

基于超支化聚乙烯亚胺的磁共振成像造影剂研究进展

朱静怡, 施健辉, 杨军星, 盛慧, 张林珊, 管婧希, 黄和*

(南京工业大学药学院, 江苏 南京 211800)

[摘要] 在过去 10 年中, 分子成像技术迅速发展, 并由此出现了很多有关影像检查的造影剂, 其中基于超支化聚乙烯亚胺的磁共振成像造影剂展现出一些其他造影剂所没有的优异性。超支化聚乙烯亚胺价格相对低廉, 可修饰性强, 其研究开发得到了广泛的关注。基于超支化聚乙烯亚胺的良好理化性质和结构特点, 综述了各类基于超支化聚乙烯亚胺的磁共振成像造影剂的制备及其生物医学应用进展, 并展望此类磁共振成像造影剂在肿瘤早期诊断中的应用前景。

[关键词] 超支化聚乙烯亚胺; 纳米载体; 磁共振成像; 生物医学应用

[中图分类号] R981 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1001-5094 (2019) 09-0678-10

Research Progress in Hyperbranched Polyethyleneimine-based Magnetic Resonance Imaging Contrast Agents

ZHU Jingyi, SHI Jianhui, YANG Junxing, SHENG Hui, ZHANG Linshan, GUAN Jingxi, HUANG He

(School of Pharmaceutical Sciences, Nanjing Tech University, Nanjing 211800, China)

[Abstract] Molecular imaging technology has developed rapidly in the past decade, with many contrast agents for imaging diagnosis, among which hyperbranched polyethyleneimine-based magnetic resonance imaging (MRI) contrast agents have displayed some advantages over others. Hyperbranched polyethyleneimine is relatively cheap and highly modifiable, and its research and development has attracted extensive attention. Based on the good physicochemical properties and structural characteristics of hyperbranched polyethyleneimine, the preparation of various hyperbranched polyethyleneimine-based MRI contrast agents and their biomedical applications are reviewed in this paper. The future application of these MRI contrast agents in early diagnosis of tumor is also prospected.

[Key words] hyperbranched polyethyleneimine; nanocarrier; magnetic resonance imaging; biomedical application

癌症作为人类难以治疗的疾病之一, 其诊断与治疗已成为医学难题^[1-2]。癌症的局部浸润性和远处转移性, 使得疾病晚期的治疗难度加大, 而癌症患者晚期的生存率和治疗费用又与癌症的确诊阶段密切相关。因此在这一系列的癌症诊疗过程中, 癌症的早期诊断对于治疗非常关键^[3-5]。

分子影像学作为一门新兴学科, 是运用影像手段展示组织、细胞及亚细胞水平分子的生理乃至生物学行为的科学研究方法^[6-8]。常见的能用于分子影像学检查的手段包含: 超声成像 (ultrasonic

imaging, US)、X 射线断层成像 (X-ray computed tomography imaging, CT)、磁共振成像术 (magnetic resonance imaging, MRI)、正电子发射计算机断层显像 (positron emission tomography, PET) 和单光子发射计算机断层显像 (single photon emission computed tomography, SPECT) 等^[9-11]。其中 MRI 是运用射频波及磁场激发氢原子核共振, 吸收及释放能量, 通过获得电磁信号来产生体内器官及组织图片的一种成像手段^[12-13]。由于其具有较高的成像分辨率、能够在分子结构上提供病变、解剖学等生理学信息且无放射性辐射等优点, 被临床广泛使用^[14]。目前临床上常用的 MR 成像造影剂主要有顺磁性、超顺磁性及铁磁性物质 3 大类, 其中商业使用的主要为基于钆离子的顺磁性 MRI 造影剂, 如马根维显、欧乃影等, 由于其较小的相对分子质量致使其在体内具有较短的血液循环时间、无组织特异性, 且其存在一定的肾毒性^[15-16]。随着纳米技术的发展,

接受日期: 2019-06-20

项目资助: 国家自然科学基金 (No. 21807059); 江苏省自然科学基金 (No. BK20180711); 江苏省高等学校自然科学基金面上项目 (No. 17KJB350005); 南京工业大学大学生创新创业与实践开放基金项目 (No. 2019DC0939)

*** 通讯作者:** 黄和, 教授;

研究方向: 生物医用纳米材料;

Tel: 025-58139942; **E-mail:** huangh@njtech.edu.cn

可将众多 MRI 元素与纳米材料相结合, 可改善传统临床 MRI 造影剂的诸多缺点。在诸多的纳米材料中, 超支化聚合物由于良好的理化性质可作为构建 MRI 造影剂的优选载体。其中, 超支化聚乙烯亚胺 (hyperbranched polyethyleneimine, PEI) 由于价格低廉、具有独特的结构及性质, 被广泛用作各种无机杂化纳米颗粒的稳定剂及载体^[10, 17-19]。

PEI 是一种支链状的高分子聚合物, 其制备较为简单。可采用单体法合成得到, 即通过氮丙环自身在酸性条件下与另一分子氮丙环开环聚合, 按照这种开环聚合方法多次重复与氮丙环反应即得到 PEI^[20], 如图 1 所示。PEI 由于含有较多分支结构, 这种结构使其形成类似球状分子, 支化分配的状态使其内部形成了疏水性的空腔, 可用于包裹、络合金属纳米颗粒及稳定无机金属氧化物等^[21-23]。与此同时, 其分支结构中含有多个二级胺结构, 其氮原子可有效络合金属离子从而实现配位稳定的作用。其支链端位丰富的氨基, 保证了构建的纳米材料的可修饰性, 赋予其诸多的生物学功能。因此, PEI 基于其优良结构, 在分子医学影像等方面应用广泛^[17-19]。

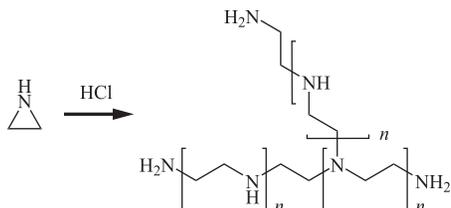


图 1 PEI 合成示意图

Figure 1 Schematic diagram of the synthesis of PEI

MRI 常用的纳米造影剂按功能分类可分为 2 种, 包括阳性 (T_1) 成像造影剂和阴性 (T_2) 成像造影剂。 T_1 MRI 造影剂主要有钆离子^[17-18]、四氧化三锰 (Mn_3O_4) 纳米颗粒^[19]; T_2 MRI 造影剂主要有超顺磁性氧化铁纳米颗粒^[24]。这些常见的 MRI 造影剂存在水溶性较差、肾毒性高、无肿瘤特异性等缺点^[25], 因此需要一个优良的纳米平台作为载体, 提高其生物相容性、水溶性、增加在肿瘤处纳米造影剂的富集量, 以实现材料介导的精准 MRI。PEI 恰能弥补该缺陷, 如今已有多种 PEI 的 MRI 造影剂被开发利用, 且其具有较高的弛豫率, 可实现优异的 MRI。基于 PEI 的 MRI 造影剂类型分为 T_1 MRI

