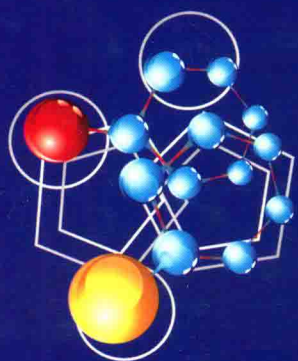
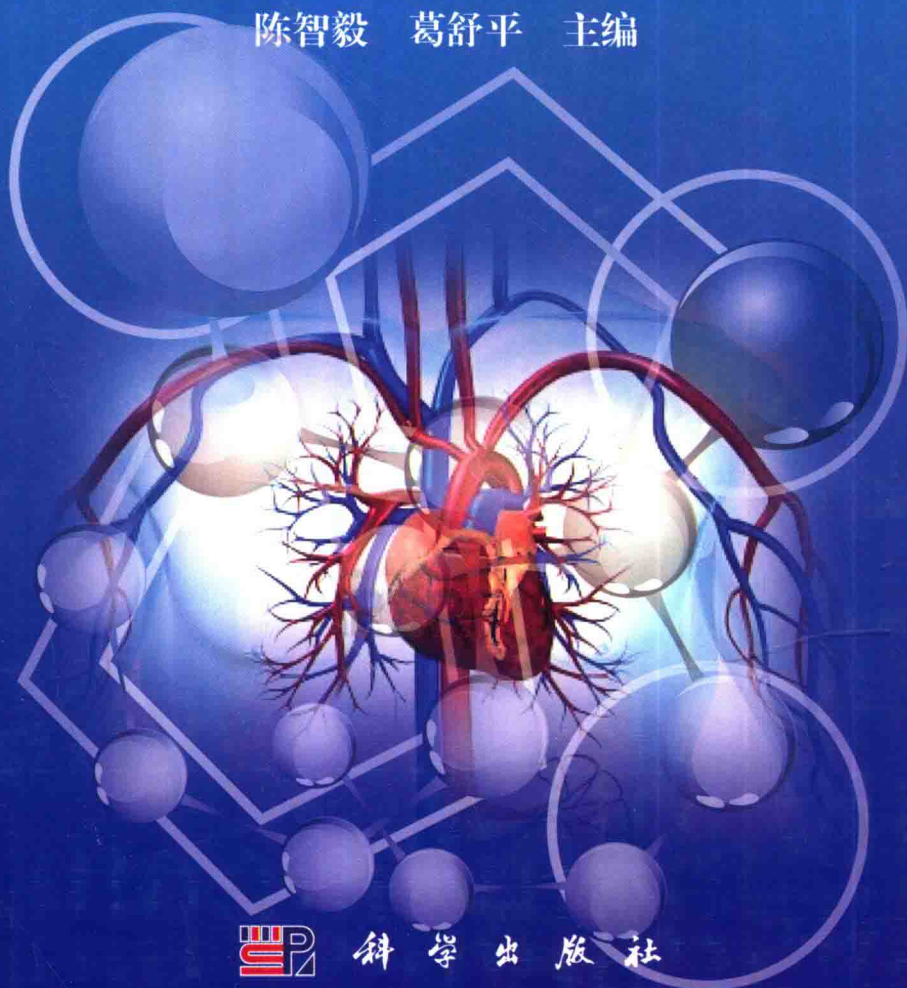


广州市科学技术协会
广州市南山自然科学学术交流基金会 资助出版
广州市合力科普基金会



心血管 超声分子影像学

陈智毅 葛舒平 主编



科学出版社

心血管超声分子影像学

陈智毅 葛舒平 主编

科学出版社

北 京

内 容 简 介

本书从超声分子影像学的基本概念及其在心血管疾病中的应用等方面,对心血管超声分子影像的研究现状进行全面回顾和阐述。全书分五章,系统地讲述了心血管超声分子影像学的基本概念与发展现状、相关分子生物学基础及心血管靶向超声分子成像,然后介绍超声靶向微泡破坏递送技术介导基因或药物治疗在心血管系统中的应用,力求全面、系统地反映国内外该领域的最新研究成果和进展。

本书可供医学影像学专业医师、研究生、生命科学领域研究人员及相关领域的技术人员参考使用。

图书在版编目(CIP)数据

心血管超声分子影像学 / 陈智毅, 葛舒平主编. —北京: 科学出版社, 2014. 12

ISBN 978-7-03-042583-6

I. 心… II. ①陈… ②葛… III. 心脏血管疾病—超声波诊断
IV. R540.4

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2014)第 270542 号

责任编辑: 戚东桂 / 责任校对: 张怡君

责任印制: 肖 兴 / 封面设计: 范璧合

版权所有, 违者必究。未经本社许可, 数字图书馆不得使用

科学出版社 出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

中国科学院印刷厂 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2014 年 12 月第 一 版 开本: 787×1092 1/16

2014 年 12 月第一次印刷 印张: 18 3/4

字数: 440 000

定价: 128.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

《心血管超声分子影像学》编写人员

主 编	陈智毅	葛舒平	
副 主 编	赵应征	王毅翔	柳建华 费洪文 田新桥
编 者	(以姓氏汉语拼音为序)		
	蔡鹏程	华中科技大学同济医学院附属协和医院	
	曹 众	中山大学工学院	
	陈智毅	广州医科大学附属第三医院	
	丁尚伟	广州医科大学附属第三医院	
	费洪文	广东省人民医院	
	葛舒平	美国费城 St. Christopher's Hospital for Children	
	何振辉	佛山大学医学院	
	李冰城	广州医科大学附属第三医院	
	梁 琨	广州医科大学附属第三医院	
	梁惠颖	广州医科大学附属第三医院	
	廖剑艺	广州医科大学附属第三医院	
	廖阳英	广州医科大学附属第三医院	
	林 雁	广州医科大学附属第三医院	
	刘金炳	广州医科大学附属第三医院	
	刘丽文	第四军医大学西京医院	
	柳建华	广州市第一人民医院	
	吕英豪	广州市越秀区儿童医院	
	邱日想	广州医科大学附属第三医院	
	田新桥	河南省人民医院	
	王毅翔	香港中文大学威尔斯亲王医院	
	杨 凤	广州医科大学附属第三医院	
	杨毓雯	广州市第一人民医院	
	赵应征	温州医科大学	
	周秋兰	广州医科大学附属第三医院	
	朱石秀	广州医科大学附属第三医院	
编写秘书	林 雁	杨 凤	

