

ZIF-8-Pt 纳米颗粒对乳腺癌的放疗增敏作用研究

钟 凯,赵正阳,怀 千,李笑秋

摘要 目的 探究 ZIF-8-Pt 纳米颗粒对乳腺癌的放疗增敏作用。方法 将 ZIF-8 纳米颗粒与氯铂酸(H_2PtCl_6)反应合成 ZIF-8-Pt 纳米颗粒,并且测量纳米颗粒的电势、粒径、血清稳定性;通过透射电镜观察 ZIF-8-Pt 纳米颗粒的空间结构;测量其与 H_2O_2 溶液反应产生氧气的的能力;通过电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)测量乳腺癌细胞(4 T 1)对 ZIF-8-Pt 纳米颗粒的摄取情况;利用 MTT 实验评估 ZIF-8-Pt 纳米颗粒的毒性;MTT 法、克隆形成实验以及动物治疗实验观察 ZIF-8-Pt 纳米颗粒结合放疗与单纯放疗对肿瘤的杀伤作用。结果 成功制备出 160 nm 左右,电势为-14 mv 的 ZIF-8-Pt 纳米颗粒;证实 ZIF-8-Pt 纳米颗粒在 10% 的血清中是稳定存在的;ZIF-8-Pt 纳米颗粒与 H_2O_2 溶液反应产生 O_2 程度的高低与颗粒浓度呈剂量依赖性;ICP-MS 结果显示 4 T 1 细胞对 ZIF-8-Pt 纳米颗粒的摄取随着时间的延长而增多;克隆形成实验证明纳米颗粒联合放疗对 4T1 细胞的杀伤效果与其颗粒的浓度相关;MTT 法以及动物治疗实验均可以验证纳米颗粒联合放疗对乳腺癌的杀伤效果优于单纯放疗。结论 ZIF-8-Pt 纳米颗粒联合放疗对于肿瘤组织的杀伤效果优于单纯放疗。

关键词 ZIF-8;铂;纳米颗粒;乳腺癌;放疗

中图分类号 R 737.9

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2022)08-1262-06
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.08.016

乳腺癌是女性常见的第 2 大恶性肿瘤^[1],其发病率呈逐年上升趋势,严重威胁着女性的生命健康。目前,乳腺癌的治疗方法有手术、内分泌治疗、放疗、化疗等。放疗(radiotherapy, RT)作为传统治疗手段之一,在乳腺癌的局部治疗中占有重要地位,但肿瘤病灶内部的剂量衰减以及肿瘤微环境的乏氧抵抗,会在一定程度上影响放疗疗效^[2-3]。该研究旨在通过设计一种多孔铂纳米颗粒作为新的纳米药物来解决这个问题。由于高 Z 元素(是指铂在元素周期表

上的高原子序数)和氧气生成功能的综合优势,铂纳米颗粒可以与目标 DNA 相结合,显著增强放疗过程中的 DNA 损伤^[4-6]。此外,铂纳米颗粒通过将内源性 H_2O_2 转化为 O_2 来增加肿瘤的氧合作用,大大增强了放疗效果,有良好的生物安全性,从而达到理想的放疗增敏效果。

1 材料与方法

1.1 材料 2-甲基咪唑、水合硝酸锌购自上海阿拉丁试剂公司;氯铂酸、硼氢化钠购自上海国药集团试剂有限公司;DMEM 培养液、胰酶(浓度 0.25%)购自美国 Gibco 公司;胎牛血清(FBS)购自美国 Hyclone 公司;溴化噻唑蓝四氮唑(MTT)购买自生工生物工程(上海)股份有限公司;20 只体质量 20 g 左右的 6~8 周龄的雌性 Balb/c 小鼠购自安徽医科大学实验动物中心并在 SPF 级动物房进行饲养。

1.2 方法

1.2.1 ZIF-8-Pt 纳米颗粒的制备以及表征的测定
2-甲基咪唑 1 ml (0.2 mol/L) 与水合硝酸锌 100 μ l (0.1 mol/L) 剧烈反应,待到溶液呈乳白色停止反应。取反应液离心 5 min (5 000 r/min) 后去除沉淀,取上清液。上清液离心 5 min (8 000 r/min) 后取其沉淀,并摇匀重悬于 1 ml 去离子水中,再加入含有 0.019 mol/L 氯铂酸的去离子水 50 μ l 搅拌 1 h,后加入 100 μ l 硼氢化钠(4 mg/ml),再搅拌 3 h 得到 ZIF-8-Pt 纳米颗粒。尺寸和电势以及血清稳定性的测量是在 Malvern ZS90 动态光散射(DLS)仪器(Malvern Instruments Ltd., Worcs, 英国)上使用 He-Ne 激光(633 nm)和 90 个收集光学器件在水溶液中进行的。使用 Malvern 分散技术软件 5.10 分析数据。使用透射电子显微镜(TEM; JEM-F200, JEOL Ltd, 日本)观察到 ZIF-8-Pt 纳米颗粒的形态。取出样品,离心后得沉淀 ZIF-8-Pt 纳米颗粒,用硝酸溶解 ZIF-8-Pt 纳米颗粒,再用王水溶解瓶中残留物质,加入去离子水定容到 5 ml 后用电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)去测量 Pt 的浓度。计算出单个样品 Pt 的含量。使用便携式溶解氧(DO)仪(Seven2GOproS9DO, Mettler Toledo, 中国)测量水溶

