



# 共载雷帕霉素和光克洛的纳米药物复合可溶解微针 治疗鲜红斑痣的实验研究\*

郝颖<sup>1</sup>, 徐润壕<sup>1</sup>, 陈茂<sup>1</sup>, 陈雨文<sup>1,2Δ</sup>

1. 四川大学华西医院 心血管疾病研究所 心脏结构与功能研究室(成都 610041);

2. 四川大学华西医院/四川大学华西护理学院(成都 610041)

**【摘要】目的** 鲜红斑痣是一种先天性毛细血管畸形的皮肤疾病,本研究结合鲜红斑痣的生物学特性和微针经皮输药物的优势,拟构建共载抗血管生成药物雷帕霉素(rapamycin, RPM)和光敏剂光克洛(photochlor, HPPH)的纳米药物复合可溶解微针(RPM-HPPH NP@HA MN)实现抗血管生成治疗与光动力协同治疗鲜红斑痣。**方法** 首先通过乳化溶剂挥发法制备装载RPM和HPPH的纳米药物(RPM and HPPH co-loaded nanoparticles, RPM-HPPH NP),在660 nm激光照射下考察其活性氧(reactive oxygen species, ROS)产生能力,以小鼠血管内皮瘤细胞系EOMA为研究对象,通过荧光显微镜和流式细胞仪检测细胞摄取行为,MTT实验法检测在有、无660 nm激光照射下,RPM-HPPH NP对EOMA的细胞毒性作用(游离RPM为对照)。之后通过模板法将纳米药物与透明质酸(hyaluronic acid, HA)可溶解微针体系复合得到RPM-HPPH NP@HA MN,通过扫描电镜和电子万能试验机考察其形貌特征和力学性能,通过台盼蓝染色和HE染色实验评价RPM-HPPH NP@HA MN对裸鼠皮肤的刺入能力。**结果** RPM-HPPH NP粒径150 nm,在激光的照射下可产生大量的ROS。在细胞水平,RPM-HPPH NP可被EOMA摄取,且呈时间依赖性。无论是否光照,纳米药物RPM-HPPH NP的细胞毒性强于游离药物RPM;在光照条件下,RPM-HPPH NP展现出更强的细胞毒性作用,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。RPM-HPPH NP@HA MN针尖高度是600 μm,单针力学性能为0.75048 N。台盼蓝染色和HE染色实验表明微针按压可使皮肤表面产生孔道并穿透角质层。**结论** RPM-HPPH NP@HA MN可将RPM-HPPH NP经皮传输至病灶组织,实现抗血管生成治疗与光动力协同治疗鲜红斑痣,为纳米药物复合微针体系的构建及鲜红斑痣的治疗研究提供新策略。

**【关键词】** 抗血管生成治疗 光动力治疗 可溶解微针 鲜红斑痣

**Rapamycin and HPPH Co-Loaded Nanodrug Delivered via Dissolvable Microneedles to Treat Port-Wine Stains**  
HAO Ying<sup>1</sup>, XU Runhao<sup>1</sup>, CHEN Mao<sup>1</sup>, CHEN Yuwen<sup>1,2Δ</sup>. 1. Laboratory of Cardiac Structure and Function, Institute of Cardiovascular Diseases, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. West China Hospital, Sichuan University/West China School of Nursing, Sichuan University, Chengdu 610041, China

Δ Corresponding author, E-mail: cyw0713@163.com

**【Abstract】 Objective** Port-wine stains are a kind of dermatological disease of congenital capillary malformation. Based on the biological characteristics of port-wine stains and the advantages of microneedle transdermal administration, we intend to construct a nanodrug co-loaded with rapamycin (RPM), an anti-angiogenesis drug, and photochlor (HPPH), a photosensitizer, and integrate the nanodrug with dissolvable microneedles (MN) to achieve anti-angiogenesis and photodynamic combination therapy for port-wine stains. **Methods** First, RPM and HPPH co-loaded nanoparticles (RPM-HPPH NP) were prepared by the emulsification solvent-volatilization method, and its ability to generate reactive oxygen species (ROS) was investigated under 660 nm laser irradiation. Mouse hemangioendothelioma endothelial cells (EOMA) were used as the subjects of the study. The cellular uptake behaviors were examined by fluorescence microscopy and flow cytometry. The cytotoxicity effects of RPM-HPPH NP with or without 660 nm laser irradiation on EOMA cells were examined by MTT assays (with free RPM serving as the control). Then, hyaluronic acid (HA) dissolvable microneedles loaded with RPM-HPPH NP (RPM-HPPH NP@HA MN) were obtained by compounding the nanodrug with HA dissolvable microneedle system through the molding method. The morphological characteristics and mechanical properties of RPM-HPPH NP@HA MN were investigated by scanning electron microscope and electronic universal testing machine. The penetration ability of RPM-HPPH NP@HA MN on the skin of nude mice was evaluated by trypan blue staining and H&E staining experiment. **Results** The RPM-HPPH NP prepared in the study had a particle size of 150 nm and generated large amounts of ROS under laser irradiation. At the cellular level, RPM-HPPH NP was taken up by EOMA cells in a time-dependent manner. The cytotoxicity of RPM-HPPH NP was higher than that of free RPM with or without laser irradiation. Under laser irradiation, RPM-HPPH NP exhibited stronger cytotoxic effects and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The height of the needle tip of RPM-HPPH NP@HA MN was

\* 国家自然科学基金青年科学基金项目(No. 32101134, No. 32101161)资助

Δ 通信作者, E-mail: cyw0713@163.com

出版日期: 2024-03-20

600  $\mu\text{m}$  and the mechanical property of a single needle was 0.75048 N. Trypan blue staining and HE staining showed that pressing on the microneedles could produce pores on the skin surface and penetration of the stratum corneum.

