

近红外光学系统在循环肿瘤细胞检测与肿瘤治疗中的应用

张燕琨, 徐峰, 郑晓群

doi:10.3969/j.issn.1671-0800.2024.03.001

【中图分类号】 R730.43 【文献标志码】 C 【文章编号】 1671-0800(2024)03-0281-04

循环肿瘤细胞(circulating tumor cell, CTCs)是指从原发或转移的实体肿瘤上脱落后,存在于人体外周血中肿瘤细胞的总称^[1]。CTCs 作为临床上肿瘤潜在诊断生物标志物,对其所携带的分子生物学信息性质和数量的检测对肿瘤治疗、疗效评价、预后评估和复发监测具有重要意义^[2]。目前,CTCs 分离方法主要分为物理筛分和生物亲和两类^[3-4],且聚焦于微流控技术^[5]、纳米技术^[6-7]和免疫磁分离^[8]等方向。但是,外周血中 CTCs 含量极少且具异质性,在转移过程中易发生间充质转化^[9],故对 CTCs 进行高活性、高纯度和高灵敏度的分离检测是当前临床肿瘤诊断技术的研究热点之一^[10]。近红外光(near infrared, NIR)是介于可见光和中红外光之间的电磁波,波长范围为 700 ~ 2 500 nm,具有高分辨率、高穿透性、高生物安全性等特点。近年来,以 NIR 为基础的光声成像与治疗技术在肿瘤诊疗领域展现了广阔的应用前景^[11]。相对于其他的 CTCs 分离方法,NIR 对细胞活力和功能的损伤更小,不会影响后续的单细胞基因分析。此外,相比于常规治疗(如化疗和放疗),NIR 介导的光学治疗方法,可以增强靶向消除肿瘤的效率和特异性,干预肿瘤转移,减少治疗过程中的不良反应。本文就 NIR 系统在 CTCs 的检测成

像、分离以及治疗等方面的应用作一综述,现报道如下。

1 NIR 系统在 CTCs 检测成像中的应用

与传统的放射成像技术相比,荧光成像技术在生物安全性和检测分辨率方面的性能更佳,而其中的近红外荧光成像技术更是为非侵入性成像技术提供 NIR 系统理想的平台^[12],如 NIR 七甲川花菁染料 IR783、MHI-148 以及 IR780 等可以特异性地积聚在肿瘤细胞的线粒体上,展现 NIR 系统优异的肿瘤靶向成像能力^[13-14]。Yuan 等^[15]将 IR783 应用于人血液样本中的 CTCs 成像,利用流式和激光共聚焦技术发现在人血液样本中最低检测浓度为 10 CTCs/ml,证实其在 NIR 系统用于 CTCs 检测的可行性。Schikora 等^[16]利用 NIR 光敏剂吡咯菁绿(ICG)可在肿瘤细胞中积累的特点,将其用于乳腺癌循环肿瘤细胞簇的检测和成像。当 ICG 孵育后的肿瘤细胞或肿瘤细胞簇通过光场时,光谱仪可以检测到 830 nm 处的荧光和磷光信号,从而对 CTCs 进行定量分析。该 NIR 光敏检测系统检测时长短(45 min),对 CTCs 的敏感性约为 98%。Xia 等^[17]针对肿瘤细胞过表达的氨基肽酶 N(APN)设计了一种 NIR 系统,一种小分子 NIR 染料 MLP,并将该染料与纳米磁珠、抗上皮细胞黏附分子(anti-EpCAM)抗体结合,制备双靶向荧光纳米磁珠用于 CTCs 的检测。MLP 可以特异性结合癌细胞的 APN,在 488 nm 波长光激发下发出明亮的红色荧光信号,实现 CTCs 荧光成像。相同条件下,MLP 和 anti-EpCAM 双靶点识别提高纳米磁珠的捕获效率(> 85%),比单独 MLP 磁珠和 anti-EpCAM 磁珠高 35.5%和 25.5%,能够避免单一靶向的假阳性信号干扰。此外,该磁珠具有良好的

