



仿生姜黄素介导的声动力疗法抗黑色素瘤的实验研究*

容 逍¹, 向 茜¹, 赵羿丞², 邱 邈¹, 杜方雪^{1△}

1. 四川大学华西医院 超声医学科(成都 610041); 2. 四川大学华西临床医学院(成都 610041)

【摘要】目的 研究仿生姜黄素介导的声动力治疗在抗恶性黑色素瘤治疗中的作用,旨在为恶性黑色素瘤的治疗提供新的策略。**方法** 运用超声声振法包覆黑色素瘤细胞膜在姜黄素表面,形成仿生姜黄素;运用TEM观察仿生姜黄素的形貌;流式细胞术分析体外靶向性、细胞凋亡及胞内产活性氧(reactive oxygen species, ROS)的效果。体外实验分为对照组、US组、姜黄素组、仿生姜黄素组和仿生姜黄素+US组,每组3只小鼠;运用病理HE染色评估仿生姜黄素的体内安全性;运用HE染色、CD31染色、Ki67染色、TUNEL染色评估超声联合仿生姜黄素体内抗黑色素瘤治疗的效果。**结果** 仿生姜黄素形貌较均一,具有壳核结构;FlowJo流式细胞分析结果显示仿生姜黄素可以更好地被黑色素瘤细胞摄取;细胞凋亡率显示对照组(10.30±0.61)%,单独超声(US)组(10.41±3.13)%,姜黄素组(24.97±1.38)%,仿生姜黄素组(31.39±3.84)%,仿生姜黄素+US组(40.89±0.79)%,仿生姜黄素+US组细胞凋亡率高于其余各组($P<0.05$);ROS流式细胞分析结果显示,与对照组相比,US组荧光强度值几乎无增加,其余组荧光强度均有不同程度的增加;仿生姜黄素组荧光强度[(1.10±0.38)%]与姜黄素组[(0.73±0.26)%]比较无明显差异($P>0.05$),仿生姜黄素+US组荧光强度值[(3.35±0.04)%]高于其余各组($P<0.05$)。HE染色显示各治疗组心、肝、脾、肺、肾组织形态未见明显异常,肿瘤HE染色显示仿生姜黄素+US组细胞形态变化最大,其次是仿生姜黄素组、姜黄素组,US组肿瘤细胞形态未见明显异常;CD31染色、Ki67染色、TUNEL染色分别显示仿生姜黄素+US组棕色区域面积最大、红色荧光数目最多、绿色荧光数目最多,其次是仿生姜黄素组、姜黄素组。**结论** 仿生姜黄素形貌均一,具有壳核结构,具有良好的靶向性;联合超声后,具有良好的体内外抗肿瘤治疗效果。

【关键词】 仿生材料 声敏剂 黑色素瘤 声动力

Experimental Study on Biomimetic Curcumin-Mediated Sonodynamic Therapy of Melanoma RONG Xiao¹, XIANG Xi¹, ZHAO Yicheng², QIU Li¹, DU Fangxue^{1△}. 1. Department of Ultrasound Medicine, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. West China School of Medicine, Sichuan University, Chengdu 610041, China

△ Corresponding author, E-mail: 1531442337@qq.com

【Abstract】 Objective To study the role of curcumin-mediated sonodynamic therapy in the treatment of malignant melanoma, and to provide a new strategy for the treatment of malignant melanoma. **Methods** The ultrasonic sound and vibration method was applied to coat curcumin with mouse melanoma cell membrane, thereby forming biomimetic curcumin. The morphology of biomimetic curcumin was observed by transmission electron microscope. Flow cytometry was used to analyze the effect of biomimetic curcumin in terms of *in vitro* targeting, apoptosis, and intracellular reactive oxygen species (ROS) production. The *in vivo* experiment was divided into control group, US group, turmeric group, imitation turmeric group, and imitation turmeric+US group, with 3 mice in each group. The *in vivo* safety of biomimetic curcumin was evaluated by HE staining. In addition, HE, CD31, Ki67, and TUNEL stainings were performed to evaluate the *in vivo* anti-melanoma therapeutic effect of ultrasound combined with biomimetic curcumin. **Results** The biomimetic curcumin had a generally uniform morphology and possessed a core-shell structure. Flow cytometry analysis performed with FlowJo showed that the biomimetic curcumin could be effectively taken up by melanoma cells. The apoptosis rate was (10.30±0.61)% in the control group, (10.41±3.13)% in the ultrasound group, (24.97±1.38)% in the curcumin group, (31.39±3.84)% in the biomimetic curcumin group, and (40.89±0.79)% in the biomimetic curcumin and ultrasound combination group. The apoptosis rate in the biomimetic curcumin and ultrasound combination group was higher than those in the other groups ($P<0.05$). The results of ROS flow cytometry showed that, compared with the control group, the ultrasound group demonstrated almost no increase in the fluorescence intensity, while the other groups showed an increase in the fluorescence intensity to varying degrees. There was no significant difference in the fluorescence intensity between the biomimetic curcumin group [(1.10±0.38)%] and the curcumin group [(0.73±0.26)%] ($P>0.05$). The fluorescence intensity of the biomimetic curcumin and ultrasound combination group [(3.35±0.04)%] was higher than those of the other groups ($P<0.05$). HE staining showed no obvious abnormalities in the morphology of heart, liver, spleen, lung, and kidney tissues in any of the treatment groups. HE staining showed the most

