

可注射磁性液固相变材料用于骨肉瘤的磁共振 成像与低温磁热治疗研究

徐东^{1,2}, 朱钰方^{1,2}, 郑元义³, 罗宇^{2,4}, 陈航榕²

(1. 上海理工大学材料科学与工程学院, 上海 200093; 2. 中国科学院上海硅酸盐研究所, 上海 200050; 3. 上海交通大学附属第六人民医院上海超声医学研究所, 上海 200233; 4. 同济大学化学科学与工程学院, 上海 200092)

摘要: 过高温可诱发肿瘤周围正常组织产生炎症以及热辐射损伤。因此研发一种能在相对较低温度下(例如 43 °C)即可实现肿瘤细胞高致死率的磁性材料对于磁热治疗的临床应用至关重要。本研究聚焦低温、安全、高效磁热疗, 选取 FDA 批准的液固相变材料聚乳酸-羟基乙酸(PLGA)为原料, 装载一步温和还原法制备得到的超顺磁性氧化铁纳米颗粒, 用于磁共振成像和磁热升温; 进一步在 PLGA 中装载热休克蛋白 HSP90 的小分子抑制剂-表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG), 抑制机体受热保护功能, 实现较低温度下杀死肿瘤细胞。体外实验结果表明, 制备得到的超顺磁性氧化铁纳米颗粒不仅拥有良好的 T_2 加权成像性能, 还具有优良的磁热升温性能。所制备的 PLGA/Fe₃O₄/EGCG 复合材料在交变磁场下控制升温至 43 °C 并保温 40 min 后发现肿瘤细胞死亡率达 70%, 显示出针对骨肉瘤低温磁热治疗的良好潜力。这种可注射磁热相变材料将为骨肉瘤的治疗提供新的思路 and 材料支撑。

关键词: 可注射; 液固相变; 低温磁热; 磁共振成像; 骨肉瘤

中图分类号: TQ174 文献标识码: A

Injectable Magnetic Liquid-solid Phase Transition Material for MR Imaging and Low-temperature Magnetocaloric Therapy of Osteosarcoma

XU Dong^{1,2}, ZHU Yufang^{1,2}, ZHENG Yuanyi³, LUO Yu^{2,4}, CHEN Hangrong²

(1. School of Materials Science and Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China; 2. Shanghai Institute of Ceramics, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200050, China; 3. Shanghai Institute of Ultrasound in Medicine, Shanghai Jiao Tong University Affiliated Sixth People's Hospital, Shanghai 200233, China; 4. School of Chemical Science and Engineering, Tongji University, Shanghai 200092, China)

Abstract: Overhigh temperature can induce inflammation and heat radiation damage to normal tissues around the tumor. Therefore, the development of a magnetic material that can achieve high mortality of tumor cells at relatively low temperatures (e.g. 43 °C) is critical for the clinical application of magnetocaloric therapy. This study focuses on the goal of low-temperature, safe, and effective magnetic thermotherapy. The liquid-solid phase transition material polylactic acid-glycolic acid (PLGA) approved by the FDA, is selected as raw material and superparamagnetic iron oxide nanoparticles prepared by a one-step mild reduction method are loaded to achieve magnetic resonance imaging and magnetic heating. Meanwhile, a small molecule inhibitor of heat shock protein HSP90, *i.e.*, epigallocatechin gallate

收稿日期: 2020-01-09; 收到修改稿日期: 2020-01-21

基金项目: 国家自然科学基金国际合作重点项目(81720108023); 上海市基础研究重点项目(19JC1415600)

Key Project of International Cooperation and Exchange of NSFC (81720108023); Key Program for Basic Research of Shanghai (19JC1415600)

作者简介: 徐东(1995-), 男, 硕士研究生. E-mail: xudongelio@gmail.com

XU Dong (1995-), male, Master candidate. E-mail: xudongelio@gmail.com

通讯作者: 罗宇, 助理教授. E-mail: yuluo@tongji.edu.cn; 陈航榕, 研究员 E-mail: hrchen@mail.sic.ac.cn

LUO Yu, assistant professor. E-mail: yuluo@tongji.edu.cn; CHEN Hangrong, professor. E-mail: hrchen@mail.sic.ac.cn

(EGCG), encapsulated in PLGA, could inhibit the body's thermal protection function and achieve the purpose of killing tumor cells at lower temperatures. *In vitro* results indicated that the prepared superparamagnetic iron oxide nanoparticles not only have good T_2 -weighted imaging performance, but also show excellent magnetothermal transformation performance. More details, when the obtained PLGA/Fe₃O₄/EGCG biocomposite was controlled to heated up to 43 °C for 40 min under an alternating magnetic field, around 70% of tumor cell could be killed, exhibiting promising potential for low-temperature magnetothermal treatment of tumor. Such novel injectable magnetic thermal phase transition material may provide new idea and material support for the treatment of osteosarcoma.

