

中枢神经递质转运蛋白显像剂¹²³Iβ-CIT研究进展

上海第二医科大学附属瑞金医院核医学科(上海,200025) 孙文善综述 朱承谟审核

摘要:中枢神经递质转运蛋白显像剂¹²³Iβ-CIT的SPECT显像在临床帕金森氏病的诊断和鉴别诊断以及病变严重程度分级中具有重要的临床应用价值,¹²³Iβ-CIT同时也是一种很好的5-HT转运蛋白显像剂,并已逐渐用于5-HT系统功能异常有关的精神紊乱研究。本文综述了近年来¹²³Iβ-CIT在标记制备、体内代谢与显像方案及临床应用方面的研究进展,展示了中枢多巴胺转运蛋白显像在神经精神疾病研究中的应用前景。

关键词:中枢神经递质转运蛋白 ¹²³Iβ-CIT SPECT

中枢多巴胺转运蛋白(DAT)位于多巴胺(DA)神经元突触前膜,其生理作用为将突触间隙内已发挥生理效应的DA重新摄入突触前膜,以备再次利用,同时使递质的效应终止。Kaufman M和Niznik HB在1991年报道了Parkinsons病(PD)神经元变性所致的突触终末丧失与DAT相平行,因此制备合适的示踪剂与DAT结合可以在无创伤的条件下使测定多巴胺突触终末的完整性成为可能。DAT不仅在神经传递中担当重要角色,而且也是成瘾性药物可卡因的作用位点,可卡因成瘾性和欣快感就是由于药物特异性阻断了DAT作用所致,因此,¹¹C标记的可卡因(¹¹C-methylcocaine和¹¹C-methylcocaine)曾尝试应用于DAT显像,尽管取得了某些成功,但由于药物亲和力低,体内代谢快,所以不利于显像研究。¹¹C-nmifen-sine和¹⁸F-L-DOPA也曾尝试用于PD诊断和症状分级,但也因为亲和力太低,靶/本底比值不高而达不到显像要求。

将可卡因的苯托烷部分予以保留,去除其苯甲酸酯键,用C-C键连接苯环得到的可卡因类衍生物如CPT(WIN35605-2)和CFT(WIN35428)比可卡因具有更高的体内稳定性和效能。此后研制的CFT类似物,甲基-β-(4碘苯基)托烷-β-羧酸盐(β-CIT或RTI-55)具有更高的DA和5羟色胺转运蛋白(5-HTT)亲和能力。啮齿类和非人灵长类

体内研究均表明,β-CIT能够很好地透过血脑屏障与DAT结合位点和5-HTT结合位点相结合,所以β-CIT同时也是一种很好的5-HTT显像剂。不仅如此,β-CIT还可以用单光子发射核素¹²³I标记和SPECT显像,因此大大方便了临床神经精神疾病的应用研究。

1 β-CIT的¹²³I标记

目前,最常用的碘标记β-CIT的方法为过氧乙酸法^[1]。其反应前体为甲基-β-(4-三丁基锡苯基)托烷-β-羧酸盐,标记时向含50 μg前体的小瓶内加入150 μl乙醇,150 μl 0.5 mol/L H₃PO₄, 740~1110 MBq/125~500 μl Na¹²³I溶液和新鲜配置100 μl 0.32%的过氧乙酸,室温下反应20~30分钟,加入50 μl 100 mg/ml水性NaHSO₃液终止反应,N₂气吹干,加入饱和NaHCO₃液1 ml,用等体积乙酸乙酯萃取3次后,过无水Na₂SO₃柱,在37°C旋转蒸发器上用N₂吹干,残留物用50 μl乙醇溶解并与100 μl流动相混合注入HPLC,洗脱液收集于含100 μl Vc(1 mg/ml)的瓶内吹干后溶于400 μl乙醇,经HPLC分析,标记率为65.2%,放化纯度为97.5%。

Zea-Ponce等^[2]发展了一种¹²³Iβ-CIT的简易标记方法,即固相分离法(SPE):在反应终止后加入500 μl饱和NaHCO₃溶液,然后用注射器转移,通过C₁₈Sep-Pak小柱滤至

另一小瓶,用 1.0ml 无菌水洗反应小瓶和注射器,并经 Sep-Pak 小柱滤至小瓶,再用无菌水 20ml 洗脱小柱 (3~4ml/min),最后再用 7ml 乙醇:水 = 50:50 液将 $^{123}\text{I}\beta\text{-CIT}$ 洗脱 (1ml/min),标记率为 75%,放化纯度为 98%~99%。SPE 法与前法分离所得结果基本是一致的,但 SPE 法不需要溶液萃取、减压蒸发和 HPLC 纯化,因此 SPE 法便于 $\beta\text{-CIT}$ 的日常临床应用标记

