

干细胞治疗影像监测方法的研究进展

伍军 安锐

【摘要】 干细胞治疗在糖尿病、心血管病、恶性肿瘤、组织损伤等疾病中展现了潜在的应用价值。高效非创伤性监测干细胞移植方法将加速干细胞治疗技术的发展。概述了核磁共振成像和放射性核素显像监测干细胞治疗的研究进展。

【关键词】 干细胞；放射性核素显像；核磁共振成像

【中图分类号】 R445.2, R817.4 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1673-4114(2006)02-0084-04

Investigation progress of imaging techniques monitoring stem cell therapy

WU Jun, AN Rui

(Department of Nuclear Medicine, Union Hospital Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China)

【Abstract】 Recently stem cell therapy has showed potential clinical application in diabetes mellitus, cardiovascular diseases, malignant tumor and trauma. Efficient techniques of non-invasively monitoring stem cell transplants will accelerate the development of stem cell therapies. This paper briefly reviews the clinical practice of stem cell, in addition, makes a review of monitoring methods including magnetic resonance and radionuclide imaging which have been used in stem cell therapy.

【Key words】 Stem cell; Radionuclide imaging; Magnetic resonance imaging

随着干细胞的研究应用的日益广泛，有学者提出了这样的问题：用作细胞替代治疗的干细胞在移植到动物模型后，是否就在疾病病变部位？数量上有没有变化？假如数量上很大衰减或者已经离开疾病病变部位则将大大降低治疗效果。因此，学者们提出了监测干细胞注入体内后的位置和数量变化的想法。目前，大多数能够判定植入动物模型的干细胞在体内迁移和归宿的技术是组织学方法^[1-4]，这些方法的评价都只能在死后的尸检中进行。比如有关缺血性心脏病干细胞治疗的实验动物研究，用传统报告基因(绿色荧光蛋白)或者胸苷类似物(溴脱氧尿苷)标记细胞，然后在特定的时间点处死动物来进行组织学分析评价；而在临床实践中治疗效果的评价依赖间接的心脏超声检查和患者主观叙述的症状，因此急需发展新的非侵入性的显像方法来评价心肌对干细胞治疗的反应^[5]。对此，研究者在以下几方面做了初步性的研究。

1 MRI

Kraitchman 等^[6]利用 MRI 的非侵入性和高空间分辨率，监测了动物体内骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cell, MSC)治疗心肌梗死：在多聚左旋赖氨酸的辅助作用下，用 feridex 标记 MSC，结果发现，MSC 不受磁标记的影响，台盼蓝排斥法检测其细胞活力>95%，标记 3d 内没有凋亡、增殖变化，处死动物后的组织学分析发现，普鲁士蓝着色的标记 MSC 与 MRI 所见结节一致；另外，用荧光标记的 MSC 与普鲁士蓝着色所代表的 feridex 标记 MSC 在组织学上邻近，提示了 feridex 在原来标记的细胞内。这些结果都提示用 MRI 示踪磁标记 MSC 的可行性，它提供了一种心肌梗死后监测心肌内移植的 MSC 数量和位置的方法，并在监测 MSC 的同时还可对梗死面积的大小和局部心脏功能进行一系列评价，这将为 MSC 的移植来重建心脏功能提供最理想化的方案。

Cahill 等^[7]用一种多聚阳离子复合物 ferumoxide 标记肌细胞起源的多能干细胞，高分辨率的 MRI 可

作者单位：430022 武汉，华中科技大学同济医学院附属协和医院核医学科

通讯作者：伍军(E-mail: wj791025@yahoo.com.cn)

在体内外监测到标记的干细胞分化为成熟肌管的过程, 细胞质 ferumoxide 的积聚在磁共振 T_2 加权上产生了信号变化, 而且少于 8 个的标记细胞都能被 MRI 探测出来。这些结果提示移植到肌营养不良肌肉细胞的干细胞能被显像, 而且这种非侵入性方法与传统的显微镜下观察获得的组织学方法结果一致, 这样就能大大减少侵入性的组织学活检的需要。

