

荧光成像应用之癌症诊断与治疗

癌症仍然是全球死亡的主要原因之一，尽管近几十年来癌症的诊断和治疗取得了长足的进步，但要实现癌症的准确识别和定位，并在最大限度保留正常组织的前提下完成肿瘤消除，仍然是一个挑战。而荧光成像具有非侵入性、高成像分辨率和灵敏度等特点，在第二个近红外窗口的荧光成像（NIR-II）具有更少的体内光子散射和吸收，更强的成像信噪比、更深的组织穿透深度以及更高的时空分辨率，用于可视化肿瘤部位并监测肿瘤进展，能够实现微小及深部肿瘤的准确诊断，荧光成像技术成为对生物体进行非侵入性纵向研究的有力工具，无需活检或组织切除等侵入性操作，在癌症治疗诊断学中显示出巨大的应用潜力。

■ 肿瘤荧光成像

由于具备组织穿透深度深和时空分辨率高等优势，NIR-II 荧光成像可实现早期肿瘤灵敏的荧光检测。肿瘤的 NIR-II 荧光成像需要提高近红外荧光团对生物标志物的靶向性，并增强其在肿瘤中的积累。肿瘤的靶向包括被动靶向和主动靶向，被动靶向也称为 EPR 效应，主动靶向指使用配体以精确地定向到肿瘤微环境或细胞上过表达的受体，目前，大量的肿瘤标志物已被证明是肿瘤诊疗的理想靶点指标，包括特异性靶点和非特异性的靶点，包括跨膜糖蛋白，过表达受体，肿瘤相关抗原等^[1]。一般，肿瘤靶向过程两者相互作用，实现最大的靶向效率。

靶向肿瘤荧光成像的探针包括小分子荧光探针和纳米荧光探针。小分子荧光探针主要依靠与荧光团连接的活性分子的主动靶向。例如 Wang 筛选了一种具有高亲和力/特异性的新型 CD133 肽（CP）用于靶向肿瘤干细胞生物标志物 CD133 的分子肿瘤成像，CP-IRT 探针在具有高肿瘤与正常组织信号比（T/NT>8）的小鼠中提供了有效的体内肿瘤靶向。重要的是，CP-IRT 探针可快速肾脏排泄（6 小时内排泄率为≈87%）^[2]。

纳米荧光探针的靶向成像涉及更多复杂内容，包括纳米载体的尺寸，表面性质等设计，在体内的靶向过程要考虑单核吞噬细胞系统（MPS）的吞噬作用^[3]。脑部肿瘤需要考虑血脑屏障的，例如 c-RGD 修饰 AIE 纳米粒子用于原位脑肿瘤成像，提供特异性和选择性肿瘤摄取，通过完整的头皮和颅骨进行精确的肿瘤深度检测^[4]。设计明亮的 NIR-II 发光纳米荧光探针，在不干扰蛋白质在体内的生理特性的情况下有效地标记蛋白质，也是具有挑战性的，以环糊精（CD）保护的 NIR-II 金纳米团簇（Au NCs），可以很容易地标记蛋白质/抗体，能够在血液循环过程中进行高效的体内追踪，而不会干扰其生物分布和肿瘤靶向能力，从而实现