Key words: injectable; liquid-solid phase transition; low temperature magnetocaloric therapy; magnetic resonance imaging; osteosarcoma

骨肉瘤是一种常见的恶性肿瘤,起源于骨,主要发生在儿童和青少年时期。它常在股骨远端和胫骨近端发芽,并容易转移到肺。目前临床上对骨肉瘤的治疗主要采取手术切除或者截肢方式^[1]。手术切除虽然可以去除肿瘤病灶,但是难清除由于骨肉瘤浸润生长残留的肿瘤细胞,往往术后一定时间复发^[2]。此外,截肢虽然在某种程度上更为彻底清除原发病灶,但是由于骨肉瘤的高转移性,在截肢前肿瘤已转移到其他脏器,截肢意义不大,同时截肢后病人往往失去劳动能力,给病人后期回归生活造成了巨大障碍^[3]。现今,虽然可以采用保守的化学治疗,但是其全身性毒副作用以及较低的抗肿瘤效率也难以满足治愈骨肉瘤的需求。由此可见,研发一种更为安全高效的骨肉瘤治疗药物或者技术迫在眉睫。

热疗作为一种新型的高效治疗技术正在被越来越多的科研人员所关注,主要分为光热治疗和磁热治疗^[4]。光热治疗受限于激光的穿透深度,且存在光热性能衰减的问题^[5],限制了其在临床上的应用。磁热治疗因其无穿透深度限制、非侵入性等特点^[6-8],在肿瘤的深部治疗方面具有独特的作用。前期的研究,几乎都采用过高温(>50 °C)的磁热消融方式杀死肿瘤细胞^[9-10],然而过高温会对肿瘤周正常组织产生热辐射,从而破坏正常组织使其丧失生物学功能。因此,如何实现在较低磁热温度(正常组织细胞能耐受的温度约为 43 °C)下高效杀死肿瘤细胞成为急需解决的问题^[11]。据报道利用低热可诱导肿瘤细胞程序性凋亡,但是,由于肿瘤细胞在低于 45 °C 刺激下会诱发应急反应产生大量的热休克蛋白(HSP90)抑制细胞凋亡,削弱低热对肿瘤细胞的杀伤能力,疗效并不理想^[12-14]。

围绕骨肉瘤的低温、高效磁热治疗这一研究目标,借鉴临床治疗脊柱压缩性骨折时可注射骨水泥液固相变原理^[15],我们研发了一种可注射的液固相变磁热材料,通过微创的方式将材料注入肿瘤组织,

液态材料在接触肿瘤之后迅速转化为固态磁性复合材料。在外加脉冲磁场刺激下,局部产生热杀死肿瘤细胞。此外,利用表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)抑制肿瘤细胞在低温刺激下产生大量的热休克蛋白(HSP90)的活性,有效提高了低温磁热下对骨肿瘤细胞的杀伤力,避免了高温对瘤周正常组织的热辐射损伤。

1 实验方法

1.1 Fe₃O₄@PEI 的制备

将 FeCl₃·6H₂O 的水溶液(1.3 g, 20 mL)放入 200 mL 的三颈烧瓶中,通入高纯氮气 30 min 以上去除水中溶解氧,在氮气氛围下持续搅拌 15 min。将 Na₂SO₃ 水溶液(0.2 g, 10 mL)滴加到上述溶液中,在氮气氛围下持续搅拌 30 min 后,将超支化的聚乙烯亚胺(PEI·NH₂) (0.5 g, 5 mL)和氨水(2 mL)依次加入上述混合物溶液中。撤去氮气保护,将混合物溶液在 60~70 °C 下搅拌 30 min,冷却至室温后继续搅拌 1.5 h,采用磁分离方式收集、洗涤黑色产物 Fe₃O₄@PEI 纳米颗粒,重复洗涤三次以上。最后,将 Fe₃O₄@PEI 分散在超纯水中 4 °C 保存备用。

1.2 PLGA/Fe₃O₄ 及 PLGA/Fe₃O₄/EGCG 的制备

首先称量聚乳酸-羟基乙酸(PLGA)(1 g)溶于 1 mL N-甲基吡咯烷酮(NMP),然后放入 37 °C 的干燥箱中过夜。采用磁分离方式用二甲亚砜(DMSO)洗涤 Fe₃O₄@PEI 纳米颗粒,最后将含 Fe 100 mg 的纳米颗粒分散在 2 mL 的 DMSO 中,并通过磁力搅拌方式将其分散到的 PLGA 溶液中形成 PLGA/Fe₃O₄ 的共混液。然后将小分子抑制剂 EGCG 分散在 PLGA/Fe₃O₄ 混合溶液中形成 PLGA/Fe₃O₄/EGCG 的混合溶液,PLGA/Fe₃O₄(PF),PLGA/Fe₃O₄/EGCG(PFE) 复合材料可在水溶液中液固相变之后得到。

