

调节剂改善化疗效果可提供较大作用。 $^{99m}\text{Tc}$  标记的显像剂因其良好的物理性能而广泛应用于临床。目前,对于用 $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI进行P-gp功能显像的研究报道较多,已尝试于预测临床化疗效果。Bernard等人<sup>[12]</sup>进行体外及体内实验比较MIBI、tetrofosmin、Q12,发现体外肿瘤细胞摄取率按MIBI、tetrofosmin、Q12顺序递减,前两者的摄取与线粒体膜电位有关;体内三种显像剂的心肌摄取均高且稳定,肿瘤摄取率MIBI > Q12 > tetrofosmin,肿瘤/血比值MIBI > tetrofosmin > Q12。Ballinger等人<sup>[10]</sup>的研究亦表明,尽管MIBI、tetrofosmin、Q12三者都能较好地评价P-gp的表达,但定量分析发现,在肿瘤净摄取和洗脱半衰期方面存在差异。因此,理想显像剂的选择亦是一些学者正在探索的问题。我们认为,理想的肿瘤P-gp功能显像剂应具有以下特点:①肿瘤细胞的低非特异性结合;②药物敏感的肿瘤细胞与MDR肿瘤细胞的净摄取量有明显区别;③给予MDR调节剂后,耐药细胞的摄取明显增加。

临床应用P-gp功能显像尚存在一些问题,如:①肿瘤细胞摄取显像剂受多种因素的影响,P-gp功能显像能否真正准确地评价P-gp的表达水平;②如何利用P-gp功能显像来定量评价P-gp的表达水平;③P-gp介导

的各种转运底物(包括各种化疗药、调节剂、显像剂)的转运方式尚未完全清楚,P-gp功能显像能否准确预测化疗效果,反映调节剂的作用。因此,各种显像剂与P-gp的定性、定量关系及理想显像剂的选择尚需要大量的实验和临床研究。

#### 参考文献

- 1 Ptwnica-Worms O et al. Biochemistry, 1995; 34:12210~12220
- 2 Vecchio SD et al. J Nucl Med, 1997; 38:1348~1351
- 3 Vecchio SD et al. Eur J Nucl Med, 1997; 24: 150~159
- 4 Ciarmiello A et al. Proc Am Assoc Cancer Res, 1996; 33:310
- 5 Takj J et al. J Nucl Med, 1998; 39:1179~1184
- 6 Barbarics E et al. Cancer Res, 1998; 58:276~282
- 7 Moretti JL et al. J Nucl Med, 1998; 39:1214~1218
- 8 Hendrikse NH et al. Br J Cancer, 1998; 77:353~358
- 9 Ballinger JR et al. J Nucl Med, 1996; 37:1578~1582
- 10 Ballinger JR et al. J Nucl Med, 1997; 38:1915~1919
- 11 Carolyn L et al. J Nucl Med, 1998; 39:77~86
- 12 Bernard BF et al. Nucl Med Biol, 1998; 25:233~240

(收稿日期:1999-03-04)

708-212

R981

5

## 体内多药耐药的显像研究

中国医科大学第一临床医院核医学科(沈阳,110001) 白景明编译 李亚明审校

**摘要:**探讨了多药耐药产生的各种机制及体内P-糖蛋白(P-gp)和多药耐药相关蛋白(MRP)显像的情况。SPECT和PET都可以用来研究P-gp和MRP介导的转运情况。锝标记的甲氧异腓、p53和Q复合物都是P-gp泵的转运底物。显像剂如 $^{11}\text{C}$ 标记的秋水仙碱、维拉帕米、阿霉素等已经用于体内P-gp介导的转运水平的定量研究。白三烯是MRP的特异转运底物,因此 $N$ - $^{11}\text{C}$ -乙酰基白三烯E4可用于无创性评价MRP的转运功能。

**关键词:**多药耐药 P-糖蛋白 多药耐药相关蛋白

MRP、显像剂

207号室

肿瘤化疗的失败多是由于内源性耐药或化疗过程中产生的获得性耐药的結果。内源

性耐药时,肿瘤细胞对化疗药物始终无反应,而在获得性耐药时,治疗初期有效,之后反应

丧失。耐药的形式之一就是多药耐药(MDR),许多化疗药物与多药耐药有关,此类耐药是多因素共同参与的结果。总体来说,了解P-糖蛋白(P-gp)和多药耐药相关蛋白(MRP)的情况有助于合理治疗方案的选择。