造影剂、 T_2 MRI 造影剂和两者兼具的 T_1/T_2 双模态 MRI 造影剂。因此, 本综述针对近年来 PEI 的各类 MRI 造影剂的构建及其应用进行归纳总结, 为开发新型 MRI 造影剂提供参考。

1 基于超支化聚乙烯亚胺的 T_1 MRI 造影剂

基于 PEI 良好的理化性质及结构特点, 其可用于络合金属离子及稳定金属氧化物, 因此构建的基于 PEI 的 T_1 MRI 造影剂的代表主要是钆^[18]和锰的氧化物^[19], 钆、锰元素的顺磁性, 可使水分子的交换速率改变, 导致 T_1 弛豫时间缩短, 最终表现为 T_1 加权成像信号增强^[19, 26]。

1.1 基于超支化聚乙烯亚胺的钆造影剂

由于钆造影剂属于 T_1 MRI 造影剂, 在检查中能够得到高分辨率影像, 三价钆离子 (Gd^{3+}) 具有 8 个配位点, 能够形成多种配合物, 且螯合效率较高。因此以钆离子为成像元素构建的基于 PEI 的钆造影剂在研究及临床上具有较好的应用。

Zhou 等^[17]利用聚乙二醇 (PEG) 修饰的 PEI 连接钆离子螯合剂 2, 2', 2''-(10-(2-(2, 5-二氧代吡咯烷-1-氧基)-2-氧乙基)-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1, 4, 7-三) 三乙酸 (DOTA-NHS), 并以此作为模板包裹纳米金颗粒, 载入钆离子, 最终将 PEI 表面剩余氨基完全酰基化, 构建用于 MR/CT 成像的双模态造影剂, 即钆载体的功能化 PEI 包裹金纳米颗粒 ($Gd@Au$ PENP)。研究表明构建的该纳米造影剂具有较低的毒性, 生物相容性、水溶性、胶体稳定性良好, 具有较高的弛豫率 ($r_1=0.89 \text{ mM}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$), 且作为高效造影剂展现出良好的动物血池和器官 MRI 效果。如图 2 所示, 在给小鼠注射 $Gd@Au$ PENP 后, 箭头所指的主动脉和下腔静脉明显变亮, 且能在体内维持至少 3 h 以上的 MRI 增强效果, 体现其良好的血池 T_1 MRI 效果。Zhou 等^[18]后期在此基础上构建了靶向表达叶酸 (FA) 受体肿瘤的 MR 造影剂 FA- Gd -Au PENPs, 将 FA 通过 PEG 为桥梁连接在 PEI 表面。研究表明构建的 FA- Gd -Au PENP 造影剂具有更高的弛豫率 ($r_1=1.1 \text{ mM}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$), 且能与 FA 受体高表达的肿瘤特异性结合以实现靶向肿瘤 MRI 的功能, 相对于 Gd -Au

PENP, FA-Gd-Au PENP 在肿瘤部位的 MRI 信号更高, 对肿瘤细胞表现出良好的靶向性, 通过在肿瘤部位较高的材料富集以实现材料介导的高效 MRI 特性。

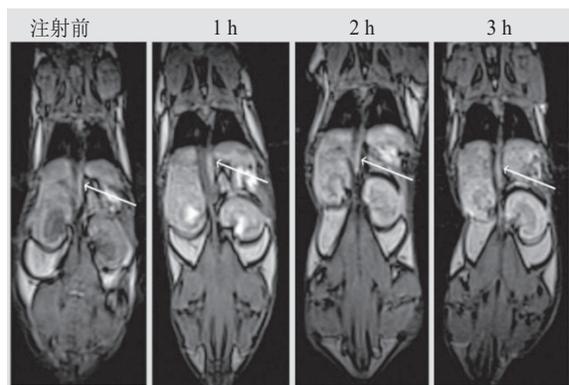


图2 小鼠接受 Gd@Au PENP 注射后其主动脉 T₁ MRI 图^[17]
Figure 2 T₁-weighted MRI maps of the mouse's aorta after injection of the Gd@Au PENP^[17]

除此之外, 氧化钆 (Gd₂O₃) 也作为良好的 T₁ 成像物质被用来构建多种 MRI 造影剂^[27-28]。Xu 等^[29] 首先将氯化钆 (GdCl₃) 溶解于乙二醇中, 以过氧化氢作为氧化剂进行氧化并搅拌, 形成纳米混合物后沉淀一周, 获得氧化钆纳米颗粒。然后再用 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基-碳二亚胺盐酸盐/*N*-羟基琥珀酰亚胺 (EDC/NHS) 偶联反应将荧光素修饰在 PEI 表面, 制备得到高水溶性的荧光素-PEI, 最终将纳米氧化钆颗粒加入上述荧光素-PEI 溶液中, 通过氧化钆纳米颗粒与 PEI 表面剩余氨基的配位螯合得到 PEI 包覆的氧化钆纳米粒子, 构建具有荧光标记功能的 T₁ MRI 造影剂, 其具有良好的弛豫率 ($r_1=6.76 \text{ mM}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$, $r_2=20.27 \text{ mM}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$)。该造影剂在 PEI 的包覆下提高了生物相容性, 在体内能够实现优异的 MRI 功能。通过建立肝肿瘤模型发现, 构建的该纳米造影剂在肝肿瘤处具有明显的 T₁ 增强信号, 该纳米造影剂在肝肿瘤处的积累量明显高于正常肝组织, 究其原因, 在于其能被网状内皮系统细胞主动吞噬, 因此体现肝肿瘤的 T₁ 成像信号增强效应。

目前构建的基于 PEI 的钆造影剂在 PEI 的存在下明显提升了钆造影剂的水溶性、稳定性及生物相容性, 可在动物体内实现良好的 T₁ MRI 效果。但由于 PEI 自身结构特点, 可进行多种金属纳米颗粒及

