

基于 Ag_2S 量子点的光热治疗协同药物治疗在动脉粥样硬化中的应用

梁惠闲^{1,2}, 王 森², 张雨璨², 白 丽², 李雪妹²,
于法标^{1,2}, 程子译^{1,2}, 赵琳璐^{1,2}

(1. 海南医学院药学院; 2. 急救与创伤研究教育部重点实验室, 第一附属医院, 海口 571199)

摘要 设计合成了一种具有靶向和光热治疗协同药物治疗的纳米药物, 可通过降脂和抗炎作用延缓动脉粥样硬化的进展. 以透明质酸为骨架, 靶向结合炎性巨噬细胞中过表达的 CD44 受体, 通过共价结合 Ag_2S 量子点, 发挥出光热治疗效果, 同时负载洛伐他汀, 实现了药物治疗作用. 对该纳米药物进行了理化性质分析和细胞实验, 结果表明, 该材料尺寸适宜, 可在透明质酸酶存在的条件下发挥出较好的药物释放效果和光热作用. 此外, 体外和体内实验证明, 该材料具有良好的生物相容性, 可抑制动脉粥样硬化的发展, 为开发安全有效的动脉粥样硬化治疗方法提供了新见解.

关键词 透明质酸; 纳米药物递送系统; 量子点; 光热治疗; 动脉粥样硬化

中图分类号 O636 文献标志码 A doi: 10.7503/cjcu20240154

Application of Ag_2S Quantum Dot-based Photothermal Therapy with Synergistic Drug Treatment in Atherosclerosis

LIANG Huixian^{1,2}, WANG Miao², ZHANG Yucan², BAI Li², LI Xuemei²,
YU Fabiao^{1,2*}, CHENG Ziyi^{1,2*}, ZHAO Linlu^{1,2*}

(1. College of Pharmacy, 2. Key Laboratory of Emergency and Trauma, Ministry of Education, the First Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Hainan Medical University, Haikou 571199, China)

Abstract Anti-inflammatory and lipid-lowering are currently effective strategies for the treatment of atherosclerosis. Therefore, a nanomedicine delivery system with targeted, photothermal therapy synergistic drug therapy was designed and synthesized to slow the progression of atherosclerosis through lipid-lowering and anti-inflammatory effects. The CD44 receptor overexpressed in inflammatory macrophages was targeted by using hyaluronic acid as a backbone. Ag_2S quantum dots exert photothermal therapeutic effects through covalent binding, while lovastatin is encapsulated to realize the pharmacological therapeutic effect. Moreover, physicochemical analyses and cellular experiments were performed on this nanomedicine delivery system. The results show that the material has suitable dimensions for good drug release in the presence of hyaluronidase and exerts excellent photothermal effects. In addition, both *in vitro* and *in vivo* experiments demonstrate that the material has good biocompatibility and inhibits

收稿日期: 2024-03-31. 网络首发日期: 2024-05-27.

联系人简介: 赵琳璐, 女, 博士, 副研究员, 主要从事自组装纳米材料的疾病诊疗方面的研究. E-mail: zhaolinlu@hainmc.edu.cn

程子译, 男, 博士, 副研究员, 主要从事荧光和拉曼技术的疾病精准诊断方面的研究. E-mail: chengziyi@hainmc.edu.cn

于法标, 男, 博士, 教授, 主要从事荧光探针的开发及成像应用方面的研究. E-mail: yufabiao@hainmc.edu.cn

基金项目: 海南省重点研发专项项目(批准号: ZDYF2022SHFZ311)、国家自然科学基金(批准号: 22164009, 22305056, 22064009, 82202647, 22264013)和海南医学院研创B类项目(批准号: HYYS2021B03)资助.

Supported by the Hainan Province Science and Technology Special Fund, China(No. ZDYF2022SHFZ311), the National Natural Science Foundation of China(Nos. 22164009, 22305056, 22064009, 82202647, 22264013) and the Hainan Medical University Master Class B Project, China(No. HYYS2021B03).

the developmental process of atherosclerosis, which provides new insights into the development of safe and effective treatments for atherosclerosis.

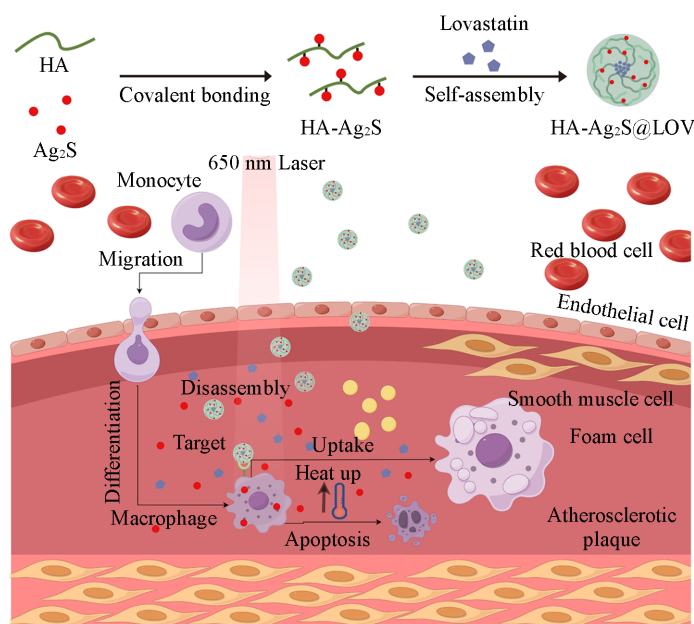
Keywords Hyaluronic acid; Nanomedicine delivery system; Quantum dots; Photothermal therapy; Atherosclerosis

心血管疾病(CVD)是全球高死亡率疾病之一。根据《2023 世界卫生统计报告》，心血管疾病导致 1790 万人死亡，占全球死亡人数的 32%^[1,2]。动脉粥样硬化(AS)是 CVD 的主要病理基础，是一种由脂质驱动，涉及许多过程的复杂慢性炎症性疾病^[3,4]。由于肥胖、吸烟和饮酒等不良因素的影响，内皮细胞不断受到刺激，内皮功能紊乱，导致内皮通透性增加^[5,6]。内皮细胞分泌大量炎症因子和趋化因子，将单核细胞从循环血液中集中到内皮损伤部位，这些单核细胞进一步迁移、浸润并分化为巨噬细胞^[7,8]。随后，由于氧化低密度脂蛋白(ox-LDL)的沉积，巨噬细胞将其吞噬，并逐渐转化为泡沫细胞^[9,10]。这些活化巨噬细胞的表面会高表达 CD44 受体，同时透明质酸酶活性升高^[11]。随着时间的推移，泡沫细胞在血管内皮不断积累，逐渐形成脂质条纹和纤维斑块，最终形成坏死核心^[12]。

