

特约专栏

层状双金属氢氧化物在肿瘤诊疗中的研究进展

李高明¹, 郭云琦¹, 巩军丽¹, 张贵祥², 史向阳¹, 沈明武¹

(1. 东华大学生物与医学工程学院, 上海 201620)

(2. 同济大学附属上海市第四人民医院 放射影像科, 上海 200434)

摘要: 纳米医学的发展拓展了生物医学的研究范畴, 尤其是在肿瘤的精准诊疗领域担当了重要角色。在各种纳米材料中, 层状双金属氢氧化物(layered double hydroxides, LDH)是一种典型的二维纳米材料, 具有良好的生物相容性和胶体稳定性、较大的荷载量、易功能化修饰等优点, 在肿瘤的诊疗领域受到研究者的广泛关注。近年来, 越来越多结构精巧、性能优良、副作用小的LDH基纳米平台在这一领域被报道。介绍了LDH纳米颗粒的结构与性质, 总结了LDH基纳米平台的构建策略, 概述了近5年LDH基纳米平台在肿瘤诊疗领域的最新进展, 最后还讨论了LDH基纳米平台向临床医学及精准治疗应用的挑战和未来发展策略, 希望能够引起研究者对LDH基纳米平台在肿瘤诊疗领域更广泛的研究兴趣。

关键词: 纳米医学; 精准治疗; 纳米材料; 层状双金属氢氧化物; 肿瘤; 诊断; 治疗

中图分类号: TB383; R318.08 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-3962(2022)09-0718-12

引用格式: 李高明, 郭云琦, 巩军丽, 等. 层状双金属氢氧化物在肿瘤诊疗中的研究进展[J]. 中国材料进展, 2022, 41(9): 718-729.

LI G M, GUO Y Q, GONG J L, *et al.* Research Progress of Layered Double Hydroxides in Tumor Diagnosis and Therapy[J]. Materials China, 2022, 41(9): 718-729.

Research Progress of Layered Double Hydroxides in Tumor Diagnosis and Therapy

LI Gaoming¹, GUO Yunqi¹, GONG Junli¹, ZHANG Guixiang², SHI Xiangyang¹, SHEN Mingwu¹

(1. College of Biological Science and Medical Engineering, Donghua University, Shanghai 201620, China)

(2. Department of Radiology, Shanghai Fourth People's Hospital Affiliated to Tongji University, Shanghai 200434, China)

Abstract: The development of nanomedicine has expanded the research boundary of biomedicine, especially in the field of precision tumor diagnosis and therapy. Among various nanomaterials, layered double hydroxides (LDH), a typical two-dimensional nanomaterial with good biocompatibility and colloidal stability, large loading capacity, easy functional modification, has attracted extensive attention of researchers in the field of tumor theranostics. In recent years, more and more LDH-based nanoplateforms with exquisite structure, excellent performance and low side effects have been reported in this field. This review introduces the structure and properties of LDH nanoparticles, summarizes the construction strategies of LDH-based nanoplateforms, and summarizes the latest progress of LDH-based nanoplateforms in tumor diagnosis and treatment in the past five years. The challenges and future development strategies for LDH-based nanomedicines toward clinical medicine and

precision therapy applications are also discussed. It is hoped that this review will arouse researchers' wide interest in LDH-based nanoplateforms in the field of tumor theranostics.

Key words: nanomedicine; precision therapy; nanomaterials; layered double hydroxides; tumors; diagnosis; therapy

收稿日期: 2022-07-21 修回日期: 2022-08-23

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81761148028, 22150410324); 上海市科委政府间国际合作项目(20520710300)

第一作者: 李高明, 男, 1994年生, 博士研究生

通讯作者: 史向阳, 男, 1970年生, 教授, 博士生导师,

Email: xshe@dhu.edu.cn

沈明武, 女, 1971年生, 研究员, 博士生导师,

Email: mwshen@dhu.edu.cn

DOI: 10.7502/j.issn.1674-3962.202207026

1 前言

癌症目前仍然是世界范围内的一种主要的公共健康问题, 具有较高的致死率。传统的治疗手段包括手术、

化疗和放疗, 存在副作用大、易复发、患者依从性差等缺点。目前免疫治疗作为第4种治疗手段在肿瘤患者的临床治疗中也受到广泛关注^[1, 2]。此外, 近几十年来纳米医学的发展拓宽了生物医学的研究范畴, 尤其在肿瘤的诊断及治疗方面展示出较大的应用前景。纳米医学结合了材料学、药学、生物学、医学等学科知识, 能够克服传统肿瘤治疗中存在的缺点, 在一些新型肿瘤治疗手段中表现出越来越重要的作用, 如光热治疗 (photothermal therapy, PTT)、光动力治疗 (photodynamic therapy, PDT)、基因治疗、声动力治疗、化学动力学治疗 (chemodynamic therapy, CDT)、免疫治疗等。此外, 一些纳米制剂能够提供组合治疗以适应药物反应的个体化差异, 有利于实现肿瘤的精准化及个性化治疗, 最终实现彻底治愈肿瘤的目标^[3, 4]。到目前为止, 越来越多的

纳米制剂被美国食品药品监督管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 或欧洲药品管理局 (European Medicines Agency, EMA) 批准用于各种肿瘤的临床诊疗或临床研究, 如 Doxil[®]、Abraxane[®]、NanoTherm[®] 和 Atu027 等 (图1)。早期的纳米药物结构简单, 如胶束 (如 Genexol-PM) 和脂质体 (如 Doxil[®] 和 Marqibo[®])。随着该领域的发展, 从 NanoTherm[®] 和 Abraxane[®] 开始, 人们制备了更多先进的纳米颗粒 (nanoparticles, NPs), 并出现了可以负载多种治疗药物的系统 (Vyxeos[™])。随后, 多层脂质体 (Stimuvax[®] 和 Atu027) 和多聚合物 (Livatag[®]) 纳米颗粒被开发出来。此外, 纳米颗粒所提供的有效荷载 (药物) 已经从小分子抗癌药物扩展到多肽和小干扰 RNA (siRNA) 等^[5]。

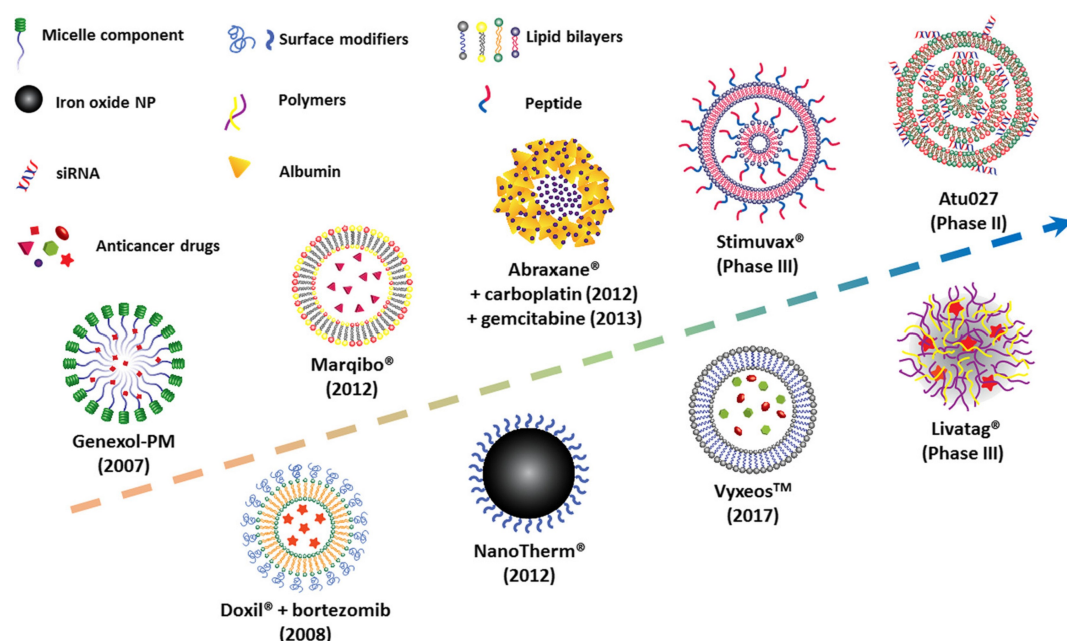


图1 纳米制剂结构在肿瘤定制化 (个性化) 治疗中的演变^[5]

Fig. 1 Evolution of nanoarchitectures towards custom-fit uses in cancer therapy^[5]

在目前的实验室研究中, 已被报道的纳米材料有脂质体、高分子聚合物、胶束、树状大分子、纳米水凝胶、铁氧化物纳米粒、金纳米颗粒、介孔二氧化硅、金属有机框架、层状双金属氢氧化物 (layered double hydroxides, LDH) 等。各种有机或无机纳米材料由于自身特殊的物理、化学、生物学特性或独特的分子结构, 除了可以作为载体材料负载药物或诊断剂外, 其自身也可以作为药物或者诊断剂发挥作用。通过对纳米材料的修饰, 可以赋予纳米平台多种功能, 在肿瘤的预防、检测和治疗等方面发挥了越来越多的作用^[6-10]。

