

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.10.005

· 基础研究 ·

载吲哚菁绿二氧化硅纳米颗粒的构建及其对宫颈癌 HeLa 细胞的杀伤作用

牛高丽¹, 赵华² (1. 解放军第九十一中心医院 妇科, 河南 焦作 454000; 2. 河南省人民医院 生殖中心, 河南 郑州 450000)

[摘要] **目的:** 构建载吲哚菁绿二氧化硅纳米颗粒(ICG@MSNs)并探讨其对宫颈癌 HeLa 细胞的杀伤作用。**方法:** 通过模板法合成了介孔二氧化硅纳米颗粒(MSNs), 并物理包载光热剂吲哚菁绿(ICG), 制备具有光热效应的 ICG@MSNs, 并将其应用到 HeLa 细胞的体外研究中。**结果:** ICG@MSNs 的粒径约 200 nm, 粒径均一, 为形态规则的球形。ICG@MSNs 与单纯的 ICG 具有类似的光热效应。细胞内吞实验显示, ICG 包载于二氧化硅纳米颗粒后更易被肿瘤细胞内吞, 进而发挥光热作用杀死宫颈癌 HeLa 细胞; 细胞毒性实验表明, 在 808 nm 激光照射下 ICG@MSNs 对细胞毒性作用明显增加, 可以显著杀死宫颈癌 HeLa 细胞。**结论:** ICG@MSNs 稳定性和生物相容性良好, 同时具有良好的产热性能, 肿瘤光热治疗效果明显, 应用于宫颈癌治疗的前景良好。

[关键词] 吲哚菁绿; 介孔二氧化硅纳米颗粒; 药物递送; 宫颈癌; HeLa 细胞

[中图分类号] R737.33; R730.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2019)10-1083-06

Preparation of indocyanine green loaded mesoporous silica nanoparticles and their killing effect on cervical carcinoma HeLa cells

NIU Gaoli¹, ZHAO Hua² (1. Department of Gynecology, the 91st Center Hospital of PLA, Jiaozuo 454000, Henan, China; 2. Center for Reproductive Medicine, Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou 450000, Henan, China)

[Abstract] **Objective:** To construct indocyanine green-loaded silica nanoparticles (ICG@MSNs) and evaluate their killing effect on cervical cancer HeLa cells. **Methods:** Mesoporous silica nanoparticles (MSNs) were synthesized by template method, and indocyanine green (ICG) containing photothermal agent was loaded to prepare ICG@MSNs with photothermal effect, which were applied in the research of HeLa cells *in vitro*. **Results:** The particle of ICG@MSNs was uniform and in regular spherical shape with the size about 200 nm. ICG@MSNs was similar photothermal effect with pure ICG. Cell endocytosis experiments showed that ICG encapsulated in silica nanoparticles is more likely to be endocytosed by tumor cells, and then played a photothermal role in killing cervical cancer HeLa cells. On the other hand, cytotoxicity experiments showed that under the irradiation of 808 nm laser, ICG@MSNs significantly increased cytotoxicity, which could significantly kill cervical cancer HeLa cells. **Conclusion:** ICG@MSNs has good stability and biocompatibility, as well as good thermogenesis. Its photothermal treatment effect on tumor is obvious, which has a good prospect for the treatment of cervical cancer.

[Key words] indocyanine green; mesoporous silica nanoparticles; drug delivery; cervical cancer; HeLa cell

[Chin J Cancer Biother, 2019, 26(10): 1083-1088. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2019.10.005]

宫颈癌是全世界发病率最高的妇科恶性肿瘤之一,除传统治疗方法以外,目前许多学者不断探索其他更新的治疗手段。吲哚菁绿(indocyanine green, ICG)是一种三羧花菁系的小分子合成染料,被广泛应用于诊断和肿瘤光热治疗领域^[1-3]。然而,由于 ICG 的光学性质不稳定且易降解,使其在肿瘤光热治疗中的应用受到限制。目前已经开发了各种纳米载体^[4-8]对 ICG 进行包封,从而增强其在体内的高通透性和滞留(enhanced penetration and retention, EPR)效应。癌症纳米疗法^[9]有望解决常规给药系统的局限性,如改善肿瘤组织中的药物积累。最近,在肿瘤组织中通过多功能纳米载体的应用已经在改善药

物药代动力学、生物分布和药物渗透方面取得了很大进展^[10-12]。在众多纳米材料中,介孔二氧化硅纳米颗粒(mesoporous silica nanoparticles, MSNs)^[13-15]具备