在临床上，药物和手术是治疗 AS 的主要手段。由于手术具有危险性和创伤性，故以药物治疗为主^[2,13]。他汀类药物是临床上广泛应用于治疗 AS 的处方药，对心血管系统不仅具有降脂作用，还有抗血栓、抗氧化和抗炎的作用^[4,14]。然而，由于药物水溶性差，且不具有靶向性，导致其副作用明显且治疗效果不佳^[15]。纳米技术的快速发展为合理设计先进纳米制剂和有效处理各种疾病提供了更多机会^[16-18]。自组装技术是设计和合成纳米制剂的一种有效方法^[19]。靶向纳米药物递送系统可提高生物利用度、延长血液循环时间和降低全身毒性^[20,21]。光热治疗(PTT)是一种新兴的光治疗技术。近年来，通过 PTT 减轻动脉粥样硬化斑块中炎症反应的治疗策略受到广泛关注^[22,23]。PTT 可将光能转化为热能以消融斑块中的炎性巨噬细胞，减少病变。量子点是一种具有良好光学和光热性能的纳米材料^[24,25]，其具有较高的光热转换效率，可产生热能并诱导巨噬细胞凋亡，从而实现动脉粥样硬化斑块 PTT 的目的^[26]。动脉粥样硬化中的巨噬细胞表面 CD44 受体高表达，且斑块内透明质酸酶高表达^[11]。在此微环境下，透明质酸(HA)可与细胞表面的 CD44 受体结合，同时，在动脉粥样硬化中高表达的透明质酸酶作用下，HA 可发生特异性水解^[23,27]。此外，透明质酸还具有良好的生物相容性和生物降解性，有利于 HA 用于动脉粥样硬化的靶向治疗^[28,29]。

近年来，研究人员通过对降脂药进行修饰来提高药物的生物利用度，从而达到有效治疗 AS 的效果^[30]。但是，单一药物治疗不能实现动脉粥样硬化斑块的消退和逆转。目前，治疗 AS 的策略逐渐从降脂转移到降低炎症。由于光热治疗技术的出现，通过 PTT 消融炎性细胞达到抗炎效果，为动脉粥样硬化的治疗打开了一扇新窗^[31-33]。因此，将两种策略结合起来，共同发挥降脂和抗炎作用，为动脉粥样硬化的高效治疗提供了可能。

本文开发了一种基于透明质酸的纳米药物递送系统，用于改善动脉粥样硬化。透明质酸与末端带有氨基的 Ag₂S 量子点共价结合，在亲疏水的作用下将洛伐他汀包载在纳米颗粒中。HA 与动脉粥样硬化病变部位细胞中高表达的 CD44 特异性结合，从而实现靶向作用。该纳米药物在透明质酸酶活性升高的部位水解，释放出洛伐他汀和 Ag₂S 量子点(Scheme 1)。通过 Ag₂S



Scheme 1 Synthesis of HA-Ag₂S@LOV nanodrug delivery system and its schematic process for the treatment of atherosclerosis

量子点介导的PTT消融炎性巨噬细胞, 实现抗炎作用, 同时, 洛伐他汀具有一定的降脂效果. 本文研究结果表明, HA-Ag₂S@LOV 纳米材料介导的光热协同药物治疗在动脉粥样硬化治疗中具有极大潜力.

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

砷试剂(纯度99%)、正十二烷基硫醇(DT, 纯度98%)、透明质酸(HA, 纯度97%)、 β -巯基乙胺(纯度95%)、*N*-羟基琥珀酰亚胺(NHS, 纯度98%)、1-乙基-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(EDCI, 纯度98.5%)和Triton X-100(生物技术级), 上海麦克林生化科技股份有限公司; 无水乙醇和异丙醇, 分析纯, 广州化学试剂厂; 洛伐他汀(纯度98%), 上海毕得医药科技股份有限公司; 透明质酸酶, 美国MedChemexpress 生物科技有限公司; 二甲基亚砜(DMSO, 分析纯), 西陇科学股份有限公司; 磷酸盐缓冲溶液(PBS), 广州洁特生物过滤股份有限公司; 细胞增殖及毒性检测试剂盒, 大连美仑生物技术有限公司; Annexin V-FITC/PI 凋亡检测试剂盒, 北京庄盟国际生物基因科技有限公司; 活细胞/死细胞双染试剂盒, 北京百奥莱博科技有限公司; 油红O染色试剂盒, 北京索莱宝科技有限公司; 巨噬细胞(RAW264.7), 武汉普诺赛生命科技有限公司; 脂多糖(LPS), 上海碧云天生物技术股份有限公司; 氧化低密度脂蛋白(ox-LDL), 北京博奥森生物技术有限公司; ApoE^{-/-}小鼠(8周龄, 雄性), 苏州赛业生物科技有限公司; 血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白(LDL)和高密度脂蛋白(HDL)含量检测试剂盒, 南京建成生物工程研究所.

HT7800型透射电子显微镜(TEM), 日本日立公司; SYNERGY H1型酶标仪, 美国biotek公司; 纳米粒度/Zeta电位分析仪, 美国Horiba公司; 手持式光热成像仪, 美国FLIR公司; UV-600型紫外-可见分光光度计, 天津捷瑞有限公司; FV3000型激光共聚焦显微镜, 美国Horiba公司; 倒置生物显微镜, 重庆重光实业有限公司; 功率密度仪和808 nm激光器, 北京中教金源科技有限公司; BD Accuri™ C6 Plus型流式细胞仪, 北京众力挽生物科技有限公司; Vevo 3100型超声成像平台, 富士胶片公司; PE-68007ET型血清分析仪, 深圳普康医疗器械有限公司.

1.2 实验过程

1.2.1 纳米药物 HA-Ag₂S@LOV 的制备和表征 参照前文^[24]方法制备了疏水性Ag₂S QDs. 使用 β -巯基乙胺进行配体交换, 得到水溶性良好且末端带有氨基的Ag₂S QDs. 将30 mg透明质酸溶于1 mL去离子水中, 加入适量EDCI和NHS, 在黑暗环境下活化1 h. 活化结束后, 加入适量Ag₂S QDs, 搅拌24 h. 反应结束后, 向溶液中缓慢滴加用少量DMSO溶解的洛伐他汀, 搅拌12 h. 对混合液进行透析纯化, 得到HA-Ag₂S@LOV. 采用TEM和DLS对HA-Ag₂S@LOV的形貌、粒径尺寸和Zeta电位进行表征.

1.2.2 稳定性研究 在不同时间点(0, 12, 24, 48和72 h), 利用DLS测定了HA-Ag₂S@LOV纳米材料的尺寸、多分散性指数(PDI)值和Zeta电位.

