

· 综 述 ·

PLGA 介导的分子影像学研究现状及进展<sup>\*</sup>张 瑜 综述,郭大静<sup>△</sup> 审校

(重庆医科大学附属第二医院放射科 400010)

关键词:聚乳酸-羟基乙酸;分子影像学;造影剂

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.30.039

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2012)30-3218-03

随着纳米技术的发展及分子探针在影像学中的不断应用,影像医学已从对传统的解剖和生理功能的研究深入到分子水平成像,由此产生了一门新兴的学科——分子影像学(molecular imaging,MI),国外核医学学会将其定义为在活体状态下从细胞和分子水平对生物过程进行可视化的定性和定量研究。分子影像学造影剂就是在活体状态下从细胞和分子水平对生物过程进行可视化的定性和定量研究的探针。在此领域中,生物可降解、生物相容性材料聚乳酸-羟基乙酸(poly lactic-co-glycolic acid,PLGA)作为纳米材料中的“新秀”已引起了越来越多国内外学者的关注。本文就 PLGA 的特点、制备方法及其作为造影剂在分子影像学(超声分子影像学、MR 分子影像学、核医学分子影像学及光学分子影像学)中的应用综述如下。

## 1 PLGA 的特点

具有良好生物相容性及生物可降解性,良好的成球或成膜性能以及生物体内半衰期长等优势的高分子聚合物 PLGA 通常用于制备静脉注射药物缓释制剂及仿生材料等,在疾病诊断、靶向治疗及组织工程中具有广阔的发展前景<sup>[1-3]</sup>。PLGA 可由乳酸(LA)和羟基乙酸(GA)聚合,通过改变这 2 种单体的比例可改变 PLGA 的理化性质,从而控制其在生物体内的降解速率,以满足不同包埋药物不同的释放需求。另外,用 PLGA 制备的微球可完全保留球心物质的原有性质,在适当条件下(如超声波)破坏壁材就可以将球心药物释放出来,使用方便,同时还能增加药物在靶向部位的浓度、延长作用时间,从而提高药效,减轻对健康人体组织的不良反应,而且通过改变制备过程中的各参数,如 PLGA 溶液浓度、搅拌速度、声震时间、功率等可控制微球粒径大小,实现微球性能的优化<sup>[4]</sup>。不足之处:PLGA 材料对细胞的黏附性较差,且分子链中缺乏活性功能基团,限制了其在生物医学领域中的进一步应用。因此,近年来,许多研究都集中在对 PLGA 材料的改性研究上,最常见的方法就是通过对 PLGA 微球表面进行化学修饰来引入大量活性基团<sup>[5-6]</sup>。总的来说,PLGA 作为一种理想的载体材料用于分子成像具有极高的研究价值。

## 2 PLGA 微球的制备

PLGA 通常是以微球的形式包裹造影剂用于分子显像的。制备微球的方法很多,如乳化法、相分离法、盐析法、喷雾干燥法等,不同的制备方法得到的微球性质也不同,其中乳化溶剂挥发法是常用的方法之一,它可分为单乳化及双乳化两类。方法的选择又取决于聚合物和包埋物的特性,例如单乳化法适用于包裹疏水性物质,双乳化法适用于包裹亲水性物质,而且包裹同一种物质,双乳化法比单乳化法的包封率更高<sup>[7]</sup>。如果包埋物不溶于载体溶剂或者在连续相损失较大时,可采用固体/

油/水乳化法(S/O/W 法);而像氢化可的松这类虽属于疏水性的药物但其在水溶液中也有明显的溶解度,为了避免药物损失,故可采用油/油法(O/O 法)<sup>[8-9]</sup>。目前,制作 PLGA 微球最常用的方法是双乳化溶剂挥发法(W/O/W 法),基本原理是将壁材(PLGA 材料)分散于有机溶剂中(O 相),加入包埋物(内水相 W<sub>1</sub>)先制成初乳,然后加到与壁材不相溶的溶液(外水相 W<sub>2</sub>)中制成复乳,再选择合适的方法固化,挥发溶剂而成为微球,制备方法简便<sup>[10]</sup>。