2 体内分布和代谢

Seibyl 等^[3]所做的正常人 $^{123}\text{I}\beta\text{-CIT}$ 显像表明,脑高峰摄取量为注射量的 14%,其中纹状体部位为 2%,肺、肝、肠则分别为 75%、37%、34%,药物随时间变异较大,清除率很慢,药物在纹状体浓聚明显而在低位皮层摄取较低,这与平面显像的数据是一致的。

$^{123}\text{I}\beta\text{-CIT}$ 在脑内主要浓聚于富有 DAT 和 5-HTT 的区域,由于 DAT 和 5-HTT 所分布的脑区不同,因此对显像结果可根据部位的不同进行 DAT 和 5-HTT 区别分析。

Kuikka 等^[4]的研究结果表明, $^{123}\text{I}\beta\text{-CIT}$ 在富集 DAT 的基底节和富集 5-HTT 的额叶中部皮质、下丘脑、中脑都有明显的放射性浓聚。Pirker 等^[5]应用 5-HTT 重摄取抑制剂西酞普兰 (citalopram) 进行 $^{123}\text{I}\beta\text{-CIT}$ 取代研究,也发现放射性减低主要发生在丘脑、下丘脑、中脑脑桥等部位,而纹状体无变化,说明在这些部位主要是与 5-HTT 结合的。

目前尚无理想的动力学模型可用于 $^{123}\text{I}\beta\text{-CIT}$ 代谢研究,房室模型或线性分析需要确定未代谢的 $^{123}\text{I}\beta\text{-CIT}$,放射性标记的代谢物的存在可能影响 DAT 或 5-HTT 的定量分析,因此确定放射性配基代谢产物是配基结合定量分析的基础。Bergstrom 等^[6]应用逐步 HPLC 法分析表明, $^{123}\text{I}\beta\text{-CIT}$ 主要有两种放射性标记的代谢产物,最初为极性代谢物,然后是大量的亲脂性代谢物,极性成份起初迅速上升,之后缓慢下降,亲脂性成份在

4h 内持续增加,1h 后母体极性成份和亲脂性成份分别为 35%、47% 和 18%,4h 后亲脂性成份上升至 44%。但 Heinz 等^[7]发现,代谢物经 HPLC 分离,进行蛋白沉淀和有机相萃取之后,恒河猴的次级代谢产物部分地溶于乙酸乙酯,而在人类则为不溶解的亲水性成份,认为该成份不可能通过血脑屏障影响 DAT 的定量分析。因此,结论尚有待于进一步证实。

3 显像时间和参考区选择

3.1 显像时间

Brucke 等^[8]对 PD 病人及正常受试者注射 $^{123}\text{I}\beta\text{-CIT}$ 后 4、6、20、24h 进行动态显像观察,发现 20h 时显像剂在纹状体呈最大特异性结合。Seibyl 等^[3]于注射药物后 334~

417 min 显像,纹状体枕叶皮质比值左右侧分别为 4.7 和 5.0,1085~1606 min 延迟显像示更高的纹状体枕叶比值,左右侧分别为 10.3 和 9.3。

Asenbaum 等^[9]进行的正常人和 PD 病人动态显像表明, $^{123}\text{I}\beta\text{-CIT}$ 在纹状体区达到最大结合的时间分别为 20h 和 4h,病人在 4h 后仅有轻微上升,其原因是神经元变性使 DAT 下降,结合位点减少导致快速达到平衡。

Laruelle 等^[10]对 $^{123}\text{I}\beta\text{-CIT}$ 结合动力学和平衡分析表明,注射当天 (0~7h) 的 SPECT 数据主要是血流依赖性的,示踪剂摄取于第 2 天 (19~25h) 达到稳定,可以直接测定特异性与非特异性结合的平衡系数,为避免多次扫描或动脉血示踪剂浓度测定,建议在临床研究中,选用第 2 天进行平衡分析。

Kuikka 等^[4]在研究正常人脑 5-HTT 的 $^{123}\text{I}\beta\text{-CIT}$ 显像时发现,额叶皮质 5-HTT 的特异性结合率在 1h 时最大。

3.2 参考区的选择和结合率的计算

选择恰当的区域作为显像剂非特异性结合或其代谢产物的参考标准是进行正确图像定量分析的前提。尸解发现,小脑内 DAT 和 5-HTT 及其受体的密度都很低,所以小脑可