1.2.3 酶响应解组装药物释放 将纳米材料置于含有透明质酸酶的PBS缓冲液中, 于37 °C水浴溶解. 分别在不同时间点取样, 通过紫外-可见分光光度计测定255 nm处的吸光度, 并计算洛伐他汀的药物释放率.

1.2.4 纳米药物的光热研究 用手持热成像仪对HA-Ag₂S@LOV在650 nm激光器(300 mW/cm²)下的温度变化进行监测和记录. 用激光照射溶液10 min后, 关掉激光, 待溶液冷却至室温, 重复4次激光照射/冷却实验并记录溶液温度.

1.2.5 细胞毒性 以每孔100 μ L含 1×10^4 个细胞的密度, 将巨噬细胞接种于96孔板中, 培养过夜. 在每个孔中, 分别加入特定浓度的HA-Ag₂S@LOV溶液(相当于Ag₂S浓度为10, 25, 50, 100和200 μ g/mL), 与巨噬细胞共同孵育24 h. 其中一组进行光照, 另一组不进行光照. 加入CCK-8试剂共孵育1~4 h, 用酶标仪检测并记录450 nm处各组的吸光度(OD)值.

1.2.6 体外溶血实验 通过眼眶采血, 收集小鼠血液. 将血液用PBS缓冲液稀释、洗涤和离心(4 °C, 1500 r/min, 5 min), 重复上述操作3次, 得到红细胞沉淀. 向红细胞沉淀中加入PBS缓冲液, 配制成质

量分数为5%的红细胞悬浊液. 加入PBS缓冲液作为阴性对照组, 加入体积分数0.1%的Triton X-100作为阳性对照组, 加入不同体积的HA-Ag₂S@LOV溶液, 配制成含有不同浓度HA-Ag₂S@LOV(5, 10, 50, 100和200 μg/mL)的红细胞悬浊液, 作为实验组. 将混合悬液置于37 °C恒温箱中孵育2 h, 离心(2500 r/min, 5 min), 收集上层清液. 用酶标仪测定540 nm处的OD值.

1.2.7 细胞凋亡研究 取适量细胞接种于共聚焦皿中, 置于培养箱中培养过夜. 使用LPS刺激巨噬细胞, 形成炎性细胞模型, 分别加入PBS缓冲液和HA-Ag₂S@LOV共同孵育并进行光照. 随后, 使用Calcein-AM/PI荧光染料对活/死细胞进行染色, 使用CLSM显微镜观察染色情况.

1.2.8 尼罗红染色 取适量RAW264.7细胞接种于共聚焦培养皿中培养过夜. 空白组使用新鲜培养基培养; PBS组用ox-LDL刺激后, 加入PBS缓冲液进行培养; 治疗组用ox-LDL刺激后, 加入HA-Ag₂S@LOV进行培养. 培养孵育24 h后, 将细胞在650 nm激光器下光照处理(300 mW/cm²)10 min. 用尼罗红染料染色10 min, 在CLSM显微镜下成像.

1.2.9 油红O染色 将RAW264.7细胞接种于六孔板中培养过夜, 实验分组和光照处理与1.2.8节相同. 处理后, 使用新鲜配置的油红O染色液对细胞染色30 min后, 用质量分数为60%的异丙醇漂洗至细胞间质清晰, 用水洗涤3次, 在光学显微镜下成像.

1.2.10 小鼠超声成像 使用戊巴比妥对小鼠进行麻醉, 通过小动物超声成像仪观察小鼠的主动脉. 提前对小鼠进行脱毛, 用已涂抹超声耦合剂的超声探头贴紧小鼠皮肤表面, 采用B模式成像功能对小鼠进行扫描, 以获得超声图像.

1.2.11 血脂检测 治疗周期结束后, 通过眼眶取血收集小鼠血液. 将收集的血液进行离心(4 °C, 1000 r/min, 20 min), 提取上层清液待测. 用检测试剂盒测定各组小鼠血清中的总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白(LDL)和高密度脂蛋白(HDL)含量.

1.2.12 血常规检测 将通过眼眶取血收集到的血液置于动物血清分析仪中, 对小鼠体内的血红蛋白体积(HGB)、血小板计数(PLT)、红细胞计数(RBC)和白细胞计数(WBC)进行检测.

1.2.13 苏木精-伊红染色实验 治疗结束后, 对小鼠实施安乐死并进行解剖. 对其心、肝、脾、肺和肾进行组织学切片和苏木精-伊红(H&E)染色.

2 结果与讨论

2.1 材料的制备和表征

对硫化银量子点的合成方法^[24]进行了改进. 利用TEM对合成的Ag₂S QDs和HA-Ag₂S@LOV进行了形貌表征. 结果显示, HA-Ag₂S@LOV具有均一的球形结构和良好的分散性[图1(A)和(B)]. 纳米粒度/Zeta电位分析结果[图1(C)]显示, Ag₂S QDs的尺寸约为4 nm, HA-Ag₂S@LOV的尺寸约为160 nm, 与TEM照片显示的粒径大小一致. 对Ag₂S QDs和HA-Ag₂S@LOV纳米材料的Zeta电位进行了测量, 结果[图1(D)]显示, Ag₂S QDs具有较强的正电位, 而HA-Ag₂S@LOV纳米材料表现为中性电位. 以上结果表明, 末端带有正电荷氨基的Ag₂S QDs和HA-Ag₂S@LOV纳米材料已合成.

2.2 材料的稳定性

为了评估组装材料的稳定性, 对HA-Ag₂S@LOV纳米颗粒的粒径、聚合物分散性指数(PDI)及Zeta电位进行了72 h监测. 结果表明, HA-Ag₂S@LOV纳米颗粒的粒径在72 h内未发生明显变化, PDI值保持在0.3以下[图2(A)], Zeta电位在72 h内未发生明显变化[图2(B)]. 以上结果表明, HA-Ag₂S@LOV纳米药物递送系统具有优异的稳定性.

