

上转换纳米材料在生物应用中的研究进展*

林贵娇¹⁾ 万钊俊^{1)**} 李慧丽²⁾ 涂润秋¹⁾ 谢欣珏¹⁾ 谢艺璇¹⁾ 岳卫东¹⁾

(¹⁾ 同济大学新农村发展研究院, 同济大学医学院, 上海 201800;

(²⁾ 上海交通大学药学院, 细胞工程及抗体药物教育部工程研究中心, 上海 200240)

摘要 上转换发光纳米材料(UCNPs)具有荧光寿命长、潜在生物毒性低、穿透深度大、对生物组织损伤小且几乎没有背景光等显著优点, 近年来, 在光动力治疗(PDT)、生物成像及生物检测等领域已经得到广泛应用. 但在应用的过程中存在一些缺陷, 如在 PDT 中 UCNPs 与光敏剂之间能量转移效率较低、正常组织过热; 在生物成像中, 荧光强度较弱、光敏剂和激活剂有能量回流、成像模式单一等问题. 科研人员针对上述问题研究出了很多解决的方法, 如缩短 UCNPs 与目标物之间的距离、改变照射激光的强度、改变 UCNPs 的结构、将 UCNPs 作为新型多功能平台整合成像与治疗于一体等, 使部分问题得到了很好的解决. 本文重点综述了 UCNPs 应用在 PDT 和生物成像中所出现的问题及解决方法, 并对 UCNPs 在生物医学领域的应用发展趋势进行展望.

关键词 上转换纳米材料, 光动力治疗, 生物成像, 新型多功能平台

学科分类号 O614.33

DOI: 10.16476/j.pibb.2018.0046

稀土上转换发光纳米材料(upconversion nanophosphors, UCNPs)主要由氧化物、氟化物、卤氧化物等无机基质通过掺杂三价稀土离子(如 Er^{3+} 、 Eu^{3+} 、 Yb^{3+} 、 Tm^{3+} 、 Ho^{3+} 等)得到, 其上转换过程可将连续吸收的两个或者多个泵浦光子, 经过无辐射弛豫达到发光能级, 然后跃迁至基态产生一个高能量的发射光子, 是一个非线性光学的反斯托克斯过程. 其独特的变频能力使 UCNPs 具备很多的优点, 如信噪比高、荧光寿命长、无光闪烁和光漂白、毒性低、发射带窄以及有较大的穿透深度、对生物组织几乎无损伤等显著优点^[1-7].

自 1966 年 Auzel 正式提出了上转换发光概念(upconversion, UC), 到 20 世纪 90 年代纳米技术的引入, 科学工作者们合成了许多具有水溶性且发光效率较高的纳米级上转换新型功能无机材料. 这一功能型上转换纳米材料, 使生物医学领域里相应的诊断、治疗、成像、生物监测等获得了变革性的机遇和发展^[8-13].

近年来, 生物医学的 UCNPs 已经广泛应用于核磁共振(MRI)、计算机断层扫描(CT)、正电子发射断层扫描(PET)以及光动力治疗(PDT)、基因检测

和药物输送等技术中. Dong 等^[14]用 UCNPs 将光动力治疗(PDT)、化疗和成像联合治疗肿瘤, 相比于单个 PDT 或者化疗, 构建的联合平台的肿瘤细胞杀伤率显著增强. Higgins 等^[15]用 UCNPs 做造影剂制备了高分辨率、超长像素停留时间的共聚焦线扫描显微镜, 能达到亚细胞的观察水平. 但 UCNPs 在与这些技术结合的过程中也会存在一些缺陷, 比如 UCNPs 与 PDT 技术结合时存在 UCNPs 与光敏剂的能量转移效率低、正常组织过热、难以精确定位到病变组织等问题, 在利用 UCNPs 进行生物成像时存在量子产率低、荧光弱、成像方式单一等缺陷. 如 Li 等^[16]将用柠檬酸修饰的 $\beta\text{-NaLuF}_4\text{Gd}^{3+}/\text{Yb}^{3+}/\text{Tm}^{3+}$ UCNPs 用于小鼠全身荧光成像, 在 $17.5\text{W}/\text{cm}^2$ 和 980 nm 激发密度下, 量子产率只有 0.47%. 针对这些问题, 科研人员做了大量的研

* 国家自然科学基金(21076124, 51173104)和上海交通大学联合基金(YG2014MS65)资助项目.

** 通讯联系人.

Tel: 013816688116, E-mail: wanajun@tongji.edu.cn

收稿日期: 2018-04-23, 接受日期: 2018-06-11

究, 而且很多方面已得到解决, 本文探索了上转换材料在各种应用上所面临的问题, 并重点归纳总结了解决这些问题的方法。

1 UCNPs 在 PDT 中的应用

光动力治疗(photo dynamic therapy, PDT), 是指用特定波长的光激发光敏剂, 被激发的光敏剂将能量传递给周围的氧, 产生大量活性氧物质(reactive oxygen species, ROS), 包括活性单线态氧($^1\text{O}_2$)和其他活性氧物质等, 这些 ROS 与周围的生物大分子发生氧化反应, 继而引起细胞结构的破

坏, 起到杀伤肿瘤细胞的作用^[17-18]。

在 PDT 治疗技术中, 光敏剂及其激发光是关键要素。激发光源必须具有光敏剂可吸收的频谱及能量, 还要有一定的组织穿透力。但是传统的激发光不能充分穿透组织, 使得 PDT 只适用于浅部的肿瘤, 而对深部的肿瘤无效, 这极大地限制了 PDT 在临床应用的范围。UCNPs 的出现, 使 PDT 利用近红外光等组织穿透力强的光源用作激发光成为了可能^[19-20]。这克服了传统的 PDT 技术不能充分穿透组织的不足和限制, 提高了 PDT 的治疗效果, 拓宽了其临床应用范围, 如图 1。

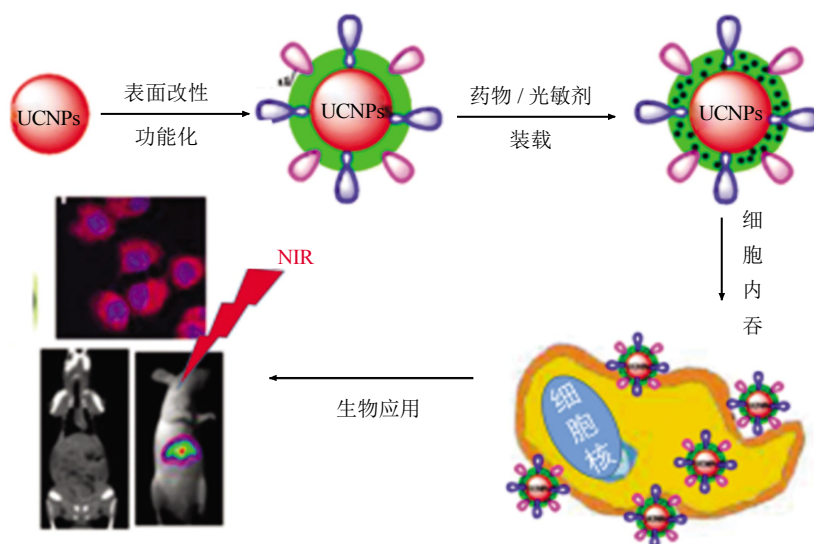


Fig. 1 Schematic illustration of UCNPs for PDT

图 1 应用 UCNPs 的 PDT 示意图

在图 1 中, 将 UCNPs 应用于 PDT 技术后, 一是可利用低能量的近红外作为激发光源, 通过上转换转变成能量较高的光, 达到 PDT 光敏剂所需的频谱。相对传统 PDT 使用紫外和可见光作为激发光源, 近红外具有更深的光透射深度, 这就使得 PDT 可用于更深组织的治疗。二是 UCNPs 具有可调发光特性, 能在 PDT 中使用更多不同的光敏剂种类。三是 UCNPs 既能搭载光敏剂, 还能进行磁性包覆, 对癌细胞定位靶向治疗等, 使得 PDT 治疗技术可获得更精准的靶向性, 显著地提高其治疗效果。

自 2007 年张鹏等^[21]首次报道了 UCNPs 与光敏剂结合的体外研究至今, 各国研究人员在该领域里取得了一系列研究成果^[22-24]。但与临床实际推广应用, 仍存在不少差距, 主要包括上转换与光敏剂的

能量转移效率低、释放时间可控性不高、释放部位难以控制、正常组织过热现象等不足。针对这些问题, 科学家们近年来开展了大量的针对性攻关研究工作, 取得了一定的进展, 尤其是在提高 UCNPs 与光敏剂的能量转移效率、提高靶向性、改善组织过热等三个方面, 获得了一些有价值的研究结果和有效的方法。

1.1 提高 UCNPs 与 PS 之间的能量转移效率

在应用 UCNPs 的 PDT 技术中, UCNPs 传递给光敏剂(PS)的能量是光敏剂产生 ROS 的主要能源支撑, 然而, UCNPs-PS 涉及到上转换过程和复杂的能量传递过程, 导致 ROS 产率很低, 限制了其临床应用。因此, 提高 UCNPs-PS 产氧效率的关键在于提高上转换的能量转移效率^[25]。就能量转移效率而言, 供体的上转换发光效率, 供体发射和光

敏剂(受体)吸收之间的光谱重叠, 两者之间的距离以及每个 UCNP 上负载的光敏分子的量对能量转移效率的影响较大^[26-27].

