

特约专栏

肿瘤靶向热疗用磁性纳米材料

谢俊^{1,3}, 陈玲¹, 严长志¹, 杨文清¹, 张宇^{1,2}, 顾宁^{1,2}

(1. 东南大学生物科学与医学工程学院 江苏省生物材料与器件重点实验室, 江苏 南京 210009)

(2. 苏州国家纳米科技 2011 协同创新中心, 江苏 苏州 215123)

(3. 江苏师范大学生命科学学院, 江苏 徐州, 221116)

摘要: 基于磁性纳米材料的肿瘤靶向磁感应热疗是近年来发展较快的一种肿瘤治疗手段, 因其疗效确切、安全性高、副作用少, 故可广泛用于临床肿瘤的治疗。但是, 如何实现经静脉被动或主动靶向磁感应热疗并进一步提升治疗效果面临着重大挑战, 这需要进一步提升磁性纳米颗粒的单分散性和交流磁热效应, 增加靶组织或靶细胞累积、联合多靶点、多机制协同杀灭肿瘤细胞, 聚焦磁感应加热以及依赖于多模成像的精确引导等, 其中蕴藏的基础科学问题和关键核心技术急需突破。在介绍热疗用高性能磁性纳米材料的制备及表面修饰研究概况的基础上, 对肿瘤靶向磁感应热疗当前的研究进展与技术发展的关键点进行探讨, 阐述了其优点和需要解决的问题, 并对其未来的发展前景做了展望。

关键词: 磁性纳米材料; 靶向磁感应热疗; 疗效; 制备; 表面修饰

中图分类号: R730.5; TB383.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-3962(2016)08-0561-07

Application of Magnetic Nanoparticles for Tumor-Targeting Hyperthermia

XIE Jun^{1,3}, CHEN Ling¹, YAN Changzhi¹, YANG Wenqing¹, ZHANG Yu^{1,2}, GU Ning^{1,2}

(1. Jiangsu Key Laboratory for Biomaterials and Devices, School of Biological Sciences & Medical Engineering, Southeast University, Nanjing 210096, China)

(2. Collaborative Innovation Center of Suzhou Nano-Science and Technology(2011), Suzhou 215123, China)

(3. School of Life Science, Jiangsu Normal University, Xuzhou 221116, China)

Abstract: Magnetic nanoparticles (MNPs)-mediated targeted magnetic hyperthermia (TMH) is a rapid-developing tumor therapy *in vivo*. Based on its curative effect, high safety and less side effects, the therapy may widely receive enormous attention in further clinical applications. However, it is rather challenging in the MNPs-based passive or active targeted hyperthermia therapy by intravenously administration *in vivo* and their further enhanced therapy efficacy. In this regard, several basic scientific issues and key factors, such as the improved monodispersity of MNPs and their magnetic-induced heating effect, the increased MNPs accumulation in target tissues, the synergistic hyperthermia and chemotherapy effect, the focused heat induction and the multi-modal imaging-guided precise diagnostics, should be especially considered. Here we begin our review with the goal of describing controlled synthesis and surface modification of the MNPs with high performance, and then give a discussion on current key considerations in the MNPs-mediated TMH *in vivo*. Its superiority and disadvantages which are to be conquered are also described here. Finally, we get a perspective for its promising therapy in future clinical application.

Key words: magnetic nanoparticles; targeted magnetic hyperthermia; curative effect; synthesis; surface modification

1 前言

誉有“现代医学之父”之称的古希腊医学家希波克拉

底曾说过:“药物治愈不了的疾病用手术, 手术治愈不了的疾病可用热来治, 而用热不能治好的疾病, 就无法治愈了”, 为此, 他对热疗给予了很高的评价。当前医学表明, 基于生物热效应致使细胞凋亡的肿瘤热疗是继手术、放疗、化疗和生物免疫治疗之后的又一重要肿瘤治疗手段。热疗能有效杀伤恶性肿瘤细胞, 延长患者的生存时间, 提高患者的生活质量, 且可与化疗、放疗产生协同互补作用, 增加患者对放、化疗的敏感性, 同时又能减轻放、化疗的副作用, 因而被国际医学界称为“绿色疗

收稿日期: 2015-08-20

基金项目: 国家重大科学研究计划(2011CB933503); 国家 973 计划项目(2013CB733800)

第一作者: 谢俊, 男, 1984 年生, 博士

通讯作者: 顾宁, 男, 1964 年生, 教授, 博士生导师,

Email: guning@seu.edu.cn

DOI: 10.7502/j.issn.1674-3962.2016.08.01

法”。在众多热疗技术中(如微波、射频和超声等),基于磁性纳米材料的磁感应热疗是近年发展的一种新型治疗方式。它利用磁介质进入肿瘤组织后,在外加交变磁场作用下,磁介质由于尼尔弛豫(Néel Relaxation)和布朗弛豫(Brownian Relaxation)效应而感应发热,使肿瘤组织达到一定温度(一般 42 °C 以上)而诱导肿瘤细胞凋亡(图 1)。此外高温能增加休克蛋白合成,激发主动免疫的形成,从而达到治疗恶性肿瘤的效果。因其特有的靶向、微创、无毒副作用、疗效明显等优点,磁感应热疗正逐渐受到国内外研究者的关注^[1-3]。

