双模态成像仿生纳米粒对甲状腺髓样癌的声动力治疗

朱炜薇,凡正超,胥 莹,夏纪筑,赵香芝



文题释义:

声动力疗法:超声具有无创性、可控制性和深层组织高穿透的能力,在临床中被广泛应用。超声与声敏剂协同作用产生具有细胞毒性的活性氧,实现病理性凋亡同时不损伤周围组织,精准发挥抗肿瘤治疗作用。

仿生细胞膜纳米粒:由细胞膜涂层包覆的纳米粒能够获得源细胞膜表面复杂的抗原表达特性而受到广泛关注,包括优越的生物相容性、免疫逃逸、延长血液循环、增强同源靶向和肿瘤穿透能力等优势,为癌症药物的输送提供一种高效的靶向纳米技术平台。

摘要

背景: 声动力疗法作为一种新型抗肿瘤治疗手段具有非侵入性和时空可控性的特点,在甲状腺髓样癌无创性治疗中具有广阔的应用前景。 目的: 制备具有双模态成像能力的仿生癌细胞膜涂层脂质纳米粒,检测纳米粒的理化性质、靶向能力、成像效果、细胞毒性和抗迁移能力。

方法:以二棕榈酰磷脂酰胆碱、二棕榈酰磷脂酰甘油、二硬脂酰磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇2000、胆固醇、血卟啉单甲醚、全氟己烷为原料,通过薄膜水合-超声振荡法制备脂质纳米粒HP@LNP,其中血卟啉单甲醚装载于脂质纳米结构的疏水层,全氟己烷装载于脂质纳米结构的亲水核心层内;将甲状腺髓样癌细胞膜包覆于脂质纳米粒HP@LNP表面,构建具有主动靶向甲状腺髓样癌细胞能力的仿生脂质纳米粒MHP@LNP。表征纳米粒MHP@LNP的理化性质、靶向能力、免疫逃逸能力、成像效果、细胞毒性和抗迁移能力。

结果与结论:①脂质纳米粒MHP@LNP呈现典型的核壳结构,粒径为131.06 nm,平均电位为-30.59 mV,凝胶电泳结果显示脂质纳米粒 MHP@LNP与癌细胞膜蛋白图谱相符合,荧光共定位结果显示脂质纳米粒MHP@LNP与癌细胞膜的荧光信号显著重合。脂质纳米粒MHP@ LNP纳米粒内血卟啉单甲醚的包封率为87.8%,载药率为14.6%。在低强度聚焦超声刺激下,脂质纳米粒MHP@LNP可发生相变产生微泡,在4 min时超声信号强度达到最大值。在激光照射下,脂质纳米粒MHP@LNP的光声信号强度与其质量浓度呈现线性相关。脂质纳米粒MHP@ LNP具有同源细胞靶向能力和免疫逃逸能力。未经低强度聚焦超声照射前的脂质纳米粒MHP@LNP具有良好的生物相容性,而经低强度聚 焦超声照射后产生具有细胞毒性的活性氧,有效杀伤甲状腺髓样癌细胞,并抑制甲状腺髓样癌细胞的迁移能力。②结果表明,脂质纳米粒 MHP@LNP能够在超声和光声双模态成像引导下实现声动力治疗,用于治疗甲状腺髓样癌。

关键词: 脂质纳米粒; 声动力疗法; 低强度聚焦超声; 声敏剂; 活性氧; 癌细胞膜; 同源靶向; 纳米医学; 光声成像; 双模态成像

Dual-modality imaging bionic nanoparticles for sonodynamic therapy on medullary thyroid carcinoma

Zhu Weiwei, Fan Zhengchao, Xu Ying, Xia Jizhu, Zhao Xiangzhi

Department of Ultrasound, Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, Sichuan Province, China Zhu Weiwei, Master candidate, Practicing physician, Department of Ultrasound, Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, Sichuan Province, China

Corresponding author: Zhao Xiangzhi, Associate professor, Department of Ultrasound, Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, Sichuan Province, China

Abstract

BACKGROUND: Sonodynamic therapy represents an innovative antitumor treatment modality characterized by its non-invasiveness and precise spatiotemporal controllability. This approach offers broad prospects for the non-invasive treatment of medullary thyroid carcinoma.

西南医科大学附属医院超声医学科,四川省泸州市 646000 第一作者:朱炜薇,女,1995年生,四川省成都市人,汉族,西南医科大学附属医院在读硕士,执业医师,主要从事分子影像学研究。 通讯作者:赵香芝,副教授,西南医科大学附属医院超声医学科,四川省泸州市 646000 https://orcid.org/0009-0002-1409-2914 (朱炜薇) 基金资助:泸州市指导性科技计划项目 (22YYJC0037),项目负责人:夏纪筑;泸州市指导性科技计划项目 (2022JYJ108),项目负责人: 赵香芝; 西南医科大学附属医院博士启动资金项目,项目负责人:赵香芝 引用本文:朱炜薇,凡正超,胥莹,夏纪筑,赵香芝.双模态成像仿生纳米粒对甲状腺髓样癌的声动力治疗 [J].中国组织工程研究, 2025, 29(16):3410-3419.



OBJECTIVE: To prepare lipid nanoparticles coated with a biomimetic cancer cell membrane capable of dual-modality imaging, and to detect the physicochemical properties, targeting ability, imaging efficacy, cytotoxicity, and anti-migration capabilities of the nanoparticles.

METHODS: Dipalmitoyl phosphatidylcholine, dipalmitoyl phosphatidylglycerol, distearoyl phosphatidylethanolamine-PEG2000, cholesterol, hematoporphyrin monomethyl ether, and perflexane were used as raw materials. Nanoparticles HP@LNP were synthesized using a thin-film hydration-ultrasonication technique, encapsulating hematoporphyrin monomethyl ether within the hydrophobic layer and perflexane within the hydrophilic core of lipid nanostructures.

Subsequently, the surface of these nanoparticles HP@LNP was coated with medullary thyroid carcinoma cell membrane, resulting in the creation of biomimetic lipid nanoparticles (MHP@LNP) with active targeting capabilities towards medullary thyroid carcinoma cells. The physicochemical properties, targeting ability, immune evasion capacity, imaging effect, cytotoxicity, and anti-migration properties of MHP@LNP nanoparticles were characterized.