1.1.1 改变距离

2017 年, Chen 和 Ran 等^[28]通过控制 UCNPs 的涂层厚度, 缩小 UCNPs 和光敏剂两者间的距离, 显著地提高了能量转移的效率. 他们采用氨丙基三乙氧基硅烷(APTS)包覆 UCNPs, 然后共轭连接光敏剂原卟啉(PpIX). 采用 APTS 的包覆, 可以将涂层厚度控制在 3 nm 左右, 这就使得光敏剂与 UCNP 之间的距离缩小, 能量转移效率高达 41.7%. 而用传统的 TEOS 包覆 UCNPs, 涂层厚度一般只能控制在 15 nm 左右, 能量转移效率只有 13.6%. 同时, 采用 APTS 包覆方法, APTS 上的氨基更有利于 UCNPs 的表面改性修饰, 如采用线粒体靶向剂三苯基溴化磷(TPP)修饰其表面, 使得光敏剂靶向线粒体以后产生单线态氧, 直接作用癌细胞内的大分子, 加强了抑制或者杀死癌细胞作用, 有利于提高光动力的治疗效率. 同时, Chen 和 Sztul 等^[29]也通过控制 UCNPs 外层介孔二氧化硅厚度的方法, 提高能量转移的效率. 他们制备了表面共轭结合金纳米棒的上转换纳米粒子构造形态(UCNP@SiO₂:MB-NRs-FA), 其中通过调整介孔二氧化硅的厚度, 得到金纳米棒与 UCNP 发生表面等离子体共振能量转移的最佳距离, 同时金纳米粒子还能提高光敏剂的吸光系数, 进一步提高了能量转移效率. 实验结果表明, 当厚度为 4.5 nm 时, 相对于 13.2 nm, 能量转移效率提高了 20.8%, PDT 的效率提高了 10 倍左右.

另一类方法是通过控制 UCNPs 的结构类型, 以达到减小 UCNPs 与光敏剂之间的距离提高能量转移效率的目的. 2015 年, Lu 等^[30]报道在用有机硅包裹 β -NaLuF₄:Gd/Yb/Er 后, 通过腐蚀使整个上转换粒子内部, 获得了具有独特芳香族结构的“波浪鼓”型 UCNPs. 该结构既可以缩小光敏剂接收上转换发光频谱的距离, 还可以提高 UCNPs 承载光敏剂的能力和光敏剂的分解能力. 实验结果表明, 相比于传统的核-壳结构, 这种结构类型的 UCNPs 的 UC 能量转移效率能达到 98%, 转换效率获得了显著提高. 最近, Zou 和 Jin 等^[31]也通过调控核中 Yb³⁺ 的掺杂浓度和壳的厚度, 来改变 UCNPs 的核壳结构, 从而实现 UCNP 与 PS 能量转移效率的提高. 实验结果表明, 当 Yb³⁺ 的掺杂浓度为 30%, 壳层厚度为 4.81 nm 时, ROS 产率最

大, 相比于其他壳层厚度, 能量转移效率提高了 2.5 倍.

除了通过减小壳层厚度、改变上转换粒子的内部结构等方法减小距离来提高能量转移效率以外, Zeng 等^[32]通过直接改变光敏剂的位置来减小能量转移的距离. 他们将连接在介孔二氧化硅外面的光敏剂共轭到介孔二氧化硅壳的内部, 即将 UCNPs@mSiO₂@Ce6 改为 UCNPs@Ce6@mSiO₂. 该上转换材料能有效提高能量转移效率, 促进单态氧产生, 扩增 PDT 效能. 体外实验表明, 在培养 HER2 乳腺癌细胞时, 加入 UCNPs@Ce6@mSiO₂, 细胞存活率仅为 6.8%, 而加入 UCNPs@mSiO₂@Ce6 时, 细胞存活率为 28.8%, 即 PDT 效能提高了 30%.

1.1.2 改变光敏剂

Chang、Idris 和 Xu 等^[33-35]利用 UCNPs 多频谱发光的特点, 制备可在 808 nm NIR 光源激发的多个光敏剂 UCNPs 体系, 通过增加光敏剂的量来提高能量转移效率. 他们制备的 UCNPs 是以介孔二氧化硅为覆盖层, 然后将 Ce6(红光激发光敏剂)和 MCS40(绿光激发光敏剂)或者 RB 和 ZnPc 双光敏剂, 分别通过共价键和静电相互作用负载于 UCNPs 的介孔二氧化硅上. 该体系可在 808 nm 的激光照射时, Nd³⁺ 和 Yb³⁺ 吸收光子, 壳协同捕获, 然后把光子传递给核区(NaGdF₄:Yb, Er), 发出绿光和红光, 同时激活双光敏剂, 使能量转移效率提高, 产生了大量的 ROS. 相对于单个光敏剂, ROS 产率提高了 3 倍左右.

1.2 改善 PDT 的激发光

UCNPs 应用于 PDT 中, 使利用近红外光(NIR)作为激发光源成为了可能, 这克服了传统的 PDT 技术不能充分穿透组织的不足和限制. 目前广泛研究和应用的 UCNPs 是以 Yb³⁺ 作为敏化剂的上转换纳米颗粒. Yb³⁺ 离子的吸收峰位于 975 nm 附近, 因此 980 nm 激光器是目前唯一合适的激发光源. 但是, 水作为生物组织中最重要组成成分, 在 980 nm 处有很强的吸收. 因此, 用 980 nm 激光器作为激发光源会导致生物样品的过热效应, 继而导致生物组织的损伤和破坏, 并降低激发光源的穿透能力. 并且 Yb³⁺ 离子本身在红外波段的吸光能力并不强, 用 980 nm 激光器作为激发光源还使得 UCNPs 的上转换效率也非常低.

现在很多研究人员通过掺杂和外延生长技术构建了以 Nd³⁺ 为敏化剂的上转换纳米材料. Nd³⁺ 离

子在 800 nm 附近有很强的吸收, 可以以 808 nm 作为激发光源, 并且 Nd^{3+} 在此波段有较高的吸收强度, 能够提供充足的激发态能量, 从而增强上转换荧光效率. 不仅如此, 生物组织对 808 nm 红外光的吸收强度较小, 所以极大地克服了 980 nm 激发光源的过热效应及穿透深度差的缺点, 是 UCNPs 较理想的激发光源. 众多的实验表明, 使用 808 nm 连续激光作为激发光源, 与传统 980 nm 激发的 UCNPs 相比具有更强的生物组织穿透能力和更低的热效应, 因此更适合于生物医学领域的应用.

最近, Chan 等^[36]为了使热效应最小化, 他们选择无机材料石墨碳氮化物量子点(CNQD)作为光敏剂, 以 Nd^{3+} 为敏化剂, 以聚赖氨酸(PLL)为表面改性剂, 制备了 UCNPs-PLL@CNs 的纳米复合材料. 该材料用 808 nm 作为激发光源, 可以大大减少组织过热的影响, 并获得了较高的 ROS 产生能力. 对比实验表明, 用 980 nm 照射 3 min 以后, 正常组织的温度达到 45°C, 而用 808 nm 照射 5 min, 温度才缓慢升到 38°C(图 2).

2016 年, Lu 和 Yang 等^[37]报道用丙烯酸改性 UCNPs, 然后与用 PEG-NH₂ 稳定后的黑磷片(BPS), 通过静电相互作用, 合成 UCNPs-BPS 复合材料. 该无机-有机复合 UCNPs 材料, 可在

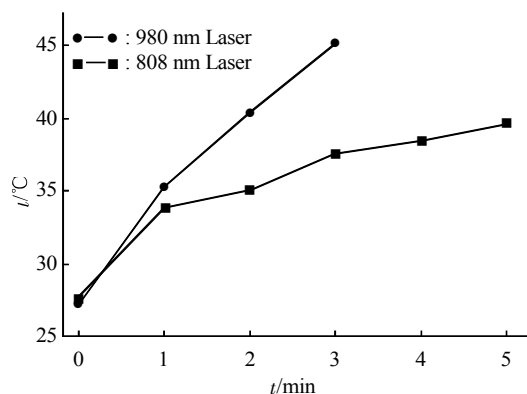


Fig. 2 Irradiation time-dependent temperature change for 808 and 980 nm irradiation

图 2 808 nm 和 980 nm 辐射时正常组织的温度变化

808 nm 的近红外光照射下, 产生大量的活性氧(图 3). 在实验中, 他们用 DCFH-DA 检测细胞内 ROS 产量. DCFH-DA 在细胞内会发生(1)式中的反应, 生成的 DCF 在激光照射下会发出荧光, 结果表明, 用 808 nm 照射时的荧光最强, 相比 980 nm 的激光荧光强度增加大约 1.5 倍. 如图 3 所示.