## 3 PLGA 介导的分子影像学研究

**3.1 PLGA 介导的超声分子影像学** 超声分子影像学通常使用微泡作为造影剂通过血管途径进入靶组织来发现疾病早期的细胞和分子水平的变化,所以,微泡本身可作为一种血管追踪剂用来观察发生在血管的病理生理过程,如炎症反应、血栓形成和肿瘤血管新生的过程等<sup>[11]</sup>。国内冉海涛等<sup>[10]</sup>采用 W/O/W 法以 PLGA 为材料成功制备了内含氟烷气体的新型微泡超声造影剂,并通过动物实验证实该造影剂安全有效、显影效果好、持续时间长。而且通过对 PLGA 微泡表面进行化学修饰引入大量活性功能基团,可制成靶向超声造影剂,为疾病的早期诊断提供更有利的帮助<sup>[12]</sup>。超声微泡分子显像的价值不仅仅是在诊断方面,还在于治疗方面。载有治疗基因或药物的微泡到达靶目标后,超声辐照可在特定空间(聚焦区)和特定时间破坏微泡,产生空化效应和热效应,使微泡爆破后释放出基因或药物进入靶组织和器官,通过局部治疗可以减少全身用药的剂量和不良反应。张亚萍等<sup>[13]</sup>自制裁血卟啉高分子材料 PLGA 造影剂并联合超声声动力疗法治疗小鼠 H22 肝癌皮下移植瘤,该实验成功抑制了活体内 H22 肿瘤生长,并促进其凋亡,为声动力抗恶性肿瘤提供了一种新的思路。

**3.2 PLGA 介导的 MR 分子影像学** MR 分子影像学是建立在传统 MR 成像技术基础上的,以在 MR 图像上可显像的特殊分子作为成像标记物,对这些分子在体内进行定位。但是,MR 的敏感性较低,必须通过信号扩增系统才适于显像。常用于 MR 成像的对比剂主要分两大类,一类是非特异性细胞外造影剂,如钆顺磁性螯合物;另一类是器官特异性造影剂,如超顺磁性氧化铁(superparamagnetic iron oxide,SPIO)<sup>[14]</sup>。

但是,近年来关于 MR 造影剂引起不良反应的报道越来越多,肝特异性造影剂不良反应的发生率似乎比钆顺磁性螯合物更高。为了解决这些问题,近年来国外文献已成功将 MR 对比剂二乙三胺五醋酸钆(Gd-DTPA)和 SPIO 分别包裹入 PLGA 微球中,通过研究其理化特性及在动物体内分布、降解

<sup>\*</sup> 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81171332)。重庆市自然科学基金资助项目(CSTC,2008BB5233)。 <sup>△</sup> 通讯作者,Tel:

13608320800;E-mail:guodaj@163.com。

等特点,证实其生物毒性很低,而且在 1.5 T MRI 上可以显像,其显像能力类似于单独使用 Gd-DTPA 或 SPIO 成像<sup>[15-16]</sup>。Ao 等<sup>[17]</sup>以内含氟烷气体的 PLGA 超声微泡为载体成功地包裹了 MR 造影剂 Gd-DTPA,制备了一种新型多模态造影剂,达到超声与磁共振的双重显像。Anthony 等<sup>[18]</sup>则将血管内皮生长因子(VEGF)和 Gd-DTPA 同时包裹入 PLGA 微球中制备出多功能造影剂,有望实现疾病的诊断与治疗同时进行。Ratzinger 等<sup>[19]</sup>则是在 PLGA 微球表面分别共价结合了 Gd-DTPA 与钆特酸葡胺(Gd-DOTA),通过与球心包裹钆剂的 PLGA 微球相比,发现这种方法可以使水质子更有效地与钆顺磁性螯合物互动,从而提高弛豫性能。

**3.3 PLGA 介导的核医学分子影像学** 核医学分子成像技术是目前最成熟的分子显像技术,其成像的基本原理就是将人体代谢所必需的物质(如葡萄糖、蛋白质、核酸、脂肪酸等)标记上短寿命的放射性核素(如<sup>18</sup>F、<sup>125</sup>I、<sup>99</sup>Tc<sup>m</sup>等)制成示踪剂注入人体,由于人体不同组织的代谢状态不同,所以这些被核素标记的物质在人体各种组织中的分布也不同,通过检测仪器将这些特点用图像反映出来,从而对病变从分子水平进行分析诊断<sup>[20]</sup>。因此,PLGA 微球在核医学分子影像学中的应用就比较罕见。国内华楠等<sup>[21]</sup>开发出了一种用<sup>125</sup>I 标记 PLGA 的新技术,并对新合成的标记物性质进行了鉴定,得出此标记物释放  $\gamma$  射线,放射性活度和材料质量成正比的结论,为 PLGA 材料在体内的降解性能的研究提供了新方法。

