

· 药学前沿 ·

## 增氧型纳米递送系统用于光动力治疗的研究进展

孙晨凯<sup>1</sup>, 陈鑫<sup>1</sup>, 程皓<sup>1</sup>, 张向泽<sup>1</sup>, 杨筱钰<sup>1</sup>, 周建平<sup>1,2,3</sup>, 丁杨<sup>1,3\*</sup>

(<sup>1</sup>中国药科大学药剂系, 天然药物活性组分与药效国家重点实验室, 南京 210009; <sup>2</sup>中国药科大学药物质量与安全预警教育部重点实验室, 南京 210009; <sup>3</sup>国家药品监督管理局药物制剂及辅料研究与评价重点实验室, 南京 210009)

**摘要** 光动力治疗是一种新型非侵入性治疗手段, 其原理是光敏剂经激光触发后将能量转移至氧气, 生成具有细胞毒性的单线态氧, 从而诱导肿瘤细胞发生凋亡或坏死。作为一种氧依赖性治疗方式, 光动力治疗的抗肿瘤效果明显受限于实体瘤的乏氧微环境。因此, 逆转并改善肿瘤组织的缺氧情况可显著增强光动力治疗效果。本文重点讨论纳米递送系统介导的肿瘤增氧策略的研究进展, 包括氧气直接递送策略、酶催化产氧递送策略、响应型材料原位产氧递送策略和微生物体供氧递送策略, 以提高光动力治疗抗肿瘤效果, 为进一步研究增氧型光动力治疗纳米给药系统提供了新思路和新方案。

**关键词** 纳米递送系统; 氧气直接输送; 原位产氧供氧; 微生物体供氧; 光动力学增效治疗; 进展

中图分类号 R730.5 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2021)04-0387-11

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20210401

引用本文 孙晨凯, 陈鑫, 程皓, 等. 增氧型纳米递送系统用于光动力治疗的研究进展[J]. 中国药科大学学报, 2021, 52(4):387–397.

Cite this article as: SUN Chenkai, CHEN Xin, CHENG Hao, et al. Advances of research on oxygen-enhancing nano-delivery system for photodynamic therapy[J]. J China Pharm Univ, 2021, 52(4):387–397.

## Advances of research on oxygen-enhancing nano-delivery system for photodynamic therapy

SUN Chenkai<sup>1</sup>, CHEN Xin<sup>1</sup>, CHENG Hao<sup>1</sup>, ZHANG Xiangze<sup>1</sup>, YANG Xiaoyu<sup>1</sup>, ZHOU Jianping<sup>1,2,3</sup>, DING Yang<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Pharmaceutics & State Key Laboratory of Natural Medicines, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009;

<sup>2</sup>Ministry of Education Key Laboratory of Drug Quality Control and Pharmacovigilance, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009; <sup>3</sup>NMPA Key Laboratory for Research and Evaluation of Pharmaceutical Preparations and Excipients, Nanjing 210009, China

**Abstract** Photodynamic therapy, a new type of non-invasive treatment, is based on the principle that the photosensitizer excited by laser can transfer energy to oxygen, which generates cytotoxic singlet oxygen and thus induce tumor cell apoptosis or necrosis. As an oxygen-dependent therapy, the antitumor effect of photodynamic therapy is obviously limited by hypoxia environment of solid tumor tissue. Therefore, reversing and improving the hypoxia of tumor tissue can significantly enhance the efficacy of photodynamic therapy. This review focuses on the progress of tumor oxygenation strategy mediated by nano-delivery system, including direct oxygen delivery strategies, catalytic oxygen production strategies, responsive material in situ oxygen supply strategies and microorganism oxygen supply strategies, aiming to improve the antitumor effect of photodynamic therapy. It provides new ideas and new approaches for further study of oxygen-enhancing nano-delivery system for photodynamic therapy.

**Key words** nano-delivery system; direct oxygen delivery; *in-situ* oxygen production; microbial oxygen supply; synergistic photodynamic therapy; advances

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81872819, No. 82073401, No. 82073795)

收稿日期 2021-05-10 \*通信作者 Tel:13913882339 E-mail:dydszyf@163.com

基金项目 国家自然科学基金资助项目(No. 81872819, No. 82073401, No. 82073795)

光动力治疗(photodynamic therapy, PDT)作为一种现代化非侵入性的新型治疗手段,是继手术、放疗、化疗和免疫功能治疗后,被FDA批准的第5种肿瘤治疗策略<sup>[1]</sup>。自1978年第1种光敏剂血卟啉衍生物(hematoporphyrin derivative, HpD)应用于临床治疗以来,PDT在皮肤病、食道癌、肺癌、乳腺癌等疾病治疗中得到广泛应用<sup>[2]</sup>。在临床治疗中,通过静脉注射或局部给药方式为患者给予光敏剂(photosensitizer, PS)后,经体循环分布,PS选择性富集在肿瘤部位,激光触发后与周围氧分子发生光化学反应,产生具有细胞毒性的单线态氧杀伤肿瘤细胞<sup>[3]</sup>。因此与传统治疗手段相比,PDT疗法凭借PS的选择性聚集和光源的精准定位,具有靶向性高、不良反应小等特点,把对人体的医源性损伤降到最低,在临床治疗中具有巨大优势<sup>[4]</sup>。

然而,PDT疗法产生单线态氧的过程需要消耗大量氧气,而实体瘤处于乏氧环境,因此氧气供应不足成为PDT发挥高效治疗作用的瓶颈。提高肿瘤部位的氧含量是增强PDT治疗效果的重要策略之一,不仅能够逆转肿瘤部位乏氧环境,还可以抑制肿瘤的转移与复发<sup>[5]</sup>。目前学者们针对PDT的氧依赖性设计多种纳米递送系统用于增强肿瘤部位血氧含量,包括氧气直接递送策略、酶催化产氧递送策略、响应型材料原位产氧递送策略和微生物体供氧递送策略。此外,纳米递送系统经粒径、形态调节和表面功能修饰,赋予PS靶向性,提升其体内稳定性,并渗透到病灶组织内部的乏氧区域,改善靶区的缺氧状态增强PDT治疗效果,在PDT临床应用中具有巨大优势<sup>[6]</sup>。本文针对增氧型光动力治疗纳米递送系统的发展和前沿研究进行综述。

## 1 氧气直接递送策略

氧气直接递送系统在富氧环境下溶解氧气,到达病灶部位后,在乏氧环境中通过简单扩散释放氧气,以起到增氧效果。在携氧递送材料中,血红蛋白与全氟化碳纳米粒通过化学结合或物理吸附方式装载氧分子,具有高效的氧亲和力,常用于纳米递送系统中,为病灶部位直接输送氧气。

### 1.1 血红蛋白载氧纳米递送系统

血红蛋白(hemoglobin, Hb)分子由4个血红素基团组成,每个基团含有1个二价铁离子,可结合

一个氧分子,负责将氧气由肺部运送到其他组织<sup>[7]</sup>。尽管Hb具有高效的载氧和释氧能力,但游离的Hb稳定性低且半衰期短,不是肿瘤供氧载体的良好选择,且血红素基团中的二价铁被氧化后导致其载氧能力下降。因此,在实际应用中,常采用聚合物、脂质体、白蛋白和红细胞等载体荷载Hb递送到肿瘤部位,进而发挥增氧PDT治疗效果。