在各种纳米材料中, LDH 是一种由带正电荷的类水

镁石层板, 其层间阴离子和水分子可形成稳定二维层状材料。在水镁石 $Mg(OH)_2$ 结构中, Mg^{2+} 与羟基六配位形成八面体, 八面体通过共棱进一步与相邻八面体结合形成无限片层, 最终通过氢键组装成片层结构。而在 LDH 中, 部分 Mg^{2+} 被三价金属离子如 Al^{3+} 取代, 形成带正电的主体层板, 同时层间水分子和阴离子通过氢键和静电相互作用稳定在层板之间。因此, LDH 的通式可以表示为 $[M_{1-x}^{2+}M_x^{3+}(OH)_2]^{x+}(A^{m-})_{x/m} \cdot nH_2O$, 其中 M^{2+} 代表二价金属阳离子如 Mg^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Cu^{2+} 等, M^{3+} 代表三价金属阳离子, 如 Al^{3+} 、 Fe^{3+} 、 Co^{3+} 和 Ga^{3+} 等, A^{m-} 代表层间阴离子如 CO_3^{2-} 、 NO_3^- 、 SO_4^{2-} 或其他阴离子

(图 2)^[11]。值得注意的是, 根据 LDH 的结构特点, 通过离子交换反应, 可根据和阳离子亲和力的不同置换 LDH 的层间阴离子, 从而在层间负载核苷酸、抗癌药物等生物活性分子, 或者通过静电相互作用在层板表面负载生物活性分子。另外通过调整晶格中 M^{2+} 和 M^{3+} 的含量, 可以调整 LDH 层板的电荷密度, 从而调整药物的负载量^[3, 10, 11]。

总之, LDH 作为一种典型的二维层状纳米材料, 由

于其具有优异的生物相容性、较大的荷载量、表面化学修饰性等特点受到国内外研究者的广泛关注, 尤其是在肿瘤的诊疗领域取得了较多的进展。基于此, 本文总结了近 5 年来 LDH 基纳米平台在肿瘤诊断及治疗方向的研究进展, 最后讨论了其临床转化方面仍然存在的问题与未来发展策略。希望本综述能够引起研究者对 LDH 基纳米平台用于肿瘤诊疗的更广泛兴趣。

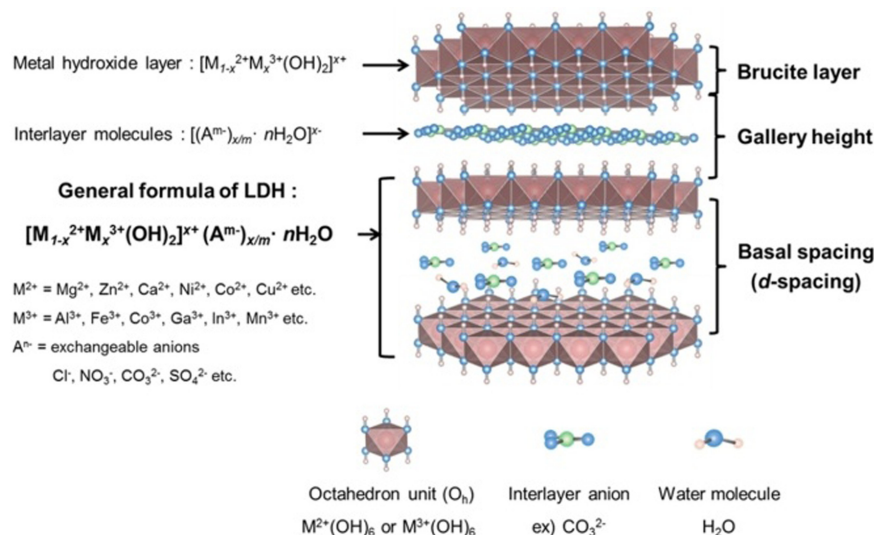


图 2 LDH 晶体结构示意图^[11]

Fig. 2 Schematic of the crystal structure of LDH^[11]

2 层状双金属氢氧化物 (LDH) 基纳米平台的合成及其功能化修饰

2.1 LDH 基纳米平台的合成

目前报道的 LDH 纳米平台的合成方法主要包括: ① 共沉淀法、② 水热法、③ 离子交换法、④ 煅烧-重构法、⑤ 剥离-重组法^[3, 12]。共沉淀法是制备杂化纳米平台最有效、最便捷的途径, 该方法成本低、操作简单, 不需要任何专业设备, 有利于批量生产。与共沉淀法相比, 水热法最大的优点是提高了 LDH 的结晶度和纯度。通过调节反应温度和反应压力, 可以得到尺寸和形状可控的 LDH 纳米颗粒。离子交换法也常用于制备功能化 LDH 纳米平台, 这种方法是共沉淀法的替代方法, 特别是当目标阴离子在高 pH 值环境下不稳定, 或客体分子与金属离子之间存在潜在的相互作用时。在阴离子交换过程中, 已形成的 LDH 被加入到含有目标阴离子的溶液中, 然后将混合溶液在室温或 50~70 °C 下搅拌数小时。在搅拌过程中, 原存在于 LDH 层间的阴离子逐渐被目标阴离子所取代^[12]。煅烧-重构法和剥离-重组法可以

作为一种替代策略用于制备部分功能化 LDH 纳米制剂, 但是产物纯度有待提高。

2.2 LDH 基纳米平台的功能化修饰

近年来, LDH 在肿瘤诊疗领域取得较多进展, 而通过对 LDH 纳米颗粒进行修饰以赋予其特殊性能也备受青睐, 因此, 越来越多的 LDH 基纳米平台被报道。对于 LDH 基纳米平台的功能化修饰, 根据其结构及组成主要分为以下 4 种: ① 非共价键实现功能化修饰; ② 共价键修饰实现功能化; ③ 金属离子掺杂或者替代; ④ 与其他纳米材料复合形成纳米复合材料(图 3)。

2.2.1 通过非共价键功能化修饰制备 LDH 基纳米平台

根据 LDH 的性质, 很容易在 LDH 表面或者层间通过氢键或静电相互作用修饰生物活性分子, 合成有机-无机杂化纳米制剂。在早期的研究中, Choy 团队首先通过非共价键作用(主要是静电相互作用)在 LDH 层间成功插入氨甲喋呤 (MTX)、5-氟尿嘧啶等小分子抗癌药物, 随后维生素、抗炎药物、核苷酸等生物活性分子也被成功插入到 LDH 层间^[3, 13]。由于细胞对纳米材料的选择性行为, 形成的有机-无机杂化 LDH 基纳米制剂既能够更好

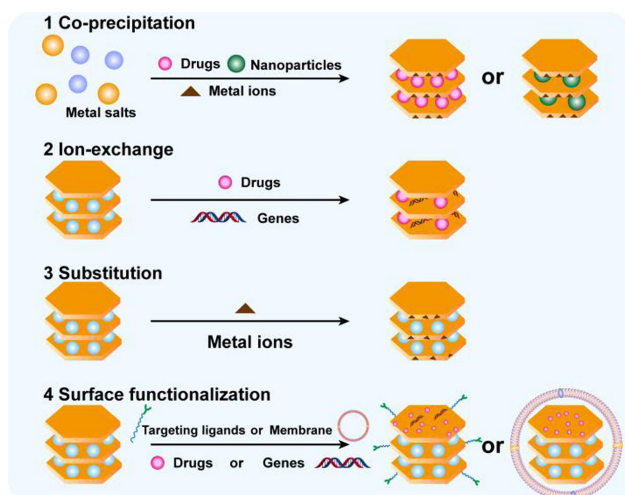


图3 LDH基纳米平台的功能化修饰

Fig. 3 Functionalization of LDH-based nanoplatform

地发挥其生物活性分子的作用。

随着纳米技术的发展,一些新的功能化方法被开发出来,例如利用挤压法在纳米平台表面包覆一层细胞膜,开发出来的具有仿生功能的纳米制剂既避免被巨噬细胞吞噬,又具有由表面受体配体介导的相互识别作用,赋予纳米制剂同源靶向功能,使纳米药物能够最大限度地聚集到病灶部位^[14-16]。Xu 团队报道了一种由小鼠结肠癌细胞膜包覆的负载吲哚菁绿(ICG)和多西紫杉醇的 MgAl-LDH 纳米复合物,体内实验结果显示,合成的纳米复合物具有较好的同源靶向能力及免疫逃逸能力,能够显著增强纳米复合物的治疗效果^[17]。

2.2.2 通过共价键功能化修饰制备 LDH 基纳米平台

LDH 主体层板表面含有大量羟基,可以与硅烷偶联剂反应,进一步通过共价键修饰功能分子,从而提高 LDH 基纳米制剂的靶向性、稳定性和生物相容性^[18-20]。例如,作者团队 Zhang 等报道了在 LDH 表面首先修饰三乙氧基硅烷,进一步通过 1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)-碳二亚胺和 N-羟基琥珀酰亚胺偶联反应成功将靶向分子透明质酸(hyaluronic acid, HA)共价连接在 LDH 表面^[21]。

2.2.3 通过掺杂/替换金属离子制备新型 LDH 基纳米平台

LDH 基纳米平台早期仅作为载体,且大多以 MgAl-LDH 为主。随着纳米技术的发展,更多金属物质的物理化学性质被报道,如光效应、热效应等。肿瘤生物学研究进展也表明,金属离子广泛参与肿瘤的生长过程,并且在肿瘤的多种生命活动中起到非常重要的调节作用。基于此,越来越多的新型 LDH 基纳米平台被报道,其合成方式主要通过在 2 种金属盐离子中掺杂另外一种或者多种金属离子,或者使用一种金属离子完全替代另一种

