

新型低毒 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒的放疗增敏作用研究

赵正阳, 李笑秋

摘要 目的 通过金属有机框架 Uio-66-NH₂ 负载 Au 纳米颗粒来降低 Au 纳米颗粒生物毒性, 并进一步探究 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒的放疗增敏作用。方法 利用高温加热法将 Au 纳米颗粒组装进 Uio-66-NH₂ 内。对制备的 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒进行表征, 动态光散射(DLS) 仪检测颗粒粒径、电势及其在水溶液中的稳定性; 紫外分光光度计检测 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒的紫外吸收光谱; 透射电镜(TEM) 观测 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒的空间结构; CCK-8 实验分别检测 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒与 Au 纳米颗粒的生物安全性; 通过 CCK-8 及克隆形成实验探究 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒在细胞水平上的放疗增敏效果; 构建小鼠皮下肿瘤模型, 在体内水平评价 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒的放疗增敏效果及生物安全性。结果 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒在水溶液中具有的良好稳定性; CCK-8 毒性检测实验显示出与 Au 纳米颗粒相比, Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒具有更好的生物安全性。同时 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒联合放疗组具有良好的细胞杀伤作用; 动物实验同样在体内验证了 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒的放疗增敏作用以及良好的生物安全性。结论 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒毒性显著低于 Au 纳米颗粒, 并且显示出明显的放疗增敏效果, 具有良好的临床应用前景。

关键词 Uio-66-NH₂; 金; 纳米颗粒; 乳腺癌; 放疗增敏

中图分类号 R 737.9

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2023)06-0982-07

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.06.018

放疗(radiotherapy, RT) 是肿瘤局部治疗的重要手段, 具有组织深度穿透、定位精确和可控等优点, 但同时也存在对正常组织的损伤以及肿瘤的辐射抵抗等限制因素^[1-2]。克服上述限制因素的常用方法是使用放疗增敏剂增加肿瘤组织的放射敏感性, 降低正常组织的毒性, 从而提高放疗疗效。Au 纳米颗粒是常见的纳米化重金属放疗增敏剂之一^[3], 具备良好的肿瘤富集特性, 其放疗增敏能力与自身粒径

大小有关, 小粒径 Au 纳米颗粒拥有更强的辐射沉积能力^[4]。然而随着 Au 纳米颗粒粒径的减小, 其本身的生物毒性则会变的越来越明显, 使得其进一步的临床转化得到限制^[5-6]。该研究通过利用 Uio-66-NH₂ 金属有机框架作为载体材料负载小粒径 Au 纳米颗粒(粒径为 15 nm) 来有效解决这一问题。

1 材料与方法

1.1 材料仪器 四氯化锆(zirconium tetrachloride, ZrCl₄) 购自上海麦克林生化科技股份有限公司; 2-氨基对苯二甲酸购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司; N,N-二甲基甲酰胺(N,N-Dimethylformamide, DMF)、冰醋酸、水合四氯金酸(Trichlorogold hydrochloride hydrate, H₃AuCl₄O) 购自上海国药集团化学试剂有限公司; DMEM 培养基、胰酶(浓度 0.25%) 购自美国 Gibco 公司; 胎牛血清(FBS) 购自美国 Hyclone 公司; CCK-8 试剂购自北京兰杰柯科技有限公司; 6~8 周龄的雌性 Balb/c 小鼠购自杭州子源实验动物科技有限公司。JEM-F200 透射电子显微镜(transmission electron microscopy, TEM) 购自日本 JEOL 公司; Malvern ZS90 动态光散射仪(dynamic light scattering, DLS) 购自英国 Malvern Instruments 公司; UV-2802PC 紫外可见分光光度计(Ultraviolet-visible Spectrophotometer, UV-Vis) 购自美国 UNICO 公司。

1.2 方法

1.2.1 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒的制备 将 1 ml 氯金酸水溶液(0.025 mol/L) 加入到 100 ml 去离子水中, 之后加热至 100 °C。向溶液中加入 3 ml 枸橼酸钠水溶液(0.034 mol/L), 边加热边搅拌 20 min, 得到深红色的枸橼酸稳定的 Au 纳米颗粒。然后, 将得到的溶液冷却至室温, 加入 10 mg 硫辛酸聚乙二醇(lipoic acid-polyethylene glycol, LA-PEG), 搅拌过夜。最后将其分散在 1 ml DMF 中。将分散在 DMF 中的 1 ml Au 纳米颗粒、27.3 mg 2-氨基对苯二甲酸以及 1.2 ml 冰醋酸加入到 7 ml DMF 中, 在超声波下搅拌 15 min。同时, 在超声波作用下将 33.4 mg 四氯化锆分散在 7 ml DMF 中, 得到均匀的分散

2023-03-21 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81901888)

作者单位: 安徽医科大学第一附属医院肿瘤科, 合肥 230022

作者简介: 赵正阳, 男, 硕士研究生;

