

本文引用格式:刘刚,刘明宇,李修靖,等.负载双氢青蒿素的中空介孔二氧化锰纳米颗粒对胰腺癌 BxPC-3 细胞的杀伤效应[J].安徽医学,2023,44(6):623-628.DOI:10.3969/j.issn.1000-0399.2023.06.001

· 基础医学 ·

负载双氢青蒿素的中空介孔二氧化锰纳米颗粒对胰腺癌 BxPC-3 细胞的杀伤效应

刘刚 刘明宇 李修靖 余跃

[摘要] 目的 探究负载双氢青蒿素(DHA)的中空介孔二氧化锰纳米颗粒对胰腺癌 BxPC-3 细胞的杀伤效应。方法 利用二氧化硅模板法合成了纳米中空介孔二氧化锰,通过 DHA 及聚乙二醇-2000(PEG-2000)共孵育后合成了 PEG@MnO₂-DHA 和未载药的 PEG@MnO₂,并对其进行表征和催化性能验证。利用激光共聚焦显微镜(CLSM)分别检测 0、1、2 和 4 h 内 BxPC-3 细胞对纳米颗粒的摄取情况。采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测不同氧浓度下经 PEG@MnO₂-DHA 处理后 BxPC-3 细胞内的缺氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)水平,以探究 PEG@MnO₂-DHA 改善肿瘤微环境缺氧情况。最后用噻唑蓝比色法(MTT)和活死细胞染色法观察纳米颗粒对 BxPC-3 细胞的生长抑制作用。结果 本研究成功制备出粒径约为 105 nm 的 PEG@MnO₂-DHA,并且其能够在 RPMI-1640 培养基(含 10% 胎牛血清)中稳定保存。CLSM 结果显示,PEG@MnO₂-DHA 在 1h 后就能够被 BxPC-3 细胞有效摄取。ELISA 结果显示,低氧条件下,使用 20 μ g/mL 的 PEG@MnO₂-DHA 处理后的 BxPC-3 细胞内 HIF-1 α 水平与使用磷酸缓冲盐溶液(PBS)处理后的 BxPC-3 细胞内 HIF-1 α 水平相比明显下降($P<0.05$),略低于常氧条件下 PBS 处理后的 BxPC-3 细胞中 HIF-1 α 水平($P=0.846$)。MTT 结果显示,在 DHA 浓度为 15 μ g/mL 时,PEG@MnO₂-DHA 处理组细胞存活率仅为 21.81%,低于游离 DHA 处理组的 46.03%($P<0.05$)。结论 负载 DHA 之后的中空介孔二氧化锰纳米颗粒可以被 BxPC-3 细胞有效摄取,并与释放出来的 DHA 反应产生活性氧,同时能改善肿瘤微环境缺氧情况,增强对胰腺癌细胞的杀伤效应。

[关键词] 双氢青蒿素;中空介孔二氧化锰;活性氧;胰腺癌

doi:10.3969/j.issn.1000-0399.2023.06.001

Killing effect of hollow mesoporous MnO₂ nanoparticles loaded with dihydroartemisinin on pancreatic cancer BxPC-3 cell line

LIU Gang¹, LIU Mingyu¹, LI Xiujing¹, YU Yue²

1.Division of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230031, China

2.Division of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of USTC, Division of Life Science and Medicine, University of Science and Technology of China, Hefei 230001, China

Funding project: The General Program of National Natural Science Foundation of China (No.31870993)

Corresponding author: YU Yue, yuyuemd@163.com

[Abstract] **Objective** To investigate the killing effect of hollow mesoporous MnO₂ nanoparticles loaded with dihydroartemisinin (DHA) on pancreatic cancer BxPC-3 cells. **Methods** Hollow mesoporous MnO₂ nanoparticles were synthesized by SiO₂ template method. PEG@MnO₂-DHA and PEG@MnO₂ were synthesized by co-incubation with DHA and Polyethylene glycol 2000 (PEG-2000), then characteristics and catalytic properties were investigated. The uptake of nanoparticles by BxPC-3 cells at different time (0, 1, 2 and 4 h) was detected by laser confocal microscopy (CLSM). The level of HIF-1 α in BxPC-3 cells was detected by ELISA assay to investigate the effect of PEG@MnO₂-DHA on hypoxia in tumour microenvironment (TME). Lastly, the growth inhibition of BxPC-3 cells by nanoparticles was observed by MTT assay and cell death staining. **Results** PEG@MnO₂-DHA with a particle size of about 105 nm was successfully prepared and could be stably stored in RPMI-1640 medium containing 10% fetal bovine serum. CLSM results showed that PEG@MnO₂-DHA could be efficiently taken up by BxPC-3 cells. ELISA results showed that HIF-1 α levels in BxPC-3 cells cultured under hypoxic conditions were significantly reduced after treatment with PEG@MnO₂-DHA at 20 μ g/mL compared with PBS treatment ($P<0.05$), and the HIF-1 α level in BxPC-3 cells was slightly lower than that in the normoxia group after PBS treatment ($P=0.846$). MTT results showed that the cell survival rate of the PEG@MnO₂-DHA