金属离子。例如近年来 CDT 在肿瘤治疗中得到广泛关注,而开发能够高效催化芬顿或类芬顿反应的纳米制剂是提高 CDT 效果的重要策略。LDH 无机纳米材料在催化领域已有较多应用,Wei 等开发了 CuFe-LDH^[22]、CoFe-LDH^[23]、CoMn-LDH^[24]、CoFeMn-LDH^[25] 等多种 LDH 基纳米平台用于肿瘤的 CDT,并表现出较好的抗肿瘤效果。

2.2.4 LDH 与其他纳米材料杂化形成纳米复合材料

由 LDH 与另外一种或者多种纳米材料组成的纳米复合材料可以结合多种纳米材料的优点,在肿瘤的诊断及治疗中有极大的研究价值。例如,作者团队 Zhang 等通过共沉淀法利用 LDH 稳定超小四氧化三铁(Fe_3O_4)纳米颗粒,随后修饰透明质酸,体内实验结果显示,合成的 LDH- Fe_3O_4 -HA 的 r_1 弛豫率是单独 Fe_3O_4 的 10 倍($4.38 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ vs. $0.42 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)^[21]。此外,石墨烯量子点(graphene quantum dots, GQDs)优越的光学性能可使其用于肿瘤诊断,但其靶向及载药能力较差,Wang 等利用共沉淀方法合成 LDH 稳定的硫掺杂石墨烯量子点(SGQDs),并负载化疗药物依托泊苷(VP16),结果显示,合成的纳米复合材料 LDH@SGQD-VP16 能够很好地实现药物递送及实时荧光成像^[26]。

3 LDH 基纳米平台在肿瘤诊疗中的应用

LDH 用于肿瘤的诊疗具有如下优势:① 优异的生物相容性,在现有报道中,常见的 MgAl-LDH 在较高浓度下仍然具有良好的细胞相容性。此外,由于肿瘤组织具有较高的过氧化氢(H_2O_2)含量,含有 Cu, Mn, Fe 等元素的 LDH 在肿瘤细胞内发生芬顿或类芬顿反应,产生活性羟基自由基,从而对肿瘤细胞具有特异性杀伤效果而对正常细胞杀伤性小。LDH 在血液循环及肿瘤部位的渗透情况及肿瘤细胞的吞噬与其粒径大小是相关的,LDH 粒径大小对其生物相容性的影响仍需进一步研究^[27-29]。此外,由于肿瘤微环境呈弱酸性,LDH 基纳米平台在发挥成像或者治疗作用之后,可被降解成低毒性离子排出体外,减少纳米材料在体内长期积累所造成的危害。② 表面多功能化学修饰性,可表面修饰功能分子,赋予 LDH 不同的功能。③ 较大的荷载量,可以通过离子交换、共沉淀等多种方法负载大量功能分子或与其他纳米体系复合等^[30, 31]。所有这些性质使 LDH 基纳米平台在肿瘤诊疗中具有较大的应用前景(图 4)。

3.1 LDH 基纳米平台用于肿瘤的诊断

多种癌症早期症状不明显,确诊时大多已处于晚期,严重影响治疗效果。因此,肿瘤的早发现早治疗是治愈的关键。具有高分辨率和高灵敏度的成像技术有助于疾

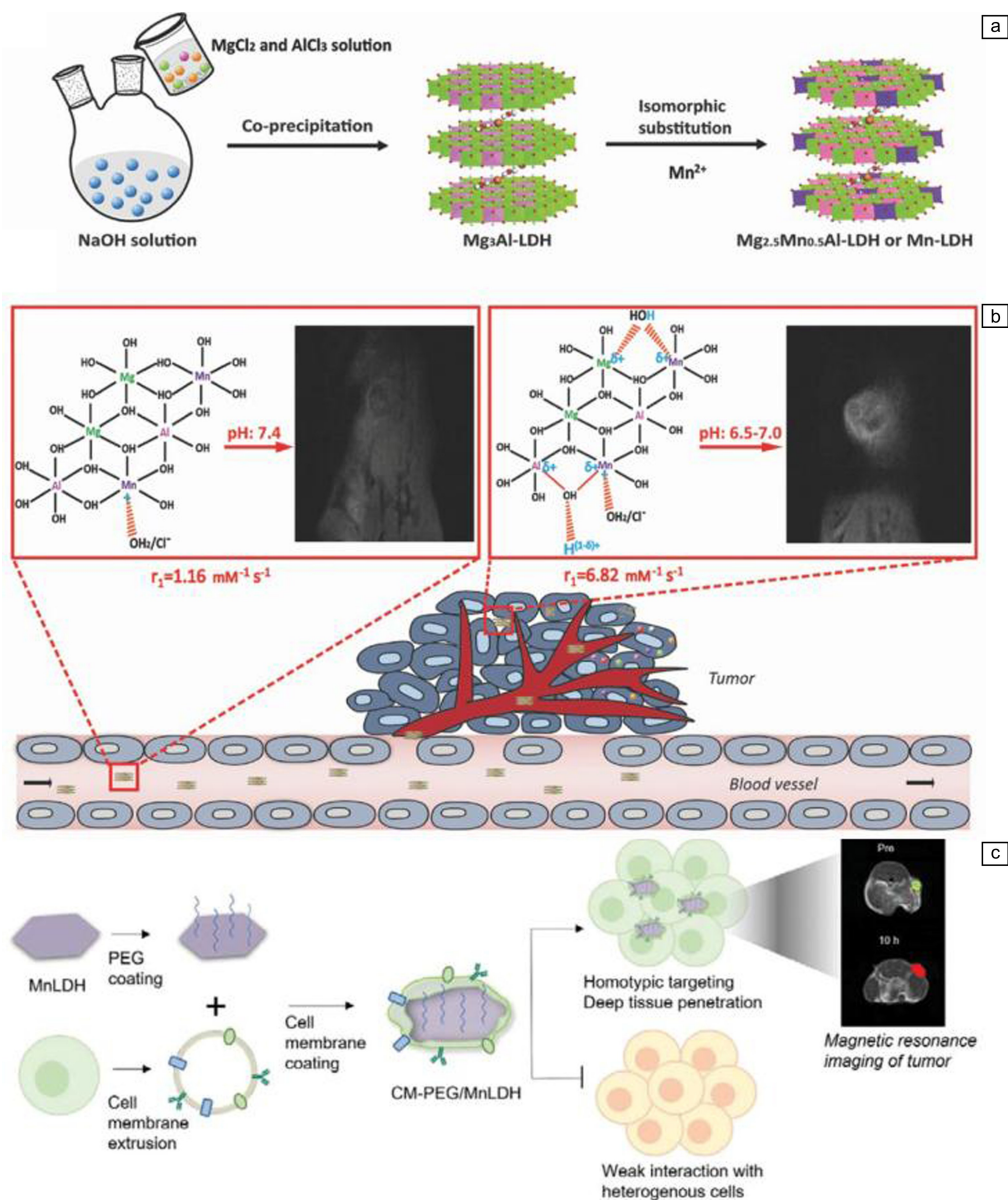


图 4 Mn-LDH 的合成过程(a), Mn-LDH 纳米粒子的结构相关多功能特性的示意图(b)^[38]; CM-PEG/MnLDH 纳米粒子的合成、细胞相互作用和磁共振(MR)成像应用示意图(c)^[39]

Fig. 4 Schematic illustration of synthetic procedure(a) and structure related to multifunctional properties of Mn-LDH nanoparticles(b)^[38]; (c) schematic illustration of synthesis, cell interaction, and MR imaging application of CM-PEG/MnLDH nanoparticles^[39]

病的检测和对其生理现象的理解,以及治疗后的监测等。目前,LDH 与多种成像方式如光学成像、磁共振(magnetic resonance, MR)成像、计算机断层扫描(computed tomography, CT)成像、正电子发射断层扫描(positron emission tomography, PET)成像、单光子发射计算机断层扫描(single-photon emission computed tomography, SPECT)成像以及多模态成像等结合已被研究报道。结果显示,LDH 基造影剂能够克服传统成像方式存在的一些缺点,如成像时间短、分辨率低、小分子造影剂血液循环时间短、特异性差等^[32-35]。

3.1.1 LDH 纳米平台用于肿瘤的荧光成像

荧光成像是一种分子成像工具,虽然存在一些限制,如光散射、空间分辨率低、穿透深度低等,但由于其高灵敏度和实时成像特征,在体外和体内系统中被广泛探索^[32]。目前已有较多荧光分子如罗丹明 B、盐酸阿霉素(DOX)、异硫氰酸荧光素(FITC)、荧光量子点等通过静电相互作用或共价键负载到 LDH 纳米平台用于体外或体内荧光成像^[12, 27, 36]。前面提到的 Wang 等报道的纳米复合材料 LDH@SGQD-VP16 能够很好地实现体外、体内实时荧光成像^[26]。此外, Liu 等通过柠檬酸与尿素的层间

