文章编号:1000-5404(2010)03-0229-04

论著

USPIO和GoldMag磁共振成像信号特点的实验研究

逄 鑫,邹利光,杨 华,张 辉,舒通胜,张 松 (400037 重庆,第三军医大学新桥医院放射科)

[摘要] **目的** 通过对不同浓度超小超顺磁性氧化铁(ultra-small superparamagnetic iron oxide,USPIO)和金磁微粒(GoldMag-Coreshell, GoldMag)行不同序列MR成像,对比分析其信号特点,探讨合适的MRI检查方法。**方法** 以磷酸盐缓冲液(PBS)为稀释剂将USPIO和GoldMag分别稀释为0.5~1 000 μg/ml的47个不同的浓度,以PBS液为对照,共获得48个浓度,行FSE T_1WI、FSE T_2WI和GRE T_2^*WI磁共振成像。观察不同浓度USPIO和GoldMag在3种序列中的信号强度变化规律,计算信号强度变化比率,绘制浓度-信号强度曲线图。**结果** GoldMag与USPIO的MRI信号变化规律基本一致,随浓度增加,FSE T_1WI信号强度呈升高趋势,FSE T_2WI信号强度略有下降,GRE T_2^*WI信号强度明显降低。不同成像序列两种对比剂信号强度比较,在FSE T_1WI,浓度高于30 μg/ml时信号强度有显著性差异($P<0.05$);在FSE T_2WI,浓度为40~90 μg/ml时信号强度有显著性差异($P<0.05$);在GRE T_2^*WI,两种对比剂信号强度无显著性差异($P>0.05$)。**结论** GoldMag与USPIO常规MRI信号特点变化趋势相似,GoldMag是较理想的MRI分子影像学研究纳米粒对比剂,GRE T_2^*WI为USPIO和GoldMag的最佳成像序列。

[关键词] 磁共振波谱学;造影剂;磁共振成像;超小超顺磁性氧化铁;金磁微粒
[中图法分类号] R445.2; R811.1; R981.1 **[文献标志码]** A

MRI signaling characteristics of ultra-small superparamagnetic iron oxide and GoldMag

Pang Xin, Zou Liguang, Yang Hua, Zhang Hui, Shu Tongsheng, Zhang Song (Department of Radiology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400037, China)

[Abstract] **Objective** To analyze the MRI signaling characteristics of ultra-small superparamagnetic iron oxide (USPIO) and GoldMag-Coreshell (GoldMag) at different concentrations and to study the appropriate MR imaging methods. **Methods** USPIO and GoldMag were diluted with phosphate-buffed solution (PBS) into 47 samples at the concentrations of 0.5 μg/ml ~ 1 000 μg/ml. MRI was performed at FSE T_1WI, FSE T_2WI, and GRE T_2^*WI. Rules of changes in signal intensity of GoldMag and USPIO at different concentrations were observed. The signal intensity change ratio was calculated and concentration-signal intensity curves were plotted. **Results** The MRI signal intensity of USPIO and GoldMag was almost identical. The MRI signal intensity increased at FSE T_1WI with the increased concentration, decreased slightly at FSE T_2WI and significantly at GRE T_2^*WI. A significant difference was found in the MRI signal intensity of the two contrast media (>30 μg/ml, 40-90 μg/ml) at FSE T_1WI and FSE T_2WI ($P<0.05$) but not at GRE T_2^*WI ($P>0.05$). **Conclusion** The MRI signal intensity of USPIO and GoldMag is almost identical. GoldMag is a rather ideal nanoparticle contrast agent for MRI molecular imaging, and GRE T_2^*WI is the best imaging sequence for USPIO and GoldMag.

