纳米诊疗研究进展

马明, 武昊安, 白晨, 陈玲, 张宇*, 顾宁*

东南大学生物科学与医学工程学院, 生物电子学国家重点实验室, 江苏省生物材料与器件重点实验室, 南京 210096

* 联系人, E-mail: zhangyu@seu.edu.cn; guning@seu.edu.cn

收稿日期: 2020-01-03; 接受日期: 2020-04-06; 网络版发表日期: 2020-06-29

国家重点研发计划(批准号: 2017YFA0205502, 2017YFA0104300)和国家自然科学基金(批准号: 81671820)资助

摘要 为了实现肿瘤的个体化精准医疗,“纳米诊疗”领域应运而生. 本文介绍了纳米诊疗领域发展过程中重要进展的时间线, 详细分析了该领域研究论文发表情况, 包括论文发表数量、主要研究机构、主要支持基金以及重要杂志等, 并进一步详细综述了纳米诊疗平台的构建策略和重要研究进展. 纳米诊疗平台的构建策略是将靶向递送、诊断和治疗功能结合在同一个纳米载体上, 这种纳米载体可以是聚合物纳米颗粒、脂质体纳米颗粒或是无机纳米颗粒, 以实现多种成像模式联合诊断, 多种治疗方法协同治疗, 以及诊疗一体化等独特功能. 纳米诊疗剂通向临床之路困难重重, 但精准医疗是未来医学发展的大趋势, 诊疗纳米颗粒的临床使用和研究必然具有巨大的发展潜力.

关键词 纳米诊疗, 纳米颗粒, 肿瘤治疗, 精准医疗, 纳米药物, 成像

诊疗(theranostics)一词最早见于2002年, Funkhouser^[1]在其文章中描述“theranostics”为“material that combines the modalities of therapy and diagnostic imaging”. 现在theranostics通常用来指图像引导的治疗方法, 或者指将诊断成像和治疗功能结合为一体的制剂或药物. 纳米诊疗(nanotheranostics)则是将纳米技术应用到诊疗中, 即使用纳米颗粒作为载体实现诊断成像和治疗的结合^[2].

纳米诊疗目前最主要的医学应用是在肿瘤诊断和治疗领域. 癌症是当今危害人类健康的主要疾病, 在中国其发生率正快速上升, 已成为仅次于循环系统疾病的第二大死因^[3]. 治疗疾病的传统方法是先对疾病进行诊断, 再根据诊断结果采用已知的标准治疗方案进行治疗, 但对于肿瘤治疗而言, 由于其异质性(hetero-

geneity), 需要更加个体化的“量身定制”的治疗方案. 在几乎所有可区分的表型特征中, 人类肿瘤表现出明显的异质性, 包括细胞形态、基因表达(细胞表面标记物、生长因子和激素受体的表达)、代谢、运动、血管生成、增殖、免疫和转移潜能等. 每个患者的肿瘤细胞都是不同的^[4,5], 这就意味着肿瘤患者对目前可用药物的反应差别很大, 人们无法在治疗前就判断出不同肿瘤个体对治疗或药物的敏感性和耐药性, 因此许多患者往往受到不必要或损害性大的治疗. 人们已经认识到, 没有一种单一的治疗药物对具有相同诊断结果的患者有相同的效果, 所以个体化医疗或精准医疗(precision medicine, PM)成为新的医学趋势. 精准医疗是基于患者分子生物病理学特征, 例如, 基因组信息、蛋白质组信息或者代谢组信息等制定的诊断或治疗策

引用格式: 马明, 武昊安, 白晨, 等. 纳米诊疗研究进展. 中国科学: 生命科学, 2020, 50: 734–754

Ma M, Wu H A, Bai C, et al. Research advances in nanotheranostics (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2020, 50: 734–754, doi: 10.1360/SSV-2020-0001

略. 此外, 在基因组测序的帮助下, PM还可用来帮助识别病人对疾病的易感性, 进而监测和预防疾病的发生. 纳米诊疗正是应精准医疗的需求而出现, 是为了使医生能够同时监测药物的体内分布和释放, 并对治疗效果进行无损和实时的评估, 从而进一步根据每个患者的个人反应和需求, 制定个体化治疗计划, 提高治疗效果并降低毒副作用. 在肿瘤的精准治疗中, 先通过纳米诊疗制剂的预成像来了解纳米药物在每个患者体内的药代动力学和药效学, 了解纳米药物在肿瘤内的分布和药物释放情况; 再根据成像结果预测疗效, 筛选出可能受益于纳米药物的患者; 将纳米药物用于治疗筛选出的患者, 同时对治疗反应进行监测, 并在必要时调整治疗方案, 以获得最佳的治疗效果.

为什么要基于纳米颗粒来构建纳米诊疗平台呢? 首先在尺寸方面, 纳米颗粒具有独特的优势. 相比于小分子药物, 纳米颗粒具有更长的血液循环时间, 更易于在肿瘤部位累积, 肿瘤清除率更低, 从而可减少药物用量, 降低毒副作用. 另外, 纳米颗粒具有独特的可功能化的能力. 例如, 将纳米颗粒表面聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)功能化后, 可以进一步增加其在体内的血液循环时间, 增加纳米颗粒在肿瘤内的累积^[6]; 利用特异性抗体或配体修饰纳米颗粒, 可以实现其主动靶向递送, 提高内吞效率; 纳米颗粒可以作为化疗药物载体用于化疗; 纳米颗粒本身也具有治疗功能, 例如, 磁性纳米颗粒可用于肿瘤磁感应热疗, 金纳米棒可用于光动力治疗; 纳米颗粒可结合成像单元, 例如, 放射性核素标记后纳米颗粒可用于正电子发射断层扫描(positron emission tomography, PET)和单光子发射计算机断层扫描(single photon emission computed tomography, SPECT)检测; 纳米颗粒本身可用于成像检测, 例如, 磁性纳米颗粒可用于磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI); 更为关键的是, 纳米颗粒可同时将多种成像功能、治疗功能结合起来, 实现多种成像模式联合诊断, 多种治疗方法协同治疗, 以及诊疗一体化等独特功能.

1 纳米诊疗的历史发展脉络

随着纳米药物被美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准上市, 纳米诊疗领域的科学和临床研究也逐渐发展起来. 自20世纪90年

代中期以来, 平均每5年就有13种纳米药物被批准用于特定的临床适应症, 包括对新材料的批准, 以及将已批准的材料用于新的临床适应症(例如, Abraxane已被批准用于几种不同的适应症). 获批的纳米药物主要由脂质体和聚合物纳米颗粒组成, 它们在90年代批准的纳米药物中占了大多数. 这个数额在2001~2005年期间达到最多, 在2008年之后有所下降. 但自2007年以来, 获准进行临床试验的纳米药物数量稳步增加, 2014年是获准进行临床试验的纳米药物数量最多的一年. 就材料类别而言, 与先前批准的相比, 有更多的聚合物胶束、金属纳米颗粒和蛋白质颗粒进入临床试验.

目前获批上市的大多数纳米药物都还是相对简单的纳米颗粒, 大都是在先前获批成功的药物(如PEG化的脂质体)的基础上进一步对已有体系的完善. 而诊疗纳米颗粒由于“结构-功能”关系的复杂性, 毒理学结果的不一性^[7], 其临床申报面临重重困难, 很多诊疗纳米颗粒处于实验室研究或临床前研究阶段. 但随着时间的推移, 获批的纳米颗粒的类型在增多, 颗粒复杂性也在增加. 表1列出了纳米诊疗发展过程中取得重要进展的时间线. 如1995年, FDA批准了阿霉素脂质体纳米药物Doxil; 1999年核素^{99m}Tc标记的Doxil获批进入临床试验, 用于使用SPECT成像观察药物分布, 这就是典型的基于原获批纳米药物加上成像单元后构成的诊疗纳米颗粒; 2009年FDA批准超顺磁氧化铁造影剂Ferumoxytol; 2013年欧洲批准了磁性氧化铁纳米颗粒作为热疗制剂(NanoThermo); 新类型的纳米颗粒HfO₂(NBTXR3)用于放疗, 于2011年进入临床试验^[19]; 标记肿瘤坏死因子的金纳米颗粒(CYT-6091)2006年进入I期临床^[12]; 2014年超小氧化硅纳米颗粒(¹²⁴I-cRGDY-PEG-C dot)进入临床^[17]等.

可以合理地推断, 未来获批进入临床并进一步获批上市的诊疗纳米药物数目将继续增加. 诊疗纳米颗粒的临床使用和研究将具有更大的增长潜力, 并将继续被证明是学术界、工业界、临床医生和监管者的一个富有成效和挑战性的领域.

2 纳米诊疗领域的论文发表情况

从2002年“纳米诊疗”的概念提出, 至今17年多的时间, “纳米诊疗”领域迅速发展. 由于涉及到的概念

表 1 纳米诊疗领域重要进展时间线

Table 1 Timeline of important advances in the field nanotheranostics

年份	重要进展	文献
1995	FDA批准阿霉素脂质体(Doxil)	[8]
1999	I 期临床: ^{99m}Tc -Doxil	[9]
2001	临床试验: ^{111}In 标记PEG化脂质体	[10]
2005	FDA批准纳米药物白蛋白紫杉醇Abraxane	[11]
2006	I 期临床: $\alpha(\text{rhTNF})$ -PEG-Au NP(CYT-6091)肿瘤靶向化疗	[12]
2008	I 期临床: siRNA负载的脂质体(CALAA-01)	[13]
2009	FDA批准超顺磁氧化铁造影剂Ferumoxytol	[14]
	I 期临床: 靶向聚合物胶束抗癌药物(BIND-014)	[15]
2011	I 期临床: HfO_2 纳米颗粒(NBTXR3)放射治疗肢体软组织肉瘤 ^{a)}	
2012	II 期临床: ^{99m}Tc -PEG化阿霉素脂质体结合顺铂化疗	[16]
2013	EU批准超顺磁氧化铁NanoTherm用于热疗 ^{b)}	
2014	I 期临床: ^{124}I -cRGDY-PEG-C dot PET/光学双模成像	[17]
2015	Ferumoxytol作为MRI造影剂用于纳米药物疗效预测	[18]
2016	III期临床: ThermoDox化疗结合射频消融治疗肝癌 ^{c)}	

a) 美国国家医学图书馆临床试验网站2011年报道, 网址: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01433068?term=NBTXR3&rank=4>; b) 美国国家医学图书馆临床试验网站2013年报道, 网址: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02033447>; c) 美国国家医学图书馆临床试验网站2017年报道, 网址: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00617981>

不统一, 很多相关论文不会直接使用“Nanotheranostics”为主题词, 并且“nanoparticle”的使用也不一致, 例如, 纳米脂质体往往直接使用“liposome”, 量子点用“quantum dots”等, 给文献检索造成一定麻烦. 本团队在Web of Scinece上, 以“nanotheranostic”或“nanoparticles”“tumor therapy”“chemotherphy”“drug delivery”“i-maging”“CT”“MRI”等这些纳米诊疗领域的关键检索词加以逻辑组合进行检索(检索词: 主题: (nanotheranostics) OR主题: (theranostics) OR主题: ((nanoparticles OR nanomedicine) AND (MRI OR CT OR PET OR SPECT OR optical imaging OR ultrasound) AND (chemotherapy OR drug delivery OR cancer treatment OR hyperthermia OR photothermol therapy OR photodynamics therapy OR radiation therapy)); 精炼依据: 文献类型: (ARTICLE); 时间跨度: 所有年份; 索引: SCI-EXPANDED, SSCI, A&HCI, CPCI-S, CPCI-SSH, ESCI, CCR-EXPANDED, IC. (检索时间为2018年12月)). 检索到研究类论文7452篇(排除综述类论文和会议论文、摘要等), 论文数量呈逐年增长的趋势(图1A). 2007年之前, 每年发表的该领域SCI论文低于100篇; 而2010年之后, SCI论文数迅速增加, 每年比上年都要

增加100余篇. 图1B列出了纳米诊疗领域的重要国际期刊发表的相关研究性论文数. 发表该领域研究性文章数量最多期刊的是*Biomaterials*(影响因子IF=8.402), 其他前10位的依次是*ACS Applied Materials and Interfaces*(IF=7.504), *Nanoscale*(IF=7.367), *Journal of Materials Chemistry B*(IF=4.776), *ACS Nano*(IF=13.942), *RSC Advances*(IF=2.936), *Journal of Controlled Release*(IF=7.877), *International Journal of Nanomedicine*(IF=4.37), *Theranostics*(IF=8.712), *Advanced Functional Materials*(IF=13.325)等.

