

## 核医学分子影像技术在外泌体活体示踪中的研究进展

### Advances in molecular-imaging techniques of nuclear medicine for tracing exosomes *in vivo*

Ning Yu, Feng Guisheng, Cai Min, Li Sijin

引用本文:

宁宇, 冯贵生, 蔡敏, 等. 核医学分子影像技术在外泌体活体示踪中的研究进展[J]. 国际放射医学核医学杂志, 2022, 46(1): 47-52. DOI: 10.3760/cma.j.cn121381-202106022-00128

Ning Yu, Feng Guisheng, Cai Min, et al. Advances in molecular-imaging techniques of nuclear medicine for tracing exosomes *in vivo*[J]. *International Journal of Radiation Medicine and Nuclear Medicine*, 2022, 46(1): 47-52. DOI: 10.3760/cma.j.cn121381-202106022-00128

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.3760/cma.j.cn121381-202106022-00128>

## 您可能感兴趣的其他文章

### Articles you may be interested in

#### 核医学影像技术在烟雾病研究中的应用进展

The application progress in the study of moyamoya disease by nuclear medical imaging technology

国际放射医学核医学杂志. 2020, 44(2): 105-108 <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2020.02.006>

#### 神经内分泌肿瘤核医学显像剂的研究进展

Research progress of nuclear medicine imaging tracers for neuroendocrine neoplasma

国际放射医学核医学杂志. 2020, 44(9): 582-588 <https://doi.org/10.3760/cma.j.cn121381-201906012-00062>

#### 分子影像技术在多药耐药监测中的研究进展

The progress of molecular imaging in multidrug resistance

国际放射医学核医学杂志. 2020, 44(3): 174-181 <https://doi.org/10.3760/cma.j.cn121381-201812057-00006>

#### 电离辐射诱导的外泌体的生物学效应

Biological effects of radiation-induced exosomes

国际放射医学核医学杂志. 2017, 41(2): 121-125 <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2017.02.008>

#### 核医学诊疗中患者内照射的研究进展

Internal irradiation of patients in the diagnosis and treatment of nuclear medicine

国际放射医学核医学杂志. 2021, 45(8): 539-544 <https://doi.org/10.3760/cma.j.cn121381-202007033-00087>

#### 临床用肿瘤细胞凋亡核医学显像剂研究进展

Progress of nuclear medicine imaging agents for the clinical apoptosis imaging of tumors

国际放射医学核医学杂志. 2017, 41(4): 271-277 <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2017.04.007>

## 核医学分子影像技术在外泌体活体示踪中的研究进展

宁宇<sup>1</sup> 冯贵生<sup>2</sup> 蔡敏<sup>3</sup> 李思进<sup>3</sup>

<sup>1</sup>山西医科大学医学影像学院影像医学与核医学专业, 太原 030001; <sup>2</sup>山西省人民医院(山西医科大学第五医院)核医学科, 太原 030012; <sup>3</sup>山西医科大学第一医院核医学科, 太原 030001

蔡敏作者现单位山西省人民医院(山西医科大学第五医院)核医学科, 太原 030012

通信作者: 蔡敏, Email: [c.m1113@163.com](mailto:c.m1113@163.com)

**【摘要】** 外泌体是参与细胞间信号传导的重要物质, 具有很高的生物学价值, 目前已成为研究热点。高特异性、高灵敏度的外泌体示踪方法是揭示外泌体生物学功能的关键。外泌体示踪主要依靠分子影像学技术, 其优势主要集中在核医学分子显像, 其中包括外泌体的核素直接标记法和间接标记法。核医学分子显像可与解剖学成像相结合, 定量监测外泌体的分布, 还可对外泌体治疗的效果进行评价, 在外泌体示踪研究中发挥着极其重要的作用。笔者将从外泌体的生物学价值、核医学分子影像技术在外泌体示踪中的研究进展作一综述。

**【关键词】** 外泌体; 活体示踪; 核医学; 分子影像技术

**基金项目:** 中国博士后科学基金(2020M670704); 山西省基础研究计划项目(202103021224377)

DOI: [10.3760/cma.j.cn121381-202106022-00128](https://doi.org/10.3760/cma.j.cn121381-202106022-00128)

### Advances in molecular-imaging techniques of nuclear medicine for tracing exosomes *in vivo*

Ning Yu<sup>1</sup>, Feng Guisheng<sup>2</sup>, Cai Min<sup>3</sup>, Li Sijin<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Major of Imaging Medicine and Nuclear Medicine, Medical Imaging College, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China; <sup>2</sup>Department of Nuclear Medicine, Shanxi Provincial People's Hospital & the Fifth Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030012, China; <sup>3</sup>Department of Nuclear Medicine, the First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China

Cai Min is working on the Department of Nuclear Medicine, Shanxi Provincial People's Hospital & the Fifth Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030012, China

Corresponding author: Cai Min, Email: [c.m1113@163.com](mailto:c.m1113@163.com)

**【Abstract】** Exosomes are important substances involved in intercellular signal transduction and have high biological values. Accordingly, exosomes have become a research hotspot. Highly specific and sensitive exosome-tracing method is the key to revealing the biological function of exosomes. Exosome tracing relies mostly on molecular imaging and its advantages focus primarily on nuclear-medicine molecular imaging, which includes direct and indirect radionuclide-labeling methods. Nuclear-medicine molecular imaging could be combined with anatomical imaging to quantitatively monitor exosome distribution and could be used to evaluate the therapeutic effect of exosomes. It plays an extremely important role in exosome tracing. This paper reviews the biological value of exosomes and the research progress in tracing exosomes through nuclear-medicine molecular imaging.

