

· 论 著 ·

维生素 K 对成骨细胞骨形成和破骨细胞骨吸收的影响

蒋益忠¹, 夏天爽², 辛海量², 金玉娥³, 蒋益萍², 薛黎明³ (1. 浙江省东阳市中医院, 浙江 东阳 322105; 2. 海军军医大学药学院生药学教研室, 上海 200433; 3. 上海市疾病预防控制中心化学品毒性检定所, 上海 200336)

[摘要] 目的 比较维生素 K₁(VK₁)、维生素 K₂(MK₄)、维生素 K₂(MK₇) 和维生素 K₃(VK₃) 促进骨形成和抑制骨吸收的作用。方法 采用新生大鼠颅盖骨分离成骨细胞和以核因子 κB 受体活化因子配体 (RANKL) 诱导骨髓单核细胞的破骨细胞为模型, 用磷酸苯二钠法检测成骨碱性磷酸酶 (ALP) 和抗酒石酸酸性磷酸酶 (TRAP) 活性; 用 CellTiter 试剂盒检测破骨细胞代谢活力; 用 Z-FR-MCA 荧光底物和胶原底物降解检测组织蛋白酶 K (CTSK) 抑制作用。结果 MK₄ 和 MK₇ 在 0.1~1 μmol/L 时显著促进成骨细胞增殖 ($P<0.05$), 1 μmol/L 时显著提高 ALP 活性和骨结节形成面积, VK₃ 抑制了骨结节形成 ($P<0.05$)。VK₁、VK₃、MK₄ 和 MK₇ 在 1 μmol/L 时对破骨细胞代谢活力均无影响, MK₄ 和 MK₇ 在 0.1~1 μmol/L 时显著抑制 TRAP 活性 ($P<0.05$), 而 VK₁ 和 VK₃ 无抑制作用。MK₄ 在 25 μmol/L 可对 CTSK 与 Z-FR-MCA 底物结合的抑制率达 58.9%, 在 100 μmol/L 对 CTSK 胶原降解的抑制率达 73.2%。结论 相较于 VK₁ 和 VK₃, MK₇ 和 MK₄ 有显著促进成骨细胞活性和抑制破骨细胞骨吸收的作用, MK₄ 能显著抑制破骨细胞 CTSK 酶活性。

[关键词] 维生素 K; 骨质疏松; 成骨细胞; 破骨细胞

[中图分类号] R15

[文献标志码] A

[文章编号] 1006-0111(2020)04-0340-06

[DOI] 10.12206/j.issn.1006-0111.202001077

Effects of vitamin K on osteoblastic bone formation and osteoclastic bone absorption

JIANG Yizhong¹, XIA Tianshuang², XIN Hailiang², JIN Yule³, JIANG Yiping², XUE Liming³ (1. Dongyang Traditional Chinese Medicine Hospital of Zhejiang, Dongyang 322105, China; 2. Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Naval Medical University, Shanghai 200433, China; 3. Institute of Chemical Toxicity, Shanghai Municipal Center for Disease Control and Prevention, Shanghai 200336, China)

[Abstract] **Objective** To compare the effects of vitamin K₁ (VK₁), vitamin K₂ (MK₄), vitamin K₂ (MK₇) and vitamin K₃ (VK₃) on bone formation and bone absorption. **Methods** Osteoblasts were isolated from calvaria of newborn rats and osteoclasts were induced by receptor activator of nuclear factor-κ B ligand (RANKL). ALP and TRAP activity were measured by diphenyl phosphate method. Osteoclast metabolic activity was measured by Celltiter kit. The inhibition of cathepsin K (CTSK) was measured by Z-FR-MCA fluorescent substrate and collagen substrate degradation. **Results** MK₄ and MK₇ at 0.1~1 μmol/L significantly increased the proliferation of osteoblasts ($P<0.05$) and at 1 μmol/L increased ALP activity and bone nodule formation area. VK₃ inhibited bone nodule formation ($P<0.05$). VK₁, VK₃, MK₄ and MK₇ at 1 μmol/L had no effect on osteoclastic bone absorption. MK₄ and MK₇ significantly inhibited TRAP activity at 0.1~1 μmol/L ($P<0.05$), while VK₁ and VK₃ did not show the inhibitory effect. The inhibition of MK₄ at 25 μmol/L on CTSK binding to Z-FR-MCA substrate activity is 58.9% and the inhibition of MK₄ at 100 μmol/L on collagen degradation of CTSK activity is 73.2%. **Conclusion** Compared with VK₁ and VK₃, MK₇ and MK₄ significantly increase osteoblast activity and inhibit osteoclast bone absorption, MK₄ inhibits osteoclast CTSK enzyme activity.