**Conclusion** RPM-HPPH NP@HA MN can deliver RPM-HPPH NP percutaneously to the lesion tissue and realize the synergistic treatment of port-wine stains with anti-angiogenic therapy and photodynamic therapy, providing a new strategy for the construction of nanodrug-loaded microneedle delivery system and the clinical treatment of port-wine stains.

**【Key words】** Anti-angiogenesis therapy Photodynamic therapy Dissolvable microneedles Port-wine stains

鲜红斑痣是一种先天性毛细血管畸形的皮肤疾病, 又称葡萄酒色斑, 发病率约为0.3%~0.5%, 常在出生时出现, 多发于面颈部及头皮, 也可累及四肢及躯干<sup>[1]</sup>。目前全球约有2 000万名鲜红斑痣患者, 早期的治疗方法如同位素敷贴、冷冻、微波等均因副作用大被淘汰; 激光治疗、手术治疗因损伤皮肤、留下瘢痕的缺点, 不易被患者接受; 脉冲染料激光(pulsed dye laser, PDL)被认为是治疗鲜红斑痣的金标准, 但有20%的患者疗效甚微, 14%~40%的患者随着治疗次数的增多, 效果逐渐变差, 出现PDL治疗抵抗<sup>[2-3]</sup>。光动力治疗(photodynamic therapy, PDT)因其微创优势, 广泛用于鲜红斑痣的治疗<sup>[4-5]</sup>。如何有效抑制血管的增殖和生成是治疗鲜红斑痣的关键。基于此, 本研究构建一个兼具抗血管生成治疗与光动力治疗的纳米药物复合透明质酸可溶解微针体系, 实现病灶部位经皮给药, 提高药物经皮传输效率, 增强鲜红斑痣的治疗效果, 降低药物对机体的毒副作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验试剂

光克洛(photosensitizer photochlor, HPPH)购自上海升泓生物科技有限公司; 3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐(MTT)和双氧水购自美国Sigma-Aldrich公司; 9,10-蒽二基-双(亚甲基)二甲酸(ABDA)、二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺-聚乙二醇2000(DSPE-PEG2000)购自上海阿拉丁生化科技有限公司; 雷帕霉素(rapamycin, RPM)购自大连美伦生物科技有限公司; 活性氧(ROS)检测试剂盒和Hoechst 33342购自碧云天生物技术有限公司; 磷酸盐缓冲液(PBS, pH=7.4)购自北京中杉金桥生物技术有限公司; 生理盐水、无水乙醇、二甲基亚砜(DMSO)、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠等均购自成都科龙化学试剂公司。

### 1.2 实验仪器

电子分析天平: BT125D, Shimadzu, Japan; 马尔文激光衍射粒度仪: Nano-ZS90, Malvern, UK; 磁力搅拌器: Color Squid, Ika, German; 精密鼓风干燥箱: BPG-9070A, 上海一恒科学仪器有限公司; 旋转蒸发仪: R-201, 上海申

顺生物科技有限公司; 超声波细胞粉碎机: Scientz-IID, 宁波新芝生物科技有限公司; 水浴锅: HB10, Ika, German; 紫外-可见光分光光度计: UV2600, Shimadzu, Japan; 循环水式多用真空泵: SHB-III, 郑州汇成科工贸有限公司; 高效液相色谱仪: 1260, Agilent, USA; 化学发光全波长酶标仪: Multiskan Mk3, Thermofisher; 正置荧光显微镜: Zeiss, Germany; 流式细胞仪: ACEC, USA; 离心机: Biofuge pico Heraeus Thermo D-37520, Osterode, German; Milli-Q Integral纯化水系统: Millipore, USA。

### 1.3 实验细胞和动物

小鼠血管内皮瘤细胞系EOMA购于美国模式菌种收藏所(American Type Culture Collection, ATCC), 由四川大学生物治疗国家重点实验室保存, 并用1640培养基于含体积分数5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的37℃孵箱中培养。SPF级雌性裸鼠(BALB/CA-nu), 6~8周龄, 购自北京华阜康生物科技股份有限公司。动物实验均在实验室动物管理委员会的批准和监督下进行。

### 1.4 纳米药物复合微针体系的构建和治疗方法

如图1所示, 首先通过乳化溶剂挥发法将RPM和HPPH装载在DSPE-PEG中得到纳米药物RPM-HPPH NP, 之后通过模板法将RPM-HPPH NP与透明质酸(HA)复合得到装载RPM-HPPH NP的HA可溶解微针(RPM-HPPH NP@HA MN)。当微针刺入病灶部位, 纳米药物随着微针的溶解释放, 纳米药物中的RPM经皮传输至病灶组织, 抑制血管的增殖和生成; 在660 nm的激光的照射下, 装载在纳米药物中的HPPH可产生ROS杀死血管内皮细胞, 与RPM实现抗血管生成治疗与光动力协同治疗鲜红斑痣, 增强鲜红斑痣的治疗效果, 降低毒副作用。

#### 1.4.1 纳米药物RPM-HPPH NP的制备与表征

在本研究中将采用乳化溶剂挥发法制备装载RPM和HPPH的纳米药物RPM-HPPH NP。首先, 将适量浓度的RPM、HPPH溶于二氯甲烷溶液中, 之后, 将上述混合溶液加入到溶解DSPE-PEG的水溶液中, 100 W超声乳化6 min, 真空除去有机溶剂, 过滤后再超滤即可得到纳米药物RPM-HPPH NP。通过紫外-可见光分光光度计考察

