

量子点探针辅助的近红外荧光成像技术在肿瘤显影中的应用

樊慧敏, 朱丽君, 马燕, 努尔尼沙·阿力甫

新疆医科大学医学工程技术学院/省部共建中亚高发病成因与防治国家重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830011

【摘要】肿瘤早期检测是精准并高效诊疗癌症的关键因素。荧光成像技术凭借其高灵敏度、高时空分辨率、无电离辐射和无创实时成像等优点,在生物医学领域,尤其在肿瘤检测方面展现出了广泛的应用前景。近红外光穿过生物组织时,受到的吸收和散射较少,因此在生物成像方面体现了高信噪比和强组织穿透能力。在众多荧光探针中,近红外发光的量子点探针因其量子产率高、抗光漂白性强、发射光可调谐和稳定性良好等特点在荧光成像方面显示出突出的优势。本文基于量子点探针的近红外荧光成像技术在肿瘤显影中的应用,介绍了量子点优异的光学性能,并重点讨论了硫化铅(PbS)和硫化银(Ag₂S)近红外发光量子点探针在肿瘤成像方面的研究进展,并对近红外发光量子点探针的应用前景进行了展望。

【关键词】近红外;量子点探针;肿瘤显影;荧光成像;综述

【中图分类号】R318;R730.4

【文献标志码】A

【文章编号】1005-202X(2021)06-0688-04

Application of quantum dot probes assisted near-infrared fluorescence imaging technology in tumor imaging

FAN Huimin, ZHU Lijun, MA Yan, ALIFU Nuernisha

State Key Laboratory of Pathogenesis, Prevention and Treatment of High Incidence Diseases in Central Asia/School of Medical Engineering and Technology, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China

Abstract: Early tumor detection is a key factor for precise diagnosis and effective treatment of cancer. With the advantages of high sensitivity, excellent temporal and spatial resolutions, non-ionizing radiation, non-invasive and real-time imaging, fluorescence imaging technology has showed broad application prospects in biomedicine, especially in tumor detection. When near-infrared light penetrates biological tissues, there were less light absorption and scattering. Therefore, near-infrared light has high signal-to-noise ratio and deep tissue penetration in bioimaging. Among various fluorescent probes, near-infrared fluorescent quantum dot probes show outstanding properties in fluorescence imaging, such as high quantum yield, strong resistance to photobleaching, adjustable emission light and good stability. Herein the application of quantum dot probes assisted near-infrared fluorescence imaging technology in tumor imaging was reviewed; and the excellent optical properties of quantum dots were introduced; and the advances of research on lead sulfide (PbS) and silver sulfide (Ag₂S) near-infrared fluorescence quantum dot probes in tumor imaging were mainly summarized; and finally the application prospects of near-infrared fluorescent quantum dot probes is discussed.

Keywords: near-infrared; quantum dot probe; tumor imaging; fluorescence imaging; review

前言

癌症又称为恶性肿瘤,是严重威胁人类生命健康,导致人类死亡的主要疾病之一^[1]。通过早期发现和诊断,可有效降低癌症的死亡率^[2]。传统的层析成像技术如计算机断层成像(CT),磁共振成像(MRI)和正电子发射断层扫描(PET)可无创地实现对体内病变组织的观察,但由于空间分辨率有限和反馈时间长而无法实现动态实时成像^[3-4]。与层析成像相比,荧光成像技术具有高灵敏度、高时空分辨率、无电离辐射和无创实时成像等优点^[5]。并且能够实现亚细

【收稿日期】2021-02-25

【基金项目】国家自然科学基金(82060326);省部共建中亚高发病成因与防治国家重点实验室开放课题重点项目(SK-L-HID-CA-2019-3);新疆维吾尔自治区自然科学基金(2020D01C151);自治区高校科研计划自然科学青年项目(XJEDU2018Y026)

