

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2026.03.005

负载 DMXAA 的锰卟啉金属有机框架纳米协同声动力疗法治疗三阴性乳腺癌小鼠移植瘤

刘乾辉, 桂斌, 蒲欢, 李周畅, 黄鑫, 周青, 邓倾(武汉大学人民医院 超声影像科, 湖北 武汉 430060)

[摘要] **目的:** 构建负载 STING 激动剂 DMXAA 的锰卟啉金属有机框架纳米颗粒(DPM), 探讨其对三阴性乳腺癌(TNBC)细胞 4T1 及其小鼠移植瘤的治疗效果。**方法:** 通过物理吸附法制备 DPM 纳米颗粒, 利用透射电镜、扫描电镜及纳米粒度电位仪表征其形貌与理化性质。常规培养 4T1 细胞, 细胞实验分为对照组、超声辐照组(US 组)、DPM 治疗组(DPM 组)和 DPM 治疗联合超声辐照组(DPM + US 组), 用 CCK-8 法检测细胞活性, 免疫荧光法检测高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)和钙网蛋白(CRT)的表达, WB 法检测 STING 通路相关蛋白的表达。构建 4T1 细胞移植瘤小鼠模型, 分为四组, 处理同细胞实验, 测量肿瘤体积, 免疫荧光法检测移植瘤组织中 Ki-67、HMGB1、CRT 和缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)蛋白的表达, TUNEL 法检测细胞凋亡, 流式细胞术检测免疫细胞活化情况, 对主要器官进行 H-E 染色, 以评估纳米材料的体内安全性。**结果:** DPM 呈梭形, 平均粒径(268 ± 3.302)nm, 电位(33.1 ± 0.87)mV。细胞实验中, DPM 联合超声辐照可明显抑制 4T1 细胞的增殖($P < 0.001$), 提高 4T1 细胞中 ROS 水平($P < 0.001$), 诱导 4T1 细胞 CRT 表达上调($P < 0.001$), HMGB1 从细胞核中移至细胞质, 激活 STING 信号通路[p-STING、p-TBK1、p-IRF3 蛋白表达均显著增加(均 $P < 0.001$)]。体内实验中, DPM 联合超声辐照可显著抑制 4T1 细胞移植瘤生长($P < 0.001$)并促进免疫细胞表型转化($P < 0.001$), 抑制移植瘤组织中 Ki-67、HIF-1 α 蛋白表达(均 $P < 0.01$), 谷胱甘肽(GSH)产生($P < 0.01$), 促进 CRT、HMGB1 蛋白表达、ROS 产生($P < 0.001$), 对主要器官结构无明显影响。**结论:** DPM 联合超声辐照可通过激活 STING 通路显著抑制 4T1 细胞及其移植瘤的生长, 诱导抗肿瘤免疫应答, 且对主要器官无明显毒性。

[关键词] 声动力治疗; 免疫治疗; 金属有机框架; STING 激动剂; 三阴性乳腺癌

[中图分类号] R737.9; R730.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2026) 03-0262-08

Manganese porphyrin metal-organic framework nanoparticles loaded with DMXAA combined with sonodynamic therapy for the treatment of triple-negative breast cancer mouse xenografts

LIU Qianhui, GUI Bin, PU Huan, LI Zhouchang, HUANG Xin, ZHOU Qing, DENG Qing (Department of Ultrasound Imaging, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei, China)

[Abstract] **Objective:** To construct manganese porphyrin metal-organic framework nanoparticles (DPM) loaded with the STING agonist DMXAA, and to investigate their therapeutic effect against triple-negative breast cancer (TNBC) cells (4T1) and 4T1 cell-mouse xenografts. **Methods:** DPM nanoparticles were prepared by physical adsorption. Their morphology and physicochemical properties were characterized using transmission electron microscopy (TEM), scanning electron microscopy (SEM), and a nanoparticle size analyzer. 4T1 cells were cultured and divided into the following experimental groups: Control, Ultrasound Irradiation (US), DPM Treatment (DPM), and DPM Treatment combined with Ultrasound Irradiation (DPM + US). Cell viability was assessed using the CCK-8 assay. The expression of high mobility group box 1 (HMGB1) and calreticulin (CRT) was detected using immunofluorescence. Expression of STING pathway-related proteins was analyzed using WB. A 4T1 cell xenograft model was constructed and randomly divided into four groups. Following the treatments as those in the cell experiments, tumor volume was measured, and immunofluorescence was used to detect the expression of Ki-67, HMGB1, CRT, and hypoxia inducible factor-1 α (HIF-1 α) in the transplanted tumor tissues. Additionally, TUNEL assay was used to detect cell apoptosis, flow cytometry was applied to assess immune cell activation, and H-E staining was used to evaluate the safety of the nanoparticles in major organs. **Results:** DPM exhibited a spindle shape with an average particle size of (268 ± 3.302) nm and a zeta potential of (33.1 ± 0.87) mV. In cell experiments, DPM combined

[基金项目] 国家自然科学基金(81901759, 82271999); 武汉大学人民医院交叉创新人才项目(JCRCFZ-2022-004)

[作者简介] 刘乾辉, 硕士生

[通信作者] 邓倾(扫码获取作者通信方式)



with ultrasound irradiation significantly inhibited 4T1 cell growth ($P < 0.001$), elevated ROS levels ($P < 0.001$), induced upregulation of CRT expression ($P < 0.001$), and caused the translocation of HMGB1 from the nucleus to the cytoplasm. In addition, the STING signaling pathway was activated, as evidenced by significantly increased expression of p-STING, p-TBK1, and p-IRF3 proteins (all $P < 0.001$). *In vivo*, DPM combined with ultrasound irradiation significantly inhibited the growth of 4T1 cell xenograft ($P < 0.001$), promoted immune cell phenotypic transformation ($P < 0.001$), suppressed Ki-67 and HIF-1 α expression in xenograft tissues, and reduced GSH production ($P < 0.01$). It also promoted CRT and HMGB1 protein expression and ROS production ($P < 0.001$). No significant effects on major organ structures were observed. **Conclusion:** DPM combined with ultrasound irradiation can significantly inhibit the growth of 4T1 cells and the xenografts through activation of the STING pathway, induce antitumor immune responses, and show no obvious toxicity to major organs.

