·综述·

超分辨显微镜技术在癌症诊断与治疗中的应用

张明慧[1a] 刘福艳[1a*] 宋新蕾[2] 王旭辰[1a] 郑浩洁[1a] 张晓峰[1a,b]

（1. 济南大学 a. 生物科学与技术学院；b. 管理科学与工程学院，济南 250022；2. 山东大学齐鲁医院，济南 250012）

【摘要】 超分辨显微镜（super-resolution microscopy, SRM）技术因其可以在纳米尺度甚至单分子水平上对细胞结构或小分子物质进行超高分辨率成像，在癌症的早期诊断和治疗中展现出巨大的应用潜力。本文系统介绍了几种主流SRM技术的成像原理，梳理总结了不同技术常用的荧光探针类型及各类探针的特性和具体适用场景，归纳了SRM通过观察与碳水化合物、膜蛋白和外泌体相关的诊断靶点，对癌症进行早期诊断的应用案例，体现了其在识别分子分布、监测结构变化和揭示早期癌变特征等方面的核心应用价值。同时，介绍了SRM通过监测纳米药物入胞、提升光动力疗法疗效和阐明耐药机制等手段对癌症进行治疗的优势及具体应用，最后，讨论分析了当前SRM在成像速度、探针稳定性、临床适用性等方面的不足，并对未来的研究方向进行了展望，旨在推动SRM在癌症精准诊疗中的进一步应用。

【关键词】 超分辨显微镜；荧光探针；癌症标志物；纳米技术

【中图分类号】 R730.4 【文献标识码】 A 【DOI】 10.11876/mimt202603017

Application of super-resolution microscopic technology in cancer diagnosis and treatment

Zhang Minghui[1a], Liu Fuyan[1a], Song Xinlei[2], Wang Xuchen[1a], Zheng Haojie[1a], Zhang Xiaofeng[1a,b]*

(1. a. School of Biological Science and Technology; b. School of Management Science and Engineering, University of Jinan, Jinan 250022, China; 2. Qilu Hospital, Shandong University, Jinan 250012, China)

【Abstract】 Super-resolution microscopy (SRM) technology exhibits enormous application potential in the early diagnosis and treatment of cancer, owing to its capability of achieving ultra-high-resolution imaging of cellular structures or small-molecule substances at the nanoscale and even single-molecule level. This article systematically introduces the imaging principles of several mainstream SRM technologies, summarizes the commonly used fluorescent probe types of different technologies and the characteristics and specific application scenarios of each probe. Then, it outlines the application cases of SRM in early cancer diagnosis by observing diagnostic targets related to carbohydrates, membrane proteins, and exosomes. This demonstrates its core application value in identifying molecular distribution, monitoring structural changes, and revealing early cancer characteristics. It further introduces the advantages and specific applications of SRM in treating cancer through monitoring the endocytosis of nanomedicines, enhancing the efficacy of photodynamic therapy, and clarifying the mechanism of drug resistance. Finally, it discusses and analyzes the current shortcomings of SRM in imaging speed, probe stability, and clinical applicability, and looks forward to future research directions, aiming to promote the further application of SRM in cancer precision diagnosis and treatment.

【Key words】 Super-resolution microscopy; Fluorescent probe; Cancer biomarker; Nanotechnology

作为连接微观世界与宏观认知的核心手段，显微成像技术在多个领域都发挥着重要的作用，但由于“阿贝衍射极限”的存在，普通光学显微镜的应用被严重限制[1]。超分辨显微镜（super-

收稿日期：2026-01-29

基金项目：国家自然科学基金青年基金项目（82204261）；山东省自然科学基金青年项目（ZR2020QH348）

第一作者：张明慧，女，硕士研究生，研究方向：蛋白类药物

通信作者：刘福艳，女，博士研究生，讲师，研究方向：多糖药物、生物技术制药

resolution microscopy, SRM）技术的出现使得研究人员可以在亚细胞水平、纳米尺度甚至单分子水平上对细胞结构或小分子物质进行超高分辨率、多色成像。该技术包括结构光照明显微技术（structure illumination microscopy, SIM）、受激发射损耗显微技术（stimulated emission depletion, STED）以及单分子定位显微技术（single molecule localization microscopy, SMLM）[2]。

癌症是威胁人类健康的首要疾病，成像技术在病灶定位、病理分析和辅助治疗等方面发挥着不可替代的作用，但传统的医学影像技术无法精准捕捉到癌症早期相关化合物的微小变化[3]，而SRM的出现则为癌症成像提供了新的技术手段[4]，其不仅能够清晰地呈现癌细胞膜蛋白分布、染色质高级结构、核纤层形态等常规成像手段无法分辨的亚细胞精细病变，还可以对癌症相关分子标志物与药物分布实现精准定量分析，进而为癌变机制的探索和新型药物的开发提供更微观的视角。当前，SRM已成为癌症研究的重要工具，主要用于解析癌细胞超微结构变化、定量检测肿瘤特异性标志物以及探究癌细胞与药物作用的分子机制。

本文结合现有研究成果，介绍了几种典型SRM技术的基本成像原理以及常用的探针，综述了SRM在癌症诊断与治疗中的应用，重点分析了SRM通过标志物检测对癌症进行早期诊断的原理和方法，梳理了SRM通过观察纳米药物内化、优化光动力疗法和研究耐药机制等途径对癌症的早期治疗提供的技术支撑，为癌症精准诊疗体系的完善提供参考。

