·生物应用·

小动物活体成像技术在肿瘤研究领域的应用综述

周一丹　吕媛媛　金锡敏　梁星光*

（浙江大学医学院附属第一医院中心实验室，杭州 310000）

【摘要】 小动物活体成像技术是研究肿瘤生物学及评估抗肿瘤治疗效果的有力工具，它允许在活体动物中无创、实时、动态地观察肿瘤的发生、发展、转移以及对治疗的反应，具有可视化、高时空分辨率、高灵敏度等优点，被广泛应用于肿瘤研究领域。该技术涵盖了光学、核医学、磁共振等多模态的成像手段，并各具特色和应用场景。本文系统总结了活体光学三维成像技术、近红外活体成像技术、活体三维断层扫描成像技术这3种主流的小动物活体成像技术的优势特点和应用方向，并介绍其在肿瘤机制研究、肿瘤转移监测、抗肿瘤疗效评估等领域的最新应用案例，以期为小动物活体成像技术在肿瘤研究及抗肿瘤治疗领域的应用提供参考。

【关键词】 小动物活体成像技术；肿瘤研究；抗肿瘤治疗；可视化观察；应用总结

【中图分类号】 R318; Q819　【文献标识码】 A　【DOI】 10.11876/mimt202504011

An overview of the application of in vivo small animal imaging technology in oncology research

Zhou Yidan, *Lyu Yuanyuan*, *Jin Ximin*, *Liang Xingguang**

（*Central Laboratory*, *the First Affiliated Hospital*, *Zhejiang University School of Medicine*, *Hangzhou 310000*, *China*）

【Abstract】 In vivo small animal imaging technology serves as a powerful tool for investigating tumor biology and evaluating anti-tumor therapeutic efficacy. This non-invasive modality enables real-time, dynamic observation of tumor initiation, progression, metastasis, and treatment response in living organisms, offering distinct advantages including visualizability, high spatiotemporal resolution, and exceptional sensitivity. Widely adopted in oncology research, this technology encompasses multimodal imaging approaches such as optical, nuclear medicine, and magnetic resonance imaging, each demonstrating unique characteristics and application scenarios. This article systematically summarizes three predominant in vivo small animal imaging techniques—optical 3D imaging, near-infrared fluorescence imaging, and 3D tomographic scanning, highlighting their respective technical advantages and application domains. Through presenting cutting-edge case studies in tumor mechanism research, metastasis monitoring, and therapeutic response assessment, this review aims to provide substantive references for advancing the application of in vivo small animal imaging in oncology research and anti-tumor treatment development.

【Key words】 Live imaging technology for small animals; Oncology research; Anti-tumor treatment; Visual observation; Application summary

小动物活体成像技术是一种非侵入式的生物医学研究技术，通过在活体小动物如小鼠、大鼠体内实时可视化生物过程如肿瘤生长、基因表达、细胞迁移、药物分布等，为疾病机制研究、药物开发及疗效评估提供关键数据。在肿瘤研究领域，相较于传统显微成像技术，小动物活体成像技术可在无创状态下，对活体小动物体内的肿瘤生长、转移和分布等过程进行多时段、多器官、多靶点的监测，并

基金项目：浙江省自然科学基金探索类项目（LY21H090012）

第一作者：周一丹，女，硕士研究生，助理实验师，研究方向：活体光学成像

通信作者：梁星光，男，博士研究生，高级实验师，研究方向：荧光探针开发及其生物学应用

可实现从整体水平到器官、组织、细胞的多尺度定性与定量分析[1]。

小动物活体成像技术包含多种方法，如光学成像[2]、核医学成像[3]、磁共振成像[4]等，在肿瘤研究中有着不同的应用场景和特点优势。活体光学三维成像技术可借助荧光蛋白和染料分子，实时观察肿瘤生长、血管生成、转移扩散等过程，以及药物在肿瘤内的分布情况；核医学成像技术如正电子发射计算机断层显像（positron emission computed tomography, PET）能显示肿瘤代谢活性，常用于评估肿瘤恶性程度；磁共振成像（magnetic resonance imaging, MRI）技术能评估抗肿瘤治疗效果，辅助提供个性化医疗方案。

近年来，活体光学三维成像技术[5]、近红外活体成像技术[6]、活体三维断层扫描成像技术[7]在肿瘤研究中被广泛应用，涌现出许多典型案例。此外，一些新型荧光染料和造影剂的开发，也为相关成像技术的应用提供了助力。为此，本文重点对这3种成像技术的进展及其在肿瘤研究领域的应用案例进行综述。以PubMed、中国知网为数据源，采集近5年在研究中使用活体光学三维成像、近红外活体成像或活体三维断层扫描成像技术的相关文章，同时，不受时间限制纳入具有奠基性或里程碑意义的经典研究案例，比较研究中各类成像技术的特点和优势，总结其在肿瘤机制研究、肿瘤转移监测、抗肿瘤药物疗效评估等领域的研究进展，以期为推动小动物活体成像技术在肿瘤研究及抗肿瘤治疗领域的应用提供参考。

1 小动物活体成像技术特点介绍

1.1 活体光学三维成像技术

活体光学三维成像技术将光子作为探测手段，以非侵入或微创方式获取生物体内部或表面的三维结构信息。该技术具有生物发光和荧光等模态的三维成像能力，可进行结构和功能性成像。活体光学三维成像技术因其扫描速度快、通量高、涵盖波段广，目前已被广泛用于活体动物体内肿瘤生长转移的长期监测、免疫细胞及干细胞的体内示踪，以及抗肿瘤药物的靶向性及体内分布情况研究。

1.2 近红外活体成像技术（near-infrared, NIR）

近红外荧光成像技术主要利用近红外一区（near infrared-Ⅰ，NIR-Ⅰ）和近红外二区（near infrared-Ⅰ，NIR-Ⅱ）成像窗口进行成像，广泛用于癌症切除、血管吻合等显微外科手术[8]。2009年，Welsher等[9]首次实现了波长1 000 nm以上的NIR-Ⅱ活体荧光成像。相比NIR-Ⅰ成像，NIR-Ⅱ可进一步抑制光在生物组织内的吸收散射作用，显著减少生物组织的自发荧光[10]。此外，NIR-Ⅱ染料在生物组织内还具有较大的穿透深度和较高的成像信噪比，且灵敏度高，可对采集到的高分辨率荧光图像进行处理分析[11-12]，不仅能够对组织器官进行清晰成像，还可追踪活体生物在生命活动中肿瘤细胞转移路径、药物/造影剂动力学等动态指标变化[13]。

