

文章编号: 1001-098X(2002)04-0173-04

## $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI显像对肿瘤多药耐药检测的应用

钱习军

**摘要:** MDR(多药耐药)是目前肿瘤化疗失败的主要原因,对MDR的检测可以帮助化疗决策的制定,从而使肿瘤患者得到更有效的治疗。 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI( $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -甲氧基异丁基异腈)是mdr1基因编码的P-gp(P-糖蛋白)和MRP(多药耐药相关蛋白)的转运底物,肿瘤细胞内 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI摄取减低表明其P-gp的高表达,并与MRP的表达相关。因此, $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI显像可在治疗前预测对化疗的反应,并为选择更有效的化疗策略提供依据。

**关键词:** 多药耐药;  $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -甲氧基异丁基异腈; P-糖蛋白; 多药耐药相关蛋白; 肿瘤

**中图分类号:** R817.4 **文献标识码:** A

## The application of $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI imaging to detect multidrug resistance

QIAN Xi-jun

(Medical College of Southeast University, Jiangsu Nanjing 210009, China)

**Abstract:** Multidrug resistance is the main cause of chemotherapy failure, To detect multidrug resistance is helpful to develop chemotherapy regimens and more effective treatment of patients with tumors.  $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -sestamibi is a transport substrate of mdr1-encoded P-glycoprotein and MRP. The lower  $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -sestamibi accumulation indicates the higher expression of P-glycoprotein in tumor cells. It is also related to the expression of MRP. As a result, response to chemotherapy can be estimated before starting treatment by means of  $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -sestamibi imaging and more effective protocol can be chosen.

**Key words:** multidrug resistance;  $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -sestamibi; P-glycoprotein; multidrug resistance related protein; tumor

多药耐药(multidrug resistance, MDR)是导致肿瘤治疗失败的重要原因。目前已知,多种因素参与多药耐药机制:mdr1基因编码的P-gp(P-糖蛋白),ABC(ATP-binding cassette)超家族成员的MRP(多药耐药相关蛋白),GST(谷胱甘肽-S-转移酶),Topo II(拓扑异构酶II),PKC(蛋白激酶C),LRP(肺耐药蛋白),BCRP(乳腺癌耐药蛋白)等,其中肿瘤细胞表面P-gp过度表达和功能增加是引起MDR最经典和关键的因素。

如果能够在肿瘤治疗前对MDR进行检测,并在治疗过程中对MDR的发生进行监测,则为临床MDR的逆转提供了前提条件,对肿瘤治疗决策的制定、预后的判断、化疗药物的选择、耐药逆转剂的应用及评价均有帮助,可以使患者得到最优化的治疗。 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -甲氧基异丁基异腈( $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -methoxy isobutyl

isonitrile,  $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI)系亲脂性阳离子,作为一种无药理作用的SPECT药物,其被细胞摄取是通过跨膜电势集中于线粒体和细胞质中。恶性肿瘤细胞代谢旺盛,线粒体丰富,具有较高的负跨膜电势,因而 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI显像可用于恶性肿瘤的诊断,尤其在90%可触知的乳腺癌中表现出高而特异的 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI摄取。由于P-gp的转运底物为小分子质量的亲脂性离子,因而设想 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI亦可被P-gp转运。 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI显像由于其简便无创性,副作用小,且可对P-gp功能状态进行检测,已引起世界各地学者的普遍重视。

### 1 对P-gp检测的研究

#### 1.1 对实体瘤P-gp的检测

体内实验中, $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI显像对乳腺癌P-gp功能检测研究最多。Shung-Shung S等<sup>[1]</sup>对24例乳腺癌患者评估了肿瘤组织对 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI的摄取和P-gp表达之间的关系,乳腺癌 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI闪烁显像的T/B(肿瘤/本底)值与免疫组化测定的P-gp表达成负相关。Del-Vecchio S等<sup>[2]</sup>对27例病理确诊的未治乳腺癌患

