

Research progresses of phase change nano-contrast agent combined with HIFU

WU Xuecui, ZHAO Yun, LIU Chaoqi*

(Medical College of China Three Gorges University, Yichang 443002, China)

[Abstract] With the development of medical technology, precision medicine has become more and more important. As a noninvasive surgical technique, HIFU has been used clinically in both solid tumor and non-tumor therapeutic fields. Being a multifunctional and multimodal contrast agent, phase change nano-contrast agents have been proved to be useful in early diagnosis and treatment of diseases. The phase change nano-contrast agent combined with HIFU can play a synergistic effect, which has favorable impact on the treatment of diseases. The research progresses of phase change nano-contrast agent combined with HIFU were reviewed in this article.

[Key words] Contrast media; High-intensity focused ultrasound ablation; Targeted therapy

DOI: 10.13929/j.1672-8475.201804019

相变纳米造影剂联合 HIFU 应用研究进展

伍学翠, 赵 云, 刘朝奇*

(三峡大学医学院, 湖北 宜昌 443002)

[摘 要] 随着医学技术的发展, 精准医疗逐渐受到重视。HIFU 作为一种无创外科技术, 已在实体肿瘤和非肿瘤治疗领域得到应用。相变纳米造影剂作为一种多功能、多模态造影剂, 已被证实可用于疾病的早期诊断和治疗。相变纳米造影剂可作为 HIFU 的有效增效剂, 二者联合应用可发挥协同作用, 达到更好的治疗效果。本文对相变纳米造影剂联合 HIFU 应用的研究进展进行综述。

[关键词] 造影剂; 高强度聚焦超声消融术; 靶向治疗

[中图分类号] R73; R445.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1672-8475(2018)10-0641-04

HIFU 现已应用于临床治疗多部位良、恶性实体肿瘤与非肿瘤病变, 具有安全性和可行性^[1-2]。与既往治疗肿瘤的方式(如手术、放疗、化疗等)不同, HIFU 是在体外将低能量超声波聚焦于固定靶点, 利用热效应、空化效应等诱导目标区域组织消融坏死, 具有微创、无辐射、患者痛苦小和术后恢复快等优点。但 HIFU 治疗深部组织时存在声能衰减、血液循环带走

的热量影响凝固性坏死的发生、对周围正常组织有损伤等问题^[3], 限制了其在临床的应用。相变纳米造影剂又称纳米液滴, 是一种多功能、多模态分子探针, 具有分子粒径小(100~300 nm, 可自由穿过肿瘤血管内皮间隙到达组织内部)、载药量高、靶向性好、存留时间长及性质稳定等优点, 可用于疾病的早期诊断与治疗, 并有望成为 HIFU 治疗的良好增效剂^[4]。本文对相变纳米造影剂联合 HIFU 的应用研究进展进行综述。

1 相变纳米造影剂联合 HIFU 的增效机制

1.1 增强热效应 HIFU 主要利用热效应治疗肿瘤, 以高温致肿瘤组织热消融坏死, 从而达到治疗目的。Phillips 等^[5]利用十氟丁烷和十二氟戊烷制备的双氟碳纳米液滴在组织模型中观察 HIFU 的治疗效果, 结