**【Key words】** Exosomes; In vivo tracer; Nuclear medicine; Molecular imaging technology

**Fund programs:** China Postdoctoral Science Foundation (2020M670704); Fundamental Research Program of Shanxi Province (202103021224377)

DOI: [10.3760/cma.j.cn121381-202106022-00128](https://doi.org/10.3760/cma.j.cn121381-202106022-00128)

外泌体(exosomes)是由细胞内的多囊泡小体分泌并通过细胞膜释放到细胞外环境中的一些小囊泡,直径为30~100 nm,电镜下表现为脂质双层包裹的扁平球体,呈特征性的杯状外形<sup>[1]</sup>。有研究发现,不同类型的细胞均可以释放外泌体<sup>[2]</sup>,其广泛存在于各种体液中,其中包括血液、泪液、尿液、唾液、乳汁、腹水等。外泌体中含有核酸、功能蛋白、转录因子等多种具有生物活性的物质,其本身的膜结构还能表达多种抗原、抗体分子,作用于靶细胞从而产生生物学效应<sup>[3]</sup>。

## 1 外泌体的生物学价值

与其他胞外囊泡相比,外泌体具有独特的生物学特性和生理功能,逐渐成为近年来研究的热点。目前,在外泌体中已发现了9769种蛋白质、3408种RNA、2838种microRNAs(miRNAs)和1116种脂类<sup>[4]</sup>。外泌体的生物学价值主要体现在3个方面:生物学标志物、疾病的治疗以及药物运输载体。

### 1.1 生物学标志物

外泌体存在于各种体液中,能反映其亲本细胞的状态,因此可作为疾病诊断和预后的生物学标志物。有研究显示,II型糖尿病早期肾损伤患者的尿液外泌体中miR-362-3p、miR-877-3p及miR-150-5p的表达水平增高,而miR-15a-5p的表达水平降低,这提示尿液外泌体miRNAs可替代尿微量蛋白成为糖尿病肾病早期诊断的新型生物学标志物<sup>[5]</sup>。Ho等<sup>[6]</sup>发现,在帕金森病男性患者的尿液外泌体中,DJ-1蛋白水平的升高与帕金森患者发病有明显关联<sup>[5]</sup>,这表明尿液外泌体DJ-1蛋白可作为帕金森病诊断的潜在生物学标志物。Lugli等<sup>[7]</sup>通过分析阿尔茨海默病患者血清外泌体中的miRNAs,发现miR-342-3p水平与阿尔茨海默病的发病风险呈负相关,可作为诊断阿尔茨海默病的独立生物学标志物。外泌体的浓度也是反映病理环境的另一个重要参数。Mege等<sup>[8]</sup>通过比较直肠癌、前列腺癌、炎性结肠或胰腺疾病患者以及健康受试者循环系统中不同类型外泌体的浓度,发现外泌体的性质与浓度随着肿瘤的进展而改变,这意味着外泌体的浓度有可能成为反映疾病进展的指标。

### 1.2 疾病的治疗

外泌体可由各种细胞产生,其携带了亲本细胞的特异性蛋白及核酸,可以替代亲本细胞发挥治疗疾病的作用。间充质干细胞外泌体已被作为新型无细胞治疗剂应用于缺血性心脏病中,其疗效已被证实<sup>[9]</sup>;有研究结果表明,多种细胞来源的外泌体也可参与自身免疫性疾病的发生发展,外泌体由于其独特的性质可以穿过关节滑膜以及软骨等屏障,这为外泌体治疗免疫系统疾病(如风湿关节炎)提供了

基础<sup>[10]</sup>。Romagnoli等<sup>[11]</sup>研究发现,树突状细胞等抗原递呈细胞被肺癌细胞相关抗原刺激后能产生携带有特异性癌抗原的外泌体,激活淋巴细胞产生强大的抗肿瘤免疫反应,这一发现证明了外泌体可以增强肿瘤免疫治疗的效果。

### 1.3 药物运输载体

脂质体或脂质纳米颗粒<sup>[12]</sup>已作为常规的药物载体应用于疾病治疗,然而人工药物载体具有潜在毒性及免疫原性,无法穿透和锚定特定靶向器官,这些不足使其无法广泛使用<sup>[13]</sup>。而外泌体可以携带蛋白质、miRNAs、小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)和其他治疗性化合物,免疫原性低,耐受性好,具有优良的生物学分布和组织相容性<sup>[14]</sup>,可以穿透细胞膜和血脑屏障<sup>[15]</sup>,是一种理想的药物运输载体。有研究者将外泌体作为治疗肝癌的载药工具,发现它不仅抑制肿瘤细胞的增殖,还可以提高肿瘤对化疗药物的敏感性<sup>[16]</sup>。