2022-05-10 接收

基金项目:国家自然科学基金青年项目(编号:81901888)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院肿瘤科,合肥 230022

作者简介:钟 凯,男,硕士研究生;

李笑秋,男,副教授,副主任医师,硕士生导师,责任作者,

E-mail: xiaoqiuli@ahmu.edu.cn

液中的氧气生成。将 ZIF-8-Pt 纳米颗粒的储备溶液以各种浓度分散和稀释在脱氧水中,然后在温和搅拌下与 H_2O_2 水溶液混合。 H_2O_2 的最终浓度为 0.001 mol/ml,混合物的总体积为 8 ml。使用溶解氧仪每 60 s 实时测量一次溶液中的氧气浓度。

1.2.2 细胞培养 使用 1% 的双抗(100 U/ml 青霉素和 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 链霉素)及 10% 的胎牛血清的 DMEM 培养基培养所需的 4T1 细胞并在 37 $^\circ\text{C}$ 、5% CO_2 温箱进行孵育。用倒置显微镜观察细胞生长状态,当细胞生长到占培养皿 80% 时进行传代,选对数生长期细胞进行实验。

1.2.3 ICP-MS 测量细胞对颗粒的摄取情况 细胞计数后将 4T1 细胞种植到 24 孔板上,平均每孔种 10^4 个细胞。 CO_2 温箱孵育 24 h 后,每孔加入 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的 ZIF-8-Pt 纳米颗粒溶解于 DMEM 培养基所形成的溶液。以摄取时间 2、4、6 h 分为 3 组,每组有 3 孔,摄取纳米颗粒后用 $1 \times \text{PBS}$ 清洗孔内残留液体并用胰酶消化吸出孔内贴壁细胞。用硝酸溶解各组细胞后高温煮直至瓶底只见一层灰色物质附着,再用王水溶解瓶中残留物质,加入去离子水定容到 5 ml 后用电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)去测量 Pt 的浓度。

1.2.4 MTT 实验评估 ZIF-8-Pt 纳米颗粒的毒性 以 ZIF-8-Pt 纳米颗粒中 Pt 的浓度将实验设置为 5 组:200、100、50、25、12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。将 4T1 细胞种植到 96 孔板上,每孔 5 000 个细胞,孵育 24 h 后去除上清液培养基,分别加入 5 种浓度的纳米颗粒溶液。继续孵育 24 h 后,每孔加入 25 μl 5 mg/ml MTT 溶液,孵育 4 h 后,弃去旧培养基,每孔加入 100 μl DMSO 混匀,摇床震荡 1 h 后,酶标仪 488 nm 波长进行检测。用软件 Excel 2013 和 GraphPad Prism V8.0 处理测好的对应孔的吸光度(optical density, OD)值,根据存活率 = (实验组 - 空白对照组) / (阴性对照组 - 空白对照组) $\times 100\%$ 的公式计算细胞存活率。

1.2.5 评估纳米颗粒联合放疗对乳腺癌细胞的杀伤效果 实验设置为 3 组:空白对照组(不含 ZIF-8-Pt 纳米颗粒,且不放疗),联合放疗组(其中加入 ZIF-8-Pt 纳米颗粒 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$),单纯放疗组(不含 ZIF-8-Pt 纳米颗粒)。以放疗剂量将实验设置为 4 组:0 Gy;1 Gy;3 Gy;6 Gy。分别将 4T1 细胞种入 5 块 96 孔板,孵育 24 h 后,去除废弃培养基,每块 96 孔板都加入 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的 ZIF-8-Pt 纳米颗粒或者相同体积的 DMEM。孵育 6 h 后分别对每块 96 孔板

