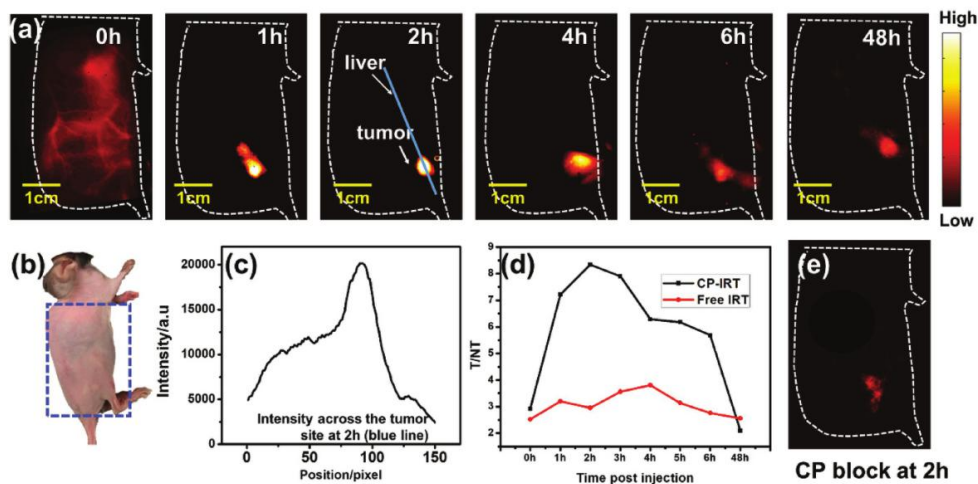


肾排泄型荧光多肽探针用于红外二区活体肿瘤成像

本文要点：作者开发了一款新型多肽 CP，可靶向肿瘤干细胞标志物 CD133，将其与近红外荧光探针偶联后 (CP-IRT)，该探针在小鼠体内实现了有效地肿瘤靶向，其肿瘤与正常组织的信噪比大于 8，此外，得益于多肽的修饰，该探针可以在 6 小时内被肾脏代谢 87%。



基于配体-受体介导的分子识别肿瘤生物标志物靶向探针在体内成像、癌症早期诊断和靶向治疗方面越来越受到人们的关注，作为小分子界面配体，多肽具有细胞穿透性，低免疫原性，高生物相容性和易于合成的特点。如今，可以生产具有特定结合特性的肽，使其具有与多种靶标（包括癌症生物标志物蛋白）的结合特性。与抗体相比，多肽可以提供相似的高亲和力和选择性，而无需复杂的结构，并且在较小的尺寸和更快地从体内清除方面具有优势，多肽也可用于与抗体不兼容的有机溶剂中的化学反应。研究表明，在 NIR-II 窗口 (1000-1700 nm) 中发射更长波长的荧光探针可以从减少的光散射中受益，从而可以使生物组织的成像深度更深。NIR-II 荧光成像还受益于组织自发荧光的减少，在亚厘米成像深度具有高信噪比

的情况下还可以提高空间分辨率。到目前为止，NIR-II 荧光团已包括无机纳米材料（碳纳米管，量子点和稀土纳米颗粒）以及聚合物或脂质体包裹的疏水有机染料，这些纳米探针缺乏快速排泄的能力。基于纳米粒子的 NIR-II 显像剂大部分保留在肝脏和脾脏中，并通过粪便途径缓慢排出，较长的保留时间导致了长期的安全隐患。基于以上，作者开发了一款新型肽 CP(图 1a)用于靶向肿瘤标志物 CD133 受体，与 D-A-D 型染料通过点击化学偶联后，可以快速通过肾脏排泄。

