



用于急性肾损伤成像的反应型与酶激活型探针策略*

陈汝龙^{1,2)} 谢婷妃^{1,2)} 张金鑫^{1,2)} 陈嘉婷^{1,2)} 李 洁³⁾ 张鹏飞^{1)**} 陈继红^{2)**} 蔡林涛^{1)**}

(¹⁾ 中国科学院深圳先进技术研究院, 中国科学院深港生物材料联合实验室, 广东省纳米医药重点实验室, 深圳 518055;

²⁾ 深圳市宝安区人民医院肾内科, 深圳 518100; ³⁾ 北京生命科技研究院, 北京 102299)

摘要 急性肾损伤 (AKI) 是住院患者常见的危重症, 临床上主要依赖血清肌酐和尿量进行诊断, 但这些指标往往存在反应滞后和信息维度有限的问题, 因而不利于早期识别与精准分型。本文综述了 AKI 成像中两类主要分子探针策略, 包括反应型探针与酶激活型探针。反应型探针通过响应氧化还原相关化学物质实现早期损伤的可视化, 并按成像模态归纳为荧光、磁共振与核医学和光声成像 3 类, 其中部分探针已在临床样本中完成初步验证, 提示一定转化潜力。酶激活型探针则利用肾小管功能酶, 凋亡相关酶及其他酶类的特异性切割或催化反应产生信号, 本文按酶类别进行整理, 同时总结了该方向由单酶检测向多靶点、多模态与诊疗一体化发展的趋势。此外, 本文讨论了纳米探针在肾脏靶向递送与多模态整合中的应用价值, 并分析其临床转化面临的主要障碍, 包括 AKI 状态下体内药代动力学变化带来的解释复杂性、长期安全性证据不足, 以及制备与评价标准尚不统一等问题。结合临床靶点的验证基础、成像模态的临床可及性与探针设计的可转化性等要素, 本文进一步梳理了分子探针走向临床应用的可能路径。通过汇总代表性探针及其特点, 本文旨在为 AKI 精准影像诊断体系的构建提供参考。

关键词 急性肾损伤, 反应型探针, 酶激活型探针, 早期诊断, 多模态成像

中图分类号 R318.08

DOI: 10.3724/j.pibb.2026.0036

CSTR: 32369.14.pibb.20260036

急性肾损伤 (acute kidney injury, AKI) 是住院及危重症患者的常见并发症, 起病迅速、病因复杂且个体差异显著, 构成全球范围内重要的临床负担^[1]。研究显示, 其在成人急诊就诊人群中的合并发病率为每 1 000 例中 20 例, 24 h 内死亡率达 4.56%, 1 年死亡率高达 35.04%^[2]。AKI 一旦发生, 常与住院并发症、病死率升高和住院时间延长相关; 更重要的是, 其后续可出现肾功能恢复不全, 并增加慢性肾脏病 (chronic kidney injury, CKD) 进展的风险^[3]。因此, 如何在损伤早期实现识别与分层, 并在病程中进行连续监测与疗效评估, 是 AKI 临床管理与转化研究持续关注的问题^[4]。

目前 AKI 的诊断与分期仍主要依据血清肌酐 (serum creatinine, SCr) 升高与尿量减少等功能性指标^[5-6]。然而, SCr 与尿量并不等同于“肾实质损伤”的即时读出: 其变化往往滞后于损伤发生,

等到指标异常时, 患者可能已错过更理想的干预窗口^[5]。此外, SCr 受肌肉量、容量状态及用药等因素影响, 尿量也易受循环状态和利尿剂等干预影响, 二者在定位损伤部位、揭示病理过程以及区分不同 AKI 亚型方面均存在局限^[5]。从病理机制看, AKI 的核心过程包括氧化应激、酶活性改变、细胞凋亡与炎症反应等, 这些事件在时间和空间上具有高度动态性^[7-8]。如缺血、药物毒性、脓毒症等不同病因导致的损伤机制有所差异, 这也对诊断工具

* 国家重点研发计划 (2023YFA0915400), 深圳市医学科研基金 (A2303057), 国家自然科学基金 (82470719, 22574170) 和深圳市科技计划 (KQTD20210811090115019) 资助项目。

** 通讯联系人。

张鹏飞 Tel: 0755-86392223, E-mail: pf.zhang@siat.ac.cn

陈继红 Tel: 0755-86392210, E-mail: chenjihong0606@hotmail.com

蔡林涛 Tel: 0755-86392210, E-mail: lt.cai@siat.ac.cn

收稿日期: 2026-01-23, 接受日期: 2026-05-14

的特异性提出了更高要求。

为弥补上述不足,近年来多种血/尿生物标志物被用于提示肾损伤或风险,提高了AKI的早期预警能力^[6-7]。例如胱抑素C、中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(neutrophil gelatinase-associated lipocalin, NGAL)、肾损伤分子1(kidney injury molecule 1, KIM-1)、组织金属蛋白酶抑制因子2(tissue inhibitor of metalloproteinase-2, TIMP-2)、胰岛素样生长因子结合蛋白7(insulin-like growth factor binding protein 7, IGFBP7)等,在部分临床场景中显示出一定的诊断或风险分层价值,为临床决策提供了新的信息维度^[9]。但总体而言,体液标志物仍难以提供肾内“何处受损、何时受损”的空间定位与动态演变信息,且在合并炎症反应、CKD或其他基础疾病时,其特异性与可解释性常受到影响^[10]。

相较之下,成像技术能够在体、无创地提供结构与功能信息,并可用于纵向随访,有望补上AKI评估中的时空维度^[11]。然而,当前临床常用的影像技术如超声、计算机断层扫描(computed tomography, CT)和常规磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)在AKI评估中存在明显局限。其中,超声对微循环和分子水平变化不敏感,CT需使用碘对比剂且有辐射暴露,常规MRI多依赖形态学改变,缺乏对早期分子事件的识别能力^[11-12]。AKI发生发展过程中,肾缺血及微循环障碍、组织氧合改变、水分子扩散与水代谢异常、能量代谢与线粒体功能紊乱以及炎症反应激活等病理生理环节,均可能转化为可成像的功能或分子信号。为实现对这些机制事件更选择性、更高信噪比地转化读出,靶向性或可激活的成像探针/对比剂成为连接病理过程与成像信号的关键工具^[11]。分子影像的增量价值正在于此,它将生化指标转化为具有空间分辨率的影像信息,为早期诊断、机制分型和动态监测提供了新的维度^[7]。

在多类探针策略中,纳米探针通过对尺寸、表面电荷与配体修饰等进行工程化设计,可实现信号放大、靶向递送以及多参数或多模式读出,从而提升体内成像性能与稳定性。肾脏特有的滤过与近曲小管重吸收生理,使纳米材料在肾富集与肾清除之间呈现一定可设计的规律:例如,较小尺寸颗粒更易经肾小球滤过,而表面性质可进一步影响其在肾单位不同区室的分布与排泄途径^[13]。但也应注意,AKI状态下肾血流灌注与滤过下降、屏障通透性改

变等会显著影响纳米探针的药代与分布,从而增加信号解释难度;同时,生物相容性、长期安全性与定量标准化仍是其走向临床应用必须面对的问题^[13]。

在既往研究基础上,AKI的早期发现和精准诊断已不再局限于血清肌酐、尿量等传统功能指标,而是逐步演变为结合生物标志物与影像学手段的多维动态评估模式。其中,早期识别患者损伤并进行风险分层管理,被认为是改善患者临床结局的重要环节^[14]。随着影像技术的发展,多参数MRI等方法能够对肾脏血流灌注、组织氧合状态及纤维化等微观病理改变进行连续、动态的监测,为突破单一静态功能指标、发现亚临床肾损伤提供了新的技术支撑^[12]。在此基础上,分子影像探针凭借其较高的灵敏度和特异性,逐渐成为揭示AKI早期分子变化及功能演变的重要工具。当前探针的设计大致可分为两种技术路线,一类为反应型探针,主要通过氧化还原反应实现对肾小管损伤及炎症反应的早期成像,另一类则为酶激活型探针,依赖特定酶切或酶催化过程激活信号,从而提供更具病理指向性的读出^[15]。本文拟围绕上述两类探针,系统总结其设计思路、成像机制及在AKI早期诊断、病程评估、疗效监测和预后判断中的应用进展,为建立更加精准的AKI影像诊断体系和个体化治疗策略提供参考(图1)。

1 反应型分子探针

反应型分子探针的关键优势在于将AKI中瞬时发生的氧化还原相关分子事件转化为可成像的相对稳定信号,从而显示早期病理变化^[16]。此类探针多采用开关型或比率型信号模式以拓展动态范围并提升特异性^[17-18]。但其体内成像结果不仅受组织穿透、光子散射及自发荧光等光学因素制约,更易受到AKI状态下肾血流灌注、肾小球滤过率以及肾小管分泌与重吸收功能波动的影响,进而改变探针的体内分布、代谢与清除动力学,使信号强度的生物学解释更加复杂^[7-8]。

1.1 基于荧光信号的反应型探针

荧光成像以高灵敏度、分子特异性和较高时空分辨率为特征,在AKI研究中主要用于捕捉早期分子事件并支持机制解析。通过反应型或靶向型探针的设计,可对肾脏内与氧化应激、细胞凋亡等相关的病理过程进行动态可视化,从而为早期损伤提示与机制分型研究提供依据,也与临床对早期损伤识

