

Research advancements of nanoscale ultrasound contrast agents

ZHANG Xin^{1,2}, HONG Hua^{1*}

(1. Department of Ultrasound, Inner Mongolia Autonomous Region People's Hospital, Hohhot 010017, China; 2. Department of Medical Imaging and Nuclear Medicine, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010110, China)

[Abstract] Ultrasound is one of the most important imaging methods for diagnosis and treatment of diseases. Ultrasonic contrast agent can greatly improve the sensitivity of ultrasound. Compared with micron-scale contrast agents, nanoscale contrast agents can not only overflow the vascular system and make the perivascular tissues visible, but also realize better biocompatibility, easier modification and higher stability. Modifying the surface of nanoscale contrast agents with biomarkers, specifically binding to target tissue through ligand-receptor interactions and releasing loaded drugs and genes to the target site on demand, nanoscale contrast agents may further improve diagnosis and treatment of tumors, inflammation and other diseases at the molecular imaging level. The research advancements of nanoscale ultrasound contrast agents were reviewed in this article.

[Keywords] ultrasonography; contrast media; nanotechnology; molecular imaging

DOI:10.13929/j.issn.1672-8475.2021.02.013

纳米级超声造影剂研究进展

张欣^{1,2}, 红华^{1*}

(1. 内蒙古自治区人民医院超声科, 内蒙古 呼和浩特 010017; 2. 内蒙古医科大学影像医学与核医学系, 内蒙古 呼和浩特 010110)

[摘要] 超声是疾病诊治最重要的手段之一, 造影剂的应用显著增加了超声敏感性。纳米级造影剂不仅能从血管外溢出实现血管周围组织显像, 且生物相容性、易修饰性及稳定性均比微米级造影剂更好。以生物标记物修饰纳米级造影剂表面, 通过配体与受体的相互反应与目标组织特异性结合, 可靶向释放负载药物或基因, 促进分子成像水平诊断及治疗肿瘤、炎症等疾病。本文对纳米级超声造影剂研究进展进行综述。

[关键词] 超声检查; 造影剂; 纳米技术; 分子显像

[中图分类号] R445.1; R981 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1672-8475(2021)02-0118-04

超声具有无创、无电离辐射、费用低、操作方便等优点^[1]。近年来超声造影向特异性超声分子成像发展。超声分子成像以靶向超声造影剂为探针, 交叉融合超声医学与分子生物学等多学科, 以在分子水平无创显示炎症、血栓及肿瘤血管等, 且可进行靶向监测及治疗^[2]。微米级靶向超声造影剂为性能优良的血池显

像剂, 但仅能进行血管内显像, 且稳定性及负载能力均欠佳^[3]。纳米级造影剂能克服微米级造影剂的不足, 以其独特的优势成为目前研究热点。本文对纳米级医用超声造影剂研究进展进行综述。

1 纳米级超声造影剂分类及特点

1.1 纳米微泡及纳米液滴 纳米微泡粒径约 100~

[基金项目] 内蒙古自治区科技计划项目(2019GG101)。

[第一作者] 张欣(1992—), 女, 内蒙古呼和浩特人, 在读硕士, 医师。研究方向: 腹部、浅表器官介入超声。E-mail: 1445067827@qq.com

[通信作者] 红华, 内蒙古自治区人民医院超声科, 010017。E-mail: 6622306hong@163.com

[收稿日期] 2020-07-03 **[修回日期]** 2021-01-05

500 nm, 核心为脂质、固体或气体, 壳由脂质或聚合物构成^[4]。纳米微泡聚集于组织表面, 产生较强的背向及反向散射性能, 进而被超声探出。研究^[5-6]表明, 纳米微泡能通过主动靶向及滞留效应到达瘤体, 为运输药物基因的有效方法。

