

pH 值 / 近红外激光刺激响应型载药系统的构建及在抗口腔鳞癌中的应用

闵昌琴¹, 黄英²

<https://doi.org/10.12307/2026.607>

投稿日期: 2024-12-09

采用日期: 2025-03-19

修回日期: 2025-05-17

在线日期: 2025-06-06

中图分类号:

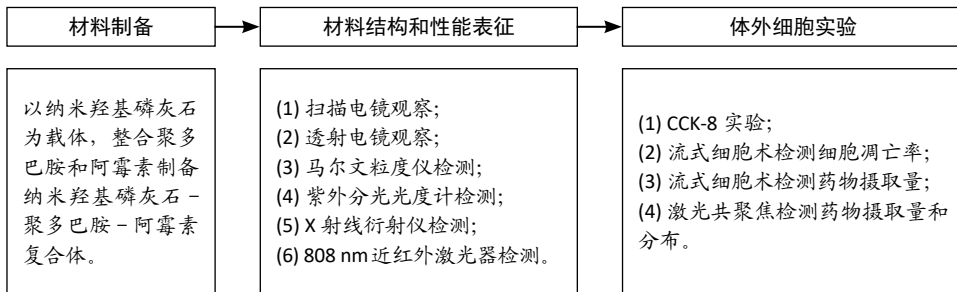
R459.9; R318.08; R943

文章编号:

2095-4344(2026)08-01940-12

文献标识码: A

文章快速阅读: 纳米羟基磷灰石载药系统的构建和生物学性能



文题释义:

纳米羟基磷灰石: 羟基磷灰石是人体骨、牙无机组成的主要成分, 具有优异的生物相容性和生物活性。纳米羟基磷灰石是颗粒尺寸在纳米量级的羟基磷灰石, 具有强大的药物吸附和负载能力, 是一种理想的无机药物载体, 在肿瘤诊断和治疗中具有潜在的应用价值。

光热治疗: 是一种利用光能转化为热能的治疗方法, 被广泛应用于肿瘤治疗中。光热治疗的原理是通过特定波长的光源照射到患处, 光能被组织吸收后转化为热能导致局部温度升高, 从而达到治疗效果。在肿瘤治疗中, 光热疗法利用纳米材料将光能集中并精确传递至肿瘤部位, 能有效杀伤癌细胞, 同时对周围健康组织的损伤较小。

摘要

背景: 口腔鳞状细胞癌是口腔颌面部最常见的恶性肿瘤, 临床常见治疗方式难以获得满意结果, 因此, 开发新材料和治疗策略对于治疗口腔鳞状细胞癌具有重要临床意义。

目的: 以纳米羟基磷灰石为药物载体, 整合聚多巴胺和阿霉素构建pH值/近红外激光刺激响应性复合体, 探究该复合体对口腔鳞状细胞癌HSC-4细胞的光热-化学协同治疗作用和机制。

方法: 利用水热法制备纳米羟基磷灰石药物载体, 负载光热试剂聚多巴胺和化疗药物阿霉素, 构建纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体, 表征该复合体的形貌、表面电荷、紫外-近红外光谱、晶型和光热性能。将纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体浸泡于不同pH值的PBS中, 并在pH=5 PBS中增加808 nm近红外激光照射, 检测释药行为。采用CCK-8法检测纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体联合激光照射对人口腔舌鳞癌细胞HSC-4和小鼠成纤维细胞L929的细胞毒性作用。通过流式细胞术检测纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体联合激光照射对HSC-4细胞凋亡的影响。采用流式细胞术和激光共聚焦检测HSC-4细胞对纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体的摄取和分布情况。

结果与结论: ①纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体呈均匀棒状结构, Zeta电位值变化、紫外-可见光光谱证实复合体制备成功。纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体具有良好的光热转换性能和光热稳定性, 释药具有前期突释、后期缓释行为, 并且具有pH值/近红外激光刺激响应性能; 在808 nm近红外光照射下, 该复合体具有高效低毒的抗口腔鳞癌光热-化学联合治疗效果, 可促进HSC-4细胞凋亡。纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体可被HSC-4细胞摄取, 随着培养时间的增加和激光照射, 细胞摄取复合体的量增加, 阿霉素释放进入胞核并杀伤肿瘤细胞。②结果表明, 纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体具有良好的光热性能和pH值/近红外激光刺激性, 在808 nm近红外光照射下展现出潜在的光热-化学协同抗肿瘤效应。

关键词: 口腔鳞状细胞癌; 纳米羟基磷灰石; 聚多巴胺; 阿霉素; 光热-化学联合治疗; pH值/近红外激光刺激响应

Construction of pH/near-infrared laser stimuli-responsive drug delivery system and its application in treatment of oral squamous cell carcinoma

Min Changqin¹, Huang Ying²

¹Chengdu Wenjiang District People's Hospital, Chengdu 611100, Sichuan Province, China; ²Hospital of Chengdu Office of the People's Government of Tibet Autonomous Region, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Min Changqin, MS, Attending physician, Chengdu Wenjiang District People's Hospital, Chengdu 611100, Sichuan Province, China

Corresponding author: Huang Ying, Attending physician, Hospital of Chengdu Office of the People's Government of Tibet Autonomous Region, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

¹成都市温江区人民医院, 四川省成都市 611100; ²西藏自治区人民政府驻成都办事处医院, 四川省成都市 610041

第一作者: 闵昌琴, 女, 1990年生, 四川省成都市人, 汉族, 硕士, 主治医师, 主要从事口腔生物材料研究。

通讯作者: 黄英, 主治医师, 西藏自治区人民政府驻成都办事处医院, 四川省成都市 610041

<https://orcid.org/0009-0004-8369-5596> (闵昌琴)

引用本文: 闵昌琴, 黄英. pH 值 / 近红外激光刺激响应型载药系统的构建及在抗口腔鳞癌中的应用 [J]. 中国组织工程研究, 2026, 30(8):1940-1951.



Abstract

BACKGROUND: Oral squamous cell carcinoma is the most common malignant tumor in the oral and maxillofacial region. Common clinical treatments are difficult to achieve satisfactory results. Therefore, the development of new materials and treatment strategies is of great clinical significance for the treatment of oral squamous cell carcinoma.

OBJECTIVE: To construct the pH/near-infrared laser responsive complex by integrating polydopamine and doxorubicin with nanohydroxyapatite as drug carrier, and investigate its photothermal and chemical synergic therapeutic effect and mechanism of the complex on oral squamous cell carcinoma HSC-4 cells.

METHODS: Nanohydroxyapatite drug carriers were prepared by hydrothermal method, loaded with photothermal reagent polydopamine and chemotherapeutic drug doxorubicin, and nanohydroxyapatite-polydopamine-doxorubicin complexes were constructed. The morphology, surface charge, ultraviolet-near-infrared spectrum, crystal form and photothermal properties of the complex were characterized. The nanohydroxyapatite-polydopamine-doxorubicin complex was immersed in PBS with different pH values, and 808 nm near-infrared laser irradiation was added in pH=5 PBS to detect the drug release behavior. CCK-8 assay was used to detect the cytotoxic effect of nanohydroxyapatite-polydopamine-doxorubicin complex combined with laser irradiation on human oral tongue squamous cell carcinoma HSC-4 and mouse fibroblast L929. The effect of nanohydroxyapatite-polydopamine-doxorubicin complex combined with laser irradiation on HSC-4 cell apoptosis was detected by flow cytometry. The uptake and distribution of nanohydroxyapatite-polydopamine-doxorubicin complex by HSC-4 cells were detected by flow cytometry and laser confocal microscopy.

RESULTS AND CONCLUSION: (1) The nanohydroxyapatite-polydopamine-doxorubicin complex showed a uniform rod-like structure, and the Zeta potential value change and ultraviolet-visible spectrum confirmed that the complex was successfully prepared. The nanohydroxyapatite-polydopamine-doxorubicin complex had good photothermal conversion performance and photothermal stability, and the drug release had an early burst release and a late sustained release behavior, and had pH/near-infrared laser stimulation response performance. Under 808 nm near-infrared light irradiation, the complex had a high-efficiency and low-toxic photothermal-chemical combined treatment effect against oral squamous cell carcinoma, and could promote HSC-4 cell apoptosis. The nanohydroxyapatite-polydopamine-doxorubicin complex could be taken up by HSC-4 cells. With the increase of culture time and laser irradiation, the amount of cell uptake of the complex increased, and doxorubicin was released into the nucleus and kills tumor cells. (2) The results show that the nanohydroxyapatite-polydopamine-doxorubicin complex has good photothermal performance and pH/near-infrared laser stimulation, and exhibits potential photothermal-chemical synergistic anti-tumor effects under 808 nm near-infrared light irradiation.

Key words: oral squamous cell carcinoma; nanohydroxyapatite; polydopamine; doxorubicin; photothermal-chemotherapy; pH value/near-infrared laser stimulation response

How to cite this article: MIN CQ, HUANG Y. Construction of pH/near-infrared laser stimuli-responsive drug delivery system and its application in treatment of oral squamous cell carcinoma. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2026;30(8):1940-1951.

