

分子影像报告基因系统的研究进展

吴涛 安锐

【摘要】 分子影像报告基因系统的应用使基因治疗从实验阶段逐渐走向了临床应用, 为无创性监测治疗基因的表达及进行定量分析提供了方法学技术。目前研究最多、最成熟的仍是放射性核素报告基因系统, 近年来磁共振报告基因系统和光学报告基因系统的兴起和发展, 极大地丰富和完善了分子影像报告基因系统的内容, 并且在与应用化学和分子生物学等多学科交叉合作的基础上, 涌现出了很多新型的修饰或改良的报告基因和分子探针。该文主要概述各类报告基因系统的优缺点和发展趋势。

【关键词】 基因, 报告; 分子探针; 分子影像技术

Advances in study of molecular imaging reporter gene systems

WU Tao, AN Rui.

(Department of Nuclear Medicine, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Molecular Imaging Key Laboratory of Hubei Province, Wuhan 430022, China)

【Abstract】 The use of molecular imaging reporter gene systems has allowed gene therapy to move from the laboratory to the clinical application, which provides methodology to monitor the expression of therapeutic gene noninvasively and achieve quantitative outcome in vivo. Recently, the radionuclide reporter gene still is the focus of many studies, but MRI and optical reporter gene have gradually played a important part in reporter gene systems. On the basis of combination of multi-subject, for example applied chemistry and molecular biology, more and more new modified reporter genes and molecular probes have spread out. This paper mainly introduces the advantages and disadvantages of reporter gene system and development trends.

【key words】 Genes, reporter; Molecular probes; Molecular imaging techniques

通过近数十年的研究, 基因治疗已经逐渐从实验室阶段走向了临床应用。一些专家组已经探讨了基因治疗对肿瘤、遗传性疾病、缺血性疾病或者传统方法很难治愈的其他一些疾病进行根治的可行性^[1-3]。基因治疗主要涉及外源基因的转运、治疗基因的表达和靶目标功能的获取等几个方面, 其中最关键的环节是对治疗基因的表达进行监测。虽然靶组织采样的基因表达分析可以获得相关信息, 但属于有创性手段, 并且为了评价基因随时间的表达情况需要连续的多次活检, 这在临床应用中难以实现, 因此, 如何无创性监测治疗基因的表达及进行定量分析就成为目前基因治疗研究的热点之一。

绝大多数的治疗基因因为缺少配体或底物而

不能进行直接监测, 报告基因的研究应用在很大程度上解决了该难题。由于报告基因本身独特的理化特性, 选择适当的并且结合正确的报告探针就可以采用多种形式间接地对治疗基因的表达进行无创性的活体内监测。根据监测方法的不同, 将目前应用较广泛的报告基因系统分为以下三类: 核医学报告基因系统、磁共振报告基因系统和光学报告基因系统。本文主要就各类报告基因系统的优缺点和发展趋势进行概述。

1 报告基因系统的原理及检测条件

报告基因是一组编码容易检测的蛋白质或酶的基因, 与目的基因融合表达后作用于适当的报告探针, 发挥报告基因表达产物酶的作用或者通过受体与配体的特异性结合使探针在靶目标中聚集, 采用不同的检测方法监测报告基因的表达, 从而达到间接监测目的基因的效果。报告基因的作用主要体

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2010.04.002

基金项目: 国家自然科学基金(30770605)

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, 湖北省分子影像重点实验室

通信作者: 安锐(E-mail: anruiwh@163.com)

现在以下几个方面:①监测基因的表达水平并提供定量分析的指标;②动态观测细胞内和蛋白间的分子相互作用;③示踪正常或者移植治疗的细胞。

理想的报告基因系统应该具备以下条件^[4]:①为预防外源基因带来的免疫反应,报告基因在正常宿主细胞中不表达;②报告探针仅当报告基因表达时才在其表达的特定部位聚集;③报告基因的表达产物没有免疫原性,并且报告探针在到达靶部位前不会被缓慢降解;④报告探针及其代谢物不会影响正常细胞的生理功能,且能快速从血液循环中清除,不干扰目的信号的检出;⑤报告基因及启动子的分子质量要足够小以能容纳于传送载体(质粒、病毒)中;⑥天然的生物学屏障不会阻止报告探针到达靶部位;⑦检测的影像信息量应与体内报告基因的转录和翻译水平有很好的相关性。目前的报告基因系统都不能完全达到上述理想条件。

