

· 综述 ·

磁共振肿瘤靶向分子探针的研究进展

段丽珍, 郭莉莉*

南京医科大学附属淮安第一医院影像科, 江苏 淮安 223300

[摘要] 磁共振分子成像是早期特异性诊断肿瘤的一种重要手段, 凭借其无创、无电离辐射和较高的软组织分辨力等优势获得了广阔的发展前景。磁共振肿瘤靶向分子探针的设计与开发是肿瘤分子显像的关键, 运用不同的分子识别系统研发多种特异性靶向亲和探针, 以达到对肿瘤的基因及特征性分子进行成像的目的。文章就近年来磁共振肿瘤分子探针的最新进展展开综述。

[关键词] 磁共振成像; 肿瘤; 分子成像; 分子探针

[中图分类号] R445.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2019)11-1681-05

doi: 10.7655/NYDXBNS20191132

Progresses in magnetic resonance tumor-targeting molecular probes

Duan Lizhen, Guo Lili*

Department of Medical Imaging, the Affiliated Huai'an No.1 People's Hospital of Nanjing Medical University, Huai'an 223300, China

[Abstract] Magnetic resonance molecular imaging is an important method for early diagnosis of tumors. It has broad prospects for its advantages of non-invasive, non-ionizing radiation and high soft tissue resolution. The design and development of magnetic resonance tumor-targeted molecular probes are keys to tumor molecular imaging. Different molecular recognition systems are used to develop a variety of specific targeted affinity probes, and to achieve the purpose of tumor genes and characteristic molecules imaging. In this paper, the latest progresses of magnetic resonance tumor molecular probes in recent years are reviewed.

[Key words] magnetic resonance imaging; tumor; molecular imaging; molecular probe

[J Nanjing Med Univ, 2019, 39(11):1681-1685]

全球癌症数量逐年攀升, 发病率与死亡率呈持续上升趋势^[1], 癌症已成为人类第二大致死因素, 早期检测及治疗对肿瘤的预后至关重要。分子影像学使用非侵入性成像技术从活体细胞水平、分子水平和基因水平对病灶进行早期定性和定量诊断^[2]。狭义分子成像是指使用非侵入性技术研究体内功能蛋白(受体、酶)和功能基因的表达^[3]。肿瘤的发生是多因素作用的结果, 例如乳腺癌, 其在遗传水平上首先发生突变, 而后酶、受体、代谢等方面发生

相应改变, 最后导致形态学的变化。目前临床影像检查更多地是依赖解剖结构的改变做出相应诊断, 而大部分病灶可能在解剖结构发生变化前就已发生了微观水平的改变。如果在基因改变的早期就能检测到基因的变化, 完全可以达到早期、准确诊断疾病的目的。只有在分子水平认识疾病, 才能找到疾病发生的根源, 从根本上治愈疾病。

除了传统的磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI), 广义磁共振分子成像还包括磁共振波谱成像(magnetic resonance spectroscopy, MRS)、弥散加权成像(diffusion weighted imaging, DWI)、血氧水平依赖的磁共振成像(blood oxygen level-dependent magnetic resonance, BOLD-MR)等^[4-5]。这些技

[基金项目] 南京医科大学科技发展基金基金(2016NJMUZ D085)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: guolili163@163.com

术可以非侵入性地检测活体细胞水平和分子水平的微观变化。例如, MRS技术可以反映活体组织内的化学物质, 提供组织的代谢信息; DWI技术可以检测水分子在活体组织中的分散情况; BOLD-MR主要检测脱氧血红蛋白的含量。上述磁共振技术进一步扩展了分子成像的应用范围。分子影像包括临床前期分子影像研究和临床分子影像应用两部分。分子影像具有比现有成像医学更高的特异性、灵敏度和超高图像分辨率, 能够以实时、无创的方式真实地反映分子水平上疾病的发生, 为临床医师提供定位、定性和定量认识疾病的精准数据。目前, 肿瘤分子显像包括放射性核素成像(PET/PETCT/PETMRI)、MRI、光学成像及超声成像等。本文旨在介绍近年来磁共振分子成像技术在肿瘤显像方面的最新应用进展。

