科学通报 2015 年 第 60 卷 第 35 期: 3424 ~ 3437
香山科学会议 专栏 评 述 www.scichina.com csb.scichina.com
《中国科学》杂志社 SCIENCE CHINA PRESS
第 511 次学术讨论会 • 纳米技术与癌症干细胞靶向治疗

多功能纳米 CT 造影剂的研究进展

张晓婷, 戴志飞*

北京大学工学院生物医学工程系, 北京 100871
* 联系人, E-mail: zhifei.dai@pku.edu.cn

2015-01-17 收稿, 2015-02-13 接受, 2015-04-15 网络版发表
国家杰出青年科学基金(81225011)、国家自然科学基金重点项目(81230036)和国家自然科学基金(21273014)资助

摘要 计算机断层扫描(CT)具有适用面广、价格相对低廉、高效性和高分辨率等特点, 是使用最广泛的无创临床成像技术之一. 尽管 CT 的分辨率远高于传统 X 射线和其他几种成像技术, 但因为成像原理的限制, CT 很难分辨软组织的微小变化. 为增强软组织的对比度, 提高疾病诊断的准确性, 人们研制了多种 CT 造影剂. 临床上最早使用的 CT 造影剂是小分子碘化物, 但它们具有毒性和循环时间短的缺点限制了其进一步应用. 开发纳米尺寸的造影剂能有效增加循环时间, 降低造影剂副作用. 除了含碘纳米粒子, 基于重金属的纳米粒子, 如金、钽、镧系、铋等均可作为高效的 CT 造影剂. 这类新型纳米 CT 造影剂具有更好生物相容性和更长循环时间, 在血管和肿瘤的可视化成像中有十分明显的优势. 此外, 将 CT 和其他成像技术, 如磁共振成像和超声成像等联合使用, 则可以实现优势互补, 为临床诊断提供更精确、清晰的图像, 为疾病的诊治提供更多个体化诊断信息. 考虑到目前疾病诊治, 尤其是癌症诊治方面存在的问题, 整合了诊断和治疗功能的诊疗一体化制剂更适合临床应用. 将CT成像和各种治疗方式结合在一起, 即开发基于CT成像的多功能诊疗制剂, 可以实现对疾病的实时成像和监控治疗. 本文介绍了 CT 成像的基本原理和当前常用的几种 CT 造影元素, 包括碘、金、铋、钽、镧系元素等, 综述了目前多功能纳米 CT 造影剂的研究现状、发展趋势和面临的问题.

关键词
造影剂
纳米粒子
CT 成像

1895 年伦琴发现了X射线, 开创了用X射线进行医学诊断的新纪元. 传统的X射线装置尽管在形态学诊断方面起到了划时代的作用, 但其缺点也相当明显. 因此, X射线计算机断层扫描(X-ray computed tomography, CT)应运而生. CT是一种利用数位几何处理后重建的三维放射线医学影像, 主要通过单一轴面的X射线旋转照射人体, 由于不同组织对X射线的吸收能力(或称阻射率)不同, 可以用电脑的三维技术重建出断层面影像; 经由窗宽、窗位处理, 可得到相应组织的断层影像; 将断层影像层层堆栈, 即可形成立体影像. 从 1972 年Hounsfield制造出第 1 台CT扫描仪, 到 20 世纪 70 年代末, CT已经发展成为重要的全身成像扫描技术; 80 年代末出现的螺旋CT, 实现了从层-层扫描到螺旋式容积扫描的飞跃, 在CT技术发展史中具有里程碑意义[1,2]. 由于CT具有高效性、扫描时间短、分辨率高等特点, 它一直是使用最广泛的无创临床成像技术之一.

X射线穿过人体不同组织时, 会产生不同程度的衰减, 这是产生影像对比的基础. 一般来说, 组织越致密, 对X射线的吸收越多. 普通CT只适用于不同组织且密度差异较大的情况, 如骨骼、肺等; 但各种软组织之间的密度差异小, 具有相似的CT值, 影像上

引用格式: 张晓婷, 戴志飞. 多功能纳米 CT 造影剂的研究进展. 科学通报, 2015, 60: 3424–3437
Zhang X T, Dai Z F. Advances in multifunctional nano-sized CT contrast agents (in Chinese). Chin Sci Bull, 2015, 60: 3424–3437, doi: 10.1360/N972015-00066

难以形成足够的对比. 为了解决这些问题, 人们开发了多种造影剂(contrast agents)以选择性地增强目标软组织与周围组织的影像对比, 提高CT灵敏度[3].

一般来说, 具有较高密度(ρ)或高原子序数(Z)的材料均能吸收X射线, 如碘、钡、金、铋、钽等元素, 都可用作X射线成像的造影剂. 碘化物是临床上使用最早、也是最广泛的CT造影剂, 但是这种造影剂的成像时间短, 具有的高渗透压、高黏度和电荷常常引发造影剂反应, 危害病人的生命安全[4]. 纳米材料的发展为解决这一问题提供了新的思路和方法. 相比于传统小分子造影剂, 纳米粒子可以负载大量的造影元素, 血液循环时间长, 肾清除率和毛细血管渗漏率低, 能够通过实体瘤的高通透性和滞留作用(enhanced permeation and retention effect, EPR)被动积累在肿瘤部位[5]. 通过不同方式的表面修饰, 纳米粒子还可以获得主动靶向或治疗、多模态造影的功能. 最先制备的纳米CT造影剂仍以碘为造影元素, 将碘化物制成纳米乳剂或包埋在载体中, 提高了血液循环时间和生物相容性. 随着研究的深入, 科研人员引入了其他具有更高X射线衰减系数的造影元素, 以提高CT扫描对血池和肿瘤的造影能力. 2006 年, 首次将金纳米粒子作为CT造影剂的研究引起了人们的广泛关注, 随后研究人员对金纳米粒子进行的各种多功能修饰赋予了此类粒子更加广泛的用途. 近几年, 钽、镧系、铋等金属作为CT造影元素也逐渐进入人们的视线, 金属造影剂具有的优良性能, 特别适合将CT与其他成像技术如核共振成像(MRI)、上转换发光成像等联合起来使用, 以实现优势互补, 为疾病的临床诊断提供更快捷精确的信息, 同时可将CT成像与各种治疗方式结合在一起, 开发基于CT成像的诊疗一体化制剂, 以实现对疾病的即时治疗和实时监控. 本文综述了近年来纳米CT造影剂在疾病诊疗中的最新研究进展, 并对未来纳米CT造影剂的发展方向进行了展望.

1 CT 基本原理

X射线的物理特性之一是穿透性, 在穿透物体的过程中部分入射光子会被吸收或散射, 即衰减作用. X射线的穿透性和物体对X射线的衰减作用是X射线成像的基础. 物体对X射线的衰减可以表示为

$$I = I_0 e^{-\mu z}, \quad (1)$$

式中, I是X射线的输出强度, I_0是X射线的入射强度, μ是物体的线性衰减系数, z是物体的厚度. X射线的衰减主要是由光电效应(photoelectric absorption)、瑞利散射(Rayleigh scattering)和康普顿散射(Compton scattering)引起的.

CT是利用X射线扫描一定厚度人体的某一层面, 由与X射线管相对的探测器测定X射线衰减值. 扫描过程中X射线管与探测器环绕人体作 360°旋转, 从各个方向收集衰减信号, 经计算机处理完成图像重建. 经过重建的图像是线性衰减系数μ的分布, 但人体组织的μ值通常比较小, 在实际应用中常将μ的绝对值转化成 1 个相对值——CT值. CT值定义为

$$CT = \frac{\mu - \mu_{水}}{\mu_{水}} \times 1000, \quad (2)$$

式中, μ是计算出的某组织的衰减系数, $\mu_{水}$是水的衰减系数. 为了纪念CT的发明者, CT值的单位定为Hounsfield unit, 简写为HU. 空气的CT值接近–1000 HU, 致密骨组织的CT值在 1000 HU左右, 大部分软组织的CT值落在 20~100 HU.

人体各组织的CT值分布范围在–1000~1000 HU, 对应CT图像上就有 2000 个不同的灰度, 远远超过了人眼的分辨范围(16个灰度). 为了提高组织结构细节的显示, 使CT值差别小的2种组织能区分开, 人们发明了窗宽、窗位技术. 将感兴趣的CT值范围从黑到白分为 16 个灰度供观察对比, 范围外的则转换成完全的黑与白. 这个被放大的CT值范围称为窗口, 窗口的上下限之差称为窗宽, 窗口上下限的平均值称为窗位. 选择合适的窗宽和窗位, 能清楚地显示目标组织的图像.

2 碘造影剂

自从 1924 年美国人用 50%的碘化钠成功地做了第 1 例股动脉造影以来, 碘造影剂的产品不断更新换代. 目前大多数临床使用的碘造影剂是 1,3,5-三碘苯的衍生物, 这种造影剂的药代动力学和安全性限制了其广泛应用. 一般来说, 小分子碘造影剂在体内非特异性分布、肾脏清除速度快、渗透压和/或黏度高、用量大, 可能引起强烈的造影剂反应, 危及病人的生命[5]. 为了解决这些问题, 人们开发了纳米尺寸的碘造影剂, 如纳米胶束、脂质体、树状大分子等.

