



NaGdF₄纳米颗粒增强多参数磁共振血管造影对缺血性脑卒中的影像诊断研究*

吴瑾¹, 马宇强^{2,3}, 岳赛赛^{2,3}, 张心怡^{2,3}, 李文玥^{1,2,3△}, 张霓²

1. 中日友好医院 健康体检中心(北京 100029); 2. 四川大学华西医院 精神科(成都 610041);

3. 北京化工大学 材料科学与工程学院(北京 100029)

【摘要】目的 构建高灵敏磁共振血管造影(magnetic resonance angiography, MRA)纳米造影剂,发展血管复杂结构的高灵敏影像检测方法,为缺血性脑卒中的精准诊疗、预后与个体化治疗等提供依据。**方法** 利用生物相容性聚乙二醇(PEG-dp)作为配体,将高温复分解反应制备的超小NaGdF₄纳米晶体,通过配体交换的方法构建双模态纳米造影剂。通过透射电子显微镜、粒度电位分析仪、7.0 T小动物磁共振成像仪对NaGdF₄纳米造影剂的基本结构、形貌及粒径分布以及弛豫率进行了表征。取6只健康雄性SPF级BALB/c小鼠,随机分成2组:NaGdF₄组和Gd-DTPA组,每只小鼠尾静脉注射NaGdF₄纳米造影剂或临床Gd-DTPA造影剂(0.1 mmol Gd³⁺/kg),注射前/后使用7.0 T小动物磁共振成像仪获取MRA图像。取6只健康雄性SPF级SD大鼠构建右侧大脑中动脉闭塞(rMCAO)模型模拟缺血性脑卒中,大鼠尾静脉注射NaGdF₄纳米造影剂(0.1 mmol Gd³⁺/kg),注射前/后利用7.0 T小动物磁共振成像仪获取大鼠脑MRI图像。通过细胞毒性、溶血实验和HE染色验证纳米造影剂的体外、体内生物安全性。**结果** 成功制备出粒径为(4.43±0.46) nm的均匀球形油相NaGdF₄纳米晶体,经配体交换后获得生物相容性水相纳米造影剂,流体动力学尺寸为16.1 nm,表面电位为-1.9 mV,且该纳米造影剂的弛豫性能优于临床造影剂Gd-DTPA[NaGdF₄纳米造影剂的纵向摩尔弛豫率 r_1 为8.84 mM⁻¹s⁻¹,横向摩尔弛豫率 r_2 为27.36 mM⁻¹s⁻¹,分别为Gd-DTPA的1.96倍(4.52 mM⁻¹s⁻¹)和3.37倍(8.13 mM⁻¹s⁻¹)],并具备良好的生物安全性。基于NaGdF₄增强的MRA成功实现了高分辨率血管成像,并成功实现缺血性脑卒中动物模型缺血区、梗死核心区与缺血半暗带的影像鉴别。**结论** 基于NaGdF₄纳米造影剂的多参数MRA为缺血性脑卒中的临床诊断与预后提供了影像依据。

【关键词】 磁共振成像 血管造影 缺血性脑卒中 NaGdF₄ 多模态成像

Imaging Diagnosis of Ischemic Stroke Through Multiparametric Magnetic Resonance Angiography Enhanced by NaGdF₄ Nanoparticles

WU Jin¹, MA Yuqiang^{2,3}, YUE Saisai^{2,3}, ZHANG Xinyi^{2,3}, LI Wenyue^{1,2,3△}, ZHANG Ni². 1. Physical Examination Center, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China; 2. Department of Psychiatry, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 3. College of Materials Science and Engineering, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China

△ Corresponding author, E-mail: Wenyue.Lee@outlook.com

[Abstract] Objective To develop an ultra-sensitive nanoparticle contrast agent for magnetic resonance angiography (MRA), to establish a highly sensitive imaging method for complicated vascular structures, and to provide imaging evidence for precision diagnosis, treatment, prognosis, and individualized treatment of ischemic stroke. **Methods** A dual-modality MRA contrast agent was prepared through ligand exchange of ultra-small NaGdF₄ nanocrystals synthesized via a high temperature method, with biocompatible polyethylene glycol (PEG-dp) ligands. The basic structure, morphology, size distribution, and relaxation rate of the NaGdF₄ nano contrast agent were characterized using transmission electron microscopy (TEM), a particle size potential analyzer, and a 7.0 T small-animal MRI scanner. A total of 6 healthy male SPF-grade BALB/c mice were selected and randomly divided into two groups, a NaGdF₄ group and a Gd-DTPA group. The mice in the two groups were injected with NaGdF₄ nanoparticle contrast agent or clinical Gd-DTPA contrast agent (0.1 mmol Gd³⁺/kg) via the tail vein. MRA images were obtained using a 7.0 T small animal magnetic resonance imaging system before and after the injection. A total of 6 healthy male SPF-grade Sprague Dawley (SD) rats were selected to establish a right middle cerebral artery occlusion (rMCAO) model to simulate ischemic stroke. The rats were injected with NaGdF₄ nano-contrast agent (0.1 mmol Gd³⁺/kg) via the tail vein. Before and after the injection, brain MRI images of the rats were obtained using a 7.0 T small animal magnetic resonance imaging system. The *in vitro* and *in vivo* biological safety of the nano contrast agent was verified through cytotoxicity and hemolysis

* 国家自然科学基金(No. 22177009)资助

△ 通信作者, E-mail: Wenyue.Lee@outlook.com

出版日期: 2025-05-20

experiments and HE staining. **Results** Uniform spherical oil-phase NaGdF₄ nanocrystals with an average particle size of approximately (4.43 ± 0.46) nm were successfully prepared. After ligand exchange, biocompatible water-phase nanocrystals were obtained with a hydrodynamic size of 16.1 nm and a surface potential of -1.9 mV. The relaxation performance of this nanocrystal contrast agent was significantly superior to that of the clinical contrast agent Gd-DTPA. The longitudinal molar relaxivity rate (r_1) of the NaGdF₄ nano contrast agent was $8.84 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$, while the transverse molar relaxivity rate (r_2) was $27.36 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$, which were 1.96 times ($4.52 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$) and 3.37 times ($8.13 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$) those of Gd-DTPA, respectively. It also demonstrated excellent biocompatibility. NaGdF₄-enhanced MRA achieved high-resolution vascular imaging and effectively enabled the differentiation of the ischemic area, infarct core, and ischemic penumbra in an animal model of ischemic stroke. **Conclusion** The multi-parameter MRA based on NaGdF₄ nanoparticles provides critical imaging evidence for the clinical diagnosis and prognosis of ischemic stroke.

