综述 ·

· 241

# 纳米拉曼影像在肿瘤诊疗中的应用

李鑫1 李杨杨2 刘凤永1 周民2 王茂强1

<sup>1</sup>解放军总医院介入放射科,北京 100853;<sup>2</sup>浙江大学转化医学研究院、浙江大学医学院 附属第二医院核医学科,杭州 310029

通信作者:刘凤永, Email: fengyongliu@aliyun.com;周民, Email: zhoum@zju.edu.cn

【摘要】 拉曼光谱可被具有表面增强拉曼散射效应的纳米粒子(SERS-NPs)放大,通过 SERS-NPs 可实现对拉曼信号的增强,实现肿瘤的高分辨率成像。SERS-NPs 具有高度分子特异性和灵敏度等 特点,在肿瘤诊疗中展现出良好的应用前景。该文从 SERS-NPs 的优势、肿瘤诊疗应用及相关研究等 方面进行综述。

【关键词】 光谱分析,拉曼;诊疗纳米医学;肿瘤;发展趋势

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81671800);北京市自然科学基金面上项目(7172204) DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2019.04.013

#### Surface-enhanced Raman nanoparticles for cancer theranostics

Li Xin<sup>1</sup>, Li Yangyang<sup>2</sup>, Liu Fengyong<sup>1</sup>, Zhou Min<sup>2</sup>, Wang Maoqiang<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Interventional Radiology, General Hospital of PLA, Beijing 100853, China; <sup>2</sup>Institute of Translational Medicine, Department of Nuclear Medicine, the Second Affiliated Hospital of Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310029, China

Corresponding authors: Liu Fengyong, Email: fengyongliu@aliyun.com; Zhou Min, Email: zhoum@zju. edu.cn

**[Abstract]** Raman spectroscopy is amplified by surface-enhanced Raman scattering nanoparticles (SERS-NPs), and Raman signal can be enhanced by SERS-NPs, which can achieve high-resolution imaging of tumors. Meanwhile, SERS-NPs have high molecular specificity and sensitivity, showing a good prospect of tumor diagnosis and treatment. The advantages of SERS-NPs and its application in tumor diagnosis and treatment, and related experimental studies are reviewed in this article.

[Key words] Spectrum analysis, Raman; Theranostic nanomedicine; Neoplasms; Trends

Fund program: National Natural Science Foundation of China(81671800); Beijing Municipal Natural Science Foundation(7172204)

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2019.04.013

#### 一、研究背景

1.拉曼效应、拉曼光谱和表面增强拉曼散射(surface-enhanced Raman scattering, SERS)。当光照射到物体时,大部 分发生散射的光子会通过 Rayleigh 效应发生弹性散射<sup>[1]</sup>,只 有很小一部分光子发生非弹性散射,这种非弹性散射称为拉 曼散射(又称拉曼效应)。这一现象在 1928 年被首次提 出<sup>[2]</sup>。拉曼光谱是基于拉曼效应产生的振动光谱原理,因不 同的物质具有不同的振动特征,故拉曼光谱具有"指纹识别" 功能<sup>[3]</sup>。因只有少数光子会发生拉曼散射,所以拉曼光谱灵 敏度低,这限制了其在追踪分析和表面科学领域内的应用。 1974 年,Fleischmann 等<sup>[4]</sup>将吡啶分子附着在粗糙的银电极上 后观 察 到 增 强 的 拉曼 信 号。1977 年, Jeanmaire 和 Van Duyne<sup>[5]</sup>发现增强的拉曼信号归因于物体发生了更多、更有效 的拉曼散射,即 SERS<sup>[6]</sup>,随后 SERS 成为国内外的研究热点。

2. SERS 的特点。相比于传统的拉曼光谱, SERS 可将待 测物质的拉曼信号增强 10<sup>6</sup>~10<sup>15</sup>倍<sup>[7]</sup>, 不仅克服了拉曼光谱 低灵敏度的问题, 同时具有拉曼信号的所有优点, 如特异性 高、对样品无损伤、选择性高、操作制备简单、数据采集及处 理便捷等<sup>[8]</sup>;在肿瘤检测方面,SERS 具有光谱线窄、荧光背 景干扰小、近红外激光激发、稳定性高等优点<sup>[9-10]</sup>。此外,拉 曼光谱还可实现对大分子物质(如蛋白质、核酸及脂类)的检 测。因此,SERS 技术在临床诊断、生物检测、环境保护及食 品安全等领域中显示出良好的应用前景<sup>[11]</sup>。