RESULTS AND CONCLUSION: (1) The synthesized MHP@LNP nanoparticles demonstrated a typical core-shell structure, with a diameter of 131.06 nm and an average zeta potential of -30.59 mV. Gel electrophoresis confirmed that the protein profile of the MHP@LNP nanoparticles closely matched that of the cancer cell membrane. Fluorescent colocalization studies indicated a significant overlap between the fluorescence signals of the nanoparticles and the cancer cell membrane. The encapsulation rate and drug loading rate of hematoporphyrin monomethyl ether in MHP@LNP nanoparticles were 87.8% and 14.6% respectively. Upon stimulation with low-intensity focused ultrasound, the MHP@LNP nanoparticles underwent a phase transition, forming microbubbles with ultrasound signal intensity peaking at 4 minutes. Under laser irradiation, the photoacoustic signal intensity was found to be linearly correlated with the mass concentration of the nanoparticles. The MHP@LNP nanoparticles showed good biocompatibility. However, following ultrasound irradiation, they produced cytotoxic reactive oxygen species, had lethal effect on medullary thyroid carcinoma cells, and inhibited the migration of medullary thyroid carcinoma cells. (2) These findings indicate that MHP@LNP nanoparticles can achieve sonodynamic therapy for the treatment of thyroid medullary carcinoma under ultrasound and photoacoustic dual-modality imaging guidance.

Key words: lipid nanoparticle; sonodynamic therapy; low-intensity focused ultrasound; sonosensitizer; reactive oxygen species; cancer cell membrane; homologous targeting; nanomedicine; photoacoustic imaging; dual-modality imaging

Funding: Luzhou City Guiding Science and Technology Plan Project, No. 22YYJC0037 (to XJZ) ; Luzhou City Guiding Science and Technology Plan Project, No. 2022JYJ108 (to ZXZ); Doctoral Start-up Fund Project of Affiliated Hospital of Southwest Medical University (to ZXZ) **How to cite this article:** ZHU WW, FAN ZC, XU Y, XIA JZ, ZHAO XZ. Dual-modality imaging bionic nanoparticles for sonodynamic therapy on medullary thyroid carcinoma. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2025;29(16):3410-3419.

0 引言 Introduction

甲状腺髓样癌属于神经内分泌相关恶性肿瘤,在诊 断时约 70% 患者出现淋巴结转移,约 10% 患者已经出现 远处转移[1-3]。对于甲状腺髓样癌,传统的积聚放射性碘 治疗无效,并且临床上应用的多激酶抑制剂等抗肿瘤药物 无法达到理想治疗效果^[4]。因此,能够早期诊断甲状腺髓 样癌是十分重要的。利用仿生癌细胞膜涂层的纳米药物 递送系统,保留源癌细胞膜表面多样性的抗原表达,使 得构建的纳米平台具有独特的同型靶向性与免疫逃逸能 力^[5-6],在一定程度上提高了肿瘤早期诊断率。纳米结 构脂质载体作为新一代脂质纳米粒具有更显著的封装效 率和稳定性,能够将药物安全输送到目标区域,为疾病 治疗提供更安全理想的治疗方案,目前已被广泛应用于 乳腺癌、肺癌、前列腺癌、肝癌和皮肤癌等疾病的治疗 中^[7-9];此外,与核酸药物结合使得疫苗的发展取得巨大 成功^[10-11]。将2种或2种以上的成像模态结合能够更好地提 高诊断效率,为肿瘤区域的诊疗提供丰富的生物学信息^[12]。 超声成像为深部组织提供较好的分辨率,对比性强且实 时成像。光声成像具有高敏感性、高对比度和高分辨率 的功能成像特点,在生物医学和临床应用中具有巨大的 潜力^[13]。

声动力疗法作为非侵入性治疗方式具有可控性、限制脱靶效应和毒性的优势,正逐渐成为人们关注的抗肿瘤研究的焦点^[14]。利用超声波对于组织有较强的组织穿透能力,特别是低强度聚焦超声将能量聚焦于深部肿瘤组织部位,有效克服光动力疗法的光毒性和穿透能力差的问题^[15]。当超声作用于液态介质时能够产生空泡化,诱导声穿孔效应,导致肿瘤血管穿透性的增加,有效促进药

物进入细胞内^[16]。同时,液体空泡化的爆炸可产生声致 发光,能量瞬时释放诱发剧烈化学反应,当声敏剂接受 到转移的能量时与氧气反应产生具有细胞毒性的活性氧, 导致线粒体损伤、DNA 解链、细胞骨架破坏及染色质凝聚, 达到氧化损伤肿瘤细胞目的,最终促使肿瘤细胞凋亡^[17-18]。

此次实验研究通过薄膜水合 - 超声振荡法制备脂质 纳米粒,负载声敏剂血卟啉单甲醚和相变材料全氟己烷, 将甲状腺髓样癌细胞 (MZ-CRC-1) 膜包覆于脂质纳米粒表 面,构建具有主动靶向甲状腺髓样癌能力的脂质纳米粒 MHP@LNP,在超声和光声双模态成像下实现对肿瘤的早 期诊断,同时协同声敏剂的催化反应,实现高效的声动 力疗法。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 体外实验+细胞学实验,多组间比较采用单因 素方差分析,两两比较采用 *t* 检验。

1.2 时间及地点 实验于 2022 年 5 月至 2023 年 11 月在 西南医科大学附属医院肿瘤放射生物实验室完成。

1.3 材料

1.3.1 实验试剂 二棕榈酰磷脂酰胆碱、二硬脂酰基磷脂 酰乙醇胺-聚乙二醇 2000、二棕榈酰磷脂酰甘油、胆固 醇(西安瑞禧生物科技有限公司);血卟啉单甲醚(上海 麦克林生物技术有限公司);全氟己烷(上海迈瑞尔生化 科技有限公司);细胞膜蛋白与细胞浆蛋白提取试剂盒(上 海碧云天生物技术公司);MTT 细胞活力检测试剂(广州 赛国生物科技有限公司);活性氧检测试剂盒(上海碧云 天生物技术公司);四季青优级胎牛血清(杭州四季青生 物工程材料有限公司);DMEM 高糖培养基(上海源培生 ● 中国组织工程研究

www.CITER.com Chinese Journal of Tissue Engineering Research 物科技股份有限公司)。

1.3.2 实验仪器 马尔文激光粒径仪 (Nano Brook 90PlusZeta, 美国); 粒径仪 (Particle Metrix ZetaView, 德国); 透射电子显微镜 (FEI TalosF200X, 美国); 荧光显微镜 (Olympus IX73,日本); 紫外-可见分光光度计 (shimadzu UV-3600Plus,