## 2 外泌体示踪技术概况

外泌体具有重要的生物学功能,目前对于其生物学特性和病理生理功能的认识已较为深入,但对其在体内活动的机制及生物学分布的研究较少,因此亟需安全有效、可定量分析的外泌体示踪技术。

分子影像学方法有利于实时监测外泌体在活体内的生物学行为。分子影像学是在活体状态下应用影像学方法显示细胞、亚细胞水平的一种手段,其利用分子影像探针和信号来定性或定量检测生物体内的生理、病理变化,客观真实地反映活体状态下分子水平的变化<sup>[17]</sup>。既往关于外泌体示踪的研究主要依赖光学分子成像<sup>[18-21]</sup>,但由于光对组织的穿透力有限,因此准确性不高。MRI也可示踪外泌体,但其灵敏度低,且标记外泌体需要大量装载超顺磁氧化铁纳米颗粒<sup>[22-23]</sup>,操作受到一定的限制。因此,外泌体分子显像的优势主要集中在核医学分子显像,其根据核素标记方法主要分为核素直接标记法和间接标记法。核医学分子显像的灵敏度高,其不仅可与解剖学成像相结合定量监测外泌体分布,还可对外泌体的治疗效果进行评价,在外泌体示踪研究中发挥着极其重要的作用。

## 3 核医学分子显像技术在外泌体示踪中的研究现状

### 3.1 核素直接标记法

核素直接标记法是外泌体核医学分子显像技术中较为常用的标记方法。<sup>99m</sup>Tc-六亚甲基丙胺肟(hexamethylpropyleneamine oxime, HMPAO)是一种电中性、亲脂性强的放射性示踪剂。细胞内的谷胱甘肽可将<sup>99m</sup>Tc-HMPAO转化为亲水形式并滞留在细胞内<sup>[24]</sup>,常在炎症显像中用于标记白细胞。Hwang等<sup>[25]</sup>在正常生理状态下采用<sup>99m</sup>Tc-HMPAO标

记来自小鼠巨噬细胞系的仿外泌体纳米囊泡(exosome-mimetic nanovesicles, ENVs),操作简单,反应条件温和。标记后的 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -HMPAO-ENVs的放射化学纯度 $>90\%$ ,其物理、化学性质及生物学性状均未发生改变,在血清中的稳定性高。小鼠静脉注射 $74\text{ kBq }^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -HMPAO-ENVs后,SPECT/CT显示,其在小鼠肝脏、唾液腺和肠道内的放射性聚集可持续 $5\text{ h}$ ,且无脑组织摄取。该标记方法灵敏度高,可定量分析,重复性好<sup>[26]</sup>。但该方法也有一定的局限性,如在低浓度外泌体条件下标记率较低,同时由于谷胱甘肽容易被细胞酶代谢,标记率也受不同类型细胞外泌体中谷胱甘肽水平的影响。

随着外泌体标记技术的进步,更为简化的标记技术也逐渐被研发。González等<sup>[27]</sup>采用游离 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 直接标记山羊奶来源的外泌体( $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -exosomes,  $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -Exo),并通过SPECT/CT评估不同给药途径(静脉注射、腹腔注射和鼻腔滴注)对外泌体药代动力学的影响。研究结果显示,标记并纯化后的 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -Exo的放射化学纯度 $>95\%$ , $48\text{ h}$ 稳定性达 $95\%$ 。外泌体经静脉和鼻腔注射后血液清除较快,而经腹腔注射后血液清除较慢,这与外泌体光学成像检测结果一致<sup>[28]</sup>。该方法不需要螯合剂,减少了化学反应对外泌体结构的影响;同时反应条件温和( $\text{pH}=7.0$ ,  $37^{\circ}\text{C}$ ),避免了可能改变外泌体性质的非生物条件,提供了较高的反应产率、纯度和稳定性。然而外泌体来源的不同会导致外泌体膜成分的差异,影响外泌体特定的组织趋向性,因此该标记方法只适用于乳源性外泌体,对其他来源外泌体的标记方法还需进一步调整。

除了 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ ,  $^{131}\text{I}$ 也可直接标记外泌体。2019年,Rashid等<sup>[29]</sup>首次使用 $^{131}\text{I}$ 标记小鼠乳腺癌细胞源外泌体( $^{131}\text{I}$ -Exo),通过SPECT/CT显像观察 $^{131}\text{I}$ -Exo在转移性乳腺癌小鼠中的生物学分布。研究结果显示,实验组小鼠注射 $^{131}\text{I}$ -Exo $3\text{ h}$ 后肿瘤原发灶及其肺部转移灶中均可见放射性浓聚;对照组无瘤小鼠的乳腺脂肪垫中虽未见 $^{131}\text{I}$ -Exo摄取,但肺组织内 $^{131}\text{I}$ -Exo的浓聚明显,这提示乳腺癌细胞源 $^{131}\text{I}$ -Exo示踪可显示乳腺癌未来转移部位的倾向性。该研究还将乳腺癌细胞、骨髓源性抑制细胞、内皮祖细胞源性的 $^{131}\text{I}$ -Exo与非癌细胞源 $^{131}\text{I}$ -Exo在荷瘤小鼠体内的显像进行了比较,结果显示,非癌细胞源 $^{131}\text{I}$ -Exo在肿瘤原发灶及肺部均无摄取,而其他3种癌细胞源 $^{131}\text{I}$ -Exo在肿瘤原发灶及肺部均有摄取,其中内皮祖细胞源 $^{131}\text{I}$ -Exo大量分布在肿瘤原发灶,证实了它们具有新生血管效应<sup>[30]</sup>,而骨髓源性抑制细胞源 $^{131}\text{I}$ -Exo则主要分布在肺部,显示了其转移性<sup>[31]</sup>。该研究通过对不同细胞源外泌体的示踪,揭示了癌细胞源外泌体(tumor cell-derived exosomes, TEx)及肿瘤微环境相关外泌体的分布趋向。经肿瘤抑制剂治疗后的癌细胞源 $^{131}\text{I}$ -Exo在肺部的摄取

