

# 金纳米颗粒放射增敏机制研究进展

张旭阳,王皓,杨瑞杰

(北京大学第三医院,北京 100191)

**摘要:**金纳米颗粒(gold nanoparticles,GNPs)以其独特的理化特点而广泛应用于肿瘤诊疗研究。GNPs生物相容性好,原子序数高,对kV级射线的光电效应截面比软组织高,能提高肿瘤组织的局部能量沉积,是一种有良好应用前景的放射增敏剂。MV级射线通过康普顿散射与GNPs相互作用,但其截面远远低于kV级射线与GNPs作用的截面,因此GNPs对其增敏效应不如kV级射线显著。GNP诱导细胞内活性氧簇(reactive oxygen species,ROS)增加,引起DNA损伤,诱导细胞凋亡。GNPs通过调控细胞周期进程,使细胞阻滞在G<sub>2</sub>/M期,增强细胞的放射敏感性。此外,GNPs还能引起细胞内自噬体增多和溶酶体降解能力减弱并最终引起细胞死亡。GNPs也可以抑制缺氧诱导因子1 $\alpha$ (hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ ,HIF-1 $\alpha$ )和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)mRNA表达,使裸鼠肝癌血管形态趋于正常。

**关键词:**金纳米颗粒;放射增敏;机制

**中图分类号:**R730.55 **文献标识码:**A **文章编号:**1671-170X(2017)10-0895-04

**doi:**10.11735/j.issn.1671-170X.2017.10.B012

## Research Progress on Mechanisms Related to Radiosensitization of Gold Nanoparticles

ZHANG Xu-yang, WANG Hao, YANG Rui-jie

(Peking University Third Hospital, Beijing 100191, China)

**Abstract:** Owing to its unique physicochemical properties, gold nanoparticles (GNPs) have been extensively used for cancer diagnosis and treatment. GNP is a high Z material with excellent biocompatibility, and its photoelectric cross section for low energy photon beams is larger compared to that of soft tissue, which makes it a promising radiation sensitizer. MV photon beams interact with GNPs dominantly through Compton scattering; the Compton scattering cross-section for MV photons is smaller than the photoelectric cross-section for keV photons, thus the radiosensitization effect is not as significant as that for kV photons. The radiosensitization of GNPs is implemented by increasing energy deposit in the surrounding cellular environment, elevating the level of reactive oxygen species, causing DNA damage and inducing cell apoptosis. GNPs can regulate cell cycle by arresting more cells in the G<sub>2</sub>/M phase, which is most sensitive to radiotherapy. Besides, GNPs induce autophagosome accumulation and lower the degradation capacity of lysosomes, eventually causing cell death. GNPs can also normalize vasculature by inhibiting HIF-1 $\alpha$  mRNA and VEGF mRNA expression in hepatic tumor of nude mice.

**Subject words:** gold nanoparticles; radiosensitization; mechanisms

随着现代放射治疗的发展,肿瘤放疗的临床疗效显著提升,但肿瘤未控或复发,以及较严重的正常组织损伤仍然是放疗需要解决的主要问题。探索新型放射增敏剂,在提高肿瘤剂量的同时降低正常组织和危及器官剂量是目前研究的热点。近年来,纳米技术的发展为肿瘤诊疗带来了新的契机。金纳米颗粒(gold nanoparticles,GNPs)以其独特的理化特点广

泛应用于肿瘤诊疗研究<sup>[1-4]</sup>。GNPs具有良好的生物相容性<sup>[5,6]</sup>,能够制备成不同大小和不同形状,易于进行功能化修饰。大量的理论和实验证实GNPs具有良好的放射增敏效应,GNPs具有成为放射增敏剂的潜力<sup>[7-13]</sup>。然而,GNPs的放射增敏机制并不明确,本文综述其研究进展。