纳米液滴由磷脂单层包裹液态全氟碳核心组成^[4], 生理条件下会蒸发为微泡。RAPOPORT 等^[7]制备纳米液滴, 以全氟戊烷为核心、高分子材料为膜, 初入体内时温度较低, 全氟戊烷呈液态, 此时液滴体积小, 较易携带药物穿过肿瘤内皮间隙进入肿瘤内部; 而后全氟戊烷随温度上升或在外力作用下发生气化, 纳米液滴转变为纳米微泡并相互融合, 增强组织显影, 超声空化效应支持负载于纳米液滴的药物释放。纳米液滴可包裹低水溶性药物直达靶点, 延缓药物降解并减少毒副作用。超声不再作用或脉冲极短时, 微泡能在肿瘤组织中再浓缩并重新组成纳米液滴, 停止释放药物。尽管纳米液滴寿命较短, 控制滴-泡转化有一定困难, 但其作为运输靶向药物和基因的造影剂具有巨大潜力^[8]。

1.2 脂质体 脂质体是具有极性磷脂双层膜的纳米颗粒, 脂质双层或水核内有气体核心, 具有回声性。脂质体粒径可 <100 nm, 能穿透细胞内皮间隙, 半衰期可长达数日^[9]。其中磷脂具有两亲性, 脂质体能携带小分子亲脂药物和亲水药物以及生物大分子, 进而用于药物及基因运输。双分子层结构具有更好的抗压性, 能显著增强显影效果。脂质体具有良好的可塑性, 可通过改变脂质比例而制备不同大小的微泡^[10]。脂质体表面可为不同靶向基团修饰, 能选择性聚集于目标组织。脂质体可提高药物稳定性和生物利用度, 减少毒副作用, 且生物相容性较好^[11]。

1.3 纳米颗粒 有机纳米颗粒通常由脂质、聚合物、蛋白质及多糖等成分组成。含铁元素、金元素、硅元素等的无机纳米颗粒可通过自我组装与降解调节其大小^[12], 并能在体内安全代谢; 其表面积与体积之比较大, 其表面可最大限度负载目标生物分子, 同时增加纳米颗粒与病变组织的接触面积及时间, 减少网状内皮系统摄取, 为理想的运载体^[13]。纳米颗粒可靶向目标组织, 并与多种药物融合, 成为新兴的诊疗性靶向超声造影剂^[14]。

2 纳米级超声造影剂用于分子影像学的优势

超声分子影像学技术将超声技术与靶向超声造影剂相结合, 可于分子与细胞学水平实现实时动态监测与显像。纳米级超声造影剂以其合理的药代动力学、

易修饰性、高度靶向性, 克服血管、间质生物屏障的能力以及对生物体无毒副作用等优势而显著促进了靶向分子成像技术的发展。

2.1 滞留效应 相比健康组织, 肿瘤与炎症部位血管内皮细胞间隙更宽, 淋巴引流不畅和静脉回流缓慢, 导致载药纳米级造影剂在血管外间隙滞留、聚集, 进而于肿瘤及炎症部位周围释放药物^[15]。

纳米级造影剂粒径一般大于肾小球滤过膜孔隙, 可逃脱肾脏滤过作用, 但无法穿透正常血管的紧密内皮细胞连接, 故其在血浆中浓度增加, 半衰期更长, 可选择性渗入肿瘤组织。随着时间推移, 肿瘤中纳米级药物浓度高于血浆浓度数倍^[16]。通过滞留效应, 纳米级造影剂可延长抗血管再生药物及化学治疗药物在肿瘤中的作用时间, 并增加肿瘤对于可溶性差的小分子药物的摄取。

2.2 易修饰性、高度靶向性 纳米级造影剂表面有生物标记物, 如天然配体、抗体、适配体和肽, 其主要靶向配体为抗体^[12]。纳米级造影剂通过配体与受体的相互作用而与靶向组织结合, 并被组织细胞内化; 而糖蛋白外排泵不能排出通过受体-配体结合介导的外来物, 故靶向纳米颗粒可减少多重药物抵抗。

