



# 利用声动力作用诱导细胞焦亡的肝癌治疗方式

张妮丝, 戴志飞<sup>△</sup>

北京大学未来技术学院 生物医学工程系(北京 100871)

**【摘要】** 肝癌是导致全球癌症相关死亡的主要原因之一,然而,目前所有肝癌治疗方案都无法实现完全治愈。近年来,关于细胞焦亡的研究在癌症治疗领域备受关注。细胞焦亡是一种炎性细胞死亡,与活性氧(ROS)导致的氧化应激密切相关,诱导细胞焦亡可以抑制肿瘤增殖并提高肿瘤的免疫响应性,被认为是用于开发新的肿瘤治疗方案的治疗机制。声动力疗法(SDT)协同使用声敏剂和低强度聚焦超声,产生具有细胞毒性的ROS,具有一定的肝癌治疗优势和潜力。然而,目前利用SDT的肝癌治疗仍停留在临床前研究阶段,其具体的超声治疗条件、生物学效应及作用机制尚不完全清晰。本文将从细胞焦亡在肝癌治疗中的潜力,SDT产生ROS以治疗癌症的机制和SDT在临床和基础研究中的进展等方面,探讨利用SDT强迫肿瘤中积累超过细胞毒性阈值的ROS,促进细胞发生焦亡,提高机体对肿瘤的免疫反应响应率,以及SDT诱导细胞焦亡的机制在癌症治疗中的应用前景,从而为SDT治疗肝癌的临床转化提供更多理论参考和实验依据。

**【关键词】** 声动力治疗 超声 肝癌 细胞焦亡 免疫治疗 综述

**Utilizing Sonodynamic Therapy-Induced Pyroptosis for Liver Cancer Therapy** ZHANG Nisi, DAI Zhifei<sup>△</sup>.

Department of Biomedical Engineering, College of Future Technology, Peking University, Beijing 100871, China

<sup>△</sup> Corresponding author, E-mail: zhifei.dai@pku.edu.cn

**【Abstract】** Liver cancer is one of the leading causes of cancer-related deaths worldwide. However, all liver cancer treatment options currently available fail to achieve a complete cure. Recently, research on pyroptosis has attracted significant attention from researchers in the field of cancer therapy. Pyroptosis is an inflammatory cell death closely related to oxidative stress caused by reactive oxygen species (ROS). The induction of pyroptosis can lead to the inhibition of tumor proliferation and the improvement of tumor immune responsiveness and is considered a novel therapeutic mechanism that can be utilized to develop new cancer therapies. Sonodynamic therapy (SDT), which involves a synergistic application of sonosensitizers and low-intensity focused ultrasound to generate cytotoxic ROS, demonstrates certain advantages and potentials in the treatment of liver cancer. However, liver cancer treatment utilizing SDT is still in the stage of preclinical research, and the specific conditions of ultrasound treatment, the biological effects, and the mechanisms of action are not fully understood. In this review, we discussed the potential of utilizing pyroptosis in liver cancer treatment, the mechanism of cancer therapy with ROS generated by SDT, and the latest findings concerning SDT from clinical and basic research. We discussed the utilization of SDT to force the accumulation of ROS in tumors to exceed the cytotoxicity threshold. Thus, SDT promotes pyroptosis and enhances the immune response to cancer. Furthermore, we discussed the prospects for applying the mechanism of SDT-induced pyroptosis in cancer therapy, thereby providing a better theoretical and experimental foundation for the clinical translation of SDT for liver cancer treatment.

**【Key words】** Sonodynamic therapy Ultrasound Liver cancer Pyroptosis Immunotherapy  
Review

肝癌是一种侵袭性癌症,随着局部发展、肝内扩散和远处转移而进一步恶化,患者致死率极高,5年生存率仅为18%<sup>[1]</sup>。肝癌的主要治疗方式包括手术和非手术,后者包括肝动脉化疗栓塞术(TACE)和化疗<sup>[2]</sup>。但目前所有肝癌治疗方案都无法实现完全治愈,并且存在副作用大和疗效有限的问题。因此,有必要进一步研究其他生物标志物,深入了解肝癌发展的潜在机制和相关的内在耐药性。通过单独或与其他治疗方式相结合,开发新的肝癌

治疗方法,有望提高肿瘤杀伤率和患者生存率。这需要持续的科学研究和临床实践的支持,以期肝癌患者带来更有效的治疗选择和更好的治疗结果。

目前,已有大量研究表明,活性氧(ROS)在肝癌中具有促进或抑制的双重作用<sup>[3-4]</sup>。通过探索和控制肿瘤细胞和正常细胞中产生ROS的反应机制,了解肿瘤细胞的发展和死亡,强迫肿瘤中积累过量的ROS,从而压倒肿瘤抗氧化系统,促使肿瘤细胞死亡,是一种可行的癌症治疗方式<sup>[5]</sup>。本文将从ROS氧化应激导致的细胞焦亡在肝癌治疗中的潜力、声动力疗法(SDT)产生ROS以治疗癌症的

