❖实验研究

$Fe^{Ⅲ}$-tannic acid and chlorin e6 loaded nanoparticle for photoacoustic imaging and killing retinoblastoma Y79 cells

HUANG Tong[1,2]，*WANG Zhigang*[3]，*DU Zhiyu*[1*]

(1. *Department of Ophthalmology，the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University，Chongqing* 400010，*China*；2. *Key Laboratory of Ultrasound in Medicine and Engineering，College of Biomedical Engineering*，3. *Chongqing Key Laboratory of Ultrasound Molecular Imaging，Chongqing Medical University，Chongqing* 400010，*China*)

[**Abstract**] **Objective**　To observe the value of $Fe^{Ⅲ}$-tannic acid ($Fe^{Ⅲ}$TA) and chlorin e6 (Ce6) loaded nanoparticle for photoacoustic (PA) imaging and killing retinoblastoma (RB) Y79 cells. **Methods**　$Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 nanoparticles were prepared and the properties were tested，and the value for *in vivo* and *in vitro* PA imaging，also for killing human RB Y79 cells were observed. **Results**　$Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 nanoparticles were successfully prepared，which had good basic properties，excellent thermo-optical stability and real-time PA imaging ability. The higher the concentration of $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 nanoparticles，the higher the temperature of sample irradiated by 808 nm laser. No obvious cytotoxicity to human retinal pigment epithelial cells was detected in $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 nanoparticles with different concentrations. After $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 nanoparticles were added to Y79 cells，the fluorescence intensity increased with time. The percentage of reactive oxygen species production in Y79 cells of laser group (Y79 cells+laser irradiation)，$Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 group (Y79 cells + $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 nanoparticles)，$Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 + laser group (Y79 cells + $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 nanoparticles+laser irradiation) and blank control group (Y79 cells) was 28.01%，55.41%，42.74% and 26.57%，respectively. $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 nanoparticles and laser irradiation could induce a large number of apoptosis of Y79 cells. **Conclusion**　The successfully prepared $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 nanoparticles had good PA imaging ability，which could effectively kill Y79 cells *in vitro* through combination of photothermal therapy and chemodynamic therapy.

[**Keywords**]　nanoparticles；retinoblastoma；photoacoustic imaging

DOI：10.13929/j.issn.1003-3289.2022.07.002

载单宁酸铁及二氢卟吩纳米粒用于光声成像及杀伤视网膜母细胞瘤 Y79 细胞

黄　通[1,2]，王志刚[3]，杜之渝[1*]

(1.重庆医科大学附属第二医院眼科，重庆　400010；2.重庆医科大学生物医学工程学院超声医学工程重点实验室，3.超声分子影像学重庆市医学重点实验室，重庆　400010)

[**摘　要**]　**目的**　制备载单宁酸铁($Fe^{Ⅲ}$TA)及二氢卟吩(Ce6)纳米粒，观察其用于光声(PA)成像及杀伤视网膜母细胞瘤(RB)Y79 细胞的价值。**方法**　制备 $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 纳米粒并检测其特性，观察其体内、体外 PA 成像能力及对人源性 RB Y79 细胞的杀伤能力。**结果**　成功制备的 $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 纳米粒基本特性良好，光热稳定性优异，用于实时 PA 成像效果较好。纳米粒浓度越高，经 808 nm 激光辐照后样品升温幅度越大。各种浓度纳米粒对人视网膜色素上皮细胞

[**基金项目**] 重庆市基础研究与前言探索项目(cstc2018jcyjAX0562)。

[**第一作者**] 黄通(1995—)，男，山东济宁人，在读硕士。研究方向：纳米粒子制备和眼底肿瘤相关基础研究。E-mail：564431224@qq.com

[**通信作者**] 杜之渝，重庆医科大学附属第二医院眼科，400010。E-mail：dr.duzhiyu@163.com

[**收稿日期**] 2021-12-14　[**修回日期**] 2022-04-21

均无明显细胞毒性。于 Y79 细胞中加入纳米粒后，荧光强度随时间延长而增高；激光组（Y79 细胞＋激光辐照）、$Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 组（Y79 细胞＋纳米粒）、$Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6＋激光组（Y79 细胞＋纳米粒＋激光辐照）及空白对照组（Y79 细胞）于 Y79 细胞内的活性氧产量百分比分别为 28.01%、55.41%、42.74%及 26.57%。$Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 纳米粒及激光辐照共同作用可使 Y79 细胞大量凋亡。**结论**　成功制备的 $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 纳米粒用于 PA 成像效果较好；用于光热治疗联合化学动力疗法可有效杀伤体外 Y79 细胞。

