

Research Pharmaceutical Engineering—Review

全氟化碳乳剂 ^{19}F 磁共振成像的最新进展

Anne H. Schmieder¹, Shelton D. Caruthers^{2,3}, Jochen Keupp⁴, Samuel A. Wickline¹, Gregory M. Lanza^{1*}

摘要: ^{19}F 磁共振成像 (MRI) 的研究可追溯到 30 多年前。在这 30 多年间, 氢原子核 (^1H) 成像技术迅速发展, 并在全球得到广泛应用, 使得磁共振成像成为生物医学诊断成像技术中不可缺少的支柱。多年来, 由于各种原因, 对 ^{19}F 成像技术的研究进展缓慢。但是在过去的十年间, 尤其是最近几年, ^{19}F 成像的研究和临床相关性呈爆发式发展。部分原因归结为 MRI 仪器、 $^{19}\text{F}/^1\text{H}$ 线圈设计以及临床前和临床核磁共振仪的超高速脉冲序列的发展。这些成就再加上对解剖生理学分子成像技术的兴趣以及一批创新造影剂的出现使 ^{19}F 的概念进入了早期的临床评估中。本篇综述重点探讨以液态全氟化碳化合物为基础的造影剂, 并试图呈现这段丰富的研究和发展历史。

关键词: 氟, 磁共振成像 (MRI), 双调线圈, 全氟化碳, 血管生成术, 细胞标记

1 引言

尽管以氢原子核 (^1H) 为基础的磁共振成像 (MRI) 在临床应用的磁共振 (MR) 技术中占有很大比例, 但是对 ^{19}F MRI 的兴趣, 尤其是对利用全氟化碳 (PFC) 作为氟来源的分子成像技术应用的兴趣在不断增加。对 ^{19}F MR 波谱和成像技术的研究可回溯到 1977 年, 当时对人体进行 ^1H MRI 还处于萌芽阶段 [1]。许多研究人员为早期 ^{19}F 成像的技术基础作出了贡献 [2–7]。

1.1 为什么用 ^{19}F ?

对 ^{19}F 核成像的兴趣反映出其作为定量 MRI 造影剂的潜力。 ^{19}F 的天然丰度为 100%, 自旋量子数为 1/2, 旋磁比

为 $40.08 \text{ MHz} \cdot \text{T}^{-1}$ (比 ^1H 的 $42.58 \text{ MHz} \cdot \text{T}^{-1}$ 稍低), 其敏感性是 ^1H 的 83% [8,9]。 ^{19}F 最外层有 7 个电子, 而 ^1H 最外层只有一个电子, 因此 ^{19}F 的化学位移 (CS) 对局部环境更为敏感。 ^{19}F 化合物的波谱特性变化范围可超过 200 ppm [10,11], 使在极低场强下确定化合物的性质成为可能。与软组织中 55%~75% 的水可提供大量的移动 ^1H 信号不同, ^{19}F 在软组织中是不存在的, 它只存在于骨骼和牙齿中, 这些 ^{19}F 的短自旋-自旋弛豫时间 (T_2) 使其在传统 MR 技术中几乎显现不出来。因此, 高密度外源性氟化物在靶点的聚集为 ^{19}F MRI 提供了高噪声比 (CNR) 和定量成像的可行性。此外, 几乎可以忽略的 ^{19}F 背景信号避免了连续采样及比较使用造影剂前后的图像差异, 而这是在其他使用超顺磁 (如氧化铁) 和顺磁金属 (如钆) 的分子成像中所必须的。

1.2 全氟化碳 (PFC)

PFC 纳米粒子体积的 98% 是 PFC, 对于液态氟碳 (PFOB, $1.98 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 498 Da) 其氟浓度大约为 $100 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ [12]。由于氟的物化性质 (所有化学元素中负电性最强的元素) 和 C–F 的特殊性, PFC 纳米粒子与其他油性乳剂有明显的不同 [13]。全氟化合物中氟原子取代 C–H 中的氢原子后可产生大且硬的化合物, 这类化合物一般具有螺旋结构, 分子化学性质非常特殊而且通常内部结构错综复杂 [13]。C–F 具有化学和热稳定性, 其电子云密度较大, 能够阻挡其他化学成分的侵入, 使其几乎不会发生化学反应 [13]。较大表面积与氟链的低极性共同增强了化合物的疏水性。有趣的是 PFC 既疏水也疏脂。

很多临床前的动物实验都记载了 PFOB 的生物相容

¹ Division of Cardiology, Washington University School of Medicine, St. Louis, MO 63110, USA; ² Toshiba Medical Research Institute USA, Inc., Cleveland, OH 44143, USA; ³ Department of Biomedical Engineering, Washington University, St. Louis, MO 63130, USA; ⁴ Philips Research Hamburg, Hamburg 22335, Germany

* Correspondence author. E-mail: greg.lanza@me.com

Received 13 October 2015; received in revised form 7 December 2015; accepted 12 December 2015

© The Author(s) 2015. Published by Engineering Sciences Press. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

英文原文: Engineering 2015, 1(4):475–489

引用本文: Anne H. Schmieder, Shelton D. Caruthers, Jochen Keupp, Samuel A. Wickline, Gregory M. Lanza. Recent Advances in ^{19}F Fluorine Magnetic Resonance Imaging with Perfluorocarbon Emulsions. Engineering, DOI 10.15302/J-ENG-2015103

性。即使大剂量使用时，多数氟碳都是无害且无生理活性的。在460~520 MW范围内，纯氟碳具有无毒，无致癌、致突变和致畸的特点。PFC的组织半衰期从PFOB的4天上升到全氟三丙胺的65天。PFC不在体内代谢，而是以溶解的形式通过脂质载体进入血液循环最后通过肺排出体外。但是，在替代输血的PFC应用中，笔者发现PFC在肺中残余量会不断上升。因为PFC比空气密度大，PFC残余会减少肺的顺应性；这在一些早期型号的PFC乳剂对兔、猪和猴的实验中表现尤其明显，但在老鼠、狗和人体中尚未发现[13-15]。与PFC类似，PFC纳米粒子通过单核巨噬细胞系统(MPS) (以前叫做网状内皮系统(RES))被清除。这些细胞中积聚了高浓度的PFC，会导致单核巨噬细胞释放细胞因子，从而出现类似感冒的症状[12]。此外，由大容量输注或重复高剂量给药导致的带PFC纳米粒子的肝细胞急性充血可引起组织暂时性物理压缩并伴随轻度肝损伤，造成血清转氨酶可逆性升高。

除此之外，还应该认识到在啮齿类动物中，PFC纳米粒子可快速进入胆道系统，随后进入小肠[17,18]。在兔子和人等非啮齿类动物中，不存在这种快速的生理清除过程[19]。因此，PFC纳米粒子的药代动力学、生物分布和安全性在啮齿和非啮齿类动物中差别很大，从而影响了粒子及其治疗荷载的补充给药剂量或药物安全界限评估的给药剂量[18]。

PFC的早期临床前和近期临床研究均涉及了液体呼吸，因为PFC有较高的携氧能力和治疗早产儿表面活性剂缺乏的能力[20-25]。尽管这是一个有趣且有效的应用，但PFC的这种应用还是会随着选择性表面活性剂替代技术的发展被迅速取代。但另一方面PFC乳剂的携氧能力较高，人们会努力开发这类药物，因为人工血浆替代物研究没有取得显著成绩。

Fluosol-DA(日本绿十字社)是第一个通过批准，可作为血液替代品的PFC乳剂，但它的血液动力学与表面活性剂的选择高度相关[26-32]。后来发现的类似物Fluosol-43代替了一种白蛋白表面活性剂，来对抗不稳定的血液动力学。Fluosol-DA由全氟萘烷(PFD)和全氟三丁胺的混合物组成，是一种具有复杂MR波谱的氟化物。从MR细胞示踪的角度看，PFD的波谱成像或波谱信号十分有限，即便在如今更加先进的设备和技术条件下也依旧如此[33,34]。临床人工血液替代品的下一代PFC是PFOB和氟二氯辛烷(PFDCO)。这些氟化物减少了肺内气体堆积并缩短了组织对PFC进行生物清除的时间。利用磷脂表面活性剂制成的第二代以PFC为基础的血液替代品具有更好的生物相容性、更高的携氧能力和较少的副作用，提高了生物清除率，并且符合大规模商品化生

产的条件。溶解在液态PFC中的氧很容易被缺氧组织提取出来。但是，PFC的携氧能力与乳剂的平衡氧分压呈线性相关。PFC的溶解氧曲线近似线性，而血红蛋白的溶解氧曲线是S型的。多数溶解在PFC里的氧会在动脉高压环境下提前释放，而在毛细血管网这些氧分压低但对氧的需求最大的地方，PFC里剩余的氧已经很少。因此，作为血液替代品的第二代PFC产品在临床上完全失败了。

在这段时间内，Robert Mattrey博士与PFOB乳剂平台联合会合作，进行了早期研究以确定这些粒子是否具有为超声(US)、计算机断层扫描(CT)和MRI提供临床成像的潜能[35-44]。尽管他们的大部分工作是利用液态PFC纳米粒子进行超声和CT成像，并使用大量的液态PFC纳米粒子进行血池造影，但只有用¹H MRI和PFOB乳剂进行胃肠道(GI)造影(阴性对比)的研究得到了关注。这一应用中，PFOB粒子在造影研究中比标准钡具有更显著的成像和操作优势，但花费较高。而利用钡做GI造影的花费远少于PFOB，因此最终用钡造影更胜一筹。

2 PFC 乳剂的 MRI

PFOB的稳定性和利用PFOB的人体实验为一项独特的可修饰的纳米粒子诊断治疗平台技术提供了依据，这一技术已经被笔者实验室(独自或与其他实验室合作)广泛应用于大量医学实践中[16,45-79]。对于¹H MRI来说，PFC纳米粒子为高负载亲脂性钆螯合物提供了一个稳定的平台，从而增强了靶向MR分子成像。但随着在临床实验中对钆的关注度的逐步升高(钆会导致肾源性系统纤维化和急性补体激活)[80-82]，靶向PFOB纳米粒子用于3 T MR ¹⁹F成像的技术被重新审查，目的是为了满足不同临床的需求。

近来，氟碳标记成为一种常用的氧化铁纳米粒子细胞标记和示踪的备选方法[83-90]。研究人员使用了环状全氟-15-冠-5-乙醚(PFCE)以及线性全氟聚醚(PFPE)分子，该分子具有重复的—CF₂CF₂O—单元，可提高¹⁹F的信噪比(SNR)和可检测性[63, 91-101]。当用作靶向MR分子成像时，肝和脾中PFCE的大量堆积以及较低的生物清除率为实现临床应用增加了一道明显的安全屏障。在进行细胞示踪时，PFC乳剂粒子被体外培养的细胞吞噬而内在化，然后可根据影像进行局部注射，从而避免全身静脉注射PFC乳剂导致的PFC过量。在这种情况下，这些PFC化合物长时间的体内滞留可以允许其在较长时间内持续地进行细胞示踪。由于这种细胞示踪技术的出现，近来有关PFPE的研究获得了大量关注。其大于

40的化学等值氟原子简化了 ^{19}F 核磁共振(NMR)波谱,且 T_1/T_2 比较小。对于PFC来说,端基可以实现其他化学功能,如携带染色剂[92, 102]。

3 MR对 ^{19}F 的可检测性

由于生物系统利用的PFC浓度较低,所以传统的 ^{19}F 成像SNR与 ^1H MRI相比也较低。虽然有些应用采用了大剂量高浓度氟化物以生成有效的 ^{19}F 影像,但出于上述安全性考虑,人体内应用的高剂量PFC(超过1~5 g/kg)应受到限制[12]。迄今为止,在5-氟尿嘧啶输注化疗的全身扫描中,基于表面线圈测量的磁共振波谱(MRS)研究证明,在1.5 T磁场中,当成像像素体积为33 mL且成像时间为6 min时,可检测到的 ^{19}F 的最小浓度为 $30\ \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ [103]。对于11.7 T的更高场强来说,在0.5~1.2 g样本上采样1 h可以测到5-氟尿嘧啶波谱的最低浓度为 $5\ \text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$ [104]。

PFCE包含20个 ^{19}F 共振等效核,该等效核可丰富信号,使得在9.4 T 磁场中,当成像时间为4 min且像素体积为 $60\ \mu\text{L}$ 时可以测到的最低浓度为 $30\ \mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$ [67]。Partlow等[63]的相关测量证明,在11.7 T的磁场中,用体外 ^{19}F MRS 最少可以测到2000个PFCE标记的细胞(SNR>3)或10 000个PFOB标记的细胞,用体外 ^{19}F MRI可以最少测到6000个PFCE标记的细胞。对于1.5 T的MRI来说,局部注射的 4×10^6 个PFCE标记的干细胞可产生强烈的氟信号。在不加转染辅助试剂的条件下,将细胞与PFC共同孵化12 h,细胞内PFC含量可达到每个细胞含3 pmol。除此之外,PFCE的 r_1 对比敏感性随着磁场强度的增大而升高。这是有利的,因为临床MR设备的磁感应强度已从3 T上升到了7 T,甚至更高。但是,这也意味着非靶或脱靶的 ^{19}F 噪声已经变得更加明显。显然,PFC粒子显著增强了局部氟的浓度,从而使细胞示踪和靶向分子成像的研究成为可能。