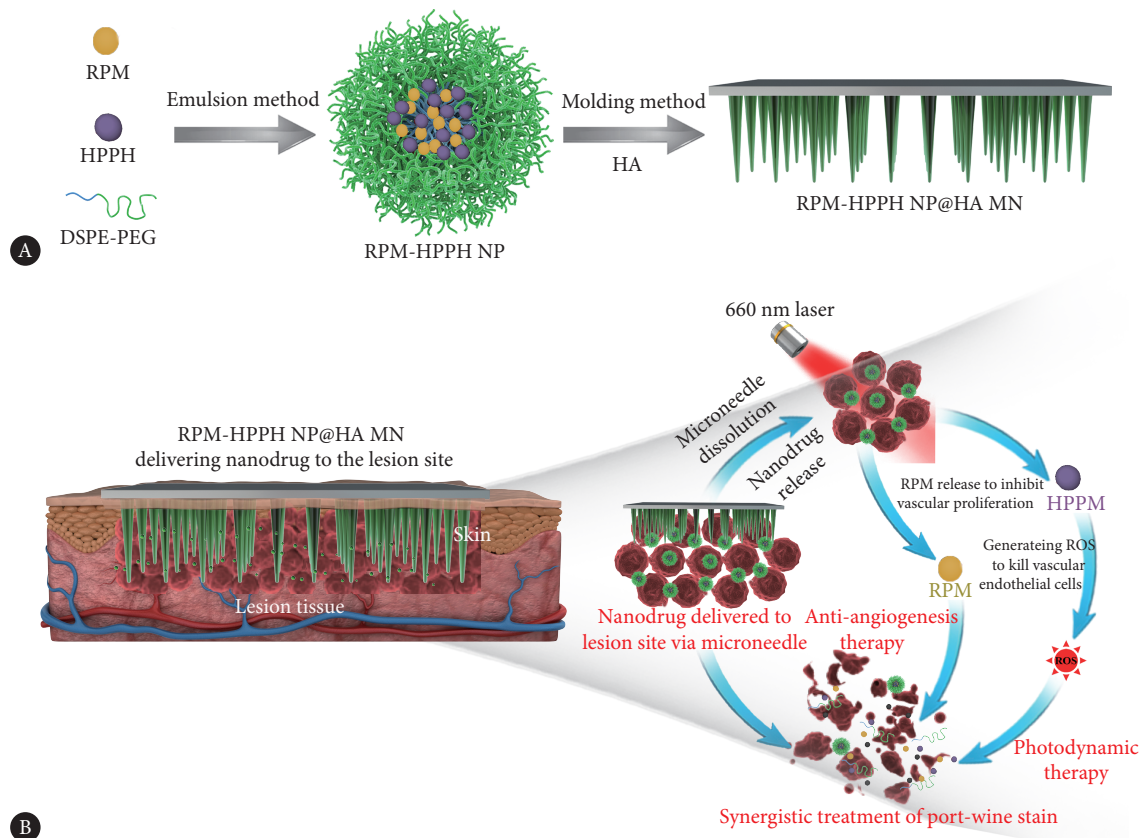


图1 纳米药物复合微针体系的构建 (A) 和治疗 (B) 示意图

Fig 1 Schematic diagram of the construction (A) of and treatment (B) with RPM-HPPH NP@HA MN

纳米药物的特征,通过马尔文粒度电位分析仪测定纳米药物的粒径和电位,通过透射电镜(TEM)观察纳米药物的形貌特征。

#### 1.4.2 660 nm激光照射下ROS的产生

通过测试单线态氧荧光探针9,10-蒽二基-双(亚甲基)二甲酸(ABDA)在378 nm处的紫外吸光度值变化来评价ROS的产生。首先,将RPM-HPPH NP溶液进行除氧处理,再加入100  $\mu\text{L}$  1 mg/mL的ABDA溶液(每组均含有100  $\mu\text{mol/L}$ 双氧水)。随后,用660 nm的激光照射上述溶液,在0、1、2、3、4、5 min通过紫外可见分光光度计记录上述溶液在300~450 nm的全波长。

#### 1.4.3 RPM-HPPH NP的细胞摄取行为

选取EOMA细胞为研究对象,分别通过荧光显微镜和流式细胞仪对RPM-HPPH NP被细胞摄取的能力进行定性和定量的分析。首先将EOMA细胞( $2 \times 10^5$ /孔)铺入放置了无菌盖玻片的6孔培养板中。在孵箱培养24 h后,去除培养基,加入无血清培养基和纳米药物RPM-HPPH NP,再分别培养1、2、4 h。然后弃去上清液,用PBS清洗细胞3次后固定,用Hoechst 33342 (10  $\mu\text{g/mL}$ )染色细胞核后用荧光显微镜观察EOMA细胞对RPM-HPPH NP的摄

