

- 10 Saga T et al. *Cancer Res*, 1994; 54: 2160
- 11 Zhengsheng Yao et al. *J Nucl Med*, 1995; 36: 837
- 12 Kassrs AI et al. *J Nucl Med*, 1996; 37(2): 343
- 13 Paganelli G et al. *J Nucl Med*, 1990; 31: 735 (abs)
- 14 Paganelli G et al. *Eur J Nucl Med*, 1992; 19: 322
- 15 Hnatowich DJ et al. *Nucl Med Biol*, 1993; 20: 189
- 16 Ruskowski M et al. *J Nucl Med*, 1992; 33: 1810
- 17 Samuel A et al. *J Nucl Med*, 1996; 37(1): 55
- 18 Snitsyn VV et al. *J Nucl Med*, 1989; 30: 66
- 19 Paganelli G et al. *Int J Cancer*, 1990; 45: 1184
- 20 Kobayashi H et al. *J Nucl Med*, 1994; 35: 1677
- 21 Ogihara-Umeda I et al. *Cancer Res*, 1994; 54: 463
- 22 Stella M et al. *Dis Colon Rectum*, 1994; 37: 335
- 23 Britton KE et al. *Nucl Med Commun*, 1991; 12: 333
- 24 Paganelli G et al. *Cancer Res*, 1991; 51: 5960
- 25 Schechter B et al. *Eur J Biochem*, 1990; 189: 327
- 26 Ruskowski M et al. *J Nucl Med*, 1993; 34: 2409

(收稿日期: 1996-09-09)

乏氧组织显像剂及其应用

国家标准物质研究中心(北京, 100013) 朱霖 综述
中国医学科学院阜外医院(北京, 100037) 刘秀杰 审核

摘要: 简述了乏氧组织显像剂的发展过程, 阐明了乏氧组织显像在临床诊断中的重要性以及显像原理, 指出理想的乏氧组织显像剂应具备的条件, 详细探讨了乏氧组织显像药物的研究和应用, 描述了^{99m}Tc标记的乏氧组织显像剂的应用前景。

关键词: 乏氧组织显像 硝基咪唑 放射性药物

组织乏氧是临床上多种重要疾病的一个主要特征, 组织氧水平在这些疾病的诊断中十分重要。由于以往体内的测定难度, 限制了它在临床上的应用。目前已知, 作为放射增敏剂的硝基咪唑类化合物, 其一系列细胞内代谢取决于组织中的氧的可应用程度, 这就意味着能利用放射性核素标记这类化合物, 用于乏氧组织的显像研究, 从而达到临床诊断目的^[1]。

乏氧显像能直接提供组织低氧但存活的依据, 这些信息在临床诊断决策中起到重要作用^[1-4]。在心肌中, 乏氧显像能区分存活/缺血和坏死。梗塞的心肌, 用于临床诊断, 能极大地改善心血管病人的治疗; 脑乏氧显像弥补了灌注显像只能辨认低血流区域而无法区分疤痕和局部缺血的缺点; 肿瘤乏氧与其放射治疗的不敏感性及局部复发有关, 准确确定肿瘤氧态的非侵入性测定, 即肿瘤乏氧

显像研究, 将在病人进行乏氧治疗中起到极其重要的作用。

本文就当前用于乏氧组织显像的放射性药物的发展和研究现状及应用前景作简要综述。

1 乏氧组织显像剂的发展

1955年, Nakamura发现5-硝基咪唑(azomycin)能迅速抗厌氧感染。在以后的40年中, 人们又合成了许多硝基咪唑类似物(抗菌素的产生)^[5]。硝基咪唑在乏氧环境下的这种特性, 已用做乏氧组织增敏剂研究, 将这些化合物用于体内乏氧组织显像的设想, 早在10年前就已提出, 然而近期才将其变为现实^[1, 6, 7]。

80年代初期, Chapman等人提出, 放射性标记的硝基杂环化合物能提供一种非侵入技术, 即用显像的方法(PET或SPECT)测

定组织中氧的水平。最初的研究是放射性卤素标记的 MISO(misonidazole) (见图 1)及其衍生物^[1,4]。Schneider等人^[4]合成了许多种 IAZA(iodoazomyacin arabinoside)的衍生物,并研究了它们的化学、生物还原和药理学特性,¹²³I标记的 IAZA(见图 2)是这一系列衍生物中第一个用于 SPECT临床研究,评价肿瘤乏氧的显像剂^[4,6,7];而¹⁸F标记的 MISO也已用于 PET临床显像,进行了乏氧心肌和肿瘤的显像研究^[1,8]。