李笑秋, 男, 副主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail:

xiaoqiuli2021@i.smu.edu.cn

液。然后将上述两种溶液混合在 25 ml 反应釜中, 加热至 120 °C 并维持 24 h, 然后用 DMF 洗涤多次, 最后分散在去离子水中常温保存。

1.2.2 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒表征测定 取 8 μl 含 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒的水溶液置于圆形铜片上, 干燥过夜后使用 TEM 观察 Au@Uio-66-NH₂ 颗粒的形态, 用 GraphPad Prism V8.0 软件处理图片。将 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒水溶液置于 DLS 仪器内, 检测纳米颗粒尺寸分布以及 Zeta 电势, 之后每隔 5 d 对同一批次的 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒水溶液进行粒径检测, 评价纳米颗粒在水溶液中的稳定性。利用 UV-Vis 对 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒水溶液进行紫外光谱分析, 用 GraphPad Prism V8.0 软件处理上述数据。分别取 500 μl Au 纳米颗粒及 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒溶液置于玻璃瓶中, 加入 5 ml 硝酸, 加热板 300 °C 煮至液体即将蒸发完时停止反应, 加入 500 μl 王水, 并用去离子水定容至 3 ml, 电感耦合等离子体质谱 (inductively coupled plasma-mass spectrometry, ICP-MS) 检测样品中 Au 的浓度。

1.2.3 细胞培养 4T1 小鼠乳腺癌细胞取自美国典型培养库 (ATCC), 培养在含 1% 双抗 (100 U/ml 青霉素和 100 μg/ml 链霉素) 及 10% 胎牛血清的 DMEM 当中, 并在 37 °C、5% CO₂ 培养箱内进行孵育。当细胞生长至对数生长期时 (密度长至培养皿 80% 左右), 用胰酶消化细胞, 用于后续传代、种板及植瘤。

1.2.4 CCK-8 实验评估 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒与 Au 纳米颗粒的生物安全性 当细胞处于对数生长期时, 用胰酶消化培养皿底部细胞, 离心后重悬制成细胞悬液。用细胞计数板对细胞进行计数, 以 5×10^3 个/孔的密度将细胞铺入 96 孔板内, 在 37 °C、5% CO₂ 培养箱内孵育 24 h。之后分别加入含不同 Au 浓度 (0、25、50、75、100 μg/ml) 的 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒以及 Au 纳米颗粒的培养基, 并继续培养 24 h。24 h 后取出 96 孔板, 弃去原培养基, 每孔加入 100 μl 含有 CCK-8 试剂的培养基 (CCK-8 试剂与 DMEM 培养基体积比为 1:10), 然后继续放入培养箱培养 1 h, 最后用酶标仪检测每组在 450 nm 处的吸光度。根据公式: 存活率 = (实验组 - 空白对照组) / (阴性对照组 - 空白对照组) × 100% 计算细胞存活率, 并利用 Excel 2013 和 GraphPad Prism V8.0 软件对所得数据进行作图处理。

1.2.5 CCK-8 探究放疗后不同时间点 Au@Uio-66-

NH₂ 纳米颗粒的放疗增敏作用 取对数生长期细胞, 将细胞分为 3 组: 空白对照组 (不含纳米颗粒且不放疗)、单纯放疗组 (不含纳米颗粒) 以及纳米颗粒联合放疗组 (Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒中 Au 浓度为 50 μg/ml), 以 5×10^3 个/孔的密度传至 96 孔板中, 在培养箱内培养 24 h。24 h 后弃去原培养基, 每组作不同处理。继续孵育 4 h 后给予 6 Gy 剂量的放射治疗, 治疗后 4 h 更换新鲜培养基并在培养箱中继续培养。依次在放疗后 24、48、72 h 用 CCK-8 试剂检测每组的细胞存活率, 同时用 Excel 2013 和 GraphPad Prism V8.0 软件对所得数据进行作图处理, 对每组数据进行对比。

1.2.6 克隆形成实验探究在不同放疗剂量下不同浓度 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒的放疗增敏作用 对 6 孔板按放疗剂量梯度 (0、2、4、6 Gy) 以及 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒中 Au 浓度梯度 (25、50、100 μg/ml) 进行分组, 每孔种植 1 000 个细胞。在培养箱孵育过夜后每组作不同处理, 继续孵育 4 h 后分别给与不同剂量的放射治疗, 治疗后 4 h 更换新鲜培养基, 放入培养箱继续孵育。5 d 后取出 6 孔板, 弃去原培养基, 1 × PBS 每孔清洗 1 遍, 4% PFA 固定细胞 55 min, 之后用 1 × PBS 再次清洗 3 遍。结晶紫染色 45 min, 最后用 1 × PBS 清洗 5 遍, 拍照计数, 并利用 Excel 2013 和 GraphPad Prism V8.0 软件对所得数据进行作图处理。