[Key words] vitamin K; osteoporosis; osteoblasts; osteoclasts

[基金项目] 上海市卫生和计划生育委员会面上项目 (201740068)

[作者简介] 蒋益忠, 本科, 主治中医师, Email: msjyz@163.com

[通讯作者] 蒋益萍, 实验师, 研究方向: 中药抗骨质疏松药理, Tel: (021)81871305, Email: msjyp@163.com; 薛黎明, 副主任技师, 研究方向: 骨质疏松症与组织蛋白酶 K 研究, Email: lm.xue@hotmail.com

维生素 K(VK), 又称凝血维生素, 是一类具有叶绿醌生物活性的脂溶性维生素。除具有凝血功能外, 维生素 K 还能促进骨代谢, 防治骨质疏松症, 天然 VK₁ 和 VK₂(主要活性体为 MK₄ 和 MK₇) 可单独或协同其他抗骨质疏松药物治疗骨质疏松症^[1-4], 人工合成的 VK₃ 也有少量抗骨质疏松研究报道^[5-6],

然而,不同维生素 K 的抗骨质疏松作用的比较研究非常有限。有研究发现维生素 K 具有促进骨形成和抑制骨吸收的双向调节机制^[7],药理研究发现 VK₁、MK₄ 和 MK₇ 能显著促进小鼠成骨细胞 MC3T3-E1 增殖和碱性磷酸酶 (ALP) 活性^[8],同时报道 VK₁、MK₄ 和 MK₇ 也能显著抑制 RANKL 诱导骨髓单核细胞分化的破骨细胞抗酒石酸酸性磷酸酶 (TRAP) 基因和组织蛋白酶 K(CTSK) mRNA 表达^[9]。临床报道发现 VK₂ 能显著降低绝经后骨质疏松的 TRAP 和 CTSK 表达^[10]。CTSK 是骨吸收过程中的关键溶骨活性酶^[11],与粘多糖 (glycosaminoglycan, GAG), 如硫酸软骨素 (CSA), 形成一种高分子量的复合物,可将胶原蛋白降解。目前尚未有 VK 对 CTSK 骨胶原降解的研究报道。本研究以新生大鼠颅盖骨分离成骨细胞和巨噬细胞集落刺激因子 (M-CSF) 和核因子 κ B 受体活化因子配体 (RANKL) 诱导骨髓单核细胞的破骨细胞为模型^[12],系统比较 VK₁、MK₄、MK₇ 和 VK₃ 对成骨细胞增殖和 ALP 活性、破骨细胞分化、TRAP 活性和 CTSK 降解胶原活性的影响。通过比较不同 VK 抗骨质疏松作用,对临床选用合适的 VK 营养补充剂、指导人群 VK 膳食补充,以满足我国人群骨健康需求具有重要意义。

1 材料

新生 3 d 的 SD 大鼠,雌雄不限,购自上海斯莱克实验动物有限公司 [SCXK(沪)2012-0002]; II 型胶原酶、胰蛋白酶、特级胎牛血清、 α -MEM 培养基 (美国 Gibco 公司); CellTriter-blue 试剂 (美国 PromegaTM), 核刺激因子受体的配体 (receptor for activation of nuclear factor kappa B ligand, RANKL, 400-30)、巨噬细胞集落刺激因子 (macrophage colony-stimulating factor, M-CSF, 400-28) 购自 PEPROTECH 公司,淋巴细胞分离液 Ficoll-Paque 密度梯度液 (GE) 购自上海生工生物工程技术服务有限公司; TRACP 染色试剂盒、Benzoyloxycarbonyl-Phe-Arg-7-amido-4-methylcoumarin (Z-FR-MCA) 购自日本 WAKO 公司; L-3-carboxy-trans-2-3-epoxypropionyl-leucylamido-(4guanidino)-butane(E-64)、硫酸软骨素 A (CSA) 胃蛋白酶、组织蛋白酶 K 抑制剂奥当卡替 (odanacatib, ODN)、VK₁、MK₄、MK₇ 和 VK₃, 购自 Sigma 公司; I 型胶原 (美国 Affymetrix 公司); 牛血清白蛋白、 β -甘油磷酸钠、抗坏血酸、多聚甲醛等试剂均为国产分析纯。