【作者简介】樊慧敏,硕士,讲师,研究方向:生物医学光子学, E-mail: 1602047899@qq.com

【通信作者】努尔尼沙·阿力甫,博士,副教授,研究方向:生物医学光子学, E-mail: 11530034@zju.edu.cn

胞水平的生物分子定位^[6]。荧光成像技术的出现使基于症状的传统诊疗方式向精准诊疗转变,促进精准医学的发展^[7]。

近红外荧光成像技术主要基于近红外一区(NIR-I, 700~900 nm)和近红外二区(NIR-II, 1 000~1 700 nm)光学波段^[8-9]。与可见光相比,生物组织对近红外波段内光的吸收和散射较少,生物自发荧光较弱,这使得近红外荧光成像技术时空分辨率高、对生物组织损伤小、背景荧光干扰小等优点,在提供生理和病理信息具有显著的优势^[10]。然而,良好的荧光成像技术需要借助于荧光探针。为了促进近红外荧光成像技术在生物医学方面的进一步发展,对荧光探针的探究至关重要。

用于生物医学的纳米荧光探针分为无机和有机荧光探针^[11-12]。其中无机荧光探针包括量子点^[13]、稀土掺杂纳米粒子(RENPs)^[14]和单壁碳纳米管(SWCNTs)。在这些材料中,量子点凭借其整齐的排列方式、量子尺寸效应和特殊的表面结构等优势,与传统荧光纳米材料相比具有吸收光谱宽而发射光谱窄、发射光颜色可调、斯托克斯位移大、量子产率(Quantum Yield, QY)高和抗光漂白性强等优越的光学特性^[15]。将量子点的优点与近红外荧光成像的特点结合,基于量子点探针的近红外荧光成像技术在疾病诊断、药物供应和治疗监测等方面的应用得到进一步拓展^[5]。

本文将重点介绍基于量子点探针在肿瘤近红外荧光成像方面的最新研究进展。概述量子点的相关知识,并讨论硫化铅(PbS)和硫化银(Ag₂S)发光量子点荧光探针在肿瘤显影中的研究进展,对近红外量子点探针的发展进行展望。

1 近红外发光量子点探针

近红外荧光成像(Near-Infrared Fluorescence Imaging, NIR-FI)技术是一种无电离辐射、非侵入性、实时性良好的成像技术^[16],其利用近红外波段的激发光或发射光,使荧光探针发射不同波长的光信号而被探测器捕捉到,进而通过数据处理技术获得实时图像^[17]。可直观地显示生物分子、细胞、组织和器官,也可跟踪生物体的生理变化过程,并在亚细胞结构上为疾病的发生和发展提供可靠信息。相比于传统成像方式,NIR-FI技术可精准识别微小病灶,正确显示肿瘤切缘,帮助判断癌细胞的转移情况。近年来,NIR-FI技术发展主要集中在疾病早期诊断、手术影像导航、疗效动态监测和评估、靶向药物递送等方面,已成为生物医学应用的重要工具^[18]。

量子点又称为半导体纳米晶体微结构,是由II-

VI族或III-V族元素组成,稳定直径在2~20 nm之间的准零维纳米材料^[19],量子点中的纳米颗粒类似晶体的规整原子排列。具有宽激发、窄发射、强荧光和抗光漂白等优异荧光性能^[5, 20]。量子点特殊的排列结构和尺寸促使其成为生物医学研究的热点。然而随着研究的深入,发现可见荧光量子点的穿透深度和生物组织自发荧光限制了其后续的应用。与可见光相比,近红外荧光克服了组织自吸收、散射及自发荧光干扰等问题,使研究人员将目光聚焦在近红外发光量子点的研发。

2 近红外发光量子点探针在肿瘤显影中的应用

生物成像的最大挑战之一就是同时实现高分辨率和高对比度,近红外量子点探针可同时满足这两点。目前最常用的近红外发光量子点探针主要有PbS和Ag₂S,下面重点介绍这两种量子点探针。