2.3 体外药物释放

纳米药物递送系统的可控释放是药物发挥效果的前提. 为了测试药物能否正常释放, 进行了模拟体内环境的药物释放实验. 结果表明, 在37 °C水浴条件下, 将HA-Ag₂S@LOV加入透明质酸酶缓冲溶液中, 洛伐他汀能够被释放, 72 h时药物释放率达80%以上[图3(A)]. 此外, 对未加入透明质酸酶缓冲溶液的HA-Ag₂S@LOV进行了测试, 发现药物未被释放[图3(B)]. 以上结果表明, HA-Ag₂S@LOV在

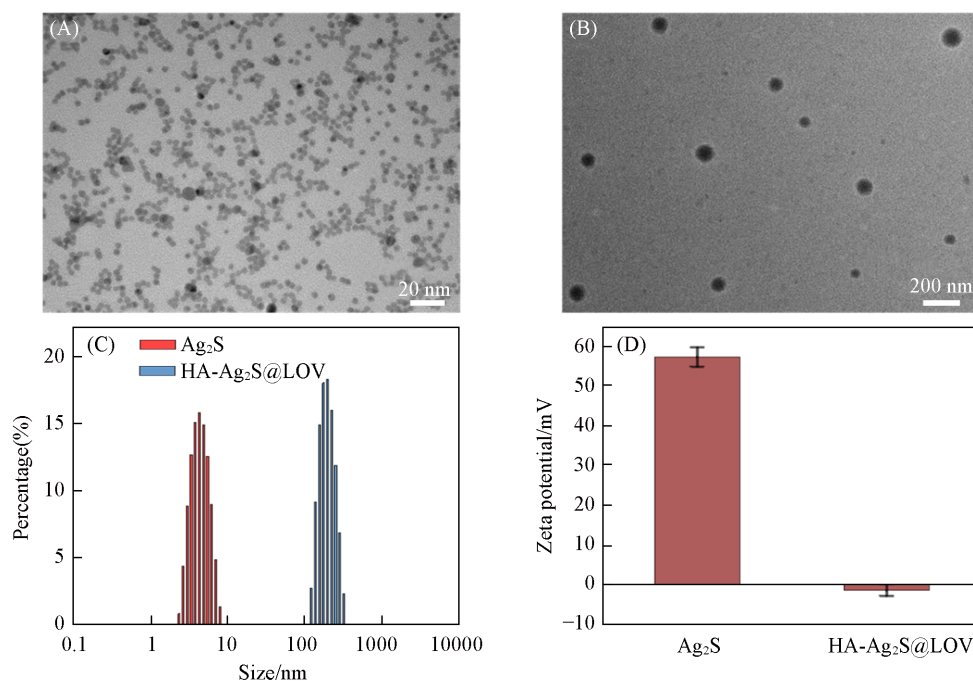


Fig. 1 TEM image of Ag_2S QDs(A) and HA- Ag_2S @LOV(B), hydrodynamic diameter(C) and zeta potential(D) of Ag_2S QDs and HA- Ag_2S @LOV

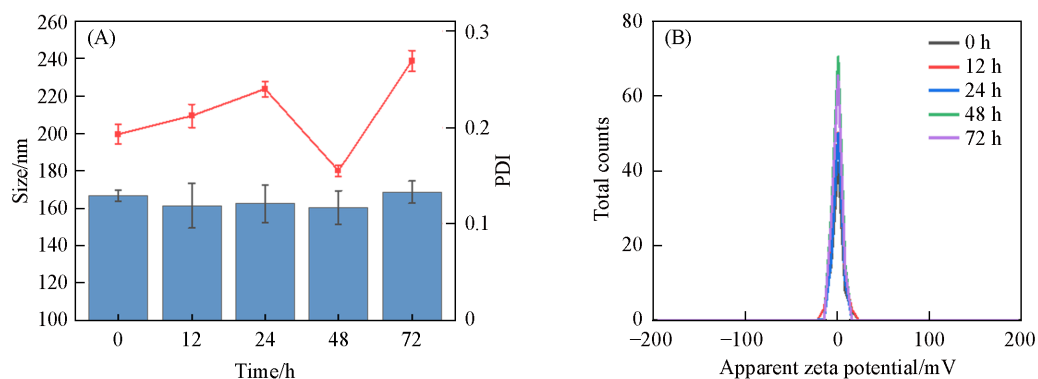


Fig. 2 Stability of particle size, PDI(A) and zeta potential(B) of nanomaterials at different time

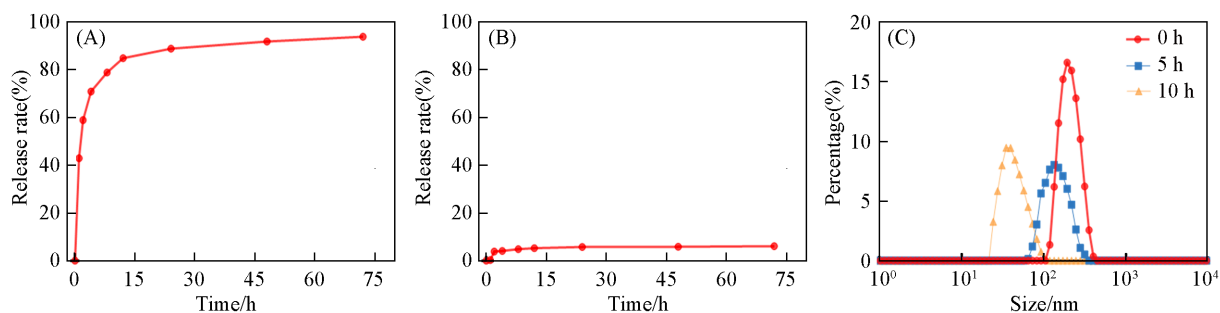


Fig. 3 *In vitro* drug release profiles with hyaluronidase(A), without hyaluronidase(B) and hydrodynamic diameters(C) at different time

透明质酸酶存在的环境中可以解组装,并释放药物,说明其具有良好的可控释放作用.此外,研究了纳米药物递送系统的解组装动力学,粒度测定结果表明,加入透明质酸酶后,随着时间的增加该纳米材料尺寸逐渐减小,10 h后尺寸不再发生明显变化[图3(C)].这说明10 h后,纳米材料已全部解组装,药物被全部释放.

2.4 材料的光热性能

Ag₂S QDs 具有光热转换特性, 因此考察了合成的纳米药物递送系统的光热性能. 用 650 nm 激光照射纳米材料 10 min, 利用红外热成像仪进行实时监测. 结果表明, 随着时间的增加, 溶液温度逐渐升高, 照射 10 min 时温度达 60.1 °C [图 4(A)]. 经过 4 次激光照射/冷却循环后, 溶液温度保持不变 [图 4(B)]. 以上结果表明, 纳米药物具有良好的光热性能和光热稳定性.