在临床场强下(3 T或更低),可以通过加入弛豫时间改性剂进一步提高 ^{19}F 信号的检测强度,比如将负载钆的脂质体(Gd^{3+})嵌入到PFC纳米粒子外表面活性剂的外层。Neubauer等[105]证明,在1.5 T磁场下,在表面加入镧系元素可以使直径为200 nm 的PFC纳米粒子的 ^{19}F 信号增强4倍。在体外表现为当PFC纳米粒子以凝血块的纤维蛋白为靶点时,造影剂信号会增强125%。Harvey等[106]证实, Gd^{3+} 表面浓度的变化和与粒子表面有关的镧系金属位置的改变会抵消这种 ^{19}F 信号的增强。de Vries等[107]在5种不同磁场强度下,利用3种不同的PFC乳剂研究了 ^{19}F 信号增强可以调节的观点。在利用PFCE和其他三种亲脂性钆螯合(Gd^{3+} DOTA-DSPE, Gd^{3+} DOTA-C6-DSPE和 Gd^{3+}

DTPA-BSA)进行实验时,他们注意到由于其镧系金属位置更靠近PFC核心,所以 Gd^{3+} DTPA-BSA与其他两种螯合剂相比对 ^{19}F R1的影响更大;而其他两种螯合物更靠近外侧水分子,远离PFC核心区。在典型的临床磁场强度下(1.5~3.0 T), Gd^{3+} DTPA-BSA对 ^{19}F R1会产生有利影响,但在较高磁场强度(6.3~14 T)下,补充性的 Gd^{3+} 不能改善 ^{19}F R1,反而会逆向增加 ^{19}F R2。由于 ^{19}F r1的内在弛豫率会随着场强增加而升高,如在临床前动物扫描仪中使用的磁场,PFC纳米粒子利用镧系元素进一步增强 ^{19}F 信号的需求减弱了。

4 MR ^{19}F 线圈

尤其在临床场强(3 T或更低)下,采用氟造影剂的MRI面临着低敏感度的问题。 ^{19}F 分子成像的实现通常采用下面的方法:通过配体定向导引,在特定病理区积聚形成PFC有效浓度;通过影像引导,在感兴趣区域对PFC标记的细胞进行局部注射;使用单一共振 ^{19}F 分子;采用化学位移校正[108]和超快速MR校正[109–111],以及对多频谱的氟造影剂进行压缩成像[100]。同时,射频(RF)线圈设计的明显改善,尤其是实时 $^{19}\text{F}/^1\text{H}$ 双谱采集技术的出现,已经成为 ^{19}F MRI 一个重要的进步 [73, 112–118]。

通常 $^{19}\text{F}/^1\text{H}$ MRI采用的单频射频线圈的频率需要调节,以对应 ^{19}F 或 ^1H 的谐振频率,从而获得最大的SNR。通常,这种方法耗时长,并且可能导致在调节线圈频率时出现线圈移动或错位,从而干扰后处理时的 $^{19}\text{F}/^1\text{H}$ 影像配准。采样双频线圈,如一个 ^1H 容积线圈和一个 ^{19}F 表面线圈,可以有效地获得单个信号,但它们内在不同的敏感模式会导致在两个频率数据结合时产生不一致的影像。利用自动调谐的射频线圈(使用外部电脑程序)调节共振频率是一些昂贵成像系统的一个选择方案,但同时也导致系统复杂性增加[119]。总的来说, $^{19}\text{F}/^1\text{H}$ MRI成像的单频模型射频线圈还需要解决几个问题:低SNR,射频磁场(B_1)不均匀导致的伪影信号,以及 $^{19}\text{F}/^1\text{H}$ 影像配准时的误差。

为解决这些问题,笔者提出了双频 $^{19}\text{F}/^1\text{H}$ 双线圈的方法。传统的双频线圈(利用分流和多极电路)适合两个间隔很远的谐振频率,如 ^1H ($42.58\ \text{MHz}\cdot\text{T}^{-1}$)和 ^{13}C ($10.71\ \text{MHz}\cdot\text{T}^{-1}$)。但是,这种传统方法并不适用于 $^{19}\text{F}/^1\text{H}$ MRI线圈,因为 ^{19}F 的旋磁比为 $40.08\ \text{MHz}\cdot\text{T}^{-1}$,和 ^1H 很接近。一个新的设计方法是采用多信号输入输出端口,然后通过一个通用的阻抗匹配电路实现多频率。另一个方法是采用基于鸟笼谐振器的特殊共振性的双频线

圈，也就是使用两个交叠的线圈或者同一个鸟笼线圈的不同谐振模式来达到双频率共振。

基于Philips研究中心的研究报告 [120], Hockett等 [118]提出了一种改进的设计以达到对兔子膝关节炎模型的成像要求(图1和图2)。这种设计将平行输入电阻、电感和电容的双调谐电路(RLC)与Ballon等[121]和Jin等 [122]提出的开放线圈设计电路串联,从而扩展了双频线圈同步成像的设计概念。开放线圈的设计采用柱状多回路设计以达到与鸟笼线圈类似的电流分布,从而提供了较大的线圈体积且保持了足够的敏感度以支持在3 T上对兔子膝关节进行 $^{19}\text{F}/^1\text{H}$ 同时成像。该设计的一个独特之处在于其可以实现对生理组织结构(^1H)和外源造影剂(^{19}F)同时成像,排除了图像配准问题。这之后, Hu等 [117]拓展了Hockett等 [118]提出的耦合共振模型的设计方法,将其扩展为更加通用的设计,同时提供了多种配置的 $^{19}\text{F}/^1\text{H}$ 双频线圈制造技术。就这些方法来说,两种共振频率以及不同阻抗下正常工作所需阻抗的匹配是一个关键的设计问题。Hockett等 [118]及之后的Hu等 [117]证明了串联的电容匹配网络在理论上可以有效地将 ^{19}F 和 ^1H 频率匹配到50 Ω 。Hu等在4.7 T的场强下使用该 $^{19}\text{F}/^1\text{H}$ 双频鸟笼RF线圈进行了小鼠活体成像(图3)。通

过采用马鞍形线圈和正交解耦的 ^{19}F 表面线圈快速获取了 ^{19}F 和 ^1H 信号,他们成功实现了 ^{19}F 均匀激发和高SNR,同时保持了 ^1H 信号的SNR以获得解剖图像。

近来, Ji等在Niendorf的实验室研究了7.0 T下 $^{19}\text{F}/^1\text{H}$ 双调谐线圈在人体中的应用 [116]。应用于人体膝关节成像的模块化八通道 $^{19}\text{F}/^1\text{H}$ 收发器的RF线圈也已经被设计出来。实验结果显示,可利用 ^{19}F -非甾体抗炎药膏对 ^{19}F MRI进行定位。成像空间分辨率很高(1.5 mm \times 1.5 mm),信号采集也很快——扫描时间约为3 min。将这种八通道高敏感性线圈放在患者身旁,通过调整不同通道的幅度和时相来调节发射磁场(B_1^+)的形状,从而减小超高频率下发射磁场的均匀性。

5 MR ^{19}F PFCE 成像

尽管 ^{19}F 检测的高特异性是由于人体内缺少 ^{19}F ,但这种信号的缺失同时也会使采样优化和对运动伪影的评估

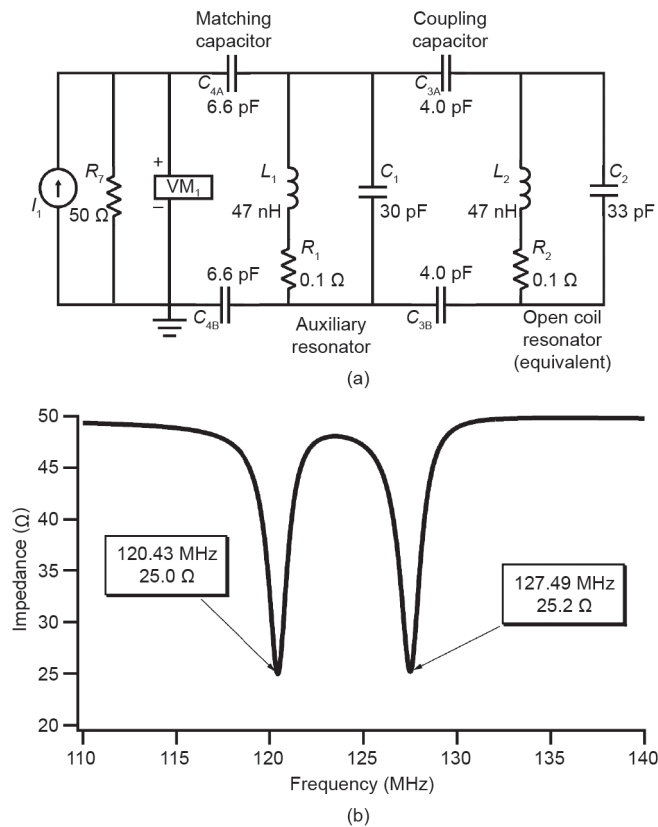


图 1. 双频线圈作为两个独立的 LCR 共振器 (L_1, C_1, R_1) 与 (L_2, C_2, R_2) 通过电容 C_3 进行电连接。(a) 等效电路图; (b) SPICE 电阻磁输出, 模拟两个电容连接共振器。3 T 场强下, ^{19}F 是 120.43 MHz, ^1H 是 127.49 MHz。见参考文献 [118]。

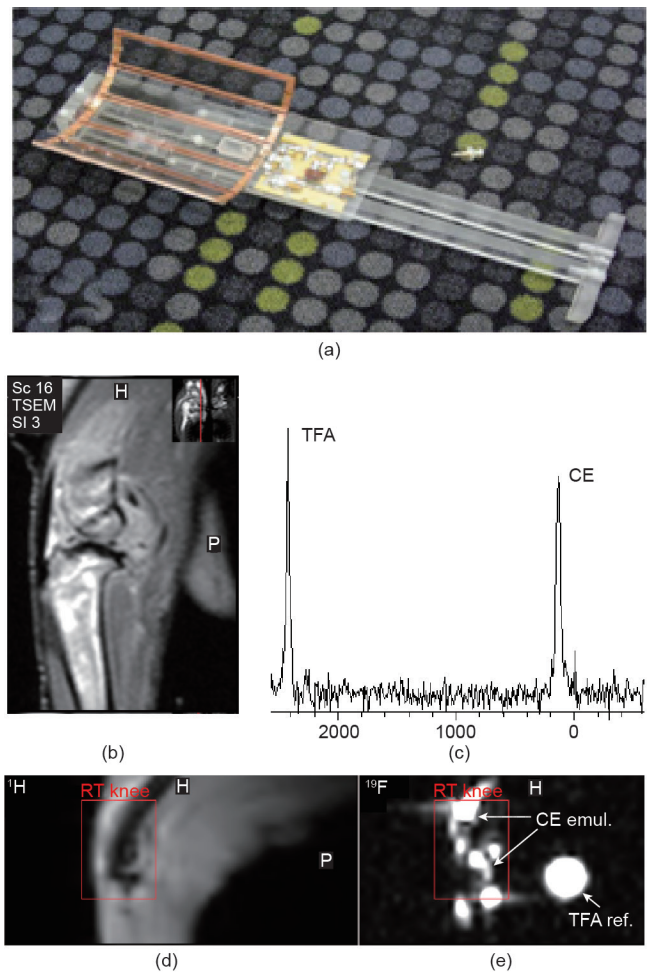


图 2. (a) 双频线圈和支持电路图。图的左上角显示了 6 脚 (5 圈) 线圈结构。(b) 兔膝关节炎的 ^1H 高分辨率图片, 突出了解剖特征。(c) 被测波谱线与 PFCE 乳剂中的氟共振波谱线一致, 以三氟乙酸 (TFA) 作为参考标准。注射 PFCE 乳剂后同时获取 (d) ^1H 和 (e) ^{19}F 兔膝关节图片。见参考文献 [118]。

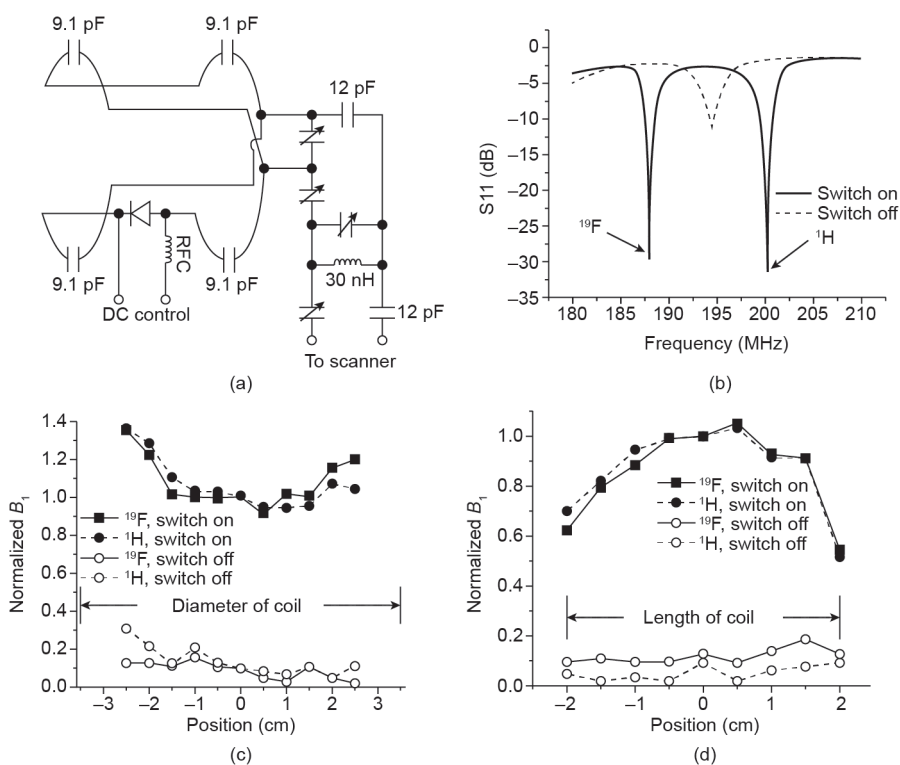


图3. (a) 4.7 T场强下用于小鼠成像的 $^{19}\text{F}/^1\text{H}$ 双频激活解耦、只输出马鞍型线圈的电路设计。(b) 开关打开和闭合时, 激活解耦的双频马鞍型线圈的S11。(c, d) 开关打开和闭合时, 沿着激活解耦的双频马鞍型线圈的直径和轴测得的标准化 B_1 磁场。见参考文献[117]。

