



基于表面等离子体共振在癌症标志物检测中的研究进展

冯雅岚, 赵钊, 梁花蕾, 万红, 崔海容, 刘虎威*

(武昌理工学院 生命科学学院, 湖北 武汉 430223)

摘要: 癌症标志物的检测在早期癌症诊断中非常重要, 然而, 这些标志物通常以非常低的浓度存在, 特别是在肿瘤发展的早期。表面等离子体共振(SPR)是一种光学现象, 通过检测生物传感芯片上配位体与分析物之间的相互作用可实时追踪生物分子间的相互作用, 具有实时性和免标记等优势。SPR传感器在生命科学、医疗检测、药物筛选等领域具有广泛的应用。该文综述了SPR生物传感器在检测各种癌症(包括肺癌、乳腺癌、卵巢癌、肝癌和前列腺癌)生物标志物方面的最新进展, 从检测灵敏度等方面评估了各种SPR生物传感器的性能, 并探讨了与SPR生物传感器有关的癌症生物标志物检测的局限性和未来发展方向。

关键词: 表面等离子体共振; 生物传感器; 癌症; 生物标志物

中图分类号: O353.11; TP212.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2024)12-1986-11

Research Progress in Cancer Biomarker Detection Based on Surface Plasmon Resonance

FENG Ya-lan, ZHAO Zhao, LIANG Hua-lei, WAN Hong, CUI Hai-rong, LIU Hu-wei*

(College of Life Science, Wuchang University of Technology, Wuhan 430223, China)

Abstract: The detection of cancer markers is crucial in early cancer diagnosis. However, these markers typically exist at very low concentrations, especially in the early stages of tumor development. Surface plasmon resonance (SPR) is an optical phenomenon that tracks the interactions between biomolecules in real-time by detecting the interactions between ligands and analytes on biosensing chips. It has advantages such as real-time performance and label free properties. SPR sensor has a wide range of applications in life sciences, medical testing, drug screening, and other fields. This paper reviews the latest progress of SPR biosensors in detecting various cancer biomarkers, including lung cancer, breast cancer, ovarian cancer, liver cancer and prostate cancer. The performance of various SPR biosensors was evaluated from the aspects of the detection limit. Furthermore, the limitations and future development directions of cancer biomarker detection based on SPR biosensors were discussed.

Key words: surface plasmon resonance; biosensing; cancer; biomarker

癌症是世界上死亡率较高的常见疾病, 对人类健康构成极大威胁。对癌症的早期识别和诊断可以大大提高治疗干预的有效性和患者的存活率, 对于挽救患者生命至关重要^[1]。鉴于此, 科学家们开发了多种癌症无创检测技术, 包括医学成像技术和生物传感技术等。

医学成像技术主要利用形态学修饰来识别癌组织, 例如, 乳房X光检查^[2]、超声检查^[3-4]、计算机断层扫描^[5]、磁共振成像^[6]等。生物传感技术主要基于电化学^[7]、荧光光谱^[8]、表面等离子体共振(SPR)^[9]等方法。SPR通过检测金属表面中等离子体(自由电子)受近场光激发并共振吸收后产生的光信号变化来检测物质, 其检测原理见图1。当光源发出的偏振光(电磁波)以一定的角度入射到棱镜中, 在棱镜与金属的界面处将发生反射和折射, 当入射角大于临界角时, 光线将发生全内反射。在此情况下, 电场在金属与棱镜的界面处并不立即消失, 而是向金属介质中传输振幅呈指数衰减的消逝波, 同

时引发金属中的自由电子产生表面等离子波。当金属表面等离子波与消逝波发生共振时，检测到的反射光强度会大幅度地减弱，能量从光子转移到表面等离子，入射光的大部分能量被金属表面等离子波吸收，使得反射光的能量急剧减少。当入射光波长固定时，反射光强度是入射角的函数，其中反射光强度最低时所对应的入射角为共振角。SPR 对附着在金属薄膜表面的介质折射率非常敏感，当表面介质的属性改变或者附着量改变时，共振角将不同。因此，分析物靠近某些金属传感表面会引起折射率变化，出现光信号位移或强度变化。因折射率与物质浓度或含量相关，故 SPR 可用于纯净物的定量分析^[10]。

SPR 能简单快捷地监测 DNA 与蛋白质之间、蛋白质与蛋白质之间、药物与蛋白质之间、核酸与核酸之间、抗原与抗体之间、受体与配体之间的分子相互作用，因而广泛应用于生物医药领域。其中，SPR 在检测癌症生物标记物方面具有多重优势，例如对目标生物分子的实时、快速、无标记的高灵敏度监测^[11]，以及检测结果可靠、成本低等^[12-13]。据报道，SPR 技术可以在早期肿瘤诊断过程中，对临床样本中的蛋白质生物标志物进行高效高通量筛选^[14]。此外，基于 SPR 的生物传感器还可用于检测癌症患者样本中的多个靶标和目标待测物^[15]，包括抗体 (Ab)^[16]、药物^[17]、细菌^[18]、病毒^[19]、蛋白质^[20-21]、核酸^[22]、外泌体生物标志物^[23]和 miRNA^[24]等。这些特性和优势使 SPR 成为检测各种癌症 (例如乳腺癌、肺癌和卵巢癌^[24-25]) 生物标记物的有效工具。

本文综述了近 10 年来 SPR 生物传感器在检测各种癌症 (包括肺癌、乳腺癌、卵巢癌、肝癌和前列腺癌) 生物标志物方面的最新进展，从检出限 (LOD) 等方面评估了各种 SPR 生物传感器的性能，并探讨了与 SPR 生物传感器有关的癌症生物标志物检测方法的局限性和未来发展方向，为未来构建 SPR 生物传感器平台提供参考。

1 肺癌标志物检测

肺癌是常见的癌症之一，也是全球第五大死亡原因^[26]。据预测，到 2030 年，全球肺癌发病将达到 289 万例，比 2018 年增长约 38%^[27]。因此，提高肺癌的早期检出率不仅能够大大提高癌症患者的生存率，而且对于改善肺癌的预后和延长生存期至关重要。肺肿瘤是异质性的，分为小细胞肺癌和非小细胞肺癌两种类型，后者占病例的 80% 以上^[7]。鉴于其结构异质性和高死亡率，开发快速诊断癌症的方法势在必行。目前，利用 SPR 技术可检测到多种肺癌标志物，表 1 列举了部分相关研究^[28-35]。

表 1 SPR 生物传感器检测肺癌生物标志物

Table 1 SPR biosensor to detect lung cancer biomarkers

SPR configuration (SPR 配置)	Biomarker (生物标志物)	Biological sample (生物样本)	LOD (最低检出限)	Reference (参考文献)
BI-SPR 3000	Cytokeratin 19 biomarker (细胞角蛋白 19 生物标志物)	Human plasma (人血浆)	0.05 pg/mL	[28]
Compact SPR biosensor (紧凑型 SPR 生物传感器, 25 cm × 10 cm × 25 cm)	Exosomal EGFR and PD-L1 (EGFR 和 PD-L1 外泌体)	Human serum (人血清)	2 × 10 ¹⁰ exosomes/mL	[29]
BI-SPR 3000 dual channel instrument (BI-SPR 3000 双通道设备)	Cytokeratin 19 fragment (CYFRA21-1)	Blood serum (血清)	0.05 pg/mL	[30]
LSPR-based biosensor (LSPR 生物传感器)	Exosomes (外泌体)	Buffer solutions (缓冲溶液)	1 ng/mL	[31]
SPR-TFBGs	CK17 (细胞角蛋白 17)	Freshly collected human lung biopsy (新鲜人肺活检切片)	10 ⁻¹⁰ g/mL	[32]
SAM-AuNIs LSPR	Exosomes from MVs isolated from A-549 cells, SH-SY5Y cells (A549 细胞、SH-SY5Y 细胞外泌体)	Blood serum and urine (血清及尿液)	0.194 μg/mL	[33]
SPR-based Biacore (SPR 生物传感器)	CEA (癌胚抗原)	Blood serum (血清)	3 ng/mL	[34]
LSPR scattering biosensor (LSPR 散射生物传感器)	miR-205 (微小 RNA-205)	Blood serum (血清)	5 pmol/L	[35]

