

荧光纳米成像在乳腺癌诊断中的应用

彭天娇^{1,2}, 陈蒙蒙³

(1.河南科技大学临床医学院, 河南 洛阳 471000;

2.河南科技大学第一附属医院肿瘤内科, 河南 洛阳 471000;

3.漯河医学高等专科学校第二附属医院肿瘤内科, 河南 漯河 462300)

摘要:乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤, 严重威胁人类健康。纳米材料由于其体积小、比表面积大和活性高等特点, 被用于恶性肿瘤的诊疗中。本研究从乳腺癌的酸性环境、氧化还原反应和其他靶向特点对纳米荧光探针在乳腺癌诊断中的应用研究进行综述。

关键词: 纳米探针; 荧光成像; 乳腺癌

中图分类号: R737.9; R730.44

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2021.20.013

文章编号: 1006-1959(2021)20-0054-04

Application of Fluorescence Nanoimaging in Diagnosis of Breast Cancer

PENG Tian-jiao^{1,2}, CHEN Meng-meng³

(1.Clinical Medical College, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471000, Henan, China;

2.Department of Oncology, First Affiliated Hospital of Henan University of Science and Technology, Luoyang 471000, Henan, China;

3.Department of oncology, the Second Affiliated Hospital of Luohe Medical College, Luohe 462300, China)

Abstract: Breast cancer is the most common malignant tumor in women, which seriously threatens human health. Nanomaterials are used in the diagnosis and treatment of malignant tumors due to their small size, large specific surface area and high activity. This paper reviews the application of nanofluorescent probes in the diagnosis of breast cancer from the acid environment, redox reaction and other targeting characteristics of breast cancer.

Key words: Nanoprobe; Fluorescence imaging; Breast cancer

恶性肿瘤严重威胁人类健康, 2020 年新发各类癌症共计 1930 万例, 其中乳腺癌(breast cancer)首次超过肺癌, 成为全球最常见癌症, 占新发癌症病例的 11.7%^[1]。乳腺癌作为威胁女性健康最常见的肿瘤, 也是女性肿瘤致死的主要原因^[2]。一些病理类型, 如三阴性乳腺癌^[3], 由于其组织学分级高, 容易出现转移, 预后差、生存率低, 诊疗方案都需要进一步探索。目前乳腺癌诊断的金标准是对原发灶和区域淋巴结的空芯针穿刺活检。乳腺磁共振(MRI)检查可用于分期评估, 并有助于评估手术治疗前后的肿瘤范围及疗效评估^[4]; 虽然 MRI 较电子计算机断层扫描(CT)辐射更小, 对于软组织的分层定位更加准确, 但乳腺 MRI 有一定的假阳性率。乳腺癌的治疗包括化疗、内分泌治疗、靶向治疗和免疫治疗等方法, 其中手术切除是乳腺癌的治疗中常用且有效的手段^[5,6]。术中准确的发现病灶, 精准勾画肿瘤及转移灶的边缘是亟待解决的问题。纳米探针成像是通过纳米材料荷载荧光物质^[7], 在肿瘤区域特异性激活从而实现荧光成像^[8]。除了可以解决特异性成像, 满足影像学诊断的问题, 还可以达到术中引导成像, 提高手术精准度^[9]。尽管纳米在细胞和动物层面的研究逐渐深入, 但仍没有实现荧光纳米探针的转化和临床应用, 说明理论可行和人体成像技术仍有待改进。了解肿瘤组织的特点及其微环境, 研究纳米探针的特性及纳米粒子技术的应用具有重要意义。

本文现结合乳腺癌的特征, 针对现有的临床影像学诊断, 对纳米荧光探针在乳腺癌肿瘤的研究进行综述, 根据乳腺癌细胞的特点分析荧光纳米探针的激活条件, 探讨其在乳腺癌成像的应用及面临的挑战, 旨在为乳腺癌的诊疗提供新思路。

