

第554次学术讨论会·医学分子探针关键技术



分子探针在重大疾病诊疗中的应用、机遇与挑战

戴志飞

北京大学工学院生物医学工程系, 北京 100871

E-mail: zhifei.dai@pku.edu.cn

2016-03-28 收稿, 2016-05-12 修回, 2016-05-16 接受, 2016-09-21 网络版发表

国家重点研发计划纳米科技专项(2016YFA0201400)、国家杰出青年科学基金(81225011)、国家自然科学基金重点项目(81230036)和国家自然科学基金(21273014)资助

摘要 分子探针是指能准确回答生物医学问题的功能性物质。分子影像技术通过使用高亲和性、高特异性和高灵敏度的分子探针, 在活体上、在细胞和分子水平对生物学过程进行定性和定量研究, 在疾病的早期诊断、分期、疗效监测和个体化治疗等领域中发挥越来越重要的作用。但是, 分子影像技术在临床应用中面临的最大问题是缺乏特异性的分子探针。因此, 安全、高效的分子探针成为未来分子影像技术发展的重点。本文主要综述了分子探针在重大疾病诊疗中的应用及未来发展中面临的机遇与挑战。

关键词 分子探针, 分子影像, 癌症, 心脑血管疾病, 阿尔兹海默综合征

分子探针是指能准确回答生物医学问题的功能性物质。分子探针和药物分子因使用目的不同有本质区别。分子探针需要准确回答生物医学问题, 故必须具备高活性与高选择性等特征; 而药物分子只需安全有效即可, 活性和选择性高低则不是其主要特征。早期的分子探针因其选择性较差, 常产生错误的信息。最近, 54位来自化学、生物与医学领域的杰出科学家共同署名, 在著名期刊*Nat Chem Biol*上发表评论文章, 回顾了早期分子探针存在的缺陷并对其未来发展提出建议^[1], 呼吁建立一个分子探针的门户网站, 推荐针对每个蛋白现在已知的最佳分子探针, 规范其使用方法, 并及时更新其活性和选择性数据。

医学影像是最重要的临床诊断手段之一。经过多年的高速发展, 已经拥有了各种性能优良的影像设备。目前, 医学影像已经解决了“看得到”“看得清”的问题, 并正向“看得早”和“看得全”“看得准”的方向

发展。分子影像技术通过使用高亲和性、高特异性和高灵敏度的分子探针, 在活体上、在细胞和分子水平对生物学过程进行定性和定量研究, 在疾病早期诊断、疾病分期、疗效监测、个体化治疗以及新药研发等领域中发挥越来越重要的作用。分子探针是实现分子成像的先决条件和核心技术。分子影像技术的发展除了需要先进的成像设备外, 还需要发展新型而高效的分子探针。分子探针种类繁多, 根据成像设备的不同, 分子探针分为光学、核医学、磁学、声学、光声等不同种类。分子影像技术若没有分子探针就像射击没有子弹一样。离开“分子探针”, 就没有真正的“高端影像设备”。

分子探针的应用十分广泛, 其应用与研究范围涉及细胞示踪、蛋白质-蛋白质的相互作用、血管生成、代谢、细胞凋亡、炎症、新药研发等很多生物医学领域。尤其在细胞生物学领域, 由于荧光成像具有

引用格式: 戴志飞. 分子探针在重大疾病诊疗中的应用、机遇与挑战. 科学通报, 2017, 62: 25–35

Dai Z F. Applications, opportunities and challenges of molecular probes in the diagnosis and treatment of major diseases (in Chinese). *Chin Sci Bull*, 2017, 62: 25–35, doi: 10.1360/N972016-00405

较高的灵敏度,而且荧光激发与检测对细胞形态及生理的影响较小,因此荧光成像成为研究细胞结构与功能首选的示踪方法之一.细胞器分子探针是细胞生物学研究的重要工具,市售的细胞器探针大概有数百种之多.目前,各种细胞器分子探针依然是生物医学领域的研究热点.最近,北京大学程和平团队^[2]利用线粒体定位的超氧分子探针cp-YFP成功地观察到了单个线粒体内超氧阴离子自发性爆发现象,并称之为线粒体超氧炫.它是反映线粒体功能状态的“数字钟”,为研究衰老开启了新的研究方向.

成像质量问题是精准医学的关键环节,严重影响着临床诊断的灵敏度和准确性.对于单模态成像方法,它的分辨率和灵敏度是一对相互制约的对立面.虽然多年来研究人员一直在致力于同时提高一种成像检测方法的灵敏度和分辨率,但到目前为止所取得的成果还十分有限.多模态成像技术将两种或两种以上高分辨率和高灵敏度的检测仪器融合在一起,可同时提供高灵敏度和高分辨率的影像,从而克服了单一成像模式所面临的瓶颈问题.多模态成像设备的发展促进了多模态分子探针的出现,它要求同一种分子探针能够同时增强不同模态成像的效果.

分子探针在新药开发领域一直发挥着非常重要的作用.在过去20年,基于分子靶点筛选已成为早期药物发现的主要方法.G-蛋白-偶联受体(G protein-coupled receptors, GPCRs)、离子通道和酶是药物发现最常见和成功的分子学靶点.和基因手段相比,通过使用分子探针可以快速看到靶点在分子水平、不同剂量、短暂抑制下的功能变化^[3].性能优异的分子探针不仅可以作为药物开发的先导物,而且最终甚至可以开发成药物.例如,著名的Ibrutinib当年是作为一个分子探针合成开发的,目前已成为价值420亿美元的药物.

分子探针不仅具有良好的社会效益,而且会带来巨大的经济效益,带动达数千亿美元的产业,因此成为生物医学发展的动力.分子探针技术的发展将极大地推进分子分型技术、个体化医疗以及精准医学的研究,在癌症、心脑血管疾病和神经退行性疾病等威胁人类健康的重大疾病的诊疗中发挥重要作用.影像设备使用寿命长,销售额快速增长一段时期后会逐渐饱和,而分子探针属于消耗品,需求量大,将成为分子影像未来发展的重点.我国人口基数庞大,市场潜力巨大,国外大型医药公司纷纷看好中国分

子探针市场.目前,我国的分子探针产品几乎全部依赖进口,市场被强生、GE healthcare[®]、Life Technology[®]、Invitrogen[®]和Bracco等这些欧美公司所垄断.因此,开发性能优良、价格便宜且具有我国自主知识产权的医学分子探针是一项十分迫切的任务.