［**关键词**］　纳米粒子；视网膜母细胞瘤；光声成像

［**中图分类号**］　R739.72；R445.1　［**文献标识码**］　A　　［**文章编号**］　1003-3289(2022)07-0968-07

视网膜母细胞瘤（retinoblastoma，RB）是低龄儿童最常见眼内恶性肿瘤[1-2]，存活率较低，且就诊患儿多已属中晚期，仅能通过摘除眼球甚至剜除眼眶内容物进行治疗[3]。纳米材料现已广泛用于治疗各类肿瘤[4]。单宁酸（tannic acid，TA）是源于植被的天然多酚类物质，可在水溶液中与 $Fe^{Ⅲ}$ 配位而迅速形成金属多酚网状结构单宁酸铁 $Fe^{Ⅲ}$TA[5]，后者具有极佳的光声（photoacoustic，PA）效应，能产生稳定的 PA 信号[6]。聚乳酸-羟基乙酸共聚物［poly（lactic-co-glycolic acid），PLGA］生物相容性优异[7]，可包裹第二代光敏剂二氢卟吩 e6（chlorin e6，Ce6），用于荧光标记观察 Y79 细胞摄取纳米粒[8]。本研究尝试制备载 $Fe^{Ⅲ}$TA/Ce6 的新型 PLGA 纳米粒，观察其用于 PA 成像及体外杀伤 Y79 细胞的效果。

1　材料与方法

1.1　主要材料及设备

1.1.1　材料　雄性裸鼠（北京华阜康生物科技股份有限公司）；人源性 RB Y79 细胞系（上海佰畔生物科技中心），人视网膜色素上皮（retinal pigment epithelium，RPE）细胞（美国 ATCC）；PLGA（分子量 12 000，乳酸/羟基乙酸聚合比 50∶50，山东济南岱罡生物科技有限公司），Ce6（美仑生物技术有限公司），六水合氯化铁（$FeCl_3 \cdot 6H_2O$，赛默飞世尔科技有限公司），单宁酸（tannic acid，TA，美国 Sigma-Aldrich 公司），二氯甲烷、异丙醇（重庆川东化工集团），聚乙烯醇［poly（vinyl alcohol），PVA，美国 Sigma-Aldrich 公司］，钙黄绿素（calcein，C-AM）/碘化丙啶（propidium iodide，PI）［日本东仁化学科技（上海）有限公司］，南美胎牛血清（以色列 Biological Industries）。

1.1.2　设备　Sonics&Materials 声振仪，紫外分光光度计 UV2600（日本 Shimadzu），磁力搅拌器（上海力辰邦西仪器科技有限公司），纳米粒度仪（美国 Brookhaven）；透射电镜 Tecnai G2 F20，扫描电镜 Apreo S HiVac（美国赛默飞），808 nm 激光仪（FC808-2W-MM，西安中川光电科技有限公司），热红外成像仪（Fotric 226，美国 Fotric 公司），激光共聚焦显微镜（日本 Nikon）；PA 成像仪（Vevo LAZR，加拿大 Visual Sonics 公司），电感耦合等离子体发射光谱仪 720ES（inductively coupled plasma optical emission spectrometer，ICP-OES，安捷伦科技有限公司）。

1.2　培养 Y79 细胞

将 Y79 细胞接种于由 RMPI 1640 基础培养基、20%胎牛血清及 1%青霉素-链霉素组成的培养基中，置于 37℃、5% CO_2 孵箱中培养。

1.3　制备 $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 纳米粒

采用双乳化法，将 50 mg PLGA 溶于 2 ml 二氯甲烷（CH_2Cl_2），加入 0.5 ml Ce6 溶液（溶于甲醇，5 mg/ml）后置于超声清洗仪中 5 min，使其完全溶解；加入 200 μl 超纯水，以声振仪振荡 3 min 进行第 1 次乳化，再加入 8 ml 4% PVA 溶液振荡 3 min 进行第 2 次乳化；加入10 ml 2%异丙醇溶液，以磁力搅拌器搅拌 6 h；离心 5 min（10 000 r/min），并以超纯水清洗 3 次，得到 PLGA/Ce6 纳米粒。

取 1 ml PLGA/Ce6 纳米粒（0.5 mg/ml），依次加入 5 μl TA 溶液（40 mg/ml）及 5 μl $FeCl_3$ 溶液（10 mg/ml），置于涡旋仪 15 s 充分混合均匀，之后离心、洗涤 3 次，得到 $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 纳米粒，储存于 4℃备用。

1.4　检测 $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 纳米粒基本特性

以透射电镜及扫描电镜观察 $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 纳米粒，并以粒度仪检测粒径及电位大小；采用紫外分光光度计及 ICP-OES 分别测量 Ce6 和 $Fe^{Ⅲ}$TA 包封率及载药量。

1.5　检测 $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 纳米粒体外羟基自由基（·OH）

实验组：将 20 μg 亚甲基蓝（methylene blue，MB）、1×10^{-3} mol/L H_2O_2 及 0.5 mg $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 溶于 1 ml pH 5.5 的磷酸盐缓冲液（phosphate buffer saline，PBS）；对照组：将 20 μg MB、1×10^{-3} mol/L H_2O_2 溶于 1 ml pH 5.5 的 PBS。将样品置于摇床并避光，振荡反应 15 min（37℃，100 r/min），以酶标仪检测其降解程度。

1.6　检测 $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 纳米粒体外光热效应

分别将 PBS 及不同浓度（2.00、1.65、1.30、0.95、

0.60 及 0.25 mg/ml）$Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 纳米粒各 200 μl 置于 96 孔板，以 808 nm 激光（2 W/cm^2）辐照 10 min，同时采用热红外成像仪检测样品温度；取 1.65 mg/ml $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 纳米粒 200 μl 置于 96 孔板，以 808 nm 激光辐照直至温度达 55℃后，关闭激光冷却至室温；重复进行 5 次。检测纳米粒光热稳定性，并计算光热转换效率。

