

# 高熵合金纳米颗粒增强微波热动力疗法用于杀伤口腔鳞癌 Cal-27 细胞的初步研究

周弋文<sup>1,2</sup>, 李若珍<sup>1</sup>, 陈曾贞<sup>3</sup>, 孟宪伟<sup>3</sup>, 温宁<sup>1</sup>

<sup>1</sup>解放军总医院第一医学中心口腔科, 北京 100853; <sup>2</sup>解放军医学院, 北京 100853; <sup>3</sup>中国科学院理化技术研究所低温重点实验室, 纳米材料可控制备与应用实验室, 北京 100190

**摘要:**背景 口腔鳞状细胞癌(oral squamous cell carcinoma, OSCC)的传统疗法存在局限性。微波(microwave, MW)疗法虽具备微创优势, 却受限于热场分布不均、靶向性差及温控精度不足等技术瓶颈。目的 研究高熵合金纳米颗粒(high entropy alloy nanoparticles, HEA NPs)作为新型微波增敏材料的应用价值, 通过其独特的微波增敏特性, 提升微波热动力疗法的治疗效果, 实现对 OSCC 的精准杀伤。方法 采用多种表征手段对合成 HEA NPs 进行理化性质分析, 包括粒径分布及表面电荷测定; 通过微波响应性能测试评估材料的微波增敏效果及类过氧化物酶(peroxidase, POD)催化活性; 采用小鼠成纤维细胞(NCTC clone 929, L929)模型进行生物安全性评价, 以人舌鳞癌细胞(centre antoine lacassagne, Cal-27)为研究对象开展微波治疗实验; 结合细胞活性检测、活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平测定及钙离子(calcium ion, Ca<sup>2+</sup>)浓度分析等多维度实验, 系统评估材料对微波抗肿瘤效应的增强作用。结果 性能表征数据显示, HEA NPs 的平均粒径为 69.5 nm, 表面电动(Zeta)电位为 -13 mV, 具备类 POD 活性, 具有良好的微波增敏效果( $P < 0.01$ ); 细胞实验证实该材料在保持良好生物相容性的同时, 可显著增强微波治疗的抗肿瘤效果( $P < 0.01$ )。结论 HEA NPs 作为新型微波增敏材料, 为优化口腔鳞状细胞癌的微波治疗策略提供了新的研究方向。

**关键词:**高熵合金纳米颗粒; 微波增敏材料; 微波热疗; 微波动力疗法; 口腔鳞状细胞癌; Cal-27 细胞

中图分类号: R584.2

文献标志码: A

文章编号: 2095-5227(2025)06-0590-07

DOI: 10.12435/j.issn.2095-5227.25030801

引用本文: 周弋文, 李若珍, 陈曾贞, 等. 高熵合金纳米颗粒增强微波热动力疗法用于杀伤口腔鳞癌 Cal-27 细胞的初步研究 [J]. 解放军医学院学报, 2025, 46 (6): 590-596.

## Preliminary study of high-entropy alloy nanoparticles enhanced microwave thermal-dynamic therapy for killing oral squamous cell carcinoma Cal-27 cells

ZHOU Yiwen<sup>1,2</sup>, LI Ruozhen<sup>1</sup>, CHEN Zengzhen<sup>3</sup>, MENG Xianwei<sup>3</sup>, WEN Ning<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Stomatology, the First Medical Center of PLA General Hospital, Beijing 100853, China; <sup>2</sup>Chinese PLA Medical School, Beijing 100853, China; <sup>3</sup>Laboratory of Controllable Preparation and Application of Nanomaterials, Key Laboratory of Cryogenics, Technical Institute of Physics and Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China

Corresponding author: WEN Ning. Email: wenningchn@163.com

**Abstract: Background** Conventional treatments for oral squamous cell carcinoma (OSCC) present certain limitations. While microwave (MW) therapy provides the benefit of being minimally invasive, its clinical application is hindered by technical challenges, including non-uniform heat distribution, low targeting accuracy, and inadequate temperature control precision. **Objective** To investigate the application value of high-entropy alloy nanoparticles (HEA NPs) as novel microwave sensitizing materials, and leverage their unique microwave sensitizing properties to enhance the efficacy of microwave thermodynamic therapy for achieving precise ablation of OSCC. **Methods** Multiple characterization techniques were employed to analyze the physicochemical properties of synthesized HEA NPs, including particle size distribution and surface charge determination. Microwave response performance testing was conducted to evaluate the microwave sensitizing effects and peroxidase-like (POD-like) catalytic activity of the materials. Biological safety assessments were performed using a mouse fibroblast cell model (NCTC clone 929, L929), while microwave therapy experiments were carried out with human tongue squamous cell carcinoma cells (Centre Antoine Lacassagne, Cal-27). A systematic evaluation of the material's enhancement of microwave anti-tumor effects was conducted through multidimensional experiments, including cell viability assays, reactive oxygen species (ROS) level measurements, and calcium ion (Ca<sup>2+</sup>) concentration analysis. **Results** Performance characterization data revealed that HEA NPs had an average particle size of 69.5 nm and a surface zeta potential of -13 mV. They exhibited POD-like activity and demonstrated a pronounced

收稿日期: 2025-03-08

基金项目: 国家自然科学基金项目(52072023); 北京自然科学基金项目(424412); 中国科学基金博士后奖学金计划(GZC20232772)

第一作者: 周弋文, 在读硕士, 医师。Email: zhouyiwenkqk@163.com

通信作者: 温宁, 博士, 主任医师, 教授。Email: wenningchn@163.com

microwave sensitization effect ( $P < 0.01$ ). Cell experiments confirmed that this material could significantly enhance the anti-tumor efficacy of microwave therapy while maintaining good biocompatibility. ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** This research indicates that HEA NPs, acting as a novel microwave sensitizer, offers a new avenue for research aimed at optimizing microwave therapy strategies for oral squamous cell carcinoma.