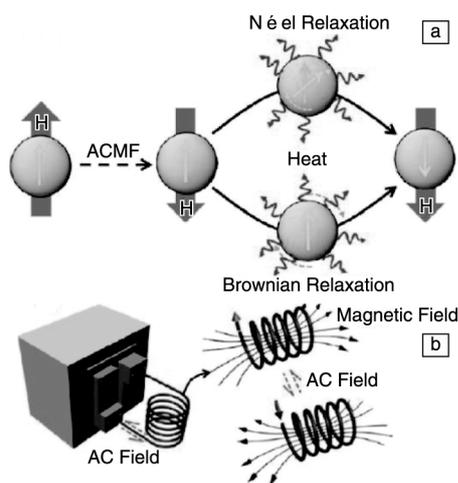


图 1 磁性纳米颗粒在 ACMF 下升温的原理示意图(a)^[1]; ACMF 设备的示意图(b)^[1]

Fig. 1 Schematic diagrams of magnetic nanoparticles being heated under ACMF and ACMF installation^[1]

自 1957 年 Gilchrist 等首次提出利用磁感应热疗治疗肿瘤的方法后,肿瘤热疗一直向着精确定位以及临床方向发展。临床磁感应热疗技术源于 1979 年 Gordon 等提出的磁流体热疗(Magnetic Fluid Hyperthermia, MFH)或细胞内热疗(Intracellular Hyperthermia, IH)的观点,即采用纳米磁流体作为磁感应热疗的加热介质^[4]。德国柏林洪堡大学医学院的 Jordan 研究组从 1993 年起开始磁流体热疗的研究,进行了大量实验研究工作,他们认为磁性纳米材料诱导的细胞内热疗是未来发展的趋势所在,即将纳米磁流体注入到靶部位中,由于细胞的吞噬和融合作用,磁性材料会进入到细胞中,随着细胞的分裂,母细胞内的磁性材料会进入子细胞。将它们置于功率足够大、频率足够高的交变磁场中,随着细胞内磁性材料的产热,靶细胞会因局部的热效应而死亡,达到治疗效果^[5-8]。此外,日本名古屋大学的 Kobayashi 研究组也进行了一系列的利用磁流体热疗小型动物的实验研究,也是细胞内热疗的主要支持者之一^[9,10]。

虽然磁感应热疗已经发展了 30 多年,且目前已经应用

于临床,但是仍局限于瘤区局部介入给药,面临着注射位置及剂量限制、磁性纳米颗粒在肿瘤中分布不均一、瘤区加热分布不均一、易复发等问题,因而应用范围及适用症受到极大的限制。随着靶向给药技术的发展,通过静脉给药并高效靶向到肿瘤区域进行靶向磁感应热疗(Targeted Magnetic Hyperthermia, TMH)成为热疗领域的迫切需求,也是国际热疗研究的新挑战。目前,国内外仅有少数课题组对磁性纳米材料诱导的靶向磁感应热疗在动物模型上做了相关研究(图 2)^[11-13]。例如, Hayashi 等通过将磁性氧化铁纳米颗粒组装成尺寸为 60~100 nm 的磁性纳米簇,以提高其磁学性能,并进一步在其表面偶联叶酸分子,使其具有靶向性。他们通过将这种磁性纳米簇(剂量为 48 $\mu\text{mol Fe/kg}$)经小鼠尾静脉注射后,让其主动靶向累积至肿瘤部位,富集 24 h 后置于交变磁场(频率为 230 kHz,功率为 2.4 kW)下作用。结果显示,交变磁感应热疗后,小鼠肿瘤表面温度要比其他部位高约 6 °C。经过多次热疗,小鼠肿瘤的生长明显受到抑制作用^[11]。Huang 等通过在小鼠尾静脉中注射 PEG 化的磁性纳米颗粒,使其在肿瘤内靶向累积浓度大约达 1.9 mg Fe/g。在高频率和高场强的磁场(980 kHz, 38 kA/m)下持续作用 2 min 后,小鼠肿瘤的表面温度高达 60 °C,促使肿瘤组织发生热消融,使肿瘤消退^[12]。此外, Xie 等制备了具有核壳结构的单包覆 PEG 化磷脂的磁性锰锌铁氧体纳米晶,并多次将一定剂量这种磁性纳米晶给予小鼠尾部静脉注射。经过血液循环,磁粒被动靶向富集于小鼠瘤体组织中,通过对瘤体多次热疗,肿瘤组织表面可达 43 °C 左右,从而有效抑制了肿瘤的生长^[13]。

但是,限于当前技术,靶向磁感应热疗仍面临着很大困难,如磁性纳米材料综合性能不理想、肿瘤靶向累积效率低、瘤区难以达到治疗有效温度等。为了将这类靶向磁感应热疗更好、更广泛地应用于生物医学和医学临床领域,提高磁性纳米材料的性能是至关重要的。磁性纳米材料的高性能,一般包括高磁性、高磁热效应、生物兼容性、精确的肿瘤靶向能力和体内运输的长循环能力等。由此,当前必须设计、发展和优化高性能磁性纳米结构的可控制备和表面修饰的方法。基于这一点,在本文中,我们首先介绍了几种用于热疗用的磁性纳米材料经典制备方法,据此详细探讨一类可制备高性能纳米结构的常用方法即高温热解法,并论述了调节磁性纳米材料综合性能的因素。其次,我们重点对磁性纳米材料介导的肿瘤靶向磁感应热疗当前的研究进展与技术发展的关键点进行探讨,提出将其用于临床肿瘤诊疗的基本思路。最后,我们提出几点基于磁性纳米材料的靶向磁感应热疗在体内应用的瓶颈问题,并对其未来的发展前景做了展望。

