DOI:10.16016/j.1000-5404.202106190

线粒体靶向小分子 IR-780 对顺铂耐药膀胱癌细胞的杀伤效应

黄垣堤,沈崇星,李金瑾,方 强,支 轶 401120 重庆,重庆医科大学附属第三医院泌尿外科

[摘要] **目的** 探讨线粒体靶向小分子 IR-780 对顺铂耐药 T24 膀胱癌细胞株(T24/DPP)的杀伤效应及其作用机制。**方法** 通过顺铂反复间断刺激 T24 细胞,构建 T24/DPP 耐药细胞株,以不同浓度的 IR-780 处理细胞,CCK-8 法检测细胞活力,划痕实验检测细胞迁移能力,荧光共聚焦确定 IR-780 的亚细胞器定位,流式细胞术测定细胞凋亡以及线粒体活性氧水平。对 6~8 周龄雄性裸鼠皮下注射 T24/DPP 细胞建立动物荷瘤模型,将荷瘤小鼠完全随机化分组:对照组、阿霉素组和 IR-780 组分别腹腔注射 5 mg/kg PBS、阿霉素和 IR-780,隔天 1 次。通过近红外活体成像以及荧光共聚焦检测 IR-780 的蓄积特性,并对肿瘤生长情况进行监测。**结果** ①细胞实验结果显示,IR-780 抑制 T24/DPP 细胞增殖与迁移,且抑制作用呈明显的剂量效应关系($P<0.05$)。IR-780 选择性积聚在 T24/DPP 细胞的线粒体中。随着 IR-780 浓度的增加,T24/DDP 细胞线粒体活性氧的产生和细胞凋亡率均随之增加($P<0.05$)。②体内实验结果显示,近红外活体成像和肿瘤组织冰冻切片显示 IR-780 可优先聚集于裸鼠 T24/DDP 皮下移植瘤,并且 IR-780 组小鼠肿瘤的体积及质量均明显小于对照组($P<0.05$)和阿霉素组($P<0.05$)。**结论** IR-780 能显著抑制 T24/DPP 细胞和裸鼠皮下肿瘤的生长,且线粒体通路可能参与了 IR-780 诱导 T24/DPP 细胞发生凋亡的过程。

[关键词] 膀胱癌;肿瘤靶向;IR-780;顺铂;耐药

[中图法分类号] R737.14; R965; R979.19 [文献标志码] A

Anti-tumor effect of mitochondrial targeted small molecule IR-780 on cisplatin-resistant bladder cancer cells

HUANG Yuandi, SHEN Chongxing, LI Jinjin, FANG Qiang, ZHI Yi Department of Urology, the Third Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, 401120, China

[**Abstract**] **Objective** To study the anti-tumor effect of IR-780, a mitochondrial targeting small molecule, on cisplatin-resistant T24 cell line (T24/DPP). **Methods** T24/DPP cell line was constructed by repeated and discontinuous stimulation of T24 cells with cisplatin. After the drug-resistant cells were treated with different concentrations of IR-780, cell viability was detected by CCK-8 assay and cell migration was measured by wound healing assay. The suborganelle localization of IR-780 was determined by confocal fluorescence microscopy with aid of mitotracker treatment. Cell apoptosis and production of mitochondrial reactive oxygen species (ROS) were determined by flow cytometry. T24/DPP cells were injected subcutaneously into 6-~8-week-old male nude mice to establish a tumor-bearing nude mouse model. The tumor-bearing mice were randomly divided into 3 groups, including control group (5 mg/kg PBS), DOX group (5 mg/kg DOX) and IR-780 group (5 mg/kg IR-780). After intraperitoneal administration of IR-780, the accumulation of IR-780 were detected by near-infrared *in vivo* imaging system and confocal fluorescence microscopy, while the tumor volume and weight were measured. **Results** ① *In vitro*, IR-780 inhibited the proliferation and migration of T24/DPP cells in a dose-dependent manner ($P<0.05$). IR-780 was selectively accumulated in the mitochondria of T24/DPP cells. With the increase of IR-780 concentration, the production of mitochondrial ROS and the rate of apoptosis in T24/DDP cells were increased ($P<0.05$). ② *In vivo*, near-

[基金项目] 重庆医科大学附属第三医院科研孵化项目(KY08026);2021 年渝北区科技计划项目[2021(农社)38]

[通信作者] 支 轶,E-mail: urolzhi@aliyun.com

1000-5404/Copyright © 2021, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

infrared imaging and frozen sections of tumor tissue showed that IR-780 preferentially accumulated in the tumor of tumor-bearing nude mouse model. The tumor volume and weight of the IR-780 group were significantly less and lower when compared with the control group ($P<0.05$) and DOX group ($P<0.05$). **Conclusion** IR-780 can significantly inhibit the growth of T24/DDP cells and subcutaneous tumor xenografts in nude mice, and the mitochondrial pathway might be involved in the apoptosis of T24/DPP cells induced by IR-780.

