

•综述•

磁性微球的制备及在生物分离应用中的研究进展

中南大学资源加工与生物工程学院 (湖南 长沙 410083) 廖鹏飞 夏金兰 聂珍媛 谢建平

摘要: 磁性微球是一类新型的功能材料,在生物医学工程、细胞生物学和环境工程具有广泛的应用。本文从磁性微球的结构、特性和制备方法进行了探讨,并详细介绍了磁性微球在细胞分离、蛋白质以及核酸的制备纯化领域中的应用。

关键词: 磁性微球;磁性纳米粒子;载体;生物分离;磁性微球制备

Progress in Preparation and Bio- separation Application of Magnetic Microspheres

LIAO Peng- fā, XIA Jin- lan, NIE Zhen- yuan, et al

School of Resources Processing and Bioengineering, Central South University, Changsha 410083, China

ABSTRACT: Magnetic microsphere, a novel kind of functional material, was widely applied in the field of biomedical, cell biology and environmental engineering. In this review, the structure, properties and preparation of magnetic microsphere were analyzed. Especially, application development of magnetic microsphere in the field of cell isolation, protein, enzyme and nucleic acid purification were reviewed carefully.

Key word: magnetic microspheres; magnetic nanoparticles; carriers; bioseparation; preparation of magnetic microspheres

引言

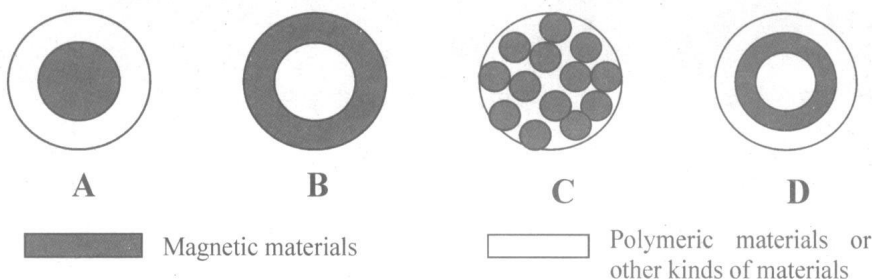
磁性微球是由磁性粒与各种含活性功能基团的材料复合而成的具有一定磁性及特殊表面结构的粒子。磁性微球的研究始于 20 世纪 70 年代,国内在 20 世纪 80 年代以来日渐活跃^[1]。通过共聚合和表面改性,磁性微球表面可被赋予多种活性功能基团,如- COOH、- COH、- NH₂等,也可共价结合酶、细胞、抗体等生物活性物质。因为具有磁性,磁性微球可在外加磁场的作用下方便地被定位、导向和分离,有学者因此将其形象地称为动力粒

子(Dynabead)。作为新型功能材料,磁性微球在生物、医学(生物大分子分离、靶向药物等)、细胞学(细胞标记、细胞分离等)和环境工程(废水处理等)等领域有着广阔的应用前景。本文着重从磁性微球的结构、特性、制备方法以及在生物分离中的应用几个方面介绍近年来国内外有关磁性微球的研究状况。

1 磁性微球的结构和特性

1.1 磁性微球的结构

根据无机磁性纳米粒子与提供活性功能基团的材料形成的方式不同,可分为四种不同的结构类型,即核壳型,包括磁性核或磁性壳型(图 1 A, B),混合型(图 1C),和多层型(图 1D)。



A. B. Core- shell C. mix- up D. multiple layer

图 1 磁性微球的分类

Fig.1 The classification of types of magnetic microspheres

1.2 磁性微球的主要特性

相对于普通磁性颗粒材料,磁性微球具有良好的表面效应和体积效应,具体反映在其比表面积激增,微球官能团密度和选择性吸附能力增大,吸附平衡时间大大缩短^[2];其次,它具有很好的选择性磁响应性,当磁性四氧化三铁晶体的粒径小于 30nm 时,具有超顺磁性,从而可以避免在使用中粒子之间发生磁性团聚;

第三,它的物理化学性质稳定,具备一定的机械强度和化学稳定性,能耐受一定浓度的酸碱溶液和微生物的降解,其内含的磁性物质不易被氧化、磁性能不易下降,并且具有一定的生物相容性,不会对生物体造成明显的伤害;第四,磁性微球表面本身具有或通过表面改性带有多种活性的功能基团(如- OH、- COOH、- NH₂等),可连接生物活性物质(如核酸、酶等),也可以偶联特异