变得困难。传统MR扫描仪会自动进行不依赖操控者的准备工作, 根据激发信号设定期望的翻转角、RF线圈和患者来优化输出功率。这种功率的优化要求快速检测到高SNR的信号。而 ^{19}F MRI的低SNR无法使一个 ^{19}F RF线圈进行这样的功率优化。

为了使临床3 T扫描仪获得更好的同步 $^{19}\text{F}/^1\text{H}$ 图像, Keupp等[114]设计了一种新型设备, 修改了MRI频谱发射仪和软件, 同时保持其他硬件不变(如梯度磁场和静磁场)来实现 $^{19}\text{F}/^1\text{H}$ MRI。这套设备增加了非氢质子的独立射频信号发生器和接收设备以实现 ^1H 和 ^{19}F 的同时激发。适合 ^1H 和 ^{19}F 的RF脉冲波形也被独立创建出来, 并且被同时送入RF信号功率放大器中。利用这种设备, 每个患者的 $^{19}\text{F}/^1\text{H}$ 双调谐线圈的功率可以通过高 ^1H 信号得到优化, 随后将该优化结果应用于 ^1H 和 ^{19}F 图像[123]。因此, RF线圈对 ^{19}F 信号敏感度的空间不均匀性(存在于所有MRI线圈中, 通常通过临床扫描仪的“幕后”进行校准)可以通过 ^1H 通道确定[73]。这是实现临床动态定量 ^{19}F 分子成像所必须的校准步骤。

由于组织水分丰富, ^1H 扫描的扫描时间可能很短; 而 ^{19}F 信号的缺失却需要通过延长信号采集时间补偿。长时间扫描又容易出现因患者身体或器官本身移动而产生的运动伪影, 从而导致因图像模糊或 $^{19}\text{F}/^1\text{H}$ 错误配准造成的信号退化。 ^1H 和 ^{19}F 信号的同时读取可实现根据 ^1H 图像对运动伪影的校正, 然后将数据结果应用于校正 ^{19}F 图像[114]。利用3D放射状k空间的填充快速对 ^1H 图像采样(即以比完全采用 ^{19}F 图像更高的时间分辨率), 可以校正长时间的 ^{19}F 采样形成的运动伪影, 从而提高 ^{19}F 的SNR和量化准确性[114]。

^{19}F MRI的一个技术难题是 ^{19}F 的 T_2 弛豫时间在化学位移上引起的各个 ^{19}F

频率的不一致。为了解决多核MR的这一问題, Mastropietro等[124]优化了快速自旋回波(FSE/RARE)的序列参数。尽管这一方法对部分 ^{19}F 分子有效, 但是具有特殊波谱性质的化合物还需要根据独特的局部环境进行参数调谐。对PFOB这类多 ^{19}F 频谱的化合物, 尽管 ^{19}F 最密集的频谱群可以用来获取信号, 但由于略过了该化合物的其他频率的信号, 所以检测到的SNR会减弱。为获取完整的 ^{19}F 波谱信息, 笔者通过回声不对称和最小二乘估计(IDEAL)法进行迭代分解来研究化学物质的分离技术, 但是这一技术需要复杂的静磁场(δB_0)校正[125,126]。为捕捉PFOB的所有 ^{19}F 信号, 除了脉冲时相编码(PPE)[128], 还需要进行回声时间(TE)编码实现弛豫校正[127]。有趣的是, 像氟超速涡轮波谱成像(F-uTSE)这种不依赖化学位移的技术已经被证实, 其可对 ^{19}F 波谱进行完整的采样, 尽管采样时间相当长[129]。

考虑到破坏性的相位干涉, 研究者采用了一种更直接的 ^{19}F 成像方法, 在氟原子核去相位之前就进行信号采集, 这与在超短回波时间(UTE)内成像的原理一样[130]。通过在波线去相位和发生显著的横向弛豫之前捕捉NMR信号, UTE有能力增强 ^{19}F 的SNR[109]。平衡式稳态自由进动(bSSFP)是一项新技术, 每个重复时间(TR)内的梯度磁场脉冲通过相反极性的脉冲得到补偿, 从而产生单一、聚时相的磁化矢量[131]。因此, SSFP序列保持了大部分初始磁化矢量(M_0), 从而产生了具有高SNR的稳态MR信号。平衡的SSFP已经得到了有效应用, 用来对CellSense™具有单一 ^{19}F 频率的PFC标记的间叶细胞进行成像[132]。为了实现对多 ^{19}F 频率的物质(如PFOB等)的高敏感性检测, 将具有3D辐射状读取功能的

双频 $^{19}\text{F}/^1\text{H}$ UTE平衡SSFP应用于临床3 T扫描仪来实现PFC成像(图4)[111]。PFOB的大部分氟核(17个氟原子核中的12个)位于1 kHz化学位移范围内的 CF_2 共振频率中,在UTE-SSFP序列的90 μs 的TE内可以捕捉到这些氟核。短的TE在明显地去相位后保持了NMR信号,避免了共振产生的破坏性叠加。通过 CF_2 谱线获得的SNR多于通过3D辐射状采样(25%)和自由感应衰减(FID)读出的SNR有效性缺失的补偿。

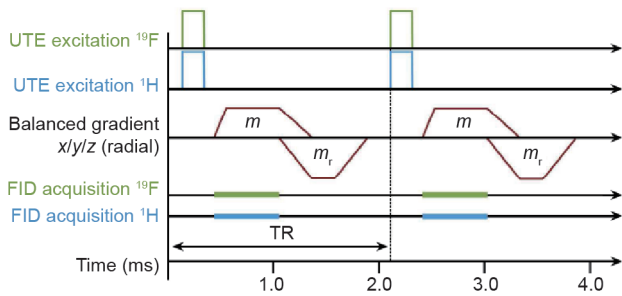


图4. 同时的3D $^{19}\text{F}/^1\text{H}$ UTE-SSFP脉冲序列。包含超短回声时间内的同时 $^{19}\text{F}/^1\text{H}$ RF激发和随后的FID采集,使用平衡梯度(m, m_i)以及Wong型放射状读出轨道。见参考文献[111]。

UTE-SSFP技术使非氢原子的多核成像具备了一些优势。当将 ^{19}F 造影剂结合到靶向组织时,由于分子运动的减少,这些造影剂可以更进一步地减少 T_2 弛豫[113]。平衡式SSFP方法为成像标记贡献了高SNR,并且由于 M_0 的饱和度表现出长 T_1 和短 T_2 ,梯度回波技术的弛豫条件是不利的。通过改变 ^{19}F 特定组谱线的激发频率和激发宽度,可以选择定制探针用于UTE-SSFP成像。除此之外,可以将UTE-SSFP序列与同步双核采集技术相结合。一旦利用该序列获取了复杂的波谱信号,3D放射状填充k空间数据就会被直接重建,而不用后处理,这一点与化学位移成像系统相反。3D放射状数据为多种分辨率重建提供了依据,使得在不同波谱分辨率上对 ^{19}F 和 ^1H 数据的分析成为可能,并且通过 ^1H 数据亚样本为非氢原子信号的运动校正提供了机会[114]。

然而,UTE-SSFP并不是所有PFC理想的采集序列。对具有单一共振峰值的造影剂如PFCE或PFPE来说,SNR有效性的降低可能是由于3D放射状k空间样本和FID读出所致。除此之外,为了使PFC在标准梯度系统中具有合适的3D放射状读出的波谱分辨率,UTE-SSFP还要求所选择的特定谱线必须出现在1~2 kHz宽度内。对PFOB来说, ^{19}F 谱线跨越1 kHz宽度,但是其他PFC并不是这样。对于与PFC乳剂相比 ^{19}F 核较少的其他化合物来说,尤其是当通过在高于现有临床场强下成像来获取SNR时,零时回声(ZTE)等UTE成像技术可作为备选方

法[109]。现代MR设备的超速成像能力使得十年前不可能的 ^{19}F 成像技术成为可能。

6 ^{19}F 细胞示踪与巨噬细胞标记

关于对离体细胞进行PFC乳剂标记后在体内进行细胞示踪的概念,已经有文献进行过很好的回顾。但由于在过去几年间,这一概念已经从实验室研究过渡到了临床应用[93,99],所以值得在此再次回顾。MPS吞噬经静脉注射的PFC纳米粒子是PFC在体内被清除的基本机制。体内定点标记的方法是通过静脉注射较大量的PFC纳米粒子进入血液,这些PFC纳米粒子紧接着被多种亚型的白细胞、单核细胞、巨噬细胞、嗜中性细胞和树突细胞(DC)吞噬。这些 ^{19}F 标记的白细胞通常残留在脾中,然后被促炎细胞因子引导聚集在发炎部位,这些部位的 ^{19}F 标记的白细胞可以通过MR进行无创监测。巨噬细胞和MPS原位PFC标记的概念最早在鼠肿瘤和脓肿的 ^{19}F 热点检测的研究中受到了重视[133],后来在心肌梗死和肿瘤中检测出了PFC乳剂;这些成像方法不仅限于 ^{19}F MRI,还包括超声和CT [5, 35–37, 134–136]。此外,探索脾吞噬功能下降的研究证明了PFC粒子的摄取也相应地减少了,从而为证明在PFC粒子清除过程中器官的重要的MPS作用提供了早期证据[137]。随后,原位细胞标记的 ^{19}F MRI被用来检测与自身免疫疾病有关的炎症反应[67],这些炎症反应存在于啮齿类动物的实验性变态反应性脑脊髓炎(EAE)、人类胰腺细胞[138]、缺血性心肌炎和脑炎[139]、LPS引发的肺炎[140]、同种异体移植排斥[96]、神经炎性周围神经疾病[141]和胶原蛋白引发的关节炎[97]中。除此之外,这些研究还指出了炎症严重程度与 ^{19}F MRI无创信号强度之间的定性关系。这一概念实际上已经得到了公认,在某些应用上可能会比以氧化铁为基础的细胞示踪技术更受青睐。氧化铁是非常敏感的细胞标记物,可能会由于超顺磁伪影而降低软组织分辨率,但 ^{19}F 就避免了这一问题。磁化伪影的消除使得组织和细胞边界成像的细节得以保存。

在许多报告中,特定细胞如树突细胞(DC)[94]和干细胞[63]在体外进行标记,随后被注射或植入体内。 ^{19}F 成像技术准确地证实了这一细胞标记技术,甚至还证明了通过利用不同PFC标记可以同时区分不同细胞类型并长时间监测细胞在体内的迁移。当在体外标记细胞时, ^{19}F 对特定细胞标记的效能已众所周知,其可被用于完善数据的生物和定量解释。与之相反,原位标记技术可以定性示踪被 ^{19}F 标记的细胞,但是不能确认成像的是哪种

细胞，也不能通过测得的 ^{19}F 信号强度进行量化。

最近，Ahrens等[98]利用PFPE纳米粒子(CS-1000)在大肠腺癌患者中进行了免疫治疗的成熟树突状细胞的 ^{19}F 示踪标记。在PFPE药物进行临床使用前，在不产生副作用的条件下，研究人员严格检测了100倍预期用量剂量的急性期毒性、细胞毒性和基因毒性。在不使用辅助的阳离子脂质和不改变细胞表型的条件下，PFPE被合并入非吞噬细胞中。需要注意的是只有活的细胞才能够被PFPE标记。被注射入体内后死亡的细胞会释放PFPE，紧接着可能被巨噬细胞吞噬而导致假阳性信号。这在细胞标记技术中是一个普遍存在的问题，用氧化铁进行细胞标记的技术也是如此。植入后的树突状细胞在注射点被看成可以被立刻检测到的“热点”，但这个“热点”的信号强度第二天就会减弱50%。这个结果证实了标记细胞已被成功注入到体内。在两个患者中得到的结果表明，该技术还可以估计局部被标记的细胞数量。但是，由于未知原因，进一步的细胞迁移还没有被检测到，这可能是由于注射剂量不足、标记的细胞早期死亡、树突状细胞的迁移或者这个治疗方式的有效程度所致。尽管该临床研究使用了原始数据采集的方法和非最优的MRI线圈(表面线圈)设计，但其仍证明了临床扫描仪中 ^{19}F 成像技术的有效性。现在我们已经认识到了线圈、脉冲序列设计和移动校正的进步，并将其应用到 ^{19}F 成像上，这将可能会更好地改善诊断结果。