缩合反应,在LDH的层间区域内合成了超薄氮化碳(CN)。得到的CN/LDH荧光粉在紫外光照射下发出强的青色光,绝对固态量子产率为95.9%,它受温度、环境pH值和光腐蚀影响较小,具有较强的发光稳定性。实验研究和理论计算都表明,刚性LDH基体和层间氮化碳之间的主-客体相互作用对其较高的绝对固态量子产率和稳定性做出了主要贡献。此外,该材料在肿瘤细胞上转换荧光成像方面也有良好的应用前景^[37]。

3.1.2 LDH基纳米平台用于肿瘤的磁共振(MR)成像

在各种分子影像技术中,MR成像是一种不可缺少的医学诊断方法,可用于获得人体组织的实时3D图像,具有良好的空间和时间分辨率以及良好的软组织对比度。临床上使用的造影剂多为基于Gd螯合物的小分子造影剂,存在生物安全性差、血液循环时间短、无法靶向癌细胞等问题。Xu等通过同构取代法用 Mn^{2+} 金属离子取代 $Mg_3Al-LDH$ 中的部分 Mg^{2+} ,开发了一种新型 $MnMg-LDH$ 纳米平台,可用于肿瘤的 T_1 -MR造影^[38]。实验结果显示,合成的 $MnMg-LDH$ 纳米平台在pH值为6.5~7.0的弱酸性环境(即肿瘤微环境范围)显示出较高的pH敏感 T_1 弛豫性。在pH值为5.0~7.0时表现出极佳的 r_1 弛豫率(pH=5.0时为 $9.48\text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$,pH=7.0时为 $6.82\text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$,pH=7.4时为 $1.16\text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)(图4a和4b)。体内实验显示,静脉注射BSA/ $Mn-LDH$ 纳米颗粒1h后,肿瘤区域明显可见 T_1 增强信号,并持续增强24h,这可能与纳米材料增强的渗透和滞留效应(enhanced permeability and retention, EPR)有关。更有趣的是,MR信号能够在肿瘤组织中保持长达72h,比基于Gd的造影剂成像时间(小于2h)长30多倍。BSA/ $Mn-LDH$ 的这种延长的MR成像时间表明,基于LDH的造影剂在跟踪体内疾病治疗中具有广阔的应用前景。

为了增加纳米粒子在生物靶点上的积累,从而进一步增强成像信号,Cu等开发了一种肿瘤细胞衍生膜包覆二维层状双氢氧化物纳米颗粒(CM-PEG/ $MnLDH$)(图4c)。结果显示,包覆4T1乳腺癌细胞膜的仿生CM-PEG/ $MnLDH$ 表现出良好的细胞特异性靶向能力,在同源癌细胞中的吞噬量明显高于非同源癌细胞。在三维肿瘤细胞球实验中,CM-PEG/ $MnLDH$ 表现出高度选择性和深层组织渗透能力。体内成像显示,在4T1小鼠模型中,静脉注射CM-PEG/ $MnLDH$ 可提供清晰的肿瘤组织MR图像。由于仿生纳米颗粒的同源靶向和组织穿透能力,CM-PEG/ $MnLDH$ 在肿瘤中心区域表现出增强的成像性能。体内生物安全性评价表明,CM-PEG/ $MnLDH$ 具有较好的生物相容性,适合进一步拓展其临床应用。这种具有细胞特异性靶向能力和深层组织穿透能力的仿生CM-

PEG/ $MnLDH$ 纳米颗粒是一种非常有前景的MR造影剂,可用于癌症的精确诊断^[39]。

3.1.3 LDH纳米平台用于肿瘤的核医学成像

近些年发展的SPECT、PET技术具有很高的灵敏度、极好的组织穿透能力、精确的定量化检测能力。放射性核素(如 ^{67}Ga 、 ^{64}Cu 、 ^{68}Ga 、 ^{44}Sc 和 ^{89}Zr)可用于核医学成像。单独的放射性核素缺乏靶向特异性,为了稳定地标记放射性核素,通常需要某些螯合剂的配合。然而,由于每个放射性的核素独特性,根据特定的配位化学选择最佳的螯合剂和最佳的标记条件成为一道难题。相反,无需螯合剂稳定,利用无机纳米颗粒自身成分改变替代放射性核素与螯合剂配位的策略,被认为是用于PET成像的理想标记方法^[40-42]。Shi等^[43]发现可以用 $^{64}\text{Cu}^{2+}$ 和 $^{44}\text{Sc}^{3+}$ 标记LDH纳米颗粒,并且该纳米体系具有良好的核素标记效率和稳定性,而四价阳离子 $^{89}\text{Zr}^{4+}$ 由于不符合LDH晶体结构,不能标记LDH纳米颗粒。随后该研究团队首次利用 $^{64}\text{Cu-LDH-BSA}$ 进行了体内PET成像,以研究核素标记的LDH纳米颗粒在体内的生物分布。成像结果显示,在乳腺癌皮下瘤模型中仅通过被动靶向作用,肿瘤组织就对 $^{64}\text{Cu-LDH-BSA}$ 纳米复合物具有快速和持续的摄取效果($7.7\% \pm 0.1\%$,注射16h后)。因此,LDH为多用途的放射性核素标记提供了一个新的方法,可以作为PET成像和药物传递的通用平台。虽然LDH用于核医学成像有较多优势,然而这一方向的研究报道仍然较少,需要更进一步探索。

3.1.4 LDH纳米平台用于肿瘤的多模态成像

多模态成像能够协同多种成像模式的优点,以弥补单一成像模式的缺点。为了获得高精度的图像用于肿瘤的早期诊断和有效治疗,开发具有多模态成像能力的纳米造影剂引起了人们的极大兴趣^[44-46]。Wang等将MR造影剂Gd掺杂 $MgAl-LDH$ 与计算机断层扫描(CT)造影剂金纳米颗粒相结合,形成纳米复合材料Au-Gd-LDH,可同时作为CT和MR的双重造影剂。研究发现,该纳米复合材料的体外CT和 T_1 加权MR成像能力优于商用MR和CT造影剂,并具有良好的体内CT和 T_1 加权MR成像性能。经肝素修饰后,经过尾静脉向荷瘤鼠体内注射该纳米复合物,结果显示,其在肿瘤部位具有良好的CT和MR成像效果。此外,注射高剂量纳米复合材料后,小鼠无明显的组织、器官损伤^[47]。

3.2 LDH基纳米平台用于肿瘤治疗

纳米技术的发展为肿瘤的治疗提供了许多变革性手段,一方面,纳米制剂能够克服传统治疗手段的一些缺点,提高治疗效果;另一方面,由于纳米材料的独特性质,纳米颗粒已经从早期的单纯作为载体,转变成作为

多种功能的成分,在传统治疗及一些新的治疗方式中展现出巨大的应用前景^[48]。下面简单介绍 LDH 基纳米平台在肿瘤治疗中的最新进展。

3.2.1 LDH 用于肿瘤化疗

化疗作为一种全身性的治疗方式,仍然是肿瘤治疗的重要手段,然而传统的化疗方式存在药物副作用大、水溶性差、特异性差等缺点。近年来,研究者采用 LDH 作为载体负载化疗药物,开发出了许多同时具有靶向性和响应性的纳米平台,在提高化疗效果、减小副作用、减小患者对化疗药物的抗性等方面具有重要应用前景^[49-51]。作者团队 Li 等为探索增强化疗药物效果的策略,开发了一种透明质酸酶修饰的 LDH 纳米平台。结果显示,在负载药物后,该纳米制剂 DOX/LDH-HAase 在皮下瘤模型中能够降解肿瘤微环境中的透明质酸,从而促进药物的渗透,增强药物的化疗效果^[36]。

3.2.2 LDH 用于肿瘤化学动力学治疗

CDT 是一种对肿瘤特异性和选择性高、毒副作用小的新型肿瘤治疗方式,但其治疗效果严重依赖内源性 H_2O_2 水平。较低的 H_2O_2 水平导致肿瘤部位的芬顿或类芬顿反应效率较低^[29, 52]。由于 LDH 的独特金属组成,各种新型 LDH 基纳米平台被开发出来,在 CDT 中具有极大优势。例如,Guo 等通过构建二维片状纳米催化剂来介导催化级联反应,开发了一种自备 H_2O_2 增强 CDT 策略。他们将光敏剂(photosensitizers, PSs)吡咯菁绿(ICG)和芬顿反应催化剂 Fe^{2+} 离子集成到二维超薄 LDH 纳米颗粒中。在近红外(near infrared, NIR)光照射下,ICG 不仅产生单线态氧(1O_2)损伤肿瘤细胞,还产生超氧自由基($\cdot O_2$),进而与细胞内超氧化物歧化酶(SOD)反应转化为 H_2O_2 。纳米催化剂释放的 Fe^{2+} 催化大量的原位自供 H_2O_2 与内源性 H_2O_2 ,从而产生大量具有细胞毒性的 $\cdot OH$,引发肿瘤细胞凋亡和死亡。体外和体内评估结果显示,级联纳米催化剂介导的 CDT 具有较高的肿瘤治疗效果^[53]。