灵敏的肿瘤靶向成像^[5]。一般来说，纳米探针不仅具有荧光成像特性，同时参与药物递送治疗效果，所以纳米荧光探针的应用将更广泛。

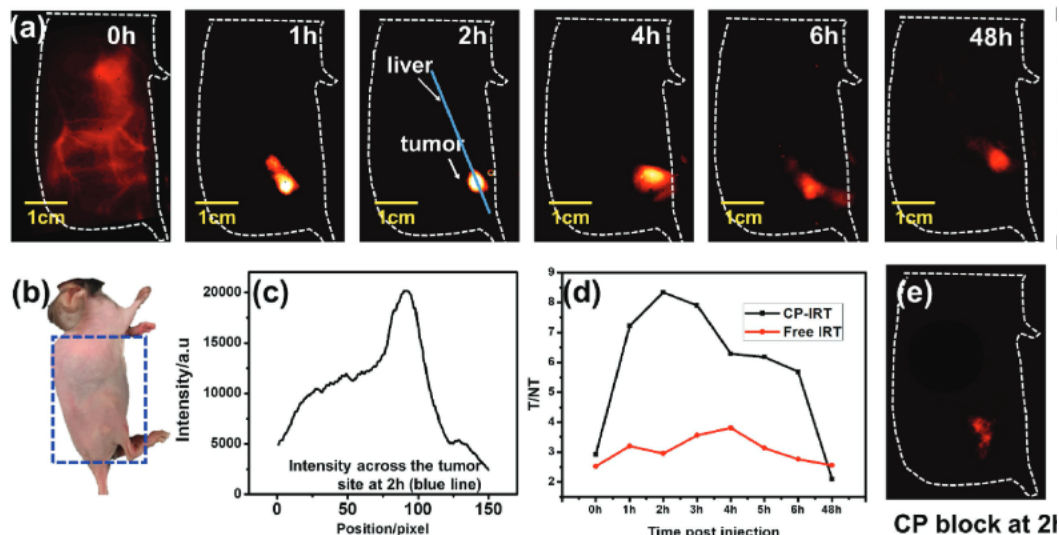


图 1: CP-IRT 的荷瘤小鼠的体内荧光成像情况

■ 荧光成像引导光热治疗 (PTT)

光热治疗 (PTT) 指在近红外光的照射下将近红外光转化为热量的光学治疗方法，通过产生局部高温，将照射到肿瘤部位的光能转化为热能，消融肿瘤细胞。相比于 NIR-I 光热治疗，NIR-II 的光热剂对生命组织具有更优的穿透深度和更高的生物安全应用功率。将 PTT 与 NIR-II 荧光成像相结合，可以为 PPT 提供更精确的治疗时间，提高对肿瘤的治疗效果。

由于带隙低，小分子 NIR-II 荧光团通常能够将激发的能量转化为热量。例如花菁类，花菁染料 IR780 在近红外光 (808nm) 激发下可产生 PTT，但光稳定性差，在两分子花菁光敏剂 IR780 之间引入四苯基乙烯 (TPE) 的扭曲结构，可以提高其光热转换效率和光热稳定性^[6]。NIR-II 的 PTT 试剂大部分为无机或聚合物材料，例如供体和受体 (D-A) 共轭结构通常被认为是构建高效光热治疗诊断剂的标准，在 NIR-II 具有强烈荧光的 AIEgen 以牺牲其光热特性为代价增加荧光强度，荧光和光热效应之间的相互制约^[7]，因此，高效光热剂的分子设计也尤为重要。大多数 PTT 光热剂用于 NIR-I 激光刺激，包括 660、785、808 和 980 nm 等波长。然而，短波长的激发激光可能会导致一些固有的缺点，例如有限的深度和最大允许曝光量 (MPE)。例如，808 nm 激光器的 MPE 仅为 $0.33 \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$ 。相比之下，使用 NIR-II 激



光 (1064 nm) 以 $1.0 \text{ W} \cdot \text{cm}^{-2}$ 的 MPE 产生 PTT 效应, 将提高安全性和更深的穿透力^[8]。例如, 吸收峰超过 1000 nm 的共轭低聚物 (IR-SS) 的纳米颗粒, 在 1064 nm 激发下产生了 77% 的光热转化效率^[9]。

