

超声分子探针围绕精准医学的发展及展望

孙 阳

摘 要 近年来,超声分子影像技术不断发展,逐步实现了一种超声分子探针集疾病早期精确诊断、靶向治疗及疗效评价于一体的“一站式精准诊疗”模式。本文主要对超声分子探针在精准医学中的发展及应用进行综述,并对其前景进行展望。

关键词 超声检查;分子探针;精准医学;诊疗
[中图分类号]R445.1 [文献标识码]A

Development and prospects of ultrasound molecular probes in precision medicine

SUN Yang

Department of Ultrasound, the Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China

ABSTRACT The ultrasound molecular imaging has gradually realized a “one-stop precision diagnosis and treatment” with development of the ultrasound molecular probes which integrate early diagnosis, targeted therapy and therapeutic evaluation of disease. This paper mainly focuses on the development process and application prospects of ultrasound molecular probes in precision medicine.

KEY WORDS Ultrasonography; Molecular probe; Precision medicine; Theranostics

“精准医学”是应用现代遗传技术、分子影像技术及生物信息技术对疾病早期精准诊断,在此基础上精准用药,以及后续对疗效和预后精准评估,其是落实推进个体化医疗的新型医学概念。近年来,超声分子影像技术在精准医学背景下不断发展,逐步实现了一种分子探针集疾病早期精确诊断、靶向治疗及疗效评价于一体的“一站式精准诊疗”模式,为精准医学革命掀起新的篇章。

一、超声分子探针的发展及应用

1. 靶向超声微泡:超声造影可以提高低速血流的显示率,使超声无创性观察活体组织器官的微循环灌注成为可能。然而未来的超声造影将不仅限于获取血流和组织灌注信息,利用分子生物学构建一种能够从细胞和分子水平突出显示病变组织异常改变的分子探针,有望将超声从非特异的形态学成像过渡到功能性、分子成像发展阶段^[1]。靶向超声微泡将特异性配体或抗体连接于微泡表面,主动介导微泡在特定部位(靶点)积聚,结合超声造影技术产生靶组织分子水平显像,可提高超声检出病变的敏感性和特异性。近年来,靶向超声微泡研究涉及血管内皮炎症、血栓形成、肿瘤/血管新生等多个领域。靶点涵盖血管内皮炎症时内皮细胞表面高表达的P-选择素、E-选择

素、细胞间黏附分子-1、血管内皮细胞间黏附分子-1等;血栓表面高浓度的血小板糖蛋白Ⅱb/Ⅲa(GpⅡb/Ⅲa)受体、纤维蛋白原等;肿瘤或缺血缺氧、损伤修复后新生血管内皮表达的大量整合素、生长因子和黏附分子受体家族^[2]。Jing等^[3]将自制“表活显”与磷脂酰丝氨酸结合,修饰后的微泡能大量黏附在激活的白细胞表面,并被完整吞噬,从而增强兔肾缺血部位的超声显像。Willmann等^[4]将抗血管内皮生长因子受体2连接到微泡表面,注入裸鼠血管肉瘤模型后发现肿瘤超声显像明显增强。然而,靶向微泡与血管内靶点结合易受血流切应力影响,为增强微泡在高速血流下与靶组织黏附能力,Günther等^[5]针对动脉粥样硬化易损斑块制备了同时靶向选择素及活化GpⅡb/Ⅲa受体位点的双靶造影剂,利用选择素配体Sialyl Lweis可以在高速血流下快速地黏附选择素,在血小板表面缓慢滚动特性,增强靶向微泡与GpⅡb/Ⅲa受体黏附力,既可以使微泡高效、快速地黏附到目标靶表面,又能耐受高速血流的切应力。

2. 靶向超声纳泡:靶向微泡是一种良好的血池显像剂,但由于其微米级粒径,不能透过血管壁,限制了其对血管外病变的诊断与治疗。病理状态下,当肿瘤直径为150~200 μm时,需要大量的氧气及养分供给,此时肿瘤诱导形成大量新生血管系