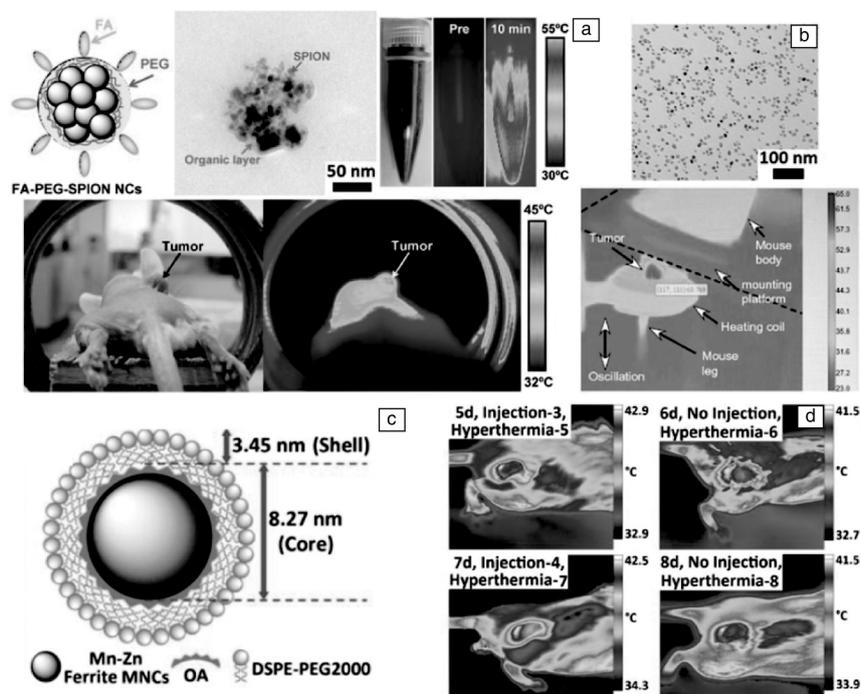


图 2 (a)负载叶酸的磁性纳米簇的形貌示意图、TEM 图,以及体内静脉注射后通过交流磁热效应诱导小鼠肿瘤表面升温的热成像图^[11]; (b)PEG 化磁性纳米颗粒的 TEM 图及体内静脉注射后通过交流磁热效应诱导小鼠肿瘤表面升温的热成像图^[12]; (c)核壳型 PEG 化的磁性纳米晶结构示意图^[13]; (d)经核壳型 PEG 化的磁性纳米晶多次注射及持续的交变磁场作用下小鼠肿瘤表面的热成像图片^[13]

Fig. 2 Structure and TEM image of FA-PEG-SPION NCs, thermal image of FA-PEG-SPION NCs in water and thermal image of a mouse after intravenous injection of FA-PEG-SPION NCs under AC magnetic fields (a)^[11]; TEM image of magnetic nanoparticles coated with PEG, thermal image of subcutaneous tumor being heated by an alternating magnetic field (b)^[12]. Structure of PEGylated MNCs with core-shell structure (c)^[13]. Thermal image of tumor surface sites after intravenous injection of core-shell structured PEGylated MNCs under an alternating magnetic field (d)^[13]

2 热疗用磁性纳米材料的制备及性能调控

2.1 磁性纳米材料的制备方法

目前几种经典磁性纳米材料合成方法包括化学共沉淀法、高温热解法、溶剂热法、微乳液法及溶胶-凝胶法等。其中,化学共沉淀法和高温热解法是目前应用较为广泛的两种合成方法。化学共沉淀法由于其制备工艺简单、设备及原料廉价、合成时间短、反应条件易于控制,可用于磁性纳米材料的批量制备^[14]。但是,这种合成方法得到的磁性材料粒径分布不均一,形貌和单分散性较差。相比较而言,高温热解法是一种可以得到较好单分散性、稳定性和结晶度纳米材料的常用方法。其合成原料便宜,方法简便,并被证实可适合量产^[15],这对于高质量磁性纳米材料的推广和应用具有重要意义。

高温热解法制备磁性纳米材料主要利用金属有机配合物亚稳定的特性,在高沸点溶剂(如十八烯、苯醚、辛醚等)中,通过表面活性剂(如烷基酸、烷基胺和有机磷

化合物等)的调控,作为反应前驱体分解而成。在制备材料所需的反应前驱物中,金属羰基配合物及其衍生物是一类典型的金属有机配合物。高温加热时,羰基比较容易与金属核分离,生成零价金属,并经过成核、生长最终形成球形铁纳米颗粒,进一步通过氧化便可得到氧化铁纳米颗粒。但由于金属羰基配合物本身有较强的生物毒性,在反应过程中带来环境的安全性问题。油酸铁作为另一种常用的金属前驱物,优点在于原料便宜。通常采用无毒、廉价的氯化铁和油酸钠为原料先制备出油酸铁,然后以油酸铁为前驱体,高温下分解,成核、生长得到磁性氧化铁纳米颗粒,这一方法极大地降低了成本,且颗粒的形貌规则、粒径均一,并实现了单分散磁性纳米颗粒的批量制备。然而,使用油酸铁作为前驱体制备纳米颗粒需分两步进行,包括油酸铁的制备和油酸铁的高温热解。该反应步骤繁琐、且产品重复性和可现性较差。目前,采用比较多的前驱体是金属乙酰丙酮配合物,在合成单分散性的磁性氧化铁纳米颗粒时,对反应体系

