

# 框架核酸在生物医学中的应用及其在核医学影像引导下的生物特性研究进展

王昊<sup>1,2</sup>, 龙星如<sup>1,2</sup>, 江大卫<sup>1,2\*</sup>, 兰晓莉<sup>1,2\*\*</sup>

(1. 华中科技大学同济医学院附属协和医院核医学科, 湖北 武汉 430022; 2. 分子影像湖北省重点实验室 生物靶向治疗教育部重点实验室, 湖北 武汉 430022)

**[摘要]** 框架核酸是一类具有独特物理、化学和生物特性的纳米组装寡核苷酸。根据沃森-克里克碱基配对规则, 可以利用 DNA 配对杂交制备出各种形状和大小的 DNA 框架, 这些框架具有高度可重复性和稳定性。通过将寡核苷酸编程组装成框架核酸, 可以为研究纳米材料与生物体之间的相互作用提供高度可控的模型。概述了框架核酸在生物医学中的最新研究进展, 旨在为 DNA 纳米技术的深入探索与应用提供参考。

**[关键词]** 框架核酸; 纳米结构; 核医学; 生物医学应用

**[中图分类号]** R445.5

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1001-5094 (2024) 03-0178-08

DOI: 10.20053/j.issn1001-5094.2024.03.003

## Advances in Research on Application of Framework Nucleic Acids in Biomedicine and Their Biological Characteristics Guided by Nuclear Medicine Imaging

WANG Hao<sup>1,2</sup>, LONG Xingru<sup>1,2</sup>, JIANG Dawei<sup>1,2\*</sup>, LAN Xiaoli<sup>1,2</sup>

(1. Department of Nuclear Medicine, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China; 2. Hubei Key Laboratory of Molecular Imaging / Key Laboratory of Biological Targeted Therapy, the Ministry of Education, Wuhan 430022, China)

**[Abstract]** Framework nucleic acids (FNAs) are a class of nano-assembled oligonucleotides with unique physical, chemical and biological properties. According to the Watson-Crick base pairing rule, DNA frameworks of various shapes and sizes can be prepared by DNA pairing hybridization. These frameworks demonstrate high degree of reproducibility and stability. The programmable assembly of oligonucleotides into FNAs provides a highly controllable model for studying interactions between nanomaterials and living organisms. The latest research progress of FNAs in biomedicine was summarized in this article, aiming to provide reference for the further exploration and application of DNA nanotechnology.

**[Key words]** framework nucleic acid; nanostructure; nuclear medicine; biomedical application

### 1 框架核酸简介

在 20 世纪 80 年代, 科学家 Seeman 提出了一个极具创意的想法——将 DNA 用于构建纳米结构的材料<sup>[1]</sup>。DNA 链可以像毛线编织毛衣一样形成

各种不同形状的纳米复合材料<sup>[2]</sup>。由于在杂交过程中使用的 DNA 序列是已知的, 我们可以在三维空间中识别、定位和修饰任何单个核苷酸, 从而赋予 DNA 纳米结构“空间可寻址性”<sup>[2-3]</sup>, 这有利于对 DNA 结构进行位点特异性修饰, 并为研究其与细胞、组织和器官之间的生物相互作用提供可行性<sup>[4]</sup>。因此, 框架核酸 (framework nucleic acid, FNA) 可以定义为由寡核苷酸组装而成的具有独特可编程物理化学性质的纳米复合物<sup>[5]</sup>。遵循沃森-克里克碱基配对原理, 通过合理的寡核苷酸杂交可以制备出各种 FNA, 这些 FNA 的问世推动了 DNA 在生物传感、

**接受日期:** 2023-09-01

**\* 通信作者:** 江大卫, 教授;

**研究方向:** 基于生物大分子的核医学分子影像探针研发;

**E-mail:** dawei.jiang@hust.edu.cn

**\*\* 通信作者:** 兰晓莉, 教授, 主任医师;

**研究方向:** 临床核医学研究及新型核医学分子影像探针的开发与临床转化;

**E-mail:** xiaoli\_lan@hust.edu.cn

分子成像以及药物、基因传递等方面的发展<sup>[6]</sup>。此外, 由于具有空间寻址性, FNA 可作为基质, 将不同的组分锚定在其中, 通过特异性的 DNA 修饰, 研究对象可以被分配到不同的寡核苷酸上从而发挥复合材料的独特优势<sup>[7]</sup>。例如, 可以将 DNA 设计为“纳米镊子”, 用于单分子药物筛选<sup>[8]</sup>。此外, FNA 可以控制 T 细胞和癌细胞的方向和距离, 从而进行更精细的 T 细胞免疫调节研究<sup>[9]</sup>。

除了作为体外研究的分子研究平台外, FNA 也可被设计成用于疾病诊疗的成像探针或药物递送系统。Jiang 等<sup>[10]</sup>报道, 将具有四面体结构的 DNA 框架材料作为评估肾功能的示踪剂, 可有效评估单侧输尿管梗阻。在其另一项研究工作中, 核医学成像显示出 DNA 折纸结构的 FNA 在肾脏的积累, 提示该 FNA 可作为抗氧化剂用于减轻小鼠急性肾损伤<sup>[11]</sup>。DNA 折纸也可被设计成能够将药物运输到肿瘤部位的载体。Wang 等<sup>[12]</sup>设计了管状 DNA 折纸结构的 FNA, 通过碱基嵌插的方式负载盐酸阿霉素(DOX), 并通过分子杂交的方式, 在内腔指定位点上定量组装小干扰 RNA (siRNA), 肿瘤细胞内的谷胱甘肽会使管状 DNA 折纸上的二硫键断裂, 管状结构打开, 从而实现内部 DOX 和 siRNA 的释放, 达到治疗癌症的目的。全面了解 FNA 在临床前动物模型、非人类灵长类动物和人类受试者中的生物学特性是实现这一领域临床转化的前提。本文总结了 FNA 在生物医学中应用的研究进展, 重点介绍了通过核成像揭示的一些新发现, 并讨论了这些发现对 FNA 进一步应用的意义。

