

SAGE方法可以定量研究不同细胞(包括组织、器官、种属)、不同发育阶段、不同进化程度及不同生理病理状态下基因表达的差异,是全面综合了解基因表达与生命活动关系的强有力的工具,在后基因组研究中必将发挥更大的作用

参 考 文 献

- 1 Veres G et al. Science, 1987; 237: 415~ 419
- 2 Lee NH et al. Proc Natl Acad Sci USA, 1995; 92 8303~ 8307
- 3 Fung YW and Liew CC. J Mol Cell Cardiol, 1996; 28 1241~ 1249
- 4 Nguyen C et al. Genomics, 1995; 29 207~ 216
- 5 Schena M et al. Science, 1995; 270 467~ 470
- 6 Velculescu VE et al. Science, 1995; 270 484~

- 487
- 7 Velculescu VE et al. Cell, 1997; 88 243~ 251
- 8 Zhang L et al. Science, 1997; 276 1268~ 1272
- 9 Madden SL et al. Oncogene, 1997; 15 1079~ 1085
- 10 Schena M et al. Proc Natl Acad Sci USA, 1996; 93 10614~ 10619
- 11 Powell J. Nucl Acids Res, 1998; 26 3445~ 3446
- 12 Wang SM and Powell J. Proc Natl Acad Sci USA, 1998; 95 11909~ 1191
- 13 Coffen A. Nature, 1997; 385 202~ 203
- 14 Adams M D. Bioassays, 1996; 18 261~ 282
- 15 Coffen A et al. Science, 1996; 274 246~ 247
- 16 Collins FS. Proc Natl Acad Sci USA, 1995; 92 10821~ 10823

(收稿日期: 1999-04-23)

乏氧组织显像剂研究最新进展

中国医学科学院放射医学研究所(天津, 300192) 李 莉综述 李美佳 郑妙 * 审校
中国协和医科大学

摘 要: 乏氧组织显像剂能选择性地滞留在乏氧组织或细胞中,并通过核医学显像探测组织缺氧及其程度。乏氧显像能直接提供任何器官中组织存活但有功能障碍的依据,这些信息在临床诊断决策中起到重要作用,尤其是在心、脑血管疾病和实体瘤的诊断方面。本文简要介绍乏氧组织显像剂与乏氧显像的特点及其研究的最新进展。

关键词: 乏氧组织显像剂 乏氧显像

应用乏氧组织显像剂探测缺氧、缺血组织是目前国际上放射性新药研究的一个热点。组织乏氧是临床上许多疾病的一个显著特征,了解组织氧水平对这些疾病的诊断十分重要。

采用非侵入性方法确定乏氧组织一直受到广泛重视,到目前为止,比较成熟的方法有磁共振光谱法(MRS)、核医学技术及电子自旋共振(ESR)光谱法等^[1]。其中,核医学技术是利用乏氧组织显像剂进行SPECT或PET,简便易行,非常适于临床推广应用。

1 乏氧组织显像剂与乏氧显像

乏氧组织显像剂是一类阳性显像剂,它们能选择性地滞留在乏氧组织或细胞中,并通过核医学显像探测组织缺氧及其程度。理想的乏氧组织显像剂应具有如下特点^[2]:①能迅速集中于感兴趣的乏氧组织,病灶本底的比值大于3:1,并能在短时间内提供足够的光子流以得到高质量的图像(要求不超过病人能承受的辐射剂量);②能在血液中迅速清除,若要在注射后1小时成功显像,它在血

* 天津医科大学第二附属医院核医学科(天津, 300211)

液中清除 50% 的时间应约为 10 分钟;③ 具有在血液和正常组织中清除情况一致的生物学特性。

乏氧显像是以乏氧组织显像剂作为示踪剂探测机体内缺氧、缺血组织的显像过程。影响乏氧显像灵敏度的因素有放射性药物到达缺血区域的量、在乏氧组织中的滞留量、滞留时间以及从正常区域清除的速率。