0 引言 Introduction

口腔鳞状细胞癌是口腔颌面部最常见的恶性肿瘤，约占口腔癌发病率的 90%，并且致死率和复发率高^[1-2]。口腔鳞状细胞癌的传统治疗模式以手术切除为主，辅以放化疗，但存在多重局限性，手术造成颌面部组织缺损，导致语言、咀嚼功能严重受损^[3-4]；化疗药物虽可抑制肿瘤进展但毒副作用较大，引起骨髓抑制等不良反应致患者停止治疗，引起肿瘤复发^[5]。新兴光热治疗是利用光热试剂在近红外激光照射下产生局部高温而杀伤肿瘤细胞的方式，具有高效、微创等优点，但某些光热试剂存在体内无法降解致毒和损伤正常组织等问题^[6-7]。因此，单一治疗方式较难取得满意的治疗效果，采用联合治疗方式实现对口腔鳞癌高效低毒的治疗效果迫在眉睫。

羟基磷灰石是人体骨、牙无机组成的主要成分，具有优异的生物相容性和生物活性^[8]。纳米羟基磷灰石是颗粒尺寸在纳米量级的羟基磷灰石，作为药物载体时具有较多优势，包括良好的生物降解性、pH 值响应性药物释放和表面易被修饰性，是一种理想的无机药物载体，在肿瘤诊断和治疗中具有潜在的应用价值^[9-11]。KANG 等^[12]制备载有抗癌药物阿霉素的纳米羟基磷灰石/二氧化硅复合物，在体内内外展现出高细胞摄取率和药物释放率。然而，单一纳米羟基磷灰石载体存在固有缺陷，包括载药性能低下、无光热性能，难以实现治疗的协同效应^[13-14]，

提示通过材料复合与表面修饰突破其性能瓶颈的必要性。

聚多巴胺的结构和贻贝蛋白相似，聚多巴胺改性是基于多巴胺氧化自聚而形成的新一代改性方法，具有优异的光热性能、黏附性和生物相容性而备受关注^[15-16]。近年来，光热-化学联合治疗已成为提高肿瘤治疗效果的有效途径之一，光热治疗过程中由于局部温度升高增加对化疗药物的释放和浸润，实现药物的可控释放和高效低毒的抗肿瘤效果^[17-18]。聚多巴胺的邻苯二酚基团可通过氢键作用、 π - π 堆积作用增强化疗药物阿霉素的负载量^[19-20]；此外，聚多巴胺具有大量共轭苯环，可吸收 808 nm 近红外激光转换成热能并杀伤肿瘤细胞，同时促进阿霉素的释放和胞内摄取，有望实现肿瘤的光热-化学联合治疗^[21-22]。

因此，此次研究设计一种以纳米羟基磷灰石为药物载体，采用光热试剂聚多巴胺进行修饰，整合化疗药物阿霉素构建 pH 值/近红外激光刺激响应性纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体，表征其理化性能，在体外初步评估该复合体的抗肿瘤性能，为制备对口腔鳞癌的互补增效减毒治疗效果的生物材料提供参考。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 材料的制备与表征，体外细胞实验，两组间比较采用独立样本 *t* 检验，多组间比较采用单因

素方差分析。

1.2 时间及地点 实验于 2022 年 10 月至 2024 年 4 月在成都市温江区人民医院 (成都三医创新中心) 完成。

1.3 材料

1.3.1 细胞 人口腔舌鳞癌细胞 HSC-4 和小鼠成纤维细胞 L929 购买于美国标准生物品收藏中心 (ATCC)。HSC-4 细胞培养在 DMEM 高糖完全培养基 (含体积分数 10% 胎牛血清和 1% 青霉素链霉素) 中, L929 细胞培养在 RPMI 1640 完全培养基 (含体积分数 10% 胎牛血清和 1% 青霉素链霉素), 置于 37 °C、体积分数 5% CO₂ 培养箱中。

1.3.2 主要试剂 硝酸钙、磷酸氢氨 (科龙, 中国); 胎牛血清 (Gibco, 美国); Hoechst 染液、DAPI 染液 (索莱宝, 中国); 高糖 DMEM 培养基、RPMI 1640 培养基 (Hyclone, 中国); 凋亡试剂盒 (凯基, 中国); 盐酸阿霉素 (阿拉丁, 中国); 多巴胺 (Sigma, 美国); CCK-8 试剂盒 (碧云天, 中国)。

1.3.3 主要设备 共聚焦培养皿 (碧云天, 中国); 808 nm 近红外激光器 (恩基士, 中国); 红外热成像仪 (FOTRIC 226#L28, 福尔曼, 中国), 紫外-可见-近红外分光光度计 (UV-3600, 岛津, 日本); 扫描电子显微镜 (FEI Magellan 400, 美国); 透射电子显微镜 (JEOL, 日本); 动态激光粒度分析仪 (马尔文, 美国); X 射线衍射仪 (帕纳科, 荷兰); 倒置荧光显微镜 (Olympus, 日本); 流式细胞仪 (贝克曼, 美国)。

1.4 方法

1.4.1 制备纳米羟基磷灰石 采用水热法制备纳米羟基磷灰石^[23]。将硝酸钙和磷酸氢氨混合搅拌, 其中 Ca/P 的摩尔比例控制在 1.67, 同时添加氨水溶液使反应体系 pH=9。将反应液转入水热反应釜, 在 180 °C 下反应 12 h, 用蒸馏水和乙醇交替洗涤、沉淀, 置入 80 °C 烘箱中干燥 24 h, 得到纳米羟基磷灰石。

1.4.2 制备纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合物 称取 100 mg 多巴胺加入 50 mL Tris 溶液后混匀搅拌 30 min, 向其中加入 50 mg 纳米羟基磷灰石继续搅拌 24 h, 得到纳米羟基磷灰石-聚多巴胺溶液。向纳米羟基磷灰石-聚多巴胺溶液中加入 100 mg 阿霉素, 继续搅拌 24 h, 5 000 r/min 离心 10 min 后收集上清保存 (用于 1.4.4 步骤检测), 将沉淀反复清洗至上清液澄清, 冻干得到纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合物。

1.4.3 纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体的性能表征 利用扫描电镜和透射电镜观察纳米羟基磷灰石、纳米羟基磷灰石-聚多巴胺、纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体的形貌和尺寸大小。采用动态激光粒度分析仪检测纳米羟基磷灰石、纳米羟基磷灰石-聚多巴胺、阿霉素、纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体的水合粒径和表面电荷。用紫外-可见-近红外分光光度计测量纳米羟基磷灰石、纳米羟基磷灰石-聚多巴胺、阿霉素、纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体的紫外-可见光-近红外光谱。采用 X 射线衍射仪分析纳米羟基磷灰石、纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体的晶相和结构。使用 808 nm 激光器 (2 W/cm²) 照射不同质量浓度 (0, 0.125, 0.25, 0.5, 1 μg/mL) 纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合物溶液 10 min, 红外热成像仪记录溶液的热成像图和温度变化, 使用不同效率 (0, 1, 2, 3 W/cm²) 的 808 nm 近红外激光照射 0.5 μg/mL 纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合物溶液 10 min, 采用 808 nm 近红外激光 (2 W/cm²) 照射 0.5 μg/mL 的纳米羟基磷灰石溶液、纳米羟基磷灰石-聚多巴胺溶液、阿霉素溶液、纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合物溶液和水 10 min, 检测复合体的光热转换性能。采用 808 nm 近红外激光 (2 W/cm²) 照射 0.5 μg/mL 纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合物溶液 10 min 后关掉激光 10 min, 循环 4 次, 记录温度变化, 检测该复合体的光热稳定性。通过公式 (1) 计算纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体的光热转换效率^[24]:

$$\text{光热转换效率} = (hS\Delta T_{\text{NHA-PDA-DOX}} - \Delta T_{\text{water}}) / [\text{激光功率} \times (1 - 10^{-A})] \quad (1)$$

公式中, h 为传热系数 (W/m² · K), S 为容器的表面积, ΔT_{NHA-PDA-DOX} 和 ΔT_{water} 分别是纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合物和空白样品的温度变化, A 为材料在激发波长下的吸光度值。

1.4.4 阿霉素的载药与释药性能 配置不同质量浓度的阿霉素溶液, 通过紫外分光光度计检测 480 nm 波长处的吸光度值, 绘制阿霉素标准曲线。检测 1.4.2 中上清液的吸光度值, 根据阿霉素标准曲线计算上清液中阿霉素的含量。通过公式 (2)(3) 计算包封率和载药量。

$$\text{包封率} (\%) = \text{实际载入纳米羟基磷灰石-聚多巴胺的阿霉素质量} / \text{投入阿霉素的总质量} \times 100\% \quad (2)$$

载药量 ($\mu\text{g}/\text{mg}$) = 实际载入纳米羟基磷灰石 - 聚多巴胺的阿霉素质量 / 纳米羟基磷灰石 - 聚多巴胺 - 阿霉素复合体质量 (3)

取 100 mg 纳米羟基磷灰石 - 聚多巴胺 - 阿霉素复合体浸泡于 10 mL 不同 pH 值 (pH=7.4, 6.5 和 5.0) 的 PBS 中, 放入 37 °C 摇床 (100 r/min) 中。在不同时间点 (0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 48, 72, 120, 144 h) 取 1 mL PBS, 5 000 r/min 离心 10 min 后取上清液, 向离心管中补加 1 mL 相同 pH 值的 PBS, 通过紫外分光光度计检测上清液 480 nm 波长处的吸光度值, 联合阿霉素标准曲线计算阿霉素累计释放率。在预设时间点前 10 min, 采用 808 nm 近红外激光 ($2 \text{ W}/\text{cm}^2$) 照射 PBS (pH=5) 5 min, 然后提取上清液, 通过紫外分光光度计检测上清液 480 nm 波长处的吸光度值, 联合阿霉素标准曲线计算阿霉素累计释放率。

1.4.5 细胞毒性实验 将 HSC-4 细胞 (或 L929 细胞) 以 1×10^4 / 孔的密度接种于 96 孔板中, 培养 24 h 后吸去上清, 分别加入不同质量浓度 [0 (对照), 100, 200, 300, 400, 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$] 的 nHA、nHA-PDA 培养 24 h, 使用 CCK-8 试剂盒检测细胞吸光度值, 计算细胞存活率, 见公式 (4); 分别加入不同质量浓度 [0 (对照), 0.25, 0.5, 1.0, 1.5, 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$] 的阿霉素、纳米羟基磷灰石 - 聚多巴胺 - 阿霉素复合体培养 24 h, 使用 CCK-8 试剂盒检测细胞吸光度值, 计算细胞存活率。空白组仅加入培养基, 不加入细胞与材料。

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) \times 100% (4)

