

(^{11}C) Flumazenil-PET 受体显像的有关技术问题

史德刚 林祥通

癫痫是常见病, 1/4 的癫痫病人药物难治性患者。术前准确定侧和定位是手术成功的关键。癫痫的诊断方法较多, 本文主要介绍了近年来 (^{11}C) Flumazenil-PET 显像用于癫痫(主要是颞叶癫痫)的有关技术问题。

一、氟马西尼(Flumazenil, 简称 FMZ)

Flumazenil(正式名为‘RO15-1788’)是中枢性苯二氮受体(CBZR)的拮抗剂, 对于 PET 测量局部 GABA 能氯离子通道具有高度特异性。FMZ 对 CBZR 具有高度特异性, 对周围性苯二氮受体(PBZR)和其他受体亲和力低, 无非特异性结合。其对 CBZR 的亲和力不被局部 GABA 浓度或运用巴比妥类药物所影响。作为 CBZR 的拮抗剂, FMZ 并不直接影响 GABA_A 受体的氯离子通道电流, 但是它抑制 CBZR 与激动剂的结合。在 PET 显像时, 成人所需剂量为 5~20 μg (而成人治疗剂量一般为 200~300 μg , 用于反转内源性或外源性苯二氮类过量), PET 显像剂量时的 FMZ 并不产生明显的生理或药理学影响^[1]。

1. Flumazenil 的化学合成

国外文献报道 FMZ 的合成路线有多种, 国内彭震云^[2]用 5-氟靛红为起始原料, 经过氧化氢氧化生成 6-氟靛红酸酐(收率 82%), 再与肌胺酸反应得苯并二氮杂二酮(收率 80%), 最后与异氰基乙酸乙酯缩合得 FMZ(收率 40%)。产率接近文献, 且产品易于分离和纯化。

2. (^{11}C) FMZ 的标记

当前, (^{11}C) FMZ 的标记主要是引用 Maziere M 等 1984 年的方法^[3], 用 $^{11}\text{CH}_3$ 使 nor RO 15.1788 甲基化生成 RO 15.1788- ^{11}C , 反应在碱性溶液中进行。原理是回旋加速器内通过 $^{14}\text{N}(\text{p}, \text{a})^{11}\text{C}$ 核反应生成 $^{11}\text{CO}_2$, 用 $^{11}\text{CO}_2$ 生产 ^{11}C 甲基碘。即 $^{11}\text{CO}_2$ 首先在四氢呋喃溶液中与锂铝氢化物(约 5 μmol)反应生成 $\text{LiAl}(\text{O}^{11}\text{CH}_3)_4$, 然后加 50 μl 的 H_2O 水解成 (^{11}C) 甲醇。这一步经过蒸馏并使蒸气通过 130 $^\circ\text{C}$ 的氢碘酸溶液使之得到分离, 从而得到 1Ci(37GBq) 的 (^{11}C) 甲基碘。 (^{11}C) 甲基碘与 nor R 15.1788 在一定条件下在 70 $^\circ\text{C}$ 的溶液中反应 3h 获得最大产额, 最后, 溶液经过 0.22 μm 微孔膜灭菌后可以注射使用。

总之, Maziere M 报道在 8 巴的压强(巴, 压强单位, 等于 10^6 达因/ cm^2) 下, 20MeV、30 μA 的质子束照射氮 30min, 平均产生 100mCi(3.7GBq) 可注射 ^{11}C -RO 15.1788, 其使用时的特异性放射性活度平均约 1Ci(37GBq)/ μmol 。

二、FMZ 的周围性代谢产物

FMZ 是脂溶性, 可以自由通过血脑屏障, 相反, 其主要代谢产物有极性, 大部分被排出到脑外。当决定房室模型的输入功能时, 必须要考虑这些代谢产物, 因此, 要求抽取动脉血样来测量标记的 FMZ 和标记的代谢产物^[1,4,5]。

三、检查前病人的准备

检查前要求患者停用苯二氮类药物(BZDs)^[5,11], 扫描前 48h 禁饮酒^[9]。

由于 FMZ 对 CBZR 的结合可以被外源性或内源性苯二氮类所阻断, 并不知道是否任何正常或癫痫状态可以产生足够的内源性苯二氮浓度变化来影响 PET 测量 CBZR 的浓度。一般假设内源性苯二氮浓度在发作期间可能会明显变化, 因此, 为了决定 GABA_A 的受体密度, 在 EEG 检查和最后发作为变化后数小时的发作间期作 (^{11}C) FMZ-PET 显像最合理。同一个体发作期及发作间期 (^{11}C) FMZ-PET 显像的比较可以用来间接估计内源性苯二氮浓度在发作期的变化^[11]。

四、扫描层面及获得图像

Richardson 等^[5,6]所用机型为 EACT-953B PET 扫描仪(CIT/Siemens, Knoxville, TN), 用 3-D 模式采集资料, 抽去栅以提高敏感性 6.4 倍, 图像重建时使用双能窗散射校正以得到分辨率为 4.8mm $\times$ 4.8mm $\times$ 5.2mm 的图像(半高宽: full-width at half-maximum, FWHM)。图像包括 31 层连续的层面, 像素大小为 2.09mm $\times$ 2.09mm $\times$ 3.43mm。

