

# 新型七甲川菁染料用作肿瘤模型活体成像的研究进展

王哲轩<sup>1,2</sup>, 赵宁宁<sup>2</sup>, 张彩勤<sup>2</sup>, 李卓昊<sup>1</sup>, 师长宏<sup>2\*</sup>

(第四军医大学, 1. 学员旅四营十五连, 2. 实验动物中心, 西安 710032)

**【摘要】** 一种近红外荧光(NIRF)七甲川菁染料不需要化学修饰,可直接被肿瘤细胞吸收呈特异性聚集,从而可用于肿瘤活体成像。这种染料在肿瘤细胞与正常细胞之间的摄取差异可能是由于特异型有机阴离子转运肽的作用,并受到低氧条件控制。这些特性将会拓展 NIRF 类染料在肿瘤成像研究中的应用。

**【关键词】** 近红外荧光;七甲川菁染料;肿瘤靶向性;活体成像;有机阴离子转运肽

**【中图分类号】** Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2016) 01-0097-05

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2016.01.017

## Advances in research of novel heptamethine cyanine dyes as a potential diagnostic agent for optical imaging of tumor models

WANG Zhe-xuan<sup>1,2</sup>, ZHAO Ning-ning<sup>2</sup>, ZHANG Cai-qin<sup>2</sup>, LI Zhuo-hao<sup>1</sup>, SHI Chang-hong<sup>2\*</sup>

(1. Student Brigade of the Forth Battalion, 15th Company;

2, Laboratory Animal Center, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China)

**【Abstract】** A class of near infrared fluorescence (NIRF) heptamethine cyanine dyes, in their native form without chemical conjugation, can be taken up and accumulated specifically in cancer cells and used for tumors imaging. The different uptake of the dyes into cancer but not normal cells is possible due to the presence of specific isoforms of organic anion-transporting peptides (OATPs), and regulated by hypoxia. These advances have widely extended current application of NIRF imaging in cancer diagnosis.

**【Key words】** Near infrared fluorescence; Heptamethine cyanine dyes; Tumor target; Optical imaging; Organic anion-transporting peptides (OATPs); Cancer detection; Diagnosis

Corresponding author: SHI Chang-hong, E-mail: changhong@fmmu.edu.cn.

## 1 概述

近红外荧光染料(near infrared fluorescent dye, NIRF)是一类聚甲基菁染料的杂环化合物,它是由两端或中间的杂环、芳环与分子内部的多次甲基链组成的一个大 $\pi$ 共轭体系,常见的两种 NIRF 染料 IR-783 和 MHI-148 结构如图 1<sup>[1]</sup>。该类染料有着较高的体内消除率和较大的斯托克斯位移,能够诱发产生范围在 700~1000 nm 之间的强荧光,为肿瘤诊断提供了可能性<sup>[2]</sup>。该类染料应用于体内成像,显示出诸多优势,比如能够标记配体、产生信号强、组

织吸收好等;可以和不同的成像染料联合使用;背景自发荧光低<sup>[3-4]</sup>。吖啶菁绿(ICG)是目前唯一被美国 FDA 批准可用于临床医学诊断的 NIRF 染料,它已被广泛应用于鉴别良性或恶性肿瘤。常规 NIRF 染料一般需要与肿瘤细胞特异靶向配体结合才能用于肿瘤成像,靶向配体种类多种多样,包括代谢底物<sup>[5]</sup>、细胞表面肽<sup>[6]</sup>、生长因子<sup>[7]</sup>、抗体<sup>[8]</sup>以及肿瘤细胞表面特异性抗原等<sup>[9]</sup>。因为靶向配体不同,而肿瘤细胞又具有异质性,所以只有一些特异型肿瘤细胞才能被该类染料识别。另外,配体与肿瘤细胞的化学结合可能会改变这类染料用于成像的靶向

[基金项目]国家自然科学基金项目(31572340)军队实验动物专项课题(SYDW2014-002)。

[作者简介]王哲轩(1994-),男,五年制临床医学专业学员,主要开展肿瘤动物模型的科研工作。Email: 546193064@qq.com。

[通讯作者]师长宏(1973-),男,博士,教授,研究方向:肿瘤动物模型。Email: changhong@fmmu.edu.cn。

性<sup>[10]</sup>。

研究发现了一组近红外荧光七甲川菁染料兼具成像和特异性靶向定位的双重功能,可用于肿瘤的活体成像。比如 IR-780<sup>[11]</sup>、IR-783<sup>[12]</sup>、IR-808<sup>[13]</sup> 和 MHI-148<sup>[14]</sup> 等。这些染料可直接被肿瘤细胞而非正