1.3 磁热性能测试

将不同 Fe 浓度(0.45、0.9、1.8、3.6 mg/mL)的溶液 1.5 mL 置于 2 mL 离心管中, 将其放在交变电流频率为 550 kHz, 输出功率恒定为 7 kWh、线圈大小为 10 cm 的磁场下, 利用 Fotric-225 热红外相机监测材料的升温曲线。

1.4 r_2 弛豫率测试及 T_2 加权磁共振(MR)成像

用 0.5% 琼脂糖溶液稀释 Fe_3O_4 溶液配置一系列 Fe 浓度梯度(0.8、0.4、0.2、0.1、0.05 和 0.025 mmol/L)样品, 冷却至室温后, 测不同 Fe 浓度样品的 T_2 弛豫时间, 计算出 r_2 弛豫率^[16]。

用临床使用的 3.0 T 磁共振成像仪评估上述样品 T_2 加权 MR 成像性能($\text{TR}=4313.7$, $\text{TE}=99.6$)。另外将 PLGA/ Fe_3O_4 配制成不同 Fe 浓度的溶液, 分别取 50 μL 注射到去离子水中使其液固相变, 考察液固相变之后的复合材料在 3.0 T 磁共振成像仪中 T_2 加权 MR 成像^[17]。

1.5 细胞毒性测试

将一定体积的 PLGA、PF、PFE 注射到 2 mL 超纯水中, 得到 PLGA 相变体及 PF、PFE 复合材料, 将得到的三组材料放置水中过夜以充分排尽 NMP。将材料转移至完全培养基中使材料的质量浓度为 0.1 g/mL, 浸泡 24 h 后弃去材料, 将浸提液用新鲜培养基稀释成不同浓度(不同百分含量的浸提液)。

将骨肉瘤 MG-63 细胞以 10^4 个细胞/孔的密度种植在 96 孔板中, 贴壁过夜, 然后将稀释后的复合材料浸提液 100 μL 与细胞在 37 $^\circ\text{C}$ 、5vol% CO_2 的环境下共培养 24 h, 弃掉培养基, 90 μL 无血清培养基+10 μL 细胞活力检测试剂 CCK-8 共培养 2~4 h 后用酶标仪测定 430 nm 波长吸收值。

1.6 体外细胞低热治疗

将骨肉瘤 MG-63 细胞以 5×10^4 个细胞/孔密度种植在 24 孔板中, 在 37 $^\circ\text{C}$ 、5vol% CO_2 的湿润气氛中贴壁培养 24 h。分别加入 50 μL PLAG、PF、PFE 液体形成的 PLGA 相变体及 PF、PFE 复合材料分别共培养 12 h 后, 利用电流频率为 550 kHz, 输出功率恒定为 7 kW, 线圈大小为 10 cm 的磁场升温 (SPG400KZ 高频感应加热器), 利用热红外相机将监测温度控制在 43 $^\circ\text{C}$ 40 min, 弃掉三组材料再培养 24 h 后, 再弃掉培养基, 90 μL 无血清培养基+10 μL CCK-8 试剂共培养 2~4 h, 用酶标仪测定 430 nm 波长吸收值。

2 结果与讨论

采用温和还原法^[17-19]合成了超顺磁性氧化铁纳米颗粒(SPION), 如图 1(a)所示, 制备得到的纳米颗粒呈准球形, 直径约为 15 nm。XRD 分析显示纳米

