

# 超声微泡造影剂的临床应用及研究进展

重庆医科大学附属儿童医院超声科 (400014)

李奇林综述 全学模审校

**摘要** 随着超声造影和微泡制备技术的不断发展, 超声不仅作为一种临床诊断工具, 而且更扩展了治疗领域。新型超声造影剂的临床应用是近年来超声医学研究的热点, 具有广阔的应用前景。现就超声微泡造影剂的应用及研究进展综述如下。

**关键词** 超声造影剂; 微泡; 再填充动力学; 靶向; 基因转染

微泡造影剂的提出最早可以追溯到一百年前的 Lord Reyleigh, 他在论文中阐述了微泡的结构以及潜在的辅助成像价值。直到目前, 微泡在超声空化效应下的振动和破裂仍然是超声谐波成像和治疗的理论基础。超声微泡辅助药物传输的观点提出以后, 超声微泡引导的靶向治疗比单纯的影像学研究吸引了更多的关注。超声微泡已从最初的造影剂发展到了如今靶向治疗的载体。在进行了三十几年的实验研究后, 超声微泡技术开始逐步应用于临床。现就这项新技术的临床诊断和治疗进展综述如下。

## 一、微血管灌注定量评估

随着生物学的发展, 对器官功能的影像学检查越来越重要。微血管灌注定量评价技术为病理状态下的组织微循环功能的测定提供了帮助。1998年 Wei 等<sup>[1]</sup>首次应用超声微泡再填充动力学(replenishment kinetic)评价局部心肌灌注。此后还相继报道了其在肾脏、脑的定量灌注评估应用<sup>[2-4]</sup>。2003年 Krix 等<sup>[5]</sup>又将其应用于抗肿瘤新生血管治疗疗效检测。

定量灌注评价技术是以微泡破坏后的再充盈动力学为基础。由于微泡直径与红细胞相当, 具有类似红细胞的血流动力学特征, 可以用来反映红细胞在微循环灌注中的特性。瞬时高能脉冲超声破坏感兴趣区内微泡后, 微泡从周边组织再填充, 对比信号强度逐渐增强, 造影剂在局部组织的再充盈时间-强度曲线符合函数方程  $y=A(1-e^{-t})$ , 其中曲线最大斜率( )反映微泡在局部组织微循环中的血流速度; 平台声强度(A)反映局部组织血流量; 而 A 与 的乘积即代表组织血流量。Schwenger 等<sup>[6]</sup>对肾

移植病人进行移植肾功能检查, 结果显示与 S-肌酐、普通彩色多普勒检查相比, 增强超声定量灌注评估能够更加准确地预测慢性移植物肾病, 指导早期的干预治疗。随着研究的深入, 定量灌注评估技术也在不断改进。Yamada 等<sup>[7]</sup>最近提出, 在进行心肌定量灌注评价时, 由于声场远近差异, 近场微泡破坏数比远场多, 造成心肌微循环中微泡浓度的差异即对比信号强度(contrast signal intensity, CI)的不均衡, 因此心肌不同节段 CI 变异度大, 个体差异明显。要解决这个问题, 需要对 CI 值进行校正。根据邻近心室腔和节段心肌声场压相似, 左心室腔血池  $CI(CI_{blood})$  减去邻近节段心肌  $CI(CI_{myo})$ , 得到相对 CI 值, 可以更为精确地反映心肌血容量分数。

目前微血管灌注定量评估的应用还主要集中于心、脑、肾等几个血供丰富较大体积的脏器, 小器官(如睾丸、卵巢)的灌注定量评估未见相关报道。这或许是由于相对这些组织的体积, 探头扫查厚度大, 测量误差大, 这一问题的解决尚有待于超声换能器的改进和研究方法的提高。

## 二、靶向显影

微泡外壳本身的理化性质或连接在微泡表面特异性配体能够实现靶向分子影像, 故能非侵入性地评价炎症、缺血再灌注、肿瘤等模式的病灶分布和灌注情况, 为治疗提供更为详尽的信息。