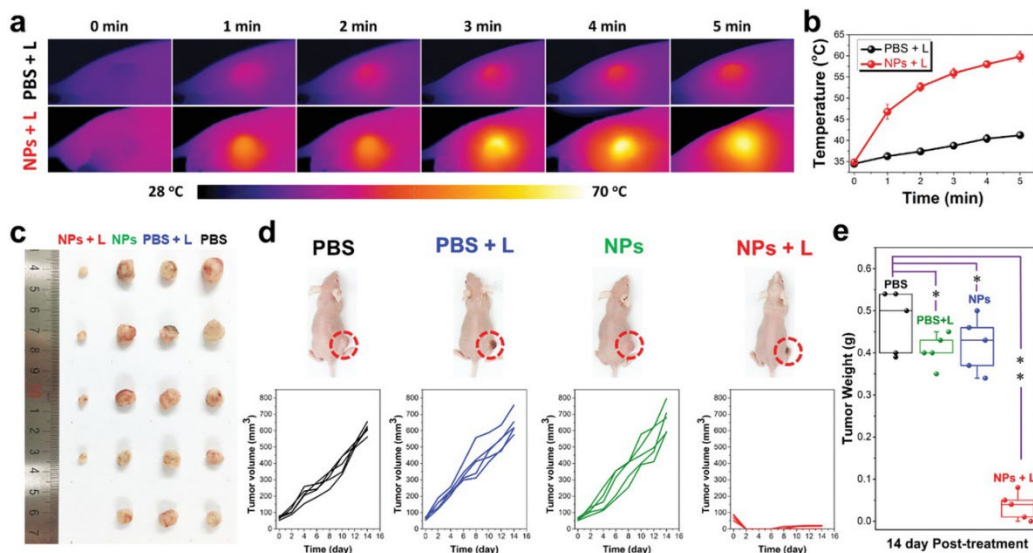


图 2: IR-SS NPs 于 1064 nm 激光治疗的 4T1 荷瘤小鼠光热治疗情况

■ 荧光成像引导光动力治疗 (PDT)

光动力治疗 (PDT) 指特定波长的激光照射使组织吸收的光敏剂受到激发, 而激发态的光敏剂又把能量传递给周围的氧, 生成活性很强的单态氧等活性物质, 单态氧和相邻的生物大分子发生氧化反应, 产生细胞毒性作用, 进而导致肿瘤细胞等受损乃至死亡。肿瘤 PDT 的有效性, 包括光敏剂的理化性质、它们在肿瘤部位的积累和分布, 以及它们在给药后的代谢和排泄。

目前临床使用的光敏剂通常在 800nm 的荧光发射波长, 使用荧光发射尾部在 NIR-II 区域进行荧光成像引导肿瘤 PDT 是最方便的方法。在大多数临床治疗中, PDT 用于肿瘤治疗仅限于肿瘤表面。因此, 亟需开发具有 PDT 功能的 NIR-II 荧光探针。在 PDT 光敏剂的设计中, 大多数 NIR-II 激发态由于其低带隙而没有足够的能量来产生 $^1\text{O}_2$, 其中辐射衰变是罕见的, 并且与非辐射延迟相关的光热成为主导^[10]。增加 PDT 可以通过扩展 π 共轭系统, 增强 D-A 强度可以显著提高细胞毒性 ROS 的产生能力, 从而放大 PDT 效率^[11]。另外, 延长传统荧光探针 BODIPY 核心的结合长度, 通过环加成过程捕获 $^1\text{O}_2$, 获得可以延长 $^1\text{O}_2$ 半衰期的 NIR-II 光敏剂 ABDPTA NPs, 同时在 1000 nm 处显示出较强的发射峰, 用于体内 NIR-II 荧



光成像引导光动力治疗，这 $^1\text{O}_2$ 的“余辉”策略可以为光疗诊断学提供新的见解^[12]。构建具有高度扭曲构象的荧光基团是获得 NIR-II 光敏剂的另一种策略。Yan 等人将转子三苯胺与 Aza-BODIPY 核心偶联，形成稳定的扭曲分子 TAB，将卤素原子 I 引入 TAB 分子中，合成了 TAB-2，形成的纳米粒子 P-TAB-2I 具有高效的 NIR-II 荧光成像和显著的肿瘤 PDT 消融效果^[13]。

