

## ·实验核医学·

## 阿尔茨海默病的放射性分子显像探针研究进展

郭喆 张锦明

【摘要】 阿尔茨海默病(AD)是引起痴呆的最常见类型之一,其主要病理改变包括由 $\beta$ -淀粉样蛋白构成的老年斑、神经原纤维缠结。在体观察 AD 脑内的 $\beta$ -淀粉样蛋白沉积,可为 AD 的诊断、疗效观察和治疗药物的研究提供很大帮助。目前已合成数种标记 $\beta$ -淀粉样蛋白的放射性探针并开始用于 PET 对 AD 患者脑内老年斑的在体显像研究,并显示出潜在的临床应用价值。AD 的放射性分子显像探针仍需进一步研究,使其不仅适用于 PET,而且还可以满足 SPECT 的显像要求。

【关键词】 阿尔茨海默病;老年斑; $\beta$ -淀粉样蛋白;体层摄影术,发射型计算机

【中图分类号】 R817.4 【文献标识码】 A 【文章编号】 1673-4114(2006)04-0199-04

## Study on radioactive labeling of molecular probes for Alzheimer's disease

GUO Zhe, ZHANG Jin-ming

(Department of Nuclear Medicine, The PLA General Hospital, Beijing 100853, China)

【Abstract】 Alzheimer's disease (AD) is the most common form of dementia, the pathological features of AD include neuritic plaques composed of beta-amyloid protein, neurofibrillary tangles. Direct imaging of amyloid load in patients with AD in vivo would be useful for the early diagnosis of AD and the development and assessment of new treatment strategies. Different strategies are being used to develop compounds suitable for in vivo imaging of amyloid deposits in human brains. Two compounds,  $^{18}\text{F}$ -FDDNP and  $^{11}\text{C}$ -PIB, both show more binding in the brains of patients with AD than in those of healthy people. Additional compounds will probably be developed that are suitable not only for PET but also for single photon emission CT(SPECT).

【Key words】 Alzheimer's disease; Senile plaques;  $\beta$ -amyloid protein; Tomography, emission -computed

## 1 前言

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是一种以临床和病理为特征的进行性、退行性神经功能障碍性疾病 (包括遗传性 AD 和非遗传性 AD), 临床特点是隐性起病持续进行性的智能衰退而无缓解, 记忆障碍, 尤其近记忆遗忘是最突出的早期症状, 之后可出现认知能力、判断力和概括力下降直至智能严重衰退、运动障碍。确诊 AD 的依据是神经纤维缠结(neurofibrillary tangles, NFT)及老年斑的病理学活检或尸检, 但活检对于患者属于创伤性检查, 并受到取材部位及取材点多少的限制, 确诊 AD 十分困难。

淀粉样沉淀级联反应假说认为, AD 的形成和发展是 $\beta$ -淀粉样蛋白( $\beta$ -amyloid protein,  $\beta$ -AP)产生增多和聚集的结果。 $\beta$ -AP 可作为一种生长趋化

因子引导变性轴索、星型细胞及小胶质细胞围绕 $\beta$ -AP 形成老年斑, 因此认为 $\beta$ -AP 沉积是疾病的早期, 疾病过程中 $\beta$ -AP 密度的增加导致淀粉样斑块形成增加及进行性的认知障碍。由于一个老年斑的直径为 0.06 mm, 有数百万个 $\beta$ -AP 结合位点, PET 或 SPECT 无法显示单个老年斑, 但可以测定不同脑区内 $\beta$ -AP 的密度, 并区分出高密度和低密度 $\beta$ -AP 的不同区域, PET 和 SPECT 的优势在于可以利用定量的方法来测定疾病过程中微小的变化<sup>[1]</sup>。

2 标记 $\beta$ -AP的放射性探针的研究

理想的 $\beta$ -AP 放射性分子探针应该满足以下要求: ① 能与 $\beta$ -AP 特异性结合; ② 能通过血脑屏障或者能在某种技术的帮助下通过血脑屏障; ③ 能大量进入脑组织, 以便于可以在体外探测到; ④ 非特异性结合的快速清除, 这样可以提供含老年斑与不含老年斑的脑组织的清晰度对比。

目前,  $\beta$ -AP 分子显像探针的研究主要有三个

作者单位: 100853 北京, 解放军总医院核医学科

通讯作者: 张锦明(E-mail: zhangjm301@yahoo.com.cn)

