

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.10.043

· 专论与综述 ·

超声造影在早期动脉粥样硬化疾病的研究进展*

孙瑜¹ 李想¹ 罗春英² 刘佳¹ 薛莉^{1Δ}

(1 哈尔滨医科大学附属第四医院心内超声室 黑龙江 哈尔滨 150001;

2 哈尔滨市胸科医院超声科 黑龙江 哈尔滨 150056)

摘要: 动脉粥样硬化一直是心血管医学面临的长期而严峻的挑战,随着代谢性危险因素的日益增多,动脉粥样硬化性疾病带来的危害日益突出;超声成像作为一种良好的无创、实时检查手段,一直作为动脉粥样硬化疾病诊断的首选诊断方法;近 30 年来超声影像学快速发展,从过去单纯对发生粥样硬化损伤的血管结构进行成像,经过各方面技术的发展,如今其对动脉粥样硬化组织内的结构以及病理过程的显像已成为可能。在本文中,将对近年来超声造影在早期 AS 疾病的诊治及疗效评价方面的进展作简要综述。

关键词: 动脉粥样硬化;超声成像;分子影像;超声造影剂

中图分类号: R543.5; R445.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2017)10-1960-04

Research Progress of Contrast-Enhanced Ultrasound in Early Atherosclerosis Disease*

SUN Yu¹, LI Xiang¹, LUO Chun-ying², LIU Jia¹, XUE Li^{1Δ}

(1 Ultrasound Division, Department of Cardiology, The Fourth Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China; 2 Department of Ultrasound, Chest Hospital of Harbin, Harbin, Heilongjiang, 150056, China)

ABSTRACT: Atherosclerosis has been known as the biggest challenge in vascular medicine. With the metabolic factor of danger rising, more harm that brought from the atherosclerotic disease will show up. Ultrasound imaging, as the noninvasive and real-time inspection method, is always used as the atherosclerotic diagnosis tool. Revolution in the field of ultrasound imaging in the last three decades has enabled imaging of the pathological process and structure within atherosclerotic tissue. In this article, we review advances in contrast-enhanced ultrasound aimed at detecting the lesion at the relatively early stage of atherosclerosis.

Key words: Atherosclerosis; Ultrasound Imaging; Molecular Imaging; Ultrasound Contrast Agents

Chinese Library Classification(CLC): R543.5; R445.1 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)10-1960-04

动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是临床上一类以大中血管含脂质的炎症损伤为特征的炎症性疾病。Hermann 等^[1]提出,人类 AS 损伤的过程可分为三个阶段。第一阶段中,环境的危险因素与遗传的易感程度共同导致细胞功能的改变。第二阶段,外膜滋养血管增殖并长入斑块。随着微血管密度的增加,斑块变脆易损,有可能发展至第三阶段。这一阶段,斑块内出血,微血管床完整性破坏,加之炎症使斑块更加脆弱。在稳定斑块炎症加重以及血管新生增多时,会导致斑块的破裂,血栓形成甚至急性心血管事件的发生。因此,于较早阶段发现 AS 疾病对于减缓、阻止或逆转其危害具有重要意义。随着超声成像研究的不断深入,不断为 AS 疾病提供更为优化的诊疗方法。

1 超声显像

超声对心血管系统疾病的分子水平成像属于常规超声心

血管造影的延伸。非靶向的超声造影剂(US contrast agents, UCAs)在微循环内单纯扮演类似红细胞示踪剂的角色,而靶向 UCAs 则修饰以配体,通过与特异性靶分子(如在病理过程中表达水平上调的受体)结合,从而实现其在特定部位的聚集。典型的 UCAs 通常采用性质较稳定的外壳材料包裹气体制成的微泡(MBs),常见的外壳材料包括蛋白质类、脂质类以及具有生物相容性的高分子聚合物等。另外,还有亚微米级的含气脂质体和声敏纳米微粒等超声造影剂。UCAs 受到超声波的激励后,MBs 发生振动可产生共振发出区别于周围组织的背向散射信号,使得超声检查系统更敏感地检测到造影信号。

