

· 综 述 ·

# 糖皮质激素对进行性肌营养不良的治疗机制

蔡云婷 综述, 李 梅 审校<sup>△</sup>

(重庆医科大学附属儿童医院神经内科 400014)

**关键词:**肌营养不良;糖皮质激素类;肌萎缩;抗肌萎缩蛋白;X-连锁鼠肌肉萎缩症

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.14.034

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2012)14-1424-04

进行性肌营养不良 (progressive muscular dystrophy, PMD) 是一组原发性肌肉的遗传性病变, 临床主要表现为进行性肌力减退和肌肉萎缩。临床上有很多分型, 多见于 Duchenne 型 (Duchenne muscular dystrophy, DMD) 及 Becker 型 (Becker muscular dystrophy, BMD) 两类, DMD 是临床上最常见的性联 X 遗传性疾病<sup>[1]</sup>, 患者在学龄前期即出现进行性的肌肉无力, 到了青春期即必须借助轮椅才能行走, 而成年后不久便死于心脏和呼吸衰竭<sup>[2]</sup>。据统计, DMD 在新出生男婴中发生率为 1/3 500<sup>[3-4]</sup>, 而 BMD 为 1/30 000<sup>[5]</sup>。尽管目前对其临床表现、疾病进展及严重性已有充分认识, 但不同个体之间运动、呼吸及心肌受累程度不一, 且有研究表明, 部分 DMD 患者脑功能也有不同程度受损<sup>[6-7]</sup>。1984 年有研究发现, X-连锁鼠肌肉萎缩症 (X-linked muscular dystrophy, MDX) 基因与人 DMD 基因同源, 这为人类 DMD 位点基因产物的确定提供了一把钥匙<sup>[8]</sup>。

## 1 发病机制

DMD 是由于 X 性染色体上的抗肌萎缩基因的缺失或者突变所引起<sup>[9-10]</sup>。有研究表明, 65% 的 DMD 和 85% 的 BMD 患者都有抗肌萎缩基因的缺失<sup>[1]</sup>。

抗肌萎缩基因即 DMD 基因位于 Xp21, 长约 2 300 kb, 内含 8 个 SfiI 切点, 2 个启动子, cDNA (DMD 核心基因) 长 14 kb, 含有 79 个外显子, 散在分布在基因全长范围内, 内含子最长 160~180 kb, DMD 基因的缺失部位与临床表型之间有一定关系, 据统计已经在文献上发表的 258 例累及 50 和 51 号外显子的整码和移码缺失病例中, 除 3 例是 BMD 外, 其余 98.8% 全部是 DMD。因此, 凡累及 50 和 51 号外显子的 PMD 缺失, 大约 99% 为 DMD, 故可以根据 DMD 基因缺失部位来推测表型, 判断疾病的预后<sup>[8]</sup>。另有文献报道提出: DMD 基因的缺失主要发生于第 45 和 54 外显子之间, 而外显子的复制常发生在 5' 端<sup>[11]</sup>。

抗肌萎缩蛋白为抗肌萎缩基因的代谢产物, 它是一个棒状结构的细胞骨架蛋白, 全长为 3 685 个氨基酸, 相对分子质量为  $4.27 \times 10^5$ <sup>[8]</sup>, 免疫组化和免疫电泳分析表明, 肌萎缩蛋白分布于正常骨骼肌和心肌细胞的胞质面, 并且主要集中于 Z 带, 在终板域更为密集<sup>[12]</sup>。其氨基端与肌动蛋白联系, 羧基端与糖蛋白复合物联系, 并聚成一同源四聚体<sup>[8]</sup>。该复合体结构称之为肌萎缩蛋白-糖蛋白复合物 (dystrophin-glycoprotein complex, DGC)<sup>[2]</sup>。DGC 含 4 个糖清蛋白 (DAG) 和 2 个 25、59 kd 蛋白质 (DAPs), 是亚肌膜骨架与细胞外基质间的跨膜桥梁, 被认为是横纹肌中惟一一对肌浆膜起结构支撑作用的结构。DGC 可能与信息传递、细胞内钙离子浓度的调节等细胞生物

