



基于表面增强拉曼光谱技术的肿瘤标志物检测进展

黄笑天, 李斌, 莫天录*, 刘箐*, 于影, 吴娅芳, 王英林, 姜嘉烨

上海理工大学健康科学与工程学院, 上海 200093

* 联系人, E-mail: motianlu@usst.edu.cn; liuq@usst.edu.cn

2022-10-24 收稿, 2022-12-24 修回, 2022-12-26 接受, 2023-01-03 网络版发表

上海市医工交叉项目、上海市军民融合项目和青年教师培养资助计划(10-22-308-803)资助

摘要 肿瘤标志物是反映肿瘤发生情况的物质, 与肿瘤诊断、治疗与监测息息相关, 肿瘤标志物检测是肿瘤早期筛查的有效手段. 随着精准医疗时代来临, 对肿瘤标志物检测技术的要求不断提高, 表面增强拉曼光谱(surface-enhanced Raman spectroscopy, SERS)技术利用纳米粒子间的局域表面等离子共振效应, 增强分子光谱信号, 提高检测灵敏度和准确度, 成为了肿瘤标志物检测技术研究的热点, 在生物医学、临床诊断等领域具有极大发展潜力. 本文以组织检测和液体活检为分类, 综述了近5年基于SERS肿瘤标志物检测的研究进展, 并提出了通过样品处理、基底改进和探针制备等方式提升标志物检测灵敏度、特异性的思路. 同时, 本文对SERS技术在临床应用中面临的挑战和发展进行了分析与展望, 以期开发出更具潜力的检测技术.

关键词 肿瘤标志物, 表面增强拉曼光谱技术, 肿瘤诊断, 液体活检, 生物医学

肿瘤是严重威胁人类生命健康的疾病, 世界范围内恶性肿瘤的发病率仍在逐年上升^[1]. 肿瘤标志物是特征性存在于恶性肿瘤细胞, 或由其异常产生的物质, 一般存在组织、血清及其他体液中, 反映肿瘤的发生和发展情况, 也可用于监测肿瘤治疗效果. 肿瘤标志物检测是肿瘤早期筛查及诊断的有效手段, 肿瘤的早筛早诊为患者争取治疗时间, 是肿瘤防治的关键. 传统肿瘤标志物检测有酶联免疫吸附测定(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)、放射免疫分析(radioimmunoassay, RIA)、质谱分析^[2]和免疫组化^[3]等方法, 但这些方法存在灵敏度低、操作繁琐等问题, 不利于肿瘤早期低浓度标志物的筛查, 因此开发一种便捷、灵敏且准确度高的肿瘤标志物检测手段具有重要意义.

拉曼散射是入射光在材料表面产生的非弹性散射, 拉曼光谱技术是由于拉曼散射使样品产生分子振动的技术^[4], 可提供样品分子独特的光谱特征. 然而拉曼光

谱的信号较弱, 并未广泛应用于检测中. 表面增强拉曼光谱(surface-enhanced Raman spectroscopy, SERS)技术是利用纳米间隙之间的局域表面等离子共振(localized surface plasmon resonance, LSPR)增强分子拉曼信号的检测技术. 贵金属纳米粒子间隙因光电场的作用产生高强度局域电场(即“热点”), 当分子处于“热点”中, 会产生很强的拉曼散射^[5]. SERS技术即将样品吸附在金属纳米粒子上, 利用“热点”实现高灵敏检测. 除了提升灵敏度外, SERS检测还能避免样品中水的干扰(水本身的拉曼散射很弱)^[6], 同时检测多个生物标志物(可从样品上的多个位置收集光谱信息)^[4], 是开发肿瘤标志物检测技术的有力工具^[7]. 对SERS检测技术的研究通常包括样本处理、基底改进以及探针制备. 此外, SERS检测通常与基于机器学习的智能分析平台结合^[8], 对已知样本数据进行建模与分析, 准确预测未知样本, 最终实现肿瘤标志物检测. 本文以基于SERS的

引用格式: 黄笑天, 李斌, 莫天录, 等. 基于表面增强拉曼光谱技术的肿瘤标志物检测进展. 科学通报, 2023, 68: 1787–1798

Huang X T, Li B, Mo T L, et al. Advances in tumor marker detection using surface-enhanced Raman spectroscopy (in Chinese). Chin Sci Bull, 2023, 68: 1787–1798, doi: [10.1360/TB-2022-1063](https://doi.org/10.1360/TB-2022-1063)

肿瘤标志物检测为例,从以上方面进行讨论,为检测传感器的研究提供一些通用的思路。

1 组织中肿瘤标志物的SERS检测

组织肿瘤标志物检测是肿瘤诊断的传统方法,研究人员将SERS技术与肿瘤组织检测相结合,用于肿瘤标志物的高灵敏度检测。对于标志物的检测研究通常起步于单细胞系,然而由于细胞分化,组织与单细胞系的成分明显不同,目前SERS已达到了组织样品检测的水平,并且开发了多种针对肿瘤组织的SERS高灵敏检测平台。如何避免由于灵敏度增强,导致样品环境影响增大的问题,是研究者在组织检测方面考虑的重点。Zhang等人^[9]基于SERS技术对正常肝和肝癌组织切片进行研究,获得了肝组织的成分变化信息。同时,通过主成分分析(principal component analysis, PCA)和线性判别分析(linear discriminate analysis, LDA)处理数据,验证了SERS对癌变肝组织和正常肝组织的分辨能力,并建立了肝组织的SERS数据集,细化了正常肝组织与肝癌组织在分子水平上差异。Czaplicka等人^[10]对组织处理方法进行改善,利用SERS技术成功识别出唾液腺肿瘤。组织匀浆是样本制备最常用的方法,通过裂解细胞以释放胞内标志物。此研究通过温度调控、酶催化以及超声处理来优化组织样品制备方法,使SERS图像的强度和分辨率明显增加。同时通过PCA、主成分回归(principal component regression, PCR)多变量校准分析和偏最小二乘判别分析(the partial least squares dis-

criminant analysis, PLSDA)处理光谱数据,成功区分出健康和肿瘤组织,如图1(a)所示。Shen等人^[11]将流式细胞术与SERS结合,从乳腺组织样本中分离出乳腺癌单细胞,避免了脂肪细胞对检测的干扰。经过对SERS信号的分析,成功区分了乳腺癌单细胞和正常上皮单细胞。Mert等人^[12]开发了一种简单快速的样品制备方法,用于诊断甲状腺肿瘤。在载玻片上制备聚二甲基硅氧烷(polydimethylsiloxane, PDMS)层,以消除玻璃的背景信号,并在冷冻组织切片中加入银纳米颗粒(silver nanoparticles, AgNPs)胶体悬液,放在载玻片上进行扫描,如图1(b)所示,预测恶性、良性和健康组织的准确度达到100%。除区分正常组织与肿瘤组织外,SERS技术还可帮助预测潜在的肿瘤标志物。Honda等人^[13]使用金纳米颗粒(gold-nanoparticle, AuN)作为SERS基底,通过检测来自Au的散射光来可视化含硫代谢物,并判断出480 cm⁻¹处SERS信号较高者(表明多硫化物存在)可作为透明细胞癌(clear cell carcinoma, CCC)患者总生存期的预测指标。

2 体液中传统肿瘤标志物的SERS检测

除组织检测外,针对肿瘤标志物的体液检测也是一种重要的肿瘤诊断方式。其主要通过检测体液中的某些物质及浓度,从而判断患者的患病情况。区别于新型液体活检技术对DNA、游离肿瘤细胞的检测,传统体液检测的对象为体液中的蛋白质、代谢物^[14]等。除建立SERS与机器学习结合的肿瘤标志物诊断平台外,

