

# 多模态超声分子影像探针的研究进展

杨大艳(综述) 景香香(审校)

**摘 要** 近年来,多模态超声分子影像技术发展迅速,其核心是构建以多功能超声造影剂为基础,并可同时用于光学、MRI、CT、PET 等多种影像学技术成像的超声分子探针。目前,国内外学者利用不同材料对构建多模态超声造影剂进行了大量尝试,本文在上述研究的基础上,对构建材料的优缺点及其应用前景进行综述。

**关键词** 多模态;超声;分子探针;造影剂

[中图分类号] R445.1

[文献标识码] A

## Advances in the study of multimodal ultrasound molecular probes

YANG Dayan, JING Xiangxiang

Department of Ultrasound, Hainan People's Hospital, Haikou 570311, China

**ABSTRACT** In recent years, the imaging technology of the multimodal ultrasound molecular imaging has developed rapidly, and the key is to construct a multimodal ultrasound molecular probe which can be used in optical, MRI, CT, PET and other imaging techniques. At present, scholars who are from domestic and foreign have made a lot of attempts to build multimodal ultrasonic molecular contrast agent by using different materials. This article is based on the above research results, summarize the advantages and disadvantages of the construction materials and the application prospect.

**KEY WORDS** Multimodal; Ultrasound; Molecular probe; Contrast agent

近年来,随着分子影像学技术的迅速发展,多模态分子影像技术应运而生。有关多模态多功能分子影像探针的研究主要是以多功能超声造影剂分子显像为基础,构建一种可同时用于光学、MRI、CT、PET 等多种影像学技术成像的多模态造影剂。多模态分子影像探针不仅可以提高疾病的检出率,还可对疾病进行相应的治疗。目前,国内外学者利用不同材料对构建多模态超声造影剂进行了大量尝试,本文在上述研究的基础上,对构建材料的优缺点及其应用前景进行综述。

### 一、液态氟碳纳米粒

2003 年 Lanza 和 Wickline<sup>[1]</sup>应用高压均质法将全氟碳化合物包裹于脂质内,制备成一种新型超声分子显像造影剂——液态氟碳纳米粒,并证实其可以穿过血管内皮间隙,成为近年超声造影剂的研究热点。包裹于造影剂核内的液态氟碳可以在光辐照、加热、超声辐照等条件下由液相变成气态,从而增强超声显影能力,解决了纳米粒粒径小、对比显像差的缺点。由于各种液态氟碳化合物氟碳链的长度不同,其沸点也不同,目前应

用较多的是沸点接近 37℃ 的全氟戊烷(perfluoropentane, PFP)、全氟己烷(perfluorohexane, PFH)和全氟溴辛烷(perfluorooctyl bromide, PFOB)。全氟碳化合物使得包裹液态氟碳的纳米微粒不仅可以用于超声造影,也可用于 CT 和 MRI 等的增强显像<sup>[2]</sup>。沈红霞等<sup>[3]</sup>成功制备了包裹液态氟碳的高分子纳米微粒 PFOB/PFH,体外实验结果显示可同时增强超声和 CT 显影。李奥等<sup>[4]</sup>将液态氟碳纳米粒注入兔 VX2 肝癌模型,体内实验结果显示该对比剂可以提高肝癌在 CT 显像方面能力。由于液态氟碳中氟原子浓度高,Neubauer 等<sup>[5]</sup>将其应用于磁共振 19 F 显像方面,结果显示该造影剂可以形成更理想的高信号,而同时周边组织不存在信号影像,满足了 MRI 微血管造影的需求。

### 二、顺磁性及超顺磁性物质

顺磁性的金属粒子以  $Gd^{3+}$ 、 $Co^{2+}$ 、 $Mn^{2+}$  及其配合物如钆喷酸葡甲胺盐(Gd-DTPA)为主,顺磁性物质通过缩短 T1,使图像变亮,为正向造影剂或 T1 造影剂,应用最广泛的对比剂是 Gd-DTPA。Liao 等<sup>[6]</sup>通过白蛋白覆盖 Gd-DTPA 制成了超声/MRI 双

基金项目:国家自然科学基金项目(81760317、30860270);海南省自然科学基金项目(818MS126)

作者单位:570311 海口市,海南省人民医院超声科

通讯作者:景香香,Email:ljjxx2000@126.com

模态造影剂, 研究结果显示该微泡可显著强化超声显像和 MRI T1 信号。Ao 等<sup>[7]</sup>以聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)为载体, 成功制备了包裹 Gd-DTPA 和氟碳气体的微泡造影剂, 体内外实验均实现了超声与 MRI 的共同显像。

