黑磷基纳米材料抗肿瘤研究进展

王佃余, 杨丽军*, 刘鉴峰*

中国医学科学院北京协和医学院, 放射医学研究所, 天津 300192

* 联系人, E-mail: yanglijun@irm-cams.ac.cn; liujianfeng@irm-cams.ac.cn

2021-01-05 收稿, 2021-02-10 修回, 2021-03-05 接受, 2021-03-12 网络版发表

国家自然科学基金(81971731)资助

摘要 黑磷(black phosphorus, BP)作为一种新兴的二维纳米材料因其优异的性质近年来被广泛应用于肿瘤治疗中。首先, BP具有较宽的光吸收范围和较高的光热转化效率, 因此在肿瘤光热治疗(photothermal therapy, PTT)中展现出巨大的应用潜力; 其次, 由于具有独特的电子结构, BP可以作为高效的光敏剂, 在光照下产生大量的活性氧, 用于肿瘤的光动力治疗(photodynamic therapy, PDT); 此外, BP本身具有大的比表面积, 可以作为纳米载体高效负载各种药物, 进行肿瘤化学治疗。最近, BP作为放疗增敏剂在肿瘤放射治疗中也取得了不错的效果; 更为重要的是, BP拥有大多数无机材料所不具备的良好生物相容性和可降解性, 对机体造成的毒副作用较小, 为实现其临床应用打下了坚实基础。基于以上多种优良性质, BP不仅能够满足肿瘤单一模式治疗的要求, 而且在肿瘤多模式治疗中也具有得天独厚的优势。本文将从BP基纳米材料在肿瘤PTT、PDT、化学治疗、放射治疗以及联合治疗方面的研究进展进行综述, 并对BP基纳米材料在未来肿瘤治疗研究中的应用前景进行展望。

关键词 黑磷, 纳米载体, 肿瘤光热治疗, 肿瘤光动力治疗, 肿瘤联合治疗

2014年, 科学家首次从块状黑磷(black phosphorus, BP)晶体中剥离得到一种新型的二维(two-dimensional, 2D)纳米材料——黑磷纳米片(black phosphorus nanosheets, BPNSs)^[1], 之后人们对BP基纳米材料的探索不断深入, 使其迅速成为2D纳米材料领域的研究热点。在单层BP中, 每个磷原子与3个相邻的磷原子共价键合^[2], 形成沿之字形方向的双层结构和沿扶手椅方向的褶皱结构^[3]。这种各向异性的结构使BP基纳米材料具有许多独特的性质, 包括光学性质、机械性质、导电性质、热电性质和拓扑特性等^[4]。此外, 由于形成BP的磷是一种机体必需的元素, 是骨骼的重要组成部分, 约占总体重的1%^[5], 而且磷作为核酸的主要成分之一, 对维持生命健康至关重要, 因此BP材料具有良好的生物相容性。同时, BP在生物体内可降解为无毒的磷酸

盐, 不会对机体产生毒副作用^[6]。良好的生物相容和降解特性使BP基纳米材料自诞生不久便被科学家尝试用于生物医学领域^[7], 包括: (1) 在组织工程中, 利用BP良好的原位生物矿化特性^[8], BPNSs与3D打印技术相结合可用于修复肿瘤引起的骨缺损^[9]; (2) 在神经退行性疾病的治疗方面也有应用^[10], BPNSs可以有效捕获 Cu^{2+} , 从而保护神经系统免受 Cu^{2+} 诱导的神经细胞毒性; (3) 在生物传感器领域^[11], 利用纳米BP所独有的表面活性和光电性能, 其可用于功能化电极界面或作为特异的信号记录器, 实现对生物标志物的高灵敏度检测; (4) 在肿瘤诊疗领域, 可通过光热成像、光声成像等诊断肿瘤, 也可通过光热治疗(photothermal therapy, PTT)、光动力治疗(photodynamic therapy, PDT)等方法治疗肿瘤, 尤其是自2015年以来, BP基纳米材料在肿瘤

引用格式: 王佃余, 杨丽军, 刘鉴峰. 黑磷基纳米材料抗肿瘤研究进展. 科学通报, 2021, 66: 3684–3694

Wang D Y, Yang L J, Liu J F. Research progress of black phosphorus-based nanomaterials in the treatment of tumors (in Chinese). Chin Sci Bull, 2021, 66: 3684–3694, doi: [10.1360/TB-2021-0023](https://doi.org/10.1360/TB-2021-0023)

治疗方面的研究成果不断涌现。

目前用于肿瘤治疗研究的BP基纳米材料主要是BPNSs和黑磷量子点(black phosphorous quantum dots, BPQDs)(图1)^[12]。由于磷原子上有1对孤对电子, 因此BP基纳米材料表面带负电荷, 可以负载带正电的药物、靶向分子、金属纳米颗粒等。鉴于2D纳米材料具有的巨大比表面积, BP基纳米材料往往展现出比普通纳米材料更高的负载能力, 且能够同时负载多种物质, 可作为一种良好的药物递送载体, 在肿瘤治疗, 尤其是化学治疗中发挥着重要的作用。此外, 较大的带隙范围使BP具有宽的光谱吸收, 可以跨越红外-可见-紫外区^[13], 且具有高光热转化效率^[14], 再加上可作为光敏剂吸收光能高效产生活性氧(reactive oxygen species, ROS)的特点(量子产率可达0.91)^[15,16], 使BP基纳米材料在肿瘤PTT和PDT中发挥着越来越重要的作用。BPQDs是2015年制备出的一种新形式的BP纳米结构, 其在生物成像、荧光传感、非线性光吸收、癌症治疗、智能电子学、光伏、光电子学和柔性器件等领域的应用前景广阔^[17]。最近, 研究发现BPQDs可作为放疗增敏剂, 在肿瘤放射治疗中取得了良好的效果, 进一步扩大了BP基纳米材料的应用范围。更重要的是, BP基纳米材料通过机械剥离、液相剥离(有机溶剂辅助剥离、水辅助剥离、离子液体辅助剥离)等简单成熟的方法便可实现批量制备^[18], 为其今后可能的临床转化提供了便利^[19]。本文将着重介绍BP基纳米材料在肿瘤PTT、PDT、化学治疗、放射治疗以及多模式联合治疗中的研究进展(图2)。