## 2 框架核酸研究近况

近年来, 众多对 FNA 的研究促进了其在生物医学中应用的探索<sup>[13]</sup>。本节将概述 FNA 在生物医学中应用的研究进展。

### 2.1 体外生物传感

修饰了特定序列的 FNA 常被用作疾病诊断探针。通过延伸 FNA 的侧臂, 可以将其用于检测特定药物分子(如可卡因)、癌相关 microRNA(miRNA)、癌细胞表面受体或疾病相关基因<sup>[14]</sup>。在早期的研究中, Ge 等<sup>[15]</sup>设计了一个超灵敏的 miRNA 检测平台,

其中四面体 DNA 框架(TDF)用于 miRNA 的识别, 并利用杂交链反应(hybridization chain reaction, HCR)进行信号扩增。通过将 3 个硫醇修饰的 TDF 固定在金电极表面, 成功地将 miRNA 固定在反应活性增加的溶液中, 随后通过 HCR 进行信号增强, 该方法将检测限降低至  $10 \text{ amol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 比传统方法低了 3 个数量级。通过靶向肿瘤细胞表面过表达的上皮细胞黏附分子(EpCAM)的适配体, TDF 被进一步设计用于捕获循环肿瘤细胞(CTC)<sup>[16]</sup>。这种包含 3 个适配体和 1 个生物素的 TDF 具有增强的结合亲和力(比独立适配体高 19 倍)和对细胞内吞作用的抗性。

### 2.2 药物递送

FNA 由寡核苷酸组成, 具有良好的生物相容性和生物降解性, 是一种出色的药物/基因传递系统。DNA/RNA 链通常不能自由进入细胞, 但是由 DNA/RNA 链组装而成的 FNA 在没有转染剂的情况下也具有较高的细胞摄取量, 这为基于 FNA 的细胞内药物递送和非病毒基因编辑提供了可能性。以 TDF 为研究对象, Liang 等<sup>[17]</sup>通过单粒子跟踪技术展示了它们的细胞内化和转运过程。研究发现, FNA 通过小窝蛋白依赖的内化途径进入哺乳动物细胞, 并以微管依赖的方式被转运到溶酶体进行消化和再循环。修饰了 CpG 序列的 FNA 可以通过激活 Toll 样受体 9 来诱导巨噬细胞产生强烈的免疫反应<sup>[18]</sup>。

Lee 等<sup>[19]</sup>的研究表明, 靶向叶酸的 TDF 能够将 siRNA 传递到病变组织以进行基因沉默。荧光成像证明, 载有 siRNA 的 FNA 的循环半衰期( $t_{1/2}$ )约为 24.2 min, 是游离 siRNA 的 4 倍。尾静脉注射 25 min 后, 可观察到肿瘤中的信号, 信号可持续保持 48 h。通过测定干扰素(IFN)- $\alpha$ 水平, 证明负载 siRNA 的 FNA 是无毒的, 其免疫反应可忽略不计。

随后, Zhang 等<sup>[20]</sup>设计了一种可用于被动肿瘤靶向和癌症治疗的 DNA 折纸。三角形 DNA 折纸通过碱基嵌插的方式负载 DOX 以实现肿瘤药物递送, 并通过荧光成像得到了证实。在肿瘤细胞中, DNA 框架会经过溶酶体的消化和 pH 刺激降解, 从而有效释放 DOX 以发挥抗肿瘤作用。此外该课题组还构建了一个多功能 DNA 纳米平台, 作为高效

铂基 DNA 插层器 56MESS 的多功能载体, 56MESS 通过插入 DNA 双链有效地加载到双束 TDF 中。通过整合具有靶向和阻断表皮生长因子受体 (EGFR) 能力的纳米抗体 (anti-EGFR Nb), DNA 纳米载体对 EGFR 表达升高的细胞表现出极好的选择性, 且未见明显的全身毒性。这种基于 DNA 的铂类药物传递系统为肿瘤治疗提供了一种很有前景的策略<sup>[21]</sup>。

Wang 等<sup>[12]</sup>将 DNA 折纸结构设计成能够将药物运输到肿瘤部位以实现治疗目的的载体。管状 DNA 折纸结构在开启状态下, 通过碱基嵌插的方式负载 DOX, 并通过分子杂交的方式, 在内腔指定位点上定量组装靶向 P 糖蛋白 (*P-gp*) 基因和 *Bcl-2* 基因这 2 种耐药相关基因的 siRNA, 在管状结构的两端和外部修饰 TAT 多肽, 增强该结构的细胞穿膜效率, 并将含有二硫键的 DNA 单链作为锁链将结构封闭, 最后得到闭合的 DNA 纳米器件。在肿瘤细胞高谷胱甘肽浓度的环境下, 闭合纳米器件的二硫键锁链被打开, 从而实现内部 siRNA 的释放。