1 分子探针在重大疾病诊疗中的应用

肿瘤和心血管疾病占据人类死因的前2位.阿尔兹海默综合征(Alzheimer's Disease, AD)是一种退行性神经功能障碍性疾病,又叫老年性痴呆症.随着人口老龄化,AD变得越来越普遍.随着分子生物学的发展,这些威胁人类健康的重大疾病的诊断与治疗逐渐趋向于个体化,这就对疾病的划分提出了更高的要求.传统的检测方式和标准在某种程度上限制了医生对每一位患者疾病的分子分型的判断,不利于选择和研究更具有针对性的个性化治疗方案.为了更全面、更完整地获取生物体解剖结构水平、功能代谢水平和细胞分子水平的生理病理信息,临床上需要依赖于高精度的生物医学检测技术,而这种检测技术常离不开分子探针.利用分子成像技术,分子探针能够通过监测分子水平的活动来提供一些特定的表型影像,在肿瘤、心脑血管疾病和神经退行性疾病的早期诊断与治疗中发挥着重要作用.尤其是,随着集成像(诊断)与治疗于一体的分子探针逐步进入临床应用,使人们能够在最短时间内得到治疗反馈信息,许多疾病有望在分子水平得到治疗,做到真正的“有的放矢”.因此,分子探针技术是帮助临床早期发现肿瘤细胞、动脉粥样硬化易损斑块和AD的 β -淀粉样蛋白斑块,实现早期预警的必备技术.研制具备高亲和性、高特异性、高灵敏度和安全高效等特征的新一代分子探针正在成为当前生物医药领域的制高点之一,发达国家纷纷投入巨额资金从事分子探针的研发.目前,国内外已经踊跃出各种新型分子探针成功进行临床转化的实例,其更广阔的应用前景也正在被进一步发掘.

1.1 分子探针在癌症诊疗中的应用

分子影像技术不仅可显示肿瘤形态,还能反映肿瘤生物学信息.目前已有各种各样的肿瘤分子探针,可通过分子成像对肿瘤多种恶性表型特征进行检测,为肿瘤精准治疗提供依据^[4].2000年,斯坦福大学的Bostein教授首次提出分子分型概念.分子分

型基于肿瘤分子标志物表达水平。大量临床研究表明,分子分型指导的精准诊疗显著提高了疗效,延长了生存时间^[5]。乳腺癌分子标志物主要有表皮生长因子受体-2(human epidermal growth factor receptor-2, HER-2)、雌激素受体(estrogen-related receptor, ER)、孕激素受体(progesterone receptor, PR)、表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)。采用分子探针在肿瘤治疗前后不同阶段,对肿瘤实质和间质中不同分子标志物同时进行定量检测,根据不同标志物表达差异可对乳腺癌进行分子分型。Dijkers等人^[6]利用⁸⁹Zr-Trastuzumab分子探针通过正电子发射型计算机断层显像(positron emission computed tomography, PET)/电子计算机断层扫描(computed tomography, CT)检测乳腺癌HER2表达,清晰显示了乳腺癌脑部、脊柱转移灶。Dehdashti等人^[7]利用氟标记的孕激素类似物(fluorofuranyl norprogesterone, ¹⁸F-FFNP)作为分子探针通过PET检测乳腺癌PR的表达。PR阳性的乳腺癌,FFNP的PET显像也呈现阳性;PR阴性的乳腺癌,FFNP的PET显像也为阴性。Gemignani等人^[8]利用氟标记雌二醇探针(fluoroestradiol, ¹⁸F-FES)通过PET/CT成像预测乳腺癌ER表达,发现ER阳性的乳腺癌,原发灶及转移灶均有明显的FES摄取。ER阴性的乳腺癌,2-氟-2-脱氧-D-葡萄糖(fluorodeoxyglucose, FDG)高摄取,而FES无摄取。三阴乳腺癌,因其ER、PR及HER-2均阴性,上述的标志物不能进行。因此,需要用其他标志物或寻找新的标志物来进行。EGFR是表皮生长因子受体家族成员之一。它与肿瘤细胞的增殖、血管生成、肿瘤侵袭、转移及细胞凋亡的抑制有关。Fasih等人^[9]用¹¹¹In-Bn-DTPA-Nimotuzumab通过单光子发射计算机断层成像术(single-photon emission computed tomography, SPECT)显像检测到了EGFR阳性的乳腺癌。Kaneko和Willmann^[10]用VEGF单抗修饰的微泡(microbubble, MB)通过超声成像成功检测了VEGF阳性乳腺癌。因此,利用靶向不同分子标志物的探针,通过分子成像方法检测肿瘤恶性表型特征可实现乳腺癌分型,指导癌症的精准治疗。

采用分子影像技术对肿瘤分子分型面临的一个挑战是需要同时检测多个标志物。Kobayashi等人^[11]分别构建了3种荧光探针Trastuzumab-Cy7, Dacliczumab-Alexa700和Cetuximab-Cy5.5,并在同一只鼠

身上接种A431, 3T3, SP2/Tac和LS174T等4种不同乳腺癌细胞,分别表达EGFR (HER1), HER2 CD25,其中三阴性LS174T为对照组,通过荧光分子成像成功检测了乳腺癌HER2, CD25和EGFR表达水平。与有机荧光染料相比,量子点具有荧光量子产率高、抗光漂白能力强、激发光谱宽、可同时多色标记等很多优点。Gao等人^[12]将前列腺癌细胞的特异性抗体连接到量子点表面制得探针,经过静脉注射到患有前列腺癌的裸鼠体内,发现探针可通过抗原-抗体的作用而被癌细胞主动结合,在体荧光成像可以观察到正常组织和癌组织中由于分子区别而导致的图像反差。

卵巢癌的生长部位隐蔽,肉眼无法直接看到,造成诊断和治疗上的困难。荧光引导检测是提高肿瘤细胞减灭术疗效最有前途的方法之一。Low课题组^[13]将叶酸和荧光素通过共价键连接制备了一种新型的荧光分子探针。由于大部分卵巢癌细胞都有叶酸受体,该分子探针可以与卵巢癌细胞特异性结合。利用特殊光线照射,医生在整个手术过程中就能准确定位那些发光的癌细胞。采用传统的检测技术,外科医生仅能观察到直径为3 mm的癌细胞团,该分子探针大大提高了检测的灵敏度,将癌细胞团的检测直径缩小到了0.1 mm。借助这一技术,Low课题组^[13]成功地完成了对卵巢癌患者癌变组织的精确摘除,这是首次将这种技术用于人类。与正常卵巢相比,原发性卵巢癌中的 β -半乳糖苷酶的活性增强。Urano课题组^[14]研制出一种高度敏感的 β -半乳糖苷酶探针(2R, 3R, 4S, 5R, 6S)-2-(Hydroxymethyl)-6-((6'-((2,2,2-trifluoroethyl)amino)-3H-spiro[isobenzofuran-1,9'-xanthen]-3'-yl)oxy)tetrahydro-2H-pyran-3,4,5-triol, HMR β -Gal)。它在血液循环中几乎不发荧光,但在卵巢癌细胞中与 β -半乳糖苷酶反应产生极强的荧光(增强1400多倍)。研究人员在7种不同的小鼠(*Mus musculus*)模型中证实了 β -半乳糖苷酶作为分子靶点用于可视化腹膜转移肿瘤的有效性。应用HMR β -Gal可敏感地检测到转移的卵巢瘤,成功地去除了直径小于1 mm的腹膜转移瘤。以叶酸受体或 β -半乳糖苷酶为基础的诊断范围,不仅包括卵巢癌,也包括乳腺癌、结肠癌和/或神经胶质瘤。然而,由于绿光存在波长较短的缺陷,限制了其应用于身体深层组织检测,研究人员正在开发波长较长的荧光染料以进一步扩展这一技术的临床应用。

