

精准纳米气体治疗研究进展

何前军, 陈丹阳, 范明俭

(深圳大学 医学部 生物医学工程学院, 深圳 518060)

摘要: 精准纳米气体治疗具有低毒高效等特性, 作为一种新兴的疾病治疗手段受到越来越多的关注。研究表明, 纳米气体治疗不仅能在特定疾病部位选择性杀死癌细胞, 还能保护正常细胞。本文总结了国际最新研究成果, 对精准纳米气体治疗的最新研究进展进行了总结归纳和展望。首先, 阐述了纳米气体治疗的治疗作用和特点; 然后, 总结了实现精准纳米气体治疗的主要途径, 包括靶向气体传输、可控气体释放、医学成像引导和监控气体治疗、基于治疗性气体的多模式联合治疗等; 最后, 对纳米气体治疗存在的问题和发展前景做出了总结和展望。

关键词: 气体治疗; 纳米药物; 可控释放; 药物传输; 介孔二氧化硅; 石墨烯; 综述

中图分类号: TB381 **文献标识码:** A

Progress of Precision Nanomedicine-mediated Gas Therapy

HE Qian-Jun, CHEN Dan-Yang, FAN Ming-Jian

(School of Biomedical Engineering, Health Science Center, Shenzhen University, Shenzhen 518060, China)

Abstract: The precision nanomedicine-mediated gas therapy as an emerging and promising therapy strategy has received increasing attention, due to its low toxicity and high efficacy. Recent studies show that the nanomedicine-mediated gas therapy can not only kill cancer cells in specific diseased sites, but also protect normal cells. This review summarizes and reviews the most recent progress of the nanomedicine-mediated gas therapy. We introduce the therapeutic effects and characteristics of the nanomedicine-mediated gas therapy firstly, and then review several main routes to realize the precision nanomedicine-mediated gas therapy, including targeted gas delivery, controlled gas release, biomedical imaging guidance-monitoring of gas therapy, multi-model combined therapy based on therapeutic gases, and so on, and finally summarize the present existing issues and the prospects of further development in the gas therapy field.

Key words: gas therapy; nanomedicine; controlled release; drug delivery; mesoporous silica; graphene; review

生物体内存在一类特殊的气体信号分子, 包括一氧化氮(NO)、一氧化碳(CO)和硫化氢(H₂S)。这类气体信号分子可以在与多价过渡金属特异性结合过程中起到信使的作用, 从而具有调节神经系统、心血管系统和免疫系统等几乎所有人体系统的多种生理功能, 对人体生理过程的正常运转和病理过程的

积极调控具有重要作用^[1-5]。内源性气体信号分子具有维持体内生理平衡的特殊作用, 在体内是不可或缺的重要物质, 气体信号通路的异常变化往往反映了疾病的发生与发展^[6-8]。外源性气体补充对众多重大疾病具有显著的治疗作用, 譬如心血管疾病、癌症、缺血性损伤、炎症和中风等^[9-14]。Furchgott、

收稿日期: 2017-11-09; 收到修改稿日期: 2017-12-27

基金项目: 国家自然科学基金(81701827); 深圳市基础研究项目(JCYJ20170302151858466); 深圳市孔雀团队项目(KQTD2016053112051497)

National Natural Science Foundation of China (81701827); Shenzhen Basic Research Project (JCYJ20170302151-858466); Shenzhen Peacock Plan (KQTD2016053112051497)

作者简介: 何前军(1979—), 男, 教授. E-mail: nanoflower@126.com

Ignarro 和 Mura 发现 NO 就是心血管系统的信号分子,他们还用实验阐释了 NO 前体药物分子在心血管疾病治疗中作用的机制,获得了 1998 年 Nobel 生理与医学奖^[15]。这类治疗性气体分子还具有选择性抗癌的特殊性质:它们不仅可以通过快速耗尽癌细胞的高水平生物能(即抗沃伯格效应)加速癌细胞的凋亡,阻止癌细胞的增殖,还能维持正常细胞的能量水平,选择性地保护正常细胞的活性和生理功能^[16-18]。这种奇特的肿瘤细胞选择性不仅避免了气体药物对正常组织的毒性,而且保护正常细胞,具有低毒、高效的抗癌特性,显著优于目前常用的抗肿瘤化疗药物。因而,气体治疗成为一种新兴的、且非常有应用前景的抗癌治疗策略。目前国内外针对重大疾病的气体治疗研究正方兴未艾^[19]。

气体治疗与气体浓度高度相关。众所周知,NO、CO 和 H₂S 气体在血液中浓度过高都会引起中毒^[20-22],但在相对较低的浓度范围内,它们不仅不会引起中毒,反而具有显著的抗癌活性。理想的安全且有效的气体治疗策略是:既保证治疗性气体特异性高浓度蓄积于病灶部位,又保证治疗性气体在血液中保持较低的安全浓度^[19]。临床上治疗性气体主要有两种给药方式:直接吸入气体、口服或腹部注射气体释放分子(Gas-Releasing Molecules, GRMs)药物。这两种给药方式都无法实现靶向性气体运输和可控气体释放,主要归因于这些气体分子在体内具有快速自由扩散的行为^[1]。

随着纳米技术的飞速发展,大量新型多功能纳米药物载体材料被研发出来,这为通过构建纳米药物来实现药物的靶向传输与可控释放提供了条件^[23-26]。本课题组开创性地提出精准纳米气体治疗的概念来实现疾病的精准治疗^[19]。纳米气体治疗是指借助纳米技术将多功能纳米载体与气体或能产生治疗性气体的前驱体药物 GRMs 进行组合,构建出一类智能纳米气体药物,从而成为疾病精准治疗的一种途径。精准纳米气体治疗可以通过靶向气体传输、可控气体释放、医学成像引导和监控气体治疗、基于治疗性气体的多模式联合治疗等途径来实现高效、低毒的疾病治疗,对于发展气体治疗用于重大疾病的研究具有重要的科学意义。本文将从上述几个方面综述近年来的进展。

1 可控气体释放

从纳米药物结构的角度考虑,本文提出两种策略来实现可控气体释放:1)开发刺激敏感性 GRMs 用于构建响应性纳米药物;2)通过纳米载体与

GRMs 之间的协同作用实现气体的可控释放^[19]。这种协同作用可以来源于纳米载体与 GRMs 之间的能量传递^[27-30],还可以借助与纳米载体的响应性分解或结构破裂^[31-33]。从刺激源的角度考虑,两类策略可以实现可控气体释放:1)外源性刺激响应,如光、声、电和磁等;2)内源性刺激响应,如酸碱性、氧化还原性、过度表达的双氧水水平、ATP 水平和特殊酶水平等。外刺激源响应具有刺激源容易操控的优势,包括刺激源的开关、聚焦、能量调节和辐照时间的调节等;内刺激源响应具有组织渗透深度没有限制的优势,特别适合用于常规药物无法渗透到的疾病组织部位,如肿瘤组织内部等。

1.1 外刺激源响应性可控气体释放

1.1.1 近红外光控制气体释放

在众多外源性刺激源中,激光是最方便有效的,因此光控药物释放成为一种常见的可控给药途径。大多数光响应性 GRMs 前药只对紫外光或可见光敏感^[4,34-37]。紫外光和可见光的组织穿透深度有限,而且容易引起光毒性,严重限制了光响应性气体释放在体内的应用。相比而言,近红外(NIR)光具有更大的组织穿透深度和更低的光毒性,因而 NIR 光响应性气体释放具有更广阔的应用前景。根据上述从纳米药物结构角度提出的两种策略,本实验室设计合成了一类对 NIR 光敏感的 GRMs^[38],通过氧化石墨烯纳米片与 UV 敏感性 GRMs 间的光电转化效应,实现了 NIR 光响应性 CO/NO 气体可控释放。

2015 年,本课题组使用超小氧化石墨烯纳米片(Graphene Oxide Nanosheet, GON)与金属羰基化合物(羰基锰, MnCO)作为纳米载体和能产生 CO 气体的前药(CO-Releasing Molecules, CORMs),通过络合作用构建了一种“笼状”纳米药物 MnCO-GON^[27](图 1(A))。通过氧化石墨烯的 NIR 光吸收效应、光电转化效应和光-化学能转化原理,吸收 NIR 光能,从而激发表面铆接的 CORMs 前药化学分解,释放 CO,从而实现了 NIR 光响应性释放 CO 气体。实验结果表明: MnBr(CO)₅ 前药只对 UV 光敏感,而对 NIR 光不敏感,然而构建的 MnCO-GON 纳米药物变得对 NIR 光敏感; MnCO-GON 纳米药物的 NIR 光响应性 CO 释放依赖于 NIR 光的能量密度和辐照时间(图 1(B))。越高的 NIR 光能量导致 CO 释放越快,越长的 NIR 光辐照时间导致 CO 释放越多。除了具有高 NIR 光敏感性, MnCO-GON 纳米药物还具有高 NIR 光可控性。开启 NIR 光源导致 CO 快速释放,而关掉 NIR 光源迅速导致 CO 释放中止,循环开关周而复始(图 1(C))。这表明构建的 MnCO-GON 纳米药