1.3 活体三维断层扫描成像技术（micro computed tomography, Micro-CT）

Micro-CT是一种可提供准确纵向信息的非侵入性成像技术[14]。该技术具有分辨率高、成像快、辐射量低、安全无创的特点。作为非破坏性的三维成像技术，Micro-CT可在不破坏样本的情况下，观察样本内部的形态结构。与普通临床CT相比，Micro-CT分辨率更高，可达微米级别。该技术将检测主体放在X射线源及其探测器之间，射线源及探测器围绕主体旋转获得不同角度的投影，利用投影重建层析图像[15]。目前，Micro-CT被广泛用于小动物疾病模型的长期活体动态监测，以及骨、脊椎和牙齿等硬组织的扫描分析。

2 小动物活体成像技术应用方向对比

活体光学三维成像技术、NIR和Micro-CT在生物医学研究中各具技术优势，其应用方向也有所不同。活体光学三维成像技术可在相对较高的分辨率水平下观察目标分子的表型和功能特征，在蛋白表达、分布、细胞追踪等研究中功能强大，其分辨率可达微米至毫米级，但由于受组织散射影响，成像

深度较浅且扫描时间较长。相比之下，NIR利用近红外光低吸收散射特性，显著提升了成像深度，在保持微米级分辨率的同时实现快速扫描，适用于实时动态监测和深部肿瘤成像。Micro–CT则融合光学对比度与深度探测，兼具高分辨率与中等成像深度，扫描速度快，在硬组织发育及肿瘤观测等场景中表现突出。3种成像技术的特点和应用方向对比见表1。

表1 活体光学三维成像技术、NIR、Micro–CT的特点和应用方向对比

技术名称	分辨率	成像深度	最佳成像时间	应用方向
活体光学三维成像技术	≤20.00 μm	0 ~ 4.5 cm	10 ~ 20 min	肿瘤、糖尿病、神经疾病、干细胞
NIR	<30.00 μm	0 ~ 7.0 cm	10 ~ 20 min	血管、脑功能、肿瘤、炎症检测
Micro–CT	0.35 ~ 35.00 μm	各个切面	5 min ~ 2 h	牙齿、肿瘤、骨发育、脊椎病变

注：NIR为近红外活体成像技术；Micro–CT为活体三维断层扫描成像技术。

3 小动物活体成像技术在肿瘤生长及转移监测中的应用

3.1 活体光学三维成像技术用于追踪肿瘤生长及转移

2006年，Winnard等[16]首次使用橙红色荧光蛋白tdTomato作为乳腺癌转移进展的实时光学成像报告基因。该研究通过活体光学三维成像技术，实现了转移性乳腺癌模型中tdTomato标记的乳腺癌细胞的无创追踪，同时借助荧光标记成像，发现即使是较小的原发性病变，也能较快引起转移性病灶。该成像技术证明了追踪自身荧光标记tdTomato的乳腺癌细胞在联合免疫缺陷小鼠肺部区域转移的可行性。

Iwano等[17]建立了一种全工程生物发光体内成像系统——AkaBLI，实现了在自由移动动物体内单细胞的非侵入性可视化。通过使用活体光学三维成像技术，研究人员对模型内移植的细胞进行生物发光监测，发现总生物发光强度与注射细胞数量呈线性相关。安图等[18]应用活体光学三维成像技术，对不同方法造模的小鼠进行非侵入式无创活体成像，通过实时记录肿瘤荧光强度，发现相比尾静脉注射法和气管灌流注射法，胸腔注射法成瘤率更高，且可以有效降低血液循环和呼吸的干扰，从而实现快速建模。

郑南南等[19]使用荧光素酶*luc2*对人乳腺癌细胞进行标记，建立了小鼠原位乳腺癌模型。该团队人员通过活体光学三维成像技术，实现了对肿瘤生长的长期监测，并在第21天观测到了肿瘤的转移现象。Han等[20]通过对小鼠注射高转移潜能和低转移潜能乳腺癌细胞构建异种移植瘤模型，使用活体光学三维成像技术定期监测模型的肺转移信号，发现高转移潜能组肺转移瘤的荧光强度明显高于低转移潜能组，以及目标蛋白EPH受体A2（EPH receptor A2, EPHA2）敲除组的荧光强度低于对照组，表明EPHA2可促进乳腺癌细胞的体内转移，见图1。Zhang等[21]使用活体光学三维成像技术检测了肿瘤模型中纳米颗粒即游离Cy5和Cy5–P/A/B@NM的分布，发现肿瘤荧光强度或相对辐射效率随时间显著增加，表明Cy5–P/A/B@NM可在实体肿瘤中积累并有效抑制肿瘤生长转移，延长生存时间。Feng等[22]将对照组（sh*NC*）及模型组（sh*Glrx*）细胞注射到小鼠体内建立了肿瘤异种移植模型，在出现可触及的肿瘤结节时使用活体光学三维成像技术监测生物发光强度及肿瘤体积。研究发现，与对照组相比，模型组显示出较低的生物发光强度，表明Glrx的消耗显著降低了肿瘤的体积生长。Wang等[23]为评估PTEN长链（PTEN–long, PTEN–L）对肺肿瘤细胞转移的影响，将PTEN敲除小鼠髓样乳腺癌细胞–E0771混合物通过尾静脉注射给小鼠，使用活体光学三维成像技术对小鼠体内荧光素信号进行定量分析，发现PTEN–L处理的小鼠肺中荧光比值显著升高。