1.2.7 构建 4T1 小鼠肿瘤模型 所有动物均按《实验动物饲养使用指南》的规定饲养, 并符合中国科学技术大学动物保护使用委员会的要求。将悬浮于 100 μl 1 × PBS 的 5×10^5 个 4T1 细胞接种于 Balb/C 小鼠右侧背部皮下, 构建小鼠 4T1 荷瘤模型。

1.2.8 验证体内 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒的放疗增敏作用以及生物安全性 将小鼠分为 4 组: 空白对照组 (I 组), 单纯纳米颗粒组 (II 组), 单纯放疗组 (III 组), 纳米颗粒联合放疗组 (IV 组) ($n = 4$)。当荷瘤小鼠皮下肿瘤长至 50 mm³ 左右时, 第 II 组与第 IV 组小鼠尾静脉注射含 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒的等渗液 (5 mg/kg)。12 h 后第 III 组与第 IV 组小鼠给与 6 Gy 剂量的放射治疗, 之后每 2 天测量 1 次小鼠肿瘤大小以及小鼠体质量, 肿瘤体积计算公式: 肿瘤体积 (mm³) = 0.5 × 长度 × 宽度²。在放疗后第 18 天用颈椎脱位法处死小鼠, 取出小鼠皮下肿瘤以及主要脏器。肿瘤拍照称重后与主要脏器一同用 4% PFA 进行固定, 48 h 后用石蜡包埋, 之后对组

织作 HE 染色处理 ,并用全景扫描显微镜观察染色结果。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 22.0 统计学软件进行分析 ,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示 ,两组比较采用 *t* 检验 ,多组间对比采用单因素方差分析。 *P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒的表征 透射电镜图显示每个 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒的大小基本一致 ,粒径在 100 nm 左右 ,Au 纳米颗粒被稳定的包裹在 Uio-66-NH₂ 当中 ,如图 1A 所示。 DLS 测得的粒径主要分布在 100 nm 左右 ,这与透射电镜观察的结果相一致 如图 1B 所示;测得的电势为 17 mV ,如图 1C 所示。对于 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒在水溶液中的长期粒径监测结果显示粒径基本稳定在 100 nm 左右 ,体现出该颗粒在水溶液中具有较好的稳定性 ,可以长期在水溶液里储存 ,如图 1D 所示。紫外光谱分析能够明显看到 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒在 530 nm 波长处有一处明显的波峰 ,为 Au 元素的特征峰 ,进一步证实了 Au 纳米颗粒被成功组装进

Uio-66-NH₂ 内 ,并具有良好的稳定性 ,如图 1E 所示。 ICP-MS 测量 Au 纳米颗粒及 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒中 Au 的含量分别为 790.18 μg 及 770.43 μg。

2.2 Au@Uio-66-NH₂ 与 Au 纳米颗粒毒性检测 探究上述 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒与 Au 纳米颗粒的体外生物安全性 ,分别检测与不同浓度 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒以及 Au 纳米颗粒(0、20、50、75、100 μg/ml ,以 Au 浓度作为标准) 孵育 24 h 后的 4T1 细胞存活率 ,如图 2 所示。结果显示不同浓度 Au@Uio-66-NH₂ 组的 4T1 细胞存活率均未有明显下降 ,而同等浓度 Au 组的细胞存活率明显降低 ,并且随着浓度的增加 ,两者的差异逐渐增大 ,当浓度为 100 μg/ml 时 ,Au 组的细胞存活率只有 60.98% ,远低于 Au@Uio-66-NH₂ 组细胞存活率 85.85% (*P* < 0.05) ,实验表明 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒有效缓解了 Au 纳米颗粒的细胞毒性作用。

2.3 CCK-8 法及克隆形成实验评估 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒放疗增敏效应 进一步研究 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒的放疗增敏作用 ,比对不同时间段各组处理后的 CCK-8 结果 ,如图 3A 所示 ,随着

