

肿瘤组织乏氧与葡萄糖代谢

司宏伟 徐慧琴 岳峤 耿建华 陈盛祖

【摘要】 乏氧是导致放、化疗失败原因之一,活体探知葡萄糖和乏氧代谢空间分布,有助于修订放疗计划以提高治疗效果、早期评估患者放化疗疗效和预后。 ^{18}F -氟脱氧葡萄糖(^{18}F -FDG)沉积主要依赖血流供应,与细胞摄取率关系较弱,且仅反映肿瘤细胞膜葡萄糖通量大小,无法区分有氧代谢、细胞增殖旺盛组织和乏氧组织。临床经验提示, ^{18}F -FDG综合反映肿瘤恶性程度,且葡萄糖代谢和乏氧代谢空间分布差异大者肿瘤侵袭性较强。 ^{18}F -FDG和 ^{18}F -氟米索硝唑的摄取总体相仿,但不能除外局部差异。目前的研究结果并不能完全否认 ^{18}F -FDG可作为乏氧标志物使用,但其评估肿瘤乏氧状态的价值或特异性有限。

【关键词】 肿瘤;细胞低氧;米索硝唑;氟脱氧葡萄糖 F18

Hypoxia and glycometabolism in cancer tissue

SI Hong-wei¹, XU Hui-qin¹, YUE Qiao¹, GENG Jian-hua², CHEN Sheng-zu²

(1. Department of Nuclear Medicine, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022, China; 2. Department of Nuclear Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College Cancer Hospital, Beijing 100021, China)

【Abstract】 The resistant of hypoxia tumor cell to radiotherapy and chemotherapy is one of the reasons that lead to therapy failure. To detect the distribution difference of hypoxia and glycometabolism in vivo is helpful to revise radiotherapy plan in order to improve the therapeutic effect, or to evaluate the prognosis shortly after radiotherapy and chemotherapy. The deposition of ^{18}F -fluorodeoxyglucose (^{18}F -FDG) mainly depends on blood flow with weak relation to uptake rate, and only reflects the membrane flux of glucose without distinguishing aerobic metabolism, enhanced cell proliferation and hypoxia tissue. Clinical experience indicated that ^{18}F -FDG could integratedly reflect the malignant degree of tumor for the more difference between the distribution of hypoxia and glycometabolism, the more invasion of the tumor. The distribution of ^{18}F -FDG and ^{18}F -fluoromisonidazole were similar in general, but can not exclude minor deference. Current studies can not deny ^{18}F -FDG as a hypoxia agent with a limited value and specificity.

【Key words】 Neoplasms; Cell hypoxia; Misonidazole; Fluorodeoxyglucose F18

肿瘤细胞以血管为中心呈环状排列,离血管半径超过 180 μm 时细胞就会缺血坏死,形成坏死区;体外培养条件下,细胞团超过 0.35 mm 就会发生中心坏死,并出现大量乏氧细胞^[1]。实体肿瘤中,乏氧细胞占 10%~50%,由于乏氧状态下($p\text{O}_2 < 5 \text{ mmHg}$, $1 \text{ mmHg} = 133.322 \text{ Pa}$)氧自由基减少,不能诱导 DNA 损伤,导致头颈部恶性肿瘤和宫颈癌等鳞状细胞癌出现对射线的抵抗,是放疗和化疗失

败的原因之一^[2]。因此,活体探知葡萄糖和乏氧代谢的空间分布有助于修订放疗计划,以提高治疗效果、早期评估患者放化疗疗效和预后^[3]。

目前,对肿瘤乏氧的研究按照肿瘤细胞缺氧时间的长短分为急性乏氧研究和慢性乏氧研究。肿瘤急性乏氧研究多采用体外培养方法,通过改变培养环境的氧分压,探讨缺氧诱导的信号转导及能量代谢变化规律;肿瘤慢性乏氧研究多采用显影法(例如:放射自显影、SPECT 和 PET 等),通过葡萄糖代谢和乏氧代谢的放射性标志物了解组织或器官内放射性分布的差异。本文综述肿瘤细胞乏氧和葡萄糖代谢的信号转导与组织(放射自显影)和器官(小动物 PET)放射性分布关系,探讨 ^{18}F -氟脱氧葡萄糖(^{18}F -fluorodeoxyglucose, ^{18}F -FDG)和乏氧显像基础。

