

Progress of ultrasound molecular imaging

WANG Zhi-gang*

(Institute of Ultrasound Imaging, Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China)

[Abstract] With the rapid development of ultrasound molecular probe technology, ultrasound molecular imaging has become one of the hot spots in molecular imaging research field. The design of molecular probes is the key point and prerequisite for ultrasound molecular imaging. People increasingly pay more attention to the targeted ultrasound contrast agents which are the ultrasound molecular probe. The intersection of multiple disciplines will promote the development of ultrasound molecular imaging.

[Key words] Ultrasound molecular imaging; Ultrasonography; Contrast media

超声分子影像学研究进展

王志刚*

(重庆医科大学超声影像学研究所, 重庆 400010)

[摘要] 随着超声分子探针技术的兴起, 超声分子成像成为当前医学影像学研究的热点之一。分子探针的设计是超声分子成像研究的重点和先决条件。靶向超声微泡(球)造影剂在分子影像中的研究、应用, 愈来愈受到关注, 而多学科的融合使其具有更大的发展空间。

[关键词] 超声分子影像学; 超声检查; 造影剂

[中图分类号] R445.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003-3289(2009)06-0921-04

随着国内关于“超声分子影像学”概念的首次提出^[1], 超声分子成像成为当前医学影像学研究的热点之一。超声分子成像技术系将特异性配体连接到小于红细胞的超声造影剂表面, 通过血液循环特异性地积聚于靶组织, 观察靶组织在分子或细胞水平的特异性显像, 能够反映病变组织在分子基础上的变化。其优点包括: ①无创、无毒、无放射污染; ②超声显微镜已能对细胞结构进行活组织观察, 达到与病理显微镜相媲美的水平; ③能实时、动态、多次重复地对靶组织进行观察^[2]; ④可设计单靶点、多靶点和多模式的超声分子探针; ⑤最近研究发现的敏感粒子声学定量(SPAQ)技术^[3]能实现对肿瘤表达受体水平的在体、动态、实时定量; ⑥敏感度高, 可以探测到单个超声微泡的信号^[4], 微泡直径约 1~3 μm , 直径明显小于大多数细胞, 表明超声可以探测到单个细胞甚至比单个细胞更微小的结构的信号; ⑦可用于直接测量微血管或大血管内的血流速度。

分子成像研究的重点和先决条件是分子探针的设计。分子探针是指能与靶组织特异性结合的物质(如配体或抗体

等), 与能产生影像学信号的物质(如同位素、荧光素或顺磁性原子)以特定方法相结合而构成的一种复合物。借助分子探针可间接反映分子或基因的信息^[5]。目前所使用的超声分子探针是超声微泡(球)造影剂。

1 超声分子探针的分类

超声分子探针按探针构成成分分为: ①磷脂微泡(球)造影剂: 脂类造影剂, 具有使用安全、稳定性好、造影效果好、易于靶向修饰、可用药物或基因的载体等优势, 但存在有效增强显影时间较短的问题; ②高分子(聚合物)微泡(球)造影剂: 其外壳为可生物降解的高分子聚合物及其共聚体, 能根据需要设计不同的声学特性, 改变其降解速度和持续时间。目前高分子造影剂处于实验研究阶段, 如 Schering 公司研制的 SHU563A、Acusphere 公司的 AI-700, 对压力的耐受性好, 易于靶向修饰, 并且是良好的药物控释载体, 但需要较高的声学输出才能引起微泡的非线性共振; ③液态氟碳纳米粒: 该类造影剂具有独特的优势, 其组织穿透力强, 能够穿过血管内皮细胞进入组织间隙, 实现血管外聚集显像; 固有的稳定性使其在体内具有更长的半衰期, 便于延迟显像或重复检查; 具有天然的同时增强超声和 CT 显像的内在属性, 是良好的多模态造影剂^[6]; 易于靶向修饰, 同时可作为一些药物的载体。

超声分子探针按探针粒径大小分类有微米级超声造影剂和纳米级超声造影剂, 前者为常规超声造影剂, 平均直径约 2~4 μm , 小于红细胞, 可以自由通过肺循环, 但不能穿过血管, 是一种血池显像剂; 后者指粒径在纳米范围内的造影剂,

