

· 综 述 ·

聚焦超声在中枢神经系统中的研究进展*

杨小荣¹综述,汪芳²,孙庭^{1△}审校

(南昌大学附属第一医院:1. 泌尿外科;2. HIFU 治疗中心,南昌 330006)

关键词:中枢神经系统;血脑屏障;聚焦超声;微创;生物效应

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.23.036

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2011)23-2374-03

近 10 年来,微创手术(腹腔镜术、射频消融术、冷冻消融术等)取得重大进步,已经用于治疗各种临床疾病,取代很多开放性手术,但是这些技术具有侵入性。聚焦超声利用超声波的束射-汇聚特性和良好组织穿透性,可达到无创或微创的手术目的,将成为临床上一种新型治疗模式^[1-2]。目前临床应用较多的是高强度聚焦超声(high intensity focused ultrasound, HIFU),它是一种非侵入性的新型治疗技术,可以透过皮肤将超声波束聚焦于靶组织,以其热效应使病灶消融而不损害周围健康组织和器官,具有治疗效果好、风险低、可重复治疗、不良反应小等优点,主要用于治疗恶性肿瘤^[3-6]、泌尿科及妇科疾病^[7-8]。最新的研究表明低强度聚焦超声能可逆性开放血脑屏障,提高药物和基因通过血脑屏障的浓度,且对脑组织损伤轻微^[9]。到目前为止,仍处于实验中,有望用于中枢神经系统疾病的治疗。本组通过总结聚焦超声对中枢神经的生物学效应,探讨其在中枢神经系统疾病领域中的广阔应用前景。

1 学术背景

聚焦超声在医学上的研究始于 60 多年前,由 Lynn 等于 1942 年首先提出,并应用于神经外科研究。Fry 兄弟于 19 世纪 50 年代研究了聚焦超声对猫和猴大脑深部组织的损伤效应,并利用聚焦超声治疗帕金森病及其他神经系统疾病,取得一定效果,指出聚焦超声具有很大应用前景,但是由于当时缺乏高精度的成像和定位技术,所以其在临床应用方面的潜能没有得到广泛研究和开发利用。近年来,随着超声引导、成像技术和超声换能器技术的迅速发展,许多科研机构对聚焦超声治疗神经系统疾病再次产生了浓厚的兴趣,并且近年来国内外研究已经说明聚焦超声在治疗中枢神经系统疾病方面充满希望。

2 经颅使用的聚焦超声频率

很多工作研究了聚焦超声对脑组织的生物效应,并且明确经颅使用的聚焦超声在中枢神经系统疾病的治疗中前景广阔。但是,经颅使用的聚焦超声要经过颅骨,而骨组织具有强烈的吸收声能效应。因此,超声频率的大小是聚焦超声经颅使用的重要因素。高频率超声更容易被颅骨吸收,最终导致颅骨温度升高,而低频率超声不容易被颅骨吸收,可较顺利通过,但低频率超声由于分辨率低,作出精准的聚焦效应较差。因此,一个最佳穿颅的超声频率是目前研究的重点。Hynynen 等^[10]研究表明成功实现跨颅的最佳超声频率是在 1 MHz 以下,并认为 500 元相控阵探头的超声,工作频率在 700~800 kHz 之间的聚焦效果较佳^[11]。Pernot 等^[12]的研究表明 200 元相控阵探头的超声,工作频率在 900 kHz 的聚焦效果较佳。以上研究基本明确了超声经颅使用的较佳方案,不过还需进一步深入研究,明确跨颅效果最佳的超声频率。然而,Pernot 等^[13]同时指

出在治疗过程中可能会出现并发症,比如皮肤受热导致烧伤。因此,在聚焦超声治疗过程中需要采取应对措施,尽量减少并发症的发生。

3 聚焦超声对中枢神经的生物学效应

目前研究认为,不同辐射参数(主要是超声频率、声强和辐照时间等)的聚焦超声可以使靶组织产生不同的温度,并产生不同的生物学效应。比如,较大辐射参数的聚焦超声可产生较高的靶区温度,靶组织产生显著的组织学改变;较小辐射参数的聚焦超声则产生较低的靶区温度,靶组织不具有组织学改变,但可增强血脑屏障的通透性。有研究表明,靶区组织损伤程度与靶区最高温度间相关性较好,组织损伤的热剂量和峰值温度阈值分别在 43℃ 持续 12.3~40.1 min 和 48.0~50.8℃^[14]。

