

二氧化硅纳米粒对血小板及凝血系统的影响

Effects of silica nanoparticles on platelets and coagulation system

临床与基础
桥接研究
Clinical and Basic
Bridging Research

赵颖昕^{1,2}, 李九龙³, 王哲²,
孟幻³, 崔一民^{1,2}, 向倩^{1,2}

(1. 温州医科大学药学院, 浙江温州 325035; 2. 北京大学第一医院临床药理研究所, 北京 100191; 3. 中国科学院国家纳米中心, 北京 100190)

ZHAO Ying-xin^{1,2}, LI Jiu-long³,
WANG Zhe², MENG Huan³,
CUI Yi-min^{1,2}, XIANG Qian^{1,2}

(1. School of Pharmacy, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, Zhejiang Province, China; 2. Institute of Clinical Pharmacology, Peking University First Hospital, Beijing 100191, China; 3. National Nanoscience Center, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100190, China)

基金项目: 中央高水平医院临床科研业务基金资助(2023IR06)

作者简介: 赵颖昕(1998-), 女, 硕士研究生, 主要从事纳米材料安全性评价方面的相关研究

通信作者: 向倩, 教授, 博士生导师

MP: 18610260623

E-mail: xiangqz@126.com

摘要:目的 研究二氧化硅纳米粒(SiNPs)对血小板及凝血系统的影响及安全性, 探索SiNPs促凝相关的机制。方法 取大鼠腹主动脉血进行体外实验, 对不同质量浓度(10、50、100、200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) SiNPs进行血液安全性评估。用溶血实验和乳酸脱氢酶实验研究其血液学毒性。用光比浊法检测血小板聚集, 通过血小板表面活化受体P-选择素检测血小板活化, 同时通过活化部分凝血活酶时间、凝血酶时间、凝血酶原时间和纤维蛋白原判断SiNPs对凝血功能的影响。结果 在血小板相关的研究中, SiNPs质量浓度为200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, 血小板的最大聚集率为(49.38 $\pm$ 13.66)%, 且50 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的SiNPs能使P-选择素暴露, 血小板发生活化。在凝血研究中, 0.9% NaCl和100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ SiNPs组的凝血酶原时间分别为(9.04 $\pm$ 0.20)和(8.36 $\pm$ 0.32)s, 凝血指数分别为(100.00 $\pm$ 0.00)%和(90.06 $\pm$ 7.81)%, 在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。结论 高质量浓度的SiNPs可以使血小板聚集和活化, 缩短凝血酶原时间, 促进凝血。

关键词: 二氧化硅纳米粒; 凝血功能; 血小板; 凝血

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.07.010

中图分类号: R973.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-6821(2025)07-0949-06

Abstract: Objective To study the effects and safety of silica nanoparticles (SiNPs) on platelets and coagulation system, and initially to explore the mechanism related to the procoagulation of SiNPs.

Methods Blood from the abdominal aorta of rats was taken for *in vitro* experiments to evaluate the blood safety of 10, 50, 100, 200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ of SiNPs. Hematological toxicity was studied using hemolysis assay and lactate dehydrogenase assay. Platelet aggregation was detected by light transmission aggregometry. Platelet activation was detected by platelet surface activation receptor P-selectin. The effects of SiNPs on coagulation were also determined by activated partial thromboplastin time (APTT), thrombin time (TT), prothrombin time (PT) and fibrinogen (Fib).

Results In platelet-related studies, the max platelet aggregation was (49.38 $\pm$ 13.66)% with SiNPs concentration of 200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ and platelet activation occurred with 50 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ SiNPs exposing P-selectin. In coagulation studies, the PT in 0.9% NaCl and 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ of SiNPs were (9.04 $\pm$ 0.20) and (8.36 $\pm$ 0.32)s, the blood coagulation indexes were (100.00 $\pm$ 0.00)% and (90.06 $\pm$ 7.81)%, and the differences were statistically significant (all $P < 0.05$).

Conclusion High concentrations of SiNPs can cause platelet aggregation and

activation, shorten PT and promote blood coagulation.