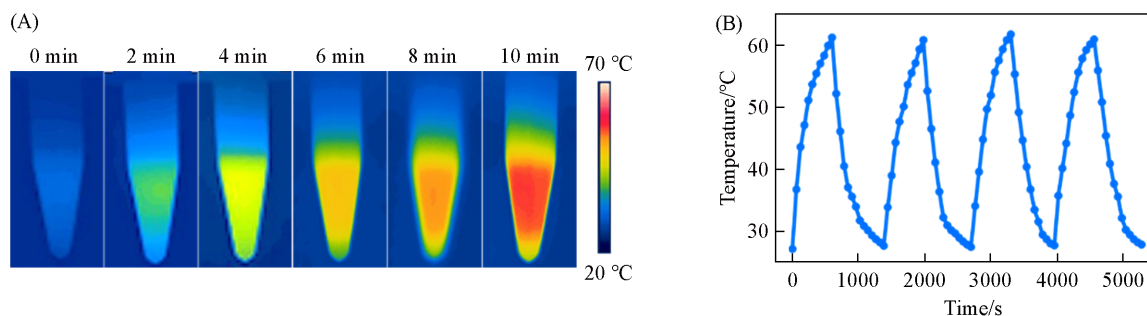


Fig. 4 Thermal imaging of a solution of HA-Ag₂S@LOV under laser irradiation as a function of time(A) and four photothermal cycle curves of the solution of HA-Ag₂S@LOV at 650 nm and 300 mW/cm²(B)

2.5 体外生物相容性

细胞毒性是评价生物安全性的重要指标. 利用 CCK-8 试剂盒对纳米药物的细胞毒性进行了测试. 结果如图 5(A) 所示, 无光照条件下纳米药物几乎不产生细胞毒性, 光照后细胞活性随着纳米药物浓度的增大而降低. 以上结果表明, 纳米药物在光照条件下可杀伤细胞, 具有良好的生物相容性, 同时, 进一步证明该纳米药物具有良好的稳定性和光热性能. 为了进一步探究纳米药物的生物相容性, 进行了体外溶血实验. 结果表明, 纳米药物未引起明显的溶血反应 [图 5(B)], 证明其具有良好的血液相容性, 为后续体内研究提供了可能.

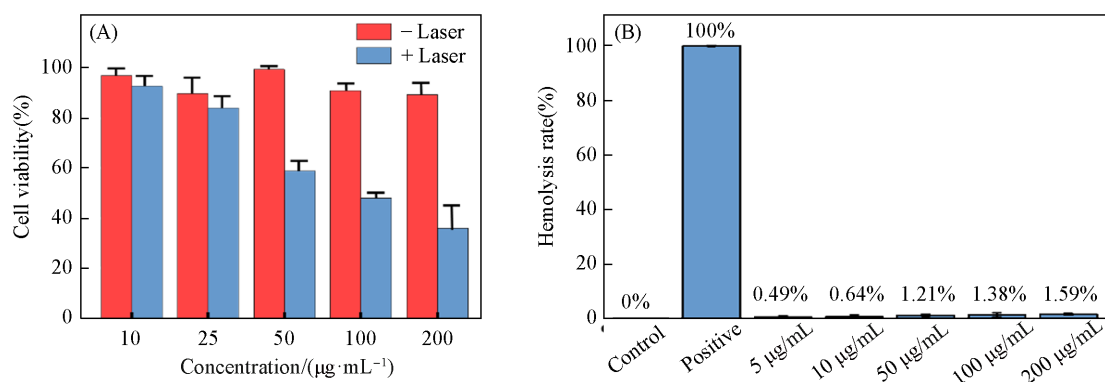


Fig. 5 Cellular activity after co-incubation with macrophages with and without light conditions(A) and blood compatibility results(B)

2.6 细胞凋亡性能

由于纳米药物具有光热性能, 因此考察了纳米药物对炎性巨噬细胞的光热消融能力. 采用 CLSM 观察了经过 HA-Ag₂S@LOV+Laser 处理后的细胞存活情况. 结果显示, PBS 组的细胞基本未凋亡, 而加入纳米药物后, 出现大量被染成红色的凋亡细胞 (图 6). 这说明纳米药物具有较强的消融炎性巨噬细胞的能力.

2.7 尼罗红染色分析

为了研究纳米药物对脂质的清除能力, 使用尼罗红染料对细胞进行了染色实验. 尼罗红染料是一种亲脂染料, 在富含脂质的环境中具有较强的红色荧光, 是检测细胞内脂滴的重要染色剂. 如图 7 所示, 空白组的红色荧光很弱, 表明未经 ox-LDL 处理的细胞中几乎不存在脂滴. 而经 ox-LDL 处理后, 与

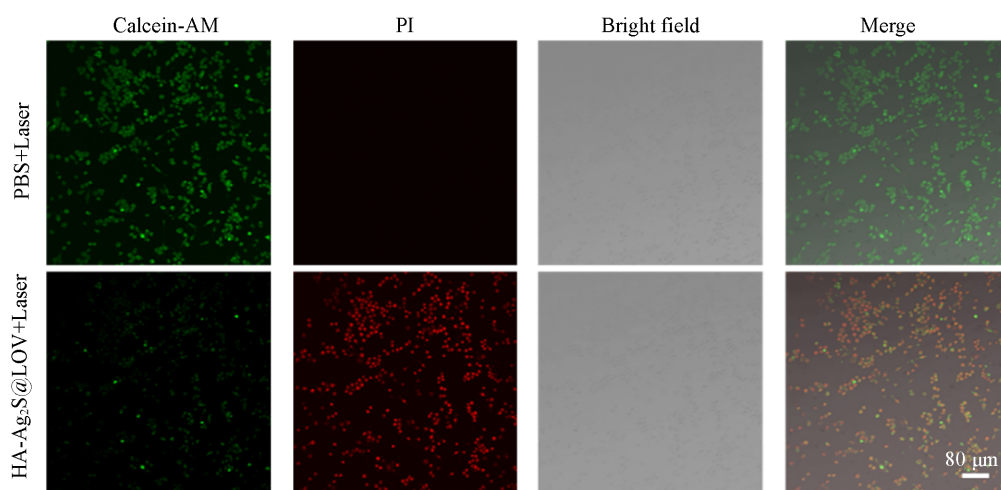


Fig. 6 Fluorescence images of living and dead cells stained with different treatments

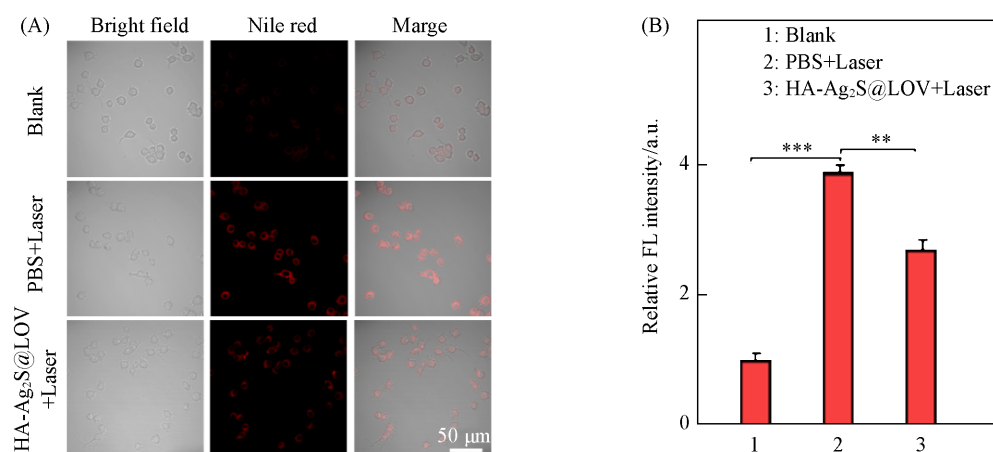


Fig. 7 Nile red staining images of cells(A) and their quantitative analysis after different treatments(B)

The data are shown as mean \pm standard deviation(SD) error bars($n=6$); * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$.

