

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2025.01.021

靶向肿瘤新生血管的磁共振造影剂 RGD-USPIO 的制备及其体外成像研究*

刘 灿¹ 李 媛^{2Δ} 孙 锐³ 漆辉雄⁴ 刘东伯⁵ 仇树帅⁶

(1 武汉市第四医院肿瘤科 湖北 武汉 430033; 2 武汉市第四医院妇产科 湖北 武汉 430033;
3 武汉大学人民医院肿瘤中心 湖北 武汉 430060;
4 湖北文理学院附属医院、襄阳市中心医院肿瘤科 湖北 襄阳 441000;
5 华中科技大学同济医学院附属同济医院肿瘤中心 湖北 武汉 430030;
6 武汉市第四医院肿瘤科放射治疗室 湖北 武汉 430033)

摘要 目的:本研究旨在制备一种针对肿瘤外周新生血管内皮 $\alpha_v\beta_3$ 整合素的新型靶向纳米磁共振 (MR) 造影剂,并在体外环境中利用高场强 MR 对其成像特性进行深入探究。**方法:**通过碳二亚胺法,将小分子环肽精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸 (RGD)-苯丙氨酸-谷氨酸 (cRGDFE) 与超小型超顺磁性氧化铁纳米颗粒 (USPIO) 偶联,成功制备出 RGD-USPIO 纳米复合物造影剂。随后,我们利用透射电镜 (TEM) 对 RGD-USPIO 的物理特性进行了详细检测。为了验证其靶向性和特异性,我们选择了高表达 $\alpha_v\beta_3$ 整合素的人脐静脉内皮细胞 (HUVECS) 作为研究对象,并通过铁染色技术检测了 RGD-USPIO 对 $\alpha_v\beta_3$ 的靶向性和特异性。此外,我们还利用 TEM 观察了 RGD-USPIO 在细胞内的分布情况。最后,通过 4.7T MR 技术,我们检测了不同时间间隔内, HUVECS 摄取 USPIO 和 RGD-USPIO 后 MR 的 T2 值的变化情况。**结果:**实验结果显示, RGD-USPIO 具有较小的粒径和良好的分散度,能够特异性地与 $\alpha_v\beta_3$ 整合素结合,展现出优异的靶向性。在 HUVECS 中, RGD-USPIO 主要分布于细胞膜表面及胞浆内。与 USPIO 组相比, RGD-USPIO 组在 MR 中 T2 信号强度 (SI) 显著下降,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论:**本研究成功制备了一种具有靶向性和特异性的 MR 纳米造影剂 -RGD-USPIO, 该造影剂能够特异性地与 HUVECS 上高表达的整合素 $\alpha_v\beta_3$ 相结合,并显著降低 4.7T MR 的 T2 值。这一研究为后续的体内实验提供了有力的实验依据,有望为肿瘤新生血管的精准诊断提供新的技术手段。

关键词: MR 分子成像; 肿瘤; 纳米造影剂; 整合素 $\alpha_v\beta_3$; 氧化铁纳米颗粒

中图分类号: R445.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2025)01-146-08

Preparation and in vitro Imaging Study of Magnetic Resonance Contrast Agent RGD-USPIO Targeting Tumor Neovascularization*

LIU Can¹, LI Yuan^{2Δ}, SUN Rui³, QI Hui-xiong⁴, LIU Dong-bo⁵, QIU Shu-shuai⁶

(1 Department of Oncology, Wuhan Fourth Hospital, Wuhan, Hubei, 430033, China;
2 Department of Obstetrics and Gynecology, Wuhan Fourth Hospital, Wuhan, Hubei, 430033, China;

* 基金项目: 国家自然科学基金项目 (82372918); 2021 年度武汉市卫生健康委员会科研项目 (WX21C28);

武汉市科技局 2022 年度知识创新专项基础研究项目 (2020020801010559)

作者简介: 刘灿 (1980-), 男, 硕士, 主治医师, 从事恶性肿瘤放射治疗、化学治疗、靶向及免疫治疗等方向的研究,

E-mail: liucanmd0617@163.com

Δ 通讯作者: 李媛 (1983-), 女, 硕士, 主治医师, 从事妇科疾病及产科等方向的研究, E-mail: 2642521084@qq.com

(收稿日期: 2024-07-15)

3 Cancer Center, Renmin Hospital of Wuhan University, Cancer Center, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei, 430060, China; 4 Department of Oncology, Xiangyang Central Hospital, Affiliated Hospital of Hubei University of Arts and Science, Xiangyang, Hubei, 441000, China;