实施不同剂量的放疗,再孵育 24 h。之后用 MTT 法评估细胞的存活率。

1.2.6 克隆形成实验验证纳米颗粒联合放疗对乳腺癌细胞的杀伤与其颗粒浓度呈剂量相关 实验设置为 5 组:① 单纯放疗组(即不加入颗粒),② RT + NP 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$,③ RT + NP 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$,④ RT + NP 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$,⑤ RT + NP 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。6 孔板每孔接种 1 000 个 4T1 细胞(2 ml DMEM),每组取两个孔,培养箱过夜。分别加入不同浓度的纳米颗粒,4 h 后给予 6 Gy 剂量的放疗,换液后放回培养箱继续无菌培养 5 d,取出 6 孔板,PBS 洗 1 次,用结晶紫染色 1 h,PBS 洗净(5 次)拍照观察计算。根据存活率 = 实验组(NP + RT) / (单纯放疗组) $\times 100\%$ 的公式计算细胞存活率。

1.2.7 构建 4T1 小鼠肿瘤模型 20 只 20 g 左右 6~8 周龄的雌性 Balb/c 小鼠购自安徽医科大学动物房。所有动物均按照《实验动物护理和使用指南》中概述的指南进行饲养,所有程序均经中国科学技术大学动物护理和使用委员会批准。将 2×10^5 个 4T1 细胞(重悬于 100 μl $1 \times \text{PBS}$ 中)注射到 Balb/c 小鼠的右侧腰部皮下,建立肿瘤模型。

1.2.8 评估纳米颗粒联合放疗体内对乳腺癌的杀伤效果 当荷瘤小鼠肿瘤体积约为 100 mm^3 时,4T1 荷瘤小鼠静脉注射以下分组的制剂(每组 $n = 4$)。注射后 12 h,小鼠接受或者不接受 6 Gy 剂量的 X 射线照射。① PBS 组(即既不加入颗粒也不经过放疗),② 单纯放疗组(即不加入颗粒),③ 单纯颗粒组(即只加入颗粒却不经过放疗),④ 颗粒联合放疗组(RT + NP 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$),注射的颗粒 ZIF-8-Pt 的剂量为每千克小鼠注射 2 mg 剂量的 ZIF-8-Pt 制剂(ZIF-8-Pt 纳米颗粒溶于 $1 \times \text{PBS}$ 所形成的与体内等渗的溶液)。通过每 2 d 使用卡尺测量肿瘤的垂直直径(即分别为长度和宽度)来监测肿瘤生长。根据以下公式计算估计体积:肿瘤体积(mm^3) = $0.5 \times \text{长度} \times \text{宽度}^2$ 。并且每 2 d 测量每只小鼠的体质量。

1.2.9 HE 染色检测纳米颗粒联合放疗后对肿瘤以及其他脏器组织结构的破坏 X 射线照射 15 d 后处死小鼠,取出肿瘤以及小鼠的心、肝、脾、肺、肾等脏器;测量每块肿瘤的重量。肿瘤以及脏器用 4% 甲醛固定,石蜡包埋。随后,通过 HE 染色观察。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 22.0 统计学软件进行分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,同组间两两比较采用配对 t 检验,多组间对比采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

