

液态氟碳纳米粒在超声分子靶向成像及治疗中的研究进展

吴汤娜(综述) 王东林 景香香(审校)

摘 要 随着超声分子影像学技术的发展,液态氟碳纳米粒作为构建超声分子探针的新型材料,在超声分子靶向成像及治疗的研究中表现出良好的应用前景,是一种非常具有潜力的超声分子探针,有望实现超声分子影像技术对疾病的精准诊断及治疗。本文对液态氟碳纳米粒在超声分子靶向成像及治疗中的研究进展进行综述。

关键词 液态氟碳;纳米粒;造影剂

[中图分类号]R-331;R445.1

[文献标识码]A

Research progresses of liquid perfluorocarbon nanoparticles in ultrasound molecular targeted imaging and therapy

WU Tangna, WANG Donglin, JING Xiangxiang

Department of Ultrasound, Hainan Province Hospital, Haikou 570311, China

ABSTRACT With the development of ultrasound molecular imaging, liquid perfluorocarbons nanoparticles as new ultrasound molecular probes show good application prospect in the study of targeted ultrasonic molecular imaging and treatment. Liquid perfluorocarbons nanoparticles are very promising ultrasound molecular probes, are expected to realize the ultrasonic molecular imaging technology for accurate diagnosis and precise treatment of the diseases. This article reviews the research progress of liquid perfluorocarbons nanoparticles applications in ultrasound molecular targeted imaging and therapy.

KEY WORDS Liquid perfluorocarbons; Nanoparticles; Contrast agent

分子影像学的定义是 Weissleder 于 1999 首先提出,目前主要包括分子磁共振成像技术、核医学分子成像技术及超声分子成像技术等。“超声分子影像学”的概念在国内于 2004 年由重庆医科大学王志刚教授带领的团队首先提出。超声分子成像技术经静脉注射超声分子探针,经血液循环特异性聚集于靶组织或靶器官内,在细胞或分子水平上实现特异性显像^[1]。由于超声分子影像学技术与其他影像学技术比较,具有特异性好、敏感性高、无创、安全及方便等优点,已成为目前分子影像学的研究热点^[2]。近年来研究^[3-5]发现,液态氟碳纳米粒(perfluorocarbon nanoparticles, PFC NPs)作为新型的构建超声分子探针的材料,是超声分子影像学中的重要组成部分,在超声分子靶向成像及其治疗中具有良好的应用前景。本文对 PFC NPs 在超声分子靶向成像及其治疗中的研究进展作一简要综述。

一、研究背景

超声造影剂自 1968 年出现以来,主要采用的是微气泡造影

剂,利用微气泡可以增强超声散射信号的原理对比增强图像,用于疾病的诊断及鉴别诊断。超声微泡造影剂经历了游离微气泡造影剂和包裹空气微气泡造影剂,现已发展为包裹高分子氟碳气体的声学造影剂。高分子氟碳气体在血液中弥散度极低,使造影剂在稳定性和有效性方面均大大增强,经外周静脉注射后可以使血液产生强散射,并维持较高浓度,使实质性器官显影。目前,此类造影剂中的 SonoVue 已经在临床广泛使用,但其微泡大小是微米级,组织穿透力弱,不能穿透血管,属于血池显像^[6],因此其只能显示病变部位的血流微循环情况。

1999 年,具有分子靶向性的超声造影剂伴随超声分子影像学概念的提出而产生。靶向超声造影剂进入人体后可以稳定地与靶组织或靶器官结合,使特定病变部位的超声信号增强,从而实现超声在分子水平的精准显像。理想的靶向超声造影剂需达到以下要求^[7]:①直径 450~700 nm,能够流经靶区;②循环半衰期长,在靶区停留时间长;③能与感兴趣区的表面抗原决定簇有

基金项目:国家自然科学基金(30860270);海南省自然科学基金(30854, 813208)

作者单位:570311 海口市,海南省人民医院超声科

通信作者:景香香, Email:ljxx2000@126.com

选择性和敏感性结合;④造影剂与靶位的结合应牢固,且结合到靶位上的造影剂应在超声检查过程中保持稳定;⑤具有携带治疗药物或基因的潜力;⑥用量少,最好是毫克级或更少;⑦毒性小。