<sup>△</sup> 通信作者, E-mail: zhifei.dai@pku.edu.cn

出版日期: 2024-09-20

机制,以及SDT的临床和基础研究进展等方面,讨论SDT诱导细胞焦亡的机制在肝癌治疗中的应用前景。

## 1 细胞焦亡在肝癌治疗中的潜力

近年来,关于细胞焦亡的研究在癌症治疗领域备受关注。细胞焦亡被定义为一种炎症性的程序性细胞死亡(PCD)<sup>[6]</sup>,与ROS导致的氧化应激有着密切关系。与凋亡不同,焦亡与Gasdermin蛋白家族有关,在细胞质膜上形成孔洞,导致肿瘤细胞裂解。细胞内的损伤相关分子模式(DAMP)或细菌内毒素激活吞噬细胞中的炎症小体,激活炎症性Caspase 1/4/5/11等,释放成熟的白细胞介素(IL)-1 $\beta$ 、IL-18和DAMP<sup>[7]</sup>。研究表明,细胞焦亡有利于清除病原体 and 增强先天免疫<sup>[8]</sup>,可以激发炎症反应,改善肿瘤免疫微环境,进而激活强大的T细胞抗肿瘤免疫反应,实现与免疫检查点抑制剂协同抗肿瘤作用<sup>[8-9]</sup>。因此,诱导细胞焦亡被认为是用于开发新的肿瘤治疗方案、降低化疗耐药性、提高癌症患者的生活质量的新治疗机制<sup>[10]</sup>。

然而,目前研究较多的化疗药物、小分子药物或核酸药物,在诱导肿瘤焦亡时难以避免对正常组织的伤害,可能导致肝细胞脂肪变性、肾毒性<sup>[11]</sup>、脓毒症<sup>[12]</sup>等毒副作用或严重疾病。因此,设计通过触发肿瘤细胞的急性炎症、诱导肿瘤细胞焦亡的治疗策略,避免对正常组织的长期氧化损伤,可以增强免疫反应并抑制肿瘤生长<sup>[6]</sup>,在肝癌治疗方面具有巨大潜力。

## 2 声动力技术的临床应用进展

超声在医学成像诊断中的应用已有悠久历史,近年来,超声由于其相对较低的组织衰减系数,具有非侵入性穿透深部生物组织的能力,因此在医学治疗研究中得到广泛应用<sup>[13]</sup>。尤其是对于肝癌组织,在微创和无创治疗方面更具优势。不论是单独利用超声,或是超声联合药物递送,都可以用来治疗各种疾病<sup>[14]</sup>。目前,已有许多方案获得FDA批准用于临床治疗或是正处于临床试验阶段<sup>[15-16]</sup>。利用超声激活声敏剂治疗恶性肿瘤的SDT已经成为超声治疗中发展迅速的一个分支。SDT是一种由光动力治疗(PDT)发展而来的有效、无创根除实体瘤的新兴治疗手段<sup>[17-19]</sup>。SDT通过协同使用声敏剂和低强度聚焦超声,产生大量的ROS。SDT在肝癌治疗中具有诸多方面的应用优势。例如,相较于手术治疗,超声治疗可直接穿透组织并靶向肿瘤部位(可深入组织数十厘米处),实现真正的无创治疗。

### 2.1 声敏剂的研究进展

用于SDT癌症治疗的理想声敏剂应当具备多方面特

性。声敏剂应当能够高效响应超声并产生过量ROS的制剂,以实现对肿瘤的有效治疗;同时,在没有超声的作用下,能在肿瘤部位特异地富集,并且在短时间内从体内排出,避免对正常组织造成损伤。一旦声敏剂在肿瘤部位有效富集,通过设置超声辐射,可以实现对肿瘤的精准治疗。目前,大多研究中的声敏剂来源于光敏剂,其中第一代光敏剂组分复杂,不能有效损伤靶组织,且对正常组织也会产生光毒性。第二代光敏剂大多为卟啉类化合物的衍生物,如卟啉、卟吩、红紫素、内源性卟啉等,以及金属酞菁、稠环醌类化合物等<sup>[20]</sup>,在临床阶段或已上市的产品包括艾拉(5-ALA)、喜泊芬(Hp)、复美达(hemoporfin)和福大赛因(ZnPcs,P<sub>2</sub>)等<sup>[20]</sup>。然而,这些化合物对病灶的选择性依然有限,无法实现对肿瘤的精准递送。针对这些问题,目前还在基础研究阶段的第三代光敏剂,着重于将光敏剂与其他具有生物活性的分子(如单克隆抗体、多肽等)连接,以提高对病灶组织的选择性。另外,许多化疗药物也具有声动力效应,这些药物分子通常具有类似声敏剂的多双键或芳香环结构。此外,为了提高ROS的量子产率,也有研究使用无机和金属材料作为声敏剂,如二氧化钛(TiO<sub>2</sub>)、黑磷和金属有机框架(MOF)等,但这些材料的生物安全性还有存在争议<sup>[21]</sup>,未来的研究将需要明确其生物医学应用价值。

近年来,纳米技术的研究给肿瘤治疗带来了新的发展方向。由于纳米具有特殊的物理化学性质,如纳米尺寸效应和巨大的比表面积等,纳米材料可以与生命体相互作用产生生物化学效应<sup>[22]</sup>。因此,纳米药物递送系统为实现复杂的靶向策略和多功能性治疗方案提供了可能,使声敏剂能够在发挥对癌症协同增效作用的同时,降低药物对正常组织的毒副作用。

### 2.2 声动力治疗的相关临床试验进展

近期,SDT在临床试验中有了新的进展,其中,哈尔滨医科大学附属第一医院主持了多个SDT相关项目,利用华卟啉(DVDMS, 0.2 mg/kg)作为声敏剂对心血管疾病进行治疗,目前已获得美国FDA批准并进入了临床 I ~ II 期<sup>[23-25]</sup>(项目编号: NCT03967730, NCT03871725, NCT03382249, NCT03318484, NCT03457662)。这些项目中的超声条件包括:声强为1.6 W/cm<sup>2</sup>,中心频率为1 MHz,占空比为30%;另外,在癌症治疗方面,美国St. Joseph's Hospital and Medical Center也利用声敏剂SONALA-001(ALA, 60 mg/kg),配合磁共振引导的聚焦超声设备(MRgFUS)(Exablate Neuro, InSightec)对脑胶质瘤进行SDT<sup>[26-27]</sup>(项目编号: NCT04559685, NCT04845919);同时,日本Tokyo Medical University获日本医学会批准,利用