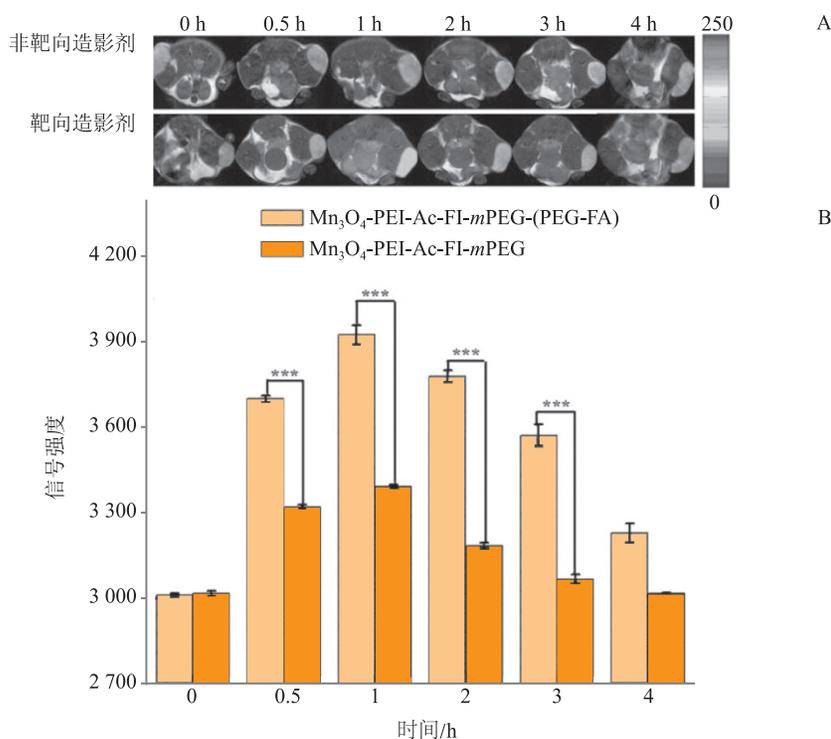
金属氧化物的包裹, 易影响钆元素与水分子的交换速率, 从而改变 T₁ 弛豫时间, 时常会减小钆元素弛豫率进而影响 MRI 效果, 因此基于 PEI 的钆造影剂由于表面修饰基因及内部包裹或稳定金属纳米颗粒的不同会造成弛豫率的差异, 且影响情况不可控。因此, 构建基于 PEI 的钆造影剂, 优化其结构与功能使其具有较高的弛豫率, 在这方面仍需改进, 这也为以后构建基于 PEI 的钆造影剂提供了思路。

1.2 基于超支化聚乙烯亚胺的锰氧化物造影剂

由于锰元素也具有一定的顺磁性, 能改变水分子的交换速率从而缩短组织脏器的 T₁ 弛豫时间, 因此被作为 T₁ MRI 造影剂, 在生物医学领域被广泛使用。目前能呈现较好 T₁ MRI 效果的锰基造影剂主要为锰氧化物, 主要种类有氧化锰 (MnO)、二氧化锰 (MnO₂)、Mn₃O₄ 等^[30-32]。由于锰氧化物造影剂单独作用时稳定性和体内生物相容性较差、易沉淀, 具有一定的毒副作用, 因此将其与 PEI 结合构建基于 PEI 的锰氧化物造影剂, 可明显改善其性能, 可增强锰氧化物的水溶性及生物相容性, 使其能在体内实现良好的 MRI 效果。

Luo 等^[33] 构建了 PEI 稳定的 Mn₃O₄ 纳米颗粒, 以 PEI 为稳定剂, 运用水热合成法, 以二甘醇作为还原剂和溶剂, 乙酰丙酮锰作为锰源, 控制高温, 在高压反应釜中通过一步法制备 PEI 稳定的 Mn₃O₄ 纳米颗粒 (Mn₃O₄-PEI NP)。随后, 在 Mn₃O₄-PEI NPs 表面修饰异硫氰酸荧光素 (FI)、功能分子 PEG 化的 FA (PEG-FA), 以及甲氧基封端的 PEG (*m*PEG), 最终将 PEI 表面剩余氨基乙酰化, 制备得到 FA 靶向的多功能 Mn₃O₄ 纳米颗粒 Mn₃O₄-PEI-Ac-FI-*m*PEG-(PEG-FA) NP, 其粒径约为 8.1 nm, T₁ 弛豫率 r_1 为 $0.566 \text{ mM}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ 。表征测试表明, 制备得到的 Mn₃O₄-PEI-Ac-FI-*m*PEG-(PEG-FA) NPs 具有良好的生物相容性、水溶性和低血液毒性。形成的 Mn₃O₄-PEI-Ac-FI-*m*PEG-(PEG-FA) NPs 与未修饰靶向分子 FA 的锰基造影剂相比, 对表达 FA 受体的肿瘤细胞靶向性更好, 满足对肿瘤的靶向检测要求, 不论在体外还是体内均表现出较强的靶向肿瘤 MRI 信号。体内 MRI 效果表明, 注射后 1 h, 构建的 Mn₃O₄-PEI-Ac-FI-*m*PEG-(PEG-FA) NPs 在肿瘤处

富集量达到最高, 此时肿瘤处的 MRI 信号最强。之后随着时间的延长肿瘤处的 MRI 信号逐渐减弱, 但各时间点下使用靶向材料的肿瘤 MRI 信号值均高于使用非靶向材料的肿瘤 MRI 信号 (见图 3)。



注: A. 注射靶向或非靶向材料后不同时间点下的肿瘤 T₁ MR 成像图; B. 注射靶向或非靶向材料后不同时间点下的肿瘤部位信号强度

图 3 荷瘤小鼠分别接受靶向和非靶向材料注射后其肿瘤处的 T₁ MRI 结果^[33]

Figure 3 Results of T₁-weighted MRI in tumors after injection of targeted and non-targeted materials towards tumor-bearing mice^[33]

Zhu 等^[19] 后期同样运用水热合成法制备得到 PEI 稳定的 Mn₃O₄ 纳米颗粒, 并以此为载体运用 PEI 表面氨基, 进行多功能化修饰, 除了荧光素 FI、靶向分子 FA、生物相容性分子 PEG 之外, 还修饰有大环 1,4,7-三氮杂化壬烷 -N,N',N''-三乙酸 (NOTA-NHS) 螯合剂, 最后以 NOTA-NHS 为桥梁, 将放射性核素铜 -64 (⁶⁴Cu) 标记在 NOTA 上以间接标记在构建的功能化 Mn₃O₄ 纳米颗粒上, 构建的 ⁶⁴Cu 标记的功能化 Mn₃O₄ 纳米颗粒基于 FA 的靶向介导能够实现肿瘤对其特异性结合, 以进行精准的肿瘤靶向 PET/MR 成像。值得注意的是, 构建的 ⁶⁴Cu 标记的功能化 Mn₃O₄ 纳米颗粒与之前报道的 PEI 稳定的 Mn₃O₄ 纳米粒子相比具有更高的 T₁ 弛豫率 ($r_1 = 0.996 \text{ mM}^{-1} \text{ s}^{-1}$), 这可能是由于较高的 PEG 负载量促使水分子更易接近 Mn₃O₄ 内核, 使其弛豫时间变短、弛豫率升高。

