

介孔生物活性玻璃在蛋白降解中的应用

余萱^{1, 2}, 杨长江¹, 崔旭^{1, 2}, 陈亮^{1, 2}

¹ (中国科学院深圳先进技术研究院, 深圳 518055)

² (中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 当前, 靶向蛋白降解技术面临靶向特异性不足和递送效率低等挑战, 而纳米材料的靶向富集特性为克服这些瓶颈提供新思路。介孔生物活性玻璃 (MBG) 因其高生物相容性和药物递送潜力备受关注, 但其作为靶向蛋白降解载体的可行性尚未明确。本研究利用 FITC 荧光标记和生物素-亲和素体系验证 MBG 的亚细胞定位及其作为降解载体的可行性。此外, 本工作还考察了铁掺杂的 MBG 诱导铁死亡的潜能。结果显示, MBG 能够诱导靶蛋白的内化并进入溶酶体降解, 如 PD-L1 的降解。在此基础上, MBG 还能递送铁离子进入溶酶体, 诱导铁死亡的发生。该研究首次揭示了 MBG 兼具靶向蛋白降解与铁死亡诱导的双重功能, 为开发“蛋白降解-铁死亡”时空可控协同治疗癌症提供创新性方案。

关键词 介孔生物活性玻璃; 蛋白靶向降解; PD-L1; 纳米颗粒;

中图分类号: Q599 中图分类号 A

doi: 10.12146/j.issn.2095-3135.20250323001

Application of mesoporous bioactive glass in protein targeted degradation

YU Xuan^{1, 2}, YANG Changjiang¹, CUI Xu^{1, 2}, CHEN Liang^{1, 2}

¹ (Shenzhen Institutes of Advanced Technology, Chinese Academy of Sciences, Shenzhen 518055, China)

² (University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Corresponding Author: Liang Chen, liangchen@siat.ac.cn.

Abstract: Targeted protein degradation technologies face significant challenges, including insufficient target specificity and low delivery efficiency. Mesoporous bioactive glass (MBG) is a biocompatible nanomaterial widely studied in drug delivery, yet its potential as a platform for targeted protein degradation remains unexplored. In this study, FITC labeling and the biotin-avidin system were employed to evaluate the subcellular localization of MBG and its potential as a protein degradation carrier. Additionally, the ferroptosis-inducing capability of Fe-doped MBG was investigated. The results demonstrated that MBG facilitates the internalization of target proteins and degradation in lysosomes, as exemplified by the degradation of PD-L1. Furthermore, MBG was shown to deliver iron ions into lysosomes, inducing ferroptosis. This study,

来稿日期: 2025-03-23 修回日期: 2025-04-11

基金项目: 深圳市医学科研基金 (D2301003); 深圳市科学技术创新委员会 (SGDX20220530111004031, JCYJ20220818100412028)

作者简介: 余萱, 硕士研究生, 研究方向为肿瘤细胞生物学, 靶向蛋白降解; 杨长江, 硕士研究生, 研究方向为生物活性玻璃与组织工程; 崔旭, 副研究员, 研究方向为生物活性玻璃, 骨组织工程; 陈亮 (通讯作者), 副研究员, 研究方向为靶向蛋白降解, E-mail: liang.chen@siat.ac.cn.

for the first time, reveals the dual functionality of MBG in targeted protein degradation and ferroptosis induction, offering an innovative approach for the spatiotemporally controlled synergistic treatment of cancer through "protein degradation-ferroptosis" strategies.

Key words: Mesoporous bioactive glass; Targeted protein degradation; PD-L1; Nanoparticles;

Funding: This project is supported by the Shenzhen Medical Research Funds (D2301003) and the Shenzhen Science and Technology Innovation Commission (Grant Nos. SGDX20220530111004031 and JCYJ20220818100412028).

1 引言

癌症是全球第二大死因, 每年有近 2000 万人确诊癌症和近 1000 万人因癌症死亡^[1]。在癌症治疗中已发现的优先靶点有 627 个^[2,3], 然而其中 395 个非酶靶点 (63%) 通常没有功能关键的活性位点, 被称为“不可成药”^[4]。靶向蛋白质降解 (Targeted Protein Degradation, TPD) 技术的出现, 为这部分靶点的开发带来了希望, 该技术旨在劫持细胞固有的蛋白降解途径特异性识别和降解目的蛋白 (Protein Of Interest, POI) ^[5]。利用泛素-蛋白酶体降解 POI 的化合物被称作蛋白酶体靶向嵌合体 (Proteasome Targeting Chimera, PROTAC), 该嵌合体组成包括靶向 E3 泛素连接酶的配体、靶向 POI 的配体和两个配体之间的连接体^[6]。PROTAC 促进 E3 泛素连接酶与 POI 的间接结合, 导致 POI 被泛素化, 从而被蛋白酶体识别实现降解^[7]。目前已报道多个通过溶酶体降解 POI 的嵌合体, 包括溶酶体靶向嵌合体 (Lysosome-Targeting Chimeras, LYTAC) ^[8]、靶向 p62 的自噬靶向嵌合体 (AUTophagy-TArgeting Chimera, ATUOTAC) ^[9]、基于 cGMP 降解标签的靶向自噬嵌合体 (AUtophagy-TArgeting Chimera, AUTAC) ^[10]、靶向 LC3 的自噬体拴系化合物 (autophagosome-tethering compound, ATTEC) ^[11]。