乏氧显像能直接提供任何器官中有功能障碍但组织存活的依据^[2], 这些信息在临床诊断决策中起到重要作用。

在心血管疾病方面, 乏氧显像能迅速、准确地地区分缺血但存活或坏死的心肌, 用于临床诊断, 能极大地改善心血管病人的治疗效果, 降低其死亡率。而目前临床所用的单光子核技术, 包括心肌灌注显像和探测急性心肌坏死的显像, 都不能可靠地判断心肌缺血但存活^[2], 前者显示的是氧气到组织的相对输送情况, 但不能说明输送的氧气量能否满足该区域存活心肌细胞的需求; 后者在灌注迅速恢复的心肌组织还存在一定坏死的情况下, 显像仍呈阳性, 无法可靠确定为存活但缺血的组织。

脑血管疾病具有突发性、死亡率高的特点, 严重威胁着人类生命。1983年, Heiss WD 提出, 脑组织中某些区域在卒中后的低血流量仅使其发生功能性障碍, 但尚未立即导致形态学变化。然而, 即使没有进一步的外部刺激, 它们也易于受内部因素影响而发生形态学损伤。现正尝试寻找提高这些区域细胞存活率的新药, 但这类药物能否或何时进入临床应用取决于对卒中类型的判断, 以及对这些区域中受累组织的确定。乏氧显像能特异性地确定乏氧状态下的存活组织, 也就能很好地回答以上两个问题, 这将对脑卒中病人的治疗起到重要作用。

在实体肿瘤中, 肿瘤细胞的乏氧程度越高, 肿瘤恶化的可能性越大, 对放射治疗及某些抗癌药物的敏感性也越差。由于肿瘤内外

氧水平存在差异, 而且乏氧程度与肿瘤大小没有确定联系, 所以不可能预测单个病人的肿瘤乏氧程度。乏氧显像能探测乏氧组织的位置及数量, 便于医生选择最佳治疗方案, 提高放射治疗及某些化学治疗的成功率。

2 硝基咪唑类乏氧组织显像剂

1955年, Nakamura 发现 5-硝基咪唑能迅速抗厌氧感染。硝基咪唑类在厌氧环境中的这种特性, 已用于肿瘤乏氧组织放射增敏剂的研究。早在 10 年前, Chapman JD 等就提出将这些化合物用于体内乏氧组织显像的设想, 然而近期才将其变为现实。

Edwards 等^[3]认为, 硝基咪唑类化合物与乏氧组织结合的机理是: 配体的硝基在细胞内酶 (主要是黄嘌呤氧化酶) 的作用下发生单电子还原, 产生自由基阴离子, 在正常细胞中, 该中间体被迅速氧化成原化合物, 后者扩散到细胞外; 在乏氧细胞中, 该中间体被进一步还原, 产物与细胞内组分结合, 并滞留在细胞内。从这种还原滞留机制来看, 放射性药物的脂溶性和氧化还原电位是影响其乏氧显像能力的两个重要因素。

2.1 卤素标记的硝基咪唑类化合物

2.1.1 MISO 衍生物

硝基咪唑类乏氧显像剂的早期研究集中在放射性卤素标记的 Misonidazole (MISO) 及其衍生物, 这主要与 MISO 具有合适的氧化还原电位有关。

由于 Br-C 键比 I-C 键强度大, 所以早在 1982 年就有人研究了⁷⁷Br-MISO^[2]。它的药代动力学研究表明, 注射后 24 小时才能进行肿瘤显像。Biskupiak JE 等 (1991 年) 研制的 iodovinylmisonidazole (IVM) 在结构上与 MISO 相似, 但脂溶性比 MISO 高 10 倍。IVM 中 I-C 键稳定性好, 不易脱碘, 而且制备较方便。