[基金项目] 缺血性心脑血管疾病转化医学宜昌市重点实验室(三峡大学)开放基金项目(2016xnxg302、2017KXN06)。

[第一作者] 伍学翠(1990—), 女(土家族), 湖北五峰人, 在读硕士, 医师。研究方向: 超声诊断学。E-mail: 767033125@qq.com

[通信作者] 刘朝奇, 三峡大学医学院, 443002。

E-mail: ctgulc@163.com

[收稿日期] 2018-04-13 **[修回日期]** 2018-05-28

果表明,与单纯 HIFU 治疗组相比,联合普通微泡和纳米液滴组靶点区域的温度分别提高 16.9% 和 37.0%;当普通微泡浓度达 0.05 $\mu\text{l/ml}$ 时,所产生的损伤主要发生在模型表面,而并非靶点中心;将纳米液滴浓度增加至 0.1 $\mu\text{l/ml}$,在模型中的损伤仍位于靶点周围。Moyer 等^[6]制备了双氟碳纳米液滴,通过静脉注射纳米液滴或微泡造影剂后 5、15、95 min,利用 MR 引导 HIFU 照射大鼠肝脏,同时测量治疗期间靶点区域温度变化及消融区域大小,与微泡相比,纳米液滴可显著增强靶区的热传递,缩短 HIFU 的治疗时间,而不增加皮肤灼伤的风险。因此,纳米液滴用于增强 HIFU 热效应更安全,且有较好的增强靶区热沉积,同时可缩短治疗时间。

1.2 增强空化效应 与增强热效应相比,超声治疗利用空化效应诱导肿瘤细胞凋亡已成为研究热点。然而人体自身软组织和血液内能产生的空化核数量有限。作为一种有效的空化核,微泡造影剂可降低诱导生物效应所需的能量^[7]。靶向相变纳米造影剂具有时间特异性和空间特异性,可以到达特定靶组织或靶器官,且长时间在病灶组织内聚积,产生更稳定的空化核,可有效增强 HIFU 的治疗效果。Zhang 等^[8]利用白蛋白包裹十二氟戊烷制成纳米液滴,证明气化的纳米液滴可降低凝胶模型中形成惯性空化(inertial cavitation, IC)的阈值;纳米液滴联合 HIFU 可提供更多的空化核,缩短治疗时间,加速 HIFU 介导的热效应,增强治疗潜能。

1.3 精准定位及显影 未气化前,相变纳米造影剂信噪比低,显影效果差;采用适当方式使其气化,可显著提高反向散射频率的回波信号,增强回声,提高对比增强的效果,使病灶图像更清晰。相变纳米造影剂可用于 HIFU 治疗的准确定位,在提高 HIFU 治疗效果的同时避免损伤周围正常组织^[5-6]。

1.4 协同作用 研究^[9]表明,HIFU 在作为治疗性超声的同时还能增强靶向载药微泡对药物的释放。HIFU 用于治疗时,往往不能将肿瘤细胞完全消融,残余的肿瘤细胞易导致肿瘤复发与转移。Zhang 等^[10]以聚乳酸-羟基乙酸共聚物为材料,制备携载氨甲蝶呤的多功能纳米液滴,通过将单克隆抗体-HLA-G 缀合到纳米液滴表面,联合 HIFU 治疗接种绒毛膜癌的裸鼠,证实纳米液滴介导的氨甲蝶呤具有辅助杀灭 HIFU 治疗后的残余肿瘤细胞、防止复发与转移的效果。相变纳米造影剂与 HIFU 协同,在肿瘤治疗方面具有很高的应用价值。

2 制备增效 HIFU 相变纳米造影剂的材料

目前 HIFU 治疗时主要通过超声或 MRI 进行监测。纳米液滴主要通过声致相变、光致相变、磁致相变的方式激发^[11],在原位发生液-气相转换,同时能在增强 CT、MRI、超声、光声成像等多种影像学检查中显影。Zhao 等^[12]制备带有超顺磁性氧化铁纳米颗粒,发现其在高温作用下可发生相变,具有 MRI 和超声显影的双模态显影功能,在体内外实验中采用近红外光诱导,可达到增强肿瘤消融的效果。相变纳米造影剂的双模态及多模态显影功能可为多种影像学检查技术的交叉融合奠定基础。