加热,前驱体逐步分解。在此过程中,油酸、油胺可作为表面活性剂用于控制晶核的生长方向,最终形成单分散性的纳米颗粒。由此可见,金属乙酰丙酮铁可作为一种稳定、廉价的铁前驱物而参与反应,仅通过一步法便合成出高质量的磁性铁氧体纳米晶。

2.2 磁性纳米材料综合性能的调控

面向用于体内外磁感应热疗应用的磁性纳米材料,其综合性能的调控,如高性能(磁感应性强、交流磁热效应高等)、稳定性(化学、分散及磁稳定性)、一致性(量产时产品不同批次间的一致性)至关重要。这主要取决于制备方法的改进、优化。另外,在追求各项指标高性能的同时,面向实际应用需求,综合考虑各项性能并优化组合也十分必要。

化学组成和晶体结构是决定纳米材料磁性的最本质因素,一般可以选择氧化物(如四氧化三铁等)、掺杂型铁氧体(如锰、锌、钴、镍掺杂以及核-壳耦合的复合磁性纳米材料等)、金属及合金(如氧化铁或碳包覆铁纳米颗粒、铁铂合金等),通过组成及结构的调控可以有效获得高的比饱和磁化强度及交流磁热效应。例如, Jang 等在辛醚体系中,以乙酰丙酮铁和氯化亚铁为前驱物,油酸、油胺为表面活性剂,高温热解制备磁性纳米颗粒。他们在反应物中加入氯化锌,并调节氯化亚铁与氯化锌的比例,制备得到了不同锌铁掺杂比的铁氧体磁性纳米颗粒^[16]。通过锌离子的掺杂,磁性纳米颗粒的磁热效应得到了有效的提高。Zhong 等利用高温热解法同时将锰和锌元素掺杂到铁氧体结构中,通过控制反应温度,制备出一种具有核壳结构的磁性纳米立方复合物。它主要由中心的氧化铁内核和锰锌外壳组成,显示了独特的高矫顽力和零场冷却磁化强度,因此可作为一种高性能的电子器件材料^[17]。此外,他们还通过软磁材料和硬磁材料的掺杂和交换耦合进一步提高了磁性纳米颗粒在交变磁场作用下的发热效率。研究发现,当磁性纳米颗粒的磁晶各向异性常数(K 值)处于一定范围时,才能获得最好的发热效率^[18]。在该工作中,他们以 CoFe_2O_4 等为硬磁材料, Fe_3O_4 、 MnFe_2O_4 等为软磁材料,制备了具有软、硬磁核壳结构的纳米颗粒。通过软、硬磁材料在其界面处的交换耦合,可控性调整纳米材料的 K 值。决定热疗效果的一个重要参数是磁性材料的比吸收率(Specific Absorption Ratio, SAR)或比损耗功率(Specific Loss Power, SLP),它表示单位质量的磁性颗粒吸收或损耗电磁能的能力,与颗粒性能和磁场频率及幅值相关。经证实,这种核壳结构的磁性纳米颗粒具有非常优异的磁热效率。在频率为 500 kHz、场强为 37.3 kA/m 的交变磁场作用下,这种核壳型 $\text{CoFe}_2\text{O}_4@ \text{MnFe}_2\text{O}_4$ 复合纳米材料的 SLP 值可达 2280 W/g。他们将这种掺杂型复合磁

性纳米材料用于小鼠的肿瘤热疗,取得了良好的治疗效果^[18]。

尺寸分布是另一个重要的参数,决定磁性强弱、磁致热疗效果以及磁场可操控特性等。一般来说,在超顺磁尺寸范围内(一般在 20 nm 左右或以下,指磁核尺寸或电镜尺寸),增加颗粒尺寸,磁性随之增加,如果再进一步增加尺寸则进入亚铁磁性范围,这时颗粒间强的磁偶极相互作用而导致聚集不稳定的情况也变得严重。此外,纳米材料的粒径直接决定其在体内血液循环和靶向能力。例如,纳米材料在到达靶部位之前首先通过单核吞噬细胞系统(Mononuclear Phagocytic System, MPS,包括结缔组织的巨噬细胞、肝的枯否细胞、肺的尘细胞、神经组织的小胶质细胞、骨组织的破骨细胞、表皮的郎格汉斯细胞和淋巴组织内的交错突细胞等)和脉管体系。一般来说,粒径大于 1 μm 的微粒,易被肺毛细血管所滞留;粒径大于 100 nm 的微粒易被肝脾所摄取;而极小的纳米颗粒(粒径小于 10 nm)在血液运输过程中,虽容易靶向至肿瘤组织,但易从肿瘤表面的脉管孔隙中“泄漏”出去,在体内循环时间较短^[19,20]。因此我们可利用这个特点将不同粒径的纳米颗粒定位于相应的靶器官。

