·论著·一次研究·

蜂毒肽纳米颗粒联合光动力治疗对黑色素瘤细胞生物学行为的影响

李三荣[1]，张　燕[1]，肖　敏[1]，耿园园[2]

1. 武汉市红十字会医院甲乳外科（武汉 430015）
2. 华中农业大学生物医学与健康学院（武汉 430070）

【摘要】**目的** 探讨蜂毒肽（melittin）联合光动力疗法（PDT）抑制黑色素瘤细胞（B16-F10）生物学行为的作用。**方法** 使用水合法制备纳米药物蜂毒肽光敏脂质纳米颗粒（α-melittin-PPIX-NP）并对其进行表征，红细胞溶血实验验证蜂毒肽溶血副作用，CCK-8 检测其联合 PDT 杀伤 B16-F10 细胞能力，Western Blot 实验检测清道夫受体蛋白 1 在不同细胞中的表达情况，流式细胞术检测细胞凋亡、不同细胞对药物的摄取量和体外活化小鼠骨髓来源树突状细胞（BMDCs）。**结果** 制备的 α-melittin-PPIX-NP 形貌较为均一，水合粒径分布较为集中，明显减轻了红细胞溶血副作用。α-melittin-PPIX-NP 高效靶向 B16-F10 细胞，通过活化 BMDCs 抑制肿瘤细胞增殖，而其联合近红外光（NIR）进行 PDT 时效果更好。**结论** α-melittin-PPIX-NP 联合 NIR 进行 PDT，可以促进 B16-F10 细胞凋亡，活化 BMDC，有效增加抗肿瘤免疫作用。

【关键词】蜂毒肽；光动力疗法；黑色素瘤；红细胞溶血；清道夫受体蛋白 1；细胞凋亡；骨髓来源树突状细胞

【中图分类号】R 739.5　　【文献标识码】A

The effect of combined photodynamic therapy with α-melittin-PPIX-NP on the biological behavior of B16-F10 cells

LI Sanrong[1], ZHANG Yan[1], XIAO Min[1], GENG Yuanyuan[2]

1. Department of Thyroid and Breast Surgery, Wuhan Red Cross Hospital, Wuhan 430015, China
2. College of Biomedicine and Health, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China
Corresponding author: GENG Yuanyuan, Email: gengyuanyuan052313@163.com

【Abstract】Objective To investigate the inhibitory effect of melittin combined with photodynamic therapy (PDT) on the biological behavior of melanoma cells (B16-F10). Methods Nano-drug bee venom peptide photosensitive lipid nanoparticles (α-melittin-PPIX-NP) were prepared and characterized by hydrolysis method. The red blood cell hemolysis experiment verified the hemolytic side effects of melittin. CCK-8 was used to detect its ability to kill B16-F10 cells in combination with PDT. Western Blot was used to detect the expression of SR-B1 receptor protein in different cells. Flow cytometry was used to detect cell apoptosis, drug uptake by different cells, and *in vitro* activation of bone marrow-derived dendritic cells (BMDCs). Results The prepared α-melittin-PPIN-NP had uniform morphology and concentrated hydrated particle size distribution, which significantly reduced the side effects of erythrocyte hemolysis. α-melittin-PPIX-NP can efficiently

DOI: 10.12173/j.issn.1004-5511.202409110
基金项目：武汉市卫生健康科研基金资助项目（WX21D32）
通信作者：耿园园，博士，Email：gengyuanyuan052313@163.com

target B16-F10 cells and inhibit the proliferation of tumor cells by activating BMDCs, and its effect is better when combined with near-infrared light (NIR). **Conclusion** PDT with α-melittin-PPIX-NP combined with NIR can promote the apoptosis of B16-F10 cells, activate BMDC, and effectively increase the anti-tumor immune effect.

【Keywords】Melittin; Photodynamic therapy; Melanoma; Hemolysis of red blood cells; SR-B1 receptor; Cell apoptosis; Bone marrow-derived dendritic cells

黑色素瘤的全球发病率和死亡率呈逐年上升趋势，预计到 2040 年，每年将新增 51 万例黑色素瘤患者和 9.6 万死亡病例 [1]。黑色素瘤不仅严重影响患者的生活质量和生存率，也会造成极高的治疗和管理成本 [2–4]。因此，加强对此类皮肤癌的研究，对于减轻其社会和经济影响至关重要。

蜂毒肽（melittin）是来源于蜜蜂毒素的多肽类物质，由 26 个氨基酸残基组成，具有抗肿瘤活性 [5–6]。通过与肿瘤细胞接触，在其细胞膜上“打孔”，从而使肿瘤细胞内容物外泄，达到抗肿瘤效果。但由于溶血副作用，难以直接利用蜂毒肽进行抗肿瘤治疗 [6]。如何有效地将蜂毒肽定向递送至肿瘤细胞，并减少其对正常细胞的毒性是当前研究的重点。增加 α– 螺旋 linker 结构，可以降低蜂毒肽对红细胞的破坏性，还增强对特定肿瘤细胞的靶向能力，特别是高表达 B 类 1 型清道夫受体（scavenger receptor class B type 1，SR–B1）的 B16–F10 黑色素瘤细胞 [7]。SR–B1 受体是一种多配体膜受体蛋白，主要介导高密度脂蛋白衍生的胆固醇酯选择性进入细胞 [8]。在肿瘤治疗中，SR–B1 通过促进肿瘤细胞选择性吸收胆固醇，与多种肿瘤的发生发展高度相关 [9–10]。

光动力治疗（photodynamic therapy，PDT）是利用特定的光敏剂和特定波长的光照射来激活光敏剂，产生活性氧（reactive oxygen species，ROS），从而选择性地杀死肿瘤细胞[11]。该技术因其高度的靶向性和可控性，以及较低的副作用而被广泛应用 [12]。近年来，结合 PDT 和其他治疗方法 [13]，如化疗、放疗或生物治疗，已显示出在增强抗肿瘤效果方面的潜力 [14]。本研究皆在探讨蜂毒肽联合PDT对黑色素瘤细胞生物学行为的影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料