2 非靶向超声成像

应用非靶向 UCAs 的超声造影可显示颈动脉等部位粥样硬化斑块内新生血管影像(图 1^[2]),其与新生血管 CD31 的免

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81571690)

作者简介:孙瑜(1990-),女,硕士研究生,主要研究方向:心血管超声诊断

Δ 通讯作者:薛莉,女,电话:0451-85939596, E-mail: toxueli@163.com

(收稿日期:2016-10-11 接受日期:2016-10-24)

疫组化染色情况相关性良好^[2]。研究表明,斑块增强的程度与颈动脉狭窄的程度不相关,而是与斑块内部血管新生的数量成正比。斑块回声一直被认为是评价斑块危险性的指标,因此,在评价斑块稳定性方面超声造影显示其应用价值。在传统超声显像的基础上,超声造影结合有无症状、是否存在斑块、血管外膜滋养血管和斑块内新生血管的多少以及是否有心血管疾病病史和近期的心血管事件作为其对疾病分级的依据^[3]。此外,超声造影还可应用于评价药物对新生血管的影响^[4],研究显示,他汀类药物治疗六个月后,患者斑块内新生血管减少了46%,与LDL水平下降呈正相关。另外,探究超声造影定量评价斑块内新生血管与远期心血管事件发生之间关系的前瞻性临床研究是业内关注的热点之一。

以上研究均依赖超声造影对血管新生的程度进行主观评价,即通过UCAs循环清除过程中动态的时间-强度曲线以及斑块内部造影对比增强曲线可进一步为评价斑块血管新生程度提供较为客观依据^[5]。除此之外,还有研究应用计算新生血管比例的方法,并采用运动补偿,使超声造影参数与组织学参数之间取得很好的相关性^[6]。然而,组织学证实,应用超声造影评价的新生血管仍有其固有的局限性:每一帧超声图像中的信息是几个毫米范围内的综合数据显示,并不能像组织学切片一样,仅体现单纯层面内的信息。

与传统的颈动脉超声检查相比,冠状动脉斑块滋养血管的成像易受心脏的搏动以及冠脉微循环信号的影响。UCAs通过增强冠状血管壁的声学信号有可能克服这一局限。Carlier等^[7]最早进行了人在冠动脉血管内超声(IVUS)非谐波成像的可行性研究。由于斑块的血流灌注主要来源于血管的滋养管,超声造影过程中,血管滋养管的对比增强程度可表示血管滋养管密度,从而可以用来克服临床研究中不能采用组织学方法来验证冠状动脉斑块损伤的问题。非谐波成像技术(Non-harmonic imaging technique)利用MBs的非线性振动可产生的信号的特性,可以刺激其发射出相比中心频率(f_c)更高(谐波)或更低(次谐波)的能量,从而更好地区分来源于组织和MBs的声学信号。Goertz等^[8]通过二次谐波($2f_c$)及次谐波($1/2f_c$)成像,在冠状动脉仿体实验中得到了组织对比度(contrast-to-tissue ratio, CTR)的改善。虽然目前IVUSd的成像手段只用于一些可行性研究中,但这些成像策略有很广的应用前景,并有望与商业化的超声仪器兼容^[9]。

3 靶向超声成像

目前,AS靶向超声成像已被用于针对炎症和新生血管形成相关的分子靶点识别。成像使用的UCAs被赋予生物功能,设计为对特定的靶点有特异亲和力从而实现分子水平的成像。为使超声造影成像特异性识别早期AS疾病,通常选择炎症过程中确切表达、且非特异性表达少或无的受体,其中,参与炎症过巨噬细胞以及T淋巴细胞等聚集的VCAM-1、ICAM-1、P-selectin等,是最常用的特征性生物标记分子^[10-16]。一项综合性的IVUS研究表明,抗VCAM、抗ICAM、抗组织因子(TF)、抗纤维蛋白以及抗纤维蛋白原抗体分别与脂质体乳剂(ELIPs)连接后能够成功地在单一过程里识别出AS组织的不同组成成分^[17]。然而,这种纳米粒子乳剂与内充气体的MBs相比,其在超声成