7 ^{19}F PFC 血栓纳米分子成像

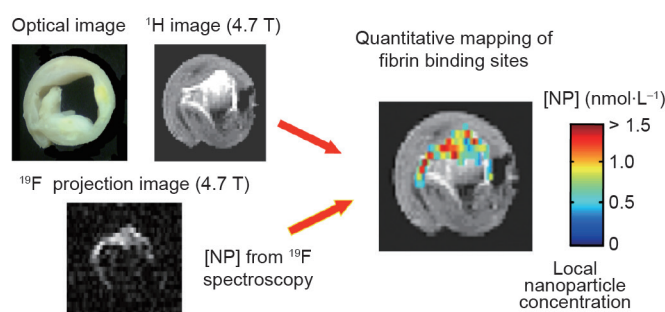
利用 ^{19}F 成像和PFC纳米粒子的分子成像技术进行血栓靶向诊断的技术可被追溯到十多年前。血栓富含可靶向成像的分子抗原决定簇，特别是纤维蛋白、凝血酶和其他物质，如血小板等。Yu等[142]证明了以纤维蛋白为靶向的超顺磁PFOB纳米粒子的高场强分子成像技术，认为表面携带 Gd^{3+} -DTPA-BOA的PFC粒子不仅可成为 ^1H 的 T_1 加权造影剂，而且可以实现相应的 ^{19}F 成像。尽管当时没有发现 Gd^{3+} -DTPA-BOA对纳米粒子表面 ^{19}F 的 R_1/R_2 的强化作用，但很显然这一因素有助于增强 ^{19}F 信号。

在随后的研究中，使用超顺磁PFOB纳米粒子在4.7 T场强下进行双质子成像和定量 ^{19}F 成像的技术被证实，并由1.5 T场强下的 ^1H 的弛豫率和对放射性钆金属进行中子活化分析得以验证[55]。通过特异、定量地检测离体人体颈动脉内膜切除术获得的破裂斑块来验证这一概念的临床相关性(图5)。通过使用PFCE及PFOB两种PFC纳米粒子靶向成像纤维凝血块， ^{19}F MRI进一步验证了这项技术对病理靶点不同表型特征的无创检测的潜能。这个实

验潜在的假设是复杂组织的病理上的各异性需要多个生物标记物，而受体表现水平的特殊比例可以用来定性或诊断疾病。在该实验中，PFCE纳米粒子表面螯合了钆。 ^{19}F 图像通过采用稳态梯度回波技术获取，频率波谱通过选择和非选择采样容积获得。利用传统 T_1 权重成像序列获得的血栓图像的 ^1H 信号强度与超顺磁的PFCE纳米粒子的浓度呈线性相关。最后所有的血栓都可利用宽带 ^{19}F 成像进行检测，然后通过选择性窄带激发PFCE或PFOB纳米粒子单独成像。

在凝血级联系统中，凝血酶代表了直接且特定抗凝剂的一种主要靶点，通过将凝血酶抑制剂(Phe[D]-Pro-Arg-chloromethylketone，或PPACK)络合在胶质纳米粒子上可获得该靶点[143]。该治疗诊断学概念首次提出了一种具有延长和高度定位治疗作用(由其多价凝血酶吸收粒子表面获得)的抗凝剂。在体内急性动脉血栓模型中，PPACK纳米粒子比肝素和非络合的PPACK在抑制血栓上起到的作用更加突出。 ^{19}F MRS(11.7 T)证实了PPACK纳米粒子与急性血栓损伤位点的特异性结合， ^{19}F MRI证实了PPACK纳米粒子在动脉内的定位。有趣的是，尽管这些凝血酶抑制粒子只能延长10 min的系统出血时间，但它们延长了凝块形成的抑制时间。

最新研究报告了利用 ^{19}F MRI和 α_2 -抗纤维蛋白溶酶(α_2^{AP})作靶向的PFC纳米乳剂在血栓形成过程中的非破坏性判定[144]。配体功能通过使用以甾体为基础的后插入技术在轻度耦合条件下获得。小鼠下腔静脉血栓靶向图像的形成通过在9.4 T下同时获取 ^1H 和 ^{19}F MR图像来完成，该图像具有很好的SNR和CNR。在实验引起的肺血栓栓塞症的诊断中对 α_2^{AP} -PFC概念也进行了评估。 α_2^{AP} -PFC将血栓作为凝块形成的靶点，但经过60 min的血栓诱导后并没有发现可检测的 ^{19}F 信号。该结果显示，通过血栓激活因子XIIIa的纤维蛋白的交联是彻底的，并指出



^1H image: 256 × 256 matrix; 0.5 s TR; 7.6 ms TE; 1 mm slice thickness; 2 signal averages
 ^{19}F image: 64 × 32 matrix; 1.0 s TR; 4.5 ms TE; 26 mm slice thickness; 2 signal averages

图5. 4.7 T下获得的颈动脉内膜切除术样本的质子与氟成像。请注意叠加在 T_1 加权对比图像上氟像证实并量化了特定纤维蛋白信号；一些明显的 T_1 高亮区域与氟信号不符合，很有可能不是来自超顺磁纳米粒子。(高亮度区不一定都代表造影剂。)见参考文献[55]。

使用 α_2^{AP} -PFC可以区分溶栓不稳定的血栓和药物抵抗血栓。这一治疗方法可以改善血栓治疗的风险-效益平衡。

PFC纳米粒子的核心有大量的氟原子,可以作为以凝血块纤维蛋白为靶点或其他靶点的化学交换饱和转移(CEST)造影剂的定量参考标准[145]。CEST螯合物有可交换的质子(-NH, -OH等),这些质子可以在特定化学位移(CS)频率上产生共振,从而将其与周围大量的水信号区分。应用合适频率和功率的RF前脉冲可以饱和可交换的质子,这些质子随之进入到周围的自由水中,从而减弱磁平衡。通过调整脉冲序列参数,携带超顺磁CEST(PARACEST)螯合物的功能化的PFC纳米粒子可实现CEST的“开/关”对比。CEST造影剂的重要特性避免了以往以 ^1H 为基础的分子成像需要对比注射造影剂前后的图像的情况。除此之外,新设计的PARACEST PFC纳米粒子在凝块表面可产生高达10的CNR,解决了早期PARACEST造影剂低对比敏感度的问题。除通过添加大负载PARACEST造影剂到PFC纳米粒子表面来降低可检测到的有效信号的门槛外,PFC核本身还为靶向结合粒子的定量评估提供了 ^{19}F 信号。因此, ^{19}F 和PARACEST的两种特异信号的联合作用直接表明了靶向结合的PARACEST体素的浓度。而且,与凝块表面结合的PARACEST纳米粒子产生的信号对比度比自由悬浮的PARACEST纳米粒子高两倍多。这可能是由于纳米粒子迁移率的减少和水交换动力学的降低,或是由于增加的结合水时间把CEST的检测界限从自由悬浮粒子的 $4.13\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 降低到与靶点结合粒子的 $2.30\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。因此,CEST和PARACEST发展成为重要的MR对造影[144,146-178]。

8 ^{19}F 新生血管生成成像

新生血管生成是正常组织(如子宫内膜、骨生长板)、伤口愈合和病理改变(如风湿性关节炎、动脉粥样硬化、哮喘和癌症)的重要早期特征。血管生成的检测可通过内皮细胞 $\alpha_v\beta_3$ 整合素表达的分子成像技术来实现。高分辨率 ^{19}F 成像技术最先被用于新西兰大兔的主动脉瓣膜疾病模型以检测并量化新生血管。在这个实验中,兔子被静脉注射了以 $\alpha_v\beta_3$ 为靶向的PFC纳米粒子或非靶向的PFC纳米粒子[70]。切下来的主动脉瓣叶呈增厚且发炎的状态。兔子主动脉瓣叶在11.7 T下的 ^{19}F MRS结果显示了注射的靶向PFC纳米粒子比非靶向PFC纳米粒子的 ^{19}F 信号强220%。除此之外,在一个竞争性抑制的实验对照组中,动脉瓣叶 ^{19}F 信号减少42%的结果支持了靶向PFC纳米粒

子的特异性。在另一动脉粥样硬化的兔子模型中,通过使用临床扫描仪在3 T下进行 ^{19}F MRI,证明了以 $\alpha_v\beta_3$ 为靶点的PFC纳米粒子在检测新生血管生成中的有效性,而且该活体成像结果与离体免疫组织化学结果一致。

尽管在高场强下血液中的背景噪声较高,但通过在7 T下使用 $\alpha_v\beta_3$ -PFOB纳米粒子对小鼠的U87恶性胶质瘤进行分子成像,结果证明了在肿瘤中的靶向组浓度高于对照组[179]。这些MRI图像结果通过组织学和荧光显微镜成像得以证实。这个实验的重要性在于这是第一个利用整合靶向PFC纳米粒子获得的脑肿瘤新生血管的 ^{19}F 图像。该课题组后来研发了具有更长循环半衰期的聚合物包装的PFOB,并用Arg-Gly-Asp(RGD)配体对其进行了表面功能化,然后证明了该PFOB也可以用于 ^{19}F 肿瘤成像[180,181]。

如前所述,新生血管形成是炎症性肺病如哮喘等疾病的重要组成部分。无创评估患者肺部的早期新生血管扩张是非常困难的,尤其是定量评估。除了明显的肺肿瘤,薄壁肺间质组织水分子的缺乏及呼吸运动和化学位移伪影的存在使得器质性疾病的肺部 ^1H MRI非常具有挑战性。可以用 $\alpha_v\beta_3$ PFOB纳米粒子为靶向探针的 $^{19}\text{F}/^1\text{H}$ MR分子成像技术来直接测量新生血管的形成。为了验证肺部 $^{19}\text{F}/^1\text{H}$ MRI技术的有效性,研究者采用了大鼠左肺动脉结扎(LPAL)模型进行了在体成像[182]。LPAL诱导支气管动脉血管增生,形成急性炎症肺损伤区域,尤其是支气管周围和大血管近端的结扎区域[182]。

肺动脉被结扎3天后,大鼠被静脉注射了以 $\alpha_v\beta_3$ 为靶向的PFC纳米粒子,然后在3 T下进行了同步的 $^{19}\text{F}/^1\text{H}$ MRI[183]。与非靶向粒子注射组相比,注射靶向粒子的急性肺缺血大鼠的肺和支气管的 ^{19}F 信号都有了显著增强(图6)。相反,在作为对照的右肺中,无论注射的是靶向还是非靶向PFC粒子,在大鼠的肺和支气管中都没有发现 ^{19}F 信号。 $\alpha_v\beta_3$ 靶向PFC粒子的竞争性抑制减少了缺血性左肺中 ^{19}F 的血管生成信号,该减少与非靶向组获得的 ^{19}F 信号没有区别(图7)。荧光显像和光学显微镜检查表明,在大支气管和大肺血管的血管内壁聚集了大量纳米粒子。这些结果证明, $\alpha_v\beta_3$ -PFC纳米粒子的 $^{19}\text{F}/^1\text{H}$ MR分子成像技术为检测受伤肺中新生血管的形成提供了一种直接的和可重复的检测方法。

其次,经过验证的 ^{19}F 成像技术被应用于检验与慢性哮喘气道有关的异常支气管血管的形成(导致气道壁持续水肿和大量白细胞持续聚集的一个可能因素)[184]。屋尘螨(HDM)与哮喘发病之间的关系已被确立。将大鼠暴露于HDM两周后,通过抗原刺激研究一周、两周和三

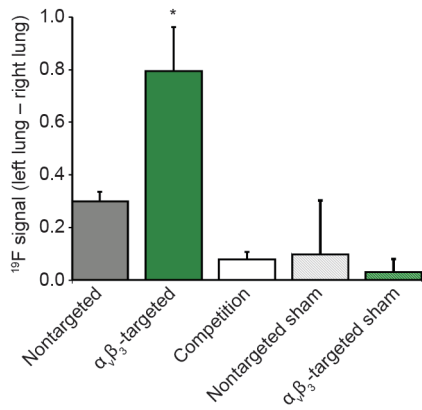


图6. 三天后LPAL大鼠和假手术大鼠左右肺信号的对比, 分别为注射非靶向粒子组, $\alpha_v\beta_3$ -靶向粒子组, 或竞争性抑制 $\alpha_v\beta_3$ -PFC粒子组给药2h后。相比于无靶点的PFC粒子, 接受 $\alpha_v\beta_3$ -靶向纳米粒子的LPAL大鼠左肺具有最强的 ^{19}F 信号($P=0.005$)。 $\alpha_v\beta_3$ 靶点的油纳米粒子的竞争性抑制降低了肺 ^{19}F 信号($P=0.0001$)。假手术组大鼠的 ^{19}F 也显著降低($P=0.002$)。见参考文献[183]。

周后血管增生的程度。在这个实验中, 利用 $^{19}\text{F}/^1\text{H}$ MRI来评估血管增生的时间曲线并用显微镜对相关结果进行定量分析。乙酰甲胆碱刺激被用来评估哮喘的特征, 即气道的高反应性。将大鼠暴露于HDM三周后(6次吸入量), 气道壁(周长0.5~3 mm)上成熟血管数量显著增加。这些血管的变化伴随着气道对乙酰甲胆碱反应的增强。但是, 将大鼠暴露于HDM一周或两周, 并没有观察到血管数或乙酰胆碱气道反应性的增强。活体MRI检测是在3 T场强下进行的。经过一周或两周HDM暴露的大鼠被注射了 $\alpha_v\beta_3$ -PFC纳米粒子, 然后用 $^{19}\text{F}/^1\text{H}$ MRI检测了气道 ^{19}F 信号。MRI结果显示新生血管的形成出现在气道反应性增强之前(图8)。除此之外, 当病理学或临床症状出现时, ^{19}F 分子成像显示出急性血管形成的扩张期已经过去。

