



碳酸钙基微纳材料与肿瘤创新诊疗

高炬鑫, 冯良珠*

苏州大学功能纳米与软物质研究院, 江苏省碳基功能材料与器件高技术研究重点实验室, 苏州 215123

* 联系人, E-mail: lzfeng@suda.edu.cn

2025-02-21 收稿, 2025-04-28 修回, 2025-04-29 接受, 2025-04-30 网络版发表

国家自然科学基金(K121401523)资助

摘要 癌症是当前全球范围内人口死亡的主要原因之一, 已成为包括中国在内的世界各国面临的持续性公共卫生挑战. 在过去的几十年中, 肿瘤防治领域涌现出了一系列富有成效的诊断方法与治疗手段. 但是, 受肿瘤异质性等因素影响, 当前临床中常用的肿瘤诊治手段仍难以满足患者对于精准防治的迫切需求. 因此, 我们亟需发展更为先进的防治方法以进一步提升癌症患者的治疗效果与生活质量. 近年来, 随着生物材料和纳米生物学等交叉学科的不断发展, 一系列具有丰富理化性质与生物学功能的微纳材料被成功用于构建各类肿瘤靶向纳米影像探针与药物递释载体, 极大提升了肿瘤诊断的精准性以及肿瘤治疗的疗效和安全性. 碳酸钙作为自然界中大量存在的一类矿化材料, 具有易于合成、分子离子吸附效率高、微酸响应性分解与质子中和等特点, 在肿瘤微酸响应性纳米影像探针和药物递释载体构建等方面得到了广泛的关注与研究, 并表现出了较好的应用前景. 本综述将首先介绍碳酸钙基微纳材料可控合成方法, 进而介绍其在响应性纳米影像探针、药物靶向递释、微环境调控等肿瘤创新诊疗领域的研究现状. 最后, 本文就该领域所存在的不足与缺点进行讨论, 并对未来的发展方向进行展望.

关键词 碳酸钙, 微纳材料, 微酸响应性, 肿瘤治疗

根据国家癌症中心数据, 我国2022年各类癌症新增发病482.47万例, 新增死亡257.42万例, 现存癌症患者超过1300万例, 癌症已成为持续威胁我国居民健康的主要公共卫生问题之一^[1]. 然而, 临床现有影像技术在肿瘤早期精准诊断、分级分型、预后评估等方面还存在诸多不足, 常见的肿瘤治疗手段(如: 手术切除、化疗、放疗、免疫治疗)也存在着疗效有限、副作用较大等不足, 难以对诸多肿瘤患者进行安全有效的治疗^[2]. 因此, 我们迫切需要发展更为精准有效的肿瘤诊疗方法以进一步提升我国在癌症精准防治方面的能力. 研究表明, 实体肿瘤内存在着微酸、乏氧、高活性氧、免疫抑制等共性的微环境特征^[3], 会促进癌细胞转移、削弱癌细胞对不同治疗手段的响应性, 是导致诸多肿瘤治疗失败的主要原因之一^[4]. 鉴于此, 发展肿

瘤微环境响应性肿瘤创新诊治技术已成为实现肿瘤精准防治的重要途径.

近20年来, 随着生物材料与技术的快速发展, 一系列具有丰富理化性质与生物学功能的微纳材料与技术被运用到肿瘤等重大疾病的创新诊治技术研发中, 成为突破当前众多疾病临床精准诊治难题的有效路径之一^[5]. 例如, 鉴于纳米材料因其独特的尺寸效应而能在肿瘤、炎症等病灶部位有效富集这一特点^[6], 一系列具有造影功能的纳米探针被成功构建用于提高肿瘤等疾病检测的灵敏度; 在此基础上, 构建对外部刺激(如: 光、声、电、磁、热)和病灶部分特殊生理信号(如: 微酸、乏氧、氧化还原、酶)具有响应性的智能纳米探针可以进一步提升其检测灵敏度和准确性^[7]. 另外, 纳米材料独特的尺寸效应和高效的药物装载与控释能力

引用格式: 高炬鑫, 冯良珠. 碳酸钙基微纳材料与肿瘤创新诊疗. 科学通报, 2025, 70: 3874–3888

Gao J, Feng L. Calcium carbonate-based micro/nano-materials for innovative tumor theranostics (in Chinese). Chin Sci Bull, 2025, 70: 3874–3888, doi: 10.1360/TB-2025-0183

可以有效改善药物分子的体内药代动力学行为、病灶富集效率、细胞摄取效率以及控释行为等,被成功用于向肿瘤等病灶部位靶向递送包括小分子、多肽、蛋白、核酸等各类药物分子,显著提升各类药物疗效与安全性^[8]。同时,微米材料在肿瘤治疗过程中也具有独特的优势,如:精准栓塞协同化疗,Embosphere®等微米级栓塞材料可通过阻断肿瘤供血血管并联合化疗药,实现化疗-栓塞协同治疗,显著抑制肿瘤进展;长效药物缓释,得益于较大的体积和可控的降解特性,微米级载药微球(如Sandostatin LAR®)可将药物缓释周期延长至数周,大大提高患者依从性。此外,近期的研究成果显示众多具有独特理化性质的微纳材料可以通过对疾病微环境进行有效干预,在不引起额外副作用的前提下显著提升其对相关药物的响应性^[9]。鉴于此,发展兼具良好生物安全性与功能基元靶向递送与缓释能力的微纳材料将进一步推动肿瘤等重大疾病创新诊治技术的快速发展。

碳酸钙是自然界中大量存在的一类矿化材料,也是贝壳的外壳、无脊椎动物的骨骼系统等的重要的生命体结构成分^[10]。纳米碳酸钙因制备成本低、理化性能好等优势而被广泛用作塑料、橡胶等的填充剂。在生命健康领域,除了被用作食品添加剂,碳酸钙因其优异的生物安全性和独特的生物学性质而被广泛用作药用辅料、钙补充剂、微酸中和剂、高磷血症用药、骨修复材料等。最近,碳酸钙微纳颗粒因其质子中和能力和分子/离子控释能力也被广泛用于构建各类微酸响应性药物递释载体,通过中和肿瘤、感染、炎症等相关病灶部位的弱酸性微环境以进一步提升相关药物的疗效^[11]。近期已开展多项临床研究以探索碳酸钙在晚期实体瘤、肺炎等疾病治疗方面的应用前景(NCT03582280、NCT03057314、NCT02864784)。但是,碳酸钙在生理条件下容易通过溶解重结晶等方式发生团聚,进而削弱其相关生物学功能的发挥^[12]。因此,开发在生理条件下具有更好稳定性的碳酸钙基微纳材料对推进其临床应用转化具有积极意义。

近年来,随着纳米生物医学这一新兴交叉学科的快速的发展,研究人员发现碳酸钙微纳颗粒由于其生物相容性好、合成方法简单、分子吸附能力强、微酸响应性分解、质子中和能力等特性,在肿瘤诊疗中同样可以发挥重要作用^[13]。近年来,包括本课题组在内的国内外众多研究团队发展了一系列碳酸钙基微纳颗粒合成和表面修饰策略,在此基础上构建了多种肿瘤微酸

响应性纳米探针和药物递释载体,在动物水平上显著提高了不同功能基元在肿瘤部位的富集效果,实现了肿瘤微酸响应性精准诊断和高效治疗;同时发现碳酸钙微纳颗粒还可以通过中和肿瘤微酸环境来逆转肿瘤免疫抑制性,显著提高多种肿瘤对于免疫检查点阻断疗法、过继性免疫细胞疗法,以及相关免疫联合治疗的疗效。因此,本文将首先对碳酸钙基微纳材料的合成方法进行综述,之后介绍碳酸钙基微纳材料在肿瘤微酸响应性纳米探针和肿瘤创新治疗方面的研究进展,最后简单讨论该领域存在的不足和未来发展方向。

1 碳酸钙基微纳材料的可控合成

在自然界中,碳酸钙以方解石、文石、球霏石等三种晶体形式和无定形碳酸钙这一非晶体形式存在^[14]。相较于晶型碳酸钙,无定形碳酸钙常呈现为多孔球型结构,因而具有更为快速的酸响应性分解特性和更为高效的分子、离子吸附能力,是一种理想的药物载体材料^[15]。同时,碳酸钙微纳颗粒还可以与多种高分子材料复合,制备兼具高效药物装载与微酸响应性控释能力的有机-无机杂化微球。目前,纳米碳酸钙的制备方法包括物理研磨与化学合成两大类,其中碳化法是纳米碳酸钙工业生产中最为常用的方法。接下来,本文将介绍在生物医学研究领域常见的碳酸钙纳米颗粒的合成方法。

1.1 化学共沉淀法

化学共沉淀法是指在温和条件下向钙离子溶液中加入碳酸根离子来合成碳酸钙微纳米颗粒的方法,具有反应原理简单、易于操作等优点^[16]。但是,该方法制备的碳酸钙颗粒存在着尺寸与形貌欠均一、易团聚等缺点。进一步的研究发现可以通过调控反应过程中阴阳离子的浓度及投料比、反应温度、反应pH、反应时间以及反应添加剂等参数,对碳酸钙颗粒的尺寸、形貌、晶型等性质进行调控。例如,东华大学孙胜童教授的一项工作发现,在碳酸钙合成过程中引入聚丙烯酸可以防止无定形碳酸钙纳米颗粒成核结晶化,从而提高了纳米颗粒的生理稳定性和生物利用率^[17]。

1.2 微乳法

微乳法是通过分别制备碳酸盐和钙盐溶液的乳液并将二者混合,通过利用乳液的尺寸达到控制碳酸钙颗粒生长过程的一种合成方法^[18]。相对而言,该方法通

过更有效地控制钙离子和碳酸钙根离子的接触行为,更好地调控碳酸钙颗粒的尺寸、形貌和晶型等特性.在该方法的基础上,本课题组利用聚乳酸-羟基乙酸聚乙二醇共聚物(poly(lactic-co-glycolic acid)-polyethylene glycol, PLGA-PEG)作为表面活性剂,成功发展了一种碳酸钙辅助的双微乳法来制备有机-无机杂化的碳酸钙基纳米颗粒^[19].与传统微乳法制备的PLGA-PEG纳米颗粒相比,该方法制备的杂化纳米颗粒对于含羧基的小分子药物和蛋白分子具有更高效的装载效率,同时赋予相关药物分子微酸响应性释放能力^[20,21].

