

· 综述 ·

近红外荧光材料在医学影像诊断中的构建与应用

孙杰¹, 沈义凯^{2,3}, 陈雨佳^{2,3}, 杜青青^{1,4}, 吴艺舟^{2*}

¹南京医科大学公共卫生学院, 江苏省医药农药兽药安全性评价与研究中心, ²基础医学院细胞生物学系, ³第一临床医学院, ⁴口腔医学院, 江苏 南京 211166

[摘要] 近红外荧光材料包括传统分子染料和新型量子点。近红外光谱属于分子振动光谱的倍频和主频吸收光谱, 主要由分子振动的非谐振性使分子振动从基态向高能级跃迁时产生, 具有较强的人体组织穿透能力。近年来通过生物分子修饰的近红外荧光材料成为医学影像诊断的研究热点, 其具有组织穿透性强、背景荧光干扰低、荧光信号灵敏度高、光谱稳定抗淬灭、分子靶向识别、生物安全性良好等特点。文章分析近红外荧光材料的构建方法以及在超声波、计算机断层扫描(computed tomography, CT)、磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)和正电子发射计算机断层显像(positron emission computed tomography, PET)等临床影像检验中的应用, 探讨多模态造影策略的诊断优势和关键技术, 为进一步临床应用提供理论依据。

[关键词] 分子影像; 近红外光; 量子点; 碳点; 靶向传递

[中图分类号] R445

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2019)07-1071-05

doi: 10.7655/NYDXBNS20190728

Construction and application of near - infrared fluorescent materials in medical imaging diagnosis

Sun Jie¹, Shen Yikai^{2,3}, Chen Yujia^{2,3}, Du Qingqing^{1,4}, Wu Yizhou^{2*}

¹Safety Assessment and Research Center for Drug, Pesticide and Veterinary Drug of Jiangsu Province, School of Public Health, ²Department of Cell Biology, School of Basic Medicine, ³First School of Clinical Medicine, ⁴School of Stomatology, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China

[Abstract] Near-infrared fluorescent materials include traditional molecular dyes and new quantum dots. Near-infrared spectroscopy belongs to the frequency doubling and main frequency absorption spectroscopy of molecular vibration spectroscopy. It is mainly produced by the non-resonance of molecular vibration when molecular vibration transits from ground state to a higher energy level, and possesses strong tissue penetrability. In recent years, near-infrared fluorescent materials modified by molecular biological techniques have become a research hotspot in medical imaging diagnosis. They have strong tissue penetrability, low background fluorescence interference, high fluorescence signal sensitivity, spectral stability, quenching resistance, molecular targeting recognition and good biological safety. In this paper, the construction of near - infrared fluorescent material and its application in clinical imaging examinations such as ultrasonography, CT, MRI and PET are analyzed. The diagnostic advantages and key techniques of multimodal contrast strategy are discussed, which provide theoretical basis for further clinical application.

[Key words] molecular imaging; near-infrared light; quantum dot; carbon dot; targeting delivery

[J Nanjing Med Univ, 2019, 39(07):1071-1075]

[基金项目] 江苏省自然科学基金(BK20171050, BK20180676); 江苏省高等学校自然科学基金(17KJB310006); 江苏省高等学校大学生创新训练计划项目(201810312053X, 201810312063X)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: yzwucn@gmail.com

近红外(near-infrared, NIR)荧光材料的发射波长主要分为700~1 000 nm波段(NIR- I)和1 000~1 700 nm波段(NIR- II)。由于血红蛋白、水和人体组织对此波长范围内的光线吸收低, 故体内组织背景对NIR荧光的影响微弱^[1-2]。目前常见的NIR荧