统;同时,肿瘤组织快速生长压迫淋巴管导致淋巴回流受阻。这两个因素可使具有纳米尺度的大分子物质通过疏松的血管内皮间隙渗透至肿瘤组织,蓄积并长时间停留,即“高渗透长滞留效应”^[6]。利用这一特性,超声纳泡可穿透血管内皮进入组织间隙,靶向肿瘤细胞,推动超声分子显像和治疗向血管外领域拓展。Duan等^[7]结合叶酸制备平均粒径约300 nm的靶向纳泡,证实其对高表达叶酸受体的人乳腺癌细胞有良好的靶向能力。Gao等^[8]根据上皮性卵巢癌通常以癌抗原125(CA-125)的过表达为特征,应用合成CA-125靶向纳泡对小鼠CA-125阳性卵巢癌OVCAR-3行超声分子成像,结果发现与CA-125阴性SKOV-3肿瘤相比,CA-125靶向纳泡可快速、明显地聚集在OVCAR-3肿瘤中;与非靶向纳泡相比,靶向纳泡在肿瘤中的停留时间延长,肿瘤回声增强时间延长(均 $P<0.05$)。

3. 相变型超声分子探针:虽然超声纳泡克服了微泡粒径大,不能透过血管内皮间隙(“大不过”)的局限,但粒径与散射强度本就是一对矛盾体,粒径越小,在肿瘤组织中穿透能力越强,但相应的背向散射回声信号就减弱(“小不强”)。如何兼顾肿瘤组织渗透能力和超声增强显像是优化超声分子诊疗效果的重要前提。笔者利用液态氟碳的液-气相转变原理,设计了一种可实现粒径由纳米级向微米级跃迁(由小变大)的超声分子探针。纳米粒径有助于分子探针通过不完整的血管结构渗出进入到肿瘤组织,随后在肿瘤位置触发,促使分子探针发生相变,粒径由纳米级转化为微米级,可放大成像信号,实现高敏感性、高分辨率的肿瘤超声分子显像^[9],即实现“小可过,大可强”。在控制粒径转化的触发方式上,超声是目前相对成熟、也是应用最多的触发方法,但超声在体内存在衰减,易受含气组织和骨骼影响。光、磁触发是近年新兴的触发模式,声、光、磁可以在触发组织深度、成分(气体、骨骼)和敏感性方面进行优势互补。有学者^[10]利用SASAM 1000光声显微镜观察单个微粒液-气相变转化的动态过程,检测单个微粒受激发产生的光声信号和声学信号改变,这对于研究光致相变、光声/超声成像现象及机制十分必要。相变型超声分子探针进一步推动了超声分子影像学在肿瘤早期精准诊断中的发展。

4. 响应性超声分子探针:超声分子探针已在血管内及血管外疾病的早期诊断及治疗中取得一定进展,但超声靶向显像效果仍未达到临床应用标准。究其原因还存在以下问题:①靶点的优化,需寻找特异性和敏感性高的配体,使用少量分子探针即可检测到信号,并能有效避免高的“血本底”干扰;②由于超声分子探针自身的稳定性及分子探针与靶点结合的牢固性影响显像效果,这就需要分子探针能够在血液中长循环,具有稳定的高结合力与靶区牢固结合,不易解离。目前构建分子探针主要是利用特异性配体-受体结合的主动靶向策略,易受上述因素影响,由此产生的非靶区聚集显像及一过性显像均会干扰诊断的准确性。近年来,利用病变组织、细胞与正常组织、细胞的病理变化差异,设计对疾病特异微环境有可感知、可响应,从而发挥分子显像功能的响应性分子探针正迅速崛起^[11-13]。响应性分子探针在生理条件下保持稳定,使功能材料暂时处于

“休眠”或“失活”状态,在外界环境条件如物理(温度、电场、磁场、机械压力等)、化学(pH值、离子、酶)等信号变化时,分子探针能够识别信号的变化,并根据信号的大小改变自身构象,以此作为对刺激的直接反应,从而激活功能材料,发挥分子成像功能。Li等^[14]研发了肿瘤微酸环境刺激响应性纳米药物载体,可以在药物体内递送过程中的血液、肿瘤微环境及肿瘤细胞内环境发挥各自功能。生理环境下,纳米载体通过“高渗透长滞留效应”在肿瘤部位聚集,进入肿瘤组织后,在微酸性环境下(pH值6.5~7.2)触发小尺寸微粒的释放,促进肿瘤细胞对药物的摄取。微环境响应性分子探针稳定性强,能有效保护分子探针活性成分;特异性强,避免高“血本底”及非特异性细胞摄取的干扰,成为新的发展方向。