近年来,随着纳米医学技术的飞速发展,超声造影剂早已从微米级发展到了纳米级,包括纳米级脂质体造影剂、纳米级氟烷乳剂及纳米级微泡造影剂。纳米级超声造影剂具有较强的穿透力,可以穿过血管内皮间隙进入组织内,为血管外靶组织的成功显像和治疗提供了可能,但由于其粒径小,产生的散射强度很弱,超声对比显像的效果差。目前,有关多功能纳米粒的研究成为国内外研究^[8-11]的热点,这种多功能纳米粒由多种显像分子、靶向基因及药物与特殊纳米材料连接制备而成。其中,具有代表性的 PFC NPs 因其化学性质稳定,无毒性^[12],可以自由穿过血管内皮间隙到达肿瘤细胞,并在一定条件下发生液相到气相转变,形成微泡以增强超声显像^[13-14],成为了超声分子靶向成像及治疗的研究热点。

二、研究现状及进展

全氟碳化合物是一类具有广泛的生物医学用途的大家族化合物,可作为呼吸气体的载体。研究^[15-17]应用高压均质法将 PFC 包裹于脂质内,制备成一种新型的超声分子显像造影剂——液态氟碳纳米乳剂,并证实它能够穿过血管内皮间隙,可以作为基因和药物的载体,并且通过表面修饰后与靶向配体或受体结合,可用于定量分子显像和靶向治疗研究^[18]。上述研究中,PFC NPs 主要通过聚集显影的原理实现超声分子成像,即当造影剂游离于血循环中时,仅表现为回声极低的细微散射体,只有大量聚集于病灶后,才会在靶区产生明显增强的回声信号,使信噪比提高。因此 PFC NPs 的用量决定了超声的显像效果,用量越大,显像效果越好,使其受限于临床使用。研究^[16]发现,液态氟碳同其他挥发性液态一样,在外界压力减小至气化压力阈值或温度升高至沸点以上时,能够发生液-气相转变,即液态氟碳相变。氟碳气体的种类不同,其沸点亦有很大差别。目前研究最多的液态氟碳中全氟戊烷的沸点是 29 °C,全氟-15-冠-5-醚(PFCE)的沸点是 146 °C,全氟己烷的沸点是 55 °C,三者沸点虽然差别很大,但是均可以发生相变,只是发生相变的机制可能不完全相同,还需要进一步研究。

影响 PFC NPs 液气相变的主要因素有超声辐照、加热、细针注射及激光。近年来研究主要集中在超声辐照、磁热和激光方面,光致相变是通过一定能量的激光照射使 PFC NPs 发生液气相变;磁致相变是利用磁热效应使 PFC NPs 发生液气相变;声致相变是在超声波作用下使 PFC NPs 发生液气相变,研究^[19]证实其是最有效的相变机制。声段相变发生与声波的频率成反比,与振幅成正比^[20-21],还与液滴的粒径和表面张力系数有关^[22-23]。虽然声致相变会受到骨骼和气体的影响,但是超声分子影像学技术与其他影像学技术相比,具有特异性和敏感性高、无创、安全、方便等优点,因此已经成为目前分子影像学领域的研究热点。

国外学者 Rapopor 等^[24]研究发现利用高分子聚合物聚乳

酸-聚乙二醇嵌段共聚物和聚乙二醇-b-聚己内酯包裹全氟戊烷制备成载阿霉素的胶团和载药纳米粒,在一定能量超声辐照下,阿霉素被迅速释放出来,并能被乳腺癌细胞成功摄取,证实载药 PFC NPs 的核心在超声作用下发生液-气相变是药物释放的一个重要步骤。此后,Rapoport 等^[25]还通过研究载紫杉醇的 PFC NPs 在超声作用下对卵巢癌、乳腺癌及胰腺癌的治疗效果,进一步阐明释药机制主要是 PFC NPs 的液-气相变,并证实良好的治疗效果是由于超声增强了靶部位的药物释放,而非超声的热效应和机械效应。为进一步研究超声作用与液态氟碳发生液-气相变的关系,Rapoport 等^[26]制备了粒径为 300~500 nm、核心为 PFCE 的载紫杉醇的 PFC NPs,研究中发现沸点高达 146 °C 的 PFCE 也可在 1 MHz 脉冲波或连续波治疗超声辐照下发生气化,结果证实其液-气相变的主要机制是 PFCE 中溶解气体的游离和气压平衡的作用。