[Key words] magnetic resonance spectroscopy; contrast agent; magnetic resonance imaging; ultra-small superparamagnetic iron oxide; GoldMag-Coreshell

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30770609). Corresponding author: Zou Liguang, Tel: 86-23-68774676, E-mail: zoulg@mail.tmmu.com.cn

磁共振成像(magnetic resonance imaging,MRI)由于多参数成像、图像空间分辨率高成为分子影像学主要成像技术之一。超小超顺磁性氧化铁(ultra-small superparamagnetic iron oxide,USPIO)目前被用作MR分子影像主要的顺磁性标记物[1-3]。由于USPIO与抗原、配体等蛋白质分子结合的制备过程繁琐、螯合体粒径

[基金项目] 国家自然科学基金(30770609)
[通信作者] 邹利光,电话:(023)68774676,E-mail: zoulg@mail.tmmu.com.cn

大、不利于穿越生物体内生理屏障等缺点,使其临床应用受到限制。金磁微粒(GoldMag-Coreshell, GoldMag)是一种新型核壳结构的超顺磁性复合微粒,具有制作简单、与生物分子偶联稳定、安全无害等特点越来越受到学术界关注[4]。本实验通过对不同浓度USPIO和GoldMag行FSE T_1WI、FSE T_2WI、GRE T_2^*WI 3个序列的磁共振成像,对比分析USPIO和GoldMag在不同MR成像序列中的信号变化特点,并获取合适的MR成像方法。

1 材料与方法

1.1 主要试剂及仪器

USPIO,粒径为15~30 nm,GoldMag,粒径为50~100 nm,陕西北美基因有限公司提供。磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)。Signa EXCITE Ⅱ 1.5T MR成像仪(GE Healthcare, Milwaukee, USA)。

1.2 方法

1.2.1 USPIO、GoldMag浓度分组及准备 以PBS为稀释剂将USPIO和GoldMag在0.5~1 000 μg/ml范围内,分别稀释为47个不同的浓度组,以PBS液为对照组(0 μg/ml),共获得48个浓度。各浓度组取1 ml分别装于48只1.5 ml EP管(Eppendoff管)中,将各浓度EP管按照图1的顺序和分布直立固定于EP管架,EP管序号从第1行开始从左至右依次为1~48号。将管架固定浸泡在盛有PBS液的塑料长方形容器中。以相同的方法重复制备4组USPIO和GoldMag稀释液。

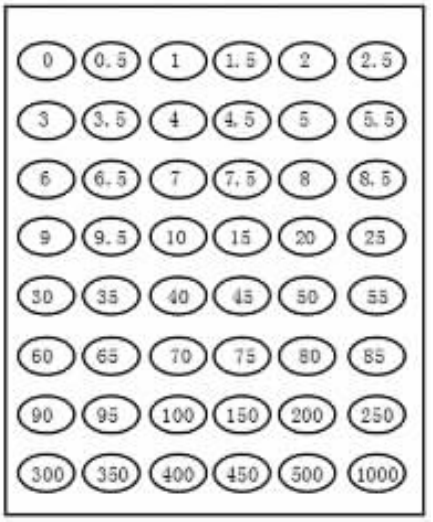


图1 不同浓度对比剂EP管排放顺序 (单位:μg/ml)

1.2.2 MRI检查 将4组USPIO和GoldMag样本分别行MRI检查,采用8通道头颅线圈进行轴位2D多层成像。成像条件:视野(FOV)19 cm×19 cm,层厚2 mm,层间距0,重建矩阵256×160。分别行FSE T_1WI(TR: 320 ms,TE: 7.5 ms),FSE T_2WI(TR: 3 800 ms,TE: 85 ms)及GRE T_2^*WI (TR: 540 ms,TE: 6.9 ms,翻转角20°)扫描。

1.2.3 图像观察 图像采集后传输到MR成像仪配置的AW4.2工作站,选出各组图像的最佳层面,肉眼观察各试管MRI信号强度图像特点,测量48支浓度管的信号强度,感兴趣区(ROI)为10 mm^2,计算各试管信号强度变化比率△S,$\triangle S = (S - S_{PBS})/S_{PBS}$,根据4组测量结果计算信号强度变化平均值。S指各组中不同浓度对比剂信号强度,S_{PBS}指PBS对照管的信号强度,将测量结果输入Excel工作表自动生成浓度—信号强度曲线图。