1.3 气相扩散法

气相扩散法通常是指在密闭环境中,碳酸铵或碳酸氢铵等分解产生的氨气与二氧化碳扩散到钙离子溶液中诱导碳酸钙颗粒形成的一种仿生合成方法.与上述化学共沉淀等方法相比,气相扩散法具有操作简单、反应过程可控且便于监测等优势,通过控制碳酸氢铵

等的分解速率等实验参数可以实现对颗粒的尺寸与形貌等理化性质的调控.2005年,韩国首尔大学Kim Kwan教授课题组报道了利用气相扩散法在乙醇中合成无定形碳酸钙纳米颗粒的方法^[22](图1(a)).在该方法的基础上,通过在氯化钙乙醇溶液中引入其他组分可以合成一系列碳酸钙基纳米复合物.例如,本课题组的一项研究发现,向氯化钙乙醇溶液中引入少量的多巴胺分子,多巴胺氧化聚合后与钙离子配位形成聚多巴胺-碳酸钙纳米复合物作为“核”来诱导碳酸钙在其表面沉积,由于溶液中碳酸根离子比聚多巴胺具有更强的钙离子螯合能力,聚多巴胺-碳酸钙纳米复合物中的钙离子将在颗粒表面吸附的碳酸根力作用下逐步向外扩散,从而获得了尺寸均一的中空型碳酸钙-聚多巴胺(CaCO_3 -PDA)纳米复合物^[23](图1(b)).

由于无定形碳酸钙纳米颗粒结构较为疏松且钙离子与多种有机基团(如:磷酸根、羧基、酚羟基)具有较强的配位能力,因而能够高效装载多种小分子药物;同

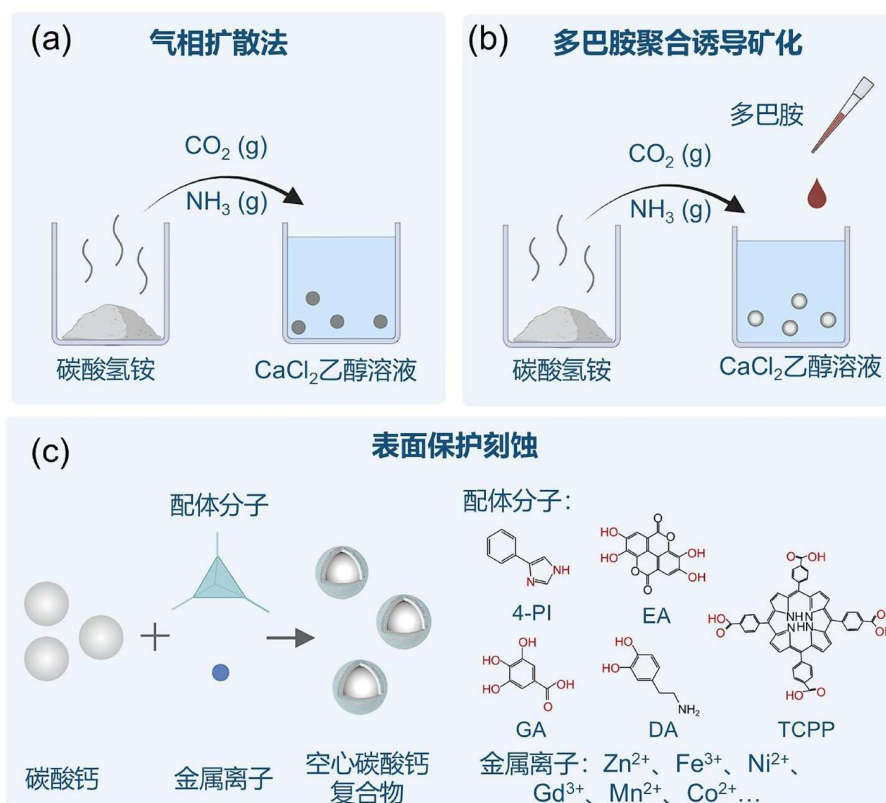


图1 碳酸钙纳米颗粒及多功能纳米复合物的制备方法示意图. (a) 经典气相扩散法合成无定形碳酸钙纳米颗粒的示意图. (b) 多巴胺聚合诱导矿化法合成中空型碳酸钙-聚多巴胺纳米颗粒的示意图. (c) 表面保护刻蚀法制备金属有机配合物修饰的空心碳酸钙纳米复合物的示意图

Figure 1 Scheme illustrating the synthesis of CaCO_3 nanoparticles and multifunctional CaCO_3 nanocomplexes. (a) Classical gas diffusion method for synthesizing amorphous CaCO_3 nanoparticles. (b) Dopamine polymerization-induced biomineralization synthesis of CaCO_3 -PDA hollow nanoparticles. (c) Surface-protected etching method for synthesizing multifunctional coordination polymer-coated hollow CaCO_3 nanocomplexes

时,利用碳酸根与部分金属离子之间较强的配位作用,还可以将相应的金属离子高效装载在碳酸钙纳米颗粒中。此外,上述无定形碳酸钙纳米颗粒还可以作为模板介导不同有机小分子和相应的金属离子在其表面通过配位作用形成金属有机聚合物层,用于制备功能丰富可调的中空型碳酸钙纳米复合物^[24],即表面保护刻蚀法(surface protected etching)(图1(c))。该方法的原理为: Fe^{3+} 、 Fe^{2+} 、 Zn^{2+} 等金属离子相较于钙离子对碳酸根具有更强的配位能力,其能够快速刻蚀碳酸钙纳米颗粒,当其与相应的有机配体在碳酸钙颗粒的表面形成金属有机配位聚合物层,进而延缓其对碳酸钙模板的刻蚀,一段时间后形成一个金属有机聚合物包裹的中空型碳酸钙纳米复合物。为了防止该类碳酸钙纳米颗粒在转入水相的过程中发生重结晶而影响后续生物医学应用,本课题组利用二油酰磷脂酸(1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphate, DOPA)分子的磷酸根与碳酸钙表面钙离子之间的配位作用以及磷脂分子的疏水自组装行为,在碳酸钙纳米颗粒表面修饰了磷脂双分子层,使其在生理条件下具有良好的稳定性和生物相容性^[25]。

1.4 模板法

模板法一般是指利用高分子与钙离子的配位作用形成钙离子-高分子络合物作为核来诱导碳酸钙在其表面进行沉积以形成碳酸钙微纳颗粒的一种方法,因此该方法又被称为聚合物诱导液体前驱体法(polymer-induced liquid precursors, PILPs),或者仿生矿化法。大量的研究表明通过调节高分子的种类、分子量等参数可以对碳酸钙颗粒的尺寸、形貌等进行精确调控。例如,与利用蛋白质分子作为模板合成球型碳酸钙颗粒不同,本课题组发现利用双链DNA分子作为模板合成的碳酸钙颗粒呈短棒状^[26]。此外,利用该原理还可以在微纳颗粒、细胞甚至宏观结构的表面生长一层碳酸钙,通过利用碳酸钙的酸响应性分解性质实现对相应模板材料功能的保护与微酸响应性激活,在肿瘤等疾病的精准诊断与治疗中受到了广泛的关注^[27]。

结合相关文献和笔者课题组的研究经验,在乙醇中通过气相扩散法合成的碳酸钙纳米颗粒的尺寸均一度高,经表面脂质体化修饰后可以获得具有体内长循环性质的碳酸钙脂质体纳米颗粒;而该方法制备的碳酸钙纳米颗粒的产量较低且尺寸较为单一,需要在合成过程中引入其他分子对其尺寸、形貌、产量等参数进行调控。另外,通过选用合适的两亲性高分子,可以

通过双微乳法和聚合物诱导液体前驱体法制备长循环碳酸钙纳米颗粒,但该类方法制备的颗粒的尺寸不够均一。这些长循环碳酸钙纳米颗粒可以用于构建各类肿瘤微酸响应性纳米探针和靶向药物递释材料。而其他方法可以用于构建各类碳酸钙微纳颗粒用于局部药物控释。总体而言,通过碳酸钙颗粒合成方法的创新可以实现不同功能基元的有效包封与控释,为实现肿瘤精准诊治提供了具有优异微酸响应性和良好生物安全性的递送载体。

2 碳酸钙基纳米探针与肿瘤活体成像

活体成像是指在不破坏活体组织的前提下对生命体内部结构与功能进行影像学分析的一类技术手段,因具有非侵入性、可连续观测、操作简便等优点而在肿瘤等多种疾病的基础研究与临床诊治中得到了广泛应用^[28]。目前,肿瘤基础研究与临床诊治过程中常用的活体成像技术有光学成像(optical imaging)、核磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)、核素成像(nuclear imaging)、超声成像(ultrasound imaging)和计算机断层成像(computed tomography, CT)等,在肿瘤早期诊断、术中定位、病程与疗效监测等方面均表现出独特的优势^[29]。然而,受限于分辨率与灵敏度等方面的不足,当前肿瘤活体成像技术在早期微小隐匿病灶的在体检出、实时监测等方面还存在诸多不足^[30]。随着纳米生物医学的不断发展,利用纳米材料能够在肿瘤部位富集这一特性,一系列能够适配不同临床活体成像技术的纳米探针(如:超小氧化铁纳米颗粒、超声微泡)被成功开发以提升相应活体影像技术对于微小肿瘤病灶的检出能力^[31]。在此基础上,为了避免因纳米探针在体内的非特异性富集而造成假阳性的诊断结果,广大科研人员正致力于开发响应肿瘤微环境独特病理特征的激活性纳米探针,以进一步提高相应活体影像技术的灵敏度与准确度。鉴于实体肿瘤的细胞外基质中存在着普遍的酸化现象,碳酸钙纳米颗粒因其独特的微酸响应性分解性质而在肿瘤微酸响应性纳米探针的设计构建方面得到了广泛的关注与研究^[32]。接下来,本文将详细介绍碳酸钙纳米颗粒在微酸响应性磁共振成像和声学成像探针构建方面的研究进展。