[Key words] Magnetic resonance imaging Angiography Ischemic stroke NaGdF₄ Multimodal imaging

急性缺血性脑卒中是全球主要致残致死疾病, 中国年新发病例约300万, 居全球首位, 且呈年轻化趋势^[1-5]。动脉闭塞引发的脑梗死会中断血供, 造成脑组织与中枢神经损伤, 而侧支血管作为生理代偿通路, 其状态决定缺血半暗带范围, 直接影响溶栓治疗窗口与预后^[6-8]。精准评估缺血半暗带对个体化治疗至关重要^[9-10]。

目前, 数字减影血管造影(digital subtraction angiography, DSA)、计算机断层扫描(computed tomography, CT)和磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)等影像是评估侧支循环和缺血半暗带的主要手段^[11-13]。MRI凭借多序列组合成为理想工具: 弥散加权成像(diffusion-weighted imaging, DWI)可界定不可逆缺血核心区^[14-17]; 磁敏感加权成像(susceptibility-weighted magnetic resonance imaging, SWI)显示的缺血区低信号血管可反映侧支状态并预测预后^[18-19]。临床研究证实, SWI上缺血脑区不对称低信号血管反映侧支循环状态, 可作为临床预后的预测指标^[18-20]。然而, MRI灵敏度受限, 需借助造影剂增强病变识别能力。

临床常用Gd³⁺螯合物(如Gd-DTPA)虽增强血管成像对比度, 但循环时间短、成像精准度不足^[21-22]。超顺磁性氧化铁纳米颗粒作为T₂造影剂, 结合SWI可增强血管对比度^[18-19, 23], 但其负性信号易与出血等混淆, 单模态MRI存在局限^[24]。基于此, 本研究开发了一种基于双模态NaGdF₄纳米颗粒的多参数同步增强超灵敏磁共振血管造影(magnetic resonance angiography, MRA)策略, 通过结合T₁和T₂不同成像序列的优势, 获得互补的高分辨率血管信息, 实现了在体多参数血管造影, 以及大鼠缺血性卒中动物模型的多参数MRA诊断, 旨在为缺血性脑卒中的精准诊断提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

六水合氯化钆(GdCl₃·6H₂O)、油酸(OA)、十八烯

(ODE)、氟化铵(NH₄F)等购自Sigma-Aldrich。其他分析纯试剂, 如氢氧化钠(NaOH)、乙醇、环己烷、四氢呋喃(THF)等购自国药集团化学试剂有限公司。分子量为2000的聚乙二醇(PEG-dp)配体购自北京万德高科有限公司。人脐静脉内皮细胞(HUVECs)购自美国模式培养物研究所(ATCC)。钆喷酸葡胺(Gd-DTPA)购自北京北陆药业股份有限公司。健康雄性BALB/c小鼠[SPF级, 6周龄, 体质量(20±2) g]以及健康雄性SD大鼠[SPF级, 体质量(300±10) g]购自北京大学实验动物中心。

1.2 多模态NaGdF₄纳米造影剂制备

1.2.1 NaGdF₄纳米晶体合成

将1 mmol的GdCl₃·6H₂O置于100 mL三颈烧瓶中, 再分别取4 mL的OA配体和15 mL的ODE加入装置中。在真空下将混合物加热至150 ℃, 并在此温度下保持30 min以形成均匀溶液。随后将混合溶液冷却至室温, 然后逐滴加入10 mL NaOH(2.5 mmol)/NH₄F(4 mmol)的甲醇溶液, 将反应体系在室温搅拌过夜。在真空条件下缓慢升温至100 ℃除去甲醇, 维持10 min, 通氮气抽排三次, 至反应体系无气泡。快速升温至270 ℃, 并在270 ℃下保持40 min。反应结束后将体系冷却至室温, 用乙醇沉淀并离心收集反应产物, 环己烷复溶/乙醇沉淀三次, 离心收集纯化后得到油相的NaGdF₄纳米颗粒, 用NaGdF₄@OA表示, 分散在环己烷溶液中备用。

1.2.2 生物相容性PEG修饰的NaGdF₄纳米造影剂制备

取10 mg(Gd³⁺质量)纯化后的NaGdF₄@OA纳米颗粒, 以及100 mg PEG-dp配体, 溶解在5 mL THF中, 并且将混合物在40 ℃条件下搅拌过夜。随后, 用环己烷沉淀所得到的聚乙二醇化纳米颗粒, THF复溶, 如此重复洗涤三次, 直至上清澄清透明。将所得沉淀置于真空干燥箱, 在室温下真空干燥约6 h, 干燥结束后溶于适量去离子水中, 在4 ℃条件下放置过夜。将所得的纳米颗粒水溶液使用30 kDa MWCO超滤管(Millipore YM-50)离心超滤去除游离配体, 分散在去离子水中备用。

1.3 分析仪器与表征

透射电子显微镜(TEM)(HITACHI公司,型号HT7700),粒度电位分析仪(Malvern公司,Nano ZS),7.0 T小动物磁共振成像仪(Bruker公司,BioSpec 70/20 USR),细胞培养箱(SANYO,MCO-20AIC),酶标仪(Thermo,MULTISKAN GO),电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)(Thermo,ICAP-Qc)。NaGdF₄纳米颗粒的形貌、尺寸等表征采用TEM表征,并通过Image J统计300个以上颗粒计算粒径平均值,纳米颗粒的流体力学粒径、尺寸分布及Zeta电位采用粒度电位分析仪测量。NaGdF₄纳米造影剂浓度通过ICP-MS测量HNO₃/H₂O₂消解后样品中Gd³⁺浓度确定。

1.4 NaGdF₄纳米造影剂弛豫率测定

将NaGdF₄纳米造影剂配置为不同Gd³⁺浓度的系列水溶液,取不同浓度200 μL造影剂置于微量离心管中,利用7.0 T小动物磁共振成像仪,通过T₁ map和T₂ map序列测量NaGdF₄纳米造影剂弛豫时间,并拟合纳米造影剂的摩尔弛豫率r₁和r₂值。

1.5 细胞毒性

HUVECs使用含有10%胎牛血清(FBS)、100 U/mL青霉素和0.1 mg/mL链霉素的内皮细胞培养基(ECM),在37℃、体积分数为5%CO₂的环境下进行培养。将5×10³个HUVECs接种于湿度100%的96孔细胞培养板中,在37℃的环境中培养过夜。将含有不同Gd³⁺浓度的NaGdF₄纳米造影剂按顺序加入相应的孔中,然后在37℃环境中与细胞共孵育24 h。孵育结束后,倒掉含有颗粒的上清液。然后每孔中加入CCK-8(100 μL,体积分数为10%),在37℃的环境下再孵育2 h。最后,使用酶标仪在波长为450 nm的条件下测量每孔的光密度。