Jerabeck PA (1986 年) 和 Rasey JS (1987 年) 等报道了¹⁸F-MISO (见图 1) 的合

成、生物学分布以及它在乏氧肿瘤和犬心肌梗塞模型中的研究结果 此后, Grierson JR (1989年)和 Cherif A(1994年)等改进 ^{18}F -MISO的合成方法, 实现了快速合成 1991年, Koh WJ等研究了 ^{18}F -MISO在头颈部肿瘤中的吸收情况, 并提出用肿瘤 血浆滞留比 (TPRR)来判断乏氧部位 由于计算 TPRR需要多个血浆样品, 比较麻烦, 有人尝试用肿瘤 肌肉滞留比 (TMRR)代替 TPRR确定鼻咽癌乏氧组织^[4], 获得满意效果 研究表明, ^{18}F -MISO在肝脏中的吸收也受乏氧程度的影响^[5]。目前, ^{18}F -MISO已用于临床研究, 但它仍存在一些不足之处。首先, 作为 MISO衍生物, 它不可避免地具有神经毒性和软组织吸收; 其次, 它的病灶 本底计数比低, 而注射与显像之间间隔 90分钟, 使计数率下降, 影响图像质量; 第三, ^{18}F 是回旋加速器生产的短半衰期核素, 使其应用仅限于少数 PET中心。

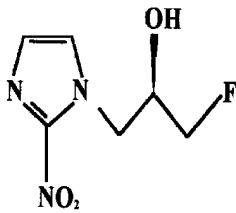


图 1 FMISO

一般认为, 2-硝基咪唑类化合物的神经毒性随其脂溶性升高而增强, 这显然是由其过膜能力决定的 据报道^[6], etanidazole亲水性强, 神经毒性低, Shine等^[7]合成并用 ^{18}F 标记了 etanidazole及其类似物, 其中 EF5(见图 2)与组织结合的程度几乎完全由组织氧水平决定

将 FMISO的结构稍加改造, 即可得到亲水性的 FETNIM(见图 3) 它在肠、肾中分布多而脑中少, 并且在大部分脏器中的清除速率接近^[8]。FMISO、FDG与 FETNIM三者比较, FDG的 TPRR最高, 其次为 FETNIM; 但是, FETNIM的 TMRR明显高于其

它两者 肿瘤组织的宏观放射自显影显示, FETNIM在乏氧区域的吸收比正常含氧区域多。

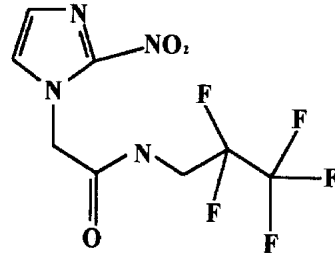


图 2 EF5

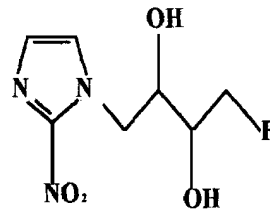


图 3 FETNIM

2.1.2 IAZA类似物(糖基-硝基咪唑类化合物)

1991年, Mannan RH等合成了放射性碘标记的 iodoazomycin arabinoside (IAZA, 见图 4) 随后, Schneider等^[9]合成了多种 IAZA类似物, 并研究了它们的化学、生物还原和药理学性质。在这一系列化合物中, ^{123}I -IAZA最先用于评价肿瘤乏氧的临床研究, 但实验表明, ^{123}I -IAZA并非理想的乏氧组织显像剂, 主要有以下原因: 它在人同种或异种肿瘤中的吸收不稳定, 随病人个体差异变化大; 它在体内具有较长的血液清除时间 ($t_{1/2}$ 为 8~10小时), 而肝肠清除在腹部产生干扰信号; 体内易脱碘, 并浓集于甲状腺

最近, Schneider等^[10]合成了第二代放射性碘标记的糖基-硝基咪唑类化合物, 并研究了它们的药代动力学性质和体内外乏氧显像能力 其中, β -D-icdoazomycin xylopyranoside (IAZXP)和 β -D-iodoazomycin galactoside (IAZG)水溶性强, 在荷瘤小鼠血液中