[**Key words**] bladder cancer; tumor targeting; IR-780

Supported by the Scientific Research Incubation Project of the Third Affiliated Hospital of Chongqing Medical University (KY08026) and the Project of Science and Technology Plan of Yubei District, Chongqing (2021-NS-42). Corresponding author: ZHI Yi, E-mail: urolzhi@aliyun.com

膀胱癌是泌尿系统常见的恶性肿瘤[1]。对于晚期膀胱癌患者以及膀胱根治性切除术患者的辅助化疗与新辅助化疗,顺铂是一线化疗药物。但由于部分患者出现对顺铂耐药,总体预后较差,化疗有效率在35%~60%[2]。目前认为,耐药是导致膀胱癌预后不良的主要因素,针对化疗耐药的膀胱癌患者,迫切需要发展新的治疗方案。

耐药的相关机制主要包括减少癌细胞中的药物积累、增强抗凋亡能力以及过度表达某些多重耐药蛋白,如 ATP 结合盒(ABC)转运体[3]。有证据表明,癌细胞的大多数抗药行为与线粒体密切相关。靶向线粒体也已被证明是对抗不同类型耐药癌细胞的有效策略[4]。然而,线粒体靶向治疗在耐药膀胱癌中的效果尚不清楚。近年来,一种兼具线粒体和肿瘤靶向性的近红外荧光染料 IR-780 被广泛观察和研究,并且其在顺铂耐药的肺癌模型中显示出卓越的肿瘤抑制效应[5]。本研究在成功建立稳定的膀胱癌耐药顺铂细胞株(T24/DDP)的基础上,探究 IR-780 对 T24/DDP 细胞的杀伤作用,为发展新的耐药膀胱癌治疗方案提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

IR-780、MitoSOX 购自 Sigma 公司(美国);CCK-8 试剂盒购自 Dojindo Kumamoto 公司(日本);RPMI1640 培养基购自 Gibco 公司(美国);胎牛血清、胰酶购自 HyClone 公司(美国);青链霉素、Mitotracker Green 购自碧云天公司(中国);阿霉素、吉西他滨购自阿拉丁公司(中国);凋亡检测试剂盒购自 BD Biosciences 公司(美国);O.C.T 购自 Sakura 公司(日本)。

1.2 实验方法

1.2.1 T24/DDP 细胞的建立 取对数生长期的 T24 细胞在体外采用浓度梯度法逐步递增顺铂(DDP)浓度,经过 12 个月成功诱导出顺铂耐药的膀胱癌细胞株(T24/DDP)。通过倒置相差显微镜观察 T24、T24/DDP 细胞形态差异,CCK-8 法测定 T24/DDP 细胞对 DDP 的耐药指数,并绘制生长曲线反映其增殖能力。

1.2.2 细胞活力测定 将 T24/DPP 细胞以 3×10^3/孔接种于 96 孔板中,分别予以不同浓度(2.5、5.0、7.5、10.0、15.0、20.0 μmol/L)的 IR-780、阿霉素、吉西他滨进行处理,48 h 后使用 CCK-8 试剂盒检测各孔在 450 nm 波长的光密度值[$D(450)$],并计算细胞活力。

1.2.3 细胞划痕实验 为了解 IR-780 对于细胞侵袭力的影响,将 T24/DPP 细胞接种于 6 孔板内,当细胞融合达到 90%以上时,用 200 μL 无菌枪头在 6 孔板底部各作 1 条垂直均一的划痕,PBS 清洗后分别加入含有不同浓度(0、5、10、15 μmol/L)IR-780 的培养基 1 mL 孵育,并分别于划痕 0、6、12、24 h 对划痕部位进行拍照分析。

1.2.4 实验动物及分组 选取 6~8 周龄雄性裸鼠,体质量 18~20 g,购自陆军军医大学实验动物中心,饲养于陆军军医大学火箭军医学教研室的 SPF 动物房。所有实验和动物护理程序获得陆军军医大学实验动物中心动物保护和使用委员会的批准。为构建异种移植瘤动物模型,将生长至 70%的 T24/DDP 细胞悬浮在 PBS 中,每只小鼠皮下植入 1×10^7 个细胞。荷瘤成功后,将小鼠完全随机化分为 3 组:对照组、阿霉素组和 IR-780 组,分别予以 PBS(5 mg/kg)、阿霉素(5 mg/kg)、IR-780(5 mg/kg)腹腔注射,隔天 1 次。每 3 天测定肿瘤体积大小,于荷瘤后 18 d 处死小鼠后,取肿瘤组织进行称量。

