

Research
Pharmaceutical Engineering—Review

利用纳米粒子进行肿瘤分子成像

程震^a, 闫雪峰^{b,c}, 孙夕林^{b,c}, 申宝忠^{b,c,*}, Sanjiv Sam Gambhir^{a,d,*}^a Molecular Imaging Program at Stanford, Department of Radiology, Stanford University, Stanford, CA 94305, USA^b Molecular Imaging Research Center of Harbin Medical University, Harbin 150001, China^c TOF-PET/CT/MR Center, The Fourth Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, China^d Departments of Bioengineering & Materials Science and Engineering, Bio-X Program, Canary Center at Stanford for Cancer Early Detection, Stanford University, Stanford, CA 94305, USA

ARTICLE INFO

Article history:

Received 5 January 2016

Revised 7 March 2016

Accepted 9 March 2016

Available online 31 March 2016

关键词

肿瘤
分子成像
纳米粒子

摘要

分子成像不仅可以利用传统成像技术提供结构图像,也可利用许多新的成像技术提供生物功能信息和分子信息。在过去的几十年间,纳米技术在分子成像中的应用显示了许多明显的优势,并且为活体成像提供了新的机遇。多模态纳米粒子可对肿瘤的生物性和微环境做出精确评估。本文讨论了与工程化纳米粒子相关的话题,并总结了近几年来这些纳米结构在恶性肿瘤光学成像、超声成像、光声成像、磁共振成像和放射性核素显像中的应用;同时,还讨论了将纳米粒子应用到临床医学中面临的主要挑战。

© 2016 THE AUTHORS. Published by Elsevier LTD on behalf of Chinese Academy of Engineering and Higher Education Press Limited Company. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

1. 引言

癌症是目前世界上主要的致死原因[1]。中国人口占世界总人口的20%,而新增癌症病例及癌症死亡人数分别占全世界的29.42%和27%。2012年,中国的癌症发病率为1.74‰,死亡率为1.22‰。在中国,一般来说胃癌和肝癌的发病率最高,但近几年,肺癌发病率升高,成为对人类健康和生命威胁最大的癌症之一。尽管诊断技术的巨大进步引导了研究者对癌症知识进行研究和探索,但由于传统诊断技术的选择性和灵敏度较弱,仍然只有少数癌症患者可在早期被诊断出来。

传统成像技术主要反映了能将病变组织与正常组织区分开的解剖学变化,而无法测定导致疾病的生物学过

程。分子成像(MI)是一个快速发展起来的生物医学研究方法,它能够在生物体细胞和分子水平上实现生物学过程的可视化显示、特征描述和量化[3–5]。目前可用的MI形式包括以下几种:荧光和生物发光成像、靶向超声(US)成像、分子磁共振成像(MRI)、磁共振波谱成像(MRS)、单光子发射计算机断层成像(SPECT)和正电子发射断层成像(PET)。MI需要可在被研究位置积累且允许成像的探针和信标。但有些MI技术会受到以下限制:空间分辨率较低、灵敏度较低或信号的组织穿透能力较弱。例如,光学成像因为穿透深度有限,所以分辨率较差,而MRI虽然可以对较深处的组织成像,但灵敏度太低(表1)。

纳米粒子(NP)是一种新兴的MI造影剂,可克服检

* Corresponding authors

E-mail addresses: sgambhir@stanford.edu; shenbzh@vip.sina.com

测人体疾病时遇到的主要障碍。NP通过被动积累和(或)主动靶向的方式,在准确诊断癌症方面具有巨大潜力。另外,NP具有较高的有效载荷承载能力、较高的信号强度和稳定性,可以将高浓度的造影剂输送到目标区域。NP通常比细胞小[7],尺寸上与蛋白质分子相当[8]。

历史上,许多开发出来的NP被认为是基于实体瘤的高通透性和滞留(EPR)效应在肿瘤中积累的,在纳米医学研究中,这种现象被认为是实体恶性肿瘤的普遍特征,可通过治疗性和诊断性NP作为被动肿瘤靶向的基础[9-17]。EPR效应最早被报道为将大分子药物输送至肿瘤的概念[18]。但是EPR效应的异质性引发了关于该效应实际价值的辩论。许多实验科学家、药理学家和纳米技术工程师坚持实体瘤是由均匀组织构成的这一前提,即肿瘤是同质性的[19]。然而事实并非如此。因此,研究者开始寻求新的策略,如主动靶向NP。靶向NP兼具高灵敏度和高特异性,可在肿瘤位置实现高积累[20-23]。主动靶向需要通过将治疗剂或载体系统结合到某个组织或细胞特异性配体上来把治疗剂引导至目标位点。另外,采用含各种基团的靶向NP延伸出的多个结合位点,可为特定肿瘤位点的靶向提供更高的结合效率。

很多文章总结了目前纳米技术在MI中的应用[24]。本文简要介绍了用于MI的纳米技术的最新发展,并提出了在目前成像技术的临床转化中的纳米平台的缺陷和未来面临的挑战。

2. 纳米平台

大量基于NP的系统为多种成像形式开发了纳米平台。这些使用不同材料制备而成的NP在成分、尺寸、

形状和结构上千差万别[25,26]。这些不同材质的NP的形状不一,包括从常规的球形、棒形和立方体到呈类似雪花状、花状、刺尖状、半球状、蠕虫状、盘状和链状等各种形状,这为疾病诊断和治疗的结合,即“治疗诊断学”(治疗+诊断)应用,提供了多种成像形式(如光学成像、MRI、US成像和(或)核成像)。如前所述,NP是通过被动和(或)主动靶向途径对肿瘤进行靶向定位。由于肿瘤组织中脉管系统的异常渗漏和有效的淋巴引流系统的缺乏,NP会在肿瘤组织被动积累。这些独特的现象统称为EPR效应。此外,NP在被肿瘤靶向基团,如抗体、核酸、蛋白质或其他配体修饰后,可以通过由受体介导的胞吞作用来识别、结合并内化进入肿瘤细胞。本节将介绍典型的一体化纳米平台及其在癌症诊疗中的应用。

2.1. 光学纳米粒子

光学成像具有高灵敏度、高性价比、无电离辐射和应用于小动物研究的巨大潜力。然而光的穿透深度限制了光学成像在深层组织成像上的应用,这也是其在人类活体成像应用中的主要缺点;因此,光学成像在活体成像研究中通常不可定量。研究人员已针对小动物成像研发出多种探针,包括合成荧光素、半导体荧光晶体和基于镧系稀土离子的探针[27-29]。

量子点(QD)是研究最广泛的NP,被用于临床前光学成像。与有机荧光素相比,QD在生物成像方面表现出很多优良特性,如较强的抗光漂白能力和抗化学降解能力、较高的量子产率、连续的吸收光谱(从紫外(UV)至近红外(NIR))和较大的有效斯托克斯位移[30-33]。精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(RGD)-QD可以选择性地与老鼠的肿瘤新生血管腔内皮细胞相结合[34]。然而由于

表1 分子成像模式

Modality	Form of energy used	Spatial resolution (mm)	Advantages	Imaging cost	Clinical translation
Fluorescence imaging	Visible to infrared light	< 1 (fluorescence reflectance imaging, FRI); 1 (fluorescence molecular tomography, FMT)	High sensitivity; multiplexed imaging	Low (FRI); medium-high (FMT)	Yes
Bioluminescence imaging	Visible to infrared light	3-5	High sensitivity; high-throughput	Low	No
Ultrasound (US)	High frequency sound waves	0.04-0.1 (small-animal US); 0.1-1 (clinical US)	High sensitivity; portable	Low-medium	Yes
Positron emission tomography (PET)	Annihilation photons	1-2 (micro PET); 6-10 (clinical PET)	High sensitivity; quantitative; tracer amount of probe	High	Yes
Single-photon-emission computed tomography (SPECT)	Gamma rays	0.5-2 (micro SPECT); 7-15 (clinical SPECT)	High sensitivity; quantitative; tracer amount of probe	Medium-high	Yes
Magnetic resonance imaging (MRI)	Radio frequency waves	0.01-0.1 (small-animal MRI); 0.5-1.5 (clinical MRI)	High sensitivity; quantitative; tracer amount of probe	High	Yes

