



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103099604 B

(45) 授权公告日 2015. 05. 06

(21) 申请号 201310013811. 0

段.

(22) 申请日 2013. 01. 15

(73) 专利权人 东南大学

地址 210000 江苏省南京市玄武区四牌楼 2 号

(72) 发明人 王雪梅 李水红 吴长宇 高生平

(74) 专利代理机构 南京苏高专利商标事务所
(普通合伙) 32204

代理人 柏尚春

(51) Int. Cl.

A61B 5/00(2006. 01)

A61B 8/08(2006. 01)

A61D 7/00(2006. 01)

G01N 21/64(2006. 01)

G01N 21/65(2006. 01)

A61K 49/00(2006. 01)

A61K 49/22(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 102735752 A, 2012. 10. 17, 说明书第 7

CN 202614678 U, 2012. 12. 19, 全文.

US 2006216759 A1, 2006. 09. 28, 全文.

JP 2007024630 A, 2007. 02. 01, 全文.

US 2012190049 A1, 2012. 07. 26, 全文.

CN 101439191 A, 2009. 05. 27, 全文.

CN 101107021 A, 2008. 01. 16, 全文.

齐剑英等.《锌离子对谷胱甘肽荧光增强的作用》.《暨南大学学报(自然科学版)》.2002,第 23 卷(第 5 期),第 60-63 页.

李建莹等.《锌离子增强荧光光谱法测定谷胱甘肽》.《暨南大学学报(自然科学版)》.2004,第 25 卷(第 1 期),第 87-91 页.

张丽君等.《一种快速响应和高选择性的锌离子荧光探针》.《延边大学学报(自然科学版)》.2012,第 38 卷(第 1 期),第 50-53 页.

审查员 胡新芬

权利要求书1页 说明书4页 附图1页

(54) 发明名称

一种基于锌离子信号增强效应的肿瘤靶向成像方法

(57) 摘要

本发明公开了一种基于锌离子信号增强效应的肿瘤靶向成像方法,该方法在细胞水平应用时,首先制备锌盐溶液;再将锌盐溶液与肿瘤细胞或组织共同置于细胞培养箱中孵化;进行高分辨荧光显微成像和拉曼成像后通过荧光图谱和拉曼图谱的信号数据对肿瘤细胞或组织的结构或化学组分进行定性和定量分析。该方法在动物模型水平应用时,构建肿瘤动物模型并制备锌盐溶液,在试验动物肿瘤部位局部注射锌盐溶液后,使用共聚焦荧光显微镜、超声成像仪、荧光成像仪、拉曼光谱仪或拉曼显微镜监测肿瘤细胞或组织的信号信息并对信号信息加工处理分析。本发明以锌离子作为成像的信号增强剂,对生物体毒性极小,且具有肿瘤靶向性。

1. 一种基于锌离子信号增强效应的肿瘤靶向成像方法,其特征在于:该方法应用于细胞水平,具体步骤为:

(1) 将锌盐溶解于 pH=7.4 的 PBS 溶液中制成 1-100mmol/L 的锌盐溶液;

(2) 将步骤(1)制得的锌盐溶液与肿瘤细胞或组织共同置于细胞培养箱中,以 37℃ 孵化 12-48 小时;

(3) 用共聚焦荧光显微镜、超声成像仪或荧光成像仪对肿瘤细胞或组织进行高分辨显微成像,检测其自发荧光的强度和分布情况,通过拉曼光谱仪或拉曼显微镜对肿瘤细胞或组织进行拉曼成像,通过荧光图谱和拉曼图谱的信号数据对肿瘤细胞或组织的结构或化学组分进行定性和定量分析。

2. 一种基于锌离子信号增强效应的肿瘤靶向成像方法,其特征在于:该方法应用于动物模型水平,具体步骤为:

(1) 将锌盐溶解于 pH=7.4 的 PBS 溶液中制成 1-100mmol/L 的锌盐溶液;

(2) 在试验动物肿瘤部位的周围局部注射无菌等渗的 1-100mmol/L 的锌盐溶液;

(3) 给药 24h 后,使用共聚焦荧光显微镜、超声成像仪、荧光成像仪、拉曼光谱仪或拉曼显微镜监测肿瘤细胞或组织的信号信息,对信号信息加工处理分析,实现对肿瘤部位的三维重建与可视化。

3. 权利要求 2 所述的基于锌离子信号增强效应的肿瘤靶向成像方法,其特征在于:所述的肿瘤动物模型为原位移植肿瘤模型、原位转移肿瘤模型、皮下接种肿瘤模型、药物诱导肿瘤模型、基因突变肿瘤模型或自发瘤模型。

