

纳米金在肿瘤显像与放射治疗中的应用

凌萍 张旭光 涂彧

【摘要】 纳米金因具有良好的表面性质和优异的生物亲和性,使其能被多种基团修饰,从而获得对肿瘤细胞的靶向性;又因其具有表面等离子共振效应等强吸收和发光特性,故可进行肿瘤显像。另外,在肿瘤放疗过程中,纳米金能够将吸收的光能转化为热能进行肿瘤局部加热,起到了放疗增敏的效果,从而减少受照剂量,减轻放疗对正常组织的伤害。该文阐述靶向修饰的纳米金在肿瘤显像和放疗中的研究进展,而纳米金在体内分布、代谢及其生物毒性有待进一步研究。

【关键词】 肿瘤; 体层摄影术, X 线计算机; 放射疗法; 纳米金

The application of nanogold in tumor imaging and radiotherapy LING Ping*,
ZHANG Xu-guang, TU Yu. *Department of Radiohygiene, School of Radiation Medicine and Health,
Soochow University, Suzhou 215123, China

Corresponding author: TU Yu, Email: tuyu@suda.edu.cn

【Abstract】 Nanogold can be modified by various groups and thus target to tumor cells because of its satisfactory surface property and excellent biological affinity, and as its surface plasmon resonance and strong absorption induced luminescence, nanogold can be used in tumor imaging, what's more, nanogold can transform the light absorbed into localized heat in tumor radiotherapy, which plays a radiosensitization effect, therefor reduces the radiation doses and the damage to normal tissue. This article describes the progression of researching targeted nanogold in tumor imaging and radiotherapy, but the distribution, metabolism and biotoxicity of nanogold in vivo are still not well understood.

【Key words】 Neoplasms; Tomography, X ray-computer; Radiotherapy; Nanogold

纳米金是指直径介于 1~100 nm 之间的金颗粒,其具有非常独特的物理性质和化学性质,具体包括以下 3 个方面:①纳米金易于制备,稳定性非常好;②具有纳米颗粒所特有的小尺寸效应、表面效应、量子尺寸效应、宏观量子隧道效应和介电效应等;③具有独特的电学效应、光学效应、磁学效应(光吸收和光散射)、催化效应和特殊的生物亲和效应^[1]。近年来,纳米金受到了化学、物理、医学、生命科学等相关领域研究人员的广泛关注。

肿瘤治疗的关键在于早期诊断,CT 是目前临床常用的肿瘤诊断方法,但 CT 使用的碘造影剂存在造影时间短、肾毒性、缺乏特异性、X 射线诱导含碘物质电离出碘离子(造成毒性)等缺点,而基于纳米金的新型 CT 造影剂有望改善上述缺点。放疗

是肿瘤治疗的三大常规方法之一,但放疗过程中照射区域内的正常组织也会受到不同程度的损害,尤其是深部的肿瘤,靶向修饰的纳米金作为放疗增敏剂有可能提高肿瘤细胞辐射敏感性,增强皮肤表面 X 射线照射对深部肿瘤的杀伤作用,从而可以减少患者用于放疗的剂量,减轻放疗对正常组织的损害。因此,纳米金有望整合肿瘤成像和治疗,以实现实时的可视化肿瘤治疗的新途径^[2]。

1 纳米金的靶向修饰

由于肿瘤细胞的生物学行为不同于正常细胞,所以一些正常细胞表达的蛋白分子在肿瘤细胞中会异常表达,而且在肿瘤发生、发展及转移过程中会产生相关的一些特异性蛋白分子,因此,可以使用对肿瘤细胞具有靶向性的物质对纳米金进行修饰,然后通过受体-配体结合的方式将纳米金标记到肿瘤细胞表面或肿瘤细胞内。现研究较多的用于修饰纳米金进行肿瘤靶向标记的物质有以下几种:①表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR):

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2011.01.016

作者单位: 1. 215123, 苏州大学放射医学与公共卫生学院放射卫生学专业(凌萍, 涂彧); 2. 221000, 徐州市肿瘤医院放疗科(张旭光)

通信作者: 涂彧 (Email: tuyu@suda.edu.cn)