Weber 等^[8]用 MRI 来定位移植到心肌缺血模型的内皮祖细胞 (endothelial progenitor cells, EPC): 外周血免疫磁珠分离 $CD34^+$ 细胞, $CD34^+$ 和 $CD34^-$ 细胞分别移植到 Sprague-Dawley 鼠, 用羧花青荧光染料标记所有的 $CD34^+$ 和 $CD34^-$, 细胞移植后 24 h 处死动物取出心脏进行体外 3T 和 8.5T 的 MRI, 结果显示, $CD34^+$ 细胞在心肌 T_2 加权上呈低信号区, 特定时间点低信号区的强度与该区 $CD34^+$ 量有关, 没有低信号区的就是 $CD34^-$ 移植的心脏。羧花青荧光染料标记的细胞和 MRI 图像上移植细胞的组织解剖学定位直接相关, 结论是磁性标记的用于心肌缺血新生血管化发生的 EPC 能够在体外用高功能 MRI 检测。

Jing 等^[9]用超顺磁性氧化铁 (super-paramagnetic iron oxide, SPIO) 粒子标记神经干细胞进行神经干细胞大脑移植监测的研究: 从新生 Wister 鼠大脑皮层分离获得神经干细胞, 使用 SPIO 和左旋多聚赖氨酸联合标记神经干细胞, 在神经球形成后进行普鲁士蓝着色和电子显微镜检查来鉴定干细胞内的铁粒子, 鼠右侧大脑移植标记神经干细胞, 左侧移植非标记作为对照, 移植后的 1、2、4、6、7 周进行自旋回波、 T_2 加权图像、快速自旋回波 T_2 加权图像、梯度回波 T_2 的序列扫描, 结果证实, SPIO 的加入不影响神经干细胞的增殖分化, 电镜显示了细胞质膜内外不同大小的高密度吞饮小泡, 普鲁士蓝染色显示标记细胞胞质大量的蓝色铁颗粒, 在有标记干细胞的右侧大脑产生了很明显的低信号变化, 特别是在梯度回波 T_2 的序列扫描上, 这种变化在 7 周以后仍可以看见, 而在左侧大脑没有信号的改变。结论: SPIO 粒子可以用来标记神经干细胞, 且对细胞增殖、分化无影响, SPIO 粒子存在于标记细胞的吞饮小泡及细胞基质内, 标记后体内移植的神经干细胞可以在 MRI 上产生明显的低信号改变。

Stroh 等^[10]用顺磁性铁氧化物标记胚胎干细胞,

利用 17.6 TMRI 来追踪其在鼠脑中的生物学分布, 评价移植干细胞的数量界限: 从少于 10 个细胞的小细胞丛集开始, 凝胶幻灯片上不同浓度的标记干细胞引起图像信号强度的显著衰减; 不同数量的标记或非标记的干细胞都注射到鼠的纹状体用来判定体内的探测极限值, 发现在 100 个标记细胞时观察到显著的低信号强度的变化, 而在注射大约 20 个标记细胞时观察到注射部位的信号衰减变化, 但不能明确地分配给细胞。结果提示高功能的 MRI 可在体内示踪最小数量的细胞, 这个数量界值比起以前的研究结果要低得多, 这也为从更新的层次观察细胞迁移分化提供了可能性。

2 放射性核素显像

Chin 等^[11]用 ^{111}In -羟基喹啉标记 MSC, 静脉注射到猪心肌梗死模型中, 进行 SPECT 检查, 1d, 2d, 7d, 14d 重复显像, 结果显示, MSC 起初高度浓聚在肺组织, 然后慢慢集聚在肝、脾、骨髓、肾组织为持久稳定的中度浓聚, 心肌没有发现可察觉的放射性浓聚。结论是用 ^{111}In -羟基喹啉标记 MSC 是可行的, 且提供了一种非侵入性的监测干细胞运输的方法。由于静脉注射 MSC 引起肺组织高度浓聚而使得心肌细胞摄取不明显, 因此选择给药途径时应该考虑这点。