1 肿瘤光热治疗

PTT是一种利用光热转化剂吸收NIR(near infrared, NIR)辐射光能并将其转化成局部过高热来消融肿瘤的微创治疗方法, 近年来受到研究者的广泛关注^[20]。由于

图1 (网络版彩色)黑磷纳米材料的制备方法及其微观结构
Figure 1 (Color online) The preparation and microstructure of black phosphorus nanomaterials

图2 (网络版彩色)黑磷在肿瘤治疗中的应用示意图
Figure 2 (Color online) Schematic diagram of the application of black phosphorus in tumor treatment

具有较高的光热转化效率, BP基纳米材料作为光热转化剂被应用于肿瘤光热治疗研究^[21]。Sun等人^[22]采用探头超声和水浴超声相结合的液相剥离方法制备了具有高光热转化效率和光稳定性的BPQDs, 并将聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)修饰于量子点表面, 增强了BPQDs在生理环境中的稳定性。该BPQDs表现出优异的近红外光热性能, 在808 nm处的消光系数为 $14.8 \text{ Lg}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, 光热转换效率可达28.4%。无光照条件下, 其对多种类型的细胞均未展现出明显的毒性, 但在808 nm光激发下, 其能够有效杀伤脑胶质瘤C6细胞和乳腺癌MCF-7细胞, 初步证明了BP作为光热转化剂的巨大潜力。2015年, Shao等人^[23]采用乳化溶剂挥发法制备了负载BPQDs的聚乳酸-羟基乙酸(poly(lactic-co-glycolic acid), PLGA)共聚物纳米球(BPQDs/PLGA)。疏水性的PLGA将BPQDs包裹于纳米球内部, 使之与氧气和水隔绝, 降低了BPQDs的降解速率, 同时提高了其光热稳定性。体内外实验表明, 该BPQDs/PLGA纳米球毒性小、生物相容性好, 在NIR激光照射下具有不俗的肿瘤消融效果。随后, 他们又将BPNSs负载于热敏性水凝胶聚丙交酯-聚乙二醇-聚丙交酯, 制备了一种可用于肿瘤术后辅助治疗的光热平台BP@PLEL(poly(D,L-lactide)-poly(ethylene glycol)-poly(D,L-lactide)(PDLLA-PEG-PDLLA, PLEL))^[24]。体外研究表明, 该水凝胶体系不仅

具有良好的生物可降解性和生物相容性,而且展现出优异的光热转化性能和NIR光诱导的快速溶液-凝胶转变行为.在NIR光照射下,喷洒在手术后伤口上的BP@PLEL混合液能够快速凝胶化形成一层凝胶膜,同时产生局部过高热,以消融手术切除后残留的肿瘤组织.这一PTT水凝胶平台在肿瘤术后治疗方面具有巨大的临床应用潜力.Hu等人^[25]通过配位和静电作用将 Cu^{2+} 附着于BPNSs表面,开发了一种高效的光热转化剂BP@Cu(图3). Cu^{2+} 壳层不仅提高了BPNSs的光热性能和稳定性,而且能在光照下与BPNSs反应,加速其降解.此外, Cu^{2+} 还可通过“类Fenton”反应催化肿瘤微环境中高表达的过氧化氢产生ROS,实现了化学动力学疗法与PTT的有机结合,提高了肿瘤治疗效果.同时,引入放射性 $^{64}\text{Cu}^{2+}$,利用其可作为造影剂介导体内PET成像的优势,示踪纳米材料进行药代动力学研究,并对肿瘤的治疗效果进行实时监测.

综上所述,BP作为光热转化剂在肿瘤PTT中已经得到广泛研究,且BP基纳米材料介导的PTT也取得了令人满意的肿瘤治疗效果.然而,BP极易与氧气和水发生反应,在体循环过程中不可避免地被氧化降解,这势必会降低其在肿瘤部位的蓄积量,影响PTT效果.因此,通过调节表面修饰基团的种类、附着量及修饰方

式(静电吸附、配位作用、化学键合等)使BP在体内的滞留时间达到最佳,即在保证完成治疗的前提下尽可能快地降解代谢,能够更加充分地发挥BP的治疗功效,同时避免其在体内长时间蓄积而引起的毒副作用.

2 肿瘤光动力治疗

PDT的原理是依赖光敏剂将光能转传递给周围的氧气分子,产生ROS,引起氧化应激反应,最终导致肿瘤细胞凋亡^[26].与传统的肿瘤治疗方法相比,PDT对机体侵入性小,不会引起肿瘤细胞耐药,因此近年来发展迅速,目前已被应用于一些皮肤癌的临床治疗^[27].然而,传统光敏剂水溶性差、量子产率低、缺乏肿瘤靶向性的缺点、肿瘤组织固有的乏氧问题以及肿瘤细胞抵御氧化应激损伤的自保护系统均限制了PDT的进一步应用^[28].为解决上述难题,科学家作出了不懈努力.2016年,Lü等人^[29]将 $\text{NaGdF}_4:\text{Yb},\text{Er}@\text{Yb}@\text{Nd}@\text{Yb}$ 上转换纳米粒子(upconverting nanoparticles, UCNPs)和BPNSs整合于一体(图4),设计了一种多功能复合材料作为光敏剂,用于单波长激光介导的肿瘤PDT.通过修饰聚丙烯酸(polyacrylic acid, PA)和PEG,大大增加了材料在水相中的溶解性和稳定性.在808 nm激光照射下,该光敏剂可以产生大量的ROS,展现出优异的体内外