2 方法

2.1 成骨细胞增殖和 ALP 活性

实验室自建原代成骨细胞培养方法^[12]。取新生 3 d 的 SD 大鼠 5 只,在无菌条件下取其颅顶盖骨,去除骨膜、血管及结缔组织,用 D-Hanks 液冲洗干净,用 0.25% 的胰蛋白酶 37 °C 消化 30 min,再用 0.05% 胰蛋白酶及 3 mg/ml 的 II 型胶原酶 37 °C 消化 1 h,经 100 目滤网过滤,1 000 r/min 离心 10 min,即为新鲜的成骨细胞,加入 10% 胎牛血清的 α -MEM 培养基,置 37 °C,5% CO₂ 培养箱。取第四代大鼠颅盖骨成骨细胞,消化分离出来,以 α -MEM 培养基配制成浓度为 2×10^4 /ml 的细胞悬液,以 100 μ l/孔接种于 96 孔培养板,设 12 个药物组,分别为 1、0.1 和 0.01 μ mol/L 的 VK₁、MK₄、MK₇ 和 VK₃,每组选取 1 个药物浓度加入 1、0.1 和 0.01 μ mol/L 的 VK₁、MK₄、MK₇ 和 VK₃,培养 48 h,用 MTT 法检测细胞增殖活性。ALP 活性需要连续培养 6 d 后,用 100 μ l 50 mmol/L 的二乙醇胺,50 μ l 2.5 mmol/L 的对硝基苯酚磷酸二钠,37 °C 反应 30 min 后,用 0.3 mol/L 的 NaOH 终止反应,于波长 405 nm 处测得吸光度值^[12-13]。

2.2 成骨细胞骨结节面积

取成骨细胞第三代细胞,按每孔 5×10^4 的细胞数接种于 12 孔板内, α -MEM 培养基培养 24 h,换骨结节诱导培养基 (0.1% BSA, 10 nmol/L 地塞米松, 10 mmol/L β -甘油磷酸钠和 50 μ g/ml 抗坏血酸以及 10% 胎牛血清的 α -MEM 培养基),加入 1 μ mol/L 的 VK₁、MK₄、MK₇ 和 VK₃ 后,每 3 d 换药 1 次,连续培养观察 14 d 后,用 0.1% 茜素红-Tris-Hcl 染液 (pH 8.3) 染色。染色前,用预冷的 10% 中性甲醛缓冲液固定 10 min, PBS 冲洗 3 次。加入 0.1% 茜素红-Tris-Hcl 染液 (pH 8.3), 37 °C 下染色 30 min。蒸馏水冲洗,干燥,封片。倒置相差显微镜 (Leica DMI 3000) 下进行观察并随机拍照 10 张,用 image-Pro Plus (IPP 6.0) 分析图片,得出每张图片骨结节面积^[13]。

2.3 破骨细胞活力和数目

取新生 3 d 的 SD 大鼠胫骨,用 α -MEM 培养基冲洗骨髓腔以收集骨髓细胞,加入等量 Ficoll 试剂分离骨髓单核细胞,用含有 25 ng/ml M-CSF、25 ng/ml RANKL 的细胞因子和 10% 胎牛血清的 α -MEM 培养基进行培养,每 3 d 换液 1 次,6 d 后破骨细胞分化成熟。细胞成熟后,以 1×10^5 /ml 接种于 96 孔板,加入 1、0.1 和 0.01 μ mol/L 的 VK₁、MK₄、

MK₇和VK₃。继续培养48 h后,取100 μl培养基,加入20 μl CellTriter-blue试剂,轻轻晃10 s混匀,37℃孵育30 min后,将96孔板置于荧光分光光度计,检测细胞悬液荧光强度(发散光波长560 nm,吸收光波长590 nm)。

2.4 破骨细胞 TRAP 活性

成熟破骨细胞以 1×10^5 /ml接种于96孔板内,加入1、0.1和0.01 μmol/L的VK₁、MK₄、MK₇和VK₃,培养48 h后,弃上清液,PBS冲洗2次,20 μl 0.1% Triton X-100室温破碎细胞15 min,加入100 μl反应液(0.4 g对硝基苯基磷酸二钠,去离子水溶解后加入2.0 g酒石酸钾钠,加水溶解至150 ml,HCl调节pH至3.5,再加水定容至200 ml),于37℃反应30 min,迅速加入100 μl 1 mol/L的NaOH终止反应,于波长405 nm处测定其吸光度值^[14]。