1.3 统计学分析

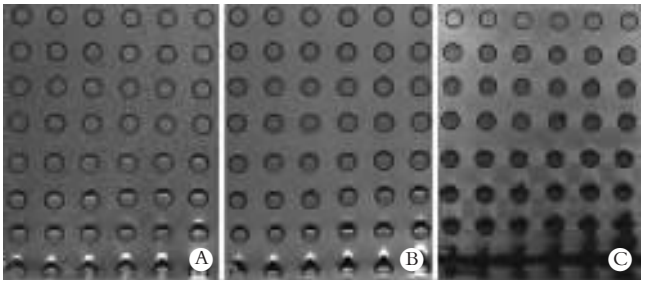
采用SPSS 13.0软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两种对比剂在同一序列中不同浓度的信号强度差异分别用两个独立样本 t 检验进行比较。

2 结果

2.1 USPIO和GoldMag的MRI图像特点

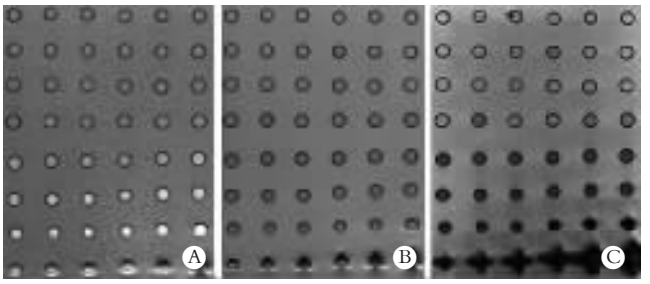
USPIO和GoldMag在3种扫描序列中的变化规律基本一致,随着浓度增加,在FSE T_1WI,信号强度呈升高趋势,在FSE T_2WI,信号强度略有下降,在GRE T_2^*WI,信号强度明显下降。

在FSE T_1WI和FSE T_2WI成像序列,两种对比剂均在浓度大于100 μg/ml后图像上逐渐出现伪影,EP管失去正常圆形的形态,而GRE T_2^*WI序列扫描图像中,在浓度为30 μg/ml时,EP管周围即出现轻微伪影,随浓度增加,伪影逐渐变强,而在浓度大于100 μg/ml时,EP管失去正常圆形的形态。3个序列的图像比较,GRE T_2^*WI序列出现伪影更明显,对周围结构信号干扰较大(图2、3)。



A:FSE T_1WI;B:FSE T_2WI;C:GRE T_2^*WI

图2 USPIO在MRI 3种成像序列横轴位图



A:FSE T_1WI ;B:FSE T_2WI;C:GRE T_2^*WI

图3 GoldMag在MRI 3种成像序列横轴位图

表 1　USPIO 与 GoldMag 在各序列中信号强度变化比率($\bar{x} \pm s$)

浓度(μg/ml)	$\triangle ST_1^a$			$\triangle ST_2^a$			$\triangle ST_2{}^{*a}$		
	USPIO	GoldMag	*P* 值	USPIO	GoldMag	*P* 值	USPIO	GoldMag	*P* 值
0.5	−0.03 ±0.03	0.05 ±0.06	0.149	−0.05 ±0.06	0.02 ±0.05	0.200	−0.20 ±0.04	−0.11 ±0.03	0.570
5	0.10 ±0.09	0.07 ±0.05	0.773	−0.06 ±0.10	−0.16 ±0.08	0.343	0.38 ±0.13	−0.36 ±0.10	1.000
10	0.11 ±0.14	0.08 ±0.05	0.564	−0.12 ±0.06	−0.23 ±0.07	0.200	0.49 ±0.08	−0.51 ±0.03	1.000
20	0.16 ±0.15	0.27 ±0.15	0.386	−0.06 ±0.09	−0.21 ±0.07	0.114	−0.54 ±0.12	−0.59 ±0.06	0.486
30	0.12 ±0.18	0.51 ±0.20	0.043	−0.12 ±0.07	−0.21 ±0.08	0.057	−0.55 ±0.12	−0.61 ±0.04	1.000
40	0.20 ±0.14	0.42 ±0.14	0.043	−0.10 ±0.07	−0.27 ±0.07	0.029	−0.64 ±0.12	−0.66 ±0.03	0.343
50	0.26 ±0.19	0.46 ±0.15	0.083	−0.07 ±0.07	−0.22 ±0.09	0.057	−0.65 ±0.12	−0.66 ±0.04	0.686
60	0.18 ±0.21	0.52 ±0.16	0.043	−0.12 ±0.08	−0.30 ±0.05	0.029	−0.69 ±0.14	−0.69 ±0.03	1.000
70	0.22 ±0.20	0.64 ±0.08	0.021	−0.14 ±0.02	−0.24 ±0.07	0.029	−0.73 ±0.12	−0.71 ±0.04	0.886
80	0.30 ±0.27	0.89 ±0.17	0.043	−0.04 ±0.07	−0.20 ±0.08	0.029	−0.72 ±0.16	−0.68 ±0.05	0.686
90	0.26 ±0.22	0.75 ±0.20	0.043	−0.17 ±0.03	−0.29 ±0.04	0.029	−0.78 ±0.12	−0.74 ±0.03	0.486
100	0.25 ±0.20	0.92 ±0.20	0.021	−0.09 ±0.08	−0.26 ±0.09	0.057	−0.81 ±0.12	−0.78 ±0.06	0.686

