

纳米材料改善肿瘤缺氧增强声动力疗效的研究进展

黄碧英(综述) 牛诚诚(审校)

摘 要 声动力疗法(SDT)是一种由光动力学疗法(PDT)发展而来的新兴、无创的治疗方法,由于具有更深的辐射距离且无光毒性特点逐渐替代传统的PDT。氧气是SDT发挥抗肿瘤过程的重要因素,但是肿瘤长期处于缺氧微环境中,极大限制SDT的疗效。纳米材料可灵活应对肿瘤微环境这一缺氧特点,提供有效的供氧策略增强SDT抗肿瘤效应。当前对于纳米材料改善缺氧来增强SDT抗肿瘤疗效方面的综述较少,本文就SDT的作用机制,以及纳米材料改善肿瘤缺氧从而增强SDT的研究进展进行综述。

关键词 声动力治疗;缺氧;纳米材料;肿瘤

[中图法分类号]R445.1

[文献标识码]A

Research progress of nanomaterials to enhance the efficacy of sonodynamic treatment by relieving tumor hypoxia

HUANG Biying, NIU Chengcheng

Department of Ultrasonic Diagnosis, the Second Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410011, China

ABSTRACT Sonodynamic treatment (SDT) is a new non-invasive treatment method developed from photodynamic treatment (PDT). Due to the characteristics of deeper radiation distance and no phototoxicity, it gradually replaces traditional PDT. Oxygen is an important part of the SDT in the anti-tumor process, but the tumor has been in a hypoxic microenvironment for a long time, which greatly limits the efficacy of SDT. Nanomaterials can flexibly respond to the hypoxic characteristics of the tumor microenvironment and provide effective oxygen supply strategies to enhance the anti-tumor effect of SDT. At present, there are few reviews on nanomaterials to improve the antitumor efficacy of SDT by improving hypoxia. This review briefly introduces the mechanism of SDT and mainly discusses the progress of nanomaterials in improving tumor hypoxia and enhancing the sonodynamic efficacy.

KEY WORDS Sonodynamic therapy; Hypoxia; Nanomaterials; Tumor

声动力疗法(sonodynamic treatment, SDT)是一种由光动力学疗法(photodynamic treatment, PDT)发展而来的新兴、无创的治疗方法,由于具有更深的辐射距离且无光毒性特点逐渐替代传统的PDT。目前被广为认可的SDT机制是:当声敏剂接受低强度的超声辐照时,利用超声波在液体介质发生的空化效应,将能量传递给周围的氧气产生毒性活性氧(reactive oxygen species, ROS)。但是肿瘤长期处于缺氧微环境中,极大限制了SDT疗效及进一步临床转化。目前临床上尚无针对此问题的抗癌药物。纳米材料不仅具有靶向性好、载药量高,还可优化肿瘤的靶向治疗及增强影像,被广泛用于药物的载体^[1]。如何利用纳米医学策略调节缺氧状况,以改善SDT治疗效果成为研究热点。本文就SDT的作用机制,以及纳米材料改善肿瘤缺氧从而增强SDT的研究进展综述如下。

一、SDT的机制

PDT是激光、光敏剂和氧气三者间动态相互作用的过程^[2]。SDT是从PDT发展而来,该过程中产生的ROS仍未得到充分的认识,其机制尚不明确。目前较为认可的机制是声空化效应在ROS的产生过程中起到重要的作用。超声波与液体的相互作用会产生一种特殊的现象称为声空化,它可以激活声敏剂并生成ROS^[3],空化可以分为稳定空化和惯性空化,稳定空化中气泡震荡,同时惯性空化过程中的气泡增长到接近共振的大小,并在剧烈塌陷之前膨胀至最大,由内爆引起的释放能量所产生的环境被视为声化学反应器。在组织化学反应器的作用下,一小部分声敏剂将被从基态激活为激发态,且随着被激活的声敏剂返回基态,释放出的能量可以转移到周围的环境氧中,产生大量的ROS,随后介导细胞毒性。这一过程与PDT中ROS产生