2.5 抑制 CTSK 与 Z-FR-MCA 底物

25 μmol/L的VK₁、MK₄、MK₇、VK₃和1 μmol/L阳性药Odanacatib用100 mmol/L醋酸钠缓冲液(pH5.5,包含2.5 mmol/L DTT,和2.5 mmol/L EDTA)稀释至浓度为25 μmol/L加入96孔板,最终反应容量为0.2 ml,加入终浓度为5 nmol/L的CTSK孵育5 min,加入5 μl底物1 mmol/L的Z-FR-MCA溶液开始反应,检测5 min荧光信号(发散光波长460 nm,吸收光波长355 nm)。实验设阴性对照,阳性对照(1 μmol/L E-64)。

计算公式:抑制率(%)=100-(1-V_i/V₀)。

V_i和V₀分别表示存在和不存在VK情况下,记录荧光信号强度随时间变化斜率slope值^[11]。

2.6 凝胶电泳法检测 CTSK 降解可溶性胶原

可溶性I型胶原溶解在100 mmol/L醋酸钠缓冲液(pH5.5,包含2.5 mmol/L DTT和2.5 mmol/L EDTA),最终I型胶原浓度为0.6 mg/ml,加入终浓度100 μmol/L的VK₁、MK₄、MK₇和VK₃及10 μmol/L阳性对照药Odanacatib,依次将CTSK和CSA(终浓度分别为400和200 nmol/L)加入含有I型胶原蛋白的反应液中,使总反应液容量为50 μl。混匀,28℃孵育4 h,取出后加入1 μl的100 μmol/L E64终止反应。采用10%的SDS-PAGE凝胶电泳分离,卡马斯亮蓝染色20 min,用乙酸-甲醇(4:1)脱色。I型胶原的α1条带的灰度用Gene Snap(Syngene Inc.Frederick, MD)软件进行定量分析^[14]。

2.7 统计学分析

每组实验重复3次。采用SPSS软件经ANOVA方差分析检验(α=0.05),再用SNK对每两组进行两两比较,以P<0.05为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 维生素 K 对成骨细胞增殖、ALP 活性和骨结节形成的影响

VK₁和VK₃在0.01~1 μmol/L浓度范围内对成骨细胞增殖和ALP活性均未有影响(图1A、1B)。MK₄在0.01和0.1 μmol/L浓度显著促进了成骨细胞增殖活性,分别提高了15.5%和23.0%(P<0.05),而MK₇分别提高了25.1%和18.4%。MK₄和MK₇在1 μmol/L显著提高了ALP活性(P<0.05),促进率分别为30.2%和25.7%。成骨细胞在骨结节诱导培养基培养14 d后,经茜素红染色液染色,骨结节处形成红色钙化晶体,骨结节的面积代表了成骨细胞的钙化程度(图1C),结果显示MK₄和MK₇在1 μmol/L浓度时显著提高了骨结节形成面积(P<0.05),分别增加25.2%和34.0%,VK₃显著抑制了骨结节的形成。

3.2 维生素 K 对破骨细胞活力和 TRAP 活性的影响

由图2A可得,VK₁、VK₃、MK₄和MK₇在0.01~1 μmol/L浓度对破骨细胞代谢活力均无影响,对破骨细胞无毒性。VK₁、MK₄和MK₇在1 μmol/L表现出抑制TRAP活性,抑制率分别为27.4%、54.0%和35.0%,MK₄在0.01和0.11 μmol/L浓度显著降低了破骨细胞TRAP活性(P<0.01),分别降低了50%和41%,MK₇在0.1 μmol/L浓度时,TRAP活性显著降低26.8%(图2B)。

3.3 维生素 K 对 CTSK 酶的抑制作用

本研究考察VK₁、VK₃、MK₄和MK₇抑制CTSK与Z-FR-MCA底物结合活性。图3A结果显示,1 μmol/L的ODN抑制了CTSK与Z-FR-MCA底物结合效率达98.3%,而25 μmol/L的VK₃、MK₄、MK₇和VK₁抑制率分别为0.3%、58.9%、16.6%和9.4%。与空白胶原相比,VK₃、MK₄、MK₇和VK₁在100 μmol/L抑制胶原降解效率达30.8%、73.8%、18.4%和19.2%(图3B、3C),仅有MK₄和ODN超过60%的抑制率,与未加CSA的CTSK阴性对比,抑制率达38.8%、93.0%、23.1%和24.2%。与空白胶原组对比,阳性抑制剂ODN在1 μmol/L的抑制率达77.3%,与未加CSA的CTSK阴性对比,抑制率达到99.0%。