[Key words] sonodynamic therapy; immunotherapy; metal-organic framework; STING agonist; triple-negative breast cancer (TNBC)

[Chin J Cancer Biother, 2026, 33(3): 262-269. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2026.03.005]

乳腺癌是女性最常见的癌症,也是女性病死率最高的疾病^[1]。三阴性乳腺癌(triple-negative breast cancer, TNBC)是乳腺癌的特殊类型,约占所有乳腺癌的15%~20%^[2-3]。因其恶性程度高、侵袭性强、缺乏有效的治疗靶点,患者经常规治疗后,短时间内仍易出现复发转移^[4-5],严重危害女性健康。近年来,随着新技术和新药物的不断发展,声动力治疗(sonodynamic therapy, SDT)逐渐成为乳腺癌治疗领域的研究热点。其主要原理是通过超声靶向激活肿瘤内部的声敏剂,产生活性氧(reactive oxygen species, ROS),诱导细胞凋亡、坏死^[6-7]。此外,SDT还可以诱导肿瘤细胞发生免疫原性细胞死亡(immunogenic cell death, ICD)效应,导致肿瘤相关抗原释放,如钙网蛋白(calreticulin, CRT)和高迁移率族蛋白B1(high mobility group box 1, HMGB1),进而活化相关免疫细胞,具备一定的免疫激活能力^[8-11]。然而,肿瘤微环境中的缺氧和高谷胱甘肽(glutathione, GSH)状态会显著影响SDT的治疗效果,且单一的SDT难以实现对肿瘤的彻底杀灭^[12-13]。鉴于此,本研究构建了负载干扰素基因刺激因子(stimulator of interferon gene, STING)激动剂5,6-二甲基咕吨酮-4-乙酸(5,6-dimethylxanthenone-4-acetic acid, DMXAA)的锰簇卟啉金属有机框架纳米颗粒(manganese porphyrin-based metal-organic framework nanoparticle, nMn-MOF),简称DPM,旨在通过锰卟啉产氧改善肿瘤缺氧、钙离子耗竭GSH以及DMXAA促进免疫细胞成熟的三重协同机制,提升TNBC的治疗效果。

1 材料与方法

1.1 实验动物、细胞与主要试剂和仪器

小鼠TNBC细胞4T1购自武汉普诺赛生命科技有限公司,SPF级别的雌性BALB/C小鼠[许可证号:SYXK(鄂)2015-0027]购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司。

Mn-MOF、DMXAA由武汉大学化学与分子科学学院陈巍海教授课题组提供,DMEM细胞培养基、PBS缓冲液、胰蛋白酶、CCK-8试剂、TUNEL试剂盒、DCFH-DA、

Ki-67、HMGB1、钙网蛋白(calreticulin, CRT)、缺氧诱导因子-1(hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)抗体、还原型GSH检测试剂盒均购自武汉塞维尔生物科技有限公司,兔源性一抗(STING、p-STING、p-TBK1、p-IRF3、 β -actin抗体)和辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的山羊抗兔二抗均购自北京博奥森生物技术有限公司,流式抗体试剂盒购自美国BioLegend公司。

透射式电子显微镜购自日本JEOL公司,纳米粒度电位仪购自英国马尔文仪器有限公司,紫外可见分光光度计购自日本岛津公司,多功能成像酶标仪购自英国PerkinElmer公司,贝克曼流式细胞仪购自美国Beckman Coulter公司,正置显微镜购自日本奥林巴斯公司,激光扫描共聚焦显微镜购自日本奥林巴斯公司,声动力治疗仪购自深圳圣祥高科技有限公司。

1.2 DPM的合成及鉴定

以对甲酰基苯甲酸甲酯和吡咯为原料,在丙酸中回流合成四羧基甲酯苯基卟啉,经纯化后与MnCl₂·4H₂O配位制得锰卟啉;水解其甲酯基团并酸析获得Mn-TCPP;最后以Mn-TCPP、ZrOCl₂·8H₂O和苯甲酸为原料,在N,N-二甲基甲酰胺(N,N-dimethylformamide, DMF)中组装成Mn-MOF^[14]。将Mn-MOF与DMXAA的PBS溶液避光搅拌24 h,离心洗涤后重悬,即得DPM纳米颗粒。用透射电子显微镜及扫描电镜观察纳米材料DPM的形态,纳米粒度电位仪检测其粒径大小及Zeta电位。

1.3 细胞培养

4T1细胞在含10%胎牛血清的DMEM细胞培养基中,置于37℃、5%CO₂细胞培养箱中培养,取对数生长期细胞用于后续实验。

1.4 CCK-8法检测DPM的细胞毒性

将4T1细胞以 1×10^4 个/孔接种于96孔板中,分别加入100 μ L含不同质量浓度的DPM[0(对照)、40、80、120、160、200和240 μ g/mL]的培养基培养。设置对照组及US组,US组于培养8 h后接受超声处理(1 MHz, 1 W/cm², 20%占空比, 5 min)。超声辐照后均换新的培养基,继续培养24 h后,每孔加入