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(30770566, 30770565)。

[作者简介] 王志刚(1945-), 男, 重庆人, 博士, 教授。研究方向: 超声诊断与治疗。

[通讯作者] 王志刚, 重庆医科大学超声影像学研究所, 400010。

E-mail: wzg62942443@163.com

[收稿日期] 2009-04-20 **[修回日期]** 2009-04-30

较常规造影剂有更强的穿透力,能穿越血管内皮进入组织间隙,使血管外靶组织显像成为可能,推动超声分子显像与靶向治疗向血管外领域拓展。

按照不同的功能,超声分子探针又可分为单功能(只用于超声分子显像)、多模态(不仅可用于超声分子显像,还可同时增强其他影像方式显像,如同时增强荧光分子成像、CT 分子成像等)以及多功能(不仅用于成像,还可用于载药、载基因治疗^[7])三类。

2 超声分子探针在诊断方面的应用

2.1 炎症 炎症的病理生理过程为炎症反应启动后产生一连串分子信号,导致白细胞向炎症灶趋化、聚集。针对血管内皮细胞在炎症发生时高表达的整合素类分子或者白细胞表达的分子,可以制备靶向这些分子的超声微泡(球)造影剂,用以评估炎症过程。

景香等^[8]将自制超声微泡造影剂“表活显”(surfactant fluorocarbon-filled microbubbles, SFCMB)与磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PS)结合,制备成对白细胞具有靶向性的超声造影剂(SFCMB-PS),将该靶向造影剂用于兔肾缺血再灌注模型,发现该部位的造影剂回声较其余部位正常肾脏的造影剂回声明显增强,这是由于“表活显”经 PS 修饰后能大量黏附在激活的白细胞表面,并被完整吞噬。有学者采用生物素-亲和素-生物素(BSB)桥连技术,构建携带抗 P-选择素单抗靶向超声微泡造影剂(MB-BSBp),将其用于小鼠骨髓肌缺血-再灌注损伤(ischemia-reperfusion injury, I-R)研究,结果显示 MBp 的声强度值明显高于对照组,证实可用于评价微血管炎症或相关的血管内皮反应^[9],其结果与 Klibanov 等^[10]学者研究结果一致。

炎症反应时产生大量分子,如细胞间黏附分子 1(ICAM-1)、血管内皮细胞间黏附分子 1(VCAM-1)等。Kaufmann 等^[11]在不同切应力条件下注射携带有单克隆抗体细胞黏附分子-1 的微泡造影剂,发现有大量微泡黏附在血管内膜表面;声像图显示粥样斑块的显影增强。有学者^[12]研究发现微泡与动脉粥样硬化的结合力取决于血管内皮的炎症病变程度及血管功能的异常,随着炎症程度的加重,黏附在病变部位的微泡数量也越多;据此不仅可以提高疾病诊断的准确性和敏感性,还可监测粥样硬化斑块的病变进程。

2.2 血栓 含有 RGD 序列的六氨基多肽可以作为微泡结合血栓的靶向配体。急性血栓血小板上含有大量 GP II b/III a 受体,该受体可选择性地与肽或含有 RGD 序列的仿肽类物质结合。为靶向超声造影剂在靶标吸附、聚集,增强其显像提供了客观条件。有学者建立犬双侧股静脉急性血栓模型,注射靶向微泡后血栓回声明显增强,与管腔无回声背景分界清晰,图像质量明显改善。在连接有肽类配体的脂质体氟烷微泡体外实验中发现,微泡不仅被血栓周边或表面摄取,而且渗入到团块的深面^[13]。国内有学者^[14]采用三氯化铁溶液,诱发兔腹主动脉非梗阻性新鲜血栓形成,注射靶向造影剂后,血栓显影增强效果持续在 10 min 以上,视频分析血栓灰阶值显著升高;荧光显微镜检测可见血栓内散在分布的微泡,与前者研究结果一致。