物可以实现按需可控的 CO 释放。通过 MnCO-GON 纳米药物介导的细胞内药物传输和胞内 NIR 光控 CO 释放, 实现了胞内 CO 的可控释放和蓄积, 而且胞内释放的 CO 表现出明显的抗炎作用。借助类似的原理, 本实验室通过 π - π 共轭效应, 使用氧化石墨烯纳米片和 bis-*N*-nitroso(BNN)型 NO 气体释放分子(NO-Releasing Molecules, NORMs)层层堆叠, 构建了一种新型的“三明治”纳米结构 GON-BNN6 (图 2(A))。同样利用 GON 的 NIR 光吸收效应和光电转化效应(图 2(B)), 实现了 NIR 光响应性的 NO 释放(图 2(C))^[28]。此外, 赵东元和赵宇亮课题组^[29-30]将 UV 光敏感的罗森黑盐(RBS)型 NORMs 前药装载到上转换纳米颗粒@介孔二氧化硅纳米颗粒的介孔壳中, 通过上转换纳米核的 NIR-to-UV/Vis 上转换特性, 吸收 NIR 光, 发射 UV 光, 激发壳层中的 NORMs 前药, 释放 NO 气体, 从而实现了 NIR 响应性释放 NO 气体。上述实验表明, 通过调节 NIR 光

开关、辐射时间和能量密度可以较好地控制纳米药物的气体释放, 从而达到治疗目的。

最近, 本课题组采用一种简便的配位络合-沉淀法, 直接合成了一类对 NIR 光敏感的新型 GRMs^[38]。RBS 是一种对 UV 光敏感的可溶性 NORMs, 因而具有较大的细胞毒性和热不稳定性。因此, 可通过配位络合-沉淀途径, 通过过渡金属离子将 RBS 阴离子沉淀下来, 合成一种难溶的、热稳定的、对 NIR 光敏感的新型罗森黑盐(Me-RBS)。所用合成 Me-RBS 的配位络合-沉淀法极为简便、快捷、普适性强, 只需将金属离子溶液和 RBS 溶液混合、沉淀、分离, 即可得到 Me-RBS 产物(图 3(C)), 适用的金属离子产量都比较高(一般>90%)。Me-RBS 的形成与过渡金属阳离子跟 RBS 阴离子间的配位作用密切相关, 研究结果表明铜、铁、铅、钴和铝离子能够与 RBS 形成 Me-RBS 化合物。Me-RBS 化合物的 UV-Vis-NIR 吸收行为与过渡金属离子的性

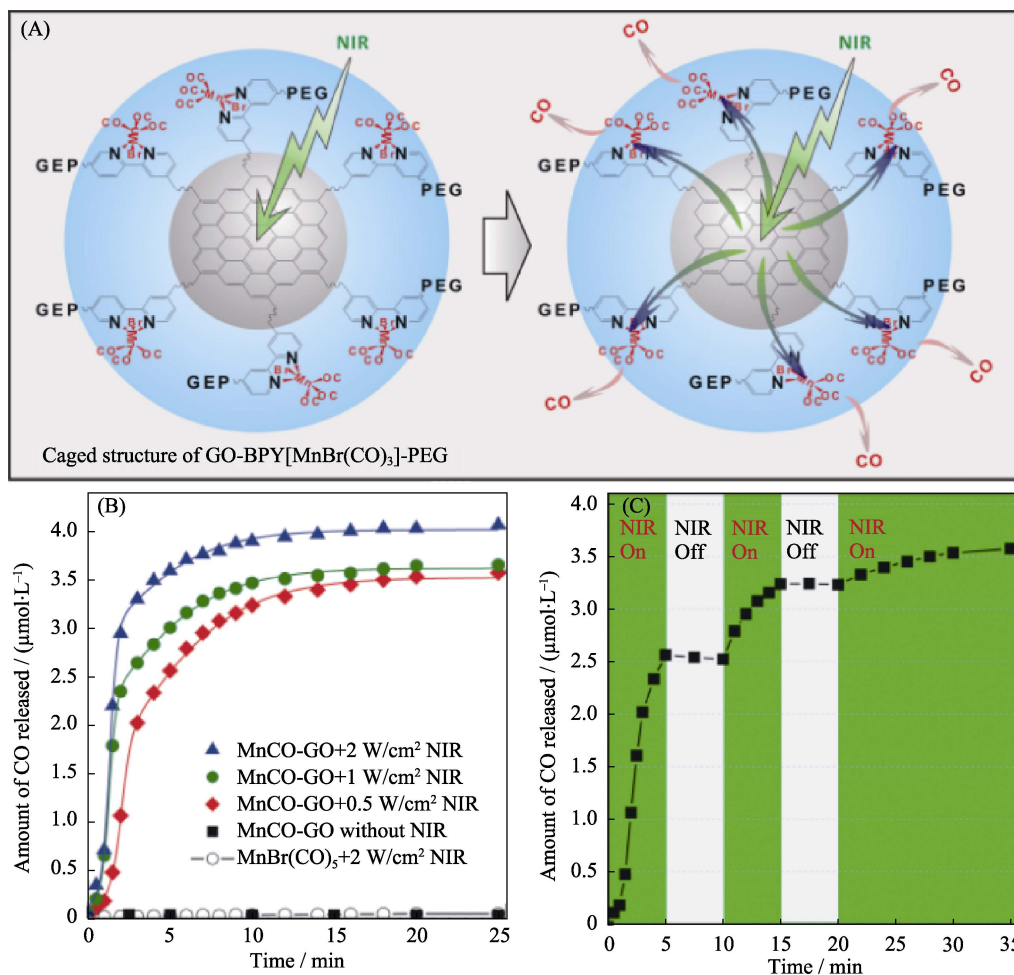


图1 (A)具有“笼状”结构 MnCO-GON 纳米药物的 NIR 光响应性释放 CO 气体的原理示意图, (B)纳米药物可控释放 CO 的 NIR 光响应性和(C)纳米药物可控释放 CO 的 NIR 光可控性^[27]

Fig. 1 (A) NIR-responsive CO release mechanism of the MnCO-GON nanomedicine with a caged structure, (B) NIR responsive for CO release profiles of MnCO-GON, and (C) NIR-controllability of MnCO-GON for CO release^[27]
GON: Graphene Oxide Nanosheet

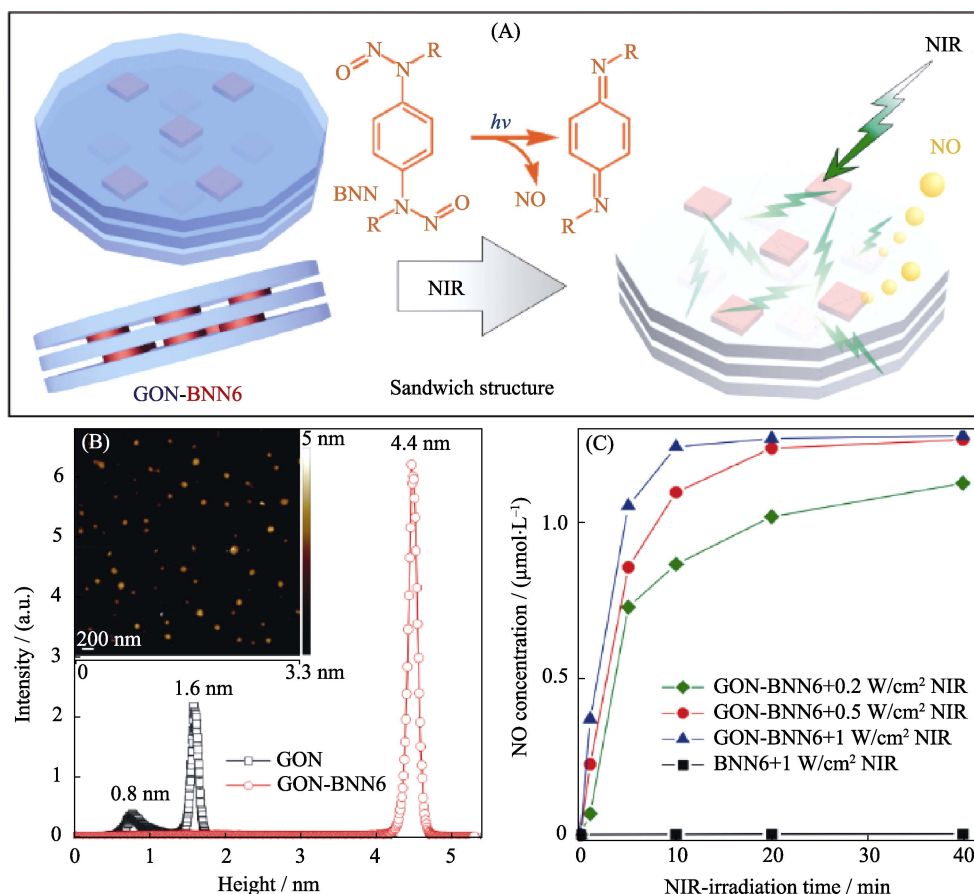


图 2 (A)具有“三明治”结构的 GON-BNN6 纳米药物的 π - π 共轭自组装, 及其 NIR 光响应性释放 NO 气体的原理示意图, (B)纳米药物的 AFM 形貌表征和(C)纳米药物的 NIR 可控释放 NO 行为^[28]

Fig. 2 (A) The sandwich structure of GO-BNN6 self-assembled by GO nanosheets and BNN6 molecules through the π - π stacking, and the mechanism of NIR-responsive NO release; (B) AFM data of GO-BNN6 and (C) NIR-controlled NO release profiles of the GO-BNN6 nanomedicine^[28]

BNN: bis-*N*-nitroso

质密切相关, Me-RBS 的 NIR 光响应性又与其对 NIR 光的吸收密切相关(图 3(D)和(E))。RBS 在 NIR 区域无吸收, 因而对 NIR 光不敏感; Cu-RBS 的 NIR 光吸收最强, 因而其对 NIR 光最敏感, NIR 光响应性释放 NO 的速度最快。因此, 通过分子结构设计改变其光学性质进而改变其光控气体释放行为的策略, 对于设计合成新型光敏感性 GRMs 分子化合物具有重要的指导意义。