目前构建的基于 PEI 的锰氧化物造影剂在体内 MRI 应用中体现出较好的生物相容性, 其在体内的毒性要低于钆造影剂, 因此在临床上有所应用。但基于 PEI 的锰氧化物造影剂自身也具有一定的缺陷, 在短期内锰氧化物纳米颗粒可在 PEI 的作用下提升水溶性及稳定性, 但长期储存下基于 PEI 的锰氧化物造影剂易于聚沉, 且粒径变大, 后期注射入体内易堵塞血管, 且其弛豫率低于基于钆的造影剂, MRI 效果低于基于钆的造影剂。因此, 构建的基于 PEI 的锰氧化物造影剂在体内稳定性及弛豫率方面的提升仍需深入研究, 为今后构建精准的基于 PEI 的锰氧化物 MRI 造影剂奠定基础。

2 基于超支化聚乙烯亚胺的 T₂ MRI 造影剂

T₂ MRI 造影剂在 MRI 中表现出暗场效果, 通过降低病灶部位明暗度以突出器官组织病变情况。

T₂ MRI 造影剂的典型代表主要为磁性氧化铁纳米颗粒^[34-35], 由于其纳米粒径较大, 以及稳定性和生物相容性较差, 常需要加入功能试剂或载体进行稳定或修饰。PEI 作为良好的纳米载体, 能够有效耐受高温以配合磁性氧化铁高温合成的特点, 且其良好的水溶性及生物相容性可提高磁性氧化铁纳米颗粒的稳定性、降低毒副作用。因此, 基于 PEI 的 T₂ MRI 造影剂在生物医学领域中被广泛应用。

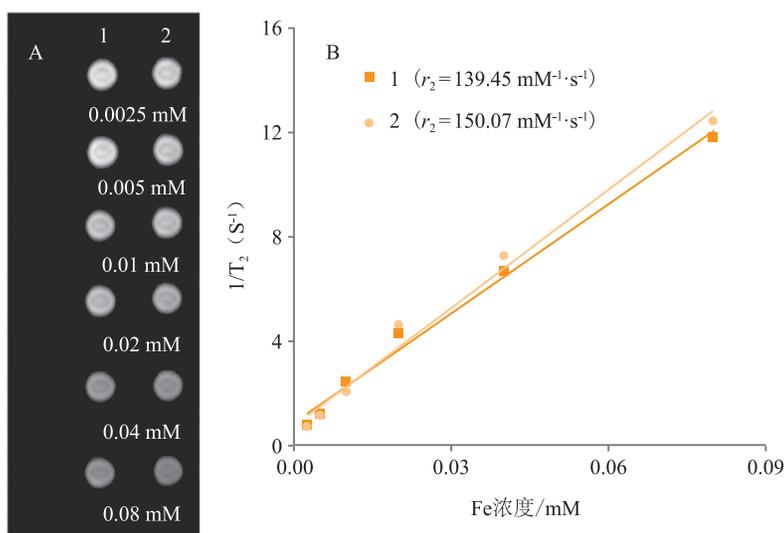
基于 PEI 的氧化铁纳米颗粒, 由于 PEI 的介导及稳定作用, 可有效避免形成尺寸较大的磁性纳米颗粒, 进而避免磁性氧化铁纳米颗粒聚集。Goon 等^[36]以 PEI 为稳定剂, 一方面阻止磁性氧化铁纳米颗粒聚沉, 另一方面 PEI 可用于负载小尺寸 (2 nm) 的金纳米颗粒。基于 PEI 的介导, 在氧化铁纳米颗粒表面可形成功能层以阻碍磁性纳米颗粒聚沉。动态光散射研究结果表明, 未经 PEI 稳定的磁性氧化铁纳米颗粒在超声后立即聚集, 水动力学半径增长至 1 μm, 且纳米颗粒很快聚沉至瓶底。然而, PEI 稳定的磁性氧化铁纳米颗粒其稳定性明显提升, 不易发生聚沉, 动态光散射测试结果显示, 其粒径恒定在 200 nm 左右。这种稳定性归功于 PEI 所具有的静电及位阻排斥力。Steitz 等^[37]同样以 PEI 稳定超顺磁性氧化铁纳米颗粒 (SPION), 发现其在高盐浓度及各种 pH 条件下仍然具有良好的胶体稳定性。该课题组还测试了不同 pH、电解质浓度 (2.5 mmol·L⁻¹ NaCl) 下的纳米粒子浑浊度, 发现当 pH 处于 5~11 时, SPION 发生聚沉, 原因是较低的静电排斥作用不足以稳定该纳米体系; 然而, 同样改变 pH 环境, PEI 稳定的 SPION 并没有出现任何浑浊现象, 说明 PEI 在不同 pH 条件下均可增强 SPION 的胶体稳定性。

Wang 等^[38]以 PEI 作为稳定剂热分解乙酰丙酮铁制备水溶性 SPION, 通过调控合成温度及 PEI 的相对分子质量, 使得 SPION 平均粒径被调控于 6~12 nm 之间, 并掺入 PEG 和 PEI, PEI 通过表面氨基连接在 SPION 表面, PEG 通过范德华力和氢键作用连接 PEI, 以这种方式将 PEG 和 PEI 连接在 SPION 表面。由于 PEG 和 PEI 具有强亲水性和生物相容性, 使得 SPION 在去离子水和其他生理溶剂中具有良好

的分散性、胶体稳定性和生物相容性。与此同时, PEI 的加入, 可调控 SPION 表面电势, 使得合成的 SPION 作为优良的 MRI 造影剂适用于生物医学领域。

Li 等^[39]首次采用一锅水热合成法制备 PEI 稳定的磁性氧化铁纳米颗粒 (Fe₃O₄-PEI NP), 随后将功能分子 FI、2 种不同相对分子质量的透明质酸 (HA, HA_{6K} 和 HA_{31K}) 分别修饰在 Fe₃O₄-PEI NP 表面并进行靶向效应的对比, 其粒径约为 15~16 nm, 具有良好的分散性和胶体稳定性, 体外细胞毒性测试及血液相容性测试结果验证其具有良好的生物相容性。在肿瘤细胞靶向性实验中证明, 该课题组构建的基于 HA 修饰、经 PEI 功能化的磁性氧化铁造影剂对肿瘤细胞具有良好的靶向功能, 可作为肿瘤细胞的有效分子探针。构建的 Fe₃O₄-PEI-FI-HA_{6K} NP 和 Fe₃O₄-PEI-FI-HA_{31K} NP, 其横向弛豫率 r_2 分别为 139.45 和 150.07 mM⁻¹·s⁻¹ (见图 4)。Fe₃O₄-PEI-FI-HA_{31K} NP 比 Fe₃O₄-PEI-FI-HA_{6K} NP 具有更高的弛豫率是由于 HA_{6K} 的密集接枝限制了水分子有效进入纳米颗粒表面。构建的 Fe₃O₄-PEI-FI-HA_{6K} NP 和 Fe₃O₄-PEI-FI-HA_{31K} NP 比其他功能化的 Fe₃O₄ NP 具有更高的横向弛豫率^[40-41], 可作为良好的 T₂ 阴性造影剂用于 MRI。