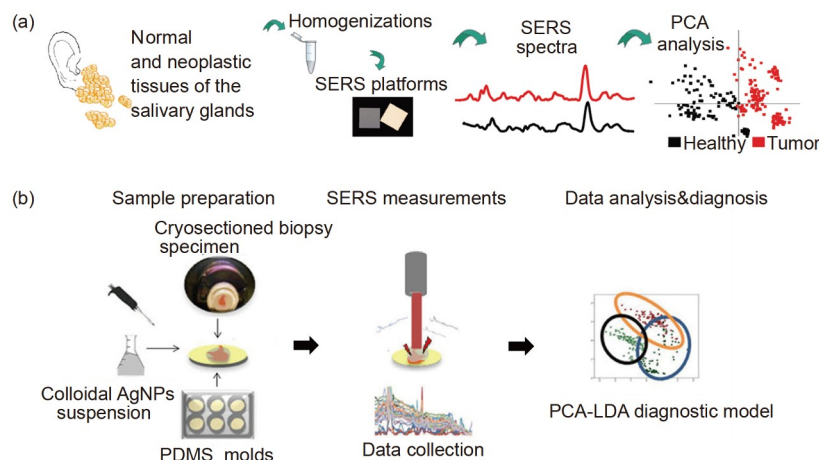


图1 (网络版彩色)SERS检测在组织肿瘤标志物中的应用。(a) PCA用于分析唾液腺匀浆SERS的差异^[10]; (b) PDMS涂层载玻片在SERS中应用及PCA-LDA分析^[12]

Figure 1 (Color online) Application of SERS detection in tissue tumor markers. (a) PCA was used to analyze differences in SERS of salivary gland homogenates^[10]; (b) application of PDMS coated slides in SERS and PCA-LDA analysis^[12]

研究者同时对样品处理、基底及探针制备进行研究, 以进一步提升SERS检测的灵敏度与准确度。

体液中肿瘤标志物的检测可分为直接检测和间接检测两类。直接检测时, 样品与SERS基底结合后直接进行扫描, 提高了检测的简便性和经济性, 对癌症的早期发现具有重要的临床价值。Lei等人^[15]以AgNPs作为底物, 将SERS技术应用于肺癌的检测。研究者对肺癌患者血清和正常血清的SERS光谱, 进行PLSDA分析, 处理肺癌和正常血清平均光谱之间的差异, 为血清样本中蛋白质的SERS分析和鉴定提供了借鉴, 有望应用于早期肺癌的临床诊断。Cheng等人^[16,17]制备了纳米等离子生物传感芯片(nanoplasmonics biosensing chip, NBC), 其由多个在纤维素滤纸上的Au-Ag纳米复合物修饰的氧化锌纳米棒组成。将检测结果分别用卷积神经网络(convolutional neural network, CNN)分类器、深度神经网络(deep neural network, DNN)建模, 构建了2种直接血清学检测平台, 可在几分钟内自动识别肝癌样本, 适用于临床所需的即时检验(point-of-care testing, POCT)。代谢产物由于尺寸比纳米粒子小得多, 难与基底靶向结合, 常采取直接方式进行检测^[14]。Xiao等人^[18]将Au-Ag复合纳米棒与血清直接混合, 首次对肝癌患者血清代谢物进行SERS检测, 同时比较了3种癌症的血清SERS, 以确定癌症患者的一般血清代谢变化, 最后采用正交偏最小二乘判别分析(orthogonal partial least-squares discrimination analysis, OPLS-DA)评估诊断准确性。结果表明, 与乳腺癌和肺癌样本相比, 肝癌样本中发现了色氨酸(tryptophan, Trp)、苯丙氨酸(phenylalanine, Phe)等标志代谢物, 且癌症组中存在共同的代谢产物脯氨酸(proline, Pro)、缬氨酸(valine, Val)等, 显示了基于SERS的代谢物检测在肿瘤诊断中广阔的应用前景。在直接检测时, 除了利用底物热点增强信号, 研究者也常通过简单样品处理来提升检测的灵敏度。咖啡环效应是指在液滴溶剂挥发时, 大多数纳米颗粒在外围沉积形成环的现象^[19]。Gao等人^[20]将银纳米颗粒分别与患者和健康者的血清混合并干燥, 在外围形成咖啡环, 环区聚集的金属纳米颗粒形成了许多“热点”, 从而极大地增强了拉曼信号。通过偏最小二乘(partial least square, PLS)和支持向量机算法(support vector machine, SVM)进行了分析, 建立了SERS光谱数据分类诊断模型, 如图2(a)所示, 该方法同时识别正常组和肝癌、前列腺癌样本的准确率达到98.04%。Lin等人^[21]利用羟基磷灰石颗粒(hydroxyapatite particles,

HAp)特异性吸附能力从血清中靶向吸附白蛋白, 随后采用蛋白释放试剂 PO_4^{3-} 溶液从HAp表面分离白蛋白, 在不损伤白蛋白结构的情况下提高样品浓度, 从而增强了样品的SERS信号, 同时将PLS和LDA结合分析数据, 成功区分了乳腺癌样本和健康样本。Lin等人^[22]以AgNPs为基底, 利用醋酸纤维素膜(cellulose acetate membrane, CA)取代传统电泳法分离底物, 简便快速地从血清中提取血清蛋白, 并通过PLS-SVM多变量分析算法区分乳腺癌患者与正常患者血清蛋白SERS信号差异, 达到了94.67%的诊断准确率。Phyo等人^[23]开发了一种基于SERS的尿液代谢物分析系统, 将银纳米线(silver nanowires, AgNWs)三维立体堆叠在玻璃纤维滤光片上, 应用于胰腺癌和前列腺癌的诊断。尿样通过离心处理后加入钙离子(Ca^{2+}), 以改善代谢物与AgNWs的结合。用PCA和OPLS-DA对SERS谱进行多变量分析, 结果显示了胰腺癌组与前列腺癌组之间以及正常对照组与联合癌组之间良好的区分性。

间接检测通常制备SERS标签, 以实现弱拉曼信号或低浓度肿瘤标志物的检测。SERS标签由拉曼报告分子(Raman reporter, RR)、核酸适配体^[24]、抗体^[25]等标记纳米颗粒制备。开发具有高灵敏度、高特异性和高选择性的SERS标签是间接检测的关键^[26]。RR一般具有较高的拉曼横截面, 能够产生强烈的信号响应^[27], 常用5,5'-二硫双(2-硝基苯甲酸)(5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid), DTNB)、4-巯基苯甲酸(4-mercaptobenzoic acid, 4-MBA)、对-氨基苯硫酚(p-aminothiophenol, pATP)等。核酸适配体、抗体等生物元件用于特异性和选择性识别目标分子, 人血清中谷胱甘肽(glutathione, GSH)的拉曼散射截面较小, 拉曼响应较低, 难以直接进行SERS检测。Li等人^[28]将DTNB标记于金纳米膜制备拉曼探针, 以实现GSH的检测。基于DTNB与GSH之间的二硫键-硫键交换反应, DTNB的二硫键断裂, 成为TNB分子。在中性或碱性环境中, TNB会被水解成阴离子, 通过静电相互作用结合至带正电的金纳米膜表面, 产生增强SERS信号, 该SERS传感器的检出限为 5×10^{-8} mol/L。γ-谷氨酰转肽酶(γ-glutamyl transpeptidase, GGT)是与肝癌相关的标志物, Jiang等人^[29]制备出谷氨酰胺基团探针, GGT可催化探针的γ-谷氨酰基键裂解, 产生新物质使SERS信号发生显著变化, 可在0.2~200 U/L浓度范围内定量检测GGT, 检测限达到0.09 U/L。该研究检测结果与ELISA一致, 且SERS系统操作简便, 不易受酶活性的影响, 显示了SERS检测在

