·医学工程·

# 多孔空心氧化铁纳米增敏剂增强射频消融的研究

江泽龙　赵昌*

（广西医科大学附属肿瘤医院介入治疗科，南宁 530000）

**【摘要】 目的** 通过在多孔空心氧化铁纳米颗粒（hollow iron oxide nanoparticles, HION）上负载VER-155008制备纳米增敏剂（HION/VER），研究HION/VER增强射频消融对肝癌肿瘤的作用机制与效果。**方法** 通过透射电镜及表面电位实验，考察多孔空心氧化铁纳米增敏剂的构建及药物负载。通过细胞生存率以及细胞活/死染色实验，考察增敏剂的体外抗肿瘤能力。通过检测细胞内活性氧（reactive oxygen species, ROS）、谷胱甘肽（glutathione, GSH）以及热休克蛋白70（heat shock protein 70, HSP70）水平，考察纳米增敏剂体外抗肿瘤机制。**结果** 通过材料表征分析，多孔空心氧化铁纳米增敏剂已成功构建，粒径约为100 nm。在56.89 μg/mL和45℃条件下，HION/VER将肿瘤细胞生存率降低至50%。细胞活/死染色实验进一步证实，大量肿瘤细胞死亡，表明HION/ VER具有良好的体外抗肿瘤能力。通过ROS荧光探针及GSH水平分析，ROS荧光明显增强，GSH水平下降，表明HION/VER可以通过破坏氧化还原平衡的机制来促进肿瘤铁死亡。通过HSP70免疫荧光实验分析，经过HION/VER处理后，细胞HSP70表达量明显减少，表明HION-VER通过抑制HSP70增加了肿瘤细胞对轻度射频消融的敏感性。**结论** HION/VER被肿瘤细胞内吞后，细胞摄取药物量增加，通过破坏氧化还原平衡增强铁死亡，抑制HSP70增加了肿瘤细胞对轻度射频消融的敏感性，有效提高了射频消融的效果。

**【关键词】** 射频消融；热休克蛋白；肝细胞癌；靶向；肿瘤治疗

**【中图分类号】** TH77; TP18　　**【文献标识码】** A　**【DOI】** 10.11876/mimt202503004

## Porous hollow iron oxide nanosensitizers for enhanced radiofrequency ablation

*Jiang Zelong*, *Zhao Chang**

(*Department of Interventional Therapy*, *Guangxi Medical University Cancer Hospital*, *Nanning 530000*, *China*)

**【Abstract】 Objective** To investigate the mechanism and effect of porous hollow iron oxide nanoparticles (HION) nanosensitizers (HION/VER) loaded with VER-155008 prepared to enhance the radiofrequency ablation on hepatocellular carcinoma tumors. **Methods** The construction of porous hollow iron oxide nanosensitizers and drug loading were investigated by transmission electron microscopy and zeta potential experiments. The in vitro anti-tumor ability of the sensitizers was examined by cell viability and cell live/dead staining experiments. The in vitro anti-tumor mechanism of the sensitizers was investigated by measuring the intracellular levels of reactive oxygen species (ROS), glutathione (GSH) and heat shock protein 70 (HSP70). **Results** Through material characterization analysis, porous hollow iron oxide nanosensitizers have been successfully constructed with a particle size of about 100 nm. HION/ VER reduced tumor cell survival to 50% at 56.89 μg/mL and 45℃. Live/dead staining assay further confirmed that a large number of tumor cells died, indicating that HION/VER has good anti-tumor ability in vitro. Analysis by reactive oxygen fluorescence probe and glutathione level showed that reactive oxygen fluorescence was significantly enhanced and GSH levels decreased, indicating that HION/VER nano-sensitizer could promote iron death through the mechanism of disrupting redox balance. Analyzed by HSP70 immunofluorescence assay, the cellular HSP70 expression was significantly reduced after HION/VER treatment, indicating that the nano-sensitizer increased the sensitivity of tumor cells to mild radiofrequency ablation by inhibiting HSP70. **Conclusion** After HION/VER was endocytosed by the tumor cells, the drug uptake in the cells was increased, and the inhibition of HSP70 increased the sensitivity of the tumor cells to mild radiofrequency ablation by disrupting

**基金项目**：柳州市科技计划项目（2022SB017）

**第一作者**：江泽龙，男，硕士研究生，住院医师，研究方向：肿瘤仿生药物

**通信作者**：赵昌，男，博士研究生，主任医师，研究方向：肿瘤仿生药物

the redox balance to enhance the iron death, and the effect of radiofrequency ablation was achieved by effectively increasing the sensitivity of the tumor cells to mild radiofrequency ablation.