1.1.2 超声控制气体释放

与光刺激相比, 超声波能够更方便地聚焦于人体组织内部的局部区域(切向焦点尺寸可达微米级)、具有更强的组织穿透性(1 MHz 声波的穿透深度可达 20 cm), 因而超声响应性药物控释成为一种独具特色和优势的给药方式^[39]。利用超声波刺激药物, 进行响应性地可控释放治疗性气体的研究目前只集中在包裹气体的脂质体型纳米药物, 即采用脂质体微泡包裹气体分子构建的纳米药物, 通过超声波的空化作用破碎脂质体微泡, 从而释放其中

包裹的气体分子。然而目前这种超声微泡型纳米药物存在的缺点主要包括气体负载量较低、稳定性差、无法达到可控和大小颗粒不均一等^[40]。无机载体如中空介孔二氧化硅纳米颗粒(hMSN)比有机脂质体载体物理化学稳定性高得多, GRM@hMSN 纳米医药可以克服传统气体@脂质体纳米药物的上述缺点, 有利于避免药物泄漏等。因此开发性能优异的新型超声响应性纳米药物, 并实现治疗性气体在体内安全可控释放, 是气体治疗当前亟待解决的关键科学问题。

最近, 本课题组首次发现光响应性 BNN6 药物也对超声具有响应性, 超声波能加速 NO 自由基分子的产生, 从而触发 BNN6 药物分解释放 NO 气体(图 4(A))^[41]。BNN6 是一种高度疏水的气体前药, 因此为了改善药物的传输效率, 本课题组设计了一种铃铛型结构的空心介孔二氧化硅(SPION@hMSN)用于 BNN6 药物的高效装载与靶向传输(图 4(B))。所构建的纳米药物 BNN6-SPION@hMSN 对超声波具

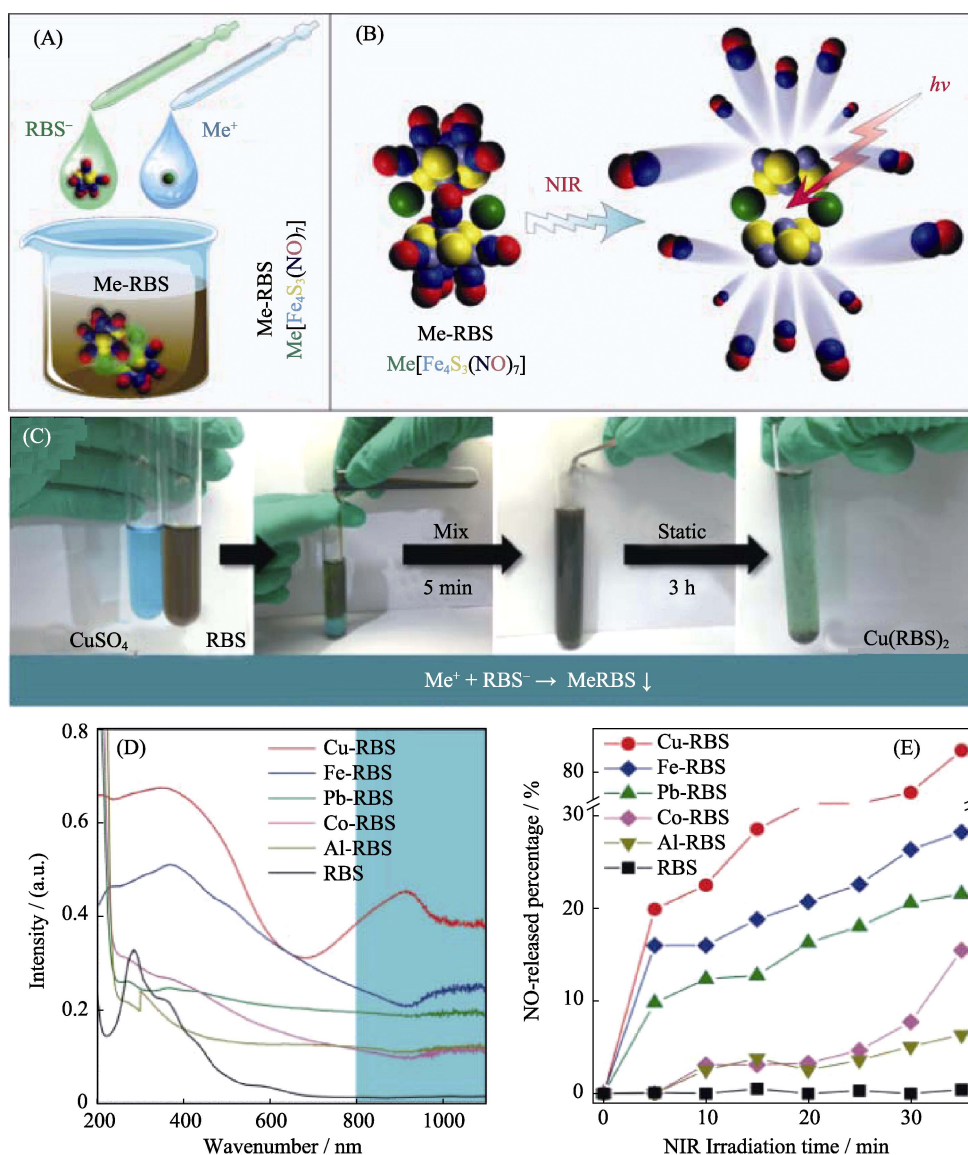


图 3 (A)不溶性金属配位型罗森黑盐 Me-RBS 的配位络合-沉淀法示意图; (B)Me-RBS 的 NIR 光响应性释放 NO 气体的原理示意图; (C)Me-RBS 的紫外吸收行为比较和(D)NIR 光控释放 NO 行为比较^[38]

Fig. 3 (A) Schematic illustration of the coordination-precipitation process of insoluble Me-RBS, (B) the NIR-responsive NO release mechanism of Me-RBS, (C) comparison of UV absorption behaviors of Me-RBS and (D) comparison of NO release behaviors of Me-RBS^[38]

RBS: Rosen Black Salt

有较高的响应性, NO 释放速度及其细胞毒性与超声波能量正向相关(图 4(C)和(D))。相比于传统的气体@脂质体纳米药物, 利用空心介孔二氧化硅载体和气体前药设计的新型超声响应性纳米药物 GRM@hMSN, 充分体现了载气量大、稳定性好、可控性强、粒径均一等优点, 具有更高的应用价值。

1.1.3 X 射线控制气体释放

作为一种非侵入性的外源性刺激, X 射线在活体的穿透率极高, 并且低剂量的 X 射线辐射可以潜在地在空间和时间上触发药物的释放。X 射线在控制药物释放方面具有以下优势: 首先, 高度穿透的 X 射线可以在深部病变区域进行定点控制药物释放;

其次, 通过改变 X 射线辐射剂量和持续时间, 可实现按需药物释放; 最后, 在肿瘤治疗中运用 X 射线触发药物释放, 将化疗与放疗结合, 从而提高治疗效果。实验证明, 在肿瘤放射治疗中, NO 气体/自由基可以为放疗增敏。相对较高浓度的 NO 可作为一种有效的低氧放射增敏剂来增强放疗疗效, 但过高的 NO 可能带来潜在的中毒风险。因此, 本课题组使用一种核壳结构的介孔二氧化硅载体(Upconversion nano-theranostic system, PEG-USMSs)负载 S-亚硝基硫醇(S-nitrosothiol, SNO)型 NORMs 前药, 设计合成了一种新型介孔基纳米药物(PEG-USMSs-SNO), 负载的 SNO 前药响应 X 射线可控释放 NO,