2.1 纳米悬浊液、纳米乳剂、胶束

纳米悬浊液是由表面活性剂稳定的水不溶性化

合物的胶体分散系. 一种叫作N1177 的新型碘化物纳米粒子的悬浊液可用来检测动脉粥样硬化. N1177是一种水不溶性泛影酸(diatrizoic acid, DTA)衍生物, 由巨噬细胞选择性吞噬, 但不会影响巨噬细胞的生物学功能; 从兔子的多层CT扫描成像结果来看, N1177 提高了破裂动脉粥样硬化斑块的衰减系数[6]. 另外, N1177 干粉吹入大鼠, 显著增强了肺部, 尤其是肺泡和细支气管的CT图像对比, 可用来检测肺部损伤、疾病、肿瘤转移等[7].

纳米乳剂是一种液体在另一种不相溶的液体中形成的稳定纳米结构. 用于CT成像的纳米乳剂多是脂溶性含碘化合物, 在表面活性剂的作用下稳定到水溶液中. 碘油(lipiodol)纳米乳剂是临床上最早成功应用的纳米CT造影剂, 能用作淋巴管和胃静脉曲张闭塞的CT造影剂[8]; 也可以在肝癌的动脉化疗栓塞术中输送药物, 达到治疗肝癌的目的[9,10]. 普朗尼克/聚乙二醇包裹碘油的纳米胶囊(LPNCs)经静脉注射到裸鼠体内, 在心脏、动脉、静脉处能观察到清晰的影像对比, 注射 24 h后LPNCs仍积累在肝脏和脾脏中[11]. LPNCs既可以作为疏水药物的运载体, 又可以共价连接靶向物质, 在癌症的诊疗方面有很大潜力.

Li等人[12]制备了一种新型的CT造影剂——碘化α-生育酚(维生素E)纳米乳剂(图1). 这种新型造影剂不仅具有突出的造影性能、生物相容性和低毒性, 而且碘含量高, 合成方法简单, 能自发形成乳剂, 经PEG修饰还避免了免疫系统的识别, 是一种有潜力的血池造影剂.

胶束是表面活性剂在溶液中的浓度到达某一临界值(即临界胶束浓度CMC)及超过该值后, 其分子或离子自动缔合成的胶体大小的聚集体质点微粒. 普通表面活性剂胶束有较高CMC, 静脉注射到体内后被体液稀释, 容易分解成单体, CMC较低的两亲性聚合物胶束则更适合实际应用. 在水溶液中, 两亲性聚合物自发形成胶束, 疏水内核能够包装水不溶性化合物, 如药物、造影剂等, 实际上胶束也是一种很好的化疗药物载体. Trubetskoy等人[13]合成一种PEO-block-PLL两亲性嵌段共聚物胶束, 平均粒径 100 nm, 碘质量分数达 45%. 这种胶束经皮下注射兔子后爪, 2 h后仍能观察到腿弯处的淋巴结; 经静脉注射兔子或大鼠, 观察到清晰的血池、肝脏、肾脏图像. Margel研究组合成并表征了聚 2-甲基丙烯酰氧乙基-2,3,5-

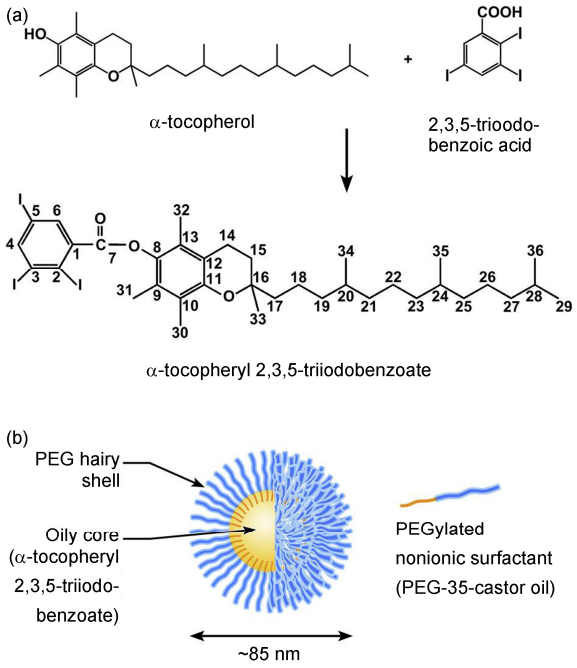


图 1 (网络版彩色)(a) a-生育酚-2,3,5-三碘苯甲酸钠的合成; (b) 碘化纳米乳滴的合成示意图[12]

Figure 1 (Color online) (a) Synthesis of a-tocopheryl 2,3,5-triiodobenzoate. (b) Schematic representation of an iodinated nano-emulsion droplet[12]

三碘苯甲酸钠(polyMAOETIB)聚合物纳米粒子[14]和聚(MAOETIB-甲基丙烯酸缩水甘油酯)(P(MAOETIB-GMA))共聚物纳米粒子[15], 两者在淋巴结、肝脏、脾脏成像上均具有良好的效果. 研究显示前者可用来检测癌症的淋巴结转移, 后者则能检测出肝脏的癌变区. 转移性肿瘤和癌变区肝脏都没有完善的吞噬系统, 因此不像正常组织一样会积累纳米粒子, CT扫描显示出较低的衰减系数.

2.2 含碘脂质体造影剂

脂质体是磷脂双分子层自组装形成的囊泡结构, 通常作为水溶性小分子碘造影剂的运载体. 由于避免了碘化物直接进入血液被肾脏代谢, 含碘脂质体非常适合肾功能不全或碘过敏的病人. 常规脂质体易被内皮网状系统(RES)识别后被肝脏的巨噬细胞快速吞噬[16], 粒子的快速清除在某些情况下虽然具有一定优势, 但是不利于进行血池成像, 仅能实现肝或脾的实体瘤成像.

纳米粒子表面修饰聚乙二醇(PEG), 可以减少在体内的团聚, 明显降低被RES细胞识别、摄取的概率, 从而逃过血液的快速清除机制, 有效解决循环时间

短的问题. 实体瘤组织中血管丰富、血管壁间隙较宽、结构完整性差, 淋巴回流缺失, 造成大分子类物质和脂质颗粒具有选择性高通透性和滞留性(EPR), 被动积累在肿瘤组织中. 这样, 纳米粒子在进入血液循环系统后, 由于较长的循环时间和对肿瘤的被动靶向作用而有效聚集于肿瘤组织内部. 利用这种特性, 包埋碘克沙醇[17]、碘帕醇[18]的PEG化脂质体已分别用于啮齿类原发性肺癌、乳腺肿瘤血管生成的可视化检测, 进而评估肿瘤血管的通透性, 区分良恶性肿瘤. 另外, 脂质体包埋碘造影剂的同时还可以包埋MRI造影剂或化疗药物, 如包装碘海醇和钆特醇的CT/MRI双模态PEG化脂质体用于兔子的血池成像, CT和MRI的信号均有长时间的增强[19]; 包装阿霉素和碘克沙醇的PEG化脂质体用来评估乳腺肿瘤的状况, 在成像和治疗效果上均有明显提高[20].

除了脂质体的亲水内核可以包埋碘造影剂外, 磷脂双分子层也可以包埋水不溶性碘造影剂. Kweon等人[21]用逆相蒸发法合成了共负载碘帕醇和碘油的脂质体, 有效提高了碘的浓度, 减少造影剂的注射剂量. 将这种脂质体静脉注射到大鼠体内后, 富含RES的组织(如肝脏)得到了更清晰、长效的CT扫描结果. 研究表明碘油的加入没有影响碘帕醇的负载量和脂质体的平均粒径.

碘化的脂质分子自组装形成脂质体也可作为一种新型的CT造影剂. Elrod等人[22]用碘化卵磷脂分子合成碘化脂质体(iodi-liposome), 平均粒径 50~150 nm. 碘化脂质体的碘浓度足够CT成像, 空的内核可以包埋药物, 达到诊断和治疗同时进行的目的; 或者包埋传统碘造影剂, 以期产生更好的X射线衰减效果.

目前研究的脂质体多是被动靶向制剂, 主要依靠RES吞噬靶向肝、脾等脏器, 或EPR效应靶向血管丰富的肿瘤组织. 而脂质体具有可表面修饰的优点, 如果在脂质体膜上嵌上抗体等靶向分子, 使之具有主动靶向作用, 可进一步提高特定组织器官及肿瘤的造影增强效果. Montet研究组[23]合成了靶向E-选择素的含碘脂质体. E-选择素在肿瘤血管中过表达, 注射该脂质体的荷瘤小鼠, 在肿瘤组织处有明显增强的CT信号, 且残留时间显著长于非靶向脂质体. Dunne等人[24]则合成靶向APN/CD13 的含碘脂质体. 氨肽酶N(APN), 也叫CD13, 在肿瘤新生血管的内皮细胞中表达; 连接到脂质体的APN/CD13配体是肿瘤血管特异性天冬酰胺-甘氨酸-精氨酸(NGR)肽段. 由于具有靶向作用, 这种NGR-脂质体在肿瘤组织的积累进一步增强, 准确指示了肿瘤的位置.