[基金项目] 国家自然科学基金青年基金资助项目(No.1701444);中华医学会临床医学科研专项(No.17020380707)。Project supported by the Natural Science Youth Foundation of China (No.1701444), and the Special Project of Clinical Medical Research of Chinese Medical Association (No.17020380707)

[作者简介] 牛高丽(1979-),女,硕士,副主任医师,主要从事妇科肿瘤的临床治疗研究

[通信作者] 牛高丽(NIU Gaoli, corresponding author), E-mail: wky415@163.com

形貌和粒径可控、包封率高和EPR效应好的优点,是一种理想的肿瘤治疗的纳米载体。本研究在构建并表征载吲哚菁绿二氧化硅纳米颗粒(ICG@MSNs)的基础上,初步探讨其对宫颈癌HeLa细胞的抗肿瘤活性,旨在为宫颈癌的治疗探索新的方法。

1 材料与方法

1.1 细胞株及材料

人宫颈癌细胞株HeLa购自上海博古生物科技有限公司。ICG(100 mg, TCI上海),正硅酸乙酯(TEOS)、溴化十六烷基三甲铵(CTAB)、PBS缓冲液和3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐(Sigma-Aldrich公司),二乙醇胺、无水乙醇和氯化钠(上海麦克林生化科技有限公司),钙黄绿素乙酰甲酯(Calcein-AM)和碘化丙啶(PI)购自Solarbio公司,去离子水(18.2 M Ω ·cm),DMEM培养基(Pierce-Hyclone),胎牛血清(Gibco),其他试剂均为市售分析纯。

1.2 MSNs的制备

将0.25 g的CTAB、26 ml的去离子水、9.0 ml无水乙醇和85 μ l二乙醇胺分别加入到50 ml单口圆底烧瓶中,然后将体系加热至70 $^{\circ}$ C并保持磁力搅拌反应30 min,再加入2.0 ml TEOS继续反应1 h。关闭磁力搅拌及加热,将反应混合物在14 400 $\times$ g条件下离心12 min,弃上清并用去离子水洗涤3次。将洗涤后的沉淀分散到40 ml无水乙醇中,然后吸取到单口圆底烧瓶中,并加入2 g氯化钠,在70 $^{\circ}$ C条件下继续保持磁力搅拌反应10 h。结束反应,将上述反应的单口圆底烧瓶静置5 min后将上清在14 400 $\times$ g离心12 min,去离子水洗涤3次后,经冷冻干燥得到固体粉末待用。

1.3 ICG@MSNs的制备

取4 mg的ICG溶于10 mg/ml的MSNs材料水溶液中(3 ml),在室温搅拌下搅拌6 h。然后将混合液在14 400 $\times$ g离心6 min,收集沉淀。最后将沉淀分散到3 ml去离子水中备用。通过上述方法可制备浓度较高的纳米粒子,可通过稀释不同倍数用于后续不同实验。

1.4 ICG@MSNs的理化表征鉴定

1.4.1 粒径、电位及形态学观察 将200 μ l的ICG@MSNs稀释至2 ml,然后测定其粒径和zeta电位。另取适量ICG@MSNs样品,分散在无水乙醇中,超声均匀,然后滴在碳支持膜上,晾干后采用透射电镜进行观察并拍照。

1.4.2 载药率的测定 配制5种不同浓度(0.025、0.05、0.1、0.125和1.25 mg/ml)的ICG水溶液,采用紫外-可见分光光度计测定其光密度(D)值,进而绘制标准曲线。取适量ICG@MSNs样品,加入一定量的纯水稀释后,测定ICG的吸光度,并用上述实验所得

标准曲线计算ICG的浓度和载药量。载药率=MSNs中ICG的质量/(MSNs+ICG)的质量 $\times$ 100%。

1.4.3 紫外-可见吸收光谱(UV-Vis)分析 取适量超纯水于石英比色皿中,放入紫外-可见分光光度计中进行基线校正并清零。随后将适量MSNs、ICG和ICG@MSNs分散于超纯水中后,再将比色皿放入样品池中进行测试,得到3种样品的紫外吸收光谱。

1.4.4 ICG@MSNs的体外光热性能探究 用石英比色皿分别盛放1.5 ml的MSNs、ICG和ICG@MSNs三种样品的水溶液,然后用不同功率的808 nm激光照射10 min。体外监测该纳米粒子的产热性能,并用数显温度计每隔1 min记录一次温度,同时用红外热成像仪每隔1 min记录一次图像。