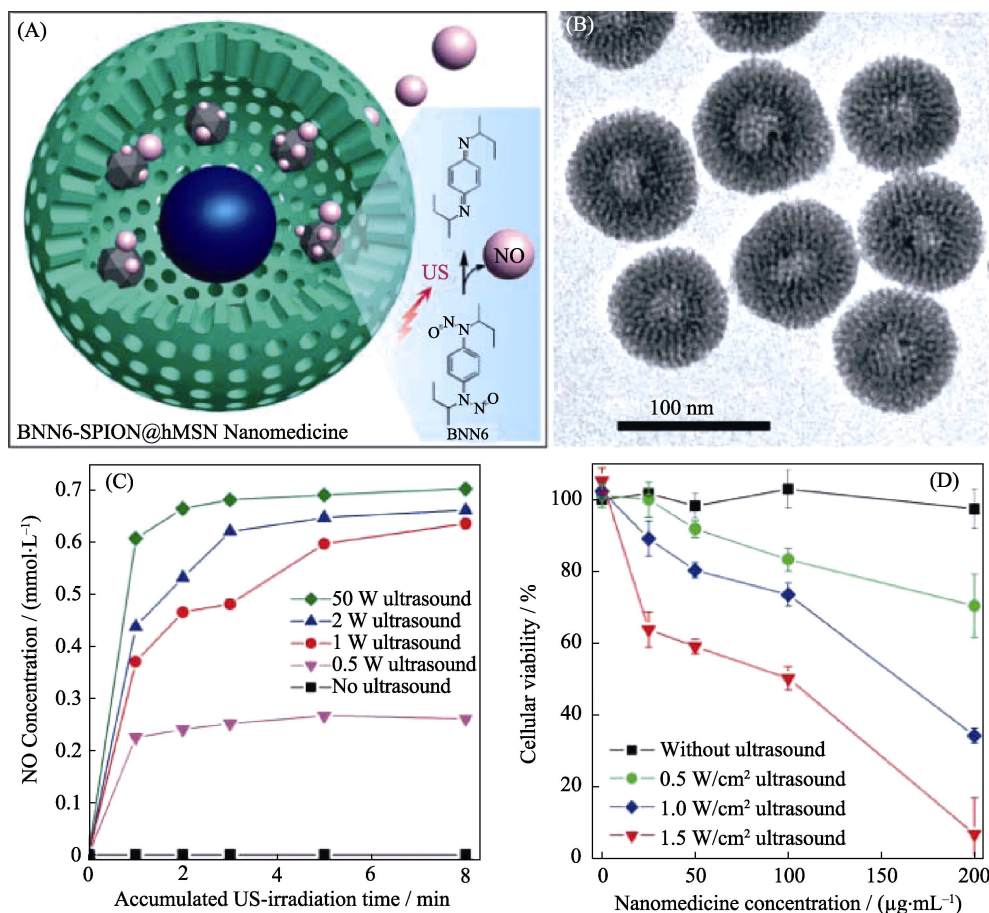


图 4 (A)具有“铃铛”结构的 BNN6-SPION@hMSN 纳米药物的超声响应释放 NO 气体的原理示意图, (B)纳米药物的 TEM 照片, (C)纳米药物的超声可控释放 NO 行为和(D)超声诱导纳米药物细胞毒性行为^[41]
Fig. 4 (A) The mechanism of ultrasound-responsive NO release from the rattle-structured BNN6-SPION@hMSN nanomedicine, (B) TEM image of the nanomedicine, (C) ultrasound-responsive NO release behavior of the nanomedicine and (D) ultrasound-induced cytotoxicity of the nanomedicine^[41]
BNN: bis-*N*-nitroso; SPION: Superparamagnetic Iron Oxide-encapsulated; hMSN: hollow Mesoporous Silica Nanoparticles

实现 NO 气体治疗和放疗的联合增效(图 5)^[42]。PEG-USMSs-SNO 纳米药物在体外和动物体内都表现出了良好的 X 射线响应性(图 5(A)、(B)), X 射线剂量越高, NO 的释放量越大。但是该体系的缺点在于 NO 释放的可控性较差, 在无 X 射线辐照的情况下 NO 依然会缓慢地自发释放, 这主要起因于 SNO 前药在生理环境下的不稳定性。因此, 如何改善 X 射线响应性纳米药物的稳定性和 X 射线控释 NO 的可控性, 是今后需要解决的一个重要问题。

1.2 内刺激源响应性可控气体释放

内刺激源响应性可控气体释放主要是利用机体内病变部位特殊的微环境, 如肿瘤微环境(包括肿瘤内酸性环境, 还原性环境和过氧化氢过表达环境等), 纳米药物在该微环境的刺激下释放气体。相对于光刺激和声刺激等外源性刺激源而言, 内源性刺激是一种无创、绿色的介导气体释放的方式, 具有在体内穿透的深度不受限制、在不侵袭正常组织和细胞的情况下实现原位靶向释放的优点。

1.2.1 双氧水响应性气体释放

肿瘤细胞中的 H₂O₂ 水平明显高于正常细胞, 约为正常细胞的 3~26 倍, 因此可利用肿瘤细胞中的高 H₂O₂ 表达量设计一类双氧水响应性纳米药物。H₂O₂ 响应性气体释放主要是运用肿瘤内的 H₂O₂ 触发纳米药物释放治疗性气体, 从而原位杀死肿瘤细胞。实现双氧水响应性气体释放的一个主要途径是开发双氧水响应的气体前药。本课题组最近发现金属羰基化合物前药是一种新型的类 Fenton 试剂, 可以催化双氧水分解产生高氧化活性的羟基自由基, 产生的羟基自由基氧化金属羰基化合物, 从而产生 CO 气体(图 6(A))^[43]。但大多数稳定的金属羰基化合物都是强疏水性药物, 因此采用空心介孔二氧化硅高效负载羰基锰, 构建了一种双氧水响应的新型纳米药物 MnCO@hMSN (图 6(B))。H₂O₂ 触发的 CO 释放行为和细胞毒性高度依赖于细胞内双氧水的水平(图 6(C)~(E)), H₂O₂ 含量较高的肿瘤细胞触发纳米药物释放更多的 CO 从而达到更有效的抗肿瘤

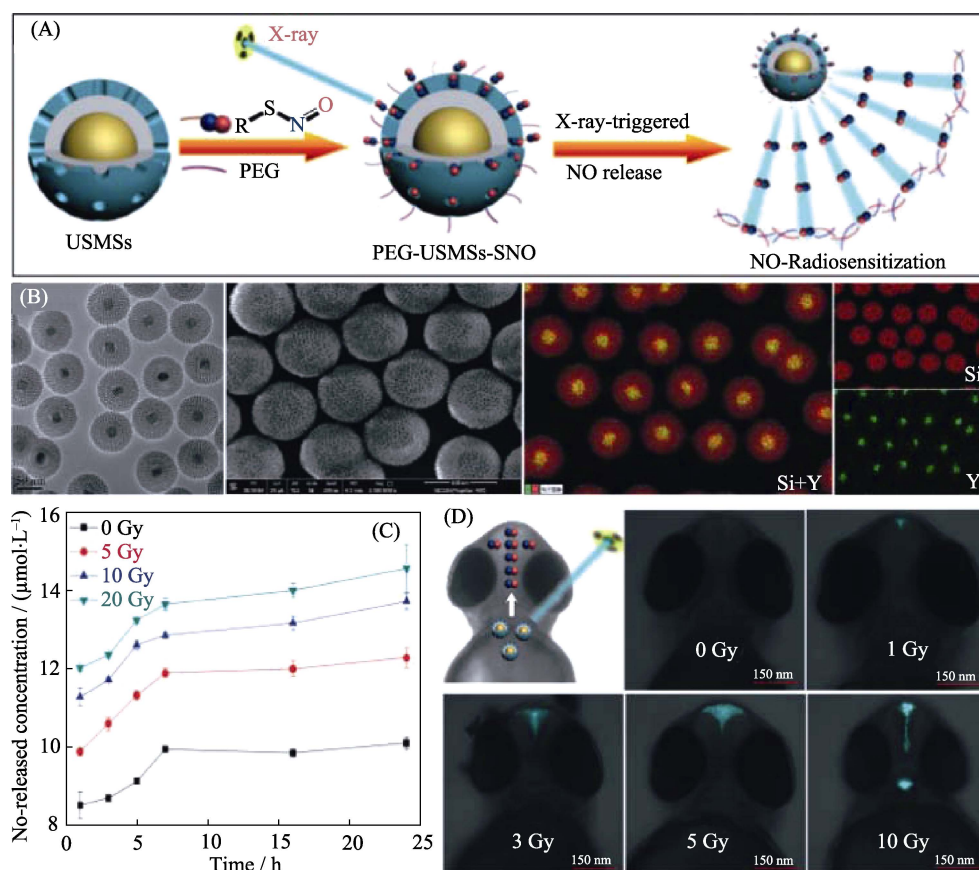


图 5 (A)具有“核壳”结构的 PEG-USMSs-SNO 纳米药物的 X 射线响应性释放 NO 气体的原理示意图, (B)纳米药物的 TEM 照片和元素分布图, (C)纳米药物在体外的 X 射线可控释放 NO 行为和(D)纳米药物在斑马鱼体内的 X 射线可控释放 NO 行为^[42]
Fig. 5 (A) The mechanism of X-ray responsive NO release from the PEG-USMSs-SNO nanomedicine with the core-shell structure, (B) TEM images and elementary mapping of the nanomedicine, (C) X-ray controlled NO release behavior of the nanomedicine *in vitro*, and (D) X-ray controlled NO release behavior of the nanomedicine on zebrafish^[42]

USMSs: Upconversion nano-theranostic system; SNO: S-nitrosothiol.

治疗。该纳米药物对 H_2O_2 过表达的肿瘤细胞产生较高的细胞毒性, 但对正常细胞几乎没有细胞毒性, 从而表现出较高的选择性抗癌效果。由于这种选择性的杀伤肿瘤作用和通过纳米药物对 CO 气体的肿瘤位点特异性递送性质, 已经证明了体外和体内癌症治疗的高效性和良好的生物安全性。

1.2.2 葡萄糖响应性气体释放

葡萄糖是肿瘤生长的主要营养物质和能量来源。肿瘤对葡萄糖的需求远高于正常组织, 因而葡萄糖也是一种潜在的内源性刺激源。本课题组以空心介孔有机硅(hMON)作为载体, 高效负载葡萄糖氧化酶(GOx)和 L-精氨酸(L-Arg), 构建了一种新型葡萄糖响应性纳米药物 Arg@hMON-GOx (图 7(A))^[44]。GOx 催化葡萄糖氧化分解产生葡萄糖酸和双氧水, 产生的双氧水进一步氧化 L-Arg 产生 NO 气体, 从而实现葡萄糖响应性释放 NO (图 7(B))。研究结果表明: pH、双氧水浓度和 NO 浓度都与葡萄糖浓度正向相关; 细胞内的葡萄糖浓度越高, 产生的 NO 浓度则越高, 抗肿瘤效果越显著。该纳米药物的优点在于前药负载量高、NO 释放的响应性高、体系

降解性好和生物相容性好; 缺点在于 GOx 的催化反应无法终止, 且反应速度难以调节, 可控性较差。但葡萄糖响应性控释气体用于疾病治疗的概念具有潜在的应用价值, 设计开发性能更优异的新型葡萄糖响应性纳米药物值得进一步研究。