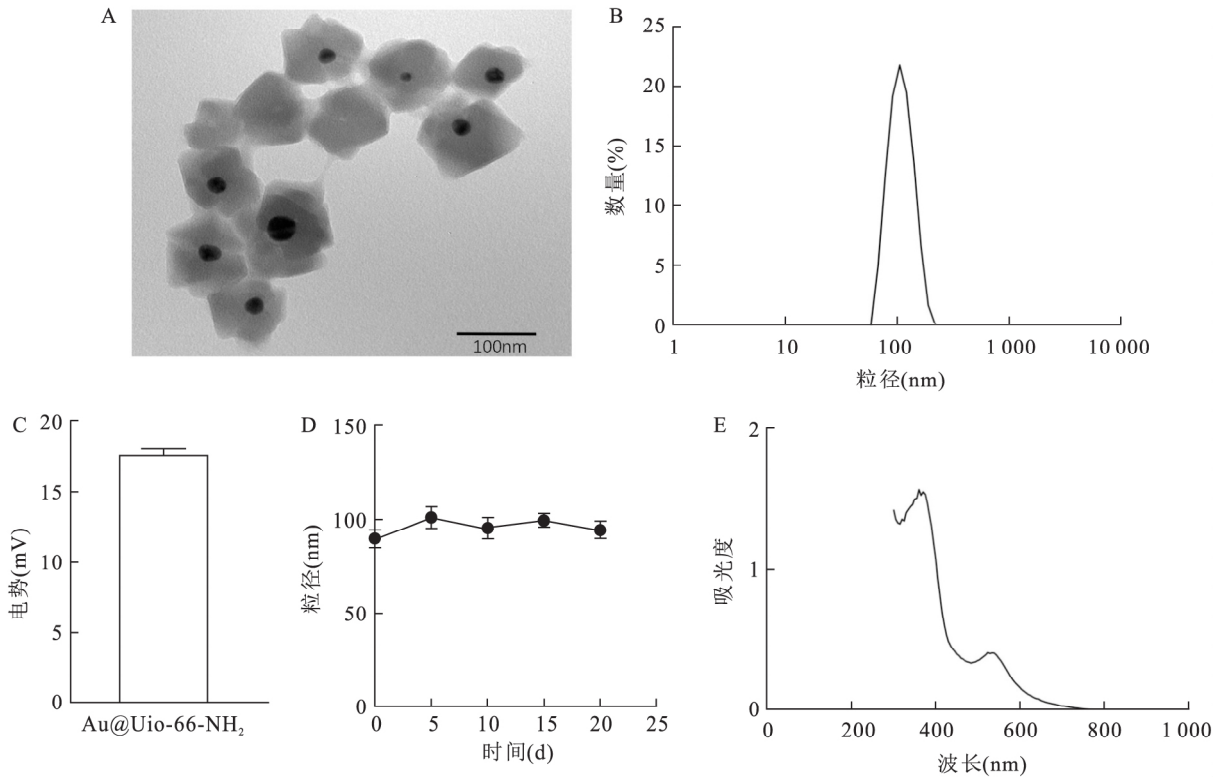


图1 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒相关表征图

A: Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒透射电镜图 ×300 000; B: DLS 测量的纳米颗粒粒径分布图; C: DLS 检测的电势图; D: DLS 检测的纳米颗粒在水溶液当中的稳定性; E: 紫外分光光度计测量的纳米颗粒紫外吸收光谱

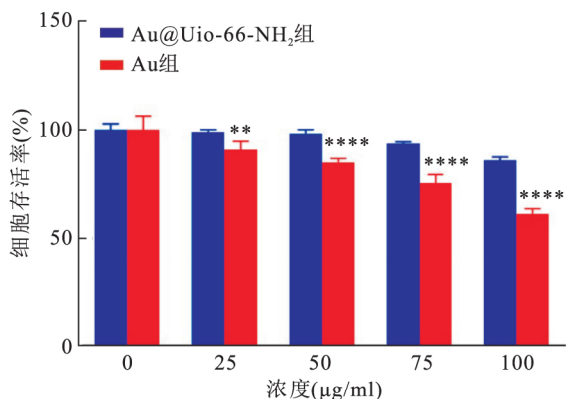


图2 不同浓度 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒与 Au 纳米颗粒的细胞毒性比较
与 Au@Uio-66-NH₂ 组比较: ***P* < 0.01, *****P* < 0.0001

放疗后时间的延长,RT 组与 Au@Uio-66-NH₂ + RT 组的细胞存活率在不断降低,且 Au@Uio-66-NH₂ + RT 组的治疗效果优于 RT 组,在放疗后 72 h,Au@Uio-66-NH₂ + RT 组细胞存活率仅有 62.86%,低于 RT 组的细胞存活率 70.33% (*P* = 0.0174, *t* = 3.255),表明 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒在体外具有良好的放疗增敏效果。

进一步验证不同 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒浓度以及不同放疗剂量对增敏效果的影响,采用克隆形成法对比不同处理组最终的细胞集落数量,如图 3B 所示。从图中数据可以看出 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒的放疗增敏作用具有浓度依赖性,高浓度颗粒组的细胞集落数量明显少于低浓度颗粒组以及 RT 组的细胞集落数。并且随着放疗剂量的提高,Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒的增敏效果也越强,其中在 6 Gy 放疗剂量下,2 组疗效最佳,细胞存活率仅有 22.67%,故选用 6 Gy 作为后续体内治疗实验的放疗剂量(图 3C)。

2.4 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒体内放疗增敏效果验证 通过构建小鼠乳腺癌模型,进一步探究纳米颗粒的体内放疗增敏作用,如图 4 所示。Au@Uio-66-NH₂ + RT 组的小鼠肿瘤生长速度明显低于 RT 组,在治疗第 18 天纳米颗粒联合放疗组小鼠肿瘤生长抑制率为 67.86%,高于 RT 组肿瘤生长的抑制率 48.95% (*F* = 93.70, *P* = 0.0116),如图 4A 所示。对各组小鼠的体质量进行长期监测,各组小鼠间体质量未见明显差异,再次验证 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒具有良好的生物安全性,如图 4B 所示。在治