纤连蛋白是细胞过渡到癌细胞时特异性表达的,

在细胞生长、迁移和分化中有重要作用,通常与高风险、预后差的乳腺癌有关. Lu课题组^[15]研制了可与纤连蛋白特异性结合、只含有5个氨基酸的肽链CREKA,并将其与Gd-DOTA共价键连接制备了一种新型的MRI分子探针CREKA-Tris(Gd-DOTA)₃. 静脉注射后,进行MRI扫描. 图像分析表明,这种探针能与癌细胞周围的纤维蛋白-纤连蛋白复合物特异性结合,从而产生强信号和延长的微转移和肿瘤增强图像,可检测到只有几百个细胞大小的微肿瘤,甚至小于0.5 mm的骨微转移,对进行高危癌症的早期成像具有重要的临床价值.

常规的分子探针因为信噪比较低、靶向效果较差等缺点而难以满足精准医学的要求,而在各种纳米材料基础上发展起来的分子探针克服了传统分子探针存在的缺陷. 斯坦福大学的Gambhir课题组^[16]用二氧化硅纳米粒子携带钆配合物、纳米金粒子和Raman增强剂制备了可进行MRI/光声/拉曼三模态成像的纳米探针. 静脉注射MPR到胶质瘤小鼠中,MPR在肿瘤部位选择性积累,而在周围健康组织中没有发现纳米探针. 通过三模态分子影像可非侵袭地在术前确定活体鼠的脑肿瘤大小,术中精确定位肿瘤位置和边界,并进行实时病理分析,准确引导肿瘤的切除,实现了精准诊疗的目的.

前哨淋巴结(sentinel lymph node, SLN)是最具肿瘤转移风险的淋巴结,是乳腺癌淋巴转移的第一站,找到SLN是手术中一个重要环节,可为肿瘤治疗方案提供重要依据. 常规超声、CT、MRI及PET都不能够准确地将前哨淋巴结从其他淋巴结中区分开来,更无法在手术中使用. 因此,建立一种准确的SLN定位和评价技术一直是改善肿瘤疾病诊疗的重要研究课题之一. 超声微泡Sonazoid由磷脂酰丝氨酸构成. 美国托马斯杰斐逊大学的刘吉斌教授所在的研究团队通过超声造影成像表明,超声分子探针Sonazoid可完全充满正常SLN,但肿瘤转移的SLN中可观察到充盈缺损区域,病理切片与成像结果吻合. 这种特异性吞噬使造影剂只存在于前哨淋巴结,而不会进入二级淋巴结,因此, Sonazoid可对前哨淋巴结准确定位.

癌症有很多种基因型和表型,要找到一种应用范围广的分子探针颇具挑战性,但肿瘤微环境中一些共同因素,如高酸度、高H₂O₂以及快速血管生长可被用于检测. Wang等人^[17]研制了一类pH超灵敏的纳米荧光探针,能够针对很多患有不同癌症的小鼠体

内的肿瘤微环境中的酸度和血管生成进行检测. 该探针根据pH变化产生反应,可区分肿瘤细胞内(pH 5.0~6.0)与细胞外(pH 6.5~6.8)这样微小的pH差别. 纳米探针通过静脉注射进入血液,在血液循环中不可见,但当其渗透到肿瘤部位,接触到肿瘤的酸性环境或者新生血管时便会发荧光. 静脉注射后1 h内,通过荧光分子显像便能检测到体积为1 mm³左右的肿瘤,从而有助于急性药物治疗中的反应监测. 上海交通大学朱新远研究小组^[18]制备了一种能检测活细胞中H₂O₂的聚合物分子探针. 在正常细胞中, H₂O₂的浓度为0.05~0.7 μmol L⁻¹, 分子探针发蓝色荧光; 在肿瘤细胞中, H₂O₂的浓度为10~50 μmol L⁻¹, 分子探针发绿色荧光. 这样,通过颜色变化很容易区分肿瘤细胞.

肿瘤细胞突破基底膜进入血液形成循环肿瘤细胞(circulating tumor cell, CTC)是肿瘤进展的重要标志,是肿瘤形成和转移的早期事件. 如何富集、辨认和检测是监测CTC面临的3大技术难题. 与超声、影像、MRI和穿刺相比,外周血CTC检测简便、无创,能直观、实时监测肿瘤进展. 研制CTC分子探针是实现对实体瘤早期诊断的基础^[19]. 国内庞代文团队^[20]制备了EpCAM单抗修饰磁性纳米粒子,实现了全血样品中CTC的快速捕获和检测.

诊疗一体化分子探针通过分子显像使人们能在最短时间内得到治疗反馈信息,对疗效监测与评估有重要意义. 本课题组^[21~23]成功研制了载药纳米金壳胶囊,不仅可以进行超声/光声/CT三模态成像,而且还可进行热化疗联合治疗. 然而,纳米金壳胶囊由多种组分构成,这不仅增加了分子探针制备工艺的难度,而且大量外来物质进入机体,增加了机体的负担. 为解决这一问题,本课题组又研制了聚吡咯纳米探针^[24~26]. 应用这种纳米探针,在荷瘤鼠上成功实现了超声/光声双模态成像引导下的肿瘤热化疗. 脂质体不仅可以装载治疗药物,还可携带各种成像物质,作为一种诊疗一体化纳米探针已经在临床上得到应用. 但是脂质体还存在稳定性差的缺点,导致药物泄漏. 为此,本课题组^[27~29]研制了一种新型的硅质体. 它结合了脂质体和SiO₂纳米粒子的优点,又克服了二者各自的缺点;既有较高的稳定性,又有很好的生物相容性,且可降解,可同时携带抗癌药物、基因和各种成像物质. 因此,硅质体是一种理想的诊疗一体化纳米探针. 通过硅质体的分子显像,人们能在

个体水平对药物疗效进行评价,并可直观地观察药物在活体体内的分布,了解药物的代谢分布。

1.2 分子探针在心脑血管疾病诊疗中的应用

我国心脑血管疾病患者接近2.3亿,每年死于心脑血管病300万人,占总死亡原因的41%,居各种死因的首位,严重影响着人们的健康和劳动生产力。心肌梗死、中风等重大心脑血管疾病是由易损斑块破裂、血栓形成所导致的。不稳定斑块纤维帽薄,受到外力作用后容易破裂,导致血管内栓塞形成,造成相应器官缺血性坏死,危害比稳定斑块大。易损斑块的发生、发展是一个复杂的、多因素的病理生理过程,其早期识别一直是医学领域的一大难题,寻求一种既简便、经济,又准确、无创的易损斑块检测方法是近年来探讨的热点。2003年,58位国际专家发表共识性文件指出,发展易损斑块高灵敏识别方法,完善无创性易损患者筛查策略,将开创心血管研究的新方向^[30]。