1.6 溶血性评价

将6 mL磷酸盐缓冲液(PBS)与2 mL大鼠血液样本混合,以1 500 r/min的转速离心15 min。弃掉上清液后,洗涤红细胞沉淀至上清液无色透明,然后将红细胞稀释到PBS中,终体积为1 mL。将所得到的红细胞以1:4(体积比)的比例,分别加入不同Gd³⁺浓度NaGdF₄纳米造影剂溶液、生理盐水或水中。各组样品置于37℃的水浴中避光静置4 h后,以3 000 r/min的转速离心5 min。离心后将上清液转移至96孔板,测定541 nm处的吸光度。

1.7 实验动物模型建立、分组及成像

本研究样本量设定依据课题组前期实验^[25],样本量设定为至少3只(n≥3),严格选择符合实验要求的动物进行实验。成像(1.7.1和1.7.2部分)及安全性评价实验(1.7.4部分)中不排除BALB/c小鼠,但对建模失败的右侧大脑中动脉闭塞(rMCAO)大鼠不予考虑。本研究采用

非盲(开放标签)设计,研究者在实验实施、结局评估、数据分析等阶段均知晓分组情况。

本研究遵循的程序符合四川大学华西医院实验动物伦理委员会批准的程序(批准备案号:20240305036)。所有实验均在符合实验动物保护相关指南和规定的情况下进行。

1.7.1 小鼠MRA研究

取6只健康BALB/c小鼠,通过区组随机化产生随机化序列并随机分成2组:NaGdF₄组和Gd-DTPA组,每只小鼠通过尾静脉注射NaGdF₄纳米造影剂或临床Gd-DTPA造影剂(0.1 mmol Gd³⁺/kg)。注射造影剂前和注射造影剂10 min后使用7.0 T小动物磁共振成像仪获取MRA图像,扫描序列包括动态对比增强成像(dynamic contrast-enhanced, DCE)序列、SWI序列等。在成像过程中实验动物经鼻锥吸入2%异氟烷保持麻醉。

1.7.2 大鼠缺血性脑卒中模型建立与MRA影像诊断

取6只健康SD大鼠进行右侧大脑中动脉闭塞手术,以建立rMCAO模型模拟缺血性脑卒中。对所有大鼠除饮水外禁食12 h。手术前,使用1%戊巴比妥钠对大鼠进行腹腔麻醉,在手术过程中使用恒温加热垫将大鼠体温维持在(37±0.5)℃。在大鼠的右侧胸骨及颈部之间做正中切口,分离出右侧颈动脉。即将MCAO缝线[总长度约45 mm,直径为(0.38±0.02) mm]经颈外动脉插入颈内动脉,并从颈动脉分叉处推入约18~20 mm,随后缝合大鼠皮肤,在加热垫维持体温下直到大鼠苏醒,时刻关注大鼠状态。随机选取3只rMCAO大鼠,每只大鼠通过尾静脉注射NaGdF₄纳米造影剂(0.1 mmol Gd³⁺/kg),注射造影剂前和注射造影剂10 min后利用7.0 T小动物磁共振成像仪获取大鼠脑MRI图像,扫描序列包括流入增强血管成像(time of flight, TOF)序列、磁共振DWI序列、DCE序列、SWI序列等,成像过程中实验动物经鼻锥吸入2%异氟烷保持麻醉。

1.7.3 rMCAO大鼠病理分析

上述成像结束后处死rMCAO大鼠,提取脑组织,进行HE染色,做后续病理分析。

1.7.4 纳米造影剂体内生物安全性评价

取6只健康BALB/c小鼠(严格选用6周龄健康雄性BALB/c小鼠,且限定体质量18~22 g,所有动物来自同一繁殖批次,以避免差异)放于同一笼饲养。通过区组随机化产生随机化序列并随机分成2组:NaGdF₄组和PBS组,每只小鼠在第1天通过尾静脉注射NaGdF₄纳米造影剂(0.1 mmol Gd³⁺/kg)或PBS(同等体积)。第15天后,采取颈椎脱臼处死两组小鼠,分离心脏、肝脏、脾脏、肺脏和肾脏等主要器官,包埋后切片进行HE染色,对纳米造影剂的体内生物安全性进行分析。

1.7.5 大鼠血液样本提取

取1只健康SD大鼠,使用1%戊巴比妥钠对大鼠进行腹腔麻醉,采用腹主动脉采血方式提取血液样本,以供溶血性评价(1.6部分)。

1.8 统计学方法

使用GraphPad Prism 8和Origin(9.0 and 2019b)对数据进行统计学分析。实验结果数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NaGdF₄纳米造影剂制备与表征

2.1.1 NaGdF₄纳米造影剂流体力学性质

利用GdCl₃·6H₂O与NH₄F、NaOH在OA/ODE混合溶剂中的高温复分解反应,制备了油相的超小NaGdF₄纳米晶体(NaGdF₄@OA)。如图1A所示TEM图像,所制备的NaGdF₄@OA纳米晶体为球形,单分散性高,平均直径为(4.43±0.46) nm (图1B)。纳米晶体的选区电子衍射表征结果(图1A内小图)显示,所制备NaGdF₄@OA纳米晶体为六方晶相。上述结果表明成功制备了高品质超小NaGdF₄

纳米晶体。

通过与生物相容性PEG配体置换,制备水溶性NaGdF₄纳米颗粒。如图1C所示TEM图像,PEG修饰NaGdF₄纳米颗粒尺寸无明显变化。动态光散射(DLS)(图1D)与Zeta结果显示,PEG修饰NaGdF₄纳米颗粒的流体力学尺寸为16.1 nm,表面电位为-1.9 mV,并且NaGdF₄纳米颗粒流体力学尺寸分布曲线呈现对称性单峰,表明PEG配体以可控的方式取代油酸配体,而不会引起纳米颗粒聚集,NaGdF₄纳米颗粒有较好的胶体分散性与稳定性。根据式(1):

$$\tau_R = \frac{4\pi\eta r^3}{3k_B T} \quad (1)$$

得到NaGdF₄的翻滚时间(τ_R)值为473 ns,其中 k_B 为玻尔兹曼常数(1.38×10^{-23} J/K), T 为绝对温度(K), η 为溶剂黏度(Pa·s), r 为颗粒半径(m)。 τ_R 较长使得NaGdF₄颗粒中顺磁性中心Gd³⁺与水分子的相互作用时间延长,能量传递效率更高,从而可有效提高 r_1 。

