

- sional EIT imaging of breast tissues: system design and clinical testing[J]. IEEE Trans Med Imaging, 2002, 21(6): 662-667.
- 21 Heuvel FVD, Powell T, Seppi E, et al. Independent verification of ultrasound based image-guided radiation treatment, using electric portal imaging and implanted gold markers[J]. Med Phys, 2003, 30(11): 2878-2887.
- 22 Mahesh M, Cody D. Next-generation x-ray CT units will provide <500 msec images with 3d resolution comparable to today's projection radiography[J]. Med Phys, 2003, 30(7): 1543-1545.
- 23 Kuriyama K, Onishi H, Sano N, et al. A new irradiation unit constructed of self-moving gantry-CT and linac[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2003, 55(2): 428-435.
- 24 Court L, Rosen I, Mohan R, et al. Evaluation of mechanical precision and alignment uncertainties for an integrated CT/LINAC system[J]. Med Phys, 2003, 30(6): 1198-1210.

(收稿日期: 2004-09-22)

文章编号: 1001-098X(2005)03-0139-04

肿瘤 MR 分子影像学研究进展

吴沛宏 王国慧

摘要 MR 分子影像学以分子生物学为基础, 借助 MRI 技术在活体状态下从分子、基因水平对肿瘤进行更早期、更特异性诊断与监测治疗效果。目前关于 MR 分子影像研究多集中于 MR 特异性分子探针的制备、肿瘤血管形成显像、报告基因显像、波谱显像等方面, 由于 MR 具有精确的空间定位及功能成像等优势, 因此在肿瘤分子影像研究中具有极大的发展潜力, 将在 21 世纪肿瘤的诊断与治疗中发挥重要作用。

关键词 分子显像; 磁共振显像; 肿瘤

中图分类号 R445.2 文献标识码 A

Magnetic resonance molecular imaging in cancer research

WU Pei-hong, WANG Guo-hui

(Cancer Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510060, China)

Abstract The magnetic resonance (MR) molecular imaging can be defined as the in vivo characterization and measurement of biologic processes at the molecular and gene level by the means of MR imaging science. The purpose of molecular imaging is to diagnose tumor more early and specifically and monitor the anti-tumor therapy response. The present researches of molecular imaging focus on the specific MR molecular probes, molecular imaging of tumor angiogenesis, genetic imaging, and magnetic resonance spectroscopic imaging, and so on. Because of it has high spatial resolution and functional imaging, the MR molecular imaging will play an important role in the tumor diagnosis and treatment in 21 century.

Key words molecular imaging; magnetic resonance imaging; tumors

磁共振(magnetic resonance, MR)分子影像学是利用磁共振成像(MR imaging, MRI)技术对体内特定分子进行成像, 以达到对肿瘤早期、特异性诊断与疗效监测的目的。目前, MRI 的分辨率已达到 μm 级, 可获得解剖及生理信息, 这些正是核医学、光子成像的弱点, 但是 MRI 敏感性较低, 只能达到 μmol 水平, 与 PET 的 nmol 水平相比, 低

数个数量级, 因此 MR 分子成像研究尚处于基础与临床前阶段, 但随着 MRI 技术的发展, 相信 MR 分子影像将成为研究肿瘤的病理机制、基因治疗、评价治疗效果等方面的一种重要手段。

Weissleder R 等^[1]指出了分子影像学研究的 3 个关键问题: 高度特异性的显像探针、合适的扩增方法以及高分辨率的成像系统, 其中以特异性分子探针最为重要, 也是进行分子影像学研究的先决条件。在分子影像学中, 要求探针的相对分子质量要

小,与靶目标有高度的亲和力而非靶目标的亲和力低,靶与背景率要大于1,能迅速穿过细胞膜,半衰期长,不能被机体迅速代谢。

1 MR 特异性分子探针

MR 分子成像特异性分子探针通常包括转运体及其携带的对比剂。转运体包括微粒(脂质体和乳剂)、纳米高分子 dendrimer、病毒构建体、各种多聚体等。转运体可携带成像物质,如顺磁性或超顺磁性金属,还可携带治疗用的药物或基因。靶向性配体可直接耦联在转运体上,这些配体包括抗体或抗体片段、多肽、小分子多肽类似物、适体(aptamers)等。

