

普鲁士蓝在肿瘤诊断和治疗中的研究进展

蔡晓军, 马明, 陈航榕, 施剑林

中国科学院上海硅酸盐研究所, 高性能陶瓷与超微结构国家重点实验室, 上海 200050

摘要 普鲁士蓝是一种美国食品和药物管理局批准的、作为临床上治疗铊等放射性元素中毒的解毒剂, 具有良好的生物相容性及生物安全性。普鲁士蓝纳米粒子在尺寸和结构上的可调可控性及本身的性能, 使得其在药物运输、分子影像、基因治疗、光热治疗肿瘤等肿瘤的诊断和治疗方面发挥着重要作用。本文以肿瘤诊疗方面的医学应用需求为背景, 综述了基于普鲁士蓝的纳米诊疗剂在光声成像(PA)、核磁共振成像(MRI)、超声成像(US)、多模式成像, 及作为光热转换剂和药物传输系统(DDS), 实现对肿瘤的光热治疗、化疗和基因治疗等研究现状和发展趋势。

关键词 普鲁士蓝; 分子影像; 癌症; 光热治疗; 光声成像

纳米生物技术是国际生物技术领域的前沿和热点问题, 在生物医药领域有着广泛的应用, 特别是纳米药物载体和成像技术等, 将在疾病的诊断和治疗等方面发挥重要作用^[1-5]。

肿瘤的早期诊断与治疗一直是医学界的难题和研究热点, 特别是兼具诊断和监控、治疗等功能为一体的关键科学技术研究更是科学界关注的热点^[1-5]。近年来, 随着传统医学影像技术与分子生物学等多学科技术交叉融合产生的分子成像技术, 有望实现在细胞、分子水平对肿瘤细胞发生、发展与转移进行在体观察, 有利于肿瘤在体活动规律的掌握, 有助于肿瘤的早期诊断与治疗, 已成为医学影像研究领域的热点。此外, 纳米生物技术, 例如药物运输系统(drug delivery system, DDS)^[6-12]的出现为药物的靶向运输和可控释放提供了新的途径, 对肿瘤的高效治疗和减少毒副作用有着重要的意义。

为提高肿瘤患者生存质量, 近年来微创/微创肿瘤治疗新技术研究成为国内外备受关注的研究课题。例如, 基于纳米载体的新颖的光热治疗^[13], 将具有近红外光热转换功能的纳米载体材料, 选择性累积到肿瘤部位, 然后仅对肿瘤区域局部实施近红外光照, 使肿瘤细胞间和细胞内的纳米材料吸收近红外光, 并高效地转化为热能, 使肿瘤产生局部超高温, 从而轻易将肿瘤细胞杀死。

普鲁士蓝作为一种古老的染料, 成本较低, 是一种美国食品和药物管理局批准的, 作为临床上治疗铊等放射性元素中毒的解毒剂, 具有良好的生物相容性及生物安全性。普鲁

士蓝纳米粒子在近红外光区域具有很强的吸收, 具有高的光热转换效率, 且其具有 T₁-加权核磁共振成像(MRI)功能, 其形貌和尺寸可以进行调控, 是一种非常理想的治疗肿瘤的诊疗剂候选材料。普鲁士蓝的这些特点, 使得其在药物运输、分子影像、基因治疗、光热治疗肿瘤等生物医药技术领域的研究受到越来越多的关注。本文综述普鲁士蓝纳米粒子在光声成像(PA)、MRI、超声成像(US)、光热治疗和多模式成像, 及联合化疗方式应用等的研究进展。

1 普鲁士蓝在肿瘤诊断方面的应用

1.1 PA造影剂

PA^[14,15]是近年来发展起来的一种无损医学成像方法, 其原理是当脉冲激光照射到生物组织中时, 组织的光吸收将产生光声信号, 生物组织的光声信号携带了组织的光吸收特征信息, 通过测量光声信号能重建出组织中的光吸收分布图像。它结合了纯光学成像的高对比度特性和纯US的高穿透深度特性, 可以提供高分辨率和高对比度的组织成像, 成为目前开展癌症早期检测和治疗监控的重要手段之一。由于普鲁士蓝在近红外区域具有强吸收, 加上其良好的生物相容性和生物安全性, 可以作为一种良好的光声造影剂。2013年, Liang等^[16]率先报道了一种简单的低成本的粒径为40 nm左右的普鲁士蓝纳米粒子, 可作为PA造影剂。在质量浓度为100 μg/mL时, 普鲁士蓝在鸡肉组织中, PA的最大深度达到4.3 cm (波长为765 nm)。将20 mg/kg的剂量静脉注射入

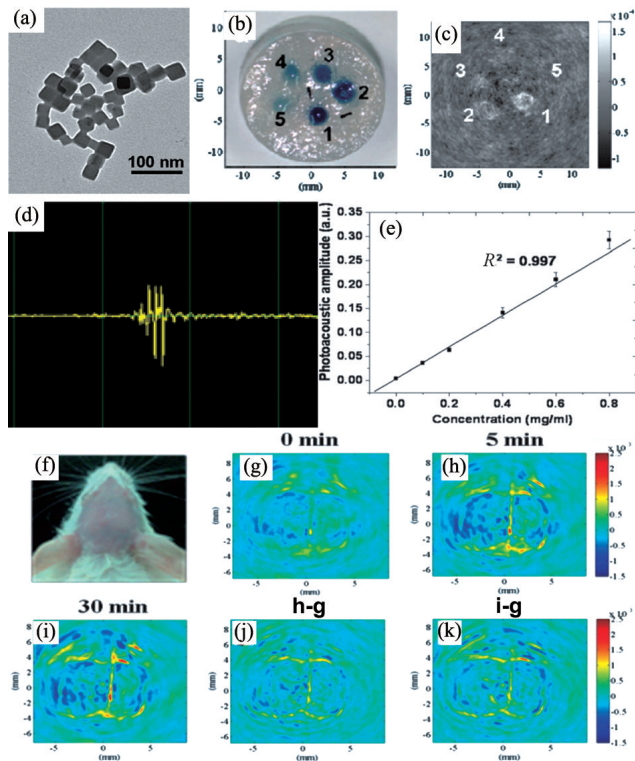
收稿日期: 2015-08-17; 修回日期: 2015-12-02

基金项目: 国家杰出青年科学基金项目(51225202); 国家自然科学基金项目(51402329)

作者简介: 蔡晓军, 博士研究生, 研究方向为新型纳米药物载体多功能化, 电子信箱: c1x2j34@163.com; 陈航榕(通信作者), 研究员, 研究方向为新型纳米药物载体多功能化及其肿瘤微创诊疗, 电子信箱: hrchen@mail.sic.ac.cn

引用格式: 蔡晓军, 马明, 陈航榕, 等. 普鲁士蓝在肿瘤诊断和治疗中的研究进展[J]. 科技导报, 2016, 34(2): 18-26; doi: 10.3981/j.issn.1000-7857.2016.2.001