Fe_3O_4、DMPC 和 MHPC 购自上海源叶生物科技有限公司；光敏剂原卟啉 IX（protoporphyrin IX，PPIX）购于上海笛柏生物科技有限公司；三氯甲烷购自上海国药集团化学试剂有限公司；α–melittin 多肽购自合肥国肽生物科技有限公司；B16–F10 细胞购自武汉大学中国典型培养物保藏中心细胞库，LDLA7 细胞（低表达 SR–B1）和 SR–B1 细胞（高表达 SR–B1）受赠于华中科技大学光电实验室；1640 培养基和 DMEM/F–12 培养基购自美国 Gibco 公司；胎牛血清购自浙江天杭生物科技有限公司；青 / 链霉素双抗购自安徽 Biosharp 生物科技有限公司；Hochest 33342 购自北京索莱宝科技有限公司；蛋白裂解液、BCA 蛋白检测试剂盒和 CCK–8 试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司；CD11c 抗体、CD86 抗体、MHC Ⅱ抗体和 β–actin 抗体购自武汉三鹰生物技术有限公司；粒细胞 – 巨噬细胞集落刺激因子（GM–CSF）和 SR–B1 抗体购自英国 Abcam 抗体公司。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养

使用含 1% 青霉素 – 链霉素双抗和 10% FBS 的 1640 培养基培养 B16–F10 细胞，使用含 1% 青链霉素双抗和 10% FBS 的 DMEM/F–12 培养基培养 LDLA7 细胞和 SR–B1 细胞。在 37 ℃、5% CO_2 的培养箱中培养细胞。当细胞融合度达到 80%~90% 时，使用胰酶消化传代。

1.2.2 纳米药物蜂毒肽光敏脂质纳米颗粒（α–melittin–PPIX–NP）的制备

分别称取 10mg Fe_3O_4、10 mg 磷脂 DMPC、10 mg 磷脂 MHPC 和 500 mg 光敏剂 PPIX，加入 200 μL 氯仿，超声溶解，将溶解后的材料全部混匀备用。烧瓶中装入 20 mL 生理盐水溶液，置于磁力加热搅拌器上加热搅拌，当水温升至 65 ℃时，用移液器逐滴缓慢加入混匀的材料。加热搅拌 3 h 后，2 000 rpm 离心 5 min，收集上清，重复离心 3 次，除去未结合的氧化铁。使用 10 K 超滤管，将溶液体积浓缩至 1 mL。向上述 1 mL 溶液中加入 6 mg α–melittin 多肽，放入冰盒中，摇床孵育 2 h。随后 4 ℃、50 000 rpm 超速离心机离心 60 min，保留沉淀，重复离心 3 次，去除游离的 α–melittin 多肽。在无菌操作台中使用 0.22 μm

的滤器过滤溶液，使溶液终体积为 1 mL。4 ℃ 避光保存备用。

1.2.3 材料表征

使用透射电子显微镜（TEM）观察 α-melittin-PPIX-NP 形貌结构；利用马尔文纳米粒度分析仪测量 α-melittin-PPIX-NP 的水合粒径。

1.2.4 红细胞溶血实验

将正常小鼠麻醉，取血，将小鼠血液用 10 mL 生理盐水重悬，2 000 rpm 离心 5 min，保留红细胞沉淀，重复离心 3 次。用生理盐水将红细胞数量稀释至 1×10^7 个 /mL。分别向 EP 管中加入 500 μL 红细胞悬液，然后再向各 EP 管中加入不同浓度的 melittin，其中每组设 1 个 1% TritonX-100（Biosharp）作为阳性对照。在 37 ℃ 培养箱中孵育 2 h 后，取出 EP 管进行离心，12 000 rpm 离心 10 min，对比各组的溶血情况。再分别取 100 μL 上清，在 540 nm 波长下测各自吸光度。本研究已分别获得武汉市红十字会医院伦理委员会（批号：2021023）和华中农业大学伦理委员会（批号：HZAUMO-2024-0334）审核批准。

1.2.5 Western Blot检测在不同细胞中的SR-B1受体蛋白表达情况

用六孔板培养 LDLA7 细胞、SR-B1 细胞和 B16-F10 细胞，待细胞密度接近 80%，用蛋白裂解液裂解各组细胞，提取总蛋白，用 BCA 试剂盒检测各组细胞蛋白浓度。向各组蛋白加入 5× 溴酚蓝（Biosharp），100 ℃ 变性 10 min。蛋白上样量 20 μg/ 孔，电泳：80 V，30 min；120 V，约 40 min。转膜：200 mA，2 h。PVDF 膜用 5% 脱脂奶粉封闭 1 h，再用 1×TBST 缓冲液洗 PVDF 膜 3 次。孵育一抗，4 ℃ 过夜。次日用 1×TBST 缓冲液洗 PVDF 膜 3 次。加入二抗，室温孵育 1 h。用 ECL 化学发光液在化学凝胶成像系统进行显影成像。

1.2.6 CCK-8实验

将 B16-F10 细胞按 8 000 个 / 孔铺到 96 孔板中，每组设 5 个复孔。将细胞分别设置为单独 α-melittin 组（α-melittin 组）、α-melittin 联合近红外光照组（α-melittin+NIR 组）、α-melittin 和 PPIX 自组装纳米颗粒组（α-melittin-PPIX-NP 组）和 α-melittin 和 PPIX 自组装纳米颗粒联合近红外光照组（α-melittin-PPIX-NP+NIR 组）。分别加入 α-melittin 和 α-melittin-PPIX-NP 培养 3 h，更换各孔培养基，其中 NIR 组使用 660 nm 激光机照射 5 min，然后继续培养 21 h。分别向各孔加入 10 μL CCK-8 溶液，培养箱中继续避光培养 4 h，使用酶标仪在 450 nm 波长处测吸光度。