1.7　检测 $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 纳米粒 PA 信号　将不同浓度（0.2、0.4、0.6、0.8 及 1.0 mg/ml）$Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 纳米粒置于凝胶模型中，以 PA 成像仪检测其 PA 信号。将 1×10^6 个 Y79 细胞重悬于 100 μl PBS 中接种于裸鼠右大腿根部，待肿瘤生长至 80 mm^3 后取 5 mg/ml $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 纳米粒 200 μl，经尾静脉注射至荷瘤裸鼠体内；分别于注射纳米粒前及 2、4、6、12 h 后采集 PA 图像。

1.8　检测 $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 纳米粒于 Y79 细胞内产生活性氧（reactive oxygen species，ROS）水平　按 5×10^5 个/孔将 Y79 细胞置于 12 孔板中，分为激光组、$Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 组、$Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6＋激光组及空白对照组。对 $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 组及 $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6＋激光组加入 1 ml $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 纳米粒（0.5 mg/ml）孵育 12 h，对激光组及空白对照组不做处理；离心后去除废液，加入 ROS 荧光探针 DCFH-DA 染料（DCFH-DA∶培养基为1∶1 000），避光置于 37℃、5% CO_2 孵箱中孵育 20 min；再以 808 nm（2 W/cm^2）激光辐照激光组及 $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 纳米粒＋激光组 5 min，对 $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 组及空白对照组不做处理；离心去除 DCFH-DA 染料，加入 200 μl PBS 重悬后避光并送检。

1.9　检测 $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 纳米粒体外安全性　按 5 000 个/孔将 RPE 细胞置于 96 孔板中孵育 12 h，以 PBS 清洗 3 次；分别加入不同浓度（0.062 5、0.125、0.25、0.5、1 及 2 mg/ml）$Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 纳米粒（重悬于完全培养基），共孵育 24 h，以 PBS 清洗细胞 3 次；每孔加入 100 μl 含 10% CCK-8 的基础培养基，避光孵育 45 min。

1.10　流式细胞术 Y79 细胞吞噬实验　按 5×10^5 个/孔将 Y79 细胞置于 24 孔板中，分别于 0.5、1、2、3、4 及 5 h 后于 4 个孔中加入 100 μl $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 纳米粒（0.5 mg/ml），之后离心去除废液，加入 200 μl PBS 重悬，避光并送检。

1.11　检测 Y79 细胞凋亡　按 5×10^5 个/孔将 Y79 细胞置于 12 孔板中，对 $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 组及 $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6＋激光组加入 1 ml $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 纳米粒（0.5 mg/ml）共孵育 12 h，之后以 808 nm（2 W/cm^2）激光辐照激光组及 $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 纳米粒＋激光组 5 min；对空白对照组不做任何处理。

1.11.1　流式细胞术　离心去除废液后加入 200 μl PBS 并送检。

1.11.2　激光共聚焦　离心去除废液后加入 200 μl C-AM/PI 染色液重悬，避光置于 37℃、5% CO_2 孵箱中孵育 15 min；加入 PBS，离心去除染料，于共聚焦显微镜下观察。

1.12　统计学分析　采用 GraphPad Prism 8.0 统计分析软件。以 $\bar{x}\pm s$ 表示符合正态分布的计量资料，以单因素方差分析行多组间比较，采用 *LSD-t* 检验进行两组间比较。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　纳米粒基本特性　透射电镜示 $Fe^{Ⅲ}$TA 呈壳状结构，PLGA 及 Ce6 呈核状结构，$Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 纳米粒呈较规则圆形（图 1A）。扫描电镜示所制纳米粒分散性良好（图 1B），Zeta 电位为（－28.32±3.35）mV，粒径为（297.02±9.59）nm；Ce6 包封率为（74.99±2.57）%，载药量为（4.16±0.15）%；$Fe^{Ⅲ}$TA 包封率为（4.92±0.35）%，载药量为（0.021 88±0.001 57）%（图 1C）。

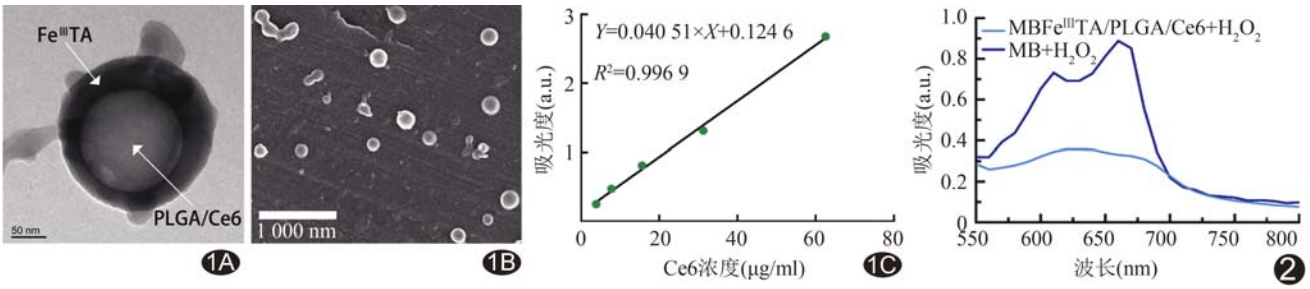


图 1　$Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 纳米粒特性　A. 透射电镜图；B. 扫描电镜图；C. Ce6 标准曲线　　**图 2**　实验组与对照组 Fenton 反应紫外吸收曲线