1 SRM成像原理

SRM的主要类型及其核心成像原理如图1所示。

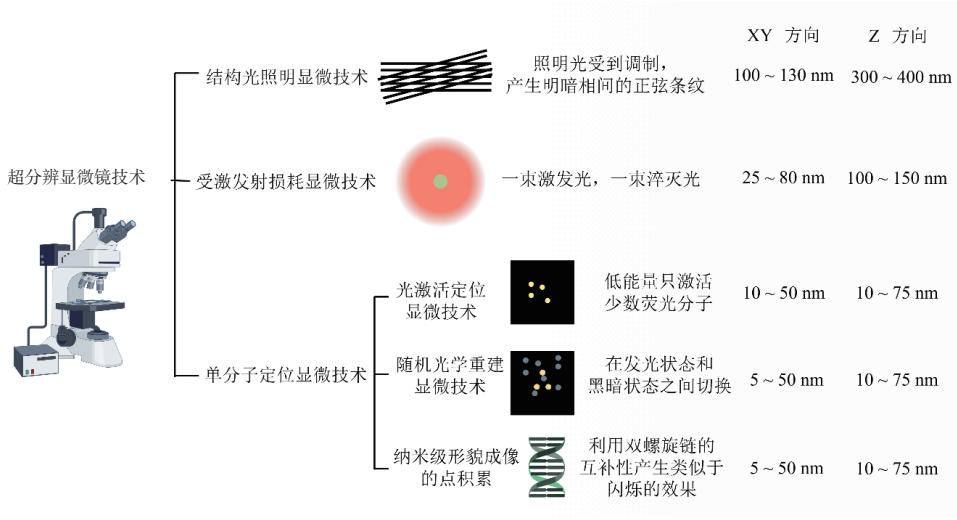


图1 SRM的主要类型及其核心成像原理

注：SRM为超分辨显微镜技术。

1.1 结构光照明显微技术（SIM）

SIM技术是在照明光路中插入一个结构光的发生装置，照明光受到调制后，产生明暗相间的正弦条纹，即“结构光”，然后经物镜投影在样品上，照明图案的空间频率与样本特征的空间频率混合，将高频特征移动到显微镜可检测到的较低频率，并将拍摄的多幅图像用软件进行组合和重建，就可以得到该样品的超分辨率图像[5]。SIM技术主要是利用空间结构光束激发荧光，并利用低频信号和已知的高频信号还原未知的高频信号，从而实现精细结构的高精度检测[6]。

1.2 受激发射损耗显微技术（STED）

STED技术的基本原理是使用两束激光同时照射样品，一束激光使荧光分子从稳定的基态跃迁到活跃的激发态，另一束激光（淬灭光，也称STED光）使边缘区域的荧光分子从激发态回到基态，从而使STED激光器的形状类似于一个中心强度为零的甜甜圈，这样，可以将中心的激发荧光分子与周围边缘的基态荧光分子区分开来，通过减少荧光点的衍射斑点来获得超出衍射极限的荧光斑点，从而提高显微镜的分辨率[5,7]。

1.3 单分子定位显微技术（SMLM）

SMLM技术旨在准确检测单个荧光团，根据探针在“开”和“关”状态之间切换的机制不同，SMLM技术分为3类：①光激活定位显微技术（photoactivated localization microscopy, PALM）；②随机光学重建显微技术（stochastic optical reconstruction microscopy, STORM）和直接随机光学重建显微技术（direct stochastic optical reconstruction microscopy, dSTORM）；③纳米级形貌成像的点积累（point accumulation for imaging in nanoscale topography, PAINT）和DNA–PAINT（DNA point accumulation in nanoscale topography）。

PALM能够通过诱导少数荧光分子发光并对单个分子进行定位，从而达到纳米级精度的定位成像。在成像过程中，利用最小波长进行照射，使得仅有少数的荧光分子处于“开”的状态，以进行单分子检测和定位，进一步的激发则使得这些成像的荧光分子被光漂白，从而完成一次成像，重复数千次以后再将所得的图像通过软件进行重建，即可得到最终的超分辨图像[8]。

STORM系统带有两个激光器，一个用于激活荧光团，另一个用于对荧光团进行成像，然后使它们返回到黑暗状态。具体来说，所有的荧光团在强红色激光脉冲的照射下，切换至黑暗状态，接着，只有一小部分荧光团被弱绿色激光激发，从而产生一组可被捕捉到的活性发光荧光团，最后，这些分子在红色激光的持续照射下发出荧光，直到进入暗态，从而实现高精度地记录各个荧光团的位置，最终通过软件对获得的多张图像进行重建，即可得到超分辨率图像[9]。

DNA–PAINT的原理是利用DNA链的互补性产生类似于荧光分子闪烁的效果。在DNA–PAINT中，双螺旋DNA链的其中一条与目标分子相连，作为“对接”链，另一条被荧光标记，作为“成像”链，成像链和对接链在溶液中会自发结合，在视野中产生单分子荧光。通过调整成像链的结合强度和浓度，可以反复产生瞬时结合，获得类似STORM中荧光染料的最佳闪烁速率，利用软件对获得的数据进行重建，就可以得到最终的超分辨率图像。

尽管以上各类技术均可实现100 nm级别的横向分辨率，但他们在成像速度、图像处理和染料的适配性等方面都存在明显的差异，且各有优缺点，例如，STED的成像速度快，无需大量图像后期重建，但对激光功率和染料种类有严格要求；而STORM虽然可以实现极高分辨率，但需要重建大量的原始图像。因此，各类技术的选择需要紧密结合研究对象的生物特性和样品自身特点。另外，目前并没有任何一种SRM技术可以独自满足所有的研究需求，因此未来研究趋向于将SRM技术与多种技术相结合，构建多维度、多模态的显微平台。