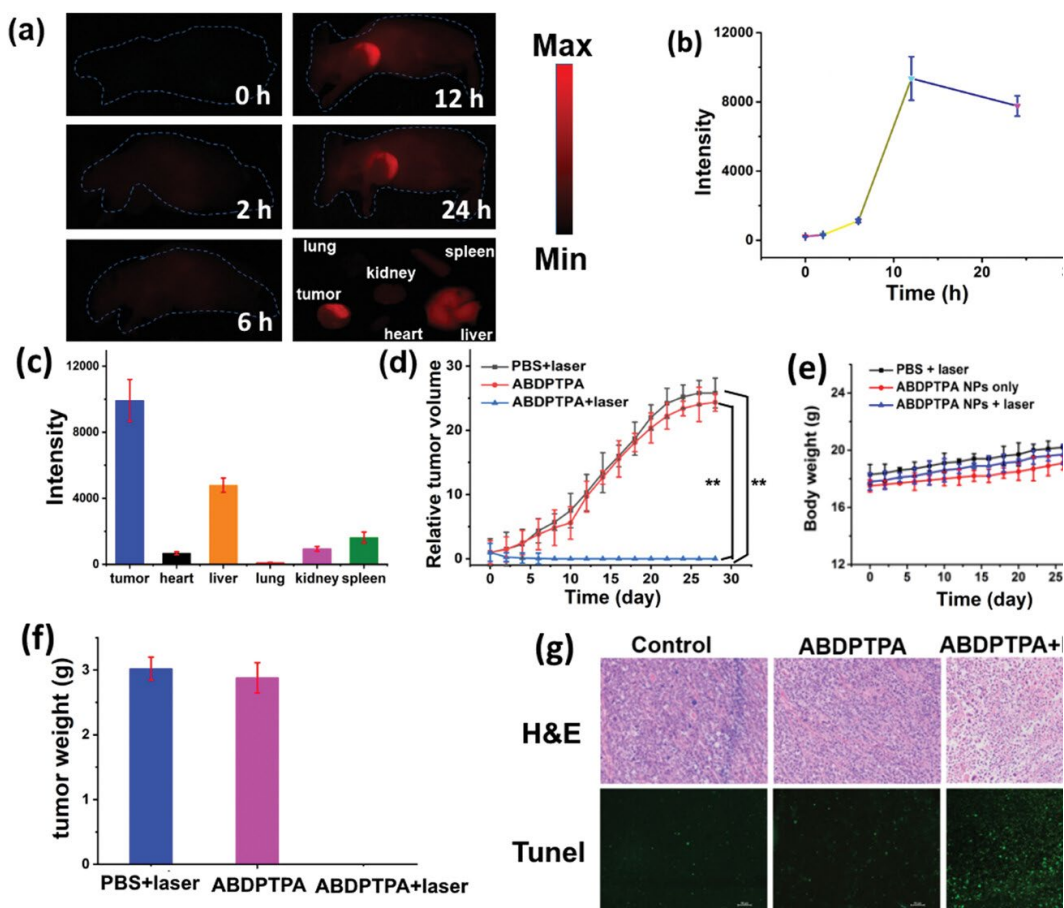


图 3：在 808 nm 激光下裸鼠的 NIR-II 荧光成像及光动力治疗情况

一般应用中，科学家们同时使用荧光成像引导的 PDT/PTT 协同治疗，所以，合理的 NIR-II 荧光团的设计尤为重要。

■ 荧光成像引导的药物递送和化疗

药物递送系统用于将药物递送至所需的组织和器官，并允许多功能药物载体可控地释放药物，前面讨论的光敏剂和光热剂也属于其中。我们另外讨论抗肿瘤药物的递送。为了获得有效的癌症治疗，纳米递送药物体系的原则有五点，即有效的肿瘤积累、长血液循环、深度渗透、增强细胞内化和准确的药物释放。而 NIR-II 窗口下的成像具有组织穿透深度，可通



过实时成像来监测药物输送过程以及治疗效果。在荧光图像引导的药物递送中，药物分子被递送、实时跟踪，并由成像工具进行外部控制，药物释放需要突发释放到肿瘤微环境(TME)中，以实现肿瘤的消退。