* 四川省科技厅项目(No. 2023NSFSC1723)资助

△ 通信作者, E-mail: 1531442337@qq.com

出版日期: 2024-09-20

significant changes in cell morphology in the biomimetic curcumin and ultrasound combination group, followed by the biomimetic curcumin group and the curcumin group. No obvious abnormalities in tumor cell morphology were observed in the ultrasound group. According to the respective results of CD31 staining, Ki67 staining, and TUNEL staining, the biomimetic curcumin and ultrasound combination group had the largest brown area, the highest number of red fluorescence, and the highest number of green fluorescence, followed by the biomimetic curcumin group and the curcumin group. **Conclusion** The biomimetic curcumin displays uniform morphology, a core-shell structure, and good targeting properties. When it is used in combination with ultrasound, biomimetic curcumin demonstrates a good anti-tumor therapeutic effect both *in vivo* and *in vitro*.

【Key words】 Biomimetic materials Sonosensitizer Malignant melanoma Sonodynamic therapy

恶性黑色素瘤(malignant melanoma, MM)是由黑色素细胞引起的恶性肿瘤,恶性程度高,占皮肤癌死亡人数的75%,早期易发生转移,预后差^[1-2]。目前手术治疗是早期恶性黑色素瘤的主要治疗方式^[3-4],但是手术切除范围广,如截肢会严重影响生活质量,晚期治疗方式是免疫治疗、放化疗为主的辅助治疗,化疗药物具有非特异性,易造成正常细胞、组织和器官的损伤,此外,耐药和药物利用率低也是化疗所面临的难题。免疫疗法费用高昂,同时仍可能产生耐药性,且部分患者对免疫制剂无反应性^[5]。因此,寻找新型的治疗方式具有重要的意义。

声动力治疗(sonodynamic therapy, SDT)是在光动力治疗技术上发展而来的一种新型的治疗方式,在超声作为外界力量的作用下,肿瘤组织中的声敏剂被激活而发生电子跃迁,从而产生活性氧(reactive oxygen species, ROS),诱导细胞凋亡、坏死^[6-8],具有安全、经济、穿透性强及可控性的特点。此外,超声还可以利用其热效应、空化效应而引起细胞的死亡。SDT的必需条件之一是声敏剂的存在^[9-11],姜黄素(curcumin, Cur)是从姜科植物姜黄根茎中分离出的一种脂溶性多酚^[12],研究表明,姜黄素具有声敏活性,联合超声,在抗肿瘤治疗中发挥重要作用^[13-15]。但姜黄素存在水溶性差、稳定性弱的缺点,限制了其应用^[16]。因此,针对姜黄素以上弱点,对姜黄素进行修饰,可以提高生物利用度,提高抗肿瘤效果。近年来,细胞膜仿生药物修饰不仅可以保留药物的性能,而且拥有细胞膜中的各种蛋白和脂质成分,从而发挥多种功能,例如,提高药物的长循环性、稳定性、肿瘤成像、免疫等。肿瘤细胞繁殖速度快,易获取;且具有同源靶向性而广泛用于细胞膜涂层技术中^[17]。近年来,研究表明细胞膜涂层技术采用自上而下的合成方法可以有效地将细胞膜的功能复制在纳米材料表面而有效地提高了纳米材料与肿瘤组织的靶向性,由于肿瘤细胞膜与肿瘤组织具有同源性,可保留膜表面的肿瘤特异性识别蛋白、免疫耐受及阻止巨噬细胞摄取的蛋白被越来越多地用于仿生纳米材料的制备中。

基于上述理论基础,本研究通过提取恶性黑色素瘤细胞膜,对姜黄素进行修饰构建仿生姜黄素,用于介导声动力治疗黑色素瘤,旨在为MM的治疗提供新的策略及理论研究基础。

1 材料与方法

1.1 主要实验材料

姜黄素粉剂购自阿拉丁;BCA蛋白定量试剂盒、DiI红细胞膜橙色荧光探针和ROS检测试剂盒购自碧云天生物技术有限公司,Annexin V-FITC/PI细胞凋亡检测试剂盒购自正四柏生物科技有限公司;CD31检测试剂盒购自湖南艾方生物科技有限公司,TUNEL试剂盒购自四川博杰瑞生物科技有限公司,Ki67细胞增殖检测试剂盒购自赛默飞公司,苏木精和伊红染料购自Sigma-Aldrich公司。小鼠黑色素瘤细胞B16F10购自中国科学院/干细胞库。实验动物:6~8周、雄性、C57BL/6小鼠购自北京华阜康生物科技股份有限公司。所有动物实验均符合四川大学华西医院动物保护与伦理委员会的要求,批准号:20240520005。