以作为非特异性结合的参考标准。因此,一般用感兴趣脑区结合与小脑结合比值作为显像剂结合进行半定量分析,例如纹状体区 DAT 特异性结合率常用纹状体/小脑比值或纹状体/小脑 - 1 表示。Kuikka 等^[4]以白质作为非特异性结合参考区,其计算方法为: 5-HTT 的特异性结合率 = $1 - \text{WM}_{1\text{h}} / \text{MFC}_{1\text{h}}$, 其中 $\text{WM}_{1\text{h}}$ 和 $\text{MFC}_{1\text{h}}$ 分别为 1h 时白质和前额皮层的放射性结合; DAT 的特异性结合率 = $\text{WM}_{21\text{h}} / \text{BG}_{21\text{h}}$, 其中 $\text{WM}_{21\text{h}}$ 和 $\text{BG}_{21\text{h}}$ 分别为 21h 时白质和基底节的放射性结合。Seibyl 等^[11]则根据枕叶单胺类转运蛋白含量低,在计算纹状体特异性结合时,以枕叶作为非特异性结合参考区,即纹状体/枕叶 - 1。Vermeulen 等^[12]在研究早期和晚期 PD 病人时也采取了以枕叶作为参考标准的方法。

4 临床应用研究

中枢 DAT 位于 DA 神经元突触终末,因此 DA 神经元变性所致的突触终末丧失必将累及 DAT 结合位点的数目,所以 $^{123}\text{I}\beta\text{-CIT}$ 中枢显像为临床与 DA 神经元有关的变性疾病提供了最为直接的观察手段。另外,由于 $^{123}\text{I}\beta\text{-CIT}$ 同时可以与中枢 5-HTT 结合,反映 5-HT 系统的功能活动,因此,与 5-HT 系统的功能活动异常有关的神经精神紊乱也可以应用 $^{123}\text{I}\beta\text{-CIT}$ 显像进行观察研究。 $^{123}\text{I}\beta\text{-CIT}$ 显像不仅使人们在活体上了解某些神经精神紊乱的病理生理过程成为可能,而且可以进一步用于神经精神疾患诊断以及指导临床治疗用药。

4.1 PD 病理和诊断应用

4.1.1 PD 与年龄的相关性

体外研究表明,随着年龄的增长,黑质 DA 神经元的数量呈下降趋势^[13],纹状体多巴胺含量也呈年龄依赖性下降,纹状体 DAT 的数量减少,特别是黑质 DAT 含量下降更为明显,在 57 岁之后陡然下降^[14]。Van Dyck 等^[15]用 $^{123}\text{I}\beta\text{-CIT}$ SPECT 显像研究表明,纹

状体/枕叶 - 1 (V_3 值)呈年龄依赖性下降,线性回归分析表明:在 18~83 岁的健康个体中, V_3 值在整个范围内下降为 5%,或者说每 10 年 V_3 值下降 8%。Tissingh 等^[16]研究了 10 名健康人和 33 例未用药 PD 病人的年龄与 $^{123}\text{I}\beta\text{-CIT}$ 显像结果的相关性,发现正常受试者的纹状体 $^{123}\text{I}\beta\text{-CIT}$ 摄取的确存在年龄依赖性减少,在控制症状严重程度等影响因素的条件下,PD 病人与对照组相比摄取值也呈轻度下降趋势 ($P < 0.05$),但仅发生于症状同侧,年龄因素的影响在 32~45 岁比 45 岁以上者更为显著。症状对侧未表现出年龄相关性可能是因为 DAT 丧失过多,从而掩盖了年龄因素的影响。因此,以健康受试者年龄相关数据对 SPECT 测定结果进行年龄校正,有可能因 DAT 数目的干扰而作出不正确的结论:对老年患者可能会低估了 DAT 的数值,而对 30 岁的早期 PD 患者则可能由于高估了摄取能力而难以检出其异常改变。