小鼠体内后可以清晰地观察到小鼠大脑血管,并证明了该剂量对小鼠无毒(图1)。



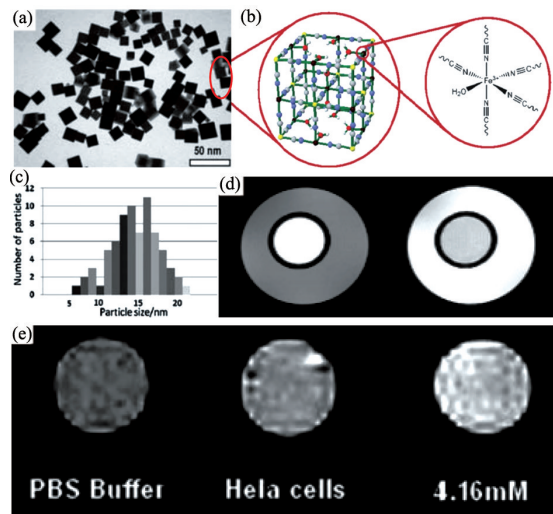
(a) PB 纳米粒子的透射电镜图; (b), (c) 5 个装有不同质量浓度 PB 纳米粒子溶液 (100、80、60、40、20 mg/mL, 分别对应于 1~5), 然后放置于 4.3 cm 厚的鸡肉下, 进行 PA; (d) 装有 PB 溶液的聚乙烯管产生的光声信号; (e) 不同质量浓度 PB 溶液的光声信号值与质量浓度间关系曲线; (f) 小鼠头部进行 PA 时的数码照片; (g)~(i) 注射 PB 溶液后不同时间点小鼠脑部的 PA 图片; (j), (k) 注射后不同时间点的光声信号减去注射前光声信号后得到的光声图片

图 1 普鲁士蓝纳米粒子应用为光声造影剂

Fig. 1 Prussian blue nanoparticles as photoacoustic contrast agents.

1.2 MRI 造影剂

MRI 分辨率较高又可获得解剖及生理信息的功能, 可以作为一种强大的无创诊断技术应用于肿瘤的早期诊断。在不溶性的普鲁士蓝结构中, 低自旋的 Fe^{2+} 与 C 结合 ($S=0$), 而高自旋 Fe^{3+} ($S=5/2$) 与 N 结合, 由于 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ 的缺失, 使得其结构中出现了空位, 水分子可以进入此空位, 与 Fe^{3+} 进行结合, 1 个 Fe^{3+} 可以与 2 个水分子结合, 由于内球水的作用可以使普鲁士蓝具有 T_1 -加权 MRI 功能。2009 年, Shokouhimehr 等^[17,18] 制备了一种粒径为 (13 ± 5) nm 柠檬酸修饰的普鲁士蓝纳米粒子, 在 11.7 T 的磁场强度下测试了其 T_1 和 T_2 性能, 纵向弛豫率 r_1 为 $0.079 (\text{mmol/L})^{-1}\text{s}^{-1}$, 横向弛豫率 r_2 为 $0.488 (\text{mmol/L})^{-1}\text{s}^{-1}$ 。普鲁士蓝纳米粒子溶液和其在细胞中的 MRI 图片也表明了其可以作为一种有效的 T_1 -加权 MRI 造影剂(图 2)。



(a) PB NPs 的透射电镜图; (b) 由于晶格空位的存在引起的水分子与铁离子的结合图; (c) PB NPs 尺寸分布图; (d) PB NPs 溶液在管子中的 MRI 图; (e) 用 PB NPs 处理过的 HeLa 细胞的 T_1 -加权 MRI 图

图 2 普鲁士蓝纳米粒子应用为核磁共振成像造影剂

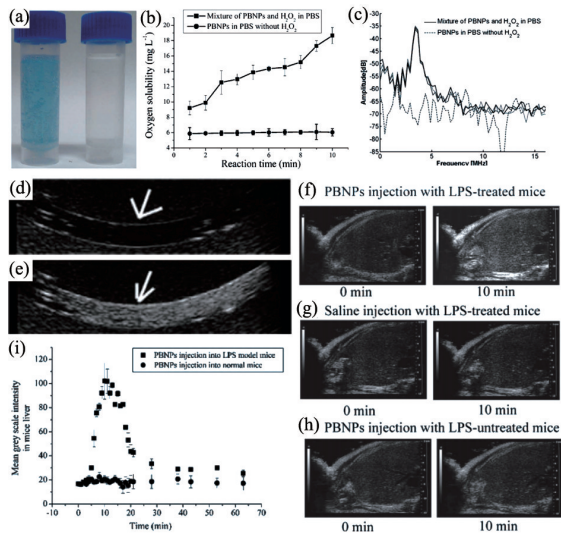
Fig. 2 Prussian blue nanoparticles as MRI contrast agents

Fu 等^[19] 为提高 MRI 造影功能, 以超顺磁性的 Fe_3O_4 为核, 在其表面生成一层 3~6 nm 厚的普鲁士蓝形成核壳结构的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@PB$ 纳米粒子, 其横向弛豫率 r_2 值为 $58.9 (\text{mmol/L})^{-1}\text{s}^{-1}$, 可以作为一种有效的 T_2 -加权 MRI 造影剂。Dumont 等^[20] 制备了一种含锰的普鲁士蓝纳米粒子 (化学式为 $\text{K}_{0.6}\text{Mn}_{0.7}\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_{3.5} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), 其 r_1 值上升到了 $15.8 (\text{mmol/L})^{-1}\text{s}^{-1}$, r_2 值为 $143.0 (\text{mmol/L})^{-1}\text{s}^{-1}$ 。随后, 进一步将具有高自旋的 Gd^{3+} ($S=7/2$) 引入普鲁士蓝的结构当中, 制备了一种掺钆的普鲁士蓝纳米粒子 (化学式为 $\text{K}_{0.53}\text{Gd}_{0.85}\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$), 其 r_1 值提高至 $38.5 (\text{mmol/L})^{-1}\text{s}^{-1}$, 可以作为一种有效的 T_1 -加权 MRI 造影剂^[21]。在以上两种物质的结构中, 由于 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ 的缺失, Mn^{2+} 或者 Gd^{3+} 可以与 2 个水分子结合, 显著增强了其内球水的作用, 使得其 T_1 -加权 MRI 造影能力显著增强。

1.3 US 造影剂

US 是一个多功能、非侵入性、低风险、低价、便携的实时成像技术。Yang 等^[22] 利用普鲁士蓝可以作为 H_2O_2 释放出 O_2 的催化剂的性能, 使普鲁士蓝纳米粒子到达目标部位, 催化过氧化氢产生氧气, 产生的氧气形成气泡, 可以作为超声造影剂, 又由于氧气是超顺磁性的, 可以作为 T_1 -加权 MRI 成像造影, 加上普鲁士蓝本身具有的 T_1 -加权 MRI 成像性能, 可以同时实现 US 和 PA。如图 3 所示, 普鲁士蓝与 H_2O_2 接触后, 产生的 O_2 随着反应时间的增加而不断地增多, 一定时间后可以明显地看到气泡的产生, 同时采集其超声灰度值, 可以发现超声灰度值明显增大。体内的实验也表明普鲁士蓝与 H_2O_2 反应生成的 O_2 气泡可以作为有效的超声造影剂。但这一方法也存在着形成气泡与 H_2O_2 的量有关且产生的气泡较少, 造