Li 等^[42]后期在一锅法水热合成 PEI 稳定的磁性氧化铁纳米颗粒的基础上, 将靶向试剂 FA 通过 PEG 修饰在其表面, 构建的功能化磁性氧化铁纳米颗粒 Fe₃O₄-PEI-Ac-FI-PEG-FA NP 能够与高 FA 受体表达的肿瘤细胞特异性结合。该造影剂仍然具有较低的细胞毒性, 良好的生物相容性、水溶性和胶体稳定性。材料 MRI 研究表明, 随着材料浓度的升高, MRI 信号值逐渐降低。基于 FA 的靶向效应, 该纳米探针在体内外能够实现灵敏的靶向 MRI 效果。如图 5 所示, 随着时间的延长, 注射 Fe₃O₄-PEI-Ac-FI-PEG-FA NP 材料的荷瘤鼠肿瘤部位 MR 信号逐渐减弱, 与之相比, 经 Fe₃O₄-PEI-Ac-FI-mPEG NP 处理的荷瘤鼠肿瘤部位 MR 信号不随时间的增长而降低。在经 Fe₃O₄-PEI-Ac-FI-PEG-FA NP 处理 4 h 后, 肿瘤部位的 MR 信号降低到最低, 后由于材料在体内代谢排出, 24 h 后肿瘤处 MR 信号得以恢复。这一结果体现了 FA 介导的靶向肿瘤 MRI 的特性。



注: A. 磁性氧化铁纳米颗粒的 T_2 MR 成像图; B. $1/T_2$ 的线性拟合图; 1. Fe_3O_4 -PEI-FI- $\text{HA}_{6\text{K}}$ NP; 2. Fe_3O_4 -PEI-FI- $\text{HA}_{31\text{K}}$ NP

图 4 Fe_3O_4 -PEI-FI- $\text{HA}_{6\text{K}}$ NP 和 Fe_3O_4 -PEI-FI- $\text{HA}_{31\text{K}}$ NP 的 T_2 MRI 图及 $1/T_2$ 线性拟合图^[39]

Figure 4 T_2 -weighted MRI map and $1/T_2$ linear fitting chart of Fe_3O_4 -PEI-FI- $\text{HA}_{6\text{K}}$ NP and Fe_3O_4 -PEI-FI- $\text{HA}_{31\text{K}}$ NP, respectively^[39]

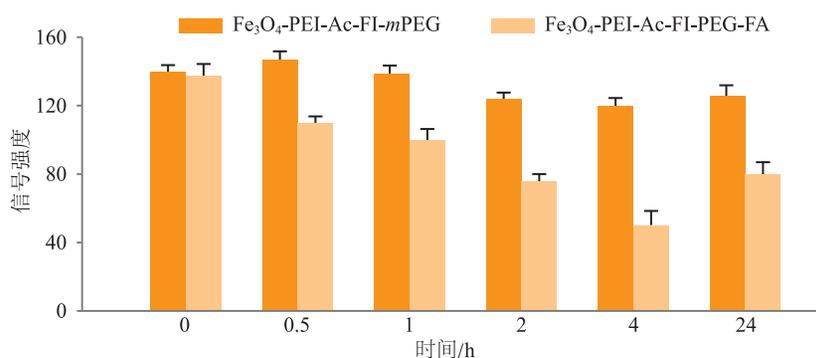


图 5 在静脉注射 Fe_3O_4 -PEI-Ac-FI- $m\text{PEG}$ NP 及 Fe_3O_4 -PEI-Ac-FI-PEG-FA NP 后肿瘤部位的 MR 信号图^[42]

Figure 5 MR signal intensity of tumor after intravenous injection of Fe_3O_4 -PEI-Ac-FI- $m\text{PEG}$ NP or Fe_3O_4 -PEI-Ac-FI-PEG-FA NP^[42]

Do 等^[43]以 PEI 作为活性稳定剂控制氧化铁纳米颗粒的合成, 通过共沉淀法应用羟胺与 PEI 制备 SPION, 且通过 PEI 调控 SPION 的颗粒尺寸、纳米簇的水动力学半径、包覆 SPION 的层厚及弛豫率 r_2 。构建的单分散性 PEI-SPION 平均粒径为 14.4 nm, 其弛豫率 r_2 为 $227.6 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, 在浓度达 $132 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时 PEI-SPION 仍没有明显细胞毒性。体内 MRI 研究表明, 大鼠肝脏对 PEI-SPION 具有快速且强效的摄取。构建的 PEI-SPION 通过 PEI 介导合成来有效调控 SPION 的尺寸及提升弛豫率, 作为有效且灵敏的 MRI 造影剂, 具有潜在的应用价值。

目前构建的基于 PEI 的氧化铁纳米 T_2 MRI 造影剂, 在 PEI 的作用下增强了氧化铁纳米颗粒在体内的生物相容性、水溶性及稳定性, 且其可通过 PEI 自身的合成调控氧化铁纳米颗粒粒径从而明显提升弛豫率 r_2 。基于 PEI 的氧化铁纳米造影剂作为阴性造影剂的典型代表被普遍应用于临床, 实现体内灵敏的 MRI^[44]。但构建的用于 T_2 MRI 的基于 PEI 的 SPION 粒径普遍偏大, 在体内进行 MRI 的过程中易于堵塞血管, 在对荷瘤鼠模型进行长期 MRI 监测观察的过程中荷瘤鼠易死亡。因此, 在调控基于 PEI 的 SPION 粒径方面仍待改进, 这也为构建基于 PEI 的新型 T_2 MR 造影剂提供了思路。

3 基于超支化聚乙烯亚胺的 T_1/T_2 双模态 MR 造影剂

MRI 技术可在没有电离辐射的前提下获得成像部位高分辨解剖学及生理学信息, 按照其成像特征分为 T_1 MRI 和 T_2 MRI^[45], 目前构建多模态 MRI 造影剂已成为趋势, 旨在结合 T_1 MRI 与 T_2 MRI 特征及优势, 在成像精确度、灵敏度、分辨率、生物相容性及弛豫率方面有所完善, 实现更为精准的 MRI^[46-47]。