2.1 碳酸钙基磁共振成像纳米造影剂

磁共振成像是利用不同组织在磁场下弛豫时间的差异进行成像的一种非侵入性成像技术。当肿瘤组织

与周边正常组织的弛豫时间重叠时,磁共振成像则无法区分正常组织,因而目前难以检测早期肿瘤与微小转移灶^[33]。因此,钆根维显、锰福地吡等T1磁共振造影剂被成功开发,通过缩短病灶部位的T1弛豫时间来提升肿瘤与正常组织的对比度,从而提升磁共振成像技术对于微小肿瘤病灶的检出能力;多种铁基纳米颗粒因其独特的减弱核磁共振信号的能力以及良好的生物安全性,也正被广泛研究用于开发T2磁共振造影剂^[34]。

2022年,中国科学技术大学俞书宏院士团队通过在碳酸钙矿化过程中引入钆离子而成功制备了具有顺磁性的无定形碳酸钙纳米团簇(amorphous carbonate nanoclusters, ACNC),其在大鼠、兔、比格犬等多个动物模型中均表现出比临床中常用的钆离子造影剂(GD-DTPA)更为优异的磁共振造影能力^[35](图2(a)~(e))。但是,这些造影剂常因缺少足够肿瘤组织特异性富集能力而导致假阳性检测结果。近年来,得益于智能纳米载体领域的不断发展,一系列能够响应肿瘤微环境不同病理特征的智能磁共振纳米造影剂被成功开发,旨在通过选择性在肿瘤部位释放磁共振造影剂以进一步提升对于微小肿瘤病灶的在体检出能力。本课题组在此前的一项工作中将具有T1磁共振造影能力的螯合有锰离子的二氢卟吩e6 (Ce6(Mn))和化疗药阿霉素负载到碳酸钙纳米颗粒($\text{CaCO}_3@ \text{Ce6(Mn)-PEG}$)中,该颗粒仅能在肿瘤微酸条件下发生分解并释放Ce6(Mn),实现了对肿瘤内阿霉素释放行为的无创监测^[36]。新加坡国立大学刘小钢教授团队将具有磁共振造影能力的 NaGdF_4 纳米颗粒和 CaCO_3 纳米颗粒通过自组装的方式组装成肿瘤微酸激活型磁共振纳米造影剂(BSNPs)。在小鼠肿瘤磁共振成像中,BSNPs的磁共振造影增强能力是商用钆基磁共振造影剂(Magnevist)的60倍^[37]。

2.2 碳酸钙基声学成像造影剂

超声成像是通过探测高频声波在体内传播过程中与不同组织界面发生反射和散射后回波的相位和强度进行结构与功能成像的一种成像技术,具有组织穿透性好、可实时成像等优点,但是其成像灵敏度较差。考虑到声波在气体中的传播速度远小于其在液体中的速度,在气液界面会产生强烈的反射和散射,多种气体微泡(如:六氟化硫、全氟丁烷等)被成功开发用于提高临床超声成像的检测灵敏度。但是这些微泡造影剂尺寸较大,难以穿透血管屏障且稳定性差,导致其在肿瘤部

位的富集能力较弱,难以用于微小肿瘤的在体检测。利用碳酸钙在微酸环境下分解释放出二氧化碳气体这一特性,韩国庆熙大学的Sang Cheon Lee教授研究发现碳酸钙纳米颗粒在肿瘤微酸条件下分解产生的二氧化碳气泡具有良好的声阻抗能力,从而实现了肿瘤微酸激活的增强超声成像^[38](图2(f)~(j))。此后,多项研究表明碳酸钙微纳颗粒可以用于肿瘤微酸响应性增强超声成像研究^[39,40]。

光声成像是一种通过探测生物组织在脉冲激光照射后发生热胀冷缩而产生的超声信号的成像技术,其兼具光学成像的高选择性和声学成像的高穿透深度。一系列研究表明其可以利用血红蛋白的吸光性质对肿瘤血管进行高分辨成像,在乳腺癌早期筛查、良恶性诊断等方面表现出了良好的应用前景^[41]。近年来,具有高效光热转化能力、响应性微泡生成能力的纳米材料被用于构建光声造影剂以进一步提高光声成像的灵敏度。本课题组研究发现中空型碳酸钙-聚多巴胺纳米颗粒在近红外区具有良好的光热转换能力,静脉注射后可以利用光声成像技术来追踪其在肿瘤部位的富集行为^[36]。中国科学院长春应用化学研究所陈学思院士团队研究发现,将聚乙烯亚胺接枝聚乙二醇修饰的金纳米棒和碳酸钙纳米颗粒静脉注射到荷瘤小鼠体内,其在肿瘤富集后分解产生的二氧化碳气泡能够显著增强金纳米棒的光声信号,实现了光声成像引导的精准肿瘤联合治疗^[42]。

综上所述,碳酸钙酸响应分解性质能够赋予相应的造影剂肿瘤微酸响应性激活性质。相较传统造影剂,这些碳酸钙基纳米探针将具有更好的病灶识别能力,有望进一步提高相关活性影像技术在微小肿瘤在体检出方面的能力,并降低假阳性率。

3 碳酸钙基药物递释载体与肿瘤治疗

碳酸钙微纳颗粒优异的生物安全性、微酸响应性分解、较为广谱的药物装载能力等特点使其在微酸响应性药物递释领域同样受到了广泛的关注和深入的研究。除了被用作钙离子补充剂、药用辅料、骨修复材料等生物医药领域外,碳酸钙微纳颗粒在肿瘤靶向分子控释方面同样展现了良好的应用前景。此外,碳酸钙微纳颗粒还可以通过干扰肿瘤细胞内的钙离子稳态诱导肿瘤细胞死亡以及中和肿瘤酸性微环境来提升肿瘤细胞对于包括免疫治疗在内多种肿瘤治疗手段的疗效^[43]。目前,长循环类碳酸钙纳米颗粒主要通过增强渗

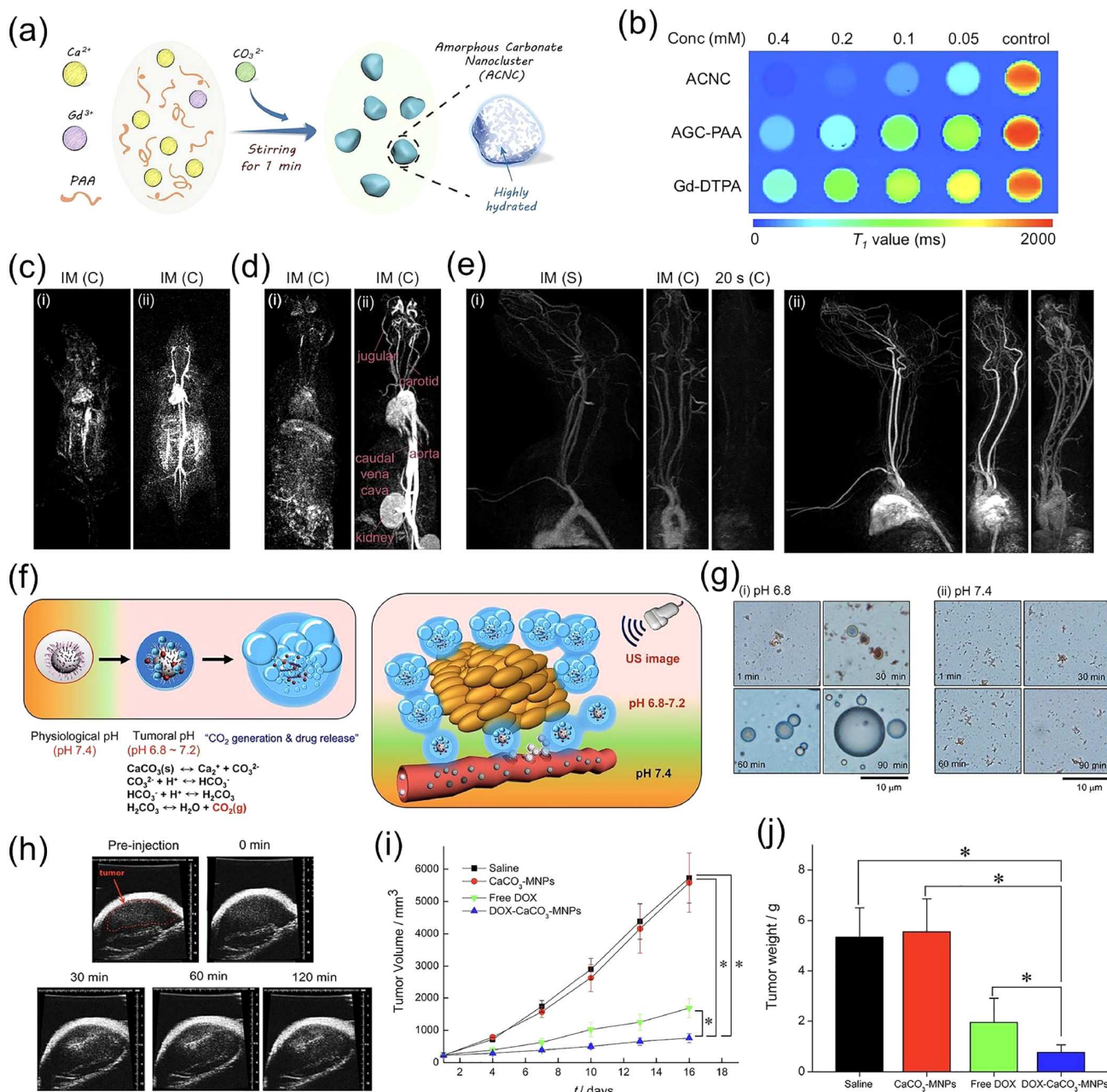


图 2 (a) 无定形碳酸钙纳米团簇合成方法示意图. (b) ACNC, AGC-PAA和Gd-DTPA在3.0 T强度下的 T_1 弛豫时间成像. (c, d) 大鼠(c)和兔子(d)分别注射Gd-DTPA (i)和ACNC (ii)后的增强磁共振血管成像图. (e) 比格犬分别注射Gd-DTPA (i)和ACNC (ii)后立刻(IM)以及20 s后的上半身增强磁共振血管成像图. 图中(C)和(S)分别代表冠状面和矢状面^[35]. Copyright © 2022 Springer Nature. (f) DOX- CaCO_3 -MNPs在肿瘤部位富集后响应微酸环境产生二氧化碳, 释放药物和产生气泡的机制示意图. (g) DOX- CaCO_3 -MNPs在pH 6.8 (i)和pH 7.4 (ii)的PBS中孵育90 min后二氧化碳气泡形成情况的光学显微照片. (h) SCC-7肿瘤在瘤内注射DOX- CaCO_3 -MNPs后的活体超声成像图. (i, j) 荷瘤小鼠经不同治疗后的肿瘤体积变化图(i)和治疗16天后的肿瘤质量(j)^[38]. Copyright © 2015 American Chemical Society