### 二、SERS 纳米粒子在医学领域的研究现状

SERS 纳米粒子体内成像是目前国内外医学领域的研究 热点。与目前临床上常用的影像检查手段(CT、MRI、PET) 相比,SERS 可将信号放大 10<sup>6</sup>~10<sup>15</sup>倍,具有更高的灵敏度和 分辨率。同时,基于光学成像原理的 SERS 成像可实现对病 变组织的内部成像。因此,传统影像检查技术仅适合于术前 诊断和术后评估,而 SERS 成像可以实现术中成像<sup>[12]</sup>。

SERS 纳米粒子应用于体内研究前,必须要注意以下影响因素:(1)纳米粒子必须具有 SERS 特性,目前,Au<sup>[13]</sup>、Ag<sup>[14]</sup>、Cu<sup>[15]</sup>3种金属具有 SERS,这为临床应用提供了可能性;(2)SERS 纳米粒子必须具有良好的生物相容性,在 SERS 纳米粒子的制备过程中,应尽可能避免潜在的毒性因素和毒性表面活性剂<sup>[16]</sup>;(3)应封装 SERS 纳米粒子以确保其在体

内后的"指纹识别"功能,同时保持其检测性能<sup>[17]</sup>。例如,纳 米颗粒可被 SiO<sub>2</sub> 壳<sup>[18]</sup> 或聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)<sup>[19]</sup>包封以稳定和保护 SERS 探针。包封后的 SERS 核 心(拉曼探针@ SERD 纳米粒子)在生物相容性、生物体内分 布和可加工性(增加了纳米颗粒的负载量)等性能方面得到 了进一步改善。除了 SiO<sub>2</sub> 和聚合物,DNA 分子、氨基酸、肽 类等也可对 SERS 纳米粒子进行包裹<sup>[20]</sup>。

# 三、SERS 纳米粒子体内成像的研究

凭借纳米粒子的特性来实现体内多部位、同时性、高灵 敏度的拉曼成像是 SERS 纳米粒子的优势。Zavaleta 等<sup>[21]</sup>将 具有不同光谱特征的拉曼探针结合到纳米金粒子后,注射入 大鼠体内,获得了多个拉曼信号的成像。SERS 纳米粒子主 要通过2种途径到达靶向位置:(1)高通透性和滞留效应 (enhanced permeability and retention effect, EPR),即被动靶 向效应:纳米颗粒直径<100 nm,在实体瘤中具有 EPR,使得 纳米探针能够长效滞留于实体瘤中并保持成像能力<sup>[22]</sup>。同 时,如果纳米粒子的血药浓度达到理想浓度水平,肿瘤区域 内的纳米粒子的特征信号会明显升高。(2)通过对纳米粒子 进行受体或抗体修饰使其主动靶向特定细胞或肿瘤区域。 Qian 等<sup>[19]</sup>将单链抗体修饰到 SERS 纳米金颗粒上,用以研究 SERS 纳米粒子的主动靶向效应,结果显示静脉注射后 5 h, 通过近红外(785 nm)激光束共聚焦照射,相比于其他非肿瘤 区域(肝脏和腿部),肿瘤区域可获得明显的拉曼光谱信号, 从而表明相比于依赖 EPR 的非特异性 SERS 纳米粒子,经抗 体修饰的具有主动靶向效应的 SERS 纳米粒子在体内病灶部 位会获得更明显的拉曼光谱信号。Oseledchvk 等<sup>[23]</sup>针对卵 巢癌表面的叶酸受体,将抗叶酸受体药物与 SERS 纳米金粒 子结合,制得具有靶向聚集的 SERS 纳米金粒子,通过"表面 增强共振拉曼光谱学法"(TAS3RS)成功测得直径仅有 370 μm 的卵巢癌,同时还可引导手术切除。

## 四、SERS 纳米粒子用于肿瘤早期诊断与治疗

目前,临床上常通过检测肿瘤标志物来提示早期肿瘤的 发生。较常使用的检测肿瘤标志物方法有酶联免疫吸附测 定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)、放射性免疫 分析、蛋白质印迹(Western blot)、质谱分析(mass spectrometry, MS)等。最近研究已证明可通过 SERS 纳米粒子来检测 相关标志物。Zhou 等<sup>[24]</sup>构建了一种 DNA 介导的单壁碳纳 米管(single-walled carbon nanotubes, SWNTs),与具有 SERS 的纳米铜粒子结合(DNA-mediated SWNT@ CuNPs),联合在 体外成功检测了人体血液中浓度低至 0.3 fmol/L 的循环肿瘤 DNA 含量,为临床上实现更高的灵敏度检测提供了可行性。