2.2　纳米粒体外·OH　实验组在 664 nm 处的特征吸收峰显著降低，即 $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 纳米粒消耗了 MB 并成功产生·OH。见图 2。

2.3　纳米粒体外光热效应　加入 $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 纳米粒的浓度越高，经 808 nm 激光辐照后样品升温幅度越大，且于激光辐照 6 min 后趋于平稳；辐射 PBS 后温度未见明显升高（图 3A、3B）。$Fe^{Ⅲ}$ TA/PLGA/Ce6 纳米粒光热稳定性优异（图 3C），光热转换率为 24.70%（图 3D）。

2.4　纳米粒 PA 信号　体外 $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 纳米粒 PA 信号强度随浓度增加而加强，二者呈线性相关（$R^2=0.979\ 5$）。将 $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 纳米粒注入荷瘤小鼠后，PA 信号随时间延长而增强（图 4）。

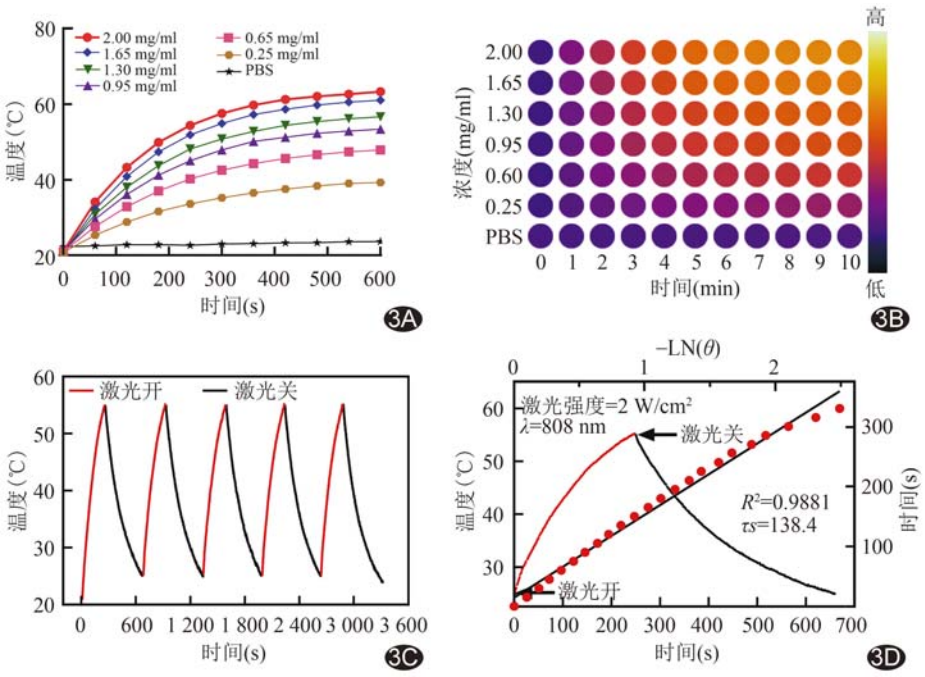


图 3　$Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 纳米粒体外光热实验　A、B. 不同浓度纳米粒经 808 nm 激光辐照后的升温曲线（A）及热成像图（B）；C. 1.65 mg/ml 纳米粒经 808 nm 激光辐照后的光热稳定性图；D. 纳米粒光热性能及 −ln(θ) 与时间的线性关系图

2.5　纳米粒于 Y79 细胞内产生 ROS 水平　激光组、$Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 组、$Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6＋激光组及空白对照组 ROS 产量百分比分别为 28.01%、55.41%、42.74%及 26.57%，见图 5。

2.6　纳米粒体外安全性　0.0625、0.125、0.25、0.5、1 及 2 mg/ml $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 纳米粒对 RPE 细胞均无明显细胞毒性，其中细胞存活率依次为（96.90±0.60）%、（94.84 ± 0.80）%、（93.51 ± 0.96）%、（92.40±0.34）%、（91.14 ± 0.50）% 及（87.79 ± 0.49）%。

2.7　Y79 细胞吞噬实验　于 Y79 细胞中加入 $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6纳米粒后，随时间延长（0.5、1、2、3、4、5 h），荧光强度逐渐增强（13.06%、59.98%、79.41%、88.57%、94.86%、99.72%）；见图 6。

2.8　Y79 细胞凋亡

2.8.1　流式细胞术　激光组［（5.88±2.25）%，图 6A］、$Fe^{Ⅲ}$ TA/PLGA/Ce6 组［（10.73 ± 1.92）%，图 6B］、$Fe^{Ⅲ}$ TA/PLGA/Ce6 ＋ 激光组［（41.58 ± 5.24）%，图 6C］及空白对照组［（3.40 ± 1.29）%，图 6D］Y79 细胞凋亡率差异具有统计学意义（$F=99.69$，$P<0.000\ 1$）；激光组与空白对照组差异无统计学意义（$t=1.658$，$P=0.173$），其余两两比较差异均有统计学意义（P 均<0.05）。见图 7。