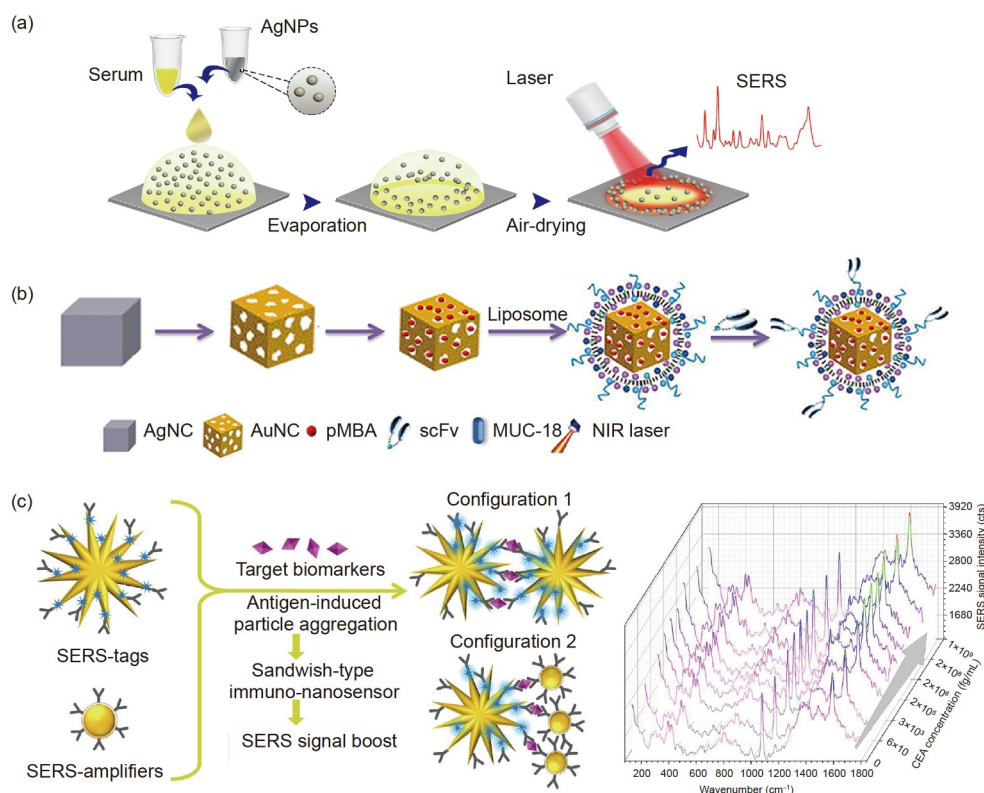


图2 (网络版彩色)SERS检测在体液肿瘤标志物中的应用。(a) 基于咖啡环效应的血清SERS检测示意图^[20];(b) 金纳米笼与抗体探针制备示意图^[30];(c) 夹心型海胆SERS免疫纳米传感器检测过程示意图^[32]
 Figure 2 (Color online) Application of SERS detection in body fluid tumor markers. (a) Schematic diagram of serum SERS detection based on coffee ring effect^[20]; (b) schematic diagram of gold nanocages and antibody probes preparation^[30]; (c) schematic diagram of sandwich type sea urchin SERS immune nanosensor detection process^[32]

临床应用中的可行性。黑色素瘤细胞黏附分子(MUC-18)是一种糖蛋白表面受体,可调控许多上皮性癌症如黑色素瘤的发展。Farahavar等人^[30]将脂质体涂层的金纳米笼(Au nanocages, AuNCs)用4-MBA与MUC-18单链抗体(single-chain antibody, scFv)修饰,作为SERS标签,如图2(b)所示。脂质体层用于防止RR流出并促进标签的生物相容性,而scFv可特异性结合靶标,同时具有更强的肿瘤穿透性,实现了表达MUC18的黑色素瘤细胞(A375)的SERS成像,对黑色素瘤的非侵入性诊断具有极大的应用价值。

基底作为SERS传感器的重要组成部分,其本身材料、大小和形状也影响着SERS信号。如银纳米粒子具有更强的LSPR性能,而金纳米粒子的化学稳定性更好,因此制备的Ag-Au复合基底具有更好的适用性。作为新开发的SERS基底,半导体纳米材料兼具低成本和高稳定性的优点。此外,纳米星和纳米海胆有大量尖锐的尖峰和凹陷来产生信号增强的“热点”。夹心结构以及“核-壳”纳米结构^[31]可用来复合多种材料性能,制备优化和

增强的SERS基底,如在Au纳米颗粒的表面制备薄SiO₂层,可减少样品中杂质的吸附。Tatar等人^[32]分别制备了金纳米海胆(gold nanourchin, GNU)和金纳米球(gold nanosphere, GNS),并设计GNU-GNU及GNU-GNS两种夹心传感器,用于检测癌胚抗原相关细胞黏附分子5(CEA-CAM5),如图2(c),结果表明,双海胆夹心结构可产生更强的电场,是用于SERS检测最有前景的结构。Zhu等人^[33]设计了一种可产生大量热点的蜂窝结构SERS芯片,用于肝细胞癌标志物甲胎蛋白(AFP)和甲胎蛋白异质体(AFP-L3)的检测,检测范围为0.003~3 ng/mL,并能准确测定AFP-L3的比例,在肝癌的临床诊断中显示出巨大的应用潜力。Gao等人^[34]开发了一种基于SERS的双平行通道液滴微流控装置,实现了游离前列腺特异性抗原(f-PSA)和总前列腺特异性抗原(t-PSA)标志物的同时检测。检测时,在通道3个入口分别加入样本、捕获抗体标记的磁珠和检测抗体标记的SERS标签,通过弯曲通道在每个液滴中快速形成磁性夹心复合物,并利用装置中的磁棒将复合物分离

出来.最后测量液滴的SERS信号,以进行f-PSA和t-PSA的定量分析.检测耗时小于10 min,且检测限小于0.1 ng/mL,远低于前列腺癌的临床诊断阈值,是前列腺癌准确筛查的一种有前景的临床工具. Hu等人^[35]构造了一种基于C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)适配体的夹心探针.为防止脱落,将拉曼报告分子4-ATP封装在核-壳金纳米粒子(Au nano-bridged nanogaps particles, AuNNPs)间隙中作为标签, Ag包裹Fe₃O₄(Ag-coated Fe₃O₄-AuNPs, AgMNP)用于磁分离和浓缩CRP分子,标签上修饰CRP适配体进行特异性识别,用于AuNNPs-CRP-AgMNP夹心构造以及增强SERS信号,检测限为10⁻¹⁴ mol/L,该方法对CRP具有良好的选择性和特异性,并在实际的人血清样品检测中表现出较高的准确度. Yang等人^[36]制备了多层核-壳-卫星纳米组件(Au@Ag@SiO₂-AuNP),首次应用于基于SERS的AFP检测.该组件由具有银涂层的金纳米球(Au@Ag)核、超薄二氧化硅(SiO₂)壳和金纳米球(AuNP)卫星组成,并利用AFP抗体修饰卫星纳米粒子作为免疫探针,同时具有金、银纳米颗粒的SERS性能、二氧化硅良好的水溶性、外层AuNP卫星高生物相容性和稳定性以及免疫探针的特异性.该研究对AFP检测范围为1 fg/mL~1 ng/mL,最低检测限为0.3 fg/mL.此外,该研究第一次通过生长方法调节纳米粒子的层和尺寸,从而增强SERS性能.结果表明,Ag涂层较厚的Au@Ag核和单层尺寸较小的Au卫星具有最高的拉曼增强信号.这项工作为多层纳米组件的设计提供了新的思路,且显示了在肿瘤标志物SERS检测中巨大的潜力.