Key words: silica nanoparticle; coagulation function; platelet; coagulation

由于纳米材料独特的理化性质,使其在医药领域,尤其是癌症和罕见病的治疗中发挥着重要的作用^[1]。二氧化硅纳米粒(silica nanoparticle, SiNPs)是无机纳米材料中最有前途的药物递送载体之一^[2]。相比于其他纳米材料, SiNPs 具有良好的物理稳定性,形状及粒径可控,易于修饰^[3]等优点。目前, SiNPs 已被应用于成像显影^[4]、靶向输送^[5-7]和协同药物治疗^[8]等生物医疗领域。例如在心血管疾病治疗方面, SiNPs 可以作为药物递送来治疗高血压、动脉粥样硬化等疾病^[9]。SiNPs 以不同颗粒大小、形状、结晶度等不同状态存在^[10],其不同大小和不同基团修饰的 SiNPs 对急性毒性及凝血功能的影响也各不相同^[11-12]。本研究旨在通过红细胞及血小板毒性实验、血小板和凝血功能实验等对 SiNPs 进行血液相容性评估,研究其入血后对血小板及凝血功能的影响和生物安全性。

材料与方法

1 材料

动物 雄性 SPF 级 SD 大鼠,鼠龄 4~6 周,体重 200~230 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司。动物生产许可证号:SCXK(京)2021-0006,动物用许可证号:SYXK(京)2022-0037。本实验经北京大学第一医院实验动物福利伦理委员会批准(伦理批号:J2024040)。

药品与试剂 SiNPs,浓度:10 mg·mL⁻¹,批号:20240114,中国科学院国家纳米中心孟幻教授团队提供。台式液(Tyrode's 溶液),购自北京酷来搏科技有限公司;柠檬酸钠,购自北京索莱宝科技有限公司;氨基甲酸乙酯,购自北京利为诺生物科技有限公司;腺苷二磷酸(adenosine diphosphate, ADP),购自美国 Sigma 公司;APC 标记的抗 CD61 抗体、PE 标记的抗 CD62P 抗体,均购自美国 Biolegend 公司;血栓弹力图试剂盒,购自美国血液技术有限公司;凝血四项检测试剂盒,购自日本 Sysmex 公司。

仪器 DLS 纳米粒度测量仪 NanoBrook 系列,美国 Brookhaven 公司产品;Agg RAMTM 血小板聚集仪,美国 Helena 公司产品;CS2000i 全自动凝血分析仪,日本 Sysmex 公司产品;HAS-100 血栓弹力图仪,赫安仕科技有限公司产品;CytoFLEX SRT 流式细胞仪,美国贝克曼公司产品。

2 实验方法

2.1 材料与表征

SiNPs 用 Stober 方法制备,在碱性条件下通过 Sol-Gelf 反应完成合成。SiNPs 以 1.2×10^4 r·min⁻¹ 离心 15 min,用 0.9% NaCl 洗涤 3 次,分散于 0.9% NaCl 中,使其质量浓度为 10 mg·mL⁻¹。超声分散后,取 SiNPs 溶液 20 μL 分散于蒸馏水 2 mL 中,用 DLS 纳米粒度测量仪测得粒径为(101.88 ± 0.45) nm,多分散性指数(polymer dispersity index, PDI)为 0.39 ± 0.03,电位为(-17.07 ± 1.27) mV,颗粒分散性良好。

2.2 血浆样品制备及血小板分离

用 3.8% 柠檬酸钠采集 SD 大鼠腹主动脉全血,以 400 r·min⁻¹ 离心 9 min,吸取上清液,即为富血小板血浆(platelet rich plasma, PRP);将取 PRP 后的下层血,以 3 000 r·min⁻¹ 离心 15 min,取上层血清,获得乏血小板血浆(platelet poor plasma, PPP)。在进行凝血四项检测之前,将 PPP 置于 -20 °C 保存。

在光学比浊法检测时,需要将 PRP 以 1 940 r·min⁻¹ 离心 9 min,弃上清液,用台式液重悬,将血小板稀释至 3×10^8 cell·mL⁻¹ [洗涤血小板(washed platelets, WP)]。样品在采血 30 min 后开始检测,并于 4 h 内完成所有的检测。