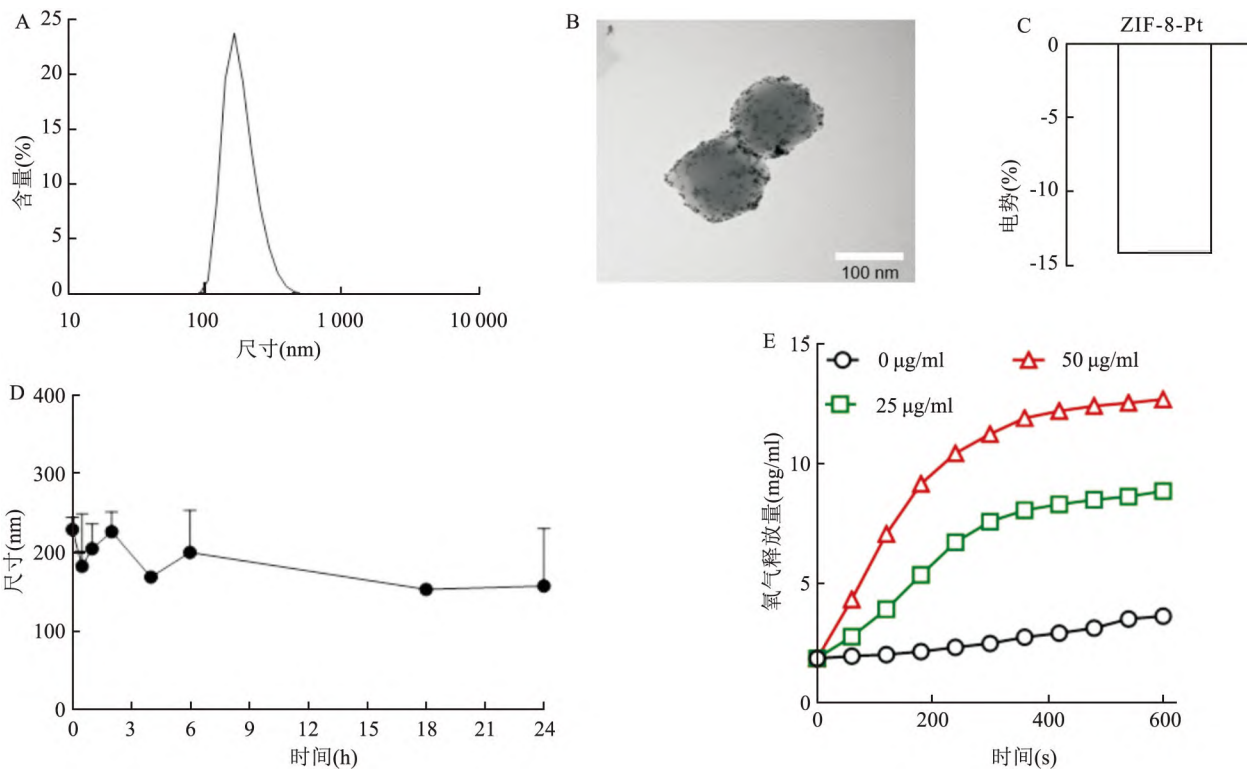


图 1 ZIF-8-Pt 纳米颗粒相关表征

A: DLS 下测量颗粒的粒径; B: 颗粒在透射电镜下 ×400 000; C: DLS 下测量颗粒的电势; D: 颗粒在 10% FBS 中的稳定性; E: 颗粒在 H₂O₂ 溶液中产氧实验

2 结果

2.1 ZIF-8-Pt 纳米颗粒的表征 通过 DLS 测量得出 ZIF-8-Pt 纳米颗粒的粒径在 160 nm 左右(图 1 A),与透射电镜观察的结果一致(图 1 B);其电势为-14 mV(图 1 C);DLS 测量 ZIF-8-Pt 纳米颗粒在 10% 的 FBS 中可以稳定存在,粒径维持在 200 nm 左右(图 1 D);通过将 H₂O₂ 溶液与各种浓度的 ZIF-8-Pt 纳米颗粒混合后测量水溶液中的溶解氧浓度来评估该颗粒的氧气产生能力,氧气产生的程度高度取决于溶液中 ZIF-8-Pt 纳米颗粒的浓度,ZIF-8-Pt 纳米颗粒的浓度为 50 µg/ml 时产生氧气的的能力明显强于 25 µg/ml 以及不加颗粒的对照组(图 1E);ICP-MS 测量合成 ZIF-8-Pt 纳米颗粒样品中 Pt 的含量为 837.8 µg。

2.2 细胞对 ZIF-8-Pt 纳米颗粒的摄取 4T1 细胞与 ZIF-8-Pt 纳米颗粒共同孵育 2、4、6 h 后,经过 ICP-MS 测量,4T1 细胞对颗粒的摄取率分别为 28.9%、34.4%、39.4%,细胞对颗粒的摄取随着时间的延长而增多。

2.3 ZIF-8-Pt 颗粒的生物安全性 该实验测试了

各种浓度(0~200 µg/ml)的 ZIF-8-Pt 颗粒的细胞毒性。将 4T1 细胞与 ZIF-8-Pt 颗粒共孵育 6 h 并在 24 h 后测量生存率,当颗粒浓度为 50 µg/ml 时细胞存活率为 89.28% ($P < 0.05$),差异有统计学意义,但总体来说具有较好的生物安全性(图 2)。

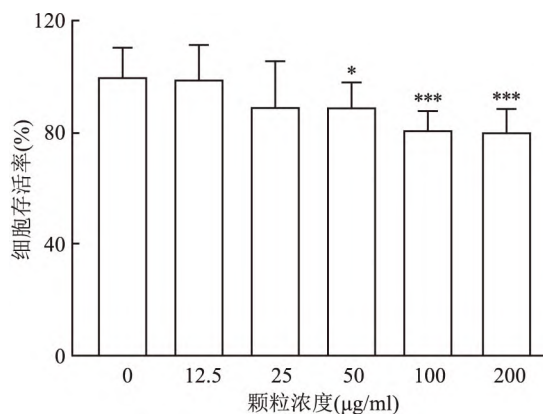


图 2 不同浓度 ZIF-8-Pt 颗粒的生物安全性
与 0 µg/ml 比较: * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$