2.3 含碘聚合物造影剂

树状大分子(dendrimer)由希腊语“dendra”和“mer”衍生而来(dendra=tree, mer=part), 是一种重复分支分子, 围绕核心对称, 往往是球形立体形态. 与典型的聚合物不同, 树状大分子是单分散的, 具有十分明确的结构, 即核心分子不断向外重复支化生长, 得到了类似树枝状的结构. 支化单元的数量称为代数, 影响着树状大分子的形状和特性. 低代数(0~3)树状大分子是开放结构, 而高代数树状大分子则具有球状结构和内部空腔, 可以搭载一些功能性分子. 到目前为止, 人们研制的CT造影剂通常是 4 代及以上的树状大分子[8].

树枝状聚酰胺-胺(polyamide-amine, PAMAM)是CT造影中最常使用的树状大分子, 末端具有许多氨基. 2002 年, Yordanov等人[25]报道了将小分子碘化合物(DMAA-IPA)共价偶联到第 4 代PAMAM的末端氨基上, 合成树状G4-(DMAA-IPA)$_{37}$碘造影剂, 这是首次将树状大分子用于CT成像. 研究表明, 随着碘浓度的增加, 其X射线衰减系数呈线性增加, 证明G4-(DMAA-IPA)$_{37}$ 能够作为优良的CT造影剂. 另一种树状大分子造影剂由Fu等人[26]研制, 将以PEG为核心形成的聚赖氨酸树状大分子作为载体, 末端共价偶联碘化合物, 合成了基于聚赖氨酸树状大分子的含碘造影剂PEG12000-Gen4-IOB. 这种树状大分子含碘量27%, 具有许多良好的特征, 包括长效的血管造影效果、可控的分子量(35~143 kD)、较大的X射线衰减系数、良好的水溶性和亲水性、低渗透压、化学稳定性等, 在检测包括癌症在内的各种疾病均具有很好的潜力.

Yin等人[27]设计并合成了PEG化聚碘海醇纳米粒子(PEGylated poly(iohexol) NPs)作为体内CT造影剂. 该纳米粒子在肿瘤部位停留时间长, 使CT对比效果增强 36 倍, 可提高肿瘤诊断的精确度和病人的舒适度.

金属有机骨架材料(MOFs)是近 10 年来发展迅速的一种配位聚合物, 具有三维的孔结构, 一般以金属离子为连接点, 有机配位体支撑构成空间 3D延伸. deKrafft等人[28]制备了以Cu^{2+}/Zn^{2+}为连接点, I_4-BDC-

H_2 为配位体的纳米级MOF, 它的CT成像效果强于碘克沙醇. 值得注意的是, 这种MOF在 37℃的磷酸盐(PBS)缓冲液中处理约 46 h即可完全降解, 表明其具有可生物降解的特性.

3 金纳米材料

自从发明之初, 金纳米粒子(GNPs)就一直是生物医学界的"宠儿", 广泛应用于光声成像、光热治疗、药物运输、DNA芯片等各个领域. 金作为X射线造影剂的历史可以追溯到 1895 年伦琴夫人手上戴的金戒指. 2006 年, Hainfeld等人[29]首次报道了一种新型的CT造影剂——金纳米粒子. 相比于碘化物, 金纳米结构具有更多优越的性能, 如原子序数高, 具有更高的X射线衰减系数; 化学惰性, 不会释放出有毒的金属离子, 生物相容性好[30]; 制备方法成熟, 形状、尺寸容易控制, 表面易修饰; 血液循环时间更长, 有长效、明亮的血管造影效果[31]等. 目前已成功制备的金纳米结构有球、棒、壳、笼等, 能够满足各种实验研究的要求[32].

3.1 作为CT造影剂的金纳米粒子

金具有较高的原子序数(Z=79)和K吸收边(K-edge=80.7 keV), 在临床CT常用的X射线(120 kVp)照射下具有更高的X射线衰减系数, 这是因为当X射线的能量大于金的K 吸收边时, X 射线光子的能量足以使 1 个K 层电子脱离原子, 从而引起原子的共振吸收, 使吸收系数有了突然增加. 有研究指出, 当金纳米粒子质量浓度仅为 0.01% 时, 无论用多大能量的X 射线成像都没有得到好的效果, 这说明金纳米粒子必须达到一定的质量浓度才能成为有效的CT造影剂[33]. 另外有研究指出, 相同质量浓度的金纳米粒子尺寸越小, 对X射线的衰减能力越强, 当尺寸小于 40 nm时, 造影效果优于相同质量浓度的商业化CT造影剂欧乃派克(Omnipaque, 即碘海醇)[34].

制备金纳米粒子的常用方法是柠檬酸钠还原氯金酸, 但这种方法制备的金纳米粒子在生理环境中并不稳定, 因此合适的表面修饰对GNPs的体内应用至关重要. 与PEG化脂质体相似, PEG修饰的GNPs能很好地"逃逸"网状内皮组织的清除, 延长血液循环时间. PEG-GNPs不仅能用于血池成像, 还可以清楚地区分肝脏肿瘤和正常肝实质, 体外实验表明其X射线衰减效果是优维显(Ultravist, 即碘普罗胺)的 5.7 倍[35].

基于高密度脂蛋白(HDL)的造影剂由巨噬细胞特异性吸收, Cormode等人[36]分别用金或碘浓度相同的 3 种造影剂Au-HDL, Au-PEG, 欧乃派克与小鼠单核巨噬细胞J774A孵育 2 h, 结果显示Au-HDL比Au-PEG更早被巨噬细胞吞噬, 且CT造影效果明显强于Au-PEG和欧乃派克. 这类造影剂在MRI成像中也获得了良好的效果(图 2).

2010 年, Shi研究组[37]首次以第 5 代PAMAM(G5 PAMAM)树状大分子为模板, 制备了粒径 2~4 nm的树状大分子包裹的金纳米粒子(dendrimer-entrapped gold nanoparticles, Au DENPs). 为了克服表面氨基的毒性和非特异性, 他们对Au DENPs进行了修饰, 包括表面PEG化[38]和乙酰化[39,40]. 相关实验表明, 这些Au DENPs均具有比碘造影剂更好的造影效果和更长

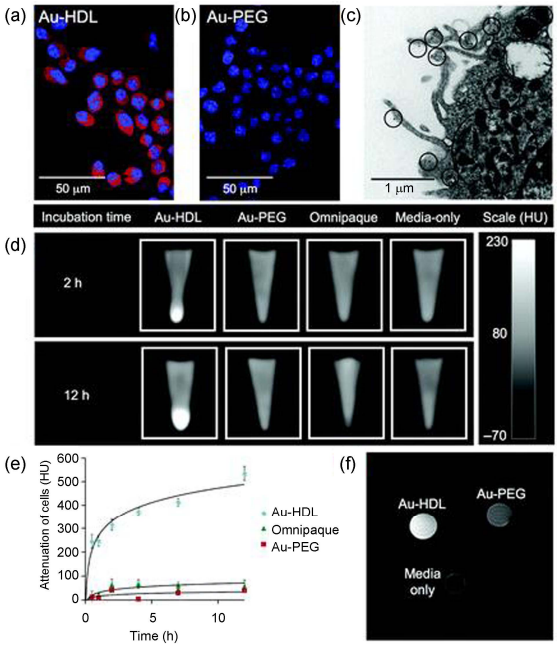


图 2 体外巨噬细胞摄取 Au-HDL 的情况[36]. 共聚焦显微镜检, 与(a)Au-HDL 或(b)Au-PEG 孵育 2 h 的细胞示红色(若丹明); 细胞核由DAPI(蓝色)染色; (c) 透射电子显微镜(TEM)图像, 黑圈代表摄取粒子的区域; (d) 不同细胞团的 CT 扫描图像; (e) 细胞团的 CT 衰减系数随时间的变化曲线; (f) 细胞团 T1 加权的 MRI 图像

Figure 2 Uptake of Au-HDL by macrophage cells *in vitro*[36]. Confocal microscopy of cells incubated for 2 h with Au-HDL (a) or Au-PEG (b), which appear red (rhodamine) and the nuclei are stained with DAPI (blue). (c) Transmission electron microscope (TEM) image where black circles indicate areas of particle uptake. (d) CT images of the different cell pellets. (e) Graph of the increase in CT attenuation of the cell pellets compared to media only incubated cells vs. time of incubation. (f) T1-weighted MR image of cell pellets

的血液循环时间, 由于EPR效应出现局部的富集, 且没有明显的细胞毒性.

2011 年, Shi研究组[41]在Au DENPs的基础上, 将泛影酸(DTA)共价连接到G5 PAMAM表面, 制备了含有2种造影元素(I, Au)的CT造影剂. 相较于先前报道的Au DENPs和欧乃派克, 这类新型的造影剂具有更高的X射线衰减系数, 而且循环时间长、毒性小. 此外, Shi研究组[42]还利用与树状大分子分支结构类似的分支状聚醚酰亚胺(polyetherimide, PEI), 合成并表征了PEG-PEI包裹的金纳米粒子(PEGylated PEI-entrapped AuNPs, Au PENPs), 在血池和肿瘤的CT成像上同样具有应用潜力.

3.2 基于金纳米材料的靶向CT造影剂

虽然GNPs对肿瘤有一定的被动靶向能力, 但为了进一步增强GNPs的富集效果并减少对其他组织的影响, 通常还需要在GNPs表面修饰特定的靶向分子. 目前已经用于修饰GNPs及Au DENPs的靶向分子有抗Her2 抗体(Herceptin)[43]、叶酸(FA)[44,45]、UM-A9抗体[46]、抗CD4 抗体[47]、肝素(Heparin)[48]、乳糖酸[49]等.