2.1.2 NaGdF₄纳米造影剂摩尔弛豫率

如图2A与2B所示,通过对不同Gd³⁺浓度的NaGdF₄纳米造影剂和Gd-DTPA的纵向弛豫率 $R_1(1/T_1)$ 、横向弛豫

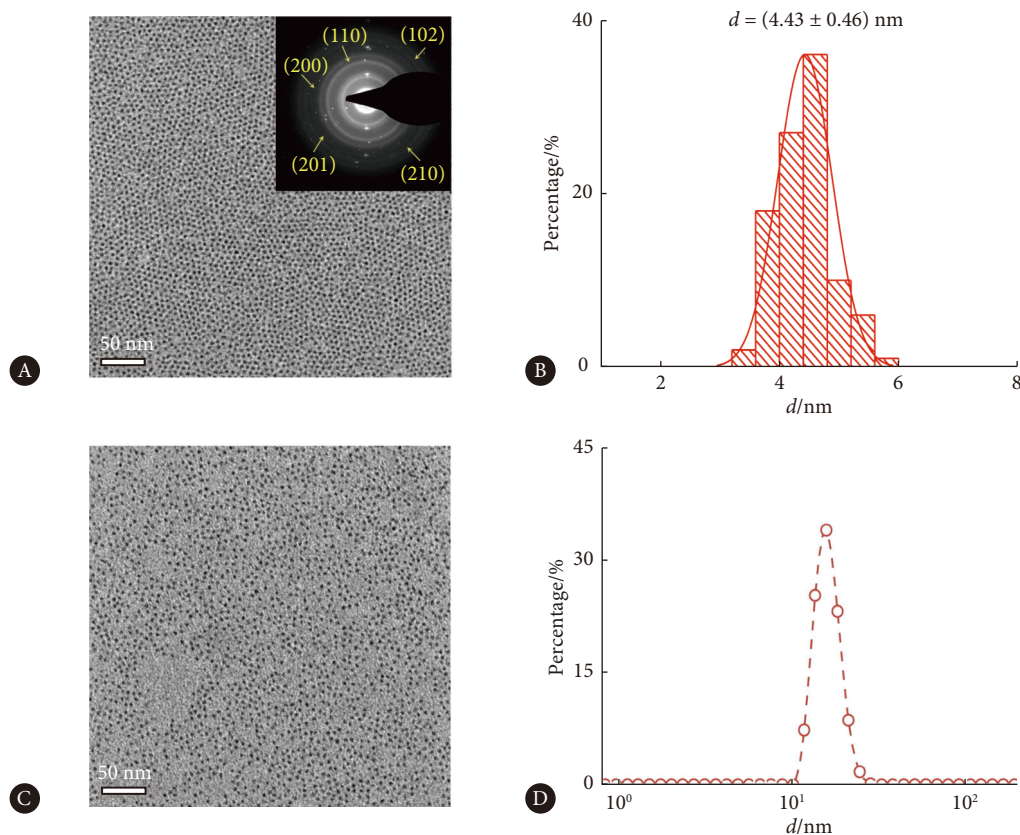


图1 NaGdF₄@OA和PEG修饰NaGdF₄纳米颗粒的基本结构、形态及粒径分布图

Fig 1 The basic structure, morphology, and size distribution diagram of NaGdF₄@OA and the PEG-modified NaGdF₄ nanoparticles

A, TEM image of NaGdF₄@OA nanocrystals. The inset displays electron diffraction patterns of a selected area. B, The histogram of the size distribution of NaGdF₄@OA nanocrystals. C and D, TEM images (C) and dynamic light scattering (D) of the hydrodynamic size distribution of the PEG modified NaGdF₄ nanoparticles.

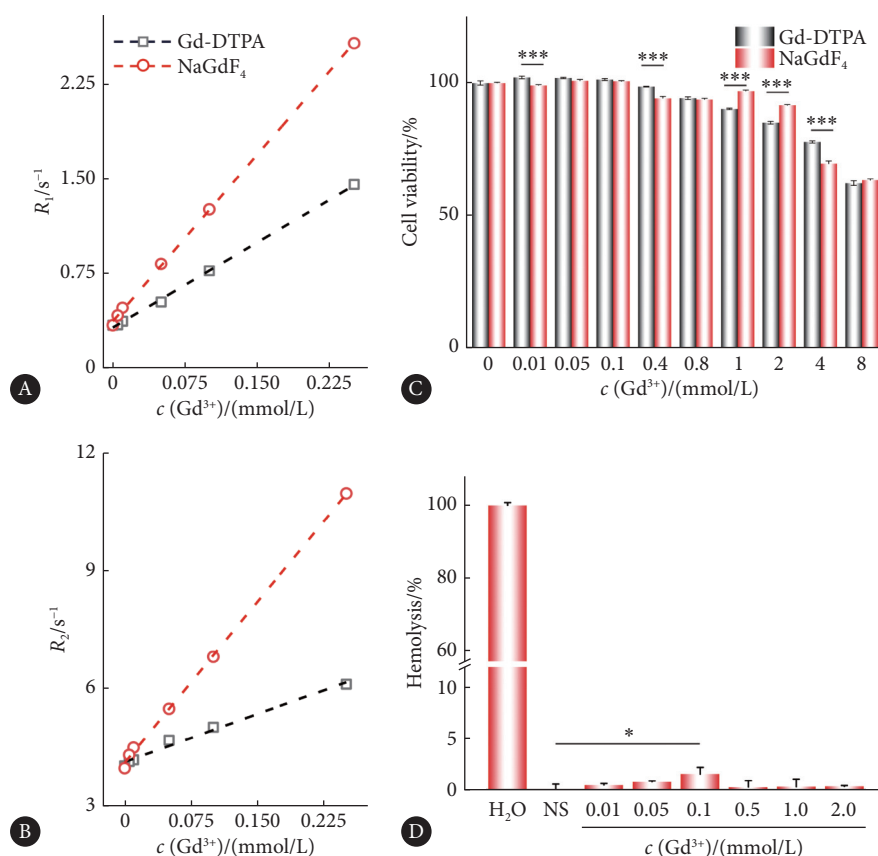


图2 NaGdF₄纳米造影剂的弛豫率、细胞毒性和溶血率

Fig 2 The relaxivity rate, cytotoxicity, and hemolysis rate of NaGdF₄ nano-contrast agent

A and B, The fittings of R_1 and R_2 of NaGdF₄ nano contrast agent. C, Viabilities of HUVEC cells after co-incubation with NaGdF₄ nano contrast agent and Gd-DTPA with distinct Gd^{3+} concentration. D, The hemolysis rate analysis of NaGdF₄ nano contrast agent with different concentrations. Statistical significance was determined by paired t -test (* $P < 0.05$, *** $P < 0.001$).