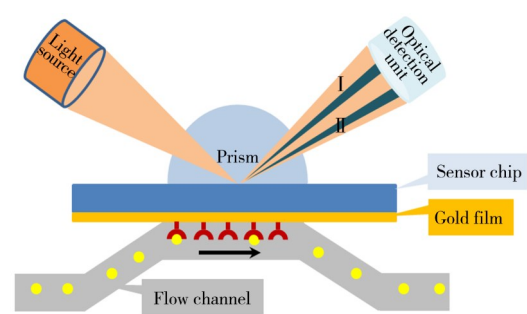


图 1 SPR 生物传感器检测原理图

Fig. 1 Schematic diagram of SPR biosensor detection

1.1 肺癌蛋白标志物检测

癌胚抗原(CEA)是肺癌的蛋白质标志物之一^[34]。它是一种细胞糖蛋白,其血清浓度大于3~5 ng/mL被认为是癌症发生的标志^[34, 36]。SPR检测CEA已有不少报道。2011年,Altintas等^[34]在直接捕获和夹心免疫测定中,观察到夹心测定具有优异的性能,LOD低至3 ng/mL,且有很好的再现性。此后,Wang等^[37]开发了一种改进的SPR生物传感器,除了三明治扩增方法外,还加入了金纳米粒子。该方法检测CEA的LOD为1.0 ng/mL,低于肺癌发生的临界值。Teotia等^[38]提出了一种基于光栅的SPR波导生物传感器,用于检测两种肺癌的蛋白质生物标志物:CEA和表皮生长因子受体(EGFR)。Zhou等^[39]设计开发了另一种具有高灵敏度、低成本、便携式快速检测人体血清中CEA的方法,通过用抗CEA对等离子体纳米阵列的表面进行官能化来制备生物传感芯片,实现了低于肺癌发生临界值的LOD检测。

细胞角蛋白是另一种蛋白质类的肺癌标志物,它在非小细胞肺癌诊断中很有意义。细胞角蛋白CYFRA 21-1对非小细胞肺癌鉴定的特异性和敏感性均高于其他蛋白质标志物,包括CEA和鳞状细胞癌相关抗原^[34]。Ribaut等^[32]报道了一种基于等离子体光纤的传感器,用于检测肺癌特异性生物标志物细胞角蛋白17(CK17)。光纤传感器包括倾斜光纤光栅(TFBG)、功能化光纤、抗体固定等。将CK17封装在凝胶中以模拟组织样品,金涂层的光纤传感器被放置在指定的生物相容性包装中,以具有足够的刚性来穿透软材料。由于采用了SPR-TFBG技术、光纤材料和生物相容性包装,使得该生物传感器具有灵敏度高(LOD=1 pmol/L)、体积小和结构坚固等优点。此外,该生物传感器能够通过肺叶切除获得的癌症样本进行检测以确诊。

Chiu等^[28]对基于氧化石墨烯(GO)的GO-COOH芯片免疫传感器进行了研究,该传感器可以利用细胞角蛋白19(CK19)检测非小细胞肺癌(图2A)。通过实时监控不同浓度CK19和抗CK19之间的生物分子相互作用以获得传感图及数据。基于GO-COOH的SPR芯片比传统芯片的响应时间更短,且LOD范围为0.001~100 pg/mL(图2B)。

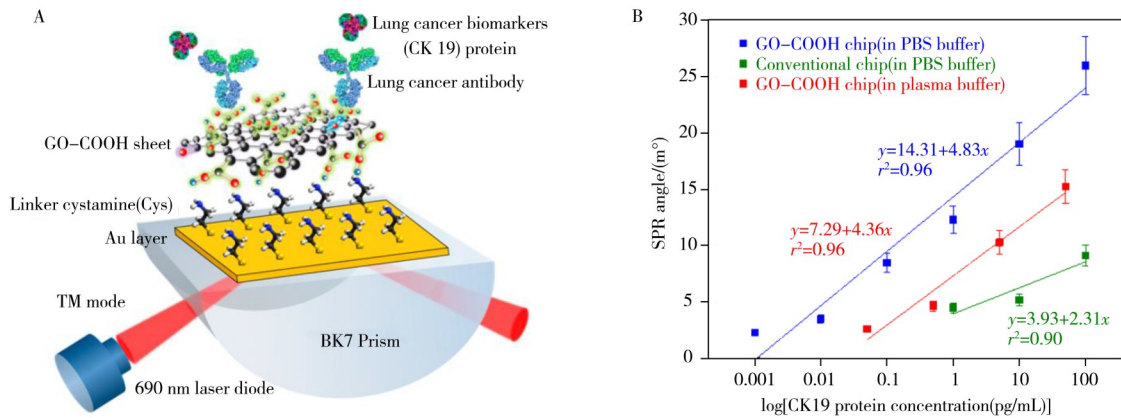


图2 基于GO-COOH的SPR免疫传感器检测CK19(A),以及在不同CK19浓度下SPR生物传感器的响应及其线性范围(B)^[28]

Fig. 2 GO-COOH-based SPR structure as immunosensor to detect CK19(A), and response of SPR biosensor at different CK19 concentrations and their linear ranges(B)^[28]

1.2 miRNA肺癌标志物检测

miRNA也是主要的肺癌生物标志物,其含有19~25个核酸碱基对^[36]。miRNA表达模式的上调或下调与肺癌,尤其是非小细胞肺癌的相关性显著^[36, 40],而miRNA在体液中的丰富性显示了其作为肺癌生物标志物的潜力^[36]。为使SPR生物传感器更适合于诊断和筛查肺癌的miRNA,人们做了一些技术改进。例如,基于纳米结构的SPR传感器在miRNA检测方面具有优越的性能,Qian等^[41]发展了一种选择性检测miRNA的新方法,通过利用苯基硼酸功能化的金纳米颗粒(PBA-AuNPs)对光纤SPR传感系统的信号放大,可以检测低至0.27 pmol/L的miRNA Let-7a。此外,PBA-AuNPs系统还可以通过选择性扩增RNA信号来区分RNA和DNA,且所采用的光纤技术也降低了检测系统的复杂性^[41]。

非特异性吸附一直是干扰生物传感器正常工作的问题。Nie等^[42]通过在金表面覆盖DNA四聚体探针(DTPs)制造了一种新型防污染表面。SPR分析显示,DTP-Au表面的非特异性吸附率较低(≤ 8.0

ng/cm²)。该传感器灵敏度高、选择性好,可以在同源家族中检测到miRNA Let-7a, LOD低至0.8 fmol/L。Ding等^[43]开发了一种利用SPR偶联DNA超级三明治组件和基于生物素-链霉亲和素的扩增进行miRNA的无标记检测方法,被称为“双信号放大策略”。经放大后,LOD可低至9 pmol/L。Mujica等^[44]开发了一种利用SPR转导杂交体检测miRNA-21基因传感器。SPR传感表面通过在3-巯基丙烷磺酸盐修饰的金表面上自组装聚二烯丙基二甲基氯化铵和GO的两个双分子层,然后共价连接DNA探针来构建。GO具有两种功能:锚定探针DNA,以及提高生物传感器的灵敏度。新的分析平台是miRNA-21无标记生物传感的优选方案,线性范围为1.0 fmol/L~10 nmol/L, LOD为0.3 fmol/L。

1.3 肺癌相关外泌体检测

外泌体是被膜包围并由肿瘤细胞分泌的纳米级(平均直径=30~150 nm)磷脂双层囊泡(EVs)^[45],含核酸、膜蛋白和碳水化合物等生物活性物质,可以提供有关恶性肿瘤发生、转移、免疫调节、血管生成和组织再生的关键信息^[46],因此可以作为快速检测癌症细胞的生物标记物。外泌体LRG1已被确定为检测非小细胞肺癌的潜在尿液生物标记物^[47]。为了消除传统SPR传感器的局限性,Liu等^[29]开发了一种尺寸为25 cm×10 cm×25 cm的强度可调、紧凑型SPR生物传感器。该纳米生物传感器基于传统的SPR传感机制,但无需制作纳米结构。小型SPR生物传感器可检测外泌体EGFR,可望用于肺癌诊断。此外,SPR生物传感器的灵敏度高于ELISA,且传感精度与ELISA相当。然而,使用SPR传感器检测EGFR时,常由于EGFR分子体积小而受到限制。厄洛替尼是一种主要用于非小细胞癌的抗肿瘤药,可与过表达的EGFR受体相互作用。与单一的厄洛替尼功能化传感器相比,磁性纳米粒子与厄洛替尼功能化SPR传感器的结合可使人肺癌细胞(A549细胞系)EGFR的作用信号放大2.5倍^[48]。

