

超音波顯影劑

近幾十年來，超音波造影之靈敏度與對比度已隨著超音波對比劑的發展而顯著的改善，甚至也可應用於標靶性分子影像，針對特定腫瘤組織或是血管新生區域成像。超音波對比劑為一種可被生物分解材質外殼所包覆的微氣泡(microbubble)，具有增強超音波散射信號之作用，在超音波影像下具有標示與導向型功能。目前最新研究已經開發出具有多功能之微/奈米等級超音波對比劑平台，其功能包括超音波對比劑顯影、具標靶性與多模式醫學影像用對比劑、藥物載體，提供一個醫學診斷與藥物治療同時可以實現之平台。

超音波對比劑發展歷史與應用

回推 1960 年後期，Dr. Joiner 在做 M-mode (motion-mode) 心臟超音波掃描時，為了利用 Fick's 染液稀釋原理量測心博輸出量，將靛藍花青綠(indocyanine green) 染劑由導管注射至左心室，意外發現到導管前端有暫時性的回音增強現象。之後的研究顯示此回音增強的現象主要是因為導管前端含有微小空氣氣泡，使得影像上出現強反射，這就是所謂的手製對比劑。不過此種對比增強的現象只是暫時性的，且無法有效地重複此效果；1968 年 Dr. Gramiak 在施行心導管檢查時，發現將生理食鹽水注射至主動脈根部時，超音波影像出現雲霧狀回音增強的變化。1990 年左右，Dr. Takada 將生理食鹽水與二氧化碳混和後，注入肝動脈內，發現此混合物做為能增強超音波影像訊號的對比劑。事實上許多液體都可以產生此對比現象，任何能加強回音反射的物質都可以作為超音波對比劑，而過去較常被使用的方法是在食鹽水加入少許空氣再加上用力擠壓注入體內顯影。不過此種沒有外殼包覆的氣體會因為表面張力與外界壓力的影響，快速溶解於水或是血液中。

理想的對比劑應具有幾項特點：(1) 生物相容性，無毒性並可被代謝而不產生排斥反應；(2) 製備方式簡易且可由靜脈注射(IV injection)；(3) 生物穩定性。發展至今，常見的超音波對比劑為微氣泡，其外層包覆殼層以穩定結構保護微氣泡，材料可由脂質(lipid)、白蛋白(albumin)或聚合物(polymer)組成，內部則包覆惰性氣體或氟碳化合物(Perfluoropropane)等難溶於水的氣體，而當今主流的微氣泡係以脂質為殼層其內包覆氟碳化合物，因脂質膜與細胞膜相似可被生物體分解且無毒性及不易引起免疫反應，生物相容性高，而包覆氟碳化合物則相較其他氣體來的穩定，且可延長微氣泡被分解的時間，達到延長影像對比增強的效果，此外微氣泡的粒徑分布約在 10 μm 以下來避免流經肺循環時造成肺栓塞的危險。

Table 1. 商用超音波對比劑

Name	Manufacturer	Gas	Shell	Mean Size (μm)	Percent Less than 10 μm	Concentration (particles/mL)	Circulation Life time (min)
Optison™	GE Healthcare	Albumin	C ₃ F ₈	3.0–4.5	95%	5.0–8.0×10 ⁸	1-5
Definity®	Lantheus Medical Imaging	Phospholipid	C ₃ F ₈	1.1–3.3	98%	1.2×10 ¹⁰	2–10
SonoVue®	Bracco Diagnostics	Phospholipid	SF ₆	2–3	99% (<11 μm)	0.9–6×10 ⁹	3–6
Sonazoid™	GE Healthcare	Phospholipid	C ₄ F ₁₀	2.1	99.5%	1.2 x 10 ⁹	10-15

