

文章编号 1006-8147(2017)02-0093-06

论 著

前列腺癌靶向磁共振成像和光热治疗的实验研究

李江, 张恩龙, 赵阳, 徐国萍, 张雪宁

(天津医科大学第二医院医学影像科, 天津 300211)

摘要 目的: 制备多功能诊疗纳米探针超小超顺磁性氧化铁纳米颗粒偶联蛙皮素(USPION@Bn), 并评估其用于活体前列腺癌(PCa)磁共振(MR)成像和MR介导下的光热治疗(PTT)的可行性。方法: USPION与Bn共价连接制成纳米探针USPION@Bn, 并检测其毒性。MR观察对比PC-3细胞分别与USPION@Bn、USPION共培养后的增强效果。采用Calcein-AM/PI染色评估PC-3细胞与USPION@Bn共培养后经波长808 nm、功率5.0 W/cm²的激光照射5 min的PTT效果。荷人前列腺癌裸鼠模型经尾静脉注射USPION@Bn, MR监测成像效果并测量肿瘤区T2WI信号强度(SI)。每天用808 nm、5.0 W/cm²的激光照射荷瘤裸鼠(实验组; 经尾静脉注射USPION@Bn, 对照组: 仅激光照射)的肿瘤部位10 min, 连续14 d, 监测肿瘤体积变化。结果: 成功制备出具有良好生物相容性的纳米探针USPION@Bn。其与PC-3细胞共培养后, 较USPION能明显降低细胞SI(15.36±9.13 vs 219.36±12.25, $P<0.001$), 且在荧光显微镜下观察到具备USPION@Bn处理和激光照射的PC-3细胞出现明显的死亡。荷瘤裸鼠注射USPION@Bn后肿瘤组织的SI值随时间延长而降低, 10 h肿瘤区域SI下降至0 h SI的52%, 且两者差异具有统计学意义(381.60±41.60 vs 723.40±44.17, $t=12.19$, $P<0.001$)。活体肿瘤PTT实验显示, 激光照射后实验组肿瘤体积明显小于对照组, 且两者差异具有统计学意义[(0.56±0.06)cm³ vs (2.39±0.11)cm³, $t=-42.32$, $P<0.001$]。结论: USPION@Bn可作为一种有效的MR成像对比剂进行PCa的特异性靶向成像, 同时可在MR成像的介导下进行体内肿瘤的PTT, 抑制肿瘤的生长。

关键词 前列腺癌; 超小超顺磁性氧化铁纳米颗粒; 蛙皮素; 磁共振成像; 光热治疗; 裸鼠

中图分类号 R445.2

文献标志码 A

Experimental research of targeted magnetic resonance imaging and photo thermal therapy for prostate cancer

Li Jiang, ZHANG En-long, ZHAO Yang, XU Guo-ping, ZHANG Xue-ning

(Department of Medical Image, The Second Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China)

Abstract Objective: To evaluate the application of the multifunctional nanoprobe USPION@Bn in the field of magnetic imaging (MR) and imaging-guided photothermal therapy (PTT) for prostate cancer (PCa). **Methods:** The probe toxicity was evaluated by MTT assays which was prepared by the covalent bioconjugation of USPION with Bn. Then MR scanning and Calcein-AM/PI staining were performed to evaluate its target imaging and photothermal ability *in vitro*. Then, to evaluate the MR imaging and PTT for PCa *in vivo*, T2WI signal intensity (SI) of the tumor area was measured by dynamic monitoring of MR after the tumor-bearing nude mice through tail intravenous injection with USPION@Bn. And after intratumor injection with USPION@Bn NPs for tumor-bearing nude mice, the first PTT with a laser (808 nm, 5 W/cm²) was given, and another every 24 h, 10 times totally, and was irradiated 10 min constantly every time. The control group was only irradiated without USPION@Bn NPs. **Results:** USPION@Bn nanoparticles were successfully prepared, and the T2WI SI of PC-3 cells significantly was reduced after co-cultured with it compared with USPION (15.36±9.13 vs 219.36±12.25, $P<0.001$). The apparent death of PC-3 cells was observed after co-cultured with USPION@Bn and laser irradiation. The SI value of tumor tissue of the tumor-bearing nude mice decreased with the time after injection with USPION@Bn. The SI at 10 h decreased to 52% at 0 h, and the difference was statistically significant (15.36±9.13 vs 219.36±12.25, $t=12.19$, $P<0.001$). The tumor volume in the experimental group was significantly smaller than that in the control group after laser irradiation, and the difference was statistically significant[(0.56±0.06)cm³ vs (2.39±0.11)cm³, $t=-42.32$, $P<0.001$]. **Conclusion:** USPION@Bn can be used for PCa specific target imaging and imaging-guided photothermal therapy.