4. 权利要求 2 所述的基于锌离子信号增强效应的肿瘤靶向成像方法,其特征在于:所述的局部注射方式为局部皮下注射、皮内注射、肌肉注射、尾静脉注射或腹腔注射。

5. 权利要求 1 或 2 所述的基于锌离子信号增强效应的肿瘤靶向成像方法,其特征在于:所述的锌盐为葡萄糖酸锌、磷酸锌、乙酸锌、甘草酸锌、柠檬酸锌、碳酸锌、甲酸锌、苯甲酸锌、氯化锌、硝酸锌、硫酸锌、氯酸锌、高氯酸锌中的一种或多种。

一种基于锌离子信号增强效应的肿瘤靶向成像方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种医学成像领域的方法,具体涉及一种基于锌离子信号增强效应的肿瘤靶向成像方法。

背景技术

[0002] 癌症严重威胁人类健康和生命安全,早期发现、早期诊断和早期治疗是减少癌症病人的死亡率的重要的预防手段。医学成像作为一种极其重要的辅助手段用于肿瘤的诊治已经广泛应用于医学领域。体内肿瘤荧光成像可对肿瘤进行直接生物成像,该成像方法简单,快速,成本低廉并且具有可视化的特点,因而越来越受到科学界的广泛关注。然而,目前体内肿瘤荧光成像还存在许多问题,例如以有毒荧光化学染料或纳米量子点作为肿瘤组织的荧光标记物,对人体有较大的危害;或者部分荧光标记物虽然无毒但是无法通过静脉注射达到靶向肿瘤部位。

[0003] 《暨南大学学报》2002 年 05 期《锌离子对谷胱甘肽荧光增强的作用》中提到锌离子与谷胱甘肽的摩尔比率为 2 时,对该荧光体系有最大增强作用。也有研究表明锌离子能增强肿瘤细胞或组织中诸如氨基酸类的色氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸,结构蛋白中的胶原蛋白和弹性蛋白,酶和辅酶类中的 NADH、NADPH、FAD 以及内源性卟啉,以及绿色荧光蛋白、谷胱甘肽、蛋白硫醇类等物质的一种或几种的荧光信号、拉曼信号或超声信号。锌离子的这种特性可以称之为锌离子信号增强效应。

发明内容

[0004] 发明目的:本发明的目的在于解决上述背景技术中提到的问题,提供一种毒性小,且对肿瘤细胞有靶向性的医学成像方法。

[0005] 技术方案:基于锌离子信号增强效应,由于肿瘤细胞的繁殖代谢能力明显强于正常细胞,肿瘤细胞表面的谷胱甘肽等含量显著高于正常细胞,通过锌离子对谷胱甘肽等荧光强度的增强效果,可以显著提高肿瘤细胞的自发荧光,同时也对肿瘤细胞的荧光信号、拉曼信号及超声信号等进行了增强,可以明显区别于正常细胞。因此,肿瘤细胞、组织或肿瘤动物经过锌离子处理后,通过成像仪高分辨显微成像,再对超声成像、荧光成像的荧光分布情况和荧光强度以及拉曼成像图谱中拉曼信号的波数位置以及强度来对细胞结构或生物化学组分进行定性或定量分析,可实现肿瘤细胞或组织的靶向跟踪成像。

[0006] 本发明基于锌离子信号增强效应的肿瘤靶向成像方法,该方法在细胞水平应用时,具体步骤为:

[0007] (1) 将锌盐溶解于 pH=7.4 的 PBS 溶液中制成 1-100mmol/L 的锌盐溶液;

[0008] (2) 将步骤(1)制得的锌盐溶液与肿瘤细胞或组织共同置于细胞培养箱中,以 37℃ 孵化 12-48 小时;

[0009] (3) 用共聚焦荧光显微镜、超声成像仪或荧光成像仪对肿瘤细胞或组织进行高分辨显微成像,检测其自发荧光的强度和分布情况,通过拉曼光谱仪或拉曼显微镜对肿瘤细

胞或组织进行拉曼成像,通过荧光图谱和拉曼图谱的信号数据对肿瘤细胞或组织的结构或化学组分进行定性和定量分析。

[0010] 该方法在动物模型水平应用时,具体步骤为:

[0011] (1) 构建肿瘤动物模型;