图3 (网络版彩色)基于BP@Cu杂化纳米材料的多功能肿瘤诊疗平台^[25]

Figure 3 (Color online) A multifunctional tumor theranostic platform based on the BP@Cu hybrid nanomaterial^[25]

图4 (网络版彩色)负载UCNP的BPNSs在近红外光照下产生ROS的示意图^[29]

Figure 4 (Color online) Schematic illustration of ROS generation by UCNP-loaded-BPNSs under NIR irradiation^[29]

抗肿瘤效果。随后, Liu等人^[30]用叶酸和DNA双链结构阻断剂5'-Cy5-适配子-血红素/3'-血红素标记的寡核苷酸对BPNSs进行功能化, 研制了一种具有肿瘤靶向能力的肿瘤微环境刺激触发的氧气自供应纳米系统, 克服了PDT过程中缺氧造成的治疗阻力, 增强了肿瘤PDT效果。

BP在光照条件下可以高效产生ROS, 且量子产率高于绝大多数2D材料, 因此其在肿瘤PDT领域的研究层出不穷, 并取得了令人鼓舞的科研成果。然而, 肿瘤内部固有的乏氧环境往往会严重影响ROS的产生。因此, 在BP介导肿瘤PDT的过程中如何同时缓解肿瘤乏氧将是今后需要着重关注的问题。

3 肿瘤化学治疗

化学治疗是最常用的肿瘤治疗方法之一。然而传统化疗药往往存在水溶性差导致的体内循环半衰期短以及缺乏肿瘤靶向性引起的药物全身分布等问题^[31], 因此治疗过程中药物不仅被机体的利用度较低, 还会对正常组织造成很大的毒副作用^[32]。近年来, 纳米材料不仅能利用比表面积大的特点高效负载传统化疗药, 还能借助其独有的体内长循环能力和高通透性和滞留(enhanced permeability and retention effect, EPR)效应被动靶向并富集于肿瘤组织, 实现了化疗药的有效递送, 同时降低了其对机体的损伤, 因此在肿瘤治疗研究中受到了越来越多的关注^[33]。作为2D纳米材料, BP具有非常大的比表面积, 可以高效负载一种或同时负载多种药物, 并通过EPR效应被动靶向富集到肿瘤部位。随后, 富集于肿瘤部位的BP在高氧化性的ROS环境中能够快速降解, 释放负载的化疗药物, 发挥抗肿瘤作

用。Qiu等人^[34]将PEG修饰的BPNSs混于低熔点琼脂糖凝胶中, 制备了NIR光控制的黑磷@水凝胶(BP@Hydrogel)药物释放体系(图5)。体内外实验显示, 在NIR光照射下, 借助于BP良好的光热转化性能产生热量, 促使该BP@Hydrogel软化进而融化, 释放化疗药阿霉素(doxorubicin, DOX), 实现对肿瘤细胞的有效杀伤。此外, 由于具有低细胞毒性和高生物降解性, 他们认为该BP@Hydrogel药物载体有望实现临床转化, 对大多数肿瘤都能起到治疗的作用。单一的BP基纳米材料在药物递送方面也展现出令人鼓舞的效果。例如, Tao等人^[35]以高生物相容性和生理稳定性的PEG修饰的BPNSs为纳米载体, 可以高效地递送化疗药DOX和花青素染料(cyanine7, Cy7), 分别用于肿瘤的化学治疗和荧光成像, 展现出良好的肿瘤诊疗一体化效果。2018年, Zhou等人^[36]发现BP本身对癌细胞就具有选择性抗增殖的作用, 而对正常细胞没有毒性。他们认为造成上述结果的原因是肿瘤细胞与正常细胞相比, 氧化应激增强和能量代谢加快, 促进了BP的快速降解, 细胞内磷酸阴离子浓度急剧升高, 因此对肿瘤细胞产生了强烈的抗增殖作用。通过实验又阐明了BP对癌细胞的杀伤作用机制是通过G2/M期阻滞引起的细胞凋亡和自噬介导的细胞死亡。上述发现为BP基肿瘤化疗药物的设计提供了新思路。

在构建药物递送系统(drug delivery system, DDS)时, 载药平台的稳定性和载药量的多少决定了DDS的应用前景。BP比表面积大, 存在较多褶皱结构, 在负载药物方面具有得天独厚的优势, 再加上具有良好的生物相容性和可降解性的特点, 因而在药物递送中大放异彩。但是裸BP材料上因缺乏化学官能团, 故只能通

过较弱的静电及配位作用来实现药物负载及表面修饰, 难免造成载药方式单一、药物容易泄漏以及载药平台不稳定的问题. 因此, 未来需致力于通过化学反应向BP表面引入可化学修饰的官能团的研究, 以丰富药物负载及表面修饰的方式, 进一步提高DDS的稳定性, 从而获得更好的药物递送效果.