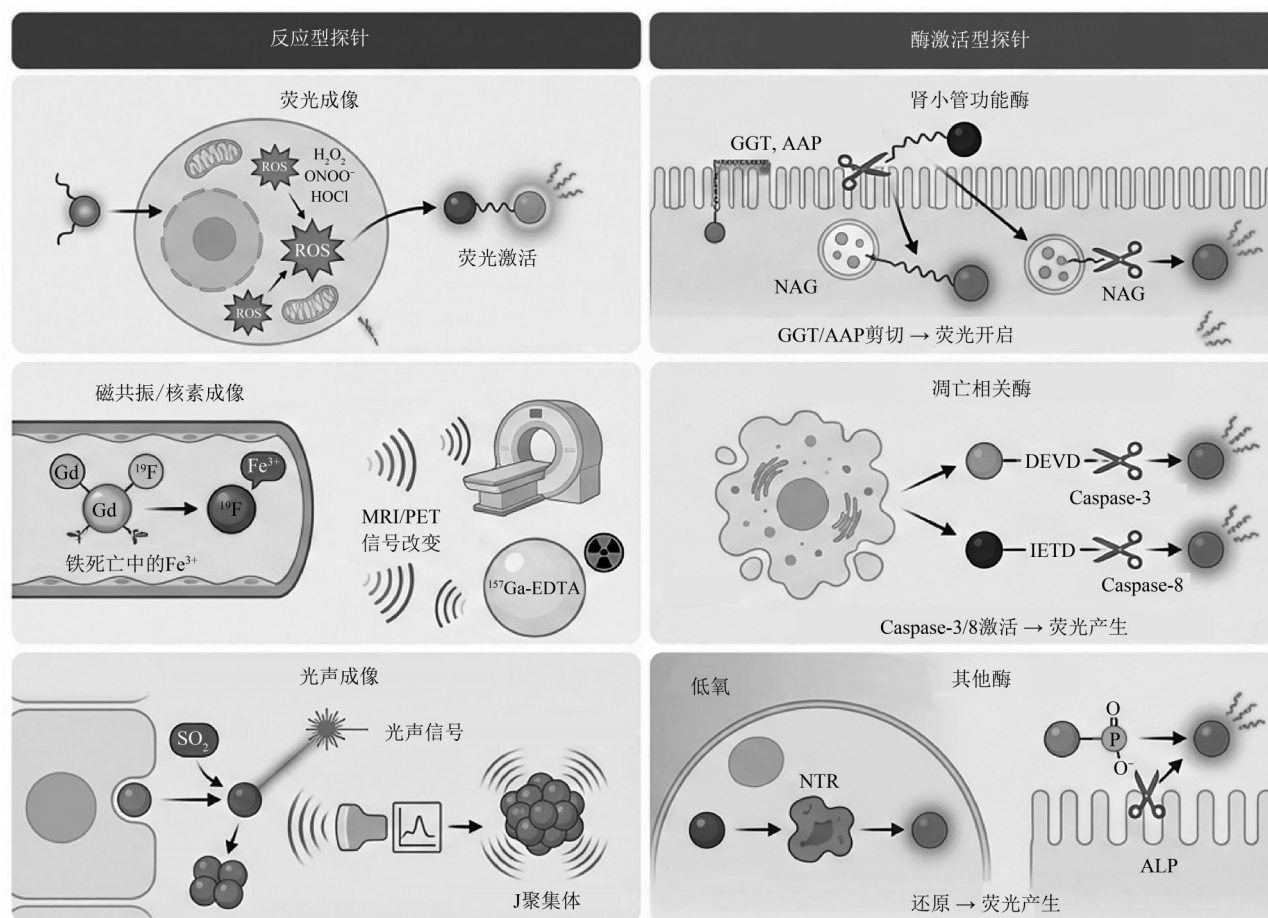


Fig 1 Schematic diagram of probes used for AKI diagnosis

图1 用于AKI诊断的探针示意图

ROS: 活性氧类 (reactive oxygen species); NOS: 一氧化氮合酶 (nitric oxide synthase); GGT: γ 谷氨酰转移酶 (gamma-glutamyl transferase); AAP: 丙氨酸氨基肽酶 (alanine aminopeptidase); NAG: N-乙酰- β -D-氨基葡萄糖苷酶 (N-acetyl- β -D-glucosaminidase); MRI: 磁共振成像 (magnetic resonance imaging); PET: 正电子发射断层扫描 (positron emission tomography); Caspase: 胱天蛋白酶 (cysteine aspartic acid specific protease); NTR: 硝基还原酶 (nitroreductase); ALP: 碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase).

别及机制相关探索的需求形成呼应^[7]。但其应用仍受多重因素制约: 组织散射与吸收限制成像深度并削弱定量可靠性, 自发荧光等背景信号进一步影响信噪比与测量一致性^[8]。更需关注的是, AKI发生时肾血流灌注、肾小球滤过率及肾小管分泌重吸收功能常出现显著波动, 进而改变探针在肾内的分布、清除动力学与局部滞留, 使荧光强度及其空间格局难以直接等同于靶分子水平或损伤程度, 增加了解读的不确定性^[8]。为便于系统比较不同荧光探针策略, 我们采用统一评价维度, 包括信号特异性及其与目标病理机制的相关性, 肾内分区或靶细胞指向性与定位证据的充分性, 定量能力、可重复性与纵向监测的可比性, 以及AKI生理状态对药代动力学与成像读出的影响是否得到充分表征, 分

别综述分子荧光探针与纳米荧光探针的设计思路、验证终点及关键局限^[19]。

过氧化氢 (hydrogen peroxide, H₂O₂) 是氧化应激的重要介质, 也是AKI早期损伤成像中最常用的反应型靶标之一。Kong等^[16]构建手性丝氨酸修饰的聚酰胺-胺型树枝状高分子负载H₂O₂响应探针, 在顺铂AKI模型中呈关到开式增强。D型探针肾脏富集与信号更强, 并与肾功能指标及病理损伤相关, 但亚细胞定位证据不足。研究通过游离探针对照和治疗后信号下降支持机制关联, 但仍需注意手性导致的体内分布差异及治疗过程对H₂O₂水平的动态影响。Li等^[17]提出L-丝氨酸修饰壳聚糖负载的双传感比率型探针 (ratiometric nanoprobe, RP-SC), 通过一开一关的近红外分子输出比率读

数, 在顺铂 AKI 模型中注射后 1 h 即可检出并可纵向监测至 60 h。研究以 KIM-1 共定位和阻断实验结合 N-乙酰半胱氨酸 (N-acetylcysteine, NAC) 干预强化定位与机制链条, 其优势在于比率化读出与较明确的靶向路径, 但体内复杂环境下的绝对选择性仍需进一步验证^[17]。Ouyang 等^[18]报道近红外二区 (near-infrared II, NIR-II) 开启式探针 HP-H₂O₂, 注射后数分钟即可在肾脏检测到信号, 且与缺血时间呈正相关。离体器官成像与组织学及炎症标志物染色支持其与损伤程度相关, 但读出主要依赖强度变化, 肾内分区证据相对有限^[18]。Zeng 等^[20]开发 NIR-II 荧光/光声双模开启式探针 PEG3-HC-PB, 在对比剂或缺血再灌注模型中信号于注射后约 5 h 达峰并在 24 h 内清除。离体成像显示肾脏富集, 且与血清指标和病理结果相互印证, 但长时窗监测仍可能受病理生理波动影响而产生偏倚^[20]。一项纳入 82 例重症感染及烧伤患者的研究显示, 发生 AKI 的患者尿 H₂O₂ 浓度显著高于无 AKI 者, 且 28 d 死亡患者的尿 H₂O₂ 水平也显著高于存活者, 提示尿 H₂O₂ 浓度可能作为预测不良预后的潜在生物标志物^[21]。

过氧亚硝酸盐 (peroxynitrite, ONOO⁻) 是氧化与硝化过程耦联的关键产物, 在 AKI 炎症与氧化损伤交织的背景下具有一定机制指向性。Ding 等^[22]开发 NIR 探针 NRN 并通过结构设计获得较高选择性, 在药物诱导 AKI 模型中信号与肾毒性程度相关。作者以无响应的碳类似物对照以降低非特异性蓄积的解释风险, 并结合线粒体定位和生成抑制或分解干预增强机制关联, 但氧化硝化网络的交叉效应仍可能影响信号归因^[22]。Liu 等^[23]提出荧光共振能量转移 (fluorescence resonance energy transfer, FRET) 比率型近红外荧光/光声双模探针 SiRho-HD, 利用对 ONOO⁻ 的特异性切割实现剂量依赖的信号增强。抗氧化剂处理可部分逆转读出, 且作者强调小分子水溶性与快速清除有助于减轻药代混杂, 并通过与组织病理结果对照建立相关性证据链^[23]。总体而言, ONOO⁻ 探针研究通常同时强调化学选择性 with 药代控制, 但在复杂体内微环境下仍需谨慎解释其与 ONOO⁻ 绝对水平的对应关系。

次氯酸 (hydrochloric acid, HOCl) 与髓过氧化物酶 (mastoperoxidase, MPO) 介导的炎症相关氧化过程密切相关, 为从炎症氧化维度理解 AKI 提供了可成像入口。Xie 等^[24]报道, Cy-PITC 可被 HOCl 氧化激活, 在临床样本中显示 AKI 患者尿液

信号高于健康对照及部分非肾炎症对照, 动物实验提示, 尿液信号早于血清肌酐变化, 并与病理评分相关, 细胞实验中 NAC 预处理可降低信号。其不足在于缺少直接证据区分 HOCl 的细胞来源, 并未以 MPO 抑制或遗传学方法验证 MPO 通路的必要性^[24]。Liu 等^[25]设计水溶性 HOCl 激活探针 FDOCI-22, 实现 NIR 荧光与光声双模放大, 在细胞模型中监测到顺铂诱导的巨噬细胞 HOCl 升高, 并以抗氧化剂干预支持其与氧化损伤相关。研究通过流式、共聚焦成像及与肾功能指标对照等方式提示其与炎症程度有关, 但对体内信号的来源归因仍不充分, 且模型覆盖面相对有限^[25]。因此, HOCl 探针可反映炎症相关氧化负荷, 但要将其读出用于更精细的机制拆分, 仍需更强的来源鉴别与通路验证。

谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 与半胱氨酸 (cysteine, Cys) 构成细胞内重要的还原缓冲体系, 其水平变化可作为检测氧化物种的互补指标, 提示 AKI 过程中氧化还原平衡的重塑。Zhao 等^[26]开发双通道探针 MB-NAP 以绿色通道响应 Cys, 在顺铂诱导的人肾小管上皮细胞 (human renal tubular epithelial cell, HK-2) 与小鼠 AKI 模型中均观察到随损伤进展 Cys 升高的趋势, 离体成像显示肾脏富集。其局限在于主要依赖强度型读出, 缺乏比率校正与亚结构定位证据, 同时对清除路径与蛋白质结合导致的非特异性滞留评估不足。Weng 等^[27]开发的磷脂酰丝氨酸/胱天蛋白酶-3 (phosphatidylserine/cysteine aspartic specific protease-3, nPS/caspase-3) 双靶向探针 1-DPA2, 通过 caspase-3 特异性切割释放近红外信号, 在顺铂 AKI 模型中随 24~72 h 病程进展持续增强, 并与活化 Caspase-3 免疫荧光高度一致。组织成像显示信号主要位于肾皮质和肾小管, 尿液高效液相色谱 (high performance liquid chromatography, HPLC) 分析进一步支持其肾清除及肾内激活过程, 但其定量仍以强度为主, 且缺少对血清蛋白非特异性结合的系统评估^[27]。总之, 还原状态与凋亡相关探针提供了不同于氧化物的观察窗口, 但解释上更依赖对分布与清除的把控以及与组织学证据的相互印证。一项针对 124 例脓毒症危重症患者的研究显示, 在合并 AKI 的患者中, 加强监护病房 (intensive care unit, ICU) 入院第 1 天较高的血浆 GSH 浓度与 14 天主要不良肾脏事件风险增加显著相关 (优势比 (odds ratio, OR) = 2.80, 95% 置信区间 (confidence interval, CI) :

1.17~6.72, $P<0.05$), 提示 GSH 可能作为预测肾脏预后的关键指标^[28]。

总体而言, 反应型荧光探针为无创、实时捕捉 AKI 早期分子事件提供了有力工具, 尤其在机制探索和多靶点联合成像方面展现出优势 (图 2)。然而, 其临床转化仍面临多重瓶颈。主要挑战包括探

针在循环系统中的非特异性激活或降解、全身给药后的潜在毒性、不同模型及患者间信号一致性差、生物标志物异质性, 以及信噪比等评估体系的标准化缺失^[29]。未来, 结合比率型设计、多靶点协同识别, 以及尿液检测等非侵入性策略, 有望推动荧光探针向临床床旁诊断迈进。

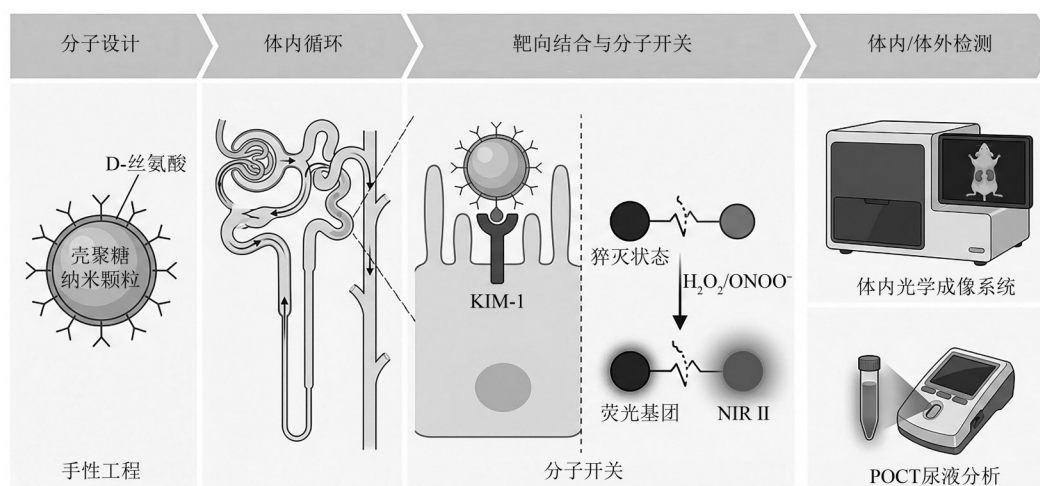


Fig. 2 The design and application process of reactive probes based on fluorescence signals for the detection of AKI^[16, 18, 20, 22, 24]

图2 基于荧光信号的反应型探针在AKI检测中的设计与应用流程^[16, 18, 20, 22, 24]

AKI: 急性肾损伤 (acute kidney injury); KIM-1: 肾脏损伤分子1 (kidney injury molecule-1); H_2O_2 : 过氧化氢 (hydrogen peroxide); $ONOO^-$: 过氧亚硝酸盐 (peroxynitrite); NIR-II: 近红外二区 (second near-infrared window); POCT: 现场快速检验 (point-of-care testing)。

1.2 基于磁与核物理信号的反应型探针

MRI 因无电离辐射, 软组织对比度高, 且可提供多参数定量信息, 在 AKI 的无创深部评估中占据重要位置, 尤其适合观察皮质与髓质层面的功能与微环境变化。在 AKI 研究中, MRI 探针与对比增强相关策略的意义不止于形态学呈现, 更在于对灌注改变、组织氧合、水分子扩散状态以及部分代谢过程的量化, 从而服务于早期检出、损伤定位、机制相关分型与疗效随访。Mariager 等^[30] 基于超极化技术构建了超极化 ^{13}C , $^{15}N_2$ 尿素探针, 以尿素作为内源性报告分子显著增强 ^{13}C 信号, 在 AKI 大鼠缺血后观察到 ^{13}C 尿素 T2 弛豫时间下降, 并且其与血氧饱和度依赖 (blood oxygen saturation dependence, BOLD) 读出之间的耦合关系发生改变, 提示该方法可在较低背景干扰下捕捉氧合与微环境的早期异常。Nijati 等^[31] 提出靶向铁死亡过程的正电子发射断层扫描 (positron emission tomography, PET) 与 ^{19}F MRI 双模态探针 PAD, 该探针在 Fe (II) 条件下发生特异性裂解并在铁死

亡相关肾细胞内滞留, 使顺铂相关 AKI 早期即可在损伤肾脏形成特异性富集, 其中 ^{19}F MRI 提供近乎无背景的读出并便于定量, 体现了以病理机制为牵引的分子靶向设计思路。与外源性探针路线不同, Bauer 等^[32] 通过 BOLD MRI 联合呋塞米刺激, 追踪 R2 星信号对肾小管氧耗变化的动态响应, 以功能挑战方式评估肾小管功能储备, 为急性肾小管坏死 (acute tubular necrosis, ATN) 相关功能损害的识别提供了另一种更贴近临床可操作性的方案。总体来看, MRI 相关策略在 AKI 转化中仍面临三方面瓶颈。一是安全性与可重复性, 特别是在肾功能受损情境下传统钆基对比剂的风险讨论尚未完全消除, 新型探针的长期体内安全性也需要更充分证据支持。二是成像时间窗与病程演变节律需要更好匹配。三是标准化仍不足, 包括定量指标的统一, 阈值设定与跨中心可比性。后续工作可聚焦更高生物安全性的智能对比体系, 更快的多参数采集与重建流程, 以及更大样本的临床研究来确立可靠的影像学生物标志物。不过, 最新共识指出, Group II

钆剂在慢性肾病患者中肾源性系统性纤维化风险极低, 可按需使用, Group I 线性钆剂则因明确风险应避免用于肾小球滤过率估算值 (estimated glomerular filtration rate, *eGFR*) <30 或透析患者, 这为 MRI 对比剂在肾功能不全患者中的合理应用提供了依据^[33]。

核医学成像在 AKI 评估中的突出特点是灵敏度高, 具备分子示踪与动态定量能力, 可追踪探针在体内的分布与代谢过程, 从而更直接地反映肾小球滤过与灌注等关键功能参数。PET/CT 在非肿瘤性肾脏疾病中的应用正不断扩展, 在急性肾盂肾炎、药物性肾炎、感染性多囊肾病以及肉芽肿性肾炎等肾脏疾病的成像中被广泛使用^[34]。常用的示踪剂以 ¹⁸F-FDG 为主, 用于评估炎症和感染, ⁶⁸Ga-FAPI 在评估肾小管损伤和纤维化方面也显示出潜力^[34]。Ding 等^[35]报道了以 ⁶⁸Ga 标记的乙二胺四乙酸 (ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA) 作为 PET 示踪剂, 利用 EDTA 可经肾小球滤过且不被重吸收的特性, 对总肾及分肾 GFR 进行动态量化, 在动物模型中可较早捕捉 AKI 引起的 *eGFR* 下降, 体现出三维动态定量的优势, 但分辨率与肾皮质勾画等因素仍可能影响局部定量精度。Chi 等^[36]比较了 ¹⁸F 成纤维细胞活化蛋白抑制剂 (fibroblast activation protein inhibitor, FAPI) 与 ¹⁸F FDG 在癌症合并 AKI 患者中的表现, 前者围绕成纤维细胞激活蛋白相关过程呈现对间质纤维化活动的更强指向性, 而氟代脱氧葡萄糖 (fluorodeoxyglucose, FDG) 更多反映炎症与糖代谢增高, 两者在重度 AKI 时可出现肾实质弥漫性高摄取的表现, 为损伤过程的机制区分与结局评估提供了影像学线索。需要注意的是, 无论 PET 还是单光子发射计算机断层成像术 (singlephoton emission computed tomography, SPECT), 其临床推广都受到辐射剂量与成本的约束, 同时 AKI 本身导致的滤过与排泄受损会改变探针药代并抬高背景, 从而影响定量可靠性, 此外还涉及探针制备与流程标准化等问题。后续改进可从提高配体靶向特异性与稳定性入手, 结合更优的重建与校正策略提升定量准确性, 并通过更多临床队列验证其在 AKI 分型与管理中的增量价值。为进一步提升 FAPI 探针在肾纤维化成像中的性能, 研究者开发了优化型探针 ⁶⁸Ga-TE-FAPI-04, 通过引入白蛋白结合基团延长血液循环半衰期, 增强靶向累积。在缺血-再灌注损伤小鼠模型中, 其肾脏摄取与肾间质纤维化程度 ($R=0.847$,