Wang 设计了一种基于吡咯并吡咯二酮 (DPP) 的小分子荧光染料 DPP-BT，既做光热/光敏剂，又做荧光/PA 双模态成像造影剂，与化疗药物阿霉素 (DOX) 共封装在生物相容性的有机相变材料，形成近红外激光触发的复合诊疗纳米颗粒，负载的药物 DOX 可以通过 DPP-BT 的 NIR 诱导光热效应有效地从熔融的 PCM 基质中释放出来，从而协同提高肿瘤的整体治疗效果^[14]。Zhou 设计的前药纳米囊泡，由荧光团 IR-1061、化疗药物 DOX 和抑制剂 BRD4i 的前药 JQ1 组成。在 1064 nm 激光照射下，IR-1061 诱导轻度热疗以触发 NIR-II 荧光成像引导的肿瘤部位药物释放，导致诱导肿瘤细胞的免疫原性细胞死亡^[15]。

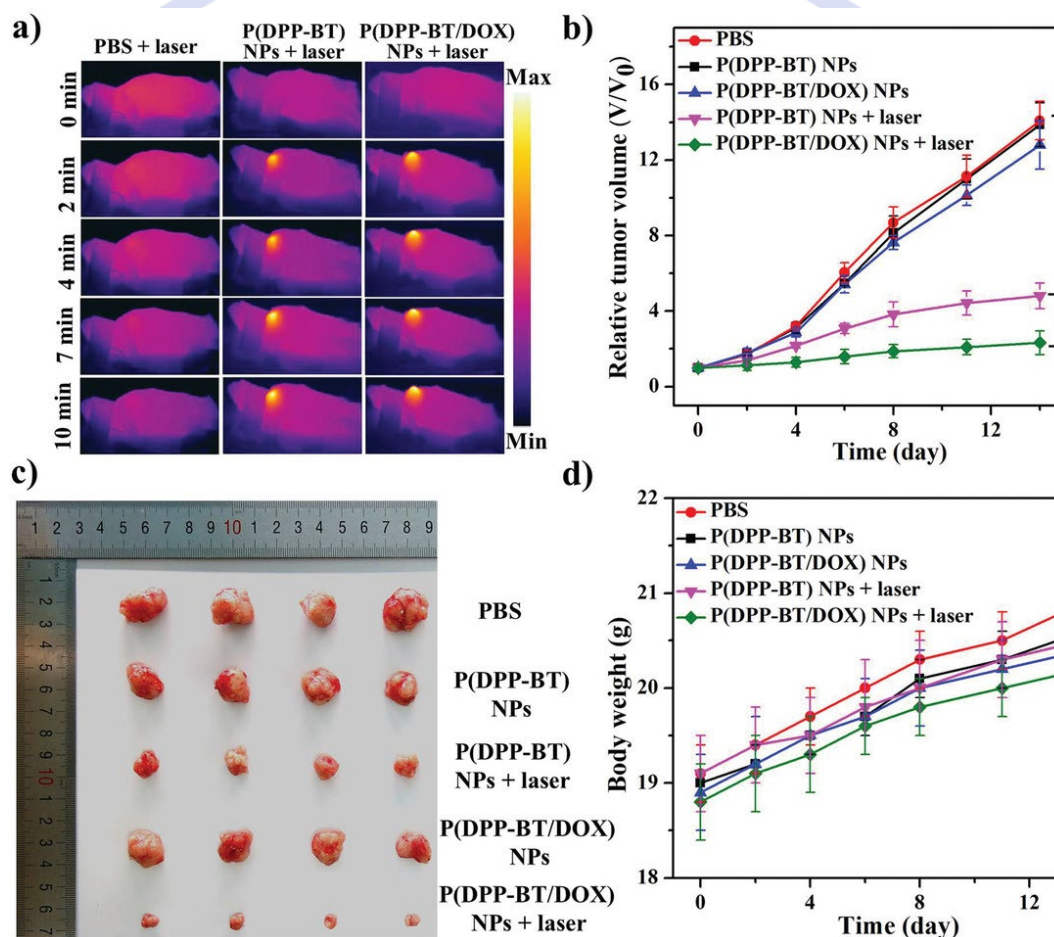


图 4: 荷瘤鼠使用 DPP-BT/DOXNPs 体内联合疗法情况

■ 荧光成像引导手术导航

基于靶向荧光对比剂的荧光成像术中导航通过分子探针特异性靶向癌灶组织,可显著提高病灶的信噪比,有望实现分子、细胞层面的癌灶边界界定,可精准指导术中病灶切除。具有高肿瘤与正常组织 (T/N) 比值和长肿瘤保留期的有效影像引导手术策略是术中实时可视化肿瘤病灶与正常组织对比度的先决条件。