性分子(如特异性配体、抗体、抗原等)来专一性的分离生物大分子。

2 磁性微球的制备

2.1 磁性微球制备的材料

磁性微球由无机磁性材料与各种提供活性功能基团的材料复合制备而成。目前无机磁性微粒的种类很多,较常用的有金属合金(Fe、Co、Ni)、氧化铁(γ - Fe_2O_3 , Fe_3O_4)、铁氧体(CoFe_2O_4 , $\text{BaFe}_{12}\text{O}_{19}$)、氧化铬(CrO_2)和氮化铁(Fe_4N)等,其中 Fe_3O_4 (Magnetite)

是应用最多的磁性颗粒,它很容易在水溶液中通过共沉淀或氧化共沉淀制备,其粒度、形状和组成可以根据调节反应条件得到控制^[3]。常用提供活性功能基团的材料主要可以分为三类:天然生物大分子材料、合成高分子材料 and 无机物材料(见表1)。

目前,天然生物大分子材料和合成高分子材料用于磁性材料改性等方面的研究比较多,特别是由于天然生物大分子与生物体的亲和性好,无毒副作用,不少研究人员以此来制备磁性靶向药物载体。

表1 制备磁性微球常用的提供活性功能基团材料

Table 1. Material with functional groups is commonly used in preparation of magnetic microsphere

天然生物大分子材料	合成高分子材料	无机物材料
淀粉 ^[4] , 纤维素及其衍生物 ^[5] , 葡聚糖 ^[6] , 壳聚糖 ^[7,8,9] , 琼脂糖 ^[10] , 明胶 ^[11] , 血清白蛋白 ^[12] , 磷脂 ^[13] 类	聚乙二醇(PEG) ^[14] , 聚乙烯醇(PVA) ^[15] , 聚丙烯酸 ^[16] , 聚苯乙烯 ^[17,18] , 硅烷衍生物 ^[19] , 聚乙烯亚胺 ^[20]	SiO_2 ^[21] , Au ^[22]

2.2 磁性微球制备方法

2.2.1 共沉淀法

共沉淀法是在生成磁性物质(Fe_3O_4 或 Fe_2O_3)的同时产生磁性高分子微球的制备方法,即先将高分子物质溶解,然后依次加入 Fe^{2+} 和 H_2O_2 或 Fe^{2+} 和 Fe^{3+} ,搅拌的同时滴加碱性溶液,通过氧化沉淀或共沉淀反应,这样磁性物质一产生就被包裹,形成核-壳磁性微球。国内的孙敏莉等^[21]利用此法合成平均粒径在200nm左右的DEAE-葡聚糖磁性微球,DEAE-葡聚糖对磁性纳米粒子实现了良好的包覆,并且微球的球形度好。国外的Lee等^[24]通过在聚乙烯醇(PVA)的水溶液中溶解铁盐,然后用共沉淀法,形成稳定分散的PVA包裹的磁性纳米颗粒。Honda等^[25]先将壳聚糖的溶液和含铁盐与亚铁盐溶液在激烈搅拌下混合均匀,然后加氨水恒温静置,经过反应处理后制得壳聚糖磁性纳米微球。

共沉淀法的优点是制备方法简单,避免了制取磁流体或均匀分散磁粒子的相关处理,制得的磁性微球粒径较小(几nm到几百个nm),比表面积大。缺点是磁性微球大小不均匀、磁响应性较差,操作时需要较强的外加磁场。

2.2.2 共混包埋法

将磁性超微颗粒均匀的分散在亲水性的高分子水溶液中,通过交联、絮凝、雾化和脱水等手段使高分子包裹在磁性颗粒的表面,从而形成核-壳式磁性高分子微球。天然高分子磁性微球一般采用此法制备,采用共混包埋法制备磁性微球一般是核-壳型或者是混合型的结构。安小宁等^[26]用壳聚糖直接包埋磁粉制备出高磁性的壳聚糖微球,并研究了包埋磁粉使用的壳聚糖与磁粉用量的比例对磁性壳聚糖微粒磁性的影响,结果表明,磁性壳聚糖微粒的磁性与壳聚糖的用量成反比。