QD尺寸较小，其在肿瘤内的滞留性较差，很容易被冲回血流中[33](图1)。不过，QD在临床应用中的关键缺陷还是其潜在的毒性以及深层组织成像和定量能力的缺乏[35]。在小动物PET的帮助下，研究人员发现用放射性同位素标记过的QD可被网状内皮系统(RES)、肝和脾快速吸收[36,37]。为了减少RES对QD的吸收，研究人员开发出了人血清白蛋白(HSA)用于QD800-巯基丙酸(MPA) NP的外表修饰。结果显示，与QD800-MPA相比，QD800-MPA-HSA NP在与单核巨噬细胞系统相关的器官内的数量较少，这很可能是因为巨噬细胞对QD800-MPA-HSA的吸收率较低。QD800-MPA-HSA在活体荧光成像方面可能具有巨大潜力[38]。经Affibody修饰的QD在靶向表达人表皮生长因子受体2(HER2)的细胞和肿瘤时也显示出了较高的特异性[39]。

可融入或封入聚合NP的染色剂包括吲哚菁绿(ICG)[40]、NIR荧光染料Cy7[41]和二烷基羰菁类荧光素[42]，这些染色剂已经通过美国食品药品监督管理局(FDA)的认证。纳米平台策略是一种可使光学成像克服游离的小染料分子的缺陷的有效方法[43,44]。为了实现NIR染色剂至肿瘤位置的运输，人们研究了多种纳米载

体，包括脂质体、二氧化硅、聚合物泡囊和靶向稀土纳米晶体[45]。

为了解决光穿透问题及实现深层组织成像，辐射-冷发光激活的荧光素如QD可通过模仿天然的生物发光共振能量转移(BRET)过程用于活体光学多路复用成像。在这一过程中，化学能被转化为光子，进而激活QD[46]。上转换纳米粒子(UCNP)发挥了NIR至UV的光子上转换优势，从而引发D-荧光素从结合了D-荧光素的UCNP中被释放出来。被释放的D-荧光素具有较强的光穿透能力，并可在几乎不损伤细胞的条件下有效地增强离体和活体的荧光和生物发光信号[47]。

切伦科夫光学成像是一种新成像形式，类似于可以捕捉由切伦科夫辐射发出的可见光子的生物发光成像[48]。辐射发光纳米荧光粉(RLNP)在组合的X射线/光学成像模态的研发中被用作MI探针，如X射线发光计算机断层扫描(XLCT)[49-51]。在生理条件下，聚乙二醇化的 Eu^{3+} 掺杂的纳米荧光粉在 ^{18}F 放射性同位素或X射线的激发下可发出冷光。这种能力为新的成像模式提供了潜在可能，如XLCT或深层组织切伦科夫光学成像[52]。

与荧光的吸收/发射相反，拉曼光谱基于光散射现

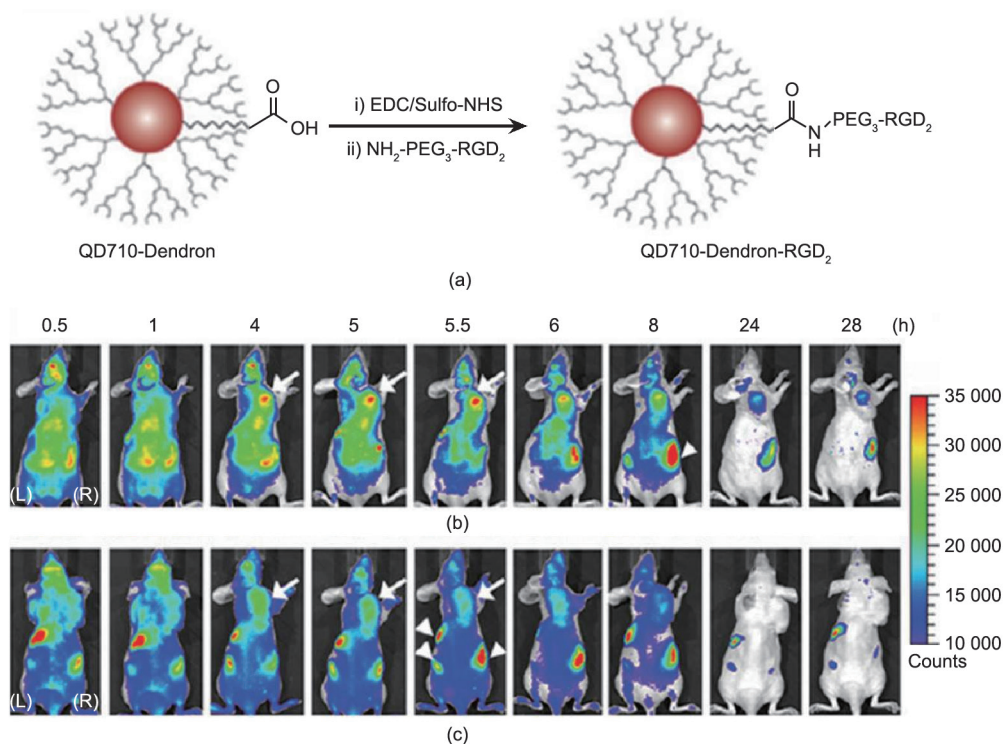


图1. (a) QD710-Dendron-RGD₂缀合物的结构和合成。带羧酸盐端基的QD710-Dendron通过碳化二亚胺耦合与RGD二聚物结合。注射了(b) QD710-Dendron-RGD₂ (200 pmol)和(c) QD710-Dendron (200 pmol)的SKOV3荷瘤(箭头所示)小鼠的活体近红外荧光成像背部图(L为左侧;R为右侧),成像时间分别为注射后0.5 h、1 h、4 h、5 h、5.5 h、6 h、8 h、24 h和28 h。其他身体部位(箭头所示)偶然出现的较高的荧光信号可能来自胃中常见的啮齿动物的食物和小肠中的排泄物。本图改编自参考文献[33],已经Gao等许可,© 2012美国化学学会。

象，且拉曼活性分子与易发生光学漂白的荧光素相比具有更强的光稳定性。表面增强拉曼光谱(SERS)、活性NP和单壁纳米管(SWNT)可通过利用拉曼光谱实现小型活体的无损成像[53,54]。Affibody功能化的金硅NP在结肠癌小鼠模型的试验中被用于获得表皮生长因子受体的拉曼图像[55]。

光声成像(PAI)是一种以光学成像为基础的新的混合生物学成像模式，具有功能成像和解剖成像的潜力[56]。激光照射被测物体产生的超声波被超声波换能器检测到，然后通过分析成像。然而，由于不同组织的吸收光谱不同，MI需要外源性造影剂[57]。非等离子体或等离子体NP，如金纳米壳、纳米棒或纳米笼，可以促进光的吸收，提高PAI信号的对比如[58]。基于二萘嵌苯二酰亚胺(PDI)的具有NIR吸收性的有机NP(胶束包裹的PDI)对活体小鼠脑深部肿瘤的PAI而言是一种有效的造影剂。通过将上述NP封装进两亲分子，水

溶性PDI NP很容易被合成，并显示出良好的PAI性能[59]。靶向SWNT的PAI可能有助于活体的非侵入性肿瘤成像以及纳米疗法的检测[60-63]。黑色素纳米粒子(MNP)是另一种具有良好的生物相容性和生物降解性以及良好的固有光声(PA)性和药物结合能力的生物高聚物，对成像引导下的肿瘤化疗而言是一种有效的内源性纳米系统[64,65]。索拉非尼(SRF)被用于构建聚乙二醇化-黑色素-药物系统。 ^{64}Cu 标记的SRF-PEG-MNP被用于PET/PAI双模式成像引导的治疗[66]。通过将超小型MNP嵌入到脱铁铁蛋白(APF)的腔体内，带有核壳结构的纳米材料脱铁铁蛋白-黑色素-Fe (AMF) NP可轻易地承载 $^{64}\text{Cu}^{2+}$ 和 Fe^{3+} 实现三模式(PET/MRI/PAI)成像[67](图2)。