基金项目: 国家自然科学基金(22108209);宁波市科技计划项目(2021J026);温州市科技基金重大项目(20211029)

作者单位: 325035 温州,温州医科大学

通信作者: 郑晓群,博士,主任技师,教授,博士研究生导师。

中华医学会儿科分会临床检验学组委员、中国心胸血管麻醉学会检验与临床分会委员、国家医学仿真实验教学创新联盟医学技术类委员、浙江省生物化学与分子生物学会理事、浙江省大学生生命科学竞赛委员会委员等。Email: jszhengxq@163.com

生物安全性,捕获后细胞活力 > 90%。

利用 NIR 系统高分辨率、高穿透性、高信噪比的特点可增强 CTCs 检测的特异性和灵敏度,实现对肿瘤治疗效果评估及肿瘤转移进程监测。另一方面,由于 NIR 高生物安全性,在 CTCs 检测过程中不会对细胞造成损伤,从而避免影响 CTCs 后续的生物功能分析。

2 NIR 系统在 CTCs 分离中的应用

除在荧光成像方面的应用,NIR 系统还被广泛应用于 CTCs 捕获后的光控释放,其基本原理是通过 NIR 照射,使化学基团发生断裂或结构改变,或者是利用 NIR 光热效应使温度敏感的水凝胶溶解,从而实现 CTCs 高效释放。

Lv 等^[18]以 7-氨基香豆素作为光触发器,在其两端分别连接抗 EpCAM 抗体和磁珠,设计一种光响应免疫磁珠用于 CTCs 捕获和释放:在 NIR 光照下,香豆素部分的 C-O 键断裂,破坏近红外光学系统抗体与免疫磁珠的连接,从而释放 CTCs。该体系可在 1 ml 人血样本中特异性识别 10^2 个 CTCs,捕获效率为 90%,纯度为 85%,且在 NIR 光照射下,CTCs 释放效率为 52%,存活率为 97%。此外,结合金纳米氧化物(GNRs)和热响应水凝胶,设计多功能 NIR 响应平台用于 CTCs 的特异性识别和光热分离^[19]。从患者血液中捕获 CTCs 后,热响应水凝胶可在生理温度下(37 °C)迅速溶解,实现 CTCs 的高活力释放。大批量释放时,可以将捕获后的 GNRs 凝胶置于细胞培养箱下 5 min, (95±4)% MCF-7 被释放,存活率为 95%。此外 GNRs 具有出色的 NIR 光热效应,通过将 NIR 激光光斑调节成细胞大小,照射 GNRs 产生的热量使水凝胶溶解,从而在 20 s 内成功实现单个细胞的选择性释放,释放后的存活率为 90%,有助于随后在单细胞水平上对 CTCs 进行测序分析。Wang 等^[20]设计了一个 NIR 开关生物平台,用于 CTCs 的高效分离和下游分析。该平台将 MUC1 适配体作为特定识别元件,通过偶联反应与水凝胶-二硫化钼纳米材料(PEG-MoS₂ NFs)连接,用于 CTCs 的特异性捕获。最后利用 MoS₂ NFs 作为光控元件,在 808 nm NIR 照射下热溶解水凝胶,释放捕获的 CTCs。该平台捕获和释放 CTCs 的效率分别为 89.5%、

92.5%,最低检测限为 15 CTCs/ml。

与传统的免疫磁分离系统相比,NIR 光控释放可以有效降低蛋白酶水解释放 CTCs 对细胞表面蛋白的影响,还可以避免紫外光照射引起的细胞功能损伤和基因突变,从而更有利于 CTCs 信息的获取。此外,通过调节 NIR 照射光斑大小,还可以实现单细胞特定释放,为单细胞分析提供有力工具。

