

靶向超声造影剂在冠心病中的应用

王 梦 穆玉明

摘 要 靶向超声造影剂在超声分子成像技术中占有重要的地位,也为冠心病的诊断和治疗提供了新的思路。本文将针对靶向超声造影剂的原理、发展及其在冠心病诊治中的应用做一综述。

关键词 靶向 超声造影剂 冠心病

中图分类号 R541

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.07.002

冠心病是严重威胁人类健康和生命的常见的心血管疾病,目前诊断及治疗冠心病的方法有着不同程度的局限性,尽管常规超声能为冠心病的诊治提供重要信息,但远远不能满足临床的需求。超声造影技术是医学影像学发展过程中一次跨时代的飞跃,也是近年来发展最迅速的技术之一。超声造影技术逐步从一种诊断工具发展成一种治疗手段,在冠心病的诊治方面功能逐渐强大,优势逐渐突显,临床应用范围进一步拓宽,其中,靶向超声分子成像技术将成为今后发展的目标,作为其核心的靶向超声造影剂也将成为该领域的研究热点^[1,2]。故本文将针对靶向超声造影剂的原理、发展及其在冠心病诊治中的应用做一综述。

一、靶向超声造影剂的概念及研究现状

1. 靶向超声造影剂的概念:靶向超声造影剂是由具有生物兼容性的高分子材料包裹微泡组成的,通过在微泡表面连接特异性配体或抗体,与靶组织或靶器官相应的受体相结合而具有靶向特异性的超声造影剂^[3]。

2. 靶向超声造影剂的研究现状:自首次提出超声造影显像的概念以来,超声造影剂已发展到第4代即靶向超声造影剂,它是在第3代的基础上进行了靶向修饰,进而为靶向超声分子成像提供先决条件。而靶向超声分子成像即利用靶向超声造影成像技术定性和定量分析活体组织细胞、分子水平的生物过程,继而对和疾病有关的重要分子和转导途径进行间接成像,在分子水平上反映疾病发生、发展的病理变化,为

早期诊断和治疗疾病提供新方法。

目前,靶向超声造影剂的制备方法主要有两种,①生物素-亲和素法,在超声造影剂的表面连接生物素配体或抗体;②直接化学连接法,将低分子配体(药物、基因、多肽等)直接或间接连接到外壳包膜上,按普通造影剂的制备方法获得较稳定的靶向超声造影剂。靶向超声造影剂与普通超声造影剂的区别在于它能够通过血液循环在分子水平识别靶器官或靶组织,并在局部较长时间停留,从而对靶点进行特异性显影,对病灶进行精确定位,另一方面也降低了其在非靶组织内聚集的毒性不良反应,达到在分子水平无创性地评价疾病的目的,显著提高疾病早期诊断的敏感度和特异性,同时,还可实现无创性靶向体内运输、定点释放及基因转染。

新型靶向超声造影剂的出现为超声诊治提供了更加广阔的前景,目前大致分为5种类型:①多模态超声造影剂:同时具有增强超声和其他显像技术的造影剂;②多功能超声造影剂:在增强显影的同时可携带药物进行靶向治疗;③多配体超声造影剂:在微泡表面结合数种配体,增加配体与受体结合的机会,从而产生协同作用^[3,4];④长循环超声造影剂:改进造影剂的制备方法,从而减少巨噬细胞系统的吞噬,延长其在靶向区域的滞留时间;⑤免疫型超声造影剂:离体研究证实能被人鼠树突状细胞吞噬的微泡可刺激免疫系统,引起免疫应答^[5,6]。

二、靶向超声造影剂在冠心病诊断中的研究进展

1. 靶向超声造影剂在冠心病诊断中的原理:心肌声学造影是诊断冠心病一项新的技术手段,靶向超声造影剂能与靶组织特异性结合,增加病灶区与正常部位的对比,提高左心室节段性和整体心脏功能评价的准确性,动态显示心肌微循环,通过分析心肌造影时间-强度曲线来定性或定量评价心肌血流量,如急性

基金项目:国家自然科学基金资助项目(面上项目)(30800480)

