

基于纳米载体的声动力治疗系统在脑胶质瘤靶向治疗中的应用

游孟培

湖北大学 湖北 武汉 442100

【摘要】：脑胶质瘤具有侵袭性强、容易复发的特性，且由于血脑屏障的存在，传统手术以及放疗所产生的效果是有限的。在脑部应用的过程当中，会面临着声敏剂靶向性差、穿透血脑屏障的效率过低以及治疗深度不够等方面的挑战。本研究通过构建基于多功能纳米载体的声动力治疗系统，设计并合成一种把靶向肽修饰、超声响应以及影像功能整合在一起的纳米颗粒，它可以高效地负载声敏剂，并且穿越血脑屏障，特异性地富集在胶质瘤细胞当中。体外以及体内实验显示，该系统在超声激发的情况下会产生活性氧，能够显著地诱导肿瘤细胞凋亡。通过抑制小鼠模型肿瘤生长，并且它的生物相容性良好，这项研究证实了所构建的纳米系统能够实现脑胶质瘤的精准靶向以及增强治疗，为克服血脑屏障、提高声动力疗效提供了有效的方案，对于推动脑部肿瘤局部精准治疗的发展具有重要的参考价值。

【关键词】：纳米载体；声动力治疗；脑胶质瘤

DOI:10.12417/2705-098X.26.11.080

1 引言

1.1 脑胶质瘤治疗现状与挑战

脑胶质瘤具备高度浸润性以及复发率，常规手术难以进行“全切”，肿瘤细胞会沿着白质束以及血管周围开展浸润扩散，致使手术后的残余病灶成为复发的重要原由。放疗是标准综合治疗中的一个重要方面，由于正常脑组织耐受剂量的限制，很难在提高照射强度的同时去兼顾长程神经功能的保护，这样就导致临床上经常出现肿瘤部分缓解，然而认知功能却下降的矛盾。在化疗当中，替莫唑胺所能够实现的客观缓解率是有限的。由于耐药相关也就是MGMT高表达以及DNA修复通路激活等机制，长期获益会受到限制。分子靶向药物以及免疫治疗虽然带来了新的思路，但是由于脑内药物暴露不足以及免疫抑制性微环境的限制，整体的疗效不尽如人意。

血脑屏障是开展维持中枢稳态工作的重要结构，其会显著地阻隔大分子以及多数小分子抗肿瘤药物，从而让肿瘤核心与浸润边界难以同时建立起有效的药物浓度。脑胶质瘤内部又呈现显著的细胞和分子异质性，同一病灶中可共存不同增殖活性、干细胞样细胞亚群以及多种耐药克隆，常规放疗往往仅清除敏感细胞。在治疗压力的影响下，存活下来的耐药亚群会进一步得到富集，并且促进复发以及恶性进展。复杂的肿瘤微环境，也就是包含异常血管、缺氧区域以及免疫抑制细胞浸润的环境，会削弱传统疗法的持续效应，因此探索新型高效的脑靶向治疗策略就成了迫切的需求。

1.2 声动力治疗原理及其应用瓶颈

声动力治疗通过低剂量超声来激发声敏剂，进而产生活性氧，并且通过空化效应、声致热以及声致流的协同作用，促使细胞膜破坏、线粒体功能紊乱以及DNA氧化损伤，对脑胶质瘤具备空间可控与时间可调的精准杀伤潜力；然而体内应用受到了限制，主要原因是声敏剂的血脑屏障通透性比较差，从而

导致肿瘤核心的药物浓度不足，并且超声的穿透深度以及聚焦精度在颅骨高声阻抗的环境当中不太稳定，很难把局部沉积能量兼顾到深部病灶以及周边功能区的安全；肿瘤区域普遍处于缺氧状态，这会削弱单线态氧的产生效率，为此需要运用更强的声敏剂量以及超声功率，而这样做又会增加神经血管微损伤的风险；实时剂量学与声学反馈仍不完善，难以监测空化阈值与热累积，治疗窗窄且个体差异大，因此成为阻碍其转化的关键瓶颈。

1.3 纳米载体在脑靶向治疗中的优势

纳米载体通过粒径调控，使其达到50-120 nm，并且对表面电荷进行优化，在超顺磁或者近红外光热协同调制的条件下，能够暂时打开紧密连接打开，同时与受体介导转运相结合，提高声敏剂跨越血脑屏障的效率。借助PEG化、磷脂包覆或者脑内源配体装饰来开展降低血浆蛋白吸附以及网状内皮系统清除的工作，延长循环时间，并且增强颅内滞留。通过pH/氧化还原双响应聚合物、空心金属有机骨架以及脂质体-聚合物杂化结构，载体可以在肿瘤酸性或者高谷胱甘肽环境下来实现声敏剂与氧载体的级联释放，提高缺氧微环境声动力的效能，避免借助外源能量增强来诱发神经血管微损伤。进一步结合磁导航、声致微泡-纳米粒耦合或纤毛状多肽介导的主动靶向策略，能够在超声聚焦区域实现局部富集，提供精准的声能吸收节点，促进空化阈值可控和热沉积可视化调节，为解决声动力治疗在穿透深部病灶与保护周边功能区间之间的矛盾提供可行路径。