明显降低,这说明药物治疗后的TEx转移能力有所降低。外泌体的核素显像技术可以预测潜在的肿瘤转移部位,监测肿瘤进展,评价外泌体靶向治疗的效果,从而进一步发挥外泌体的治疗潜力。

外泌体显像也可用于多模态显像。多模态显像是2种或2种以上显像模式的结合,其可在生物学上提供互补信息,比单独的显像技术提供更好的显像方案。2021年,Jing等<sup>[32]</sup>采用疏水插入法,通过 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 和近红外荧光(near-infrared fluorescence, NIRF)成像染料Cy7标记TEx,开发了靶向结肠癌的多模态显像纳米探针 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -TEx-Cy7,其对肿瘤细胞具有很高的亲和力。该研究第一次将TEx作为SPECT和NIRF多模态显像的纳米探针载体。该标记方法简单稳定,放射化学纯度 $>85\%$ ,SPECT和NIRF多模态显像结合了SPECT和NIRF的优点,使用SPECT显像评估纳米探针在生物体内的生物学分布,并使用NIRF成像确定肿瘤边界。这种基于外泌体纳米探针的设计用于结肠癌多模态SPECT/NIRF的显像方法不仅证明了疏水探针制作的可行性,也证明了TEx可作为潜在的高质量多模态显像的纳米载体。

### 3.2 核素间接标记法

核素间接标记法是指通过双功能螯合剂等将放射性核素与不含络合基团的化合物(如蛋白质、多肽等)偶联标记的方法。由于外泌体的膜结构特殊,多数外泌体的核素标记需要通过螯合剂提高标记率及稳定性。有研究者曾用链霉亲和素(streptavidin, SAV)-乳凝集素(lactadherin, LA)将 $^{125}\text{I}$ 标记到黑色素瘤细胞源外泌体上,标记后的 $^{125}\text{I}$ -SAV-LA-Exo稳定性较高<sup>[33-34]</sup>。通过SAV-生物素系统对外泌体进行 $^{125}\text{I}$ 标记,可以定量评估外源性外泌体在体内的分布情况,但其只能通过 $\gamma$ 计数器进行体外检测,并且需要对亲本细胞进行基因修饰,不适用于所有类型的外泌体。

2016年,Varga等<sup>[35]</sup>提出了一种用新型 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -三羧基复合物 $[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}-(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]$ 对红细胞源外泌体进行标记的方法,结果显示,大部分 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ - $(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3$ -Exo状态稳定,注入小鼠体内后其肝脏、脾脏的放射性摄取明显高于注射等量游离 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ - $(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3$ 的小鼠。与 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -HMPAO直接标记法<sup>[25]</sup>相比,此方法不受外泌体中谷胱甘肽水平的影响,但是需要价格昂贵的商用试剂盒及较长的反应时间。在2020年的一项研究中,Molavipordanjani等<sup>[36]</sup>使用 $\text{fac}-[^{99}\text{Tc}^{\text{m}}-(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$ 复合物对人类表皮生长因子受体2(human epidermal-growth-factor receptor 2, HER2)靶向的外泌体进行标记,该方法不需纯化即可得到较高的放射化学纯度( $>96\%$ ),且稳定性高。卵巢癌细胞可高表达HER2,与其他一些可表达不同水平HER2的细胞(如乳腺癌细胞、结肠癌细胞、恶性胶质母细胞瘤细胞和非小细胞肺癌细胞)相

比,  $fac\text{-}^{99}\text{Tc}^m\text{-(CO)}_3\text{(H}_2\text{O)}_3\text{-Exo}$  对卵巢癌细胞的亲和力更高。将  $fac\text{-}^{99}\text{Tc}^m\text{-(CO)}_3\text{(H}_2\text{O)}_3\text{-Exo}$  注入卵巢癌小鼠体内, 4 h 后可见肿瘤显影, 肝脏和肾脏也可见放射性摄取; 预注射曲妥珠单抗(HER2 特异性抗体)的卵巢癌小鼠, 在注射  $fac\text{-}^{99}\text{Tc}^m\text{-(CO)}_3\text{(H}_2\text{O)}_3\text{-Exo}$  后 4 h, 肝脏和肾脏仍可见放射性摄取, 而肿瘤未显影, 这提示  $fac\text{-}^{99}\text{Tc}^m\text{-(CO)}_3\text{(H}_2\text{O)}_3\text{-Exo}$  在肿瘤部位的聚集主要是由于外泌体的活性靶向作用, 而曲妥珠单抗阻断 HER2 受体后可抑制  $fac\text{-}^{99}\text{Tc}^m\text{-(CO)}_3\text{(H}_2\text{O)}_3\text{-Exo}$  与肿瘤细胞的结合。