1.2.7 流式细胞术检测细胞凋亡

将 B16-F10 细胞按 1×10^5 个 / 孔铺到 6 孔板内，分为 PBS 组、PBS+NIR 组、α-melittin-PPIX-NP组和α-melittin-PPIX-NP+NIR组，α-melittin-PPIX-NP 组和 α-melittinPPIX-NP+NIR 组分别加入 2 μM α-melittin-PPIX-NP，继续在细胞培养箱中培养 3 h 后，使用 660 nm 激光器对 PBS+NIR 组、α-melittin-PPIX-NP+NIR 组进行照射 2 min。加入 α-melittin-PPIX-NP 24 h 后，收集细胞，使用预冷的 PBS 冲洗，1 200 rpm，离心 5 min，弃上清液，100 μL 结合缓冲液制细胞悬液，依次加入 Annexin V-FITC 和 PI 染色液各 5 μL，室温避光孵育 20 min。加入 400 μL 结合缓冲液混悬细胞，使用流式细胞仪检测细胞凋亡率。

1.2.8 激光扫描共聚焦显微镜观察细胞摄取药物

将 B16-F10 细胞中加入 1 μM 的 α-melittin-PPIX-NP 培养，避光培养，培养时间分别为 0、3、6、12 h。当每组到各自的培养时间时，再加入 Hochest 33342 染细胞核 15 min，然后用 4% 的多聚甲醛固定过夜，将固定好的细胞在蔡司 LSM710 激光共聚焦显微镜（CLSM）上观察，使用 350 nm 和 660 nm 波长激发，观察药物在细胞内的分布情况。

1.2.9 流式细胞仪检测细胞对α-melittin-NP的摄取情况

用 5 μM 的 α-melittin-PPIX-NP 分别培养 B16-F10 细胞、SR-B1 细胞和 LDLA7 细胞 3 h，移去原有培养基，用 PBS 轻轻洗 3 次。然后再重新添加完全培养基继续培养 21 h，用胰酶消化处理后置入细胞流式仪，选择 660 nm 激发波长，观察各组细胞对 α-melittin-PPIX-NP 的摄取情况。

1.2.10 对BMDC细胞的活化

取 8 周龄、雄性 C57 小鼠骨髓细胞，用含 GM-CSF 的 1640 完全培养基培养 7 d，骨髓细胞分化为骨髓来源树突状细胞（BMDC）。将 BMDC 细胞接种到 6 孔板中，分别设置 PBS 组、α-melittin-PPIX-NP 组、α-melittin-PPIX-NP+NIR 组和脂多糖处理的阳性对照组（LPS 组）。加入

上述各组对应药物培养 3 h，更换各孔培养基，其中 α-melittin-PPIX-NP+NIR 组用 660 nm 激光机照射 5 min，然后继续培养 21 h。分别使用 CD11c 抗体标记 BMDC 细胞，CD86 抗体和 MHC Ⅱ抗体标记成熟的 BMDC 细胞，使用流式细胞仪检测 BMDC 细胞活化率。

1.3 统计学分析

采用 GraphPad Prism 9.0 软件绘图，采用 SPSS 28.0 软件进行统计分析。计量资料以均数和标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，组间比较采用 t 检验，所有检验均为双侧检验，$P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 α-melittin-PPIX-NP表征

TEM 和水合粒径观察结果显示，制备的 α-melittin-PPIX-NP 形貌尺寸较为均一，其平均粒径在 28 nm 左右（图 1）。

2.2 α-melittin-PPIX-NP对红细胞溶血影响

红细胞溶血实验显示，在药物浓度为 0.5、1、2、5、10、20 μM时，α-melittin-PPIX-NP组较 melittin 组红细胞溶血减少，且各浓度溶血率差异具有统计学意义（$P < 0.01$），见图 2。

2.3 SR-B1受体蛋白在不同细胞中的表达情况

WB 结果显示，B16-F10 细胞的 SR-B1 受体蛋白表达量略低于SR-B1细胞，高于LDLA7细胞，差异具有统计学意义（$P < 0.001$），见图 3。

2.4 α-melittin-PPIX-NP对B16-F10细胞增殖的抑制作用

CCK-8 实验结果显示，α-melittin组与 α-melittin 联合 NIR 组细胞活性差异无统计学意义，说明使用的近红外光 NIR 对 B16-F10 细胞无明显细胞毒性；α-melittin-PPIX-NP 组与 α-melittin-PPIX-NP+NIR 组细胞活性具有显著差异（$P < 0.01$），见图 4。

2.5 α-melittin-PPIX-NP对B16-F10细胞凋亡的影响

流式细胞术检测结果表明，PBS+NIR 组细胞凋亡比例显著高于 PBS 组，差异具有统计学意义（$P < 0.001$）；α-melittin-PPIX-NP+NIR 组与 α-melittin-PPIX-NP 组比较，两组间细胞凋亡比例具有显著统计学差异（$P < 0.001$），见图 5。

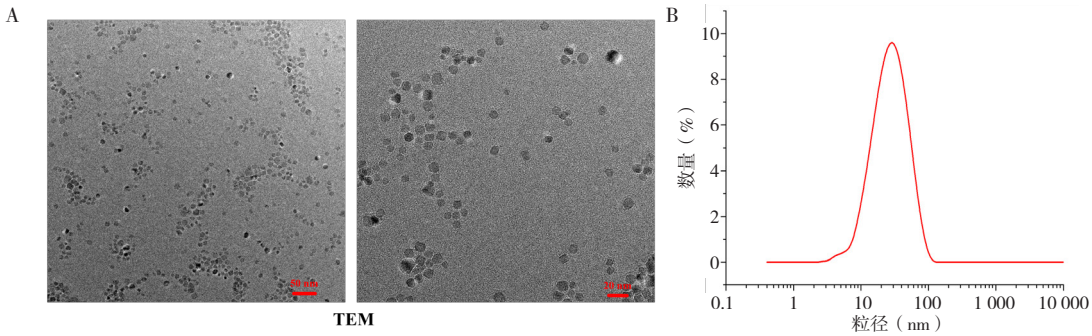

图1 α-melittin-PPIX-NP透射电镜和水合粒径

Figure 1. Transmission electron microscopy and hydrated particle size of α-melittin-PPIX-NP