传统 MRI 的对比剂主要有两类:一类是超顺磁性氧化铁(superparamagnetic iron oxide, SPIO)微粒,另一类是顺磁性复合物。

1.1 SPIO 微粒类特异性分子探针

此类探针的主要特点是它们在血中的半衰期不同和分布于不同脏器的网状内皮系统,通常较大的粒子很快被肝、脾的网状内皮系统吸收,较小的颗粒则停留血中的时间较长,最后主要聚集在淋巴结组织中。

人内皮细胞表达 E-连接素,因此可用抗 E-连接素单抗的 F(ab)₂ 片段联接交联氧化铁(crosslinked iron oxide, CLIO)进行 MRI^[2]。

Annexin V 可以识别凋亡细胞的磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine),因此, Schellenberger EA 等^[3]将 Annexin V 与 CLIO 纳米微粒通过二硫键联接,用 MRI 来探测细胞凋亡。

1.2 Gd(III)类特异性分子探针

此类探针主要有 Mn(II)、Mn(III)、Gd(III) 离子的大分子螯合物,其中 Gd(III)离子应用最广泛,这是因为其具有以下几个特点^[4]:①有很高的顺磁性(7个未配对电子);②有相对较长的电子弛豫时间;③可以形成很稳定的螯合剂,在它内部仍可含有一个或两个水分子;④Gd(III)离子螯合剂具有很高的热力学稳定性,可以避免游离 Gd(III)离子的释放,而游离 Gd(III)离子即使在很低浓度也具有很强的毒性。

由于 Gd(III)离子具有以上的优点,MR 分子影像研究较多集中在寻找以 Gd(III)离子为基础的特异性分子探针的开发与研制上,然后联接一个靶向性

合成物,例如用叶酸联接 dendrimer-Gd-(DTPA)_n,在叶酸受体高表达的肿瘤细胞中得到明显摄取^[5]。

为评价 MRI 是否能检测到缩胆囊素(cholecystokinin, CCK)中的 CCK8 过表达的肿瘤细胞, Silvio A 等^[6]合成了 CCK 特异性对比剂 Gd-DTPA-Glu-CCK8,经过 3T3 细胞体外实验,他们发现 CCK 受体过表达的细胞能有效地摄取 Gd-DTPA-Glu-CCK8 并内化,与对照组相比,实验组细胞能提供足够的 MRI 信号。Bhorade R 等^[6]的研究工作也得到了类似结果,虽然具体机制仍然不是很清楚,但他们发现细胞能捕获带有特异性跨膜肽类的 Gd(III)类复合物,具有内化性质的底物可以是蛋白质、寡核苷酸、质粒 DNA 等。

以 Gd(III)或 SPIO 为基础的特异性对比剂是一类大分子物质,如果相对分子质量过大,则妨碍其渗透血管进入肿瘤细胞的能力。经过对 albumin-Gd-DTPA(相对分子质量约为 80 000)的大量研究, Bhujwalla ZM 等^[7]认为,特异性 MRI 对比剂的最佳相对分子质量应在 50 000~100 000 之间。

2 MR 分子影像信号扩增系统的研究

由于 MRI 的敏感性较低,因此在 MR 分子影像中的一个重要措施是标记分子的 MR 信号能够被扩增系统适当放大,从而得到清晰的 MR 分子影像。目前研究较多的信号扩增系统是亲和素/链霉抗生物素蛋白-生物素(avidin/streptavidin-biotin)系统^[8],该系统一般由 3 部分组成:生物素联接的抗体、亲和素联接子、生物素联接的探针,这个系统可以提高亲和性及 MR 信号扩增作用。另外,预标记技术可以将比较大的 MRI 对比剂分子分割成较小成分,从而提高运输效能。Artemov D 等^[9]应用两步法进行乳腺癌 HER-2/neu 受体的 MR 分子影像研究:先用生物素与 Herceptin 单克隆抗体联接,然后与 avidin-Gd-DTPA 联接制备成共轭分子,结果在表达 HER-2/neu 受体的乳腺癌移植瘤中得到了明显的对比信号。