2.2. 超声造影剂

超声(US)有良好的空间分辨率和对比灵敏度。由

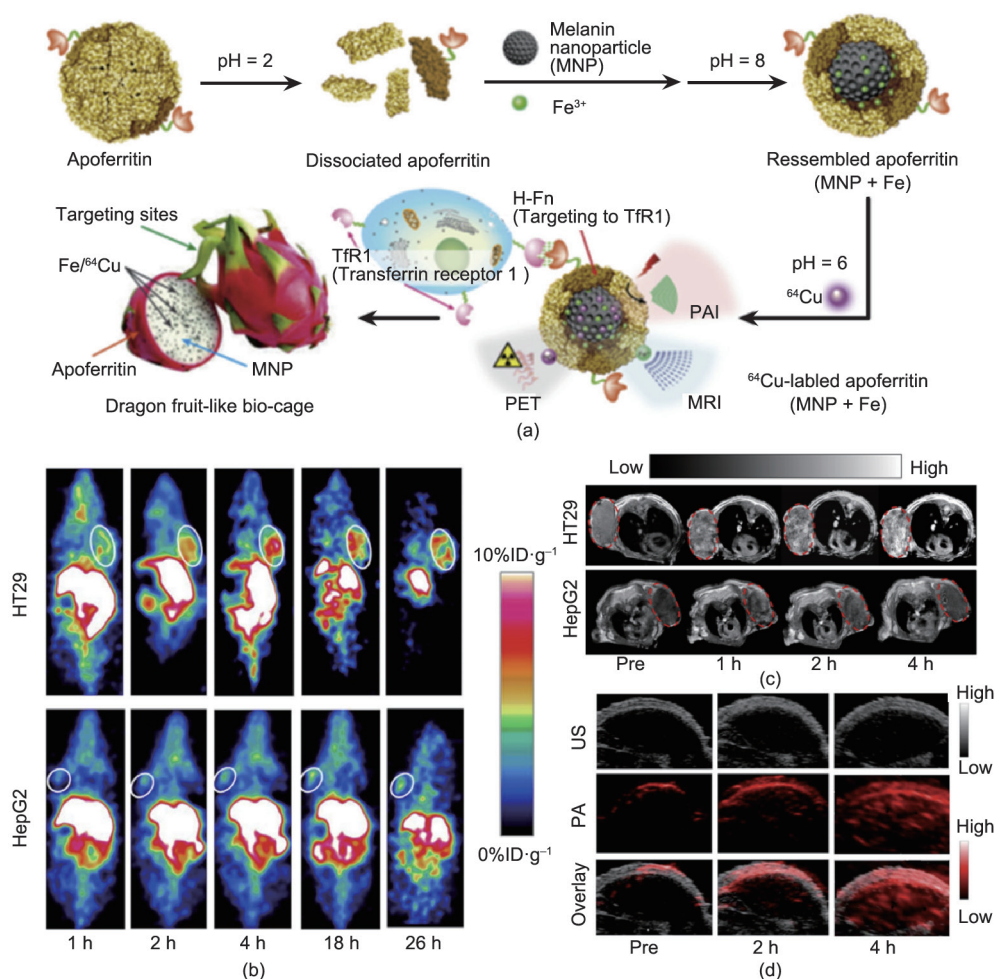


图2. (a) AMF纳米笼合成示意图。(b) 携带HT29(上图)和HepG2(下图)肿瘤的小鼠($n = 4$)在注射 ^{64}Cu -AMF后1 h、2 h、4 h、18 h和26 h的代表性小动物PET冠状位图像。白色圈表示肿瘤位置。(c) HT29(上图)和HepG2(下图)肿瘤模型注射AMF后的T1磁共振图像，红色圈表示肿瘤区域。(d) HT29肿瘤模型在AMF纳米笼尾静脉注射前后的超声波(灰色，上图)、光声(红色，中间图)与融合的冠状位图像(下图)。本图改编自参考文献[67]，已经Yang等许可，© 2015爱思唯尔有限公司。

于US成本低且适用性广，它是最常用的临床成像模式[68]。但它在某些器官的成像上具有局限性，如肺。过去几十年有一些关于纳米级US造影剂的报道[69,70]。研究者已开发出一种策略，可通过肿瘤血管形成的靶向血管标记物延长US造影剂在体内的半衰期[71]。最近已经有了使用纳米级US造影剂的例子，由于其在体内的半衰期较短，大部分靶向试剂的研究都集中在寻找肿瘤血管形成的血管标记物。Anderson等[72]利用cRGD配体修饰了微泡(MB)的表面，结果显示，与其他对照组相比，改性后的表面对 $\alpha_v\beta_3$ 整合蛋白的附着力高出了5倍。Yan等[73]将iRGD脂肽整合进MB膜。结果发现，与对照组MB相比，在离体的静态和动态条件下，iRGD-MB对内皮细胞的结合特异性明显更强。另外，一些研究者开发出很多多肽类化合物作为引导MB至整合蛋白的配体。Willmann等[74]设计了带工程化胱氨酸结(knottin)多肽的MB，这是一种 $\alpha_v\beta_3$ 整合蛋白的新型靶向配体，用于肿瘤血管生成的靶向对比增强US成像。与对照组细胞相比，MB-Knottin_{Integrin}更易附着于 $\alpha_v\beta_3$ 整合蛋白阳性细胞。除整合蛋白外，血管内皮生长因子受体2(VEGFR2)的表达是治疗期间成像和监测的另一个令人感兴趣的目标。用于双靶向成像的造影剂MB可被修饰，以便附着于VEGFR2和 $\alpha_v\beta_3$ 整合蛋白[75]。由于多配体方法提高了亲和力，与对应的单靶向US MB相比，双靶向US MB的信号强度明显更高。

2.3. 磁性纳米粒子

MRI是一种非侵入性诊断技术，可提供很高的图像分辨率和精细的软组织解剖细节对比。研究者为开发MRI NP做了大量工作，特别是对氧化铁纳米粒子(IONP)的研发。这是一类重要的纳米平台，拥有以下优点：高灵敏度，较短的剂量依赖性 T_1 和 T_2 弛豫时间，以及可为细胞和分子成像提供各种配体的多功能性。目前，有20多项关于超顺磁性氧化铁(SPIO)或超微超顺磁性氧化铁(USPIO)的临床试验。IONP通常会被RES吸收[76]，这样也实现了肝[77-79]、脾[80]和淋巴结成像。由于存在脉管系统的渗漏和巨噬细胞的摄取，NP在肿瘤位置的积累以EPR效应为基础。

由于IONP(如SPIO NP)具有出色的生物相容性，其作为肿瘤靶向探针已被广泛研究[10]。这些粒子的合成过程采用了以传统湿法化学为基础的方法和更多的外来技术[81,82]。磁性NP探针技术领域近期取得了一些进展，这与研究者在发展其作为高效、跨学科应用重要工

具的潜力时做出的努力密不可分[83]。PET成像研究揭示，混合纳米三聚物具有 T_1 和 T_2 双重对比效果，可同时实现高精度和高可靠性的 T_1/T_2 加权MRI，并且对活体成像呈现出良好的生物分布和适用性[84](图3)。

对SPIO NP的研究已经证实了其作为一种提高磁共振(MR)对比度的重要工具的效用[85]。该应用中NP的使用效果令人满意，这是因为它的磁化强度值较高，尺寸小于100 nm且粒子大小分布较窄[86]。磁性NP有很多优点，包括：可用于激光诱导热疗，可靶向特定位置点，而且毒性相对较低[87]。磁性NP的生物应用还要求磁性粒子具有特殊的表面涂层，且该涂层必须无毒且可生物相容，还必须在特定区域具有高度靶向性。这种磁性NP易与药物、蛋白质、酶和抗体或核苷酸结合，且可通过外部磁场被引导至某个器官、组织或肿瘤。