注：A.α-melittin-PPIX-NP形貌的透射电镜图（标尺左：50 nm，右：20 nm）；B.α-melittin-PPIX-NP的水合粒径大小。

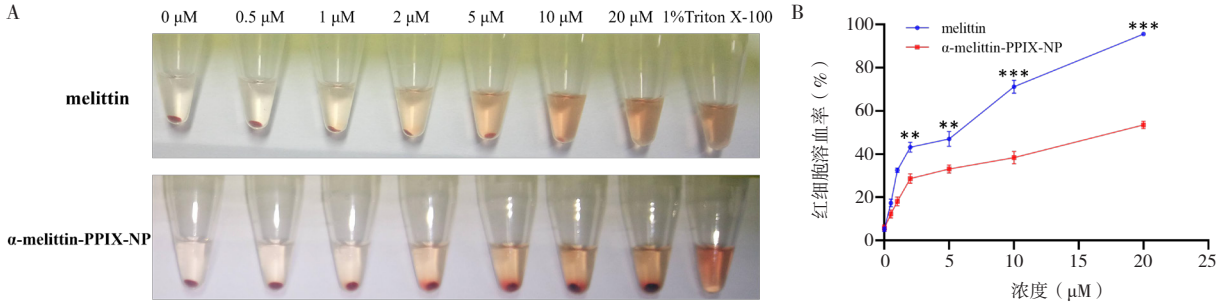

图2 α-melittin-PPIX-NP减弱红细胞溶血副作用

Figure 2. α-melittin-PPIX-NP reduces the hemolytic side effects on red blood cells

注：A.不同药物浓度下，melittin和α-melittin-PPIX-NP对红细胞的溶血作用比较；B.不同药物浓度下，melittin和α-melittin-PPIX-NP对红细胞的溶血曲线；$^{**}P < 0.01$，$^{***}P < 0.001$。

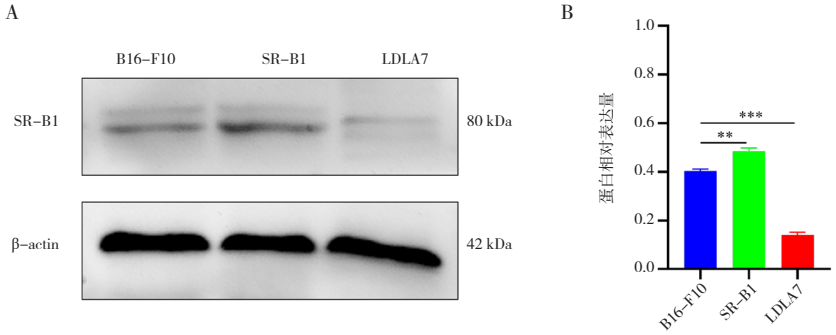

图3 SR-B1蛋白在不同细胞中的表达情况

Figure 3. Expression of SR-B1 protein in different cells

注：A.不同细胞的SR-B1蛋白表达；B.SR-B1蛋白在不同细胞上的表达定量分析；$^{**}P<0.01$，$^{***}P<0.001$。

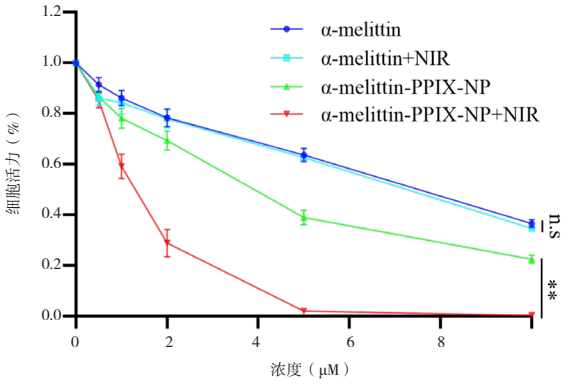

图4 α-melittin-PPIX-NP对B16-F10细胞活性的影响

Figure 4. The effect of α-melittin-PPIX-NP on the activity of B16-F10 cells

注：不同药物和处理对肿瘤细胞生长活力的影响；n.s无显著差异，$^{**}P<0.01$。

2.6 细胞对α-melittin-PPIX-NP摄取

激光共聚焦结果显示，在 0、3、6、12 h 时间点，B16-F10 细胞摄取 α-melittin-PPIX-NP 量随着孵育时间递增，且荧光信号也未衰减，说明 α-melittin-PPIX-NP 被 B16-F10 细胞摄入后，较长时间内具有良好的稳定性，见图 6。

2.7 流式细胞仪检测不同细胞对α-melittin-PPIX-NP摄取

流式细胞仪结果显示，在不同浓度的 α-melittin-PPIX-NP孵育时，B16-F10细胞摄入 α-melittin-PPIX-NP量远多于LDLA7 细胞组，差异具有统计学意义（$P<0.05$）；B16-F10 细胞摄入 α-melittin-PPIX-NP 量少于 SR-B1 细胞组，差异具有统计学意义（$P<0.05$），见图 7。

