

钆喷替酸葡甲胺-壳聚糖颗粒载体在小鼠肠壁吸附的 MRI 研究

郑伟良 章士正 孙继红 吴涛 纪建松 郑豪 郑树

【摘要】 目的 探讨钆喷替酸葡甲胺(Gd-DTPA)-壳聚糖颗粒(Gd-CPs)载体在小鼠直肠壁黏附和吸收情况,实现结肠黏膜途径微粒载体的 MR 分子成像。方法 采用乳化-微滴融合技术合成包裹 Gd-DTPA 的 Gd-CPs 和壳聚糖颗粒(CPs)。将 16 只小鼠以数字表法随机分为 Gd-CPs 和 CPs 组,每组 8 只,将 Gd-CPs 和 CPs 混悬液分别注入小鼠直肠内,于灌肠前、保留灌肠中和灌肠 40 min 后行直肠 MR 扫描。测量灌肠前后直肠壁、盆壁肌肉和图像背景 MR 信号强度,计算灌肠前后肠壁与盆壁肌肉的相对信号值,并采用配对 t 检验进行比较。结果 Gd-CPs 粒径约 500 nm, Gd-DTPA 包裹量质量分数约 30%。Gd-CPs 组灌肠前后直肠壁相对信号值分别为 0.84 ± 0.06 和 0.98 ± 0.09 ($t = 4.327, P < 0.01$); CPs 组灌肠前后直肠壁相对信号值分别为 0.83 ± 0.04 和 0.84 ± 0.05 ($t = 0.658, P > 0.05$)。Gd-CPs 组直肠壁信号增加率中位数为 19.0%。电子显微镜示 Gd-CPs 颗粒位于结肠黏膜细胞内。结论 Gd-DTPA 可包裹于壳聚糖微粒载体内,并可以用 MRI 显示载体结肠壁黏附和吸收现象, MRI 是活体内监测结肠黏膜途径颗粒载体运转机制的有效技术。

【关键词】 结肠; 磁共振成像; 钆 DTPA; 动物, 实验

In vivo imaging of colon mucosa targeted gadolinium-loaded chitosan particles in mice with MRI
ZHENG Wei-liang*, ZHANG Shi-zheng, SUN Ji-hong, WU Tao, JI Jian-song, ZHENG Ha o, ZHENG Shu.
* Department of Radiology, Sir Run Run Shaw Hospital, Zhejiang University of Medicine, Hangzhou 310016, China

【Abstract】 Objective To synthesize a novel vector of chitosan-particles loaded with gadolinium (Gd-CPs) and observe the adhesion and absorption of the particles in the colon wall of mice with MR imaging in-vivo. Methods Chitosan particles (CPs) with and without gadolinium loaded were synthesized with the emulsion-droplet coalescence method. Sixteen mice were randomly classified into two groups. The suspension with Gd-CPs or with CPs was infused into the rectum of the 8 mice of each group, respectively. MR scans were performed before, during and 40 minutes after infusion for each mouse. Samples of the colon correlated to the enhanced area were obtained for electron microscopy examination. Signal intensity (SI) of ROIs in the wall of rectum or colon, muscles of the pelvis near the rectum and background were measured and corresponding relative SIs were calculated. Relative SI values between the two groups and pre- and post-infusion were compared with pared t test. Results Dimension of the Gd-CPs was about 500 nm, and content rate was about 30%. Values of relative SI of the rectum for pre- and post- infusion in the Gd-CPs group were 0.84 ± 0.06 and 0.98 ± 0.09 ($t = 4.327, P < 0.01$), respectively, while those in CPs group were 0.83 ± 0.04 and 0.84 ± 0.05 ($t = 0.658, P > 0.05$). The medial value of signal increase rate for CPs group was 19.0%. Gd-CPs particles were found inside the mucosal cells under the electron microscopy. Conclusion MR imaging in-vivo can reveal the phenomenon of adhesion and absorption of mucosa targeted chitosan particle carriers. Clinical MR imaging based on small animal coil is a good method to monitor colon mucosa targeted particle vectors in-vivo.

