

·综述 General review·

纳米颗粒介导冷冻消融治疗肿瘤的研究进展

王辅明, 杨继金

【摘要】 冷冻消融术是一种基于低温的局部消融方式,被广泛应用于全身实体瘤的治疗。冷冻效率不高和精准度不够是当前冷冻消融术亟待解决的难题。随着纳米科学的不断进步,各种类型的纳米颗粒被开发应用,加载至目标区域可以显著提高冷冻效率,同时具备靶向传递药物以及图像增强等功能,为突破冷冻消融当前的临床应用瓶颈提供了可能。本文主要回顾了当前研究应用于介导冷冻消融术的几种常见纳米颗粒的主要功能以及作用机制,希望对该领域有更加全面的认识,为下一步深化研究和实现临床转化打牢基础。

【关键词】 纳米颗粒; 冷冻消融术; 肿瘤

中图分类号:R730.5 文献标志码:A 文章编号:1008-794X(2024)-02-0197-05

Research progress in nanoparticle-mediated cryoablation therapy for tumors WANG Fuming, YANG Jijin. *Department of Interventional Therapy, Affiliated Changhai Hospital, Naval Medical University, Shanghai 200433, China*

Corresponding author: YANG Jijin, E-mail: jijinyang@sina.com

【Abstract】 Cryoablation is a local ablation treatment based on the hypothermia effect, which has been widely used in the treatment of various solid tumors throughout the body. However, low freezing efficiency and insufficient accuracy are the problems in clinical cryoablation therapy which need to be solved urgently. With the continuous progress of nanoscience, various types of nanoparticles have been developed and applied in clinical practice. After being loaded into the target area, the nanoparticles can exert functions such as targeted drug delivery as well as image enhancement, which provides the possibility to break through the current clinical application bottleneck of cryoablation therapy. This paper aims to make a comprehensive review about several currently commonly-used nanoparticles for cryoablation therapy, focusing on their main functions and mechanisms, with the hope that the physicians concerned can get a further detailed understanding of the nanoparticles and lay a solid foundation for conducting in-depth researches and achieving clinical transformation. (J Intervent Radiol, 2024, 32: 197-201)

【Key words】 nanoparticle; cryoablation; tumor

冷冻消融术是一种常见的肿瘤微创治疗方式,具有手术操作简单、花费较少、术后恢复快等优势,对于一些中晚期肿瘤患者还可以联合其他治疗手段实现综合治疗^[1-3]。冷冻消融术发展至今仍然存在肿瘤细胞杀灭不彻底、复发率高、可能损伤周围正常组织以及具有争议性的安全消融边缘等问题。如何尽可能杀死消融区域内的肿瘤细胞,又尽量减少损伤周围正常组织,是冷冻消融术进一步发展亟待突破的难点。随着纳米科学的迅猛发展,大量研究

表明将特异性的纳米颗粒通过不同方式加载到消融靶区,可以显著提高该冷冻效率或保护周围正常组织,通过调整纳米颗粒的分布和浓度,可以实现操纵消融区域的形状以确保可以完全消融肿瘤,同时实现靶向投递各种药物,增强显像能力等。本文主要回顾几种常见的应用于介导冷冻消融术的纳米颗粒及主要作用机制,有助于更加全面地了解这种治疗模式,为以后的实验研究以及再下一步实现临床转化打牢基础。

1 纳米颗粒介导冷冻消融的主要作用机制

中国科学院理化技术研究所低温生物医学实验室内于 2004 年率先提出了纳米冷冻手术这个概念,并一直致力于相关纳米材料的开发研究^[4]。介导冷冻消融的纳米材料按照基质类型大致可分为 4 大类:金属、有机物、液态金属和复合材料。主要作用原理为向目标区域加载不同功能的纳米颗粒,实现以下几个目的:①提升冷冻效率,扩大有效消融范围,保护周围健康组织;②负载各种药物,靶向投递到目标区域,联合其他治疗手段;③充当图形增敏剂,提高消融过程中图像的精准度。主要作用机制为:

1.1 促进细胞内外冰晶的形成,改变渗透性

冷冻消融治疗过程中细胞内外冰晶的形成可以诱导细胞脱水、蛋白质变性和脂质相变从而杀死活细胞^[5-6]。在冷冻过程中临界冰核是冰晶形成的关键初始步骤,Bai 等^[7]的实验研究认为,小于临界冰核(8 nm)的氧化石墨烯纳米材料抑制冰晶的形成,而大于临界冰核(11 nm)的氧化石墨烯纳米片则促进冰晶的生长。因此纳米颗粒的尺寸大小对冰晶的生长速率具有重要意义,同时还需要考虑纳米颗粒的表面积,这和纳米颗粒的热传递能力直接相关,金属纳米颗粒通常会比其他类型的纳米材料热导率更高。纳米颗粒由于 EPR 效应(实体瘤的高通透性和滞留效应)而聚集在肿瘤组织周围并进入细胞,可以有效增加细胞内冰晶形成的效率。金、银、氧化镁以及四氧化三铁等纳米颗粒均可以通过充当冰结晶的核来提高细胞内、外冰晶的形成速率,另外四氧化三铁纳米颗粒在冷热循环后,除了可以增加冰晶的形成还能明显提高细胞脱水的发生率^[8-9]。不同的金属纳米材质、尺寸、形状都会影响冷冻效率的改变。利用这些纳米颗粒增强冰晶生长的能力,同时配合应用具有低热传递效率的聚合物或脂质纳米颗粒(例如相变材料),或者具有低温保护作用的二甲基亚砷的水悬浮液,可以实现操纵冰球的生成形状,可以完全覆盖不规则形状的肿瘤,同时最大限度保护周围正常健康组织^[10-12]。冰晶的形成和生成形状跟纳米材料表面的官能团也有关系,官能团的位置不同,纳米颗粒既可以表现为增强也可以表现为抑制冰晶的生长,当细胞内形成锋利的冰晶可以直接损伤细胞器和细胞膜,有利于提高冷冻效率。壳聚糖修饰的纤维素纳米材料(CS-CNC)对比其他纳米颗粒表现出更高的冷冻性能,就是因为其促进细胞内形成了细长锐利的冰晶^[13]。冷冻过程

中细胞是否发生坏死和冰结晶过程中细胞膜的流动性和渗透性密切相关,当细胞内外结晶时,细胞膜的渗透梯度失去平衡而出现致死性的脱水^[14]。在细胞中普遍存在一种水通道蛋白,可以一定程度平衡细胞渗透性的改变,当体内细胞遭遇低温时会形成更多的水通道蛋白,以适应细胞低温过程中渗透性的改变。很多癌细胞都存在水通道蛋白,水通道蛋白过度表达也被认为是肿瘤不良预后的指标之一。因此一些纳米材料具有水通道蛋白抑制剂的功能,可以有效的辅助冷冻消融手术,增强冷冻消融的效率^[15]。另外一些特定尺寸和电荷的纳米颗粒可以通过物理结合吸附在细胞膜上从而改变膜的性能,改变其流动性和渗透性,从而增加细胞对低温的敏感性。纳米颗粒本身的亲水性或者疏水性也可以直接影响细胞膜的渗透性,比如两亲性的金纳米颗粒能够嵌入肿瘤细胞脂质双层内并直接影响膜局部渗透性^[16-17]。