1.5 ICG@MSNs的细胞内吞测试

首先将宫颈癌HeLa细胞(5×10^3 个/孔)在96孔板中培养24 h,然后吸出培养液,加入0.25 mg/ml的ICG@MSNs(ICG:0.025 mg/ml)培养基和0.025 mg/ml的单纯ICG的培养基,孵育4 h。后用PBS缓冲液洗涤后用甲醛固定细胞,加入DAPI荧光染料进行染色。最后在倒置荧光显微镜下观察细胞并拍照。在倒置荧光显微镜下,ICG为红色,细胞核为蓝色,通过观察细胞的颜色来判断ICG@MSNs被细胞内吞的效果。

1.6 ICG@MSNs杀伤肿瘤细胞光热条件的选择

ICG@MSNs具有光热治疗的功能,在进行光热治疗前,需要确定合适的光热治疗条件,其中808 nm激光的功率和ICG的浓度对产热性能有很大的影响。因此设置了4组不同的808 nm激光功率(1.5、2、2.5、3 W)和ICG浓度(0.025、0.05、0.1、0.125、0.25 mg/ml),在其他变量均保持一致的情况下对产热性能进行了探究。

1.7 Calcein-AM/PI荧光染色检测ICG@MSNs对宫颈癌HeLa细胞的光热效果

通过体外细胞实验研究ICG@MSNs对宫颈癌HeLa细胞的光热治疗效果。首先将HeLa细胞(5×10^3 个/孔)在96孔板中培养24 h,然后吸出培养液,加入含有浓度为0.25 mg/ml的ICG@MSNs(ICG:0.025 mg/ml)的培养基中孵育6 h。随后吸出培养基并向每孔中加入200 μ l的PBS缓冲液,洗涤后用2 W/cm 2 的808 nm激光照射10 min。最后将光热治疗组和对照组与Calcein-AM/PI混合荧光染料共孵育10 min,对活细胞和死细胞进行共染色,在倒置荧光显微镜下观察ICG@MSNs对HeLa细胞的杀伤效果并拍照。同时,相同处理方式的样品通过MTT实验来定量检测细胞的存活情况。

1.8 MTT实验检测ICG@MSNs对宫颈癌HeLa细胞毒性作用

将100 μ l对数生长期的宫颈癌HeLa细胞悬浮液

接种于 96 孔板中(5×10^3 个/孔, 共 20 孔), 培养 24 h 后吸出培养基, 将其分为 4 组 (Laser 组、MSNs 组、ICG@MSNs 组和 ICG@MSNs+Laser 组), 每组 5 个复孔。其中 Laser 组加入单纯培养基溶液, ICG@MSNs 加 Laser 组加入含有 ICG@MSNs 的培养基溶液, 孵育 24 h 后, 用 2 W/cm^2 的 808 nm 激光照射 10 min 后每孔加入 $10 \mu\text{l}$ 的 MTT 母液 (5 mg/ml); MSNs 组加入含有 MSNs 的培养基溶液, ICG@MSNs 组加入含有 ICG@MSNs 的培养基溶液, 孵育 24 h 后每孔加入 $10 \mu\text{l}$ 的 MTT 母液 (5 mg/ml)。再孵育 4 h 后, 移除每孔中的培养基并加入 $100 \mu\text{l}$ 的 DMSO, 置于摇床中孵育 30 min。最后用酶标仪测定各孔在 570 nm 处的 D 值, 并计算各孔中细胞的存活率。

1.9 统计学处理

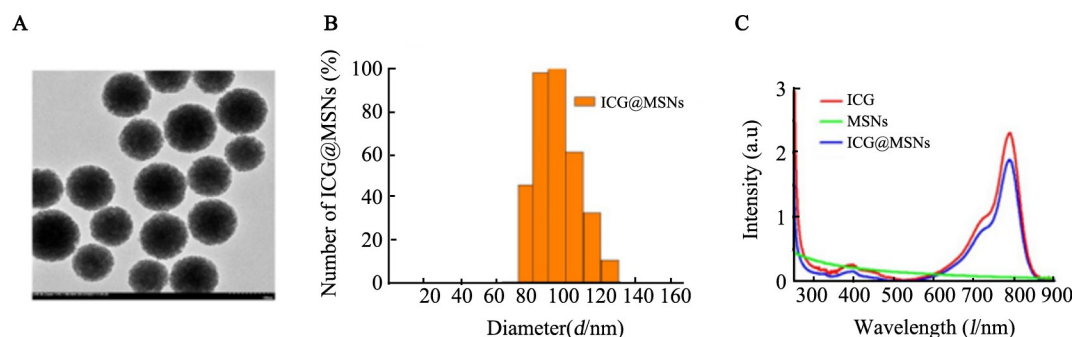
采用 Stata 5.0 统计软件进行数据分析, 各组数据

采用 t 检验和方差分析分析。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 成功制备的 ICG@MSNs 的表征

