

## 分子影像探针在血栓性疾病早期诊断中的研究进展

李博<sup>1,2</sup> 杨童<sup>2</sup> 刘锦<sup>2</sup> 蒋鹏<sup>3</sup> 周倩<sup>2</sup>

(1. 广东药科大学中医药研究院, 广东 广州 510006; 2. 暨南大学生命科学学院, 广东 广州 510632; 3. 中国医学科学院输血研究所, 四川 成都 610052)

**【摘要】** 血栓性疾病是导致全球人口死亡的主要病因之一, 严重威胁人类健康。现阶段, 血栓的临床影像学检查仅能识别陈旧性血栓, 无法筛查急性新发血栓, 更无法检测血栓的生理活动状态, 严重制约着血栓性疾病的精准诊断及合理有效抗血栓疗法的管理决策。近期, 微纳米材料靶向血栓形成中特异性标志物的分子探针发展迅速, 其有望实现体内血栓的快速诊断和类型鉴别, 并进一步增进人们对血栓性疾病病因及发病机制的了解, 给血栓性疾病的早期个性化治疗带来了新的希望和机遇。现综述分子影像学探针在血栓诊断领域的研究进展, 并讨论其现存的问题及未来的临床转化前景。

**【关键词】** 血栓; 分子影像学; 早期诊断; 分子探针; 微纳米材料

**【DOI】** 10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2022.01.015

## Molecular Imaging Probes for Early Diagnosis of Thrombotic Diseases

LI Bo<sup>1,2</sup>, YANG Tong<sup>2</sup>, LIU Jin<sup>2</sup>, JIANG Peng<sup>3</sup>, ZHOU Qian<sup>2</sup>

(1. *Institute of Chinese Medicinal Sciences, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, Guangdong, China*; 2. *College of Life Science and Technology, Jinan University, Guangzhou 510632, Guangdong, China*; 3. *Institute of Blood Transfusion, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Chengdu 610052, Sichuan, China*)

**【Abstract】** Thrombotic diseases remains one of the leading causes of death worldwide and seriously threaten human health. At this stage, the clinical imaging examination of thrombus can only identify old thrombus, can not screen acute new thrombus, and can not detect the physiological activity of thrombus, which seriously restricts the accurate diagnosis of thrombotic diseases and the management decision of reasonable and effective antithrombotic therapy. Recently, with the rapid development of molecular probes targeting specific markers in thrombosis with micro/nano materials, it is expected to realize the rapid diagnosis and type identification of thrombosis in vivo, further improve people's understanding of the etiology and pathogenesis of thrombotic diseases, and bring new hope and opportunities to the early personalized treatment of thrombotic diseases. This paper reviews the research progress of molecular imaging probes in the field of thrombus diagnosis, and discusses its existing problems and future clinical transformation prospects.

**【Key words】** Thrombosis; Molecular imaging; Early diagnosis; Molecular probes; Micro/nano materials

血栓是指由血管壁损伤或炎症引起诸如胶原、组织因子及凝血酶等激活, 进而诱发局部血小板及纤维蛋白活化, 并形成斑块的病理过程<sup>[1]</sup>。临床数据表明, 由动脉粥样硬化斑块剥离等偶发事件导致的急性血栓会在血管内随机附着并快速增长, 其是心肌梗死、肺栓塞及卒中等严重临床事件的主要诱因, 每年血栓性疾病致死人数占全球死亡人数的 25%<sup>[2]</sup>。因此, 血栓的早期诊断具有重大临床意义。然而, 现阶段临床影像学仅能识别晚期血栓, 对血栓形成缺乏灵敏性及特异性, 开发针对血栓形成的分子影像探针刻

不容缓<sup>[3]</sup>。

随着微纳米技术的蓬勃发展, 靶向标志物的分子探针方兴未艾, 前景广阔。血栓形成包含血管上皮细胞和血小板无序活化、凝血酶激活、纤维蛋白生成及红细胞附着等生理过程, 这些关键组分被认为是血栓形成的标志物分子<sup>[4]</sup>。现综述微纳米探针在血栓诊断领域的研究进展, 并对其临床转化前景进行展望。