率 $R_2(1/T_2)$ 进行线性拟合,计算NaGdF₄纳米造影剂的纵向摩尔弛豫率 r_1 和横向摩尔弛豫率 r_2 。NaGdF₄纳米造影剂的 r_1 为8.84 $mM^{-1}s^{-1}$, r_2 为27.36 $mM^{-1}s^{-1}$,分别为Gd-DTPA的1.96倍(4.52 $mM^{-1}s^{-1}$)和3.37倍(8.13 $mM^{-1}s^{-1}$)。NaGdF₄纳米造影剂具有较高的 r_1 和 r_2 ,因此是多参数MRI造影剂的理想候选者。

2.1.3 NaGdF₄纳米造影剂细胞毒性与血液相容性

首先,通过细胞计数试剂盒(CCK-8)评估了NaGdF₄纳米造影剂对HUVECs细胞的毒性(图2C)。与Gd-DTPA相比,NaGdF₄纳米造影剂在 Gd^{3+} 浓度为2.0 mmol/L时,细胞仍保持较高存活率(>91%),高于Gd-DTPA对照组细胞存活率(85%)($P < 0.001$),而临床使用Gd-DTPA的标准剂量为0.1 mmol/kg(Gd^{3+} 的最大血药浓度约为1.5 mmol/L),因此细胞实验结果表明,NaGdF₄纳米造影剂具有较高的生物安全性。

如图2D所示,在0.01 ~ 2.0 mmol/L的 Gd^{3+} 浓度范围内,NaGdF₄纳米造影剂的溶血率均低于2%,远低于国际标准化组织和美国测试与材料学会设定的5%的溶血率

阈值,而在临床剂量(0.1 mmol/kg)下, Gd^{3+} 的最大血药浓度约为1.5 mmol/L,因此NaGdF₄纳米造影剂具有较高的血液相容性。

2.2 NaGdF₄纳米造影剂在体MRA成像

基于优异的MRI信号对比度增强效果与良好的生物相容性,NaGdF₄纳米造影剂被用于小鼠头颈血管MRA检测。如图3所示,相比于临床Gd-DTPA的MRA成像中血管信号增强不明显(图3上),NaGdF₄纳米造影剂在静脉给药后,随血液循环快速分布于各分支血管中,可清晰地显示微动静脉的血管解剖结构(图3下)。

同时,由于NaGdF₄纳米晶体中 Gd^{3+} 的规则排列引起纳米颗粒周围磁各向异性,产生局部静态磁场不均匀性,可以在 T_2 属性的扫描序列中使血管变暗。因此,NaGdF₄纳米造影剂能够实现高分辨率脑血管SWI成像(图4),从而实现对脑血管的多参数MRA检测。

2.3 基于NaGdF₄纳米造影剂多参数MRA的缺血性脑卒中影像诊断

如图5所示,临床上常用基于TOF序列的非增强MRA

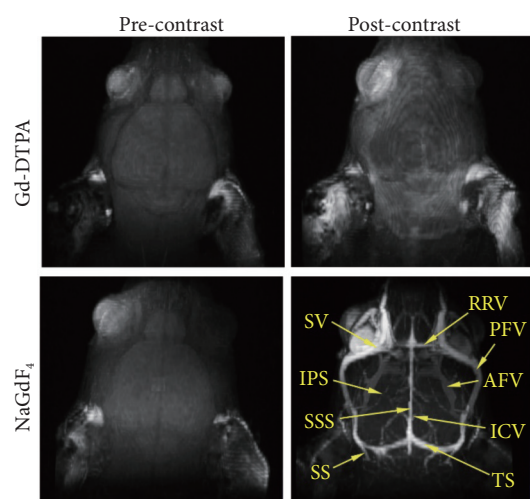


图3 Gd-DTPA与NaGdF₄纳米造影剂增强的小鼠脑血管3D DCE MRA成像以及主要血管结构识别

Fig 3 3D DCE MR angiography of the mouse cerebral vessels enhanced by Gd-DTPA and NaGdF₄ nano contrast agents, respectively, and the identification of major vascular structures

RRV: rostral rhinal vein; SV: supraorbital vein; PFV: posterior facial vein; AFV: anterior facial vein; ICV: internal cerebral veins; SSS: superior sagittal sinus; IPS: inferior petrosal sinus; TS: transverse sinus; SS: straight sinus.

仅模糊观察到以血流速度较快动脉为代表的几条大血管,而右外颈动脉和颈总动脉的信号不对称地消失,表明脑血管发生闭塞。而注射NaGdF₄纳米造影剂后的DCE图像可以清晰显示脑血管解剖结构,特别是微小血管结

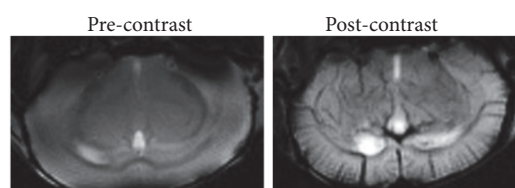


图4 NaGdF₄纳米造影剂增强的小鼠脑血管SWI血管成像

Fig 4 SWI MR angiography of the mouse cerebral vessels enhanced by NaGdF₄ nano contrast agent

构。在DCE伪彩图像中,可以看到在动脉闭塞形成的缺血区形成高密度的侧支血管(蓝色线框)。

在临床应用中,DWI被广泛用于检测急性缺血性卒中的病变。DWI高信号区域被认为是不可逆的缺血性损伤组织。如图6A所示,通过DWI图像,可明显看到缺血区域分布在右侧大脑半球,遍及右侧大脑皮质、海马和尾状核区域,但是对脑血管,特别是缺血区的血管状态,无法展示。通过SWI序列,在注射NaGdF₄纳米造影剂后,可以清晰显示脑血管信息。进一步,将增强后的SWI图像和增强前的SWI图像做运算,提取出血管得到ΔSWI图。将DWI与ΔSWI图像结合,可以准确获取缺血区的侧支血管状态,从而界定缺血半暗带(图6B)。通过对MRI成像结束后大鼠脑组织进行病理学分析,验证NaGdF₄纳米造影剂增强的多参数MRA显示的侧支循环丰富区域(图6C)。除此外,脑组织的出血也被得到验证(图6A SWI方框和图6C箭头)。