程序性死亡配体 1 (Programmed Cell Death 1 Ligand 1, PD-L1) 能够介导肿瘤的免疫逃逸, 在肺癌、胃癌、乳腺癌等多种癌症中过表达, 通常与不良预后相关^[12]。同时, 越来越多证据表明 PD-L1 的降解增强免疫疗效^[13,14]。近几年, 关于 PD-L1 的靶向降解已有诸多报道, 包括整合素介导的溶酶体降解^[15], 葡萄糖转运蛋白 Glut1 促进 PD-L1 溶酶体降解^[16], PEI 诱导的自噬降解^[17]。虽然已开发的嵌合体能够抑制小鼠肿瘤的生长, 但较差的药代动力限制了其进一步应用。纳米药物具有调节嵌合体全身生物分布和靶向聚集的能力, 在提高安全性和治疗效果方面显示出巨大的前景^[18,19]。Zhu 等^[20]开发了一种透明质酸包被的金属有机纳米颗粒, 联合 PROTAC 和光敏剂治疗癌症, 实现肿瘤特异性递送和局部药物释放。Huang 等^[21]设计了一种多功能仿生纳米受体, 通过增加自噬介导突变型 p53 降解, 并且在肿瘤中的分布最高。生物活性玻璃是临床上用于骨修复、牙科和软组织再生的材料, 具有较高的生物相容性^[22-24]。随着制备工艺的成熟, 已经能合成纳米级别、结构稳定、分散性良好的介孔生物活性玻璃 (Mesoporous bioactive glass, MBG) ^[25]。目前生物活性玻璃的研究集中在组织层面, 在 TPD 领域尚未有相应的研究。

铁死亡是一种受调控的细胞死亡方式, 与铁依赖的脂质过氧化相关^[26]。此外, 溶酶体不仅是自噬降解的重要参与者, 也是细胞中铁的储存中心, 已成为最具潜力的细胞器靶标之一^[27-29]。纳米材料联合铁死亡与 TPD 治疗的可行性有待进一步探究。

2 材料与方法

2.1 材料

人非小细胞肺癌 A549 和人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞购自普瑞赛尔生命科技有限公司 (CL-0016 和 CL-0150)；胎牛血清购自南京 Bio-channel 公司；DMEM 高糖培养基、胰酶和青霉素链霉素双抗购自上海 Viva cell 公司；十六烷基三甲基溴化铵 (CTAB)、三乙醇胺 (TEA) 和四水硝酸钙 (CN) 等试剂购自上海 Aladdin 公司；Biotin 购自上海安耐吉公司；NeutrAvidin Protein FITC (NAP-FITC)、Lysotracker 和 LDH 细胞毒性检测试剂盒购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司；蛋白酶抑制剂、EIPA、Nystain 和 CPZ 购自美国 MCE 公司；二甲基亚砜 (DMSO)、SDS 裂解液和 DAPI 染液购自上海碧云天公司；细胞亚铁比色测定试剂盒购自武汉 Elabscience 公司。

2.2 实验方法

2.2.1 MBG 的合成制备

干净的烧杯中加入 6 g CTAB 和 30 ml 的蒸馏水, 60°C 磁力搅拌直至 CTAB 完全溶解。随后加入 TEA 和 CN 搅拌溶解, 形成水相混合溶液。在另一个干净的烧杯, 混合 TEOS、磷酸三乙酯 (TEP) 和环己烷搅拌均匀, 得到油相混合溶液。将油相液体缓慢倒入水相溶液中, 形成两相体系, 40°C 搅拌 12 h。反应完成后, 去除上层油相, 下层乳白色溶液 3000 rpm 离心 5 min, 去上清并用无水乙醇和蒸馏水交替洗涤沉淀物 2-3 次。白色沉淀 60°C 干燥 12 h。白色粉体 600°C 热处理 5 h, 最终得到介孔生物活性玻璃微球 MBG。Fe-MBG 则在 MBG 水相溶液的基础上, 加入硝酸铁进行后续实验。

2.2.2 MBG-FITC 合成制备

超声制备 MBG 悬浮液: 0.02 g FITC 溶于 2 ml DMSO 中, 加到悬浮液中, 室温下磁力搅拌 3 h, 多次水洗离心, 冻干后即得 MBG-FITC。

2.2.3 MBG-Biotin 的合成制备

超声制备 MBG 悬浮液, 加入氨水调至 pH 为 8-9 的弱碱性。40°C 磁力搅拌, 向悬浮液中滴加 0.2 ml 氨丙基三乙氧基硅烷 (APTES), 反应 6 h。悬浮液 3000 rpm 离心 5 min 收集沉淀, 分别用蒸馏水和无水乙醇洗涤多次, 冷冻干燥 24 h 得到 MBG-NH₂。