4 肿瘤放射治疗

放射治疗是临床上肿瘤治疗的主要方法之一, 它依赖于高能X-射线或 γ -射线辐射诱导DNA损伤和细胞凋亡来触发肿瘤消融^[37]. 肿瘤组织乏氧的特点增强了

肿瘤细胞对辐射的抵抗力, 而通过加大辐射剂量的方法虽然会提高放疗效果, 但也同时会对肿瘤邻近的健康组织造成损害并伴随副作用的产生^[38]. 因此开发适合低剂量辐射的放疗增敏剂一直以来都是肿瘤放射治疗领域研究的热点^[39]. 近年来, 研究发现, 在肿瘤光学治疗和化学治疗研究中大显身手的BP基纳米材料能增加肿瘤细胞对放射治疗的敏感性. 例如, Chan等人^[40]以化学修饰的PLGA纳米颗粒作为载体对BPQDs进行包裹(图6), 以避免其在血液循环过程中的非特异性释放和快速降解. 表面修饰的靶向肽Arg-Gly-Asp-Gys可以使该纳米系统高效地富集于肿瘤组织. 伴随着2,3-二甲

图 5 (网络版彩色)黑磷@水凝胶在近红外光照射下释放药物进行肿瘤治疗^[34]

Figure 5 (Color online) NIR-triggered therapeutic drug release from the BP@Hydrogel for tumor treatment^[34]

图 6 (网络版彩色)PLGA-SS-D@BPQDs在肿瘤放疗中的应用研究^[40]

Figure 6 (Color online) Rational design and application of PLGA-SS-D@BPQDs for tumor radiotherapy^[40]

基马来酸酐外壳在肿瘤组织弱酸性微环境中的脱落, 纳米颗粒表面由负电反转为正电, 利于其被细胞摄取. 进入细胞后, 在胞内高表达的谷胱甘肽作用下发生二硫键断裂, BPQDs从PLGA纳米颗粒中释放出来, 在X-射线的辐照下产生大量的ROS, 导致细胞凋亡, 从而实现了肿瘤的精准放疗增敏. 该工作为设计和构建级联响应型纳米系统作为有效的肿瘤放射增敏剂提供了新思路. 几乎同时, Huang等人^[41]通过在BPQDs表面生长超小的 Bi_2O_3 纳米颗粒制备了一种异质结构的纳米材料BP/ Bi_2O_3 , 用于X-射线诱导的肿瘤放射治疗. 表面修饰的 Bi_2O_3 占据了BPQDs表面的缺陷位点, 减缓了BP的降解速率, 提高了其在体内的稳定性. 在X-射线辐照下, BP和 Bi_2O_3 能够通过协同作用在细胞内产生大量的单线态氧, 诱导细胞凋亡和细胞周期停滞, 增强对肿瘤细胞的放射治疗效果. 在临床放射治疗仪上进行的黑色素瘤体内治疗实验表明, BP/ Bi_2O_3 放疗增敏剂能有效抑制肿瘤生长. 此外, 这种BP基放射增敏剂由生物友好的磷、氧、铋元素组成, 生物相容性良好, 具有很好的临床应用潜力.

放射治疗的主要作用机制一方面是通过辐射直接导致DNA损伤, 另一方面是通过提高细胞内的ROS水平, 以激活MAPK和p53信号通路, 诱导细胞凋亡. 基于BP在射线辐照条件下可以产生ROS的特性, 可以将其作为一种放疗增敏剂, 用于增强肿瘤放疗效果. 然而, 目前BP基纳米材料在肿瘤放疗增敏方面的研究尚处于探索阶段, 从当前的研究成果来看, BP介导的肿瘤放射治疗效果显著, 通过对BP材料的进一步修饰, 其有望在肿瘤放疗及放疗参与的联合治疗方面发挥更重要的作用.

5 肿瘤联合治疗

由于肿瘤细胞具有无限增殖性、浸润性和转移性的特点, 因此肿瘤治疗一直以来都是医学界的难题^[42], 而传统的单一模式治疗远远不能满足临床需求. 多种模式的联合治疗在对几乎所有类型肿瘤的治疗中均显示出比单一疗法更好的效果, 成为克服肿瘤的最有前途的方法之一. 多才多艺的BP基纳米材料在肿瘤联合治疗方面有着与生俱来的潜力^[43]. 正如前文所述, BP基纳米材料具有在NIR光激发下产生ROS和过高热的特性、大的比表面积可高效负载并递送药物的特性以及放疗增敏的特性, 使其在肿瘤PDT、PTT、化学治疗及放射治疗研究中大显身手. 基于以上, 近年来研究者

探索了BP在肿瘤PTT/PDT、化学/PTT、PTT/免疫、PTT/基因、PTT/PDT/化学等多种联合治疗中的应用前景.

2017年, Ou等人^[44]创新性地利用超声气泡爆破法将BP纳米化, 制造出尺寸均一的BPNSs. 然后, 他们利用该BPNSs负载化疗药DOX、靶向基团壳聚糖-聚乙二醇以及肿瘤生长抑制因子PD-1抗体和人端粒酶逆转录酶沉默RNA(siRNA), 实现了对结直肠癌的高效化学/光免疫疗法. Zhang等人^[45]将氧化铁碳点(Fe_3O_4 -CDs)纳米粒子与BPQDs组装, 制备了一种新型纳米复合材料GP-PGA- Fe_3O_4 -CDs@BPQDs, 具有较宽的光吸收带和光促降解性, 可用于肿瘤的PDT/PTT联合治疗. 体外和体内实验均表明, GP-PGA- Fe_3O_4 -CDs@BPQDs不仅具有高度的生物相容性, 在NIR激光照射下还能借助BPQDs产生ROS和过高热, 对肿瘤细胞进行有效杀伤, 获得了良好的抑瘤效果. 此外, 由于磁性纳米粒子 Fe_3O_4 的存在, 该材料还展现出不俗的肿瘤磁共振成像性能. 为了更好地发挥BP在PTT/PDT中的作用, Liang等人^[46]将UCNPs和BPQDs包裹在适配体修饰的脂质体中(aptamer-modified liposome, Apt-Lip), 构建了UCNPs@BPQDs@Apt-Lip(UBAL)原生细胞. 该UBAL原生细胞模拟了光合细菌的结构, 具有主动采集近红外光的能力并可高效地将光能转化为化学能和热能, 在体内展现出良好的PDT和PTT联合治疗效果. 该工作是BP参与构建可与生物有机体相媲美的智能纳米系统的一次重要尝试. 随后, Zhang等人^[47]通过静电作用首次在BPNSs表面负载化疗药米托蒽醌(mitoxantrone, MTX)并包覆透明质酸(hyaluronic acid, HA)以提高BP的体内稳定性和肿瘤靶向性, 制备了BP@MTX-HA纳米给药系统. BP@MTX-HA不仅具有较高的光热转化效率, 还展现出独特的pH/NIR激光双重触发的MTX释放行为, 对4T1荷瘤BALB/c小鼠的肿瘤生长有明显的抑制作用. 该化学/PTT联合治疗纳米系统的肿瘤治疗效果明显优于单一的MTX化疗或NIR激发的PTT方案. Chen等人^[48]以PEG和聚乙烯亚胺(polyethyleneimine, PEI)修饰的BPNSs作为一种可降解的纳米载体(PPBP), 通过静电吸附作用高效负载siRNA, 并将其递送至肿瘤组织. 该PPBP-siRNA能够顺利地被细胞摄取, 并在细胞内弱酸性和高ROS的环境中逐渐降解, 释放siRNA, 对肿瘤进行基因治疗. 此外, 在不同波长的激光照射下, PPBP载体本身可同时作为光敏剂和光热转化剂, 对肿瘤进行PDT和PTT. 体内抑瘤实验显示, 通过