4 讨论

研究报道VK₁、MK₄和MK₇能显著促进成骨细胞活性和抑制破骨细胞活性^[9-10]。临床报道服用高含量维生素K₁能够降低髌部骨折风险和髌

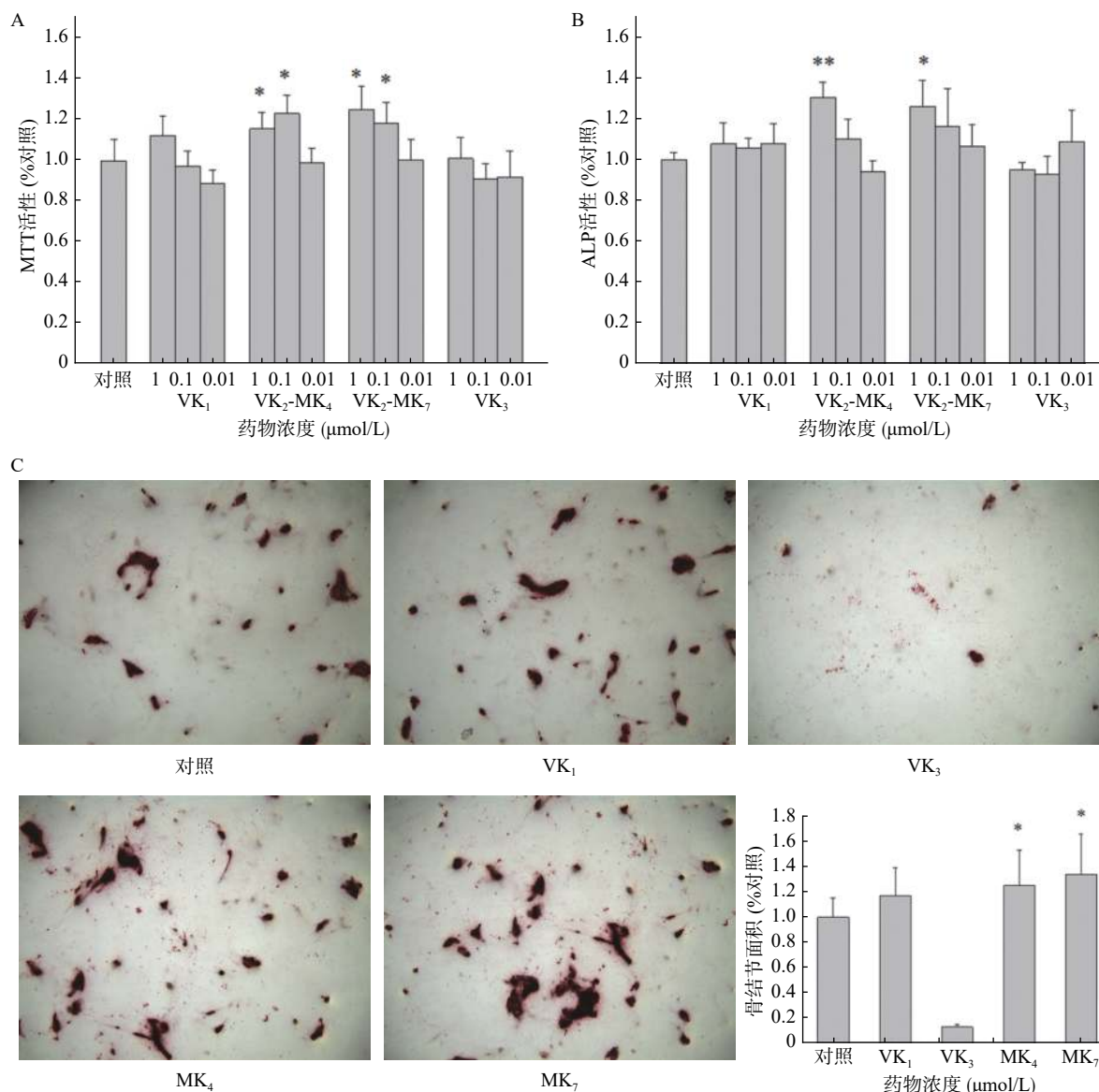


图1 维生素K对成骨细胞活性的影响

A.细胞增殖; B.ALP活性; C.骨结节面积(×200)