EGFR 在纳米金表面连接与 EGFR 特异性结合的 EGFR 抗体, 如此, 被修饰的纳米金可以靶向性聚集于高表达 EGFR 的肿瘤细胞^[3]。Huang 等^[4] 将合适长径比的金纳米棒预先共轭结合到抗-EGFR 单抗上, 随后在细胞培养基中与良性的口腔上皮细胞和口腔上皮癌细胞孵化, 共轭抗-EGFR 单抗的金纳米棒以较高的亲和力特异地结合到癌细胞表面, 于是, 金纳米棒强烈散射的红光在暗场显微镜下能够清晰可见, 从而在良性细胞中诊断出恶性细胞。②叶酸: 人体细胞不能合成叶酸, 只能通过载体或者受体介导内吞的方式从细胞外获取^[5-6], 而大多数肿瘤, 如发生于卵巢、脑、肾脏、乳腺和肺等肿瘤细胞表面叶酸受体的表达上调, 因此被叶酸修饰的纳米金可以获得对肿瘤细胞的靶向性^[7-8]。Tong 等^[9] 将叶酸配体共轭的金纳米棒引入人口腔上皮癌细胞 (KB 细胞) 后, 采用近红外脉冲激光进行了“光-热”治疗的研究。③转铁蛋白受体: 由于多种肿瘤细胞的表面同时高表达转铁蛋白受体, 其也可以用来修饰纳米金作为靶向性物质^[10]。

2 纳米金用于肿瘤显像

目前, 临床通常使用的 CT 造影剂是含碘的有机分子, 这是因为碘具有较高的 X 射线吸收系数^[11]。然而与碘相比, 金有着更高的原子序数 (Au 为 79, I 为 53) 和 X 射线吸收系数 (在 100 keV: 金为 5.16 cm²/g; 碘为 1.94 cm²/g), 单位质量的金与碘相比, 造影效果要好约 2.7 倍^[12]。此外, 金属纳米颗粒结构中存在局域表面等离子体 (localized surface plasmons, LSPs), 当其受到入射光激发时, 会引起局域表面等离子体共振 (localized surface plasmon resonance, LSPR), 该金属纳米结构表面的局域电场被增强, 对某一波段的光谱展现出强烈的吸收。纳米金颗粒具有很强的 LSPR 效应, 它在紫外-可见光波段展现出很强的光谱吸收^[13]。经过肿瘤靶向修饰的纳米金可准确定位于肿瘤组织及其周围血管上, 通过 X 射线进行清晰的成像。Popovtzer 等^[14] 利用细胞培养方法, 研究了修饰特定肿瘤靶向分子 A9 抗体 (可与头颈癌细胞特异性过表达的 A9 抗原特异性结合) 的金纳米棒的 CT 成像效果, 结果表明, 修饰了靶向分子的金纳米颗粒更多地聚集于特定的肿瘤细胞上。因此, 特定肿瘤细胞的悬浮液有着更大的 CT 值^[12]。由于纳米金的卓越吸收性能, 在满

足了肿瘤显像的同时, 可大大减少患者的全身辐射吸收剂量, 有利于降低患者的平均有效剂量。

此外, 纳米金克服了碘造影剂造影时间短的缺点。Hainfeld 等^[15] 将直径为 1.9 nm 的纳米金以 0.01 ml/g 小鼠体重的剂量注射到患乳腺癌的 Balb/C 小鼠静脉内, 2 min 后利用乳腺摄影机 (22 kVp) 进行 X 射线成像; 注射纳米金后 5 h, 血液中的纳米金已经基本清除, 而肿瘤部位的纳米金与注射后 15 min 的纳米金水平几乎相同; 24 h 后, 肝脏中残留的纳米金比例上升, 并且肾脏中残留的纳米金没有进一步减少。这些结果表明, 相对于碘造影剂, 纳米金有着更长的造影时间。但同时, 纳米金在生物体内的残留问题应受到关注。Cho 等^[16] 给小鼠静脉注射一定剂量的、直径为 4~100 nm 的、聚乙二醇包裹的纳米金, 未发现肝脏有明显的病理学改变, 但有小部分与凋亡和细胞周期相关的基因表达有所改变。