收稿日期: 2002-04-24

作者简介: 钱习军(1972-),女,安徽无为,东南大学医学院血液肿瘤科(南京,210009)硕士研究生,主要从事肿瘤多药耐药机制及逆转的研究。

审校者:东南大学医学院附属中大医院血液肿瘤科 陈宝安

者行 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI闪烁显像,不同时间(min)存留比(retain, R240/10, R60/10)与切除肿瘤标本的P-gp水平有显著负相关,并且延迟显像的R240/10比R60/10对P-gp功能检测在特异性不变的情况下具有更好的敏感性。Del-Vecchio S等<sup>[3]</sup>还直接研究了乳腺癌组织对 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI的外排率与其P-gp水平的相关性,发现高表达P-gp组对 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI的外排率比低表达P-gp组高27倍,体内采用 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI显像对P-gp进行功能检测的特异性和敏感性分别为95%和80%。

Kostakoglu L等<sup>[4]</sup>对46例病理确诊的肺癌(20例小细胞肺癌,26例鳞癌)在放化疗前行早期和延迟 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI闪烁显像和早期胸部SPECT,当除外坏死组织的影响,则P-gp表达强阳性组与阴性组、弱或局部阳性组的T/B值之间具有统计学差异,但肿瘤组织对 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI外排率与P-gp表达之间无相关,认为与P-gp的作用机制("flipase"作用,即直接将底物从细胞膜脂质的外层排出细胞外,使得底物不被细胞摄取)、P-gp的快速外排、P-gp表达的异质性及MRP可能为肺癌耐药等更重要机制有关。另外,样本量少(仅5例P-gp表达强阳性)亦对结果有影响。

Andrews DW等<sup>[5]</sup>对6例病理确诊的神经胶质瘤患者同时行 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI和 $^{201}\text{Tl}$  SPECT检测,其中4例患者两种SPECT检测结果一致,经RT-PCR(逆转录-聚合酶链式反应)证实肿瘤组织mdr1表达阴性;2例患者的两种SPECT结果不一致, $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI摄取低于 $^{201}\text{Tl}$ 摄取,免疫组化与RT-PCR证实肿瘤组织呈mdr1表达,说明 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI和 $^{201}\text{Tl}$ 双显像可用于检测神经胶质瘤的mdr1。尽管6个病例标本量少,远远不够客观评价MDR表达与神经胶质瘤存活之间的相关性,但对于证实 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI显像为体内评价胶质瘤患者化疗敏感性的非侵入性检测方法却是重要的。

## 1.2 对血液系统肿瘤的检测

Kapucu LÖ等<sup>[6]</sup>对24例恶性淋巴瘤患儿在治疗前行膈上 $^{201}\text{Tl}$ 和 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI闪烁显像,并随访对化疗的反应: $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI扫描阳性的17例患儿,化疗后完全缓解,在1~2年的随访期中无复发,而 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI扫描阴性的7例患儿对化疗部分缓解或无缓解,完全缓解组与部分或未缓解组的T/B值及 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI/ $^{201}\text{Tl}$ 比率均有显著差异,说明 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI扫描阴性者最可能与P-gp的过度表达和功能增加相关。

Gruber A等<sup>[7]</sup>从10例急性髓细胞白血病患者体内获得白血病细胞标本,其中5例mdr1基因表达阴

性,另5例表达阳性,分别与 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI孵育,mdr1阴性细胞和阳性细胞对 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI平均摄取率分别为0.89%和0.34%( $P=0.01$ ),当加入3 mmol/L环孢菌素A,mdr1阴性细胞内 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI浓度平均增加30%,而mdr1阳性细胞则平均增加242%( $P=0.009$ ),表明 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI可用于检测白血病标本mdr1基因的表达,并且可体内评价耐药逆转剂的效应。

Kostakoglu L等<sup>[8]</sup>对19例白血病患者(12例急性髓细胞白血病,7例急性淋巴细胞白血病)进行全身和骨盆局部 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI闪烁显像,并对骨髓或外周血单个核细胞行流式细胞、RT-PCR以检测P-gp表达, $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI显像的定性(视觉判断)分析结果与流式细胞和RT-PCR测定的P-gp水平均呈负相关,MIBI定量分析结果(T/B值)亦与流式细胞测定的P-gp水平呈负相关,但与RT-PCR测定的P-gp水平无统计学意义的相关,认为可能与样本量小有关。