$^{19}\text{F}/^1\text{H}$ 在肺成像的应用中特别重要。这是因为MRI不能显示弥漫性肺病, 尽管这类疾病的发病率和治疗花费在不断的增长。虽然CT经常被用于研究肺部病变, 但总的来说, CT对早期疾病的敏感性较差, 而且医学干预会对CT检查结果产生较大影响。此外, 对于患慢性疾病的患者

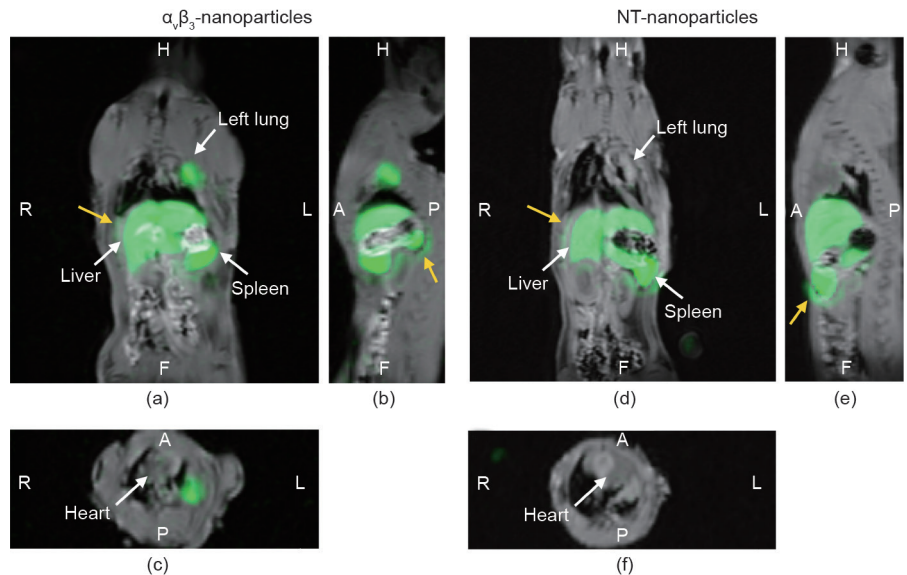


图7. 注射 $\alpha_v\beta_3$ -靶向或无靶向PFC纳米粒子2h后, 大鼠胸腹的 $^{19}\text{F}/^1\text{H}$ 成像(绿色代表纳米粒子)。(a) 注射了 $\alpha_v\beta_3$ -靶向纳米粒子的大鼠冠状平面, 图中显示了靠近心脏左肺出现的 $\alpha_v\beta_3$ -靶向纳米粒子的堆积, 以及肝脾中网状内皮组织(RES)颗粒的清除。右肺发现极少量信号。(b) 左肺靶向纳米粒子聚集的矢状位图像。(c) 心脏水平轴位图像, 图像显示了左肺结合的靶向纳米粒子, 但右肺没有信号。(d) 无靶向纳米粒子的大鼠冠状位图像, 图中显示了靠近心脏左肺无可见信号, 但是肝脾有明显的RES吞噬清除的粒子。(e, f) 无靶向纳米粒子的大鼠胸腔的矢状和轴位成像, 图像显示了受伤肺内可忽略不计的粒子信号, 右肺没有观察到信号。在所有这些图像中, 在周围肌肉组织中没有对脱靶造影剂进行评估。上面所示的 ^1H 图像是利用临床3 T扫描仪获得的高分辨率胸腔解剖图像。黄色箭头显示该特定MRI序列的边缘环状伪影, 这在高信号区域很常见(如肝和脾)。见参考文献[183]。

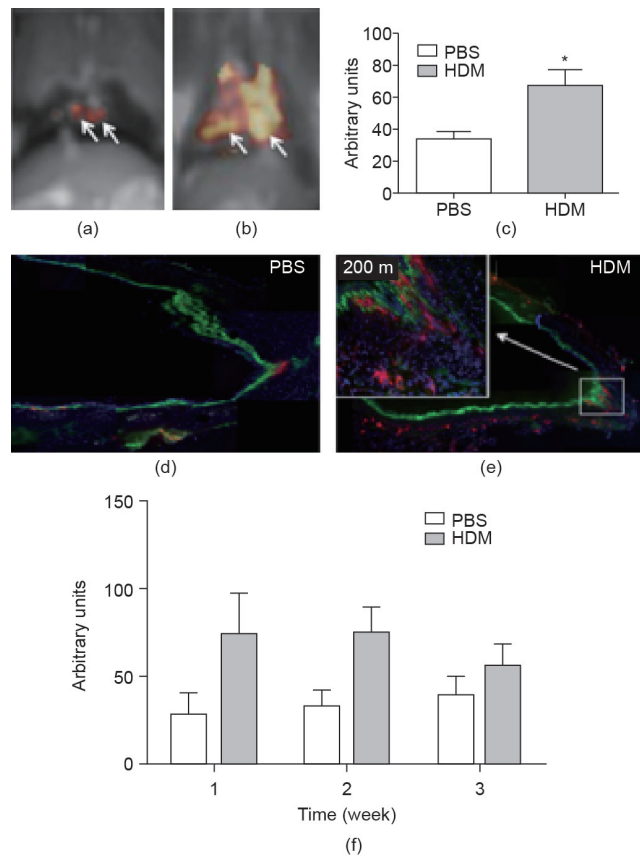


图8. (a, b) 使用 $\alpha_v\beta_3$ -靶向PFC纳米粒子对经PBS和HDM处理两周后的大鼠的 $^1\text{H}/^{19}\text{F}$ 双频同步MR分子进行成像。请注意将均匀的 ^{19}F 权重图像应用于所有动物图像, 体素大小设置为原始的1.25 mm×1.25 mm×1.25 mm。(c) 与PBS对照组相比较的任意单位上的HDM敏感性的三周效应的总 ^{19}F 信号($*P=0.007$)。(d, e) 用罗丹明标记的 $\alpha_v\beta_3$ -靶向PFC纳米粒子对分别经PBS和HDM处理过的大鼠的大气支气管切片进行显像。(f) HDM敏化作用效果相对PBS对照组的亚分析对比, 结果显示早期诱导新生血管形成的感应出现在第一周, 其统计峰值与两周后的不同($P=0.05$), 伴随着新生血管形成数量的下降和三周治疗方法的不同。见参考文献[184]。

来说,尤其是年轻患者,持续暴露于电离辐射中也是有问题的。用来评估右心室(RV)功能、形态和血液动力学的超声心动描记术经常被用作检测肺高压上升的判断依据,但是这个判断依据并不准确,也不能量化病灶范围或程度。随着MRI线圈和成像技术的进步,3 T下同步的¹⁹F/¹H MR分子成像技术为跟踪基于炎症的典型纤维化疾病提供了可能,从而使新的、针对个人优化治疗的方案成为可能。

9 结论

这篇对¹⁹F MRI的综述介绍了出现在20世纪70年代的概念如何在2015年具有了临床相关性。MR设备、线圈和脉冲序列的改进已经开始克服多年来阻止临床应用的基本问题。无论是细胞、靶向分子成像还是氧分压检测等其他应用[185–190],PFC都走在MR研究的前沿。其大量的氟含量和生物惰性特性使得¹⁹F成像成为可能,从而进一步补充和扩展了¹H MRI。尽管还有许多工作需要做,但突破性的应用似乎已经不远了。一旦成功,这些特殊的核磁成像技术应用的大门将被打开。现在挡在技术和临床应用间的唯一障碍就是贯彻到底的意志力。

致谢

该研究得到国立卫生研究院基金全部或部分支持(Gregory M. Lanza的CA154737, CA199092, HL122471, HL112518, HL113392和HHSN26820140042C; Samuel A. Wickline的AR067491, DK102691和HL073646)。笔者感谢Barnes-Jewish研究基金会提供的进一步支持。笔者感谢王可铮博士帮助翻译论文,并感谢陈俊杰博士帮助校译中文稿。

Compliance with ethics guidelines

Anne H. Schmieder, Shelton D. Caruthers, Jochen Keupp, Samuel A. Wickline, and Gregory M. Lanza declare that they have no conflict of interest or financial conflicts to disclose.

References

1. G. N. Holland, P. A. Bottomley, W. S. Hinshaw. ¹⁹F magnetic resonance imaging. *J. Magn. Reson.*, 1977, 28(1): 133–136
2. M. Shimizu, et al. Tumor imaging with anti-CEA antibody labeled ¹⁹F emulsion. *Magn. Reson. Med.*, 1987, 5(3): 290–295
3. L. J. Busse, R. G. Pratt, S. R. Thomas. Deconvolution of chemical shift

- spectra in two- or three-dimensional [¹⁹F] MR imaging. *J. Comput. Assist. Tomogr.*, 1988, 12(5): 824–835
4. P. A. Bottomley. Human *in vivo* NMR spectroscopy in diagnostic medicine: Clinical tool or research probe? *Radiology*, 1989, 170(1): 1–15
5. R. P. Mason, P. P. Antich, E. E. Babcock, J. L. Gerberich, R. L. Nunnally. Perfluorocarbon imaging *in vivo*: A ¹⁹F MRI study in tumor-bearing mice. *Magn. Reson. Imaging*, 1989, 7(5): 475–485
6. H. K. Lee, O. Nalcioglu, R. B. Buxton. Correction of chemical-shift artifacts in ¹⁹F imaging of PFOB: A robust signed magnitude method. *Magn. Reson. Med.*, 1992, 23(2): 254–263
7. K. L. Meyer, M. J. Carvlin, B. Mukherji, H. A. Sloviter, P. M. Joseph. Fluorinated blood substitute retention in the rat measured by fluorine-19 magnetic resonance imaging. *Invest. Radiol.*, 1992, 27(8): 620–627
8. P. Bachert. Pharmacokinetics using fluorine NMR *in vivo*. *Prog. Nucl. Mag. Res. Sp.*, 1998, 33(1): 1–56
9. D. G. Reid, P. S. Murphy. Fluorine magnetic resonance *in vivo*: A powerful tool in the study of drug distribution and metabolism. *Drug Discov. Today*, 2008, 13(11–12): 473–480
10. W. Wolf, C. A. Presant, V. Waluch. ¹⁹F-MRS studies of fluorinated drugs in humans. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2000, 41(1): 55–74
11. M. M. Kaneda, S. Caruthers, G. M. Lanza, S. A. Wickline. Perfluorocarbon nanoemulsions for quantitative molecular imaging and targeted therapeutics. *Ann. Biomed. Eng.*, 2009, 37(10): 1922–1933
12. R. J. Kaufman. Clinical development of perfluorocarbon-based emulsions as red cell substitutes. In: J. Sjöblom, ed. *Emulsions and Emulsion Stability*. New York: Marcel Dekker, Inc., 1996: 343–368
13. M. P. Krafft. Fluorocarbons and fluorinated amphiphiles in drug delivery and biomedical research. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2001, 47(2–3): 209–228
14. D. M. Eckmann, M. A. Swartz, M. R. Glucksberg, N. Gavriely, J. B. Grotberg. Perfluorocarbon induced alterations in pulmonary mechanics. *Artif. Cells Blood Substit. Immobil. Biotechnol.*, 1998, 26(3): 259–271
15. D. M. Eckmann, M. A. Swartz, N. Gavriely, M. R. Glucksberg, J. B. Grotberg. Influence of intravenous perfluorocarbon administration on the dynamic behavior of lung surfactant. *Artif. Cells Blood Substit. Immobil. Biotechnol.*, 1998, 26(4): 359–366
16. H. F. Zhou, H. W. Chan, S. A. Wickline, G. M. Lanza, C. T. Pham. $\alpha_v\beta_3$ -targeted nanotherapy suppresses inflammatory arthritis in mice. *FASEB J.*, 2009, 23(9): 2978–2985
17. J. C. Hampton. An electron microscope study of the hepatic uptake and excretion of submicroscopic particles injected into the blood stream and into the bile duct. *Acta Anat. (Basel)*, 1958, 32(3): 262–291
18. J. W. M. Bulte, A. H. Schmieder, J. Keupp, S. D. Caruthers, S. A. Wickline, G. M. Lanza. MR cholangiography demonstrates unsuspected rapid biliary clearance of nanoparticles in rodents: Implications for clinical translation. *Nanomedicine (Lond.)*, 2014, 10(7): 1385–1388
19. L. Juhlin. Excretion of intravenously injected solid particles in bile. *Acta Physiol. Scand.*, 1960, 49(2–3): 224–230
20. J. H. Modell, E. J. Newby, B. C. Ruiz. Long-term survival of dogs after breathing oxygenated fluorocarbon liquid. *Fed. Proc.*, 1970, 29(5): 1731–1736
21. S. E. Curtis, J. T. Peek, D. R. Kelly. Partial liquid breathing with perflubron improves arterial oxygenation in acute canine lung injury. *J. Appl. Physiol.*, 1993, 75(6): 2696–2702
22. S. E. Curtis, S. J. Tilden, W. E. Bradley, S. M. Cain. Effect of continuous rotation on the efficacy of partial liquid (perflubron) breathing in canine acute lung injury. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 1994, 361: 449–456
23. E. M. Bendel-Stenzel, J. D. Mrozek, D. R. Bing, P. A. Meyers, J. E. Connett, M. C. Mammel. Dynamics of spontaneous breathing during patient-triggered partial liquid ventilation. *Pediatr. Pulmonol.*, 1998, 26(5): 319–325