2.3 肿瘤和新生血管 肿瘤通过新生血管来增加血液供应,以满足肿瘤迅速生长的需要。新生血管内皮表达大量的生长因子受体,如 VEGF、 $\alpha v\beta 3$ 等。Willmann 等^[15]将抗 VEGFR2 连接到超声微泡表面,建立裸鼠血管肉瘤模型,注入靶向微泡后发现肿瘤显像明显增强,且 VEGFR2 高表达于肿瘤血管内皮细胞。因此,有学者使用靶向超声微泡造影剂行肿瘤特异性显像,结合定量容积超声扫描技术,评价治疗肿瘤的疗效^[16]。

有学者认为位点靶向超声造影剂的敏感性和特异性较血池造影剂高,故近年来直接针对肿瘤细胞的靶向超声成像研究成为热点。Wheatley 等通过共价连接将 GRGDS 配体与多聚体造影剂结合,其可以靶向结合人乳腺癌细胞,而并不与正常乳腺细胞结合^[17]。

在肿瘤细胞表达的众多受体中,研究发现叶酸受体在肿瘤表面表达程度最高,肿瘤细胞摄取叶酸的能力非常强,而正常组织中叶酸受体的表达高度保守或几乎不能被探及。同时,叶酸受体具有显著的内在属性优点,成为研究肿瘤超声分子成像的一种理想靶标^[18]。伍星等^[19]成功制备出偶连叶酸的靶向超声微泡造影剂,该造影剂在体外对高表达叶酸受体的卵巢癌 SKOV3 细胞具有较强的特异性亲和力。

随着纳米技术与分子生物学的发展,纳米级靶向超声造影剂正日渐崛起,其分子小、穿透力强的突出特性,将有力地推动超声分子成像与靶向治疗向血管外领域拓展^[20]。朱叶锋等^[21]用生物素-亲和素系统,使超声造影剂与抗体牢固结合,制备出靶向纳米脂质超声造影剂,在体外寻靶实验中,该造影剂可与乳腺癌细胞特异性结合。有学者^[22]制备一种可生物降解聚合物的纳米造影剂(polylactic acid, PLA),其表面连接抗 HER2 抗体,该抗体能特异结合到过度表达 HER2 受体的乳腺癌细胞,流式细胞仪与共聚焦显像证实,该纳米造影剂与细胞结合,超声显像增强。

3 超声分子探针在治疗方面的应用

靶向超声微泡(球)造影剂还可载药物或基因用于治疗。有学者^[26]通过超声靶向破坏微泡介导骨骼肌血管新生的研究,证实超声靶向破坏微泡技术为基因治疗提供了一种新的有效的无创技术。王志刚等^[23-26]发现,该技术可介导 VEGF 基因与 HGF 基因在缺血心肌内的高效转染并促进血管新生,为心肌梗死的基因治疗提供新途径打下理论基础。任建丽等^[27]研究发现 Tat 蛋白转导域/质粒 DNA/Liposome(TDL)复合物,可作为有效的非病毒基因载体,超声靶向破坏微泡可以促进 TDL 复合物介导的基因转染,并对细胞活性无明显影响,为缺血性心脏病的基因治疗提供了实验依据。

有学者^[28]将靶向 GP II b/III a 微泡联合超声诊断,用于促进急性冠状动脉血栓的血管重塑及微血管愈合。在溶栓方面,通过血栓靶向微泡的应用证实其不仅能溶栓,亦能用于评价溶栓治疗的效果^[29]。

4 存在的问题与发展

靶向超声微泡(球)造影剂的研发促进了超声分子影像学的发展,取得了一定的研究成果,但仍然存在一些问题有待深入研究:①超声分子探针的靶向性能:由于涉及多学科特别

是化学、免疫学知识,需要多学科交叉才有可能制备出可应用于临床的靶向分子探针;②要实现血管外的靶向,需重视稳定性更好的超声造影剂的研发,如高分子材料超声造影剂、液态氟碳纳米粒;③增加连接在微泡(球)表面的靶分子的“臂”长度,有利于微泡(球)高浓度地聚集于靶点;④对超声微泡(球)进行修饰,使其具有同时增强其他影像方式的能力,以实现多种影像方式的优势互补^[30];⑤进一步优化超声造影剂的载药、载基因的能力,以在显像的同时进行治疗。