5 Cancer Center, Tongji Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei, 430030, China;

6 Radiation Therapy Room, Department of Oncology, Wuhan Fourth Hospital, Wuhan, Hubei, 430033, China)

ABSTRACT Objective: This study aimed to prepare a novel targeted nano-magnetic resonance (MR) contrast agent targeting $\alpha_v\beta_3$ integrin on the neovascular endothelium of tumors and to explore its imaging characteristics in depth using high-field MR in vitro. **Methods:** Through the carbodiimide method, the small molecule cyclic peptide arginine-glycine-aspartic acid (RGD)-phenylalanine-glutamic acid (cRGDFE) was successfully coupled with ultra-small superparamagnetic iron oxide nanoparticles (USPIO) to prepare the RGD-USPIO nanocomposite contrast agent. Subsequently, we used transmission electron microscopy (TEM) to examine the physical properties of RGD-USPIO in detail. To verify its targeting and specificity, we selected human umbilical vein endothelial cells (HUVECSs) with high expression of $\alpha_v\beta_3$ integrin as the research object, and detected the targeting and specificity of RGD-USPIO to $\alpha_v\beta_3$ by iron staining technique. Additionally, we observed the intracellular distribution of RGD-USPIO using TEM. Finally, we examined the changes in MR T2 values at different time intervals after HUVECS uptake of USPIO and RGD-USPIO using 4.7T MR technology. **Results:** Experimental results showed that RGD-USPIO had a small particle size and good dispersibility, could specifically bind to $\alpha_v\beta_3$ integrin, and demonstrated excellent targeting. In HUVECSs, RGD-USPIO was mainly distributed on the cell membrane surface and in the cytoplasm. Compared with the USPIO group, the RGD-USPIO group showed a significant decrease in T2 signal intensity (SI) in MR, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion:** This study successfully prepared a targeted and specific MR nano-contrast agent, RGD-USPIO, which can specifically bind to the highly expressed integrin $\alpha_v\beta_3$ on HUVECSs and significantly reduce the T2 value of 4.7T MR. This study provides a strong experimental basis for subsequent in vivo experiments and is expected to provide new technical means for precise diagnosis of tumor neovascularization.

Key words: MR Molecular Imaging; Tumor; Nano-contrast agent; Integrin $\alpha_v\beta_3$; Iron Oxide Nanoparticles

Chinese Library Classification (CLC): R445.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2025)01-146-08

前言

磁共振 (MR) 因软组织分辨力强、无辐射、多维成像且价格相对较低, 已成为恶性实体肿瘤诊断的重要影像学技术^[1]。但传统 MR 造影剂钆 (Gd-DTPA) 主要缩短 T1 弛豫时间, 且非特异性地分布于细胞外间隙, 难以精准显示细胞、分子水平的亚临床病灶^[2], 尤其在恶性肿瘤精准放疗靶区勾画时面临挑战^[3]。为克服现有局限, 研发能特异性聚集于恶性实体肿瘤新生毛细血管的 MR 分子靶向造影剂至关重要^[4]。超小型超顺磁性氧化铁纳米颗粒 (USPIO) 作为新型

造影剂, 主要降低 T2 信号, 提升敏感性与特异性, 应用广泛且安全性优于 Gd-DTPA^[5]。新生血管形成对恶性肿瘤生长和转移至关重要^[6]。其中整合素 $\alpha_v\beta_3$ 是新生血管的标志, 高表达于新生血管内皮细胞, 而在其它细胞中表达极低^[7,8]。 $\alpha_v\beta_3$ 与肿瘤恶性程度相关, 能识别精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸 (RGD) 序列^[9]。本实验设计 RGD-USPIO 纳米靶向造影剂, 体外实验证实其能特异的检测 $\alpha_v\beta_3$ 表达。此技术研发有望精确界定宫颈癌等恶性肿瘤的放疗靶区, 并结合抗肿瘤药物实现非侵袭性治疗与疗效监测^[10]。

1 材料和方法

1.1 主要试剂和仪器

HUVECS 细胞株受赠于武汉同济医院肿瘤中心实验室。标准铁溶液 (GBW08616, 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$) (国家标准物质研究中心), NHS (N- 羧基琥珀酰亚胺), EDC (1- 乙基 - (3- 二甲基氨基丙基) 碳化二亚胺盐酸盐) (上海品纯公司), 磁性分离器及 USPIO (TANBead) 购自台湾原点奈米技术开发公司, 主要核心为 Fe_3O_4 , 直径 6-10 nm, $\text{pH}=3.8 \pm 0.5$, 铁浓度 10 mg/mL , 小分子环肽 RGDfE (cyclo (Arg-Gly-Asp-D-Phe-Glu)) 购买于 Peptides International, Inc. FEI Tecnai G2 透射电镜 (transmission electron microscope, TEM, 荷兰)。Biospec 4.7T/30 cm 小动物磁共振成像仪 (德国 Bruker 公司)。