Figure 2 (a) Scheme of the synthesis process of amorphous carbonate nanoclusters (ACNCs). (b) T_1 map of ACNC, AGC-PAA, and Gd-DTPA under 3.0 T. (c, d) Contrast-enhanced MR angiography (MRA) images of the whole body on rat (c) and rabbit (d) immediately after the bolus injection of Gd-DTPA (i) and ACNC (ii), respectively. (C) and (S) represent the coronal plane and sagittal plane, respectively^[35]. Copyright © 2022 Springer Nature. (f) Scheme illustrating the mechanism of CO_2 generation, drug release, and bubble generation after accumulation of DOX- CaCO_3 -MNPs at tumor tissues. (g) Optical micrographs of CO_2 -generating profiles of sub-micron-size aggregates of DOX- CaCO_3 -MNPs incubated in PBS (i) pH 6.8 and (ii) pH 7.4 for 90 min. (h) *In vivo* US imaging of the SCC-7 tumor by intratumoral injection of DOX- CaCO_3 -MNPs. (i, j) Changes in tumor volumes after different treatments. (j) Tumor weights after 16 days post-treatment^[38]. Copyright © 2015 American Chemical Society

透与滞留(enhanced permeability and retention, EPR)效应在肿瘤部位被动富集,而碳酸钙微米颗粒则多采用局部注射或血管栓塞方式实现肿瘤局部给药,进而通过上述方式实现对肿瘤协同治疗.接下来,本文将详细介绍碳酸钙微纳颗粒在肿瘤靶向药物递释、钙离子超载、肿瘤微酸中和与免疫激活、肿瘤疫苗构建等肿瘤创新治疗方面的最新研究进展.

3.1 肿瘤靶向药物递释

化疗是当前主要的临床肿瘤治疗手段之一,但是临床常用化疗药物由于缺少肿瘤细胞特异性而会对正常组织造成严重损伤.针对这一问题,盐酸多柔比星脂质体(Doxil®)、紫杉醇白蛋白(Abraxane®)等纳米药物在临床中被证明可以有效减轻相应药物分子的全身性副作用并提高其在肿瘤部位的蓄积量.然而,受致密的细胞外基质、缓慢的药物释放速率等因素的影响,盐酸多柔比星脂质体、紫杉醇白蛋白等纳米药物的临床抑瘤效果与相应小分子药物相比并没有显著的提升.近年来,设计开发智能响应型纳米药物递送系统来实现小分子药物在肿瘤部位的高效蓄积、响应性释放与深组织渗透,成为进一步提升相关药物临床治疗效果的重要途径之一.受肿瘤细胞代谢途径改变、肿瘤血管发育异常、淋巴回流功能不全等因素的影响,实体肿瘤形成了一个广谱的弱酸性细胞外微环境,并已成为智能纳米药物递释系统开发中常用且有效的内源性刺激之一^[44].

鉴于此,近期的多项研究发现利用碳酸钙纳米颗粒作为肿瘤靶向递送载体可以向肿瘤部位高效递送阿霉素、顺铂前药等多种抗肿瘤药物^[17,45-47].与传统的药物载体相比,碳酸钙基纳米药物载体不但能够在肿瘤细胞外间隙中快速分解并释放药物,还能通过提高肿瘤细胞外的pH来提升阿霉素等弱碱性药物的细胞摄取效率,进而显著提升相关药物的抑瘤效果并降低毒副作用^[21].为了进一步提升化疗药物的抑瘤效果,有研究表明通过表面保护刻蚀法在碳酸钙纳米颗粒的表面生长一层由亚铁离子和没食子酸(gallic acid, GA)配位形成的GA-Fe配位聚合物,其可以通过利用GA-Fe的芬顿催化能力将肿瘤部位的H₂O₂分解成具有更高氧化性的羟基自由基($\cdot\text{OH}$),从而协同所负载的顺铂前药通过诱导肿瘤细胞发生铁死亡和凋亡的方式抑制肿瘤生长^[48].本课题组另一项相关的研究发现,GA-Fe介导的芬顿催化作用还可以通过破坏线粒体的功能来抑制耐

药细胞对所负载的阿霉素的外排作用,从而有效逆转肿瘤细胞耐药^[49].

光动力疗法(photodynamic therapy, PDT)是利用外源激光照射肿瘤部位富集的光敏剂生成具有细胞毒性的活性氧自由基,以杀灭肿瘤细胞的一种微创肿瘤光学治疗策略,在头颈癌、食道癌等浅表肿瘤中的临床治疗中表现出良好的疗效^[50].然而,目前常见光敏剂存在着水溶性差、肿瘤选择性差、皮肤滞留时间长等缺点,严重削弱其临床治疗效果并对皮肤等浅表组织造成明显的光毒性.近二十年来,众多研究报道利用纳米递送载体可以有效提高光敏剂的水溶性以及肿瘤靶向递释能力,但是同时也会进一步提升光敏剂的血液循环时间,进而对皮肤组织造成更为严重的光毒性.本课题组研究发现利用中空型碳酸钙-聚多巴胺纳米颗粒负载Ce6时,聚多巴胺通过能量共振转移过程淬灭Ce6的光敏化能力,进而避免其对皮肤等正常组织造成光毒性;当碳酸钙-聚多巴胺纳米颗粒在肿瘤组织富集后则响应肿瘤微酸快速崩解,Ce6分子快速释放并恢复光敏化能力,从而实现肿瘤微酸激活的光动力治疗^[23].中国科学院长春应用化学研究所林君教授在介孔氧化亚铜纳米颗粒表面生长了碳酸钙矿化层,并在表面修饰透明质酸用于提高其在结直肠癌病灶的富集效果,碳酸钙响应肿瘤微酸分解后暴露氧化亚铜并与肿瘤内高水平的硫化氢反应原位生成兼具光敏化与光热转化能力的Cu₃Si₁₆,进而在1064 nm外源激光的照射下实现对结直肠癌的光热光动力联合治疗^[51].

核酸、单克隆抗体、细胞因子、酶等功能性生物大分子为新型抗肿瘤药物的开发带来了新的机遇,但是在药物开发过程中面临着易降解、入胞难、免疫原性高等挑战.近年来,纳米递送载体因在药物装载、肿瘤靶向递送与控释等方面的优势,被认为是突破当前生物大分子药物成药难的有效途径之一.2019年,上海交通大学崔大祥教授利用核酸分子中磷酸根与钙离子之间的配位能力,成功构建碳酸钙纳米颗粒用于向肿瘤细胞内靶向递送小干扰RNA (small interference RNA, siRNA),通过沉默细胞程序性死亡-配体1 (programmed cell death ligand 1, PD-L1)分子的表达以有效逆转肿瘤免疫抑制性,并协同吲哚菁绿(indocyanine green, ICG)分子介导的光动力治疗来高效抑制肿瘤生长^[52].此外,多项研究表明碳酸钙纳米颗粒还可以用于向肿瘤细胞内靶向递送表达白介素-12 (interleukin-12, IL-12)的信使RNA (messenger RNA, mRNA)^[53]、

microRNA (miR-451)^[54]等功能核酸分子来抑制肿瘤生长。

鉴于蛋白质分子表面的羧基具有良好的钙离子螯合能力, 碳酸钙微纳载体可以用于单克隆抗体、细胞因子、趋化分子、酶等具有抑瘤功能的生物大分子的肿瘤微酸响应性递释, 在有效提高相关生物大分子的生物利用率的同时避免引起全身性的过敏反应。浙江大学顾臻教授研究发现, 将装载CD-47抗体的碳酸钙纳米颗粒和纤维蛋白凝胶同时喷涂在肿瘤切除腔内, 碳酸钙纳米颗粒响应肿瘤微酸快速释放CD-47抗体, 通过阻断CD47-SIRP (signal regulatory proteins)细胞通路来提高巨噬细胞对残余肿瘤细胞的吞噬效率, 有效避免术后肿瘤复发以及CD47抗体静脉注射时导致的毒副作用^[55]。吉林大学孙天盟教授在研究中发现, 利用碳酸钙纳米载体向肿瘤部位递送巨噬细胞集落因子, 可以有效逆转肿瘤相关巨噬细胞介导的免疫耐受并抑制肿瘤生长^[56]。此外, 酶近年来因其独特的催化作用在肿瘤治疗中也得到了广泛的关注。本课题组利用碳酸钙辅助的双微乳法构建了一种装载有脂肪氧化酶和血红素(芬顿催化剂)的纳米级联反应器, 通过脂质过氧化链式反应将射频消融治疗后的肿瘤碎片中的多不饱和脂肪酸转化为具有细胞毒性的脂质过氧化物, 以诱导残余肿瘤细胞发生铁死亡, 与抗程序性死亡受体1 (anti-programmed cell death protein 1, anti-PD-1)联用能够进一步增强其对术后肿瘤转移与复发的抑制效果^[19]。2021年, 武汉大学张玉峰教授团队利用由二甲基咪唑和 Zn^{2+} 配位形成的金属有机框架纳米颗粒来包裹具有细胞杀伤能力的颗粒酶B和穿孔素, 并在颗粒表面生长一层碳酸钙矿化层用于吸附具有溶酶体靶向能力的核酸适体(CD63-aptamer)。该纳米复合物被过继性T细胞摄取后在溶酶体内分解释放穿孔素、颗粒酶B和 Ca^{2+} , 实现对肿瘤细胞的协同杀伤^[57]。