Wang 用 DNA 修饰和靶向肽修饰的 NIR-II 发射镧系元素的下转换纳米粒子 (DCNP) 的体内组装,稳定的肿瘤保留期长达 6 小时。此外,体内组装的纳米探针的 NIR-II 荧光成像可以准确地描绘肿瘤边缘和肿瘤,并且能够在这个漫长而稳定的肿瘤保留窗口内精确地切除肿瘤^[16]。荧光成像引导手术导航在临床也取得重要成功,该研究开发了一种新型光学成像设备,能够将可见光成像系统与 NIR-II 和 NIR-I 荧光集成在一起,使用 ICG 作为荧光探针,对 23 例肝癌病人进行了荧光成像引导的原发性和转移性肝癌手术切除。与 NIR-I 成像相比,术中 NIR-II 成像可提供更高的肿瘤检测敏感度,使肿瘤与正常肝组织的对比明显增强,肿瘤检出率更高^[17]。因此,结合近红外荧光和适合的荧光探针可能会带来更好的荧光成像术中导航效果。

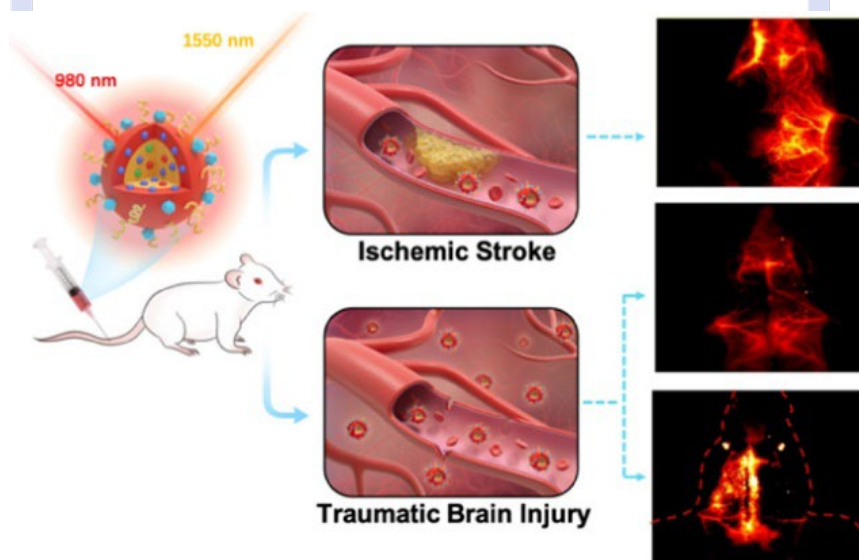


图 5: Ag₂Se 量子点敏化镧系元素掺杂纳米探针用于小鼠缺血性中风和创伤性脑损伤的 NIR-II 荧光成像;

在荧光成像的引导下,通过实时监测体内药物分布,可以提高肿瘤 PTT/PDT 的准确性,避免对正常组织的损伤,达到最佳治疗效果。

参考文献:

- [1] CHEN Z, KANKALA R K, LONG L, et al. Current understanding of passive and active targeting nanomedicines to enhance tumor accumulation [J]. *Coordination Chemistry Reviews*, 2023, 481: 215051.
- [2] WANG W, MA Z, ZHU S, et al. Molecular Cancer Imaging in the Second Near-Infrared Window Using a Renal-Excreted NIR-II Fluorophore-Peptide Probe [J]. *Adv Mater*, 2018, 30(22): e1800106.
- [3] LIU Z M, ZHOU X F, LI Q, et al. Macrophage-evading and tumor-specific apoptosis inducing nanoparticles for targeted cancer therapy [J]. *ACTA PHARMACEUTICA SINICA B*, 2023, 13(1): 327-43.
- [4] SHENG Z H, GUO B, HU D H, et al. Bright Aggregation-Induced-Emission Dots for Targeted Synergetic NIR-II Fluorescence and NIR-I Photoacoustic Imaging of Orthotopic Brain Tumors [J]. *ADVANCED MATERIALS*, 2018, 30(29).
- [5] SONG X R, ZHU W, GE X G, et al. A New Class of NIR-II Gold Nanocluster-Based Protein Biolabels for In Vivo Tumor-Targeted Imaging [J]. *ANGEWANDTE CHEMIE-INTERNATIONAL EDITION*, 2021, 60(3): 1306-12.
- [6] ZHAO X J, ZHAO H J, WANG S, et al. A Tumor-Targeting Near-Infrared Heptamethine Cyanine Photosensitizer with Twisted Molecular Structure for Enhanced Imaging-Guided Cancer Phototherapy [J]. *JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY*, 2021, 143(49): 20828-36.
- [7] LIU S, ZHOU X, ZHANG H, et al. Molecular Motion in Aggregates: Manipulating TICT for Boosting Photothermal Theranostics [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2019, 141(13): 5359-68.
- [8] LIU Y, ZHEN W, WANG Y, et al. One-Dimensional Fe₂P Acts as a Fenton Agent in Response to NIR II Light and Ultrasound for Deep Tumor Synergetic Theranostics [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2019, 58(8): 2407-12.
- [9] LI S, DENG Q, ZHANG Y, et al. Rational Design of Conjugated Small Molecules for Superior Photothermal Theranostics in the NIR-II Biowindow [J]. *Advanced Materials*, 2020, 32(33): 2001146.
- [10] HE S, SONG J, QU J, et al. Crucial breakthrough of second near-infrared biological window fluorophores: design and synthesis toward multimodal imaging and theranostics [J]. *Chemical Society Reviews*, 2018, 47(12): 4258-78.
- [11] ZHANG Z, XU W, KANG M, et al. An All-Round Athlete on the Track of Phototheranostics: Subtly Regulating the Balance between Radiative and Nonradiative Decays for Multimodal Imaging-Guided Synergistic Therapy [J]. *Advanced Materials*, 2020, 32(36): 2003210.
- [12] ZOU J, LI L, ZHU J, et al. Singlet Oxygen "Afterglow" Therapy with NIR-II Fluorescent Molecules [J]. *Advanced Materials*, 2021, 33(44): 2103627.
- [13] TIAN Y, ZHOU H, CHENG Q, et al. Stable twisted conformation aza-BODIPY NIR-II fluorescent nanoparticles with ultra-large Stokes shift for imaging-guided phototherapy [J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2022, 10(5): 707-16.
- [14] WANG Q, DAI Y, XU J, et al. All-in-One Phototheranostics: Single Laser Triggers NIR-II Fluorescence/Photoacoustic Imaging Guided Photothermal/Photodynamic/Chemo





Combination Therapy [J]. Advanced Functional Materials, 2019, 29(31): 1901480.

[15] ZHOU F, GAO J, XU Z, et al. Overcoming immune resistance by sequential prodrug nanovesicles for promoting chemoimmunotherapy of cancer [J]. Nano Today, 2021, 36: 101025.

[16] WANG P, FAN Y, LU L, et al. NIR-II nanoprobe in-vivo assembly to improve image-guided surgery for metastatic ovarian cancer [J]. Nature Communications, 2018, 9(1): 2898.

[17] HU Z, FANG C, LI B, et al. First-in-human liver-tumour surgery guided by multispectral fluorescence imaging in the visible and near-infrared-I/II windows [J]. Nat Biomed Eng, 2020, 4(3): 259-71.