ICG@MSNs 的材料表征如图 1 所示, 纳米颗粒的形态为球形, 粒径均一、分散性好, 粒径约为 100 nm, Zeta 电位为 $(-28.3 \pm 2.5) \text{ mV}$, 呈负电性, 具有明显的孔隙结构 (图 1A、B)。为了证明 ICG 是否已经成功包载到 MSNs 中, 对 MSNs、ICG 和 ICG@MSNs 三种样品的紫外-可见吸收光谱测定结果 (图 1C) 显示, ICG@MSNs 在 808 nm 左右的区域具有重要的吸收带, 这与 ICG 的紫外-可见吸收带一致, 因此可以证明 ICG 已经被成功包载到 MSNs 中, 表明已经成功制备 ICG@MSNs, 可以应用到后续的实验研究中。



A: The TEM image of ICG@MSNs (scale bar=100 nm); B: The dynamic light scattering analysis of ICG@MSNs;

C: The UV-Vis absorption spectrum for MSNs, free ICG and ICG@MSNs

图 1 ICG@MSNs 的合成与表征

Fig.1 Synthesis and characterization of ICG@MSNs

2.2 ICG@MSNs 的载药率

用紫外分光光度计测量并绘制 ICG 的标准曲线 (图 2) 显示, ICG 的标准曲线为 $y = 0.14807x - 0.0773$, $R^2 = 0.8362$, 表明在 $0.025 \sim 0.25 \text{ mg/ml}$ 内 ICG 线性关系良好。测定 ICG@MSNs 中 ICG 的 D 值, 计算得到 ICG 的载药率为 $(8.59 \pm 1.02)\%$ 。

2.3 光热治疗的最佳条件

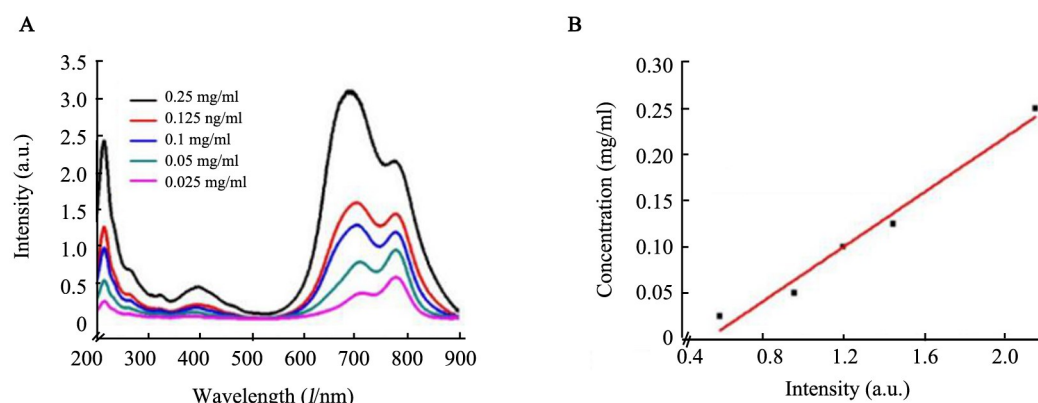
ICG@MSNs 光热治疗结果 (图 3) 显示, 在对激光功率进行探索时, 对 ICG 水溶液采用功率为 2 W 的 808 nm 激光照射 10 min 后温度升高了 27.6°C , 可以有效杀伤肿瘤细胞。在对 ICG 的浓度进行探究时, 浓度为 0.025 mg/ml 的 ICG 水溶液在 808 nm 激光照射 10 min 后温度升高了 28.6°C , 也能够满足后续的光热治疗要求, 因此 2 W 的 808 nm 激光功率和 0.025 mg/ml 的 ICG 浓度是合适的反应条件, 可以选定这两个最适条件进行后续的光热治疗实验。

