

影像风采展望

DOI:10.13406/j.cnki.cyx.002151

USPIO 作为 $T1-T2$ 双增强对比剂的初步动物成像研究邓利华¹, 徐 晔¹, 吴昌强², 何 玲¹

(1. 重庆医科大学附属儿童医院放射科、儿童发育疾病研究教育部重点实验室、儿科学重庆市重点实验室、

重庆市儿童发育重大疾病诊治与预防国际科技合作基地, 重庆 400014;

2. 川北医学院医学影像四川省重点实验室、影像设备教研室, 南充 637000)

【摘要】目的:研究粒径对超顺磁性氧化铁(superparamagnetic iron oxide, SPIO)纳米颗粒 $T1$ 和 $T2$ 弛豫效能的影响, 并选取超小粒径 SPIO(ultra-small SPIO, USPIO)探究其作为磁共振 $T1-T2$ 双增强对比剂在体内成像应用中的特点。**方法:**采用共沉淀法制备 3 种不同粒径的 SPIO。测定样本基本理化性能和磁学特性, 采用临床 3.0T MRI 成像仪, 研究不同 MRI 序列下 USPIO 大鼠体内对比增强成像特点。**结果:**成功制备 3 种不同粒径的 SPIO: [A: (14.14 ± 4.94) nm; B: (28.30 ± 7.65) nm; C: (93.81 ± 33.01) nm], 测得在不同磁场强度下的 $T1$ 、 $T2$ 弛豫效能。小粒径的 SPIO 纳米颗粒具有更低的 r_2/r_1 (0.5 T: 2.14), 是潜在的 $T1$ 、 $T2$ 双增强对比剂, 且低磁场下具有更低的 r_2/r_1 , 有利于 $T1$ 增强显影。大鼠成像显示, USPIO 在 $T2$ 加权成像序列下能明显降低肝脏 $T2$ 成像信号, 在短 TE 的 $T1$ 加权序列下能明显提高肝脏、心血管 $T1$ 信号, 具有较小分子对比剂更长的成像时间窗。**结论:**粒径是影响 SPIO 弛豫效能的重要参数, USPIO 具有更低的 r_2/r_1 比, 是潜在的 $T1$ 、 $T2$ 双增强对比剂。

【关键词】超顺磁氧化铁; 磁共振成像; 纳米粒径**【中图分类号】**R445.2**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2018-07-20A pilot imaging study of ultra-small superparamagnetic iron oxide serving as a $T1-T2$ double contrast enhancer in ratsDeng Lihua¹, Xu Ye¹, Wu Changqiang², He Ling¹

(1. Department of Radiology, the Affiliated Children's Hospital of Chongqing Medical University; Ministry of Education Key Laboratory of Child Development and Disorders; Key Laboratory of Pediatrics in Chongqing; Chongqing International Science and Technology Cooperation Center for Child Development and Disorders; 2. North Sichuan Medical College Sichuan Key Laboratory of Medical Imaging, Teaching and Research Section of Imaging Equipment)

【Abstract】Objective: To investigate the influence of particle size of superparamagnetic iron oxide (SPIO) nanoparticles on $T1-T2$ relaxation efficiency, as well as the features of ultra-small SPIO (USPIO) as the $T1-T2$ double contrast enhancer in *in vivo* imaging. **Methods:** The coprecipitation method was used to prepare three types of SPIO nanoparticles with different particle sizes. The basic physical-chemical and magnetic properties of the samples were measured, and a 3.0 T MRI imager was used to investigate the imaging properties of USPIO as the $T1-T2$ double contrast agent in rats under different MRI sequences. **Results:** Three types of SPIO nanoparticles (A: 14.14 ± 4.94 nm; B: 28.30 ± 7.65 nm; C: 93.81 ± 33.01 nm) were successfully prepared and the relaxation properties of $T1$ and $T2$ at different magnetic field intensities were measured. SPIO nanoparticles with a smaller particle size had a lower r_2/r_1 ratio (0.5 T: 2.14) and were the potential $T1-T2$ double contrast enhancers; such nanoparticles had a significantly lower r_2/r_1 ratio in low magnetic field and might help with $T1$ contrast-enhanced imaging. The imaging of the rats showed that USPIO significantly reduced the $T2$ signal intensity of the liver on T2WI and increased the $T1$ signal intensity of the liver and the cardiovascular system on short-TE T1WI, with a longer time window for imaging than small-molecule contrast agents. **Conclusion:** Particle size is one of the important parameters affecting the relaxation efficiency of SPIO. USPIO has a lower r_2/r_1 ratio and can be used as the potential $T1-T2$ double contrast enhancer.

【Key words】superparamagnetic iron oxide; magnetic resonance imaging; nanoparticle size

作者介绍: 邓利华, Email: 705296455@qq.com,
研究方向: 分子影像、儿科影像。

通信作者: 何 玲, Email: heling508@sina.com。

基金项目: 国家自然科学基金青年资助项目(编号: 81601490); 重庆市渝中区科技计划资助项目(编号: X3549)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20190510.1529.066.html>

(2019-05-13)

目前临床上普遍使用的 MRI 对比剂为基于 Gd^{3+} 的配合物 (如 Dotarem、Magnevist、ProHance 和 Gadovist 等)。近年研究发现,肾功能不全患者使用此类对比剂后可导致肾源性系统纤维化疾病 (nephrogenic systemic fibrosis, NSF),即使肾功能完好的病人使用后,钆也会在脑部沉积并长期存留^[1-3]。探索研究更加高效安全的 MRI 对比剂,并加快其临床应用转化已成关注热点。超顺磁性氧化铁 (superparamagnetic iron oxide, SPIO) 纳米颗粒同时具有良好的生物安全性和弛豫效能,有望成为钆剂的替代品。SPIO 的 T_1 弛豫效能(r_1)、 T_2 弛豫效能(r_2)以及比值(r_2/r_1)是其作为 MRI 对比剂的重要参数,关系到其用于 T_1 加权成像、 T_2 加权成像或者扫描参数设置等。SPIO 的弛豫效能受到多种因素的影响,如纳米粒径、晶型结构、表面包被物质以及聚集状态等。其中,纳米粒径不仅影响 T_1 弛豫效能和 T_2 弛豫效能,也影响 SPIO 在体内的分布和代谢。可见,研究 SPIO 的粒径大小与 MR 成像特点之间的关系,对于 SPIO 对比剂的开发、临床转化具有重要意义,但针对该方面研究报道较少。为深入探究两者间的关系,本研究采用化学共沉淀法制备了具有不同粒径大小,葡聚糖包裹的 SPIO 纳米颗粒,比较研究这些 SPIO 的理化特性、弛豫效能,最后针对研究较少的小粒径 USPIO,以大鼠为活体成像对象,初步观测小粒径 USPIO 静脉注射后在大鼠体内的分布和 T_1 - T_2 双增强成像特点。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