(一)非特异性靶向显影 所有的微泡造影剂都会在一定程度上为肝脏所摄取。很多造影剂(如 Levovist, Sonazoid)在血流缓慢时机械滞留于血窦并为 Kupffer 细胞吞噬入胞内<sup>[8]</sup>, 而某些肝实质局灶性

病变(例如恶性肿瘤组织)缺乏正常的吞噬功能或缺乏肝血窦,不能保留微泡造影剂,当循环中微泡经由补体调理作用清除以后,病灶的延迟显影就呈现出来。研究还发现微泡外壳上的白蛋白或脂质能够亲和活化的粒细胞和单核细胞,因此在感染或受损区域滞留,数分钟后,大多数微泡被吞噬,但仍然保持声学特性,故循环微泡清除以后可以探测到感染区的声学信号<sup>[9]</sup>。

(二) 特异性靶向显影 生物刺激下,某些蛋白质,例如选择蛋白家族(P-选择蛋白)或整合素家族(ICAM-1)会在血管内皮细胞表面过度表达。体内微泡通过配体特异性靶向聚集于这些区域可以对炎症、缺血再灌注损伤及移植排斥等模式显影。目前动物实验已经证实能够实现靶向血管腔的分子影像。Ellegala等<sup>[10]</sup>在微泡表面连接了选择性结合新生血管内皮细胞表达的  $\alpha_v\beta_3$  受体的配体,成功实现了对大鼠胶质瘤的特异性显影。靶向糖 GPIIb/IIIa (活性血小板标志物)的微泡可以完成对新鲜血栓的显影<sup>[11]</sup>。脂质微泡与抗鼠 P-选择蛋白单克隆抗体共轭结合,靶向附着激活白细胞实现对肾脏或心脏缺血再灌注区域的显影<sup>[12]</sup>。

### 三、体腔显影

除血池影像以外,超声微泡同其他影像造影剂一样,可以用于体腔造影,目前,排泄性增强超声检查(voiding urosonography, VUS)已在欧洲广泛使用,各家报道<sup>[13-15]</sup>均显示VUS与排泄性膀胱尿路造影(voiding cystourethrography, VCUG)对儿童膀胱输尿管返流的诊断符合率在92%以上,且VUS比VCUG有更好的敏感性和阴性预测值,对返流程度的分级更为准确,病人对造影剂的耐受性好,它的广泛应用可以减少由于VCUG所造成的原子辐射。在检查中结合使用脉冲反相谐波成像技术可以增强对谐波信号的敏感性,减少造影剂的剂量。Taylor<sup>[16]</sup>在幼猪中应用微泡造影剂来测定脑室的开放,实时观察了从脑室到基底池的增强显影。增强脑室显影可以用于脑室阻塞的定位,判断是否需要侧脑室的分流。另外,微泡造影剂还可用于不孕病人子宫腔造影检查,明确输卵管的闭合状态。

### 四、治疗应用

(一) 靶向基因转染和药物传输 微泡可以以多种方式携带基因或药物,当微泡复合物在“感兴趣区”特异性聚集时,增强声压使微泡破裂,引发生物活性物质的定点定时释放,微泡破裂时产生强烈的

冲击波及高速微射流在血管壁或生物屏障上形成暂时性微孔,可以增强基因的转染或药物传输。Lawrie等<sup>[17]</sup>显示转染率与微泡破裂产生的自由基无关,与空化效应产生的细胞膜暂时性声孔相关。Chen等<sup>[18]</sup>观察到触发式声裂法对鼠左心室荧光素酶基因转染比连续声裂法时的基因表达更为明显。Beerl等<sup>[19]</sup>腺病毒编码的报告基因和白蛋白微泡混合并传输至鼠主动脉根部,高声压破坏微泡同时使血流暂停,主动脉组织的基因表达明显增加,提示一定的孵育时间将提高基因转染率。Nakaya等<sup>[20]</sup>在兔类风湿性关节炎模型膝关节腔内混合注射微泡与MTX,证实了在超声暴露下微泡能增强MTX对兔滑膜细胞的抗炎作用。这一试验为血管外微泡辅助物质传输提供了思路。超声辅助的蛋白质传输,大部分的研究集中于微泡辅助胰岛素的经皮给药,目的在于替代糖尿病病人常规胰岛素注射治疗,减轻病人的痛苦。