【Key words】 Colon; Magnetic resonance imaging; Gadolinium DTPA; Animals, laboratory

壳聚糖是由甲壳质脱乙酰化后得到的多糖类物

质^[1-2],是一种具有持久安全性和高效性的阳离子聚合物基因转移运输载体^[3-6]。为解决纳米载体体内定位和缓释监测的问题,本研究合成包裹 MR 对比剂钆喷替酸葡甲胺(Gd-DTPA)的壳聚糖微粒,应用 MRI 技术活体内显示壳聚糖微粒载体在结肠壁的黏附和药物释放情况,为类似微粒载体黏膜传输机制

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30670610)

作者单位:310016 杭州,浙江大学医学院附属邵逸夫医院放射科(郑伟良、章士正、孙继红、吴涛、纪建松);浙江大学化学系(郑豪);浙江大学医学院附属第二医院肿瘤研究所(郑树)

的研究和载体开发提供新的成像技术。

资料与方法

1. 实验试剂和动物: 壳聚糖 (Sigma 公司), MR 对比剂 Gd-DTPA (北陆药业有限公司), 液体石蜡, 山梨糖倍半油酸酯 (Arlacel C, Sigma 公司), 化学纯氢氧化钠溶液, 化学纯甲苯, 无水乙醇, 氨基甲酸乙酯 (乌拉坦, 北京西中化工厂)。16 只 6 周龄 25 g 雄性健康昆明小鼠 (购自浙江省中医药大学动物实验中心), 实验动物符合浙江大学关于动物实验的相关规定。

2. 实验仪器: JY92- 型超声波细胞粉碎仪 (宁波天恒仪器厂), 高速离心机 (Sigma Laborzentrifugen GmbH), JP14101265 型电感耦合等离子体质谱仪 (美国安捷伦公司), 激光粒度仪 (LS-230 Coulter, 美国库尔特公司), MR 仪 (GE Signa 1.5 T CV/i)。小动物专用实验线圈 (上海辰光公司) 和膝关节表面线圈 (GE 公司), 6 mm 直径球囊及微导管。

3. Gd-DTPA-壳聚糖颗粒 (Gd-DTPA-chitosan particles, Gd-CPs) 和壳聚糖颗粒 (chitosan particles, CPs) 的合成与鉴定: 采用乳化-微滴融合技术合成微粒^[7], 基本步骤如下: (1) 合成乳化物: A 乳化物: 将质量浓度为 0.025 kg/L 的壳聚糖溶于 0.150 kg/L 的 Gd-DTPA 溶液内, 与内含体积分数为 5% 山梨糖倍半油酸酯的液体石蜡以 1:10 比例混合后, 以超声波细胞粉碎仪高速搅动成为油包水 (water-in-oil) 乳化物; B 乳化物: 以 1.5:10.0 的比例将 3 mol/L 的氢氧化钠溶液加入内含体积分数为 5% 山梨糖倍半油酸酯的液体石蜡内, 进行乳化。(2) 合成 Gd-CPs: 混合以上 2 种乳化物, 以超声波细胞粉碎仪高速搅动 10 min, 然后按照纯甲苯、无水乙醇和蒸馏水的顺序各漂洗和离心 2 次, 以 3000 r/min 的转速离心 60 min, 最后得到包裹了对比剂的壳聚糖微粒悬浮物 Gd-CPs。(3) Gd-CPs 颗粒分析: 将 Gd-CPs 放置于水中, 以动态光散射技术测定粒径大小, 将微粒粉碎后测定 Gd-CPs 内的 Gd-DTPA 含量。(4) CPs 的制作方法: 在 A 乳化物中无 Gd-DTPA, 采用同样方法合成 CPs。

4. 体外 MRI 实验: 配制质量浓度分别为 0.300 和 0.075 kg/L 的 Gd-CPs 混悬液、0.030 kg/L 的 CPs 混悬液。配制方法: 将制作的 Gd-CPs 和 CPs 加蒸馏水稀释至预定浓度, 以超声波细胞粉碎仪充分搅动 10 min 得到乳白色的混悬液。为检测 MRI 是否可显示颗粒内包裹的 MR 对比剂, 以质量浓度