3 新型液体活检与SERS检测

传统体液肿瘤标志物的检测多局限于一种肿瘤,而游离DNA的发现拓展了体液检测的范围,推动了液体活检技术的发展.目前,液体活检领域的检测材料包括血清、唾液、尿液、胸腹水中循环肿瘤细胞(circulating tumor cells, CTCs)、循环肿瘤细胞DNA(circulating tumor DNA, CT-DNA)、外泌体(exosome),以及细胞外游离核酸(RNA和DNA)等.液体活检技术对癌症患者体液中肿瘤的基因组数据进行分析,提供了更精准的肿瘤信息,如肿瘤进展、肿瘤分期、异质性、和基因突变等^[37],而SERS提供的多路复用性是其成为理想生物传感器的重要原因^[38].液体活检与SERS结合后,检测灵敏度与特异性均有所提高,利用SERS技术分析多种肿瘤标志物已逐渐成为生物医学的重要技术之一.

3.1 CT-DNAs的SERS检测

CT-DNAs即肿瘤细胞破裂后进入外周血循环系统的DNA片段.检测体液中CT-DNAs的突变点位,对于患者精准治疗的选择有着重要意义.为了检测长基因序列中的突变,CT-DNAs的SERS检测常与聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)相结合,精准扩增突变序列的浓度. Li等人^[39]在PCR产物中加入突变特异性荧光探针,扩增含DNA的靶突变,提取与靶突变结合的探针用于SERS检测,利用多元线性回归(multiple linear regression, MLR)进行数据分析.该研究选取临床结直肠癌患者的血浆样本,检测了位于*BRAF*、*KRAS*和*PIK3CA*基因的6个突变,检测限为10⁻¹¹ mol/L,且可以同时检测3种突变类型. Guo等人^[40]制作了一种海胆状金纳米团簇(Au nanoclusters, AuNCs)作为基底,同时加入靶向分子信标(molecular beacons, MBs)探针,如图3(a)所示,用以检测血液样本中肺癌相关表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)突变的CT-DNAs. MBs在靶基因存在时会发生构象变化,可以使5'处的橘黄色荧光染料(cyanine 3, Cy3)产生丰富的SERS信号.同时通过采用不对称PCR技术,得到大量所需的靶标基因序列,检测限为4.24×10⁻¹⁵ mol/L,实现了对目标EGFR突变的有效检测.

3.2 CTCs的SERS检测

CTCs即从原发肿瘤上脱落,进入外周血的具有高活力和转移潜能的肿瘤细胞,是早期癌症诊断、预后和术后评估的重要工具.而CTCs在血液中含量极少,因此对检测方式的灵敏度有着更高要求. He等人^[41]合成了具有良好生物相容性、显著SERS增强性和强选择性的表面缺陷态八面体Ag₂O纳米粒子,如图3(b)所示,极大地放大了分子的拉曼散射截面,检测了来自两名肝癌患者的外周血样本,检测限可达1 cell/mL.该研究首次成功将半导体SERS基底用于CTC检测,显示了半导体SERS基底在肿瘤标志物检测中的前景. DNA walker是一种马达作用的DNA分子机器,一般以核酶为驱动力,在生物传感中可以起到信号放大的作用^[42]. Xiong等人^[43]制作的DNA walker主要由靶标适配体和锌离子特异性核酶(DNAzymes)杂交组装.适配体特异性结合CTCs,同时暴露出锌离子特异性DNAzymes,触发DNAzyme驱动的DNA walker反应,使靶细胞上修饰的单链与SERS标签上修饰的单链杂交,从而形成丰富

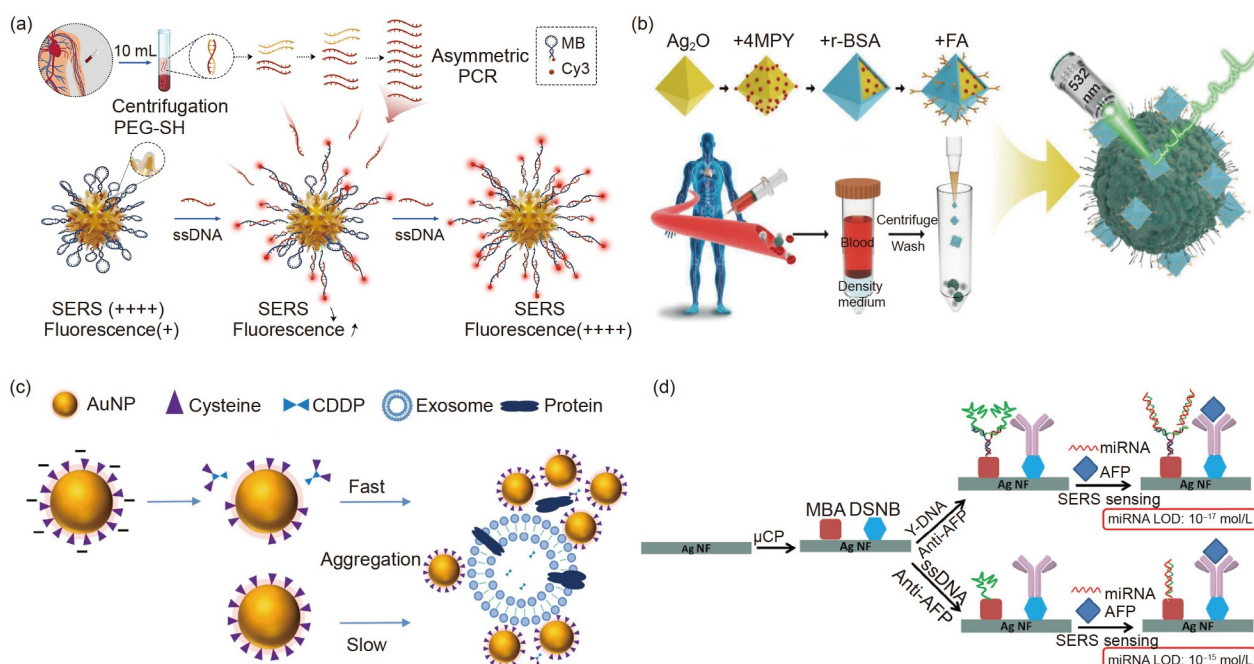


图 3 (网络版彩色)SERS技术在液体活检中的应用。(a) 制备AuNCs探针的程序示意图和不对称PCR-SERS方法的概述^[40]；(b) 基于Ag₂O的SERS生物探针原理图及其在检测外周血样中CTCs的应用^[41]；(c) CDDP和外泌体的SERS定量传感机制示意图^[48]；(d) 分支DNA策略同时检测miRNA和蛋白质肿瘤标志物^[55]

Figure 3 (Color online) Application of SERS detection in liquid biopsy. (a) Schematic illustration of the procedure employed for the fabrication of AuNCs probes and an overview of the asymmetric PCR-SERS method^[40]; (b) schematic of the designed Ag₂O-based SERS bioprobe and its application for the detection of CTCs in a peripheral blood sample^[41]; (c) illustration of sensing mechanism for SERS quantification of CDDP and exosomes^[48]; (d) branching DNA strategies simultaneously detect miRNAs and protein^[55]

SERS“热点”，实现CTCs的SERS检测，且检测后的CTCs仍具有较高的活性。Xu等人^[44]将微型过滤器(微滤器)分离方法和SERS探针结合，实现外周血中CTCs的分离和检测。首先通过微滤器根据CTCs和血细胞的大小与变形能力差异，在几分钟内分离捕获CTCs。同时制备SERS探针，以晶态核-非晶态壳结构的黑色二氧化钛纳米粒子(B-TiO₂ NPs)为SERS底物、结合拉曼报告分子茜素红(alizarin red, AR)、聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)保护层以及靶标抗体，特异性识别并富集目标CTCs。该研究将CTCs的检测时间缩短到1.5 h以内，检测限为2 cells/mL。Wang等人^[45]设计了一种双模式检测平台，将荧光短时成像和SERS的高灵敏度相结合，利用抗体与适配体的高特异性，实现对CTCs的高效检测。同时在基底覆盖亲水性PEG，降低非特异性细胞黏附。