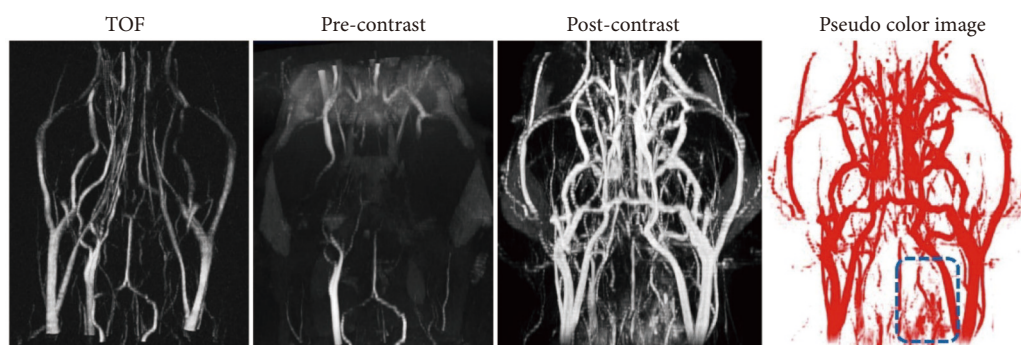


图5 对rMCAO大鼠模型行TOF、NaGdF₄纳米造影剂增强前后DCE MRA成像及伪彩色图像

Fig 5 TOF and DCE 3D MR angiography of a rMCAO model rat acquired pre- and post-enhancement by NaGdF₄ nanoparticles, as well as the pseudo color image of the NaGdF₄ nano contrast agent-enhanced DCE MR angiography

2.4 NaGdF₄纳米造影剂生物安全性评价

在尾静脉注射纳米造影剂15d后处死小鼠,与PBS组相比,NaGdF₄组小鼠主要器官的HE染色未见明显损伤和出血,各器官的细胞形态良好(图7)。因此,NaGdF₄纳米造影剂具有良好的生物安全性。

3 讨论

基于优异的磁学特性和生理学特性,当前研发

NaGdF₄纳米造影剂有望成为多参数MRA的理想造影剂。DCE序列在临床中广泛应用于监测血管功能异常及形态学改变患者的治疗反应与预后评估。然而增加图像质量与扫描激励次数(NEX)密切相关,增加NEX虽能显著提升图像质量,但会相应延长扫描时间。传统小分子钆螯合物造影剂因血管成像时间窗短暂,临床实践中往往被迫牺牲图像分辨率。相较之下,NaGdF₄纳米颗粒凭借其长效血液循环特性,为DCE序列提供了更充裕的血

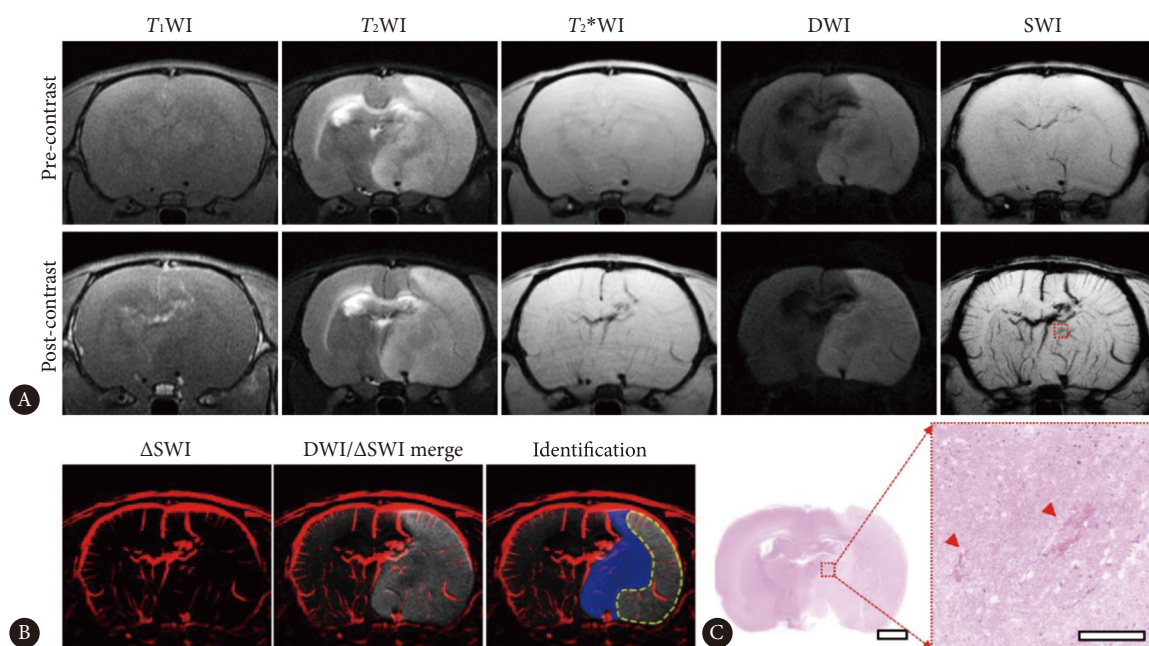


图 6 rMCAO鼠的脑部影像、缺血半暗带识别及HE图片

Fig 6 Brain images, ischemic penumbra identification, and HE images of rMCAO rats

A, T_1 WI, T_2 WI, T_2^* WI, DWI, and SWI MR images of rMCAO model rats acquired pre- and post-enhanced by NaGdF_4 nano contrast agent. B, The Δ SWI and Δ SWI/DWI merged images of rMCAO model rats, and identification of ischemic region, infarct core, and penumbra. C, HE staining of the corresponding sample of rMCAO model rat brain with the enlarged view. The embedded scale bar corresponds to 2 mm and 200 μm , respectively.

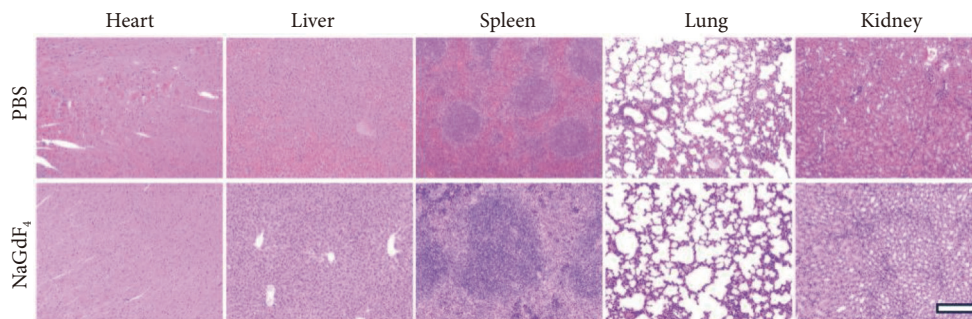


图 7 注射 NaGdF_4 纳米颗粒或PBS小鼠主要器官组织切片的HE染色

Fig 7 HE staining of tissue slices from major organs of mice treated with NaGdF_4 nanoparticles or PBS

The embedded scale bar corresponds to 200 μm .