1 磁共振肿瘤分子纳米探针技术

分子探针是一种特殊的、带有标记信号的物质, 能与其他分子或细胞结构特异性结合的分子或结合体, 用于对靶分子或靶细胞结构的定位和定性分析。分子探针的构建是磁共振分子成像的关键技术。只有高灵敏度、高特异性的肿瘤分子探针被开发出来, 才能从根本上促进磁共振分子成像技术的普及和发展。分子探针由转载体和显像剂组成, 探针的构建需满足一定要求^[6-8]: ①分子探针质量小, 无生物毒性, 可参与人体正常的生理代谢过程。②分子探针对于靶分子具有较高的灵敏度和特异性, 只有高特异性才能达到精准诊断的目的。③分子探针在体内代谢缓慢, 可较长时间对目标进行显影。④分子探针能够透过各种生理屏障, 如血管壁, 血脑屏障、细胞膜等。目前, 常用的转载体包括微粒(脂质体和乳剂)、聚合物纳米材料、病毒构建体、多聚体和氟碳乳剂。转载体携带显像剂和配体与目标靶点结合成磁共振分子探针, 通过磁共振技术实现对目标定向显影的目的。分子探针的配体可以是抗体、特异蛋白质或氨基酸分子、核酸分子、多肽和糖等^[9-13]。

按照显影剂的磁化特性可以将MRI对比剂分为两大类: ①T1阳性对比剂, 即顺磁性对比剂, 以钆(gradolinium, Gd)为代表, 常用的钆类显影剂包括钆喷酸葡胺(Gd-DTPA)和钆特酸葡胺(Gd-DOTA)。②T2阴性对比剂, 其含有小分子氧化铁(Fe_3O_4), 具有超顺磁性, 在T2上呈低信号。例如, 主要成分为 Fe_3O_4 的超顺磁性氧化铁(superparamagnetic iron ox-

ide, SPIO), 可以显著减少T2弛豫时间。近年来, 更有学者研制出具有T1-T2双模磁共振成像性能的纳米探针(Fe_3O_4 -BSA^{Gd}), 实现对病灶的双向精确诊断, 进一步推动了分子成像的发展^[6,14]。

由于分子探针的浓度只有纳摩尔至皮摩尔水平, 如果将配体与显影剂直接结合, 那么显影剂将很难达到检测靶目标的有效浓度。因此, 为了增加显影效果, 获得高质量分子影像图像, 大量磁性纳米对比剂被开发出来。每个磁性纳米粒子(magnetic nanoparticle, MNP)表面可能存在数十万个已开发的金属离子和数百个配体, 在肿瘤细胞示踪、血管生成研究、基因表达、转移等研究中潜力巨大^[15-16]。

纳米粒子因为其微小的体积在分子影像发展中发挥着重要作用, 但其对生物体也具有一定毒性。纳米材料对蛋白质具有非特异性吸附的特性, 从而导致网状内皮系统的清除, 这是产生细胞毒性的主要原因^[17]。有学者开发出新型超薄氧化钆(Gd_2O_3)纳米材料, 其在溶液中变形的特性可抑制细胞的摄取, 从而改善生物相容性, 该项技术为未来各种纳米生物药物的设计和构建开辟了新的视角^[18]。

近些年, 多模态分子探针成像研究获得了很大进展。多模态分子成像可同时具有多种成像功能的分子探针注入体内, 并在靶目标上进行多次显像以获得更全面的病变部位信息。目前常用的多模态分子探针包括PET/光学成像双模探针、MRI/光学成像双模探针、MRI/CT成像双模探针、PET/MRI成像双模探针、PET/MRI/声光成像三模探针^[19]。有研究人员已经将中性粒细胞与载有荧光蛋白的磁性介孔二氧化硅纳米粒子一起孵育, 获得具有磁共振成像和荧光成像性能的双细胞分子探针系统, 达到了对术后小鼠胶质瘤模型可视化诊断和治疗的目的^[16]。