序

进入21世纪以来,心血管疾病已成为严重威胁我国人民健康的第一杀手,每年有300余万人死于心血管疾病,死亡人数相当于每周发生一次汶川大地震,每10秒死亡1人!为了显著降低心血管病患者的死亡率和病残率,加强心血管疾病的早期预防、早期诊断和早期治疗具有重要意义。在已有的心血管疾病诊断技术中,超声心动图检查因其准确、简便、安全、价廉等优点而获得广大患者的青睐,已成为临床应用最为广泛的影像学技术。然而,传统的超声心动图技术只能观察心脏和血管的形态和功能,为了深入了解心血管疾病的发生机制和进行有效干预,对于心肌和血管细胞和分子水平成像的临床需求日益增多。

近年来,由于分子成像技术的迅速发展,超声分子影像学在心血管疾病的诊断和治疗中逐渐崭露头角,这一技术不仅可从细胞和分子水平定位病灶和随访病变发展,而且可利用超声靶向微泡破坏技术定点释放基因或药物,实现病变的靶向治疗,进而达到事半功倍、诊治双效的目的。作为一门新兴的交叉学科,超声分子影像学具有在活体的分子水平上定量成像的优势,从而为疾病的早期诊断和治疗效果的评价提供影像学依据。此外,超声分子影像学的临床需求也为多功能超声微泡制备工艺和高分辨率成像技术的进步注入了强大的动力,从而促进了高分子材料包载药物或基因技术的发展,加速了高分辨率超声成像仪器的研发和应用。随着新型多功能超声微泡的不断涌现和超声靶向微泡破坏技术的日臻完善,超声微泡介导的基因转染和药物释放技术已在疾病治疗中展示了安全、有效的优势,为病变的靶向治疗提供了崭新的方法,临床应用指日可待,从而使心血管疾病的诊断和治疗进入“柳暗花明又一村”的新时代。

“沉舟侧畔千帆过,病树前头万木春”。当前,临床医学正处于从循证医学向个体化医学转变的新阶段,作为传统影像学技术的继承和创新,超声分子影像技术的兴起必将给现代医学带来新的变革。以疾病个性化原则为导向的无创性超声分子影像技术,借助于疾病相关的特异性分子标记物,可对疾病进行更特异的诊断和治疗,这种能力将有助于推动个性化医学的蓬勃发展。

该书将国内外超声分子影像技术的最新进展和作者本人的研究成果相结合,对各种超声分子影像技术的原理、方法、应用、限制和前景进行了系统

阐述和比较,重点介绍了超声分子影像技术在心血管疾病诊疗方面的临床应用现状,针对尚未解决的技术瓶颈提出了今后该技术发展的方向。全书内容系统翔实、图文并茂、文字精练、可读性强,可作为超声医学影像学专业医师、研究生和本科生及相关领域科研和技术人员的参考书,希望该书的出版对于我国超声分子影像学的发展能够起到积极的促进作用。有感于此,特予作序。

中国工程院院士

中华医学会超声医学分会主任委员

张 运

2014 年 10 月于济南

前 言

随着医学影像技术的不断完善及靶向超声造影剂的出现,超声成像不再局限于微循环血流灌注的传统显像模式,已逐渐趋向于细胞、分子水平实现微观结构和功能显像,为超声诊断和治疗的临床应用带来了巨大突破。超声造影剂不仅可用于疾病诊断,还可作为一种基因或药物载体,实现心血管疾病的靶向治疗,减少全身用药的剂量和不良反应。

随着超声造影剂的不断改良,超声分子影像技术在心血管疾病诊疗中的应用日益广泛,逐渐成为研究心血管疾病的重要手段。大量研究表明,超声分子影像在炎症、血管新生、动脉粥样硬化、血栓形成、心肌缺血和梗死以及心脏移植排斥反应等方面均具有重要应用价值。同时,该技术为无创性的心血管疾病药物及基因治疗提供了一种有效途径,未来将在心血管疾病治疗中占据重要地位。本书编者正是基于以上原因,对目前超声分子影像技术在心血管疾病诊疗中的基础应用研究进行了归纳、总结。

本书的作者总结了近年来国内外心血管超声分子影像学及相关研究的最新进展,结合自身经验,合力编写本书。全书共分五章,系统讲述了超声分子影像学的概念和发展现状、超声分子影像学的分子生物学基础和细胞生物学基础及超声分子影像在心血管疾病诊断和治疗中的应用。全书内容的编排突出理论性、科学性和实践性,给读者提供了有关心血管超声分子影像学研究的最新进展信息。由于水平有限、编撰时间紧凑,书中难免出现疏漏,在此恳请广大读者批评指正。

陈智毅 葛舒平

二〇一四年九月

目 录

第一章 概述	(1)
第一节 心血管分子影像技术及应用	(2)
第二节 心血管超声分子成像	(15)
第三节 心血管超声分子影像学的发展现状及前景	(29)
第二章 心血管超声分子影像学的学科基础	(42)
第一节 心血管超声分子影像学的分子生物学基础	(43)
第二节 心血管超声分子影像学的细胞生物学基础	(65)
第三章 心血管疾病的超声分子影像	(86)
第一节 概述	(87)
第二节 心血管超声分子成像的技术基础	(89)
第三节 心肌疾病的超声分子成像	(98)
第四节 血管新生和干细胞成像	(106)
第五节 动脉粥样硬化病变超声分子成像	(117)
第六节 血栓超声分子成像	(126)
第七节 血管内超声分子影像	(132)
第四章 超声及超声微泡介导基因在心血管疾病治疗中的应用	(148)
第一节 概述	(149)
第二节 应用于基因治疗的超声造影剂	(152)
第三节 超声及超声微泡介导基因靶向递送与治疗的机制	(168)
第四节 超声联合微泡介导心血管疾病基因治疗的方法学研究	(179)
第五节 超声及超声微泡介导基因治疗心血管疾病的研究进展	(204)
第六节 超声联合超声微泡介导干细胞修复心肌和大血管的研究	(219)
第七节 展望与挑战	(225)
第五章 超声介导药物靶向递送系统在心血管疾病中的应用	(240)
第一节 概述	(241)
第二节 载药超声微泡	(245)
第三节 超声介导药物治疗心血管疾病的研究进展	(252)
第四节 展望	(275)
缩略词表	(286)