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2009.04.003

基金项目:安徽省自然科学基金(090413132)

作者单位:1. 230022 合肥,安徽医科大学第一附属医院核医学学科(司宏伟,徐慧琴,岳峤); 2. 100021 北京,中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院核医学学科(耿建华,陈盛祖)

通信作者:司宏伟(E-mail: sihw@163.com)

1 乏氧信号转导和 ^{18}F -FDG 摄取

肿瘤乏氧微环境与肿瘤血管随机生长、瘤体内氧供应和能量代谢的障碍等机制有关。肿瘤血管分布高度不规则,缺乏平滑肌和神经支配,而且肿瘤血管内皮细胞和基底膜细胞均来源于毛细血管后微静脉,不能完整覆盖血管内壁,导致肿瘤血管内纵向氧分压梯度差加大,使很大一部分肿瘤细胞的氧分子自由扩散到细胞范围外,长期处于乏氧状态^[4]。

细胞内乏氧信号转导过程极为复杂,缺氧诱导因子1(hypoxia-inducible factor-1, HIF-1)是调节氧稳态和乏氧反应的重要转录因子,是乏氧信号转导的主要途径,肿瘤细胞凋亡、肿瘤血管生成、细胞周期调控和细胞黏附功能均有不同程度和时相变化^[5],所涉及的生物大分子有血管内皮生长因子、红细胞生成素、多药耐药相关蛋白、p53蛋白、P-糖蛋白等^[6]。

^{18}F -FDG 肿瘤显像以上调葡萄糖转运体和糖酵解途径酶活性为基础,即 Warburg 效应或者肿瘤高糖酵解状态,该效应由乏氧诱导,与 HIF-1 基因和生长因子调节密切相关^[7]。急性缺氧数小时后,体外培养的正常细胞和肿瘤细胞株通过修饰和再利用葡萄糖转运体,增强 ^{18}F -FDG 摄取,惟一区别是不同细胞系间摄取 ^{18}F -FDG 的时程和强度差异较大^[8]。

此外,乏氧肿瘤细胞线粒体 ATP 的合成受限,葡萄糖主要通过无氧糖酵解途径生成乳酸(即 Pasteur 效应),从而进一步增加肿瘤细胞对葡萄糖的摄取量。因此,摄取 ^{18}F -FDG 的肿瘤细胞也可处于乏氧状态,药物沉积仅反映肿瘤细胞膜葡萄糖通量大小,无法区分有氧代谢、细胞增殖旺盛组织和乏氧组织^[9]。目前还不清楚肿瘤乏氧、细胞增殖与葡萄糖摄取的相关性及意义^[9],但临床经验提示, ^{18}F -FDG 的摄取量可综合反映肿瘤恶性程度,且葡萄糖代谢和乏氧代谢的空间分布差异大者肿瘤侵袭性较强。这可能是由于有氧分解程度低(Pasteur 效应强)和瘤体内能量需求均一,间接反映细胞增殖性摄取 ^{18}F -FDG 比例较少,所以相对空间分布差异较小者肿瘤恶性程度较低^[9]。

肿瘤侵袭性与原发灶的乳酸水平和乏氧程度呈正相关,此现象可用 Pasteur 效应或 Warburg 效应

解释,并且瘤体内 Pasteur 效应强弱可能有一定差异,即部分乏氧细胞对葡萄糖的摄取相对较多,而部分细胞摄取较少。葡萄糖摄取和血管生成比较研究提示,葡萄糖可能主要依赖血流供应,而与细胞摄取率关系较弱^[10]。

2 放射自显影

放射自显影术常用 ^3H 标记生物活性物质,近年来一些学者利用单光子或正电子核素标记物显影,结合免疫组化分析结果,从微观角度揭示核素沉积与免疫组化染色间关系^[9]。