2.3 生物安全性检测

本研究分别检测了 SiNPs 对红细胞和血小板的生物安全性。红细胞的安全性用溶血实验,溶血后的混悬液中会出现血红蛋白,检测上清液的光密度(optical density, OD)值来判断其溶血效应。通过检测上清液中的血小板乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)释放量来评估血小板毒性。

溶血实验^[13] 首先用 3.8% 柠檬酸钠采集 SD 大鼠腹主动脉全血,然后以 2 500 r·min⁻¹ 离心 20 min 获得红细胞沉淀。将 0.9% NaCl 和 1% Triton X-100 分别设为阴性对照组和阳性对照组,加入不同质量浓度(5、10、50、100 和 200 μg·mL⁻¹)的 SiNPs 到上述红细胞中,在 37 °C 下共孵育 1 h。将共孵育后的混悬液以 1 000 r·min⁻¹ 离心 5 min,取各组的上清液在 540 nm 处检测 OD 值。溶血后的混悬液由于红细胞内容物血红蛋白泄露,离心后上清液呈现红色,且在 540 nm 处的 OD 值较高,证明其材料具有溶血效应,并计算红细胞溶血率(%)。红细胞溶血率 =

$(OD_{\text{SiNPs实验组}} - OD_{\text{阴性对照组}}) / (OD_{\text{阳性对照组}} - OD_{\text{阴性对照组}}) \times 100\%$ 。

LDH 实验^[14] 将 WP 分别与 10% LDH 释放液(阳性对照组)、0.9% NaCl(溶剂对照组)、SiNPs(10、50、100、200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)共同孵育 1 h 后,以 1 940 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min,在 490 nm 处用酶标仪检测 OD 值,用于评估血小板释放 LDH 含量。阳性对照组即为血小板释放 LDH 总含量。血小板 LDH 释放率(%) = (各组血小板 LDH 释放量/血小板释放的 LDH 总量) $\times 100\%$ 。

2.4 SiNPs 与血小板相关检测

2.4.1 血小板聚集

用光比浊法和 96 孔板聚集法检测 SiNPs 对血小板聚集的影响。

光比浊法^[15] 以 0.9% NaCl 为对照组,并将 50、100、200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 SiNPs 加入含 WP 的比色杯中,孵育 5 min,然后加入血小板聚集诱导的激动药 ADP。记录血小板聚集曲线,并记录血小板最大聚集率。

96 孔板聚集法^[12,16] 在 96 孔板中分别加入以下各组,以 WP 光透光率为 0%、台式液光透光率为 100%,设置 WP 各处理组,分别加入 0.9% NaCl(对照组)和 5、10、50、100、200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ SiNPs,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温振荡 15 min,以 650 nm 处作为参比波长,在 405 nm 处用酶标仪进行检测,并计算最大聚集度。血小板聚集率(%) = $[(OD_{\text{WP}} - OD_{\text{WP处理组}}) / (OD_{\text{WP}} - OD_{\text{台式液}})] \times 100\%$ 。

2.4.2 流式细胞术检测二氧化硅对血小板的激活情况

首先,以 0.9% NaCl 为对照组,并和 50、100、200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 SiNPs 在 WP 中 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 20 min。然后,加入混合抗体,进行 CD61 和 CD62P 双色荧光染色,室温避光孵育 20 min。之后再加入 1% 多聚甲醛固定 20 min,以 1 940 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min,弃去上清液,用磷酸盐缓冲溶液重悬,于 24 h 内上机检测。以前向角、侧向角散射光双参数散点图对血小板群设门,收集 2.0×10^4 个血小板检测。用 CytExpert SRT 软件对数据进行分析。结果以血小板表面表达的 CD62P 阳性百分率表示。

2.4.3 血栓弹力图检测全血血小板功能

将加入柠檬酸钠抗凝的全血和高岭土孵育 5 min,加入存在 0.9% NaCl(对照组)和 50、100、200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ SiNPs 的通道中,再加入 CaCl_2 进行整个凝血过程的动态检测。检测最大血凝块形成(maximum clot forms, MA)值,由电脑自动记录并绘制 CK-TEG 曲线,获得 TEG 图像及相关参数。