功能有关<sup>[12]</sup>。DGC 通过肌动蛋白 (actin) 与细胞膜板层蛋白 (laminin) 在细胞骨架与细胞外基质间形成连接, 从而保护肌纤维在收缩时免受损伤<sup>[13-14]</sup>, 而这一膜复合物在 DMD 患者明显减少, 可能是由于缺乏抗肌萎缩蛋白, 糖蛋白变得不稳定而降解所致<sup>[8]</sup>。

卫星细胞是出生后肌组织中惟一的一类具有分裂能力的肌源性细胞, 能融入已形成的肌纤维中参与肌肉的正常发育, 还能在肌肉受损时参与其修复过程。但由于其数目及分裂能力有限, 严重肌损伤的修复往往是不完全的<sup>[12]</sup>, 在 DMD 的发病过程中占有一定的角色<sup>[15]</sup>。

## 2 临床特点

本病常有家族史, 患儿独立行走时间延迟, 易跌倒, 行走时左右摇摆, 如“鸭形”步态, 腓肠肌假性肥大, 肩带肌肉萎缩后, 举臂时肩胛骨内侧远离胸壁, 形成“翼状肩”、“游离肩”; 患者从仰卧位起立时必须先翻身呈俯卧, 先以双手撑地或跪地, 再双手撑膝前、膝、大腿前方才能使躯干伸直达直立位, 称之为 Gower's 征, 此外还可以有智力低下、深反射减弱或消失等表现<sup>[16-17]</sup>。辅助检查可见血清磷酸肌酸激酶 (creatinine kinase, CK) 升高明显, 天门冬氨酸氨基转移酶/天门冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST/glutamic-oxaloacetic transaminase, GOT)、谷氨酸转氨酶/丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT/glutamic-pyruvic transaminase, GPT)、乳酸脱氢酶 (lactic dehydrogenase, LDH) 及同工酶、 $\alpha$ -羟丁酸脱氢酶 ( $\alpha$ -hydroxybutyrate dehydrogenase,  $\alpha$ -HBDH)、肌酸激酶同工酶 (creatinine kinase isoenzyme, CKMB) 均有不同程度的升高<sup>[18]</sup>。

肌电图呈典型的肌源性改变表现, 可帮助鉴别肌源性或神经源性肌无力及肌萎缩, 神经传导速度提示周围神经传导正常<sup>[8,16]</sup>。

肌肉活检配合特异染色可见肌源性损害, 在鉴别原发性肌病和其他疾病时有重要价值<sup>[8,16]</sup>。基因检测可见 DMD 基因外显子可有缺失<sup>[8,18]</sup>。心电图也会有异常改变<sup>[8,18]</sup>。

## 3 病理改变

尽管 PMD 不同的类型临床表现不同, 但它们的病理改变却基本相同。最早出现的病理改变是肌纤维膜缺失, 之后由于肌膜缺失导致细胞外的  $Ca^{2+}$  内流, 激活内源性蛋白酶, 引起肌纤维 Z 带溶解, 这可能是肌肉分解的第一步。随后, 肌细胞数目减少, 肌纤维大小不均, 肌核肿胀、数目增多, 这是对肌纤维损伤的再生反应。数年后这一反应更剧烈, 肌纤维增大、分叉、透明样变或萎缩。随着疾病的进一步发展, 胶原和脂肪细胞在肌纤维间累积, 这是导致肌肉假性肥大的部分原因<sup>[8]</sup>。

<sup>△</sup> 通讯作者, Tel: 15123184309; E-mail: alice\_cai@sina.cn.

有研究利用透射电镜观察 1 例 PMD 患儿的腓肠肌组织,结果显示萎缩与正常的肌纤维混合存在,肌原纤维断裂,肌原纤维结构模糊,虽然腊滴聚集和间质纤维化或脂质化等形态学改变并无特异性,但却佐证了 PMD 的发展是一渐进的过程,即首先出现肌纤维萎缩,继而变性或甚至坏死,最终坏死的肌纤维被纤维组织及脂肪组织所取代<sup>[19]</sup>。

DMD 的典型病理特点包括肌纤维的坏死、变性、纤维化、炎症吞噬细胞及 T 细胞浸润。同时,肌营养不良肌肉组织会异常表达某些基因,比如广泛下调某些代谢产物的基因,增加与生长和分化有关的基因表达如胰岛素样生长因子 2 (insulin-like growth factor-2, IGF-2)、k 基因结合核因(nuclear factor-k gene binding, NF-kB)、过度表达胞外基质、蛋白质水解、炎症、吞噬细胞活动基因<sup>[20]</sup>。