$P<0.001$) 及血清肌酐水平 ($R=0.857$, $P=0.007$) 均呈显著正相关, 克服了传统 FAPI 探针快进快出的局限^[37]。

需要注意的是, 无论 PET 还是 SPECT, 其临床推广都受到辐射剂量与成本的约束, 同时 AKI 本身导致的滤过与排泄受损会改变探针药代并抬高背景, 从而影响定量可靠性。未来需进一步开展大样本临床研究, 验证 PET/CT 在 AKI 分型与管理中的增量价值^[34], 并从提高配体靶向特异性与稳定性入手, 结合更优的重建与校正策略提升定量准确性^[37]。

1.3 基于光声信号的反应型探针及其他反应型探针

光声成像 (photoacoustic imaging, PAI) 的基本原理基于光声效应, 即利用脉冲激光照射生物组织, 内源性染色基团吸收光能后产生热弹性膨胀, 进而发射超声信号, 被超声探头捕获并重建成像, 从而实现无创、高穿透深度的功能成像。在 AKI 诊断中, PAI 的应用主要从肾小球滤过率评估、肾脏局部血流灌注与血氧饱和度评估和靶向分子成像 3 个方面展开^[38]。PAI 结合光学对比与超声穿透能力, 为 AKI 提供了一条在更深组织层面获取高对比信息的路径, 适合在结构定位基础上进一步观察与缺血缺氧、滤过功能或特定分子事件相关的变化。Zhang 等^[39]开发基于氟硼二吡咯 (boron-dipyrromethene, BODIPY) 衍生物的小分子探针 BDP-3, 其在生理条件下自组装形成可肾脏清除的 J 聚集体以增强光声信号, 在多种药物诱导 AKI 模型中通过探针在肾内滞留与清除动力学的改变反映滤过功能受损, 并通过与超声融合提高定位准确性, 显示出对早期功能变化的敏感性。Bin 等^[40]报道响应二氧化硫的小分子探针 Rho QL, 在碘对比剂相关 AKI 模型中发生激活型信号开启, 该探针对于二氧化硫 (sulfur dioxide, SO₂) 的响应时间仅需约 5 s, 吸收波长从 550 nm 红移至 700 nm, 具有良好的肾脏靶向能力, 结合多光谱光声断层可实现肾脏二维与三维成像, 其信号增强比血肌酐和尿素氮的升高以及组织学损伤的出现提前至少 12 h。

最新研究进一步拓展了光声探针的设计思路。Luo 等^[41]报道了一种诊疗一体化纳米探针 CPACSC, 其通过 L-丝氨酸修饰的壳聚糖靶向 KIM-1 富集于受损肾小管上皮细胞后, 与中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白 (neutrophilgelatinase associated lipocalin, NGAL) 结合, 释放 CY-1005

分子并在原位形成NIR-II J-聚集。聚集后吸收峰红移至1 005 nm, 实现深穿透三维PAI, 同时探针中的纳米酶可级联清除活性氧类 (reactive oxygen species, ROS), 发挥治疗作用。CPACSC不仅可在肾损伤区域特异性累积, 还可有效清除ROS、促进M2型巨噬细胞极化、降低白介素(interleukin, IL)-6、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 和IL-1 β 等炎症因子表达, 从而显著缓解肾损伤(图2)。该研究体现了靶向成像与治疗功能的融合, 为AKI的精准诊疗提供了新思路。

PAI技术的优势在于无创、动态成像、对血流灌注敏感, 并可在血肌酐升高前早期预警AKI, 但其信号穿透深度和成像精度仍有待提升^[38]。值得关注的是, 无标记光声/超分辨超声双模态成像技术的出现为克服上述部分局限提供了可能。Zhao等^[42]开发的三维光声/超分辨超声双模态成像技术, 基于红细胞运动定位和血红蛋白内源性光吸收, 在缺血再灌注AKI模型中观察到肾血管密度下降54%、氧饱和度降低14.1%、相对血容量减少61%。该技术无需外源性造影剂, 有望用于AKI的早期诊断和病程监测, 但目前仍面临扫描时间长、运动伪影等限制^[42]。未来, 随着成像设备和探针设计的协同优化, PAI有望在AKI临床评估中发挥更重要的作用。

2 酶激活型分子探针

相较于直接响应化学物种的反应型探针, 与特定酶活性或酶相关生物过程有关的可激活探针通过底物酶切或酶催化转化触发信号变化, 因而在设计上更贴近具体生物通路, 并有望提供更明确的肾内病理定位信息。

2.1 肾小管功能酶相关探针

肾小管上皮细胞, 尤其是近端小管, 是AKI中最易受损的部位^[43]。位于这些细胞刷状缘或溶酶体中的特定酶类, 在细胞损伤后可释放入尿液, 成为反映肾小管功能完整性的敏感指标。其中, γ 谷氨酰转移酶(γ -glutamyltransferase, GGT)和丙氨酸氨基肽酶(alanine aminopeptidase, AAP)定位于近端小管刷状缘, 分别参与谷胱甘肽代谢和肽类水解; 而N-乙酰- β -D-葡萄糖苷酶(N-acetyl-beta-D-glucosaminidase, NAG)则位于近端小管细胞溶酶体中, 参与糖蛋白分解代谢^[43]。在AKI状态下, 无论是刷状缘脱落还是溶酶体膜通透性增

加, 均可导致这些酶在尿液中的水平显著升高^[44]。临床研究显示, 尿NAG预测AKI患者需要肾脏替代治疗或死亡的受试者工作特征曲线下面积(area under the curve, AUC)可达0.71~0.81^[45], 尿GGT预测AKI的敏感性也有一定价值, 但其表现受患者异质性、合并症等因素影响, 单一标志物往往难以满足理想生物标志物的所有标准^[44-45]。因此, 将这些具有明确生物学定位的酶作为可激活探针的靶点, 有望将尿酶升高这一临床检验指标, 转化为具有空间定位能力的实时影像信息。

围绕GGT, 研究人员已开发出多种可激活探针。Cheng等^[46]报道的聚合物探针FPRR, 其结构中包含可被GGT特异性切割的 γ 谷氨酰胺键, 切割后触发荧光信号开启, 同时伴随光声信号增强。在顺铂诱导的AKI小鼠模型中, FPRR注射后约60 min内即可在肾区实现实时成像, 且通过GGT抑制剂预处理可显著抑制信号, 验证了酶环节的特异性。该探针的优势在于荧光-光声双模态读出, 兼顾高灵敏度与深部成像能力, 但GGT在肾外组织的表达可能带来背景干扰^[43]。最新研究中, HX-GP探针进一步拓展了GGT检测的维度。该探针采用顺序激活机制。首先由GGT切割谷胱甘肽部分, 释放红色荧光团(613 nm)实现GGT成像, 随后, 该产物可被AKI相关氧化应激标志物过氧亚硝酸盐(ONOO⁻)进一步氧化, 生成绿色荧光团(518 nm), 从而实现“GGT+ONOO⁻”双通道顺序成像。该探针对于GGT的检测限低至0.42 U/L, 在顺铂诱导的HK-2细胞模型中成功显示GGT与ONOO⁻信号随损伤加重而增强, 还为解析AKI中酶活性变化与氧化应激的时序关系提供了工具^[47]。

针对NAG, Ruan等^[48]设计了级联激活的化学发光报告分子, 其末端步骤依赖NAG酶切以释放NIR I信号, 用于肝缺血再灌注继发AKI的监测。该探针的触发受上游超氧阴离子调控, 因此更符合酶参与的级联放大效应。Huang等^[49]则构建了对超氧阴离子与NAG双响应的光学探针ADR, 其中NAG酶切负责激活NIR荧光通道。在造影剂诱导AKI模型中, ADR被用于解析氧化应激与溶酶体损伤的先后关系, 但双通道体系可能存在信号串扰风险, 且较快的肾清除会压缩有效成像窗口。

除单一酶靶向外, 多重检测策略也受到关注。Cheng等^[50]开发的多重尿液报告系统(multiplexed urine reporters, MURs)可同时检测尿液中GGT、AAP和NAG的活性。该体系以3种

酶切底物分别释放蓝、橙与NIR荧光,在顺铂诱导的AKI小鼠中,针对GGT的MUR1与针对NAG的MUR3可在给药后24 h于尿液中检出荧光增强,并早于部分血清指标的变化。这种设计虽为体外检测,但将尿酶活性变化直接转化为光学信号,与临床尿检具有良好的衔接性。

总体而言,以GGT、AAP、NAG为代表的肾小管功能酶,因其明确的肾内定位和与损伤机制的直接关联,已成为构建可激活探针的理想靶点。现有探针从单酶检测向双靶点、多模态方向发展,并在细胞和动物模型中验证了其早期诊断潜力。临床研究提示,这些尿酶的诊断价值往往需要多指标联合,如GGT和AAP联合指标或NAG联合KIM-1可提高预测不良结局的能力^[44-45]。未来,将探针成像与尿液多酶检测相结合,或可为AKI的床旁评估和机制分型提供更全面的信息。

2.2 凋亡酶相关探针

细胞凋亡是AKI中肾小管上皮细胞损失的关键机制之一,而caspase家族作为凋亡信号通路的最终执行者,其激活状态直接反映细胞损伤的不可逆进程^[51]。在AKI中,caspase-3是最核心的效应分子,其激活标志着细胞进入不可逆凋亡阶段。caspase-8和caspase-9分别介导死亡受体途径和线粒体途径的启动,而caspase-1则参与焦亡通路,在脓毒症相关AKI中切割GSDMD并促进炎症因子释放^[51-52]。临床前研究显示,caspase抑制剂可显著减少肾小管细胞凋亡并改善肾功能,提示Caspase不仅是有价值的成像靶点,也具有治疗干预潜力^[52]。然而,在脓毒症AKI中,凋亡的作用仍存争议。尽管多数患者存在临床肾功能障碍,但肾组织中并未观察到明显的凋亡证据,提示在临床相关模型中验证caspase成像价值的必要性^[53]。

针对caspase-3这一核心效应子,研究者已开发出多种可激活探针。Weng等^[27]报道的1-DPA2探针采用锚定加激活双靶点策略,其Zn-DPA基团靶向凋亡细胞膜表面的磷脂酰丝氨酸,实现富集后,再由细胞内活化的caspase-3切割DEVD肽段释放近红外荧光。在顺铂和碘帕醇诱导的AKI小鼠模型中,1-DPA2注射后24 h即可检测到肾脏荧光增强,信号与活化caspase-3免疫荧光高度一致^[27]。Huang等^[54]开发的MRP3探针则聚焦于高肾清除率设计:由NIR荧光团、DEVD肽段和(2-羟丙基)- β -环糊精组成,在顺铂诱导AKI中48 h检测到信号增强,比血清肌酐升高提前至少36 h,避免