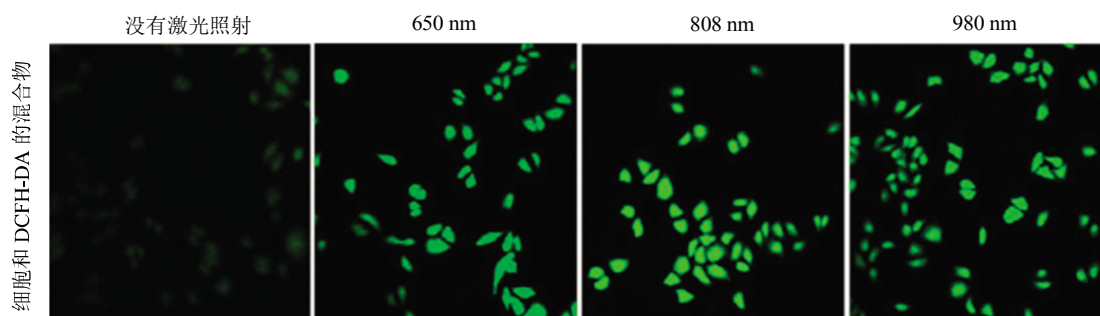
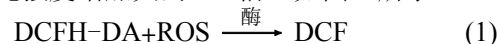


Fig. 3 HeLa cells with oxidized DCF fluorescence under different irradiation lasers

图 3 HeLa 细胞在不同波长的激光照射下具有氧化 DCF 荧光

1.3 提高 PDT 的靶向性

ROS 是 PDT 的主要治疗剂, 但是它的半衰期只有 40 ns, 平均有效半径为 20 nm, 因此 ROS 必须要到肿瘤区释放才能取得更好的治疗效果, 这时整个系统的靶向性就显得尤为重要. 光敏剂本身就具有一定的靶向功能, 但是为了使载有光敏剂的 UCNPs 能更多更准确地富集到肿瘤区, 研究者们还通过对 UCNPs 表面进行化学修饰或者生物学修

饰来提高光动力治疗的精准性. 最近的研究在这方面有了很大的进展. 主要有在 UCNPs 表面嫁接不同的肿瘤特异配体, 在表面包裹能识别癌细胞膜的物质或者在表面连接能探测癌细胞的探针等方法.

首先 Chang 等^[38]为了控制 ROS 释放的位置, 追踪了带有光敏剂的上转换纳米粒子在细胞内的动态分布路线图, 实验结果表明, 上转换粒子首先出现在细胞膜, 2 h 以后出现在溶酶体, 8 h 后溶酶体

体内的上转换粒子增多, 再经过 4 h 以后在线粒体里面检测到了 UCNPs, 24 h 后大部分上转换粒子到达线粒体. 即其动态转移路线为细胞膜 - 溶酶体 - 细胞液 - 线粒体. 实验时, 在对应的时间用激光照射细胞, 结果表明, 在 24 h 后照射, 即 UCNPs 到达线粒体, 细胞的活性为 15%, 达到最低, 而在 2 h 照射时, 细胞的存活率为 95%, 是 24 h 后照射的 7 倍左右(图 4).

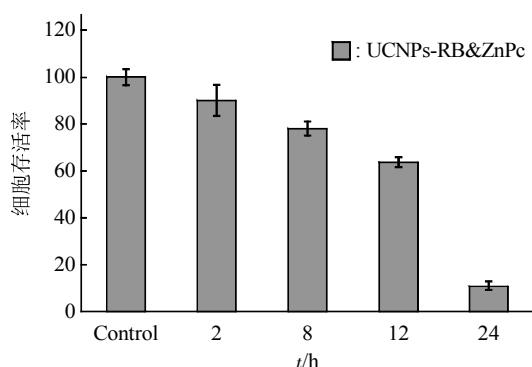


Fig. 4 Viability of cells under 980 nm laser excitation at different times

图 4 980 nm 不同时间下的细胞的存活率

近日, 邢本刚教授等^[39]通过在上转换粒子表面嫁接一种多肽以达到精准的靶向诊疗. 即在肿瘤组织的高表达组织蛋白酶的作用下, 纳米结构表面的功能性多肽被选择性切断, 暴露出的氨基酸残基和相邻粒子表面特异的识别分子发生共价交联反应, 从而促进了该纳米结构在肿瘤部位有效地选择性富集. 实验结果表明, 这种策略不仅能够将稀土上转换纳米粒子选择性地富集在肿瘤部位, 同时还能增加交联的稀土上转换纳米粒子在近红外激光 (808 nm) 辐照下的发光效率, 从而可以进一步提高纳米结构表面负载的光敏剂的产氧效率, 相对于普通的上转换材料, 该材料在癌细胞富集的数量增加了 40%, 并且相比于 980 nm, 用 808 nm 照射时单态氧产率也提高了 2.2 倍. Chen、Chan 和 Zhang 等^[40-41]直接以三苯基溴化磷(TPP)、转录激活多肽(TAT)、聚丙烯胺(PAAm)为线粒体靶向剂制备 UCNPs, 使 UCNPs 能很准确地到达肿瘤细胞内的线粒体. 实验结果表明, 用 TAT 修饰以后, UCNPs 的细胞摄入量增加了 3 倍左右. 到达线粒

体以后再用激光照射, 癌细胞的存活率仅为 5%, 而没有用 TAT 作为靶向剂的对照组的细胞存活率为 21%, 整个治疗效果提高 4 倍(图 5).

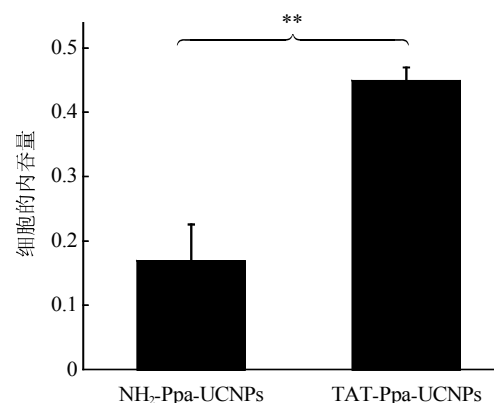


Fig. 5 Cell uptake of NH₂-Ppa-UCNPs and TAT-Ppa-UCNPs

图 5 NH₂-Ppa-UCNPs 和 TAT-Ppa-UCNPs UCNPs 细胞摄入量

Gnanasammandhan 等^[42]也用 PEG、FA 包裹 NaYF₄:Yb.Er/Tm 后, 用来靶向光动力治疗肿瘤, 在这基础上他们还在 UCNPs 外面包裹了对光敏感的未活化的核酸, 未活化的光控核酸能在上转换粒子发出高能量的光以后, 脱离上转换粒子插入肿瘤细胞的 DNA 中, 抑制肿瘤基因的表达, 使得治疗效果得到加强.

虽然以肿瘤特异性配体为靶向剂也能获得很好的效果, 但是用化学合成的功能化粒子容易引发机体免疫反应, 易被网状内皮系统清除, 导致 UCNPs 在血液循环中的滞留时间短、在肿瘤部位的富集效率低. 而细胞载体, 如红细胞、免疫细胞、干细胞等, 由于其具有肿瘤趋向性, 可穿透多级生物膜屏障且具有血液中长循环等特性, 逐渐成为研究热点. 干细胞能够主动地趋向肿瘤部位, 同时具有浸润性可到达肿瘤深部. 因此利用干细胞的特性, 可通过干细胞包裹 UCNPs 的形式实现抗肿瘤药物的主动靶向效果, 提高治疗效率. Gao、Ding、Rao 等^[43-48]通过物理挤压的方法获得了由干细胞膜和红细胞伪装的上转换粒子, 将该体系静脉注射后, 他们发现, 这种生物修饰不但能够高效地将抗癌药物运输到肿瘤部位, 大大提高药物在肿瘤

细胞中的积累, 显著提高对肿瘤细胞的杀伤作用, 而且还有效地延长了 UCNPs 在血液循环中的寿命, 防止了 UCNPs 在血液中出现电晕和聚集的现象. 相比于对照组, 98%由红细胞膜包裹的 UCNPs 聚集到了癌细胞周围, 用相对应的荧光激光强度照射时, 实验组的荧光强度是对照组的 4.7 倍, 最后实验组的肿瘤细胞的重量只有对照组的 1/3, 使整个治疗效果提升了很多. 同时, Hu、Peng 等^[49-51]在 UCNPs 表面连接能检测 Zn^{2+} 离子浓度的有机荧光探针, 通过与癌细胞相关的不稳定 Zn^{2+} 离子平衡刺激的中断来控制 ROS 的释放.