3.2 钙离子稳态扰乱

钙离子是细胞内重要的第二信使, 维持细胞内外及细胞内不同区室之间钙离子浓度差(即钙离子稳态), 对于调控细胞信号传导、基因表达、细胞周期、细胞增殖与死亡等生命过程至关重要。因此, 通过扰乱肿瘤细胞以及不同免疫细胞内钙离子稳态来抑制肿瘤生长, 成为当前肿瘤治疗领域的一个重要研究方向^[58]。

鉴于肿瘤细胞内钙离子浓度的快速升高会通过导致细胞内活性氧水平提高、线粒体功能障碍来诱导肿

瘤细胞死亡, 利用碳酸钙、磷酸钙等钙基纳米颗粒作为钙库来诱导肿瘤细胞内“钙超载”受到了纳米医学领域众多研究者的关注。然而, 由于肿瘤细胞自身强大的钙离子稳态调控能力, 单独的碳酸钙纳米颗粒难以有效抑制肿瘤生长。因此, 本课题组在此前的一项工作中, 利用表面保护刻蚀策略在碳酸钙纳米颗粒表面生长一层由声敏剂——四(4-羧基苯基)卟吩(meso-tetra-(4-carboxyphenyl)porphine, TCPP)和 Fe^{3+} 形成的配位聚合物, 并装载谷胱甘肽(glutathione, GSH)合成抑制剂——丁硫氨酸-亚砷亚胺(L-buthionine sulfoximine, BSO)来制备碳酸钙纳米颗粒(BSO-TCPP- $\text{Fe}@\text{CaCO}_3$)。该纳米颗粒通过pH响应性分解造成肿瘤细胞“钙超载”来诱导细胞内活性氧水平升高, 并通过协同BSO抑制胞内GSH合成和TCPP介导的声动力疗法来诱导肿瘤细胞死亡^[59]。中国科学院长春应用化学研究所林君教授在其2022年发表的一项研究中设计了一种负载姜黄素的碳酸钙纳米调控器, 在肿瘤微酸条件下快速分解释放出 Ca^{2+} 和姜黄素, 导致细胞线粒体内 Ca^{2+} 水平激增的同时诱导细胞内活性氧水平进一步升高, 并促进胞内细胞色素C释放以及半胱天冬氨酸蛋白酶-3 (Caspase-3)和Gasdermin-E (GSDME)蛋白的活化, 进而诱导肿瘤细胞发生焦亡^[60]。

树突状细胞(dendritic cells, DCs)是一类重要的抗原提呈细胞, 负责机体启动抗原特异性的适应性免疫应答, 在机体对抗肿瘤、感染等重大疾病中发挥着重要作用。研究表明肿瘤微环境会通过抑制DC中的自噬过程来削弱其抗原提呈能力, 进而抑制机体启动有效的肿瘤特异性免疫应答。郑州大学史进教授在研究中发现, DC吞噬碳酸钙纳米颗粒后能够通过提高细胞的钙离子水平逆转肿瘤微环境对胞内自噬的抑制作用, 进而联合碳酸钙纳米颗粒介导的肿瘤细胞外质子中和和肿瘤细胞免疫原性死亡来协同激活抗肿瘤免疫应答, 从而显著提高米托蒽醌的抑瘤效果^[61]。CD8⁺T细胞是体内免疫系统中负责特异性识别和杀伤肿瘤细胞的一类重要的效应性免疫细胞。多项研究表明CD8⁺T细胞内钙离子水平的提高能够通过激活胞内核因子 κB (nuclear factor- κB , NF- κB)和活化T细胞核因子(nuclear factor of activated T cells, NFAT)两条信号通路促进其活化。鉴于肿瘤微环境会通过多种途径来削弱肿瘤浸润性CD8⁺T细胞的活化水平与抑瘤功能, 美国佐治亚大学谢晋教授在一项研究中发现, 将偶联anti-PD-1的碳酸钙脂质纳米颗粒靶向递送到CD8⁺T细胞后可以有效

上调细胞内的钙离子水平,联合颗粒中负载的佛波酯(phorbol 12-myristate 13-acetate, PMA)的蛋白激酶C激活功能,协同增强CD8⁺T细胞的活化和增殖能力,进而显著增强放射治疗的抑瘤效果与免疫治疗疗效^[62]。

3.3 肿瘤免疫微环境调控

大量研究表明,实体肿瘤内的微酸环境不但会通过改变肿瘤细胞代谢途径与基因表达等方式提高其对酸性微环境的适应性,还会通过影响弱碱性药物的细胞摄取效率、诱导CD8⁺T细胞、自然杀伤(natural killer, NK)细胞等效应性免疫细胞耗竭,以及促进肿瘤相关巨噬细胞、调节性T细胞、髓系来源抑制细胞等抑制性免疫细胞的肿瘤浸润水平等方式,削弱其对相关临床肿瘤治疗手段的响应性,是当前临床多种肿瘤治疗手段疗效不理想的主要原因之一。截至目前,多项临床研究和动物实验结果表明,利用碳酸氢钠、脲酶、质子泵抑制剂来中和肿瘤酸性微环境可以显著提高肿瘤细胞对于多种化疗药的响应性^[63]。2016年,美国莫菲特癌症中心研究所的Robert J. Gillies教授研究发现,口服碳酸氢钠溶液可以显著提高小鼠肿瘤内的pH以及CD8⁺T细胞的浸润水平,进而提升小鼠肿瘤对于anti-PD-1、抗细胞毒T淋巴细胞相关抗原4 (anti-cytotoxic T-lymphocyte protein-4, anti-CTLA-4)等免疫检查点阻断疗法的响应性^[64]。然而,上述肿瘤微酸中和策略仍存在着质子中和时间短、副作用较大等缺点,因此开发具有良好安全性的长效肿瘤微酸环境中制剂成为该领域的一个重要研究方向。

近年来,碳酸钙微纳颗粒因其优异生物安全性、持久的质子中和能力而在肿瘤微酸环境调控方面受到了较为广泛的关注与研究。除了上述提升阿霉素等弱碱性化疗药物的入胞效率外,多项研究表明碳酸钙还可以通过中和肿瘤外酸性微环境来促进CD8⁺T细胞、NK细胞等向肿瘤浸润与活化以及肿瘤相关巨噬细胞重编程等方式来逆转肿瘤免疫抑制性微环境。2023年,本课题组研究发现静脉注射CaCO₃@PLGA纳米颗粒后可以有效中和肿瘤微酸环境并逆转肿瘤免疫抑制性微环境,从而提升不同小鼠肿瘤对于anti-PD-1/L1和anti-CTLA-4等免疫检查点疗法的响应性^[65]。在另一项相关的研究中,我们将装载过氧化氢酶的碳酸钙自组装微囊注射到小鼠肿瘤部位,其可以通过同时逆转肿瘤微酸和乏氧微环境来协同逆转肿瘤免疫抑制性,进而提升anti-PD-1和表皮生长因子受体嵌合抗原受体T

细胞(epidermal growth factor receptor-expressing chimeric antigen receptor T cells, EGFR-CAR-T cells)等免疫治疗的抑瘤效果^[66]。加拿大麦吉尔大学陈国军教授也在研究中证明过氧化氢酶-碳酸钙纳米颗粒可以通过中和肿瘤微酸并改善乏氧来逆转免疫抑制微环境,从而增强免疫检查点阻断疗法的疗效^[67]。

临床数据显示放疗、部分化疗会通过诱导肿瘤细胞发生免疫原性死亡等方式来激活抗肿瘤免疫应答,与免疫检查点阻断疗法联用可以有效延长部分患者的生存时间,相关联合治疗策略已成为当前临床肿瘤治疗中的常用手段^[68]。近年来,多项研究表明碳酸钙微纳载体同样可以通过中和肿瘤微酸环境来提升上述免疫联合治疗的疗效。2022年,本课题组研究发现负载全氟15-冠-5醚的氟化碳酸钙纳米颗粒在肿瘤部位富集后,在利用碳酸钙中和细胞外H⁺的同时还能通过逆转肿瘤乏氧来抑制肿瘤细胞向胞外分泌乳酸和H⁺,从而显著提高肿瘤细胞对于X-射线的响应性,并协同X-射线激活荷瘤小鼠体内的抗肿瘤免疫应答,在高效抑制原发瘤和远端转移瘤生长的同时还能预防肿瘤复发^[69]。此外,研究发现利用碳酸钙纳米颗粒向肿瘤部位递送吲哚胺2,3-双加氧酶1 (indoleamine 2,3-dioxygenase1, IDO1)的抑制剂,可以在中和肿瘤微酸环境的同时抑制免疫抑制性分子犬尿氨酸的合成,协同激活荷瘤小鼠体内的抗肿瘤免疫应答水平,显著提高多种肿瘤的放疗响应性^[24]。苏州大学杨凯教授在研究中利用碳酸钙纳米颗粒向肿瘤部位递送碳酸酐酶抑制剂,同样可以在消耗细胞外H⁺的同时减少肿瘤细胞内外H⁺交换,显著增强放疗激活机体免疫反应的能力,联用免疫检查点阻断疗法后显著抑制肿瘤的生长与转移^[70]。另外,利用碳酸钙纳米颗粒向肿瘤部位递送IDO1抑制剂同样可以显著增强阿霉素等化疗药物的肿瘤杀伤能力,并协同激活抗肿瘤免疫应答,在多种小鼠肿瘤模型中实现了高效的序贯性化疗免疫联合治疗^[21]。

经动脉介入栓塞治疗是当前临床中晚期肝细胞癌治疗中常用的一种微创介入治疗手段,其中经导管动脉化疗栓塞术(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)因疗效明确、副作用小而成为中晚期肝癌患者的首选治疗方案。但是,TACE在临床肝癌治疗中会因阻断了肿瘤供血而导致肿瘤乏氧、微酸、免疫抑制性的进一步恶化,严重削弱肝癌细胞对相关化疗的响应性。有研究报道,通过在传统明胶、海藻酸钠等微球中引入难溶性碳酸钙颗粒可以有效逆转栓塞后的肿瘤微