1.2 方法

1.2.1 仿生姜黄素的制备和表征

小鼠黑色素瘤细胞膜的提取:收集处于对数期生长的小鼠黑色素瘤细胞,细胞裂解液裂解细胞,超声破碎仪破碎细胞(4℃,30 min,50%占空比,频率21 kHz),4000×g,10 min离心后收集上清;收集的上清再次低温(4℃)、高速(16000×g)离心30 min,随即收集沉淀物,PBS洗2次后用PBS进行重悬,然后BCA进行膜蛋白含量的测定。

运用超声声振法合成仿生姜黄素:用PBS分别将姜黄素粉剂和细胞膜配置成1 mg/mL的溶液;将5 mL姜黄素溶液与5 mL细胞膜溶液融合,超声法融合10 min;离心、冻干后运用PBS重悬,供后续使用。

1.2.2 仿生姜黄素的透射电子显微镜检测

1 mg/mL仿生姜黄素置于铜片上,然后用磷钨酸溶液负染,进行透射电子显微镜(transmission electron

microscope, TEM)检测分析仿生姜黄素的形貌特征。

1.2.3 仿生姜黄素体外靶向性的验证

①将处于对数期生长的B16F10细胞接种在24孔板(500 μ L细胞悬液, 约 5×10^5 细胞); ②待细胞基本长满时, 各孔分别加入DiI标记的100 μ g/mL姜黄素、100 μ g/mL仿生姜黄素; 共孵育8 h; ③弃去孔板上清, 消化收集细胞, PBS洗涤2次, 重悬后, 运用细胞流式仪进行检测。

1.2.4 超声联合仿生姜黄素体外抗黑色素瘤细胞效果验证

①实验分组: 对照组, 单独超声(US)组, 姜黄素组, 仿生姜黄素组, 仿生姜黄素+US组; ②铺板: 将处于对数期生长的B16F10细胞接种在24孔板(500 μ L细胞悬液, 约 5×10^5 细胞); ③处理细胞: 待细胞基本长满时, 按照分组分别进行处理(材料质量浓度: 100 μ g/mL), 超声条件(1 W/cm², 1 min); ④染色: 弃去培养基, 消化并收集细胞, PBS洗涤2次后, 加入5 μ L Annexin V/FITC染色液及10 μ L PI染色液, 室温避光条件下孵育10 min后, 进行流式检测。

1.2.5 超声联合仿生姜黄素胞内产ROS的检测

①实验分组: 同1.2.4; ②铺板: 同1.2.4; ③处理细胞: 同1.2.4; ④染色: 弃去培养基, 消化收集细胞, PBS洗涤2次后, 加入DCFH-DA染色工作液, 37 $^{\circ}$ C避光条件下孵育30 min后, 进行流式检测。

1.2.6 小鼠黑色素瘤皮下瘤模型的建立

①备皮、打耳标; ②收集处于对数期生长的黑色素瘤细胞; ③异氟烷麻醉小鼠后, 皮下注入B16F10细胞悬液; 后续定期观察皮下成瘤情况及小鼠状态。

1.2.7 超声联合仿生姜黄素体内抗黑色素瘤细胞效果验证

①实验分组: 对照组, US组, 姜黄素组, 仿生姜黄素组, 仿生姜黄素+US组, 每组3只小鼠; ②肿瘤体积达到50 ~ 100 mm³进行治疗, 按照分组进行对应的治疗, 其中, 尾静脉注射材料, 浓度10 mg/kg, US条件: 频率1 MHz, 占空比30%, 功率2 W/cm², 超声辐照时间4 min; 每2 d治疗一次, 共治疗4次。治疗结束后, 取小鼠心、肝、脾、肺、肾及肿瘤组织, 进行各组织的HE染色以观察各种小鼠心、肝、脾、肺、肾、肿瘤组织的形态, 肿瘤组织的CD31免疫组化染色以观察各组小鼠肿瘤组织中新生血管的多少, 肿瘤组织的Ki67免疫荧光染色以观察各治疗组小鼠肿瘤细胞的增殖情况, 肿瘤组织的TUNEL染色以观察各治疗组小鼠肿瘤组织肿瘤细胞的凋亡情况。

1.2.8 统计学方法

运用SPSS 22.0软件进行统计学分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组独立、正态、方差齐性资料组间比较运用单因素方差分析, 组间两两比较采用LSD检验, $P < 0.05$ 为

差异有统计学意义。

2 结果

2.1 仿生姜黄素的TEM检测结果

姜黄素是形貌欠均一的颗粒状结构(图1A), 仿生姜黄素TEM表现为形貌较均一的具有壳核结构的球形结构(图1B)。

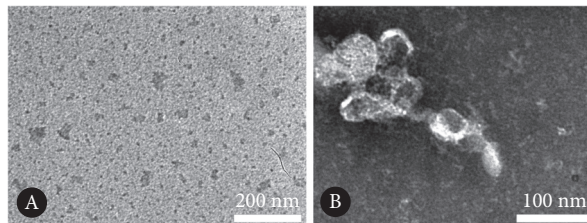


图1 姜黄素(A)与仿生姜黄素(B)的TEM图

Fig 1 TEM image of curcumin (A) and biomimetic curcumin (B)