将药物系统地 and 选择性地运送到病变细胞仍然是一个挑战。Ge 等<sup>[22]</sup>设计了一种具有靶向作用的配体修饰的 DNA 折纸 (DON), 将其作为前列腺癌靶向治疗的抗体药物偶联物 (ADC) 载体。具体来说, 6 个螺旋束的 DON 被 2-[3-(1, 3-二羧基丙基)-胍基] 戊二酸 (DUPA) 修饰为前列腺特异性膜抗原 (PSMA) 的配体, 然后, DOX 通过插入双链 DNA (dsDNA) 加载到 DON 上。该平台具有靶向性、配体结构可控、载药能力强等特点。利用这种纳米复合材料, 可以很容易地将 DOX 选择性地递送到 PSMA 阳性细胞系 LNCaP 中, 随后的治疗效果依赖于装配在 DON 上的靶向配体的数量。这种具有较高的耐受剂量、靶向性与生物相容性的给药平台具有开发为新型纳米药物的巨大潜力。

综上所述, FNA 作为药物载体在疾病精准治疗方面具有良好的应用前景。

### 2.3 分子成像

迄今为止, FNA 已被广泛应用于生物传感、分子成像等生物医学领域。Bhatia 等<sup>[23]</sup>创造性地利用二十面体 FNA 在秀丽隐杆线虫中装载 pH 敏感药物, 并实现了线虫体内的实时 pH 示踪成像。Luo 等<sup>[24]</sup>

构建了一种多功能 FNA 纳米系统, 在肿瘤微酸环境下, pH 敏感的 DNA 捕获器可以触发形成二聚体 FNA 并释放 DOX 分子进行化疗; 另一方面, 肿瘤细胞中 miRNA-21 触发 FNA 发生链置换反应, 在激活 Cy5 荧光的同时产生特异性的 siRNA 以实现基因治疗。该系统可实现 miRNA 实时成像和化学/基因治疗, 有望推动肿瘤诊疗一体化技术的发展。Hu 等<sup>[25]</sup>构建了一个具有 5 个 TDF 纳米笼的树突状纳米结构, 通过荧光成像手段对活的哺乳动物细胞的实时内化、细胞器间运输和胞吐作用进行了表征。Feng 等<sup>[26]</sup>设计了一个基于 FNA 的非酶空间限制放大器, 可用于细胞内 miRNA 成像, 该方法快速、可靠。然而, 进行临床评估的药物需要对其生物学特性和代谢途径进行彻底的调查, 因此, FNA 应用于临床的主要阻碍是它们在很大程度上具有未知的生物学特性和代谢途径。这些信息可以通过分子成像方法来收集, 包括光学成像、核医学成像和磁共振成像 (MRI), 以实时监测 FNA 在体内的分布与代谢, 并对其进行定量分析。

## 3 核医学影像揭示框架核酸基本生物学特性

在众多成像技术中, 核医学成像 [包括正电子发射断层扫描 (PET) 和单光子发射计算机断层扫描 (SPECT)] 具有独特的特点<sup>[27]</sup>, 与光学、磁共振 (MR)、超声和光声成像相比, 生物体本身具有非常低的辐射背景, 因此引入放射性同位素减轻了人们对背景信号的担忧。此外, 与光学成像和超声波不同, 信号的穿透对核医学成像而言已不再是一个问题。同位素衰变产生的辐射严格遵循衰变方程, 可以对体内的信号进行精确的量化和三维定位。因此, 无创成像、实时监测、精确定量和三维断层扫描突出了核医学成像的优点。

DNA 框架的基本生物学特性可以通过引入放射性同位素和使用核医学成像来检测分析。<sup>35</sup>S 和 <sup>32</sup>P 的使用已经证实了 DNA 是遗传信息的载体<sup>[28]</sup>。<sup>18</sup>F、<sup>68</sup>Ga、<sup>64</sup>Cu、<sup>89</sup>Zr 和 <sup>99m</sup>Tc 也已用于 DNA 单链和 FNA 的成像。以下将探讨核医学成像引导的 FNA 研究。

### 3.1 单链 DNA: 肾脏快速代谢

目前已有许多研究致力于将寡核苷酸应用于生

物医学。Jiang 等<sup>[11]</sup>用<sup>64</sup>Cu ( $t_{1/2}=12.7$  h) 直接标记单链 DNA (ssDNA) polyA 碱基序列 (A20), 以收集 ssDNA 在体内的分布与代谢信息。健康小鼠的动态 PET 成像显示,<sup>64</sup>Cu 标记的 ssDNA 经静脉注射后迅速通过肾脏进行排泄, 胆囊偶尔摄取表明肝肠循环中有少量的 ssDNA。<sup>64</sup>Cu 标记的 A20 ssDNA 的循环  $t_{1/2}$  约为 3 min, 注射 30 min 后, 心脏、肝脏和脾脏等主要器官的 ssDNA 保留很少。

核酸适配体作为 ssDNA 也被广泛地研究和应用。Ding 等<sup>[29]</sup>以 [<sup>68</sup>Ga]SGC8 和 [<sup>68</sup>Ga]Library 为显像剂, 在对 HCT-116 人结肠癌异种移植裸鼠静脉给药后 30 和 60 min 进行了 PET/CT 成像, 结果显示两组均有较高的肝肾摄取, 其他器官和组织均无明显摄取。同时也首次使用人体 PET 成像评估了放射性标记 SGC8 适配体的生物分布和代谢。

Grindel 等<sup>[30]</sup>用 <sup>32</sup>P 标记的单链反义 DNA 进行药代动力学研究。食蟹猴静脉注射单链反义 DNA 15 min 后, DNA 在血液中完全降解, 降解  $t_{1/2}$  约为 5 min。在大鼠中使用 <sup>3</sup>H 标记的 20-mer 也得到了类似的结果<sup>[31]</sup>, 超过 70% 的 ssDNA 在 60~120 min 间发生了快速排泄, 其中肾脏表现出最高的信号保留。在 <sup>35</sup>S 标记后, 用硫代寡核苷酸 (S-oligo) 进行的实验显示, 保留时间延长<sup>[32]</sup>。