1.2.3 酸响应性气体释放

肿瘤和炎症组织的微酸性环境为酸响应性可控气体释放提供了内源性动力。Kim 等^[32]采用一种酸可降解载体 MSN-CaP 来装载 NO 气体前药, 实现酸响应性 NO 气体释放(图 8(A))。磷酸钙 CaP 涂层可以起到保护被装载前药和酸响应性溶解的目的。在较低 pH 下, CaP 涂层溶解, 被装载的 NO 前药 2-nitrobenzaldehyde(NBA)被暴露出来而自发分解产生 NO 气体(图 8(B))。由此可见, 极不稳定的 NBA 前药有可能致使该纳米药物不稳定(图 8(C))。此外, 作者还装载光响应性产酸剂 diazeniumdiolates, 用紫外光激发其产酸, 用于原位打开 CaP 壳层(图 8(A))。但该光响应产酸剂仅对紫外光响应, 而且装载的 NO 前药 NBA 也对紫外光响应释放 NO, 给上述酸响应控释 NO 的结论造成了困扰。因此, 如何

既利用微弱的酸性微环境实现酸可控气体释放,又保证纳米气体药物在正常生理环境下的高度稳定和药物无泄漏,依然是今后亟待解决的关键问题之一。

2 靶向气体运输

为了消除气体快速自由扩散的缺点,实现靶向气体传输至关重要。通过引入靶向性纳米载体来负载气体前药,可构建一类新型靶向性纳米气体药物,

从而实现气体的靶向运输。纳米药物的靶向性主要可以通过两种方式实现:被动靶向和主动靶向。被动靶向指尺寸在 100 nm 以下的颗粒可以通过肿瘤的“增强渗透与滞留”效应(EPR 效应),实现纳米颗粒在肿瘤部位的被动蓄积。因而,为了实现肿瘤靶向气体运输,纳米药物的尺寸应该控制在 100 nm 以下。主动靶向主要通过配体识别(如抗 HER/CD20/CD40 单抗、靶向肽、叶酸/半乳糖/转铁蛋白)和外场引导(如磁场靶向)实现^[45-47]。Veres 等^[47]构建了一种

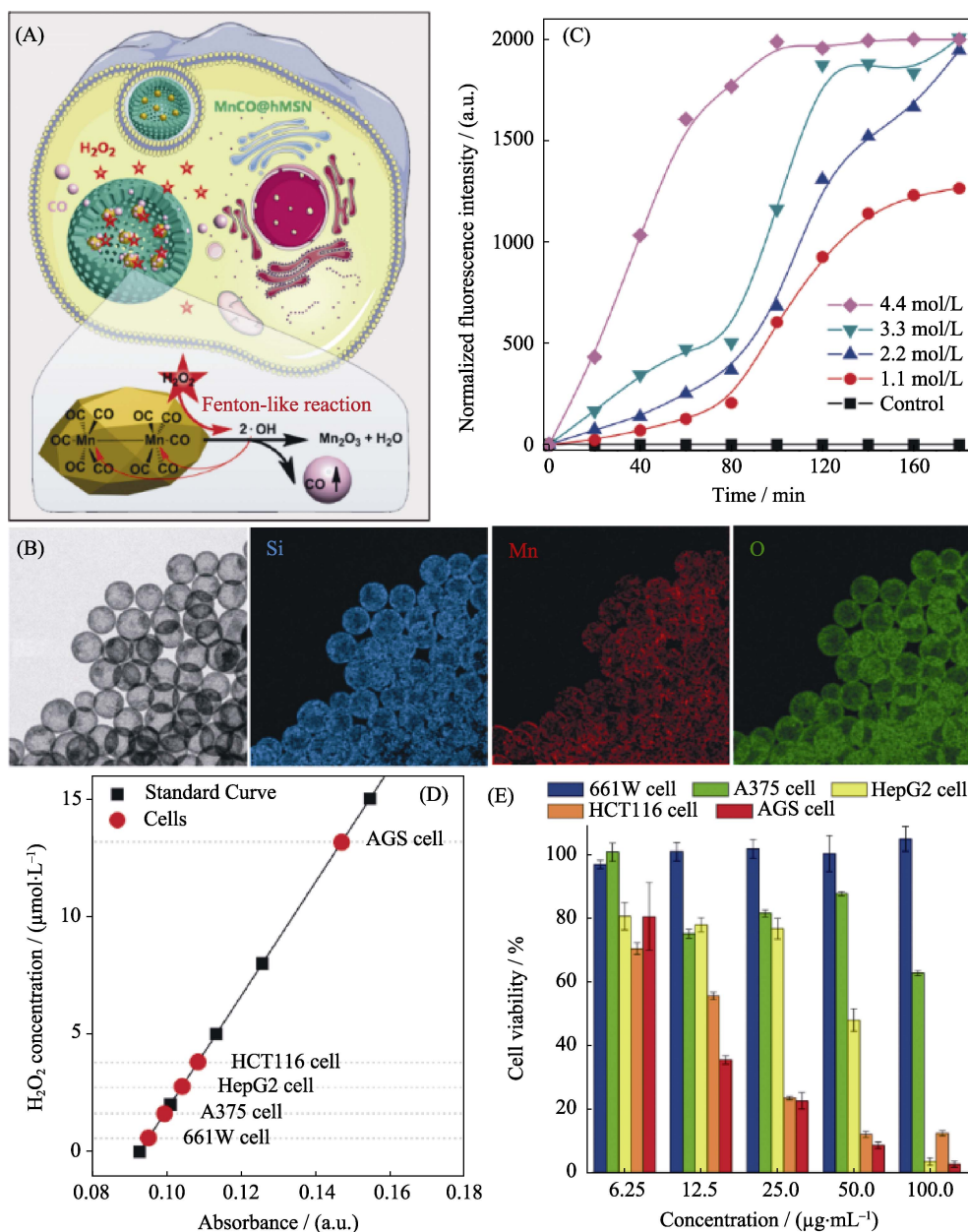


图 6 (A)基于空心介孔二氧化硅纳米载体和羰基锰前药的 MnCO@hMSN 纳米药物的双氧水响应性释放 CO 气体的原理示意图, (B)纳米药物的 TEM 照片和元素分布图, (C)纳米药物在体外的双氧水可控释放 CO 行为, (D)各种细胞内的双氧水水平比较和(E)纳米药物对各种细胞的细胞毒性研究^[43]

Fig. 6 (A) The H₂O₂-triggered CO release mechanism of the MnCO@hMSN nanomedicine constructed by hMSN and manganese carbonyl prodrug, (B) TEM image and elementary mapping of the nanomedicine, (C) H₂O₂-triggered CO release behavior of the nanomedicine *in vitro*, (D) comparison of H₂O₂ levels in various cells and (E) comparison of cytotoxicity against various cells^[43]
hMSN: hollow Mesoporous Silica Nanoparticles

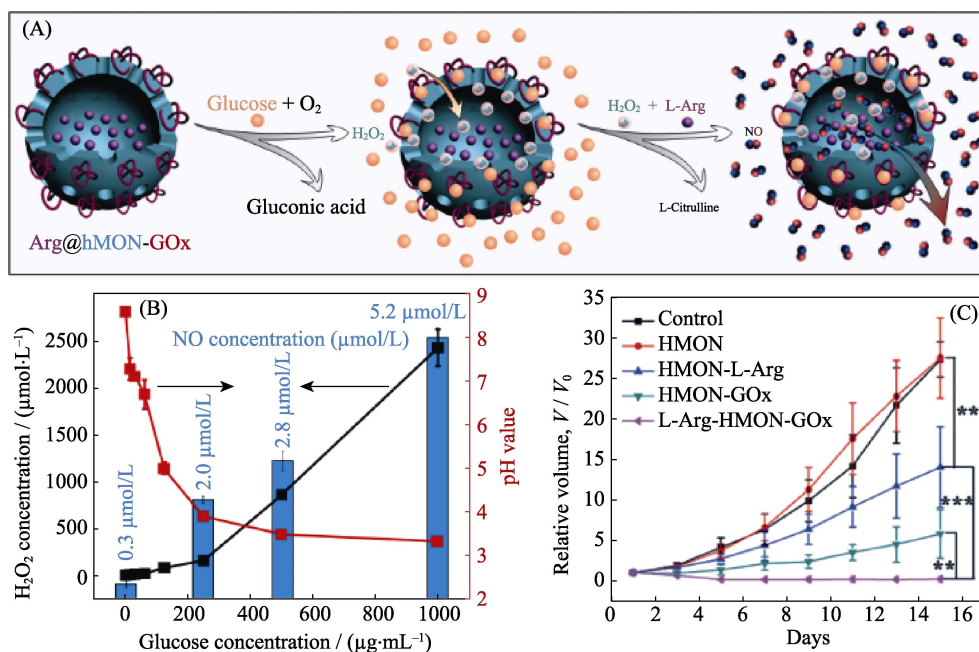


图 7 (A)基于空心介孔二氧化硅纳米载体和葡萄糖氧化酶/L-精氨酸前药的 Arg@hMON-GOx 纳米药物的构建及其葡萄糖响应性释放 NO 气体的原理示意图, (B)葡萄糖浓度对双氧水浓度、pH 和 NO 浓度的影响和(C)纳米药物对荷瘤鼠的治疗作用^[44]

Fig. 7 (A) Construction and SEM image of the Arg@hMON-GOx nanomedicine based on the hMON carrier and the Arginine/GOx prodrugs, and the mechanism of glucose-responsive release of NO, (B) effects of glucose concentration on hydrogen peroxide concentration, pH and NO concentration, and (C) *in vivo* outcome of gas therapy by nanomedicine^[44]
hMON: hollow Mesoporous Organosilica Nanoparticle

磁性四氧化铁-NORMs-二氧化硅纳米颗粒, 通过磁靶向策略实现了纳米颗粒在体外模拟条件下的磁引导蓄积, 但较难在动物体内实现精确的三维磁定位靶向。本课题组借助 EPR 效应, 构建具有较小尺寸 (80 nm) 的纳米气体药物 BNN6-SPION@hMSN 实现了肿瘤内的高效被动靶向药物传输 (图 9(A)~9(B))^[41]。目前用于气体治疗的靶向性纳米药物的报道依然较少。