2.5 体外凝血功能检测

凝血四项检测 准备试剂:活化部分凝血活酶时

间(activated partial thromboplastin time, APTT)、凝血酶时间(thrombin time, TT)、凝血酶原时间(prothrombin time, PT)、纤维蛋白原(fibrinogen, Fib)等用配套的缓冲液或蒸馏水溶解,PT 试剂在溶解后需于 37 $^{\circ}\text{C}$ 下稳定 30 min。以 0.9% NaCl 为对照组,在血浆中加入 10、50、100 和 200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 SiNPs 室温孵育 15 min,然后在全自动凝血分析仪上进行检测。

体外全血凝血指数测定^[17] 以 0.9% NaCl 为对照组,50、100、200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ SiNPs 为实验组。取 3.8% 枸橼酸钠抗凝全血,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 10 min,加入 CaCl_2 激活全血,混匀后,加入含有对照组和 SiNPs 实验组的板中。然后,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 10 min,沿边缓慢加入超纯水 5 mL,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 5 min,以 1 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,收集上清液,于 540 nm 处检测 OD 值,计算凝血指数(blood clotting index, BCI)。BCI% = $(OD_{\text{实验组}} / OD_{\text{对照组}}) \times 100\%$ 。

3 统计学处理

用 IBM SPSS Statistics 26 软件进行统计分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,经数据转换后符合正态性时,进行单因素方差分析(analysis of variance, ANOVA)。当方差齐,用 Bonferroni 检验;当方差不齐时,用 Tamhane T_2 检验。当样本数值或者数值经数据转换后仍不符合正态性,用非参数检验。

结 果

1 二氧化硅的生物安全性

溶血实验 5、10、50、100 和 200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ SiNPs 的红细胞溶血率分别为 $(0.30 \pm 0.11)\%$ 、 $(-0.63 \pm 0.06)\%$ 、 $(4.77 \pm 0.53)\%$ 、 $(15.31 \pm 0.39)\%$ 和 $(34.50 \pm 2.55)\%$ 。当 SiNPs 的质量浓度 $\leq 10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,红细胞溶血率 $< 5\%$,认为该材料具有较好的安全性;而当 SiNPs 的质量浓度 $> 50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,红细胞溶血率 $> 5\%$,认为二氧化硅可以使红细胞膜破碎,产生溶血。

LDH 实验 溶剂对照组和 10、50、100、200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ SiNPs 组的血小板 LDH 释放率分别为 $(10.77 \pm 0.29)\%$ 、 $(11.07 \pm 0.27)\%$ 、 $(11.19 \pm 1.91)\%$ 、 $(12.63 \pm 3.14)\%$ 和 $(23.86 \pm 2.99)\%$,200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ SiNPs 组与溶剂对照组比较,在统计学上差异有统计学意义($P < 0.01$),这说明 200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ SiNPs 可以破坏血小板膜结构,具有血小板毒性。

2 SiNPs 对血小板影响研究

光比浊法 对照组和 50、100、200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

SiNPs 组的血小板最大聚集率分别为 $(10.90 \pm 6.01)\%$ 、 $(13.04 \pm 6.83)\%$ 、 $(25.29 \pm 12.08)\%$ 和 $(49.38 \pm 13.66)\%$ 。对照组和 $200\text{ }\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ SiNPs 组比较,在统计学上差异有统计学意义 ($P < 0.001$)。同时,本课题组也研究了 SiNPs 在 ADP 激动条件下的血小板聚集率。对照组和 50、100、200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ SiNPs 组的血小板最大聚集率分别为 $(86.80 \pm 2.40)\%$ 、 $(87.25 \pm 2.99)\%$ 、 $(88.23 \pm 2.94)\%$ 和 $(87.33 \pm 3.25)\%$,各组的血小板最大聚集率在统计学上差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。结果见图 1。

96 孔板聚集法 对照组和 5、10、50、100、200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ SiNPs 组的血小板聚集率分别为 $(0.68 \pm 4.47)\%$ 、 $(-3.56 \pm 1.462)\%$ 、 $(-3.53 \pm 1.72)\%$ 、 $(2.11 \pm 4.30)\%$ 、 $(4.76 \pm 4.71)\%$ 和 $(33.44 \pm 14.05)\%$ 。200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ SiNPs 组与对照组比较,在统计学上差异有统计学意义 ($P < 0.0001$)。