2 SRM常用探针

实现活细胞的超分辨率成像需要利用具有优异光学特性的荧光探针来标记各种亚细胞结构，不同的超分辨成像技术对探针的要求有所区别[10]，目前SRM技术的常用探针如表1所示。

表1 SRM技术常用探针

探针类型	代表	优点	适用技术	应用案例
有机荧光染料[11]	罗丹明类、荧光素类、Cy系列	亮度强；分子体积小，对样本扰动低	STORM、STED、SIM	特异性标记酸性细胞器，实现线粒体与溶酶体相互作用的多色动态超分辨成像[12]
荧光蛋白[13]	GFP及其突变体、光转换荧光蛋白	可单分子定位；可实现动态追踪；生物相容性极佳	STORM、PALM、SIM	标记内质网蛋白，揭示内质网–核膜连接的三维结构[14]
量子点[15]	半导体纳米晶	可长时间连续成像；灵敏度高；尺寸可调，可多色成像	STED、SIM	标记微管蛋白与线粒体蛋白，明确二者的空间关系[16]
金纳米颗粒[17]	直径5 ~ 100 nm的金纳米颗粒	适合超长时间成像；生物相容性好，靶向性强	STED等	活细胞内质网长时超分辨成像，观测内质网动态变化及内质网–线粒体/溶酶体的互作[18]
光开关探针[19]	有机光开关染料、光激活荧光蛋白	可兼顾靶向性和超高分辨率；适合多色单分子定位成像	STORM、PALM、STED	标记Trop2蛋白，量化非小细胞肺癌细胞表面Trop2的聚集密度[20]
荧光纳米颗粒[21]	聚合物点、碳点	生物相容性好；可通过表面修饰实现功能化	STED、SIM等	溶酶体靶向标记，无明显光毒性与光漂白，可长时程观测细胞内纳米尺度分布与动态[22]

注：SRM为超分辨显微镜技术；STORM为随机光学重建显微技术；STED为受激发射损耗显微技术；SIM为结构光照明显微技术；GFP为绿色荧光蛋白；PALM为光激活定位显微技术；Trop2为人滋养层细胞表面抗原2。

2.1 SIM常用探针

SIM的分辨率可以达到110 nm，由于其需要将数以千计的图像通过软件重建才可以得到超分辨图像，因此荧光分子需要具有较高的抗漂白能力和足够的荧光亮度。SIM常用的探针有硅罗丹明染料（silicon rhodamine, SiR）、Thermo Fisher Scientific公司旗下MitoTracker™线粒体染料、Alexa Fluor™系列染料、DyLight™染料等。2019年，Pospíšil等[23]将SIM与基于贝叶斯的图像恢复相结合，分别用Alexa Fluor™ 488鬼笔环肽和MitoTracker™ Red CMXRos标记牛肺动脉内皮细胞（bovine pulmonary artery endothelium cell, BPAEC）的肌动蛋白细胞骨架和线粒体，获取了曝光时间为25 ms、原始成像速率为40 Hz的SIM图像序列，从而获得了更多的SIM数据采集和处理方法。

2.2 STED常用探针

由于STED在成像时使用了两束激光，且不需要通过软件进行图像重建，因此荧光染料必须具有优异的荧光亮度和光稳定性[24]。STED常用的探针有罗丹明基ATTO 647N、SiR、Alexa Fluor™系列染料等，如Bergstrand等[25]使用罗丹明基ATTO 647N和ATTO 594，对血小板中与癌症进展和转移相关的特定蛋白进行标记，从而进一步揭示了当与癌细胞共同培养时，这些蛋白在血小板中重新分布的情况。除了常用的探针外，科学家们还针对不同的观察目标合成了更合适的探针，例如，Liu等[26]开发了一种基于二苯乙烯基苯的荧光探针，作为适用于STED成像、高光稳定性的新型脂滴（lipid droplets, LDs）荧光探针，其在592 nm和660 nm的STED激光下分别实现了73 nm和84 nm的高分辨率成像。

2.3 SMLM常用探针

SMLM的成像依赖于荧光分子在“开”和“关”状态之间反复数千次的切换，所以荧光分子要表现出良好的状态切换行为，同时具备足够好的光稳定性和足够高的荧光亮度[27]。SMLM常用的探针有花菁染料Cy3（Cyanine 3）和Cy5(Cyanine 5)、Alexa Fluor™系列染料等，Xu等[28]将Cy5与DNA染料Hoechst缀合，得到了一种快速、简单且稳定的小分子荧光探针，用于临床组织中纳米级核结构的常规超分辨率成像。Zhang等[8]还总结了在利用PALM观察活细胞中的多种细胞亚结构时光活化硼二吡咯亚甲基（boron dipyrromethene, BODIPY）发色团的应用。

综上所述，开发具有合适光谱性质的探针对SRM的成像尤为重要，目前研发出的探针已经形成了多类型体系，并且可以根据不同的成像需求进行探针的定制开发，但在研发层面仍然需要解决一些核心问题，例如现有的可进行多色成像的探针存在荧光信号串扰、成像分辨率不均一等问题，难以进行多个癌症标志物的同步精准成像，未来可通过对荧光团进行精准修饰或开发刺激响应型的荧光探针，从源头解决信号串扰问题。此外，现有的探针多适用于对细胞系的研究，针对临床癌症组织和血液等样本的探针开发仍然不足，未来需要进一步开发适用于临床样本的探针，为SRM的临床转化提供技术支持。

3 SRM在癌症诊断中的应用

肿瘤的发生、发展和转移伴随着一些癌症标志物分布、聚集以及二聚化模式等的变化，但是，恶性肿瘤在发展早期的体积很小，相关癌症标志物的变化也不明显，利用常规的检测手段很容易被忽略，因此需要利用更加灵敏且准确的检测方法捕捉这些细小的变化，从而达到早期诊断的目的，SRM就为人们提供了这样一种手段。当前，SRM癌症诊断靶点及其面临的挑战如表2所示。