Brenner 等^[12]用 ^{111}In -羟基喹啉标记 $CD34^+$ 的造血祖细胞 (hematopoietic progenitor cells, HPC) 来监测移植入鼠心肌梗死模型中 HPC 的迁移: 从外周血中动员分离人 HPC, 用 ^{111}In -羟基喹啉标记 $CD34^+$ 的 HPC, 在诱导裸鼠心肌梗死模型或假手术后 24h 将标记 HPC 注射到左心室, 注射后 96h 开始显像, 处死动物后, 计算各个器官组织特异性放射性活度并进行免疫染色。结果: HPC 的标记率为 $32\% \pm 11\%$, 台盼蓝排斥法检测细胞存活率提示, 在 48h 和 96h 后标记 HPC 的活性与非标记相比减少到 30%, 且集落形成分析发现 7d 后 HPC 的增殖分化已经无效, 心脏与外周肌肉组织的比放射性活度从假手术的 1.10 ± 0.32 到心肌梗死模型的 2.47 ± 0.92 , 但探测到的心脏总放射性只占 1%; 在注射 HPC 第 1 小时观察到肺组织的一过性摄取增高达 17% \pm 6%, 在注射后 24h, 肝、肾、脾的放射性逐渐升高从 37% \pm 6% 到 57% \pm 5%。这些结果提示用 ^{111}In -羟基喹啉标记 HPC 来监测其移植到鼠心

心肌梗死模型的可行性,其具有的探测心肌梗死和正常心肌细胞归巢差异性的特点将为 HPC 移植的临床试验提供一种非侵入性的显像方法,同时也证实¹¹¹In-羟基喹啉对细胞功能的负面影响,导致 HPC 增殖分化功能的完全丧失,将来的临床试验应该严格控制放射性诱导的细胞损伤。

基于放射性受体显像的原理,由于 MSC 高水平表达转铁蛋白受体,因此 Ding 等^[13]用¹³¹I 标记转铁蛋白作为示踪剂来监测移植到兔脊髓的干细胞,用¹³¹I 标记人血清白蛋白来代替¹³¹I-转铁蛋白或者用磷酸缓冲液来代替人 MSC 作为对照,结果发现,鞘膜内注射¹³¹I-转铁蛋白后 16h 到 24h 观察到了移植区放射性浓聚灶,而对照组均呈阴性显像;体外实验表明, MSC 高表达对转铁蛋白具有高亲和力的受体,在脊髓内该细胞仍表达转铁蛋白受体并能特异性结合放射性转铁蛋白。结论:应用核素显像活体示踪移植干细胞具有可行性,尽管还存在一些缺陷,比如给药的创伤性、转铁蛋白受体作为移植干细胞标志的非特异性等,但经过进一步改进,有望为干细胞移植治疗提供无创伤的监测手段。

根据同样的原理, Ding 等^[14]用¹²⁵I 标记转铁蛋白,将 MSC 移植到兔脊髓后用流式细胞仪、免疫荧光染色和受体结合方法来分析 MSC 转铁蛋白受体表达,放射自显影追踪移植到兔脊髓的 MSC 和分析¹²⁵I-转铁蛋白在脊髓中的扩散,结果显示,¹²⁵I-转铁蛋白和人 MSC 转铁蛋白受体的平衡解离常数 $K_d = (0.98 \pm 0.12) \text{ nmol/L}$, 最大结合容量 $B_{\text{max}} = (107\ 702 \pm 6226) \text{ 位点/细胞}$, 免疫荧光染色显示人 MSC 在移植后第 2 日表达铁蛋白受体,第 10 日不表达,放射自显影显示第 2 日在脊髓移植部位有特异性的¹²⁵I-转铁蛋白浓聚灶,¹²⁵I-人血清白蛋白则不浓聚,在移植后 16h¹²⁵I-转铁蛋白扩散到脊髓,结论:用¹²⁵I-转铁蛋白体外放射自显影的方法在移植后的第 2 日能进行 MSC 监测,在放射性核素显像体内监测移植的人 MSC 研究方面,转铁蛋白受体是一个合适的靶分子受体,碘标记转铁蛋白是一个合适的配体示踪剂。