第一章 概 述

简 介

随着经济的飞速发展和人民生活水平的提高,心血管疾病对人类生命健康的影响越来越广泛。近年来,随着医学研究的不断深入,重大疾病的早期诊断和早期治疗已成为共识。作为一种重要的成像手段,超声成像在心血管疾病诊断方面优点突出,特别是近年来迅速发展的超声分子影像技术,在心血管疾病早期诊断中具有重要的应用价值。

超声分子影像技术是指靶向超声造影剂通过血液循环特异性地聚集于靶器官或靶组织,通过超声造影技术观察靶区在细胞及亚细胞水平成像,具有时空分辨率高、无创、无辐射、成本低和实时成像等优点,可反映病变区域的器官或组织在分子水平的变化,已成为心血管疾病分子影像的重要组成部分。

本章首先简要介绍分子影像学的概念、常见分子影像技术及其在心血管疾病中的应用,然后介绍超声分子影像学的概念及其发展历程、超声分子影像技术和超声分子靶向治疗的原理、靶向超声造影剂,最后讲述心血管超声分子影像学的发展现状及前景。

第一节 心血管分子影像技术及应用

目前,心血管疾病(cardiovascular disease,CVD)对人类健康的危害日益加重。据世界卫生组织《2008 年疾病报告》显示,全球每年心血管疾病引起的死亡人数高达 1.73 亿,约占全球总死亡人数的 30%,超过了肿瘤、糖尿病和呼吸系统疾病(图 1-1-1)。专家预计至 2030 年,由缺血性心脏病和脑血管疾病等心脑血管疾病导致的死亡人数将显著升高,达到 2.36 亿,约比 2004 年高出 37%,且死亡人群中将有 80% 的患者来自中低收入国家。由此可见,心血管疾病已成为全球卫生资源和保健的沉重负担。

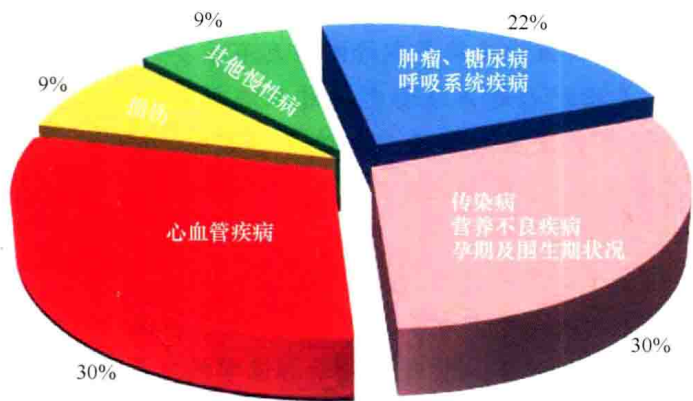


图 1-1-1 心血管疾病是全球人口死亡的首要原因

据 2008 年世界卫生组织对全球死亡原因的调查分析显示,全球每年死于心血管疾病(包括脑血管疾病)的人数高达 1.73 亿,约占全球总死亡人数的 30%。引自 Christi D,Erika SF,Lai HW,et al. 2011.

近年,心血管疾病在诊断、治疗和预防方面已经取得较大进步,但仍缺乏准确可靠的检测方法,这严重制约了心血管疾病的早期发现、诊断和治疗。目前,主要的解决方案是将心血管疾病的中晚期临床诊断和住院治疗向亚临床的早期诊断和预防方向进行战略性转移。作为新一代医学影像学,分子影像学在心血管疾病的早期诊断和治疗评估中有重要的应用价值,在这次战略性转移过程中担任关键角色。

分子影像技术不仅在心血管疾病的早期诊断中起重要作用,而且在开发新型治疗方案方面也显得尤为重要。在过去几十年里,分子生物学技术的迅猛发展促进了心血管疾病分子水平的研究进展,使研究者在基因转录和翻译水平上更深入地认识心血管疾病的发病机制,为心血管疾病的早期诊断和治疗提供良好的实验方案。然而,只有少数方案能通过严格的临床前和临床试验验证并应用于临床治疗,而且这些方案从理论研究转变到实际应用的过程非常漫长,原因之一是缺乏可在分子水平直接探测疾病表现的工具。分子影像学具有无创、实时、高特异性、高敏感性、高分辨率等优点,有望使药物研发的模式发生根本改变,在药物研发中的应用可大大缩短药物研发周期、降低成本,提高经济效益,有着广阔的应用前景。

一、分子影像学概念

分子影像学是指在活体状态下,应用影像学方法对人或动物体内的细胞和分子水平的

生物学过程进行成像、定性和定量研究的一门学科。分子影像学最早见于核医学研究,其将放射性核素标记的成像探针注入活体内然后进行成像,以评估不同组织器官的功能。自1999年 Weissleder 等首次提出分子影像学的概念以来,其已经取得了巨大进步。

传统的影像诊断技术如X线和计算机X线断层扫描(computed tomography, CT),主要是对解剖结构进行成像,而分子影像技术则在分子水平探测早期病变,因此,其在心血管疾病的早期检测、严重程度划分、进展预测、疗效监测和预后评估中具有重要价值。这一新颖的影像技术真正地使心血管疾病个性化治疗成为可能,因而成为众多科研工作者青睐的研究对象。

分子成像系统主要包括特异性成像靶点、高特异性和高亲和力成像探针(示踪剂),以及高灵敏度和高分辨率信号检测器。成像探针主要包括:①信号组件,即可产生成像信号且能被成像设备检测的造影剂或标记物,如核素、荧光素、超顺磁氧化铁纳米粒(superparamagnetic iron oxide, SPIO)、微泡等;②亲和组件,即与靶点特异性结合的部分,如抗体、多肽等;③连接物,即将信号组件和亲和组件连接的物质,如高分子聚合物、脂类、无机物等。