HU 等^[17]合成能够靶向整合素 $\alpha v \beta 3$ ($\alpha v \beta 3$ -integrin) 的介孔硅纳米颗粒, 并检测其体内外 MRI、荧光成像效果, 发现介孔硅纳米颗粒在过度表达整合素 $\alpha v \beta 3$ 的移植瘤模型中的信号较非靶向组增强 2.3 倍, 且稳定性及生物相容性均良好。FAN 等^[18]以纳米微泡装载靶向前列腺特异性膜抗原的单克隆抗体, 成功实现前列腺癌小鼠移植瘤模型靶向显影, 且 CEUS 峰值强度与非靶向纳米微泡比较明显增加。

3 纳米级造影剂用于疾病诊治

3.1 诊断 早期诊断对于肿瘤及其他疾病均至关重要。利用超声分子成像技术, 能在病变组织发生明显解剖学改变之前进行早期诊断及评估疗效。靶向超声造影剂对于评估肿瘤血管生成、评价炎症范围及程度、评价动脉粥样硬化与心肌梗死、缺血等均具有重要价值^[19]。DEMOS 等^[20]成功制备了与抗细胞间黏附分子-1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)、纤维蛋白原抗体结合的脂质体, 并能附着于动脉粥样硬化血栓和纤维成分, 增强早期动脉粥样硬化斑块显影。

3.2 声孔效应 近年来, 纳米微泡不仅作为超声造影剂监测目标组织器官超声显像情况, 且能通过声孔效应实现运输药物目的。低声功率下 [即机械指数 (mechanical index, MI) ≤ 0.1], 微泡发生线性振动,

保持收缩与膨胀大小一致;中等声功率下($0.1 < MI < 0.5$)微泡发生非线性振动,膨胀幅度大于收缩幅度;而在高声功率下($MI \geq 0.5$),微泡发生激烈振动、膨胀甚至破裂(空化效应)^[21],返回信号包含多个回波,称为谐波。病灶内的超声造影剂能在空化作用产生的谐波频率下共振,而相邻组织不会产生谐振或谐振很少,由此显著提高信噪比^[22];同时,细胞膜被共振产生的微流、射流和激波打孔,且振动的微泡通过收缩或膨胀的方式拉膜或推膜,并打开紧密连接,导致细胞膜上形成孔隙,内皮细胞连接打开(声孔效应),从而增加血管通透性,促进药物外渗。

声孔效应同样能增加血脑屏障的通透性,进而用于中枢神经系统药物运输;与微泡联合,可明显降低打开血脑屏障所需的超声强度,进而实施经颅超声治疗^[23]。现已证明可在超声介导下将大量抗肿瘤分子和药物有效运输至大脑^[24-25]。LIU 等^[26]构建了微泡运输的硫纳米颗粒系统,微泡在超声作用下破坏,进而释放纳米颗粒,同时打开血脑屏障,纳米颗粒迅速积累于脑实质中,可有效抑制神经元凋亡、炎症反应,并保护神经细胞,从而治疗阿尔茨海默病。

3.3 治疗性递送 微米级微泡可携带纳米颗粒而运输药物。将药物装入微泡可阻止药物降解,增加其在体稳定性,且减少正常组织内的药物聚集,降低药物毒副作用。超声空化作用下,较大的微泡发生震荡、变形进而破裂,释放纳米颗粒和药物。通过声孔效应可增加药物到达特定部位的剂量,从而发挥生物学效应,此过程称为超声介导的靶向微泡破坏(ultrasound-mediated nanobubble destruction, UTMD)。研究^[27]证明 UTMD 可增加微泡负载的药物基因在靶向组织的释放。ZHANG 等^[28]观察负载纤维母细胞生长因子(acid fibroblast growth factor, aFGF)-肝素的微泡在 UTMD 作用下对糖尿病心肌病的预防作用,发现与非 UTMD 组相比,UTMD 组纳米颗粒荧光左心室显像强度明显增强,提示左心室功能明显改善。

化学治疗癌症最主要的挑战是将药物运输到特定组织。纳米级造影剂能负载药物并在目标组织中选择性聚集,提高选择性探测与治疗肿瘤的能力。负载小干扰 RNA 的纳米级造影剂能够直接将其运输到细胞内,为小干扰 RNA 的 DNA 纳米技术的应用奠定了基础,可由此调控基因表达,于基因层面治疗肿瘤及其他疾病。