血小板活化流式检测 对照组和 50、100、200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ SiNPs 组表面高表达 CD62P 的血小板比例分别为 $(2.56 \pm 1.25)\%$ 、 $(26.97 \pm 15.34)\%$ 、 $(90.44 \pm 9.56)\%$ 和 $(99.44 \pm 0.77)\%$ 。50、100、200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ SiNPs 组与对照组比较,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$)。

血栓弹力图 对照组和 50、100、200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ SiNPs 组的 MA 值分别为 (72.72 ± 1.33) 、 (69.68 ± 4.87) 、 (70.34 ± 1.41) 和 (72.90 ± 1.60) mm。对照组和 50、100、200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ SiNPs 组的 MA 值比较,在统计学上差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。

表 1 SiNPs 凝血功能检测结果的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of coagulation function detection results of SiNPs($\bar{x} \pm s$)

Concentration($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	<i>n</i>	APTT(s)	PT(s)	TT(s)	Fib($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)
Control	8	23.14 $\pm$ 1.97	9.04 $\pm$ 0.20	43.66 $\pm$ 3.65	1.83 $\pm$ 0.13
10	8	23.26 $\pm$ 1.93	8.98 $\pm$ 0.23	44.31 $\pm$ 3.33	1.82 $\pm$ 0.11
50	8	23.74 $\pm$ 2.10	8.65 $\pm$ 0.33	43.79 $\pm$ 3.73	1.80 $\pm$ 0.11
100	8	23.80 $\pm$ 2.06	8.36 $\pm$ 0.32 ***	44.94 $\pm$ 3.82	1.80 $\pm$ 0.11
200	8	24.45 $\pm$ 1.80	7.94 $\pm$ 0.32 ***	43.65 $\pm$ 3.24	1.77 $\pm$ 0.11

Control group:0.9% NaCl; APTT: Activated partial thromboplastin time; PT: Prothrombin time; TT: Thrombin time; Fib: Fibrinogen; Compared with control group, *** $P < 0.001$.

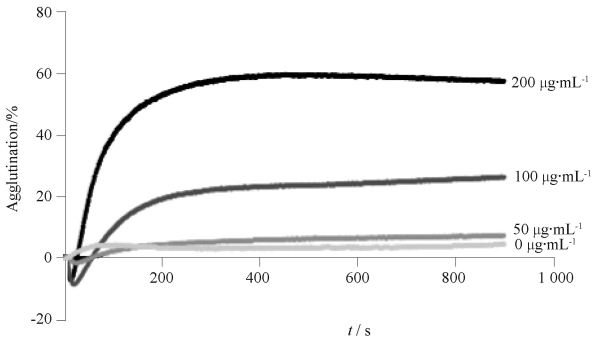


图 1 用光比浊法检测不同质量浓度二氧化硅纳米粒(SiNPs)对血小板的聚集作用

Figure 1 Aggregation effects of different concentrations of silica nanoparticle (SiNPs) on platelets

3 纳米材料对体外凝血功能的影响

3.1 凝血四项结果分析

SiNPs 凝血功能检测结果见表 1。100、200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ SiNPs 组与对照组相比,PT 均显著缩短(均 $P < 0.001$),与血浆中凝血因子 I、II、V、VII、X 活性有关。

3.2 凝血指数实验

对照组和 50、100、200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ SiNPs 组的凝血指数分别为 $(100.00 \pm 0.00)\%$ 、 $(98.86 \pm 6.66)\%$ 、 $(90.06 \pm 7.81)\%$ 和 $(78.30 \pm 4.88)\%$ 。100、200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ SiNPs 组与对照组比较,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。凝血指数结果显示,大于 100 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 SiNPs 可以促进凝血。

讨 论

SiNPs 如今被应用于医学领域,在药物递送等方面发挥着重要作用,这大大增加了 SiNPs 暴露的风险。当 SiNPs 进入血液系统时,与血液中的细胞不可避免

地接触,导致内皮细胞损伤并诱发炎症反应,增加血栓风险^[18]。因此,在 SiNPs 作为药物载体之前,研究其与血细胞的相互作用是十分重要的。本研究主要对 SiNPs 在血液系统方面的影响进行系统性研究。红细胞和血小板作为血液中的主要成分,分别对其进行细胞毒性研究。当细胞凋亡或坏死时会造成细胞膜