分子成像首先需要选择分子靶点,并针对该靶点寻找具有高特异性和高敏感性的成像探针。分子靶点可以是核酸、蛋白质和糖类等,其中蛋白质最常用,因为其在细胞内含量丰富,有利于提高成像敏感度。靶点确定后,需要选择合适的分子影像技术如放射性核素成像(radionuclide imaging, RI)、磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)、超声成像(ultrasound imaging, US)、光学成像(optical imaging, OI)、CT等,从而对注入生物体内的成像探针进行可视化和定量化成像。

在过去的二十余年里,针对小动物成像的新技术和新仪器得到迅速发展,包括荧光成像(fluorescence imaging, FI)、生物发光成像(bioluminescence imaging, BLI)、US、微型正电子发射断层扫描(micro positron emission tomography, microPET)、微型单光子发射计算机断层扫描(micro single photon emission computed tomography, microSPECT)、小动物磁共振成像(microMRI)和微型CT(microCT)(图1-1-2)。与此同时,研究者们也针对不同靶点的特异性成像探针进行不断研究和创新。这些成像设备与技术将促进分子影像技术早日在心血管疾病动物模型上得到验证,为分子影像技术的临床转化研究奠定基础。



图 1-1-2 常见的小动物分子成像设备

引自 Chen IY, Wu JC. 2011.

二、分子影像技术的分类

(一) 光学成像

1. 荧光成像

荧光成像(FI)是通过与靶点相互作用的外源性荧光探针(如有机染料)或直接对内源性表达的荧光蛋白进行成像的方法。FI是使用特定波长的入射光激发荧光探针或蛋白质使之产生另一个波长的荧光信号,并利用二维平面成像(荧光反射成像)和荧光断层成像系统的CCD摄像机(charge-coupled device camera)探测信号。

FI具有无创、成本低、灵敏度高等优点,是心血管疾病动物模型研究的重要工具,在心血管疾病分子机制研究、新药研发和疗效评估等方面也展现出明显优势。由于光穿透力弱,且在组织内的传输过程易受吸收和散射的影响,难以对体内深部组织进行成像,因此限制了FI在临床的推广应用。

探针的开发是目前荧光分子成像领域的研究重点。荧光蛋白和有机荧光染料是常见的荧光分子成像探针,二者存在光学稳定性差、斯托克斯位移小、发射峰宽等缺点,因而在应用上受到一定限制。近红外荧光(near-infrared fluorescence, NIRF)探针、量子点(quantum dot, QD)及上转换纳米材料因其自身独特的优势而受到研究者的青睐。NIRF探针发射波长为650~900nm,具有组织吸收率低、穿透力相对较强、信噪比较高等优点,在荧光成像中具有明显优势。QD是一种半导体荧光纳米粒子,具有优良的光学性能,如荧光强度大、光稳定性好、吸收峰范围很宽、发射波长窄而对称、斯托克斯位移较大、量子产率较高及抗光漂白性很强。目前,基于QD的无创荧光成像技术在小动物心血管疾病模型中已被多次验证,如对心肌梗死中炎症反应进行成像,或对动脉粥样硬化斑块中的巨噬细胞进行成像。但由于含有镉等重金属的QD具有一定的细胞毒性,因此在临床应用前必须检测其细胞毒性。稀土上转换荧光材料是一类利用近红外光激发而短波长发射的荧光材料,该类材料具有光稳定性好、无光漂白现象、发射谱带窄、反斯托克斯位移大和高荧光信噪比等优点,在荧光成像中可弥补传统荧光标记材料的不足而发挥重要作用。

含有镉金属的量子点在临床上的应用受到一定程度的限制,因此开发低毒和高量子产率的纳米材料已成为在生物医学应用的研究重点。新型绿色环保的碳材料——碳纳米点在近年来引起研究者的高度关注,与石墨烯和碳纳米管等碳材料相比,碳纳米点不仅尺寸具有优势(≤ 10 nm),强量子局限和边缘效应,而且具有与传统量子点相似的发光性能,同时,拥有良好的化学稳定性、抗光漂白性、优良的生物相容性和低毒性,因此在生物医学成像领域有良好的应用前景。目前,碳纳米点的研究仍处于初期探索阶段,研究内容包括碳纳米点的合成制备、结构解析和发光性能的提升。进一步开发高性能的近红外及上转换荧光碳纳米点将有机会替代传统量子点进入临床应用。

此外,随着多模态成像技术的发展,其成像探针的开发利用已成为研究热点。磁性荧光纳米颗粒是一种典型的多模态成像探针,其可应用于MRI和FI。该探针的应用结合了FI高灵敏度和MRI高空间分辨率的特点,同时弥补了FI成像深度有限的不足,目前已被广泛应用于动脉粥样硬化相关的炎症反应、心肌梗死后愈合过程(图1-1-3)、移植排斥反应和早期主动脉瓣疾病的临床前研究中。