Key words prostate cancer; ultrasmall superparamagnetic iron oxide nanoparticles; bombesin; magnetic resonance imaging; photothermal therapy; nude mouse

前列腺癌(prostatic cancer, PCa)在我国的发病率正逐年上升, 已成为男性生殖系统最常见的恶性肿瘤之一^[1]。PCa具有病因复杂、潜伏期长、病理表现多

样等特点^[2], 其早期诊断及有效治疗仍面临较大的临床挑战。前列腺特异性抗原检查用于前列腺癌早期筛查, 但特异性较低。经直肠超声引导下前列腺穿刺, 受前列腺体积及人为因素的影响, 存在一定的漏诊率。目前磁共振(magnetic resonance, MR)成像是无创性的最佳PCa诊断方法, 但对PCa早期诊

基金项目 天津市自然科学基金资助项目(13JCYBJC23800)

作者简介 李江(1990-), 女, 硕士在读, 研究方向: 分子影像学; 通信

作者: 张雪宁, E-mail: luckyxn@126.com。

断敏感性较低。而 MR 分子成像可利用特异性靶向 PCa 的分子探针,使分子水平的特异性肿瘤标记物显像,实现 PCa 的早期检测和特异性诊断。相比于 PCa 传统的外科手术治疗、化学治疗和放射治疗等疗法,光热治疗(photothermal therapy,PTT)通过近红外线(near infrared,NIR)诱导光热转换材料将光能转化为热能,借助肿瘤细胞对热刺激敏感的特点,杀死肿瘤细胞,具有精准性、可控性以及低毒副作用等优势。因此构建出集 MR 分子成像和 PTT 于一体的纳米探针既可以解决传统 MR 对 PCa 早期诊断敏感性较低的问题,又可以经 MR 介导通过 NIR 照射进行 PTT,同步实现早期诊断及对肿瘤的治疗作用。超小超顺磁性氧化铁颗粒(ultrasmall superparamagnetic iron-oxide nanoparticles,USPION)由氧化铁晶体 Fe_2O_3 、 Fe_3O_4 及亲水性表面被覆物组成,直径小于 40 nm,能产生强烈的 MRT2 阴性对比^[3],较传统的 T1 阳性造影剂显示软组织病变效果更佳,其表面易修饰的特性更使之能够在分子成像领域发挥巨大的优势。最近更有报道^[4-5],NIR 光可诱导 USPION 纳米粒子产生光热效应,由此,USPION 被证实可用于 NIR 光介导下的 PTT。有研究表明^[6],胃泌素释放肽受体(gastrin-releasing peptide receptor,GRPR)在 PCa 细胞上高表达,而蛙皮素(bombesin,Bn)对其具有高亲和力。因此,本研究拟构建分子探针 USPION@Bn,并应用荷人前列腺癌裸鼠模型,研究其在活体肿瘤靶向 MRI 和 PTT 中的应用。

1 材料和方法

1.1 USPION@Bn 的制备及表征 首先根据 Xuan 等^[7]报道的溶剂热法合成 USPION:将 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、丙烯酸钠和乙酸钠溶于二乙二醇中并搅拌至透亮均匀,然后移至反应釜中,于 200 °C 反应 10 h,冷却至室温后,无水乙醇清洗数次,真空干燥制备的 USPION。USPION@Bn 的制备方法如下^[8-9]:取 5 mg USPION 充分溶于 4 mL 的 PBS 缓冲液中,加入 2 mg 1-(3-(2-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐[1-(3-(Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride,EDC] 搅拌 10 min 继续加入 2 mg N-羧基琥珀酰亚胺(N-Hydroxysuccinimide,NHS),室温下继续搅拌 30~60 min;随后加入 100 μL Bn 溶液(5 mg/mL),室温持续搅拌 4~16 h;磁性分离产物并用 PBS 缓冲液清洗数次。成功制备的 USPION@Bn 冷冻干燥后 4 °C 保存备用。X 射线粉末衍射(XRD)分析样品晶体结构;透射电镜(TEM)检测 USPION 样品的形貌、粒径及粒径分布情况;振动样本磁强

计(VSM)分析磁性能;MR 仪检测 USPION 的浓度—信号梯度;傅里叶变换红外光谱仪(FT-IR)分析探针化学基团,验证 Bn 与 USPION 是否成功偶联;紫外—可见—近红外分光光度计测定浓度为 100 $\mu\text{g/mL}$ 的 Bn 和 USPION@Bn 溶液的吸收光谱。将激光器(宁波远明激光技术有限公司,LSR808H-FC-5W)的激光调至波长 808 nm,功率 3.0 W/ cm^2 ,分别照射浓度为 0、0.25、0.5、1 mg/mL,体积为 1 mL 的 USPION@Bn 溶液 10 min,监测温度变化,绘制升温曲线。