2.8.2　激光共聚焦　激光共聚焦显微镜示激光组及空白对照组 Y79 细胞凋亡均较少，$Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 组凋亡较多，$Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6＋激光组凋亡最多。见图 8。

3　讨论

ROS 包括·OH、单线态氧（singlet oxygen，$^1O_2$）

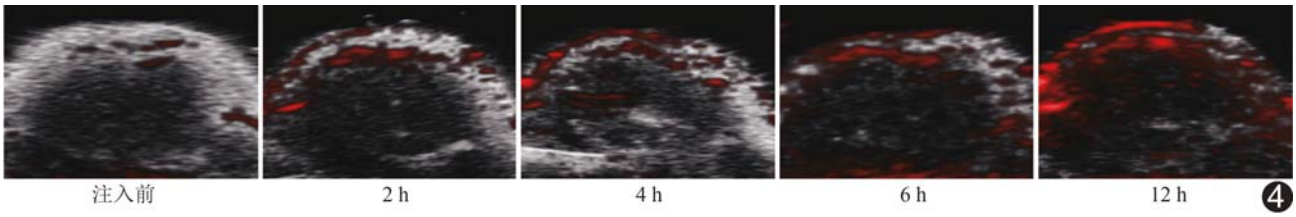


图 4　$Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 纳米粒体外、体内的 PA 信号变化　不同时间点荷瘤小鼠体内纳米粒光声成像图

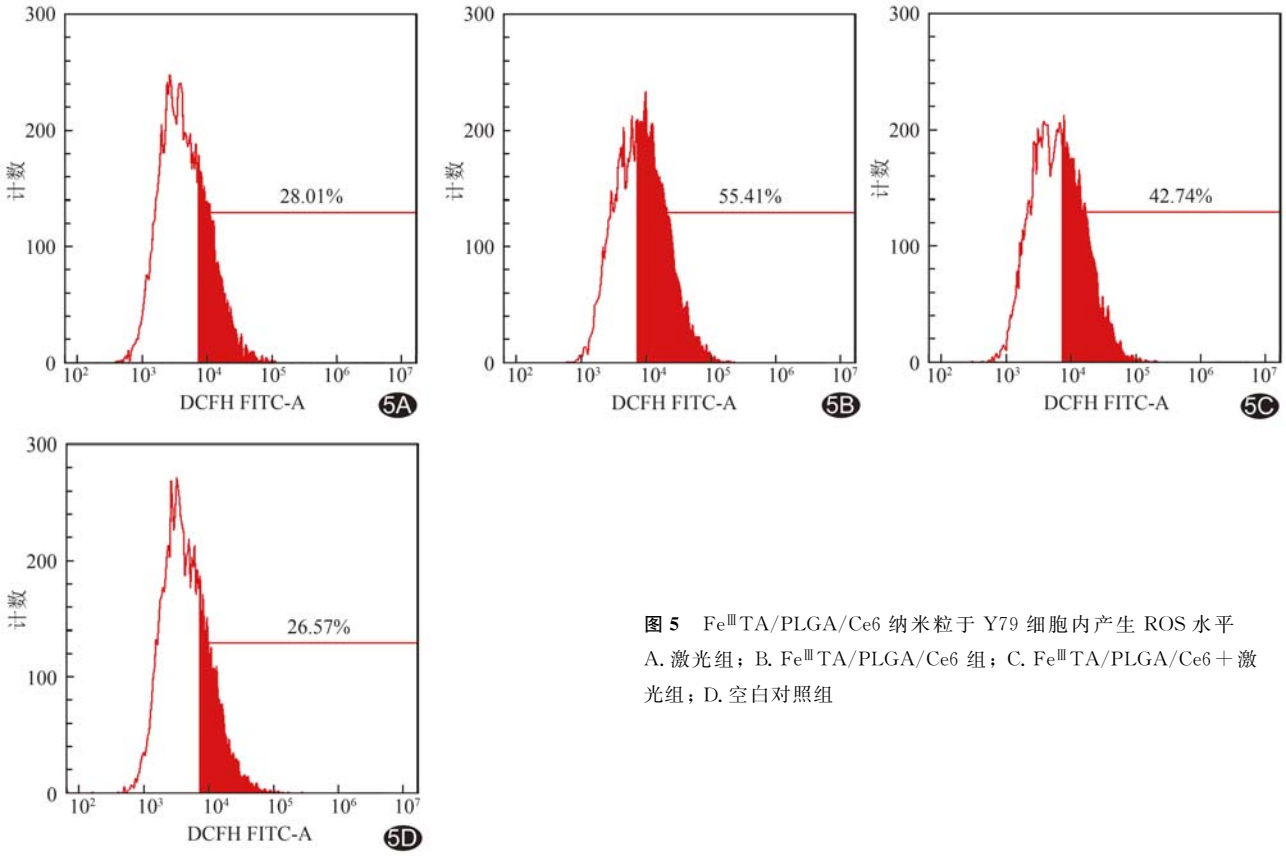


图 5　$Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 纳米粒于 Y79 细胞内产生 ROS 水平
A. 激光组；B. $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 组；C. $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6＋激光组；D. 空白对照组

