

# Nano-scale microbubbles: a new kind of ultrasound contrast agents

TAN Kai-bin, GAO Yun-hua\*

(Department of Ultrasound, Xinqiao Hospital, the Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

**[Abstract]** With the developing and extending of molecular science, ultrasound molecular imaging has emerged and developed quickly, however, the research applications have so far been limited to those intravascular targets due to the usual microbubble contrast agents cannot permeate blood vessel. Recently, the emerging of nano-scale microbubble contrast agent is bringing hope for ultrasound molecular imaging for tumor cells. We review the emerging background, research status of the nano-scale microbubble contrast agent, and its further research applications.

**[Key words]** Ultrasonography; Ultrasound contrast agents, microbubbles; Molecular imaging

## 纳米级微泡:一种新的超声造影剂

谭开彬 综述,高云华\* 审校

(第三军医大学新桥医院超声科,重庆 400037)

**[摘要]** 随着分子生物学技术的发展和延伸,超声分子成像获得了飞速的发展,但由于常规造影剂微泡不能透过血管壁,超声分子成像的研究仅限于血管内的靶分子。最近纳米级微泡超声造影剂的出现为针对肿瘤细胞的超声分子成像带来了希望。本文对纳米级微泡超声造影剂的研究背景、研究现状及下一步的研究与应用进行了综述。

**[关键词]** 超声检查; 超声造影剂,微泡; 分子成像

**[中图分类号]** R445.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003-3289(2005)04-0516-03

常规微泡超声造影剂是一种微米级造影剂,微泡的平均直径约 $2\sim 4\ \mu\text{m}$ ,小于红细胞,可以自由通过肺循环,但不透过血管,是一种血池显像剂(blood pool agents)<sup>[1,2]</sup>。随着分子成像(molecular imaging)技术的兴起和不断发展,近年来涌现了多种纳米级超声造影剂,包括纳米级脂质体造影剂(liposomal agents)、纳米级氟碳乳剂(perfluorocarbon-emulsion nanoparticles)<sup>[2,3]</sup>,最近又出现了一种纳米级微泡造影剂(nano-scale microbubble contrast agent)<sup>[4]</sup>。本文对纳米级微泡超声造影剂的研究背景、研究现状及下一步的研究与应用做一综述,以引起国人的关注。

### 1 超声分子成像技术的兴起和发展局限

**[作者简介]** 谭开彬(1971—),男,四川渠县人,博士,主治医师,讲师。研究方向:超声造影剂的制备及应用研究。

**[通讯作者]** 高云华,第三军医大学新桥医院超声科,400037。E-mail: gaoyh@hotmail.com

**[收稿日期]** 2005-02-08

**[修回日期]** 2005-03-19

随着分子生物学技术的发展和延伸,超声造影不再局限于仅仅获取组织的血流灌注信息,而是逐渐应用于特异性的超声分子成像。超声分子成像是在超声造影剂的表面结合特异性的配体,通过配体-受体相互作用,在体内与需要显像的靶组织特异性结合,以提高超声显像的敏感性和特异性。超声分子成像并不是对传统超声造影概念的简单替代,而是提供一种活体模拟的免疫组化或原位杂交技术,通过靶向作用于生物分子来突出显示病变组织的显微病理基础,从而反映真正的发病机制,大幅度提高影像诊断的准确性和灵敏性<sup>[2,3]</sup>。

与CT、MRI相比,超声对造影剂微泡有更高的敏感性,能显示低浓度、甚至单个微泡<sup>[5]</sup>,因而超声分子成像一诞生,便迅速引起广泛的关注,作为其成像基础的靶向性超声造影剂立刻成为第三代超声造影剂研究的主流<sup>[6]</sup>,至今国内外已研制出多种靶向性超声造影剂,主要针对血栓、炎症及肿瘤血管,取得了很好的显像和诊断效果<sup>[7-10]</sup>。

但在发展的过程中,研究人员遇到了一个必须面对的问题,即如何实现对

肿瘤细胞的分子成像?肿瘤是超声诊断的主要适应证,肿瘤良恶性的鉴别也一直是困扰超声医学的一个重要难题。肿瘤细胞自身表达特异性抗原,因而研制针对肿瘤细胞自身特异性抗原的靶向性超声造影剂,从而实现肿瘤细胞特异性的分子成像,具有很大的意义。可问题是:常规微泡超声造影剂是一种微米级造影剂,不能透过血管;而现有的纳米级超声造影剂虽能透过血管,但回声特性又很差,增强效果不明显。