作者单位:830054 乌鲁木齐,新疆医科大学第一附属医院心脏超声诊断科

通讯作者:穆玉明,主任医师、教授、博士生导师,电子信箱:mym1234@126.com

心肌梗死缺血区和正常区的准确判定,心肌存活度的评价等。

2. 靶向超声造影剂在冠心病诊断中的应用:(1)急性心肌缺血的评价:急性心肌缺血是心肌血流灌注减少,导致心脏供氧减少,能量代谢异常的一种病理状态,目前快速诊断该疾病的新方法各有所长,而超声的优势在于床旁检查的可行性及实时性。在心肌缺血中血管内皮细胞的炎性反应普遍存在。微泡可以被激活的中性粒细胞和单核细胞吞噬,同时可保持声学特性不变^[7]。为了提高缺血部位的检测能力,P-选择素应运而生,P-选择素会在缺血部位炎性反应发生几分钟内迅速表达,并可持续数小时,随后细胞黏附分子-1(ICAM-1)也大量表达^[8]。已有基于动物模型的实验证明以P-选择素作为靶点是评价早期心肌缺血微血管炎症的一个理想指标^[9]。Ji等^[9]将携带抗P-选择素单抗靶向微泡注入缺血-再灌注鼠体内,发现可以有效地评价心肌缺血-再灌注损伤。Yan等^[10]将携带抗ICAM-1的靶向微泡注入缺血-再灌注小鼠体内,发现再灌注晚期的缺血心肌ICAM-1表达较非缺血心肌大量增加,因而证实抗ICAM-1靶向微泡可以诊断再灌注晚期的心肌缺血。(2)急性心肌梗死的评估:急性心肌梗死是急性的持久而严重的心肌缺血所致的心肌坏死。在急性心肌梗死中,血栓形成是常见原因,常规超声显像对血栓的诊断有局限性,尤其是早期血栓,而靶向超声造影剂的出现为血栓的诊断提供了新思路。靶向超声造影剂对血栓的成像集中在几个关键的分子过程,其中最常见的是血小板表面高表达的糖蛋白(GP)Ⅱb/Ⅲa受体,该受体与纤维蛋白原中的精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(RGD)结合,可促进血栓形成,因此,构建特异性结合血小板GPⅡb/Ⅲa受体的超声微泡,可以实现血栓的靶向显影。Hagisawa等^[11]制备的携有RGD肽序列的靶向微泡在体内和体外均能显著增强血栓显像。Hu等^[12]还证实了含RGD环肽序列的靶向微泡与GPⅡb/Ⅲa受体结合能力更强,在诊断动脉血栓方面具有临床应用价值。(3)干细胞移植的评价:曹桂秋等^[13]将干细胞联合靶向微泡造影剂注入心肌梗死兔体内,结果显示此方法可增强心肌梗死后微血管新生,且携CD34单抗靶向微泡造影剂可提高干细胞移植后新生血管的显影效果。

三、靶向超声造影剂在冠心病治疗中的研究进展

1. 靶向超声造影剂在冠心病治疗中的原理:靶向

超声造影剂对冠心病的诊断已取得巨大成果,其最终目标是携带基因或药物进行靶向治疗^[14]。利用靶向超声造影剂治疗冠心病的主要机制是通过超声靶向击破微泡(ultrasound-targeted microbubble destruction,UTMD),靶向造影剂到达靶组织后,在一定能量的超声辐照下微泡会快速膨胀、收缩、破裂,产生的空化效应和声孔效应使微血管破裂、内皮细胞间隙增宽及细胞膜通透性增加,有利于包裹在内部的基因或药物定向释放入心肌细胞内,从而显著增加局部浓度,促进缺血心肌血管再生,改善心肌血流灌注,最终达到靶向治疗的目的^[15]。