### 1 基于血小板的分子成像

血小板是血栓形成的关键组分, 其一般处于静息状态, 当血管内壁受损或炎症发生时, 血小板被激活

基金项目: 国家自然科学基金(31801192); 中国博士后科学基金(2019M653286)

通信作者: 蒋鹏, E-mail: peng.jiang@ibt.pumc.edu.cn; 周倩, E-mail: zhouqian\_who@163.com

进入活化状态,形成血栓<sup>[5]</sup>。研究表明,血小板从静息状态进入活化状态后,其表面会高表达 P 选择素;同时,糖蛋白 IIb/IIIa (glycoprotein IIb/IIIa, GP IIb/IIIa) 亦会转变为对纤维蛋白具有高亲和力的构象<sup>[6]</sup>。因此,这两种分子可作为区分静息和活化血小板的标志物,用来鉴定早期血栓。

### 1.1 P 选择素

血小板激活表达 P 选择素后,可通过其糖蛋白配体-1 将白细胞募集至病灶区域参与血栓形成。因此,将 P 选择素抗体或糖蛋白配体-1 重组靶向配体与造影剂相偶联,将有望通过靶向活化血小板实现血栓特异性成像。Lindner 等<sup>[7]</sup>率先将 P 选择素单抗与脂质体微泡 (microbubbles, MBs) 偶联,证实其能提高炎症病灶的超声信号。Davidson 等<sup>[8]</sup>将 MBs 与糖蛋白配体-1 重组靶向配体偶联,发现其在心肌缺血再灌注模型中能实现病灶区域的超声分子成像。Appeldoorn 等<sup>[9]</sup>发现没食子酸修饰的 Glu-Trp-Val-Asp-Val 短肽 (GA-EWVDV) 与 P 选择素具有特异性高亲和力 ( $IC_{50} = 15.4 \text{ nm}$ ),其可作为 P 选择素靶标分子。Xu 等<sup>[10]</sup>将四氧化三铁 ( $Fe_3O_4$ )、全氟己烷 (perfluorohexane, PFH) 和墨汁装载入聚乳酸乙醇酸 (polylactic-co-glycolic acid, PLGA) 纳米结构,并在其表面用 GA-EWVDV 修饰得到纳米体系,其能靶向血栓性病灶并提供光声、磁共振成像 (magnetic resonance imaging, MRI) 和超声三模成像。尽管上述分子探针已取得一定成果,但肽类及蛋白质类配体制备耗时、花费高,且在体内循环系统中极易被降解,其临床应用需进一步验证。

褐藻糖胶是海藻中提取的一种天然多糖,其被证实与 P 选择素具有高亲和力。<sup>99m</sup>Tc 标记的褐藻糖胶 (<sup>99m</sup>Tc-Fuco) 能通过靶向 P 选择素,实现血栓的单光子发射计算机断层成像 (single photon emission computed tomography, SPECT)<sup>[11]</sup>。Suzuki 等<sup>[12]</sup>将褐藻糖胶修饰到超小顺磁纳米颗粒上,证实其能靶向活化血小板并实现血栓的 MRI 分子成像。Li 等<sup>[13]</sup>通过聚合反应得到褐藻糖胶修饰的微泡 (Fuco-MBs),其能在体内靶向富集到新生静脉血栓并提供超声信号;当施加瞬时高频超声后,MBs 结构会被破坏,从而丢失超声信号,Fuco-MBs 被证实其有望实现体内血栓的定量分析及溶栓药物的超声控释。Nguyen 等<sup>[14]</sup>借助多元醇构建了褐藻糖胶包被的掺杂铁元素的超小型氧化锌纳米体系,其具有磁性及荧光特质,靶向富集血栓后能提供病灶区域的 MRI 及荧光双模成像。2019 年完成了有关 <sup>99m</sup>Tc-Fuco 的临床 I 期评估,证实其良好的体内分布效应及生物安全性,II 期临床试验即将开展对患者不稳定新发血栓的临床检测研究,这些成果