2 磁共振分子探针在肿瘤显像中的应用

2.1 肿瘤新生血管成像研究

肿瘤新生血管形成是指基于原始血管结构形成新血管, 其与肿瘤的快速发展和转移密切相关。同时, 肿瘤血管也是放疗及化疗的重要作用点^[20]。因此寻找肿瘤新生血管靶点对新生血管特异性成像及研发其抑制剂来控制肿瘤发展至关重要^[21]。新生血管的形成离不开肿瘤细胞及其间质产生的多种新生血管因子, 而这些特征性的小分子为肿瘤特异性新生血管成像提供可能。将负载MRI显影剂的配体与新生血管表达的特征性分子受体相结

合,通过MRI技术的支持,达到对新生血管特异性显像的目的。

目前,血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和整合素 α V β 3是研究较多的肿瘤新生血管靶标。作为刺激新血管形成的因子,VEGF在肿瘤生长中起重要作用。潘奇等^[22]将血管内皮生长因子C(VEGF-C)抗体和超小型SPIO(USPIO)耦合制成特异靶向分子探针(VEGF-C-USPIO),通过磁共振信号的高低,实现对大鼠肝癌模型良好的靶向显影作用。整合素是一种跨膜内皮细胞膜蛋白,由 α 亚基和 β 亚基非共价键组合而成。整合素受体的表达与肿瘤的生长密切相关,但在正常血管中几乎不表达。Song等^[23]研发双模态 α V β 3顺磁性纳米脂质体,将脂质体造影剂Gd-DTPA和小分子多肽RGD(精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸)及血管内皮生长因子特异性受体ATWLP(丙氨酸-苏氨酸-色氨酸-亮氨酸-脯氨酸-脯氨酸-精氨酸)相连接,对肿瘤新生血管进行显影,结果证明以RGD-ATWLP-PR异二聚肽为靶向的顺磁性脂质体可有效地对肿瘤血管系统进行特异性显像。

2.2 肿瘤基因成像研究

肿瘤基因磁共振成像是一种间接成像技术,通过对报告基因表达产物成像来实现。通过设计特异性结合报告基因产物的探针实现靶基因的特异性成像。MRI基因报告方法主要包括过表达细胞内铁蛋白和/或转铁蛋白受体^[24]、人工合成细胞质膜肽或抗原^[25]、基础表达或转入化学交换饱和和转移(chemical exchange saturation transfer, CEST)目标基因^[26-27]三类。目前研究较多的MRI报告基因包括转铁蛋白受体、铁蛋白报告基因、反义寡核苷酸、肌酸激酶和酪氨酸酶。

为了显示大鼠恶性胶质瘤中间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)的肿瘤组织分布,有学者^[28]利用铁蛋白基因MRI成像原理,将表达铁蛋白重链和增强型绿色荧光蛋白的慢病毒转染MSCs,在原位胶质瘤系统移植后,报告基因的MRI可以追踪MSCs的趋向性。这种实时的体内示踪系统将加快干细胞治疗恶性胶质瘤的步伐。早期发现胶质瘤预后特征对患者的治疗具有有效的指导作用,这些预后特征包括异柠檬酸脱氢酶(isocitrate dehydrogenase, IDH)突变、O⁶-甲基鸟嘌呤-DNA甲基转移酶(O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase gene, MGMT)启动子甲基化等。Paech等^[29]尝试对31位新发胶质瘤患者的预后进行前瞻性的研究,运用7.0 T磁

共振对患者进行多功能CEST成像,从IDH突变、MGMT启动子甲基化状态、低级别胶质瘤(low-grade glioma, LGG)与高级别胶质瘤(high-grade glioma, HGG)的鉴别等方面对肿瘤区域进行定量分析。结果显示,CEST磁共振实现了预测IDH的突变以及高级别胶质瘤的分化情况的目标,为无创磁共振标志物检查提供了新的思路。