1.2 细胞培养及荷人前列腺癌裸鼠模型的建立 人前列腺癌 PC-3 细胞由我科实验室提供,用含 10%胎牛血清(FBS)的 RPMI-1640 培养基在 37 °C、5% CO_2 、饱和湿度培养箱(SANYO,MCO-150)中进行培养,待细胞生长至对数期,0.25%胰酶消化细胞,并进行传代。

取对数期的 PC-3 细胞,0.25%胰酶消化,用无菌生理盐水制成细胞悬液后与 BD Matrigel 基底膜基质混合均匀。取 200 μL 上述悬液(含 PC-3 细胞约 1×10^6 个)接种于每只裸鼠(中国医学科学院医学实验动物研究所,6~8 周龄雄性 BALB/c 裸鼠)右肩皮下,待肿瘤长径至 10~15 mm 时用于活体实验。

1.3 USPION@Bn 毒性评估 应用甲基噻唑基四唑(MTT)法检测 USPION@Bn 对 PC-3 细胞活力的影响。将对数期的 PC-3 细胞用 0.25%胰酶消化后,以每孔 1×10^3 个的密度种植于 96 孔细胞培养板中备用(每孔中含 100 μL RPMI-1640 培养基)。用 PBS 缓冲液配制 0、12.5、25、50、100、200 $\mu\text{g/mL}$ 浓度梯度的 USPION@Bn 溶液,在上述 96 孔细胞培养板每孔依次加入上述浓度的溶液 100 μL ,各浓度分设 6 个复孔,并继续培养 24 h 后去上清,每孔加入 10 μL 5 mg/mL MTT 溶液及 90 μL RPMI-1640 培养基,继续培养 4 h 后去上清,加入 100 μL 二甲基亚砜,置摇床振荡充分溶解结晶物。同时设置空白调零对照组(不加 MTT 的细胞)以及 100%细胞生存率的对照组(除未加 USPION@Bn 外,其余操作均相同),进行 3 组平行实验。酶联免疫检测仪测定 570 nm 处各孔的吸光度(OD)值,每组细胞存活率(%)=[(样品的 OD 平均值-空白的 OD 平均值)/(对照组的 OD 平均值-空白的 OD 平均值)] $\times 100\%$,计算细胞存活率,取 3 次存活率的平均值评估 USPION@Bn 的细胞毒性。

1.4 USPION@Bn 体外 MR 成像 将 100 $\mu\text{g/mL}$ 的 USPION、USPION@Bn 分别与 PC-3 细胞培养 24 h,清洗、消化后收集细胞,进行细胞计数,两组细胞分别取 6×10^6 个并用 RPMI-1640 培养基定容至 100 μL ,

另设未作处理的相同数量的细胞为对照组,应用 3.0 T MR (Siemens, Magnetom)、T2/TSE 序列进行扫描,扫描参数:重复时间(TR)=7 500 ms,回波时间(TE)=80 ms,FOV=200 mm×200 mm,层厚=1.0 mm。使用 MR 配备的图像计量工具测量各组中心 3 mm² 的类圆形区域作为感兴趣区(ROI),获得各组 T2WI 信号强度(SI)值。

1.5 USPIO@Bn 体外 PTT 实验 采用钙黄绿素-AM(Calcein-AM)和碘化丙啶(PI)溶液对活细胞和死细胞进行双重荧光染色,直观评价体外 PTT 效果。将 100 μg/mL 的 USPIO@Bn 与 PC-3 细胞共培养 24 h, PBS 缓冲液清洗 3 次,每孔加入 100 μL RPMI-1640 培养基,立即使用波长 808 nm、功率 5.0 W/cm² 的激光垂直照射 5 min。去除培养基, PBS 清洗 3 次,每孔加入 100 μL Calcein-AM/PI (Calcein-AM 和 PI 浓度分别为 2 μmol/L 和 4 μmol/L) 溶液,继续培养 15~30 min,应用倒置激光共聚焦显微镜(OLYMPUS, FV1000S-IX81)观察细胞。545 nm 波长激发,可观察到代表死细胞的红色荧光,490 nm 波长激发,可观察到分别代表活细胞和死细胞的绿色和红色荧光。分别设置 4 组:实验组(有 USPIO@Bn, 有激光照射)、探针对照组(有 USPIO@Bn, 无激光照射)、激光对照组(无 USPIO@Bn, 有激光照射)和空白对照组(无 USPIO@Bn, 无激光照射)。