共混包埋法制备磁性微球主要是通过范德华力、氢键、配位键和共价键等作用将水溶性高分子物质缠绕在无机磁性颗粒表面,形成聚合物包被的磁性微球。采用此法制备磁性微球优点是方法简单,微球表面不需要化学修饰就含有活性功能基团,可以直接偶联所需的配基。缺点是制备的磁性微球大小难以控制,粒度分布宽,形状不规则,不同微球磁性物质的含量相差很大,而且壳层中易混有杂质,因此用于免疫测定和细胞分离时受到很大的限制。

2.2.3 单体聚合法

单体聚合合法合成磁性微球的方法主要有:悬浮聚合、分散聚合和乳液聚合(包括乳液聚合、种子聚合)等,具体方法是将磁性粒子均匀分散到含有单体的溶液或乳液中,利用引发剂引发单体进行聚合反应,即可得到内部包有一定量磁性微粒的高分子微球。

单体聚合合法成功的关键在于确保单体的聚合反应在磁性粒子表面顺利进行。由于磁性粒子是亲水性的,所以亲水性单体容易在磁性粒子表面进行聚合,而对于亲油性单体,聚合反应则难以在磁性微粒表面进行,需要对磁性微粒进行预处理或适当改变聚合体系的有机相组成才行。邱广明等^[27]利用聚乙二醇为分散稳定剂,改善了磁性氧化铁粒子的稳定性和表面的亲疏水环境,采用预先吸附-溶胀的办法,在磁性氧化铁粒子表面积聚了足够的引发剂和苯乙烯等单体,确保单体聚合围绕着磁粒子表面进行,制备出粒径较大且分布均匀的磁性聚苯乙烯微球。朱以华等^[28]利用改进的悬浮聚合,分别通过共聚单体丙烯酸甲酯(MA)和甲基丙烯酸环氧丙酯(GMA)用碱水解制备得到单分散、表面富含羧基和环氧基的磁性聚苯乙烯高分子微球,并用种子乳液聚合方法制备得到了表面含氯甲基磁性高分子微球,这种磁性微球由于表面的功能基团非常活泼,可以不需连接剂活化而直接可以与生物配基交联。丁小斌等^[29]采用分散聚合,在醇/水体系和 Fe_3O_4 磁流体存在的情况下,通过苯乙烯(St)与N-异丙基丙烯酰胺(NIPAM)共聚,合成出 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{P}(\text{St}-\text{NIPAM})$ 热敏性磁性微球。该微球在水溶液中具有明显的热敏特性,有望在生物大分子(如蛋白质)分离中应用。

该法的特点是制得的高分子微球磁响应性强,形状较规则,大部分成圆球状,且粒度分布较均匀,但是其粒径较大,疏水性单体聚合生成的磁性微球表面一般不含功能活性基团,需要通过表面化学改性才能带上活性基团。

2.2.4 界面沉积法

界面沉积法可用于制备A、B和D型磁性微球,Furusawa等^[30]的方法是预先制备一种表面含有某种功能基团(如 $-\text{SO}_3^-$ 、 $-\text{COO}^-$)的聚合物乳胶粒,与纳米磁性颗粒均匀混合,通过加入电解质或者调节pH值使聚合物胶粒与磁性颗粒表面携带的电荷相反,磁性颗粒借助静电吸引而沉积在聚合物乳胶粒表面

形成包覆层,形成 B 型磁性微球;如果以此乳胶粒为种子进行乳液聚合,表面再包被一层聚合物,就可以形成 D 型结构的磁性聚合物微球。也有些学者^[31]则采用先制备磁性颗粒,然后通过静电吸附在磁性颗粒的表面沉积一层物质而形成 A 型磁性微球。

界面沉积法制备的微球,磁含量均一,粒度可控,均匀,但是制备过程复杂。

以上是文献报道最多的磁性微球的制备方法,从中可以看出,这些方法还存在一些不足,因此开发出一种制备工艺简单,合成出的微球磁含量均一,粒径小而均匀,表面活性基团丰富的制备方法,是该领域研究的重点。