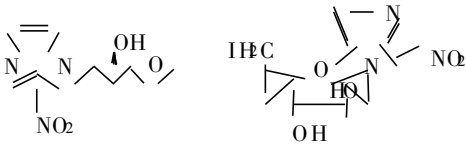


图 1 MISO的结构 图 2 IAZA的结构

尽管¹²³I-IAZA和¹⁸F-MISO已用于乏氧显像临床研究,但作为乏氧组织显像剂,二者并非十分理想。¹²³I-IAZA:①在体内具有较长的血液清除时间($T_{1/2}$ 为 8~10小时),使得最佳显像时间延长;②由于¹²³I是由加速器生产,价格昂贵;③IAZA的脂溶性较高,使得肝吸收较多;④体内脱碘(¹²³I),并浓集于甲状腺。¹⁸F-MISO病灶中的浓集量低,正常非正常组织的吸收比值有限,使得注射时间与显像时间间隔较长(90分钟),计数率下降,影响显像质量。

^{99m}Tc具有优良的核性质,是当前核医学显像的常用核素,因此^{99m}Tc标记的乏氧组织显像剂是目前研究的一个重要领域

2 乏氧组织显像药物的研究

作为理想的乏氧组织显像剂,应具备以下条件:①要有足够的量能选择性浓聚于低血流区;②在乏氧组织中有一定的滞留时间;③为探测组织氧压的细微变化,能提供可靠的正常组织与缺血组织的对照

乏氧显像探测的灵敏度由四个因素决定:①放射性药物到达缺血区域的量;②放射

性药物滞留在乏氧组织中的量;③放射性药物从正常细胞的清除率;④为了得到高质量的图像,放射性药物在乏氧组织中应有适当的滞留时间。

乏氧显像的特异性取决于:①病灶本底的比值大小;②放射性药物滞留区域中氧的浓度

已有的乏氧组织显像药物的研究主要是用放射性卤素(⁸²Br ¹⁸F ¹²³I ¹³¹I)和^{99m}Tc标记的硝基咪唑类似物。从放射性卤素标记的 MISO研究,到^{99m}Tc标记的硝基咪唑类似物,新的化合物不断出现,目的在于寻找更为理想的乏氧组织显像剂

2.1 卤素标记的 MISO及其衍生物

2.1.1 ⁸²Br-MISO

由于 Br-C键比 I-C键的键合能力强, MISO具有合适的药理学性质,因此早在 1982年有人研究了⁸²Br-MISO

⁸²Br-MISO可以用两种溴化剂制备^[9],一种是与NH⁸²B交换的分子溴(Br₂)为标记试剂,另一种是用K⁸²Br与N-氯琥珀酰亚胺反应生成物作为溴化剂。用Br₂标记的⁸²Br-MISO,其产率和比活均低于后一种,且生成二溴代副产物

⁸²Br-MISO的药代动力学研究表明,注射后 24小时,才能进行肿瘤显像。

2.1.2 ¹⁸F-MISO

¹⁸F-MISO可以通过¹⁸F-epifluorohydrin和 2-nitroimidazole反应来制备。Washington大学在 1986年首次报道了¹⁸F-MISO的生物学分布^[10],并进行了乏氧肿瘤和犬心肌梗塞模型研究^[11]。

2.1.3 ¹²³I标记的 MISO衍生物

Biskupiak等^[12]研制的IVM(iodo-vinylmisonidazole),其I-C键稳定性高,减小了脱碘的可能性,制备较方便。用高比活度的Na¹²³I(¹²³I ¹³¹I)能制得无载体IVM。IVM在结构上与MISO相似,但脂溶性比MISO高10倍。此外,Wiebe等人^[13]还研究了已知的