1.6 USPIO@Bn 活体 MR 成像 取肿瘤体积相当的荷瘤裸鼠 6 只,麻醉后,经鼠尾静脉注射 USPIO@Bn(500 μg/mL, 100 μL/只),注射前(0 h)及后(1~10 h)分别应用 3.0 T MR、T2/TSE 序列获取冠状位图像,扫描参数:TR/TE=7 500/80 ms,FOV=200 mm×200 mm,层厚=3.0 mm。观察不同时间点肿瘤组织的信号变化。各组肿瘤信号较均匀区域作为 ROI,测量肿瘤中心 20 mm² 的类圆形区域的 SI 值,每只裸鼠肿瘤的 SI 值为测量 3 个 ROI 后的平均值,分别计算各时间点的 SI 平均值及标准差。

1.7 USPIO@Bn 活体 PTT 实验 将荷瘤裸鼠随机分为两组,每组 6 只。实验组:经鼠尾静脉注射 USPIO@Bn(500 μg/mL, 100 μL/只);对照组:只在肿瘤部位进行激光照射。荷瘤裸鼠经麻醉后,使用波长 808 nm、功率 5.0 W/cm² 的激光照射肿瘤部位 10 min,并用同样方法连续照射 14 d,每次间隔 24 h。监测激光照射前、后各组裸鼠及肿瘤的生长情况,记录肿瘤体积(V),计算公式为 $V=LW^2/2$ [10] (其中 L 代表肿瘤长径, W 代表肿瘤的短径,单位 cm)。

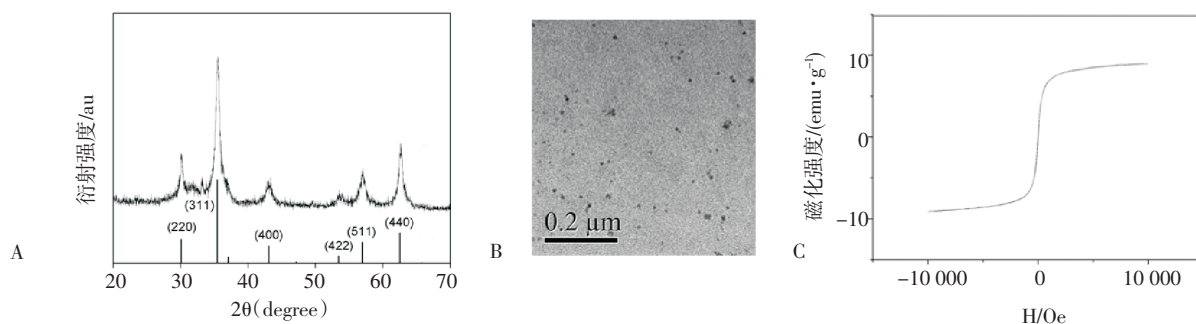
1.8 统计学处理 采用 SPSS 19.0 软件分析数据,符合正态分布的计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。USPIO@Bn

体外 MR 成像组间均数比较采用单因素方差分析,采用配对 *t* 检验分析 USPIO@Bn 注射前 0 h 与注射后 10 h 裸鼠肿瘤区域的 SI 变化差异,采用独立样本 *t* 检验分析活体肿瘤 PPT 实验中实验组与对照组激光照射前、后肿瘤的体积差异。*P*<0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 USPIO@Bn 的构建及表征 USPIO 样品的 XRD 图谱(图 1A)显示主要衍射峰的位置分别在 30.11°、35.45°、43.09°、53.52°、57.14°、62.59°,符合 Fe₃O₄ 的标准图谱中的衍射峰位置,判定所制备的 USPIO 样品为纯度较高的 Fe₃O₄ 纳米颗粒。TEM 显示 USPIO 为球形,颗粒分布较均匀,粒径约为 6 nm(图 1B)。USPIO 的磁性能如图 1C 所示,磁滞曲线为过原点的重合“S”型曲线,表明 USPIO 具有超顺磁性。通过配制不同摩尔浓度的 Fe,对 USPIO 的 T2 弛豫率进行测定,计算得到 USPIO 的弛豫率为 85.3 mM⁻¹s⁻¹。对浓度为 0~200 μg/mL 的 USPIO 溶液进行 MR T2WI 扫描,结果如图 3A 所示,随着 USPIO 浓度的增加,SI 逐渐降低,USPIO 表现出较好的阴性对比增强效果。通过 FT-IR 分别表征 USPIO、Bn 以及 USPIO@Bn, USPIO 在 1 354 cm⁻¹ 处是 H-C-OH 的变形振动峰,1 460 和 1 571 cm⁻¹ 处为 -COO- 的对称伸缩振动特征峰和非对称伸缩振动峰,表明 USPIO 表面存在 -COOH。在 1 620 cm⁻¹ 处为 Bn 多肽分子中 N-H 的伸缩振动特征峰。Bn 与 USPIO 的偶联后,在 1 662 cm⁻¹ 处出现酰胺 I 带的羰基特征峰以及 3 324 cm⁻¹ 出现酰胺 II 带的 N-H 的伸缩振动峰,证明 USPIO 成功偶联靶向分子 Bn(图 2A)。紫外-可见光吸收光谱图(图 2B)显示 USPIO@Bn 在 NIR 波长内具有较宽的吸收范围,但无明显吸收峰,而 Bn 始终未出现明显吸收峰;USPIO@Bn 的体外热动力学实验结果如图 2C 所示,随着照射时间的延长,温差逐渐增大并与浓度呈正相关,10 min 时 USPIO@Bn 组温度分别升高 11.3 °C、14.2 °C、19.9 °C,而水仅升高 5.5 °C。实验结果表明 USPIO@Bn 具有良好的光热转换效率,在 808 nm 激光照射下显示出明显的浓度及时间依赖的光热效应。