树状高分子凭借其较窄的尺寸分布(5~10 nm)、有助于多个配体或造影剂显示的支链结构以及相关的肾清除率，在钆(Gd)运载研究中成为倍受青睐的NP平台。例如，靶向叶酸受体的Gd运载树状高分子在(NF- κ B)模型中显示出增强的MR信号。因为靶位点的信号强度和成像基团的浓度不是线性相关的，设计Gd基造影剂时需要考虑几个因素。例如，Gd的细胞内积累可明显影响信号强度。另外，NP结构中的Gd原子也会影响NP MR探针的功效。

2.4. 核成像纳米粒子

随着促成小动物成像的微型扫描仪的发展，核成像可利用较低剂量实现生物过程的功能测定[88]。虽然PET成像的分辨率较低，但由于具有高对比灵敏度，其在MI中发挥了重要作用。以目前对小分子核成像的了解为基础，基于NP的核成像造影剂已被快速研发出来。在过去的几十年里，有很多关于利用靶向NP进行PET成像的报道。将PET成像能力和NP相结合的最常用方法是利用金属螯合剂(如1,4,7,10-四氮杂环十二烷-N,N,N,N-四乙酸(DOTA)或1,4,7-三氮杂环壬烷N,N',N''-三乙酸(NOTA))使放射性金属(如 ^{64}Cu)附着在NP上。提纯后，经 ^{64}Cu 放射性标记的NP的放射化学纯度可高于95%[89-91]。

由于任何一种成像模式都无法完美且充分地获得全部所需的信息，为了多模态造影剂的发展，研究者考察了许多其他的NP平台，如PET和光学成像的结合或PET与MRI的结合。多模态成像实现了利用PET进行全身成像的治疗计划，以及利用光学技术进行治疗性干

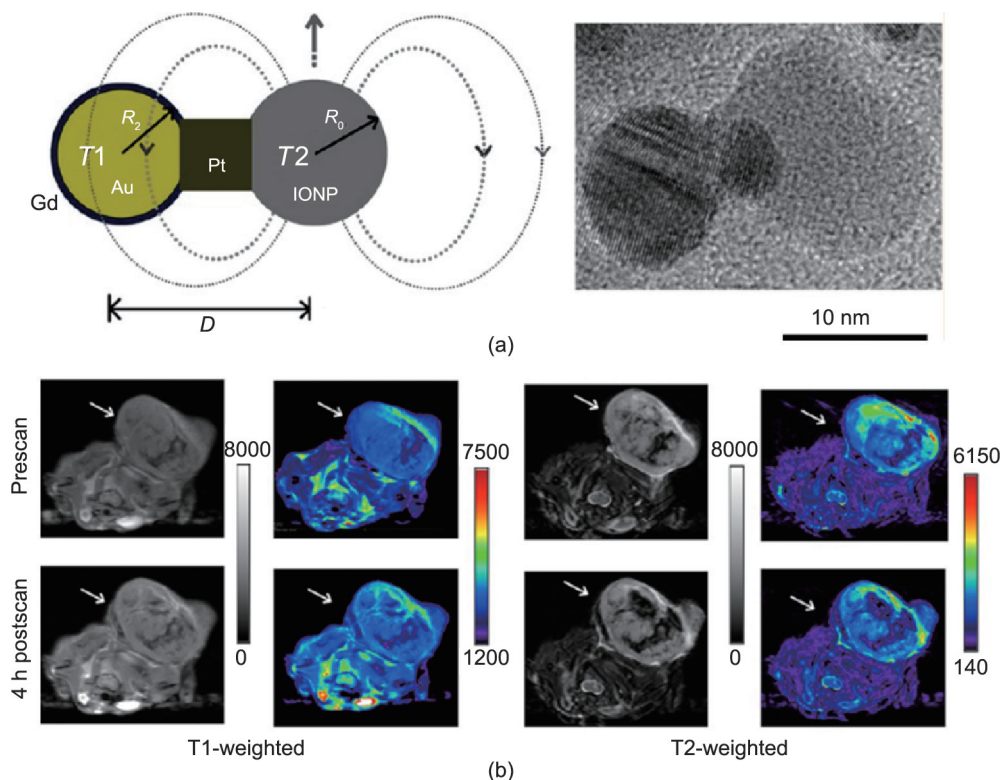


图3. (a) T_1 和 T_2 造影剂磁耦合的异质纳米结构设计示意图(左图)和哑铃结构的透射电子显微镜(TEM)图像(右图)。(b) 携带HT29肿瘤的小鼠($n=3$)静脉注射Gd-DB-HNT前后的 T_1 和 T_2 加权磁共振图像。左图显示为灰度图像,右图显示为伪彩色图像。本图改编自参考文献[84],已经Cheng等许可,© 2014美国化学学会。

预。Cai等[92]开发出了基于QD的近红外荧光(NIRF)成像和PET成像造影剂。经过QD表面改性的RGD多肽可以靶向 $\alpha_v\beta_3$ 整合蛋白。同时,DOTA也利用了 ^{64}Cu 进行标记。这种双模态探针充分提高了肿瘤造影效果,同时降低了活体NIRF成像所需造影剂的剂量,进而使QD的潜在毒性显著降低[93,94]。类似地,Chen等[95]合成了一种 ^{64}Cu -DOTA-QD-VEGF纳米探针,该探针主要利用VEGF与VEGFR的相互作用靶向血管系统。Nahrendorf等[96,97]合成了一种右旋糖酐包裹的SPIO NP,同时用 ^{64}Cu 和NIR荧光素(VivoTag 680)进行了标记,标记后的NP既可用于肿瘤相关的巨噬细胞的荧光分子断层成像(FMT),又可用于PET成像。Yang等[98]改良了一种多模态RGD靶向SPIO。用 ^{64}Cu 标记后,NP可通过PET/MR双模态成像监测对实体瘤的给药过程[98]。作为一种感光剂,卟啉不仅具有光动力治疗能力,而且在荧光成像中是一种有前景的染料。Liu等[99]研发出了一种 ^{64}Cu -porphyrin纳米平台,该平台具有通过光学/PET双模态成像检测下肢微小骨转移的能力。Chen等[100]近期研发出了靶向中空介孔二氧化硅纳米粒子(HMSN),该粒子可通过利用CD105进行肿瘤血管生成的PET/光学成像。与非靶向组相比,这种

粒子在肿瘤区域的聚集能力高了三倍[100](图4)。Liu等[61]研发出了一种整合蛋白靶向SWNT,其可被用于拉曼和PET双模态肿瘤靶向成像。锆-89(^{89}Zr)是一种新型且有发展前景的PET放射性核素,它可被应用于活体研究[101-105]。Ruggiero等[106]研发出了抗体标记的 ^{89}Zr -SWNT,其可在PET和NIRF成像的监测下靶向单体血管内皮钙黏蛋白(VE-cad)表位。利用这种纳米平台可预测肿瘤血管的生成。Lee等[107]单分散地合成了聚合物包膜的UCNP和结合了二聚RGD的UCNP。这种NP平台可被用于光学成像、MRI和PET,并且能高选择性的靶向 $\alpha_v\beta_3$ 整合蛋白[107]。Lijowski等[108]设计了基于 T_1 的 $\alpha_v\beta_3$ 靶向 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Gd NP,该粒子表现出高灵敏度,并可通过SPECT-MR成像提供肿瘤血管生成的具体定位[108]。Hu等[109]研发出了经 $\alpha_v\beta_3$ 整合蛋白修饰的 ^{111}In 全氟化碳,其可被制成多模态PET-MR造影剂。利用PET放射性核素 ^{64}Cu 对Ac-Cys-ZEGFR:1907修饰的Au-IONP(NOTA-Au-IONP-affibody)进行放射性标记,得到一种表皮生长因子受体(EGFR)靶向的PET/光学/MR多模态成像探针,即 ^{64}Cu -NOTA-Au-IONP-affibody,该探针可以靶向EGFR阳性肿瘤[110]。