超声微泡辅助的基因传输已经进行了大量实验,研究表明几乎全身各个组织器官(心血管、肿瘤、肌肉、肺、脑等)的基因转染率都可以得到提高<sup>[21]</sup>。然而如何更好地保护生物活性物质,使之不至于在进入细胞之前遭受微泡破裂时剪切流或酶的作用而降解以及更精确的靶向定位传输仍然是目前亟待解决的问题。

(二) 辅助溶栓 早在1995年,Tachibana等就提出应用声能下组织的振动及微泡的可伸缩性增强靶向溶栓作用。体外及动物模型研究表明,与单纯各组和对照治疗研究相比,微泡造影剂结合超声照射、溶栓酶(尿激酶或tPA)可以更快更有效地溶解血栓。Suchkova等<sup>[22]</sup>证实1MHz超声可以增加tPA对血栓的穿透,后期研究表明27kHz低频率脉冲超声比更高频率超声在tPA溶栓作用中更为有效,这一结果进一步支持非热效应的空化效应相关的血栓溶解。

(三) 突破生物屏障 类似靶向传输对血管壁的穿透,高强度超声对生物屏障的透化作用,也是由于冲击波和微射流对生物膜的剪切力所造成的暂时性微孔。在一些研究中均发现聚焦超声能够在微泡存在下定点可逆性开放血脑屏障,这为以后神经系统的靶向治疗提供了可能<sup>[23-25]</sup>。

### 五、前景及展望

目前微泡造影剂的研究主要集中在:调节补体的激活与沉降以减低微泡与正常组织的非特异性

结合;提高大血管的靶向作用,实现动脉粥样斑块活化内皮的选择性显影和治疗;实现高浓度的小分子配体装载和小器官的定量灌注评估;了解携药微泡在体内的生物分布等数个方面<sup>[26]</sup>。最近 MRI 造影剂三氧化二铁毫微粒已经应用于追踪活体细胞印迹,未来超声造影剂也同样可能被开发应用于活体细胞标记,并逐步将微米级个体化的监测转变成对单个细胞的监测。细胞内超声微泡的治疗,可能会导致凋亡,但这或许能为人工终止细胞周期提供思路。我们可以预测超声微泡造影剂有着极为广阔的应用前景,但更广泛安全的临床应用仍有待于进一步的努力。

参考文献

- 1 Wei K, Jayaweera AR, Firoozan S, et al. Quantification of myocardial blood flow with ultrasound-induced destruction of microbubbles administered as a constant venous infusion. *Circulation*, 1998, 97(5): 473-483
- 2 Schlosser T, Pohl C, Veltmann C, et al. Feasibility of the flash-replenishment concept in renal tissue: which parameters affect the assessment of the contrast replenishment?. *Ultrasound Med Biol*, 2001, 27(7):937-944
- 3 Lefevre F, Correas JM, Briancon S, et al. Contrast-enhanced sonography of the renal transplant using triggered pulse-inversion imaging: preliminary results. *Ultrasound Med Biol*, 2002, 28(3):303-314
- 4 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. *Ultrasound Med Biol*, 2001, 27(8): 1059-1064
- 5 Krix M, Kiessling F, Vosseler S, et al. Sensitive noninvasive monitoring of tumor perfusion during antiangiogenic therapy by intermittent bolus-contrast power Doppler sonography. *Cancer Res*, 2003, 63(23):8264-8270
- 6 Schwenger V, Korosoglou G, Hinkel UP, et al. Real-time contrast-enhanced sonography of renal transplant recipients predicts chronic allograft nephropathy. *Am J Transplant*, 2006, 6(3):609-615
- 7 Yamada S, Komuro K, Mikami T, et al. Novel quantitative assessment of myocardial perfusion by harmonic power Doppler imaging during myocardial contrast echocardiography. *Heart*, 2005, 91(2): 183-188
- 8 Kindberg GM, Tolleshaug H, Roos N, et al. Hepatic clearance of Sonazoid perfluorobutane microbubbles by Kupffer cells does not reduce the ability of liver to phagocytose or degrade albumin microspheres. *Cell Tissue Res*, 2003, 312(1):49-54
- 9 Lindner JR, Song J, Xu F, et al. Noninvasive ultrasound imaging of inflammation using microbubble targeted to activated leukocytes. *Circulation*, 2000, 102(22):2745-2750
- 10 Ellegala DB, Leong-Poi H, Carpenter JE, et al. Imaging tumor angiogenesis with contrast ultrasound and microbubbles targeted to alpha(v)beta3. *Circulation*, 2003, 108(3):336-341