#### 4 诊断标准

血清 CK 显著增高是诊断本病重要依据,再结合男性患病、腓肠肌假性肥大等典型临床表现诊断大多不困难。个别诊断困难者,可考虑做心电图或肌肉活检协助诊断。确诊必须要进行 DNA 遗传学诊断<sup>[16]</sup>。故血清 CK、心电图及肌活检是重要的辅助诊断指标,对于心电图有神经源性损害和肌活检病理检查有炎症细胞浸润者,应进行基因检测和(或)抗肌萎缩蛋白检测<sup>[14]</sup>。

#### 5 糖皮质激素治疗 PMD

越来越多的临床研究已经证明了糖皮质激素对 DMD 患者有治疗意义<sup>[21-23]</sup>,但具体的作用机制尚不明确<sup>[24]</sup>。于是近些年来研究者们进行着各种各样的实验去探明其有效的作用机制。

有研究指出,DMD 患者的肌肉活检提示有典型的 PMD 的改变,比如炎症和纤维化,所以,如果改善肌肉组织的炎症和纤维化可以对提高 DMD 患者的肌肉功能和临床表现产生重要的治疗意义<sup>[9]</sup>。而糖皮质激素的抗炎作用可与之对抗而产生治疗作用<sup>[15]</sup>。

肌营养不良肌肉的肌纤维的退化被内源性的炎症反应所加重,其中 NF-kB 起到重要作用<sup>[25-26]</sup>。糖皮质激素进入细胞膜后与细胞内的糖皮质激素受体结合,再与细胞核特异性 DNA 位点相结合,从而启动基因转录,相应地引起转录增加或减少,改变介质相关蛋白的水平,进而对炎症反应所必需的细胞和分子产生影响而发挥抗炎作用。此外,通过抑制转录因子 NF-kB 等降低它们对多种促炎性细胞因子转录的上调作用,进而减少促炎性细胞因子的合成。同时,通过抑制转录因子 NF-kB 的活性及其他机制还可起到免疫抑制的作用<sup>[26]</sup>。

为了探明糖皮质激素对 DMD 有益的机制,2000 年 Fukudome 等<sup>[27]</sup>用传统微电极方法在 mdx 小鼠(患有 X-连锁鼠肌肉萎缩症的小鼠)上测试了短程使用泼尼松对肌肉神经所带来的效益。虽然 mdx 小鼠的严重性不及 DMD 患者,但 mdx 小鼠和患者的肌营养不良的相似之处证实了 mdx 小鼠是研究肌营养不良的病理生理的模型,也是检测基因、细胞、药物等对本病的治疗效果的模型。神经肌肉接头处的微小终板电位(miniature end-plate potential, MEPP)可导致神经肌肉接头的超微结构的改变,能通过提高微终板电极电量从而稳定神经肌肉传递的安全范围<sup>[15]</sup>。他们将从 mdx 小鼠身上取下来的膈神经、膈肌分别浸浴于高浓度(56  $\mu\text{mol/L}$ )和低浓度(2.8  $\mu\text{mol/L}$ )的泼尼松里,其余条件一致,通过一些参数证明了高剂量的泼尼松能够显著抑制神经肌肉的传递,而低剂量者虽不

能大幅度提高终板电位的量子容量,但可以通过促进代偿反应来稳定神经肌肉传递的安全范围。其中的代偿反应是指:经电生理的研究证实,相对于正常小鼠而言,mdx 小鼠的 MEPP 的振幅是减低的,由此伴随着终板电位的量子容量增加被认为是作为补偿 MEPP 振幅降低的代偿反应,从而稳定神经肌肉传递的安全范围。由此可推断短程低剂量使用泼尼松对 DMD 患者有一定的治疗作用<sup>[27]</sup>。