2 核医学报告基因系统

核医学报告基因系统的监测方法是对放射性核素标记的报告探针进行全身或局部显像,通过局部放射性核素的聚集程度来反映报告基因的表达水平。其优点是具有较高的灵敏度,可以探测到 10^{-12} mol/L水平的示踪剂,目前仍是报告基因系统研究的焦点所在。根据作用机制不同,核医学报告基因主要分为以下几类。

2.1 以酶为基础的报告基因

单纯疱疹病毒 1-胸苷激酶 (herpes simplex virus 1-thymidine kinase, HSV1-TK)基因是目前研究最成熟、最广泛的分子影像报告基因之一,其作用机制是以酶的反应底物为报告探针,进行放射性核素标记并进入表达 HSV1-TK 基因的细胞后,能被该基因的表达产物磷酸化,后者不能穿透细胞膜进行下一步的分解代谢而滞留在细胞内,以供核素报告基因显像。其优点是可以通过酶底物的反应产生级联放大效应,而最大的缺点是作为外源性基因所带来的免疫反应。胸苷激酶主要包括野生型(HSV1-TK)和突变型(HSV1-Sr39TK)两种,其报告探针是核苷类似物,包括嘌呤核苷衍生物和无环鸟苷衍生物。目前已被报道的嘌呤核苷衍生物报告探针中以³H、¹⁴C、¹³¹I、¹²⁵I 及 ¹²⁴I 等标记的氟脱氧-β-D-阿糖呋喃糖基碘尿嘧啶[1-(2'-deoxy-2'-fluoro-beta-D-arabino-furanosyl)-5-iodouridine, FIAU]的应用最为成熟和广

泛。无环鸟苷衍生物主要包括 ¹⁸F 标记的阿昔洛韦、更昔洛韦、潘昔洛韦、¹⁸F-氟羟甲基基鸟嘌呤和 ¹⁸F-氟羟基丙氧基甲基鸟嘌呤等,其中应用最多的为后两个探针。目前为止已经有多项研究相继证实了这两种核苷类似物在 HSV1-TK 报告基因显像中的潜在作用。鉴于目前报告探针的多样性,有些研究人员对应用较为广泛的报告探针的优缺点进行了比较,结果表明,不同的报告探针由于标记的核素有不同的半衰期和理化特性,它们对胸苷激酶基因的特异性、标记率及活体内的稳定性都有各自的优缺点,故需要根据不同的目的、不同的显像仪器来选择合适的探针^[5]。

最近对该类报告基因的研究主要集中在开发新型探针和改变基因结构、优化其功能的研究上。之前已有多项研究对野生型和突变型胸苷激酶基因进行了比较,野生型优先磷酸化嘧啶衍生物,而突变型对两种衍生物都能高效磷酸化,并且后者在磷酸化反应底物的功能上要优于前者。随着基因工程技术的发展,促生了对胸苷激酶基因变种的研究,并对其磷酸化底物的功能进行了细化研究,比如 Likar 等^[6]构建了一种新型超变种的 HSV1-TK 报告基因 HSV1-A167YSr39TK,结果表明其具有特异并高效磷酸化嘌呤核苷衍生物的特性。随后,他们在此变种报告基因基础上构建了另一种双变种的报告基因 HSV1-R176Qsr39TK,其具有选择性磷酸化嘧啶核苷衍生物而减少无环鸟苷衍生物磷酸化的特性^[7]。还有一些研究组对其他变种的胸苷激酶基因及其对底物的特异作用进行了深入研究^[8]。由于基因治疗最终是为人类服务的,为了避免外源基因带来的免疫原性,目前已经成功构建了人 2 型胸苷激酶(human thymidine kinase 2, HTK2)作为报告基因,在转染了表达 HTK2 基因的逆转录病毒载体的肿瘤中,用小动物 PET 可以清晰地检测到 ¹²⁴I-FIAU 和 ¹⁸F-氟乙基β-D-阿糖呋喃糖基尿嘧啶(¹⁸F-fluoro-5-ethyl-1-beta-D-arabino-furanosyluracil, ¹⁸F-FEAU)的浓聚,但是 ¹⁸F-FHBG 在表达 HTK2 基因的肿瘤中的浓聚较低^[9]。