从各国论文发表情况看, 中国的论文发表数量已经超过美国居世界第一位. 在前文中检索到的纳米诊疗领域的7000多篇的SCI研究性论文里, 中国大陆发表论文2745篇, 占论文总数的36.8%, 在论文数量上处于第一位, 其次是美国1968篇, 占总数的26.4%, 两国的论文总数超过总量的60%, 遥遥领先于其他国家. 论文数排在第2~10位的国家和地区分别是韩国、印度、德国、法国、意大利、英国、中国台湾和伊朗(图1C), 排名前10名的国家和地区发表论文数接近总论文数的95%. 图1D列出了2003~2018年中国与世界其他国家(地区)每年度在纳米诊疗领域发表SCI研究论文

图 1 纳米诊疗领域论文发表情况。A: 2003~2018年每年SCI研究论文发表数; B: 国际重要期刊发表研究性论文篇数; C: 世界各国和地区发表论文数; D: 2003~2018年中国与世界其他国家(地区)发表SCI研究论文数目对比; E: 该领域重要研究基金支持的论文比例图; F: 论文发表数量排名前20的研究机构

Figure 1 Published reports on nanotheranostics. A: Annual science citation index (SCI) research papers published from 2003 to 2018; B: number of research papers published in important international journals; C: number of published papers in various countries and regions; D: comparison of the number of SCI research papers published by China with that of other countries (regions) (2003 to 2018); E: proportion of papers supported by significant research funds; F: top 20 research institutions for published papers

数目对比。前文也提到2010年开始国际上纳米诊疗领域的论文数开始突破性增长,那时中国每年在该领域的论文数不到全部论文数的10%,但在2014~2015年中国也迎来了发展高峰,该领域论文数的年增加数超过了100篇,截至目前,中国在该领域论文年度增加的速度

超过了国际上论文增加的速度。2017年,中国每年发表SCI研究论文数已经达到全世界SCI研究论文数的39.3%。

图1E列出了纳米领域重要的研究基金所支持的论文比例。从论文数量上,中国的国家自然科学基金所支

持的论文数量最多, 其次是美国国立卫生研究院(National Institutes of Health, NIH)的基金. 中国支持该领域的国家级基金项目除了自然科学基金外, 还有国家重点基础研究发展计划(973计划)、中央高校基本科研专项资金、博士后基金、国家重点研发计划等, 此外还有省市级的基金, 例如, 北京市、江苏省、广东省的自然科学基金, 上海市科技委员会项目, 苏州纳米科技协同创新中心等. 美国该领域基金主要是来自卫生和福利部(Health and Human Services, HHS)的国立卫生研究院、国家肿瘤研究所(National Cancer Institute, NCI)、国家自然科学基金(National Science Foundation, NSF)、美国肿瘤学会、美国国防部等. 其他国家重要的基金还包括韩国的国家科研基金(National Research Foundation of Korea, NRF)、加拿大国家卫生研究院的基金、印度的国家科技中心基金等. 中国国家自然科学基金支持的该领域论文发表数量超过了30%, 即中国发表的论文80%以上都得到了国家自然科学基金的支持, 这也体现了中国政府对该领域的支持.

发表SCI研究性论文数排名前20的研究机构列于图1F, 中国的研究机构就占了12席, 位于第一的是中国科学院, 其论文总数遥遥领先于第二位的法国国家科学研究中心. 第三位、第四位也属于中国, 分别是上海交通大学和中国科学院大学; 第五位、第六位是美国的加州大学系统和德州大学系统; 复旦大学、苏州大学、美国国立卫生研究院和吉林大学排在第7~10位. 国家和地区以及研究机构发表论文数的排名说明中国在纳米诊疗这个新兴科研领域的活跃度和研究水平处于世界领先.

3 纳米诊疗领域关键理论与技术进展

“纳米诊疗”的应用目标主要是在肿瘤治疗中实现患者分层, 纳米药物的疗效预测, 肿瘤治疗的疗效监控, 以及图像引导的肿瘤治疗. 纳米诊疗平台的构建策略则是将诊断和治疗功能结合在同一个纳米载体上. 对纳米诊疗载体的结构设计, 可帮助纳米颗粒逃避免疫系统的吞噬, 突破生理屏障与细胞屏障, 到达并累积在靶部位和靶细胞. 根据具体的研究或临床需求, 进一步在纳米载体上构建成像单元以指导治疗. 为了实现治疗功能, 一方面诊疗纳米颗粒本身可在原纳米药物的基础上构建; 另一方面可在载体纳米颗粒上负载

其他药物; 或纳米颗粒本身可用于物理治疗(例如, 磁热疗、光热疗、放射增敏等).

从结构上, 诊疗纳米颗粒的主体一般可以分为三类: (i) 无机纳米颗粒, 包括量子点、氧化铁纳米颗粒、金纳米结构、上转换磷光纳米颗粒、碳纳米管和纳米金刚石等; (ii) 聚合物纳米颗粒, 例如树枝状聚合物和两亲性聚合物胶束纳米颗粒; (iii) 脂质纳米颗粒, 包括纳米脂质体和固体脂质纳米颗粒. 从功能上, 一个纳米诊疗平台一般包括三个功能单元: 成像单元、治疗单元、靶向和载体递送单元. 这些功能单元组合在一起构成一个多功能的纳米颗粒或纳米结构(图2). 下文将从纳米诊疗平台的递送策略、诊断策略和应用等方面介绍该领域的关键进展.

3.1 纳米诊疗平台的递送策略

(1) 跨越生物屏障. 人体已经进化出许多攻击和清除外来物质(如细菌、病毒、医用植入物和药物)的方法, 这给纳米诊疗的应用带来了很大困难. 人体设置的

图2 诊疗纳米颗粒结构示意图. A: 脂质体纳米颗粒; B: 聚合物纳米颗粒; C: 无机纳米颗粒(图中以两种典型纳米颗粒为例, 其中, MNP: 磁性纳米颗粒; Au: 金纳米颗粒)(网络版彩图)

Figure 2 Diagrams showing the structure of nanotheranostic nanoparticles. A: Liposome nanoparticles; B: polymer nanoparticles; C: inorganic nanoparticles. (Here are two typical examples of nanoparticles, MNP: magnetic nanoparticles, Au: gold nanoparticles.) (color online)

屏障可大致分为生理屏障和细胞屏障. 细胞屏障包括细胞膜、内小体/溶酶体和胞内运输. 生理屏障包括血液、肝脏、脾脏、肾脏、免疫系统, 以及阻止外来物质从血液中溢出的屏障. 诊疗纳米颗粒需要跨越这些生物屏障才能到达靶部位(图3).

血液是由盐、糖、蛋白质、酶和氨基酸组成的高度复杂的流体, 它能破坏纳米颗粒的稳定, 导致其聚集和栓塞. 此外, 血液中含有免疫细胞, 例如单核细胞, 它们能够识别和清除血液循环中的外来物质. 纳米颗粒必须高度稳定, 避免免疫系统的识别, 以延长血液半衰期, 增加肿瘤的摄入. 因此, 纳米颗粒表面通常需要利用生物相容性的聚合物加以保护, 一方面可防止纳米颗粒的聚集和免疫系统的识别, 同时还可以使纳米颗粒zeta电位趋向中性, 在血液成分与颗粒表面之间构成物理屏障, 阻止纳米颗粒对血浆蛋白的吸附, 或保护纳米颗粒不被血液中的酶降解.

肝脏和脾脏的巨噬细胞, 例如肝Kupffer细胞, 很容易从血液中清除和代谢大于100 nm的物质^[20]. 因此, 小于100 nm的纳米颗粒可减少肝脏和脾脏的摄取^[21]. 肾小球基底膜可滤过血液中的代谢产物和毒素, 其孔隙约为10 nm, 流体力学直径大于10 nm的纳米颗粒很少被肾滤过^[22]. 因此, 肝脏、脾脏和肾脏对纳米颗粒的清除作用限制了诊疗纳米颗粒水动力尺寸的大小在10~100 nm之间^[23].

最后, 纳米颗粒必须从靶部位的血液中渗出才能

达到肿瘤内部, 从而实现其功能. 对于许多肿瘤, 纳米颗粒在肿瘤中的累积是通过EPR效应(enhanced permeability and retention effect)^[24]实现的. 肿瘤细胞的高代谢导致新生血管快速形成并发育不良, 进而出现漏过较大颗粒的缺陷. 肿瘤血管的缺陷以及肿瘤部位淋巴回流的缺乏, 使得30~200 nm之间的颗粒可在肿瘤积累. 纳米颗粒的PEG化可延长其在血液中的半衰期, 增加纳米颗粒到达肿瘤的可能性, 又通过EPR效应进一步促进其在肿瘤中的积聚.

纳米颗粒从血液中渗出到肿瘤部位后, 往往必须进一步被肿瘤细胞摄取才能达到治疗效果. 细胞膜由带负电荷的磷脂双层组成, 它将细胞内部与细胞外空间隔开. 纳米颗粒进入细胞的方式可以通过细胞膜的直接渗透或各种形式的内吞, 然后在细胞内运输到目标亚细胞器. 纳米颗粒很难通过直接渗透进入细胞, 但有报道称将某些细胞穿膜肽附着在纳米颗粒上可以使其绕过胞吞作用直接通过细胞膜^[25~27]. 例如, 文献^[27]中负载小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)的多聚精氨酸结合氧化铁纳米颗粒能够通过细胞膜直接进入细胞质, 透射电子显微镜图像显示连接了多聚精氨酸的纳米颗粒进入细胞质后完全是游离的, 而没有进入胞内小体.

大多数纳米颗粒被细胞通过内吞机制摄取, 包括受体介导的内吞和吸附内吞, 这两种内吞由网格蛋白参与. 此外, 还有小窝蛋白介导的内吞、巨胞饮、吞

图3 纳米颗粒如何跨越生物屏障(网络版彩图)

Figure 3 The passage of nanoparticles through biological barriers (color online)

噬(巨噬细胞主要摄取机制就是吞噬)等^[21]。纳米颗粒的摄取机制对随后的胞内运输有决定性影响,例如,通过网格蛋白内吞摄取的纳米颗粒会进入酸性溶酶体或胞内小体,而小窝蛋白介导的内吞则不会进入溶酶体。受体介导的内吞作用是通过在纳米颗粒表面附加一个被细胞表面受体识别的分子来实现的,这是一种用于纳米颗粒靶向传递的策略。

纳米颗粒一旦被细胞摄取——如果能运输到细胞内的作用部位——则可大大提高药物的治疗效果。首先,如果纳米颗粒是通过内吞途径摄取的,需要防止其被溶酶体内的酶破坏,并从溶酶体内逃离。纳米颗粒从溶酶体逃逸的策略——利用阳离子脂质体,利用两亲性融合肽,利用聚合物的质子海绵效应等^[28]。进入细胞质后,纳米颗粒需要到达特定部位才能发挥作用,例如,DNA和化疗药物阿霉素和顺铂等,需要转运到细胞核才能有效,siRNA、蛋白质和一些化疗药物则需要到达细胞质,因为信使RNA(siRNA的靶标)在细胞核周围区域被翻译成蛋白质,将siRNA传送到细胞质的核周区域可以提高基因敲除的效率。紫杉醇和长春花碱等药物需要递送到细胞骨架^[29],因为这些药物可用于阻止微管在细胞分裂过程中降解,从而导致细胞凋亡。

(2) 靶向递送策略。一般而言,靶向递送分为主动靶向和被动靶向。被动靶向针对的是存在EPR效应的实体肿瘤。小分子药物循环半衰期短,在肿瘤内的清除率高,要在瘤内达到治疗浓度必然会因高剂量而产生全身毒性。纳米颗粒因EPR效应能在肿瘤部位被动累积,通过对纳米颗粒PEG化可实现长循环,进一步增强EPR效应。例如,纳米药物Doxil就是PEG化脂质体包裹的抗癌药物阿霉素,被批准用于治疗卵巢癌和多发性骨髓瘤,其在体内的循环半衰期(84 h)是小分子药物阿霉素(0.8 h)的100倍,清除率也很小,只有0.02 mL/min·kg^[30]。