[0012] (2) 将锌盐溶解于 pH=7.4 的 PBS 溶液中制成 1-100mmol/L 的锌盐溶液;

[0013] (3) 在试验动物肿瘤部位的周围局部注射无菌等渗的 1-100mmol/L 的锌盐溶液;

[0014] (4) 给药一段时间后,使用共聚焦荧光显微镜、超声成像仪、荧光成像仪、拉曼光谱仪或拉曼显微镜监测肿瘤细胞或组织的信号信息,对信号信息加工处理分析,实现对肿瘤部位的三维重建与可视化。

[0015] 所述的肿瘤动物模型包括原位移植肿瘤模型、原位转移肿瘤模型、皮下接种肿瘤模型、药物诱导肿瘤模型、基因突变肿瘤模型或自发瘤模型。

[0016] 所述的局部注射方式包括局部皮下注射、皮内注射或肌肉注射、尾静脉注射或腹腔注射。

[0017] 上述的锌盐为葡萄糖酸锌、磷酸锌、醋酸锌、乙酸锌、甘草酸锌、柠檬酸锌、碳酸锌、甲酸锌、苯甲酸锌、氯化锌、硝酸锌、硫酸锌、氯酸锌或高氯酸锌中的一种或多种。

[0018] 有益效果:与现有技术相比,本发明的显著优点是:

[0019] (1) 本发明以锌离子作为成像的信号增强剂,对生物体毒性极小,且具有肿瘤靶向性;

[0020] (2) 本发明通过分析信号强度的强弱及分布情况可用于肿瘤目标病灶的定位或诊断,通过对癌症标识物的定性定量分析可用于分析病情的严重程度或监测治疗效果;

[0021] (3) 本发明所需锌盐溶液来源种类多、成本低、制备容易;

[0022] (4) 本发明医学成像方法简单实用、便于操作。

附图说明

[0023] 图 1a 是本发明实施例 7 对照组共聚焦荧光显微镜结果图;

[0024] 图 1b 是本发明实施例 7 实验组共聚焦荧光显微镜结果图;

[0025] 图 2a 是本发明实施例 8 对照组共聚焦荧光显微镜结果图;

[0026] 图 2b 是本发明实施例 8 实验组共聚焦荧光显微镜结果图;

具体实施方式

[0027] 实施例 1

[0028] 将葡萄糖酸锌溶解于 pH=7.4 的 PBS 溶液中制成 1mmol/L 的葡萄糖酸锌溶液,以肝癌细胞(HepG2)作为研究对象,将肝癌细胞(HepG2)与葡萄糖酸锌溶液置于细胞培养箱中 37℃孵化 12 小时后,用共聚焦荧光显微镜检测细胞自发荧光的强度和分布情况,通过拉曼显微镜对肝癌细胞(HepG2)进行拉曼成像,通过荧光图谱和拉曼图谱的信号数据来对肝癌细胞(HepG2)结构或化学组分进行定性和定量分析。

[0029] 实施例 2

[0030] 将磷酸锌溶解于 pH=7.4 的 PBS 溶液中制成 50mmol/L 的磷酸锌溶液,以宫颈癌细胞(HeLa)作为研究对象,将宫颈癌细胞(HeLa)与磷酸锌溶液置于细胞培养箱中 37℃孵化

24 小时后,用超声成像仪检测细胞自发荧光的强度和分布情况,通过拉曼显微镜对宫颈癌细胞(HeLa)进行拉曼成像,通过荧光图谱和拉曼图谱的信号数据来对宫颈癌细胞(HeLa)结构或化学组分进行定性和定量分析。

[0031] 实施例 3

[0032] 将氯化锌溶解于 pH=7.4 的 PBS 溶液中制成 100m mol/L 的氯化锌溶液,以白血病细胞(K562)作为研究对象,将白血病细胞(K562)与氯化锌溶液置于细胞培养箱中 37℃ 孵化 48 小时后,用荧光成像仪检测细胞自发荧光的强度和分布情况,通过拉曼光谱仪对白血病细胞(K562)进行拉曼成像,通过荧光图谱和拉曼图谱的信号数据来对白血病细胞(K562)结构或化学组分进行定性和定量分析。

[0033] 实施例 4

[0034] 构建裸鼠肝癌原位移植模型,将醋酸锌溶解于 pH=7.4 的 PBS 溶液中制成 1m mol/L 的醋酸锌溶液,向裸鼠肝癌原位移植模型肿瘤部位的周围局部皮下注射无菌等渗的 1m mol/L 的醋酸锌溶液,给药一段时间后,使用共聚焦荧光显微镜监测肝癌肿瘤的信号信息,对信号信息加工处理分析,实现对肝癌肿瘤部位的三维重建与可视化。