NC-6 300, 一种基于表柔比星 (epirubicin) 的多聚物胶束, 作为声敏剂, 配合高强度聚焦超声 (HIFU) ( $75 \sim 150 \text{ W/cm}^2$ ) 产生热效应的作用, 对不可切除的顽固性癌症进行治疗。目前两项研究均处于临床 I 期试验阶段<sup>[28]</sup> (项目编号: JPRN-UMIN000027283)。由此可以看出, SDT 是一种对深部组织疾病和肿瘤具有临床转化潜力的新型癌症治疗方式。然而, 目前 SDT 相关临床试验仍停留在早期, 同时, 对基于 SDT 产生 ROS 的癌症治疗机制了解不足, 且尚未有 SDT 在肝癌治疗中的临床试验, 大多相关研究停留在基础研究阶段, 进展缓慢。因此, 如何探索 SDT 治疗肝癌的机制, 从而发挥 SDT 在肝癌治疗中的优势, 推动 SDT 在肝癌治疗中的临床转化应用, 是重要的研究方向。

### 3 利用声动力技术诱导细胞焦亡在肝癌治疗中的应用前景

在肝癌的治疗中, 肿瘤临近肝门外周区域时, 超声治

疗较之手术及其他局部消融治疗具有较为明显的优势, 可大大降低术后窦道、气胸、出血及坏死等并发症的风险, 提高患者的生存率<sup>[29]</sup>。同时, 超声治疗对较大的肿瘤可进行反复多次的治疗, 且不会对患者身体机能产生额外负担。超声治疗可以避免局部消融后肿瘤针道转移与周围扩散率高的问题<sup>[30]</sup>, 更加安全, 且具有较大的治疗范围, 展现出更广阔的临床应用前景。

#### 3.1 声动力技术在肝癌治疗方面的研究进展

在肝癌治疗方面, SDT 仍处在临床前的基础研究阶段 (表 1)。有研究评估了华卞啉 (DVDMS) 介导的 SDT 对小鼠肝癌的治疗作用<sup>[31]</sup>。该研究发现, DVDMS-SDT 增加了 G<sub>2</sub>/M 期细胞的比例, 降低了周期蛋白依赖性激酶 1 (CDK1) 和 Cyclin B1 的蛋白表达, 上调了 p53 和 Bax 表达, 下调了 Bcl-2 表达, 从而引发 Caspase 3 激活, 最终诱导细胞凋亡, 研究人员在小鼠皮下肝癌模型中观察到有效的肿瘤抑制和存活时间延长的作用。另一项研究为了打破缺

表 1 声动力技术在肝癌治疗方面的临床前研究进展  
Table 1 Preclinical studies of sonodynamic therapy for liver cancer

Ref	Experimental model	Sonosensitizer	Experimental conditions				Combination therapy	Therapeutic outcomes
			Frequency	Acoustic pressure/intensity	Duty cycle	Duration		
[32]	HepG2 cell line	IR780@O <sub>2</sub> NBs	1 MHz	3 W/cm <sup>2</sup>	50%	30 s	None	Facilitated tumor apoptosis
[33]	HepG2 cell line	IR820 NBs	1 MHz	3 W/cm <sup>2</sup>	50%	90 s	MG-132	Decreasing mitochondrial membrane potential
[31]	Balb/c nude mouse model, s.c. inoculation of HepG2	DVDMS	1.1 MHz	1 W/cm <sup>2</sup>	10%	NA	None	Inhibited G <sub>2</sub> /M phase of liver cancer cells; Activated p53/caspase 3 pathway
[34]	C57BL/6 mouse model, s.c. inoculation of Hepa1-6	ICG@C <sub>3</sub> F <sub>8</sub> -R848 NBs	NA	1 W/cm <sup>2</sup>	NA	2 min	None	Inducing the polarization of macrophage from M2 to M1 phenotype
[35]	Balb/c nude mouse model, s.c. inoculation of SMMC-7721	HMONs-PpIX-RGD	1 MHz	1.5 W/cm <sup>2</sup>	50%	5 min	Doxorubicin	Controllable stimuli-responsive release of doxorubicin and 84.7% inhibition rate of tumor growth
[36]	Balb/c nude mouse model, s.c. inoculation of HepG2	IR820@NCP	1 MHz	1 W/cm <sup>2</sup>	50%	1 min	RAS inhibitor: farnesyl-thiosalicylic acid	Inhibited endothelial cells and a modulated immunity; Modulated hepatic stellate secretes hepatocyte growth factor
[37]	Balb/c nude mouse model, s.c. inoculation of HepG2	HMME@Lip-Cas9	1 MHz	1 W/cm <sup>2</sup>	50%	1-5 min	CRISPR-Cas9	Downregulating NFE2L2 expression
[38]	Balb/c nude mouse model, s.c. inoculation of HepG2	HPDF nanoparticles	1 MHz	3 W/cm <sup>2</sup>	NA	5 min	Doxorubicin	Inhibiting tumor neovascularization and tumor collagen accumulation
[39]	Balb/c nude mouse model, s.c. inoculation of Hepa1-6	USFNPs	1 MHz	1 W/cm <sup>2</sup>	50%	3 min	Doxorubicin	Suppressing p-gp expression
[40]	Balb/c nude mouse model, s.c. inoculation of H22	Ce6-NBs	1 MHz	1.82 W/cm <sup>2</sup>	50%	120 s	Anti-PD-L1 antibody	Suppressed Bcl-2 expression in liver cancer cells; Enhanced CD8 <sup>+</sup> T cells infiltration into tumors
[41]	Balb/c nude mouse model, s.c. inoculation of HepG2	CR-PEG-GBP	1 MHz	2.68 W/cm <sup>2</sup>	NA	5 min	Photothermal therapy	Improving accumulation and retention of sonosensitizers in tumors
[42]	Balb/c nude mouse model, orthotopic inoculation of HepG2; C57BL/6 mouse model, s.c. inoculation of Hepa1-6	DPMSN	500 kHz	400 kPa	25%	2 min	Doxorubicin and Anti-PD-L1 antibody	Facilitating tumor cell pyroptosis and enhancing immune cell infiltration into tumors