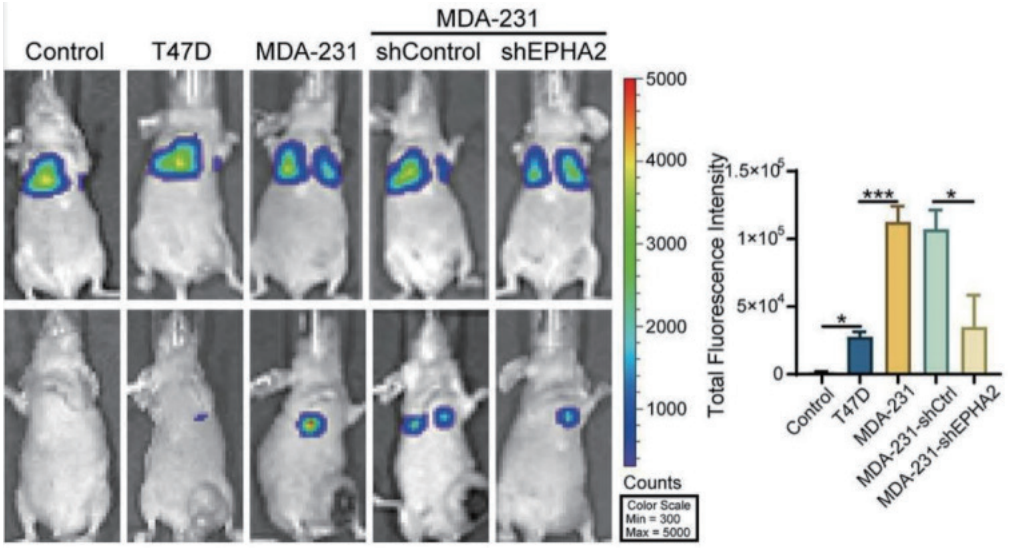
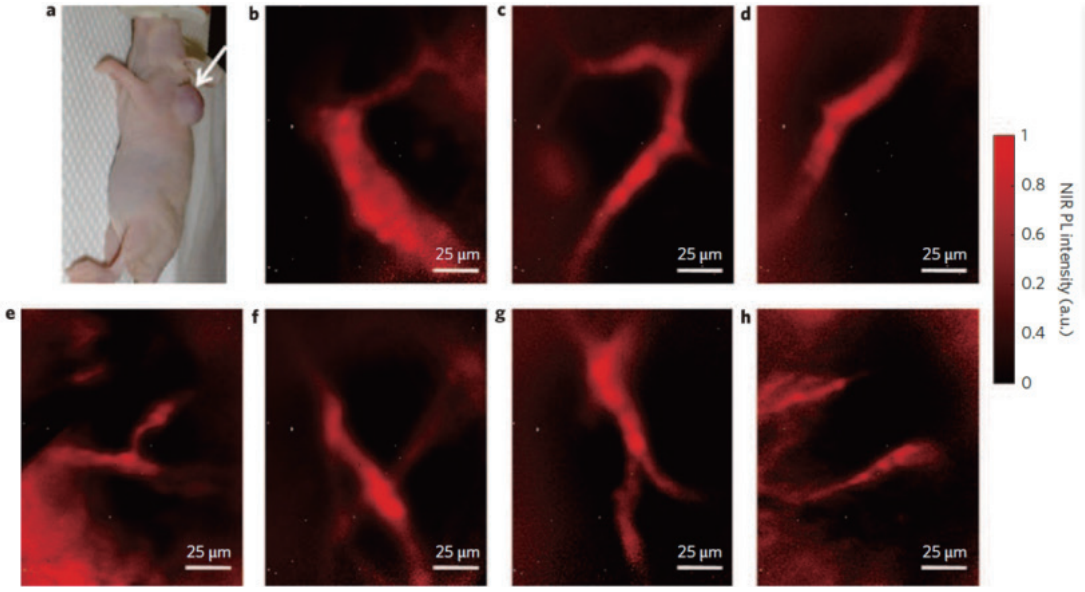


图1 活体光学三维成像技术检测不同干预手段对肿瘤肺转移的影响[20]

3.2 NIR用于监测肿瘤生长

Welsher等[9]将NIR发光造影剂（胆酸钠与磷脂–聚乙二醇中的单壁碳纳米管结合）用于活鼠体内，在1 000～1 700 nm范围内成像，清晰观察到了活鼠肿瘤内血管系统的光学图像，见图2。研究同时发现小鼠深层器官如肝、脾等表现出更高的强度。Williams等[24]基于NIR–Ⅱ成像技术构建小鼠原位卵巢癌模型，研究了植入传感器在外源性重组人附睾蛋白刺激下的反应。Zhou等[25]使用NIR–Ⅱ荧光聚合物微球（NIR–Ⅱ fluorescent polymer dots, NIR–Ⅱ Pdots）对淋巴转移性卵巢癌进行高亮度成像，用靶向肽对卵巢肿瘤上过表达的促性腺激素释放激素（gonadotropin–releasing hormone, GnRH）受体进行修饰后，将有更高成像质量的NIR–Ⅱ Pdots–GnRH静脉注射到腹膜转移性荷瘤小鼠体内，通过NIR–Ⅱ荧光成像清晰识别到肿瘤簇。Wu等[26]通过将羧酸酯酶作为模型靶点来触发酯的识别基团，并将铁氧还蛋白作为淬灭剂，苯并噻吩氯化物作为荧光标记物，开发了一种近红外荧光复合物，随后构建了荷瘤小鼠模型，给药后在不同时间点采集NIR荧光成像，结果表明，该NIR分子探针可有效示踪肿瘤，并具有良好的反应活性、细胞通透性和生物相容性。

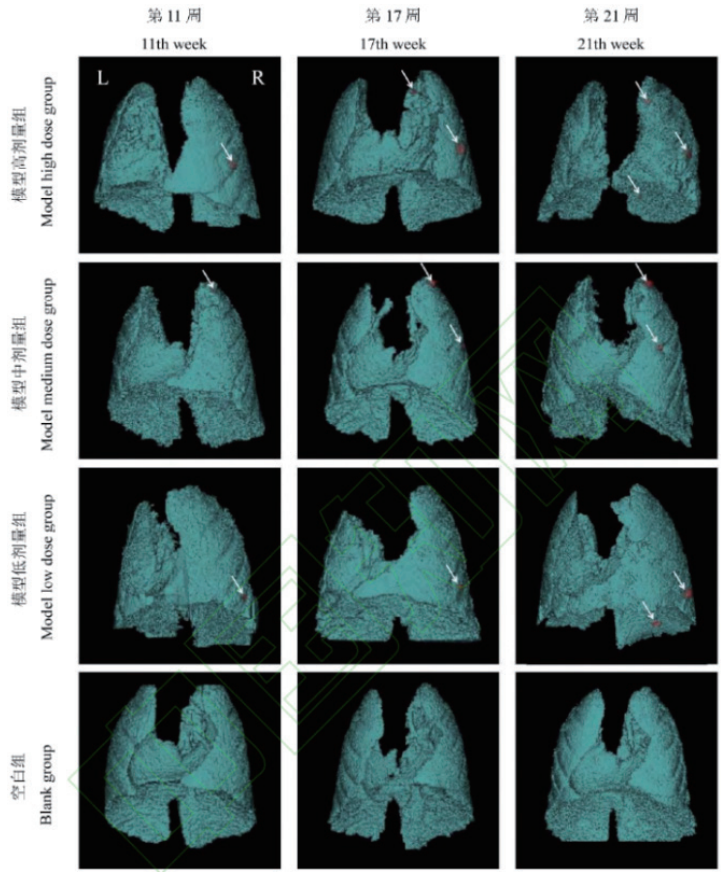


注：NIR为近红外活体成像技术；白色箭头指示肿瘤。

图2 利用NIR监测肿瘤血管系统[9]