## 1 多药耐药

### 1.1 P-gp

多药耐药产生的机制之一就是ATP依赖性的7号染色体(7q21.1)MDR1基因编码的P-gp过度表达。具有多药耐药性质的药物是通过被动扩散进入到细胞内并与P-gp洗脱泵(此泵位于脂质双分子层中间或双脂层的近胞浆一侧)呈可逆性结合,然后糖蛋白通过ATP酶水解获取能量,将呈多药耐药排出细胞外。为了阻断此泵的作用,许多起多药耐药功能调节作用的药物如钙离子通道拮抗剂、环孢菌素A、免疫抑制剂PSC833被用来研究。

人和动物的许多正常组织都表达P-gp,例如肾上腺皮质细胞、肠粘膜细胞、肝胆细胞、肾脏近曲小管上皮、胰腺管、妊娠的子宫、胃肠上皮、脑的毛细血管和CD34<sup>+</sup>骨髓干细胞。P-gp还在许多肿瘤如肾细胞癌、肝癌、噬铬细胞瘤、结肠癌等存在。P-gp在正常组织的大量存在可以将有毒物质及时排入尿、胆汁和大便中而起到保护作用,甚至还可以保护脑和性器官免受毒害。

### 1.2 MRP

与多药耐药产生有关的另一个机制就是受MRP1[16p13.1]基因编码的MRP的表达,它是最早由Cole等人在人耐阿霉素小细胞肺癌细胞株的研究时发现的,也是ATP结合型大家族中的一员。

MRP几乎存在于人的所有细胞中,而且在许多不表达P-gp的MDR细胞株上也有过度表达。其在细胞膜上的表达支持其为一种药物洗脱泵的观点。在许多细胞株上,如HL60/ADR和GLC4/ADR,MRP1存在于

内质网的质浆或高尔基器中<sup>[1]</sup>。

在肝脏,MRP1的表达水平很低,而MRP2在肝细胞膜的内侧被充分表达。MRP2是细胞膜胞浆侧的多特异性阴离子转运载体(cMOAT)。MRP1和MRP2在功能方面有许多一致性,但细胞内定位不同:MRP2位于肝细胞膜胞浆一侧,而MRP1位于基底侧。CY/TR大鼠由于MRP2基因的突变,有机阴离子如胆红素-葡萄糖酸化物、半胱氨酸白三烯经胆道排泄受阻。除了MRP1和MRP2之外,MRP3、MRP4、MRP5也都在人体细胞表达,但具体作用不清楚。

### 1.3 不典型多药耐药的其它形式

除了P-gp和MRP1、MRP2之外,细胞内I型DNA局部异构酶水平的改变也会导致多药耐药的产生。I型DNA局部异构酶是许多药物如阿霉素和表鬼臼素的耐药原因,它们可以产生扭曲的双链嵌入到DNA结构中,导致DNA结构改变,而此酶在肿瘤细胞水平的下降导致了DNA损伤程度减轻,细胞死亡减少,因此产生了耐药。

肺耐药相关蛋白(LRP)在某些多药耐药癌细胞当中经常出现过度表达,其为一种通道蛋白并参与核-胞浆转运的多个亚单位复合结构,其在耐药机制中的具体作用尚有待研究。

临床实际工作中对肿瘤病人进行多次活检不可行,因此对抗癌药物的治疗过程中和治疗后P-gp、MRP等表达水平的变化了解不多,而且定量测定它们的表达水平未必能提供P-gp等药物洗脱泵的功能信息,例如在成熟的成髓细胞瘤株中,采用单抗技术发现其P-gp水平很高,但是却并不转运P-gp底物;相比之下,未成熟的成髓细胞瘤中P-gp表达水平很低,但转运P-gp底物的功能却很强<sup>[2]</sup>。从这一点来看,多药耐药不是由肿瘤细胞上的P-gp数量而是由药物洗脱泵的转运功能状态来决定的。

## 2 SPECT 在功能显像中的作用

### 2.1 P-gp 功能显像

要进行 P-gp 转运功能显像的研究,显像剂应该具备以下几个条件:①与细胞、细胞膜和疏水区的非特异结合要低;②显像剂在药物敏感性细胞和 P-gp 表达细胞上的摄取水平要有显著性差别;③经过经典的多药耐药剂调节之后,显像剂在原耐药细胞处的摄取要显著增加。

#### 2.1.1 标记的甲氧异脞

由于负性跨膜电位和心脏、肌肉、肝脏、肾脏细胞内线粒体含量高,锝标记的甲氧异脞被这些器官优先摄取。恶性肿瘤由于代谢加快,负性跨膜电位增加,这可能是其在恶性肿瘤细胞处被更多摄取的原因。