2.3 肿瘤代谢成像

传统的MRS技术在临床得到了广泛的应用,但近些年超极化磁共振技术也得到了广阔的发展。超级化(hyperpolarization, HP)是指运用动态核极化使核自旋极化高于热平衡,使得磁共振信号增强10万以上。目前常用的HP生物探针包括[1-¹³C]丙酮酸、[2-¹³C]丙酮酸。目前,此项技术已经进入临床应用阶段。有研究人员首次将HP[1-¹³C]丙酮酸注入健康志愿者体内,并动态获得¹³C分布图像,在乳酸脱氢酶和丙酮酸脱氢酶的催化下,乳酸和碳酸氢盐均成功被¹³C标记。因此,用HP[1-¹³C]丙酮酸成像对脑代谢进行定量分析,对未来研究病理性脑代谢如脑肿瘤等具有重要意义^[30]。神经胶质瘤是中枢神经系统常见的恶性肿瘤,具有广泛的侵袭性和LGG向HGG转化的趋势,手术中全切比较困难,预后极差^[31]。3D氢质子波谱(3D¹H-MRS)具有在分子生物学层面显示肿瘤细胞生物学行为的特性,肿瘤浸润范围的确定可通过检测胆碱化合物及N-乙酰天冬氨酸的代谢水平来实现。闫天芳等^[32]利用3D¹H-MRS多模态成像技术对胶质瘤手术切除范围进行评估,发现3D¹H-MRS所补充的瘤周水肿内肿瘤细胞浸润程度的信息可提示高级别胶质瘤的切除范围,表明利用3D¹H-MRS多模态成像对胶质瘤手术方案的制定具有重要临床价值,对提高患者的肿瘤组织切除程度,改善患者预后意义重大。

2.4 肿瘤其他靶向分子探针成像研究

肿瘤是机体在各种致瘤因子作用下,由局部组织细胞增殖形成的新生物。与正常组织相比,其发生发展过程会产生各种微观层面的变异并表达大量肿瘤特有的分子,众多学者对这些特异性表达的分子也进行了大量的研究。

叶酸(folic acid, FA)是一种B族水溶性维生素,在细胞分裂中起着重要作用。叶酸受体在乳腺癌、卵巢癌、胃癌中大量表达。Sekar等^[33]将聚乙二醇(PEG-FA)用阿霉素(DOX)、甲氧基聚乙二醇(mPEG)和叶酸进行修饰,并结合Fe₃O₄@Au制成多功能纳米材料(Fe₃O₄@Au-DOX-mPEG/PEG-FA

NPs),用于肿瘤的诊断及治疗,FA通过叶酸受体介导的内吞作用可增加癌细胞对 $\text{Fe}_3\text{O}_4@Au-DOX-mPEG/PEG-FA$ NPs的摄取率。 Fe_3O_4 可实现MRI,Au可以在激光下发挥光热效应,DOX可以达到治疗的效果,因此 $\text{Fe}_3\text{O}_4@Au-DOX-mPEG/PEG-FA$ NPs实现了肿瘤成像及治疗的双重作用。

纤维连接蛋白(fibronectin, FN)是一种高分子糖蛋白,广泛存在于动物组织和组织液中,已成为肿瘤分子探针靶点研究的新热点。在乳腺癌早期诊断过程中,有研究通过实时聚合酶链式反应和Western blot技术发现纤维连接蛋白B结构域(EDB-FN)在原发性和转移性乳腺肿瘤微环境中均有大量表达^[34]。因此他们设计出针对EDB-FN的靶向小分子肽MRI造影剂(HP-DO3A),用于乳腺癌磁共振分子成像,大大提高了乳腺肿瘤的早期检出率。

雌激素受体(estrogen receptor, ER)通常在乳腺肿瘤细胞中高表达,并且是预测乳腺癌患者预后的重要因素,ER特异性分子探针的研发对乳腺癌患者的诊断和预后评估具有重要意义。Pais等^[35]将雌激素抑制剂 17β -estradiol和雌激素激活剂Tamoxifen耦合到四甲基吡啶醋酸钆(PTA-Gd)制成MRI乳腺癌ER分子探针EPTA-Gd和TPTA-Gd,对瘤鼠病灶进行显影,结果显示EPTA-Gd在ER阳性表达的病灶中具有靶向显影作用,为ER特异性成像研究奠定了一定基础。