被动靶向纳米药物的疗效依赖于肿瘤的EPR效应,但EPR效应在不同肿瘤类型之间和肿瘤内部存在明显的异质性,不同类型的肿瘤,原发肿瘤和转移瘤其血管孔径可能不同,同一类型肿瘤内的血管结构也可能存在差异。从个体化医疗的角度出发,治疗之前需要对患者的EPR效应进行评价,预测药物疗效。在原纳米药物基础上结合影像学方法构成的纳米诊疗平台可用于了解纳米药物在体内和瘤内的生物分布,评价

原发肿瘤及其转移部位的EPR功能,预测纳米药物的疗效^[31-33]。

在采用Doxil治疗转移性乳腺癌的三期临床试验中发现,与传统药物阿霉素相比,Doxil的毒副作用显著降低,但患者的生存期无明显改善^[34]。这很可能就是由于药物对肿瘤渗透性差所导致^[35]。为了增加肿瘤细胞对纳米药物的摄取,已有多项临床研究采用结合肿瘤靶向配体的主动靶向纳米药物的方法,以提高治疗效果^[15,36,37]。

主动靶向是在纳米颗粒表面附着一个靶向配体,可识别细胞上过度表达的受体。这些靶向配体包括抗体、抗体片段、多肽、适配体以及针对癌细胞代谢的小分子,如叶酸或葡萄糖等^[38]。

肿瘤细胞表面高表达的受体,如人表皮生长因子受体(human epidermal growth factor receptor 2, HER-2)^[39,40]、表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)^[41-43]、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor α , TNF- α)^[44,45]和血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)^[46,47]等是常用的抗体标记纳米颗粒的靶点。

多肽也是一种常用的纳米颗粒靶向传递的配体。蝎氯毒素(chlorotoxin, CTX)是一种来源于以色列蝎子毒液的多肽,可靶向恶性胶质瘤、髓母细胞瘤、前列腺癌、肠癌和肉瘤等肿瘤细胞表面过度表达的基质金属蛋白酶2(matrix metalloproteinase 2, MMP-2)。CTX标记的纳米颗粒具有良好的药代动力学、生物分布和对肿瘤细胞的靶向性^[48-50]。整合素 $\alpha_v\beta_3$ 在新生血管内皮细胞上高表达,在钙依赖性信号转导途径中起重要作用,可导致内皮细胞迁移。常用的靶向整合素的配体是包含精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(Arg-Gly-Asp, RGD)三个氨基酸序列的多肽或者非肽。大量采用RGD作为靶向配体的诊疗纳米颗粒的工作被报道^[51-53]。CTX和RGD同是靶向多肽配体,不过CTX直接靶向肿瘤细胞,而RGD则靶向肿瘤的血管内皮细胞。文献^[54]对CTX和RGD标记的两种纳米颗粒进行了比较。用PEG化的氧化铁纳米颗粒标记RGD以靶向肿瘤血管内皮细胞,标记CTX以靶向脑肿瘤细胞。将RGD标记的纳米颗粒(NP-RGD)或CTX标记的纳米颗粒(NP-CTX)静脉注射到异种移植人脑肿瘤的小鼠,在MRI上显示出相似的肿瘤对比增强,但在注射后4 h时,NP-RGD的信号要强于NP-CTX,两者都高于被动靶向的无标记

纳米颗粒的对照组; 然而NP-RGD的清除要快于NP-CTX. 荧光免疫成像结果显示, NP-RGD在新生血管的内皮细胞中聚集, 而NP-CTX分布在整个肿瘤中. 这种选择性靶向可以帮助将所输送的药物定位到所需的靶细胞.

转铁蛋白是一种血清非血红素铁结合糖蛋白, 有助于将铁转运到增殖细胞中. 由于对铁的需求增加, 转铁蛋白受体在恶性肿瘤细胞中高表达, 特别是转移肿瘤细胞和耐药细胞上存在更多的转铁蛋白受体. 因此, 转铁蛋白也是纳米诊疗中肿瘤主动靶向的一个非常重要的靶向配体^[36,55,56].

高代谢的肿瘤细胞需要叶酸来进行DNA的生物合成和DNA修复等多种生化途径, 叶酸受体在多种癌细胞表面过度表达, 因此采用叶酸标记纳米颗粒可靶向高代谢的肿瘤细胞^[57,58].

3.2 纳米诊疗平台的诊断策略

纳米诊疗平台中常用的诊断手段包括PET, SPECT, CT, MRI, 光学成像(optical imaging, OI)和超声(ultrasound, US)成像等. 每一种成像方式都因其特定的成像能力而被用于不同的目的. 表2总结了这些不同成像方式的优点和局限性.

(1) PET和SPECT. 使用核素成像的PET和SPECT的主要优点是灵敏度高、结果可定量, 没有组织穿透限制; 缺点是必须使用放射性核素, 分辨率(通常大于1 mm)不如其他成像方式高, 不能提供解剖信息. 将PET或SPECT与CT和MRI联合使用可弥补上述分辨率不够高且不能提供解剖信息的缺点, 配准后生成PET-CT^[59,60], PET-MRI^[61]和SPECT-CT^[62]融合图像(SPECT与MRI结合较少), 可更清晰地同时获得核素探针在感兴趣组织或器官中的解剖和空间分布以及浓度分布. 将PET成像应用到纳米诊疗平台上, 非常适合于监测纳米药物制剂的药代动力学和体内的生物分布. PET探针可通过螯合剂与纳米颗粒结合或者包封在纳米药物内, 常用的螯合剂有DOTA, DTPA, HYNIC等. 此外, 可直接将标记了¹¹C或¹⁸F等核素的纳米药物用于体内定量分析, 从而避免了使用螯合剂对物理化学性质和药代动力学的影响^[63,64].

下文将介绍两例典型的PET成像纳米诊疗平台. Ferrara研究组^[64]利用PET成像研究了游离的核素示踪剂¹⁸F-fluorodipalmitine(FDP)和包封¹⁸F-FDP的PEG化

脂质体在大鼠体内的生物分布发现, 游离的¹⁸F-FDP在经尾静脉注射90 min时在肝脏(6%ID/cm³)有大量的蓄积, 在脾脏(4%ID/cm³)和肺(2%ID/cm³)中的蓄积较少. 另一方面, 封装了¹⁸F-FDP的PEG化脂质体在循环系统中的保存率要高得多, 心脏和大血管几乎完全可见, 从而证实了PEG化脂质体的长循环作用. 在肿瘤靶向给药方面, Lee研究组^[65]采用PET/MRI双模成像来研究RGD主动靶向药物和被动靶向纳米药物之间的区别. 他们用靶向肿瘤血管的RGD肽来标记氧化铁(iron oxide, IO)纳米颗粒, 并通过DOTA将⁶⁴Cu络合物连接到纳米颗粒上, 这样就获得了肿瘤新生血管特异性纳米探针⁶⁴Cu-DOTA-IO-RGD, 可同时实现PET和MRI成像. 其研究结果表明, 肿瘤对RGD靶向探针有更高的特异性摄取.

与PET类似, SPECT成像纳米诊疗平台也是利用放射性核素标记纳米颗粒研究其在动物体内的生物分布和药代动力学. 例如, Achilefu研究组^[66]将金纳米颗粒偶联了基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase 9, MMP9)的配体小肽pMMP9, 在pMMP9的酪氨酸残基上标记¹²⁵I, 用DTPA螯合剂将¹¹¹In连接在pMMP9的另一端, 而pMMP9的半胱氨酸残基连接在金纳米颗粒上. pMMP9在MMP9存在时被剪切, 从而可将¹²⁵I和¹¹¹In两种核素分离. 多谱SPECT可以同时针对不同核素成像和量化, 在小鼠中可独立检测到¹¹¹In和¹²⁵I的信号, 作者利用此特征研究了该功能化的金纳米颗粒在荷瘤小鼠体内的生物分布和药代动力学. 研究发现, 不同MMP9表达程度的肿瘤在摄取纳米颗粒的药代动力学存在差异, ¹¹¹In标记的纳米颗粒一旦在肿瘤中被动积累, 具有显著MMP9表达的肿瘤就会从纳米颗粒中切割出¹¹¹In标记的肽片段, 导致其在24~48 h内被清除.

(2) CT成像. CT一般使用高电子密度的造影剂(如碘和钡)生成高分辨率的解剖图像, 可用于评估疾病的分化程度、血流灌注分析和血管造影. CT成像的主要局限点在于不使用造影剂时软组织和硬组织对比度较差、造影剂敏感性低(低于MRI造影剂)、造影剂使用剂量高以及潜在的造影剂相关毒性. 纳米诊疗平台中, CT成像功能单元的实现一般是通过CT造影剂的纳米化. 纳米颗粒CT造影剂的优点是其可进一步功能化, 例如, 通过负载药物或者其他治疗单元, 实现诊疗一体化; 通过偶联靶向分子, 实现靶向造影, 降低造影剂

表 2 纳米诊疗中应用到的成像技术的优越性和局限性

Table 2 Advantages and limitations of the application of imaging technology in nanotheranostics

成像方式	应用	优越性	局限性
PET/SPECT	血池造影 药物分布	灵敏度高 结果可定量 无组织穿透限制	必须使用放射性核素 分辨率不高 不能提供解剖信息
CT	提供解剖图像 血流灌注分析 血管造影 联合成像	空间分辨率高 提供解剖图像 结果可定量	软组织对比度较差 造影剂敏感性低,使用剂量高,潜在的造影剂相关 毒性 放射性暴露
MRI	药物动力学和生物分布分析 药物释放监测 细胞示踪 肿瘤成像	高空间分辨率 高软组织对比度 无组织穿透限制 多功能性	难以定量 成像时间长 造影剂敏感性低
OI	药物分布 联合成像	造影剂敏感性高 探针多功能性 快速高效	组织穿透性低 无解剖信息 难以定量
US	血流灌注分析 药物靶向 药物触发释放 声穿孔	高时间和空间分辨率 提供解剖信息 快速高效	依赖操作者 无法进行全身成像 造影剂类型单一

使用剂量和毒性。另外,由于肿瘤的EPR效应,纳米颗粒会在肿瘤中累积,从而可实现肿瘤的被动靶向成像。纳米颗粒造影剂对于临床前的CT研究也至关重要,常规造影剂在血流中的清除速度太快,大多数临床前动物模型,特别是小鼠,因其心输出量极高,能够在几秒钟内从血液中清除低分子量的临床用造影剂(正常血液半衰期为2~3 h^[67]),无法进行有效的成像。纳米颗粒作为CT造影剂通常有较长的(>2 h)半衰期,已成功用于CT成像的临床前研究,同时也因其长血液循环时间可成为血池造影剂^[68,69]。

纳米CT造影剂有两种,一种是用纳米载体(脂质体^[70,71]、胶束^[72]、聚合物^[73,74]等)对传统CT造影剂(如碘剂)的纳米化和多功能化,以降低其毒性和使用剂量;另一种是用无机纳米颗粒作为新型CT造影剂,如金纳米颗粒^[75~77]、上转换纳米颗粒^[78,79]、金属氧化物纳米颗粒^[80~82]等。基于CT造影的纳米诊疗平台的构建通常是将纳米CT造影剂结合上治疗单元。

金纳米颗粒是目前最热的纳米CT造影剂,而且还可用于光热治疗(photothermal therapy, PTT)^[83,84],因此基于金纳米颗粒的CT成像引导的肿瘤光热疗成为研究热点。除光热疗外,负载抗癌药物的化疗、放疗增敏、微波热疗等也是见于报道的纳米诊疗平台中与CT成像结合的治疗方式^[84]。

上转换纳米颗粒(upconversion nanoparticles,

UCNPs)也是一种研究较热的纳米CT成像造影剂^[85~87]。上转换材料本身是优秀的光致发光材料,UCNPs可应用于非侵入性全身光学成像;Gd³⁺掺杂或者Gd³⁺基的UCNPs可用于MR成像;具有高原子序数的镧系元素作为主体材料时,UCNPs还可用于CT成像。这样,NaGdF₄:Er³⁺, Yb³⁺纳米颗粒就可以作为上转换磷光UCL/MR/CT三模成像探针^[88]。

(3) MRI成像。在纳米医学领域, MRI因其高分辨率、无放射性损伤及不受组织深度限制等特点,在药物动力学和生物分布分析、药物释放监测、细胞示踪、肿瘤成像等方面具有广阔的应用前景。当然, MRI也有其局限性,主要在于造影剂灵敏度相对较低、难以量化、成像时间长等。例如,原则上MRI和PET、SPECT都可以用于监测纳米药物的生物分布和在靶部位的累积,但是PET或SPECT由于造影剂灵敏度高、易量化,比MRI更适合于这一应用。而另一方面, MRI则更适合于监测药物释放和治疗效果:与放射性核素相反, MR的T₁造影剂对比度的产生取决于造影剂周围自由扩散的水分子,造影剂在纳米载体的内部和外部会呈现不同的MRI信号,从而为评估药物释放提供最佳条件;另外, MRI具有良好的软组织对比度,能无创和精确地检测肿瘤和炎症部位,这使其对疗效的纵向监测非常有用。

具有对称电子基态的金属离子顺磁配合物,如

Gd(III)和Mn(II), 由于具有明显的缩短水质子(与金属离子未配对电子相互作用)的纵向弛豫时间 T_1 的突出能力, 已成功用作磁共振造影剂. 但这类造影剂的主要的问题是当其在靶部位低浓度累积时灵敏度太低. 近20年来, 人们一直致力于寻求提高这类金属离子顺磁配合物的纵向弛豫率(r_1)值的方法. 现已发现采用树枝状分子、胶束、脂质体、蛋白、碳纳米管等纳米结构与这两种金属离子复合, 其纵向弛豫率可获得出人意料的提升^[89,90]. 而且这些金属复合纳米结构顺磁造影剂在血液循环中的半衰期较长并具有特定的生物学性质, 因而具有更广阔的应用前景. 同时这些金属复合纳米结构顺磁造影剂还可作为药物载体, 用于构建有效的纳米诊疗制剂.