磁性纳米材料的形貌直接亦决定其性质和功能,其形貌控制主要依赖于纳米颗粒在成核生长过程中的表面化学行为,这在很大程度上影响其在体内外磁感应热疗中的应用。如 Xie 等通过改变反应条件,成功合成了单分散性良好的高性能磁性锰锌铁氧体纳米结构。研究发现,在反应体系中,油酸作为强的表面活性剂,可调控不同晶面的生长速度,分别可控制备出球形、立方形及星形磁性纳米晶。此外,通过减少晶体成核时间,调控生长熟化时间,可促进纳米晶的定向组装、融合,最终形成高度有序的“尖角”和“钝角”纳米簇结构。研究发现,带有“枝角”的纳米簇及星形纳米颗粒的交流磁热效应明显强于球形及立方形纳米颗粒。这些高性能磁性纳米结构的制备为其后续交变磁场介导下的肿瘤磁感应热疗等领域应用提供了材料基础^[21]。

在选用高性能磁性纳米结构用于肿瘤磁感应热疗时,理想的要求是希望纳米材料只存在于肿瘤组织中,不出现在其他器官内,从而将治疗局限于病灶,不致损伤正常组织。这就要求我们在某些情况下,往往需要磁性纳米材料对肿瘤组织具有靶向功效。裸露的磁性铁氧体纳米结构由于具有高的比表面积、较强的磁偶极相互作用,容易诱导颗粒间的聚集,稳定性变差,无法达到生物医学应用的要求。因此,必须通过磁性纳米材料的表面修饰来降低颗粒间的相互作用,提高其水溶性、稳定性和表面功能性。针对裸露的磁性纳米颗粒目前有两类比较

典型的表面修饰方法。第一, 利用功能性配体直接取代颗粒表面的油性基团, 即配体交换法; 第二, 利用双亲性的胶束配体与油性颗粒结合, 即疏水相互作用法。

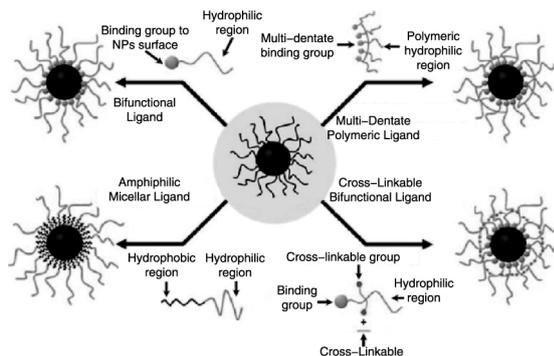


图 3 油性磁性纳米颗粒表面修饰的几种策略^[19]

Fig. 3 Several surface modification methods for oil-soluble MNPs^[19]

配体交换是指使用水溶性小分子或聚合物分子将纳米颗粒疏水性表面活性剂分子替换掉, 使之稳定存在于水系统中。常见配体有氨基酸、多肽、叶酸、巯基化分子、聚合物分子(如聚乙二醇(Polyethylene Glycol, PEG)、聚乙烯亚胺(Polyethylenimine, PEI))、含酚羟基的分子、含羧基的分子等。这一配体交换的表面修饰方法基于特定基团与金属/金属氧化物纳米颗粒间高的化学键合能力。研究表明, PEG 作为一种美国 FDA 批准的极少数能作为体内注射药物的聚合物, 具有高的水溶性、抗蛋白吸附能力, 可有效降低颗粒毒性, 延长血液循环的作用。例如, Zhen 等以吡咯烷酮为溶剂, 将乙酰丙酮铁, 末端羧基化的 PEG 聚合物共混, 利用反应物的高温热分解, 使 PEG 末端的羧基直接与分解后纳米晶核表面的羟基化学偶联, 一步法原位合成了 PEG 化的磁性氧化铁纳米颗粒。研究发现, 通过调控 PEG 分子和金属前驱物不同的摩尔比, 可制备出具有不同尺寸范围(4~9.8 nm)的单分散性磁性颗粒^[22]。此外, 双功能配体的替代更易得到水溶性好的颗粒, 因为其双齿或多齿结构与颗粒表面的相互作用, 使其在生理环境中具有更好的稳定性。例如, Xu 等报道了通过多巴胺与 PEG 分子复合使用来修饰磁性纳米颗粒, 以增强其在水中的稳定性^[23]。其中, 多巴胺因为其五元环的轨道重叠和减小的空间效应, 能够与氧化铁表面进行有效键合, 而胺基端修饰的 PEG 配体则用以稳定磁性纳米颗粒, 使其易于与相关分子(如色酮等)连接, 广泛用于药物运输等方面^[23]。再如, Liu 等在聚乙烯吡咯烷酮(PVP)存在下, 通过还原乙酰丙酮铁, 制备出超顺磁性的 PVP 包覆的 Fe₃O₄ 磁性纳米颗粒。该磁性纳米颗粒具有高的结晶度和均一的尺寸, 平均粒径在 5 nm 左右, 可望在 MRI 成像和生物传感器等领域应用^[24]。除了聚合物分子, 一些具有功能基团的小分子也可采用配体交换的方法对磁性颗粒