[0035] 实施例 5

[0036] 构建裸鼠皮下接种乳腺癌模型,将硫酸锌溶解于 pH=7.4 的 PBS 溶液中制成 50m mol/L 的硫酸锌溶液,向裸鼠皮下接种乳腺癌模型肿瘤部位的周围肌肉注射无菌等渗的 50m mol/L 的硫酸锌溶液,给药一段时间后,使用超声成像仪监测乳腺癌肿瘤的信号信息,对信号信息加工处理分析,实现对乳腺癌肿瘤部位的三维重建与可视化。

[0037] 实施例 6

[0038] 构建裸鼠药物诱导卵巢肿瘤模型,将氯酸锌溶解于 pH=7.4 的 PBS 溶液中制成 100m mol/L 的氯酸锌溶液,向裸鼠药物诱导卵巢肿瘤模型肿瘤部位的周围尾静脉注射无菌等渗的 100m mol/L 的氯酸锌溶液,给药一段时间后,使用拉曼显微镜监测卵巢肿瘤的信号信息,对信号信息加工处理分析,实现对卵巢肿瘤部位的三维重建与可视化。

[0039] 实施例 7

[0040] 实验组:将葡萄糖酸锌溶解于 pH=7.4 的 PBS 溶液中制成 20m mol/L 的葡萄糖酸锌溶液,向宫颈癌细胞(HeLa)培养液中加入 20m mol/L 葡萄糖酸锌的 PBS 溶液;

[0041] 对照组:向宫颈癌细胞(HeLa)培养液中加入 pH=7.4 的 PBS 溶液;

[0042] 将实验组与对照组各自置于细胞培养箱中 37℃ 孵化 24 小时后,用共聚焦荧光显微镜进行观察;

[0043] 实验结果如图 1 所示,图 1a 为对照组,图 1b 为实验组,实验组荧光强度明显强于未加药的对照组。说明在共聚焦荧光显微镜下,未加入锌离子的对照组宫颈癌细胞(HeLa)自发荧光很弱,基本无法辨清细胞轮廓,而加入锌离子孵化的实验组可观察到明显的肿瘤细胞轮廓。

[0044] 实施例 8

[0045] 实验组:将葡萄糖酸锌溶解于 pH=7.4 的 PBS 溶液中制成 100m mol/L 的葡萄糖酸锌溶液,向肝癌细胞(HepG2)培养液中加入 100m mol/L 葡萄糖酸锌的 PBS 溶液;

[0046] 对照组:向肝癌细胞(HepG2)培养液中加入 pH=7.4 的 PBS 溶液;

[0047] 将实验组与对照组各自置于细胞培养箱中 37℃ 孵化 48 小时后,用共聚焦荧光显

显微镜进行观察；

[0048] 实验结果如图 2 所示,图 2a 为对照组,图 2b 为实验组,实验组荧光强度明显强于未加药的对照组。说明在共聚焦荧光显微镜下,未加入锌离子的对照组肝癌细胞(HepG2)自发荧光很弱,基本无法辨清细胞轮廓,而加入锌离子孵化的实验组可观察到明显的肿瘤细胞轮廓。