1.2.5 近红外成像 为明确 IR-780 在体内的肿瘤靶向分布,建立 T24/DDP 皮下移植瘤裸鼠模型,单次腹腔注射 1 mg/kg 的 IR-780,24 h 后麻醉裸鼠,采用活体成像系统进行裸鼠的近红外活体成像,所用激发波长 770 nm,发射波长 830 nm。随后,颈椎脱臼法处死裸鼠后,分离肿瘤及重要内脏器官,进行近红外成像。切除部分肿瘤组织及肌肉组织,使用 O.C.T 包埋冰冻后进行冰冻切片,以 Hoechst 33342 标记细胞核,使用共聚焦荧光显微镜观察 IR-780 在肿瘤组织和肌肉组织内的分布情况。IR-780 进入肿瘤细胞后,主要在线粒体中聚集[6]。为了明确 IR-780 在肿瘤细胞中的亚细胞器定位,将 T24/DPP 细胞接种于共聚焦小皿内,待细胞贴壁后以 100 nmol/L Mitotracker Green 避光孵育 30 min 标记线粒体,随后 10 μmol/L IR-780 孵育

30 min,通过荧光共定位明确 IR-780 是否分布于 T24/DPP 细胞的线粒体中。

1.2.6　流式细胞术　为检测 IR-780 对 T24/DPP 细胞凋亡以及线粒体氧化应激的影响,将细胞以 1.5×10^5/孔接种于 6 孔板中,待细胞贴壁后,以 0、5、10 μmol/L 的 IR-780 处理 24 h,随后弃去培养基,胰酶消化收集细胞。加入 7-AAD 及 Annexin V,以 C6 流式细胞仪检测细胞凋亡。同样浓度梯度 IR-780 处理细胞后,加入 MitoSOX 5 μmol/L 孵育 30 min,流式细胞仪检测细胞线粒体活性氧水平。

1.3　统计学分析

采用 SPSS 25.0 统计软件,数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,计量资料采用单因素方差分析,两组间均数比较采用 t 检验。$P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