清除快, TMR和 TPRR高, 具有比 IAZA 更好的乏氧显像性能

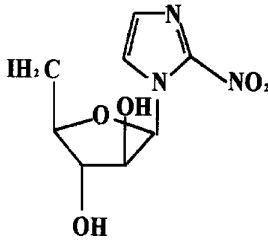


图 4 IAZA

2.2 金属标记的硝基咪唑类化合物

目前, ^{99m}Tc标记乏氧组织显像剂是国际上核化学研究的重要内容, 主要集中在包括 BATO类似物 ^{99m}Tc-PnAO 衍生物和 ^{99m}Tc-Schiff碱等的 ^{99m}Tc标记硝基咪唑类化合物

2.2.1 BATO类似物

BATO (boronic acid adduct of technetium dioxime)类似物是通过联接有硝基咪唑的硼酸与 ^{99m}Tc-dioxime配合物快速反应得到的七配位中性金属配合物, 其通式为 TcX(dioxime)₃BR (X= Cl, OH R= 硝基咪唑衍生物)^[2]。尽管 BATO类似物具有能被黄嘌呤氧化酶识别的硝基, 但由于未标记的 MISO和硼酸的存在, 它在体内与乏氧组织结合的速度并不理想。研究表明, 高脂溶性的 BATO类似物可能滞留在疏水膜中, 而不进入胞液中^[2]。

2.2.2 ^{99m}Tc-PnAO衍生物

^{99m}Tc-PnAO (technetium (V) oxo propylene amine oxime)衍生物是当前研究最多的一类 ^{99m}Tc标记乏氧组织显像剂, 其中一些化合物可能具有临床应用价值。1992年, Linder KE等成功研制了 ^{99m}Tc-PnAO-I- (2-nitroimidazole) (BMS181321) (见图 5)。它在牛的内皮细胞中有很强的渗透性, 其渗透力是水的 60%。研究表明, BMS181321能浓集于乏氧的心肌、脑和肿瘤组织, 并且不受肿瘤细胞中 P-glycoprotein含量的影响^[11]。目前, 它正处于动物实验阶段, 已进行了心肌

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模型研究。据预测^[12], BMS181321有望用作“热区”探测并定量测定心肌缺血以及临床诊断实体瘤乏氧水平。

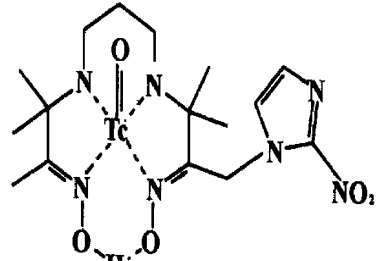


图 5 BMS181321

BMS194796由四种生物学特性相似的立体异构体混合而成, 其中顺反互变迅速, 无法分离^[13]。与 BMS181321相比, BMS194796在肝脏中的分布明显减少, 而血液清除加快。BMS194796已用于冠状动脉狭窄的动物模型显像研究^[14]。

Howard等^[15]研制的 ^{99m}Tc-NI在结构上仅比 BMS181321多一个亚甲基, 实验表明, 它可提高对缺血性心脏病病人的生理学评价效果。

2.2.3 其它

小分子多肽或 N₂O₂类配体 HNBANP等联接硝基咪唑后的 ^{99m}Tc标记物 ^{99m}Tc-Schiff碱等也被用于乏氧显像研究^[16, 17]。

3 非硝基咪唑类乏氧组织显像剂

理想的乏氧组织显像剂应具有高渗透性和低氧化还原电位, 前者便于它到达细胞内线粒体, 后者利于它在正常细胞稳定而在乏氧细胞中被异常高浓度的电子还原。由此看来, 硝基咪唑基团并非乏氧显像所必需的官能团。目前, 对非硝基咪唑类乏氧组织显像剂的研究取得了可喜进展。

3.1 AO类化合物

近年来, Amersham公司合成了一系列

新的 ^{99m}Tc 标记硝基咪唑衍生物,其中 ^{99m}Tc -HL91M 比以往其它化合物显示出更高的乏氧正常组织计数比。当 HL91M 中的 2 硝基咪唑基团被消除后,产物 HL91 的 ^{99m}Tc 标记物(见图 6)具有更强的乏氧显像能力^[18]。