2 乳腺癌标志物检测

乳腺癌已成为造成女性死亡的第二大癌症^[49]。女性患乳腺癌的风险取决于年龄、基因突变、家族史、环境条件和晚育^[50]。开发新的生物标记物以实现早期诊断、准确预后和监测治疗反应,对于改善乳腺癌治疗至关重要^[51]。各种生物分子,如粘蛋白1(MUC-1)^[52]、乳腺癌抗原^[53]、CEA^[54]、癌症抗原125(CA-125)^[55]、miRNA^[51]和乳腺珠蛋白^[56]是乳腺癌检测重要的生物标记物,详见表2^[45, 57-66]。

2.1 乳腺癌蛋白标志物检测

基于金纳米探针的几种SPR生物传感器已用于检测各种乳腺癌生物标志物。例如,基于表面等离子体共振成像(SPRi)的抗体偶联量子点(Ab@QDs)生物传感器可用于检测血管生成素-2(Ang-2)、细胞凋亡抗原1(Fas)、人表皮生长因子受体2(HER2)和基质金属蛋白酶-9(MMP-9)等肿瘤生物标志物^[65]。该技术检测到生物素化的Ab和链霉亲和素包被的QD之间的特异性相互作用(SA-QD₈₀₀: λ_{发射}=800 nm)。该方法中使用的量子点可用于放大抗原-抗体相互作用的信号强度^[65]。对于SPRi测量,将固定捕获抗体(cAbs:抗MMP-9,抗HER2,抗Fas和抗Ang-2)的金基底放置在SPR设备中,然后依次添加抗原,在连续流动状态下可检测抗体和SA-QDs800,包括dAbs:生物素化抗人Ang-2、人Fas/肿瘤坏死因子受体超家族成员6(TNFRSF6)/分化簇95(CD95)生物素化抗体、人ErbB2/HER2生物素化抗体、人MMP-9生物素化抗体等。该传感器对Fas、Ang-2、HER2和MMP-9的LOD为25 pg/mL。量子点可以放大信号的原因是质量加载效应,以及量子点自发发射与金表面传播的表面等离子体之间的双向共振耦合^[65, 67]。这种信号放大方法已成功用于在宽动态范围(0.2~200 ng/mL)内监测MMP-9、Fas、Ang-2和HER2^[65]。

Saha等^[57]利用波动理论提出了一种基于SPR和瞬态波的光纤生物传感器,并在多层结构中进行设计和模拟。该结构包括一个核心直径为15 μm的无包层多模光纤,以及一层15 nm金和一层3-氨基丙基三乙氧基硅烷、戊二醛、HER2抗体和HER2抗原。经贝塞尔-高斯光束照射后,对输出光束进行分析。与其他基于光纤的传感器相比,该传感器具有优越的灵敏度和分辨率。可以检测癌症早期阶段的HER2,为乳腺癌检测提供了一个更好的传感平台。

夹层纳米粒子增强SPR的策略还可用于血清和原始癌症裂解物中ErbB2的检测^[68]。该生物传感器在镀金的传感器芯片上自组装巯基十一烷酸的单分子膜,类似三明治的夹层结构。链霉亲和素修饰的金纳米粒子(SAv-AuNPs)增强了其测定血清样品中ErbB2的灵敏度(LOD为180 pg/mL)。

表2 SPR生物传感器检测乳腺癌生物标志物
Table 2 SPR biosensors detect breast cancer biomarkers

SPR configuration (SPR 配置)	Biomarker (生物标志物)	Biological sample (生物样本)	LOD (最低检出限)	Reference (参考文献)
Custom-made SPR platform30 (定制 SPR 平台 30)	HER2-specific exosome (HER2 特异性外泌体)	Blood serum (血清)	2070 exosomes/ μ L	[45]
Shining Bessel-Gauss Beam SPR (闪光贝塞尔-高斯光束 SPR)	HER2 (人表皮生长因子受体 2)	Phosphate buffer (缓冲溶液)	25 pg/mL	[57]
SPR2 biosensor Sierra Sensors GmbH (SPR2 生物传感器 Sierra Sensors GmbH, Hamburg, Germany)	ErbB2 (酪氨酸激酶受体 2)	Spiked human serum/raw cancer lysates (加标人血清/癌症裂解物)	180 pg/mL	[58]
LSPR	Mutations (E542K and E545K) and methylation of the PIK3CA gene (PIK3CA 基因的突变体 (E542K 和 E545K) 和甲基化)	Spiked human serum (加标人血清)	200 fmol/L	[59]
LSPRi (diameter of 25.4 mm)	Exosome and exosomal proteins: endosome-specific tetraspanins (CD9 and CD63) (外泌体和外泌体蛋白: 内泌体特异性四链蛋白 (CD9 和 CD63))	Breast adenocarcinoma cell line (乳腺癌细胞系)	1 single exosome	[60]
Modification of SPR chip with MUC1 aptamer (MUC1 修饰 SPR 芯片)	MCF-7 cells (人乳腺癌细胞 MCF-7)	Blood serum (血清)	500 cells/mL	[61]
EC-SPR (Dingcheng Technology, Changchun, China)	Exosomes secreted by MCF-7 breast cancer cells and MCF-10A normal breast cells (MCF-7 乳腺癌细胞和 MCF-10A 正常乳腺细胞分泌的外泌体)	Fetal bovine serum (胎牛血清)	5×10^3 exosomes/mL	[62]
SPR (National Instruments Pty Ltd., Australia)	BT474 breast cancer cell-derived exosomes (BT474 乳腺癌细胞来源的外泌体)	Blood serum (血清)	8280 exosomes/ μ L	[63]
SPR (NiO-RGD)	MCF-7 (人乳腺癌细胞 MCF-7)	Phosphate buffer (缓冲溶液)	136 cells/mL	[64]
Gold-coated SPRi chip//SPRi Lab+ instrument (镀金 SPRi 芯片//SPRi 实验室+仪器, GenOptics, Chilly-Mazarin, France)	Fas, angiopoietin-2, human HER2 and matrix metalloproteinase-9 (Fas、血管生成素-2、人 HER2 和基质金属蛋白酶-9)	Phosphate buffer (缓冲溶液)	25 pg/mL	[65]
Quantitative and multiplexed LSPR sensing on-a-chip (定量和多通路 LSPR 传感芯片)	CA15-3, CA 125, CEA and ErbB2 (癌症抗原 15-3, 癌症抗原 125, 癌胚抗原和酪氨酸激酶受体 2)	Human serum (人血清)	0.11~76.19 U/mL	[66]

2.2 乳腺癌相关外泌体检测

基于外泌体生物标志物的检测对于癌症的早期诊断具有重要意义。Raju 等^[69]通过非原位合成金纳米粒子的热对流试验,在 560 °C 下对基底进行热处理以调节制备金纳米颗粒的大小和形状,随后采用两种方法检测和捕获外泌体。第一种方法采用对存在于外泌体表面的热休克蛋白具有高亲和力的合成多肽 Vn96 (Venceremin); 第二种方法采用外泌体表面蛋白质对应的特异性抗体 (CD63、CD81 和 CD9)。这两种方法都具有检测和捕获外泌体的能力,可用于乳腺癌的早期诊断。值得注意的是,利用特异性抗体进行检测体现出了更多的优势,例如相互作用更强,检测过程更高效。