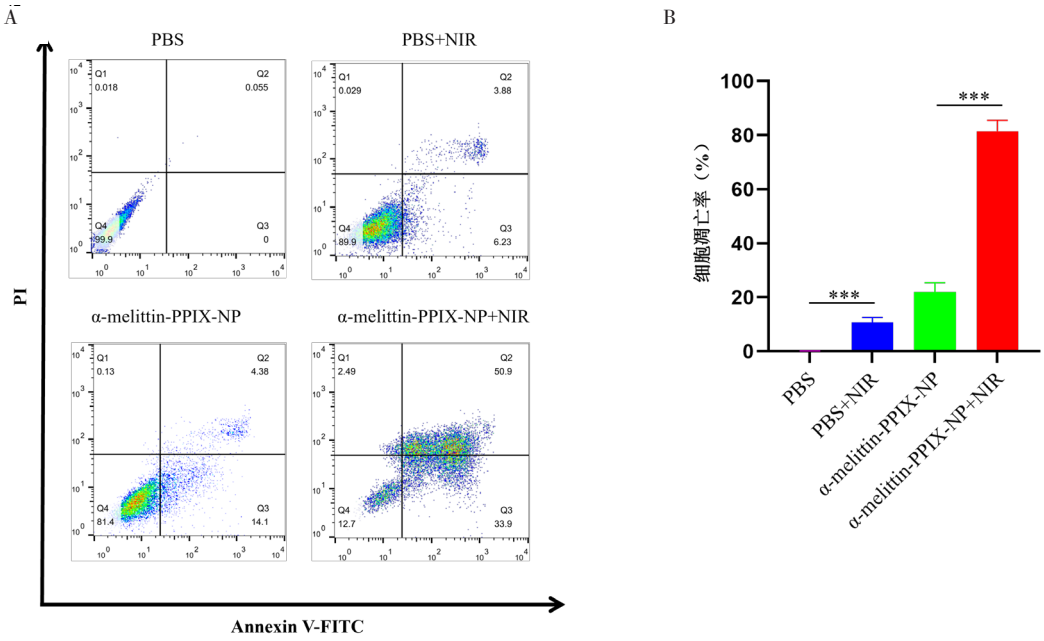

图5 α-melittin-PPIX-NP对B16-F10细胞凋亡的影响

Figure 5. The effect of α-melittin-PPIX-NP on the apoptosis of B16-F10 cells

注：A.细胞流式检测细胞凋亡；B.细胞流式检测细胞凋亡定量分析；$^{***}P<0.001$。

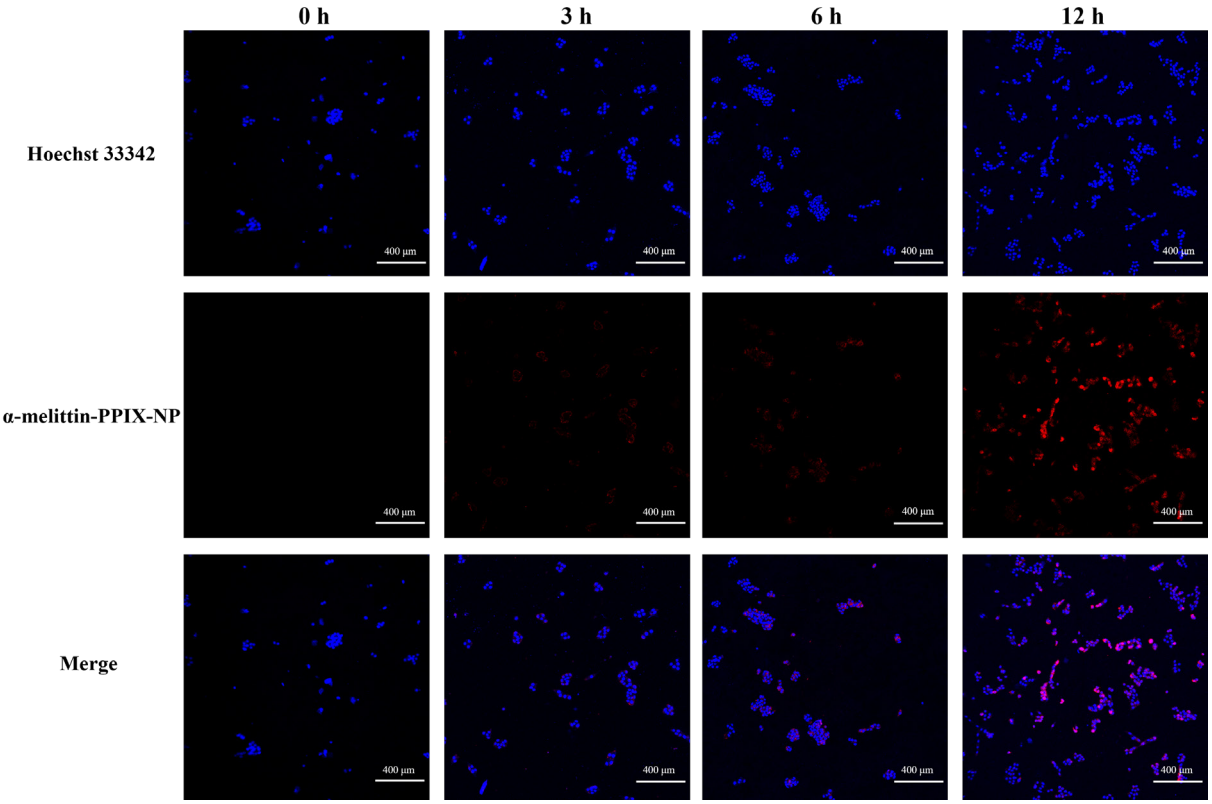

图6 B16–F10细胞摄取α–melittin–PPIX–NP的共聚焦成像

Figure 6. Confocal image of B16–F10 cells uptake of α–melittin–PPIX–NP

注：标尺.400 μm。

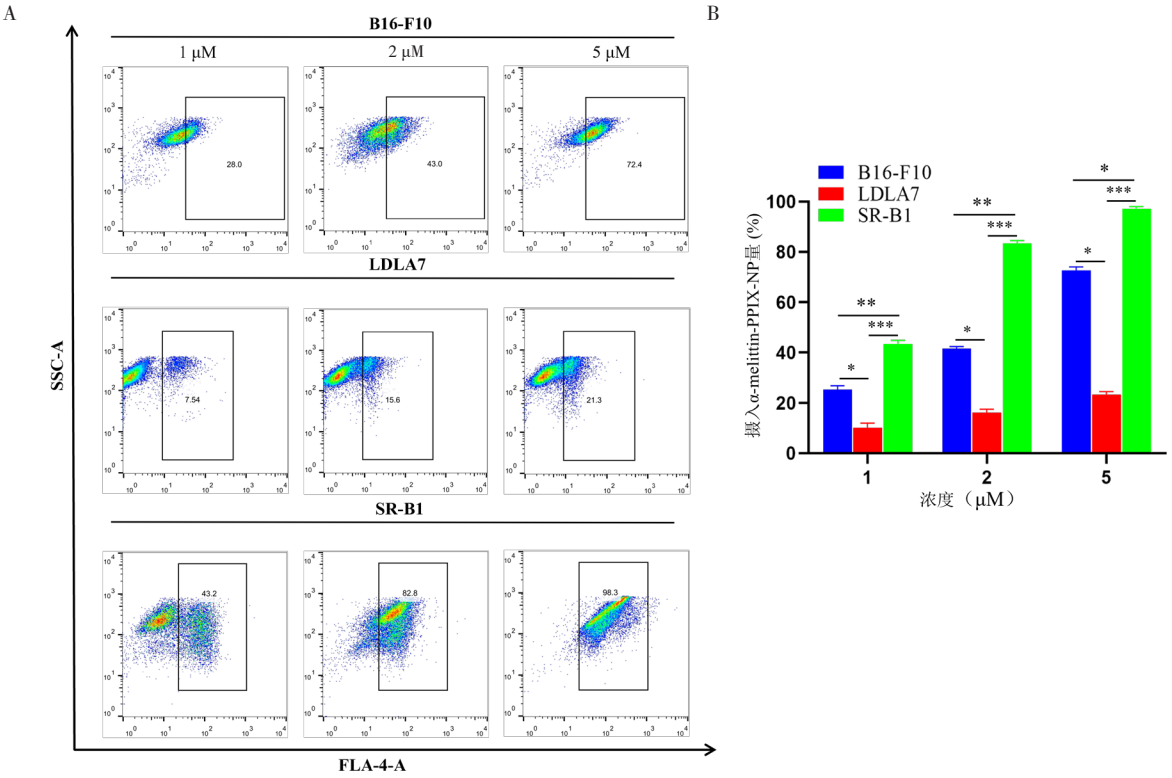

图7 流式细胞仪检测不同细胞对α–melittin–PPIX–NP的摄入量

Figure 7. Flow cytometry detection of the intake of α–melittin–PPIX–NP by different cells