2.4 MTT 法评估体外放疗增敏效果 为了评估 4T1 的放疗增敏效果,将 4T1 细胞用 ZIF-8-Pt 纳米颗粒以 50 µg/ml 的浓度处理 6 h,对照组用 1 × PBS

处理 6 h。然后分别以 0、1、3、6 Gy 的剂量给予放疗,24 h 后使用 MTT 法测定细胞活力(图 3)。与单纯放疗组相比,用 ZIF-8-Pt 纳米颗粒预处理的细胞在放疗后显示出更高的细胞死亡率,在给予 6 Gy 剂量的放疗时,联合放疗组的细胞存活率仅为 $(50.096 \pm 12.948)\%$,明显低于单纯放疗组的 $(80.391 \pm 15.628)\%$ ($P = 0.0102, t = 2.968$),差异有统计学意义,这表明 ZIF-8-Pt 纳米颗粒具有放疗增敏效果。

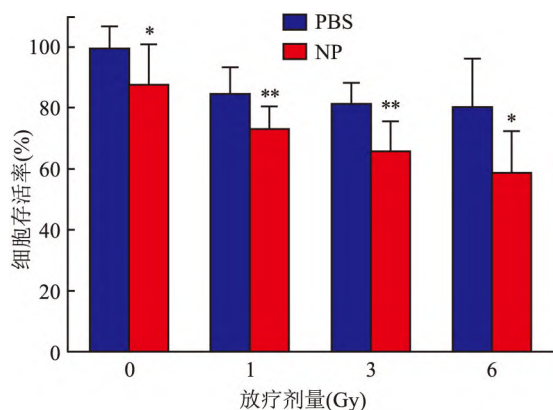


图 3 ZIF-8-Pt 纳米颗粒在不同放疗剂量下对 4T1 细胞的杀伤效果
与 PBS 组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.5 克隆形成实验验证纳米颗粒联合放疗对 4T1 细胞的杀伤效果与其颗粒浓度相关 通过克隆形成试验进一步评估了 ZIF-8-Pt 纳米颗粒的放疗增敏效果。将 4T1 细胞与不同浓度的 ZIF-8-Pt 颗粒孵育 4 h,然后给予 6 Gy 处理。在照射 5 d 后检查每组 4T1 细胞的集落形成(图 4 A)。通过计数集落数确定的细胞存活分数随着 ZIF-8-Pt 纳米颗粒浓度的增加而

下降。当颗粒浓度达到 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 时,细胞存活率最低,仅为 21% (图 4 B)。

2.6 ZIF-8-Pt 纳米颗粒的体内放疗增敏效果 在 ZIF-8-Pt 纳米颗粒体外治疗实验的基础上,本研究进一步在小鼠体内验证颗粒的放疗增敏效果。以 2 mg/kg 剂量的 ZIF-8-Pt 纳米颗粒联合 6 Gy 的电离辐射进行体内治疗实验。4T1 荷瘤小鼠注射不同的纳米颗粒溶液或 PBS,12 h 后,用 6 Gy 的 X 射线照射肿瘤。最终结果显示(图 5 A),NP + RT 组有效抑制了 78.4% 的肿瘤生长 ($F = 10.95, P < 0.0001$),明显强于单纯放疗组的 34.5% ($F = 10.95, P = 0.0127$)与单纯颗粒组的 19.1% ($F = 10.95, P = 0.0030$),差异有统计学意义,说明了体内高 Z 元素 ZIF-8-Pt 的放疗增敏效果。在 RT 治疗后第 15 天处死小鼠,取出肿瘤后观察(图 5 D)并且测量治疗后肿瘤的重量(图 5 C),其中经 ZIF-8-Pt 联合放疗治疗组肿瘤重量明显轻于单纯放疗组的肿瘤重量 ($F = 11.76, P = 0.0444$),差异有统计学意义,同样证明了 ZIF-8-Pt 联合放疗明显优于单纯放疗。治疗前后小鼠体质量无明显变化(图 5 B),可以说明 ZIF-8-Pt 在体内具有较好的生物安全性。在 RT 治疗后第 15 天解剖小鼠获取肿瘤以及脏器并进行 HE 染色(图 5 E),各治疗组对小鼠的脏器均未有明显损伤,这不仅可以说明 ZIF-8-Pt 联合放疗对肿瘤组织的杀伤效果优于单纯放疗,也可以说明 ZIF-8-Pt 纳米颗粒在小鼠体内具有良好的生物安全性。