4.1.2 PD 病情与 $^{123}\text{I}\beta\text{-CIT}$ 显像结果的相关性

为了进一步明确 $^{123}\text{I}\beta\text{-CIT}$ 的摄取程度与病情的相关性,Asenbaum 等^[9]首先对 47 例 PD 病人用 Hoehn-Yahr (H-Y) 量表进行症状分级,然后用 $^{123}\text{I}\beta\text{-CIT}$ 显像研究疾病严重程度与显像结果的相关性,结果表明 PD 病人纹状体/小脑 - 1 值显著下降并与症状分级有良好相关。Brucke 等^[17]对 113 例 PD 病人进行 $^{123}\text{I}\beta\text{-CIT}$ 显像,用 H-Y 量表对症状分级,发现纹状体 $^{123}\text{I}\beta\text{-CIT}$ 结合位点的丧失从 35% 到 72% 分别对应于 H-Y 量表症状分级的 I 级到 V 级,其中运动不能、僵直等症状与 SPECT 显像结果相关良好,但未发现震颤与 SPECT 显像结果相关。Eising 等^[18]对 33 例疑为 PD 的病人进行 SPECT 显像:显像前病人未服有关药物,先将病人根据症状用 H-Y UPDRS BDI 量表分级,然后在注射药物 1h、4h 和 24h 计算纹状体/小脑比值,结果发现纹状体 $^{123}\text{I}\beta\text{-CIT}$ 摄取与上述分

级显著相关,进一步分析也发现僵直和运动不能与纹状体¹²³Iβ-CIT摄取相关性最好,而震颤症状亦未表现明显相关,推测是由于震颤症状的病理定位在纹状体之外造成的,与正常相比,此类病人在注射示踪剂后24h时摄取量显著下降

4.1.3 PD病人壳核与尾核损害程度的比较

Marek等^[19]对8例早期偏侧PD病人和年龄性别匹配的正常人进行SPECT显像,比较了纹状体对¹²³Iβ-CIT的摄取,发现在患者症状对侧减少53%,同侧减少38%,尾核与壳核相比后者减少更为显著。关于PD病壳核损害重于尾核,Guttman等^[20]也有类似报道,他们用¹¹C-RTB2的PET显像发现,早期PD病人(未用L-dopa)与对照相比,在症状对侧壳核后部和前部的结合显著下降(-56%和-28%),而尾核内无显著差别,并认为纹状体中壳核损害至一定程度才会出现PD症状

4.2 在神经精神疾病鉴别诊断中的应用

Bettin等^[21]应用¹²³Iβ-CIT显像对原发性帕金森综合征(IPS)和继发性帕金森综合征(SPS)病人进行了对比研究,发现基底节/小脑比值在IPS和SPS病人分别为3.04和7.73,两者之间有显著的差异;同时,用¹²³I-IBZM受体显像进行比较,结果表明IPS和SPS病人相比虽有放射性结合下降,但不如¹²³Iβ-CIT那样显著,认为¹²³Iβ-CIT比¹²³I-IBZM更有利于对IPS和SPS作出鉴别诊断。

约35%~40%的Alzheimer病(AD)病人患有PD,但很少有或无黑质神经元变性发生。Murray等^[22]应用¹²³Iβ-CIT显像观察了临床诊断为PD、AD以及伴发PD的AD病人,并与一组年龄、性别相配对的正常受试者对照,结果发现AD病人和DAT丧失在伏隔核,AD-PD综合征病人DAT位点的丧失较单纯AD病人为重,最严重的部位在尾

壳核头部,尾壳核尾部则较轻。PD病人同样存在DAT位点的严重丧失,但自尾部至头部的丧失程度不同于AD-PD综合征病人组,因此AD-PD综合征病人的临床PD症状可能与纹状体DAT位点的丧失有关,但是这种位点的丧失并非简单的黑质神经元变性所致,可能伴有其它的病理过程。

弥散性Lewy体病(diffuse Lewy body disease, DLBD)是继AD后的最常见的老年变性痴呆疾病,其临床症状主要表现为痴呆、幻视和明显的PD特征。由于DLBD和AD症状往往相互重叠,临床上鉴别诊断非常困难。Donnemiller等^[23]对AD、DLBD病人和正常对照者进行了¹²³Iβ-CIT显像观察,发现AD病人3h和18h的纹状体/小脑比值与正常对照者无显著差异,但3h和18h纹状体/小脑之差值与正常对照者相比显著下降,而DLBD病人3h和18h的纹状体/小脑比值均低于AD,3h的纹状体/小脑比值与正常对照者相比无显著差异,但18h以及3h与18h纹状体/小脑比值之差和正常对照相比差异显著。

4.3 与暴力行为和酒依赖行为关系的研究

某些研究表明,暴力行为(impulsive violent behaviour)与中枢5-HT缺陷有关。Tiihonen等^[24]对52名受试者(其中暴力犯罪者21名,年龄和性别配对的健康受试者21名和酗酒者10名)进行¹²³Iβ-CIT SPECT显像研究,观察到暴力犯罪者中脑¹²³Iβ-CIT放射性结合低于正常对照和无暴力行为的酗酒者,为暴力行为者脑单胺类转运体密度较低的假说提供了佐证。