注：A.细胞流式检测不同细胞对α–melittin–PPIX–NP的摄取；B.不同细胞摄取α–melittin–PPIX–NP的定量分析；$^{*}P<0.05$，$^{**}P<0.01$，$^{***}P<0.001$。

2.8 流式细胞仪检测α-melittin-PPIX-NP活化BMDC

检测结果显示，与 PBS 组比较，α-melittin-PPIX-NP 组 BMDC 活化率显著升高（$P < 0.01$）；α-melittin-PPIX-NP+NIR 组 BMDC 活化率显著高于 α-melittin-PPIX-NP 组和 LPS 组（$P < 0.001$），表明 α-melittin-PPIX-NP+NIR 可以明显增强 BMDC 活化能力，见图 8。

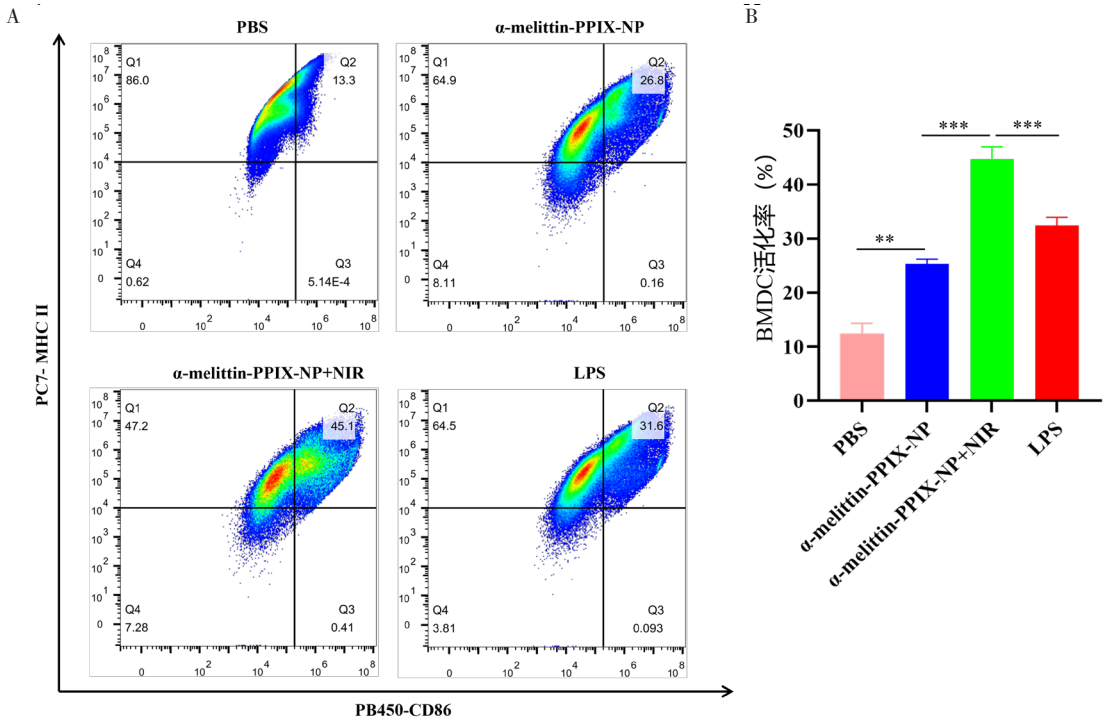

图8 流式细胞仪检测α-melittin-PPIX-NP体外对BMDCs的活化

Figure 8. Flow cytometry detection of in vitro activation of BMDCs by α-melittin-PPIX-NP