PPBP-siRNA的基因/PTT/PDT联合治疗,有效地抑制了肿瘤的生长和转移.随后,Chen等人^[49]报道了一种基于BPNSs的多模式治疗平台(图7),不仅能利用BP所固有的光学特性对肿瘤进行PDT和PTT,还能作为纳米载体,实现对化疗药DOX的高效递送以及pH/光响应性释放,完成对肿瘤的化学治疗.通过PDT/PTT/化学联合治疗,体内肿瘤治疗效果显著.此外,该系统还适用于其他药物的递送,例如DNA、siRNA、蛋白质等,为多功能纳米医用平台的设计开启了新的视角.

近年来,免疫治疗已成为肿瘤治疗领域的一大热点,而BP在肿瘤免疫方面的应用研究也不断涌现,例如入选2020中国光学领域十大社会影响力事件的“黑磷免疫抗肿瘤成果”就是其中一项代表性工作.在该研究中,Xie等人^[50]将基于BP的光免疫疗法和anti-CD47抗体(aCD47)相结合,用于提高对肿瘤的免疫治疗效果(图8).他们发现基于BP的过高热消融不仅可以直接破坏肿瘤细胞,释放肿瘤相关抗原,而且可以作为一种有效的特异性免疫激发器,增强肿瘤抗原的免疫刺激特性,缓解肿瘤微环境中的免疫抑制.同时,BP联合aCD47调节的免疫检查点阻断能够有效抑制肿瘤增殖,发挥显著的协同效应.此外,二者的联合还可诱导肿瘤相关巨噬细胞向M1型巨噬细胞的重极化,促进了吞噬功能的同时,还增强了肿瘤相关抗原的交叉呈递,从而激活了肿瘤特异性T细胞,可以有效抑制肿瘤细胞的转移.此外,Liang等人^[51]利用红细胞膜(red cell membrane, RM)包覆BPQDs制得BPQDs-RM纳米囊泡(BPQDs-RM NV)仿生制剂,具有体内长循环和肿瘤高效蓄积能力.通过NIR激光照射,囊泡中的BPQDs能够

实现光热转化,诱导乳腺癌细胞凋亡,同时招募树突状细胞来捕获肿瘤抗原,激活CD8⁺ T细胞,清除残留和转移的肿瘤细胞.此外,通过注射PD-1抗体,可有效防止CD8⁺ T细胞衰竭,进一步增强免疫系统清除残余肿瘤的能力.该BPQDs-RMNV介导的PTT结合免疫检查点阻断抗体治疗能够增加CD8⁺ T细胞在肿瘤中的浸润和活性,有效抑制基底样乳腺癌的生长,是PTT/免疫联合治疗肿瘤的典型实验案例.

尽管BP在肿瘤多模式联合治疗中的研究已经取得了不错的成果,但仍然存在许多问题亟待解决.首先,在联合治疗中,各种治疗模式通常是同时进行的,如此可能超出患者的最大耐受能力,治疗的同时对机体造成不可逆的损伤.因此,今后的研究需考虑通过降低给药/照射剂量及缩短照射时间的方式对联合治疗模式进行优化,在保证安全的前提下,获得最佳的抗肿瘤效果.其次,由于大多数肿瘤位于体内而非体表,目前研究最多的光学疗法因光的组织穿透力弱的缺点而对体内深层肿瘤的疗效不佳.因此,需要更加注重放射治疗的作用,将放射治疗与光学治疗及化学治疗等相结合或许是未来BP基纳米材料在肿瘤联合治疗领域的重点研究方向之一.

6 总结与展望

综上所述,BP基纳米材料具有高光热转化效率、高ROS产率、高载药量、良好的生物相容性和可降解性,因此在肿瘤治疗中显示出巨大的潜力.本文从BP基纳米材料的性质切入,综述了其在肿瘤的PTT、PDT、化学治疗、放射治疗以及多模式联合治疗中的应用.