PBS+Laser组相比, HA-Ag₂S@LOV+Laser组的红色荧光强度明显减弱, 说明脂质沉积减少. 以上结果表明, 纳米药物可清除脂质, 且可延缓泡沫细胞的形成.

2.8 油红O染色分析

为了进一步研究纳米药物对抑制细胞泡沫化的影响, 使用油红O对细胞进行了染色分析. 结果显示, 未经任何处理的空白组细胞未被染成红色; 而经 ox-LDL 刺激, 并使用 PBS+Laser 处理后的细胞中存在大量被染成红色的脂滴, 经 HA-Ag₂S@LOV+Laser 处理后, 细胞中的红色脂滴较少. 对油红O染色面积进行了量化处理, 如图8所示, 经纳米药物治疗, 细胞中的油红O染色面积显著减小. 油红O染色

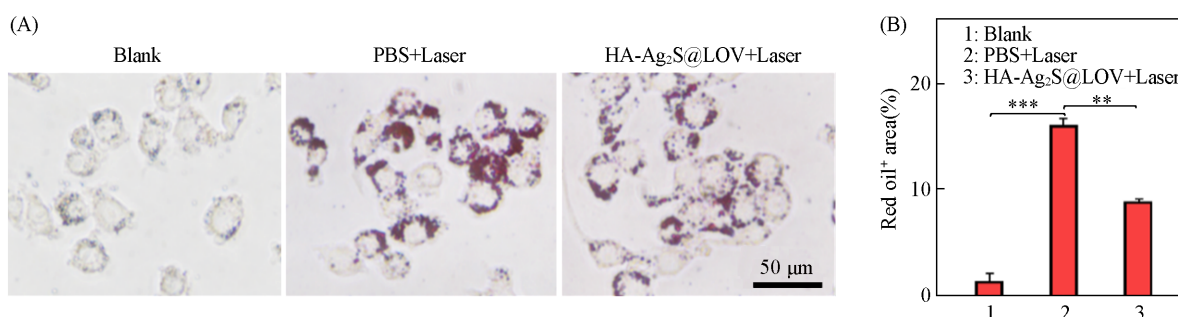


Fig. 8 Oil red O stained images of cells(A) and their quantitative analysis after different treatments(B)

The data are shown as mean \pm standard deviation(SD) error bars($n=6$); * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$.

结果与尼罗红染色结果一致,说明纳米药物可抑制泡沫细胞的形成,具有一定的降脂效果,表明纳米药物具有抑制动脉粥样硬化进展的潜力.

2.9 AS小鼠模型的建立

为了鉴定AS小鼠模型是否成功建立,采用超声成像的B模式对喂养高脂饲料和普通饲料的小鼠分别进行监测.在高脂喂养的小鼠超声图像中,血管有突起斑块;而在正常小鼠超声图像中,血管光滑平整(图9).对普通喂养和高脂喂养的小鼠血液血脂指标进行了检测.结果表明,与普通喂养小鼠相比,高脂喂养小鼠血液中TC, TG和LDL的浓度显著升高(图10).以上结果证明,AS模型小鼠已构建.

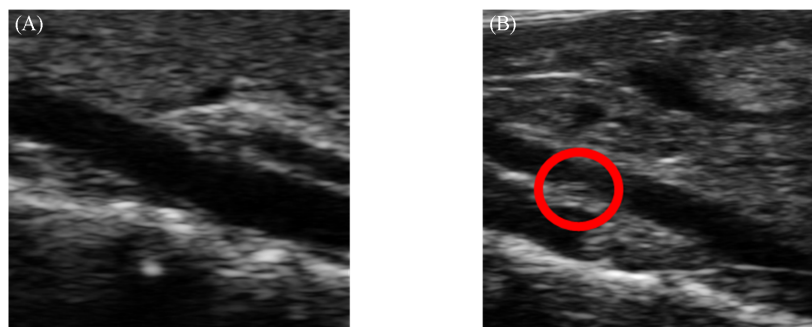


Fig. 9 Vascular ultrasound images of mice in control(A) and high-fat(B) groups

The red circle indicates plaque region.

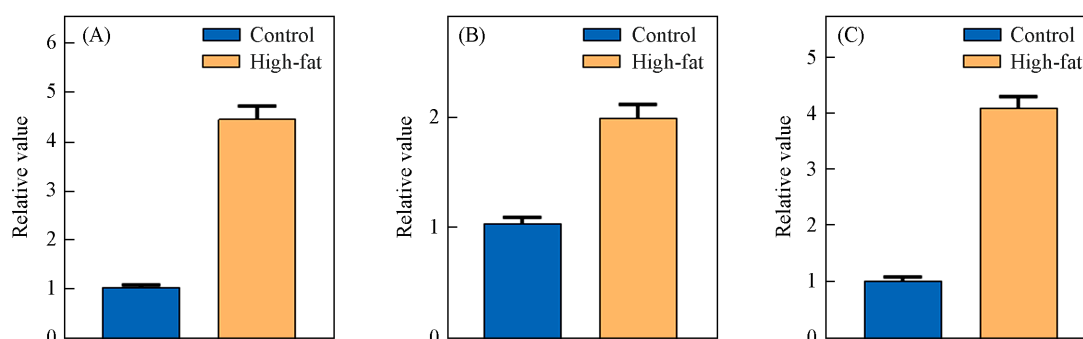


Fig. 10 Lipid index examination in different groups

(A) TC; (B) TG; (C) LDL. The relative value represents the ratio of lipid levels in the high-fat mice and those in the conventionally fed mice.