a：分别表示 FSE T_1WI，FES T_2WI，GRE $T_2{}^*$WI 信号强度变化比率

2.2　USPIO 和 GoldMag 信号强度的定量分析

2 个对比剂在 3 种序列扫描中，产生的伪影致使 EP 管失去正常形态的浓度均出现在高于 100 μg/ml 时，因此，我们剔除浓度高于 100 μg/ml 的 EP 管的图像，只分析 1～39 组（对比剂浓度 0～100 μg/ml），以减少伪影对信号的影响。不同浓度的 USPIO 和 GoldMag 信号强度变化见表 1，浓度-信号强度变化曲线见图 4、5。由表 1 可见，在 FSE T1WI，两种对比剂信号强度随浓度增加而增加，GoldMag 信号强度增加较明显，浓度高于 30 μg/ml 时，信号强度有显著性差异（$P < 0.05$）。在 FSE T_2WI，2 种对比剂信号强度随浓度增加而降低，GoldMag 信号强度降低较明显，浓度为 40～90 μg/ml 时，信号强度有显著性差异（$P < 0.05$）。在 GRE $T_2{}^*$WI，随浓度增加信号强度明显下降，两种对比剂信号强度无显著性差异（$P > 0.05$）。当浓度为 50 μg/ml 时，FSE T_1WI 与 FSE T_2WI 信号强度均没有显著性差异，原因可能为测量误差所致。

在 FSE T_1WI，USPIO 与 GoldMag 分别在浓度为 90 μg/ml 与 100μg/ml 时信号强度变化最大、伪影最小。在 FSE T_2WI，两种对比剂浓度为 90μg/ml 时信号强度变化最大、伪影最小。在 GRE $T_2{}^*$WI，2 种对比剂在浓度为 30μg/ml 时信号强度变化最大、伪影最小。