3 磁性微球作为分离载体在生物分离中的应用

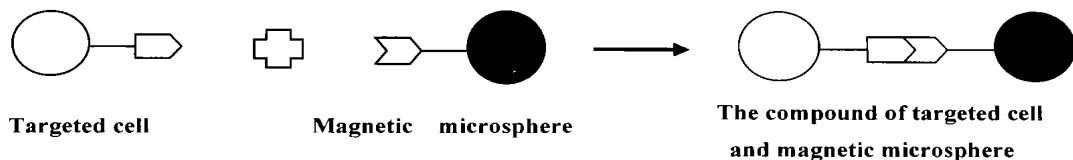


图 2 用磁性微球分离细胞
Fig2. Cellular isolation by using magnetic microsphere

磁性微球分离细胞主要有两种方式^[33]:一种是直接从细胞混合液中分离出靶细胞的方法,称为正相分离或正相选择(positive selection)另一种是利用磁性微球除去无关细胞,使靶细胞富集纯化的方法,称为负相分离或负相选择(negative selection)。Molday 等^[34]是采用磁性微球分离细胞的开拓者,他将表面含羧基的磁性聚合物微球用荧光染料做标记,经碳二亚胺活化,在其表面偶联抗体或外源凝集素,对血红细胞和 B 淋巴细胞进行成功的分离。Naume 等^[35]采用正相分离法,用 CD56 单抗和羊抗鼠的 IgG 修饰的磁性单分散微球(Dynabeads M-450)分离了高纯度且保留 NK 和 LAK 活性的 CD56+ 细胞,污染细胞含量低于 3%,其活力大于 91%。Garlie 等^[36]用抗 CD3/抗 CD28 单克隆抗体包被的磁性微球培养 T 细胞,结果表明该方法可获得大量 T 细胞,为目前癌症的细胞免疫疗法提供了一个先进的手段。磁性微球还在微生物的中细菌的分离、纯化和检测中也有重要的应用,利用免疫磁性微球结合其他免疫检测方法,可以快速、准确和高效的分离样品中的微生物,大大提高检测方法的专一性^[37],对食品卫生和预防疾病的传播具有重要的意义。

3.2 蛋白质分离纯化

传统的蛋白质分离方法如盐析、有机溶剂沉淀法、膜分离技术和层析技术等,一般是通过改变溶液的 pH 值、介电常数、温度或者是离子强度等因素来达到分离蛋白质的目的,操作过程繁琐、耗能、对目的蛋白质的损失很大^[38]。

磁性微球的粒径小,比表面积大,表面含有活性基团,故偶联容量大,它能够共价结合能被目标蛋白质识别和可逆结合的配基,然后,将磁性微球直接放入含有目标蛋白质的混合溶液中,待目标蛋白质与磁性微球紧密结合后,利用外部磁场对其进行分离。整个分离过程不需对混合溶液的 pH 值、温度、离子强度和介电常数进行调整,从而避免了传统分离过程中蛋白质的损失。

与传统分离方法相比较,蛋白质磁分离技术具有快速、高纯、

由于磁性微球粒径小,比表面积大,故而偶联容量大,悬浮稳定性好,便于高效地与目标产物偶联;又因其具有超顺磁性,在外磁场的作用下固液相的分离十分简单,可省去离心、过滤等繁杂操作,节省时间。因此,在细胞分离、分类,蛋白质提纯和核酸分离等领域有着广泛的应用前景。

3.1 细胞分离

在磁性微球表面接上具有生物活性的吸附剂或其它配基(如抗体、外源凝集素等),利用它们与目标细胞的特异性结合,借助外磁场的作用,可以很方便、快速的对细胞进行分离、分类。与常用的细胞分离方法相比,具有简单、快捷、高效和安全等特点。下图是磁性微球分离细胞原理的示意图^[32]。

高收率等优点。Odabasi. M. O^[39]采用以亲和染料配基(Cibacron Blue F3GA)共价结合的聚(2-羟基乙基甲基丙烯酸)磁性微球,从其水溶液和人血浆中吸附血清白蛋白(HSA),并分别研究了未被 Cibacron Blue F3GA 修饰的磁性微球和修饰的磁性微球对 HSA 的吸附。结果表明,非特异性吸附的 HSA 非常低,而用 Cibacron Blue F3GA 修饰的磁性微球能极大的提高 HSA 吸附量,通过含有 0.5mol/L NaSCN 的 0.1mol/L Tris/HCl 洗脱,就可以获得 HSA,并且解吸率很高,达到吸附 HSA 的 98%,修饰的磁性微球可以重复使用,并且吸附能力没有很大的下降,因此该方法可以用于特定蛋白的分离纯化。丁小斌等^[40]将热敏性磁性高分子微球的合成用于人血清白蛋白的吸附/解吸研究,结果表明该微球具有简便、快捷的磁分离特性,而且微球在分离过程中无凝集现象,可循环使用。因此可以用于蛋白质和酶的分离、纯化。