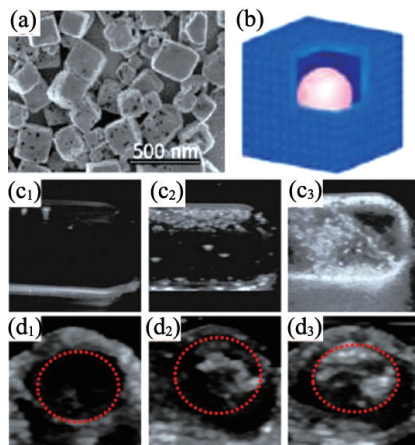
影时间短等问题。



(a) PB NPs 的 PBS 溶液与 H_2O_2 的混合液(左边), PBS 与 H_2O_2 的混合液(右边); (b) 随着反应时间而变化的氧气溶解量; (c) PB NPs, PB NPs 与 H_2O_2 的声信号强度; (d), (e) 单纯 PB NPs 溶液, PB NPs 与 H_2O_2 混合液的超声图; (f) 注射 PBNPs 溶液 10 min 后, 肝脏的超声图; (g), (h) 注射 PBS 和注射 PB NPs 进入正常组织的超声图; (i) 注射 PB NPs 后, 肝脏超声灰度值的变化

图 3 普鲁士蓝纳米粒子应用为 H_2O_2 响应型超声造影剂
Fig. 3 Prussian blue nanoparticles as US contrast agents responsive to H_2O_2

上海硅酸盐研究所介孔与低维纳米材料课题组^[23]为增加其超声造影的功能, 通过表面保护, 内部刻蚀的方法制得空心介孔普鲁士蓝纳米粒子(HPB), 并装载液气相变的全氟戊烷(PFP)。在激光的激发下, 由于普鲁士蓝产生局部热积累, 从而促使全氟戊烷发生液气相变, 产生大量的气泡。如图 4 所示, 在注射前, 肿瘤显示低回声, 在注射了 HPB-PFP 后, 肿



(a) HPB 的扫描电镜图; (b) HPB-PFP 的示意图; (c) 装载了 HPB-PFP 溶液在不同温度下的 US 图; (d) 注射 HPB-PFP 前, 注射后及激光照射后的肿瘤 US 图

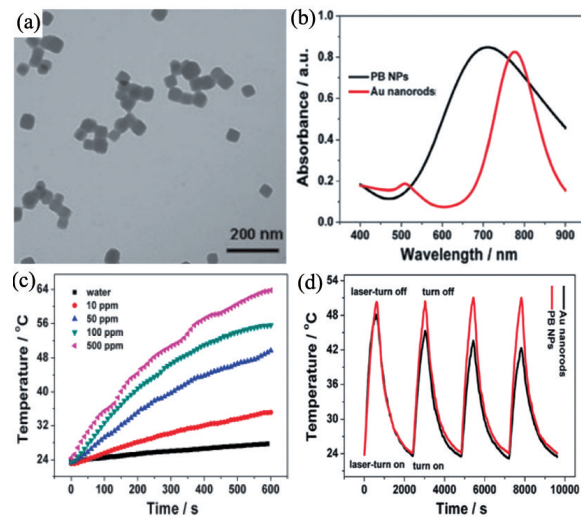
图 4 空心介孔普鲁士蓝应用为载体
Fig. 4 Hollow Prussian blue nanoparticles as carriers

瘤的回声有所增强, 在激光的照射后, 肿瘤的回声大大增强, 表明其可以作为一种有效的超声造影剂。由于 PFP 是疏水性的, 可以稳定存在较长时间, 故其超声造影的时间较长。

2 普鲁士蓝在肿瘤治疗方面的应用

2.1 光热治疗

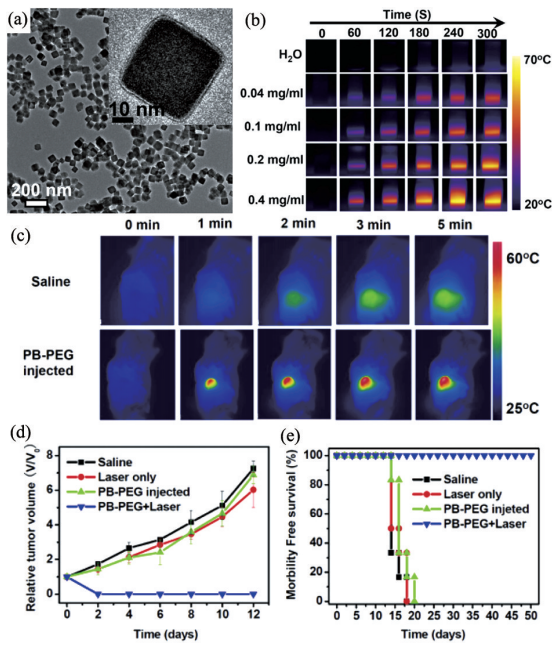
在普鲁士蓝结构中, 电荷可以在 Fe^{II} 和 Fe^{III} 之间跃迁, 使得其在近红外区域具有强吸收。2012 年, Fu 等^[24]首次报道了普鲁士蓝纳米粒子作为光热转换剂应用于肿瘤的治疗。如图 5 所示, 他们制备了粒径为 40 nm 左右单分散的普鲁士蓝纳米粒子, 在 700~900 nm 范围内具有强吸收, 在 808 nm 处的摩尔消光系数为 $1.09 \times 10^9 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ 。在质量浓度为 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的普鲁士蓝纳米粒子溶液, 在 808 nm 激光 ($2 \text{ W}/\text{cm}^2$) 照射 10 min, 温度可以升高 40°C , 表明其具有良好的光热转换效率。与纳米金棒相比较, 重复照射 4 次, 普鲁士蓝纳米粒子溶液升高的温度几乎没有变化, 而纳米金棒则有较大的下降, 表明普鲁士蓝纳米粒子具有良好的光热稳定性。



(a) PB NPs 的透射电镜图; (b) PB NPs (50 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 与金纳米棒 (16 $\mu\text{g}/\text{mL}$) UV-vis 吸收谱图; (c) 不同质量浓度的 PB NPs 在 808 nm 激光照射 10 min 温度变化曲线; (d) PB NPs (50 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 与金纳米棒 (16 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 在重复照射 4 次的温度变化曲线

图 5 普鲁士蓝纳米粒子应用为光热转换剂
Fig. 5 Prussian blue nanoparticles as photothermal conversion agents

2014 年, Cheng 等^[25]制备了一种粒径为 60 nm 用 PEG 修饰的普鲁士蓝纳米粒子。通过尾静脉注射普鲁士蓝纳米粒子溶液 (20 mg/kg) 12 h 后, 利用 808 nm 激光 ($0.8 \text{ W}/\text{cm}^2$) 照射肿瘤 5 min, 发现肿瘤部位的温度可以上升到 62°C , 而对照组肿瘤的温度仅仅升到 40°C 。体内疗效表明, 注射材料加激光照射的一组, 可以消除肿瘤, 生存期大幅度延长 (图 6)。以上结果充分表明普鲁士蓝纳米粒子作为一种理想的光热转换剂可应用于肿瘤的光热治疗。