通过 SPR 和双金纳米粒子 (AuNP) 可以辅助检测信号的放大。Wang 等^[62]证明了灵敏的适配体传感器可用于乳腺癌外泌体检测。研究结果表明 AuNP 扩增是通过 Au 膜和 AuNPs 之间的电子耦合,并通过等离子体纳米结构中的耦合效应引起 AuNPs 的可控杂交附着来实现 (图 3)。另外,使用 11-巯基-1-十一烷醇 (MCU) 封闭 Au 膜表面,可以抑制 AuNPs 在 SPR 芯片表面的非特异性吸附,从而实现 SPR 传感器的再生。这种方法极大地提高了检测灵敏度,可将 LOD 降至 5×10^3 个外泌体/mL,与商业 ELISA 相比,LOD 降低了 10^4 倍。更重要的是,该 SPR 传感器可区分 MCF-7 乳腺癌细胞和 MCF-10A 正常乳腺细胞分泌的外泌体,显著增加了检测结果的可靠性。

2.3 循环肿瘤细胞标志物检测

尽管血液中循环肿瘤细胞的含量极低,但因其其在癌症检测中的灵敏性、特异性与准确性等特点,循环肿瘤细胞已成为一类癌症重要的生物标志物^[70]。在检测人乳腺癌标志物的研究中发现,人乳腺癌细胞 MCF-7 表达出的叶酸受体高于正常细胞,因此,采用基于磁性纳米粒子 MNPs 的 SPR 传感方法,通过检测 MUC-1 和叶酸 (FA),可以实现对人乳腺癌细胞的识别^[61]。由于 MCF-7 细胞能够被半胱氨酸

功能化的人 MUC-1 适体与叶酸偶联的 MNPs 选择性捕获, 因此 MCF-7 细胞的流入可导致 SPR 角增加(高达 166 m°), 而 SPR 角度的增加表明 MCF-7 细胞在 MUC-1 修饰的金表面上有特异性捕获。为了提高该系统的灵敏度和特异性, 可用 MNP 和 FA(MNP-FA) 缀合物进一步处理 MCF-7 细胞负载的金芯片, 从而使 SPR 传感器的 LOD <500 个细胞/mL。NiO 纳米粒子也可用于 MUC-1 生物标志物的 SPR 检测, 该标志物在 MCF-7 癌细胞中高表达^[64]。将组氨酸标记的精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸肽与整合素偶联, 可用于捕获 MCF-7 细胞, 从而通过 NiO-NPs 和肽上的组氨酸标签之间的结合增强 SPR 信号, 测得 LOD 为 136 个细胞/mL。

传统的血清生物标志物在追踪癌症突变较小的变异时敏感性较差^[71], 相比之下, 检测外周血中实体瘤细胞分泌的循环肿瘤 DNA(ctDNA) 则有更高的灵敏度^[72-73]。Nguyen 和 Sim^[59]报道了一种基于金纳米粒子偶联 LSPR 的方法, 用于分析肿瘤特异性突变(E545K 和 E542K)和磷脂酰肌醇 3-激酶催化亚基(PIK3CA)基因的 ctDNA 甲基化程度。核酸功能化的金纳米粒子用于识别 PIK3CA 基因 E542K 和 E545K 位点的突变, 而一个特异性抗 5-甲基胞嘧啶单克隆抗体则用作 PIK3CA 基因 ctDNA 的表观遗传学标记。该传感器可在约 200 fmol/L 的浓度下检测肿瘤特异性突变体和表观遗传学修饰。

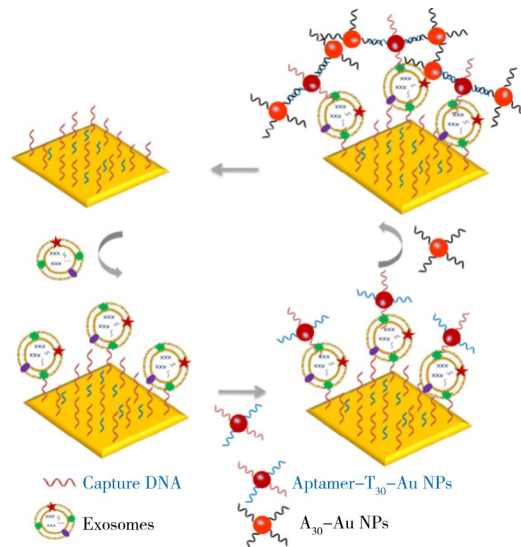


图 3 双重 AuNP 辅助信号放大检测外泌体^[62]
Fig. 3 Dual AuNP-assisted signal amplification for determination of exosomes^[62]

3 卵巢癌标志物检测

卵巢癌是发生在女性卵巢的恶性肿瘤。在全球范围内, 卵巢癌的发病人数和死亡人数逐年增加^[74]。用于识别卵巢癌的最常见标记物包括 CA-125、人类附睾蛋白 4(HE4)、组织蛋白酶 L(CTSL)、人类前列腺素(PRSS8)、谷胱甘肽 S-转移酶(GSTM1、GSTT1 和 GSTP1)、叶酸受体 α (FOLR1)、醛脱氢酶(ALDH1)以及 miRNA^[75](见表 3^[16, 76-79])。

表 3 SPR 生物传感器检测卵巢癌生物标志物
Table 3 SPR biosensors detect ovarian cancer biomarker

SPR configuration (SPR 配置)	Biomarker(生物标志物)	Biological sample(生物样本)	LOD (最低检出限)	Reference (参考文献)
MIP-SPR	CA-125(癌症抗原 125)	Artificial serum(人造血清)	0.01 U/mL	[76]
SPRi	Cathepsin L(组织蛋白酶 L, CTSL)	Blood serum(血清)	1.67 pg/mL	[77]
nPLEX	Exosome(外泌体)	Human ovarian cancer cell culture (人癌症细胞培养物)	3 000 exosomes	[78]
SPRi (9 × 12 free gold surface)	CA-125/MUC16miRNA(癌症抗原 125/粘蛋白 16 微小 RNA)	Blood serum and endometrial cysts (血清和子宫内膜囊肿)	-	[16]
SPR-GO-AuNPs	miRNA and small molecule adenosine (微小 RNA 与小分子腺苷)	Cancer cell extraction and serum (癌症细胞提取物及血清)	0.1 fmol/L	[79]

3.1 卵巢癌蛋白标志物检测

在上皮性卵巢癌患者的血清中检测到 CTSL 含量较高, 这可能是由于缺氧环境下肿瘤组织中 CTSL mRNA 水平增加所致。CTSL 对卵巢癌的侵袭和扩散至关重要^[80]。Tokarzewicz 等^[77]利用 SPRi 技术开发了新的生物传感器, 通过大量样本测定了健康人和患者血液中的 CTSL 浓度, 证实了该方法的有效性, 其 LOD 为 1.67 pg/mL。将该方法与 ELISA 对比表明, 二者检测结果具有较强的相关性, 这说明 SPRi 有望作为 ELISA 的替代方法。

采用循环伏安法将吡咯单体在金电极上电聚合制备 CA-125 印迹, 并用于 SPR 生物传感器以检测 CA-125^[76]。该生物传感器在 CA-125 浓度为 0.1 ~ 300 U/mL 和 LOD 为 0.01 U/mL 时可产生线性响应。Szymanská 等^[83]开发了一种 SPRi 生物传感器, 用于检测临床样本卵巢癌和子宫内膜囊肿患者血清中的

CA-125/MUC16。通过半胱胺连接体将抗 MUC16-Ab 共价连接到金芯片。大量样本检测结果表明, 该生物传感器在卵巢癌患者血清样本中的动态检测范围达到 2.2 ~ 150 U/mL。

此外, 基于检测 HE4 的 SPR 方法也用于卵巢癌的早期筛查和检测, 而且是一种非侵入式和高灵敏度的检测方法, Duan 等^[82]将 G 蛋白定向固定与 LSPR 生物传感器结合, 用于检测患者尿液中的 HE4。结果表明, 在最优条件下, 这种新型生物传感器可实现 1 pmol/L 的 LOD 和 1~10 000 pmol/L 宽动态范围的检测。该方法无需标记和纯化, 可有效检测早期卵巢癌患者尿液中的 HE4, 具有很好的临床应用潜力(图 4)。Szymanska 等^[83]设计了一种基于 SPRi 的新型传感器测定血浆中的 HE4 水平。该生物传感器由金芯片、半胱胺(作为连接体)和固定化的免抗 HE4 多克隆抗体组成, 确保了测定的特异性。检测线性范围为 2 ~ 120 pmol/L (0.088 ~ 5.28 ng/mL), LOD 为 0.088 ng/mL。