## 1.3 检测方法的研究

### 1.3.1 检测时间的选择

Leitha T等<sup>[9]</sup>在17例头面部鳞癌患者的 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI早期显像中(静脉注射 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI后5 min显像)比较MDR阳性和阴性组的 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI摄取,发现无统计学意义的差别,认为显像剂的早期分布不受P-gp介导的外排的影响。Del-Vecchio S等<sup>[2]</sup>同样认为显像剂的早期摄取主要受细胞的跨膜电位调节,而P-gp对显影剂的外排相对较慢,故早期 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI扫描可用于恶性肿瘤的诊断,其精确性不受P-gp的影响,而 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI延迟显像对于P-gp检测的敏感性和特异性均比较早期 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI显像为高。但是,Kostakoglu L等<sup>[8]</sup>认为,由于缺乏实体瘤摄取MIBI分子所受到微血管壁、组织间隙和肿瘤实质的阻滞作用以及组织间隙与微血管内压力差的影响,血液系统肿瘤摄取MIBI分子相对较快,静脉注射 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI后20~30 min显像即可反映P-gp表达对 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI的影响。

### 1.3.2 参数的选择

对乳腺癌患者的研究中,肿瘤组织P-gp的表达与其对 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI的摄取(T/B)或外排(外排率、存留比)相关,并且有不同的分析和实验方法,何优何劣尚无定论。由于T/B值结果易得,大多数学者选择了半定量的T/B值。但是,Fujii H等<sup>[10]</sup>发现,乳腺癌患者 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -MIBI显像中的T/B值与化疗药物对细胞生长阻滞率之间的相关性较存留指数与阻滞率之间的相关性低。因此,对于预测肿瘤对化疗药物

反应来说,代表外排率的存留指数是较表示绝对摄取的T/B值更好的参数。

### 1.3.3 影响因素及其克服

在 $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI显像对实体瘤患者进行P-gp功能检测的研究中,不同学者均发现肿瘤组织的坏死和血供情况以及耐药和敏感细胞的不同线粒体密度、ATP含量和膜电位均可能对MIBI的摄取存在一定的影响。因此,推荐同时进行 $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI显像与 $^{201}\text{Tl}$ 灌注显像,如果 $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI与 $^{201}\text{Tl}$ 扫描相比摄取更低,则更提示MDR的存在。

Kostakoglu L等<sup>[11]</sup>研究了P-gp异质性表达对 $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI显像的影响,发现均一高表达和均一低表达P-gp组的T/B值之间无重叠,具有显著差异,而不均一表达P-gp组的T/B值与均一高表达和均一低表达组之间均有部分重叠,当去除不均一表达组,则T/B值与P-gp表达之间具有更高的相关性( $r = 0.808$ 和 $r = 0.735$ );并建议由于P-gp的不均一表达,不同检测方法常产生不一致的结果,因此在大规模临床实验之前,至少选用两种测定P-gp表达的方法以使所得的结果准确。

### 1.3.4 局限性和克服的方向

由于正常肝肾组织高表达P-gp, $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI作为MDR功能显像剂具有一定的局限性。 $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI被肝脏通过排泄方式清除入胆囊和肠腔,在腹腔中表现出高的背景活性,可能使腹腔肿瘤的显像模糊;另外,对P-gp功能的有效调节使 $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI在肝肾组织中存留。因此,调节治疗后,这些器官中增加的 $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI背景活性限制了对肝肾肿瘤P-gp的检测。但是,对腹腔盆以外肿瘤的检测将不受这种影响。

由于 $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI血浆清除过快以致不能在肿瘤组织中得到最佳摄取,而且,其在肝、脾等组织中摄取过高也影响作为肿瘤示踪剂的优越性。Duran-Cordobes M等<sup>[12]</sup>将 $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI包裹于直径为 $97.9 \pm 4.5$  nm的脂质(二硬酯酰磷酸胆碱:磷酸酰氨基乙醇:胆固醇 = 1.85:0.15:1.00),则能延长其在血液循环中的时间和减少非特异性摄取,并且亦不改变其区分敏感和耐药细胞系的能力,为克服 $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI的非特异性摄取提示了研究的方向。

## 2 对MRP检测的研究

在MDR的多种机制中,MRP与P-gp同为膜转运

单位ATP结合盒(ATP-binding cassette, ABC)超家族成员,存在15%的氨基酸同源性,两者引起的MDR有显著但不确切的重叠,为了解MIBI是否对P-gp和MRP存在交叉活性,众多学者进行了研究,其结论尚不一致。