2.10 小鼠血液中相关因子表达水平的分析

为了评估纳米药物在体内的治疗效果,对小鼠血清中的相关因子水平进行了检测.首先,通过检测试剂盒对血清中的TC, TG, HDL和LDL含量进行了测定.结果显示,与PBS组相比,经过HA-Ag₂S@LOV处理后的TC, TG和LDL表达水平下降, HDL表达水平升高(图11),这可能是纳米药物

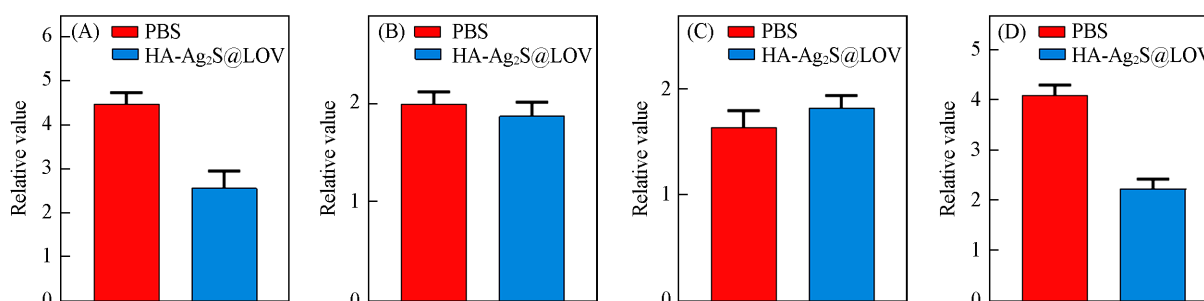


Fig. 11 Examination of TC(A), TG(B), HDL(C) and LDL(D) in the blood of mice after different treatments

The relative value represents the ratio of the blood lipid levels of the high-fat fed mice and the conventionally fed mice after different treatments.

中洛伐他汀的降脂作用所致。而后，通过ELISA试剂盒对血液中的炎症因子水平进行了检测。结果表明，经过纳米药物治疗后，血液中白细胞介素-6(IL-6)和肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的表达水平下降(图12)。以上结果表明，纳米药物可有效降低动脉粥样硬化中血脂水平和炎症因子表达水平，同时，具有降脂和抗炎作用。

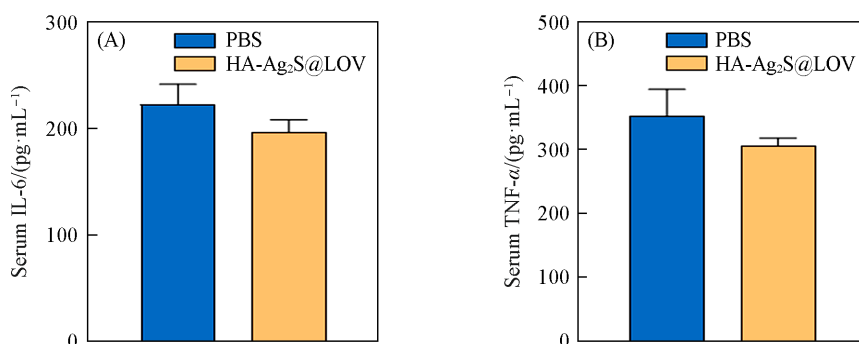


Fig. 12 Examination of IL-6(A) and TNF- α (B) in the blood of mice after different treatments

2.11 体内生物安全性

纳米材料的生物安全性是其能否在生物体内应用的关键因素。为了评估HA-Ag₂S@LOV在体内的安全性，对不同组小鼠的主要脏器(心、肝、脾、肺和肾)进行了组织病理学检查。对照组与治疗组的小鼠主要器官中均未发现明显的组织学毒性(图13)。此外，小鼠的血常规检查结果显示，血液中的白细胞、红细胞、血小板和血红蛋白的水平均在正常范围(图14)。以上结果证明，纳米药物HA-Ag₂S@LOV具有较高的生物安全性。

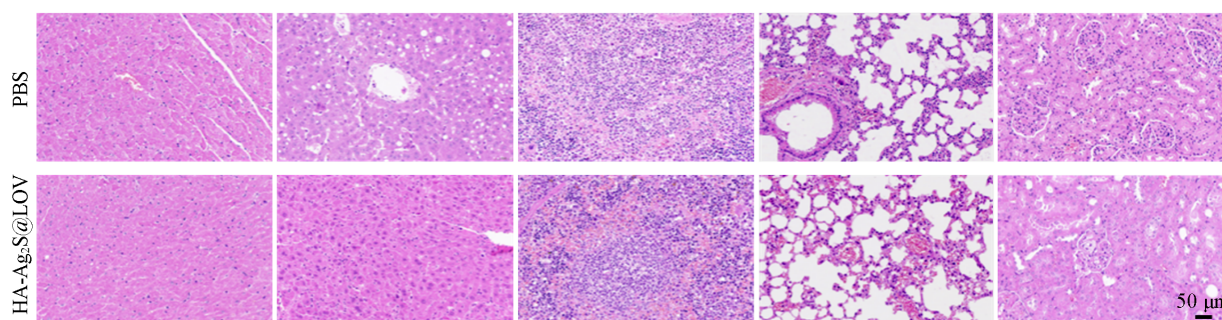


Fig. 13 H & E stained images of major organs

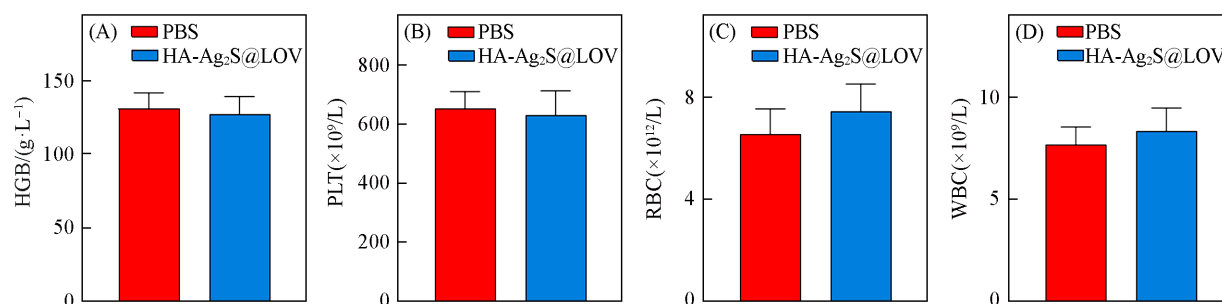


Fig. 14 Routine blood tests in different groups of mice

3 结论

设计并构建了一种具有良好生物相容性的HA-Ag₂S@LOV纳米药物递送系统，可用于动脉粥样硬化的PTT/药物协同治疗。在动脉粥样硬化的治疗中，其骨架HA可靶向到达病灶部位，被透明质酸酶水解，释放出Ag₂S量子点和洛伐他汀。制备的HA-Ag₂S@LOV纳米药物具有均一的形貌和良好的光热

性能. 细胞实验结果表明, HA-Ag₂S@LOV 纳米药物递送系统具有优异的 PTT 作用, 可诱导细胞凋亡. 体外和体内实验证明, 该纳米药物可抑制细胞泡沫化, 降低血液中的血脂水平和炎症因子水平, 同时发挥抗炎和降脂的作用, 为实现动脉粥样硬化的多样治疗提供了参考.