【Key words】Radiofrequency ablation; Heat shock proteins; Hepatocellular carcinoma; Targeting; Tumor therapy

肝癌作为全球第6大常见恶性肿瘤，是全球癌症相关死亡的第3大原因[1]。射频消融术（radiofrequency ablation, RFA）作为微创介入治疗的代表性技术[2]，通过460 ~ 500 kHz高频电流诱导离子震荡产生焦耳热效应（60 ~ 100 ℃），使肿瘤细胞发生不可逆的凝固性坏死[3]。基于其创伤小、并发症率低（<5%）及可重复性强的优势，RFA被国际指南列为小肝癌（≤3 cm）的一线治疗方案[4–5]。然而，RFA的临床应用仍面临关键挑战[6]。组织病理学研究显示，约38%的肝细胞癌（hepatocellular carcinoma, HCC）因浸润性生长呈现模糊边界[7]，导致消融范围难以精确界定。临床数据显示，消融边缘不足5 mm时局部进展率可达32.7%[8]，而5年累计复发率更接近70%[9]。

在RFA治疗HCC的病理生理机制研究中，热休克蛋白70（heat shock protein 70, HSP70）的动态调控被证实为影响疗效的关键因素[10]。分子生物学研究显示，RFA诱导的局部热应激（42 ~ 45 ℃）可触发肿瘤细胞内HSP70表达量显著升高（≥5倍基线水平），增强肿瘤细胞对氧化应激及热损伤的耐受性[11–12]。针对此耐药机制，研究者相继开发了格尔德霉素（geldanamycin）、坦螺旋霉素（17–AAG）等HSP90/HSP70抑制剂，以及靶向HSP70信使核糖核酸（messenger RNA，mRNA）的干扰小RNA（short interfering RNA, siRNA）干预策略[13]。然而，传统小分子抑制剂普遍存在血浆半衰期短（<2 h）、肿瘤靶向性不足（靶向效率<15%）等缺陷[14]，而siRNA则面临胞内递送屏障和溶酶体逃逸效率低下的问题[15]。

近年来，纳米医学技术为突破上述瓶颈提供了新思路[16]。脂质体包载的siRNA复合物通过增强渗透与滞留（enhanced permeability and retention, EPR）效应可将肿瘤内HSP70沉默效率提升至68%[17]，而pH响应型聚合物纳米粒可实现抑制剂在消融区的可控释放[18]。这种多模态治疗策略为扩大RFA消融边界、降低局部复发率提供了理论依据。在此基础上，我们设计了一种多功能的RFA纳米增敏剂（HION/VER），使用多孔空心氧化铁纳米颗粒（hollow iron oxide nanoparticles, HION），负载热休克蛋白抑制剂VER–155008。HION/VER具有良好的肿瘤靶向性，肿瘤细胞的酸性环境促进$Fe^{3+}$的释放，释放$Fe^{3+}$消耗谷胱甘肽（glutathione, GSH）生成$Fe^{2+}$，进一步促进活性氧（reactive oxygen species, ROS）的生成和积累，促进肿瘤铁死亡。同时，释放的VER–155008可抑制热休克蛋白的产生，增加了肿瘤细胞对轻度射频消融的敏感性。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

六水合氯化铁（$FeCl_3 \cdot 6H_2O$, Mn=270.30）、二水合柠檬酸钠（$C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$, 25g）、聚丙烯酰胺［polyacrylamide, PAM（Mn = 3 000 000）］、尿素（$CH_4N_2O$, 25g）、无水乙醇和氯化钠均来自阿拉丁工业有限公司。VER–155008购自MedChemExpress公司。