聚合物材料具有多种功能基团、可调节的理化性质,对Hb进行修饰可提高其体内稳定性。Shi等<sup>[8]</sup>首先将血红蛋白聚乙二醇(PEG)化,以增强其生物相容性,提高稳定性并延长其在体循环中的半衰期。通过疏水作用荷载光敏剂Ce6,以血红蛋白-Ce6为稳定剂,提供Gb<sup>3+</sup>纳米颗粒的仿生合成反应域,构建了一种血红蛋白介导的仿生顺磁性纳米递送系统Gd@Hb<sup>Ce6-PEG</sup>。为使Hb更好的渗透到深层肿瘤缺氧部位,采用聚多巴胺(PDA)共载Hb和光敏剂Ce6构建PHCe纳米粒,并封装在酸响应的聚合物PEG-PEI胶束中,递送到肿瘤部位后响应性释放PHCe,将Hb递送到深层缺氧部位<sup>[9]</sup>。然而聚合物材料的生物相容性较低且易被清除,与之相比,将聚合物修饰的Hb纳米粒包封于脂质体中,可延长Hb在体内的半衰期,提高其稳定性<sup>[10]</sup>。因此,有科研学者设计了仿生脂质聚合物DSPE-PEG组成的人工红细胞包裹Hb,通过疏水和静电作用荷载光敏剂吲哚菁绿(indocyanine green, ICG),在激光照射后,ICG将Hb中的氧气转化为有治疗作用的单线态氧<sup>[11]</sup>(图1)。实验结果表明以脂质体为递送载体有利于提高Hb的体内氧结合能力,且脂质体与红细胞的相似性赋予递送系统克服生物学屏障能力,达到肿瘤部位后可有效内化入胞释放氧气,从而显著改善肿瘤部位乏氧情况,增强治疗效果。

外源性材料具有免疫原性,不能完全满足体内应用的要求,因此内源性载体被广泛应用于Hb递送系统中。人血清白蛋白(human serum albumin, HSA)具有天然的生物相容性和高效的肿瘤靶向性,可通过分子间二硫键与Hb结合,并荷载Ce6,构建靶向性Hb纳米递送系统,用于抑制肿瘤生长和转移的氧增强免疫原性PDT治疗当中<sup>[12]</sup>。红细胞与Hb相容性最高,且红细胞膜表面具有天然标记(如CD47、唾液酸和多糖)使得制剂在体内无免疫原性,其长循环可显著延长Hb的半衰期至120 d。

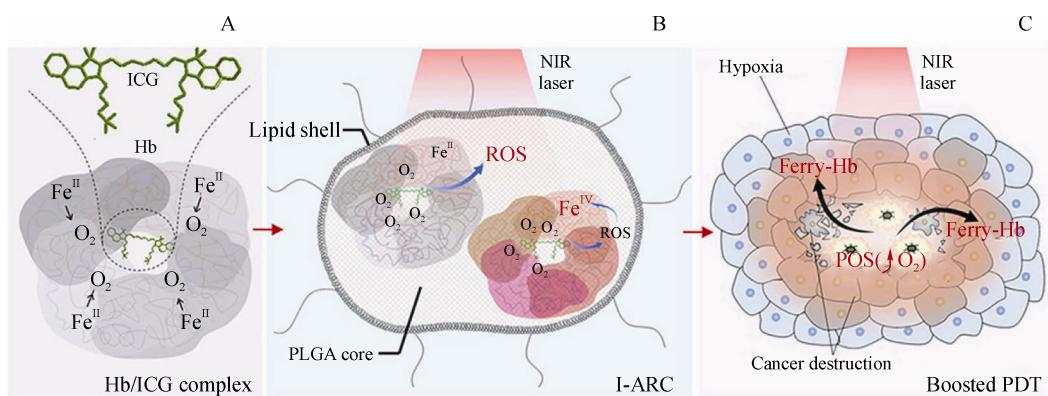


图 1 人工红细胞荷载吲哚菁绿(IGC)用于光动力治疗(PDT)抗肿瘤治疗<sup>[11]</sup>

A: 血红蛋白与 ICG 结合原理图; B: 荷载吲哚菁绿的人工细胞(I-ARCs)结构图; C: I-ARCs 增氧 PDT 工作原理图

因此研究者们从红细胞中分离出红细胞膜, 将 PS 与 Hb 共同融合在红细胞膜内, 使得纳米递送系统具有红细胞的基本特征, 高效发挥 PDT 抗肿瘤作用<sup>[13]</sup>。为避免 Hb 在递送过程中发生氧化损伤, 可在红细胞膜载体中引入聚多巴胺, 发挥红细胞抗氧化酶的作用, 有效保护携氧的 Hb 在体循环过程

中的稳定性<sup>[14]</sup>(图 2)。研究结果表明: 所构建的 AmmRBC 递送系统携氧能力约为 165 pg, 是天然红细胞(9.2 ~ 20.8 pg)的 10 倍, 且能够保持 Hb 结构完整, 从而在缺氧环境中释放氧气。同时, AmmRBC 的抗氧化能力与天然抗氧化酶相当, 使得 Hb 携氧能力不受影响。

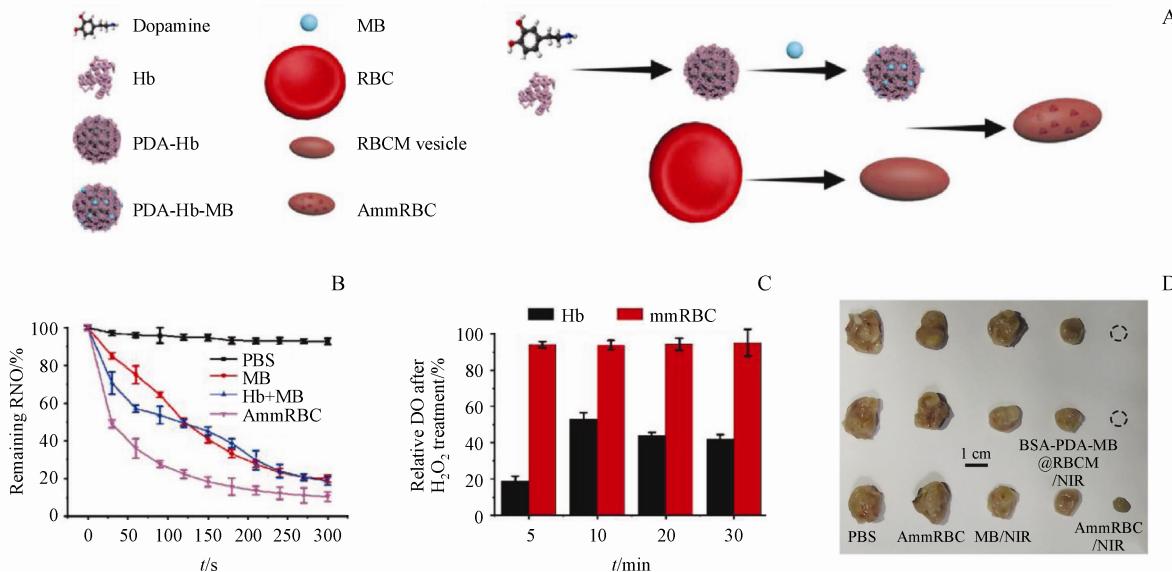


图 2 AmmRBC 用于 PDT 抗肿瘤治疗原理图<sup>[14]</sup>

A: AmmRBC 的设计和原理图; B: RNO 检测单线态氧; C: 过氧化氢预处理后 Hb 与 AmmRBC 溶解氧的相对变化; D: 不同处理 20 天后肿瘤效果图

综上, 通过仿生材料或内源性红细胞膜荷载 Hb, 可提高 Hb 的体内稳定性, 延长半衰期, 同时赋予纳米递送系统靶向特异性, 实现高效增氧 PDT 治疗效果。

## 1.2 全氟化碳溶氧纳米递送系统

相对于 Hb 的低荷载量与荷载效率, 氧气通过范德华力结合在全氟化碳(perfluorocarbons, PFCs)材料中, 具有较高的溶解度, 每 100 mL 溶液可溶解