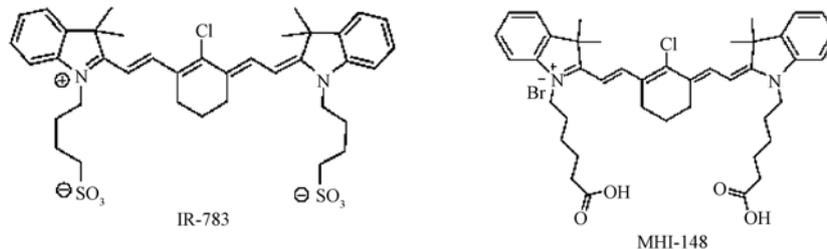


图 1 NIRF 染料的基本化学结构

Fig. 1 The chemical structure of NIRF dyes IR-783 and MHI-148.

## 2 七甲川菁染料的理化特性

七甲川菁染料是由多聚甲炔构成的一个共振结构,两侧分别由一个氮原子参与形成共轭杂环。传统的花青染料光稳定性差,有自聚集效应并且在水溶液中光量子产率低。为了解决这些问题,人们尝试对这些染料进行结构修饰<sup>[16]</sup>。比如,在花青染料的多聚甲基炔链中引入环己烯基,其光稳定性和荧光强度都有了显著提升。当引入了硫酸基团后,不仅有效避免了荧光信号的减弱,而且还可以减少染料的自聚集效应。结构中的多聚甲炔链可以抑制内部能量转换和二聚体化,增加荧光信号的强度和稳定性<sup>[15,17]</sup>。一般化学结构中多聚甲炔链越长其结构越不稳定,但是移入环类基团,就可以提升结构的强度,减少内部能量转化而增加内部量子的产率。

已报道的七甲川菁染料 MHI-148 的侧链是羧基,可以与化疗药物或同位素结合,其体内的清除较慢<sup>[15]</sup>。IR-780 的侧链是烷基,不易进行结构修饰。IR-780 和 MHI-148 都是脂溶性复合物,具有一定毒性,体内使用受限<sup>[11]</sup>。IR-783 的侧链是磺酸基,有着较好的水溶性和较低的毒性,但在体内清除较快,且不易进行结构修饰<sup>[15,18]</sup>。理想的 NIRF 染料应兼具上述三种染料的优点,克服相应的缺点。不仅要能被肿瘤细胞直接靶向识别,而且还要有一定的水溶性和脂溶性,在体内清除效率适当,还易于进行结构修饰,如便于标记探针、放射性核素、化疗药物等,从而提高识别肿瘤细胞的敏感性。比如可以设计合成一种新型 NIRF 染料,一侧为 IR-783 的磺酸基,另一侧为 MHI-148 的羧基。

常细胞吸收,并集聚于线粒体和溶酶体中,不需要化学修饰便直接可识别肿瘤细胞。这类染料自发荧光低,但当它们与生物分子结合时,由于化学修饰便激发出较强的荧光。小鼠实验已证实这些染料细胞毒性较低<sup>[15]</sup>,应用于临床具有较好的安全性。