**Keywords:** high entropy alloy nanoparticles; microwave sensitizing material; microwave thermal therapy; microwave dynamic therapy; oral squamous cell carcinoma; Cal-27 cells

**Cited as:** Zhou YW, Li RZH, Chen ZZH, et al. Preliminary study of high-entropy alloy nanoparticles enhanced microwave thermal-dynamic therapy for killing oral squamous cell carcinoma Cal-27 cells [J]. Acad J Chin PLA Med Sch, 2025, 46 (6): 590-596.

口腔鳞状细胞癌(oral squamous cell carcinoma, OSCC)作为头颈部恶性肿瘤中发病率最高的类型<sup>[1]</sup>, 其治疗面临诸多挑战。现行以手术切除为主的治疗方案虽可去除病灶, 但往往会造成患者面部组织缺损、口腔功能受损等, 且难以有效控制肿瘤复发<sup>[2]</sup>。此外, 放射治疗与化学药物治疗所引发的不良反应亦不容忽视<sup>[3-4]</sup>。基于上述临床困境, 探索兼具治疗效果与安全性的新型治疗策略已成为当前研究的迫切需求。

微波(microwave, MW)疗法因其微创性、低并发症发生率、良好的美容效果及热沉效应等特点<sup>[5]</sup>, 在维护口腔颌面部患者的面部外观及口腔生理功能上具有优势<sup>[6-7]</sup>。根据作用机制的不同, 该疗法可细分为基于热效应的微波热疗(microwave thermal therapy, MTT)和基于动力学机制的微波动力疗法(microwave dynamic therapy, MDT)<sup>[8]</sup>。然而, 其在应用上还存在热效应分布不均、靶向性不足以及温度调控精度欠佳等问题<sup>[9-10]</sup>。鉴于此, 开发具有良好生物相容性并能特异性增强肿瘤细胞微波敏感性的微波增敏材料成为当前研究的重点方向<sup>[11]</sup>。

作为一种新型纳米材料, HEA NPs展现出优异的低频微波吸收性能<sup>[12]</sup>, 同时兼具良好的生物相容性和化学稳定性<sup>[13-15]</sup>, 这些特性使其在微波增敏材料领域具有显著优势。同时研究表明, HEA NPs的催化特性能够有效利用肿瘤微环境中过表达的内源性过氧化氢(hydrogen peroxide,  $H_2O_2$ )<sup>[16-17]</sup>, 通过催化反应将其转化为具有更强细胞毒性的活性氧(reactive oxygen species, ROS), 特别是羟基自由基(hydroxyl radical,  $\cdot OH$ ), 从而显著提高肿瘤细胞的清除效率<sup>[18-19]</sup>。基于此, 本研究设计并制备了以钇(Y)、镧(La)、铈(Ce)、钕(Nd)、钙(Ca)为主要组成元素的HEA NPs复合材料, 检测其作为新型微波增敏材料的应用价值, 以期通过其独特的微波增敏效果, 增强微波热疗与微波动力疗法, 协同微波疗法对口腔鳞状细胞癌进行精准杀伤。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞来源

小鼠成纤维细胞(L929)和人舌鳞癌细胞(Cal-27)由中国科学院理化研究所细胞库提供。

### 1.2 主要试剂及仪器

高熵纳米颗粒(HEA NPs) (Y, La, Ce, Nd, Ca)在中国科学院物理化学研究所合成; 去离子水( $H_2O$ , 实验室自制)氯化钠(NaCl, 北京化工厂); 二水合磷酸二氢钠( $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ , 上海麦克林生化科技有限公司); 十二水合磷酸氢二钠( $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ , 上海麦克林生化科技有限公司); 二甲基亚砜(DMSO, 现代东方科技发展有限公司); TMB比色试剂盒(TMB, 上海麦克林生化科技有限公司); DCFH-DA检测试剂盒(DCFH-DA, 上海碧云天生物技术有限公司); 培养基(DMEM, 美国Gibco公司); 胎牛血清(FBS, 美国Amresco公司); 青霉素-链霉素溶液(双抗, 美国Hyclone公司); 胰蛋白酶(Try, 美国Hyclone公司); Fluo-8 am钙离子检测试剂盒(Fluo-8 am, 上海碧云天生物技术有限公司); 细胞活死染色试剂盒(Calcein-AM/PI, 上海碧云天生物技术有限公司); MTT细胞增殖检测试剂盒(MTT, 上海碧云天生物技术有限公司)。