随着分子生物学、超声医学以及与其他影像技术的进一步结合与发展,有必要在这一领域进行更加深入、严谨的研究,使超声分子探针真正具有“一探针多模态”的功能,即利用一种超声分子探针实现同时增强超声显像以及其他影像方式显像的目的,并经过图像融合技术将各种分子影像学的优点相结合,使超声分子影像学得到更好的发展。

[参考文献]

- [1] Zheng YY, Wang ZG, Ran HT, et al. Preliminary experimental study of a new self-made high molecular ultrasound contrast agent. *Chin J Ultrasound in Med*, 2004, 20(12): 887-890.
郑元义, 王志刚, 冉海涛, 等. 自制高分子材料超声造影剂及初步实验研究. *中国超声医学杂志*, 2004, 20(12): 887-890.
- [2] Hauff P, Reinhardt M, Foster S. Ultrasound contrast agents for molecular imaging. *Handb Exp Pharmacol*, 2008, (185 Pt 1): 223-245.
- [3] Reinhardt M, Hauff P, Briel A, et al. Sensitive particle acoustic quantification (spaq): A new ultrasound-based approach for the quantification of ultrasound contrast media in high concentrations. *Invest Radiol*, 2005, 40(1): 2-7.
- [4] Klivanov AL, Rasche PT, Hughes MS, et al. Detection of individual microbubbles of ultrasound contrast agents: imaging of free-floating and targeted bubbles. *Invest Radiol*, 2004, 39(3): 187-195.
- [5] Zhang LJ, Qi J. Progress of molecular imaging probe. *Foreign Medical Sciences Clinical Radiological Fascicle*, 2006, 29(5): 289-293.
张龙江, 祁吉. 分子影像学探针的研究与进展. *国外医学临床放射学分册*, 2006, 29(5): 289-293.
- [6] Yang Y, Wang ZG, Zheng YY, et al. Experimental study of lipid perfluorooctylbromide nanoparticles ultrasound contrast agent in enhanced computed tomography of rats. *Chin J Med Imaging Technol*, 2008, 24(9): 1341-1344.
杨扬, 王志刚, 郑元义, 等. 液态氟碳纳米脂质微泡超声对比剂用于增强正常大鼠 CT 显像实验研究. *中国医学影像技术*, 2008, 24(9): 1341-1344.
- [7] Wang ZX, Wang ZG. Treatment of ultrasound contrast agents for gene or drug delivery. *Chin J Interv Imaging Ther*, 2006, 3(4): 306-308.
汪朝霞, 王志刚. 超声微泡造影剂携基因或药物治疗研究. *中国介入影像与治疗学*, 2006, 3(4): 306-308.
- [8] Jing XX, Wang ZG, Ran HT, et al. Evaluation of renal ischemia-reperfusion injury in rabbits using microbubbles targeted to activated neutrophils. *Clin Imaging*, 2008, 32(3): 178-182.
- [9] Yang F, Yang L, Bin JP, et al. Ultrasound assessment of ischemia-reperfusion injury in skeletal muscle of mice with microbubbles targeted to P-selectin. *Chin J Ultrasound in Med*, 2009, 25(1): 12-15.
杨帆, 杨莉, 宾建平, 等. 携 P-选择素单抗靶向超声微泡评价小鼠下肢缺血-再灌注损伤. *中国超声医学杂志*, 2009, 25(1): 12-15.
- [10] Klivanov AL, Rychak JJ, Yang WC, et al. Targeted ultrasound contrast agent for molecular imaging of inflammation in high-shear flow. *Contrast Media Mol Imaging*, 2006, 1(6): 259-266.
- [11] Kaufmann BA, Sanders JM, Davis C, et al. Molecular imaging of inflammation in atherosclerosis with targeted ultrasound detection of vascular cell adhesion molecule-1. *Circulation*, 2007, 116(3): 276-284.
- [12] Li X, Gao YH, Tan KB, et al. Targeting anti-CD54 microbubbles to atherosclerotic plaques and endoderm of abdominal aorta for ultrasonic enhancement in rabbits. *Chin J Ultrasonogr*, 2005, 7(3): 229-232.
李馨, 高云华, 谭开彬, 等. 携 CD54 单抗的靶向超声造影剂增强兔腹主动脉内膜及粥样斑块显影的实验研究. *中华超声影像学杂志*, 2005, 7(3): 229-232.
- [13] Schumann PA, Christiansen JP, Quigley RM, et al. Targeted-microbubble binding selectively to GPIIb/IIIa receptors of platelet thrombi. *Invest Radiol*, 2002, 37(11): 587-593.
- [14] MousaSA, Bozarth JM, EdwardsS, et al. Novel technetium-99m-La-beled platelet GP II b/IIIa receptor antagonists as potential imaging agents for venous and arterial thrombosis. *Coron Artery Dis*, 1998, 9(2-3): 131-141.
- [15] 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. *Radiology*, 2008, 246(2): 508-518.
- [16] Palmowski M, Huppert J, Ladewig G, et al. Molecular profiling of angiogenesis with targeted ultrasound imaging: early assessment of antiangiogenic therapy effects. *Mol Cancer Ther*, 2008, 7(1): 101-109.
- [17] Chapuis JC, Schmaltz RM, Tsosie KS, et al. Carbohydrate dependent targeting of cancer cells by bleomycin-microbubble conjugates. *J Am Chem Soc*, 2009, 131(7): 2438-2439.
- [18] Segal EI, Low PS. Tumor detection using folate receptor-targeted imaging agents. *Cancer Metastasis Rev*, 2008, 27(4): 655-664.
- [19] Xing W, Gang WZ, Yong Z, et al. Treatment of xenografted ovarian carcinoma using paclitaxel-loaded ultrasound microbubbles. *Acad Radiol*, 2008, 15(12): 1574-1579.
- [20] Zhang Y, Wang ZG. Development of nanoscale ultrasound contrast agents. *J Ultrasound in Clin Med*, 2007, 9(2): 105-107.
张勇, 王志刚. 纳米级超声造影剂的研究进展. *临床超声医学杂志*, 2007, 9(2): 105-107.
- [21] Zhu YF, Ran HT, Zhang QX, et al. Experimental study on preparation and targeting study in vitro of targeted nano-lipid ultrasound-enhanced contrast agent. *Chin J Ultrasound in Med*, 2009, 25(3): 220-222.
朱叶锋, 冉海涛, 张群霞, 等. 靶向纳米脂质超声造影剂制备及其体外寻靶能力实验研究. *中国超声医学杂志*, 2009, 25(3): 220-222.
- [22] Liu J, Li T, Rosol TJ, et al. Biodegradable nanoparticles for targeted ultrasound imaging of breast cancer cells in vitro. *Phys Med Biol*, 2007, 52(16): 4739-4747.
- [23] Zhang Q, Wang Z, Ran H, et al. Enhanced gene delivery into skeletal muscles with ultrasound and microbubble techniques. *Acad Radiol*, 2006, 13(3): 363-367.
- [24] Zhigang W, Zhiyu L, Haitao R, et al. Ultrasound-mediated microbubble destruction enhances VEGF gene delivery to the infarcted myocardium in rats. *Clin Imaging*, 2004, 28(6): 395-398.