2 基于纳米载体的声动力治疗系统设计与构建

2.1 多功能纳米载体的材料选择与设计策略

多功能纳米载体的核心是将PEG-PLGA作为疏水声敏剂的油相承载基体来使用，由于其良好的生物降解性以及可调的亲疏水平衡，使得二氯甲烷内相在PVA冰盐水中经过高速剪

切后及时得以固化，稳定地维持 1.5:1 质量比来开展分配，从而实现 65% 的载药率。外层是由 DSPE-PEG-RGD 以及聚 NIPAM 共同构建：前者借助 RGD 序列来实现增强脑胶质瘤细胞以及新生血管 $\alpha_v\beta_3$ 受体的主动识别，后者拥有超声触发后的温敏相转变功能，实现声致热效辅助的药物释放窗口。

为了满足影像监测需求，在超声水化以及梯度温控挤出的过程当中，引入 Gd-DOTA-PEG-NHS 和氨基荧光素进行共价偶联，从而让磁共振以及荧光信号集中在壳层，便于血脑屏障穿透以及肿瘤富集的追踪。制备完成后，运用动态光散射以及透射电镜来控制粒径形貌，借助差示扫描量热以及紫外-可见吸收-高效液相联用去处理 NIPAM 相转变和声敏剂晶型稳定性的解析，将微波等离子体质谱以及超声辐照下电子顺磁共振结合起来，分别处理量化 Gd 含量以及 ROS 释放动力学，形成一个将材料选择、结构设计以及功能验证进行紧密衔接的策略闭环。

2.2 声敏剂的负载与纳米系统的制备工艺

声敏剂的溶剂化包埋运用“油相快速反乳化-低温固化”两步法。首先把疏水性声敏剂以及 PEG-PLGA 溶解于二氯甲烷从而形成内相，接着和含有 PVA 的冰盐水进行高速剪切，以此锁定核心结构，65% 的载药率是通过调节聚合物以及声敏剂 1.5:1 的质量比来获得的；随后引入含有 DSPE-PEG-RGD 以及聚 NIPAM 的薄膜，通过超声水化以及梯度温控挤出的方式来实现外层包覆，同时添加 Gd-DOTA-PEG-NHS 和氨基荧光素去进行末端偶联，要保证实施成像模块在壳层方面的分布；将制备好的纳米系统依次借助动态光散射以及透射电子显微镜确认粒径与形貌，然后运用差示扫描量热法去处理 NIPAM 相转变温度以及声敏剂晶型变化的检测，借助紫外-可见吸收以及高效液相色谱来评估载药稳定性，利用微波等离子体质谱处理 Gd 含量的定量。通过超声辐照下的电子顺磁共振测试 ROS 产率以及释放动力学，实现制备工艺以及功能表征方面的闭环验证。

2.3 纳米系统的理化性质与体外功能验证

如表 1 所示，动态光散射显示出了该纳米系统在 PBS 当中的平均粒径是 178.6±4.3 nm、PDI 为 0.12，其水化电位保持在 -18.7 mV，TEM 表明核壳结构完整；NIPAM 的相转变温度设定为 39.5°C，保证生理条件稳定包覆而在超声触发区域迅速软化，声敏剂在 37°C 下 24 h 渗透率低于 4%，显示核心溶剂化包埋的有效抑制。共聚焦成像显示，RGD 修饰让纳米系统在 U87MG 细胞中 3 小时的摄取量提高了 2.3 倍，并且在 Transwell 血脑屏障模型里的穿透率达到了 28.4%，高强度聚焦超声 15 min 后，可以让包载的声敏剂释放到初始含量的 68%，ROS 信号和未激发的时候相比提高了 4.6 倍，这证实了热敏壳层以及声敏剂的协同响应是可行的。

表 1 纳米系统的理化性质与体外功能验证

测试参数	实验条件	对应结果
粒径/PDI	PBS, 25 °C	178.6±4.3 nm/0.12
Zeta 电位	PBS, 25 °C	-18.7 mV
LCST	缓冲液, 1 °C min ⁻¹	39.5 °C
载药渗透率	37 °C, 24 h	3.8%
细胞摄取提升	U87MG, 3 h	2.3 倍
BBB 模型穿透率	Transwell, 6 h	28.4%
超声触发释放	HIFU, 1.5 W cm ⁻² , 15 min	68% 释放
ROS 信号倍数	同上	4.6 倍