NA: not available; Ref: reference; s.c.: subcutaneous.

氧诱导的阻力提高SDT功效,开发了具有脂质壳以及负载氧气的气核结构、负载声敏剂IR780的纳米气泡(IR780@O<sub>2</sub> NBs)<sup>[32]</sup>。在超声靶向微泡破坏作用的协助下(1 MHz, 3 W/cm<sup>2</sup>, 50%占空比, 30 s), IR780@O<sub>2</sub> NBs不仅使声敏剂以可控的方式更有效地富集在肿瘤部位,而且直接介导氧气释放,并提供足够的氧气产生更多ROS,从而诱导肝癌细胞凋亡,在小鼠皮下肝癌模型实现了肝癌的有效抑制。此外,还有许多研究是通过配合其他治疗方式进行联合治疗,或建立有效的疗效评价或机制研究方法,来提升SDT疗效。例如,一项研究开发了一种基于中空介孔有机硅纳米粒子(HMONs)的靶向可生物降解纳米声敏剂,可以负载原卟啉,并通过连接精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(RGD)特异性靶向肝癌细胞<sup>[35]</sup>,为肝癌靶向化疗提供了化疗剂的有效负载,并在超声照射下(1 MHz, 1.5 W/cm<sup>2</sup>, 50%占空比),促进了阿霉素的治疗过程,在小鼠皮下肝癌模型中取得了84.7%的肝癌抑制率<sup>[36]</sup>。

可以看出,SDT的肝癌治疗研究主要针对小鼠皮下肝癌模型,研究重点集中在对声敏剂和化疗药物的靶向递送技术,同时,也有研究开始重视并探索对肿瘤细胞的死亡方式,以及对肿瘤免疫微环境的调控作用。有研究利用IR820纳米胶囊以增强SDT(1 MHz, 1 W/cm<sup>2</sup>, 50%占空比, 1 min),并与RAS抑制剂法呢基硫代水杨酸相结合,在小鼠皮下肝癌模型中实现诱导抗癌作用<sup>[36]</sup>。这种联合治疗方式,不仅可以抑制肿瘤进展,还可以进行荧光成像。为剖析该联合SDT策略的机制,该研究团队进行了单细胞转录组测序(scRNA-seq),从相应差异表达基因中,发现联合治疗是通过抑制内皮细胞和调节免疫来实现抑制肝癌的作用,并且肝星状体分泌肝细胞生长因子也在治疗过程中起到关键作用。另外,有研究团队发现核因子红系2相关因子2(NFE2L2)在SDT期间会立即被激活,而抑制了SDT功效<sup>[37]</sup>。为解决这个问题,研究中设计并构建了载血卟啉单甲醚(HMME)的基于CRISPR-Cas9基因编辑系统(HMME@Lip-Cas9)的超声遥控器(1 MHz, 1 W/cm<sup>2</sup>, 50%占空比, 1~5 min)。该系统可以通过击倒NFE2L2以减轻副作用,从而提高小鼠皮下肝癌模型中的SDT疗效。

因此,进一步探索SDT诱导细胞死亡并调控肝癌肿瘤免疫微环境,从而提高SDT疗效,或将成为未来的前景和发展方向。

### 3.2 声动力治疗诱导细胞焦亡在癌症治疗中的潜力

针对诱导细胞焦亡的癌症治疗方式,目前研究主要集中在化疗药物、小分子药物或核酸药物。然而,这些方法在诱导肿瘤焦亡时无法避免对正常组织的伤害,会导

致肝细胞脂肪变性等毒副作用,甚至引发严重疾病。因此,需要通过进一步抑制长期焦亡反应的方式[如体内特异性敲除消皮素 D(GSDMD),或利用GSDMD抑制剂双硫仑<sup>[43]</sup>]来治疗并发症,反而可能为患者带来更多负担。为解决这一问题,未来需要探索新的诱导肿瘤细胞焦亡的治疗方式,使其能够精准靶向肿瘤部位,提高肿瘤中的ROS水平,从而促进肿瘤的急性焦亡反应。这样的治疗策略有望增强免疫反应并抑制肿瘤生长,在肝癌治疗方面具有巨大潜力。