方面:① $\beta$ -AP 片段及抗  $\beta$ -AP 的单克隆抗体作为  $\beta$ -AP 的放射性分子显像探针;②利用一些小分子化学物质作为分子探针,这类物质主要包括刚果红及硫磺素的衍生物;③2-[1-[6-(2- $^{18}$ F-乙基-甲基-氨基)]-2-萘-乙叉]-丙二腈(2-(1-(6-[2- $^{18}$ F-fluoroethyl](methyl)amino)-2-naphthyl)ethylidene)malononitrile,  $^{18}$ F-FDDNP),已用于临床并发现该药物在 AD 患者脑中的结合量明显高于正常人。

## 2.1 放射性核素标记的 $\beta$ -AP 片段及抗 $\beta$ -AP 单克隆抗体作为分子探针

$\beta$ -AP 是由淀粉样前体蛋白衍生而来并发生自身沉积的物质,其机制目前认为是  $\beta$ -AP 通过羧基末端的“核聚合现象”与 AD 脑中的淀粉样沉积物结合<sup>[2]</sup>。因此, $\beta$ -AP 本身就是个可与老年斑结合的物质,修饰过的  $\beta$ -AP 或其片段在体内可与老年斑结合。Wisniewski 等<sup>[3]</sup>曾用颗粒性氧化铁标记  $\beta$ -AP 用于 MRI,用破坏血脑屏障的方法使大分子的颗粒性氧化铁- $\beta$ -AP 进入脑中,这种方法确实能够检测到老年斑,但需破坏血脑屏障。 $^{125}$ I 标记的  $\beta$ -AP 转基因小鼠显影研究也表明如有合适的方法使药物通过血脑屏障,并达到一定的剂量,那么外源性的  $\beta$ -AP 用来标记体内的老年斑也是可行的。

$\beta$ -AP 抗体可以特异地与  $\beta$ -AP 结合。但  $\beta$ -AP 抗体由外周给药则进入中枢神经系统的量很少。体外实验表明, $^{125}$ I 及  $^{99m}$ Tc 标记的抗  $\beta$ -AP 抗体与 AD 尸脑海马区组织匀浆亲和力较高,但是当  $^{99m}$ Tc 标记的单克隆抗体 10H3 用于 AD 患者脑 SPECT 时却发现,头皮和颅骨骨髓可以缓慢摄取显像剂而脑内却无显像剂的摄取<sup>[4]</sup>。因此, $\beta$ -AP 的单克隆抗体还未能成功进行体内研究。但是用荧光标记的  $\beta$ -AP 抗体直接注入脑内并用多光路显微镜显示荧光标记的  $\beta$ -AP 抗体非常灵敏。抗体与  $\beta$ -AP 的结合物存在于皮质下的数百微米,且有较好的敏感性和特异性,特别是与抗体结合的  $\beta$ -AP 沉积物可以很快地从脑中清除,这提示用免疫治疗 AD 是可行的,所需要解决的主要问题是如何提高  $\beta$ -AP 抗体穿过血脑屏障的能力<sup>[5]</sup>。

## 2.2 $\beta$ -AP 显像的放射性小分子化合物探针

### 2.2.1 刚果红类衍生物

刚果红是临床 AD 病理组织学尸检常用的荧光染料,可与 AD 患者脑组织切片中的老年斑及 NFT 特异性结合。对此化合物进行结构修饰开发出新的

老年斑和 NFT 的配体,如柯胺-G、X-04、X-34 等。柯胺-G、X-34 在体外与  $\beta$ -AP 沉积物亲和力较高,脑组织病理切片染色可看到老年斑和 NFT 染色,但由于它们含有两个可电离的羧基,因此不易通过血脑屏障,脑摄取量低<sup>[6]</sup>。X-04 是刚果红和柯胺-G 的衍生物,不含酸性基团,因此分子质量较小而脂溶性较刚果红大<sup>[6]</sup>,X-04 与  $\beta$ -AP 的亲和力同柯胺-G 接近并同样能将 AD 患者尸体脑切片内的老年斑、NFT 及血管淀粉样沉淀物染色,5~10 mg/kg 静脉注入动物体内后 30~60 min 用多光路显微镜可观察到单个老年斑,10 mg/kg 腹腔注射后 24 h 也可以得到高对比度的老年斑和血管淀粉样沉淀的图像<sup>[7]</sup>。利用  $^{11}$ C-X-04 进行定量实验结果表明, $^{11}$ C-X-04 进入鼠脑内的量较高,是  $\beta$ -AP PET 的一个有前途的标记物<sup>[8]</sup>。