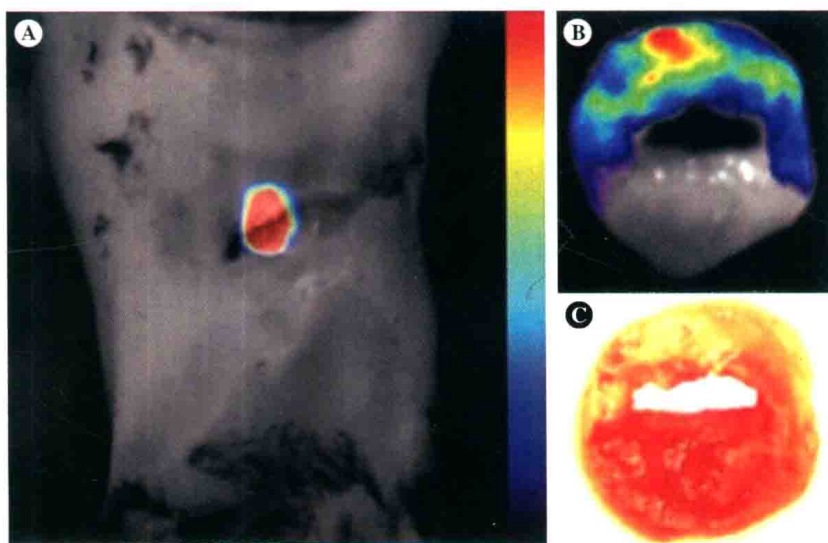


图 1-1-3 应用荧光分子成像检测缺血心肌

利用磁性荧光纳米粒 (CLIO-VT750) 对缺血心肌进行成像。A. 心肌缺血 4d 后, 注入 CLIO-VT750, 然后进行荧光介导的分子断层成像, 其中冠状图显示了心脏区有强烈的荧光; B. 梗死 4d 后, 离体心肌的荧光反射图像, 显示缺血区有强烈的荧光, 远处非缺血区无荧光信号; C. TTC 染色显示缺血区不着色, 为苍白色。引自 Nahrendorf M, Sosnovik DE, Waterman P, et al. 2007.

在荧光分子成像探针取得突破性进展的同时, 荧光成像技术也得到了迅猛发展。其中, 具有 NIRF 传感功能的血管内导管是近年来光学分子影像在心血管研究领域的创新点, 可近距离对血管内靶点进行成像。目前, 该技术已成功运用于检测动脉粥样硬化斑块中半胱氨酸蛋白酶和金属蛋白酶的活性, 对识别冠状动脉易损斑块具有重要的应用价值, 同时也为报告基因成像、干细胞示踪及多种临床治疗提供了技术支持。

2. 生物发光成像

生物发光成像 (BLI) 是通过使用 CCD 摄像机检测荧光素酶催化底物产生的荧光信号进行成像。荧光素酶主要由甲壳虫 [萤火虫荧光素酶 (FLuc) 和磕头虫红] 和海肾 (海肾荧光素酶) 克隆而来, 这些酶及其相应的底物 (D-荧光素和肠腔素) 已被用于体内生物发光成像。一般情况下, FLuc 的成像效果较海肾荧光素酶的更佳。然而, FLuc 发光需要氧气、镁和 ATP, 而海肾荧光素酶优势则在于在缺乏 ATP 的细胞外环境也能发挥作用。为了获得理想的活体成像效果, 有研究者研发了一个发射波长明显红移的海肾荧光素酶突变体 ($\lambda = 535\text{nm}$), 可以提高成像的灵敏度和靶向性。

BLI 具有背景信号低、灵敏度高 ($10^{-17} \sim 10^{-15} \text{mol/L}$)、成本低和高通量等优点, 是小动物模型中追踪干细胞和基因治疗的首选方式。最近, Bagó 等应用 BLI 技术证实来源于心肌和皮下的脂肪源性干细胞均可分化为血管内皮细胞和心肌细胞, 为研究干细胞治疗提供一种无创、有效评估的手段。Liu 等利用 BLI 技术对干细胞治疗进行长时间观察, 该团队发现用 Exendin-4 (肠促胰岛素类似物) 预处理脂肪源性干细胞 (EX-ADSCs), 移植至心肌后存活率更高 (图 1-1-4)。由于光穿透力有限, 且需要导入外源性报告基因以及注入大量 (微克到毫克) 具有潜在免疫原性的底物, 使得 BLI 在向临床应用转化过程中依然存在诸多挑战。尽管如此, 在目前的临床前研究中, BLI 也取得了一定进展。相信在广大研究者共同努力下, BLI

会得到进一步发展,继续促进光学分子影像技术进步。

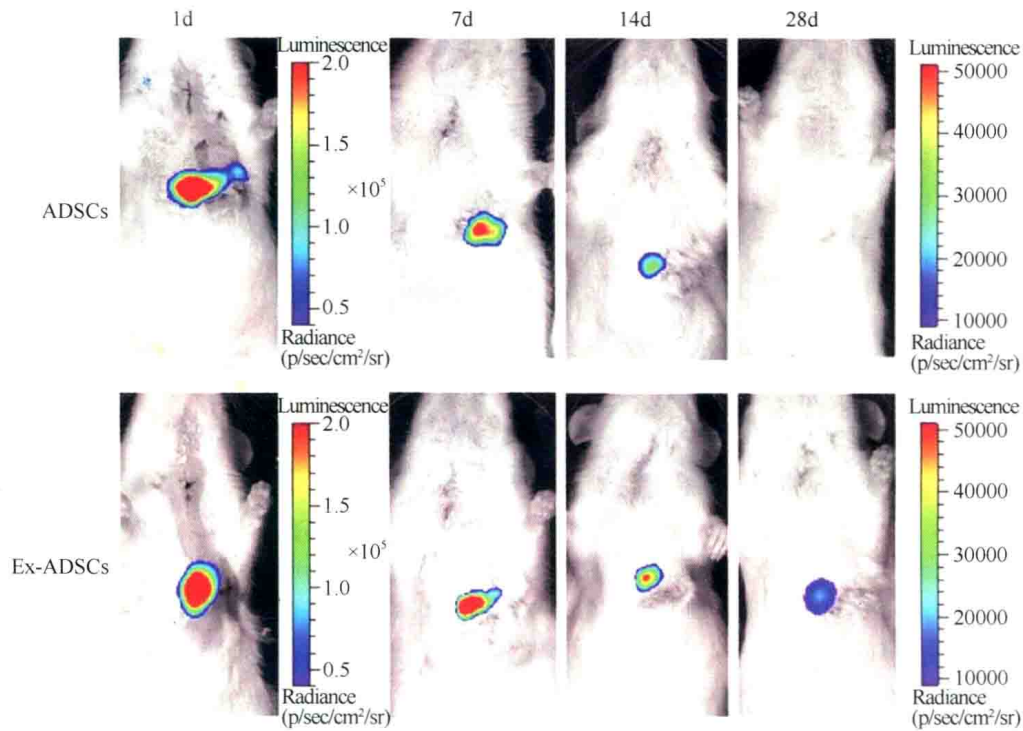


图 1-1-4 采用生物发光成像示踪植入心脏的脂肪源性干细胞

由上图可见 Exendin-4 预处理 (Ex-ADSCs) 和未处理组 (ADSCs) 的 BLI 信号均随时间推移而减弱,但 Ex-ADSCs 组的信号强度比 ADSCs 组明显高。引自 Liu J, Wang H, Wang Y, et al. 2014.