## 3 NIRF 染料的肿瘤靶向定位

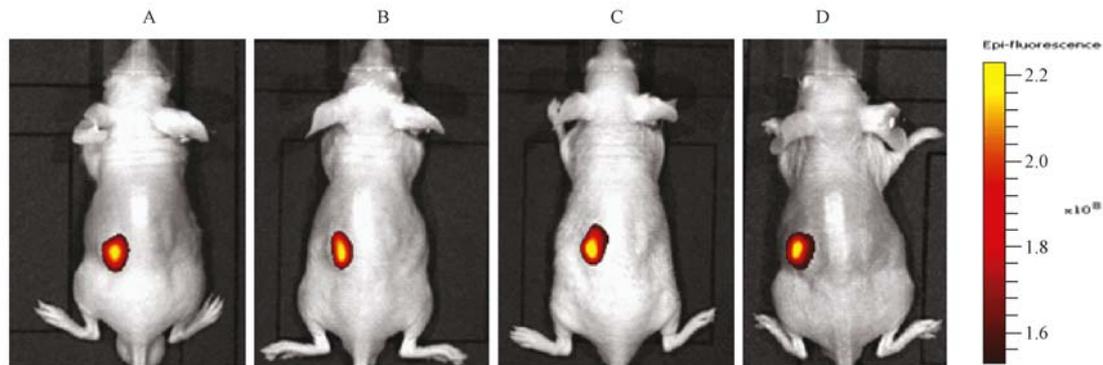
常规 NIRF 染料需要经过化学修饰后才能进行肿瘤成像。只有极少部分有机近红外染料可直接靶向定位特异性肿瘤细胞。如近红外手性卟啉光学成像试剂 Pz247,不需要与配体结合,就能在人乳腺癌的异种移植模型中直接识别肿瘤细胞<sup>[19]</sup>。一类 NIRF 七甲川菁染料可直接被裸鼠体内原发灶或继发灶中肿瘤细胞特异性摄取并聚集。这类 NIRF 染料已被证实能被多种不同类型肿瘤细胞而非正常细胞特异吸收,也包括循环肿瘤细胞(CTC)、异种移植肿瘤和原发性肿瘤等<sup>[20]</sup>。在临床工作中,这些具有肿瘤成像和靶向定位双重特性的染料,为监测肿瘤生长和在外科手术中辨别肿瘤手术切缘提供了可能性。通过实时 NIRF 成像,可以明确肿瘤组织病变边缘的精确位置,因而降低了漏检阳性位点的可能性,提升了肿瘤外科手术的治疗效果<sup>[21]</sup>。手术切除肝转移瘤时,通过 NIRF 成像,可以鉴别肝脏的良恶性病灶,尤其用于检测小于 5 mm 的转移瘤具有明显的优势<sup>[22]</sup>。

为了评估 NIRF 染料在大型动物体内的肿瘤特异性靶向能力,选择自发性肿瘤犬作为模型,通过光学成像和 PET/CT 扫描两种方式同时来判定 NIRF 染料的摄取和聚集特性。由于犬的原发和继发性肿瘤的发展过程和人体十分相似<sup>[23]</sup>,因此,该实验进一步确认了 NIRF 染料在肿瘤成像中的特异性,为其临床应用提供了可行性。NIRF 染料 MHI-148 已被直接应用于临床肿瘤标本的成像。手术切除肾细胞癌(RCC)患者整个肾脏后,立刻用 MHI-148 染料灌注切下的肾脏,并随后用于体外 NIRF 成像。肿

瘤组织摄取的 MHI-148 染料强度比正常组织多出了 6 倍<sup>[24]</sup>。病理分析确认荧光信号部位即为肿瘤发生部位。这是一个 NIRF 染料应用于临床的典型例子。同类染料 ICG 已在膀胱癌根治性切除术中用于检查膀胱癌的前哨淋巴结是否发生转移。

NIRF 成像可以探查实体肿瘤,也可以检测细胞间液中的肿瘤细胞。因为 NIRF 信号很容易从深层组织中捕获,通过 NIRF 成像来分析胸腔液中的

恶性肿瘤细胞将是一个快速有效的方法<sup>[12,25]</sup>。将临床新鲜的肿瘤标本移植到裸鼠肾包膜建立 PDX (patient-derived tumor xenograft) 模型,可以使用七甲川菁染料进行活体成像确认该部位肿瘤的形成<sup>[26]</sup>。使用该方法,已经筛选出多个不同类型的 PDX 模型,包括胃癌、肝细胞癌、膀胱癌和肾癌(图 2)。在移植部位均可早期检测到较强的 NIRF 信号,通过 H&E 染色病理检查进一步确认了肿瘤组织的形态。



注:A, 胃癌; B, 肝癌; C, 膀胱癌; D, 肾癌。

图 2 裸鼠肾包膜移植建立的不同类型 PDX 模型进行 NIRF 成像

Note. A, gastric cancer; B, liver cancer; C, bladder cancer; and D, renal cancer.