了肝脏背景干扰。该研究还将MRP3与超氧阴离子探针(MRP1)和NAG探针(MRP2)联用,首次实现了AKI中氧化应激、溶酶体损伤和细胞凋亡的时序成像^[54]。针对凋亡通路上游,Zhou等^[55]开发的ZCRR探针靶向Caspase-8,基于IETD肽段切割激活机制,在顺铂AKI模型中注射后15 min即可成像,并可纵向监测至72 h。这3类探针分别从双靶点锚定、高肾清除率设计和上游信号追踪等不同角度,共同构建了从启动到执行的Caspase成像工具集。

总体而言,Caspase家族探针的发展使研究者能够在活体水平追踪AKI中细胞凋亡的时空动态。临床研究提示,尽管Caspase在动物模型中的保护作用明确,但在人类AKI中,尤其是脓毒症相关AKI,凋亡的贡献仍需谨慎评估^[53]。未来,开发靶向焦亡通路caspase-1的成像探针,并将caspase活性成像与患者分层相结合,或可为AKI的精准诊疗提供新视角。

2.3 其他酶相关探针

除肾小管功能酶和凋亡相关酶外,其他与AKI病理过程密切相关的酶类也逐渐成为可激活探针的靶点。硝基还原酶(nitroreductase, NTR)是一种在缺氧条件下表达上调的还原酶,常被用作组织缺氧的标志物。在AKI中,肾小管间质缺氧是缺血性损伤和顺铂肾毒性的共同病理特征。Guo等^[56]报道的3-MeOARh-NTR探针基于若丹明衍生物设计,在NTR存在下发生还原反应,分子内螺环结构打开,恢复共轭体系并释放荧光信号。在顺铂诱导的AKI小鼠模型中,该探针注射后可检测到肾脏荧光增强,信号强度与损伤程度呈正相关,且通过抑制剂实验验证了其酶依赖性。该探针的局限性在于其荧光发射位于可见光波段(约580 nm),组织穿透能力有限,更适用于离体组织成像或浅表损伤检测^[56]。

碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)则主要定位于近端肾小管上皮细胞的刷状缘膜上,通过去磷酸化作用将促炎的三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)、二磷酸腺苷(adenosine diphosphate, ADP)转化为抗炎的腺苷,参与嘌呤能信号通路调节,发挥维持肾小管上皮屏障完整性和抗炎保护作用^[57-58]。在脓毒症、缺血/再灌注及药物诱导的AKI中,由于近端小管刷状缘膜的脱落和细胞损伤,肾组织中的内源性ALP活性显著下降,而尿液中ALP水平升高,这种变化属于AKI

早期事件^[59]。临床研究显示,外源性ALP治疗可能对脓毒症相关AKI具有保护作用:一项纳入301例脓毒症相关AKI患者的国际多中心II期试验(STOP-AKI)显示,相较于安慰剂对照组,接受重组人ALP治疗的患者28 d死亡率和90 d死亡率均显著降低,提示ALP不仅可作为肾小管损伤的标志物,还可能通过调节炎症和修复机制影响长期预后^[59]。

针对ALP的成像探针近年来取得进展。Chen等^[60]报道的CS-ALP探针基于半花菁染料设计,其分子中引入的磷酸酯基团可作为ALP的特异性底物。在顺铂诱导的AKI模型中,ALP活性上调促使探针发生酶水解,分子结构转变后引起685 nm处光声吸收增强,并在716 nm处产生NIR荧光“开启”信号,实现了对ALP活性早期及动态变化的高灵敏度成像^[59]。该探针具有良好的水溶性和肾脏靶向能力,体现了荧光与光声双模态读出的优势。另一项研究中,Qian等^[61]开发的BOD-P-Gol探针采用了“先积累后激活”的光控策略:其分子结构包含高尔基体靶向单元和光敏“锁”定的磷酸基团,在进入细胞后经紫外光照射定点解锁,释放的活性中间体方可被高尔基体内的ALP特异性识别并水解。该探针对ALP的检测限低至0.72 U/L,在顺铂诱导的HK-2细胞模型中首次揭示了高尔基体ALP活性随损伤加重而上调的现象,其光控设计有效排除了探针在到达靶细胞器前与其他部位高表达ALP反应产生的假阳性信号,实现了亚细胞器水平的精准成像^[61]。

除NTR和ALP外,其他与AKI病理相关的酶类如组织蛋白酶、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)等也逐步成为探针开发的潜在靶点。总体而言,以缺氧应答相关的NTR和刷状缘损伤相关的ALP为代表的酶类探针,拓展了酶激活型成像的病理维度,从不同侧面为AKI的机制解析提供了工具。未来,开发更多针对特定通路酶的高特异性探针,并探索多酶联合成像的价值,有望为AKI的机制分型和个体化治疗提供更丰富的影像学依据。

3 总结与展望

本文系统综述了用于AKI成像的两类分子探针策略。反应型探针通过响应氧化还原相关化学物质实现早期损伤可视化,其靶点从过氧化氢、ONOO⁻、HOCl扩展到二氧化硫,成像模态覆盖荧

光、磁共振、核医学、光声等多个领域,部分工作如Cy-PITC探针已在临床尿液样本中展现出转化潜力^[24, 40]。酶激活型探针则依托肾小管功能酶、凋亡相关酶及其他酶类的特异性切割或催化过程,提供了更具病理指向性的成像读出。两类探针的发展并非截然分立,双靶点识别^[27]、多模态整合^[46]、诊疗一体化设计^[41]等策略,正在推动分子影像从单一示踪向多功能协同演进。这些功能的实现多借助纳米平台,通过对尺寸、表面电荷及配体修饰的工程化设计,实现信号放大、靶向递送及多模态读出^[13]。

临床转化是分子探针研究的终极目标,也是学术同行关注的焦点。从靶点角度看,KIM-1、FAP、ALP等靶点已在临床患者中得到验证:尿NAG预测AKI患者需要肾脏替代治疗或死亡的AUC可达0.71~0.81^[45];FAPI PET/CT在AKI患者中观察到与纤维化相关的持续摄取^[34];重组人ALP治疗在脓毒症相关AKI的II期试验中显示出降低死亡率的潜力^[59]。这些临床证据为相应探针的转化提供了生物学基础。从成像模态看,荧光探针适用于床旁快速检测^[24],PAI可在血肌酐升高前12 h预警损伤^[40],MRI和PET/CT则凭借其临床普及度和定量能力,在机制验证和患者分层中具有优势^[12, 34]。探针设计的可转化性指标包括肾清除率高、生物相容性好、制备工艺可控等,这些特性应在早期设计阶段就纳入考量。对于采用纳米设计的探针,其体内行为的可预测性、长期生物安全性及规模化制备的可行性,是临床转化中需要额外关注的问题^[13, 62]。未来,推动分子探针走向临床,需要多中心研究验证其增量价值,更需要推进成像协议、定量指标和安全性评价的标准化^[29]。本文系统梳理了反应型与酶激活型探针的研究进展,并总结了这些探针所靶向分子的临床证据,为后续探针设计与临床转化提供了参考(图3)。

需要指出的是,本文聚焦于AKI研究中最成熟的两类探针——氧化还原响应型探针和酶激活型探针。其他响应机制,如离子响应、热响应、机械响应探针等,在肿瘤微环境成像或药物递送领域已有探索,但在AKI中的研究尚处于起步阶段,文献积累较少,故未纳入本文讨论。此外,AKI进程中伴随离子稳态失衡、局部温度变化及肾脏机械力改变,理论上均可作为成像靶点,未来或可借鉴相关领域经验,开发适用于AKI的新型响应探针。焦亡通路caspase-1成像^[54]、多酶联合成像策

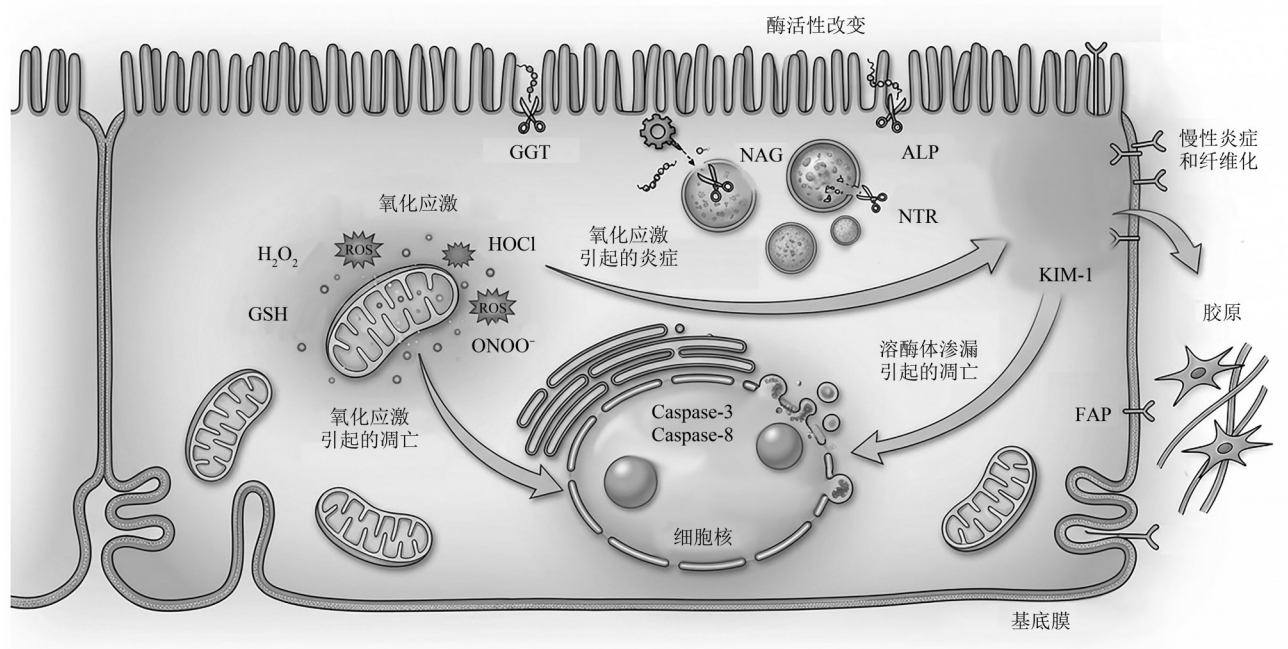


Fig. 3 The potential of probes in the clinical application of AKI^[21, 24, 28, 34, 36, 44–45, 59]