结构的破坏,导致细胞质内的内容物释放出来,检测上清液中内容物的释放量可作为细胞膜完整性的重要指标,来判断细胞毒性。本研究表明,SiNPs 可以导致红细胞膜破坏,使血红蛋白释放出来,小于 $50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 SiNPs 具有红细胞安全性, $200 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 SiNPs 能够破坏血小板膜结构,对血小板有毒性作用。对于血小板功能相关实验验证,主要包括对血小板聚集和活化的检测。血小板聚集实验用 2 种方法,二者原理相似,但具有不可替代性。光比浊法是检测血小板聚集的金标准,但血小板需求量大。96 孔板聚集法可以同时检测多组浓度对血小板聚集的影响,血小板需求量小^[19]。活化血小板是形成血栓的主要成分,表面高表达 P-选择素受体^[20]。因此,可以通过比较 P-选择素高表达的细胞数目来研究 SiNPs 对血小板活化的影响。本实验结果表明, $200 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 SiNPs 可以促进血小板聚集和活化。但在 ADP 激动条件下, SiNPs 对血小板聚集的影响无显著性差异,可能的原因是其对血小板聚集的影响被强激动药掩盖。SiNPs 在体外可以导致 PT 缩短,表明由组织因子介导的外源性凝血系统被激活^[21-22]。本研究发现, SiNPs 质量浓度在大于 $50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,会对血液系统内的细胞产生毒性作用,具有血液学风险。同时, SiNPs 在血液中的促凝作用,也可为其在止血方面提供依据,减少无法控制的出血风险^[23]。

先前 SiNPs 对于血液系统影响的研究发现, 60 nm 的 SiNPs 可以诱导红细胞表面暴露的磷脂酰丝氨酸 (phosphatidylserine, PS), 触发凝血酶依赖性的血小板活化,诱导血栓形成^[24]。同时, SiNPs 还可以通过影响血小板形态学变化,导致血小板聚集^[25]。在凝血功能方面,小于 100 nm 的 SiNPs 可以使血浆中 APTT 显著延长,诱导内在级联途径的激活,激活凝血因子 XII,且随着颗粒尺寸的减小,活化明显增加^[25]。此外, SiNPs 对血液系统的影响也会间接产生器官毒性。SiNPs 进入体内后,可在肝中聚集,诱导肝损伤和一些致死的毒性,其原因可能都与凝血性疾病有关^[26-28]。

本文主要研究了 SiNPs 的血液安全性,其体内安全性应用质量浓度应小于 $50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,可为规避凝血风险提供依据。但其局限于细胞和动物方面的凝血研究,缺乏相关凝血风险的人群流行病学研究,且机制研究尚不充分。

参考文献:

- [1] CHAKRAVARTY R, GOEL S, DASH A, et al. Radiolabeled inorganic nanoparticles for positron emission tomography imaging of cancer: An overview [J]. *Q J Nucl Med Mol Imaging*, 2017, 61 (2): 181—204.
- [2] ZHOU Y, QUAN G, WU Q, et al. Mesoporous silica nanoparticles for drug and gene delivery [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2018, 8 (2): 165—177.
- [3] THAM D Q, TRANG N T T, CHINH N T, et al. Sustainable composite materials based on ethylene-vinylacetate copolymer and organo-modified silica [J]. *Green Processing and Synthesis*, 2016, 5 (6): 557—566.
- [4] SONG Y, LI Y, XU Q, et al. Mesoporous silica nanoparticles for stimuli-responsive controlled drug delivery: Advances, challenges, and outlook [J]. *Int J Nanomedicine*, 2016, 12 (20): 87—110.
- [5] GALAGUDZA M M, KOROLEV D V, SONIN D L, et al. Targeted drug delivery into reversibly injured myocardium with silica nanoparticles: Surface functionalization, natural biodistribution, and acute toxicity [J]. *Int J Nanomedicine*, 2010, 5 (1): 231—237.
- [6] ROSENHOLM J M, MAMAEVA V, SAHLGREN C, et al. Nanoparticles in targeted cancer therapy: Mesoporous silica nanoparticles entering preclinical development stage [J]. *Nanomedicine*, 2012, 7 (1): 111—120.
- [7] MA R, HAO L, CHENG J, et al. Hyaluronic acid-modified mesoporous silica nanoprobe for target identification of atherosclerosis [J/OL]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2024, 702: 149627. 2024-04-02 [2024-09-14]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38340655/>.
- [8] ZHANG P, KOMG J. Doxorubicin-tethered fluorescent silica nanoparticles for pH-responsive anticancer drug delivery [J]. *Talanta*, 2015, 134 (5): 501—507.
- [9] KIRLA H, HENRY D J, JANSEN S, et al. Use of silica nanoparticles for drug delivery in cardiovascular disease [J]. *Clin Ther*, 2023, 45 (11): 1060—1068.
- [10] RAO K S, EL-HAMI K, KODAKI T, et al. A novel method for synthesis of silica nanoparticles [J]. *J Colloid Interface Sci*, 2005, 289 (1): 125—131.
- [11] MILIC M, CVETIC A, BENDELJA K, et al. Response of platelets to silver nanoparticles designed with different surface functionalization [J/OL]. *J Inorg Biochem*, 2021, 224: 111565. 2021-08-08 [2024-09-14]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/43311938/>.
- [12] XIANG B, ZHANG G, REN H, et al. The P2Y12 antagonists, 2MeSAMP and cangrelor, inhibit platelet activation through P2Y12/Gi-dependent mechanism [J/OL]. *PLoS One*, 2012, 7 (12): e51037. 2012-12-06 [2024-09-14]. <https://research.ebsco.com/c/kpguhl/viewer/pdf/pq57bkwhxf?route=details>.
- [13] SHANMUGAM L, VENKATASUBBU G D, JAYARAMAN M. Hyaluronan-based nano-formulation with mesoporous silica enhances the anticancer efficacy of phloroglucinol against gastrointestinal cancers [J]. *Int J Biol Macromol*, 2024, 265 (1): 130856.
- [14] 陈鹏宇, 姚云峰, 张莹, 等. 中药爵床抗血小板聚集的活性物质及作用机制研究 [J]. *中南药学*, 2021, 19 (3): 390—396.
- [15] VENKATAPPA M M, UDAGANI C, HANUMEGOWDA S M, et al. Effect of biofunctional green synthesized mgo-nanoparticles on oxidative-stress-induced tissue damage and thrombosis [J].