Fig. 2 NIRF imaging of different PDX models with subrenal capsule xenografts in nude mice

#### 4 近红外荧光染料结合同位素成像

核素成像用于肿瘤的探查具有较多的优势,但该类探针用于 PET 示踪时常表现出半衰期短、空间分辨率低和射线下暴露等缺点,而且高基础代谢率的组织如大脑会摄取较多的核素<sup>[27]</sup>。NIRF 染料可以直接靶向定位肿瘤细胞,所以, NIRF 联合同位素成像将可能替代传统的核素成像用于肿瘤的早期诊断<sup>[28]</sup>。核素标记 NIRF 染料,可以提升该类染料探查深层组织内肿瘤的敏感性。比如将高表达 RNKL 的人前列腺癌细胞 LNCaP 皮下接种裸鼠制备移植模型,使用七甲川菁染料 PC-1001 进行活体成像发现了裸鼠体表的两处肿瘤,而 PC-1001/PET 成像则可以探查到一个更深部位的肿瘤<sup>[20]</sup>。多种 PET 示踪元素已经被应用在 NIRF 核素成像的实验性肿瘤模型上,包括<sup>18</sup>F、<sup>11</sup>C、<sup>99m</sup>Tc、<sup>64</sup>Cu 和<sup>111</sup>In<sup>[29-32]</sup>等。

最近有人合成了一种用于乳腺癌 PET 成像的 PET/NIRF 探针 PC-1001/<sup>64</sup>Cu,该探针由 NIRF 染料 PC-1001 和<sup>64</sup>Cu 经化学修饰合成<sup>[33]</sup>,在人乳腺癌细胞和裸鼠移植模型中均表现出较高的肿瘤特异性摄取率和聚集特性,而正常组织摄取率较低。由于使用 PET 成像和生产<sup>64</sup>Cu 同位素的回旋加速器具有

高昂的成本,相比之下,具有肿瘤靶向定位特性的 SPECT/NIRF 探针<sup>99m</sup>Tc-PC1007 具有较好的优势,它由 NIRF 染料 PC-1007 和<sup>99m</sup>Tc 化学修饰合成。这种探针在肿瘤细胞和移植模型上均表现出较好的靶向性,并能在肿瘤部位特异性聚集<sup>[30]</sup>。为了进一步评估 NIRF 染料在大型动物体内的肿瘤特异性靶向能力,PC-1001/<sup>68</sup>Ga 成功应用于自发肿瘤犬的 PET 和荧光成像,PET/CT 图像显示出了 NIRF 染料聚集部位,病理分析确认了二者的一致性<sup>[26]</sup>。用放射性同位素标记糖基化葡聚糖衍生物,再用作 NIRF 成像和 SPECT/CT 扫描可用于前哨淋巴结的探查 (SLND)。一项研究选择了 32 个乳腺癌患者,使用放射性核素结合近红外荧光成像的方法能够识别出所有人的前哨淋巴结<sup>[34]</sup>。这种 NIRF/核素成像方法简易方便且结果准确。

#### 5 七甲川菁染料靶向识别肿瘤细胞的机制

肿瘤组织缺氧环境是调控七甲川菁染料特异性识别肿瘤细胞的重要机制<sup>[24,26]</sup>,而 ICG 染料识别肿瘤细胞主要通过与血浆蛋白质结合来实现<sup>[35]</sup>。没有证据显示 ICG 特性吸收与肿瘤组织缺氧环境

有直接关联。在裸鼠肿瘤移植模型的活体成像中, ICG 只有相对较低的肿瘤组织/背景组织 (tumor-to-background ratio) 比率, 24h 时维持在 1.4 - 1.7 之间<sup>[36]</sup>, 而 MHI-148 的比率却高达 9.1, 当与缺氧相关的 HIF1 $\alpha$  蛋白高表达时, 该比率可进一步提升 2 倍, 这也是七甲川菁类染料相比于其他 NIRF 染料在肿瘤成像中的优势所在。有机阴离子转运肽 (OATPs) 可能也在转运七甲川菁染料进入肿瘤细胞的过程中起到重要作用<sup>[11,24,26,37]</sup>。OATPs 介导两性化合物的细胞转运, 包括药物和其他一些外源性物质<sup>[38,39]</sup>。目前已报道的人类 OATPs 有 11 种, 按其氨基酸序列的同源性被分成 6 个家族<sup>[40]</sup>。其中 OATP1B3 可有效调控七甲川菁染料 IR-780 和 IR-783 在肿瘤细胞内的转运, 如果使用 OATP1B3 竞争性抑制药物—BSP (bromsulphthalein), 可明显减弱肿瘤细胞对 NIRF 染料的特异性摄取<sup>[24,26,41]</sup>。