锝标记的甲氧异脞是 P-gp 的转运底物,在裸鼠肿瘤模型的不同部位同时接种对药物敏感的 KB-3-31 肿瘤细胞株和耐阿霉素且表达 P-gp 的 KB-8-5 肿瘤细胞株,锝标记甲氧异脞在 KB-85 细胞株的摄取要比 KB-3-1 细胞株低 2~3 倍,即表达 P-gp 的瘤株摄取锝标记甲氧异脞的量要低于不表达 P-gp 的瘤株,同时表达 P-gp 的肿瘤细胞对锝标记的甲氧异脞的清除速度要比不表达 P-gp 的瘤株快 2 倍<sup>[3]</sup>。

在荷人肿瘤的裸鼠模型上对不表达 P-gp 的乳腺癌细胞研究发现,表达 P-gp 的耐药细胞株耐药程度要比不表达 P-gp 的细胞株高 200~300 倍,反之,锝标记的甲氧异脞在不表达 P-gp 的肿瘤的摄取比表达 P-gp 的瘤株高 2.2~2.5 倍<sup>[4]</sup>。

有人研究了甲氧异脞自乳腺癌患者肿瘤处的洗脱率和 P-gp 定量表达之间的相关性,结果显示 P-gp 表达高低两组的洗脱率分别为  $0.00686 \pm 0.00390/\text{min}$  和  $0.00250 \pm 0.00090/\text{min}$ <sup>[5]</sup>,另外,由于锝标记的甲氧异脞被肝脏清除进入胆管、胆囊、肠道,致使腹部放射性本底较高,故腹部肿瘤的 P-gp 活性

评价欠精确。Ciarmiello 等人<sup>[6]</sup>研究了锝标记甲氧异脞自肿瘤细胞的清除对表阿霉素化疗的预测价值,在总共 39 例局部浸润性乳腺癌患者中,有 17 例出现了快速清除 ( $t_{1/2} < 204\text{min}$ ),组织学证明化疗效果不佳;有 8 例清除较慢 ( $t_{1/2} > 204\text{min}$ ),组织学证实仅残存少量肿瘤细胞。由此说明,化疗的失败与肿瘤细胞对药物的清除过快即 P-gp 泵的转运功能增强有关<sup>[6]</sup>。再者,锝标记甲氧异脞不仅仅是 P-gp 泵也是多药耐药相关蛋白 MRP1 泵的转运底物,在两种运载体都过度表达,测定转运功能可能是二者共同作用的结果。

在另一个前瞻性研究当中,有学者就 29 例人小细胞肺癌和 26 例肺癌鳞状上皮癌的锝标记甲氧异脞摄取和洗脱情况进行了分析以评价 P-gp 的表达情况,所有样品都采用免疫组化方法;在 P-gp 表达阴性、较弱和过度表达的三组中,肿瘤摄取量存在着显著性差异,而洗脱率各组间无明显差别。该文的洗脱率定义为注药后 30 分钟和 180 分钟之间的放射性强度上的差别,如果 P-gp 介导的药物转运速度很快,很有可能注药后 30 分钟洗脱泵已经完成转运清除工作;而且发现,坏死肿瘤处的 T/B 比值要低于未坏死的肿瘤部位。因此,在解释坏死肿瘤处的显像结果时要注意,以免出现 P-gp 定量测定的假阳性<sup>[7]</sup>。

有人推测,P-gp 清除泵可能按照 flipase 模式工作,即将药物由脂质双分子层的近胞浆侧转运到基底侧,如果是这样,采用显像方法评价糖蛋白有转运功能就有欠缺。

#### 2.1.2 其它锝标记显像剂

锝标记的 P53 是一种脂溶性带正电的二磷酸盐,它也是 P-gp 的转运底物之一。体外研究显示,该药在耐药瘤株的摄取要低于敏感瘤株,给与维拉帕米之后,P53 在原耐药瘤株处的摄取有所增加。这一结果与用锝标记甲氧异脞的结果一致。Nakamura 等人<sup>[8]</sup>用人退行性甲状腺瘤株 KB-3-1 和 MDR1 转染的 KB-G2 及 MRP 转染的瘤株进行研究、