六水合氯化铁($FeCl_3 \cdot 6H_2O$),四水合氯化亚铁($FeCl_2 \cdot 4H_2O$),氨水 (25 wt.%),葡聚糖 T70 ($M_w \approx 70\ 000$),柠檬酸,氢氧化钠,超纯水。

1.2 主要仪器和设备

X 射线衍射仪 (XRD-6000; 日本岛津)、马尔文纳米粒度及 Zeta 电位分析仪 (Zetasizer Zs90; 英国马尔文仪器有限公司)、0.5 T 磁共振显影剂弛豫率分析仪 (PQ001-20-015V; 上海纽迈电子科技有限公司)、GE1.5 T 磁共振成像系统 (美国 GE 公司)、GE3.0 T 磁共振成像系统 (美国 GE 公司)、等离子质谱仪 (ICP-MS, NexIONTM 350X; 美国 PerkinElmer 仪器有限公司)。

1.3 SPIO 纳米复合物的制备

称取葡聚糖 (T70) 1.5 g,溶于 20 mL 除氧水中,超声震荡下至完全溶解。5 °C 水浴中,安装机械搅拌器,加入一定量的

$FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 和 $FeCl_2 \cdot 4H_2O$ 充分溶解。向反应体系中缓慢滴加 25% $NH_3 \cdot H_2O$,同时用 pH 试纸监测溶液 pH 值,至溶液 $pH > 11.0$ 。将反应体系置于油浴中加热,1 h 内升温至 80 °C,保持 1 h。冷却至室温后,离心 (3 000 r/min, 5 min) 除去大颗粒,产物用孔径为 10 kD 透析袋在 $pH=8$ (柠檬酸,氢氧化钠) 的环境下透析 24 h,透析掉多余的小分子柠檬酸,附着于 SPIO 表面的柠檬酸使纳米粒子具有更好的分散性。 $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 和 $FeCl_2 \cdot 4H_2O$ 保持比例 2:1 不变,调节其总量与葡聚糖比例获得 3 种不同粒径的 SPIO 纳米复合物样品 A、B、C。

1.4 SPIO 纳米复合物的理化特性表征

1.4.1 X 射线衍射 取经冻干的样本,研细成粉末,置于 X 射线衍射仪进行扫描。

1.4.2 粒径分布及表面电位的检测 采用马尔文纳米粒度及 Zeta 电位分析仪分别测定 3 种样品的粒径分布及电位。

1.4.3 铁含量的检测 取适量葡聚糖氧化铁样本,加入浓硝酸室温消解 24 h,再加入去离子水稀释至 ppb 级。将稀释后的样本置于 ICP-MS 仪,测定其 Fe 浓度,然后根据稀释后样本 Fe 浓度及稀释倍数推算出原始样本浓度。

1.4.4 弛豫效能的检测 将样品稀释至不同 Fe 浓度 (0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mmol/L),置入测试瓶中,分别采用 0.5 T 磁共振显影剂弛豫率分析仪、GE 1.5 T 和 3.0 T 磁共振成像系统测定 T_1 弛豫效能(r_1)和 T_2 弛豫效能(r_2)。

1.5 SPIO 纳米复合物用于大鼠活体成像的研究

1.5.1 MR 成像序列及参数 采用专用大鼠线圈,以 GE 3.0 T MR 扫描仪行平扫和增强扫描。平扫和增强均采用以下序列和参数:① T_2 加权成像; PROPELLER 序列; $TR=4\ ms$, $TE=120\ ms$, 层厚=1 mm, $FOV=140\ mm \times 140\ mm$ 。② T_1 加权及心血管成像; Fast TOF-SPGR 序列; $TR=4\ ms$, $TE=2\ ms$, 层厚=0.6 mm, $FOV=200\ mm \times 200\ mm$ 。

1.5.2 MR 成像计划和图像处理 采用 2 月龄 SPF 级大鼠 10 只 (体质量约 0.2 kg),随机分为 2 组,分别以最小粒径的 USPIO 纳米复合物 (样品 A, 实验组) 和临床用 Gd 类造影剂钆喷酸葡胺 (对照组) 为对比剂进行 MR 成像研究。行 MRI 平扫后,实验组注射 USPIO (5 mg Fe/kg, 生理盐水稀释) 混悬液,对照组注射钆喷酸葡胺 (0.2 mL/kg, 生理盐水稀释),于不同时间点对大鼠体部行 MRI 扫描,获取动态增强图像,在此基础上测定不同时间点的肝脏、心脏尽可能相同层面信号强度,借此分析显影剂在体内的强化、分布和代谢特点。本研究符合作者所在单位实验动物伦理委员会所制定的伦理学标准。

1.5.3 实验结束后大鼠的存活状况观察 采用 USPIO 样品进行 MR 对比成像后,大鼠置于 SPF 级环境喂养 1 周以上,喂养方法如常,观察大鼠进食、存活情况。

1.6 统计学处理

使用 SPSS 22.0 统计学软件进行数据分析。计量资料采用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。2 组大鼠内心信号比较采用重复测量的方差分析,各组时间差异的两两比较采用 SNK- q

检验,各时间点的组间差异比较采用两独立样本 *t* 检验,并进行 Bonferroni 校正。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 X 射线衍射