炎性细胞和炎性蛋白在斑块由稳定向不稳定的转化中起重要作用。张运院士团队^[31]研究结果显示,氧化低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, ox-LDL)在斑块破裂前已经升高,它通过增加斑块粥瘤脂质含量、促进纤维帽内细胞外基质降解来降低斑块稳定性。心脑血管危险因素激活核转录因子 κ B后,导致白细胞介素-1(interleukin-1, IL-1)、肿瘤坏死因子- α 、E-选择素、P-选择素、细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)、血管细胞黏附分子-1(vascular cell adhesion molecule-1, VCAM-1)、单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemotactic protein-1, MCP-1)等因子过度生成,从而介导和促发粥样斑块的形成。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)可溶解胶原成分,增加斑块的不稳定性。因此,设计和制备靶向这些易损斑块的特异性分子标志物的分子探针,通过对其进行分子显像,可从细胞、分子、基因水平探讨易损斑块发生、发展的机理,阐明易损斑块的生理和病理过程,以便在临床症状出现之前就监测到病变的产生,实现易损斑块的早期预警和诊疗。Ishino等人^[32]以^{99m}Tc-标记的抗LOX-1 (oxidized low density lipoprotein receptor-1)抗体分子探针,成功在Wattanabe遗传性高脂饮食兔(*Leporidae*)体内通过完成LOX-1成像,结果显示,不稳定性斑块中探针积累程度最高,而越稳定的斑块观察到的探针摄取值越

少。Li等人^[33]以¹¹¹In或Gd标记的LOX-1为探针进行SPECT/CT或MRI成像,结果证明,LOX-1可以作为体内动脉粥样硬化斑块分子成像的靶点,并且成功识别易破裂斑块。Kaufmann^[34]用VCAM-1单抗修饰的磷脂微泡,通过超声分子显像发现,超声分子探针在易损斑块处高浓度富集。传统的超声成像受超声波长的影响,分辨率最大只能达到300 μ m。最新研究表明,与超声微泡分子探针结合,高速超声成像系统可以突破超声波的“瑞利极限”,实现对直径小于10 μ m的毛细血管的成像,因此对高灵敏识别易损斑块具有重要价值^[35]。膜联蛋白Annexin A5对磷酸酰丝氨酸有高度亲和力,利用^{99m}Tc标记的Annexin A5进行凋亡成像,成功检测到高危斑块^[36]。动脉粥样硬化斑块中活化的巨噬细胞分泌的MMPs表达增加,以MMPs为靶点的分子探针能特异性地在巨噬细胞活化的斑块区域聚集,利于有效地动态监测斑块发展。越来越多的研究表明,MMPs在斑块生长中具有双重作用:通过平滑肌细胞迁移和脂质沉积支持稳定斑块的生长,但是通过破坏细胞外基质促进斑块不稳定性。因此,找到合适的靶点成像剂的同时,进一步阐明MMP家族在不稳定斑块中的作用机制具有重要意义。

血管钙化是动脉粥样硬化的标志,而羟基磷灰石是血管钙化灶的主要化学成分,在病变钙化的最早期和最活跃期沉积下来,目前普遍认为它与斑块的炎症和坏死相关。氟离子可以通过与晶体表面的羟基进行离子交换进入羟基磷灰石,利用这一特点可将¹⁸F-NaF作为PET分子探针对动脉粥样硬化钙化进行成像。一个最新的临床试验结果显示,在心肌梗死前患者颈动脉斑块破裂的所有位点可观察到¹⁸F-NaF的摄取,而且¹⁸F-NaF的摄取情况与钙化活性、巨噬细胞浸润、细胞凋亡和坏死相关。虽然大面积钙化有一定稳定性,但微钙化是动脉粥样硬化的高危发病部位。Irvine等人^[37]使用¹⁸F-NaF分子探针实现了无创确诊高风险新生钙化灶。PET/CT表明,¹⁸F-NaF可被斑块选择性吸附并沉积在钙化部位,有效地区分了大面积钙化和微钙化灶。Joshi等人^[38]使用¹⁸F-NaF分子探针成功识别了破裂的或高危冠状动脉粥样硬化性斑块。

纳米材料不仅具有独特的声、光、电、热、磁、力学性能,而且具有信号放大的功能,为易损斑块相关标志物的超灵敏检测带来了新的机遇,展示出诱

人前景. 超顺磁性氧化铁颗粒(superparamagnetic iron oxide particles, SPIOs)是一种MRI阴性对比剂, 使组织T2加权像信号显著降低. 研究证明, SPIOs倾向于被破裂或有破裂倾向的斑块中巨噬细胞所吞噬. 基于脂质纳米粒子的MRI分子探针, 尤其是以重组高密度脂蛋白(recombinant human high density lipoprotein, rHDL)为基础的具有生理活性的MRI分子探针(rHDL-Gd), 细胞实验和模型动物的在体实验均显示很强的斑块处巨噬细胞的靶向特异性, 为易损斑块的早期诊断提供了一个平台. Mulder课题组^[39]使用rHDL-Gd进一步包埋治疗药物辛伐他汀和荧光染料Cy5, 制备了诊疗一体化纳米探针. 实验证明, 分子探针能特异性地吸附到斑块区域, 使MRI和荧光成像效果显著增强. 而且, 荧光成像显示载药分子探针有很好的治疗效果. Steinmetz课题组^[40]以烟草花叶病毒为载体, 包裹上荧光染料Cy5和Gd的络合物, 并用可靶向血管细胞黏附因子(VCAM-1)的多肽修饰, 制备了近红外荧光/MRI双模态纳米探针. 与VCAM-1单抗相比, VCAM-1多肽对动脉粥样硬化斑块的靶向效果更好. 新型分子探针使斑块的荧光和MRI的成像效果显著提高.

单靶点分子探针检测准确度较差并且容易造成假阴性判断. 将2种或2种以上的配体或抗体偶联到纳米粒子上, 可以实现对多个易损斑块标志物的特异性识别, 使易损斑块检测的灵敏度和准确度显著提高. 因此, 多靶点纳米分子探针的发展将为易损斑块的早期检出和危险评估提供新的手段.