2.1 PbS量子点荧光探针

PbS量子点是一种典型的半导体材料,具有窄的带隙能量(0.41 eV)和大的激子玻尔半径(18 nm)^[21-22],这使得PbS量子点可在整个NIR区发出明亮且可调的荧光。

2015年,Sasaki等^[23]使用一步合成法制备了重组蛋白(GST-EGFP-GB1)包覆的PbS量子点探针,用于在细胞和全身水平上对乳腺肿瘤进行双荧光成像。此量子点探针可将探针的细胞分布与全身生物分布联系起来。

2017年,Jeong等^[24]成功开发了一种对肿瘤微环境敏感的可激活NIR-II探针——PA-NIRQD。该探针由高发光的PbS/CdS/ZnS近红外量子点连接蛋白酶激活的调节剂(AcM)制成,对基质金属蛋白酶(MMP)活性有反应。结肠癌小鼠模型显示,10 min内,该探针在肿瘤部位特异性激活并且信号增强了3倍。这种探针系统可以在全身水平上分析特定的肿瘤微环境标志物。

肿瘤淋巴结转移是判断肿瘤分期并制定相应治疗方案的重要因素。2020年,Tian等^[25]设计了一种NIR-II区复合探针,应用于淋巴结浸润癌检测及影像引导手术中。染料IR-FD在NIR-IIa(1 100~1 300 nm)区定位肿瘤,PbS/CdS核/壳量子点在NIR-IIb(>1 500 nm)区可视化观察肿瘤侵袭的前哨淋巴结。两种探针的发射光谱不重叠,因此互不干扰而实现双色NIR成像。

尽管PbS量子点所产生的荧光明亮且可调,但是铅的毒性严重限制了PbS在生物体内的应用,因此科研人员迫切需要寻找新的无毒量子点。

表1 硫化铅和硫化银量子点荧光探针在肿瘤显影中的应用举例

Tab.1 Examples of applications of lead sulfide and silver sulfide fluorescent quantum dot probes in tumor imaging

近红外量子点荧光探针	激发波长/nm	荧光发射峰/nm	量子产率/%	应用	参考文献
PbS	450	515, 1 150	10.0	乳腺肿瘤成像	[23]
PbS/CdS/ZnS	660	1 200	>10.0	结肠癌影像学	[24]
PbS/CdS	808	1 600	-	前哨淋巴结成像	[25]
Ag ₂ S-6PEG	808	1 200	15.5	4T1肿瘤异种移植成像	[26]
PEG-Ag ₂ S	808	1 200	~16.0	微肿瘤血管造影	[27]
Ag ₂ S/SiO ₂	785	1 135	22.7	NIR-II肿瘤成像	[28]
Gd-Ag ₂ S	808	1 200	~15.0	脑肿瘤成像	[29]
T&D@RGD-Ag ₂ S	785	1 100	-	肿瘤血管靶向近红外纳米给药系统	[30]
Ag ₂ S@M/D-P-RGD	808	1 060	3.6±0.71	肿瘤光热治疗与影像学	[31]

2.2 Ag₂S量子点荧光探针

窄带隙的Ag₂S量子点(0.9~1.1 eV)因其强大的NIR-II荧光和较低的生物毒性而被广泛用于近红外荧光成像^[32]。是临床前研究的首个也是最有前途的NIR-II荧光量子点。与第一代量子点不同,Ag₂S量子点不含铅、汞或镉等重金属,在肿瘤中表现出高摄取率^[26]。

为进一步提高量子点荧光探针的组织穿透深度和空间分辨率,中科院苏州纳米所王强斌研究员课题组李春炎等^[27]采用PEG-Ag₂S量子点在NIR-II中充当新型荧光探针(peak: 1200 nm, QY≈16%),其空间分辨率达到微米级(低至40 μm)。该量子点能够追踪体内微小肿瘤(直径2~3 mm)周边和内部新血管的形成,实现了体内循环系统的实时动态可视化。由于聚乙二醇(PEG)的存在,该量子点具有很好的生物相容性。