Bogdanov A Jr 等^[9]研究了一种酶感应 MR 信号扩增系统,这种策略是基于酶介导的顺磁性底物的聚合化,从而得到具有更高弛豫性的寡聚物,该系统的底物包括螯合化的与苯酚相连的 Gd(III),作为电子供给体,在过氧化物酶作用下,底物转化为单体,并迅速浓聚为顺磁性的寡聚物,原子的弛豫性提高 3 倍。他们认为,这种酶感应探针系统可以

应用在体内特异性分子的探测上,而且可以将酶附着于不同的抗体上或其他靶分子上。

3 肿瘤血管的 MR 分子影像研究

肿瘤血管形成过程中新生血管某些特征性标记物水平上调,将对对比剂与一些配体联接后,可与这些标记物特异性结合,这种利用免疫组化原理的成像是 MRI 在活体评估血管生成方面的一种新的研究方法。这种成像技术的优点是可将新生血管与原有宿主血管分开,定量分析新生血管的结构和功能情况;还可确定血管生成抑制因子及刺激因子在时间及空间上的分布,并对其进行长期、无创伤的监测;而且这种特异性对比剂经过修饰后可转变成具有治疗性的物质,这样就使治疗和诊断合二为一^[3]。

$\alpha(v)\beta(3)$ 整合素是整合素家族中的一种,在肿瘤血管形成过程中起重要作用,因此有作者^[10]采用多聚体小囊泡 (polymerized vesicles, PVs) 研究肿瘤血管形成。PVs 是一种多聚脂质体 (polymerized liposomes), 可联接靶向性单克隆抗体 (AbPVs), 将 $\alpha(v)\beta(3)$ 整合素的抗体 LM609 作为配体, 通过生物素、亲和素作为桥梁, 合成抗体耦联的顺磁性多聚脂质体, 经过兔 V2 腺癌模型活体成像, 显示肿瘤血管生成区的增强效果明显高于对照组。

Turetschek K 等^[11]用白蛋白标记的 Gd-DTPA (直径 6 nm) 与超小微粒的超顺磁性氧化铁 (直径 30 nm) 的 MRI 对比剂成功地监测了乳腺癌血管内皮生长因子受体酪氨酸酶抑制剂抗血管治疗反应, 还可以监测肿瘤血管的通透性。

4 磁共振波谱显像用于肿瘤的研究

磁共振波谱显像 (magnetic resonance spectroscopic imaging, MRSI) 利用 MR 现象和化学位移作用进行特定原子核及化合物的定量分析, 可检测出许多与生化代谢有关的化合物, 并以图像表现, 已成为研究蛋白质、核酸、多糖等生物大分子及组织、器官活体状态的有力工具。

单独 MRI 诊断前列腺癌的敏感度为 78%, 特异度只有 55%, Kurhanewicz J 等^[12]联合 MRI 与 MRSI 对前列腺癌进行研究, MRSI 发现前列腺癌组织较正常组织胆碱升高, 柠檬酸盐、多胺等降低, 这种改变与癌的分期与对治疗的反应是相符合的, 而正常前列腺组织柠檬酸盐水平较高, 这种代

谢物异常改变的数据可以从矢状面、冠状面、横断面的任何一个平面得到, 因此能很好地区分正常组织与癌症组织。他们认为, 联合应用 MRI 与 MRSI 可以提高前列腺癌临床分期的准确性, 对于精确估计肿瘤体积、定位及肿瘤侵袭性评估等具有很好的临床应用前景。