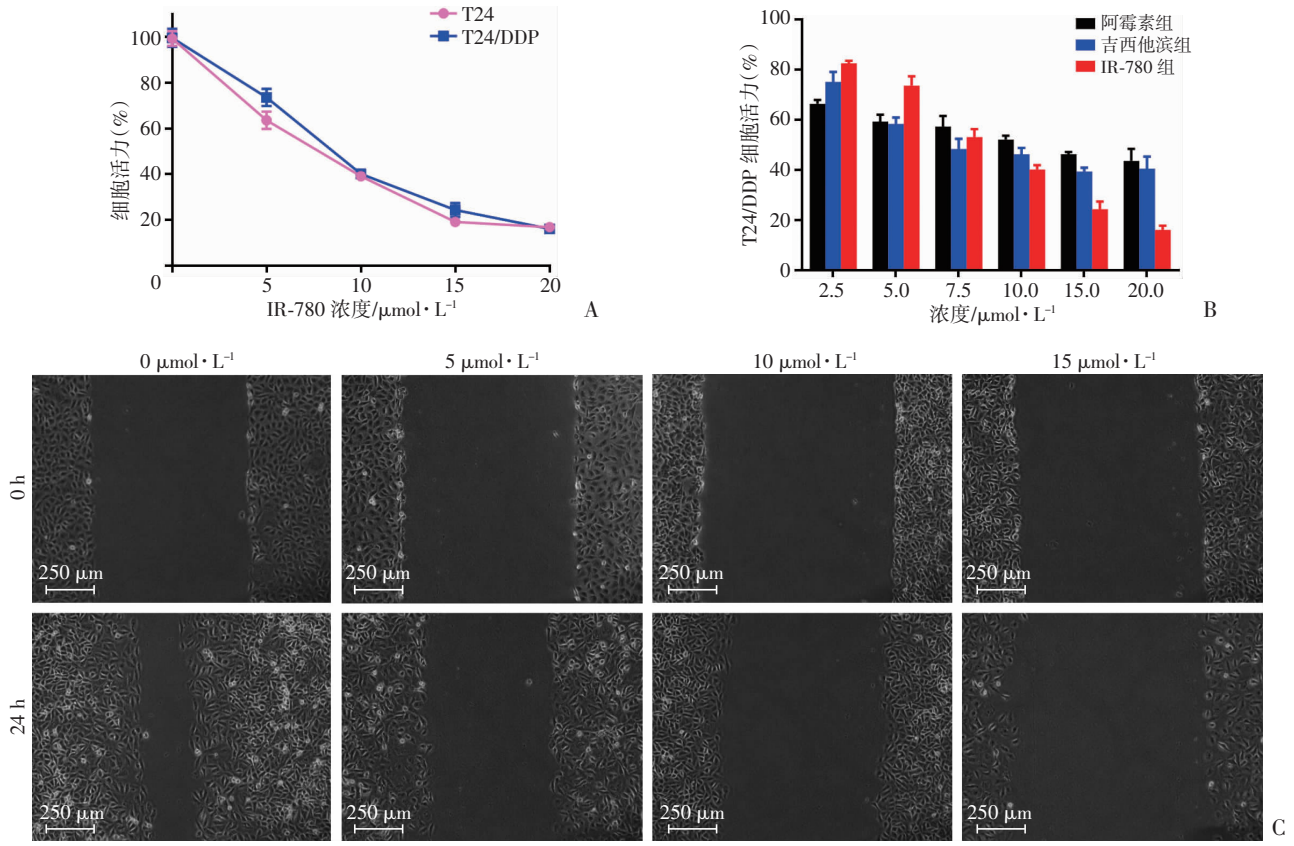
2　结果

2.1　IR-780 对顺铂耐药膀胱癌细胞的杀伤效应

分别于亲本膀胱癌细胞(T24)和顺铂耐药膀胱癌细胞(T24/DDP)中加入不同浓度的 IR-780,于 48 h 后用 CCK-8 法检测细胞活性。IR-780 对两种细胞均呈现出浓度依赖性的细胞毒作用,且 IR-780 在同等浓度下对 T24 和 T24/DDP 细胞的生长抑制程度基本相同(图 1A),提示 IR-780 对耐药膀胱癌细胞具有良好的抗增殖作用。为比较 IR-780 与临床上膀胱癌常用化疗药物阿霉素和吉西他滨对 T24/DDP 细胞的抗癌效应,将一定浓度的 3 种药物分别作用 T24/DDP 细胞,48 h 后对其活性进行检测。结果显示,阿霉素和吉西他滨对 T24/DPP 的抗肿瘤作用随着浓度的增加并没有显著增强,而 IR-780 有效地抑制了 T24/DDP 癌细胞增殖活性,并且在 20 μmol/L 时对癌细胞的抑制率达 83.93%(图 1B)。进一步细胞划痕实验表明,IR-780 可显著减慢顺铂耐药膀胱癌细胞的迁移速度(图 1C)。表明 IR-780 在较高浓度下具有较强的体外抗肿瘤作用,特别是对顺铂耐药的癌细胞有明显的抑制作用。

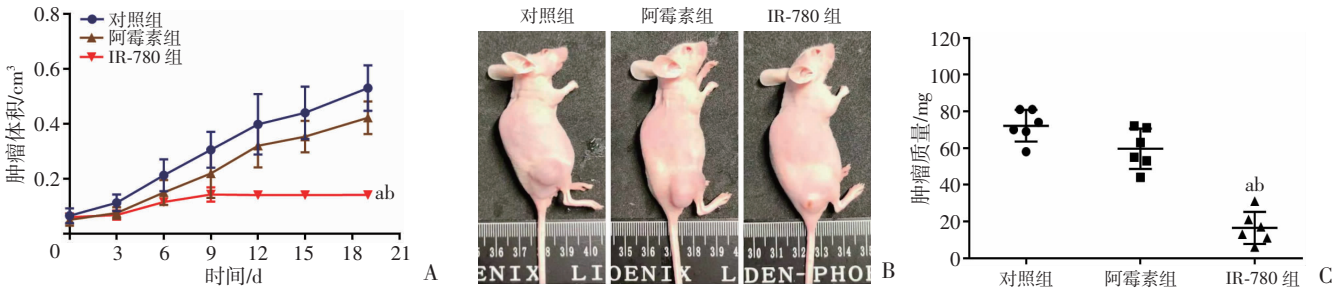
2.2　体内实验观测 IR-780 对顺铂耐药膀胱癌细胞的杀伤效应

将 T24/DDP 细胞接种于裸鼠皮下,构建小鼠荷瘤模型。各组小鼠移植瘤体积检测结果显示,IR-780 组的抗肿瘤效果明显高于对照组和阿霉素组($P<0.05$,图 2A、B)。各组处理 18 d 后处死小鼠,肿瘤质量检测结果也显示 IR-780 对顺铂耐药的膀胱癌具有较强的抑瘤能力($P<0.05$,图 2C)。



A:不同浓度 IR-780 对 T24、T24/DDP 细胞增殖活性的影响;B:不同浓度 IR-780、阿霉素、吉西他滨对 T24/DDP 细胞存活率的影响;C:细胞划痕实验观察不同浓度 IR-780 对 T24/DDP 细胞迁移的影响