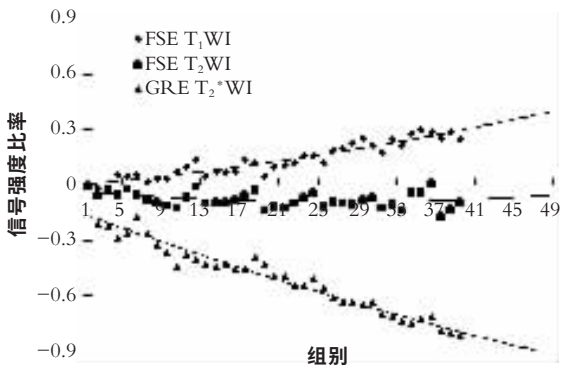


图 4　USPIO 在 FSE T_1WI、FSE T_2WI 和 GRE $T_2{}^*$WI 浓度-信号强度曲线

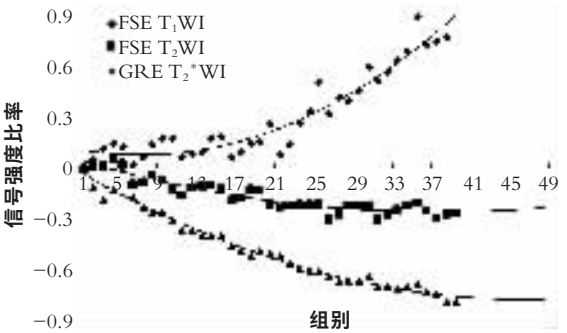


图 5　GoldMag 在 FSE T_1WI、FSE T_2WI 和 GRE $T_2{}^*$WI 浓度-信号强度曲线

3　讨论

USPIO 是一种包裹着左旋糖酐的纳米级颗粒，其核心是 Fe_3O_4 和 Fe_2O_3，Fe^{3+} 的不成对电子自旋产生的局部磁场能够改变邻近水分子质子的弛豫时间，从而改变 MRI 信号强度。GoldMag 作为一种核壳结构的超顺磁性复合微粒，其核心为 USPIO，表面为金的壳层，兼有氧化铁的超顺磁性及胶体金的生物分子偶联性能。生物分子在不需共价偶联剂的条件下，通过静电作用、疏水相互作用、残基侧链的巯基与金的作用等与 GoldMag 结合，可一步将蛋白质（如抗原、抗体等）偶联在微粒表面[4]。偶联的生物分子结合稳定，同时更好地保持生物分子的活性，目前，GoldMag 已被用于标记蛋白技术、免疫 PCR 检测以及靶向运输肿瘤治疗药物的动物实验中[5,6]，但关于 GoldMag 应用于分子影像领域的磁共振信号特点及其与 USPIO 的对照研究目前尚少见相关文献报道。

本研究发现,在 FSE T_1WI,GoldMag 与 USPIO 的信号强度变化特点与 SPIO 有所差异。杨华等[7,8]研究发现,SPIO T_1效应随浓度的增加呈抛物线改变,先增加后降低,分析可能的原因是:其一,SPIO 的 T_1弛豫时间的长短受对比剂颗粒大小的影响,颗粒越小,对 T_1弛豫时间的影响越大,缩短 T_1效应越明显[9]。GoldMag 与 USPIO 粒径远远小于 SPIO,因此,GoldMag 与 USPIO 有较高的 T_1弛豫率,即明显的 T_1弛豫时间缩短效应。而 Shamsi 等[10]还认为高浓度的 SPIO 粒子 T_2^*效应占优势,超过了其缩短 T_1的作用,因此,在 FSE T_1WI上,SPIO 达到一定浓度时,信号开始下降,GoldMag 与 USPIO 对 T_2弛豫的影响则不如 SPIO,没有显著的 T_2^*效应,所以信号强度持续上升,这与我们的实验结果相符。其二,对比剂对 T_1弛豫时间的影响依赖于它与周围水分子的接触情况,接触面积越大,T_1效应越强[11],相对于 SPIO,GoldMag 和 USPIO 粒径小,更容易悬浮,同时,在相同的质量浓度比下,粒径越小,表面积越大,所以 GoldMag 和 USPIO 的 T_1效应更强。

对比剂的 T_2效应依赖于磁性物质的浓度[12],浓度越高,T_2效应越重[13]。同时,对比剂改变周围质子的 T2 弛豫特性除了受浓度影响外,还受到不同脉冲序列的影响[14]。自旋回波序列的特点之一就是对磁场的不均匀性不敏感,180°聚焦脉冲可剔除主磁场不均匀造成的质子失相位。而在梯度回波序列中,回波的产生则依靠梯度场的切换,对磁场不均匀性敏感[15],因此,GoldMag 与 USPIO 在梯度回波的 T_2^*序列中信号强度随浓度增加明显下降。

USPIO 与 GoldMag 随浓度变化在 FSE T_1WI 和 FSE T_2WI 中信号强度有显著性差异。目前少见相关报道证明金对磁场有任何的影响。GoldMag 是由 USPIO 为核心,表面包被胶体金而成,有效避免了颗粒之间的相互吸附,使 GoldMag 比 USPIO 更容易悬浮在溶液中,加大了与周围水分子的接触面积,从而使 T_1、T_2效应较 USPIO 更加明显。