分别为 0.300 和 0.075 kg/L 的 Gd-CPs 混悬液、0.030 kg/L 的 CPs 混悬液、纯净水和质量浓度为 0.0001 kg/L 的 Gd-DTPA 溶液行 MR 扫描。扫描方法和参数: 将分别装满上述 5 种液体的 5 ml 试管按顺序放置于扫描线圈中央, 采用以下序列对上述液体分别进行扫描。快速自旋回波 (FSE) 序列行 T₁WI: TR 530.0 ms, TE 10.0 ms, 激励次数 (NEX) 为 1 次; FSE 序列 T₂WI: TR 4900.0 ms, TE 82.0 ms, NEX 为 2 次; 梯度回波 (gradient recalled echo sequence, GRE) 序列 T₂*WI: TR 550.0 ms, TE 14.0 ms, 反转角 20°, NEX 为 2 次; 快速液体衰减反转恢复 (fluid attenuated inversion recovery, FLAIR) 序列 T₁WI: 反转时间 750.0 ms, TR 1890.0 ms, TE 7.5 ms, NEX 为 2 次。矩阵 160×256, 层厚 4 mm, 无间隔扫描, 视野 (FOV) 14 cm×14 cm, 采用膝关节表面线圈, 完成以上扫描约需要 30 min。

5. 小鼠直肠 Gd-CPs 和 CPs 混悬液保留灌肠实验: 将 16 只小鼠以数字表法随机均分为灌注 Gd-CPs 组和 CPs 组。以 20% 的氨基甲酸乙酯溶液 0.2 ml 腹腔内麻醉, 将小鼠置于温水袋旁保温开腹分离乙状结肠, 丝线结扎结肠闭塞肠腔, 温生理盐水经肛门反复清洁灌肠。首先行保留灌肠前 MR 扫描, 将小鼠骨盆放置于视野中央, 采用球囊充盈直肠, 行抑脂 FLAIR 序列 T₁WI 和 FSE 序列 T₂WI 横断面直肠 MR 扫描。FLAIR T₁WI: 反转时间 750.0 ms, TR 1890.0 ms, TE 7.5 ms, NEX 为 2 次; FSE T₂WI: TR 4900.0 ms, TE 82.0 ms, NEX 为 2 次。矩阵 160×256, 层厚 2 mm, FOV 8 cm×8 cm。扫描范围包括肛门至肝脏, 一次扫描完毕共耗时约 10 min。然后以微导管将质量浓度均为 0.075 kg/L 的 Gd-CPs 和 CPs 混悬液分别注入直肠内, 发现混悬液流出肛门后封闭肛门保留灌肠, 然后以同样序列和参数行保留灌肠中 MR 扫描。经 40 min 保留灌肠后以温生理盐水充分冲洗肠腔, 然后再以同样序列和参数行保留灌肠后 MR 扫描。MR 扫描完毕取结扎以远肠段大体观察直肠有否损伤出血等, 于 MR 图像信号增高相应肠段取 1 mm³ 的组织块行电子显微镜 (简称电镜) 检查。

6. 图像信号测量和数据处理: 放大 MR 图像, 在保留灌肠前后 MR 扫描图像中选取直肠和骨盆肌肉显示良好的前后相对应层面, 分别以感兴趣区 (region of interest, ROI) 测量灌肠前后直肠壁、盆壁肌肉和背景噪声信号, 取直肠壁信号均匀间隔的 6 个 ROI 的平均值作为直肠壁 MR 信号。由于

肌肉间隙内的脂肪受抑制后盆壁肌肉信号相对固定, 强化程度轻, 且位于线圈和视野的近中心部位, 肌肉信号可以作为直肠壁信号变化的相对参考值。笔者将直肠壁和背景噪声信号与盆壁肌肉信号比值代表直肠壁和背景噪声的相对信号值(灌肠前相对信号值为 $SI_{r_{pre}}$, 灌肠后相对信号值为 $SI_{r_{post}}$), 比较 Gd-CPs 和 CPs 组灌肠前后和组间直肠壁相对信号值。根据以下公式得出信号强度增加率: $(SI_{r_{post}} - SI_{r_{pre}}) / SI_{r_{pre}} \times 100\%$ 。