2.2 以受体为基础的报告基因

2.2.1 多巴胺 D2 受体

多巴胺 D2 受体作为报告基因的机制是放射性核素标记的配体与多巴胺 D2 受体特异性结合,导致核素聚集而显像,其配体主要有 ¹⁸F-氟乙基螺旋

哌啶酮、¹²⁵I-碘苯酰胺、¹¹C-雷氯必利、¹¹C-FLB457 和¹⁸F-fallypride 等。由于¹¹C-FLB457 具有较高的放射性比活度 (>370GBq/μmol), 合成较容易且产量可观, 故应用相对广泛。Airaksinen 等^[10] 证明了¹¹C-FLB457 是在脑中多巴胺 D2 受体低密度区域行多巴胺受体显像的一种非常有前景的放射性配体。Narendran 等^[11] 对与多巴胺受体具有高亲和力的¹¹C-FLB457 和¹⁸F-Fallypride 进行了比较, 结果表明前者在监测苯丙胺药物刺激引起的皮层突触多巴胺受体数量的变化方面要优于后者。多巴胺受体作为报告基因的优点是具有相对较高放射性比活度的配体探针, 缺点是受体-配体结合的数量有限, 不具有信号放大效应。Kummer 等^[12] 证明了 D2R80A(一种突变型多巴胺 D2 受体) 可以与配体结合而不会激活下游传导通路, 并且联合特异的绑定复合物可以通过完整的血脑屏障, 为非侵袭性评价 PET 脑显像中载体介导的基因表达提供了一个选择。

2.2.2 人生长抑素受体 (human somatostatin receptor, hSSTR)

hSSTR 共分为五个亚型, 主要分布于脑、胃肠道、胰腺、肾脏和脾脏中, 其中以 2 型受体 hSSTR2 研究最多, 目前对该受体研究最广的领域就是监测其在各种肿瘤治疗中的作用, 因为既能同时发挥报告基因和治疗基因的双重作用, 又可单纯作为报告基因来监测其他治疗基因(如胞嘧啶脱氨酶或胸苷激酶)的治疗效果。其放射性配体主要包括¹¹¹In-奥曲肽等。hSSTR 与多肽的结合不仅可以起到对肿瘤的抑制, 还可以起到早期诊断的作用, 其作为报告基因目前也广泛用于生长抑素类似物肿瘤药物的研究开发, 以其作为特异性的靶点来结合放射性核素标记的治疗药物。比如, Yuan 等^[13] 用¹³¹I 标记 RC-160 和 5-氟胞嘧啶药物来治疗共表达 hSSTR2 和大肠杆菌胞嘧啶脱氨酶的非小细胞肺癌, 结果表明, 共表达这两种基因的肺癌细胞可以选择性的使这些细胞对治疗药物敏感化, 为肿瘤的治疗提供了一种新的策略。

2.2.3 钠碘转运体报告基因

钠碘转运体(sodium/iodide symporter, NIS)是一种跨膜糖蛋白, 主要存在于甲状腺滤泡细胞基底膜上, 是甲状腺组织摄取碘的功能基础。人们最早是在 1996 年发现了鼠 NIS 基因, 随后才根据鼠 NIS 的单链互补 DNA 克隆出了人 NIS 基因(hNIS)。

hNIS 基因作为报告基因的优点: ① 用于标记 hNIS 的放射性核素碘和碘来源方便、价格便宜, 并且对其在体内的代谢过程已经明确; ② 不存在像酶和受体等标记稳定性的问题; ③ 无免疫原性, 不会与宿主细胞发生反应而影响细胞功能等。目前应用的报告基因中, hNIS 几乎是最简单、最容易应用的一种报告基因, 已被广泛的应用于肿瘤的治疗, 如甲状腺癌、肝细胞癌、胰腺癌、胶质瘤等。Jeon 等^[14] 报道, hNIS 介导的放射性碘-基因治疗可以在肿瘤微环境中产生肿瘤相关的免疫反应, 并且能够增强细胞毒性 T 淋巴细胞的肿瘤杀伤活性。Terrovitis 等^[15] 用 SPECT 和 PET 来监测表达 NIS 基因的心肌干细胞移植后的演化进程, 结果表明用 NIS 作为报告基因示踪移植细胞可行, 并且可以检测到移植细胞参与心肌组织的再生过程。因此, 随着分子基因影像学的发展, hNIS 将不仅仅局限于监测生理分布的组织疾病的研究, 而且通过其以异位表达的特性将被广泛应用于肿瘤、心血管及神经系统疾病的研究。