2. 靶向超声造影剂在冠心病治疗中的应用:(1)干细胞移植疗效的评估:干细胞移植是治疗心肌梗死的一种有前景的方法。急性心肌梗死经干细胞移植后,因为微环境的影响,干细胞在梗死部位会大量死亡,归巢到心肌细胞的数量有限,长期疗效并不乐观。因此,改善梗死部位微环境可利于干细胞的迁移、存活、分化及发挥生物学效应,这也是目前的研究方向^[16]。Xu等^[17]用干细胞移植联合UTMD技术靶向治疗急性心梗兔,此方法与干细胞单独治疗组、UTMD单独治疗组及安慰剂组比较能明显改善左心室收缩功能,增加局部毛细血管数量,缩小心肌纤维化面积。Fujii等^[18]将含有基质细胞衍生因子-1(SDF-1)的微泡联合UTMD技术治疗急性心肌梗死大鼠,结果证明该方法可趋化干细胞,增加血管密度,增强心肌组织修复和改善心脏功能。另有研究表明,UTMD技术可增加心肌毛细血管通透性,改变缺血心肌局部微环境,促进干细胞归巢^[19]。(2)基因治疗改善心脏功能的评估:姜新魁等^[20]将携带SERCA2a基因的重组腺相关病毒抗体(rAAV2-SERCA2a)的微泡靶向治疗急性心肌梗死大鼠,结果显示基因转导可有效改善左心室功能。Sun等^[21]将携带AKT基因的自制阳离子微泡靶向治疗急性心梗大鼠,发现其在减小梗死面积、增加血管密度、减少细胞凋亡及改善心脏功能方面明显优于Dfeinity微泡组。周青等^[22]将携带人血管生成素-1(hAng-1)基因的抗ICAM-1靶向微泡结合UTMD技术治疗急性心肌梗死兔,结果显示此方法可增加hAng-1基因的转染率及局部血管新生效应,王潇等^[23]也用此法制备并将靶向造影剂从周围静脉注入急性心肌梗死兔体内,结果证实与直接心肌注射Ang-1基因组比较携带ICAM-1的靶向微泡也能定向转染Ang-1基因至心肌细胞,二者的转染率相似。(3)溶栓治疗的评

估:血栓在冠心病的病理生理过程中起着关键的作用,通过靶向超声分子成像技术进一步提高超声溶栓效果已成为可能,研究表明结合 UTMD 技术将携带溶栓药物(如尿激酶、链激酶和重组组织型纤溶酶原激活剂等)的靶向微泡在血栓形成部位定向释放,可以有效增加局部的药物浓度,提高溶栓治疗效果,降低溶栓药物导致的出血等并发症风险。

四、展望及存在的问题

随着超声造影研究的日益深入,其在冠心病诊治方面也显示出了极大的优势,同时新型靶向超声造影剂的出现也使其在分子显像方面展示了广阔的前景,为疾病的早期诊断及治疗提供敏感度、特异性更高的手段^[3]。研究表明,靶向超声微泡可安全携带基因,有效提高基因浓度、降低有效剂量、减轻毒性不良反应,为提高疗效提供研究基础。然而,目前靶向超声造影的应用基本上仅限于体外或者动物模型,临床应用还有局限性,仍存在许多亟待解决的问题:(1)如何发现更多的疾病靶向分子,制备出功能更多,更能满足临床需要的超声造影剂;目前已研制出的靶向造影剂不易穿过血管内皮间隙达到血管外的靶组织实现显影。(2)如何改善微泡与配体结合的技术,增加微泡的靶向性,延长循环时间,增强稳定性。(3)如何提高应用于临床的安全性和高效性,更好地利用靶向造影剂的免疫原性,而不对机体造成免疫风险。总之,随着超声造影剂研究的不断深入,必将研制出稳定性更好、靶向性更强、治疗效果更佳的超声造影剂,以满足不断增长的临床需求,也将会为冠心病的临床诊治带来新的希望。

参考文献

- 1 Inaba Y, Lindner JR. Molecular imaging of disease with targeted contrast ultrasound imaging[J]. *Transl Res*, 2012, 159(3):140-148
- 2 Gessner R, Dayton PA. Advances in molecular imaging with ultrasound[J]. *Mol Imaging*, 2010, 9(3):117-127
- 3 Deshpande N, Needles A, Willmann JK. Molecular ultrasound imaging: current status and future directions[J]. *Clin Radiol*, 2010, 65(7):567-581
- 4 李美瑜,杨莉,吴爵非,等.携 Sialyl Lewisx 和抗 ICAM-1 单抗双配体微泡靶向黏附行为方式的体外研究[J]. *中华超声影像学杂志*, 2011, 20(2):168-171
- 5 Bioley G, Lassus A, Bussat P, et al. Gas-filled microbubble-mediated delivery of antigen and the induction of immune responses[J]. *Biomaterials*, 2012, 33(25):5935-5946
- 6 De Temmerman ML, Dewitte H, Vandenbroucke RE, et al. mRNA-Lipoplex loaded microbubble contrast agents for ultrasound-assisted transfection of dendritic cells[J]. *Biomaterials*, 2011, 32(34):9128-9135
- 7 Ley K. Molecular mechanisms of leukocyte recruitment in the inflam-