在治疗方面,Kircher 等<sup>[25]</sup> 通过增强拉曼光谱成功对小 鼠脑部肿瘤及其边缘成像,并在拉曼成像引导下成功切除小 鼠脑肿瘤。Harmsen 等<sup>[26]</sup> 通过 SERS 的引导成功切除小鼠 前列腺癌。更有意义的是,金属纳米材料具有高效的光热转 化效率、介导产生活性氧、巨大的比表面积装载化疗药物等 独特优势,理论上可以实现对肿瘤病灶的光热消融、光动力 治疗(photodynamic therapy, PDT)和化学治疗的目的<sup>[27-29]</sup>。 Liu 等<sup>[12]</sup> 合成了五模态超分子纳米探针(quintuple-modality theranostic nanoprobe, QMT): MRI 造影剂与 SiO<sub>2</sub> 包被的拉 曼探针纳米金复合颗粒结合,在实现多模态成像即 CT、MRI、 双光子发光和拉曼成像的同时,实现了联合光热消融治疗肿瘤的目的。Fales等<sup>[30]</sup>合成了一种 SiO<sub>2</sub>包被的 SERS 纳米金颗粒 (gold nanostars-3, 3'-diethylthiatricarbocyanine iodide, AuNS-DTTC),在 SiO<sub>2</sub>介孔内连接着光敏材料亚甲基蓝 (methylene blue hydrate, MB),即 AuNS-DTTC@ SiO<sub>2</sub>-MB,该材料将 SERS 技术和产生氧自由基的 PDT 相结合。随后, Zhang 等<sup>[31]</sup>将光敏剂染料原卟啉IX 与 SERS 纳米金粒子结合,在体内利用拉曼光谱诊断肿瘤的同时联合 PDT 实现对肿瘤的治疗。Jung 等<sup>[32]</sup>合成了一种直径为 10 nm 的 pH 敏感的 SERS 纳米金粒子,其表面同时附着拉曼探针和 pH 相应配体,当进入酸性肿瘤微环境中时,pH 敏感性配体导致 SERS 纳米颗粒的聚集,激光照射受引发强度更高的拉曼光 谱,实现对肿瘤的特异性诊断,同时联合纳米金的高光热转 化效率特性,聚集在肿瘤区域的纳米金介导光热消融可实现 对肿瘤的治疗。

## 五、SERS 纳米粒子临床应用展望

近年来,SERS 纳米粒子作为一种新型分子显像剂,在诊断原位肿瘤和转移性肿瘤方面具有独特的优势,在诊断深层 部位肿瘤上具有良好的临床应用前景。但 SERS 纳米粒子和 CT、MRI 等影像检查手段一样,硬件设备占有举足轻重的地 位,临床上拉曼扫描仪缺乏广泛的扫描视野和快速的图像采 集速度,这在很大程度上限制了 SERS 纳米粒子的临床应用。 除此之外,纳米粒子在体内使用时,本身的安全性、药代动力 学及辐射剂量测定等因素也使其应用受限。

目前,基于表面增强"空间偏移"拉曼散射原理研发而成的拉曼内窥镜设备已问世,其径路与传统白光内窥镜径路相仿,但可通过应用拉曼效应检测深层组织中的肿瘤。同时,按照食品和药品监督管理局批准的材料制成的 Au 和 SiO<sub>2</sub> SERS 纳米粒子具有很好的生物安全性,已进入临床试验。相信随着仪器设备的不断改进和 SERS 纳米粒子安全性的不断改善,具有更高灵敏度、同时兼有治疗策略的 SERS 纳米粒子可实现肿瘤诊疗一体化,在医学领域内有良好的应用前景。利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