24. A. R. Franz, C. Mack, J. Reichart, F. Pohlandt, H. D. Hummler. Preserved spontaneous breathing improves cardiac output during partial liquid ventilation. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2001, 164(1): 36–42
25. U. H. Thome, A. Schulze, R. Schnabel, A. R. Franz, F. Pohlandt, H. D. Hummler. Partial liquid ventilation in severely surfactant-depleted, spontaneously breathing rabbits supported by proportional assist ventilation. *Crit. Care Med.*, 2001, 29(6): 1175–1180
26. R. P. Geyer. “Bloodless” rats through the use of artificial blood substitutes. *Fed. Proc.*, 1975, 34(6): 1499–1505
27. J. G. Riess, M. Le Blanc. Perfluoro compounds as blood substitutes. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1978, 17(9): 621–634
28. T. Mitsuno, H. Ohyanagi, R. Naito. Clinical studies of a perfluorochemical whole blood substitute (Fluosol-DA): Summary of 186 cases. *Ann. Surg.*, 1982, 195(1): 60–69
29. T. M. Chang, M. Farmer, R. P. Geyer, G. Moss. Blood substitutes based on modified hemoglobin and fluorochemicals. *ASAIO Trans.*, 1987, 33(4): 819–823
30. F. Hong, K. A. Shastri, G. L. Logue, M. B. Spaulding. Complement activation by artificial blood substitute Fluosol: *In vitro* and *in vivo* studies. *Transfusion*, 1991, 31(7): 642–647
31. S. F. Flaim. Pharmacokinetics and side effects of perfluorocarbon-based blood substitutes. *Artif. Cells Blood Substit. Immobil. Biotechnol.*, 1994, 22(4): 1043–1054
32. K. C. Lowe. Perfluorinated blood substitutes and artificial oxygen carriers. *Blood Rev.*, 1999, 13(3): 171–184
33. C. Jacoby, et al. Probing different perfluorocarbons for *in vivo* inflammation imaging by ^{19}F MRI: Image reconstruction, biological half-lives and sensitivity. *NMR Biomed.*, 2014, 27(3): 261–271
34. C. Jacoby, et al. Visualization of immune cell infiltration in experimental viral myocarditis by ^{19}F MRI *in vivo*. *MAGMA*, 2014, 27(1): 101–106
35. R. F. Mattrey, F. W. Scheible, B. B. Gosink, G. R. Leopold, D. M. Long, C. B. Higgins. Perfluorooctylbromide: A liver/spleen-specific and tumor-imaging ultrasound contrast material. *Radiology*, 1982, 145(3): 759–762
36. R. F. Mattrey, D. M. Long, F. Multer, R. Mitten, C. B. Higgins. Perfluorooctylbromide: A reticuloendothelial-specific and tumor-imaging agent for computed tomography. *Radiology*, 1982, 145(3): 755–758
37. R. F. Mattrey, M. P. Andre. Ultrasonic enhancement of myocardial infarction with perfluorocarbon compounds in dogs. *Am. J. Cardiol.*, 1984, 54(1): 206–210
38. W. W. Peck, R. F. Mattrey, R. A. Slutsky, C. B. Higgins. Perfluorooctylbromide: Acute hemodynamic effects, in pigs, of intravenous administration compared with the standard ionic contrast media. *Invest. Radiol.*, 1984, 19(2): 129–132
39. R. F. Mattrey, et al. Perfluorochemicals as gastrointestinal contrast agents for MR imaging: Preliminary studies in rats and humans. *AJR Am. J. Roentgenol.*, 1987, 148(6): 1259–1263
40. D. C. Long, D. M. Long, J. Riess, R. Follana, A. Burgan, R. F. Mattrey. Preparation and application of highly concentrated perfluorooctylbromide fluorocarbon emulsions. *Biomater. Artif. Cells Artif. Organs*, 1988, 16(1–3): 441–442
41. R. F. Mattrey. Perfluorooctylbromide: A new contrast agent for CT, sonography, and MR imaging. *AJR Am. J. Roentgenol.*, 1989, 152(2): 247–252
42. R. F. Mattrey, A. A. Nemcek Jr., R. Shelton, M. P. André, R. M. Mitten, T. Peterson. *In vivo* estimation of perfluorooctylbromide concentration in tissues. *Invest. Radiol.*, 1990, 25(8): 915–921
43. R. F. Mattrey, M. A. Trambert, J. J. Brown, J. N. Bruneton, S. W. Young, G. L. Schooley. Results of the phase III trials with Imagent GI as an oral magnetic resonance contrast agent. *Invest. Radiol.*, 1991, 26(Suppl 1): S65–S66, discussion S71
44. R. F. Mattrey, D. J. Schumacher, H. T. Tran, Q. Guo, R. B. Buxton. The use of Imagent® BP in diagnostic imaging research and ^{19}F magnetic resonance for PO_2 measurements. *Biomater. Artif. Cells Immobilization Biotechnol.*, 1992, 20(2–4): 917–920
45. G. M. Lanza, et al. A novel site-targeted ultrasonic contrast agent with broad biomedical application. *Circulation*, 1996, 94(12): 3334–3340
46. G. M. Lanza, et al. High-frequency ultrasonic detection of thrombi with a targeted contrast system. *Ultrasound Med. Biol.*, 1997, 23(6): 863–870
47. G. M. Lanza, et al. *In vitro* characterization of a novel, tissue-targeted ultrasonic contrast system with acoustic microscopy. *J. Acoust. Soc. Am.*, 1998, 104(6): 3665–3672
48. G. M. Lanza, et al. Enhanced detection of thrombi with a novel fibrin-targeted magnetic resonance imaging agent. *Acad. Radiol.*, 1998, 5(Suppl 1): S173–S176, discussion S183–S184
49. S. A. Anderson, et al. Magnetic resonance contrast enhancement of neovascularity with $\alpha_v\beta_3$ -targeted nanoparticles. *Magn. Reson. Med.*, 2000, 44(3): 433–439
50. S. Flacke, et al. Novel MRI contrast agent for molecular imaging of fibrin: Implications for detecting vulnerable plaques. *Circulation*, 2001, 104(11): 1280–1285
51. G. M. Lanza, et al. Targeted antiproliferative drug delivery to vascular smooth muscle cells with a magnetic resonance imaging nanoparticle contrast agent: Implications for rational therapy of restenosis. *Circulation*, 2002, 106(22): 2842–2847
52. P. M. Winter, et al. Molecular imaging of angiogenesis in nascent Vx-2 rabbit tumors using a novel $\alpha_v\beta_3$ -targeted nanoparticle and 1.5 tesla magnetic resonance imaging. *Cancer Res.*, 2003, 63(18): 5838–5843
53. P. M. Winter, et al. Molecular imaging of angiogenesis in early-stage atherosclerosis with $\alpha_v\beta_3$ -integrin-targeted nanoparticles. *Circulation*, 2003, 108(18): 2270–2274
54. A. M. Morawski, et al. Targeted nanoparticles for quantitative imaging of sparse molecular epitopes with MRI. *Magn. Reson. Med.*, 2004, 51(3): 480–486
55. A. M. Morawski, et al. Quantitative “magnetic resonance immunohistochemistry” with ligand-targeted ^{19}F nanoparticles. *Magn. Reson. Med.*, 2004, 52(6): 1255–1262
56. A. H. Schmieder, et al. Molecular MR imaging of melanoma angiogenesis with $\alpha_v\beta_3$ -targeted paramagnetic nanoparticles. *Magn. Reson. Med.*, 2005, 53(3): 621–627
57. P. M. Winter, et al. Molecular imaging of human thrombus with computed tomography. *Acad. Radiol.*, 2005, 12(5 Suppl 1): S9–S13
58. T. Cyrus, et al. MR three-dimensional molecular imaging of intramural biomarkers with targeted nanoparticles. *J. Cardiovasc. Magn. Reson.*, 2006, 8(3): 535–541
59. P. M. Winter, et al. Endothelial $\alpha_v\beta_3$ integrin-targeted fumagillin nanoparticles inhibit angiogenesis in atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2006, 26(9): 2103–2109
60. G. Hu, et al. Imaging of Vx-2 rabbit tumors with $\alpha_v\beta_3$ -integrin-targeted ^{111}In nanoparticles. *Int. J. Cancer*, 2007, 120(9): 1951–1957
61. J. N. Marsh, et al. Fibrin-targeted perfluorocarbon nanoparticles for targeted thrombolysis. *Nanomedicine (Lond.)*, 2007, 2(4): 533–543
62. A. M. Neubauer, et al. Fluorine cardiovascular magnetic resonance angiography *in vivo* at 1.5 T with perfluorocarbon nanoparticle contrast agents. *J. Cardiovasc. Magn. Reson.*, 2007, 9(3): 565–573
63. K. C. Partlow, et al. ^{19}F magnetic resonance imaging for stem/progenitor cell tracking with multiple unique perfluorocarbon nanobeacons. *FASEB J.*, 2007, 21(8): 1647–1654