3 医学成像引导气体治疗

除了靶向气体传输, 本课题组还提出利用医学成像引导气体治疗, 也是实现精准气体治疗的一个有效途径^[19]。如何通过有效整合多功能纳米载体和气体前药, 构建兼具医学成像功能和气体控释功能的纳米气体药物, 是实现医学成像引导气体治疗的关键。基于这一思路, 本课题组首次提出构建超顺磁性空心介孔二氧化硅纳米载体 SPION@hMSN, 用于高效装载气体前药 BNN6, 也用于磁共振成像 (Magnetic Resonance Imaging, MRI) 引导超声控释 NO, 实现 NO 气体精准治疗^[41]。10 nm 的 SPION 核赋予了纳米药物较高的超顺磁性和较高的 MRI 成像性能; 整个纳米药物 BNN6-SPION@hMSN 的颗粒尺寸仅 80 nm, 使其具有较好的肿瘤被动靶向性

能。荷瘤鼠实验结果表明: 尾静脉注射 BNN6-SPION@hMSN 纳米药物后, 在 8 h 内逐渐在肿瘤内靶向蓄积 (图 9(B)); 通过 MRI 成像可准确地定位肿瘤位置 (图 9(B) 箭头所示), 为针对肿瘤部位聚焦超声触发纳米药物原位释放 NO 提供了条件。这种医学成像引导气体治疗的途径极大地提高了气体治疗的精准性和有效性, 不仅可以有效地提高气体治疗效果, 还可以极大地避免药物对正常组织的毒副作用。

4 基于治疗性气体的多模式协同治疗

多模式协同治疗是将多种治疗模式联合, 达到联合增效的作用。不同于其它常规的多模式联合治疗, 将气体治疗与其它治疗方式进行联合的多模式协同治疗不仅可以增强治疗效果, 而且治疗性气体还可以减弱甚至消除其它治疗对正常组织带来的毒副作用。例如, CO 气体在增效化疗的同时, 还可以为化疗解毒^[16]。这种基于治疗性气体的多模式协同治疗明显优于传统的多模式协同治疗, 是安全、高效治疗所迫切期望的一种策略。借助铃铛型介孔二氧化硅纳米载体和新型二维多功能纳米载体, 可以以纳米药物形式有机整合气体治疗与其它治疗模式 (如热疗、化疗、放疗、光治疗和免疫治疗等), 进行多模式联合治疗, 对于提高抗癌效率、降低毒副作

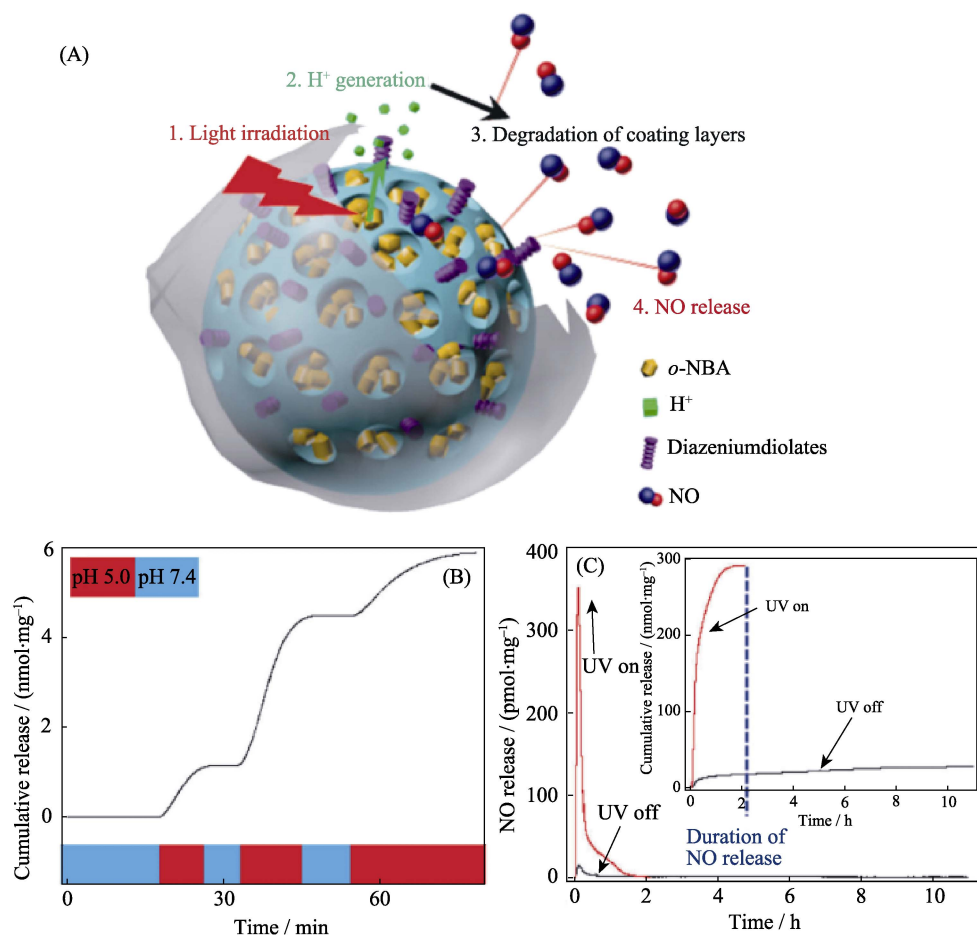


图 8 (A)通过介孔二氧化硅纳米载体包裹 NO 气体前药并涂覆磷酸钙响应层构建的新型纳米药物 MSN-CaP-NO 及其控释原理示意图, (B)纳米药物的酸响应 NO 释放行为和(C)纳米药物的光控 NO 释放行为^[32]

Fig. 8 (A) The construction of the MSN-CaP-NO nanomedicine and its controlled NO release mechanism, (B) acid-responsive NO release behavior of the nanomedicine, and (C) light-controlled NO release profile of the nanomedicine^[32]
MSN: Mesoporous Silica Nanoparticles

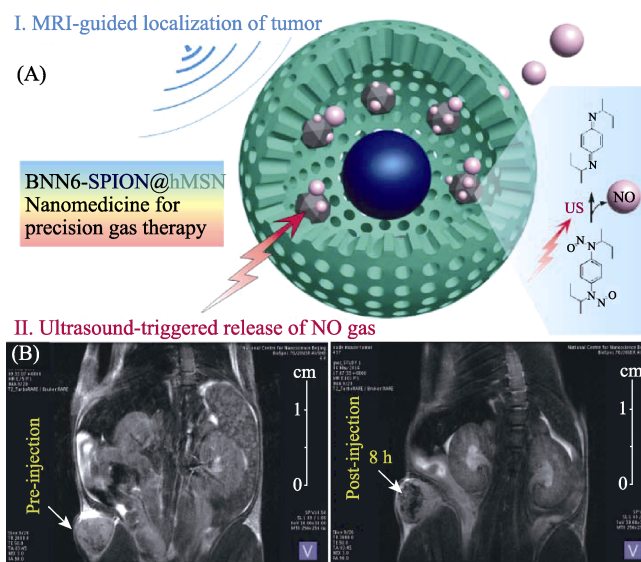


图 9 (A)具有“铃铛”结构的 BNN6-SPION@hMSN 纳米药物的 MRI 成像引导超声可控 NO 气体释放的原理示意图, 和(B)纳米药物的肿瘤靶向行为和 MRI 成像照片^[41]

Fig. 9 (A) The MRI-guided ultrasound-triggered NO release mechanism of BNN6-SPION@hMSN nanomedicine, and (B) tumor-targeting property and the corresponding MRI profile^[41]

BNN: bis-*N*-nitroso; SPION: Superparamagnetic Iron Oxide-encapsulated; hMSN: hollow Mesoporous Silica Nanoparticles

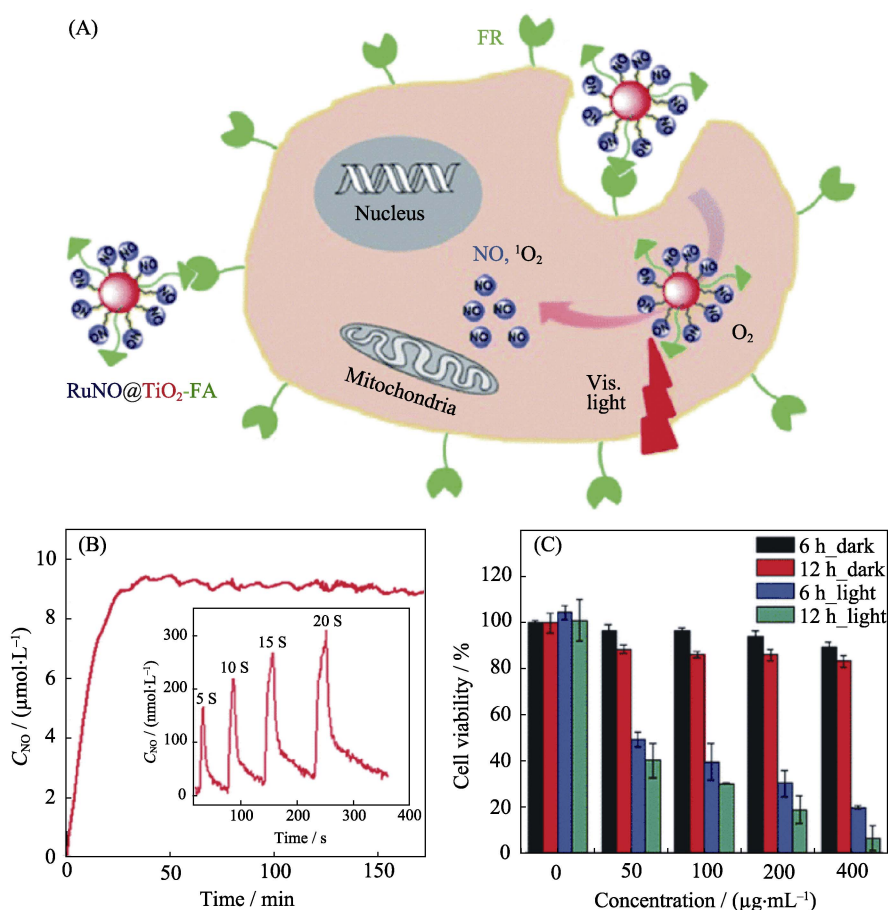


图 10 (A)由二氧化钛纳米粒包裹 NO 前药构建的纳米药物 RuNO@TiO₂NPs 及其光控 ROS 和 NO 共释放原理示意图, (B)纳米药物的光控 NO 释放行为和(C)纳米药物的细胞毒性研究^[48]