与顺磁性物质不同, 超顺磁性材料为负向造影剂或 T2 造影剂。典型的 T2 造影剂主要是超顺磁性的氧化铁纳米粒子, 多以  $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 和 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 为主。超顺磁性材料优点: ①磁矩远大于其他物质, 因此使用剂量小; ②铁离子可以被人体吸收, 低毒性, 生物相容性高; ③Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 容易进行表面修饰, 适用于制造分子探针; ④可以进行染色; ⑤可以利用化学合成对粒径大小进行控制; ⑥能在外在磁力的吸引下进行靶向引导; ⑦可以在外在磁力作用下产生热能, 用于肿瘤的治疗。孙阳等<sup>[8]</sup>成功制备了载超顺磁性氧化铁高分子的微球, 其可用于超声和 MRI 的共同造影。李奥等<sup>[9]</sup>成功制备了液态氟碳纳米粒(载有 SPIO), 体内外实验结果均显示超声和 MRI 显像可以有效增强。

因裸露的钆离子对人体有毒, 虽然可结合多种配位体形成络合物来降低其毒性, 但在生物相容性和安全性方面 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 优势明显, 因此 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 有望成为构建多模态超声分子探针的重要材料之一。

### 三、铋纳米粒子

Fang 等<sup>[10]</sup>研究显示, Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> 颗粒体积小、循环时间较长, 可满足人体血管造影需求。何敏瑜等<sup>[11]</sup>将 PFH 和 Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> 纳米颗粒共同载于脂质材料中, 其可改变组织声环境, 从而增强超声显像, 且经低强度聚焦超声辐照后, 发生液气相变, 回声进一步增强, 可减少组织射线透过性, 实现 CT 增强显像。Zhou 等<sup>[12]</sup>为宫颈癌裸鼠模型注入叶酸修饰所得的靶向脂质纳米粒(包裹液态氟碳和 Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub>), 然后以肿瘤为目标完成超声和 CT 成像, 结果显示这种纳米粒既可改善裸鼠肿瘤组织超声回声强度, 又可增加 CT 密度, 增强 CT 显像。但铋离子的结合会降低微泡的弹性, 影响超声显像的效果。

### 四、金纳米棒

金纳米棒呈特殊的棒状形态, 光吸收峰于近红外光谱处。对包裹金纳米棒的液态氟碳纳米粒进行激光辐照(吸收峰 532 nm), 纳米粒的粒径可显著增大, 可能是因为金纳米棒在近红外光辐照下产生了等离子共振, 将吸收的光能转化为热能, 从而使液态氟碳发生了液气相变, 导致了纳米粒体积显著增加, 这为实现光声和超声双模态增强显像提供了实验基础。Jokerst 等<sup>[13]</sup>将大量金纳米棒(长径不一)作为分析对象, 采用吸收峰为 750 nm 制备光声造影剂, 对移植和小鼠皮下卵巢癌进行显像, 金纳米棒由尾静脉注入, 3 h 后可获得最强光声信号, 并保持 2 d 时间, 且随着纳米棒浓度不断增大, 信号强度随之上升, 两者间表现为线性相关。Dove 等<sup>[14]</sup>合成出包裹各种液态氟碳(C<sub>3</sub>F<sub>8</sub>、C<sub>4</sub>F<sub>10</sub>、C<sub>5</sub>F<sub>12</sub>)与金的纳米粒, 激光环境中会出现液气相变, 既能强化光声成像, 又能提高光热治疗效果。Ke 等<sup>[15]</sup>研究指出, 在 CT、MRI、超声三模态成像过程中, 造影剂选择纳米金壳胶囊(包裹全氟溴辛烷与 SPIO)不仅能有效增强超声和 T2 加权 MRI 成像对比, 还能大幅增强外部金纳米壳的 CT 成像对比, 提升光热治疗效果。与其他光声材料相比, 金纳米棒在近红外段有较高的光吸收截面, 可高