液态氟碳相变产生的生物学效应不仅能通过增加化疗药物的释放,产生对肿瘤的治疗作用,还在显像、治疗及增效高强度聚焦超声的消融方面均有一定的应用。Huang 等^[27]制备了聚乳酸-羟基乙酸共聚物包裹沸点为 55 °C 的全氟己烷的相变微球,发现加热到 55 °C 时,微球体积明显增大,当预先加入了相变微球的凝胶模型加热到此温度 10 min 后,可以观察到超声回声增强,提高超声对比增强显像的效果。赵红雲等^[28]通过制备靶向性的 PFC NPs,与肝癌细胞靶向结合后,再利用低强度聚焦超声辐照 PFC NPs 致液-气相变,相变后纳米粒体积增大,爆破肝癌细胞,物理性破坏肝癌细胞结构,肝癌细胞凋亡率明显增加,细胞存活率明显下降,促使人肝癌细胞死亡,抑制肝癌细胞增殖,达到治疗肿瘤的目的。徐芬芬等^[29]制备了载 10-羟基喜树碱的 PFC NPs 探讨声致相变的条件,发现在体外低强度聚焦超声辐照后,纳米粒的最佳显像辐照功率为 5 W,时间为 2 min,最佳浓度为 8.53×10^9 ml;当药脂比为 1:10 时,其包封率最高,超声作用后载药纳米粒缓慢释放,在 48 h 后能显著抑制肝癌细胞的生长。You 等^[30]制备了多功能的 Fe_3O_4 -PFH/PLGA 纳米粒,在高强度聚焦超声的作用下,PFH 核心发生相变,可以阻塞动脉血管,与高强度聚焦超声协同发挥作用,从而提高肿瘤的治疗效果。

三、存在的问题及展望

目前有关 PFC NPs 在超声分子靶向显像及治疗的研究还有许多问题亟待解决,如:PFC NPs 制备工艺的优化,微球材料的筛选,微球稳定性的改善,与药物及基因结合浓度的增加,靶向性聚集浓度的提高以及声致相变超声参数的选择,相变条件的控制等。虽然存在很多问题,但是 PFC NPs 因其良好的生物相容性,独特的相变能力,低溶解度,低扩散性等显著的优势,与其他分子显像剂对比,目前仍然是一种非常具有潜力的超声分子靶向成像及治疗的超声分子探针,有望实现超声分子影像技术对疾病的精准诊断及精准治疗,促进精准医学的发展和进步。