电子分析天平(型号: ME104E); 超纯水仪(型号: IQ 7000); 高速台式离心机(型号: TGL16); 透射电子显微镜(型号: HT7700); 微波治疗仪(型号: WZY-1); 紫外可见近红外分光光谱仪(型号: Cary5000); 红外热成像仪(型号: U384A); 荧光光谱仪(型号: Cary Eclipse); 酶标仪(型号: Bio Tek Epoch 2); 倒置荧光显微镜(型号: Olympus X71); 高速台式离心机(型号: TGL16); 数控超声波清洗器(型号: KQ-500DA)。

### 1.3 HEA NPs材料形貌特征表征

采用透射电子显微镜及动态光散射粒度仪测量材料的尺寸和形貌; 采用动态光散射粒度仪测试材料的电位变化。

#### 1.4 体外微波升温实验

采用体外微波升温实验测试 HEA NPs 的微波升温增敏性能。分别称取 2 mg 和 5 mg 经真空干燥处理的实验组 HEA NPs 粉末, 各加入 1 mL 0.9% 氯化钠注射液进行超声分散处理, 同时设置等量 0.9% 氯化钠注射液作为空白对照。将制备的 HEA NPs 悬浊液置于底部覆膜的多孔微波板中, 于下方 0.9 W 微波源持续辐照 120 s。实验过程中, 采用红外热成像技术实时监测样品温度变化, 并基于采集数据绘制温度 - 时间关系曲线, 重点记录各组样品在实验过程中的峰值温度。

#### 1.5 体外检测活性氧的产生能力实验

采用 DCFH-DA 检测试剂盒测试 HEA NPs 协同微波催化  $H_2O_2$  产生 ROS 的能力。在 pH 7.4 的 PBS 中分别制备浓度为 0 mg/mL、0.5 mg/mL、1.0 mg/mL 和 1.5 mg/mL 的 HEA NPs 溶液, 随后向其中加入 DCFH-DA。将混合液置于底部为薄膜的微波孔板中, 下方放置 0.9 W 的微波源, 微波照射时间为 5 min。避光静置 2 h 后离心取上清液, 进行荧光光谱分析。

#### 1.6 体外检测羟基自由基的产生能力实验

采用 TMB 显色实验测试 HEA NPs 协同微波催化  $H_2O_2$  产生  $\cdot OH$  的能力。将 10 mg TMB 溶解在 1 mL DMSO 液体中制备成 TMB 检测溶液。取 25  $\mu L$  TMB、20  $\mu L$   $H_2O_2$  及 HEA NPs 分散在 pH 5.7 的磷酸盐缓冲盐水(PBS)溶液中, 制备成 2 mL 混合液, 只改变 HEA NPs 的量(0  $\mu g/mL$ 、10  $\mu g/mL$ 、20  $\mu g/mL$  和 50  $\mu g/mL$ ), 静置 15 min, 使用紫外可见分光光度计测其在 652 nm 处的吸收光谱。在相同条件下, 将 HEA NPs 的量固定在 50  $\mu g/mL$ , 分别使用 0.9 W 的微波源照射 0 min、3 min、6 min 后静置 15 min, 使用紫外可见近红外分光光谱仪测其吸收光谱。只改变加入  $H_2O_2$  的量(10  $\mu L$ 、15  $\mu L$  和 20  $\mu L$ ), HEA NPs 的量固定在 50  $\mu g/mL$ , 静置 15 min, 使用紫外可见近红外分光光谱仪测其吸收光谱。

#### 1.7 细胞毒性实验

采用 MTT 细胞毒性实验检测 HEA NPs 对 L929 细胞的毒性。将 L929 细胞以  $5 \times 10^3$ /孔的密度接种于 96 孔板中, 孵育 24 h。然后用不同浓度的 HEA NPs(0  $\mu g/mL$ 、12.5  $\mu g/mL$ 、25  $\mu g/mL$ 、50  $\mu g/mL$ 、100  $\mu g/mL$ 、200  $\mu g/mL$ ) 的培养基孵育 24 h。MTT 溶液加入后, 经过 4 h 培养, 移除上清液, 随后添加 150  $\mu L$  DMSO, 进行 30 min 离心处理, 收集上清液以测定细胞活性。

#### 1.8 细胞微波治疗实验

采用 MTT 细胞毒性实验检测 HEA NPs 协同微波对 Cal-27 细胞的杀伤能力。Cal-27 细胞以  $1 \times 10^3$ /孔的密度接种至 6 孔板内, 孵育 24 h。后将其随机分为 6 组: 对照组、MW 组、50  $\mu g/mL$  HEA NPs 组、100  $\mu g/mL$  HEA NPs 组、50  $\mu g/mL$  HEA NPs + MW 组、100  $\mu g/mL$  HEA NPs + MW 组。针对分组分别用纯培养基、含有 50  $\mu g/mL$  或 100  $\mu g/mL$  HEA NPs 的培养基孵育 6 h, 确保细胞完成内吞。其中含 MW 照射的组别, 将细胞在 1.8 W, 433 MHz 的微波源下照射 5 min。18 h 后, 将细胞接种到 96 孔板中, 加入 MTT 溶液, 将细胞再孵育 4 h, 吸出上清液, 加入 150  $\mu L$  的 DMSO, 离心 30 min, 取上清液评估细胞活力。