效地进行光热转换, 对肿瘤起到光热治疗的作用, 是一种优良的光声成像材料, 应用前景可观。

### 五、量子点

量子点能在特定激发光的诱导下产生荧光, 目前以 CdSe/ZnS 核壳的量子点为生物学研究的首选。量子点的优势: ①针对激发和发射两种光谱, 前者较宽, 后者较窄, 量子点长波长光谱激发时, 能够防止生物发射荧光, 降低背景信号强度。由于发射光谱较窄, 可避免过多重叠, 使大量荧光团得到有效区分, 从而检测出生物体系内各种组分; ②荧光性质稳定, 耐光漂白, 可以经受反复多次的激发, 长时间进行生物体内肿瘤成像, 这为研究细胞中生物分子之间长时间相互作用提供了有力工具; ③荧光寿命长, 检测期间通过时延法进行处理, 能够提高信噪比, 使荧光图像更理想; ④摩尔吸光系数高, 可快速吸收激发光子, 产生强烈荧光, 当肿瘤标志物浓度较低时, 检测效果十分理想; ⑤可谐调光谱, 当尺寸或内核组分变化时, 发射光谱可调区间随之增大, 这种情况下, 单一波长光能够激发更多量子点, 从而产生多种颜色光。郝兰等<sup>[16]</sup>将量子点 CdTe 包裹在微气泡核内, 制成 MBQDs-PLGA-Her, 并将其应用于体外人乳腺癌细胞显像, 发现其紧密黏附在人乳腺癌细胞周围, 这种多功能超声造影剂既能降低细胞毒性又能保持量子点的荧光标记性能。Yan 等<sup>[17]</sup>将紫杉醇通过生物素-亲和素连接到量子点-脂质体微泡表面, 微泡爆破后, 量子点被乳腺癌细胞摄取, 可观察到荧光成像。量子点既是荧光探针, 也是一种光敏剂, 光动力疗法可用于肿瘤治疗领域, 其通过光敏剂为人体选择性汇聚肿瘤细胞, 采用光源(波长符合要求)进行照射, 依靠化学反应使这部分细胞被消灭。但量子点因其生物毒性, 近年来作为构建多模态超声分子探针的材料应用较少。

### 六、吲哚菁绿(indocyanine green, ICG)

Park 等<sup>[18]</sup>将 ICG 逆行注入小鼠膀胱, 光声/荧光成像图能够呈现皮下组织结构, 与原了解剖结构并无差别, 这给膀胱造影术提供了全新途径, 且保障了其安全性。陈澄等<sup>[19]</sup>将 ICG 和 PFH 包裹进 PLGA 制备包裹 ICG 和 PFH 的纳米级双模态显像造影剂, 观察其体外热致相变, 以及光声成像和超声成像效果, 结果显示包裹 ICG 和 PFH 的 PLGA 纳米粒在激光辐照下可产生光声信号和超声信号。ICG 构建的多模态超声分子探针作为荧光成像的示踪剂有重要价值, 但其稳定性差, 体内循环时间短, 且穿透深度有限。

### 七、碳酸氢铵

夏纪筑等<sup>[20]</sup>指出, 碳酸氢铵溶液存在光声信号, 且分解产物属于正常代谢物, 能够由机体彻底排出, 不会影响人体健康, 目前已顺利制得脂质纳米粒, 不但表现出近红外线吸收的特性, 而且面对激光环境时, 可满足超声和光声成像需求, 为研究体内/外成像创造了条件。碳酸氢铵在体内容易代谢, 无法在靶区进行光声成像, 故必须包裹壳膜, 防止因中和、合成而失去效果。夏纪筑等<sup>[20]</sup>将薄膜水化法和挤出法结合, 使碳酸氢铵包裹在脂质体中, 由此制成纳米粒(磷脂膜包碳酸氢铵), 体内毒性实验结果表明, 当剂量较少、铵盐短期存在时, 机体危害并不明显。碳酸氢铵的生物安全性使其有望成为新的光声成像材料, 值得注意

的是,碳酸氢铵构建的多模态纳米粒虽然可探及光声信号,但需进一步研究其产生光声信号的原因。

#### 八、碳纳米材料

碳纳米材料中,印度墨水应用较多,其主要成分是炭黑颗粒。Jian 等<sup>[21]</sup>制成高分子 PLGA 纳米粒(包裹印度墨水和液态氟碳),体内外实验结果均表明受低能量脉冲激光刺激时,印度墨水获得光能后会释放热能和光声信号,液态氟碳获得热量后,既能变成气泡,提高超声显影效果,又可以通过光热治疗灭杀裸鼠肿瘤细胞。因此,碳纳米材料也有望成为肿瘤组织高分辨率成像和治疗的理想造影剂。

#### 九、小结

上述各种构建材料均有其优缺点,为临床提供了具有更多特性的多模态超声造影剂,将超声分子成像作为基本,依靠多种成像技术协同作用,通过图像可视化细胞功能与分子追踪,实现从细胞或分子水平呈现人体生理、病理发展过程。今后可进一步将多模态超声造影剂应用于治疗领域,从而实现基于分子成像的药物和基因靶向治疗。多模态多功能超声造影剂必定会使超声影像产生巨大变化,使临床疾病尤其是恶性肿瘤得到更理想的治疗方案。