注：A.细胞流式检测α-melittin-PPIX-NP体外激活BMDC；B.细胞流式检测BMDC体外活化定量分析；$^{**}P < 0.01$，$^{***}P < 0.001$。

3 讨论

在癌症治疗领域，传统化疗和放疗方法的副作用及其对健康细胞的损伤，促使研究人员寻找更为精确和安全的治疗方法[15-16]，蜂毒肽因其对细胞膜的穿透能力而被视为潜在的抗肿瘤药物[17]。蜂毒肽虽具有强大的细胞破坏能力，但缺乏特异性导致其对正常细胞同样具有毒性，这限制了它的应用范围[18]。Wang 等[19]报道了通过纳米载体系统改善蜂毒肽的靶向性和生物安全性。Mooberry 等[9]提出通过有效靶向 SR-B1 受体，增强了对肿瘤细胞的选择性杀伤。本研究将蜂毒肽进行改造，在其前端加上靶向 SR-B1 受体的 α 螺旋序列，改善了蜂毒肽的溶血活性，增加了对特定癌细胞的靶向能力。虽然该序列降低了对肿瘤细胞的杀伤作用，但其溶血副作用也大大减轻，提高了蜂毒肽的使用安全性。

此外，目前的研究表明，单一的多肽药物在体内极易发生降解[20-21]，难以达到理想效果。纳米载药系统可以延长在体内的循环时间[22]，成为一种可行的策略。通过纳米载体，可以保护蜂毒肽不被快速代谢和降解，延长其在体内的循环时间，同时减少对非靶向细胞的毒性影响。对蜂毒肽结构进行改造，虽然减轻了溶血副作用[19]，但同时也减弱了对细胞膜的打孔能力，为了弥补这一不足，本研究引入了疏水性光敏剂 PPIX，在光动力疗法中，PPIX 在适当波长的激光照射下，能够将细胞内的氧气和水转化为高活性的单线态氧和其他 ROS[23]，这些 ROS 具有破坏细胞和组织结构的能力，有效地杀死肿瘤细胞[24]。本研究结果显示采用磷脂纳米递送系统结合 PPIX，可以将蜂毒肽靶向递送到高表达 SR-B1 的 B16-F10 细胞中。在激光照射下，PPIX 发挥 PDT 作用，α-melittin-PPIX-NP 对肿瘤的杀伤作用提升，显著抑制 B16-F10 细胞增殖。

综上所述，本研究通过结合纳米技术和 PDT

对蜂毒肽进行改良和递送，有效提升了对黑色素瘤细胞的靶向治疗效果并显著降低了药物的副作用。通过在蜂毒肽分子前端添加靶向 SR-B1 受体的 α 螺旋序列，增强了其对肿瘤细胞的特异性，同时减少了对正常细胞的溶血副作用。此外，引入疏水性的 PPIX 并结合 PDT 产生 ROS，进一步增强了肿瘤细胞的杀伤效果。这种纳米载药系统不仅提高了蜂毒肽的生物可用性和临床安全性，还通过物理和化学机制协同促进肿瘤细胞的凋亡，展示了一种综合性的癌症治疗新策略。但本研究未进行荷瘤小鼠动物实验，将来可以通过荷瘤小鼠验证 α-melittin-PPIX-NP 的抗肿瘤效果，并探究其抗肿瘤机制。通过小鼠活体示踪实验，评估 α-melittin-PPIX-NP 到达肿瘤部位的剂量，为黑色素瘤的诊治提供有益的探索。

伦理声明：本研究已获得武汉市红十字会医院伦理委员会审核批准（批号：2021023），华中农业大学伦理委员会审核批准（批号：HZAUMO-2024-0334）

作者贡献：研究设计：李三荣、耿园园；实验操作：耿园园、张燕；论文撰写和审定：李三荣、肖敏、张燕、耿园园

数据获取：本研究使用和分析数据请联系通讯作者获取

利益冲突声明：无

致谢：不适用

参考文献

1 Arnold M, Singh D, Laversanne M, et al. Global burden of cutaneous melanoma in 2020 and projections to 2040[J]. JAMA Dermatol, 2022, 158(5): 495-503. DOI: 10.1001/jamadermatol.2022.0160.

2 Kocarnik JM, Compton K, Dean FE, et al. Cancer incidence, mortality, years of life lost, years lived with disability, and disability-adjusted life years for 29 cancer groups from 2010 to 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019[J]. JAMA Oncol, 2022, 8(3): 420-44. DOI: 10.1001/jamaoncol.2021.6987.

3 Krensel M, Schäfer I, Augustin M. Cost-of-illness of melanoma in Europe-a systematic review of the published literature[J]. J Eur Acad Dermatol Venereol, 2019, 33(3): 504-510. DOI: 10.1111/jdv.15315.

4 Meertens A, Van Coile L, Van Iseghem T, et al. Cost-of-illness of skin cancer: a systematic review[J]. Pharmacoeconomics, 2024, 42(7): 751-765. DOI: 10.1007/s40273-024-01389-5.