1 传统影像学检查应用

乳腺癌的影像学检查对于乳腺癌的诊断、分期和治疗至关重要, 通过影像学检查可以检测肿瘤的形态、范围、定位, 浸润深度等, 指导治疗方法的选择。

1.1 诊断评估 对于需要手术治疗的患者, 术前需要进行全面的影像学评估, 传统的影像学检查包括乳腺超声和钼靶检查, 其与病理学的符合程度有一定差距, 导致术中的切缘阳性率和二次手术率提高, 影响手术效果及患者预后。乳腺 MRI 的评估效果均优于超声、钼靶等常规影像学检查^[10,11]。虽然 MRI 具有较高的阳性率, 但是假阳性率的存在不容忽视^[12]。如果病灶中存在小叶癌、纤维组织中孤立癌肿或导管原位癌时, 由于新生脉管较少, 影响肿瘤对造影剂的摄取, 会使磁共振对残余微小病灶的显影欠佳^[13,14]。目前, 对于可疑病变的组织, 建议使用 MRI 联合细针穿刺活检进一步明确病灶性质^[15]。术前乳腺 MRI 评估的另一个问题是如何在患者体内进行定位。有研究显示^[15,16], 可通过术前导丝定位或 MRI 扫描后重建病灶部位标记手术切除范围, 由于其存在技术难点, 在临床应用尚未普及^[17]。因此, 术前影像学的精准评估方法仍有待优化。

1.2 术中指导 早期乳腺癌的手术治疗需要精准的

作者简介: 彭天娇(1995.3-), 女, 河南驻马店人, 硕士研究生, 住院医师, 主要从事乳腺癌及消化道肿瘤靶向、免疫治疗方面的研究

识别病灶,最大程度的获得阴性边缘。术中B超引导应用于不可触及的乳腺癌,往往需要术前定位,术中使用实时超声引导确定手术范围,术后再次探测手术部位^[18]。术中超声具有方便、快捷、无创的特点,其中判断的准确性可以达到钼靶术前导丝定位。除了实时超声实时引导,Kaufman CS等^[19]介绍了美兰注射和导丝定位2种术中超声定位方式。选择性的针对肿瘤细胞显影成像,对于术中实时引导手术至关重要^[20]。完成超声定位后,在病灶周围注入少量美兰,由于美兰注射液是非选择性的显影成像,使用不当会在乳房内出现大面积扩散,导致病灶定位难度增加,因此,注射时需要严密控制用量和注射方式。

1.3 随访监测 超声检查在判断病灶囊实性、细微波观察肿物边缘情况等方面较钼靶检查有一定优势^[21]。在超声检查随访时出现异常声像表现,需结合钼靶,排除是否为钛夹影像或是粗大钙化影。若无法判定肿物性质,则可考虑粗针穿刺或手术切除明确诊断^[22]。对于术后的乳腺影像随访,特别是保乳术后随访,推荐使用超声联合钼靶检查^[23]。复发性乳腺癌常表现为以实性成分为主的低回声和混合回声肿物,没有明确的边界。如果手术“瘢痕”越来越大,或其边缘有变圆的趋势,则需警惕肿瘤复发^[24]。

2 纳米探针荧光成像

纳米材料作为一种新的材料广泛应用于肿瘤的诊断、治疗和预防。纳米医药利用纳米技术对不同材料和尺寸的改进,利用其独特的物理、化学、生物特性,实现其小颗粒、大比表面积和高活性等特点。自1995年FDA批准Doxil(盐酸多柔比星脂质体注射剂)上市,越来越多的与肿瘤治疗相关的纳米医药进入人们的视野^[25]。纳米药物在血液中显示出更好的稳定性,比如白蛋白紫杉醇,有更长时间的血药浓度,更好的生物利用度^[26],较传统的紫杉醇在减轻不良反应方面具有显著优势^[27]。纳米材料针对特定组织靶向结合,显示出纳米材料在乳腺癌诊疗中的巨大的潜力。与此相似的纳米探针研发针对肿瘤组织与正常组织分子生物学中的区别,分为生物响应型纳米材料和靶向荧光纳米材料。生物响应型纳米探针通过在表面修饰响应物质,可用于实时、原位成像。在肿瘤组织周围异常表达的物质激活发光,而在癌旁和正常组织中实现荧光淬灭^[28]。靶向荧光纳米材料通过针对肿瘤细胞高表达的生物标志物特异性激活^[29],实现对肿瘤边缘的精准勾画。基于此,已经开发出一系列不同材料的纳米荧光探针,见表1。