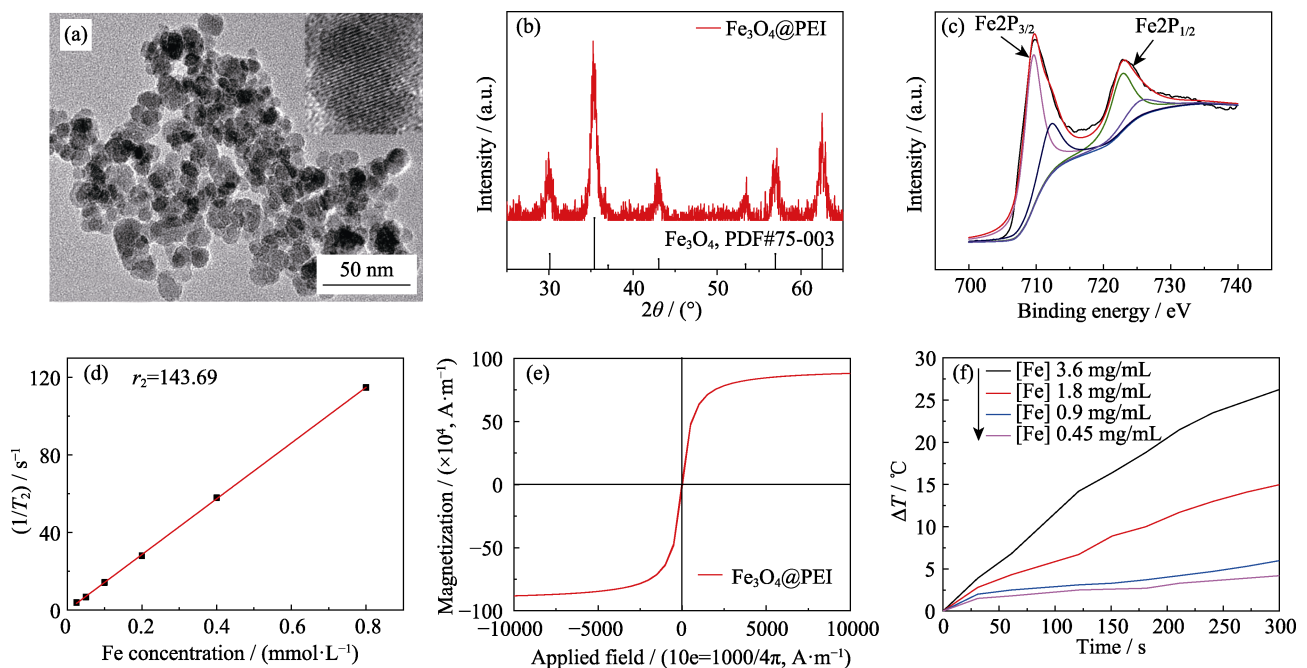


图 1 超顺磁性 Fe_3O_4 纳米颗粒的透射电镜照片(a)、X 射线衍射图谱(b)、X 射线光电子图谱(c)、

r_2 弛豫率(d)、饱和和磁化强度(e)以及在交变磁场中不同 Fe 浓度的升温曲线(f)

Fig. 1 TEM images of superparamagnetic Fe_3O_4 nanoparticles (a), XRD patterns (b), XPS spectra (c), r_2 relaxation rate (d), saturation magnetization (e), and temperature rise curves of different Fe concentrations in an alternating magnetic field (f)

颗粒晶体结构的三强峰($2\theta=35.422^\circ$ 、 56.942° 、 62.515°)与标准卡片 PDF#75-003 较好对应,表明合成样品物相组成为 Fe_3O_4 (图 1(b))。为了验证样品中 Fe^{2+} 与 Fe^{3+} 的相对比值,采用 X 射线光电子能谱(XPS)对样品进行测试,从图 1(c)可看到两个明显的 $\text{Fe}2\text{P}_{3/2}$ (709.78 eV)和 $\text{Fe}2\text{P}_{1/2}$ (722.88 eV)特征峰,经过拟合计算得到样品中的 $\text{Fe}^{2+}:\text{Fe}^{3+}=33.2:66.8 \approx 1:2$,进一步证实了制备得到的氧化铁纳米颗粒为 Fe_3O_4 。磁性能测试表明所合成的氧化铁纳米颗粒饱和磁化强度为 $8.96 \times 10^4 \text{ A}\cdot\text{m}^{-1}$ (图 1(e)),与文献报道的超顺磁性 Fe_3O_4 饱和磁化强度基本一致^[20],表明制备得到纳米颗粒具有潜在的 MR 成像性能。弛豫率是衡量纳米颗粒 MR 成像性能的重要指标之一,通过测定材料的弛豫时间,经拟合后计算得到 Fe_3O_4 的 r_2 值为 $143.69 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ (如图 1(d)),表明制备得到的纳米颗粒具有较高的 T_2 加权 MR 成像性能。随后在交变磁场频率为 550 kHz、输出功率恒定为 7 kW、线圈大小为 10 cm 的条件下^[21]测定制备得到的磁性氧化铁纳米颗粒的磁热升温曲线如图 1(f)所示,随着 Fe 浓度的升高,纳米颗粒升温能力逐渐增强,呈浓度依赖性。当 Fe 浓度为 3.6 mg/mL 时,5 min 内材料温度增加 26.3°C ,可满足体外细胞实验及活体动物实验磁热升温需求。

如图 2(a,b)所示装载有 Fe_3O_4 纳米粒子的 PLGA/ Fe_3O_4 复合物(PF)在未与水相接触之前,呈可注射的粘稠流动液体,可用 1 mL 注射器吸取,为其体内肿瘤磁热治疗提供了可能。将流动的 PF 注入水中后,可快速发生液固相变形成 PF 复合材料(如图 2(c)所示),表明在进行肿瘤内注射后,PF 可以锚定在肿瘤部位,发挥被动靶向功能。