的原理相似。惯性空化中,当微气泡爆炸时,释放出的能量可引发声致发光的发射^[4-5],且在超声的空化效应中,微气泡破裂瞬间释放出的能量与周围的液体作用发生热解作用,进一步增强了杀伤细胞的能力。微气泡内爆发释放的能量还可通过流体动力、剪切力破坏细胞,如破坏细胞的重要细胞骨架结构。总之,SDT作用过程需要具备超声辐照、声敏剂、氧气3个条件,且声空化效应在ROS的产生起着重要作用。

二、纳米材料改善肿瘤缺氧增强SDT的研究进展

肿瘤缺氧是由氧气供应与消耗间的不平衡引起的,其对癌症的生长、转移具有至关重要的影响,长期以来一直被认为是癌症治疗的主要障碍。新兴的概念之一是在肿瘤部位供应或产生氧气,以增加部分氧气压力,从而逆转缺氧及其影响。McEwan等^[6]通过将声敏剂玫瑰红附着在脂质稳定化的充氧微气泡的表面上,该合成物可较相同浓度的单独敏化剂产生更多的ROS,超声治疗后,该治疗组的肿瘤鼠在治疗后5 d肿瘤体积缩小了45%,结果表明,采用将氧气输送至缺氧肿瘤的方法可以显著增强SDT。但是,1 ml的氧气微泡的携氧量仅为2 mol左右,同时受到保存期短、易相变等的限制,不易向临床转化。因此,纳米医学提出了新的策略,纳米材料在缓解缺氧微环境的两种主要策略:①将氧气直接输送到肿瘤中;②通过不同的方法在肿瘤微环境中原位产生氧气。

(一)基于全氟化碳材料输送氧气

全氟碳化合物(PFC)是基于烃的合成有机分子,其中氢原子部分或完全被氟原子取代,氟的高电子负电性使PFC具有出色的氧亲和力^[7]。许多PFC化合物已被临床批准用于各种生物学应用,包括超声、荧光、MRI检查和血液取代基^[8]。为更好地利用PFC携带氧气的特点,研究者采用了一种将光敏剂/声敏剂和PFC纳米乳剂一起负载的新方案。Chen等^[9]制备碳氟链修饰的负载IR780的介孔有机硅纳米粒,该有机硅纳米粒有着优异的生物相容性和较大的表面积特点,其不仅与氧气有着较强的亲和力,且更易被负载于载体上;经细胞实验发现经纳米粒合并超声辐照的PANC-1细胞荧光强度明显低于对照组,超声辐照后细胞内的氧气浓度可在2 h内迅速增长至15 mg/ml,说明该纳米粒在超声的激发下可迅速升高肿瘤细胞内氧气水平。采用电子自旋共振光谱进一步可视化评估ROS产量,经超声辐照处理所得的ROS信号明显增加,说明该纳米粒释放的氧气可用于增强SDT产生更多的ROS。在缺氧胰腺癌移植瘤小鼠模型中,经不同处理30 d后,该纳米粒经超声辐照后小鼠肿瘤体积显著减小,肿瘤体积是未携带氧气纳米粒组的1/4。该实验表明充足的氧气供应可产生更多的ROS,最终实现了针对低氧PANC-1胰腺癌的高效SDT治疗效果。

由于肿瘤的异质性、耐药性或频繁复发,目前依靠单一疗法的癌症治疗仍然不能令人满意。联合治疗可将具有不同药物和/或机制组合以协同提高治疗效果。Huang等^[10]构建了一个携氧纳米平台用于SDT和化疗的联合治疗,采用聚乳酸-羟基乙酸共聚物作为该纳米粒的外壳,将具有携氧作用的全氟三丁胺作为内核,并通过化学方法载入声敏剂IR780和化疗药物阿