光材料包括染料如 ICG、Cy5.5、Cy7,量子点如 Ag₂S、QD800、NIR 碳点等。其中 NIR 量子点是一种新型纳米晶体,它是由 II~VI 族元素或 III~V 族元素组成。其主要特性是:与传统染料相比其荧光强度更高,组织穿透力更强;激发波长范围宽且连续,发射光谱窄且对称分布;可以通过改变量子点大小进而改变发射波长;光化学稳定性高,不易光漂白等^[3-4]。经过生物分子修饰的 NIR 材料具有组织穿透性强、背景荧光干扰低、荧光信号灵敏度高、体内安全性良好等特点,在生物成像领域显示出巨大应用潜力。近年来 NIR 材料应用开始关注多种临床影像诊断技术,包括超声波(ultrasonography)、计算机断层扫描(computed tomography, CT)、磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)和正电子发射计算机断层显像(positron emission computed tomography, PET)等。

1 NIR 材料在超声波诊断中的应用

超声影像以成像速度快、可实时观察运动脏器、无创无辐射等优势在临床应用广泛,但其不能直接激发荧光信号。因易受气体、骨骼等影响,超声不适用于肺、消化道等含气脏器及骨骼的检查。故可在超声引导下注入 NIR 荧光染料构成超声/NIR 双模态成像,例如超声引导下与聚乳酸羟基乙酸[poly(lactic-co-glycolic acid), PLGA]或聚乳酸微泡结合形成双模式造影剂后,即可在不同的接收器上同步显示荧光图像和超声图像,实现超声和 NIR 成像的优势互补。

吲哚菁绿(indocyanine green, ICG)是第一种被美国食品药品监督管理局(FDA)批准用于人体成像实验的 NIR 荧光染料。其最大吸收波长为 805 nm,最大发射波长为 835 nm,其荧光能够被电荷耦合器件(charge coupled device, CCD)相机接收并清晰成像^[5]。ICG 的生物毒性较小、能够实现深部造影且造价较低,已广泛应用于医学影像领域^[6]。例如肝切除术中采用静脉注射 ICG,可以通过荧光信号区分肿瘤组织和正常组织,精准进行肝切除^[7-9]。由于肝脏中血浆蛋白和脂蛋白可以与 ICG 迅速结合,给药后肿瘤组织和正常肝组织的表现有所差异。正常组织迅速摄入 ICG,表现为高亮的荧光结节,而肿瘤组织不具备正常的肝脏功能,ICG 摄取速度较慢,故在荧光显示仪中表现为边界清晰的暗影结节。

超声造影剂可以指示肿瘤淋巴结,但其敏感性不高。而 ICG 在示踪淋巴结方面敏感性较高,但其光学性质不稳定且易分解。在检测肿瘤前哨淋巴

结时,活体荧光显像差,无法进行淋巴结定位^[10]。因此可以将二者结合制备超声/NIR 双模态造影剂。例如 ICG 与 PLGA 可以结合形成 ICG-PLGA 造影剂,将 ICG-PLGA 造影剂注入小鼠和家兔体内,观察其在 NIR 荧光显像小鼠腋窝淋巴结及超声显像兔腋窝淋巴结中的效果。实验结果显示,检测 NIR 成像时小鼠的腋窝淋巴结成像清晰、持续时间长,检测超声成像时 ICG-PLGA 造影剂对于兔腋窝淋巴结成像有显著增强作用^[11]。这表明 ICG-PLGA 造影剂具备良好的 NIR 荧光成像效果,能够准确定位肿瘤组织从而确保手术成功。

光声成像(photoacoustic imaging, PAI)是近年来发展起来的一种非侵入式和非电离式的新型生物医学成像方法,由生物组织吸收脉冲激光的能量产生超声信号。PAI 检测结合了光学成像和超声成像的优点,具有光学成像的高对比度和超声成像的高穿透深度特性,可为临床诊断提供高分辨率和高对比度的组织成像。例如使用叶酸修饰的 PF127 和 Ag₂S 量子点制备的 PF127-FA@Ag₂S 探针,具有良好的光声造影能力,可以与肿瘤细胞表面的叶酸受体特异性结合并被吞噬,具有肿瘤靶向性,在细胞水平进行靶向成像^[12]。新型 NIR 量子点探针 ICG@PEG-Ag₂S 在 PAI 检测中穿透组织深度能达到 9.9 mm 以上,可检测到低至 0.019 2 nmol/L 浓度信号,可实现高穿透深度、高灵敏度、实时定量的活体光声成像^[13]。