7. 统计学方法: 应用 SPSS 11.5 统计分析软件, 采用配对 t 检验对 Gd-CPs 和 CPs 组灌肠前后和组间直肠壁相对信号值进行比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. Gd-CPs 和 CPs 分析结果: MRI 结果显示, Gd-DTPA 包裹于壳聚糖微粒内, 混悬液呈乳白色液体, 经超声细胞粉碎仪振荡后无明显可见的颗粒及沉淀。颗粒均匀, 粒径约 500 nm, Gd-DTPA 含量质量分数为 30%。

2. 体外微粒 MRI 实验结果: 体外 MR 扫描实验显示, 在 FSE T_1 WI、FSE T_2 WI、FLAIR T_1 WI 和 GRE T_2^* WI 序列中 Gd-CPs 与 CPs 混悬液信号差异显

著, FSE T_1 WI 和 FLAIR T_1 WI 序列各种溶液信号曲线相似。由于微粒内包裹的高浓度 Gd-DTPA 对比剂导致 T_2 弛豫效应, 含有质量浓度为 0.300 kg/L 的 Gd-CPs 的混悬液 FSE T_2 WI 和 GRE T_2^* WI 中信号明显低于质量浓度为 0.300 kg/L 的 CPs 混悬液和纯净水, 稀释 1/4 浓度(质量浓度为 0.075 kg/L) 的 Gd-CPs 混悬液在 FSE T_1 WI 和 FLAIR T_1 WI 中信号高于未稀释的 Gd-CPs 混悬液充分支持此现象。

3. Gd-CPs 和 CPs 混悬液直肠内保留灌肠在体 MRI 结果: 清洁灌肠后球囊扩张直肠肠腔 MR 扫描图像显示肠壁呈中等信号, 周围脂肪和肌肉间隙脂肪信号充分抑制(图 1)。质量浓度为 0.075 kg/L 的 Gd-CPs 混悬液直肠内保留灌肠 MR 扫描显示直肠腔内呈显著高信号(图 2), 保留灌肠后扫描, 沿肠壁环形呈高信号, 提示 Gd-CPs 肠壁黏膜吸附(图 3), 与灌注前相比信号增高, 信号增加率中位数为 19.0%。CPs 组保留灌肠前 MR 扫描显示肠壁呈环形中等信号, 周围脂肪充分抑制(图 4), 保留灌肠后扫描显示与灌肠前相比肠壁信号无明显改变(图 5)。灌肠前后 Gd-CPs 和 CPs 组相对背景噪声值分别为 0.044 ± 0.015 和 0.038 ± 0.008 , 差异无统计学意义($t = 1.186, P > 0.05$)。CPs 组灌肠前后直