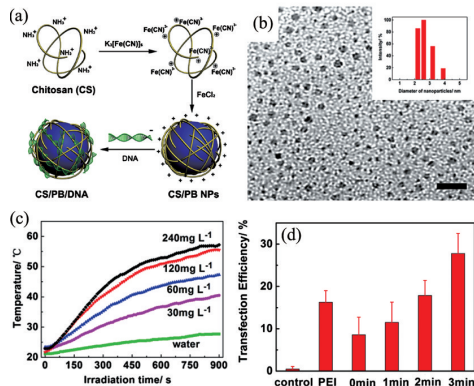


(a) PEG化的PB NPs的透射电镜图,插图为其高倍电镜图; (b) 纯水和不同质量浓度的PB-PEG NPs在808 nm激光照射5 min的热成像图; (c) 在静脉注射生理盐水和PB-PEG NPs 12 h后,808 nm激光照射5 min的热成像图; (d) 不同处理组,小鼠的肿瘤体积变化图; (e) 不同处理组,小鼠的生存曲线图

图6 普鲁士蓝纳米粒子应用为多功能纳米诊疗剂
Fig. 6 Prussian blue nanoparticles as multifunctional nanotheranostic agents

2.2 药物传递系统

药物运输系统的出现和成功应用为药物的靶向输运和可控释放提供了新的途径,对肿瘤治疗有着不可估量的意义和前景。Li等^[26]制备了3 nm左右的壳聚糖修饰的普鲁士蓝纳米粒子,由于其超小尺寸,正电荷及良好的生理稳定性,赋予了其作为一个非病毒基因载体,可以运输DNA。同时其具有优异的光热转换性能,因此可以实现对肿瘤的热疗和基因联合治疗(图7)。此外,Lian等^[27]利用空心介孔普鲁士蓝纳



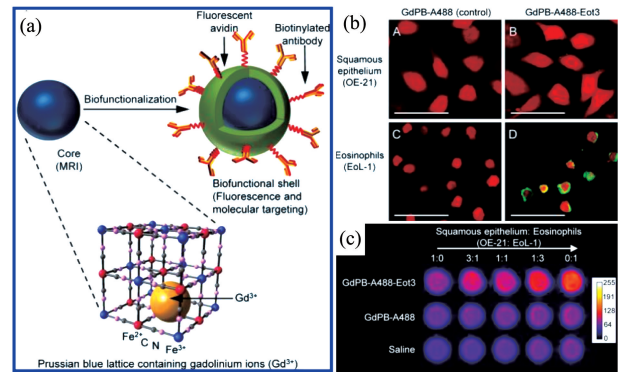
(a) CS/PB NPs的制备示意; (b) CS/PB NPs的透射电镜图; (c) 不同质量浓度的CS/PB/pDNA在激光照射下,温度变化曲线(808 nm, 2 W/cm², 15 min); (d) pEGFP-C1的转染效率的定量数据

图7 普鲁士蓝纳米粒子应用为基因载体
Fig. 7 Prussian blue nanoparticles as gene carriers

米粒子,装载顺铂化疗药物,在30 min内其装载效率可以接近100%,在pH值为7.4的环境中,24 h内的释放量仅仅为5%。巨大的空腔,高的比表面积及其良好的生物相容性,赋予了空心介孔普鲁士蓝纳米粒子作为药物载体的巨大潜力。

3 多功能纳米诊疗剂

肿瘤的早期诊断与治疗一直是医学界的难题和研究热点,特别是兼具有诊断和监控、治疗等功能为一体的关键科学技术研究更是科学界关注的热点。传统的医学影像手段,在肿瘤的诊疗上各有特点,但仍存在不足与局限。例如核磁共振存在着灵敏度较低,造影剂用量大,扫描时间长,加上价格昂贵,不适用于孕妇、装有心脏起搏器等病人,限制了MRI的应用。US存在着空间分辨率有限,对比度较差,难以发现早期的癌变;纯光学成像技术由于生物组织对光的强散射和吸收,纯光学成像技术穿透组织深度有限,故不能用它对深层组织进行准确成像,且随着成像深度的增加,其空间分辨率显著降低。因此,癌症的早期诊疗研究迫切需要新的成像技术或者不同成像协同联用技术,来填补当前分子影像学的不足。Rohan Dumont等^[21]制备了一种利用抗体修饰的含钆普鲁士蓝纳米粒子,并在表面修饰上荧光分子,作为一种具有MRI和荧光成像的多模式探针(图8)。

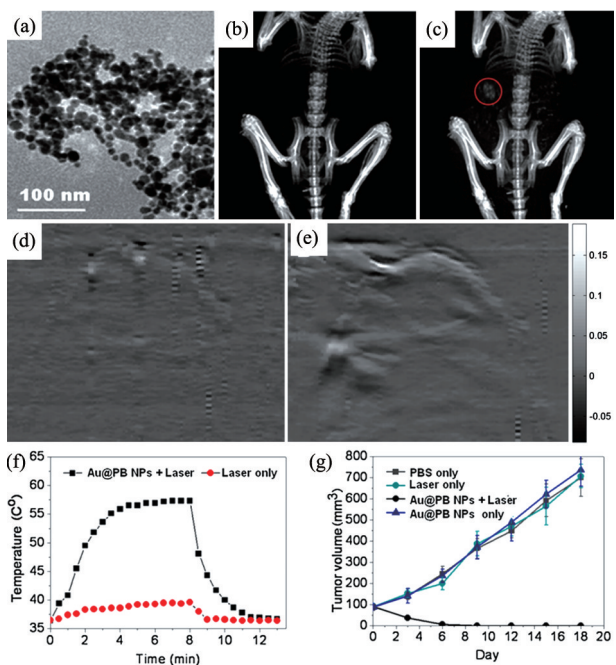


(a) GdPB-A488-Eot3的制备示意; (b) GdPB-A488-Eot3靶向嗜酸性细胞的激光共聚焦图片; (c) 生理盐水, GdPB-A488和GdPB-A488-Eot3纳米粒子在嗜酸性细胞中的MRI图

图8 普鲁士蓝纳米粒子应用为多模式纳米探针
Fig. 8 Prussian blue nanoparticles as multi-mode nanoprobes

Jing等^[28]以纳米金为核,在其表面生长一层普鲁士蓝,形成粒径为17.8±2.3 nm核壳结构的Au@PB纳米粒子,可以实现CT成像和PA成像双模式引导下的光热治疗。CT成像和PA成像的结合,不仅可以对感兴趣的部位进行高分辨力的3D图像,而且实现对软组织高的灵敏性和成像,对于精确引导光热治疗肿瘤非常有意义(图9)。

Zhu等^[29]通过在普鲁士蓝中引入锰离子,接着用PEG对其进行修饰形成含锰的普鲁士蓝PB:Mn-PEG。通过尾静脉注射PB:Mn(15%)-PEG溶液,24 h后对肿瘤进行PA和MRI,