霉素。在小鼠乳腺癌移植瘤模型中,化疗组小鼠肿瘤体积较原始增加4.2倍,而经过每隔2 d行瘤内注射该纳米粒且行超声辐照治疗后,小鼠肿瘤体积仅为原始体积的2倍,说明该携氧纳米粒能有效抑制肿瘤的生长,改善肿瘤微环境缺氧同时增强SDT和化疗的联合治疗。因此,克服缺氧不仅能提高SDT疗效,在与传统抗癌治疗的联合治疗中也将发挥重要作用。

(二)基于红细胞仿生纳米材料输送氧气

人造材料通常会触发人体免疫防御系统的免疫反应,因此在体内应用时需严格的要求。受长循环、良好的生物相容性和生物膜免疫原性低的启发^[11],各学者^[12-14]采用取自红细胞、肿瘤细胞、血小板的膜构建仿生纳米载体。其中,红细胞缺乏细胞核和细胞器,但富含血红蛋白(每个红细胞携带2.7亿个血红蛋白分子),在循环过程中容易发生自氧化作用,产生的有毒物质Ferryl-Hb。Du等^[15]制备了基于红细胞仿生纳米载体,利用Ferryl-Hb的毒性增强杀伤肿瘤细胞的能力。红细胞具有由特殊酶(如过氧化氢酶)组成的系统^[16],过氧化氢酶可以催化肿瘤环境中的过氧化氢(H_2O_2)产生氧气。基于此,Li等^[17]利用低渗法制备红细胞膜囊泡,将声敏剂与红细胞膜囊泡超声混合,紧接着通过聚碳酸酯膜挤出可得到经红细胞膜包被的供氧仿生纳米探针(平均粒径为141 nm)。为了验证红细胞膜囊泡中特殊酶催化产生氧气的的能力,通过体内实验发现该纳米材料对应的绿色免疫荧光强度最弱,说明肿瘤中 H_2O_2 被纳米探针携带的过氧化氢酶催化后,释放氧气进一步缓解肿瘤缺氧;体内抑瘤实验发现,在口服抗肿瘤药异硫氰酸苯乙酯的辅助下,该纳米探针可以有效消除肿瘤并延长小鼠的生存时间。这种新颖的纳米平台为改善深部肿瘤的治疗提供了新方法。

(三)基于内源性 H_2O_2 产生氧气

肿瘤环境中异常的增殖代谢和调节功能障碍导致大量的 H_2O_2 的产生,可将其用于原位产生氧气代以克服缺氧。迄今为止,已经开发了几种不同方法以利用内源性 H_2O_2 进行低氧缓解从而增强SDT。

1. 基于过氧化氢酶样供氧:过氧化氢酶是体内主要的抗氧化酶,可将 H_2O_2 转化为水和氧气。Li等^[18]制备一种氟化壳聚糖合成为高效无毒的透黏膜递送载体,与内消旋四(4-羧基)卟啉偶联的过氧化氢酶组装在一起。将不同浓度过氧化氢酶的该纳米粒加入等体积的 H_2O_2 中,与不含过氧化氢酶组比较,含过氧化氢酶组可产生大量的氧气,说明该纳米粒可催化 H_2O_2 产生氧气;且随着纳米粒中过氧化氢酶浓度越高,测得氧气含量也越高。经体内实验发现,滴注该纳米粒的小鼠肿瘤的氧合水平显著提高,而不含过氧化氢酶的纳米粒治疗则无效果。因此,利用过氧化氢酶催化的肿瘤内源性 H_2O_2 产生的氧气来有效缓解肿瘤组织中的缺氧,能进一步改善SDT的功效。

2. 基于纳米酶供氧:纳米酶是指具有酶样催化特性的纳米材料,由于其独特的特性,如易于合成、高稳定性成为近期研究重点。具备纳米酶样活性的材料有:二氧化锰(MnO_2)、普鲁士蓝(PB)、铂(Pt)、高铁酸钾盐(VI)(K_2FeO_4)等。