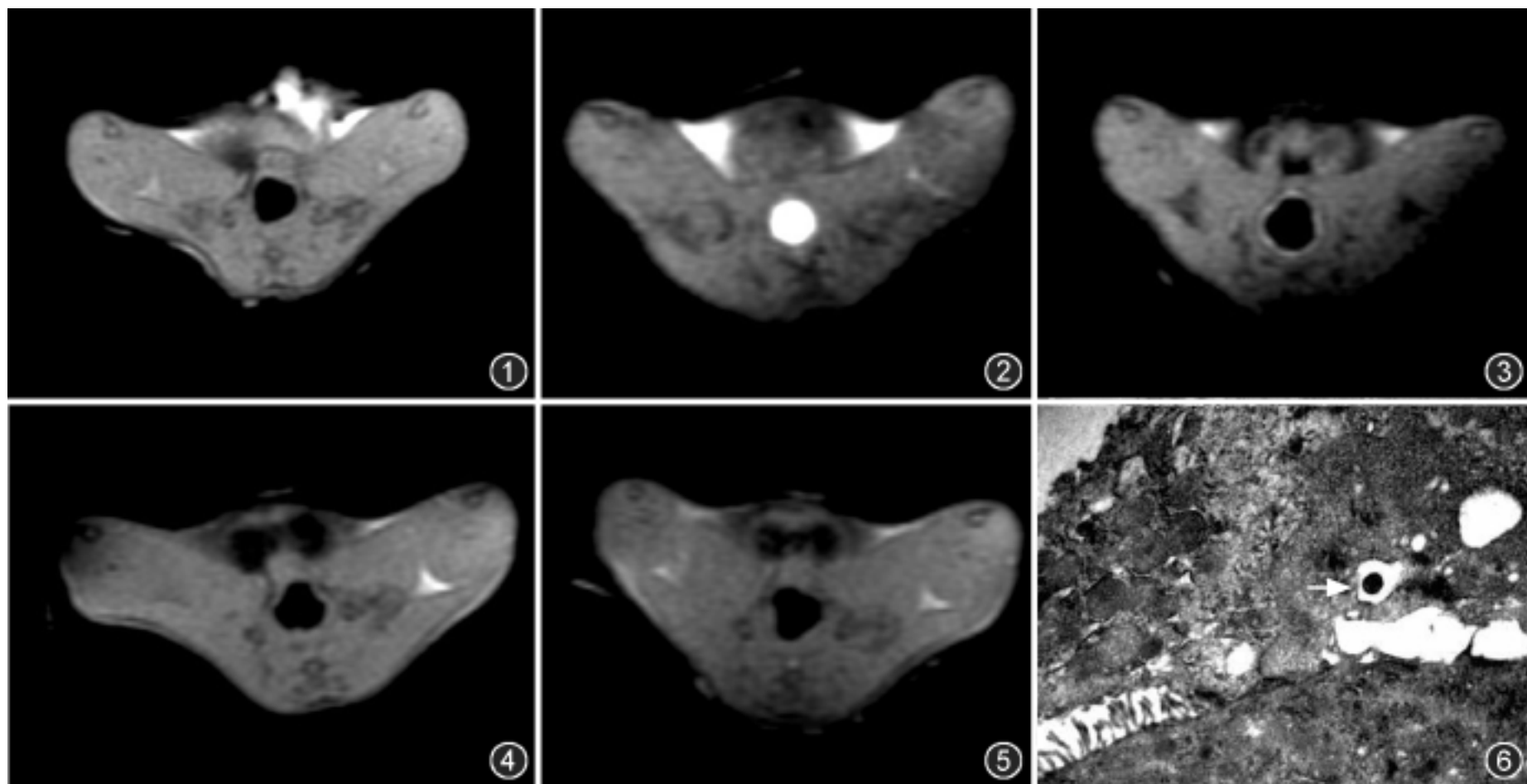


图 1 清洁灌肠后球囊扩张直肠肠腔 MR 扫描示肠壁呈中等信号, 周围脂肪和肌肉间隙脂肪信号充分抑制, 由于磁场均匀度的影响, 会阴部少量脂肪信号未能抑制 图 2, 3 图 2 为质量浓度为 0.075 kg/L 的钆喷替酸葡甲胺-壳聚糖颗粒(Gd-CPs)混悬液直肠内保留灌肠 MR 扫描, 直肠腔内呈显著高信号。图 3 为保留灌肠 40 min 并充分冲洗后 MR 扫描, 沿肠壁呈环形高信号, 提示 Gd-CPs 肠壁黏膜吸附 图 4, 5 图 4 为壳聚糖颗粒(CPs)组保留灌肠前 MR 扫描显示肠壁呈环形中等信号, 周围脂肪充分抑制。图 5 为 CPs 混悬液保留灌肠并充分清洗后 MR 扫描, 与图 4 相比肠壁信号无明显改变图 6 电子显微镜观察显示肠壁黏膜细胞内圆形 Gd-CPs 颗粒(箭)被细胞吞噬($\times 5000$)