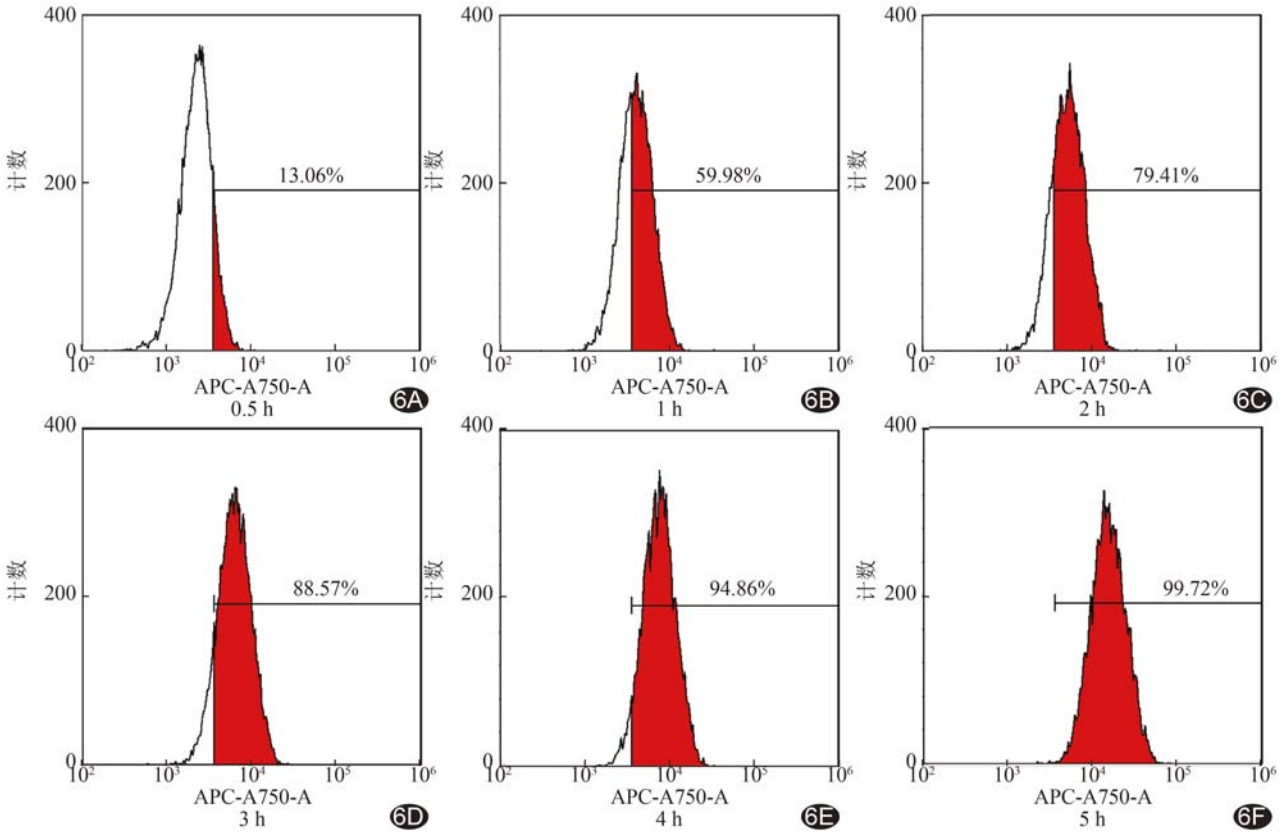


图 6　Y79 细胞吞噬 $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 纳米粒趋势图

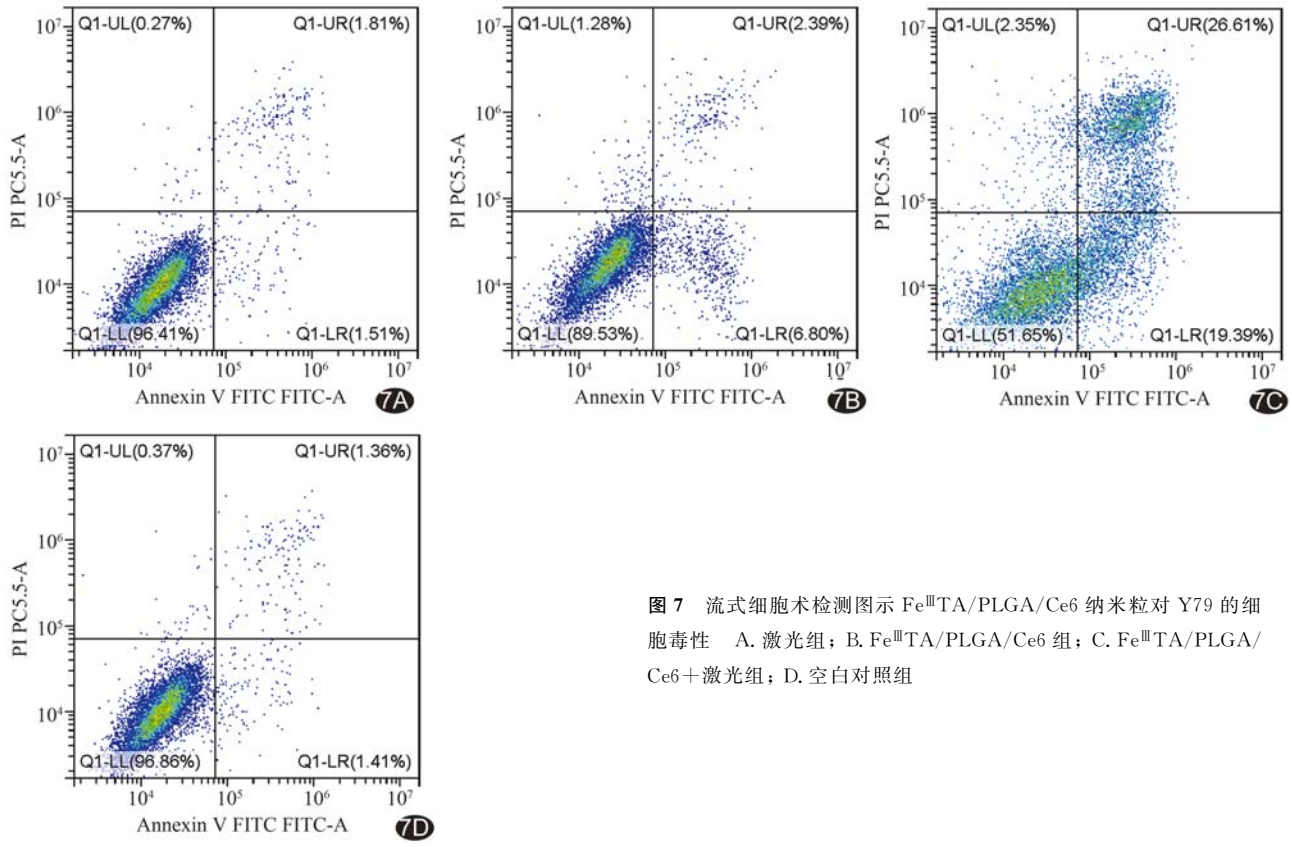


图 7　流式细胞术检测图示 $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 纳米粒对 Y79 的细胞毒性　A. 激光组；B. $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 组；C. $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6＋激光组；D. 空白对照组

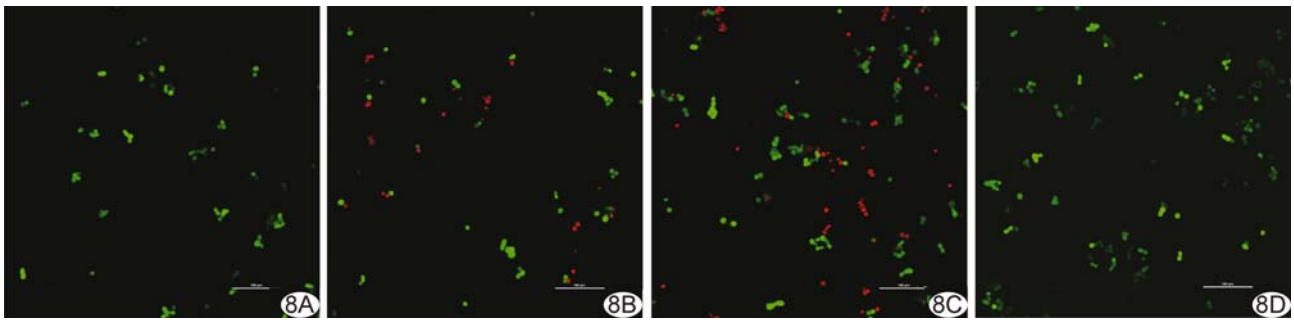


图 8　共聚焦显微镜图示 Y79 细胞存活/死亡　A. 激光组；B. $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 组；C. $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6＋激光组；D. 空白对照组（绿色示活细胞，红色示死细胞；标尺 100 μm）