1.2 细胞培养

HUVECS 细胞在 RPMI 1640 培养基中培育, 使用标准培养箱进行 48 至 72 小时的培养周期。当细胞达到对数增长阶段时, 即进行后续实验操作。

1.3 制备 RGD-USPIO 纳米分子造影剂

将 NHS (0.6 mg) 与 EDC (0.4 mg) 溶于 1 mL MES 缓冲液, 混合后加入 0.3 mL 含 300 μg 环肽 RGDfE 的反应液, 室温静置 15 min。之后, 将 20 mg 磁性 USPIO (经 PBS 溶解、磁性分离洗涤) 与 RGDfE 混合, 室温振荡反应 4 h。产物经磁性分离、洗涤, 调整至 5 mL PBS, 并添加柠檬酸 (4.16 g/L) 和甘露醇 (60 g/L) 稳定, 最终制得铁浓度 15 μM 的 RGD-USPIO 纳米造影剂。

1.4 TEM 分别检测 USPIO 和 RGD-USPIO 的物理特性

分别将单纯的 USPIO 和 RGD-USPIO 复合物加入去离子水稀释至 Fe 浓度为 3.75 $\mu\text{mol}/\text{mL}$, 经滴片干燥处理后, TEM 下分别检测其粒径及分布情况。

1.5 铁染色检测 HUVECS 对 RGD-USPIO 的摄取情况及 RGD-USPIO 的靶向性、特异性

等量的 HUVECS 接种于 6 孔板 (含盖玻片), 培养 48 小时后, 分别暴露于 USPIO (A 组)、RGD-USPIO (B 组) 及先加游离 RGD 后加 RGD-USPIO (C 组)。在振荡器中孵育不同时长 (0.5 h、1 h、2 h) 后, 用 PBS 清洗, 甲醇固定细

胞, 再用亚铁氰化钾盐酸溶液染色 30 分钟, 随后核固红复染), 最后脱水、透明、封片。不加底物的 HUVECS 培养孔为对照组。

1.6 TEM 检测 HUVECS 摄取 RGD-USPIO 后亚细胞超微结构定位

在含有 5 mL 不完全培养基的 HUVECS 培养瓶中, 分别加入 0.03 $\mu\text{mol}/\text{L}$ USPIO (A、B) 和 RGD-USPIO (C、D), 孵育 30/120 分钟后收集细胞, 经洗涤、离心浓缩至 Ep 管底部, 使用 2.5% 戊二醛固定约 2×10^6 个细胞 2 小时。固定后样本经切片后通过 TEM 观察纳米颗粒在细胞内的精确定位及超微结构。

1.7 4.7T MR 对 RGD-USPIO 纳米造影剂体外成像并检测其 T1、T2 值的变化

将 HUVECS 分别与 USPIO 和 RGD-USPIO 培养 30 min、1 h 及 2 h 后, 收集细胞于液态明胶中, 待明胶凝固后, 利用 4.7T 的小动物 MR 对样本进行检测。参数如下: T1WI: TR=500 ms, TE=14.5 ms, NA 为 2, 矩阵 = 128×128 , 层厚 = 1 mm, 视野 = $4.0 \text{ cm} \times 4.0 \text{ cm}$; T2 WI: TR=3300 ms, TE=30 ms, 360 ~ 600 ms, 采用 12 回波技术, NA=2, 矩阵 = 128×128 , 层厚为 1 mm, 视野为 $4.0 \text{ cm} \times 4.0 \text{ cm}$ 。

1.8 统计学处理

数据分析采用 GraphPad Prism 8.0.1 统计学软件进行。计量数据以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 通过 t 检验比较两组间各时间点的差异, 重复测量的方差分析比较两组内的差异, $P < 0.05$ 时认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 TEM 检测 USPIO 及 RGD-USPIO 纳米造影剂的物理特性

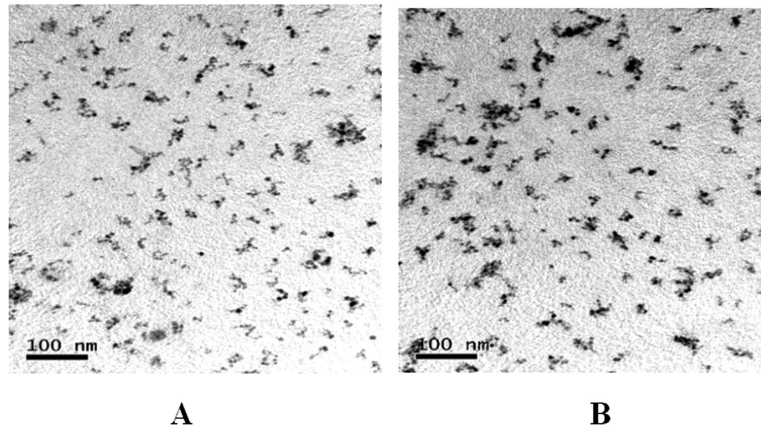
单纯的 USPIO 粒径小, 其粒径分布为 6 ~ 10 nm, 分散度良好 (图 1A), RGD-USPIO 偶联后, 相较于 USPIO, 其分散性略有降低, 部分颗粒呈现轻微聚集, 其粒径分布为 $15 \pm 5 \text{ nm}$ (图 1B)。