### 1.2 细胞

小鼠肝癌细胞（Hepa1–6）和人肝永生化细胞（transformed human liver epithelial–2, THLE–2）均来自美国典型培养物保藏中心（American Type Culture Collection, ATCC）。细胞均在37℃，5%$CO_2$细胞培养箱中培养。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 HION/ VER的制备与表征

根据以往的研究合成中空介孔氧化铁。将1 mmol $FeCl_3 \cdot 6H_2O$、2 mmol $C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$及3 mmol $CH_4N_2O$溶解于20 mL超纯水中，持续搅拌条件下缓慢加入0.2 g PAM至溶液澄清。将混合溶液转移至聚四氟乙烯内衬不锈钢高压反应釜，以5 ℃/min升温至220 ℃并维持12 h，随后自然冷却至室温。产物经磁分离技术收集后，依次采用超纯水与无水乙醇洗涤3次以去除杂质，最终于60 ℃真空干燥箱中处理12 h备用。将5 mg HION通过超声波辐射分散在5 mL无水乙醇中。然后将5 mg 70 ℃的VER–155008溶液加入HION分散体中，在相同的温度下机械搅拌8 h。随着无水乙醇的逐渐蒸发，

VER–155008进入HION的中空内部。随后，加入热水并剧烈搅拌10 min，逐渐产生含有HION/VER的水相和由残留的VER–155008组成的油相。最后，用磁铁磁分离收集装载了VER–155008的HION，然后用去离子水洗涤并进行超声处理，在分散的新鲜磷酸盐缓冲溶液（phosphate buffered saline, PBS）中使用。

采用透射电子显微镜（生产企业：FEI，型号：TitanG260–300）、动态光散射纳米激光粒度分析仪（生产企业：Malvern，型号：Zetasizer Nano ZS90）、激光扫描共聚焦显微镜（生产企业：Zeiss，型号：LSM 980）对纳米增敏剂进行表征。

**1.3.2** 热处理

将Hepa1–6和THLE–2细胞置于6孔板中，孵育24 h。将细胞分成5组：正常对照组（PBS）、单独加热组（Heat）、纳米增敏剂处理组（HION/VER）、氧化铁+加热组（HION+ Heat）、纳米增敏剂+加热组（HION/VER+ Heat）。对于需要热处理的组别，吸出培养基并用45 ℃预热的培养基替换，随后将平板转移到45 ℃的烘箱中热处理15 min。在热暴露前在培养基中分别加入HION或者HION/VER。热处理后，立即更换回37 ℃的培养基中，并在培养箱中保持，直到检测。

**1.3.3** 细胞生存率检测

使用细胞计数试剂盒（C0038, Beyotime）评估细胞活力。将Hepa1–6细胞和THLE–2细胞分别接种于96孔细胞培养板（$6\times10^3$细胞/孔）中，在37 ℃和5% $CO_2$下孵育24 h。用一系列浓度的HION/VER处理细胞，孵育2 h后再将细胞热处理15 min。用细胞计数试剂–8（CCK–8）检测分析细胞生存率，在450 nm下测量吸光度（optical density, OD）值。

**1.3.4** HION/VER的细胞吞噬行为评估

为了研究HION/VER的肿瘤靶向效率，我们使用激光扫描共聚焦显微镜LSM 980来评估细胞吞噬行为。在显微镜观察中，Hepa1–6细胞分别与游离的Cy5.5、Cy5.5标记的HION/VER共培养0、0.5、1和2 h。然后用细胞骨架染色试剂盒（BB–441245, Bestbio）染色细胞骨架2 h，用Hoechst 33342溶液（C1026, Beyotime）染色细胞核10 min。最后用PBS冲洗细胞3次，再在LSM 980下进行观察并记录图像。

**1.3.5** 细胞活/死荧光成像

用荧光显微镜观察Hepa1–6细胞的活性/死亡情况。按以下分组处理细胞：PBS、Heat、HION/VER、HION+ Heat和HION/VER+ Heat。使用Calcein–AM/PI细胞活性和细胞毒性检测试剂盒在荧光显微镜下观察细胞活性/死亡水平。