基金项目:国家自然科学基金面上项目(编号:31870993)

作者单位:230031 安徽合肥 安徽中医药大学第一附属医院脾胃科(刘刚,刘铭宇,李修靖)

230001 安徽合肥 中国科学技术大学附属第一医院(安徽省立医院)消化科(余跃)

通信作者:余跃, yuyuemd@163.com

treated group was only 21.81% at 15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ DHA concentration, which was lower than 46.03% of the free DHA treated group ($P < 0.05$). **Conclusions** The hollow mesoporous MnO_2 nanoparticles loaded with DHA can be effectively taken up by BxPC-3 cells and react with the released DHA to produce reactive oxygen species, which can also improve the lack of oxygen in the tumor microenvironment and enhance the killing effect on pancreatic cancer cells.

[**Key words**] Dihydroartemisinin; Hollow mesoporous MnO_2 ; Reactive oxygen species; Pancreatic cancer

胰腺癌是消化系统常见肿瘤之一,恶性程度极高,5 年生存率低^[1]。近年来,中药因其广谱抗炎和抗癌活性逐渐吸引了学者们的关注。双氢青蒿素(dihydroartemisinin, DHA)是中药青蒿提取物青蒿素经过硼氢化钠还原得到的半合成衍生物,在青蒿素的几种衍生物中表现出较高的抗癌活性。但是由于其水溶性差,生物利用低,半衰期短,导致其应用被限制^[2-4]。中空介孔纳米结构因其优秀的载药性能,吸引了广泛的注意^[5]。其中,中空介孔二氧化锰纳米递药系统在解决药物水溶性差的同时,能够通过实体瘤的高通透性和滞留效应(enhanced permeability and retention, EPR)在肿瘤部位高效富集^[6-7]。研究^[8-9]发现, Mn^{2+} 能与 DHA 反应产生具有细胞毒性的活性氧(reactive oxygen species, ROS),继而增强 DHA 的抗肿瘤作用。本研究旨在构建能够负载 DHA 的中空介孔纳米颗粒,并研究其被胰腺癌细胞摄取和改善肿瘤部位乏氧情况,及对胰腺癌细胞的杀伤效应,为进一步开发新的抗胰腺癌药物提供参考。

1 材料与方 法

1.1 材料 DHA 购买自上海晶纯生化科技股份有限公司;噻唑蓝(methyl thiazolyl tetrazolium, MTT),缺氧诱导因子-1 α (hypoxia inducible factor-1 α , HIF-1 α)试剂盒,2',7'-二氯荧光素二乙酸酯(2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate, DCFH-DA),Hoechst33342 购自上海碧云天生物技术有限公司;RPMI-1640 培养基,胎牛血清(fetal bovine serum, FBS),胰酶消化液,1 \times 磷酸缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)购买自上海生工公司;BxPC-3 细胞株购自上海细胞库。

1.2 方 法

1.2.1 PEG@ MnO_2 -DHA 的制备 首先利用二氧化硅模板法^[10]合成中空介孔二氧化锰,然后取 200 μL 的中空介孔二氧化锰溶液(5 mg/mL)与 100 μL 的 DHA 溶液(2 mg/mL)混合,超声 10 min 后,置于气浴震荡器 25 $^\circ\text{C}$ 反应过夜,反应结束后收集沉淀,甲醇洗 3 次除去游离 DHA,最后分散在纯水中,得到负载了 DHA 的中空介孔二氧化锰颗粒(MnO_2 -DHA)。为了提高 MnO_2 -DHA 的稳定性及水溶性,使用聚乙二醇-2000(polyethylene glycol-2000, PEG-2000)对 MnO_2 -DHA 进行表面修饰。取 1 mL MnO_2 -DHA 水溶液(5 mg/mL)与 1 mL 的 PEG-2000(5 mg/mL),超声 10 min 后 37 $^\circ\text{C}$ 孵育过