2.2 研究 HUVECS 细胞对 USPIO (A)、RGD-USPIO (B) 及先加 RGD 再加 RGD-USPIO (C) 的摄取情况

实验发现, USPIO 与 HUVECS 共培养后, 铁染色示 USPIO 颗粒为蓝色, 细胞核为红色。

USPIO-RGD 组早期即见大量蓝染颗粒，随时间增加。RGD 预处理 RGD-USPIO 组及单纯 USPIO 组初时无显著蓝染，但随时间增长蓝染逐渐增

多，提示胞吞作用。空白对照组无蓝染颗粒(见图 2)。



A **B**
图 1 USPIO 及 RGD-USPIO 的电镜检测图

Fig.1 Electron microscope images of USPIO and RGD-USPIO

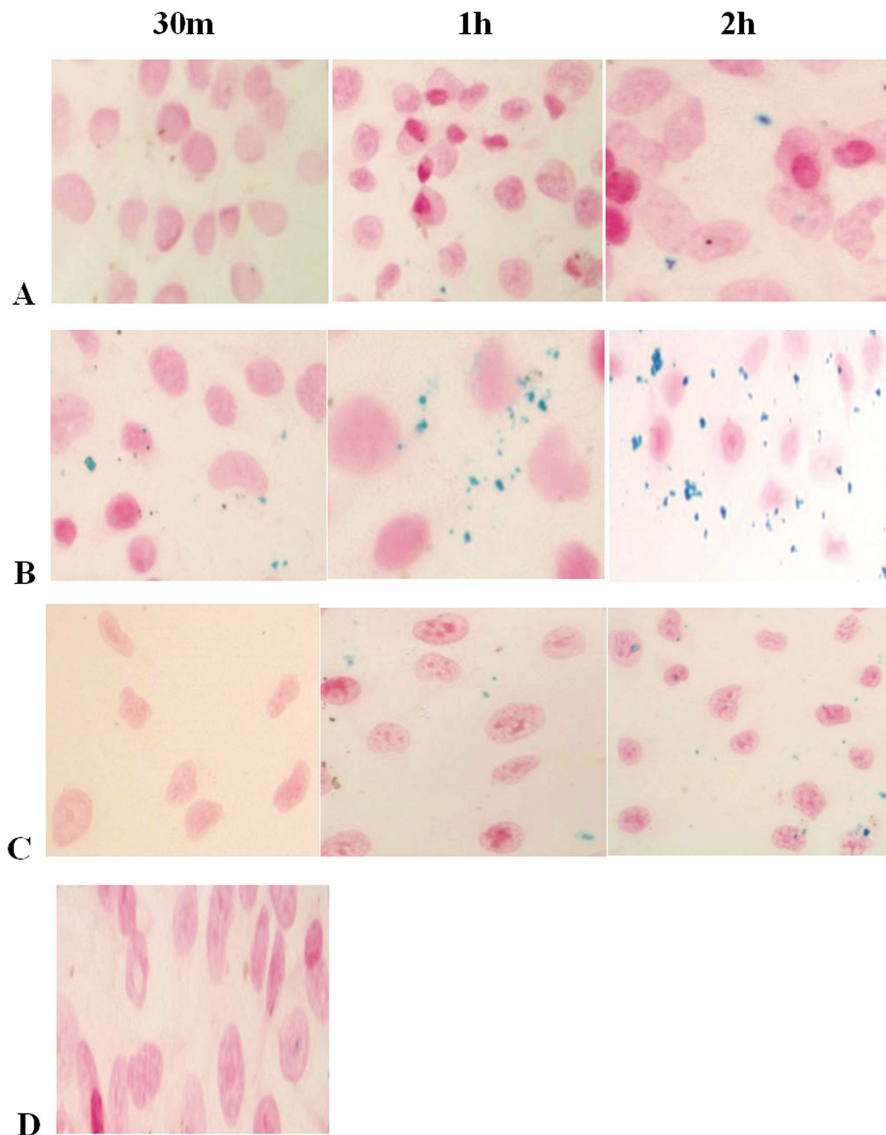


图 2 HUVCECs 对 A 组, B 组及 C 组的摄取情况(铁染色, × 200)

Fig.2 HUVCECs uptake on groups A, B and C (Fe staining, × 200)

Note: A: USPIO; B: RGD-USPIO; C: Add RGD first and then RGD-USPIO; D: Blank control.