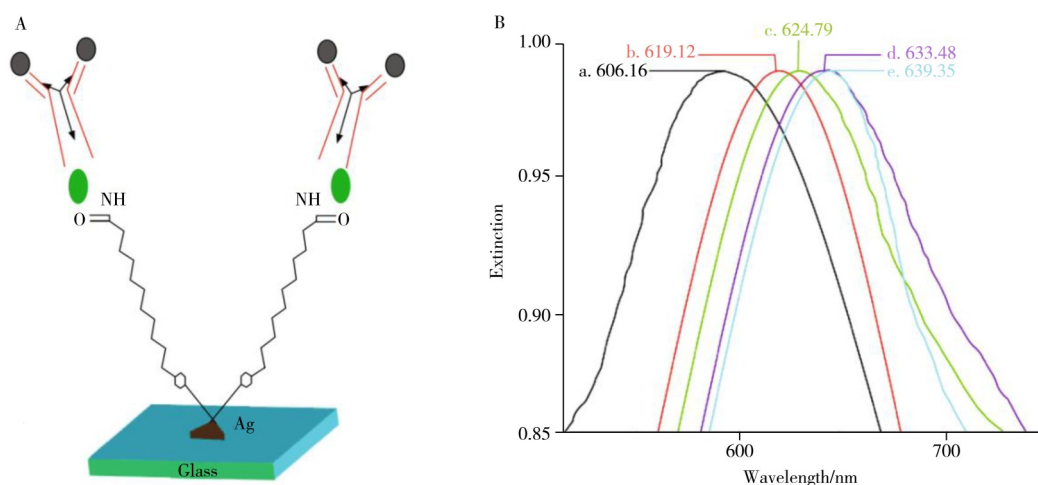


图 4 缓冲液或尿液样本中 HE4 的免疫测定(A), 以及检测 1 pmol/L HE4 的 LSPR 光谱(B)

Fig. 4 Immunoassay of HE4 in buffer or urine samples(A) and LSPR spectra for biosensor design and detection of 1 pmol/L HE4(B)

a: bare silver nanochip, $\lambda_{\max} = 606.16$ nm. b: 1 mmol/L MUA, $\lambda_{\max} = 619.12$ nm. c: incubation with 100 $\mu\text{g/mL}$ protein G, $\lambda_{\max} = 624.79$ nm. d: immobilization of 10 $\mu\text{g/mL}$ anti-HE4 monoclonal antibodies, $\lambda_{\max} = 633.48$ nm. e: detection of 1 pmol/L HE4, $\lambda_{\max} = 639.35$ nm. All spectra were collected at room temperature in air^[82](a: 裸银纳米芯片, $\lambda_{\max} = 606.16$ nm; b: 1 mmol/L MUA, $\lambda_{\max} = 619.12$ nm; c: 100 $\mu\text{g/mL}$ G 蛋白孵育, $\lambda_{\max} = 624.79$ nm; d: 10 $\mu\text{g/mL}$ 抗 HE4 单克隆抗体 $\lambda_{\max} = 633.48$ nm; e: 1 pmol/L HE4, $\lambda_{\max} = 639.35$ nm; 所有光谱均在室温空气中采集^[82])

3.2 miRNA 标志物检测

miRNA 是含有大约 22 个核苷酸的小分子 RNA, 用 SPR 检测时信号较低, 故需要采用信号放大技术^[84]。已有研究表明, miR-200 家族(即 miR-141、miR-200a、miR-200b 和 miR-200c)与卵巢癌的发生密切相关^[85]。Li 等^[79]设计了一种基于两层氧化石墨烯-金纳米颗粒(GO-AuNPs)复合材料的多功能、高灵敏的 SPR 生物传感器, 用于检测 miRNA 和小分子腺苷。GO 底层作为传感器芯片上的功能化基底, 提供了便于固定捕获 DNA 分子的高比表面积, 上层则用作信号放大元件。通过两层 GO-AuNPs 复合物, 实现双重扩增, 从而获得了 miRNA-141 的 LOD 为 0.1 fM 的结果。此外, 这种 SPR 生物传感器对 miRNA-200 家族其他成员也显示了良好的选择性。特别是检测卵巢癌细胞提取液中的 miRNA-141, 所得结果与 qRT-PCR 所得结果一致。有望用于卵巢癌的分子诊断。

3.3 外泌体标志物检测

外泌体是细胞来源的纳米级载体, 参与卵巢癌转移前微环境和免疫微环境的形成^[86-87]。Im 等^[78]开发了一种非标记、高通量的外泌体定量分析方法——纳米等离子体外泌体(nPLEX)检测方法。该技术利用周期性纳米孔阵列的透射 SPR, 每个阵列均使用抗体进行功能化, 从而能够分析外泌体表面蛋白和外泌体裂解物中的蛋白, 检测灵敏度高于此前报道的方法。利用 nPLEX 分析卵巢癌患者的腹水样本发现, 卵巢癌细胞来源的外泌体可以通过其 CD24 和上皮细胞黏附分子(EpCAM)的表达来鉴定, EpCAM 和 CD24 标志物的水平有助于区分卵巢癌外泌体和来自良性细胞的外泌体, 这说明外泌体具有用于诊断卵巢癌的潜力。

4 肝癌标志物检测

肝癌是一种常见的恶性肿瘤, 预后差、死亡率高, 是癌症导致死亡的第二大原因^[88]。甲胎蛋白 (AFP) 是一种典型的肝癌生物标志物^[89], 它由胚胎卵黄囊和胎儿肝脏产生^[90]。在健康儿童和成人体内, AFP 含量极低 (低于 10 ng/mL), 而肝癌患者血浆中则大量存在, 这对肝癌诊断具有重要意义^[89]。Ucci 等^[91]采用 Biacore 8K 系统可检测临床样本中低至 pmol/L 水平的 AFP (LOD 约为 1.5 ng/mL), 具有高的检测精度和灵敏度。Biacore 8K 是一种高灵敏度的商业 SPR 平台, 配备了 8 个微流体通道, 其中小体积的溶液以单向方式流动^[92]。由于该系统再生后可继续使用, 具有高再现性, 为肝癌筛查提供了一种有效的技术 (表 4^[37, 93-96])。

表 4 SPR 生物传感器检测肝癌生物标志物
Table 4 SPR biosensors detect liver cancer biomarkers

SPR configuration (SPR 配置)	Biomarker (生物标志物)	Biological sample (生物样本)	LOD (最低检出限)	Reference (参考文献)
ECL (MPI-B Remex Electronic Instrument Co., Xi'an, China)	Alpha-fetoprotein(甲胎蛋白, AFP)	Serum(血清)	0.005 ng/mL	[93]
SPR (Cyto Trend Biotech Engineering (Beijing, China))	Alpha-fetoprotein(AFP)	Serum(血清)	0.1 ng/mL	[37]
LSPR coupled fluorescence fiber-optic biosensor (LSPR 耦合荧光光纤生物传感器)	Alpha-fetoprotein(AFP)	Serum(血清)	0.1 ng/mL	[94]
FRET	Alpha-fetoprotein, carcinoembryonic antigen(AFP, CEA)	Serum(血清)	0.16 ng/mL	[95]
GNMA nano-sensor	Alpha-fetoprotein(AFP)	Serum(血清)	24 ng/mL	[96]

外泌体也可作为肝癌诊断的生物标志物。Liao 等^[97]开发出一种基于适体识别和聚多巴胺功能化的金纳米离子 SPR (Au@PDANP), 通过辅助信号放大可用于肝癌 SMMC-7721 外泌体的特异性检测。SMMC-7721 外泌体通过被适体 ZY-sl_s 特异性捕获, 然后 CD63 适体连接 Au@PDANP 识别 SMMC-7721 外泌体用于信号扩增, 这种 SPR 技术可检测低至 5.6×10^5 粒子/mL 的 SMMC-7721 外泌体。