### 2.2.2 苯并噻唑(benzothiazole, BTA)类

除了刚果红,常用于  $\beta$ -AP 衍生物体内染色研究的还有硫磺素-T,但硫磺素-T 与刚果红类化合物在  $\beta$ -AP 上结合位点不同。BTA 类配体就是根据临床尸检用的荧光染料硫磺素-T 发展而来的,但硫磺素-T 带有正电荷,很难穿透血脑屏障,改变季胺 N 上的甲基,可得到不带电荷的 BTA 类配体 BAT-1、6-Me-BTA-1、6-Me-BTA-0、6-Me-BTA-2。同硫磺素-T 一样,上述 4 种化合物也是荧光晶体化合物,由于是中性电荷,脂溶性大大提高,血脑屏障穿过能力强,与  $\beta$ -AP 体外结合亲和力也较硫磺素-T 明显提高,其中 6-Me-BTA-1 的亲和力最大,是硫磺素-T 的 45 倍。组织染色表明,这 4 种化合物对 AD 脑组织中的老年斑和 NFT 均可染色,但以老年斑为主。Klunk 等<sup>[9]</sup>用 [N-甲基- $^{11}$ C] 6-Me-BTA-1 进行动物实验结果表明,其在 Swiss-Webster 鼠脑内的高摄取与 PET 进行脑受体显像时放射性标记物进入脑内的剂量相当,并且其在脑内的游离部分及非特异性结合部分清除快。由于上述特点,[N-甲基- $^{11}$ C] 6-Me-BTA-1 有望成为 PET 研究 AD 患者脑内病理改变的分子显像探针。Kung 等<sup>[10]</sup>新近报道了另一种硫磺素-T 的衍生物:6-碘-2-(4'-N,N-二甲氨基)-苯亚氨基-(1,2-a)-嘧啶(IMPY),体外结合试验及动物实验表明,IMPY 体外与  $\beta$ -AP 的亲和力高,脑摄取高,在正常脑组织内清除快;静脉注射  $^{125}$ I-IMPY 后 4 h 显像,淀粉样斑块图像清晰,靶与非靶放射性比值高。因此,用  $^{125}$ I-IMPY 可用于

SPECT 在体探测 AD 患者脑内  $\beta$ -AP<sup>[10]</sup>。

## 2.3 已用于临床 AD 患者脑内 $\beta$ -AP 显像研究的放射性分子探针

### 2.3.1 $^{18}\text{F}$ -FDDNP

Agdeppa 等<sup>[11]</sup>合成了两个靶向于  $\beta$ -AP 的  $^{18}\text{F}$  标记的荧光分子显像探针  $^{18}\text{F}$ -FDDNP 和 1-[6-[(2- $^{18}\text{F}$ -fluoroethyl)(methyl) amin-o] naphthalen-2-yl] ethan-one( $^{18}\text{F}$ -FENE), 二者也是荧光染料, 可染色 AD 脑中的老年斑和 NFT。二者在  $\beta$ -AP 上均有两个动力学不同的结合位点, 其中高亲和位点上的表观解离常数分别为  $0.12 \pm 0.22$  和  $0.16 \pm 0.09$ 。放射自显影显示, 二者与脑切片中的颞叶及顶叶皮层的结合量较高, 这个结果与病理免疫组化结果一致。显微镜下可见  $^{18}\text{F}$ -FDDNP 及  $^{18}\text{F}$ -FENE 与脑组织切片中的  $\beta$ -AP 和 NFT 结合。 $^{18}\text{F}$ -FDDNP 已用于临床显像的研究, 它可通过血脑屏障与 AD 患者脑内的老年斑及 NFT 结合, 并且在 AD 患者病理改变较重的脑区的相对滞留时间明显高于正常对照者。 $^{18}\text{F}$ -FDDNP 在患者颞叶、顶叶、枕叶及额叶中的滞留时间较脑桥高出 10%~15%, 滞留时间最高的脑区是海马区(显像高于脑桥 30%)<sup>[12]</sup>。 $^{18}\text{F}$ -FDDNP 与  $^{18}\text{F}$ -FDG PET 结果对比发现,  $^{18}\text{F}$ -FDDNP PET 放射性增高的脑区葡萄糖代谢明显降低, 除此之外 AD 患者的认知程度与脑内  $^{18}\text{F}$ -FDDNP 结合量二者之间呈负相关<sup>[13]</sup>。以上研究结果均表明,  $^{18}\text{F}$ -FDDNP 有可能成为临床 AD 诊断及疗效监测的 PET 显像剂。

### 2.3.2 $^{11}\text{C}$ -6-羟基-2-(4'-甲基氨基苯)苯并噻唑(6-hydroxy-2-(4'-methylaminophenyl)benzothiozole, $^{11}\text{C}$ -PIB, 亦称 $^{11}\text{C}$ -OH-BTA-1)