表面进行改性, 如二巯基乙酸(DMSA)。Jang 等利用 DMSA 上两个羧基与氧化铁中心金属离子强配位能力, 成功替换 Fe₃O₄ 纳米颗粒表面的油酸分子, 得到单分散的磁性纳米颗粒。这种 DMSA 修饰的纳米颗粒在水和 PBS 缓冲溶液中都相当稳定, 不会发生凝聚。且颗粒表面多余的羧基还可用于偶联生物分子, 实现无机纳米颗粒的生物功能化^[24]。虽然配体交换的表面修饰方法比较简单, 但是粒子在替换过程中易发生团聚, 颗粒的形貌也会在替换过程中遭到破坏^[25]; 而配体分子的替换使修饰后的颗粒表面带有大量的电荷, 导致颗粒在高离子强度的生理环境下具有不稳定性^[26]; 此外, 仅通过配体交换修饰后的磁性纳米颗粒易氧化, 这在很大程度上影响其交流磁热性能。

另一种表面修饰方法是两亲性分子(同时具有疏水端和亲水端)介导的疏水相互作用。其中, 修饰剂分子一端的疏水碳氢长链能与磁性纳米颗粒的疏水性表面通过疏水作用力相互连接; 同时, 修饰剂分子另一端的亲水基团暴露在外, 赋予纳米颗粒水溶性。目前这类最为常用的配体主要包括磷脂、 α -环糊精、脂肪醇等^[27]。与配体交换法相比, 疏水相互作用得到的水溶性磁性纳米颗粒具有最低的表面电荷, 且使用合适的交联剂将表面配体交联起来, 还可以在纳米颗粒表面形成更坚固的壳层。磷脂属于其中一类两亲性分子, 具有由磷酸相连的取代基团(含氨基或醇类)构成的亲水性头部和由脂肪酸碳氢链构成的疏水性尾链结构。采用磷脂修饰后的油相磁性纳米颗粒通常会形成一种以铁磁性物质为核心、磷脂为外层的核壳结构。例如, Anderson 课题组发展了一种简单方法制备了包覆阳离子型磷脂的磁性纳米颗粒。他们将油相的磁性颗粒、磷脂同时分散在氯仿中, 向其中加入助溶剂吡咯烷酮, 以促进纳米颗粒与磷脂充分融合, 并反复超声。最后完全去除氯仿等有机相并透析后, 磁性颗粒成功由油相向水相转变^[28]。

此外, 当前的一些功能型的磷脂, 如长循环的 PEG 化磷脂, 作为修饰剂包覆在磁性纳米颗粒表面可显著提高其稳定性、体内循环时间和被动靶向性。如 Bao 等采用溶剂交换法, 在溶解 PEG 化磷脂(DSPE-mPEG)和磁性颗粒的氯仿体系中, 加入二甲亚砜为助溶剂, 去除氯仿后, 将其分散于水相中, 形成单包覆 PEG 化磷脂的磁性纳米颗粒^[29]。Xie 等通过疏水相互作用, 在磁性纳米晶表面修饰一层 PEG 化磷脂分子(DSPE-PEG2000)。这种具有核壳结构的磁性纳米材料不仅具有较高的磁性和交流磁热效应, 而且其外层的磷脂壳及 PEG 长链使其具有较高的生物相容性和体内长循环能力, 且在血液运输中能抗 RES 摄取, 减少免疫器官的识别能力, 可被动靶向于肿瘤组织, 用于肿瘤的被动靶向磁感应热疗^[13]。

3 提升靶向磁感应热疗疗效的关键点探讨

3.1 多靶点靶向引导肿瘤磁感应热疗

在磁性纳米材料介导的肿瘤靶向磁感应热疗临床应用中,除了需要磁性纳米材料高的磁感应热效应外,另一重要需求是如何进一步提高磁性纳米材料在瘤区的富集。研究表明,通过肿瘤 EPR (Enhanced Permeability and Retention, 增强的渗透与滞留作用) 效应实现被动靶向的同时结合主动靶向累积,一定程度上可提高热疗效果。如果针对肿瘤组织上多个靶标分子,设计多靶点靶向磁性纳米颗粒,将更具优势。肿瘤细胞的异质性及易突变性导致难以找到通用的分子靶标,例如目前临床使用的治疗性曲妥珠单抗,其针对的是 Her2 阳性病人,而这种病人仅占乳腺癌病人的 20% 左右。相比较,肿瘤新生血管虽然也有异质性,但一些靶标分子的表达(如整合素 $\alpha_v\beta_3$) 相对稳定,并且适用于不同的实体肿瘤。其中, RGD 环肽可对 $\alpha_v\beta_3$ 特异性识别,且被广泛应用^[30];另外,葡萄糖代谢旺盛也是肿瘤细胞重要的代谢特征,为此肿瘤细胞表面葡萄糖转运蛋白成为主要靶点,临床上典型应用可采用脱氧葡萄糖作为核医学重要的分子影像探针。若将多靶点靶向同时引入肿瘤磁感应热疗中,将大幅提升热疗疗效。例如将 RGD 环肽和脱氧葡萄糖同时修饰在磁性纳米颗粒表面构建多靶点磁性纳米探针,将同时针对肿瘤新生血管和肿瘤细胞进行靶向,结合磁感应热疗杀死肿瘤细胞的同时破坏血管供给系统,从而获得更好的治疗效果。