5 前列腺癌标志物检测

在导致男性死亡的癌症中, 前列腺癌死亡率排名第五^[98]。根据世界卫生组织国际癌症研究机构 2021 年统计显示, 2020 年全球新发前列腺癌 140 多万例, 有明显的地理和种族差异, 澳大利亚/新西兰、北美及欧洲地区发病率高, 亚洲地区发病率较低, 我国前列腺癌的发病率虽远低于欧美国家, 但近年来呈逐年上升趋势^[99]。临床样本中前列腺癌特异性生物标志物的鉴定对该疾病的诊断和治疗至关重要。前列腺特异性抗原 (PSA) 被认为是检测前列腺癌最有用的血清学标志物之一^[100]。PSA 的正常血清浓度通常为 4 ng/mL^[101], PSA 浓度升高 (>10 ng/mL) 预示着晚期前列腺癌概率显著增加 (67%)^[102]。鉴于 PSA 在前列腺癌诊断中的重要性, 已报道了多种基于 SPR 的 PSA 检测方法 (表 5^[103-106])。

表 5 SPR 生物传感器检测前列腺癌生物标志物
Table 5 SPR biosensors detect prostate cancer biomarkers

SPR configuration (SPR 配置)	Biomarker (生物标志物)	Biological sample (生物样本)	LOD (最低检出限)	Reference (参考文献)
Enzyme-mediated SPR of triangular AgNPRs (酶介导 AgNPRs 的 SPR)	PSA (前列腺特异性抗原)	Serum (血清)	4.1 fg/mL	[103]
Fiber-optic localized SPR (FOLSPR) sensors (光纤局域 SPR 传感器)	PSA (前列腺特异性抗原)	Serum (血清)	1.3 pg/mL	[104]
Insplosion sensors (Sweden)	PSA (前列腺特异性抗原)	Phosphate buffered saline (缓冲溶液)	1.49 ng/mL	[105]
Au-NPs-SPR	PSA (前列腺特异性抗原)	Serum (血清)	0.009 ng/mL	[106]

Lee 等^[107]构建了一种基于金纳米粒子的 SPR 生物传感器可用于血清样品中 CEA、PSA 和 AFP 等肿瘤生物标志物的多重检测。该传感器能在连有疏水性和亲水性基团的载玻片上特异性检测靶蛋白, 将其用于临床血清样本中 PSA、AFP 和 CEA 的检测, 其 LOD 值分别为 10、91、94 fmol/L。另一项研究显示, 银三角纳米棱镜 (AgNPRs) 可用于开发 PSA 生物传感器^[103]。方法基于等离子体生物传感器将酶介导的 AgNPRs SPR 与夹心 ELISA 方法相结合, 以提高 PSA 检测的灵敏度。该传感器的线性检测范围为

0.01 ~ 100 pg/mL, LOD为0.004 pg/mL, 显著低于基于辣根过氧化物酶的ELISA方法(1.25 ng/mL)。

传统的光纤局域表面等离子体共振(FOLSPR)生物传感器的制备通常基于实验室合成的金属纳米粒子^[108]。然而, 由于金属纳米离子的重排和不均匀分布, 使得这些传感器具有检测的耐久性和再现性低等缺点^[104]。为克服这些缺点, 使用聚焦离子束铣削技术在光纤端面金膜上制备了纳米结构模型^[104], 从而产生了空间控制的纳米级金属结构。这种聚焦离子束纳米化FOLSPR传感器检测人血清中PSA的LOD为0.1 pg/mL。

6 展 望

生物标志物检测在重大疾病的早期筛查和诊断、药物辅助、预后评估等方面具有重要意义, 但因其浓度很低, 故对传感系统的灵敏度要求很高。基于SPR的生物检测技术具有灵敏度高、无标记、操作简便等优点, 被广泛应用于生物标志物检测^[109]。然而, 生物样本常常需要复杂的预处理, 且SPR检测生物标志物分子通常需进行信号放大, 这也是实现对原始样本直接检测需要解决的两个关键问题。

随着技术的进步, 已有许多优化SPR性能的方案和策略。SPR通过与质谱^[110]、电化学SPR^[111]和表面等离子体荧光光谱^[8]相结合, 展示了多种优点。此外, SPR生物传感器能够与其他方法相互配合, 有助于发现新的癌症标志物。一些新标志物的发现则显示了SPR的巨大应用潜力。因此, 开发新的SPR生物传感器仍然是研究热点。此外, 对SPR检测结果的可靠性、准确性以及精确度进行验证, 也是SPR技术用于临床检验必须解决的问题。鉴于SPR生物传感器的诊断特异性和选择局限性, 研究重点应该关注生物样本处理的自动化和智能化, 以及由两个或几个生物传感器组成的联合检测系统。

SPR生物传感器发展的另一个方向是与临床检测紧密结合, 开发用于确定不同癌症发展阶段或检测癌症治疗进展的生物传感器。虽然目前借助基于SPR的生物传感器, 以及其他先进检测技术, 如蛋白组学和代谢组学等, 实现癌症的早期诊断越来越有希望, 但肿瘤诊断的另一主要限制因素是检测复发的癌症。多数情况下, 癌症的复发到晚期才被诊断出来, 这降低了患者的生存机率。因此, 有必要设计和开发能够识别癌症复发的生物传感器。

总之, SPR生物传感在实现生物分子的高精度检测和简化检测步骤方面取得了很大进步。利用化学偶联生物识别分子的非定向固定方法, 以及利用化学键或生物分子的特异性反应定向固定生物识别分子的方法也取得了一些新的进展。随着工艺的成熟和人工智能的发展, SPR生物监测技术将在癌症的早期诊断、治疗检测等领域发挥重要的作用。

参考文献:

- [1] Gorgannezhad L, Umer M, Islam M N, Nguyen N T, Shiddiky M J A. *Lab Chip*, **2018**, 18: 1174–1196.
- [2] Murakami R, Uchiyama N, Tani H, Yoshida T, Kumita S. *Eur. J. Radiol. Open*, **2020**, 7: 100207.
- [3] Wildeboer R R, Sloun R J G v, Huang P, Wijkstra H, Mischi M. *Ultrasound Med. Biol.*, **2019**, 45: 2713–2724.
- [4] Coronado-Gutiérrez D, Santamaría G, Ganau S, Bargalló X, Orlando S, Oliva-Brañas M E, Perez-Moreno A, Burgos-Artizzu X P. *Ultrasound Med. Biol.*, **2019**, 45: 2932–2941.
- [5] Huang C Y, Sun F J, Lee J. *Nutrition*, **2020**, 72: 110642.
- [6] Sun J, Sun Y, Sun L. *J. Photochem. Photobiol. B*, **2019**, 197: 111547.
- [7] Khanmohammadi A, Aghaie A, Vahedi E, Qazvini A, Bagheri H. *Talanta*, **2019**, 206: 120251.
- [8] Cai X Y, Zhang H M, Yu C F, Wang W. *Talanta*, **2020**, 216: 120996.
- [9] Chakraborty A, Ghosh A, Barui A. *J. Raman Spectrosc.*, **2019**, 51: 7–36.
- [10] Philip A, Kumar A R. *Coordin. Chem. Rev.*, **2022**, 458: 214424.
- [11] Patil P O, Pandey G R, Patil A G, Borse V B, Deshmukh P K, Patil D R, Tade R S, Nangare S N, Khan Z G, Patil A M, More M P, Veerapandian M, Bari S B. *Biosens. Bioelectron.*, **2019**, 139: 111324.
- [12] Mahmoudpour M, Dolatabadi J E N, Torbati M, Tazehkand A P, Guardia M D L. *Biosens. Bioelectron.*, **2019**, 143: 111603.
- [13] Qu J H, Dillen A, Saeys W, Lammertyn J, Spasic D. *Anal. Chim. Acta*, **2020**, 1104: 10–27.
- [14] He L, Pagneux Q, Larroulet I, Serrano A Y, Pesquera A, Zurutuza A, Mandler D, Boukherroub R, Szunerits S. *Biosens. Bioelectron.*, **2017**, 89: 606–611.
- [15] Singh A K, Anwar M, Pradhan R, Ashar M S, Rai N, Dey S. *J. Biophotonics*, **2023**, 16: e202200380.
- [16] Szymańska B, Lukaszewski Z, Hermanowicz-Szamatowicz K, Gorodkiewicz E. *Talanta*, **2020**, 206: 120187.
- [17] Majdinasab M, Mishra R K, Tang X, Marty J L. *TrAC-Trends Anal. Chem.*, **2020**, 127: 115883.
- [18] Masdor N A, Altintas Z, Shukor M Y, Tohill I E. *Sci. Rep-Uk*, **2019**, 9: 13642.
- [19] Qiu G Y, Gai Z B, Tao Y L, Schmitt J, Kullak-Ublick G A, Wang J. *ACS Nano*, **2020**, 14: 5268–5277.