取行为。用流式细胞仪定量分析细胞摄取能力。

#### 1.4.4 RPM-HPPH NP的细胞毒性作用

通过MTT实验法考查RPM-HPPH NP对EOMA细胞的细胞毒性作用。首先,将密度为 $4 \times 10^3$ 细胞/孔的EOMA细胞铺于96孔板中培养24 h,随机分为RPM组、RPM-HPPH NP组和RPM-HPPH NP+光照组。RPM-HPPH NP组和RPM-HPPH NP+光照组均在EOMA细胞中加入不同质量浓度的RPM-HPPH NP,共培养12 h后,RPM-HPPH NP+光照组予以660 nm激光照射细胞5 min(RPM-HPPH NP组不予光照干预),再将细胞培养12 h、36 h(即共培养24 h、48 h);RPM组在EOMA细胞中加入不同质量浓度的RPM共培养24 h、48 h。弃去96孔板中的上清液,每孔加入150  $\mu\text{L}$ 二甲亚砜溶液(DMSO)溶解所形成的甲瓩结晶,振荡混合均匀后,使用化学发光全波长酶标仪测量孔中溶液在570 nm的吸光度值。吸光度值越高,细胞毒性越低。

#### 1.4.5 RPM-HPPH NP@HA MN的制备与表征

通过模板法制备装载RPM-HPPH NP的透明质酸可溶解微针体系(RPM-HPPH NP@HA MN)。如图2所示,首先将一定浓度的RPM-HPPH NP加入到聚二甲基硅氧

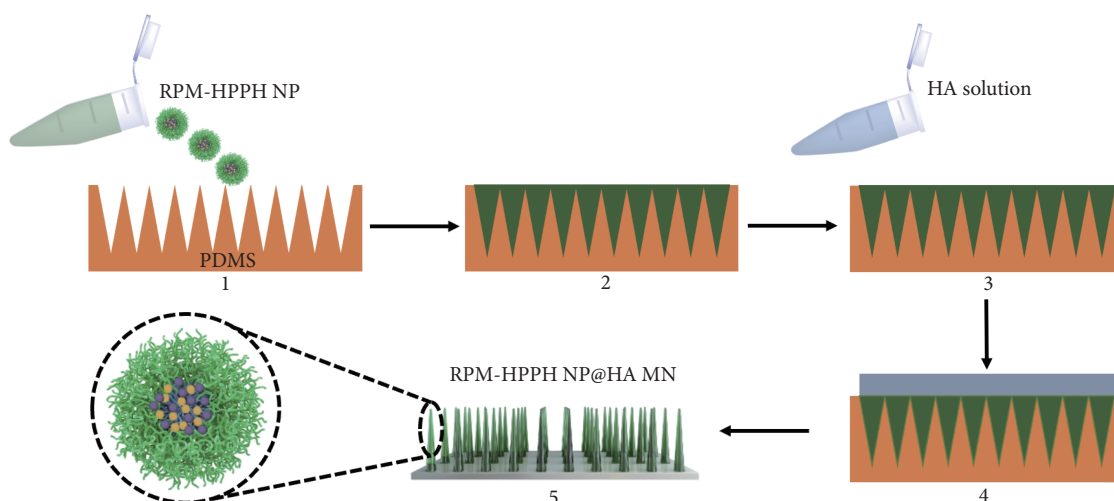


图 2 RPM-HPPH NP@HA MN 的制备示意图

Fig 2 Schematic diagram of the preparation of RPM-HPPH NP@HA MN

1, Adding RPM-HPPH NP to the PDMS template; 2, removing excess RPM-HPPH NP after centrifugation; 3, adding sodium hyaluronate solution to the microneedle template; 4, centrifugation and being placed overnight in a precision blast drying oven at 37 °C; 5, release after drying.

烷(polydimethylsiloxane, PDMS)微针模板中,离心30 min (3 000 r/min),除去多余的纳米药物;将一定量的均匀溶解于去离子水中的透明质酸钠溶液加入到微针模板中,离心30 min (3 000 r/min),在37 °C的精密鼓风干燥箱中放置过夜;最后将所得到的干燥产物与PDMS微针模板分离,即得到RPM-HPPH NP@HA MN。通过扫描电镜(SEM)对RPM-HPPH NP@HA MN进行表征。通过万能试验机测试微针的单针力学性能。首先将微针平放在测试台上,将传感器探头移动至微针贴片正上方,选取单针进行测试,当探头到达微针尖端,记录位移与压缩力关系曲线,当曲线出现拐点时,则为微针发生剧烈形变的时间点,即对应着单针断裂力。

#### 1.4.6 RPM-HPPH NP@HA MN 的皮肤刺入能力考察

通过台盼蓝染色法探究RPM-HPPH NP@HA MN的皮肤刺入能力。过量麻醉处死裸鼠,取一块4 cm×4 cm大

小背部皮肤,将RPM-HPPH NP@HA MN刺入皮肤组织并保持5 min。取下微针后,用4%台盼蓝溶液染微针作用的皮肤部位5 min,用生理盐水洗去多余的台盼蓝染液。然后通过相机对皮肤组织拍照。最后将皮肤组织固定在体积分数为10%的甲醛溶液中,制作切片后进行常规HE染色,用显微镜拍照。

## 2 结果

### 2.1 纳米药物RPM-HPPH NP的制备与表征

在本研究中,选择DSPE-PEG2000为载体材料,通过乳化溶剂挥发法装载mTOR抑制剂RPM和光敏剂HPPH,得到纳米药物RPM-HPPH NP。实验结果(图3)表明纳米药物RPM-HPPH NP粒径大小为150 nm左右,电位-21.5 mV;通过TEM观察,可看到纳米粒子分散性好,无团聚现象。