2.3 TEM 检测 RGD-USPIO 在 HUVECS 细胞内的超微结构定位

USPIO (A)、RGD-USPIO (C) 分别与 HUVECS 孵育 30 分钟后行 TEM 检测, 结果显示, USPIO (A) 与 HUVECS 孵育 30 分钟后, 纳米颗粒主要滞留在细胞外间隙; 而 RGD-USPIO (C) 组则在细

胞膜表面发现纳米颗粒 (箭头所示)。延长至 120 分钟孵育, USPIO (B) 组仅见少量纳米颗粒入胞; 相比之下, RGD-USPIO (D) 组则在细胞膜表面及细胞内均观察到大量纳米颗粒 (箭头所示)(见图 3)。

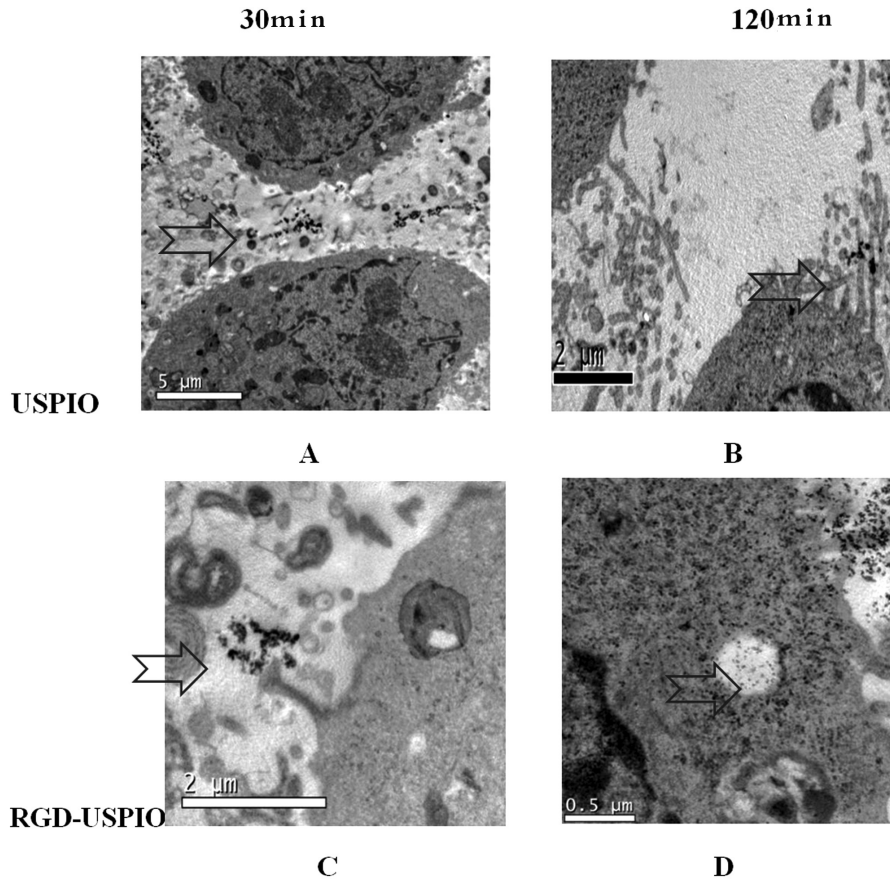


图 3 TEM 检测 RGD-USPIO 在 HUVECS 细胞内的超微结构定位

Fig.3 Ultrastructural localization of RGD-USPIO in HUVECS cells was detected by TEM

Note: A: TEM detection images of USPIO incubated with HUVECS for 30 minutes; B: TEM detection images of USPIO incubated with HUVECS for 120 minutes; C: TEM detection images of RGD-USPIO incubated with HUVECS for 30 minutes; D: TEM detection images of RGD-USPIO incubated with HUVECS for 120 minutes.

2.4 RGD-USPIO 纳米造影剂体外对 4.7T MR T2 值的影响

随着时间延长, A 组 T2 信号轻度逐渐轻度下降, B 组 T2 信号明显下降, (见图 4)。与 USPIO 组相比, RGD-USPIO 组在 MR 中 T2 信号强度 (SI) 显著下降, 两组间各时间点差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$)。RGD-USPIO 组内, 各时间点 T2 信号值均明显下降 ($P < 0.05$), (表 1)。

3 讨论

分子生物学与基因组学技术的飞跃, 推动

了无创、高分辨率、高灵敏度及特异性在体成像技术的兴起, 催生了分子影像学。靶向分子成像技术作为其关键一环, 专注于细胞、蛋白及基因层面的精准成像, 分子成像技术为疾病诊断和治疗提供了新的思路^[11]。达成此目标的关键在于研发高效探针, 其需具备高亲和力与良好药代动力学, 能透过生物屏障, 并利用信号增强技术, 结合先进影像手段实现精准成像^[11]。此外, 靶向分子成像影像技术应兼具安全、高灵敏度、高特异性、良好的组织相容性、低背景噪声与高对比度、信号增强潜力等特性^[11]。当前, 分子影

像技术涵盖核素扫描成像(PET/CT、SPECT)、磁共振(MR/MRS)及超声成像等多种技术手段^[12]。放射性核素(如¹⁸F、⁶⁸Ga和⁶⁴Cu)标记的环RGD肽已多次成功的应用于PET显像^[13]。Burko P