综上所述, ssDNA 在体内会通过肾脏快速代谢, 其他器官几乎无摄取。ssDNA 的平均血液循环  $t_{1/2}$  在几分钟内, 为肿瘤成像和治疗留下了相当狭窄的时间窗口。低相对分子质量、小二级结构尺寸、高生物相容性是促进肾脏有效清除 ssDNA 的主要因素。

### 3.2 多面体框架核酸: 肾脏延迟代谢

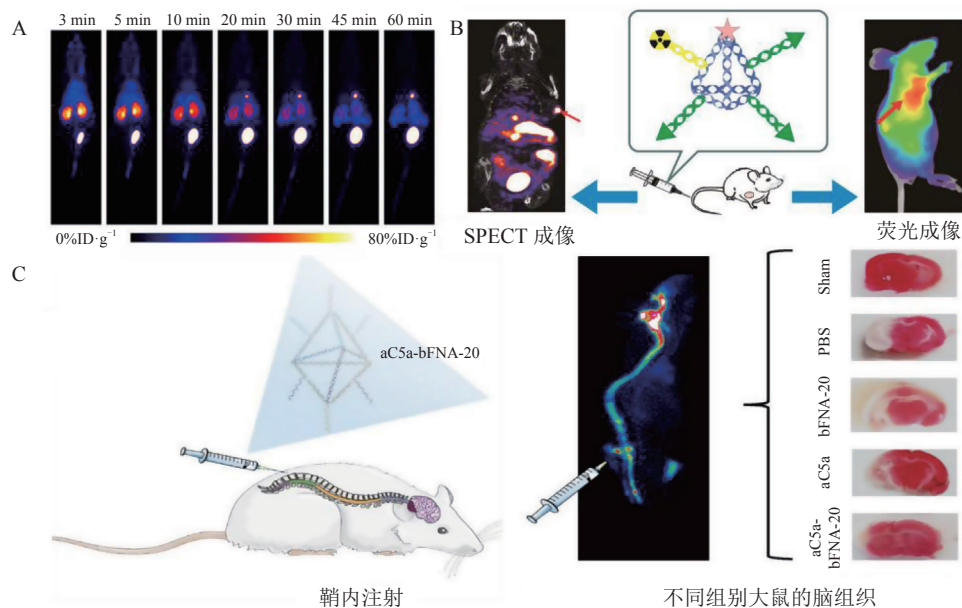
TDF 是由 4~6 条 ssDNA 组装而成的结构<sup>[33]</sup>。TDF 存在多种大小 (表示为 TDF- $n$ , 其中  $n$  代表每条边上的核苷酸数), 可以通过调节起始寡核苷酸的长度来合成, 使用尺寸排阻色谱可以纯化不同尺寸的 TDF<sup>[34]</sup>。为了研究 TDF-20 在健康小鼠和单侧输尿管梗阻 (UUO) 小鼠中的生物学特性, Jiang 等<sup>[10]</sup>使用 <sup>64</sup>Cu 对 TDF-20 进行了放射性标记。在健康小鼠体内, <sup>64</sup>Cu 标记的 TDF-20 的循环  $t_{1/2}$  为  $10.28 \pm 0.83$  min, 显著长于 ssDNA (2~3 min)。动态 PET 成像显示, 在静脉注射后 3 min, TDF-20

就开始经肾脏排泄并在膀胱积累 (见图 1A)。在 UUO 小鼠中, TDF-20 的循环特征没有中断,  $t_{1/2}$  为  $8.65 \pm 4.47$  min。由于输尿管阻塞, 梗阻的肾脏显示出持续的 TDF-20 积累, 而对侧肾脏的排泄速度增加了 3 倍, 以减轻梗阻侧肾脏负担。通过核医学成像, 可以定量评估 TDF-20 在健康小鼠和 UUO 小鼠体内的肾功能代谢情况。这一研究探究了 TDF 在体内的药代动力学性质, 而无需考虑信号背景和渗透深度。

研究人员使用荧光基团 Dylight755 和 <sup>99m</sup>Tc ( $t_{1/2}=6$  h) 对 TDF-20 进行双重标记, 用于靶向肿瘤成像 (见图 1B)<sup>[35]</sup>。将叶酸、Dylight755 和 <sup>99m</sup>Tc 修饰于 TDF-20 上, 制备成多功能的 TDF-20, 成功地实现了口腔肿瘤 (KB 细胞) 小鼠模型中叶酸受体的光学和核医学成像。光学/核医学双模态成像验证了肾脏对 TDF-20 的清除能力, 同时, 叶酸的功能化增加了肝脏、脾脏和肠道中示踪剂的摄取量。

另一种多面体核酸是边缘长度为 20 个核苷酸的双锥体 FNA (bFNA-20)<sup>[36]</sup>。Li 等<sup>[37]</sup>制备了 bFNA-20, 使用 <sup>89</sup>Zr ( $t_{1/2}=78.4$  h) 对 bFNA-20 进行放射性标记, 并对缺血性脑卒中大鼠进行了长期研究。已有的静脉注射实验证实了之前的观察结果, 即多面体核酸可被肾脏稳定地清除, 在体内很少发生转移, 从而导致示踪剂在受损大脑中的积累较差。为了改善多面体核酸在病变部位的积累, 该团队采用鞘内注射方式将 <sup>89</sup>Zr 标记的 bFNA-20 输入大鼠体内。PET 成像显示, 接受 bFNA-20 的大鼠可见典型的脑脊液灌注成像。此外, 该团队发现, 将 bFNA-20 与靶向补体 C5a 的核酸适配体 (aC5a) 结合并输入大鼠体内, 可显著降低补体 C5a 介导的神经毒性, 并有效地缓解大脑中的氧化应激, 对大鼠缺血性脑卒中的疗效优于单独使用 aC5a (见图 1C)。