64. T. Cyrus, et al. Intramural delivery of rapamycin with $\alpha_5\beta_3$ -targeted paramagnetic nanoparticles inhibits stenosis after balloon injury. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2008, 28(5): 820–826
65. M. Lijowski, et al. High sensitivity: High-resolution SPECT-CT/MR molecular imaging of angiogenesis in the Vx2 model. *Invest. Radiol.*, 2009, 44(1): 15–22
66. K. C. Partlow, G. M. Lanza, S. A. Wickline. Exploiting lipid raft transport with membrane targeted nanoparticles: A strategy for cytosolic drug delivery. *Biomaterials*, 2008, 29(23): 3367–3375
67. J. Ruiz-Cabello, et al. *In vivo* “hot spot” MR imaging of neural stem cells using fluorinated nanoparticles. *Magn. Reson. Med.*, 2008, 60(6): 1506–1511
68. A. H. Schmieder, et al. Three-dimensional MR mapping of angiogenesis with $\alpha_5\beta_3$ -($\alpha_5\beta_3$)-targeted theranostic nanoparticles in the MDA-MB-435 xenograft mouse model. *FASEB J.*, 2008, 22(12): 4179–4189
69. N. R. Soman, G. M. Lanza, J. M. Heuser, P. H. Schlesinger, S. A. Wickline. Synthesis and characterization of stable fluorocarbon nanostructures as drug delivery vehicles for cytolytic peptides. *Nano Lett.*, 2008, 8(4): 1131–1136
70. E. A. Waters, J. Chen, J. S. Allen, H. Zhang, G. M. Lanza, S. A. Wickline. Detection and quantification of angiogenesis in experimental valve disease with integrin-targeted nanoparticles and 19-fluorine MRI/MRS. *J. Cardiovasc. Magn. Reson.*, 2008, 10: 43
71. P. M. Winter, S. D. Caruthers, H. Zhang, T. A. Williams, S. A. Wickline, G. M. Lanza. Antiangiogenic synergism of integrin-targeted fumagillin nanoparticles and atorvastatin in atherosclerosis. *JACC Cardiovasc. Imaging*, 2008, 1(5): 624–634
72. P. M. Winter, et al. Minute dosages of $\alpha_5\beta_3$ -targeted fumagillin nanoparticles impair Vx-2 tumor angiogenesis and development in rabbits. *FASEB J.*, 2008, 22(8): 2758–2767
73. J. Keupp, S. D. Caruthers, J. Rahmer, T. A. Williams, S. A. Wickline, G. M. Lanza. Fluorine-19 MR molecular imaging of angiogenesis on Vx-2 tumors in rabbits using $\alpha_5\beta_3$ -targeted nanoparticles. In: *Proceedings of International Society for Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM) 17th Annual Scientific Meeting and Exhibition*. Honolulu, HI, USA, 2009: 223
74. N. R. Soman, et al. Molecularly targeted nanocarriers deliver the cytolytic peptide melittin specifically to tumor cells in mice, reducing tumor growth. *J. Clin. Invest.*, 2009, 119(9): 2830–2842
75. R. Southworth, et al. Renal vascular inflammation induced by Western diet in ApoE-null mice quantified by ^{19}F NMR of VCAM-1 targeted nanobeacons. *Nanomedicine (Lond.)*, 2009, 5(3): 359–367
76. K. Cai, et al. MR molecular imaging of aortic angiogenesis. *JACC Cardiovasc. Imaging*, 2010, 3(8): 824–832
77. A. Kassner, et al. Assessment of tumor angiogenesis: Dynamic contrast-enhanced MRI with paramagnetic nanoparticles compared with Gd-DTPA in a rabbit Vx-2 tumor model. *Contrast Media Mol. Imaging*, 2010, 5(3): 155–161
78. G. M. Lanza, et al. Theragnostics for tumor and plaque angiogenesis with perfluorocarbon nanoemulsions. *Angiogenesis*, 2010, 13(2): 189–202
79. J. N. Marsh, et al. A fibrin-specific thrombolytic nanomedicine approach to acute ischemic stroke. *Nanomedicine (Lond.)*, 2011, 6(4): 605–615
80. D. G. Thomas, et al. Physicochemical signatures of nanoparticle-dependent complement activation. *Comput. Sci. Discov.*, 2014, 7(1): 015003
81. C. T. Pham, et al. Variable antibody-dependent activation of complement by functionalized phospholipid nanoparticle surfaces. *J. Biol. Chem.*, 2011, 286(1): 123–130
82. K. Wang, et al. Synergy between surface and core entrapped metals in a mixed manganese-gadolinium nanocolloid affords safer MR imaging of sparse biomarkers. *Nanomedicine (Lond.)*, 2015, 11(3): 601–609
83. D. A. Kedziorek, et al. Gene expression profiling reveals early cellular responses to intracellular magnetic labeling with superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *Magn. Reson. Med.*, 2010, 63(4): 1031–1043
84. R. D. Engberink, et al. Magnetic resonance imaging of monocytes labeled with ultrasmall superparamagnetic particles of iron oxide using magneto-electroporation in an animal model of multiple sclerosis. *Mol. Imaging*, 2010, 9(5): 268–277
85. M. Stuber, et al. Positive contrast visualization of iron oxide-labeled stem cells using inversion-recovery with ON-resonant water suppression (IRON). *Magn. Reson. Med.*, 2007, 58(5): 1072–1077
86. J. W. Bulte, D. L. Kraitchman. Monitoring cell therapy using iron oxide MR contrast agents. *Curr. Pharm. Biotechnol.*, 2004, 5(6): 567–584
87. J. A. Frank, et al. Magnetic intracellular labeling of mammalian cells by combining (FDA-approved) superparamagnetic iron oxide MR contrast agents and commonly used transfection agents. *Acad. Radiol.*, 2002, 9(Suppl 2): S484–S487
88. J. W. Bulte, J. A. Frank. Imaging macrophage activity in the brain by using ultrasmall particles of iron oxide. *AJNR Am. J. Neuroradiol.*, 2000, 21(9): 1767–1768
89. J. W. Bulte, R. A. Brooks, B. M. Moskowitz, L. H. Bryant Jr., J. A. Frank. T_1 and T_2 relaxometry of monocrySTALLINE iron oxide nanoparticles (MI-ON-46L): Theory and experiment. *Acad. Radiol.*, 1998, 5(Suppl 1): S137–S140, discussion S145–S146
90. J. W. Bulte, P. G. Laughlin, E. K. Jordan, V. A. Tran, J. Vymazal, J. A. Frank. Tagging of T cells with superparamagnetic iron oxide: Uptake kinetics and relaxometry. *Acad. Radiol.*, 1996, 3(Suppl 2): S301–S303
91. E. T. Ahrens, R. Flores, H. Xu, P. A. Morel. *In vivo* imaging platform for tracking immunotherapeutic cells. *Nat. Biotechnol.*, 2005, 23(8): 983–987
92. M. Srinivas, P. A. Morel, L. A. Ernst, D. H. Laidlaw, E. T. Ahrens. Fluorine-19 MRI for visualization and quantification of cell migration in a diabetes model. *Magn. Reson. Med.*, 2007, 58(4): 725–734
93. J. M. Janjic, E. T. Ahrens. Fluorine-containing nanoemulsions for MRI cell tracking. *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol.*, 2009, 1(5): 492–501
94. B. M. Helfer, et al. Functional assessment of human dendritic cells labeled for *in vivo* ^{19}F magnetic resonance imaging cell tracking. *Cytotherapy*, 2010, 12(2): 238–250
95. F. Bonetto, et al. A novel ^{19}F agent for detection and quantification of human dendritic cells using magnetic resonance imaging. *Int. J. Cancer*, 2011, 129(2): 365–373
96. T. K. Hitchens, Q. Ye, D. F. Eytan, J. M. Janjic, E. T. Ahrens, C. Ho. ^{19}F MRI detection of acute allograft rejection with *in vivo* perfluorocarbon labeling of immune cells. *Magn. Reson. Med.*, 2011, 65(4): 1144–1153
97. A. Balducci, B. M. Helfer, E. T. Ahrens, C. F. O’Hanlon 3rd, A. K. Wesa. Visualizing arthritic inflammation and therapeutic response by fluorine-19 magnetic resonance imaging (^{19}F MRI). *J. Inflamm. (Lond.)*, 2012, 9(1): 24
98. E. T. Ahrens, B. M. Helfer, C. F. O’Hanlon, C. Schirda. Clinical cell therapy imaging using a perfluorocarbon tracer and fluorine-19 MRI. *Magn. Reson. Med.*, 2014, 72(6): 1696–1701
99. E. T. Ahrens, J. W. Bulte. Tracking immune cells *in vivo* using magnetic resonance imaging. *Nat. Rev. Immunol.*, 2013, 13(10): 755–763
100. J. Zhong, P. H. Mills, T. K. Hitchens, E. T. Ahrens. Accelerated fluorine-19 MRI cell tracking using compressed sensing. *Magn. Reson. Med.*, 2013, 69(6): 1683–1690
101. T. K. Hitchens, L. Liu, L. M. Foley, V. Simplaceanu, E. T. Ahrens, C. Ho. Combining perfluorocarbon and superparamagnetic iron-oxide cell labeling for improved and expanded applications of cellular MRI. *Magn. Reson. Med.*, 2015, 73(1): 367–375
102. J. M. Janjic, M. Srinivas, D. K. K. Kadayakkara, E. T. Ahrens. Self-delivering nanoemulsions for dual fluorine-19 MRI and fluorescence detection. *J. Am.*

- Chem. Soc.*, 2008, 130(9): 2832–2841
103. H. P. Schlemmer, et al. Alterations of intratumoral pharmacokinetics of 5-fluorouracil in head and neck carcinoma during simultaneous radiochemotherapy. *Cancer Res.*, 1999, 59(10): 2363–2369
 104. R. Martino, V. Gilard, F. Desmoulin, M. Malet-Martino. Fluorine-19 or phosphorus-31 NMR spectroscopy: A suitable analytical technique for quantitative *in vitro* metabolic studies of fluorinated or phosphorylated drugs. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2005, 38(5): 871–891
 105. A. M. Neubauer, et al. Gadolinium-modulated ¹⁹F signals from perfluorocarbon nanoparticles as a new strategy for molecular imaging. *Magn. Reson. Med.*, 2008, 60(5): 1066–1072
 106. P. Harvey, I. Kuprov, D. Parker. Lanthanide complexes as paramagnetic probes for ¹⁹F magnetic resonance. *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2012, 2012(12): 2015–2022
 107. A. de Vries, et al. Relaxometric studies of gadolinium-functionalized perfluorocarbon nanoparticles for MR imaging. *Contrast Media Mol. Imaging*, 2014, 9(1): 83–91
 108. M. Meissner, M. Reiser, T. Hugger, J. Hennig, D. von Elverfeldt, J. Leupold. Revealing signal from noisy ¹⁹F MR images by chemical shift artifact correction. *Magn. Reson. Med.*, 2015, 73(6): 2225–2233
 109. F. Schmid, C. Höltke, D. Parker, C. Faber. Boosting ¹⁹F MRI-SNR efficient detection of paramagnetic contrast agents using ultrafast sequences. *Magn. Reson. Med.*, 2013, 69(4): 1056–1062
 110. M. J. Goette, G. M. Lanza, S. D. Caruthers, S. A. Wickline. Improved quantitative ¹⁹F MR molecular imaging with flip angle calibration and B₁-mapping compensation. *J. Magn. Reson. Imaging*, 2015, 42(2): 488–494
 111. M. J. Goette, J. Keupp, J. Rahmer, G. M. Lanza, S. A. Wickline, S. D. Caruthers. Balanced UTE-SSFP for ¹⁹F MR imaging of complex spectra. *Magn. Reson. Med.*, 2015, 74(2): 537–543
 112. J. Rahmer, et al. ¹⁹F/¹H simultaneous 3D radial imaging of atherosclerotic rabbits using self-navigated respiratory motion compensation. In: *Proceedings of International Society for Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM) 17th Annual Scientific Meeting and Exhibition*. Honolulu, HI, USA, 2009: 4611
 113. J. Rahmer, et al. Dual resolution simultaneous ¹⁹F/¹H *in vivo* imaging of targeted nanoparticles. In: *Proceedings of International Society for Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM) 17th Annual Scientific Meeting and Exhibition*. Honolulu, HI, USA, 2009: 612
 114. J. Keupp, et al. Simultaneous dual-nuclei imaging for motion corrected detection and quantification of ¹⁹F imaging agents. *Magn. Reson. Med.*, 2011, 66(4): 1116–1122
 115. Y. Otake, Y. Soutome, K. Hirata, H. Ochi, Y. Bito. Double-tuned radiofrequency coil for ¹⁹F and ¹H imaging. *Magn. Reson. Med. Sci.*, 2014, 13(3): 199–205
 116. Y. Ji, et al. Eight-channel transceiver RF coil array tailored for ¹H/¹⁹F MR of the human knee and fluorinated drugs at 7.0 T. *NMR Biomed.*, 2015, 28(6): 726–737
 117. L. Hu, et al. A generalized strategy for designing ¹⁹F/¹H dual-frequency MRI coil for small animal imaging at 4.7 tesla. *J. Magn. Reson. Imaging*, 2011, 34(1): 245–252
 118. F. D. Hockett, et al. Simultaneous dual frequency ¹H and ¹⁹F open coil imaging of arthritic rabbit knee at 3 T. *IEEE Trans. Med. Imaging*, 2011, 30(1): 22–27
 119. L. T. Muftuler, G. Gulsen, K. D. Sezen, O. Nalcioglu. Automatic tuned MRI RF coil for multinuclear imaging of small animals at 3 T. *J. Magn. Reson.*, 2002, 155(1): 39–44
 120. P. Mazurkewitz, C. Leussler, J. Keupp, T. Schaeffter. A double-resonant ¹⁹F/¹H transmit/receive solenoid coil for MRI. In: *Proceedings of International Society for Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM) 14th Scientific Meeting and Exhibition*. Seattle, WA, USA, 2006: 2596
 121. D. Ballon, M. C. Graham, S. Miodownik, J. A. Koutcher. A 64 MHz half-birdcage resonator for clinical imaging. *J. Magn. Reson.*, 1990, 90(1): 131–140
 122. J. Jin, R. L. Magin, G. Shen, T. Perkins. A simple method to incorporate the effects of an RF shield into RF resonator analysis for MRI applications. *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, 1995, 42(8): 840–843
 123. M. J. Goette, G. M. Lanza, S. A. Wickline, S. D. Caruthers. Quantitative molecular imaging of fluorinated agents: ¹⁹F flip angle calibration using ¹H power settings. In: *Proceedings of International Society for Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM) 20th Annual Scientific Meeting and Exhibition*. Melbourne, Victoria, Australia, 2012: 1655
 124. A. Mastropietro, et al. Optimization of rapid acquisition with relaxation enhancement (RARE) pulse sequence parameters for ¹⁹F-MRI studies. *J. Magn. Reson. Imaging*, 2014, 40(1): 162–170
 125. S. B. Reeder, D. A. Herzka, E. R. McVeigh. Signal-to-noise ratio behavior of steady-state free precession. *Magn. Reson. Med.*, 2004, 52(1): 123–130
 126. J. Yu, et al. Optimization of scan parameters in pulmonary partial pressure oxygen measurement by hyperpolarized ³He MRI. *Magn. Reson. Med.*, 2008, 59(1): 124–131
 127. J. Keupp, P. C. Mazurkewitz, I. Gräßlin, T. Schaeffter. Simultaneous ¹⁹F and ¹H imaging on a clinical 3 T MR scanner. In: *Proceedings of International Society for Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM) 14th Scientific Meeting and Exhibition*. Seattle, WA, USA, 2006: 102
 128. J. Keupp, S. A. Wickline, G. M. Lanza, S. D. Caruthers. Hadamard-type pulse-phase encoding for imaging of multi-resonant fluorine-19 nanoparticles in targeted molecular MRI. In: *Proceedings of International Society for Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM) 18th Annual Scientific Meeting and Exhibition*. Stockholm, Sweden, 2010: 982
 129. R. Lamerichs, et al. *In vivo* 3D ¹⁹F fast spectroscopic imaging (F-uTSI) of angiogenesis on Vx-2 tumors in rabbits using targeted perfluorocarbon emulsions. In: *Proceedings of International Society for Magnetic Resonance in Medicine (ISMRM) 18th Annual Scientific Meeting and Exhibition*. Stockholm, Sweden, 2010: 457
 130. J. Rahmer, P. Börner, J. Groen, C. Bos. Three-dimensional radial ultrashort echo-time imaging with T₂ adapted sampling. *Magn. Reson. Med.*, 2006, 55(5): 1075–1082
 131. K. Scheffler, S. Lehnardt. Principles and applications of balanced SSFP techniques. *Eur. Radiol.*, 2003, 13(11): 2409–2418
 132. E. J. Ribot, J. M. Gaudet, Y. Chen, K. M. Gilbert, P. J. Foster. *In vivo* MR detection of fluorine-labeled human MSC using the bSSFP sequence. *Int. J. Nanomedicine*, 2014, 9(1): 1731–1739
 133. H. E. Longmaid 3rd, et al. *In vivo* ¹⁹F NMR imaging of liver, tumor, and abscess in rats: Preliminary results. *Invest. Radiol.*, 1985, 20(2): 141–145
 134. R. F. Mattrey, et al. Specific enhancement of intra-abdominal abscesses with perfluorocetyl bromide for CT imaging. *Invest. Radiol.*, 1984, 19(5): 438–446
 135. D. J. Sartoris, et al. Perfluorocetyl bromide as a contrast agent for computed tomographic imaging of septic and aseptic arthritis. *Invest. Radiol.*, 1986, 21(1): 49–55
 136. A. V. Ratner, et al. Detection of tumors with ¹⁹F magnetic resonance imaging. *Invest. Radiol.*, 1988, 23(5): 361–364
 137. A. V. Ratner, H. H. Muller, B. Bradley-Simpson, D. Hirst, W. Pitts, S. W. Young. Detection of acute radiation damage to the spleen in mice by using fluorine-19 MR imaging. *AJR Am. J. Roentgenol.*, 1988, 151(3): 477–480
 138. B. P. Barnett, et al. Use of perfluorocarbon nanoparticles for non-invasive multimodal cell tracking of human pancreatic islets. *Contrast Media Mol. Imaging*, 2011, 6(4): 251–259
 139. U. Flögel, et al. *In vivo* monitoring of inflammation after cardiac and cere-