3 小结

干细胞的研究近年来在生命科学领域取得了突破性进展,科学家们已经充分认识到了干细胞所具有的广阔前景,当前无法用药物治愈的人体组织病

创,主要依靠移植人工脏器和异体器官,而随着成功地在体外鉴别、分离纯化、扩增和培养人体胚胎干细胞、原始胚胎干细胞以及多种组织干细胞,这个问题将迎刃而解。尽管干细胞的应用还面临很多问题有待解决,特别是胚胎干细胞的应用引起了很大的伦理学方面的争议,但是人们有理由相信 21 世纪将是生命再生医学年代,干细胞研究将在此领域内起到重大推动作用。

随着分子影像时代的到来, fMRI、PET 的出现,活体内监测移植干细胞在体内各种生理因素的影响下的部位、数量、存活时间无疑将加速干细胞治疗的发展,为动物和人体临床试验提供更多的数据和信息,这种监测是高分辨率的、非侵入性的,比起传统的组织学方法有更大的优势,虽然技术上还有待进一步的成熟、完善,但仍然具有广阔的发展前景;此外还能进一步阐明移植干细胞介导的损伤修复的分子机制,如用 PET 和 MRI 进行活体移植干细胞神经显像的同时为阐明干细胞脑损伤修复机制提供了有用的信息。

参 考 文 献

- 1 Jackson KA, Majka SM, Wang H, et al. Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. *J Clin Invest*, 2001, 107(11): 1395-1402.
- 2 Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature*. 2001, 410(6829): 701-705.
- 3 Toma C, Pittenger MF, Cahill KS, et al. Human mesenchymal stem cells differentiate to a cardiomyocyte phenotype in the adult murine heart. *Circulation*, 2002, 105(1): 93-98.
- 4 Kocher AA, Schuster MD, Szabolcs MJ, et al. Neovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function. *Nat Med*, 2001, 7(4): 430-436.
- 5 Massoud TF, Gambhir SS. Molecular imaging in living subjects: seeing fundamental biological processes in a new light. *Genes Dev*, 2003, 17(5): 545-580.
- 6 Kraitchman DL, Heldman AW, Atalar E, et al. In vivo magnetic resonance imaging of mesenchymal stem cells in myocardial infarction. *Circulation*, 2003, 107(18): 2290-2293.
- 7 Cahill KS, Gaidosh G, Huard J, et al. Noninvasive monitoring and tracking of muscle stem cell transplants. *Transplantation*, 2004, 78(11): 1626-1633.
- 8 Weber A, Pedrosa I, Kawamoto A, et al. Magnetic resonance mapping of transplanted endothelial progenitor cells for therapeutic neovascularization in ischemic heart disease. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2004, 26(1): 137-143.
- 9 Jing M, Liu XQ, Liang P, et al. Labeling neural stem cells with superparamagnetic iron oxide in vitro and tracking after implantation with MRI in vivo. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 2004, 84(16): 1386-1389.

- 10 Stroh A, Faber C, Neuberger T, et al. In vivo detection limits of magnetically labeled embryonic stem cells in the rat brain using high-field(17.6 T) magnetic resonance imaging. *Neuroimage*, 2005, 24(3): 635-645.
- 11 Chin BB, Nakamoto Y, Bulte JW, et al. ¹¹¹In oxine labelled mesenchymal stem cell spect after intravenous administration in myocardial infarction. *Nucl Med Commun*, 2003, 24(11): 1149-1154.
- 12 Brenner W, Aicher A, Eckey T, et al. ¹¹¹In-labeled CD34+ hematopoietic progenitor cells in a rat myocardial infarction model. *J Nucl Med*, 2004, 45(3): 512-518.
- 13 Ding W, Bai J, Zhang J, et al. In vivo tracking of implanted stem cells using radio-labeled transferrin scintigraphy. *Nucl Med Biol*, 2004, 31(6): 719-725.
- 14 Bai JZ, Ding WM, Liu ZJ, et al. Transferrin receptor expression of human mesenchymal stem cells and in vitro tracking by autoradiography after transplantation in spinal cord. *Beijing Da Xue Xue Bao*, 2004, 36(3): 276-280.