二、超声分子探针多功能特性的研究进展

(一)强化多种影像模式显像

一种影像技术无法全面显示病变及周围的解剖结构和功能改变,不利于疾病早期精准诊断及优化个体治疗。因此,临床常需进行多种影像检查,通过互补的影像信息来提高对病变的早期检出率。多模态显像可实现多种影像融合,逐渐成为发展趋势,但其也对分子探针提出了更高要求:①分子探针核心材料尤为重要,应尽可能同时适用于多种影像学检查;②分子探针在活体内相对稳定,半衰期长,需预留充裕的时间窗进行多模态成像;③分子探针长时间在体内停留不会引起机体明显的免疫反应或其他不良反应。通过前期对金属纳米颗粒、荧光染料、量子点、液态氟碳、高分子聚合物、脂质体等核心材料性能进行了严格考察、筛选和组合,制备出多种粒径小、功能性成像材料载量高、配体连接率高、靶向能力强、血液循环时间长(5 min~24 h可控)、体内安全性好的多模态超声分子探针,进行肿瘤超声分子成像为主的光声、MRI、CT及荧光等多模态成像,以全面分析病变及周围解剖结构、功能的改变,有望在疾病早期精准诊断中取得突破^[15-17]。

(二)多元化靶向治疗

1. 借助分子探针及分子显像手段可视化和控制药物靶向肿瘤定位递送及定量释放:分子探针作用的显像靶点也是化疗药物、肿瘤滋养血管栓塞治疗的靶向位点,基于这些靶点,肿瘤能够在分子水平得到治疗,做到真正的“有的放矢”。超声分子探针可作为携带药物的载体,在多模态分子影像实时监控下实现药物的肿瘤靶向定位递送。靶向递送策略有效地保护了药物活性,改善了药物水溶性,提高了药物肿瘤选择性,随后,触发分子探针在局部释放药物,发挥最大治疗效应,避免非特异性细胞摄取引起的非靶部位毒副作用。Gong等^[18]利用自行研制的低功率超声分子显像与治疗系统,配备具有敏感粒子声学定量微泡功能并集成有超声组织定征的模块,对靶区微泡及控释药物进行精确定量,实现了精细、适形、定位及定量控释药物,从而抑制肿瘤增殖。

2. 利用分子探针声、光、磁响应特性发挥特色肿瘤靶向治疗:由于肿瘤耐药问题不断出现,导致单纯药物治疗肿瘤临床疗效欠佳,常需协同多种疗法进行综合治疗。利用分子探针

对声、光、磁的响应效应,可进行相应的热消融及动力学治疗。此外,分子探针在相变成微泡后体积不断膨胀,最终爆破产生类似“生物炸弹”样效应,同样可损毁肿瘤细胞,实现一种新的肿瘤“内爆破”式物理治疗方法。Teng等^[19]合成了一种具有中空结构的磁性介孔颗粒,可有效地转化为热能消融肿瘤。Zhao等^[20]设计了光触发型分子探针,使用激光激发后,除产生光热效应可有效杀灭肿瘤细胞外,分子探针相变成微泡爆破后亦可杀死肿瘤细胞。Zhou等^[21]制备脂质包裹的声控相变型靶向卵巢癌的液态氟碳纳米粒,证实高强度聚焦超声对消融裸鼠皮下卵巢癌有明显的增强效果。

三、展望

精准医学是集现代科技手段与传统医学方法,以最精确、最安全、最有效、最经济的医疗方式,获取个体、社会及健康效益最大化的新型医学体系^[22]。精准医学为开启现代创新医学指明了方向,将深刻影响临床诊疗方式的变革,在此背景下的超声分子成像面临着前所未有的机遇与挑战。近年来,超声成像在分子水平上反映疾病的变化及生物进程,可在分子水平干预疾病进展,逐步形成一种新的集疾病早期精确诊断、靶向治疗及疗效评价于一体的“一站式精准诊疗”模式。随着分子生物学和超声医学的发展,超声分子探针不断优化取得突破,促进对疾病精准诊疗水平的飞速提升。