1.2 负载其他药物,实现综合治疗

基于纳米颗粒可修饰的特性,可以设计各种纳米颗粒负载各种药物进行靶向递送,使得目标区域达到有效药物浓度,完成治疗目的同时避免出现全身不良反应。Goel 等^[18]的研究认为通过用 TNF- α 和硫醇衍生的聚乙二醇标记的金纳米颗粒选择性地递送 TNF- α 递送至肿瘤,可以显著提高冰球内细胞致死温度的阈值,几乎可以完全杀死冰球范围内的肿瘤细胞,也减少了 TNF- α 的全身毒性作用。针对肿瘤干细胞样细胞的化学耐药性,饶伟团队研究负载有阿霉素的 gnDOX 纳米颗粒,冷冻消融过程中低温响应确保了药物的缓释,展示了克服肿瘤干细胞样细胞的化学耐药性,显著提高乳腺癌整体治疗效率的强大潜力^[19]。Wang 等^[20]合成的 HCPN-CG 低温响应纳米颗粒负载化疗药物伊立替康和光热剂吡啶菁绿,在低于 12℃的环境下释放伊立替康,光热剂吡啶菁绿在近红外激光照射下实现复温,该研究模拟冷冻消融的冻融过程,实验表明在体内外均能显著抑制乳腺癌细胞生长。新型纳米材料,比如具有相变特性的液态金属(例如熔点约为 29.8℃的镓),低温时液态到固态的相变过程增加导热性,而且镓纳米颗粒尖锐的突起可以直接刺破肿瘤细胞,利用液态金属平台建立“冰”(冷冻消融)和“火”(光热疗法)的双重无创疗法,针对黑色素瘤治疗取得重大研究进展^[21]。由于冷冻消融是一种基于低温的消融手段,更有可能保留抗原的蛋白质结构并激活全身免疫效应,这已经是临床医师达成的共识^[22-25]。最

近的研究还发现一些带有各种官能团(例如羧基、羟基或胺等)的纳米材料,可以从消融的肿瘤细胞中捕获肿瘤相关抗原和 DAMPs(损伤相关的分子模式),并递送到抗原呈递细胞进而到达淋巴结激活 T 细胞^[22,26-28]。如何将冷冻消融与免疫治疗有效联合,一直是临床研究冷冻消融术的热点,而通过纳米颗粒实现联合免疫治疗的相关研究目前几乎没有。

1.3 增强显像功能,实现多模态成像

纳米技术很早就被应用于医学影像学领域,图像显示更加清晰,支持三维动态成像的同时可以充分获得目标组织的功能影像^[29]。氧化铁纳米颗粒具有光学、磁性、声学和结构特性,早已作为图像增敏剂被应用于 MRI^[30-31]。纳米颗粒因为 EPR 效应停留在肿瘤区域,有着相较于其他小分子造影剂半衰期更长的优势。在冷冻消融治疗过程中,能否清晰看到肿瘤边缘对于实现完全消融至关重要。金属纳米颗粒除了具有调节冷冻效率的功能,在临床应用中还被广泛研究作为 CT 成像的造影剂^[22,32-35],其他非金属类型的纳米颗粒则可以通过负载造影剂(例如钆、碘油)来增强显像能力。除了传统的影像成像方式之外,非传统的成像方式,例如 NIR(近红外光)、荧光成像或使用金纳米颗粒的表面增强拉曼散射,目前被认为也是可行的,而且具有更好的时空分辨率、灵敏度和信号特异性。一些复合的纳米颗粒还可以表现出多模态的显像增强,双金属纳米颗粒(例如氧化铁-金纳米颗粒)可以同时增强 MRI 和 CT 的显像功能,负载钆和黑色素的二氧化硅纳米颗粒可以同时实现增强 MRI 和荧光成像^[36]。另外纳米颗粒可以通过配体修饰,目前研究普遍采用叶酸、转铁蛋白、表皮生长因子受体(EGFR)和糖蛋白从而获得特异性的靶向结合特定肿瘤细胞的能力^[37]。壳聚糖修饰的纤维素纳米颗粒(CS-CNC),具有特异性结合 CD44 抗原的能力,研究表明可以明显增强对于 CD44 抗原高表达的肿瘤细胞的冷冻效率^[13]。目前大量复合功能的纳米颗粒不断在被研究开发应用到冷冻治疗中,既可以增强冷冻效率,又能提高成像能力,这对于实现肿瘤的完全消融,尤其对于特殊位置的病灶尤为重要^[38-39]。