缺氧是肿瘤组织普遍存在的现象, 通常与新陈代谢、血管形成、肿瘤转移和药物抗性的形成等密切相关<sup>[42,43]</sup>。文献报道 HIF1 $\alpha$  直接促进了 OATP1B3 的表达。在组织缺氧的条件下, HIF1 $\alpha$  的活性核蛋白与 OATP1B3 启动子中的 HRE 相互作用, 增强了 OATP1B3 基因的转录功能。而在有氧的环境中, HIF1 $\alpha$  通过 PHD/VHL 途径迅速被降解而变得不稳定<sup>[44]</sup>, 这也是正常组织 OATP1B3 处于较低水平的主要原因。因此, 正常组织和细胞中 HIF1 $\alpha$ /OATPs 信号失活, 转运和集聚 NIR 染料的能力减弱。当使用 HIF1 $\alpha$  稳定剂 (DMOG 和氯化钴) 时, 可以促进肿瘤细胞内 OATP1B3 的转录, 增强肿瘤细胞对 NIRF 染料的吸收; 与此相反, 当抑制肿瘤细胞内 HIF1 $\alpha$  水平时, OATP1B3 和 OATP2B1 表达降低, 对 NIRF 染料的吸收减弱<sup>[24,26]</sup>。尽管上述结论是从前列腺癌细胞和肿瘤移植模型中获得, 但由于组织缺氧和 HIF1 $\alpha$ /OATPs 信号的活化是大部分肿瘤细胞中普遍存在的现象, 可以通过进一步测试 NIRF 染料结合其他肿瘤细胞的能力, 建立基于 NIRF 染料的活体成像技术直接用于不同类型肿瘤模型的检测。

## 6 结论和展望

七甲川菁染料兼具肿瘤成像和靶分子的双重功能, 基于该类染料 NIRF 活体成像技术已成功应用于肿瘤模型的检测, 但应用于临床前仍面临诸多问题。如, 现有的七甲川菁染料通透性和敏感性需要进一步提升; 还需要通过化学修饰来进一步增强它的靶

向性; 还需要调整染料的脂溶性和水溶性, 使其能更有效地穿透细胞膜识别胞内分子; 需要进一步降低染料与血液蛋白的非共价结合, 以降低背景的干扰; 染料的细胞毒性和安全性等均需要进一步确认。

