

表面等离子体共振传感器在癌症早期诊断中的应用

吴星怡^{a,c} 张磊^b 吕丹^a 刘艳华^a 陈亚南^a 苏位君^a
罗娜^a 向荣^{*a}

(^a 南开大学医学院免疫系 天津 300071)

(^b 南开大学现代光学所 天津 300071)

(^c 南开大学生命科学学院 天津 300071)

摘要 表面等离子体共振传感器作为一种新型光学传感器,在疾病诊断领域展现出日益广泛的应用性。借助于纳米材料研究的最新进展,该传感技术可实现浓度极低生物标记物的有效检测。我们针对表面等离子体传感器在癌症早期诊断中的应用,介绍了最新研究进展、重要发现及未来的发展前景。

关键词 表面等离子体共振; 传感器; 癌症; 早期诊断; 纳米材料

Application of Surface Plasmon Resonance Sensors in the Early Diagnosis of Cancer

Wu, Xingyi^{a,c} Zhang, Lei^b Lü, Dan^a Liu, Yanhua^a Chen, Yanan^a Su, Weijun^a
Luo, Na^a Xiang, Rong^{*a}

(^a Department of Immunology, School of Medicine, Nankai University, Tianjin 300071)

(^b Institute of Modern Optics, Nankai University, Tianjin 300071)

(^c School of Life Sciences, Nankai University, Tianjin 300071)

Abstract As a novel optical sensor, surface plasmon resonance (SPR) sensors have shown diverse applications in the field of disease diagnosis. Taking advantage of the recent advances in nanomaterials research, this sensing technique can be used to effectively detect biomarkers of ultra-low concentrations. In this highlight article, we focus on the application of SPR sensors in the early diagnosis of cancer, and report the latest research progress, core findings, and future directions.

Keywords surface plasmon resonance; sensor; cancer; early diagnosis; nanomaterials

表面等离子体共振(surface plasmon resonance, SPR)是一个在无机化学、分析化学和物理化学等领域经常使用的概念^[1]。对金属纳米粒子而言,这些超细微粒的SPR性质与粒子的尺寸和形状有关,也与金属本身和周围介质的介电常数有关^[2]。SPR具有高灵敏度、高选择性、实时检测、免标记的特性,在物理、化学、生物、医药等领域有广泛的应用前景^[3]。中晚期癌症在治疗方面存在许多难题,癌症的早期诊断是癌症治疗的一大突破口。大量研究表明,早期诊断能大幅提高癌症的生存率^[4]。由于肿瘤标记物分子浓度极低,早期癌变在常规诊断中往往很难发现,因此寻找一种切实可行的癌症早期诊断方法成为科学家们研究的重点之一。近年研究成果表明,基于SPR性质制成的传感器对于癌症的早期诊断有突出贡献。

2012年,欧洲研究人员报道了基于酶反应引导生

成的金属纳米晶体制成的超灵敏SPR传感器在前列腺癌早期诊断中的应用^[5]。作者利用葡萄糖氧化酶(glucose oxidase, GOx)催化生成过氧化氢来还原金纳米传感器(金纳米星)周围的银离子,从而控制银离子的结晶率。由于银纳米粒子会在金纳米星表面形成一层银涂层,使传感器SPR对应的共振波长向较短的方向移动,即产生蓝移现象,而不同的GOx浓度会引起结晶速率的变化并在SPR吸收光谱中有所体现,并且SPR吸收峰的移动与GOx浓度成负相关(图1)。因此,只要通过将相关抗体与GOx结合在一起作为标记物,就能通过免疫分析灵敏地检测出极低浓度的肿瘤标记物分子。作者随后设计实验以证明该金属纳米传感器的超灵敏性:利用夹心反应将针对前列腺特异性抗原(prostate-specific antigen, PSA)的多克隆抗体修饰的金纳米星、PSA和相应抗体修饰的GOx结合在一起,形成夹心式结合物。通

* E-mail: rxiang@nankai.edu.cn

Received January 7, 2013; published January 31, 2013.

Project supported by the National Basic Research Program of China (973 Program, No. 2013CB967201), the National Natural Science Foundation of China (No. 30830096), and the Key Project of Tianjin Scientific & Technological Commission for China-Sweden Cooperation Research Program (No. 09ZCZDSF04000).