2 UCNPs 在生物成像中的应用

生物荧光成像作为现代医学诊断方面的重要技术而备受关注. 由于生物体自身无法提供可供诊断的荧光信息, 所以需要开发生物荧光探针来进行生物荧光成像. 传统的生物荧光探针主要有有机染料和量子点. 近年来, UCNPs 所具有的光稳定性好、活体成像检测限低、信噪比高以及穿透深度大等优点, 使其超越有机染料和量子点成为更加理想的生物标记物^[52-54], 但是也存在成像方式单一、稀土离子发光弱、光敏剂 Er^{3+} 和激活剂之间存在能量回流等缺点^[55-56].

2.1 提高 UCNPs 的发光强度

为实现高质量的生物荧光成像, 优化纳米晶的发光效率, 克服上转换材料在应用过程中出现发光强度较小的缺陷成为研究的热点问题, 并出现了大量的相关研究和报道, 对此也取得了一定的研究进展. 提高纳米晶的发光强度主要是提高上转换纳米晶的荧光量子效率. 具体方法有改变涂层物质, 在表面嫁接能改善量子产率的物质; 在基质材料中添加非稀土离子; 对 UCNPs 进行表面包覆, 改变其结构减少能量回流等^[57].

Liu 等^[58]用 CaF_2 作为涂层制备了 $\text{CaF}_2:1\%\text{Er}^{3+}, 2\%\text{Yb}^{3+}$ UCNPs, 它在癌细胞内孵育 6 h 以后, 在 980 nm 的照射下能发出很强的绿光, 成为很好的生物成像材料. Pospisilova 等^[59]用将透明质酸 HA 和 UCNPs($\text{b-NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$)结合起来作为荧光探针, HA 有效地减少了 OA-UCNP 在水中的荧光猝灭, 经 HA 包裹后 UCNP 发出的绿色荧光增强了 10 倍左右, 该材料成功地标记了人体的纤维细胞和乳腺癌细胞. Choi 等^[60]把氧化石墨烯通过化学偶联的方式嫁接在表面修饰后的 UCNPs 上, 新形成的粒子在 460 nm 的激光照射下在肿瘤细胞中发出

强光, 时刻反馈癌细胞恢复的情况. Wang 和 Francolon 等^[61-63]利用树突化的 UCNPs 完成了高分辨率的皮质血管成像.

在基质材料中掺杂碱金属原子, 能实现能量的反向迁移过程, 进而来增强其上转换发光, 同时也可调节各个荧光峰之间的荧光强度比. 如 Hu 等^[64]在核壳结构的 $\text{NaLuF}_4:\text{Yb}, \text{Tm}$ 的粒子中掺杂 Li^+ , Li^+ 与壳层的协同效应使 UCNP 的发光强度增强了约 210 倍. 另外 Lu^{3+} 离子的重原子效应, 使 23 nm 的纳米粒子比临床造影剂显示出更好的 CT 成像性能.

最后, 提高上转换荧光量子产率的另一个较好的方法是对纳米晶进行包覆, 增加壳层厚度. 通常情况下, 纳米晶较低的上转换发光效率, 主要是由于纳米粒子表面与周围的配体发生了能量传递过程, 使能量发生转移, 引起猝光效应. 表面包覆能减少纳米晶表面的无辐射弛豫过程, 使上转换发光增强. Liu 等^[65]首先合成了多壳结构的上转换粒子 CS2 ($\text{NaYF}_4:\text{Yb}:\text{Er}@\text{NaYF}_4:\text{Yb}@\text{NaNdF}_4:\text{Yb}@\text{NaYF}_4@\text{NaGdF}_4$), 然后把 N- 羟基琥珀酰亚胺标记的吲哚菁绿(ICG-NHS)装载到制备 CS2 表面上制成 CS2-ICG 纳米复合材料, 实现光声成像(PAI)、荧光成像、MRI 的三模成像. 由于主要的激活剂换成了 Nd^{3+} , 而且具有了多壳结构以后, 激活剂和光敏剂的距离增大, 激活剂也没有直接暴露在配体上或者溶液中, UCNP 的 UCL 相比于单壳结构增强了 17.5 倍. Liu 等^[66]也用晶种法制备了粒径小于 6 nm 具有核壳结构的上转换光致发光(UCPL)的造影剂. 实验表明, 核/壳 UCNPs 的发光强度比对应的核心结构的 UCNC 高出约 1 000 倍, 并且核/壳结构的 PL 寿命更长, 这就说明壳层有效抑制了与芯体表面相关的猝光效应并且惰性壳层有保护核心的作用. 另外, 如果光敏剂和激活剂的距离很近, 光敏剂 Er^{3+} 和激活剂 Nd^{3+} 之间会有能量回流的现象, 即 Er^{3+} 的能量会回转到 Nd^{3+} , 能量回流以后使得成像效果减弱. Li 等^[67]设计并合成了具有分级结构由 Nd^{3+} 敏化的 $\text{NaYbF}_4:\text{Tm}@\text{NaYF}_4:\text{Yb}@\text{NaNdF}_4:\text{Yb}$ 纳米粒子, 中间层($\text{NaYF}_4:\text{Yb}$)有效地防止了从 Tm^{3+} 到 Nd^{3+} 的交叉弛豫过程, 富含敏化剂核心(NaYbF_4)还使能量更加有效地转移到 Tm^{3+} , 从而增强发光, 并且还显示出高的信噪比, 使制备的纳米颗粒还进一步应用于显影潜伏和血液指纹图像.

2.2 改善成像模式

近年来, 基于 UCNPs 的多模式成像技术也成

为研究热点之一. MRI 成像技术由于具有很高的 3D 空间分辨率, 已经应用于临床实验多年, 但是不足的是其成像灵敏度较低; 而荧光成像的灵敏度高但是 3D 分辨率低; 所以如果将磁性材料和荧光标记材料互补结合成复合材料, 两种材料的成像优势就会互补, 进而改善和提高生物成像效果. 研究者们已经很努力做出了获得基于上转换纳米复合材料的多模式成像探针.

钆(Gd^{3+})是广泛用于 MR 成像的顺磁松弛剂. 通过将发光稀土离子掺杂到含有 Gd^{3+} 的主体基质如 $NaGdY_4$ 中合成带有 Gd^{3+} 的 UCNPs, 其可以提供上转换发光成像和 T1 加权 MR 成像^[68]. 2009 年, Hyon 及其合作者^[69]第一次证明了在乳腺癌细胞(SK-BR3)中使用 PEG- 磷脂功能化的 $NaGdF_4$: Yb/Er 纳米颗粒, 能得到光学和 MR 成像. 随后, Kumar 等^[70]也报道了使用 $NaGdF_4$: Yb/Er 纳米晶可获得细胞的光学和 MR 成像. 然而在这两项研究中, $NaGdF_4$: Yb/Er 纳米颗粒仅用于细胞的体外多模式成像. 从 2011 年开始, 复旦大学李富友教授课题组发表了一系列在鼠体内多模式成像的研究报告^[65, 71-73]. 首先他们将 Tm^{3+} 、 Er^{3+} 、 Yb^{3+} 掺杂于 $NaGdF_4$ 基质中, 经壬二酸(azelaic acid, AA)表面改性后制得磁性亲水 AA-UCNPs, 经静脉注射到小鼠体内以后能得到上转换荧光和 MRI 成像图^[74]. 在这基础上, 他们通过稀土离子与氟离子之间的无机化学反应, 快速有效地将 ^{18}F 标记到 UCNPs 上, 得到了 PET、MRI、UCL 三者结合的三模式成像技术^[75]. 最近, Li 等^[16]将 UCNPs 核装入有机金属骨架化合物(MOFs)合成了具有 T2 加权的 UCL/MRI 示踪剂(UCNP@MCF). UCNP@MCF 既能显示 UCNP 核的光学性质, 又能显示 MOFs 的 T2-MRI 的特性. 经 PEG 和 FA 表面修饰后(UMP-FA), 能针对 KB 细胞进行高分辨率的 UCL 和 T2-MRI 双模式成像, 还具有光控释药, 靶向癌症治疗等功能. 同时, Li 等^[73]把钡(Ba)掺杂到上转换纳米粒子中, 使用油酸(OA)和盐酸处理后形成无配体的 LF-UCNP 上转换纳米探针, 该纳米探针可作为高效的多模式造影剂用于活体小鼠的肝脏和脾脏的 CT 和 MRI 成像, 在同等场强下相比临床所用 MRI 造影剂呈现出更高的 T1 弛豫率. 另外, He 等^[76-77]构建了拥有 T1-MRI 和 UCL 双模式成像的复合纳米粒子, 此复合材料有希望模拟药物递送平台, 治疗皮肤癌.