参考文献

[1] 王志刚.超声分子成像研究进展[J].中国医学影像技术,2014,

- 30(8):1125-1126.
- [2] 郭燕丽,范校周.超声分子影像学:现状与将来[J].第三军医大学学报,2014,36(1):6-10.
- [3] Zhou Y, Song W, Wang D, et al. Phase-Shifted PFH@PLGA/Fe₃O₄ nanocapsules for MRI/US imaging and photothermal therapy with near-infrared irradiation[J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2015, 7(26): 14231-14242.
- [4] Rapoport N. Phase - shift , stimuli - responsive perfluorocarbon nanodroplets for drug delivery to cancer[J]. Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol, 2012, 4(5): 492-510.
- [5] Jian J, Liu C, Gong Y, et al. India ink incorporated multifunctional phase -transitional phase -transition nanodroplets for photoacoustic/ultrasound dual -modality imaging and photoacoustic effect based tumor therapy[J]. Theranostic, 2014, 4(10): 1026-1038.
- [6] Lindner JR. Molecular imaging of myocardial and vascular disorders with ultrasound[J]. JACC Cardiovasc Imaging, 2010, 3(2): 204-211.
- [7] 冉海涛. 靶向超声造影显像研究现状与进展[J/CD]. 中华医学超声杂志(电子版), 2011, 8(5): 929-933.
- [8] Rapoport N, Kennedy AM, Shea JE, et al. Ultrasonic nanotherapy of pancreatic cancer: Lessons from ultrasound imaging[J]. Mol Pharm, 2009, 7(1): 22-31.
- [9] Hahn MA, Singh AK, Sharma P, et al. Nanoparticles as contrast agents for in-vivo bioimaging: current status and future perspectives[J]. Anal Bioanal Chem, 2011, 399(1): 3-27.
- [10] Javadi M, Pitt WG, Tracy CM, et al. Ultrasonic gene and drug delivery using eLiposomes[J]. J Control Release, 2013, 167(1): 92-100.
- [11] Beck - Broichsitter M, Dalla - Bona AC, Kissel T, et al. Polymer nanoparticle -based controlled pulmonary drug delivery [J]. Methods Mol Biol, 2014, 1141(1): 133-145.
- [12] Cohn CS, Cushing MM. Oxygen therapeutics: Perfluorocarbons and blood substitute safety[J]. Crit Care Clin, 2009, 25(2): 399-414.
- [13] Rapoport N, Kennedy AM, Shea JE, et al. Ultrasonic nanotherapy of pancreatic cancer: lessons from ultrasound imaging[J]. Mol Pharm, 2009, 7(1): 22-31.
- [14] Rapoport N, Nam KH, Gupta R, et al. Ultrasound -mediated tumor imaging and nanotherapy using drug loaded, block copolymer stabilized perfluorocarbon nanoemulsions[J]. J Control Release, 2011, 153(1): 4-15.
- [15] Soman NR, Marsh JN, Hughes MS, et al. Acoustic activation of targeted liquid perfluorocarbon nanoparticles does not compromise endothelial integrity[J]. IEEE Trans Nanobioscience, 2006, 5(2): 69-75.
- [16] Marsh JN, Senpan A, Hu G, et al. Fibrin -targeted perfluorocarbon nanoparticles for targeted thrombolysis[J]. Nanomed, 2007, 2(4): 533-543.
- [17] Zhou Y, Gu H, Xu Y, et al. Targeted antiangiogenesis gene therapy using targeted cationic microbubbles conjugated with CD105 antibody compared with untargeted cationic and neutral microbubbles [J]. Theranostics, 2015, 5(4): 399-417.
- [18] Dayton PA, Zhao S, Bloch SH, et al. Application of ultrasound to selectively localize nanodroplets for targeted imaging and therapy[J]. Mol Imaging, 2006, 5(3): 160-174.
- [19] Rapoport NY, Efros AL, Christensen DA, et al. Microbubble generation in phase -shift nanoemulsions used as anticancer drug carriers [J]. Bubble Sci Eng Technol, 2009, 1(1-2): 31-39.
- [20] Haworth KJ, Fowlkes JB, Carson PL, et al. Towards aberration correction of transcranial ultrasound using acoustic droplet vaporization[J]. Ultrasound Med Biol, 2008, 34(3): 435-445.
- [21] Kang ST, Yeh CK. Intracellular acoustic droplet vaporization in a single peritoneal macrophage for drug delivery applications [J]. Langmuir, 2011, 27(21): 13183-13188.
- [22] Pitt WG, Singh RN, Perez KX, et al. Phase transitions of perfluorocarbon nanoemulsion induced with ultrasound: a mathematical model[J]. Ultrasound Sonochem, 2014, 21(2): 879-891.
- [23] Sheeran PS, Matsunaga TO, Dayton PA. Phase -transition thresholds and vaporization phenomena for ultrasound phase - change nanoemulsions assessed via high -speed optical microscopy [J]. Phys Med Biol, 2013, 58(13): 4513-4534.
- [24] Rapoport N, Gao Z, Kennedy A. Multifunctional nanoparticles for combining ultrasonic tumor imaging and targeted chemotherapy[J]. J Natl Cancer Inst, 2007, 99(14): 1095-1106.
- [25] Rapoport N, Kennedy AM, Shea JE, et al. Controlled and targeted tumor chemotherapy by ultrasound - activated nanoemulsions / microbubbles[J]. J Control Release, 2009, 138(3): 268-276.
- [26] Rapoport N, Nam KH, Gupta R, et al. Ultrasound -mediated tumor imaging and nanotherapy using drug loaded, block copolymer stabilized perfluorocarbon nanoemulsions[J]. J Control Release, 2011, 153(1): 4-15.
- [27] Huang J, Xu JS, Xu RX. Heat -sensitive microbubbles for intraoperative assessment of cancer ablation margins[J]. Biomaterials, 2010, 31(6): 1278-1286.
- [28] 赵红云,梅浙川,郑元义,等. 液态氟碳纳米粒液 -气相变治疗肝癌的体外实验[J]. 中国介入影像与治疗学, 2015, 12(2): 114-117.
- [29] 徐芬芬,王志刚,李攀,等. 载 10-羟基喜树碱液态氟碳纳米粒的声致相变条件及释药性能[J]. 中国医学影像技术, 2015, 31(2): 196-199.
- [30] You Y, Wang Z, Ran H, et al. Nanoparticle -enhanced synergistic HIFU ablation and transarterial chemoembolization for efficient cancer therapy[J]. Nanoscale, 2016, 8(7): 4324-4339.

(修回日期:2016-10-13)