日本);超声成像仪(Philips EPIQ5,美国);光声成像系统(Vevo Laser,加拿大);超声波细胞破碎仪(宁波新芝生物科技有限公司)。

1.3.3 实验细胞 甲状腺髓样癌细胞 MZ-CRC-1 由西南医科 大学附属医院核医学与分子影像四川省重点实验室提供。 巨噬细胞 RAW264.7、人非小细胞肺癌细胞 A549、小鼠乳 腺癌细胞 4T1 均由西南医科大学附属医院肿瘤放射生物 实验室提供。

1.4 实验方法

1.4.1 仿生纳米粒 MHP@LNP 的制备 全程在避光环境下进行。首先采用薄膜水合法将二棕榈酰磷脂酰胆碱、二棕榈酰磷脂酰甘油、二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇 2000、胆固醇和血卟啉单甲醚的混合物按照质量 5, 2, 1.5, 1.5, 2 mg 精确称取后,将混合物充分溶解于三氯甲烷和甲醇 (10 mL/10 mL) 的有机溶剂中,通过旋转蒸发去除有机溶剂,形成均匀薄膜后用超纯水溶解。将溶液转移至干净 EP 管中,加入 200 µL 全氟己烷,采用超声振荡法在冰浴条件下进行声振乳化 (120 W, 5 min),4 ℃条件下 8 000 r/min 离心 5 min,弃去上清液,重悬沉淀,洗涤 3 次后得到脂质纳米粒 HP@LNP。

按照细胞膜蛋白提取试剂盒说明步骤提取 MZ-CRC-1 细胞膜。当 MZ-CRC-1 细胞在培养皿中生长至将近完全融合时,取出放置于冰面上,用预冷的 PBS 洗涤 3 次,使用细胞刮刀快速刮下细胞,收集后在 4 ℃条件下以 1 000 r/min 离心 5 min,弃去上清液,获取细胞沉淀;加入试剂盒中试剂 A 并添加 1% 苯甲基磺酰氟,将混合均匀的细胞悬液先放置于液氮冷冻 30 min,然后取出于 37 ℃ 水浴中迅速解冻,经过反复多次冻融,在 4 ℃条件下 1 000 r/min 离心 10 min,去除未破碎的细胞沉淀,将上 清液在 4 ℃条件下 14 000×g 离心 30 min,离心后的沉淀 即为 MZ-CRC-1 癌细胞膜碎片,将沉淀放置于 -80 ℃冻干 机中冷冻干燥 3 d,置于 -80 ℃冰箱储存备用。

将上述合成好的脂质纳米粒 HP@LNP 与 MZ-CRC-1 癌 细胞膜按照质量比例为1:1 混合均匀,在冰浴条件下 超声振荡处理 2 min, 14 000 r/min 离心 20 min,弃去上 清液,得到的沉淀即为具有癌细胞膜涂层的仿生脂质纳 米粒 MHP@LNP。

1.4.2 脂质纳米粒 MHP@LNP 的表征 在透射电镜下观察 脂质纳米粒 HP@LNP 和 MHP@LNP 的形貌结构。采用马 尔文激光粒径仪检测脂质纳米粒 HP@LNP 和 MHP@LNP 的粒径和分散指数。采用粒径仪检测脂质纳米粒 HP@ LNP、MHP@LNP 与 MZ-CRC-1 细胞膜的电位。采用紫外分 光光度计检测血卟啉单甲醚和脂质纳米粒 MHP@LNP 的吸 收光谱,同时测定脂质纳米粒 MHP@LNP 中血卟啉单甲醚 的包封率与载药率。采用凝胶电泳法检测 MZ-CRC-1 癌细 胞膜和脂质纳米粒 MHP@LNP 的蛋白表达图谱。在荧光显 微镜下观察脂质纳米粒 MHP@LNP 的荧光信号,使用 DAPI 标记细胞核(蓝色荧光),DiO 标记细胞膜(绿色荧光), DiD 标记脂质纳米粒 HP@LNP(红色荧光)。

血卟啉单甲醚包封率 (%)= 纳米粒中血卟啉单甲醚质量 / 加入血卟啉单甲醚质量 ×100%。

血卟啉单甲醚载药率 (%)= 纳米粒中血卟啉单甲醚质量 / 纳米粒质量 ×100%。

1.4.3 脂质纳米粒 MHP@LNP 的相变与成像 将脂质纳 米粒 MHP@LNP 溶液用去离子水稀释,使其质量浓度为 1 mg/mL,置于 24 孔板中,使用低强度聚焦超声 (4 W/cm², 脉冲模式)连续照射,分别在照射 0,3,5 min 吸取少量 液体放置于载玻片上,在光学显微镜下观察纳米粒相变 情况。

将脂质纳米粒 MHP@LNP 溶液用去离子水稀释,使 其质量浓度为1 mg/mL。吸取 200 μL 放置于 3% 琼脂凝胶 模型中,使用低强度聚焦超声 (4 W/cm²,脉冲模式)进 行照射,观察时间为1,2,3,4,5 min,使用超声诊断 仪采集照射前后 B 型超声和增强超声的图像情况,使用 Image J 软件对于信号强度进行定量分析。

将不同质量浓度 (0.6, 1.2, 2.4, 4.8, 9.6 mg/mL) 的 脂质纳米粒 MHP@LNP 溶液放置于 3% 琼脂凝胶模型中, 以 PBS 为对照组,用 700 nm 波长激光进行照射,使用光 声成像仪采集光声图像和记录分析信号强度。

1.4.4 脂质纳米粒 MHP@LNP 的细胞摄取和同源靶向性选择对数生长期的 MZ-CRC-1 细胞,以 1×10⁵/孔的密度接种于培养皿中,置于 37 ℃、体积分数 5%CO₂ 细胞孵箱中孵育。孵育过夜后取出培养皿,用 PBS 洗涤,将含 DiD 标记的脂质纳米粒 HP@LNP(50 μg/mL)和 MHP@LNP (50 μg/mL)分别加入培养皿中,培养 1,2,3,4 h 后,弃去旧培养基并用 PBS 洗涤 3 次,加入 40 g/L 多聚甲醛溶液固定 15 min,用 PBS 洗涤 3 次,加入 DAPI 染色细胞核 10 min 并摇晃均匀,用 PBS 洗涤 3 次,在荧光显微镜下观察细胞内摄取情况。

选择对数生长期的 MZ-CRC-1 细胞、RAW264.7 细胞、 A549 细胞和 4T1 细胞,加入含 DiD 标记的脂质纳米粒 MHP@LNP(50 µg/mL) 进行孵育,孵育 4 h 后,弃去旧培 养基并用 PBS 洗涤 3 次,加入 40 g/L 多聚甲醛溶液固定 15 min,用 PBS 洗涤 3 次,加入 DAPI 染色细胞核 10 min 并摇晃均匀,用 PBS 洗涤 3 次,在荧光显微镜下观察细