金属顺磁性造影剂在 T_1 加权MR图像中产生高信号(亮对比度), 相反, 如果能够缩短水质子的横向弛豫时间(T_2), 增加 R_2/R_1 则可获得低信号(暗对比度). 超顺磁性氧化铁纳米颗粒(superparamagnetic iron oxide, SPIO)能够有效地缩短 T_2 , 特别是水质子的 T_2^* , 也可被用作MR成像造影剂. SPIO主要由 Fe_3O_4 或 $\gamma-Fe_2O_3$ 纳米颗粒及其表面修饰分子组成. 基于MRI成像的纳米诊疗平台中, 磁性纳米颗粒SPIOs被广泛使用. 例如, Kato研究组^[91]报道了一项非常有趣的工作——同时利用正负两种增强MR成像对纳米药物给药释药过程可视化. MRI还被应用于基于细胞的免疫治疗, 德弗里斯等人发表了关于这方面的一项开拓性的临床研究. 他们用树突状细胞(dendritic cell, DC)疫苗治疗黑色素瘤, 将树突状细胞疫苗用SPIO纳米颗粒和放射性核素 ^{111}In 同时标记, 利用MRI和闪烁照相术对DC疫苗在淋巴结中的定位和迁移进行监测, 结果表明, MRI成像能够确证DC有没有正确地注入淋巴结, 并对它们的滞留和迁移到(邻近)淋巴结的过程进行量化和可视化.

交变磁场感应热疗是磁性纳米材料的一个重要的生物医学应用^[92]. 已有多篇文献将MRI与磁感应热疗和磁热药物释放结合, 构成基于磁性纳米颗粒的诊疗平台^[93,94].

(4) 光学成像. 近年来, 光学成像技术被越来越多地应用于纳米药物的生物分布评价, 其使用方便并具有良好的造影剂敏感性, 因此非常适合监测近红外荧光(near-infrared fluorescence, NIRF)标记的纳米药物在靶部位的积累, 特别是在皮下肿瘤或其他浅表性病变^[95].

荧光反射成像(fluorescence reflectance imaging, FRI)技术是药物递送研究中应用最广泛的OI技术^[96,97]. 对于标记了近红外荧光探针的诊疗纳米颗粒, FRI可以提供其在浅表组织内积累的半定量信息. 当然, FRI提供的荧光图像仍然是2D的, 并且由于光学信号组织穿透的问题, 做不到对荧光探针的全部生物分布的绝对定量分析. 针对FRI技术的缺陷, 已发展出荧光分子断层成像(fluorescence molecular tomography, FMT)三维光学成像技术, 该技术能更好地定量评估荧光纳米探针的生物分布和靶区积累^[98,99]. 尽管FMT技术取得了很大进展, 但OI技术本身存在一个基本的局限性, 即荧光信号在体内的漫散射以及高灌注器官和组织的对荧光有很强的吸收, 导致检测到的荧光信号往往不能被正确地定位到特定解剖区域. 为了弥补OI技术这个弱点, 其往往与其他成像方式联用, 例如, CT-FMT双模成像^[100~103], 其中CT成像可提供高分辨率的解剖信息, 有助于FMT探针的荧光信号在具体器官和组织的准确定位, 从而实现探针在非浅表组织的定量. 例如, Kunjachan等人^[103]将聚合物纳米载体pHPMA用荧光染料Dy750标记, 由于EPR效应, 纳米药物在肿瘤中累积; 同时采用2D FRI, 3D FMT和CT-FMT监测纳米药物在小鼠体内的分布, 结果表明, CT-FMT成像能够更准确更定量地评价纳米药物在肿瘤及全身组织中的累积分布.

近年来光声成像(photoacoustic imaging, PAI)已引起越来越多的关注^[104,105]. 光声成像结合了光学成像的高对比度和超声成像的高分辨率和穿透深度的优点, 其基本原理是组织吸收激光能量后导致快速热弹性膨胀, 从而产生宽带超声波, 将超声信号转换为电信号后再转化为图像. 近年来, 关于PAI的应用已有大量报道, 例如, 用于肿瘤检测和疗效监控^[106,107]、前哨淋巴结检测^[108]、炎症成像^[109]、血管生成成像^[110]等. 已有多种纳米颗粒可用于光声成像^[111,112], 包括金纳米颗粒(纳米球、纳米壳、纳米棒、纳米笼等)^[106,113,114]、碳纳米管^[115,116]以及聚合物纳米颗粒^[117~119]等.

(5) 超声成像. US成像是一种非常通用的成像技术, 它价格低廉、速度快、体系完善, 经常用于临床, 并且具有很高的时间和空间分辨率. 其缺陷包括对操作人员的依赖, 无法进行全身成像, 以及对可使用的造影剂的应用范围的限制(例如造影剂是1~5 μm 大小的微气泡, 仅限于血管内使用).

近年来, 关于超声成像与纳米诊疗的结合主要是将超声微气泡或纳气泡与药物传递相结合, 用于加强药物渗出、渗透和细胞内化^[120,121]。细胞膜通透性和内化的增加通常源于声穿孔, 声穿孔指在超声作用下由于超声空化效应导致的细胞膜通透性的瞬时增加。声穿孔可用于药物传递和基因传递, 而微气泡或纳米气泡的使用则可以大大增强传递效率^[122,123]。Fokong等人^[124]在微气泡的膜壳内装载模型药物罗丹明-B和香豆素-6, 并通过抗VEGFR2抗体靶向肿瘤血管。在超声介导的微气泡破泡过程中, 80%的与膜壳结合的模型药物可被释放。超声成像显示, 这种微气泡可通过抗体有效地定位于肿瘤, 暴露在破坏性的超声脉冲后负载的药物在肿瘤和肿瘤血管内释放。由此可见, 这种诊疗微气泡具有图像引导、靶向和超声触发药物释放的巨大应用潜力。

除了用于成像, 超声还可以用于治疗。高强度聚焦超声(high-intensity focused ultrasound, HIFU)可使组织温度升高到70℃, 用于热消融; 低强度超声用于温热疗法和超声触发的热敏脂质体的药物释放^[125,126]。HIFU在临床上主要应用于良性肿瘤(如子宫肌瘤)的热消融, 对恶性肿瘤的治疗也在临床试验中^[127,128]。近年来, 脉冲HIFU也被发现可通过非热机制——超声空化效应来非侵入性地增强各种诊断和治疗药物的传递^[129,130]。

3.3 纳米诊疗平台的治疗策略

纳米诊疗平台用到的治疗策略包括化疗、磁感应热疗、光热疗、光动力治疗、基因治疗、免疫治疗、放疗以及多种治疗方法的联合治疗等。

纳米诊疗平台中最常用的治疗策略就是化疗, 其构建大多是通过在纳米载体上同时负载化疗药物和成像单元来实现。前文讨论过的所有的纳米颗粒——脂质体、脂质纳米颗粒、聚合物纳米颗粒、聚合物胶束、微乳液、纳米凝胶以及各种无机纳米颗粒等, 几乎都可以作为化疗药物的载体。例如, 文献^[131]的研究在PLGA聚合物纳米颗粒中负载化疗药物紫杉醇和磁性氧化铁纳米颗粒, 并用RGD标记, 实现了MRI引导的、肿瘤主动靶向和磁靶向相结合的肿瘤化疗。文献^[132]的研究在热敏脂质体内负载阿霉素和磁共振造影剂GdDTPA, 用于MRI成像对热疗化疗联合治疗中药物释放过程进行可视化研究和疗效预测。

磁感应热疗是应用磁性纳米材料能在交变磁场作

用下吸收磁场能量转变为热的性质, 将肿瘤温度升高到43℃以上, 从而诱导肿瘤细胞凋亡或死亡的肿瘤治疗方法^[133]。磁感应热疗应用的材料主要是磁性纳米颗粒, 而磁性纳米颗粒又可以作为MRI成像造影剂, 因此磁性纳米颗粒在纳米诊疗平台的构建上扮演重要角色。应用于磁感应热疗的纳米药物Nanotherm® (Mag-Force公司)已获批进入临床^[134]。

光热治疗是应用光热转换材料吸收可见光及近红外光, 将入射光的能量转化为热, 从而诱导肿瘤细胞凋亡或死亡的肿瘤治疗方法。纳米诊疗中常用的光热转换材料有金基纳米材料, 包括纳米棒、纳米粒子、纳米壳和各种等离子体复合纳米结构, 由于表面等离子体共振(surface plasmon resonance, SPR)效应, 其表现出很强的可见光吸收能力^[135]。碳纳米材料, 如碳纳米管、石墨烯等^[136]; 其他无机纳米材料, 如Pd纳米片^[137]、硫化铜^[138]和硒化铜^[139]纳米粒子等; 有机纳米粒子, 如聚吡咯和其他吸光导电聚合物等^[140,141]。蒋锡群研究组^[142]在纳米载体壳聚糖纳米球上负载化疗药物顺铂、金纳米棒和荧光分子FITC, 可实现细胞荧光成像、化疗和基于金纳米棒的光热治疗。刘庄研究组^[143]将磁性氧化铁纳米粒子和金纳米粒子同时复合到氧化石墨烯上, 用于MRI和CT双模成像以及光热治疗。文献^[144]的研究将近红外染料吡啶菁绿负载到磷脂PEG修饰的氧化铁纳米颗粒上, 构建的诊疗纳米颗粒可实现荧光-MRI双模成像以及光热治疗。

光动力疗法(photodynamic therapy, PDT)是基于光与肿瘤组织以及外源光敏剂的光化学反应来治疗肿瘤的方法^[145]。PDT常用的光敏剂卟啉, 在适当的剂量和波长的光照射下可导致分子氧($^3\text{O}_2$)发生光化学反应转化为单线态氧($^1\text{O}_2$), 这是一种重要的细胞毒性物质, 可通过诱导细胞凋亡或坏死来杀死细胞。传统PDT治疗肿瘤的方法就是给病人服用光敏剂, 光敏剂药物经静脉给药后, 可选择性聚集在肿瘤部位, 然后用光照射, 激活光敏剂, 诱导细胞死亡。光敏剂一般分为卟啉类和非卟啉类, 非卟啉光敏剂有金丝桃素、亚甲基蓝、菁类染料、罗丹青染料等, 其发展落后于卟啉类。对理想光敏剂的要求是: 在波长650~850 nm之间有高吸收, 有较高的单线态氧量子产率, 易溶于水, 对靶组织有选择性, 安全, 在治疗剂量上不具有毒性, 便宜且易于合成。而传统的光敏剂水溶性差、毒性强、在靶组织的累积少, 很难满足以上要求。将光敏剂制成纳米制剂,

可增加疏水药物的溶解度, 并通过EPR效应增加其在肿瘤组织中的积累, 进一步可在颗粒表面修饰配体, 从而实现主动靶向, 降低毒副作用. 将光敏剂负载到脂质体^[146]、胶束^[147]、聚合物纳米颗粒^[148]、金纳米颗粒^[149]、陶瓷基纳米颗粒^[150]、量子点^[151]及碳纳米材料^[152]上, 就可构成纳米光敏材料, 如果再进一步结合成像功能, 则可构成基于光动力疗法的纳米治疗平台. 文献^[153]的研究以PEG功能化石墨烯负载第二代光敏剂HPPH, 并用核素⁶⁴Cu标记的HPPH, 在动物实验中成功地实现了荧光成像和PET双模成像引导的肿瘤光动力治疗. 文献^[154]的研究构建了金纳米笼和HPPH复合的诊疗纳米颗粒, 该诊疗纳米颗粒可用于体内的荧光和光声双模成像引导的肿瘤光动力治疗.