以维拉帕米给与前后比较了甲氧异腈和 P53 在各个瘤株处的摄取情况,结果显示给与维拉帕米后,耐药瘤株的甲氧异腈摄取量的变化要比 P53 大,提示甲氧异腈比 P53 更特异地反映 P-gp 洗脱泵的功能状态,对于瘤株而言,甲氧异腈的靶/非靶比值也大于 P53<sup>[6]</sup>。

■ 价镓标记 Q 类化合物也被用于显像研究。Q 类化合物是非还原性的混合配体镓标记化合物,具有稳定的正一价,由 2 个疏水磷酸基和一个呈八面几何体的希夫碱构成。在 37 个镓标记 Q 类化合物的类似物当中,只有镓标记的 Q57、Q58 和 Q63 在药物敏感和耐药瘤株的摄取比值与甲氧异腈和 P53 相类似,其它类似物在两种瘤株处的摄取比值都低于甲氧异腈和 P53<sup>[9]</sup>。

在一篇研究 Q58 和 P-gp 生化协同作用的文章中,作者将放射性药物注入到 P-gp 转运泵已被破坏的昏迷小鼠 [*mdr1a*<sup>-/-</sup>] 和野生小鼠 [*mdr1a*<sup>+/+</sup>] 上,发现 Q58 在 *mdr1a*<sup>-/-</sup> 小鼠大脑处的摄取要高于 *mdr1a*<sup>+/+</sup>, 用调节剂 GF120918 (250mg/kg) 调节后, *mdr1a*<sup>-/+</sup> 小鼠处的 Q58 摄取量增加 180%, 提示 Q58 可以反映血脑屏障处的洗脱转运活性及调节剂对洗脱泵的调节作用<sup>[10]</sup>。

## 2.2 MRP 的功能显像

镓标记甲氧异腈不仅是 P-gp 的贮运物,也是多药耐药相关蛋白 MRP1 洗脱泵转运底物。有学者报告,镓标甲氧异腈在 MRP1 过度表达的小细胞肺癌细胞株 GLC4/ADR150 的摄取要少于 MRP1 呈阴性的 GLC4 瘤株,而且经过 BSO 降解 GSH 后甲氧异腈在 GLC4/ADR150 的摄取升高至 GLC4 瘤株水平<sup>[11]</sup>。但是,使用 BSO 将 GSH 降解时,耐马法兰人乳腺癌株 MCF7/*mph* 的镓标甲氧异腈摄取与未用 BSO 的 MCF7/*mph* 瘤株相等,提示镓标记甲氧异腈的摄取并不受 GSH 的调节<sup>[12]</sup>。有人认为,这是 GSH 降解的程度不够,不足以带来摄取程度的改变。镓标甲氧异腈是 P-gp 和 MRP 共同的转

运底物,使其研究 P-gp 转运功能的特异性下降,但是另一方面它却可以综合反映两种药物洗脱泵的功能状态。

Dobin-Johnson 综合征是由于 MRP2 基因缺失,使得肝胆转运功能降低导致了高胆红素血症。为了诊断肝胆功能异常,早在 80 年代就用镓标 disofenin 进行显像研究,图像表现为胆囊和胆管显影延迟,肝脏显影延迟。

## 3 PET 在功能显像中的作用

### 3.1 功能显像

用放射性标记的与多药耐药相关的抑制细胞生长的药物可以进行体内药物洗脱泵的研究,例如<sup>11</sup>C-秋水仙碱的 PET 进行 P-gp 功能显像的可行性。另外,秋水仙碱经肝代谢解毒,使肝脏、肠道的本底放射性增高,影响腹部肿瘤的显像研究。最近有人采用<sup>11</sup>C 标记的维拉帕米和阿霉素进行 P-gp 转运功能的无创伤性研究,在体外实验条件下,卵巢癌细胞株 A2789 摄取<sup>11</sup>C 标记的阿霉素和维拉帕米的程度要比过度表达 P-gp 的瘤株 A2780AD 高出 16 倍和 5 倍,而且经过维拉帕米调节之后,在 A2780AD 瘤株处的摄取程度提高。体外对荷人小细胞肺癌 GLC4 和 MDR1 转染的表达小细胞肺癌瘤株小鼠的研究结果显示,给与<sup>11</sup>C-维拉帕米 0.1mg/kg 静脉注射后,GLC4 瘤株的放射性强度比后者高 1 倍,经环孢菌素 A 50mg/kg 事先调节后,<sup>11</sup>C-维拉帕米的摄取程度两组相等<sup>[14]</sup>。