胞内摄取情况。

1.4.5 脂质纳米粒 MHP@LNP 活性氧检测 选择对数生长的 MZ-CRC-1 细胞,以 1×10⁴/孔的密度接种到 6 孔板中, 置于 37 ℃、体积分数 5%CO₂ 细胞孵箱中孵育。孵育过夜 后取出,用 PBS洗涤后分组处理:对照组不进行任何处理, 常规孵育 4 h:超声组常规孵育 4 h 后利用低强度聚焦超 声 (4 W/cm²,脉冲模式)照射 4 min; MHP@LNP 组加入 50 µg/mL 脂质纳米粒 MHP@LNP 孵育 4 h, 后利 用低强度聚焦超声 (4 W/cm²,脉冲模式)照射 4 min。加 入活性氧荧光探针孵育 30 min,在荧光显微镜下检测活 性氧的生成。

1.4.6 脂质纳米粒 MHP@LNP 疗效评估

MTT 法评估脂质纳米粒 MHP@LNP 的细胞毒性: 选 择对数生长期的 MZ-CRC-1 细胞, 以 1×10⁴/ 孔的密度接种 到 96 孔板中, 孵育过夜后按 3 个实验分组处理: ①实验 组分别加入 6.25, 12.5, 25, 50, 100 µg/mL 的脂质纳米 粒 MHP@LNP, 对照组(无纳米粒溶液但含有细胞)和空 白组 (无纳米粒和细胞)。 孵育 24 h 后加入 MTT 试剂, 使 用酶标仪测定 490 nm 波长下的吸光度值,以评估细胞活 力。②设置对照组、超声组、MHP@LNP 组和 MHP@LNP+ 超声组,对照组不进行任何处理,常规孵育 24 h;超声组 利用低强度聚焦超声 (4 W/cm²,脉冲模式)照射 4 min 后 继续孵育 24 h; MHP@LNP 组加入 100 µg/mL 脂质纳米粒 MHP@LNP 孵育 24 h; MHP@LNP+ 超声组加入 100 μg/mL 脂质纳米粒 MHP@LNP 后利用低强度聚焦超声 (4 W/cm², 脉冲模式)照射4min,继续孵育24h。同时设置空白组(无 纳米粒和细胞)。孵育结束后,采用 MTT 法测定细胞活力。 ③实验组分别加入 5, 10, 20, 40, 60, 80 µg/mL 的脂质 纳米粒 MHP@LNP,利用低强度聚焦超声 (4 W/cm²,脉冲 模式)照射4 min 后继续孵育24 h。同时设置对照组(无 纳米粒溶液但含有细胞)和空白组(无纳米粒和细胞)。 解育结束后,采用MTT法测定细胞活力。细胞存活率%=(实 验组吸光度值 - 空白组吸光度值)/(对照组吸光度值 - 空 白组吸光度值)×100%。

活死细胞双染评估脂质纳米粒 MHP@LNP 的细胞毒 性:选择对数生长期的 MZ-CRC-1 细胞,以 1×10⁵/ 孔的密 度接种到 6 孔板中,孵育过夜后分组处理:对照组不进行 任何处理,常规孵育 24 h;超声组利用低强度聚焦超声 (4 W/cm²,脉冲模式)照射 4 min 后继续孵育 24 h; MHP@LNP 组加入 80 μg/mL 脂质纳米粒 MHP@LNP 孵 育 24 h; MHP@LNP+超声组加入 80 μg/mL 脂质纳米粒 MHP@LNP 后利用低强度聚焦超声 (4 W/cm²,脉冲模式) 照射 4 min,继续孵育 24 h。孵育结束后,使用活死细胞 双染色试剂盒染色处理细胞,在荧光显微镜下观察细胞 Chinese Journal of Tissue Engineering Research

中国组织工程研究

TTeR

www.CJTER.com

存活情况。

1.4.7 脂质纳米粒 MHP@LNP 抗迁移实验 选择对数生长期 的 MZ-CRC-1 细胞接种于 6 孔板中, 细胞密度为 1×10⁵/ 孔, 置于 37 ℃、体积分数 5%CO₂ 细胞孵箱中孵育。待细胞完 全贴壁且融合率达到近 100% 后,用干净的 200 µL 枪头垂 直于细胞平面进行划痕,用 PBS 洗涤 2 次后分组处理: 对照组不进行任何处理,超声组利用低强度聚焦超声 (4 W/cm²,脉冲模式)照射 4 min 后继续孵育 24 h; MHP@LNP 组 加入 50 µg/mL 脂质 纳米粒 MHP@LNP 孵 育 24 h; MHP@LNP+ 超声组加入 50 µg/mL 脂质纳米粒 MHP@LNP 后利用低强度聚焦超声 (4 W/cm²,脉冲模式) 照射 4 min,继续孵育 24 h。孵育结束后,在光学显微镜 下拍照划痕后 0 h 和 24 h 的照片,使用 Image J 软件测量 伤口区域面积。细胞迁移率 (%)=(0 h 伤口面积 -24 h 伤口 面积)/0 h 伤口面积 ×100%。

1.5 主要观察指标 脂质纳米粒 MHP@LNP 的超声 / 光声 显像能力、同源靶向能力和免疫逃逸能力、体外治疗能 力和抗迁移能力。

1.6 统计学分析 采用 GraphPad Prism v9.0.0 软件对数据 进行统计学分析,计量资料以 x±s 表示,两变量之间关 系采用线性相关分析,多组之间比较采用单因素方差分 析,两两比较采用 t 检验, P<0.05 时差异有显著性意义。 该文统计学方法已经西南医科大学附属医院统计学专家 审核。

2 结果 Results

2.1 脂质纳米粒 MHP@LNP 基本表征结果 透射电镜下 观察到脂质纳米粒 HP@LNP 呈分散均匀的球形结构,见 图 1A,载入细胞膜后的脂质纳米粒 MHP@LNP 呈现典型 的核壳结构,纳米粒表面的细胞膜涂层清晰可见,见图 1B。

通过马尔文激光粒径仪测得脂质纳米粒 HP@LNP 和 MHP@LNP 的粒径分别为 119.38 nm(分散指数为 0.183) 和 131.06 nm(分散指数为 0.232),见图 1C。通过粒径仪测 得脂质纳米粒 HP@LNP 的表面电位为 -27.19 mV,细胞膜 表面电位为 -33.35 mV,脂质纳米粒 MHP@LNP 的表面电 位为 -30.59 mV,见图 1D。