4 主要发展方向与前景

纳米级造影剂能从根本上促进临床诊断、治疗与监测疾病,将极大促进超声医学的发展,应用前景广

阔;但其合成过程较为繁琐,产品分离过程仍存在一定困难。未来应致力于制备靶向性更强、生物相容性更好的纳米级超声造影剂,以达到更好的诊治效果^[29];进一步改进超声技术,以三维成像观察靶向治疗病变的效果。

[参考文献]

- [1] 许丽,李凤华. 纳米靶向超声造影剂的研究进展[J]. 中国医学影像技术, 2015, 31(12):1931-1934.
- [2] 王志刚. 超声分子影像学研究进展[J]. 中国医学影像技术, 2009, 25(6):921-924.
- [3] MA J, XU C S, GAO F, et al. Diagnostic and therapeutic research on ultrasound microbubble/nanobubble contrast agents (Review)[J]. Mol Med Rep, 2015, 12(3):4022-4028.
- [4] QIAN X, WANG Y, XU Y, et al. Active targeting nano-scale bubbles enhanced ultrasound cavitation chemotherapy in Y1 receptor-overexpressed breast cancer[J]. J Mater Chem B, 2020, 8(31):6837-6844.
- [5] WU M, ZHAO H, GUO L, et al. Ultrasound-mediated nanobubble destruction (UMND) facilitates the delivery of A10-3.2 aptamer targeted and siRNA-loaded cationic nanobubbles for therapy of prostate cancer[J]. Drug Deliv, 2018, 25(1):226-240.
- [6] MARXER E E, BRUSSLER J, BECKER A, et al. Development and characterization of new nanoscaled ultrasound active lipid dispersions as contrast agents[J]. Eur J Pharm Biopharm, 2011, 77(3):430-437.
- [7] RAPPORT N Y, EFROS A L, CHRISTENSEN D A, et al. Microbubble generation in phase-shift nanoemulsions used as anticancer drug carriers[J]. Bubble Sci Eng Technol, 2009, 1(1-2):31-39.
- [8] 汪朝霞,王志刚. 超声微泡造影剂携基因或药物治疗研究[J]. 中国介入影像与治疗学, 2006, 3(4):306-308.
- [9] GUO P, YANG J, JIA D, et al. ICAM-1-targeted, Lcn2 siRNA-encapsulating liposomes are potent anti-angiogenic agents for triple negative breast cancer[J]. Theranostics, 2016, 6(1):1-13.
- [10] ENDO-TAKAHASHI Y, NEGISHI Y, SUZUKI R, et al. MicroRNA imaging in combination with diagnostic ultrasound and bubble liposomes for microRNA delivery[J]. Methods Mol Biol, 2016, 1372:209-213.
- [11] THOMAS E, MENON J U, OWEN J, et al. Ultrasound-mediated cavitation enhances the delivery of an EGFR-targeting liposomal formulation designed for chemo-radionuclide therapy [J]. Theranostics, 2019, 9(19):5595-5609.
- [12] PARK S M, AALIPOUR A, VERMESH O, et al. Towards clinically translatable in vivo nanodiagnostics [J]. Nat Rev Mater, 2017, 2(5):17014.
- [13] LI X Y, XIA S J, ZHOU W, et al. Targeted Fe-doped silica nanoparticles as a novel ultrasound-magnetic resonance dual-