## 1 物理机制

kV级射线主要通过光电效应与物质发生相互

**通讯作者:**杨瑞杰,副研究员,硕士生导师,博士;北京大学第三医院肿瘤放疗科,北京市海淀区花园北路49号(100191);  
E-mail:13910801815@sina.cn

**收稿日期:**2016-09-26;**修回日期:**2017-03-15

作用,光子将能量全部转移给电子而使电子挣脱原子束缚成为光电子,原子的电子轨道出现一个空位而处于激发态,通过发射特征X射线或俄歇电子而回到基态。软组织主要由C、H、O、N等元素组成,其电子密度和光电效应截面较低,与kV级射线相互作用时吸收能量较少。金原子序数高( $Z=79$ ),电子密度远远高于软组织,当其与kV级射线相互作用时,发生光电效应的截面也远远高于软组织,会产生更多的次级电子和能量沉积。这是GNPs放射增敏效应的物理基础。Chithrani等<sup>[14]</sup>研究了GNPs对宫颈癌Hela细胞的放射增敏作用,14nm、50nm和74nm GNPs对220kV射线的增敏比分别为1.20、1.43、1.26。这显示了GNPs用于kV级射线放射增敏的显著效果。但目前临床上MV级射线在肿瘤放疗中应用的更加广泛。MV级射线与GNPs相互作用主要是通过康普顿散射,而康普顿散射的截面比kV级射线与GNPs相互作用发生光电效应的截面低约三个数量级。但MV级射线在穿过人体时,由于散射效应,低能光子( $<150$  keV)数量从空气中的0.5%增加到10cm深处的13%,若采用无均整器(flattening-filter-free, FFF)射线,甚至达到20%<sup>[15]</sup>。这虽然在一定程度上有助于提高GNPs对MV级射线的放射增敏效应,但是增敏效应并不显著。Rahman等<sup>[9]</sup>研究发现1.9nm GNPs对125kV、80kV、6MV X射线和6MV电子线的增敏比为1.76、1.64、1.14和1.37。Jain等<sup>[16]</sup>发现,对于MDA-MB-231细胞,GNPs对160kV、6MV和15MV X射线的增敏比分别为1.41、1.29和1.16。这都进一步证实了GNPs对kV级射线的增敏效应比MV级射线效应更高。但是,同样对于MDA-MB-231细胞,Zhao等<sup>[17]</sup>利用介孔硅作为载体,并偶联肿瘤靶向肽使得GNPs更容易与肿瘤细胞发生相互作用,此新型GNPs对6MV X射线的增敏比达到1.52,并且在动物实验中显示出良好的延缓肿瘤生长的效果。这说明只要对GNPs进行合适的修饰,其完全有潜力发挥对MV级射线的放疗增敏作用。

GNPs通过与射线相互作用产生次级电子发挥放射增敏作用,只有具备足够能量和射程的次级电子能到达靶细胞并影响细胞杀伤<sup>[18]</sup>。能量100kV以内X射线与GNPs相互作用产生的次级电子射程约几十纳米到几微米,而细胞大小约10~20 $\mu\text{m}$ ,因此,GNPs只有靠近甚至进入肿瘤细胞才能发挥最大作

用。GNPs进入肿瘤细胞有主动靶向和被动靶向两种主要机制。所谓被动靶向,是指纳米颗粒尺寸小于肿瘤血管内皮细胞之间的空隙(60nm~400nm)时,GNPs通过增强渗透和滞留效应(enhanced permeability and retention, ERP)被动渗出肿瘤血管进入肿瘤间质,同时由于肿瘤淋巴回流不畅导致GNPs在肿瘤中浓聚。主动靶向是指GNPs通过与细胞表面受体结合,经由细胞膜内吞而进入靶细胞。