除了  $^{99}\text{Tc}^m$  和  $^{125}\text{I}$ , 其他一些核素也可间接标记外泌体, 如双功能螯合剂 DTPA-酸酐可以螯合  $^{111}\text{In}$ , 继而对黑色素瘤细胞源外泌体进行标记<sup>[37]</sup>。这种标记方法简单可靠, 可标记任何类型的外泌体, 包括原代细胞、细胞培养物甚至生理液体分离出的外泌体, 而不需要对外泌体进行任何基因编辑与修饰。近期, Jung 等<sup>[38]</sup>通过螯合剂 1,4,7-三氮杂环酮-1,4,7-三乙酸(1,4,7-triazacyclononane-1,4,7-triacetic acid, NOTA)将  $^{64}\text{Cu}$  或  $^{68}\text{Ga}$  标记于小鼠乳腺癌细胞源外泌体 [ $^{64}\text{Cu}$  (或  $^{68}\text{Ga}$ )-NOTA-Exo], 并利用 PET/CT 显像比较不同注射途径(静脉途径和淋巴途径)的生物学分布。结果显示, 经皮下注射的  $^{64}\text{Cu}$  (或  $^{68}\text{Ga}$ )-NOTA-Exo 明显聚集于手臂淋巴结及腋窝淋巴结, 而经静脉注射的  $^{64}\text{Cu}$  (或  $^{68}\text{Ga}$ )-NOTA-Exo 在早期便聚集在肺和肝脏, 这与乳腺癌常见的转移部位一致, 且灵敏度高于光学成像<sup>[33]</sup>。由于乳腺癌转移灶主要是肺、淋巴结、肝脏和骨骼, 该结果在一定程度上提示外泌体可能在乳腺癌转移过程中起重要作用。通过螯合剂 NOTA 将  $^{64}\text{Cu}$  或  $^{68}\text{Ga}$  标记于外泌体的方法相对简单, 并可通过 PET/CT 显像获得更多的定量信息。 $^{68}\text{Ga}$ -NOTA-Exo 与  $^{64}\text{Cu}$ -NOTA-Exo 显像相比, 放射性分布类似, 虽然  $^{68}\text{Ga}$  半衰期较短( $^{68}\text{Ga}$  为 68 min,  $^{64}\text{Cu}$  为 12.7 h), 标记率更低( $^{68}\text{Ga}$  为 2.22%,  $^{64}\text{Cu}$  为 13.3%), 但是  $^{68}\text{Ga}$  使用方便, 对于没有回旋加速器的科室来说成本低, 利于临床推广。

NOTA 标记方法适用于多种同位素, 包括治疗性放射性核素, 如  $^{177}\text{Lu}$ (发出  $\gamma$  及  $\beta$  射线, 半衰期 6.7 d)<sup>[39]</sup>。Hwang<sup>[26]</sup>曾提出将  $^{177}\text{Lu}$  及脑肿瘤特异性配体标记到外泌体上, 外泌体到达肿瘤区域后, 不仅可以通过  $\gamma$  射线精确检测肿瘤位置, 还可以通过  $\beta$  射线和抗肿瘤药物协同作用提高脑肿瘤的治疗效果, 这些都将成为未来外泌体的研究提供重要方向。目前, 作为肿瘤药物运输载体的功能是外泌体研究的热点, 但对载药外泌体的生物学分布仍未完全了解; 同时, 强大的肝脏清除功能也会阻碍外泌体的靶向传递功能, 因此亟需一种可以避免肝脏清除、增加肿瘤滞留的载药外泌体。2019年, Shi 等<sup>[40]</sup>利用聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)修饰  $^{64}\text{Cu}$ -NOTA-Exo, 以增强外泌体的药代动力学特性。PET/CT 显示, 未经 PEG 修饰的  $^{64}\text{Cu}$ -NOTA-

Exo 在血液中的循环时间短, 肝脏易清除, 肿瘤摄取对比度(肿瘤/肌肉)差; 而经 PEG 修饰后的  $^{64}\text{Cu}$ -NOTA-Exo 在血液中的循环时间延长, 肝脏清除率降低, 24 h 后肿瘤摄取量增加 3 倍, 肿瘤摄取对比度亦有明显提高。该方法确保了外泌体的显像质量, 并可定量检测其在血液和肿瘤中的水平。 $^{64}\text{Cu}$ -NOTA-Exo-PEG 标记方法有望在未来的外泌体载药研究中提高传递效率和安全性。