3 UCNPs 的新型多功能平台

3.1 诊疗一体化

如何在进行治疗的同时实时获知肿瘤治疗情况, 从而对治疗方法进行调整是近年研究的热点. UCNPs 本身也是一种荧光材料, 能够提供高灵敏度的光学成像. 利用 UCNPs 的天然光学成像潜力及借助掺杂多种具有成像潜力的镧系离子实现多模式成像, 对于治疗过程中对药物示踪及时改进治疗方案据有无可比拟的优势.

2016 年, Liu 等^[66, 78]首次将设计并合成的由 Yb^{3+}/Ln^{3+} 共掺杂的 Gd_2O_3 纳米粒子用于治疗诊断中, 该稀土基纳米造影剂可以应用于 UCL、MRI 及 CT 成像体系, 并和 PDT 技术结合治疗肿瘤. 随后, Sun 等^[79]设计并合成了以金 NR 二聚体为核心, 以连接了二氢卟吩 e6(Ce6)的 UCNPs 为壳, 通过碱基互补配对分层组装的纳米复合材料. 该复合材料能实现 UCL、T1 加权的 MR、PA 和 CT 多模式成像, 并且在成像的引导下进行 PTT 和 PDT 的联合治疗. 其中, NR 二聚体为光热剂, PDT 由 UCNP 激发, 如图 6. Tian 等^[80]也首次研究并合成了能同时控制释放两种混合抗癌药物, 喜树碱(CPT)和阿霉素(DOX)的上转换复合材料, 该材料不仅能获得选择性三态 UCL/MR/CT 细胞成像能力, 而且还可以用作靶向药物递送的载体, 并利用良好的叶酸定位模型, 通过受体-介导的内吞作用, 实现影像诊断和治疗. 神经内分泌肿瘤细胞虽然生长缓慢但是它们会频繁繁殖, 在发现肿瘤细胞转移时已不再适合用手术治疗. 针对上述问题, Chen 等^[29]以上转换为基础组成胶束包裹光敏剂和化学药剂, 并在上转换表面耦合 KE108 靶向药物, 该材料能对神经内分泌肿瘤细胞起到有很强的杀伤作用. 并且这种由上转换组成的胶束纳米平台在 980nm 的激光照射下能发出多个发光带, 包括 UV、540 nm、650 nm. 540 nm 能让包裹的化学药剂快速释放, UV 能让光敏剂产生单氧, 650 nm 可以荧光成像, 这样集化疗、光动力治疗、荧光成像一体, 加强了肿瘤治疗的效果. 最近, Du 等^[81]也将富勒烯(C60)、氧化铁(Fe_3O_4)纳米颗粒、疏水性抗癌药物多西紫杉醇(DTX)和上转换纳米荧光体(UCNP)装载到 N-琥珀酰基-N'-4-(2-硝基苄氧基)-琥珀酰壳聚糖胶束(SNSC)中, 制备新型复合材料用于治疗肿瘤. 实验表明, C60/ Fe_3O_4 -UCNP@DTX@SNSC 可以起协同作用, 通过在特定的靶位点释放化疗药物以及产

生活性氧来杀死肿瘤细胞. 此外, 该系统不仅能克服在控制药物释放时 UV 或可见光响应聚合物体系的缺点, 还可用于非侵入式核磁共振和上转换荧光

双模成像, 以实现肿瘤组织的有效治疗和实时监测, 展示了双模态成像和化疗 - 光动力学多机制结合治疗的效果.

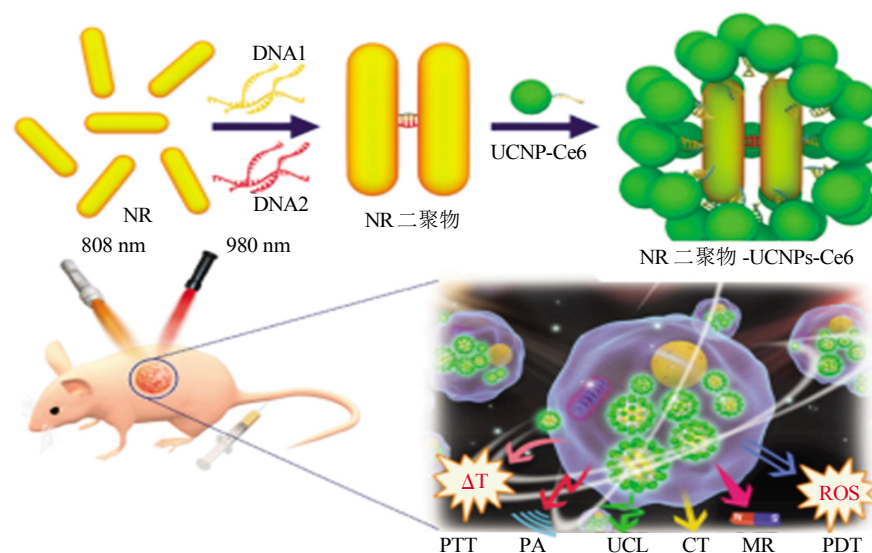


Fig. 6 Schematic diagram of aggregates of core-shell structures formed by assembly of DNA nanorod dimers and upconverting nanoparticles

图 6 DNA纳米棒二聚体与上转换纳米粒子组装形成的核壳结构聚集体模式图

3.2 联合治疗

将多种治疗方式整合在一个平台上, 能实现各种治疗方式的协同增强效应, 能有效地增加肿瘤细胞的杀伤率, 如上文中研究人员将化疗和 PTT 与 PDT 结合共同治疗肿瘤^[82-84].

此外, Zhou 等^[85]在上转换纳米颗粒(UCN)核心加载光敏剂玫瑰红(RB)后, 连接可生物降解并由 ROS 诱导生成的聚合物——1, 4- 亚苯基丙酮二甲基硫酮缩酮(PPADT), 形成外壳, 并在其中包裹阿霉素(DOX), 形成复合材料(UCN/SiO₂-RB+DOX@PPADTNPs). UCN 核心可以激活光敏剂 RB 产生 ROS, 多余的 ROS 能促使 PPADT 生物降解, 释放包裹的 DOX, 从而达到化疗和 PDT 同时治疗的效

果, 结构如图 7 所示. Zhang、Ford 等^[86-89]把一氧化氮的前体物质装在上转换离子中, 经过激光照射释放 NO, 高浓度的 NO 可以直接杀死癌细胞, 低浓度的 NO 可以减少化疗的抗药性. Xu 等^[25]将基于 UCNPs 的 PDT 与癌症免疫治疗相结合, 显示出显著的协同治疗结果, 其不仅消除了原发性肿瘤, 还抑制远端肿瘤, 预防肿瘤复发. 我们知道, 在治疗的时候会遇到抗药细菌, 抗药细菌会降低癌细胞死亡的效率. Yin 等^[90-91]通过聚阳离子水凝胶解决了这一问题, 他们把上转换粒子和光敏物质结合在季铵化的壳聚糖水凝胶上面, 聚阳离子水凝胶作为一种阴离子海绵分子, 能将抗药细菌细胞膜上的磷脂吸入凝胶内部空隙, 并导致膜破裂, 从而杀死抗

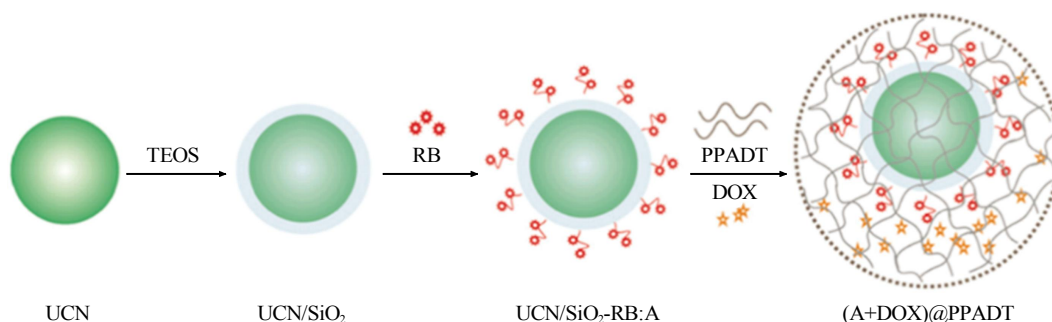


Fig. 7 Preparation process of the(UCN/SiO₂-RB+DOX)@PPADT NPs

图 7 (UCN/SiO₂-RB+DOX)@PPADT NPs的制备过程

药细菌, 使光敏剂产生的单线态氧高效地杀死肿瘤细胞.