Hendrikse NH等<sup>[13]</sup>和Moretti JL等<sup>[14]</sup>在体外实验中发现,不同起源的肿瘤细胞对 $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI摄取减低不仅与P-gp表达也与MRP表达相关,且随MRP表达增加,耐药系细胞对 $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI外排增加,摄取进一步减低。当采用BSO(buthionine sulfoximine)去除细胞内GSH还原型谷胱甘肽,可引起MRP<sup>+</sup>细胞系对 $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI摄取的显著增加,而在P-gp<sup>+</sup>细胞系无此效应,因此认为MRP外排MIBI可能通过GSH介导的作用。

Chia-Hung K等<sup>[15]</sup>对48例乳房浸润性导管癌患者行 $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI闪烁显像,并通过免疫组化检测病理标本的P-gp和MRP的表达:P-gp<sup>+</sup>/MRP<sup>+</sup>组的T/B值最低,P-gp<sup>-</sup>/MRP<sup>-</sup>组的T/B值最高( $1.13 \pm 1.10$ 和 $2.17 \pm 0.14$ , $P < 0.05$ ),P-gp<sup>+</sup>/MRP<sup>-</sup>组和P-gp<sup>-</sup>/MRP<sup>+</sup>组的T/B值介于前两组之间,认为 $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI闪烁显像可检测乳腺癌P-gp及MRP的表达。另外,他们<sup>[16]</sup>用类似的方法对24例淋巴瘤患者进行检测:15例P-gp和MRP表达均阴性者的T/B值显著高于6例P-gp表达阳性和4例MRP表达阳性者的T/B值, $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI闪烁显像的T/B值的减低与P-gp和MRP的表达均相关。

但是,Zhou J等<sup>[17]</sup>在临床实验中得出相反的结论。他们对34例肺癌患者术前行 $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI SPECT,并通过免疫组化和RT-PCR测定P-gp和MRP的表达:肿瘤组织对 $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI的平均摄取率(lesion/normal delayed uptake, L/Nd)和外排率(lesion/normal wash rate, L/Nwr)与P-gp在蛋白和mRNA水平均具有统计学意义相关,但与MRP无论在蛋白质或mRNA水平均无相关意义。

## 3 与其他耐药机制的关系

Kabasakal L等<sup>[18]</sup>研究了 $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI摄取与GSH相关耐药之间的关系:与MCF7/wt、MCF7/adr(P-gp相关耐药)细胞相比,MCF7/mph(GSH相关耐药)细胞具有高的摄取,且去除GSH对 $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI的摄取无影响,认为GSH相关耐药并不降低 $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI的摄取,并据此认为肿瘤标本高的 $^{99m}\text{Tc}$ -MIBI摄取并不一定表明肿瘤对化疗药物敏感。

Zhou J等<sup>[7]</sup>对肺癌患者行术前<sup>99m</sup>Tc-MIBI SPECT,并对病理标本行免疫组化和RT-PCR测定LRP的表达,结果肿瘤组织对<sup>99m</sup>Tc-MIBI的平均摄取和外排率与LRP的表达无统计学意义的相关。

由于关于GSH、LRP相关耐药与<sup>99m</sup>Tc-MIBI摄取之间关系的报道不多,无法作出定论。

#### 4 结语

随着越来越多临床研究的开展,相信将来大规模临床实验证实后,<sup>99m</sup>Tc-MIBI显像将成为体内无创检测肿瘤组织P-gp表达的有效手段。如果将来可明确不同机制在恶性肿瘤MDR中所占的比率,则<sup>99m</sup>Tc-MIBI显像还将成为确定肿瘤对药物敏感或耐药完整模式一系列检验中的一部分,为临床医师预测肿瘤MDR存在和对化疗的反应提供可信赖的信息。