Tzika AA 等^[13]对 27 例儿童脑肿瘤进行 MRSI 检测胆碱 / N-乙酰天冬氨酸盐比值变化, 并联合测定相对肿瘤血容量 (relative tumor blood volume, rTBV), 结果显示胆碱 / N-乙酰天冬氨酸盐比值与 rTBV 值升高预示肿瘤处于进展期, 否则肿瘤则处于稳定期, 其敏感度和特异度分别达 89% 和 88%, 因此他们认为 MRSI 在 rTBV 检测的帮助下对于预测脑肿瘤恶性度有很大的作用。

相信随着研究的进展, MRSI 将会在更多肿瘤研究中取得进展。

5 肿瘤的 MR 基因显像研究

MR 基因显像技术中, 第 1 类标记基因编码产物包括: 酪氨酸酶、 β -半乳糖苷酶、胞苷脱氨酶、精氨酸激酶等, 第 2 类标记基因编码产物主要为转铁蛋白受体。Alfke H 等^[14]用含酪氨酸酶基因的质粒转染 MCF-7 乳腺癌细胞, 使之产生黑色素, 用 1.0T MR 基因显像进行检测发现, 转染细胞克隆的 T1WI 信号明显升高, 这是因为黑色素对铁离子有高亲和力, 可显著缩短 T1 弛豫时间, 与大多人体组织不同, 在 MR 上呈特征性高信号。因此, MR 信号的改变可反映酪氨酸酶基因的转染与表达情况, 成为一种 MRI 的特异性分子探针。

MR 对比剂钆螯合物可影响磁场环境, 增加氢质子弛豫率。有实验表明, β -半乳糖可以阻断钆螯合物内部水的结合位点, 与钆螯合物形成的结合物会使弛豫率降低, 当应用 β -半乳糖苷酶水解此结合物后, 钆螯合物被释放出来, 使弛豫率恢复。因此, 根据 β -半乳糖苷酶水解反应前后弛豫率的变化, 用 MR 可以监测细胞内 β -半乳糖苷酶的活性^[15]。

用超氧化物微粒子作为对比剂的 MR 基因显像是利用转铁蛋白作为标记基因。Wessleder R 等^[16]将胶质瘤细胞转染工程化人转铁蛋白受体 (engineered human transferrin receptor, ETR) 基因后, 转铁蛋白受体水平增加, 导致细胞对超顺磁性单晶氧

化铁(mono crystalline iron oxide, MION)与转铁蛋白的结合物(Tf-MION)的结合与摄取明显增加,之后在裸鼠腹部两侧分别植入转染的 ETR 阳性细胞和对照转染的 ETR 阴性细胞,植入后第 10~14 日将对对比剂注入裸鼠体内,MR 显示 ETR 阳性肿瘤处 Tf-MION 的摄取明显增加,提示有 ETR 基因的表达,这一研究为 MR 受体基因表达成像的可行性提供了证据。

Ichikawa T 等^[17]通过对超顺磁性交联氧化铁 Tf-CLIO 探针的研究也认为:ETR 是一个敏感的 MR 标记基因,如果 ETR 同时携带有治疗性基因,则其表达水平同治疗基因表达水平具有相关性。

Heckl S 等^[18]研究了一种新的细胞内 MR 基因成像剂,它包括钆复合物、肽核酸(peptide nucleic acid, PNA)和一个跨膜转运肽,他们用 HeLa 肿瘤细胞和 Dunning R3327 AT1 鼠前列腺癌模型进行实验,观察细胞质 c-myc mRNA 表达水平上调是否能特异性浓集这种 MRI 对比剂,结果发现,c-myc mRNA 特异性表达组体外及体内均观察到 MR 信号增高,证明这种对比剂可以用来特异地诊断 c-myc mRNA 升高的前列腺癌。

综上所述,由于很多肿瘤在出现密度改变之前其基因、分子水平已经发生明显改变,因此,早期探测肿瘤特异分子水平改变则能早诊断,早治疗,大大提高治疗效果。随着 MRI 技术的飞速发展,MR 分子影像研究将从传统的非特异性物理、生理成像向特异性分子、基因水平成像发展,肿瘤的评价指标已深入到酶功能、受体水平、基因表达改变等,使肿瘤的诊断更早期、更准确、更具特异性,从而将极大地改变肿瘤治疗的现状,掀开现代影像学新的一页。