表2 SRM癌症诊断靶点及其面临的挑战

诊断靶点	观察对象	诊断标志	诊断价值	面临挑战
碳水化合物相关[29]	特异性糖链、糖萼结构；血清碳水化合物标志物	碳水化合物修饰异常，血清标志物水平异常	可早期发现癌细胞，血清标志物检测辅助临床诊断	标记易受正常组织干扰；部分糖链探针开发难度大；血清标志物检测需结合成像验证
	肿瘤微环境中异常糖蛋白	糖蛋白核心岩藻糖基化增加，糖链构象异常	避免传统方法漏检，可实现无创诊断	异常糖蛋白需高效富集；定位易偏差；血清中蛋白杂质多，干扰糖蛋白信号识别
膜蛋白相关	肿瘤特异性膜蛋白	膜蛋白过表达、异常聚集或构象改变	明确发病机制，为治疗提供靶点；辅助肿瘤分型与疗效评估	抗体探针易导致假阳性；激光照射可能影响检测真实性；易取样偏差
	肿瘤细胞黏附分子	钙黏蛋白类型切换，分布变聚集	预测肿瘤侵袭转移潜能，为预后评估提供依据	缺乏判断标准；长期成像信号易丢失；需多区域取样验证
外泌体相关[30]	肿瘤来源外泌体膜表面标志物	外泌体特异性标志物	为早期癌症提供无创诊断指标	分离纯化流程复杂；难区分生理与病理信号
	肿瘤来源外泌体膜糖脂	外泌体膜糖脂结构异常或过表达	为液体活检提供高特异性指标	标记效率不足；细胞碎片多；糖脂动态变化难通过固定样本捕捉

注：SRM为超分辨显微镜技术。

3.1 通过相关碳水化合物标记成像进行癌症诊断

碳水化合物是癌症标志物之一，通常与肿瘤细胞的发生和转移有关。碳水化合物抗原19–9（cancer antigen 19–9, CA 19–9）、前列腺特异性抗原（prostate specific antigen, PSA）、β–人绒毛膜促性腺激素（β–human chorionic gonadotropin, β–hCG）、甲胎蛋白（alpha fetoprotein, AFP）、N–乙醇酰神经氨酸（N–acetylneuraminic acid, Neu5Ac）和乳酸脱氢酶（lactate dehydrogenase, LDH）等多种血清标志物在癌症诊断方面都有着重要的作用[31–34]。通过不同的方法对癌细胞膜上相关碳水化合物的变化进行标记成像，即可初步对癌症进行诊断。

第一种方法是利用凝集素标记。凝集素可以与碳水化合物相结合并仅起到修饰的作用[35]。2021年，Riera等[36]利用PAINT捕获了活细胞中弱聚糖–凝集素的相互作用，利用可逆的甘露糖受体–甘露糖苷结合直接实现了细胞内的单分子检测和定量。Chen等[29]在2016年使用dSTORM，通过Alexa Fluor 647缀合的凝集素对细胞染色，发现与正常细胞膜相比，包括N–乙酰基–D–葡萄糖胺［N–acetyl–D–(+)–glucosamine, GlcNAc］和N–乙酰基半乳糖胺（N–acetyl–galactosamine, GalNAc）在内的7种主要类型的碳水化合物在癌细胞膜上具有独特的分布特征，并且验证了获得的结果可以应用于临床样品。

第二种方法是利用适配体标记。适配体是可以与目标分子靶向结合的短核苷酸链[37]。使用荧光染料偶联的癌症特异性适配体作为探针，可以在早期发现癌细胞，对后续的诊断和治疗有非常重要的作用[38]，Jing等[39]开发了一种高精度定位的适配体识别方法，通过使用dSTORM，对与膜结合的GalNAc进行成像，还进一步观察到了人宫颈癌细胞（HeLa）细胞膜上GalNAc的分布特征，并证明了适配体标记具有特异性。2019年，Jing等[40]再次利用该方法对一种重要的癌症相关碳水化合物——Globo H进行了研究，这种化合物在多种癌症中过度表达，具有极大的癌症诊断潜力，该团队应用dSTORM并依靠荧光团共轭适配体对Globo H进行了标记并成像。

3.2 通过相关膜蛋白和外泌体标记成像进行癌症诊断

除了碳水化合物，人表皮生长因子受体2（human epidermal growth factor receptor 2, HER2）、表皮生长因子受体（epidermal growth factor receptor, EGFR）和人滋养层细胞表面抗原（trophoblast cell–surface antigen 2, Trop2）等膜蛋白在癌症诊断、成像以及靶向治疗中也发挥着重要的作用[41]。2015年，Valley等[42]利用双色dSTORM揭示了非小细胞肺癌（non–small cell lung carcinoma, NSCLC）相

关EGFR突变体的受体结构及相互作用动力学的改变，证实了EGFR突变体具有独立聚集的现象，展示了EGFR在NSCLC中的异常活跃机制。2017年，Toscani等[43]对酪氨酸激酶受体进行了研究，利用STORM观察酪氨酸激酶受体和β1整合素在不同情况下的相互作用，指明了这些动态、多因素的复杂相互作用对乳腺癌细胞黏附、迁移和侵袭的影响。2020年，Fu等[20]利用dSTORM观察了Trop2在正常细胞和NSCLC细胞膜上不同的分布模式，旨在揭示Trop2在癌症细胞膜上独特的分布方式，为癌症治疗提供新的靶点，也为癌症标志物的研究提供新的方向。结果表明，Trop2在癌细胞上的表达和聚集水平都明显高于正常细胞，这有助于癌症早期的诊断。