$^{11}\text{C}$ -PIB 也属于硫磺素衍生物类, 其体外结合实验发现, AD 患者尸脑额叶组织和该化合物的最大结合量与利用生物化学方法测量得出的额叶  $\beta$ -AP 量近似, 这就表明  $^{11}\text{C}$ -PIB 在脑组织中与  $\beta$ -AP 的结合几乎是 1:1。利用多光路显微镜对活体转基因小鼠进行观察可以看到, 具有荧光的  $^{11}\text{C}$ -PIB 能够通过血脑屏障与淀粉样沉积物结合, 并且能够很快从正常脑组织中清除。Jagust 等<sup>[14]</sup>报道了将  $^{11}\text{C}$ -PIB 用于 16 例轻度 AD 患者及 9 名健康对照者的研究结果: 静脉弹丸式注入体内后  $^{11}\text{C}$ -PIB 能够迅速到达脑内, 并且在脑内药物不进行代谢;  $^{11}\text{C}$ -PIB 能够穿透血脑屏障快速进入脑内, 并且在患者额叶、顶叶、颞叶、枕叶皮层及海马和纹状体内的滞留量较高,

而小脑和白质结构内的药物摄取量明显较低。药物在健康者的脑灰质及皮层下核团的摄取和清除都较快, 而在 AD 患者脑内该化合物的洗脱减慢, 因此动态显像发现, 随显像时间的延长健康者和 AD 患者脑显像结果有明显的差别; 当健康者脑内药物洗脱时 AD 患者脑内仍见较高的放射性分布<sup>[15]</sup>。 $^{11}\text{C}$ -PIB 在额叶滞留量最高(是对照组的 1.9 倍), 其次是颞叶、顶叶、海马和枕叶(1.5~1.7 倍), 这些结果与病理结果一致, 尸检病理发现淀粉样蛋白沉积主要发生在上述脑区, 以额叶为主。虽然 1 名 77 岁老人 PET 检查结果发现了与 AD 患者一样典型的药物脑内滞留现象, 但年轻人与健康老人之间  $^{11}\text{C}$ -PIB 的脑内分布情况在统计学上并无显著差别, 因此这一结果将促进利用  $^{11}\text{C}$ -PIB PET 发现潜在 AD 的研究<sup>[16]</sup>。 $^{11}\text{C}$ -PIB PET 的分布和清除情况与脑内葡萄糖代谢之间也存在相关性:  $^{18}\text{F}$ -FDG PET 脑内葡萄糖代谢明显降低的脑区,  $^{11}\text{C}$ -PIB 的滞留量明显增加、洗脱明显减慢, 但按照简易智能精神状态量表评分标准,  $^{11}\text{C}$ -PIB 显像结果显示脑内淀粉蛋白沉积量与认知障碍程度之间并无明确相关性。

综上所述, AD 患者脑组织在体病理显像可用于评估 AD 病情的发展和 AD 治疗药物的疗效, 但在体病理显像成功的关键在于发展与 AD 脑组织病理性改变特异结合的配体, 例如脑内  $\beta$ -AP 显像的关键在于合适的  $\beta$ -AP 标记物的发现。

## 参 考 文 献

- 1 盛树力. 老年痴呆: 从分子生物学到临床诊治. 北京: 科学技术文献出版社, 1998. 61-73.
- 2 Jarrett JT, Berger EP, Lansbury PT Jr, et al. The carboxy terminus of the  $\beta$ -amyloid protein is critical for the seeding of amyloid formation: implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Biochemistry*, 1993, 32(18): 4693-4697.
- 3 Wisniewski TM, Wadghiri YZ. Detection of Alzheimer's amyloid by magnetic resonance imaging. *Proceedings of the Society for Neuroscience*, 31st Annual Meeting, 2001.
- 4 Friedland RP, Kalaria R, Berridge M, et al. Neuroimaging of vessel amyloid in Alzheimer's disease. *Ann NY Acad Sci*, 1997, 826: 242-247.
- 5 Zhuang ZP, Kung MP, Hou C, et al. Radioiodinated styrylbenzenes and thioflavins as probes for amyloid aggregates. *J Med Chem*, 2001, 44(12): 1905-1914.
- 6 Mathis CA, Holt DP. In vivo evaluation and imaging of a lipophilic derivative of Congo red for amyloid assessment. *J Nucl Med*, 2001, 42: 252.
- 7 Klunk WE, Bacskai BJ, Mathis CA, et al. Imaging amyloid-beta