氧气 40~50 mL, 等同于 200 mL 血液的血氧含量, 这归因于 PFCs 碳链骨架完全氟化, 氟元素具有高电负性, 因此 PFC 对氧气有更高亲和力<sup>[15]</sup>。因 PFCs 良好的载氧能力和出色的生物相容性其常被用作 PDT 递送系统的氧气载体, 但由于 PFCs 在水中高度不相溶, 需采用不同的脂质、聚合物或蛋白等对其进行修饰, 以构建可用于体内的增氧 PDT 纳米递送系统。Cheng 等<sup>[16]</sup>设计了一种独特的氧气自

供全氟化碳纳米液滴递送系统,将光敏剂IR780与PFCs均匀分散在一个脂质单分子层中,该单分子层由DSPE-PEG 2000、卵磷脂和胆固醇组成。该递送系统提高了PFCs的溶解性,通过简单扩散将溶解于PFCs中的氧气释放,提高肿瘤部位血氧含量,且延长IR780产生的单线态氧的半衰期,提高单线态氧水平,从而进行高效的PDT抗肿瘤治疗。此外,采用两亲性聚合物(PEGMA-co-FDeMA)自组装胶束荷载PFCs与疏水性的光敏剂竹红菌素B,该递送系统将PFCs溶解性提高至10 mg/mL,有利于增强氧气荷载量,产生更多的单线态氧,从而提高PDT的治疗效果<sup>[17]</sup>。

与Hb在高压吸氧、低压放氧相比,PFCs因其氧气溶解度过高,而难以通过浓度梯度扩散而释放氧气。因此,研究者们以人血清白蛋白为稳定剂,制备PFCs纳米液滴溶解大量氧气,并通过外部低频超声触发释放氧气<sup>[18]</sup>(图3)。实验结果表明,采用HSA稳定的PFC纳米液滴具有良好的生物相容性,对不同类型的细胞均具有较高的安全性。体外产氧实验表明PFCs纳米液滴超声响应后溶解氧浓度快速增加,出现了爆发式的氧气释放,显著增强小鼠肿瘤部位血氧含量。为进一步增强PDT治疗效果,研究者们设计了一种仿生供氧纳米探针CCm-HSA-ICG-PFTBA,在全氟三丁胺纳米粒表

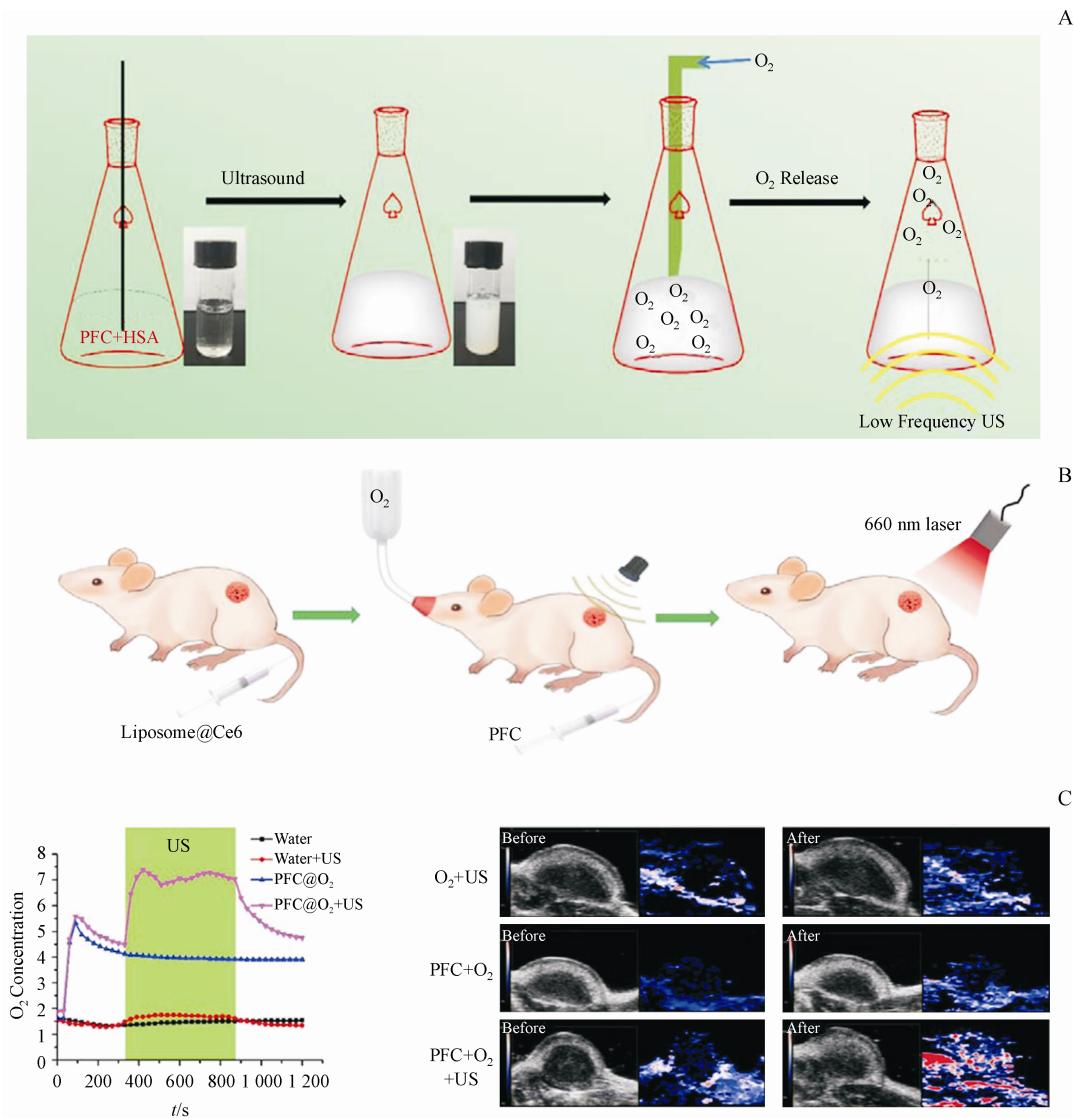


图3 超声触发全氟化碳(PFCs)纳米液滴给药系统用于PDT治疗<sup>[18]</sup>

A:超声触发PFCs纳米液滴结构和制备过程;B:PFCs纳米液滴PDT治疗示意图;C:不同制剂组产氧能力比较;D:各组小鼠肿瘤部位治疗前后光声成像图

面包覆肿瘤细胞膜, 赋予递送系统同源靶向及免疫逃逸能力<sup>[19]</sup>。实验结果表明该递送系统富集肿瘤部位, 显著改善乏氧环境, 具有高效的PDT治疗作用。

总之, PFCs在多种纳米递送系统的介导下, 具有良好的生物相容性和肿瘤靶向性, 凭借自身高效的溶氧性质, 能够显著提高病灶部位血氧含量, 可作为一种克服肿瘤缺氧增效治疗的临床解决方案。

## 2 酶催化产氧递送策略

肿瘤细胞由于异常代谢, 使其胞内过氧化氢水平高于正常组织, 因此过氧化氢可作为底物被催化产氧, 改善肿瘤乏氧环境。目前, 过氧化氢催化剂主要分为两类, 一类是过氧化氢酶; 另一类是类过氧化氢酶, 如二氧化锰、铂纳米酶以及钌配合物等。将光敏剂与催化剂共荷载构建纳米递送系统, 递送到靶部位提高氧气浓度, 发挥增效PDT治疗作用。