参 考 文 献

- [1] Peters L. J., Jans A., Bartneck M., van der Vorst E. P. C., *J. Clin. Med.*, **2021**, *10*(14), 3185
- [2] Wu G., Yu G., Zheng M., Peng W., Li L., *Int. J. Nanomed.*, **2023**, *18*, 3851—3878
- [3] Zhao R., Ning X., Wang M., Wang H., Xing G., Wang L., Lu C., Yu A., Wang Y., *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2022**, *14*(22), 25080—25092
- [4] Di Fusco S. A., Maggioni A. P., Scicchitano P., Zuin M., D'Elia E., Colivicchi F., *J. Clin. Med.*, **2023**, *12*(7), 2529
- [5] Fracassi A., Cao J., Yoshizawa-Sugata N., Tóth É., Archer C., Gröninger O., Ricciotti E., Tang S. Y., Handschin S., Bourgeois J. P., Ray A., Liosi K., Oriana S., Stark W., Masai H., Zhou R., Yamakoshi Y., *Chem. Sci.*, **2020**, *11*(44), 11998—12008
- [6] Gimbrone M. A., García-Cardeña G., *Circ. Res.*, **2016**, *118*(4), 620—636
- [7] Belcastro E., Rehman A. U., Remila L., Park S. H., Gong D. S., Anton N., Auger C., Lefebvre O., Goetz J. G., Collot M., Klymchenko A. S., Vandamme T. F., Schini-Kerth V. B., *Nanomedicine: NBM*, **2021**, *34*, 102379
- [8] Zhong Y., Qin X., Wang Y., Qu K., Luo L., Zhang K., Liu B., Obaid E. A. M. S., Wu W., Wang G., *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2021**, *13*(29), 33862—33873
- [9] Li J., Wang K., Pan W., Li N., Tang B., *Anal. Chem.*, **2022**, *94*(36), 12263—12273
- [10] Moore K. J., Sheedy F. J., Fisher E. A., *Nat. Rev. Immunol.*, **2013**, *13*, 709—721
- [11] Pham L. M., Kim E. C., Ou W., Phung C. D., Nguyen T. T., Pham T. T., Poudel K., Gautam M., Nguyen H. T., Jeong J. H., Yong C. S., Park S. Y., Kim J. R., Kim J. O., *Biomaterials*, **2021**, *269*, 120677
- [12] Gao W., Sun Y., Cai M., Zhao Y., Cao W., Liu Z., Cui G., Tang B., *Nat. Commun.*, **2018**, *9*(1), 231
- [13] Tian J., Dauerman H., Toma C., Samady H., Itoh T., Kuramitsu S., Domei T., Jia H., Vergallo R., Soeda T., Hu S., Minami Y., Lee H., Yu B., Jang I. K., *J. Am. Coll. Cardiol.*, **2014**, *64*(7), 672—680
- [14] Groner J., Goepferich A., Breunig M., *J. Control. Release*, **2021**, *333*, 536—559
- [15] du Toit L. C., Demana P. H., Choonara Y. E., *Int. J. Pharm.*, **2022**, *628*, 122258
- [16] Chan C. K. W., Zhang L., Cheng C. K., Yang H., Huang Y., Tian X. Y., Choi C. H. J., *Small*, **2018**, *14*(4), 1702793
- [17] Chen J., Zhang X., Millican R., Sherwood J., Martin S., Jo H., Yoon Y. S., Brott B. C., Jun H. W., *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **2021**, *170*, 142—199
- [18] Hu R., Dai C., Dong C., Ding L., Huang H., Chen Y., Zhang B., *ACS Nano*, **2022**, *16*(10), 15959—15976
- [19] Shu Y., Ma M., Pan X., Shafiq M., Yu H., Chen H., *Bioact. Mater.*, **2023**, *21*, 129—141
- [20] Li W., Gonzalez K. M., Chung J., Kim M., Lu J., *Biomater. Sci.*, **2022**, *10*(19), 5459—5471
- [21] Yamada Y., Sato Y., Nakamura T., Harashima H., *J. Control. Release*, **2020**, *327*, 533—545
- [22] Dai T., He W., Yao C., Ma X., Ren W., Mai Y., Wu A., *Biomater. Sci.*, **2020**, *8*(14), 3784—3799
- [23] Cao Z., Yuan G., Zeng L., Bai L., Liu X., Wu M., Sun R., Chen Z., Jiang Y., Gao Q., Chen Y., Zhang Y., Pan Y., Wang J., *ACS Nano*, **2022**, *16*(7), 10608—10622
- [24] He M., Cheng Z., Wang Z., Li M., Liang H., Liu H., Yu L., Zhao L., Yu F., *Adv. Healthc. Mater.*, **2023**, *12*(25), 2300752
- [25] Ding C., Huang Y., Shen Z., Chen X., *Adv. Mater.*, **2021**, *33*(32), 2007768
- [26] Wang X., Wu X., Qin J., Ye K., Lai F., Li B., He G., Lu X., Brett D. J. L., Parkin I. P., *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2019**, *11*(44), 41009—41018
- [27] Sun W., Du Y., Liang X., Yu C., Fang J., Lu W., Guo X., Tian J., Jin Y., Zheng J., *Biomaterials*, **2019**, *217*, 119264
- [28] He J., Zhang W., Zhou X., Xu F., Zou J., Zhang Q., Zhao Y., He H., Yang H., Liu J., *Bioact. Mater.*, **2023**, *19*, 115—126
- [29] Mu D., Li J., Qi Y., Sun X., Liu Y., Shen S., Li Y., Xu B., Zhang B., *J. Nanobiotechnology*, **2020**, *18*(1), 179
- [30] Nasr S. H., Rashidjahanabad Z., Ramadan S., Kauffman N., Parameswaran N., Zinn K. R., Qian C., Arora R., Agnew D., Huang X., *Nanoscale*, **2020**, *12*(17), 9541—9556
- [31] Weber C., von Hundelshausen P., *Circ. Res.*, **2017**, *121*(10), 1119—1121
- [32] Bu T., Li Z., Hou Y., Sun W., Zhang R., Zhao L., Wei M., Yang G., Yuan L., *Theranostics*, **2021**, *11*(20), 9988—10000
- [33] Liu S., Zhao Y., Shen M., Hao Y., Wu X., Yao Y., Li Y., Yang Q., *J. Mater. Chem. B*, **2022**, *10*(4), 562—570

(Ed.: X, N, K)