夜,收集沉淀,用水洗涤 3 次后得到 PEG@ MnO_2 -DHA。

1.2.2 PEG@ MnO_2 -DHA 的表征 取新制的 PEG@ MnO_2 -DHA 溶液用去离子水稀释至适当浓度,分别用透射电子显微镜(transmission electron microscope, TEM)和动态光散射仪(dynamic light scattering, DLS)检测其形貌特征。将新制的 PEG@ MnO_2 -DHA 重新分散在含有 10% FBS 的 RPMI-1640 培养液中,并分别在 0、1、2、4、8、12、24、36 和 72 小时取样用 DLS 测定其水合粒径。随后通过高效液相色谱仪(high performance liquid chromatography, HPLC)测量 PEG@ MnO_2 -DHA 中 DHA 的载药率和包封率。通过使用不同浓度的 DHA 与介孔二氧化锰球共孵育后,用 HPLC 测量上清液中 DHA 的含量来间接测量 DHA 的载药率和包封率。DHA 液相测定采用 Hedera ODS-C18 色谱柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm),流动相为乙腈-水($v : v = 60 : 40$),体积流量 1 mL/min,检测波长为 210 nm,柱温为室温,进样量 20 μL 。

1.2.3 DHA 的释放 取新制 PEG@ MnO_2 -DHA 重新分散在 pH 7.4, pH 6.0 和 pH 5.5 的 PBS 缓冲液,放入透析分子量为 14 kDa 的透析袋中,然后置于 100 mL 的 PBS 缓冲液中,在不同时间内吸取 1 mL 透析液,并补充相同体积的缓冲液,利用 HPLC 测定透析液中 DHA 的含量。

1.2.4 PEG@ MnO_2 -DHA 的催化性能检测 通过使用溶氧仪检测溶液中氧气的含量,来测试 PEG@ MnO_2 -DHA 在不同条件下催化 H_2O_2 分解产生氧气的的能力。分别取 0、5 和 10 mg/mL 新制的 PEG@ MnO_2 -DHA 重新分散于含有 100 μM H_2O_2 的 PBS 缓冲液中,用溶氧仪记录溶液中 0~10 min 的氧气含量。使用 3,3',5,5'-四甲基联苯胺(3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine, TMB)作为指示剂,来探讨 DHA 产生 ROS 的效率。在 pH 7.4 或 pH 6.5 的醋酸-醋酸钠缓冲液中,分别加入 0 或 25 mM 的 DHA,然后加入 0 或 50 mM 的氯化锰溶液,加入等体积的 TMB 溶液后室温孵育过夜,用紫外可见分光光度计(ultraviolet-visible spectrophotometer, UV-vis)测量溶液紫外吸收情况。

1.2.5 细胞摄取 使用荧光染料罗丹明 B(rhodamine B, RhB)作为示踪剂标记 PEG@ MnO_2 -DHA,合成了 PEG@ MnO_2 -DHA-RhB。然后将 BxPC-3 细胞(8×10^4 个/皿)接种于激光共聚焦显微镜(confocal laser scan-

ning microscope, CLSM) 专用培养皿中,用含有 10% FBS 的 RPMI-1640 在含有 5% CO₂ 的培养箱 37℃ 培养过夜。用含有 PEG@MnO₂-DHA-RhB (10 mg/mL) 的 RPMI-1640 代替原来的培养基,继续孵育。在指定时间(0、1、2 和 4 h)后除去含药培养基,PBS 洗涤细胞 3 次。再用含有细胞核染料 Hoechst33342(10 mg/mL) 的 RPMI-1640 继续孵育 15 min。除去培养基,用 PBS 洗涤细胞 3 次后,在 CLSM 下观察细胞荧光图像。

1.2.6 HIF-1 α 检测 将 BxPC-3 细胞(5 \times 10⁵ 个/孔)接种于 6 孔板中,细胞培养方案同 1.2.5(低氧组是将细胞置于厌氧产气袋中孵育过夜)。加入不同浓度(5、10 和 20 μ g/mL)PEG@MnO₂-DHA 继续孵育 24 h。收集细胞并加入细胞裂解液裂解细胞,用蛋白质定量试剂盒测定每组细胞裂解液蛋白浓度。将各组细胞裂解液稀释成相同蛋白浓度后,用 HIF-1 α 的 ELISA 试剂盒测定各组 HIF-1 α 浓度。HIF-1 α 试剂盒严格按照说明书进行检测。