基因治疗是利用核酸结构, 如DNA、反义寡核苷酸(antisense oligonucleotides, ASODNs)和siRNA来纠正疾病细胞中的基因异常的一种治疗方法^[155]. 基因功能障碍, 包括基因缺失或缺陷以及基因的不规则表达, 可能会导致遗传性出生缺陷、癌症、心血管疾病、神经退行性疾病和病毒感染等多种疾病. 基因治疗首先需要实现基因的有效传递, 这依赖于复杂的基因转运系统. 治疗基因必须穿过目标细胞的细胞外膜, 有的还需要穿过核膜, 才能到达细胞内的靶部位. 目前, 临床试验中用到了两类基因载体——重组病毒和非病毒载体. 重组病毒载体包括逆转录病毒载体、腺病毒载体、腺相关病毒载体、单纯疱疹病毒载体、痘病毒载体等, 其优点是转染效率高, 缺点是副作用较大, 有免疫原性和插入诱变的风险, 重复给药后转染效率降低等. 目前应用的非病毒载体主要是聚合物纳米颗粒、树枝状大分子、脂质体纳米颗粒、无机纳米颗粒(量子点、磁性氧化铁纳米颗粒、金纳米颗粒、氧化硅纳米颗粒、碳纳米管等)等. 合成的非病毒载体比病毒载体转染效率低, 但具有更低的免疫原性, 更易于批量生产, 更易于表面功能化以增加特异性靶向, 以及易于携带各种治疗药物^[156]. 基于基因治疗策略的纳米诊疗平台的构建就是在携带治疗基因非病毒载体上进一步功能化, 增加成像单元及靶向配体. 例如, Lee研究组^[157]制备了以FeCo为核、石墨碳为壳的磁性纳米颗粒FeCo/C, 这种纳米颗粒本身可应用于磁感应热疗以及MRI造影剂, 进一步连接siRNA后, 构成的诊疗纳米粒子可用于MRI成像引导的磁感应热疗联合基因治疗. 文献^[158]的研究开发了一个基于星型金纳米颗粒的

诊疗纳米平台, 研究者在Au纳米星颗粒上修饰G3 PA-MAM树状大分子, 然后用RGD进行修饰, 使其对肿瘤细胞具有靶向特异性, 进一步将这种纳米颗粒作为siRNA的基因载体, 这样构建的诊疗纳米颗粒可用于CT成像、光热治疗和肿瘤基因治疗.

近年来, 纳米颗粒作为佐剂或载体在疫苗免疫治疗中的应用引起了人们的极大兴趣. 携带抗原等生物药物的纳米颗粒可以模拟病原体的生物物理和生化特性, 在不产生毒副作用的情况下诱导有效的免疫应答, 而且还可以实现对特定免疫细胞的靶向以提高抗原的利用率, 并增强生物药物的稳定性, 实现缓释控释等, 而其局限性则在于网状内皮系统(reticulo-endothelial system, RES)对其的非特异性摄取和免疫毒性的形成^[159]. 应用于疫苗佐剂或载体的纳米颗粒有类病毒颗粒^[160]、自组装蛋白颗粒^[161]、无机纳米颗粒(氢氧化铝纳米颗粒^[162]、金纳米颗粒^[163]、碳纳米结构^[164]、氧化硅纳米颗粒^[165]、磷酸钙纳米颗粒^[166]等)以及脂质体^[167]、聚合物(壳聚糖^[168,169]、聚乳酸羟基乙酸共聚物PLGA^[170]、聚乙烯亚胺PEI^[171]等)生物可降解纳米材料. 树突状细胞与肿瘤细胞融合疫苗被认为是一种有效的肿瘤生物学治疗方法, 然而其在早期临床试验中的治疗效果并不理想, 部分原因是肿瘤免疫抑制的环境. Hu等人^[169]将叶酸修饰的负载mIP-10质粒的壳聚糖纳米粒子与表面携带叶酸受体的DC与肿瘤细胞融合疫苗相结合, 形成FA-壳聚糖/mIP-10联合DC/肿瘤细胞融合疫苗, 将其接种于小鼠后, 可有效抑制肿瘤免疫抑制环境, 增强DC/肿瘤细胞融合疫苗的抗肿瘤效果.

放射治疗是一种应用广泛的肿瘤治疗策略, 主要通过电离辐射产生氧自由基来攻击癌细胞内重要的生物分子(例如DNA)从而破坏肿瘤. 然而, 使用高能辐射(X射线或γ射线)杀伤癌细胞的外部放疗会对被射线穿透的正常组织造成严重的损伤. 此外, 由于肿瘤微环境的乏氧性, 乏氧肿瘤细胞对电离辐射的抵抗力比正常细胞强, 可能会导致放疗失败. 纳米诊疗中应用放疗策略有两种: 一种是直接将放射性的纳米颗粒靶向或植入到肿瘤部位, 进行局部放疗, 以降低对周围正常组织的放射毒性, 文献^[172]的研究将临床中近距放疗用的放射性同位素钷-103包覆在直径约为120 nm的单分散空心金纳米颗粒上形成¹⁰³Pd@Au纳米颗粒, 将其注射到小鼠前列腺癌移植瘤内并观察治疗效果, 采

用SPECT/CT成像检测纳米颗粒体内的生物分布和瘤内滞留情况; 另一种放疗策略是将能够放射增敏的纳米颗粒靶向到肿瘤部位, 提高放疗对癌症的疗效, 降低对正常组织的放射毒性。目前文献报导的在纳米诊疗中应用的放射增敏剂有金纳米颗粒^[173]、上转换纳米颗粒^[174]以及Bi₂Se₃纳米颗粒^[175]等。

除上述提到的各种治疗策略, 纳米颗粒可功能化的优越性还体现在可以将多种治疗策略集成在一个纳米诊疗平台上, 实现联合增效治疗。例如, 文献^[176]的研究构建了MnSe@Bi₂Se₃纳米颗粒进行放疗和光热疗的联合增效治疗; 文献^[177]的研究在多孔CuS纳米颗粒上负载磁性氧化铁纳米颗粒和化疗药物阿霉素进行化疗和光热疗的联合增效治疗; 文献^[178]的研究构建了pH敏感和热敏感的磁性纳米药物载体, 用于化疗和磁感应热疗的联合增效治疗等。

3.4 纳米诊疗领域的关键科学问题

综上, 纳米诊疗领域亟待解决以下4个关键科学问题。

(1) 诊疗纳米载体的优化设计。诊疗纳米颗粒要实现其诊断和治疗的功能, 必须首先能够突破生理屏障与细胞屏障, 到达靶组织和靶细胞, 并在靶部位达到一定浓度的累积, 才能够提高治疗效果并降低系统毒性。如何通过对纳米诊疗载体的优化和创新结构设计来实现这个靶向递送过程, 并进一步提升肿瘤内的累积剂量, 是未来纳米诊疗的重要任务和挑战。

(2) EPR效应异质性的影像学评价与患者分层。肿瘤的异质性, 特别是EPR效应的异质性影响了纳米药物的疗效。如果能够在纳米药物治疗之前预先了解患者EPR效应的特性, 了解纳米药物在肿瘤靶区的累积渗透情况, 进行患者分层, 就能指导纳米药物的使用, 提高治疗效率。实现EPR效应的影像学评价需要诊疗纳米颗粒能够模仿纳米药物的体内行为和瘤内分布, 并能够通过影像学手段进行成像分析。

(3) 纳米诊疗系统中诊断与治疗的协调。诊疗一体化曾有过争论, 因此需要诊断与治疗的适时结合与分

开, 以临床适用性为目的设计纳米诊疗策略将是未来的迫切需求, 该方面急需诊疗机制和方法学的创新以及相关核心技术的突破。同时, 应关注多模成像单元的剂量匹配以及与多模成像设备的匹配, 做到真正的多模态互补与融合。因为肿瘤耐药性的存在, 联合多种治疗单元对肿瘤进行多机制、多途径、协同的杀伤, 以及联合免疫治疗, 将是未来肿瘤治疗的重要方向。

(4) 诊疗纳米颗粒的成药与临床应用要求。纳米材料具有复杂的结构-功能关系, 并且随着材料特性(大小、形状、电荷、组成、复合结构等)的变化, 以及在不同的生理环境和疾病中的应用, 其毒理学结果之间可能存在明显的不一致, 这使得诊疗纳米颗粒作为药物被批准使用非常困难。要推动诊疗纳米颗粒的成药, 必须在其复杂性与临床要求的简单、安全、有效性之间进行协调, 建立更简单的纳米诊疗策略, 同时要推动纳米材料表征和制备的标准方法的制定。

4 结论

纳米诊疗领域是伴随纳米药物的研发和应用在21世纪才出现的新兴领域, 以实现肿瘤的个体化医疗为最终目标, 旨在在肿瘤治疗中实现患者分层, 纳米药物的疗效预测, 肿瘤治疗的疗效监控, 以及图像引导的肿瘤治疗。从纳米诊疗概念出现至今, 该领域已迅速成为研究热点, 研究论文逐年增加, 同时有若干纳米诊疗剂已获得FDA的批准用于临床。从该领域论文发表情况看, 中国的论文发表数量已经超过美国居世界第一位, 中国的国家自然科学基金成为支持该领域论文发表数量最多的基金, 这也体现了中国政府对该领域的支持。

由于复杂的“结构-功能”关系, 纳米诊疗剂通向临床之路困难重重。但是, 精准医疗是未来医学发展的大趋势, 纳米诊疗剂的临床使用和研究必然具有巨大的发展潜力, 它是学术界、工业界、临床医生和监管者面临的重要机遇和挑战。

参考文献

- 1 Funkhouser J. Reinventing pharma: The theranostic revolution. *Curr Drug Discov*, 2002, 2: 17-19
- 2 Sumer B, Gao J. Theranostic nanomedicine for cancer. *Nanomedicine*, 2008, 3: 137-140