(二) 放射性核素显像

放射性核素显像 (RI) 是利用放射性核素及其标记化合物进行示踪,根据人体各部位对放射性药剂摄取差异,从而获得组织和器官影像的技术。RI 最大的优点在于灵敏度高,只需使用小剂量或非药理用量 (毫微克) 的造影剂即可达到良好的成像效果 (SPECT: $10^{-11} \sim 10^{-10}$ mol/L; PET: $10^{-12} \sim 10^{-11}$ mol/L), 因而有利于促进新型放射性核素分子成像探针进入临床试验研究。

目前,常用的 RI 显像方式包括 γ 相机、SPECT 和 PET。 γ 相机属于二维成像,已广泛应用于临床,尤其是检出骨骼转移瘤、评估甲状腺功能及肿瘤、评估肺通气等。SPECT 和 PET 都提供断面成像,二者的区别在于所使用的放射性核素以及信号产生和检测机制。SPECT 的成像探针是用发射 γ 射线的放射性核素 (如 ^{99m}Tc 、 ^{111}In 、 ^{123}I 、 ^{131}I) 标记。这些核素主要是由核素发生器及加速器产生,其可产生不同能量级别的高能量 γ 射线,后者可被准直器中的 SPECT 相机探测。PET 的成像探针是用发射正电子的放射性核素 (如 ^{18}F 、 ^{11}C 、 ^{13}N 、 ^{15}O) 标记,这些核素则主要由质子加速器产生,其可在湮灭过程中发出信号 (即在每个正电子与邻近的电子发生碰撞时产生出两束呈 180° 的 511keV γ 光子),然后用 PET 扫描仪检测并定位。SPECT 和 PET 均以高能量 γ 射线作为信号,穿透力较强,因此这些技术可用于小动物、体积较大的动物以及人体研究。在临床上 SPECT 已广泛应用于心肌缺血的评估, ^{18}F FDG-PET/CT 主要用于肿瘤 (包括转移瘤) 的检出及治疗评估。

RI 技术已有较久的临床应用历史,是目前最有可能应用于临床的分子影像手段,因为应用于临床的设备和多种放射性化学技术已具备,相关的分子造影剂也正在快速发展中。PET 在心血管疾病的诊断和治疗中具有重要的意义,主要有心肌代谢成像、心脏移植排斥反应成像、炎症成像、蛋白酶成像、细胞凋亡成像和心肌梗死成像等。Su 等最近成功合成一种靶向整合素放射性核素分子探针,通过 PET、自动射线照相术及油红 O 染色(ORO 染色)研究分析,该探针可用于检测易损动脉粥样硬化斑块,在临床上具有较大的发展潜力(图 1-1-5)。

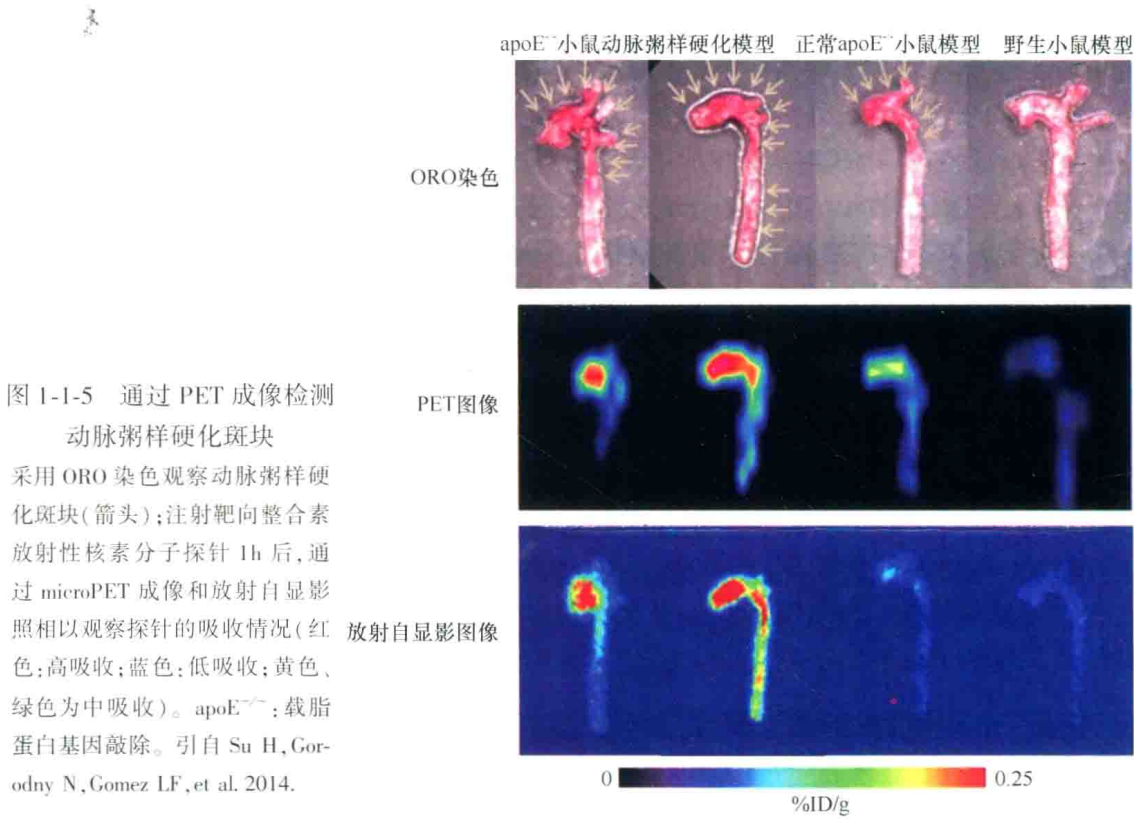


图 1-1-5 通过 PET 成像检测
动脉粥样硬化斑块

采用 ORO 染色观察动脉粥样硬化斑块(箭头);注射靶向整合素放射性核素分子探针 1h 后,通过 microPET 成像和放射自显影照相以观察探针的吸收情况(红色;高吸收;蓝色;低吸收;黄色、绿色为中吸收)。apoE^{-/-}:载脂蛋白基因敲除。引自 Su H, Gordon N, Gomez LF, et al. 2014.