2004 年, Hughes 等<sup>[28]</sup>提出糖皮质激素可通过钙调磷酸酶/活化 T 细胞的核因子(nuclear factor of activated T-cells, NF-AT)途径减轻肌营养不良的肌纤维的病理过程。肌萎缩蛋白与钙调磷酸酶(一种钙依赖激活酶的调节剂)和肌纤维的收缩性之间相互作用。肌萎缩蛋白缺陷的肌纤维膜的不稳定性能导致肌纤维的钙离子内流增加,增高的钙离子水平可激活钙依赖蛋白酶,从而导致肌肉坏死<sup>[29]</sup>。NF-ATc1 是一种 c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase 1, JNK1)的靶向蛋白,它的靶向磷酸化由 JNK1 的激活所致,从而引起重要的横纹肌转录因子的核输出,同时伴随着恰当的靶基因激活。因此,用一个 JNK1 特异性的脚手架蛋白将 JNK1 受体激酶封锁,可迅速减缓肌营养不良的进展中肌纤维完整性的缺失。所以,如果可以在此途径上用药就可以治疗或减缓肌营养不良肌纤维的显型<sup>[30]</sup>。

存在于骨骼肌纤维中的抗肌萎缩蛋白的同源类似物 utrophin,与抗肌萎缩蛋白基因在骨骼肌的结构和生理上有着共同的功能,也能有效改善肌营养不良病变<sup>[7,14]</sup>。utrophin 蛋白,存在于成人的神经肌肉接头和肌腱的连接中,也存在于 mdx 小鼠的骨骼肌中<sup>[2]</sup>,它和抗肌萎缩蛋白都是重要的细胞骨架蛋白,能防止异常收缩诱导的损伤,而泼尼松能够提高正常人和 DMD 患者的抗肌萎缩蛋白和 utrophin 蛋白的表达<sup>[3]</sup>。

糖皮质激素能通过诱导改变肌营养不良的肌纤维的超微结构而带来形态学改变,它能减少树突细胞和成纤维细胞的数量并增加卫星细胞的数量来发挥作用,从而增加肌肉的强度,延缓疾病的进展<sup>[31]</sup>。

有研究者对 14 例使用糖皮质激素治疗的 DMD 患儿(包括儿童和青少年)和 20 例未使用者进行研究,将他们的血液标本进行基因检测提出,糖皮质激素对 DMD 患儿某些基因的表达有影响,从而对某些生物合成或者代谢途径产生影响,最终产生有效的治疗效果(当然同时也存在激素的一些不良反应)<sup>[24]</sup>。后来有人研究指出泼尼松可能对控制纤维化、炎症、肌生成和萎缩的基因的表达有影响<sup>[32]</sup>。

#### 6 展 望

尽管糖皮质激素治疗 PMD 的具体机制尚不明确<sup>[3]</sup>,也存在使用激素后所带来的轻微的不良反应<sup>[33]</sup>,但有研究证明,其总体治疗效果是肯定的<sup>[34-36]</sup>。虽然糖皮质激素只能延缓 PMD 的进展<sup>[21]</sup>,但不能逆转疾病的进程,可在泼尼松治疗的 DMD 患者身上,肌肉强度和临床表现等方面的好转(比如延迟肺脏和心脏症状的出现时间)是有重要功能意义的<sup>[3,34]</sup>。对于糖皮质激素对 PMD 的治疗机制,研究者们各执己见,众说纷纭,可能上述所有机制均存在,也可能只存在某个主要机制而其他机制都是由其所引发的,但不管怎样,对于糖皮质激素对 PMD 的作用机制仍需进一步的研究证实。