项目受科技部973计划(No. 2013CB967201)、国家自然科学基金(No. 30830096)和天津市科委中瑞合作重点项目(No. 09ZCZDSF04000)资助。

过检测 SPR 最大吸收峰的位移可计算得到 GOx 的浓度,进而计算出 PSA 的含量,而超低浓度的 PSA 对早期前列腺癌的诊断具有敏感性和特异性,而且是已接受过前列腺切除术的病人癌症复发早期诊断的关键^[6]. 实验证明,利用上述传感器,在全血清样品中 PSA 的最低检测浓度达到 10^{-18} g/mL,证实了该超灵敏传感器的有效性. 在另一项研究中,美新等国研究人员将金纳米棒连接到检测抗体上,借助于金纳米棒独特的光学性质,实现了肿瘤坏死因子 α 检测灵敏度 40 倍的增强^[7].

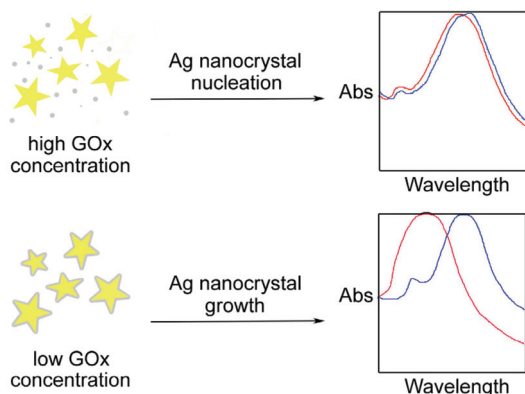


图1 酶引导 SPR 传感器检测原理示意图

Figure 1 Schematic representation of the detection principle of the enzyme-guided SPR sensor

最近, Uludag 等^[8]开展了一系列实验,利用 SPR 传感器检测高浓度血清中 PSA 的浓度并与石英晶体微天平(quartz crystal microbalance, QCM)传感器的实验结果进行了比较. 作者选用了夹心法来消除临床样本基质中高折射率和高粘度等因素对于实验结果的影响,而矩阵缓冲器与金纳米粒子的结合使得在高浓度血清中实现总前列腺特异性抗原(total prostate-specific antigen, tPSA)的高灵敏度检测成为了可能. 实验中利用常规的胺偶联化学在覆有自组装单分子涂层的金传感器芯片表面固定 PSA 捕获抗体和小鼠 IgG,与待测的人血清样品充分反应后,将 PSA 检测抗体修饰过的金纳米粒子溶液注入传感器. 实验结果表明,利用 SPR 传感器可检测血清中 tPSA 的最低浓度是 0.39 ng/mL,测试效果可与 QCM 传感器相媲美,低于利用常规免疫分析法进行前列腺癌临床诊断的阈值(2.5 ng/mL). 分析时间短、传感器芯片重复利用率高、实时检测性以及能在高浓度血清中检测 PSA 的优点使得 SPR 传感器可以很好地应用于前列腺癌的临床诊断和预后研究.

2010 年,我国研究人员将 SPR 传感器应用于国内最普遍的恶性肿瘤之一胃癌的诊断中^[9]. 由于有效早期诊断方法的缺失,胃癌的死亡率很高. MG7-Ag 作为一种胃癌相关的抗原存在于大多数胃癌组织和胃癌患者的血清中,经研究可作为胃癌早期诊断的标记物. 该研究将单克隆的 MG7 抗体作为捕获和检测受体固定于

SPR 传感器芯片表面来检测人血清中的 MG7-Ag 含量,并通过 SPR 光谱定量给出相关数据. 与酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assays, ELISA)和免疫组化染色等方法相比,SPR 检测法无需对被测分子进行标记,更经济省时.

值得一提的是,SPR 传感器可应用于癌细胞标记物表达的实时监测. 2012 年, Li 及同事为实现血管内皮生长因子分泌的实时监测,将一个迷你型细胞培养器与 SPR 传感器整合为一体^[10]. 有别于传统 SPR 传感器的构造,该新型系统包括一个特制的 SPR 流式细胞室,癌细胞可生长于其顶部. 癌细胞分泌出的血管内皮生长因子与位于该细胞室底部的抗体结合后,可利用 SPR 技术予以实时监测.

此外, Jiang 及同事利用 SPR 传感器对临床人血清样品中癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)的自身抗体进行了直接检测^[11]. 实验中用 EDC/NHS 化学法将 CEA 固定在传感器表面,以固定的牛血清白蛋白作为参比,直接检测了血清样品中的 CEA,从而可用于多种癌症的早期诊断. 在另一个工作中, Jiang 及同事利用 SPR 传感器检测了一种可能的胰腺癌标记物分子并与 ELISA 进行了对比,证明两者不相上下^[12]. 泰国研究人员突破了耗时长、过程复杂、对仪器及人员要求较高的 ELISA 和辐射测量等传统检测法,利用基于 SPR 原理的免疫传感器测定了卵巢癌特异性标志物癌抗原 125,取得了很好的效果^[13].