- Molecules*,2022,27(16):5162.
- [16] 华声瑜,曲凤,陈丽平,等. 人参皂苷 Rg1 对血小板聚集及环磷酸腺苷的影响[J]. 天津中医药大学学报,2012,31(1):31—33.
- [17] METWALLY W M, EL - HABASHY S E, EL - NIKHELY N A, *et al.* Nano zinc oxide - functionalized nanofibrous microspheres: A bioactive hybrid platform with antimicrobial, regenerative and hemostatic activities [J/OL]. *Int J Pharm*, 2023, 638: 122920. 2023 - 04 - 01 [2024 - 09 - 14]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37011829/>.
- [18] WANG D P, WANG Z J, ZHAO R, *et al.* Silica nanomaterials induce organ injuries by Ca^{2+} - ROS - initiated disruption of the endothelial barrier and triggering intravascular coagulation [J]. *Part Fibre Toxicol*, 2020, 17(1):12.
- [19] CHAN M V, ARMSTRONG P C, WARNER T D. 96 - well plate - based aggregometry[J]. *Platelets*, 2018, 29(7):650—655.
- [20] CORBALAN J J, MEDINA C, JACOBY A, *et al.* Amorphous silica nanoparticles aggregate human platelets: Potential implications for vascular homeostasis [J/OL]. *Int J Nanomedicine*, 2012, 7: 631—639. 2012 - 02 - 04 [2024 - 09 - 14]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22334785/>.
- [21] GRYSHCHUK V, GALAGEN N. Silica nanoparticles effects on blood coagulation proteins and platelets [J/OL]. *Biochem Res Int*, 2016, 2016:2959414. 2016 - 01 - 06 [2024 - 09 - 14]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26881078/>.
- [22] TAVANO R, SEGAT D, REDDI E, *et al.* Procoagulant properties of bare and highly PEGylated vinyl - modified silica nanoparticles [J]. *Nanomedicine*, 2010, 5(6):881—896.
- [23] NEPAL A, TRAN H D N, NGUYEN N T, *et al.* Advances in haemostatic sponges: Characteristics and the underlying mechanisms for rapid haemostasis [J]. *Bioact Mater*, 2023, 27(5):231—256.
- [24] ZHAN J, LIU Q S, ZHANG Y, *et al.* Silica nanoparticles trigger phosphatidylserine exposure in red blood cells and induce thrombosis risk [J/OL]. *Environ Pollut*, 2023, 327: 121591. 2023 - 07 - 15 [2024 - 09 - 14]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37031850/>.
- [25] YOSHIDA T, YOSHIOKA Y, TOCHIGI S, *et al.* Intranasal exposure to amorphous nanosilica particles could activate intrinsic coagulation cascade and platelets in mice [J/OL]. *Part Fibre Toxicol*, 2013, 10:41. 2013 - 08 - 20 [2024 - 09 - 14]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23958113/>.
- [26] NABESHI H, YOSHIKAWA T, MATSUYAMA K, *et al.* Amorphous nanosilicas induce consumptive coagulopathy after systemic exposure [J]. *Nanotechnology*, 2012, 23(4):045101.
- [27] YOSHIDA T, YOSHIOKA Y, MORISHITA Y, *et al.* Protein corona changes mediated by surface modification of amorphous silica nanoparticles suppress acute toxicity and activation of intrinsic coagulation cascade in mice [J]. *Nanotechnology*, 2015, 26(24):245101.
- [28] HE Q, ZHANG Z, GAO F, *et al.* *In vivo* biodistribution and urinary excretion of mesoporous silica nanoparticles: effects of particle size and PEGylation [J]. *Small*, 2011, 17(2):271—280.

(收稿日期 2024 - 10 - 10)

· 科学文摘 ·

Atezolizumab 治疗高危局部晚期头颈部鳞状细胞癌患者的临床研究

引自:HADDAD R, *et al.* Atezolizumab in high - risk locally advanced squamous cell carcinoma of the head and neck: A randomized clinical trial [J/OL]. *JAMA*, 2025: e251483. 2025 - 03 - 13 [2025 - 03 - 30]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40079944/>.

HADDAD 等评估了 Atezolizumab 在多模式根治性治疗后疾病进展高风险的局部晚期头颈部鳞状细胞癌 (locally advanced squamous cell carcinoma of the head and neck, LASCCHN) 患者中维持治疗的临床疗效和安全性。IMvoke010 是一项 3 期、全球、双盲、随机临床试验,在 23 个国家的 128 个地点招募了患者(临床截止日期:2023 - 09 - 27)。符合条件的患者患有 LASCCHN(Ⅳa/Ⅳb 期,包括口腔、喉部、下咽或人乳头瘤病毒阴性口咽,或Ⅲ期人乳头瘤病毒阳性口咽),经多模式根治性治疗后无疾病进展。患者被随机(1:1)分配接受每 3 周接受 Atezolizumab 1 200 mg 或安慰剂治疗,持续 1 年或直到疾病复发、疾病进展、不可接受的药物不良反应或同意退出。主要终点是研究者评估的无事件生存期。其他终点包括总生存期和安全性。

该研究共 406 例患者被随机分配到试验组(Atezolizumab, $n = 203$)或安慰剂组($n = 203$)。在临床截止点(中位随访,46.5 个月),试验组和安慰剂组的中位无事件生存期分别为 59.5 个月(95% 置信区间为 46.8 至不可估计)和 52.7 个月(95% 置信区间为 41.4 至不可估计),风险比为 0.94,95% 置信区间为 0.70 ~ 1.26 ($P > 0.05$)。试验组和安慰剂组的总生存期无显著性差异(24 个月总生存期率分别为 82.0% 和 79.2%)。没有发现新的或意外的安全信号。

该研究表明,Atezolizumab 没有改善 LASCCHN 患者多模式根治性治疗后疾病进展高风险的临床结果。