等研究^[14]显示通过RGD介导的PET显像在脑胶质瘤的诊断,治疗疗效评估及预测等方面具有一定的临床价值。

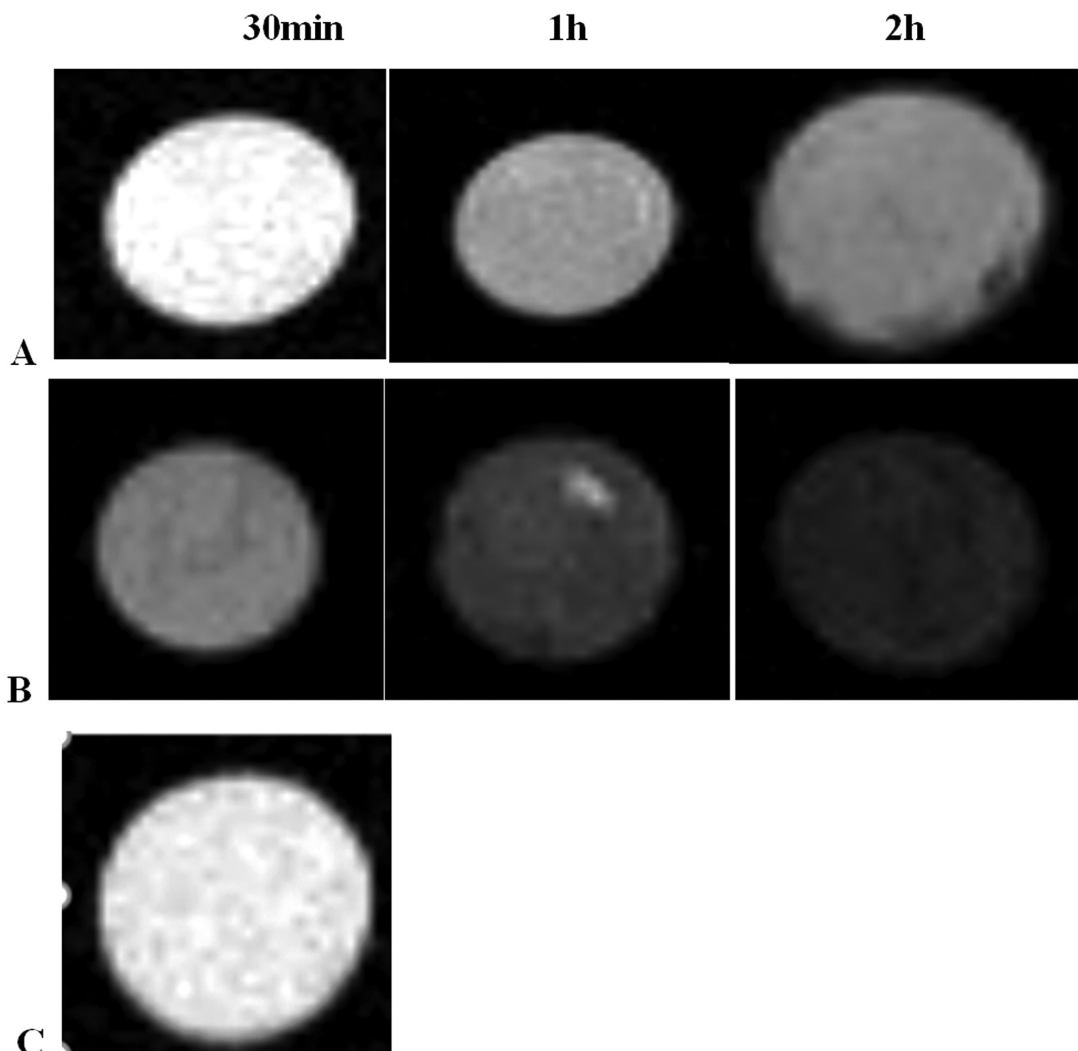


图4 RGD-USPIO 纳米造影剂体外对 4.7T MR T2 值的影响

Fig.4 Effect of RGD-USPIO nano-contrast agent on T2 values of 4.7T MR in vitro

Note: A: USPIO; B: RGD-USPIO; C: Blank control.

表 1 HUVECS 与 RGD-USPIO、USPIO 体外分别培养不同时间后 MR 扫描 T2 信号值组间的比较 (ms)

Table 1 Comparison of T2 signal value among groups after HUVECs were cultured with RGD-USPIO and USPIO in vitro for different durations, respectively, and then scanned by MR (ms)

Groups	T2 value/ms				F value	P value
	0 min	30 min	60 min	120 min		
A group	201.7± 2.727	184.2± 4.58	162.4± 3.30	121.2± 6.29	0.108	0.808
B group	201.7± 2.727	108.2± 16.92 ^a	88.58± 5.633 ^a	64.48± 4.866 ^a	5.090	0.041 ^b
t value	-	10.621	27.723	17.490		
P value	-	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001		

Note: A group: USPIO; B group: RGD-USPIO. Compared with group A at each time point, ^a*P*<0.05. Comparison of each time point in group B, ^b*P*<0.05. 0 min was the blank control.