将 X 射线衍射所得图谱与标准 Fe_3O_4 粉末衍射数据进行比较,确定样品是为 Fe_3O_4 晶体结构(图 1)。

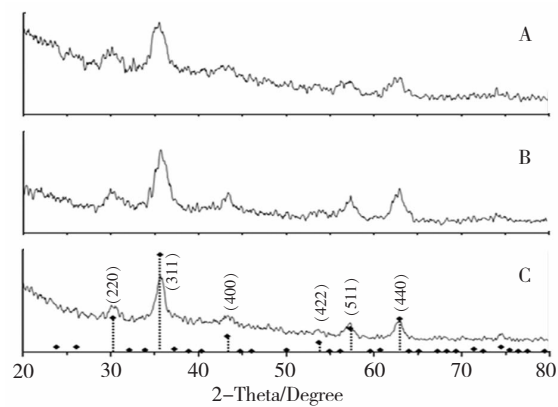


图 1 3 种 SPIO 样品的 X 射线衍射图

2.2 样品粒径和表面电位

采用马尔文纳米粒度及 Zeta 电位分析仪,测得样品在水溶液中的粒径分布和表面电位。三者的粒径分布如图 2 示,平均粒径分别为:样品 A(14.14 ± 4.94) nm;样品 B(28.30 ± 7.65) nm;样品 C(93.81 ± 33.01) nm,结果显示 3 种样品具有不同粒径分布,粒径分布较窄。样品表面电位测量结果:样本 A=-3.27 mV;样本 B=-10.6 mV;样本 C=-15.1 mV。3 种样品因表面有柠檬酸存在,表面电位均呈负值。

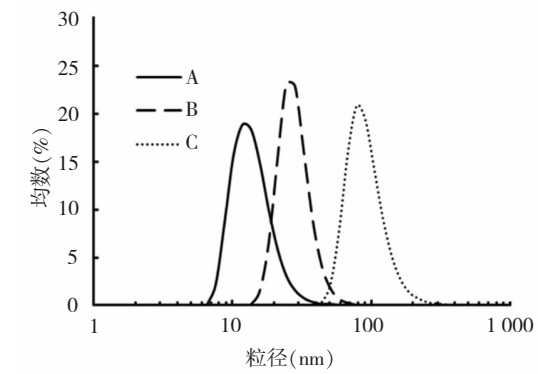


图 2 3 种 SPIO 样品的粒径分布图

2.3 样品的弛豫效能(r_1, r_2)

采用 0.5 T 磁共振造影剂弛豫率分析仪和临床用 GE 1.5 T、GE 3.0 T 核磁共振成像系统分别测得样品 r_1 和 r_2 (表 1、图 3 和图 4)。结果显示,不同粒径的 SPIO 样品具有近似的 r_1 ,随着 SPIO 粒径减小, r_2 值明显减小,同时 r_2/r_1 值变小。

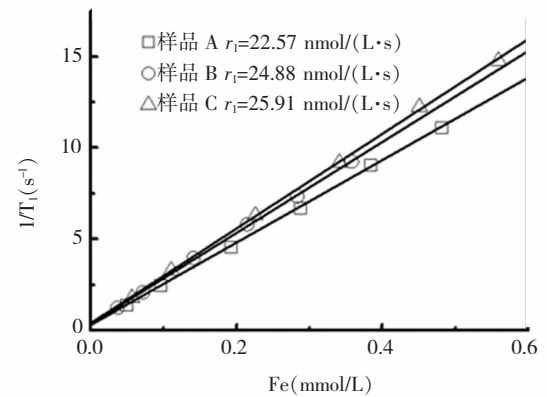


图 3 0.5 T 3 种 SPIO 样品的 T_1 弛豫效能

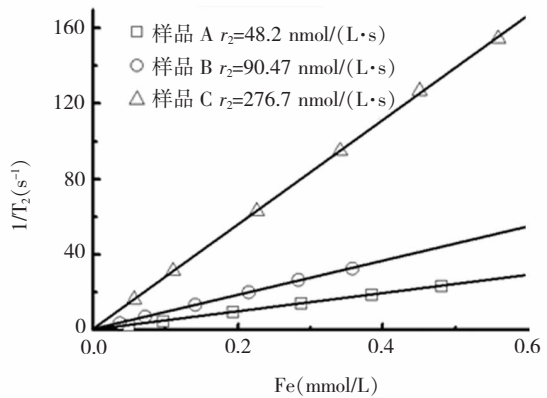


图 4 0.5 T 3 种 SPIO 样品的 T_2 弛豫效能

2.4 大鼠活体成像

实验组:大鼠肝脏在注射样品 A 后,行 T_2 序列成像,结果显示(图 5):多个时间点扫描,肝脏信号呈进行性下降,直到 USPIO 注射后 18 h 扫描,肝脏信号方有所升高。为了获得样品 A 的 T_1 增强效果,采用 TE 时间很短的 Fast TOF-SP-GR 序列(T_1 加权),对肝脏及心腔内血液强化情况进行观测。结果显示,肝脏信号在注射 USPIO 后迅速升高,注射后 1 min 和 3 min 均显示肝实质明显增强,7 min 后肝脏信号缓慢持续下降,直到 30 min 时仍高于平扫时的肝信号强化(图

表 1 3 种 SPIO 样品的 T_1, T_2 弛豫效能 (r_1, r_2 单位: $\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$)

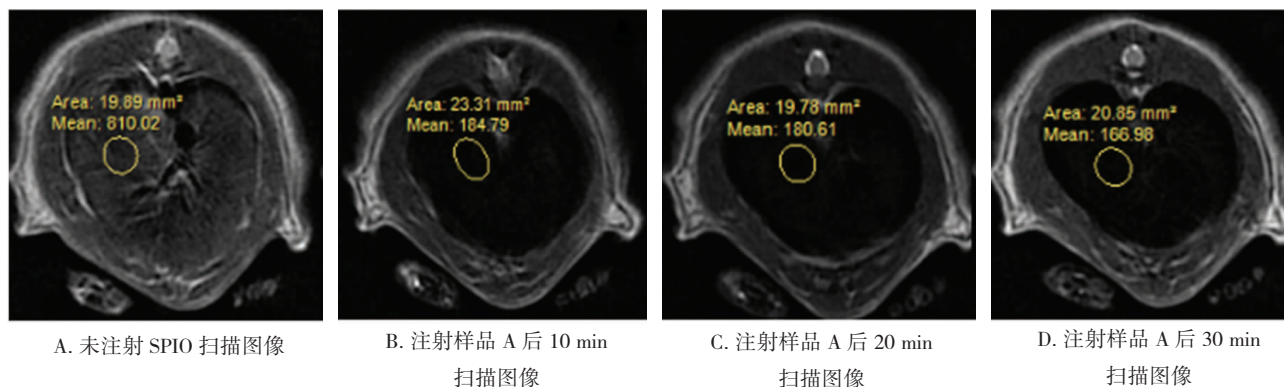
样本编号	0.5 T			1.5 T			3.0 T		
	r_1	r_2	r_2/r_1	r_1	r_2	r_2/r_1	r_1	r_2	r_2/r_1
A	22.57	48.20	2.14	12.82	53.56	4.18	6.21	57.42	9.25
B	24.88	90.47	3.64	12.20	102.90	8.43	5.49	110.50	20.13
C	25.91	276.70	10.68	13.13	308.10	23.46	6.35	335.30	52.81