- 3 Qiu H, Li J H, Yu L S, et al. Analysis of the life expectancy and the impact of diseases (in Chinese). *Popul J*, 2018, 40: 33–41 [邱红, 李晶华, 于丽莎, 等. 人口平均预期寿命及疾病影响因素分析. *人口学刊*, 2018, 40: 33–41]
- 4 Marte B. Tumour heterogeneity. *Nature*, 2013, 501: 327
- 5 Meacham C E, Morrison S J. Tumour heterogeneity and cancer cell plasticity. *Nature*, 2013, 501: 328–337
- 6 Gref R, Domb A, Quellec P, et al. The controlled intravenous delivery of drugs using PEG-coated sterically stabilized nanospheres. *Adv Drug Deliv Rev*, 1995, 16: 215–233
- 7 Yildirimer L, Thanh N T K, Loizidou M, et al. Toxicology and clinical potential of nanoparticles. *Nano Today*, 2011, 6: 585–607
- 8 Patel J. Liposomal doxorubicin: Doxil®. *J Oncol Pharm Pract*, 1996, 2: 201–210
- 9 Koukourakis M I, Koukouraki S, Giatromanolaki A, et al. Liposomal doxorubicin and conventionally fractionated radiotherapy in the treatment of locally advanced non-small-cell lung cancer and head and neck cancer. *J Clin Oncol*, 1999, 17: 3512–3521
- 10 Harrington K J, Mohammadtaghi S, Uster P S, et al. Effective targeting of solid tumors in patients with locally advanced cancers by radiolabeled pegylated liposomes. *Clin Cancer Res*, 2001, 7: 243–254
- 11 Miele E, Spinelli G P, Miele E, et al. Albumin-bound formulation of paclitaxel (Abraxane® ABI-007) in the treatment of breast cancer. *Int J Nanomedicine*, 2009, 4: 99–105
- 12 Libutti S K, Paciotti G F, Byrnes A A, et al. Phase I and pharmacokinetic studies of CYT-6091, a novel PEGylated colloidal gold-rhTNF nanomedicine. *Clin Cancer Res*, 2010, 16: 6139–6149
- 13 Ozcan G, Ozpolat B, Coleman R L, et al. Preclinical and clinical development of siRNA-based therapeutics. *Adv Drug Deliv Rev*, 2015, 87: 108–119
- 14 Bashir M R, Bhatti L, Marin D, et al. Emerging applications for ferumoxytol as a contrast agent in MRI. *J Magn Reson Imag*, 2015, 41: 884–898
- 15 Hrkach J, Von Hoff D, Mukkaram Ali M, et al. Preclinical development and clinical translation of a PSMA-targeted docetaxel nanoparticle with a differentiated pharmacological profile. *Sci Transl Med*, 2012, 4: 128ra39
- 16 Arrieta Ó, Medina L A, Estrada-Lobato E, et al. First-line chemotherapy with liposomal doxorubicin plus cisplatin for patients with advanced malignant pleural mesothelioma: Phase II trial. *Br J Cancer*, 2012, 106: 1027–1032
- 17 Phillips E, Penate-Medina O, Zanzonico P B, et al. Clinical translation of an ultrasmall inorganic optical-PET imaging nanoparticle probe. *Sci Transl Med*, 2014, 6: 260ra149
- 18 Miller M A, Gadde S, Pfirschke C, et al. Predicting therapeutic nanomedicine efficacy using a companion magnetic resonance imaging nanoparticle. *Sci Transl Med*, 2015, 7: 314ra183
- 19 Bonvalot S, Le Pechoux C, De Baere T, et al. First-in-human study testing a new radioenhancer using nanoparticles (NBTXR3) activated by radiation therapy in patients with locally advanced soft tissue sarcomas. *Clin Cancer Res*, 2016, 23: 908–917
- 20 Alexis F, Pridgen E, Molnar L K, et al. Factors affecting the clearance and biodistribution of polymeric nanoparticles. *Mol Pharm*, 2008, 5: 505–515
- 21 Davis M E, Chen Z G, Shin D M. Nanoparticle therapeutics: An emerging treatment modality for cancer. *Nat Rev Drug Discov*, 2008, 7: 771–782
- 22 Soo Choi H, Liu W, Misra P, et al. Renal clearance of nanoparticles. *Nat Biotechnol*, 2007, 25: 1165–1170
- 23 Kievit F M, Zhang M. Cancer nanotheranostics: Improving imaging and therapy by targeted delivery across biological barriers. *Adv Mater*, 2011, 23: H217–H247
- 24 Matsumura Y, Maeda H. A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: Mechanism of tumoritropic accumulation of proteins and the antitumor agent smancs. *Cancer Res*, 1986, 46: 6387–6392
- 25 Liu B R, Huang Y, Winiarz J G, et al. Intracellular delivery of quantum dots mediated by a histidine- and arginine-rich HR9 cell-penetrating peptide through the direct membrane translocation mechanism. *Biomaterials*, 2011, 32: 3520–3537
- 26 Schmidt N, Mishra A, Lai G H, et al. Arginine-rich cell-penetrating peptides. *FEBS Lett*, 2010, 584: 1806–1813
- 27 Veiseh O, Kievit F M, Mok H, et al. Cell transcytosing poly-arginine coated magnetic nanovector for safe and effective sirna delivery. *Biomaterials*, 2011, 32: 5717–5725
- 28 Mintzer M A, Simanek E E. Nonviral vectors for gene delivery. *Chem Rev*, 2008, 109: 259–302
- 29 Jordan M A, Wilson L. Microtubules as a target for anticancer drugs. *Nat Rev Cancer*, 2004, 4: 253–265
- 30 Sutton D, Nasongkla N, Blanco E, et al. Functionalized micellar systems for cancer targeted drug delivery. *Pharm Res*, 2007, 24: 1029–1046

- 31 Hollis C P, Weiss H L, Leggas M, et al. Biodistribution and bioimaging studies of hybrid paclitaxel nanocrystals: Lessons learned of the EPR effect and image-guided drug delivery. *J Control Release*, 2013, 172: 12–21
- 32 Meng H, Xue M, Xia T, et al. Use of size and a copolymer design feature to improve the biodistribution and the enhanced permeability and retention effect of doxorubicin-loaded mesoporous silica nanoparticles in a murine xenograft tumor model. *ACS Nano*, 2011, 5: 4131–4144
- 33 Chen L, Zang F, Wu H, et al. Using PEGylated magnetic nanoparticles to describe the EPR effect in tumor for predicting therapeutic efficacy of micelle drugs. *Nanoscale*, 2018, 10: 1788–1797
- 34 O'Brien M E R, Wigler N, Inbar M, et al. Reduced cardiotoxicity and comparable efficacy in a phase III trial of pegylated liposomal doxorubicin HCl(CAELYX™/Doxil®) versus conventional doxorubicin for first-line treatment of metastatic breast cancer. *Ann Oncol*, 2004, 15: 440–449
- 35 Minchinton A I, Tannock I F. Drug penetration in solid tumours. *Nat Rev Cancer*, 2006, 6: 583–592
- 36 Sahoo S K, Ma W, Labhasetwar V. Efficacy of transferrin-conjugated paclitaxel-loaded nanoparticles in a murine model of prostate cancer. *Int J Cancer*, 2010, 112: 335–340
- 37 Senzer N, Nemunaitis J, Nemunaitis D, et al. Phase I study of a systemically delivered p53 nanoparticle in advanced solid tumors. *Mol Ther*, 2013, 21: 1096–1103
- 38 Byrne J D, Betancourt T, Brannon-Peppas L. Active targeting schemes for nanoparticle systems in cancer therapeutics. *Adv Drug Deliv Rev*, 2008, 60: 1615–1626
- 39 Alexis F, Basto P, Levy-Nissenbaum E, et al. Her-2-targeted nanoparticle-affibody bioconjugates for cancer therapy. *Chemmedchem*, 2008, 3: 1839–1843
- 40 Wang C, Chen J, Talavage T, et al. Gold nanorod/Fe₃O₄ nanoparticle “nano-pearl-necklaces” for simultaneous targeting, dual-mode imaging, and photothermal ablation of cancer cells. *Angew Chem Int Ed*, 2009, 48: 2759–2763
- 41 El-Sayed I H, Huang X, El-Sayed M A. Surface plasmon resonance scattering and absorption of anti-EGFR Antibody conjugated gold nanoparticles in cancer diagnostics: applications in oral cancer. *Nano Lett*, 2005, 5: 829–834
- 42 Creixell M, Bohórquez A C, Torres-Lugo M, et al. EGFR-targeted magnetic nanoparticle heaters kill cancer cells without a perceptible temperature rise. *ACS Nano*, 2011, 5: 7124–7129
- 43 Milane L, Duan Z, Amiji M. Therapeutic efficacy and safety of paclitaxel/Ionidamine loaded EGFR-targeted nanoparticles for the treatment of multi-drug resistant cancer. *PLoS ONE*, 2011, 6: e24075
- 44 Visaria R K, Griffin R J, Williams B W, et al. Enhancement of tumor thermal therapy using gold nanoparticle-assisted tumor necrosis factor- α delivery. *Mol Cancer Ther*, 2006, 5: 1014–1020
- 45 Hun X, Zhang Z. Fluoroimmunoassay for tumor necrosis factor- α in human serum using Ru(bpy)₃Cl₂-doped fluorescent silica nanoparticles as labels. *Talanta*, 2007, 73: 366–371
- 46 Liu Y, Chen Z, Liu C, et al. Gadolinium-loaded polymeric nanoparticles modified with anti-VEGF as multifunctional MRI contrast agents for the diagnosis of liver cancer. *Biomaterials*, 2011, 32: 5167–5176
- 47 Chen J, Wu H, Han D, et al. Using anti-VEGF mAb and magnetic nanoparticles as double-targeting vector for the radioimmunotherapy of liver cancer. *Cancer Lett*, 2006, 231: 169–175
- 48 Veiseh O, Gunn J W, Kievit F M, et al. Inhibition of tumor-cell invasion with chlorotoxin-bound superparamagnetic nanoparticles. *Small*, 2009, 5: 256–264
- 49 Sun C, Du K, Fang C, et al. PEG-mediated synthesis of highly dispersive multifunctional superparamagnetic nanoparticles: their physicochemical properties and function *in vivo*. *ACS Nano*, 2010, 4: 2402–2410
- 50 Lee M J E, Veiseh O, Bhattarai N, et al. Rapid pharmacokinetic and biodistribution studies using chlorotoxin-conjugated iron oxide nanoparticles: A novel non-radioactive method. *PLoS ONE*, 2010, 5: e9536
- 51 Zhen Z, Tang W, Chen H, et al. RGD-modified apoferritin nanoparticles for efficient drug delivery to tumors. *ACS Nano*, 2013, 7: 4830–4837
- 52 Zhang F, Huang X, Zhu L, et al. Noninvasive monitoring of orthotopic glioblastoma therapy response using RGD-conjugated iron oxide nanoparticles. *Biomaterials*, 2012, 33: 5414–5422
- 53 Ji S, Xu J, Zhang B, et al. RGD-conjugated albumin nanoparticles as a novel delivery vehicle in pancreatic cancer therapy. *Cancer Biol Ther*, 2012, 13: 206–215
- 54 Fang C, Veiseh O, Kievit F, et al. Functionalization of iron oxide magnetic nanoparticles with targeting ligands: their physicochemical properties and *in vivo* behavior. *Nanomedicine*, 2010, 5: 1357–1369

- 55 Choi C H J, Alabi C A, Webster P, et al. Mechanism of active targeting in solid tumors with transferrin-containing gold nanoparticles. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 1235–1240
- 56 Gan C W, Feng S S. Transferrin-conjugated nanoparticles of poly(lactide)-d- α -tocopheryl polyethylene glycol succinate diblock copolymer for targeted drug delivery across the blood-brain barrier. *Biomaterials*, 2010, 31: 7748–7757
- 57 Liu Y, Li K, Pan J, et al. Folic acid conjugated nanoparticles of mixed lipid monolayer shell and biodegradable polymer core for targeted delivery of docetaxel. *Biomaterials*, 2010, 31: 330–338
- 58 Li K, Jiang Y, Ding D, et al. Folic acid-functionalized two-photon absorbing nanoparticles for targeted MCF-7 cancer cell imaging. *Chem Commun*, 2011, 47: 7323–7325
- 59 Devaraj N K, Keliher E J, Thurber G M, et al. ^{18}F labeled nanoparticles for *in vivo* PET-CT imaging. *Bioconjug Chem*, 2009, 20: 397–401
- 60 Nahrendorf M, Keliher E, Panizzi P, et al. ^{18}F -4V for PET-CT imaging of VCAM-1 expression in atherosclerosis. *JACC Cardiovasc Imag*, 2009, 2: 1213–1222
- 61 Judenhofer M S, Wehrl H F, Newport D F, et al. Simultaneous PET-MRI: A new approach for functional and morphological imaging. *Nat Med*, 2008, 14: 459–465
- 62 Head H W, Dodd Iii G D, Bao A, et al. Combination radiofrequency ablation and intravenous radiolabeled liposomal doxorubicin: Imaging and quantification of increased drug delivery to tumors. *Radiology*, 2010, 255: 405–414
- 63 Herth M M, Barz M, Moderegger D, et al. Radioactive labeling of defined HPMa-based polymeric structures using [^{18}F]FETos for *in vivo* imaging by positron emission tomography. *Biomacromolecules*, 2009, 10: 1697–1703
- 64 Marik J, Tartis M S, Zhang H, et al. Long-circulating liposomes radiolabeled with [^{18}F]fluorodipalmitin ([^{18}F]FDP). *Nucl Med Biol*, 2007, 34: 165–171
- 65 Lee H Y, Li Z, Chen K, et al. PET/MRI dual-modality tumor imaging using arginine-glycine-aspartic (RGD)-conjugated radiolabeled iron oxide nanoparticles. *J Nucl Med*, 2008, 49: 1371–1379
- 66 Black K C L, Akers W J, Sudlow G, et al. Dual-radiolabeled nanoparticle SPECT probes for bioimaging. *Nanoscale*, 2015, 7: 440–444
- 67 Bourin M, Joliet P, Ballereau F. An overview of the clinical pharmacokinetics of X-ray contrast media. *Clin Pharmacokinet*, 1997, 32: 180–193
- 68 Peng C, Zheng L, Chen Q, et al. PEGylated dendrimer-entrapped gold nanoparticles for *in vivo* blood pool and tumor imaging by computed tomography. *Biomaterials*, 2012, 33: 1107–1119
- 69 Hallouard F, Anton N, Choquet P, et al. Iodinated blood pool contrast media for preclinical X-ray imaging applications—A review. *Biomaterials*, 2010, 31: 6249–6268
- 70 Samei E, Saunders R S, Badea C T, et al. Micro-CT imaging of breast tumors in rodents using a liposomal, nanoparticle contrast agent. *Int J Nanomedicine*, 2009, 4: 277
- 71 Ghaghada K B, Badea C T, Karumbaiah L, et al. Evaluation of tumor microenvironment in an animal model using a nanoparticle contrast agent in computed tomography imaging. *Acad Radiol*, 2011, 18: 20–30
- 72 Torchilin V P, Frank-Kamenetsky M D, Wolf G L. CT visualization of blood pool in rats by using long-circulating, iodine-containing micelles. *Acad Radiol*, 1999, 6: 61–65
- 73 deKrafft K, Xie Z, Cao G, et al. Iodinated nanoscale coordination polymers as potential contrast agents for computed tomography. *Angew Chem*, 2009, 121: 10085–10088
- 74 Aviv H, Bartling S, Kiesling F, et al. Radiopaque iodinated copolymeric nanoparticles for X-ray imaging applications. *Biomaterials*, 2009, 30: 5610–5616
- 75 Kim D, Jeong Y Y, Jon S. A drug-loaded aptamer-gold nanoparticle bioconjugate for combined CT imaging and therapy of prostate cancer. *ACS Nano*, 2010, 4: 3689–3696
- 76 Wang H, Zheng L, Peng C, et al. Folic acid-modified dendrimer-entrapped gold nanoparticles as nanoprobes for targeted ct imaging of human lung adenocarcinoma. *Biomaterials*, 2013, 34: 470–480
- 77 Zhang J, Li C, Zhang X, et al. *In vivo* tumor-targeted dual-modal fluorescence/CT imaging using a nanoprobe co-loaded with an aggregation-induced emission dye and gold nanoparticles. *Biomaterials*, 2015, 42: 103–111
- 78 Liu Z, Li Z, Liu J, et al. Long-circulating Er^{3+} -doped Yb_2O_3 up-conversion nanoparticle as an *in vivo* X-ray CT imaging contrast agent. *Biomaterials*, 2012, 33: 6748–6757
- 79 Tian G, Zheng X, Zhang X, et al. TPGS-stabilized $\text{NaYbF}_4\text{:Er}$ upconversion nanoparticles for dual-modal fluorescent/CT imaging and