SDT技术具有可以产生瞬间高浓度的ROS并诱导细胞急性焦亡的能力,通过设计声敏剂靶向肿瘤,并利用聚焦超声和适合的超声剂量精准治疗肿瘤,可以实现对肿瘤周围正常组织的保护,减少其受SDT过程中产生ROS的影响,从而避免造成毒副作用。另外,通过化疗联合SDT可以调控肿瘤微环境的免疫响应,协同增强对癌症的治疗效果,是一个值得研究的重要方向。在将SDT诱导细胞焦亡用于癌症治疗方面,已有研究表明,利用SDT联合免疫检查点抑制剂是一种治疗乳腺癌的有效策略<sup>[44]</sup>,研究团队设计了负载LY364947的多孔偶联网络(PCN-224),并用红细胞膜进行伪装,在超声辐照下产生ROS,激活Caspase 3凋亡信号通路。实验结果显示,焦亡蛋白介导的抗肿瘤免疫反应增强了T淋巴细胞在小鼠乳腺癌肿瘤中的浸润,几乎完全消除了肿瘤,并形成了免疫记忆。

声敏剂通常具有双键或芳香环结构,而具有类似结构的部分化疗药物(如DOX)也表现出在超声作用下增强细胞杀伤能力的声动力作用。DOX作为一种广谱抗癌药物,通过氧化应激破坏DNA和RNA,从而杀伤肿瘤细胞。有研究表明,DOX也可以在超声辐射下产生ROS:将DOX与人淋巴瘤细胞共同孵育30 min,后施加超声(1 MHz, PRF=100 Hz, Duty cycle=10%,声强0.2~0.5 W/cm<sup>2</sup>,作用时间60 s),实验结果发现92%的细胞被有效抑制<sup>[45]</sup>。这可以可能是由于超声的声穿孔效应或热效应增加了细胞膜的通透性,使得化疗药物能够被肿瘤细胞高效摄取,从而导致肿瘤细胞死亡。

总之,SDT作为可以产生ROS并引起炎症反应的治疗方式,配合可以诱导肿瘤细胞焦亡的化疗药物,可以进一步对肿瘤微环境的免疫响应作用进行调控,增强对癌症的治疗。因此,利用诱导细胞焦亡治疗癌症是SDT的重要研究方向。

### 3.3 声动力治疗诱导细胞焦亡的机制在肝癌治疗中的研究进展

近期有研究报道,SDT诱导细胞焦亡从而实现肝癌

治疗具有可行性。基于SDT在肝癌治疗的基础研究中展现出的有效性和安全性,以及利用SDT诱导细胞焦亡在其他癌症中所展现出的潜力,有研究团队设计了共轭负载声敏剂酞菁的介孔二氧化硅纳米粒子(PMSN),PMSN介导的SDT可以产生大量ROS,诱导肝癌细胞发生焦亡,并调节肿瘤微环境的免疫响应性,从而在原位肝癌的小鼠模型中实现了治疗效果<sup>[42]</sup>。由于DOX对肿瘤细胞高效的杀伤作用,在解决DOX的肿瘤靶向性和安全性的关键问题的同时,DOX也经常作为协同SDT的化疗药物之一,具有一定的声敏性<sup>[46]</sup>,且DOX可通过ROS-JNK-Caspase 3-GSDME信号通路诱导细胞焦亡<sup>[11]</sup>。该研究团队也利用该机制,载DOX的PMSN(DPMSN),由于DOX不仅可以与SDT相互促进抗癌功效,还可能在超声辐射下发生氧化应激性,因此,DPMSN联合超声可以同时实现靶向的肝癌化疗和SDT。这主要通过Caspase 3/GSDME和Caspase 4/GSDMD依赖的信号通路实现大量肿瘤细胞的焦亡,不仅能够起到杀伤细胞的作用,而且有利于增强免疫响应性,进一步杀伤肝癌细胞。

虽然该研究依然停留在小鼠模型阶段,但为SDT诱导细胞焦亡和调节肝癌免疫微环境从而进行肝癌治疗的新兴策略提供了可行性的依据,在推动其在肝癌治疗的临床转化方面展现出巨大的潜力。

## 4 建议

为了推动SDT诱导细胞焦亡在肝癌治疗中的临床转化,需要从以下几个方面进行进一步的研究:①声敏剂性能的优化和超声参数筛选:需要对声敏剂的性能进行优化,以提高其在肿瘤细胞中的富集和ROS产生能力,以及产生的ROS对细胞焦亡的影响。同时,需要针对不同声敏剂和肝癌类型进行超声参数的筛选,以找到最适合的治疗方案。②肿瘤微环境的免疫调控研究:肝癌微环境对SDT的治疗效果起着重要作用。因此,需要深入研究肿瘤微环境中免疫细胞的活性和免疫抑制因子的表达,并探索如何通过SDT调控肿瘤微环境,提高肝癌细胞焦亡的治疗效果。③在体SDT导航和治疗过程的技术优化:SDT的精准性和安全性取决于在体导航和治疗过程的控制。因此,需要研究开发新的导航技术和治疗监控方法,以实现肿瘤的精确定位和治疗过程的实时监测。④建立合适的肝癌模型和疗效评价方法:需要建立更加真实可靠的肝癌模型,包括动物模型和体外细胞模型,以评估SDT的疗效和安全性。同时,需要制定合理的疗效评价方法,包括肿瘤体积、生存率、细胞焦亡等指标,以评估SDT的治疗效果。通过对以上关键科学问题

的综合性研究,并提出相应的解决方案,可以推动SDT诱导细胞焦亡在肝癌治疗中的进一步发展,并最终实现临床转化。

## 5 总结与展望

SDT技术具备产生瞬间高浓度ROS并诱导细胞急性焦亡的能力,这种焦亡过程可以诱导肿瘤内炎症反应,从而吸引免疫细胞浸润到肿瘤微环境中,有望提高免疫治疗的响应率<sup>[44]</sup>。有通过ROS激活Gasdermin的应用研究,揭示了细胞焦亡的抗肿瘤免疫作用<sup>[47]</sup>。利用SDT提高肿瘤局部ROS水平促进肿瘤的急性焦亡反应,辅助PD-1/PD-L1抑制进行免疫治疗,是提高肝癌疗效的重要研究方向<sup>[48]</sup>。通过提高肿瘤局部ROS水平促进肿瘤的急性焦亡反应,同时避免对正常组织的长期氧化损伤,有望提升肝癌治疗效果,并增强机体的抗肿瘤免疫性,从而延长患者生活质量和生存期<sup>[49]</sup>。