3.2.3 LDH 用于肿瘤光热治疗(PTT)

PTT 是利用光热剂将 NIR 光转化为局部热量,实现热驱动肿瘤消融。由于其低侵入性、高区域选择性和低毒性,在过去的 10 年来受到了较多关注。以往对 PTT 的研究主要采用 NIR-I 区(NIR-I; 700~1000 nm)的激光器作为照射源。与 NIR-I 型 PTT 相比, NIR-II 型窗口(1000~1350 nm)具有更深的穿透效果和更高的最大允许照射量。Wang 等报道了一种协同 CDT 和 NIR-II PTT 以消融肿瘤的高效纳米剂。使用超薄 $CuFe-LDH$ 纳米材料经简单水热硫化法制备了超薄二维 $CuFe_2S_3$ 纳米材料,经聚乙二醇(PEG)改性后的 $CuFe_2S_3-PEG$ 在 1064 nm 波长激

光照射下表现出较好的 NIR-II 吸收和优良的光热转换效率($\sim 55.86\%$)。体外和体内实验结果表明, $CuFe_2S_3-PEG$ 具有显著的协同 CDT/PTT 抗肿瘤活性(图 5a)^[54]。此外, Wu 等通过对 $CoCuFe-LDH$ 纳米薄片(nano sheets, NSs)进行拓扑转化,然后用聚乙烯吡咯烷酮(polyvinyl pyrrolidone, PVP)和 L-精氨酸(L-Arg)进行表面改性,制备了一种超薄的负载铜的硒化物 $CoCuFe-selenide$ (CCFS)(图 5b)。通过进一步表面修饰所合成的纳米复合物 CCFS-PVP-L-Arg(CPA)显示出良好的 PTT 和气体治疗(gas therapy, GT)协同治疗效果。结果表明, CPA 纳米复合材料具有出色的光热转换效率,分别为 72.0% (pH=7.4)和 81.0% (pH=5.4),是目前报道的二维硫系纳米材料中光热转换效率最高的。体内研究显示, CPA 纳米复合材料在 NIR 照射下可完全消除肿瘤^[55]。

3.2.4 LDH 用于肿瘤基因治疗

基因治疗是对基因相关疾病(如癌症、神经退行性疾病和某些传染病)的一种有前景的治疗方法,是指使用带有治疗功能的带负电的核酸分子实现治疗效果,功能性核酸分子包括 DNA、siRNA、短发夹 RNA(shRNA)和 microRNA(miRNA)^[12]。早期 Choy 团队利用 $MgAl-LDH$ 杂交体通过离子交换负载 DNA,开始了将 LDH 作为生物相容性载体进行有效基因传递的研究^[11]。DNA 分子稳定在 LDH 层间能够保持其化学和生物完整性,减少 DNA 在生理环境中的降解。随后部分 LDH 基纳米平台负载 siRNA 用于肿瘤治疗的工作被报道。Li 等利用 LDH 通过离子交换法将 5 氟尿嘧啶(5-FU)插入 LDH 层间,然后利用静电相互作用在表面负载 siRNA,合成 siRNA-5-FU/LDH 纳米复合物,用于肿瘤的化疗/基因联合治疗。实验结果显示,与利用 LDH 单独负载 siRNA 或 5-FU 相比, siRNA-5-FU/LDH 纳米复合物可以显著提高对人乳腺癌、骨肉瘤和人结肠癌 3 种细胞系的细胞毒性^[56]。另外, Yang 等开发了负载 microRNA-155(miR155)的 $MgAl-LDH$ 纳米复合物 LDH@155,结果显示,纳米复合物 LDH@155 能够将致瘤 M2 亚型巨噬细胞极化为抗肿瘤 M1 亚型,克服免疫抑制的肿瘤微环境,提高 T 细胞浸润和活化,从而提高程序性细胞死亡-1(α -PD-1)抗体免疫治疗的治疗效率(图 5c)^[57]。

3.2.5 LDH 用于肿瘤光动力治疗

光动力治疗(PDT)因其时空精度高、副作用小和微创性而被证明是有前景的癌症治疗方法之一。PDT 一般是通过 PSs 吸收光线,激发产生有毒的活性氧(ROS),包括 $\cdot OH$ 、 $\cdot O_2$ 和 1O_2 。已报道的有机 PSs 大多不溶于水、易聚集,限制了活性氧的生成。与其它纳米载体负载有机小分子化疗药物类似,在纳米载体上通过物理作

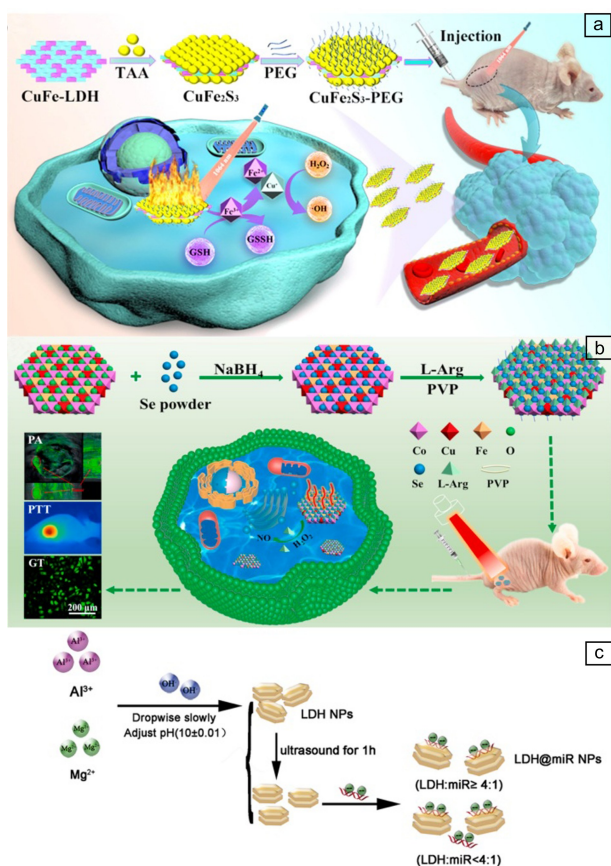


图5 用于高效 CDT/PTT 的 CuFe_2S_3 -PEG 纳米片的制备示意图 (a)^[54], 用于光声 (photoacoustic, PA) 成像引导协同 PTT/GT 的 CPA 纳米复合材料的制备示意图 (b)^[55], LDH @ miR155 合成示意图 (c)^[57]

Fig. 5 Schematic illustration of the preparation of CuFe_2S_3 -PEG NSs for efficient CDT/PTT (a)^[54], a schematic illustration of the preparation of the CPA nanocomposite for PA image-guided synergistic PTT/GT (b)^[55], a schematic representation of LDH @ miR155 preparation (c)^[57]

用或共价键修饰等方式负载 PSs 可以增加其水溶性并提高其稳定性, 从而提高其生物利用度, 提高治疗效果^[58-60]。Jo 等报道了不经化学修饰的简单增溶疏水光敏剂二氢卟吩 (chlorin e6, Ce6) 的方法, 即通过单层 LDH (MLH) 与疏水光敏剂之间的静电相互作用来增加其水溶性, 用于 PDT, 显示出巨大的治疗优势。结果显示, 在荷瘤小鼠中, 可溶性 MLH/Ce6 的 PDT 治疗肿瘤的效果约为单独注射 Ce6 的 3.4 倍^[58]。另外, Gao 等在 ZnAl-LDH 纳米片层间插入疏水光敏剂间苯二甲酸 (isophthalic acid, IPA) 以增加其水溶性。相比于单独的光敏剂间苯二甲酸, 合成的纳米复合物 IPA/LDH 表现出较高的 $^1\text{O}_2$ 产率, 在体内表现出极强的消融肿瘤的能力, 而且毒性极低^[61]。除了通过物理相互作用将光敏剂负载在 LDH 上

增加其水溶性, Yan 等报道了利用硅烷偶联剂在 LDH 表面共价修饰 Ce6 以增加其水溶性及光稳定性, 然后负载 Ag 纳米颗粒, 用于光动力-化疗联合治疗的研究。结果显示, 合成的纳米复合物能够有效地杀死革兰氏阴性菌及革兰氏阳性菌, 值得注意的是, 该工作尚未用于肿瘤光动力治疗^[62]。

除此之外, 相对于已被广泛研究的有机 PSs, 无机纳米材料作为 NIR PSs, 具有优良的光学稳定性、易在肿瘤部位堆积等优势, 因此备受关注。例如 Au 纳米笼、石墨烯量子点、铜/锰硅酸盐纳米球包覆钨系掺杂纳米颗粒、BiAgOS 纳米颗粒等, 已被报道作为高效 NIR-I PSs^[63, 64]。此外, 包括 $\text{Cu}_2(\text{OH})\text{PO}_4$ 量子点、金纳米粒子和银掺杂 $\text{Au/CdSe}_x\text{S}_y$ 在内的几种无机纳米材料也被开发为 NIR-II PSs。然而, 这些已报道的适用于 NIR-II 的 PSs 产生 ROS 的效率较低, 极大地限制了其在肿瘤治疗方面的进一步应用。值得指出的是, NIR-III 窗口 (1350~1870 nm) 比 NIR-I 和 NIR-II 窗口的光具有更大的最大允许曝光和更好的穿透深度, 更有望作为 PDT 光源^[65]。Tan 等报道了简单酸处理的超薄二维 CoMo-LDH 和 NiMo-LDH 纳米片作为 NIR-III 光动力癌症治疗的高活性无机 PSs (图 6a)。具体来说, 通过水热法合成超薄二维 CoMo-LDH 和 NiMo-LDH 纳米片, 然后通过简单酸处理蚀刻得到缺陷丰富、电子结构也会发生变化的 CoMo-LDH 和 NiMo-LDH 纳米片。值得注意的是, 作为 PSs 使用时, 富含缺陷的 CoMo-LDH (简称 DR- CoMo-LDH) 纳米片在 NIR-III 1567 nm 激光照射下能够产生大量活性氧 (包括 $\cdot\text{O}_2$ 和 $^1\text{O}_2$), 其活性是原始 CoMo-LDH 纳米片的 97 倍。体外和体内实验表明, 经过 PEG 修饰后, DR- CoMo-LDH 纳米片在 1567 nm 激光照射下能够高效杀灭癌细胞, 消除肿瘤。该纳米制剂成分简单, 仅利用富含缺陷的 CoMo-LDH 纳米片自身作为 PSs 即可获得较好的抗肿瘤效果, 具有较大的临床转化潜力^[65]。