同时,Ag₂S量子点还可以有效连接各种靶向功能分子(如蛋白质、肽、叶酸、抗体)和化学治疗剂,来提高早期疾病诊断的敏感性和对病变的识别,同时治疗疾病。例如,Tang等^[28]通过将9 nm的Ag₂S量子点与一种抗肿瘤的环状五肽(Arg-Gly-Asp-DPhe-Lys)缀合,使乳腺肿瘤周围对量子点的吸收效率提高了8~10倍,成像灵敏度显著提高。

从近红外量子点在肿瘤中成像进展可发现,荧光成像方式已从单一模式的量子点成像向多模式成像和成像诊疗一体发展。

2015年,李春炎等^[29]展示了一种新型的双模式纳米探针(Gd-Ag₂S)。该探针利用钆(Gd)的T₁MR成像,在术前检测脑肿瘤(U87MG)。利用Ag₂S QDs荧光成像,在术中引导精确切除肿瘤。

2016年,西北大学Song等^[30]创建了血管靶向近红外纳米载药体系——T&D@RGD-Ag₂S(peak:

1 100 nm)。将能与整合素α_vβ₃结合的肽环(cRGD)整合到Ag₂S量子点表面,来实现肿瘤血管靶向。广谱性血管内皮抑制剂(TNP-470)和化疗药物阿霉素(DOX)用来协同肿瘤治疗。

Li等^[31]开发出一种新型近红外光触发的智能多功能纳米探针——Ag₂S@M/D-P-RGD。此项研究的创新之处在于利用可逆多肽cys-P-RGD充当智能热敏阀,阻塞被树突状SiO₂包裹的Ag₂S量子点,防止DOX泄漏。采用温和多次短期激光辐照可有效消融肿瘤,同时减少药物过度释放和皮肤损伤的副作用。通过体外HeLa细胞实验和体内HeLa荷瘤裸鼠模型,证明该探针集成了可控的光热—化疗协同治疗和实时成像,为肿瘤治疗带来希望。

3 前景与展望

肿瘤的早期检测和准确诊断对成功治疗和治愈人类癌症至关重要。量子点鉴于其宽激发、窄发射、强荧光和抗光漂白等优异荧光性能,在体内荧光成像方面发挥着不可替代的作用,使其在肿瘤早期发现、肿瘤发展与转移的追踪和靶向协同治疗等方面都有巨大的应用前景。

本文概述了量子点探针辅助的NIR-FI技术在肿瘤显影中的应用。量子点作为荧光标记物,已经广泛地应用在生物标记、活体示踪、血管成像、器官成像和肿瘤成像等各个方面。除了作为生物医学造影剂外,量子点还可以作为纳米载体整合各种靶向物和化学试剂,在应用上有改进和提升的空间:(1)进一步探索挖掘量子点的其他理化性质,开发具有明亮荧光且无毒的环保型纳米探针;(2)量子点探针可以实现长时有效追踪,这使其不能快速从体内清除。如何平衡量子点探针的循环时间和排泄速率是其体内荧光成像的一大挑战;(3)生物组织有亿万个细胞,细胞又由不

同的分子组成。需要探索开发具有精准靶向和准确定量的不重叠发射多色探针;(4)量子点作为光热剂和荧光剂,通过温度升高进行光热治疗和荧光成像。但若肿瘤内部温度过高,可能会对周围健康组织造成损害,因此需要更精确的肿瘤内温度监测工具。通过整合量子点使其可以集成像、光热治疗和纳米温度计于一体。

近年来,随着量子点辅助的 NIR-FI 技术在肿瘤显影方面的应用研究,近红外成像技术的应用将进一步扩大。在未来,量子点辅助的 NIR-FI 将在生物和医学等领域发挥着更为重要的作用。