#### 参考文献:

[1] Laing NG, Davis MR, Bayley K, et al. Molecular diagnosis

- of duchenne muscular dystrophy: past, present and future in relation to implementing therapies[J]. *Clin Biochem Rev*, 2011, 32(3): 129-134.
- [2] Beck AJ, Vitale JM, Zhao Q, et al. Differential requirement for utrophin in the induced pluripotent stem cell correction of muscle versus fat in muscular dystrophy mice[J]. *PLoS One*, 2011, 6(5): 20065.
- [3] Baltgalvis KA, Call JA, Nikas JB, et al. The effects of prednisolone on skeletal muscle contractility in mdx mice[J]. *Muscle Nerve*, 2009, 40(3): 443-454.
- [4] Alexander MS, Casar JC, Motohashi N, et al. Regulation of DMD pathology by an ankyrin-encoded miRNA[J]. *Skelet Muscle*, 2011, 1: 27.
- [5] Pikó H, Nagy B, Balog J, et al. Carrier detection in families affected by Duchenne/Becker muscular dystrophy[J]. *Orv Hetil*, 2007, 148(51): 2403-2409.
- [6] Desguerre I, Christov C, Mayer M, et al. Clinical heterogeneity of duchenne muscular dystrophy (DMD): definition of sub-phenotypes and predictive criteria by long-term follow-up[J]. *PloS One*, 2009, 4(2): 4347.
- [7] 吴希如, 林庆. 小儿神经系统疾病基础与临床[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2009.
- [8] 王新德. 神经病学[M]. 北京: 人民军医出版社, 2001.
- [9] Zhou L, Rafael-Fortney JA, Huang P, et al. Haploinsufficiency of utrophin gene worsens skeletal muscle inflammation and fibrosis in mdx mice[J]. *J Neurol Sci*, 2008, 264(1/2): 106-111.
- [10] Payam SMD, Michael J, Friez PD, et al. Clinical and genetic characterization of manifesting carriers of dMD mutations[J]. *Neuromuscul Disord*, 2010, 20(8): 499-504.
- [11] Zhang YZ, Xiong H. Phenotype analysis and follow-up study on patients with Duchenne/Becker muscular dystrophy[J]. *Beijing Da Xue Xue Bao*, 2010, 42(6): 661-666.
- [12] 郑瑞琴, 张铭. 基因移植与进行性肌营养不良[J]. *中国优生与遗传杂志*, 1998, 6(4): 124-126.
- [13] 金润铭, 费洪宝. 进行性肌营养不良的研究进展[J]. *国外医学儿科学分册*, 1998, 25(2): 72-75.
- [14] Perronnet C, Vaillend C. Dystrophins, utrophins, and associated scaffolding complexes; role in mammalian brain and implications for therapeutic strategies[J]. *J Biomed Biotechnol*, 2010, 2010: 849426.
- [15] Archer JD, Vargas CC, Anderson JE. Persistent and improved functional gain in mdx dystrophic mice after treatment with L-arginine and deflazacort[J]. *Faseb J*, 2006, 20(6): 738-40.
- [16] 麻宏伟. Duchenne 型肌营养不良症的诊断与治疗[J]. *中国实用儿科杂志*, 2007, 7(22): 552-554.
- [17] 曹玉红, 张光运, 张国成, 等. Duchenne 型进行性肌营养不良 40 例临床分析[J]. *临床床儿科杂志*, 2008, 26(2): 96-98.
- [18] 姚春虹, 李福泰, 巩小英, 等. 13 例假肥大型进行性肌营养不良及文献复习[J]. *吉林医学*, 2010, 31(16): 2490-2492.
- [19] 王自能, 宋元宗, 郝虎, 等. 1 例进行性肌营养不良患儿肌肉组织的超微结构观察与临床分析[J]. *暨南大学学报: 医学版*, 2007, 28(4): 425-426.
- [20] Fisher I, Abraham D, Bouri K, et al. Prednisolone-induced changes in dystrophic skeletal muscle[J]. *Faseb J*, 2005, 19(7): 834-836.
- [21] Hussein MR, Hamed SA, Mostafa MG, et al. The effects of glucocorticoid therapy on the inflammatory and dendritic cells in muscular dystrophies[J]. *Int J Exp Pathol*, 2006, 87(6): 451-461.
- [22] Parreira SL, Resende MB, Della C, et al. Quantification of muscle strength and motor ability in patients with duchenne muscular dystrophy on steroid therapy[J]. *Arq Neuropsiquiatr*, 2007, 65(2A): 245-250.
- [23] Keeling RM, Golumbek PT, Streif EM, et al. Weekly oral prednisolone improves survival and strength in male mdx mice[J]. *Muscle Nerve*, 2007, 35(1): 43-48.
- [24] Lit L, Sharp FR, Apperson M, et al. Corticosteroid effects on blood gene expression in duchenne muscular dystrophy[J]. *Pharmacogenomics J*, 2009, 9(6): 411-418.
- [25] Messina S, Bitto A, Aquennouz M, et al. Flavocoxid counteracts muscle necrosis and improves functional properties in mdx mice; a comparison study with methylprednisolone[J]. *Exp Neurol*, 2009, 220(2): 349-358.
- [26] 杨世杰. 药理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005.
- [27] Fukudome T, Shibuya N, Yoshimura T, et al. Short-term effects of prednisolone on neuromuscular transmission in the isolated mdx mouse diaphragm[J]. *Tohoku J Exp Med*, 2000, 192(3): 211-217.
- [28] Hughes MS, Marsh JN, Wallace KD, et al. Sensitive ultrasonic detection of dystrophic skeletal muscle in patients with duchenne's muscular dystrophy using an entropy-based signal receiver[J]. *Ultrasound Med Biol*, 2007, 33(8): 1236-1243.
- [29] Metzinger L, Passaquin AC, Leijendekker WJ, et al. Modulation by prednisolone of calcium handling in skeletal muscle cells[J]. *Br J Pharmacology*, 1995, 116(7): 2811-2816.
- [30] St-Pierre SJ, Chakkalakal JV, Kolodziejczyk SM, et al. Glucocorticoid treatment alleviates dystrophic myofiber pathology by activation of the calcineurin/NF-AT pathway[J]. *Faseb J*, 2004, 18(15): 1937-1939.
- [31] Hussein MR, Abu-Dief EE, Kamel NF, et al. Steroid therapy is associated with decreased numbers of dendritic cells and fibroblasts, and increased numbers of satellite cells, in the dystrophic skeletal muscle[J]. *J Chin Pathol*, 2010, 63(9): 805-813.
- [32] Guerron AD, Rawat R, Sali A, et al. Functional and molecular effects of arginine butyrate and prednisone on muscle and heart in the mdx mouse model of duchenne muscular dystrophy[J]. *PLoS One*, 2010, 5(6): 11220.
- [33] Manzur AY, Kuntzer T, Pike M, et al. Glucocorticoid cor-