酸环境,并促进CD8⁺T细胞、NK细胞等效应免疫细胞在肝癌组织内的浸润水平,以及多种促炎性细胞因子的分泌水平,显著提高对原位肝癌的治疗效果^[71]。

3.4 疫苗递送

肿瘤疫苗是一种通过利用肿瘤特异性抗原激活机体免疫系统产生适应性免疫应答,发挥选择性肿瘤预防和治疗功能的免疫治疗新策略,因具有靶向性强、副作用小等特点而被认为是肿瘤治疗领域的一项重大突破。肿瘤疫苗通常由抗原、佐剂和递送载体三部分组成,其中递送载体通过促进肿瘤抗原与佐剂向淋巴结迁移、提高抗原提呈细胞对其摄取效率,以及促进抗原溶酶体逃逸等方式来提高肿瘤疫苗激活特异性抗肿瘤免疫应答的能力^[72]。近年来,一系列微纳载体(如脂质体、聚合物胶束、高分子微球、无机微纳米颗粒)因对肿瘤抗原与佐剂分子高效的装载效率而被用于构建肿瘤疫苗,其中基于阳离子聚合物、脂质体等的新型肿瘤疫苗已经进入了临床试验阶段^[73,74]。

碳酸钙因良好的生物相容性、广谱的分子装载能力和微酸响应性分解等特性而在肿瘤疫苗领域同样展现出良好的应用前景。2018年,中国科学院过程工程研究所马光辉院士和魏炜研究员团队以卵清蛋白(ovalbumin, OVA)为模板,通过仿生矿化策略合成OVA@CaCO₃纳米颗粒作为模式肿瘤抗原。由于颗粒中的碳酸钙呈现为稳定欠佳的球霏石晶型,该肿瘤疫苗被树突状细胞摄取后在溶酶体内快速分解释放大量二氧化碳气体,这不但能够通过破坏溶酶体促进抗原释放到细胞质中,还能利用溶酶体爆破时产生的机械力来诱导细胞自噬,显著提高抗原交叉呈递水平,并引发机体产生强烈的OVA特异性CD8⁺T细胞反应^[75]。本课题组在近期的一项研究中发现以双链DNA分子为模板合成DNA@CaCO₃颗粒,可以有效激活细胞内的干扰素基因刺激因子(stimulator of interferon genes, STING)信号通路。在此基础上,以肿瘤细胞裂解物为模板成功合成了一种具有STING信号通路激活功能的全肿瘤细胞疫苗,其能够激活机体产生特异性的CD8⁺T细胞免疫反应,与anti-PD-1疗法联用后能够有效抑制术后残余肿瘤的生长^[26]。

与LNP等疫苗载体相比,碳酸钙微纳颗粒除了可以有效装载核酸类肿瘤抗原,还可以高效装载肿瘤特异性蛋白、肿瘤细胞等作为肿瘤抗原。碳酸钙微纳颗粒广谱的药物装载能力使得其在高效装载各类肿瘤抗

原的同时,还可以有效装载免疫激动剂等不同类型的免疫活性成分,用于构建更为高效的肿瘤疫苗。此外,受磷酸盐类肿瘤矿化疫苗具有优异的热稳定这一特点启发^[76],碳酸钙类矿化肿瘤疫苗理论上也具备良好的稳定性,有望极大降低疫苗存储方面的费用。

总体而言,碳酸钙微纳颗粒优异的酸响应性分解、质子中和能力和生物安全性使得其在肿瘤靶向药物递释、细胞内钙离子稳态调控、肿瘤微环境调控、疫苗构建等方面表现出了良好的应用潜力(表1),为开发新一代肿瘤治疗策略提供了扎实的材料学基础和具有临床转化前景的技术方案。

4 总结与展望

本文综述了碳酸钙微纳材料的制备方法及其在肿瘤微环境响应性肿瘤成像、靶向药物递释、细胞内钙离子稳态调控、肿瘤微酸环境中和等肿瘤创新诊疗方面的最新研究进展,体现了碳酸钙微纳材料良好的临床转化前景,也为其他肿瘤诊治材料的研发提供了一定的参考价值。作者认为在进一步推动碳酸钙微纳材料的临床转化研究中有如下几个问题亟待解决:(1)阐明碳酸钙微纳材料的尺寸、晶型等理化性质对其生物学功能的影响。前期的相关研究结果表明不同晶型、尺寸的碳酸钙微纳颗粒在不同pH条件下的降解速度存在较大差异,对其分子装载和控释、质子中和等功能具有较大影响。因此,厘清碳酸钙微纳颗粒的上述相关构效关系,对于开发适配不同应用场景的碳酸钙基制剂具有重要意义。(2)发展适配不同应用需要的表面修饰策略,提高碳酸钙微纳材料的生理稳定性。尽管碳酸钙微纳颗粒在干燥条件下具有良好的稳定性,但是碳酸钙微纳颗粒,尤其是亚稳态的球霏石和无定形碳酸钙颗粒,在复杂的生理条件下会通过溶解-重结晶等方式生长变大,进而影响在药物递送、质子中和、细胞摄取等方面的生物学功能。因此,发展适配不同应用场景的表面修饰策略对于确保碳酸钙微纳材料在生物医学领域的应用转化同样具有重要价值。(3)开发注射级碳酸钙微纳材料的宏量制备工艺。目前,碳酸钙微纳材料在钙离子补充剂、药用辅料等生物医药领域已有广泛应用,但是目前尚无注射级的碳酸钙类生物医药产品。鉴于碳酸钙微纳材料在上述肿瘤创新治疗方面的应用前景,开发注射级碳酸钙微纳材料的宏量制备工艺和行业标准对于推进其临床转化应用具有重要意义。

表 1 碳酸钙基微纳颗粒与肿瘤创新治疗

Table 1 Calcium carbonate-based micro/nano particles for innovative cancer therapy

材料功能	载体名称	治疗方式	文献
靶向药物递释	DOX-Pt(IV)-CaCO ₃ -PEG	化疗	[47]
	DOX@ACC/PAA NP	化疗	[17]
	ACC-DOX@silica	化疗	[45]
	DNCaNs	化疗、免疫治疗	[21]
	PGF ⁺ CaCO ₃ -PEG	化疗、铁死亡治疗	[48]
	Ce6(Mn)@CaCO ₃ -PEG	光动力治疗、化疗	[36]
	Ce6@CaCO ₃ -PDA-PEG ₂	光动力治疗	[23]
	DiR-DOX-Gd@pCaCO ₃ -PEG	光热治疗、化疗	[46]
	Cu ₂ O@CaCO ₃ @HA	光热/光动力治疗、化动力治疗、钙超载治疗	[51]
	aCD47@CaCO ₃	免疫治疗、手术切除	[55]
	NP/M-CSF/CaCO ₃	免疫治疗	[56]
	HLCaP NRs	射频消融、铁死亡治疗、免疫治疗	[19]
	LYS-NPs	免疫治疗	[57]
	Alg-CaCO ₃ -PDA-PGED	基因治疗、光热治疗	[39]
钙离子稳定调控	M-CNP/Mn@pPHS	基因治疗、免疫治疗	[77]
	BSO-TCPP-Fe@CaCO ₃	声动力治疗、钙超载治疗	[59]
	CaNMs	免疫治疗、钙超载治疗	[60]
	PDCNP-Ab	免疫治疗、钙超载治疗	[62]
	DECaNs	化疗、免疫治疗、钙超载治疗	[78]
	M@CaCO ₃ @KAE	钙超载治疗	[79]
	LMGC	光热治疗、钙超载治疗	[80]
肿瘤微酸中和	DMXAA@CBTNps	射频消融、肿瘤栓塞治疗、钙超载治疗	[81]
	CaCO ₃ @PLGA	免疫治疗	[65]
	CaP CSs	免疫治疗	[66]
	CAT@CaCO ₃	免疫治疗	[67]
	PFCE@fCaCO ₃ -PEG	免疫治疗、放射治疗	[69]
	AIM NPs	免疫治疗、放射治疗	[24]
	CaCO ₃ /CAI@Liposome	免疫治疗、放射治疗	[70]
肿瘤疫苗	OVA@CaCO ₃	预防性肿瘤疫苗	[75]
	DNA@CaCO ₃ /TCL@CaCO ₃	预防性肿瘤疫苗、治疗性肿瘤疫苗、免疫治疗	[26]
	VAX	病毒疫苗	[82]

总的来说, 碳酸钙基微纳材料优异的生物安全性和丰富的生物学功能赋予其在肿瘤创新治疗等生物医

药领域广阔的应用转化前景, 将为突破当前临床肿瘤诊治方面的诸多不足贡献重要力量.