及过氧化氢（hydrogen peroxide，H_2O_2）等，在肿瘤微环境（tumor microenvironment，TME）中可通过扰乱氧化还原稳态平衡而诱导癌细胞死亡。H_2O_2 是最丰富、最稳定的非自由基 ROS[9]。金属离子介导化学动力疗法（chemodynamic therapy，CDT）因特异性高、不良反应少[10]而逐渐受到关注。$Fe^{Ⅲ}$TA 纳米涂层可在肿瘤弱酸性微环境中分解，$Fe^{Ⅲ}$ 被还原成 $Fe^{Ⅱ}$，继而通过与 H_2O_2 的 Fenton 反应产生对肿瘤细胞剧毒的·OH 以诱导其凋亡[11]。已有研究[12]证实，$Fe^{Ⅲ}$TA 具有优异的光热转换效率、生物相容性及良好的治疗肿瘤效果。

CDT 既不需要光源，亦不受局部氧含量影响[13]，但受限于肿瘤内 H_2O_2 含量；光热治疗（photothermal therapy，PTT）[14]用于 RB 可弥补 CDT 的不足。PTT 指搭载光热材料的纳米制剂经局部激光照射（近红外光）可使实体瘤内温度升高[15]，以特异性杀伤局部肿瘤组织[16]。纳米技术的不断发展，使 PTT 展现出巨大临床应用潜能。PA 成像为新兴医学成像方法，具有高分辨率及高图像对比度等优点[17]。本课题组前期研究[18]制备的载 $Fe^{Ⅲ}$TA 和紫杉醇的纳米粒可用于 RB，但化疗药物毒副作用大，且易产生耐药性。本研究采用 $Fe^{Ⅲ}$ 和 TA 于 PLGA/Ce6 表面形成致密