3.3 核酸分离

传统的核酸分离技术包含沉淀、离心等过程,这些纯化方法的步骤繁杂、费时长、收率低,接触有毒试剂,很难实现自动化操作;而采用磁性载体微球分离技术就能很好地克服这些缺点,实现样品地快速、高效制备,是未来核酸纯化方法发展的一个重要方向。

Oster 等^[41]报道了采用聚乙烯醇磁性微球(M-PVA)快速、高效地分离特定和非特定序列的核酸,成功地从不同地血样中提取基因组 DNA,与商业化的 DNA 提取试剂盒和传统方法相比,显示出快速、高得率和高纯度等特点;他还采用了碳二亚胺活化反应使表面带羧基的 M-PVA 共价结合寡核苷酸链,将其用于杂交检测或者包含特定碱基序列的核酸的分离。Xie 等^[42]将表面带羧基的超顺磁性纳米粒子,应用于从人全血分离基因组 DNA,效果良好,产量高,损失小,而且不需要离心过程和使用有毒试剂,极具发展前景。另外^[43],他还研发了一种以羧基修饰的磁性纳米粒子作为固相载体,从样品中富集靶细胞和从细胞裂解

液中吸附 DNA 的方法。采用这种方法,吸附在纳米磁珠表面上的 DNA 不用洗脱就可以直接作为靶基因用作 PCR 扩增的模板,从而大大简化了从靶细胞富集到靶基因扩增的全过程。该方法快速简便,不使用有毒试剂和离心操作,便于用来构建快速、高通量核酸制备的生物芯片。

4 展望

磁性微球在生物分离中具有极大的应用前景,目前国外已经开发出相关产品,但价格昂贵,国内这方面研究仍处于实验性阶段。因此,开发出粒度均匀、磁响应性强、稳定性好和表面富含活性功能基团的磁性微球具有很大的市场前景。对于如何提高生物大分子在磁性微球表面的结合效率和专一性,以及扩展其应用范围等将是今后该领域研究的重点。相信不久的将来,生物磁性微球分离技术进一步的完善和发展将有力地促进整个生化分离技术的进步。

参 考 文 献

1 王延梅,封麟先. 磁性高分子微球的研究进展. 高分子材料科学与工程, 1998, 14(5): 6- 14

2 严希康,朱留沙,等. 聚合物粒子在生物化学与生物医学中的应用. 功能高分子学报, 1997, 10(1): 128- 129

3 Hadjipanayis G C, Siegel R W. Nanophase materials: synthesis, properties and applications, NATO ASI Series, Applied Sciences, vol. E260. Dordrecht: Kluwer, 1993

4 钱斯日古楞,王红英. 磁性淀粉复合微球的制备及其性质. 大连轻工业学院学报, 2003, 22(3): 191- 193

5 Risøen P A, Struksnes K, Myrset A H et al. One- Step magntic purification of recombinant DNA- binding proteins using magnetizable phosphocellulose. Protein expression and purification, 1995, 6: 272- 277

6 常津. 医用磁性纳米材料的制备. 中国生物医学工程学报, 1996, 15(4): 378- 381

7 Baki D E, Ebru K, Cengiz B, et al. Magnetic chitosan microspheres: preparation and characterization. Reactive & Functional Polymers, 2002, 50(3): 225- 232

8 张晓金,原续波,胡云霞,等. 具有靶向抗癌功能的 O- CMC 磁性纳米载体系统的制备. 高分子通报, 2004, 3: 89- 92

9 CHANG Yang- chuang, CHEN Dong- hwang. Preparation and adsorption properties of monodisperse chitosan - bound Fe3O4 magnetic nanoparticles for removal of Cu(II) ions. Journal of Colloid and Interface Science, 2005, 283: 446- 451