纳米物质可能会干扰内在的代谢过程或信号转导途径, 导致细胞的生物化学作用发生轻微的混乱, 产生的结果在短期的毒性分析中可能表现并不明显, 对此需要更长时间地积累数据、分析归纳, 才能发现和揭示纳米生物效应的一般性规律, 才能建立相应的理论体系^[17]。

3 纳米金的肿瘤放疗增敏作用

临床上根据肿瘤的性质, 结合患者身体条件的情况下确定放疗剂量, 然而, 射线对肿瘤周围组织的损伤以及对全身各脏器的不良反应限制了用于肿瘤放疗的射线剂量。所以, 人们一直在探索使用较低剂量的射线达到较高的肿瘤治愈率的方法。放疗联合辐射增敏剂就是一种常用的方法。理想的辐射增敏剂应可以显著增加放疗的疗效, 而对正常组织没有或很少有不良反应, 然而, 大多数辐射增敏剂不能同时具备这两个条件。氧是目前所知的最强的辐射增敏剂, 增加氧分压, 即使常压下也可能增加肿瘤的辐射敏感性。但高压氧和 carbogen (含 5% CO₂ + 95% O₂) 临床应用的结果并不理想, 除在宫颈癌和转移性淋巴瘤有增敏效果外, 大多为阴性结果, 且这种方法极不方便, 并可增加 3% 的小肠上皮、脊髓、软骨的辐射损伤, 限制其临床应用^[18]。

纳米金颗粒已被报道能够增强肿瘤细胞的辐射作用和减少周围正常组织的不良反应。纳米金材料

在鼠结肠癌细胞株和乳腺癌细胞株上均发现有增敏现象^[19-20]。Hainfeld 等^[21] 将直径为 1.9 nm 的纳米金静脉注射入乳腺癌 EMT-6 小鼠体内, 然后用 250 kVp 的 X 射线分别照射注射纳米金和未注射纳米金的两组乳腺癌 EMT-6 小鼠, 照射剂量相同, 结果显示, 前者存活率明显高于后者。

尽管未进行靶向修饰的纳米金已表现出增强肿瘤杀伤的效果, 但更多的科学家在研究经过表面修饰的纳米金对肿瘤的强大亲和力和更为巨大的杀伤力。Kong 等^[20] 用表面修饰有硫代葡萄糖的纳米金和半胱胺的纳米金对乳腺癌细胞系 MCF-7 进行放疗增敏效果的研究, 他们将经修饰的纳米加入到肿瘤细胞中, 分别孵育 2 h (肿瘤细胞由于处于高代谢状态, 会将硫代葡萄糖的纳米金内吞入细胞质中, 而半胱胺-纳米金由于带强正电荷, 会吸附到带负电荷的细胞膜上), 然后将上述处理过和未经任何处理的肿瘤细胞分别用 200 kVp X 射线照射 10 Gy, 48 h 用甲基噻唑四唑盐比色法分析放疗的细胞毒作用: 相对于单纯 X 射线照射, 经硫代葡萄糖的纳米金和半胱胺的纳米金处理后放疗的细胞毒作用分别增强了 63.5% 和 31.7%; 在克隆存活分析中, 用 200 kVp X 射线分别照射未经处理的 MCF-7 细胞和经硫代葡萄糖的纳米金处理的 MCF-7 细胞, 照射剂量相同, 前者在照后第 5 日和第 14 日肿瘤细胞存活率为 43.2% 和 13.8%, 后者则在照后第 5 日肿瘤细胞全部死亡。

El-Sayed 等^[22] 通过利用 EGFR 抗体-纳米金结合体, 特异性地定靶于肿瘤细胞, 然后进行激光照射, 结果发现, 只需用于杀死正常细胞一半的激光能量就能将恶性肿瘤细胞杀死, 而只有少量金纳米微粒存在的正常细胞仅受到很小的热能的破坏。可见, 靶向标记纳米金的光热疗法既无损于正常细胞, 又能减少用于杀死肿瘤的激光剂量, 从而降低了患者肿瘤治疗过程中不良反应的发生率和严重程度。