Feng等人[50]用巯基PEG和葡萄糖修饰GNPs, 合成靶向肿瘤的PEG-Glu-GNPs造影剂. 葡萄糖能作为靶向分子的原因是, 相对于周围良性组织, 肿瘤组织代谢更加活跃, 需要更多的葡萄糖供能. 晚期实体瘤部位常表现为缺氧, 这种情况下, 许多肿瘤靶向分子很难到达有效部位, 但是葡萄糖作为营养来源则可以顺利被肿瘤摄取. 裸鼠经腹腔注射该造影剂后进行CT扫描, 能观察到肿瘤与周围结缔组织有明显的差异, 轮廓十分清晰. PEG-Glu-GNPs的直径大约 20 nm, 可以对直径小于 0.5 cm的肿瘤成像. 注射 15 d 后, CT图像上观察不到造影剂增强的区域, 表明大部分造影剂已排出体外.

3.3 基于金纳米材料的多功能CT造影剂

单一功能的纳米制剂已不能满足医学多样化与癌症诊断的需求. 在临床诊断中, 由于各种成像模式具有自己独特的优势和缺点, 常常同时使用2种或者2 种以上的医学成像手段来进行疾病的诊断, 以期得到更为准确的诊断结果, 为下一步的治疗提供更精确的指导. 因此, 开发多模态或诊断治疗相结合(即诊疗)的多功能纳米制剂已经成为当前的研究热点, 而金纳米粒子易表面修饰、表面等离子共振效应(surface plasmon resonance, SPR)和放射增敏[51]的特性, 赋予其在单一平台上整合成像诊断和药物治疗的巨大潜质. 经修饰的金纳米粒子, 尤其是金纳米棒, 能够将多种成像方式、光热治疗、放疗增敏、药物控释等功能集于一身, 制备的多功能诊疗平台非常适用于癌症的诊断和治疗.

镧系元素钆(Gd)是临床上常用的磁共振造影剂, 其络合物能增强MRI的成像信号. MRI对软组织的分辨率较高, 适合于盆腔疾病的诊断, 同时对水分子和其他生物大分子的分布具有很高的探测敏感性, 但是MRI成像时间长, 难以用于实时成像. 将Gd和Au两种造影元素相结合, 即可实现MRI/CT双模态成像. 目前基于Gd/Au的双模态纳米造影剂有Gd螯合物包裹的GNPs[52,53]和Gd修饰的Au DENPs[54~56]等. 其中, Gd-Au DENPs的优势在于表面还可以再修饰靶向分子, 如叶酸[55], 进一步提高了对肿瘤的靶向成像能力.

超声(ultrasound, US)是医学成像手段中使用最广泛的一种, 它具有低价、安全、便捷和实时成像等特点[57]. 由于成像原理的限制, 超声的分辨率较低, 且体内的骨骼和气体会对成像产生很大的影响, 因此很难用于脑部和胃部成像, 而这些劣势恰恰是CT成像的优势. 因此, 本课题组[58]研制了含有氧化石墨烯(graphene oxide, GO)和Au NPs的聚乳酸(PLA)微胶囊(Au@PLA-(PAH/GO)$_n$), 实现了CT/US双模态成像引导下的癌症光热治疗. 本课题组还制备了基于纳米金壳胶囊的CT/MRI/US三模态成像造影剂(图 3). 形成纳米胶囊的高分子PLA具有良好的生物相容性和生物可降解性; 其中包裹的全氟溴辛烷(PFOB)和超顺磁性氧化铁(SPIOs)可分别增强超声成像和T2 加权的MRI成像的对比度[59]; 外层金纳米壳既可增强CT对比度, 又可以在近红外光辐照下实现良好的光热治疗效果[60]; 最外层经PEG修饰实现更长的循环时间和对肿瘤的被动靶向聚集. 然后, 通过CT/MRI/US三模态成像确定肿瘤的大小、位置和边界等诊断信息后, 可以实时监测和指导下一步的治疗; 而利用定点的近红外光辐照, 在局部形成高温区域, 能有效杀伤肿瘤细胞, 最终实现肿瘤的完全消融.

CT成像的特点之一是分辨率高但灵敏度低, 而光学成像则与之相反. 基于CT/光学双模态成像的靶向GNPs有效解决了这一矛盾, 同时提供了肿瘤组织

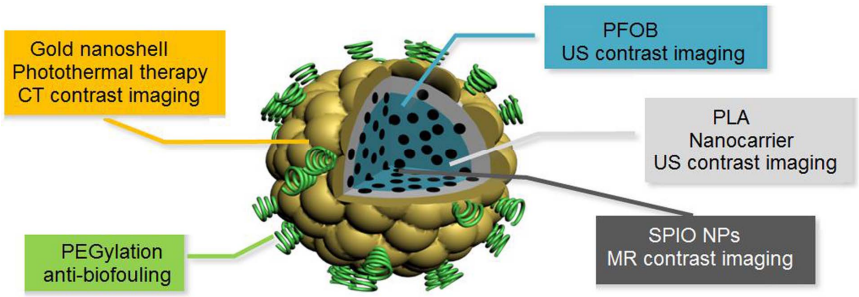


图 3 (网络版彩色)基于纳米金壳胶囊的多功能造影剂的各组分及其相应功能[59]

Figure 3 (Color online) The components and functions of gold-nanoshelled microcapsules as multifunctional contrast agents[59]

的高空间分辨率CT图像和高灵敏度光学图像[61]. 值得注意的是, van Schooneveld等人[62]合成了用于MRI/CT/荧光(FI)三模态成像的造影剂. 首先合成了粒径 88 nm的二氧化硅壳包裹的GNPs, 再吸附上十八醇形成疏水表面; 然后将该纳米粒子稳定到由磷脂混合物形成的胶束内部, 这些磷脂的头部基团分别是Gd-DTPA, PEG或荧光染料Cy5.5. MRI, CT, 共聚焦显微镜扫描结果表明, 体外培养的巨噬细胞能成功摄取并被该纳米粒子标记(图 4). 体内研究则显示, 该纳米粒子对小鼠肝脏造影效果明显, 在注射剂量仅 0.15 nmol kg^{-1}时, 与注射前相比, MRI和CT信号分别提高了 24%和 50%.

为了更好地战胜疾病, 人们希望开发多功能诊疗平台, 同时用于疾病的成像诊断和治疗. 本课题组[63]制备了普鲁士蓝(Prussian blue, PB)包裹Au NPs的层壳结构(Au@PB NPs), 成功用于肿瘤的CT/光声(photoacoustic, PA)双模态成像, 该纳米粒子还可以指导肿瘤的光热治疗, 激光照射8 min后使肿瘤中央的温度从36.5℃升到57.3℃, 温度足以杀死肿瘤细胞. 而修饰靶向分子和药物的GNPs则可针对不同类型的肿瘤进行CT成像诊断和治疗. 例如, 结合α-生育酚琥珀酸酯(α-TOS)的FA-Au DENPs能够靶向叶酸受体(FAR)过表达的肿瘤细胞, 并在α-TOS的作用下杀伤肿瘤细胞[64]; 在表面修饰了前列腺特异性膜抗原(PSMA)的RNA适配子和阿霉素的GNPs, 能够靶向前列腺癌, 同时输送阿霉素进行治疗[65].

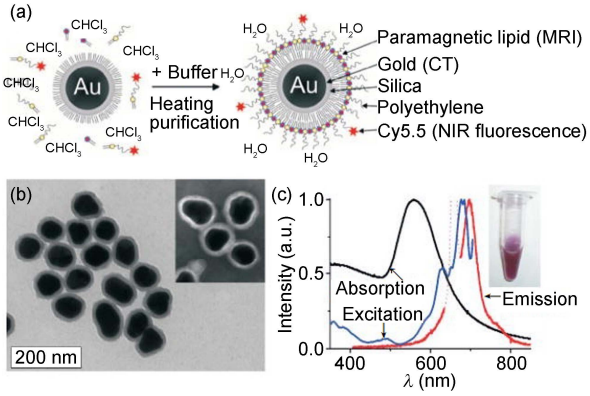


图 4 (网络版彩色)(a) 磷脂包裹纳米颗粒的示意图; (b) 疏水金/二氧化硅颗粒(88±9 nm)的 TEM 图像, 插图示磷脂包裹颗粒的负染色 TEM 图像; (c) 水相中磷脂包裹金/二氧化硅颗粒分散系(插图)的吸收、散射(λ_{ex} 660 nm)和激发(λ_{em} 710 nm)光谱[62]

Figure 4 (Color online) (a) Schematic representation of the nanoparticle lipid coating procedure. (b) TEM image of hydrophobic gold/silica particles (88 ±9 nm). The inset shows a negative stain TEM image of the lipid-coated particles. (c) Absorption, emission (λ_{ex} 660 nm) and excitation (λ_{em} 710 nm) spectra of the aqueous lipid-coated gold/silica particle dispersion (inset). Note that the dotted line in the emission spectrum is due to scattered excitation light and thus not due to Cy5.5 emission[62]

除了球形GNPs, 金纳米棒(gold nanorods, Au NRs)也是一种值得关注的多功能诊疗平台. 通过调节长径比, 可以将Au NRs的纵向SPR吸收峰控制在近红外区(near infrared region, NIR). SPR 效应使得Au NRs既可以应用于线性光学成像, 也能使其将吸收的光能迅速转化为热能, 最终导致肿瘤细胞的坏死. 这样, Au NRs 自身便可实现CT, NIR荧光等多模态成像和光热治疗的功能, 还可以将更多的功能分子修饰到其表面, 将主动靶向[46,66]、药物控释[67]、放疗增敏[68]和光动力治疗[69]等结合起来, 对疾病的早期诊断和治疗有重要意义.