5 Duan X, Zou H, Yang J, et al. Melittin-incorporated nanomedicines for enhanced cancer immunotherapy[J]. J Control Release, 2024, 375: 285-299. DOI: 10.1016/j.jconrel.2024.08.047.

6 Bahreyni A, Liu H, Mohamud Y, et al. A combination of genetically engineered oncolytic virus and melittin-CpG for cancer viro-chemo-immunotherapy[J]. BMC Med, 2023, 21(1): 193. DOI: 10.1186/s12916-023-02901-y.

7 Huang C, Jin H, Qian Y, et al. Hybrid melittin cytolytic peptide-driven ultrasmall lipid nanoparticles block melanoma growth in vivo[J]. ACS Nano, 2013, 7(7): 5791-5800. DOI: 10.1021/nn400683s.

8 Fung KYY, Ho TWW, Xu Z, et al. Apolipoprotein A1 and high-density lipoprotein limit low-density lipoprotein transcytosis by binding SR-B1[J]. J Lipid Res, 2024, 65(4): 100530. DOI: 10.1016/j.jlr.2024.100530.

9 Mooberry LK, Sabnis NA, Panchoo M, et al. Targeting the SR-B1 receptor as a gateway for cancer therapy and imaging[J]. Front Pharmacol, 2016, 7: 466. DOI: 10.3389/fphar.2016.00466.

10 Huang B, Song BL, Xu C. Cholesterol metabolism in cancer: mechanisms and therapeutic opportunities[J]. Nat Metab, 2020, 2(2): 132-141. DOI: 10.1038/s42255-020-0174-0.

11 Kwiatkowski S, Knap B, Przystupski D, et al. Photodynamic therapy-mechanisms, photosensitizers and combinations[J]. Biomed Pharmacother, 2018, 106: 1098-1107. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.07.049.

12 Agostinis P, Berg K, Cengel KA, et al. Photodynamic therapy of cancer: an update[J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(4): 250-281. DOI: 10.3322/caac.20114.

13 Kolarikova M, Hosikova B, Dilenko H, et al. Photodynamic therapy: innovative approaches for antibacterial and anticancer treatments[J]. Med Res Rev, 2023, 43(4): 717-774. DOI: 10.1002/med.21935.

14 Li X, Lovell JF, Yoon J, et al. Clinical development and potential of photothermal and photodynamic therapies for cancer[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2020, 17(11): 657-674. DOI: 10.1038/s41571-020-0410-2.

15 Zaimy MA, Saffarzadeh N, Mohammadi A, et al. New methods in the diagnosis of cancer and gene therapy of cancer based on nanoparticles[J]. Cancer Gene Ther, 2017, 24(6): 233-243. DOI: 10.1038/cgt.2017.16.

16 陈劲松，王丹. 肿瘤新抗原在肿瘤免疫治疗中的应用研究进展[J]. 解放军医学杂志，2024, 49(10): 1213-1220. [Chen JS, Wang D. Research progress of neoantigens in tumor immunotherapy[J]. Medical Journal of Chinese People's Liberation Army, 2024, 49(10): 1213-1220.] DOI: 10.11855/j.issn.0577-7402.1340.2024.0426.

17 Zahirović A, Luzar J, Molek P, et al. Bee venom immunotherapy: current status and future directions[J]. Clin Rev Allergy Immunol, 2020, 58(3): 326-341. DOI: 10.1007/s12016-019-08752-x.

18 Wehbe R, Frangieh J, Rima M, et al. Bee venom: overview of main

compounds and bioactivities for therapeutic interests[J]. Molecules, 2019, 24(16): 2997. DOI: 10.3390/molecules24162997.

19 Wang A, Zheng Y, Zhu W, et al. Melittin-based nano-delivery systems for cancer therapy[J]. Biomolecules, 2022, 12(1): 118. DOI: 10.3390/biom12010118.

20 Muttenthaler M, King GF, Adams DJ, et al. Trends in peptide drug discovery[J]. Nat Rev Drug Discov, 2021, 20(4): 309-325. DOI: 10.1038/s41573-020-00135-8.

21 Otvos L. The latest trends in peptide drug discovery and future challenges[J]. Expert Opin Drug Discov, 2024, 19(8): 869-872. DOI: 10.1080/17460441.2024.2365969.

22 Wang C, Hong T, Cui P, et al. Antimicrobial peptides towards clinical application: delivery and formulation[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2021, 175: 113818. DOI: 10.1016/j.addr.2021.05.028.

23 俞雯馨 , 孙天真 , 顾瑛 , 等 . 光动力疗法的抗肿瘤免疫效应研究进展 [J]. 解放军医学杂志 , 2024, 49(6): 718-725. [Chou WX, Sun TZ, Gu Y, et al. Research progress on the immune effects of photodynamic therapy[J], Medical Journal of Chinese People's Liberation Army, 2024, 49(6): 718-725.] DOI: 10.11855/j.issn.0577-7402.0454.2023.0921.

24 Hou YJ, Yang XX, Liu RQ, et al. Pathological mechanism of photodynamic therapy and photothermal therapy based on nanoparticles[J]. Int J Nanomedicine, 2020, 15: 6827-6838. DOI: 10.2147/IJN.S269321.

收稿日期：2024 年 09 月 20 日 修回日期：2024 年 12 月 19 日
本文编辑：李绪辉 曹 越

引用本文：李三荣, 张燕, 肖敏, 等. 蜂毒肽纳米颗粒联合光动力治疗对黑色素瘤细胞生物学行为的影响[J]. 医学新知, 2025, 35(9): 1048-1056. DOI: 10.12173/j.issn.1004-5511.202409110.
Li SR, Zhang Y, Xiao M, et al. The effect of combined photodynamic therapy with α-melittin-PPIX-NP on the biological behavior of B16-F10 cells[J]. Yixue Xinzhi Zazhi, 2025, 35(9): 1048-1056. DOI: 10.12173/j.issn.1004-5511.202409110.