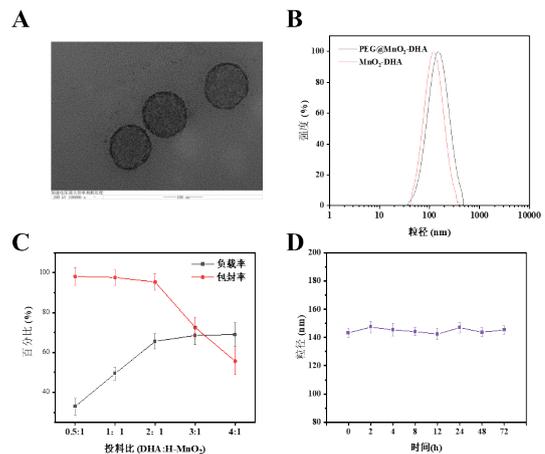
1.2.7 细胞内 ROS 检测 将 BxPC-3 细胞(8 \times 10⁴ 个/皿)接种于 CLSM 培养皿中,细胞培养方案同 1.2.5。分别用含有 PBS、游离 DHA、PEG@MnO₂ 和 PEG@MnO₂-DHA 的 RPMI-1640 替代原培养基孵育 24 h。除去含药培养基,用含有绿色荧光 ROS 探针 DCFH-DA (10 μ M) 和 Hoechst33342 (10 mg/mL) 的 RPMI-1640 孵育 20 min 后,用 PBS 洗涤 3 次。在 CLSM 下观察细胞荧光图像。

1.2.8 纳米颗粒的杀伤作用检测 将 BxPC-3 细胞接种于 96 孔板(5 \times 10³ 个/孔)和 6 孔板(5 \times 10⁵ 个/孔)中,细胞培养方案同 1.2.5。在 96 孔板中,分别用不同浓度的游离 DHA、PEG@MnO₂ 和 PEG@MnO₂-DHA RPMI-1640 孵育 48 h 后,每孔加入 20 μ L 的 MTT 溶液(5 mg/mL)。继续孵育 4 h 后,弃去旧培养基,每孔加入 150 μ L 二甲亚砜,充分溶解后用酶标仪在 490 nm 处测定其吸光度,并计算细胞存活率。细胞存活率=(药物细胞组 OD 值-空白对照组 OD 值)/(不加药细胞组 OD 值-空白对照组 OD 值) \times 100%。然后在六孔板中进行活-死细胞染色实验,分别用含有 PBS、游离 DHA、PEG@MnO₂ 和 PEG@MnO₂-DHA 的 RPMI-1640 替代原培养基孵育 24 h。弃去旧培养基后,加入含有碘化丙啶(10 μ M)和荧光素二乙酸酯(5 μ M)的 RPMI-1640 孵育 10 min,用倒置荧光显微镜观察各组细胞荧光。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 23.0 进行统计分析,正态分布计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间均数比较采用 *t* 检验,3 组及以上均数比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 SNK-*q* 法。以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PEG@MnO₂-DHA 表征及稳定性 TEM 结果显示,PEG@MnO₂-DHA 具有中空介孔球形结构,粒径在 105 nm 左右(图 1A)。DLS 结果显示,MnO₂-DHA 经过 PEG 修饰之后,粒径从 121 nm 增加至 150 nm(图 1B)。在一定浓度范围内,当 DHA 与介孔二氧化锰球的重量比为 2:1 时,此时药物包封率高达 95.3%,载药率达 65.6%(图 1C)。PEG@MnO₂-DHA 的粒径比较稳定,在 72 h 内无明显变化(图 1D)。



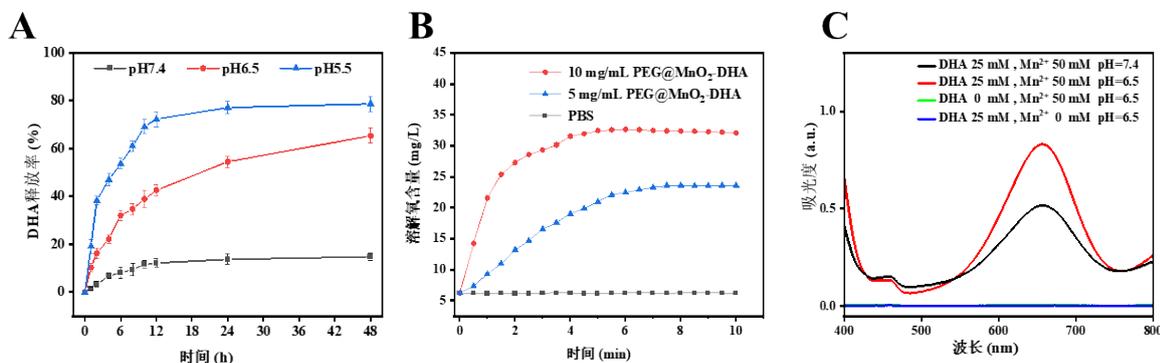
注:A为PEG@MnO₂-DHA的TEM特征;B为DLS检测纳米颗粒的粒径;C为不同投料比下DHA的负载率和包封率;D为PEG@MnO₂-DHA在血清中的稳定性。