10 邱广亮,栗淑媛,金志兰,等. 磁性琼脂糖复合微球的制备和性质. 精细化工, 1999, 19: 38- 41

11 邱广亮,邱广明. 磁性明胶复合磁性微球的制备和性质. 食品科学, 1998, 19(11): 7- 11

12 Ghassabian S, Ehtezazi T, Forutan S M et al. Dexamethasone- loaded magnetic albumin microspheres: preparation and in vitro release. International Journal of Pharmaceutics, 1996, 130: 49- 55

13 Denizot B, Tanguy G, Hindre F, Rump E et al. Phosphorylcholine coating of iron oxide nanoparticles. J Coll Interf Sci, 1999, 209(1): 66- 71

14 Gupta A K, Wells S. Surface modified superparamagnetic nanoparticles for drug delivery: preparation, characterization and cytotoxicity studies. IEEE Trans nanobiosci, 2004, 3(1): 66- 73

15 Shan G B, Xing J M, Luo M F, et al. Immobilization of Pseudomonas delafieldii with magnetic polyvinyl alcohol beads and its application in biodesulfurization. Biotechnol Lett, 2003, 25(23): 1977- 1981

16 Liao Min- hung, Chen Dong- hwang. Fast and efficient adsorption/

desorption of protein by a novel magnetic nano- adsorbent. Biotechnology Letters, 2002, 24: 1913- 1917

17 ZHENG Wei- ming, GAO Feng, GU Hong- chen. Magnetic polymer nanospheres with high and uniform magnetite content. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 2005, 288: 403- 410

18 HUANG Zhong- ling, TANG Fang- qiong. Preparation, structure, and magnetic properties of polystyrene coated by Fe3O4 nanoparticles. Journal of Colloid and interface science, 2004, 275(1): 142- 147

19 王德平, 姜敏毅, 等. 偶联剂修饰纳米磁性粒子红外光谱及相关分析. 同济大学学报(自然科学版), 2005, 33(2): 202- 204

20 Satoh K, Iwata A, Murata M, Hikata M, Hayakawa T, Yamaguchi T. Virus concentration using polyethyleneimine- conjugated magnetic beads for improving the sensitivity of nucleic acid amplification tests. J Virol Methods, 2003, 114(1): 11- 19

21 Klug Kevin L, Dravid Vinayak P, Johnson D Lynn. Silica- encapsulated magnetic nanoparticles formed by a combined arc evaporation/ chemical vapor deposition technique. J. Mater Res, 2003, 18(4): 988- 993

22 LIN Jun, ZHOU Wei- lie, Kumbhar A., Wiemann J, FANG Ji- ye, Gold- Coated Iron (Fe@ Au) Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and Magnetic Field- Induced Self- Assembly. Journal of Solid State Chemistry, 2001, 159(1): 26- 31

23 孙敏莉,王强斌,等. DEAE- 磁性纳米粒子提纯质粒的研究. 上海第二医科大学学报, 2003, 23(6): 512- 514

24 Lee J, Isobe T, Senma M. preparation of ultrafine Fe3O4 particles by precipitation in the presence of PVA at high pH. J Coll Interf sci, 1996, (177): 490- 494

25 Honda H, Kawabe A, Shinkal M et al. Development of Chitosan- Conjugated Magnetite for Magnetic Cell Separation. Journal of Fermentation and Bioengineering, 1998, 86(2): 191- 196

26 安小宁,苏致兴. 高磁性壳聚糖微粒的制备与应用. 兰州大学学报, 2001, 37(2): 100- 103

27 邱广明,邱广亮. 大粒径磁性高分子微球的制备. 应用化学, 1997, 14(5): 74- 76

28 朱以华,王强斌,古宏晨,等. 表面功能化磁性微球的制备及在核酸分离与固定化酶中的应用. 中国医学科学院学报, 2002, 24(2): 118- 123

29 丁小斌,江英彦等. 热敏性高分子包裹的磁性微球的合成. 高分子学报, 1998, 5: 628- 631

30 Furusawa K ; Nagashima K et al. Synthetic process to control the total size and component distribution of multilayer magnetic composite particles. Colloid & polymer Science. 1994, 272: 1104- 1110