3.2.6 LDH 用于肿瘤免疫治疗

近年来, 通过激活患者自身的免疫系统, 增强患者自身的抗肿瘤免疫能力从而杀死肿瘤细胞的免疫疗法在临床治疗中展示出巨大潜力, 并且越来越多的免疫治疗药物已被批准用于临床治疗。LDH 纳米颗粒不仅被认为是一种很好的疫苗载体, 更是一种良好的免疫佐剂, 表现出较大的应用潜力^[30, 66]。

细胞对纳米颗粒的摄取与纳米颗粒的大小、形状、表面电荷、靶向配体等密切相关^[67]。Williams 等通过合成不同特点的 LDH, 在体外实验中得出人类树突细胞对 LDH 的反应与 LDH 以下 3 种特性的线性组合高度相关: M^{2+} 金属离子半径、层间间距和表面电势^[68]。Chen 等提

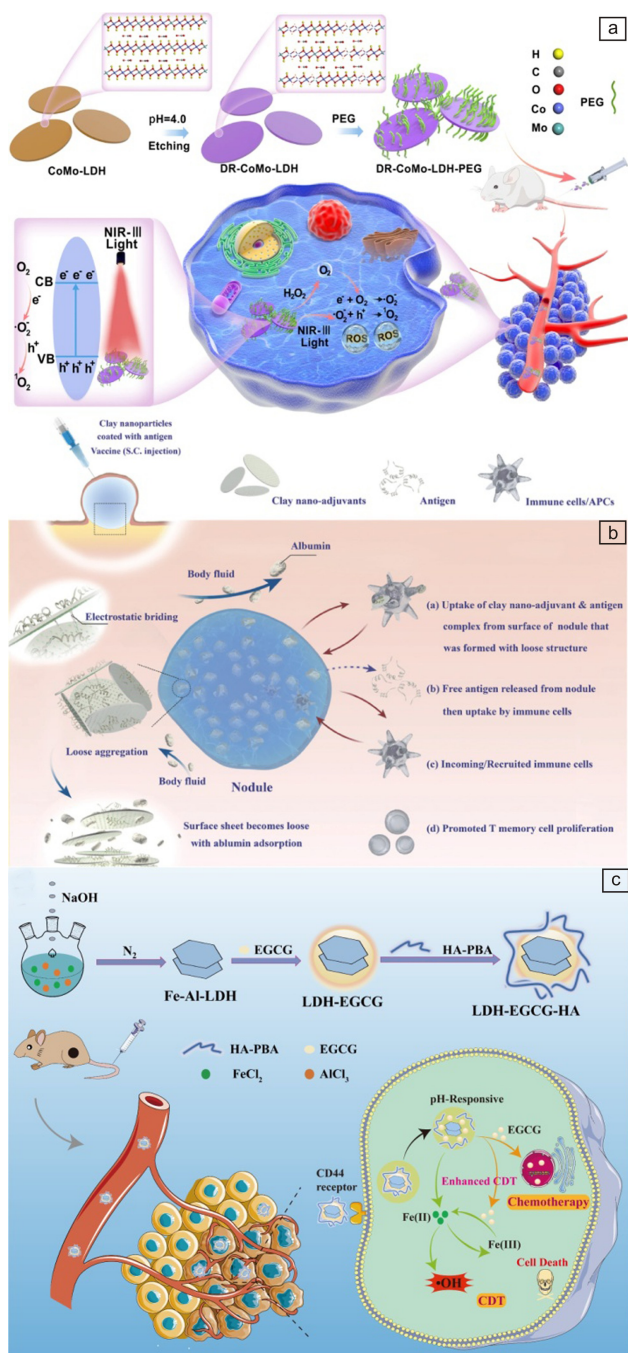


图 6 富含结构缺陷的 CoMo-LDH 纳米片表面修饰聚乙二醇 (PEG) 及其在 NIR-III PDT 中的应用示意图 (a)^[65], 粘土纳米佐剂与抗原复合物可在注射部位形成结构疏松的聚集体 (b)^[66], LDH-EGCG-HA 纳米平台的合成及协同化疗-CDT 示意图 (c)^[76]

Fig. 6 Schematic illustration of the defect engineering of CoMo-LDH nanosheets, surface modification with PEG and its application in NIR-III PDT (a)^[65], clay nanoadjuvants complexed with antigen are able to form nodules with loose structure at the site of injection (b)^[66], schematic illustration of the synthesis of LDH-EGCG-HA nanoplatforms and the process of the cooperative chemo-chemodynamic therapy (c)^[76]

了一种贮藏效应来解释 LDH 引起的长期免疫反应 (图 6b)。由于 LDH 的缓慢降解, 将形成松散的聚集体, 并能长期稳定存在。缓慢的降解可使抗原持续释放。此外, 松散聚集体中的空缺允许免疫细胞进入并吸收释放的抗原。因此, 免疫细胞 (如树突细胞) 不断被招募到储存仓库并被激活, 随后维持高水平的特异性免疫反应。由于生物降解和细胞摄取缓慢, 这种松散的聚集物能够维持 2 个月左右, 与商业佐剂明矾相比, 其免疫反应的时间更长, 炎症反应更弱^[66]。进一步的研究显示, LDH 可以上调某些细胞因子水平以促进免疫应答^[69]。并且, 在血液循环和脾脏中, 活化的树突细胞倾向于在注射部位与邻近的未成熟树突细胞交换内化的 LDH 纳米颗粒。这种 LDH 的细胞内转运现象会加速树突细胞 (抗原表位/MHC II 类呈递) 和抗原表位/MHC I 类复合体 (交叉呈递) 的成熟, 从而增强免疫反应^[70]。以上这些研究表明, LDH 纳米颗粒在肿瘤免疫治疗尤其是疫苗递送领域具有广阔的应用前景。

3.2.7 LDH 用于肿瘤联合治疗

不同于单独的某一种治疗手段, LDH 基纳米平台在药物与药物、基因与药物、药物与动力学治疗、药物与 PTT 等联合治疗策略中被广泛研究^[71-75]。相比于单独的治疗方式, 联合治疗能够充分结合肿瘤的生理特点及纳米材料的特点, 从而提高治疗效果且减小副作用。例如, 作者团队 Zhang 等针对单独的 CDT 效果有限这一问题, 合成了铁铝层状双金属氢氧化物纳米颗粒 (FeAl-LDH), 在其上负载抗癌药物没食子儿茶素-3-o-没食子酸酯 (EGCG), 然后与硼酸修饰的透明质酸结合, 进行化疗与 CDT 协同治疗 (图 6c)。形成的 LDH-EGCG-HA 纳米平台可以特异性靶向过表达 CD44 受体的肿瘤细胞, 在肿瘤微环境中快速释放铁离子和 EGCG, 并通过 EGCG 加速 $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ 循环, 增加芬顿反应中生成的羟基自由基的量, 进一步引起脂质过氧化物增加, 增强肿瘤铁死亡, 实现化疗和 CDT 协同治疗的效果。体内实验进一步验证了设计的 LDH-EGCG-HA 纳米平台对正常器官无明显毒副作用^[76]。

另外, Xu 等报告了一种三功能 LDH 纳米系统, 可在极低的治疗剂量下联合 PTT/化疗治疗皮肤癌。该纳米体系 (ICG/Cu-LDH@BSA-DOX) 由酸响应性牛血清白蛋白-阿霉素前药 (BSA-DOX) 和卟啉菁绿 (ICG) 插层铜掺杂 LDH 纳米颗粒组成。ICG/Cu-LDH@BSA-DOX 能以酸敏感的方式释放 DOX, 在 808 nm 激光照射下能够高效发热同时产生 ROS, 协同诱导癌细胞凋亡。体内治疗评估表明, 在 808 nm 激光照射 ($0.3 \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$ 持续 2 min) 下, 使用极低剂量的治疗剂 ($0.175 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ DOX、 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$

Cu 和 $0.25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ICG) 进行治疗, 几乎可以根除肿瘤组织。该研究为纳米制剂的临床应用提供了一种新型策略^[77]。