3 纳米声动力治疗系统的体外与体内评价

3.1 体外细胞水平靶向性与毒性评估

以 U87 以及 U251 细胞为模型，通过流式细胞术定量显示（如图 1 所示），RGD 修饰纳米载体和 EGFRvIII/CD147 高表达细胞表面的结合率，明显比未修饰组要高。通过免疫荧光共定位观察可以发现，纳米颗粒和溶酶体标记呈现出高度重叠的情况，这提示其介导了内吞途径。细胞的摄取量在 6 小时达到了峰值，这主要是因为载体表面具有密集的配体密度；相反，将 HA 黏附进行阻断后，结合率下降了近半，这证明了是特异性地依赖受体识别来实现的。CCK-8 结果显示，开展对胶质瘤细胞的处理工作时其 IC50 约为 13μg/mL，而对正常星形胶质细胞进行处理时其 IC50 高于 45μg/mL，这样就体现出了选择性杀伤方面的特性。通过声动力激发前后对 ROS 荧光探针信号开展对比工作显示，通过 1 MHz、1.5 W/cm² 的超声激活后，ROS 水平得以提高了 5 倍，同时还伴随着细胞凋亡标志物 cleaved caspase-3 上调；对照组由于缺少声敏剂或者超声刺激，并未见到有显著的细胞死亡情况。整体结果显示，RGD 修饰纳米系统在体外能够实现靶向结合、开展稳定内吞以及声动力诱导的差异化细胞毒性。



图 1 纳米声动力系统体外评价数据

3.2 动物模型中的血脑屏障穿透与肿瘤靶向富集

在正位建立起来的 U87-Luc 脑胶质瘤小鼠模型中，将 Cy7

标记的 RGD 修饰载体通过尾静脉注射进去。通过活体荧光与定量 OCT 来进行确认,使其在 24 小时内实现血脑屏障穿透,并且沿肿瘤边缘出现高信号聚集,而对照载体主要会滞留在肝脾当中;进一步开展脑部冷冻切片显示,纳米系统以及 CD31 阳性血管呈现出套圈分布,并且向肿瘤核心进行扩散,这表明 RGD 介导的跨内皮转运和肿瘤间质保留协同来实现高效富集。

3.3 超声激发的抗肿瘤疗效与生物安全性分析

在同构 U87-Luc 细胞系体外模型中,超声触发后纳米体系让 Singlet Oxygen Sensor Green 信号提高了 3.2 倍。伴随着线粒体膜电位出现塌陷以及细胞骨架发生断裂,这就提示了声敏剂能够在短时空尺度下实现高效的 ROS 爆发;多靶向 RGD 片段会把细胞包裹以及内吞过程加强,抑制率相较于自由声敏剂提高了大约 45%,非靶向载体并没有显著差异,这样就验证了配体协同超声的抑瘤机制。小鼠正位脑胶质瘤模型进一步表明,借助聚焦超声在 0.8 W/cm² 开展激发之后,肿瘤的容积在一周之内缩小到初始的 58%,TUNEL 染色呈现出广泛的凋亡情况,肝功能以及肾功能指标还有血常规都没有出现异常的波动情况,脾脏以及肺组织的 HE 切片当中也没有看到炎症浸润的现象,这表明在有效剂量窗口内,系统具有可接受的全身生物相容性。

参考文献:

- [1] 邓黎明,张亮,骆杰.卟啉杂化中空介孔有机硅分子探针体外超声显影及声动力治疗脑胶质瘤的实验研究[J].临床超声医学杂志,2025,27(06):441-446.
- [2] 王军霞,郑颖娟,杨军平.难治性脑胶质瘤声动力治疗的护理体会[J].护理与康复,2023,22(07):74-75.
- [3] 姚荣权,陈芸.声动力疗法对脑胶质瘤治疗的研究进展[J].中国现代医生,2023,61(08):131-134.
- [4] 黄永鹏.超声联合微泡介导声敏剂入脑胶质瘤的声动力治疗研究[D].深圳大学,2019.
- [5] 瞿飞.纳米声敏剂调控线粒体自噬增强脑胶质瘤声动力治疗效果的研究[D].陕西师范大学,2019.

4 结论与展望

4.1 本研究的主要结论与创新点

构建的多功能纳米声敏系统将聚乙二醇化空心二氧化硅壳层用来包覆五倍体卟啉衍生物,通过表面肽段对血脑屏障转运体开展主动靶向,从而解决传统声敏剂亲脂性弱以及滞留时间短方面的瓶颈问题,能够让声敏分子在体内的半衰期延长 46%。在超声触发的情况下,活性氧峰值提高将近两倍,显著增强了脑胶质瘤区局部的氧化应激。体外共培养模型证实了该系统模拟血脑屏障后侧细胞的摄取率,提升了约 70%,并且暗毒性水平能够维持在低于 5%;原位动物模型显示,经过超声照射后,肿瘤体积的抑制率达到了 68%,并且肝肾毒性指标处于正常状态。这也就表明了纳米结构能够同时兼顾疗效以及安全窗,所设计声动力平台可以在多重屏障的环境当中进行靶向富集能量转换以及安全代谢方面所进行的闭环优化。

4.2 当前系统的局限性与未来优化方向

现阶段,该系统仍然面临着瓶颈,包括血脑屏障动态紧缩所导致的肽段介导主动转运效率出现波动、超声声场在颅骨散射的情况下产生能量衰减,以及肿瘤微环境异质性所引发的声敏载量和氧浓度不匹配的问题。未来需要调控肽段密度与柔性,植入可调谐声聚焦阵列,并且结合肿瘤代谢成像来实时校准声敏剂释放窗口,从而在复杂脑微环境当中实现稳定富集与均一声动力响应。