通过扫描电镜对 PF 复合物在发生液固相变之后所形成的 PF 复合材料表面形貌进行观察,结果显示在液固相变之后形成的复合材料具有多孔表面且粗糙褶皱的结构(如图 3(a)所示),这样的结构有利于小分子药物的释放,为后续 HSP90 小分子抑制剂的装载提供了可能。此外,通过能量色散 X 射线光谱(EDX)测试发现有 Fe 元素存在,并且分散均匀,表明 Fe_3O_4 成功地均匀分散到 PLGA 流体中(图 3(b,c))。

为了控制复合材料的磁热升温幅度,对材料体系的体积/含铁量进行了优化,最终确定比例为注射体积 50 μL 、Fe 含量为 10%。对优化后的 PF 复合材料在不同介质(空气和水)中磁热升温性能进行了

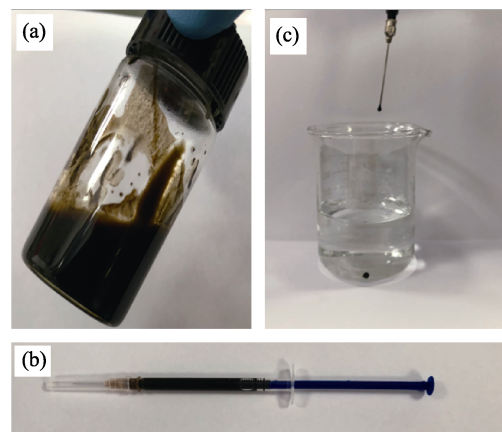


图 2 Fe_3O_4 分散到 PLGA 液体中得到均匀流体的数码照片(a),用 1 mL 注射器吸取 PLGA/ Fe_3O_4 流体数码照片(b),用注射器将 PLGA/ Fe_3O_4 流体打入水中液固相变数码照片(c)
Fig. 2 Digital photo of Fe_3O_4 dispersed in PLGA liquid to obtain a homogeneous fluid (a); Digital photo of PLGA/ Fe_3O_4 fluid sucked with a 1 mL syringe (b); Digital photo of liquid-solid phase transition of PLGA/ Fe_3O_4 fluid driven into water with a syringe (c)

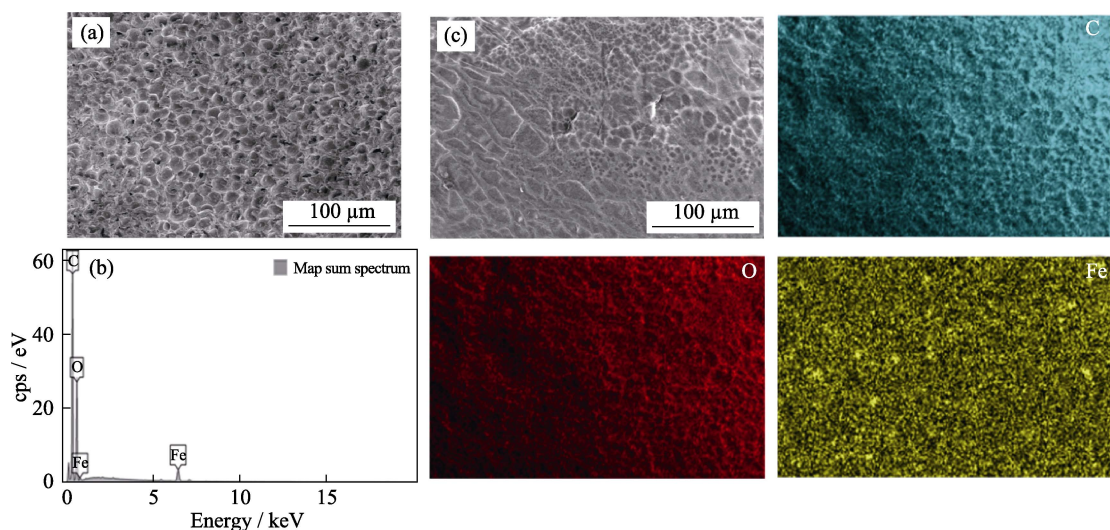


图 3 PLGA/ Fe_3O_4 (PF)复合材料的 SEM 照片(a)及其对应能量色散 X 射线光谱(b),以及不同元素分布扫描(c)
Fig. 3 SEM image of PLGA/ Fe_3O_4 (PF) composite (a), with its corresponding EDX spectrum (b), and different elements mapping (c)