4 结 语

UCNPs 以其独特的优点在生物医学领域被广泛应用, 应用过程中面临的问题也研究出了很多解决的途径, 但在以下几个方面还存在很大挑战:

a. 上转换粒子一般都需要控制尺寸和表面改性, 但是表面改性和尺寸对 UCNPs 在体内行为的影响还需要进一步研究. 目前体内的 UCNPs 一般会累积在网状内皮系统(RES), 例如肝脏和脾脏. 需要研究出更加优化的表面涂层方法和控制 UCNPs 大小的方法, 以改善其药代谢动力和肿瘤靶向, 以及降低其在 RES 的滞留时间.

b. 虽然目前的研究表明, 经过表面修饰的上转换粒子具有生物相容性, 在一定的用量范围之内没有生物毒性, 但是 UCNPs 的长时间的潜在毒性还没有被监测出来. 比如, 它是怎么和免疫系统联系的, 会不会影响生物的再生系统, 是否会影响下一代等. 在应用到临床以前, 还有很多系统的调查工作需要做.

c. 在生物成像中量子产率低, 通常不到 1%, 而且目前大量的体外和体内研究为可见光或 NIR- I 区域发射的 UCNP, 而关于 NIR- II 和 NIR- III 生物成像的报道仍然相对较少. (NIR- I : 700~950 nm, NIR- II : 1 000~1 350 nm, NIR- III : 1 550~1 870 nm).

参 考 文 献

- [1] Shin K, Jung T, Lee E, *et al.* Distinct mechanisms for the upconversion of $\text{NaYF}_4:\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}$ nanoparticles revealed by stimulated emission depletion. *Phys Chem Chem Phys*, 2017, **19**(15): 9739–9744
- [2] Tan G R, Wang M, Hsu C Y, *et al.* Small upconverting fluorescent nanoparticles for biosensing and bioimaging. *Advanced Optical Materials*, 2016, **4**(7): 984–997
- [3] Van Veggel F C, Dong C, Johnson N J, *et al.* Ln (3+)-doped nanoparticles for upconversion and magnetic resonance imaging: some critical notes on recent progress and some aspects to be considered. *Nanoscale*, 2012, **4**(23): 7309–7321
- [4] Wang P, Li X, Yao C, *et al.* Orthogonal near-infrared upconversion co-regulated site-specific O_2 delivery and photodynamic therapy for hypoxia tumor by using red blood cell microcarriers. *Biomaterials*, 2017, **125**: 90–100
- [5] Wang Y, Deng R, Xie X, *et al.* Nonlinear spectral and lifetime management in upconversion nanoparticles by controlling energy distribution. *Nanoscale*, 2016, **8**(12): 6666–6673
- [6] Wu S, Duan N, Zhu C, *et al.* Magnetic nanobead-based immunoassay for the simultaneous detection of aflatoxin B1 and ochratoxin A using upconversion nanoparticles as multicolor labels. *Biosens Bioelectron*, 2011, **30**(1): 35–42
- [7] Xie X. Renovating the chromoionophores and detection modes in carrier-based ion-selective optical sensors. *Anal Bioanal Chem*, 2016, **408**(11): 2717–2725
- [8] Wu Z, Xu E, Chughtai M F, *et al.* Highly sensitive fluorescence sensing of zearalenone using a novel aptasensor based on upconverting nanoparticles. *Food Chem*, 2017, **230**: 673–680
- [9] Thao C T B, Huy B T, Sharipov M, *et al.* $\text{Yb}^{3+}, \text{Er}^{3+}, \text{Eu}^{3+}$ -codoped YVO_4 material for bioimaging with dual mode excitation. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2017, **75**: 990–997
- [10] Pan W, Zhao J, Chen Q. Fabricating upconversion fluorescent probes for rapidly sensing foodborne pathogens. *J Agric Food Chem*, 2015, **63**(36): 8068–8074
- [11] Sun C, Li H, Koidis A, Chen Q. Quantifying aflatoxin B1 in peanut oil using fabricating fluorescence probes based on upconversion nanoparticles. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2016, **165**: 120–126
- [12] Wang C, Cheng L, Liu Z. Drug delivery with upconversion nanoparticles for multi-functional targeted cancer cell imaging and therapy. *Biomaterials*, 2011, **32**(4): 1110–1120
- [13] Yao C, Wang P, Li X, *et al.* Near-infrared-triggered azobenzene-liposome/upconversion nanoparticle hybrid vesicles for remotely controlled drug delivery to overcome cancer multidrug resistance. *Adv Mater*, 2016, **28**(42): 9341–9348
- [14] Dong C, Liu Z, Wang S, *et al.* A protein-polymer bioconjugate-coated upconversion nanosystem for simultaneous tumor cell imaging, photodynamic therapy, and chemotherapy. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2016, **8**(48): 32688–32698
- [15] Higgins L M, Zevon M, Ganapathy V, *et al.* Line-scanning confocal microscopy for high-resolution imaging of upconverting rare-earth-based contrast agents. *J Biomed Opt*, 2015, **20**(11): 110506
- [16] Li Y, Tang J, He L, *et al.* Core-shell upconversion nanoparticle@metal-organic framework nanoprobe for luminescent/magnetic dual-mode targeted imaging. *Adv Mater*, 2015, **27**(27): 4075–4080
- [17] Ai F, Sun T, Xu Z, *et al.* An upconversion nanoplatfor for simultaneous photodynamic therapy and Pt chemotherapy to combat cisplatin resistance. *Dalton Trans*, 2016, **45**(33): 13052–13060
- [18] Cai H, Shen T, Kirillov A M, *et al.* Self-assembled upconversion nanoparticle clusters for NIR-controlled drug release and synergistic therapy after conjugation with gold nanoparticles. *Inorg Chem*, 2017, **56**(9): 5295–5304
- [19] Li C, Lin J. Rare earth fluoride nano-/microcrystals: synthesis, surface modification and application. *J Mater Chem*, 2010, **20**(33): 6831–6847
- [20] Wang H, Han R L, Yang L M, *et al.* Design and synthesis of core-shell-shell upconversion nanoparticles for NIR-induced drug release, photodynamic therapy, and cell imaging. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2016, **8**(7): 4416–4423
- [21] Zhang P, Steelant W, Kumar M, *et al.* Versatile photosensitizers for photodynamic therapy at infrared excitation. *J Am Chem Soc*, 2007, **129**(15): 4526
- [22] Wang D, Liu B, Quan Z, *et al.* New advances on the marrying of