3 磁共振报告基因系统

MRI 具有比较精细的空间分辨率和组织分辨率, 能够获得精确的解剖结构, 而缺点就是对信号探测的灵敏度较低, 一般只能探测到组织中 μmol 级的顺磁性成分。其基本原理就是对磁场中磁核物质的磁化信息进行定量分析。目前应用的磁共振报告基因系统主要包括以磁共振波谱、酶、铁相关蛋白和化学交换饱和传递(chemical exchange saturation transfer, CEST)对比剂为基础的报告基因^[16]。

以铁相关蛋白作为报告基因的应用已经相当成熟, 并且有些学者也在对这类基因进行不断开发, 比如 Zurkiya 等^[17] 在具有磁趋向性的细菌家族中克隆出了一种新型的铁转运蛋白 MagA, 将该蛋白的 293FT 细胞接种到大鼠的脑中, 可以在 T2 加权像上诱发明显的信号缺失。CEST 对比剂核结构的可变性和通过不同的激发频率可以同时标记不同靶目标的特性, 使其可以同时示踪不同的细胞或者监测多种基因的表达^[18]。目前已经成功合成了一些人工 CEST 对比剂, 如富含赖氨酸蛋白, 并且已经成功用于 MRI^[19]。Patel 等^[20] 发明了一种新型的可以用于细胞标记和多功能显像的分子探针, 即: 将超顺磁氧化铁包裹在多孔的二氧化硅壳内,

结合正电子核素标记, 可以用 MRI 和 PET 来共同示踪细胞。同时, 伴随着 PET-MRI 仪器的问世^[21], 这将会很大程度地推动 MRI 和核医学显像之间的合作。MRI 除能够提供较高的空间分辨率之外, 有些学者把分子标记引入了进来, 以增强其功能显像。比如在动脉粥样硬化斑块的显像研究中, 加入整合素、基质金属蛋白酶或纤维蛋白来增强显像效果。尽管如此, MRI 在报告基因领域的应用仍然处于初始阶段, 其对信号探测的低灵敏度严重阻碍了它在该领域的应用和推广。除了对 MRI 仪器的分辨率进行精益求精, 也有不少研究对探索新型的 MRI 对比剂开展了不懈的努力, 这也是磁共振报告基因系统发展的方向和趋势所在。随着研究的成功, MRI 不仅可以用于示踪细胞, 还可以动态监测治疗基因的表达。

4 光学报告基因系统

光学报告基因主要包括荧光蛋白报告基因和生物荧光素酶报告基因。荧光蛋白作为报告基因的机制是: 在外部光源的激发下发出不同波长的荧光, 采用暗视野成像系统对实验对象进行实时原位观测, 以获得时间和空间上的量化信息。该报告基因系统主要包括绿色荧光蛋白和红色荧光蛋白。绿色荧光蛋白是来源于发光水母的一种功能独特的蛋白质, 基因序列上带有独特的生色团结构, 是目前应用最为广泛的荧光蛋白, 主要包括绿色荧光蛋白和增强型绿色荧光蛋白。

生物荧光素酶报告基因系统包括萤火虫荧光素酶、海肾荧光素酶、Gussia 荧光素酶和叩头虫荧光素酶等, 其中应用最广泛的是萤火虫荧光素酶, 其作用机制是通过体内一系列的化学反应将一部分化学能量转化为不同波长的可见光。叩头虫荧光素酶因为可以发射四种不同波长不同颜色的荧光, 故可以同时检测不同的基因表达。荧光素酶比荧光蛋白的灵敏度更高, 可以用来监测很低水平的基因表达。Oliver 等^[22]证明, 用 IE63-荧光素酶融合蛋白可以有效监测水痘-带状疱疹病毒的感染及在人异种植物中的抗病毒活性。

尽管光学报告基因具有价廉、适用、操作简便及获取信息时间短等优点, 但是其发射的荧光的组织穿透力很弱并且存在光子的衰减, 使其只能局限于小动物的活体体表显像。为了克服荧光基因所发

射的荧光射程短、探测效率低的缺点, 近期多个研究小组对增加荧光射程和提高探测效率及计算方法进行了一些相关研究, 主要包括量子点概念的提出^[23]、有机或无机的近红外荧光团的应用^[24]、基于纳米粒子的纳米传感器^[25], 这些研究都在很大程度上解决了上述难题, 并且提高了分子显像的分辨率和灵敏度。甚至有学者正在研发一种三维荧光成像系统^[26], 可以对图像进行三维重建, 这将很大程度上促进光学系统的应用。