- [25] Wang ZG, Li XS, Li XL, et al. Therapeutic angiogenesis induced by hepatocyte growth factor directed by ultrasound-targeted microbubble destruction. *Acta Academiae Medicinae Sinicae*, 2008, 30(1): 5-9.
王志刚, 李兴升, 李雪霖, 等. 超声微泡介导肝细胞生长因子促进大鼠梗死心肌血管新生. *中国医学科学院学报*, 2008, 30(1): 5-9.
- [26] Li X, Wang Z, Ran H, et al. Experimental research on therapeutic angiogenesis induced by Hepatocyte Growth Factor directed by ultrasound-targeted microbubble destruction in rats. *J Ultrasound Med*, 2008, 27(3): 439-446.
- [27] Ren JL, Wang ZG, Zhang Y, et al. Transfection efficiency of TDL compound in HUVEC enhanced by ultrasound-targeted microbubble destruction. *Ultrasound Med Biol*, 2008, 34(11): 1857-1867.
- [28] Xie F, Lof J, Matsunaga T, et al. Diagnostic ultrasound combined with glycoprotein II b/III a-targeted microbubbles improves microvascular recovery after acute coronary thrombotic occlusions. *Circulation*, 2009, 119(10): 1378-1385.
- [29] B Wang, L Wang, XB Zhou, et al. Thrombolysis effect of a novel targeted microbubble with low-frequency ultrasound in vivo. *Thromb Haemost*, 2008, 100(2): 356-361.
- [30] Zhang C, Wang Y. A reconstruction algorithm for thermoacoustic tomography with compensation for acoustic speed heterogeneity. *Physics in Medicine and Biology*, 2008, 53(18): 4971-4982.