- bral ischemia by fluorine magnetic resonance imaging. *Circulation*, 2008, 118(2): 140–148
140. B. Ebner, et al. Early assessment of pulmonary inflammation by ^{19}F MRI *in vivo*. *Circ. Cardiovasc. Imaging*, 2010, 3(2): 202–210
141. K. Vasudeva, et al. Imaging neuroinflammation *in vivo* in a neuropathic pain rat model with near-infrared fluorescence and ^{19}F magnetic resonance. *PLoS ONE*, 2014, 9(2): e90589
142. X. Yu, et al. High-resolution MRI characterization of human thrombus using a novel fibrin-targeted paramagnetic nanoparticle contrast agent. *Magn. Reson. Med.*, 2000, 44(6): 867–872
143. J. Myerson, L. He, G. Lanza, D. Tollefsen, S. Wickline. Thrombin-inhibiting perfluorocarbon nanoparticles provide a novel strategy for the treatment and magnetic resonance imaging of acute thrombosis. *J. Thromb. Haemost.*, 2011, 9(7): 1292–1300
144. A. A. Gilad, et al. Artificial reporter gene providing MRI contrast based on proton exchange. *Nat. Biotechnol.*, 2007, 25(2): 217–219
145. P. M. Winter, et al. Molecular imaging of angiogenic therapy in peripheral vascular disease with $\alpha_5\beta_3$ -integrin-targeted nanoparticles. *Magn. Reson. Med.*, 2010, 64(2): 369–376
146. E. Vinogradov, A. D. Sherry, R. E. Lenkinski. CEST: From basic principles to applications, challenges and opportunities. *J. Magn. Reson.*, 2013, 229: 155–172
147. E. Vinogradov, T. C. Soesbe, J. A. Balschi, A. D. Sherry, R. E. Lenkinski. pCEST: Positive contrast using Chemical Exchange Saturation Transfer. *J. Magn. Reson.*, 2012, 215: 64–73
148. S. J. Ratnakar, S. Viswanathan, Z. Kovacs, A. K. Jindal, K. N. Green, A. D. Sherry. Europium(III) DOTA-tetraamide complexes as redox-active MRI sensors. *J. Am. Chem. Soc.*, 2012, 134(13): 5798–5800
149. C. Khemtong, et al. Off-resonance saturation MRI of superparamagnetic nanoprobe: Theoretical models and experimental validations. *J. Magn. Reson.*, 2011, 209(1): 53–60
150. D. Coman, G. E. Kiefer, D. L. Rothman, A. D. Sherry, F. Hyder. A lanthanide complex with dual biosensing properties: CEST (chemical exchange saturation transfer) and BIRDS (biosensor imaging of redundant deviation in shifts) with europium DOTA-tetraglycinate. *NMR Biomed.*, 2011, 24(10): 1216–1225
151. S. Viswanathan, S. J. Ratnakar, K. N. Green, Z. Kovacs, L. M. De León-Rodríguez, A. D. Sherry. Multi-frequency PARACEST agents based on europium(III)-DOTA-tetraamide ligands. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 2009, 48(49): 9330–9333
152. C. Khemtong, et al. *In vivo* off-resonance saturation magnetic resonance imaging of $\alpha_5\beta_3$ -targeted superparamagnetic nanoparticles. *Cancer Res.*, 2009, 69(4): 1651–1658
153. J. M. Zhao, et al. Size-induced enhancement of chemical exchange saturation transfer (CEST) contrast in liposomes. *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, 130(15): 5178–5184
154. A. Pasha, G. Tircsó, E. T. Benyó, E. Brücher, A. D. Sherry. Synthesis and characterization of DOTA-(amide)₄ derivatives: Equilibrium and kinetic behavior of their lanthanide(III) complexes. *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2007, 2007(27): 4340–4349
155. E. Vinogradov, S. Zhang, A. Lubag, J. A. Balschi, A. D. Sherry, R. E. Lenkinski. On-resonance low B_1 pulses for imaging of the effects of PARACEST agents. *J. Magn. Reson.*, 2005, 176(1): 54–63
156. L. Di Bari, G. Pescitelli, A. D. Sherry, M. Woods. Structural and chiroptical properties of the two coordination isomers of YbDOTA-type complexes. *Inorg. Chem.*, 2005, 44(23): 8391–8398
157. M. Woods, et al. Synthesis, relaxometric and photophysical properties of a new pH-responsive MRI contrast agent: The effect of other ligating groups on dissociation of a *p*-nitrophenolic pendant arm. *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, 126(30): 9248–9256
158. S. Zhang, M. Merritt, D. E. Woessner, R. E. Lenkinski, A. D. Sherry. PARACEST agents: Modulating MRI contrast via water proton exchange. *Acc. Chem. Res.*, 2003, 36(10): 783–790
159. S. Zhang, K. Wu, A. D. Sherry. Gd^{3+} complexes with slowly exchanging bound-water molecules may offer advantages in the design of responsive MR agents. *Invest. Radiol.*, 2001, 36(2): 82–86
160. M. Vandsburger, et al. Cardio-chemical exchange saturation transfer magnetic resonance imaging reveals molecular signatures of endogenous fibrosis and exogenous contrast media. *Circ. Cardiovasc. Imaging*, 2015, 8(1): e002180
161. G. Rancan, D. Delli Castelli, S. Aime. MRI CEST at 1 T with large μ_{eff} Ln^{3+} complexes Tm^{3+} -HPDO3A: An efficient MRI pH reporter. *Magn. Reson. Med.*, 2015 (in press)
162. D. L. Longo, P. Z. Sun, L. Consolino, F. C. Michelotti, F. Uggeri, S. Aime. A general MRI-CEST ratiometric approach for pH imaging: Demonstration of *in vivo* pH mapping with ibotridol. *J. Am. Chem. Soc.*, 2014, 136(41): 14333–14336
163. E. Terreno, et al. Gadolinium-doped LipoCEST agents: A potential novel class of dual ^1H -MRI probes. *Chem. Commun. (Camb.)*, 2011, 47(16): 4667–4669
164. E. Terreno, et al. Methods for an improved detection of the MRI-CEST effect. *Contrast Media Mol. Imaging*, 2009, 4(5): 237–247
165. E. Terreno, D. Delli Castelli, E. Violante, H. M. Sanders, N. A. Sommerdijk, S. Aime. Osmotically shrunken LIPOCEST agents: An innovative class of magnetic resonance imaging contrast media based on chemical exchange saturation transfer. *Chemistry*, 2009, 15(6): 1440–1448
166. E. Terreno, et al. First *ex-vivo* MRI co-localization of two LIPOCEST agents. *Contrast Media Mol. Imaging*, 2008, 3(1): 38–43
167. E. Terreno, et al. Highly shifted LIPOCEST agents based on the encapsulation of neutral polynuclear paramagnetic shift reagents. *Chem. Commun. (Camb.)*, 2008(5): 600–602
168. S. Aime, D. Delli Castelli, E. Terreno. Highly sensitive MRI chemical exchange saturation transfer agents using liposomes. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 2005, 44(34): 5513–5515
169. S. Aime, C. Carrera, D. Delli Castelli, S. Geninatti Crich, E. Terreno. Tunable imaging of cells labeled with MRI-PARACEST agents. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 2005, 44(12): 1813–1815
170. S. Aime, D. Delli Castelli, F. Fedeli, E. Terreno. A paramagnetic MRI-CEST agent responsive to lactate concentration. *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, 124(32): 9364–9365
171. X. Song, et al. Multi-echo length and offset VARied saturation (MeLOVARS) method for improved CEST imaging. *Magn. Reson. Med.*, 2015, 73(2): 488–496
172. A. Bar-Shir, N. N. Yadav, A. A. Gilad, P. C. van Zijl, M. T. McMahon, J. W. Bulte. Single ^{19}F probe for simultaneous detection of multiple metal ions using miCEST MRI. *J. Am. Chem. Soc.*, 2015, 137(1): 78–81
173. K. W. Chan, G. Liu, P. C. van Zijl, J. W. Bulte, M. T. McMahon. Magnetization transfer contrast MRI for non-invasive assessment of innate and adaptive immune responses against alginate-encapsulated cells. *Biomaterials*, 2014, 35(27): 7811–7818
174. X. Song, et al. CEST phase mapping using a length and offset varied saturation (LOVARS) scheme. *Magn. Reson. Med.*, 2012, 68(4): 1074–1086
175. G. Liu, et al. Monitoring enzyme activity using a diamagnetic chemical exchange saturation transfer magnetic resonance imaging contrast agent. *J. Am. Chem. Soc.*, 2011, 133(41): 16326–16329
176. M. T. McMahon, A. A. Gilad, M. A. DeLiso, S. M. Cromer Berman, J. W. Bulte, P. C. van Zijl. New “multicolor” polypeptide diamagnetic chemical

- exchange saturation transfer (DIACEST) contrast agents for MRI. *Magn. Reson. Med.*, 2008, 60(4): 803–812
177. M. T. McMahon, A. A. Gilad, J. Zhou, P. Z. Sun, J. W. Bulte, P. C. van Zijl. Quantifying exchange rates in chemical exchange saturation transfer agents using the saturation time and saturation power dependencies of the magnetization transfer effect on the magnetic resonance imaging signal (QUEST and QUESP): Ph calibration for poly-L-lysine and a starburst dendrimer. *Magn. Reson. Med.*, 2006, 55(4): 836–847
178. K. Snoussi, J. W. Bulte, M. Guéron, P. C. van Zijl. Sensitive CEST agents based on nucleic acid imino proton exchange: Detection of poly(rU) and of a dendrimer-poly(rU) model for nucleic acid delivery and pharmacology. *Magn. Reson. Med.*, 2003, 49(6): 998–1005
179. C. Giraudeau, et al. A new paradigm for high-sensitivity ^{19}F magnetic resonance imaging of perfluorooctylbromide. *Magn. Reson. Med.*, 2010, 63(4): 1119–1124
180. O. Diou, et al. RGD decoration of PEGylated polyester nanocapsules of perfluorooctyl bromide for tumor imaging: Influence of pre or post-functionalization on capsule morphology. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2014, 87(1): 170–177
181. O. Diou, et al. Long-circulating perfluorooctyl bromide nanocapsules for tumor imaging by ^{19}F FMRI. *Biomaterials*, 2012, 33(22): 5593–5602
182. W. Mitzner, W. Lee, D. Georgakopoulos, E. Wagner. Angiogenesis in the mouse lung. *Am. J. Pathol.*, 2000, 157(1): 93–101
183. A. H. Schmieder, et al. Characterization of early neovascular response to acute lung ischemia using simultaneous $^{19}\text{F}/^1\text{H}$ MR molecular imaging. *Angiogenesis*, 2014, 17(1): 51–60
184. E. M. Wagner, et al. Angiogenesis and airway reactivity in asthmatic Brown Norway rats. *Angiogenesis*, 2015, 18(1): 1–11
185. U. Nöth, P. Gröhn, A. Jork, U. Zimmermann, A. Haase, J. Lutz. ^{19}F -MRI *in vivo* determination of the partial oxygen pressure in perfluorocarbon-loaded alginate capsules implanted into the peritoneal cavity and different tissues. *Magn. Reson. Med.*, 1999, 42(6): 1039–1047
186. R. P. Mason, F. M. Jeffrey, C. R. Malloy, E. E. Babcock, P. P. Antich. A noninvasive assessment of myocardial oxygen tension: ^{19}F NMR spectroscopy of sequestered perfluorocarbon emulsion. *Magn. Reson. Med.*, 1992, 27(2): 310–317
187. F. Goh, R. Long Jr., N. Simpson, A. Sambanis. Dual perfluorocarbon method to noninvasively monitor dissolved oxygen concentration in tissue engineered constructs *in vitro* and *in vivo*. *Biotechnol. Prog.*, 2011, 27(4): 1115–1125
188. F. Goh, A. Sambanis. *In vivo* noninvasive monitoring of dissolved oxygen concentration within an implanted tissue-engineered pancreatic construct. *Tissue Eng. Part C Methods*, 2011, 17(9): 887–894
189. L. Hu, J. Chen, X. Yang, S. D. Caruthers, G. M. Lanza, S. A. Wickline. Rapid quantification of oxygen tension in blood flow with a fluorine nanoparticle reporter and a novel blood flow-enhanced-saturation-recovery sequence. *Magn. Reson. Med.*, 2013, 70(1): 176–183
190. L. Lemaire, et al. Perfluorocarbon-loaded lipid nanocapsules as oxygen sensors for tumor tissue pO_2 assessment. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2013, 84(3): 479–486