- [20] Koyun S, Akgöntüllü S, Yavuz H, Erdem A, Denizli A. *Talanta*, **2019**, 194: 528–533.
- [21] Tong K, Wang Y, Wang F, Sun J, Wu X. *Optik*, **2020**, 216: 164–703.
- [22] Pallares R M, Thanh N T K, Su X. *Nanoscale*, **2019**, 11: 22152–22171.
- [23] Shao B Y, Xiao Z D. *Anal. Chim. Acta*, **2020**, 1114: 74–84.
- [24] Jebelli A, Oroojalian F, Fathi F, Mokhtarzadeh A, Guardia M D L. *Biosens. Bioelectron.*, **2020**, 169: 112599.
- [25] Masson J F. *ACS Sens.*, **2017**, 2: 16–30.
- [26] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel R L, Torre L A, Jemal A. *CA Cancer J. Clin.*, **2018**, 68: 394–424.
- [27] World Lung Cancer Day **2020** Fact Sheet, 2020[2024-04-25]. <https://www.chestnet.org/News/CHEST-News/2020/07/World-Lung-Cancer-Day-2020-Fact-Sheet>.
- [28] Chiu N, Lin T, Kuo C-T. *Sens. Actuators B*, **2018**, 265: 264–272.
- [29] Liu C, Zeng X, An Z, Yang Y, Eisenbaum M, Gu X, Jornet J M, Dy G K, Reid M E, Gan Q, Wu Y. *ACS Sens.*, **2018**, 3: 1417–1479.
- [30] Chiu N F, Yang H T. *Front. Bioeng. Biotechnol.*, **2020**, 8: 234.
- [31] Lü X Q, Geng Z X, Su Y, Fan Z Y, Chen H D. *Langmuir*, **2019**, 35: 9816–9824.
- [32] Ribaut C, Loyez M, Larrieu J C, Chevinau S, Lambert P, Rimmelink M, Wattiez R, Caucheteur C. *Biosens. Bioelectron.*, **2017**, 92: 449–456.
- [33] Thakur A, Qiu G, Ng S P, Guan J, Yue J, Lee Y, Wu C M L. *Biosens. Bioelectron.*, **2017**, 94: 400–407.
- [34] Altintas Z, Uludag Y, Gurbuz Y, Tothill I E. *Talanta*, **2011**, 86: 377–383.
- [35] Zhang L, Wang J H, Zhang J X, Liu Y Q, Wang L H. *ACS Sens.*, **2017**, 2: 1435–1440.
- [36] Roointan A, Mir T A, Wani S I, Mati-ur-Rehman, Hussain K K, Ahmed B, Abraham S, Savardashtaki A, Gandomani G, Gandomani M, Chinnappan R, Akhtar M H. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2019**, 164: 93–103.
- [37] Wang H, Wang X M, Wang J, Fu W L, Yao C Y. *Sci. Rep-Uk*, **2016**, 6: 33140.
- [38] Teotia P K, Kaler R S. *Opt. Commun.*, **2018**, 406: 188–191.
- [39] Zhou J Y, Tao F, Zhu J F, Lin S W, Wang Z Y, Wang X, Ou J Y, Li Y, Liu Q H. *Nanophotonics-Berlin*, **2019**, 8: 307–316.
- [40] Ferhan A R, Jackman J, Park J H, Cho N J, Kim J S. *Adv. Drug Del. Rev.*, **2018**, 125: 48–77.
- [41] Qian S, Lin M, Ji W, Yuan H, Zhang Y, Jing Z, Zhao J, Masson J, Peng W. *ACS Sens.*, **2018**, 3: 929–935.
- [42] Nie W Y, Wang Q, Zou L Y, Zheng Y, Liu X F, Yang X H, Wang K M. *Anal. Chem.*, **2018**, 90: 12584–12591.
- [43] Ding X J, Yan Y R, Li S Q, Zhang Y, Cheng W, Cheng Q, Ding S J. *Anal. Chim. Acta*, **2015**, 874: 59–65.
- [44] Mujica M L, Zhang Y, Bédioui F, Gutiérrez F, Rivas G. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2020**, 412: 3539–3546.
- [45] Sina A A I, Vaidyanathan R, Dey S, Carrascosa L G, Shiddiky M J A, Trau M. *Sci. Rep-Uk*, **2016**, 6: 30460.
- [46] Jeppesen D K, Fenix A M, Franklin J L, Higginbotham J N, Zhang Q, Zimmerman L J, Liebler D C, Ping J, Liu Q, Evans R. *Cell*, **2019**, 177: 428–445.e18.
- [47] Li Y Y, Zhang Y, Qiu F, Qiu Z Y. *Electrophoresis*, **2011**, 32: 1976–1983.
- [48] Mohammadzadeh-Asl S, Aghanejad A, Guardia M, Dolatabadi J E N, Keshtkar A. *Opt. Laser Technol.*, **2021**, 133: 106521.
- [49] Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, Parkin D M, Forman D, Bray F. *Int. J. Cancer*, **2015**, 136: E359–E386.
- [50] Harbeck N, Penault-Llorca F, Cortes J, Gnant M, Houssami N, Poortmans P, Ruddy K, Tsang J, Cardoso F. *Nat. Rev. Dis. Primers*, **2019**, 5: 66.
- [51] Bahmanpour Z, Sheervalilou R, Choupani J, Shekari Khaniani M, Montazeri V, Mansoori Derakhshan S. *J. Cell. Physiol.*, **2019**, 234: 1–13.
- [52] Jing X, Liang H P, Hao C H, Yang X J, Cui X R. *Oncol. Rep.*, **2019**, 41: 801–810.
- [53] Mahdavi M, Nassiri M, Kooshyar M M, Vakili-Azghandi M, Avan A, Sandry R, Pillai S, Lam A K Y, Gopalan V. *J. Cell. Physiol.*, **2019**, 234: 5740–5750.
- [54] Li X, Dai D, Chen B, He S, Wang B. *Oncotargets Ther.*, **2019**, 12: 8789–8800.
- [55] Li J X, Liu L Y, Feng Z W, Wang X, Huang Y B, Dai H J, Zhang L W, Song F F, Wang D Z, Zhang P Y, Ma B S, Li H, Zheng H, Song F, Chen K. *Breast Cancer-Tokyo*, **2020**, 27: 621–630.
- [56] Talaat I M, Hachim M Y, Hachim I Y, Ibrahim E R, Tayel H Y. *Sci. Rep.*, **2020**, 10: 13061.
- [57] Saha B, Goswami N, Saha A. *Appl. Opt.*, **2021**, 60: 7027–7035.
- [58] Eletxigerra U, Martínez-Perdiguero J, Barderas R, Pingarrón J M, Campuzano S, Merino S. *Anal. Chim. Acta*, **2016**, 905: 156–162.
- [59] Nguyen A H, Sim S J. *Biosens. Bioelectron.*, **2015**, 67: 443–449.
- [60] Raghu D, Christodoulides J A, Christophersen M, Liu J L, Anderson G P, Robitaille M, Byers J M, Raphael M P. *PLoS One*, **2018**, 13: e0202773.
- [61] Chen H X, Hou Y F, Ye Z H, Wang H Y, Koh K, Shen Z M, Shu Y Q. *Sens. Actuator B*, **2014**, 201: 433–438.
- [62] Wang Q, Zou L Y, Yang X H, Liu X F, Nie W Y, Zheng Y, Cheng Q, Wang K M. *Biosens. Bioelectron.*, **2019**, 135: 129–136.
- [63] Sina A A I, Vaidyanathan R, Wuethrich A, Carrascosa L G, Trau M. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2019**, 411: 1311–1318.
- [64] Jia S, Li P, Koh K, Chen H. *Microchim. Acta*, **2016**, 183: 683–688.
- [65] Shabani A, Tabrizian M. *Analyst*, **2013**, 138: 6052–6062.