- 11 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
- 12 Lindner JR, Song J, Christiansen J, et al. Ultrasound assessment of inflammation and renal tissue injury with microbubbles targeted to P-selectin. *Circulation*, 2001, 104(17):2107-2112
- 13 Kopitzko A, Cornely D, Reither K, et al. Low contrast dose voiding urosonography in children with phase inversion imaging. *Eur Radiol*, 2004, 14 ( 12) : 2290-2296
- 14 Ascenti G, Zimbaro G, Mazziotti S, et al. Harmonic US imaging of vesicoureteric reflux in children: usefulness of a second generation US contrast agent. *Pediatr Radiol*, 2004, 34(6):481-487
- 15 Darge K, Moeller RT, Trusen A, et al. Diagnosis of vesicoureteric reflux with low-dose contrast-enhanced harmonic ultrasound imaging. *Pediatr Radiol*, 2005, 35(1):73-78
- 16 Taylor GA. Potential pediatric applications for US contrast agents: lessons from the laboratory. *Pediatr Radiol*, 2000, 30(2):101-109
- 17 Lawrie A, Brisken AF, Francis SE, et al. Ultrasound-enhanced transgene expression in vascular cells is not dependent upon cavitation-induced free radicals. *Ultrasound Med Biol*, 2003, 29(10): 1453-1461
- 18 Chen S, Shohet RV, Bekeredjian R, et al. Optimization of ultrasound parameters for cardiac gene delivery of adenoviral or plasmid deoxyribonucleic acid by ultrasound-targeted microbubble destruction. *J Am Coll Cardiol*, 2003, 42(2):301-308
- 19 Beerl R, Guerrero JL, Supple G, et al. New efficient catheter-based system for myocardial gene delivery. *Circulation*, 2002, 106(14):1756-1759
- 20 Nakaya H, Shimizu T, Isobe K, et al. Microbubble-enhanced ultrasound exposure promotes uptake of methotrexate into synovial cells and enhanced antiinflammatory effects in the knees of rabbits with antigen-induced arthritis. *Arthritis Rheum*, 2005, 52(8):2559-2566
- 21 Pitt WG, Hussein GA, Staples BJ. Ultrasonic drug delivery- a general review. *Expert Opin Drug Deliv*, 2004, 1(1):37-56
- 22 Suchkova V, Carstensen EL, Francis CW. Ultrasound enhancement of fibrinolysis at frequencies of 27 to 100 kHz. *Ultrasound Med Biol*, 2002, 28(3):377-382
- 23 Hynynen K, McDannold N, Vykhodtseva N, et al. Non-invasive opening of BBB by focused ultrasound. *Acta Neurochir Suppl*, 2003, 86:555-558
- 24 Sheikov N, McDannold N, Vykhodtseva N, et al. Cellular mechanisms of the blood-brain barrier opening induced by ultrasound in presence of microbubbles. *Ultrasound Med Biol*, 2004, 30(7):979-989
- 25 McDannold N, Vykhodtseva N, Hynynen K. Targeted disruption of the blood-brain barrier with focused ultrasound: association with cavitation activity. *Phys Med Biol*, 2006, 51(4):793-807
- 26 Klibanov AL. Microbubble contrast agents: targeted ultrasound imaging and ultrasound-assisted drug-delivery applications. *Invest Radiol*, 2006, 41(3):354-362

(收稿 2006-03-22)