4 其他金属造影剂

4.1 氧化钽纳米造影剂

钽(Ta)具有良好的生物相容性, 不仅对人体没有任何损害, 而且骨骼和肌肉还可以在上面生长. 因此, 临床上钽和氧化钽被广泛用作人体植入物、人工关节、支架及血管钳等[70~73]. 金属钽是近年来科学家

发现的一种新型CT造影剂，具有与Au相当的X射线衰减系数(4.3 $cm^2\ g^{-1}$, 100 eV)，但是价格相对便宜. 最新研究表明，10 nm左右的水溶性氧化钽纳米粒子能显著增强CT成像的对比度[74]. Hyeon研究组[75]进一步在氧化钽纳米粒子的表面修饰硅烷衍生物，然后连接荧光分子和PEG，使PEG-RITC-TaO_x纳米粒子在动物体内成功实现CT/荧光双模态成像(图 5). 2012年Hyeon研究组[76]又以Fe_3O_4为核心制备核壳结构的Fe_3O_4/TaO_x纳米粒子，实现了MRI/CT双模态成像.

聚吡咯(PPy)纳米材料具有较高的导电性、良好的稳定性和生物相容性，已被广泛用于生物电子学和生物医学领域. 本课题组[77]以TaO_x纳米粒子为核心，通过一步液相分散聚合法制备了形貌均一、平均粒径约 56 nm，携带TaO_x的聚吡咯纳米粒子(TaO_x@PPy). PPy纳米粒子在水溶液及生物介质中具有优良的分散性及稳定性. 将TaO_x@PPy纳米粒子悬液(0.1 mL, 40 mg mL^{-1})通过小鼠尾静脉注射至其体内，并用micro-CT对注射前和注射后 0, 4, 16 h的荷瘤小鼠进行CT扫描(图 6)[78]. 图 6 可以看出，TaO_x@PPy纳米粒子聚集在血流丰富的肿瘤区域，形成明显的对比增强效果，并且随着时间的延长其增强效果越来越明显. 而且，相对于传统的光热治疗剂金纳米棒而言，TaO_x@PPy纳米粒子具有更高的光热转换效率及光热稳定性. 由于其显著的近红外光吸收特性，聚吡咯纳米粒子能够对深部组织进行光声成像，体外光声成像深度达 4.3 cm[79]，体内外肿瘤的光热消融实验也证实了聚吡咯纳米粒子用于肿瘤光热治疗的巨大潜力.

4.2 镧系纳米造影剂

镧系元素具有较高的原子序数，可以作为CT造影剂. 自由的镧系离子是有毒的，如Gd^{3+}的离子半径

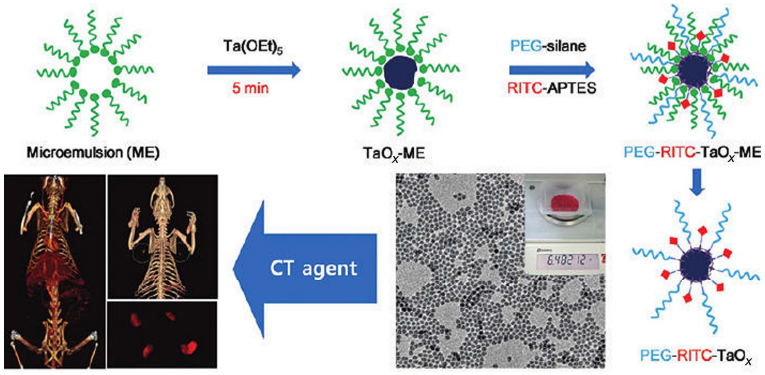


图 5 (网络版彩色)PEG-RITC-TaO_x纳米粒子的制备及 CT/荧光成像[75]

Figure 5 (Color online) Synthesis and CT/fluorescence imaging of PEG-RITC-TaO_x NPs[75]

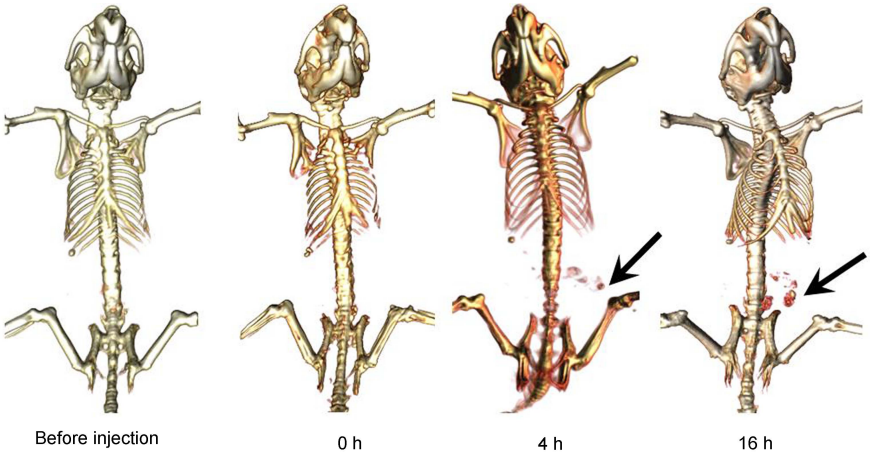


图 6 (网络版彩色)荷瘤小鼠尾静脉注射 TaO_x@PPy 纳米粒子前后的 CT 造影图像，箭头指示肿瘤部位[78]

Figure 6 (Color online) *In vivo* 3D X-ray CT imaging of mice before and after injection of TaO_x@PPy NPs through tail vein. The black arrows point to the tumor[78]

为 0.99 Å, 和Ca^{2+}十分接近(1.00 Å), 在生理条件下Gd^{3+}会和Ca^{2+}竞争, 影响其生物学功能. 因此, 用于生物医学研究的镧系元素多是螯合物, 常用的螯合剂有二乙烯三胺五乙酸(DTPA)、1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四羧酸(DOTA)和乙氧基苯甲基二乙烯五胺乙酸(EOB-DTPA)等. 其中, Gd-DTPA是最早研制出来的肝脏顺磁性MRI造影剂, 1987 年即正式被美国食品药品管理局(FDA)批准. 目前, 镧系造影剂已成功用于血管系统、肺栓塞、肝脏等的CT成像[80~83]或多功能诊疗[84,85].

与金纳米粒子相同, 镧系纳米粒子也是一种有前景的多功能诊疗平台. 掺杂镧系离子的化合物具有上转换发光(upconversion luminescence, UCL)特性, 与有机荧光染料和量子点不同, 上转换发光材料受到低能量的光激发, 可以发出高能量的光. 因为上转换发光是利用近红外光激发而不是利用紫外光, 很大程度地消除了自体荧光背景的干扰, 并有效避免紫外光激发造成的组织损伤. 缺少自体荧光使得上转换发光具有极高的敏感性, 即使单个纳米粒子也可以被检测到[86]. 上转换发光的基质材料以氟化物为主; 氧化物(如Yb_2O_3:Er^{3+}[87])也可以作为基质材料, 但发光效率不如氟化物. 常用的氟化物基质材料有$NaYF_4$[88], $NaLuF_4$[89~91]和$NaYbF_4$[92,93], LaF_3[94], $BaGdF_5$[95]等, 通过掺杂不同比例的Yb^{3+}, Er^{3+}和Tm^{3+}等镧系离子, 研究人员制备了多种CT/UCL多模态造影剂, 均具有良好的稳定性和生物相容性, X射线衰减能力强于碘造影剂, 改善了对肝脏、淋巴结、血管、肿瘤组织检测的可视化程度. 通过共掺杂Gd^{3+}[89]、表面连接Gd螯合物[90]或以氧化铁为核心制备核壳结构[91], 这些纳米粒子进一步被赋予了MRI造影的功能. Shen等人[96]制备了一种可用于CT/UCL/MRI三模态成像的多层壳状纳米材料——$NaYF_4$:Yb/Tm@$NaLuF_4$@$NaYF_4$@$NaGdF_4$(图7), 与前面提到的非层壳结构相比, $NaLuF_4$层提高了上转换发光强度和X射线衰减系数, 而最外层的$NaGdF_4$则能在不影响上转换发光和CT成像能力的情况下改善其MRI成像的能力.

4.3 铋纳米造影剂

铋(Bi)也是一种有潜力的X射线造影元素. 与金、钽和碘相比, 铋具有相对较高的原子序数(Z=83)和X射线衰减系数(Bi, 5.74; Au, 5.16; Ta, 4.3; I, 1.94 $cm^2\ g^{-1}$, 100 keV), 因此理论上铋作CT造影剂的效果最好. 此外, 铋的价格比较便宜, 已经成功用在药物和化妆品中, 足以证明铋具有良好的生物相容性和较小的毒性. 但是金属铋比较活泼, 不适合体内应用, 一般临床使用的都是Bi_2S_3纳米粒子.