研究。如图 4(a)所示, 50 μL 、Fe 含量为 10% 的 PF 在交变磁场作用下, 5 min 内在水中和空气中温度上升量分别为 11 $^{\circ}\text{C}$ 和 21.3 $^{\circ}\text{C}$, 满足体外细胞实验以及活体动物实验需求。不同铁含量 PF 复合材料的 T_2 加权 MR 成像性能表征结果显示(图 4(b))随着 Fe 浓度的增加, PF 复合材料的 MR 信号逐渐衰减, 呈现浓度依赖性, 表明 PF 具有良好的 T_2 加权 MR 成像潜能^[22]。采用浸提液共培养方法评估了 PF 复合材料的细胞毒性(图 4(c)), 结果显示当复合材料在培养基中浓度为 0~80 mg/mL 范围内时, 骨肉瘤 MG-63 细胞存活率均保持在 90% 以上(图 4(c)), 表明体外细胞治疗实验所用 PF 复合材料(50 μL , 液固相变之后浓度为 59.45 mg/mL)具有良好的细胞相容性。评估 HSP90 小分子抑制剂 EGCG 的细胞相容性, 以支撑后续的体外细胞治疗实验。采用培养箱升温模拟磁热升温^[23], 研究发现 43 $^{\circ}\text{C}$ 低温处理骨肉瘤 MG-63 细胞 40 min 后, 骨肉瘤 MG-63 细胞的存活率随小分子抑制剂 EGCE 浓度增加而显著降低, 当 EGCE 浓度为 200 $\mu\text{g/mL}$ 时, 37 $^{\circ}\text{C}$ 正常培养组骨肉瘤 MG-63 细胞存活率为 84%, 而低热 43 $^{\circ}\text{C}$ 治疗组的细胞存活率仅有 24%, 结果证实小分子抑制剂能有效地抑制了热休克蛋白(HSP90)活性, 削弱了

HSP90 对骨肉瘤细胞的保护作用实现了在低温下杀死骨肉瘤的研究目的(图 4(d))。

为了评估 PFE 复合材料对骨肉瘤的治疗效果, 将 PLGA、PF、PFE 三组材料与骨肉瘤细胞共培养后的 24 孔细胞板置于电流频率为 550 kHz、输出功率恒定为 7 kW、线圈大小为 10 cm 的磁场中, 通过控制交变磁场的工作时间, 利用红外相机监控温度。在 AMF 下(图 5), 对照组与 PLGA 组都未升温, 且骨肉瘤细胞 MG-63 的存活率都在 95% 以上, 表明磁场对肿瘤细胞无损伤作用。而 PF、PFE 复合材料组都可在 AFM 下升温。利用热红外相机监测并控制温度在 43 $^{\circ}\text{C}$, 保持 40 min, 实验结果表明, PF 组低温磁热处理前后骨肉瘤细胞都具有高于 80% 的存活率, 这是由于热休克蛋白 HSP90 在低热刺激下的大量表达启动热应激保护^[24], 造成低热(43 $^{\circ}\text{C}$)下不能有效杀死肿瘤细胞。值得注意的是, PFE 组低温磁热处理后骨肉瘤细胞 31% 的存活率大大低于未低温磁热处理 81% 的存活率, 表明 HSP90 小分子抑制剂 EGCG 可以有效地抑制 HSP90 的活性, 使得骨肉瘤细胞在较低的温度下就能被高效杀死, 从而有望实现在低温下治疗肿瘤的目的, 为后续的动物活体实验提供支撑。