2.1 单示踪放射自显影

哌莫硝唑免疫组化染色可以反映乏氧肿瘤细胞的空间分布, Troost 等^[11]给荷瘤大鼠吸入 Carbogen 气体(改善细胞乏氧状态的一种混合气体)或夹闭血管,比较 ^{18}F -氟米索硝唑 (^{18}F -fluoromisonidazole, ^{18}F -FMISO) 放射自显影与哌莫硝唑免疫组化染色的差异,结果表明:人源头颈部鳞癌 SCCn1j3 肿瘤的 ^{18}F -FMISO 和哌莫硝唑信号强度有显著性统计学差异,但相关性较弱;胶质母细胞瘤 E102 和 E106 肿瘤的 ^{18}F -FMISO 和哌莫硝唑信号强度间相关性有显著的统计学意义。这些结果提示,放射性药物的沉积与哌莫硝唑摄取强度相仿, ^{18}F -FMISO 放射自显影和哌莫硝唑免疫组化染色均可显示肿瘤的乏氧区域,但不同细胞系的摄取程度略有差别。

Busk 等^[3]使用 ^{18}F -FDG 放射自显影和免疫组化染色探讨葡萄糖摄取与葡萄糖转运体 1 的表达及细胞乏氧间的规律,对荷 FaDudd (咽部)、UT-SCC-33 (牙龈)、SiHa (颈部) 肿瘤大鼠研究结果表明: ^{18}F -FDG 分布与乏氧区域总体较为一致, SiHa 肿瘤的 ^{18}F -FDG 高摄取区与乏氧区域最为吻合,仅 UT-SCC-33 瘤体对 ^{18}F -FDG 和哌莫硝唑染色间呈反相关系。Pugachev 等^[12]对前列腺癌 R-3327-AT 细胞系的研究结果与 Busk 等^[3]报道的 SiHa 细胞系结果一致,即 ^{18}F -FDG 摄取和哌莫硝唑免疫组化染色的空间分布呈高度正相关,且与细胞增殖及血管生成呈负相关。

氧供丰富的乳腺腺癌细胞系、消化道腺癌细胞系和神经胶质瘤细胞系糖酵解 ATP 合成占主导地位,而 SiHa 鳞癌细胞系非糖酵解 ATP 合成占优势,该现象符合肿瘤生长方式差异,且葡萄糖摄取

与Warburg效应的程度无关,即个别肿瘤细胞系的无氧糖酵解并不占主要优势, ^{18}F -FDG和葡萄糖转运体1染色不能作为广谱乏氧标志物,临床葡萄糖代谢和乏氧代谢的空间分布差异大者肿瘤侵袭性较强^[3]。

2.2 双示踪放射自显影

Tanaka等^[13]利用双示踪放射自显影技术评估小鼠B16(黑色素瘤)、Meth-A(肉瘤)、colon26(腺癌)、LLC1(Lewis肺癌)瘤体内葡萄糖和乏氧代谢分布差异,以及放射性分布与细胞增殖和血管分布关系,结果表明: ^{64}Cu -二乙酰-双(N4-甲基缩氨基硫脲(^{64}Cu -diacetyl-bis(N4-methylthiosemicarbazone, ^{64}Cu -ATSM)主要沉积于肿瘤边缘,肿瘤坏死区则无明显沉积, ^{18}F -FDG高摄取区略小于 ^{64}Cu -ATSM摄取区,各肿瘤模型对 ^{18}F -FDG和 ^{64}Cu -ATSM的摄取程度不完全一致; ^{64}Cu -ATSM高摄取区血供差,由细胞周期停滞的肿瘤细胞组成,反之高 ^{18}F -FDG摄取区血供好,由增殖细胞组成。

Picchio等^[14]用 ^{18}F -硝基咪唑呋喃糖苷(^{18}F -fluoroazomycinarabinofuranoside, ^{18}F -FAZA)和 ^{125}I -葡萄糖-精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸行双示踪放射自显影研究表明:荷EMT6瘤大鼠HIF-1染色位于肿瘤坏死区周围,而 ^{18}F -FAZA摄取范围远大于HIF-1染色区;乏氧和血管生成染色的空间分布也比想象的复杂得多,约60%肿瘤表面 ^{18}F -FAZA和 ^{125}I -葡萄糖-精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸吻合,而其他肿瘤表面二者的分布不一致。

总之,在放射自显影研究中,由于有氧代谢增强以及慢性乏氧或细胞糖代谢受抑, ^{18}F -FDG的摄取仅代表葡萄糖通量,其评估肿瘤乏氧状态的价值或特异性有限^[10]。