2.4 ICG@MSNs 具有良好的体外产热效率

如图 4A 所示, 在 2 W 的 808 nm 激光连续照射 10 min 后, ICG@MSNs 组与单纯 ICG 组的温度明显升高, 而 MSNs 组的温度升高很不明显。如图 4B 所示, 经激光连续照射 10 min 后, ICG@MSNs 组温度升高了 38.8°C , 与单纯 ICG 组 (40.7°C) 的温度变化相当, 而对照组 (MSNs 组) 则只升高了 7.2°C , 说明 ICG@MSNs 与游离的 ICG 具有相似的良好产热性能, 可以对肿瘤细胞进行有效的杀伤, 达到良好的光热治疗效果。

2.5 ICG@MSNs 具有良好的细胞内摄取效率

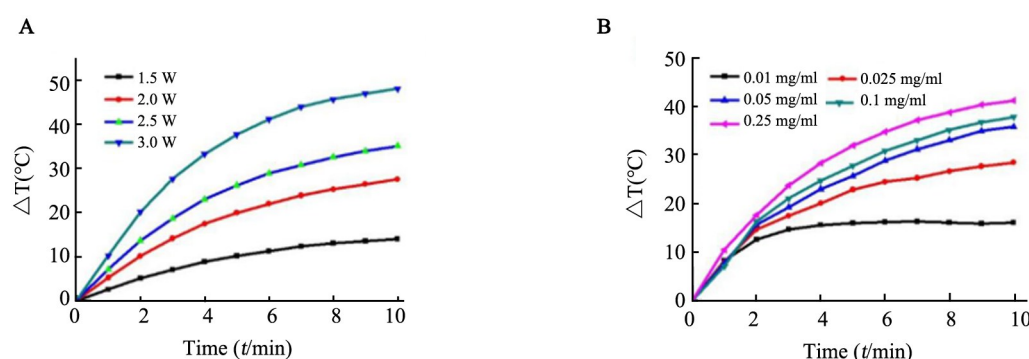
为了探究 ICG@MSNs 的细胞内吞情况, 将宫颈癌 HeLa 细胞进行染色并在荧光显微镜下进行观察 (蓝色为细胞核, 红色为 ICG)。如图 5 所示, 单纯 ICG 组的细胞中红色荧光很少, 说明细胞中的 ICG 很少。而 ICG@MSNs 组中的红色荧光很多, 说明细胞中的 ICG 明显更多, 表明 ICG@MSNs 可以具有良好的细胞摄取效率, 有利于对肿瘤细胞进行杀伤。



A: The UV-Vis absorption spectra for different concentrations of ICG; B: The standard curve of ICG about the relationship between concentration and UV-Vis absorption peak intensity

图2 ICG@MSNs的载药率的测定

Fig.2 Determination of drug loading rate of ICG@MSNs

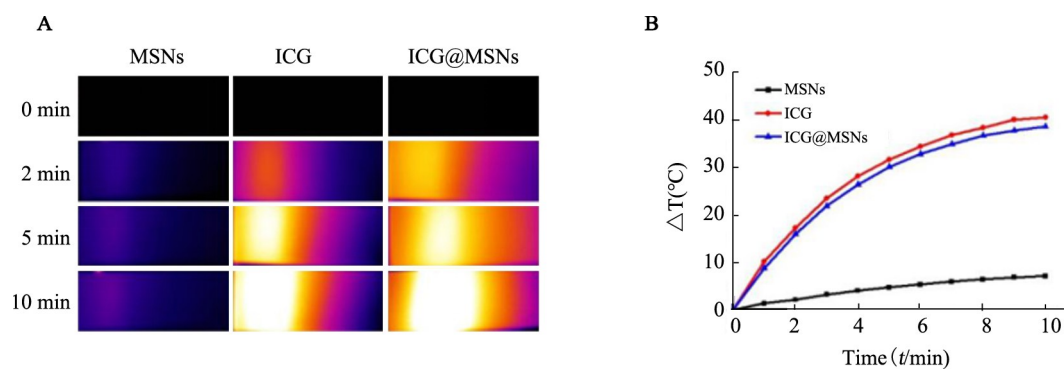


A: Temperature elevation of ICG under different powers of continuous laser irradiation;

B: Temperature elevation for different concentrations of ICG under continuous laser irradiation

图3 光热治疗最佳条件的探究

Fig.3 The study of the best condition of photothermal treatment



A: IR thermal images of MSNs, ICG and ICG@MSNs after irradiation for 10 min;

B: Temperature elevation of MSNs, ICG and ICG@MSNs under continuous laser irradiation