(1) MnO_2 : Zhang等^[19]利用 MnO_2 为纳米载体,封装了声敏

剂血卟啉单甲醚和葡萄糖氧化酶用以介导 SDT/饥饿疗法联合治疗。MnO₂ 纳米粒催化 H₂O₂ 降解以产生氧气的方式与过氧化氢酶一致, 不仅将其提供给葡萄糖耗竭反应用于有效的饥饿疗法, 而且还增强了 ROS 的生成, 以促进血卟啉单甲醚介导的 SDT 效应。此外, 系统中释放的 Mn²⁺ 离子能够增强 MRI 信号。为在影像介导下的精确靶向治疗提供了新的方法。

(2) K₂FeO₄: 是一种高级氧化物, 对水和 H₂O₂ 具有高反应性同时能消耗肿瘤微环境中的谷胱甘肽, 表现出过氧化氢酶样性质。Fu 等^[20] 利用可生物降解的中空多孔有机硅纳米材料作为纳米载体, 同时载入声敏剂原卟啉和 K₂FeO₄。体外实验研究观察到氧气含量在 4 min 内明显增加至 8.9 mg/L; 且采用等价的纳米载体加入含 H₂O₂ 的 PBS 中, 氧气含量可升高至约 12.0 mg/L。利用光声成像观察体内肿瘤位置的氧合情况, 结果与体外一致。该纳米载体经超声辐照 40 min 内, 肿瘤内的超声信号明显增强, 且氧合血红蛋白饱和度从 32.3% 显著增加至 52.7%; 在为期 15 d 的抑瘤实验中, 治疗组小鼠移植骨肉瘤的抑瘤率高达 94.9%, 说明该纳米系统改善缺氧增强 SDT 的策略有着应用前景。

(3) Pt 纳米颗粒: 其是许多化学反应的知名催化剂, 具有过氧化氢酶样活性。Liang 等^[21] 制备了一种用以声动力联合化疗/光热的多功能纳米载体, 即氢化的空心含铂二氧化钛颗粒包封化疗药物阿霉素。氢化的二氧化钛表面上不均匀分布的铂纳米颗粒不仅促进了电子转移, 且还可发挥过氧化氢酶样活性, 在低氧环境中产生足够的氧气。在浓度为 250 × 10⁻⁶ M 的 H₂O₂ 溶液中, 短短 50 s 内, 该纳米载体催化产生氧气可达到 5.5 mg/ml, 证实其能高效催化 H₂O₂ 提供氧气。

(4) PB: 具有出色的过氧化氢酶活性, 催化肿瘤区域 H₂O₂ 产生氧气。Zhang 等^[22] 制备一种经低分子量透明质酸表面修饰的介孔 PB 且包封声敏剂血卟啉单甲醚的多功能纳米系统, 发现该纳米系统可作为原位巨噬细胞转化器和氧气发生器。利用动物超声成像系统监测肿瘤区域中氧气水平发现在静脉注射该纳米系统 2 h 后, 肿瘤中出现了明显的超声信号, 表明肿瘤组织中存在大量的氧气, 实现了可视化监测体内氧气水平; 此外, 免疫荧光染色结果发现经过该纳米系统治疗 10 d 后, 小鼠肿瘤区域的缺氧荧光减弱, 表明肿瘤区域缺氧得到很大的改善。

三、总结及展望

总之, 基于纳米材料改善肿瘤缺氧是一种有效的、新兴的策略, 但是在向临床的应用转化中, 存在着不少棘手的问题: ①癌症纳米医学适用性的主要机制是由于肿瘤的 EPR 被动靶向效应, 但有些纳米材料并未大量聚积于肿瘤区域^[23]; ②纳米材料尚处于研究阶段, 目前多采用金属(如锰、铁、铜等)的纳米粒提供氧气, 但这些物质在正常情况下非特异性地积聚于组织并缓慢释放金属离子可能有害; 如聚积在其他健康的部位, 也会引起脏器的高氧毒性等相关问题, 后期需进行长期毒性实验(至少 6 个月), 以评估其生物相容性和安全; ③大多缺氧癌细胞均位于实体瘤深处, 远离血管, 对于纳米材料而言, 进入这些细胞具有极大的挑战性。因此, 寻找合成方法简单、毒性低、供氧强、具有深层肿瘤渗透能力的纳米粒仍是未来研究的热点。