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与对照组比较。

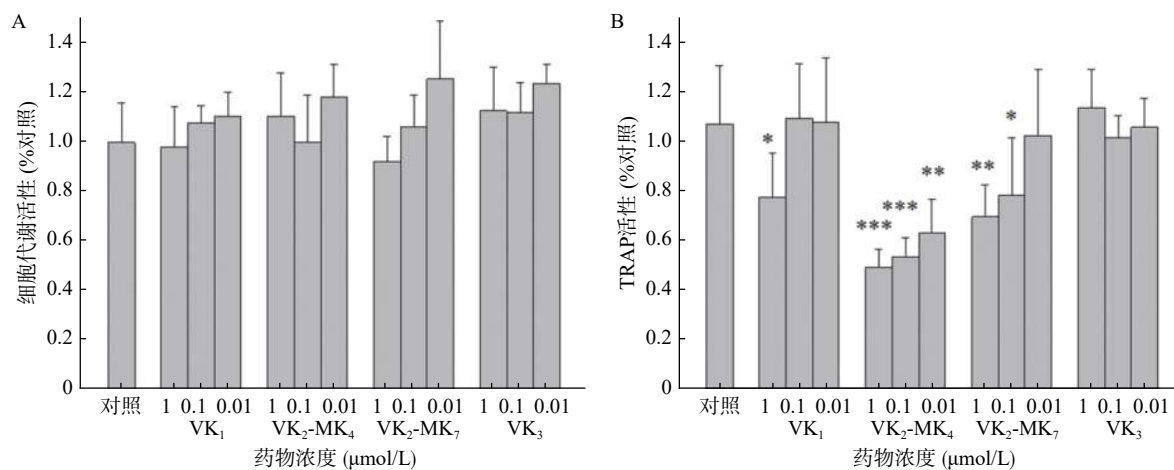


图2 维生素K对破骨细胞活性的影响

A.细胞代谢活性; B.TRAP活性

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, 与对照组比较。

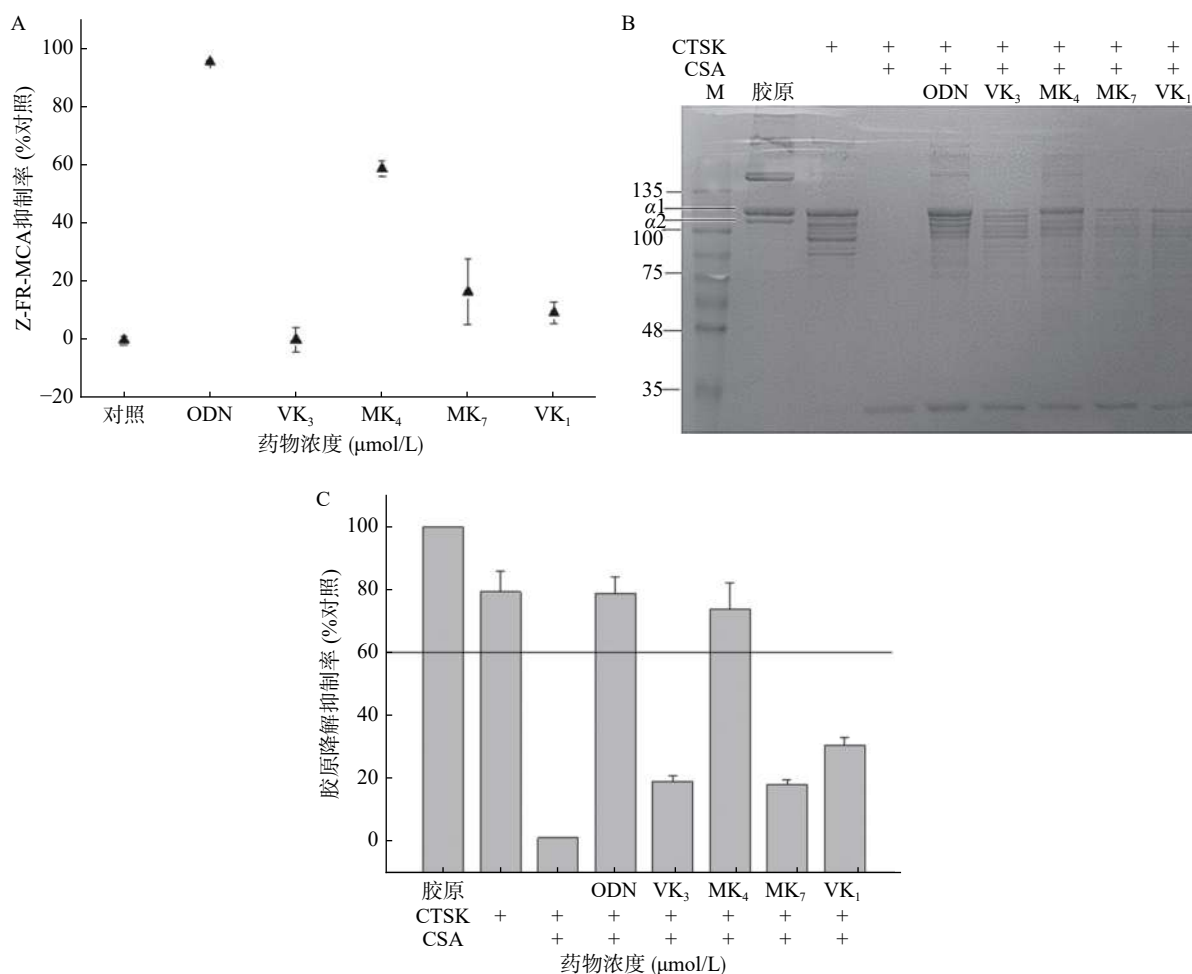


图3 维生素K抑制CTSK活性

A.Z-FR-MCA活性; B.SDS-PAGE胶原降解图; C.相对胶原降解抑制率

部及腰椎部骨密度,可延缓50~60岁绝经后女性的骨丢失^[2]。同时药理研究发现VK₃显著促进去卵巢大鼠的骨密度和改善骨质疏松相关指标^[5]。而本研究并未发现VK₁和VK₃具有促进成骨细胞和抑制破骨细胞的作用,可能原因是选择的筛选浓度过低所致。MK₄和MK₇在1 μmol/L能促进成骨细胞增殖和矿化作用,二者并没有显著差异。但在抑制骨吸收作用方面,MK₄相较于MK₇在相同浓度,有更显著的抑制TRAP活性的作用。

CTSK是破骨细胞发挥骨吸收作用的关键靶标酶,选择性地大量表达于破骨细胞,其生理作用底物正是在有机骨基质中含量达95%的I型胶原^[11]。我们研究发现,在相同浓度,只有MK₄能显著抑制其底物骨胶原降解和人工合成底物Z-FR-MCA的活性。

日本早在1995年首次将MK₄作为治疗骨质疏松的药物应用^[15],2011年MK₄录入我国《原发性骨质疏松症诊疗指南》^[16]。因此,我们认为MK₄是人体内源性营养物质,安全性高,适用于各