Li 等^[48] 构建了 HA 修饰的 $Fe_3O_4@Mn_3O_4$ 纳米复合材料, 将其用于肿瘤细胞 T_1/T_2 双模态 MRI, 起到了对肿瘤细胞的靶向监测效果。在该项研究中, 研究人员首先通过水热合成法一步合成了 PEI 包覆的 $Fe_3O_4@Mn_3O_4$ 纳米复合材料 ($Fe_3O_4@Mn_3O_4$ -PEI NC), 随后将 HA 通过 PEI 表面氨基修饰在 PEI 包覆的 $Fe_3O_4@Mn_3O_4$ 纳米复合材料表面。构建的 $Fe_3O_4@Mn_3O_4$ -PEI-HA NC 为球形且粒径分布均匀, 平均粒径为 (23.6 ± 6.5) nm, 部分粒子聚集且相互连接在一起 (见图 6)。在该课题组研究的浓度范围内, 其构建的 $Fe_3O_4@Mn_3O_4$ -PEI-HA NC 拥有良好的水分散性、胶体稳定性、生物相容性, 且能实现靶向 CD44 受体表达的肿瘤细胞。构建的 $Fe_3O_4@Mn_3O_4$ -PEI-HA NC 由于包含 T_1 及 T_2 成像元素, 因此具有 T_1/T_2 MR 双模态成像功能, 具有较高的 T_2 弛豫率 ($r_2=143.26 \text{ mM}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$)、 T_1 弛豫率 ($r_1=2.15 \text{ mM}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$), 能被用作有效的纳米探针, 实现体外肿瘤细胞靶向 T_1/T_2 双模态 MRI。

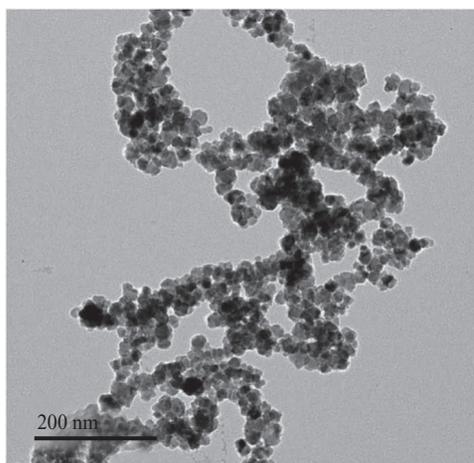


图 6 $Fe_3O_4@Mn_3O_4$ -PEI-HA NC 的透射电镜图^[48]
Figure 6 TEM image of $Fe_3O_4@Mn_3O_4$ -PEI-HA NC^[48]

Cai 等^[49] 将具有 T_1 MRI 功能的氢氧化钆 [$Gd(OH)_3$] 与具有 T_2 MRI 功能的 Fe_3O_4 有机结合, 构建 Fe_3O_4 - $Gd(OH)_3$ 纳米复合物, 实现体内外 T_1/T_2 MR 双模态成像。该课题组应用水热合成法, 将 $FeCl_2\cdot 4H_2O$ 通过氨水氧化, 随后将 PEI 与 $Gd(NO_3)_3$ 混匀并加入装有 $FeCl_2\cdot 4H_2O$ 的反应釜中, 在高温高压反应条件下一步水热合成制得 PEI 稳定的 Fe_3O_4 - $Gd(OH)_3$ 磁性纳米颗粒 [Fe_3O_4 - $Gd(OH)_3$ -PEI]。之后为增强其稳定性, 通过 PEI 表面氨基将 mPEG-COOH 修饰在 Fe_3O_4 - $Gd(OH)_3$ -PEI 表面得到 Fe_3O_4 - $Gd(OH)_3$ -PEI-PEG。经表征发现, 该纳米颗粒具有较高的 T_1 弛豫率 ($r_1=5.63 \text{ mM}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$)、 T_2 弛豫率 ($r_2=151.37 \text{ mM}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$), 同时具有良好的稳定性及细胞相容性。最重要的是, 其在体内能实现精准的 T_1/T_2 双模态 MRI。注射该材料至小鼠体内, 结果显示在肝脏处具有优异的 T_1/T_2 双模态成像功能, 4 h 时 T_1 MR 信号强度达到最强, T_1 显像最亮; T_2 MR 信号强度最低, T_2 显像最暗。之后随着时间的延长, T_1 信号逐渐减弱、 T_2 信号逐渐增强。材料在体内的组织分布研究表明, Fe_3O_4 - $Gd(OH)_3$ -PEI-PEG 纳米材料易于代谢并排出到体外, 具有良好的生物安全性。

研究人员以 PEI 为稳定剂, 整合 T_1 MRI 元素及 T_2 MRI 元素构建基于 PEI 的 T_1/T_2 双模态 MR 造影剂, 其结合了 T_1 成像及 T_2 成像的优势, 实现了目标部位的精准成像。但其也存在些许缺陷, 往往在呈现最佳 T_1 成像效果之时, T_2 成像效果并未达到最佳。因此, 在 T_1/T_2 双模态 MR 造影剂中应考虑如何调控 T_1 MRI 元素及 T_2 MRI 元素比例, 使其在体内同时达到 T_1 及 T_2 成像所需浓度, 与此同时弛豫率 r_1 与 r_2 均能达到各自单独成像时弛豫率的最高值。综上, 在后期的研究中, 优化调控 T_1 MRI 元素及 T_2 MRI 元素比例, 使其达到各自弛豫率的最高值是研究热点, 也为今后构建新型基于 PEI 的 T_1/T_2 双模态 MRI 造影剂指明了方向。

4 结语与展望

本文总结了基于 PEI 的 MRI 造影剂的制备及其生物医学应用进展, 主要包括 T_1 MRI、 T_2 MRI 和 T_1/T_2 双模态成像, 详细综述了钆基、锰基及铁

基 MR 纳米造影剂, 这些由 PEI 稳定及负载的纳米造影剂均具有良好的成像功能。通过综述各类基于 PEI 的 MRI 造影剂的特性可知, PEI 作为优良的纳米载体, 不仅能作为良好的稳定剂提高各类 MR 纳米造影剂的稳定性、水溶性及生物相容性, 还能有效调控 MR 纳米造影剂的尺寸及弛豫率, 从而实现更为精准的 MR 诊断。加之 PEI 价格低廉、性能优良, 其丰富的支链结构为纳米造影剂的多功能化修饰提供了基础, 因此目前基于 PEI 的 MR 造影剂逐渐向临床转化, 用于肿瘤的早期诊断。

总体来说基于 PEI 的 MR 造影剂改善了传统的

MR 造影剂的各项缺陷, 具有良好的体内外 MRI 特性及功能。但仍存在不足之处, 如成像灵敏度与其他成像模式相比不高, 仍需要别的成像模式辅助及配合。目前构建的 PET/MR、MR/CT、SPECT/MR 等多模态成像纳米造影剂, 可弥补单一成像模式缺陷, 实现各成像模式优势互补, 成为了研究趋势。因此, 构建更为精准且灵敏度较高的基于 PEI 的多模态成像造影剂以弥补 MR 成像模式缺陷已成为造影剂研究领域的重点方向, 且该技术在今后有望逐渐实现临床转化, 推广应用至肿瘤外的其他疾病。