**1.3.6** 荧光显微镜分析细胞内ROS水平

采用ROS检测试剂盒（S0033M, Beyotime）检测细胞内相对ROS水平。将Hepa1–6细胞接种于12孔细胞培养板（$2\times10^5$细胞/孔）中，并与各组纳米药物共孵育24 h。用2,7–二氯荧光素二乙酸酯（DCFH–DA）试剂在37 ℃培养基中孵育30 min，观察前用PBS冲洗2次。在显微镜上观察并记录图像。

**1.3.7** 细胞内GSH消耗试验

将Hepa1–6细胞以$5\times10^5$细胞/孔的密度接种于6孔板中，培养10 h。分别用PBS、Heat、HION/VER、HION+ Heat和HION/VER+ Heat处理细胞。不同处理后2 h，热处理15 min，再放入培养箱。24 h后，使用GSH检测试剂盒（S0053, Beyotime）检测细胞内GSH和氧化型谷胱甘肽（oxidized glutathione disulfide, GSSG）水平。

**1.3.8** 免疫荧光检测HSP 70表达水平

将Hepa1–6细胞接种于24孔细胞培养板（$5\times10^4$细胞/孔）中并培养10 h。然后用QuickBlock™免疫染色封闭液（P0260, Beyotime）在室温下阻断细胞30 min，再用抗HSP70和抗HSP90抗体在4 ℃孵育过夜。用PBS冲洗3次后，用Cy3标记的二抗孵育染色细胞1 h，然后用Hoechst 33342溶液染色细胞核10 min。在共聚焦显微镜上观察并记录图像。

**1.4 统计学方法**

使用GraphPad Prism 9.5进行统计学分析。所有数据均采用单因素方差分析进行检验，以$P<0.05$为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 纳米增敏剂的合成及表征**

本研究制备了以HION为载体、负载了VER–155008的HION/VER纳米平台，通过增强温和消融的增敏作用以及化学动力疗法（chemodynamic therapy, CDT）的联合作用能有效提高射频消融的疗效，减少正常组织的损伤。使用透射电镜对纳米材料的表面形貌进行检测，如图1所示，显示HION/VER为均一的圆球性结构，粒径约为100 nm。使用Zetasizer Nano ZS90对材料的表面电位进行表征，与HION（—32.6 mV）相比，在装载了

VER–155008之后，纳米材料的表面电位升高到−27.1 mV，表明HION/VER成功负载了VER–155008药物。

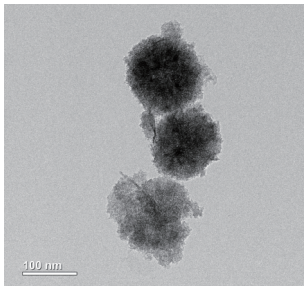
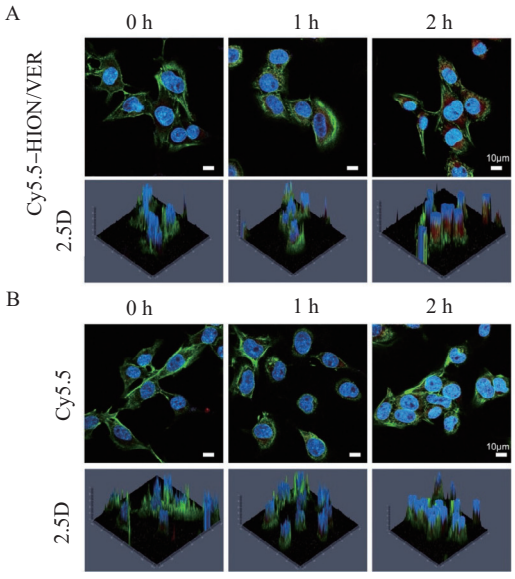



**图1** HION/VER的透射电镜照片（比例尺：100 nm）

### 2.2 体外模型抗肿瘤研究

为了评估HION/VER对肝癌细胞的靶向能力，我们将游离的Cy5.5、Cy5.5–HION/VER分别与Hepa1–6细胞在37 ℃孵育2 h，然后进行共聚焦拍摄以评估纳米增敏剂的细胞摄取行为。如图2所示，在Cy5.5–HION/VER处理下，在纤丝状肌动蛋白（filamentous actin, F–Actin）染色的细胞骨架绿色荧光信号内观察到了明显的Cy5.5红色荧光信号且持续时间更久。相比之下，用游离Cy5.5培养的细胞检测到的红色荧光较弱。2.5D多通道荧光图像更立体直观地反映了这一趋势。这一实验显示了HION/VER在Hepa1–6细胞中良好的细胞内化能力。