### 2.1 过氧化氢酶产氧纳米递送系统

过氧化氢酶(catalase, CAT)是一种具有极高酶周转效率的催化酶, 可快速分解过氧化氢产生氧气, 通常采用物理吸附和化学交联的固定化酶技术荷载CAT, 与载体如脂质体、聚合物材料和介孔二氧化硅等构建增氧PDT纳米递送系统。Chen等<sup>[20]</sup>首先提出基于聚乳酸PLGA修饰靶向配体

c(RGDfK), 包埋CAT、黑洞淬灭剂-3和光敏剂亚甲蓝的智能响应性增氧递送系统。该纳米递送系统到达肿瘤部位后, 过氧化氢渗透进入纳米粒, 被CAT催化分解产生氧气, 大量的氧气破坏PLGA外壳, 释放了光敏剂亚甲蓝, 经激光照射后杀伤肿瘤细胞。为进一步优化光动力治疗的活性, Kim等<sup>[21]</sup>还设计了一种中空二氧化硅纳米粒吸附CAT、光敏剂Ce6和抗肿瘤药物, 构建多阶响应性智能纳米给药系统, 用于pH响应性的肿瘤归巢和线粒体靶向。体内光声成像实验表明, 制剂组将肿瘤血氧含量由1.5%提高至12.6%, 显著改善肿瘤乏氧环境。同时, 研究者们设计了一种以透明质酸为载体的递送系统, 包裹CAT和金刚烷修饰的光敏剂Ce6, 通过CD44受体介导入胞, 催化内源性的过氧化氢转化为氧气<sup>[22]</sup>。与物理吸附、包埋相比, 化学交联方式更能提高CAT的体内稳定性, 利用CAT表面赖氨酸残基上的伯胺进行乙烯化修饰, 再与丙烯酰胺单体发生原位自由基聚合并交联光敏剂Ce6构建蛋白纳米胶囊, 可显著提高CAT体内催化产氧效果<sup>[23]</sup>。

然而, 上述纳米递送系统在体内的PDT抗肿瘤治疗较弱, 归因于光敏剂Ce6的光毒性和激光波长为660 nm的皮肤穿透性较差。因此, Huang等<sup>[24]</sup>设计了枝状介孔有机硅纳米粒荷载光敏剂吲哚菁绿和CAT来克服肿瘤乏氧微环境(图4)。由于吲哚菁绿的三碳菁结构, 使其能够吸收近红外

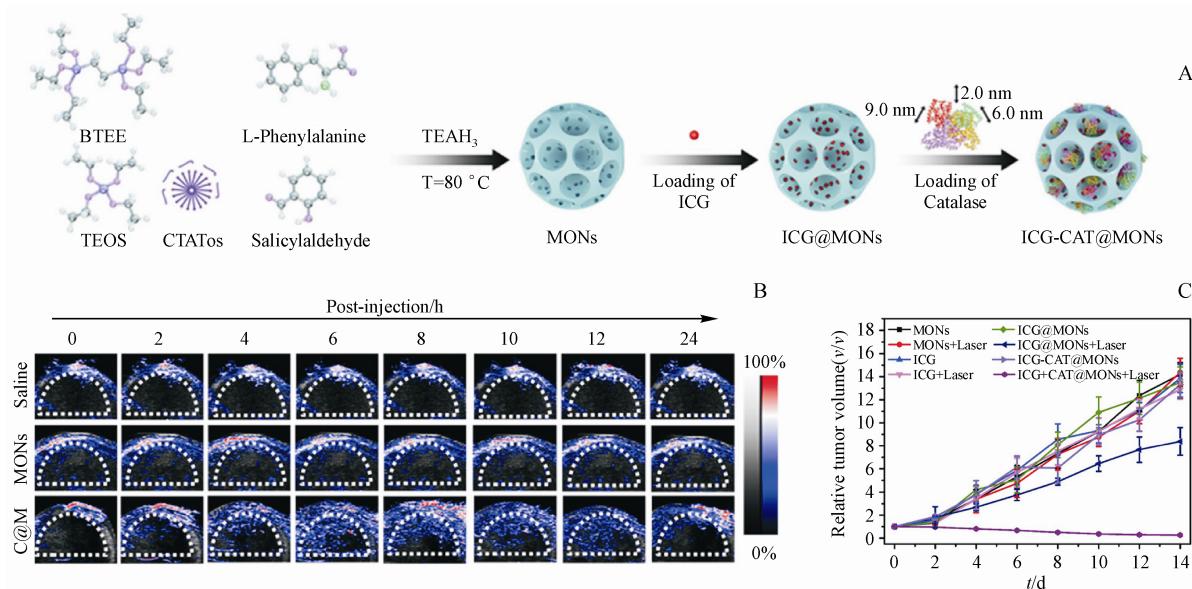


图4 吲哚菁绿-过氧化氢酶@介孔硅纳米粒(ICG-CAT@MONs)用于富含过氧化氢的肿瘤进行成像PDT治疗<sup>[24]</sup>

A: ICG-CAT@MONs设计和原理图; B: 肿瘤部位不同时间下各组血氧含量PA成像图; C: 肿瘤体积变化评价 ICG-CAT@MONs 药效曲线

光源,此波长下的光可以穿透真皮组织到达肿瘤部位,被吲哚菁绿全部吸收,从而产生更多的单线态氧诱导肿瘤细胞凋亡或坏死,显著抑制肿瘤生长。介孔二氧化硅纳米粒具有孔径可控、比表面积大等特点,所设计的孔径为15.9 nm,能够充分包裹CAT等生物大分子,提高蛋白的生物相容性。体内实验表明制剂组在肿瘤部位催化效果较强,相应的血氧含量水平是对照组的4.43倍。综上,CAT作为一种高效催化酶,采用化学交联方法荷载效果优于物理吸附方法,能够显著提高肿瘤部位血氧含量,与近红外光敏剂配伍构建纳米递送系统,在临床治疗中具有良好的应用前景。

## 2.2 类过氧化氢酶产氧纳米递送系统

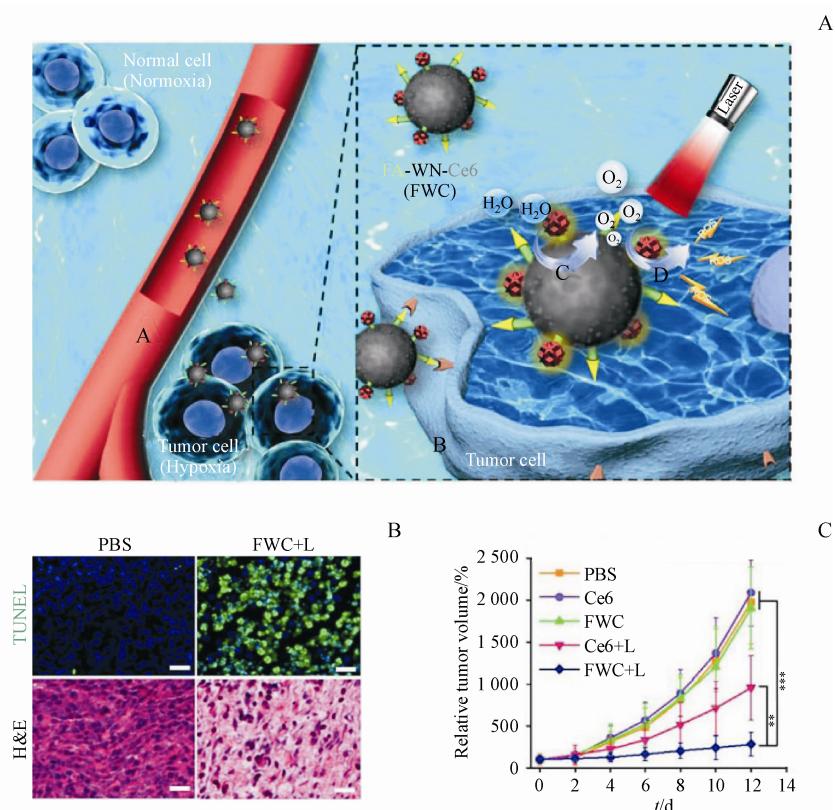
过氧化氢酶虽然具有高效的催化能力,但作为一种外源性酶,面对体内复杂微环境易被降解失活。因此,类过氧化氢酶(如二氧化锰、铂纳米酶以及钌配合物等)纳米递送系统被广泛研究<sup>[25–26]</sup>,常用的递送载体包括脂质体、聚合物纳米粒、生物大分子等。研究者们将吲哚菁绿接枝在透明质酸结构中,并包裹二氧化锰构成纳米递送系统,透明质酸与肿瘤细胞表面过表达的CD44受体介导入胞,将二氧化锰递送胞内,催化过氧化氢发挥产氧增效治疗作用<sup>[27]</sup>。二氧化锰作为纳米酶在体内催化过氧化氢改善肿瘤乏氧,但其降解产物锰离子对人体有全身毒性伤害。鉴于此,采用阳离子聚丙烯盐酸盐偶联光敏剂Ce6来修饰二氧化锰纳米粒,并采用阴离子聚丙烯酸包裹阳离子聚合物,然后与氨基末端的聚乙二醇结合,增加纳米递送系统的水溶性并大幅降低锰离子的系统毒性和Ce6的光毒性,显著增强PDT抑瘤效果<sup>[28]</sup>。除二氧化锰外,铂纳米酶也是一种良好的产氧催化剂,研究者将铂纳米酶原位修饰在二维金属有机框架上,构建了一种肿瘤特异性纳米催化剂递送系统<sup>[29]</sup>。分散性良好的铂纳米酶具有高效催化产氧能力,结合靶向配体TCPP和过渡金属钐离子,在肿瘤部位产生更多的单线态氧,提高PDT抗肿瘤效果。总之,类过氧化氢酶纳米酶凭借结构稳定、高效催化等特点可作为CAT的替代品,用于增氧PDT纳米递送系统的构建,靶向递送到靶部位提高血氧含量,增强PDT治疗效果。