像过程中产生的声学信号很弱,这是限制其应用的一个主要原因。Kaufmann等^[18]使用偶联VCAM-1抗体的靶向MBs对AS早期的炎症过程进行了成像。由于VCAM-1在动脉血管的内皮细胞和血管滋养管均有表达,使得它可同时对炎症以及新生血管进行成像。在使用他汀类药物后,VCAM-1表达量的减少亦可利用VCAM-1靶向MBs对其进行量化(图2)^[19]。同样,ICAM-1也可作为AS过程中炎症及新生血管形成的靶标^[20]。另外,在肿瘤等疾病模型的研究中广泛使用的VEGFR和白介素-8等可作为靶向显示AS新生血管的受体,其可行性已有研究证实^[21,22]。由于MBs无法渗透达到更深的斑块成分(如脂质),这限制了靶向MBs对其他临床相关靶标的成像。

MBs通常在血管中央呈轴流流动,因此靶向MBs在血流流速快、剪切应力大的动脉血管内的黏附往往显得尤为困难^[23]。针对这一问题,国内外学者做了多种尝试。一些学者通过外部作用力将靶向MBs直接推向或吸引到血管内皮细胞表面,早在1999年,Dayton等^[24]首先提出可以通过超声辐射力将靶向MBs推向血管壁从而大大增加仿体血管表面受体结合靶向MBs的数量;我国学者Liu等^[25]在超声辐射力的作用下比较了靶向MBs在大、小血管中与内皮细胞的黏附效率,发现超声辐射力处理的优势作用;Wang等^[26]进一步研究了超声辐射力与增强靶向MBs黏附之间的关系。2011年Wu等^[27]通过构建基于VCAM-1的磁性靶向MBs造影剂,在磁场作用下提高了靶向MBs对早期AS的超声分子成像效果。但是这种通过外力作用的方式仍然存在一些问题,例如,由于MBs的粒径大小不一,超声辐射力大小不易掌握,易造成MBs破碎或动力不足;磁场作用力对于深部血管病变的作用效果尚有待观察。

另有学者提出“双配体”靶向技术^[28],设计在同一MBs表面连接与靶分子快速结合及稳定结合两种配体,快速结合型配体在较高剪切应力下可与靶分子快速作用,延长缓慢牢固结合型配体与靶分子的接触时间,以实现MBs在局部组织的有效聚集。Kaufmann等^[29]在不同阶段的早期AS小鼠模型中,使靶向超声MBs造影剂与病变处表达的VCAM-1和P-selectin相结合,首次运用无创方法对AS脂纹形成前期的血管炎症反

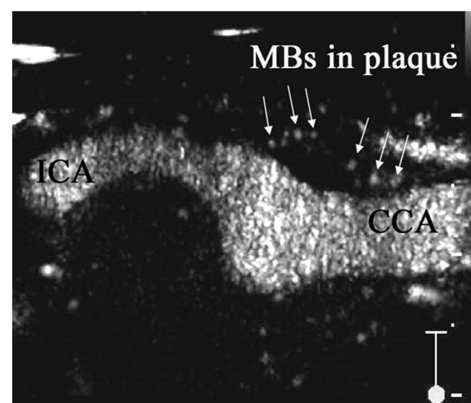


图1 超声造影显示颈动脉斑块内部新生血管形成^[2]

超声造影可见相应动脉内斑块内部明显的MBs信号(箭头)

Fig.1 Carotid artery with intraplaque neovascularization on CEUS^[2]. Plaque at the origin of the internal carotid artery on B-mode US imaging (right panel). Corresponding artery on contrast-enhanced US (left panel) with visible MBs within the plaque (arrows)