图7 BPNSs-DOX药物输送系统用于肿瘤的光动力/光热/化学联合治疗(a)和黑磷纳米片的透射电子显微镜(TEM)图像(b)^[49]

图 8 (网络版彩色)基于BP的PTT结合aCD47介导的免疫检查点封锁增强肿瘤免疫治疗研究^[50]

Figure 8 (Color online) BP-based PTT with aCD47-mediated immune checkpoint blockade for enhanced tumor immunotherapy^[50]

目前,关于BP在肿瘤治疗中的研究主要集中在光学疗法和化学疗法,而对其在肿瘤放射治疗中的探究尚处于起步阶段,因此我们预计BP基纳米材料作为放疗增敏剂用于提高肿瘤的放射治疗效果或许是将来的一个研究热点。尽管目前BP基纳米材料在肿瘤治疗研究中展现出良好的效果,但是距离实现临床应用尚有很长的路要走。首先,大规模制备尺寸均一的BP基纳米材料仍然是一个巨大的挑战。目前大多数的剥离方法仍然是以溶剂为介质,难免会导致产物的复杂性,因此有必要探索BP基纳米材料的新制备工艺或对目前的制备方法进行不断改善。例如,可以探索可调控的微波和电介导方法,以满足大批量、高质量生产的需求。其次,化学官能团的缺乏限制了其表面功能基团的修饰和药物负载。目前,BP基纳米材料的表面改性大多依靠较弱的静电吸附作用,尽管这种方法比较简便,但是稳定性不足,周围环境(如pH、温度、电荷等)的变化会在一定

程度上破坏BP与附着物之间的结合,因此在体内循环过程中容易发生药物泄漏和氧化降解,大大降低了BP和药物的生物利用度。未来需重点研究通过配位作用、化学键合等修饰方式调节BP表面修饰基团的种类及密度,增加BP基纳米平台的官能团/活性中心数量以方便药物负载,同时进一步调节BP材料的体内循环稳定性,使其在发挥最佳治疗效果的同时又能尽快降解代谢,避免长时间体内蓄积引起的毒副作用。最后,纳米BP的生物降解机制和体内长期安全性尚不清楚,仍需开展进一步探究。在BP的生物医学应用中,必须对各种类型的BP基纳米材料在生物体内的吸收、分布、代谢及排泄行为进行系统研究,并考察其对机体的急性毒性和长期毒性,评价其临床应用前景。尽管如此,我们仍然相信,在2D材料不断发展的环境下,基于BP的纳米平台未来在生物医学领域,尤其是肿瘤治疗方面,有望发挥重要的作用。

参考文献

- 1 Li L, Yu Y, Ye G J, et al. Black phosphorus field-effect transistors. *Nat Nanotechnol*, 2014, 9: 372–377

- 2 Pan D X. Anisotropic bending behaviors and bending induced buckling in single-layered black phosphorus (in Chinese). *Chin Sci Bull*, 2015, 60: 764–770 [潘斗兴. 单层黑磷弯曲变形的各向异性及其失稳现象. 科学通报, 2015, 60: 764–770]
- 3 Ye X Y, Liang X, Zhang X D, et al. Black phosphorous quantum dot (BPQD) loaded erythrocyte membrane vesicles for photothermal therapy in breast cancer (in Chinese). *Int J Biomed Eng*, 2019, 42: 9–14 [叶鑫宇, 梁欣, 张旭东, 等. 负载黑磷量子点的红细胞膜囊泡在乳腺癌光热治疗中的应用. 国际生物医学工程杂志, 2019, 42: 9–14]
- 4 Sun C, Wen L, Zeng J, et al. One-pot solventless preparation of PEGylated black phosphorus nanoparticles for photoacoustic imaging and photothermal therapy of cancer. *Biomaterials*, 2016, 91: 81–89
- 5 Comber S, Gardner M, Georges K, et al. Domestic source of phosphorus to sewage treatment works. *Environ Technol*, 2013, 34: 1349–1358
- 6 Jana D, Jia S, Bindra A K, et al. Clearable black phosphorus nanoconjugate for targeted cancer phototheranostics. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2020, 12: 18342–18351
- 7 Xing C, Chen S, Qiu M, et al. Conceptually novel black phosphorus/cellulose hydrogels as promising photothermal agents for effective cancer therapy. *Adv Health Mater*, 2018, 7: 1701510
- 8 Wang Y, Hu X, Zhang L, et al. Bioinspired extracellular vesicles embedded with black phosphorus for molecular recognition-guided biomineralization. *Nat Commun*, 2019, 10: 2829
- 9 Luo M, Fan T, Zhou Y, et al. 2D black phosphorus-based biomedical applications. *Adv Funct Mater*, 2019, 29: 1808306
- 10 Chen W, Ouyang J, Yi X, et al. Black phosphorus nanosheets as a neuroprotective nanomedicine for neurodegenerative disorder therapy. *Adv Mater*, 2018, 30: 1703458
- 11 Ge X, Xia Z, Guo S. Recent advances on black phosphorus for biomedicine and biosensing. *Adv Funct Mater*, 2019, 29: 1900318
- 12 Yang X, Wang D, Shi Y, et al. Black phosphorus nanosheets immobilizing Ce6 for imaging-guided photothermal/photodynamic cancer therapy. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2018, 10: 12431–12440
- 13 Qu G, Xia T, Zhou W, et al. Property-activity relationship of black phosphorus at the nano-bio interface: From molecules to organisms. *Chem Rev*, 2020, 120: 2288–2346
- 14 Wang S, Shao J, Li Z, et al. Black phosphorus-based multimodal nanoagent: Showing targeted combinatory therapeutics against cancer metastasis. *Nano Lett*, 2019, 19: 5587–5594
- 15 Li Y, Liu Z, Hou Y, et al. Multifunctional nanoplatform based on black phosphorus quantum dots for bioimaging and photodynamic/photothermal synergistic cancer therapy. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2017, 9: 25098–25106
- 16 Wang H, Yang X, Shao W, et al. Ultrathin black phosphorus nanosheets for efficient singlet oxygen generation. *J Am Chem Soc*, 2015, 137: 11376–11382
- 17 Gui R, Jin H, Wang Z, et al. Black phosphorus quantum dots: Synthesis, properties, functionalized modification and applications. *Chem Soc Rev*, 2018, 47: 6795–6823
- 18 Zhao Y T, Wang H Y, Yu X F. Progress of fabrication and surface modification of 2D black phosphorus (in Chinese). *Chin Sci Bull*, 2017, 62: 2252–2261 [赵岳涛, 王怀雨, 喻学锋. 二维黑磷的制备及表面修饰技术研究进展. 科学通报, 2017, 62: 2252–2261]
- 19 Wang H, Zhong L, Liu Y, et al. A black phosphorus nanosheet-based siRNA delivery system for synergistic photothermal and gene therapy. *Chem Commun*, 2018, 54: 3142–3145
- 20 Wang S, Weng J, Fu X, et al. Black phosphorus nanosheets for mild hyperthermia-enhanced chemotherapy and chemo-photothermal combination therapy. *Nanotheranostics*, 2017, 1: 208–216
- 21 Wan S, Zhang B, Li S, et al. Combination of PEG-decorated black phosphorus nanosheets and immunoadjuvant for photoimmunotherapy of melanoma. *J Mater Chem B*, 2020, 8: 2805–2813
- 22 Sun Z, Xie H, Tang S, et al. Ultrasmall black phosphorus quantum dots: Synthesis and use as photothermal agents. *Angew Chem Int Ed*, 2015, 54: 11526–11530
- 23 Shao J, Xie H, Huang H, et al. Biodegradable black phosphorus-based nanospheres for *in vivo* photothermal cancer therapy. *Nat Commun*, 2016, 7: 12967
- 24 Shao J, Ruan C, Xie H, et al. Black-phosphorus-incorporated hydrogel as a sprayable and biodegradable photothermal platform for postsurgical treatment of cancer. *Adv Sci*, 2018, 5: 1700848
- 25 Hu K, Xie L, Zhang Y, et al. Marriage of black phosphorus and Cu²⁺ as effective photothermal agents for PET-guided combination cancer therapy. *Nat Commun*, 2020, 11: 2778
- 26 Nguyen H T, Byeon J H, Phung C D, et al. Method for the instant in-flight manufacture of black phosphorus to assemble core@shell nanocomposites for targeted photoimmunotherapy. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11: 24959–24970
- 27 Li X, Lovell J F, Yoon J, et al. Clinical development and potential of photothermal and photodynamic therapies for cancer. *Nat Rev Clin Oncol*, 2020, 17: 657–674
- 28 Fan W, Huang P, Chen X. Overcoming the Achilles' heel of photodynamic therapy. *Chem Soc Rev*, 2016, 45: 6488–6519