表1 乳腺癌的荧光纳米探针

名称	激活条件	材料	荧光物质	肿瘤类型
ONM-100 ^[33]	pH	胶束	吖啶菁绿	头颈部鳞癌、乳腺癌、食管癌、结直肠癌
FGPs ^[34]	pH	¹⁹ F-Gd ³⁺	¹⁹ F NMR/MRI	乳腺癌
Ag ₂ S@Fe ₂ C NPs ^[36]	TEM(Ros)	Ag ₂ S@Fe ₂ C-DSPE-PEG-iRGD	iRGD	乳腺癌
HA-HPPS ^[39]	靶向配体	5K-HA-HPPS	DiR-BOA	乳腺癌、黑色素瘤、结肠癌

3 荧光纳米探针成像条件

早期学者们通过对细菌和酵母的研究发现,细胞的基因型决定细胞的所有表型,也因此认为肿瘤的全部特性都归因于单个肿瘤细胞的生物学行为。然而,越来越多的证据表明,肿瘤的特性并非仅仅由单个肿瘤及其所携带的基因决定。在一些乳腺癌、结肠癌中,肿瘤间质被肿瘤细胞招募和利用,共同发挥作用,这说明多种不同分化方向的细胞通过异质性相互作用,构成独特的肿瘤微环境,促进肿瘤生长。荧光纳米探针可“智能识别”肿瘤组织独特的微环境或肿瘤细胞特异靶点。对于乳腺癌来说,和其他实体肿瘤相似,具有偏酸性环境,组织缺氧、高代谢等特点。

3.1 酸性环境 肿瘤细胞依赖糖酵解产生能量,形成了肿瘤周边的pH 6.5~6.9,该值低于正常的组织和体液循环系统^[30]。乳腺癌细胞糖酵解过程中产生大量乳酸和二氧化碳,为了避免细胞毒性,乳酸通过

转运体从胞内排出,大量质子通过多种质子泵被排出^[31]。此外,碳酸酐酶作用于二氧化碳的转运和代谢,可促进胞外酸性环境的形成^[32]。多种纳米材料可针对肿瘤的这种主要特征,实现“智能”的生物响应。Voskuil FJ等^[33]提出一种与吖啶菁绿偶联的超pH敏感的两亲性聚合物,由于纳米级大分子协同作用的机制,这种聚合物在酸性的肿瘤细胞外微环境中迅速不可逆转地解离,产生荧光。研究表明,该新型荧光纳米材料可作为包括乳腺癌在内的4种实体肿瘤的成像方式。这种有效、准确的成像方式可提供围绕实体肿瘤边缘的荧光圈,从而服务于荧光引导手术。有学者对此是否会对术后病理的诊断产生影响做了研究。Tang X等^[34]构建了一种具有良好生物相容性的纳米偶联物,由含¹⁹F的Gd³⁺螯合物组成,对pH响应,应用于磁共振成像。这种纳米材料作为成像的造影剂,实现对肿瘤灵敏、准确的成像。目前,pH荧光纳米探针主要利用细胞器,如溶酶体、线粒