- anticancer drug delivery to overcome multi-drug resistance. *Biomaterials*, 2015, 40: 107–116
- 80 Zhou Z, Kong B, Yu C, et al. Tungsten oxide nanorods: An efficient nanoplatfrom for tumor CT imaging and photothermal therapy. *Sci Rep*, 2014, 4: 3653
- 81 Jin Y, Li Y, Ma X, et al. Encapsulating tantalum oxide into polypyrrole nanoparticles for X-ray CT/photoacoustic bimodal imaging-guided photothermal ablation of cancer. *Biomaterials*, 2014, 35: 5795–5804
- 82 Shi H, Niu M, Tan L, et al. A smart all-in-one theranostic platform for CT imaging guided tumor microwave thermotherapy based on IL@ZrO₂ nanoparticles. *Chem Sci*, 2015, 6: 5016–5026
- 83 Huang P, Bao L, Zhang C, et al. Folic acid-conjugated silica-modified gold nanorods for X-ray/CT imaging-guided dual-mode radiation and photo-thermal therapy. *Biomaterials*, 2011, 32: 9796–9809
- 84 Park J, Park J, Ju E J, et al. Multifunctional hollow gold nanoparticles designed for triple combination therapy and CT imaging. *J Control Release*, 2015, 207: 77–85
- 85 Xing H, Bu W, Zhang S, et al. Multifunctional nanoprobe for upconversion fluorescence, MR and CT trimodal imaging. *Biomaterials*, 2012, 33: 1079–1089
- 86 Zhu X, Zhou J, Chen M, et al. Core-shell Fe₃O₄@NaLuF₄:Yb,Er/Tm nanostructure for MRI, CT and upconversion luminescence tri-modality imaging. *Biomaterials*, 2012, 33: 4618–4627
- 87 Zeng S, Tsang M K, Chan C F, et al. PEG modified BaGdF₅:Yb/Er nanoprobe for multi-modal upconversion fluorescent, *in vivo* X-ray computed tomography and biomagnetic imaging. *Biomaterials*, 2012, 33: 9232–9238
- 88 Park Y I, Lee K T, Suh Y D, et al. Upconverting nanoparticles: A versatile platform for wide-field two-photon microscopy and multi-modal *in vivo* imaging. *Chem Soc Rev*, 2015, 44: 1302–1317
- 89 Aime S, Frullano L, Geninatti Crich S. Compartmentalization of a gadolinium complex in the apoferritin cavity: A route to obtain high relaxivity contrast agents for magnetic resonance imaging. *Angew Chem Int Ed*, 2002, 41: 1017–1019
- 90 Sitharaman B, Kissell K R, Hartman K B, et al. Superparamagnetic gadonanotubes are high-performance MRI contrast agents. *Chem Commun*, 2005, 31: 3915–3917
- 91 Onuki Y, Jacobs I, Artemov D, et al. Noninvasive visualization of *in vivo* release and intratumoral distribution of surrogate MR contrast agent using the dual MR contrast technique. *Biomaterials*, 2010, 31: 7132–7138
- 92 Kumar C S S R, Mohammad F. Magnetic nanomaterials for hyperthermia-based therapy and controlled drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev*, 2011, 63: 789–808
- 93 Xie J, Zhang Y, Yan C, et al. High-performance PEGylated Mn-Zn ferrite nanocrystals as a passive-targeted agent for magnetically induced cancer theranostics. *Biomaterials*, 2014, 35: 9126–9136
- 94 Comes Franchini M, Baldi G, Bonacchi D, et al. Bovine serum albumin-based magnetic nanocarrier for MRI diagnosis and hyperthermic therapy: A potential theranostic approach against cancer. *Small*, 2010, 6: 366–370
- 95 Licha K, Olbrich C. Optical imaging in drug discovery and diagnostic applications. *Adv Drug Deliv Rev*, 2005, 57: 1087–1108
- 96 Montet X, Montet-Abou K, Reynolds F, et al. Nanoparticle imaging of integrins on tumor cells. *Neoplasia*, 2006, 8: 214–222
- 97 Ntziachristos V, Ripoll J, Wang L V, et al. Looking and listening to light: The evolution of whole-body photonic imaging. *Nat Biotechnol*, 2005, 23: 313–320
- 98 Kossodo S, Pickarski M, Lin S A, et al. Dual *in vivo* quantification of integrin-targeted and protease-activated agents in cancer using fluorescence molecular tomography (FMT). *Mol Imag Biol*, 2010, 12: 488–499
- 99 Montet X, Ntziachristos V, Grimm J, et al. Tomographic fluorescence mapping of tumor targets. *Cancer Res*, 2005, 65: 6330–6336
- 100 Ale A, Ermolayev V, Herzog E, et al. FMT-XCT: *in vivo* animal studies with hybrid fluorescence molecular tomography-X-ray computed tomography. *Nat Methods*, 2012, 9: 615–620
- 101 Nahrendorf M, Waterman P, Thurber G, et al. Hybrid *in vivo* FMT-CT imaging of protease activity in atherosclerosis with customized nanosensors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2009, 29: 1444–1451
- 102 Theek B, Baues M, Ojha T, et al. Sonoporation enhances liposome accumulation and penetration in tumors with low EPR. *J Control Release*, 2016, 231: 77–85
- 103 Kunjachan S, Gremse F, Theek B, et al. Noninvasive optical imaging of nanomedicine biodistribution. *ACS Nano*, 2013, 7: 252–262
- 104 Mallidi S, Luke G P, Emelianov S. Photoacoustic imaging in cancer detection, diagnosis, and treatment guidance. *Trends Biotech*, 2011, 29:

213–221

- 105 Fathi P, Knox H J, Sar D, et al. Biodegradable biliverdin nanoparticles for efficient photoacoustic imaging. *ACS Nano*, 2019, 13: 7690–7704
- 106 Kim C, Cho E C, Chen J, et al. *In vivo* molecular photoacoustic tomography of melanomas targeted by bioconjugated gold nanocages. *ACS Nano*, 2010, 4: 4559–4564
- 107 Stritzker J, Kirscher L, Scadeng M, et al. Vaccinia virus-mediated melanin production allows MR and optoacoustic deep tissue imaging and laser-induced thermotherapy of cancer. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 3316–3320
- 108 Liu X, Law W C, Jeon M, et al. Cu_{2-x}Se nanocrystals with localized surface plasmon resonance as sensitive contrast agents for *in vivo* photoacoustic imaging: demonstration of sentinel lymph node mapping. *Adv Healthc Mater*, 2013, 2: 952–957
- 109 Vonnemann J, Beziere N, Böttcher C, et al. Polyglycerolsulfate functionalized gold nanorods as optoacoustic signal nanoamplifiers for *in vivo* bioimaging of rheumatoid arthritis. *Theranostics*, 2014, 4: 629–641
- 110 Jose J, Manohar S, Kolkman R G M, et al. Imaging of tumor vasculature using twente photoacoustic systems. *J Biophoton*, 2009, 2: 701–717
- 111 Yang X, Stein E W, Ashkenazi S, et al. Nanoparticles for photoacoustic imaging. *WIREs Nanomed Nanobiotechnol*, 2009, 1: 360–368
- 112 Weber J, Beard P C, Bohndiek S E. Contrast agents for molecular photoacoustic imaging. *Nat Methods*, 2016, 13: 639–650
- 113 Jing L, Liang X, Deng Z, et al. Prussian blue coated gold nanoparticles for simultaneous photoacoustic/CT bimodal imaging and photothermal ablation of cancer. *Biomaterials*, 2014, 35: 5814–5821
- 114 Moon G D, Choi S W, Cai X, et al. A new theranostic system based on gold nanocages and phase-change materials with unique features for photoacoustic imaging and controlled release. *J Am Chem Soc*, 2011, 133: 4762–4765
- 115 de la Zerda A, Liu Z, Bodapati S, et al. Ultrahigh sensitivity carbon nanotube agents for photoacoustic molecular imaging in living mice. *Nano Lett*, 2010, 10: 2168–2172
- 116 Xiang L, Yuan Y, Xing D, et al. Photoacoustic molecular imaging with antibody-functionalized single-walled carbon nanotubes for early diagnosis of tumor. *J Biomed Opt*, 2009, 14: 021008
- 117 Repenko T, Fokong S, De Laporte L, et al. Water-soluble dopamine-based polymers for photoacoustic imaging. *Chem Commun*, 2015, 51: 6084–6087
- 118 Pu K, Mei J, Jokerst J V, et al. Diketopyrrolopyrrole-based semiconducting polymer nanoparticles for *in vivo* photoacoustic imaging. *Adv Mater*, 2015, 27: 5184–5190
- 119 Lee C, Kim J, Zhang Y, et al. Dual-color photoacoustic lymph node imaging using nanoformulated naphthalocyanines. *Biomaterials*, 2015, 73: 142–148
- 120 Deckers R, Moonen C T W. Ultrasound triggered, image guided, local drug delivery. *J Control Release*, 2010, 148: 25–33
- 121 Lentacker I, de Smedt S C, Sanders N N. Drug loaded microbubble design for ultrasound triggered delivery. *Soft Matter*, 2009, 5: 2161–2170
- 122 Kudo N, Okada K, Yamamoto K. Sonoporation by single-shot pulsed ultrasound with microbubbles adjacent to cells. *Biophys J*, 2009, 96: 4866–4876
- 123 van Wamel A, Kooiman K, Harteveld M, et al. Vibrating microbubbles poking individual cells: Drug transfer into cells via sonoporation. *J Control Release*, 2006, 112: 149–155
- 124 Fokong S, Theek B, Wu Z, et al. Image-guided, targeted and triggered drug delivery to tumors using polymer-based microbubbles. *J Control Release*, 2012, 163: 75–81
- 125 Staruch R M, Ganguly M, Tannock I F, et al. Enhanced drug delivery in rabbit VX2 tumours using thermosensitive liposomes and MRI-controlled focused ultrasound hyperthermia. *Int J Hypertherm*, 2012, 28: 776–787
- 126 Ninomiya K, Kawabata S, Tashita H, et al. Ultrasound-mediated drug delivery using liposomes modified with a thermosensitive polymer. *Ultrason Sonochem*, 2014, 21: 310–316
- 127 Zhu H, Zhou K, Zhang L, et al. High intensity focused ultrasound (HIFU) therapy for local treatment of hepatocellular carcinoma: Role of partial rib resection. *Eur J Rad*, 2009, 72: 160–166
- 128 Crouzet S, Murat F J, Pasticier G, et al. High intensity focused ultrasound (HIFU) for prostate cancer: Current clinical status, outcomes and future perspectives. *Int J Hypertherm*, 2010, 26: 796–803
- 129 Dromi S, Frenkel V, Luk A, et al. Pulsed-high intensity focused ultrasound and low temperature sensitive liposomes for enhanced targeted drug delivery and antitumor effect. *Clin Cancer Res*, 2007, 13: 2722–2727
- 130 Frenkel V. Ultrasound mediated delivery of drugs and genes to solid tumors. *Adv Drug Deliv Rev*, 2008, 60: 1193–1208