此外，一种由癌细胞合成并释放的癌症源性外泌体（tumor-derived exosome, TDE）可直接反映癌症的侵袭、增殖和转移等过程，但由于体积小、易渗透等特点，利用常规的医学影像技术很难捕捉到它们[44]，而借助SRM可以非常清晰地观察到外泌体，例如，Chen等[45]利用PALM/STORM对乳腺癌细胞来源的外泌体进行了双色成像和细胞内追踪，并对外泌体和溶酶体进行了共定位，结果表明，与受体细胞结合后，外泌体将被转运到溶酶体中进一步降解。2019年，Chen等[46]再次利用DNA-PAINT对癌症来源的外泌体进行了研究，开发了一个定量分析平台，分析了4种外泌体表面生物标志物，并将这种技术进一步应用于胰腺癌和乳腺癌的检测，准确率达到了100%。

围绕碳水化合物、膜蛋白、外泌体这3类靶点开展的研究在一定程度上为癌症诊断提供了重要的检测思路和技术基础，不同检测靶点在应用过程中各具优势，同时也存在一定的局限性，例如，碳水化合物靶点在早期诊断和无创检测方面具有一定的优势，但其标记过程易受到正常组织信号干扰，从而导致定位出现偏差；外泌体靶点虽然具有特异性高和无创检测等特点，但由于样品分离纯化过程较为复杂，且缺乏有效的活体动态成像手段，目前仍难以完全满足临床检测需求。未来，SRM在癌症诊断领域仍具有广阔的发展前景，可通过开发高特异性探针、优化样本处理流程来提升检测的特异性和准确性，同时应推动多靶点联合成像技术的发展，并进一步加强与常规检测方法的结合，以便为癌症的早期诊断提供更加可靠的技术支持。

4 SRM在癌症治疗中的应用

传统的放疗和化疗等癌症治疗方法虽然可以大范围地杀死癌细胞，但其对正常细胞和机体的损伤也是不可忽略的，并且随着治疗的不断推进，患者还可能产生耐药性[47]。癌症药物的研发、治疗方法的优化和耐药机制的研究是提高癌症治愈率的关键，而SRM提供了更加清晰的研究视野，并且已经成功应用到了多种癌症的治疗中[48]。SRM在癌症治疗中的核心应用方向如图2所示。

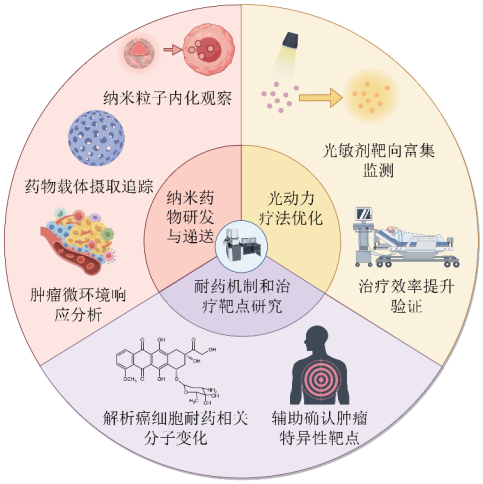


图2 SRM在癌症治疗中的核心应用方向

注：SRM为超分辨显微镜技术。

4.1 SRM与纳米药物

纳米技术是在原子、分子或者超分子纳米尺度上进行研究的一种技术，在生物学、医学、化学和材料学等领域有着广泛的应用。其中，纳米颗粒由于具有高比表面积和高吸附能力，同时还可作为药物载体实现药物的高效负载，使其在癌症治疗领域展示出不可替代的优势。SRM的出现和发展为纳米药物的进一步研究提供了强有力的手段，目前已经被广泛应用于多个研究环节，尤其是在设计新型纳米药物、揭示药物递送机制、分析药物与细胞的相互作用和阐明肿瘤微环境响应等方面提供了直接的实验依据，例如，Daan等[49]开展了纳米药物内化的研究，利用不同的荧光标记策略使得聚苯乙烯纳米粒子与细胞质膜、大吞噬泡、核膜和肌动蛋白实

现了共定位，相对于共聚焦显微镜，STORM更加清晰地观察到了HeLa细胞对纳米粒子的内化过程，并且由于分辨率的提高，成功观察到了更加精确的单个聚苯乙烯纳米颗粒形状，并进行了细胞内准确的3D定位。除此之外，SRM对于条件响应的纳米颗粒的设计和优化也取得了一定的成果，例如，Michelle等[50]利用金属有机框架（metal organic framework, MOF）作为纳米药物载体，通过SIM观察了MOF被HeLa细胞摄取的过程，并重点分析了温度变化对MOF摄取速率的影响，实验结果表明，相较于生理温度，适当的升温可以显著地提升细胞对MOF的摄取效率，从而进一步提高载药纳米粒的治疗效果。

4.2 SRM与光动力疗法

光动力疗法（photodynamic therapy, PDT）是一种通过外部光源激发光敏剂从而产生活性氧直接杀死癌细胞的新兴治疗方法，具有针对性强、毒性低和创伤小等多种优势，然而，光敏剂的递送效率低且肿瘤组织会出现缺氧，限制了PDT的治疗效果。利用纳米粒子作为载体，负载光敏剂和其他抗肿瘤药物，可以很好地解决上述问题，同时，对纳米颗粒进行修饰和改造还可以进一步提高药物的摄取效率，促使PDT发挥最大的作用，此外，将纳米递送系统与SRM相结合还可以实现对纳米药物的改造和实时观测，例如，Xu等[51]制备了同时包裹光敏剂和荧光探针的纳米脂质体，利用STORM观察到了纳米脂质体的精细结构，通过比较游离的光敏剂和纳米脂质体的PDT效果，进一步印证了纳米材料和PDT结合的优势。

