Tang. Broadening horizons: the role of ferroptosis in cancer. *Nat Rev Clin Oncol.* 2021; Online ahead of print.

## 【評語】 090008

利用 FePt 奈米粒子來處理具標靶藥物 Gefitinib 藥物抗藥性之 GR+細胞，並與原細胞 HCC827 細胞相比，確實發現 GR+細胞有著較高的標靶藥物抗藥性(圖一)，有趣的是隨著 FePt 奈米粒子給予，亦發現細胞吞噬 FePt 奈米粒子的能力與其抗藥性程度成正比，並導致高吞噬量的 GR+細胞外觀產生萎縮型變(圖二)，因此，從外觀的變化我們推估細胞已開始走向死亡，之後經由細胞群落形成試驗的結果，再次證實 FePt 奈米粒子對於 GR+細胞有著較顯著的細胞毒殺性(圖三)，並伴隨較高的活性氧化物產生(圖四)，進而影響相關鐵凋亡指標蛋白質的表現(圖五)，且上述的實驗結果和標靶藥物抗性的程度一致，因此，從實驗結果可以得知 FePt 奈米粒子確實具有專一毒殺具高度標靶藥物抗性的肺癌細胞的潛力，而毒殺的機制是與鐵凋亡相關，此研究也為癌症抗藥性的研究提出一個新的可行方針。此科展計畫的實驗設計尚稱完整，作者陳述清楚。比較可惜的是題目雖為鐵鉑奈米粒子做為新穎藥物來治療對於標靶藥物產生抗藥性之肺癌細胞及其死亡機制，有關 ferroptosis 的部分陳述，實驗還需更多的控制組以及 ROS 相關途徑的探討。數據稍嫌不足，需要再更多的佐證。可惜口頭報告時，無法回答出流式細胞儀量測 ROS 的螢光染劑名稱。