## 参 考 文 献

- [ 1 ] Yeh CS, Su CH, Ho WY, et al. Tumor targeting and MR imaging with lipophilic cyanine-mediated near-infrared responsive porous Gd silicate nanoparticles [J]. *Biomaterials*, 2013, 34 (22): 5677 - 5688.
- [ 2 ] Frangioni JV. In vivo near-infrared fluorescence imaging [J]. *Curr Opin Chem Biol*, 2003, 7(5): 626 - 634.
- [ 3 ] Redy-Keisar O, Ferber S, Satchi-Fainaro R, et al. NIR fluorogenic dye as a modular platform for prodrug assembly: real-time in vivo monitoring of drug release [J]. *Chem Med Chem*, 2015, 10(6): 999 - 1007.
- [ 4 ] Mieszawska AJ, Kim Y, Gianella A, et al. Synthesis of polymer-lipid nanoparticles for image-guided delivery of dual modality therapy [J]. *Bioconjug Chem*, 2013, 24(9): 1429 - 1434.
- [ 5 ] Andreev OA, Dupuy AD, Segala M, et al. Mechanism and uses of a membrane peptide that targets tumors and other acidic tissues in vivo [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(19): 7893 - 7898.
- [ 6 ] Choi HS, Gibbs SL, Lee JH, et al. Targeted zwitterionic near-infrared fluorophores for improved optical imaging [J]. *Nat Biotechnol*, 2013, 31(2): 148 - 153.
- [ 7 ] Keereweer S, Mol IM, Kerrebijn JD, et al. Targeting integrins and enhanced permeability and retention (EPR) effect for optical imaging of oral cancer [J]. *J Surg Oncol*, 2012, 105(7): 714 - 718.
- [ 8 ] Xu M, Rettig MP, Sudlow G, et al. Preclinical evaluation of Mab CC188 for ovarian cancer imaging [J]. *Int J Cancer*, 2012, 131: 1351 - 1359.
- [ 9 ] Gao J, Chen K, Miao Z, et al. Affibody-based nanoprobes for HER2-expressing cell and tumor imaging [J]. *Biomaterials*, 2011, 32(8): 2141 - 2148.
- [ 10 ] Luo S, Zhang E, Su Y, et al. A review of NIR dyes in cancer targeting and imaging [J]. *Biomaterials*, 2011, 32(29): 7127 - 7138.
- [ 11 ] Yi X, Yan F, Wang F, et al. IR-780 dye for near-infrared fluorescence imaging in prostate cancer [J]. *Med Sci Monit*, 2015, 21: 511 - 517.
- [ 12 ] Shao C, Liao CP, Hu P, et al. Detection of live circulating tumor cells by a class of near-infrared heptamethine carbocyanine dyes in patients with localized and metastatic prostate cancer [J]. *PLoS ONE*, 2014, 9(2): e88967.
- [ 13 ] Luo S, Tan X, Qi Q, et al. A multifunctional heptamethine near-infrared dye for cancer theranosis [J]. *Biomaterials*, 2013, 34(9): 2244 - 2251.
- [ 14 ] Yang X, Shao C, Wang R, et al. Optical imaging of kidney cancer with novel near infrared heptamethine carbocyanine fluorescent