尽管核素成像和超声成像在特定应用场景中具有一定的优势,但它们各自都存在局限性。核素成像由于涉及放射性物质且价格昂贵,其应用受到一定限制;而超声成像虽具有无创、简便、价廉的优点,但在骨骼、肺、胃肠道等空腔器官和颅内组织器官等方面的成像效果并不理想。相比之下,MR 分子成像具有良好的软组织分辨力、无辐射、多维度、多参数成像等优点,在分子影像学领域具有广泛的应用前景^[15]。Liu 等^[16]通过 RGD-USPIO 纳米分子造影剂成功的对 A549 肺腺癌裸鼠移植瘤组织的新生血管分子成像。Qian 等^[17]使用 C225-USPIO 造影剂 4.7T MR 扫描成功的对裸鼠鼻咽癌移植瘤分子成像。Stijns RCH 等^[18]研究表明,USPIO 在 3.0T MR 下对直肠癌盆腔淋巴结检测的灵敏度和特异度优于常规造影剂。Lu T 等^[19]发现纳米氧化石墨烯 /USPIO 在药物递送及肿瘤诊疗中极具潜力。Driessen DAJJ 等^[20]指出,USPIO 增强 MR 对头颈部恶性肿瘤淋巴结分期诊断精确性高。Lu L 等^[21]制备的 CKAAKN 肽偶联 USPIO 靶向纳米造影剂,显著提升胰腺癌细胞的特异性,有望成为胰腺癌早期诊断的高效 MR 分子造影剂。

为了独特地描绘血管生成,需要探寻新生血管内皮细胞中特异性靶点。其中, $\alpha_v\beta_3$ 整合素是一种重要的分子靶标,其在肿瘤新生血管形成过程中起着关键作用。整合素是一种由 α 与 β 亚基非共价连接的异二聚体糖蛋白,主要定位于内皮细胞膜上,其功能在于促进细胞间及细胞与细胞外基质间的粘附过程。这一机制在肿瘤生物学中尤为关键,深刻影响着肿瘤的生长、侵袭与转移^[22]。特别地, $\alpha_v\beta_3$ 整合素对维持内皮细胞生存至关重要,激活后促进细胞增殖,成为新生毛细血管的关键构建部分,对血管生成极为重要。RGD 序列与 $\alpha_v\beta_3$ 整合素高度特异性结合,尤其在新生血管活化内皮细胞表面显著,这些细胞高表达此整合素^[23]。因此, $\alpha_v\beta_3$ 整合素成为肿瘤血管分子成像的重要靶目标。而且,RGD 及其衍生物在靶向肿瘤新生血管、抑制肿瘤生长及转移的研究中展现出了巨大的潜力。通过干扰这一结合过程,可以精准调控肿瘤相关的血管生成,为肿瘤治疗开辟新的途径。

本实验中,我们使用了环型 RGDfe 肽作为

与 $\alpha_v\beta_3$ 整合素结合的配体。与线性 RGD 肽相比,环型 RGDfe 肽具有较长的半衰期,不易被血清中的酶和其它物质降解,而且环型 RGDfe 肽与 $\alpha_v\beta_3$ 结合的亲和力及稳定性较线性 RGD 肽高 30 倍^[24,25],因此其具有更高的亲和力和稳定性,能够更好地与 $\alpha_v\beta_3$ 整合素结合。实验结果显示,RGD-USPIO 造影剂特异性结合 HUVECS 细胞的 $\alpha_v\beta_3$ 整合素,MR 成像显著降 T2 信号,其粒径小、分散佳、能通过 $\alpha_v\beta_3$ 整合素受体介导进入细胞,是理想靶向造影剂,预示广泛应用于肿瘤新生血管成像。

综上所述,本实验成功制备 RGD-USPIO 纳米造影剂,体外验证其对 HUVECS 细胞 $\alpha_v\beta_3$ 的特异性靶向及 MR 成像能力,为体内成像研究奠定基础,有望促进肿瘤早期诊断、精准治疗与疗效监测。

参 考 文 献 (References)