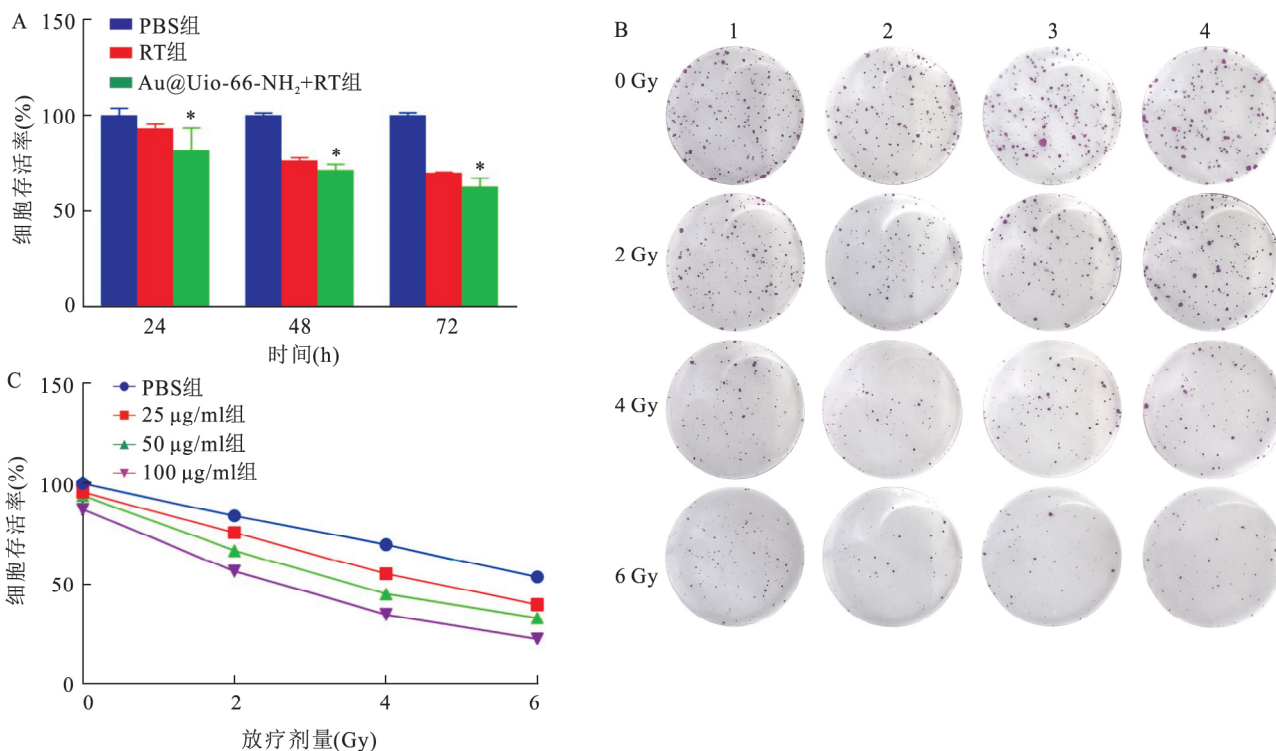


图3 体外实验验证 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒放疗增敏作用

A: 放疗(6 Gy)后不同时间段(24、48、72 h)不同处理组细胞杀伤效果比较; B: 克隆形成实验不同处理组在不同放射剂量下细胞集落图; C: 4T1 细胞在不同放射剂量下不同处理组中的存活率; 1: RT 组; 2: RT + Au@Uio-66-NH₂(100 µg/ml) 组; 3: RT + Au@Uio-66-NH₂(50 µg/ml) 组; 4: RT + Au@Uio-66-NH₂(25 µg/ml) 组; 与 RT 组比较: **P* < 0.05