FNA 表现出比 ssDNA 相对延迟的肾脏代谢, 其循环  $t_{1/2}$  为 10~20 min, 比 ssDNA 长 5~8 倍, 可能是由于 DNA 框架的尺寸较单链有所增大, 它们 5~20 nm 的尺寸范围与肾小球滤过阈值 (6~10 nm) 范围相近。在适当的靶向配体的作用下, FNA 能够积极地定位到肿瘤, 用于成像和治疗。然而, 疏水配体 (如叶酸) 的修饰改变了 DNA 多面体的生物分布模式, 导致其在肝脏及肠道的积聚。



A: TDF-20 PET 成像<sup>[10]</sup>; B: TDF-20 的 Dylight755 和 <sup>99m</sup>Tc 双重标记、成像<sup>[35]</sup>; C: <sup>89</sup>Zr 标记的 aC5a-bFNA-20 用于治疗大鼠缺血性脑卒中<sup>[37]</sup>; PBS: 磷酸盐缓冲液组; Sham: 假手术组

图 1 多面体框架核酸的体内核医学成像

Figure 1 Nuclear medicine imaging of polyhedral framework nucleic acids *in vivo*

### 3.3 一维、二维 DNA 折纸: 快速、持久的肾脏积累

DON 是 FNA 的另一个重要分支。通过使用一组寡核苷酸对单链环状病毒基因组 (通常是 M13 等环状 ssDNA) 进行退火, 可以在接近原子精度的情况下获得具有高度可重复性的 DON。以往的研究已经利用 DON 进行肿瘤的被动和主动光学成像<sup>[38]</sup>, 但受限于其有限的穿透深度和半定量性质, 对 DON 代谢的深入研究受到一定阻碍。基于此, Jiang 等<sup>[11]</sup>采用了一系列已被开发的折纸 FNA 结构 (包括矩形、三角形和管状的 DON), 用于非侵入性核医学成像, 并以放射性标记的 M13 模板链作为对照。在健康小鼠中, M13 在注射后 5 min 内迅速分布到全身, 24 h 内持续在肝脏中积累。之后, 肝脏信号逐渐下降, 而肠道放射性信号稳步增加, 表明存在肝肠循环, 24 h 后增强的粪便信号进一步确认了肝肠循环。相比之下, <sup>64</sup>Cu 标记的 DON 仅显示出轻微的肝脏积累, 主要集中在双肾 (见图 2)。动态 PET 成像分析显示, DON 血液循环清除和肾脏积累迅速, PET/CT 成像进一步证实, 在注射后 3 和 12 h, DON 仅停留在肾实质中, 其他器官如肝脏、脾脏、胃肠道、肺部 and 淋巴系统中几乎没有检测到 DON 的存在。在

3 种 DON 的实验比较中, 矩形 DON 在注射后 12 h 显示出最高的肾脏保留率, 摄取值约为 20 %ID·g<sup>-1</sup> (该单位表示每克组织的放射性计数占总注射剂量的百分比)。肾脏摄取的 DNA 折纸剂量相当于注射剂量的 12%~15%。此外, 在注射后 24 h, 所有的 DON 都从体内排除, 减轻了人们对其毒性的担忧。

为了排除 DON 在小鼠体内解体的可能性, Jiang 等<sup>[11]</sup>制备了具有 20 个核苷酸的 ssDNA、具有 20 个碱基对的 TDF 和部分折叠的 DON, 并对健康小鼠进行了 PET 成像。结果显示, <sup>64</sup>Cu 标记的 ssDNA 在注射后立即通过尿液排出, 其血液循环  $t_{1/2}$  为 2~3 min。注射后 24 h 对 ssDNA 的生物分布研究显示, 在包括肾脏和肝脏在内的所有主要器官中, 残留信号均低于 1%ID·g<sup>-1</sup>。通过 PET 成像, <sup>64</sup>Cu 标记的 TDF-20 显示出持续的肾脏积累, 表现出比 ssDNA 更长的血液循环 (循环  $t_{1/2}$  约 10 min)。ssDNA 和 TDF 的成像结果表明, 小型 DNA 纳米片段不会显示出稳定的肾脏积累<sup>[10]</sup>。另一方面, 部分折叠的 DON (其中 30%~50% 的 M13 未折叠) 类似于未折叠的 M13 病毒基因组, 显示出明显的肝脏滞留, 随后在肠道消化并通过粪便排泄。这些结果