1.3 分子探针在阿尔兹海默综合征诊疗中的应用

中国国家疾病预防控制中心的数据显示, 在65岁以上的人群中, 1/6的人(约1800万)有老年性脑神经方面的疾病, 其中接近半数人有阿尔兹海默综合征. AD患者最典型的病理学变化是细胞外 β -淀粉样蛋白(A β)沉积(老年斑)、神经元内纤维缠结(neurofibrillary-tangles, NFT)和基底前脑乙酰胆碱能损害. NFT的主要成分是Tau蛋白, 是一种含磷的蛋白质. 因此, A β 蛋白和Tau蛋白是AD诊断与治疗的重要靶点. 针对淀粉样蛋白的单克隆抗体Bapineuzumab是辉瑞-杨生公司开发的AD治疗药物. 最近, 三期临床试验结果表明, 该药的治疗效果并不理想. 在发明特效药之前, 对发生在AD早期的不可逆性神经损伤前的干预治疗是最好的疗法. 因此, 早期诊断

十分重要, 而神经影像标志物是最有发展前途的诊断早期AD的方法. 一些大型医药公司通过对目前病人需求、市场潜力、知识产权以及产品开发周期的仔细评估, 将开发新型AD分子探针技术作为其主要发展战略. 通过使用它们的分子探针产品对阿尔兹海默综合征中的生物靶点的选择性识别, 达到早期预警效果, 从而大大降低AD发病率.

对于有效的神经成像分子探针的研发需要满足一些要求: 无毒且亲脂性的小分子, 容易通过血脑屏障; 在血液中停留时间较短, 最好不被代谢; 非特异性结合率低, 与靶点有高度的选择性、特异性和可逆性的结合率; 较长的成像时间. PET功能性神经影像是一种能够在早期进行AD病理及分子生物学检查的, 极具灵敏度、特异度、无创性、客观和定量的方法, 因此能够诊断出早期的、轻微且无临床症状的老年痴呆症. PET分子探针, 特别是靶向 β -淀粉样蛋白斑块、乙酰胆碱酯酶或受体显像的分子探针是最可靠的AD早期检测手段之一. 最早做人体试验的PET探针是匹兹堡化合物(Pittsburgh compound-B, PiB), 它是一种针对A β 的PET用AD分子探针. ^{18}F 是PET分子探针研究中应用最多、最重要的放射性核素. ^{11}C 的半衰期只有20.5 min, PiB之后, A β 的PET探针都改用 ^{18}F 标记. Barrio课题组^[41]研制合成了 ^{18}F -FDDNP (2-(1-{6-[(2[F-18]fluoroethyl)methylamino]-2-naphthyl}ethylidene) malononitrile), 并研究了其特性. 作为PET分子探针, ^{18}F -FDDNP具有与A β 毫微摩尔级的亲和力和, 非选择性地结合血管外A β 神经斑以及血管内神经元纤维缠结. 由于 ^{18}F 的物理半衰期只有110 min, 因此基于 ^{18}F 标记的探针必须要求高效、快速合成. 北京师范大学的朱霖团队^[42]报道了一种改进的 ^{18}F 标记三氟甲基芳环的方法, 新的快速氟化方法将不仅促进新的 ^{18}F 标记的PET分子探针的开发, 还将广泛应用于含氟新药(普药)的体内示踪研究.

PiB及其 ^{18}F 替代物作为对 β 淀粉样蛋白的PET成像探针的成功, 引起了全世界范围内对于开发针对Tau蛋白PET探针的关注, 部分探针已经在进行临床试验. 相比A β 成像来说, Tau蛋白成像要面临更多的挑战^[43]. Tau蛋白的沉积主要发生在细胞内, 这意味着针对Tau蛋白的分子探针必须能够通过血脑屏障和细胞膜才能到达靶点. 此外, Tau蛋白有6种同功异构体, 不仅同一亚型有不同的超微结构, 而且不同亚型也会同时具有相似的超微结构. 针对Tau蛋白的分子

探针应该对某一特定的Tau蛋白超微构象具有高度特异性。只有这样,才能根据分子探针在脑内特征性部位的显像来鉴别某一具体Tau蛋白病变。

蛋白质错误折叠是组织损伤的一个主要原因,以过多蛋白错误折叠为特征性疾病,如阿尔兹海默综合征和帕金森氏病,折磨着全球数以百万计的人。根据是否能在其他错误折叠蛋白中识别并特异结合Tau蛋白,将分子探针分为选择性和非选择性分子探针。分子探针应该具有怎样的选择性取决于靶区域的结合位点的数量。在AD病人中,由于A β 可能在同一配体具有相似的位点和较高的选择性,所以Tau蛋白分子探针必须具有比A β 更高的选择性。目前,已发现对配体选择性比A β 高3~30倍的PHF-Tau蛋白分子探针,然而模拟试验表明,PHF-Tau蛋白分子探针在人体内需要达到20~50倍的选择性^[43]。

世界上很多研究人员都在致力于Tau蛋白成像配体的研究,希望能像A β 成像中的PiB一样研发出Tau蛋白分子探针。有学者已经提出了几种改善Tau蛋白成像中分子探针选择性的方案。日本学者通过筛选发现喹啉和咪唑类衍生物可作为Tau蛋白PET分子探针。¹⁸F-THK523为喹啉的衍生物,在临床前的试验中发现它对毫摩尔级浓度的Tau蛋白的亲合力是A β 蛋白的12倍,并在体的转基因小鼠体内呈现较为显著的显影剂滞留。美国Scripps研究所的Liu等人^[44]设计和制备了“折叠蛋白分子探针”,当它与目的折叠蛋白结合时会发荧光,利用简单的荧光技术可在不同条件下量化细胞内正常折叠的功能性蛋白,以及疾病相关的错误折叠蛋白。

MRI具有较高的空间分辨率、较好的软组织对比度,是研究神经系统病变的一个有力的工具。A β 不仅与硫磺素衍生物和刚果红衍生物具有较强的亲和力,也能与一些多肽以及A β 抗体结合。基于这些特点,研发了一些特异性标记淀粉样斑块的MRI分子探针。Higuchi等人^[45]报道一种基于刚果红染料衍生物的MRI分子探针FSB ((E,E)-1-fluoro-2,5-bis(3-hydroxy carbonyl-4-hydroxy)styrylbenzene),它具有很好的脂溶性,很容易通过血脑屏障,能标记AD转基因小鼠大脑淀粉样斑块。但是,FSB分子探针的最大缺点是敏感性不高。Ramakrishnan等人^[46]制备了一种基于淀粉样蛋白抗体的MRI探针Gd-DOTA-pF(ab')₂24.1,但是抗体类探针不仅具有免疫原性,而且脂溶性低,难以穿透血脑屏障。Kung等人^[47]研制了基于硫磺素

-Gd-DOTA的MRI分子探针。硫磺素类衍生物能与淀粉样斑块特异性结合并能通过血脑屏障,Gd-DOTA具有高顺磁性和高稳定性,是一种常规的MRI对比剂。因此,硫磺素衍生物与Gd-DOTA的结合产物有望成为特异性检测AD脑内淀粉样斑块的MRI小分子探针。