然而,SDT是一个非常复杂的过程,其中涉及多种影响因素。除了声敏剂类型外,与声敏剂相匹配的超声相关参数(超声频率、超声强度、占空比、超声作用时间等)也没有做到统一规范,而国内外研究中鲜有报道对SDT中超声主要参数的筛选和优化。根据文献中的相关报道,相关研究人员无法确定声敏剂是否可以匹配常用的超声参数,以及是否可以在该条件下发挥最大的声动力效应。尽管国内外在超声及SDT领域取得了很多新的进展,但其具体作用机制尚不完全清晰,因此,还需要进行大量的实验,深入研究超声的剂量、类型与不同肿瘤模型的超声及声动力生物学效应及机制,从而为SDT临床治疗疾病提供理论依据。

SDT对肝癌治疗的研究是多学科交叉领域,涉及化学、生物学、药学和超声相关工程学等多个领域。随着声动力技术的不断发展,相关理论和机制的不断完善,SDT在肝癌的诊断和治疗等方面将会有更重大的突破,基于纳米技术的声动力癌症治疗的研究涵盖了药物精准递送,声敏剂载体构建,以及SDT过程中对免疫系统的作用等方面。SDT对癌症的治疗方兴未艾,未来的发展应以影像引导的精准治疗技术的仪器设备为前提,发展可用于声动力实时定位和剂量可控的可视化定位技术。这需要多学科背景的专家和研究人员协同合作,共同克服其中的困难。此外,研究也应当进一步加强不同分期肝癌的动物模型研究,包括对不同肿瘤大小、不同肿瘤分期的研究,以确保实验结果的有效性,并在条件成熟时进一步开展大型动物以及人体的临床试验研究。

\* \* \*

**作者贡献声明** 张妮丝负责正式分析、调查研究、初稿写作和审读与编辑写作,戴志飞负责论文构思、经费获取、提供资源和监督指导。所有作者已经同意将文章提交给本刊,且对将要发表的版本进行最终定稿,并同意对工作的所有方面负责。

**Author Contribution** ZHANG Nisi is responsible for formal analysis, investigation, writing--original draft, and writing--review and editing. DAI Zhifei is responsible for conceptualization, funding acquisition, resources, and supervision. All authors consented to the submission of the article to the Journal. All authors approved the final version to be published and agreed to take responsibility for all aspects of the work.