Fig. 10 (A) The construction of the RuNO@TiO₂NPs nanomedicine and its light-controlled ROS/NO co-release mechanism, (B) behavior of light-responsive release of NO and (C) cytotoxicity profile of the nanomedicine^[48]

用具有重要的科学意义^[19]。借助多功能纳米载体的成像性质, 还可以将基于气体的多模式治疗与多模式成像有机结合, 对于实现高效的精准诊疗具有重要的科学意义。

在联合肿瘤化疗、放疗和光动力学治疗中, CO 和 NO 等治疗性气体既可以特异性地敏化肿瘤细胞也可以保护正常细胞。文献[48]通过构建一种亚硝基钌配合物包裹二氧化钛纳米晶的核壳纳米结构(图 10(A)), 实现了光响应下 NO 和单线态氧共释放(图 10(B)), 成功地在复合纳米颗粒上进行气体治疗和光动力学治疗, 展现了协同增强的抗肿瘤效果(图 10(C))。最近, 本课题组^[31]采用柔性 mPEG-PLGA 载体共装载光响应性 BNN6 前药和化疗药物阿霉素, 构建了一种新型多功能纳米气体药物(图 11(A))。该纳米药物在光刺激作用下释放 NO 气体, 导致 mPEG-PLGA 载体的破裂(图 11(B)), 从而引起 DOX 药物的共释放, 实现气体治疗和化疗的联合治疗(图 11(C)和(D))。此外, 本课题组还借助空心介孔二氧化硅纳米载体, 构建了多种新型纳米

气体药物(图 5 和图 7), 实现 X 射线和葡萄糖响应性控释 NO 气体的同时, 将 NO 气体治疗与放疗和饥饿疗法进行了有机整合(图 7(C)), 实现了气体治疗与放疗和饥饿治疗联合增效的目的。除了化疗、放疗和光动力学治疗, 其他治疗模式(如热疗和免疫治疗等)也有望借助多功能纳米载体与气体治疗进行多模式整合, 实现高效低毒的精准气体治疗。

5 总结与展望

气体治疗是一种新兴的、且非常有应用前景的抗癌治疗策略。将纳米技术应用于气体治疗领域将产生深远的影响。纳米气体治疗着重解决可控气体释放和靶向气体运输两个关键科学问题。通过内源性和外源性刺激源控制气体释放的研究方兴未艾, 还有很多值得进一步开发之处, 譬如内源性酶响应性可控气体释放和外源性磁响应性可控气体释放等。靶向气体传输的研究还非常欠缺, 但却至关重要, 应当引起足够的重视, 开展更多的研究。气体治

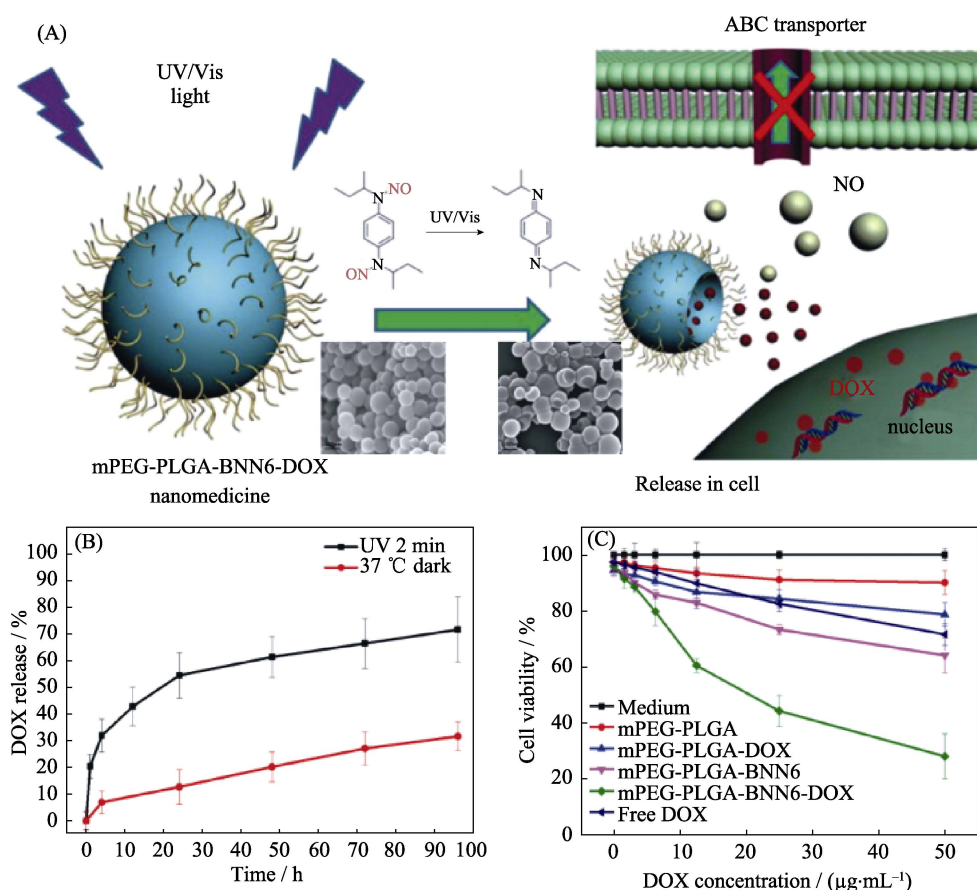


图 11 (A)mPEG-PLGA 载体共负载化疗药物 DOX 和气体前药 BNN6 构建的纳米药物的光控多药共释原理示意图, (B)纳米药物的光控释放 NO 行为和(C)纳米药物的细胞毒性研究^[31]

Fig. 11 (A) The mechanism of light-controlled multidrug co-release from the mPEG-BNN6-DOX nanomedicine, (B) behavior of UV-controlled NO release of the nanomedicine, and (C) cytotoxicity profile of the nanomedicine^[31]
BNN: bis-*N*-nitroso; DOX: Doxorubicin

疗的体内监控是保证治疗安全性的一个重要方面,但相关研究还仅仅局限于体外水平和细胞层面^[49-53],动物体内水平的研究还亟待开展,这主要受限于先进纳米气体诊疗体系设计的困难性。

参考文献:

- [1] SZABÓ C. Gasotransmitters in cancer: from pathophysiology to experimental therapy. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2016, **15**(3): 185–203.
- [2] SZABÓ C. Hydrogen sulphide and its therapeutic potential. *Nat. Rev. Drug Discov.*, 2007, **6**(11): 917–935.
- [3] FUKUMURA D, KASHIWAGI S, JAIN R K. The role of nitric oxide in tumour progression. *Nat. Rev. Cancer.*, 2006, **6**(7): 521–534.
- [4] MOTTERLINI R, OTTERBEIN L E. The therapeutic potential of carbon monoxide. *Nat. Rev. Drug. Discov.*, 2010, **9**(9): 728–743.
- [5] GALLEGÓ S G, BERNARDES G J L. Carbon-monoxide-releasing molecules for the delivery of therapeutic CO *in vivo*. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2014, **53**(37): 9712–9721.
- [6] BIBHUTI B M, VIJAY A K R, GREGORY W M, *et al.* Nitric oxide controls the immunopathology of tuberculosis by inhibiting NLRP3 inflammasome-dependent processing of IL-1 β Christian Bogdan. *Nat. Immunol.*, 2013, **14**(1): 52–60.
- [7] LALA P K, CHAKRABORTY C. Role of nitric oxide in carcinogenesis and tumour progression. *Lancet Oncol.*, 2001, **2**(3): 149–156.
- [8] CHIN B Y, JIANG G, WEGIEL B, *et al.* Hypoxia-inducible factor 1 α stabilization by carbon monoxide results in cytoprotective preconditioning. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2007, **104**(12): 5109–5114.
- [9] OTTERBEIN L E, ZUCKERBRAUN B S, HAGA M, *et al.* Carbon monoxide suppresses arteriosclerotic lesions associated with chronic graft rejection and with balloon injury. *Nat. Med.*, 2003, **9**(2): 183–190.
- [10] OTTERBEIN L E, BACH F H, ALAM J, *et al.* Carbon monoxide has anti-inflammatory effects involving the mitogen-activated protein kinase pathway. *Nat. Med.*, 2000, **6**(4): 422–428.
- [11] NASSOUR I, KAUTZA B, RUBIN M, *et al.* Carbon monoxide protects against hemorrhagic shock and resuscitation-induced microcirculatory injury and tissue injury. *Shock*, 2015, **43**(2): 166–