ticosteroids for Duchenne muscular dystrophy[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2008(1):CD003725.

[34] Angelini C. The role of corticosteroids in muscular dystrophy: a critical appraisal[J]. Muscle Nerve, 2007, 36(4):424-435.

[35] Parreira SL, Resende MB, Zanoteli E, et al. Comparison of motor strength and function in patients with Duchenne

muscular dystrophy with or without steroid therapy[J]. Arq Neuropsiquiatr, 2010, 68(5):683-688.

[36] Shimomura H, Fujii T, Miyajima T, et al. Prednisolone treatment for Duchenne muscular dystrophy[J]. No To Hattatsu, 2011, 43(1):24-29.

(收稿日期:2012-01-11 修回日期:2012-02-22)

· 综 述 ·

## 超声微泡携基因治疗面神经损伤研究进展

叶枝依 综述, 骆文龙<sup>△</sup> 审校

(重庆医科大学附属第二医院耳鼻喉头颈外科 400010)

**关键词:** 面神经损伤; 基因疗法; 超声微泡

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.14.035

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)14-1427-03

面神经由于其解剖结构及功能特殊, 容易因创伤、炎症、肿瘤或手术操作等受到损伤, 且神经再生是一个极为复杂的过程, 因此, 寻找新的修复方法提高神经的再生速度和质量是目前需要解决的问题。基因治疗从神经微环境入手, 对改善面神经损伤有很大作用, 但目前可用的载体(病毒、脂质体等)可能对身体产生潜在危害, 有必要探寻更合适的基因载体。近年来, 超声领域出现的新型载体——超声微泡造影剂在靶向治疗方面取得的可喜效果, 使其越来越受到医学界的关注。本文就超声微泡携基因治疗面神经损伤的现状 & 前景作简要的综述。

### 1 超声微泡造影剂

1968 年美国 Rochester 大学的 Gramiak 和 Shah<sup>[1]</sup> 首次报道了超声微泡的应用, 在这之后的 40 余年来, 其声学特性不断地被人们认识熟悉并应用于实践, 至今已获得长足进步。早期的造影剂为无壳膜造影剂, 20 世纪 90 年代开始, 新型含空气微泡的壳膜造影剂问世, 之后出现了第 1、2、3 代新型微泡造影剂, 第 3 代微泡造影剂的出现大大拓宽了超声造影剂的应用领域, 从而可能建立一种安全、有效、无创的超声介导靶向传输系统。