2 小结与展望

当前的研究表明,纳米颗粒介导冷冻消融的治疗模式已经取得了一定的进展,但是仍然处于初级阶段,普遍停留在体外细胞实验、动物模型实验等,

鲜有相关的临床试验研究报道。制约这种手术模式实现临床转化的主要原因在于:①这些纳米颗粒的加载方式一般为直接穿刺或者静脉注射,肿瘤周围丰富的血供必然会带走部分纳米颗粒,纳米颗粒靶向结合肿瘤细胞能力目前也不尽如人意,因此在目标区域内纳米颗粒很难形成满意的分布浓度和精准度;②使用纳米颗粒后的增益效果缺乏详尽的机制研究,大量实验研究结果均表现出纳米颗粒带来的明确增益效果,但是普遍缺乏详尽的机制层面的研究,主要关注的是纳米颗粒介导的降温速率或者细胞致死温度阈值的变化,对于纳米颗粒本身直接影响细胞、组织的机制研究不够;③纳米颗粒的生物相容性以及毒性仍然不确定,纳米颗粒能否投入临床应用首先需要考虑生物相容性和毒性问题,对于一些金属为基质的纳米颗粒,过量金属离子长期滞留机体可能会带来潜在风险。最新生物可降解纳米材料氧化镁和天然纤维素纳米颗粒的出现在一定程度上解决了生物相容性和毒性的问题,进一步研究有望在下一步可以尝试推向临床试验。

基于纳米材料的设计和合成构建的肿瘤靶向诊疗一体化纳米平台,是当前乃至未来一段时间肿瘤治疗领域的研究热点。冷冻消融术是一种依赖精准的影像引导的局部治疗手段,通过多功能的纳米材料可以完美融入肿瘤诊疗一体化体系,多模态成像有助于准确显示肿瘤边缘帮助实现完全消融,同时可以联合光热疗法、光动力疗法、磁热疗法、化学药物疗法等实现综合治疗。多种成像模式的相互补充,多种治疗手段的相互联合,最大程度发挥各自优势,弥补劣势,从而实现有效精准治疗肿瘤的目的。

随着纳米科学的迅猛发展,各种新型多功能的纳米颗粒层出不穷,如何更好地应用于介导冷冻消融,需要我们继续致力于提高纳米颗粒肿瘤靶向性和示踪性的研究,提高特异性结合肿瘤细胞的能力是纳米颗粒发挥其效能的保证,而示踪性不仅仅局限于传统影像学图像的增强,可以更多研究联合荧光、近红外光成像等其他成像模式,更进一步在未来可以尝试融合 AI 识别,实现智能规划冷冻针的穿刺路径和置针方案。另外,构建能准确模拟人体不同器官结构和组织成分的体外模型,对于验证纳米颗粒的效能至关重要,是基础实验研究到临床试验最后实现临床转化的桥梁,这也是我们下一步实验研究需要积极努力突破的课题之一。

综上所述,纳米颗粒介导冷冻消融作为一门跨学科领域,如何能够将这种治疗模式真正实现应用

于临床,突破冷冻治疗的应用瓶颈,需要多个学科领域的共同努力。随着研究的不断深入,相信在不远的未来一定会给肿瘤治疗带来新的希望。

[参考文献]