## 2 生物学机制

有研究表明GNPs的放射增敏效应比单纯GNPs提高能量沉积引起的效应高<sup>[14,19,20]</sup>,提示GNPs的放射增敏机制不仅仅是光电效应导致的物理剂量提升,推测生物学机制也发挥了重要作用。Jain等<sup>[16]</sup>用博莱霉素作为类辐射剂来模拟射线引起DNA双链断裂(double strand break, DSB)的作用,评估在没有射线时,GNPs对博莱霉素的增敏效应。结果,博莱霉素浓度为5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时,单用博莱霉素的对照组细胞生存分数(surviving fractions, SF)为0.62,而在应用博莱霉素之前应用GNPs的实验组细胞SF为0.39。这提示GNPs放射增敏效应除了物理机制之外,可能还有其生物学机制。Taggart等<sup>[21]</sup>研究了GNPs对细胞内线粒体的作用,发现1.9nm GNPs单独作用能显著提升MDA-MB-231细胞和T98G细胞内线粒体膜上心磷脂的氧化水平,氧化的心磷脂介导线粒体内细胞色素c释放到细胞质中,细胞质中游离的细胞色素c是启动细胞内线粒体凋亡途径的关键分子。而GNPs联合2Gy X射线外照射并没有进一步提高或降低心磷脂的氧化水平,说明GNPs发挥作用是不依赖射线的,也提示生物学机制在GNPs放射增敏中发挥重要作用。

细胞内ROS增高导致DSB进而诱导细胞凋亡可能是GNPs放射增敏的潜在生物学机制之一。Chithrani等<sup>[14]</sup>发现GNPs联合220kVp X射线外照射后的Hela细胞中 $\gamma\text{H2AX}$ 和53BP1的表达量明显高于单纯外照射组。 $\gamma\text{H2AX}$ 和53BP1高表达是细胞内DSB的重要标志,提示GNPs的增敏效应与细胞内DSB增加有关。Butterworth等<sup>[8]</sup>在研究1.9nm GNPs的细胞毒性及放射增敏效应时也发现GNPs引起照射细胞内DSB增加,并推测这种作用可能是

由 ROS 介导的。Geng 等<sup>[22]</sup>在研究 14nm Glu-GNPs 对 SK-OV-3 细胞的增敏作用时发现, Glu-GNPs 能显著提升细胞内 ROS 水平, 导致细胞内氧化应激增强, 细胞凋亡增加。

GNPs 能改变细胞凋亡过程中关键蛋白的表达进而调控细胞凋亡。Bcl-2 家族在调控细胞凋亡的过程中发挥了重要作用, Bax 和 Bcl-2 是 Bcl-2 家族的重要成员, 其中 Bax 属于促凋亡蛋白, Bcl-2 属于抗凋亡蛋白。Zhang 等<sup>[23]</sup>在研究中发现, GNPs 联合外照射组与单独外照射组相比, 细胞内产生更多的 ROS, ROS 耗竭超氧化物歧化酶, 谷胱甘肽等细胞内还原性保护剂, 使 DNA 损伤, 同时诱导 HepG2 细胞上调对 Bax、Caspase-3 表达, 降低对 Bcl-2 的表达, 导致细胞凋亡。p53 是调控 Bcl-2 家族蛋白表达的重要因子, 推测 GNPs 可能通过调控 p53/Bcl-2 通路发挥放射增敏效应。同时这项研究再一次证实了 ROS 在 GNPs 放射增敏效应中的作用。

GNPs 能影响细胞周期进程。肿瘤细胞对射线的敏感度与其所处的细胞周期有关, G<sub>2</sub>/M 期最敏感, G<sub>1</sub> 期较敏感, G<sub>0</sub> 期具有一定抵抗, S 期最不敏感<sup>[24]</sup>。Wang 等<sup>[25]</sup>发现 19nm 和 46nm 的 GNPs 使 MDA-MB-231 细胞阻滞在 G<sub>2</sub>/M 期。Roa 等<sup>[10]</sup>研究发现 Glu-GNPs 能促进 DU-145 细胞对细胞周期蛋白 Cyclin E 和 Cyclin B1 的表达, 同时抑制 p53 和 Cyclin A 的表达, 最终使细胞快速通过 G<sub>1</sub>/S 期, 并阻滞在 G<sub>2</sub>/M 期。即一方面 Glu-GNPs 抑制 p53 的表达, 导致 Cyclin E 过度表达, 从而加速 G<sub>1</sub>/S 期, p53 的抑制同时会使得 Cyclin B1 表达增多, 引起 G<sub>2</sub>/M 期阻滞。另一方面, Glu-GNPs 抑制 Cyclin A 的表达, 也能引起 G<sub>2</sub>/M 期阻滞。