3.1 组织学改变 Fry 等在 19 世纪 50 年代已经指出高强度聚焦超声对动物大脑组织有损伤效应。近年来的研究进一步证实了这种损伤效应。高强度聚焦超声辐照脑组织表面后出现暗红色损伤灶,冠状及矢状切面可见类圆形损伤灶,损伤范围在皮质下,中心为凝固性坏死,并被局限性的出血病灶所包裹,周围可见水肿带,边界不甚清楚。镜下可见损伤区域出现大小不一的空泡,星形胶质细胞、血管内皮细胞水肿扩张,细胞质中有许多吞饮小泡,内皮细胞和星形胶质细胞的细胞膜断裂,星形胶质细胞核浓缩、核溶解,神经元核偏位、尼氏体消失。

3.2 开放血脑屏障 现阶段,很多中枢神经系统疾病(如帕金森氏病、阿耳茨海默氏病、创伤性脑损伤、恶性肿瘤等)治疗效果不佳,主要是因为血脑屏障的天然保护作用,阻碍了许多化学药物,如水溶性药物、造影剂和大分子物质(相对分子质量为 200~1 200)等进入脑组织,特别是大多数化疗药物和基因载体,极大地降低了对中枢神经系统疾病的治疗效果。磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)引导聚焦超声联合微泡造影剂能无创性开放血脑屏障而不致神经损伤,已得到学者认可,是目前最佳的开放血脑屏障的方法,具有无创、靶向、可逆、局部等优点^[15-18]。因此,这种效应可以增强治疗药物、基因载体和造影剂等通过血脑屏障,靶向传递到脑特定部位,将有力地促进和改善脑部疾病的治疗效果,有可能成为未来治疗中枢神经系统疾病的理想手段。例如 Mei 等^[19]经过动物实验证实抗肿瘤药甲氨蝶呤在 MRI 引导的聚焦超声作用下通过大脑血脑屏障的浓度是不用聚焦超声作用的 10 倍。Liu 等^[20]应用经颅磁共振引导的聚焦超声开放大鼠血脑屏障,促进化疗药物进入脑组织,治疗大鼠恶性胶质细胞瘤,证实处理组恶性胶质细胞瘤模型大鼠的平均存活时间比未处理对照组延长了。

4 微泡与聚焦超声开放血脑屏障的关系

目前已经证实聚焦超声联合超声微泡可以靶向、可逆性开

* 基金项目:江西省卫生厅科技计划资助项目(20091051)。△

通讯作者, Tel:13879196600; E-mail:sunt-mr@vip.sina.com。

放血脑屏障,使治疗物质高效通过血脑屏障进入脑组织,同时微泡可携带治疗物质至治疗靶区,从而达到理想的治疗效果。运用微泡造影剂可显著降低血脑屏障的开放阈值。研究表明,无微泡存在时,聚焦超声开放血脑屏障的阈值强度在 2.5 MPa 以上^[15],而联合微泡造影剂的聚焦超声开放血脑屏障的阈值强度为 0.2 MPa^[21]。但是,微泡在不同参数下(主要为直径、浓度等)破裂所需的声压值和产生空化效应的强度是完全不同的^[22]。国外学者的研究进一步证实了此类问题^[15,23]。例如,经过小鼠实验证实无创性血脑屏障开放所需的声压阈值随微泡量的增加而降低,固定微泡其他参数,则随着微泡量的增加,以聚焦超声焦点为中心血脑屏障开放的范围和程度也会增大^[15]。同样在小鼠体内的研究中,超声在不同压强下开放血脑屏障的微泡大小阈值不同,并且不同区域脑组织血脑屏障开放的情况也不同^[23]。研究指出:(1)声强在 0.30~0.46 MPa,开放血脑屏障的微泡阈值为直径 1~2 mm;声强在 0.15~0.30 MPa 内,开放血脑屏障的微泡阈值为直径 4~5 mm;(2)在各种声强下,直径为 4~5 mm 的气泡开放血脑屏障力度比直径为 1~2 mm 的气泡更强;(3)声强为 0.61 MPa,微泡直径为 1~2 mm 情况下,丘脑区域血脑屏障开放程度高于海马区域。迄今为止,微泡在怎样的参数下能更好地诱导血脑屏障开放仍然不清楚,各学者对微泡参数的应用各持己见,没有统一。并且,不同微泡参数无创开放血脑屏障所需的超声参数也不一样。因此,希望更多的学者研究此焦点问题,探索出最佳的参数。