0.01 g Biotin-NHS 溶于 1 ml DMSO 溶液, 加入超声后的 MBG-NH₂ 悬浮液中, 30°C 搅拌反应 12 h。反应后的悬浮液 3000 rpm 离心 5 min 收集沉淀, 分别用蒸馏水和无水乙醇洗涤多次, 冷冻干燥 24 h 得到 MBG-Biotin。

2.2.4 材料透射电子显微镜分析

利用飞曼场发射高分辨透射电子显微镜 (型号: Tecnai G2 F20 S-Twin) 表征材料微纳级表面形貌与微观结构。

2.2.5 细胞及其培养方法

细胞在含有 10% 胎牛血清和 1% 青霉素链霉素双抗的 DMEM 高糖培养基中生长, 培养条件为 37°C、5%CO₂。

2.2.6 荧光共聚焦

接种不同数量的细胞生长于细胞爬片上。贴壁后加入药物处理相应的时间, 药物处理结束后移除培养基, 用 PBS 清洗细胞 2 次。4% 多聚甲醛固定 15 min, 用 PBS 洗 3 次, 每次 5 min。1×DAPI 室温避光孵育 2 h, 用 PBS 清洗 3 次, 每次持续 5 min。细胞爬片倒扣在含封片剂的载玻片上, 再用指甲油固定爬片。使用 Leica STELLARIS 5 共聚焦显微镜成像。

2.2.7 MBG-FITC 的入胞

提前一晚将细胞铺在 24 孔板 (内置细胞爬片) 中; 用 PBS 将 MBG-FITC 重悬配置成溶液; 用完全培养基稀释配置 150 μg/ml 的 MBG-FITC 加给细胞; 20 h 后进行荧光染色。

2.2.8 细胞外蛋白质的摄取

提前一晚将 A549 细胞铺在 24 孔板（内置细胞爬片）中；配置 10、50、100 $\mu\text{g/ml}$ 的 MBG、Biotin、MBG-Biotin，分别与 400 nM 的 NAP-FITC 孵育，30 min 后将混合物加给细胞；20 h 后进行荧光染色。

2.2.9 入胞途径分析

提前一晚将 A549 细胞铺在 24 孔板（内置细胞爬片）中；隔天分别用 50 μM Nystain、10 μM CPZ、10 $\mu\text{g/ml}$ EIPA 处理细胞；1 h 后加入 100 $\mu\text{g/ml}$ MBG、Biotin、MBG-Biotin 分别与 400 nM NAP-FITC 孵育 30 min 的混合物，处理 8 h 后做荧光染色。

2.2.10 溶酶体共定位实验

A549 细胞提前一晚铺于 24 孔板（内置细胞爬片）中，贴壁后与材料孵育 20 h。实验结束前 1 h 移除培养基，加入含 50 nM LysoTracker-Red（溶酶体探针）的培养基孵育 1 h 后进行荧光染色。

2.2.11 蛋白免疫印迹

MDA-MB-231 细胞提前一晚铺于 12 孔板中，待贴壁后加入材料处理相应的时间。用 SDS 裂解液（含蛋白酶抑制剂）收集细胞蛋白，加入 5 \times loading buffer，金属浴 100 $^{\circ}\text{C}$ 加热 10 min。采用 10% 的十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳（SDS-PAGE）分离蛋白样品，并转移到 0.45 μm 聚偏二氟乙烯膜上。在室温下，将膜泡在 5% 脱脂牛奶中孵育 2 小时，用 PBST（含 0.1% Tween-20 的 PBS）清洗去除脱脂牛奶，加入一抗稀释液在 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。用 PBST 洗涤 3 次（每次 5 min）后，在室温下与二抗稀释液孵育 1 h，再用 PBST 洗涤 3 次。滴加 ECL 化学发光液覆盖膜，使用 Amersham Imager AI600 进行成像。最后用 Image J（1.48V/Java 1.6.0_20 32-bit）对蛋白条带灰度值进行定量。

实验所使用的抗体货号如下：鼠抗 PD-L1（1:1000，CST，Cat#13684；RRID：AB_2687655）；鼠抗 GAPDH（1:10000，Proteintech，Cat#60004；RRID：AB_2107436）；马抗鼠（1:5000，CST，Cat#7076；RRID：AB_330924）。

2.2.12 细胞内 Fe^{2+} 浓度

根据细胞亚铁比色测定试剂盒说明书，提前一晚将细胞铺在 12 孔板中，隔天分别加入 100、200 $\mu\text{g/ml}$ 的 MBG 和 Fe-MBG。24 h 后 PBS 洗 4 次，每孔加入 0.2 ml 缓冲液冰上裂解 10 min。15000 g 离心 10 min，转移 80 μl 上清到 96 孔板中，加入 80 μl 显色液。对照组取 80 μl 上清到孔板中，加入 80 μl 对照液。混匀，37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 10 min，使用美国赛默飞全波长读数仪（MULTISKAN GO）在 593 nm 测量吸光值。根据标准曲线计算出每孔的 Fe^{2+} 浓度，每组 3 个独立复孔。