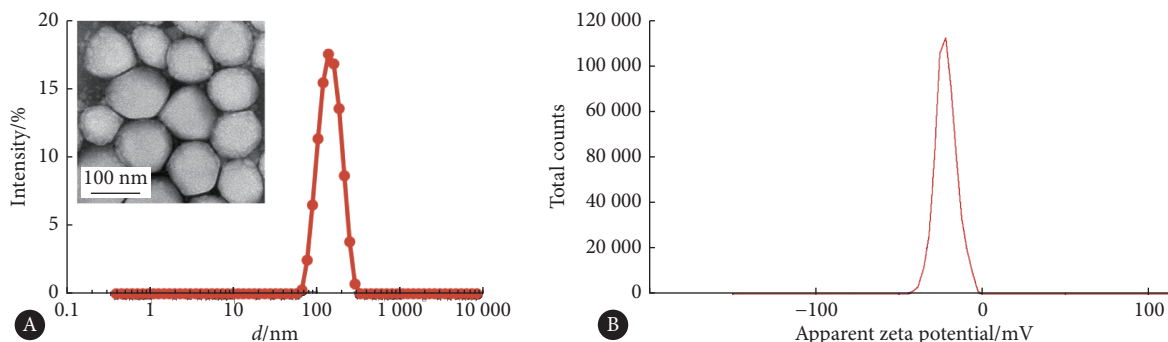


图 3 RPM-HPPH NP 的粒径图谱 (A) 和电位图谱 (B)

Fig 3 Particle size (A) and zeta potential (B) of RPM-HPPH NP

The photo inserted in Fig A is a TEM image.



2.2 RPM-HPPH NP的相关评价

通过紫外-可见分光光度计分别扫描了空白载体材料DSPE-PEG、光敏剂HPPH、mTOR抑制剂RPM和RPM-HPPH NP的紫外吸收光谱(图4A), 实验结果可看出HPPH和RPM-HPPH NP在660 nm左右具有特征吸收峰, 进一步说明HPPH成功装载在纳米载体中。进一步以ABDA为ROS的接收物质, 考察RPM-HPPH NP产生ROS的能力, 实验结果如图4B所示, 在660 nm的激光照射下, 随着照射时间的增加, ABDA的吸收峰逐渐降低, 说明RPM-HPPH NP在激光照射下可产生大量的ROS, 实现光动力治疗。

2.3 RPM-HPPH NP的细胞摄取行为

通过显微镜观察EOMA细胞对RPM-HPPH NP的细

胞摄取行为, 如图5A所示, 在0 h时, HPPH通道无荧光, 仅Hoechst通道有蓝色荧光, 代表细胞核的位置; 从1 h到4 h, HPPH通道荧光强度逐渐增强, 通过Merge通道可以看出, 红色荧光分布在蓝色荧光周围, 即说明RPM-HPPH NP可被EOMA细胞摄取, 并分布在EOMA细胞的细胞质中, 且细胞摄取行为呈时间依赖性。摄取荧光定量分析和流式细胞仪检测结果与荧光拍照结果一致(图5B、5C)。

2.4 RPM-HPPH NP的细胞毒性作用

运用SPSS 11.0软件中的*t*检验进行组间两两比较发现(图6), 无论是否光照, 纳米药物RPM-HPPH NP的细胞毒性强于游离药物RPM, 说明通过纳米载体装载RPM可以提高RPM对EOMA细胞的细胞毒性作用。此外, 在光照

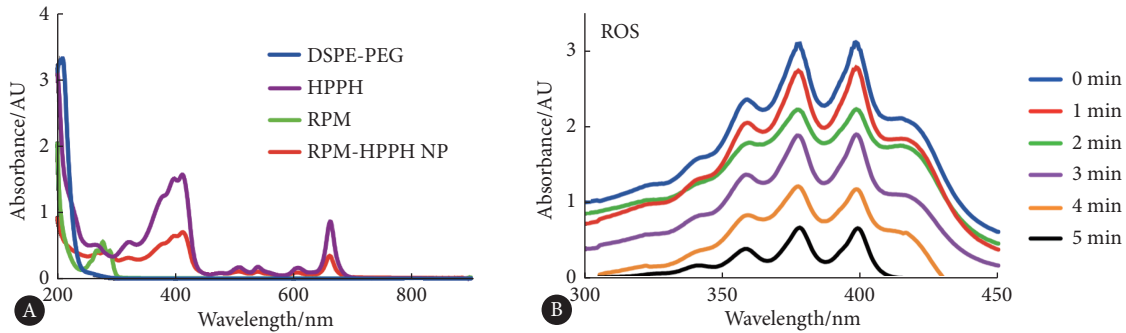


图 4 RPM-HPPH NP的紫外吸收光谱 (A) 和ROS的产生能力 (B)  
Fig 4 UV absorption spectrum (A) and ROS production ability (B) of RPM-HPPH NP