参考文献

1 Han B, Zheng R, Zeng H, et al. Cancer incidence and mortality in China, 2022. *J Natl Cancer Center*, 2024, 4: 47–53

2 Zugazagoitia J, Guedes C, Ponce S, et al. Current challenges in cancer treatment. *Clin Ther*, 2016, 38: 1551–1566

3 Binnewies M, Roberts E W, Kersten K, et al. Understanding the tumor immune microenvironment (TIME) for effective therapy. *Nat Med*, 2018, 24: 541–550

4 Chao Y, Liu Z. Biomaterials tools to modulate the tumour microenvironment in immunotherapy. *Nat Rev Bioeng*, 2023, 1: 125–138

5 Mitchell M J, Billingsley M M, Haley R M, et al. Engineering precision nanoparticles for drug delivery. *Nat Rev Drug Discov*, 2021, 20: 101–124

6 Sun R, Xiang J, Zhou Q, et al. The tumor EPR effect for cancer drug delivery: current status, limitations, and alternatives. *Adv Drug Deliver Rev*, 2022, 191: 114614

- 7 Pei Z, Lei H, Cheng L. Bioactive inorganic nanomaterials for cancer theranostics. *Chem Soc Rev*, 2023, 52: 2031–2081
- 8 Cheng L, Wang X, Gong F, et al. 2D nanomaterials for cancer theranostic applications. *Adv Mater*, 2020, 32: e1902333
- 9 Su J Y, Li W H, Li Y M. New opportunities for immunomodulation of the tumour microenvironment using chemical tools. *Chem Soc Rev*, 2022, 51: 7944–7970
- 10 Zou Z, Habraken W J E M, Matveeva G, et al. A hydrated crystalline calcium carbonate phase: calcium carbonate hemihydrate. *Science*, 2019, 363: 396–400
- 11 Bai S, Lan Y, Fu S, et al. Connecting calcium-based nanomaterials and cancer: from diagnosis to therapy. *Nano-Micro Lett*, 2022, 14: 145
- 12 Kellermeier M, Melero-García E, Glaab F, et al. Stabilization of amorphous calcium carbonate in inorganic silica-rich environments. *J Am Chem Soc*, 2010, 132: 17859–17866
- 13 Boyjoo Y, Pareek V K, Liu J. Synthesis of micro and nano-sized calcium carbonate particles and their applications. *J Mater Chem A*, 2014, 2: 14270–14288
- 14 Machado Neubauer T, Santos Serpa F, Franceschi E, et al. Crystallization of calcium carbonate: modeling thermodynamic equilibrium, pathway, nucleation, growth, agglomeration, and dissolution kinetics with the presence of Mg^{2+} , Ba^{2+} , and Sr^{2+} . *Ind Eng Chem Res*, 2022, 61: 13944–13961
- 15 Liu H, Wen Z, Liu Z, et al. Unlocking the potential of amorphous calcium carbonate: a star ascending in the realm of biomedical application. *Acta Pharm Sin B*, 2024, 14: 602–622
- 16 Fadia P, Tyagi S, Bhagat S, et al. Calcium carbonate nano- and microparticles: synthesis methods and biological applications. *3 Biotech*, 2021, 11: 457
- 17 Xu C, Yan Y, Tan J, et al. Biodegradable nanoparticles of polyacrylic acid–stabilized amorphous $CaCO_3$ for tunable pH-responsive drug delivery and enhanced tumor inhibition. *Adv Funct Mater*, 2019, 29: 1808146
- 18 Liendo F, Arduino M, Deorsola F A, et al. Factors controlling and influencing polymorphism, morphology and size of calcium carbonate synthesized through the carbonation route: a review. *Powder Tech*, 2022, 398: 117050
- 19 Yang Z, Zhu Y, Dong Z, et al. Tumor-killing nanoreactors fueled by tumor debris can enhance radiofrequency ablation therapy and boost antitumor immune responses. *Nat Commun*, 2021, 12: 4299
- 20 Gao J, Wu Q, Yan Y, et al. Second near-infrared phototheranostics with cGAS-STING-activating capacity for photothermal immunotherapy. *Adv Funct Mater*, 2024, 34: 2401830
- 21 Zhu Y, Yang Z, Dong Z, et al. $CaCO_3$ -assisted preparation of pH-responsive immune-modulating nanoparticles for augmented chemo-immunotherapy. *Nano-Micro Lett*, 2020, 13: 29
- 22 Lee H S, Ha T H, Kim K. Fabrication of unusually stable amorphous calcium carbonate in an ethanol medium. *Mater Chem Phys*, 2005, 93: 376–382
- 23 Dong Z, Feng L, Hao Y, et al. Synthesis of hollow biomineralized $CaCO_3$ –polydopamine nanoparticles for multimodal imaging-guided cancer photodynamic therapy with reduced skin photosensitivity. *J Am Chem Soc*, 2018, 140: 2165–2178
- 24 Wang C, Dong Z, Hao Y, et al. Coordination polymer-coated $CaCO_3$ reinforces radiotherapy by reprogramming the immunosuppressive metabolic microenvironment. *Adv Mater*, 2022, 34: 2106520
- 25 Wang C, Sun X, Feng L, et al. Rational design of a nonclassical liposomal nanoscale drug delivery system for innovative cancer therapy. *BMEMat*, 2024, 2: e12083
- 26 Li Q, Dong Z, Cao Z, et al. A general biomineralization strategy to synthesize autologous cancer vaccines with cGAS-STING activating capacity for postsurgical immunotherapy. *ACS Nano*, 2023, 17: 10496–10510
- 27 Gilbert P U P A, Bergmann K D, Boekelheide N, et al. Biomineralization: integrating mechanism and evolutionary history. *Sci Adv*, 2022, 8: eabl9653
- 28 Weissleder R, Mahmood U. Molecular imaging. *Radiology*, 2001, 219: 316–333
- 29 Crosby D, Bhatia S, Brindle K M, et al. Early detection of cancer. *Science*, 2022, 375: eaay9040
- 30 Xin Q, Ma H, Wang H, et al. Tracking tumor heterogeneity and progression with near-infrared II fluorophores. *Exploration*, 2023, 3: 20220011
- 31 Yin C, Hu P, Qin L, et al. The current status and future directions on nanoparticles for tumor molecular imaging. *IJN*, 2024, 19: 9549–9574
- 32 Feng L, Dong Z, Tao D, et al. The acidic tumor microenvironment: a target for smart cancer nano-theranostics. *Natl Sci Rev*, 2018, 5: 269–286
- 33 Harisinghani M G, O’Shea A, Weissleder R. Advances in clinical MRI technology. *Sci Transl Med*, 2019, 11: eaba2591
- 34 Dadfar S M, Roemhild K, Drude N I, et al. Iron oxide nanoparticles: diagnostic, therapeutic and theranostic applications. *Adv Drug Deliver Rev*, 2019, 138: 302–325
- 35 Dong L, Xu Y J, Sui C, et al. Highly hydrated paramagnetic amorphous calcium carbonate nanoclusters as an MRI contrast agent. *Nat Commun*, 2022, 13: 5088
- 36 Dong Z, Feng L, Zhu W, et al. $CaCO_3$ nanoparticles as an ultra-sensitive tumor-pH-responsive nanoplatform enabling real-time drug release monitoring and cancer combination therapy. *Biomaterials*, 2016, 110: 60–70

- 37 Yi Z, Luo Z, Barth N D, et al. *In vivo* tumor visualization through MRI off-on switching of NaGdF₄-CaCO₃ nanoconjugates. *Adv Mater*, 2019, 31: 1901851
- 38 Min K H, Min H S, Lee H J, et al. pH-controlled gas-generating mineralized nanoparticles: a theranostic agent for ultrasound imaging and therapy of cancers. *ACS Nano*, 2015, 9: 134–145
- 39 Liu Y, Yu B, Dai X, et al. Biomaterialized calcium carbonate nanohybrids for mild photothermal heating-enhanced gene therapy. *Biomaterials*, 2021, 274: 120885
- 40 Chen S, Xu X L, Zhou B, et al. Acidic pH-activated gas-generating nanoparticles with pullulan decorating for hepatoma-targeted ultrasound imaging. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11: 22194–22205
- 41 Lin L, Wang L V. The emerging role of photoacoustic imaging in clinical oncology. *Nat Rev Clin Oncol*, 2022, 19: 365–384
- 42 Xu C, Wang Y, Wang E, et al. Effective eradication of tumors by enhancing photoacoustic-imaging-guided combined photothermal therapy and ultrasonic therapy. *Adv Funct Mater*, 2021, 31: 2009314
- 43 Yang X, Sun Y, Zhang H, et al. CaCO₃ nanoplatform for cancer treatment: drug delivery and combination therapy. *Nanoscale*, 2024, 16: 6876–6899
- 44 Gong F, Yang N, Wang X, et al. Tumor microenvironment-responsive intelligent nanoplatforms for cancer theranostics. *Nano Today*, 2020, 32: 100851
- 45 Zhao Y, Luo Z, Li M, et al. A preloaded amorphous calcium carbonate/doxorubicin@silica nanoreactor for pH-responsive delivery of an anticancer drug. *Angew Chem Int Ed*, 2015, 54: 919–922
- 46 Ma X X, Wang C, Dong Z, et al. Lipid-coated CaCO₃-PDA nanoparticles as a versatile nanocarrier to enable pH-responsive dual modal imaging-guided combination cancer therapy. *J Mater Chem B*, 2022, 10: 4096–4104
- 47 Xu Y, Wang C, Shen F, et al. Lipid-coated CaCO₃ nanoparticles as a versatile pH-responsive drug delivery platform to enable combined chemotherapy of breast cancer. *ACS Appl Bio Mater*, 2022, 5: 1194–1201
- 48 Han Y, Dong Z, Wang C, et al. Ferrous ions doped calcium carbonate nanoparticles potentiate chemotherapy by inducing ferroptosis. *J Control Release*, 2022, 348: 346–356
- 49 Dong Z, Hao Y, Li Q, et al. Metal-polyphenol-network coated CaCO₃ as pH-responsive nanocarriers to enable effective intratumoral penetration and reversal of multidrug resistance for augmented cancer treatments. *Nano Res*, 2020, 13: 3057–3067
- 50 Dolmans D E J G J, Fukumura D, Jain R K. Photodynamic therapy for cancer. *Nat Rev Cancer*, 2003, 3: 380–387
- 51 Chang M, Hou Z, Jin D, et al. Colorectal tumor microenvironment-activated bio-decomposable and metabolizable Cu₂O@CaCO₃ nanocomposites for synergistic oncotherapy. *Adv Mater*, 2020, 32: 2004647
- 52 Liu Y, Pan Y, Cao W, et al. A tumor microenvironment responsive biodegradable CaCO₃/MnO₂-based nanoplatform for the enhanced photodynamic therapy and improved PD-L1 immunotherapy. *Theranostics*, 2019, 9: 6867–6884
- 53 Zhao P, Tian Y, Lu Y, et al. Biomimetic calcium carbonate nanoparticles delivered IL-12 mRNA for targeted glioblastoma sono-immunotherapy by ultrasound-induced necroptosis. *J Nanobiotechnol*, 2022, 20: 525
- 54 Wei S, Gao J, Zhang M, et al. Dual delivery nanoscale device for miR-451 and adriamycin co-delivery to combat multidrug resistant in bladder cancer. *Biomed Pharmacother*, 2020, 122: 109473
- 55 Chen Q, Wang C, Zhang X, et al. *In situ* sprayed bioresponsive immunotherapeutic gel for post-surgical cancer treatment. *Nat Nanotech*, 2019, 14: 89–97
- 56 Mao K, Cong X, Feng L, et al. Intratumoral delivery of M-CSF by calcium crosslinked polymer micelles enhances cancer immunotherapy. *BioMater Sci*, 2019, 7: 2769–2776
- 57 Zhao Q, Gong Z, Li Z, et al. Target reprogramming lysosomes of CD8⁺ T cells by a mineralized metal-organic framework for cancer immunotherapy. *Adv Mater*, 2021, 33: 2100616
- 58 Yao J, Peng H, Qiu Y, et al. Nanoplatform-mediated calcium overload for cancer therapy. *J Mater Chem B*, 2022, 10: 1508–1519
- 59 Dong Z, Feng L, Hao Y, et al. Synthesis of CaCO₃-based nanomedicine for enhanced sonodynamic therapy via amplification of tumor oxidative stress. *Chem*, 2020, 6: 1391–1407
- 60 Zheng P, Ding B, Zhu G, et al. Biodegradable Ca²⁺ nanomodulators activate pyroptosis through mitochondrial Ca²⁺ overload for cancer immunotherapy. *Angew Chem Int Ed*, 2022, 61: e202204904
- 61 An J, Zhang K, Wang B, et al. Nanoenabled disruption of multiple barriers in antigen cross-presentation of dendritic cells via calcium interference for enhanced chemo-immunotherapy. *ACS Nano*, 2020, 14: 7639–7650
- 62 Yang W, Feng Z, Lai X, et al. Calcium nanoparticles target and activate T cells to enhance anti-tumor function. *Nat Commun*, 2024, 15: 10095
- 63 Chao M, Wu H, Jin K, et al. A nonrandomized cohort and a randomized study of local control of large hepatocarcinoma by targeting intratumoral lactic acidosis. *eLife*, 2016, 5: e15691
- 64 Pilon-Thomas S, Kodumudi K N, El-Kenawi A E, et al. Neutralization of tumor acidity improves antitumor responses to immunotherapy. *Cancer*