使用完全培养基配制纳米羟基磷灰石 (200 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、纳米羟基磷灰石 - 聚多巴胺 (200 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、阿霉素 (0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 和纳米羟基磷灰石 - 聚多巴胺 - 阿霉素复合体 (含 0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 阿霉素) 溶液。将 HSC-4 细胞 (或 L929 细胞) 以 5×10^5 / 孔的密度接种于 6 孔板中, 培养 24 h 后吸去上清, 分别加入 2 mL 纳米羟基磷灰石、纳米羟基磷灰石 - 聚多巴胺、阿霉素和纳米羟基磷灰石 - 聚多巴胺 - 阿霉素复合体溶液培养 12 h, 不使用激光照射或使用 808 nm 激光器 ($2 \text{ W}/\text{cm}^2$) 照射 5 min 后继续培养 12 h, 不加药物组为对照组。使用 CCK-8 试剂盒检测细胞吸光度值, 计算细胞存活率。收集细胞到流式管中, 1 000 r/min 离心 5 min 后弃上清, 加入 5 μL AnnexinV-APC 和 DAPI 染液, 上流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

1.4.6 细胞摄取实验 将 HSC-4 细胞以 5×10^5 / 孔的密度接种于 6 孔板中培养 24 h 后, 加入 2 mL 纳米羟基磷灰石 - 聚多巴胺 - 阿霉素复合体溶液 (含 0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 阿霉素) 培养 1 h, 不使用激光照射或使用 808 nm 激光器 ($2 \text{ W}/\text{cm}^2$) 照射 5 min, 继续培养不同时间 (1, 2, 4, 8, 24 h) 后使用流式细胞仪检测胞内阿霉素含量。

将 HSC-4 细胞以 1×10^5 / 皿的密度接种于共聚焦小皿中培养 24 h 后, 加入 2 mL 纳米羟基磷灰石 - 聚多巴胺 - 阿霉素复合体溶液 (含 0.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 阿霉素) 溶液继续培养 1, 6, 12, 24 h, 使用 808 nm 激光器 ($2 \text{ W}/\text{cm}^2$) 照射 5 min 后继续培养 24 h, 加入 500 μL Hoechst 溶液 (0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 孵育 10 min, 用 PBS 洗涤后立即使用共聚焦成像, 对荧光强度采用 Image J 进行定量分析。

1.5 主要观察指标 纳米羟基磷灰石 - 聚多巴胺 - 阿霉素复合体的光热性能、释药行为、细胞毒性作用及光热 - 化学协同治疗作用。

1.6 统计学分析 所有实验均至少独立重复 3 次, 用 $\bar{x} \pm s$ 表示实验数据, 采用 SPSS 2.0 软件 (GradPack Standard 学生版) 进行统计分析。两组间均数采用 t 检验方法进行分析, 3 组及以上均数采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 认为差异有显著性意义。文章统计学方法已经通过成都市温江区人民医院生物统计学专家审核。

2 结果 Results

2.1 纳米羟基磷灰石 - 聚多巴胺 - 阿霉素复合体的性能表征结果 使用液氮冻干纳米羟基磷灰石、纳米羟基磷灰石 - 聚多巴胺和纳米羟基磷灰石 - 聚多巴胺 - 阿霉素复合体后喷金, 利用扫描电镜测试 3 组材料形貌, 结果如图 1A 所示, 3 组材料呈均匀的棒状结构。

透射电镜观察结果也显示纳米羟基磷灰石、纳米羟基磷灰石 - 聚多巴胺和纳米羟基磷灰石 - 聚多巴胺 - 阿霉素复合体呈均匀的棒状结构, 见图 1B, 粒径分别为 (123.67 ± 4.36), (129.13 ± 6.44), (137.29 ± 9.51) nm, 证实聚多巴胺和阿霉素成功包覆在纳米羟基磷灰石载体上。

采用动态激光粒度分析仪检测样品的 Zeta 电位和水合粒径, 结果如图 1C 所示。纳米羟基磷灰石和纳米羟基磷灰石 - 聚多巴胺均呈负电荷, Zeta 电位分别为 (-18.63 ± 1.09) mV 和 (-31.07 ± 0.76) mV,

阿霉素溶液的 Zeta 电位为 (27.57±0.85) mV, 纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体的电位为 (20.60±1.33) mV。纳米羟基磷灰石、纳米羟基磷灰石-聚多巴胺和纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体的水合粒径分别 (156.12±8.91), (164.79±10.38), (171.82±7.72) nm。表面电荷和水合粒径的变化证实纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体制备成功。

使用紫外-可见光-近红外分光光度计检测样品光谱, 结果如图 1D 所示。纳米羟基磷灰石在 200-800 nm 段未见明显吸收峰, 纳米羟基磷灰石-聚多巴胺在 279 nm 处出现吸收峰, 证实聚多巴胺被成功修饰。与阿霉素溶液相比较 (在 483 nm 处出现明显吸收峰), 纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体在 497 nm 处出现更宽、更低的吸收峰, 表明阿霉素被成功负载到纳米羟基磷灰石-聚多巴胺上。X 射线衍射结果如图 1E 所示。制备的纳米羟基磷灰石与羟基磷灰石标准卡片 (JCPDS 09-0432) 的经典六方相晶型相匹配, 纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体的结晶度下降, 但未改变其晶相。纳米羟基磷灰石和纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体在 25.89°, 31.75°, 39.47°, 46.64°, 49.53° 和 53.31° 处的衍射峰分别对应 (002)(211)(212)(222)(213) 和 (004) 晶面。

使用 808 nm 近红外激光照射不同质量浓度纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体溶液, 记录温度变化, 结果如图 2A 所示。随着复合体质量浓度的增加, 溶液温度升高, 光热升温能力呈浓度依赖性增加, 当复合体 (含 0.5 μg/mL 阿霉素) 被照射 10 min 时温度为 46 °C, 大于肿瘤消融阈值 42 °C, 因此后续选择此质量浓度进行后续实验。

为进一步优化激光照射条件, 使用不同效率的 808 nm 近红外激光照射纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体溶液, 结果如图 2B 所示。随着激光功率的增加, 溶液温度增加, 照射 10 min 后, 0, 1, 2, 3 W/cm² 激光照射后的溶液温度分别为 41.2, 46, 49.7 °C。由于 41.2 °C 低于肿瘤消融阈值, 并且文献报道温度在 42-48 °C 范围内对肿瘤细胞有较强的杀伤作用而对正常细胞相对安全^[25], 49.7 °C 远高于正常细胞的安全温度, 因此选择 808 nm 近红外激光 (2 W/cm²) 照射纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体 (含 0.5 μg/mL 阿霉素)。

采用 808 nm 近红外激光以 2 W/cm² 的功率照射不同样品 10 min, 溶液温度变化如图 2C 所示。空白对照 (水) 组、纳米羟基磷灰石组和阿霉素组未见明显温度变化, 纳米羟基磷灰石-聚多巴胺组和纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体组随着照射时间的增加溶液温度逐渐升高, 照射 10 min 后两者温度分别达到 46.2 °C 和 46.0 °C (图 2D)。

采用激光照射纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体 10 min 后关掉 10 min, 循环 4 次, 记录温度变化, 结果如图 2E 所示。4 次循环中溶液温度变化趋势和最高温度没有明显变化, 具有光热稳定性。根据公式计算纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体的光热转换效率约为 38.7%。表 1 列举了常见光热试剂的光热转换效率及优缺点。综合评估光热试剂的光热转换效率、生物降解性和生物安全性等, 纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素具有优异的临床应用前景。

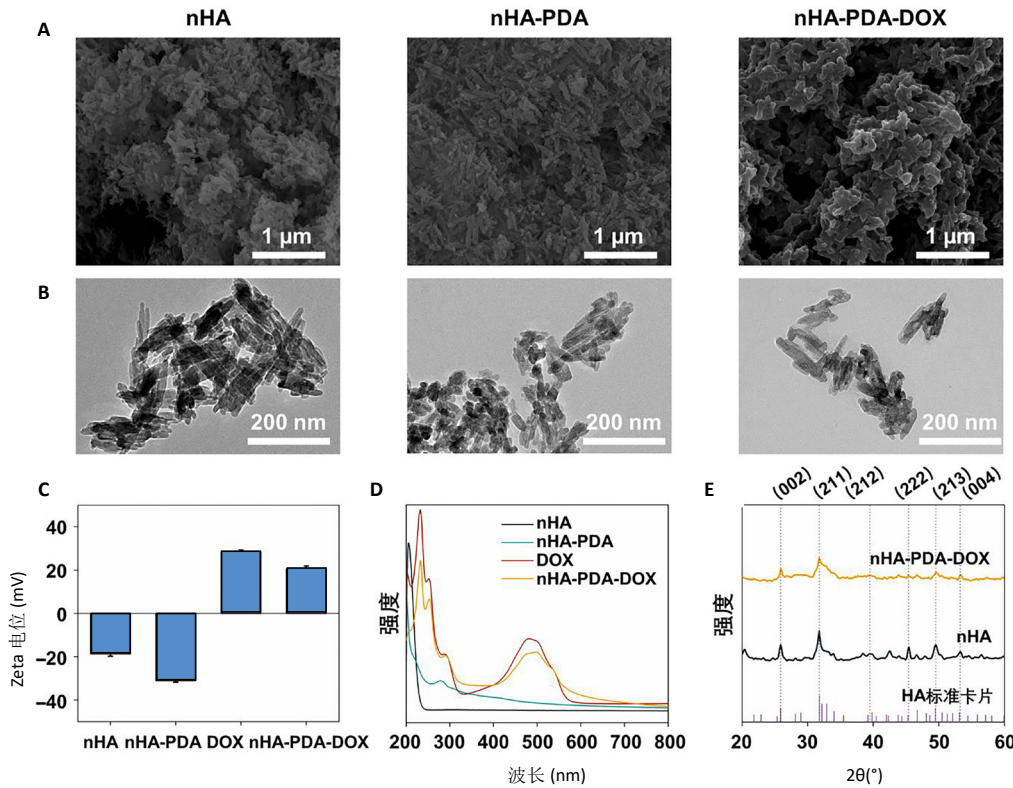
表 1 | 不同光热试剂的光热转换效率和优缺点
Table 1 | Photothermal conversion efficiency, advantages and disadvantages of different photothermal reagents