3 展望

近年来随着纳米材料的发展及高场强磁共振扫描仪的开发,磁共振肿瘤分子探针的研发和应用获得了巨大进步。肿瘤分子和基因成像极大地促进了癌症诊断和治疗的发展。同时多模态分子探针的研发及应用成为肿瘤诊疗的新热点,通过不同成像技术,对目标进行多方法显影,大大提高了诊断的准确性,为治疗提供了更有效的监测方法。然而,磁共振肿瘤分子探针的研究仍主要处于动物实验阶段,临床实际应用还存在一些问题需要克服。肿瘤靶向探针合成成本高、难度大、对检测设备要求高等也是制约靶向显影的因素^[36]。未来随着技术进步和多学科加深合作,相信肿瘤分子影像学取得更丰硕的研究成果。

[参考文献]

- [1] Stewart B, Wild CP. World cancer report 2014[M]. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2014: 630
- [2] Weissleder R. Molecular imaging: exploring the next frontier[J]. Radiology, 1999, 212(3): 609-614
- [3] Gallagher FA. An introduction to functional and molecular imaging with MRI[J]. Clin Radiol, 2010, 65(7): 557-566
- [4] James ML, Gambhir SS. A molecular imaging primer: modalities, imaging agents, and applications [J]. Physiol Rev, 2012, 92(2): 897-965
- [5] 李恩源, 杨延皓, 陈浩, 等. 功能磁共振弥散加权成像与弥散张量成像在肾移植术后的应用探讨[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2018, 38(9): 1280-1285
- [6] Li J, You J, Wu C, et al. T1-T2 molecular magnetic resonance imaging of renal carcinoma cells based on nano-contrast agents[J]. Int J Nanomedicine, 2018, 13: 4607-4625
- [7] Jin YH, Hua QF, Zheng JJ, et al. Diagnostic value of ER, PR, FR and HER-2-targeted molecular probes for magnetic resonance imaging in patients with breast cancer [J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 49(1): 271-281
- [8] Zhong L, Zou H, Huang Y, et al. Magnetic endoglin aptamer nanoprobe for targeted diagnosis of solid tumor [J]. J Biomed Nanotechnol, 2019, 15(2): 352-362
- [9] Oliveira BL, Caravan P. Peptide-based fibrin-targeting probes for thrombus imaging [J]. Dalton Trans, 2017, 46(42): 14488-14508
- [10] Bouvier-Müller A, Ducongé F. Application of aptamers for in vivo molecular imaging and theranostics [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2018, 134: 94-106
- [11] 朱高红, 任炳秀, 卫江亮, 等. Gd-DOTA-hTERT ASON 磁共振肿瘤端粒酶靶向显像实验研究[J]. 中国癌症杂志, 2013, 23(10): 821-828
- [12] Wang Q, Yan H, Jin Y, et al. A novel plectin/integrin-targeted bispecific molecular probe for magnetic resonance/near-infrared imaging of pancreatic cancer [J]. Biomaterials, 2018, 183: 173-184
- [13] Zgani I, Idriss H, Barbot C, et al. Positive variation of the MRI signal via intramolecular inclusion complexation of a C-2 functionalized β -cyclodextrin [J]. Org Biomol Chem, 2017, 15(3): 564-569
- [14] 苏伟, 方向明. T1-T2双模式磁共振造影剂的制备及表征[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2017, 37(9): 1168-1172
- [15] Chapman S, Dobrovolskaia M, Farahani K, et al. Nanoparticles for cancer imaging: the good, the bad, and the promise [J]. Nano Today, 2013, 8(5): 454-460
- [16] Wu M, Zhang H, Tie C, et al. MR imaging tracking of inflammation-activatable engineered neutrophils for targeted therapy of surgically treated glioma [J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 4777
- [17] Mahmoudi M, Lynch I, Ejtehadi MR, et al. Protein-nanoparticle interactions: opportunities and challenges