参考文献

- [1] 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疗[J]. 临床超声医学杂志, 2017, 19(9): 577-579.
- [2] 纪丽景, 燕翼, 宾建平. 靶向超声微泡靶点和配体的研究进展[J]. 中国医学影像学杂志, 2009, 17(4): 300-302.
- [3] Jing XX, Wang ZG, Ran HT, et al. Evaluation of renal ischemia-reperfusion injury in rabbits using microbubbles targeted to activated neutrophils[J]. Clin Imaging, 2008, 32(3): 178-182.
- [4] Willmann JK, Paulmurugan R, Chen K, et al. US imaging of tumor angiogenesis with microbubbles targeted to vascular endothelial growth factor receptor type 2 in mice[J]. Radiology, 2008, 246(2): 508-518.
- [5] 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.
- [6] Matsumura Y, Maeda H. A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: mechanism of tumorotropic accumulation of proteins and the antitumor agent smancs [J]. Cancer Research, 1987, 46(12 Pt 1): 6387-6392.
- [7] Duan S, Guo L, Shi D, et al. Development of a novel folate-modified nanobubbles with improved targeting ability to tumor cells[J]. Ultrason Sonochem, 2017, 37(7): 235-243.
- [8] Gao Y, Hernandez C, Yuan HX, et al. Ultrasound molecular imaging of ovarian cancer with CA-125 targeted nanobubble contrast agents[J]. Nanomedicine, 2017, 13(7): 2159-2168.
- [9] Deng LM, Cai XJ, Sheng DL, et al. A laser-activated biocompatible theranostic nanoagent for targeted multimodal imaging and photothermal therapy of tumors [J]. Theranostics, 2017, 7(18): 4410-4423.
- [10] Sun Y, Wang YJ, Niu CC, et al. Laser-activatable PLGA microparticles for image-guided cancer therapy in vivo [J]. Adv Funct Mater, 2014, 24(13): 7674-7680.
- [11] 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(1): 125-136.
- [12] Min KH, Min HS, Lee HJ, et al. pH-controlled gas-generating mineralized nanoparticles: a theranostic agent for ultrasound imaging and therapy of cancers [J]. ACS Nano, 2015, 9(1): 134-145.
- [13] Lee S, Xie J, Chen X. Activatable molecular probes for cancer imaging [J]. Curr Top Med Chem, 2010, 10(11): 1135-1144.
- [14] Li HJ, Du JZ, Du XJ, et al. Stimuli-responsive clustered nanoparticles for improved tumor penetration and therapeutic efficacy [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2016, 113(15): 4164-4169.
- [15] Shang TT, Liu JX, Hu ZC, et al. In vivo targeted cancer theranostics by core/shell-structured multifunctional Prussian Blue/PLGA "Nanococktails" [J]. Part Syst Characteri, 2018, 35(2): 1700306.
- [16] Xu J, Zhou J, Zhong YX, 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.
- [17] Sheng D, Liu T, Deng L, et al. Perfluorooctyl bromide & indocyanine green co-loaded nanoliposomes for enhanced multimodal imaging-guided phototherapy [J]. Biomaterials, 2018, 165(5): 1-13.
- [18] Gong Y, Wang Z, Dong G, et al. Low-intensity focused ultrasound mediated localized drug delivery for liver tumors in rabbits [J]. Drug Deliv, 2016, 23(7): 2280-2289.
- [19] Teng Z, Wang R, Zhou Y, et al. A magnetic droplet vaporization approach using perfluorohexane-encapsulated magnetic mesoporous particles for ultrasound imaging and tumor ablation [J]. Biomaterials, 2017, 134(7): 43-50.
- [20] Zhao Y, Song W, Wang D, et al. Phase-shifted PFH@PLGA/Fe₃O₄ nanoparticles for MRI/US imaging and photothermal therapy with near-infrared irradiation [J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2015, 7(26): 14231-14242.
- [21] Zhou Y, Wang Z, Chen Y, et al. Microbubbles from gas-generating perfluorohexane nanoemulsions for targeted temperature-sensitive ultrasonography and synergistic HIFU ablation of tumors [J]. Adv Mater, 2013, 25(30): 4123-4130.
- [22] 陶国枢. 精准医学开启 21 世纪个体化医疗的创新时代 [J]. 中华保健医学杂志, 2016, 18(4): 265-267.

(收稿日期: 2019-06-03)