3.3 外泌体的SERS检测

外泌体是由胞吐作用释放到细胞外的纳米囊泡，携带来自亲代细胞的蛋白质、核酸、代谢物等分子信

息，由脂类双层膜包裹，保护标志物不受外部酶的影响。外泌体可以有效地介导各种细胞间通讯，在肿瘤转移和免疫调节中具有关键作用^[46]，且由于其明显大于生物分子，与其他循环生物标志物(CTCs、核酸和代谢物)相比，具有高丰度和优异的稳定性^[47]。此外，外泌体蛋白的磷酸化状态也与肿瘤的进展密切相关，因此外泌体被视为一种有前景的肿瘤标志物。目前在临床检测中，从复杂样本环境中收集高纯度外泌体，以及对外泌体中蛋白质、核酸等信息进行综合分析是研究的重点^[46]。Hunter等人^[48]以半胱氨酸(cysteine, Cys)包覆金纳米颗粒作为SERS底物，定量检测卵巢瘤外泌体以及外泌体来源的抗癌药物顺铂(cisplatin, CDDP)浓度，判断患者对化疗药物耐药性情况。CDDP耐药癌细胞分泌显著更多的外泌体蛋白，同时每个外泌体分泌更多的CDDP。而CDDP与Cys结合会导致纳米颗粒的不稳定，即CDDP浓度越高，纳米粒子聚集速率越快。同时由于外泌体对聚集有着明显的延缓作用，则可以在确定CDDP聚集反应的基础上实现对外泌体的定量分析，从而通过多因素确定化学耐药性，如图3(c)所示。Dong等

人^[49]设计了蜂窝状的镀金TiO₂大孔反蛋白石(macro-porous inverse opal, MIO)结构, 该结构可协调激光、样品和SERS基底之间的相互作用, 并且不需要任何标记, 即可实现从患者血清中分离出相关外泌体。该研究发现, 癌细胞系(前列腺/肺/肝/结肠癌)外泌体的1087 cm⁻¹ SERS峰强度(磷酸基团产生)是相应正常细胞系的两倍, 可以作为诊断癌症的有效标志, 实现非侵袭性癌症的快速诊断。Yan等人^[50]建立了基于SERS和多元分析相结合的外泌体图谱平台, 不需要识别单独的生物分子, 可以更全面系统地鉴定不同来源的外泌体, 为肿瘤诊断中外泌体标志物的检测奠定了基础。Xie等人^[51]开发了用于诊断不同亚型乳腺癌的外泌体定量分析平台, 通过在固体基底上自组装金纳米星(Au nanostar, AuSt)来制造SERS基底, 对来自4种乳腺癌细胞系MDA-MB-231、MCF-7、BT474和SKBR-3的外泌体进行SERS检测, 采用人工神经网络(artificial neural network, ANN)深度学习算法, 对检测结果进行分析预测。该平台可诊断出不同亚型乳腺癌的患者, 预测准确率达到100%。

3.4 microRNAs的SERS检测

microRNAs(miRNAs)是短的RNA分子, 存在于多种体液中, 包括血液、唾液和尿液等, 可调控基因表达, 是早期肿瘤诊断的重要标志物。大量研究表明, 人体miRNAs与特定的肿瘤表型相关, 发挥类似肿瘤抑制基因和癌基因的作用^[52]。由于miRNAs含量较低, 研发各种信号放大策略, 并将SERS技术与其他传感器结合是开发miRNAs检测技术的常用手段。横向流动分析(lateral flow assays, LFA)试纸条操作简便且成本低, 被广泛应用于检测中, 但是其不适于高灵敏的定量检测, 本课题组^[53]目前已开发出可用于SERS检测的LFA试纸条, 提升了传统试纸条的性能。Mao等人^[54]利用催化发夹组装(catalytic hairpin assembly, CHA)制备了信号放大试纸条, 用于检测非小细胞肺癌(non small cell lung cancer, NSCLC)尿液中的标志物。将生物素修饰的两个DNA发夹(H1-BIO-1和H1-BIO-2)分别与两个拉曼报告分子(4-MBA和DTNB)组装, 结合单克隆抗体一起修饰在金纳米笼(gold nanocages, GNCs)表面作为SERS标签。目标miRNA存在时, 触发CHA扩增, H1打开并与靶miRNA杂交, 生物素暴露出来, 流向检测(test, T)线时, H1与H2杂交产生大量“热点”, 由于生物素被链霉亲和素(SA)捕获在T线上, 产生灰色条带。该方法创新地将

DNA发夹与试纸条结合, 对人尿样本中miR-21和miR-196A-5P的检出限分别为 3.31×10^{-12} 和 2.18×10^{-12} mol/L。Cheng等人^[55]首次利用分支DNA(Y-DNA), 开发了一种超灵敏miRNA检测平台。Y-DNA以双链DNA(dsDNA)构建3个分支, 单链DNA(ssDNA)作为活性黏端, 如图3(d)所示。该结构兼具角度灵活性和稳定性。3个活性黏端中, 一个用于连接拉曼报告分子, 另外两个用于捕获miRNA。借助微接触打印技术在银纳米粒子膜(AgNFs)上构建不同结构域, 分别结合Y-DNA和AFP抗体, 以实现肝癌标志物miR-223和AFP的同时检测。该平台检测限低至 10^{-17} mol/L, 灵敏度比普通单链DNA提高两个数量级, 且具有较好的重现性(相对标准偏差小于20%)。检测结果与临床上常用的电化学发光免疫分析技术(electrochemiluminescence immunoassay, ECLIA)相比, 显示了良好的相关性, 证明了在临床诊断中潜在的应用前景。Zhai等人^[56]将电化学传感器与SERS结合, 制成了一种兼具时效与特异性的双模式生物传感器, 用于胃癌相关miRNA-106a的检测。银纳米棒(Ag nanorods, AgNRs)具有优异的SERS性能, 常作为SERS基底, 但由于银在电解液中稳定性较差, 限制了AgNRs阵列在电化学检测中的应用, 涂覆多功能二硫化钼纳米片后的AgNRs在电解液中表现出明显的电化学和SERS稳定性, 实现了双模式传感器的制备。Pang等人^[57]将用于捕获靶标的SERS基底Fe₃O₄@Ag-DNA与SERS标签Au@Ag@DTNB相结合, 制成双SERS生物传感器。当目标microRNA存在时会与探针结合, 随后加入双链体特异性核酸酶(duplex-specific nuclease, DSN)进行切割, 破坏双链结构, 一方面重新释放目标miRNAs继续进入下一周期, 另一方面SERS标签脱落, 激发SERS信号。这种双SERS增强和循环信号放大检测方法的检测限达到了 10^{-18} mol/L, 实现了胰腺炎、胰腺癌及正常样本的区分。Kim等人^[58]将DNA探针固定于金纳米柱底物上, 再将尿外泌体miRNAs和DNA探针偶联的纳米金粒子依次杂交到底物上, 形成分层的3D SERS结构, 产生多个“热点”, 将SERS信号极大增强, 检测限达到 10^{-17} mol/L。Kim等人^[59]研制了种子介导生长的Ag纳米柱底物(seed-mediated grown Ag nanopillars, SMGAP), 通过电化学还原在金纳米底物上生长银纳米柱结构, 实现乳腺癌相关的两个反向关系靶点miR-21和miR-155的检测, 并对尿液样本中miRNA进行了定量分析。当目标miRNA不存在时, 带有拉曼报告染料的探针序列与基底表面的捕获序列杂交, SERS信号增强;

当目标序列存在时, 探针序列与捕获探针分离, 并与目标序列形成发夹结构, SERS信号关闭. 当在SERS底物上装置不同探针时, 可以检测多个目标序列.