在紫外吸光光谱中,血卟啉单甲醚于 400 nm 处出现 吸收波峰,而脂质纳米粒 MHP@LNP 在 400 nm 处出现对 应的吸收波峰,见图 1E。同时通过紫外吸光光谱测得脂质纳米粒 MHP@LNP 内血卟啉单甲醚的包封率为 87.8%,载药率为 14.6%。在凝胶电泳结果可见脂质纳米粒 MHP@LNP 和 MZ-CRC-1 癌细胞膜的蛋白图谱相似,见图 1F。

荧光显微镜下观察包覆癌细胞膜的脂质纳米粒 MHP@ LNP, HP@LNP(红色荧光)和癌细胞膜(绿色荧光)荧光

●17% 中国组织工程研究

www.CITER.com Chinese Journal of Tissue Engineering Research

信号显著重合,见图 1G。

2.2 脂质纳米粒 MHP@LNP 的相变与成像检测结果 在低强度聚焦超声照射前后,光学显微镜下观察到低强度聚焦超声 MHP@LNP 发生相变,随照射时间延长产生大小不同的微泡,见图 2A。在超声成像中,观察到随着低强度聚 焦超声照射时间的延长,脂质纳米粒 MHP@LNP 在 B 型模 式和超声增强模式下的信号强度增强,在 4 min 达到最大 值,见图 2B-D。在光声成像中,脂质纳米粒 MHP@LNP 光声信号呈质量浓度依赖性增强,见图 2E。

2.3 脂质纳米粒 MHP@LNP 的细胞摄取和同源靶向性检测结果 DiD 标记的脂质纳米粒 HP@LNP 和 MHP@LNP 呈现红色, DAPI 标记的 MZ-CRC-1 细胞呈现蓝色, 分别共同孵育 4 h 后, 在荧光显微镜下可见 MHP@LNP 组红色荧光信号强度明显强于 HP@LNP 组, 见图 3A。脂质纳米粒 MHP@LNP 分别与 RAW264.7、A549、4T1 和 MZ-CRC-1 细胞共孵育相同时间后, 在荧光显微镜下可以观察到与MZ-CRC-1 细胞组红色荧光信号强度最强, 说明脂质纳米粒 MHP@LNP 具有较好的同源靶向能力与免疫逃逸能力, 见图 3B。

2.4 脂质纳米粒 MHP@LNP 的活性氧生成检测结果 通过 活性氧荧光探针检测活性氧的生成,在荧光显微镜下对 照组、超声组和 MHP@LNP 组未见绿色荧光信号, MHP@ LNP+ 超声组可见明显绿色荧光信号,见图 4。

2.5 脂质纳米粒 MHP@LNP 疗效评估结果 MTT 检测结果 显示,在低强度聚焦超声未照射前,不同质量浓度的脂质 纳米粒 MHP@LNP 与 MZ-CRC-1 细胞共同孵育,脂质纳米 粒 MHP@LNP 在 100 μg/mL 高浓度条件下的细胞存活率 > 80%,说明脂质纳米粒 MHP@LNP 具有良好的生物相容性, 见图 5A。

MTT 检测结果显示,与对照组、超声组和 MHP@LNP 组相比,MHP@LNP+ 超声组表现出明显的杀伤细胞的能 力,见图 5B。经低强度聚焦超声照射后,随着脂质纳米 粒 MHP@LNP 质量浓度的增加,细胞存活率逐渐减低,见 图 5C。

在活死细胞双染色结果中,活细胞呈绿色,死细胞 呈红色,在荧光显微镜下可见对照组、超声组未见明显红 色荧光,MHP@LNP 组可见少量红色荧光,MHP@LNP+超 声组可见明显的红色荧光,与MTT 检测结果相一致,见 图 5D。

2.6 脂质纳米粒 MHP@LNP 抗迁移实验结果 定量分析 各组在 0 h 和 24 h 的细胞迁移率,对照组细胞迁移率为 39%,超声组细胞迁移率为 36%, MHP@LNP 组细胞迁移 率为 30%, MHP@LNP+ 超声组细胞迁移率为 15%, MHP@ LNP+ 超声组表现出良好的抗迁移能力,见图 6。

3 讨论 Discussion

甲状腺髓样癌预后较差,发现时通常伴有远处转移, 早期诊断并治疗有助于提高患者的总体生存期^[19-20]。与单 模态成像相比,多模态成像能够提高分辨率和灵敏度,为 癌症的诊断提供更全面和更精准的信息^[21-22]。基于纳米载 体的递送系统可克服抗肿瘤药物代谢快、靶向性差和不良 反应多的问题,明显提高化疗药物的递送效率,是一种有 效的抗肿瘤策略^[23-24]。因此,将多模态成像技术和纳米药 物递送系统相结合为早期诊断并治疗甲状腺髓样癌提供新 的治疗途径。

纳米结构脂质载体具有独特的磷脂双分层结构,可 作为双亲性载体,具有优异的生物相容性和降解性,是 一种很有前途的药物递送系统^[25-26]。尤其是 COVID-19 疫 苗的快速临床批准应用,代表了基于脂质药物递送 mRNA 疗法取得巨大的成功,说明基于脂质结构的纳米粒具 有极大临床应用潜力^[27-28]。此次研究中制备的脂质纳米 粒 HP@LNP 的粒径为 119.38 nm(分散指数为 0.183),透 射电镜下呈现出分散均匀的球形结构,包覆癌细胞膜后 的脂质纳米粒 MHP@LNP 呈现典型的核壳结构,粒径为 131.06 nm(分散指数为 0.232),粒径的增加归因于细胞膜 厚约 10 nm。脂质纳米粒 MHP@LNP 的电位 (-30.59 mV) 与癌细胞膜电位 (-33.35 mV) 相近,凝胶电泳分析显示癌 细胞膜与 MHP@LNP 具有相似蛋白图谱,并且荧光标记的 共定位信号显著重合,以上结果表明癌细胞膜成功包覆在 脂质纳米粒上,为后续实验研究奠定了基础。

在超声刺激下全氟己烷可发生声滴汽化效应,产生 微泡有助于清晰地呈现病灶组织,成为临床中应用中的 超声成像对比剂^[29-30]。脂质纳米粒 MHP@LNP 随着低强度 聚焦超声照射时间的延长,产生相变的微泡逐渐增多, B型超声和增强超声呈现出良好的成像效果,在4 min 时 达到最大值,随后微泡逐渐破裂,与光学显微镜观察结 果相一致。血卟啉单甲醚不仅能够作为声敏剂还是优良 的光敏剂,具有良好光声成像能力。在激光照射的脂质 纳米粒 MHP@LNP 光声成像中,纳米粒质量浓度与光声 信号强度呈现线性相关。因此,脂质纳米粒 MHP@LNP 具有良好的超声和光声双模态成像能力,为制备早期诊 断甲状腺髓样癌并疗效评估的一体化智能纳米粒提供了 可能。