体等实现细胞器的靶向检测。针对细胞膜、细胞核及内质网等多种细胞器的 pH 检测可为研究相关疾病的诊断成像提供更有力的支持。

3.2 氧化还原反应 诸如乳腺癌这样的实体肿瘤中,为了供应肿瘤增殖需要的营养物质,瘤体出现广泛的血管增生。但因肿瘤生长的速度超过了血管生长率,肿瘤中心会存在乏氧区域,且高代谢产生大量活性氧和谷胱甘肽浓度在肿瘤微环境中显著升高^[35]。现已有多靶点的抗血管生成的药物应用于肿瘤治疗,如阿帕替尼是用于胃-食管交界部腺癌的 1A 类推荐治疗药物,贝伐珠单抗用于肺癌的治疗等。还有研究受到这种肿瘤相关血管增生的启发,提出通过纳米酶和肿瘤血管正常化相结合来破坏肿瘤的协同增强策略^[36],此纳米酶不仅具有光热特性,而且可以在肿瘤微环境的刺激下有效产生活性氧,并且在第 2 近红外区的荧光成像和磁共振成像在活体内的可视化追踪方面也表现出了显著的成像性能。Elaimy AL 等^[37]的研究认为 VEGF 不仅促进肿瘤血管生成,对乳腺癌肿瘤细胞本身也有促进作用。因此,乳腺癌表面特异靶点的荧光纳米材料的安全性仍有待进一步考证。缺氧是肿瘤的一种特性,与晚期肿瘤进展和恶性程度有关。一种嗜氧的纳米酶结合过氧化氢可控释放氧气的特点用于乳腺癌的诊疗,该材料在辐射状态下可生成氧气,作为抑制乳腺原位肿瘤生长和肺转移的药物。超氧阴离子(O_2^-)是代谢过程中生物体产生的一种活性氧,广泛参与对细胞功能的调控。Xiao H 等^[38]研究发现了一种新的纳米材料,通过对活性分子的产生位点和浓度变化进行成像,实现对氧气的具体识别,可视化亚细胞定位,为进一步探索异常能量代谢在肿瘤发生发展中异常的信号转导提供重要的材料。

3.3 其他 各种细胞表面的酶和糖蛋白与癌细胞密切相关。透明质酸(HA)是一种线性粘多糖,是所有活生物体细胞外基质的重要组成部分。Guo X 等^[35]研究获得了水环境下稳定的纳米粒子,过表达的透明质酸酶在肿瘤细胞中实现了响应性荧光信号的关/开行为。经激光照射后,在载瘤小鼠体内实现了良好的近红外荧光成像,表明纳米粒子可作为一种生物兼容的治疗性平台,同时用于体内双模式肿瘤成像和光治疗。HA 也是 CD44 蛋白的配体,CD44 蛋白在多种肿瘤细胞表面过表达,针对这两种分子的双重靶向纳米载体,提升淋巴结内乳腺癌细胞的靶向标记和特异性识别能力。Dai Y 等^[39]研制的纳米颗粒具有快速进入前哨淋巴结并靶向标记乳腺癌细胞的能力。通过荧光成像可以长时程动态监测 5K-HA-HPPS 在淋巴结中的蓄积情况,而光声成

像则可以显示纳米颗粒在完整淋巴结中的空间分布信息。建立乳腺癌转移前哨淋巴结鉴定新方法,有效地解决了肿瘤转移的前哨淋巴结与炎症性淋巴结难以区分的难题,便于指导术中及术后乳腺癌的成像。

4 总结与展望

恶性肿瘤对人类的伤害每年造成数百万的死亡,但目前诊断和治疗策略效率有限。随着精准治疗时代的来临,纳米技术的在诊疗中显示出巨大的潜力。乳腺癌的细胞组织学特征与其他实体肿瘤相似,但针对其独特的特征,开发针对性的靶点结合,如 HER-2 受体,有助于实现特异性精准成像。肿瘤及其癌旁组织的生物学分界不明确,针对肿瘤组织的成像是否会引起癌旁的异常蓄积激活并引起相应的不良反应仍有待探讨。同时,新型纳米材料的生产、储存及应用需要更多临床实验的支持,其安全性、有效性仍有待进一步探讨。随着对癌生物学的研究以及对乳腺癌的靶点探索,纳米材料在未来将更加精准的应用于成像和治疗。

参考文献:

- [1]WHO. World Cancer Day 2021: Breast cancer overtakes lung cancer in terms of number of new cancer cases worldwide[EB/OL]. (2021 -02 -05).<https://www.iarc.who.int/infographics/world-cancer-day-2021/>
- [2]Desantis CE, Ma J, Gaudet MM, et al. Breast cancer statistics, 2019[J]. CA Cancer J Clin, 2019, 69(6):438-451.
- [3]Zhang J, Tian Q, Zhang M, et al. Immune-related biomarkers in triple-negative breast cancer [J]. Breast Cancer, 2021, 28(4): 792-805.
- [4]中国临床肿瘤学会指南工作委员会. 乳腺癌诊疗指南 2020 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2020:13.
- [5]Telli ML, Sledge GW. The future of breast cancer systemic therapy: the next 10 years[J]. J Mol Med (Berl), 2015, 93(2):119-125.
- [6]Gray RJ, Pockaj BA, Garvey E, et al. Intraoperative Margin Management in Breast-Conserving Surgery: A Systematic Review of the Literature[J]. Ann Surg Oncol, 2018, 25(1):18-27.
- [7]Wang S, Liu L, Fan Y, et al. In Vivo High-resolution Ratio-metric Fluorescence Imaging of Inflammation Using NIR-II Nanoprobes with 1550 nm Emission [J]. Nano Lett, 2019, 19(4): 2418-2427.
- [8]Huang X, Song J, Yung BC, et al. Ratiometric optical nanoprobes enable accurate molecular detection and imaging[J]. Chem Soc Rev, 2018, 47(8):2873-2920.
- [9]Zhang Y, Zhao M, Fang J, et al. Smart On-Site Immobilizable Near-Infrared II Fluorescent Nanoprobes for Ultra-Long-Term Imaging-Guided Tumor Surgery and Photothermal Therapy[J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2021, 13(11):12857-12865.
- [10]Jenjob R, Phakkeeree T, Crespy D. Core-shell particles for