3 NIR 系统在肿瘤治疗中的应用

NIR 优异的组织穿透能力和生物相容性使其不仅在荧光检测与成像中重要作用,在光驱动的肿瘤治疗中也展现出巨大的应用潜力。NIR 动力疗法(NIR-PDT)主要依靠 NIR 照射来激活肿瘤组织中的光敏剂,产生具有生物学毒性的单线态氧、超氧自由基等活性氧物质来杀伤肿瘤细胞^[21],如具有近红外吸收的金属纳米颗粒^[22]、基于氟硼吡咯或七甲川菁染料的小分子光敏剂^[23-24]和上转化纳米材料^[25]等。而 NIR 热疗法(NIR-PTT)是利用光敏剂的光热转化性能,将 NIR 能量转变为热量来促进肿瘤细胞死亡^[15],如结合靶向抗体的金纳米棒^[26]、黑磷纳米材料^[27]等。在此基础上,研究人员还开发了 NIR 免疫疗法(NIR-PIT),将光疗和免疫疗法结合,通过肿瘤靶向免疫抗体或配体与光敏剂或/和药物偶联,选择性地杀死肿瘤细胞,并诱导治疗宿主免疫反应^[28],最终通过免疫治疗方式实现远端肿瘤的治疗。

Atchison 等^[29]制备 NIR 系统两个 IR-783 的碘酸衍生物,通过近红外激活 PDT 来治疗胰腺癌。他们在近红外染料 ICG 的基本结构骨架中添加碘原子以提高单线态氧的生成效率,增加光敏剂对胰腺癌细胞的细胞毒性。Zhou 等^[30]针对肿瘤细胞上的特异性标志物氨基肽酶 N (APN),合成 NIR 光敏剂 APN-CyI,实现 NIR 系统肿瘤成像和光动力治疗的整合。该探针可以被肿瘤细胞上的 APN 识别并激活,然后水解为具有 NIR 性能的半菁荧光团 CyI-OH。CyI-OH 可以特异性地结合到细胞内的线粒体上,在 717 nm 处有明显的荧光发射,经 660 nm NIR 照射 10 min, CyI-OH 显示出高单线态氧产量,可有效诱导 80%癌细胞死亡。同年,Wang 等^[31]开发一种功能化的静脉导管形式的 NIR 系统,用于 CTCs 体内富集和光热微创治疗:导管表面用 anti-EpCAM 抗体修

饰,用于特异性捕获体内 CTCs;导管内部填充消光系数大、光热转换效率高的黑磷纳米材料(BPNSs),BPNSs 介导的光热效应可有效杀死 CTCs;5 min 内对 CTCs 的捕获效率为 2.1%,杀伤效率为 100%。Yamaguchi 等^[32]将 NIR 光敏剂 IR700 分别与人表皮生长因子受体 2(HER2)亲和体以及曲妥珠单抗偶联(HER2 亲和体-IR700 和曲妥珠单抗-IR700),通过针对 HER2 蛋白的不同表位靶向治疗 HER2 阳性乳腺癌。在 NIR 照射下,HER2 亲和体-IR700 诱导靶细胞膜肿胀、起泡和破裂,造成免疫原性细胞死亡;同时,曲妥珠单抗刺激免疫细胞去摧毁肿瘤细胞。以上两种 IR-700 偶联物联合诱导 CTCs 坏死,通过 NIR-PIT 增强对 HER2 阳性癌细胞杀伤作用。

传统的肿瘤治疗方法如放疗、化疗等都有极大的不良反应,会对患者的身体造成严重负担。而 NIR 驱动的肿瘤治疗方法可以特异性地靶向杀伤目标癌细胞,在提高治愈率和存活率的同时,不良反应也较小,具有良好的临床应用潜力。