将为基于褐藻糖胶的分子探针临床转化应用奠定基础<sup>[15]</sup>。

### 1.2 GP II b/III a

GP II b/III a 隶属于整合素蛋白家族,其在血小板上高表达。当血小板被激活后,GP II b/III a 构象从与纤维蛋白原的低亲和力构象转变为高亲和力构象,诱发血小板聚集而形成血栓。精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸 (arginine-glycinema-aspartic acid, RGD) 短肽被证实能模拟纤维蛋白原与 GP II b/III a 结合,其偶联造影剂可用于血栓成像<sup>[16]</sup>。Hu 等<sup>[17]</sup>利用环状 RGD (cyclic RGD, cRGD) 与 MBs 偶联得到 Mb-cRGD,证实其能增强腹腔动脉血栓超声信号,在多普勒成像辅助下可进一步确认血管狭窄程度。Ye 等<sup>[18]</sup>将钆 (Gd) 和超顺磁氧化铁封装到 cRGD 功能化的脂质体得到 cRGD@MLP-Gd,其能靶向活化血小板并增强病灶区域 MRI 的  $T_1$  和  $T_2$  造影信号,提升血栓诊断的精确性和灵敏性。Rix 等<sup>[19]</sup>将 cRGD 修饰到聚氰基丙烯酸正丁酯构建的 MBs 上,得到可长期稳定保存的超声造影剂 cRGD-MB,证实其能监视血管受损后的炎症发生及血栓形成。Kang 等<sup>[20]</sup>将二聚 cRGD 通过链亲和素/生物素与荧光分子 Alexa Fluor 680 偶联,并进一步用 <sup>64</sup>Cu 标记,得到可检测 GP II b/III a 表达水平的正电子发射断层扫描 (positron emission tomography, PET)/光学双模成像分子探针。Wu 等<sup>[21]</sup>近期将 RGD 修饰到近红外二区荧光分子 TTQ 的表面得到 TTQ-PEG-cRGD,其不但能在小鼠颈动脉血栓区域提供近红外二区荧光信号,还能区分新旧血栓,该体系为早期血栓非侵入精准影像学鉴定提供了新的思路和方法。Bai 等<sup>[22]</sup>通过多步乳化法将 PFH 和吲哚菁绿 (indocyanine green, ICG) 共封装入 PLGA 纳米结构,并在其表面修饰 cRGD 后得到 PLGA-cRGD-PFH-ICG 纳米平台,证实其能靶向富集到冠状动脉微血栓病灶并通过 ICG 实现光声和荧光双模成像。同时,PFH 在超声触发下还能形成空化效应,发挥溶栓效果。基于 RGD 靶向 GP II b/III a 的分子探针开发取得了一定进展,但由于 RGD 无法区分未激活和激活状态的 GP II b/III a 构象,该类分子探针理论上可与所有血小板结合,其成像效果仅依赖于血栓区域血小板与循环系统血小板的信噪差,特异性有待进一步提高。

近期,可特异性靶向 GP II b/III a 激活构象的单链抗体 (single-chain variable antibody fragment, scFv) 受到广泛关注。基于 scFv 的分子探针也已在血小板活化相关的多种疾病中取得初步成果。Lim 等<sup>[23]</sup>将近红外荧光分子与 scFv 偶联后,证实其可用于血栓早期三维光学成像。单链抗体与 MBs 和氧化铁纳米颗粒偶

联后,也展示出与早期血栓较强的特异性结合能力<sup>[24]</sup>。Ta 等<sup>[25]</sup>将单链抗体与具备 MRI T<sub>1</sub> 和 T<sub>2</sub> 双重造影特性的超小型磁性氧化铁纳米粒子偶联,实现了小鼠颈动脉血栓的 MRI 双模造影成像,其克服了 T<sub>1</sub> 或 T<sub>2</sub> 单独成像的缺陷,显著提高了血栓检测的精准性。Li 等<sup>[26]</sup>将 svFv 通过“点击反应”修饰到具有荧光及磁性双重特质的 DBM-NaGdF<sub>4</sub> 表面,证实其能靶向聚集到高表达 GP II b/III a 区域,提供 MRI 和荧光双模造影信号。