纳米金致肿瘤细胞放疗敏感性增强的机制仍不明确, 有待进一步研究。光电效应可能是低能 X 射线(200 keV)与纳米金颗粒(金的 K-edge 为 80.7 keV)发生相互作用、产生辐射细胞毒增强的主要机制^[23]。已有研究称, 低能 X 射线与高原子序数物质之间的相互作用会产生自由基^[24], 这些自由基又会促使活性氧的产生, 进而损伤细胞蛋白质和基因, 导致

细胞毒性^[25]。Turner 等^[26] 认为, 纳米金属颗粒可能将细胞阻止在整个细胞周期中辐射敏感性最强的 G₂/M 期, 致使肿瘤的辐射敏感性增强。

4 展望

靶向标记的纳米金能够很好的集中在肿瘤细胞及其周围, 使得放疗中的射线能量在局部增强, 发挥最大的细胞杀伤作用, 同时解决了临床上存在的放疗后期肿瘤对射线的敏感性下降、治疗完成后肿瘤细胞残留的问题。由于纳米金所特有的物理和化学特性, 使得其在生物标记、生物检测、生物成像、疾病的治疗等方面具有巨大的潜力。通过抗体-纳米金结合体标记肿瘤细胞上过表达的受体, 便能实现对特定靶细胞的成像和灭活, 这种方法可用于多种肿瘤以及其他疾病的诊断和治疗^[27-28]。然而, 一些实验条件如纳米金与靶向抗体的结合、纳米生物分子结合体对细胞的靶向标记等尚需进一步优化, 纳米金致肿瘤细胞放疗敏感性增强的机理仍需进一步研究。人体是一个复杂的系统, 体内环境随时都在改变, 纳米金作为一种异物, 无论是用作肿瘤成像还是治疗, 如不能完全排出体外, 其在体内势必造成一定的蓄积, 所以必须明确纳米金对细胞和机体的毒性及其代谢和排泄过程, 这样才可控制纳米金在患者体内循环的时间、分布、毒性等, 以使其更好地为科研和临床所应用。

参 考 文 献

- [1] Daniel MC, Astruc D. Gold nanoparticles: assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology, catalysis and nanotechnology. *Chem Rev*, 2004, 104(1): 293-346.
- [2] von Maltzahn G, Centrone A, Park JH, et al. SERS-coded gold nanorods as a multifunctional platform for densely multiplexed near-infrared imaging and photothermal heating. *Adv Mater*, 2009, 21(31): 3175-3180.
- [3] Huang X, Jain PK, El-Sayed IH, et al. Determination of the minimum temperature required for selective photothermal destruction of cancer cells with the use of immunotargeted gold nanoparticles. *Photochem Photobiol*, 2006, 82(2): 412-417.
- [4] Huang X, El-Sayed IH, 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(6): 2115-2120.
- [5] Kamen BA, Smith AK. A review of folate receptor alpha cycling and 5-methyltetrahydrofolate accumulation with an emphasis on cell-models in vivo. *Adv Drug Deliv Rev*, 2004, 56(8): 1085-1097.

[6] Sabharanjak S, Mayor S. Folate receptor endocytosis and trafficking. *Adv Drug Deliv Rev*, 2004, 56(8): 1099–1109.

[7] Dixit V, Van den Bossche J, Sherman DM, et al. Synthesis and grafting of thioctic acid-PEG-folate conjugates onto Au nanoparticles for selective targeting of folate receptor-positive tumor cells. *Bioconjug Chem*, 2006, 17(3): 603–609.

[8] Prabakaran M, Grailler JJ, Pilla S, et al. Gold nanoparticles with a monolayer of doxorubicin-conjugated amphiphilic block copolymer for tumor-targeted drug delivery. *Biomaterials*, 2009, 30(30): 6065–6075.

[9] Tong L, Zhao Y, Huff TB, et al. Gold nanorods mediate tumor cell death by compromising membrane integrity. *Adv Mater*, 2007, 19(20): 3136–3141.

[10] Yang PH, Sun X, Chiu JF, et al. Transferrin-mediated gold nanoparticle cellular uptake. *Bioconjug Chem*, 2005, 16(3): 494–496.

[11] Krause W. Delivery of diagnostic agents in computed tomography. *Adv Drug Deliv Rev*, 1999, 37(1–3): 159–173.