3.3 Micro–CT 用于监测及动态追踪肿瘤生长过程

Zheng 等[27]在兔肿瘤模型中打入脂质体碘造影剂，通过 Micro–CT 对造影剂进行跟踪及生物分析，确定了全身器官或组织和肿瘤内的造影剂摄取率。同年，此造影剂也被用于乳腺癌小鼠模型，研究人员观察了肿瘤血管系统及肿瘤实质的生长动态变化[28–29]。Ekdawi 等[30]使用 Micro–CT 对小鼠异种移植肿瘤模型生长过程中脂质体的分布进行了更深入的研究。简芹等[31]通过腹腔注射乌拉坦构建了小鼠肺腺瘤模型，并首次采用 Micro–CT 对小鼠肺腺瘤的发生发展过程进行了连续实时监测，通过对不同时间点肺结节的数量、体积、病理学特征进行记录评价，建立了小鼠肺腺瘤动物模型方法，见图 3。Li 等[32]通过 Micro–CT 分析了 2 种类型（纳米颗粒与碘造影剂）的商业造影剂用于乳腺及卵巢肿瘤异种移植物成像时的结果差异，通过定性比较和定量分析，发现纳米颗粒造影剂稳定性较强，对血管系统监测效果好，碘造影剂更偏向于肿瘤整体的增强效果，但因其在血液中的半停留时间较短，导致不同组织的扫描结果差异较大，对时间和个体差异的敏感性较高。



注：Micro–CT 为活体三维断层扫描成像技术；白色箭头指示肺结节。

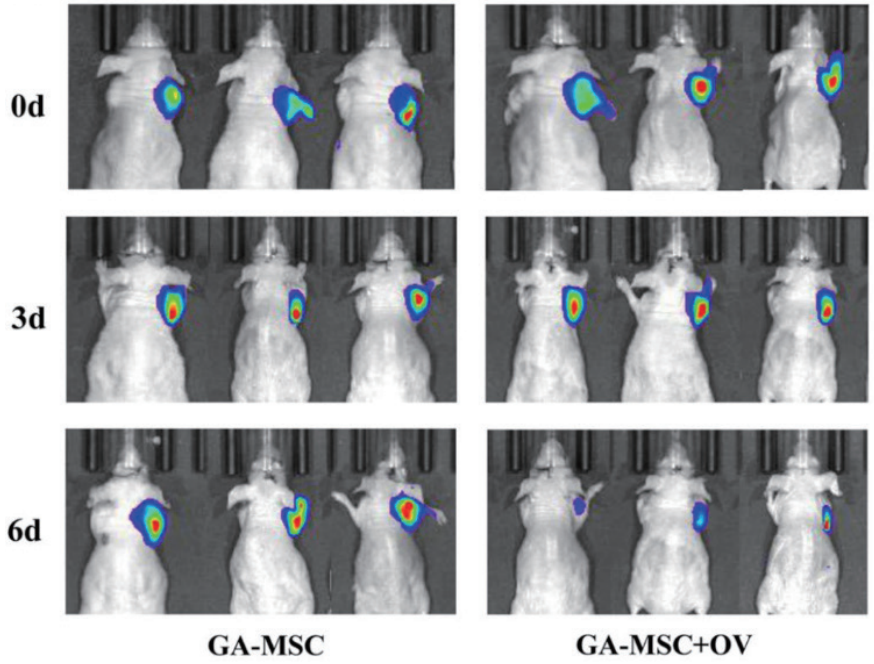
图 3 Micro–CT 观察小鼠肺腺瘤模型中给予不同剂量药物对肺部的影响[31]

4 小动物活体成像技术在肿瘤治疗领域的应用

4.1 活体光学三维成像技术用于肿瘤治疗研究

2020 年，Lei 等[33]使用 U 87 胶质瘤细胞建立颅内胶质瘤异种移植物，通过小动物活体光学三维成像技术监测肿瘤生长，通过对不同处理组别进行分析，发现选择性大麻素 2 激动剂 JWH133 可以显著抑制胶质瘤的生长。该研究为提高基于大麻素受体 2 的抗胶质瘤治疗效果提供了新的机制和策略。2021 年，Nakhjavani 等[34]联合使用人参皂苷 Rg3 异构体（SRg3 + RRg3）对模型进行治疗后，通过小动物活体光学三维成像技术无创监测肿瘤的生长和转移，发现治疗组的原发肿瘤明显减少，表明 Rg3 异构体有望成为三阴性乳腺癌患者的潜在治疗选择。Godugu 等[35]通过小动物活体光学三维成像技术对体内发光信号进行定量分析，发现经甲状腺整合素 $\alpha_v\beta_3$ 拮抗剂（thyrointegrin $\alpha_v\beta_3$ antagonist, fb–

PMT）治疗的异种移植小鼠肿瘤生长和癌细胞活力均显著降低，且停止治疗后无复发。该研究表明fb–PMT可定位于颅内胶质瘤，在体内啮齿动物疗效模型中非常有效。Zhang等[36]将胶质瘤相关间充质干细胞（glioma–associated mesenchymal stem cells，GA–MSCs）悬液或靶向GA–MSCs的溶瘤腺病毒Ad5–Ki67/IL–15（OV组）注射到小鼠模型肿瘤部位，使用活体光学三维成像技术对模型发光信号进行长期监测，统计分析发现OV组在颅内胶质瘤中展示出显著的抗肿瘤效果，这可能是一种潜在的颅内胶质瘤治疗方法，见图4。Lo等[37]使用活体光学三维成像技术首次发现来源于灵芝的真菌免疫调节蛋白可抑制肿瘤转移并延长肺荷瘤小鼠的生存率，或是一种抑制癌症转移的潜在药物。2024年，研究人员在*Rag2*$^{-/-}$*Il2rg*$^{-/-}$小鼠中建立了EO771和*NAT8L*敲除EO771的乳腺癌异种移植肿瘤模型，发现从野生型小鼠中分离出的自然杀伤细胞在敲除*NAT8L*的EO771异种移植物中表现出更高的疗效，提示*NAT8L*可能是免疫治疗的潜在靶点[38]。