31 LIU Xian- qiao, MA Zhi- ya, XING Jian- min, LIU Hui- zhou. Preparation and characterization of amino- silane modified superparamagnetic silica nanospheres. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 2004, 270: 1- 6

32 官月平,朱星华,姜波,等. 生物磁性研究进展(II) 磁性分离装置和生物技术应用. 化工学报, 2000, 51(增刊): 320- 324

33 兰小鹏. 磁性微球在生物医学上应用的新进展. 国外医学临床生物化学与检验学分册, 1993, 14(4): 158- 161

34 Molday R. S, Yen S. P. S, Rembaum A. Application of magnetic microspheres in labelling and separation of cells. Nature, 1977, 268: 437- 438

35 Naume B, Nonstad U, Steinkjer B et al. Immunomagnetic isolation of NK and LAK cells. J immunol methods, 1991, 136(1): 1- 9

36 Garlie N. K, Lefever A. V, Siebenlist R. E et al. T cells Coactivated with Immobilized Anti- CD3 and Anti- CD28 as Potential Immunotherapy for Cancer. Journal of Immunotherapy, 1999, 22(4): 336- 345

37 Watanabe T, Tomita S, Kudo M et al. Detection of Helicobacter pylori gene by means of immunomagnetic separation- based polymerase chain

- reaction in feces. *Scand J Gastroenterol*, 1998, 33(11):1140- 1143
- 38 王胜利, 王强斌, 古宏晨, 等. 磁性微球的生物医学应用研究进展. *化学世界*, 2001, (7): 384- 387
- 39 Odabasi M. O, Denizli A. Cibacron blue F3GA- attached magnetic poly (2- hydroxyethyl methacrylate) beads for human serum albumin adsorption. *Polymer International*, 2004, 53(3):332- 338
- 40 丁小斌, 孙宗华, 江彦英, 等. 热敏性磁性高分子微球同蛋白质的相互作用. *高分子学报*, 2000, (1): 9- 13
- 41 Oster J, Parker J, Brassard L. Polyvinyl- alcohol- based magnetic beads for rapid and efficient separation of specific or unspecific nucleic acid sequences. *Journal of magnetism and Magnetic Materials*, 2001, 225: 145- 150
- 42 Xie Xin, Zhang Xu, Zhang Huan et al. preparation and application of surface- coated superparamagnetic nanobeads in the isolation of genomic DNA. *Journal of magnetism and magnetic materials*, 2004, 277:16- 23
- 43 谢欣, 张旭, 高华方, 等. 基于多功能纳米磁珠的 DNA 制备与基因分型. *科学通报*, 2004, 49(6): 541- 543
- 44 王平康, 王光志, 李朴, 等. 磁性顺铂微球的药物控释研究. *生物磁学*, 2004, 4(1):
- 45 曾丸波, 洪金成, 崔小瑞. 调磁对磁性微球在大鼠体内代谢速度影响的研究. *生物磁学*, 2001, 1(2): (收稿日期 2005- 10- 24)

胰胆管水成像(MRCP)在胆系梗阻性疾病中的应用

哈尔滨医科大学附属第二医院 (黑龙江 哈尔滨 150086) 许 冰 杨雁萍

磁共振水成像是近年来发展并成熟起来的磁共振新技术之一, 以其独特的原理全新的方法显示人体内含液器官的高技术手段。水成像英文名称有“MR water imaging”“MR fluid imaging”“MR hydrography”等。近年来, 在胰胆管成像(MRCP)、泌尿系统(MRU)成像等许多领域有着突出表现。同传统的方法相比水成像具有无创性, 无放射损伤, 无造影剂过敏, 简便易行等优势, 已为国内外放射科及临床医生所重视。水成像技术其应用领域随着磁共振软件、硬件的发展不断扩展, 已有很多国内外放射科医生在研究探索 MR 椎管水成像, 涎管水成像, 内耳淋巴管水成像, 输卵管水成像等, 并取得了令人瞩目的成绩。