图1 纳米颗粒表征

2.2 PEG@MnO₂-DHA 药物释放效率及催化性能 释放结果显示,在 pH 7.4 条件下,DHA 在 48 h 内释放最少,仅有 14.8% 的 DHA 被释放出来;而在 pH 5.5 条件下,DHA 释放率达 80%(图 2A)。溶氧仪测量结果显示,在一定浓度的 H₂O₂ 中,随着 PEG@MnO₂-DHA 浓度的增加,产生的氧气量也越来越多(图 2B)。UV-vis 结果显示,在 DHA 25 mM 与 Mn²⁺ 50 mM 时,pH 6.5 组特征峰最高,但单一的 DHA 或者 Mn²⁺ 则几乎看不见特征峰(图 2C)。

2.3 细胞摄取实验结果 CLSM 结果显示,使用 PEG@MnO₂-DHA-RhB 与细胞孵育 1 h 后,在细胞中就可以检测到 RhB 的红色荧光,4 h 后,显示出最明亮的红色荧光(图 3)。

2.4 PEG@MnO₂-DHA 对细胞内 HIF-1 α 和 ROS 的影响 与低氧条件下 PBS 组(I 组)细胞内 HIF-1 α 水平相比较,常氧条件下 PBS 组(V 组)细胞内 HIF-1 α 水平较低(*P*<0.000 1),20 μ g/mL PEG@MnO₂-DHA 组(IV 组)的细胞内 HIF-1 α 水平显著下降(*P*<0.001)。20 μ g/mL PEG@MnO₂-DHA 组(IV 组)的细胞内 HIF-



注:A为不同pH条件下DHA的释放情况;B为溶氧仪检测不同浓度PEG@MnO₂-DHA催化H₂O₂产生氧气的速率;C为用TMB检测不同条件下DHA于Mn²⁺产生ROS情况。

图2 DHA的释放和纳米颗粒的催化性能

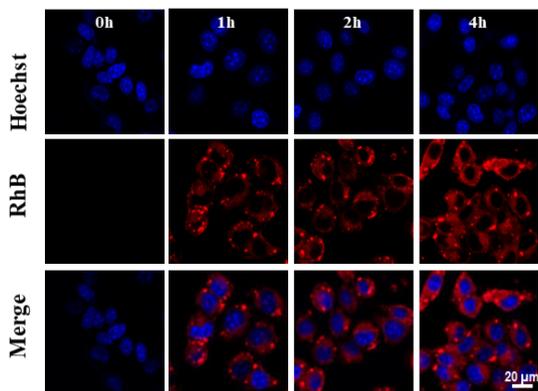
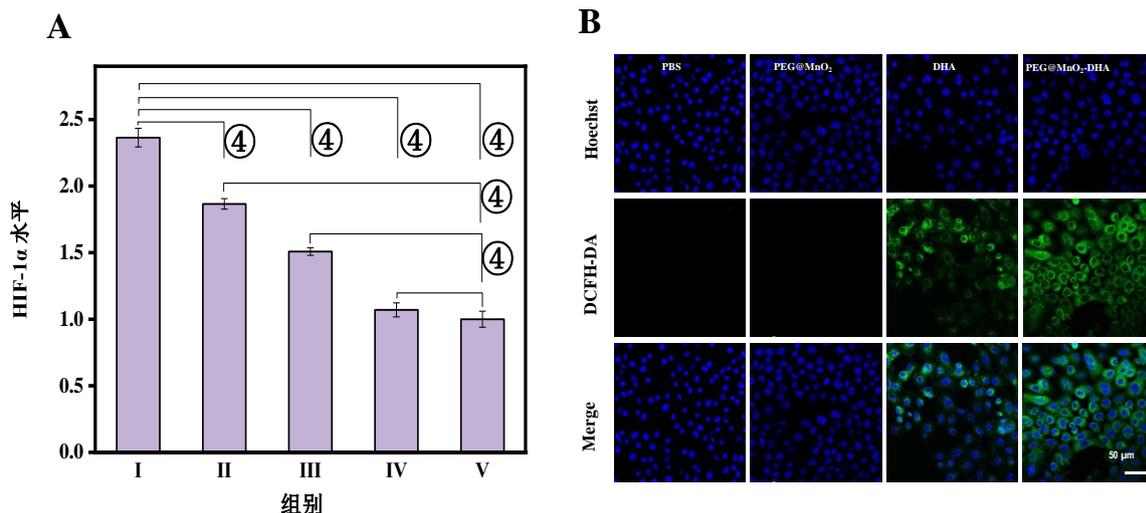