6)。另外心腔内血液信号在注射 USPIO 后也迅速升高,3 min 内血液信号维持较高水平,7 min 后心腔内血液信号逐渐减低;在注射 USPIO 后约 30 min 时,心脏内信号衰减至峰值的 1/2(图 7、图 8、图 12)。

对照组:大鼠在注射推荐剂量钆喷酸葡胺后,行 T1 序列成像,结果显示(图 9):多个时间点扫描,肝脏信号迅速升高,而后逐渐降低。T2 序列信号在注射造影剂后未见明显改变。Fast TOF-SPGR 序列,对心腔内血液强化情况进行观测。结果显示,心腔内血液信号在注射钆喷酸葡胺后迅速升高

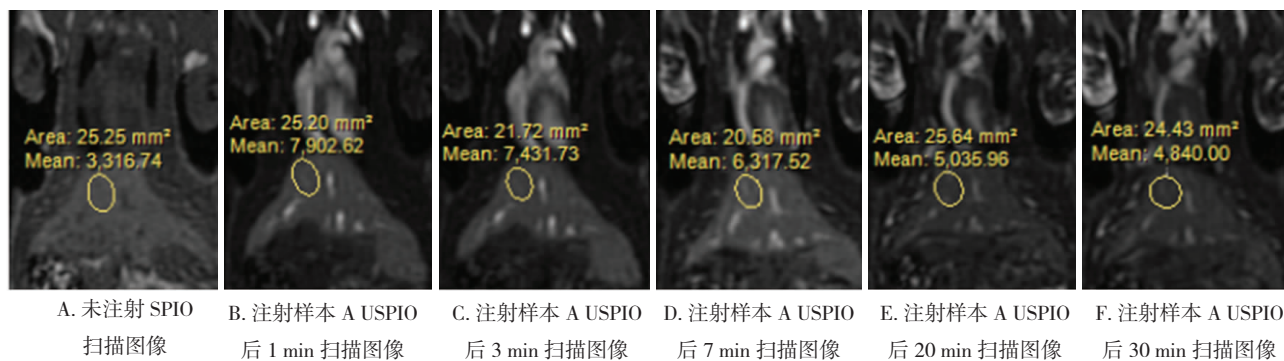
(程度较 USPIO 低),而后心腔内血液信号逐渐减低;在注射 Gd 后 10~20 min 时,心脏内信号衰减至峰值的 1/2(图 10、图 11)。血管重建结果提示在推荐剂量 Gd 下大鼠心脏及血管显影浅淡,双肾显影浓聚,膀胱可见造影剂逐渐储积。

对比实验组、对照组大鼠心内信号改变(表 2、图 12)。根据重复测量设计方差分析,数据不满足球形检验(近似卡方=27.087, $P=0.026$),故选择矫正后的 G-G 检验结果,即分组效应、组别与时间交互作用、时间效应对大鼠心内信号的影响均有显著意义($F=88.335$, $F=15.956$, $F=220.964$,均 $P=0.000$)。



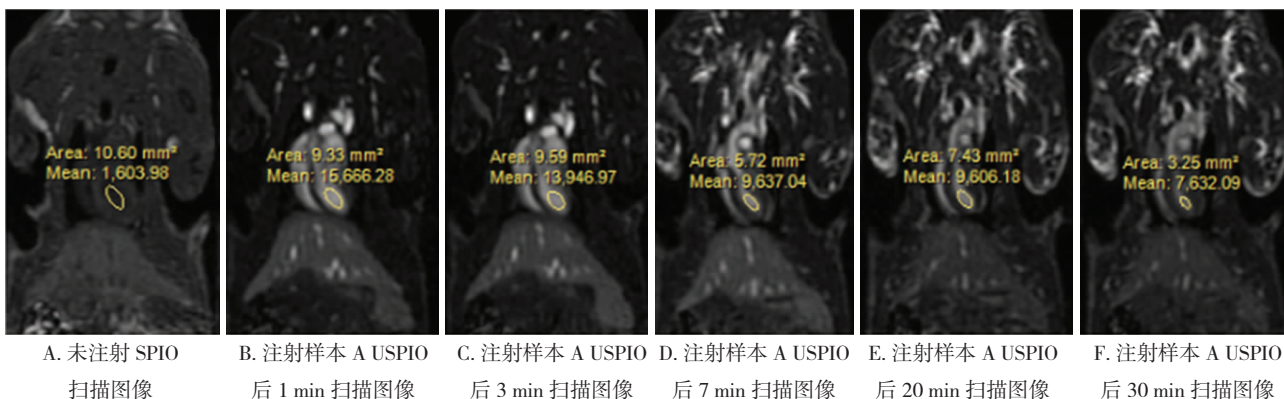
注: T2 序列图像显示, 肝脏信号明显迅速下降

图 5 大鼠肝脏 T2 序列信号变化



注: 肝脏信号在注射 USPIO 后迅速升高, 后续扫描肝脏信号呈进行性减低, 但信号强度仍高于平扫时

图 6 大鼠肝脏 Fast TOF-SPGR 序列信号变化



注: 心脏及血管内信号在注射 USPIO 后迅速达到峰值, 后续扫描心脏信号呈进行性减低, 在注射 USPIO 后约 30 min 时, 心脏内信号衰减至峰值的 1/2, 推断样品 A 具有较长的血液半衰期

图 7 大鼠心脏 Fast TOF-SPGR 序列信号变化

进一步行 USPIO 组内各时间点两两比较;注射造影剂后大鼠心内信号均显著高于平扫期(均 $P=0.000$)。2 组间各时间点两两比较,除平扫大鼠心内信号无统计学差异外,各时间点 USPIO 组大鼠信号均高于 Gd 组,其差异有统计学意义。