图4 ICG@MSNs的光热性能

Fig.4 The photothermal performance of ICG@MSNs *in vitro*

2.6 ICG@MSNs能有效杀伤宫颈癌HeLa细胞

死活细胞染色结果(图6A)显示,单纯Laser组、MSNs组和单独ICG@MSNs组的细胞绝大部分为绿色荧光,可以证明纳米颗粒具有良好的生物安全性,排除了纳米材料的毒性和激光的作用,不会影响实

验的准确性。ICG@MSNs+Laser组的细胞绝大部分为红色荧光,说明ICG@MSNs能够显著的杀伤HeLa细胞,取得良好的光热治疗效果。

MTT法检测结果(图6B)显示,采取相同的分组治疗以后,ICG@MSNs+Laser组中的HeLa细胞有

89.6% 已经死亡或处于凋亡状态, 与其他组相比差异具有统计学意义($P<0.01$), 与死活细胞染色实验的结果相一致。

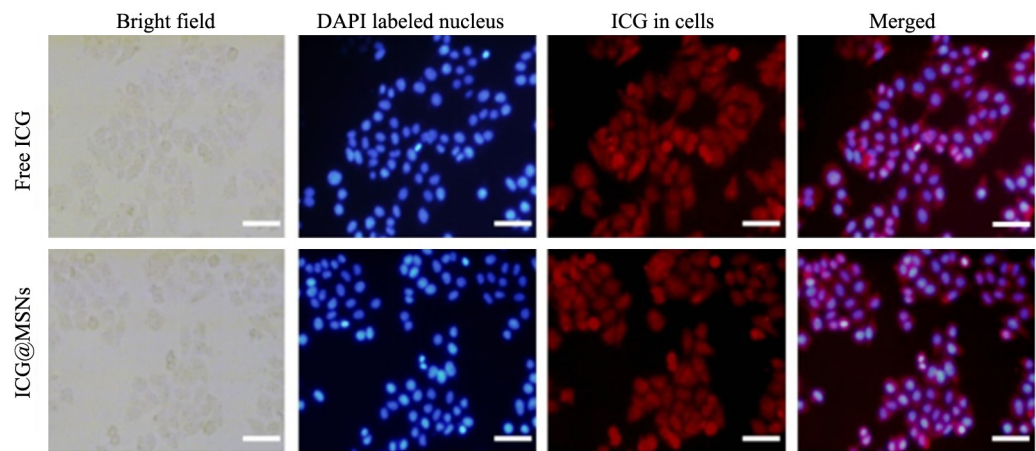
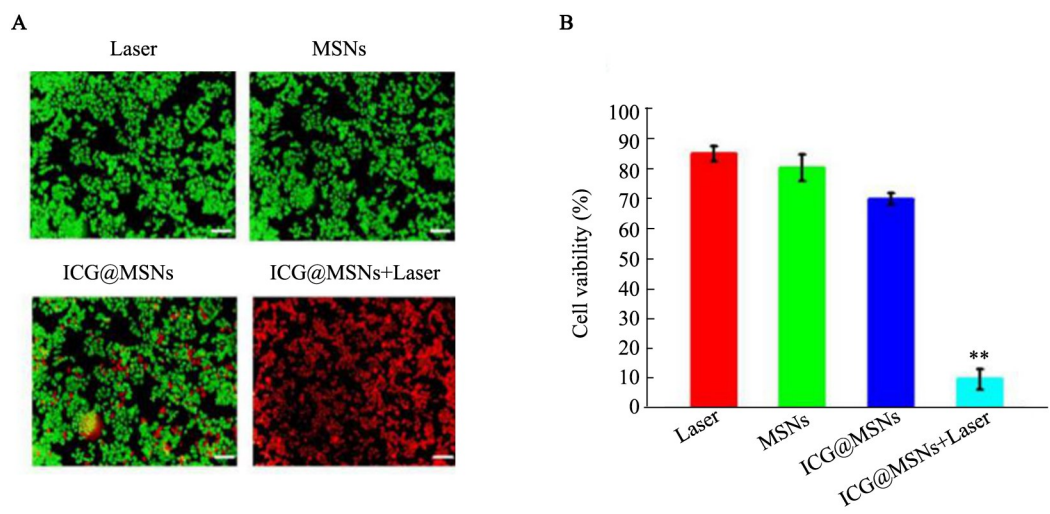


图5 ICG和ICG@ MSNs在体外 HeLa 细胞中的摄取结果

Fig.5 The results of ICG and ICG@ MSNs uptake in HeLa cells *in vitro* (scale bar = 50 μ m)