- UCNPs and photothermal agents for imaging-guided diagnosis and the therapy of tumors. *J Mater Chem B*, 2017, **5**(12): 2209–2230
- [23] Ai F, Ju Q, Zhang X, *et al.* A core-shell-shell nanoplatform upconverting near-infrared light at 808 nm for luminescence imaging and photodynamic therapy of cancer. *Sci Rep*, 2015, **5**: 10785
- [24] Cai H J, Shen T T, Zhang J, *et al.* A core-shell metal-organic-framework (MOF)-based smart nanocomposite for efficient NIR/H₂O₂-responsive photodynamic therapy against hypoxic tumor cells. *J Mater Chem B*, 2017, **5**(13): 2390–2394
- [25] Xu J, Xu L, Wang C, *et al.* Near-infrared-triggered photodynamic therapy with multitasking upconversion nanoparticles in combination with checkpoint blockade for immunotherapy of colorectal cancer. *ACS Nano*, 2017, **11**(5): 4463–4474
- [26] Lu S, Tu D T, Hu P, *et al.* Multifunctional nano-bioprobes based on rattle-structured upconverting luminescent nanoparticles. *Angew Chem Int Ed*, 2015, **54**: 7915–7919
- [27] Li A, Xu D, Zhang Y, *et al.* Upconversion luminescence and energy-transfer mechanism of NaGd(MoO₄)₂:Yb³⁺/Er³⁺ microcrystals. *J Am Ceram Soc*, 2016, **99**(5): 1657–1663
- [28] Chen D, Tao R, Tao K, *et al.* Efficacy dependence of photodynamic therapy mediated by upconversion nanoparticles: subcellular positioning and irradiation productivity. *Small*, 2017, **13**(13)
- [29] Chen G, Jaskula-Sztul R, Esquibel C R, *et al.* Neuroendocrine tumor-targeted upconversion nanoparticle-based micelles for simultaneous NIR-controlled combination chemotherapy and photodynamic therapy, and fluorescence imaging. *Adv Funct Mater*, 2017, **27**(8): 1604671
- [30] Lu S, Tu D, Hu P, *et al.* Multifunctional nano-bioprobes based on rattle-structured upconverting luminescent nanoparticles. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2015, **54**(27): 7915–7919
- [31] Zou H, Jin F, Song X, *et al.* Singlet oxygen generation of photosensitizers effectively activated by Nd³⁺-doped upconversion nanoparticles of luminescence intensity enhancing with shell thickness decreasing. *Appl Surf Sci*, 2017, **400**: 81–89
- [32] Zeng L, Pan Y, Zou R, *et al.* 808 nm-excited upconversion nanoprobe with low heating effect for targeted magnetic resonance imaging and high-efficacy photodynamic therapy in HER2-overexpressed breast cancer. *Biomaterials*, 2016, **103**: 116–127
- [33] Xu J, Yang P, Sun M, *et al.* Highly emissive dye-sensitized upconversion nanostructure for dual-photosensitizer photodynamic therapy and bioimaging. *ACS Nano*, 2017, **11**(4): 4133–4144
- [34] Idris N M, Gnanasammandhan M K, Zhang J, *et al.* *In vivo* photodynamic therapy using upconversion nanoparticles as remote-controlled nanotransducers. *Nat Med*, 2012, **18**(10): 1580
- [35] Chang Y, Li X, Zhang L, *et al.* Precise photodynamic therapy of cancer *via* subcellular dynamic tracing of dual-loaded upconversion nanophotosensitizers. *Sci Rep*, 2017, **7**: 45633
- [36] Chan M H, Pan Y T, Lee I J, *et al.* Minimizing the heat effect of photodynamic therapy based on inorganic nanocomposites mediated by 808 nm near-infrared light. *Small*, 2017, **13**(21)
- [37] Lv R, Yang D, Yang P, *et al.* Integration of upconversion nanoparticles and ultrathin black phosphorus for efficient photodynamic theranostics under 808 nm near-infrared light irradiation. *Chem Mater*, 2016, **28**(13): 4724–4734
- [38] Chang Y, Li X, Zhang L, *et al.* Precise photodynamic therapy of cancer *via* subcellular dynamic tracing of dual-loaded upconversion nanophotosensitizers. *Sci Rep*, 2017, **7**: 45633
- [39] Ai X, Ho C J, Aw J, *et al.* *In vivo* covalent cross-linking of photon-converted rare-earth nanostructures for tumour localization and theranostics. *Nat Commun*, 2016, **7**: 10432
- [40] Chen C W, Chan Y C, Hsiao M, *et al.* Plasmon-enhanced photodynamic cancer therapy by upconversion nanoparticles conjugated with Au nanorods. *ACS applied materials & interfaces*, 2016, **8**(47): 32108–32119
- [41] Zhang X, Ai F, Sun T, *et al.* Multimodal upconversion nanoplatform with a mitochondria-targeted property for improved photodynamic therapy of cancer cells. *Inorg Chem*, 2016, **55**(8): 3872
- [42] Gnanasammandhan M K, Idris N M, Bansal A, *et al.* Near-IR photoactivation using mesoporous silica-coated NaYF₄:Yb, Er/Tm upconversion nanoparticles. *Nat Protoc*, 2016, **11**(4): 688–713
- [43] Gao C, Lin Z, Jurado-Sánchez B, *et al.* Stem cell membrane-coated nanogels for highly efficient *in vivo* tumor targeted drug delivery. *Small*, 2016, **12**(30): 4056–4062
- [44] Ding H, Lv Y, Ni D, *et al.* Erythrocyte membrane-coated NIR-triggered biomimetic nanovectors with programmed delivery for photodynamic therapy of cancer. *Nanoscale*, 2015, **7** (21): 9806–9815
- [45] Rao L, Bu L L, Cai B, *et al.* Cancer cell membrane-coated upconversion nanoprobe for highly specific tumor imaging. *Adv Mater*, 2016, **28**(18): 3460
- [46] Rao L, Meng Q F, Bu L L, *et al.* Erythrocyte membrane-coated upconversion nanoparticles with minimal protein adsorption for enhanced tumor imaging. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2017, **9**(3): 2159–2168
- [47] Ding Q, Zhan Q, Zhou X, *et al.* Theranostic upconversion nanobeacons for tumor mRNA ratiometric fluorescence detection and imaging-monitored drug delivery. *Small*, 2016, **12**(43): 5944–5953
- [48] Gao C, Lin Z, Wu Z, *et al.* Stem-cell-membrane camouflaging on near-infrared photoactivated upconversion nanoarchitectures for *in vivo* remote-controlled photodynamic therapy. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2016, **8**(50): 34252–34260
- [49] Hu P, Wang R, Zhou L, *et al.* Near-infrared-activated upconversion nanoprobe for sensitive endogenous Zn²⁺ detection and selective on-demand photodynamic therapy. *Anal Chem*, 2017, **89** (6): 3492–3500
- [50] Hu G, Sheng W, Zhang Y, *et al.* Upconversion nanoparticles and monodispersed magnetic polystyrene microsphere based fluorescence immunoassay for the detection of sulfaquinolaxine in animal-derived foods. *J Agric Food Chem*, 2016, **64** (19): 3908–3915
- [51] Peng J, Xu W, Teoh C L, *et al.* High-efficiency *in vitro* and *in vivo* detection of Zn²⁺ by dye-assembled upconversion nanoparticles. *J Am Chem Soc*, 2015, **137**(6): 2336–2342
- [52] Alkahtani M, Chen Y, Pedraza J J, *et al.* High resolution fluorescence bio-imaging upconversion nanoparticles in insects. *Opt Express*, 2017, **25**(2): 1030–1039
- [53] Cheng L, Wang C, Liu Z. Upconversion nanoparticles and their