- [1] 李虎子,段振东,赵成,等. TACE联合冷冻消融治疗不可切除肝癌临床疗效的 meta 分析[J]. 介入放射学杂志, 2021, 30: 804-813.
- [2] 曹非,王艳,刘长富,等. 氩氦冷冻消融联合全身化疗治疗ⅢB/Ⅳ期肺鳞状细胞癌的疗效分析[J]. 介入放射学杂志, 2018, 27:1045-1050.
- [3] Wang GZ, He XH, Wang Y, et al. Image-guided cryoablation in unresectable or recurrent advanced colorectal cancer: a retrospective study[J]. J Interv Med, 2018, 1: 92-97.
- [4] 刘静. 纳米冷冻治疗学——纳米医学的新前沿 [J]. 科技导报, 2007, 25:67-74.
- [5] He X, Bischof JC. Quantification of temperature and injury response in thermal therapy and cryosurgery[J]. Crit Rev Biomed Eng, 2003, 31: 355-422.
- [6] He X. Thermostability of biological systems: fundamentals, challenges, and quantification[J]. Open Biomed Eng J, 2011, 5: 47-73.
- [7] Bai G, Gao D, Liu Z, et al. Probing the critical nucleus size for ice formation with graphene oxide nanosheets[J]. Nature, 2019, 576: 437-441.
- [8] Yuan F, Zhao G, Panhwar F. Enhanced killing of HepG2 during cryosurgery with Fe₃O₄-nanoparticle improved intracellular ice formation and cell dehydration[J]. Oncotarget, 2017, 54: 92561-92577.
- [9] Ye P, Kong Y, Chen X, et al. Fe₃O₄ nanoparticles and cryoablation enhance ice crystal formation to improve the efficiency of killing breast cancer cells[J]. Oncotarget, 2017, 7: 11389-11399.
- [10] Yan JF, Liu J, Zhou YX. Infrared image to evaluate the selective (directional) freezing due to localized injection of thermally important solutions[J]. Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc, 2005, 2005: 3559-3562.
- [11] Yao X, Jovevski JJ, Todd MF, et al. Nanoparticle-mediated intracellular protection of natural killer cells avoids cryoinjury and retains potent antitumor functions[J]. Adv Sci(Weinh), 2020, 7: 1902938.
- [12] Chua KJ, Chou SK, Ho JC. An analytical study on the thermal effects of cryosurgery on selective cell destruction[J]. J Biomech, 2007, 40: 100-116.
- [13] Hou Y, Sun X, Dou M, et al. Cellulose nanocrystals facilitate needle-like ice crystal growth and modulate molecular targeted ice crystal nucleation[J]. Nano Lett, 2021, 21: 4868-4877.
- [14] Alkhalifa H, Mohammed F, Taurin S, et al. Inhibition of aquaporins as a potential adjunct to breast cancer cryotherapy[J]. Oncol Lett, 2021, 21: 458.
- [15] Ismail M, Bokae S, Morgan R, et al. Inhibition of the aquaporin 3 water channel increases the sensitivity of prostate cancer cells to cryotherapy[J]. Br J Cancer, 2009, 100: 1889-1895.
- [16] Pogodin S, Werner M, Sommer JU, et al. Nanoparticle-induced permeability of lipid membranes[J]. ACS Nano, 2012, 6: 10555-10561.
- [17] van Lehn RC, Alexander-Katz A. Membrane-embedded nanoparticles induce lipid rearrangements similar to those exhibited by biological membrane proteins[J]. J Phys Chem B, 2014, 118: 12586-12598.
- [18] Goel R, Swanlund D, Coad J, et al. TNF-alpha-based accentuation in cryoinjury: dose, delivery, and response[J]. Mol Cancer Ther, 2007, 6: 2039-2047.
- [19] Hou Y, Sun X, Yao S, et al. Cryoablation-activated enhanced nanodoxorubicin release for the therapy of chemoresistant mammary cancer stem-like cells[J]. J Mater Chem B, 2020, 8: 908-918.
- [20] Wang H, Agarwal P, Liang Y, et al. Enhanced cancer therapy with cold-controlled drug release and photothermal warming enabled by one nanoplatfrom[J]. Biomaterials, 2018, 180: 265-278.
- [21] Hou Y, Zhang P, Wang D, et al. Liquid metal hybrid platform-mediated ice-fire dual noninvasive conformable melanoma therapy [J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2020, 12: 27984-27993.
- [22] Aarts BM, Klompenhouwer EG, Rice SL, et al. Cryoablation and immunotherapy: an overview of evidence on its synergy [J]. Insights Imaging, 2019, 10: 53.
- [23] Sidana A. Cancer immunotherapy using tumor cryoablation [J]. Immunotherapy, 2014, 6: 85-93.
- [24] Regen-Tuero HC, Ward RC, Sikov WM, et al. Cryoablation and immunotherapy for breast cancer: overview and rationale for combined therapy[J]. Radiol Imaging Cancer, 2021, 3: e200134.
- [25] Yakkala C, Denys A, Kandalaft L, et al. Cryoablation and immunotherapy of cancer[J]. Curr Opin Biotechnol, 2020, 65: 60-64.
- [26] Min Y, Roche KC, Tian S, et al. Antigen-capturing nanoparticles improve the abscopal effect and cancer immunotherapy [J]. Nat Nanotechnol, 2017: 877-882.
- [27] Chen Q, Xu L, Liang C, et al. Photothermal therapy with immune-adjuvant nanoparticles together with checkpoint blockade for effective cancer immunotherapy[J]. Nat Commun, 2016, 7: 13193.
- [28] Zhou Q, Gong N, Zhang D, et al. Mannose-derived carbon dots amplify microwave ablation-induced antitumor immune responses by capturing and transferring "danger signals" to dendritic cells[J]. ACS Nano, 2021, 15: 2920-2932.
- [29] 杜娟,刘雪来. 纳米冷冻手术在肿瘤微创切除中的应用及研究进展[J]. 发育医学电子杂志, 2020, 8:81-85.
- [30] Bae H, Ahmad T, Rhee I, et al. Carbon-coated iron oxide nanoparticles as contrast agents in magnetic resonance imaging [J]. Nanoscale Res Lett, 2012, 7: 44.
- [31] Chen M, Li J, Shu G, et al. Homogenous multifunctional microspheres induce ferroptosis to promote the anti-hepatocarcinoma effect of chemoembolization[J]. J Nanobiotechnology, 2022, 20: 179.
- [32] Gao N, Bozeman EN, Qian W, et al. Tumor penetrating theranostic