【参考文献】

- [1] Revia R A, Zhang M. Magnetite nanoparticles for cancer diagnosis, treatment, and treatment monitoring: recent advances[J]. *Mater Today*, 2016, 19(3): 157-168.
- [2] Oudkerk M, Devaraj A, Vliegenthart R, et al. European position statement on lung cancer screening[J]. *Lancet Oncol*, 2017, 18(12): E754-E766.
- [3] Miller K D, Siegel R L, Lin C C, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2016[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(4): 271-289.
- [4] Armitage E G, Southam A D. Monitoring cancer prognosis, diagnosis and treatment efficacy using metabolomics and lipidomics[J]. *Metabolomics*, 2016, 12(9). Doi: 10.1007/s11306-016-1093-7.
- [5] Mirzaei H, Sahebkar A, Jaafari M R, et al. Diagnostic and therapeutic potential of exosomes in cancer: the beginning of a new tale?[J]. *J Cell Physiol*, 2017, 232(12): 3251-3260.
- [6] Pomper M G. Molecular imaging: an overview[J]. *Acad Radiol*, 2001, 8(11): 1141-1153.
- [7] Han X, Xu K, Taratula O, et al. Applications of nanoparticles in biomedical imaging[J]. *Nanoscale*, 2019, 11(3): 799-819.
- [8] Xing Y, Zhu J Y, Zhao L Z, et al. SPECT/CT imaging of chemotherapy-induced tumor apoptosis using ^{99m}Tc -labeled dendrimer-entrapped gold nanoparticles[J]. *Drug Deliv*, 2018, 25(1): 1384-1393.
- [9] Padmanabhan P, Kumar A, Kumar S, et al. Nanoparticles in practice for molecular-imaging applications: an overview[J]. *Acta Biomater*, 2016, 41: 1-16.
- [10] Cheng Z, Yan X, Sun X, et al. Tumor molecular imaging with nanoparticles[J]. *Engineering*, 2016, 2(1): 132-140.
- [11] Zhu J, Wang G, Alves C S, et al. Multifunctional dendrimer-entrapped gold nanoparticles conjugated with doxorubicin for pH-responsive drug delivery and targeted computed tomography imaging[J]. *Langmuir*, 2018, 34(41): 12428-12435.
- [12] Corbin B A, Pollard A C, Allen M J, et al. Summary of imaging in 2020: visualizing the future of healthcare with MR imaging[J]. *Mol Imaging Biol*, 2019, 21(2): 193-199.
- [13] Veraart J, Novikov D S, Christiaens D, et al. Denoising of diffusion MRI using random matrix theory[J]. *NeuroImage*, 2016, 142: 394-406.
- [14] Hagmann P, Jonasson L, Maeder P, et al. Understanding diffusion MR imaging techniques: from scalar diffusion-weighted imaging to diffusion tensor imaging and beyond[J]. *Radiographics*, 2006, 26(Suppl 1): S205-S223.
- [15] Rogosnitzky M, Branch S. Gadolinium-based contrast agent toxicity: a review of known and proposed mechanisms[J]. *Biometals*, 2016, 29(3): 365-376.
- [16] Wei Y, Zhao M, Yang F, et al. Iron overload by superparamagnetic iron oxide nanoparticles is a high risk factor in cirrhosis by a systems toxicology assessment[J]. *Sci Rep*, 2016, 6. Doi: 10.1038/srep29110.
- [17] Zhou B Q, Xiong Z G, Zhu J Z, et al. PEGylated polyethylenimine-entrapped gold nanoparticles loaded with

- gadolinium for dual-mode CT/MR imaging applications[J]. *Nanomedicine*, 2016, 11(13): 1639-1652.
- [18] Zhou B, Xiong Z, Wang P, *et al.* Targeted tumor dual mode CT/MR imaging using multifunctional polyethylenimine-entrapped gold nanoparticles loaded with gadolinium[J]. *Drug Deliv*, 2018, 25(1): 178-186.
- [19] Zhu J, Li H, Xiong Z, *et al.* Polyethyleneimine-coated manganese oxide nanoparticles for targeted tumor PET/MR imaging[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2018, 10(41): 34954-34964.
- [20] Neu M, Fischer D, Kissel T. Recent advances in rational gene transfer vector design based on poly(ethylene imine) and its derivatives[J]. *J Gene Med*, 2005, 7(8): 992-1009.
- [21] Zhao L, Wen S, Zhu M, *et al.* Tc-99m-labelled multifunctional polyethylenimine-entrapped gold nanoparticles for dual mode SPECT and CT imaging[J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2018, 46(1): 488-498.
- [22] Li A, Zhou B, Alves C S, *et al.* Mechanistic studies of enhanced PCR using PEGylated PEI-entrapped gold nanoparticles[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2016, 8(39): 25808-25817.
- [23] Ramazani A, Khoobi M, Sadri F, *et al.* Efficient and selective oxidation of alcohols in water employing palladium supported nanomagnetic Fe₃O₄@hyperbranched polyethylenimine (Fe₃O₄@HPEI.Pd) as a new organic-inorganic hybrid nanocatalyst[J]. *Appl Organomet Chem*, 2018, 32(1). Doi: 10.1002/aoc.3908.
- [24] Yar Y, Khodadust R, Akkoc Y, *et al.* Development of tailored SPION-PNIPAM nanoparticles by ATRP for dually responsive doxorubicin delivery and MR imaging[J]. *J Mater Chem B*, 2018, 6(2): 289-300.
- [25] Stephen Z R, Kievit F M, Zhang M. Magnetite nanoparticles for medical MR imaging[J]. *Mater Today*, 2011, 14(8): 330-338.
- [26] Xiong R, Cheng L, Tian Y, *et al.* Hyperbranched polyethylenimine based polyamine-N-oxide-carboxylate chelates of gadolinium for high relaxivity MRI contrast agents[J]. *RSC Adv*, 2016, 6(33): 28063-28068.
- [27] Mekuria S L, Debele T A, Tsai H C. Encapsulation of gadolinium oxide nanoparticle (Gd₂O₃) contrasting agents in PAMAM dendrimer templates for enhanced magnetic resonance imaging *in vivo*[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2017, 9(8): 6782-6795.
- [28] Ahmad M Y, Ahmad M W, Cha H, *et al.* Cyclic RGD-coated ultrasmall Gd₂O₃ nanoparticles as tumor-targeting positive magnetic resonance imaging contrast agents[J]. *Eur J Inorg Chem*, 2018, 26(3): 3070-3079.
- [29] Xu W, Park J Y, Kattel K, *et al.* Fluorescein-polyethyleneimine coated gadolinium oxide nanoparticles as T₁ magnetic resonance imaging (MRI)-cell labeling (CL) dual agents[J]. *RSC Adv*, 2012, 2(29): 10907-10915.
- [30] Wang P, Yang J, Zhou B, *et al.* Antifouling manganese oxide nanoparticles: synthesis, characterization, and applications for enhanced MR imaging of tumors[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2017, 9(1): 47-53.
- [31] Lee J, Kumari N, Kim S M, *et al.* Anchoring ligand-effect on bright contrast-enhancing property of hollow Mn₃O₄ nanoparticle in T₁-weighted magnetic resonance imaging[J]. *Chem Mater*, 2018, 30(12): 4056-4064.
- [32] Zhang M, Xing L, Ke H, *et al.* MnO₂-based nanoplatform serves as drug vehicle and MRI contrast agent for cancer theranostics[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2017, 9(13): 11337-11344.
- [33] Luo Y, Yang J, Li J, *et al.* Facile synthesis and functionalization of manganese oxide nanoparticles for targeted T₁-weighted tumor MR imaging[J]. *Colloids Surf B*, 2015, 136: 506-513.
- [34] Yuan Y, Ding Z, Qian J, *et al.* Casp3/7-instructed intracellular aggregation of Fe₃O₄ nanoparticles enhances T₂ MR imaging of tumor apoptosis[J]. *Nano Lett*, 2016, 16(4): 2686-2691.
- [35] Rezayan A H, Mousavi M, Kheirjou S, *et al.* Monodisperse magnetite (Fe₃O₄) nanoparticles modified with water soluble polymers for the diagnosis of breast cancer by MRI method[J]. *J Magn Magn Mater*, 2016, 420: 210-217.
- [36] Goon I Y, Lai L M H, Lim M, *et al.* Fabrication and dispersion of gold-shell-protected magnetite nanoparticles: systematic control using polyethylenimine[J]. *Chem Mater*, 2009, 21(4): 673-681.
- [37] Steitz B, Hofmann H, Kamau S W, *et al.* Characterization of PEI-coated superparamagnetic iron oxide nanoparticles for transfection: size distribution, colloidal properties and DNA