4 总结与展望

目前 CTCs 的检测技术大多仍局限于实验室研究,因此亟需发展新的诊断技术以提高肿瘤检测分析的准确性和灵敏度。NIR 系统因其优异的组织穿透能力、高生物安全性和高灵敏度等特性,在肿瘤精准诊疗领域展现出巨大潜力。此外,NIR-PDT、NIR-PTT、NIR-PIT 等作为新型肿瘤治疗手段,具有微创、靶向可控、无耐药性等特点,能够与化疗、放疗等传统治疗手段优势互补,为肿瘤治疗提供新思路。通过 NIR 系统可以将肿瘤诊断、成像以及治疗整合到一起,为实现临床肿瘤诊疗一体化提供新的可能性。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

参 考 文 献

- [1] MOMENI M, SHAMLOO A, HASANI-GANGARAJ M, et al. An experimental study of centrifugal microfluidic platforms for magnetic-inertial separation of circulating tumor cells using contraction-expansion and zigzag arrays[J]. *Journal of Chromatography A*, 2023, 1706: 464249.
- [2] ZHAO B, ZHANG L, LIU Z, et al. The protocol of circulating tumor cell detection[J]. *Methods in Molecular Biology*, 2023, 2695: 1-8.
- [3] HUANG Q, WANG F B, YUAN C H, et al. Gelatin nanoparticle-coated silicon beads for density-selective capture and release of

- heterogeneous circulating tumor cells with high purity[J]. *Theranostics*, 2018, 8(6): 1624-1635.
- [4] MISHRA A, DUBASH T D, EDD J F, et al. Ultrahigh-throughput magnetic sorting of large blood volumes for epitope-agnostic isolation of circulating tumor cells[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2020, 117(29): 16839-16847.
- [5] SU W, YU H, JIANG L, et al. Integrated microfluidic device for enrichment and identification of circulating tumor cells from the blood of patients with colorectal cancer[J]. *Disease Markers*, 2019, 2019: 1-9.
- [6] LAFLEUR J P, SENKBEIL S, JENSEN T G, et al. Gold nanoparticle-based optical microfluidic sensors for analysis of environmental pollutants[J]. *Lab Chip*, 2012, 12(22): 4651.
- [7] PEDROSA V A, CHEN K, GEORGE T J, et al. Gold nanoparticle-based microfluidic chips for capture and detection of circulating tumor cells[J]. *Biosensors*, 2023, 13(7): 706.
- [8] MENG J, ZHANG P, ZHANG F, et al. A self-cleaning tio 2 nanosial-like coating toward disposing nanobiochips of cancer detection[J]. *ACS Nano*, 2015, 9(9): 9284-9291.
- [9] HAPEMAN J D, CARNEIRO C S, NEDELCO A M. A model for the dissemination of circulating tumour cell clusters involving platelet recruitment and a plastic switch between cooperative and individual behaviours[J]. *BMC Ecology and Evolution*, 2023, 23(1): 39.
- [10] KANG H, XIONG Y, MA L, et al. Recent advances in micro-nano-structure array integrated microfluidic devices for efficient separation of circulating tumor cells[J]. *RSC Advances*, 2022, 12(54): 34892-34903.
- [11] WANG Z, UPPUTURI P K, ZHEN X, et al. pH-sensitive and biodegradable charge-transfer nanocomplex for second near-infrared photoacoustic tumor imaging[J]. *Nano Research*, 2019, 12(1): 49-55.
- [12] ZHU S, TIAN R, ANTARIS A L, et al. Near-infrared-II molecular dyes for cancer imaging and surgery[J]. *Advanced Materials (Deerfield Beach, Fla)*, 2019, 31(24): e1900321.
- [13] ZHANG E, LUO S, TAN X, et al. Mechanistic study of IR-780 dye as a potential tumor targeting and drug delivery agent[J]. *Biomaterials*, 2014, 35(2): 771-778.
- [14] YANG X, SHI C, TONG R, et al. Near IR heptamethine cyanine dye-mediated cancer imaging[J]. *Clinical Cancer Research*, 2010, 16(10): 2833-2844.
- [15] YUAN J, YI X, YAN F, et al. Near-infrared fluorescence imaging of prostate cancer using heptamethine carbocyanine dyes[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2015, 11(2): 821-828.
- [16] SCHIKORA D. In vivo detection of circulating tumour cell clusters by photodiagnostic spectroscopy[J]. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 2020, 30: 101755.
- [17] XIA W, LI H, LI Y, et al. In vivo coinstantaneous identification of hepatocellular carcinoma circulating tumor cells by dual-targeting magnetic fluorescent nanobeads[J]. *Nano Letters*, 2021, 21(1): 634-641.
- [18] LV S W, WANG J, XIE M, et al. Photoresponsive immunomagnetic nanocarrier for capture and release of rare circulating tumor cells[J]. *Chemical Science*, 2015, 6(11): 6432-6438.