综上所述,超灵敏 SPR 传感器对于癌症早期诊断技术的发展有着极大的促进作用. SPR 光学传感器经过近些年的发展已经成为癌症诊断中的一项重要工具,其中寻找到一种适当的肿瘤标记物是诊断的关键,下一阶段则将接受临床试验的进一步评估. 另外,能同时进行无标记高通量筛选肿瘤标记物的大规模 SPR 微阵列也是今后的研发方向之一^[14].

作者简介



向荣,男,博士,南开大学医学院院长,长江学者,特聘教授,博士生导师. 1982, 1989 年在重庆医科大学分别获得学士学位和硕士学位,1992 年在上海第二医科大学获得医学科学博士学位,曾任美国 Scripps 研究所免疫系副教授. 向荣教授致力于研究肿瘤微环境对肿瘤干细胞及肿瘤细胞分化、生长、凋亡及转移的影响,并探索新的肿瘤治疗策略.

References

- [1] (a) Mayer, K. M.; Hafner, J. H. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 3828; (b) Homola, J. *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 462; (c) Ghosh, S. K.; Pal, T. *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 4797.
- [2] (a) Wang, Q.; Zhu, H.; Yang, X.; Wang, K.; Yang, L.; Ding, J. *Acta Chim. Sinica* **2012**, *70*, 1483. (王青, 朱红志, 羊小海, 王柯敏, 杨丽娟, 丁静, 化学学报, **2012**, *70*, 1483.); (b) Yang, C.; Sun, X.; Liu, B. *Acta Chim. Sinica* **2012**, *70*, 259 (杨传孝, 孙向英, 刘斌, 化学学报, **2012**, *70*, 259.)
- [3] (a) Liu, X.; Liu, Q.; Xie, K.; Cao, S.; Cai, W.; Li, Y. *Acta Chim. Sinica* **2012**, *70*, 2220. (刘晓庆, 刘倩, 谢凯信, 曹烁晖, 蔡伟鹏, 李耀群, 化学学报, **2012**, *70*, 2220.); (b) Li, Y.; Lin, Z.; Li, R.; Liu, X. *Acta Chim. Sinica* **2012**, *70*, 1304. (李迎, 林钊, 李蓉卓, 刘霞, 化学学报, **2012**, *70*, 1304.)
- [4] Etzioni, R.; Urban, N.; Ramsey, S.; McIntosh, M.; Schwartz, S.; Reid, B.; Radich, J.; Anderson, G.; Hartwell, L. *Nat. Rev. Cancer* **2003**, *3*, 243.
- [5] Rodríguez-Lorenz, L.; de la Rica, R.; Álvarez-Puebla, R. A.; Liz-Marzán, L. M.; Stevens, M. M. *Nat. Mater.* **2012**, *11*, 604.
- [6] Liu, Z.; Yuan, R.; Chai, Y.; Zhuo, Y.; Hong, C. *Acta Chim. Sinica* **2009**, *67*, 637. (刘中原, 袁若, 柴雅琴, 卓颖, 洪成林, 化学学报, **2009**, *67*, 637.)
- [7] Law, W. C.; Yong, K. T.; Baev, A.; Prasad, P. N. *ACS Nano* **2011**, *5*, 4858.
- [8] Uludag, Y.; Tothill, I. E. *Anal. Chem.* **2012**, *84*, 5898.
- [9] Fang, X.; Tie, J.; Xie, Y.; Li, Q.; Zhao, Q.; Fan, D. *Cancer Epidemiol.* **2010**, *34*, 648.
- [10] Liu, C.; Lei, T.; Ino, K.; Matsue, T.; Tao, N.; Li, C. Z. *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 10389.
- [11] Ladd, J.; Lu, H.; Taylor, A. D.; Goodell, V.; Disis, M. L.; Jiang, S. *Colloids Surf. B* **2009**, *70*, 1.
- [12] Vaisocherová, H.; Faca, V. M.; Taylor, A. D.; Hanash, S.; Jiang, S. *Biosens. Bioelectron.* **2009**, *24*, 2143.
- [13] Suwansa-ard, S.; Kanatharana, P.; Asawatreratanakul, P.; Wongkit-tisuksa, B.; Limsakul, C.; Thavarungkul, P. *Biosens. Bioelectron.* **2009**, *24*, 3436.
- [14] Chang, T.-Y.; Huang, M.; Yanik, A. A.; Tsai, H.-Y.; Shi, P.; Aksu, S.; Yanik, M. F.; Altug, H. *Lab. Chip* **2011**, *11*, 3596.

(Zhao, X.)