2 NIR 材料在 CT 中的应用

临床中广泛应用的 CT 是一种横断面检查技术,可以通过对图像的重建来显示组织和器官。CT 通过注入造影剂来增强病变组织与正常组织之间的密度差异,临床常用的造影剂有碘制剂、硫酸钡等。这种模式下 CT 成像虽然具有较高的分辨率,但这些造影剂的敏感度较低。因此可以将 CT 造影剂与 NIR 荧光材料相结合形成 CT/NIR 双模态造影剂,同时进行 CT 和荧光成像。这实现了两种显像模式的优势互补,既具备 CT 成像的高分辨率又具备荧光成像的高灵敏度,有助于捕捉一些 CT 单模成像难以发现的细微病变。例如 CT/NIR 双模态纳米乳,以脂溶性有机荧光染料 ICG-Der-01 为 NIR 荧光探针,碘化油注射液为 CT 造影剂,用混合乳剂在超声的方法下制备出 ICG-Der-01 荧光染料/碘化油纳米乳。将其注入小鼠体内,可以通过细胞内吞作用进入细胞内,同时进行 CT 和荧光成像,可以观察到小鼠体内

含有荧光纳米乳的细胞亮度更高,有明显增强造影的功能^[14]。

X线激发荧光断层成像技术(X-ray luminescence computed tomography, XLCT)是一种基于CT原有功能基础上的成像方式,通过将X线和荧光材料融合形成了一种新的成像方法^[15]。由于X线可以直接激发某些荧光材料,所以其在CT中有时可以不与造影剂结合,而是直接由X线激发荧光信号进行断层成像,被CCD相机捕获后对图像进行重建算法,进而可以得到其在成像物体中的三维分布^[16]。常用的可被X线激发的荧光材料是一些合成的镧系(Gd^{3+} 、 Eu^{3+} 、 Tb^{3+} 等)掺杂的固体晶体^[17]。与其他光学成像相比,XLCT技术具有特异性好、抗干扰能力强等优点。除此之外,X线具有良好的穿透性,可以获取NIR材料在生物体内部的分布,使得XLCT具备了良好的成像深度。目前XLCT还存在荧光材料不具备良好的生物相容性等问题,尚不能直接应用于临床检测^[18]。

3 NIR材料在MRI中的应用

MRI是一种临床常用的诊断技术,具有以下优点:无放射线损害;对软组织密度分辨率高于CT,而空间分辨率也可与CT相媲美,可以发现直径 < 2 cm的病灶组织可直接做任意的切层扫描;可以运用数字减影原理做MRI血管造影观察。虽然MRI在空间分辨率和定位方面具有很强的优势,但其成像敏感性较差,可以将NIR荧光材料与MRI结合构建一种空间分辨率好、敏感性高的双模态造影剂。

荧光碳点(carbon dots, CDs)是一种具有良好荧光效应的碳纳米粒子,通常其大小不超过10 nm。其特性是:①改变碳点的大小和化学成分,其发射光也会改变;②光学稳定性好、毒性极低、生物相容性稳定;③合成方法多样、来源广、经济环保等。由于以上特点,CDs可以作为生物医学中一种理想的荧光探针^[19-21]。传统制备的CDs存在着依赖激发波长、组织穿透力差、易受背景干扰等问题。NIR CDs的发射强度不会随着激发波长的改变而有明显的波动,大大提高了量子效率,且近红外光源能在组织内达到最大的穿透深度,受自发荧光背景的影响较小,很大程度上解决了传统CDs存在的问题^[22]。例如以苯二胺为碳源制备的CDs发射峰在604 nm,采用一步溶剂法控制反应过程可以制备最大发射峰位于680 nm的CDs^[23-24]。