3.3 LDH 基纳米平台用于肿瘤的诊疗一体化

近年来, 具有诊疗功能的纳米材料能够将成像和治疗结合在一起, 因而受到广泛关注。虽然非侵入性可视化监测的诊断和同步给药具有很高的挑战性, 但对于癌症等严重疾病具有重要的临床转化意义。LDH 具有高载药量、能够保护荷载以及高响应性等特性, 被广泛用于诊疗一体化纳米平台的构建^[78-80]。Peng 等^[81]采用“自下而上”的方法合成 Gd 掺杂的 LDH 纳米片 (Gd-LDH) 作为药物载体, 以超高的装载效率装载 DOX 和 ICG, 合成了 DOX&ICG/MLDH 纳米复合物, 实现了集化疗、PTT 和 PDT 于一体的三模式联合治疗策略 (图 7a)。结果显示, 制备的 DOX&ICG/MLDH 纳米复合物能够实现 pH 和 NIR 光响应性药物释放, 并产生大量 ROS, 在响应性药物释放方面具有良好的应用前景。体内 NIR 荧光和 MR 双模

态成像能够无创地显示 DOX&ICG/MLDH 在肿瘤部位的分布概况 (图 7b)。体外细胞实验和体内治疗实验表明, DOX&ICG/MLDH 纳米复合物的协同治疗效果优于单一治疗模式, 显示出较强的肿瘤消除能力, 具有良好的三模式协同抗癌活性和良好的生物相容性 (图 7c)。此外, 作者团队 Zhang 等开发了一种靶向性纳米平台 LDH- Fe_3O_4 -HA/DOX, 用于增强 T_1 加权 MR 成像和肿瘤化疗。结果显示, 合成的 LDH- Fe_3O_4 -HA 具有良好的胶体稳定性和生物相容性, 与单独 Fe_3O_4 NPs 相比, r_1 弛豫性提高了 10 倍 ($4.38 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ vs. $0.42 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$), 对过表达 CD44 受体的癌细胞具有特异性靶向作用。LDH- Fe_3O_4 -HA/DOX 表现出 pH 响应性释放 DOX 的性能。体内实验结果显示, 利用透明质酸酶对肿瘤组织进行预处理, 降解细胞外基质中过表达的透明质酸后, LDH- Fe_3O_4 -HA/DOX 具有更好的肿瘤穿透性, 可显著增强 MR 成像效果, 降低肿瘤化疗的副作用^[21]。

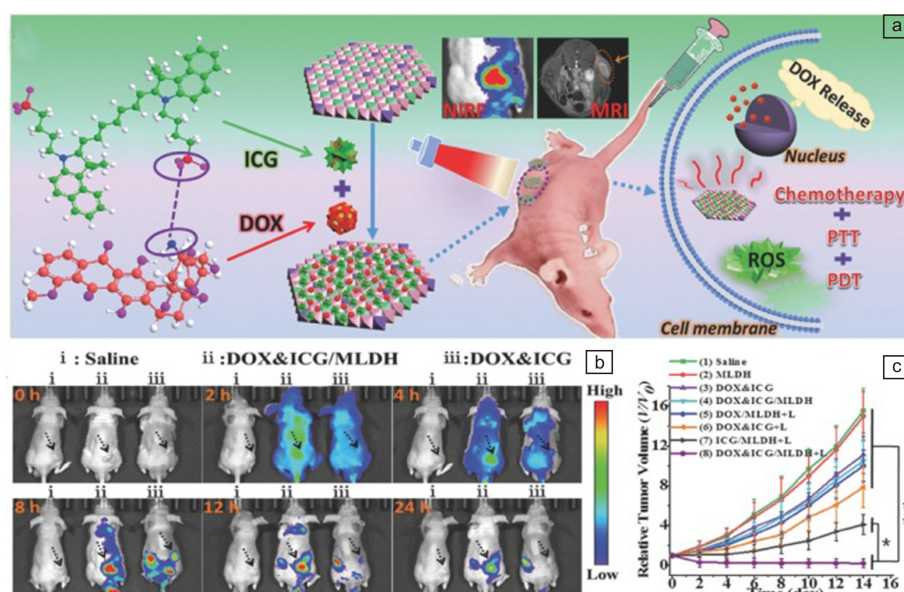


图 7 具有三模式联合治疗功能的 LDH 基纳米平台^[81]: (a) 基于 MLDH 的纳米药物递送系统示意图, (b) HepG2 人肝癌荷瘤鼠静脉注射不同材料 (生理盐水、DOX&ICG/MLDH 和 DOX&ICG) 后在不同时间点的体内荧光成像及生物分布图, (c) 经过不同处理后相对肿瘤体积增长曲线

Fig. 7 LDH-based nanoplatform with tri-mode combination therapy functions^[81]: (a) schematic illustration for MLDH-based drug delivery system toward efficient loading and precisely controlled delivery of theranostic agents, (b) *in-vivo* fluorescence imaging and biodistribution of nude mice bearing HepG2 tumors at different time points post intravenous injection of saline, DOX&ICG/MLDH, and DOX&ICG (the blank arrows point out the tumor location in mice), (c) HepG2 tumor growth curves with various treatments

4 结 语

本文介绍了层状双金属氢氧化物 (layered double hydroxides, LDH) 基纳米平台的合成策略, 讨论了 LDH 基纳米平台在癌症诊断及治疗领域的最新进展。基于 LDH

良好的生物相容性、化学可修饰性、较大的荷载量、pH 响应性等特点, LDH 基纳米平台被应用于肿瘤诊疗的各个方面。在肿瘤诊断中, 越来越多结构精巧、功能先进的 LDH 基纳米平台被设计出来, 用于肿瘤的光学成像、磁共振成像、核医学成像、多模态成像等; 在肿瘤治疗

方面,目前已开发出了更多效果显著、副作用小、利用率高的 LDH 基纳米平台,用于肿瘤化疗、化学动力学治疗、光学治疗、免疫治疗及联合治疗等;在诊疗一体化方面,也逐渐开发出了具有诊断及治疗双功能的 LDH 基纳米平台。

虽然 LDH 基纳米平台用于肿瘤诊疗已经取得了较多进展,但仍然面临较多挑战:① 目前报道的 LDH 基无机纳米平台仍然存在可重复性差这一问题,LDH 的合成存在一定的限制。例如在相同的溶液和相同的合成环境下,合成的 LDH 纳米颗粒可能会具有不同的形貌和尺寸;② LDH 基纳米平台在核医学领域已有部分报道,但相关研究仍处于起步阶段,亟需开发更多的 LDH 基纳米平台用于核医学成像并对其机制进行探究;③ 越来越多新的肿瘤治疗方式被报道,将 LDH 基纳米平台用于新方式的肿瘤治疗有待更多探究;④ 近年来,肿瘤免疫治疗和疫苗开发受到广泛关注,而 LDH 基纳米平台在这一领域的研究仅有少量报道,需要更进一步的探索;⑤ 越来越多的靶向技术被开发出来,例如磁靶向、新型靶向分子、包覆肿瘤细胞膜以实现同源靶向等技术,LDH 基纳米平台应该结合更多靶向技术,以实现特异性治疗;⑥ 目前 LDH 基纳米平台的进展仍然局限于实验室研究,距离临床应用仍有很大的一步需要迈出,因此,LDH 基纳米平台在体内的生物分布、代谢机制、生物毒性等问题仍需要深入探究;⑦ 随着细胞生物学及肿瘤学的进展,越来越多的金属离子被发现参与普通细胞和肿瘤细胞的代谢活动并发挥着重要作用,结合 LDH 的结构特点及酸响应性,合成一些含有特殊金属离子的精巧 LDH 基纳米平台将会在肿瘤诊疗中发挥极大优势。最后,随着纳米医学的更深入研究,LDH 基纳米平台有望在肿瘤的精准医疗及个性化医疗方面发挥更大作用。