** $P<0.01$ vs Laser or MSNs or ICG@MSNs group

A: Fluorescence images of HeLa cells after treatment. Viable cells were stained green with Calcein-AM, dead/late apoptosis cells were stained red with PI (scale bar=50 μ m); B: The cytotoxicity study of HeLa cells under four different treatments

图6 纳米颗粒对 HeLa 细胞体外治疗效果

Fig.6 The treatment effect of nanoparticles on HeLa cells *in vitro*

3 讨论

随着近年来宫颈癌筛查的不断普及, 更多的宫颈癌患者可以被早期发现及早期治疗, 但对于晚期宫颈癌, 治疗效果仍然较差。目前, 除传统的手术、放化疗以外, 在基础医学领域, 许多学者在生物治疗及基因治疗^[16-18]方面做了许多尝试, 也取得了一定的效果。纳米技术与医药的结合为肿瘤的治疗提供了一个全新的方向, MSNs作为一种新型的运载系统有低毒及高效等优点。本研究通过将 ICG 包载于 MSNs 中构建了 ICG@MSNs, 评价其体外产热性能、

HeLa 细胞内吞情况以及对宫颈癌 HeLa 细胞的杀伤作用, 希望可以为未来宫颈癌的治疗提供一个新的方向。

本课题构建的 ICG@MSNs, 通过模板法制备形成大小均一、形态规则、分散性好的球形纳米颗粒。ICG@MSNs 的粒径约为 100 nm, Zeta 电位为 (-28.3 ± 2.5) mV, 呈负电性, 具有明显的孔隙结构。研究表明, 粒径在 100~200 nm 的纳米颗粒能通过实体瘤的高通透性 EPR 效应被动靶向到肿瘤部位。因此本课题构建的 ICG@MSNs 满足了被动靶向的基本条件, 可以为宫颈癌的体内治疗提供条件。

研究^[19]表明,由于肿瘤组织血液供应有限导致其耐热性降低,因此高温(超过43℃)可以杀死肿瘤细胞。ICG是一种有效的光热剂,一般以游离的形式进行给药治疗。但ICG在体内易降解而失效且无法在肿瘤部位有效聚集,不利于肿瘤光热治疗。本研究将ICG包载于MSNs中,以克服ICG游离给药的缺点,并对其光热效果进行了观察。结果表明,ICG@MSNs具有优异的光热转化能力,ICG在以物理包载的方式载入ICG@MSNs后并不影响其光热转化能力,并且具有优异的光热性能。同时,在ICG包载于MSNs后,其被细胞摄取效率明显增高,说明ICG@MSNs具有良好的细胞内摄入效率,有利于ICG@MSNs进入肿瘤细胞,进而为其在体内的肿瘤部位聚集提供了基础。

为了验证ICG@MSNs对HeLa细胞的杀伤作用,在体外细胞水平对ICG@MSNs的光热治疗效果进行了测定。当给予ICG@MSNs组808 nm激光照射后,发现宫颈癌HeLa细胞的存活率明显下降(仅为10.4%),与其他对照组相比差异具有统计学意义($P < 0.01$),达到良好的光热治疗作用,抗肿瘤效果明显。

总之,本课题制备了包载光热剂ICG的ICG@MSNs,通过光热治疗,在体外实验中发挥了对宫颈癌HeLa细胞的抗肿瘤作用,在宫颈癌的生物治疗方面有比较广阔的应用前景。本研究并未涉及ICG产生单线态氧对肿瘤进行杀伤的研究,后续工作将进一步探索该杀伤肿瘤的机制以及制剂在动物体内的药效学以及药代动力学,为宫颈癌的临床研究提供更多的理论依据。