#### 1.9 细胞活/死染色实验

采用细胞活/死染色实验检测 HEA NPs 协同微波对 Cal-27 细胞的杀伤能力。Cal-27 细胞以  $1 \times 10^3$ /孔的密度接种至 6 孔板内, 孵育 24 h。后将其随机分为 4 组: 对照组、MW 组、50  $\mu g/mL$  HEA NPs 组、50  $\mu g/mL$  HEA NPs + MW 组。针对分组分别用纯培养基、含有 50  $\mu g/mL$  的培养基孵育 6 h, 确保细胞完成内吞。随后, 其中含 MW 照射的组别, 将细胞在 1.8 W 的微波源下照射 5 min。细胞经 2 h 孵育后, 采用 PBS 进行 3 次洗涤, 随后分别使用浓度为 10  $\mu mol/L$  的 CalceinAM 和 20  $\mu mol/L$  的 PI 进行染色处理, 通过倒置荧光显微镜观察, 可检测到细胞活力状态, 具有活性的细胞呈现绿色荧光, 而失去活性的细胞则显示红色荧光特征。

#### 1.10 细胞内活性氧水平的检测

采用 DCFH-DA 检测试剂盒测试 HEA NPs 协同微波催化细胞内源性  $H_2O_2$  产生 ROS 的能力。Cal-27 细胞以  $1 \times 10^3$ /孔的密度接种至 6 孔板内, 孵育 24 h。后将其随机分为 4 组: 对照组、MW 组、50  $\mu g/mL$  HEA NPs 组、50  $\mu g/mL$  HEA NPs + MW 组。针对分组分别用纯培养基、含有 50  $\mu g/mL$  HEA NPs 的培养基孵育 6 h, 确保细胞完成内吞。将 DCFH-DA 荧光探针加入各个孔内, 孵育 20 min 后, PBS 清洗细胞 3 次以清除多余的试剂。随后, 将其中含 MW 照射的组别细胞置于 1.8 W 的微波源下照射 5 min。使用倒置荧光显微镜下观察产生的绿色荧光。ROS 含量越多, 绿色荧光越强。

#### 1.11 细胞内 $Ca^{2+}$ 水平的检测

采用 Fluo-8 am 钙离子检测试剂盒测试在微波和 HEA NPs 刺激下细胞内的  $Ca^{2+}$  水平。Cal-27 细胞

以 $1 \times 10^3$ /孔的密度接种至6孔板内, 孵育24 h。后将其随机分为4组: 对照组、MW组、50  $\mu\text{g/mL}$  HEA NPs组、50  $\mu\text{g/mL}$  HEA NPs + MW组。针对分组分别用纯培养基、含有50  $\mu\text{g/mL}$ 的培养基孵育6 h, 确保细胞完成内吞。将Fluo-8加入各个孔内, 孵育30 min后, PBS清洗细胞3次以清除多余的试剂。随后, 将其中含MW照射的组别, 将细胞在1.8 W的微波源下照射5 min。使用倒置荧光显微镜下观察产生的绿色荧光。 $\text{Ca}^{2+}$ 含量越多, 绿色荧光越强。

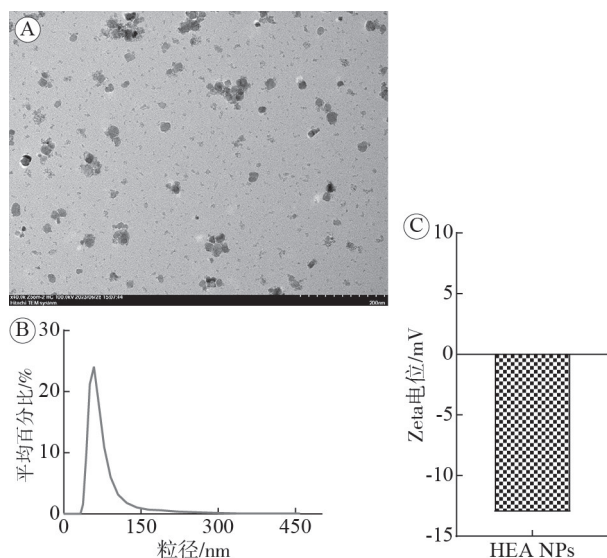
### 1.12 统计学分析

采用SPSS 26.0软件进行数据处理, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。单因素方差分析(One-way ANOVA)进行组间差异比较, 并采用LSD进行多重比较,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 合成的HEA NPs符合纳米材料的尺寸, 在溶液体系中稳定

透射电子显微镜结果显示(图1A), HEA NPs具有纳米级结构, 通过动态光散射粒度仪测得平均水合粒径(图1B), HEA NPs的尺寸约为69.5 nm, 具备纳米材料所符合的尺度, 即1~100 nm。HEA NPs的Zeta电位为-13 mV, 表明其趋向于分散排列, 溶液体系较为稳定(图1C)。上述研究呈现出HEA NPs的形态特点, 进而推动了后续针对其微波特性展开的研究。



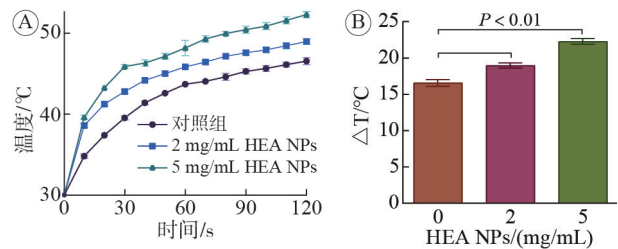
A: HEA NPs在透射电子显微镜下的图片(40 000 $\times$ ); B: HEA NPs的水合粒径分析图; C: HEA NPs的电势电位。