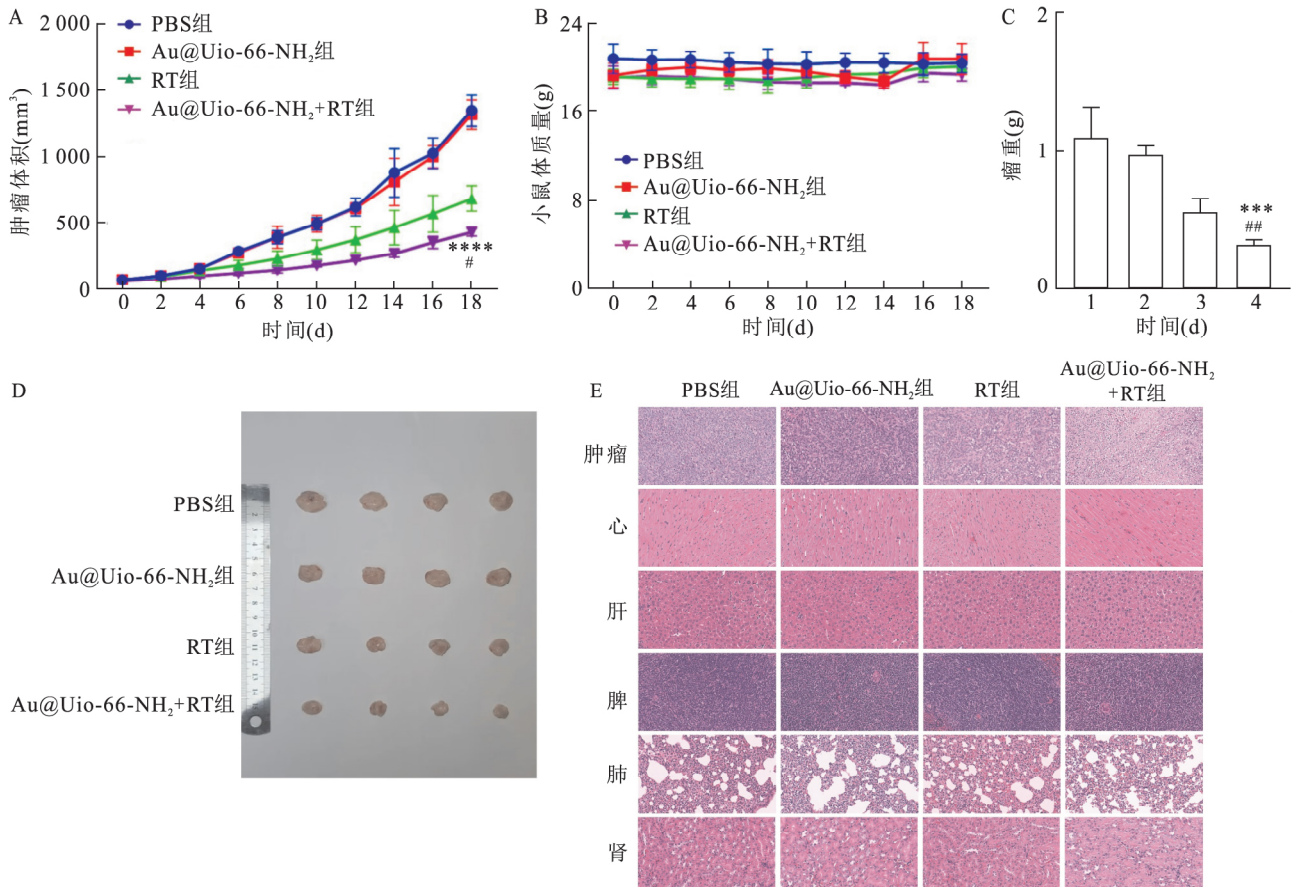


图4 体内实验验证 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒放疗增敏作用及生物安全性

A: 不同处理组小鼠皮下肿瘤生长曲线(n =4) ; B: 不同处理组小鼠体质量监测; C: 不同组处 18 d 后小鼠肿瘤质量比较; D: 不同组处理 18 d 后取出小鼠皮下肿瘤拍摄图; E: 不同处理组小鼠肿瘤组织及主要脏器 HE 染色图 ×20; 1: PBS 组; 2: Au@ Uio-66-NH₂ 组; 3: RT 组; 4: Au@ Uio-66-NH₂ + RT 组; 与 PBS 组比较: *** P < 0. 001 , **** P < 0. 000 1; 与 RT 组比较: # P < 0. 05 , ## P < 0. 01

疗后第 18 天处死小鼠 ,取出各组小鼠的皮下肿瘤 ,进行拍照 ,如图 4D 所示。之后称量各组小鼠肿瘤的质量 ,结果显示 Au@ Uio-66-NH₂ + RT 组小鼠肿瘤质量明显低于 RT 组(F = 35. 57 , P = 0. 016 6) ,而 Au@ Uio-66-NH₂ 组与 PBS 组相比肿瘤质量未见明显差异 ,进一步说明了 Au@ Uio-66-NH₂ 纳米颗粒本身不具有明显的细胞毒性作用 ,如图 4C 所示。最后对取出的肿瘤及脏器作 HE 染色处理 ,如图 4E 所示 ,纳米颗粒联合放疗组肿瘤组织坏死区域更大 ,而各组小鼠之间主要脏器染色比对结果并未显示出明显差异 ,进一步在组织水平上证实了 Au@ Uio-66-NH₂ 纳米颗粒的放疗增敏作用以及良好的生物安全性。