3 小动物 PET

3.1 非融合图像

Zanzonico等^[15]比较了荷MCA(乳腺癌)、FSall(纤维肉瘤)大鼠 ^{124}I -氯霉素-半乳糖苷和 ^{18}F -FMISO小动物PET图像,结果表明:两种显像剂的图像相仿,但摄取强度、时程和靶/本底比值有统计学差异。这与Dence等^[16]用9L神经胶质肉瘤 ^{18}F -FMISO与 ^{64}Cu -ATSM小动物PET的比较结果一致,也与其放射自显影结果吻合,即三种乏氧显像剂的分布有很好的相关性。

此外,Dence等^[16]发现: ^{18}F -FDG与 ^{64}Cu -ATSM的相关性较差, ^{64}Cu -ATSM沉积于瘤体边缘, ^{18}F -FDG位于肿瘤内部,认为肿瘤内部细胞处于坏死前状态,外围细胞处于乏氧状态,这与Obata等^[17]用VX2肿瘤研究的结果吻合。以上研究结果提示,高葡萄糖代谢、乏氧代谢和增殖旺盛区域间可能存在一定差异。但Wyss等^[18]对多种肿瘤小动物PET的研究结果表明:瘤体内正常区域和乏氧区域的 ^{18}F -FMISO与 ^{18}F -FDG摄取相仿,而且两种显像剂的定量参数有很强的相关性。

总之,目前研究表明: ^{18}F -FDG和 ^{18}F -FMISO的摄取总体相仿,但不能除外局部区域的差异^[4]。

3.2 软件融合图像

Zanzonico等^[19]分别用 ^{18}F -FDG和 ^{18}F -FMISO实施小动物PET,通过软件融合比较二者在荷瘤鼠(瘤体为20mm×20mm×30mm)葡萄糖和乏氧代谢差异,结果表明:由于瘤体内存在部分低灌注或者坏死区,两种显像剂的空间分布并不完全一致,一些 ^{18}F -FDG摄取增高区对 ^{18}F -FMISO的摄取却相对较低(图1)。

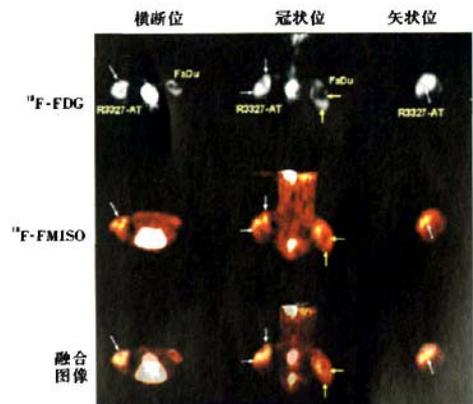


图1 大鼠右后肢 R3327-AT(白色箭头)和 FaDu 肿瘤(黄色箭头)小动物 PET 图像:箭头所指处为 ^{18}F -FDG和 ^{18}F -FMISO的摄取有显著差异。

总之,瘤体内 ^{18}F -FDG和 ^{18}F -FMISO是否存在分布差异还有争议^[4],由于乏氧显像研究和氧分压电极图的一致性较差,因此目前显像研究结果并不能完全否认 ^{18}F -FDG可作为乏氧标志物^[3],且不同

瘤体的乏氧和葡萄糖代谢显像研究结果相差较大,但多数研究提示二者间可能存在一定差异^[4],且空间分布差异较小者肿瘤恶性程度较低^[3]。

4 结语

¹⁸F-FDG 沉积仅反映肿瘤细胞膜葡萄糖通量大,无法区分有氧代谢、细胞增殖旺盛组织和乏氧组织。但临床经验提示,¹⁸F-FDG 摄取情况可综合反映肿瘤恶性程度,并且葡萄糖代谢和乏氧代谢空间分布差异大者肿瘤侵袭性较强。¹⁸F-FDG 可能主要依赖血流供应,而与细胞摄取率关系较弱。个别肿瘤细胞系无氧糖酵解并不占主要优势。