例如在具有自主靶向能力的重链铁蛋白纳米

笼(heavy chain ferritin, HF_n)内合成具有MRI成像能力的磁性四氧化三铁(Fe_3O_4)纳米粒作为造影剂,然后合成具有NIR荧光特性的CDs连接到HF_n,从而构建自主靶向的MRI/NIR双模态肿瘤诊断探针M-HF_n/CDs。该技术利用纳米粒在肿瘤血管的高通透性和高滞留效应(即EPR效应),向肿瘤位置聚集,提高核磁造影剂的靶向效应。同时使其具有更强的组织穿透力,减少体内的自发荧光,也减少了背景干扰。在人乳腺癌细胞中考察M-HF_n/CDs的MRI/NIR双模成像能力,发现其具有较高的生物相容性,能够快速被肿瘤细胞摄取,并对肿瘤组织进行清晰的成像,增强造影效果^[25-27]。

4 NIR材料在PET中的应用

PET主要应用于恶性肿瘤、神经系统、心血管系统等领域。其辨认病灶能力强、显像功能强大,但因常规核素探针缺乏靶向性且半衰期短,因此获得的图像分辨率较低^[28]。NIR荧光材料具备较强的靶向性,故可以将PET与NIR材料结合运用,从而对病灶进行精确定位和显像。目前研究显示PET/NIR双模成像具有探测深层组织肿瘤的能力。例如将NIR靶向染料PC-1001与 ^{64}Cu 共轭结合形成NIR/PET探针PC-1001- ^{64}Cu ,可以用于乳腺癌荷瘤小鼠中肿瘤组织的靶向成像^[29]。与其他器官组织相比,肿瘤组织摄取和积累量最高,且一段时间后,吸收速率会有明显下降。在前列腺癌异种移植模型中,荷瘤鼠首先注射PC-1001后,显示出了2个浅表肿瘤。然后注射 ^{64}Cu -PC-1001后,成像对比显示在2个浅表肿瘤的基础上出现了第3个较深层次的肿瘤,这证实了PET/NIR双模成像具备探测深层组织肿瘤的能力^[30]。

5 未来展望:多模态分子影像技术

医学影像学是现代医学诊断必不可少的环节,理想中的影像技术可以完美地显示组织结构、代谢、分子信息、病理生理等信息,但实际上没有任何一种成像技术能够同时具备以上功能。临床诊断中,超声、CT、MRI和PET等技术实现了人们对机体形态结构和组织器官的直观观察^[31-32],而NIR荧光材料由于其组织穿透性强、背景荧光干扰低、荧光信号灵敏度高等特点,在医学影像中也常与上述成像技术结合使用构成双模态成像模式。双模态成像将NIR荧光材料的高敏感性和传统造影剂的定位显像的优势进行了互补,是医学影像领域的重要发展领域。

近年来基于双模态的成像形式,发展出了多模态成像的新技术。将多种成像技术进行结合,制备出多模态造影剂,同时进行荧光成像和常规医学影像成像。这样不仅可以对比出成像的差别,增强造影的效果,也能延长成像的时间。例如CT/MRI/NIR三模态分子影像技术,运用先进的纳米技术并结合化学、肿瘤学、影像学及分子生物学,可将金团簇和稀土元素钆的化合物合成为同时具有NIR、CT、MRI三功能的金团簇探针。在荷瘤裸鼠的肿瘤成像实验中同时反映出小鼠组织的解剖信息和代谢情况,使得肿瘤部位的定位更为准确,结构观察更为直观。