参考文献

- [1] 李梦梦, 冉海涛. 多模态超声造影剂的现状及研究进展[J]. 临床超声医学杂志, 2020, 22(4): 284-286.
- [2] Abrahamse H, Kruger CA, Kadanyo S, et al. Nanoparticles for advanced photodynamic therapy of cancer[J]. Photomed Laser Surg, 2017, 35(11): 581-588.
- [3] Lafond M, Yoshizawa S, Umemura SI. Sonodynamic therapy: advances and challenges in clinical translation[J]. J Ultrasound Med, 2019, 38(3): 567-580.
- [4] Sazgarnia A, Shanei A, Eshghi H, et al. Detection of sonoluminescence signals in a gel phantom in the presence of Protoporphyrin IX conjugated to gold nanoparticles[J]. Ultrasonics, 2013, 53(1): 29-35.
- [5] Wan GY, Liu Y, Chen BW, et al. Recent advances of sonodynamic therapy in cancer treatment [J]. Cancer Biol Med, 2016, 13(3): 325-338.
- [6] McEwan C, Owen J, Stride E, et al. Oxygen carrying microbubbles for enhanced sonodynamic therapy of hypoxic tumours [J]. J Control Release, 2015, 203(1): 51-56.
- [7] Kaneda MM, Caruthers S, Lanza GM, et al. Perfluorocarbon nanoemulsions for quantitative molecular imaging and targeted therapeutics[J]. Ann Biomed Eng, 2009, 37(10): 1922-1933.
- [8] Castro CI, Briceno JC. Perfluorocarbon-based oxygen carriers: review of products and trials[J]. Artif Organs, 2010, 34(8): 622-634.
- [9] Chen J, Luo H, Liu Y, et al. Oxygen-self-produced nanoplatfor for relieving hypoxia and breaking resistance to sonodynamic treatment of pancreatic cancer[J]. ACS Nano, 2017, 11(12): 12849-12862.
- [10] Huang B, Chen S, Pei W, et al. Oxygen-sufficient nanoplatfor for chemo-sonodynamic therapy of hypoxic tumors[J]. Front Chem, 2020, 8(1): 358.
- [11] Xu CH, Ye PJ, Zhou YC, et al. Cell membrane-camouflaged nanoparticles as drug carriers for cancer therapy[J]. Acta Biomater, 2020, 105(1): 1-14.
- [12] Rao L, Wang W, Meng QF, et al. A Biomimetic nanodecoy traps zika virus to prevent viral infection and fetal microcephaly development [J]. Nano Letters, 2019, 19(4): 2215-2222.
- [13] Wang P, Wang X, Luo Q, et al. Fabrication of red blood cell-based multimodal theranostic probes for second near-infrared window fluorescence imaging-guided tumor surgery and photodynamic therapy[J]. Theranostics, 2019, 9(2): 369-380.
- [14] Jing L, Qu H, Wu D, et al. Platelet-camouflaged nanococktail: simultaneous inhibition of drug-resistant tumor growth and metastasis via a cancer cells and tumor vasculature dual-targeting strategy[J]. Theranostics, 2018, 8(10): 2683-2695.
- [15] Du B, Yan X, Ding X, et al. Oxygen self-production red blood cell carrier system for mri mediated cancer therapy: ferryl-Hb, sonodynamic, and chemical therapy[J]. ACS Biomater Sci Eng, 2018, 4(12): 4132-4143.
- [16] Jia Y, Duan L, Li J. Hemoglobin-based nanoarchitectonic assemblies