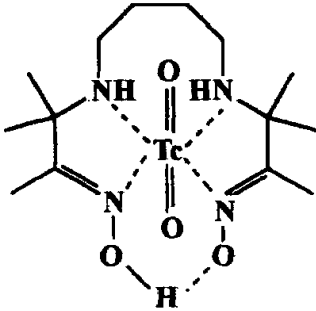


图 6 ^{99m}Tc -HL91

这意味着过去认为的硝基还原机理可能过于简单,同时也引入了一类新型乏氧组织显像剂。

HL91 的化学名称是 4,9-二氮-2,3,10,10-四甲基十二烷-2,11-二酮肟,亦称 BnAO,其合成比较简单,与 ^{99m}Tc 的标记率在 95% 以上。动物实验及初步临床应用表明, ^{99m}Tc -HL91 的显像能力明显优于硝基咪唑类化合物,且不具细胞毒性,是一种非常有开发前景的新型乏氧组织显像剂。

Okada 等^[19]发现, ^{99m}Tc -HL91 在缺血、乏氧心肌细胞中吸收多,乏氧正常组织计数比高,而肝脏摄取低,对心肌显像干扰少。进一步的体内实验^[20]显示, ^{99m}Tc -HL91 在犬心脏中能阳性判断局部心肌缺血,通过定量分析可实现注射后 15 分钟确定缺血心肌。

Fukuchi 等^[21]利用双标记放射自显影研究了 ^{99m}Tc -HL91 和 ^{14}C 脱氧葡萄糖在暂时缺血后心肌中的吸收情况,结果表明,在诊断损伤但存活心肌方面, ^{99m}Tc -HL91 优于脱氧葡萄糖。 ^{99m}Tc -HL91 在由 ^{18}F -FDG PET 确定的人恶性肿瘤部位中的大部分都有吸收,并在注射后 4 小时提供高质量图像^[22]。

尽管许多实验充分证实了 ^{99m}Tc -HL91

能选择性地滞留在乏氧组织的特性,它与乏氧组织结合的机制尚不清楚,有待于进一步研究。

3.2 Cu-BTS 衍生物

1978 年, Hesslewood IP 等人提出,铜本身是一种乏氧细胞增敏剂,它的细胞毒性与氧化还原电位有关。铜有多种放射性同位素,其中 ^{60}Cu 、 ^{61}Cu 、 ^{62}Cu 和 ^{64}Cu 可用于 PET, ^{64}Cu 和 ^{67}Cu 可用于放射治疗。因此,可以从铜配合物中筛选乏氧组织显像剂和选择性杀灭乏氧细胞的放射性药物。

Cu-bisthiosemicarbazone (Cu-BTS) 衍生物是目前研究最多的一类铜配合物。 ^{62}Zn - ^{62}Cu 发生器可以在生理条件下产生 ^{62}Cu 甘氨酸淋洗液,它与 BTS 混合得到 ^{62}Cu -BTS,不需纯化即可使用。

^{62}Cu 或 ^{64}Cu 标记的 Cu(II)-pyruvaldehyde-bis(N^4 -methylthiosemicarbazone, Cu-PTSM)(见图 7)是一种已知的灌注显像剂,一般认为它不具有乏氧选择性,但也有研究偶然发现^[23,24], ^{62}Cu -PTSM 在暂时性脑缺血小鼠的脑组织中吸收增加,而且在兔乏氧心肌中的清除比正常组织慢。

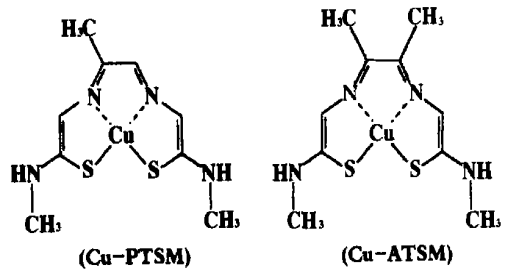


图 7 Cu-PTSM 和 Cu-ATSM

有人提出^[25,26],对 PTSM 进行修饰以降低其氧化还原电位(如:引入烷基或用氧取代硫作为配位原子),可能得到亲乏氧组织的配体。Jason 等^[27]合成了 16 种 ^{64}Cu -PTSM 修饰物,并研究了它们在细胞中的吸收与氧水平的关系,结果显示 ^{64}Cu -ATSM [^{64}Cu -diacetyl-bis(N^4 -methylthiosemicarbazone)]