## 2 基于纤维蛋白的分子成像

纤维蛋白是血栓形成中的另一个关键因素,其在血栓形成初期往往浓度较高,后期逐渐被胶原蛋白或其他纤维蛋白所取代<sup>[27]</sup>。基于此,设计开发靶向纤维蛋白的分子探针将有望为血栓早期影像学鉴定提供帮助。

Botnar 等<sup>[28]</sup>率先合成了能与纤维蛋白特异性结合的含 Gd 短肽(EP-1873),其可实现易损斑块的 MRI 分子成像。Overoye-Chan 等<sup>[29]</sup>用羟基脯氨酸、氯酪氨酸及谷氨酸取代修饰 EP-1873 得到新型短肽 EP-2104R,其具备更好的靶向和造影效果,动物模型证实其能实现冠状动脉血栓和肺栓塞的 MRI 分子成像。Ay 等<sup>[30]</sup>将 EP-2104R 用<sup>64</sup>Cu 标记后,其能实现大鼠血栓 PET 成像;而当溶栓治疗后,其病灶区域信号减弱甚至消失,表明该探针可用于血栓成像及定量分析。考虑到 Gd 对肾功能不全患者的安全风险,Gale 等<sup>[31]</sup>以 EP-2104R 为模板,用锰基螯合物取代 Gd 制备了 Mn-FBP 探针,其在颈动脉血栓模型中显示出与 EP-2104R 相当的造影效果,为开发适用于肾功能不全人群的非 Gd 血栓分子探针奠定了基础。在另一项研究中,Oliveira 等<sup>[32]</sup>将 EP-2104R 用<sup>68</sup>Ga 或<sup>111</sup>In 标记,证实其能实现血栓的 SPECT/PET/CT 三模成像。Hara 等<sup>[33]</sup>则以 EP-2104R 为基础设计了近红外染料标记的肽,证实其能实现颈静脉血栓荧光成像。尽管 EP-2104R 现阶段已开展部分临床试验,但尚无产品获批临床使用。

## 3 基于凝血酶响应的分子探针

凝血酶主要通过将纤维蛋白原裂解为纤维蛋白,使后者发生交联反应而稳定血栓结构,其在血栓形成阶段往往表达活性升高,亦可作为早期血栓性疾病的生物标志分子。

近期,Lux 等<sup>[34]</sup>将凝血酶敏感的细胞穿膜肽(ACPP)与 MBs 偶联,其能在血栓区域通过凝血酶特异性裂解 ACPP 而暴露 MBs 正电荷表面,黏附至带负电荷的红细胞表面从而实现血栓分子的造影成像。Kwon 等<sup>[35]</sup>将近红外荧光分子 Cy5.5 通过凝血酶响应肽偶联至二氧化硅包裹的金纳米颗粒表面,得到荧光/CT 双模分子探针 TAP-SiO<sub>2</sub>@AuNPs,其在正常生

理状态下,Cy5.5 信号被 AuNPs 淬灭而无成像效果;在血栓区域,结构中的连接肽可被凝血酶特异性切割,从而释放 Cy5.5 发出荧光信号,AuNPs 则可通过纳米尺寸效应积聚至血栓部位,从而实现病灶区域的荧光/CT 双模造影成像。类似地,Wang 等<sup>[36]</sup>利用凝血酶敏感肽(LASG)将荧光分子 FITC 与 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 偶联得到 FITC-LASG-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 分子探针,正常情况下其 FITC 信号会被 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 所淬灭,而当 LASG 被血栓区域凝血酶特异性切割时,其释放的 FITC 才会呈现信号,从而联合 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 实现病灶区域荧光/MRI 联合可视化成像。