管成像时间窗,使得高空间分辨率但耗时较长的扫描方案得以实施。本研究血管显影结果充分印证了 NaGdF_4 增强MRA成像在时空分辨率方面的卓越性能。作为脑血管疾病疑似患者常规MRI检查的核心序列,SWI序列较DCE序列展现出独特优势。由于SWI对磁性物质高度敏感, NaGdF_4 纳米造影剂可显著提升血管结构的可视化效果。与DCE相比,SWI能以更高分辨率清晰呈现静脉系统的细微分支。

因此,在 NaGdF_4 纳米造影剂的增强作用下,DCE血管造影与SWI血管成像均可实现高分辨率采集。多种成像模式优势互补,为不同解剖层次的临床指征诊断提供了

多维策略。例如,经纳米造影剂增强后,DCE成像可快速勾勒血管解剖结构,而SWI则能辨识更为复杂的微血管网络。针对特定临床指征,这些MRI技术无疑能提供更全面的生理病理信息,从而最大程度提升诊断效能。基于 NaGdF_4 纳米造影剂增强的多模态MRA,通过不同成像序列的联合应用,仅需单次注射造影剂即可实现急性脑卒中后的动脉闭塞、侧支循环及缺血半暗带等关键病理特征的同步MRI诊断。通过DCE成像,成功描绘了卒中模型大鼠血管系统的解剖形态结构,尤其是静脉系统的显影效果显著。造影结果表明,右侧颈动脉的阻断并未对大鼠头颈部主要静脉的血流产生明显影响。这可能归

因于卒中后Willis环及动脉吻合等侧支循环的建立,为缺血区域提供了代偿性血流灌注,维持了病理状态下脑组织的生理功能^[24]。

除DCE序列外,SWI成像进一步实现了脑血管系统的可视化。相较于DCE成像,SWI在脑实质内微血管的显影分辨率显著提升。由于动脉网络呈放射状扩张与吻合,新形成的侧支循环在SWI图像中呈现为缺血侧大脑不对称性低信号血管。经NaGdF₄纳米造影剂增强后,所有脑血管对比度均显著增强,如上矢状窦及颅内静脉的多级分支等微小血管,在高亮的脑组织背景中展现出明显的负性对比。值得注意的是,仅在卒中半球观察到血管信号呈不对称性增强,这些异常信号呈现出典型的宏观血管构型,提示其与侧支循环的关联。因此可以推断,相较于对侧半球,梗死灶周边富集的额外血管信号应归因于卒中后新建立的侧支系统。

结合DWI序列,可清晰展示梗死核心与侧支循环的分布关联。将SWI图像与对应DWI图像融合后发现,增生的血管主要集中于缺血侧,且大量异常血管分布于梗死核心周边,这与“卒中后缺血核心外围形成侧支循环”的普遍认知高度吻合^[23]。基于侧支循环与缺血半暗带的相关性,可将半暗带范围界定为梗死核心外围侧支密度较高的区域。因此,基于NaGdF₄纳米造影剂的MRA能够精准呈现急性卒中后动脉闭塞、侧支形成及缺血半暗带等关键病理特征。相较于传统影像学方法,该策略可为卒中临床管理提供更丰富的诊断信息。

除具备优异的多参数MR成像能力外,在体外细胞毒性及溶血实验中,NaGdF₄造影剂在超过Gd³⁺最大血药浓度的条件下仍表现出优越的细胞存活率与血液相容性;多器官HE染色结果进一步显示无病理性损伤或出血迹象,充分证实了该造影剂的卓越生物相容性。

综上所述,PEG修饰的NaGdF₄纳米颗粒凭借优异的生物相容性和多模态MRA信号增强效果,具有极高的临床转化前景,有望成为下一代多参数MRA检测造影剂,应用于缺血性脑卒中以及血管病变相关的泛血管疾病的临床MRI诊断。

* * *

作者贡献声明 吴瑾负责论文构思、数据审编、正式分析、调查研究、研究方法、初稿写作和审读与编辑写作,马宇强负责调查研究和审读与编辑写作,岳赛赛和张心怡负责调查研究,李汶玥负责论文构思、数据审编、经费获取、研究项目管理和审读与编辑写作,张霓负责数据审编、经费获取、研究项目管理、监督指导和审读与编辑写作。所有作者已经同意将文章提交给本刊,且对将要发表的版本进行最终定稿,并同意对工作的所有方面负责。

Author Contribution WU Jin is responsible for conceptualization, data

curation, formal analysis, investigation, methodology, writing--original draft, and writing--review and editing. MA Yuqiang is responsible for investigation and writing--review and editing. YUE Saisai and ZHANG Xinyi are responsible for investigation. LI Wenyue is responsible for conceptualization, data curation, funding acquisition, project administration, and writing--review and editing. ZHANG Ni is responsible for data curation, funding acquisition, project administration, supervision, and writing--review and editing. All authors consented to the submission of the article to the Journal. All authors approved the final version to be published and agreed to take responsibility for all aspects of the work.

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

Declaration of Conflicting Interests All authors declare no competing interests.