RI 虽具备众多优点,但仍存在以下几点局限性:电离辐射、空间分辨率较低(临床应用型 SPECT:7 ~ 15mm、临床应用型 PET:6 ~ 10mm、microSPECT:0.5 ~ 2mm、microPET:1 ~ 2mm)、需要发生器/回旋加速器产生放射性核素。但与其他分子影像技术融合,尤其是 CT 技术的融合,如 PET/CT 技术的推广,可增加解剖定位的准确性。

(三) 磁共振成像

磁共振成像(MRI)是利用原子核在磁场内发生共振而产生信号,并经过图像重建形成直观图像。在纵轴和横轴方向上,净磁矩恢复或衰减的速率被称为纵向和横向弛豫时间,即 T_1 和 T_2/T_2^* 。¹H 是研究最多的原子核,除此之外,¹³C、¹⁹F、²³Na、³¹P 等也被用于成像研究。MRI 的主要优点包括:空间分辨率较高(1.5T:0.5 ~ 1.5mm;3T:10 ~ 100 μ m)、软组织分辨率强、无电离辐射、临床实用性强、具有整合功能以及解剖和分子信息的能力。与生物发光成像和核素成像技术比较,灵敏度低(10^{-5} ~ 10^{-3} mol/L)则是其缺点。

近年,MR 成像设备和造影剂合成技术的发展,促使其逐渐向分子成像转化。MR 分子影像技术利用靶向造影剂改变靶点附近水质子的 T_1 或 T_2/T_2^* 弛豫率,以增强信号强度。

钆(Gd)螯合物和 SPIO(直径为 60 ~ 150nm)是最常用的造影剂。Gd 通过缩短 T_1 进行成像,具有较大磁矩,因此需要将多个 Gd 螯合物连接于载体(如纳米粒子或肽)以提高成像灵敏度。SPIO 通过缩短 T_2/T_2^* 增强成像效果,其分为直径为 10 ~ 40nm 的超微型超顺磁性氧化铁纳米粒子(ultrasmall superparamagnetic iron oxide,USPIO)和直径为 0.9 ~ 8 μ m 的微米级超顺磁氧化铁纳米粒子(micron-sized superparamagnetic iron oxide,MPIO)。

Gd 类分子探针是用 Gd 螯合物(或纳米粒子)标记抗体、多肽或多肽模拟物构建而成,多个 Gd 螯合物连接于抗体包被的纳米粒子或蛋白包被的脂质体(如重组高密度脂蛋白纳米粒子或微粒),可放大信号。Gd 造影剂在酶的作用下可解聚成单体,也能增强 MRI 信号,从而提高成像灵敏度。除了 Gd 类分子探针外,交换饱和转移造影剂和 ^{19}F 全氟化碳纳米粒子等其他造影剂也正在研发中。最近,Silvio 等研究发现钇系元素可增强 MRI 的成像效果,其纳米粒子可以作为造影剂用于 MR 分子成像研究。相信随着研究的不断推进,MR 分子成像探针将会得到极大丰富。

MR 分子影像技术在心血管方面的应用主要包括动脉粥样硬化、心肌缺血和心肌存活力判断。炎症反应过程中,血管内皮细胞的活化至关重要。Martina 等构建了与 P-选择素和 VCAM-1 结合的双靶点 MPIO(PV-MPIO),用来靶向识别动脉粥样硬化斑块中的活化内皮细胞。对 apoE $^{-/-}$ 小鼠模型进行研究发现,注入 PV-MPIO 后,主动脉根病变处 MRI 信号明显增强(图 1-1-6)。进一步研究证实 MRI 信号强度和病变区巨噬细胞的数量相关,PV-MPIO 只与活化巨噬细胞特异性结合且聚集于动脉粥样硬化易损斑块区。MRI 在干细胞移植治疗心血管疾病研究中也具有重要价值。利用磁共振造影剂标记干细胞,可通过 MRI 技术对干细胞进行示踪。SPIO 标记干细胞具有敏感性高和毒性低的特点,在 MRI 示踪干细胞研究中备受关注。王毅翔等研究表明,氨基、 SiO_2 修饰的 SPIO 具有良好的干细胞成像效果,是一种很有发展前景的干细胞示踪剂。

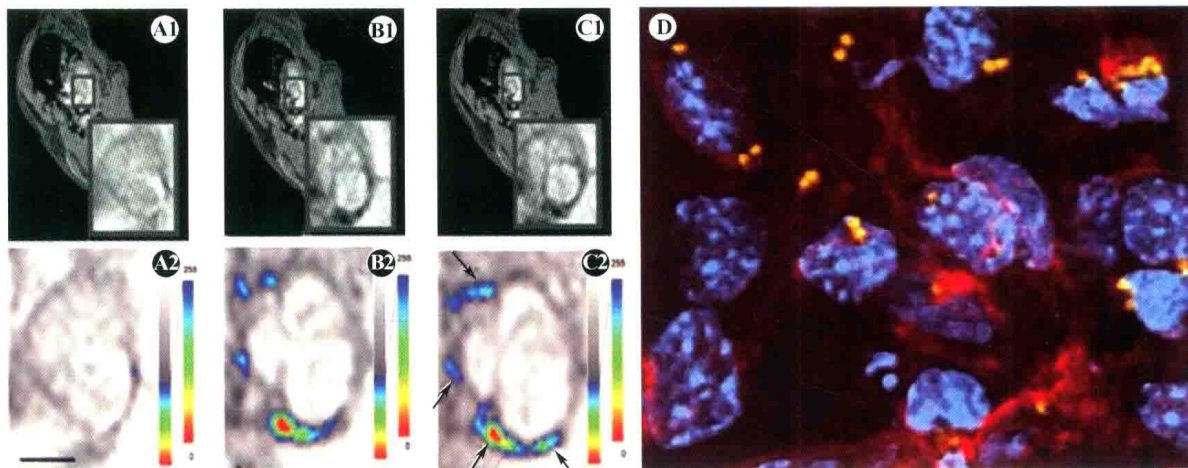


图 1-1-6 采用磁共振分子成像检测动脉粥样硬化斑块

注射 PV-MPIO 前(A1、A2)、30min(B1、B2)、60min(C1、C2)的 MRI 图像。D. 通过免疫荧光分析发现 PV-MPIO 可与高表达 VCAM-1 的内皮细胞结合(蓝色:细胞核;红色:VCAM-1;黄色:与内皮细胞结合的 PV-MPIO)。引自 McAteer MA, Mankia K, Ruparelia N, et al. 2012.