注：GA–MSCs为胶质瘤相关间充质干细胞。

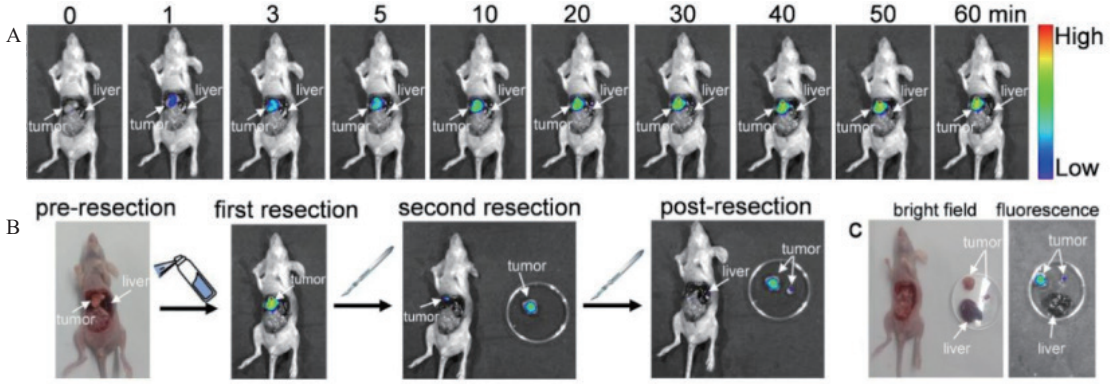
图4 活体光学三维成像技术示踪Ad5–Ki67/IL–15与GA–MSCs联合使用后不同天数的小鼠体内胶质母细胞瘤块大小[36]

4.2 NIR用于原发肿瘤治疗及转移灶消除研究

研究表明，NIR–Ⅱ活体荧光成像引导下的肿瘤手术是一种很有前途的早期检测方法[39]。该技术优点包括：NIR–Ⅱ光谱中生物组织的低自发荧光背景可提供更大的对比度；减少组织散射，产生高信噪比，产生清晰的肿瘤边界；来自环境照明的干扰最小等。此外，NIR–Ⅱ高时空分辨率的特点还可以用来检测和消除原发和转移部位的小病变。

Wen等[40]通过NIR–Ⅱ荧光纳米链探针APP–AgS–RGD及含有萤火虫荧光素酶报告基因的U87–MG癌细胞构建了小鼠肿瘤腹膜转移模型，在NIR–Ⅱ活体荧光成像辅助下进行肿瘤切除，并定量分析了肿瘤结节的荧光强度。Fan等[41]开发了一种兼具优良NIR–Ⅱ荧光亮度与光热性能的有机纳米探针。该探针可有效标记淋巴结，实现高对比度的淋巴成像。此外，通过不同特征纳米颗粒的联合使用，进一步实现了多通道NIR–Ⅱ引导下的淋巴结切除术。Bian等[42]利用肿瘤生存环境基本为酸性这一特征，开发了可用于肿瘤成像诊断的pH激活探针PTG。该探针可平衡NIR–Ⅱ的荧光亮度和光热反应，与血管破坏剂结合后形成PTDG纳米颗粒，可用于实时监测肿瘤的血管破坏过程，在此基础上通过NIR–Ⅱ活体成像技术（激发光波长：808 nm）对肿瘤携带小鼠的肿瘤进展进行长期跟踪，实现了在治疗过程

中对肿瘤血管破坏过程的实时监测。Chen等[43]利用叶酸受体靶向吲哚菁绿（folate receptor–targeted indocyanine green, FPH–ICG）纳米探针在NIR–Ⅱ引导下进行了小鼠肿瘤消除手术，发现靶向FPH–ICG纳米探针显著提高了NIR–Ⅱ成像的肿瘤边缘勾画精度，且对表达叶酸受体α的卵巢癌细胞具有显著亲和力，有助于在小鼠模型和临床样本中实现肿瘤边缘的精确可视化。同年，Wu等[26]在NIR引导下进行了小鼠原位肝肿瘤模型的肿瘤切除术，见图5。



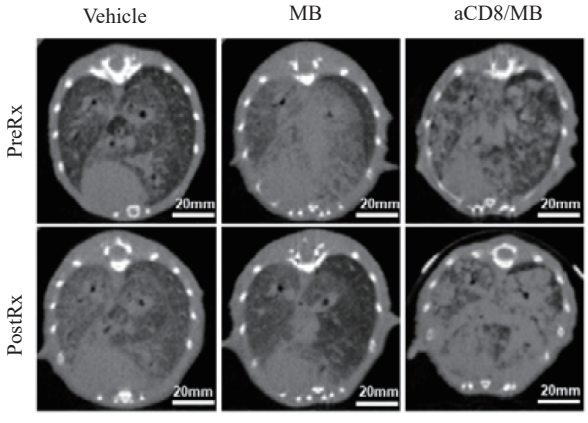
注：NIR为近红外活体成像技术；白色箭头指示大肿瘤、小肿瘤及肝脏部位。

图5 NIR引导下的小鼠原位肝肿瘤模型肿瘤切除术[26] A为肝脏肿瘤的原位荧光成像；B为近红外荧光成像引导下的肿瘤切除术；C为小鼠新鲜肝脏及分离出的肿瘤明场与荧光成像

4.3 Micro–CT用于小鼠肿瘤及异种移植模型治疗研究

近年来，小鼠肿瘤模型在肿瘤学研究中发挥了重要作用。与其他成像方法相比，Micro–CT在保证非侵入性的3D成像能力的同时具有更高的空间及时间分辨率、更快的扫描速度、样本易于处理且成本更低等优势。

Wang等[44]设计了一个聚乙二醇化空心金纳米粒子mPEG@ HGNPs，通过在异种移植及原位乳腺癌肿瘤模型中注射该粒子并进行Micro–CT成像，发现该纳米粒子表现出良好的肿瘤靶向作用。同年，Zhou等[45]设计了富碘半导体聚合物纳米颗粒（iodine–rich semiconducting polymer nanoparticles, SPN–I），构建肺癌细胞异种移植瘤小鼠模型，发现SPN–I诱导的光动力疗法可部分抑制肿瘤生长。Liang等[46]通过Micro–CT监测并评估了自发非小细胞肺癌小鼠在重组病毒感染强制表达干扰素调节因子8（interferon regulatory factor 8, *IRF8*）下的肿瘤抑制效果，发现肿瘤细胞中*IRF8*的异位表达导致了肿瘤结节的消退。2020年，该团队使用表皮生长因子受体858位氨基酸突变（*EGFR L858R*）细胞构建小鼠肿瘤模型并通过Micro–CT记录肿瘤负荷，监测亚甲基蓝（methylene blue, MB）对人表皮因子生长受体突变转基因小鼠自发肺腺癌的药效作用，发现MB对异种移植肺癌模型表现出了优越的治疗效果[47]，见图6。Song等[48]利用活体光学三维成像技术和Micro–CT对肿瘤进行监测的同时研究5–氟尿嘧啶（5–Fluorouracil, 5–FU）对肿瘤的治疗效果，发现静脉注射5–FU可降低转移性结直肠癌细胞的活力，并延长其生存期。上述3种小动物活体成像技术在肿瘤研究领域的应用案例汇总见表2。