图 1　IR-780 体外抗肿瘤作用



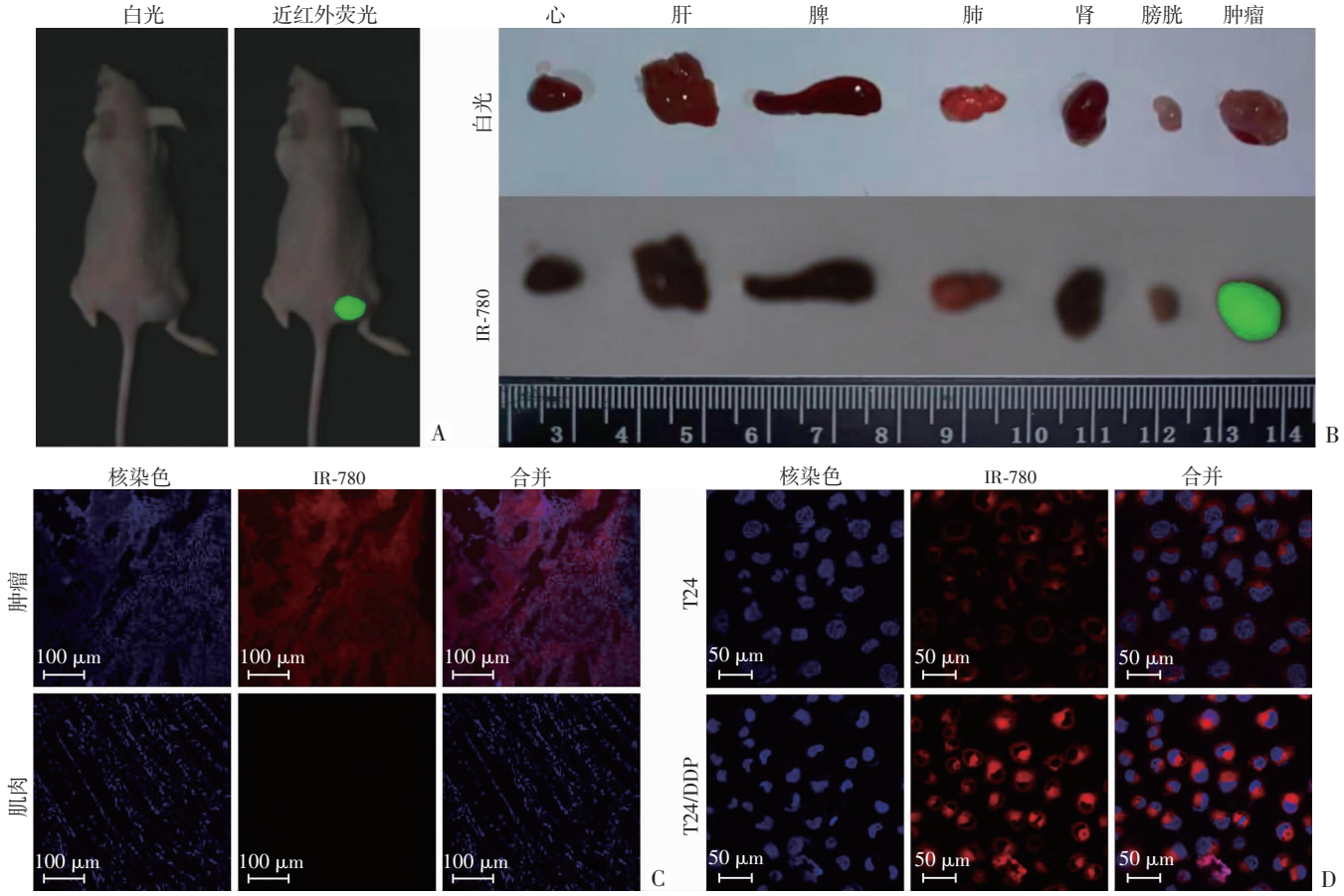
a:$P<0.05$,与对照组比较;b:$P<0.05$,与阿霉素组比较

A:各组肿瘤体积变化;B:各组小鼠及肿瘤大体观;C:各组小鼠移植瘤质量变化

图 2　IR-780 体内抗肿瘤作用

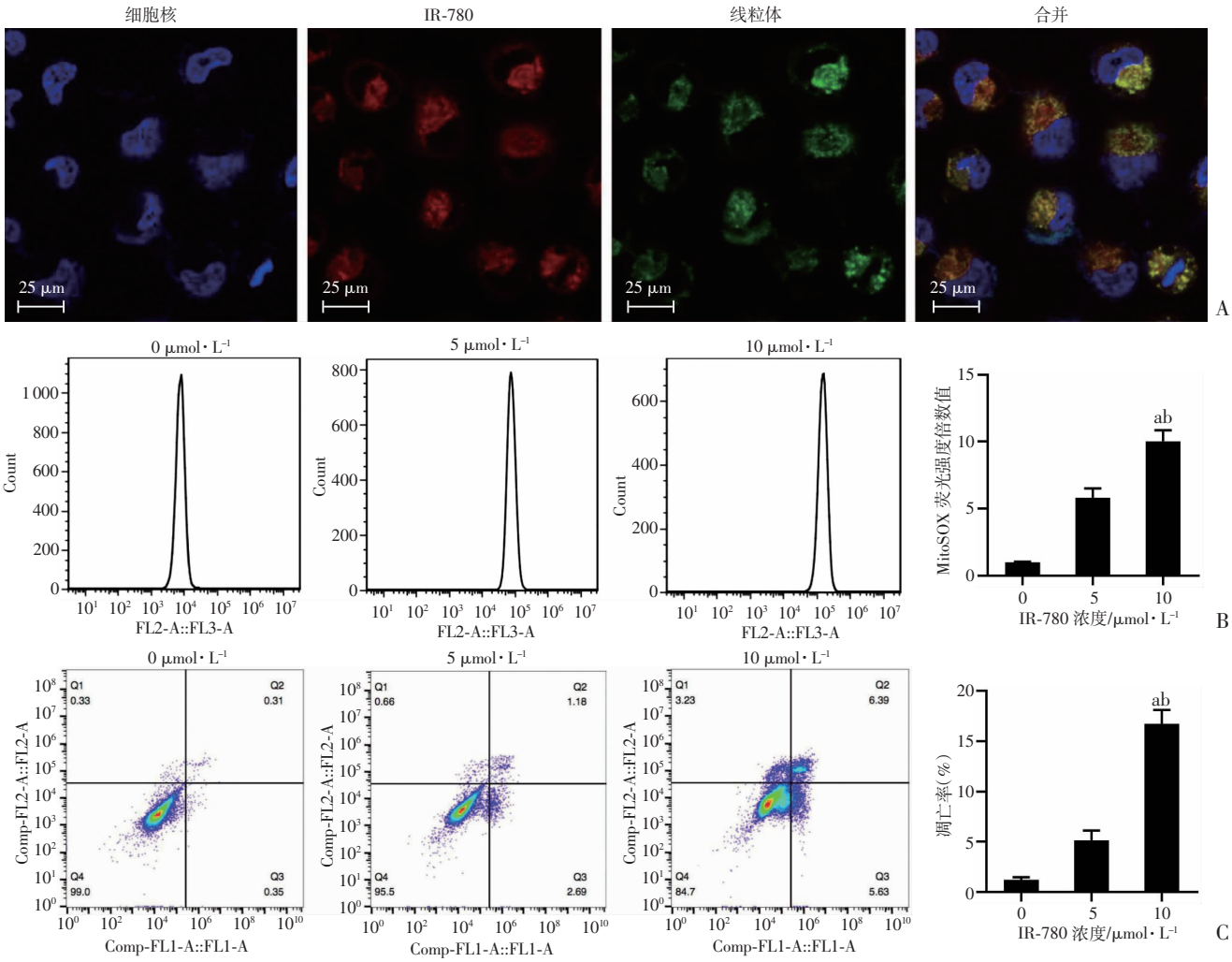
2.3　IR-780 对顺铂耐药膀胱癌的靶向作用

建立 T24/DDP 皮下移植瘤裸鼠模型,单次腹腔注射 1 mg/kg 的 IR-780 后进行近红外荧光成像,结果见图 3A、B,注射 IR-780 后可清晰地观察到移植瘤的强烈荧光信号,背景干扰荧光较低。通过共聚焦显微镜对肿瘤标本进行组织病理学观察,证实 IR-780 在肿瘤中的积聚(图 3C)。进一步比较 IR-780 在 T24(亲本)和 T24/DDP(耐药)细胞中的荧光强度,结果显示,T24/DDP 细胞的近红外荧光强度高于亲本 T24 细胞(图 3D)。表明 IR-780 对顺铂耐药的膀胱癌细胞具有确切的靶向特性。



A:T24/DDP 荷瘤小鼠近红外荧光成像;B:移植瘤和重要脏器近红外荧光成像;C:共聚焦显微镜观察 B 图肿瘤切片图像;D:共聚焦显微镜观察 IR-780 在 T24 和 T24/DDP 癌细胞中的表达

图 3　IR-780 对顺铂耐药膀胱癌的靶向特性



a:$P<0.01$,与 0 μmol/L IR-780 组比较;b:$P<0.01$,与 5 μmol/L IR-780 组比较