2.5 实验结束后大鼠的存活状况观察

将大鼠置于 SPF 级环境喂养,喂养方法如常,每日观察大鼠进食和存活情况。结果显示,大鼠精神状态佳,进食、活动自如,未有异常现象,1 周后 2 组大鼠均存活。

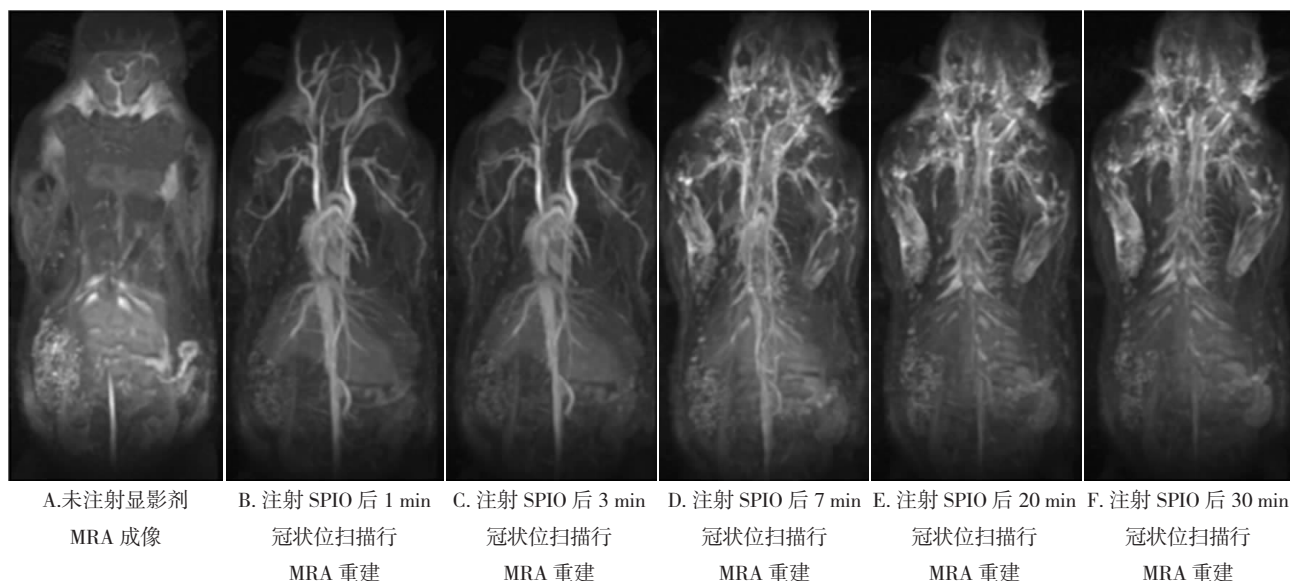
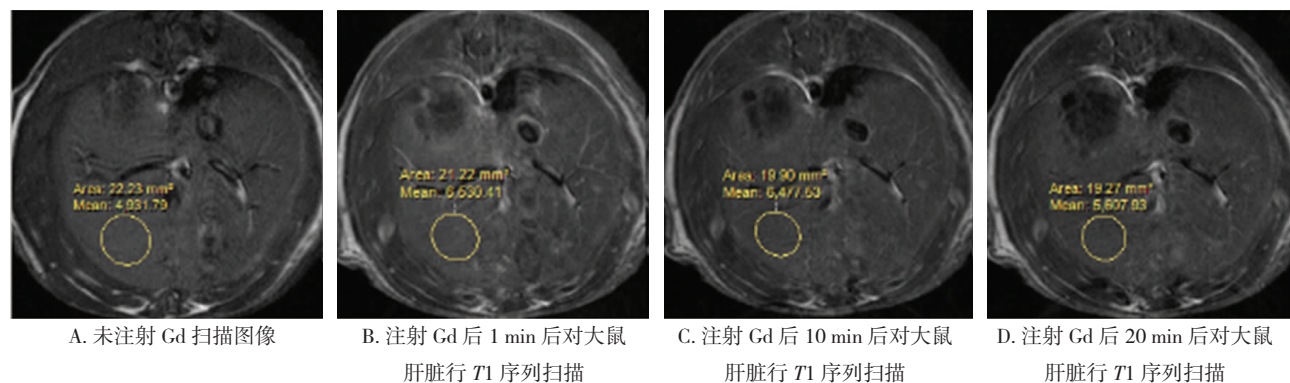
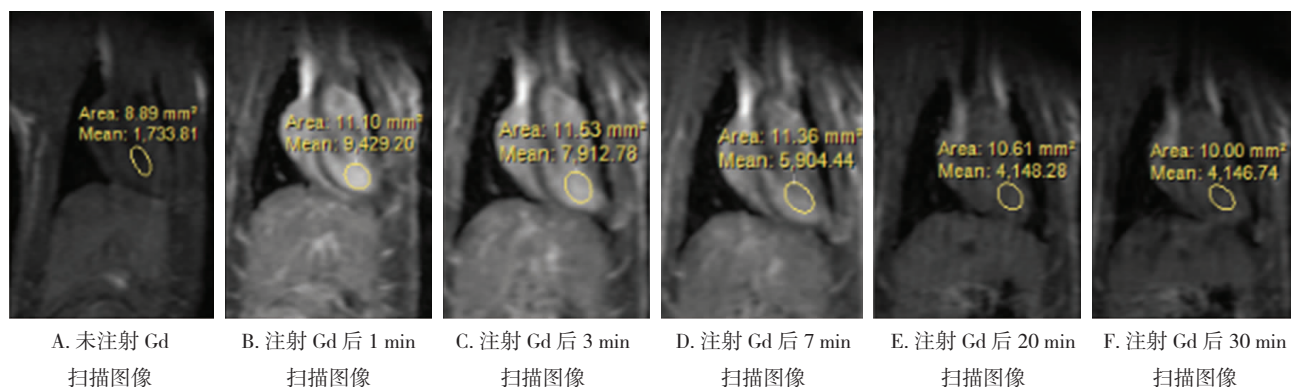