材料	光热转换效率 η	优点	缺点
纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体	38.7%	生物降解性和生物相容性佳, 易被修饰	光热转换效率中等
AuNCs@PDA-Mn ^[26]	65.6%	近红外强吸收, 可被修饰	合成复杂、降解性低
ASCE-R ^[27]	65.6%	光热与光动力双重疗法协同治疗肿瘤	降解性低、长期使用致毒性
PTC-HA ^[28]	62.4%	生物降解性	难分散、潜在毒性
HA-Fe-COF ^[29]	29.18%	合成简单、生物安全性好	易光降解、吸收谱窄
BPNSs ^[30]	23.2%	可降解、性能稳定	易氧化、制备条件苛刻

表注: AuNCs@PDA-Mn 为金属-酚醛网络结构包裹的金纳米簇; ASCE-R: 以金纳米星 (GNS) 为核心, 以负载 Ce6 的介孔硅为外壳并修饰过氧化氢酶和靶向肽 c(RGDyK); PTC-HA: 光热碳点整合羟基磷灰石; HA-Fe-COF: 透明质酸-铁-共价有机框架; BPNSs: 黑磷纳米片。

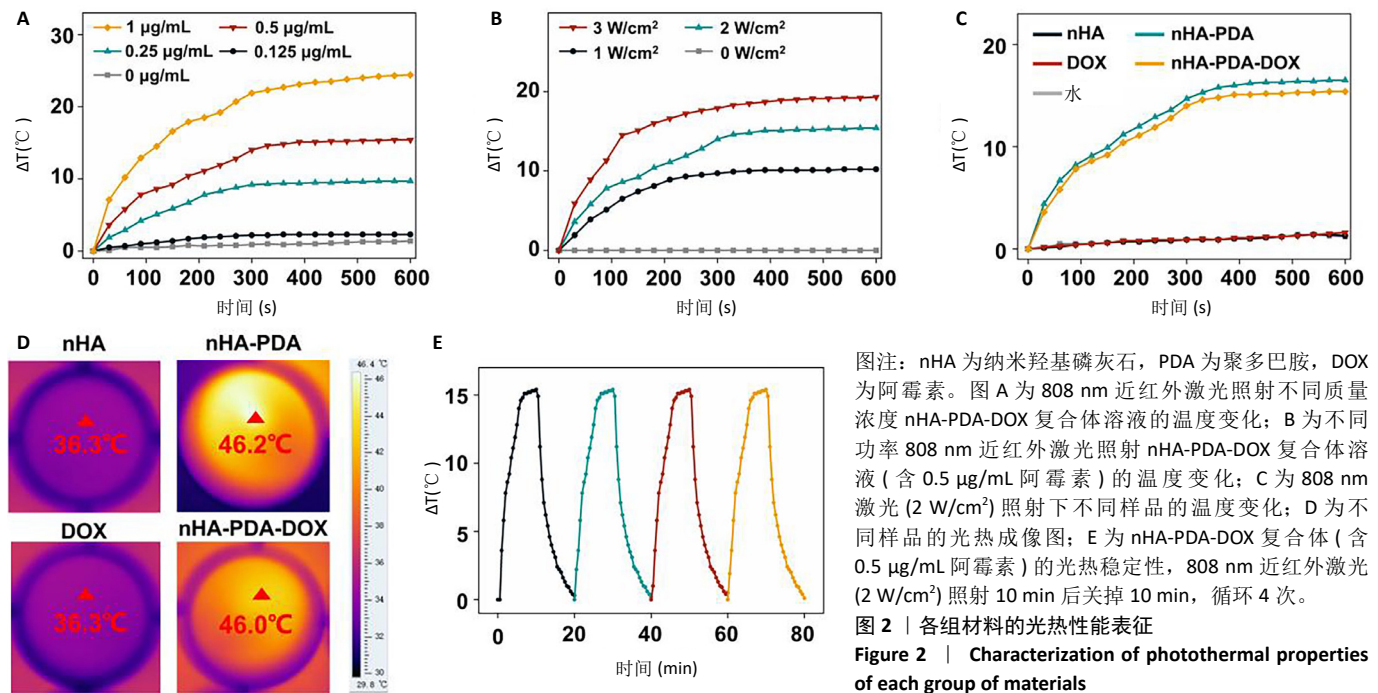
配制不同质量浓度的阿霉素溶液, 通过紫外分光光度计检测吸光度值, 并拟合得到阿霉素标准曲线: $y=0.008x+0.025(R^2=0.999)$, 见图 3A。利用阿霉素标准曲线, 计算出纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体的包封率和载药量分别为 (72.27±3.29)% 和 (10.23±0.96) μg/mg。

浸泡于不同 pH 值 PBS 中及经 808 nm 近红外激光 (2 W/cm²) 照射后, 纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体的阿霉素释放率结果如图 3B 所示。纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体可以持续释放 144 h, 前 24 h 药物快速释放, 24 h 后药物释



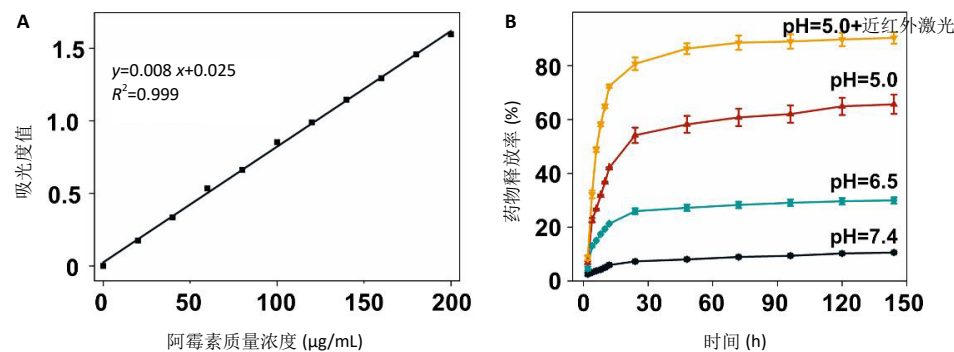
图注：nHA 为纳米羟基磷灰石，PDA 为聚多巴胺，DOX 为阿霉素。图 A 为扫描电镜图；B 为透射电镜图；C 为 Zeta 电位图；D 为紫外-近红外光谱；E 为 X 射线衍射图。

图 1 | 各组材料的结构表征
Figure 1 | Structural characterization of each group of materials



图注：nHA 为纳米羟基磷灰石，PDA 为聚多巴胺，DOX 为阿霉素。图 A 为 808 nm 近红外激光照射不同质量浓度 nHA-PDA-DOX 复合体溶液的温度变化；B 为不同功率 808 nm 近红外激光照射 nHA-PDA-DOX 复合体溶液（含 0.5 μg/mL 阿霉素）的温度变化；C 为 808 nm 激光（2 W/cm²）照射下不同样品的温度变化；D 为不同样品的光热成像图；E 为 nHA-PDA-DOX 复合体（含 0.5 μg/mL 阿霉素）的光热稳定性，808 nm 近红外激光（2 W/cm²）照射 10 min 后关掉 10 min，循环 4 次。

图 2 | 各组材料的光热性能表征
Figure 2 | Characterization of photothermal properties of each group of materials



图注：图 A 为阿霉素标准曲线；B 为浸泡于不同 pH 值 PBS 中及经 808 nm 近红外激光（2 W/cm²）照射后纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体的阿霉素释放率。

图 3 | 纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体释药性能表征
Figure 3 | Characterization of drug release performance of nano-hydroxyapatite-polydopamine-doxorubicin complex

放速度变慢；经过 144 h，在 pH=7.4, 6.5, 5.0 PBS 中的药物释放率分别为 (10.60±0.31)%，(29.96±1.16)% 和 (65.68±3.58)%。复合体中阿霉素的释放率随着浸泡液 pH 值的降低而增加，呈 pH 值刺激响应性释药；经过 808 nm 近红外激光照射后，复合体的药物释放率明显增加到 (90.33±2.11)%，呈近红外激光刺激响应性释药。

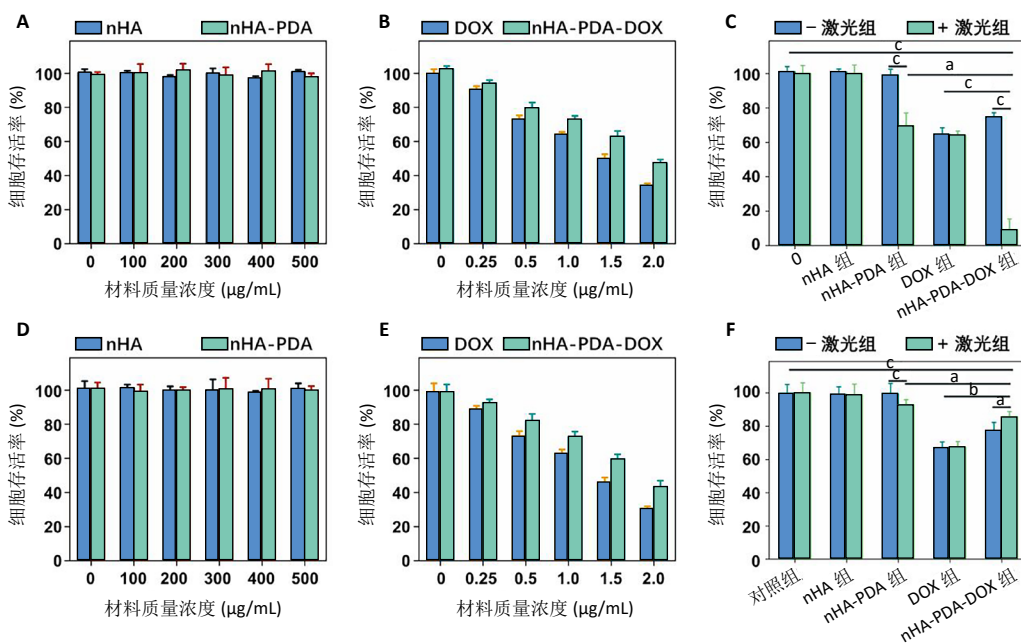
2.2 纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体的抗癌性能 采用 CCK-8 法检测各组样品对 HSC-4 细胞和 L929 细胞的毒性，结果如图 4 所示。不同质量浓度纳米羟基磷灰石和纳米羟基磷灰石-聚多巴胺与细胞共培养 24 h 后，HSC-4 细胞和 L929 细胞的存活率明显高于 90%，说明纳米羟基磷灰石和纳米羟基磷灰石-聚多巴胺无明显细胞毒性。不同质量浓度的阿霉素和纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体与 HSC-4 细胞和 L929 细胞共培养后，随着阿霉素和纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体质量浓度的增加，HSC-4 细胞和 L929 细胞存活率下降，当阿霉素质量浓度为 2 μg/mL 时，阿霉素组和纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体组 HSC-4 细胞存活率分别为 (33.66±1.74)% 和 (47.17±2.26)%，L929 细胞存活率分别为 (30.32±1.67)% 和 (43.17±3.74)%。