- [Res](#), 2016, 76: 1381–1390
- 65 Hao Y, Chen M, Wu Y, et al. CaCO₃ based proton nanosponge to potentiate immune checkpoint blockade therapy by synergistically reversing tumor immunosuppression. [Chem Eng J](#), 2023, 462: 142206
 - 66 Dong Z, Liu Y, Wang C, et al. Tumor microenvironment modulating CaCO₃-based colloidosomal microreactors can generally reinforce cancer immunotherapy. [Adv Mater](#), 2024, 36: e2308254
 - 67 Fang T, Cao X, Wang L, et al. Bioresponsive and immunotherapeutic nanomaterials to remodel tumor microenvironment for enhanced immune checkpoint blockade. [Bioactive Mater](#), 2024, 32: 530–542
 - 68 Zhai D, An D, Wan C, et al. Radiotherapy: brightness and darkness in the era of immunotherapy. [Transl Oncol](#), 2022, 19: 101366
 - 69 Dong Z, Wang C, Gong Y, et al. Chemical modulation of glucose metabolism with a fluorinated CaCO₃ nanoregulator can potentiate radiotherapy by programming antitumor immunity. [ACS Nano](#), 2022, 16: 13884–13899
 - 70 Qian R, Yi X, Liu T, et al. Regulation of ion homeostasis for enhanced tumor radio-immunotherapy. [Adv Sci](#), 2023, 10: e2304092
 - 71 Dong Z, Zhang L, Zhao D, et al. Procoagulant CaCO₃-embedded embolic microspheres can potentiate transcatheter arterial embolization of hepatocellular carcinoma. [Nano Today](#), 2024, 55: 102216
 - 72 Saxena M, van der Burg S H, Melief C J M, et al. Therapeutic cancer vaccines. [Nat Rev Cancer](#), 2021, 21: 360–378
 - 73 Chen F, Wang Y, Gao J, et al. Nanobiomaterial-based vaccination immunotherapy of cancer. [Biomaterials](#), 2021, 270: 120709
 - 74 Wang Z, Cui K, Costabel U, et al. Nanotechnology-facilitated vaccine development during the coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic. [Exploration](#), 2022, 2: 20210082
 - 75 Wang S, Ni D, Yue H, et al. Exploration of antigen induced CaCO₃ nanoparticles for therapeutic vaccine. [Small](#), 2018, 14: 1704272
 - 76 Li Q, Yan Y, Wang C, et al. Biomineralization-inspired synthesis of autologous cancer vaccines for personalized metallo-immunotherapy. [iScience](#), 2024, 27: 110189
 - 77 Wang X, Zhang W, Wang Y, et al. Logic “AND Gate Circuit”-based gasdermin protein expressing nanoplatform induces tumor-specific pyroptosis to enhance cancer immunotherapy. [ACS Nano](#), 2024, 18: 6946–6962
 - 78 Zheng L, Ding Y, Fang S, et al. Potentiated calcium carbonate with enhanced calcium overload induction and acid neutralization capabilities to boost chemoimmunotherapy against liver cancer. [ACS Nano](#), 2024, 18: 27597–27616
 - 79 Li Y, Zhou S, Song H, et al. CaCO₃ nanoparticles incorporated with KAE to enable amplified calcium overload cancer therapy. [Biomaterials](#), 2021, 277: 121080
 - 80 Ding X L, Liu M D, Cheng Q, et al. Multifunctional liquid metal-based nanoparticles with glycolysis and mitochondrial metabolism inhibition for tumor photothermal therapy. [Biomaterials](#), 2022, 281: 121369
 - 81 Zeng G, Liang X, Ling Y, et al. Tumor vascular occlusion by calcium-based thermosensitizer provokes continuous cavitation effect and thermal energy transition efficiency of radiofrequency ablation therapy. [Biomaterials](#), 2025, 315: 122944
 - 82 Hao H, Wu S, Lin J, et al. Immunization against Zika by entrapping live virus in a subcutaneous self-adjuvanting hydrogel. [Nat Biomed Eng](#), 2023, 7: 928–942

Summary for “碳酸钙基微纳材料与肿瘤创新诊疗”

Calium carbonate-based micro/nano-materials for innovative tumor theranostics

Juxin Gao & Liangzhu Feng*

*Institute of Functional Nano & Soft Materials (FUNSOM), Jiangsu Key Laboratory for Carbon-Based Functional Materials & Devices, Soochow University, Suzhou 215123, China** Corresponding author, E-mail: lzfeng@suda.edu.cn

Cancer remains one of the leading causes of death worldwide, posing a persistent global public health challenge. Despite significant advancements in diagnostic and therapeutic technologies over recent decades, the clinical efficacy of conventional approaches remains limited due to tumor heterogeneity, drug resistance, immunosuppressive tumor microenvironment (TME), and other factors. Consequently, there is an urgent need to develop more sophisticated strategies to improve diagnosis accuracy, therapeutic effectiveness, patient compliance, etc. Attributing to their excellent capacity in versatile molecular encapsulation, tumor-targeted delivery, and/or TME modulation, a large variety of micro/nanoscale biomaterials with tunable physicochemical and biological functions have been rationally designed, offering substantial potential to enhance the clinical outcomes in cancer theranostics. Among these, calcium carbonate (CaCO_3)-based materials have emerged as a promising candidate due to their unique advantages, including facile synthesis, versatile molecular/ionic loading capacity, pH-responsive decomposition, and proton neutralization, which collectively contribute to their superior performance in biomedical applications.

This review first systematically discusses the strategies developed for the controlled synthesis of CaCO_3 -based micro/nanomaterials, such as the chemical coprecipitation method, micro-emulsion templating, gas diffusion, and polymer-induced liquid precursor (PILP) approaches. It has been demonstrated that CaCO_3 nanoparticles with suitable surface modification could be utilized to construct pH-responsive nanoprobe and drug delivery systems, leveraging the enhanced permeability and retention (EPR) effect for passive tumor targeting. These nanoparticles show promise in improving tumor diagnosis, treatment, and vaccine development. In contrast, CaCO_3 microparticles—their larger counterparts—are better suited for site-specific administration and sustained local drug release due to their pH-responsive degradation kinetics. This review further highlights the latest progress in employing CaCO_3 nanoparticles as pH-activated contrast agents for magnetic resonance imaging (MRI), ultrasonication tomography, and photoacoustic imaging (PAI). Compared to their corresponding species, these CaCO_3 nanoparticle-based contrast agents exhibited significantly improved contrasting abilities, enabling more precise diagnosis of tumor masses at their early stages. Additionally, it summarizes applications of CaCO_3 -based nano/microparticles in innovative cancer treatments, including tumor-targeted drug delivery, intracellular Ca^{2+} -overloading, tumor acidity neutralization, and cancer vaccine development. These studies demonstrate the great potential of CaCO_3 -based nano/microparticles for developing next-generation drug delivery systems with controllable drug release and TME modulation abilities.

Despite these remarkable progresses, there are still several challenges impeding the clinical translation of these CaCO_3 -based nano/microparticles for innovating current cancer treatments. (1) Physicochemical property optimization. The influence of particle size, morphology, and crystallinity on performance as contrast agents or drug carriers requires further elucidation. (2) Physiological stability. Effective surface modification strategies are needed to prevent dissolution-recrystallization of metastable CaCO_3 phases under physiological conditions. (3) Scalable manufacturing. Standardized protocols for synthesizing injectable-grade CaCO_3 particles with consistent quality remain underdeveloped.

In summary, CaCO_3 -based micro/nanomaterials exhibit outstanding biosafety and multifunctionality, positioning them as pivotal tools for advancing cancer theranostics. Their integration into clinical practice could enable more personalized, effective, and safer oncological interventions, ultimately improving cancer prevention, diagnosis, and treatment outcomes.

calcium carbonate, micro/nanomaterials, acid-responsiveness, tumor therapydoi: [10.1360/TB-2025-0183](https://doi.org/10.1360/TB-2025-0183)