图 8 MRA 冠状位重建显示样品 A 注射后大鼠血管信号变化



注: T1 序列图像显示, 肝脏信号明显快速升高, 而后逐渐减低

图 9 大鼠肝脏 T1 序列信号变化



注: 心脏及血管内信号在注射 Gd 后迅速达到峰值, 后续扫描心脏信号呈进行性减低, 在注射 Gd 后 10~20 min 时, 心脏内信号衰减至峰值的 1/2

图 10 大鼠心脏 Fast TOF-SPGR 序列信号变化

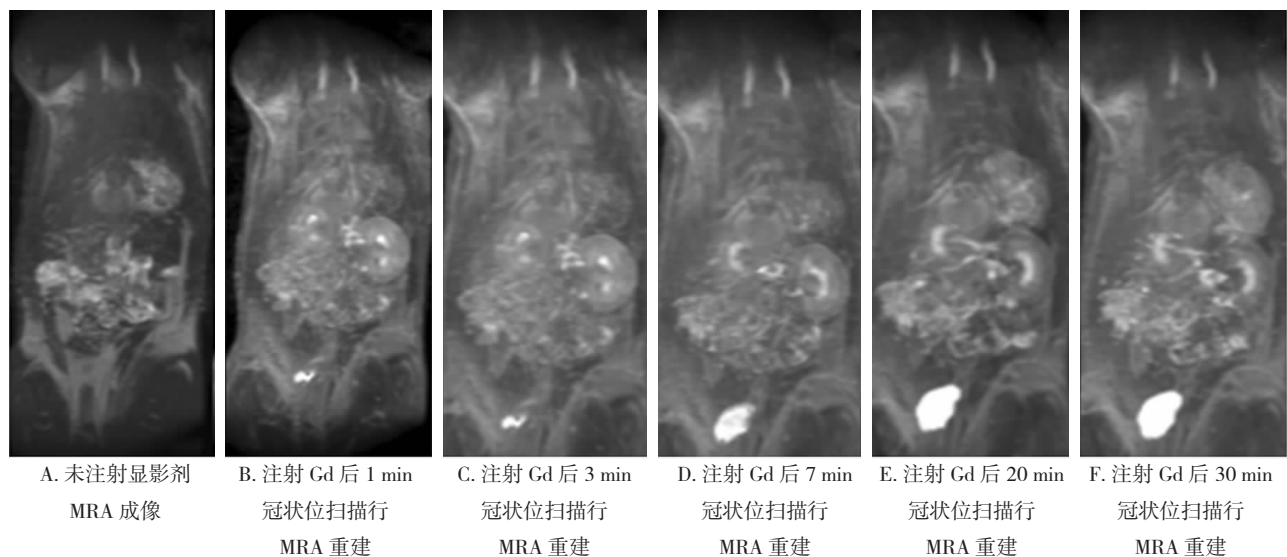


图 11 MRA 冠状位重建显示 Gd 注射后大鼠血管信号变化

表 2 2 组大鼠心内信号改变对比(每组 $n=5$, 单位 = 灰度值)

组别	平扫	注射后 1 min	注射后 3 min	注射后 7 min	注射后 20 min	注射后 30 min	F 值	P 值
USPIO	$1\,642.4 \pm 203.9$	$16\,628.2 \pm 1\,181.5$	$14\,253.8 \pm 895.9$	$9\,607.8 \pm 1209.1$	$9\,135.6 \pm 860.9$	$8\,345.6 \pm 782.8$	88.335 ^a	0.000 ^a
Gd	$1\,533.8 \pm 170.1$	$10\,673.8 \pm 2\,506.2$	$8\,070.6 \pm 288.9$	$6\,767.0 \pm 1037.6$	$4\,826.2 \pm 693.7$	$4\,098.4 \pm 407.2$	15.956 ^b	0.000 ^b
t 值	0.914	4.805	14.688	3.987	8.716	10.763	220.964 ^c	0.000 ^c
P 值	0.387	0.001	0.000	0.004	0.000	0.000		

注:a, 分组效益的 F 统计量和 P 值;b: 组别与时间交互作用的 F 统计量和 P 值;c: 时间效应的 F 统计量和 P 值

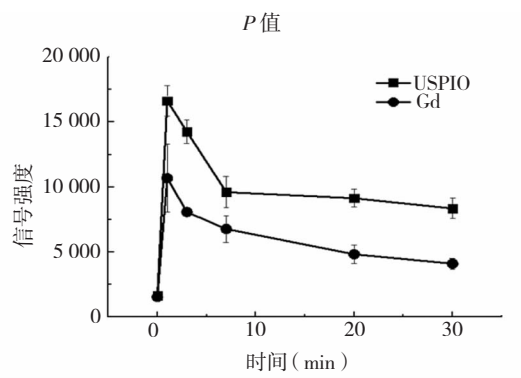


图 12 大鼠心脏内信号在注射 USPIO 及 Gd 类造影剂前后信号变化

3 讨论

SPIO 纳米颗粒具有良好 T_1 及 T_2 弛豫效能, 在很低的浓度下便可明显缩短质子的 T_1 、 T_2 弛豫时间, 是灵敏度较高的 MRI 显影剂。此外, 因为铁是人体自然铁循环中必不可少的元素, 进入人体的铁易于生物降解, 使其具有良好的生物安全性。SPIO 还具有表面易于功能化修饰等优点, 被广泛用于 MRI

可视化药物传输、功能化显影剂和靶向显影剂的研究^[4]。

粒径、晶型等都是影响 SPIO 成像性能的因素, 本实验采用共沉淀法合成 3 种粒径 SPIO, X 射线衍射结果提示 3 种样本均为 Fe_3O_4 晶体结构, 同时均在柠檬酸环境下透析, 使其样本表面包被相同的柠檬酸。粒径反应样本的聚集状态, 是影响 SPIO 成像性能的主要因素, SPIO 的核心直径决定了它们的磁属性, 影响 SPIO 改变组织 MRI 信号的能力。但 SPIO 粒径与弛豫效能相关性的研究较少, 本研究比较不同粒径 SPIO 于不同磁场强度下的弛豫效能差异, 分析粒径、场强、弛豫效能之间的关系。根据实验结果可知超小粒径 SPIO (USPIO, 直径 $<30\text{ nm}$ ^[5]) 具有较高的 T_1 、 T_2 弛豫效能 (r_1 、 r_2), r_2/r_1 比值较小, 既可作为良好的 T_2 阴性造影剂, 也可用作 T_1 阳性造影剂^[6-7], 目前渐成研究热点。因此本研究中我们也进一步将粒径约 14 nm 的 USPIO 样本 A 用于大鼠 MRI 成像, 初步研究其 T_1 、 T_2 增强效果。