2.2.13 LDH 释放

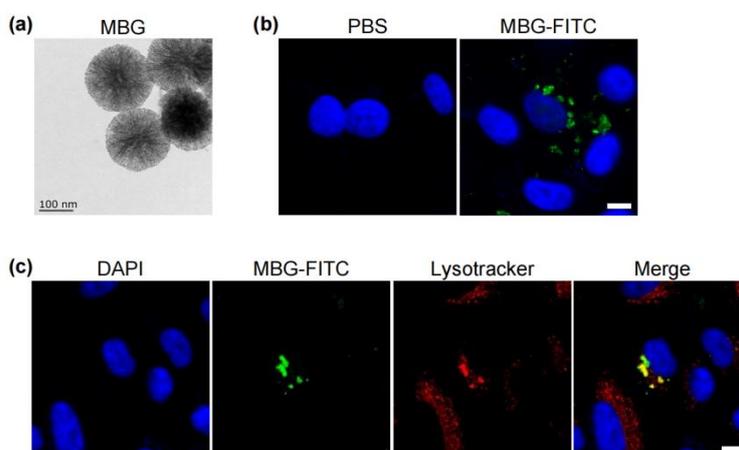
提前一晚将细胞铺于 96 孔板中，隔天加材料处理 24 h。药物处理结束前 45 min，最大 LDH 组加入 10 μl 10 \times 裂解液，其他组加入 10 μl 超纯水，培养箱孵育 45 min。每个样品培养基取 50 μl 转移到新的 96 孔板中，每孔加入 50 μl 反应混合物，混匀室温孵育 30 min。再加入 50 μl 停止液轻轻敲击混匀，最后在 490 和 680 nm 处测量吸光值。

3 结果

3.1 MBG 进入细胞并到达溶酶体

本文使用的是经典的 58S 生物活性玻璃，由图 1(a) 的透射电镜图片可知，MBG 是尺寸均匀的球状，直径约 150 nm，分散性良好且具有高度有序的介孔孔道。该结果说明 MBG 的成功合成。随后 FITC 被连接到 MBG 上制备出 MBG-FITC。MBG-FITC 与细胞共孵育 20 h 后，通过荧光共聚焦显微镜可以观察到细胞核周围有 FITC 信号（图 1(b)），说明 MBG-FITC 能够进入细胞。为了探究 MBG-FITC 的亚细胞定位，使用 LysoTracker 标记溶

酶体，从图 1(c)中可以看到 MBG-FITC 与溶酶体存在部分共定位，结果表明 MBG-FITC 入胞后最终进入溶酶体。综上，研究表明 MBG 能够进入细胞并最终靶向溶酶体，提示 MBG 具备作为蛋白靶向溶酶体降解平台的潜力。



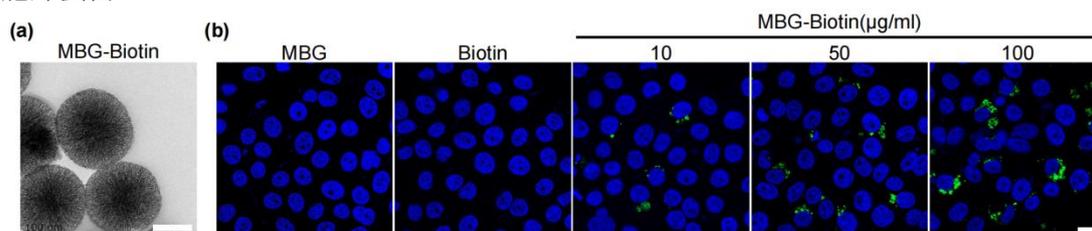
(a) MBG 的透射电镜图，标尺为 100 nm (b) MBG-FITC 的入胞情况，标尺为 10 μm (c) MBG-FITC 与溶酶体的定位关系，标尺为 10 μm

图 1 MBG 进入细胞并到达溶酶体

Fig. 1 MBG enters the cell and reaches the lysosome

3.2 MBG-Biotin 介导细胞摄取靶蛋白

为了验证 MBG 内化蛋白质的能力，本文利用高亲和力的生物素-亲和素蛋白 (Biotin-NAP) 系统进一步探究。首先合成 MBG-Biotin，透射电镜结果显示合成其仍是尺寸均匀的球状，直径与 MBG 相近 (图 2(a))，说明 Biotin 的连接不会影响 MBG 结构。将 NAP-FITC 与不同材料孵育 20 min，再将混合物与 A549 细胞孵育 20 h，由图 2(b)可以观察到，MBG 组和 Biotin 组细胞内均没有荧光，而 MBG-Biotin 组则有 FITC 信号，并且呈浓度依赖性。说明 MBG-Biotin 能够在胞外与 NAP 结合后将其带入胞内，介导细胞摄取胞外蛋白。