注：红色荧光为Cy5.5–HION/VER；绿色荧光为细胞骨架；蓝色荧光为细胞核。

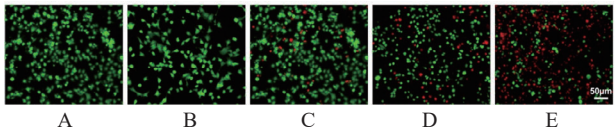
**图2** Hepa1–6细胞分别与Cy5.5–HION/VER和Cy5.5培养不同时间后的共聚焦荧光图像以及相应的各通道2.5D图像（比例尺：10 μm）A为用Cy5.5–HION/VER培养的细胞；B为用Cy5.5培养的细胞

为了验证纳米增敏剂能在温和的温度下对肿瘤细胞造成损伤，我们分别通过细胞生存率和细胞活性/死亡水平的测定来评价其体外模型抗肿瘤能力。CCK–8法测得的Hepa1–6细胞和THLE–2细胞在与不同浓度的纳米药物共孵育24 h后的细胞生存率见表1。实验显示，Hepa1–6细胞在与HION/VER（浓度：56.89 μg/mL）共孵育时，生存率降至约50%，而THLE–2细胞与HION/VER共孵育时细胞生存率未见明显抑制，表明HION/VER具有良好的体外抗肿瘤能力，因此我们选择HION/VER（浓度：56.89 μg/mL）作为最终组药物使用浓度。为了进一步探索纳米增敏剂的体外抗肿瘤活性，我们采用Calcein–AM和PI双重染料对各组进行活细胞和死细胞的双重染色。如图3所示，实验显示Hepa1–6细胞经HION/VER+Heat处理后绿色区域明显减少，红色区域明显增多，说明活细胞减少，死细胞增多。这再次验证了HION/VER在温和消融下对肿瘤细胞有较强的杀伤力。单独加热组的细胞凋亡率与对照组相似，表明温和的温度不会对细胞造成明显损伤。在传统的热消融中，消融中心的高温能有效杀死局部肿瘤细胞。然而，肿瘤边缘的残余细胞会受到亚致死热的影响，导致消融后复发和转移。值得注意的是，在低温热处理条件下，纳米增敏剂能诱导肿瘤细胞显著凋亡，是射频消融治疗癌症的更好选择。

**表1** Hepa1–6细胞和THLE–2细胞在与不同浓度纳米药物中共孵育24 h后的细胞生存率（%，$\bar{x} \pm s$）

| 浓度（μg/mL） | 细胞 | |
|---|---|---|
| | Hepa1–6 | THLE–2 |
| 0 | 93.9 ± 3.0 | 99.4 ± 2.6 |
| 10 | 87.0 ± 3.0 | 94.4 ± 2.3 |
| 20 | 72.0 ± 0.6 | 88.1 ± 1.8 |
| 40 | 52.9 ± 1.7 | 87.5 ± 2.3 |
| 80 | 45.8 ± 3.4 | 84.2 ± 3.2 |
| 160 | 26.4 ± 4.8 | 80.5 ± 4.3 |

注：Hepa1–6为小鼠肝癌细胞；THLE–2为人肝永生化细胞。



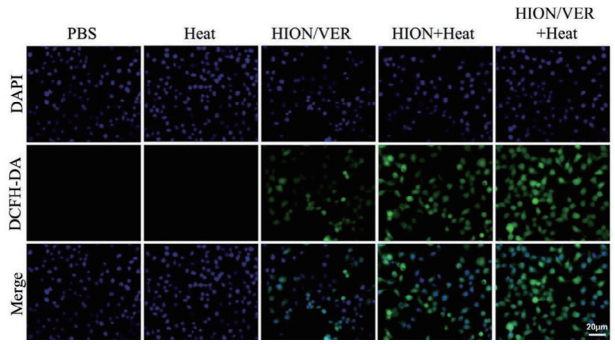

A B C D E

注：红色荧光为死细胞；绿色荧光为活细胞。

**图3** Hepa1–6细胞在不同组处理后的Calcein–AM/PI共染的荧光图像（比例尺：50 μm）A为正常对照组（PBS）；B为单独加热组（Heat）；C为纳米增敏剂处理组（HION/VER）；D为氧化铁+加热组（HION+Heat）；E为纳米增敏剂+加热组（HION/VER+ Heat）