- [1] 阳艳语,张凯,张丽娜,等. MR 扩散加权成像在软组织肿瘤中的应用进展 [J]. 磁共振成像, 2021, 12(10): 121-124.
- [2] Firoozeh Shomal Zadeh, Atefe Pooyan, Ehsan Alipour, et al. Dynamic contrast enhanced magnetic resonance imaging (DCE MRI) in differentiation of soft tissue sarcoma from benign lesions: a systematic review of literature [J]. Skeletal Radiology, 2024, 53 (7): 1343-1357.
- [3] Grégoire V, Guckenberger M, Haustermans K, et al. Image guidance in radiation therapy for better cure of cancer [J]. Mol Oncol, 2020, 14(7): 1470-1491.
- [4] 李雪,吴梦琳,郭琪,等. 超小纳米探针用于肿瘤血管生成 MR/CT 双模态成像的研究 [J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2022, 42(9): 542-546.
- [5] Chen C, Ge J, Gao Y, et al. Ultrasmall superparamagnetic iron oxide nanoparticles: A next generation contrast agent for magnetic resonance imaging [J]. Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol, 2022, 14(1): e1740.
- [6] Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease [J]. Nat Med, 1995, 1 (1): 27-31.
- [7] 姜智文,李文蕾,王轶博,等. 整合素 $\alpha_v\beta_3$ 相关疾病与靶点药物的研发进展 [J]. 药物生物技术, 2021, 28(4): 429-435.

- [8] Cheng TM, Chang WJ, Chu HY, et al. Nano-Strategies Targeting the Integrin $\alpha_v\beta_3$ Network for Cancer Therapy[J]. *Cells*, 2021, 10(7): 1684.
- [9] Wasik A, Ratajczak-Wielgomas K, Badzinski A, et al. The Role of Periostin in Angiogenesis and Lymphangiogenesis in Tumors [J]. *Cancers (Basel)*, 2022, 14(17): 4225.
- [10] Gu Y, Dong B, He X, et al. The challenges and opportunities of $\alpha_v\beta_3$ -based therapeutics in cancer: From bench to clinical trials[J]. *Pharmacol Res*, 2023, 189: 106694.
- [11] Steven P. Rowe, Martin G. Pomper. Molecular Imaging in Oncology: Current Impact and Future Directions [J]. *CA Cancer J Clin*, 2022, 72 (4): 333-352.
- [12] He H, Zhang X, Du L, et al. Molecular imaging nanoprobes for theranostic applications [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2022, 186: 114320.
- [13] Liolios C, Sachpekidis C, Kolocouris A, et al. PET Diagnostic Molecules Utilizing Multimeric Cyclic RGD Peptide Analogs for Imaging Integrin $\alpha_v\beta_3$ Receptors [J]. *Molecules*, 2021, 26(6): 1792.
- [14] Burko P, D'Amico G, Miltykh I, et al. Molecular Pathways Implicated in Radioresistance of Glioblastoma Multiforme: What Is the Role of Extracellular Vesicles?[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(5): 4883.
- [15] 宋双双, 王振光. 氨基酸类 PET 联合 MRI 在脑胶质瘤诊疗中的应用 [J]. *中华神经医学杂志*, 2022, 21(11): 1164-1167.
- [16] Liu C, Liu DB, Long GX, et al. Specific targeting of angiogenesis in lung cancer with RGD-conjugated ultrasmall superparamagnetic iron oxide particles using a 4.7T magnetic resonance scanner [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2013, 126(12): 2242-2247.
- [17] 钱莹, 龙国贤, 刘东伯, 等. 靶向纳米造影剂 C225-USPIO 标记裸鼠鼻咽癌移植瘤 MR 成像研究 [J]. *中国肿瘤临床*, 2012, 39(24): 2001-2004.
- [18] Stijns RCH, Philips BWJ, Nagtegaal ID, et al. USPIO-enhanced MRI of lymph nodes in rectal cancer: A node-to-node comparison with histopathology[J]. *Eur J Radiol*, 2021, 138: 109636.
- [19] Lu T, Wei L, Huang X, et al. A potentially valuable nano graphene oxide/USPIO tumor diagnosis and treatment system[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2021, 128: 112293.
- [20] Driessen DAJJ, Zámečník P, Dijkema T, et al. High-Accuracy Nodal Staging of Head and Neck Cancer With USPIO-Enhanced MRI: A New Reading Algorithm Based on Node-to-Node Matched Histopathology [J]. *Invest Radiol*, 2022, 57 (12): 810-818.
- [21] Lu L, Jie L, Zhou Y, et al. Preparation and Characterization of PLGA-based Magnetic Polymer Nanoparticles for Targeting Pancreatic Adenocarcinoma [J]. *Curr Pharm Des*, 2023, 29(9): 686-696.
- [22] 田梦妍, 李娟, 方柔柔, 等. 整合素 $\alpha_v\beta_3$ 作用机制研究进展 [J]. *实用心脑血管病杂志*, 2023, 31(11): 118-123.
- [23] Li M, Wang Y, Li M, et al. Integrins as attractive targets for cancer therapeutics [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2021, 11(9): 2726-2737.
- [24] Thirumalai A, Girigoswami K, Pallavi P, et al. Cancer therapy with iRGD as a tumor-penetrating peptide[J]. *Bull Cancer*, 2023, 110(12): 1288-1300.
- [25] Qian J, Zhou S, Lin P, et al. Recent advances in the tumor-penetrating peptide internalizing RGD for cancer treatment and diagnosis [J]. *Drug Dev Res*, 2023, 84(4): 654-670.