最初研究人员用水热法合成Bi_2S_3, 但这样合成的纳米粒子尺寸均一性和单分散性很差. Ai等人[97]开发了新的合成方法, 以油胺(OA)作为配位剂和溶剂, 用热注入法合成了尺寸均一的OA-Bi_2S_3纳米点. 然后用聚乙烯吡咯烷酮(PVP)进行配体置换, 即合成了稳定、无毒性的PVP-Bi_2S_3纳米点. PVP-Bi_2S_3纳米点的血液循环时间长, CT造影效果是碘比醇的 1.9 倍, 可应用于血管成像、诊断肝脏转移瘤等. Kinsella等人[98]用相似的方法合成了Bi_2S_3纳米粒子, 经LyP-1肽修饰后成功用于乳腺肿瘤的靶向成像. 另外, Chen等人[99]合成了修饰普朗尼克F127 的Bi_2S_3纳米粒子(Bi_2S_3-PF127), 生化分析和血液分析显示该纳米粒子基本无毒性, 生物相容性和安全性好. 经小鼠尾静脉注射后, 该纳米粒子显示出良好的造影效果和长的循环时间.

除了Bi_2S_3纳米粒子, 含铋聚合物也是一种安全的CT造影剂. Perera等人[100]报道了一种配位体聚合物$KBi(H_2O)_2(Fe(CN)_6)\cdot H_2O$, 并在表面修饰PVP以控制尺寸, 提高了稳定性并降低了细胞毒性. Pan等人[101]合成了包裹铋的双亲性二嵌段共聚物纳米粒子, 金属含量约 30%, CT检测的灵敏度可达纳摩尔浓度.

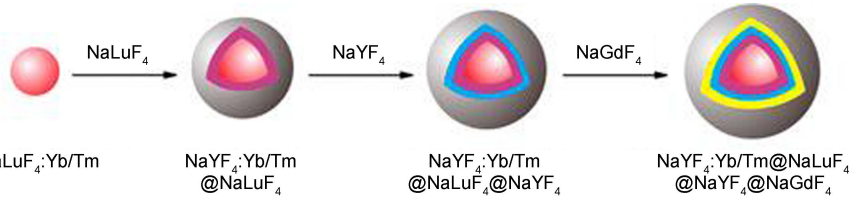


图 7 (网络版彩色)多层壳状纳米结构的合成示意图[96]

Figure 7 (Color online) Schematic representation of multishell structured nanoprobe[96]

除了上述金、钽、镧系、铋纳米粒子, 还有一些金属材料, 如铁铂合金、铅铀化合物等也可以作为CT造影剂[5].

5 结论和展望

过去的几十年里, CT作为一种无创成像技术, 一直活跃在临床诊断学和基础生物学的前沿领域. 普通CT对软组织分辨率的限制使得CT造影剂的出现成为必然. 随着科技的进步, 飞速发展的纳米技术逐渐渗透到CT造影剂领域, 随之出现了许多性能优良的纳米造影剂. 不断完善的纳米CT造影剂已经能够实现对病变组织的精确成像, 改善肿瘤诊断、分期的准确性, 为确定治疗计划提供依据. 此外, 通过控制纳米粒子的尺寸形状并进行表面修饰, 可以制备基于CT成像的多功能纳米平台, 更好地用于肿瘤的靶向成像、多模态成像和一体化诊疗. 这种多功能纳米平台不但提高了疾病的诊断、治疗效率, 同时也减轻了患者的痛苦和治疗成本.

最近几年, 对纳米CT造影剂的研究正处于飞速发展时期, 但多数造影剂仍在进行临床前研究, 缺乏生物毒性、药代动力学和体内分布的实验评估, 距离临床应用有一定距离. 要将安全高效的纳米CT造影剂应用于临床诊断和治疗, 还需对纳米CT造影剂的诸多安全性问题进行深入研究. 多数临床上批准使用的碘造影剂具有肾脏毒性, 不适合监测病人的治疗过程, 而作为载体的脂类、聚合物纳米粒子对表面PEG 修饰的过度依赖使其无法将药物靶向、代谢稳定性等功能进行最优化组合; 金纳米粒子对于正常细胞活动和体内代谢有一定影响, 且毒性依赖其尺寸形状, 受环境影响较大; 用于CT成像的镧系造影剂使用剂量明显高于MRI成像所需剂量, 可能增加副作用发生的几率; 钽、铋等金属造影剂的研究才刚刚开展, 亟需进一步研究验证其毒性和安全性. 此外, 改进纳米CT造影剂的制备方法, 降低成本, 实现大规模生产也是不容忽视的问题. 纳米CT造影剂存在着巨大的应用潜力和市场价值, 一旦解决这些问题后, 可以预见, 它们将对疾病的临床诊断和治疗产生革命性的影响.

参考文献

1 Kalender W A. X-ray computed tomography. Phys Med Biol, 2006, 51: 29–43
2 Pan X, Siewerdsen J, La Riviere P J, et al. Development of X-ray computed tomography: The role of medical physics and AAPM from the 1970s to present. Med Phys, 2008, 35: 3728–3739
3 Wathen C A, Foje N, Avermaete T, et al. *In vivo* X-ray computed tomographic imaging of soft tissue with native, intravenous, or oral contrast. Sensors, 2013, 13: 6957–6980
4 Singh J, Daftary A. Iodinated contrast media and their adverse reactions. J Nucl Med Technol, 2008, 36: 69–74
5 Lusic H, Grinstaff M W. X-ray-computed tomography contrast agents. Chem Rev, 2012, 113: 1641–1666
6 van Herck J L, De Meyer G R Y, Martinet W, et al. Multi-slice computed tomography with N1177 identifies ruptured atherosclerotic plaques in rabbits. Basic Res Cardiol, 2010, 105: 51–59
7 Aillon K L, El-Gendy N, Dennis C, et al. Iodinated nanoclusters as an inhaled computed tomography contrast agent for lung visualization. Mol Pharm, 2010, 7: 1274–1282
8 Lee N, Choi S H, Hyeon T. Nano-sized CT contrast agents. Adv Mater, 2013, 25: 2641–2660
9 Idée J M, Guiu B. Use of Lipiodol as a drug-delivery system for transcatheter arterial chemoembolization of hepatocellular carcinoma: A review. Crit Rev Oncol Hematol, 2013, 88: 530–549
10 Jeong J M, Kim Y J, Lee Y S, et al. Lipiodol solution of a lipophilic agent, ^{188}Re-TDD, for the treatment of liver cancer. Nucl Med Biol, 2001, 28: 197–204
11 Ho Kong W, Jae Lee W, Yun Cui Z, et al. Nanoparticulate carrier containing water-insoluble iodinated oil as a multifunctional contrast agent for computed tomography imaging. Biomaterials, 2007, 28: 5555–5561
12 Li X, Anton N, Zuber G, et al. Iodinated α-tocopherol nano-emulsions as non-toxic contrast agents for preclinical X-ray imaging. Biomaterials, 2013, 34: 481–491
13 Trubetskoy V S. Polymeric micelles as carriers of diagnostic agents. Adv Drug Deliver Rev, 1999, 37: 81–88
14 Galperin A, Margel D, Baniel J, et al. Radiopaque iodinated polymeric nanoparticles for X-ray imaging applications. Biomaterials, 2007, 28: 4461–4468
15 Aviv H, Bartling S, Kieslling F, et al. Radiopaque iodinated copolymeric nanoparticles for X-ray imaging applications. Biomaterials, 2009, 30: 5610–5616
16 Jacobsen P B, Larsen Å, Konarboland R, et al. Biotransformation of nonionic X-ray contrast agents *in vivo* and *in vitro*. Drug Metab Dispos, 1999, 27: 1205–1213