排除了 DON 在小鼠体内解体的可能性, 部分未折叠的 M13 暴露可能导致肝脏快速积聚, 而在所有使

用 DON 进行的 PET 成像研究中均未观察到明显的肝脏摄取<sup>[11]</sup>。

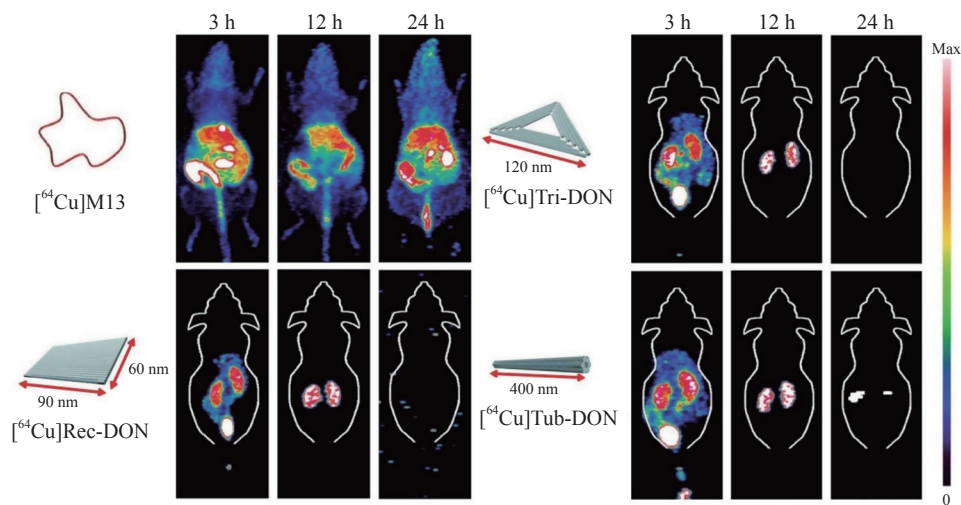


图2 DNA折纸在健康小鼠体内的PET成像<sup>[11]</sup>

Figure 2 PET imaging of DNA origami in healthy mice<sup>[11]</sup>

小分子药物的低生物利用度(通常低于5%)限制了其治疗急性肾损伤(AKI)的临床实践。完整的DON快速且持久地在肾脏积累,可用于减轻AKI<sup>[11]</sup>。PET成像显示,静脉注射<sup>64</sup>Cu标记的矩形DON后的5 min至24 h内,示踪剂在肾脏中明显积累,这种显著的肾脏滞留可以增强对AKI的治疗效果,DNA碱基在受损肾脏中充当抗氧化剂,中和活性氧对损伤细胞的影响。0.5 mg·kg<sup>-1</sup> DON的AKI治疗效果与临床使用的药物N-乙酰半胱氨酸210 mg·kg<sup>-1</sup>治疗效果相当<sup>[11]</sup>。

### 3.4 三维DNA折纸框架结构: 较高的肝肾摄取

在这项工作中, Liu等<sup>[39]</sup>合成了3种具有不同大小、刚性、孔径等结构属性的三维DNA折纸框架结构(DOF)。通过标记核素<sup>89</sup>Zr并经尾静脉注射至小鼠体内,利用PET实时追踪它们在体内的生物分布,获得了其在血液、肝脏和肾脏中的药代动力学参数。研究发现,三维DOF与以往报道的肾趋向的平面折纸结构不同,表现出较高的肝脏摄取。其中柔性强、体积大的两类结构在肝实质细胞中的摄取不高,表面修饰无法对其生物分布行为造成显著影响。而刚性强、体积小的正二十面体结构显著在肝脏中富集和驻留,该结构外部的单链核酸或修饰的N-乙酰半乳糖胺(GalNAc)可以进一步增加

其在肝脏尤其是肝实质细胞的摄取。研究表明,不同形式的DNA折纸结构具有在不同组织中富集潜力,刚性正二十面体纳米结构可被工程化为显著靶向肝实质细胞的工具,为相关肝病用药提供了新的载体。

## 4 结语与展望

综上所述,FNA在生物医学领域得到了广泛应用。核医学成像作为药物研究的有效工具<sup>[40-41]</sup>,可以实时、精确地定量评价FNA在体内的分布与代谢。FNA医学转化的主要挑战是稳定性、代谢和毒性之间的平衡,一旦进入人体,复杂的生物环境会给FNA的稳定性带来挑战。此外,当分子被修饰时,它们的整体生物分布可能会发生改变。因此,在开发应用于生物医学的FNA时,需要从化学、免疫和遗传毒性等角度考察评价。

FNA为生物医学研究提供了一个理想的模型。FNA对肾脏的靶向作用,以及在肾脏的积聚与排泄有利于对肾功能障碍进行显像与治疗,但是FNA短暂的血液循环不利于其在肿瘤的积聚,因此其在肿瘤诊断治疗中的应用需进一步探索。此外,由PET图像可以看出,FNA在肝脏表现出较低的滞留,肝脏的低积聚引发了许多值得探讨的问题。肝脏和脾

脏对 FNA 的摄取下调提示以 DNA 形式存在的外来纳米复合物可能会逃避先天免疫, 该机制可能有助于阐明纳米药物的设计原则, 从而有助于减少药物的非靶点积聚 (如积聚在肝脏和脾脏)。此外, 使用 FNA 平台可能更容易实现具有器官选择性的药物递送和基因编辑。

Ding 等<sup>[29]</sup>通过对 <sup>68</sup>Ga 放射性标记的适配体进行体内 PET 追踪, 对靶向蛋白酪氨酸激酶 7 的适配体 SGC8 进行了首次人体药代动力学研究, 获得了适配体在人体中的动态分布规律。该研究发现放射标记的适配体对正常器官无害, 大部分在肾脏中积累, 并通过尿液从膀胱中清除, 这与临床前研究一致。该研究建立了一个基于生理的适配体药代动力学模

型, 该模型可用于预测治疗反应并制定个性化的治疗策略。同时, 他们研究了适配体在人体内的生物安全性和动态药代动力学, 展示了新型分子成像技术在药物开发中的能力。

可以相信, FNA 作为一个备受关注的热门领域, 其研究将持续拓展和深入进行, 特别是在非人类灵长类动物的临床前评估和临床试验方面。全面的毒性评估和体内分布代谢是需要解决的重要问题, 对这一领域的研究将有助于我们更好地理解基于 DNA 的生物材料在体内的构效关系。正如我们在以上概述中所指出的, FNA 可作为一个优秀的研究模型为 DNA 纳米材料的临床转化开启一个充满希望的未来。