研究^[13]表明,全氟碳化合物是用于制备纳米液滴核心的理想化合物。全氟碳化合物属于惰性液体乳剂,具有高分子量、小剂量、无毒的特性,不溶于水,表面张力低,可在循环中稳定存在。不同的全氟碳化合物在体内稳定持续的时间亦不同^[14],故可将其用于在靶部位聚积和载药时持续释放药物。有研究^[15]发现以不同壳膜制备纳米液滴影响其在体内存留的时间。目前多选用白蛋白、脂质和高分子材料作为壳膜材料,但这些材料在使用时需有机溶剂进行溶解,未清洗干净的有机溶剂进入体内会产生生物毒性。壳聚糖(chitosan, CS)是一种天然存在的氨基酸多糖,可被生物体内的溶菌酶降解,具有无毒、生物相容性、生物降解性等特点^[16],是药物递送和基因治疗的良好载体。Yang 等^[17]成功将 CS 衍生物羧甲基己酰基 CS(carboxymethyl hexanoyl chitosan, CHC)与超顺磁性氧化铁纳米粒子相结合,分别用于超声和 MRI 包裹疏水性抗肿瘤药物特异性治疗肿瘤。另有研究者^[18]利用介孔二氧化硅制备纳米液滴壳膜,取得了一定成果。

3 相变纳米造影剂联合 HIFU 的靶向治疗

纳米液滴可用于疾病的早期诊断与治疗。经静脉注射后,纳米液滴主要通过被动靶向和主动靶向聚积至靶区。被动靶向纳米液滴未经修饰处理,目前研究最广泛的为声辐射力法(如超声微泡靶向破坏技术)和微磁靶向(将超顺磁性颗粒连于纳米液滴壳膜表面,用外界磁场作用使纳米液滴聚集至靶区)。主动靶向是于纳米液滴壳膜表面连接分子特异性配体或抗体,与靶器官或组织上的受体结合,达到特异性靶区显影。研究者^[19-20]通过一系列体内外实验证实了相变纳米造影剂的靶区显影效果,选择具有分子量小、低毒性、稳定性好、高度靶向性及低免疫原性配体或抗体是其中的关键^[21]。Marshalek 等^[20]制备载叶酸受体的靶

向性纳米液滴,分别将其与乳腺癌细胞 MDA-MB-231 和 MCF-7 以 1:1 的比例共同温育 1 h, 然后进行超声波处理(9 MHz, 机械指数 1.0 或 1.5), 用于共聚焦显微镜成像, 结果显示, MDA-MB-231 细胞内的靶向性纳米液滴浓度是非靶向性纳米液滴的 45 倍, 细胞内 MCF-7 增加了 7 倍, 表明靶向性纳米液滴具有精准的细胞内成像或治疗性递送效果。

Ashida 等^[22]用载阿霉素的纳米液滴联合脉冲高强度聚焦超声治疗接种大肠癌的小鼠 2 周, 连续观察 30 天, 发现 4 只小鼠中的 3 只无明显肿瘤再生现象, 提示该技术或有可望用于局部治疗晚期肿瘤。Zhang 等^[23]采用携多柔比星(doxorubicin, DOX)的纳米液滴进行体内外实验, 发现在 HIFU 暴露下, 纳米粒子发生液-气相变, 具有同时增强超声和光声成像的功能, 在监测肿瘤治疗的同时可局部释放药物 DOX, 同时实现靶组织的凝固性坏死, 有利于增强局部抗肿瘤效果。用于靶向治疗的肿瘤归巢肽是目前的研究热点, 新型肿瘤靶向肽 iRGD 可特异性靶向肿瘤 $\alpha_v\beta_3$ 阳性细胞。Deng 等^[24]制备联合靶向肽 iRGD 的脂质纳米液滴并携带 DOX, 发现其与 HIFU 联合具有协同抗肿瘤效应。多功能纳米液滴和 HIFU 联合应用具有降低纳米液滴的不良反应和增强疗效的作用, 同时还为局部治疗晚期难治性肿瘤及肿瘤复发和转移^[10]提供了新的方法及思路。