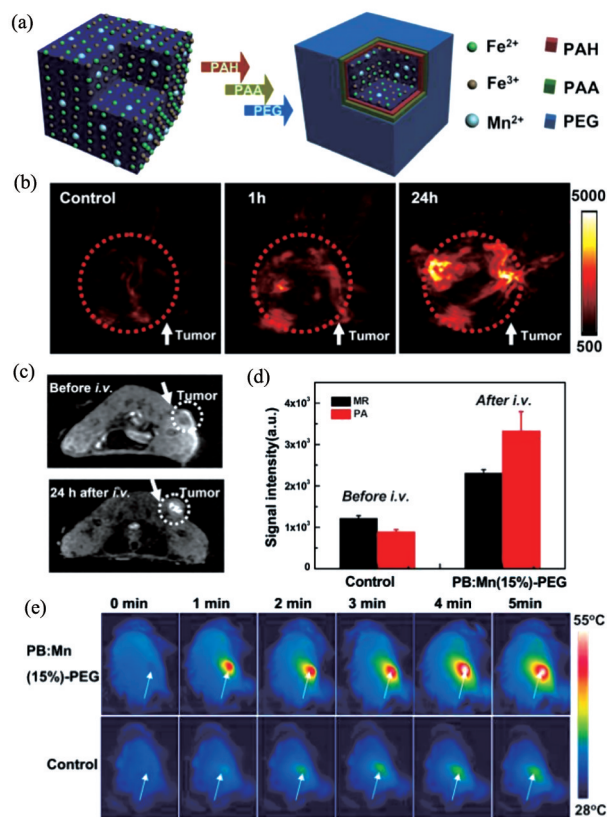


(a) Au@PB NPs 的透射电镜图; (b), (c) 带有 HT-29 肿瘤的小鼠在注射 Au@PB NPs 溶液前后 3D 重构的 CT 图; (d), (e) 注射 Au@PB NPs 溶液前后 22 小时的 PA 图; (f) 注射 Au@PB NPs 溶液前后, 用 808 nm 激光 (1.5 W/cm^2) 照射小鼠, 温度变化曲线

图 9 核壳结构的 Au@PB 纳米粒子应用为多功能纳米诊疗剂
Fig. 9 Core-shell Au@PB nanoparticles as multifunctional nanotheranostic agents

其信号都有明显的增强。注射后 24 h, 用 808 nm 激光对肿瘤进行照射 5 min, 肿瘤部位的温度上升到 55°C , 足以杀死肿瘤细胞, 形成了一个 PA 成像和 MRI 成像双模式引导下的光热治疗(图 10)。

在单一的光热治疗中, 存在着热量在肿瘤内部分布不均导致的肿瘤易于复发的的问题及治疗效率低等问题。大量的研究证明, 热疗与化疗相结合可以优化肿瘤的治疗, 大大提高肿瘤的治疗效率^[30]。上海硅酸盐研究所介孔与低维纳米材料课题组^[31]通过表面保护内部刻蚀的方法制备了尺寸均一单分散的空心介孔普鲁士蓝纳米粒子(HMPBs)。利用其巨大的空腔、高的比表面积, 及介孔孔道结构, 可以同时实现全氟戊烷和盐酸阿霉素运输。将其通过静脉注射, 可以获得肿瘤的 PA 图, 帮助有效地对材料在肿瘤中的分布和积累过程进行跟踪。然后, 利用 808 nm 激光对肿瘤进行照射, 使肿瘤温度上升, 从而产生大量的气泡用于实时可监控治疗。该 HMPBs 对盐酸阿霉素的装载量达到了 1782.2 mg/g , 同时载体与药物的吸附作用力使药物具有 pH 值和温度响应控释的特性。在重复照射 HMPBs 溶液 10 次, 其上升的温度几乎没有变化, 表明了 HMPBs 具有优异的光热性能。在细胞实验和动物实验中, 均证明了光热治疗和化疗之间存在着明显的协同效应, 大大提高对肿瘤的治疗效率(图 11)。



(a) PB:Mn-PEG 的制备示意; (b) PB:Mn(15%)-PEG 溶液注射前, 及注射后不同时间点肿瘤的 2DPA 图; (c) PB:Mn(15%)-PEG 溶液尾静脉注射前后 24 h, 肿瘤 T1-加权 MRI 图; (d) PB:Mn(15%)-PEG 溶液尾静脉注射前后 24 h, 肿瘤的光声信号值和 T1-加权 MRI 信号值; (e) 用 IR 相机记录小鼠肿瘤的热成像图

图 10 含锰的普鲁士蓝纳米粒子应用为多功能诊疗剂
Fig. 10 Prussian blue nanoparticles containing Mn as multifunctional nanotheranostic agents

4 普鲁士蓝类似物在生物医药领域中的应用

由于普鲁士蓝良好的生物相容性和生物安全性, 有关于普鲁士蓝在生物医药领域中应用的报道不断更新, 让人们看到了其在生物医药领域应用的巨大潜力。由于普鲁士蓝中的 Fe 可以被其他过渡金属离子进行替换, 形成具有其他功能的普鲁士蓝类似物, 科学家及医生也开始逐渐对普鲁士蓝类似物产生了巨大的兴趣。

由于普鲁士蓝的特殊结构, 使得结构中 with N 相结合的金属离子可以结合 2 个水分子, Huang 等^[32]制备了一种以普鲁士蓝的类似物 $\text{Mn}_3[\text{Co}(\text{CN})_6]_2$ 为核, 二氧化硅为壳的 $\text{Mn}_3[\text{Co}(\text{CN})_6]_2 @ \text{SiO}_2$ 纳米粒子, 其可以具有较高的 r_1 和 r_2 值, 分别达到 $10.52 \text{ (mmol/L)}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 和 $173.09 \text{ (mmol/L)}^{-1} \text{ s}^{-1}$, 可以同时作为 T_1 , T_2 -加权 MRI 造影剂(图 12)。

Kandanapitiye 等^[33]制备了一种 Ga 普鲁士蓝类似物 ($\text{KGa}[\text{Fe}(\text{CN})_6] n\text{H}_2\text{O}$), 可以作为传递 Ga^{3+} 或者是清除细胞内 Fe^{3+} 的

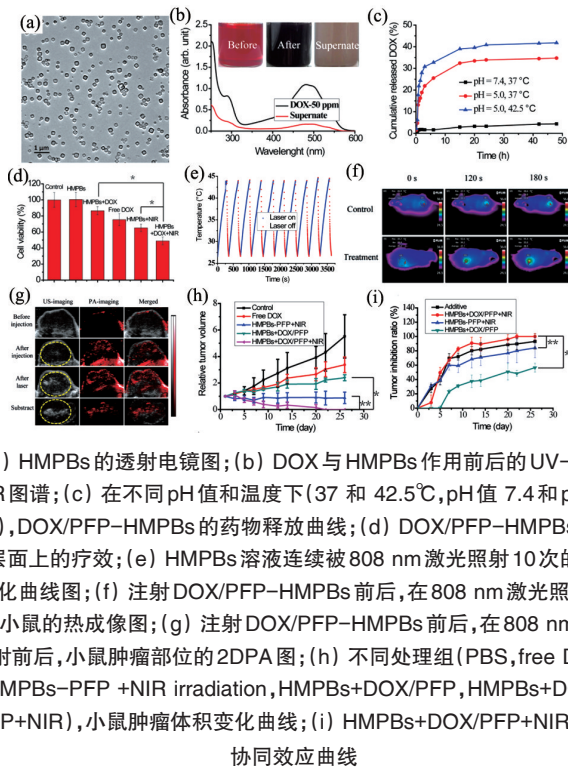


图 11 空心介孔普鲁士蓝纳米粒子应用为多功能纳米诊疗剂
Fig. 11 Hollow mesoporous Prussian blue nanoparticles as multifunctional nanotheranostic agents