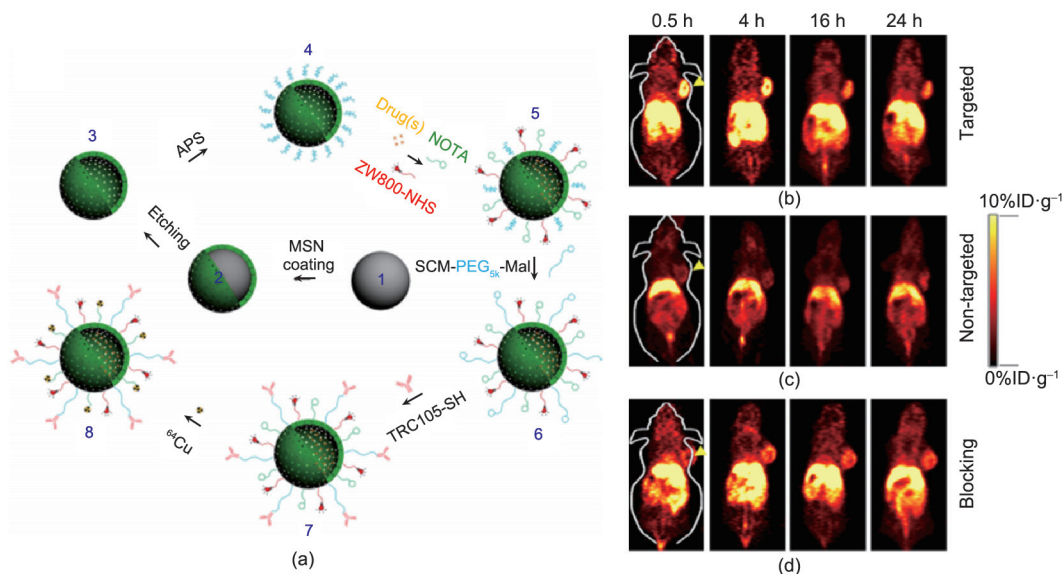


图4. (a) HMSN表面工程示意图。首先合成均匀致密的硅($dSiO_2$, 1)并包覆一层MSN, 得到 $dSiO_2@MSN$ (2)。引入严格控制的 Na_2CO_3 刻蚀步骤选择性地 $dSiO_2$ 腐蚀, 留下均匀HMSN (3)。用3-氨基丙基三甲氧基硅烷(APS)对合成的HMSN进行表面修饰, 在进一步生物聚合前得到氨基偶联的HMSN- NH_2 (4)。抗癌药物(如阿霉素(DOX))被运载, 随后通过NIR染料(即ZW800)和 ^{64}Cu 螯合剂(即NOTA)结合, 形成NOTA-HMSN(DOX)-ZW800 (5)。然后, 利用SCM-PEG_{sk}-Mal对纳米接枝物进行聚乙二醇化, 使其在生物缓冲液(如磷酸盐缓冲液(PBS))中具有稳定性, 形成NOTA-HMSN(DOX)-ZW800-PEG-Mal (6)。然后, 将硫醇化抗CD105抗体(TRC105-SH)结合至NP上, 获得NOTA-HMSN(DOX)-ZW800-PEG-TRC105 (7)。最后, 用PET同位素 ^{64}Cu ($t_{1/2} = 12.7$ h)标记NP, 形成 ^{64}Cu -NOTA-HMSN(DOX)-ZW800-PEG-TRC105 (8)。活体肿瘤靶向PET成像。携带4T1肿瘤的小鼠在注射后不同时间点的连续冠状PET图像: (b) 靶向组, ^{64}Cu -HMSN-ZW800-TRC105; (c) 非靶向组, ^{64}Cu -HMSN-ZW800; (d) 阻断组, ^{64}Cu -HMSN-ZW800-TRC105并注射一定剂量的游离的TRC105(每只老鼠1 mg)。肿瘤用黄色箭头指示。本图改编自参考文献[100], 已经Chen等许可, © 2014自然出版集团。

3. 挑战和未来的前景

一些基本障碍阻碍了NP临床应用的审批。这些障碍和多种材料的特性有关, 包括尺寸、形状、组成、单晶晶度和磁性。首要的障碍是传输障碍, 特别是RES对NP的非特异性吞噬, 该过程可快速将NP清理出血液循环, 并使其在肝、脾和骨髓内积累。这一现象会引起进一步的毒性问题。NP的毒性是另一个非常重要的障碍。毒性的原因不仅在于骨髓和其他器官内NP的浓度, 还在于NP本身的成分, 如QD中使用的Cd以及其他包覆材料。其他障碍还包括无法克服特定的生物屏障如血脑屏障(BBB), 以及缺乏对注射后NP分布的控制。静脉注射后NP的生物学效应根据其尺寸、形态、电荷和表面化学性质的不同具有多变性。通常使用的NP尺寸低于100 nm, 以提高效能和延长血液循环时间, 从而充分暴露于肿瘤以及释放药物。

鉴于现有的这些障碍, 下一代平台将可能着重于小尺寸NP的发展及其高胶态和高生物稳定性。预计将在灵敏度和靶向特异性方面取得显著的进展, 这将显著提升目前的癌症诊断能力。当未来的通用纳米药物通过卫生当局(FDA)的审批成为创新药物时, 还会引发其他的监管和发展问题。另外, 面对纳米药物传输中天然生物屏障, 病理形态异常的组织如肿瘤通常能高效利用主动

的生物机制实现高营养供给和快速增长。这种对这些主动运输机制以及将它与纳米药物共同利用的能力可为肿瘤以及其他疾病的相关治疗提供借鉴。

4. 结论

在过去的十年中, 纳米科技领域实现了巨大的发展和进步。随着研究人员和生物制药行业的共同努力, 一些纳米药物已成功通过审批, 被用于临床前和临床研究中。然而, 由于NP在安全性和功效方面还存在很多未知风险, 纳米医药领域仍然处于初级阶段, 这就要求研究者和政府机构进行进一步探讨和合作。在用于MI的NP的发展过程中遇到的挑战可能会在不远的未来得到解决。

Compliance with ethics guidelines

Zhen Cheng, Xuefeng Yan, Xilin Sun, Baozhong Shen, and Sanjiv Sam Gambhir declare that they have no conflict of interest or financial conflicts to disclose.

References

- [1] Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2015;65(2):87–108.