(见图 7)等 7种有高度的乏氧选择性 另据报道,⁶²Cu-ATSM 通过异常线粒体还原机制滞留于乏氧细胞中,与血液流速无关,它的乏氧选择过程是可逆的,仅取决于细胞氧水平而不受乏氧所致永久性改变(如:膜损伤等)的影响^[26]。

4 结语

乏氧组织显像剂有其重要的临床应用价值和广阔的应用前景,特别是在心、脑血管疾病和实体瘤的诊断、治疗方案的选择以及预后的评价等方面有其独特的优越性。我们相信,随着对乏氧组织显像剂研究的不断深入,乏氧显像将会在临床诊断中发挥越来越重要的作用。

参 考 文 献

- 1 Stone HB et al. *Radiat Res*, 1993; 136 422~ 434
- 2 Nunn A et al. *Eur J Nucl Med*, 1995; 22(3): 265 ~ 80
- 3 Edwards DL. *J Antimicrob Chemother*, 1993; 31 9~ 20
- 4 Yeh SH et al. *Eur J Nucl Med*, 1996; 23(10): 1378~ 1383
- 5 Dissmann PD et al. *Chir Forum Exp Klin Forsch*, 1997; 221~ 227
- 6 Lim JL et al. *J Nucl Med*, 1994; 35 6P
- 7 Shine CY et al. *J Labelled Compd Radiopharm*, 1997; 39 70
- 8 Jelong JM et al. *J Labelled Compd Radiopharm*, 1997; 39 349
- 9 Schneider RF et al. *Quarterly J Nucl Med*, 1995; 39(1): 41
- 10 Schneider RF et al. *J Labelled Compd Radiopharm*, 1997; 39(7): 541~ 547
- 11 Cowan DSM et al. *Br J Cancer*, 1996; 74(Suppl): S264~ S266
- 12 Okada RD et al. *Eur J Nucl Med*, 1996; 23(4): 443~ 447
- 13 Linder ICE et al. *J Labelled Compd Radiopharm*, 1995; 37 202
- 14 Kuczynski B et al. *J Nucl Cardio*, 1995; 4 S28 (abs)
- 15 Howard W et al. *J Nucl Med*, 1998; 39(4): 598~ 607
- 16 Zhang Z et al. *J Labelled Compd Radiopharm*, 1995; 37 205
- 17 Zhang Z et al. *J Nucl Med*, 1994; 35 472
- 18 Archer CM et al. Technetium labelled agents for imaging tissue hypoxia in vivo. In Nicolini M et al, eds. *Technetium and Rhenium in Chemistry and Nuclear Medicine*. Padova, Italy: SGE Ditoriali Publishers, 1995; 535~ 539
- 19 Okada RD et al. *Circulation*, 1997; 95(7): 1892~ 1899
- 20 Okada RD et al. *Circulation*, 1998; 97(25): 2557~ 2566
- 21 Fukuchi K et al. *Eur J Nucl Med*, 1998; 25(4): 361~ 366
- 22 Cook GJR et al. *J Nucl Med*, 1998; 39(1): 99~ 103
- 23 Taniuchi H et al. *J Nucl Med*, 1997; 38(7): 1130~ 1134
- 24 Shelton ME et al. *J Nucl Med*, 1989; 30(11): 1843~ 1847
- 25 Blower PJ et al. *Nucl Med Biol*, 1996; 23 957~ 980
- 26 Fujibayashi Y et al. *J Nucl Med*, 1997; 38(7): 1155~ 1160
- 27 Jason LJD et al. *Eur J Nucl Med*, 1998; 25(7): 788~ 792

(收稿日期: 1998-10-24)