## 3 响应型材料原位产氧递送策略

由于体内环境复杂、病灶部位过氧化氢含量有限,氧气直接递送策略和酶催化产氧策略深受递送效率和底物浓度等因素影响。为进一步提高增氧PDT治疗效果,科研学者将关注点转移至体内取之不尽用之不竭的水,采用响应型材料与水反应产生氧气,能够有效改善肿瘤乏氧环境<sup>[30–31]</sup>。目前,常用的响应型材料可受外源刺激和微环境响应,在不同条件刺激下产生氧气发挥增效PDT作用。

### 3.1 外源刺激材料产氧递送系统

外源刺激主要以光刺激为主,如氮化碳、氮化钨等光催化材料和光敏感的铂(IV)-叠氮配合物等,由于此类材料多为金属化合物,通常与聚合物结合构建纳米递送系统。氮化碳(C<sub>3</sub>N<sub>4</sub>)因其独特的带隙能引起了广泛的关注,改性后的C<sub>3</sub>N<sub>4</sub>能够吸收大于600 nm的红光,可用于体内治疗中<sup>[32]</sup>。C<sub>3</sub>N<sub>4</sub>纳米复合物采用球磨工艺可增强其红外吸收,并通过π-π作用与修饰有光敏剂原卟啉IX和肿瘤靶向多肽RGD的两亲性聚合物PEG结合,构建碳点掺杂的C<sub>3</sub>N<sub>4</sub>纳米给药系统<sup>[33]</sup>。细胞活力实验表明,制剂显著逆转了缺氧引发的PDT耐药性,在1%氧浓度环境下具有肿瘤细胞生长抑制作用。为进一步优化分解水产氧的PDT治疗策略,该研究团队研究了另一种新型光催化材料氮化钨(tungsten nitride, WN)。WN与其他金属材料不同之处在于,在765 nm激光照射下可催化水分子生成氧气,有效改善了C<sub>3</sub>N<sub>4</sub>吸收波长较短的问题,是在体内分解水产生氧气的理性材料<sup>[34]</sup>。为赋予WN肿瘤靶向性,该团队以WN纳米粒为核心,表面包裹含有光敏剂Ce6和叶酸的PEG,该纳米递送系统通过EPR效应和叶酸主动靶向作用,富集到肿瘤部位<sup>[35]</sup>。在激光照射条件下,WN分解水分子产生氧气,供给光敏剂提高PDT治疗作用(图5)。体外实验表明,制剂经激光照射后能产生较多的氧气,显著提高了光敏剂Ce6的单线态氧产生水平。同时,药效学实验表明,制剂组中出现大面积肿瘤组织凋亡,具有较强的PDT治疗效果。此外,含有顺式二胺配体的铂-叠氮配合物对光十分敏感,经激光照射后生成氧气与具有细胞毒性的二价铂<sup>[36]</sup>,铂与光敏剂Ce6接枝于PEG两端,自组装

图 5 WN 光催化材料用于光动力治疗<sup>[35]</sup>

A: FWC 光催化新材料用于 PDT 治疗示意图; B: 经治疗后肿瘤 TUNEL、HE 切片结果; C: 各组治疗小鼠瘤体积生长曲线

成荷载香豆素 6-铂-聚乙二醇纳米粒(CPP)胶束。由于铂(IV)配合物在近红外光下分解能力有限,采用上转化纳米粒与 CPP 共组装得到荷载香豆素 6-铂-聚乙二醇上转化纳米粒(UCPP)自产氧纳米给药系统<sup>[37]</sup>(图 6)。体内实验表明,UCPP 在多种肿瘤动物模型小鼠均具有高效的抑瘤效果,能够延长荷瘤小鼠生存期,提高存活率。

总之,外源性响应型材料纳米递送系统在外界光源刺激下持续产生氧气,避免因过氧化氢来源不足而导致的氧气含量低等问题,作为一种新型材料具有巨大的应用前景。

### 3.2 微环境响应材料产氧纳米递送系统

与外源刺激响应材料不同的是,借助内源微环境的响应材料可有效规避光源波长等问题,与靶部位水发生氧化还原反应,生成氧气和过氧化氢;其中,氧气被光敏剂激发产生有治疗作用的单线态氧,而过氧化氢可被辅助催化剂催化产氧,进一步提高肿瘤部位血氧含量。目前,常用的内源性响应材料是以过氧化钙为主的无机过氧化物,

为提高其体内相容性,采用两亲性聚合物荷载过氧化物构建纳米递送系统。Sheng 等<sup>[38]</sup>首先将 pH 敏感的甲基丙烯酸酯共聚物包裹过氧化钙纳米粒,递送系统到达肿瘤部位后,聚合物在低 pH 条件下裂解,释放过氧化钙与水反应生成氧气。伴随氧气的产生,靶部位的过氧化氢也随之增加。鉴于此,研究者们将二氧化锰纳米粒引入到过氧化钙纳米递送系统中,采用尾静脉注射二氧化锰纳米粒,经 MR 导向肿瘤部位,催化过氧化氢产生氧气,进一步提高肿瘤部位血氧含量<sup>[39]</sup>。然而,这种给药方式存在时间和空间上的差异,经体循环后难以同时递送到肿瘤部位,PDT 治疗效果欠佳。因此,将过氧化钙负载到硅酸锰纳米粒表面,并吸附光敏剂 ICG,同时孵育相变材料月桂酸,起到隔绝水分、保护响应材料的作用<sup>[40]</sup>。当纳米粒达到靶部位被激光照射后,由于 ICG 的光热效应,局部温度升高,超过月桂酸的熔点使其熔化,进而释放过氧化钙,发生内源性响应产生氧气,同时生成的过氧化氢经二价锰催化成氧气,进一步增强 PDT