### 参考文献

- [1] Ouyang HX, Li CN, Liu QY, et al. Resonance rayleigh scattering and SERS spectral detection of trace Hg(II) based on the gold nanocatalysis [J]. Nanomaterials, 2017, 7(5):114. DOI: 10. 3390/nano7050114.
- [2] Raman CV, Krishnan KS. A new type of secondary radiation [J]. Nature, 1928, 121: 501-502.
- [3] Reguera J, Langer J, Jiménez de Aberasturi D, et al. Anisotropic metal nanoparticles for surface enhanced Raman scattering [J]. Chem Soc Rev, 2017, 46(13): 3866-3885. DOI:10.1039/c7cs00158d.
- [4] Fleischmann M, Hendra PJ, McQuillan AJ. Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode [J]. Chem Phys Lett, 1974, 26 (2): 163-166. DOI:10.1016/0009-2614(74)85388-1.
- [5] Jeanmaire DL, Van Duyne RP. Surface raman spectroelectrochemistry: Part I. Heterocyclic, aromatic, and aliphatic amines adsorbed on the anodized silver electrode [J]. J Electroanal Chem Interfacial Electrochem, 1977, 84 (1): 1-20. DOI: 10.1016/S0022-0728 (77) 80224-6.
- [6] Albrecht MG, Creighton JA. Anomalously intense Raman spectra of

pyridine at a silver electrode [J]. J Am Chem Soc, 1977, 99(15): 5215-5217.

 [7] 王明栋,王宗廷,王凤英.表面增强拉曼光谱技术研究进展[J]. 化学分析计量,2016,25(1):104-107.DOI:10.3969/j.issn. 1008-6145.2016.01.030.
 Wang MD, Wang ZT, Wang FY. Progress and trend in surface-en-

hanced Raman spectroscopy[J]. Chem Anal Meter, 2016, 25(1): 104-107. DOI:10.3969/j.issn.1008-6145.2016.01.030.

- [8] Swierczewska M, Liu G, Lee S, et al. High-sensitivity nanosensors for biomarker detection [J]. Chem Soc Rev, 2012, 41(7): 2641-2655. DOI:10.1039/c1cs15238f.
- [9] Sun L, Irudayaraj J. Quantitative surface-enhanced Raman for gene expression estimation [J]. Biophys J, 2009, 96(11): 4709-4716. DOI:10.1016/j.bpj.2009.03.021.
- [10] Pantazis P, Supatto W. Advances in whole-embryo imaging: a quantitative transition is underway[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2014, 15(5): 327-339. DOI:10.1038/nrm3786.
- [11] 邵丽婷,肖瑞,王升启.基于表面增强拉曼光谱的肝病血清检测 技术研究[J].军事医学,2016,40(11):888-891.DOI:10. 7644/j.issn.1674-9960.2016.11.009.

Shao LT, Xiao R, Wang SQ. Serum detection technology of liver diseases based on surface-enhanced Raman spec-troscopy[J]. Milit Med Sci, 2016, 40 (11): 888-891. DOI: 10.7644/j.issn.1674-9960.2016.11.009.

- [12] Liu Y, Chang Z, Yuan H, et al. Quintuple-modality (SERS-MRI-CT-TPL-PTT) plasmonic nanoprobe for theranostics[J]. Nanoscale, 2013, 5(24): 12126-12131. DOI:10.1039/c3nr03762b.
- [13] Ujihara M, Dang NM, Imae T. Surface-enhanced resonance Raman scattering of rhodamine 6G in dispersions and on films of confeitolike Au nanoparticles [J]. Sensors (Basel), 2017, 17(11) pii: E2563. DOI:10.3390/s17112563.
- [14] Sakir M, Pekdemir S, Karatay A, et al. Fabrication of plasmonically active substrates using engineered silver nanostructures for SERS applications [J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2017, 9 (45): 39795-39803. DOI:10.1021/acsami.7b12279.
- [15] Wang Y, Asefa T. Poly (allylamine)-stabilized colloidal copper nanoparticles: synthesis, morphology, and their surface-enhanced Raman scattering properties [J]. Langmuir, 2010, 26(10): 7469-7474. DOI:10.1021/la904199f.
- [16] Cialla-May D, Zheng XS, Weber K, et al. Recent progress in surface-enhanced Raman spectroscopy for biological and biomedical applications: from cells to clinics [J]. Chem Soc Rev, 2017, 46 (13): 3945-3961. DOI:10.1039/c7cs00172j.
- [17] Andreou C, Kishore SA, Kircher MF. Surface-enhanced Raman spectroscopy: a new modality for cancer imaging[J]. J Nucl Med, 2015, 56 (9): 1295-1299. DOI:10.2967/jnumed.115.158196.
- [18] Li JF, Anema JR, Wandlowski T, et al. Dielectric shell isolated and graphene shell isolated nanoparticle enhanced Raman spectroscopies and their applications[J]. Chem Soc Rev, 2015, 44(23): 8399-8409. DOI:10.1039/c5cs00501a.
- [19] Qian X, Peng XH, Ansari DO, et al. In vivo tumor targeting and spectroscopic detection with surface-enhanced Raman nanoparticle tags[J]. Nat Biotechnol, 2008, 26(1): 83-90. DOI:10.1038/nbt1377.
- [20] Yamamoto YS, Ishikawa M, Ozaki Y, et al. Fundamental studies on enhancement and blinking mechanism of surface-enhanced Raman scattering (SERS) and basic applications of SERS biological sens-