2.2 仿生姜黄素体外靶向性的验证

FlowJo流式细胞分析结果显示小鼠黑色素瘤细胞摄取仿生姜黄素组的峰值较姜黄素组、对照组向右偏移(图2A)。

2.3 超声联合仿生姜黄素体外抗肿瘤效果

流式细胞分析结果显示, 对照组细胞凋亡率为(10.30 \pm 0.61)%, US组细胞凋亡率为(10.41 \pm 3.13)%, 姜黄素组细胞凋亡率为(24.97 \pm 1.38)%, 仿生姜黄素组细胞凋亡率为(31.39 \pm 3.84)%, 仿生姜黄素+US组细胞凋亡率为(40.89 \pm 0.79)%。与对照组相比, US组细胞凋亡率的差异无统计学意义, 其余组细胞凋亡率均增高($P < 0.05$); 仿生姜黄素组细胞凋亡率高于姜黄素组($P < 0.05$), 仿生姜黄素+US组细胞凋亡率较仿生姜黄素组进一步增高($P < 0.05$)。见图2B、2D。

2.4 超声联合仿生姜黄素对肿瘤细胞内产ROS的影响

ROS流式细胞分析结果显示, 与对照组相比, US组荧光强度值几乎无增加($P > 0.05$), 其余组荧光强度均有不同程度的增加($P < 0.05$); 仿生姜黄素组荧光强度[(1.10 \pm 0.38)%]与姜黄素组[(0.73 \pm 0.26)%]比较无明显增强($P > 0.05$), 但仿生姜黄素+US组荧光强度值较这两组进一步增加[(3.35 \pm 0.04)%, $P < 0.05$]。见图2C、2E。

2.5 超声联合仿生姜黄素体内安全性评估

小鼠在皮下注入B16F10细胞悬液4 d后, 皮下可观察到小黑点, 各小鼠生长状态良好。治疗结束后, 各治疗组心、肝、脾、肺、肾HE染色显示, 心、肝、脾、肺、肾脏组织细胞形态未见明显异常(图3)。