10 μL 的 CCK-8 溶液, 继续培养 2 h, 用酶标仪在 450 nm 处检测每孔光密度(D)值。

1.5 DCFH-DA 法检测 4T1 细胞中 ROS 水平

取对数生长期的 4T1 细胞, 以 1×10^5 个/孔接种于 6 孔板中, 培养 24 h 后分为 4 组: (1) 对照组, 常规培养, 不施加处理; (2) US 组, 培养 8 h 后进行超声辐照; (3) DPM 组, 培养基中加入 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 DPM, 培养 8 h; (4) DPM + US 组, 加入 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ DPM 培养 8 h 后进行超声辐照。参数: 1 MHz, 1 W/ cm^2 , 20% 占空比, 5 min。超声辐照后, 各组均更换为 DCFH-DA:DMEM(1:1 000) 混合培养基孵育 30 min, 最后在正置荧光显微镜下观察各组细胞的 ROS 表达情况。

1.6 免疫荧光法检测 HMGB1 和 CRT 蛋白的表达

将 4T1 细胞以 1×10^5 个/孔接种于含爬片的 6 孔板中, 培养 24 h 后按 1.5 节中方法分组处理。细胞经固定、渗透及封闭后, 加入 HMGB1(1:3 000 稀释)、CRT(1:3 000 稀释)一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 下处理过夜, 次日, 加入荧光标记二抗(1:200 稀释)室温下处理 1 h, DAPI 复染细胞核, 最后通过激光共聚焦显微镜观察并采集图像。

1.7 WB 法检测 STING 通路相关蛋白表达水平

将 4T1 细胞按 1×10^5 个/孔接种于 6 孔板, 培养 40 h 后按 1.5 节中方法分组处理, 4 h 后收集各组细胞, 用 RIPA 裂解液裂解提取总蛋白, BCA 法测定蛋白浓度, 蛋白变性后用 SDS-PAGE 分离、转膜, 5% 脱脂奶粉封闭膜 2 h(检测磷酸化蛋白使用 1% BSA 封闭), 分别加入 STING、p-STING、p-TBK1、p-IRF3、 β -actin 抗体(均为 1:1 000 稀释)4 $^{\circ}\text{C}$ 下处理过夜, HRP 加入标记的二抗(1:10 000 稀释)室温下处理 1 h, ECL 显影, 采集的图像用 ImageJ 软件进行灰度分析, 以 β -actin 为内参计算目的蛋白的相对表达水平。

1.8 4T1 细胞移植瘤模型检测超声联合纳米药物 DPM 对移植瘤生长的影响

雌性 BALB/c 小鼠适应性生长 1 周, 然后备皮、打耳标。收集处于对数生长期的 4T1 细胞, 用 PBS 重悬细胞使其密度为 5×10^6 个/ mL , 冰上暂存, 异氟烷麻醉小鼠后, 右侧背部皮下注入 100 μL 细胞悬液, 定期观察小鼠皮下成瘤情况。

当肿瘤体积达到约 100 mm^3 时, 用随机数字表法将小鼠分为 4 组(每组 8 只): (1) 对照组(尾静脉注射 200 μL PBS); (2) US 组(尾静脉注射 200 μL PBS, 12 h 后超声辐照); (3) DPM 组(尾静脉注射 200 μL 纳米药物 DPM); (4) DPM + US 组(尾静脉注射 200 μL 纳米药物 DPM, 12 h 后超声辐照)。超声参数: 1 MHz, 1.5 W/ cm^2 , 50% 占空比, 5 min。每 4 d 治疗 1 次, 共 3 个周期。每 2 d 监测肿瘤体积与体质量变化。第 14

天安乐死处死小鼠, 收集样本进行分析。心、肝、脾、肺和肾组织固定后进行 H-E 染色; 将引流淋巴结(肿瘤同侧)和脾分别制备单细胞悬液, 经 Fc 受体阻断后, 加入相应抗体, 进行流式细胞术分析; 将肿瘤组织固定后用于后续 H-E 染色和免疫组织化学染色; 取部分肿瘤组织添加蛋白去除试剂进行匀浆裂解, 离心后取上清液, 按照试剂盒说明分组加样, 室温避光孵育, 使用酶标仪在 412 nm 波长下测定 D 值, 结合标准曲线计算 GSH 含量。

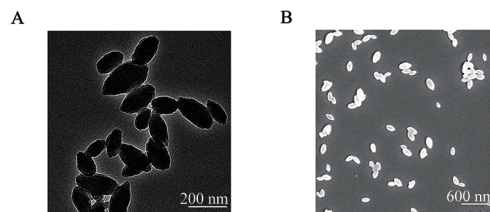
1.9 统计学处理

采用 GraphPad Prism 10.1.4 软件对数据进行分析绘图。符合正态分布的计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组数据间比较用 t 检验, 多组间比较用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 纳米药物 DPM 具有良好的稳定性

透射电镜和扫描电镜观察结果(图 1A、1B)显示, 纳米药物为梭形, 纳米粒度电位仪检测该纳米颗粒的 Zeta 电位为 (33.1 ± 0.87) mV, 平均粒径为 (268 ± 3.302) nm, 多分散指数(polydispersity index, PDI)为 0.113 ± 0.019 , 表明纳米颗粒大小均一、稳定性良好。