17 Badea C T, Athreya K K, Espinosa G, et al. Computed tomography imaging of primary lung cancer in mice using a liposomal-iodinated contrast agent. PLoS One, 2012, 7: e34496
18 Samei E, Saunders R S, Badea C T, et al. Micro-CT imaging of breast tumors in rodents using a liposomal, nanoparticle contrast agent. Int J Nanomed, 2009, 4: 277–282
19 Zheng J, Liu J, Dunne M, et al. *In vivo* performance of a liposomal vascular contrast agent for CT and MR-based image guidance applications. Pharm Res, 2007, 24: 1193–1201
20 Karathanasis E, Chan L, Balusu S R, et al. Multifunctional nanocarriers for mammographic quantification of tumor dosing and prognosis of breast cancer therapy. Biomaterials, 2008, 29: 4815–4822
21 Kweon S, Lee H J, Hyung W J, et al. Liposomes coloaded with iopamidol/lipiodol as a RES-targeted contrast agent for computed tomography imaging. Pharm Res, 2010, 27: 1408–1415
22 Elrod D B, Partha R, Danila D, et al. An iodinated liposomal computed tomographic contrast agent prepared from a diiodophosphatidylcholine lipid. Nanomedicine, 2009, 5: 42–45
23 Wyss C, Schaefer S C, Juillerat-Jeanneret L, et al. Molecular imaging by micro-CT: Specific E-selectin imaging. Eur Radiol, 2009, 19: 2487–2494
24 Dunne M, Zheng J, Rosenblat J, et al. APN/CD13-targeting as a strategy to alter the tumor accumulation of liposomes. J Control Release, 2011, 154: 298–305
25 Yordanov A T, Lodder A L, Woller E K, et al. Novel iodinated dendritic nanoparticles for computed tomography (CT) imaging. Nano Lett, 2002, 2: 595–599
26 Fu Y, Nitecki D E, Maltby D, et al. Dendritic iodinated contrast agents with PEG-cores for CT imaging: Synthesis and preliminary characterization. Bioconjug Chem, 2006, 17: 1043–1056
27 Yin Q, Yap F Y, Yin L, et al. Poly(iohexol) nanoparticles as contrast agents for *in vivo* X-ray computed tomography imaging. J A Chem Soc, 2013, 135: 13620–13623
28 deKrafft K E, Xie Z, Cao G, et al. Iodinated nanoscale coordination polymers as potential contrast agents for computed tomography. Angew Chem Int Ed, 2009, 48: 9901–9904
29 Hainfeld J F, Slatkin D N, Focella T M, et al. Gold nanoparticles: A new X-ray contrast agent. Br J Radiol, 2006, 79: 248–253
30 Shukla R, Bansal V, Chaudhary M, et al. Biocompatibility of gold nanoparticles and their endocytotic fate inside the cellular compartment: A microscopic overview. Langmuir, 2005, 21: 10644–10654
31 Au J T, Craig G, Longo V, et al. Gold nanoparticles provide bright long-lasting vascular contrast for CT imaging. Am J Roentgenol, 2013, 200: 1347–1351
32 Dreaden E C, Alkilany A M, Huang X, et al. The golden age: Gold nanoparticles for biomedicine. Chem Soc Rev, 2012, 41: 2740–2779
33 Yusa N, Jiang M, Mizuno K, et al. Numerical evaluation of the effectiveness of colloidal gold as a contrast agent. Radiol Phys Technol, 2009, 2: 33–39
34 Xu C, Tung G A, Sun S. Size and concentration effect of gold nanoparticles on X-ray attenuation as measured on computed tomography. Chem Mater, 2008, 20: 4167–4169
35 Kim D, Park S, Lee J H, et al. Antibiofouling polymer-coated gold nanoparticles as a contrast agent for *in vivo* X-ray computed tomography imaging. J Am Chem Soc, 2007, 129: 7661–7665
36 Cormode D P, Skajaa T, van Schooneveld M M, et al. Nanocrystal core high-density lipoproteins: A multimodality contrast agent platform. Nano Lett, 2008, 8: 3715–3723
37 Guo R, Wang H, Peng C, et al. X-ray attenuation property of dendrimer-entrapped gold nanoparticles. J Phys Chem C, 2009, 114: 50–56
38 Peng C, Zheng L, Chen Q, et al. PEGylated dendrimer-entrapped gold nanoparticles for *in vivo* blood pool and tumor imaging by computed tomography. Biomaterials, 2012, 33: 1107–1119
39 Peng C, Wang H, Guo R, et al. Acetylation of dendrimer-entrapped gold nanoparticles: Synthesis, stability, and X-ray attenuation properties. J Appl Polym Sci, 2011, 119: 1673–1682
40 Wang H, Zheng L, Peng C, et al. Computed tomography imaging of cancer cells using acetylated dendrimer-entrapped gold nanoparticles. Biomaterials, 2011, 32: 2979–2988
41 Guo R, Wang H, Peng C, et al. Enhanced X-ray attenuation property of dendrimer-entrapped gold nanoparticles complexed with diatrizoic acid. J Mater Chem, 2011, 21: 5120–5127
42 Zhou B, Zheng L, Peng C, et al. Synthesis and characterization of PEGylated polyethylenimine-entrapped gold nanoparticles for blood pool and tumor CT imaging. ACS Appl Mater Inter, 2014, 6: 17190–17199
43 Hainfeld J F, O'connor M J, Dilmanian F A, et al. Micro-CT enables microlocalisation and quantification of Her2-targeted gold nanoparticles within tumour regions. Br J Radiol, 2011, 84: 526–533
44 Wang H, Zheng L, Peng C, et al. Folic acid-modified dendrimer-entrapped gold nanoparticles as nanoprobes for targeted CT imaging of human lung adencarcinoma. Biomaterials, 2013, 34: 470–480

45 Liu H, Xu Y, Wen S, et al. Targeted tumor computed tomography imaging using low-generation dendrimer-stabilized gold nanoparticles. Chem Eur J, 2013, 19: 6409–6416
46 Popovtzer R, Agrawal A, Kotov N A, et al. Targeted gold nanoparticles enable molecular CT imaging of cancer. Nano Lett, 2008, 8: 4593–4596
47 Eck W, Nicholson A I, Zentgraf H, et al. Anti-CD4-targeted gold nanoparticles induce specific contrast enhancement of peripheral lymph nodes in X-ray computed tomography of live mice. Nano Lett, 2010, 10: 2318–2322
48 Sun I C, Eun D K, Na J H, et al. Heparin-coated gold nanoparticles for liver-specific CT imaging. Chem Eur J, 2009, 15: 13341–13347
49 Liu H, Wang H, Xu Y, et al. Lactobionic acid-modified dendrimer-entrapped gold nanoparticles for targeted computed tomography imaging of Human Hepatocellular Carcinoma. ACS Appl Mater Inter, 2014, 6: 6944–6953
50 Feng G, Kong B, Xing J, et al. Enhancing multimodality functional and molecular imaging using glucose-coated gold nanoparticles. Clin Radiol, 2014, 69: 1105–1111
51 Dorsey J F, Sun L, Joh D Y, et al. Gold nanoparticles in radiation research: Potential applications for imaging and radiosensitization. Transl Cancer Res, 2013, 2: 280–291
52 Alric C, Taleb J, Duc G L, et al. Gadolinium chelate coated gold nanoparticles as contrast agents for both X-ray computed tomography and magnetic resonance imaging. J Am Chem Soc, 2008, 130: 5908–5915
53 Park J, Kim H K, Kim J H, et al. Gold nanoparticles functionalized by gadolinium–DTPA conjugate of cysteine as a multimodal bioimaging agent. Bioorg Med Chem Lett, 2010, 20: 2287–2291
54 Li K, Wen S, Larson A C, et al. Multifunctional dendrimer-based nanoparticles for *in vivo* MR/CT dual-modal molecular imaging of breast cancer. Int J Nanomed, 2013, 8: 2589–2600
55 Chen Q, Li K, Wen S, et al. Targeted CT/MR dual mode imaging of tumors using multifunctional dendrimer-entrapped gold nanoparticles. Biomaterials, 2013, 34: 5200–5209
56 Wen S, Li K, Cai H, et al. Multifunctional dendrimer-entrapped gold nanoparticles for dual mode CT/MR imaging applications. Biomaterials, 2013, 34: 1570–1580
57 Guo C, Jin Y, Dai Z. Multifunctional ultrasound contrast agents for imaging guided photothermal therapy. Bioconjug Chem, 2014, 25: 840–854
58 Jin Y, Wang J, Ke H, et al. Graphene oxide modified PLA microcapsules containing gold nanoparticles for ultrasonic/CT bimodal imaging guided photothermal tumor therapy. Biomaterials, 2013, 34: 4794–4802
59 Ke H, Wang J, Tong S, et al. Gold nanoshelled liquid perfluorocarbon magnetic nanocapsules: A nanotheranostic platform for bimodal ultrasound/magnetic resonance imaging guided photothermal tumor ablation. Theranostics, 2014, 4: 12–23
60 Ke H, Yue X, Wang J, et al. Gold nanoshelled liquid perfluorocarbon nanocapsules for combined dual modal ultrasound/CT imaging and photothermal therapy of cancer. Small, 2014, 10: 1220–1227
61 Sun I C, Eun D K, Koo H, et al. Tumor-targeting gold particles for dual computed tomography/optical cancer imaging. Angew Chem Int Ed, 2011, 50: 9348–9351
62 van Schooneveld M M, Cormode D P, Koole R, et al. A fluorescent, paramagnetic and PEGylated gold/silica nanoparticle for MRI, CT and fluorescence imaging. Contrast Media Mol Imaging, 2010, 5: 231–236
63 Jing L, Liang X, Deng Z, et al. Prussian blue coated gold nanoparticles for simultaneous photoacoustic/CT bimodal imaging and photothermal ablation of cancer. Biomaterials, 2014, 35: 5814–5821
64 Zhu J, Zheng L, Wen S, et al. Targeted cancer theranostics using alpha-tocopheryl succinate-conjugated multifunctional dendrimer-entrapped gold nanoparticles. Biomaterials, 2014, 35: 7635–7646
65 Kim D, Jeong Y Y, Jon S. A drug-loaded aptamer-gold nanoparticle bioconjugate for combined CT imaging and therapy of prostate cancer. ACS Nano, 2010, 4: 3689–3696
66 Huang X, El-Sayed I H, Qian W, et al. Cancer cell imaging and photothermal therapy in the near-infrared region by using gold nanorods. J Am Chem Soc, 2006, 128: 2115–2120
67 Xiao Y, Hong H, Matson V Z, et al. Gold nanorods conjugated with doxorubicin and cRGD for combined anticancer drug delivery and PET imaging. Theranostics, 2012, 2: 757–758
68 Huang P, Bao L, Zhang C, et al. Folic acid-conjugated silica-modified gold nanorods for X-ray/CT imaging-guided dual-mode radiation and photo-thermal therapy. Biomaterials, 2011, 32: 9796–9809
69 Kuo W S, Chang C N, Chang Y T, et al. Gold nanorods in photodynamic therapy, as hyperthermia agents, and in near-infrared optical imaging. Angew Chem Int Ed, 2010, 49: 2711–2715
70 Black J. Biologic performance of tantalum. Clin Mater, 1994, 16: 167–173
71 Matsuno H, Yokoyama A, Watari F, et al. Biocompatibility and osteogenesis of refractory metal implants, titanium, hafnium, niobium, tantalum and rhenium. Biomaterials, 2001, 22: 1253–1262
72 Chen J Y, Leng Y X, Tian X B, et al. Antithrombogenic investigation of surface energy and optical bandgap and hemocompatibility mechanism of $Ti(Ta^{+5})O_2$ thin films. Biomaterials, 2002, 23: 2545–2552