[12] 范旭, 郭志睿, 苏敏, 等. 基于金纳米颗粒的 CT 造影剂. CT 理论与应用研究, 2009, 18(4): 15–25.

[13] Raether H. Surface plasmons on smooth and rough surfaces and on gratings. Berlin: Springer-Verlag, 1988: 37.

[14] Popovtzer R, Agrawal A, Kotov NA, et al. Targeted gold nanoparticles enable molecular CT imaging of cancer. *Nano Lett*, 2008, 8(12): 4593–4596.

[15] Hainfeld JF, Slatkin DN, Focella TM, et al. Gold nanoparticles: A new X-ray contrast agent. *Br J Radiol*, 2006, 79(939): 248–253.

[16] Cho WS, Kim S, Han BS, et al. Comparison of gene expression profiles in mice liver following intravenous injection of 4 and 100nm-sized PEG-coated gold nanoparticles. *Toxicol Lett*, 2009, 191(1): 96–102.

[17] 赵琢, 王利兵, 张园, 等. 纳米物质生物安全性研究进展. 纳米科技, 2008, 5(2): 61–65.

[18] 叶娟平, 刘韬, 戴昆伦, 等. 放射增敏剂的临床研究进展. 医药导报, 2009, 28(7): 893–896.

[19] Liu CJ, Wang CH, Chien CC, et al. Enhanced x-ray irradiation-induced cancer cell damage by gold nanoparticles treated by a new synthesis method of polyethylene glycol modification. *Nanotechnology*, 2008, 19(29): 95–104.

[20] Kong T, Zeng J, Wang XP, et al. Enhancement of radiation cytotoxicity in breast-cancer cells by localized attachment of gold nanoparticles. *Small*, 2008, 9(4): 1537–1543.

[21] Hainfeld JF, Slatkin DN, Smilowitz HM. The use of gold nanoparticles to enhance radiotherapy in mice. *Phys Med Biol*, 2004, 49(18): 309–315.

[22] El-Sayed IH, Huang X, El-Sayed MA. Selective laser photothermal therapy of epithelial carcinoma using anti-EGFR antibody conjugated gold nanoparticles. *Cancer Lett*, 2006, 239(1): 129–135.

[23] Attix FH. Introduction to radiological physics and radiation dosimetry. New York: Wiley, 1991: 124–159.

[24] Herold DM, Das JJ, Stobbe CC. Gold microspheres: a selective technique for producing biologically effective dose enhancement. *Int J Radiat Biol*, 2000, 76(10): 1357–1364.

[25] Nel A, Xia T, Moller L, Li N. Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science*, 2006, 311(5761): 622–627.

[26] Turner J, Koumenis C, Kute TE, et al. Tachpyridine, a metal chelator, induces G₂ cell-cycle arrest, activates checkpoint kinases, and sensitizes cells to ionizing radiation. *Blood*, 2005, 106(9): 3191–3199.

[27] Loo C, Lowery A, Halas N, et al. Immunotargeted nanoshells for integrated cancer imaging and therapy. *Nano Letters*, 2005, 5(4): 709–711.

[28] Lapotko D, Lukianova E, Potapnev M, et al. Method of laser activated nano-thermolysis for elimination of tumor cell. *Cancer Lett*, 2006, 239(1): 36–45.

(收稿日期: 2010-06-03)

螺旋 CT 对肠梗阻的诊断探讨

孟钺

【关键词】 肠梗阻; 体层摄影术, 螺旋计算机; 诊断

肠梗阻是外科常见的急腹症之一, 其发病率仅次于急性阑尾炎及胆道疾病, 居急腹症的第 3 位。腹部平片是腹部影像诊断最常用的方法, 但对于绞窄性、肿瘤引起的梗阻, 平片缺乏特异征象, 其应用的价值受到限制。CT 为断层扫描, 没有重叠, 密度分辨率高, 在急腹症的检查中越

来越受到重视^[1]。

本研究对我院收治的 52 例肠梗阻患者行螺旋 CT 检查和 X 光检查, 并对其诊断符合率进行分析, 现报道如下。

1 对象和方法

1.1 对象

本组研究对象为 52 例肠梗阻患者, 其中男性 25 例、女