透射电镜(A)及扫描电镜图(B)。

图1 纳米药物DPM的基本表征

2.2 DPM 和超声辐照联合应用可明显抑制 4T1 细胞的增殖能力

CCK-8 法检测结果(图 2A)显示, 未经超声辐照时, 不同质量浓度的 DPM 对 4T1 细胞的增殖活力均无明显影响, 提示 DPM 对细胞无明显毒性, 具有良好的生物安全性。联合超声辐照时, 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 DPM 就能显著抑制 4T1 细胞的增殖活性($P < 0.001$)。随着药物质量浓度的增加, 细胞存活率逐渐下降, 当药物质量浓度为 240 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 4T1 细胞存活率仅为 42% 左右。实验结果说明, DPM 和超声辐照联合应用可明显抑制 4T1 细胞的增殖活力。

2.3 DPM 和超声辐照联合应用提高 4T1 细胞中 ROS 水平

DCFH-DA 法检测结果(图 2B)显示, 与对照组、US 组、DPM 组比较, DPM + US 组 4T1 细胞的绿色荧光强度明显增强($P < 0.001$)。实验结果说明, DPM

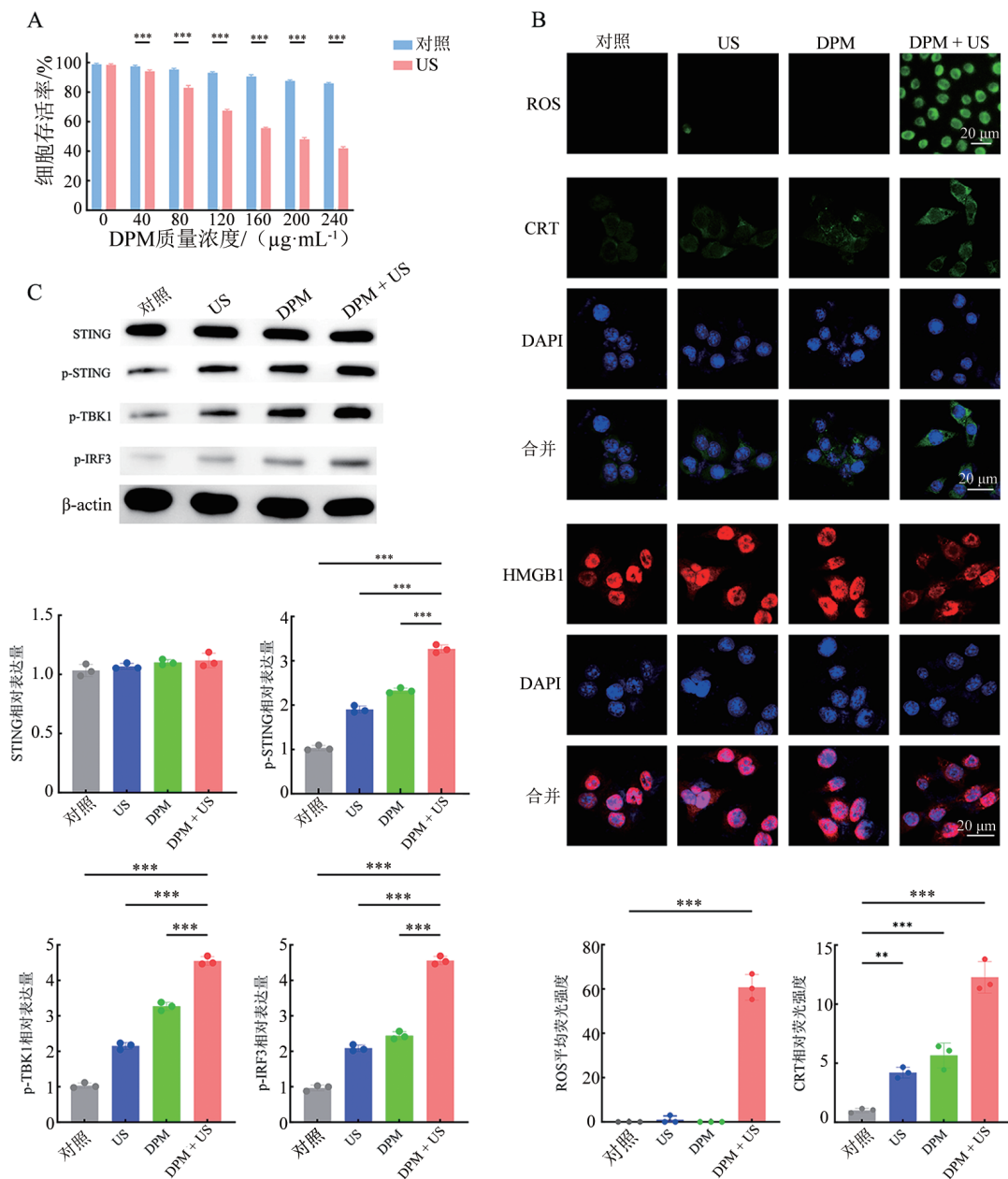
在超声辐照下可以产生大量ROS。

2.4 DPM联合超声辐照能诱导4T1细胞中CRT表达增强, HMGB1表达异位下调

免疫荧光法检测结果(图2B)显示,与对照组、US组、DPM组比较,DPM+US组4T1细胞中CRT绿色荧光明显增强($P < 0.001$),HMGB1在细胞核内免疫荧光减弱,而在细胞质内免疫荧光增强。实验结果说明,DPM联合超声辐照可能有效诱导4T1细胞发生ICD。