- plaques in living transgenic mice with multiphoton microscopy and methoxy-X04, a systemically administered Congo red derivative. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2002, 61(9): 797-805.
- 8 Klunk WE, Wang Y, Huang GF, et al. Uncharged thioflavin-t derivatives bind to amyloid-beta protein with high affinity and readily enter the brain. *Life Sci*, 2001, 69(13): 1471-1484.
- 9 Kung MP, Hou C, Zhuang ZP, et al. IMPY: an improved thioflavin-T derivative for in vivo labeling of  $\beta$ -amyloid plaques. *Brain Res*. 2002, 956(2): 202-210.
- 10 Zhuang ZP, Kung MP, Wilson A, et al. Structure-activity relationship of imidazo [1,2-a] pyridines as ligands for detecting  $\beta$ -amyloid plaques in the brain. *J Med Chem*, 2003, 46(2): 237-243.
- 11 Agdeppa ED, Kepe V, Liu J, et al. Binding characteristics of radiofluorinated 6-dialkylamino-2-naphthylethyl-iodine derivatives as positron emission tomography imaging probes for beta -amyloid plaques in Alzheimer's disease. *J Neurosci*, 2001, 21(24): RC189.
- 12 Agdeppa ED, Kepe V, Liu J, et al. 2-Dialkyl amino-6-acylmalononitrile substituted naphthalenes (DDNP analogs): novel diagnostic and therapeutic tools in Alzheimer's disease. *Mol Imaging Biol*, 2003, 5(6): 404-417.
- 13 Shoghi-Jadid K, Small GW, Agdeppa ED, et al. Localization of neurofibrillary tangles and beta-amyloid plaques in the brains of living patients with Alzheimer disease. *Am J Geriatr Psychiatry*, 2002, 10(1): 24-35.
- 14 Jagust W. The proteomics of positron emission tomography. *Ann Neurol*, 2004, 55(3): 303-305.
- 15 Klunk WE, Engler H, Nordberg A, et al. Imaging brain amyloid in Alzheimer's disease with pittsburgh compound-B. *Ann Neurol*, 2004, 55(3): 306-319.
- 16 Schmitt FA, Davis DG, Wekstein DR, et al. "Preclinical" AD revisited: neuropathology of cognitively normal older adults. *Neurology*, 2000, 55(3): 370-376.

(收稿日期: 2005-10-14)

## ·实验核医学·

# 早期诊断阿尔茨海默病的 PET 分子探针

蔡汉成 尹端让 张岚 李谷才 郑明强 汪勇先

**【摘要】** 阿尔茨海默病(AD)是一种退行性神经功能障碍性疾病,其典型病理学特征是 $\beta$ -淀粉样蛋白斑块、神经纤维缠结和基底前脑乙酰胆碱能损害。PET 分子探针,特别是靶向 $\beta$ -淀粉样蛋白斑块、乙酰胆碱酯酶或受体显像的分子探针是最可靠的 AD 早期检测手段之一。

**【关键词】** 阿尔茨海默病; 体层摄影术,发射型计算机; 分子探针; 淀粉样 $\beta$ 蛋白; 受体,胆碱能

**【中图分类号】** R817.4 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1673-4114(2006)04-0202-04

## PET molecular probes for early detection of Alzheimer's disease

CAI Han-cheng, YIN Duan-zhi, ZHANG Lan, LI Gu-cai, ZHENG Ming-qiang, WANG Yong-xian

(Research Center of Radiopharmaceuticals Shanghai Institute of Applied Physics, the Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201800, China)

**【Abstract】** Alzheimer's disease (AD) is the most common age-related neurodegenerative disorder. The characteristic pathological lesions are deposits of  $\beta$ -amyloid plaques and neurofibrillary tangles after postmortem examination, and degeneration of cholinergic neurons of the basal forebrain. The positron emission tomography (PET) molecular probes targeting at  $\beta$ -amyloid plaques or acetylchergic is one of the most reliable tools for AD early detection.

**【Key words】** Alzheimer's disease; Tomography, emission-computed; Molecular probe; Aamyloid  $\beta$ -protein; Receptor, cholinergic

**基金项目:**中国科学院知识创新工程重大项目(KJCXI-SW-08);上海市自然科学基金项目(02ZB14061)

**作者单位:**201800, 中国科学院上海应用物理研究所放射性药物研究中心

**通讯作者:**蔡汉成(E-mail: chebati@yahoo.com.cn)

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种退行性神经功能障碍性疾病。AD 患者的主要病理学特征之一是由淀粉样蛋白沉积产生淀粉样蛋白斑块,它的主要成分是淀粉样 $\beta$ 蛋白(amyloid protein