5 聚焦超声在神经系统疾病中的治疗现状与未来

随着成像技术的巨大进步和聚焦超声技术的迅速发展,聚焦超声逐步显示出在中枢神经系统疾病中的治疗前景。大量的研究已经证实聚焦超声能增强血脑屏障的通透性,增强治疗药物、基因载体和造影剂等通过血脑屏障,将极大提高中枢神经系统疾病的治疗效果,目前该类研究尚处于基础实验阶段,需要进一步深入并推广应用到临床治疗中。近年来,聚焦超声通过选择性抑制神经功能、损伤脑组织治疗中枢神经性疼痛及脑部肿瘤的报道相继出现。Martin 等^[24]第一次成功应用经颅 MRI 引导的聚焦超声治疗 9 例慢性神经疼痛患者,所有被治疗者耐受性良好,没有不良反应和神经功能障碍,证明 HIFU 治疗脑部疾病安全有效。McDannold 等^[25]应用经颅磁共振引导的聚焦超声治疗胶质母细胞瘤患者,指出经颅的超声束可以在脑部组织聚焦并消融瘤组织,治疗过程中运用磁共振温度成像系统能完整监测靶组织的温度。因此,聚焦超声在治疗中枢神经系统疾病将大有希望:(1)通过选择性地抑制神经功能,可用于减轻中枢神经系统疾病中的痉挛和疼痛,包括多发性脑脊髓硬化症、脑卒中、外伤导致的大脑和脊髓的损伤,大脑和脊髓良性肿瘤等;(2)通过增强血脑屏障的通透性,可用于增强药物和基因传递到大脑特定细胞的效应,使治疗方案针对性强,提高化疗的安全性和有效性,改善治疗条件。在聚焦超声全面用于治疗中枢神经系统疾病之前,还需解决许多问题:(1)使影像引导精准;(2)使超声换能器聚焦能力更精确,并更好地控制损伤部位;(3)成功监控整个治疗过程和靶点温度;(4)成功降低颅骨衰减声能的系数;(5)制定出对中枢神经产生各种生物学效应的标准聚焦超声剂量表和微泡参数。

参考文献:

[1] 牛凤岐,程洋,朱承纲.国内 HIFU(高强度聚焦超声)10 年发展——回顾、展望与希冀[J].中国医疗器械信息,

2009,15(15):32-39.