- composite nanostructures for biomedical imaging and cancer therapy. *Nanoscale*, 2013, **5**(1): 23–37
- [54] Liu P, Miu W. Hydrothermal synthesis of BaYbF₅:Tm³⁺ nanoparticles for dual-modal upconversion near-infrared luminescence and magnetic resonance imaging. *Functional Materials Letters*, 2016, **09**(03): 1650038
- [55] Rao L, Lu W, Zeng T, *et al.* Sub-10 nm BaLaF₅:Mn/Yb/Er nanoprobes for dual-modal synergistic *in vivo* upconversion luminescence and x-ray bioimaging. *J Mater Chem B*, 2014, **2**(38): 6527–6533
- [56] Alkahtani M H, Alghannam F S, Sanchez C, *et al.* High efficiency upconversion nanophosphors for high-contrast bioimaging. *Nanotechnology*, 2016, **27**(48): 485501
- [57] Reddy K L, Prabhakar N, Arppe R, *et al.* Microwave-assisted one-step synthesis of acetate-capped NaYF₄:Yb/Er upconversion nanocrystals and their application in bioimaging. *Journal of Materials Science*, 2017, **52**(10): 5738–5750
- [58] Liu G, Sun Z, Fu Z, *et al.* Temperature sensing and bio-imaging applications based on polyethylenimine/CaF₂ nanoparticles with upconversion fluorescence. *Talanta*, 2017, **169**: 181–188
- [59] Pospisilova M, Mrazek J, Matuska V, *et al.* Oleyl-hyaluronan micelles loaded with upconverting nanoparticles for bio-imaging. *J Nanopart Res*, 2015, **17**(9): 1–11
- [60] Choi S Y, Baek S H, Chang S J, *et al.* Synthesis of upconversion nanoparticles conjugated with graphene oxide quantum dots and their use against cancer cell imaging and photodynamic therapy. *Biosens Bioelectron*, 2017, **93**: 267–273
- [61] Wang B Y, Liao M L, Hong G C, *et al.* Near-infrared-triggered photodynamic therapy toward breast cancer cells using dendrimer-functionalized upconversion nanoparticles. *Nanomaterials*, 2017, **7**(9): 269–287
- [62] Wang Y, Zhang D, Cai J, *et al.* Biosilica structures obtained from *Nitzschia*, *Ditylum*, *Skeletonema*, and *Coscinodiscus* diatom by a filtration-aided acid cleaning method. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2012, **95**(5): 1165–1178
- [63] Francolon N, Boyer D, Leccia F, *et al.* Preparation of core/shell NaYF₄:Yb, Tm@dendrons nanoparticles with enhanced upconversion luminescence for *in vivo* imaging. *Nanomedicine*, 2016, **12**(7): 2107–2113
- [64] Hu M, Ma D, Cheng Y, *et al.* Synergistically enhanced upconversion luminescence in Li⁺-doped core-shell-structured ultrasmall nanoprobes for dual-mode deep tissue fluorescence/CT imaging. *J Mater Chem B*, 2017, **5**(14): 2662–2670
- [65] Li J, Zhu X, Xue M, *et al.* Nd (3+)-sensitized upconversion nanostructure as a dual-channel emitting optical probe for near infrared-to-near infrared fingerprint imaging. *Inorg Chem*, 2016, **55**(20): 10278–10283
- [66] Liu J, Huang L, Tian X, *et al.* Magnetic and fluorescent Gd₂O₃:Yb (3+)/Ln (3+) nanoparticles for simultaneous upconversion luminescence/MR dual modal imaging and NIR-induced photodynamic therapy. *International Journal of Nanomedicine*, 2017, **12**: 1–14
- [67] Liu J, Chen G, Hao S, *et al.* Sub-6 nm monodisperse hexagonal core/shell NaGdF₄ nanocrystals with enhanced upconversion photoluminescence. *Nanoscale*, 2017, **9**(1): 91–98
- [68] Ge W, Li Z, Lei Z, *et al.* Synthesis of hexagonal phase Gd₂O₃:CO₃:Yb³⁺, Er³⁺ upconversion nanoparticles *via* SiO₂ coating and Nd³⁺ doping. *Cryst Eng Comm*, 2015, **17**(30): 5702–5709
- [69] Yong I P, Kim J H, Kang T L, *et al.* Nonblinking and nonbleaching upconverting nanoparticles as an optical imaging nanoprobe and T1 magnetic resonance imaging contrast agent. *Adv Mater*, 2009, **21**(44): 4467–4471
- [70] Kumar R, Nyk M, Ohulchanskyy T Y, *et al.* Combined optical and MR bioimaging using rare earth ion doped NaYF₄ nanocrystals. *Adv Funct Mater*, 2009, **19**(6): 853–859
- [71] J Z, M Y, Y S, *et al.* Fluorine-18-labeled Gd³⁺/Yb³⁺/Er³⁺ co-doped NaYF₄ nanophosphors for multimodality PET/MR/UCL imaging. *Biomaterials*, 2011, **32**(4): 1148–1156
- [72] Sun Y, Yu M, Liang S, *et al.* Fluorine-18 labeled rare-earth nanoparticles for positron emission tomography (PET) imaging of sentinel lymph node. *Biomaterials*, 2011, **32**(11): 2999–3007
- [73] Li X, Yi Z, Xue Z, *et al.* Multifunctional BaYbF₅: Gd/Er upconversion nanoparticles for *in vivo* tri-modal upconversion optical, x-ray computed tomography and magnetic resonance imaging. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2017, **75**(1): 510–516
- [74] Zhou J, Sun Y, Du X, *et al.* Dual-modality *in vivo* imaging using rare-earth nanocrystals with near-infrared to near-infrared (NIR-to-NIR) upconversion luminescence and magnetic resonance properties. *Biomaterials*, 2010, **31**(12): 3287–3295
- [75] Liu Q, Chen M, Sun Y, *et al.* Multifunctional rare-earth self-assembled nanosystem for tri-modal upconversion luminescence/fluorescence/positron emission tomography imaging. *Biomaterials*, 2011, **32**(32): 8243
- [76] He F, Li C, Zhang X, *et al.* Optimization of upconversion luminescence of Nd (3+)-sensitized BaGdF₅-based nanostructures and their application in dual-modality imaging and drug delivery. *Dalton Trans*, 2016, **45**(4): 1708–1716
- [77] He L, Yang L, Zhu H, *et al.* A highly sensitive biosensing platform based on upconversion nanoparticles and graphene quantum dots for the detection of Ag. *Methods Appl Fluoresc*, 2017, **5**(2): 024010
- [78] Liu Y, Kang N, Lv J, *et al.* Deep photoacoustic/luminescence/magnetic resonance multimodal imaging in living subjects using high-efficiency upconversion nanocomposites. *Adv Mater*, 2016, **28**(30): 6411–6419
- [79] Sun M, Xu L, Ma W, *et al.* Hierarchical plasmonic nanorods and upconversion core-satellite nanoassemblies for multimodal imaging-guided combination phototherapy. *Adv Mater*, 2016, **28**(5): 898–904
- [80] Tian G, Yin W, Jin J, *et al.* Engineered design of theranostic upconversion nanoparticles for tri-modal upconversion luminescence/magnetic resonance/x-ray computed tomography imaging and targeted delivery of combined anticancer drugs. *Journal of Materials Chemistry B*, 2014, **2**(10): 1379–1389
- [81] Du B, Han S, Zhao F, *et al.* A smart upconversion-based light-triggered polymer for synergetic chemo-photodynamic therapy and dual-modal MR/UCL imaging. *Nanomedicine*, 2016, **12**(7): 2071–2080
- [82] Lee J, Gordon A C, Kim H, *et al.* Targeted multimodal nano-reporters for pre-procedural MRI and intra-operative image-guidance. *Biomaterials*, 2016, **109**: 69–77

- [83] Liu T, Li S, Liu Y, *et al.* Mn-complex modified NaDyF₄:Yb@NaLuF₄:Yb, Er@polydopamine core-shell nanocomposites for multifunctional imaging-guided photothermal therapy. *J Mater Chem B*, 2016, **4**(15): 2697–2705
- [84] Park H S, Nam S H, Kim J, *et al.* Clear-cut observation of clearance of sustainable upconverting nanoparticles from lymphatic system of small living mice. *Sci Rep*, 2016, **6**: 27407–27414
- [85] Zhou F, Zheng B, Zhang Y, *et al.* Construction of near-infrared light-triggered reactive oxygen species-sensitive (UCN/SiO₂-RB + DOX)@PPADT nanoparticles for simultaneous chemotherapy and photodynamic therapy. *Nanotechnology*, 2016, **27**(23): 235601
- [86] Zhang T, Lin H, Cui L, *et al.* Near infrared light triggered reactive oxygen species responsive upconversion nanoplatform for drug delivery and photodynamic therapy. *Eur J Inorg Chem*, 2016, **2016**(8): 1206–1213
- [87] Zhang X, Tian G, Yin W, *et al.* Controllable generation of nitric oxide by near-infrared-sensitized upconversion nanoparticles for tumor therapy. *Adv Funct Mater*, 2015, **25**(20): 3049–3056
- [88] Ford P C. Photochemical delivery of nitric oxide. *Nitric Oxide*, 2013, **34**: 56–64
- [89] Garcia J V, Yang J, Shen D, *et al.* NIR-triggered release of caged nitric oxide using upconverting nanostructured materials. *Small*, 2012, **8**(24): 3800–3805
- [90] Yin M, Li Z, Zhou L, *et al.* A multifunctional upconverting nanoparticle incorporated polycationic hydrogel for near-infrared triggered and synergistic treatment of drug-resistant bacteria. *Nanotechnology*, 2016, **27**(12): 125601
- [91] Huang Y, Hemmer E, Rosei F, *et al.* Multifunctional liposome nanocarriers combining upconverting nanoparticles and anticancer drugs. *J Phys Chem B*, 2016, **120**(22): 4992–5001

The Development and Application of Up-conversion Nanomaterials in Biomedical*

LIN Gui-Jiao¹⁾, WAN A-Jun^{1)**}, LI Hui-Li²⁾, TU Run-Qiu¹⁾, XIE Xin-Jue¹⁾, XIE Yi-Xuan¹⁾, YUE Wei-Dong¹⁾

¹⁾ Institute of New Rural Development, Institute of Medicine, Tongji University, Shanghai 200092, China;

²⁾ Engineering Research Center of Cell & Therapeutic Antibody, Ministry of Education, and School of Pharmacy, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240, China)

Abstract Upconversion luminescent nanomaterials have the significant advantages of long fluorescence lifetime, low potential biotoxicity, large penetration depth, small damage to biological tissues and few background light. In recent years, photodynamic therapy, bioimaging and biological detection have been widely used, but in the process of application, there are some problems such as low efficiency of energy transfer between UCNPs and target, overheating of normal tissues. In biological imaging, the fluorescence intensity is weak, the photosensitizer and activator have energy reflow, and the imaging mode is single. Researchers have developed a lot of solutions to these problems, such as shortening the distance between UCNPs and targets, changing the intensity of laser irradiation and the structure of UCPs, integrating UCNPs as a new multifunctional platform for imaging and treatment, etc., so that some of the problems are well solved. This review focuses on the solutions to the problems that arised from the use of UCNPs in PDT and bioimaging. The future development of UCNPs in biomedicine is also discussed.

Key words up-conversion, photodynamic therapy, bioimaging, novel multi-function platform

DOI: 10.16476/j.pibb.2018.0046

* This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (21076124, 51173104) and Shanghai Jiaotong University Joint Fund (YG2014MS65).

**Corresponding author.

Tel: 86-13816688116, E-mail: wanajun@tongji.edu.cn

Received: April 23, 2018 Accepted: June 11, 2018