图1 HEA NPs材料理化性质表征

Fig. 1 Characterization of HEA NPs

### 2.2 HEA NPs具有微波增敏性能

在MW的持续照射下, 各组温度分别升高了16.9 $^{\circ}\text{C}$ 、19 $^{\circ}\text{C}$ 、22.3 $^{\circ}\text{C}$ , 证明HEA NPs对微波升温具有增敏性能, 表明HEA NPs是一个优秀的微波增敏材料。见图2。



A: HEA NPs的微波升温曲线; B: HEA NPs的温差测量图。

图2 HEA NPs微波升温增敏性能的评估

Fig. 2 The assessment of microwave thermal sensitization

### 2.3 HEA NPs具有类过氧化氢酶活性, 且可以增强微波动力效应

采用DCFH-DA作为ROS的指示剂, 观察曲线中的520 nm处吸收峰。图3A、图3B显示不含HEA NPs的组别无论是否有微波照射, 520 nm处均未见到明显的吸收峰, 表明几乎没有ROS产生。而随着溶液中的材料浓度升高, ROS的吸收峰逐渐增高, 表明其具有浓度依赖性。在加入微波的刺激下, MW的各组峰值显著提升, 表明微波照射下, HEA NPs的催化能力更强, 从而更高效地增强ROS的产生。

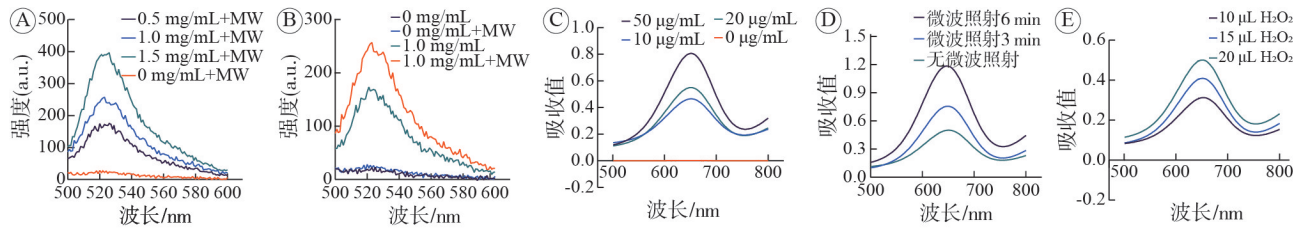
采用TMB作为 $\cdot\text{OH}$ 的指示剂, 观察曲线中的652 nm处吸收峰。图3C~图3E显示随着HEA NPs的浓度升高, 曲线中652 nm处的吸收峰逐渐升高, 表明其能力具有浓度依赖性。在加入微波的刺激下, 随着微波时长的增加,  $\cdot\text{OH}$ 的吸收峰逐渐升高, 表明微波可增强材料的催化能力; 而随着 $\text{H}_2\text{O}_2$ 的量逐渐增加, 吸收峰逐渐升高, 证明产生的 $\cdot\text{OH}$ 受 $\text{H}_2\text{O}_2$ 浓度的影响。实验数据显示, HEA NPs呈现出类似POD的特质, 且微波辐射可显著提升其效能。

### 2.4 HEA NPs具有较好的生物相容性

采用MTT比色法, 以L929细胞为模型进行生物相容性评估。即使HEA NPs浓度高达200  $\mu\text{g/mL}$ , 细胞活力与对照组比较亦无统计学差异, 表明HEA NPs具有较好的生物相容性。见图4。

### 2.5 HEA NPs可以增强微波对Cal-27细胞活性的抑制效果

通过MTT比色法检测, 使用Cal-27细胞评估



A和B: 使用DCFH-DA试剂盒检测ROS的生成, 在520 nm处观察吸收峰; C~E: 使用TMB比色试剂盒检测·OH的生成, 在652 nm处观察吸收峰。

图3 HEA NPs微波动力增敏性能的评估

Fig. 3 Assessment of microwave dynamic sensitization

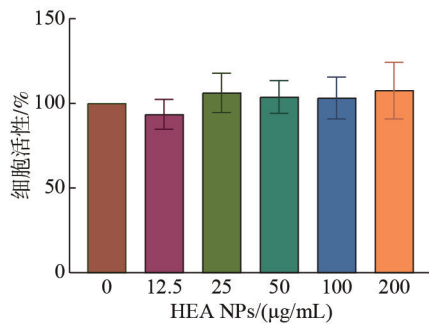


图4 HEA NPs细胞毒性实验结果( $P>0.05$ )

Fig. 4 Experimental results of cytotoxicity of HEA NPs ( $P>0.05$ )

HEA NPs的体外微波治疗效果。随着材料浓度升高, 细胞活力逐渐下降。然而单一材料或单纯MW照射, 对Cal-27细胞的杀伤效果不强。相比之下, HEA NPs联合微波治疗时, Cal-27细胞活力可下降至60%以下, 显著优于单纯材料组及单纯MW组, 表明HEA NPs能够增强微波对Cal-27细胞活性的抑制效果。见图5。