参 考 文 献

- [1] 中华医学会神经病学分会, 中华医学会神经病学分会脑血管病学组. 中国急性缺血性卒中诊治指南2023. *中华神经科杂志*, 2024, 57(6): 523-559. doi: 10.3760/cma.j.cn113694-20240410-00221. Chinese Society of Neurology, Chinese Stroke Society. Chinese guidelines for diagnosis and treatment of acute ischemic stroke 2023. *Chin J Neurol*, 2024, 57(6): 523-559. doi: 10.3760/cma.j.cn113694-20240410-00221.
- [2] KLEINDORFER D O, TOWFIGHI A, CHATURVEDI S, et al. 2021 Guideline for the prevention of stroke in patients with stroke and transient ischemic attack: a guideline from the American heart association/American stroke association. *Stroke*, 2021, 52(7): e364-e467. doi: 10.1161/STR.0000000000000375.
- [3] HERPICH F, RINCON F. Management of acute ischemic stroke. *Crit Care Med*, 2020, 48(11): 1654-1663. doi: 10.1097/CCM.0000000000004597.
- [4] 张丽娟, 文坤, 王燕, 等. 住院缺血性脑卒中患者疲劳感在社会支持与抑郁间的中介效应分析. *四川大学学报(医学版)*, 2024, 55(5): 1226-1231. doi: 10.12182/20240960506. ZHANG L J, WEN K, WANG Y, et al. Analysis of the mediating effect of fatigue between social support and depression in hospitalized patients with ischemic stroke. *J Sichuan Univ (Med Sci)*, 2024, 55(5): 1226-1231. doi: 10.12182/20240960506.
- [5] 何菁, 王芳, 熊露露, 等. 脑卒中并发静脉血栓栓塞症的发生情况及危险因素分析. *四川大学学报(医学版)*, 2023, 54(3): 638-641. doi: 10.12182/20230560104. HE J, WANG F, XIONG L L, et al. The occurrence and risk factors of stroke complicated by venous thromboembolism. *J Sichuan Univ (Med Sci)*, 2023, 54(3): 638-641. doi: 10.12182/20230560104.
- [6] MAGUIDA G, SHUAIB A. Collateral circulation in ischemic stroke: an updated review. *J Stroke*, 2023, 25(2): 179-198. doi: 10.5853/jos.2022.02936.
- [7] FUKUDA K A, LIEBESKIND D S. Evaluation of collateral circulation in patients with acute ischemic stroke. *Radiol Clin*, 2023, 61(3): 435-443. doi: 10.1016/j.rcl.2023.01.002.
- [8] YI Y, LIU Z, WANG M, et al. Penumbra in acute ischemic stroke. *Curr Neurovasc Res*, 2021, 18(5): 572-585. doi: 10.2174/1567202619666211231094046.
- [9] PACIARONI M, CASO V, AGNELLI G. The concept of ischemic penumbra in acute stroke and therapeutic opportunities. *Eur Neurol*, 2009, 61(6): 321-330. doi: 10.1159/000210544.
- [10] SOLOMON C G, POWERS W J. Acute ischemic stroke. *New Engl J Med*, 2020, 383(3): 252-260. doi: 10.1056/NEJMcip1917030.
- [11] PATEL S D, LIEBESKIND D. Collaterals and elusive ischemic penumbra. *Transl Stroke Res*, 2023, 14(1): 3-12. doi: 10.1007/s12975-022-01116-2.
- [12] UNIKEN VENEMA S M, DANKBAAR J W, Van der LUGT A, et al. Cerebral collateral circulation in the era of reperfusion therapies for acute ischemic stroke. *Stroke*, 2022, 53(10): 3222-3234. doi: 10.1161/STROKEAHA.121.037869.
- [13] TSUI B, NOUR M, CHEN I, et al. MR angiography in assessment of

- collaterals in patients with acute ischemic stroke: a comparative analysis with digital subtraction angiography. *Brain Sci*, 2022, 12(9): 1181. doi: [10.3390/brainsci12091181](https://doi.org/10.3390/brainsci12091181).
- [14] TEDYANTO E H, TINNI K, PRAMANA N A K. Magnetic resonance imaging in acute ischemic stroke. *Cureus*, 2022, 14(7): e27224. doi: [10.7759/cureus.27224](https://doi.org/10.7759/cureus.27224).
- [15] GOYAL M, OSPEL J M, MENON B, *et al*. Challenging the ischemic core concept in acute ischemic stroke imaging. *Stroke*, 2020, 51(10): 3147-3155. doi: [10.1161/STROKEAHA.120.030620](https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.120.030620).
- [16] MORITANI T, CAPIZZANO A A. Diffusion-weighted MR imaging of the brain, head and neck, and spine. Springer International Publishing: Cham, 2021: 113-154.
- [17] SCAGLIONE M, ÇALLI C, MUTO M, *et al*. Toxic-metabolic encephalopathies. In: Emergency radiology of the head and spine. Springer International Publishing: Cham, 2022: 215-233.
- [18] WANG T, HOU Y, BU B, *et al*. Timely visualization of the collaterals formed during acute ischemic stroke with Fe₃O₄ nanoparticle-based MR imaging probe. *Small*, 2018, 14(23): 1800573. doi: [10.1002/sml.201800573](https://doi.org/10.1002/sml.201800573).
- [19] ZHANG P S, LI W Y, LIU C, *et al*. Simultaneous identifying the infarct core, collaterals, and penumbra after acute ischemic stroke with a low-immunogenic MRI nanoprobe. *Mater Design*, 2023, 233: 112211. doi: [10.1016/j.matdes.2023.112211](https://doi.org/10.1016/j.matdes.2023.112211).
- [20] HAN B, ZHAO Y, MA L, *et al*. A minimalist iron oxide nanoprobe for the high-resolution depiction of stroke by susceptibility-weighted imaging. *Small*, 2024, 20(44): 2401061. doi: [10.1002/sml.202401061](https://doi.org/10.1002/sml.202401061).
- [21] ZHANG P S, CHENG J W, LU Y J, *et al*. Hypersensitive MR angiography based on interlocking stratagem for diagnosis of cardiac-cerebral vascular diseases. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 6149. doi: [10.1038/s41467-023-41783-9](https://doi.org/10.1038/s41467-023-41783-9).
- [22] HOU Y, QIAO R R, FANG F, *et al*. NaGdF₄ nanoparticle-based molecular probes for magnetic resonance imaging of intraperitoneal tumor xenografts *in vivo*. *ACS Nano*, 2013, 7(1): 330-338. doi: [10.1021/nn304837c](https://doi.org/10.1021/nn304837c).
- [23] ZHANG P S, FENG Y C, ZHU L C, *et al*. Predicting thrombolytic haemorrhage risk of acute ischemic stroke through angiogenesis/inflammation dual-targeted MR imaging. *Nano Today*, 2023, 48: 101707. doi: [10.1016/j.nantod.2022.101707](https://doi.org/10.1016/j.nantod.2022.101707).
- [24] ZHANG P S, CHENG J W, LIU C, *et al*. Hypersensitive MR angiography for diagnosis of ischemic stroke and reperfusion subarachnoid hemorrhage. *Anal Chem*, 2024, 96(29): 11742-11750. doi: [10.1021/acs.analchem.4c01097](https://doi.org/10.1021/acs.analchem.4c01097).
- [25] LI W Y, CHENG J W, LIU C, *et al*. Shine and darkle the blood vessels: multiparameter hypersensitive MR angiography for diagnosis of panvascular diseases. *Sci Adv*, 2024, 10: eadq4082. doi: [10.1126/sciadv.adq4082](https://doi.org/10.1126/sciadv.adq4082).

(2025-02-25 收稿, 2025-04-30 修回)

编辑 余琳



开放获取 本文使用遵循知识共享署名—非商业性使用 4.0 国际许可协议 (CC BY-NC 4.0), 详细信息请访问

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>。

OPEN ACCESS This article is licensed for use under Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (CC BY-NC 4.0). For more information, visit <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>.

© 2025 《四川大学学报(医学版)》编辑部

Editorial Office of Journal of Sichuan University (Medical Sciences)