3.2 多模态成像指导肿瘤磁感应热疗

除了多靶点,磁性纳米材料的多模态设计对未来实现肿瘤早期诊断、分子分型、肿瘤边界确定、以及指导热疗疗效评估具有重要意义,这也是未来精准医学与个体化诊疗的迫切需求。在目前医学影像及小动物显微影像设备的基础上,通过高性能多靶点纳米探针设计、多模式化及采用合理的信号放大策略,是进一步提高分子成像特异性、敏感性和精准性的关键和重要问题。多模态纳米探针平台构建及影像学研究提供了一个强有力的工具,它具有互补、协同增效的功能,有望克服目前任何一种医学影像设备的局限,而实现同时的高分辨、高灵敏成像及在细胞、分子水平的特异性分子成像。此外,磁性纳米材料在交变磁场作用下加热肿瘤组织,还可以利用红外热成像进行温度和热计量控制。目前红外热成像仪的热分辨率可达到 0.005 °C,不仅提供了精确的温度测量,而且可以获得高解析度的红外热成像图。有文献报道,基于癌细胞新陈代谢速度远高于正常细胞因而癌肿部位温度会稍高于周围组织,红外热成像已经被用于肿瘤的早期诊断和筛查,并且获得了 90% 的灵敏度和特异度。如果结合磁性纳米材料靶向到肿瘤并施以交变磁场辐照加热,可进一步提升肿瘤热成像的灵敏度和分辨率。

3.3 多机制协同促进肿瘤磁感应热疗

在肿瘤磁感应热疗过程中,采用多机制协同治疗也是防止肿瘤复发的重要途径。例如,在制备的多靶点磁性纳米材料表面负载药物分子(如紫杉醇、阿霉素),磁感应热能够加速药物释放,同时热化疗联合,协同增效。结合多靶点靶向肿瘤新生血管内皮细胞与肿瘤细胞并进一步内化,包括进入溶酶体等,可有效实现细胞内协同热化疗。此外,研究发现氧化铁纳米颗粒具有很强的 pH 依赖模拟酶活性,在酸性条件下具有强的过氧化物酶催化活性,在中性或碱性条件下,表现为过氧化氢酶特性;通过细胞试验很好地验证上述结论,并揭示了定位在细胞溶酶体中的纳米氧化铁在酸性条件下以过氧化物酶机制导致细胞毒性的新途径^[31]。同时还证明了磁性纳米颗粒在交变磁场作用下模拟酶活性显著增加(一方面归于温度增加,另一方面源于磁性纳米颗粒在交变磁场中的旋转运动提供了扩散效应),这预示着定位于溶酶体的磁性纳米颗粒在交变磁场作用下类过氧化物酶活性增强,从而导致细胞毒效应。纳米颗粒在溶酶体中表面腐蚀降解以及 Fe^{2+} 释放,也是导致类酶活性及 Fenton 反应增强的原因,如果联合产生双氧水的化疗药物负载,则可以进一步增强其催化双氧水产生羟自由基的能力,从而杀伤细胞^[32]。另外,磁感应热效应促进溶酶体膜通透性增加或破坏,也可以促进药物分子释放进入细胞质,从而发挥更强的治疗作用^[33]。磁感应热控制药物释放增强热化疗协同治疗,联合磁感应热增强模拟酶活性导致的细胞毒效应,构成了的多机制协同治疗,其协同机制及规律的深入研究也将成为磁性纳米材料介导的肿瘤磁感应热疗重要的关键科学问题。

3.4 交变磁场参数的优化调控

在实际肿瘤靶向磁感应热疗过程中,优化的交变磁场发生器的参数以及热聚焦装置的设计构建也是非常重要的,具体包括线圈优化结构设计、磁场参数(强度、频率)选择,交变磁场结合恒磁场的热聚焦装置设计构建。这是因为交变磁场不仅可以作为磁感应热疗的能源达到加热治疗肿瘤的效果,它本身的涡流效应对于正常细胞也有一定的作用,因此在肿瘤热疗过程中,应选定安全的交变磁场参数,一般地,要求安全性交变磁场的频率(f)和场强(H)的乘积不得超过 $5.0 \times 10^9 \text{ Am}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ^[11]。而其配备的感应线圈最好要求能够刚好覆盖肿瘤区域,这样可以避免其他脏器处于磁感应强度最高的区域,对机体减少不必要的伤害。

4 展望

靶向磁感应热疗作为一种具有前景的肿瘤治疗新方法,目前还没有真正运用到临床医学中,而动物实验研究也相对较少。要发展这种新型的肿瘤疗法,还需做深入研究,尤其是在以下几个方面值得考虑:(1)热疗用

磁性纳米材料本身的问题。其中, 高性能、生物相容性好且具有主动靶向性磁性纳米材料的选择依然是首选的关键因素。它们的存在, 可以在达到较高产热效率的同时, 减少给药的剂量, 减低体内毒副作用, 并减少肝脾等脏器的截留, 可望提高磁热疗的靶向性, 真正实现细胞内热疗, 使肿瘤均匀加热, 从而更彻底有效地杀灭肿瘤细胞。(2) 安全性交变磁场的选择与设计, 这是靶向磁感应热疗的重要环节。利用现有医疗上能接受的交变磁场, 不能提供足够的能量, 而选用过高频率的交变磁场则可使机体组织内产生涡流效应, 使正常组织也升温。因此, 选择一种合适场强和频率的交变磁场是非常重要的。此外, 为了避免对正常组织有热损伤, 交变磁场配备的磁感应线圈的尺寸要选择得当。目前, 可根据理论模拟和实验相结合的方法, 以及特定线圈规格的设计来制定相关策略, 一方面, 通过理论模拟磁性纳米材料尺寸与交变磁场频率、场强的关系, 根据设计的纳米颗粒尺寸选择适合磁场参数, 以获得最优化的升温效应, 并利用实验验证理论模拟; 另一方面, 根据选择的柱状或碗型螺线管线圈, 设计模拟恒磁场的空间组合、自动位置调控装置及水冷系统, 以实现磁感应热聚焦, 并能调控聚焦空间的大小。(3) 给药剂量、次数以及热剂量控制(测温方法)等治疗方案(计划)的深入研究, 还包括如何结合影像引导更精准地进行磁感应热疗及疗效评估, 如何联合其它治疗方法进行更有效的协同治疗, 以克服单一治疗方法耐受或耐药的问题。这些基础科学问题与关键技术瓶颈的解决, 将会极大地促进磁感应热疗技术的发展与临床应用。最后是磁性材料治疗后残留的问题。在肿瘤靶向热疗后, 磁性纳米材料残留在体内应尽可能少。一般来说, 纳米磁性材料的清除可以利用机体的自然代谢和排泄。此外, 可以考虑利用一些所谓的磁场引导技术等方法实现对可能超量材料的排出。