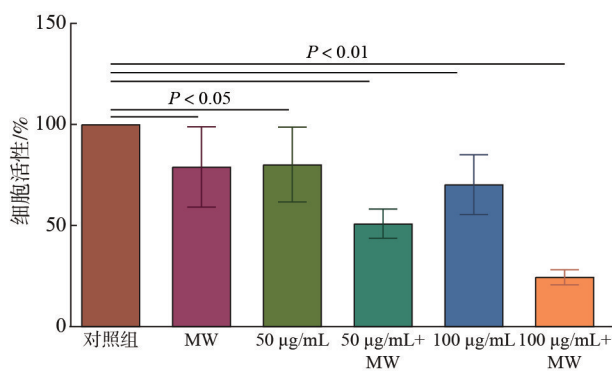


图5 HEA NPs细胞微波治疗实验结果

Fig. 5 Experimental results of microwave treatment of HEA NPs cells

## 2.6 细胞活/死染色实验结果

使用Calcein-AM/PI对处理后的细胞进行染色。单一材料组或单纯MW组中可见少量红色荧光出现, 而HEA NPs (50 μg/mL) + MW组红色荧光亮度显著高于其他组, 证明有更多的死细胞产生, 这

与2.5节的实验结果保持一致。见图6。

## 2.7 细胞内ROS水平检测结果

使用DCFH-DA检测试剂盒评估Cal-27细胞内ROS产生水平。对照组和MW组几乎没有绿色荧光。加入HEA NPs时, 绿色荧光强度有一定增加, 表明材料的加入催化了Cal-27细胞内部的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>转化为ROS, 从而改善肿瘤微环境。值得关注的是, 在微波辐射条件下, 经HEA NPs处理的Cal-27细胞显示出更显著绿色荧光信号, 说明在微波刺激下, 有更多的ROS产生。见图7。

## 2.8 细胞内Ca<sup>2+</sup>水平检测结果

钙离子在细胞信号传导中扮演着重要的角色, 细胞内Ca<sup>2+</sup>浓度的异常升高会导致细胞功能紊乱, 甚至诱导细胞凋亡。使用Fluo-8 am检测试剂盒评估Cal-27细胞内Ca<sup>2+</sup>水平的变化。HEA NPs组相对于对照组、MW组有一定绿色荧光出现。在微波和HEA NPs的联合刺激下, 细胞内的绿色荧光强度进一步增强, 证明细胞内产生了更多的Ca<sup>2+</sup>。见图8。

## 3 讨论

当前, 纳米材料介导的微波疗法作为一种新兴的肿瘤治疗手段, 已在多种实体肿瘤中展现出潜在的应用前景<sup>[20]</sup>, 但在口腔鳞状细胞癌治疗中的应用研究仍处于初步探索阶段, 特别是在新型微波增敏材料的开发与应用方面存在明显研究空白。因此, 本研究基于高熵合金在生物医学领域已证实的优异特性, 包括其卓越的生物安全性、良好的生物相容性以及广谱抗菌效果等<sup>[21]</sup>, 突破性地开发了基于高熵合金的纳米颗粒(HEA NPs)。通过充分利用该材料独特的微波吸收性能和良好的生物相容性, 首次将其作为微波增敏材料应用于OSCC的治疗方案中, 为纳米材料介导的微波疗法在肿瘤治疗领域的应用提供了新的研究思路。