最近,诊疗一体化AD分子探针引起了研究者广泛的兴趣。Ran课题组^[48]研制了一种姜黄素类似物CRANAD分子探针。当CRANAD与A β 结合时会发荧光。CRANAD可穿过血脑屏障,使实验组小鼠脑部荧光强度增幅显著,可用于AD诊断。而且,CRANAD能抑制A β 42交联,对实验动物具有很好的治疗效果。超声微泡分子探针已被广泛用于各种疾病的超声诊断。Leinenga和Götz^[49]给阿尔兹海默综合征模型小鼠静脉注射超声微泡,然后超声辐照小鼠头部,成功地清除了75%的小鼠脑中的 β -淀粉样蛋白斑块,而没有引起明显的损伤。Götz教授认为,超声波通过快速振荡,激活小鼠神经胶质细胞,经过激活后这些细胞能够消化和去除能够破坏大脑突触的淀粉样蛋白斑块。因此,作为一种非侵入性治疗AD的方法具有重要的临床应用潜力。

尽管在AD分子探针领域取得了巨大的进步,但是目前对AD的临床诊断,尤其是AD与其他亚型的痴呆症鉴别诊断尚无良好的分子探针。新型分子探针的研制和评估要依赖于更优异的配体的出现。

2 分子探针发展面临的机遇与挑战

研发无毒、高靶向性、高特异性、低剂量和低成本的分子探针将成为未来分子影像技术发展的重点,前景令人鼓舞^[50]。但是,无论是在基础研究方面,还是在临床应用方面,分子探针的发展都面临着许多挑战。例如,如何应用分子探针识别肿瘤早期信号,如癌前干细胞、癌前上皮/间质转换、肿瘤代谢、肿瘤血管化?如何应用分子探针富集和鉴定外周血稀有细胞?如何利用高特异性的分子探针识别具有不同空间结构的A β 蛋白和Tau蛋白,实现AD个体化医疗?如何利用分子探针标记干细胞而不干扰其生物学活性,以真实反映它在体内的分布、存活、迁移、归巢、分化和功能?当然,为实现分子探针的临床应用,面临的最大挑战是缺乏高特异性分子探针^[51],而且每种分子探针都必须从管理部门获得临床应用的许可^[52]。为迎接这些挑战,世界各国的科学家们

正在努力攻关,力图突破和解决下面一系列关键科学与技术问题:(i)寻找、鉴定与制备重大疾病发生、发展过程中以及治疗监测、预后评估相关的特异性分子标志物;(ii)可控构筑高灵敏度、高特异性、强穿透力的分子探针;(iii)完善靶向分子的偶联技术,提高分子探针体内的稳定性;(iv)深入研究分子探针转运机制和生物安全性;(v)解决给药途径,减小给药量,降低毒性和制备成本。

随着《中国制造2025》的亮出、人口老龄化的加速、医疗改革的推进和精准医疗时代的到来,分子探针正迎来前所未有的发展机遇。《中国制造2025》将生物医药及高性能医疗器械提升为“国家战略”,而分子探针对一系列高端医疗技术产业的创新与发展具有极为重要的影响。人口老龄化是我国的基本国

情,随着老龄化不断加速,医药需求会越来越大,这为分子探针的发展奠定了坚实的基础。此外,我国大中型医院不断投入与完善影像检查设备,带动了分子探针市场的发展。根据业内人士预测,随着新医疗改革的深入推进,人们对高精度生物学检测技术需求的稳步上升,将为分子探针市场扩容奠定坚实的基础。相关调研数据显示,近年来国内分子探针市场规模保持20%以上的快速增长。

分子探针的发展不仅需要临床医学的引导,基础生物医学的介入,还需要化学等多个学科的支持和跨领域的合作,需要组建理工医结合、产学研一体化研发团队,形成完善的分子探针的研发体系^[53~59],通过协同攻关,实现自主知识产权分子探针开发的新突破,从而逐渐改变我国对进口分子探针依赖的局面。

参考文献

- Arrowsmith C H, Audia J E, Austin C, et al. The promise and peril of chemical probes. *Nat Chem Biol*, 2015, 11: 536–541
- Shen E Z, Song C Q, Lin Y, et al. Mitoflash frequency in early adulthood predicts lifespan in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 2014, 508: 128–132
- James M L, Gambhir S S. A molecular imaging primer: Modalities, imaging agents, and applications. *Physiol Rev*, 2012, 92: 897–965
- Hanahan D, Weinberg R A. Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*, 2011, 144: 646–674
- Thakor A S, Gambhir S S. Nanooncology: The future of cancer diagnosis and therapy. *CA Cancer J Clin*, 2013, 63: 395–418
- Dijkers E C, Oude Munnink T H, Kosterink J G, et al. Biodistribution of ⁸⁹Zr-trastuzumab and PET imaging of HER2-positive lesions in patients with metastatic breast cancer. *Clin Pharmacol Ther*, 2010, 87: 586–592
- Dehdashti F, Laforest R, Gao F, et al. Assessment of progesterone receptors in breast carcinoma by PET with 21-¹⁸F-fluoro-16 α ,17 α -[(R)-(1'- α -furylmethylidene)dioxyl]-19-norpregn-4-ene-3,20-dione. *J Nucl Med*, 2012, 53: 363–370
- Gemignani M L, Patil S, Seshan V E, et al. Feasibility and predictability of perioperative PET and estrogen receptor ligand in patients with invasive breast cancer. *J Nucl Med*, 2013, 54: 1697–1702
- Fasih A, Fonke H, Cai Z, et al. ¹¹¹In-Bn-DTPA-nimotuzumab with/without modification with nuclear translocation sequence (NLS) peptides: An Auger electron-emitting radioimmunotherapeutic agent for EGFR-positive and trastuzumab (Herceptin)-resistant breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 2012, 135: 189–200
- Kaneko O F, Willmann J K. Ultrasound for molecular imaging and therapy in cancer. *Quant Imaging Med Surg*, 2012, 2: 87–97
- Kobayashi H, Lonqmire M R, Choyke P L. Polychromatic *in vivo* imaging of multiple targets using visible and near infrared light. *Adv Drug Deliv Rev*, 2013, 65: 1112–1119
- Gao X, Cui Y, Levenson R M, et al. *In vivo* cancer targeting and imaging with semiconductor quantum dots. *Nat Biotechnol*, 2004, 22: 969–976
- van Dam G M, Themelis G, Crane L M, et al. Intraoperative tumor-specific fluorescence imaging in ovarian cancer by folate receptor- α targeting: First in-human results. *Nat Med*, 2011, 17: 1315–1319
- Asanuma D, Sakabe M, Kamiya M, et al. Sensitive β -galactosidase-targeting fluorescence probe for visualizing small peritoneal metastatic tumours *in vivo*. *Nat Commun*, 2015, 6: 6463
- Zhou Z X, Qutaish M, Han Z, et al. MRI detection of breast cancer micrometastases with a fibronectin-targeting contrast agent. *Nat Commun*, 2015, 6: 7984
- Kircher M F, de la Zerda A, Jokerst J V, et al. A brain tumor molecular imaging strategy using a new triple-modality MRI-photoacoustic-Raman nanoparticle. *Nat Med*, 2012, 18: 829–834
- Wang Y G, Zhou K J, Huang G, et al. A nanoparticle-based strategy for the imaging by nonlinear amplification of microenvironment signals. *Nat Mater*, 2014, 13: 204–212