肠壁相对信号值差异无统计学意义, 2 组灌肠后直肠壁相对信号值差异有统计学意义(表 1)。

表 1 Gd-CPs 和 CPs 组保留灌肠前后直肠壁相对信号值结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	SIr _{pre}	SIr _{post}	t 值	P 值
Gd-CPs 组	8	0.84 ± 0.06	0.98 ± 0.09	4.327	< 0.01
CPs 组	8	0.83 ± 0.04	0.84 ± 0.05	0.658	> 0.05
t 值		0.324	3.59	-	-
P 值		> 0.05	< 0.01	-	-

注: Gd-CPs 为钆喷替酸葡甲胺-壳聚糖颗粒, CPs 为壳聚糖颗粒, SIr_{pre} 为灌肠前直肠壁与盆壁肌肉信号比值, SIr_{post} 为灌肠后直肠壁与盆壁肌肉信号比值; - 为无数据

4. 电镜检查结果: 直肠黏膜电镜观察显示细胞内颗粒状 Gd-CPs 颗粒沉积, 细胞内可见吞饮的 Gd-CPs 颗粒(图 6)。

讨 论

1. 黏膜吸附 CPs 载体的研究现状和活体内微粒载体 MRI 的价值: 微粒化载体作为药物和基因输送途径已成为极具前景的研究方向^[3,7]。作为新型药物输送和控释载体, 特别是基于多糖的微球和纳米微囊, 是包埋生物活性大分子药物的理想载体^[8-11]。Ozbas-Turan 等^[12]研究了质粒 DNA 从壳聚糖载体中的释放, 长达 50 d 后仍可检测到其释放。壳聚糖纳米粒子能打开小肠上皮细胞间紧密的节点, 使大分子药物更易越过上皮组织、增加药物在小肠内的吸收^[13]。活体内追踪和监测微粒的活性以及了解微粒载体在靶器官和细胞黏附和药物释放规律对于微粒研制和改进以及未来的临床应用有重大的指导意义。由于 MRI 固有的优势, MR 分子成像成为活体内研究载体体内分布以及动态变化的有效技术。将含有临床广泛应用的对比剂 Gd-DTPA 包裹在载体内, 就有可能以 MR 手段直接显示所标记的载体, MR 信号强度变化反映了微粒在体内的动态过程和对内容物的传输能力, Gd-DTPA 起到了载体探针的作用^[14]。除了对载体本身进行定位外, 其内包裹的对比剂还可以间接反映目的药物和基因在局部的移行深度和范围。但是, 普通的临床型 MRI 系统难以达到小鼠和微粒载体研究的成像要求, 小动物专用 MRI 系统价格昂贵, 将国内普遍使用的高场强 MRI 系统应用于小动物 MRI 具有重要价值。

2. Gd-CPs 载体的合成: Tokumitsu 等^[7]以钆作为肿瘤中子捕捉治疗, 采用乳化-微滴融合技术合成微粒, 显示微粒内 Gd-DTPA 含量质量分数高达

45.3%, 粒径 452 nm, Gd-CPs 在实体性肿瘤内滞留时间明显大于单纯的 Gd-DTPA 直接注射, 提示作为抗肿瘤药物和靶基因载体的潜在用途。本研究以 MRI 技术显示壳聚糖微粒作为药物载体在结肠壁黏膜吸附和滞留现象, 实现了结肠黏膜途径壳聚糖微粒载体的体内示踪, 合成的壳聚糖微粒载体略大于 Tokumitsu 等^[7]所报道的粒径, 体外 MRI 显示微粒内包含大量的 Gd-DTPA, 说明载体内包含足够的对比剂导致载体吸附后 MR 信号的改变, 其信号与未包裹对比剂的颗粒有明显差异。

3. 微粒载体黏膜传输机理: 一般纳米微粒在各种黏膜中的传输有以下 4 种机理^[15]: 整体吸收、细胞间吸收、整体内吞和淋巴吸收。纳米粒的摄入量与其粒径有关, 粒径越小吸收效率越高。微粒载体内容物释放速率与纳米粒的载药量和粒径有关。