- dyes [J]. *J Urol*, 2013, 189(2): 702–710.
- [15] Yang X, Shi C, Tong R, et al. Near IR heptamethine cyanine dye-mediated cancer imaging [J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(10): 2833–2844.
- [16] James NS, Chen Y, Joshi P, et al. Evaluation of polymethine dyes as potential probes for near infrared fluorescence imaging of tumors: part-1 [J]. *Theranostics*, 2013, 3(9): 692–702.
- [17] Zhang C, Wang S, Xiao J, et al. Sentinel lymph node mapping by a near-infrared fluorescent heptamethine dye [J]. *Biomaterials*, 2010, 31(7): 1911–1917.
- [18] Wu JB, Lin TP, Gallagher JD, et al. Monoamine oxidase A inhibitor—near-infrared dye conjugate reduces prostate tumor growth [J]. *J Am Chem Soc*, 2015, 137(6): 2366–2374.
- [19] Trivedi ER, Harney AS, Olive MB, et al. Chiral porphyrazine near-IR optical imaging agent exhibiting preferential tumor accumulation [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(4): 1284–1288.
- [20] Wu J, Pan D, Chung LW. Near-infrared fluorescence and nuclear imaging and targeting of prostate cancer [J]. *Transl Androl Urol*, 2013, 2(3): 254–264.
- [21] Hill TK, Abdulahad A, Kelkar SS, et al. Indocyanine green-loaded nanoparticles for image-guided tumor surgery [J]. *Bioconjug Chem*, 2015, 26(2): 294–303.
- [22] van der Vorst JR, Schaafsma BE, Verbeek FP, et al. Near-infrared fluorescence sentinel lymph node mapping of the oral cavity in head and neck cancer patients [J]. *Oral Oncol*, 2013, 49(1): 15–19.
- [23] Leroy BE, Northrup N. Prostate cancer in dogs: comparative and clinical aspects [J]. *Vet J*, 2009, 180(2): 149–162.
- [24] Wu JB, Shao C, Li X, et al. Near-infrared fluorescence imaging of cancer mediated by tumor hypoxia and HIF1 $\alpha$ /OATPs signaling axis [J]. *Biomaterials*, 2014, 35(28): 8175–8185.
- [25] Tian Y, Sun J, Yan H, et al. A rapid and convenient method for detecting a broad spectrum of malignant cells from malignant pleuroperitoneal effusion of patients using a multifunctional NIR heptamethine dye [J]. *Analyst*, 2015, 140(3): 750–755.
- [26] Shi C, Wu JB, Chu GC, et al. Heptamethine carbocyanine dye-mediated near-infrared imaging of canine and human cancers through the HIF-1 $\alpha$ /OATPs signaling axis [J]. *Oncotarget*, 2014, 5(20): 10114–10126.
- [27] Pysz MA, Gambhir SS, Willmann JK. Molecular imaging: current status and emerging strategies [J]. *Clin Radiol*, 2010, 65(7): 500–516.
- [28] Kim JS, Kim YH, Kim JH, et al. Development and in vivo imaging of a PET/MRI nanoprobe with enhanced NIR fluorescence by dye encapsulation [J]. *Nanomedicine (Lond)* 2012, 7(2): 219–229.
- [29] Hong Y, Zhu H, Hu J, et al. Synthesis and radiolabeling of (111)In-core-cross linked polymeric micelle-octreotide for near-infrared fluoroscopy and single photon emission computed tomography imaging [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2014, 24(12): 2781–2785.
- [30] Zhang Y, Xiao L, Popovic K, et al. Novel cancer-targeting SPECT/NIRF dual-modality imaging probe (99m)Tc-PC-1007: synthesis and biological evaluation [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2013, 23(23): 6350–6354.
- [31] Lütje S, Rijpkema M, Goldenberg DM, et al. Pretargeted dual-modality immuno-SPECT and near-infrared fluorescence imaging for image-guided surgery of prostate cancer [J]. *Cancer Res*, 2014, 74(21): 6216–6223.
- [32] Azhdarinia A, Ghosh P, Ghosh S, et al. Dual-labeling strategies for nuclear and fluorescence molecular imaging: a review and analysis [J]. *Mol Imaging Biol*, 2012, 14(3): 261–276.
- [33] Xiao L, Zhang Y, Yue W, et al. Heptamethine cyanine based (64)Cu-PET probe PC-1001 for cancer imaging: synthesis and in vivo evaluation [J]. *Nucl Med Biol*, 2013, 40(3): 351–360.
- [34] Schaafsma BE, Verbeek FP, Rietbergen DD, et al. Clinical trial of combined radio- and fluorescence-guided sentinel lymph node biopsy in breast cancer [J]. *Br J Surg*, 2013, 100(8): 1037–1044.
- [35] Hirche C, Murawa D, Mohr Z, et al. ICG fluorescence-guided sentinel node biopsy for axillary nodal staging in breast cancer [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2010, 121(2): 373–378.
- [36] Kosaka N, Mitsunaga M, Longmire MR, et al. Near infrared fluorescence-guided real-time endoscopic detection of peritoneal ovarian cancer nodules using intravenously injected indocyanine green [J]. *Int J Cancer*, 2011, 129(7): 1671–1677.
- [37] Zhang E, Luo S, Tan X, et al. Mechanistic study of IR-780 dye as a potential tumor targeting and drug delivery agent [J]. *Biomaterials*, 2014, 35(2): 771–778.
- [38] Liu T, Li Q. Organic anion-transporting polypeptides: a novel approach for cancer therapy [J]. *J Drug Target*, 2014, 22(1): 14–22.
- [39] Tamai I, Nakanishi T. OATP transporter-mediated drug absorption and interaction [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2013, 3(6): 859–863.
- [40] Obaidat A, Roth M, Hagenbuch B. The expression and function of organic anion transporting polypeptides in normal tissues and in cancer [J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2012, 52: 135–151.
- [41] Yuan J, Yi X, Yan F, et al. Nearinfrared fluorescence imaging of prostate cancer using heptamethine carbocyanine dyes [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11(2): 821–828.
- [42] Liao J, Qian F, Tchabo N, et al. Ovarian cancer spheroid cells with stem cell-like properties contribute to tumor generation, metastasis and chemotherapy resistance through hypoxia-resistant metabolism [J]. *PLoS ONE*, 2014, 9(1): e84941.
- [43] Gilkes DM, Semenza GL. Role of hypoxia-inducible factors in breast cancer metastasis [J]. *Future Oncol*, 2013, 9(11): 1623–1636.
- [44] Kaelin WG Jr, Ratcliffe PJ. Oxygen sensing by metazoans: the central role of the HIF hydroxylase pathway [J]. *Mol Cell*, 2008, 30(4): 393–402.