GNPs 还可以影响细胞自噬。自噬是实现细胞内物质新陈代谢及某些细胞器更新的一种重要途径。基础水平的自噬是维持细胞内稳态所必须的。Ma 等<sup>[26]</sup>在研究中发现, GNPs 通过受体介导的内吞进入细胞, 并聚集在溶酶体内, 碱化溶酶体内的 pH 值, 削弱溶酶体的降解能力, 还能导致自噬体与溶酶体的融合发生障碍。GNPs 处理过的细胞中自噬体增多, 自噬体标志蛋白 LC3 II 表达增加, 自噬底物蛋白 p62 的降解却受到阻滞, p62 表达增加。LC3 II 表达增加代表自噬启动, 而 p62 蛋白主要通过自噬降解, p62 蛋白增加, 表明自噬减弱。如果 LC3 II 升高, p62

升高, 表明自噬启动正常, 但下游不通, 即自噬流阻滞, 自噬体和溶酶体不能融合, 这提示 GNPs 是通过阻滞自噬流而非诱导自噬来引起自噬体增多, 进而影响细胞内稳态。Luo 等<sup>[27]</sup>研究发现, 宫颈癌细胞系过表达 JAK2, 而槲皮素偶联的 GNPs 能抑制 JAK2 表达, 进而诱导凋亡、自噬, 抑制宫颈癌细胞增殖。这种作用是通过 STATs 调控的 Bcl-2/Caspase-3 信号通路和 PI3K/Akt 相关的 GSK 和 mTOR 信号通路实现的。

此外, GNPs 还能通过作用于肿瘤血管发挥一系列效应。潘运龙等<sup>[28]</sup>发现, GNPs 可与血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor 165, VEGF165) 通过化学键连接, 形成以 GNPs 为核、VEGF165 为壳的 GNPs-VEGF165 复合物, 使 VEGF165 与其受体结合的位点失活或被阻断, 抑制 VEGF165 的信号转导, 从而抑制 HUVECs 增殖。傅岳武等<sup>[29]</sup>发现 GNPs 能抑制血管生成素-2 (angiopoietin-2, Ang-2) 和 G 蛋白信号调节蛋白-5 (regulator of G-protein signaling-5, RGS-5) 在裸鼠肝癌组织中的过度表达, 减少不成熟周细胞对新生血管的覆盖, 使裸鼠肝癌血管正常化。傅岳武等<sup>[30]</sup>又研究了 GNPs 对裸鼠肝癌缺氧诱导因子-1 $\alpha$  (hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ ) 和 VEGF mRNA 表达及肿瘤血管的影响, 结果 GNPs 组与对照组相比, 肿瘤体积明显减小, 肿瘤血管直径也明显减少, HIF-1 $\alpha$  mRNA 和 VEGF mRNA 表达也较对照组明显降低, 说明 GNPs 可以使裸鼠肝癌血管形态趋于正常, 降低肿瘤血液灌注; 抑制 HIF-1 $\alpha$  mRNA、VEGF mRNA 表达, 发挥肿瘤生长的作用。

### 3 小 结

GNPs 的放射增敏效应是物理机制和生物学机制综合作用的结果。金原子序数高, 与 kV 级射线相互作用截面远高于软组织, GNPs 通过发射次级电子提高局部能量沉积, 是其放射增敏效应的物理基础。GNPs 通过诱导细胞凋亡, 调控细胞周期, 影响细胞自噬发挥其放射增敏作用。GNPs 诱导细胞内产生更多的 ROS, 引起 DNA 损伤, 通过 p53 调控 Bcl-2 家族的表达水平, 激活线粒体凋亡途径, 引起细胞凋亡。GNPs 还能通过调节细胞周期蛋白表达使更多细