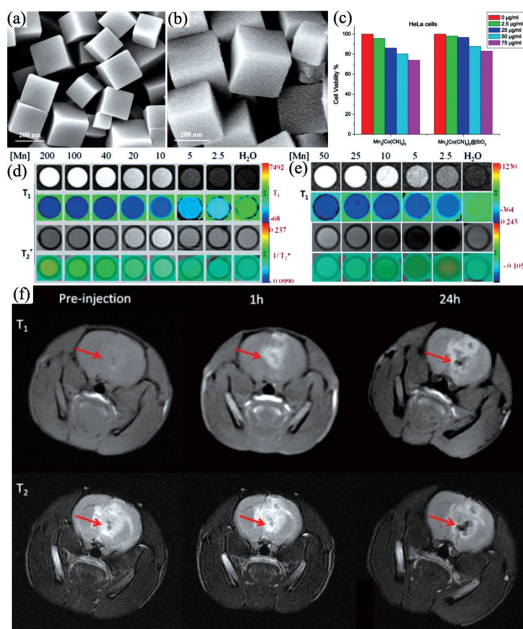


图 12 锰的普鲁士蓝类似物应用为纳米造影剂
Fig. 12 Mn Prussian blue analogue nanoparticles as nano contrast agents

清除剂(图 13)。随后,制备了一种水溶性无毒的 Zn 普鲁士蓝类似物($K_2Zn_3[Fe(CN)_6]_2$),该纳米粒子可以有效地被细胞吞噬,选择性地置换出 Cu^{2+} ,在治疗威尔森氏病具有巨大的应用潜力^[34]。

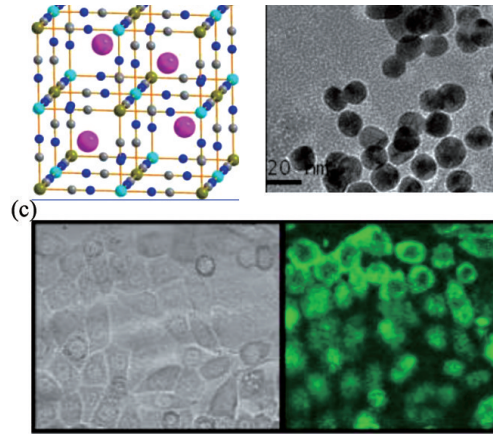


图 13 镓的普鲁士蓝类似物纳米粒子
Fig. 13 Ga Prussian blue analogue nanoparticles

图 13 镓的普鲁士蓝类似物纳米粒子
Fig. 13 Ga Prussian blue analogue nanoparticles

Perier 等^[35]制备了一系列的尺寸为 1.4~5.5 nm 可控 PEG 稳定的 $Ln^{3+}/[Fe(CN)_6]^{3-}$ ($Ln=Gd, Tb, Y$) 和 $M^{2+}/[Fe(CN)_6]^{3-}$ ($M=Ni, Cu, Fe$) 纳米粒子,并对其 MRI 性能进行研究对比。 $Gd^{3+}/[Fe(CN)_6]^{3-}$ 的 r_1 值达到 $16 (mmol/L)^{-1}s^{-1}$,是商业化的钆造影剂的 r_1 值的 4 倍,可以作为一种有效的 T_1 -加权 MRI 造影剂(图 14)。

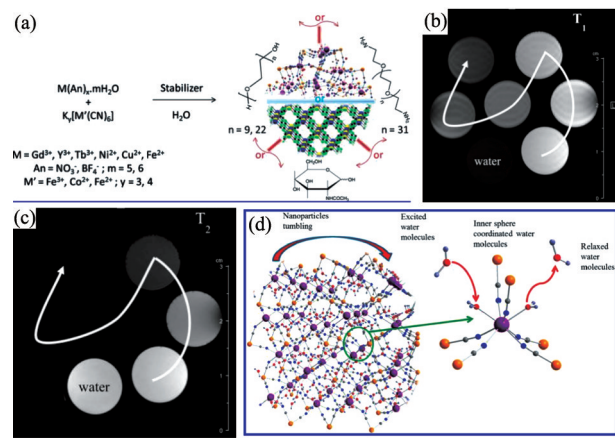
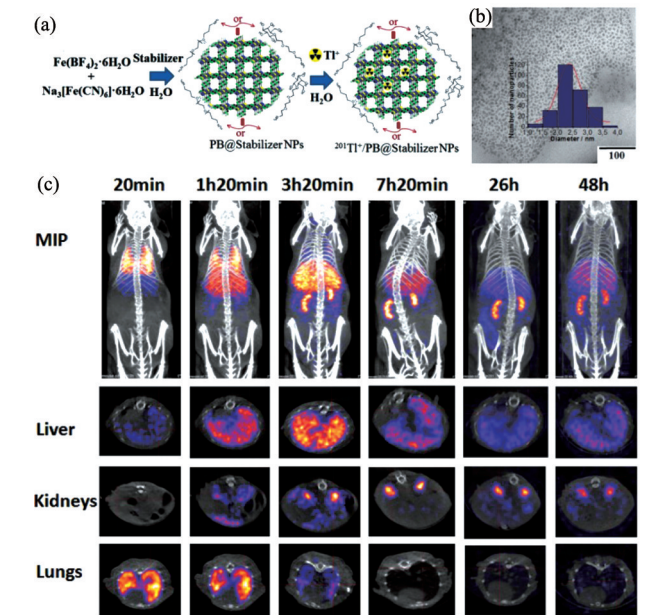


图 14 钆的普鲁士蓝类似物应用为核磁共振成像造影剂
Fig. 14 Gd Prussian blue analogue nanoparticles as MRI contrast agents

图 14 钆的普鲁士蓝类似物应用为核磁共振成像造影剂
Fig. 14 Gd Prussian blue analogue nanoparticles as MRI contrast agents

随后,利用 $\text{Na}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 和 $\text{Fe}(\text{BF}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 反应生成粒径仅为2~3 nm含钠的普鲁士蓝,并同时引入放射性 $^{201}\text{Tl}^+$ 引入普鲁士蓝中。所形成的 $^{201}\text{Tl}^+/\text{PB}@\text{PEG}-\text{NH}_2$ 可以作为SPECT/CT的分子探针。SPECT/CT图片表明 $^{201}\text{Tl}^+/\text{PB}@\text{PEG}-\text{NH}_2$ 探针可以瞬间穿过肺,然后集中在肝脏,最后由肾小球排出(图15)。 $^{201}\text{Tl}^+/\text{PB}@\text{PEG}-\text{NH}_2$ 的半衰期和商业化的 $^{201}\text{TlCl}$ 相当,可以很好地实现对肝脏和肺的成像,实时监控纳米探针在体内的去向^[36]。