(a) MBG-Biotin 的透射电镜图，标尺为 100nm; (b) 不同浓度的 MBG-Biotin 携带 NAP-FITC 进入 A549 细胞，标尺为 10 μm

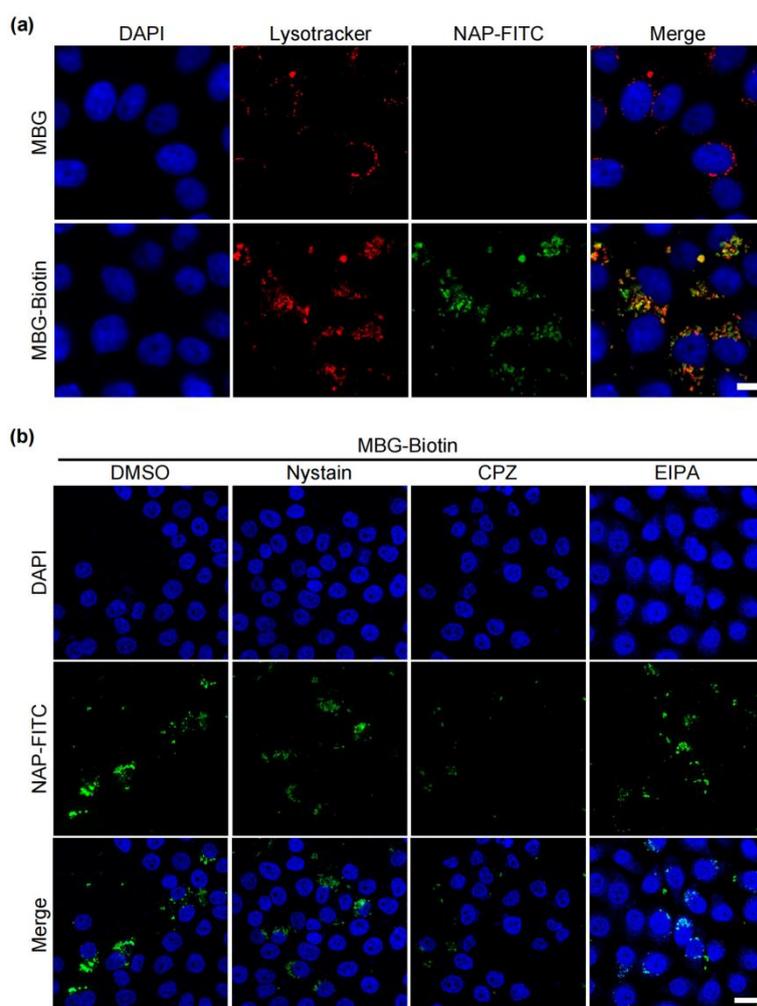
图 2 MBG-Biotin 介导细胞摄取 NAP

Fig. 2 MBG-Biotin mediates cellular uptake of NAP

3.3 MBG-Biotin 通过网格蛋白介导的内吞作用进入细胞并到达溶酶体

根据先前 MBG-FITC 的结果，推测 MBG-Biotin 携带 NAP 入胞后同样到溶酶体中。图 3(a)结果显示 NAP-FITC 与 Lysotracker 的定位高度重合，与 MBG-FITC 的结果一致。已知进入细胞的途径包括通道形成的离子载体、网格蛋白介导的内吞作用和巨胞饮途径，为了探究 MBG 进入细胞的途径，分别添加三种途径相应的抑制剂 Nystain、CPZ、EIPA 处理细胞，1 h 后再加入 MBG-Biotin 和 NAP 混合物。由图 3(b)结果可知，Nystain 组、EIPA 组与 DMSO 组一样，胞内均有荧光信号，而 CPZ 抑制 MBG-Biotin 入胞导致胞内无 FITC

信号。综上，MBG-Biotin 通过网格蛋白介导的内吞作用入胞后，最终到达溶酶体。



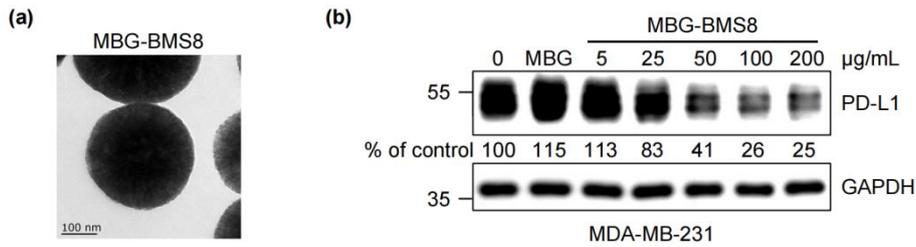
(a) MBG-Biotin 携带 NAP 入胞与溶酶体的定位，标尺为 10 μm (b) 不同内吞抑制剂对 MBG-Biotin 入胞的影响，标尺为 20 μm

图 3 MBG-Biotin 通过网格蛋白介导的内吞作用入胞到达溶酶体

Fig. 3 MBG-Biotin enters the cell through clathrin-mediated endocytosis and reaches the lysosome