- [2] Tempany CM, McDannold NJ, Hynynen K, et al. Focused ultrasound surgery in oncology: overview and principles [J]. *Radiology*, 2011, 259(1): 39-56.
- [3] Wu F, Ter Haar G, Chen WR. High-intensity focused ultrasound ablation of breast cancer [J]. *Expert Rev Anti-cancer Ther*, 2007, 7(6): 823-831.
- [4] 庄兴俊, 欧娟娟, 高云姝, 等. 高强度聚焦超声联合肝动脉介入化疗治疗 45 例中、晚期肝癌的临床研究 [J]. *重庆医学*, 2010, 39(1): 46-47.
- [5] 庄兴俊, 欧娟娟, 高云姝, 等. 高强度聚焦超声联合放疗治疗 35 例胰腺癌的临床分析 [J]. *重庆医学*, 2010, 39(3): 283-284, 287.
- [6] El Fegoun AB, Barret E, Prapotnich D, et al. Focal therapy with high-intensity focused ultrasound for prostate cancer in the elderly. A feasibility study with 10 years follow-up [J]. *Int Braz J Urol*, 2011, 37(2): 213-222.
- [7] Xu WF, Zhang HB, Lin Z, et al. Transrectal high-intensity focused ultrasound for treatment of benign prostatic hyperplasia: report of 262 cases [J]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*, 2010, 30(18): 1906-1908.
- [8] Yang WW, Zhu BR, Li J, et al. Analysis of complications of high intensity focused ultrasound in treatment of uterine leiomyoma [J]. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*, 2010, 45(12): 913-916.
- [9] McDannold N, Vykhotseva N, Hynynen K. Blood-brain barrier disruption induced by focused ultrasound and circulating performed microbubbles appears to be characterized by the methanical index [J]. *Ultrasound Med Biol*, 2008, 34(5): 834-840.
- [10] Clement GT, Hynynen KA. Non-invasive method for focusing ultrasound through the human skull [J]. *Phys Med Biol*, 2002, 47(8): 1219-1236.
- [11] Hynynen K, Clement GT, McDannold N, et al. 500-element ultrasound phased array system for noninvasive focal surgery of the brain; a preliminary rabbit study with ex vivo human skulls [J]. *Magn Reson Med*, 2004, 52(1): 100-107.
- [12] Pernot M, Aubry JF, Tanter M, et al. High power transcranial beam steering for ultrasonic brain therapy [J]. *Phys Med Biol*, 2003, 48(16): 2577-2589.
- [13] Pernot M, Aubry J, Tanter M, et al. Adaptive focusing for ultrasonic transcranial brain therapy; first in vivo investigation on 22 sheep [C]. 4th International Symposium on Therapeutic Ultrasound, 2005, 754: 174-177.
- [14] McDannold N, Vykhotseva N, Jolesz FA, et al. MRI investigation of the threshold for thermally induced blood-brain barrier disruption and brain tissue damage in the rabbit brain [J]. *Megn Reson Med*, 2004, 51(5): 913-923.
- [15] Choi JJ, Pernot M, Small SA, et al. Noninvasive, transcranial and localized opening of the blood-brain barrier using focused ultrasound in mice [J]. *Ultrasound Med Biol*, 2007, 33(1): 95-104.
- [16] Vykhotseva N, McDannold N, Hynynen K. Progress and

- problems in the application of focused ultrasound for blood-brain barrier disruption[J]. *Ultrasonics*, 2008, 48(4): 279-296.
- [17] Hynynen K. Macromolecular delivery across the blood-brain barrier[J]. *Methods Mol Biol*, 2009, 480: 175-185.
- [18] 汪峰, 梅杰, 王智彪, 等. 低功率聚焦超声联合微泡对兔血脑屏障通透性影响的实验研究[J]. *中华实验外科杂志*, 2010, 26(3): 277-280.
- [19] Mei J, Cheng Y, Song Y, et al. Experimental study on targeted methotrexate delivery to the rabbit brain via magnetic resonance imaging-guided focused ultrasound[J]. *J Ultrasound Med*, 2009, 28(7): 871-880.
- [20] Liu HL, Hua MY, Chen PY, et al. Blood-brain barrier disruption with focused ultrasound enhances delivery of chemotherapeutic drugs for glioblastoma treatment[J]. *Radiology*, 2010, 255(2): 415-425.
- [21] Hynynen K, McDannold N, Vykhodtseva N, et al. Focal disruption of the blood-brain barrier due to 260-kHz ultrasound bursts: a method for molecular imaging and targeted drug delivery [J]. *J Neurosurg*, 2006, 105(3): 445-454.
- [22] Chen WS, Matula TJ, Brayman AA, et al. A comparison of the fragmentation thresholds and inertial cavitation doses of different ultrasound contrast agents[J]. *J Acoust Soc Am*, 2003, 113(1): 643-651.
- [23] Choi JJ, Feshitan JA, Baseri B, et al. Microbubble-size dependence of focused ultrasound-induced blood-brain barrier opening in mice in vivo[J]. *IEEE Trans Biomed Eng*, 2010, 57(1): 145-154.
- [24] Martin E, Jeanmonod D, Morel A, et al. High-intensity focused ultrasound for noninvasive functional neurosurgery [J]. *Ann Neurol*, 2009, 66(6): 858-861.
- [25] McDannold N, Clement GT, Black P, et al. Transcranial magnetic resonance imaging-guided focused ultrasound surgery of brain tumors: initial findings in 3 patients[J]. *Neurosurgery*, 2010, 66(2): 323-332.