### 2.3 纳米增敏剂对ROS水平的影响

鉴于纳米增敏剂能有效地在体外产生ROS，丰富的细胞内ROS是触发铁死亡的必要条件。因此，我们使用DCFH–DA探针评估纳米增敏剂对ROS水平的影响。如图4所示，与正常对照组相比，HION/VER组和HION+Heat组处理后，ROS水平有一定提高，而在HION/VER+ Heat组处理后，Hepa1–6细胞内ROS水平明显上升。这一现象表明HION/VER+Heat通过产生大量ROS，破坏了氧化还原平衡。




注：PBS为正常对照组；Heat为单独加热组；HION/VER为纳米增敏剂处理组；HION+Heat为氧化铁+加热组；HION/VER+Heat为纳米增敏剂+加热组；DAPI为细胞核染色；DCFH–DA为活性氧染色；Merge为图像合并。

**图4** 不同组处理后的Hepa1–6细胞经DCFH–DA探针共染的荧光图像（比例尺：20 μm）

### 2.4 纳米增敏剂对GSH水平的影响

肿瘤细胞中高浓度的GSH可以中和ROS。我们进一步使用GSH和GSSG检测试剂盒来评估细胞内GSH的含量。如表2所示，与使用HION+Heat和HION/VER处理的肿瘤细胞相比，使用HION/VER+Heat处理的肿瘤细胞中检测到的GSH更少，这表明HION/VER在体外也能有效消耗GSH。

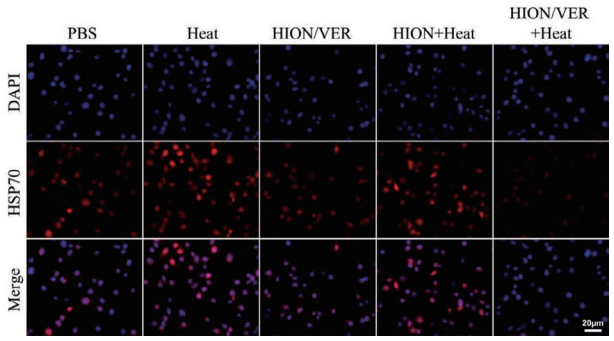
**表2** 不同处理组的细胞内GSH含量（μM，$\bar{x} \pm s$）

| 处理组 | 总GSH | GSSG | GSH |
|---|---|---|---|
| PBS | 3.514±0.069 | 1.013±0.007 | 0.424±0.008 |
| Heat | 3.477±0.086 | 1.015±0.009 | 0.416±0.009 |
| HION/VER | 3.327±0.017 | 1.061±0.027 | 0.351±0.016 |
| HION+Heat | 3.343±0.103 | 1.032±0.028 | 0.383±0.008 |
| HION/VER+Heat | 3.355±0.025 | 1.206±0.014 | 0.281±0.008 |

注：GSH为谷胱甘肽；GSSG为氧化型谷胱甘肽；PBS为正常对照组；Heat为单独加热组；HION/VER为纳米增敏剂处理组；HION+Heat为氧化铁+加热组；HION/VER+Heat为纳米增敏剂+加热组。

### 2.5 纳米增敏剂对阻断HSP70的影响

热休克蛋白是细胞在热消融过程中高度表达的一种自我防御机制。据报道，射频消融术后肿瘤细胞中HSP 70的表达显著增加[19]。为了验证HION/VER抑制热休克蛋白从而增强肿瘤细胞对热消融的敏感性的能力，我们采用免疫荧光染色法评估了HSP70的水平。如图5所示，与对照组相比，热处理组HSP 70蛋白的荧光强度最高，而在温和温度下用HION/VER处理的细胞中，HSP70的荧光强度最低。这一现象证实了HION/VER的确有抑制热休克蛋白的能力。