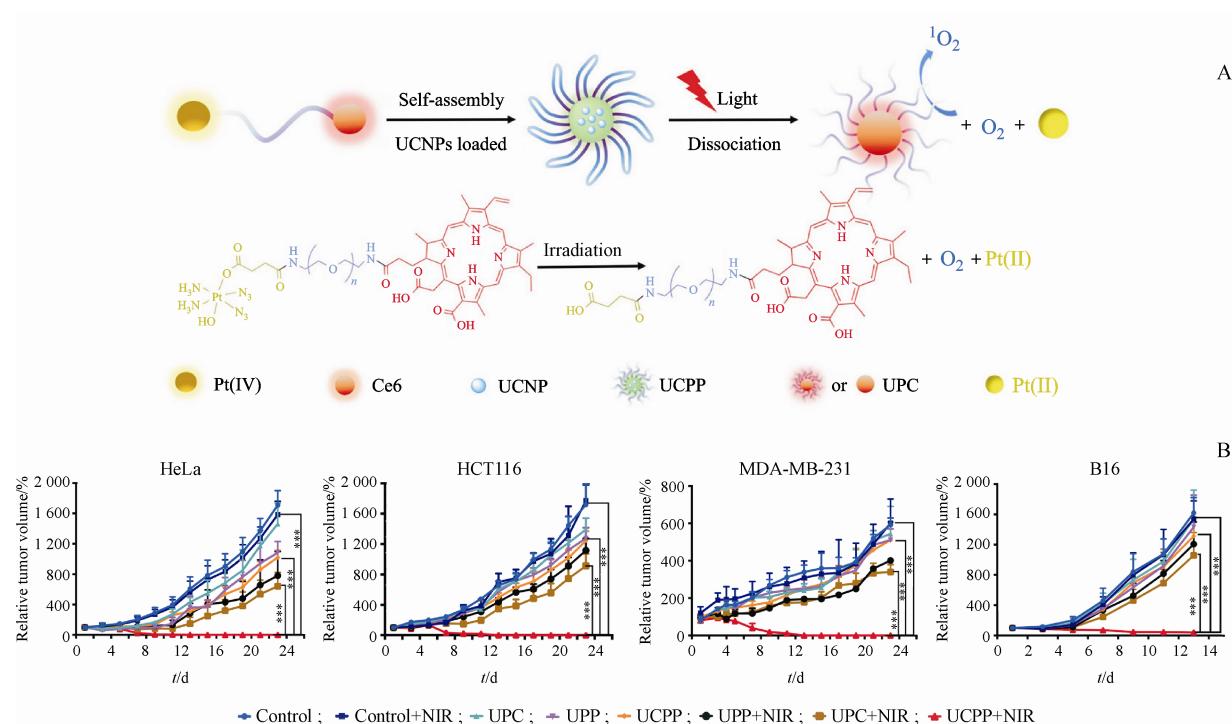


图6 荷载香豆素6-铂-聚乙二醇上转化纳米粒(UCPP)自产氧纳米给药系统用于PDT治疗<sup>[37]</sup>

A:UCPP制备过程及产氧原理示意图;B:Hela, HCT116, MDA-MB-231, B16肿瘤模型中不同制剂小鼠瘤体体积变化曲线

## 治疗效果。

综上,微环境响应材料结合过氧化氢催化剂能够进一步提高氧气含量,增强PDT治疗效果,此外,针对微环境响应材料特有的理化性质,需设计有效的载体保护其体内稳定性。微环境响应材料纳米递送系统为改善肿瘤乏氧环境提供了一种全新的研究思路,值得进一步探索研究。

## 4 微生物体供氧递送策略

自然界中微生物通过光合作用产生氧气,具有持续、可控、高产等特点,被应用在增氧PDT治疗。目前,产氧微生物主要分为两类:一类是蓝细菌原核生物;另一类是绿藻门类真核生物。构建微生物递送系统,可极大改善病灶部位乏氧环境,在增强PDT治疗、改善肿瘤耐药性以及其他慢性伤口治疗领域具有良好的应用前景。

### 4.1 蓝细菌供氧递送系统

蓝细菌(cyanobacteria)是一类具有光合产氧能力的原核生物,其胞质中含有大量的类囊体结构,各种光和色素及光和酶附着其上。蓝细菌可作为仿生载体,因其膜表面富含游离氨基,与靶向配体结合,经体循环靶向肿瘤部位。Liu等<sup>[41]</sup>首先

设计了人血清白蛋白(HSA)荷载光敏剂ICG得到HSA/ICG纳米粒,再通过HSA的羧基与蓝细菌表面氨基发生酰胺化反应,整合得到S/HSA/ICG递送系统。由于蓝藻只能吸收420~660 nm范围内的波长进行光合作用,该递送系统体内药效学中采用660 nm激光照射,皮肤穿透效果较差。因此,有研究者将上转换纳米粒荷载到蓝细菌内,同时孵育了荷载化药甲氨蝶呤的温敏水凝胶(PLCA-PEG-PLCA),构建近红外光响应时空可控的蓝细菌递送系统CMP<sup>[42]</sup>。CMP可吸收808 nm近红外光并转化为蓝细菌可吸收的420~480 nm的蓝光,既保证了光合产氧量,又能够深层穿透组织。在808 nm激光照射下蓝细菌光合作用产氧,抑制缺氧诱导因子-1 $\alpha$ 表达,增加抗炎巨噬细胞数量,与甲氨蝶呤协同抗炎,表现出良好的抗类风湿PDT治疗效果。此外,采用藻酸盐凝胶包裹蓝细菌封装成贴片剂,可用于慢性伤口的局部氧疗,促进伤口愈合,这种递送系统也可用于PDT治疗皮肤疾病当中。尽管蓝细菌易于生长,培养成本较低,但距离临床应用仍有一定距离,其体内生物相容性、在体存活时间等问题需进一步探究,但蓝细菌递送系统为改善乏氧PDT治疗开辟了一条全新的思路。

#### 4.2 绿藻供氧递送系统

绿藻(chlorella)是一种生长在淡水中的单细胞真核微藻, 直径为 $2\sim10\mu\text{m}$ , 含有大量的叶绿素A和叶绿素B, 其光合产氧效率显著高于蓝细菌, 可有效改善乏氧环境, 是目前微生物体供氧的热点研究。由于绿藻独特的理化性质, 常采用凝胶载体荷载绿藻原位给药, 同时引入碳源作为光合作用底物, 起到长效供氧目的。Lee等<sup>[43]</sup>采用HSA-PEG包裹绿藻和金纳米粒, 形成原位可注射水凝胶, 提高肿瘤部位血氧含量。与PEG相比, 海藻酸盐作为一种高黏附性的天然多糖, 与绿藻相容性更高, 被广泛用于药物递送系统中。因此, 研究者们利用海藻酸钙凝胶包裹绿藻形成chlorella-Gel, 与全氟化碳荷载光敏剂Ce6的纳米粒PFC-NPs构成增氧给药系统<sup>[44]</sup>。采用原位注射方式将

chlorella-Gel递送到小鼠肿瘤部位, 再将PFC-NPs静脉注射到小鼠体内, 绿藻经激光照射后进行光合作用产生的氧气被PFC吸收, PFC作为储氧罐将氧气存储起来, 供给光敏剂转化为单线态氧, 从而起到高效的肿瘤细胞杀伤效果(图7)。此外, 也有其他学者利用海藻酸钙凝胶保护绿藻, 使其免受巨噬细胞吞噬, 以微创植入到肿瘤组织周围, 发挥持续产氧作用<sup>[45]</sup>。综上, 绿藻递送系统具有良好的体内安全性和生物相容性, 在光源控制下可持续释氧, 其产氧量是无机催化产氧的3倍。但绿藻供氧效率受到氧气扩散速率影响, 因此, 结合储氧材料收集光合作用产生的氧气, 可进一步提高病灶部位的氧含量, 使其在增氧PDT治疗领域具有更好的应用价值。