(收稿日期: 2011-02-15 修回日期: 2011-05-15)

· 综 述 ·

滤泡辅助 T 细胞的研究进展

杨学超^{1,2}综述, 石云¹, 邹全明^{1△}审校

(1. 第三军医大学临床微生物及免疫学教研室暨重庆市生物制药技术中心, 重庆 400038;

2. 第三军医大学学员旅 17 队, 重庆 400038)

关键词: 原癌基因蛋白质 c-bcl-2; 白细胞介素 21; 滤泡辅助 T 细胞; CXCR5; 自身免疫疾病

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2011.23.037

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2011)23-2376-04

CD4⁺T 淋巴细胞亚群的分析和功能研究是近年免疫学研究的一个热点。由于表达的趋化因子、转录因子及分泌细胞因子的不同, CD4⁺T 细胞被分为 5 类亚群: Th1、Th2、Th17、调节性 T 细胞及滤泡辅助 T 细胞(T follicular helper cells, Tfh)。Tfh 是近年来新发现的真正意义上的辅助 B 细胞功能的 CD4⁺T 细胞亚群。现就 Tfh 细胞的分化最新研究进展及其在免疫疾病中发挥的作用进行综述。

Tfh 细胞的功能与其表达的各种趋化因子、细胞因子、转录因子以及相应因子受体是密不可分的: CXCR5(CXC receptor 5)与 CXCL13/BCA-1(B cell activating lymphoma receptor-1)相互作用, 使 Tfh 细胞被募集到淋巴滤泡, 参与 B 细胞的免疫应答; 表达于 Tfh 细胞表面的 CD40L 和诱导性协同刺激分子(inducible co-stimulator, ICOS)分别与 B 细胞表面的 CD40 和配体(ICOS ligand, ICOSL)相作用, 为 B 细胞活化提供条件; Tfh 细胞分泌的白细胞介素 21(IL-21), 可刺激 B 细胞的增殖、分化及类别转换。

1 Tfh 细胞的发现

体液免疫应答很多关键的过程都发生在生发中心(germinal center, GC), 例如: 体细胞突变、免疫球蛋白(immunoglobulin, Ig)类别转换、抗体的高亲和力成熟、浆细胞分化以及记忆 B 细胞的产生等。由于 Th2 辅助 T 细胞产生的白细胞介素 4(IL-4)细胞因子可以诱导 B 细胞的活化、增殖及抗体产生和类

别转换, 曾经一度被认为是辅助 B 细胞的主角。但是缺乏 IL-4 的小鼠仍然可以产生 T 细胞依赖的抗体^[1], 这使人们意识到 Th2 细胞并不是主要辅助 B 细胞产生抗体的物质。而近年研究发现, 位于淋巴滤泡、表型为 CXCR5⁺CD40L⁺ICOS⁺的 T 细胞亚群, 才被发现有辅助 B 细胞产生抗体、发挥体液免疫作用的真正的辅助细胞, 命名为滤泡辅助 T 细胞。

2 与 Tfh 细胞功能相关的分子

2.1 CXCR5 CXCR5 在初始 CD4⁺T 细胞和 CD8⁺T 细胞上无表达, 但高表达于成熟的 B 细胞^[2]。当初始 T 细胞进入外周淋巴器官的 T 细胞区时, CXCR5 可一过性地表达于活化的 CD4⁺T 细胞表面, 此时的细胞具有迁移到淋巴滤泡的能力, 但是大部分的活化 CD4⁺T 细胞不久便丧失了其表达, 只有一部分继续表达 CXCR5, 从而定位于淋巴滤泡, 同时表达 ICOS、CD40L 和分泌 IL-21 等, 发挥着辅助 B 细胞的功能, 该类细胞便是滤泡辅助 T 细胞^[3]。

初始的 T 细胞不表达 CXCR5, 而是表达 CCR7 和 CD62L, 在外周淋巴器官 T 细胞区高内皮微静脉产生的 CCL21 的引导下, 从外周循环进入 T 细胞区。当抗原递呈细胞(antigen presenting cell, APC)呈递的 MHC-Ag 复合物和 B7 分子分别作用于初始 T 细胞表面的 T 细胞受体 and CD28 后, 初始 T 细胞被活化, 高水平表达 CXCR5 和 ICOS 分子。

CXCR5 与其配体 CXCL13/BCA-1(B cell activating lym-

△ 通讯作者, Tel: 13996006163; E-mail: qmzou2007@163.com。