**3.4 PLGA 介导的光学分子影像学** 光学分子成像是在对穿过生物组织的光子的光学信息探测的基础上,通过引入合适的荧光探针,用特定波长的红光激发荧光染料,使其发出荧光,或通过引入某些报告基因,使其表达产物自发产生荧光,再通过光学成像设备检测发射出的荧光进行成像。Xu 等<sup>[22]</sup>和 Y-vonne 等<sup>[23]</sup>则将荧光染料包裹进 PLGA 纳米微泡中制备出一种能够实现超声和光学双重显像的多模态造影剂。而国内熊小强等<sup>[24]</sup>则以 PLGA 微球为载体包裹光敏剂四间羟基苯基二氢卟吩(m-THPC),并研究了其在体外光动力治疗肝癌的效果,通过实验证实了 PLGA-mTHPC 纳米型光敏剂不仅能提高肿瘤细胞的光动力治疗的效果,还能减低光敏药物的不良反应。

#### 4 结 语

上述 4 种分子影像学技术在临床中的应用可谓是各具优势,MR 分子影像学时间、空间分辨力高,同时还可获得三维解剖结构及生理信息,这些正是超声、核医学及光学分子成像的弱点,但 MR 敏感性较低;超声分子影像学花费低而且可实时观察;核医学分子成像灵敏度高,在显示体内生理代谢及分子水平的变化而言是最敏感也是最成熟的技术;活体光学成像则凭借操作简便及直观性成为研究小动物活体成像的一种理想方法。但是,如今单一的成像模式已经无法满足临床诊断的需求,所以,目前分子影像学面临着巨大的挑战,即研发更完善的成像设备及更合适的分子探针。

由于 PLGA 具有良好的生物相容性、生物可降解性、药物释放可控性、生物体内半衰期长及显影效果好等优势,PLGA 介导的分子影像学不仅可以使人们更好地在分子水平上理解疾病的发生、发展,而且许多疾病有望在分子水平得到治疗,同时还能够在最短的时间内得到治疗的反馈信息,对治疗效果的监测亦十分有意义,所以,作者相信 PLGA 介导的分子影像学未来的应用会更广泛。

#### 参考文献:

- [1] Suri SS, Fenniri H, Singh B. Nanotechnology-based drug delivery systems[J]. J Occup Med Toxicol, 2007, 2(1): 16-18.
- [2] Tan HP, Wu JD, Lao LH. Gelatin/chitosan/hyaluronan scaffold integrated with PLGA microspheres for cartilage tissue engineering[J]. Acta Biomaterialia, 2009, 5(3): 328-337.
- [3] Clawson C, Huang CT, Futalan D, et al. Delivery of a peptide via poly(D, L-lactic-co-glycolic) acid nanoparticles enhances its dendritic cell-stimulatory capacity[J]. Nanomedicine, 2010, 6(5): 651-661.
- [4] 谷海刚, 金旭, 龙大宏, 等. BSA-PLGA 微球的制备条件优化及不同添加剂对包封率的影响[J]. 中国生物医学工程学报, 2007, 26(6): 931-935.
- [5] Tan H, Huang D, Lao L, et al. RGD modified PLGA/gelatin microspheres as microcarriers for chondrocyte delivery[J]. J Biomed Mater Res B Appl Biomater, 2009, 91(1): 228-238.
- [6] 张瑜, 郭大静, 敖梦, 等. 靶向血栓高分子超声造影剂的制备及其体外寻靶实验[J]. 中国超声医学杂志, 2012, 28(4): 289-292.
- [7] Lassalle V, Ferreira ML. PLA nano- and microparticles for drug delivery: an overview of the methods of preparation[J]. Macromol Biosci, 2007, 7(5): 767-783.
- [8] Andreas K, Zehbe R, Kazubek M, et al. Biodegradable insulin-loaded PLGA microspheres fabricated by three different emulsification techniques; Investigation for cartilage tissue engineering[J]. Acta Biomaterialia, 2011, 7(12): 1485-1495.
- [9] Wischke C, Schwendeman SP. Principles of encapsulating hydrophobic drugs in PLA/PLGA microparticles[J]. Intern J Pharmaceutics, 2008, 364(2): 298-327.
- [10] 冉海涛, 任红, 王志刚, 等. 自制高分子聚合材料超声造影剂显影效果动物实验研究[J]. 中华超声影像学杂志, 2006, 15(5): 378-380.
- [11] Gupta AS. Nanomedicine approaches in vascular disease: a review[J]. Nanomedicine, 2011, 7(6): 763-779.
- [12] 张辉, 冉海涛, 王志刚, 等. 靶向高分子造影剂的制备及其体外寻靶实验[J]. 中华超声影像学杂志, 2010, 26(3): 193-196.
- [13] 张亚萍, 冉海涛, 王志刚, 等. 载血卟啉 PLGA 微泡用于声动力治疗小鼠 H22 肝癌移植瘤[J]. 中国医学影像技术, 2010, 26(4): 593-596.
- [14] Bellin MF. MR contrast agents, the old and the new[J]. European J Radiology, 2006, 60(3): 314-323.
- [15] Onuki Y, Jacobs I, Artemov D, et al. Noninvasive visualization of in vivo release and intratumoral distribution of surrogate MR contrast agent using the dual MR contrast technique[J]. Biomaterials, 2010, 31(27): 7132-7138.
- [16] Lee PW, Hsu SH, Wang JJ, et al. The characteristics, bio-distribution, magnetic resonance imaging and biodegradability of superparamagnetic core-shell nanoparticles[J].