如何安全有效地将药物递送至中枢神经系统是目前研究的热点和难点。由于血脑屏障(blood brain barrier, BBB)的存在, 静脉给药或口服给药后通过 BBB 到达中枢神经系统的药物十分有限, 降低了治疗效果。聚焦超声联合微泡可有效开放 BBB, 起到药物递送作用^[25], 但均会对脑组织造成不同程度损伤^[26]。Cherry 等^[27]制备含脂质壳成分的微泡和以全氟丁烷为核心的纳米液滴, 发现在 HIFU 作用下, BBB 的通透性增加, 与普通微泡相比, 纳米液滴所需的压力阈值更高, 空化阈值更低、更稳定, 提示纳米液滴联合聚焦超声可开放 BBB, 从而将药物有效递送至中枢神经系统。

4 问题与展望

相变纳米造影剂联合 HIFU 用于治疗疾病涉及多学科、多领域, 虽然已经取得了一定研究进展, 但目前对相变纳米造影剂联合 HIFU 的应用仍有许多亟待解决的问题: 相变纳米造影剂制备技术复杂, 工艺不一, 制备材料和方法目前还处于实验研究阶段; HIFU 辐照参数未完全统一, 设置不当会引起组织损伤, 需进

一步优化; 相变纳米造影剂的安全剂量也尚未确定。对于相变纳米造影剂联合 HIFU 的应用还需更进一步的深入研究。

[参考文献]

- [1] Kovatcheva R, Zalete K, Vlahov J, et al. Long-term efficacy of ultrasound-guided high-intensity focused ultrasound treatment of breast fibroadenoma. *J Ther Ultrasound*, 2017, 5:1.
- [2] Hsiao YH, Kuo SJ, Tsai HD, et al. Clinical application of high-intensity focused ultrasound in cancer therapy. *J Cancer*, 2016, 7(3):225-231.
- [3] 陈飞, 马大钊, 邹建中. 高强度聚焦超声增效的方法学研究进展. *中国医学影像技术*, 2016, 32(10):1597-1600.
- [4] Lin CY, Pitt WG. Acoustic droplet vaporization in biology and medicine. *Biomed Res Int*, 2013, 2013:404361.
- [5] Phillips LC, Puett C, Sheeran PS, et al. Erratum: Phase-shift perfluorocarbon agents enhance high intensity focused ultrasound thermal delivery with reduced near-field heating. *J Acoust Soc Am*, 2013, 134(2):1473-1482.
- [6] Moyer LC, Timbie KF, Sheeran PS, et al. High-intensity focused ultrasound ablation enhancement in vivo via phase-shift nanodroplets compared to microbubbles. *J Ther Ultrasound*, 2015, 3:7.
- [7] Isern J, Pessarrodona A, Rodriguez J, et al. Using microbubble sonographic contrast agent to enhance the effect of high intensity focused ultrasound for the treatment of uterine fibroids. *Ultrason Sonochem*, 2015, 27:688-693.
- [8] Zhang P, Porter T. An in vitro study of a phase-shift nanoemulsion: A potential nucleation agent for bubble-enhanced HIFU tumor ablation. *Ultrasound in Med Biol*, 2010, 36(11):1856-1866.
- [9] Han H, Lee H, Kim K, et al. Effect of high intensity focused ultrasound (HIFU) in conjunction with a nanomedicine-microbubble complex for enhanced drug delivery. *J Control Release*, 2017, 266:75-86.
- [10] Zhang X, Zheng Y, Wang Z, et al. Methotrexate-loaded PLGA nanobubbles for ultrasound imaging and synergistic targeted therapy of residual tumor during HIFU ablation. *Biomaterials*, 2014, 35(19):5148-5161.
- [11] 徐金顺, 王志刚, 郑元义. 液气相变型超声分子探针研究进展. *科学通报*, 2016, 61(4-5):426-431.
- [12] Zhao Y, Song W, Wang D, et al. Phase-shifted PFH@PLGA/Fe₃O₄ nanocapsules for MRI/US imaging and photothermal therapy with near-infrared irradiation. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2015, 7(26):14231-14242.
- [13] Diaz-López R, Tsapis N, Fattal E. Liquid perfluorocarbons as contrast agents for ultrasonography and ¹⁹F-MRI. *Pharm Res*, 2010, 27(1):1-16.
- [14] Ishijima A, Tanaka J, Azuma T, et al. The lifetime evaluation