【参 考 文 献】

- [1] ZHENG M B, YUE C X, MA Y F, et al. Single-step assembly of DOX/ICG loaded lipid-polymer nanoparticles for highly effective chemo-photothermal combination therapy[J]. ACS Nano, 2013, 7 (3): 2056-2067. DOI:10.1021/nn400334y.
- [2] ZHAO P F, ZHENG M B, YUE C X, et al. Improving drug accumulation and photothermal efficacy in tumor depending on size of ICG loaded lipid-polymer nanoparticles[J]. Biomaterials, 2014, 35(23): 6037-6046. DOI:10.1016/j.biomaterials.2014.04.019.
- [3] ZHANG X W, LI N, LIU Y P, et al. On-demand drug release of ICG-liposomal wedelolactone combined photothermal therapy for tumor [J]. Nanomed-Nanotechnol Biol Med, 2016, 12(7): 2019-2029. DOI:10.1016/j.nano.2016.05.013.
- [4] NIU C C, XU Y, AN S B, et al. Near-infrared induced phase-shifted ICG/Fe₃O₄ loaded PLGA nanoparticles for photothermal tumor ablation[J/OL]. Sci Rep, 2017, 7(1): 5490[2019-03-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5511230/>. DOI:10.1038/s41598-017-06122-1.
- [5] XU H L, SHEN B X, LIN M T, et al. Homing of ICG-loaded liposome inlaid with tumor cellular membrane to the homologous xenografts glioma eradicates the primary focus and prevents lung metastases through phototherapy[J]. Biomater Sci, 2018, 6(9): 2410-2425. DOI:10.1039/c8bm00604k.
- [6] ZHANG H J, ZHANG X G, ZHU X, et al. NIR light-induced tumor phototherapy using photo-stable ICG delivery system based on inorganic hybrid[J]. Nanomed-Nanotechnol Biol Med, 2018, 14(1): 73-84. DOI:10.1016/j.nano.2017.08.019.
- [7] 唐嘉婧, 梅凌, 余倩雯, 等. 载吲哚菁绿和多柔比星自组装胶束的构建及体外抗肿瘤及其转移的评价[J]. 药学报, 2017, 52(12): 1933-1941. DOI:10.16438/j.0513-4870.2017-0848.
- [8] YAN L, QIU L Y. Indocyanine green targeted micelles with improved stability for near-infrared image-guided photothermal tumor therapy[J]. Nanomedicine (Lond), 2015, 10(3): 361-373. DOI: 10.2217/nmm.14.118.
- [9] KIM G J, NIE S M. Targeted cancer nanotherapy[J]. Mater Today, 2005, 8(8): 28-33. DOI:10.1016/s1369-7021(05)71034-8.
- [10] CHOI K Y, CHUNG H, MIN K H, et al. Self-assembled hyaluronic acid nanoparticles for active tumor targeting[J]. Biomaterials, 2010, 31(1): 106-114. DOI:10.1016/j.biomaterials.2009.09.030.
- [11] CHOI K Y, MIN K H, YOON H Y, et al. PEGylation of hyaluronic acid nanoparticles improves tumor targetability in vivo[J]. Biomaterials, 2011, 32(7): 1880-1889. DOI:10.1016/j.biomaterials.2010.11.010.
- [12] ZHEN Z P, TANG W, CHUANG Y J, et al. Tumor vasculature targeted photodynamic therapy for enhanced delivery of nanoparticles [J/OL]. ACS Nano, 2014, 8(6): 6004-6013[2019-03-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4076019/>. DOI:10.1021/nn501134q.
- [13] SLOWING I I, VIVERO-ESCOTO J L, WU C W, et al. Mesoporous silica nanoparticles as controlled release drug delivery and gene transfection carriers[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2008, 60(11): 1278-1288. DOI:10.1016/j.addr.2008.03.012.
- [14] SLOWING I, TREWYN B, GIRI S, et al. Mesoporous silica nanoparticles for drug delivery and biosensing applications[J]. Adv Funct Mater, 2007, 17(8): 1225-1236. DOI:10.1002/adfm.200601191.
- [15] LU J, LIONG M, ZINK J I, et al. Mesoporous silica nanoparticles as a delivery system for hydrophobic anticancer drugs[J]. Small, 2007, 3(8): 1341-1346. DOI:10.1002/sml.200700005.
- [16] 曹雪涛. 以树突状细胞为基础的肿瘤免疫治疗和基因治疗研究进展[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 1999, 6(3): 169-171. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.1999.3.223.
- [17] 袁晨燕, 安艳丽, 王玲. 磁性纳米颗粒Fe₃O₄@PEI介导靶向自杀基因联合磁流体热疗对肝癌移植瘤的抑制作用[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2018, 25(9): 913-919. DOI:10.3872/j.issn.1007-385x. 2018. 09.011.
- [18] 刘静, 于馨, 胡渊, 等. 沉默pim-3基因对黑色素瘤细胞B16的抑制作用[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2017, 24(10): 1063-1069. DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2017.10.004.
- [19] 李帅, 徐文涵, 李晓东, 等. 纳米材料在肿瘤治疗领域的研究进展 [J]. 医学研究杂志, 2019(1). DOI: 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.01.003

【收稿日期】 2019-03-09

【修回日期】 2019-09-05

【本文编辑】 党瑞山