- 29 Lü R, Yang D, Yang P, et al. Integration of upconversion nanoparticles and ultrathin black phosphorus for efficient photodynamic theranostics under 808 nm near-infrared light irradiation. *Chem Mater*, 2016, 28: 4724–4734
- 30 Liu J, Du P, Mao H, et al. Dual-triggered oxygen self-supply black phosphorus nanosystem for enhanced photodynamic therapy. *Biomaterials*, 2018, 172: 83–91
- 31 Devadasu V R, Bhardwaj V, Kumar M N, et al. Can controversial nanotechnology promise drug delivery? *Chem Rev*, 2013, 113: 1686–1735
- 32 Yang Y, Sun B, Zuo S, et al. Trisulfide bond-mediated doxorubicin dimeric prodrug nanoassemblies with high drug loading, high self-assembly stability, and high tumor selectivity. *Sci Adv*, 2020, 6: eabc1725
- 33 Choi J R, Yong K W, Choi J Y, et al. Black phosphorus and its biomedical applications. *Theranostics*, 2018, 8: 1005–1026
- 34 Qiu M, Wang D, Liang W, et al. Novel concept of the smart NIR-light-controlled drug release of black phosphorus nanostructure for cancer therapy. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115: 501–506
- 35 Tao W, Zhu X, Yu X, et al. Black phosphorus nanosheets as a robust delivery platform for cancer theranostics. *Adv Mater*, 2017, 29: 1603276
- 36 Zhou W, Pan T, Cui H, et al. Black phosphorus: Bioactive nanomaterials with inherent and selective chemotherapeutic effects. *Angew Chem Int Ed*, 2018, 58: 769–774
- 37 Xiong Z, Zhang X, Zhang S, et al. Bacterial toxicity of exfoliated black phosphorus nanosheets. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2018, 161: 507–514
- 38 Lan S Y. Localized surface plasmon resonance based on black phosphorus@AuNPs nanosheet to enhance the photodynamic/thermal synergistic therapy of hepatocellular carcinoma (in Chinese). Master Dissertation. Fuzhou: Fujian Medical University, 2019 [蓝善优. 基于金-黑磷复合纳米材料的表面等离子共振效应增强光热/光动力协同治疗肝细胞癌的研究. 硕士学位论文. 福州: 福建医科大学, 2019]
- 39 Zhao Y, Tong L, Li Z, et al. Stable and multifunctional dye-modified black phosphorus nanosheets for near-infrared imaging-guided photothermal therapy. *Chem Mater*, 2017, 29: 7131–7139
- 40 Chan L, Gao P, Zhou W, et al. Sequentially triggered delivery system of black phosphorus quantum dots with surface charge-switching ability for precise tumor radiosensitization. *ACS Nano*, 2018, 12: 12401–12415
- 41 Huang H, He L, Zhou W, et al. Stable black phosphorus/Bi₂O₃ heterostructures for synergistic cancer radiotherapy. *Biomaterials*, 2018, 171: 12–22
- 42 Patel S A, Minn A J. Combination cancer therapy with immune checkpoint blockade: Mechanisms and strategies. *Immunity*, 2018, 48: 417–433
- 43 Yang D, Yang G, Yang P, et al. Assembly of Au plasmonic photothermal agent and iron oxide nanoparticles on ultrathin black phosphorus for targeted photothermal and photodynamic cancer therapy. *Adv Funct Mater*, 2017, 27: 1700371
- 44 Ou W, Byeon J H, Thapa R K, et al. Plug-and-play nanorization of coarse black phosphorus for targeted chemo-photoimmunotherapy of colorectal cancer. *ACS Nano*, 2018, 12: 10061–10074
- 45 Zhang M, Wang W, Cui Y, et al. Near-infrared light-mediated photodynamic/photothermal therapy nanoplatfrom by the assembly of Fe₃O₄ carbon dots with graphitic black phosphorus quantum dots. *Int J Nanomed*, 2018, 13: 2803–2819
- 46 Liang L, Tang Y, Hu X, et al. Photoresponsive biomimetic protocells for near-infrared-light-regulated phototheranostics. *CCS Chem*, 2019, 1: 490–501
- 47 Zhang F, Peng F, Qin L, et al. pH/near infrared dual-triggered drug delivery system based black phosphorus nanosheets for targeted cancer chemo-photothermal therapy. *Colloid Surf B-Biointerfaces*, 2019, 180: 353–361
- 48 Chen L, Chen C, Chen W, et al. Biodegradable black phosphorus nanosheets mediate specific delivery of hTERT siRNA for synergistic cancer therapy. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2018, 10: 21137–21148
- 49 Chen W, Ouyang J, Liu H, et al. Black phosphorus nanosheet-based drug delivery system for synergistic photodynamic/photothermal/chemotherapy of cancer. *Adv Mater*, 2017, 29: 1603864
- 50 Xie Z, Peng M, Lu R, et al. Black phosphorus-based photothermal therapy with aCD47-mediated immune checkpoint blockade for enhanced cancer immunotherapy. *Light Sci Appl*, 2020, 9: 161
- 51 Liang X, Ye X, Wang C, et al. Photothermal cancer immunotherapy by erythrocyte membrane-coated black phosphorus formulation. *J Control Release*, 2019, 296: 150–161