2.6 超声联合仿生姜黄素的体内抗肿瘤治疗效果

见图4。HE染色显示, 与对照组相比, US组几乎看不

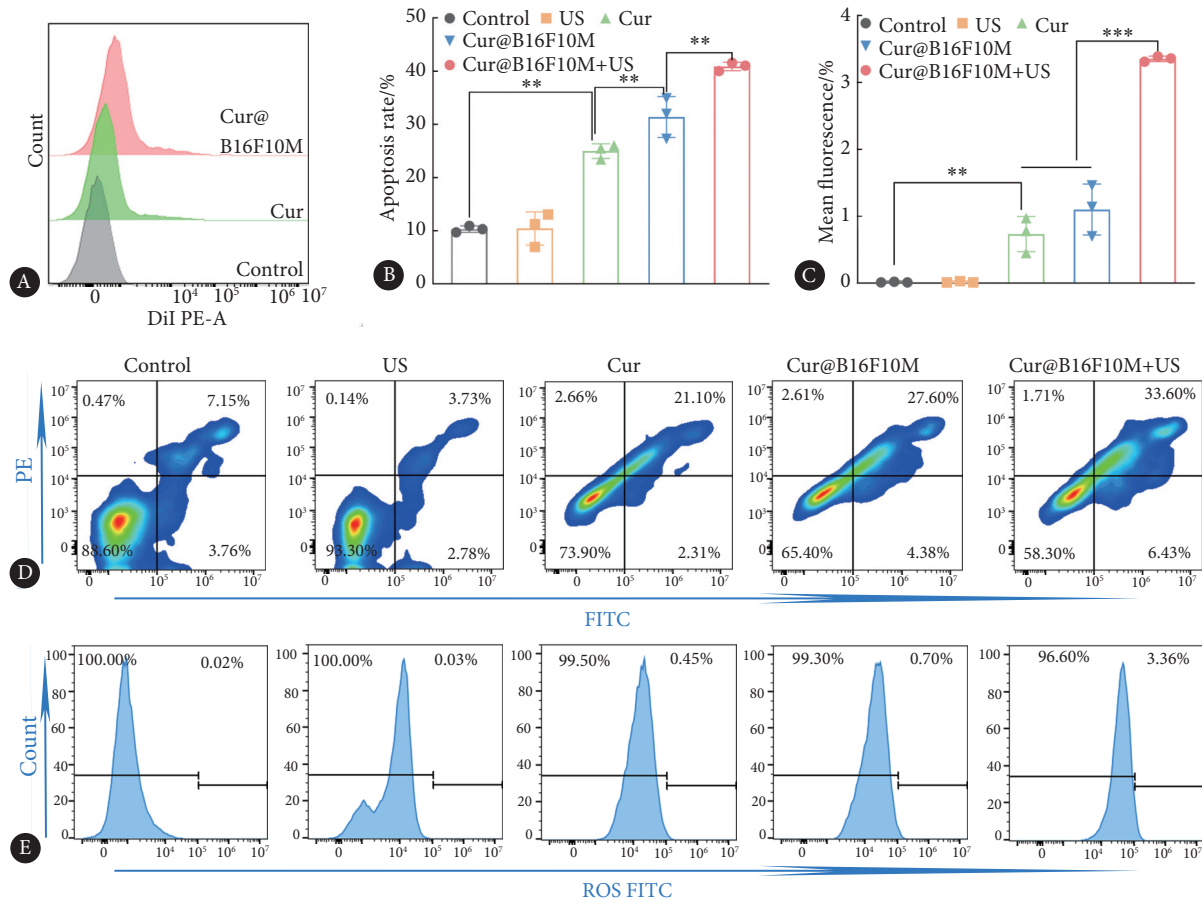


图 2 仿生姜黄素体外细胞实验结果

Fig 2 Results of biomimetic curcumin *in vitro* cell experiment

Cur: curcumin; US: ultrasound. A, Flow cytometry diagram of the cell phagocytosis of biomimetic curcumin; B, statistical analysis of cell apoptosis rate of cells treated with biomimetic curcumin combined with ultrasound ($n=3$); C, statistical analysis of intracellular ROS production in cells treated with biomimetic curcumin combined with ultrasound ($n=3$); D, experimental results of cell apoptosis after treatment with biomimetic curcumin combined with ultrasound; E, experimental results of intracellular ROS production after treatment with biomimetic curcumin combined with ultrasound. ** $P<0.01$, *** $P<0.001$.

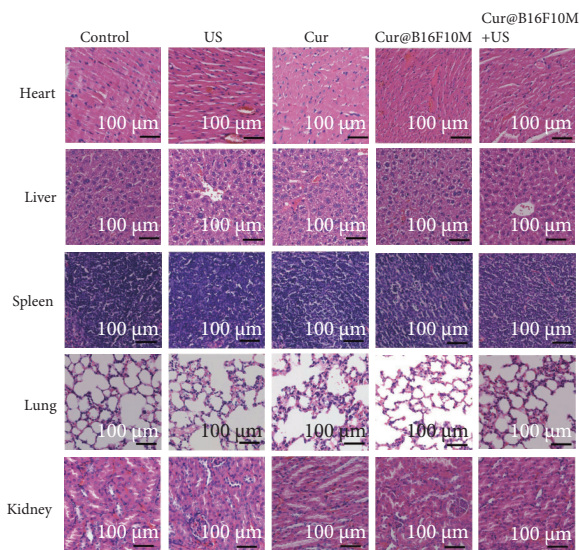


图 3 各治疗组脏器的 HE 染色图

Fig 3 The HE staining of organ tissues given different treatments

The abbreviations are explained in the note to Fig 2.

到明显的肿瘤细胞形态的改变, 其余组均出现不同程度的细胞形态的变化, 主要表现为肿瘤细胞的皱缩、细胞核的不完整, 其中仿生姜黄素+US组的破坏程度最大, 仿生姜黄素组次之, 仿生姜黄素组细胞形态改变的程度高于姜黄素组。

CD31染色显示, 与对照组相比, US组棕色区域面积无显著改变, 其余组均出现不同程度的棕色区域面积的减少, 其中仿生姜黄素+US组的棕色区域面积最小, 仿生姜黄素组次之, 仿生姜黄素组棕色区域面积小于姜黄素组。

Ki67染色显示, 与对照组相比, US组红色荧光的数目无显著改变, 其余组均出现不同程度的红色荧光数目的减少, 其中仿生姜黄素+US组的红色荧光数目最少, 仿生姜黄素组次之, 仿生姜黄素组红色荧光数目少于姜黄素组。