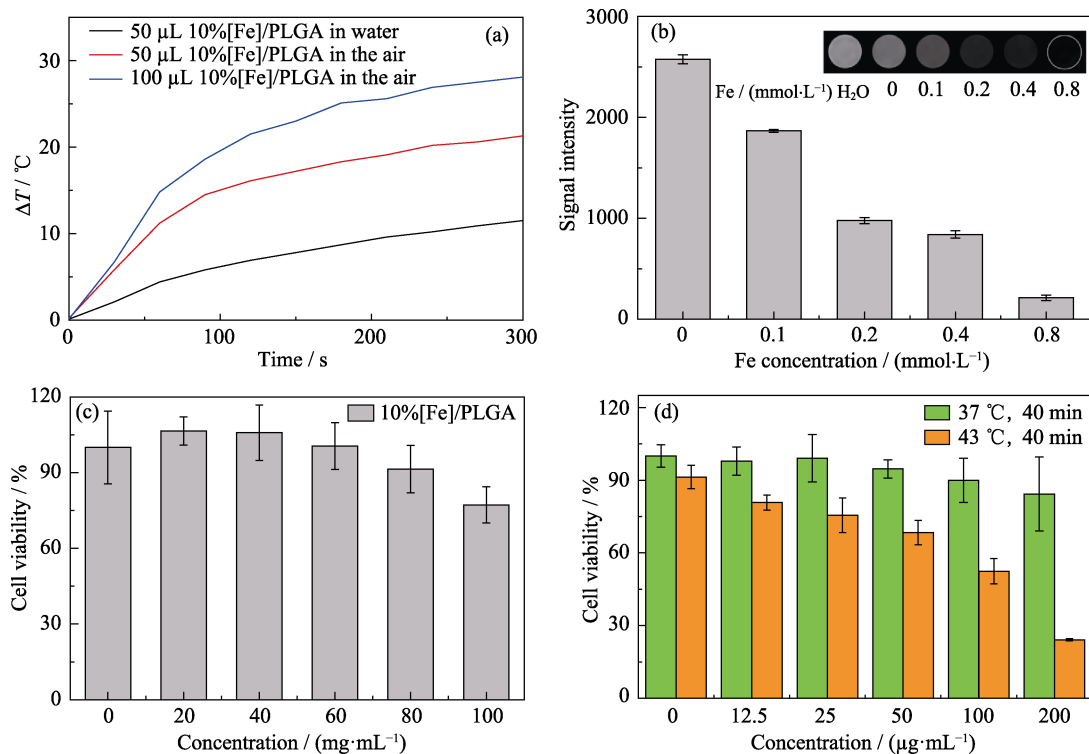


图 4 PLGA/Fe₃O₄ 复合物(PF)在交变磁场中的升温(a)、细胞毒性(b)及体外 T_2 加权 MR 成像(c), 以及在模拟磁热升温(43 $^{\circ}\text{C}$)下抑制剂 EGCG 的细胞相容性(d)

Fig. 4 Temperature rise of PLGA/Fe₃O₄ composite (PF) in AMF (a), cytotoxicity (b) and *in vitro* T_2 -weighted MR imaging (c), and the cytocompatibility of the inhibitor EGCG under simulated magnetocaloric temperature rise (43 $^{\circ}\text{C}$, d)

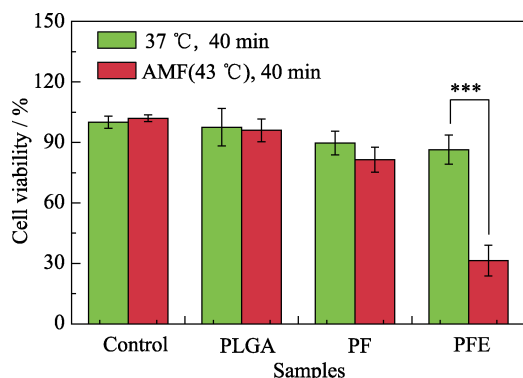


图 5 交变磁场下材料对骨肉瘤细胞活性的抑制作用

Fig.5 Therapeutic effects of different groups on MG-63 cells under AMF

3 结论

本研究通过简易方法制备出基于 PLGA 液固相变的可注射磁性材料。其中超顺磁性氧化铁纳米颗粒 Fe_3O_4 实现肿瘤 T_2 加权 MR 成像的同时在交变磁场激发下可以发生磁热转化, 从而实施肿瘤的磁热治疗。此外, 利用小分子抑制剂有效抑制热休克蛋白 HSP90 活性, 削弱肿瘤细胞的热应激保护机制, 可实现低温(43 °C)磁热杀死骨肉瘤细胞, 有望克服高温磁热对瘤周正常组织存在热辐射损伤的不足, 为深部肿瘤的磁热治疗提供新的方法和材料支撑。

参考文献:

- [1] SUVA L J, WASHAM C, NICHOLAS R W, *et al.* Bone metastasis: mechanisms and therapeutic opportunities. *Nature Reviews Endocrinology*, 2011, **7(4)**: 208–218.
- [2] COLEMAN R E. Clinical features of metastatic bone disease and risk of skeletal morbidity. *Clin. Cancer Res.*, 2006, **12(20 Pt 2)**: 6243–6249.
- [3] MARLOW R, HONETH G, LOMBARDI S, *et al.* A novel model of dormancy for bone metastatic breast cancer cells. *Cancer Res.*, 2013, **73(23)**: 6886–6899.
- [4] ISSELS R D. Hyperthermia adds to chemotherapy. *Eur. J. Cancer.*, 2008, **44(17)**: 2546–2554.
- [5] WANG S, CHEN Y, LI X, *et al.* Injectable 2D MoS_2 -integrated drug delivering implant for highly efficient NIR-triggered synergistic tumor hyperthermia. *Adv. Mater.*, 2015, **27(44)**: 7117–7122.
- [6] CHEN Y, JIANG L, WANG R, *et al.* Injectable smart phase-transformation implants for highly efficient *in vivo* magnetic-hyperthermia regression of tumors. *Adv. Mater.*, 2014, **26(44)**: 7468–7473.
- [7] ZHANG Z Q, SONG S C. Thermosensitive/superparamagnetic iron oxide nanoparticle-loaded nanocapsule hydrogels for multiple cancer hyperthermia. *Biomaterials*, 2016, **106**: 13–23.
- [8] CHEN W H, LUO G F, LEI Q, *et al.* Overcoming the heat endurance of tumor cells by interfering with the anaerobic glycolysis metabolism for improved photothermal therapy. *ACS Nano*, 2017,