3.4 MBG-BMS8 介导 PD-L1 降解

BMS8 是一种小分子化合物，能与 PD-L1 特异性结合。为了验证 MBG 介导的靶向蛋白降解的可行性，本文合成了 MBG-BMS8。图 4(a)透射电镜图像显示 MBG-BMS8 为均匀的球状，直径约 200 nm，与 MBG 接近，说明 BMS8 的连接同样不会影响 MBG 结构。将 MDA-MB-231 细胞与不同浓度的 MBG-BMS8 孵育 24 h 后进行蛋白免疫印迹实验。由图 3(b)可知，相较于对照组，5 $\mu\text{g/ml}$ MBG 和 MBG-BMS8 的 PD-L1 水平均有所升高，而 25 $\mu\text{g/ml}$ MBG-BMS8 能降解部分 PD-L1，当浓度升至 50、100、200 $\mu\text{g/ml}$ 时，PD-L1 蛋白水平分别降低至 41%、26%和 25%。综上，MBG-BMS8 能够成功降解靶蛋白，并且 100 $\mu\text{g/ml}$ 的 MBG-BMS8 就有良好的降解效果。



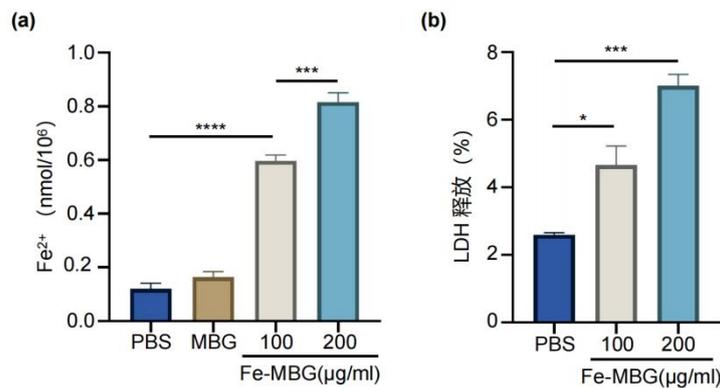
(a) MBG-BMS8 的透射电镜图，标尺为 100 nm (b) MBG-BMS8 处理后的 PD-L1 蛋白水平

图 4 MBG-BMS8 介导 PD-L1 降解

Fig. 4 MBG-BMS8 mediates the degradation of PD-L1

3.5 Fe-MBG 介导的铁死亡

由于溶酶体通过储存释放铁，已成为铁死亡的关键调控节点^[30]。有研究表明，氧化铁纳米颗粒可以诱导氧化应激并抑制小鼠白血病的肿瘤生长^[31]。本文尝试在 MBG 合成过程中掺入铁离子形成 Fe-MBG，期望 Fe-MBG 到达溶酶体后能释放 Fe³⁺，观察其能否诱导铁死亡。通过对胞内 Fe²⁺浓度的检测，发现 Fe-MBG 能够诱导细胞内 Fe²⁺浓度上升(图 4(a))，并且造成细胞膜损伤释放更多的 LDH (图 4(b))。这可能是 Fe-MBG 导致溶酶体释放更多的 Fe²⁺，更强的芬顿反应加剧了细胞的氧化应激，从而诱发铁死亡。



(a) Fe-MBG 处理对 A549 胞内 Fe²⁺浓度的影响；(b) Fe-MBG 处理对 A549 细胞膜的影响；(a, b) 的数据为平均值±标准差，每组三个复孔，*P<0.05，**P<0.01，***P<0.001，****P<0.0001；

图 5 Fe-MBG 诱发的铁死亡

Fig. 5 Fe-MBG induces ferroptosis

4 讨论与分析

本文探究了 MBG 的亚细胞定位，发现其最终到达溶酶体，表明 MBG 作为新型 TPD 平台的潜力。通过 Biotin-NAP 体系进一步评估该降解策略的可行性，发现 MBG-Biotin 能够通过网格蛋白介导的内吞作用进入细胞，将胞外的 NAP 带到溶酶体中降解。接着将特异性识别 PD-L1 的小分子 BMS8 连接到 MBG 上，通过蛋白免疫印迹实验发现 100 µg/ml 的 MBG-BMS8 能够降解细胞 75% 的 PD-L1。本研究也存在一定局限性，比如 MBG-BMS8 缺少小动物体内实验，并且 MBG-BMS8 在体内实验中仅能依靠纳米材料的聚集效应在肿瘤部位累积，靶向肿瘤的能力仍有待提高。

在国内外的研究中，科学家们倾向于开发一种广谱的 TPD 范式，以适应不同肿瘤细胞、降解不同 POI 甚至是蛋白聚集物。例如，韩国 Kwon 实验室^[9]开发多个化合物能结合 p62 的 ZZ 结构域，激活诱导 p62 的多聚化形成自噬小体，接着筛选不同蛋白靶向剂合成