合成 SPIO 的常用方法包括共沉淀法^[8]、高温热分解法、水热合成法和微乳液法等^[9]。其中共沉淀法

是一种简单和方便的合成氧化铁纳米颗粒(Fe_3O_4 或 $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$)的方法。本实验采用共沉淀法制备了粒度分布较为均匀的 SPIO 纳米颗粒。SPIO 产物的粒径大小控制则通过调节葡聚糖和铁的比例或使用不同分子量的葡聚糖来实现。实验中通过调节反应物中葡聚糖与铁元素比例,获得了 3 种不同粒径的 SPIO [(14.14 ± 4.94) 、 (28.30 ± 7.65) 和 (93.81 ± 33.01) nm]。X 射线衍射结果提示 3 种样本为标准 Fe_3O_4 样本。体外弛豫效能测试结果显示,3 个样品都具有较高的 T_2 弛豫效能 r_2 ,但因三者粒径不同,其 r_2 差异较大,呈现随粒径减小而明显降低的趋势[0.5 T, 从 276.7 mmol/(L·s)到 48.2 mmol/(L·s)]。同时,3 个样品也具有较高的 T_1 弛豫效能,体外弛豫率测试结果显示,3 种样品粒径的大小对 r_1 影响不大。可见,小粒径的 SPIO 纳米颗粒(USPIO)具有相对较低的 r_2/r_1 值,表明它除可用作 T_2 显影剂外, T_1 成像效果不至于被 T_2 成像效果所掩盖,可用作 T_1 显影剂的研究。另外随着磁场降低,SPIO 呈现 r_1 升高、 r_2 下降的趋势,低场下具有更低的 r_2/r_1 ,有利于 T_1 增强显影。上述研究表明,不同粒径 SPIO 的成像性能差异较大,相较于大粒径 SPIO,USPIO 具有更理想的 r_2/r_1 ,更适合用作 T_1 - T_2 双增强对比剂。

既往商品化的 Feridex(直径 80~150 nm)因易被肝脏枯否氏细胞吞噬,曾主要应用于人体肝脏特异性显影。目前美国 FDA 批准上市的 Ferumoxytol^[10-13],它由糖类物质包裹 SPIO 构成,平均粒径 30 nm 左右,被用于 MRI 肝脏和血管造影方面的研究。此 2 种商品粒径分别与本实验所得 B、C 样本较相似,研究已较多。本课题组更期望研究 USPIO 的 T_1 、 T_2 成像效果,因此将粒径更小的样本 A 用于大鼠活体成像,以期初步探究其用于 T_1 、 T_2 成像的结果。本实验选取粒径较小的样品 A[USPIO, 粒径 (14.14 ± 4.94) nm]作为实验组行大鼠活体成像,通过大鼠尾静脉注射,于不同时间点行 MRI 扫描,初步研究其在动物体内的对比增强效果。肝脏是该显影剂浓聚的主要场所之一,测定不同时间点的同层面肝脏信号强度,了解显影剂在肝内聚散的空间和时间变化规律。结果显示, $T_2\text{WI}$ 序列上,多个时间点扫描,肝脏信号呈进行性下降,另外检测肝脏不同区域的信号值,发现信号值大小存在一定差异,说明显影剂在肝脏内的信号分布并不均匀。显影剂注射 18 h 后,肝脏信号有所回升,但仍较注射前的肝脏信号

明显低,提示 USPIO 在注射 18 h 后在肝内浓度仍高。

USPIO 用作 T_1 阳性显影剂国内相关文献几乎未见,但国外文献^[14-16]近年已有报道,USPIO 注射后,在肝脏呈快速、进行性浓聚的特点,造成肝磁化组织快速弛豫,在常用 TE 条件下显示为低信号,如需用着 T_1 阳性显影剂的研究往往采用拥有超短 TE 值(UTE)的科研序列来成像,以获得注射 SPIO 后阳性增强的图像。此类序列多采用西门子公司 3.0 T 核磁共振成像仪,梯度回波序列(GRE),超短 TE 值(通常 <0.1 ms)。由于本文使用的临床 MR 成像仪在设备和序列上的条件限制,自旋回波 $T_1\text{WI}$ 序列 TE 无法满足对 USPIO T_1 增强效果的显示,笔者改用 TE 更短的 TOF-SPGR(GRE 序列,设备所能达到的较短 TE=2 ms)增强序列来观察样品 A 的 T_1 增强效果,并以肝脏和心腔内信号改变来评价 USPIO $T_1\text{WI}$ 增强效果。结果显示,大鼠肝脏信号于 1 min 扫描时即呈明显快速升高,3 min 内呈持续强化高信号,7 min 后肝脏强化信号逐渐下降。这主要是由于增强初期肝脏 USPIO 沉积较少,在较低的 Fe 浓度下,TE=2 ms 的 Fast TOF-SPGR 序列可以有效地检测到对比剂进入肝脏引起的 T_1 弛豫效应,随着时间延迟,SPIO 在肝内逐渐浓聚,导致 T_2 弛豫效应增强,肝脏信号随之减低。另一方面,注射 USPIO 后,对比剂在血液中得到适当稀释,采用短 TE 的 Fast TOF-SPGR 序列可有效检测其诱导的 T_1 弛豫效应,增强后 3 min 内大鼠心脏和动脉血管内血液呈持续高信号,心脏和动脉血管显示了良好的组织对比;7 min 后,动脉血管成像质量虽有所下降,但血管内的信号强度仍保持较高水平。在注射 USPIO 后约 30 min,心脏内信号衰减至峰值的 1/2,借此推断样品 A 具有较长的信号半衰期;18 h 后再次扫描,显示心脏及血管内信号恢复至平扫水平。为进一步了解 USPIO 与临床 Gd 类对比剂对血管成像的效果,设置对照组进行对照研究。结果提示,传统 Gd 类对比剂(钆喷酸葡胺)仅能改变组织 T_1 序列信号,血液循环时间较短,推荐剂量下血管成像效果较差,且主要经过泌尿系排泄,对于肾功能不全患者使用风险较大。而 USPIO 既具有改变组织 T_2 及 T_1 信号的能力,同时血管成像亦有良好效果,造影剂注射后各时间段 USPIO 组大鼠心内信号均显著高于 Gd 组信号。另外 USPIO 具有较高的生物安全性,在安全剂量下 USPIO 具有较长的循环时间,能够提供较大的 MR