胞阻滞在 G<sub>2</sub>M 期, 增加细胞放射敏感性。此外, GNP<sub>s</sub> 引起细胞内自噬体增多和溶酶体降解能力下降, 并最终引起细胞死亡。GNP<sub>s</sub> 对肿瘤血管的作用也在抗肿瘤的过程中发挥了重要作用。总之, 目前对 GNP<sub>s</sub> 放射增敏机制的研究并不透彻, 尤其是其生物学机制。另外, 如何对 GNP<sub>s</sub> 进行功能化修饰使其能特异性定位到所需位点以充分发挥作用也需要进一步研究。

## 参考文献:

- [1] Baetke SC, Lammers T, Kiessling F. Applications of nanoparticles for diagnosis and therapy of cancer [J]. *Br J Radiol*, 2015, 88(1054): 20150207.
- [2] Paciotti GF, Myer L, Weinreich D, et al. Colloidal gold: a novel nanoparticle vector for tumor directed drug delivery [J]. *Drug Deliv*, 2004, 11(3), 169-183.
- [3] Joh DY, Sun L, Stangl M, et al. Selective targeting of brain tumors with gold nanoparticle-induced radiosensitization [J]. *PLoS One*, 2013, 8(4): e62425.
- [4] Emerich DF, Thanos C. Targeted nanoparticle-based drug delivery and diagnosis [J]. *J Drug Target*, 2007, 15(3): 163-183.
- [5] Shukla R, Bansal V, Chaudhary M, et al. Biocompatibility of gold nanoparticles and their endocytotic fate inside the cellular compartment: a microscopic overview [J]. *Langmuir*, 2005, 21(23): 10644-10654.
- [6] Zhang XD, Wu D, Shen X, et al. In vivo renal clearance, biodistribution, toxicity of gold nanoclusters [J]. *Biomaterials*, 2012, 33(18): 4628-4638.
- [7] Hainfeld JF, Slatkin DN, Smilowitz HM. The use of gold nanoparticles to enhance radiotherapy in mice [J]. *Phys Med Biol*, 2004, 49(18): N309-N315.
- [8] Butterworth KT, Coulter JA, Jain S, et al. Evaluation of cytotoxicity and radiation enhancement using 1.9 nm gold particles: potential application for cancer therapy [J]. *Nanotechnology*, 2010, 21(29): 295101.
- [9] Rahman WN, Wong CJ, Ackerly T, et al. Polymer gels impregnated with gold nanoparticles implemented for measurements of radiation dose enhancement in synchrotron and conventional radiotherapy type beams [J]. *Australas Phys Eng Sci Med*, 2012, 35(3): 301-309.
- [10] Roa W, Zhang X, Guo L, et al. Gold nanoparticle sensitize radiotherapy of prostate cancer cells by regulation of the cell cycle [J]. *Nanotechnology*, 2009, 20(37): 375101.
- [11] Kong T, Zeng J, Wang X, et al. Enhancement of radiation cytotoxicity in breast-cancer cells by localized attachment of gold nanoparticles [J]. *Small*, 2008, 4(9): 1537-1543.
- [12] Zhang X, Xing JZ, Chen J, et al. Enhanced radiation sensitivity in prostate cancer by gold-nanoparticles [J]. *Clin Invest Med*, 2008, 31(3): E160-E167.
- [13] Liu CJ, Wang CH, Chen ST, et al. Enhancement of cell radiation sensitivity by pegylated gold nanoparticles [J]. *Phys Med Biol*, 2010, 55(4): 931-945.
- [14] Chithrani DB, Jelveh S, Jalali F, et al. Gold nanoparticles as radiation sensitizers in cancer therapy [J]. *Radiat Res*, 2010, 173(6): 719-728.
- [15] Schuemann J, Berbeco R, Chithrani DB, et al. Roadmap to clinical use of gold nanoparticles for radiation sensitization [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2016, 94(1): 189-205.
- [16] Jain S, Coulter JA, Hounsell AR, et al. Cell-specific radiosensitization by gold nanoparticles at megavoltage radiation energies [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2011, 79(2): 531-539.