图3 CLSM检测细胞摄取情况

0.846)(图4A)。ROS检测结果显示,与PBS组相比,PEG@MnO₂几乎未检测到绿色荧光,游离DHA组检测到稍低绿色荧光,而PEG@MnO₂-DHA组表现出最明显的绿色荧光(图4B)。

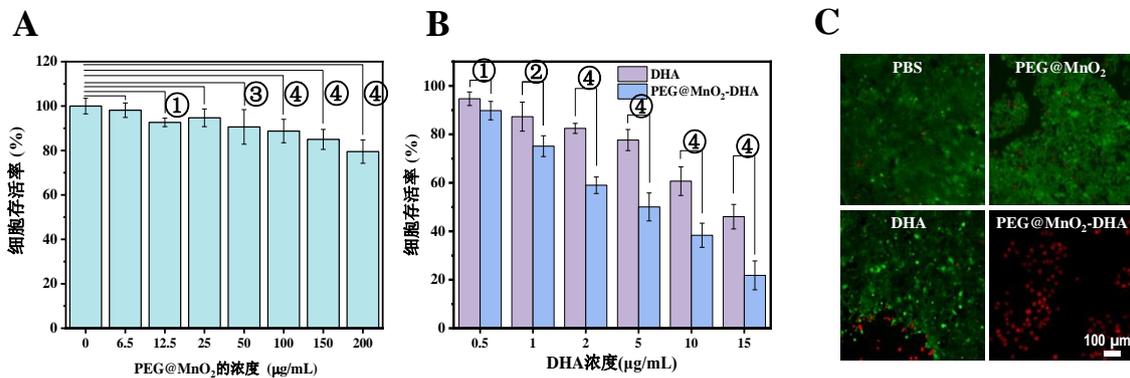
2.5 PEG@MnO₂-DHA对BxPC-3细胞的杀伤情况
孵育48h后,PEG@MnO₂给药浓度即使为200 μg/mL,细胞毒性也不明显(图5A)。当DHA浓度为15 μg/mL时,游离DHA组细胞存活率仍高达46%,但PEG@MnO₂-DHA组细胞存活率仅为21.8%,明显低于游离DHA组($P < 0.0001$)。见图5B。活死细胞染色结果显示,PEG@MnO₂-DHA组显示最明亮的红色荧光,而PEG@MnO₂组和游离DHA组仅显示出少量红色荧光,甚至红色荧光不可见(图5C)。

1α水平略高于常氧条件下PBS对照组(V组)($P =$



注:A为ELISA法检测细胞内HIF-1α水平变化(I~IV组是低氧处理,分别是PBS、5 μg/mL PEG@MnO₂-DHA、10 μg/mL PEG@MnO₂-DHA、20 μg/mL PEG@MnO₂-DHA,V组是常氧处理的PBS组);B为CLSM检测细胞内ROS水平变化情况。其中^④ $P < 0.0001$ 。

图4 细胞内HIF-1α和ROS水平检测



注:A为MTT法检测PEG@MnO₂对BxPC-3细胞的杀伤作用;B为MTT法检测游离DHA和PEG@MnO₂-DHA对BxPC-3细胞的杀伤作用;C为活死细胞染色法检测不同颗粒对BxPC-3细胞的杀伤作用。其中①为P<0.05,②为P<0.01,③为P<0.001,④为P<0.0001。

图5 细胞杀伤情况

3 讨论

胰腺癌患者早期症状不明显,确诊时已为晚期,又因胰腺处于特殊的解剖位置,周围的肠胃等正常器官对放疗较敏感,所以传统外科手术结合放化疗的治疗效果不理想,严重影响患者生活质量^[11]。近年来,纳米递药系统引起了研究人员的广泛注意。纳米递药系统是通过特殊的纳米载体,将一些传统药物吸附或包埋在其中^[12],这种方式能够极大地改善药物溶解性差的问题。纳米尺寸的药物也能通过EPR效应在肿瘤部位富集,延长药物作用时间,提高药物的靶向性,减少对正常组织的副作用^[13]。将传统药物与纳米载体结合起来用于肿瘤治疗,是目前肿瘤研究的热点。