此外,一些临床研究表明,葡聚糖包裹的 SPIO(ferumoxtran-10)可以对动脉粥样硬化的主动脉、髂动脉和狭窄的颈内动脉进行显影。Trivedi 等报道注射葡聚糖包裹的 SPIO 24 ~ 36h 后,SPIO 停留在颈动脉斑块的巨噬细胞内,从而可用 MRI 检出。Tang 等以 USPIO 作为

增强 MRI 效果的造影剂研究高剂量和低剂量阿托伐他汀钙降低巨噬细胞活性的效果, 研究显示, 应用高剂量阿托伐他汀钙进行强烈的降血脂治疗可以减轻 USPIO 测得的颈动脉斑块炎症。这是第一个应用他汀类药物治疗颈动脉斑块炎症有效性的临床研究。此外, 研究还发现 SPIO 的循环时间和动脉粥样斑块内巨噬细胞对 SPIO 吞噬程度密切相关。在高血脂兔模型中, 磁共振增强在用半衰期长的 ferumoxtran-10 效果要优于半衰期短的氧化铁纳米粒。氧化铁纳米粒的颗粒大小与 ferumoxtran-10 相似, 而且体外氧化铁纳米粒的吞噬效果要大于 ferumoxtran-10。SPIO 还可以作为靶向给药的载体, 研究表明应用 SPIO 纳米壳作为姜黄素的给药载体, 可以提高药物的作用效果, 同时可以应用 MRI 来观察药物的分布。

(四) 计算机 X 线断层扫描

计算机 X 线断层扫描(CT)是应用旋转 X 射线源进行扫描, 由环绕物体的探测器接收经过不同组织吸收后的 X 射线, 然后转变成数字信号后再进行图像重建, 从而显示检查部位的断层结构。其具有空间分辨率高(微型 CT: $20 \sim 300 \mu\text{m}$; 普通 CT: $0.5 \sim 2\text{mm}$)、高密度组织成像能力强以及扫描时间短等优越性, 但仍存在电离辐射、成像灵敏度低以及软组织分辨力有限等不足。过去, 由于 CT 的成像灵敏度较低($10^{-3} \sim 10^{-2} \text{mol/L}$), 因此其在分子成像中的作用仅限于为 SPECT 或 PET 等功能性成像提供解剖定位参数, 如 SPECT/CT 或 PET/CT。

随着纳米造影剂的研制成功, CT 显示活体细胞活动已成为可能。Hyafil 等报道利用 N1177 对浸润于动脉粥样硬化斑块内的巨噬细胞进行 CT 成像, 取得了良好的成像效果(图 1-1-7)。此外, 含高浓度有机金属化合物或不透 X 线的有机可溶性元素的聚合物纳米粒造影剂的成功研制, 也进一步提高了 CT 成像的灵敏度。

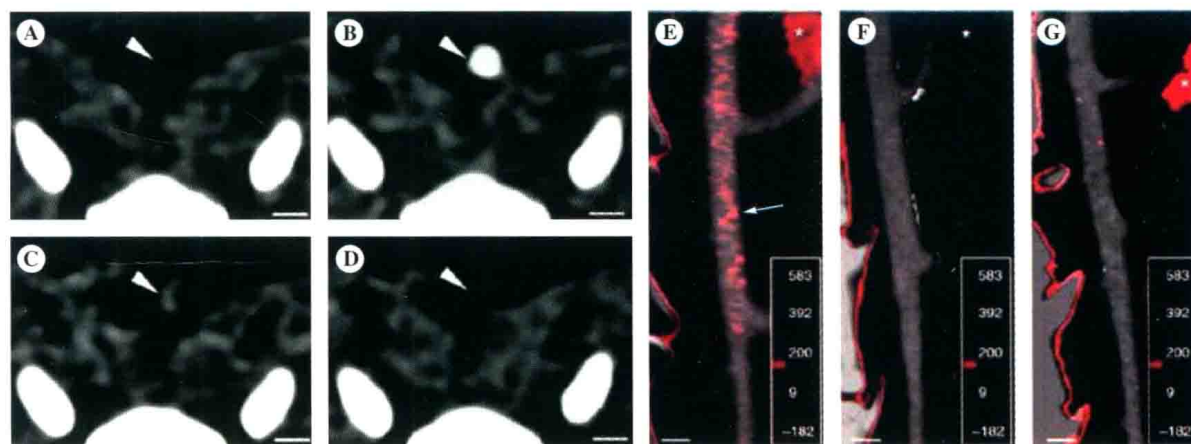


图 1-1-7 应用 CT 对动脉粥样硬化斑块的巨噬细胞进行成像

注射 N1177 造影剂后采集 CT 横断面图像, A. 注射前; B. 注射期间; C. 注射 2h 后; D. 注射传统造影剂。可见注射造影剂前和注射传统造影剂未观察到动脉粥样硬化斑块, 而注射 N1177 后可见斑块信号明显增强。注射造影剂 2h 后采集的 CT 高密度区被彩色相差技术与血管造影融合图像所证实。E. 注射 N1177 后, 可见斑块出现红色强光点; F. 注射传统造影剂后, 斑块未见明显红色斑点; G. 对照组注射 N117 后, 也未见明显红色斑。引自 Hyafil F, Cornily JC, Feig JE, et al. 2007。

随着影像技术的不断发展, CT 以及其他各种分子影像技术都将不再局限于学科内独立发展, 而是与其他影像技术交叉融合, 共同为未来分子影像技术的持续发展打下良好基础。