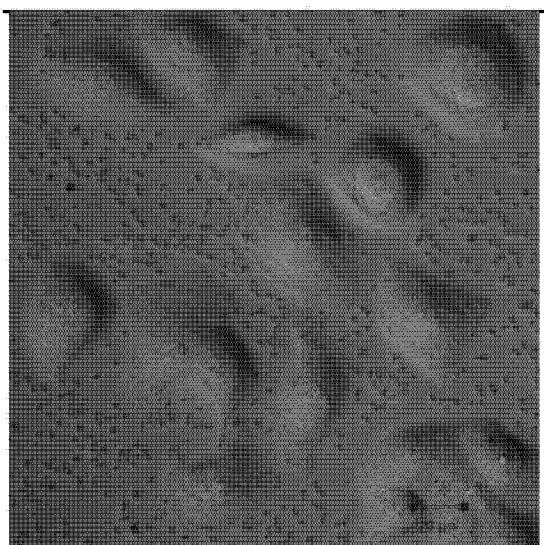


图 1a

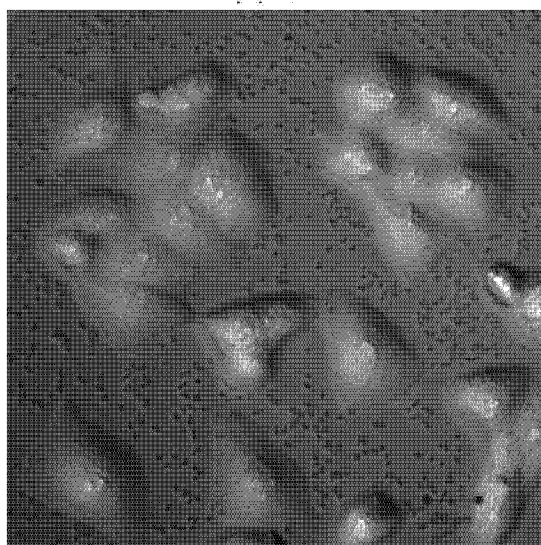


图 1b

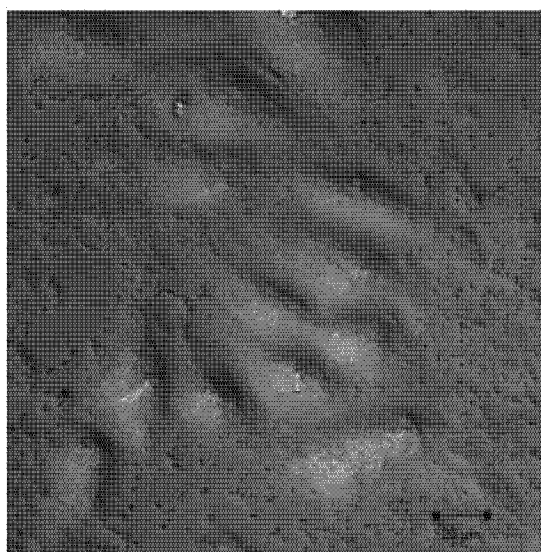


图 2a

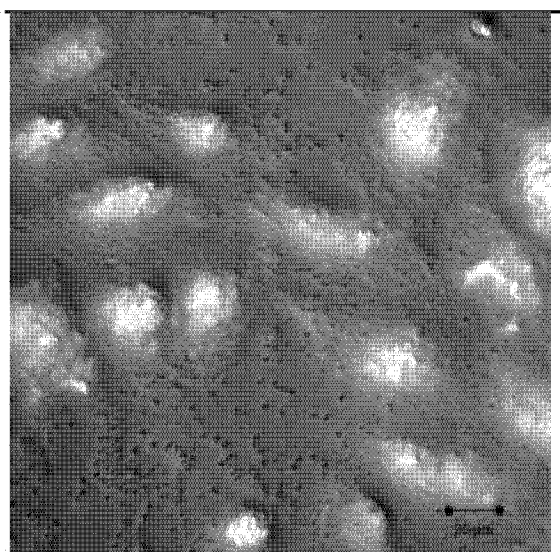


图 2b

专利名称(译)	一种基于锌离子信号增强效应的肿瘤靶向成像方法		
公开(公告)号	CN103099604B	公开(公告)日	2015-05-06
申请号	CN201310013811.0	申请日	2013-01-15
[标]申请(专利权)人(译)	东南大学		
申请(专利权)人(译)	东南大学		
当前申请(专利权)人(译)	东南大学		
[标]发明人	王雪梅 李水红 吴长宇 高生平		
发明人	王雪梅 李水红 吴长宇 高生平		
IPC分类号	A61B5/00 A61B8/08 A61D7/00 G01N21/64 G01N21/65 A61K49/00 A61K49/22		
其他公开文献	CN103099604A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种基于锌离子信号增强效应的肿瘤靶向成像方法，该方法在细胞水平应用时，首先制备锌盐溶液；再将锌盐溶液与肿瘤细胞或组织共同置于细胞培养箱中孵化；进行高分辨荧光显微成像和拉曼成像后通过荧光图谱和拉曼图谱的信号数据对肿瘤细胞或组织的结构或化学组分进行定性和定量分析。该方法在动物模型水平应用时，构建肿瘤动物模型并制备锌盐溶液，在试验动物肿瘤部位局部注射锌盐溶液后，使用共聚焦荧光显微镜、超声成像仪、荧光成像仪、拉曼光谱仪或拉曼显微镜监测肿瘤细胞或组织的信号信息并对信号信息加工处理分析。本发明以锌离子作为成像的信号增强剂，对生物体毒性极小，且具有肿瘤靶向性。