2.5 DPM联合超声辐照激活STING信号通路

WB法检测结果(图2C)显示,在4T1细胞中STING蛋白的表达在各处理组间均无显著差异,与对照组相比,US组、DPM组和DPM+US组4T1细胞中p-STING、p-TBK1、p-IRF3蛋白表达均显著增加(均 $P < 0.001$),DPM+US组4T1细胞中表达水平最高。实验结果表明,DPM联合超声辐照可有效激活STING信号通路。



A: CCK-8法检测DPM的细胞毒性; B: 免疫荧光法检测各组4T1细胞中ROS、CRT和HMGB1的表达及定量分析;

C: WB法检测各组4T1细胞中STING通路相关蛋白的表达。* $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

图2 DPM联合超声辐照对4T1细胞增殖、ICD和STING信号通路的影响

2.6 DPM联合超声辐照可显著抑制4T1细胞移植瘤生长并促进免疫细胞表型转化

移植瘤实验检测结果(图3A、C)显示,与对照组

相比,DPM+US组小鼠肿瘤体积明显缩小($P < 0.001$),表明DPM联合超声辐照在体内能有效抑制肿瘤生长。同时,不同处理组的荷瘤小鼠重要器官没有明

显的组织损伤且体质量无明显变化(图3B、D),说明US、DPM和DPM+US治疗具有良好的生物安全性。流式细胞术检测结果(图3E)显示,与对照组和US组引流淋巴结内成熟DC(CD80⁺CD86⁺)比例(分别为65.0%和68.4%)比较,DPM组引流淋巴结内成熟DC比例(77.1%)明显升高($P < 0.001$),提示负载的DPM可能在一定程度上激活了STING信号通路,诱导了DC成熟,而DPM+US组的成熟DC比例高达85.3%,这可能与超声辐照导致大量肿瘤细胞死亡并释放肿瘤相关抗原有关。脾组织中枢记忆T细胞(CD44⁺CD62L⁺)在受到抗原再刺激时,可快速增殖并分化为用于免疫保护的效应T细胞;效应记忆T细胞(CD44⁺CD62L⁻)在受到抗原再刺激时,可以快速产生用于免疫保护的效应细胞因子^[15]。流式分析结果(图3E)显示,与对照、US、DPM组比较,DPM+US组中枢记忆T细胞和效应记忆T细胞比例显著升高($P < 0.001$),实验结果表明,DPM联合超声辐照能显著促进T细胞向记忆表型转化。

肿瘤组织H-E染色结果(图4)显示,与对照组相比,US组未见明显肿瘤坏死;DPM组出现小范围坏死;DPM+US组则呈现大面积肿瘤细胞核碎裂,细胞形态消失。TUNEL染色结果(图4)显示,在对照、US组移植瘤组织中未见明显的凋亡信号,DPM组出现少量凋亡细胞($P < 0.001$),DPM+US组移植瘤组织中显示出大量凋亡细胞($P < 0.001$)。Ki-67染色结果(图4)显示,与对照、US组比较,DPM+US组Ki-67阳性细胞明显减少($P < 0.001$),表明DPM联合超声辐照治疗明显抑制了移植瘤细胞的增殖活性。DCFH-DA法染色结果(图4)显示,仅DPM+US组产生明显的荧光信号,表明DPM需在超声辐照下才能有效产生ROS。免疫荧光法检测结果(图4)显示,仅DPM+US组移植瘤组织中有明显HMGB1和CRT蛋白的表达,表明只有DPM联合超声辐照在体内才能有效诱导ICD;HIF-1 α 免疫荧光染色结果(图4)显示,与对照组、US、DPM组比较,DPM+US组移植瘤组织中HIF-1 α 表达水平明显降低($P < 0.001$),表明DPM联合超声辐照能有效缓解肿瘤组织的缺氧状态。

移植瘤组织中GSH检测结果显示,对照组、US组组织中GSH含量分别约(14.54 \pm 0.92) μ mol/g、(13.08 \pm 1.49) μ mol/g,而DPM组、DPM+US组GSH含量下降到(8.12 \pm 0.51) μ mol/g、(9.45 \pm 0.80) μ mol/g,后两者均明显降低($P < 0.01$),证实DPM能显著降低肿