固定受检者的头部, 使之眉间枕外隆突连线平行于探测器环, 以便使横断面平行于连线间线(AG-PC 线)。总之, 扫描是沿着海马的长轴获得横断面图像, 冠状面图像垂直于横断面图像。该法可以减少部分容积效应, 并提供海马的最佳影像。扫描前用 0.5% 的 bupivacaine 浸润麻醉后, 在桡动脉内插入 22G 导管以便抽取动脉血计算房室模型。扫描过程中, 患者的头部放在个性化的头模型中, 不断观察患者, 以减少运动, 同时用 8 通道 EEG 记录脑电图以保证为真正的发作间期扫描。

用 3 个 $^{68}\text{Ga}/^{68}\text{Ge}$ 旋转线源作透射扫描, 以便使发射扫描得到衰减校正。有些早期的机型(如 Scanditronix PC 384-7B camera), 衰减校正用体表轮廓法(contour finding)^[7]。注射 ^{11}C -FMZ 后 90min 内获得 20 帧包括全脑的动态图像系列^[5,8]。用自动化“最小平方”技术, 自动调整排列这 20 幅动态图像, 用于减少扫描期间的运动伪影^[6,9]。

由于复杂的房室模型在常规工作中并不适用, Delforge J^[10]使用部分饱和注射法获取苯二氮受体密度及 FMZ 亲和力的参数图像, 即单次注射放射性活度较低的特异性 FMZ, 接着作散点分析。正如其他参数图像方法一样, 该法可能在少受体区域产生小比例(<1%) 的虚假值。然而仅有该法单次注射, 不抽取血样, 在 40min 的实验期间获得受体密度和亲和力图像。该作者又提出第 2 个方法, 即受体密度图直接从部分饱和注射后 5~10min 期间的 PET 图像中推导出, 该法假设一个已知和不变的 FMZ 亲和力值, 但是仅需要简单校正该 PET 图像。

五、PET 受体图像的分析

Richardson 采集的资料在一个传统的 Sun SPARC 工作站上进行分析, 使用分析版本 7.5 以及 MATLAB 和 SPM 软件^[5]。

1. 分析方法

目测: PET 探测颞叶癫痫的局部异常在很大程度上依赖于目测, 这要凭观察者的经验, 并易于产生观察者的偏见^[11]。

基于感兴趣区(ROI)的方法: ROI 允许 FMZ 分布的差别用 FMZ 分布容积(FMZ volume of distribution, FMZVD)的绝对值表达, 并允许做部分容积效应校正, 而这些在所有 PET 研究中都是很重要的^[8]。由于绝对值测量的正常范围比较广泛, ROI 分析可以发现相应颞叶区域的不对称, 但是, ROI 方法容易使观察者把注意力集中在感兴趣区域内而产生偏见。另外, 在双侧颞叶异常的情况下, ROI 技术不可能判断正确^[11]。

统计参数图(statistical parametric mapping, SPM): SPM 是一种客观分析 FMZ 结合的参数图像, 脑的参数图精确代表每个像素的 CBZR 密度, 可以从动态获得的 PET 资料中产生出来, 这些资料是基于简化的二室、二参数数学模型, 并测量动脉血内 FMZ 及其主要周围性代谢产物^[1, 5, 8]。基于像素的基础上, 在病人和正常对照组之间, 用 t 检验在校正的每个像素上作多个比较, SPM 允许探测 CBZR 结合的明显异常, 并且在单侧海马硬化时, SPM 可显示 CBZR 的结合降低局限于海马, 但是, SPM 并不允许作功能影响资料的绝对值定量^[11]。

PET 的一个优点是允许精确测量所在脑层面局部的放射性标记物, 并且可以设计复杂的房室模型把局部的放射性浓度转变成生物学单元。问题是在临床实践中, 作 PET 研究的定量是否必要, 在癫痫病学中, 与颞叶癫痫相关的局部生化变化能很容易地被有经验的观察者发现, 对于诊断目的, 定量并不需要。相比之下, 如果作了局部测量, 可以作病人组和人群组的比较。如果 PET 方法以前已经生效, 简单的测量局部放射性活性已足够, 并且药代动力学房室模型在常规并不必要^[12]。