4.3 SRM对耐药机制的研究

在常规的癌症治疗中，患者对药物产生的耐药性是治疗失败的重要原因之一，而耐药性的发展机制包括肿瘤微环境的改变、药物灭活和药物流出增加等，针对不同的耐药机制制定相应的治疗策略是非常重要的，SRM的出现可以在单分子水平上对耐药相关分子的变化进行解析[52]，例如，舒尼替尼是一种口服的多靶向性癌症治疗药物，已被证明对结肠癌和肺癌等癌细胞具有抑制作用，其在溶酶体中的积累可能是癌细胞产生耐药性的重要机制之一，Wong等[53]利用SIM观察到了其在溶酶体中的积累，并明确了舒尼替尼并非随机地分布在溶酶体中，而是与光敏剂共同聚集在溶酶体膜上，这也很好地解释了先给药后光照的治疗顺序会导致药物光损伤的原因。

综上所述，SRM为纳米药物的研发、PDT的疗效优化和耐药机制的解析在纳米尺度上提供了实验依据，在开发抗癌药物和提升治疗效果等方面展示出巨大潜力，但是目前的研究多停留在细胞系的基础研究层面，与临床治疗结合不足，未来应进一步开展对临床样本的分析研究，将SRM与化疗和放疗等实际的治疗手段相结合，另外，SRM还可以在疗效评估中发挥作用，通过观察治疗过程中标志物和药物的分布变化评估治疗效果，以及时调整治疗策略，进一步提高癌症的治愈率。

5 结论

超分辨显微镜技术的出现不仅在显微镜发展历史上有着不可撼动的地位，其在医学、药学、材料学等领域作出的贡献同样不可忽略[54]。癌症作为人类健康的第一大杀手，其诊断和治疗方法一直都是科学家们研究的重点，而在癌症发生早期实现快速准确的诊断与干预、在不损伤正常细胞的前提下彻底清除癌细胞以及实现高靶向性的治疗，仍然是难以攻克的问题，SRM的出现使得通过对癌症标志物进行成像实现对癌症的早期诊断成为可能，结合纳米颗粒以及各种癌症治疗方法，SRM还为肿瘤的靶向治疗提供了更多的现实依据[55-56]。

但是，SRM也面临一些挑战。首先，各种SRM技术无法同时兼顾分辨率、成像速度和样本损伤等指标，球面像差和色差等会显著降低成像质量，导致定位产生误差，例如，STORM虽然在空间分辨率上优于STED，但其通常需要对100 000 ~ 1 0 000 000次的定位进行分析处理，这进一步导致了成像效率降低。此外，STED需要使用功率相对较高的激光进行成像，会加快光漂白的过程，影响细胞的活性和生理状态，而STORM则使用较低功率的激光即可成像[57]。其次，各种SRM技术对探针的亮度和稳定性要求都较高[58]，需要针对性地选择合适的探针。另外，在实际的临床应用中，快速冷冻切片的制备与染色通常可在20 ~ 60 min内完成并应用于诊断[59]，而SMLM在需要处理大量样本的情况下，整个成像过程可能需要几十分钟到数小时，

无法满足临床病理检验科的常规检测需求[60]。最后，核心部件的更换及后期的维护成本相对较高，进一步限制了SRM技术的普及。尽管面临诸多挑战，SRM仍然具有广阔的发展前景，在癌症诊疗方面，SRM将进一步解析新型药物的耐药机制和作用靶点，为治疗提供更加精确的微观依据，在技术融合方面，超分辨超声、超分辨显微光谱和超分辨光学涨落成像等衍生技术的出现证明了SRM正在超越单一的物理原理，向物理光学和计算科学等领域迈进，此外，SRM还有望突破对静态结构的解析，向多维度、过程性观测发展，直至演化成为智能化的观测平台，为生命科学作出更大的贡献。

利益冲突：作者声明没有利益冲突。

[参 考 文 献]

[1] Sun N, Jia Y, Bai S, et al. The power of super–resolution microscopy in modern biomedical science [J]. Advances in Colloid and Interface Science, 2023, 314: 102880.

[2] Zhang C, Tian Z, Chen R, et al. Advanced imaging techniques for tracking drug dynamics at the subcellular level [J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2023, 199: 114978.

[3] Beyer T, Bailey D L, Birk U J, et al. Medical physics and imaging: a timely perspective [J]. Frontiers in Physics, 2021, 9: 634693.

[4] Atlihan–Gundogdu E, Ilem–Ozdemir D, Ekinci M, et al. Recent developments in cancer therapy and diagnosis [J]. Journal of Pharmaceutical Investigation, 2020, 50: 349–361.

[5] Gong J, Jin Z, Chen H, et al. Super–resolution fluorescence microscopic imaging in pathogenesis and drug treatment of neurological disease [J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2023, 196: 114791.

[6] Müller B, Heilemann M. Shedding new light on viruses: super–resolution microscopy for studying human immunodeficiency virus [J]. Trends in Microbiology, 2013, 21(10): 522–533.

[7] Gallegos–Cerda S D, Hernández–Varela J D, Chanona–Pérez J J, et al. Super–resolution microscopy and their applications in food materials: beyond the resolution limits of fluorescence microscopy [J]. Food and Bioprocess Technology, 2023, 16: 268–288.