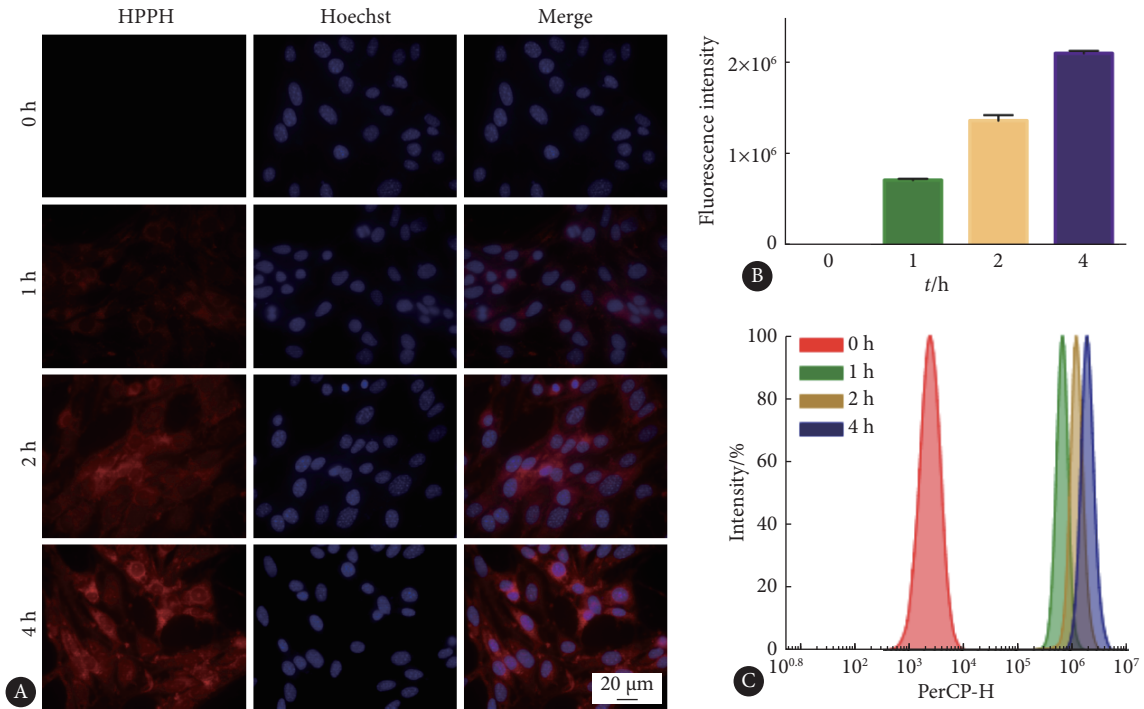


图 5 细胞摄取的荧光图片 (A)、荧光定量 (B) 和流式细胞学检测细胞摄取率 (C)

Fig 5 The cell uptake fluorescence image (A), cell uptake fluorescence quantification (B), and flow cytometry results for cell uptake (C)

n=3.

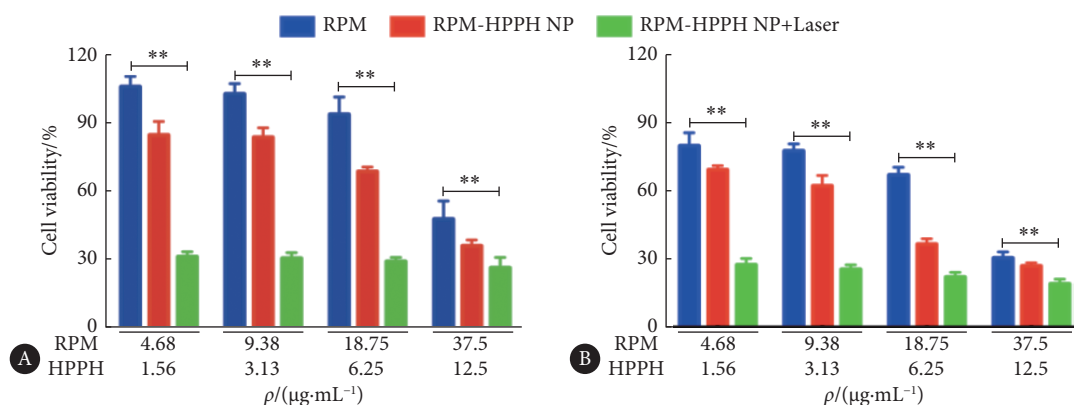


图 6 MTT检测RPM-HPPH NP对EOMA细胞24 h (A) 和48 h (B) 的细胞毒性作用

Fig 6 MTT assay to examine the cytotoxic effects of RPM-HPPH NP on EOMA cells after incubation for 24 h (A) and 48 h (B)

The RPM group contains only RPM and no HPPH was added. The dosage of RPM and HPPH in the RPM-HPPH NP group and the RPM-HPPH NP+Laser group are listed at the bottom of the figure. \*\*  $P < 0.05$ ,  $n = 6$ .

条件下, RPM-HPPH NP展现出更强的细胞毒性作用, 进一步说明RPM-HPPH NP具有较强的光动力治疗效果, 可实现抗血管生成治疗与光动力协同治疗。

### 2.5 RPM-HPPH NP@HA MN的表征

通过模板法制备的透明质酸可溶解微针HA MN如图7A所示, 微针排列整齐, 针尖高度是600  $\mu\text{m}$ 。通过万能试验机测试微针的单针力学性能为0.750 48 N (图7B)。

### 2.6 RPM-HPPH NP@HA MN的皮肤刺入能力

通过台盼蓝染色法考察微针的皮肤刺入能力, 如图8所示, 在皮肤上可看到一排排整齐的孔洞, 与微针针尖的位置相对应, 即台盼蓝染料可通过微针按压产生的孔道进入皮肤组织中; 通过HE切片观察, 微针可使皮肤表面产生孔道并穿透角质层, 说明微针体系具有较好的皮肤刺入能力, 可穿透皮肤角质层传输药物。

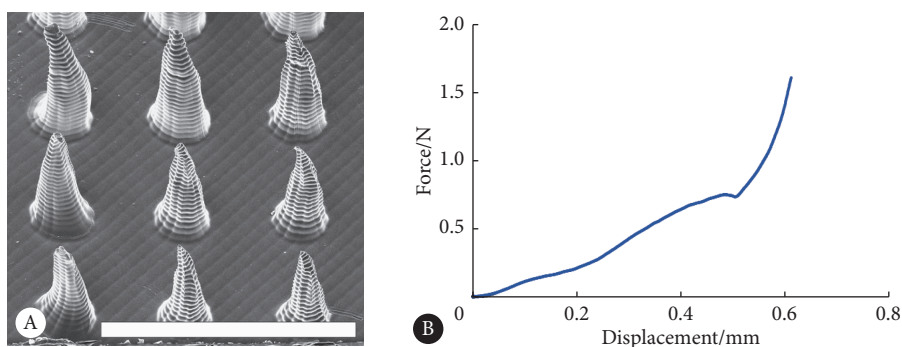


图 7 RPM-HPPH NP@HA MN的电镜图 (A, 标尺: 1 mm) 和力学性能 (B)