TUNEL染色显示, 与对照组相比, US组绿色荧光的

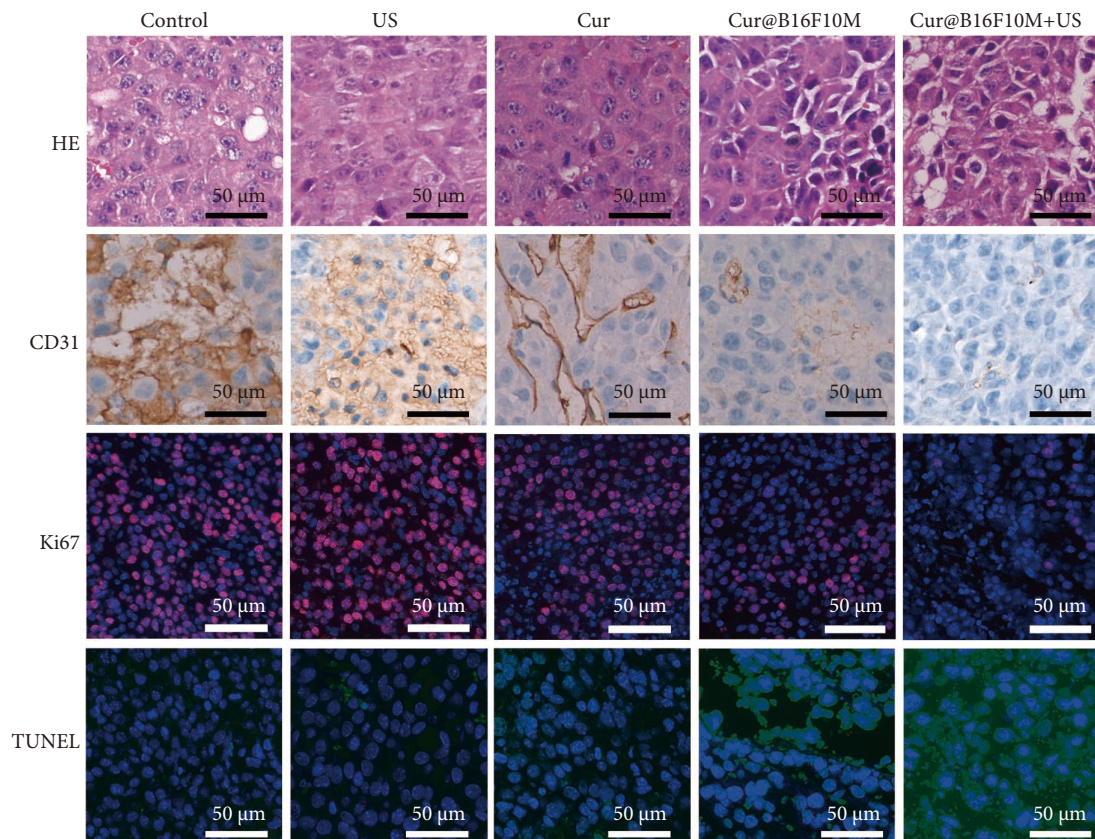


图4 各治疗组肿瘤组织的病理染色

Fig 4 Pathological staining of the tumor tissues of different treatment groups

The abbreviations are explained in the note to Fig 2.

数目无显著改变,其余组均出现不同程度的绿色荧光数目的增多,其中仿生姜黄素+US组的绿色荧光数目最多,仿生姜黄素组次之,仿生姜黄素组绿色荧光数目多于姜黄素组。

3 讨论

SDT是近年来提出的一种基于超声波的疾病治疗模式,具有良好的抗肿瘤效果。目前SDT机制仍在探索中,其中,ROS机制是比较认可的机制之一,主要指超声激活肿瘤组织中的声敏剂产ROS,破坏肿瘤细胞,达到抗肿瘤治疗的目的^[18]。姜黄素是从姜黄中提取出的一种天然多酚,是声敏剂的一种,具有生物安全性高的优势,但水溶性差、生物半衰期短的特性限制了其应用,随着药物递送、修饰技术的发展,研究人员提出了纳米载体递送、脂质体修饰、化学修饰等方案^[19-20]。本研究采用同源肿瘤细胞膜包覆姜黄素形成仿生姜黄素,相对于游离姜黄素,肿瘤细胞膜的包覆不仅提高了生物相容性,还增加了药物靶向性,体外靶向性流式分析实验证明了这一优势。既往研究证实细胞膜包覆纳米制剂后,会形成壳核结构^[21-22],这与本研究中TEM显示的包覆肿瘤细胞膜的姜黄素的形

貌特征相一致。

Annexin V是一种钙离子依赖性磷脂结合蛋白,与磷脂酰丝氨酸PS有高度亲和力,可通过细胞外侧暴露的PS与凋亡早期细胞膜结合,将Annexin V标记荧光染料,利用流式细胞仪检测细胞凋亡。细胞核染料PI可与双链DNA特异性结合,并产生强烈的荧光,正常情况下无法透过细胞膜,由于凋亡晚期或坏死细胞膜丧失完整性,PI可进入细胞内对DNA进行染色,Annexin V/PI联用,可区分处于不同凋亡时期的细胞^[23]。本研究流式细胞分析结果提示仿生姜黄素引起的细胞凋亡率高于游离姜黄素组,推测姜黄素可通过诱导细胞凋亡起到抗肿瘤治疗的效果;细胞膜的包覆可以增加药物被细胞摄取,进而增加了细胞凋亡率,与以往研究结果一致;联合超声后,效果进一步提高,充分证明了SDT在抗肿瘤领域具有良好的应用前景。

ROS是一类含有氧的分子、自由基及离子,包括·OH、·O₂⁻、¹O₂、H₂O₂等,其在细胞信号转导及维持组织稳态中发挥重要作用,维持机体正常的生命活动,胞内ROS的产生与清除处于动态平衡,若该机制被打破,引起ROS过多或过少均可以引起疾病的发生,ROS水平的升高

会导致DNA、蛋白及磷脂过氧化,进而引起细胞的凋亡及坏死^[24]。本研究发现与对照组相比,仿生姜黄素组、姜黄素组细胞内产ROS的量均增加,与以往研究中报道的姜黄素可通过提高细胞NADPH氧化酶活性促进ROS产生的结果相一致;仿生姜黄素组较姜黄素组细胞内产ROS的量增加,但差异没有统计学意义,推测与药物孵育时间和药物浓度有关,联合超声后,仿生姜黄素组内产ROS的量增加,推测与SDT的机制之一超声刺激组织内声敏剂产ROS有关。