[8] Zhang Y, Zheng Y, Tomassini A, et al. Photoactivatable BODIPYs for Live–Cell PALM [J]. Molecules, 2023, 28(6): 2447.

[9] Xu J, Ma H, Liu Y. Stochastic optical reconstruction microscopy (STORM) [J]. Current Protocols in Cytometry, 2017, 81: 12.46.1–12.46.27.

[10] Duan X, Zhang M, Zhang Y H. Organic fluorescent probes for live–cell super–resolution imaging [J]. Frontiers of Optoelectronics, 2023, 16: 34.

[11] Zhang J, Zhang K, Wang K, et al. A palette of bridged bicycle–strengthened fluorophores [J]. Nature Methods, 2025, 22: 1276–1287.

[12] Lesiak L, Dadina N, Zheng S, et al. A bright, photostable, and far–red dye that enables multicolor, time–lapse, and super–resolution imaging of acidic organelles [J]. ACS Central Science, 2024, 10(1): 19–27.

[13] Xiong H, Chang Q, Ding J, et al. A highly stable monomeric red fluorescent protein for advanced microscopy [J]. Nature Methods, 2025, 22: 1288–1298.

[14] Ding Y, He W, Wang K, et al. A highly photostable monomeric red fluorescent protein for dual–color 3D STED and time–lapse 3D SIM imaging [J]. Nature Methods, 2026, 23: 143–152.

[15] Pramanik S K, Sreedharan S, Tiwari R, et al. Nanoparticles for super–resolution microscopy: intracellular delivery and molecular targeting [J]. Chemical Society Reviews, 2022, 51(24): 9882–9916.

[16] Xu J, Tehrani K F, Kner P. Multicolor 3D super–resolution imaging by quantum dot stochastic optical reconstruction microscopy [J]. ACS Nano, 2015, 9(3): 2917–2925.

[17] Zhang P, Lee S, Yu H, et al. Super–resolution of fluorescence–free plasmonic nanoparticles using enhanced dark–field illumination based on wavelength–modulation [J]. Scientific Reports, 2015, 5: 11447.

[18] Xu P, Zhong S, Wei Y, et al. Surface–functionalized Halo–Tag gold nanoprobes for live–cell long–term super–resolution imaging of endoplasmic reticulum dynamics [J]. ACS Nano, 2024, 18(32): 21433–21446.

[19] Song Y, Zhang X, Shen Z, et al. Improving brightness and stability of Si–rhodamine for super–resolution imaging of mitochondria in living cells [J]. Analytical Chemistry, 2020, 92(18): 12137–12144.

[20] Fu Y, Jing Y, Gao J, et al. Variation of Trop2 on non–small–cell lung cancer and normal cell membranes revealed by super–resolution fluorescence imaging [J]. Talanta, 2020, 207: 120312.

[21] Tavernaro I, Cavelius C, Peuschel H, et al. Bright fluorescent silica–nanoparticle probes for high–resolution STED and confocal microscopy [J]. Beilstein Journal of Nanotechnology, 2017, 8: 1283–1296.

[22] Leménager G, De Luca E, Sun Y P, et al. Super–resolution fluorescence imaging of biocompatible carbon dots [J]. Nanoscale, 2014, 6(15): 8617–8623.

[23] Pospíšil J, Lukeš T, Bendesky J, et al. Imaging tissues and cells beyond the diffraction limit with structured illumination microscopy and Bayesian image reconstruction [J]. GigaScience, 2019, 8(1): giy126.

[24] Jeong S, Widengren J, Lee J C. Fluorescent probes for STED optical nanoscopy [J]. Nanomaterials, 2022, 12(1): 21.

[25] Bergstrand J, Xu L, Miao X, et al. Super–resolution microscopy can identify specific protein distribution patterns in platelets incubated with cancer cells [J]. Nanoscale, 2019, 11(20): 10023–10033.

[26] Liu G, Dai J, Zhou R, et al. A distyrylbenzene–based fluorescent probe with high photostability and large Stokes shift for STED nanoscopy imaging of cellular lipid droplets [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2022, 353: 131000.

[27] Samanta S, Gong W, Li W, et al. Organic fluorescent probes for stochastic optical reconstruction microscopy (STORM): recent highlights and future possibilities [J]. Coordination Chemistry Reviews, 2019, 380: 17–34.