【参考文献】

- [1] 汪超, 范亲, 顾臻, 等. 纳米技术在癌症预防、诊断和治疗中的应用研究进展[J]. 科技导报, 2018, 36(22): 96-107.
WANG C, FAN Q, GU Z, et al. Application of nanotechnology in cancers prevention, diagnose and treatment[J]. Science & Technology Review, 2018, 36(22): 96-107.
- [2] DAVID C, LYONS N, GREENWOOD E, et al. A roadmap for the early detection and diagnosis of cancer[J]. LANCET Oncology, 2020, 21(11): 1397-1399.
- [3] PADMANABHAN P, KUMAR A, KUMAR S, et al. Nanoparticles in practice for molecular-imaging applications: an overview[J]. Acta Biomater, 2016, 41: 1-16.
- [4] PATEL D, KESHARWANI R. Nanoparticles: an emerging platform for medical imaging[M]. Nanoparticles in Analytical and Medical Devices. Lipid Nanoparticle Based Drug Delivery System, 2021: 113-126.
- [5] HE S Q, SONG J, QU J L, et al. Crucial breakthrough of second near-infrared biological window fluorophores: design and synthesis toward multimodal imaging and theranostics[J]. Chem Soc Rev, 2018, 47(12): 4258-4278.
- [6] CHEN L, QU G, ZHANG C, et al. Quantum dots (QDs) restrain human cervical carcinoma HeLa cell proliferation through inhibition of the ROCK-c-Myc signaling[J]. Integr Biol (Camb), 2013, 5(3): 590-596.
- [7] ZHAO H X, ZHAO H T, JIAO Y, et al. Biosynthetic molecular imaging probe for tumor-targeted dual-modal fluorescence/magnetic resonance imaging[J]. Biomaterials, 2020, 256: 120220.
- [8] MIAO Y W, GU C T, ZHU Y W, et al. Recent progress in fluorescence imaging of the NIR-II window[J]. Chembiochem, 2018, 19(24): 2522-2541.
- [9] TANG Y F, PEI F, LU X M, et al. Recent advances on activatable NIR-II fluorescence probes for biomedical imaging[J]. Adv Opt Mater, 2019, 7(21): 1900917.
- [10] CAO J, ZHU B L, ZHENG K F, et al. Recent progress in NIR-II contrast agent for biological imaging[J]. Front Bioeng Biotechnol, 2020, 7: 487.
- [11] KIM D, KIM J, PARK Y I, et al. Recent development of inorganic nanoparticles for biomedical imaging[J]. ACS Cent Sci, 2018, 4(3): 324-336.
- [12] ZHU S J, TIAN R, ANTARIS A L, et al. Near-Infrared-II molecular dyes for cancer imaging and surgery[J]. Adv Mater, 2019, 31(24): e1900321.
- [13] CHINNATHAMBI S, SHIRAHATA N. Recent advances on fluorescent biomarkers of near-infrared quantum dots for *in vitro* and *in vivo* imaging[J]. Sci Technol Adv Mater, 2019, 20(1): 337-355.
- [14] SKRIPKA, MORINVIL, MATULIONYTE M, et al. Advancing neodymium single-band nanothermometry[J]. Nanoscale, 2019, 11(23): 11322-11330.
- [15] XU G X, ZENG S W, ZHANG B T, et al. New generation cadmium-free quantum dots for biophotonics and nanomedicine[J]. Chem Rev, 2016, 116(19): 12234-12327.
- [16] ZOU W T, ZHU Y W, GU C T, et al. Recent advances in synthesis and application of organic near-infrared fluorescence polymers[J]. J Mater Sci, 2020, 55(23): 9918-9947.
- [17] 刘丹丹, 罗林. 近红外荧光成像技术在外科手术中的研究进展[J]. 中国肿瘤临床, 2020, 47(6): 318-321.
LIU D D, LUO L. Research progress of near-infrared fluorescence imaging technology in surgery[J]. Chinese Journal of Clinical Oncology, 2020, 47(6): 318-321.