A:共聚焦显微镜观察 IR-780 与线粒体荧光探针 Mitotraker green 在 T24/DDP 膀胱癌细胞中的共定位;B:流式细胞术检测不同浓度 IR-780 处理 T24/DDP 细胞 24 h 后线粒体 ROS 生成情况;C:流式细胞术检测不同浓度 IR-780 处理 T24/DDP 细胞 24 h 后细胞凋亡率

图 4 IR-780 对 T24/DDP 细胞线粒体的影响

2.4 IR-780 对顺铂耐药膀胱癌的杀伤机制

将线粒体荧光探针 Mitotracker Green 和 IR-780 在共聚焦显微镜下共定位后发现,IR-780 的红色荧光能够和 Mitotracker Green 绿色荧光重合(图 4A),进一步证实 IR-780 能够靶向 T24/DDP 癌细胞线粒体。线粒体是活性氧(ROS)的主要来源,ROS 的产生增加可能作用于线粒体上的通透性转换孔复合体,从而诱导线粒体的通透性转换。采用 MitoSOX 荧光探针对经 IR-780 处理后 T24/DDP 细胞中线粒体活性氧进行检测。结果显示,10 μmol/L IR-780 处理后,T24/DDP 细胞线粒体 ROS 生成明显增加($P<0.05$,图 4B)。此外,10 μmol/L IR-780 作用 24 h 后,细胞凋亡率接近 20%,而对照组凋亡率仅为 1%($P<0.01$,图 4C),提示 IR-780 能显著诱导 T24/DDP 细胞凋亡。表明 IR-780 倾向于在耐药膀胱癌细胞的线粒体内积聚,增加线粒体 ROS 的产生,诱导癌细胞凋亡。