ing[J]. Frontiers of Physics, 2014, 9(1): 31-46. DOI:10.1007/s11467-013-0347-3.

- [21] Zavaleta CL, Smith BR, Walton I, et al. Multiplexed imaging of surface enhanced Raman scattering nanotags in living mice using noninvasive Raman spectroscopy [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106(32): 13511-13516. DOI:10.1073/pnas.0813327106.
- [22]尚文婷,田捷.纳米探针在肿瘤诊疗中的研究进展[J].中华核医学与分子影像杂志,2017,37(11):726-729.DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2017.11.014.
  Shang WT, Tian J. Progress of nanoprobes for cancer diagnosis and treatment[J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2017, 37(11):726-729.DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2017.11.014.
- [23] Oseledchyk A, Andreou C, Wall MA, et al. Folate-targeted surface-enhanced resonance Raman scattering nanoprobe ratiometry for detection of microscopic ovarian cancer[J]. ACS Nano, 2017, 11 (2): 1488-1497. DOI:10.1021/acsnano.6b06796.
- [24] Zhou Q, Zheng J, Qing Z, et al. Detection of circulating tumor DNA in human blood via DNA-mediated surface-enhanced Raman spectroscopy of single-walled carbon nanotubes [J]. Anal Chem, 2016, 88(9): 4759-4765. DOI:10.1021/acs.analchem.6b00108.
- [25] Kircher MF, de la Zerda A, Jokerst JV, et al. A brain tumor molecular imaging strategy using a new triple-modality MRI-photoacoustic-Raman nanoparticle[J]. Nat Med, 2012, 18(5): 829-834. DOI:10.1038/nm.2721.
- [26] Harmsen S, Wall MA, Huang R, et al. Cancer imaging using surface-enhanced resonance Raman scattering nanoparticles [J]. Nat Protoc, 2017, 12(7): 1400-1414. DOI:10.1038/nprot.2017.031.
- [27] Chen J, Sheng Z, Li P, et al. Indocyanine green-loaded gold nanostars for sensitive SERS imaging and subcellular monitoring of photothermal therapy[J]. Nanoscale, 2017, 9(33): 11888-11901. DOI: 10.1039/ c7m02798b.
- [28] 刘惠玉,田捷.纳米材料在光动力治疗中的应用[J].中华核医学与分子影像杂志,2016,36(1):7-9.DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2016.01.003.
  Liu HY, Tian J. Application of nanomaterials in photodynamic therapy[J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2016, 36(1):7-9.DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2016.01.003.
- [29] Deng R, Qu H, Liang L, et al. Tracing the therapeutic process of targeted aptamer/drug conjugate on cancer cells by surface-enhanced Raman scattering spectroscopy [J]. Anal Chem, 2017, 89 (5): 2844-2851. DOI:10.1021/acs.analchem.6b03971.
- [30] Fales AM, Yuan H, Vo-Dinh T. Silica-coated gold nanostars for combined surface-enhanced Raman scattering (SERS) detection and singlet-oxygen generation: a potential nanoplatform for theranostics[J]. Langmuir, 2011, 27(19): 12186-12190. DOI:10. 1021/la202602q.
- [31] Zhang Y, Qian J, Wang D, et al. Multifunctional gold nanorods with ultrahigh stability and tunability for *in vivo* fluorescence imaging, SERS detection, and photodynamic therapy [J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2013, 52(4): 1148-1151. DOI:10.1002/anie.201207909.
- [32] Jung S, Nam J, Hwang S, et al. Theragnostic pH-sensitive gold nanoparticles for the selective surface enhanced Raman scattering and photothermal cancer therapy[J]. Anal Chem, 2013, 85(16): 7674-7681. DOI:10.1021/ac401390m.

(收稿日期:2018-09-28)