## [ 参考文献 ]

- [1] Rothmund P W. Folding DNA to create nanoscale shapes and patterns[J]. *Nature*, 2006, 440(7082): 297-302.
- [2] Liu X, Zhang F, Jing X, et al. Complex silica composite nanomaterials templated with DNA origami[J]. *Nature*, 2018, 559(7715): 593-598.
- [3] Zhou C, Duan X, Liu N. DNA-nanotechnology-enabled chiral plasmonics: from static to dynamic[J]. *Acc Chem Res*, 2017, 50(12): 2906-2914.
- [4] Kumar V, Palazzolo S, Bayda S, et al. DNA nanotechnology for cancer therapy[J]. *Theranostics*, 2016, 6(5): 710-725.
- [5] Ge Z, Gu H, Li Q, et al. Concept and development of framework nucleic acids[J]. *J Am Chem Soc*, 2018, 140(51): 17808-17819.
- [6] Jiang D, England C G, Cai W. DNA nanomaterials for preclinical imaging and drug delivery[J]. *J Control Release*, 2016, 239: 27-38.
- [7] Gradisar H, Jerala R. Self-assembled bionanostructures: proteins following the lead of DNA nanostructures[J]. *J Nanobiotechnol*, 2014, 12: 4. DOI: 10.1186/1477-3155-12-4.
- [8] Kostrz D, Wayment-Steele H K, Wang J L, et al. A modular DNA scaffold to study protein-protein interactions at single-molecule resolution[J]. *Nat Nanotechnol*, 2019, 14(10): 988-993.
- [9] Ge Z, Liu J, Guo L, et al. Programming cell-cell communications with engineered cell origami clusters[J]. *J Am Chem Soc*, 2020, 142(19): 8800-8808.
- [10] Jiang D, Im H J, Boleyn M E, et al. Efficient renal clearance of DNA tetrahedron nanoparticles enables quantitative evaluation of kidney function[J]. *Nano Res*, 2019, 12(3): 637-642.
- [11] Jiang D W, Ge Z L, Im H J, et al. DNA origami nanostructures can exhibit preferential renal uptake and alleviate acute kidney injury[J]. *Nat Biomed Eng*, 2018, 2(11): 865-877.
- [12] Wang Z R, Song L L, Liu Q, et al. A tubular DNA nanodevice as a siRNA/chemo-drug co-delivery vehicle for combined cancer therapy[J]. *Angew Chem Int Edit*, 2021, 60(5): 2594-2598.
- [13] Wang H, Liu Q, Lan X, et al. Framework nucleic acids in nuclear medicine imaging: shedding light on Nano-Bio interactions[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2022, 61(8): e202111980. DOI: 10.1002/anie.202111980.
- [14] Lin M, Song P, Zhou G, et al. Electrochemical detection of nucleic acids, proteins, small molecules and cells using a DNA-nanostructure-based universal biosensing platform[J]. *Nat Protoc*, 2016, 11(7): 1244-1263.
- [15] Ge Z, Lin M, Wang P, et al. Hybridization chain reaction amplification of microRNA detection with a tetrahedral DNA nanostructure-based electrochemical biosensor[J]. *Anal Chem*, 2014, 86(4): 2124-2130.
- [16] Li M, Ding H M, Lin M H, et al. DNA framework-programmed cell capture via topology-engineered receptor-ligand interactions[J]. *J Am Chem Soc*, 2019, 141(47): 18910-18915.
- [17] Liang L, Li J, Li Q, et al. Single-particle tracking and modulation of cell entry pathways of a tetrahedral DNA nanostructure in live cells[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2014, 53(30): 7745-7750.
- [18] Li J, Pei H, Zhu B, et al. Self-assembled multivalent DNA nanostructures for noninvasive intracellular delivery of immunostimulatory CpG oligonucleotides[J]. *ACS Nano*, 2011, 5(11): 8783-8799.
- [19] Lee H, Lytton-Jean A K, Chen Y, et al. Molecularly self-assembled nucleic acid nanoparticles for targeted *in vivo* siRNA delivery[J]. *Nat Nanotechnol*, 2012, 7(6): 389-393.
- [20] Zhang Q, Jiang Q, Li N, et al. DNA origami as a drug delivery vehicle for cancer therapy[J]. *ACS Nano*, 2014, 8(7): 6633-6643.
- [21] Wu T, Liu J, Liu M, et al. A nanobody-conjugated DNA nanoplatform for targeted platinum-drug delivery[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2019, 58(40): 14224-14228.