- 11(2)**: 1419–1431.
- [9] GAO F, XIE W, MIAO Y, *et al.* Magnetic hydrogel with optimally adaptive functions for breast cancer recurrence prevention. *Adv. Healthc. Mater.*, 2019, **8(14)**: 1900203.
- [10] JANG J T, LEE J, SEON J, *et al.* Giant magnetic heat induction of magnesium-doped $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ superparamagnetic nanoparticles for completely killing tumors. *Adv. Mater.*, 2018, **30(6)**: 1704362.
- [11] JIANG A, LIU Y, MA L, *et al.* Biocompatible heat-shock protein inhibitor-delivered flowerlike short-wave infrared nanoprobe for mild temperature-driven highly efficient tumor ablation. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2019, **11(7)**: 6820–6828.
- [12] LIU D, MA L, AN Y, *et al.* Thermoresponsive nanogel-encapsulated PEDOT and HSP70 inhibitor for improving the depth of the photothermal therapeutic effect. *Advanced Functional Materials*, 2016, **26(26)**: 4749–4759.
- [13] WANG C, ZHANG Y, GUO K, *et al.* Heat shock proteins in hepatocellular carcinoma: molecular mechanism and therapeutic potential. *Int. J. Cancer*, 2016, **138(8)**: 1824–1834.
- [14] WANG L, GAO C, LIU K, *et al.* Cypate-conjugated porous up-conversion nanocomposites for programmed delivery of heat shock protein 70 small interfering RNA for gene silencing and photothermal ablation. *Advanced Functional Materials*, 2016, **26(20)**: 3480–3489.
- [15] YU K, LIANG B, ZHENG Y, *et al.* PMMA- Fe_3O_4 for internal mechanical support and magnetic thermal ablation of bone tumors. *Theranostics*, 2019, **9(14)**: 4192–4207.
- [16] HU Y, WANG R, LI J, *et al.* Facile synthesis of lactobionic acid-targeted iron oxide nanoparticles with ultrahigh relaxivity for targeted MR imaging of an orthotopic model of human hepatocellular carcinoma. *Particle & Particle Systems Characterization*, 2017, **34(1)**: 1600113–1–9.
- [17] HU Y, LI J, YANG J, *et al.* Facile synthesis of RGD peptide-modified iron oxide nanoparticles with ultrahigh relaxivity for targeted MR imaging of tumors. *Biomater. Sci.*, 2015, **3(5)**: 721–732.
- [18] LI J, ZHENG L, CAI H, *et al.* Polyethyleneimine-mediated synthesis of folic acid-targeted iron oxide nanoparticles for *in vivo* tumor MR imaging. *Biomaterials*, 2013, **34(33)**: 8382–8392.
- [19] WANG R, HU Y, YANG Y, *et al.* Using PEGylated iron oxide nanoparticles with ultrahigh relaxivity for MR imaging of an orthotopic model of human hepatocellular carcinoma. *Journal of Nanoparticle Research*, 2017, **19(2)**: 39.
- [20] ZHOU H, TANG J, LI J, *et al.* *In vivo* aggregation-induced transition between T_1 and T_2 relaxations of magnetic ultra-small iron oxide nanoparticles in tumor microenvironment. *Nanoscale*, 2017, **9(9)**: 3040–3050.
- [21] LEE J H, JANG J T, CHOI J S, *et al.* Exchange-coupled magnetic nanoparticles for efficient heat induction. *Nat. Nanotechnol.*, 2011, **6(7)**: 418–422.
- [22] JANG J T, NAH H, LEE J H, *et al.* Critical enhancements of MRI contrast and hyperthermic effects by dopant-controlled magnetic nanoparticles. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2009, **48(7)**: 1234–1238.
- [23] YANG Y, ZHU W, DONG Z, *et al.* 1D Coordination polymer nanofibers for low-temperature photothermal therapy. *Adv. Mater.*, 2017, **29(40)**: 1703588–12.
- [24] LIU Y, SUO X, PENG H, *et al.* Multifunctional magnetic nanoplateform eliminates cancer stem cells *via* inhibiting the secretion of extracellular heat shock protein 90. *Advanced Healthcare Materials*, 2019, **8(13)**: 1900160.