2021年, Jing 等<sup>[41]</sup>制备了一种以外泌体为载体的结肠癌多模态纳米探针  $^{68}\text{Ga}\text{-}2,2'\text{-}((6\text{-氨基-}1\text{-}(4,7\text{-双(羧甲基)-}1,4,7\text{-三氮杂南-}1\text{-基)己-}2\text{-基)氮杂二基)二乙酸-二苯并环辛烷}$ ( $^{68}\text{Ga}\text{-L-NE}2\text{A-DBCO}$ ), 将其标记于脂肪细胞源外泌体, 进行 PET/CT 和 NIRF 的多模态显像。结果显示, PET/CT 显像虽然可提供诊断和术前规划所需的丰富信息, 但不能用于术中肿瘤组织的检测, 而 NIRF 图像可引导手术通过光学分子探针对于生物病变进行精确分析, 使手术更加精确。这种新型纳米探针可能有助于结肠癌的诊断与治疗, 也为外泌体作为纳米载体的临床应用提供了新的可能。

综上所述, 2 类标记方法均可对外泌体进行准确示踪。核素直接标记法技术相对简单, 但标记率受外泌体来源、成分及浓度的影响, 且容易被细胞代谢, 标记同样数量的外泌体需要较多的放射性核素。核素间接标记法通过螯合剂结合外泌体, 标记率高, 不受细胞及外泌体成分的影响, 但其操作复杂, 价格相对昂贵; 另外, 基因工程可能会导致宿主细胞甚至外泌体特性的改变。在实际应用中, 需要根据目标外泌体在体循环的时间选择适合的放射性核素及标记方法, 如要示踪在体停留时间较长的外泌体, 则需选择半衰期长的核素如  $^{125}\text{I}$ 、 $^{131}\text{I}$ ; 还可以将短半衰期核素与长半衰期的生物体联合, 进行多模态显像, 使各种显像方法相互结合, 形成优势互补<sup>[32,41]</sup>。

#### 4 小结与展望

外泌体是现阶段国内外研究的热点, 然而其应用于临床仍受到一定限制: (1)外泌体用于人体是否符合伦理学要求仍然有争议; (2)外泌体作为生物载体或者探针需要批量生产, 然而大量外泌体的获取、制备及纯化仍然是临床推广的技术瓶颈。对外泌体内含物如何进行修饰, 在外泌体中如何批量加入药物, 对不同病灶如何进行精准定位等都是研究人员面临和必须解决的一系列难题; (3)虽然大量动物实验及临床前试验均已证明外泌体治疗相关疾病的安全性, 但其远期有效性及安全性仍需进一步考察。

目前, 外泌体的研究发展迅速, 随着分子影像技术的进展, 外泌体在体示踪及功能状况的研究逐渐趋于立体化。本文通过总结近年来核医学分子影像技术对外泌体在体示踪的方法为外泌体的研究奠定一定的基础, 对后

续外泌体在体示踪的研究提供一定的选择方法。我们期待未来可以不断开发更加先进的标记方法,对外泌体在体内生物学行为及生物学价值进行更深一步的研究,让其尽早应用于临床实践,使得外泌体可以最大限度地发挥其医疗作用。