为实现对肿瘤细胞的分子成像,我们基于Price等<sup>[11]</sup>的研究发现“一定强度的超声波辐照联合造影剂微泡可引起血管壁的损伤,使血管的通透性增高,进而使血液成分、造影剂微泡透过血管壁”,制备了携带抗人肝细胞癌(HCC)单克隆抗体HAb18的靶向脂膜微泡超声造影剂,试图利用较高机械指数的超声辐照来实现对人HCC的靶向显影,结果:尽管靶向造影剂在体外显示有很高的特异性,可与人肝癌细胞高效、特异性结合,但在体内仅在体积较小的肿瘤出现延迟增强显像,未达到理想的效果。原因在于:较高机械指数的超声辐照虽

可增加肿瘤血管通透性、促进造影剂微泡穿透,但同时也造成大量微泡破坏<sup>[12,13]</sup>。证明采用高机械指数超声照射以实现利用微米级微泡达到超声分子成像的方法还有不足。

能不能研制一种既能透过肿瘤血管壁、又具有较强回声特性的超声造影剂呢?人们只能寄期望于对超声造影剂的研究取得突破。

## 2 肿瘤血管的特点及纳米级微泡超声造影剂的研制

肿瘤血管由两部分组成,一部分是宿主固有的血管,在肿瘤生长的过程中,宿主局部的微血管大部分被破坏,仅有动脉和较大的静脉可能保留下来,成为肿瘤血管系统的主干,该部分血管通透性正常,其管壁的最大孔径不超过 100 nm;另一部分是肿瘤新生血管,其结构不完善,基底膜不完整,管壁薄且缺乏平滑肌层,通透性明显升高,其管壁的最大孔径约 380~780 nm,有时血管外的肿瘤细胞可直接与血管管腔相连<sup>[4,14]</sup>。

基于对肿瘤新生血管特点的认识,Oeffinger 等<sup>[4]</sup>进行了纳米级微泡超声造影剂的研究。他们采用司盘 60 和吐温 80 包裹全氟丙烷制备了平均粒径介于 380~780 nm 之间的纳米级微泡,结果发现,采用 5 MHz 的发射频率,平均粒径为 690 nm 的造影剂,其最大增强效果达到 27 dB,而平均粒径为 450 nm 的造影剂,其最大增强效果达到 25.5 dB,证明纳米级微泡超声造影剂用于超声造影增强是完全可行的。

## 3 纳米级微泡超声造影剂下一步的研究与应用

Oeffinger 等的研究为超声造影技术的发展指明了新的研究方向。但目前纳米级微泡超声造影剂的研究只是刚刚起步,尚有许多问题需要研究,例如:

(1) 纳米级微泡超声造影剂制备方法的研究。Oeffinger 等制备的纳米级微泡造影剂在体外无心腔内压力破坏的情况下维持造影增强的时间仅 8~15 min,这离理想的靶向超声造影剂的要求尚有不小的距离。理想的靶向超声造影剂<sup>[5]</sup>应该在血液循环中有足够的耐压性和稳定性,使其有充足的时间作用于靶组织,以提高诊断的敏感性和靶向治疗效果。能否采用更稳定、更有弹性的脂质作为成膜材料呢?国内外的研究已经证实,脂质是一类更稳定的成膜材料,而且

脂膜的弹性好、变形性好<sup>[15-17]</sup>,一方面有更好的稳定性及回声特性,另一方面在声场作用(使微泡有规律的膨大和缩小)和超声辐射力的驱动下(radiation force-enhanced targeting<sup>[18]</sup>,使微泡在血液中的流动减慢、相互吸引并向管壁移动),可使更多大于管壁孔径、具有更大回声特性的微泡(甚至微米级微泡)透过血管壁,因此所制备的纳米级微泡造影剂,其平均粒径可以更大一些,甚至超过血管壁能透过的上限。众所周知,超声回声的强弱与反射界面有关,微泡的粒径越大,反射回声越强,因此采用脂质作为成膜材料,可以从两方面提高纳米级微泡超声造影剂的回声特性,增强靶向显影效果。

(2) 纳米级微泡超声造影剂的回声特性与超声照射频率的研究,以确定该造影剂适用的频率范围及最佳频率。

(3) 纳米级微泡超声造影剂在被动靶向显影方面的价值,包括对正常和异常血流灌注的评价,对肿瘤新生血管的评价,尤其是能否利用纳米级微泡超声造影剂不能透过正常血管、仅能透过高通透性的肿瘤新生血管的特性来定量评价肿瘤新生血管密度,以判定肿瘤的恶性程度。众所周知,肿瘤新生血管密度与肿瘤的恶性程度密切相关,是较肿瘤微血管密度更特异的指标,新生血管的数量越多,肿瘤的恶性程度越高,目前磁共振已利用大分子对比剂来评价肿瘤新生血管并进行量化,纳米级微泡超声造影剂能否有此效果呢?