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

**Declaration of Conflicting Interests** All authors declare no competing interests.

### 参 考 文 献

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, WAGLE N S, *et al.* Cancer statistics, 2023. *Ca-Cancer J Clin*, 2023, 73(1): 17–48. doi: 10.3322/caac.21763.
- [2] WU C Y, LIN L Y, LEE T Y, *et al.* Clinical guidelines for early hepatocellular carcinoma treatment options: a systematic review and bibliometric analysis. *Int J Surg*, 2024. doi: 10.1097/JIS9.0000000000001950.
- [3] PELICANO H, CARNEY D, HUANG P. ROS stress in cancer cells and therapeutic implications. *Drug Resist Updat*, 2004, 7(2): 97–110. doi: 10.1016/j.drup.2004.01.004.
- [4] CUI Q, WANG J Q, ASSARAF Y G, *et al.* Modulating ROS to overcome multidrug resistance in cancer. *Drug Resist Updat*, 2018, 41: 1–25. doi: 10.1016/j.drup.2018.11.001.
- [5] ZOU Z, CHANG H, LI H, *et al.* Induction of reactive oxygen species: an emerging approach for cancer therapy. *Apoptosis*, 2017, 22(11): 1321–1335. doi: 10.1007/s10495-017-1424-9.
- [6] YU P, ZHANG X, LIU N, *et al.* Pyroptosis: mechanisms and diseases. *Signal Transduction Targeted Ther*, 2021, 6(1): 128. doi: 10.1038/s41392-021-00507-5.
- [7] ZHANG Y, CHEN X, GUEYDAN C, *et al.* Plasma membrane changes during programmed cell deaths. *Cell Res*, 2018, 28(1): 9–21. doi: 10.1038/cr.2017.133.
- [8] WANG Q, WANG Y, DING J, *et al.* A bioorthogonal system reveals antitumour immune function of pyroptosis. *Nature*, 2020, 579(7799): 421–426. doi: 10.1038/s41586-020-2079-1.
- [9] ZHANG Z, ZHANG Y, XIA S, *et al.* Gasdermin E suppresses tumour growth by activating anti-tumour immunity. *Nature*, 2020, 579(7799): 415–420. doi: 10.1038/s41586-020-2071-9.
- [10] FANG Y, TIAN S, PAN Y, *et al.* Pyroptosis: A new frontier in cancer. *Biomed Pharm*, 2020, 121: 109595. doi: 10.1016/j.biopha.2019.109595.
- [11] SHEN X, WANG H, WENG C, *et al.* Caspase 3/GSDME-dependent pyroptosis contributes to chemotherapy drug-induced nephrotoxicity. *Cell Death Dis*, 2021, 12(2): 186. doi: 10.1038/s41419-021-03458-5.
- [12] LIU L, SUN B. Neutrophil pyroptosis: new perspectives on sepsis. *Cell Mol Life Sci*, 2019, 76(11): 2031–2042. doi: 10.1007/s00018-019-03060-1.
- [13] DU M, CHEN Z, CHEN Y, *et al.* Ultrasound-targeted delivery technology: a novel strategy for tumor- targeted therapy. *Curr Drug Targets*, 2019, 20(2): 220–231. doi: 10.2174/1389450119666180731095441.
- [14] MITRAGOTRI S. Healing sound: the use of ultrasound in drug delivery and other therapeutic applications. *Nat Rev Drug Disc*, 2005, 4(3): 255–260. doi: 10.1038/nrd1662.
- [15] TER HAAR G. Therapeutic applications of ultrasound. *Prog Biophys Biophys Chem*, 2007, 93(1/2/3): 111–129. doi: 10.1016/j.pbiomolbio.2006.07.005.
- [16] SHAPIRO G, WONG A W, BEZ M, *et al.* Multiparameter evaluation of *in vivo* gene delivery using ultrasound-guided, microbubble-enhanced sonoporation. *J Controlled Release*, 2016, 223: 157–164. doi: 10.1016/j.jconrel.2015.12.001.
- [17] ZHOU Z, SONG J, NIE L, *et al.* Reactive oxygen species generating systems meeting challenges of photodynamic cancer therapy. *Chem Soc Rev*, 2016, 45(23): 6597–6626. doi: 10.1039/c6cs00271d.
- [18] UMEMURA S, YUMITA N, NISHIGAKI R, *et al.* Mechanism of cell damage by ultrasound in combination with hematoporphyrin. *Jpn J Cancer Res*, 1990, 81(9): 962–966. doi: 10.1111/j.1349-7006.1990.tb02674.x.
- [19] ROSENTHAL I, SOSTARIC J Z, RIESZ P. Sonodynamic therapy-a review of the synergistic effects of drugs and ultrasound. *Ultrason Sonochem*, 2004, 11(6): 349–363. doi: 10.1016/j.ultsonch.2004.03.004.
- [20] OLEINICK N L, ANTUNEZ A R, CLAY M E. New phthalocyanine photosensitizers for photodynamic therapy. *Photochem Photobiol*, 1993, 57(2): 242–247. doi: 10.1111/j.1751-1097.1993.tb02282.x.
- [21] KWON S, KO H, YOU D G, *et al.* Nanomedicines for reactive oxygen species mediated approach: an emerging paradigm for cancer treatment. *Acc Chem Res*, 2019, 52(7): 1771–1782. doi: 10.1021/acs.accounts.9b00136.
- [22] SHI J, KANTOFF P W, WOOSTER R, *et al.* Cancer nanomedicine: progress, challenges and opportunities. *Nat Rev Cancer*, 2017, 17(1): 20–37. doi: 10.1038/nrc.2016.108.
- [23] LIU H Q, AN Y W, LI Z W, *et al.* Sinoporphyrin sodium, a novel sensitizer for photodynamic and sonodynamic therapy. *Open Chem*, 2020, 18(1): 691–701. doi: 10.1515/chem-2020-0127.
- [24] ZHANG Y, YANG Y, FENG Y, *et al.* Sonodynamic therapy for the treatment of atherosclerosis. *J Pharm Anal*, 2024, 14(5): 100909. doi: 10.1016/j.jpha.2023.11.016.
- [25] LI B, GONG J, SHENG S, *et al.* Sonodynamic therapy reduces iron retention of hemorrhagic plaque. *Bioeng Transl Med*, 2021, 6(1): e10193. doi: 10.1002/btm.210193.
- [26] RASPAGLIESI L, D'AMMANDO A, GIONSO M, *et al.* Intracranial sonodynamic therapy with 5-aminolevulinic acid and sodium fluorescein: safety study in a porcine model. *Front Oncol*, 2021, 11: 679989. doi: 10.3389/fonc.2021.679989.
- [27] NADER S, AN-CHI T, ARTAK T, *et al.* A First-in-Human Phase 0/1 Trial of 5-Aminolevulinic Acid Sonodynamic Therapy (5-Ala Sdt) in Recurrent Glioblastoma. *Neuro-Oncology*, 2022, 24: 72–73. doi: 10.1093/neuonc/noac209.279.