- drug-delivery, bioimaging, sensing, and tissue engineering [J]. *Biomater Sci*, 2020, 8(10): 2756-2770.
- [11] Aldosary G, Tse T, Arnaout A, et al. Radiological, dosimetric and mechanical properties of a deformable breast phantom for radiation therapy and surgical applications [J]. *Biomed Phys Eng Express*, 2020, 6(3): 035028.
- [12] Veenhuizen SGA, de Lange SV, Bakker MF, et al. Supplemental Breast MRI for Women with Extremely Dense Breasts: Results of the Second Screening Round of the DENSE Trial [J]. *Radiology*, 2021, 299(2): 278-286.
- [13] Baltzer PAT, Kapetas P, Sodano C, et al. Contrast agent-free breast MRI: Advantages and potential disadvantages [J]. *Radiology*, 2019, 59(6): 510-516.
- [14] Oseledchik A, Kaiser C, Nemes L, et al. Preoperative MRI in patients with locoregional recurrent breast cancer: influence on treatment modalities [J]. *Acad Radiol*, 2014, 21(10): 1276-1285.
- [15] Aksoy SO, Sevinc AI, Ünal M, et al. Management of the axilla with sentinel lymph node biopsy after neoadjuvant chemotherapy for breast cancer: A single-center study [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2020, 99(49): e23538.
- [16] Civil YA, Duvivier KM, Perin P, et al. Optimization of Wire-guided Technique With Bracketing Reduces Resection Volumes in Breast-conserving Surgery for Early Breast Cancer [J]. *Clin Breast Cancer*, 2020, 20(6): e749-e756.
- [17] Zhou P, Zheng W, Liu Y, et al. Preoperative Contrast-Enhanced Ultrasound (CEUS) Combined with (125)I Seeds Localization in Sentinel Lymph Node Biopsy for Breast Cancer [J]. *Cancer Manag Res*, 2021(13): 1853-1860.
- [18] Schwartz GF, Goldberg BB, Rifkin MD, et al. Ultrasonography: an alternative to x-ray-guided needle localization of non-palpable breast masses [J]. *Surgery*, 1988, 104(5): 870-873.
- [19] Kaufman CS, Jacobson L, Bachman B, et al. Intraoperative ultrasound facilitates surgery for early breast cancer [J]. *Ann Surg Oncol*, 2002, 9(10): 988-993.
- [20] Muratov S, Canelo-Aybar C, Tarride JE, et al. Monitoring and evaluation of breast cancer screening programmes: selecting candidate performance indicators [J]. *BMC Cancer*, 2020, 20(1): 795.
- [21] Shi A, Dong Y, Xie X, et al. Opening label, dynamic prospective cohort study on the small focus less than 1.0 cm shown by type B ultrasound in breast [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2020, 99(19): e20158.
- [22] Gu LS, Zhang R, Wang Y, et al. Characteristics of contrast-enhanced ultrasonography and strain elastography of locally advanced breast cancer [J]. *J Thorac Dis*, 2019, 11(12): 5274-5289.
- [23] Boisserie-Lacroix M, Doutriaux-Dumoulin I, Chopier J, et al. Diagnostic accuracy of breast MRI for patients with suspicious nipple discharge and negative mammography and ultrasound: a prospective study [J]. *Eur Radiol*, 2021.
- [24] 宋尔卫. 影像技术进展对保乳手术的促进与影像 [M] // 苏逢锡, 陈凯, 贾卫娟, 等. 乳腺癌的保乳治疗. 北京: 人民卫生出版社, 2018: 96-113.
- [25] Bobo D, Robinson KJ, Islam J, et al. Nanoparticle-Based Medicines: A Review of FDA-Approved Materials and Clinical Trials to Date [J]. *Pharm Res*, 2016, 33(10): 2373-2387.
- [26] Sofias AM, Dunne M, Storm G, et al. The battle of "nano" paclitaxel [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2017(122): 20-30.
- [27] Li Y, Chen X, Zhu Q, et al. Retrospective comparisons of nanoparticle albumin-bound paclitaxel and docetaxel neoadjuvant regimens for breast cancer [J]. *Nanomedicine (Lond)*, 2021, 16(5): 391-400.
- [28] de Boer E, Warram JM, Tucker MD, et al. In Vivo Fluorescence Immunohistochemistry: Localization of Fluorescently Labeled Cetuximab in Squamous Cell Carcinomas [J]. *Sci Rep*, 2015(5): 10169.
- [29] van Duijnhoven SM, Robillard MS, Langereis S, et al. Bioreponsive probes for molecular imaging: concepts and in vivo applications [J]. *Contrast Media Mol Imaging*, 2015, 10(4): 282-308.
- [30] Kan A, Wang S, Zhang L, et al. A functional DNA-modified dual-response gold nanoprobe for simultaneously imaging the acidic microenvironment and membrane proteins of tumor cells [J]. *Talanta*, 2021(229): 122284.
- [31] Peng J, Cui Y, Xu S, et al. Altered glycolysis results in drug-resistant in clinical tumor therapy [J]. *Oncol Lett*, 2021, 21(5): 369.
- [32] Mboge MY, Chen Z, Khokhar D, et al. A non-catalytic function of carbonic anhydrase IX contributes to the glycolytic phenotype and pH regulation in human breast cancer cells [J]. *Biochem J*, 2019, 476(10): 1497-1513.
- [33] Voskuil FJ, Steinkamp PJ, Zhao T, et al. Exploiting metabolic acidosis in solid cancers using a tumor-agnostic pH-activatable nanoprobe for fluorescence-guided surgery Exploiting metabolic acidosis in solid cancers using a tumor-agnostic pH-activatable nanoprobe for fluorescence-guided surgery [J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 3257.
- [34] Tang X, Gong X, Ming J, et al. Fluorinated Gadolinium Chelate-Grafted Nanoconjugates for Contrast-Enhanced T1-Weighted 1H and pH-Activatable 19F Dual-Modal MRI [J]. *Anal Chem*, 2020, 92(24): 16293-16300.
- [35] Guo X, Wen C, Xu Q, et al. A full-spectrum responsive B-TiO₂@SiO₂-HA nanotheranostic system for NIR-II photoacoustic imaging-guided cancer phototherapy [J]. *J Mater Chem B*, 2021, 9(8): 2042-2053.
- [36] Wang Z, Li Z, Sun Z, et al. Visualization nanozyme based on tumor microenvironment "unlocking" for intensive combination therapy of breast cancer [J]. *Sci Adv*, 2020, 6(48): eabc8733.
- [37] Elaimy AL, Guru S, Chang C, et al. VEGF-neuropilin-2 signaling promotes stem-like traits in breast cancer cells by TAZ-mediated repression of the Rac GAP beta2-chimaerin [J]. *Sci Signal*, 2018, 11(528): eao6897.
- [38] Xiao H, Zhang W, Li P, et al. Versatile Fluorescent Probes for Imaging the Superoxide Anion in Living Cells and In Vivo [J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2020, 59(11): 4216-4230.
- [39] Dai Y, Yu X, Wei J, et al. Metastatic status of sentinel lymph nodes in breast cancer determined with photoacoustic microscopy via dual-targeting nanoparticles [J]. *Light Sci Appl*, 2020(9): 164.

收稿日期: 2021-04-13; 修回日期: 2021-04-26

编辑/宋伟