多个 AUTOTAC，成功降解了三种不同内源性癌蛋白、错误折叠蛋白和阿兹海默症的 Tau 蛋白聚集体，最终在阿兹海默症的动物模型中得到验证。本文侧重于开发 MBG 在 TPD 的应用，对其他 POI 的降解还有待开发。

以往纳米材料通常被用于药物递送，装载靶向嵌合体到达肿瘤部位再释放。近期纳米材料也成为嵌合体的一部分^[32]，Liu 等^[33]利用 FDA 批准的聚合物载体 PLGA、连接子 PEG-DSPE 和 POI 抗体自组装形成，成功通过自噬溶酶体降解了 EGFR、PD1、PD-L1、HER2、CD13 等多个 POI，作者团队还尝试将抗体换作多肽降解了 ACE2，将 PLGA 换作脂质体、外泌体、膜包裹的纳米颗粒和金纳米颗粒均能成功降解 EGFR，从而提出一种 TPD 纳米颗粒的范式。与上述研究相比，本课题材料不涉及抗体，采用小分子配体识别 POI，并且小分子配体与材料之间可以直接连接不需要连接体，因此成本较低。

通常单独降解 PD-L1 无法对肿瘤细胞活力造成影响，在体内实验中需要依赖免疫细胞对其杀伤才能抑制肿瘤生长。作为铁储存部位和脂质过氧化介质，溶酶体在铁死亡中发挥双重作用，其功能障碍可诱导细胞铁死亡的发生^[34,35]。本文在 MBG 合成过程中加入硝酸铁形成 Fe-MBG，促进细胞内不稳定铁池的扩大从而导致铁死亡。后期需要将 BMS8 连接到 Fe-MBG 上，进一步探究 TPD 与 Fe-MBG 的联合治疗策略能否更有效地杀伤肿瘤。

5 结 论

MBG 是一种高生物安全性的药物递送载体。本研究通过分析荧光共定位证实 MBG 靶向溶酶体的特性，基于生物素-亲和素体系阐明其通过网格蛋白介导的内吞途径实现靶蛋白递送，且小分子纳米颗粒 MBG-BMS8 在体外模型中实现 PD-L1 蛋白降解。此外，本文还提出“蛋白降解-铁死亡”的联合策略，为肿瘤治疗提供参考。

参考文献

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, 等. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries[J]. CA: a cancer journal for clinicians, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] MCDONALD E R, DE WECK A, SCHLABACH M R, 等. Project DRIVE: A Compendium of Cancer Dependencies and Synthetic Lethal Relationships Uncovered by Large-Scale, Deep RNAi Screening[J]. Cell, 2017, 170(3): 577-592.e10.
- [3] TSHERNIAK A, VAZQUEZ F, MONTGOMERY P G, 等. Defining a Cancer Dependency Map[J]. Cell, 2017, 170(3): 564-576.e16.
- [4] BEHAN F M, IORIO F, PICCO G, 等. Prioritization of cancer therapeutic targets using CRISPR-Cas9 screens[J]. Nature, 2019, 568(7753): 511-516.
- [5] CHEN S, CUI J, CHEN H, 等. Recent progress in degradation of membrane proteins by PROTACs and alternative targeted protein degradation techniques[J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2023, 262: 115911.
- [6] SAKAMOTO K M, KIM K B, KUMAGAI A, 等. Protacs: chimeric molecules that target proteins to the Skp1-Cullin-F box complex for ubiquitination and degradation[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2001, 98(15): 8554-8559.
- [7] ZHANG J, CHEN X, CHEN C, 等. Distinct Amino Acid-Based PROTACs Target Oncogenic Kinases for Degradation in Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC)[J]. Journal of Medicinal Chemistry, 2024, 67(16): 13666-13680.
- [8] BANIK S M, PEDRAM K, WISNOVSKY S, 等. Lysosome-targeting chimaeras for degradation of extracellular proteins[J]. Nature, 2020, 584(7820): 291-297.