#### 参考文献

- [1] Lanza GM, Wickline SA. Targeted ultrasonic contrast agents for molecular imaging and therapy[J]. *Curr Probl Cardiol*, 2003, 28(12): 625-653.
- [2] 王志刚. 多功能超声分子探针显像与增效高强度聚焦超声治[J]. *临床超声医学杂志*, 2017, 19(9): 577-579.
- [3] 沈红霞, 郑元义, 周洋, 等. 包裹液态氟碳的高分子超声造影剂的制备及体外显影实验[J]. *中国介入影像与治疗学*, 2012, 9(4): 291-294.
- [4] 李奥, 王志刚, 余进洪, 等. 液态氟碳纳米粒增强 CT 成像在兔 VX2 肝癌模型中的应用[J]. *中国医学影像技术*, 2010, 26(5): 809-811.
- [5] Neubauer AM, Caruthers SD, Hockett FD, et al. Fluorine cardiovascular magnetic resonance angiography in vivo at 1.5T with perfluorocarbon nanoparticle contrast agents[J]. *Cardiovasc Magn Reson*, 2007, 9(3): 565-573.
- [6] Liao AH, Liu HL, Su CH, et al. Paramagnetic perfluorocarbon-filled albumin-(Gd-DTPA) microbubbles for the induction of focused-ultrasound-induced blood-brain barrier opening and concurrent MR and ultrasound imaging[J]. *Phys Med Biol*, 2012, 57(9): 2787-2802.
- [7] Ao M, Wang ZG, Ran HT, et al. Gd-DTPA-loaded PLGA microbubbles as both ultrasound contrast agent and MRI contrast agent—a feasibility research[J]. *Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2010, 93(2): 551-556.
- [8] 孙阳, 郑元义, 吴伟, 等. 载超顺磁性氧化铁高分子微球对兔肝癌 MR 成像效果的影响[J]. *中国医学影像技术*, 2012, 28(8): 1445-1448.
- [9] 李奥, 王志刚, 吴伟, 等. 载 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 液态氟碳纳米粒增强磁共振成像的实验研究[J]. *中国医学影像技术*, 2011, 27(3): 3453-3456.
- [10] Fang Y, Peng C, Guo R, et al. Dendrimer-stabilized bismuth sulfide nanoparticles: synthesis, characterization, and potential computed tomography imaging applications[J]. *Analyst*, 2013, 138(11): 3172-3180.
- [11] 何敏瑜, 冉海涛, 周頔, 等. 载 Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> 液态氟碳纳米粒的制备及体外多功能显影[J]. *中国介入影像与治疗学*, 2014, 11(12): 808-812.
- [12] Zhou D, Li C, He M, et al. Folate-targeted perfluorohexane nanoparticles carrying bismuth sulfide for use in US/CT dual-mode imaging and synergistic high-intensity focused ultrasound ablation of cervical cancer[J]. *Mater Chemis B*, 2016, 4(23): 4164-4181.
- [13] Jokerst JV, Cole AJ, Van de Sompel D, et al. Gold nanorods for ovarian cancer detection with photoacoustic imaging and resection guidance via Raman imaging in living mice[J]. *ACS Nano*, 2012, 6(11): 10366-10377.
- [14] Dove JD, Mountford PA, Murray TW, et al. Engineering optically triggered droplets for photoacoustic imaging and therapy[J]. *Biomed Opt Express*, 2014, 5(12): 4417-4427.
- [15] Ke HT, Yue XL, Wang JR, et al. Gold nanoshelled liquid perfluorocarbon nanocapsules for combined dual modal ultrasound/CT imaging and photothermal therapy of cancer[J]. *Small*, 2014, 10(6): 1220-1227.
- [16] 郝兰, 王志刚, 骆杰, 等. 携量子点靶向高分子微泡造影剂制备及体外细胞实验研究[J]. *重庆医科大学学报*, 2013, 38(1): 24-27.
- [17] Yan F, Li L, Deng Z, et al. Paclitaxel-liposome-microbubble complexes as ultrasound-triggered therapeutic drug delivery carriers[J]. *Control Release*, 2013, 166(3): 246-255.
- [18] Park S, Kim J, Jeon M, et al. In vivo photoacoustic and fluorescence cystography using clinically relevant dual modal indocyanine green[J]. *Sensors (Basel)*, 2014, 14(10): 19660-19668.
- [19] 陈澄, 宫玉萍, 王志刚, 等. 制备包裹吲哚菁绿和液态氟碳的纳米级双模态造影剂[J]. *中国医学影像技术*, 2015, 31(2): 186-190.
- [20] 夏纪筑, 冯罡, 夏晓蓉, 等. 产气脂质纳米粒的制备及其光声成像研究[J]. *临床超声医学杂志*, 2018, 20(9): 580-584.
- [21] Jian J, Liu C, Gong Y, et al. India ink incorporated multifunctional phase-transition nanodroplets for photoacoustic/ultrasound dual-modality imaging and photoacoustic effect based tumor therapy[J]. *Theranostics*, 2014, 4(10): 1026-1038.

(收稿日期: 2018-01-19)