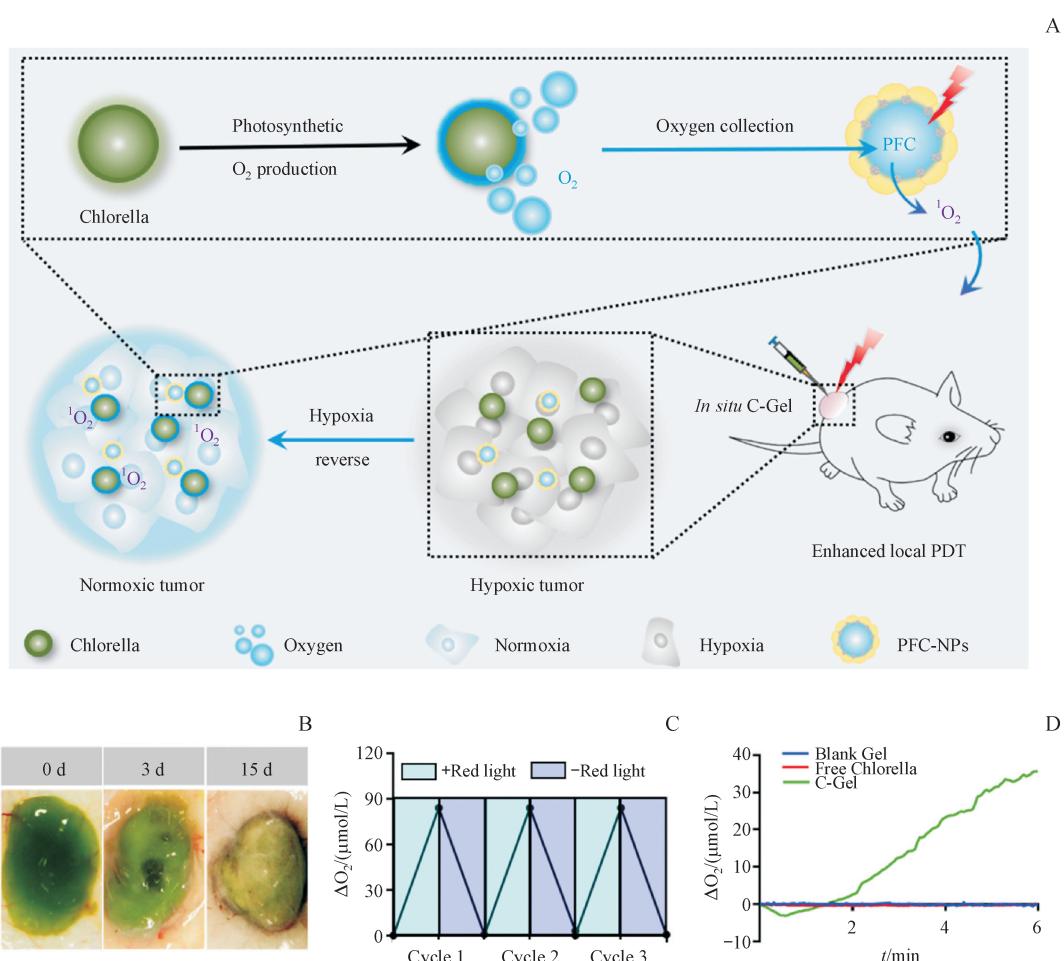


图7 绿藻凝胶(Chlorella-Gel)与全氟化碳纳米粒(PFC-NPs)用于抗肿瘤缺氧PDT治疗<sup>[44]</sup>

A: 可持续 PDT 治疗的光控产氧与收集示意图; B: 原位 Chlorella-Gel 不同时间下的图像图; C: CT26 肿瘤模型中原位凝胶在红灯循环下重复产氧; D: Chlorella-Gel 注射肿瘤部位 24 h 后氧气产生情况

## 5 总结与展望

光动力治疗因其独特的肿瘤靶向性和低医源性损伤具有深远的临床治疗意义。可是,PDT对氧气的高度依赖性及肿瘤部位的乏氧环境,限制了PDT的治疗效果。因此,研究者设计多种纳米递送系统来增强乏氧部位的PDT治疗效果,如氧气直接递送策略、酶催化过氧化氢产氧策略、响应型材料原位产氧策略和微生物体光合作用供氧策略等。目前,PDT在临床应用中仍然存在诸多挑战,如光敏剂不良反应、光源波长穿透能力、制剂靶向递送等问题。相信随着纳米医学、生物学和光学学科的发展与融合,这些问题将逐个得以解决,最终得到临床可行、令人满意的PDT纳米递送系统。

## References

- [1] Li XS, Kwon N, Guo T, et al. Innovative strategies for hypoxic-tumor photodynamic therapy [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2018, **57**(36):11522-11531.
- [2] Lucky SS, Soo KC, Zhang Y. Nanoparticles in photodynamic therapy [J]. *Chem Rev*, 2015, **115**(4):1990-2042.
- [3] Zhou ZJ, Song JB, Nie LM, et al. Reactive oxygen species generating systems meeting challenges of photodynamic cancer therapy [J]. *Chem Soc Rev*, 2016, **45**(23):6597-6626.
- [4] Fan WP, Bu WB, Shi JL. On the latest three-stage development of nanomedicines based on upconversion nanoparticles [J]. *Adv Mater*, 2016, **28**(21):3987-4011.
- [5] Wilson WR, Hay MP. Targeting hypoxia in cancer therapy [J]. *Nat Rev Cancer*, 2011, **11**(6):393-410.
- [6] Wang H, Li J, Wang YQ, et al. Nanoparticles-mediated reoxygenation strategy relieves tumor hypoxia for enhanced cancer therapy [J]. *J Control Release*, 2020, **319**:25-45.
- [7] Fleming IN, Manavaki R, Blower PJ, et al. Imaging tumor hypoxia with positron emission tomography [J]. *Br J Cancer*, 2015, **112**(2):238-250.
- [8] Shi XD, Yang WT, Ma Q, et al. Hemoglobin-mediated biomimetic synthesis of paramagnetic O<sub>2</sub>-evolving theranostic nanoprobes for MR imaging-guided enhanced photodynamic therapy of tumor [J]. *Theranostics*, 2020, **10**(25):11607-11621.
- [9] Wang Y, Luo SY, Wu YS, et al. Highly penetrable and on-demand oxygen release with tumor activity composite nanosystem for photothermal/photodynamic synergetic therapy [J]. *ACS Nano*, 2020, **14**:17046-17062.
- [10] Jiang YL, Bai HT, Liu LB, et al. Luminescent, oxygen-supplying, hemoglobin-linked conjugated polymer nanoparticles for photodynamic therapy [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2019, **58**(31):10660-10665.
- [11] Luo ZY, Zheng MB, Zhao PF, et al. Self-monitoring artificial red cells with sufficient oxygen supply for enhanced photodynamic therapy [J]. *Sci Rep*, 2016, **6**:23393-23404.
- [12] Chen ZK, Liu LL, Liang RJ, et al. Bioinspired hybrid protein oxygen nanocarrier amplified photodynamic therapy for eliciting anti-tumor immunity and abscopal effect [J]. *ACS Nano*, 2018, **12**(8):8633-8645.
- [13] Shao JX, Pijpers IB, Cao SP, et al. Biomimetic engineering of multifunctional polylactide stomatocytes toward therapeutic nano-red blood cells [J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2019, **6**(5):1801678-1801686.
- [14] Liu WL, Liu T, Zou MZ, et al. Aggressive man-made red blood cells for hypoxia-resistant photodynamic therapy [J]. *Adv Mater*, 2018, **30**(35):1802006-1802016.
- [15] Li NN, Xu F, Cheng JJ, et al. Perfluorocarbon nanocapsules improve hypoxic microenvironment for the tumor ultrasound diagnosis and photodynamic therapy [J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2018, **14**(12):2162-2171.
- [16] Cheng YH, Cheng H, Jiang CX, et al. Perfluorocarbon nanoparticles enhance reactive oxygen levels and tumor growth inhibition in photodynamic therapy [J]. *Nat Commun*, 2015, **6**(1):8785-8793.
- [17] Hu HM, Yan XF, Wang H, et al. Perfluorocarbon-based O<sub>2</sub> nanocarrier for efficient photodynamic therapy [J]. *J Mater Chem B*, 2019, **7**(7):1116-1123.
- [18] Song XJ, Feng LG, Liang C, et al. Ultrasound triggered tumor oxygenation with oxygen-shuttle nano perfluorocarbon to overcome hypoxia-associated resistance in cancer therapies [J]. *Nano Lett*, 2016, **16**(10):6145-6153.
- [19] Fang HY, Gai YK, Wang S, et al. Biomimetic oxygen delivery nanoparticles for enhancing photodynamic therapy in triple-negative breast cancer [J]. *J Nanobiotechnology*, 2021, **19**(1):81-95.
- [20] Chen HC, Tian JW, He WJ, et al. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-activatable and O<sub>2</sub>-evolving nanoparticles for highly efficient and selective photodynamic therapy against hypoxic tumor cells [J]. *J Am Chem Soc*, 2015, **137**(4):1539-1547.
- [21] Kim JH, Cho HR, Jeon HJ, et al. Continuous O<sub>2</sub>-evolving MnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanoparticle-anchored mesoporous silica nanoparticles for efficient photodynamic therapy in hypoxic cancer [J]. *J Am Chem Soc*, 2017, **139**(32):10992-10995.
- [22] Phua SZF, Yang GB, Lim WQ, et al. Catalase-integrated hyaluronic acid as nanocarriers for enhanced photodynamic therapy in solid tumor [J]. *ACS Nano*, 2019, **13**(4):4742-4751.
- [23] Wang HR, Chao Y, Liu JJ, et al. Photosensitizer-crosslinked *in situ* polymerization on catalase for tumor hypoxia modulation & enhanced photodynamic therapy [J]. *Biomaterials*, 2018, **181**:310-317.
- [24] Huang YT, Shen KW, Si YS, et al. Dendritic organosilica nanospheres with large mesopores as multi-guests vehicle for photo-