- nanoparticles for enhancement of targeted and image-guided drug delivery into peritoneal tumors following intraperitoneal delivery [J]. *Theranostics*, 2017, 7: 1689-1704.
- [33] Karunamuni R, Tsourkas A, Maidment AD. Exploring silver as a contrast agent for contrast-enhanced dual-energy X-ray breast imaging[J]. *Br J Radiol*, 2014, 87: 20140081.
- [34] Jackson PA, Rahman WN, Wong CJ, et al. Potential dependent superiority of gold nanoparticles in comparison to iodinated contrast agents[J]. *Eur J Radiol*, 2010, 75: 104-109.
- [35] Cheheltani R, Ezzibdeh RM, Chhour P, et al. Tunable, biodegradable gold nanoparticles as contrast agents for computed tomography and photoacoustic imaging[J]. *Biomaterials*, 2016, 102: 87-97.
- [36] Cho S, Park W, Kim DH. Silica-coated metal chelating-melanin nanoparticles as a dual-modal contrast enhancement imaging and therapeutic agent[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2017, 9: 101-111.
- [37] Yu Z, Gao L, Chen K, et al. Nanoparticles: a new approach to upgrade cancer diagnosis and treatment[J]. *Nanoscale Res Lett*, 2021, 16: 88.
- [38] Chua KJ. Computer simulations on multiprobe freezing of irregularly shaped tumors[J]. *Comput Biol Med*, 2011, 41: 493-505.
- [39] Ismail M, Morgan R, Harrington K, et al. Immunoregulatory effects of freeze injured whole tumour cells on human dendritic cells using an in vitro cryotherapy model[J]. *Cryobiology*, 2010, 61: 268-274.
- (收稿日期:2022-11-08)
(本文编辑:茹 实)

欢迎投稿 欢迎订阅 欢迎刊登广告

《Journal of Interventional Radiology》

网址: www.cjir.cn

邮箱: jrfsexzz@vip.163.com