随着人们对纳米材料的深入研究,中空介孔二氧化锰纳米颗粒的肿瘤微环境响应性及改善缺氧的能力也逐渐被研究人员发现^[14]。Fang等^[15]利用中空介孔二氧化锰负载阿霉素和光敏剂制备的BMHDC纳米颗粒,通过触发内源性H₂O₂的分解而充当氧气发生器,从而克服肿瘤的低氧环境而增强光动力疗法,且BMHDC纳米颗粒分解出的Mn²⁺能通过肾脏快速代谢出体外。这表明中空介孔二氧化锰纳米颗粒是一种成熟的低毒性的纳米材料。目前,对中空介孔二氧化锰纳米颗粒的研究多集中在改善缺氧和响应肿瘤微环境上,而对其与DHA反应产生ROS的研究较少。中空介孔二氧化锰纳米颗粒可作为DHA的纳米载体,既改善DHA溶解性差的问题,又利用纳米药物的EPR效应,提高DHA的生物半衰期。同时,中空介孔二氧化锰纳米颗粒由于其独特的肿瘤微环境响应性,可作为DHA的控释支架,能减少DHA的潜在全身毒副作用。

基于中空介孔二氧化锰纳米颗粒特殊的蜂窝状空心结构,可以采用共孵育的方式使DHA包埋在内部。

而PEG@MnO₂-DHA表面修饰的PEG进一步确保DHA不会泄露出来,提高了纳米载体的生物相容性。本研究TEM与DLS检测显示,PEG@MnO₂-DHA为150nm左右的中空介孔纳米球。药物包封率和载药率决定了纳米载体的载药性能。与利用网状结构或球状结构通过吸附作用负载药物等方式相比,中空介孔结构有效提高了药物负载效率^[16]。本研究HPLC结果显示,PEG@MnO₂-DHA中DHA的包封率和载药率高达95.3%和65.6%。Wang等^[17]报道了一种载有功能基因的空心二氧化锰纳米颗粒H-M-pp/C&D,能在含血清的细胞培养基中稳定存在25h。相比之下,经过PEG表面修饰的PEG@MnO₂-DHA,其血清稳定性提高至72h,这为药物在血液中稳定运输建立了基础。众所周知,乏氧、微酸和高H₂O₂是肿瘤微环境的主要特征^[18]。HIF-1 α 是评估组织缺氧的重要指标^[19]。本研究ELISA结果显示,在低氧条件下培养的BxPC-3细胞经PEG@MnO₂-DHA处理后,HIF-1 α 的水平明显下降,这表明PEG@MnO₂-DHA被细胞内吞之后,催化内源性的H₂O₂产生了氧气,缓解肿瘤部位的乏氧状态。DHA是一种具有分子内过氧桥结构的倍半萜内酯类化合物,有广泛的抗癌及抗炎活性^[20]。系列研究^[21-22]发现,DHA在Mn²⁺的催化下其内过氧桥断裂产生细胞毒性的ROS。本研究细胞内ROS检测结果显示,与PBS组相比,游离DHA组也显示出一定程度绿色荧光,笔者猜测可能是游离DHA与细胞内源性的Mn²⁺反应,产生了ROS。但PEG@MnO₂-DHA组绿色荧光高于游离DHA组,这表明了中空介孔二氧化锰纳米颗粒释放出的Mn²⁺与DHA反应产生了更多的ROS。最后,MTT和活死细胞染色结果均显示,PEG@MnO₂-DHA组杀伤作用最强,表明了经过中空介孔二氧化锰负载过后,DHA的杀伤作用得到增强,证明了中空介孔二氧化锰

递送 DHA 能有效抑制肿瘤生长。

综上所述,中空介孔二氧化锰可通过其特殊结构成功负载 DHA。一方面,纳米尺寸的中空介孔二氧化锰负载 DHA,能通过实体肿瘤部位的 EPR 增强药物在肿瘤部位富集;另一方面,由于 Mn^{2+} 与 DHA 反应产生 ROS,提高了 DHA 的抗肿瘤作用;最后,通过催化内源性 H_2O_2 产生氧气缓解肿瘤部位缺氧状态,进一步提高了肿瘤细胞对药物的敏感性。而中空介孔二氧化锰负载 DHA 在体内应用时,其对 DHA 抗肿瘤作用的增强是否和体外结果一致,有待进一步研究。