3 讨论

放射治疗是目前主要的癌症治疗方式之一 ,但是由于放疗对周围正常组织的损伤以及肿瘤异质性等原因造成的辐射抵抗 ,限制了放疗的疗效。为了

在最大限度减少正常组织暴露的同时给予肿瘤组织更多的放疗剂量 ,人们对放疗技术进行了不断的改进 ,例如近距离放射疗法、三维适形调强放疗、图像引导放射治疗以及立体定向消融放疗等。尽管上述技术的改进极大促进了放疗的疗效 ,但仍然存在着一些影响疗效的因素 ,例如肿瘤异质性 ,肿瘤区域血管分布的改变、代谢变化等^[7]。而放疗增敏剂可以在一定程度上克服上述问题对疗效带来的负面影响 ,简要补充现有放疗增敏剂应用现状及局限性。纳米材料具有的优势在于 ,由于高渗透长滞留效应的存在 ,其能够在肿瘤区域高度富集 ,而很少聚集在正常组织当中 ,并且它的大小和形状易于操控 ,其表面还可以通过修饰赋予不同的功能从而进一步提高放疗效率。由于纳米材料这些独特的理化性质 ,使得其被广泛用于肿瘤的放疗增敏^[8]。其中具有高 Z 值的重金属纳米颗粒作为主要的放疗增敏手段之一 ,其作用机制是由于 X 射线的吸收系数会因原子序数 Z 的改变而产生显著的变化 ,随着 Z 值的增

高 X 射线的吸收效率也会明显增加^[9]。Au 纳米颗粒作为高 Z 值纳米材料的一员,具有化学稳定性好、制备容易、生物相容性高等特点,在各类肿瘤中都表现出了良好的放疗增敏效果。在对 Au 纳米颗粒放疗增敏效应的不断探究中显示小粒径 Au 纳米颗粒具有更强的放疗增敏能力,然而其生物毒性作用相对于较大粒径 Au 纳米颗粒也变的更加明显,不利于临床应用。

金属有机骨架是由有机配体和金属离子在配位键的驱动下自组装而成的高度结晶的多孔材料,由于其具有高比表面积,被认为是一种很有前途的新型载药材料^[10]。Uio-66-NH₂ 是一种基于锆元素的金属有机框架,由于其原料便宜,反应简单,不需要额外的表面修饰,并且具有低细胞毒性和相对较高的生物相容性等特点,在近期受到越来越多人的重视。已有多篇文献^[11-12]报道了 Uio-66-NH₂ 作为药物载体在肿瘤化疗、放疗及光热治疗领域所发挥的积极作用。该研究将 Uio-66-NH₂ 作为 Au 纳米颗粒的载体,采用 CCK-8 细胞毒性检测方法表明了 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒改善了小粒径 Au 纳米颗粒的细胞毒性,并且在后续的体外和体内实验均表明了 Au@Uio-66-NH₂ 纳米颗粒的放疗增敏作用以及良好的生物安全性。

综上所述,该研究通过将 Au 纳米颗粒组装进 Uio-66-NH₂ 的多孔结构中,有效降低了 Au 纳米颗粒的生物学毒性,并同时保留了 Au 纳米颗粒的放疗增敏作用,具有良好的临床转化潜力。

参考文献

[1] Stapleton S, Jaffray D, Milosevic M. Radiation effects on the

- tumor microenvironment: implications for nanomedicine delivery [J]. *Adv Drug Deliver Rev*, 2017, 109: 119–30.
- [2] Galeaz C, Totis C, Bisio A. Radiation resistance: a matter of transcription factors [J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 662840.
- [3] Her S, Jaffray D A, Allen C. Gold nanoparticles for applications in cancer radiotherapy: mechanisms and recent advancements [J]. *Adv Drug Deliver Rev*, 2017, 109: 84–101.
- [4] Laprise-Pelletier M, Simão T, Fortin M A. Gold nanoparticles in radiotherapy and recent progress in nanobrachytherapy [J]. *Adv Healthc Mater*, 2018, 7(16): e1701460.
- [5] Li X, Hu Z, Ma J, et al. The systematic evaluation of size-dependent toxicity and multi-time biodistribution of gold nanoparticles [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2018, 167: 260–6.
- [6] Enea M, Pereira E, de Almeida M P, et al. Gold nanoparticles induce oxidative stress and apoptosis in human kidney cells [J]. *Nanomaterials (Basel)*, 2020, 10(5): 995.
- [7] Wang H, Mu X, He H, et al. Cancer radiosensitizers [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2018, 39(1): 24–48.
- [8] Liu W, Chen B, Zheng H, et al. Advances of nanomedicine in radiotherapy [J]. *Pharmaceutics*, 2021, 13(11): 1757.
- [9] Gong L, Zhang Y, Liu C, et al. Application of radiosensitizers in cancer radiotherapy [J]. *Int J Nanomedicine*, 2021, 16: 1083–102.
- [10] Saeb M R, Rabiee N, Mozafari M, et al. Metal-organic frameworks (MOFs) for cancer therapy [J]. *Materials (Basel)*, 2021, 14(23): 7277.
- [11] Wan Z, Li C, Gu J, et al. Accurately controlled delivery of temozolomide by biocompatible Uio-66-NH₂ through ultrasound to enhance the antitumor efficacy and attenuate the toxicity for treatment of malignant glioma [J]. *Int J Nanomedicine*, 2021, 16: 6905–22.
- [12] Zhou W, Liu Z, Wang N, et al. Hafnium-based metal-organic framework nanoparticles as a radiosensitizer to improve radiotherapy efficacy in esophageal cancer [J]. *ACS omega*, 2022, 7(14): 12021–9.