- of vapourised phase-change nano-droplets. *Ultrasonics*, 2016, 69:97-105.
- [15] Rapoport N, Nam KH, Gupta R, et al. Ultrasound-mediated tumor imaging and nanotherapy using drug loaded, block copolymer stabilized perfluorocarbon nanoemulsions. *J Control Release*, 2011, 153(1):4-15.
- [16] Ali A, Ahmed S. A review on chitosan and its nanocomposites in drug delivery. *Int J Biol Macromol*, 2017, 109:273-286.
- [17] Yang PS, Tung FI, Chen HP, et al. A novel bubble-forming material for preparing hydrophobic-agent-loaded bubbles withtheranostic functionality. *Acta Biomater*, 2014, 10 (8): 3762-3774.
- [18] Tarn D, Ashley CE, Xue M, et al. Mesoporous silica nanoparticle nanocarriers: Biofunctionality and biocompatibility. *Acc Chem Res*, 2013, 46(3):792-801.
- [19] Porter TR, Arena C, Sayyed S, et al. Targeted transthoracic acoustic activation of systemically administered nanodroplets to detect myocardial perfusion abnormalities. *Circ Cardiovasc Imaging*, 2016, 9(1):e003770.
- [20] Marshalek JP, Sheeran PS, Ingram P, et al. Intracellular delivery and ultrasonic activation of folate receptor-targeted phase-change contrast agents in breast cancer cells in vitro. *J Control Release*, 2016, 243:69-77.
- [21] Wen Q, Wan S, Liu Z, et al. Ultrasound contrast agents and ultrasound molecular imaging. *J Nanosci Nanotechnol*, 2014, 14 (1):190-209.
- [22] Ashida R, Kawabata K, Maruoka T, et al. New approach for local cancer treatment using pulsed high-intensity focused ultrasound and phase-change nanodroplets. *J Med Ultrason* (2001), 2015, 42(4):457-466.
- [23] Zhang N, Cai X, Gao W, et al. A multifunctional theranostic nanoagent for dual-mode image-guided HIFU/Chemo-synergistic cancer therapy. *Theranostics*, 2016, 6(3):404-417.
- [24] Deng Z, Xiao Y, Pan M, et al. Hyperthermia-triggered drug delivery from iRGD-modified temperature-sensitive liposomes enhances the anti-tumor efficacy using high intensity focused ultrasound. *J Control Release*, 2016, 243:333-341.
- [25] Burgess A, Hynynen K. Microbubble-assisted ultrasound for drug delivery in the brain and central nervous system. *Adv Exp Med Biol*, 2016, 880:293-308.
- [26] 王蓓,周娜,徐秀梅,等. 高强度超声联合微泡开放血脑屏障对大鼠脑组织影响的研究. *新疆医科大学学报*, 2017, 40 (10): 1338-1341.
- [27] Cherry CC, Sheeran PS, Wu SY, et al. Targeted drug delivery with focused ultrasound-induced blood-brain barrier opening using acoustically-activated nanodroplets. *J Control Release*, 2013, 172(3):795-804.

2017 版中国科技期刊引证报告相关数据 ——《中国介入影像与治疗学》

由中国科学技术信息研究所主持的“2016 中国科技论文统计结果发布会”于 2017 年 10 月 31 日在北京国际会议中心举行。《中国介入影像与治疗学》杂志在《2017 版中国科技期刊引证报告》(核心版)的相关数据为:

- 1 文献来源量:175 篇;
- 2 基金论文比:0.40;
- 3 总被引频次:675;
- 4 影响因子:0.505;
- 5 学科扩散指标:10.14;
- 6 学科影响指标:0.76;
- 7 综合评价总分:39.30。