注：PBS为正常对照组；Heat为单独加热组；HION/VER为纳米增敏剂处理组；HION+Heat为氧化铁+加热组；HION/VER+Heat为纳米增敏剂+加热组；DAPI为细胞核染色；HSP70为热休克蛋白70染色；Merge为图像合并。

**图5** 不同组处理后的Hepa1–6细胞经HSP70抗体孵育后的共聚焦免疫荧光图像（比例尺：20 μm）

## 3 讨论

RFA通过局部高温（50～100 ℃）直接杀伤肿瘤细胞，但亚致死温度（40～45 ℃）会激活肿瘤细胞的应激反应，导致HSP70表达显著上调[20–21]。HSP70作为分子伴侣，通过修复热损伤蛋白、抑制线粒体凋亡通路等方式增强肿瘤细胞的热耐受性，降低RFA疗效[22–23]。因此，克服HSP70的表达成了增强RFA效果的必然要求。值得庆幸的是，纳米材料在递送药物上的优势成了抵抗热保护的一把武器[24]。一方面，纳米材料能通过主动靶向或被动靶向效应实现药物在肿瘤部位的高效积累与释放[25–26]；另一方面，纳米材料在进入肿瘤微环境后，其独特的理化特性使之能够直接响应酸性条件（pH 6.5～6.8）并发挥肿瘤特异性杀伤作用[27]。

在本研究中，我们设计了一种新型HSP70纳米

抑制剂，并将之与CDT结合使用，以提高肝癌射频消融的疗效。为了实现HSP阻断与化学动力学治疗的有效配合，我们选择了氧化铁纳米粒子作为载体，实现了HSP70抑制剂与化学动力学诱导剂的同步递送。纳米增敏剂能有效地将治疗剂靶向运输到肿瘤部位，并促进治疗剂被肿瘤细胞内化。进入细胞后，酸性微环境促进$Fe^{3+}$释放，消耗GSH生成$Fe^{2+}$，GSH的耗竭进一步促进ROS的生成和积累，促进肿瘤铁的死亡。同时，VER-155008可直接抑制HSP70，降低肿瘤细胞的耐热性，使肿瘤细胞对热的敏感性增加。总之，本研究设计的纳米平台通过增强温和消融的增敏作用以及CDT的联合作用能有效提高射频消融的疗效，减少正常组织的损伤。因此，基于RFA/CDT联合疗法的RFA治疗平台有望为高效、安全地实现肝细胞癌的治疗提供一种新策略。

## [ 参 考 文 献 ]


[1] Bray F, Laversanne M, Sung H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2024, 74(3): 229–263.

[2] Deng M, Li S H, Guo R P. Recent advances in local thermal ablation therapy for hepatocellular carcinoma [J]. The American Surgeon, 2023, 89(5): 1966–1973.

[3] Chu K F, Dupuy D E. Thermal ablation of tumours: biological mechanisms and advances in therapy [J]. Nature Reviews Cancer, 2014, 14(3): 199–208.

[4] Wang H, Wu Z, Cui D, et al. Radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma: current status, challenges, and prospects [J]. Liver Research, 2023, 7(2): 108–115.

[5] Takayama T, Hasegawa K, Izumi N, et al. Surgery versus radiofrequency ablation for small hepatocellular carcinoma: a randomized controlled trial (SURF Trial) [J]. Liver Cancer, 2022, 11(3): 209–218.

[6] Hsieh C L, Peng C M, Chen C W, et al. Benefits and drawbacks of radiofrequency ablation via percutaneous or minimally invasive surgery for treating hepatocellular carcinoma [J]. World Journal of Gastrointestinal Surgery, 2024, 16(11): 3400–3407.

[7] Reynolds A R, Furlan A, Fetzer D T, et al. Infiltrative hepatocellular carcinoma: what radiologists need to know [J]. Radiographics, 2015, 35(2): 371–386.

[8] Lam V W, Ng K K, Chok K S, et al. Risk factors and prognostic factors of local recurrence after radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma [J]. Journal of the American College of Surgeons, 2008, 207(1): 20–29.

[9] Hasegawa T, Takaki H, Kodama H, et al. Impact of the ablative margin on local tumor progression after radiofrequency ablation for lung metastases from colorectal carcinoma: supplementary analysis of a phase II trial (MLCSG-0802) [J]. Journal of Vascular and Interventional Radiology, 2023, 34(1): 31–37.