的 $Fe^{Ⅲ}$TA 纳米涂层，成功制备的 $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 纳米粒的基本特性良好；经 808 nm 激光辐照后的温度均随浓度而呈线性增加，体外 PA 信号与纳料粒浓度呈正相关，且在体 PA 成像效果显著，与时间呈正相关；经 DCFH-DA 探针检测到该纳米粒于 Y79 细胞内产生大量 ROS，通过 MB 检测证明其为 · OH，提示 $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 纳米粒通过 CDT 途径产生 ROS 而杀死 Y79 细胞，协同 808 nm 激光可进一步提高对 Y79 细胞的杀伤效果；将该纳米粒与 RPE 细胞共孵育 24 h 后，RPE 细胞存活率仍较高，表明其对正常眼内组织 RPE 无明显细胞毒性。

综上，本研究成功制备的 $Fe^{Ⅲ}$TA/PLGA/Ce6 纳米粒 PA 成像效果较好，用于光热治疗联合化学动力疗法可有效杀伤 Y79 细胞；但该纳米粒对肿瘤组织无明显靶向性，有待加以改进。

[参考文献]

[1] GE L, QIAO C, TANG Y, et al. Light-activated hypoxia-sensitive covalent organic framework for tandem-responsive drug delivery[J]. Nano Lett, 2021,21(7):3218-3224.

[2] THÉRIAULT B L, DIMARAS H, GALLIE B L, et al. The genomic landscape of retinoblastoma: A review[J]. Clin Exp Ophthalmol, 2014,42(1):33-52.

[3] CHANTADAG L, DUNKEL I J, ANTONELI C B, et al. Risk factors for extraocular relapse following enucleation after failure of chemoreduction in retinoblastoma[J]. Pediatr Blood Cancer, 2007,49(3):256-260.

[4] ZHOU H, HE G, SUN Y, et al. Cryptobiosis-inspired assembly of "AND" logic gate platform for potential tumor-specific drug delivery[J]. Acta Pharm Sin B, 2021,11(2):534-543.

[5] EJIMA H, RICHARDSON J J, LIANG K, et al. One-step assembly of coordination complexes for versatile film and particle engineering[J]. Science, 2013,341(6142):154-157.

[6] LIU T, ZHANG M, LIU W, et al. Metal ion/tannic acid assembly as a versatile photothermal platform in engineering multimodal nanotheranostics for advanced applications[J]. ACS Nano, 2018,12(4):3917-3927.

[7] 赵佳雯，张亮，周峁，等. 载硫化铋及阿霉素靶向相变型纳米粒多模态显像及联合治疗卵巢癌体外实验[J]. 中国医学影像技术，2021,37(1):13-18.

[8] LIU Y, MA K, JIAO T, et al. Water-insoluble photosensitizer nanocolloids stabilized by supramolecular interfacial assembly towards photodynamic therapy[J]. Sci Rep, 2017,7:42978.

[9] MENG X, CHEN L, LV R, et al. A metal-phenolic network-based multifunctional nanocomposite with pH-responsive ROS generation and drug release for synergistic chemodynamic/photothermal/chemo-therapy[J]. J Mater Chem B, 2020,8(10):2177-2188.

[10] ZHANG S, JIN L, LIU J, et al. Boosting chemodynamic therapy by the synergistic effect of co-catalyze and photothermal effect triggered by the second near-infrared light[J]. Nanomicro Lett, 2020,12(1):180.

[11] ZHANG L, WAN S S, LI C X, et al. An adenosine triphosphate-responsive autocatalytic fenton nanoparticle for tumor ablation with self-supplied H_2O_2 and acceleration of Fe(Ⅲ)/Fe(Ⅱ) conversion[J]. Nano Lett, 2018,18(12):7609-7618.

[12] CHEN Q, SHAN X, SHI S, et al. Tumor microenvironment-responsive polydopamine-based core/shell nanoplatform for synergetic theranostics[J]. J Mater Chem B, 2020,8(18):4056-4066.

[13] CHEN F, YANG B, XU L, et al. A CaO_2@Tannic acid-Fe(Ⅲ) nanoconjugate for enhanced chemodynamic tumor therapy[J]. ChemMedChem, 2021,16(14):2278-2286.

[14] DAI Y, ZHAO H, HE K, et al. NIR-Ⅱ excitation phototheranostic nanomedicine for fluorescence/photoacoustic tumor imaging and targeted photothermal-photonic thermodynamic therapy[J]. Small, 2021,17(42):e2102527.

[15] ZHAO J, ZHANG L, QI Y, et al. NIR laser responsive nanoparticles for ovarian cancer targeted combination therapy with dual-modal imaging guidance[J]. Int J Nanomedicine, 2021,16:4351-4369.

[16] FAN W, YUNG B, HUANG P, et al. Nanotechnology for multimodal synergistic cancer therapy[J]. Chem Rev, 2017,117(22):13566-13638.

[17] STEINBERG I, HULAND D M, VERMESH O, et al. Photoacoustic clinical imaging[J]. Photoacoustics, 2019,14:77-98.

[18] 袁勋，鞠丰翼，张玓，等. 载单宁酸铁和紫杉醇相变型纳米粒用于体外超声显像及治疗视网膜母细胞瘤[J]. 中国医学影像技术，2020,36(6):801-807.