- acoustic/ultrasound imaging-guided photodynamic therapy [J]. *J Colloid Interface Sci*, 2021, **583**: 166-177.
- [25] Yang X, Yang Y, Gao F, et al. Biomimetic hybrid nanozymes with self-supplied H<sup>+</sup> and accelerated O<sub>2</sub> generation for enhanced starvation and photodynamic therapy against hypoxic tumors [J]. *Nano Lett*, 2019, **19**(7): 4334-4342.
- [26] Liu YL, Pan YX, CAO W, et al. A tumor microenvironment responsive biodegradable CaCO<sub>3</sub>/MnO<sub>2</sub>-based nanoplatform for the enhanced photodynamic therapy and improved PD-L1 immunotherapy [J]. *Theranostics*, 2019, **9**(23): 6867-6884.
- [27] Gao S, Wang GH, Qin ZN, et al. Oxygen-generating hybrid nanoparticles to enhance fluorescent/photoacoustic/ultrasound imaging guided tumor photodynamic therapy [J]. *Biomaterials*, 2017, **112**: 324-335.
- [28] Zhu WW, Dong ZL, Fu TT, et al. Modulation of hypoxia in solid tumor microenvironment with MnO<sub>2</sub> nanoparticles to enhance photodynamic therapy [J]. *Adv Funct Mater*, 2016, **26**(30): 5490-5498.
- [29] Gao ZG, Li YJ, Zhang Y, et al. Biomimetic platinum nanozyme immobilized on 2D metal-organic frameworks for mitochondrion-targeting and oxygen self-supply photodynamic therapy [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2020, **12**(2): 1963-1972.
- [30] Martin DJ, Reardon PJT, Moniz SJA, et al. Visible light-driven pure water splitting by a nature-inspired organic semiconductor-based system [J]. *J Am Chem Soc*, 2014, **136**(36): 12568-12571.
- [31] Xie GC, Zhang K, Guo BD, et al. Graphene-based materials for hydrogen generation from light-driven water splitting [J]. *Adv Mater*, 2013, **25**(28): 3820-3839.
- [32] Palao E, Slanina T, Muchova L, et al. Transition-metal-free CO-releasing BODIPY derivatives activatable by visible to NIR light as promising bioactive molecules [J]. *J Am Chem Soc*, 2016, **138**(1): 126-133.
- [33] Zheng DW, Li B, Li CX, et al. Carbon-dot-decorated carbon nitride nanoparticles for enhanced photodynamic therapy against hypoxic tumor via water splitting [J]. *ACS Nano*, 2016, **10**(9): 8715-8722.
- [34] Wang YL, Nie T, Li YH, et al. Black tungsten nitride as a metallic photocatalyst for overall water splitting operable at up to 765 nm [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2017, **56**(26): 7430-7434.
- [35] Wang SB, Zhang C, Liu XH, et al. A tungsten nitride-based O<sub>2</sub> self-sufficient nanoplatform for enhanced photodynamic therapy against hypoxic tumors [J]. *Adv Therap*, 2019, **2**(6): 1900012-1900021.
- [36] Phillips HIA, Ronconi L, Sadler PJ. Photoinduced reactions of *cis, trans, cis*-[Pt(IV)(N<sub>3</sub>)<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] with 1-methylimidazole [J]. *Chemistry*, 2009, **15**(7): 1588-1596.
- [37] Xu ST, Zhu XY, Zhang C, et al. Oxygen and Pt(II) self-generating conjugate for synergistic photo-chemo therapy of hypoxic tumor [J]. *Nat Commun*, 2018, **9**(1): 2053-2062.
- [38] Sheng YJ, Nesbitt H, Callan B, et al. Oxygen generating nanoparticles for improved photodynamic therapy of hypoxic tumors [J]. *J Control Release*, 2017, **264**: 333-340.
- [39] Hu YP, Wang XC, Zhao P, et al. Nanozyme-catalyzed oxygen release from calcium peroxide nanoparticles for accelerated hypoxia relief and image-guided super-efficient photodynamic therapy [J]. *Biomater Sci*, 2020, **8**(10): 2931-2938.
- [40] Liu CH, Cao Y, Cheng YR, et al. An open source and reduce expenditure ROS generation strategy for chemodynamic/photodynamic synergistic therapy [J]. *Nat Commun*, 2020, **11**(1): 1735-1744.
- [41] Liu LL, He HM, LUO ZY, et al. *In situ* photocatalyzed oxygen generation with photosynthetic bacteria to enable robust immunogenic photodynamic therapy in triple-negative breast cancer [J]. *Adv Funct Mater*, 2020, **30**(10): 1910176-1910190.
- [42] Guo MM, Wang SC, Guo QL, et al. NIR-responsive spatiotemporally controlled cyanobacteria micro-nanodevice for intensity-modulated chemotherapeutics in rheumatoid arthritis [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2021, **13**(16): 18423-18431.
- [43] Lee C, Lim K, Kim SS, et al. Chlorella-gold nanorods hydrogels generating photosynthesis-derived oxygen and mild heat for the treatment of hypoxic breast cancer [J]. *J Control Release*, 2019, **294**: 77-90.
- [44] Wang HR, Guo YF, Wang C, et al. Light-controlled oxygen production and collection for sustainable photodynamic therapy in tumor hypoxia [J]. *Biomaterials*, 2021, **269**: 120621-120634.
- [45] Zhou TJ, Xing L, Fan YT, et al. Light triggered oxygen-affording engines for repeated hypoxia-resistant photodynamic therapy [J]. *J Control Release*, 2019, **307**: 44-54.