## 4 基于双靶向系统的分子探针

不同于肿瘤等疾病的分子探针,血栓分子探针需面临高血流剪切力冲击考验,其与血栓标志物的黏附强度及滞留时间将直接影响其提供的造影信号。构建针对不同靶标的双配体探针将有望提高靶向富集效率并延长滞留时间,从而达到增强血栓分子成像信号的目的。Zhang 等<sup>[37]</sup>将 cRGD 与 GA-EWVDV 共同修饰到聚多巴胺纳米表面,相比单肽修饰的纳米体系,双肽修饰的纳米结构对不同类型的急性血栓均展示出更高的靶向富集效率及更长的滞留时间,显著增强了血栓的 MRI 和光声双模成像效果。Günther 等<sup>[38]</sup>将能与 GP II b/III a 特异性结合的抗体及 P 选择素天然配体 sialyl lewis X 共同修饰到 MBs 表面,构建了双重靶向超声造影剂(MBDual);在体外模拟中,其与血小板的黏附能力明显高于单配体修饰 MBs,且 MBDual 在体内颈动脉血栓模型也显示出较高的超声信号。近期,Yang 等<sup>[39]</sup>将纤维蛋白靶向肽与 ACPP 共修饰至脂质体纳米表面,证实了纤维蛋白靶向肽与 ACPP 的双靶向组合能显著提高纳米体系的靶向效率和渗透效率,从而更有利于实现血栓的 3 维立体精准成像。相比于单配体探针,双配体修饰的分子探针在血栓病灶黏附强度、滞留时间及渗透效率方面展现出更大优势,其为血栓的精准成像提供了全新的思路。

## 5 小结与展望

尽管基于血小板、纤维蛋白及凝血酶等血栓关键组分的分子影像探针已取得一定成果,但其仍有各自不足<sup>[40]</sup>。例如,静脉血栓中血小板占比远低于动脉血栓,导致基于血小板的分子探针在静脉血栓成像中效果不佳;而纤维蛋白不仅在血栓部位表达,还在血管炎症部位表达,其分子探针存在脱靶风险;此外,凝血酶往往存在于血栓内部,物理阻隔也成为响应型探针成像效果的限制因素;同时,肽类分子探针往往面临体内降解风险,其稳定性也需更多研究。在未来,更多血栓标志物的发现和加入将为开发多元化血栓分子探针带来机遇,这些成果在血栓早期诊断方面具有