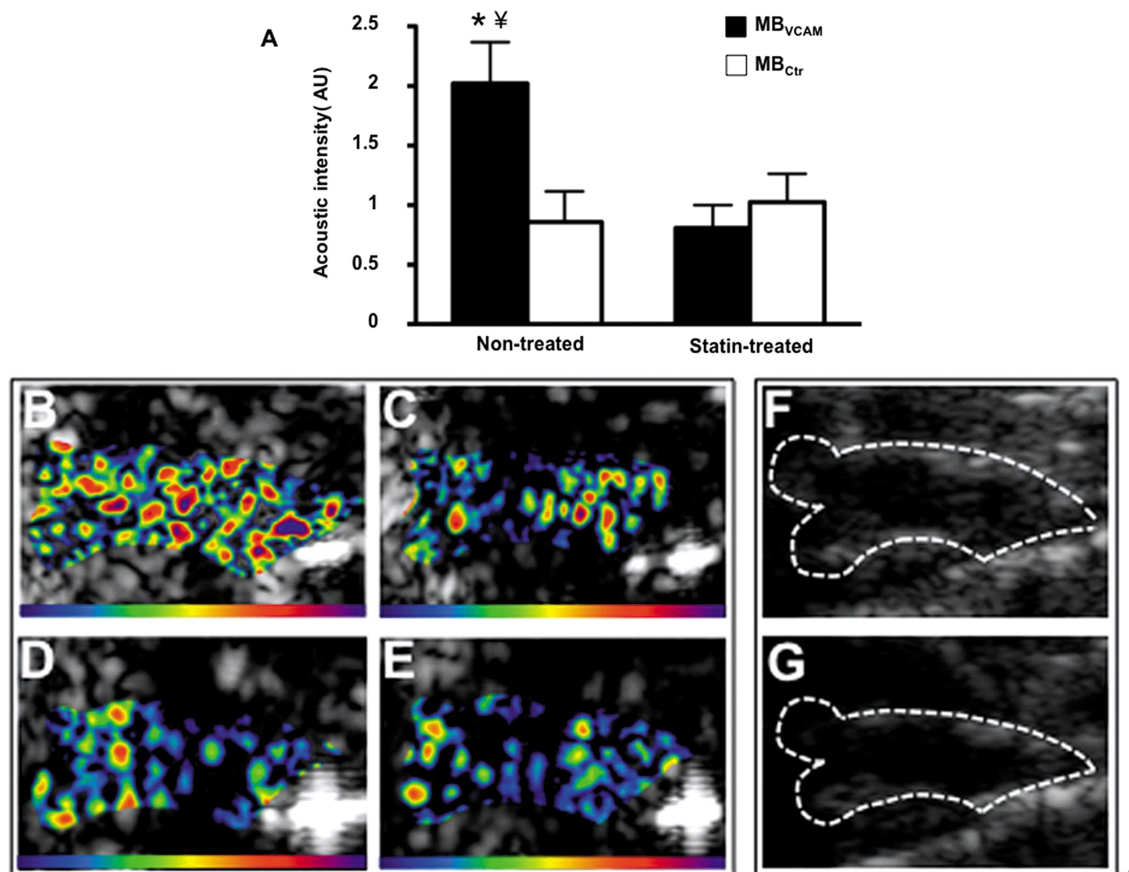


图2 升主动脉的超声分子成像^[12]

(A) VCAM-1 靶向超声 MBs(MB VCAM)与同型对照 MBs(MB Ctr)在他汀药物治疗及非治疗组动物中背景扣除后的超声信号强度(均值±标准差);与 MB Ctr 相比,MB VCAM 可观察到明显的信号增强($p < 0.01$),与非治疗组相比,他汀药物治疗后表现为 MB VCAM 信号的明显减少($p < 0.01$);非治疗组动物注射 MB VCAM(B)及 MB Ctr(C)后所得图像的彩色编码图像;治疗组动物注射 MB VCAM(D)及 MB Ctr(E)后所得图像的彩色编码图像;他汀药物治疗与非治疗组表现出显著地信号差异(B vs D);(F) and (G) 在 B 型超声条件下勾画出升主动脉的轮廓以表示声学信号强度测定的感兴趣区。

Fig.2 Molecular imaging of the ascending aorta^[12]. (A) Mean $\pm$ standard error of the mean background-subtracted signal intensity for MBs targeted to VCAM-1 (MBVCAM) and control MBs (MBCtr) in non-treated and statin treated animals. A significant difference in the signal intensity of MBs targeted to VCAM-1 (MBVCAM) was observed compared to control MBs (MBCtr), * $p < 0.01$ in non-treated animals, A significant reduced signal intensity of MBVCAM after statin treatment was observed, Y $p < 0.01$. Examples of color-coded CEU images from a non-treated animal after injection of MBVCAM (B), and of MBCtr (C). Images from a statin treated animal after injection of MBVCAM (D), and of MBCtr (E). The color scale for the CEU images is shown at the bottom of each frame. A significantly signal difference can be seen in statin treated animal (Figure B versus Figure D). (F) and (G) illustrate the outline of the ascending aorta on B-mode US images which was used as a region of interest for acoustic intensity measurements.