(收稿日期: 2005-05-23)

·临床核医学·

PET 评价骨转移瘤

王俊起 高硕

【摘要】 肿瘤骨转移会产生顽固性骨痛和脊髓受压等严重并发症, 并对分期、治疗和判断预后产生深远的影响, 因而探测骨转移是制定治疗计划的重要部分。骨转移瘤发现频率因原发肿瘤的类型和所用检查手段不同而不同, 虽然目前核素骨扫描是探测骨转移瘤最常用的手段, 但其对骨转移瘤的诊断效能仍有一定限度。与 ^{99m}Tc-亚甲基二膦酸盐(^{99m}Tc-MDP)骨显像相比, ¹⁸F-氟化钠(¹⁸F-NaF)和 ¹⁸F-氟代脱氧葡萄糖(¹⁸F-FDG)PET 是分别从骨转移瘤产生的成骨反应和骨转移瘤本身的代谢活性角度进行评价的两种正电子示踪剂, 结合 PET 的高度空间分辨率, 特别是最近迅速应用于临床的 PET-CT 技术, 使得正电子体层显像在全身骨骼恶性疾病评价上的准确性进一步提高。

【关键词】 骨肿瘤; 肿瘤转移; 体层摄影术, 发射型计算机; ¹⁸F-氟化钠; ¹⁸F-氟脱氧葡萄糖; ^{99m}Tc-亚甲基二膦酸盐

【中图分类号】R817.4

【文献标识码】A

【文章编号】1673-4114(2006)02-0087-04

PET in the evaluation of bone metastases

WANG Jun-qi, GAO Shuo

(PET-CT Center, General Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China)

【Abstract】 The skeleton is one of the most common metastatic sites in patients with malignancy skeletal metastases are clinically significant because of associated symptoms, complications such as pathological fracture and their profound significance for staging, treatment and prognosis. Detection of bone metastases is, thus, an important part of treatment planning. The frequency with which metastases are detected varies considerably with the type of primary tumor and with the methodology utilized for detection. Bone scan is the most common modality in detection bone metastases. But its accuracy in early stage of bone metastases is limited. ¹⁸F-NaF and ¹⁸F-FDG are two different positron tracers, which can detect bone metastases by osteoblastic reaction of bone to the presence of tumors and directly tumor imaging, separately. Combination with the high resolution of PET, especially the PE-CT which also provide a better anatomic localization, the accuracy of detection of bone metastases was improved significantly.

【Key words】 Bone neoplasms; Neoplasm metastases; Tomography, emission-computed; ¹⁸F-sodium fluoride; ¹⁸F-fluorodeoxyglucose; ^{99m}Tc-methylene diphosphoate

骨骼是肺脏和肝脏之后第三位恶性肿瘤最常见的转移部位。据估计, 晚期乳腺癌和前列腺癌患者中 70% 有骨转移, 肺癌、肾癌、甲状腺癌和骨肉

瘤等也常伴随骨转移。某些肿瘤骨转移后患者生存期可能较长, 如前列腺癌和乳腺癌骨转移后患者的中位生存期可达 2 年。相反, 肺癌骨转移患者的中位生存期仅为 3 个月^[1]。多数骨转移病变为显著的溶骨性反应, 但在某些肿瘤如前列腺癌中骨转移主

作者单位: 300052, 天津医科大学总医院 PET-CT 中心

通讯作者: 王俊起(E-mail: wjunqi@gmail)