4. 结肠壁壳聚糖微粒载体吸附 MR 信号变化机制: 本研究在普通的 1.5 T 临床型 MRI 系统完成, 笔者采用小孔径的小动物线圈显著提高了图像信噪比和分辨率, 可替代小动物专用 MRI 系统。由于图像中测定 MR 信号值的相对不确定性, 且个体间的信号值受动物体积、质量、脂肪含量等因素影响, 本研究中将直肠壁与盆壁肌肉 MR 信号比值作为直肠壁信号相对值, 尽管可能存在一定的误差, 但组间灌肠前信号相对值比较显示差异无统计学意义, 说明直肠壁信号值是可靠的。由于测量直肠壁采用的 ROI 未能包括全部直肠壁, 因此信号强度结果可能存在一定的个体倾向性, 6 个 ROI 平均后部分消除了人为因素引起的测量误差。

本研究显示, Gd-CPs 组直肠保留灌肠后肠壁信号明显增高, 而 CPs 组无明显变化, MR 图像显示 Gd-CPs 组直肠壁有环形及节段性强化, 可能与直肠壁未完全扩张导致颗粒的分布不均匀有关。本研究中微粒保留灌肠后采用温水进行了充分清洁灌肠, 排除了单纯肠壁黏膜黏附或残留导致信号变化的可能。电镜显示已经细胞内吞饮后的壳聚糖颗粒, 黏膜细胞内吞饮与壳聚糖颗粒的黏膜吸收有关, 但是由于细胞吞饮颗粒数量有限, 除了单纯细胞吞饮后微粒内的对比剂引起信号变化外, 细胞间隙渗透以后停滞于间质内可能是引起 MR 信号改变的主要原因, 由于未能进行可以在显微镜下观察的 Gd-CPs 颗粒本身的标记和染色, 难以证实导致 MR 信号改变的 Gd-CPs 颗粒的吸附模式和停滞部位, 此为本研究存在的不足之处; 另外, 由于载体的吸附和药物的释放与微粒大小直接相关, 微粒粒径有待进一步改进,

采用动态方式研究肠壁黏膜信号变化可能进一步揭示微粒在黏膜内吸收转运的规律。本研究结果表明, MRI 技术可以显示以 Gd-DTPA 作为示踪剂合成的 Gd-CPs 微粒在结肠壁吸附现象, 这为以后的以结肠黏膜为靶向的微粒载体的体内示踪开辟了新的途径, 为以壳聚糖微粒为载体的基因治疗和靶向药物吸收研究提供了重要的活体内研究手段。

综上所述, Gd-DTPA 可以标记壳聚糖微粒载体从而实现微粒载体的在体示踪, 结合小孔径 MR 实验线圈的临床型 MR 是靶向载体在体定位和研究其药物缓释的重要手段, 其对于以后肿瘤靶向基因治疗和药物缓释的载体研究具有重大实用价值。

参 考 文 献

[1] Muzzarelli C, Muzzarelli RA. Natural and artificial chitosan-inorganic composites. *J Inorg Biochem*, 2002, 92: 89-94.
 [2] 黄伟, 崔光华, 贺俊峰, 等. 壳聚糖纳米粒用作基因递送载体的初步研究. *药学学报*, 2002, 37: 981-985.
 [3] Xu Y, Du Y. Effect of molecular structure of chitosan on protein delivery property of chitosan nanoparticles. *Int J Pharm*, 2003, 250: 215-226.
 [4] Brannon-Peppas L, Blanchette JO. Nanoparticle and targeted systems for cancer therapy. *Adv Drug Deliv Rev*, 2004, 56: 1649-1659.
 [5] Kim TH, Park IK, Nah JW, et al. Galactosylated chitosan /DNA nanoparticles prepared using water-soluble chitosan as a gene