Study on the radiosensitizing effect of novel

Au@Uio-66-NH₂ nanoparticles with low toxicity

Zhao Zhengyang, Li Xiaoqiu

(Dept of Oncology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To reduce the biotoxicity of Au nanoparticles by encapsulating them in the metal organic framework Uio-66-NH₂, and to further investigate the radiosensitizing effect of Au@Uio-66-NH₂ nanoparticles. **Methods** Au nanoparticles were assembled into the Uio-66-NH₂ by the method of high temperature heating. The synthesized Au@Uio-66-NH₂ nanoparticles were characterized, and dynamic light scattering (DLS) was performed to determine the particle size, potential, and stability; ultraviolet spectrophotometry was carried out to obtain the ultraviolet absorption spectrum; transmission electron microscopy (TEM) was conducted to visualize the spatial structure; the cell counting Kit-8 (CCK-8) assay was used for biological safety analysis; the CCK-8 assay and the

colony formation assay were designed for assessing the radiosensitizing effect of Au@Uio-66-NH₂ nanoparticles on cancer cells; a subcutaneous tumor-bearing mouse model was constructed to evaluate the radiosensitizing effect and biological safety of Au@Uio-66-NH₂ nanoparticles *in vivo*. **Results** The characterization results demonstrated good stability of Au@Uio-66-NH₂ NPs in water solutions; the CCK-8 assay showed a more favorable biological safety profile of Au@Uio-66-NH₂ nanoparticles compared with Au nanoparticles. Meanwhile, the group of Au@Uio-66-NH₂ nanoparticles combining with radiotherapy had a favorable cell-killing effect; the animal experiment also proved supportive evidence for the radiosensitizing effect and biological safety of Au@Uio-66-NH₂ nanoparticles *in vivo*. **Conclusion** The toxicity of Au@Uio-66-NH₂ nanoparticles is significantly lower than that of Au nanoparticles, and it shows obvious radiosensitization effect, which has good clinical application prospects. **Key words** Uio-66-NH₂; gold; nanoparticles; breast cancer; radiosensitization

(上接第 981 页)

Pirfenidone inhibits the invasion of biliary tract tumors through cancer associated fibroblast

Wei Yicheng^{1 2 3}, Wang Ziyi⁴, Li Wei⁵, Yin Peihao^{1 2 3 5}

(¹Shanghai Putuo Central School of Clinical Medicine, Anhui Medical University Shanghai 200062;

²The Fifth School of Clinical Medicine, Anhui Medical University Hefei 230032;

³Interventional Cancer Institute of Chinese Integrative Medicine Shanghai University of Traditional Chinese Medicine Shanghai 200062; ⁴School of Pharmacy East China University of Science and Technology Shanghai 200237; ⁵Dept of General Surgery Putuo Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine Shanghai 200062)

Abstract Objective To study the mechanism of Pirfenidone (PFD) inhibiting the invasion of biliary tract tumors through cancer associated fibroblasts (CAF). **Methods** Primary CAF were extracted from the tumor tissues of patients with biliary tract tumor, and the marker proteins of CAF, including vimentin (VIM), α -smooth muscle actin (α -SMA) and fibroblast activating protein (FAP) were detected by Western blot. Phalloidin experiment showed the function of fibroblast cytoskeleton. ELISA and Western blot were used to verify the difference of TGF- β expression between normal fibroblasts (NF) and CAF. The functional change of CAF was observed by adding PFD to CAF. The expression of TGF- β in CAF was verified by ELISA, quantitative real-time PCR (qRT-PCR) and Western blot. The change of TGF- β in serum was verified by subcutaneous tumor mouse model. The change of collagen contractile function in CAF was observed by collagen contractile test. The changes of MMP2 and MMP9 in CAF medium were observed by gelatin enzyme assay. The changes of SMAD signaling pathway protein in CAF were detected by Western blot. **Results** The related marker proteins VIM, α -SMA and FAP of CAF were highly expressed, and the filamentous actin (F-actin) of CAF was abundant. ELISA showed that the expression of TGF- β in CAF was enhanced. Western blot experiment confirmed that CAF had stronger collagen function. Western blot, PCR and related phenomenon experiments showed that PFD could inhibit collagen production and TGF- β expression in CAF. SMAD signaling pathway-related protein experiments demonstrated that PFD could affect tumor invasion by inhibiting TGF- β /SMAD signaling pathway. **Conclusion** The function of CAF extracted from cancer patients is dominated by collagen production, while PFD inhibits the collagen production and collagen remodeling related processes of CAF through TGF- β /SMAD signaling pathway to inhibit tumor invasion.

Key words Pirfenidone; cancer-associated fibroblast; TGF- β /SMAD pathway; gallbladder cancer; cholangiocarcinoma; collagen contraction; invasion