(a) PB@stabilizer和 $^{201}\text{Tl}^+/\text{PB}@\text{stabilizer}$ 纳米粒子制备示意图;
(b) $\text{Na}_{0.45}\text{Fe}[\text{Fe}(\text{CN})_6]_{0.86}@\text{(PEG-NH}_2\text{)}_{0.22}$ 纳米粒子的透射电镜图;
(c) 通过尾静脉注射 $^{201}\text{Tl}^+/\text{PB}@\text{PEG}-\text{NH}_2$ 纳米粒子进入小鼠的体内,在不同时间点获取小鼠的最大密度投影和小鼠的肝脏、肾脏和肺部的SPECT/CT图

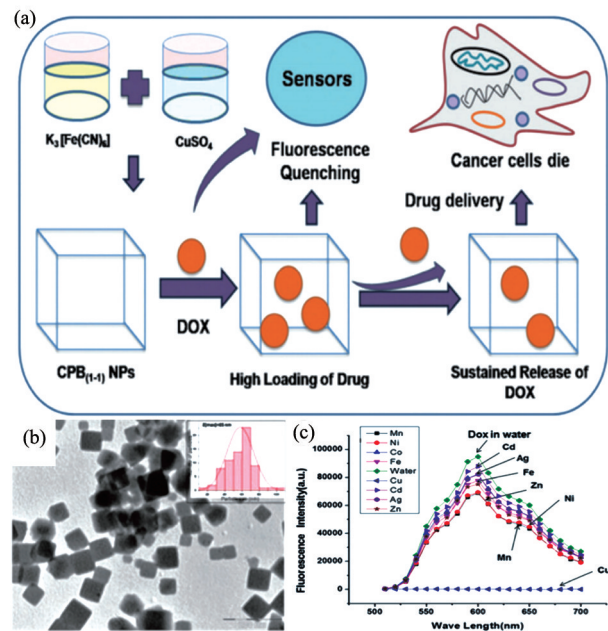
图 15 含铊的普鲁士蓝纳米粒子应用为造影剂

Fig. 15 Prussian blue nanoparticles containing Tl as contrast agents

如图16所示, Mukherjee等^[37]通过 $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ 与 CuSO_4 反应生成Cu普鲁士蓝类似物(CPB_(1:1)NPs),作为药物载体实现高负载量及稳定缓慢的释放药物,达到持续治疗的目的。该纳米粒子不需要额外的靶向载体即可实现对细胞核的靶向功能。此外,该纳米粒子还可以实现对药物的选择性荧光淬灭,在生物医药领域具有潜在的应用。

5 结论

随着纳米合成化学和纳米生物医学技术的迅猛发展,给癌症的诊断和治疗带来了曙光。本文综述了基于普鲁士蓝纳米粒子在PA、MRI、US等诊断方式及化疗和热疗等治疗方式的应用进展。综上所述,普鲁士蓝有以下几个特点:1) 合成原料丰富,廉价,制备成本低;2) 制备工艺简单,可行;3)



(a) CPB_(1:1) NP 纳米粒子的制备及在药物传递系统和肿瘤诊疗中的应用示意;
(b) CPB_(1:1) NPs的透射电镜图,插图为其颗粒尺寸分布图
(c) DOX在CPB_(1:1) NPs及其他普鲁士蓝类似物(如Mn、Ni、Co、Zn、Ag、Fe & Cd)中的荧光淬灭图谱

图 16 铜的普鲁士蓝类似物纳米粒子应用为药物载体

Fig. 16 Cu Prussian blue analogue nanoparticles as drug carriers

是FDA批准的药物,具有安全性保障;4) 尺寸结构可调控,化学稳定性好,表面易修饰;5) 在近红外区域具有强吸收,高的光热转换效率;6) 本身就是一种有效的MRI造影剂。诊疗一体化,即通过一次给药即可同时实现诊断和治疗的效果,是人们一直追求的目标。基于普鲁士蓝纳米粒子的以上特点,可以实现集肿瘤诊断与治疗技术与一体的基于普鲁士蓝新型多功能纳米诊疗剂,从而实现诊疗一体化。未来普鲁士蓝将不仅在药物运输、基因转染、光动力学疗法等领域发挥巨大作用,而且将在肿瘤的生物免疫疗法,抗癌细胞转移和逆转多药耐药性等方面有所作为。当然,要真正实现普鲁士蓝在肿瘤诊疗中的临床应用,还需要更多细致的探索及验证工作去做。现今科学界应该更多地关注纳米诊疗剂的细胞生物学效应,系统开展动物体内生物安全性评价,包括血液相容性(溶血性和凝血性)、生物毒性、体内分布和代谢方式等研究,为其进一步实际临床应用提供科学指导。

参考文献(References)

- [1] Janib S M, Moses A S, MacKay J A. Imaging and drug delivery using theranostic nanoparticles[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2010, 62(11): 1052-1063.
- [2] Zrazhevskiy P, Sena M, Gao X. Designing multifunctional quantum dots for bioimaging, detection, and drug delivery[J]. *Chemical Society Reviews*, 2010, 39(11): 4326-4354.