多模态成像技术将成为未来医学影像发展的一种新方向,具备临床应用的巨大潜力,而功能复合型NIR材料的开发构建尤为关键。当前NIR医用材料研究的主要攻关点包括以下几个方面:①开发组织安全性高和生物相容性好的生物材料。已有文献报道一些NIR材料具有较好的生物安全性且动物治疗实验等显示具有低毒性,然而这些材料在临床人体应用时能否依然保持良好的组织安全性,其在人体如何分解代谢以及是否会长期积累造成毒副作用等,这些问题还需要进一步研究解决。②优化NIR材料的表面修饰方法和光学特性。实现多模态分子影像诊断离不开材料自身的表面结构修饰,既要保证靶向识别病灶部位,又要兼顾CT/MRI/PET等不同成像技术的检测要求,同时还需要在抗体蛋白、核酸、量子点等修饰过程中保持NIR的稳定光学特性。③开发新型有机类NIR材料。目前NIR材料构建可以分为无机材料和有机材料。其中无机材料中金属基近红外吸收材料以贵金属金、银、钯等为主,已有广泛研究。其在近红外区具有强吸收、发射光稳定等优点,但是也存在不同程度的缓慢降解及毒性积累的风险。而近些年出现的有机材料如吡啶类染料修饰糖类支架分子、CDs偶联的卟啉脂质体等具有可代谢、可降解及低毒性的优点。例如以ICG为代表的有机材料可随尿液代谢排出体外,基于蛋白质、脂质体、聚多巴胺等生物大分子修饰的材料可在体内完全降解。然而这些有机材料尚存在近红外吸光效率较低、易光漂白等不足,如果能克服上述缺点,有机NIR材料将具备非常好的应用前景。此外,提高荧光复合材料的体内代谢稳定性、优化合成技术指标、增强作用位点靶向性等也是今后研究的重要方向。

[参考文献]

[1] 赵勇,王浩,师长宏. 近红外荧光(NIRF)染料在肿

- 瘤诊断中的应用[J]. 中国比较医学杂志,2018,5(3):98-102
- [2] Hilderbrand SA, Weissleder R. Near - infrared fluorescence: application to in vivo molecular imaging [J]. *Curr Opin Chem Biol*,2010,14(1):71-79
- [3] Luo G, Long J, Zhang B, et al. Quantum dots in cancer therapy [J]. *Expert Opin Drug Deliv*,2012,9(1):47-58
- [4] 李卓平,李伟. 量子点在前列腺癌中的研究进展[J]. *国际泌尿系统杂志*,2018,38(3):490-493
- [5] Feng HL, Li Q, Wang L, et al. Indocyanine green clearance test combined with MELD score in predicting the short-term prognosis of patients with acute liver failure [J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*,2014,13(3):271-275
- [6] 陈玥,高卫平,白净. 吡啶菁绿在影像医学中的应用 [J]. *国际生物医学工程杂志*,2013,36(5):289-293
- [7] 王金伟,张雅敏,刘子荣,等. 荧光导航肝切除术中应用吡啶菁绿的可行性 [J]. *山东医药*,2016,56(19):86-88
- [8] Tanaka T, Takatsuki M, Hidaka M, et al. Is a fluorescence navigation system with indocyanine green effective enough to detect liver malignancies? [J]. *J Hepatobiliary Pancreat Sci*,2013,21(3):199-204
- [9] Ishizawa T, Zuker NB, Kokudo N, et al. Positive and negative staining of hepatic segments by use of fluorescent imaging techniques during laparoscopic hepatectomy [J]. *Arch Surg*,2012,147(4):393-394
- [10] Zheng C, Zheng M, Gong P, et al. Indocyanine green-loaded biodegradable tumor targeting nanoprobes for in vitro and in vivo imaging [J]. *Biomaterials*,2012,33(22):5603-5609
- [11] 牛诚诚,徐燕,刘明辉,等. 近红外荧光/超声双模式纳米级造影剂显像淋巴结的实验研究 [J]. *临床超声医学杂志*,2016,18(8):505-508
- [12] Zhang D, Tao L, Zhao H, et al. A functional drug delivery platform for targeting and imaging cancer cells based on Pluronic F127 [J]. *J Biomater Sci Polym Ed*,2011,26(8):468-482
- [13] Wu CX, Zhang YJ, Li Z, et al. A novel photoacoustic nanoprobe of ICG@PEG - Ag2S for atherosclerosis targeting and imaging in vivo [J]. *Nanoscale*,2016,8(25):12531-12539
- [14] Kweon S, Lee HJ, Hyung WJ, et al. Liposomes coloaded with iopamidol/lipiodol as a RES-targeted contrast agent for computed tomography imaging [J]. *Pharm Res*,2010,27(7):1408-1415
- [15] Mishra S. Collimator width optimization in X-ray luminescent computed tomography [J]. *J Med Imaging Health Inform*,2013,4(5):641-686
- [16] Carpenter CM, Sun C, Pratz G, et al. Hybrid x-ray/optical luminescence imaging: Characterization of experimental