参 考 文 献

- [1] Thomlinson RH, Gray LH. The histological structure of some human lung cancers and the possible implications for radiotherapy. *Br J Cancer*, 1955, 9(4): 539-549.
- [2] Fyles AW, Milosevic M, Wong R, et al. Oxygenation predicts radiation response and survival in patients with cervix cancer. *Radiother Oncol*, 1998, 48(2): 149-156.
- [3] Busk M, Horsman MR, Kristjansen PE, et al. Aerobic glycolysis in cancers: implications for the usability of oxygen-responsive genes and fluorodeoxyglucose-PET as markers of tissue hypoxia. *Int J Cancer*, 2008, 122(12): 2726-2734.
- [4] Dierckx RA, Van de Wiele C. FDG uptake, a surrogate of tumour hypoxia?. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2008, 35(8): 1544-1549.
- [5] Wei W, Yu XD. Hypoxia-inducible factors: crosstalk between their protein stability and protein degradation. *Cancer Lett*, 2007, 257(2): 145-156.
- [6] Maloyan A, Eli-Berchoer L, Semenza GL, et al. HIF-1 α -targeted pathways are activated by heat acclimation and contribute to acclimation-ischemic cross-tolerance in the heart. *Physiol Genomics*, 2005, 23(1): 79-88.
- [7] Airley RE, Mobasher A. Hypoxic regulation of glucose transport, anaerobic metabolism and angiogenesis in cancer: novel pathways and targets for anticancer therapeutics. *Chemotherapy*, 2007, 53(4): 233-256.
- [8] Clavo AC, Brown RS, Wahl RL. Fluorodeoxyglucose uptake in human cancer cell lines is increased by hypoxia. *J Nucl Med*, 1995, 36(9): 1625-1632.
- [9] Thorwarth D, Eschmann SM, Holzner F, et al. Combined uptake of [¹⁸F] FDG and [¹⁸F] FMISO correlates with radiation therapy outcome in head-and-neck cancer patients. *Radiother Oncol*, 2006, 80(2): 151-156.
- [10] Schroeder T, Yuan H, Viglianti BL, et al. Spatial heterogeneity and oxygen dependence of glucose consumption in R3230Ac and fibrosarcomas of the Fischer 344 rat. *Cancer Res*, 2005, 65(12): 5163-5171.
- [11] Troost EG, Laverman P, Kaanders JH, et al. Imaging hypoxia after oxygenation-modification: comparing [¹⁸F]FMISO autoradiography with pimonidazole immunohistochemistry in human xenograft tumors. *Radiother Oncol*, 2006, 80(2): 157-164.
- [12] Pugachev A, Ruan S, Carlin S, et al. Dependence of FDG uptake on tumor microenvironment. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2005, 62(2): 545-553.
- [13] Tanaka T, Furukawa T, Fujieda S, et al. Double-tracer autoradiography with Cu-ATSM/FDG and immunohistochemical interpretation in four different mouse implanted tumor models. *Nucl Med Biol*, 2006, 33(6): 743-750.
- [14] Picchio M, Beck R, Haubner R, et al. Intratumoral spatial distribution of hypoxia and angiogenesis assessed by ¹⁸F-FAZA and ¹²⁵I-Gluco-RGD autoradiography. *J Nucl Med*, 2008, 49(4): 597-605.
- [15] Zanzonico P, O'Donoghue J, Chapman JD, et al. Iodine-124-labeled iodo-azomycin-galactoside imaging of tumor hypoxia in mice with serial microPET scanning. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2004, 31(1): 117-128.
- [16] Dence CS, Ponde DE, Welch MJ, et al. Autoradiographic and small-animal PET comparisons between ¹⁸F-FMISO, ¹⁸F-FDG, ¹⁸F-FLT and the hypoxic selective ⁶⁴Cu-ATSM in a rodent model of cancer. *Nucl Med Biol*, 2008, 35(6): 713-720.
- [17] Obata A, Yoshimoto M, Kasamatsu S, et al. Intra-tumoral distribution of ⁶⁴Cu-ATSM: a comparison study with FDG. *Nucl Med Biol*, 2003, 30(5): 529-534.
- [18] Wyss MT, Honer M, Schubiger PA, et al. NanoPET imaging of [¹⁸F] fluoromisonidazole uptake in experimental mouse tumours. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2006, 33(3): 311-318.
- [19] Zanzonico P, Campa J, Polycarpe-Holman D, et al. Animal-specific positioning molds for registration of repeat imaging studies: comparative microPET imaging of F18-labeled fluoro-deoxyglucose and fluoro-misonidazole in rodent tumors. *Nucl Med Biol*, 2006, 33(1): 65-70.

(收稿日期: 2009-04-07)