- [2] Yu S, Yang CS, Li J, You W, Chen J, Cao Y, et al. Cancer prevention research in China. *Cancer Prev Res (Phila)* 2015;8(8):662–74.
- [3] Adams JY, Johnson M, Sato M, Berger F, Gambhir SS, Carey M, et al. Visualization of advanced human prostate cancer lesions in living mice by a targeted gene transfer vector and optical imaging. *Nat Med* 2002;8(8):891–7.
- [4] Massoud TF, Gambhir SS. Molecular imaging in living subjects: seeing fundamental biological processes in a new light. *Genes Dev* 2003;17(5):545–80.
- [5] James ML, Gambhir SS. A molecular imaging primer: modalities, imaging agents, and applications. *Physiol Rev* 2012;92(2):897–965.
- [6] Koo H, Huh MS, Sun IC, Yuk SH, Choi K, Kim K, et al. In vivo targeted delivery of nanoparticles for theranosis. *Acc Chem Res* 2011;44(10):1018–28.
- [7] Wiwanitkit V. Glomerular pore size corresponding to albumin molecular size, an explanation for underlying structural pathology leading to albuminuria at nanolevel. *Ren Fail* 2006;28(1):101.
- [8] Ullman EF, Schwarzbarg M, Rubenstein KE. Fluorescent excitation transfer immunoassay. A general method for determination of antigens. *J Biol Chem* 1976;251(14):4172–8.
- [9] Heath JR, Davis ME. Nanotechnology and cancer. *Annu Rev Med* 2008;59:251–65.
- [10] Ferrari M. Cancer nanotechnology: opportunities and challenges. *Nat Rev Cancer* 2005;5(3):161–71.
- [11] Lammers T. Drug delivery research in Europe. *J Control Release* 2012;161(2):151.
- [12] Brambilla D, Luciani P, Leroux JC. Breakthrough discoveries in drug delivery technologies: the next 30 years. *J Control Release* 2014;190:9–14.
- [13] Taurin S, Nehoff H, Greish K. Anticancer nanomedicine and tumor vascular permeability: Where is the missing link? *J Control Release* 2012;164(3):265–75.
- [14] Maeda H, Nakamura H, Fang J. The EPR effect for macromolecular drug delivery to solid tumors: improvement of tumor uptake, lowering of systemic toxicity, and distinct tumor imaging in vivo. *Adv Drug Deliv Rev* 2013;65(1):71–9.
- [15] Altundag K, Dede DS, Purnak T. Albumin-bound paclitaxel (ABI-007; Abraxane) in the management of basal-like breast carcinoma. *J Clin Pathol* 2007;60(8):958.
- [16] Chakravarthy AB, Kelley MC, McLaren B, Truica CI, Billheimer D, Mayer IA, et al. Neoadjuvant concurrent paclitaxel and radiation in stage II/III breast cancer. *Clin Cancer Res* 2006;12(5):1570–6.
- [17] Maeda H, Wu J, Sawa T, Matsumura Y, Hori K. Tumor vascular permeability and the EPR effect in macromolecular therapeutics: a review. *J Control Release* 2000;65(1–2):271–84.
- [18] Matsumura Y, Maeda H. A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: mechanism of tumorotropic accumulation of proteins and the antitumor agent smancs. *Cancer Res* 1986;46(12 Pt 1):6387–92.
- [19] Maeda H. Toward a full understanding of the EPR effect in primary and metastatic tumors as well as issues related to its heterogeneity. *Adv Drug Deliv Rev* 2015;91:3–6.
- [20] Al-Jamal WT, Kostarelos K. Liposomes: from a clinically established drug delivery system to a nanoparticle platform for theranostic nanomedicine. *Acc Chem Res* 2011;44(10):1094–104.
- [21] Ambrogio MW, Thomas CR, Zhao YL, Zink JJ, Stoddart JF. Mechanized silica nanoparticles: a new frontier in theranostic nanomedicine. *Acc Chem Res* 2011;44(10):903–13.
- [22] Bardhan R, Lal S, Joshi A, Halas NJ. Theranostic nanoshells: from probe design to imaging and treatment of cancer. *Acc Chem Res* 2011;44(10):936–46.
- [23] Ho D, Sun X, Sun S. Monodisperse magnetic nanoparticles for theranostic applications. *Acc Chem Res* 2011;44(10):875–82.
- [24] Thakor AS, Gambhir SS. Nanooncology: the future of cancer diagnosis and therapy. *CA Cancer J Clin* 2013;63(6):395–418.
- [25] Piner RD, Zhu J, Xu F, Hong S, Mirkin CA. “Dip-Pen” nanolithography. *Science* 1999;283(5402):661–3.
- [26] Canelas DA, Herlihy KP, DeSimone JM. Top-down particle fabrication: control of size and shape for diagnostic imaging and drug delivery. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol* 2009;1(4):391–404.
- [27] Key J, Leary JF. Nanoparticles for multimodal in vivo imaging in nanomedicine. *Int J Nanomedicine* 2014;9:711–26.
- [28] He X, Wang K, Cheng Z. In vivo near-infrared fluorescence imaging of cancer with nanoparticle-based probes. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol* 2010;2(4):349–66.
- [29] He X, Gao J, Gambhir SS, Cheng Z. Near-infrared fluorescent nanoprobes for cancer molecular imaging: status and challenges. *Trends Mol Med* 2010;16(12):574–83.
- [30] Alivisatos P. The use of nanocrystals in biological detection. *Nat Biotechnol* 2004;22(1):47–52.
- [31] Michalet X, Pinaud FF, Bentolila LA, Tsay JM, Doose S, Li JJ, et al. Quantum dots for live cells, in vivo imaging, and diagnostics. *Science* 2005;307(5709):538–44.
- [32] Medintz IL, Uyeda HT, Goldman ER, Mattoussi H. Quantum dot bioconjugates for imaging, labelling and sensing. *Nat Mater* 2005;4(6):435–46.
- [33] Gao J, Chen K, Luong R, Bouley DM, Mao H, Qiao T, et al. A novel clinically translatable fluorescent nanoparticle for targeted molecular imaging of tumors in living subjects. *Nano Lett* 2012;12(1):281–6.
- [34] Smith BR, Cheng Z, De A, Koh AL, Sinclair R, Gambhir SS. Real-time intravital imaging of RGD-quantum dot binding to luminal endothelium in mouse tumor neovasculature. *Nano Lett* 2008;8(9):2599–606.
- [35] Cai W, Hsu AR, Li ZB, Chen X. Are quantum dots ready for in vivo imaging in human subjects? *Nanoscale Res Lett* 2007;2(6):265–81.