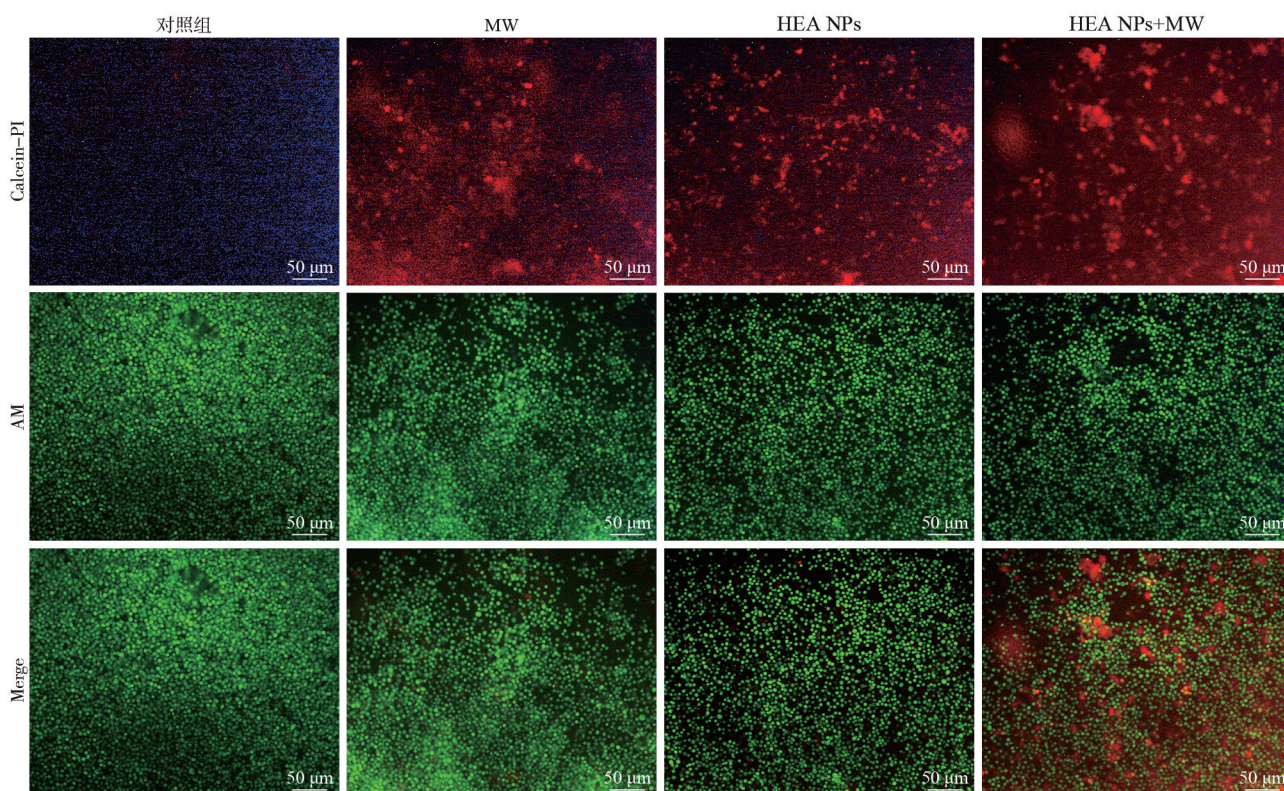


图 6 不同处理方式下的细胞活/死染色结果(荧光显微镜照片, 100 ×)

Fig. 6 Results of Calcein-AM/PI staining on cells under different treatments (100 ×)

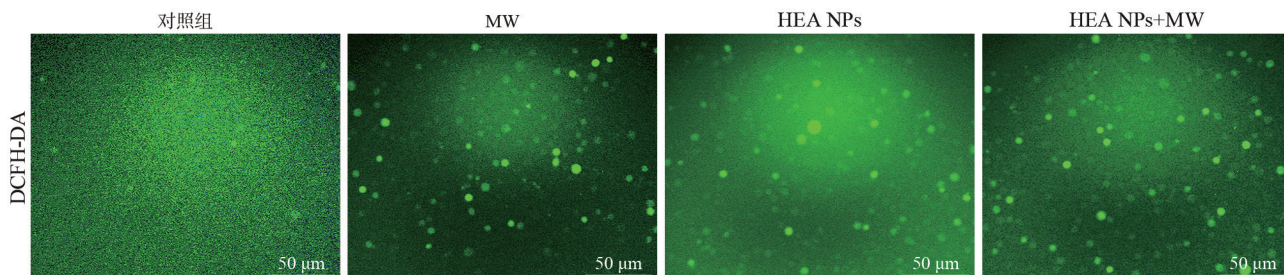


图 7 不同处理方式下细胞内 ROS 的产生结果(荧光显微镜图片, 200 ×)

Fig. 7 Results of intracellular ROS production under different treatments (200 ×)

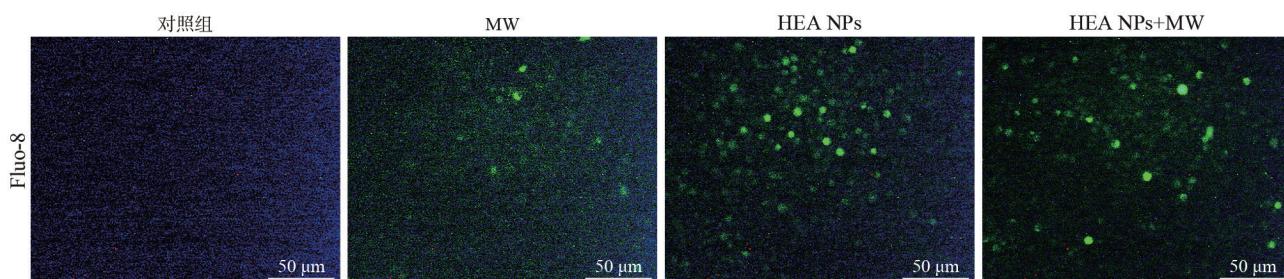


图 8 不同处理方式下细胞内 Ca<sup>2+</sup>水平的结果(荧光显微镜图片, 200 ×)

Fig. 8 Results of intracellular Ca<sup>2+</sup> levels under different treatments (200 ×)

传统微波热疗技术存在热扩散范围受限、热量调控困难、难以彻底清除肿瘤组织等问题。为克服这些问题,本研究借助自主合成的HEA NPs,旨在构建一种更高效、更安全的微波热动力疗法。研究充分利用了HEA NPs卓越的微波升温增敏特

性,该特性使得HEA NPs在微波照射下能够在单位时间内迅速提升肿瘤组织温度,从而显著增强肿瘤组织的热消融效果,有效扩大了热疗范围,提升了治疗深度和彻底性。另外,考虑到HEA NPs本身具有独特的类POD活性,研究深入挖掘