4 总结与展望

基于SERS技术的肿瘤标志物检测取得了飞速进展, 具有灵敏度高、特异性强和检测速度快等优势, 并且可以在复杂的临床环境中同时识别不同的分子信息^[60], 在临床肿瘤诊断中具有良好的前景. 本文对上述研究进行总结与比较, 如表1所示, 并为SERS检测灵敏度、特异性以及选择性的提升提供了改进的思路. (1) 使用特异性吸附材料、膜分离等技术优化检测样本, 以消除SERS检测中样本基质的影响. (2) 通过抗体、核酸适配体等特异性探针, 靶向吸附目标标志物分子, 提高检测结果的特异性, 以减小因灵敏度过高造成过度诊断的影响. (3) 通过对基底中金属纳米粒子的结构及尺寸进行研究, 为产生更多“热点”以提高灵敏度提供了可能. (4) 结合电化学等其他领域, 弥补SERS检测的

不足. 然而目前的研究还未成熟应用于临床检测中, 需从以下方面进行改进: (1) SERS标签与生物分子的相互作用. 在复杂生物样本中, SERS标签可能改变目标分子的天然构象, 而样品中生物分子的吸附也可能干扰SERS探针, 导致检测结果不稳定、灵敏度降低^[61]等问题. 在研究中要关注SERS标签的稳定性和生物相容性. (2) 基底的重现性和成本. 传统SERS基底仍由贵金属材料制备, 而且检测中可能污染纳米基底, 阻断热点, 造成检测结果重现性差的问题. 在实际应用中, 需要考虑SERS基底的成本效益、使用周期和易处理性, 继续寻找可替代金、银等纳米粒子的材料^[60], 制备可再生基底来降低成本, 提高实验结果的稳定性. (3) SERS技术作为相对新兴发展的技术, 在临床应用阶段探索时间短, 还需要进行大量临床验证与推广. 此外, 在未来, 应用SERS技术的优势, 预测潜在的肿瘤标志物并对多种肿瘤标志物进行联合检测, 利用人工智能建立肿瘤诊断模型, 可大大提高检测的灵敏度和准确度, 同时制备便携、可用于POCT的传感器^[62]将成为研究的趋势,

表1 基于SERS的肿瘤标志物检测方法比较

Table 1 Comparison of tumor marker detection methods based on SERS

检测方式	优化方式	靶标	基底	准确率	灵敏度	特异性	检测限	参考文献
组织检测	直接扫描	各种生物分子	AgNPs	100%	100%	100%		[9]
	样本处理	各种生物分子	AgNPs	98%	97%	89%		[10]
	样本处理	蛋白质/核酸/脂质等	AgNPs	78.2%	75.5%	78.2%		[11]
传统液体检测	直接扫描	蛋白质	AgNPs	92.65%	100%	83.33%		[15]
	基底改进	AFP	Au@Ag NRs	91%	90%	92%	16 ng/mL	[16]
	样本处理	血清蛋白	AgNPs	94.67%	90%	97.78%		[22]
	样本处理	罗丹明B等代谢物	AgNWs	100%	100%	100%	1.77×10^{-9} mol/L	[23]
	DTNB报告分子	GSH	AuNCs				5×10^{-8} mol/L	[28]
	GGT基团探针	GGT	AgNPs				0.09 U/L	[29]
	蜂窝结构基底	AFP/AFP-L3	AuNPs				0.003~3 ng/mL	[33]
	抗体探针/微流控平台	f-PSA/t-PSA	AuNPs				0.1 ng/mL	[34]
	适配体探针	CRP	AuNNPs-CRP-AgMNPs				10^{-14} mol/L	[35]
	“核-壳”基底/探针	AFP	Au@Ag@SiO ₂ -AuNP				0.3 fg/mL	[36]
	MBs探针	CT-DNAs	AuNCs		75%	100%	4.24×10^{-15} mol/L	[40]
新型液体活检	合成八面体Ag ₂ O	CTCs	Ag ₂ O				1 cell/mL	[41]
	DNA walker	CTCs	Fe ₃ O ₄ @SiO ₂ @Au				1 cell/mL	[43]
	微滤器/“核-壳”基底/探针	CTCs	B-TiO ₂ NPs				2 cells/mL	[44]
	自组装金纳米星	外泌体	AuSt	100%				[51]
	报告分子/发夹DNA/IFA试纸条	miR-196A-5P	GNCs				2.18×10^{-12} mol/L	[54]
	分支DNA探针	miR-223/AFP	AgNFs				10^{-17} mol/L	[55]
	Au@Ag@DTNB标签	miRNAs	Fe ₃ O ₄ @Ag-DNA				10^{-18} mol/L	[57]

为肿瘤标志物的检测提供重要的临床价值。综上, 基于SERS技术研发的高灵敏传感器为检测技术的提升提供了切实有效的参考, 如果研究者能充分考虑上述因

素并加以克服, SERS技术有望成为最具潜力的检测手段, 并将更广泛地应用于临床诊断、食品安全、环境保护以及更多领域。

参考文献

- Allemani C, Matsuda T, Di Carlo V, et al. Global surveillance of trends in cancer survival 2000–14 (CONCORD-3): Analysis of individual records for 37513025 patients diagnosed with one of 18 cancers from 322 population-based registries in 71 countries. *Lancet*, 2018, 391: 1023–1075
- Ranjan R, Esimbekova E N, Kratasyuk V A. Rapid biosensing tools for cancer biomarkers. *Biosens Bioelectron*, 2017, 87: 918–930
- Xu A J, Wang Z Y, Zhang C Y. Advance in development of methods for sensitive detection of tumor-related biomarkers (in Chinese). *Chin Sci Bull*, 2017, 62: 859–870 [许爱君, 王子月, 张春阳. 肿瘤生物标志物的超灵敏检测研究进展. 科学通报, 2017, 62: 859–870]
- Ralbovsky N M, Lednev I K. Towards development of a novel universal medical diagnostic method: Raman spectroscopy and machine learning. *Chem Soc Rev*, 2020, 49: 7428–7453
- Ding S Y, You E M, Tian Z Q, et al. Electromagnetic theories of surface-enhanced Raman spectroscopy. *Chem Soc Rev*, 2017, 46: 4042–4076
- Haroon M, Tahir M, Nawaz H, et al. Surface-enhanced Raman scattering (SERS) spectroscopy for prostate cancer diagnosis: A review. *Photodiagnosis Photodyn Ther*, 2022, 37: 102690
- Vendrell M, Maiti K K, Dhaliwal K, et al. Surface-enhanced Raman scattering in cancer detection and imaging. *Trends Biotechnol*, 2013, 31: 249–257
- Kazemzadeh M, Hisey C L, Zargar-Shoshtari K, et al. Deep convolutional neural networks as a unified solution for Raman spectroscopy-based classification in biomedical applications. *Opt Commun*, 2022, 510: 127977
- Zhang K, Hao C, Man B, et al. Diagnosis of liver cancer based on tissue slice surface enhanced Raman spectroscopy and multivariate analysis. *Vib Spectr*, 2018, 98: 82–87
- Czaplicka M, Kowalska A A, Nowicka A B, et al. Raman spectroscopy and surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) spectra of salivary glands carcinoma, tumor and healthy tissues and their homogenates analyzed by chemometry: Towards development of the novel tool for clinical diagnosis. *Anal Chim Acta*, 2021, 1177: 338784
- Shen L S N, Du Y, Wei N, et al. SERS studies on normal epithelial and cancer cells derived from clinical breast cancer specimens. *Spectrochim Acta Part A-Mol Biomol Spectr*, 2020, 237: 118364
- Mert S, Sancak S, Aydın H, et al. Development of a SERS based cancer diagnosis approach employing cryosectioned thyroid tissue samples on PDMS. *Nanomed-Nanotechnol Biol Med*, 2022, 44: 102577
- Honda K, Hishiki T, Yamamoto S, et al. On-tissue polysulfide visualization by surface-enhanced Raman spectroscopy benefits patients with ovarian cancer to predict post-operative chemosensitivity. *Redox Biol*, 2021, 41: 101926
- Lu Y, Lin L, Ye J. Human metabolite detection by surface-enhanced Raman spectroscopy. *Mater Today Bio*, 2022, 13: 100205
- Lei J, Yang D, Li R, et al. Label-free surface-enhanced Raman spectroscopy for diagnosis and analysis of serum samples with different types lung cancer. *Spectrochim Acta Part A-Mol Biomol Spectr*, 2021, 261: 120021
- Cheng N, Fu J, Chen D, et al. An antibody-free liver cancer screening approach based on nanoplasmonics biosensing chips via spectrum-based deep learning. *NanoImpact*, 2021, 21: 100296
- Cheng N, Chen D, Lou B, et al. A biosensing method for the direct serological detection of liver diseases by integrating a SERS-based sensor and a CNN classifier. *Biosens Bioelectron*, 2021, 186: 113246
- Xiao R, Zhang X, Rong Z, et al. Non-invasive detection of hepatocellular carcinoma serum metabolic profile through surface-enhanced Raman spectroscopy. *Nanomed-Nanotechnol Biol Med*, 2016, 12: 2475–2484
- Xue C G, Tang Y, Li S Q, et al. Surface enhanced Raman spectroscopy for detection of organic dyes based on adjustable coffee ring effect (in Chinese). *Chin J Anal Chem*, 2021, 49: 151–158 [薛长国, 唐毓, 李世琴, 等. 基于可调控咖啡环效应的表面增强拉曼光谱法检测有机染料. 分析化学, 2021, 49: 151–158]
- Gao S, Lin Y, Zhao X, et al. Label-free surface enhanced Raman spectroscopy analysis of blood serum via coffee ring effect for accurate diagnosis of cancers. *Spectrochim Acta Part A-Mol Biomol Spectr*, 2022, 267: 120605
- Lin Y, Gao S, Zheng M, et al. A microsphere nanoparticle based-serum albumin targeted adsorption coupled with surface-enhanced Raman scattering for breast cancer detection. *Spectrochim Acta Part A-Mol Biomol Spectr*, 2021, 261: 120039
- Lin Y, Gao J, Tang S, et al. Label-free diagnosis of breast cancer based on serum protein purification assisted surface-enhanced Raman spectroscopy. *Spectrochim Acta Part A-Mol Biomol Spectr*, 2021, 263: 120234
- Phyo J B, Woo A, Yu H J, et al. Label-free SERS analysis of urine using a 3D-stacked AgNW-glass fiber filter sensor for the diagnosis of pancreatic