3 讨论

放射治疗是目前临床上广泛应用的治疗方法之一。RT 利用高能 X 射线直接损伤 DNA 或产生活性

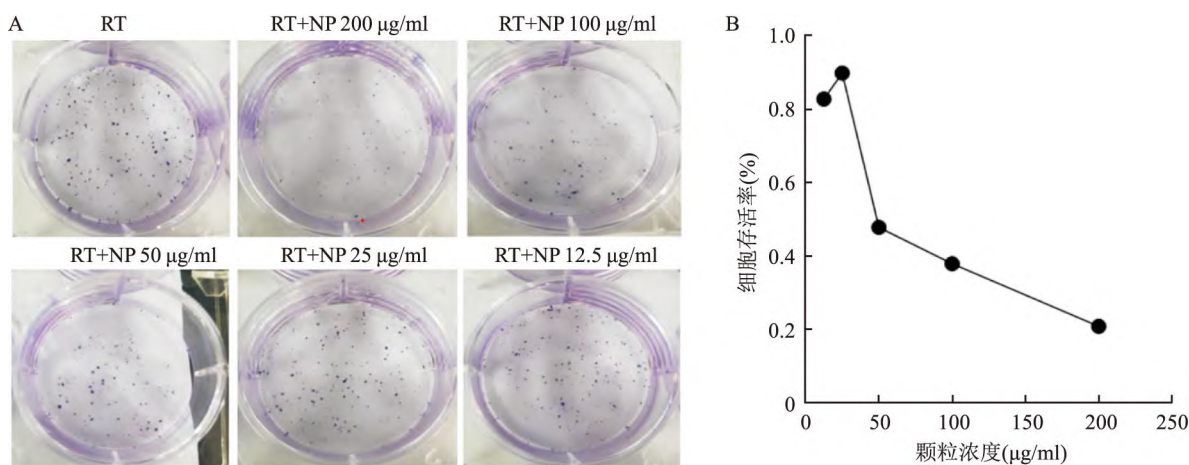


图 4 验证 ZIF-8-Pt 纳米颗粒对 4T1 细胞的杀伤效果与其浓度之间的关系

A: 集落形成图像; B: 接受指定治疗的 4T1 细胞的相应存活分数

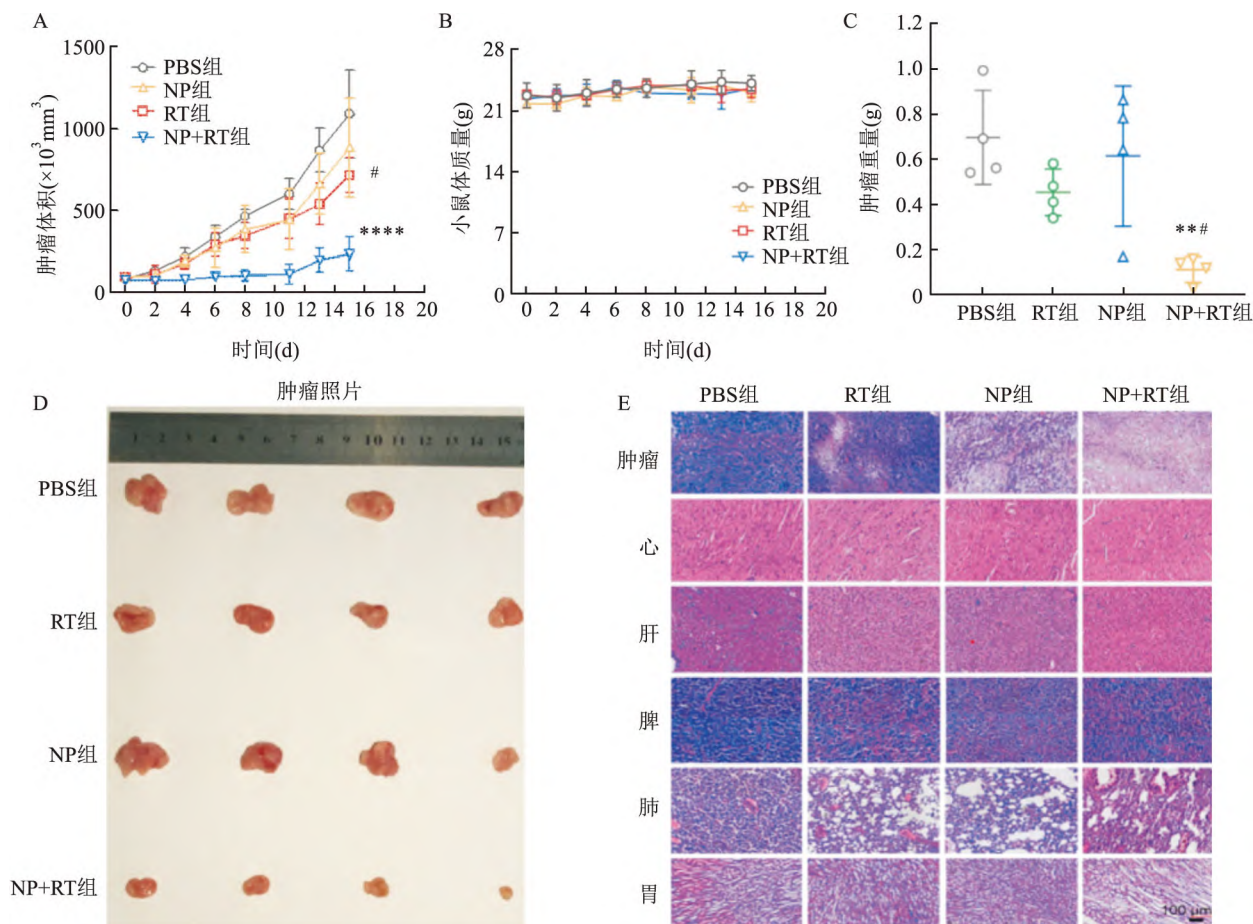


图5 体内实验验证 ZIF-8-Pt 纳米颗粒联合放疗的疗效

A: 肿瘤生长曲线; B 不同处理的小鼠平均体质量的变化; C: 处死小鼠后测量肿瘤重量; D: 照射后第 15 天处死小鼠后切除肿瘤的照片; E: 不同分组小鼠肿瘤组织, 以及心、肝、脾、肺、肾的 HE 染色图像 ×20; 与 PBS 组比较: ** $P < 0.01$, **** $P < 0.0001$; 与 RT 组比较: # $P < 0.05$

氧自由基杀死癌细胞^[7]。但是由于放疗缺乏组织特异性以及靶向性, 且肿瘤部位相对乏氧, 会导致放疗后断裂的 DNA 周围缺少足够的 O₂ 形成的稳定氧化合物, 不能有效地抑制 DNA 损伤的自动修复, 从而导致放疗效果不明显。目前增敏放疗的策略是将血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF), 趋化因子受体 (chemokine receptor 4, CXCR4), 雄激素受体作为增敏靶点, 通过抑制细胞增殖并诱导凋亡来增强放疗对细胞的杀伤作用, 但是由于放疗抵抗机制网络的复杂性导致针对靶点治疗的疗效不明显^[8-9]。因此如何通过改善肿瘤的乏氧微环境从而缓解放疗抵抗是目前的一个研究热点。