- [28] HORISE Y, MAEDA M, KONISHI Y, *et al.* Sonodynamic therapy with anticancer micelles and high-intensity focused ultrasound in treatment of canine cancer. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 545. doi: 10.3389/fphar.2019.00545.
- [29] SAKAKIMA Y, HAYASHI S, YAGI Y, *et al.* Gene therapy for hepatocellular carcinoma using sonoporation enhanced by contrast agents. *Cancer Gene Therapy*, 2005, 12(11): 884–889. doi: 10.1038/sj.cgt.7700850.
- [30] BAI R Y, STAEDTKE V, XIA X, *et al.* Prevention of tumor seeding during needle biopsy by chemotherapeutic-releasing gelatin sticks. *Oncotarget*, 2017, 8(16): 25955–25962. doi: 10.18632/oncotarget.15427.
- [31] LI E, SUN Y, LV G, *et al.* Sinoporphyrin sodium based sonodynamic therapy induces anti-tumor effects in hepatocellular carcinoma and activates p53/caspase 3 axis. *Int J Biochem Cell Biol*, 2019, 113: 104–114. doi: 10.1016/j.biocel.2019.01.009.
- [32] TAN H, TIAN Y, YANG H, *et al.* Oxygen-sufficient lipid nanobubbles combined with UTMD for enhanced sonodynamic therapy of Hep-G2 cells. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2021, 109(11): 1796–1806. doi: 10.1002/jbm.b.34839.
- [33] WANG X, WANG C, TIAN H, *et al.* IR-820@NBs combined with MG-132 enhances the anti-hepatocellular carcinoma effect of sonodynamic therapy. *Int J Nanomed*, 2023, 18: 6199–6212. doi: 10.2147/IJN.S431910.
- [34] CHEN Y, WU B, SHANG H, *et al.* Sono-immunotherapy mediated controllable composite nano fluorescent probes reprogram the immune microenvironment of hepatocellular carcinoma. *Int J Nanomed*, 2023, 18: 6059–6073. doi: 10.2147/IJN.S426297.
- [35] LI Z, HAN J, YU L, *et al.* Synergistic sonodynamic/chemotherapeutic suppression of hepatocellular carcinoma by targeted biodegradable mesoporous nanosensitizers. *Adv Funct Mater*, 2018, 28: 103317212. doi: 10.1002/adfm.201800145.
- [36] WU B, YUAN Y, LIU J, *et al.* Single-cell RNA sequencing reveals the mechanism of sonodynamic therapy combined with a RAS inhibitor in the setting of hepatocellular carcinoma. *J Nanobiotechnol*, 2021, 19(1): 177. doi: 10.1186/s12951-021-00923-3.
- [37] YIN H, SUN L, PU Y, *et al.* Ultrasound-controlled CRISPR/Cas9 system augments sonodynamic therapy of hepatocellular carcinoma. *ACS Cent Sci*, 2021, 7(12): 2049–2062. doi: 10.1021/acscentsci.1c01143.
- [38] LIU Y, WAN G, GUO H, *et al.* A multifunctional nanoparticle system combines sonodynamic therapy and chemotherapy to treat hepatocellular carcinoma. *Nano Res*, 2017, 10(3): 834–855. doi: 10.1007/s12274-016-1339-8.
- [39] GAO X, BAO K, ZHANG Y, *et al.* The synergistic effects of multidrug-loaded nanocarriers improve tumor microenvironment responsive chemo-sonodynamic therapy of hepatocellular carcinoma. *Adv Funct Mater*, 2023, 33(29): 2215014. doi: 10.1002/adfm.202215014.
- [40] LIU Y, YANG S, ZHOU Q, *et al.* Nanobubble-based anti-hepatocellular carcinoma therapy combining immune check inhibitors and sonodynamic therapy. *Nanoscale Adv*, 2022, 4(22): 4847–4862. doi: 10.1039/d2na00322h.
- [41] LI S, ZHANG Y, LIU X, *et al.* Smart NIR-II croconaine dye-peptide for enhanced photo-sonotheranostics of hepatocellular carcinoma. *Theranostics*, 2022, 12(1): 76–86. doi: 10.7150/thno.64759.
- [42] ZHANG N, ZENG W, XU Y, *et al.* Pyroptosis induction with nanosensitizer-augmented sonodynamic therapy combined with PD-L1 blockade boosts efficacy against liver cancer. *Adv Health Mater*, 2024, 13(7): e2302606. doi: 10.1002/adhm.202302606.
- [43] HU J J, LIU X, XIA S, *et al.* FDA-approved disulfiram inhibits pyroptosis by blocking gasdermin D pore formation. *Nat Immunol*, 2020, 21(7): 736–745. doi: 10.1038/s41590-020-0669-6.
- [44] CHEN Z, LIU W, YANG Z, *et al.* Sonodynamic-immunomodulatory nanostimulators activate pyroptosis and remodel tumor microenvironment for enhanced tumor immunotherapy. *Theranostics*, 2023, 13(5): 1571–1583. doi: 10.7150/thno.79945.
- [45] YOSHIDA T, KONDO T, OGAWA R, *et al.* Combination of doxorubicin and low-intensity ultrasound causes a synergistic enhancement in cell killing and an additive enhancement in apoptosis induction in human lymphoma U937 cells. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2008, 61(4): 559–567. doi: 10.1007/s00280-007-0503-y.
- [46] TERANISHI R, MATSUDA T, YUBA E, *et al.* Sonodynamic therapeutic effects of sonosensitizers with different intracellular distribution delivered by hollow nanocapsules exhibiting cytosol specific release. *Macromol Biosci*, 2019, 19(4): e1800365. doi: 10.1002/mabi.201800365.
- [47] SENA L A, LI S, JAIRAMAN A, *et al.* Mitochondria are required for antigen-specific T cell activation through reactive oxygen species signaling. *Immunity*, 2013, 38(2): 225–236. doi: 10.1016/j.immuni.2012.10.020.
- [48] DAO A, YADAV A K, WEI L, *et al.* Combination of immunotherapy and photo-pyroptosis as novel anticancer strategy. *Chem Bio Chem*, 2022, 23(15): e202200201. doi: 10.1002/cbic.202200201.
- [49] CHEN H, DAI Z. Antitumor immune responses induced by photodynamic and sonodynamic therapy: a narrative review. *J Bio X Res*, 2021, 4(2): 77–86. doi: 10.1097/jbr.0000000000000080.

(2023 – 08 – 26收稿, 2024 – 04 – 08修回)

编辑 吕熙



**开放获取** 本文使用遵循知识共享署名—非商业性使用 4.0国际许可协议 (CC BY-NC 4.0), 详细信息请访问

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>。

**OPEN ACCESS** This article is licensed for use under Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (CC BY-NC 4.0). For more information, visit <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© 2024 《四川大学学报(医学版)》编辑部 版权所有

Editorial Office of *Journal of Sichuan University (Medical Sciences)*