- 171.
- [12] CARPENTER A W, SCHOENFISCH M H. Nitric oxide release: Part II. Therapeutic applications. *Chem. Soc. Rev.*, 2012, **41**(10): 3742–3752.
- [13] DIRING S, WANG D O, KIM C, *et al.* Localized cell stimulation by nitric oxide using a photoactive porous coordination polymer platform. *Nat. Commun.*, 2013, **4**(10): 2684.
- [14] KIM J, SARAVANAKUMAR G, CHOI H W, *et al.* A platform for nitric oxide delivery. *J. Mater. Chem.*, 2014, **2**(4): 341–356.
- [15] RAJU T N. The Nobel chronicles. 1998: Robert Francis Furchgott (b 1911), Louis J Ignarro (b 1941), and Ferid Murad (b 1936). *Lancet*, 2000, **356**(9226): 346.
- [16] WEGIEL B, GALLO D, CSIZMADIA E, *et al.* Carbon monoxide expedites metabolic exhaustion to inhibit tumor growth. *Cancer Res.*, 2013, **73**(23): 7009–7021.
- [17] MONCADA S, ERUSALIMSKY J D. Does nitric oxide modulate mitochondrial energy generation and apoptosis? *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2002, **3**(4): 214–220.
- [18] MÓDIS K, BOS E M, CALZIA E, *et al.* Regulation of mitochondrial bioenergetic function by hydrogen sulfide. Part II. Pathophysiological and therapeutic aspects. *Br. J. Pharmacol.*, 2014, **171**(8): 2123–2146.
- [19] HE Q J. Precision gas therapy using intelligent nanomedicine. *Biomater. Sci.*, 2017, **5**(11): 2226–2230.
- [20] ERNST A, ZIBRAK J D. Carbon monoxide poisoning. *N. Engl. J. Med.*, 1998, **339**(22): 1603–1608.
- [21] SULLIVAN J B, KRIEGER G B, THOMAS R J. Methemoglobin-forming chemicals in hazardous materials toxicology: clinical principals of environmental health. *J. Occup. Environ. Med.*, 1992, **34**(4): 365–371.
- [22] RIDNOUR L A, THOMAS D D, DONZELLI S, *et al.* The biphasic nature of nitric oxide responses in tumor biology. *Antioxid. Redox. Sign.*, 2006, **8**(7/8): 1329–1337.
- [23] WANG L Z, SHI J L, YUN J, *et al.* Research progress of mesoporous silicon materials. *J. Inorg. Mater.*, 1999, **14**(3): 333–342.
- [24] SHI J L, CHEN Y, CHEN H R. Research progress of multifunctional mesoporous silica based nanoparticles for diagnosis and treatment. *J. Inorg. Mater.*, 2013, **28**(1): 1–11.
- [25] HE Q J, SHI J L. MSN anti-cancer nanomedicines: chemotherapy enhancement, overcoming of drug resistance and metastasis inhibition. *Adv. Mater.*, 2014, **26**(3): 391–411.
- [26] ZHOU Y L, FENG X X, ZHAI W Y. Research on loading and release of Epirubicin with mesoporous bioactive glass. *J. Inorg. Mater.*, 2011, **26**(1): 68–72.
- [27] HE Q, KIESEWETTER D O, QU Y, *et al.* NIR-responsive on-demand release of CO from metal carbonyl-caged graphene oxide nanomedicine. *Adv. Mater.*, 2015, **27**(42): 6741–6746.
- [28] FAN J, HE N Y, HE Q J, *et al.* A novel self-assembled sandwich nanomedicine for NIR-responsive release of NO. *Nanoscale*, 2015, **7**(47): 20055–20062.
- [29] GARCIA J V, YANG J, SHEN D, *et al.* NIR-triggered release of caged nitric oxide using upconverting nanostructured materials. *Small*, 2012, **8**(24): 3800–3805.
- [30] ZHANG X, TIAN G, YIN W, *et al.* Controllable generation of nitric oxide by near-infrared-sensitized upconversion nanoparticles for tumor therapy. *Adv. Funct. Mater.*, 2015, **25**(20): 3049–3055.
- [31] FAN J, HE Q, LIU Y, *et al.* Light-responsive biodegradable nanomedicine overcomes multidrug resistance via NO-enhanced chemosensitization. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2016, **8**(22): 13804–1381.
- [32] WOO C H, JIHOON K, JINHWAN K, *et al.* Light-induced acid generation on a gatekeeper for smart nitric oxide delivery. *ACS Nano*, 2016, **10**(4): 4199–4208.
- [33] OSTROWSKI D, LIN B F, TIRRELL M V, *et al.* Liposome encapsulation of a photochemical NO precursor for controlled nitric oxide release and simultaneous fluorescence imaging. *Mol. Pharm.*, 2012, **9**(10): 2950–2955.
- [34] WANG P G, XIAN M, TANG X P, *et al.* Nitric oxide donors: Chemical activities and biological applications. *Chem. Rev.*, 2002, **102**(4): 1091–1134.
- [35] RIMMER R D, PIERRI A E, FORD P C. Photochemically activated carbon monoxide release for biological targets. toward developing air-stable photoCORMs labilized by visible light. *Coordin. Chem. Rev.*, 2012, **256**(15/16): 1509–1519.
- [36] ZHENG D W, LI B, LI C X, *et al.* Photocatalyzing CO₂ to CO for enhanced cancer therapy. *Adv. Mater.*, 2017, **29**(44): 1703822–1–8.
- [37] Reddy G U, AXTHELM J, HOFFMANN P, *et al.* Co-registered molecular logic gate with a CO-releasing molecule triggered by light and peroxide. *J. Am. Chem. Soc.*, 2017, **139**(14): 4991–4994.
- [38] CHEN L J, HE Q J, LEI M Y, *et al.* Facile coordination-precipitation route to insoluble metal roussin's black salts for NIR-responsive release of NO for anti-metastasis. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2017, **9**(42): 36473–36477.
- [39] MARIN A, MUNIRUZZAMAN M, RAPOPORT N. Mechanism of the ultrasonic activation of micellar drug delivery. *J. Control. Release*, 2001, **75**(1/2): 69–81.
- [40] POSTEMA M, BOUAKAZ A, CATE F J T, *et al.* Nitric oxide delivery by ultrasonic cracking: some limitations. *Ultrasonics*, 2006, **44**(Suppl.): e109–e113.
- [41] JIN Z, WEN Y, HU Y, *et al.* MRI-guided and ultrasound-triggered release of NO by advanced nano-medicine. *Nanoscale*, 2017, **9**(10): 3637–3645.
- [42] FAN W, BU W, HE Q, *et al.* X-ray radiation-controlled NO-release for on-demand depth-independent hypoxic radiosensitization. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2015, **54**(47): 14026–14030.
- [43] JIN Z, WEN Y, XIONG L, *et al.* Intratumoral H₂O₂-triggered release of CO from a metal carbonyl-based nanomedicine for effi-

- cient CO therapy. *Chem. Commun.*, 2017, **53**(40): 5557–5560.
- [44] FAN W, LU N, HUANG P, *et al.* Glucose-responsive sequential generation of hydrogen peroxide and nitric oxide for synergistic cancer starving-like/gas therapy. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2016, **55**(1): 1–6.
- [45] HE Q J, GUO S R, QIAN Z Y, *et al.* Development of individualized anti-metastasis strategies by engineering nanomedicines. *Chem. Soc. Rev.*, 2015, **44**(17): 6258–6286.
- [46] GUI R J, WAN A J, ZHANG Y L, *et al.* Light-triggered nitric oxide release and targeted fluorescence imaging in tumor cells developed from folic acid-graft-carboxymethyl chitosan nanospheres. *RSC Adv.*, 2014, **4**(57): 30129–30136.
- [47] ZHANG X F, MANSOURI S, MBEH D A, *et al.* Nitric oxide delivery by core/shell superparamagnetic nanoparticle vehicles with enhanced biocompatibility. *Langmuir*, 2012, **28**(35): 12879–12885.
- [48] XIANG J, AN L, TANG W W, *et al.* Photo-controlled targeted intracellular delivery of both nitric oxide and singlet oxygen using a fluorescence trackable ruthenium nitrosyl functional nanoplateform. *Chem. Commun.*, 2015, **51**(13): 2555–2558.
- [49] CHAKRABORTY I, JIMENEZ J, SAMEERA W M, *et al.* Luminescent Re(I) carbonyl complexes as trackable PhotoCORMs for CO delivery to cellular targets. *Inorg. Chem.*, 2017, **56**(5): 2863–2873.
- [50] JI X, ZHOU C, JI K, *et al.* Click and release: a chemical strategy toward developing gasotransmitter prodrugs by using an intramolecular Diels–Alder reaction. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2016, **55**(1): 1–7.
- [51] CARRINGTON S J, CHAKRABORTY I, BERNARD J M L, *et al.* A theranostic two-tone luminescent PhotoCORM derived from Re(I) and (2-pyridyl)-benzothiazole: trackable CO delivery to malignant cells. *Inorg. Chem.*, 2016, **55**(16): 7852–7858.
- [52] CHAKRABORTY I, CARRINGTON S J, HAUSER J, *et al.* Rapid eradication of human breast cancer cells through trackable light-triggered CO delivery by mesoporous silica nanoparticles packed with a designed photoCORM. *Chem. Mater.*, 2015, **27**(24): 8387–8397.
- [53] CARRINGTON S, CHAKRABORTY I, BERNARD J M L, *et al.* Synthesis and characterization of a “turn-on” photoCORM for trackable CO delivery to biological targets. *ACS Med. Chem. Lett.*, 2014, **5**(12): 1324–1328.