- 18 Wei X, Dong R J, Wang D L, et al. Supramolecular fluorescent nanoparticles constructed via multiple non-covalent interactions for the detection of hydrogen peroxide in cancer cells. *Chem Eur J*, 2015, 21: 11427–11434
- 19 Aceto N, Bardia A, Miyamoto D T, et al. Circulating tumor cell clusters are oligoclonal precursors of breast cancer metastasis. *Cell*, 2014, 158: 1110–1122
- 20 Wen C Y, Wu L L, Zhang Z L, et al. Quick-response magnetic nanospheres for rapid, efficient capture and sensitive detection of circulating tumor cells. *ACS Nano*, 2014, 8: 941–949
- 21 Ke H T, Wang J R, Dai Z F, et al. Gold nanoshelled microcapsules: A theranostic agent for ultrasound contrast imaging and photothermal therapy. *Angew Chem Int Ed*, 2011, 50: 3017–3021
- 22 Jin Y S, Wang J R, Ke H T, et al. Graphene oxide modified PLA microcapsules containing gold nanoparticles for ultrasonic/CT bimodal imaging guided photothermal tumor therapy. *Biomaterials*, 2013, 34: 4794–4802
- 23 Ma Y, Liang X L, Tong S, et al. Gold nanoshelled nanomicelles for potential mri imaging, light-triggered drug release and photothermal therapy. *Adv Funct Mater*, 2013, 23: 815–822
- 24 Liang X L, Li Y Y, Li X D, et al. PEGylated polypyrrole nanoparticles conjugating gadolinium chelates for dual-modal MRI/photoacoustic imaging guided photothermal therapy of cancer. *Adv Funct Mater*, 2015, 25: 1451–1462
- 25 Jing L J, Liang X L, Deng Z J, et al. Prussian blue coated gold nanoparticles for simultaneous photoacoustic/CT bimodal imaging and photothermal ablation of cancer. *Biomaterials*, 2014, 35: 5814–5821
- 26 Zha Z B, Yue X L, Ren Q S, et al. Uniform polypyrrole nanoparticles with high photothermal conversion efficiency for photothermal ablation of cancer cells. *Adv Mater*, 2013, 25: 777–782
- 27 Liang X L, Gao J, Jiang L D, et al. Nanohybrid liposomal cerasomes with good physiological stability and rapid temperature responsiveness for high triggered local chemotherapy of cancer. *ACS Nano*, 2015, 9: 1280–1293
- 28 Liang X L, Li X D, Yue X L, et al. Conjugation of porphyrin to nanohybrid cerasomes for photodynamic therapy of cancer. *Angew Chem Int Ed*, 2011, 50: 11622–11627
- 29 Zha Z B, Cohn C, Dai Z F, et al. Nanofibrous lipid membranes capable of functionally immobilizing antibodies and capturing specific cells. *Adv Mater*, 2011, 23: 3435–3440
- 30 Naghavi M, Libby P, Falk E, et al. From vulnerable plaque to vulnerable patient: A call for new definitions and risk assessment strategies: Part I. *Circulation*, 2003, 108: 1664–1672
- 31 Lou Y W, Liu S X, Zhang C, et al. Enhanced atherosclerosis in tpe2-deficient mice is associated with increased macrophage responses to oxidized low-density lipoprotein. *J Immunol*, 2013, 191: 4849–4857
- 32 Ishino S, Mukai T, Kume N, et al. Targeting of lectinlike oxidized low-density lipoprotein receptor 1 (LOX-1) with ^{99m}Tc-labeled anti-LOX-1 antibody: Potential agent for imaging of vulnerable plaque. *J Nucl Med*, 2008, 49: 1677–1685
- 33 Li D, Patel A R, Klibanov A L, et al. Molecular imaging of atherosclerotic plaques targeted to oxidized LDL receptor LOX-1 by SPECT/CT and magnetic resonance. *Circ Cardiovasc Imaging*, 2010, 3: 464–472
- 34 Kaufmann B A. Ultrasound molecular imaging of atherosclerosis. *Cardiovasc Res*, 2009, 83: 617–625
- 35 Errico C, Pierre J, Pezet S, et al. Ultrafast ultrasound localization microscopy for deep super-resolution vascular imaging. *Nature*, 2015, 527: 499–502
- 36 Isobe S, Tsimikas S, Zhou J, et al. Noninvasive imaging of atherosclerotic lesions in apolipoprotein E-deficient and low-density- lipoprotein receptor-deficient mice with annexin A5. *J Nucl Med*, 2006, 47: 1497–1505
- 37 Irkle A, Vesey A T, Lewis D Y, et al. Identifying active vascular microcalcification by ¹⁸F-sodium fluoride positron emission tomography. *Nat Commun*, 2015, 6: 7495
- 38 Joshi N V, Vesey A T, Williams M C, et al. ¹⁸F-fluoride positron emission tomography for identification of ruptured and high-risk coronary atherosclerotic plaques: A prospective clinical trial. *Lancet*, 2014, 383: 705–713
- 39 Duivenoorden R, Tang J, Cormode D P, et al. A statin-loaded reconstituted high-density lipoprotein nanoparticle inhibits atherosclerotic plaque inflammation. *Nat Commun*, 2014, 5: 3065
- 40 Bruckman M A, Jiang K, Simpson E J, et al. Dual-modal magnetic resonance and fluorescence imaging of atherosclerotic plaques *in vivo* using VCAM-1 targeted tobacco mosaic virus. *Nano Lett*, 2014, 14: 1551–1558
- 41 Teng E, Kepe V, Frautschy S A, et al. [F-18]FDDNP microPET imaging correlates with brain A β burden in a transgenic rat model of Alzheimer disease: Effects of aging, *in vivo* blockade, and anti-A β antibody treatment. *Neurobiol Dis*, 2011, 43: 565–575
- 42 Zhu L, Ploessl K, Kung H F. Chemistry. Expanding the scope of fluorine tags for PET imaging. *Science*, 2013, 342: 429–430
- 43 Villemagne V L, Fodero-Tavoletti M T, Masters C L, et al. Tau imaging: Early progress and future directions. *Lancet Neurol*, 2015, 14: 114–124
- 44 Liu Y, Tan Y L, Zhang X, et al. Small molecule probes to quantify the functional fraction of a specific protein in a cell with minimal folding equilibrium shifts. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111: 4449–4454