将纳米羟基磷灰石、纳米羟基磷灰石-聚多巴胺、阿霉素和纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体与 HSC-4 和 L929 细胞共培养 12 h 后，用 808 nm 近红外激光以 2 W/cm² 功率照射 5 min 后继续培养

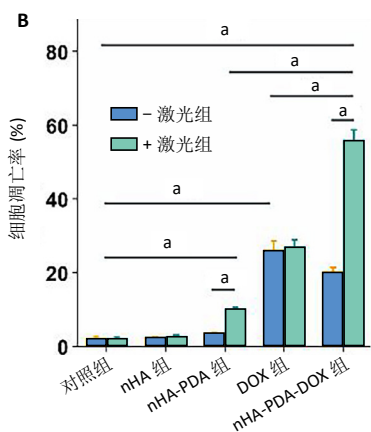
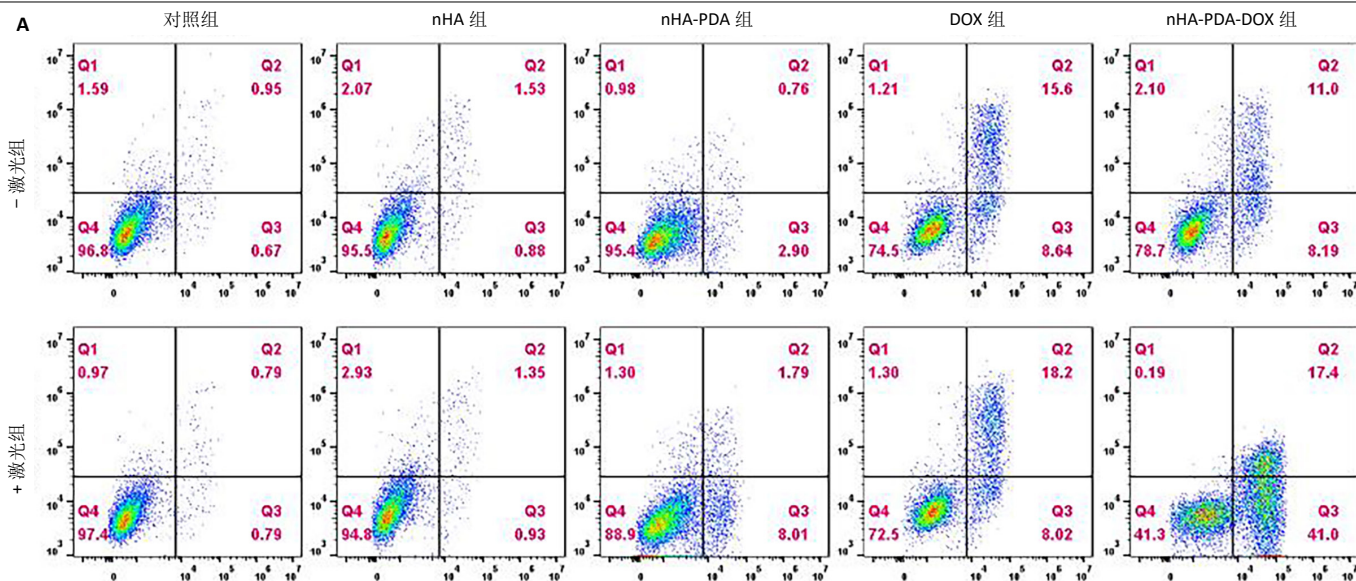
12 h，结果显示纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体+激光组 HSC-4 细胞存活率 (9.02±6.43)%，明显低于光热治疗组 [纳米羟基磷灰石-聚多巴胺+激光组，(69.54±7.51%)] 和化学治疗组 [阿霉素组，(64.57±3.89)%]，说明光热-化学联合治疗组杀伤肿瘤的效果明显高于单一的光热治疗和化学治疗；纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体+激光组 L929 细胞存活率 (85.69±3.12)% 高于化学治疗组 (66.90±3.63)%。

以上结果表明，在 808 nm 近红外激光照射下，纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体对肿瘤细胞具有较强的细胞毒性，而对正常细胞具有一定的保护作用。

采用流式细胞术考察纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体对 HSC-4 细胞凋亡的影响，结果如图 5 所示。近红外激光组、纳米羟基磷灰石组、纳米羟基磷灰石+激光组和纳米羟基磷灰石-聚多巴胺组细胞凋亡率分别为 (2.15±0.50)%，(2.53±0.11)%，(2.70±0.43)% 和 (3.72±0.06)%，与对照组细胞凋亡率 (2.14±0.56)% 比较无明显差异。单一光热治疗组 (纳米羟基磷灰石-聚多巴胺+激光) 和化学治疗组 (阿霉素) 细胞凋亡率增加到 (10.18±0.42)% 和 (26.08±2.48)%，与对照组比较差异有显著性意义；此外，光热-化学联合治疗组 (纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体+激光) 细胞凋亡率进一步增加，高达 (55.93±2.79)%，明显高于任何单一治疗方式。



图注：nHA 为纳米羟基磷灰石，PDA 为聚多巴胺，DOX 为阿霉素。图 A-C 为不同处理后 HSC-4 细胞存活率；D-F 为不同处理后 L929 细胞存活率。^a*P* < 0.05，^b*P* < 0.01，^c*P* < 0.001。
Figure 4 | Effects of each group of materials on the survival rate of HSC-4 cells and L929 cells detected by CCK-8 assay



图注：nHA 为纳米羟基磷灰石，PDA 为聚多巴胺，DOX 为阿霉素。图 A 为不同刺激下 HSC-4 细胞的凋亡流式分布；B 为 HSC-4 细胞凋亡率的统计分析。^aP < 0.001。
Figure 5 | Effect of different materials on apoptosis rate of HSC-4 cells

3 讨论 Discussion

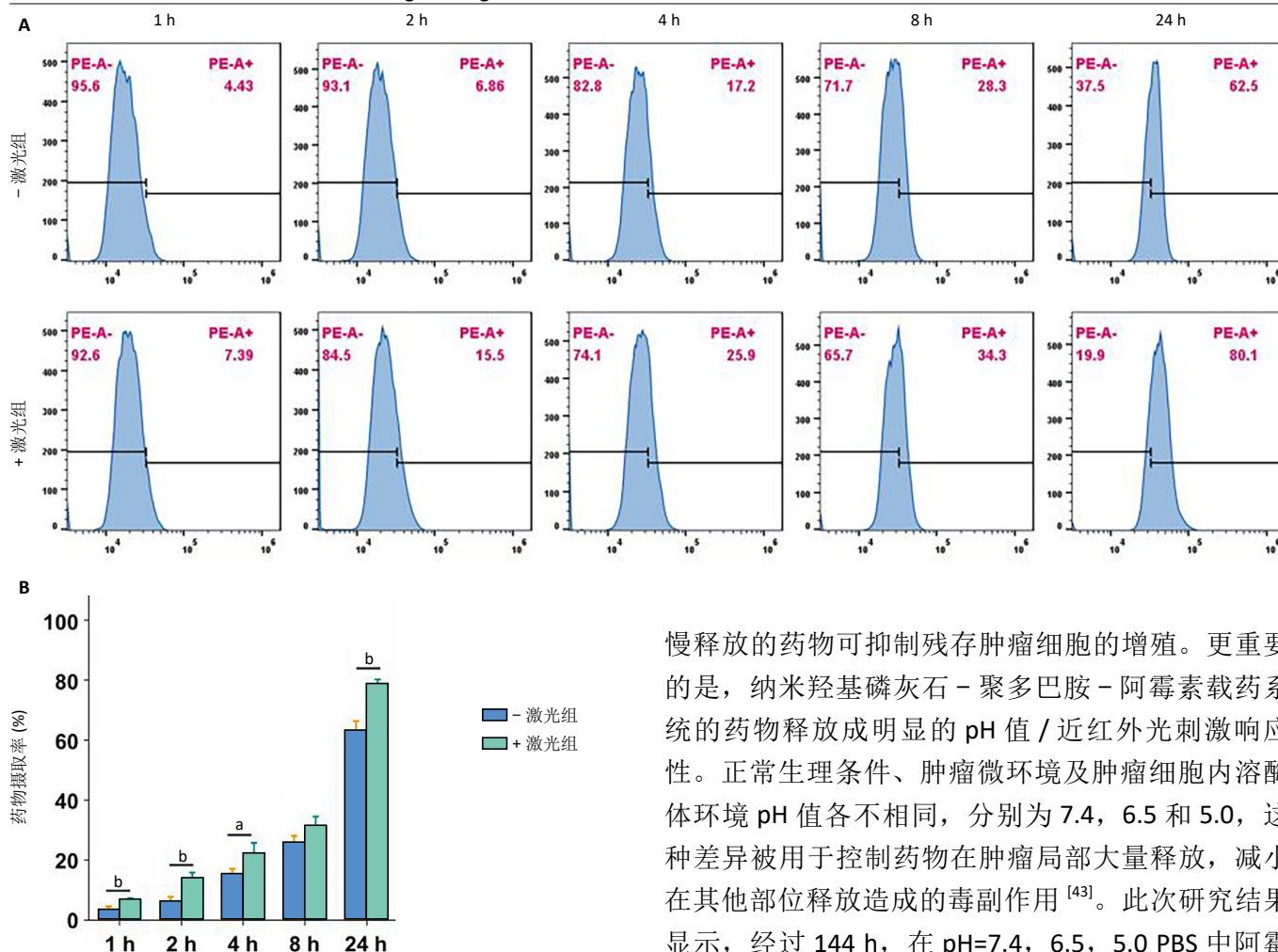
口腔鳞状细胞癌是口腔颌面部最常见的恶性肿瘤，预后差且病死率高^[1-2]。口腔鳞状细胞癌的化疗药物选择性低，患者往往难以承受较大的毒副作用而停止治疗，常需与其他治疗方式联合使用^[31-32]。光热治疗是一种利用光热试剂在近红外光照射下产生局部高温而消融肿瘤的治疗方式，但光热治疗在杀死肿瘤组织的过程中由于组织内热量分布不均匀导致治疗效果不理想^[6, 33]。联合治疗可以克服单一治疗方式的局限性，发挥协同治疗的优势^[34-36]。近年来，光热-化学联合治疗已成为提高抗癌治疗疗效的有效途径之一，在对肿瘤部位进行光热治疗的过程中由于局部温度升高增加对化疗药物的释放和浸润，实现药物的可控释放和高效低毒的抗肿瘤效果^[37-38]。