仿生细胞膜构建的纳米粒能够增强生物相容性,延 长血液循环时间,癌细胞膜表面的"不要吃我"蛋白赋 予仿生纳米粒逃逸免疫系统的能力^[31]。同时肿瘤细胞膜 表面具有嗜同性黏附结构域的表面抗原,如癌胚抗原和半 乳糖凝集素 3,可以识别同源肿瘤,增强癌细胞膜涂层纳 米颗粒对肿瘤细胞的归巢能力和肿瘤部位的保留^[32-33]。在



图注: HP@LNP的原料为二棕榈酰磷脂酰胆碱、二棕榈酰磷脂酰甘油、二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇 2000、胆固醇、血卟啉单甲醚、全氟己烷, MHP@LNP 为包覆甲状腺髓样癌细胞膜的 HP@LNP。A 为 HP@LNP 的透射电镜图像,呈分散均匀的球形结构,标尺为 400 nm; B 为 MHP@LNP 的透射电镜图像,呈典型核壳结构,标尺为 100 nm; C 为两种纳米粒的粒径,其中 MHP@LNP 的粒径为 131.06 nm; D 为 HP@LNP、甲状腺髓样癌细胞膜 (CM)和 MHP@LNP 的电位,其中 MHP@LNP 的电位为 -30.59 mV; E 为血卟啉单甲醚 (HMME)和 MHP@LNP 的紫外吸光光谱图像;F 为凝胶电泳结果, I 为癌细胞膜, II 为 MHP@LNP,两者图谱相似;G 为荧光共定位图像,蓝色为 DAPI 染色后的细胞核,红色为含 DiD 标记的 HP@LNP,绿色为 DiO 标记包覆在纳米粒上的甲状腺髓样癌细胞膜涂层,绿色荧光和红色荧光显著重合,说明癌细胞膜成功包覆在纳米粒上,标尺为 200 μm。 图1 | 脂质纳米粒 MHP@LNP 的基本表征

Figure 1 | Basic characterization of MHP@LNP nanoparticles



图注: MHP@LNP 的原料为二棕榈酰磷脂 酰胆碱、二棕榈酰磷脂酰甘油、二硬脂酰 基磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇 2000、胆固醇、 血卟啉单甲醚、全氟己烷、甲状腺髓样癌 细胞膜。A为低强度聚焦超声照射后纳米 粒的变化,光学显微镜下可见随时间增 加产生微泡并逐渐崩解,标尺为 50 µm; B为低强度聚焦超声照射下纳米粒的 B型 超声和增强超声图像,在4 min 时达到峰 值.C,D为对应的超声信号强度定量分析; E 为激光照射后纳米粒的光声图像,随着 纳米粒质量浓度的增加信号值逐渐增强。 图 2 | 脂质纳米粒 MHP@LNP 的相变图像 和超声/光声成像

Figure 2 | Phase transition images and ultrasound/photoacoustic imaging of MHP@LNP nanoparticles



图注: HP@LNP 的原料为二棕榈酰磷脂酰胆碱、二棕榈酰磷脂酰甘油、二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺 -聚乙二醇 2000、胆固醇、血卟啉单甲醚、全氟 己烷, MHP@LNP 为包覆甲状腺髓样癌细胞膜的 HP@LNP。A 为两种纳米粒在不同时间细胞内的摄取图像, MHP@LNP 组内红色荧光强度明显强于 HP@LNP 组, 红色为纳米粒, 标尺为 100 μm; B 为 MHP@LNP 在甲状腺髓样癌细胞 MZ-CRC-1、巨噬细胞 RAW264.7、人非小细胞肺癌细胞 A549 和 小鼠乳腺癌细胞 4T1 的摄取图像,在 MZ-CRC-1 同源细胞中荧光信号显著增强,标尺为 100 μm。

图 3 | 脂质纳米粒 MHP@LNP 在细胞内的摄取分析

Figure 3 | Analysis of MHP@LNP nanoparticles uptake in cells



图注: MHP@LNP的原料为二棕榈酰磷脂酰胆碱、二棕榈酰磷脂酰甘油、二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇2000、胆固醇、血卟啉单甲醚、全氟己烷、 甲状腺髓样癌细胞膜。图中 I 为 MZ-CRC-1 细胞图像, II 为产生的活性氧图像, III为细胞与活性氧合并后的图像,相较于其他 3 组, MHP@LNP+ 超声组产生明显的活性氧,标尺为 100 μm。

图 4 | 脂质纳米粒 MHP@LNP 活性氧检测结果

Figure 4 | Reactive oxygen species detection in MHP@LNP nanoparticles

研究原著



图注: MHP@LNP 的原料为二棕榈酰磷脂酰胆碱、二棕榈酰磷脂酰甘油、二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇 2000、胆固醇、血卟啉单甲醚、全 氟己烷、甲状腺髓样癌细胞膜。A为不同质量浓度 MHP@LNP 干预后甲状腺髓样癌细胞 MZ-CRC-1 存活率,细胞生存率均在 80% 以上; B为不同 干预条件下的 MZ-CRC-1 细胞存活率, MHP@LNP+ 超声组细胞存活率明显降低; C 为在低强度聚焦超声照射下不同质量浓度 MHP@LNP 干预后的 MZ-CRC-1 细胞存活率,^{*}P < 0.001, ^bP < 0.002; D 为不同干预条件下的 MZ-CRC-1 细胞活死细胞染色, MHP@LNP+ 超声组中死细胞(红色荧光)明显 增多,标尺为200μm。