年龄人群作为营养补充剂使用。MK₇具有促进骨形成作用,在体内也可以分解成MK₄发挥作用,适合作为营养食品补充剂。

【参考文献】

- [1] NAGURA N, KOMATSU J, IWASE H, et al. Effects of the combination of vitamin K and teriparatide on the bone metabolism in ovariectomized rats[J]. *Biomed Rep*, 2015, 3(3): 295-300.
- [2] BRAAM L A, KNAPEN M H, GEUSENS P, et al. Vitamin K1 supplementation retards bone loss in postmenopausal women between 50 and 60 years of age[J]. *Calcif Tissue Int*, 2003, 73(1): 21-26.
- [3] 罗洪斌,徐杰,柯良骏.钙尔奇D联用维生素K对老年骨质疏松患者骨密度、血清骨钙素及其I-型胶原C-末端的影响[J]. *海峡药学*, 2012, 24(9): 84-86.
- [4] 张丽梅.阿仑膦酸钠联合维生素K治疗2型糖尿病患者骨质疏松的疗效观察[J]. *中国民康医学*, 2015, 27(10): 28-30.
- [5] HONG Y J, LIU S, JIANG N Y, et al. Vitamin K3 increased BMD at 1 and 2 months post-surgery and the maximum stress of the middle femur in the rat[J]. *Nutr Res*, 2015, 35(2): 155-