- conditions[J]. *Medical Physics*, 2010, 37(8):4011-4018
- [17] Sudheendra L, Das GK, Li C, et al. NaGdF₄: Eu (3+) nanoparticles for enhanced X-ray excited optical imaging [J]. *Chem Mater*, 2014, 26(5):1881-1888
- [18] Pires AM, Davolos MR, Stucchi EB. Eu³⁺ as a spectroscopic probe in phosphors based on spherical fine particle gadolinium compounds [J]. *Int J Inorg Mater*, 2001, 3(7):785-790
- [19] Jiang C, Wu H, Song X, et al. Presence of photoluminescent carbon dots in Nescafe original instant coffee: applications to bioimaging[J]. *Talanta*, 2014, 127:68-74
- [20] Shi H, Wei J, Qiang L, et al. Fluorescent carbon dots for bioimaging and biosensing applications [J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2014, 10(10):2677-2699
- [21] 袁晨燕,王 玲,安艳丽. 荧光载体 CS-Qdots 的构建及生物相容性分析[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2017, 37(10):1227-1233
- [22] 吕春祥,李利平. 荧光碳点的制备及其肿瘤诊断和治疗中的应用研究进展[J]. *新型炭材料*, 2018, 33(1):12-18
- [23] Ding H, Yu SB, Wei JS, et al. Full-color light-emitting carbon dots with a surface-state-controlled luminescence mechanism[J]. *ACS Nano*, 2016, 10(1):484-491
- [24] Tan X, Li Y, Li X, et al. Electrochemical synthesis of small-sized red fluorescent graphene quantum dots as a bioimaging platform[J]. *Chem Commun (Camb)*, 2015, 51(13):2544-2546
- [25] Yao H, Li S, Zeng M, et al. Construction of magnetic-carbon-quantum-dots-probe-labeled apoferritin nanocages for bioimaging and targeted therapy [J]. *Int J Nanomed*, 2016, 11:4423-4438
- [26] Yao H, Long X, Cao L, et al. Multifunctional ferritin nanocages for bimodal imaging and targeted delivery of doxorubicin into cancer cells[J]. *Rsc Advances*, 2016, 6(111):109322-109333
- [27] Yang X, Zhuo Y, Zhu S, et al. Novel and green synthesis of high-fluorescent carbon dots originated from honey for sensing and imaging [J]. *Biosens Bioelectron*, 2014, 60(15):292-298
- [28] 师长宏. 基于近红外荧光制剂的多模态多功能分子影像技术在肿瘤模型中的应用[J]. *中国实验动物学报*, 2018, 26(2):234-238
- [29] Xiao L, Zhang Y, Yue W, et al. Heptamethine cyanine based 64Cu-PET probe PC-1001 for cancer imaging: Synthesis and in vivo evaluation[J]. *Nucl Med Biol*, 2013, 40(3):351-360
- [30] Pan D, Wu JB, Chung LWK. Near-infrared fluorescence and nuclear imaging and targeting of prostate cancer [J]. *Transl Androl Urol*, 2013, 2(3):254-264
- [31] 葛 尚,朱昭环,蔡晓蔓,等. 双源 CT“双低”冠状动脉成像技术中对比剂用量的优化选择[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2018, 38(11):78-82
- [32] 彭 飞,施海彬,唐立钧,等. 多排螺旋 CT 冠状动脉成像对比剂精准化的应用研究[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2016, 36(2):222-224

[收稿日期] 2018-11-19

欢迎投稿 欢迎订阅