3 讨论

当前,手术联合术后化疗为膀胱癌临床治疗的主要策略。然而,膀胱癌的复发特性使其治疗变得更加困难。耐药是膀胱癌化疗后复发的主要原因之一,迄今为止,临床上尚未出现有效的治疗方法来对抗膀胱癌的复发及耐药[7]。线粒体的生物合成、能量转化和信号转导在肿瘤发生、发展中起着至关重要的作

用[8-9]。靶向肿瘤细胞内线粒体可能为肿瘤靶向治疗提供新的策略,特别是对更依赖线粒体的耐药癌细胞[10-11]。靶向线粒体和调节 ROS 已被证明是对抗不同类型耐药癌细胞的有效策略。伊利司莫是一种线粒体靶向化合物,可以通过破坏氧化呼吸链导致顺铂耐药黑色素瘤细胞死亡[12]。研究显示,以线粒体为靶点的药物 F16 与抗肿瘤药物共价连接所形成的纳米粒子,可通过对多种线粒体成分的协同作用有效杀死耐药癌细胞[13]。鱼藤酮是线粒体复合体Ⅰ抑制剂,可以通过增加阿霉素耐药肿瘤细胞活性氧的生成来诱导其凋亡[14]。但由于这些药物较低的肿瘤靶向性限制了其进一步的临床应用。

IR-780 是史春梦课题组前期研究发现的同时具有肿瘤靶向和线粒体靶向特性的七甲川花菁类近红外荧光小分子[15-16]。相关研究显示 IR-780 能够靶向顺铂耐药的肺癌细胞,并且在高剂量条件下显示出较强的抑制肿瘤生长的能力[5]。本研究将 IR-780 作用于顺铂耐药的膀胱癌细胞,观察 IR-780 对其肿瘤的杀伤效应。结果表明:在体内实验中,IR-780 能够靶向蓄积于肿瘤组织,抑制肿瘤生长。在体外实验中,IR-780 呈剂量依赖性抑制顺铂耐药膀胱癌细胞的生长,随着药物浓度的增加,IR-780 对癌细胞生长的抑制程度明显强于其他两种化疗药物,提示 IR-780 可能不受细胞驱动耐药的影响。进一步研究显示,IR-780 能够与线粒体靶向荧光探针 Mitotracker Green 绿色荧光重合,证实 IR-780 对顺铂耐药膀胱癌细胞的线粒体靶向特性,并可导致线粒体 ROS 的大量产生,诱导癌细胞发生凋亡。目前大量研究证实癌细胞线粒体所产生的 ATP 有助于药物外排泵的过度表达,增强癌细胞的药物抵抗[17-18]。因此,我们推测 IR-780 对耐药膀胱癌细胞的杀伤效应可能是通过破坏癌细胞线粒体的结构和功能来实现的。

目前认为癌细胞耐药的原因主要包括肿瘤内药物蓄积减少、细胞解毒能力和抗凋亡能力增强[19]。在实体瘤中,降低细胞内药物浓度的方法,如增加药物外排、减少内流似乎是主要的耐药机制。史春梦课题组早期报道近红外荧光染料 IR-780 能够被包括肝癌、肺癌在内的多种癌细胞优先摄取,并且证实细胞表面外排转运体 ABCs 未参与 IR-780 的外排[16],不会因为其耐药外排而降低癌细胞内的药物浓度。有趣的是,本研究发现 T24/DDP 细胞较亲本 T24 细胞对 IR-780 有更强的选择性摄取能力,为 IR-780 在耐药膀胱癌中发挥抗癌效应奠定了基础,但其具体的发生机制尚不清楚。有研究显示,耐药癌细胞较非耐药癌细胞有着更高的线粒体质量和线粒体膜电位,高度极化的线粒体膜可能是亲脂性阳离子在线粒体靶向中发挥作用的关键因素[20]。

综上所述,本研究证实 IR-780 可以靶向顺铂耐药的膀胱癌细胞,通过作用线粒体产生活性氧,可明显促进 T24/DDP 细胞凋亡,并显著抑制荷瘤小鼠肿瘤的生长,为顺铂耐药膀胱癌的线粒体靶向治疗提供新的思路。

参考文献:

[1] SIEGEL R L, MILLER K D, FUCHS H E, *et al*. Cancer statistics, 2021[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(1): 7-33. DOI:10.3322/caac.21654.

[2] SANLI O, DOBRUCH J, KNOWLES M A, *et al*. Bladder cancer[J]. Nat Rev Dis Primers, 2017, 3(1): 1-19. DOI: 10.1038/nrdp.2017.22.