注：Micro–CT为活体三维断层扫描成像技术。

图6 Micro–CT记录*EGFR L858R*小鼠的肿瘤负荷情况[47]

表2 3种小动物活体成像技术在肿瘤研究领域的应用案例汇总

技术名称	应用领域	肿瘤类型	设置参数	参考文献
活体光学三维成像技术	肿瘤疾病发展的动态追踪	乳腺癌	620 ~ 660 nm激发	Winnard等[16]
	对肿瘤模型内细胞进行发光监测	宫颈癌	曝光时间：1 min	Iwano等[17]
	不同肿瘤建模方法后的肿瘤生长情况监测	肺癌	曝光时间：自动，像素补充因子：8，光圈系数：2	安国等[18]
	肿瘤生长长期监测	乳腺癌	3D解码器训练轮次：60，批次大小：32	郑南南等[19]
	定期监测肿瘤肺转移信号	乳腺癌	—	Han等[20]
	监测纳米颗粒和肿瘤生长转移情况	三阴性乳腺癌	630 nm激发，680 nm发射	Zhang等[21]
	监测生物发光强度及肿瘤体积	淋巴管肌瘤	生物发光	Feng等[22]
	肿瘤转移动态分析	肺癌	—	Wang等[23]
NIR	厚组织中肿瘤血管高分辨成像	肩部肿瘤	800 nm激发，功率0.13 W·cm^{-2}	Welsher等[9]
	观察肿瘤内血管系统	卵巢癌	730 nm激发，900 ~ 1 400 nm发射	Williams等[24]
	肿瘤模型高亮度成像	卵巢癌	730 nm激发，1 100 nm发射	Zhou等[25]
	荷瘤小鼠给药后肿瘤生长监测	肝癌	640 nm激发，650 ~ 750 nm发射	Wu等[26]
Micro-CT	脂质体造影剂在肿瘤内分布情况	VX2肉瘤	电压80 kV，电流200 mA	Zheng等[27]
	肿瘤实质生长动态变化	乳腺癌	电压40 kV，电流400 mA	Samei等[28]、Ghaghada等[29]
	肿瘤生长过程中脂质体分布情况	宫颈癌	电压80 kV，电流50 μA	Ekdawi等[30]
	肿瘤转移动态分析	肺腺瘤	电压70 kV，电流80 μA	简芹等[31]
	两种造影剂用于肿瘤异种移植物的生长监测	乳腺和卵巢肿瘤	电压80 kV，电流80 μA	Li等[32]

注：NIR为近红外活体成像技术；Micro-CT为活体三维断层扫描成像技术。

5 总结与展望

综上，小动物活体成像技术通过辅助揭示肿瘤的分子特征、动态过程和微环境变化，为基础研究、临床早期诊断、精准分型、疗效评估及个体化治疗等提供了强大的成像手段。在肿瘤生长转移监测及治疗中，活体光学三维成像技术扫描速度快、通量高、辐射剂量低、涵盖波段广，其独特的透射技术可在集中激发能量的前提下，大大降低自发背景荧光，结合荧光标记等技术，可用于同步解析活体样本功能与结构变化。Erickson等[49]首次使用便携式手持活体光学成像技术结合自动配准技术，在人体乳腺组织中实现三维荧光断层扫描，并利用实时配准图像技术对乳腺组织中的荧光靶点完成三维重建，证实了该技术在浅表肿瘤无创检测中的临床转化潜力。Kuppler等[50]将兆赫兹级光学相干断层扫描技术集成于显微镜，通过非接触式方式获取脑肿瘤区域的三维光学图像并结合AI分析，识别肿瘤残留情况的准确率达85%，可检出术中肉眼难以辨识的微小残留病灶，显著降低术后复发风险。NIR穿透深度大，可突破生物组织散射限制；信噪比高，可探测到生物样本更深的区域；可辅助实时手术导航，用于术中精准定位肿瘤边界。Hu等[51]首次将NIR-Ⅱ成像技术用于指导原发及转移性肝脏肿瘤的手术切除。Cao等[52]利用NIR-Ⅱ成像技术，助力Ⅲ/Ⅳ级神经胶质瘤切除手术的开展。Guo等[53]设计了结直肠癌特异性NIR-Ⅱ探针2D 5-IRDye800CW，并在NIR-Ⅱ成像引导下，成功实现结直肠癌残留肿瘤病灶和腹膜转移灶的准确识别及切除。Micro-CT作为非侵入性成像技术，具有分辨率高、成像快、辐射剂量低、安全无创的特点，在保证样本完整性的前提下，更易于观察生物的组织切面结构。McClatchy等[54]的研究证实，Micro-CT

可在乳腺癌相关保乳手术中快速评估手术切缘，显著提高评估准确率。该技术有助于指导更精准的手术决策，减少不必要的二次手术，为术中实现精准保乳提供了创新解决方案。Troschel等[55]研究表明，对人类肺癌标本进行围手术期Micro–CT检测能清晰显示肿瘤微观结构及与周围组织的关系，提示Micro–CT在肺癌标本的快速评估和手术决策辅助方面具有潜在应用价值。以上表明，小动物活体成像技术已初步实现从动物实验到临床应用的转化路径。

随着成像技术的创新和发展，小动物活体成像技术逐步从静态描述向动态解析、从单一模态向多维融合的应用方式转变。未来发展可能聚焦以下几点：①提高成像分辨率与穿透深度，深入光学成像在深层组织的应用研究；②融合多模态成像，结合各种活体成像技术如PET–MRI、PET–生物发光断层成像（bioluminescence tomography, BLT）的优势，为研究者提供更全面的解剖、功能和分子信息；③开发更高特异性、更高灵敏度的分子探针。今后，小动物活体成像技术将进一步用于人源化模型及临床转化，通过建立可靠的分析方法和标准，促进不同研究间的比较和临床应用。此外，随着人工智能的发展，结合人工智能与影像组学，利用AI从海量成像数据中提取深层次特征，可用于精准诊断、预后预测和治疗反应评估，同时加速临床转化，将临床前验证有效的成像方法和分子探针，应用到肿瘤临床诊疗等方面。

然而，小动物活体成像技术发展过程中也面临着一些挑战，如小动物活体光学成像系统存在光源光毒性，荧光染料存在稳定性、穿透性、生物相容性和多色荧光通道成像串色等方面的问题。Micro–CT通常会产生海量数据，对数据存储、算法分析和计算资源都构成了严峻挑战。另外，小动物活体成像设备对于清醒活体的长时间观测仍然受限，需在技术上突破。相信随着新型标记探针的开发、AI驱动影像大数据分析技术的发展及其他技术的交叉融合，将进一步提升活体成像技术在肿瘤研究和临床实践中的价值，实现“功能—结构—分子”三位一体成像，推动精准医疗向单细胞精度和秒级响应时代跃进。

[参 考 文 献]

[1] 李舒琦,骆国权,陈钰,等.相干拉曼散射显微及其活体成像最新研究进展[J].光谱学与光谱分析, 2025, 45(7): 1801–1808.