- 161.
- [6] FLEMING R H, MCCORMACK H A, MCTEIR L, et al. Effects of dietary particulate limestone, vitamin K3 and fluoride and photostimulation on skeletal morphology and osteoporosis in laying hens[J]. *Br Poult Sci*, 2003, 44(5): 683-689.
- [7] 周建烈, 陈杰鹏, 段丽丽, 等. 维生素K₂(MK-7)防治骨质疏松的作用机制研究进展[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2019, 25(4): 539-545.
- [8] WU W J, GAO H Y, JIN J S, et al. A comparatively study of menaquinone-7 isolated from Cheonggukjang with vitamin K1 and menaquinone-4 on osteoblastic cells differentiation and mineralization[J]. *Food Chem Toxicol*, 2019, 131: 110540.
- [9] WU W J, KIM M S, AHN B Y. The inhibitory effect of vitamin K on RANKL-induced osteoclast differentiation and bone resorption[J]. *Food Funct*, 2015, 6(10): 3351-3358.
- [10] 庄焕雄, 陈东峰, 徐孟凡, 等. 维生素K₂对绝经后骨质疏松症的防治作用及血清组织蛋白酶K影响[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2017, 23(5): 627-630.
- [11] 蒋益萍, 吴岩斌, 秦路平, 等. 墨旱莲组中组织蛋白酶K非活性位点抑制剂研究[J]. *药学报*, 2017, 52(6): 936-942.
- [12] 张乃丹, 蒋益萍, 薛黎明, 等. 仙茅酚苷类成分促进成骨细胞骨形成和抑制破骨细胞骨吸收[J]. *第二军医大学学报*, 2016, 37(5): 562-568.
- [13] 秦路平, 蒋益萍, 薛黎明, 等. 防治骨质疏松的中药制剂及其制备方法: 201210359162.5[P]. 2012-09-17.
- [14] 袁婷婷. 仙茅苷对骨细胞雌激素受体表达的影响及其初步药代动力学研究[D]. 福州: 福建中医药大学, 2014.
- [15] 邹志强, 符诗聪, 刘忠厚. 维生素K₂的研究进展[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2005, 11(3): 389-392.
- [16] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会. 糖皮质激素性骨质疏松症诊疗指南(讨论稿)[J]. *中华全科医师杂志*, 2006, 5(8): 460-461.
- [收稿日期] 2020-01-17 [修回日期] 2020-04-13
[本文编辑] 李睿旻

(上接第 333 页)

- [5] ZHANG Z J, WANG J, CHEN C Y. Near-infrared light-mediated nanoplatforms for cancer thermo-chemotherapy and optical imaging[J]. *Adv Mater*, 2013, 25(28): 3869-3880.
- [6] LIAO J, LI W, PENG J, et al. Combined cancer photothermal-chemotherapy based on doxorubicin/gold nanorod-loaded polymersomes[J]. *Theranostics*, 2015, 5(4): 345-56.
- [7] WANG Y, HUANG X, TANG Y, et al. A light-induced nitric oxide controllable release nano-platform based on diketopyrrolopyrrole derivatives for pH-responsive photodynamic/photothermal synergistic cancer therapy[J]. *Chemical science*, 2018, 9(42): 8103-8109.
- [8] LI Y, LU W, HUANG Q, et al. Copper sulfide nanoparticles for photothermal ablation of tumor cells[J]. *Nanomedicine*, 2010, 5(8): 1161-71.
- [9] LONGMIRE M, CHOYKE P L, KOBAYASHI H. Clearance properties of nano-sized particles and molecules as imaging agents: considerations and caveats[J]. *Nanomedicine*, 2008, 3(5): 703-717.
- [10] PETROS R A, DESIMONE J M. Strategies in the design of nanoparticles for therapeutic applications[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2010, 9(8): 615-627.
- [11] ZHOU M, LI J J, LIANG S, et al. CuS nanodots with ultrahigh efficient renal clearance for positron emission tomography imaging and image-guided photothermal therapy[J]. *ACS Nano*, 2015, 9(7): 7085-7096.
- [12] PENG S W, HE Y Y, ER M, et al. Biocompatible CuS-based nanoplatforms for efficient photothermal therapy and chemotherapy in vivo[J]. *Biomater Sci*, 2017, 5(3): 475-484.
- [13] WANG P, SHEN M Q, ZHOU H, et al. MOF-derived CuS@Cu-BTC composites as high-performance anodes for *Lithium-Ion* batteries[J]. *Small*, 2019, 15(47): e1903522.
- [14] LI X J, ZHOU J J, DONG X N, et al. *In vitro* and *in vivo* photothermal cancer therapeutic effects of gold nanorods modified with mushroom β -glucan[J]. *J Agric Food Chem*, 2018, 66(16): 4091-4098.
- [15] WANG R P, HE Z S, CAI P J, et al. Surface-functionalized modified copper sulfide nanoparticles enhance checkpoint blockade tumor immunotherapy by photothermal therapy and antigen capturing[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11(15): 13964-13972.
- [16] GUO L R, PANDERI I, YAN D D, et al. A comparative study of hollow copper sulfide nanoparticles and hollow gold nanospheres on degradability and toxicity[J]. *ACS Nano*, 2013, 7(10): 8780-8793.
- [收稿日期] 2019-12-17 [修回日期] 2020-04-30
[本文编辑] 陈盛新