纳米羟基磷灰石具有良好的生物相容性、生物降解性和 pH 值刺激响应性，同时还具有易被修饰性和巨大的比表面积等特点，常被用作药物载体递送药物分子^[11]。然而，纳米羟基磷灰石也存在一些不足之处，包括无光热转换性能和载药性能低^[13]。近年来，由于聚多巴胺几乎可以黏附在所有材料表面赋予基底材料优异性能，引起研究者的广泛关注。聚多巴胺表面含羰基等官能团，与化疗药物阿霉素存在氢键作用、 π - π 堆叠作用和共价键，可大幅度提高载药性能^[39-40]；此外，聚多巴胺可吸收并将 808 nm 近红外激光转换成热能杀伤肿瘤细胞，同时促进阿霉素在肿瘤部位释放，是一种良好的光热试剂^[41-42]。因此，此次研究设计光热试剂聚多巴胺和化疗药物阿霉素共修饰纳米羟基磷灰石，制备纳米

2.3 药物摄取

采用流式细胞术检测不同时间点和激光照射下 HSC-4 细胞摄取纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体的含量，结果如图 6 所示。随着培养时间的增加，药物摄取量逐渐增加，1, 2, 4, 8, 24 h 的药物摄取量分别为 (3.66±0.91)%, (6.46±1.28)%, (15.5±1.61)%, (25.93±2.15)% 和 (63.37±3.00)%。使用 808 nm 近红外激光照射后，药物摄取量进一步增加，24 h 药物摄取量明显增加，高达 (78.93±1.26)%。

采用激光共聚焦观察药物的摄取和分布情况，结果如图 7 所示。随着培养时间的增加，细胞内红色荧光(阿霉素)荧光强度增加，1, 6, 12, 24 h 的红色荧光强度分别为 515.33±185.53, 1 191.67±78.05, 1 486.33±97.03 和 2 147.67±75.05。使用 808 nm 近红外激光照射后，红色荧光强度进一步增强，24 h 的红色荧光强度高达 4 926.00±141.17。另外，大部分红色荧光与蓝色荧光(细胞核)发生重叠，说明纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体入胞后释放阿霉素进入细胞核，杀伤肿瘤细胞。



图注：图 A 为不同时间点的药物摄取量流式细胞图；B 为不同时间点的药物摄取量统计分析。^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ 。

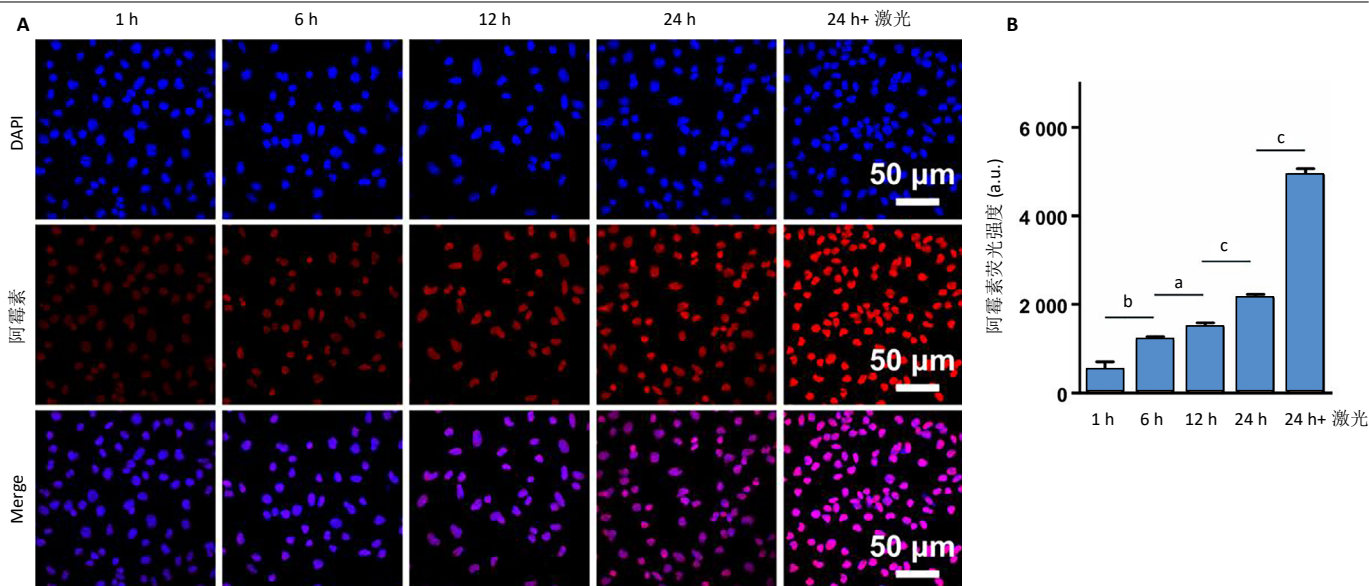
图 6 | 流式细胞术检测与纳米羟基磷灰石 - 聚多巴胺 - 阿霉素复合体共培养后 HSC-4 细胞药物摄取量

Figure 6 | Flow cytometry detection of drug uptake in HSC-4 cells after co-culture with nanohydroxyapatite-polydopamine-doxorubicin complex

羟基磷灰石 - 聚多巴胺 - 阿霉素复合体，扫描电镜和透射电镜观察显示在制备过程中均保持均匀的棒状结构，X 射线衍射晶型未发生明显变化；此外，粒径变化、Zeta 电位值变化、紫外 - 可见光谱上出现聚多巴胺和阿霉素的特征吸收峰，证实纳米羟基磷灰石 - 聚多巴胺 - 阿霉素复合体制备成功。经过 808 nm 近红外激光照射后，纳米羟基磷灰石 - 聚多巴胺 - 阿霉素复合体溶液温度升高，并且 4 次循环中温度变化趋势基本保持一致，具有良好的光热转换性和光热稳定性，在光热辅助抗肿瘤治疗等领域具有很大的潜在应用价值。

释药结果显示，在不同刺激条件下，所有组均呈现出前期快速释放、后期缓释行为，前期阿霉素快速释放有利于在肿瘤部位短期内快速实现大剂量的阿霉素药物积累，有效抑制肿瘤的生长，后期缓

慢释放的药物可抑制残存肿瘤细胞的增殖。更重要的是，纳米羟基磷灰石 - 聚多巴胺 - 阿霉素载药系统的药物释放成明显的 pH 值 / 近红外光刺激响应性。正常生理条件、肿瘤微环境及肿瘤细胞内溶酶体环境 pH 值各不相同，分别为 7.4, 6.5 和 5.0，这种差异被用于控制药物在肿瘤局部大量释放，减小在其他部位释放造成的毒副作用^[43]。此次研究结果显示，经过 144 h，在 pH=7.4, 6.5, 5.0 PBS 中阿霉素药物的释放率分别为 (10.60±0.31)%、(29.96±1.16)% 和 (65.68±3.58)%，阿霉素释放率随着浸泡液 pH 值降低而增加，呈 pH 值刺激响应性释药。经过 808 nm 近红外激光照射后，阿霉素的释放率明显增加到 (90.33±2.11)%，呈 pH 值 / 近红外激光刺激响应性释药，推测原因可能是：①肿瘤微环境和正常组织的酸碱差异是触发载药系统药物靶向释放的首要因素，纳米羟基磷灰石作为载体，其晶体结构中的 Ca^{2+} 在酸性条件下与 H^+ 发生离子交换反应导致晶体逐步解离，为阿霉素的扩散提供了物理通道^[44-45]；聚多巴胺中的邻苯二酚基团在酸性环境中质子化，削弱了其与阿霉素分子间的氢键作用和 $\pi-\pi$ 堆积作用力，进一步降低阿霉素与载体的结合能^[42]；在酸性环境中阿霉素的溶解率增加^[46-47]。②近红外激光的引入通过以下途径实现药物释放的调控：在 808 nm 近红外激光的照射下，纳米羟基磷灰石 - 聚多巴胺 - 阿霉素复合体产生局部高温引起复合物热膨胀，显著提升阿霉素扩散速率^[48]；温度升高可能导致聚多巴胺与阿霉素间的氢键键长增长，聚合物链段运动加剧，促使阿霉素从载药系统表面解吸附^[49-50]；



图注：图 A 为不同时间点使用激光共聚焦检测药物摄取和分布荧光图；B 为药物摄取荧光强度统计分析。^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$, ^c $P < 0.001$ 。

图 7 | 激光共聚焦检测与纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体共培养后 HSC-4 细胞中药物摄取量和分布

Figure 7 | Confocal laser scanning detection of drug uptake and distribution in HSC-4 cells after co-culture with nanohydroxyapatite-polydopamine-doxorubicin complex