- as oxygen carriers[J]. *Adv Mater*, 2016, 28(6): 1312-1318.
- [17] Li C, Yang XQ, An J, et al. Red blood cell membrane-enveloped O₂ self-supplementing biomimetic nanoparticles for tumor imaging-guided enhanced sonodynamic therapy[J]. *Theranostics*, 2020, 10(2): 867-879.
- [18] Li G, Wang S, Deng D, et al. Fluorinated chitosan to enhance transmucosal delivery of sonosensitizer-conjugated catalase for sonodynamic bladder cancer treatment post-intravesical instillation [J]. *ACS Nano*, 2020, 14(2): 1586-1599.
- [19] Zhang Y, Wang H, Jia X, et al. Cascade catalytic nanoplatform for enhanced starvation and sonodynamic therapy [J]. *J Drug Target*, 2020, 28(2): 195-203.
- [20] Fu J, Li T, Zhu Y, et al. Ultrasound-activated oxygen and ROS generation nanosystem systematically modulates tumor microenvironment and sensitizes sonodynamic therapy for hypoxic solid tumors[J]. *Adv Funct Mater*, 2019, 29(51): 1906195.
- [21] Liang S, Deng X, Xu G, et al. A novel Pt-TiO₂ Heterostructure with oxygen-deficient layer as bilaterally enhanced sonosensitizer for synergistic chemo-sonodynamic cancer therapy[J]. *Adv Funct Mater*, 2020, 30(13): 1-13.
- [22] Zhang H, Zhang X, Ren Y, et al. An in situ microenvironmental nano-regulator to inhibit the proliferation and metastasis of 4T1 tumor[J]. *Theranostics*, 2019, 9(12): 3580-3594.
- [23] Nichols JW, Bae YH. EPR: evidence and fallacy [J]. *J Control Release*, 2014, 190(1): 451-464.

(收稿日期:2020-05-08)

· 病例报道 ·

Prenatal ultrasonic diagnosis of plit hand and split foot malformation : a case report

产前超声诊断胎儿裂手、裂足畸形 1 例

王立臣 许红娟 韩舞群 陈洪斌

[中图分类号]R445.1;R714.53

[文献标识码]B

孕妇, 30岁, 孕4产2, 孕28⁺周, 无致畸药物服用史、放射接触和病毒感染史、吸烟饮酒等不良嗜好及相关家族史, 有孕早期自然流产史, 此次妊娠孕期末行定期产前检查, 今来我院行常规产前检查。超声检查: 胎位左骶后位, 双顶径6.90 cm, 头围25.70 cm, 腹围22.90 cm, 股骨长4.90 cm, 胎盘着床于前壁, 成熟度 I 级, 羊水最大深度5.40 cm, 胎心率133次/min, 律齐, 估测胎儿体质量(1028.00±154.00)g, 胎儿头部、胸部、腹部、四肢常规检查未见明显异常, 胎儿颈部皮肤可见“U”形压迹。胎儿双手、双足部分骨性结构未显示, 双手均仅见2根手指回

声, 双足均仅见2根足趾回声, 双手、双足形态异常, 双足呈蟹钳状(图1, 2)。超声提示: 宫内妊娠, 单活胎, 臀位, 胎儿大小相当于27⁺周; 胎儿双手、双足异常。后经引产证实(图3)。引产标本经X线检查: 双手部分掌骨、指骨缺失, 双足部分跖骨、趾骨缺失(图4)。

讨论: 胎儿裂手、裂足畸形(SHFM)是一种罕见的先天性畸形, 因指/趾或掌骨/跖骨缺失, 表现为手或足的尺侧与桡侧或胫侧与腓侧不同形式的分离, 本病多为常染色体显性遗传, 偶有染色体检查未见异常文献^[1]报道, 染色体畸变及基因突变均可



图1 二维超声显示胎儿一手仅见2根手指回声, 桡侧缺如(A); 一足呈“蟹钳”样分裂(B)

图2 胎儿双足三维重建图像显示双足均仅见2根足趾回声, 中心分裂

(下转第389页)