放射增敏剂 PENI(碘苯氧基衍生物)的¹³¹I标记物¹³¹I-PENI,它的脂溶性较高(logP=2.84),蛋白结合率高(90%),血液中的清除时间长。

为了降低 MISO 等标记物的脂溶性,加快其在血液内清除, Schneider 等人^[4, 14, 15]对一系列碘(¹²³I/¹³¹I)标记的糖基-硝基咪唑衍生物进行了研究,其中 IAZR 的 logP=0.32,蛋白结合率约 20%,介于 MISO 和 PENI 之间,并有脱碘现象发生; IAZA 是 I-AZP 的异构体,脂溶性较高, logP=0.76,血液清除慢; IAZG^[4]、IAZP^[14]以及相关的六种衍生物^[4]的 logP 均小于 IAZA,最佳显像时间在注射后 8~24 小时。

卤素标记的硝基咪唑化合物均存在血液清除时间长,在有效时间内得不到良好的影像,一定程度上限制了临床的应用。此外,体内脱碘也是一个主要缺点。

2.2 ^{99m}Tc 标记的显像剂

目前,^{99m}Tc 标记乏氧组织显像药物主要是 ^{99m}Tc-硝基咪唑类化合物,分别采用 BA-TQ-PnAO 及 Schiff Base 类化合物为双功能联接剂。

2.2.1 BATO-硝基咪唑类化合物

BATO-硝基咪唑类化合物的通式为: TcX(dioxime)₃BR(X=Cl, OH; R=硝基咪唑衍生物)^[16]。这类化合物是通过联接有硝基咪唑的硼酸与 Tc-dioxime 配合物间的快速合成,形成七配位的中性金属配合物而实现的^[17]。体外酶测定法确定 BATO-硝基咪唑分子像 MISO 和 ¹⁸F-MISO^[18]一样,被硝基还原酶 XO D(xanthine oxidase)所识别,但未标记上的硼酸和 MISO 相对于 BATO 配合物以更快的速度还原。这些结果表明, BATO-硝基咪唑具有乏氧显像的一些特性,但在体内的还原比希望的慢。研究表明,高脂溶性的 BATO-硝基咪唑可能滞留在疏水膜中,而不进入胞液内。

由于 BATO 的脂溶性较 MISO 高,立体

位阻较大,阻碍了硝基在酶活性位置上的成键,降低了反应速度,此外,配合物通过细胞的扩散可能受到限制,因此, Linder 等人^[14, 19]又合成了许多其他类型 ^{99m}Tc 标记化合物。

2.2.2 ^{99m}Tc-PnAO 衍生物

由 BATO-硝基咪唑的研究结果,促使人们继续研究新的钨化合物,^{99m}Tc-PnAO-硝基咪唑类配合物是当前研究得最多的一类^[14, 19],其中 ^{99m}Tc-[PnAO-1-(2-nitroimidazole)](BMS181321)是众所周知的一种 ^{99m}Tc-硝基咪唑衍生物,它在牛的内皮细胞中有很高的渗透性,其渗透力是水的 60%。研究表明, BMS181321 浓集于乏氧的脑、心肌和肿瘤中^[20, 21]。

Chan 等人^[22]研究认为, BMS181321 在乏氧情况下代谢为还原的极性物质,其中一些代谢物与蛋白结合成键,滞留在乏氧组织中(如后所述),但大多数代谢物是低分子量的极性物质,不易通过胞液进入细胞内,这说明 BMS181321 在乏氧组织中滞留的机理之一是:形成了具有较低渗透力的极性还原代谢物,从而保留在细胞内,并非不可逆成键。

目前已研究的 ^{99m}Tc-PnAO-硝基咪唑衍生物有数十种^[23],其中一些化合物有希望发展成为新的乏氧组织显像剂。

Linder 等人^[24]研制的 BMS194796 是由配体 BMS189781 与 ^{99m}Tc 配位制得的,共有四种异构体,其中 R 型和 S 型的顺式/反式比例为 95/5,即使将顺式和反式分离,也很快发生内转换,仍保持顺式/反式比为 95/5。生物学分布显示, R 和 S 异构体产物与消旋化混和物并无明显差别,体外键合的测定也得到同样结果,因此认为,各异构体产物在生物特性上是相似的。

BMS181321 与 BMS194796 的对比研究表明:后者在肝中的浓集明显减少(为前者的 65%),心肌清除加快^[25]。这是由于化学结构的改变,导致配合物稳定性增加,肝本底降

低,心肌清除加快,对缺血再灌注的心肌能早期显像。BM S194796的标记可以由冷冻干燥药盒制备,标记率 > 90%,标记物的稳定在 2小时以上。

2.2.3 ^{99m}Tc -Schiff bases(希夫碱)