良好的生物安全性是药物用于医学领域的重要条件。本研究观察到各治疗组小鼠的心、肝、脾、肺、肾组织的细胞形态未发生明显的改变,提示仿生姜黄素在一定剂量下,具有良好的生物安全性。肿瘤组织HE染色显示仿生姜黄素+US组细胞形态变化明显,其次是仿生姜黄素组、姜黄素组,与体外抗肿瘤效果一致。CD31是血小板黏附分子之一,是最敏感、最特异的内皮标记物,其在肿瘤组织中的表达与肿瘤组织血管的生长有关,仿生姜黄素+US组具有最少的表达,笔者认为联合超声后仿生姜黄素可以发挥良好的生物学效应,破坏肿瘤组织血管,阻断其营养物质供应,为高效抗肿瘤提供了可能^[25]。TUNEL检测试剂盒中的12-dUTP可与断裂的DNA产生的3'-OH末端结合,带上荧光的细胞则代表已发生凋亡,因此,TUNEL检测常用于抗肿瘤治疗效果的评价^[26]。本研究发现仿生姜黄素+US组较其他组具有较多的绿色荧光,提示仿生姜黄素联合超声可介导DNA的损伤,进而抑制肿瘤的生长。Ki67的本质是一种核抗原,特定的抗体与其结合后,可以检测细胞分裂增殖的情况,研究表明仿生姜黄素+US组具有最少的红色荧光,表明其有较强抑制细胞增殖的能力。

本实验仍存在不足:首先,没有对药物代谢进行验证;其次,对姜黄素抗肿瘤机制方面尚需要进一步探索;最后,研究涉及指标较多且缺乏严格的样本量计算,结果仅作为探索性分析。

综上所述,本研究构建的仿生姜黄素形貌均一,具有壳核结构,具有良好的靶向性;联合超声后,具有良好的体内、外抗肿瘤效果和生物安全性,该研究有望为恶性黑色素瘤的治疗提供新的方案。

* * *

作者贡献声明 容道负责数据审编和初稿写作,向茜负责研究方法,赵羿丞负责软件,邱邈负责监督指导,杜方雪负责数据审编、正式分析、研究方法、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,且对将要发表的本刊进行最终定稿,并同意对本刊的所有方面负责。

Author Contribution RONG Xiao is responsible for data curation and writing--original draft. XIANG Xi is responsible for methodology. ZHAO Yicheng is responsible for software. QIU Li is responsible for supervision. DU Fangxue is responsible for data curation, formal analysis, methodology, 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] VISNJIC A, KOVACEVIC P, VELICKOV A, *et al.* Head and neck cutaneous melanoma: 5-year survival analysis in a Serbian university center. *World J Surg Oncol*, 2020, 18(1): 312. doi: 10.1186/s12957-020-02091-4.
- [2] LIM Y, LEE J, LEE D Y. Is the survival rate for acral melanoma actually worse than other cutaneous melanomas? *J Dermatol*, 2020, 47(3): 251-256. doi: 10.1111/1346-8138.15201.
- [3] CONIC R Z, CABRERA C I, KHORANA A A, *et al.* Determination of the impact of melanoma surgical timing on survival using the National Cancer Database. *J Am Acad Dermatol*, 2018, 78(1): 40-46.e7. doi: 10.1016/j.jaad.2017.08.039.
- [4] COIT D G, THOMPSON J A, ALBERTINI M R, *et al.* Cutaneous Melanoma, Version 2.2019, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw*, 2019, 17(4): 367-402. doi: 10.6004/jnccn.2019.0018.
- [5] CHAMPIAT S, DERCLE L, AMMARI S, *et al.* Hyperprogressive disease is a new pattern of progression in cancer patients treated by anti-PD-1/PD-L1. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(8): 1920-1928. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-1741.
- [6] XU M M, ZHOU L Q, ZHENG L, *et al.* Sonodynamic therapy-derived multimodal synergistic cancer therapy. *Cancer Lett*, 2021, 497: 229-242. doi: 10.1016/j.canlet.2020.10.037.
- [7] OUYANG J, TANG Z M, FAROKHZAD N, *et al.* Ultrasound mediated therapy: recent progress and challenges in nanoscience. *Nano Today*, 2020, 35: 100949. doi: 10.1016/j.nantod.2020.100949.
- [8] HE M Y, WANG M Y, XU T, *et al.* Reactive oxygen species-powered cancer immunotherapy: current status and challenges. *J Control Release*, 2023, 356: 623-648. doi: 10.1016/j.jconrel.2023.02.040.
- [9] SON S, KIM J H, WANG X W, *et al.* Multifunctional sonosensitizers in sonodynamic cancer therapy. *Chem Soc Rev*, 2020, 49(11): 3244-3261. doi: 10.1039/c9cs00648f.
- [10] XING X J, ZHAO S J, XU T, *et al.* Advances and perspectives in organic sonosensitizers for sonodynamic therapy. *Coord Chem Rev*, 2021, 445: 214087. doi: 10.1016/j.ccr.2021.214087.
- [11] LIN X H, SONG J B, CHEN X Y, *et al.* Ultrasound-activated sensitizers and applications. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2020, 59(34): 14212-14233.