水成像原理

水成像是利用体内液体具有长 T₂ 弛豫特性的特点, 而其它组织器官 T₂ 弛豫时间相对短, 如脑脊液 T₂ 弛豫时间约 300~500ms, 其它组织 T₂ 弛豫时间范围一般在 40~ 90 ms (1.0T) 之间。选择合适的 TR、TE, 使用重度 T₂ 加权, 一般要求 TR>3000ms, TE> 150ms, 并配合脂肪抑制技术等, 可将背景组织抑制掉(因弛豫时间短, 信号衰减较快), 而含液器官如胆管系统、泌尿系统信号强度仍较高而突显出来。此技术对停滞或缓慢流动的液体(如胆汁、胰液、尿液、脑脊液等)非常敏感, 呈高信号, 而实质器官、快速流动的液体如血液则呈低信号。

MRCP 发展史

1986 年 Henning^[1]等首次使用 RARE 技术重度 T₂ 加权获得胰胆管影像。1991 年德国学者 Wallner^[2]等使用屏气法梯度回波二维重加 T₂ 权稳态自由进动(steady-state free procession, SSFP)技术应用于胰胆管扫描。1992~ 1993 年, Morimoto 运用三维 FSE 技术改善了图像对比度, 并缩短了扫描时间, 但其空间分辨率有限, 图像质量不够理想。1993 年, Outwater 利用非屏气 FSE 序列进行成像, 使用信号平均法来补偿呼吸运动伪影, 图像质量有所提高, 缺点是扫描时间过长。1995 年 Barish 研究开发了呼吸触发的 FSE 序列, 呼吸伪影抑制得较好, 图像质量进一步提高。HASTE 序列出现在 1995 年, 其回波链长度(ETL) 128, 扫描时间大幅度缩短, 仅为数秒~ 十几秒, 运动伪影包括呼吸、肠蠕动、心血管搏动产生的伪影全部得以消除, 图像的信噪比、空间分辨率明显提高。

成像技术及其发展

成像技术主要包括回波技术, 影像数据采集重建[二维(2D)三维(3D)], 线圈技术, 影像后处理技术, 背景抑制技术等。

1 回波技术:

(1) 早期采用稳态自由进动(SSFP)技术, 此技术不成熟, 要求患者屏气时间长, 且对磁场不均匀性敏感, 序列信噪比低, 胰胆管显影粗糙。

(2) 快速采集弛豫增强序列(rapid acquisition with relaxation enhancement, RARE)

2 快速自旋回波(fast spin echo, FSE 或 Turbo spin echo, TSE): 常规自旋回波技术是在每个 TR 期进行一次射频激励, 产生一幅 256* 256 矩阵的影像需要 256 个 TR 周期的时间。如果在一个 TR 周期内, 在 RF 激励后, 以很小的时间间隔施加一系列 180 度脉冲, 产生相应数目回波信号, 并进行不同的相位梯度编码, 那么假设 A 次激励后产生 N 个回波, 并进行 N 次相位编码, 完成全部相位编码所需的发射次数, 或重复次数就会缩短 N 倍, 这样扫描时间就大大缩短了, 这种方法就称之为快速自旋回波 FSE 或 TSE(T 代表 turbo), 一次激励所获得回波数又称之 turbo 因子。在进行相位编码及回波采集过程中, 横向磁化矢量是不断衰减的, 信号强度不断减低, 因此虽然理论上在一个周期内可获得全部数据, 但通常因子选在 3~ 128 之间, 这样扫描时间就缩短了 3~ 128 倍。将 FSE 技术与多层面采集技术结合起来, 可进一步减少扫描时间。

单次激发(single-shot)技术: 常用的包括两种 ①厚层成像, 层厚一般 40~ 80mm, 是基于 RARE 法的 FSE 序列, 单层采集, 成像时间极短。②HASTE(half-fourier acquisition single shot turbo se)单次激发快速涡流自旋回波半傅里叶采集。影像数据采集时间等于序列周期、相位编码次数、信号采集激励次数三者的成积, 减少其中任一参量, 即可缩短时间。HASTE 采用的就是缩短相位编码次数的方法, 扫描系统的原始数据依次写入一个称之为 K 空间的矩阵, 其中央数据与图像对比度有关, 而周边数据与图像的空间分辨率有关, 采集的回波信号是以回波中心为轴对称的, 一次相位编码产生沿 X 轴排列的一行数据, NY 次相位编码即在 Y 轴产生完整的数据阵列, 而整个数据阵列是以零相位编码梯度的这行数据为对称中心, 根据 K 空间数据对称性, 可将 K 空间分