Biomaterials,2010,31(6):1316-1324.

[17] Ao M,Wang ZG,Ran HT,et al. Gd-DTPA-loaded PLGA microbubbles as both ultrasound contrast agent and MRI contrast agent-A feasibility research[J]. J Biomedical Materials Res,2010,93(2):551-556.

[18] Anthony Z,Faranesh,Monet T,et al. In vitro release of vascular endothelial growth factor from Gadolinium-Doped biodegradable microspheres [J]. Magnetic Res Med,2004,51(9):1265-1271.

[19] Ratzinger G,Agrawal P,Körner W,et al. Surface modification of PLGA nanospheres with Gd-DTPA and Gd-DOTA for high-relaxivity MRI contrast agents[J]. Biomaterials,2010,31(33):8716-8723.

[20] Hamoudeh M,Kamleh MA,Diab R,et al. Radionuclides delivery systems for nuclear imaging and radiotherapy of cancer[J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2008, 60 (10):1329-1346.

[21] 华楠,孙皎,吴元芳,等.<sup>125</sup>I-PLGA 标记物的制备与鉴定[J]. 上海生物医学工程,2005,26(4):229-231.

[22] Xu JS,Huang JW,Qin RG,et al. Synthesizing and binding dual-mode poly (lactic-co-glycolic acid) (PLGA) nanobubbles for cancer targeting and imaging[J]. Biomaterials,2010,31(14):1716-1722.

[23] Yvonne K,Dipl-Food C,Christian K,et al. Preparation and biological evaluation of multifunctional PLGA-nanoparticles designed for photoacoustic imaging[J]. Nanomedicine,2011,7(2):228-237.

[24] 熊小强,陈汝福,汪峰,等. PLGA-m-THPC 纳米型光敏剂的制备及光动力治疗肝癌细胞的研究[J]. 中华普通外科学文献,2008,2(1):28-33.

(收稿日期:2012-04-09 修回日期:2012-05-21)

• 综 述 •

肝脏 X 受体参与阿尔茨海默病胆固醇代谢异常机制的研究进展

王 凯<sup>1</sup>,唐永萍<sup>1</sup>,黄 伟<sup>2</sup>,徐海伟<sup>3△</sup>综述,范晓棠<sup>4</sup>审校

(第三军医大学:1. 学员旅 17 队;2. 生理学教研室;3. 西南医院眼科;4. 组织胚胎学教研室,重庆 400038)

关键词:阿尔茨海默病;肝脏 X 受体;胆固醇;载脂蛋白类;ATP 结合转运蛋白 A1;淀粉样蛋白  
doi:10. 3969/j. issn. 1671-8348. 2012. 30. 040 文献标识码:A 文章编号:1671-8348(2012)30-3220-03