808 nm 近红外激光照射后复合体温度升高，可增加细胞膜通透性和流动性，促进载体内吞和胞内药物释放^[51]。③ pH 值与近红外激光的协同作用体现在“酸性预激活 + 光热触发释放”的级联过程中，肿瘤酸性微环境致复合体溶解并削弱聚多巴胺-阿霉素相互作用，使载药系统进入“预活化”状态，外部激光照射通过热膨胀与分子作用力破坏实现药物爆发式释放。这种时空协同策略有望实现在肿瘤部位的快速释药，并减少在正常组织中的释药损失，从而实现肿瘤高效低毒、精准的光热-化学协同治疗。

在细胞实验中，采用 CCK-8 法证实纳米羟基磷灰石和纳米羟基磷灰石-聚多巴胺具有良好的细胞安全性，可作为药物载体。另外，采用 808 nm 近红外激光照射处理后，纳米羟基磷灰石-聚多巴胺和纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体具备良好的光热转换性能，并且纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素 + 激光（光热-化学联合治疗）组肿瘤细胞存活率最低，抗肿瘤效果最佳；而对于正常 L929 细胞，纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素 + 激光（光热-化学联合治疗）组细胞存活率明显高于阿霉素（化学治疗）组，推测原因可能是：① pH 值依赖的药物释放差异：肿瘤酸性微环境触发纳米羟基磷灰石解离、聚多巴胺质子化以及阿霉素溶解率增加，促进阿霉素的快速释放，而生理 pH 值下纳米羟基磷灰石载体结构稳定，阿霉素释放缓慢，显著降低对

正常组织的毒性^[52-54]；②在 808 nm 近红外激光照射（2 W/cm², 5 min）下，纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体温度升高 14 °C，约达 44.6 °C，文献报道温度在 42-48 °C 范围内对肿瘤细胞有较强的杀伤作用^[25]，而对正常细胞相对安全，因此可进一步解释在 808 nm 近红外激光照射下纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体在细胞层面表现出高效低毒的光热-化学协同杀伤效果。细胞凋亡实验显示，纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体经过激光照射可明显促进口腔鳞癌 HSC-4 细胞凋亡，与 CCK-8 检测结果一致。流式细胞术检测和激光共聚焦观察结果均显示，纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体可被细胞摄取，随着培养时间的增加和激光照射，细胞摄取的复合体增加，阿霉素释放进入胞核并杀伤肿瘤细胞，推测原因可能是：①培养时间延长的作用：纳米颗粒的细胞摄取主要通过内吞作用完成，随着培养时间延长，细胞与复合体的接触时间增加，内吞作用持续进行致胞内积累量上升^[55-56]；复合体随时间发生部分降解，释放出游离药物阿霉素，从而更易被摄取；聚多巴胺具有优异的黏附性，可能通过吸附细胞膜表面蛋白或形成“蛋白冠”，进一步激活细胞内吞信号通路^[57-58]。②光热作用：在 808 nm 近红外激光的照射下，纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体产生局部高温，提升阿霉素扩散速率^[59-60]，聚多巴胺与阿霉素间的

氢键键长增长,促使阿霉素在载药系统表面解吸附以及增加细胞膜通透性和流动性^[61],促进载体内吞和胞内药物释放^[51, 62]。③时间与光热的协同作用:激光照射可能加速阿霉素从纳米羟基磷灰石-聚多巴胺载体中释放(如聚多巴胺热膨胀或化学键断裂),游离阿霉素通过浓度梯度扩散进入细胞,与复合体内吞形成协同摄取路径。传统治疗模式以手术切除为主,辅以放化疗,但存在多重局限性,化疗药物虽可抑制肿瘤进展,但毒副作用较大,可引起骨髓抑制等致患者停止治疗,引起肿瘤复发;新兴光热治疗存在某些光热试剂在体内无法降解致毒和损伤正常组织等问题。在此次研究中,CCK-8实验证实光热-化学联合治疗相较于单一治疗(如单独化疗或单独光热治疗)显著提高了肿瘤细胞的抑制率,并且对正常细胞无明显毒副作用,这一结果提示联合治疗可能通过以下机制克服传统治疗的局限性:光热效应可通过局部升温促进药物释放并增强细胞膜通透性,从而提高化疗药物在靶部位的富集,克服传统治疗局限性。此次研究采用的纳米材料已通过体外表征验证了可控释放性,其近红外激光触发机制可精准控制药物释放、减少全身毒性,具有临床转化可行性;联合治疗可能通过降低单药剂量减轻系统性不良反应,同时光热治疗的局部升温效应可实时监控,避免过度治疗风险,具有较好的临床应用前景。

综上所述,此次研究成功制备棒状纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素载药系统,具有良好的光热性能和pH值/近红外激光刺激性,可实现阿霉素化疗药物的pH值/近红外激光可控释放。在体外细胞层面,与单一化学治疗或光热治疗相比,纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体在近红外激光下具有更优异的高效低毒的抗肿瘤效果,在口腔鳞状细胞癌临床治疗方面具有广阔的应用前景。尽管研究成功构建了具有pH值/光热双响应特性的纳米羟基磷灰石-聚多巴胺-阿霉素复合体系,并验证了它在体外条件下的可控释药性能与协同抗肿瘤效果,但现阶段研究仍存在一定局限性,材料的生物安全性和体内代谢行为尚未通过动物实验系统评估。未来需进一步在小鼠或大鼠模型中探究该复合物的体内分布、长期毒性及光热-化疗协同治疗效果,尤其是验证“酸性预激活+光热触发”级联释药策略在肿瘤微环境中的时空特异性。

作者贡献: 闵昌琴负责实验设计、实验实施和数据分析,黄英负责实验评估和文稿撰写。

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

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL RL, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71(3):209-249.
- [2] TANG Q, XIE M, YU S, et al. Periodic Oxaliplatin Administration in Synergy with PER2-Mediated PCNA Transcription Repression Promotes Chronochemotherapeutic Efficacy of OSCC. *Adv Sci (Weinh).* 2019;6(21):1900667.
- [3] SMYTH EC, LAGERGREN J, FITZGERALD RC, et al. Oesophageal cancer. *Nat Rev Dis Primers.* 2017;3:17048.
- [4] TIAN Y, TANG C, SHI G, et al. Novel fluorescent GLUT1 inhibitor for precision detection and fluorescence image-guided surgery in oral squamous cell carcinoma. *Int J Cancer.* 2022;151(3):450-462.
- [5] PIETZSCH S, WOHLAN K, THACKERAY JT, et al. Anthracycline-free tumor elimination in mice leads to functional and molecular cardiac recovery from cancer-induced alterations in contrast to long-lasting doxorubicin treatment effects. *Basic Res Cardiol.* 2021;116(1):61.
- [6] LIU T, ZHU M, CHANG X, et al. Tumor-Specific Photothermal-Therapy-Assisted Immunomodulation via Multiresponsive Adjuvant Nanoparticles. *Adv Mater.* 2023;35(18):e2300086.
- [7] REN Y, YAN Y, QI H. Photothermal conversion and transfer in photothermal therapy: From macroscale to nanoscale. *Adv Colloid Interface Sci.* 2022;308:102753.
- [8] PALMER LC, NEWCOMB CJ, KALTZ SR, et al. Biomimetic systems for hydroxyapatite mineralization inspired by bone and enamel. *Chem Rev.* 2008;108(11):4754-4783.
- [9] WANG R, HUA Y, WU H, et al. Hydroxyapatite nanoparticles promote TLR4 agonist-mediated anti-tumor immunity through synergically enhanced macrophage polarization. *Acta Biomater.* 2023;164:626-640.
- [10] ZHANG K, ZHOU Y, XIAO C, et al. Application of hydroxyapatite nanoparticles in tumor-associated bone segmental defect. *Sci Adv.* 2019;5(8):eaax6946.
- [11] YANG Y, YANG J, ZHU N, et al. Tumor-targeting hydroxyapatite nanoparticles for remodeling tumor immune microenvironment (TIME) by activating mitoDNA-pyroptosis pathway in cancer. *J Nanobiotechnol.* 2023;21(1):470.
- [12] KANG Y, SUN W, LI S, et al. Oligo Hyaluronan-Coated Silica/Hydroxyapatite Degradable Nanoparticles for Targeted Cancer Treatment. *Adv Sci (Weinh).* 2019;6(13):1900716.
- [13] CHENG X, XU Y, ZHANG Y, et al. Glucose-Targeted Hydroxyapatite/Indocyanine Green Hybrid Nanoparticles for Collaborative Tumor Therapy. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2021;13(31):37665-37679.
- [14] CHANG L, HUANG S, ZHAO X, et al. Preparation of ROS active and photothermal responsive hydroxyapatite nanoplatforms for anticancer therapy. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2021;125:112098.
- [15] ALFIERI ML, WEIL T, NG DYW, et al. Polydopamine at biological interfaces. *Adv Colloid Interface Sci.* 2022;305:102689.
- [16] FU Y, YANG L, ZHANG J, et al. Polydopamine antibacterial materials. *Mater Horiz.* 2021;8(6):1618-1633.
- [17] LIAO J, LI W, PENG J, et al. Combined cancer photothermal-chemotherapy based on doxorubicin/gold nanorod-loaded polymersomes. *Theranostics.* 2015;5(4):345-356.
- [18] NI W, WU J, FANG H, et al. Photothermal-Chemotherapy Enhancing Tumor Immunotherapy by Multifunctional Metal-Organic Framework Based Drug Delivery System. *Nano Lett.* 2021;21(18):7796-7805.