- [66] Yavas O, S A S, Guirado J G, Berthelot J, Dobosz P, Sanz V, Quidant R. *ACS Sens.*, **2018**, 3: 1376–1384
- [67] Wang L L, Zou C L, Ren X F, Liu A P, Lv L, Cai Y J, Sun F W, Guo G C, Guo G P. *Appl. Phys. Lett.*, **2011**, 99: 061103.
- [68] Eletxigerra U, Martinez-Perdiguero J, Barderas R, Pingarrón J M, Campuzano S, Merino S. *Anal. Chim. Acta*, **2016**, 156–162.
- [69] Raju D, Bathini S, Badilescu S, Pakkiriswami S, Packirisamy M: Detection of Cancer Exosomes By a Localized Surface Plasmon Resonance Method Using Gold Nano-Islands. *In ECS Meeting*, **2020**, 2395.
- [70] Falkowski P, Lukaszewski Z, Gorodkiewicz E. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2021**, 194: 113802.
- [71] Herceg Z, Hainaut P. *Mol. Oncol.*, **2008**, 1: 26–41.
- [72] Zhe Y H, Xie N, Tian C, Yang X, Liu L, Li J, Xiao H, Wu H, Lu J, Gao J, Hu X, Cao M, Shui Z, Xiao M, Tang Y, He Q, Chang L, Xia X, Yi X, Liao Q, Ouyang Q. *eBioMedicine*, **2018**, 32: 111–118.
- [73] Huang Y F, Tao M L, Luo S H, Zhang Y, Zheng L. *Anal. Chim. Acta*, **2020**, 1107: 40–47.
- [74] Zheng L, Cui C, Shi O, Lu X, Wang Q. *Gynecol. Oncol.*, **2020**, 159: 239–247.
- [75] Muinao T, Boruah H P D, Pal M. *Heliyon*, **2019**, 5: e02826.
- [76] Rebelo T S C R, Costa R, Brandão A T S C, Silva A F, Sales M G F, Pereira C M. *Anal. Chim. Acta*, **2019**, 1082: 126–135.
- [77] Tokarzewicz A, Romanowicz L, Sankiewicz A, Hermanowicz A, Gorodkiewicz E. *Int. J. Mol. Sci.*, **2019**, 20: 2166.
- [78] Im H, Shao H, Park Y I, Peterson V M, Castro C M, Weissleder R, Lee H. *Nat. Biotechnol.*, **2014**, 32: 490–495.
- [79] Li Q, Wang Q, Yang X H, Wang K M, Zhang H, Nie W Y. *Talanta*, **2017**, 174: 521–526.
- [80] Zhang W, Wang S, Wang Q, Yang Z, Pan Z, Li L. *Oncol. Rep.*, **2014**, 31: 1334–1342.
- [81] Suwansa-Ard S, Kanatharana P, Asawatreratanakul P, Wongkittisuksa B, Limsakul C, Thavarungkul P. *Biosens. Bioelectron.*, **2009**, 24: 3436–3441.
- [82] Duan R Q, Xi M R. *J. Nanomater.*, **2020**, 2020: 1–7.
- [83] Szymanska B, Lukaszewski Z, Zelazowska-Rutkowska B, Hermanowicz-Szamatowicz K, Gorodkiewicz E. *Sensors-Basel*, **2021**, 21: 3567.
- [84] Lujambio A, Lowe S W. *Nature*, **2012**, 482: 347–355.
- [85] Wahab N A, Othman Z, Nasri N W M, Mokhtar M H, Ibrahim S F, Hamid A A, Ali R A R, Mokhtar N M. *Int. J. Environ. Res. Pub. Health*, **2020**, 17: 2766.
- [86] Li X, Liu Y, Zheng S S, Zhang T Y, Wu J, Sun Y, Zhang J Z, Liu G Y. *Oncol. Lett.*, **2021**, 21: 377.
- [87] Feng W, Dean D C, Hornicek F J, Shi H, Duan Z. *Mol. Cancer*, **2019**, 18: 124.
- [88] Yan C Y, Fang R C, Yuan W S. *Biomed. Environ. Sci.*, **2023**, 36: 94–98.
- [89] Galle P R, Foerster F, Kudo M, Chan S L, Llovet J M, Qin S, Schelman W R, Chintharlapalli S, Abada P B, Sherman M, Zhu A X. *Liver Int.*, **2019**, 39: 2214–2229.
- [90] Galeotti F, Pisco M, Cusano A. *Nanoscale*, **2018**, 10: 22673–22700.
- [91] Ucci S, Cicatiello P, Spaziani S, Cusano A. *Results Opt.*, **2021**, 5: 100193.
- [92] Knowling S, Clark J, Sjuts H, Abdiche Y N. *SLAS Discov.*, **2020**, 25: 247255522093481.
- [93] Zheng X L, Hua X X, Qiao X Y, Xia F Q, Tiana D, Zhou C L. *RSC Adv.*, **2016**, 6: 21308–21316.
- [94] Chang Y F, Chen R C, Lee Y J, Chao S C, Su L C, Li Y C, Chou C. *Biosens. Bioelectron.*, **2009**, 24: 1610–1614.
- [95] Xu S H, Feng X Y, Gao T, Liu G F, Mao Y N, Lin J H, Yu X J, Luo X L. *Anal. Chim. Acta*, **2017**, 983: 173–180.
- [96] Li W B, Jiang X Q, Xue J C, Zhou Z K, Zhou J H. *Biosens. Bioelectron.*, **2015**, 68: 468–474.
- [97] Liao G F, Liu X F, Yang X H, Wang Q, Wang K M. *Microchim. Acta*, **2020**, 187: 251.
- [98] Singh S, Gill A A S, Nlooto M, Karpoormath R. *Biosens. Bioelectron.*, **2019**, 137: 213–221.
- [99] Wild C, Weiderpass E, Stewart B. World Cancer Report: Cancer Research for Cancer Prevention, International Agency for Research on Cancer, **2021**.
- [100] Ghorbani F, Abbaszadeh H, Dolatabadi J E N, Aghebati-Maleki L, Yousefi M. *Biosens. Bioelectron.*, **2019**, 142: 111484.
- [101] Akbari Jonous Z, Shayeh J S, Yazdian F, Yadegari A, Hashemi M, Omidi M. *Eng. Life Sci.*, **2019**, 19: 206–216.
- [102] Aubé A, Campbell S, Schmitzer A R, Claing A, Masson J F. *Analyst*, **2017**, 142: 2343–2353.
- [103] Liang J, Yao C, Li X, Wu Z, Huang C, Fu Q, Lan C, Cao D, Tang Y. *Biosens. Bioelectron.*, **2015**, 69: 128–134.
- [104] Kim H M, Uh M, Jeong D H, Lee H Y, Park J H, Lee S K. *Sens. Actuators B*, **2019**, 280: 183–191.
- [105] Khan, Younas, Anran, Chang, Lin, Lidong, Guo. *Sens. Actuators B*, **2018**, 255: 1298–1307.
- [106] Karami P, Khoshshafar H, Johari-Ahar M, Arduini F, Bagheri H. *Spectrochim. Acta A*, **2019**, 222: 117218.
- [107] Lee J U, Nguyen A H, Sim Sang J. *Biosens. Bioelectron.*, **2015**, 74: 341–346.
- [108] Caucheteur C, Guo T, Albert J. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2015**, 407: 3883–3897.
- [109] Azzouz A, Hejji L, Kim K H, Kukkar D, Souhail B, Bhardwaj N, Brown R J C, Zhang W. *Biosens. Bioelectron.*, **2022**, 197: 113767.
- [110] Zhang Y D, Xu S T, Wen L H, Bai Y, Niu L, Song D Q, Liu H W. *Analyst*, **2016**, 141: 3343–338.
- [111] Yi D K, Kaushal S, Nanda S S, Samal S. *ChemBioChem*, **2019**, 21: 576–600.