用联接硝基咪唑的 Schiff bases与 ^{99m}Tc 配合,形成的 ^{99m}Tc -Schiff base硝基咪唑化合物用于乏氧显像研究也有报道^[26],但目前的研究结果表明, ^{99m}Tc -Schiff base硝基咪唑像 BATO 硝基咪唑一样,具有特别低的渗透力,不易通过细胞膜。

2.2.4 其它

一些其它类型的配体,例如由小分子多肽与 2硝基咪唑联结的配体^[27]、联接硝基的 N_2O_2 类配体 HNBAHP^[28]等的 ^{99m}Tc 标记物用于乏氧显像研究也取得一定的进展。实验显示, ^{99m}Tc -HNBAHP在乏氧肿瘤细胞中有一定的滞留;动物显像研究表明,注射后 20小时,肿瘤显像清晰;体外研究也显示了与 ^3H -MISO和 ^{123}I -HAZA相似的性质。

3 乏氧组织显像剂的应用

乏氧组织显像剂是目前放射性药物研究的热点之一,有极其重要的临床应用价值和广阔的应用前景,主要表现在三方面:心、脑血管及肿瘤疾病的诊断。

在心血管方面,它能迅速、准确判断心肌缺血但存活,是目前临床所急需的诊断药物。它对降低心血管病人的死亡率、改善治疗效果极为有效,而目前临床所用的 ^{99m}Tc 标记的心肌灌注显像剂和探测心肌急性坏死的显像剂,均不能可靠回答这类问题。因为灌注显像显示的是氧与组织间的相对输送,尽管这种输送的测定非常有用,但不能说明此输送是否能满足这一区域内存活心肌细胞的需求,特别是在非穿壁(nontransmural)梗塞中更是如此。诊断心肌坏死的阳性显像剂对急性心梗病人无法确诊,其原因有:①目前所用的显像剂大多数均需在梗塞发生至得到阳性显

像之间间隔数小时,②即使灌注迅速恢复,病人心肌组织很可能还存在一定坏死,使显像仍呈阳性,但无法确定是否为存活而缺血的组织。为此,发展一种能特异性诊断组织存活但有机能障碍的诊断技术是很重要的,要求显像剂在注射后能迅速显像,以利于临床方案的制定。

脑血管疾病是人类主要疾病之一,当脑血流低于某临界值时,立刻引起脑功能损伤。像心脏一样,脑形态学的损伤取决于血流降低的程度及时间。乏氧显像能特异地区别乏氧状态下存活组织,因此可从缺血区域中区分存活和损伤的组织,为临床治疗方案的确定提供依据。

在实质肿瘤中,肿瘤细胞乏氧程度越高,肿瘤的恶性程度就越高,且降低辐射治疗和抗癌药物的灵敏性。因此,肿瘤乏氧程度的非侵入性测定,可以有效地预测治疗效果或判断病人克服乏氧阻碍所进行的治疗的有效程度。

硝基咪唑类化合物的乏氧组织显像原理^[1]:当硝基咪唑进入细胞后,在酶的作用下,有效基团($-\text{NO}_2$)发生还原,在具有正常氧水平的细胞中,还原基团可重新被氧化为原有物质;而在乏氧细胞中,由于缺氧,不能发生再氧化,此时,还原产物与细胞内物质结合(不可逆结合),从而滞留在组织中。因此,用放射性核素标记上述药物,滞留在乏氧组织后可进行显像。

目前,用于临床研究的乏氧显像剂有 ^{123}I -HAZA^[6]和 ^{18}F -MISO^[7,8]。Nunn^[1]等描述了 10例肿瘤病人的 ^{123}I -HAZA临床研究的评价:静脉注射 204MBq ^{123}I -HAZA,由于血液中的放射性清除时间较长($T_{1/2}=9.8$ 小时),最佳显像时间在注射后 24小时以上。另外有 22例病人的显像研究表明^[1],SPECT的最佳显像时间在注射后 16~24小时内。27例已知肿瘤病人中,13例显示 ^{123}I -HAZA 高吸收的病人,在用 ^{99m}Tc -HMPAO 显像时显示