- [19] YANG G, LI M, SONG T, et al. Polydopamine-Engineered Theranostic Nanoscouts Enabling Intracellular HSP90 mRNAs Fluorescence Detection for Imaging-Guided Chemo-Photothermal Therapy. *Adv Healthc Mater.* 2022;11(23):e2201615.
- [20] DING T, XIAO Y, SAIDING Q, et al. Capture and Storage of Cell-Free DNA via Bio-Informational Hydrogel Microspheres. *Adv Mater.* 2024; 36(33):e2403557.
- [21] LIU L, ZHAO X. Preparation of environmentally responsive PDA&DOX@LAC live drug carrier for synergistic tumor therapy. *Sci Rep.* 2024;14(1):15927.
- [22] CHEN Z, SUN Y, WANG J, et al. Dual-Responsive Triple-Synergistic Fe-MOF for Tumor Theranostics. *ACS Nano.* 2023;17(10):9003-9013.
- [23] ZHANG Y, KONG F, WU D, et al. Hydrothermal Extraction and Characterization of Natural Hydroxyapatite from Waste Bovine Femur Bone. *Tissue Eng Part C Methods.* 2023;29(11): 535-544.
- [24] HE S, ZHENG Q, MA L, et al. Mucin-Triggered Osmium Nanoclusters as Protein-Corona-Like Nanozymes with Photothermal-Enhanced Peroxidase-Like Activity for Tumor-Specific Therapy. *Nano Lett.* 2024; 24(45):14337-14345.
- [25] WU J, LIU J, LIN B, et al. Met-Targeted Dual-Modal MRI/NIR II Imaging for Specific Recognition of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *ACS Biomater Sci Eng.* 2021;7(4):1640-1650.
- [26] YANG T, DAI L, LIU J, et al. Metal-phenolic-network-coated gold nanoclusters for enhanced photothermal/chemodynamic/immunogenic cancer therapy. *Bioact Mater.* 2025;44:447-460.
- [27] ZHANG L, YANG XQ, WEI JS, et al. Intelligent gold nanostars for in vivo CT imaging and catalase-enhanced synergistic photodynamic & photothermal tumor therapy. *Theranostics.* 2019;9(19):5424-5442.
- [28] LIU G, LI B, LI J, et al. Photothermal Carbon Dots Chelated Hydroxyapatite Filler: High Photothermal Conversion Efficiency and Enhancing Adhesion of Hydrogel. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2023; 15(48):55335-55345.
- [29] CHEN Y, FENG T, ZHU X, et al. Ambient Synthesis of Porphyrin-Based Fe-Covalent Organic Frameworks for Efficient Infected Skin Wound Healing. *Biomacromolecules.* 2024;25(6): 3671-3684.
- [30] LI S, ZHANG Y, WEN W, et al. A high-sensitivity thermal analysis immunochromatographic sensor based on au nanoparticle-enhanced two-dimensional black phosphorus photothermal-sensing materials. *Biosens Bioelectron.* 2019;133:223-229.
- [31] KATO K, MACHIDA R, ITO Y, et al. Doublet chemotherapy, triplet chemotherapy, or doublet chemotherapy combined with radiotherapy as neoadjuvant treatment for locally advanced oesophageal cancer (JCOG1109 NEXT): a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet.* 2024;404(10447):55-66.
- [32] ZHANG Z, SUN D, TANG H, et al. PER2 binding to HSP90 enhances immune response against oral squamous cell carcinoma by inhibiting IKK/NF- κ B pathway and PD-L1 expression. *J Immunother Cancer.* 2023;11(11):e007627.
- [33] FAROKHI M, MOTTAGHITALAB F, SAEB MR, et al. Functionalized theranostic nanocarriers with bio-inspired polydopamine for tumor imaging and chemo-photothermal therapy. *J Control Release.* 2019; 309:203-219.
- [34] POUSTCHI F, AMANI H, AHMADIAN Z, et al. Combination Therapy of Killing Diseases by Injectable Hydrogels: From Concept to Medical Applications. *Adv Healthc Mater.* 2021;10(3):e2001571.
- [35] RATZIU V, CHARLTON M. Rational combination therapy for NASH: Insights from clinical trials and error. *J Hepatol.* 2023;78(5):1073-1079.
- [36] FANE M, WEERARATNA AT. How the ageing microenvironment influences tumour progression. *Nature reviews Cancer* 2020;20(2):89-106.
- [37] CHEN J, XIANG Y, BAO R, et al. Combined Photothermal Chemotherapy for Effective Treatment Against Breast Cancer in Mice Model. *Int J Nanomedicine.* 2024;19:9973-9987.
- [38] 李璐, 刘怡萌, 李楠楠, 等. 多功能 19F 磁共振 /CT 成像及光热 / 化学联合治疗纳米平台用于肿瘤诊疗 [J]. *化学试剂*, 2023,45(9):47-55.
- [39] CHEN T, ZHUANG B, HUANG Y, et al. Inhaled curcumin mesoporous polydopamine nanoparticles against radiation pneumonitis. *Acta Pharm Sin B.* 2022;12(5):2522-2532.
- [40] YUAN Z, LIN C, HE Y, et al. Near-Infrared Light-Triggered Nitric-Oxide-Enhanced Photodynamic Therapy and Low-Temperature Photothermal Therapy for Biofilm Elimination. *ACS Nano.* 2020;14(3):3546-3562.
- [41] WANG Z, LI Z, SHI Y, et al. Mesoporous polydopamine delivery system for intelligent drug release and photothermal-enhanced chemodynamic therapy using MnO(2) as gatekeeper. *Regen Biomater.* 2023;10:rbad087.
- [42] NIEZNI D, HARRIS Y, SASON H, et al. Polydopamine Copolymers for Stable Drug Nanoprecipitation. *Int J Mol Sci.* 2022;23(20):12420.
- [43] VIGER ML, SANKARANARAYANAN J, DE GRACIA LUX C, et al. Collective activation of MRI agents via encapsulation and disease-triggered release. *J Am Chem Soc.* 2013;135(21):7847-7850.
- [44] HANH L, VAN HAI L, THE HOANG N, et al. In vitro biodegradation behavior of biodegradable hydroxyapatite coated AZ31 alloy treated at various pH values. *J Appl Biomater Funct Mater.* 2021;19: 22808000211010037.
- [45] LI D, HUANG X, WU Y, et al. Preparation of pH-responsive mesoporous hydroxyapatite nanoparticles for intracellular controlled release of an anticancer drug. *Biomater Sci.* 2016;4(2):272-280.
- [46] CHEN W, MENG F, CHENG R, et al. pH-Sensitive degradable polymersomes for triggered release of anticancer drugs: a comparative study with micelles. *J Control Release.* 2010;142(1):40-46.
- [47] LIU J, HUANG Y, KUMAR A, et al. pH-sensitive nano-systems for drug delivery in cancer therapy. *Biotechnol Adv.* 2014;32(4):693-710.
- [48] ESKANDANI M, JAHANBAN-ESFAHLAN R, SADUGHI MM, et al. Thermal-responsive β -cyclodextrin-based magnetic hydrogel as a de novo nanomedicine for chemo/hyperthermia treatment of cancerous cells. *Heliyon.* 2024;10(11):e32183.
- [49] WU D, JI W, XU S, et al. Near-infrared Light-Triggered Size-Shrinkable theranostic nanomicelles for effective tumor targeting and regression. *Int J Pharm.* 2024;658:124203.
- [50] ZHOU T, WU L, MA N, et al. Photothermally responsive theranostic nanocomposites for near-infrared light triggered drug release and enhanced synergism of photothermo-chemotherapy for gastric cancer. *Bioeng Transl Med.* 2023;8(1):e10368.
- [51] SHIN HH, CHOI HW, LIM JH, et al. Near-Infrared Light-Triggered Thermo-responsive Poly(N-Isopropylacrylamide)-Pyrrole Nanocomposites for Chemo-photothermal Cancer Therapy. *Nanoscale Res Lett.* 2020; 15(1):214.
- [52] BAE Y, FUKUSHIMA S, HARADA A, et al. Design of environment-sensitive supramolecular assemblies for intracellular drug delivery: polymeric micelles that are responsive to intracellular pH change. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2003;42(38):4640-4643.
- [53] GE R, LIN M, LI X, et al. Cu(2+)-Loaded Polydopamine Nanoparticles for Magnetic Resonance Imaging-Guided pH- and Near-Infrared-Light-Stimulated Thermochemotherapy. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2017;9(23):19706-19716.
- [54] WANG H, HAN Z, LIU Y, et al. Recyclable Composite Membrane of Polydopamine and Graphene Oxide-Modified Polyacrylonitrile for Organic Dye Molecule and Heavy Metal Ion Removal. *Membranes (Basel).* 2022;12(10):938.
- [55] RENNICK JJ, JOHNSTON APR, PARTON RG. Key principles and methods for studying the endocytosis of biological and nanoparticle therapeutics. *Nat Nanotechnol.* 2021;16(3):266-276.
- [56] ZHANG S, GAO H, BAO G. Physical Principles of Nanoparticle Cellular Endocytosis. *ACS Nano.* 2015;9(9):8655-8671.
- [57] BATTAGLINI M, CARMIGNANI A, CIOBANU DZ, et al. Detailed Profiling of Protein Corona Formed by Polydopamine Nanoparticles in Human Plasma. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2025;17(7):10485-10498.
- [58] HAN M, LI Y, LU S, et al. Amyloid Protein-Biofunctionalized Polydopamine Nanoparticles Demonstrate Minimal Plasma Protein Fouling and Efficient Photothermal Therapy. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2022;14(11):13743-13757.
- [59] ZHU Z, SU M. Polydopamine Nanoparticles for Combined Chemo- and Photothermal Cancer Therapy. *Nanomaterials (Basel).* 2017;7(7):160.
- [60] LI X, YANG C, TAO Y, et al. Near-Infrared Light-Triggered Thermosensitive Liposomes Modified with Membrane Peptides for the Local Chemo/ Photothermal Therapy of Melanoma. *Onco Targets Ther.* 2021;14:1317-1329.
- [61] BORDAT A, BOISSENOT T, NICOLAS J, et al. Thermoresponsive polymer nanocarriers for biomedical applications. *Adv Drug Deliv Rev.* 2019; 138:167-192.
- [62] XU C, ZHANG J, ZHANG J, et al. Near Infrared-Triggered Nitric Oxide-Release Nanovesicles with Mild-Photothermal Antibacterial and Immunomodulation for Healing MRSA-Infected Diabetic Wounds. *Adv Healthc Mater.* 2024;13(31):e2402297.

(责任编辑: 关伟, 邱杨, 张楠)