- mode imaging contrast agent for HER2-positive breast cancer [J]. *Int J Nanomedicine*, 2019,5(14):2397-2413.
- [14] CHEN F, HONG H, ZHANG Y M, et al. In vivo tumor targeting and image-guided drug delivery with antibody-conjugated, radiolabeled mesoporous silica nanoparticles [J]. *Acs Nano*, 2013,7(10):9027-9039.
- [15] GUVENER N, APPOLD L, LORENZI F D, et al. Recent advances in ultrasound-based diagnosis and therapy with micro- and nanometer-sized formulations[J]. *Methods*, 2017,130(5):4-13.
- [16] USMANI A, MISHRA A, AHMAD M. Nanomedicines: A theranostic approach for hepatocellular carcinoma[J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2018,46(4):680-690.
- [17] HU H, ARENA F, GIANOLIO E, et al. Mesoporous silica nanoparticles functionalized with fluorescent and MRI reporters for the visualization of murine tumors overexpressing $\alpha\upsilon\beta$ receptors[J]. *Nanoscale*, 2016,8(13):7094-7104.
- [18] FAN X, WANG L, GUO Y, et al. Ultrasonic nanobubbles carrying anti-PSMA nanobody: Construction and application in prostate cancer-targeted imaging [J]. *PLoS One*, 2015, 10(6):e0127419.
- [19] 夏红梅, 高云华. 超声与微泡在血栓性疾病诊断与治疗中的作用 [J]. *中国医学影像技术*, 2007,23(2):307-309.
- [20] DEMOS S M, ALKAN-ONYUKSEL H, KANE B J, et al. In vivo targeting of acoustically reflective liposomes for intravascular and transvascular ultrasonic enhancement [J]. *J Am Coll Cardiol*, 1999,33(3):867-875.
- [21] 曹军英, 金壮. 超声造影应用研究进展 [J]. *临床军医杂志*, 2017, 45(5):441-448.
- [22] de LEON A, PERERA R, NITTAYACHARN P, et al. Ultrasound contrast agents and delivery systems in cancer detection and therapy[J]. *Adv Cancer Res*, 2018,139:57-84.
- [23] BECCARIA K, SABBAGH A, GROOT J D, et al. Blood-brain barrier opening with low intensity pulsed ultrasound for immune modulation and immune therapeutic delivery to CNS tumors[J]. *J Neurooncol*, 2020. doi: 10.1007/s11060-020-03425-8.
- [24] KEANEY J, CAMPBELL M. The dynamic blood-brain barrier [J]. *FEBS J*, 2015,282(21):4067-79.
- [25] KOVACS Z I, KIM S, JIKARIA N, et al. Disrupting the blood-brain barrier by focused ultrasound induces sterile inflammation [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017,114(1):E75-E84.
- [26] LIU Y, GONG Y, XIE W, et al. Microbubbles in combination with focused ultrasound for the delivery of quercetin-modified sulfur nanoparticles through the blood brain barrier into the brain parenchyma and relief of endoplasmic reticulum stress to treat Alzheimer's disease [J]. *Nanoscale*, 2020, 12(11):6498-6511.
- [27] HU C, JIANG D, WU M, et al. Ultrasound-mediated nanobubble destruction (UMND) facilitates the delivery of VEGFR2-targeted CD-TK-loaded cationic nanobubbles in the treatment of bladder cancer[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2020, 146(6):1415-1426.
- [28] ZHANG M, YU W Z, SHEN X T, et al. Advanced interfere treatment of diabetic cardiomyopathy rats by aFGF-loaded heparin-modified microbubbles and UTMD technique [J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2016,30(3):247-261.
- [29] KOSE G, DARGUZYTE M, KIESSLING F. Molecular ultrasound imaging[J]. *Nanomaterials*, 2020,10(10):1935.

关键词

关键词又称主题词,是位于摘要之后,在论文中起关键作用的、最能说明问题的、代表论文特征的名词或词组。它通常来自于题目,也可以从论文中挑选。一般每篇论文要求2~5个关键词。每个关键词都可以作为检索论文的信息,若选择不当,会影响他人的检索效果。医学上现在主要使用美国《医学索引》(Index Medicus)的医学主题词表(Medical Subject Headings, MeSH)最新版作为规范,亦可参考中国医学科学院情报研究所翻译地英汉对照《医学主题词注释字顺表》。非主题词表的关键词为自由词,只有必要时,才可排列于最后。有些新词也可选用几个直接相关的主题词进行搭配。