本研究所设计并制备的 ZIF-8-Pt 纳米颗粒具备三点优势。① 可以通过其“高渗透长滞留”效应 (enhanced permeability and retention effect, EPR) 效应来发挥被动靶向和肿瘤富集的作用^[10-12] (EPR 效应是指由于正常组织中的微血管内皮间隙致密、

结构完整, 大分子和脂质颗粒不易透过血管壁, 而实体瘤组织中血管丰富、血管壁间隙较宽、结构完整性差, 淋巴回流缺失, 造成大分子类物质和脂质颗粒具有选择性高通透性和滞留性, 可以使 ZIF-8-Pt 纳米颗粒在肿瘤部位靶向富集。② ZIF-8-Pt 纳米颗粒, 作为一种多孔铂纳米颗粒, 由于具备高 Z 元素的优势, 可以在在与肿瘤中的 X 射线相互作用后有效地发射电子辐射, 从而最大限度地增强放疗诱导的 DNA 损伤、细胞周期停滞和 ROS 应激^[13]。③ ZIF-8-Pt 纳米颗粒可以通过将内源性 H₂O₂ 转化为 O₂, 改善乏氧微环境, 进而增强了 RT 的疗效^[14]。材料的表征结果显示, ZIF-8-Pt 纳米颗粒可以有效地促进 H₂O₂ 转化为 O₂; 体内以及体外治疗实验结果显示, ZIF-8-Pt 纳米颗粒联合放疗对乳腺癌的杀伤效果明显强于单纯放疗, 并且联合 ZIF-8-Pt 纳米颗粒的放疗不会导致小鼠出现明显的器官毒性迹象或体质量变化, 保证了材料具有增敏放疗效果的同时具备良好的生物安全性。