参考文献 References

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, FUCHS H E, *et al.* CA: A Cancer Journal for Clinicians[J], 2022, 72(1): 7-33.
- [2] MILLER K D, NOGUEIRA L, DEVASIA T, *et al.* CA: A Cancer Journal for Clinicians[J], 2022, 72(5): 409-436.
- [3] CHOI G, PIAO H, KIM M H, *et al.* Industrial & Engineering Chemistry Research[J], 2016, 55(43): 11211-11224.
- [4] JING Z, DU Q, ZHANG X, *et al.* Chemical Engineering Journal[J], 2022, 446: 137147.
- [5] BANERJEE D, CIESLAR-POBUDA A, ZHU G H, *et al.* Trends in Pharmacological Sciences[J], 2019, 40(6): 403-418.
- [6] WANG W, PAN X, YANG H, *et al.* ACS Nano[J], 2021, 15(12): 20003-20012.
- [7] DING H, TAN P, FU S, *et al.* Journal of Controlled Release[J], 2022, 348: 206-238.
- [8] MIGNANI S, SHI X, CEÑA V, *et al.* Journal of Controlled Release[J], 2021, 332: 346-366.
- [9] LIU H, ZHANG J, JIA Y, *et al.* Chemical Engineering Journal[J], 2022, 442: 135994.
- [10] CHOI G, CHOY J H. WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology[J], 2020, 13(2): e1679.
- [11] CHOI G, EOM S, VINU A, *et al.* The Chemical Record[J], 2018, 18(7-8): 1033-1053.
- [12] HU T, GU Z, WILLIAMS G R, *et al.* Chemical Society Reviews[J], 2022, 51(14): 6126-6176.
- [13] OH J M, CHOI S J, LEE G E, *et al.* Advanced Functional Materials[J], 2009, 19(10): 1617-1624.
- [14] LUK B T, ZHANG L. Journal of Controlled Release[J], 2015, 220: 600-607.
- [15] MENG X, WANG J, ZHOU J, *et al.* Acta Biomaterialia[J], 2021, 127: 266-275.
- [16] LIAO Y, ZHANG Y, BLUM N T, *et al.* Nanoscale Horizons[J], 2020, 5(9): 1293-1302.
- [17] WANG J, SUN L, LIU J, *et al.* Journal of Nanobiotechnology[J], 2021, 19(1): 351.
- [18] SHU Y, YIN P, LIANG B, *et al.* ACS Applied Materials & Interfaces[J], 2014, 6(17): 15154-15161.
- [19] CHENG X Q, LIU W, ZHANG C, *et al.* Journal of Applied Polymer Science[J], 2022, 139(28): e52621.
- [20] YANG Z, SHI K, JIN Z, *et al.* Industrial & Engineering Chemistry Research[J], 2022, 61(3): 1367-1374.
- [21] ZHANG N, WANG Y, ZHANG C, *et al.* Theranostics[J], 2020, 10(6): 2791-2802.
- [22] HU T, YAN L, WANG Z, *et al.* Chemical Science[J], 2021, 12(7): 2594-2603.
- [23] MEI X, HU T, WANG H, *et al.* Biomaterials[J], 2020, 258: 120257.
- [24] YAN L, WANG Y, HU T, *et al.* Journal of Materials Chemistry B[J], 2020, 8(7): 1445-1455.
- [25] ZHU Y, WANG Y, WILLIAMS G R, *et al.* Advanced Science[J], 2020, 7(23): 2000272.
- [26] WU B, LI K, SUN F, *et al.* Advanced Healthcare Materials[J], 2021, 10(16): 2100512.
- [27] CHUNG H E, PARK D H, CHOY J H, *et al.* Applied Clay Science[J], 2012, 65-66: 24-30.
- [28] DING J, CHEN J, GAO L, *et al.* Nano Today[J], 2019, 29: 100800.
- [29] TANG Z, ZHAO P, WANG H, *et al.* Chemical Reviews[J], 2021, 121(4): 1981-2019.
- [30] CAO Z, LI B, SUN L, *et al.* Small Methods[J], 2019, 4(2): 1900343.
- [31] CHENG L, WANG X, GONG F, *et al.* Advanced Materials[J], 2019, 32(13): 1902333.
- [32] EOM S, CHOI G, NAKAMURA H, *et al.* Bulletin of the Chemical Society of Japan[J], 2020, 93(1): 1-12.

- [33] JIN W, PARK D H. *Nanomaterials*[J], 2019, 9(10): 1404.
- [34] KIM H J, LEE J Y, KIM T H, *et al.* *Applied Clay Science*[J], 2020, 186: 105454.
- [35] MEI X, MA J, BAI X, *et al.* *Chemical Science*[J], 2018, 9(25): 5630–5639.
- [36] LI G, FAN Y, LIN L, *et al.* *Science China Chemistry*[J], 2021, 64(5): 817–826.
- [37] LIU W, XU S, GUAN S, *et al.* *Advanced Materials*[J], 2018, 30(2): 1704376.
- [38] LI B, GU Z, KURNIAWAN N, *et al.* *Advanced Materials*[J], 2017, 29(29): 1700373.
- [39] ZHANG Q, ZHOU D, FANG G, *et al.* *Advanced Materials Interfaces*[J], 2022, 9(7): 2101914.
- [40] HERRERO ÁLVAREZ N, BAUER D, HERNÁNDEZ-GIL J, *et al.* *ChemMedChem*[J], 2021, 16(19): 2909–2941.
- [41] CUTLER C S, HENKENS H M, SISAY N, *et al.* *Chemical Reviews*[J], 2012, 113(2): 858–883.
- [42] GOEL S, CHEN F, EHLERDING E B, *et al.* *Small*[J], 2014, 10(19): 3825–3830.
- [43] SHI S, FLISS B C, GU Z, *et al.* *Scientific Reports*[J], 2015, 5(1): 16930.
- [44] GUAN S, WENG Y, LI M, *et al.* *Nanoscale*[J], 2017, 9(29): 10367–10374.
- [45] MEI X, WANG W, YAN L, *et al.* *Biomaterials*[J], 2018, 165: 14–24.
- [46] WENG Y, GUAN S, LU H, *et al.* *Talanta*[J], 2018, 184: 50–57.
- [47] WANG L, XING H, ZHANG S, *et al.* *Biomaterials*[J], 2013, 34(13): 3390–3401.
- [48] WEN J, YANG K, HUANG J, *et al.* *Materials & Design*[J], 2021, 198: 109298.
- [49] ZHANG Z, WANG Y, RIZK M M I, *et al.* *Biomaterials Advances*[J], 2022, 134: 112716.
- [50] AMEENA SHIRIN V K, SANKAR R, JOHNSON A P, *et al.* *Journal of Controlled Release*[J], 2021, 330: 398–426.
- [51] ZHANG H, ZHANG L, CAO Z, *et al.* *Small*[J], 2022, 18(22): 2200299.
- [52] YANG B, CHEN Y, SHI J. *Chemical Reviews*[J], 2019, 119(8): 4881–4985.
- [53] GUO Z, XIE W, ZHANG Q, *et al.* *Chemical Engineering Journal*[J], 2022, 446: 137310.
- [54] WANG S, HU T, WANG G, *et al.* *Chemical Engineering Journal*[J], 2021, 419: 129458.
- [55] WU J, WILLIAMS G R, ZHU Y, *et al.* *Biomaterials*[J], 2021, 273: 120807.
- [56] LI L, GU W, CHEN J, *et al.* *Biomaterials*[J], 2014, 35(10): 3331–3339.
- [57] YANG L, SUN J, LIU Q, *et al.* *Advanced Science*[J], 2019, 6(8): 1802012.
- [58] JO Y U, SIM H, LEE C S, *et al.* *Biomaterials Research*[J], 2022, 26(1): 23.
- [59] DAO A, KUSHWAHA R, KUMAR A, *et al.* *ChemMedChem*[J], 2022, 17(10): e202200119.
- [60] LIANG R, TIAN R, MA L, *et al.* *Advanced Functional Materials*[J], 2014, 24(21): 3144–3151.
- [61] GAO R, MEI X, YAN D, *et al.* *Nature Communications*[J], 2018, 9(1): 2798.
- [62] YAN L, LI J, GOPAL A, *et al.* *Materials Today Communications*[J], 2022, 30: 103101.
- [63] GAO L, LIU R, GAO F, *et al.* *ACS Nano*[J], 2014, 8(7): 7260–7271.
- [64] GE J, LAN M, ZHOU B, *et al.* *Nature Communications*[J], 2014, 5(1): 4596.
- [65] SHEN W, HU T, LIU X, *et al.* *Nature Communications*[J], 2022, 13(1): 3384.
- [66] CHEN W, ZUO H, LI B, *et al.* *Small*[J], 2018, 14(19): 1704465.
- [67] LIU J, ZHANG R, XU Z P. *Small*[J], 2019, 15(32): 1900262.
- [68] WILLIAMS G R, FIERENS K, PRESTON S G, *et al.* *Journal of Experimental Medicine*[J], 2014, 211(6): 1019–1025.
- [69] LI A, QIN L, ZHU D, *et al.* *Biomaterials*[J], 2010, 31(4): 748–756.
- [70] YAN S, XU K, LI L, *et al.* *Frontiers in Pharmacology*[J], 2018, 9: 1060.
- [71] ASHRAFIZADEH M, NAZARZADEH ZARE E, ROSSI F, *et al.* *Chemical Engineering Journal*[J], 2022, 448: 137747.
- [72] LI L, QIAN Y, SUN L, *et al.* *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*[J], 2021, 34: 102369.
- [73] WANG L, KANG K, HOU H, *et al.* *Journal of Colloid and Interface Science*[J], 2022, 625: 145–157.
- [74] RANJBAR E, NAMAZI H, POORESMAEIL M. *International Journal of Biological Macromolecules*[J], 2022, 201: 193–202.
- [75] YE Y, BREMNER D H, ZHANG H, *et al.* *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*[J], 2022, 210: 112261.
- [76] ZHANG L, LI G, OUYANG Z, *et al.* *Biomaterials Science*[J], 2022, 10(8): 2029–2039.
- [77] LIU J, SUN L, LI L, *et al.* *ACS Applied Materials & Interfaces*[J], 2021, 13(6): 7115–7126.
- [78] ZHANG Z, SMITH L, LI W, *et al.* *International Journal of Pharmaceutics*[J], 2022, 615: 121493.
- [79] LI K, MA X, HE S, *et al.* *ACS Biomaterials Science & Engineering*[J], 2022, 8(2): 540–550.
- [80] GUO Z, XIE W, LU J, *et al.* *Biomaterials Science*[J], 2021, 9(17): 5928–5938.
- [81] PENG L, MEI X, HE J, *et al.* *Advanced Materials*[J], 2018, 30(16): 1707389.

(编辑 张雨明)