- [J]. Chem Rev, 2011, 111(9):5610-5637
- [18] Luo D, Cui S, Liu Y, et al. Biocompatibility of magnetic resonance imaging nanoprobe improved by transformable gadolinium oxide nanocoils [J]. J Am Chem Soc, 2018, 140(43):14211-14216
- [19] 柳梅,冷德文,范学朋. 多模态分子影像的研究进展[J]. 中国医学影像学杂志, 2018, 26(6):471-475
- [20] Kunjachan S, Detappe A, Kumar R, et al. Nanoparticle mediated tumor vascular disruption: a novel strategy in Radiation Therapy [J]. Nano Lett, 2015, 15(11):7488-7496
- [21] Viallard C, Larrivée B. Tumor angiogenesis and vascular normalization: alternative therapeutic targets [J]. Angiogenesis, 2017, 20(4):409-426
- [22] 潘奇,罗春海,马婉玲,等. 血管内皮生长因子C靶向分子探针在肝细胞癌大鼠模型中的特异性磁共振成像及临床意义[J]. 临床肝胆病杂志, 2018, 34(7):1492-1496
- [23] Song Y, Li W, Meng S, et al. Dual integrin $\alpha\beta 3$ and NRP-1-targeting paramagnetic liposome for tumor early detection in magnetic resonance imaging [J]. Nanoscale Res Lett, 2018, 13(1):380
- [24] Lee CW, Choi SI, Lee SJ, et al. The effectiveness of ferritin as a contrast agent for cell tracking MRI in mouse cancer models [J]. Yonsei Med J, 2017, 58(1):51-58
- [25] Wu MR, Liu HM, Lu CW, et al. Organic anion-transporting polypeptide 1B3 as a dual reporter gene for fluorescence and magnetic resonance imaging [J]. FASEB J, 2018, 32(3):1705-1715
- [26] Lesniak WG, Oskolkov N, Song X, et al. Salicylic acid conjugated dendrimers are a tunable, high performance CEST MRI nano platform [J]. Nano Lett, 2016, 16(4):2248-2253
- [27] Bar-Shir A, Liu G, Liang Y, et al. Transforming thymidine into a magnetic resonance imaging probe for monitoring gene expression [J]. J Am Chem Soc, 2013, 135(4):1617-1624
- [28] Cao M, Mao J, Duan X, et al. *In vivo* tracking of the tropism of mesenchymal stem cells to malignant gliomas using reporter gene-based MR imaging [J]. Int J Cancer, 2018, 142(5):1033-1046
- [29] Paech D, Windschuh J, Oberhollenzer J, et al. Assessing the predictability of IDH mutation and MGMT methylation status in glioma patients using relaxation-compensated multipool CEST MRI at 7.0 T [J]. Neuro Oncol, 2018, 20(12):1661-1671
- [30] Grist JT, McLean MA, Riemer F, et al. Quantifying normal human brain metabolism using hyperpolarized $[1-^{13}\text{C}]$ pyruvate and magnetic resonance imaging [J]. Neuroimage, 2019, 189:171-179
- [31] Yan R, Haopeng P, Xiaoyuan F, et al. Non-gaussian diffusion MR imaging of glioma: comparisons of multiple diffusion parameters and correlation with histologic grade and MIB-1 (Ki-67 labeling) index [J]. Neuroradiology, 2016, 58(2):121-132
- [32] 闫天芳,刘钊,刘攀,等. 3D-1H-MRS多模态成像技术辅助下扩大胶质瘤手术切除范围的研究[J]. 临床神经外科杂志, 2018, 15(6):452-456
- [33] Sekar R, Mani P. Multi-functional core-shell $\text{Fe}_3\text{O}_4@$ Au nanoparticles for cancer diagnosis and therapy [J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2019, 174:252-259
- [34] Han Z, Cheng H, Parvani JG, et al. Magnetic resonance molecular imaging of metastatic breast cancer by targeting extracellular matrix fibronectin in the tumor microenvironment [J]. Magn Reson Med, 2018, 79(6):3135-3143
- [35] Pais A, Degani H. Estrogen receptor-targeted contrast agents for molecular magnetic resonance imaging of breast cancer hormonal status [J]. Front Oncol, 2016, 6:100
- [36] Li M, Wang Y, Liu M, et al. Multimodality reporter gene imaging: construction strategies and application [J]. Theranostics, 2018, 8(11):2954-2973

[收稿日期] 2019-02-02