低浓聚;但在恶性胶质瘤中,即使 ^{99m}Tc -HM-PAO的吸收减少, ^{123}I -IAZA的浓聚也无增加,这说明组织血流的减少与乏氧显像剂的滞留增加并非简单的直接相关,而与肿瘤类型有关 Al-Arafai 等人^[7]用 ^{123}I -IAZA还进行了糖尿病和末梢血管疾病病人的显像研究。

研究表明,许多急性脑卒中病人,脑病变组织有一个缺血的区域带,但组织存活 Yeh 等人^[8]研究了 6 例脑卒中病人的 ^{18}F -MISO 显像,显像均在发作后 2 小时内进行,其中 3 例显示放射性药物浓聚。另外,具有慢性脑卒中的 5 例病人的病灶中,均无 ^{18}F -MISO 浓聚。 ^{18}F -MISO 还用于头颈部等肿瘤的临床显像研究。

^{99m}Tc 标记的硝基咪唑类化合物,目前还处于动物研究阶段,其中研究最多的是 BMS 181321,并先后进行了心肌缺血和梗塞、肾动脉狭窄和急性肾缺血、肿瘤乏氧和急性脑缺血的动物模型研究^[21,22,29]。BMS 194796 用于冠状动脉狭窄的动物模型显像研究也有报道^[30]。

由于 ^{99m}Tc 核素在临床核医学中的重要地位,使得 ^{99m}Tc 标记的乏氧组织显像剂成为当前新药研究的一个重要领域。其中, BMS 194796 有希望用于临床研究。随着研究的不断深入,我们相信,在不远的将来,一批新的、理想的 ^{99m}Tc 标记乏氧组织显像剂将会有效地服务于临床。

参 考 文 献

- 1 Numm A et al. Eur J Nucl Med, 1995; 22(3): 265
- 2 Patterson RE et al. J Nucl Med, 1995; 36 1086
- 3 Archer CM et al. J Nucl Biol Med, 1994; 38 (3): 473

- 4 Schneider RF et al. Quarterly J Nucl Med, 1995; 39(1): 41
- 5 Edwards DI. J Antimicrob Chemother, 1993; 31 9
- 6 Groshar D et al. J Nucl Med, 1993; 34 885
- 7 Al-Arafaj A et al. Eur J Nucl Med, 1994; 21 1338
- 8 Yeh SH et al. J Nucl Med, 1994; 35 205P (abs)
- 9 Grunbaum Z et al. J Nucl Med, 1987; 28 68
- 10 Jerabeck PA et al. Int J Radiat Appl Instrum [A], 1986; 37: 599
- 11 Rasey JS et al. Radiat Res, 1987; 111: 292
- 12 Biskupiak JE et al. J Med Chem, 1991; 34 2165
- 13 Wiebe LI et al. Nuklearmedizin, 1984; 23 63
- 14 Linder KE et al. J Med Chem, 1994; 37 9
- 15 Mannan RH et al. J Nucl Med, 1991; 32 1764
- 16 Linker KE et al. Bioconj Chem, 1993; 4 326
- 17 Raju N et al. Tetrahedron, 1993; 48 10233
- 18 Predegas JL et al. Biochem Pharmacol, 1991; 42 2387
- 19 Linder KE et al. J Nucl Med, 1994; 35 18P (abs)
- 20 Rumsey WL et al. Potential of nitroimidazole as markers of hypoxia in heart. In Vaupel P et al. eds. Oxygen transport to tissue. New York: Plenum; 1994 263-270
- 21 Di Rocco RJ et al. J Cereb Blood Flow Metab, 1993; 13 755
- 22 Chan YW et al. J Nucl Med, 1994; 35 152P (abs)
- 23 World Patent Appl. WO94089-A1, Amersham Int. plc
- 24 Linder KE et al. J Labelled Compd Radiopharm, 1995; 37: 202
- 25 Stone CK et al. J Nucl Med, 1995; 36(5): 138P (abs)
- 26 Ramalingam K et al. J Nucl Med, 1994; 35 (5): 260P(abs)
- 27 Zhang Z et al. J Labelled Compd Radiopharm, 1995; 37 205
- 28 Zhang Z et al. J Nucl Med, 1994; 38 472
- 29 Okada RD et al. Eur J Nucl Med, 1996; 23 443
- 30 Kuczynski B et al. J Nucl Cardio, 1995; 4 S28 (abs)

(收稿日期: 1996-10-15)