- cancer and prostate cancer. *Anal Chem*, 2021, 93: 3778–3785
- 24 Atapour A, Khajehzadeh H, Shafie M, et al. Gold nanoparticle-based aptasensors: A promising perspective for early-stage detection of cancer biomarkers. *Mater Today Commun*, 2022, 30: 103181
- 25 Yang S J, Lee J U, Jeon M J, et al. Highly sensitive surface-enhanced Raman scattering-based immunosensor incorporating half antibody-fragment for quantitative detection of Alzheimer's disease biomarker in blood. *Anal Chim Acta*, 2022, 1195: 339445
- 26 Zong C, Xu M, Xu L J, et al. Surface-enhanced Raman spectroscopy for bioanalysis: Reliability and challenges. *Chem Rev*, 2018, 118: 4946–4980
- 27 Zhou Z H, Liu X X, Huang H, et al. Application of surface-enhanced Raman scattering based on nano-signal tags in pathogen detection (in Chinese). *Chin Biotech*, 2021, 41: 70–77 [周紫卉, 刘晓娟, 黄昊, 等. 基于纳米信号标签的表面增强拉曼散射在病原菌检测中的应用. *中国生物工程杂志*, 2021, 41: 70–77]
- 28 Li Y, Jiang L, Zou Y, et al. Highly reproducible SERS sensor based on self-assembled Au nanocubic monolayer film for sensitive and quantitative detection of glutathione. *Appl Surf Sci*, 2021, 540: 148381
- 29 Jiang L, Guo D, Wang L, et al. Sensitive and selective SERS probe for detecting the activity of γ -glutamyl transpeptidase in serum. *Anal Chim Acta*, 2020, 1099: 119–125
- 30 Farahavar G, Abolmaali S S, Nejatollahi F, et al. Single-chain antibody-decorated Au nanocages@liposomal layer nanoprobe for targeted SERS imaging and remote-controlled photothermal therapy of melanoma cancer cells. *Mater Sci Eng-C*, 2021, 124: 112086
- 31 Li J F, Zhang Y J, Ding S Y, et al. Core-shell nanoparticle-enhanced Raman spectroscopy. *Chem Rev*, 2017, 117: 5002–5069
- 32 Tatar A S, Farcău C, Vulpoi A, et al. Development and evaluation of a gold nanourchin (GNU)-based sandwich architecture for SERS immunosensing in liquid. *Spectrochim Acta Part A-Mol Biomol Spectr*, 2022, 273: 121069
- 33 Zhu A, Zhao X, Cheng M, et al. Nanohoneycomb surface-enhanced Raman spectroscopy-active chip for the determination of biomarkers of hepatocellular carcinoma. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11: 44617–44623
- 34 Gao R, Cheng Z, Wang X, et al. Simultaneous immunoassays of dual prostate cancer markers using a SERS-based microdroplet channel. *Biosens Bioelectron*, 2018, 119: 126–133
- 35 Hu Z, Zhou X, Duan J, et al. Aptamer-based novel Ag-coated magnetic recognition and SERS nanotags with interior nanogap biosensor for ultrasensitive detection of protein biomarker. *Sens Actuat B-Chem*, 2021, 334: 129640
- 36 Yang Y, Zhu J, Zhao J, et al. Growth of spherical gold satellites on the surface of Au@Ag@SiO₂ core-shell nanostructures used for an ultrasensitive SERS immunoassay of alpha-fetoprotein. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2019, 11: 3617–3626
- 37 Lone S N, Nisar S, Masoodi T, et al. Liquid biopsy: A step closer to transform diagnosis, prognosis and future of cancer treatments. *Mol Cancer*, 2022, 21: 79
- 38 Shanmugasundaram K B, Li J, Sina A I, et al. Toward precision oncology: SERS microfluidic systems for multiplex biomarker analysis in liquid biopsy. *Mater Adv*, 2022, 3: 1459–1471
- 39 Li X, Yang T, Li C S, et al. Surface enhanced Raman spectroscopy (SERS) for the multiplex detection of Braf, Kras, and Pik3ca mutations in plasma of colorectal cancer patients. *Theranostics*, 2018, 8: 1678–1689
- 40 Guo T, Li W, Qian L, et al. Highly-selective detection of EGFR mutation gene in lung cancer based on surface enhanced Raman spectroscopy and asymmetric PCR. *J Pharm Biomed Anal*, 2020, 190: 113522
- 41 He M, Lin J, Akakuru O U, et al. Octahedral silver oxide nanoparticles enabling remarkable SERS activity for detecting circulating tumor cells. *Sci China Life Sci*, 2022, 65: 561–571
- 42 Huang H, Wang J, Huo B Y, et al. Progress of nucleic acid-mediated signal amplification optical biosensor for food contaminants detection (in Chinese). *Chin J Anal Chem*, 2022, 41: 103–112 [黄惠, 王江, 霍冰洋, 等. 核酸介导信号放大光学生物传感器在食品污染物检测中的应用. *分析实验室*, 2022, 41: 103–112]
- 43 Xiong J, Dong C, Zhang J, et al. DNA walker-powered ratiometric SERS cytosensor of circulating tumor cells with single-cell sensitivity. *Biosens Bioelectron*, 2022, 213: 114442
- 44 Xu X, Lin J, Guo Y, et al. TiO₂-based surface-enhanced Raman scattering bio-probe for efficient circulating tumor cell detection on microfilter. *Biosens Bioelectron*, 2022, 210: 114305
- 45 Wang J, Zhang R, Ji X, et al. SERS and fluorescence detection of circulating tumor cells (CTCs) with specific capture-release mode based on multifunctional gold nanomaterials and dual-selective recognition. *Anal Chim Acta*, 2021, 1141: 206–213
- 46 Tan J, Wen Y, Li M. Emerging biosensing platforms for quantitative detection of exosomes as diagnostic biomarkers. *Coord Chem Rev*, 2021, 446: 214111
- 47 Wang F, Gu Y Y, Liu W T, et al. Precise molecular profiling of circulating exosomes using a metal-organic framework-based sensing interface and an enzyme-based electrochemical logic platform. *Anal Chem*, 2022, 94: 875–883
- 48 Hunter R A, Asare-Werehene M, Mandour A, et al. Determination of chemoresistance in ovarian cancer by simultaneous quantification of exosomes and exosomal cisplatin with surface enhanced Raman scattering. *Sens Actuat B-Chem*, 2021, 354: 131237