图3 探针在AKI临床应用中的潜力^[21, 24, 28, 34, 36, 44–45, 59]

以肾小管上皮细胞为模型，展示AKI发生发展过程中的核心病理环节（氧化应激、酶活性改变、细胞凋亡、炎症/纤维化）及其对应的关键分子靶点。以下分子已在临床研究中证实与AKI相关：氧化应激相关靶标，H₂O₂^[21]、HOCl、GSH^[28]、ONOO[−]；酶活性改变相关靶标，GGT^[44]、NAG^[45]、ALP^[59]；凋亡相关靶标，caspase-3、caspase-8；炎症/纤维化相关靶标，KIM-1^[24]、FAP^[34, 36]。ROS：活性氧类（reactive oxygen species）；GSH：谷胱甘肽（glutathione）；GGT：γ谷氨酰转移酶（gamma-glutamyl transferase）；NAG：N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖苷酶（N-acetyl-β-D-glucosaminidase）；ALP：碱性磷酸酶（alkaline phosphatase）；NTR：硝基还原酶（nitroreductase）；Caspase：胱天蛋白酶（cysteine aspartic specific protease）；KIM-1：肾脏损伤分子1（kidney injury molecule-1）；FAP：成纤维细胞激活蛋白（fibroblast activation protein）。

略^[51, 55]，以及将探针信号与患者分层相结合的思路^[60]，也为后续研究提供了方向。为便于读者快速把握领域进展，将本文讨论的代表性探针整理为

表1。该表涵盖探针类型、响应机制、成像模态、适用模型及主要特点，以期为本领域研究者提供参考。

Table 1 Summary of representative molecular probes for imaging acute kidney injury

表1 用于急性肾损伤成像的代表性分子探针汇总

探针类型	具体类别	探针名称	响应机制/靶点	临床相关点/特点	参考文献
反应型	荧光	PAMAM手性丝氨酸修饰探针	H ₂ O ₂	手性修饰（D型）增强肾脏富集和信号，与肾功能指标及病理损伤相关	[16]
反应型	荧光	RP-SC	H ₂ O ₂	L-丝氨酸修饰壳聚糖负载的双传感比率型探针，可实现比率化读出和纵向监测	[17]
反应型	荧光	HP-H ₂ O ₂	H ₂ O ₂	NIR-II开启式探针，信号与缺血时间呈正相关	[18]
反应型	荧光/光声	PEG3-HC-PB	H ₂ O ₂	NIR-II荧光/光声双模开启式探针，信号与血清指标和病理结果相互印证	[20]
反应型	荧光	NRN	ONOO [−]	近红外探针，通过结构设计获得较高选择性，信号与肾毒性程度相关	[22]
反应型	荧光/光声	SiRho-HD	ONOO [−]	FRET比率型近红外荧光/光声双模探针采用ONOO [−] 特异性切割技术，实现了信号增强	[23]

续表1

探针类型	具体类别	探针名称	响应机制/靶点	临床相关点/特点	参考文献
反应型	荧光	Cy-PITC	HOCl	已在临床尿液样本中验证, AKI患者尿液信号高于健康对照, 且早于血清肌酐变化	[24]
反应型	荧光/光声	FDOCl-22	HOCl	水溶性HOCl激活探针, 实现近红外荧光与光声双模放大, 可监测巨噬细胞HOCl升高	[25]
反应型	荧光	MB-NAP	Cys	双通道探针, 通过绿色通道响应Cys, 在细胞和动物模型中观察到Cys随损伤进展升高	[26]
反应型	荧光	1-DPA2	PS/Caspase-3	双靶向探针 (见酶激活型凋亡酶类别), 在顺铂模型中信号与活化Caspase-3免疫荧光高度一致	[27]
反应型	磁共振/核医学	超极化 ¹³ C, ¹⁵ N ₂ 尿素探针	尿素	利用超极化技术显著增强 ¹³ C信号, 可捕捉氧合与微环境的早期异常	[30]
反应型	磁共振/核医学	PAD	Fe(II)	PET/ ¹⁹ F MRI双模态探针被Fe(II)特异性激活后裂解, 进而在铁死亡相关肾细胞内滞留, 实现靶向富集	[31]
反应型	磁共振/核医学	⁶⁸ Ga-EDTA PET探针	肾小球滤过	动态PET成像, 可对总肾及分肾GFR进行量化, 早期捕捉AKI引起的GFR下降	[35]
反应型	磁共振/核医学	¹⁸ F-FAPI 42和 ¹⁸ F-FDG	FAP/葡萄糖代谢	在癌症合并AKI患者中, FAPI-42指向间质纤维化, FDG反映炎症, 重度AKI时两者均可出现肾实质弥漫性高摄取	[36]
反应型	磁共振/核医学	⁶⁸ Ga-TE-FAPI-04	FAP	优化型FAPI探针, 引入白蛋白结合基团延长半衰期, 肾脏摄取与肾间质纤维化程度及血清肌酐水平呈正相关	[37]
反应型	光声	BDP-3	滤过功能	基于BODIPY的小分子探针, 在生理条件下自组装形成J聚集体, 通过滞留反映滤过功能受损	[39]
反应型	光声	Rho QL	SO ₂	对SO ₂ 响应快 (约5 s), 肾脏靶向能力强, 信号增强比血肌酐等指标升高提前至少12 h	[40-41]
反应型	光声/治疗	CPACSC	KIM-1/NGAL	诊疗一体化纳米探针, 靶向KIM-1富集后与NGAL结合释放信号, 同时纳米酶清除活性氧发挥治疗作用	[42]
酶激活型	肾小管功能酶	FPRR	GGT	荧光-光声双模态聚合物探针, GGT切割后开启信号, 抑制剂实验验证特异性	[47]
酶激活型	肾小管功能酶	HX-GP	GGT	顺序激活探针, 先由GGT切割开启红色荧光, 产物可被ONOO ⁻ 氧化生成绿色荧光, 实现双通道顺序成像	[48]
酶激活型	肾小管功能酶	级联激活化学发光报告分子	NAG	级联激活设计, 末端依赖NAG酶切释放近红外信号, 用于肝缺血再灌注继发AKI的监测	[49]
酶激活型	肾小管功能酶	ADR	NAG	对超氧阴离子与NAG双响应的光学探针, 用于解析氧化应激与溶酶体损伤的先后关系	[50]
酶激活型	肾小管功能酶	多重尿液报告系统 (MURs)	GGT, AAP, NAG	体外尿液检测系统, 可同时检测3种酶的活性, 将尿酶活性变化直接转化为光学信号	[51]
酶激活型	凋亡酶	1-DPA2	PS	采用“锚定 (靶向PS) + 激活 (Caspase-3切割)”双靶点策略, 实现凋亡细胞的高特异性成像	[27]
酶激活型	凋亡酶	MRP3	Caspase-3	高肾清除率设计, 信号增强比血清肌酐升高提前至少36 h, 可避免肝脏背景干扰	[55]
酶激活型	凋亡酶	ZCRR	Caspase-8	基于IETD肽段切割激活, 注射后15 min即可成像, 可纵向监测至72 h	[56]
酶激活型	其他酶	3-MeOARh-NTR	NTR	基于若丹明衍生物, 在NTR存在下还原并释放荧光, 信号强度与损伤程度呈正相关, 但穿透深度有限	[57]
酶激活型	其他酶	CS-ALP	ALP	基于半花菁染料, ALP水解后引起光声吸收增强和近红外荧光开启, 实现双模态成像	[61]

续表1

探针类型	具体类别	探针名称	响应机制/靶点	临床相关点/特点	参考文献
酶激活型	其他酶	BOD-P-Gol	ALP	采用“先积累后激活”的光控策略, 实现对高尔基体内ALP活性的高保真时空识别, 排除假阳性信号	[62]

H₂O₂: 过氧化氢 (hydrogen peroxide); ONOO⁻: 过氧亚硝酸盐 (peroxynitrite); HOCl: 次氯酸 (hypochlorous acid); Cys: 半胱氨酸 (cysteine); PS: 磷脂酰丝氨酸 (phosphatidylserine); GGT: γ 谷氨酰转移酶 (gamma-glutamyl transferase); NAG: N-乙酰- β -D-葡萄糖苷酶 (N-acetyl- β -D-glucosaminidase); AAP: 丙氨酸氨基肽酶 (alanine aminopeptidase); NTR: 硝基还原酶 (nitroreductase); ALP: 碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase); AKI: 急性肾损伤 (acute kidney injury); KIM-1: 肾损伤分子1 (kidney injury molecule-1); NGAL: 中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白 (neutrophil gelatinase-associated lipocalin); FAP: 成纤维细胞激活蛋白 (fibroblast activation protein); GFR: 肾小球滤过率 (glomerular filtration rate)。

参 考 文 献

[1] Ostermann M, Lumlertgul N, Jeong R, *et al.* Acute kidney injury. *Lancet*, 2025, **405**(10474): 241-256

[2] Cheung T Y, Lam K, Leung S C, *et al.* Clinical epidemiology and outcomes of emergency department-acute kidney injury: a systematic review. *Heliyon*, 2024, **10**(9): e30580

[3] Zoccali C, Lameire N, Ronco C, *et al.* Acute kidney injury, acute kidney disease and chronic kidney disease: challenges and research perspectives. *Nephrol Dial Transplant*, 2025, **40**(9): 1650-1658