**利益冲突** 所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明** 宁宇负责综述的撰写;冯贵生、李思进负责综述的审阅;蔡敏负责综述的审阅、经费的支持

### 参 考 文 献

- [1] Xu JY, Chen GH, Yang YJ. Exosomes: a rising star in failing hearts[J/OL]. *Front Physiol*, 2017, 8: 494[2021-06-21]. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2017.00494/full>. DOI: 10.3389/fphys.2017.00494.
- [2] Bowers EC, Hassanin AAI, Ramos KS. *In vitro* models of exosome biology and toxicology: new frontiers in biomedical research[J]. *Toxicol in Vitro*, 2020, 64: 104462. DOI: 10.1016/j.tiv.2019.02.016.
- [3] Toh WS, Lai RC, Zhang B, et al. MSC exosome works through a protein-based mechanism of action[J]. *Biochem Soc Trans*, 2018, 46(4): 843–853. DOI: 10.1042/BST20180079.
- [4] Xu JS, Liao KL, Zhou WM. Exosomes regulate the transformation of cancer cells in cancer stem cell homeostasis [J/OL]. *Stem Cells Int*, 2018, 2018: 4837370[2021-06-21]. <https://www.hindawi.com/journals/sci/2018/4837370>. DOI: 10.1155/2018/4837370.
- [5] Xie YJ, Jia YJ, Xie CH, et al. Urinary exosomal microRNA profiling in incipient type 2 diabetic kidney disease[J/OL]. *J Diabetes Res*, 2017, 2017: 6978984[2021-06-21]. <https://www.hindawi.com/journals/jdr/2017/6978984>. DOI: 10.1155/2017/6978984.
- [6] Ho DH, Yi S, Seo H, et al. Increased DJ-1 in urine exosome of Korean males with Parkinson's disease[J/OL]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 704678[2021-06-21]. <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2014/704678>. DOI: 10.1155/2014/704678.
- [7] Lugli G, Cohen AM, Bennett DA, et al. Plasma exosomal miRNAs in persons with and without Alzheimer disease: altered expression and prospects for biomarkers[J/OL]. *PLoS One*, 2015, 10(10): e0139233[2021-06-21]. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0139233>. DOI: 10.1371/journal.pone.0139233.
- [8] Mege D, Panicot-Dubois L, Ouaisi M, et al. The origin and concentration of circulating microparticles differ according to cancer type and evolution: a prospective single-center study[J]. *Int J Cancer*, 2016, 138(4): 939–948. DOI: 10.1002/ijc.29837.
- [9] Ong SG, Lee WH, Huang M, et al. Cross talk of combined gene and cell therapy in ischemic heart disease: role of exosomal microRNA transfer[J]. *Circulation*, 2014, 130(11 Suppl 1): S60–69. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.113.007917.
- [10] Hejrati A, Hasani B, Esmaili M, et al. Role of exosome in autoimmunity, with a particular emphasis on rheumatoid arthritis[J]. *Int J Rheum Dis*, 2021, 24(2): 159–169. DOI: 10.1111/1756-185X.14021.
- [11] Romagnoli GG, Zelante BB, Toniolo PA, et al. Dendritic cell-derived exosomes may be a tool for cancer immunotherapy by converting tumor cells into immunogenic targets[J/OL]. *Front Immunol*, 2014, 5: 692[2021-06-21]. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2014.00692/full>. DOI: 10.3389/fimmu.2014.00692.
- [12] Yuan L, Li JY. Exosomes in Parkinson's disease: current perspectives and future challenges[J/OL]. *ACS Chem Neurosci*, 2019, 10(2): 964–972[2021-06-21]. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acscemneuro.8b00469>. DOI: 10.1021/acscemneuro.8b00469.
- [13] Salvage JP, Thom C, Lewis AL, et al. Nanoprecipitation of polymeric nanoparticle micelles based on 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC) with 2-(diisopropylamino)ethyl methacrylate (DPA), for intracellular delivery applications[J]. *J Mater Sci Mater Med*, 2015, 26(3): 150. DOI: 10.1007/s10856-015-5480-9.
- [14] Zhao HY, Yang LF, Baddour J, et al. Tumor microenvironment derived exosomes pleiotropically modulate cancer cell metabolism[J/OL]. *eLife*, 2016, 5: e10250[2021-06-21]. <https://elifesciences.org/articles/10250>. DOI: 10.7554/eLife.10250.
- [15] Zhuang XY, Xiang XY, Grizzle W, et al. Treatment of brain inflammatory diseases by delivering exosome encapsulated anti-inflammatory drugs from the nasal region to the brain[J]. *Mol Ther*, 2011, 19(10): 1769–1779. DOI: 10.1038/mt.2011.164.
- [16] Jiao Y, Xu P, Shi HL, et al. Advances on liver cell-derived exosomes in liver diseases[J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(1): 15–26. DOI: 10.1111/jcmm.16123.
- [17] Palestro CJ. Molecular imaging of infection: the first 50 years[J]. *Semin Nucl Med*, 2020, 50(1): 23–34. DOI: 10.1053/j.semnuclmed.2019.10.002.
- [18] Satake T, Suetsugu A, Nakamura M, et al. Color-coded imaging of the fate of cancer-cell-derived exosomes during pancreatic cancer metastases in a nude-mouse model[J]. *Anticancer Res*, 2019, 39(8): 4055–4060. DOI: 10.21873/anticancer.13561.
- [19] Gangadaran P, Hong CM, Ahn BC. An update on *in vivo* imaging of extracellular vesicles as drug delivery vehicles[J/OL]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 169[2021-06-21]. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2018.00169/full>. DOI: 10.3389/fphar.2018.00169.
- [20] Chuo STY, Chien JCY, Lai CPK. Imaging extracellular vesicles: current and emerging methods[J]. *J Biomed Sci*, 2018, 25(1): 91. DOI: 10.1186/s12929-018-0494-5.
- [21] Luo WJ, Dai Y, Chen ZS, et al. Spatial and temporal tracking of