Summary for “黑磷基纳米材料抗肿瘤研究进展”

Research progress of black phosphorus-based nanomaterials in the treatment of tumors

Dianyu Wang, Lijun Yang* & Jianfeng Liu*

Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Science & Peking Union Medical College, Tianjin 300192, China

* Corresponding authors, E-mail: yanglijun@irm-cams.ac.cn; liujianfeng@irm-cams.ac.cn

Black phosphorus (BP), an attractive two-dimensional nanomaterial, has been widely used in optoelectronics, transistors, and photocatalysis. Recently, growing interest has been attracted to explore the application of BP-based nanomaterials for tumor therapy in view of their unique properties. First of all, BP has a wide absorption spectrum and high photothermal conversion efficiency, making it suitable for the photothermal therapy (PTT) of tumors. Second, due to its unique electronic structure, BP can be used as an efficient photosensitizer for producing a large amount of reactive oxygen species (ROS) for the photodynamic therapy (PDT) of tumors. Furthermore, BP is a promising nanocarrier with high drug-loading capacities due to its ultra-large surface area and surface modifiability rooting from the puckered layer structure with large amounts of negative charges. Recently, serving as a radiotherapy sensitizer, BP has also achieved favorable curative effects in tumor radiotherapy. More importantly, in comparison with most of the inorganic materials, BP has preferably biocompatibility and degradability with slight systemic side effects during its application *in vivo*. Based on the above decent properties, BP-based nanomaterials can not only be used for tumor single-mode treatment, but also be suitable for the multi-mode combination therapy of tumors to achieve superior therapeutic effect. We believe that the emergence of single phosphorus composed BP nanomaterials with versatile functions will provide more options for tumor treatment in the near future.

In this review, the structure and characteristics of BP were firstly introduced. Subsequently, multifunctional platform based on BP-based nanomaterials for cancer therapy, such as photothermal therapy, photodynamic therapy, chemotherapy, radiotherapy, photothermal/photodynamic combination therapy, chemo/photothermal combination therapy, photothermal/gene combination therapy, and chemo/photothermal/photodynamic combination therapy, were reviewed in detail. Finally, the application prospect of BP-based nanomaterials in future research on tumor therapy has been prospected.

Although BP-based nanomaterials have shown excellent performances in tumor treatment research, there is still a long way to achieve their clinical applications. The possible reasons are as follows. First, the size and thickness of BPNSs are still not completely controllable during the exfoliation process. At present, solvents are usually used as the medium in most of the peeling methods, which will lead to the complexity of the products. Therefore, it is necessary to explore new and controllable preparation strategies, such as the adjustable microwave- and electricity-mediated methods, to improve the exfoliation effect of BP. Second, the lack of chemical functional groups limits the surface modification and drug loading of BP-based nanomaterials. At present, the surface modification of BP-based nanomaterials mostly relies on weakly electrostatic adsorption. The complex physiological environment disrupts the integration of BP-based nanomaterials and the surface decorations, which will inevitably lead to drug leakage and BP degradation in the blood circulation. In the future, we need to focus on developing new surface modification methods (through coordination, chemical bonding, etc.) to enhance the drug loading stability and degradation resistance of BP materials *in vivo*. Third, it is necessary to systematically study the absorption, distribution, metabolism, and excretion behavior of various types of BP-based nanomaterials to investigate their acute and long-term toxicity in order to further evaluate the safety of their *in vivo* application. Nevertheless, we still believe that BP-based nanomaterials are expected to play an important role in tumor therapy in the near future.

black phosphorus, nanocarrier, tumor photodynamic therapy, tumor photothermal therapy, tumor combination therapy

doi: [10.1360/TB-2021-0023](https://doi.org/10.1360/TB-2021-0023)