应进行成像;国内李美瑜等^[30]研制了携 SLeX 和抗 ICAM-1 单抗双配体靶向超声 MBs,于体外实验中也证实其黏附效能的提高。与非靶向 MBs 的超声成像不同,超声分子靶向 UCAs 应用于人类在体 AS 疾病的研究尚未见报道。

4 小结与展望

尽管 AS 疾病在医学诊断与治疗方面已有重要的进展,但其不论在发达国家还是发展中国家仍是一种死亡率和发病率均较高的疾病。从将 AS 组织仅仅视为阻塞动脉管腔的脂质沉积病灶到如今细胞甚至分子水平研究的不断深入,人们的认知在过去的三十年中已经发生了切实的转变。新的成像技术和手段使得我们能够对斑块炎症和新生血管进行功能性成像和活体内的细微观察从而获得比以往更加详细的信息,它们不仅解决了 AS 的病理学问题,同时还促进了新的抗 AS 药物的功能

及疗效的研究。

每种技术的应用都有其两面性。在临床症状发生前,于 AS 疾病过程的早期阶段识别,并引导治疗手段的精确定位,从而减慢或终止疾病的进展,这是功能水平、细胞水平以及分子水平成像的优势所在,这需要在将来大样本研究中仔细筛选成熟的成像靶点,实现成像准确性及效果的优化。

参考文献(References)

- [1] Herrmann J, Lerman LO, Mukhopadhyay D, et al. Angiogenesis in atherosclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, 26 (9): 1948-1957
- [2] Staub D, Schinkel AF, Coll B, et al. Contrast-enhanced ultrasound imaging of the vasa vasorum: from early atherosclerosis to the identification of unstable plaques [J]. *JACC Cardiovasc Imaging*, 2010, 3(7): 761-771
- [3] Staub D, Patel MB, Tibrewala A, et al. Vasa vasorum and plaque