瘤微环境中的GSH含量。

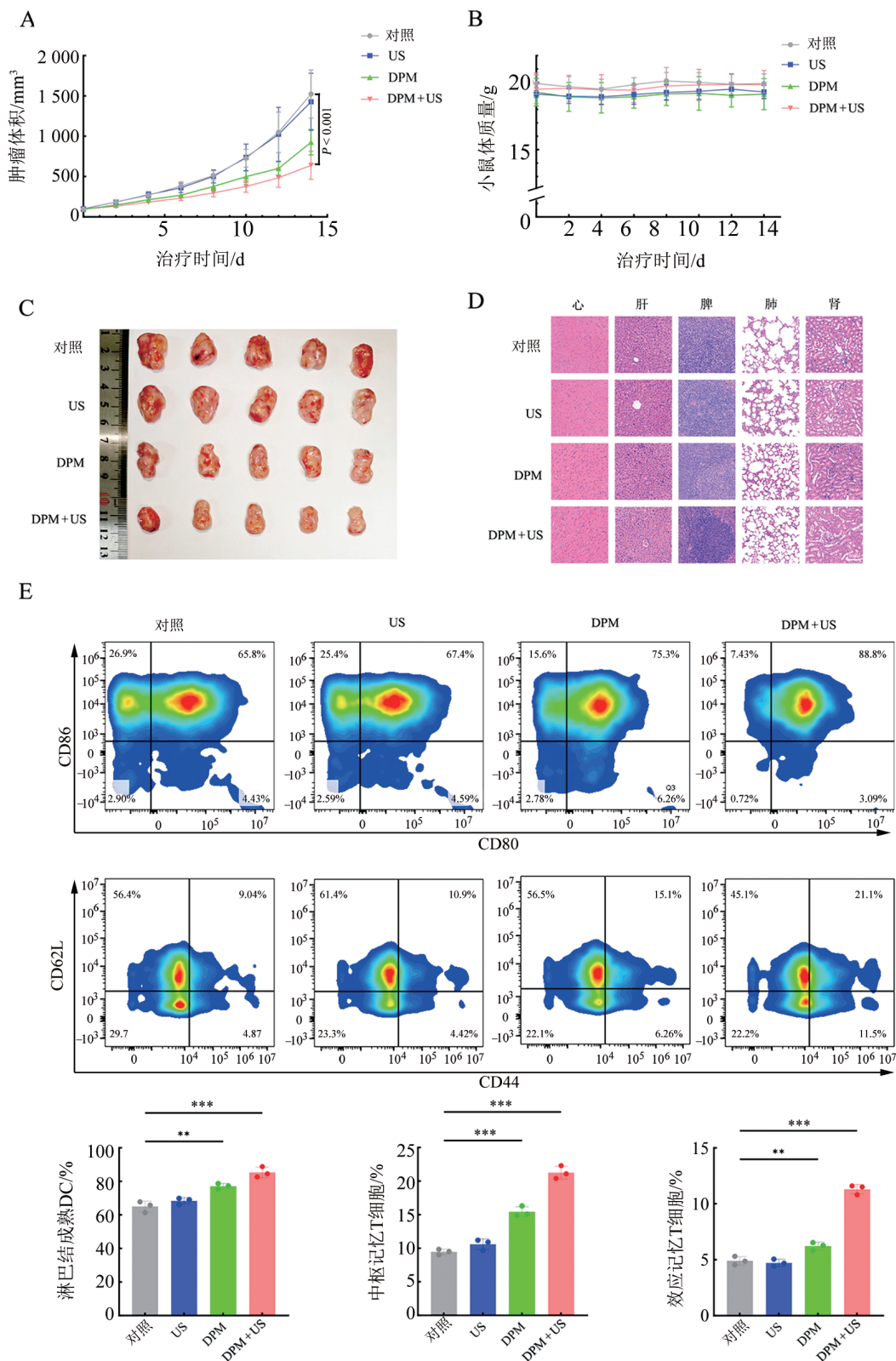
3 讨论

本研究构建的DPM,通过整合声动力治疗、肿瘤微环境调控与STING免疫激活三重功能,为TNBC探索了可能的解决方案。研究结果显示,超声辐照联合DPM治疗在移植瘤小鼠模型中展现出抑瘤效果,且无明显的不良反应。

DPM能取得良好抗肿瘤效应的核心在于其独特的材料设计:锰卟啉作为声敏剂在超声触发下产生ROS;钆离子高效消耗GSH,共同逆转肿瘤缺氧与抗氧化微环境,为声动力效应创造有利条件。这种多机制协同策略突破了传统SDT治疗的局限性。此外,表征检测显示DPM粒径大小均匀且稳定,有利于增强渗透性和滞留(enhanced permeability and retention, EPR)效应^[16]。

DPM的免疫激活效应是其高效抗肿瘤的关键。实验结果表明,超声触发的声动力效应诱导肿瘤细胞发生ICD效应,显著提升CRT暴露和HMGB1释放,这些损伤相关分子模式为免疫应答提供了抗原基础。更重要的是,负载的STING激动剂DMXAA直接激活STING通路,驱动TBK1和IRF3磷酸化,进而促进DC成熟。这种“抗原释放-免疫启动”的双重放大效应,有效克服了TNBC免疫原性低的瓶颈。

研究揭示了DPM的协同优势。单独DPM作用时,即使在高浓度下,也未对肿瘤细胞表现出明显的细胞毒性,仅在超声辐照下DPM才能产生大量ROS进而显著杀伤肿瘤细胞,表现出最强的抗肿瘤效果。进一步的研究结果表明,DPM+US组HIF-1 α 和GSH明显下降、ROS显著升高,并诱导STING通路激活与免疫原性死亡标志物暴露和释放。证实超声辐照联合DPM可以有效改善肿瘤微环境,发挥抗肿瘤效应。在动物模型中,H-E染色显示,DPM+US处理的肿瘤组织中存在广泛的坏死和核固缩,其肿瘤结构破坏程度明显高于其他处理组;此外,通过肿瘤组织中Ki-67表达的显著下调和TUNEL阳性区域的扩大,这些结果共同证明DPM+US处理可以抑制肿瘤细胞增殖并诱导其凋亡;同时,DPM+US处理显著促进DC成熟及T细胞表型转化,并且比例均明显高于DPM组,这与DPM的声动力效应引起的肿瘤相关抗原释放密切相关,而中枢记忆T细胞(CD44⁺CD62L⁺)的扩增,这也为建立长效抗肿瘤免疫记忆提供了可能。此外,本研究结果显示,治疗期间小鼠体质量稳定且主要器官无病理损伤,证明了该纳米平台的安全性。



A: 治疗期间小鼠肿瘤体积变化曲线; B: 治疗期间小鼠体重变化曲线; C: 治疗结束后各组小鼠肿瘤大体照片; D: 治疗结束后各组小鼠主要器官的H-E染色图, 比例尺 = 100 μm; E: 各组肿瘤同侧引流淋巴结和脾组织内细胞亚群的流式细胞术检测及定量分析。

** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

图3 DPM联合超声辐照对4T1移植瘤生长、免疫细胞表型转化的影响

研究仍存在若干局限, 需在未来工作中完善。DPM的肿瘤靶向主要依赖EPR效应, 对深部或纤维化肿瘤的渗透效率有待提升; 超声参数(1 MHz, 1.5

W/cm²) 在临床转化中需根据肿瘤位置深度优化, 以保障能量传递的均一性。未来需要探索的改进方向包括: (1) 修饰TNBC特异性靶向配体(如抗EGFR抗

体)增强肿瘤富集^[17-18]; (2)联合免疫检查点抑制剂(如抗PD-1抗体)进一步解除免疫抑制^[19-20]; (3)利用

患者来源类器官模型预测临床响应,为个体化治疗提供依据^[21]。

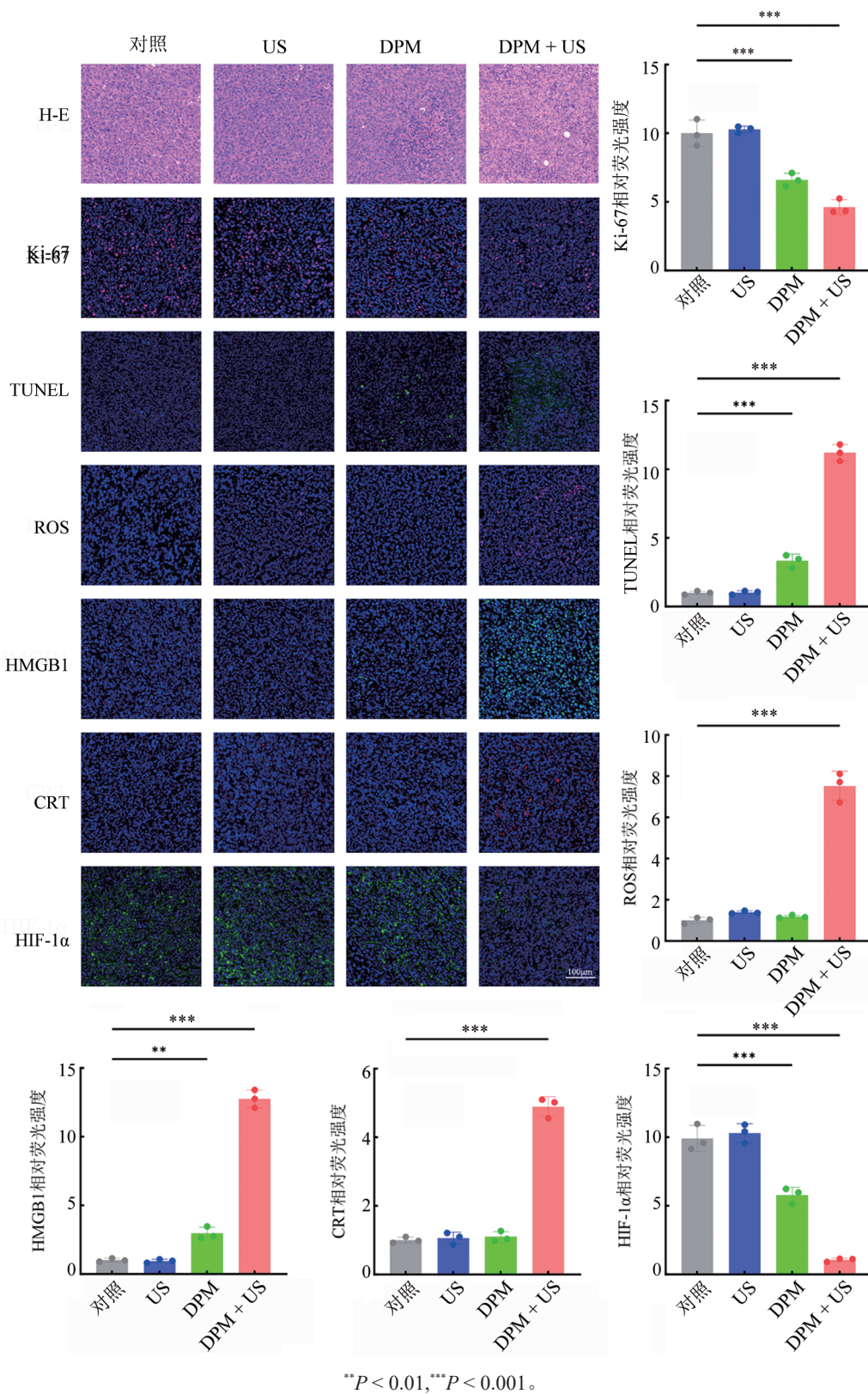


图4 移植瘤组织的H-E和免疫荧光法检测

综上所述,DPM通过声动力-免疫协同机制实现了TNBC的有效治疗,其价值不仅在于显著抑制

TNBC生长,更在于改善其免疫微环境——从抗原提呈、效应细胞活化到潜在免疫记忆形成,形成了抗

TNBC免疫效应。

利益冲突声明: 所有作者均声明不存在利益冲突。

[参考文献]