5 报告基因系统研究现状与展望

随着研究的深入, 各类报告基因系统优缺点就越明显, 为了取长补短, 目前很多研究都倾向于多种报告基因融合, 通过多形式的显像方法来监测基因的表达或者示踪移植的细胞。比如, Lo 等^[27]用胸苷激酶和增强型绿色荧光蛋白作为双报告基因监测脊髓损伤的治疗; Higuchi 等^[28]联合应用 PET 和 MRI 监测大鼠心肌中移植细胞的存活和定位。尽管 PET 的显像时间受到核素半衰期的限制, 但是 MRI 的信号不会改变, 细胞的死亡会导致聚集的铁粒子的丢失, 而 PET 报告基因的表达是与存活细胞的数量相关的, 这就可以发挥各自的优势同时监测形态学和功能上的改变。随着 MRI-PET 仪的问世, 将在更大程度上推动核医学和磁共振之间的学科合作。基因工程学及应用化学等多学科之间的交叉合作也极大推动了报告基因系统的发展和成熟, 比如在对已经存在的报告基因进行功能修饰或改良, 研发新型的报告探针等方面已经开展了较多的研究。但是, 目前这种多学科间的协作尚待充分的开展。许多研究也在开发更适合于人类疾病的报告基因, 也取得了一定的成果, 比如¹⁸F-雌二醇和¹¹C-去甲肾上腺素的 PET 显像, 因为它们是人体内源性的基因表达, 几乎不会产生免疫反应。但是, 这对于人类基因治疗的要求还远远不够。

综上所述, 由于各类报告基因及相应的报告探针系统都有不同的缺陷, 为了使基因治疗完全从实验走向临床, 必需发明新型安全的更适于人类的内源性报告基因系统, 并提高监测仪器的空间分辨率和影像对比度。基因工程的发展也必将促使更多经过修饰或改良的基因变种以及新型报告探针的出现, 另外多种报告基因的融合构建也将会是未来研究的重点方向之一, 这可以将多学科联合起来, 取