超音波對比劑應用

經過不斷的研究與精進，當前技術已可穩定發展出直徑為數個微米的微氣泡。微氣泡的應用範圍相當廣，除了可應用在超音波對比增強影像來顯影體內的微循環血流外，亦可應用在都普勒影像中的血流量與血流速度評估，而近期的新式對比劑中，藉由在氣泡內部包覆治療藥物如亞硝氮芥 (1,3-bis(2-chloroethyl)-1-nitrosourea, BCNU)、阿黴素(Doxorubicin, DOX)等，並透過微氣泡可被超音波擊破的特性而在特定區域釋藥以提升治療效果也被大幅使用，此外在氣泡殼層外接上特殊官能基如生物素(biotin)、抗體(antibody)和血管內皮細胞新生因子受體(vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR)等來得到功能性的造影及標靶性的治療。

超音波對比劑影像

對比增強影像

由於微氣泡所包覆的氣體與外部介質聲阻抗不匹配的緣故，聲波從密物質傳入疏物質時反射了大部分的能量回來而被接收到，因此對於超音波而言，微氣泡可以被視為一強散射子，用以大幅增強逆散射訊號的強度。最初的對比增強影像，僅利用微氣泡擁有較身體組織強的散射訊號提升影像對比度，微氣泡灌注的血管區域將在超音波影像中顯示出較高的亮度，而未有微氣泡灌注的組織訊號則不會被增強，因此可突顯出影像中的血管位置；然而，這種成像方式的對比解析度(contrast-to-noise)不佳，因為組織與微氣泡的訊號為強度上的差異，而非特異訊號有無的差異，低強度的微氣泡訊號可能與高強度的組織訊號混淆，容易造成影

像的誤判。近年來，超音波對比影像朝著非超音波線性成像發展，利用微氣泡的非線性散射行為所產生的諧波訊號進行微氣泡偵測。

超音波對比劑治療應用

當以足夠高聲壓的超音波照射在微氣泡上時，微氣泡會產生破裂的現象。超音波驅動氣泡破裂的機制主要可分為三類：分裂(fragmentation)、穩定擴散(static diffusion)與聲學驅動擴散(acoustically driven diffusion)。分裂為氣泡在高聲壓下急劇脹大而不穩定，最後會分解成數個小碎片。穩定擴散是微氣泡內氣體擴散至氣泡外的過程。聲學驅動擴散為超音波照射下的氣體擴散作用。微氣泡的生成、脹縮並破裂的一連串過程稱作穴蝕效應(cavitation)。穴蝕效應可被分類為穩態穴蝕效應(stable cavitation)與慣性穴蝕效應(inertial cavitation)。穩態穴蝕效應即微氣泡粒徑在低聲壓下做規則地與週期性地脹縮，而在足夠大的聲壓下，微氣泡脹縮的過程中中期殼層速度與超音波的壓縮及舒張速度極度不同步，經過幾個聲壓周期後微氣泡就會破裂產生慣性穴蝕效應。當慣性穴蝕效應發生時伴隨高溫、高能量密度震波(shock wave)、微噴射流(micro-jet)、微聚變(micro-fusion)以及化學反應等現象。其中衝擊波或微噴射流等都屬於強度極大的力量，足以破壞周遭的細胞甚至可以使血管穿孔而增加其通透性，此現象稱為 Sonoporation，其強度與超音波能量、氣泡本身的粒徑大小相關；另外爆破過程中在中心所產生的瞬間高溫將進一步引發某些化學反應，例如產生自由基等，並引誘一連串的生化反應。微氣泡這部分的性質可以用於超音波影像與治療應用上。

多功能微氣泡

微氣泡的結構是由外覆殼層以及內部的包覆氣體所組成，雖說外覆殼層主要功用是作為穩定內部氣體的保護膜，使微氣泡於血液中循環的穩定性增加，然而殼層的存在也意外的大幅拓寬了微氣泡的應用層面。近年來許多研究以微氣泡為基底發展多功能性影像對比劑，不論是由白蛋白、聚合物、磷脂質或是介面活性劑(surfactants)所組成的外覆殼層皆可橋接上不同種類的官能基及分子，如藥物、標靶物質以及其他各種影像的對比物質。此外，也有許多研究以微氣泡作為藥物載體，將較不穩定之藥物包覆進微氣泡中，提升藥物在體內的穩定性並減少藥物毒性，再配合聚焦式超音波，將微氣泡在定點擊破釋放藥物至特定區域。