73 Findlay D M, Welldon K, Atkins G J, et al. The proliferation and phenotypic expression of human osteoblasts on tantalum metal. Biomaterials, 2004, 25: 2215–2227

74 Bonitatibus Jr P J. Synthesis, characterization, and computed tomography imaging of a tantalum oxide nanoparticle imaging agent. Chem Commun, 2010, 46: 8956–8958

75 Oh M H, Lee N, Kim H, et al. Large-scale synthesis of bioinert tantalum oxide nanoparticles for X-ray computed tomography imaging and bimodal image-guided sentinel lymph node mapping. J Am Chem Soc, 2011, 133: 5508–5515

76 Lee N, Cho H R, Oh M H, et al. Multifunctional Fe_3O_4/TaO_x core/shell nanoparticles for simultaneous magnetic resonance imaging and X-ray computed tomography. J Am Chem Soc, 2012, 134: 10309–10312

77 Zha Z, Yue X, Ren Q, et al. Uniform polypyrrole nanoparticles with high photothermal conversion efficiency for photothermal ablation of cancer cells. Adv Mater, 2013, 25: 777–782

78 Jin Y, Li Y, Ma X, et al. Encapsulating tantalum oxide into polypyrrole nanoparticles for X-ray CT/photoacoustic bimodal imaging-guided photothermal ablation of cancer. Biomaterials, 2014, 35: 5795–5804

79 Zha Z, Deng Z, Li Y, et al. Biocompatible polypyrrole nanoparticles as a novel organic photoacoustic contrast agent for deep tissue imaging. Nanoscale, 2013, 5: 4462–4467

80 Esteban J M, Alonso A, Cervera V, et al. One-molar gadolinium chelate (gadobutrol) as a contrast agent for CT angiography of the thoracic and abdominal aorta. Eur Radiol, 2007, 17: 2394–2400

81 Carrascosa P, Capuñay C, Bettinotti M, et al. Feasibility of gadolinium-diethylene triamine pentaacetic acid enhanced multidetector computed tomography for the evaluation of coronary artery disease. J Cardiovasc Comput Tomogr, 2007, 1: 86–94

82 Zhang L J, Wang Z J, Lu L, et al. Feasibility of gadolinium-enhanced dual energy CT pulmonary angiography: A pilot study in rabbits. Int J Cardiovasc Imaging, 2011, 27: 1069–1080

83 Liu Y, Liu J, Ai K, et al. Recent advances in ytterbium-based contrast agents for *in vivo* X-ray computed tomography imaging: Promises and prospects. Contrast Media Mol Imaging, 2014, 9: 26–36

84 Wang L, Xing H, Zhang S, et al. A Gd-doped Mg-Al-LDH/Au nanocomposite for CT/MR bimodal imagings and simultaneous drug delivery. Biomaterials, 2013, 34: 3390–3401

85 Chen F, Huang P, Zhu Y J, et al. The photoluminescence, drug delivery and imaging properties of multifunctional Eu^{3+}/Gd^{3+} dual-doped hydroxyapatite nanorods. Biomaterials, 2011, 32: 9031–9039

86 Wu S, Han G, Milliron D J, et al. Non-blinking and photostable upconverted luminescence from single lanthanide-doped nanocrystals. Proc Natl Acad Sci USA, 2009, 106: 10917–10921

87 Liu Z, Li Z, Liu J, et al. Long-circulating Er^{3+}-doped Yb_2O_3 up-conversion nanoparticle as an *in vivo* X-ray CT imaging contrast agent. Biomaterials, 2012, 33: 6748–6757

88 Xing H, Bu W, Zhang S, et al. Multifunctional nanoprobes for upconversion fluorescence, MR and CT trimodal imaging. Biomaterials, 2012, 33: 1079–1089

89 Zhou J, Zhu X, Chen M, et al. Water-stable $NaLuF_4$-based upconversion nanophosphors with long-term validity for multimodal lymphatic imaging. Biomaterials, 2012, 33: 6201–6210

90 Xia A, Chen M, Gao Y, et al. Gd^{3+} complex-modified $NaLuF_4$-based upconversion nanophosphors for trimodality imaging of NIR-to-NIR upconversion luminescence, X-ray computed tomography and magnetic resonance. Biomaterials, 2012, 33: 5394–5405

91 Zhu X, Zhou J, Chen M, et al. Core-shell Fe_3O_4@$NaLuF_4$:Yb, Er/Tm nanostructure for MRI, CT and upconversion luminescence tri-modality imaging. Biomaterials, 2012, 33: 4618–4627

92 Xing H, Bu W, Ren Q, et al. A $NaYbF_4$:Tm^{3+} nanoprobe for CT and NIR-to-NIR fluorescent bimodal imaging. Biomaterials, 2012, 33: 5384–5393

93 Liu Y, Ai K, Liu J, et al. A high-performance ytterbium-based nanoparticulate contrast agent for *in vivo* X-ray computed tomography imaging. Angew Chem Int Ed, 2012, 51: 1437–1442

94 Ma J, Huang P, He M, et al. Folic acid-conjugated LaF_3:Yb, Tm@SiO_2 nanoprobes for targeting dual-modality imaging of upconversion luminescence and X-ray computed tomography. J Phys Chem B, 2012, 116: 14062–14070

95 Zeng S, Tsang M K, Chan C F, et al. PEG modified $BaGdF_5$:Yb/Er nanoprobes for multi-modal upconversion fluorescent, *in vivo* X-ray computed tomography and biomagnetic imaging. Biomaterials, 2012, 33: 9232–9238

96 Shen J W, Yang C X, Dong L X, et al. Incorporation of computed tomography and magnetic resonance imaging function into $NaYF_4$: Yb/Tm upconversion nanoparticles for *in vivo* trimodal bioimaging. Anal Chem, 2013, 85: 12166–12172

97 Ai K, Liu Y, Liu J, et al. Large-scale synthesis of Bi_2S_3 nanodots as a contrast agent for *in vivo* X-ray computed tomography imaging. Adv Mater, 2011, 23: 4886–4891

98 Kinsella J M, Jimenez R E, Karmali P P, et al. X-ray computed tomography imaging of breast cancer by using targeted peptide-labeled bismuth sulfide nanoparticles. Angew Chem Int Ed, 2011, 50: 12308–12311

99 Chen J, Yang X Q, Meng Y Z, et al. *In vitro* and *in vivo* CT imaging using bismuth sulfide modified with a highly biocompatible Pluronic F127. Nanotechnology, 2014, 25: 295103

100 Perera V S, Hao J, Gao M, et al. Nanoparticles of the novel coordination polymer $KBi(H_2O)_2(Fe(CN)_6)\cdot H_2O$ as a potential contrast agent for computed tomography. Inorg Chem, 2011, 50: 7910–7912
101 Pan D, Williams T A, Senpan A, et al. Detecting vascular biosignatures with a colloidal, radio-opaque polymeric nanoparticle. J Am Chem Soc, 2009, 131: 15522–15527

Advances in multifunctional nano-sized CT contrast agents

ZHANG XiaoTing & DAI ZhiFei

Department of Biomedical Engineering, College of Engineering, Peking University, Beijing 100871, China

Computed tomography (CT) is one of the most widely used noninvasive clinical imaging modalities because of its wide availability, low cost, high efficiency and high resolution. Although the resolution of CT is much higher than that of conventional radiography and many other imaging techniques, it is still difficult to distinguish subtle changes of soft tissues because of physical limitations. To increase the contrast of soft tissues and improve the accuracy of disease diagnosis, a variety of CT contrast agents have been developed. Small iodinated compounds have been widely used as clinical CT contrast agents, but their toxicity and short circulation time restrict their further application. To resolve these problems, nanosized CT contrast agents have been developed. In addition to iodine, nanoparticles based on heavy atoms such as gold, tantalum, lanthanides, and bismuth have been investigated as more efficient CT contrast agents than small iodinated compounds. These novel nanosized CT contrast agents have high biocompatibility and long circulation times, which are advantageous for visualization of blood vessels and tumors. Moreover, the combination of CT with other imaging techniques, such as magnetic resonance imaging and ultrasound imaging, could realize higher sensitivity and more personalized diagnostic information. In particular, theranostic CT contrast agents that integrate diagnosis with therapy in a single nanoplatform may serve as a nanomedicine capable of both noninvasive imaging and remote-controlled therapy. Herein, we introduce the principles of CT imaging and commonly used nanoscale CT contrast elements, including iodine, gold, bismuth, tantalum, and lanthanides. The recent advances, future development and existing problems of multifunctional nanosized CT contrast agents are reviewed.

contrast agents, nanoparticles, CT imaging

doi: 10.1360/N972015-00066