长补短, 继续以核医学为主导力量, 发挥不同学科的优势。

参 考 文 献

- [1] Chinen J, Puck JM. Successes and risks of gene therapy in primary immunodeficiencies. *J Allergy Clin Immunol*, 2004, 113(4): 595-603.
- [2] Rosinberg A, Khan TA, Sellke FW, et al. Therapeutic angio-genesis for myocardial ischemia. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 2004, 2(2): 271-283.
- [3] Scanlon KJ. Cancer gene therapy: challenges and opportunities. *Anticancer Res*, 2004, 24(2A): 501-504.
- [4] 张龙江, 祁吉. 分子影像学报告基因显像的研究进展. *中国医学影像技术*, 2005, 21(11): 1772-1775.
- [5] Buurisma AR, Rutgers V, Hospers GA, et al. ¹⁸F-FEAU as a radio-tracer for herpes simplex virus thymidine kinase gene expression: invitro comparison with other PET tracers. *Nucl Med Commun*, 2006, 27(1): 25-30.
- [6] Likar Y, Dobrenkov K, Olszewska M, et al. A new acycloguanosine-specific supermutant of herpes simplex virus type 1 thymidine kinase suitable for PET imaging and suicide gene therapy for potential use in patients treated with pyrimidine-based cytotoxic drugs. *J Nucl Med*, 2008, 49(5): 713-720.
- [7] Likar Y, Dobrenkov K, Olszewska M, et al. PET imaging of HSV1-tk mutants with acquired specificity toward pyrimidine-and acycloguanosine-based radiotracers. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2009, 36(8): 1273-1282.
- [8] Najjar AM, Nishii R, Maxwell DS, et al. Molecular-genetic PET imaging using an HSV1-tk mutant reporter gene with enhanced specificity to acycloguanosine nucleoside analogs. *J Nucl Med*, 2009, 50(3): 409-416.
- [9] Ponomarev V, Doubrovin M, Shavrin A, et al. A human-derived reporter gene for noninvasive imaging in humans: mitochondrial thymidine kinase type 2. *J Nucl Med*, 2007, 48(5): 819-826.
- [10] Airaksinen AJ, Nag S, Finnema SJ, et al. [¹¹C]cyclopropyl-FLB 457: a PET radioligand for low densities of dopamine D2 receptors. *Bioorg Med Chem*, 2008, 16(13): 6467-6473.
- [11] Narendran R, Frankle WG, Mason NS, et al. Positron emission tomography imaging of amphetamine-induced dopamine release in the human cortex: a comparative evaluation of the high affinity dopamine D2/3 radiotracers [¹¹C]FLB457 and [¹¹C]fallypride. *Synapse*, 2009, 63(6): 447-461.
- [12] Kummer C, Winkler A, Dittmar C, et al. Multitracer positron emission tomographic imaging of exogenous gene expression mediated by a universal herpes simplex virus 1 amplicon vector. *Mol Imaging*, 2007, 6(3): 181-192.
- [13] Yuan M, Wang J, Deng J, et al. Combination therapy in A549 cells. *Nucl Med Biol*, 2010, 37(3): 317-326.
- [14] Jeon YH, Choi Y, Kim CW, et al. Human sodium/iodide symporter-mediated radioiodine gene therapy enhances the killing activities of CTLs in a mouse tumor model. *Mol Cancer Ther*, 2010, 9(1): 126-133.
- [15] Terrovitis J, Kwok KF, Lautamäki R, et al. Ectopic expression of the sodium-iodide symporter enables imaging of transplanted cardiac stem cells in vivo by single-photon emission computed tomography or positron emission tomography. *J Am Coll Cardiol*, 2008, 52(20): 1652-1660.
- [16] Gilad AA, Ziv K, McMahon MT, et al. MRI reporter genes. *J Nucl Med*, 2008, 49(12): 1905-1908.
- [17] Zurkiya O, Chan AW, Hu X. MagA is sufficient for producing magnetic nanoparticles in mammalian cells, making it an MRI reporter. *Magn Reson Med*, 2008, 59(6): 1225-1231.
- [18] McMahon MT, Gilad AA, DeLiso MA, et al. New "multicolor" polypeptide diamagnetic chemical exchange saturation transfer (DIACEST) contrast agents for MRI. *Magn Reson Med*, 2008, 60(4): 803-812.
- [19] Gilad AA, McMahon MT, Walczak P, et al. Artificial reporter gene providing MRI contrast based on proton exchange. *Nat Biotechnol*, 2007, 25(2): 217-219.
- [20] Patel D, Kell A, Simard B, et al. Cu²⁺-labeled, SPION loaded porous silica nanoparticles for cell labeling and multifunctional imaging probes. *Biomaterials*, 2010, 31(10): 2866-2873.
- [21] Yamamoto S, Imaizumi M, Kanai Y, et al. Design and performance from an integrated PET/MRI system for small animals. *Ann Nucl Med*, 2010, 24(2): 89-98.
- [22] Oliver SL, Zerboni L, Sommer M, et al. Development of recombinant varicellazoster viruses expressing luciferase fusion proteins for live in vivo imaging in human skin and dorsal root ganglia xenografts. *J Virol Methods*, 2008, 154(1-2): 182-193.
- [23] Kang HG, Tokumasu F, Clarke M, et al. Probing dynamic fluorescence properties of single and clustered quantum dots toward quantitative biomedical imaging of cells. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*, 2010, 2(1): 48-58.
- [24] Choroghchian PP, Therien MJ, Hammer DA. In vivo fluorescence imaging: a personal perspective. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*, 2009, 1(2): 156-167.
- [25] Lee YE, Kopelman R. Optical nanoparticle sensors for quantitative intracellular imaging. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol*, 2009, 1(1): 98-110.
- [26] Garofalakis A, Zacharakis G, Meyer H, et al. Three-dimensional in vivo imaging of green fluorescent protein-expressing T cells in mice with noncontact fluorescence molecular tomography. *Mol Imaging*, 2007, 6(2): 96-107.
- [27] Lo WC, Hsu CH, Wu AT, et al. A novel cell-based therapy for contusion spinal cord injury using GDNF-delivering NIH3T3 cells with dual reporter genes monitored by molecular imaging. *J Nucl Med*, 2008, 49(9): 1512-1519.
- [28] Higuchi T, Anton M, Dumler K, et al. Combined reporter gene PET and iron oxide MRI for monitoring survival and localization of transplanted cells in the rat heart. *J Nucl Med*, 2009, 50(7): 1088-1094.

(收稿日期: 2010-04 -03)