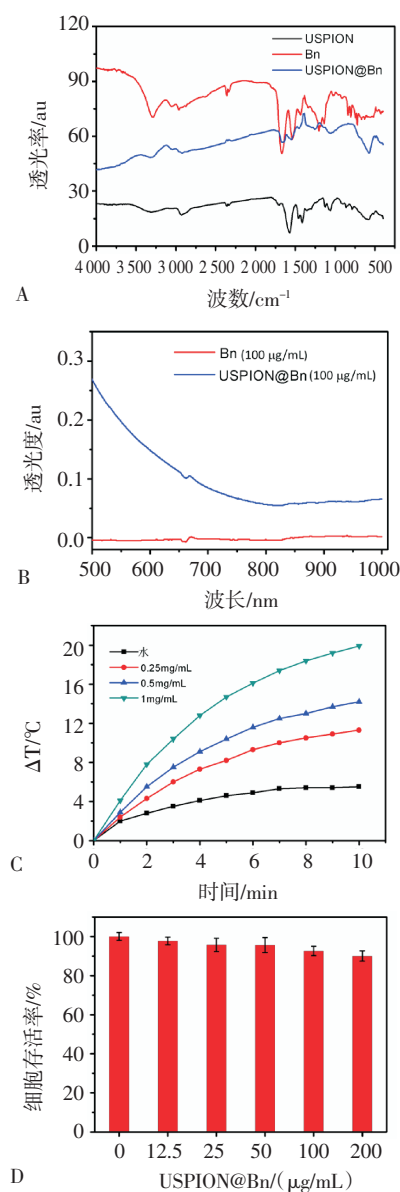
2.2 USPIO@Bn 细胞毒性实验 USPIO@Bn 的细胞毒性实验结果如图 2D 所示。USPIO@Bn (0~200 μg/mL) 与 PC-3 细胞共孵育 24 h 后,其细胞存活率均>90%,显示 USPIO@Bn 对 PC-3 细胞生长无明显影响。该结果表明 USPIO@Bn 具有良好的生物相容性,细胞毒性低。



A. USPION 样品的 XRD 图谱; B. USPION 样品的 TEM 图; C. USPION 样品的 VSM 曲线

图 1 USPION 样品的表征结果

Fig 1 Characterizations of USPION nanoparticles



A. Bn、USPION 及 USPION@Bn 的红外光谱; B. Bn 和 USPION@Bn 的紫外吸收光谱; C. 水和不同浓度的 USPION@Bn 在 808 nm 激光照射下的升温曲线; D. 不同浓度 USPION@Bn 与 PC-3 细胞共培养 24 h 后的细胞存活率

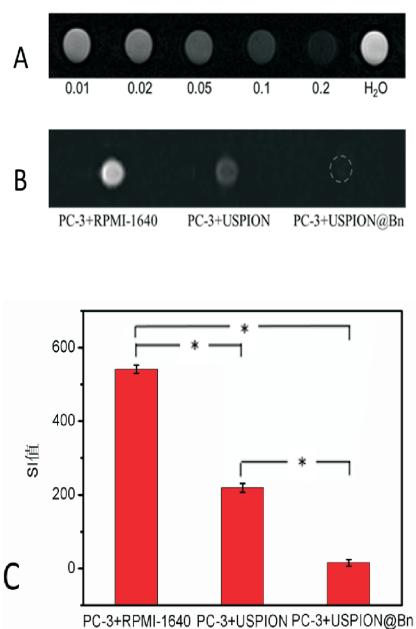
图 2 材料的红外光谱, 紫外吸收光谱, 光热曲线及 MTT 检测结果

Fig 2 FT-IR spectra, UV-vis-NIR absorption spectra, the photothermal heating curves and MTT assay results