[2] Zhu L, Yi C, Fei P. A practical guide to deep–learning light–field microscopy for 3D imaging of biological dynamics[J]. STAR Protoc, 2023, 4(1): 102078.

[3] 张晓辉,罗晓芸,肖美玲,等.肿瘤影像学：临床应用现状、进展及挑战[J].实用肿瘤杂志, 2024, 39(6): 514–520.

[4] 牟亚男,张静,庞雅萱,等.血氧水平依赖磁共振成像评估肿瘤缺氧的研究进展[J].磁共振成像, 2025, 16(7): 215–220, 226.

[5] Dai B, Zhang R, Qi S, et al. Intravital molecular imaging reveals that ROS–caspase–3–GSDME–induced cell punching enhances humoral immunotherapy targeting intracellular tumor antigens[J]. Theranostics, 2022, 12(17): 7603–7623.

[6] 杜平,杨小涵,肖和,等.近红外二区发光探针及生物成像[J/OL].发光学报, 2025: 1–16 (2025–05–30)[2025–07–22]. https://cjl.lightpublishing.cn/zh/article/doi/10.37188/CJL.20250130/.

[7] Sun X, Wu T, Chen S, et al. OTUD1 inhibits osteoclast differentiation and osteoclastic bone loss through deubiquitinating and stabilizing PRDX1[J]. Theranostics, 2025, 15(14): 6719–6736.

[8] 倪沪桅,钱骏.近红外二区荧光成像技术的临床研究进展[J].红外与毫米波学报, 2023, 42(6): 896–906.

[9] Welsher K, Liu Z, Sherlock S P, et al. A route to brightly fluorescent carbon nanotubes for near–infrared imaging in mice[J]. Nat Nanotechnol, 2009, 4: 773–780.

[10] Diao S, Blackburn J L, Hong G, et al. Fluorescence imaging in vivo at wavelengths beyond 1500 nm[J]. Angew Chem Int Ed Engl, 2015, 54(49): 14758–14762.

[11] Luo X, Chen M ,Yang Q. Research progress on near infrared II technology for in vivo imaging[J]. Acta Chimica Sinica, 2020, 78(5): 373–381.

[12] Wu D D, Pan L, Zhou Z, et al. Development of NIR–II small animal living fluorescence imaging system[J]. Acta Pharmacol Sin, 2024, 73(7): 078701.

[13] 阙步军,彭士屹,耿伟航,等.近红外二区荧光宽场显微活体成像技术和应用[J].红外与毫米波学报, 2022, 41(1): 181–198.

[14] Song S, Fu Z, Guan R, et al. Intracellular hydroxyproline imprinting following resolution of bleomycin–induced pulmonary fibrosis[J]. Eur Respir J, 2022, 59(5): 2100864.

[15] Ashton J R, West J L, Badea C T. In vivo small animal micro–CT using nanoparticle contrast agents[J]. Front Pharmacol, 2015, 6: 256.

[16] Winnard P T, Kluth J B, Raman V. Noninvasive optical tracking of red fluorescent protein–expressing cancer cells in a model of metastatic breast cancer[J]. Neoplasia, 2006, 8(10): 796–806.

[17] Iwano S, Sugiyama M, Hama H, et al. Single–cell bioluminescence imaging of deep tissue in freely moving animals[J]. Science, 2018, 359(6378): 935–939.

[18] 安国,许辉,张文龙,等.小动物活体成像系统Spectrum–CT在人肺癌裸鼠原位移植瘤模型建立中的应用[J].肿瘤研究与临床, 2020, 32(4): 250–255.

[19] 郑南南,黄钢.小动物活体光学三维成像系统及其对乳腺癌的定量分析[J].激光生物学报, 2022, 31(3): 215–223.

[20] Han B, Zhang H, Tian R, et al. Exosomal EPHA2 derived from highly metastatic breast cancer cells promotes angiogenesis by activating the AMPK signaling pathway through Ephrin A1–EPHA2 forward signaling[J]. Theranostics, 2022, 12(9): 4127–4146.

[21] Zhang Y, Han X, Wang K, et al. Co–delivery nanomicelles for potentiating TNBC immunotherapy by synergetically reshaping CAFs–mediated tumor stroma and reprogramming