了其在肿瘤微环境调控中的潜在价值。由于 Warburg 效应的存在,恶性肿瘤细胞的糖酵解代谢活性显著高于正常组织细胞,导致其胞内  $H_2O_2$  浓度较正常细胞高出 5~8 倍<sup>[18]</sup>。通过肿瘤细胞内吞作用,HEA NPs 能够进入细胞内部,并催化肿瘤细胞内源性  $H_2O_2$  转化为毒性更强的 ROS,产生氧化应激反应<sup>[18,22]</sup>,引发肿瘤细胞内脂质过氧化、DNA 链断裂及线粒体膜电位崩溃等多重损伤,通过激活 p53 依赖的凋亡通路或 PARP-1 介导的坏死性凋亡途径,最终诱导肿瘤细胞发生程序性死亡。更重要的是,微波照射能够显著增强 HEA NPs 的催化活性,进一步提升 ROS 的生成效率,从而赋予其强大的微波动力学治疗效果,通过改变肿瘤微环境,实现对肿瘤细胞的精准杀伤。本研究还高度关注 HEA NPs 的生物安全性,实验数据在细胞层面上初步证实了 HEA NPs 具有良好的生物相容性和低毒性,为后续安全将其应用于体内微波热动力疗法的实验奠定了坚实的基础,极大地增强了临床转化的潜力。

本研究初步探索了 HEA NPs 介导的微波热动力疗法在肿瘤治疗领域的潜在应用价值,但不可否认的是,当前的研究成果仍存在诸多亟待完善之处,为未来的研究方向指明了道路。首先,就 HEA NPs 介导的微波热动力疗法而言,其诱导口腔鳞状细胞癌 Cal-27 细胞凋亡的具体分子机制,如信号通路的激活、关键蛋白的表达变化、细胞周期调控的扰动以及 DNA 损伤修复的抑制等,尚未完全阐明,仅停留在现象观察层面。这需要整合细胞生物学、分子生物学、材料科学、纳米医学以及生物信息学等多学科交叉知识体系,从基因、蛋白、代谢等多个维度进行系统性探究,利用 Western blot、流式细胞术、免疫荧光、RNA 测序、蛋白质组学分析等技术手段,深入挖掘其内在的分子作用机制,从而为未来进行临床转化提供更为精确和全面的理论依据与指导。其次,本研究的局限性在于实验设计主要停留在体外细胞培养层面,缺乏对 HEA NPs 在复杂生理环境下的抗肿瘤效能及生物相容性的直接验证,无法全面评估其在真实生物系统中的行为。后续研究应积极考虑建立 Cal-27 细胞荷瘤裸鼠模型或其他合适的肿瘤动物模型,通过尾静脉注射或其他给药方式将 HEA NPs 递送至肿瘤部位,并动态监测肿瘤生长情况、生存周期以及各组织器官的病理学变

化,深入评估该材料在体内的抗肿瘤活性、生物分布、代谢途径以及潜在的不良反应,如血液学指标、肝肾功能、免疫反应等。最后,为了进一步提升 HEA NPs 的临床应用前景,未来的研究焦点可着眼于对其表面的功能化修饰,通过在 HEA NPs 表面化学键或物理吸附配体(如叶酸、RGD 肽)、单克隆抗体(如 EGFR 抗体、Her2 抗体)或小分子多肽等特异性分子,以增强其在肿瘤区域的累积效应,主动靶向肿瘤细胞表面的特定受体,提高其对肿瘤细胞的选择性识别能力,进而显著增强其靶向性,实现对肿瘤组织的精准打击,并提升治疗过程中对周围正常健康组织的保护效果,减少脱靶效应引起的不良反应,从而提高患者的生活质量。同时,还应考虑 HEA NPs 的制备工艺优化,提高其粒径均一性、分散性、稳定性,降低生产成本,为大规模生产和临床应用奠定基础。

本研究系统考察了 HEA NPs 增强微波动力学在肿瘤治疗中的潜在应用价值。实验数据证实,HEA NPs 具有优异的微波吸收性能,可作为微波动力疗法的理想增敏剂。此外,该纳米材料展现出的类 POD 活性能够有效促进肿瘤微环境中的  $H_2O_2$  转化为具有更强细胞毒性的 ROS,而微波照射则显著放大了这一催化效应。由于正常细胞内的  $H_2O_2$  浓度处于生理性低水平,HEA NPs 对正常细胞表现出良好的生物相容性。这些研究结果不仅证实了 HEA NPs 联合微波疗法在肿瘤治疗中的独特优势,更为开发新型肿瘤治疗策略提供了重要的实验依据。

**作者贡献** 周弋文:实验设计与实施,统计分析,论文撰写;李若珍:实验设计与指导;陈曾贞:实验设计与指导,实验实施;孟宪伟:实验设计与指导,审读和修订;温宁:实验设计与指导,审读和修订,获取研究经费。

**利益冲突** 所有作者声明无利益冲突。

**数据共享声明** 本论文相关数据可依据合理理由从作者处获取,Email:zhouyiwenkqk@163.com。

#### 参考文献

- 1 Chen QQ, Zhang M, Huang H, et al. Single atom-doped nanosensitizers for mutually optimized sono/chemodynamic therapy of triple negative breast cancer [J]. *Adv Sci*, 2023, 10 (6): 2206244.
- 2 Mohamad I, Glaun MDE, Prabhaskar K, et al. Current treatment strategies and risk stratification for oral carcinoma [J]. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*, 2023, 43: e389810.