此外,国外在利用 Definity(含有部分纳米级微泡)进行前哨淋巴结的超声显像中发现,纳米级微泡对前哨淋巴结的显影最有效<sup>[19]</sup>。因此,纳米级微泡超声造影剂可能在前哨淋巴结的显像方面有很好的应用潜力。

(4) 纳米级微泡超声造影剂在主动靶向显影方面的价值,即通过结合特异性配体,以提高造影剂靶向的特异性及靶向效率,提高诊断的敏感性和特异性。

(5) 纳米级微泡超声造影剂在靶向治疗方面的价值。与目前使用的微米级微泡比较,纳米级微泡有更好的穿透性,因此,在靶向治疗方面可能有更大的应用潜力。Unger 等<sup>[20]</sup>在使用超声造影剂辅助超声溶栓的研究中发现,同样静脉注射,Definity 有很好的助溶效果,而白蛋白包裹的造影剂微泡却无效,其原因

可能是:Definity 含有较多纳米级微泡,能够穿透到血栓内。

## [参考文献]

- [1] Mattrey RF, Aguirre DA. Advances in contrast media research[J]. Academic Radiology, 2003, 10(12):1450-1460.
  - [2] Morawski AM, Lanza GA, Wickline SA. Targeted contrast agents for magnetic resonance imaging and ultrasound [J]. Current Opinion in Biotechnology, 2005, 16(1):1-4.
  - [3] Lanza GA, Wickline SA. Targeted ultrasonic contrast agents for molecular imaging and therapy[J]. Current Problem in Cardiology, 2003, 28(12):625-653.
  - [4] Oeffinger BE, Wheatley MA. Development and characterization of a nano-scale contrast agent [J]. Ultrasonics, 2004, 42(5):343-347.
  - [5] Klibanov AL, Rasche PT, Hughes MS, et al. Detection of individual microbubbles of ultrasound contrast agents: imaging of free-floating and targeted bubbles[J]. Invest Radiol, 2004, 39(3):187-195.
  - [6] Klibanov AL. Targeted delivery of gas-filled microspheres, contrast agents for ultrasound imaging [J]. Adv Drug Deliv Rev, 1999, 37(2):139-157.
  - [7] Hamilton A, Huang SL, Warnick D, et al. Left ventricular thrombus enhancement after intravenous injection of echogenic immunoliposomes: studies in a new experimental model [J]. Circulation, 2002, 105(23):2772-2778.
  - [8] Linder JR, Song J, Xu F, et al. Noninvasive ultrasound imaging of inflammation using microbubbles targeted to activated leukocytes [J]. Circulation, 2000, 102(22):2745-2750.
  - [9] Ellegala DB, Leong-Poi H, Carpenter JE, et al. Imaging tumor angiogenesis with contrast ultrasound and microbubbles targeted to alpha(v)beta3 [J]. Circulation, 2003, 108(3):336-341.
  - [10] Xia HM, Gao YH, Bian AN, et al. Experimental study on thrombus-targeted ultrasound contrast agent enhancing acute thrombus imaging [J]. Chinese J Ultrasound Med, 2004, 20(11):810-813.
- 夏红梅,高云华,卞安娜,等.亲血栓性靶向造影剂增强兔腹主动脉新鲜血栓显像的实验研究[J].中国超声医学杂志, 2004, 20(11):810-813.