carrier. *Biomaterials*, 2004, 25: 3783-3792.
 [6] Kim TH, Jin H, Kim HW, et al. Mannosylated chitosan nanoparticle-based cytokine gene therapy suppressed cancer growth in BALB/c mice bearing CT-26 carcinoma cells. *Mol Cancer Ther*, 2006, 5: 1723-1732.
 [7] Tokumitsu H, Ichikawa H, Saha TK, et al. Design and preparation of gadolinium-loaded chitosan particles for cancer neutron capture therapy. *Stp Pharma Sciences*, 2000, 10: 39-49.
 [8] 刘朝阳, 傅军, 田海梅, 等. 氟尿嘧啶壳聚糖缓释剂瘤内注射治疗小鼠肝癌的实验研究. *癌症进展杂志*, 2005, 3: 172-175.
 [9] Cui Z, Mumper RJ. Chitosan-based nanoparticles for topical genetic immunization. *J Control Release*, 2001, 75: 409-419.
 [10] Janes KA, Fresenean MR, Marazuela A, et al. Chitosan nanoparticles as deliver system for doxorubicin. *J Control Release*, 2001, 73: 255-267.
 [11] Luessen HL, Lehr CM, Rentel CO, et al. Bioadhesive polymers for the peroral delivery of peptide drugs. *J Control Release*, 1994, 29: 329-338.
 [12] Ozbas-Turan S, Aral C, Kabasakal L, et al. Co-encapsulation of two plasmids in chitosan microspheres as a non-viral gene delivery vehicle. *J Pharm Pharm Sci*, 2003, 6: 27-32.
 [13] Artursson P, Lindmark T, Davis SS, et al. Effect of chitosan on the permeability of intestinal epithelial cells (Caco2). *Pharm Res*, 1994, 11: 1358-1361.
 [14] Winter PM, Morawski AM, Caruthers SD, et al. Molecular imaging of angiogenesis in early-stage atherosclerosis with alpha(v) beta 3-integrin-targeted nanoparticles. *Circulation*, 2003, 108: 2270-2274.
 [15] 徐辉碧. *纳米医药*. 北京: 清华大学出版社, 2004: 31-40.

(收稿日期: 2007-06-14)

(本文编辑: 张晓冬)

第三届全国乳腺影像诊断与技术应用研讨会暨 中日乳腺影像诊断与技术交流会征文通知

由中华医学会放射学分会胸组、中华放射学杂志编辑委员会、中国医科大学附属盛京医院共同主办的第 3 届全国乳腺影像诊断与技术应用研讨会暨中日乳腺影像诊断与技术交流会将于 2008 年 7 月 4 日至 6 日在辽宁省沈阳市召开。会议将邀请中日著名专家进行讲座并与日本乳腺工作者进行各种方式的交流, 内容涉及乳腺影像诊断技术新进展、乳腺摄影质量精度管理等, 同期将举办学习班, 参会代表可免费参加。欢迎从事乳腺影像诊断、乳腺检查的专业人士及学者踊跃报名参加会议, 参会者将授予国家级继续教育项目类学分。

征文内容: 乳腺影像诊断技术新进展、乳腺 MRI 诊断及新技术应用、乳腺癌综合影像诊断的应用、CT 在乳腺病变影像诊断中的应用、超声在乳腺检查中的应用、正电子发射计算机断层成像 (PET) -CT 在乳腺癌中的应用价值及乳腺摄

影质量精度管理等。征文要求: (1) 论文必须在 2008 年 5 月前未公开发表过。论文要求科学性强、数据可靠、重点突出、文字简练。(2) 请寄论文摘要 (1000 字以内) 1 份, 内容包括目的、方法、结果及结论。稿件一律用 Word 形式, 从 Email 发送至中华放射学杂志编辑部: renxl@cma.org.cn 或 cjr.renxioli@vip.163.com。截稿时间: 2008 年 5 月 31 日。联系人: 中华放射学杂志编辑部任晓黎, 电话: 010-85158290, 85158384。中国医科大学附属盛京医院放射科张伟, 电话: 024-83956952-808; Email: zhangwl@cmu2h.com。

(中华医学会放射学分会胸组
中华放射学杂志编辑委员会
中国医科大学附属盛京医院)