Multiple neurilemmoma in right groin and pelvis: case report

右侧腹股沟及盆腔多发神经鞘瘤 1 例

吴正参, 王中秋, 刘珍娟

(南京大学医学院临床学院南京军区南京总医院医学影像科, 江苏 南京 210002)

[Key words] Neurilemmoma; Tomography, X-ray computed [关键词] 神经鞘瘤; 体层摄影术, X 线计算机
[中图分类号] R814.42; R739.4 [文献标识码] B [文章编号] 1003-3289(2009)06-0924-01

患者男, 50 岁。因“右侧腹股沟扪及包块”入院检查, 既往无肿瘤病史。盆腔 CT: 右侧腹股沟及盆腔右侧见多个大小不等类圆形软组织影, 部分融合成团, 密度均匀, 边界清楚; 增强后轻度强化, 膀胱右侧受压, 其他脏器未见侵犯(图 1)。术前诊断为“右侧隐睾恶变, 精原细胞瘤可能伴右侧腹股沟、盆腔内多个淋巴结转移”; 术后病理: 肿物可见薄层完整的纤维包膜。由 Antoni A 区及 B 区结构构成, A 区瘤细胞较密集, 排列紧密, 细胞核杆状, 分化良好, B 区瘤细胞较分散, 排列疏松, 周围水肿。病理诊断: 多发神经鞘瘤。



图 1 右侧腹股沟及盆腔多发神经鞘瘤 A. CT 平扫; B. 增强扫描

讨论 神经鞘瘤又名雪旺(Schwann)细胞瘤, 是一种生长缓慢的良性肿瘤, 发病年龄 20~50 岁。常单发, 多发较少见, 多发性神经鞘瘤常可合并一侧或双侧听神经瘤, 有家族遗传倾向。神经鞘瘤 90% 位于椎管后外侧, 且以颈段和胸段多见, 可有坏死、囊变、出血等改变。体腔深部的神经鞘瘤多位于脊柱两旁, 胸部多位于后纵膈; 腹腔则常见于腹膜后间隙; 本例发生于盆腔内及腹股沟, 为罕见病例。术前诊断为隐睾, 隐睾恶变几率为正正常睾丸的 3~5 倍, 高发年龄为 30~35 岁; 一般隐睾患者生育功能丧失, 需询问患者是否有生育史。还需与淋巴瘤鉴别, 淋巴瘤多发常见, 位于腹部则常包绕腹主动脉及肠系膜血管, 形成“血管包埋征”、“三明治征”。神经鞘瘤和神经纤维瘤同属于神经

鞘肿瘤, 前者更常见, 更容易囊变, 需病理鉴别。

神经鞘瘤发展有一定的自限性, 对无症状且生长缓慢者可考虑随访。手术切除是最有效的治疗方法, 一般不易复发, 预后较好。肿瘤血管丰富, 并常与神经粘连, 适于采用显微外科技术切除, 如有恶变应辅以放疗。

[作者简介] 吴正参(1984-), 男, 江西余干人, 在读硕士。

E-mail: wzcedwin@163.com

[收稿日期] 2009-03-20 [修回日期] 2009-04-30