Fig 7 The SEM image (A, scale: 1 mm) and mechanical property (B) of RPM-HPPH NP@HA MN

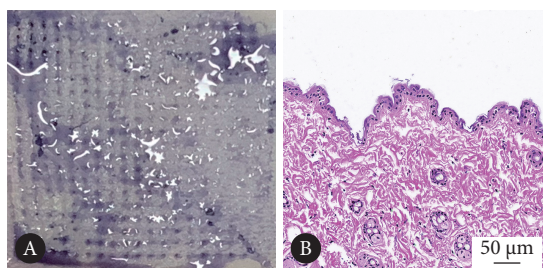


图 8 RPM-HPPH NP@HA MN刺入皮肤的照片 (A) 和HE染色图 (B)

Fig 8 Photo (A) and HE staining (B) of RPM-HPPH NP@HA MN penetrating the skin

## 3 讨论

鲜红斑痣是一种先天性毛细血管畸形的皮肤疾病, 在早期通常表现为边缘清楚而不规则的粉红斑(粉红色型), 随着年龄的增长, 病灶颜色逐渐加深为深红色或紫红色(紫红型), 最终病变区会增厚畸形(增厚型), 甚至发展为结节样改变, 易对患者的容貌、精神、生活状态、甚至心理造成严重的负面影响, 严重威胁着患者的身心健康和生活质量。光动力治疗是目前临床上常用的治疗方法, 通过静脉注射光敏剂外加特定波长的光源照射, 使病

变部位产生ROS,进而破坏血管内皮细胞,使血管凝固,导致纤维化,最终促进皮肤变形扩张的毛细血管网去除。血卟啉衍生物是第一代光敏剂,但因在体内滞留时间长,术后避光期长,光敏反应严重限制其应用。新型光敏剂海姆泊芬于2017年进入临床,其成分为血卟啉单甲醚,通常使用532 nm的激光照射病灶部位<sup>[5]</sup>。虽然海姆泊芬对鲜红斑痣的治疗效果优于血卟啉衍生物,但依然存在激光波长短穿透能力有限,对增厚型的鲜红斑痣疗效较差,治疗后需要避光防止光毒性等问题<sup>[6]</sup>。此外,为了改善光动力治疗中光毒性大、激光穿透力有限的缺陷。诸多光敏剂如二氢卟吩e6、吡啶菁绿、IR-780碘化物、新吡啶菁绿和HPPH等被研究<sup>[7]</sup>,其中,HPPH为二氢卟吩类化合物,属于第二代光敏剂,具有良好的光动力活性,对组织的穿透率高,光毒性低,用量小,使用方便,是一种极富潜力的光敏剂<sup>[8]</sup>。

此外,相关研究表明导致光动力治疗鲜红斑痣效果不佳的主要原因是血管破坏不完全,且治疗后易诱导HIF-1 $\alpha$ 的表达上调,从而进一步促进血管的生成。近年来,RPM作为一种抗血管生成药物在肿瘤治疗中显示出了巨大的潜力,不仅减少VEGF的产生,还通过抑制mTOR特异性下调HIF-1 $\alpha$ ,进而消除缺氧引发的血管增殖和生成<sup>[9-10]</sup>。基于此,本研究通过乳化法制备了装载HPPH和RPM的纳米药物RPM-HPPH NP。实验结果表明纳米药物RPM-HPPH NP粒径大小为150 nm左右,可有效抑制EOMA细胞的增殖。

结合鲜红斑痣的病灶部位,经皮给药是一种理想的药物传输方式,可避免肝脏的首过效应,直接传输光敏剂至病灶部位,降低药物对机体产生的毒副作用;此外,局部给药的治疗方式可随时终止给药,提高用药安全性<sup>[11]</sup>。但角质层是药物或生物大分子透皮吸收的主要屏障,直接影响药物经皮传输效率<sup>[12]</sup>。近年来,微针作为一种可增强药物透皮吸收能力的经皮传输载体,被广泛用于药物、蛋白、基因、疫苗等的传输<sup>[13-14]</sup>。通常微针可分为5种类型:实心微针、涂层微针、溶胀微针、可溶解微针和中空微针<sup>[15]</sup>。其中,可溶解微针因载药量高、制作方便、使用简单的优点被认为是极具潜力的微针药物传输载体之一,装载在可溶解微针中的药物是通过“poke and release”的方式释放的,当微针刺入皮肤组织,组织液中的水分使微针溶解,从而释放药物<sup>[16]</sup>。基于此,本研究通过透明质酸可溶解微针体系传输纳米药物,微针可在皮肤产生孔道,促进RPM-HPPH NP进入病灶部位,提高治疗效果。

综上所述,本研究通过DSPE-PEG装载RPM和HPPH成功得到粒径分布均匀的纳米药物RPM-HPPH

NP,具有较强的细胞抑制作用。将RPM-HPPH NP与透明质酸可溶解微针复合得到RPM-HPPH NP@HAMN,具有较强的皮肤刺入能力,可穿透皮肤的角质层实现药物的传输,为治疗鲜红斑痣的药物递送体系的构建提供新策略,为鲜红斑痣的临床治疗研究提供新思路。