- [19] LV S W, LIU Y, XIE M, et al. Near-infrared light-responsive hydrogel for specific recognition and photothermal site-release of circulating tumor cells[J]. *ACS Nano*, 2016, 10(6): 6201-6210.
- [20] WANG X, WANG X, CHENG S, et al. Near-infrared light-switched MoS₂ nanoflakes@gelatin bioplatfrom for capture, detection, and nondestructive release of circulating tumor cells[J]. *Analytical Chemistry*, 2020, 92(4): 3111-3117.
- [21] WENG X, WEI D, YANG Z, et al. Photodynamic therapy reduces metastasis of breast cancer by minimizing circulating tumor cells[J]. *Biomedical Optics Express*, 2021, 12(7): 3878-3886.
- [22] DAN Q, YUAN Z, ZHENG S, et al. Gold nanoclusters-based NIR-II photosensitizers with catalase-like activity for boosted photodynamic therapy[J]. *Pharmaceutics*, 2022, 14(8): 1645.
- [23] LI M, TIAN R, FAN J, et al. A lysosome-targeted BODIPY as potential NIR photosensitizer for photodynamic therapy[J]. *Dyes and Pigments*, 2017, 147: 99-105.
- [24] YANG X, BAI J, QIAN Y. The investigation of unique water-soluble heptamethine cyanine dye for use as NIR photosensitizer in photodynamic therapy of cancer cells[J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2020, 228: 117702.
- [25] LIU K, LIU X, ZENG Q, et al. Covalently assembled NIR nanoplatfrom for simultaneous fluorescence imaging and photodynamic therapy of cancer cells[J]. *ACS Nano*, 2012, 6(5): 4054-4062.
- [26] ZHANG M, KIM H S, JIN T, et al. Near-infrared photothermal therapy using EGFR-targeted gold nanoparticles increases autophagic cell death in breast cancer[J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2017, 170: 58-64.
- [27] TAO W, ZHU X, YU X, et al. Black phosphorus nanosheets as a robust delivery platform for cancer theranostics[J]. *Advanced Materials*, 2017, 29(1): 1603276.
- [28] MOHIUDDIN T M, ZHANG C, SHENG W, et al. Near onfrared photoimmunotherapy: a review of recent progress and their target molecules for cancer therapy[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(3): 2655.
- [29] ATCHISON J, KAMILA S, NESBITT H, et al. Iodinated cyanine dyes: a new class of sensitisers for use in NIR activated photodynamic therapy (PDT)[J]. *Chemical Communications*, 2017, 53(12): 2009-2012.
- [30] ZHOU X, LI H, SHI C, et al. An APN-activated NIR photosensitizer for cancer photodynamic therapy and fluorescence imaging[J]. *Biomaterials*, 2020, 253: 120089.
- [31] WANG D, GE C, LIANG W, et al. In vivo enrichment and elimination of circulating tumor cells by using a black phosphorus and antibody functionalized intravenous catheter[J]. *Advanced Science*, 2020, 7(17): 2000940.
- [32] YAMAGUCHI H, ON J, MORITA T, et al. Combination of near-infrared photoimmunotherapy using trastuzumab and small protein mimetic for HER2-positive breast cancer[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(22): 12213.

收稿日期:2024-02-08

(本文编辑:钟美春)