[4] Zhang T, Widdop R E, Ricardo S D. Transition from acute kidney injury to chronic kidney disease: mechanisms, models, and biomarkers. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2024, **327**(5): F788-F805

[5] Xiao Z, Huang Q, Yang Y, *et al.* Emerging early diagnostic methods for acute kidney injury. *Theranostics*, 2022, **12**(6): 2963-2986

[6] Srisawat N, Lumlertgul N, Kulvichit W, *et al.* Diagnostic challenges of acute kidney injury in Asia. *Semin Nephrol*, 2020, **40**(5): 468-476

[7] Sitara M, Zhang W, Gao H, *et al.* Recent progress in molecular probes for imaging of acute kidney injury. *Chem Biomed Imag*, 2024, **2**(8): 526-541

[8] Yao S, Wang Y, Mou X, *et al.* Recent advances of photoresponsive nanomaterials for diagnosis and treatment of acute kidney injury. *J Nanobiotechnology*, 2024, **22**(1): 676

[9] Yoon S Y, Kim J S, Jeong K H, *et al.* Acute kidney injury: biomarker-guided diagnosis and management. *Medicina*, 2022, **58**(3): 340

[10] Kulvichit W, Kellum J A, Srisawat N. Biomarkers in acute kidney injury. *Crit Care Clin*, 2021, **37**(2): 385-398

[11] Katagiri D, Wang F, Gore J C, *et al.* Clinical and experimental approaches for imaging of acute kidney injury. *Clin Exp Nephrol*, 2021, **25**(7): 685-699

[12] Wang B, Wang Y, Wang J, *et al.* Multiparametric magnetic resonance investigations on acute and long-term kidney injury. *J Magn Reson Imaging*, 2024, **59**(1): 43-57

[13] Shang S, Li X, Wang H, *et al.* Targeted therapy of kidney disease with nanoparticle drug delivery materials. *Bioact Mater*, 2024, **37**: 206-221

[14] Roy J P, Devarajan P. Acute kidney injury: diagnosis and management. *Indian J Pediatr*, 2020, **87**(8): 600-607

[15] Wang Y, Wang N, Qu L, *et al.* Nanomedicine for acute kidney injury: precision delivery strategies, therapeutic breakthroughs, challenges, and future perspectives. *Int J Nanomedicine*, 2025, **20**: 14015-14031

[16] Kong L, Fan D, Zhou L, *et al.* The influence of modified molecular (D/L-serine) chirality on the theragnostics of PAMAM-based nanomedicine for acute kidney injury. *J Mater Chem B*, 2021, **9**(43): 9023-9030

[17] Li N, Liu Z, Chen C, *et al.* Activatable fluorescent ratiometric probes for early diagnosis and prognostic assessment of acute kidney injury. *Sci Adv*, 2025, **11**(43): eaea1654

[18] Ouyang J, Sun L, Zeng F, *et al.* Rational design of stable heptamethine cyanines and development of a biomarker-activatable probe for detecting acute lung/kidney injuries via NIR-II fluorescence imaging. *Analyst*, 2022, **147**(3): 410-416

[19] Song Y, Peng Y, Wang X, *et al.* Impact of renal-targeting ligand density on kidney targeting, clearance, and off-target effects of renal-clearable nanoparticles. *Nano Lett*, 2025, **25**(24): 9825-9833

[20] Zeng C, Tan Y, Sun L, *et al.* Renal-clearable probe with water solubility and photostability for biomarker-activatable detection of acute kidney injuries via NIR-II fluorescence and optoacoustic imaging. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2023, **15**(14): 17664-17674

[21] Lipcsey M, Bergquist M, Sirén R, *et al.* Urine hydrogen peroxide levels and their relation to outcome in patients with sepsis, septic shock, and major burn injury. *Biomedicines*, 2022, **10**(4): 848

[22] Ding Y, Zhong R, Jiang R, *et al.* Redox-reversible near-infrared fluorescent probe for imaging of acute kidney oxidative injury and remedy. *ACS Sens*, 2023, **8**(2): 914-922

[23] Liu H W, Zhang H, Lou X, *et al.* Imaging of peroxynitrite in drug-induced acute kidney injury with a near-infrared fluorescence and photoacoustic dual-modal molecular probe. *Chem Commun (Camb)*, 2020, **56**(58): 8103-8106

[24] Xie T, Chen J, Sui X, *et al.* Hypochlorite-activated analyte-replacement fluorogenic probes for minute-level fast detection of acute kidney injury. *Analyst*, 2025, **150**(23): 5142-5146

[25] Liu L, Jiang L, Yuan W, *et al.* Dual-modality detection of early-stage drug-induced acute kidney injury by an activatable probe.

- ACS Sens, 2020, **5**(8): 2457-2466
- [26] Zhao Z, Xiang W, Guo W, *et al.* A dual-channel fluorescence probe for early diagnosis and treatment monitoring of acute kidney injury by detecting HOCl and cys with different fluorescence signals. *Anal Chem*, 2025, **97**(4): 2127-2135
- [27] Weng J, Wang Y, Zhang Y, *et al.* An activatable near-infrared fluorescence probe for *in vivo* imaging of acute kidney injury by targeting phosphatidylserine and caspase-3. *J Am Chem Soc*, 2021, **143**(43): 18294-18304
- [28] Wang T J, Lin W R, Huang S C, *et al.* Dynamics of oxidative stress and antioxidant capacity in relation to renal outcomes in septic patients with acute kidney injury: a cross-sectional and follow-up study. *Clin Nutr*, 2025, **52**: 253-262
- [29] Lu J, Zhuang W, Dong X, *et al.* Recent advances in functional activatable probes for oncological surgery: illuminating precision or hindering clinical translation?. *Eur J Med Chem*, 2025, **297**: 117930
- [30] Mariager C Ø, Nielsen P M, Qi H, *et al.* Hyperpolarized ^{13}C , ^{15}N -urea T2 relaxation changes in acute kidney injury. *Magn Reson Med*, 2018, **80**(2): 696-702
- [31] Nijati S, Zeng F, Zuo C, *et al.* Fe(II)-targeted PET/ ^{19}F MRI dual-modal molecular imaging probe for early evaluation of anticancer drug-induced acute kidney injury. *Mol Pharm*, 2023, **20**(10): 5185-5194
- [32] Bauer F, Wald J, Bauer F J, *et al.* Detection of acute tubular necrosis using blood oxygenation level-dependent (BOLD) MRI. *Kidney Blood Press Res*, 2017, **42**(6): 1078-1089
- [33] Wang K C, Lin L C, Pan S Y, *et al.* Use of iodinated and gadolinium-based contrast media in patients with chronic kidney disease: consensus statements from nephrologists, cardiologists, and radiologists at National Taiwan University Hospital. *J Formos Med Assoc*, 2026, **125**(3): 261-267
- [34] Moghrabi S, Abdolkadir A S, Al-Hajaj N, *et al.* A new era for PET/CT: applications in non-tumorous renal pathologies. *J Clin Med*, 2024, **13**(16): 4632
- [35] Ding Y, Liu Y, Zhang L, *et al.* Quantitative assessment of renal functions using ^{68}Ga -EDTA dynamic PET imaging in renal injury in mice of different origins. *Front Med*, 2023, **10**: 1143473
- [36] Chi X, Yang X, Li G, *et al.* A comparative study of ^{18}F -FAPI-42 and ^{18}F -FDG PET/CT for evaluating acute kidney injury in cancer patients. *Mol Imag Biol*, 2023, **25**(4): 671-680
- [37] Yang Q, Gu T, Chen Z, *et al.* Radiolabeled albumin bound fibroblast activation protein (FAP) inhibitor-04 enhances precision in renal fibrosis diagnosis via PET imaging. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2025, **17**(49): 66492-66504
- [38] 马亦昕, 杨萌, 陈丽萌. 声光成像技术在急性肾损伤诊断中的应用进展. *中华肾脏病杂志*, 2022, **38**(5): 442-446
Ma Y X, Yang M, Chen L M. Chin J Nephrol, 2022, **38**(5): 442-446
- [39] Zhang W, Cai F, Xu H, *et al.* Small-molecule photoacoustic imaging probe with aggregation-enhanced amplitude for real-time visualization of acute kidney injury. *Anal Chem*, 2022, **94**(27): 9697-9705
- [40] Bin Y, Huang L, Qin J, *et al.* A kidney-targeted rapid photoacoustic probe activated by sulfur dioxide for 3D visual diagnosis of iodinated contrast-induced acute kidney injury. *Anal Chem*, 2025, **97**(18): 9798-9808
- [41] Luo Y, Huang L, Wei K, *et al.* A target-induced *in situ* J-aggregation coupling cascade catalyzing reactive oxygen species clearance strategy for 3D NIR-II photoacoustic imaging diagnosis and smart therapy of acute kidney injury. *Anal Chem*, 2025, **97**(42): 23428-23440
- [42] Zhao S, Zhang X, Bailey K, *et al.* Label-free dual-modal photoacoustic/ultrasound localization imaging for studying acute kidney injury. *Adv Sci (Weinh)*, 2025, **12**(22): e2414306
- [43] Vanmassenhove J, Vanholder R, Nagler E, *et al.* Urinary and serum biomarkers for the diagnosis of acute kidney injury: an in-depth review of the literature. *Nephrol Dial Transplant*, 2013, **28**(2): 254-273
- [44] Andreucci M, Faga T, Pisani A, *et al.* The ischemic/nephrotoxic acute kidney injury and the use of renal biomarkers in clinical practice. *Eur J Intern Med*, 2017, **39**: 1-8
- [45] Mårtensson J, Martling C R, Bell M. Novel biomarkers of acute kidney injury and failure: clinical applicability. *Br J Anaesth*, 2012, **109**(6): 843-850
- [46] Cheng P, Pu K. Fluoro-photoacoustic polymeric renal reporter for real-time dual imaging of acute kidney injury. *Methods Enzymol*, 2021, **657**: 271-300
- [47] Peng W, Li W, Chai L, *et al.* Construction of a sequence activated fluorescence probe for simultaneous detection of γ -glutamyl transpeptidase and peroxynitrite in acute kidney injury. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2025, **325**: 125066
- [48] Ruan B, Deng W, Che J, *et al.* Unimolecular near-infrared chemiluminescent reporter for cascaded multiplex imaging of ischemia-reperfusion injury in the liver-kidney axis. *Nat Commun*, 2025, **16**(1): 7743
- [49] Huang J, Lyu Y, Li J, *et al.* A renal-clearable duplex optical reporter for real-time imaging of contrast-induced acute kidney injury. *Angew Chem Int Ed*, 2019, **58**(49): 17796-17804
- [50] Cheng P, Miao Q, Huang J, *et al.* Multiplex optical urinalysis for early detection of drug-induced kidney injury. *Anal Chem*, 2020, **92**(8): 6166-6172
- [51] Havasi A, Borkan S C. Apoptosis and acute kidney injury. *Kidney Int*, 2011, **80**(1): 29-40
- [52] Rana A, Sathyanarayana P, Lieberthal W. Role of apoptosis of renal tubular cells in acute renal failure: therapeutic implications. *Apoptosis*, 2001, **6**(1/2): 83-102
- [53] Morrell E D, Kellum J A, Pastor-Soler N M, *et al.* Septic acute kidney injury: molecular mechanisms and the importance of stratification and targeting therapy. *Crit Care*, 2014, **18**(5): 501
- [54] Huang J, Li J, Lyu Y, *et al.* Molecular optical imaging probes for early diagnosis of drug-induced acute kidney injury. *Nat Mater*, 2019, **18**(10): 1133-1143
- [55] Zhou Y, Zhu L, Liu B, *et al.* Tailored zwitterionic hemicyanine reporters for early diagnosis and prognostic assessment of acute