#### 参考文献:

- [ 1 ] Shung-Shung S, Tih-Fang H, Shih-chuan T, et al. Expression of mediated P-glycoprotein multidrug resistance related to Tc-99m MIBI scintimammography results[J]. *Cancer Lett*, 2000, 153(1-2):95-100.
- [ 2 ] Del-Vecchio S, Ciarmiello A, Pace L, et al. Fractional retention of technetium-99m-sestamibi as an index of P-glycoprotein expression in untreated breast cancer patients[J]. *J Nucl Med*, 1997, 38(9):1348-1351.
- [ 3 ] Del-Vecchio S, Ciarmiello A, Potena MI, et al. In vivo detection of multidrug-resistance (MDR1) phenotype by technetium-99m sestamibi scan in untreated breast cancer patients[J]. *Eur J Nucl Med*, 1997, 24(2):150-159.
- [ 4 ] Kostakoglu L, Kirath P, Ruacan S, et al. Association of tumor washout rates and accumulation of technetium-99m-MIBI with expression of P-glycoprotein in lung cancer[J]. *J Nucl Med*, 1998, 39(2):228-234.
- [ 5 ] Andrews DW, Das R, Kim S, et al. Technetium-MIBI as a glioma imaging agent for the assessment of multidrug resistance[J]. *Neurosurgery*, 1997, 40(6): 1323-1332.
- [ 6 ] Kapucu LÖ, Akyüz C, Varal G, et al. Evaluation of therapy response in children with untreated malignant lymphomas using technetium-99m-sestamibi[J]. *J Nucl Med*, 1997, 38(2): 243-247.
- [ 7 ] Gruber A, Areström I, Xu D, et al. Multidrug resistance phenotype in leukaemia cells from patients with acute myelocytic leukaemia can be detected with <sup>99m</sup>Tc-MIBI[J]. *Br J Cancer*, 1998, 77(11): 1732-1736.
- [ 8 ] Kostakoglu L, Guc D, Campinar H, et al. P-glycoprotein expression by technetium-99m-MIBI scintigraphy in hematologic malignancy[J]. *J Nucl Med*, 1998, 39(7): 1191-1197.
- [ 9 ] Leitha T, Glaser C, Lang S. Is early sestamibi imaging in head and neck cancer affected by MDR status, P53 expression, or cell proliferation ?[J]. *Nucl Med Biol*, 1998, 25(6): 539-541.
- [ 10 ] Fujii H, Nakamura K, Kubo A, et al. Preoperative evaluation of the chemosensitivity of breast cancer by means of double phase <sup>99m</sup>Tc-MIBI scintimammography[J]. *Ann Nucl Med*, 1998, 12(6): 307-312.
- [ 11 ] Kostakoglu L, Ruacan S, Ergün EL, et al. Influence of the heterogeneity of P-glycoprotein expression on technetium-99m-MIBI uptake in breast cancer[J]. *J Nucl Med*, 1998, 39(6): 1021-1026.
- [ 12 ] Duran-Cordobes M, Moretti JL, De-Beco V, et al. Uptake of liposome-encapsulated <sup>99m</sup>Tc-MIBI by sensitive and multidrug-resistant tumour cell lines [J]. *Nucl Med Commun*, 1999, 20(5): 433-437.
- [ 13 ] Hendrikse NH, Franssen EJJ, Van-der-Graaf WTA, et al. <sup>99m</sup>Tc-sestamibi is a substrate for P-glycoprotein and the multidrug resistance-associated protein[J]. *Br J Cancer*, 1998, 77(3): 353-358.
- [ 14 ] Moretti JL, Duran-Cordobes M, Starzec A, et al. Involvement of glutathione in loss of technetium-99m-MIBI accumulation related to membrane MDR protein expression in tumor cells [J]. *J Nucl Med*, 1998, 39(7): 1214-1218.
- [ 15 ] Chia-Hung K, Shih-Chuan T, Tse-Jia L, et al. P-glycoprotein and multidrug resistance-related protein expressions in relation to technetium-99m methoxyisobutylisocyanide scintimammography findings [J]. *Cancer Res*, 2001, 61(4):1412-1414.
- [ 16 ] Chia-Hung K, Shih-Chuan T, Thi-Joung W, et al. Technetium-99m-sestamethoxyisobutylisocyanide scan as a predictor of chemotherapy response in malignant lymphomas compared with P-glycoprotein expression multidrug resistance-related protein expression and other prognosis factors [J]. *Br J Haematol*, 2001, 113(2): 369-374.
- [ 17 ] Zhou J, Higashi K, Ueda Y, et al. Expression of multidrug resistance protein and messenger RNA correlate with <sup>99m</sup>Tc-MIBI imaging in patients with lung cancer[J]. *J Nucl Med*, 2001, 42(10): 1476-1483.
- [ 18 ] Kabasakal L, Özker K, Hayward M, et al. Technetium-99m sestamibi uptake in human breast carcinoma cell lines displaying glutathione-associated drug-resistance [J]. *Eur J Nucl Med*, 1996, 23(5): 568-570.