- [11] Price RJ, Skyba DM, Kaul S, et al. Delivery of colloidal particles and red blood cells to tissue through microvessel ruptures created by targeted microbubble destruction with ultrasound[J]. Circulation, 1998, 98(13):1264-1267.
- [12] Bian AN, Gao YH, Tan KB, et al. Preparation of human hepatocellular carcinoma-targeting liposome microbubbles and study on its immunological properties[J]. World J Gastroenterol, 2004, 10(23):3424-3427.
- [13] Bian AN, Gao YH, Tan KB, et al. Preparation and targeting study in vitro of immunoliposome contrast agent[J]. Chin J Med Imaging Technol, 2004, 20(3):356-358.
- 卞爱娜, 高云华, 谭开彬, 等. 免疫脂质体微泡造影剂的制备及体外靶向研究[J]. 中国医学影像技术, 2004, 20(3):356-358.
- [14] Jiang XM, Zheng S, Ding RR. Tumor Biology[M]. Zhejiang: Zhejiang Science and Technology Publishing House, 1990. 36-38
- 江希明, 郑数, 丁仁瑞. 肿瘤生物学[M]. 杭州: 浙江科学技术出版社, 1990. 36-38.
- [15] Seidel G, Claassen L, Meyer K, et al. Evaluation of blood flow in the cerebral microcirculation: analysis of the refill kinetics during ultrasound contrast agent infusion[J]. Ultrasound Med Biol, 2001, 27(8):1059-1064.
- [16] Gao YH, Tan KB, Liu P, et al. Experimental study on a new long circulation ultrasound contrast agent enhancing heart imaging[J]. Chinese J Ultrasound Med, 2004, 20(2):81-84.
- 高云华, 谭开彬, 刘平, 等. 一种新型长循环声学造影剂增强心脏显像的实验研究[J]. 中国超声医学杂志, 2004, 20(2):81-84.
- [17] Gao YH, Zeng GJ, Tan KB, et al. The effect of contrast-enhanced ultrasonography on experimental renal tumor using a self-made liposome perfluorocarbon ultrasound contrast agent[J]. J Ultrasound in Clin Med, 2004, 6(5):257-259.
- 高云华, 曾功君, 谭开彬, 等. 自制脂膜氟碳超声造影剂对实验性肾肿瘤显影效果的研究[J]. 临床超声医学杂志, 2004, 6(5):257-259.
- [18] Bloch SH, Dayton PA, Ferrara KW. Targeted imaging using ultrasound contrast agents[J]. IEEE Engineering in Medicine and Biology Magazine, 2004, 23(5):18-29.
- [19] Wisner ER, Ferrara KW, Short RE, et al. Sentinel node detection using contrast-enhanced power Doppler ultrasound lymphography[J]. Invest Radiol, 2003, 38(6):358-365.
- [20] Unger EC, Porter T, Culp W, et al. Therapeutic applications of lipid-coated microbubbles[J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2004, 56(9):1291-1314.

## Intrauterine fetal bone residue: case report

### 宫内胎骨残留 1 例

刘淑云

(山东省德州市人民医院妇产科彩超室, 山东 德州 253014)

**[Key words]** Intrauterine residue; Fetal bone; Ultrasonography **[关键词]** 宫内残留物; 胎骨; 超声检查  
**[中图分类号]** R719.34 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1003-3289(2005)04-0518-01

患者女, 35 岁。因继发不孕于 2004 年 10 月就诊。患者于 2 年前曾行 4 个月妊娠钳刮术, 此后未避孕, 一直未孕, 月经规律,  $\frac{4\sim 5}{30}$  天, 痛经(一)。双合诊检查: 子宫前位, 大小正常, 质硬, 附件未及异常。B 超检查(使用东芝 350 型超声诊断仪经腹检查, 频率 3.7 MHz)所见: 子宫前位, 正常大, 肌层回声均质, 内膜厚 0.7 cm, 居中, 近宫底部宫腔偏右侧探及 0.9 cm×0.4 cm 强回声, 后方伴声影, 左卵巢内 2.4 cm×1.6 cm 囊区, 右附件区未见异常。超声提示: 宫腔实性占位(骨组织残留物? 不排除钙化)。患者于当日行 B 超引导下诊刮术, 刮匙可探及该回声部位但未能刮出。次日患者行宫腔镜检查并取出长约 1 cm 的长形骨组织, 病理证实为胎儿骨组织残留。

**讨论** 胎骨残留是宫内异物存留的一种, 除此之外, 还包括宫腔操作后异物残留, 节育器断裂残留及胎盘组织残留等, 多为

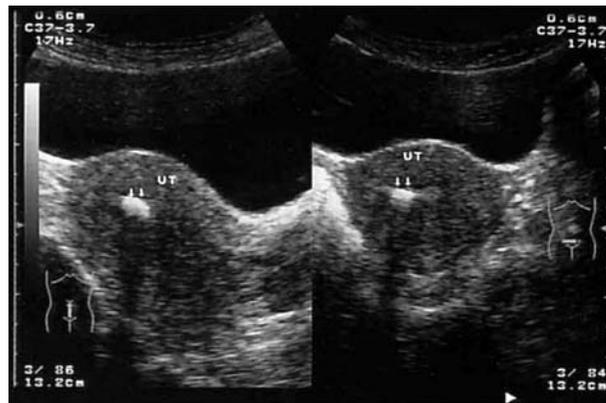


图 1 宫内胎儿骨组织残留声像图

医源性原因造成。宫内异物残留可造成慢性炎症反应, 改变宫腔内环境, 并可起到宫内节育器的作用, 影响精子运送, 受精卵着床及胚胎发育, 从而导致不孕。本例因不孕症就诊, B 超检查发现宫内异常回声, 结合病史考虑宫内胎骨残留, 经宫腔镜直视下取出异物并确诊。

**[作者简介]** 刘淑云(1978—), 女, 山东人, 本科, 医师。  
E-mail: ltf1115@163.com

**[收稿日期]** 2005-01-12 **[修回日期]** 2005-03-20