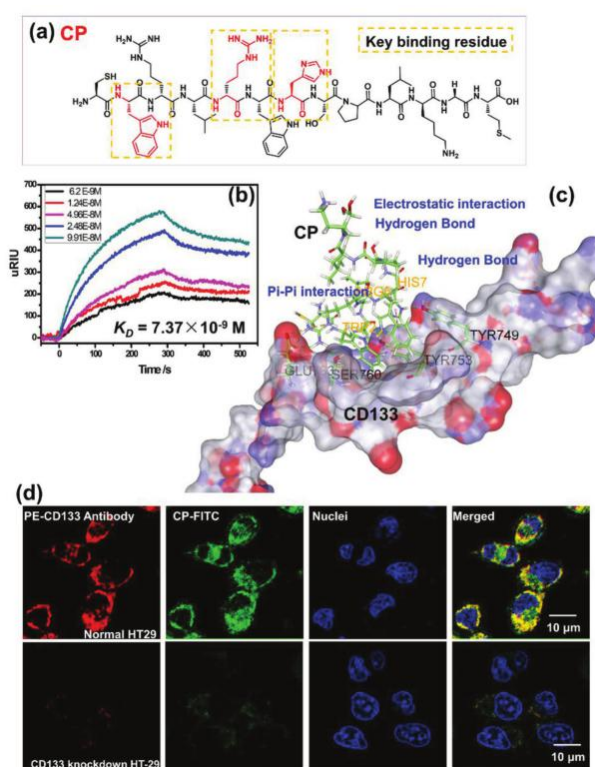


图 1 : a) CP 的化学结构 ; b) 对 CD133 进行 CP 的 SPRi 检测 ; c) CP 配体和 CD133 受体的分子对接模拟示意图 ; d) FITC 标记的 CP (绿色通道) 和 PE 标记的 CD133 抗体 (红色通道) 与 HT-29 细胞核指示剂 Hoechst33342 (蓝色通道) 共定位。

作者首先研究了探针的细胞成像性能。利用等离子体金芯片，作者验证 CP-IRT 探针的 CD133 的靶向性，如图 2a 所示，CD133 阳性细胞系 HT-29 和 U87MG 细胞荧光均强于 CD133 阴性细胞系 HEK293T，这表明 CP-IRT 探针对 CD133 的亲合力较高，体外细胞成像进一步证实了这个结论（如图 2b 所示）。

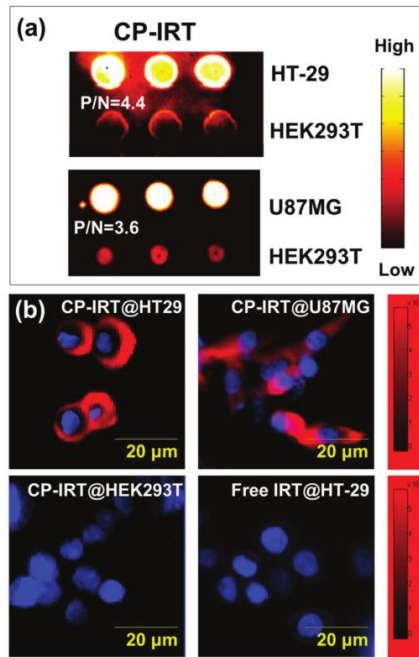


图 2 : a) 等离子体金芯片法用于检测 CP-IRT 的靶向性能 ; b) CP-IRT 对 CD133 阳性细胞系 HT-29 和 U87MG 以及 CD133 阴性细胞系 HEK293T 细胞成像实验。

作者随后进行了动物体内成像实验。利用 HT-29 移植瘤小鼠模型，尾静脉注射探针后，在初始阶段便可以观察到小鼠的血管（图 3a），在两小时后，肿瘤/正常组织信噪比达到最大（ $T/NT \approx 8.3$ ），而不修饰靶向肽的 Free-IRT 探针则不能有效富集于肿瘤组织（图 3d），预先注射阻断剂量的 CP 肽使得 CD133 受体被饱和，随后注射探针，同样在两小时成像时发现肿瘤的荧光信号降低，这说明 CD133 受体被饱和。