2.3 USPION@Bn 体外靶向成像及 PPT 实验 USPION@Bn 的体外靶向成像结果如图 3B 所示, 各组细胞中心 SI 值如图 3C 所示: PC-3 细胞分别与 RP-MI1640 细胞培养基、USPION (100 $\mu\text{g/mL}$) 及 USPION@Bn (100 $\mu\text{g/mL}$) 共培养后进行 T2WI 扫描, 3 组图像 SI 值差异具有统计学意义 ($F=3540.34, P<0.001$)。USPION 组细胞 T2 SI 明显比 1640 细胞培养基组低 ($P<0.001$), USPION@Bn 组比 USPION 组细胞 T2 SI 更低 ($P<0.001$)。上述结果表明靶向分子 Bn 可通过 GRPR 的介导明显提高 PC-3 细胞对 USPION 的摄取, 从而为进一步实现体内 PCa 的高效特异性成像提供基础。USPION@Bn 的体外光热治疗效果如图 4 所示, 仅经过 USPION@Bn 处理 (B 组) 或者仅有激光照射 (C 组) 的情况下, 细胞均不会出现明显死亡 (可见大量绿染的活细胞); 相反, 同时具备 USPION@Bn 处理和激光照射 (D 组) 的双重条件下, 可在共聚焦显微镜下观察到大量红染的死亡细胞, 表明 USPION@Bn 被大量内吞入 PC-3 细胞后, 经过 808 nm 的 NIR 激发可产生良好的光热效应, 对 PC-3 细胞产生杀伤作用。

2.4 活体肿瘤靶向成像及体内 PPT 实验 将 USPION@Bn 经鼠尾静脉注射到荷瘤裸鼠体内进行 T2WI 扫描, 图像结果如图 5A 所示: 注射前 (0 h), 前列腺癌在 T2WI 上呈高信号; 注射后不同时间点, 肿瘤组织的 SI 随时间持续降低, 10 h SI 下降至 0 h SI 的 52%, 且两者差异具有统计学意义 ($t=12.19, P<0.001$) (图 5B)。活体光热治疗结果如图 6A 所示, 经 808 nm 激光连续照射 14 d 后, 实验组 (注射 USPION@Bn) 裸鼠肿瘤部位的皮肤逐步出现坏死并形成焦痂, 而对照组裸鼠经激光照射后未出现此种改变。激光照射前后, 肿瘤大小对比显示实验组裸鼠的肿瘤体积未见明显增大, 而对照组的肿瘤持续生长, 肿瘤体积较激光照射前明显增大。肿瘤体积计算结果表明激光照射前, 两组肿瘤体积无明显差异 ($t=-1.91, P=$

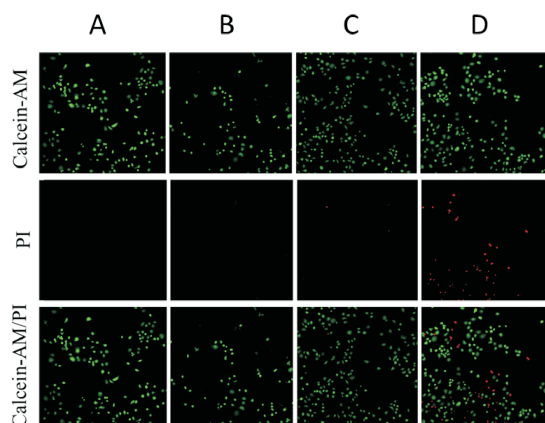
0.09),而激光照射后实验组肿瘤体积明显小于对照组,两者差异具有统计学意义($t=-42.32, P<0.001$) (图 6E)。上述结果表明荷瘤裸鼠经静脉注射 USPION@Bn 后,USPION@Bn 可靶向特异性聚集至 PCa 部位,实现 PCa 特异性靶向 MR 成像的同时,通过 NIR 照射对 PCa 区域进行 PTT,实现 MR 介导下的 PCa 精准 PTT 治疗。



A.USPION 的浓度-信号梯度;B.PC-3 细胞分别与 RPMI1640 细胞培养基、USPION 及 USPION@Bn 共培养后 T2WI 扫描图像;C.PC-3 细胞的 SI 值, $*P<0.05$