- [36] Schipper ML, Cheng Z, Lee SW, Bentolila LA, Iyer G, Rao J, et al. micro-PET-based biodistribution of quantum dots in living mice. *J Nucl Med* 2007;48(9):1511–8.
- [37] Schipper ML, Iyer G, Koh AL, Cheng Z, Ebenstein Y, Aharoni A, et al. Particle size, surface coating, and PEGylation influence the biodistribution of quantum dots in living mice. *Small* 2009;5(1):126–34.
- [38] Gao J, Chen K, Xie R, Xie J, Lee S, Cheng Z, et al. Ultrasmall near-infrared non-cadmium quantum dots for in vivo tumor imaging. *Small* 2010;6(2):256–61.
- [39] Gao J, Chen K, Miao Z, Ren G, Chen X, Gambhir SS, et al. Affibody-based nanoprobes for HER2-expressing cell and tumor imaging. *Biomaterials* 2011;32(8):2141–8.
- [40] DeCoste SD, Farinelli W, Flotte T, Anderson RR. Dye-enhanced laser welding for skin closure. *Lasers Surg Med* 1992;12(1):25–32.
- [41] Gianella A, Jarzyna PA, Mani V, Ramachandran S, Calcagno C, Tang J, et al. Multifunctional nanoemulsion platform for imaging guided therapy evaluated in experimental cancer. *ACS Nano* 2011;5(6):4422–33.
- [42] Santra S, Kaittanis C, Grimm J, Perez JM. Drug/dye-loaded, multifunctional iron oxide nanoparticles for combined targeted cancer therapy and dual optical/magnetic resonance imaging. *Small* 2009;5(16):1862–8.
- [43] Yan X, Niu G, Lin J, Jin AJ, Hu H, Tang Y, et al. Enhanced fluorescence imaging guided photodynamic therapy of sinoporphyrin sodium loaded graphene oxide. *Biomaterials* 2015;42:94–102.
- [44] Yan X, Hu H, Lin J, Jin AJ, Niu G, Zhang S, et al. Optical and photoacoustic dual-modality imaging guided synergistic photodynamic/photothermal therapies. *Nanoscale* 2015;7(6):2520–6.
- [45] Luo S, Zhang E, Su Y, Cheng T, Shi C. A review of NIR dyes in cancer targeting and imaging. *Biomaterials* 2011;32(29):7127–38.
- [46] Liu H, Zhang X, Xing B, Han P, Gambhir SS, Cheng Z. Radiation-luminescence-excited quantum dots for in vivo multiplexed optical imaging. *Small* 2010;6(10):1087–91.
- [47] Yang Y, Shao Q, Deng R, Wang C, Teng X, Cheng K, et al. In vitro and in vivo uncaging and bioluminescence imaging by using photocaged upconversion nanoparticles. *Angew Chem Int Ed Engl* 2012;51(13):3125–9.
- [48] Mitchell GS, Gill RK, Boucher DL, Li C, Cherry SR. In vivo Cerenkov luminescence imaging: a new tool for molecular imaging. *Philos Trans A Math Phys Eng Sci* 2011;369(1955):4605–19.
- [49] Carpenter CM, Sun C, Pratz G, Rao R, Xing L. Hybrid x-ray/optical luminescence imaging: characterization of experimental conditions. *Med Phys* 2010;37(8):4011–8.
- [50] Pratz G, Carpenter CM, Sun C, Rao RP, Xing L. Tomographic molecular imaging of x-ray-excitable nanoparticles. *Opt Lett* 2010;35(20):3345–7.
- [51] Pratz G, Carpenter CM, Sun C, Xing L. X-ray luminescence computed tomography via selective excitation: a feasibility study. *IEEE Trans Med Imaging* 2010;29(12):1992–9.
- [52] Sun C, Pratz G, Carpenter CM, Liu H, Cheng Z, Gambhir SS, et al. Synthesis and radioluminescence of PEGylated Eu(3+)–doped nanophosphors as bio-imaging probes. *Adv Mater* 2011;23(24):H195–9.
- [53] Keren S, Zavaleta C, Cheng Z, de la Zerda A, Gheysens O, Gambhir SS. Noninvasive molecular imaging of small living subjects using Raman spectroscopy. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105(15):5844–9.
- [54] Zavaleta CL, Hartman KB, Miao Z, James ML, Kempen P, Thakor AS, et al. Pre-clinical evaluation of Raman nanoparticle biodistribution for their potential use in clinical endoscopy imaging. *Small* 2011;7(15):2232–40.
- [55] Jokerst JV, Miao Z, Zavaleta C, Cheng Z, Gambhir SS. Affibody-functionalized gold-silica nanoparticles for Raman molecular imaging of the epidermal growth factor receptor. *Small* 2011;7(5):625–33.
- [56] Grinvald A, Lieke E, Frostig RD, Gilbert CD, Wiesel TN. Functional architecture of cortex revealed by optical imaging of intrinsic signals. *Nature* 1986;324(6095):361–4.
- [57] He Y, Tang Z, Chen Z, Wan W, Li J. A novel photoacoustic tomography based on a time-resolved technique and an acoustic lens imaging system. *Phys Med Biol* 2006;51(10):2671–80.
- [58] Wang LV, Hu S. Photoacoustic tomography: in vivo imaging from organelles to organs. *Science* 2012;335(6075):1458–62.
- [59] Fan Q, Cheng K, Yang Z, Zhang R, Yang M, Hu X, et al. Perylene-diimide-based nanoparticles as highly efficient photoacoustic agents for deep brain tumor imaging in living mice. *Adv Mater* 2015;27(5):843–7.
- [60] Bianco A, Kostarelos K, Prato M. Applications of carbon nanotubes in drug delivery. *Curr Opin Chem Biol* 2005;9(6):674–9.
- [61] Liu Z, Cai W, He L, Nakayama N, Chen K, Sun X, et al. In vivo biodistribution and highly efficient tumour targeting of carbon nanotubes in mice. *Nat Nanotechnol* 2007;2(1):47–52.
- [62] De la Zerda A, Zavaleta C, Keren S, Vaithilingam S, Bodapati S, Liu Z, et al. Carbon nanotubes as photoacoustic molecular imaging agents in living mice. *Nat Nanotechnol* 2008;3(9):557–62.
- [63] De la Zerda A, Liu Z, Bodapati S, Teed R, Vaithilingam S, Khuri-Yakub BT, et al. Ultrahigh sensitivity carbon nanotube agents for photoacoustic molecular imaging in living mice. *Nano Lett* 2010;10(6):2168–72.
- [64] Ren G, Miao Z, Liu H, Jiang L, Limpa-Amara N, Mahmood A, et al. Melanin-targeted preclinical PET imaging of melanoma metastasis. *J Nucl Med* 2009;50(10):1692–9.
- [65] Cheng Z, Mahmood A, Li H, Davison A, Jones AG. [^{99m}TcOAAADT]-(CH₂)₂-NEt₂: a potential small-molecule single-photon emission computed tomography