另外, 应该认为 SPM 及 ROI 分析法是补充性的, 而不是相互排斥的方法^[8]。

2. 分析时的定量: 部分容积效应校正的原因

由于空间分辨率的影响, 使得 PET 资料的绝对值定量受到限制, 当受检结构小于扫描机的 2 倍半高宽时(例如正常或硬化的海马结构), 部分容积效应特别妨碍精确的定量测量。SPM 中图像的平滑进一步降低了空间分辨率并增加了部分容积效应。在感兴趣的海马区域, 由于组织容积平均化, 信号溢出到周围白质和脑脊液可能导致海马放射活性的低估测量, 因此, 当测定海马组织中的 CBZR 密度时, 作部分容积效应校正也是必要的。海马硬化一般发生于前部, 而不是影响整个海马结构, 因此, 整个海马的测量将不会探测轻度的局灶性异常。作 MRI 分析时, 一般把海马分成头、体和尾, 由于 PET 有限的空间分辨率, 如果不作部分容积效应校正, PET 不可能分析海马的头、体和尾。基于 MRI 的部分容积效应校正一次只能校正一个感兴趣容积。基于线性最小平方算法的部分容积效应校正方法, 可以校正任何大小的多个感兴趣区^[6, 11]。

FMZ 分布容积(FMZVD)是基于像素的参数图像, 反映了 CBZR 的结合, 产生于脑摄取(¹¹C) FMZ 和用色谱分析血清的输入功能。在 PET 的 FMZ 分布容积图像上, 勾画出海马的轮廓, 并从前至后分成三等分。在高分辨率 MRI 图像上, 用一种丛聚

性、最大可能性“混合算法”[a clustering, maximum likelihood Mixture Model algorithm(Hartigan 1975 年)], 自动把 MRI 图像上新皮质的皮质、白质和脑脊液分成概率图像。将 MRI 和 PET 图像融合后, MRI 图像变模糊, 并产生与 PET 相同的空间分辨率^[6, 11]。

纵观(¹¹C) flumazenil PET 受体显像的全过程, 可能看出, PET 图像受很多因素影响, 如(¹¹C) flumazenil 的化学纯度及放射化学纯度, 病人是否服用抗癫痫药物、发作状态, (¹¹C) flumazenil 在体内的分布及代谢, 采集层面及采集时间, PET 扫描机的分辨率, 工作站的图像处理软件及图像分析方法, 部分容积效应校正方法等。由于 PET 显像的方法学及操作程序一般比较固定, 而病人的病情, 是否治疗等因素因人而异, 因此, 进一步研究癫痫实验动物及病人的苯二氮受体及其调节, 将有助于进一步了解癫痫病人的 PET 受体图像, 从而对临床提出更有意义的诊断参考意见。

参考文献

- Henry TR. Functional neuroimaging with position emission tomography[J]. *Epilepsia*, 1996, 37(12): 1141-1154.
- 彭震云, 祁超. 氟马西尼的合成[J]. *中国医药工业杂志*, 1994, 25(1): 3-4.
- Maziere M, Hantaye P, Prenant C, et al. Synthesis of ethyl 8-fluoro-5, 6-dihydro-5-(¹¹C) methyl-6-oxo-4H-imidazo[1, 5-a][1, 4] benzodiazepine-3-carboxylate(RO 15.1788-¹¹C: a specific radioligand for the in vivo study of central benzodiazepine receptors by position emission tomography[J]. *Int J Appl Radiat Isot*, 1984, 35(10): 973-976.
- Prevett MC, Lammertsma AA, Brooks DJ, et al. Benzodiazepine-GABA_A receptor binding during absence seizures[J]. *Epilepsia*, 1995, 36(6): 592-599.
- Richardson MP, Koeppe MJ, Brooks DJ, et al. (¹¹C)-flumazenil PET in neocortical epilepsy[J]. *Neurology*, 1998, 51(2): 485-492.
- Koeppe MJ, Hand KS, Labbe C, et al. In vivo (¹¹C) flumazenil-PET correlates with ex vivo (³H) flumazenil autoradiography in hippocampal sclerosis[J]. *Ann Neurol*, 1998, 43(5): 618-626.
- Savic I, Ingvar M, Stone ES. Comparison of (¹¹C) flumazenil and (¹⁸F) FDG as PET markers of epileptic foci[J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1993, 56(6): 615-621.
- Richardson MP, Koeppe MJ, Brooks DJ, et al. Benzodiazepine receptors in focal epilepsy with cortical dysgenesis: an ¹¹C-flumazenil PET study[J]. *Ann Neurol*, 1996, 40(2): 188-198.
- Koeppe MJ, Richardson MP, Brooks DJ, et al. Focal cortical release of endogenous opioids during reading-induced seizures[J]. *Lancet*, 1998, 352: 952-955.
- DeLorge J, Spelle L, Bendriem B, et al. Parametric images of benzodiazepine receptor concentration using a partial-saturation injection[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1997, 17(3): 343-355.
- Koeppe MJ, Labbe C, Richardson MP, et al. Regional hippocampal (¹¹C) flumazenil PET in temporal lobe epilepsy with unilateral and bilateral hippocampal sclerosis[J]. *Brain*, 1997, 120: 1865-1876.
- Sadzot B, Debets R, Maquet P, et al. PET studies of patients with partial epilepsy: visual interpretation Vs. semi quantification/quantification[J]. *Acta Neurol Scand (Suppl)*, 1994, 152: 175-178.

(1999-09-21 收稿)