广阔的应用前景,其终将为临床患者带来帮助。

### 参 考 文 献

- [1] Koupnova M, Clancy L, Corkrey HA, et al. Circulating platelets as mediators of immunity, inflammation, and thrombosis[J]. *Circ Res*, 2018, 122(2):337-351.
- [2] Wendelboe AM, Raskob GE. Global burden of thrombosis: epidemiologic aspects [J]. *Circ Res*, 2016, 118(9):1340-1347.
- [3] Lanza GM, Cui G, Schmieder AH, et al. An unmet clinical need: the history of thrombus imaging[J]. *J Nucl Cardiol*, 2019, 26(3):986-997.
- [4] Hafiane A. Vulnerable plaque, characteristics, detection, and potential therapies [J]. *J Cardiovasc Dev Dis*, 2019, 6(3):26.
- [5] van der Meijden PEJ, Heemskerk JWM. Platelet biology and functions: new concepts and clinical perspectives[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2019, 16(3):166-179.
- [6] Yeung J, Li W, Holinstat M. Platelet signaling and disease: targeted therapy for thrombosis and other related diseases [J]. *Pharmacol Rev*, 2018, 70(3):526-548.
- [7] Lindner JR, Song J, Christiansen J, et al. Ultrasound assessment of inflammation and renal tissue injury with microbubbles targeted to P-selectin[J]. *Circulation*, 2001, 104(17):2107-2112.
- [8] Davidson BP, Chadderdon SM, Belcik JT, et al. Ischemic memory imaging in nonhuman primates with echocardiographic molecular imaging of selectin expression[J]. *J Am Soc Echocardiogr*, 2014, 27(7):786-793.
- [9] Appeldoorn CC, Molenaar TJ, Bonnefoy A, et al. Rational optimization of a short human P-selectin-binding peptide leads to nanomolar affinity antagonists [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(12):10201-10207.
- [10] Xu J, Zhou J, Zhong Y, et al. Phase transition nanoparticles as multimodality contrast agents for the detection of thrombi and for targeting thrombolysis: in vitro and in vivo experiments [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2017, 9(49):42525-42535.
- [11] Rouzet F, Bachelet Violette L, Alsac JM, et al. Radiolabeled fucoidan as a P-selectin targeting agent for in vivo imaging of platelet-rich thrombus and endothelial activation[J]. *J Nucl Med*, 2011, 52(9):1433-1440.
- [12] Suzuki M, Bachelet-Violette L, Rouzet F, et al. Ultrasmall superparamagnetic iron oxide nanoparticles coated with fucoidan for molecular MRI of intraluminal thrombus[J]. *Nanomedicine (Lond)*, 2015, 10(1):73-87.
- [13] Li B, Aid-Launais R, Labour MN, et al. Functionalized polymer microbubbles as new molecular ultrasound contrast agent to target P-selectin in thrombus [J]. *Biomaterials*, 2019, 194:139-150.
- [14] Nguyen H, Tinet E, Chauveau T, et al. Bimodal fucoidan-coated zinc oxide/iron oxide-based nanoparticles for the imaging of atherothrombosis [J]. *Molecules*, 2019, 24(5):962.
- [15] Zheng KH, Kaiser Y, Poel E, et al. 99mTc-fucoidan as diagnostic agent for P-selectin imaging: first-in-human evaluation (phase I) [J]. *Atherosclerosis*, 2019, 287:e143.
- [16] Unger E, Porter T, Lindner J, et al. Cardiovascular drug delivery with ultrasound and microbubbles [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2014, 72:110-126.
- [17] Hu G, Liu C, Liao Y, et al. Ultrasound molecular imaging of arterial thrombi with novel microbubbles modified by cyclic RGD in vitro and in vivo [J]. *Thromb Haemost*, 2012, 107(1):172-183.
- [18] Ye S, Liu Y, Lu Y, et al. Cyclic RGD functionalized liposomes targeted to activated platelets for thrombosis dual-mode magnetic resonance imaging [J]. *J Mater Chem B*, 2020, 8(3):447-453.
- [19] Rix A, Fokong S, Heringer S, et al. Molecular ultrasound imaging of  $\alpha v \beta 3$ -integrin expression in carotid arteries of pigs after vessel injury [J]. *Invest Radiol*, 2016, 51(12):767-775.
- [20] Kang CM, Koo HJ, An GI, et al. Hybrid PET/optical imaging of integrin  $\alpha v \beta 3$  receptor expression using a  $^{64}\text{Cu}$ -labeled streptavidin/biotin-based dimeric RGD peptide [J]. *EJNMMI Res*, 2015, 5(1):60.
- [21] Wu Y, Wang C, Guo J, et al. An RGD modified water-soluble fluorophore probe for in vivo NIR-II imaging of thrombosis [J]. *Biomater Sci*, 2020, 8(16):4438-4446.