- neovascularization on contrast-enhanced carotid ultrasound imaging correlates with cardiovascular disease and past cardiovascular events [J]. *Stroke*, 2010, 41(1): 41-47
- [4] Deyama J, Nakamura T, Takishima I, et al. Contrast-enhanced ultrasound imaging of carotid plaque neovascularization is useful for identifying high-risk patients with coronary artery disease [J]. *Circ J*, 2013, 77(6): 1499-1507
- [5] Huang PT, Chen CC, Aronow WS, et al. Assessment of neovascularization within carotid plaques in patients with ischemic stroke[J]. *World J Cardiol*, 2010, 2(4): 89-97
- [6] Hoogi A, Adam D, Hoffman A, et al. Carotid plaque vulnerability: quantification of neovascularization on contrast-enhanced ultrasound with histopathologic correlation[J]. *AJR Am J Roentgenol*, 2011, 196(2): 431-436
- [7] Carlier S, Kakadiaris IA, Dib N, et al. Vasa vasorum imaging: a new window to the clinical detection of vulnerable atherosclerotic plaques [J]. *Curr Atheroscler Rep*, 2005, 7(2): 164-169
- [8] Goertz DE, Frijlink ME, de Jong N, et al. Nonlinear intravascular ultrasound contrast imaging [J]. *Ultrasound Med Biol*, 2006, 32(4): 491-502
- [9] Maresca D, Renaud G, van Soest G, et al. Contrast-enhanced intravascular ultrasound pulse sequences for bandwidth-limited transducers[J]. *Ultrasound Med Biol*, 2013, 39(4): 706-713
- [10] H. C. Stry. Lipid and macrophage accumulations in arteries of children and the development of atherosclerosis [J]. *Am J Clin Nutr*, 2000, 72(suppl 5): 1297S-1306S
- [11] P. Libby. Inflammation in atherosclerosis[J]. *Nature*, 2002, 420(6917): 868-874
- [12] G K Hansson. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease[J]. *N Engl J Med*, 2005, 352(16): 1685-1695
- [13] C K Glass, J L Witztum. Atherosclerosis. the road ahead [J]. *Cell*, 2001, 104(4): 503-516
- [14] Libby P, Ridker PM, Hansson GK. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis[J]. *Nature*, 2011, 473(7347): 317-325
- [15] A. J. Lusis. Atherosclerosis[J]. *Nature*, 2000, 407(8601): 233-241
- [16] R. Ross. Atherosclerosis--an inflammatory disease[J]. *N. Engl J Med*, 1999, 340(2): 115-126
- [17] Hamilton AJ, Huang SL, Warnick D, et al. Intravascular ultrasound molecular imaging of atheroma components in vivo [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2004, 43(3): 453-460
- [18] Kaufmann BA, Sanders JM, Davis C, et al. Molecular imaging of inflammation in atherosclerosis with targeted ultrasound detection of vascular cell adhesion molecule-1 [J]. *Circulation*, 2007, 116(3): 276-284
- [19] Khanicheh E, Mitterhuber M, Xu L, et al. Noninvasive ultrasound molecular imaging of the effect of statins on endothelial inflammatory phenotype in early atherosclerosis[J]. *PLoS ONE*, 2013, 8(3): e58761
- [20] Wu Z, Curaj A, Fokong S, et al. Rhodamine-loaded intercellular adhesion molecule-1-targeted microbubbles for dual-modality imaging under controlled shear stresses [J]. *Circ Cardiovasc Imaging*, 2013, 6(6): 974-981
- [21] Liu H, Wang X, Tan KB, et al. Molecular imaging of vulnerable plaques in rabbits using contrast-enhanced ultrasound targeting to vascular endothelial growth factor receptor-2 [J]. *J Clin Ultrasound*, 2011, 39(2): 83-90
- [22] Lu Y, Wei J, Shao Q, et al. Assessment of atherosclerotic plaques in the rabbit abdominal aorta with interleukin-8 monoclonal antibody-targeted ultrasound microbubbles [J]. *Mol Biol Rep*, 2013, 40(4): 3083-3092
- [23] Kornmann LM, Reesink KD, Reneman RS, et al. Critical appraisal of targeted ultrasound contrast agents for molecular imaging in large arteries[J]. *Ultrasound Med Biol*, 2010, 36(2): 181-191
- [24] Dayton P, Klivanov A, Brandenburger G, et al. Acoustic radiation force in vivo: a mechanism to assist targeting of microbubbles [J]. *Ultrasound Med Biol*, 1999, 25(8): 1195-1201
- [25] Liu J, Zhang P, Liu P, et al. Endothelial adhesion of targeted microbubbles in both small and great vessels using ultrasound radiation force[J]. *Mol Imaging*, 2012, 11(1): 58-66
- [26] Wang S, Hossack JA, Klivanov AL, et al. Binding dynamics of targeted microbubbles in response to modulated acoustic radiation force[J]. *Phys Med Biol*, 2014, 59(2): 465-484
- [27] Wu J, Leong-Poi H, Bin J, et al. Efficacy of contrast-enhanced US and magnetic microbubbles targeted to vascular cell adhesion molecule-1 for molecular imaging of atherosclerosis [J]. *Radiology*, 2011, 260(2): 463-471
- [28] Cho YK, Yang W, Harry BL, et al. Dual-targeted contrast enhanced ultrasound imaging of atherosclerosis in apolipoprotein E gene knockout mice[J]. *Circulation*, 2007, 114(5): 11-759(Abstract 3559)
- [29] Kaufmann BA, Carr CL, Belcik JT, et al. Molecular imaging of the initial inflammatory response in atherosclerosis: implications for early detection of disease [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Bioh*, 2010, 30(1): 54-59
- [30] Li Mei-yu, Xiao Yun-bin, Bin Jian-guo, et al. In vitro evaluation of targeting capability of dual-targeted microbubbles carrying both Sialyl Lewisx and anti-ICAM-1 monoclonal antibody [J]. *Chin J Med Imaging Technol*, 2010, 26(7): 1209-1213