参考文献

- [1] 韩济华,张艳,朱卫国,等. 晚期乳腺癌患者生存素的表达与放疗敏感性之间的关系[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2016, 23(10): 1169-72.
- [2] Liu Z J, Semenza G L, Zhang H F. Hypoxia-inducible factor 1 and breast cancer metastasis[J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2015, 16(1): 32-43.
- [3] Casey S C, Amedei A, Aquilano K, et al. Cancer prevention and therapy through the modulation of the tumor microenvironment[J]. *Semin Cancer Biol*, 2015, 35 Suppl(Suppl): S199-223.
- [4] Xu M, Hu Y, Ding W, et al. Rationally designed rapamycin-encapsulated ZIF-8 nanosystem for overcoming chemotherapy resistance[J]. *Biomaterials*, 2020, 258: 120308.
- [5] Zhang Y, Wang F, Liu C, et al. Nanozyme decorated metal-organic frameworks for enhanced photodynamic therapy[J]. *ACS Nano*, 2018, 12(1): 651-61.
- [6] Xie J, Gong L, Zhu S, et al. Emerging strategies of nanomaterial-mediated tumor radiosensitization[J]. *Adv Mater*, 2019, 31(3): e1802244.
- [7] Srinivas U S, Tan B W Q, Vellayappan B A, et al. ROS and the DNA damage response in cancer[J]. *Redox Biol*, 2019, 25: 101084.
- [8] 席栋宾,张怀霞,徐玉珩,等. 伊立替康联合X线照射对人结肠癌细胞增殖和凋亡的影响[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2021, 41(1): 49-53.
- [9] 李小丽,蔡永青,周维英. 三阴性乳腺癌化疗及放疗增敏作用研究进展[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2019, 24(3): 337-42.
- [10] Park J, Choi Y, Chang H, et al. Alliance with EPR effect: combined strategies to improve the EPR effect in the tumor microenvironment[J]. *Theranostics*, 2019, 9(26): 8073-90.
- [11] 张聪,杭立峰,陈军,等. 空心硫化铜颗粒包载阿霉素形成的纳米颗粒对胰腺癌 BxPC-3 细胞株的杀伤效应[J]. 安徽医科大学学报, 2020, 55(7): 987-91.
- [12] Chen L, Zang F, Wu H, et al. Using PEGylated magnetic nanoparticles to describe the EPR effect in tumor for predicting therapeutic efficacy of micelle drugs[J]. *Nanoscale*, 2018, 10(4): 1788-97.
- [13] Li Y, Yun K H, Lee H, et al. Porous platinum nanoparticles as a high-Z and oxygen generating nanozyme for enhanced radiotherapy *in vivo*[J]. *Biomaterials*, 2019, 197: 12-9.
- [14] Meng L, Cheng Y, Tong X, et al. Tumor oxygenation and hypoxia inducible factor-1 functional inhibition *via* a reactive oxygen species responsive nanoplatfor for enhancing radiation therapy and abscopal effects[J]. *ACS Nano*, 2018, 12(8): 8308-22.

Effect of zif-8-pt nanoparticles combined with radiotherapy on the breast cancer

Zhong Kai, Zhao Zhengyang, Huai Qian, Li Xiaoqi

(Dept of Oncology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To investigate the effect of ZIF-8-Pt nanoparticles on the radiosensitization of breast cancer. **Methods** ZIF-8-Pt nanoparticles were synthesized by chelating ZIF-8 with chloroplatinic acid (H_2PtCl_6). The potential, particle size and serum stability of the nanoparticles were measured. The spatial structure of ZIF-8-Pt nanoparticles was observed under a transmission electron microscope. The ability to produce oxygen (O_2) by reaction with H_2O_2 solution was measured. The uptake of ZIF-8-Pt nanoparticles by breast cancer cells (4T1) was determined by inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS). The toxicity of ZIF-8-Pt nanoparticles was evaluated by using MTT assay. The killing effect of ZIF-8-Pt nanoparticles combined with radiotherapy and radiotherapy alone on tumor cells was observed with MTT assay, Colony formation assay and animal treatment experiments. **Results** ZIF-8-Pt nanoparticles with a potent of -14 mv and a size of about 160 nm were successfully prepared. It was confirmed that ZIF-8-Pt nanoparticles were stable in 10% serum. The ability of ZIF-8-Pt nanoparticles to produce oxygen (O_2) by reaction with H_2O_2 solution was dose-dependent with particle concentration. ICP-MS results showed that the uptake of ZIF-8-Pt nanoparticles by 4T1 cells increased with time. The clone formation assay proved that the killing effect of nanoparticles combined with radiotherapy on 4T1 cells was related to the concentration of the particles. MTT assay and animal treatment experiments verified that the killing effect of nanoparticles combined with radiotherapy on breast cancer was better than that of radiotherapy alone. **Conclusion** The killing effect of ZIF-8-Pt nanoparticles combined with radiotherapy on tumor tissues is better than that of radiotherapy alone.

Key words ZIF-8; platinum; nano particles; breast cancer; radiotherapy