- [3] Lammers T, Aime S, Hennink W E, et al. Theranostic Nanomedicine[J]. *Accounts of Chemical Research*, 2011, 44(10): 1029–1038.
- [4] Gu Z, Yan L, Tian G, et al. Recent advances in design and fabrication of upconversion nanoparticles and their safe theranostic applications[J]. *Advanced Materials*, 2013, 25(28): 3758–3779.
- [5] Fan Z, Fu P P, Yu H, et al. Theranostic nanomedicine for cancer detection and treatment[J]. *Journal of Food and Drug Analysis*, 2014, 22(1): 3–17.
- [6] Muller R H, Mader K, Gohla S. Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery—a review of the state of the art[J]. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2000, 50(1): 161–177.
- [7] Soppimath K S, Aminabhavi T M, Kulkarni A R, et al. Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices[J]. *Journal of Controlled Release*, 2001, 70(1/2): 1–20.
- [8] Panyam J, Labhasetwar V. Biodegradable nanoparticles for drug and gene delivery to cells and tissue[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2003, 55(3): 329–347.
- [9] Vallet-Regi M, Balas F, Arcos D. Mesoporous materials for drug delivery[J]. *Angewandte Chemie—international Edition*, 2007, 46(40): 7548–7558.
- [10] Veiseh O, Gunn J W, Zhang M. Design and fabrication of magnetic nanoparticles for targeted drug delivery and imaging[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2010, 62(3): 284–304.
- [11] Tang F, Li L, Chen D. Mesoporous silica nanoparticles: Synthesis, biocompatibility and drug delivery[J]. *Advanced Materials*, 2012, 24(12): 1504–1534.
- [12] Yang P, Gai S, Lin J. Functionalized mesoporous silica materials for controlled drug delivery[J]. *Chemical Society Reviews*, 2012, 41(9): 3679–3698.
- [13] Cheng L, Wang C, Feng L, et al. Functional nanomaterials for phototherapies of cancer[J]. *Chemical Reviews*, 2014, 114(21): 10869–10939.
- [14] Xu M H, Wang L H V. Photoacoustic imaging in biomedicine[J]. *Review Of Scientific Instruments*, 2006, doi: 10.1063/1.2195024.
- [15] Wang L V, Hu S. Photoacoustic tomography: *In vivo* imaging from organelles to organs[J]. *Science*, 2012, 335(6075): 1458–1462.
- [16] Liang X, Deng Z, Jing L, et al. Prussian blue nanoparticles operate as a contrast agent for enhanced photoacoustic imaging[J]. *Chemical Communications*, 2013, 49(94): 11029–11031.
- [17] Shokouhimehr M, Soehnlén E S, Hao J H, et al. Dual purpose Prussian blue nanoparticles for cellular imaging and drug delivery: A new generation of T₁-weighted MRI contrast and small molecule delivery agents[J]. *Journal Of Materials Chemistry*, 2010, 20(25): 5251–5259.
- [18] Shokouhimehr M, Soehnlén E S, Khitrin A, et al. Biocompatible Prussian blue nanoparticles: Preparation, stability, cytotoxicity, and potential use as an MRI contrast agent[J]. *Inorganic Chemistry Communications*, 2010, 13(1): 58–61.
- [19] Fu G, Liu W, Li Y, et al. Magnetic Prussian blue nanoparticles for targeted photothermal therapy under magnetic resonance imaging guidance[J]. *Bioconjugate Chemistry*, 2014, 25(9): 1655–1663.
- [20] Dumont M F, Yadavilli S, Sze R W, et al. Manganese-containing Prussian blue nanoparticles for imaging of pediatric brain tumors[J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2014, 9: 2581–2595.
- [21] Dumont M F, Hoffman H A, Yoon P R S, et al. Biofunctionalized gadolinium-containing Prussian blue nanoparticles as multimodal molecular imaging agents[J]. *Bioconjugate Chemistry*, 2014, 25(1): 129–137.
- [22] Yang F, Hu S L, Zhang Y, et al. A hydrogen peroxide-responsive O₂ nanogenerator for ultrasound and magnetic-resonance dual modality imaging[J]. *Advanced Materials*, 2012, 24(38): 5205–5211.
- [23] Jia X, Cai X, Chen Y, et al. Perfluoropentane-encapsulated hollow mesoporous Prussian blue nanocubes for activated ultrasound imaging and photothermal therapy of cancer[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2015, 7(8): 4579–4588.
- [24] Fu G, Liu W, Feng S, et al. Prussian blue nanoparticles operate as a new generation of photothermal ablation agents for cancer therapy[J]. *Chemical Communications*, 2012, 48(94): 11567–11569.
- [25] Cheng L, Gong H, Zhu W, et al. PEGylated Prussian blue nanocubes as a theranostic agent for simultaneous cancer imaging and photothermal therapy[J]. *Biomaterials*, 2014, 35(37): 9844–9852.
- [26] Li X D, Liang X L, Ma F, et al. Chitosan stabilized Prussian blue nanoparticles for photothermally enhanced gene delivery[J]. *Colloids And Surfaces B—biointerfaces*, 2014, 123: 629–638.
- [27] Lian H Y, Hu M, Liu C H, et al. Highly biocompatible, hollow coordination polymer nanoparticles as cisplatin carriers for efficient intracellular drug delivery[J]. *Chem Commun (Camb)*, 2012, 48(42): 5151–5153.
- [28] Jing L, Liang X, Deng Z, et al. Prussian blue coated gold nanoparticles for simultaneous photoacoustic/CT bimodal imaging and photothermal ablation of cancer[J]. *Biomaterials*, 2014, 35(22): 5814–5821.
- [29] Zhu W, Liu K, Sun X, et al. Mn²⁺-doped Prussian blue nanocubes for bimodal imaging and photothermal therapy with enhanced performance [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2015, 7(21): 11575–11582.
- [30] Zhang Z J, Wang J, Chen C H. Near-infrared light-mediated nanoplatforams for cancer thermo-chemotherapy and optical imaging[J]. *Advanced Materials*, 2013, 25(28): 3869–3880.
- [31] Cai X, Jia X, Gao W, et al. A versatile nanotheranostic agent for efficient dual-mode imaging guided synergistic chemo-thermal tumor therapy[J]. *Advanced Functional Materials*, 2015, 25(17): 2520–2529.
- [32] Huang Y M, Hu L, Zhang T T, et al. Mn₃[Co(CN)₆]₂@SiO₂ core-shell nanocubes: Novel bimodal contrast agents for MRI and optical imaging [J]. *Scientific Reports*, 2013, doi: 10.1038/srep02647.
- [33] Kandanapitiye M S, Valley B, Yang L D, et al. Gallium analogue of soluble Prussian blue K₃GaFe(CN)₆ center dot nH₂O: Synthesis, characterization, and potential biomedical applications[J]. *Inorganic Chemistry*, 2013, 52(6): 2790–2792.
- [34] Kandanapitiye M S, Wang F J, Valley B, et al. Selective ion exchange governed by the Irving-Williams series in K₂Zn₃Fe(CN)₆ nanoparticles: Toward a designer prodrug for Wilson's disease[J]. *Inorganic Chemistry*, 2015, 54(4): 1212–1214.
- [35] Perrier M, Kenouche S, Long J, et al. Investigation on NMR relaxivity of nano-sized cyano-bridged coordination polymers[J]. *Inorganic Chemistry*, 2013, 52(23): 13402–13414.
- [36] Perrier M, Busson M, Massasso G, et al. Tl-201(+)-labelled Prussian blue nanoparticles as contrast agents for SPE/CT scintigraphy[J]. *Nanoscale*, 2014, 6(22): 13425–13429.
- [37] Mukherjee S, Rao B R, Sreedhar B, et al. Copper Prussian blue analogue: investigation into multifunctional activities for biomedical applications[J]. *Chemical Communications*, 2015, 51(34): 7325–7328.

Progress of applications of the Prussian blue in cancer diagnosis and therapy

CAI Xiaojun, MA Ming, CHEN Hangrong, SHI Jianlin

State Key Laboratory of High Performance Ceramics and Superfine Microstructure, Shanghai Institute of Ceramics, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200050, China

Abstract With good biocompatibility and biological safety, the Prussian blue (PB) is used as a clinical medicine for the treatment of radioactive exposure, which is approved by the USA Food and Drug Administration. Owing to the easiness of the control of size, structure, surface modification and its other good performances, the PB nanoparticles (PB NPs) play an important role in the biomedical field including the drug delivery system (DDS), the molecular imaging, the gene therapy, and the photothermal therapy. This paper reviews the most recent research advances and discusses the future development trends of the applications of the PB-based nanotheranostics in the diagnosis including the photoacoustic imaging (PA), the magnetic resonance imaging (MRI), the ultrasonic imaging (US) and the multimodal imaging, as well as in the therapy including the photothermal therapy, the gene therapy and the chemotherapy.

Keywords Prussian blue; molecular imaging; cancer; photothermal; photoacoustic imaging

(编辑 田恬)