- renal failure. *Angew Chem Int Ed*, 2023, **62**(52): e202315457
- [56] Guo H, Yang K, Fan X, *et al.* Designing a brightness-restored rhodamine derivative by the ortho-compensation effect for assessing drug-induced acute kidney injury. *Anal Chem*, 2023, **95**(17): 6863-6870
- [57] Peters E, Heemskerk S, Masereeuw R, *et al.* Alkaline phosphatase: a possible treatment for sepsis-associated acute kidney injury in critically ill patients. *Am J Kidney Dis*, 2014, **63**(6): 1038-1048
- [58] Steenvoorden T S, Rood J A J, Bemelman F J, *et al.* Alkaline phosphatase treatment of acute kidney injury-an update. *Nephrol Dial Transplant*, 2024, **39**(8): 1239-1247
- [59] Hümmeke-Oppers F, Hemelaar P, Pickkers P. Innovative drugs to target renal inflammation in sepsis: alkaline phosphatase. *Front Pharmacol*, 2019, **10**: 919
- [60] Chen X, Yuwen Z, Zhao Y, *et al.* *In situ* detection of alkaline phosphatase in a cisplatin-induced acute kidney injury model with a fluorescent/photoacoustic bimodal molecular probe. *Front Bioeng Biotechnol*, 2022, **10**: 1068533
- [61] Qian Z, Sun L, Wang R, *et al.* High-fidelity spatiotemporal recognition of Golgi ALP through an initial-accumulation and postactivation strategy. *Anal Chem*, 2024, **96**(23): 9737-9743
- [62] Derin E, Inci F. Advances in biosensor technologies for acute kidney injury. *ACS Sens*, 2022, **7**(2): 358-385

Reactive and Enzyme-activated Probe Strategies for Imaging Acute Kidney Injury*

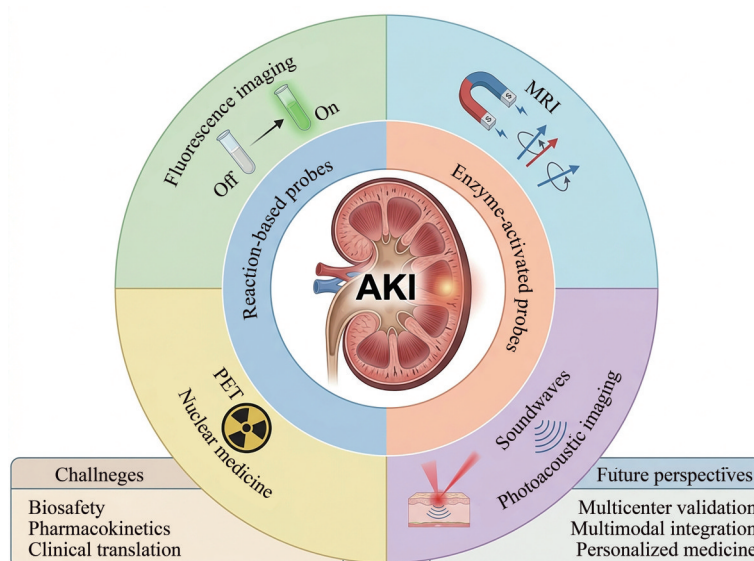
CHEN Ru-Long^{1,2)}, XIE Ting-Fei^{1,2)}, ZHANG Jin-Xin^{1,2)}, CHEN Jia-Ting^{1,2)}, LI Jie³⁾,
ZHANG Peng-Fei^{1)**}, CHEN Ji-Hong^{2)**}, CAI Lin-Tao^{1)**}

⁽¹⁾Guangdong Key Laboratory of Nanomedicine, CAS-HK Joint Lab of Biomaterials, Shenzhen Institutes of Advanced Technology,
Chinese Academy of Sciences, Shenzhen 518055, China;

⁽²⁾Department of Nephrology, Shenzhen Bao'an People's Hospital, Shenzhen 518100, China;

⁽³⁾Beijing Life Science Academy (BLSA), Beijing 102299, China)

Graphical abstract



Abstract Acute kidney injury (AKI) is a prevalent and life-threatening clinical syndrome characterised by a rapid decline in renal function and diverse pathological etiologies. The condition has been demonstrated to be associated with elevated mortality rates and an increased risk of progression to chronic kidney disease. At present, clinicians depend heavily on conventional functional markers, such as serum creatinine and urine output, for the diagnosis and staging of the disease. It is evident that these conventional indicators characteristically manifest a considerable temporal delay and only undergo modification subsequent to considerable tissue damage. This

* This work was supported by grants from the National Key Research and Development Program of China (2023YFA0915400), Shenzhen Medical Research Funding (A2303057), The National Natural Science Foundation of China (82470719, 22574170), and the Shenzhen Science and Technology Program (KQTD20210811090115019).

** Corresponding author.

ZHANG Peng-Fei. Tel: 86-755-86392223, E-mail: pf.zhang@siat.ac.cn

CHEN Ji-Hong. Tel: 86-755-86392210, E-mail: chenjihong0606@hotmail.com

CAI Lin-Tao. Tel: 86-755-86392210, E-mail: lt.cai@siat.ac.cn

Received: January 23, 2026 Accepted: May 14, 2026

severely restricts the timeframe for early detection and timely therapeutic intervention. Furthermore, standard markers fail to provide specific biological information regarding the underlying cellular injury mechanisms. The utilisation of advanced probe technologies in molecular imaging offers a robust alternative to overcome these inherent diagnostic limitations. This comprehensive review systematically evaluates recent progress in the design and application of two primary categories of molecular imaging tools for acute kidney disease, specifically reactive probes and enzyme-activated probes. Reactive probes are engineered to specifically interact with redox-active chemical species, including hydrogen peroxide, peroxynitrite, hypochlorous acid, and sulfur dioxide. Because oxidative stress constitutes a primary early event in acute renal tubular damage, these probes enable researchers and clinicians to visualize early cellular injury and radical accumulation well before global renal functional decline becomes evident. We discuss the application of these reactive probes across multiple imaging modalities including fluorescence imaging, magnetic resonance imaging (MRI), positron emission tomography (PET), and photoacoustic techniques. Photoacoustic imaging combines high spatial resolution with deep tissue penetration and has successfully demonstrated the ability to provide diagnostic alerts up to 12 h before any detectable rise in serum creatinine levels. Additionally, specific reactive probes have shown promising translational potential when tested by high-throughput screening in clinical human urine samples. Enzyme-activated probes target the specific catalytic activity of disease-relevant enzymes. These include well-documented renal tubular structural biomarkers such as NAG, GGT, and ALP, along with apoptosis-related caspases and specific nitroreductases. By responding only to enzymatic cleavage, these tools provide highly specific and pathology-directed imaging readouts. Recent structural design strategies in this field have advanced significantly beyond single-enzyme detection. Researchers are now focusing on sophisticated dual-target recognition to minimize background noise, multimodal integration to cross-validate imaging signals, and theranostic applications where probes simultaneously deliver diagnostic feedback and therapeutic agents to injured tissues. Nanotechnology serves as a fundamental enabler for realizing these advanced probe functions. By precisely optimizing nanoparticle parameters such as hydrodynamic size, surface charge, and targeting ligands, researchers can achieve amplified signal output, highly precise kidney delivery, and protection against premature degradation in the systemic circulation. For example, modifying surface charges can significantly enhance the active uptake of nanoprobe by damaged renal tubular epithelial cells. While preclinical probe development has progressed rapidly, moving these technologies into routine clinical practice remains a major challenge. We analyze the translational feasibility and current obstacles from biological, technological, and regulatory perspectives. Although biological targets such as KIM-1, FAP, and ALP have been validated in extensive patient cohorts, practical barriers severely limit their immediate clinical application. These obstacles involve complex changes in *in vivo* pharmacokinetics. During an acute injury episode, the extreme drop in the glomerular filtration rate alters probe clearance and can cause unwanted systemic accumulation or confusing background imaging signals. Other major hurdles include a lack of comprehensive long-term toxicity data and the absence of standardized manufacturing protocols to ensure batch-to-batch consistency. Future successful translation will require rigorous multi-center clinical studies to confirm the true diagnostic value of these probes over traditional markers. Researchers must also establish strict standardization of imaging procedures and comprehensive safety evaluations. Ultimately, this review provides a thorough reference framework for designing clinically translatable molecular probes and building a precision diagnostic imaging system for acute kidney injury.

Key words acute kidney injury, responsive probe, enzyme-activated probe, early diagnosis, multimodal imaging

DOI: 10.3724/j.pibb.2026.0036

CSTR: 32369.14.pibb.20260036