参 考 文 献

- 1 Weissleder R, Mahmood U. Molecular imaging(Review)[J]. *Radiology*, 2001, 219(2): 316-333.
- 2 Kang HW, Josephson L, Petrovsky A, et al. Magnetic resonance imaging of inducible E-selectin expression in human endothelial cell culture[J]. *Bioconjug Chem*, 2002, 13(1): 122-127.
- 3 Schellenberger EA, Bogdanov A Jr, Hogemann D, et al. Annexin V-CLIO: A nanoparticle for detecting apoptosis by MRI [J]. *Mol Imaging*, 2002, 1(2): 102-107.

- 4 Silvio A, Walter D, Simonetta GC, et al. Innovative magnetic resonance imaging diagnostic agents based on paramagnetic Gd(III) complexes[J]. *Peptide Science*, 2002, 66(6): 419-428.
- 5 Wiener EC, Konda S, Shadron A, et al. Targeting dendrimer-chelates to tumors and tumor cells expressing the high-affinity folate receptor[J]. *Invest Radiol*, 1997, 32(12): 748-754.
- 6 Borade R, Weissleder R, Nokakoshi T, et al. Macrocyclic chelators with paramagnetic cations are internalized into mammalian cells via a HIV-tat derived membrane translocation peptide[J]. *Bioconjugate Chem*, 2000, 11(3): 301-305.
- 7 Bhujwalla ZM, Artemov D, Natarajan K, et al. Vascular differences detected by MRI for metastatic versus nonmetastatic breast and prostate cancer xenografts[J]. *Neoplasia*, 2001, 3(2): 143-153.
- 8 Artemov D, Mori N, Ravi R, et al. Magnetic resonance molecular imaging of the Her-2/neu receptor[J]. *Cancer Res*, 2003, 63(11): 2723-2727.
- 9 Bogdanov A Jr, Matuszewski L, Bremer C, et al. Oligomerization of paramagnetic substrates result in signal amplification and can be used for MR imaging of molecular targets[J]. *Mol Imaging*, 2002, 1(1): 16-23.
- 10 Li KC, Bednarski MD. Vascular targeted molecular imaging using functionalized polymerized vesicles[J]. *J Magn Reson Imaging*, 2002, 16(4): 388-393.
- 11 Turetschek K, Preda A, Floyd E, et al. MRI monitoring of tumor response following angiogenesis inhibition in an experimental human breast cancer model[J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2003, 30(3): 448-455.
- 12 Kurhanewicz J, Mark GS, Nelson SJ, et al. Combined magnetic resonance imaging and spectroscopic imaging approach to molecular imaging of prostate cancer[J]. *J Magnet Resonance Imaging*, 2002, 16(4): 451-463.
- 13 Tzika AA, Loukas GA, Zarifi MK, et al. Spectroscopic and perfusion magnetic resonance imaging predictors of progression in pediatric brain tumors[J]. *Cancer*, 2004, 100(6): 1246-1256.
- 14 Alfke H, Stoppler H, Nocken F, et al. In vitro MR imaging of regulated gene expression[J]. *Radiology*, 2003, 228(2): 488-492.
- 15 Bogdanov A Jr, Weissleder R. The development of in vivo imaging systems to study gene expression[J]. *Trends Biotechnol*, 1998, 16(1): 5-10.
- 16 Weissleder R, Moore A, Mahmood U, et al. In vivo magnetic resonance imaging of transgene expression[J]. *Nat Med*, 2000, 6(3): 351-355.
- 17 Ichikawa T, Hogemann D, Saeki Y, et al. MRI of transgene expression: correlation to therapeutic gene expression[J]. *Neoplasia*, 2002, 4(6): 523-530.
- 18 Heckl S, Pipkorn R, Waldeck W, et al. Intracellular visualization of prostate cancer using magnetic resonance imaging[J]. *Cancer Res*, 2003, 63(16): 4766-4772.

(收稿日期: 2004-09-15)