- interaction[J]. *J Magn Magn Mater*, 2007, 311(1): 300-305.
- [38] Wang J, Zhang B, Wang L, *et al.* One-pot synthesis of water-soluble superparamagnetic iron oxide nanoparticles and their MRI contrast effects in the mouse brains[J]. *Mater Sci Eng C*, 2015, 48: 416-423.
- [39] Li J, He Y, Sun W, *et al.* Hyaluronic acid-modified hydrothermally synthesized iron oxide nanoparticles for targeted tumor MR imaging[J]. *Biomaterials*, 2014, 35(11): 3666-3677.
- [40] Cai H, Li K, Shen M, *et al.* Facile assembly of Fe₃O₄@Au nanocomposite particles for dual mode magnetic resonance and computed tomography imaging applications[J]. *J Mater Chem*, 2012, 22(30): 15110-15120.
- [41] Shi X, Wang S H, Swanson S D, *et al.* Dendrimer-functionalized shell-crosslinked iron oxide nanoparticles for *in-vivo* magnetic resonance imaging of tumors[J]. *Adv Mater*, 2008, 20(9): 1671-1678.
- [42] Li J, Zheng L, Cai H, *et al.* Polyethyleneimine-mediated synthesis of folic acid-targeted iron oxide nanoparticles for *in vivo* tumor MR imaging[J]. *Biomaterials*, 2013, 34(33): 8382-8392.
- [43] Do M A, Yoon G J, Yeum J H, *et al.* Polyethyleneimine-mediated synthesis of superparamagnetic iron oxide nanoparticles with enhanced sensitivity in T₂ magnetic resonance imaging[J]. *Colloids Surf B*, 2014, 122: 752-759.
- [44] Zhang H, Li J, Hu Y, *et al.* Folic acid-targeted iron oxide nanoparticles as contrast agents for magnetic resonance imaging of human ovarian cancer[J]. *J Ovarian Res*, 2016, 9(19). Doi: 10.1186/s13048-016-0230-2.
- [45] Xue S, Zhang C, Yang Y, *et al.* ^{99m}Tc-labeled iron oxide nanoparticles for dual-contrast (T₁/T₂) magnetic resonance and dual-modality imaging of tumor angiogenesis[J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2015, 11(6): 1027-1037.
- [46] Zhu H, Zhang L, Liu Y, *et al.* Aptamer-PEG-modified Fe₃O₄@Mn as a novel T₁-and T₂-dual-mode MRI contrast agent targeting hypoxia-induced cancer stem cells[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 39245. Doi: 10.1038/srep39245.
- [47] Chen Y, Deng X, Li C, *et al.* Stimuli-responsive nanocomposites for magnetic targeting synergistic multimodal therapy and T₁/T₂-weighted dual-mode imaging[J]. *Nanomed-Nanotechnol*, 2017, 13(3): 875-883.
- [48] Li J, Hu Y, Sun W, *et al.* Facile preparation of hyaluronic acid-modified Fe₃O₄@Mn₃O₄ nanocomposites for targeted T₁/T₂ dual-mode MR imaging of cancer cells[J]. *RSC Adv*, 2016, 6(42): 35295-35304.
- [49] Cai H, An X, Wen S, *et al.* Facile synthesis of Gd(OH)₃-doped Fe₃O₄ nanoparticles for dual-mode T₁ and T₂ weighted magnetic resonance imaging applications[J]. *Part Part Syst Charact*, 2015, 32(10): 934-943.



【专家介绍】黄和: 化学工程博士, 现任南京工业大学药学院院长, 教授, 博导, 国家自然科学基金杰出青年基金获得者, 教育部长江学者特聘教授, 中组部“千人计划”入选者。科研工作主要集中在生物基化学品的先进生物制造领域, 并形成 2 个主要技术平台: 1) 生物基化学品的微生物代谢工程技术平台; 2) 生物基化学品的工业催化技术平台。作为项目负责人承担国家自然科学基金杰出青年基金 1 项, 国家自然科学基金重点基金 1 项, 863 重点项目 1 项, 973 项目子课题 1 项, 中国石化科学技术研究开发项目、江苏省自然科学基金等多项省部级课题。近 5 年共计发表 SCI 论文近 200 篇; 授权中国发明专利 60 余项, 授权美国专利 1 项。应邀担任了 *Bioresour Technol*、*Process Biochem*、*Catal Commun* 等多种国内外期刊的审稿人。