- 49 Dong S, Wang Y, Liu Z, et al. Beehive-inspired macroporous SERS probe for cancer detection through capturing and analyzing exosomes in plasma. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2020, 12: 5136–5146
- 50 Yan Z, Dutta S, Liu Z, et al. A label-free platform for identification of exosomes from different sources. *ACS Sens*, 2019, 4: 488–497
- 51 Xie Y C Z, Su X M, Wen Y, et al. Artificial intelligent label-free SERS profiling of serum exosomes for breast cancer diagnosis and postoperative assessment. *Nano Lett*, 2022, 22: 7910–7918
- 52 Zeng K, Xu L J. Research progress of exosome-derived microRNA in gastrointestinal tumors (in Chinese). *J Med Postgrad*, 2020, 33: 108–112 [曾凯, 许利剑. 外泌体源性miRNA在消化道肿瘤中的研究进展. *医学研究生学报*, 2020, 33: 108–112]
- 53 Yan S, Liu C, Fang S, et al. SERS-based lateral flow assay combined with machine learning for highly sensitive quantitative analysis of *Escherichia coli* O157:H7. *Anal Bioanal Chem*, 2020, 412: 7881–7890
- 54 Mao Y, Sun Y, Xue J, et al. Ultra-sensitive and high efficiency detection of multiple non-small cell lung cancer-related miRNAs on a single test line in catalytic hairpin assembly-based SERS-LFA strip. *Anal Chim Acta*, 2021, 1178: 338800
- 55 Cheng L, Zhang Z, Zuo D, et al. Ultrasensitive detection of serum microRNA using branched DNA-based SERS platform combining simultaneous detection of α -fetoprotein for early diagnosis of liver cancer. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2018, 10: 34869–34877
- 56 Zhai J, Li X, Zhang J, et al. SERS/electrochemical dual-mode biosensor based on multi-functionalized molybdenum disulfide nanosheet probes and SERS-active Ag nanorods array electrodes for reliable detection of cancer-related miRNA. *Sens Actuat B-Chem*, 2022, 368: 132245
- 57 Pang Y, Wang C, Lu L C, et al. Dual-SERS biosensor for one-step detection of microRNAs in exosome and residual plasma of blood samples for diagnosing pancreatic cancer. *Biosens Bioelectron*, 2019, 130: 204–213
- 58 Kim W H, Lee J U, Jeon M J, et al. Three-dimensional hierarchical plasmonic nano-architecture based label-free surface-enhanced Raman spectroscopy detection of urinary exosomal miRNA for clinical diagnosis of prostate cancer. *Biosens Bioelectron*, 2022, 205: 113116
- 59 Kim J, Park J, Ki J, et al. Simultaneous dual-targeted monitoring of breast cancer circulating miRNA via surface-enhanced Raman spectroscopy. *Biosens Bioelectron*, 2022, 207: 114143
- 60 Joseph M M, Narayanan N, Nair J B, et al. Exploring the margins of SERS in practical domain: An emerging diagnostic modality for modern biomedical applications. *Biomaterials*, 2018, 181: 140–181
- 61 Panikar S S, Cialla-May D, De la Rosa E, et al. Towards translation of surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) to clinical practice: Progress and trends. *TrAC*, 2021, 134: 116122
- 62 Wang Y, Zhao C, Wang J, et al. Wearable plasmonic-metasurface sensor for noninvasive and universal molecular fingerprint detection on biointerfaces. *Sci Adv*, 2021, 7: eabe4553

Summary for “基于表面增强拉曼光谱技术的肿瘤标志物检测进展”

Advances in tumor marker detection using surface-enhanced Raman spectroscopy

Xiaotian Huang, Bin Li, Tianlu Mo^{*}, Qing Liu^{*}, Ying Yu, Yafang Wu, Yinglin Wang & Jiaye Jiang

School of Health Science and Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China

^{*} Corresponding authors, E-mail: motianlu@usst.edu.cn; liuq@usst.edu.cn

A tumor is a severe threat to human life and health. Tumor markers are usually found in tissues, serum, and other body fluids. These markers reflect tumor occurrence and are closely associated with their diagnosis, treatment, and monitoring. Tumor marker detection is an effective method for early tumor screening. Early tumor screening can save patients time and is the key to tumor prevention and treatment. With the advancement of precision medicine, tumor marker detection technology requirements are constantly increasing, and it is of great significance to develop a convenient, sensitive and accurate method for detecting tumor markers. Utilizing localized surface plasmon resonance (LSPR) among nanoparticles enhances the spectral signals of molecules, thereby improving detection sensitivity and accuracy, surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) technology is a powerful tool and a hot spot in tumor marker detection research with potential in biomedicine, clinical diagnosis, and other fields. The current paper reviews the research progress of SERS in the field of tumor marker tissue detection and liquid biopsy in the past five years. Moreover, the study proposes new ideas to improve the sensitivity of biomarker detection with sample processing, base improvement, and probe research. (1) Using specific adsorption materials and membrane separation technology to optimize the sample and reduce the influence of sample matrix in SERS detection. (2) Absorbing targeted marker molecules with specific probes of antibodies and DNA aptamer to improve the detection specificity and reduce the excessive diagnosis cases due to high sensitivity. (3) Researching the structure, measurement, and size of metal nanoparticles of the base to generate more spots and improve sensitivity. (4) Incorporating other fields like electrochemistry to make up for the SERS detection defect. Meanwhile, we analyzed and prospected the challenges and development of SERS technology in clinical application. Attention should be paid to the stability and biocompatibility of SERS labels, substrate reproducibility, and cost. In practical application, it is necessary to consider the cost-benefit, service cycle, and ease of handling of SERS substrate. Therefore, the research scholar should continue identifying materials that can replace gold, silver, and other nanoparticles. Moreover, a renewable substrate can be prepared to reduce the cost and enhance the stability of the experimental results. SERS technology has a short exploration time in the clinical application stage and requires significant clinical verification and promotion. In the future, predicting potential tumor markers and detecting multiple tumor markers combined with applying the advantages of SERS technology could provide high sensitivity and accuracy. Meanwhile, producing portable sensors for POCT may become a research trend. Thus, it will also provide clinical significance for detecting tumor markers. Sensors developed by SERS technology are of great significance for clinical tumor marker detection. The abovementioned factors can be fully considered and overcome when developing new detection technologies. In that case, the developed sensors will be more widely used for clinical diagnosis, food safety, and environmental protection, among other fields.

tumor markers, surface-enhanced Raman spectroscopy, cancer diagnosis, liquid biopsy, biomedicine

doi: [10.1360/TB-2022-1063](https://doi.org/10.1360/TB-2022-1063)