- 45 Higuchi M, Iwata N, Matsuba Y, et al. ^{19}F and ^1H MRI detection of amyloid β plaques *in vivo*. *Nat Neurosci*, 2005, 8: 527–533
- 46 Ramakrishnan M, Wengenack T M, Kandimalla K K, et al. Selective contrast enhancement of individual Alzheimer's disease amyloid plaques using a polyamine and Gd-DOTA conjugated antibody fragment against fibrillar A β 42 for magnetic resonance molecular imaging. *Pharm Res*, 2008, 25: 1861–1872
- 47 Kung M P, Hou C, Zhuang Z P, et al. IMPY: An improved thioflavin-T derivative for *in vivo* labeling of β -amyloid plaques. *Brain Res*, 2002, 956: 202–210
- 48 Zhang X, Tian Y, Li Z, et al. Design and synthesis of curcumin analogues for *in vivo* fluorescence imaging and inhibiting copper-induced cross-linking of amyloid beta species in Alzheimer's disease. *J Am Chem Soc*, 2013, 135: 16397–16409
- 49 Leinenga G, Götz J. Scanning ultrasound removes amyloid- β and restores memory in an Alzheimer's disease mouse model. *Sci Transl Med*, 2015, 7: 278ra33
- 50 Hyun H, Park M H, Owens E A, et al. Structure-inherent targeting of near-infrared fluorophores for parathyroid and thyroid gland imaging. *Nat Med*, 2015, 21: 192–197
- 51 Pan Y, Volkmer J P, Mach K E, et al. Endoscopic molecular imaging of human bladder cancer using a CD47 antibody. *Sci Transl Med*, 2014, 6: 260ra148
- 52 Shah M A. Gastrointestinal cancer: Targeted therapies in gastric cancer-the dawn of a new era. *Nat Rev Clin Oncol*, 2014, 11: 10–11
- 53 Li J X. Nanotechnology-based platform for early diagnosis of cancer. *Sci Bull*, 2015, 60: 488–490
- 54 Zhang W B, Gao C Y. Recent advances in cell imaging and cytotoxicity of intracellular stimuli-responsive nanomaterials. *Sci Bull*, 2015, 60: 1973–1979
- 55 Lai L M, Zhao C Q, Su M N, et al. *In vivo* rapid fluorescence imaging of Alzheimer's disease through accurate target bio-marking of zinc gluconate. *Sci Bull*, 2015, 60: 1465–1467
- 56 Meng H, Osborne O J. Linking, thinking & fixing: The story about the 2015 Chemistry Nobel Prize and the future of science. *Sci Bull*, 2015, 60: 2071–2076
- 57 Jiang Y N, Guo W. Nanopore-based sensing and analysis: Beyond the resistive-pulse method. *Sci Bull*, 2015, 60: 491–502
- 58 Meng R, Wei R. Use of smart designed nanoparticles to impact cancer surgery. *Sci Bull*, 2015, 60: 142–143
- 59 Zhao Y L. Sensing system for mimicking cancer cell-drug interaction. *Sci Bull*, 2015, 60: 1218–1219

Summary for “分子探针在重大疾病诊疗中的应用、机遇与挑战”

Applications, opportunities and challenges of molecular probes in the diagnosis and treatment of major diseases

DAI ZhiFei

Department of Biomedical Engineering, College of Engineering, Peking University, Beijing 100871, China
E-mail: zhifei.dai@pku.edu.cn

Minimally invasive treatment of cancer can significantly reduce surgery risks due to many advantages, such as no laparotomy, small wound and early recovery and so on. Especially, it is suitable for patients who cannot be operated on due to tumor distant metastasis, oldness, weakness, and major organ dysfunction. According to clinical statistics, more than 60% of patients with mid-advanced cancer can be cured by employing minimally invasive surgery.

Malignant tumors often show invasive growth and unclear boundary, resulting in partial removal of healthy tissue during surgery, hence postoperative sequelae and dysfunction. In order to carry out minimally invasive surgery and targeted elimination of tumor, the size and location of the tumors must be accurately identified before therapy, which requires the imaging guidance. By using optical molecular imaging, we can find a small tumor less than ~1mm. Therefore, the molecular imaging navigation provides a great opportunity for the development of minimally invasive interventional therapy for cancer. Especially, the cancer specific probes are emerging as one of the key technologies of molecular imaging. Compared with small molecular probes, nanoprobe show longer imaging time, remarkable signal multiplication and drug loading capacity. There, specific nanoprobe become the development direction of the molecular imaging navigation technology. Aiming at accuracy, high efficacy and minimal invasiveness of cancer treatments, we need solve two key scientific issues including identification of tumor boundary and predictability of lymph node metastases, and develop three key technologies including: high accumulation of nanoprobe at tumor sites, high sensitivity of nanoprobe to cancer cells, high precision imaging methods based on nanoprobe.

This project will design and construct a variety of safe and efficient nanoprobe and related nanomaterials with independent intellectual property rights. For example, ultra pH (or enzyme)-sensitive fluorescent nanoprobe will be fabricated for the imaging of a broad range of tumours by nonlinear amplification of microenvironment signals. Multifunctional nanoprobe will be developed for simultaneous molecular imaging and interventional therapy of cancer. Fluorescent/ultrasound nanoprobe will be prepared to achieve a bimodal imaging with excellent signal sensitivity and high spatial resolution. Theranostic nanoprobe will be produced for both targeted imaging (diagnosis) and interventional therapy (laser, ultrasound, microwave, radiofrequency or combination etc.). In addition, we will establish a practical and feasible technology platform for large-scale production of nanoprobe, and *in vivo* and *in vitro* evaluation systems for the clinical applications of nanoprobe. It is of crucial importance to investigate the biological influence of nanoprobe on cell division, proliferation, apoptosis and signal transduction pathways, assess *in vivo* transport mechanism across biological barriers, and evaluate biosafety of nanoprobe, such as acute toxicity, long-term toxicity, nervous system toxicity and immunogenicity. Moreover, fluorescence confocal microendoscope and minimally invasive therapeutic devices will be developed based on nanoprobe. Finally, we will assess invasion depth and lymph node metastasis in early gastric cancer, as well as retroperitoneal lymph node metastasis of ovarian cancer by using nanoprobe in combination of fluorescence confocal microendoscope and molecular imaging navigation system. The sensitivity and specificity of molecular imaging nanoprobe are evaluated by using pathology as the gold standard. The precise interventional therapy (photodynamic, photothermal and sonodynamic etc.) will be implemented by irradiating the tumor tissue using laser or ultrasound under the guidance of nanoprobe-enhanced molecular imaging. It is essential to investigate the evaluation methods of therapeutic efficacy. We will explore the synergistic, anti-metastatic and overcoming drug resistance effects of interventional therapy combined with chemotherapy.

In conclusion, molecular imaging nanoprobe can be used not only for imaging and diagnosis, but also for the minimally invasive interventional treatments. In particular, the research and application of nanoprobe will promote the development and application of fluorescence confocal microendoscope, molecular imaging navigation systems and minimally invasive interventional therapy systems. This will accelerate the breakthrough in the key technology of major medical equipment. Undoubtedly, the accomplishment of the project would enhance the innovation capability and international competitiveness of China in nanobiomedicine and medical equipment.

molecular probe, molecular imaging, cancer, cardio-cerebrovascular disease, Alzheimer's disease

doi: 10.1360/N972016-00405