### 3.2 MRP 功能显像

白三烯是 MRP 的特异转运底物,它的一些主要代谢产物如 LTC<sub>4</sub>、LTD<sub>4</sub>、LTF<sub>4</sub> 都是高敏反应、休克、炎症的调节剂。白三烯也可以转变成活性差的 N-乙酰基-LTE<sub>4</sub>,它和 LTE<sub>4</sub> 本身可以被肝细胞摄取,经胆汁排除而实现血液的快速清除。用 PET 研究 N-乙酰基-LTE<sub>4</sub> 在正常大鼠、胆汁淤积大鼠和 TR-突变大鼠中的动力学行为:静脉注入后,N-乙酰基-LTE<sub>4</sub> 自血液快速清除并出现在

肝脏,在胆汁淤积和 TR-突变的大鼠,自血液清除的比较晚;与正常大鼠相比,TR-突变大鼠的肝脏 N-乙酰基-LTE<sub>4</sub> 延迟相聚集量增多,肠道放射性低至可以忽略。

#### 4 存在的问题和展望

就参与 MDR 发生的多种机制而言,初步研究结果显示,PET 和 SPECT 研究可以加深对药物洗脱的功能状态的认识。进行 P-gp 和 MRP 的精确测量要考虑一些综合因素,如血液清除比较快,血液本底变化大。显像剂的脂溶性也非常重要,如果脂溶性过低,跨膜扩散和细胞内摄取也较低,仅有部分底物经药物洗脱泵洗脱清除;如果脂溶性过高,跨膜双向扩散也较快,此时仅仅以被动扩散来定义药物的膜转运,跨膜药物洗脱的功能转运的测定就比较困难了。再加之多种机制参与多药耐药的形成,因此,开发满足上述条件的特异性较高的放射性显像剂非常必要。

综上所述,药物洗脱在人体正常组织与肿瘤中广泛分布,对其功能状态的了解在医学的各个方面特别是临床肿瘤的治疗方面有着重要的意义。随着该项研究的不断深入,围绕人类多年的耐药机制可能会更加清楚,合

理有效的耐药机制调节有望得到解决。

#### 参考文献

- 1 Almquist KC et al. *Cancer Res.* 1995;55:102~110
- 2 Bailly JD et al. *Leukemia.* 1995;9:799~807
- 3 Ballinger JR et al. *Nucl Med Commun.* 1995; 16:253~257
- 4 Barbaris E et al. *Cancer Res.* 1998;58:276~282
- 5 Del Vecchio S et al. *Eur Nucl Med.* 1997;24:150~159
- 6 Ciarmello A et al. *J Clin Oncol.* 1998;16:1677~1683
- 7 Kostakoglu L et al. *J Nucl Med.* 1998;39:228~234
- 8 Nakamura K et al. *Eur J Nucl Med.* 1996;23: 1142
- 9 Crankshaw CL et al. *J Nucl Med.* 1998;39:77~86
- 10 Luker GD et al. *Biochemistry.* 1997;36:14218~14227
- 11 Hendrikse NH et al. *Br J Cancer.* 1998;77:353~358
- 12 Kabasakal L. *Eur J Nucl Med.* 1996;23:568~570
- 13 Elsinga PH et al. *J Nucl Med.* 1996;37:1571~1575
- 14 Hendrikse PH et al. *Proc Am Assoc Cancer Res.* 1998;39:488

(收稿日期:1999-03-25)

212-215

## 动脉粥样硬化斑块核素显像研究进展

R043.104  
R817.42

同济医科大学附属协和医院核医学科(武汉,430022) 曹 卫综述 张永学审校

**摘要:**阐明了动脉粥样硬化斑块放射性核素显像的意义及理想的动脉粥样硬化斑块显像剂应具备的条件,简述了动脉粥样硬化斑块显像剂的研究概况及临床应用前景。

**关键词:**动脉粥样硬化斑块 放射性核素显像

随着对冠心病研究的深入和认识观念的改变,现在认为心肌梗塞及不稳定性心绞痛的发生主要是由于富含脂质的斑块破溃而不是冠状动脉堵塞<sup>[1]</sup>。因此,寻找一种无创伤性的早期检测动脉粥样硬化的手段,以便早期采取必要措施来控制动脉粥样硬化的进一步

发展已成为现代医学亟待解决的重大问题。

现有手段如血管造影、磁共振血管造影、CT 血管造影等对动脉粥样硬化有一定的诊断价值。血管内超声可以判断斑块的大致成分,但为创伤性检查,应用受限,新近发展的电子束 CT (ultrafast electron beam CT) 能