包覆藥物微氣泡

研究已證實微氣泡與藥物共同注射入體內後再施與超音波的治療方式確實能成功的增加藥物傳遞與累積於照射區域。近年來許多研究提出將藥物直接修飾在微氣泡的殼層上來進行藥物遞送，此方法具有以下五個優勢：(1) 藉著微氣泡

作為藥物載體並配合超音波的使用來進行藥物控制釋放可以降低藥物於非治療區域的累積量，可以降低藥物的全身性毒性；(2) 由於藥物直接承載於微氣泡上，發生穴蝕效應的時間以及位置都將存在較高濃度的藥物，如此一來便可以增加藥物進入細胞的量；(3) 藉著穴蝕效應於微氣泡周圍產生的微流以及高能量密度震波的機械力，可以推動微氣泡上承載的藥物分子進入細胞中；(4) 承載藥物的微氣泡亦可作為超音波顯影劑，能夠在進行治療前以超音波進行影像導引並定位出欲治療的患處；(5) 以微氣泡作為藥物載體可以降低穩定性較差的藥物在血液循環時降解(degrade)的情況。除了上述的潛力及多項優點，以微氣泡作為藥物載體仍有其缺點以及限制：(1) 微氣泡本身為單層脂質殼層、中心包覆氣體的結構，因此可以吸附藥物的空間有限，造成包藥量不足，此為微氣泡本身的內在限制，也是目前很多團隊初步研究所遇到的問題；不過由於此載體系統的藥物釋放是屬於局部大量釋放的模式，若可以在局部目標區域大量的將微氣泡所包覆的有限藥物全數釋放出來，或許可以補足其先天包藥量不高的缺點；(2) 不同藥物化學性質不同，因而並非所有藥物都適合以此載體包覆。

標靶性微氣泡

近年來，超音波分子生物影像技術快速的進步，主要歸功於適合各種疾病偵測的標靶性微氣泡大量的被發展出來，而這其中的關鍵，便是將可以標定疾病的特殊生物分子修飾至微氣泡上的技術，生物接枝(bio-conjugation)。此技術為一種可將各種針對不同用途所篩選出來的生物分子(targeting ligand)修飾於微氣泡的表面的技術，使微氣泡具有標靶性吸附至體內特定受器的功能。目前最常見的生物接枝技術，係利用生物素分子(biotin)與卵白素分子(streptavidin)親和力相當高的特性，形成非常強的非共價鍵結而將生物分子接至微氣泡上。此方法是使用一端含有生物素分子的脂質或蛋白質形成微氣泡外殼，因為一個卵白素分子具有可與四個生物素分子連接的反應位，因此可以做為微氣泡與另一個表面修飾有生物素分子的生物分子之間的橋樑(linker)。

這種連接方式的好處是，無論是對何種疾病具有專一性的生物分子，只要能在其上修飾生物素分子，就可以利用此方法修飾至微氣泡的表面而完成標靶性微氣泡的製作。然此種方法唯一的壞處是，對於生物體來說屬於外來蛋白的卵白素分子，有可能會造成不預期的免疫反應。因此，為了在臨床上有較好的應用，有團隊提出改利用共價鍵結或是靜電作用(electrostatic interaction)的方式來完成微氣泡的表面修飾。第一種利用共價鍵結進行生物接枝的方法，是選擇具有特殊化學官能基的脂質或蛋白質做為微氣泡殼層，如活化的羧基(activated carboxyl)，醛基(aldehyde)或是馬來醯亞胺(maleimide)等，與表面有胺基(amine)或是巯基(thiol)的生物分子進行化學反應而完成接枝。第二種利用靜電作用的技術，則是將具有聚電解質鏈(polyelectrolyte chain)的生物分子與微氣泡殼層進行電性吸附完成接枝。