参考文献

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2020 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2020, 70(1): 7-30.
- [2] DAI X, ZHANG X, CHEN W, et al. Dihydroartemisinin: a potential natural anticancer drug [J]. *Int J Biol Sci*, 2021, 17(2): 603-622.
- [3] ZHANG F, MA Q, XU Z, et al. Dihydroartemisinin inhibits TCTP-dependent metastasis in gallbladder cancer [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2017, 36(1): 68.
- [4] CAI X, MIAO J, SUN R, et al. Dihydroartemisinin overcomes the resistance to osimertinib in EGFR-mutant non-small-cell lung cancer [J]. *Pharmacol Res*, 2021, 170: 105701.
- [5] TAO G, HE W, WANG Y, et al. Dispersity, mesoporous structure and particle size modulation of hollow mesoporous silica nanoparticles with excellent adsorption performance [J]. *Dalton Trans*, 2018, 47(38): 13345-13352.
- [6] BOYJOO Y, ROCHARD G, GIRAUDON J M. et al., Mesoporous MnO_2 hollow spheres for enhanced catalytic oxidation of formaldehyde [J]. *Sustain Mater Technol*, 2019, 20: e00091.
- [7] WU Y, CHEN Z, YAO Z, et al. Black phosphorus quantum dots encapsulated biodegradable hollow mesoporous MnO_2 : dual-modality cancer imaging and synergistic chemo-phototherapy [J]. *Adv Funct Mater*, 2021, 31(41): 2104643.
- [8] FEI W, CHEN D, TANG H, et al. Targeted GSH-exhausting and hydroxyl radical self-producing manganese-silica nanomissiles for MRI guided ferroptotic cancer therapy [J]. *Nanoscale*, 2020, 12(32): 16738-16754.
- [9] FAN S, YANG Q, SONG Q, et al. Multi-pathway inducing ferroptosis by MnO_2 -based nanodrugs for targeted cancer therapy [J]. *Chem Commun*, 2022, 58(45): 6486-6489.
- [10] CHEN Z, PENG B, XU J Q, et al. A non-surfactant self-templating strategy for mesoporous silica nanospheres: beyond the Stöber method [J]. *Nanoscale*, 2020, 12(6): 3657-3662.
- [11] MCGUIGAN A, KELLY P, TURKINGTON R C, et al. Pancreatic cancer: a review of clinical diagnosis, epidemiology, treatment and outcomes [J]. *World J Gastroenterol*, 2018, 24(43): 4846.
- [12] ZONG T X, SILVEIRA A P, MORAIS J A V, et al. Recent advances in antimicrobial nano-drug delivery systems [J]. *Nanomaterials*, 2022, 12(11): 1855.
- [13] CIRCIOBAN D, LEDETI A, VLASE G, et al. Thermal stability and kinetic degradation study for dihydroartemisinin [J]. *J Therm Anal Calorim*, 2020, 142(5): 2131-2139.
- [14] WU Y F, CHEN Z X, YAO Z P, et al. Black phosphorus quantum dots encapsulated biodegradable hollow mesoporous MnO_2 : dual-modality cancer imaging and synergistic chemo-phototherapy [J]. *Adv Funct Mater*, 2021, 31(41): 2104643.
- [15] FANG J F, WANG Q, YANG G J, et al. Albumin- MnO_2 gated hollow mesoporous silica nanosystem for modulating tumor hypoxia and synergetic therapy of cervical carcinoma [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2019, 179: 250-259.
- [16] SUN L Z, LV H, FENG J, et al. Noble-metal-based hollow mesoporous nanoparticles: synthesis strategies and applications [J]. *Adv Mater*, 2022, 34(31): 2201954.
- [17] WANG W C, CHEN X Z, LI J W, et al. Hollow MnO_2 nanoparticles loaded with functional genes as nanovaccines for synergistic cancer therapy [J]. *ACS Appl Nano Mater*, 2022, 5(8): 10537-10547.
- [18] PETROVA V, ANNICCHIARICO-PETRUZZELLI M, MELINO G, et al. The hypoxic tumour microenvironment [J]. *Oncogenesis*, 2018, 7(1): 10.
- [19] CHEN Q W, WANG J W, WANG X N, et al. Inhibition of tumor progression through the coupling of bacterial respiration with tumor metabolism [J]. *Angew Chem Int Ed*, 2020, 59(48): 21562-21570.
- [20] 蒋沅岐,董玉洁,周福军,等. 青蒿素及其衍生物的研究进展 [J]. *中草药*, 2022, 53(2): 599-608.
- [21] LI Q, YUAN Q, JIANG N, et al. Dihydroartemisinin regulates immune cell heterogeneity by triggering a cascade reaction of CDK and MAPK phosphorylation [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2022, 7(1): 222.
- [22] SHAO L, HU T, FAN X, et al. Intelligent nanoplatform with multi therapeutic modalities for synergistic cancer therapy [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2022, 14(11): 13122-13135.

(2023-01-08 收稿)

(本文编校:刘菲,胡欣)