**1.1 超声微泡的构成** 超声微泡造影剂由外壳和内充气体两部分组成, 能悬浮于液体中。内含气体大多为二氧化碳、氧气、六氟化硫气体、氟碳气体、空气等, 因氟碳气体及氟硫相对分子质量高、血液溶解度低、弥散度低, 因此在血液中稳定性好、循环时间长, 目前运用较多。而微泡造影剂外壳多为清蛋白、糖类、脂类物质、非离子表面活性剂、可生物降解的高分子多聚物等, 厚度为 10~200 nm。最初的超声微泡造影剂因其直径比较大不能到达微循环, 其使用范围较窄。1984 年, Feinstein 等<sup>[2]</sup> 报道了可以通过肺毛细血管的微泡造影剂, 之后, 随着超声技术的不断发展, 目前, 超声微泡直径一般为 1~8 μm, 远远小于人体红细胞, 因而可经外周静脉注射后自由通过肺循环最终到达靶器官或者靶组织, 从而实现回声增强。

**1.2 超声微泡的作用与机制** 最初, 因微泡可增强超声显像而被作为一种诊断工具, 而后来人们逐渐发现超声微泡具有很好的运载作用, 是基因或者药物的可靠载体, 特别是第 3 代超声造影剂的问世, 因其具有相对无创性、高敏感性、高特异性等特点, 使超声微泡在治疗方面的优势日益明显, 并快速进入临

床应用。目前普遍认为的超声微泡的作用机制为: 将附有基因或药物的超声微泡造影剂经外周静脉注射进入全身血液循环后, 在靶区以一定条件的超声照射, 因在血液中的超声微泡具有一定的“可压缩性”<sup>[3]</sup>, 即微泡特有的先后产生不对称的“压缩-膨胀”性能, 使声场中的微小气泡会随着声波负压半周期膨胀, 而在正压半周期中破裂, 即产生空化效应, 在空化时产生的冲击波、高温、高压等导致细胞的质膜或核膜上出现了暂时性小孔, 使细胞外分子和颗粒通过小孔进入细胞内, 从而使细胞通透性增高, 进而使目的基因进入组织细胞, 实现基因的转染和表达(声孔效应)<sup>[4]</sup>。超声微泡的稳定性好, 可减少基因或者药物在到达靶组织前的播散, 从而提高了基因或者药物的效用。

### 2 超声微泡携基因治疗在各个领域的研究

随着人类基因组计划的完成, 科学家希望通过治疗基因的转载、转染来修复人体细胞内的致病基因, 以达到从根本上治疗疾病的目的。超声造影剂是一种新型的基因载体, 将载有目的基因或者药物的超声微泡静脉注射后, 在靶细胞或组织给予一定条件的超声照射, 可明显提高体内细胞、局部组织的基因转染率<sup>[5-6]</sup>。目前, 对超声微泡介导的基因转染已经涉及肿瘤、心脏、血管、肝脏、肾脏、神经系统等众多领域。

**2.1 对肿瘤的诊断与治疗** 对肿瘤的治疗一直是国内外广大学者研究的重点和热点。然而, 由于人体肝脏过度的摄取, 尽管采取了各种方法, 抗肿瘤药物治疗疗效仍不能令人满意。基于 20 年前脂质体运送抗肿瘤药物的研究, 人们有了超声微泡造影剂转运基因或者药物治疗肿瘤的设计。而随着超声微泡技术的不断发展和可携带药物、基因超声微泡造影剂的研制, 近年来靶向超声微泡在肿瘤诊断和治疗方面的研究进展十分迅速。肿瘤血管的生成是肿瘤发生的基础, 因此, 利用这一特点, 可以将血管内皮生长因子等作为微泡的作用靶点。Willmann 等<sup>[7]</sup> 制作了定位于血管内皮生长因子受体-2 和 αVβ<sub>3</sub> 整合素双靶点微泡, 研究证实, 该微泡可更好地聚集于靶肿瘤, 且显像好。Miller 和 Song<sup>[8]</sup> 通过向小鼠肾癌模型注射质粒, 同时注射微泡造影剂, 并以一定超声照射, 研究发现经超声照射的肿瘤停止生长且目的基因的表达比对照组明显增高。Aoi 和 Li<sup>[9]</sup> 以超声微泡为载体, 将单纯疱疹病毒胸苷激酶(herpes