- [22] Ge Z, Guo L, Wu G, *et al.* DNA origami-enabled engineering of ligand-drug conjugates for targeted drug delivery[J]. *Small*, 2020, 16(16): e1904857. DOI: 10.1002/sml.201904857.
- [23] Bhatia D, Surana S, Chakraborty S, *et al.* A synthetic icosahedral DNA-based host-cargo complex for functional imaging[J]. *Nat Commun*, 2011, 2: 339. DOI: 10.1038/ncomms1337.
- [24] Luo H, Wang Z, Mo Q, *et al.* Framework nucleic acid-based multifunctional tumor theranostic nanosystem for miRNA fluorescence imaging and chemo/genetherapy[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2023, 15(28): 33223–33238.
- [25] Hu X J, Huang Y, Zheng H, *et al.* Dendrimer-like hierarchical framework nucleic acid for real-time imaging of intracellular trafficking[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2023, 15(3): 3839–3850.
- [26] Feng Y, Liu Q, Zhao X, *et al.* Framework nucleic acid-based spatial-confinement amplifier for miRNA imaging in living cells[J]. *Anal Chem*, 2022, 94(6): 2934–2941.
- [27] Cheng L, Shen S, Jiang D, *et al.* Chelator-free labeling of metal oxide nanostructures with Zirconium-89 for positron emission tomography imaging[J]. *ACS Nano*, 2017, 11(12): 12193–12201.
- [28] Hershey A D, Chase M. Independent functions of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage[J]. *J Gen Physiol*, 1952, 36(1): 39–56.
- [29] Ding D, Zhao H, Wei D, *et al.* The First-in-Human whole-body dynamic pharmacokinetics study of aptamer[J]. *Research*, 2023, 6: 0126. DOI: 10.34133/research.0126.
- [30] Grindel J M, Musick T J, Jiang Z, *et al.* Pharmacokinetics and metabolism of an oligodeoxynucleotide phosphorothioate (GEM91) in cynomolgus monkeys following intravenous infusion[J]. *Antisense Nucleic Acid Drug Dev*, 1998, 8(1): 43–52.
- [31] Agrawal S, Tamsamani J, Galbraith W, *et al.* Pharmacokinetics of antisense oligonucleotides[J]. *Clin Pharmacokinet*, 1995, 28(1): 7–16.
- [32] Agrawal S, Tamsamani J, Tang J Y. Pharmacokinetics, biodistribution, and stability of oligodeoxynucleotide phosphorothioates in mice[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88(17): 7595–7599.
- [33] Goodman R P, Schaap I A, Tardin C F, *et al.* Rapid chiral assembly of rigid DNA building blocks for molecular nanofabrication[J]. *Science*, 2005, 310(5754): 1661–1665.
- [34] Xing S, Jiang D, Li F, *et al.* Constructing higher-order DNA nanoarchitectures with highly purified DNA nanocages[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2015, 7(24): 13174–13179.
- [35] Jiang D, Sun Y, Li J, *et al.* Multiple-armed tetrahedral DNA nanostructures for tumor-targeting, dual-modality *in vivo* imaging[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2016, 8(7): 4378–4384.
- [36] Li J, Jiang D, Bao B, *et al.* Radiolabeling of DNA bipyramid and preliminary biological evaluation in mice[J]. *Bioconjug Chem*, 2016, 27(4): 905–910.
- [37] Li S, Jiang D, Rosenkrans Z T, *et al.* Aptamer-conjugated framework nucleic acids for the repair of cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. *Nano Lett*, 2019, 19(10): 7334–7341.
- [38] Du Y, Jiang Q, Beziere N, *et al.* DNA-nanostructure-gold-nanorod hybrids for enhanced *in vivo* optoacoustic imaging and photothermal therapy[J]. *Adv Mater*, 2016, 28(45): 10000–10007.
- [39] Liu D, Chen X, Jiang D, *et al.* Structural properties and surface modification decided pharmacokinetic behavior and bio-distribution of DNA origami frameworks in mice[J]. *Small*, 2023, 19(40): e2302932. DOI: 10.1002/sml.202302932.
- [40] 宋杨美惠, 李梦婷, 兰晓莉, 等. 靶向成纤维细胞激活蛋白放射性药物在恶性肿瘤诊疗中的研究进展 [J]. *药学进展*, 2023, 47(5): 337–356.
- [41] 洪浩. 放射性核素偶联药物研发的优势与挑战 [J]. *药学进展*, 2023, 47(5): 321–323.



**【专家介绍】江大卫**：武汉协和医院核医学科教授、博士生导师，现任华中科技大学协和医院核医学科教研室副主任、湖北省分子影像重点实验室副主任（兼办公室主任）。长期致力于开发以生物大分子（单克隆抗体、DNA等）为基础的核医学分子影像探针，拓展探针在疾病诊疗中的应用。主持国家重点研发计划青年科学家项目等7项纵向课题，迄今已发表SCI论文100余篇（总引用>4000，H因子为33），第一作者和通信作者文章50余篇，包括*Nat Biomed Eng*、*Chem Soc Rev*、*Acc Chem Res*、*Adv Sci*、*J Nucl Med*等国际权威杂志。研究成果被*Sci Transl Med*和*Nat Rev Nephrol*等杂志选为研究亮点进行专题报道。2019年获得美国核医学会MJW冠名博后奖，同年获得该学会青年科学家奖。担任*J Nanobiotechnology*编委、*Am J Nucl Med Mol Imaging*杂志执行主编等职务。



**【专家介绍】兰晓莉**：医学博士、二级教授、主任医师、博士生导师。现任华中科技大学协和医院核医学科及教研室主任、分子影像湖北省重点实验室主任、生物靶向治疗教育部重点实验室副主任、华中科技大学医学影像系副主任。社会任职包括中华医学会核医学分会常委兼秘书长、中国核学会核医学分会副理事长、中国医学影像技术研究会核医学分会副主委等。荣获“国家万人计划创新领军人才”、“国家卫生健康委突出贡献中青年专家”荣誉称号。担任*Eur J Nucl Med Mol Imaging*副主编、*Mol Pharm*、*Am J Nucl Med Mol Imaging*编委等职务。在科研方面，致力于多模态分子成像研究及新型核医学分子影像探针的开发与临床转化。发表学术论文200余篇，获国家自然科学基金重点项目2项、面上项目4项等20余项资助。