图 5 | 脂质纳米粒 MHP@LNP 的疗效评估结果

40

20

10

0

4 HHHH

迁移率 (%) 30

Figure 5 | Efficacy assessment of MHP@LNP nanoparticles

NHPELIPS HEAL

MHP@LNP^{WIII}



图注: MHP@LNP 的原料为二棕榈酰磷脂酰胆碱、二棕榈酰磷脂酰甘油、二硬脂 酰基磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇2000、胆固醇、血卟啉单甲醚、全氟己烷、甲状腺 髓样癌细胞膜。A为不同干预条件下的甲状腺髓样癌细胞 MZ-CRC-1 迁移情况, MHP@LNP+ 超声组细胞迁移情况最差; B 为不同干预条件下的 MZ-CRC-1 细胞迁移 率定量分析, MHP@LNP+ 超声组细胞抗迁移能力最强, ^aP < 0.001。 图 6 | 脂质纳米粒 MHP@LNP 抗迁移能力检测结果 Figure 6 | Resistance to invasion of MHP@LNP nanoparticles

www.CITER.com Chinese Journal of Tissue Engineering Research

体外的靶向实验中发现,具有仿生细胞膜的脂质纳米粒 MHP@LNP 荧光信号强度明显高于脂质纳米粒 HP@LNP, 表明细胞膜涂层的纳米粒能够增强纳米药物递送系统在 细胞中的摄取,归因于癌细胞膜表面的多种配体比单个 配体对细胞更具亲和力。脂质纳米粒 MHP@LNP 在巨噬细 胞 RAW264.7 中表现出极少量荧光信号,表明该纳米粒具 有良好的免疫逃逸能力,有助于实现体内循环。同源细 胞 MZ-CRC-1 中的摄取荧光强度明显强于异质癌细胞 A549 细胞和 4T1 细胞,证实脂质纳米粒 MHP@LN 的特异性靶 向结合能力。因此,癌细胞膜涂层的脂质纳米粒 MHP@ LNP 提供独特的归巢能力,可增加药物传递积累,增强抗 肿瘤治疗疗效。

脂质纳米粒 MHP@LNP 的良好生物安全性、对肿瘤 细胞杀伤能力以及抑制肿瘤细胞迁移是评估治疗甲状腺 髓样癌的重要因素。在体外细胞实验中,未经低强度聚 焦超声照射的脂质纳米粒 MHP@LNP 即使在高质量浓度下 (100 µg/mL), MZ-CRC-1 细胞活力仍可保持在 80% 以上, 表明脂质纳米粒 MHP@LNP 具有良好的安全性。单纯低强 度聚焦超声照射对于细胞活力也无明显影响,而仅在经 低强度聚焦超声照射后的脂质纳米粒 MHP@LNP 呈现出 明显的细胞毒性,并目细胞存活率呈纳米粒质量浓度依 赖性递减,能够有效杀伤 MZ-CRC-1 细胞,并明显抑制细 胞的迁移。这是由于低强度聚焦超声介导下的靶向微泡 破坏克服药物传送障碍,微泡破裂后产生较大的剪切力, 诱导细胞间隙和细胞膜通透性增加,促进药物转送到细胞 内部, 甚至当超声压力足够大时可直接破坏细胞的骨架, 造成细胞不可逆的损伤 [34-35];此外在超声刺激下,声敏剂 接受到空泡爆炸时转移的能量,产生细胞毒性的活性氧, 损伤细胞 DNA、蛋白质、脂质等,诱导肿瘤细胞凋亡^[36]。 结果表明,脂质纳米粒 MHP@LNP 具有良好的生物安全 性,经低强度聚焦超声照射后诱导活性氧产生,杀伤肿瘤 细胞并抑制其迁移,为甲状腺髓样癌治疗提供一种新的 途径。

综上所述,此次研究中成功构建具有同源细胞膜包 覆的脂质纳米粒 MHP@LNP,仿生癌细胞膜涂层赋予纳米 粒良好的同源靶向能力和免疫逃逸能力,提高甲状腺髓 样癌细胞对其特异性摄取能力;在低强度聚焦超声作用 下全氟己烷发生空泡化,提高肿瘤细胞膜穿透性,增强 药物递送效率,空泡爆炸产生能量转移至声敏剂血卟啉 单甲醚,产生具有细胞毒性的活性氧,诱导肿瘤细胞凋亡。 此外,脂质纳米粒 MHP@LNP 表现出良好的超声和光声双 模态成像能力,为可视化下早期诊断并治疗甲状腺髓样 癌提供新的策略,但有关脂质纳米粒 MHP@LNP 体内的成 像能力和抗肿瘤效果仍需要进一步研究。 作者贡献:赵香芝负责课题方向的创新设计、项目实施的全程指导 监督及全部资助,夏纪筑负责项目指导监督,朱炜薇、凡正超负责在项 目负责人的指导下完善并完成实验,胥莹负责归纳整理数据,朱炜薇负 责撰写文章。

利益冲突: 文章的全部作者声明,在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

开放获取声明:这是一篇开放获取文章,根据《知识共享许可协议》 "署名-非商业性使用-相同方式共享4.0"条款,在合理引用的情况下, 允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展,同时允许任 何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献,并为 之建立索引,用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

版权转让:文章出版前全体作者与编辑部签署了文章版权转让协议。 出版规范:该文章撰写遵守了国际医学期刊编辑委员会《学术研究 实验与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》。文章出版前已经过专 业反剽窃文献检测系统进行3次查重。文章经小同行外审专家双盲外审, 同行评议认为文章符合期刊发稿宗旨。

4 参考文献 References

- VIOLA D, ELISEI R. Management of Medullary Thyroid Cancer. Endocrinol Metab Clin North Am. 2019;48(1):285-301.
- [2] GILD ML, CLIFTON-BLIGH RJ, et al. Medullary Thyroid Cancer: Updates and Challenges. Endocr Rev. 2023;44(5):934-946.
- [3] WELLS SA, ASA SL, DRALLE H, et al. Revised American Thyroid Association guidelines for the management of medullary thyroid carcinoma. Thyroid. 2015;25(6):567-610.
- BIERMANN K, BIERSACK HJ, SABET A, et al. Alternative therapeutic approaches in the treatment of primary and secondary dedifferentiated and medullary thyroid carcinoma. Semin Nucl Med. 2011;41(2): 139-148.
- [5] PAN WL, TAN Y, MENG W, et al. Microenvironment-driven sequential ferroptosis, photodynamic therapy, and chemotherapy for targeted breast cancer therapy by a cancer-cell-membrane-coated nanoscale metal-organic framework. Biomaterials. 2022;283:121449.
- [6] FANG H, LI M, LIU Q, et al. Ultra-sensitive Nanoprobe Modified with Tumor Cell Membrane for UCL/MRI/PET Multimodality Precise Imaging of Triple-Negative Breast Cancer. Nanomicro Lett. 2020;12(1):62.
- [7] RAWAL S, BORA V, PATEL B, et al. Surface-engineered nanostructured lipid carrier systems for synergistic combination oncotherapy of nonsmall cell lung cancer. Drug Deliv Transl Res. 2021;11(5):2030-2051.
- [8] SIVADASAN D, RAMAKRISHNAN K, MAHENDRAN J, et al. Solid Lipid Nanoparticles: Applications and Prospects in Cancer Treatment. Int J Mol Sci. 2023;24(7):6199.
- [9] HASAN N, IMRAN M, SHEIKH A, et al. Advanced multifunctional nanolipid carrier loaded gel for targeted delivery of 5-flurouracil and cannabidiol against non-melanoma skin cancer. Environ Res. 2023; 233:116454.
- [10] TENCHOV R, BIRD R, CURTZE AE, et al. Lipid Nanoparticles–From Liposomes to mRNA Vaccine Delivery, a Landscape of Research Diversity and Advancement. ACS Nano. 2021;15(11):16982-17015.
- WU Y, YU S, DE LÁZARO I. Advances in lipid nanoparticle mRNA therapeutics beyond COVID-19 vaccines. Nanoscale. 2024;16(14): 6820-6836.