- doi: [10.1002/anie.201906823](https://doi.org/10.1002/anie.201906823).
- [12] ALAGAWANY M, FARAG M R, ABDELNOUR S A, *et al.* Curcumin and its different forms: a review on fish nutrition. *Aquaculture*, 2021, 532: 736030. doi: [10.1016/j.aquaculture.2020.736030](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736030).
- [13] SHANMUGAM M K, RANE G, KANCHI M M, *et al.* The multifaceted role of curcumin in cancer prevention and treatment. *Molecules*, 2015, 20(2): 2728–2769. doi: [10.3390/molecules20022728](https://doi.org/10.3390/molecules20022728).
- [14] PATRA S, PRADHAN B, NAYAK R, *et al.* Chemotherapeutic efficacy of curcumin and resveratrol against cancer: chemoprevention, chemoprotection, drug synergism and clinical pharmacokinetics. *Semin Cancer Biol*, 2021, 73: 310–320. doi: [10.1016/j.semcancer.2020.10.010](https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2020.10.010).
- [15] SOWA-KASPRZAK K, JÓZKOWIAK M, OLENDER D, *et al.* Curcumin-Triterpene Type Hybrid as Effective Sonosensitizers for Sonodynamic Therapy in Oral Squamous Cell Carcinoma. *Pharmaceutics*, 2023, 5(7): 2008. doi: [10.3390/pharmaceutics15072008](https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15072008).
- [16] TABANELLI R, BROGI S, CALDERONE V. Improving curcumin bioavailability: current strategies and future perspectives. *Pharmaceutics*, 2021, 13(10): 1715. doi: [10.3390/pharmaceutics13101715](https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13101715).
- [17] YANG D M, TANG Y J, ZHU B H, *et al.* Engineering cell membrane-coated catalysts as multifaceted artificial peroxisomes for biomedical applications. *Adv Sci (Weinh)*, 2023, 10(17): e2206181. doi: [10.1002/adv.202206181](https://doi.org/10.1002/adv.202206181).
- [18] XU K, ZOU Y N, LIN C C, *et al.* Cascade catalysis nanozyme for interfacial functionalization in combating implant infections associated with diabetes via sonodynamic therapy and adaptive immune activation. *Biomaterials*, 2024, 311: 122649. doi: [10.1016/j.biomaterials.2024.122649](https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2024.122649).
- [19] HAN Y, ZHANG H, ZHAO H T, *et al.* Nanoparticle encapsulation using self-assembly abietic acid to improve oral bioavailability of curcumin. *Food Chem*, 2024, 436: 137676. doi: [10.1016/j.foodchem.2023.137676](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137676).
- [20] OMIDIAN H, WILSON R L, CHOWDHURY S D. Enhancing therapeutic efficacy of curcumin: advances in delivery systems and clinical applications. *Gels*, 2023, 9(8): 596. doi: [10.3390/gels9080596](https://doi.org/10.3390/gels9080596).
- [21] XIONG J, WU M, CHEN J, *et al.* Cancer-erythrocyte hybrid membrane-camouflaged magnetic nanoparticles with enhanced photothermal-immunotherapy for ovarian cancer. *ACS Nano*, 2021, 15(12): 19756–19770. doi: [10.1021/acsnano.1c07180](https://doi.org/10.1021/acsnano.1c07180).
- [22] RAO L, BU L L, CAI B, *et al.* Cancer cell membrane-coated upconversion nanoprobe for highly specific tumor imaging. *Adv Mater*, 2016, 28(18): 3460–3466. doi: [10.1002/adma.201506086](https://doi.org/10.1002/adma.201506086).
- [23] YUAN H M, ZHANG L Y, MA T, *et al.* Spiky cascade biocatalysts as peroxisome-mimics for ultrasound-augmented tumor ablation. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2022, 14(14): 15970–15981. doi: [10.1021/acsmi.1c25072](https://doi.org/10.1021/acsmi.1c25072).
- [24] AN X Q, YU W F, LIU J B, *et al.* Oxidative cell death in cancer: mechanisms and therapeutic opportunities. *Cell Death Dis*, 2024, 15(8): 556. doi: [10.1038/s41419-024-06939-5](https://doi.org/10.1038/s41419-024-06939-5).
- [25] TORRES-CABALA C, LI-NING-TAPIA E, HWU W J. Pathology-based biomarkers useful for clinical decisions in melanoma. *Arch Med Res*, 2020, 51(8): 827–838. doi: [10.1016/j.arcmed.2020.09.008](https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2020.09.008).
- [26] SIMON L, ZINI A, DYACHENKO A, *et al.* A systematic review and meta-analysis to determine the effect of sperm DNA damage on *in vitro* fertilization and intracytoplasmic sperm injection outcome. *Asian J Androl*, 2017, 19(1): 80–90. doi: [10.4103/1008-682X.182822](https://doi.org/10.4103/1008-682X.182822).

(2024-03-14收稿, 2024-08-24修回)

编辑 余琳



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-nc/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-nc/4.0/>.

© 2024 《四川大学学报(医学版)》编辑部

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