图 3 材料的体外 MR 成像

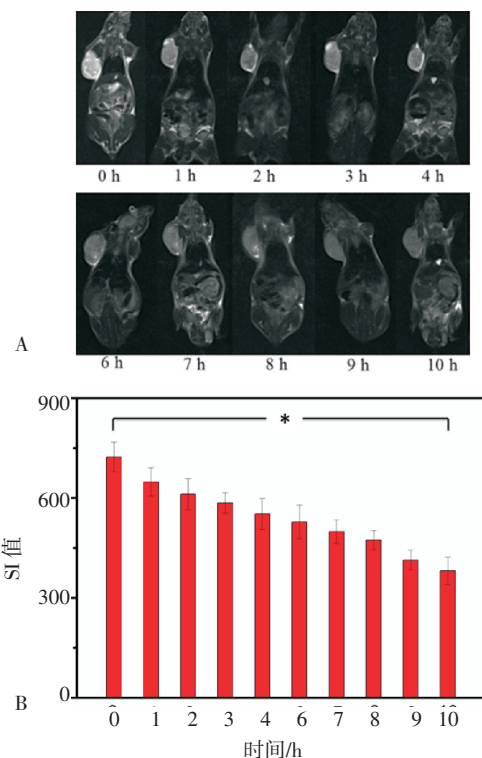
Fig 3 In vitro MR images of nanoparticles



A.无 USPION@Bn,无激光照射;B.有 USPION@Bn,无激光照射;C.无 USPION@Bn,有激光照射;D.有 USPION@Bn,有激光照射

图 4 不同处理组细胞双重染色的激光共聚焦显微镜图

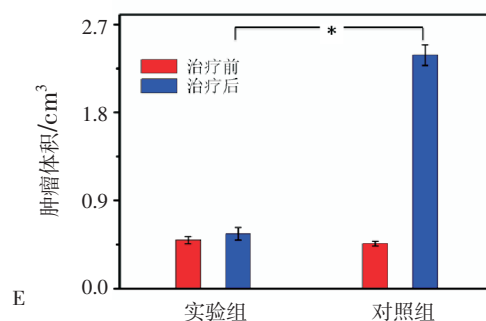
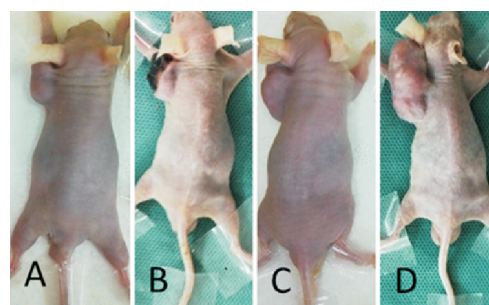
Fig 4 The confocal laser scanning microscope images of PC-3 cells with different treatments stained by Calcein-AM/PI



A.不同时间点活体肿瘤组织 MR 成像;B.肿瘤区域 SI 值, $*P<0.05$

图 5 USPION@Bn 的活体肿瘤靶向成像

Fig 5 In vivo MR images of tumor-bearing mice injection with USPION@Bn nanoparticles



A.实验组治疗前;B.实验组治疗后;C.对照组治疗前;D.对照组治疗后;E.实验组与对照组治疗前后肿瘤体积比较, $*P<0.05$

图 6 808 nm 激光照射前后肿瘤对比图

Fig 6 Representative photos of tumor-bearing mice pre-irradiation and post-irradiation under 808 nm laser

3 讨论

临床研究表明,“早发现”可明显改善患者的预后,因而将分子影像与 MR 成像结合,实现从细胞、

分子水平对 PCa 的特异性靶向成像,可提升 PCa 的早诊率,提高患者的生存率。本研究将 USPIO 与 Bn 相连后,其 T2 阴性对比性质未受影响,Bn 的生物学性质也得以保持,使 PC-3 细胞通过受体介导内吞的方式高效摄取 USPIO@Bn,有效降低细胞 T2 信号值,且其降低程度较无特异性靶向分子的 USPIO 大,这体现了 USPIO@Bn 的高效、靶向 MR 成像优势。活体成像亦显示出了 USPIO@Bn 对 PC-3 移植瘤的特异性靶向作用,荷瘤鼠肿瘤部位在注射 USPIO@Bn 后,肿瘤信号呈连续减低趋势,说明探针在注射后 10 h 内不断向肿瘤部位富集。本研究中靶向分子 Bn 使 USPIO@Bn 探针能够长时间聚集、停留至肿瘤区域,通过受体进入 PC-3 细胞内部,实现了长循环特点,为后续的靶向 PTT 治疗提供了基础。