研究原著



- ZHANG W, LU Y, ZANG Y, et al. Photodynamic Therapy and Multi-[12] Modality Imaging of Up-Conversion Nanomaterial Doped with AuNPs. Int J Mol Sci. 2022;23(3):1227.
- [13] LIU Y, TENG L, YIN B, et al. Chemical Design of Activatable Photoacoustic Probes for Precise Biomedical Applications. Chem Rev. 2022;122(6): 6850-6918
- [14] GONG Z, DAI Z. Design and Challenges of Sonodynamic Therapy System for Cancer Theranostics: From Equipment to Sensitizers. Adv Sci (Weinh). 2021;8(10):2002178.
- [15] LIANG S, YAO J, LIU D, et al. Harnessing Nanomaterials for Cancer Sonodynamic Immunotherapy. Adv Mater. 2023;35(33):e2211130.
- [16] RUAN R, CHEN S, SU J, et al. Targeting Nanomotor with Near-Infrared/ Ultrasound Triggered-Transformation for Polystage-Propelled Cascade Thrombolysis and Multimodal Imaging Diagnosis. Adv Healthc Mater. 2024;13(5):e2302591.
- [17] QIAN X, ZHENG Y, CHEN Y. Micro/Nanoparticle-Augmented Sonodynamic Therapy (SDT): Breaking the Depth Shallow of Photoactivation. Adv Mater. 2016;28(37):8097-8129.
- [18] MUNDEKKAD D, CHO WC. Nanoparticles in Clinical Translation for Cancer Therapy. Int J Mol Sci. 2022;23(3):1685.
- [19] CHEN DW, LANG BHH, MCLEOD DSA, et al. Thyroid cancer. Lancet. 2023;401(10387):1531-1544.
- [20] BARTZ-KURYCKI MA, OLUWO OE, MORRIS-WISEMAN LF. Medullary thyroid carcinoma: recent advances in identification, treatment, and prognosis. Ther Adv Endocrinol Metab. 2021;12:20420188211049611.
- [21] XU P, WANG R, YANG W, et al. A DM1-doped porous gold nanoshell system for NIR accelerated redox-responsive release and triple modal imaging guided photothermal synergistic chemotherapy. J Nanobiotechnology. 2021;19 (1):77.
- [22] LIU D, LIU L, LIU F, et al. HOCI-Activated Aggregation of Gold Nanoparticles for Multimodality Therapy of Tumors. Adv Sci (Weinh). 2021;8(17):e2100074.
- [23] YE Q, LIN Y, LI R, et al. Recent advances of nanodrug delivery system in the treatment of hematologic malignancies. Semin Cancer Biol. 2022;86(Pt 2):607-623.
- [24] CHENG Z, LI M, DEY R, et al. Nanomaterials for cancer therapy: current progress and perspectives. J Hematol Oncol. 2021;14(1):85.

- LU Y, PAN X, NIE Q, et al. Administration methods of lipid-based [25] nanoparticle delivery systems for cancer treatment. Biomater Sci. 2023;11(11):3800-3812.
- [26] AKANDA M, GETTI G, DOUROUMIS D. In vivo evaluation of nanostructured lipid carrier systems (NLCs) in mice bearing prostate cancer tumours. Drug Deliv Transl Res. 2023;13(8):2083-2095.
- [27] HAN J, LIM J, WANG CJ, et al. Lipid nanoparticle-based mRNA delivery systems for cancer immunotherapy. Nano Converg. 2023;10(1):36.
- [28] PILKINGTON EH, SUYS EJA, TREVASKIS NL, et al. From influenza to COVID-19: Lipid nanoparticle mRNA vaccines at the frontiers of infectious diseases. Acta Biomater. 2021;131:16-40.
- [29] ZHAO M, YANG X, FU H, et al. Immune/Hypoxic Tumor Microenvironment Regulation-Enhanced Photodynamic Treatment Realized by pH-Responsive Phase Transition-Targeting Nanobubbles. ACS Appl Mater Interfaces. 2021;13(28):32763-32779.
- [30] QIU Y, WU Z, CHEN Y, et al. Nano Ultrasound Contrast Agent for Synergistic Chemo-photothermal Therapy and Enhanced Immunotherapy Against Liver Cancer and Metastasis. Adv Sci (Weinh). 2023;10(21):e2300878.
- [31] JIANG Q, XIE M, CHEN R, et al. Cancer cell membrane-wrapped nanoparticles for cancer immunotherapy: A review of current developments. Front Immunol. 2022;13:973601.
- [32] ZENG Y, LI S, ZHANG S, et al. Cell membrane coated-nanoparticles for cancer immunotherapy. Acta Pharm Sin B. 2022;12(8):3233-3254.
- GLINSKY VV, GLINSKY GV, GLINSKII OV, et al. Intravascular metastatic [33] cancer cell homotypic aggregation at the sites of primary attachment to the endothelium. Cancer Res. 2003;63(13):3805-3811.
- [34] 邹孝猛,毛盈譞,张羽,等.超声靶向微泡破坏实现肿瘤递药研究 进展[J]. 中国医学影像技术, 2022, 38(11): 1739-1742.
- [35] FAN G, QIN J, FU X, et al. Low-Intensity Focused Ultrasound Targeted Microbubble Destruction Enhanced Paclitaxel Sensitivity by Decreasing Autophagy in Paclitaxel-Resistant Ovarian Cancer. Front Oncol. 2022; 12:823956.
- [36] HUANG C, XU Y, WANG D, et al. Interference With Redox Homeostasis Through a G6PD-Targeting Self-Assembled Hydrogel for the Enhancement of Sonodynamic Therapy in Breast Cancer. Front Chem. 2022;10:908892.

(责任编辑: GW, ZN, QY, LWJ)