[28] Xu J, Sun X, Kim K, et al. Ultrastructural visualization of chromatin in cancer pathogenesis using a simple small–molecule fluorescent probe [J] . Science Advances, 2022, 8(9): eabm8293.
[29] Chen J, Liu T, Gao J, et al. Variation in carbohydrates between cancer and normal cell membranes revealed by super - resolution fluorescence imaging [J] . Advanced Science, 2016, 3(12): 1600270.
[30] Nizamudeen Z, Markus R, Lodge R, et al. Rapid and accurate analysis of stem cell–derived extracellular vesicles with super resolution microscopy and live imaging [J] . Biochimica et Biophysica Acta (BBA)–Molecular Cell Research, 2018, 1865(12): 1891–1900.
[31] Chen J, Gao J, Wu J, et al. Revealing the carbohydrate pattern on a cell surface by super–resolution imaging [J] . Nanoscale, 2015, 7(8): 3373–3380.
[32] Lee T, Teng T Z J, Shelat V G. Carbohydrate antigen 19–9–tumor marker: past, present, and future [J] . World Journal of Gastrointestinal Surgery, 2020, 12(12): 468–490.
[33] Wang J, Shewell L K, Day C J, et al. N–glycolylneuraminic acid as a carbohydrate cancer biomarker [J] . Translational Oncology, 2023, 31: 101643.
[34] Desai S, Guddati A K. Carcinoembryonic antigen, carbohydrate antigen 19–9, cancer antigen 125, prostate–specific antigen and other cancer markers: a primer on commonly used cancer markers [J] . World Journal of Oncology, 2023, 14(1): 4–14.
[35] Pietrzyk–Brzezinska A J, Bujacz A. H–type lectins–structural characteristics and their applications in diagnostics, analytics and drug delivery [J] . International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 152: 735–747.
[36] Riera R, Hogervorst T P, Doelman W, et al. Single–molecule imaging of glycan–lectin interactions on cells with Glyco–PAINT [J] . Nature Chemical Biology, 2021, 17: 1281–1288.
[37] Song W, Song Y, Li Q, et al. Advances in aptamer–based nuclear imaging [J] . European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging, 2022, 49(8): 2544–2559.
[38] Yoon S, Rossi J J. Targeted molecular imaging using aptamers in cancer [J] . Pharmaceuticals, 2018, 11(3): 71.
[39] Jing Y, Cai M, Xu H, et al. Aptamer–recognized carbohydrates on the cell membrane revealed by super–resolution microscopy [J] . Nanoscale, 2018, 10(16): 7457–7464.
[40] Jing Y, Chen J, Zhou L, et al. Super–resolution imaging of cancer–associated carbohydrates using aptamer probes [J] . Nanoscale, 2019, 11(31): 14879–14886.
[41] Kumar R, George B, Campbell M R, et al. HER family in cancer progression: From discovery to 2020 and beyond [J] . Advances in Cancer Research, 2020, 147: 109–160.
[42] Valley C C, Arndt–Jovin D J, Karedla N, et al. Enhanced dimerization drives ligand–independent activity of mutant epidermal growth factor receptor in lung cancer [J] . Molecular Biology of the Cell, 2015, 26(22): 4087–4099.
[43] Toscani A M, Sampayo R G, Barabas F M, et al. Distinct ErbB2 receptor populations differentially interact with beta1 integrin in breast cancer cell models [J] . PLOS One, 2017, 12(3): e0174230.
[44] Hanjani N A, Esmaelizad N, Zanganeh S, et al. Emerging role of exosomes as biomarkers in cancer treatment and diagnosis [J] . Critical Reviews in Oncology/Hematology, 2022, 169: 103565.
[45] Chen C, Zong S, Wang Z, et al. Imaging and intracellular tracking of cancer–derived exosomes using single–molecule localization–based super–resolution microscope [J] . ACS Applied Materials & Interfaces, 2016, 8(39): 25825–25833.
[46] Chen C, Zong S, Liu Y, et al. Profiling of exosomal biomarkers for accurate cancer identification: combining DNA - PAINT with machine - learning - based classification [J] . Small, 2019, 15(43): 1901014.
[47] Alqosaibi A I. Nanocarriers for anticancer drugs: challenges and perspectives [J] . Saudi Journal of Biological Sciences, 2022, 29(6): 103298.
[48] Dessale M, Mengistu G, Mengist H M. Nanotechnology: a promising approach for cancer diagnosis, therapeutics and theragnosis [J] . International Journal of Nanomedicine, 2022, 17: 3735–3749.
[49] Daan van der Zwaag, Vanparijs N, Wijnands S, et al. Super resolution imaging of nanoparticles cellular uptake and trafficking [J] . ACS Applied Materials & Interfaces, 2016, 8(10): 6391–6399.
[50] Michelle H. Teplensky, Fantham M, Li P, et al. Temperature treatment of highly porous zirconium–containing metal–organic frameworks extends drug delivery release [J] . Journal of the American Chemical Society, 2017, 139(22): 7522–7532.
[51] Xu H, Chen B, Gong W, et al. Nanoliposomes co - encapsulating photoswitchble probe and photosensitizer for super - resolution optical imaging and photodynamic therapy [J] . Cytometry Part A, 2020, 97(1): 54–60.
[52] Haider T, Pandey V, Banjare N, et al. Drug resistance in cancer: mechanisms and tackling strategies [J] . Pharmacological Reports, 2020, 72(5): 1125–1151.
[53] Wong J J W, Berstad M B, Fremstedal A S V, et al. Photochemically–induced release of lysosomal sequestered sunitinib: obstacles for therapeutic efficacy [J] . Cancers, 2020, 12(2): 417.
[54] Pujals S, Albertazzi L. Super–resolution microscopy for nanomedicine research [J] . ACS Nano, 2019, 13(9): 9707–9712.
[55] Chen X, Wang Y, Zhang X, et al. Advances in super–resolution fluorescence microscopy for the study of nano–cell interactions [J] . Biomaterials Science, 2021, 9(16): 5484–5496.
[56] Li J, Zhu L, Kwok H F. Nanotechnology–based approaches overcome lung cancer drug resistance through diagnosis and treatment [J] . Drug Resistance Updates, 2023, 66: 100904.
[57] Tam J, Merino D. Stochastic optical reconstruction microscopy (STORM) in comparison with stimulated emission depletion (STED) and other imaging methods [J] . Journal of Neurochemistry, 2015, 135(4): 643–658.
[58] Lambert T J, Waters J C. Navigating challenges in the application of superresolution microscopy [J] . Journal of Cell Biology, 2017, 216(1): 53–63.
[59] Ecclestone B R, Bell K, Abbasi S, et al. Histopathology for Mohs micrographic surgery with photoacoustic remote sensing microscopy [J] . Biomedical Optics Express, 2020, 12(1): 654–665.
[60] Villegas–Hernández L E, Dubey V K, Acharya G, et al. Optical super–resolution histology of formalin–fixed paraffin–embedded tissue samples: challenges and opportunities [J] . Nature Communications, 2025, 16(1): 9760.