\* \* \*

**作者贡献声明** 郝颖负责论文构思、数据审编、正式分析、经费获取、调查研究、研究方法和初稿写作,徐润壕负责正式分析,陈茂负责研究项目管理和监督指导,陈雨文负责经费获取、研究项目管理、监督指导和审读与编辑写作。所有作者已经同意将文章提交给本刊,且对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** HAO Ying is responsible for conceptualization, data curation, formal analysis, funding acquisition, investigation, methodology, and writing--original draft. XU Runhao is responsible for formal analysis. CHEN Mao is responsible for project administration and supervision. CHEN Yuwen is responsible for funding acquisition, project administration, supervision, and writing--review and editing. 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] 中华医学会整形外科分会血管瘤和脉管畸形学组. 血管瘤和脉管畸形的诊断及治疗指南(2019版). 组织工程与重建外科杂志(2019版), 2019, 15: 277. doi: 10.3969/j.issn.1673-0364.2019.05.001. Hemangioma and Vascular Malformations Group of the Plastic Surgery Branch of the Chinese Medical Association. Diagnosis and treatment guideline for hemangiomas and vascular malformations (2019 version). J Tissue Eng Reconstr Surg, 2019, 15: 277. doi: 10.3969/j.issn.1673-0364.2019.05.001.
- [2] SMETS G, GUTERMUTH J, GROSBER M, *et al.* Pulsed dye laser for facial erythema in Netherton syndrome. J Eur Acad Dermatol Venereol, 2024, 38(3): e229-e230. doi: 10.1111/jdv.19547.
- [3] HAN Y, YING H, ZHANG X, *et al.* Retrospective study of photodynamic therapy for pulsed dye laser-resistant port-wine stains. J Dermatol, 2020, 47(4): 348-355. doi: 10.1111/1346-8138.15238.
- [4] LIU L, LI X, ZHAO Q, *et al.* Pathogenesis of Port-wine stains: directions for future therapies. Int J Mol Sci, 2022, 23(20): 12139. doi: 10.3390/ijms232012139.
- [5] MIN Z, JING L, JUN Z, *et al.* Influential Factors in the Efficacy of Hemoporphin-Mediated Photodynamic Therapy for Port-wine Stains. Lasers Med Sci, 2023, 38(1): 162. doi: 10.1007/s10103-023-03822-1.
- [6] KHALAF A T, SUN Y, WANG F, *et al.* Photodynamic therapy using hmme for Port-wine stains: clinical effectiveness and sonographic appearance. Biomed Res Int, 2020: 6030581. doi: 10.1155/2020/6030581.

- [7] KOLARIKOVA M, HOSIKOVA B, DILENKO H, *et al.* Photodynamic therapy: innovative approaches for antibacterial and anticancer treatments. *Med Res Rev*, 2023, 43(4): 717–774. doi: 10.1002/med.21935.
- [8] HAO Y, CHEN Y, HE X, *et al.* RGD peptide modified platinum nanozyme Co-loaded glutathione-responsive prodrug nanoparticles for enhanced chemo-photodynamic bladder cancer therapy. *Biomaterials*, 2023, 293: 121975. doi: 10.1016/j.biomaterials.2022.121975.
- [9] SCHITO L, REY S. Hypoxia: Turning vessels into vassals of cancer immunotolerance. *Cancer Lett*, 2020, 487: 74–84. doi: 10.1016/j.canlet.2020.05.015.
- [10] MUSALEM H M, ALSHAIKH A A, TULEIMAT L M, *et al.* Outcome with topical sirolimus for port wine stain malformations after unsatisfactory results with pulse dye laser treatment alone. *Ann Saudi Med*, 2018, 38(5): 376–380. doi: 10.5144/0256-4947.2018.376.
- [11] PHATALE V, VAIPHEI K K, JHA S, *et al.* Overcoming skin barriers through advanced transdermal drug delivery approaches. *J Control Release*, 2022, 351: 361–380. doi: 10.1016/j.jconrel.2022.09.025.
- [12] QU F, GENG R, LIU Y, *et al.* Advanced nanocarrier- and microneedle-based transdermal drug delivery strategies for skin diseases treatment. *Theranostics*, 2022, 12(7): 3372–3406. doi: 10.7150/thno.69999.
- [13] HAO Y, CHEN Y, HE X, *et al.* Near-infrared responsive 5-fluorouracil and indocyanine green loaded MPEG-PCL nanoparticle integrated with dissolvable microneedle for skin cancer therapy. *Bioact Mater*, 2020, 5(3): 542–552. doi: 10.1016/j.bioactmat.
- [14] LOH J M, LIM Y J L, TAY J T, *et al.* Design and fabrication of customizable microneedles enabled by 3D printing for biomedical applications. *Bioact Mater*, 2023, 32: 222–241. doi: 10.1016/j.bioactmat.2023.09.022.
- [15] HAO Y, LI W, ZHOU X, *et al.* Microneedles-based transdermal drug delivery systems: a review. *J Biomed Nanotechnol*, 2017, 13(12): 1581–1597. doi: 10.1166/jbn.2017.2474.
- [16] WANG Y, MA G, GAO G, *et al.* Bioimaging of dissolvable microneedle arrays: challenges and opportunities. *Research (Wash D C)*, 2022: 9758491. doi: 10.34133/2022/9758491.

(2023 – 10 – 28收稿, 2024 – 01 – 19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 Science)*