参考文献 References

- [1] Yoo D, Lee J H, Shin T H, et al. *Acc Chem Res*[J], 2011, 44: 863-874.
- [2] Chatterjee D K, Diagaradjane P, Krishnan S. *Ther Deliv*[J], 2011, 2: 1001-1014.
- [3] Stone R, Willi T, Rosen Y, et al. *Ther Deliv*[J], 2011, 2: 815-838.
- [4] Gordon R T, Hines J R, Gordon D. *Med Hypothesis*[J], 1979, 5: 83-102.
- [5] Jordan A, Wust P, Fählin H, et al. *Int J Hyperthermia*[J], 1993, 9: 51-68.
- [6] Jordan A, Scholz R, Wust P, et al. *J Magn Magn Mater*[J], 1999, 201: 413-419.
- [7] Jordan A, Scholz R, Wust P. *Int J Hyperthermia*[J], 1997, 13: 587-605.
- [8] Jordan A, Wust P, Scholz R. *Int J Hyperthermia*[J], 1996, 12: 705-722.
- [9] Shinkai M, Ueda K, Ohtsu S. *Jpn J Cancer Res*[J], 2002, 93: 103-108.
- [10] Hamaguchi S, Tohnai I, Ito A. *Cancer Sci*[J], 2003, 94: 834-839.
- [11] Hayashi K, Nakamura M, Sakamoto W, et al. *Theranostics*[J], 2013, 3: 366-376.
- [12] Huang H S, Hainfeld J F. *Int J Nanomed*[J], 2013, 8: 2521-2532.
- [13] Xie J, Zhang Y, Yan C Y, et al. *Biomaterials*[J], 2014, 35: 9126-9136.
- [14] Wang C Y, Hong J M, Chen G. *Chinese Chem Lett*[J], 2010, 21: 179-182.
- [15] Park J, An K, Hwang Y, et al. *Nature Materials*[J], 2004, 3: 891-895.
- [16] Jang J T, Nah H, Lee J H, et al. *Angew Chem Int Ed*[J], 2009, 48: 1234-1238.
- [17] Wang L Y, Wang X, Luo J, et al. *J Am Chem Soc*[J], 2010, 132: 17686-17689.
- [18] Lee J H, Jang J T, Choi J S, et al. *Nature Nano Technology*[J], 2011, 6: 418-422.
- [19] Jun Y W, Lee J H, Cheon J. *Angew Chem Int Ed*[J], 2008, 47: 5122-5135.
- [20] Tanimoto A, Kuribayashi S. *Eur J Radiol*[J], 2006, 58: 200-216.
- [21] Xie J, Yan C Z, Zhang Y, et al. *Chem Mater*[J], 2013, 25: 3702-3709.
- [22] Li Z, Wei L, Gao M Y, et al. *Adv Mater*[J], 2005, 17: 1001-1005.
- [23] Xu C, Xu K, Gu H, et al. *J Am Chem Soc*[J], 2004, 126: 9938-9939.
- [24] Liu H L, Ko S P, Wu J H. *J Magn Mater*[J], 2007, 310: 815-817.
- [25] Basiruddin S K, Arindam S, Jana N R. *J Phys Chem C*[J], 2010, 114: 11009-11017.
- [26] Liu S J, Han Y C, Gao M Y. *J Phys Chem C*[J], 2010, 114: 21270-21276.
- [27] Robinson D B, Persson H H J, Zeng H. *Langmuir*[J], 2005, 21: 3096-3103.
- [28] Jiang S, Eltoukhy A A, Love K T, et al. *Nano Lett*[J], 2013, 13: 1059-1064.
- [29] Tong S, Hou S J, Zheng Z K, et al. *Nano Lett*[J], 2010, 10: 4607-4613.
- [30] Xie J, Yan C Y, Yan Y, et al. *Nanoscale*[J], 2016, DOI: 10.1039/c6nr03916b.
- [31] Chen Z W, Yin J J, Zhou Y T, et al. *ACS Nano*[J], 2012, 6: 4001-4012.
- [32] Huang G, Chen H B, Dong Y, et al. *Theranostics*[J], 2013, 3: 116-126.
- [33] Domenech M, Marrero-Berrios I, Torres-Lugo M, et al. *ACS Nano*[J], 2013, 7: 5091-5101.