成像时间窗口。综上,本研究制备的 USPIO(样品 A)具有良好的理化性能和成像特性,在适当的 MR 成像设备和序列条件下,用于动物体内成像研究,显示了良好的 $T1$ - $T2$ 增强效果。增强检查结束后,大鼠返回动物房照常饲养,进食、活动和精神状态均未发现异常,且存活 1 周以上,说明样品 A 毒性小、安全性较高。

4 结 论

本实验成功制备了 3 种具有不同粒径的由葡聚糖包裹的 SPIO 纳米颗粒。X 射线衍射图显示样本成分均为 Fe_3O_4 晶体。弛豫效能分析显示,粒径对 SPIOT2 弛豫效能影响较大,随着粒径增大, r_2 明显增大,而在实验所得 3 种粒径范围内,随着粒径的增大 r_1 的变化较小,使得超小粒径的 SPIO 具有较小的 r_2/r_1 ,可用于 $T1$ 、 $T2$ 双增强的研究。后续动物实验也证实了实验所得超小粒径 SPIO $T1$ 加权(GRE, 短 TE)及常规 $T2$ 序列在肝脏、血管成像效果均较好。后续如采用 PEG^[17-18]等生物安全性材料修饰,可进一步防止对比剂聚集,提高稳定性;减少巨噬细胞的吞噬,延长循环时间,有望调节其体内循环、分布、代谢特点,用于不同目的的 MRI 成像实验研究。

参 考 文 献

- [1] Kanda T, Fukusato T, Matsuda M, et al. Gadolinium-based contrast agent accumulates in the brain even in subjects without severe renal dysfunction; evaluation of autopsy brain specimens with inductively coupled plasma mass spectroscopy[J]. *Radiology*, 2015, 276(1): 228–232.
- [2] Rofsky NM, Sherry AD, Lenkinski RE. Nephrogenic systemic fibrosis: a chemical perspective[J]. *Radiology*, 2008, 247(3): 608–612.
- [3] Thomsen HS. Nephrogenic systemic fibrosis: history and epidemiology[J]. *Radiol Clin North Am*, 2009, 47(5): 827–831.
- [4] Thorek DL, Chen AK, Czupryna J, et al. Superparamagnetic iron oxide nanoparticle probes for molecular imaging[J]. *Ann Biomed Eng*, 2006, 34(1): 23–38.
- [5] Schutz G, Lohrke J, Pietsch H. Lymph node staging using dedicated magnetic resonance contrast agents—the accumulation mechanism revisited[J]. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*, 2015, 7(2): 238–249.
- [6] Sandiford L, Phinikaridou A, Protti A, et al. Bisphosphonate-anchored PEGylation and radiolabeling of superparamagnetic iron oxide: long-circulating nanoparticles for in vivo multimodal ($T1$ MRI-SPECT) imaging[J]. *ACS Nano*, 2013, 7(1): 500–512.
- [7] Shen Z, Chen T, Ma X, et al. Multifunctional theranostic nanoparticles based on exceedingly small magnetic iron oxide nanoparticles for $T1$ -weighted magnetic resonance imaging and chemotherapy[J]. *ACS Nano*, 2017, 11(11): 10992–11004.
- [8] 柏 玮, 宋 琳, 文 明, 等. 超顺磁性氧化铁纳米粒子的制备及性能检测[J]. *重庆医科大学学报*, 2007, 32(9): 922–925.
- [9] Laurent S, Forge D, Port M, et al. Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations, and biological applications[J]. *Chem Rev*, 2008, 108(6): 2064–2110.
- [10] Schubert T, Motosugi U, Kinner S, et al. Crossover comparison of ferumoxylol and gadobenate dimeglumine for abdominal MR-angiography at 3.0 tesla: Effects of contrast bolus length and flip angle[J]. *J Magn Reson Imaging*, 2017, 45(6): 1617–1626.
- [11] Lehrman ED, Plotnik AN, Hope T, et al. Ferumoxylol-enhanced MRI in the peripheral vasculature[J]. *Clin Radiol*, 2018[Epub ahead of print]. DOI: 10.1016/j.crad.2018.02.021.
- [12] Storey P, Lim RP, Chandarana H, et al. MRI assessment of hepatic iron clearance rates after USPIO administration in healthy adults[J]. *Invest Radiol*, 2012, 47(12): 717–724.
- [13] Sigovan M, Gasper W, Alley HF, et al. USPIO-enhanced MR angiography of arteriovenous fistulas in patients with renal failure[J]. *Radiology*, 2012, 265(2): 584–590.
- [14] Hong W, He Q, Fan S, et al. Imaging and quantification of iron-oxide nanoparticles (IONP) using MP-RAGE and UTE based sequences[J]. *Magn Reson Med*, 2017, 78(1): 226–232.
- [15] Zhang L, Zhong X, Wang L, et al. $T(1)$ -weighted ultrashort echo time method for positive contrast imaging of magnetic nanoparticles and cancer cells bound with the targeted nanoparticles[J]. *J Magn Reson Imaging*, 2011, 33(1): 194–202.
- [16] Wang L, Zhong X, Qian W, et al. Ultrashort echo time (UTE) imaging of receptor targeted magnetic iron oxide nanoparticles in mouse tumor models[J]. *J Magn Reson Imaging*, 2014, 40(5): 1071–1081.
- [17] Khandhar AP, Keselman P, Kemp SJ, et al. Evaluation of PEG-coated iron oxide nanoparticles as blood pool tracers for preclinical magnetic particle imaging[J]. *Nanoscale*, 2017, 9(3): 1299–1306.
- [18] Chen Y, Zhou Q, Li X, et al. Ultrasmall paramagnetic iron oxide nanoprobe targeting epidermal growth factor receptor for in vivo magnetic resonance imaging of hepatocellular carcinoma[J]. *Bioconj Chem*, 2017, 28(11): 2794–2803.

(责任编辑: 冉明会)