-
- [9] JI C H, KIM H Y, LEE M J, 等. The AUTOTAC chemical biology platform for targeted protein degradation via the autophagy-lysosome system[J]. *Nature Communications*, 2022, 13(1): 904.
- [10] TAKAHASHI D, ARIMOTO H. Targeting selective autophagy by AUTAC degraders[J]. *Autophagy*, 2020, 16(4): 765-766.
- [11] FU Y, CHEN N, WANG Z, 等. Degradation of lipid droplets by chimeric autophagy-tethering compounds[J]. *Cell Research*, 2021, 31(9): 965-979.
- [12] DOROSHOW D B, BHALLA S, BEASLEY M B, 等. PD-L1 as a biomarker of response to immune-checkpoint inhibitors[J]. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 2021, 18(6): 345-362.
- [13] CHENG B, REN Y, CAO H, 等. Discovery of novel resorcinol diphenyl ether-based PROTAC-like molecules as dual inhibitors and degraders of PD-L1[J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2020, 199: 112377.
- [14] ALSAAB H O, SAU S, ALZHRANI R, 等. PD-1 and PD-L1 Checkpoint Signaling Inhibition for Cancer Immunotherapy: Mechanism, Combinations, and Clinical Outcome[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2017, 8: 561.
- [15] ZHENG J, HE W, LI J, 等. Bifunctional Compounds as Molecular Degraders for Integrin-Facilitated Targeted Protein Degradation[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2022, 144(48): 21831-21836.
- [16] LUO J, GAO Q, TAN K, 等. Lysosome Targeting Chimaeras for Glut1-Facilitated Targeted Protein Degradation[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2024, 146(26): 17728-17737.
- [17] CHENG B, LI M, ZHENG J, 等. Chemically engineered antibodies for autophagy-based receptor degradation[J]. *Nature Chemical Biology*, 2025: 1-12.
- [18] MANZARI M T, SHAMAY Y, KIGUCHI H, 等. Targeted drug delivery strategies for precision medicines[J]. *Nature reviews. Materials*, 2021, 6(4): 351-370.
- [19] XING Y, LI J, WANG L, 等. A Bifunctional Lysosome-Targeting Chimera Nanoplatform for Tumor-Selective Protein Degradation and Enhanced Cancer Immunotherapy[J]. *Advanced Materials*, 2025: 2417942.
- [20] ZHU H, GAO F, LI Y, 等. MOF-based nanoparticles for tumor-targeted protein degradation and photodynamic therapy induce enhanced anti-tumor immunity[J]. *Nano Today*, 2024, 56: 102308.
- [21] HUANG X, CAO Z, QIAN J, 等. Nanoreceptors promote mutant p53 protein degradation by mimicking selective autophagy receptors[J]. *Nature Nanotechnology*, 2024, 19(4): 545-553.
- [22] QI X, WANG H, ZHANG Y, 等. Mesoporous bioactive glass-coated 3D printed borosilicate bioactive glass scaffolds for improving repair of bone defects[J]. *International Journal of Biological Sciences*, 2018, 14(4): 471-484.
- [23] SKALLEVOLD H E, ROKAYA D, KHURSHID Z, 等. Bioactive Glass Applications in Dentistry[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(23): 5960.
- [24] CANNIO M, BELLUCCI D, ROETHER J A, 等. Bioactive Glass Applications: A Literature Review of Human Clinical Trials[J]. *Materials*, 2021, 14(18): 5440.
- [25] SHARIFI E, BIGHAM A, YOUSEFIASL S, 等. Mesoporous Bioactive Glasses in Cancer Diagnosis and Therapy: Stimuli-Responsive, Toxicity, Immunogenicity, and Clinical Translation[J]. *Advanced Science*, 2022, 9(2): 2102678.
- [26] DIXON S J, LEMBERG K M, LAMPRECHT M R, 等. Ferroptosis: An Iron-Dependent Form of Nonapoptotic Cell Death[J]. *Cell*, 2012, 149(5): 1060-1072.

-
- [27] RIZZOLLO F, MORE S, VANGHELUWE P, 等. The lysosome as a master regulator of iron metabolism[J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 2021, 46(12): 960-975.
- [28] VILLALPANDO-RODRIGUEZ G E, BLANKSTEIN A R, KONZELMAN C, 等. Lysosomal Destabilizing Drug Siramesine and the Dual Tyrosine Kinase Inhibitor Lapatinib Induce a Synergistic Ferroptosis through Reduced Heme Oxygenase-1 (HO-1) Levels[J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 2019(1): 9561281.
- [29] WEI X, LI Y, CHEN H, 等. A Lysosome-Targeted Magnetic Nanotorquer Mechanically Triggers Ferroptosis for Breast Cancer Treatment[J]. *Advanced Science*, n/a(n/a): 2302093.
- [30] CHEN Y, YANG Z, WANG S, 等. Boosting ROS-Mediated Lysosomal Membrane Permeabilization for Cancer Ferroptosis Therapy[J]. *Advanced Healthcare Materials*, 2023, 12(6): e2202150.
- [31] TRUJILLO-ALONSO V, PRATT E C, ZONG H, 等. FDA-approved ferumoxytol displays anti-leukaemia efficacy against cells with low ferroportin levels[J]. *Nature Nanotechnology*, 2019, 14(6): 616-622.
- [32] MOON Y, CHO H, KIM J, 等. Self-Assembled Peptide-Derived Proteolysis-Targeting Chimera (PROTAC) Nanoparticles for Tumor-Targeted and Durable PD-L1 Degradation in Cancer Immunotherapy[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2025, 64(5): e202414146.
- [33] LIU Y, LIU R, DONG J, 等. Targeted protein degradation via cellular trafficking of nanoparticles[J]. *Nature Nanotechnology*, 2025, 20(2): 296-302.
- [34] FENG J, WANG Z X, BIN J L, 等. Pharmacological approaches for targeting lysosomes to induce ferroptotic cell death in cancer[J]. *Cancer Letters*, 2024, 587: 216728.
- [35] WANG Q, XU S, WANG H, 等. Two-photon visualization of lysosomes-specific ferroptosis by a dual-functional fluorescent probe[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2025, 426: 137070.