[3] ASSARAF Y G, BROZOVIC A, GONÇALVES A C, *et al*. The multi-factorial nature of clinical multidrug resistance in cancer[J]. Drug Resist Updat, 2019, 46: 100645. DOI: 10.1016/j.drup.2019.100645.

[4] CUI Q, WANG J Q, ASSARAF Y G, *et al*. Modulating ROS to overcome multidrug resistance in cancer[J]. Drug Resist Updat, 2018, 41: 1-25. DOI:10.1016/j.drup.2018.11.001.

[5] WANG Y, LIU T, ZHANG E L, *et al*. Preferential accumulation of the near infrared heptamethine dye IR-780 in the mitochondria of drug-resistant lung cancer cells[J]. Biomaterials, 2014, 35(13): 4116-4124. DOI:10.1016/j.biomaterials.2014.01.061.

[6] UTHAMAN S, MATHEW A P, PARK H J, *et al*. IR 780-loaded hyaluronic acid micelles for enhanced tumor-targeted photothermal therapy[J]. Carbohydr Polym, 2018, 181: 1-9. DOI:10.1016/j.carbpol.2017.10.033.

[7] MOLLAEI M, HASSAN Z M, KHORSHIDI F, *et al*. Chemotherapeutic drugs: cell death- and resistance-related signaling pathways. Are they really as smart as the tumor cells?[J]. Transl Oncol, 2021, 14(5): 101056. DOI:10.1016/j.tranon.2021.101056.

[8] ZONG W X, RABINOWITZ J D, WHITE E. Mitochondria and cancer[J]. Mol Cell, 2016, 61(5): 667-676. DOI: 10.1016/j.molcel.2016.02.011.

[9] VYAS S, ZAGANJOR E, HAIGIS M C. Mitochondria and cancer[J]. Cell, 2016, 166(3): 555-566. DOI:10.1016/

j. cell. 2016. 07. 002.

[10] SHI Y F, LIM S K, LIANG Q R, *et al*. Gboxin is an oxidative phosphorylation inhibitor that targets glioblastoma [J]. Nature, 2019, 567(7748): 341-346. DOI: 10.1038/s41586-019-0993-x.

[11] MOLINA J R, SUN Y T, PROTOPOPOVA M, *et al*. An inhibitor of oxidative phosphorylation exploits cancer vulnerability[J]. Nat Med, 2018, 24(7): 1036-1046. DOI:10.1038/s41591-018-0052-4.

[12] CIERLITZA M, CHAUVISTRÉ H, BOGESKI I, *et al*. Mitochondrial oxidative stress as a novel therapeutic target to overcome intrinsic drug resistance in melanoma cell subpopulations[J]. Exp Dermatol, 2015, 24(2): 155-157. DOI:10.1111/exd.12613.

[13] PENG Y B, ZHAO Z L, LIU T, *et al*. A multi-mitochondrial anticancer agent that selectively kills cancer cells and overcomes drug resistance[J]. Chem Med Chem, 2017, 12(3): 250-256. DOI:10.1002/cmdc.201600538.

[14] WU L, ZHAO J Y, CAO K X, *et al*. Oxidative phosphorylation activation is an important characteristic of DOX resistance in hepatocellular carcinoma cells[J]. Cell Commun Signal, 2018, 16(1): 6. DOI:10.1186/s12964-018-0217-2.

[15] ZHANG C, LIU T, SU Y P, *et al*. A near-infrared fluorescent heptamethine indocyanine dye with preferential tumor accumulation for *in vivo* imaging[J]. Biomaterials, 2010, 31(25): 6612-6617. DOI:10.1016/j.biomaterials.2010.05.007.

[16] ZHANG E L, LUO S L, TAN X, *et al*. Mechanistic study of IR-780 dye as a potential tumor targeting and drug delivery agent[J]. Biomaterials, 2014, 35(2): 771-778. DOI:10.1016/j.biomaterials.2013.10.033.

[17] ZHITOMIRSKY B, FARBER H, ASSARAF Y G. LysoTracker and MitoTracker Red are transport substrates of P-glycoprotein: implications for anticancer drug design evading multidrug resistance[J]. J Cell Mol Med, 2018, 22(4): 2131-2141. DOI:10.1111/jcmm.13485.

[18] WANG H, GAO Z, LIU X Y, *et al*. Targeted production of reactive oxygen species in mitochondria to overcome cancer drug resistance[J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 562. DOI: 10.1038/s41467-018-02915-8.

[19] HOUSMAN G, BYLER S, HEERBOTH S, *et al*. Drug resistance in cancer: an overview[J]. Cancers (Basel), 2014, 6(3): 1769-1792. DOI:10.3390/cancers6031769.

[20] KORSHUNOVA G A, SHISHKINA A V, SKULACHEV M V. Design, synthesis, and some aspects of the biological activity of mitochondria-targeted antioxidants [J]. Biochemistry (Mosc), 2017, 82(7): 760-777. DOI: 10.1134/S0006297917070021.

(**收稿**:2021-06-24;**修回**:2021-09-01)

(编辑 汪勤俭)