- [22] Bai S, Liao J, Zhang B, et al. Multimodal and multifunctional nanoparticles with platelet targeting ability and phase transition efficiency for the molecular imaging and thrombolysis of coronary microthrombi [J]. *Biomater Sci*, 2020, 8(18):5047-5060.
- [23] Lim B, Yao Y, Huang AL, et al. A unique recombinant fluorophore targeting activated platelets allows in vivo detection of arterial thrombosis and pulmonary embolism using a novel three-dimensional fluorescence emission computed tomography (FLECT) technology [J]. *Theranostics*, 2017, 7(5):1047-1061.
- [24] Ta H, Li Z, Hagemeyer C, et al. Self-confirming molecular imaging of activated platelets via iron oxide nanoparticles displaying unique dual MRI contrast [J]. *Atherosclerosis*, 2017, 263:e146.
- [25] Ta HT, Li Z, Hagemeyer CE, et al. Molecular imaging of activated platelets via antibody-targeted ultra-small iron oxide nanoparticles displaying unique dual MRI contrast [J]. *Biomaterials*, 2017, 134:31-42.
- [26] Li Y, Xin F, Hu J, et al. Functionalization of NaGdF<sub>4</sub> nanoparticles with a dibromomaleimide-terminated polymer for MR/optical imaging of thrombosis [J]. *Polym Chem*, 2020, 11(5):1010-1017.
- [27] Lin H, Xu L, Yu S, et al. Therapeutics targeting the fibrinolytic system [J]. *Exp Mol Med*, 2020, 52(3):367-379.
- [28] Botnar RM, Perez AS, Witte S, et al. In vivo molecular imaging of acute and subacute thrombosis using a fibrin-binding magnetic resonance imaging contrast agent [J]. *Circulation*, 2004, 109(16):2023-2029.
- [29] Overoye-Chan K, Koerner S, Looby RJ, et al. EP-2104R: a fibrin-specific gadolinium-based MRI contrast agent for detection of thrombus [J]. *J Am Chem Soc*, 2008, 130(18):6025-6039.
- [30] Ay I, Blasi F, Rietz TA, et al. In vivo molecular imaging of thrombosis and thrombolysis using a fibrin-binding positron emission tomographic probe [J]. *Circ Cardiovasc Imaging*, 2014, 7(4):697-705.
- [31] Gale EM, Atanasova IP, Blasi F, et al. A manganese alternative to gadolinium for MRI contrast [J]. *J Am Chem Soc*, 2015, 137(49):15548-15557.
- [32] Oliveira BL, Blasi F, Rietz TA, et al. Multimodal molecular imaging reveals high target uptake and specificity of <sup>111</sup>In- and <sup>68</sup>Ga-labeled fibrin-binding probes for thrombus detection in rats [J]. *J Nucl Med*, 2015, 56(10):1587-1592.
- [33] Hara T, Bhayana B, Thompson B, et al. Molecular imaging of fibrin deposition in deep vein thrombosis using fibrin-targeted near-infrared fluorescence [J]. *JACC Cardiovasc Imaging*, 2012, 5(6):607-615.
- [34] Lux J, Veziridis AM, Hoyt K, et al. Thrombin-activatable microbubbles as potential ultrasound contrast agents for the detection of acute thrombosis [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2017, 9(43):37587-37596.
- [35] Kwon SP, Jeon S, Lee SH, et al. Thrombin-activatable fluorescent peptide incorporated gold nanoparticles for dual optical/computed tomography thrombus imaging [J]. *Biomaterials*, 2018, 150:125-136.
- [36] Wang Y, Xu M, Yang N, et al. A thrombin-responsive nanoprobe for in vivo visualization of thrombus formation through three-dimensional optical/computed tomography hybrid imaging [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2021, 13(24):27814-27824.
- [37] Zhang Y, Zhong Y, Ye M, et al. Polydopamine-modified dual-ligand nanoparticles as highly effective and targeted magnetic resonance/photoacoustic dual-modality thrombus imaging agents [J]. *Int J Nanomedicine*, 2019, 14:7155-7171.
- [38] Günther F, Heidt T, Kramer M, et al. Dual targeting improves capture of ultrasound microbubbles towards activated platelets but yields no additional benefit for imaging of arterial thrombosis [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):14898.
- [39] Yang A, Qiao B, Strohm EM, et al. Thrombin-responsive engineered nanoexcavator with full-thickness infiltration capability for pharmaceutical-free deep venous thrombosis theranostics [J]. *Biomater Sci*, 2020, 8(16):4545-4558.
- [40] Su M, Dai Q, Chen C, et al. Nano-medicine for thrombosis: a precise diagnosis and treatment strategy [J]. *Nanomicro Lett*, 2020, 12(1):96.

收稿日期:2021-06-19