- 131 Schleich N, Sibret P, Danhier P, et al. Dual anticancer drug/superparamagnetic iron oxide-loaded PLGA-based nanoparticles for cancer therapy and magnetic resonance imaging. *Int J Pharm*, 2013, 447: 94–101
- 132 Tagami T, Foltz W D, Ernsting M J, et al. MRI monitoring of intratumoral drug delivery and prediction of the therapeutic effect with a multifunctional thermosensitive liposome. *Biomaterials*, 2011, 32: 6570–6578
- 133 Kobayashi T. Cancer hyperthermia using magnetic nanoparticles. *Biotech J*, 2011, 6: 1342–1347
- 134 Bobo D, Robinson K J, Islam J, et al. Nanoparticle-based medicines: A review of FDA-approved materials and clinical trials to date. *Pharm Res*, 2016, 33: 2373–2387
- 135 Huang X, El-Sayed I H, Qian W, et al. Cancer cell imaging and photothermal therapy in the near-infrared region by using gold nanorods. *J Am Chem Soc*, 2006, 128: 2115–2120
- 136 Yang K, Hu L, Ma X, et al. Multimodal imaging guided photothermal therapy using functionalized graphene nanosheets anchored with magnetic nanoparticles. *Adv Mater*, 2012, 24: 1867
- 137 Tang S, Chen M, Zheng N. Multifunctional ultrasmall Pd nanosheets for enhanced near-infrared photothermal therapy and chemotherapy of cancer. *Nano Res*, 2015, 8: 165–174
- 138 Li N, Sun Q, Yu Z, et al. Nuclear-targeted photothermal therapy prevents cancer recurrence with near-infrared triggered copper sulfide nanoparticles. *ACS Nano*, 2018, 12: 5197–5206
- 139 Hessel C M, P. Pattani V, Rasch M, et al. Copper selenide nanocrystals for photothermal therapy. *Nano Lett*, 2011, 11: 2560–2566
- 140 Jaque D, Martínez Maestro L, del Rosal B, et al. Nanoparticles for photothermal therapies. *Nanoscale*, 2014, 6: 9494–9530
- 141 Yang K, Xu H, Cheng L, et al. *In vitro* and *in vivo* near-infrared photothermal therapy of cancer using polypyrrole organic nanoparticles. *Adv Mater*, 2012, 24: 5586–5592
- 142 Guo R, Zhang L, Qian H, et al. Multifunctional nanocarriers for cell imaging, drug delivery, and near-IR photothermal therapy. *Langmuir*, 2010, 26: 5428–5434
- 143 Shi X, Gong H, Li Y, et al. Graphene-based magnetic plasmonic nanocomposite for dual bioimaging and photothermal therapy. *Biomaterials*, 2013, 34: 4786–4793
- 144 Ma Y, Tong S, Bao G, et al. Indocyanine green loaded SPIO nanoparticles with phospholipid-PEG coating for dual-modal imaging and photothermal therapy. *Biomaterials*, 2013, 34: 7706–7714
- 145 Paszko E, Ehrhardt C, Senge M O, et al. Nanodrug applications in photodynamic therapy. *Photodiagn Photodyn Ther*, 2011, 8: 14–29
- 146 Shemesh C S, Hardy C W, Yu D S, et al. Indocyanine green loaded liposome nanocarriers for photodynamic therapy using human triple negative breast cancer cells. *Photodiagn Photodyn Ther*, 2014, 11: 193–203
- 147 Liu X, Yang G, Zhang L, et al. Photosensitizer cross-linked nano-micelle platform for multimodal imaging guided synergistic photothermal/photodynamic therapy. *Nanoscale*, 2016, 8: 15323–15339
- 148 Shen X, Li L, Wu H, et al. Photosensitizer-doped conjugated polymer nanoparticles for simultaneous two-photon imaging and two-photon photodynamic therapy in living cells. *Nanoscale*, 2011, 3: 5140–5146
- 149 Wang S, Huang P, Nie L, et al. Single continuous wave laser induced photodynamic/plasmonic photothermal therapy using photosensitizer-functionalized gold nanostars. *Adv Mater*, 2013, 25: 3055–3061
- 150 Zhou L, Wang W, Wei S H, et al. Encapsulation of hydrophobic anticancer drug in nano-scale porous ceramic materials for photodynamic therapy. *J Porous Mater*, 2011, 18: 517–522
- 151 Samia A C S, Dayal S, Burda C. Quantum dot-based energy transfer: Perspectives and potential for applications in photodynamic therapy. *Photochem Photobiol*, 2006, 82: 617
- 152 Tian B, Wang C, Zhang S, et al. Photothermally enhanced photodynamic therapy delivered by nano-graphene oxide. *ACS Nano*, 2011, 5: 7000–7009
- 153 Rong P, Yang K, Srivastan A, et al. Photosensitizer loaded nano-graphene for multimodality imaging guided tumor photodynamic therapy. *Theranostics*, 2014, 4: 229–239
- 154 Srivatsan A, Jenkins S V, Jeon M, et al. Gold nanocage-photosensitizer conjugates for dual-modal image-guided enhanced photodynamic therapy. *Theranostics*, 2014, 4: 163–174
- 155 Liu Y, Rohrs J, Wang P. Development and challenges of nanovectors in gene therapy. *Nano LIFE*, 2014, 04: 1441007
- 156 Kelkar S S, Reineke T M. Theranostics: Combining imaging and therapy. *Bioconjug Chem*, 2011, 22: 1879–1903

- 157 Park J K, Jung J, Subramaniam P, et al. Graphite-coated magnetic nanoparticles as multimodal imaging probes and cooperative therapeutic agents for tumor cells. *Small*, 2011, 7: 1647–1652
- 158 Wei P, Chen J, Hu Y, et al. Dendrimer-stabilized gold nanostars as a multifunctional theranostic nanoplatform for CT imaging, photothermal therapy, and gene silencing of tumors. *Adv Healthc Mater*, 2016, 5: 3203–3213
- 159 Sahdev P, Ochyl L J, Moon J J. Biomaterials for nanoparticle vaccine delivery systems. *Pharm Res*, 2014, 31: 2563–2582
- 160 Chroboczek J, Szurgot I, Szolajska E. Virus-like particles as vaccine. *Acta Biochim Pol*, 2014, 61: 531–539
- 161 Champion C I, Kickhoefer V A, Liu G, et al. A vault nanoparticle vaccine induces protective mucosal immunity. *PLoS ONE*, 2009, 4: e5409
- 162 Sun B, Ji Z, Liao Y P, et al. Engineering an effective immune adjuvant by designed control of shape and crystallinity of aluminum oxyhydroxide nanoparticles. *ACS Nano*, 2013, 7: 10834–10849
- 163 Xu L, Liu Y, Chen Z, et al. Surface-engineered gold nanorods: Promising DNA vaccine adjuvant for HIV-1 treatment. *Nano Lett*, 2012, 12: 2003–2012
- 164 Jambhrunkar M, Yu M, Zhang H, et al. Pristine mesoporous carbon hollow spheres as safe adjuvants induce excellent Th2-biased immune response. *Nano Res*, 2018, 11: 370–382
- 165 Yang Y, Jambhrunkar M, Abbaraju P L, et al. Understanding the effect of surface chemistry of mesoporous silica nanorods on their vaccine adjuvant potency. *Adv Healthc Mater*, 2017, 6: 1700466
- 166 Lin Y, Wang X, Huang X, et al. Calcium phosphate nanoparticles as a new generation vaccine adjuvant. *Expert Rev Vacc*, 2017, 16: 895–906
- 167 Smith Korsholm K, Agger E M, Foged C, et al. The adjuvant mechanism of cationic dimethyloctadecylammonium liposomes. *Immunology*, 2007, 121: 216–226
- 168 Heffernan M J, Zaharoff D A, Fallon J K, et al. *In vivo* efficacy of a chitosan/IL-12 adjuvant system for protein-based vaccines. *Biomaterials*, 2011, 32: 926–932
- 169 Hu Z, Chen J, Zhou S, et al. Mouse IP-10 gene delivered by folate-modified chitosan nanoparticles and dendritic/tumor cells fusion vaccine effectively inhibit the growth of hepatocellular carcinoma in mice. *Theranostics*, 2017, 7: 1942–1952
- 170 Cruz L J, Tacke P J, Fokkink R, et al. Targeted PLGA nano- but not microparticles specifically deliver antigen to human dendritic cells via DC-SIGN *in vitro*. *J Control Release*, 2010, 144: 118–126
- 171 Torrieri-Dramard L, Lambrecht B, Ferreira H L, et al. Intranasal DNA vaccination induces potent mucosal and systemic immune responses and cross-protective immunity against influenza viruses. *Mol Ther*, 2011, 19: 602–611
- 172 Moendarbari S, Tekade R, Mulgaonkar A, et al. Theranostic nanoseeds for efficacious internal radiation therapy of unresectable solid tumors. *Sci Rep*, 2016, 6: 20614
- 173 Joh D Y, Sun L, Stangl M, et al. Selective targeting of brain tumors with gold nanoparticle-induced radiosensitization. *PLoS ONE*, 2013, 8: e62425
- 174 Xiao Q, Zheng X, Bu W, et al. A core/satellite multifunctional nanotheranostic for *in vivo* imaging and tumor eradication by radiation/photothermal synergistic therapy. *J Am Chem Soc*, 2013, 135: 13041–13048
- 175 Zhang X D, Chen J, Min Y, et al. Metabolizable Bi₂Se₃ nanoplates: Biodistribution, toxicity, and uses for cancer radiation therapy and imaging. *Adv Funct Mater*, 2014, 24: 1718–1729
- 176 Song G, Liang C, Gong H, et al. Core-Shell MnSe@Bi₂Se₃ fabricated via a cation exchange method as novel nanotheranostics for multimodal imaging and synergistic thermoradiotherapy. *Adv Mater*, 2015, 27: 6110–6117
- 177 Feng Q, Zhang Y, Zhang W, et al. Programmed near-infrared light-responsive drug delivery system for combined magnetic tumor-targeting magnetic resonance imaging and chemo-phototherapy. *Acta Biomater*, 2016, 49: 402–413
- 178 Zhou X, Wang L, Xu Y, et al. A pH and magnetic dual-response hydrogel for synergistic chemo-magnetic hyperthermia tumor therapy. *RSC Adv*, 2018, 8: 9812–9821

Research advances in nanotheranostics

MA Ming, WU HaoAn, BAI Chen, CHEN Ling, ZHANG Yu & GU Ning

State Key Laboratory of Bioelectronics, Jiangsu Key Laboratory for Biomaterials and Devices, School of Biological Science and Medical Engineering, Southeast University, Nanjing 210096, China

Nanotheranostics is the field of achieving personalized precision medicine in tumor diagnosis and treatment. This review introduces the timeline of important advances in nanotheranostics and analyzes the literature in this field, including the number of published papers, research institutions, supporting funds, and important journals. The nanotheranostics platform construction strategy and important research advances are reviewed in detail. The nanotheranostics platform construction strategy is to integrate target delivery, imaging, and treatment in one nanocarrier, which can be either a polymer, liposome, or inorganic nanoparticle, to achieve multi-modality imaging, synergy treatments, and theranostics. Although nanotheranostic agents are difficult to obtain at the clinic, precision medicine is the general trend of future medical development, and the research and clinical application of nanotheranostic particles are bound to have great development potential.

nanotheranostics, nanoparticles, tumor treatment, precision medicine, nanomedicine, imaging

doi: [10.1360/SSV-2020-0001](https://engine.scichina.com/doi/10.1360/SSV-2020-0001)