综上所述,GoldMag 与 USPIO 常规磁共振成像信号特点变化趋势相似。随浓度增加,FSE T_1WI 信号强度呈升高趋势,FSE T_2WI 信号强度略有下降,GRE T_2^*WI 信号强度明显降低。GRE T_2^*WI 为 USPIO 和 GoldMag MRI 的最佳成像序列,且对比剂浓度为 30μg/ml 时图像信号强度变化最大、伪影最小。GoldMag 是较理想的 MRI 分子影像学研究纳米粒对比剂。

参考文献:

[1] Tallheden T, Nannmark U, Lorentzon M, *et al*. *In vivo* MR imaging of magnetically labeled human embryonic stem cells[J]. Life Sci, 2006, 79(10): 999 – 1006.

[2] Rice H E, Hsu E W, Sheng H, *et al*. Superparamagnetic iron oxide labeling and transplantation of adipose-derived stem cells in middle cerebral artery occlusion-injured mice[J]. AJR Am J Roentgenol, 2007, 188(4): 1101 – 1108.

[3] Arbab A S, Pandit S D, Anderson S A, *et al*. Magnetic resonance imaging and confocal microscopy studies of magnetically labeled endothelial progenitor cells trafficking to sites of tumor angiogenesis[J]. Stem Cells, 2006, 24(3): 671 – 678.

[4] Cui Y, Wang Y, Hui W, *et al*. The synthesis of GoldMag nano-particles and their application for antibody immobilization[J]. Biomed Microdevices, 2005, 7(2): 153 – 156.

[5] 唐金凡, 简强, 崔亚丽, 等. 基于金磁微粒标记技术的可目视化蛋白质芯片检测方法的建立[J]. 临床检验杂志, 2007, 25(4): 263 – 265.

[6] 郑姬, 蒋天伦, 府伟灵. 金磁微粒为载体的免疫 PCR 检测 HIV-1 p24[J]. 中华医院感染学杂志, 2008, 18(3): 301 – 305.

[7] 杨华, 张小明, 邵阳, 等. 超顺性氧化铁在细胞内外对磁共振信号的影响[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2008, 12(30): 5869 – 5872.

[8] 杨华, 张小明, 邵阳, 等. SPIO 标记大鼠骨髓基质干细胞及体外磁共振成像研究[J]. 第三军医大学学报, 2008, 30(17): 1626 – 1629.

[9] 白英利, 张毅, 郭顺林. 超小型超顺磁氧化铁粒子对比剂的应用现状及进展[J]. 医学影像学杂志, 2008, 18(4): 444 – 446.

[10] Shamsi K, Balzer T, Saini S, *et al*. Superparamagnetic iron oxide particles (SH U 555 A): evaluation of efficacy in three doses for hepatic MR imaging[J]. Radiology, 1998, 206(2): 365 – 371.

[11] Okuhata Y. Delivery of diagnostic agents for magnetic resonance imaging[J]. Adv Drug Deliv Rev, 1999, 37(1 – 3): 121 – 137.

[12] Raynal I, Prigent P, Peyramaure S, *et al*. Macrophage endocytosis of superparamagnetic iron oxide nanoparticles: mechanisms and comparison of ferumoxides and ferumoxtran-10[J]. Invest Radiol, 2004, 39(1): 56 – 63.

[13] Okuhata Y. Delivery of diagnostic agents for magnetic resonance imaging[J]. Adv Drug Deliv Rev, 1999, 37(1 – 3): 121 – 137.

[14] Ward J, Guthrie J A, Wilson D, *et al*. Colorectal hepatic metastases: detection with SPIO-enhanced breath-hold MR imaging--comparison of optimized sequences[J]. Radiology, 2003, 228(3): 709 – 718.

[15] Daldrup-Link H E, Rudelius M, Oostendorp R A, *et al*. Targeting of hematopoietic progenitor cells with MR contrast agents[J]. Radiology, 2003, 28(3): 760 – 767.

(**收稿**:2009-08-27;**修回**:2009-09-27)

(编辑 龙 亮)