- [18] 顾月清, 吴小玲. 生物医学工程技术[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2017: 78.
GU Y Q, WU X L. Biomedical engineering technology[M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2017: 78.
- [19] MCHUGH K J, JING L H, BEHRENS A M, et al. Biocompatible semiconductor quantum dots as cancer imaging agents[J]. Adv Mater, 2018, 30(18): e1706356.
- [20] 高鸿锦, 董友梅. 新型显示技术[M]. 北京: 北京邮电大学出版社, 2014: 36.
GAO H J, DONG Y M. New display technology[M]. Beijing: Beijing University of Posts and Telecommunications Press, 2014: 36.
- [21] MACHOL J L, WISE F W, PATEL R C, et al. Vibronic quantum beats in PbS microcrystallites[J]. Phys Rev B Condens Matter, 1993, 48(4): 2819-2822.
- [22] WANG Y L, JIANG X C, HERRICKS T, et al. Single crystalline nanowires of lead: large-scale synthesis, mechanistic studies, and transport measurements[J]. J Phys Chem B, 2004, 108(25): 8631-8640.
- [23] SASAKI A, TSUKASAKI Y, KOMATSUZAKI A, et al. Recombinant protein (EGFP-Protein G)-coated PbS quantum dots for *in vitro* and *in vivo* dual fluorescence (visible and second-NIR) imaging of breast tumors[J]. Nanoscale, 2015, 7(12): 5115-5119.
- [24] JEONG S, SONG J, LEE W, et al. Cancer-microenvironment-sensitive activatable quantum dot probe in the second near-infrared window[J]. Nano Lett, 2017, 17(3): 1378-1386.
- [25] TIAN R, MA H L, ZHU S J, et al. Multiplexed NIR-II probes for lymph node-invaded cancer detection and imaging-guided surgery[J]. Adv Mater, 2020, 32(11): e1907365.
- [26] HONG G S, ROBINSON J T, ZHANG Y J, et al. *In vivo* fluorescence imaging with Ag₂S quantum dots in the second near-infrared region[J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2012, 51(39): 9818-9821.
- [27] LI C Y, ZHANG Y J, WANG M, et al. *In vivo* real-time visualization of tissue blood flow and angiogenesis using Ag₂S quantum dots in the NIR-II window[J]. Biomaterials, 2014, 35(1): 393-400.
- [28] TANG R, XUE J P, XU B G, et al. Tunable ultrasmall visible-to-extended near-infrared emitting silver sulfide quantum dots for integrin-targeted cancer imaging[J]. ACS Nano, 2015, 9(1): 220-230.
- [29] LI C Y, CAO L M, ZHANG Y J, et al. Preoperative detection and intraoperative visualization of brain tumors for more precise surgery: a new dual-modality MRI and NIR Nanoprobe[J]. Small, 2015, 11(35): 4517-4525.
- [30] SONG C, ZHANG Y, LI C, et al. Enhanced nanodrug delivery to solid tumors based on a tumor vasculature-targeted strategy[J]. Adv Funct Mater, 2016, 26(23): 4192-4200.
- [31] LI C, YANG X Q, AN J, et al. A near-infrared light-controlled smart nanocarrier with reversible polypeptide-engineered valve for targeted fluorescence-photoacoustic bimodal imaging-guided chemophotothermal therapy[J]. Theranostics, 2019, 9(25): 7666-7679.
- [32] GRANADA-RAMÍREZ D A, ARIAS-CERÓN J S, RODRIGUEZ-FRAGOSO P, et al. Quantum dots for biomedical applications[J]. Nanobiomaterials, 2018: 411-436.

(编辑: 薛泽玲)