[10] Bhardwaj N, Dormer J, Ahmad F, et al. Heat shock protein 70 expression following hepatic radiofrequency ablation is affected by adjacent vasculature [J]. The Journal of Surgical Research, 2012, 173(2): 249–257.

[11] Rohde M, Daugaard M, Jensen M H, et al. Members of the heat-shock protein 70 family promote cancer cell growth by distinct mechanisms [J]. Genes & Development, 2005, 19(5): 570–582.

[12] Murakami N, Kühnel A, Schmid T E, et al. Role of membrane Hsp70 in radiation sensitivity of tumor cells [J]. Radiation Oncology, 2015, 10: 149.

[13] Chatterjee S, Burns T F. Targeting heat shock proteins in cancer: a promising therapeutic approach [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2017, 18(9): 1978.

[14] Liu G H, Chen T, Zhang X, et al. Small molecule inhibitors targeting the cancers [J]. MedComm, 2022, 3(4): e181.

[15] Ali Zaidi S S, Fatima F, Ali Zaidi S A, et al. Engineering siRNA therapeutics: challenges and strategies [J]. Journal of Nanobiotechnology, 2023, 21(1): 381.

[16] Li X, Liu Y, Ke J, et al. Enhancing radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma: nano-epidrug effects on immune modulation and antigenicity restoration [J]. Advanced Materials, 2024, 36(52): e2414365.

[17] Dastgerdi N K, Dastgerdi N K, Bayraktutan H, et al. Enhancing siRNA cancer therapy: multifaceted strategies with lipid and polymer-based carrier systems [J]. International Journal of Pharmaceutics, 2024, 663: 124545.

[18] Wang X, Yang Y, Zhang G, et al. NIR-cleavable and pH-responsive polymeric yolk-shell nanoparticles for controlled drug release [J]. Biomacromolecules, 2023, 24(5): 2009–2021.

[19] Cao Y, Zhu X, Hossen M N, et al. Augmentation of vaccine-induced humoral and cellular immunity by a physical radiofrequency adjuvant [J]. Nat Commun, 2018, 9: 3695.

[20] Su T, Liao J, Dai Z, et al. Stress-induced phosphoprotein 1 mediates hepatocellular carcinoma metastasis after insufficient radiofrequency ablation [J]. Oncogene, 2018, 37(26): 3514–3527.

[21] Shuhe Y, Miroslaw K, Naoki I. Sublethal heat treatment promotes epithelial-mesenchymal transition and enhances the malignant potential of hepatocellular carcinoma [J]. Hepatology, 2013, 58(5): 1667–1680.

[22] Peng B, Ling X, Huang T, et al. HSP70 via HIF-1 α SUMOylation inhibits ferroptosis inducing lung cancer recurrence after insufficient radiofrequency ablation [J]. PloS One, 2023, 18(11): e0294263.

[23] Ahmed M, Kumar G, Gourevitch S, et al. Radiofrequency ablation (RFA)-induced systemic tumor growth can be reduced by suppression of resultant heat shock proteins [J]. International Journal of Hyperthermia, 2018, 34(7): 934–942.

[24] Yang Z, Zhu Y, Dong Z, et al. Tumor-killing nanoreactors fueled by tumor debris can enhance radiofrequency ablation therapy and boost antitumor immune responses [J]. Nature Communications, 2021, 12: 4299.

[25] Wang D, Zhang M, Zhang Y, et al. Intraparticle double-scattering-decoded sonogenetics for augmenting immune checkpoint blockade and CAR-T therapy [J]. Advanced Science, 2022, 9(32): e2203106.

[26] Zhang M, Bao S, Qiu G, et al. An magnetic-targeting nano-diagnosis and treatment platform for TNBC [J]. Breast Cancer: Targets and Therapy, 2023, 15: 101–119.

[27] Wang D, Zhang M, Qiu G, et al. Extracellular matrix viscosity reprogramming by in situ Au bioreactor-boosted microwavegenetics disables tumor escape in CAR-T immunotherapy [J]. ACS Nano, 2023, 17(6): 5503–5516.