- probe for imaging metastatic melanoma. *Cancer Res* 2005;65(12):4979–86.
- [66] Zhang R, Fan Q, Yang M, Cheng K, Lu X, Zhang L, et al. Engineering melanin nanoparticles as an efficient drug-delivery system for imaging-guided chemotherapy. *Adv Mater* 2015;27(34):5063–9.
- [67] Yang M, Fan Q, Zhang R, Cheng K, Yan J, Pan D, et al. Dragon fruit-like biocage as an iron trapping nanoplatform for high efficiency targeted cancer multimodality imaging. *Biomaterials* 2015;69:30–7.
- [68] Bloch SH, Dayton PA, Ferrara KW. Targeted imaging using ultrasound contrast agents. Progress and opportunities for clinical and research applications. *IEEE Eng Med Biol Mag* 2004;23(5):18–29.
- [69] Liu R, Tian B, Gearing M, Hunter S, Ye K, Mao Z. Cdk5-mediated regulation of the PIKE-A-Akt pathway and glioblastoma cell invasion. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105(21):7570–5.
- [70] Zhou J, Patel TR, Sirianni RW, Strohbehn G, Zheng MQ, Duong N, et al. Highly penetrative, drug-loaded nanocarriers improve treatment of glioblastoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013;110(29):11751–6.
- [71] Kiessling F, Huppert J, Zhang C, Jayapaul J, Zwick S, Woenne EC, et al. RGD-labeled USPIO inhibits adhesion and endocytotic activity of $\alpha_5\beta_3$ -integrin-expressing glioma cells and only accumulates in the vascular tumor compartment. *Radiology* 2009;253(2):462–9.
- [72] Anderson CR, Hu X, Zhang H, Tlaxca J, Declèves AE, Houghtaling R, et al. Ultrasound molecular imaging of tumor angiogenesis with an integrin targeted microbubble contrast agent. *Invest Radiol* 2011;46(4):215–24.
- [73] Yan F, Xu X, Chen Y, Deng Z, Liu H, Xu J, et al. A lipopeptide-based $\alpha_5\beta_3$ integrin-targeted ultrasound contrast agent for molecular imaging of tumor angiogenesis. *Ultrasound Med Biol* 2015;41(10):2765–73.
- [74] Willmann JK, Kimura RH, Deshpande N, Lutz AM, Cochran JR, Gambhir SS. Targeted contrast-enhanced ultrasound imaging of tumor angiogenesis with contrast microbubbles conjugated to integrin-binding knottin peptides. *J Nucl Med* 2010;51(3):433–40.
- [75] Willmann JK, Lutz AM, Paulmurugan R, Patel MR, Chu P, Rosenberg J, et al. Dual-targeted contrast agent for US assessment of tumor angiogenesis in vivo. *Radiology* 2008;248(3):936–44.
- [76] Chavanpatil MD, Khadair A, Panyam J. Nanoparticles for cellular drug delivery: mechanisms and factors influencing delivery. *J Nanosci Nanotechnol* 2006;6(9-10):2651–63.
- [77] Shamsi K, Balzer T, Saini S, Ros PR, Nelson RC, Carter EC, et al. Superparamagnetic iron oxide particles (SH U 555 A): evaluation of efficacy in three doses for hepatic MR imaging. *Radiology* 1998;206(2):365–71.
- [78] Reimer P, Jähnke N, Fiebig M, Schima W, Deckers F, Marx C, et al. Hepatic lesion detection and characterization: value of nonenhanced MR imaging, superparamagnetic iron oxide-enhanced MR imaging, and spiral CT-ROC analysis. *Radiology* 2000;217(1):152–8.
- [79] Bu L, Xie J, Chen K, Huang J, Aguilar ZP, Wang A, et al. Assessment and comparison of magnetic nanoparticles as MRI contrast agents in a rodent model of human hepatocellular carcinoma. *Contrast Media Mol Imaging* 2012;7(4):363–72.
- [80] de Marco G, Bogdanov A, Marecos E, Moore A, Simonova M, Weissleder R. MR imaging of gene delivery to the central nervous system with an artificial vector. *Radiology* 1998;208(1):65–71.
- [81] Gupta AK, Curtis AS. Surface modified superparamagnetic nanoparticles for drug delivery: interaction studies with human fibroblasts in culture. *J Mater Sci Mater Med* 2004;15(4):493–6.
- [82] Akbarzadeh A, Samiei M, Davaran S. Magnetic nanoparticles: preparation, physical properties, and applications in biomedicine. *Nanoscale Res Lett* 2012;7(1):144.
- [83] Thorek DL, Chen AK, Czupryna J, Tsourkas A. Superparamagnetic iron oxide nanoparticle probes for molecular imaging. *Ann Biomed Eng* 2006;34(1):23–38.
- [84] Cheng K, Yang M, Zhang R, Qin C, Su X, Cheng Z. Hybrid nanotrimers for dual T_1 and T_2 -weighted magnetic resonance imaging. *ACS Nano* 2014;8(10):9884–96.
- [85] Yoffe S, Leshuk T, Everett P, Gu F. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs): synthesis and surface modification techniques for use with MRI and other biomedical applications. *Curr Pharm Des* 2013;19(3):493–509.
- [86] Gupta AK, Gupta M. Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. *Biomaterials* 2005;26(18):3995–4021.
- [87] Yu MK, Jeong YY, Park J, Park S, Kim JW, Min JJ, et al. Drug-loaded superparamagnetic iron oxide nanoparticles for combined cancer imaging and therapy in vivo. *Angew Chem Int Ed Engl* 2008;47(29):5362–5.
- [88] Phelps ME, Hoffman EJ, Huang SC, Ter-Pogossian MM. Effect of positron range on spatial resolution. *J Nucl Med* 1975;16(7):649–52.
- [89] Shokeen M, Anderson CJ. Molecular imaging of cancer with copper-64 radiopharmaceuticals and positron emission tomography (PET). *Acc Chem Res* 2009;42(7):832–41.
- [90] Cutler CS, Hennkens HM, Sisay N, Huclier-Markai S, Jurisson SS. Radiometals for combined imaging and therapy. *Chem Rev* 2013;113(2):858–83.
- [91] Wadas TJ, Wong EH, Weisman GR, Anderson CJ. Coordinating radiometals of copper, gallium, indium, yttrium, and zirconium for PET and SPECT imaging of disease. *Chem Rev* 2010;110(5):2858–902.
- [92] Cai W, Chen K, Li ZB, Gambhir SS, Chen X. Dual-function probe for PET and near-infrared fluorescence imaging of tumor vasculature. *J Nucl Med* 2007;48(11):1862–70.
- [93] Kirchner C, Liedl T, Kudera S, Pellegrino T, Muñoz Javier A, Gaub HE, et al. Cytotoxicity of colloidal CdSe and CdSe/ZnS nanoparticles. *Nano Lett* 2005;5(2):331–8.
- [94] Cai W, Shin DW, Chen K, Gheysens O, Cao Q, Wang SX, et al. Peptide-labeled near-infrared quantum dots for imaging tumor vasculature in living subjects. *Nano Lett* 2006;6(4):669–76.
- [95] Chen K, Li ZB, Wang H, Cai W, Chen X. Dual-modality optical and positron emission tomography imaging of vascular endothelial growth factor receptor on tumor vasculature using quantum dots. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2008;35(12):2235–44.
- [96] Nahrendorf M, Zhang H, Hembrador S, Panizzi P, Sosnovik DE, Aikawa E, et al. Nanoparticle PET-CT imaging of macrophages in inflammatory atherosclerosis. *Circulation* 2008;117(3):379–87.
- [97] Nahrendorf M, Kelih E, Marinelli B, Waterman P, Feruglio PF, Fexon L, et al. Hybrid PET-optical imaging using targeted probes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107(17):7910–5.
- [98] Yang X, Hong H, Graier JJ, Rowland JJ, Javadi A, Hurley SA, et al. cRGD-functionalized, DOX-conjugated, and ^{64}Cu -labeled superparamagnetic iron oxide nanoparticles for targeted anticancer drug delivery and PET/MR imaging. *Biomaterials* 2011;32(17):4151–60.
- [99] Liu TW, Macdonald TD, Jin CS, Gold JM, Bristow RG, Wilson BC, et al. Inherently multimodal nanoparticle-driven tracking and real-time delineation of orthotopic prostate tumors and micrometastases. *ACS Nano* 2013;7(5):4221–32.
- [100] Chen F, Hong H, Shi S, Goel S, Valdovinos HF, Hernandez R, et al. Engineering of hollow mesoporous silica nanoparticles for remarkably enhanced tumor active targeting efficacy. *Sci Rep* 2014;4:5080.
- [101] Verel I, Visser GW, Boellaard R, Stigter-van Walsum M, Snow GB, van Dongen GA. ^{89}Zr immuno-PET: comprehensive procedures for the production of ^{89}Zr -labeled monoclonal antibodies. *J Nucl Med* 2003;44(8):1271–81.
- [102] Holland JP, Sheh Y, Lewis JS. Standardized methods for the production of high specific-activity zirconium-89. *Nucl Med Biol* 2009;36(7):729–39.
- [103] Holland JP, Williamson MJ, Lewis JS. Unconventional nuclides for radiopharmaceuticals. *Mol Imaging* 2010;9(1):1–20.
- [104] Holland JP, Caldas-Lopes E, Divilov V, Longo VA, Taldone T, Zatorska D, et al. Measuring the pharmacodynamic effects of a novel Hsp90 inhibitor on HER2/neu expression in mice using ^{89}Zr -DFO-trastuzumab. *PLoS ONE* 2010;5(1):e8859.
- [105] Holland JP, Divilov V, Bander NH, Smith-Jones PM, Larson SM, Lewis JS. ^{89}Zr -DFO-J591 for immunoPET of prostate-specific membrane antigen expression in vivo. *J Nucl Med* 2010;51(8):1293–300.
- [106] Ruggiero A, Villa CH, Holland JP, Sprinkle SR, May C, Lewis JS, et al. Imaging and treating tumor vasculature with targeted radiolabeled carbon nanotubes. *Int J Nanomedicine* 2010;5:783–802.
- [107] Lee J, Lee TS, Ryu J, Hong S, Kang M, Im K, et al. RGD peptide-conjugated multimodal $\text{NaGdF}_4:\text{Yb}^{3+}/\text{Er}^{3+}$ nanophosphors for upconversion luminescence, MR, and PET imaging of tumor angiogenesis. *J Nucl Med* 2013;54(1):96–103.
- [108] Lijowski M, Caruthers S, Hu G, Zhang H, Scott MJ, Williams T, et al. High sensitivity: high-resolution SPECT-CT/MR molecular imaging of angiogenesis in the Vx2 model. *Invest Radiol* 2009;44(1):15–22.
- [109] Hu G, Lijowski M, Zhang H, Partlow KC, Caruthers SD, Kiefer G, et al. Imaging of Vx-2 rabbit tumors with $\alpha_5\beta_3$ -integrin-targeted ^{111}In nanoparticles. *Int J Cancer* 2007;120(9):1951–7.
- [110] Yang M, Cheng K, Qi S, Liu H, Jiang Y, Jiang H, et al. Affibody modified and radiolabeled gold-iron oxide hetero-nanostructures for tumor PET, optical and MR imaging. *Biomaterials* 2013;34(11):2796–806.