纳米探针 USPIO@Bn 不仅拥有良好的 MR 对比增强效应,还可在 NIR 激发下产生表面等离子共振现象,高效地将光能转化为热能。USPIO@Bn 在 808 nm 激光照射下 10 min 能使溶液温度快速升高,细胞 PTT 效果通过活/死细胞双染显示,与 USPIO@Bn 共培养的 PC-3 细胞经过激光照射后大量死亡。活体 PTT 实验也证实了 USPIO@Bn 实验组经近红外激光照射后,肿瘤大小得以控制,而仅有激光照射的对照组肿瘤明显增大,但实验组肿瘤并未能够完全消失,分析其原因可能为:激光照射的功率及照射时间不足,限制了 USPIO@Bn 的升温效果;随着 USPIO@Bn 被细胞降解并释放入铁池代谢,肿瘤部位富集的 USPIO@Bn 随之减少。但是通过对比实验,USPIO@Bn 在激光的照射下确实可有效地抑制肿瘤的生长,USPIO@Bn 在肿瘤部位富集,在 NIR 激发下将光能转化为热能,当肿瘤病灶区的温度达到 40~44 °C 以上,导致肿瘤组织坏死。PCa 的传统治疗方法有一定的局限性且对正常组织有不同程度的损伤,而 PTT 具有微创、低副作用、可重复治疗的特点,且能够有效降低肿瘤的生长并增加生存率^[11-14]。笔者希望今后能够通过长时间 MR 监测探针在体内积聚、分解的过程并不断调整激光照射过程,为提高 USPIO@Bn 的靶向 PTT 效果提供更多依据。

综上,通过对纳米探针 USPIO@Bn 的肿瘤靶

向 MR 成像和 PTT 的研究,表明 USPIO@Bn 既可作为一种有效的 MR 成像对比剂进行 PCa 的特异性靶向成像,又可作为治疗元件进行体内肿瘤的 PTT。本研究对探索 PCa 的早期诊断、影像介导下的 PTT 具有重要意义。

参考文献:

- [1] 叶定伟,朱耀.中国前列腺癌的流行病学概述和启示[J].中华外科杂志,2015,53(4):249
- [2] Helfand B, Kearns J, Conran C, et al. Clinical validity and utility of genetic risk scores in prostate cancer[J]. Asian J Androl, 2016,18(4):509
- [3] 赵阳,彭景,张雪宁. MR 分子探针与分子成像的研究进展[J].国际医学放射学杂志,2015,38(5):455
- [4] Chu M, Shao Y, Peng J, et al. Near-infrared laser light mediated cancer therapy by photothermal effect of Fe₃O₄ magnetic nanoparticles[J]. Biomaterials, 2013,34 (16):4078
- [5] Yuan G, Yuan Y, Xu K, et al. Biocompatible PEGylated Fe₃O₄ nanoparticles as photothermal agents for near -infrared light modulated cancer therapy[J]. Int J Mol Sci, 2014,15(10):18776
- [6] Elshafae S, Hassan B, Supsavhad W, et al. Gastrin -releasing peptide receptor (GRPr) promotes EMT, growth, and invasion in canine prostate cancer[J]. Prostate, 2016,76(9):796
- [7] Xuan S, Wang Y J, Yu J C, et al. Tuning the grain size and particle size of superparamagnetic Fe₃O₄ microparticles[J]. Chem Mater, 2009, 21(21):5079
- [8] Jiang W, Xie H, Ghoorah D, et al. Conjugation of functionalized SPIONs with transferrin for targeting and imaging brain glial tumors in rat model[J]. PLoS One, 2012, 7(5):e37376
- [9] Li Y, Chen Z, Li F, et al. Preparation and in vitro studies of MRI-specific superparamagnetic Iron oxide antiGPC3 probe for hepatocellular carcinoma[J]. Int J Nanomedicine, 2012,7(9):4593
- [10] Zhou Z, Lu Z. Gadolinium -based contrast agents for magnetic resonance cancer imaging[J]. Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol, 2013,5(1):1
- [11] Zhou Z, Sun Y, Shen J, et al. Iron/Iron oxide core/shell nanoparticles for magnetic targeting MRI and near -infrared photothermal therapy[J]. Biomaterials, 2014,35 (26):7470
- [12] Li X, Takashima M, Yuba E, et al. PEGylated PAMAM dendrimer-doxorubicin conjugate -hybridized Gold nanorod for combined photothermal-chemotherapy[J]. Biomaterials, 2014,35(24):6576
- [13] Tao Y, Ju E, Liu Z, et al. Engineered, self-assembled near-infrared photothermal agents for combined tumor immunotherapy and chemo-photothermal therapy[J]. Biomaterials, 2014,35(24):6646
- [14] Bai J, Liu Y, Jiang X. Multifunctional PEG -GO/CuS nanocomposites for near-infrared chemo-photothermal therapy[J]. Biomaterials, 2014,35(22):5805

(2016-11-19 收稿)