阿尔茨海默病(AD)是一种以记忆减退、认知、语言障碍及人格改变为主要症状的神经系统退行性疾病,多发于 65 岁以上老年人,病理改变以细胞外  $\beta$  淀粉样蛋白( $\beta$ -amyloid peptide,  $A\beta$ )、老年斑或神经炎斑、神经元细胞质内出现神经纤维缠结为特征。AD 发病机制中  $A\beta$  瀑布学说( $A\beta$  cascade theory)备受关注<sup>[1]</sup>: $A\beta$  是各种细胞淀粉样前体蛋白(amyloid protein precursor, APP)加工的正常产物,正常时  $A\beta$  产生与降解保持平衡, $A\beta$  产生与降解的失衡引起脑内  $A\beta$  沉积,APP 经  $\beta$  分泌酶和  $\gamma$  分泌酶一系列连续切割后形成分子长短不等的  $A\beta$  分子, $A\beta$  在 AD 脑中异常沉积后,通过过氧化损伤、神经细胞凋亡、炎症反应等发挥其神经毒性作用。胆固醇代谢通过影响  $A\beta$  的代谢过程而参与 AD 的发生和发展。其中重要的胆固醇代谢相关因子包括载脂蛋白 E(apolipoprotein E, ApoE)、ATP 结合转运蛋白 A1(ATP binding cassette transporter A1, ABCA1)等。肝脏 X 受体(liver X receptors, LXRs)可通过调控 ApoE、ABCA1 以及其他胆固醇代谢基因的表达而影响脑内胆固醇水平。近来报道内源性 LXRs 的激活可通过胆固醇代谢影响 APP 剪切生成  $A\beta$  以及  $A\beta$  清除的过程,提示 LXRs 在 AD 的发生过程中发挥重要的作用,有可能成为 AD 治疗的新靶点。本文就 LXRs 调节胆固醇代谢参与 AD 的发生进行综述。

1 胆固醇代谢异常在 AD 发生中的作用

脑内的胆固醇大部分属原位合成,中年以后神经元的胆固醇合成能力逐渐下降,脑内的胆固醇合成主要依赖于星形胶质细胞和少突胶质细胞。大部分脑内胆固醇通过 ApoE 介导出脑,同时约 40% 脑内胆固醇依赖胆固醇 24 S-羟化酶 CYP46 转

变为 24 S-羟胆固醇,进而穿过血脑屏障<sup>[2]</sup>,上述途径维持着脑内胆固醇的动态平衡。

越来越多的实验表明,胆固醇代谢异常在  $A\beta$  的产生和异常沉积过程具有核心作用。流行病学研究提示中年人群血浆胆固醇过高可能直接导致 AD 发病风险增加<sup>[3]</sup>,高胆固醇促进脑内  $A\beta$  沉积的动物模型可被广泛复制。随着探索的不断深入, Abramov 等<sup>[4]</sup>通过实验发现了影响  $A\beta$  沉积的因子不是脑内所有胆固醇,而是神经元细胞膜上的胆固醇。而 Raja 等<sup>[5]</sup>研究发现胆固醇乙酰基转移酶(A-cholesterol acyltransferase, ACAT)改变细胞膜胆固醇和胆固醇酯的比例,抑制 ACAT 后胆固醇酯水平下降,进而调控 APP 酶解途径减少  $A\beta$  合成,提示  $A\beta$  与 ACAT、胆固醇脂水平的关系似乎比与胆固醇更为密切。

Fassbender 等<sup>[6]</sup>利用环糊精选择性地移除海马区细胞膜胆固醇,结果显示  $A\beta$  生成受抑,提示脂筏(细胞膜上富含脂质和胆固醇的微结构域)可能是调控  $A\beta$  沉积的重要元件。膜筏作为一个结构和功能区域,聚积着多种参与信号分子<sup>[7]</sup>。 $\beta$  分泌酶和  $\gamma$  分泌酶介导的 APP 降解反应已从脂筏中被分离出,说明脂筏可能通过调控 APP 剪切过程来影响  $A\beta$  沉积,APP 同时存在于膜筏内和膜筏外,其中位于膜筏内的 APP 经由  $A\beta$  源途径产生  $A\beta$ ,而在膜筏外的 APP 经由非  $A\beta$  源途径产生无毒性的片段。细胞膜上的胆固醇水平可以调节  $\gamma$  分泌酶的活性,低的胆固醇水平有利于 APP 经非  $A\beta$  源途径分解,减少  $A\beta$  的产生。

作为胆固醇代谢中所有低密度载脂蛋白受体家族配体的 ApoE,脑内细胞外胆固醇是通过 ApoE 微粒与神经元脂蛋白

△ 通讯作者, Tel:13883209082; E-mail: haiweixu2001@yahoo. com. cn.