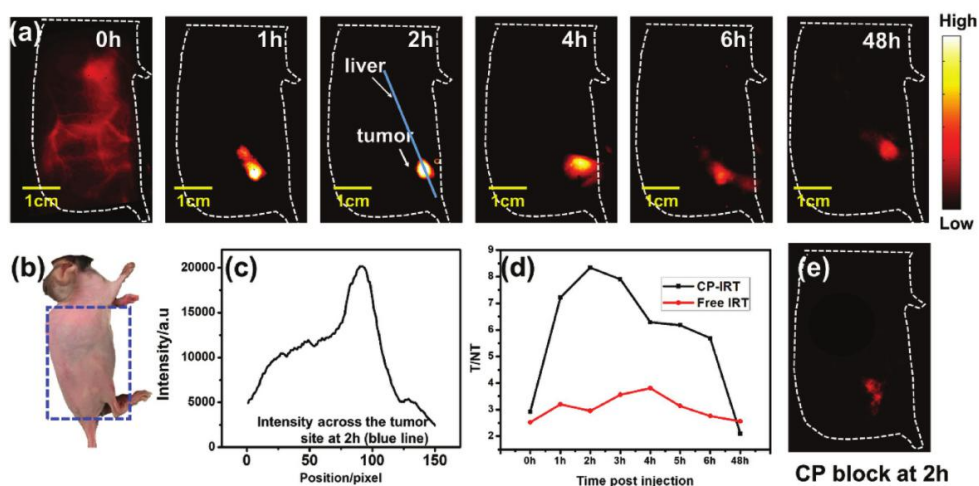


图 3 : a) 静脉注射 CP-IRT 并在 808 nm 激光激发下，利用 1200 nm 长通滤光片对 CD133+肿瘤小鼠在不同时间点进行成像；b) 荷瘤的 C57BL/6 小鼠的光学数码照片，蓝色边框是 NIR-II 成像视图；c) 注射 CP-IRT 后 2h 整个小鼠体内的荧光强度分布图，包括肝脏和肿瘤；d) CP-IRT 与 Free IRT 的 T/NT 信噪比随时间变化的曲线；e) 仅由 CP 肽阻断后，对 CP-IRT 注射后第 2h 进行 NIR-II 成像。

最后，作者对探针的排泄行为进行研究。在注射探针后，NIR-II成像显示大多数探针由膀胱排泄，如图 4a 所示，在第 370s 时膀胱显示出荧光信号，在 150s 时可以观察到小鼠两个尿道的荧光信号(图 4b)，从而实现了尿道无创成像，为未来研究动物尿道疾病提供了工具。最后，作者对比了多肽偶联探针与抗体偶联探针的肾脏排泄性能。作者将 CP-IRT 的排泄行为与蛋白质和抗体偶联的 IRT 的排泄行为进行了比较，相对于分子量约 100 kDa 的肽，抗体是大型的功能蛋白。作者发现 IRT 染料与抗体和较小的蛋白质(如牛血清白蛋白(BSA))结合可导致肝脏高摄取而无肾脏排泄(图 4c)。动态光散射测量(图 4d)显示 CP-IRT 尺寸约为 5 nm(在肾脏排泄范围内)，而 BSA-IRT 尺寸约为 25 nm，远高于肾脏滤过界限。因此，具有小的有机 NIR-II 染料的多肽偶联探针显示出从主要器官中快速清除的优势，而没有在 RES 系统中长期保留的问题，而这通常是用抗体染料探针或基于纳米颗粒的荧光团所常见的。

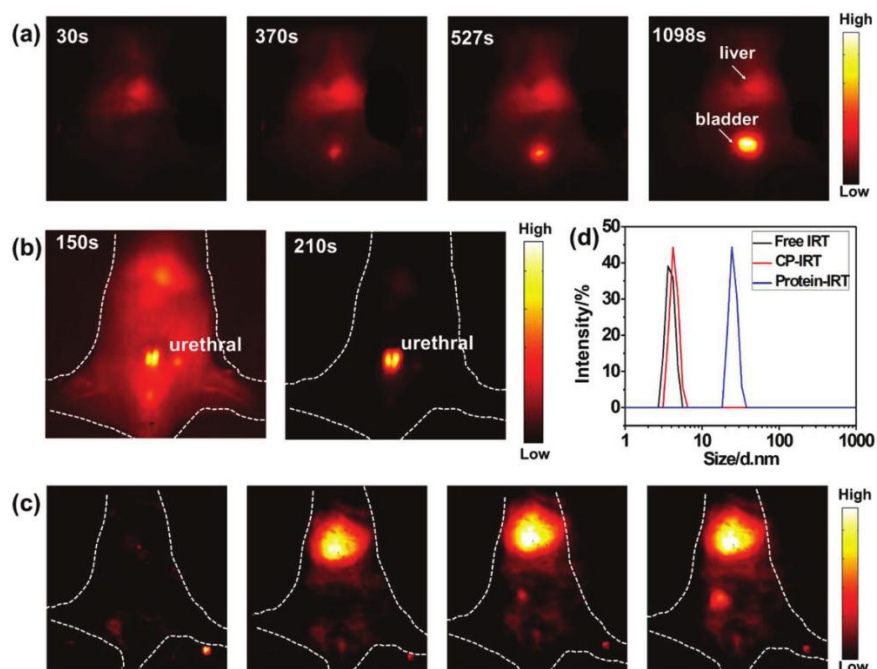


图 4 : a) 静脉注射 CP-IRT 后仰卧位小鼠的视频速率 NIR-II 成像 (1200 nm LP , 200 ms) ; b) 注射 CP-IRT 后进行高分辨尿道成像 ; c) 静脉内注射蛋白结合型 IRT 后对仰卧位的小鼠的视频速率 NIR-II 成像 (1200 nm LP , 200 ms) ; d) IRT , CP-IRT 和蛋白质-IRT 的动态光散射测量

参考文献 : Wang W , Ma Z , Zhu S , et al. Molecular Cancer Imaging in the Second Near-Infrared Window Using a Renal-Excreted NIR-II Fluorophore-Peptide Probe.[J]. *Advanced Materials*, 2018:e1800106.