Tiihonen等^[25]发现,无暴力行为的酗酒者纹状体DAT密度与正常对照者相比显著下降,而有暴力行为的酗酒者纹状体DAT密度与正常对照者相比轻度上升,提示尽管变化的方式不同,但两类酒依赖患者均有纹状体DA功能的异常改变。

4.4 神经精神药物应用检测

许多神经精神药物是通过与中枢神经递质转运蛋白的结合发挥作用的,应用中枢神经递质转运蛋白的 SPECT显像定量测定转运蛋白的结合位点数和亲和力,可直接在分子水平上了解药物的作用机制及量效关系,从而进行药物筛选和确定恰当的用药剂量。

Pirker等^[26]观察了抗抑郁药物 5-HT重摄取抑制剂 citalopram的脑内结合:对 12例抑郁症病人每日分别给予 citalopram 20mg, 40mg, 60mg,同时观察了 1例未用药的抑郁症病人和 11名正常对照者,注射药物后 24 h内动态观测发现,给予 citalopram的病人内侧丘脑、下丘脑、中脑和脑桥等脑区¹²³Iβ-CIT摄取明显下降,但在高、低剂量组之间无显著差异,纹状体摄取亦未见显著差异;1例未用药的抑郁患者脑干和纹状体¹²³Iβ-CIT摄取下降。总之,SPECT显像有助于评估药物临床疗效和研究量效关系。

中枢神经递质转运蛋白显像剂的应用为人们在活体上观察神经生理病理以及高级神经活动开辟了新的途径。¹²³Iβ-CIT已开始用于 PD诊断和鉴别诊断中广泛应用,并逐渐用于与 DA 5-HT系统功能异常有关的精神紊乱研究。应当指出,中枢神经递质转运蛋白显像在神经精神功能活动中的研究仅仅是一个开始,广泛开展 DAT和 5-HTT显像研究,不仅有助于疾病的临床诊断和治疗评估,对深入了解人类本身的高级神经活动也是有益的。

参 考 文 献

- 1 Baldwin RM et al. Nucl Med Biol, 1993; 20: 597~ 606
- 2 Zea-Ponce Y et al. J Nucl Med, 1995; 36: 525~ 529
- 3 Seibyl JP et al. J Nucl Med, 1994; 5: 764~ 770
- 4 Kuikka JT et al. Eur J Nucl Med, 1995; 22:

- 346~ 350
- 5 Pirker W et al. J Neural Transm Gen Sect, 1995; 100: 247~ 256
- 6 Bergstrom KA et al. Nucl Med Biol, 1995; 22: 971~ 976
- 7 Heinz A et al. Synapse, 1997; 25: 306~ 308
- 8 Brucke T et al. J Nucl Med, 1994; 5: 10p
- 9 Asenbaum S et al. J Nucl Med, 1997; 38: 1~ 6
- 10 Laruelle M et al. J Cereb Blood Flow Metab, 1994; 14: 982~ 994
- 11 Seibyl JP et al. J Nucl Med, 1997; 38: 1453~ 1459
- 12 Vermeulen RJ et al. Nucl Med Biol, 1995; 22: 985~ 994
- 13 McGeer PL et al. Arch Neurol, 1997; 34: 33~ 35
- 14 Bannon MJ et al. Proc Natl Acad Sci, 1992; 89: 7095~ 7099
- 15 Van Dyck et al. J Nucl Med, 1995; 36: 1175~ 1181
- 16 Tissingh G et al. Eur J Nucl Med, 1997; 24: 1171~ 1174
- 17 Brucke T et al. J Neural Transm Suppl, 1997; 50: 9~ 24
- 18 Eising EG et al. J Invest Med, 1997; 45: 448~ 452
- 19 Marek KL et al. Neurology, 1996; 46: 231~ 237
- 20 Guttman M et al. Neurology, 1997; 48: 1578~ 1583
- 21 Bettin S et al. Nuklearmedizin, 1997; 36: 167~ 172
- 22 Murray AM et al. Ann Neurol, 1995; 37: 300~ 312
- 23 Donnemiller E et al. Eur J Nucl Med, 1997; 24: 320~ 325
- 24 Tiihonen J et al. Eur J Nucl Med, 1997; 24: 1253~ 1260
- 25 Tiihonen J et al. Nat Med, 1995; 1: 654~ 657
- 26 Pirker W et al. J Neural Transm Gen Sect, 1995; 100: 247~ 256

(收稿日期: 1998-07-20)