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249. DOI:10.3322/caac.21660.
- [2] WON K, SPRUCK C. Triple-negative breast cancer therapy: current and future perspectives [J]. *Int J Oncol*, 2020, 57 (6): 1245-1261. DOI:10.3892/ijo.2020.5135.
- [3] 杨鑫, 佟仲生, 赵伟鹏. 三阴性乳腺癌中PI3K/AKT/mTOR信号通路的突变及相关靶向治疗的研究进展[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2024, 31(4): 397-403. DOI: 10.3872/j. issn. 1007-385x. 2024.04.012.
- [4] MUHAMMAD N, HANIF M, YANG P P. Beyond cisplatin: new frontiers in metallodrugs for hard-to-treat triple negative breast cancer[J]. *Coord Chem Rev*, 2024, 499: 215507. DOI: 10.1016/j.ccr.2023.215507.
- [5] 李林容, 李炎, 孙强. 三阴性乳腺癌临床治疗进展[J]. *协和医学杂志*, 2023, 14(1): 177-183. DOI:10.12290/xhyxzz.2022-0085.
- [6] YANG Y R, HUANG J, LIU M, et al. Emerging sonodynamic therapy-based nanomedicines for cancer immunotherapy[J]. *Adv Sci*, 2023, 10(2): 2204365. DOI:10.1002/advs.202204365.
- [7] ZHANG J L, SUN X Y, XU M D, et al. A self-amplifying ROS-sensitive prodrug-based nanodecoy for circumventing immune resistance in chemotherapy-sensitized immunotherapy[J]. *Acta Biomater*, 2022, 149: 307-320. DOI:10.1016/j.actbio.2022.06.035.
- [8] CHEN H Q, LIU L L, MA A Q, et al. Noninvasively immunogenic sonodynamic therapy with manganese protoporphyrin liposomes against triple-negative breast cancer[J]. *Biomaterials*, 2021, 269: 120639. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2020.120639.
- [9] FANG M X, ZHENG J, SONG Q Y, et al. Breaking apoptosis-induced immune silence: ultrasound-activated nano-oncolytic therapy reinvigorates antitumor immunity [J]. *Adv Mater*, 2025, 37 (35): 2508681. DOI: 10.1002/adma.202508681
- [10] HUANG J, HU F Z, ZHANG H C, et al. Ultrasound-triggered nanoparticles induce cuproptosis for enhancing immunogenic sonodynamic therapy[J]. *Adv Mater*, 2025, 37(29): 2504228. DOI: 10.1002/adma.202504228.
- [11] WANG X W, ZHONG X Y, BAI L X, et al. Ultrafine titanium monoxide (TiO_{1+x}) nanorods for enhanced sonodynamic therapy[J]. *J Am Chem Soc*, 2020, 142(14): 6527-6537. DOI: 10.1021/jacs.9b10228.
- [12] GONG F, CHENG L, YANG N L, et al. Ultrasmall oxygen-deficient bimetallic oxide MnWO_x nanoparticles for depletion of endogenous GSH and enhanced sonodynamic cancer therapy[J]. *Adv Mater*, 2019, 31(23): e1900730. DOI:10.1002/adma.201900730.
- [13] ZHAN G T, XU Q B, ZHANG Z L, et al. Biomimetic sonodynamic therapy-nanovaccine integration platform potentiates anti-PD-1 therapy in hypoxic tumors[J]. *Nano Today*, 2021, 38: 101195. DOI: 10.1016/j.nantod.2021.101195.
- [14] XU Q B, ZHAN G T, ZHANG Z L, et al. Manganese porphyrin-based metal-organic framework for synergistic sonodynamic therapy and ferroptosis in hypoxic tumors[J]. *Theranostics*, 2021, 11 (4): 1937-1952. DOI:10.7150/thno.45511.
- [15] ZHAO Z Y, DONG S M, LIU Y, et al. Tumor microenvironment-activable manganese-boosted catalytic immunotherapy combined with PD-1 checkpoint blockade[J]. *ACS Nano*, 2022, 16(12): 20400-20418. DOI:10.1021/acsnano.2c06646.
- [16] YANG F F, DONG J, LI Z F, et al. Metal-organic frameworks (MOF)- assisted sonodynamic therapy in anticancer applications[J]. *ACS Nano*, 2023, 17(5): 4102-4133. DOI: 10.1021/acsnano.2c10251.
- [17] 姚芷昕, 李婉明. 核酸适配体在三阴性乳腺癌诊疗中的研究进展 [J]. *中国生物工程杂志*, 2022, 42(7): 62-68. DOI: 10.13523/j.cb.2202034.
- [18] LIU X, ZHANG G, YU T, et al. CL4-modified exosomes deliver lncRNA DARS-AS1 siRNA to suppress triple-negative breast cancer progression and attenuate doxorubicin resistance by inhibiting autophagy[J]. *Int J Biol Macromol*, 2023, 250: 126147. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2023.126147
- [19] LUO J L, WANG X, SHI Z, et al. Enhancement of antitumor immunotherapy using mitochondria-targeted cancer cell membrane-biomimetic MOF-mediated sonodynamic therapy and checkpoint blockade immunotherapy[J]. *J Nanobiotechnol*, 2022, 20(1): 228. DOI:10.1186/s12951-022-01453-2.
- [20] PU H, HUANG J, GUI B, et al. Ultrasound-responsive nanobubbles for breast cancer: synergistic sonodynamic, chemotherapy, and immune activation through the cGAS-STING pathway [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2025, 17(13): 19317-19334. DOI: 10.1021/acsaami.4c21493.
- [21] 崔巍, 雷颖, 康克清, 等. 类器官在肿瘤研究中的应用进展[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2024, 40(12): 1311-1315. DOI:10.13315/j.cnki.cjcep.2024.12.013.

[收稿日期] 2025-08-07

[修回日期] 2025-11-07

[本文编辑] 向正华