- matory process[J]. *Cardiovasc Res*, 1996, 32(4):733-742
- 8 Davidson BP, Kaufmann BA, Belcik JT, et al. Detection of antecedent myocardial ischemia with multiselectin molecular imaging[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2012, 60(17):1690-1697
- 9 Ji LJ, Yang L, Yan Y, et al. Evaluation of myocardial ischemia-reperfusion injury in mouse by molecular imaging of P-selectin with targeted contrast echocardiography[J]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 2009, 89(24):1698-1701
- 10 Yan Y, Liao Y, Yang L, et al. Late-phase detection of recent myocardial ischaemia using ultrasound molecular imaging targeted to intercellular adhesion molecule-1[J]. *Cardiovasc Res*, 2011, 89(1):175-183
- 11 Hagiwara K, Nishioka T, Suzuki R, et al. Enhancement of ultrasonic thrombus imaging using novel liposomal bubbles targeting activated platelet glycoprotein IIb/IIIa complex-in vitro and in vivo study[J]. *Int J Cardiol*, 2011, 152(2):202-206
- 12 Hu G, Liu C, Liao Y, et al. Ultrasound molecular imaging of arterial thrombi with novel microbubbles modified by cyclic RGD in vitro and in vivo[J]. *Thromb Haemost*, 2012, 107(1):172-183
- 13 曹桂秋,穆玉明,李艳红,等.彩色编码参数量化技术结合靶向微泡造影剂评价干细胞移植后微血管新生[J]. *中华超声影像学杂志*, 2011, 20(11):983-987
- 14 Wei K. Future applications of contrast ultrasound[J]. *J Cardiovasc Ultrasound*, 2011, 19(3):107-114
- 15 陈智毅,谢明星.超声靶向破坏微泡技术的应用进展[J]. *中国医学影像技术*, 2010, 26(9):1790-1792
- 16 Ling ZY, Shu SY, Zhong SG, et al. Ultrasound targeted microbubble destruction promotes angiogenesis and heart function by inducing myocardial microenvironment change[J]. *Ultrasound Med Biol*, 2013, 39(11):2001-2010
- 17 Xu YL, Gao YH, Liu Z, et al. Myocardium-targeted transplantation of mesenchymal stem cells by diagnostic ultrasound-mediated microbubble destruction improves cardiac function in myocardial infarction of New Zealand rabbits[J]. *Int J Cardiol*, 2010, 138(2):182-195
- 18 Fujii H, Li SH, Wu J, et al. Repeated and targeted transfer of angiogenic plasmids into the infarcted rat heart via ultrasound targeted microbubble destruction enhances cardiac repair[J]. *Eur Heart J*, 2011, 32(16):2075-2084
- 19 Zhong S, Shu S, Wang Z, et al. Enhanced homing of mesenchymal stem cells to the ischemic myocardium by ultrasound-targeted microbubble destruction[J]. *Ultrasonics*, 2012, 52(2):281-286
- 20 姜新魁,穆玉明,王春梅,等.超声斑点追踪技术评价微泡造影剂介导 SERCA2a 基因治疗心肌梗死大鼠的实验研究[J]. *中华超声影像学杂志*, 2010, 19(12):1072-1075
- 21 Sun L, Huang CW, Wu J, et al. The use of cationic microbubbles to improve ultrasound-targeted gene delivery to the ischemic myocardium[J]. *Biomaterials*, 2013, 34(8):2107-2116
- 22 周青,邓倾,陈茜,等.抗内皮细胞黏附分子-1 靶向微泡介导 hAng-1 基因转染治疗兔心肌缺血的实验研究[J]. *临床超声医学杂志*, 2010, 12(7):433-436
- 23 王潇,郭瑞强,周青,等.携抗 ICAM-1 靶向微泡定向转染 Ang-1 基因治疗急性心肌梗死的实验研究[J]. *中华超声影像学杂志*, 2011, 20(5):436-440 (收稿日期:2014-10-10) (修回日期:2014-11-02)