immunosuppressive microenvironment［J］. Int J Nanomedicine, 2023, 18: 4329–4346.
［22］Feng Y, Li T, Li Y, et al. Glutaredoxin–1 promotes lymphangio–leiomyomatosis progression through inhibiting Bim–mediated apoptosis via COX2/PGE2/ERK pathway［J］. Clin Transl Med, 2023, 13(7): e1333.
［23］Wang M, Pan Z, Chu X, et al. Chemotherapy–induced PTEN–L secretion promotes the selection of PTEN–deficient tumor cells［J］. J Exp Clin Cancer Res, 2024, 43: 140.
［24］Williams R M, Lee C, Galassi T V, et al. Noninvasive ovarian cancer biomarker detection via an optical nanosensor implant［J］. Sci Adv, 2018, 4(4): eaaq1090.
［25］Zhou X, Liu Q, Yuan W, et al. Ultrabright NIR–II emissive polymer dots for metastatic ovarian cancer detection［J］. Adv Sci (Weinh), 2021, 8(4): 2000441.
［26］Wu X, Deng Y, Wang R, et al. Rational design of an activatable near–nfrared fluorogenic platform for in vivo orthotopic tumor imaging and resection［J］. Angew Chem Int Ed Engl, 2024, 64(4): e202416877.
［27］Zheng J, Jaffray D, Allen C. Quantitative CT imaging of the spatial and temporal distribution of liposomes in a rabbit tumor model［J］. Mol Pharm, 2009, 6(2): 571–580.
［28］Samei E, Saunders R S, Badea C T, et al. Micro–CT imaging of breast tumors in rodents using a liposomal, nanoparticle contrast agent［J］. Int J Nanomedicine, 2009, 4: 277–282.
［29］Ghaghada K B, Badea C T, Karumbaiah L, et al. Evaluation of tumor microenvironment in an animal model using a nanoparticle contrast agent in computed tomography imaging［J］. Acad Radiol, 2011, 18(1): 20–30.
［30］Ekdawi S N, Stewart J M P, Dunne M, et al. Spatial and temporal mapping of heterogeneity in liposome uptake and microvascular distribution in an orthotopic tumor xenograft model［J］. J Control Release, 2015, 207: 101–111.
［31］简芹,向思睿,王楚楚,等.基于 Micro–CT 的 BALB/c 小鼠肺腺瘤动物模型研究［J］.中国实验动物学报, 2024, 32(4): 485–492.
［32］Li M, Guo X, Verma A, et al. Contrast–enhanced photon–counting micro–CT of tumor xenograft models［J］. Phys Med Biol, 2024, 69(15): 155011.
［33］Lei X, Chen X, Quan Y, et al. Targeting CYP2J2 to enhance the anti–glioma efficacy of cannabinoid receptor 2 stimulation by inhibiting the pro–angiogenesis function of M2 microglia［J］. Front Oncol, 2020, 10: 574277.
［34］Nakhjavani M, Smith E, Palethorpe H M, et al. Anti–cancer effects of an optimised combination of ginsenoside Rg3 epimers on triple negative breast cancer models［J］. Pharmaceuticals (Basel), 2021, 14(7): 633.
［35］Godugu K, Hay B A, Glinsky G V, et al. Discovery of novel thyrointegrin α v β 3 antagonist fb–PMT (NP751) in the management of human glioblastoma multiforme［J］. Neurooncol Adv, 2023, 5(1): vdac180.
［36］Zhang Q, Zhang J, Wang P, et al. Glioma–associated mesenchymal stem cells–mediated PD–L 1 expression is attenuated by Ad5–Ki67/IL–15 in GBM treatment［J］. Stem Cell Res Ther, 2022, 13(1): 284.
［37］Lo H C, Hua W J, Yeh H, et al. GMI, a Ganoderma microsporum protein, abolishes focal adhesion network to reduce cell migration and metastasis of lung cancer［J］. Life Sci, 2023, 335: 122255.
［38］Li Y, Huang M, Wang M, et al. Tumor cells impair immunological synapse formation via central nervous system–enriched metabolite［J］. Cancer Cell, 2024, 42(6): 985–1002.
［39］Schmidt E L, Ou Z, Ximendes E, et al. Near–infrared II fluorescence imaging［J］. Nature Reviews Methods Primers, 2024, 4: 23.
［40］Wen Q, Zhang Y, Li C, et al. NIR–II fluorescent self - assembled peptide nanochain for ultrasensitive detection of peritoneal metastasis［J］. Angew Chem Int Ed Engl, 2019, 58(32): 11001–11006.
［41］Fan X, Li Y, Feng Z, et al. Nanoprobes–assisted multichannel NIR–II fluorescence imaging–guided resection and photothermal ablation of lymph nodes［J］. Adv Sci (Weinh), 2021, 8(9): 2003972.
［42］Bian S, Zheng X, Liu W, et al. pH–responsive NIR–II phototheranostic agents for in situ tumor vascular monitoring and combined anti–vascular/photothermal therapy［J］. Biomaterials, 2023, 303: 122380.
［43］Chen Z, Huang L, Gao D, et al. High spatiotemporal near–infrared II fluorescence lifetime imaging for quantitative detection of clinical tumor margins［J］. Adv Sci (Weinh), 2025, 12(5): e2411272.
［44］Wang R, Deng J, He D, et al. PEGylated hollow gold nanoparticles for combined X–ray radiation and photothermal therapy in vitro and enhanced CT imaging in vivo［J］. Nanomedicine, 2019, 16: 195–205.
［45］Zhou W, Chen Y, Zhang Y, et al. Iodine–rich semiconducting polymer nanoparticles for CT/fluorescence dual–modal imaging–guided enhanced photodynamic therapy［J］. Small, 2020, 16(5): e1905641.
［46］Liang J, Lu F, Li B, et al. IRF8 induces senescence of lung cancer cells to exert its tumor suppressive function［J］. Cell Cycle, 2019, 18(23): 3300–3312.
［47］Fan Z, Tian Y, Chen Z, et al. Blocking interaction between SHP2 and PD–1 denotes a novel opportunity for developing PD–1 inhibitors［J］. EMBO Mol Med, 2020, 12(6): e11571.
［48］Song W J, Zhang F, Wang Z Y, et al. Colorectal cancer mouse metastasis model combining bioluminescent and micro–computed tomography imaging for monitoring the effects of 5–fluorouracil treatment［J］. Transl Cancer Res, 2023, 12(10): 2572–2581.
［49］Erickson S J, Martinez S L, DeCerce J, et al. Three–dimensional fluorescence tomography of human breast tissues in vivo using a hand–held optical imager［J］. Phys Med Biol, 2013, 58(5): 1563–1579.
［50］Kuppler P, Strenge P, Lange B, et al. The neurosurgical benefit of contactless in vivo optical coherence tomography regarding residual tumor detection: a clinical study［J］. Front Oncol, 2023, 13: 1151149.
［51］Hu Z, Fang C, Li B, et al. First–in–human liver–tumour surgery guided by multispectral fluorescence imaging in the visible and near–infrared–I/II windows［J］. Nat Biomed Eng, 2020, 4(3): 259–271.
［52］Cao C, Jin Z, Shi X, et al. First clinical investigation of near–infrared window IIa/IIb fluorescence imaging for precise surgical resection of gliomas［J］. IEEE Trans Biomed Eng, 2022, 69(8): 2404–2413.
［53］Guo X, Li C, Jia X, et al. NIR–II fluorescence imaging–guided colorectal cancer surgery targeting CEACAM5 by a nanobody［J］. EBioMedicine, 2023, 89: 104476.
［54］McClatchy D M, Zuurbier R A, Wells W A, et al. Micro–computed tomography enables rapid surgical margin assessment during breast conserving surgery (BCS): correlation of whole BCS micro–CT readings to final histopathology［J］. Breast Cancer Res Treat, 2018, 172(3): 587–595.
［55］Troschel F M, Gottumukkala R V, DiCorpo D, et al. Feasibility of perioperative micro–computed tomography of human lung cancer specimens: a pilot study［J］. Arch Pathol Lab Med, 2019, 143(3): 319–325.