- [17] Zhao N, Yang ZR, Li BX, et al. RGD-conjugated mesoporous silica-encapsulated gold nanorods enhance the sensitization of triple negative breast cancer to megavoltage radiation therapy [J]. *Int J Nanomedicine*, 2016, 11: 5595-5560.
- [18] Leung MK, Chow JC, Chithrani BD, et al. Irradiation of gold nanoparticles by x-rays: monte carlo simulation of dose enhancements and the spatial properties of the secondary electrons production [J]. *Med Phys*, 2011, 38(2): 624-631.
- [19] Berbeco RI, Korideck H, Ngwa W, et al. DNA damage enhancement from gold nanoparticles for clinical MV photon beams [J]. *Radiat Res*, 2012, 178(6): 604-608.
- [20] Butterworth KT, McMahon SJ, Taggart LE, et al. Radiosensitization by gold nanoparticles: effective at megavoltage energies and potential role of oxidative stress [J]. *Transl Cancer Res*, 2013, 2(4): 269-279.
- [21] Taggart LE, McMahon SJ, Currell FJ, et al. The role of mitochondrial function in gold nanoparticle mediated radiosensitization [J]. *Cancer Nanotechnol*, 2014, 5(1): 5-16.
- [22] Geng F, Song K, Xing JZ, et al. Thio-glucose bound gold nanoparticles enhance radio-cytotoxic targeting of ovarian cancer [J]. *Nanotechnology*, 2011, 22(28): 285101.
- [23] Zheng Q, Yang H, Wei J, et al. The role and mechanisms of nanoparticles to enhance radiosensitivity in hepatocellular cell [J]. *Biomed Pharmacother*, 2013, 67(7): 569-575.
- [24] Mahmoudi M, Azadmanesh K, Shokrgozar MA, et al. Effect of nanoparticles on the cell life cycle [J]. *Chem Rev*, 2011, 111(5): 3407-3432.
- [25] Wang C, Jiang Y, Li X, et al. Thioglucose-bound gold nanoparticles increase the radiosensitivity of a triple-negative breast cancer cell line (MDA-MB-231) [J]. *Breast Cancer*, 2015, 22(4): 413-420.
- [26] Ma X, Wu Y, Jin S, et al. Gold nanoparticles induce autophagosome accumulation through size-dependent nanoparticle uptake and lysosome impairment [J]. *ACS Nano*, 2011, 5(11): 8629-8639.
- [27] Luo CL, Liu YQ, Wang P, et al. The effect of quercetin nanoparticle on cervical cancer progression by inducing apoptosis, autophagy and anti-proliferation via JAK2 suppression [J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 82: 595-605.
- [28] Pan YL, Qiu SY, Qin L, et al. Observation of molecular interaction between gold nanoparticle and VEGF165 with atomic force microscope [J]. *Chin J Pathophys*, 2010, 26(12): 2295-2300. [潘运龙, 邱思远, 覃莉, 等. 纳米金与 VEGF165 分子作用的原子力显微镜研究 [J]. *中国病理生理杂志*, 2010, 26(12): 2295-2300.]
- [29] Fu YW, Pan YL, Qin L, et al. Inhibition of Ang-2 and RGS-5 expression by nanogold results in normalization of vasculature in hepatic tumor [J]. *Chin J Pathophys*, 2011, 27(12): 2247-2250. [傅岳武, 潘运龙, 覃莉, 等. 纳米金抑制 Ang-2 和 RGS-5 表达导致裸鼠肝癌血管正常化 [J]. *中国病理生理杂志*, 2011, 27(12): 2247-2250.]
- [30] Fu YW, Pan YL, Qin L, et al. Effects of gold nanoparticles on HIF-1 $\alpha$  and VEGF mRNA expression and normalizing vasculature in hepatic tumor of nude mice [J]. *Canc Res Prev Treat*, 2014, 41(1): 5-8. [傅岳武, 潘运龙, 覃莉, 等. 纳米金对裸鼠肝癌 HIF-1 $\alpha$  和 VEGF mRNA 表达及肿瘤血管的影响 [J]. *肿瘤防治研究*, 2014, 41(1): 5-8.]