- cardiac exosomes in mouse using a nano-luciferase-CD63 fusion protein[J/OL]. *Commun Biol*, 2020, 3(1): 114[2021-06-21]. <https://www.nature.com/articles/s42003-020-0830-7>. DOI: 10.1038/s42003-020-0830-7.
- [22] Busato A, Bonafede R, Bontempi P, et al. Labeling and magnetic resonance imaging of exosomes isolated from adipose stem cells[J]. *Curr Protoc Cell Biol*, 2017, 75: 3.44.1–3.44.15. DOI: 10.1002/cpcb.23.
- [23] Liu TQ, Zhu YR, Zhao RT, et al. Visualization of exosomes from mesenchymal stem cells *in vivo* by magnetic resonance imaging[J]. *Magn Reson Imaging*, 2020, 68: 75–82. DOI: 10.1016/j.mri.2020.02.001.
- [24] Phillips WT, Goins BA, Bao AD. Radioactive liposomes[J]. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*, 2009, 1(1): 69–83. DOI: 10.1002/wnan.3.
- [25] Hwang DW, Choi H, Jang SC, et al. Noninvasive imaging of radiolabeled exosome-mimetic nanovesicle using <sup>99m</sup>Tc-HMPAO [J/OL]. *Sci Rep*, 2015, 5: 15636[2021-06-21]. <https://www.nature.com/articles/srep15636>. DOI: 10.1038/srep15636.
- [26] Hwang DW. Perspective in nuclear theranostics using exosome for the brain[J]. *Nucl Med Mol Imaging*, 2019, 53(2): 108–114. DOI: 10.1007/s13139-018-00567-6.
- [27] González MI, Martín-Duque P, Desco M, et al. Radioactive labeling of milk-derived exosomes with <sup>99m</sup>Tc and *in vivo* tracking by SPECT imaging[J/OL]. *Nanomaterials*, 2020, 10(6): 1062[2021-06-21]. <https://www.mdpi.com/2079-4991/10/6/1062>. DOI: 10.3390/nano10061062.
- [28] Munagala R, Aqil F, Jeyabalan J, et al. Bovine milk-derived exosomes for drug delivery[J]. *Cancer Lett*, 2016, 371(1): 48–61. DOI: 10.1016/j.canlet.2015.10.020.
- [29] Rashid MH, Borin TF, Ara R, et al. Differential *in vivo* biodistribution of <sup>131</sup>I-labeled exosomes from diverse cellular origins and its implication for theranostic application[J]. *Nanomedicine*, 2019, 21: 102072. DOI: 10.1016/j.nano.2019.102072.
- [30] Testa U, Pelosi E, Castelli G. Endothelial progenitors in the tumor microenvironment[M]//Birbrair A. Tumor microenvironment: state of the science. Cham: Springer, 2020: 85–115. DOI: 10.1007/978-3-030-44518-8\_7.
- [31] Zhang CX, Ye SB, Ni JJ, et al. STING signaling remodels the tumor microenvironment by antagonizing myeloid-derived suppressor cell expansion[J]. *Cell Death Differ*, 2019, 26(11): 2314–2328. DOI: 10.1038/s41418-019-0302-0.
- [32] Jing BP, Gai YK, Qian RJ, et al. Hydrophobic insertion-based engineering of tumor cell-derived exosomes for SPECT/NIRF imaging of colon cancer[J/OL]. *J Nanobiotechnol*, 2021, 19(1): 7[2021-06-21]. <https://jnanobiotechnology.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12951-020-00746-8>. DOI: 10.1186/s12951-020-00746-8.
- [33] Morishita M, Takahashi Y, Nishikawa M, et al. Quantitative analysis of tissue distribution of the B16BL6-derived exosomes using a streptavidin-lactadherin fusion protein and iodine-125-labeled biotin derivative after intravenous injection in mice[J]. *J Pharm Sci*, 2015, 104(2): 705–713. DOI: 10.1002/jps.24251.
- [34] Takahashi Y, Nishikawa M, Takakura Y. Analysis and control of *in vivo* kinetics of exosomes for the development of exosome-based DDS[J]. *Yakugaku Zasshi*, 2016, 136(1): 49–53. DOI: 10.1248/yakushi.15-00227-2.
- [35] Varga Z, Gyurkó I, Pálóczi K, et al. Radiolabeling of extracellular vesicles with <sup>99m</sup>Tc for quantitative *in vivo* imaging studies[J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2016, 31(5): 168–173. DOI: 10.1089/cbr.2016.2009.
- [36] Molavipordanjani S, Khodashenas S, Abedi SM, et al. <sup>99m</sup>Tc-radiolabeled HER2 targeted exosome for tumor imaging [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2020, 148: 105312. DOI: 10.1016/j.ejps.2020.105312.
- [37] Faruqu FN, Wang JTW, Xu LZ, et al. Membrane radiolabelling of exosomes for comparative biodistribution analysis in immunocompetent and immunodeficient mice – a novel and universal approach[J/OL]. *Theranostics*, 2019, 9(6): 1666–1682 [2021-06-21]. <https://www.thno.org/v09p1666.htm>. DOI: 10.7150/thno.27891.
- [38] Jung KO, Kim YH, Chung SJ, et al. Identification of lymphatic and hematogenous routes of rapidly labeled radioactive and fluorescent exosomes through highly sensitive multimodal imaging[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(21): 7850[2021-06-21]. <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/21/7850>. DOI: 10.3390/ijms21217850.
- [39] Das T, Banerjee S. Theranostic applications of lutetium-177 in radionuclide therapy[J]. *Curr Radiopharm*, 2016, 9(1): 94–101. DOI: 10.2174/1874471008666150313114644.
- [40] Shi SX, Li TT, Wen XF, et al. Copper-64 labeled PEGylated exosomes for *in vivo* positron emission tomography and enhanced tumor retention[J]. *Bioconjug Chem*, 2019, 30(10): 2675–2683. DOI: 10.1021/acs.bioconjchem.9b00587.
- [41] Jing BP, Qian RJ, Jiang DW, et al. Extracellular vesicles-based pre-targeting strategy enables multi-modal imaging of orthotopic colon cancer and image-guided surgery[J/OL]. *J Nanobiotechnol*, 2021, 19(1): 151[2021-06-21]. <https://jnanobiotechnology.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12951-021-00888-3>. DOI: 10.1186/s12951-021-00888-3.

(收稿日期: 2021-06-22)