

# 分子影像学研究现状及展望

文戈 综述 张雪林 审校

【中图分类号】R329.26; R812 【文献标识码】A 【文章编号】1000-0313(2006)08-0863-03

在医学研究领域,外源基因的表达多是通过体外的实验来检测,比如聚合酶链反应、原位杂交和免疫组织化学染色等。但随着基因诊断和治疗从基础走向临床,这些体外方法显示了较大的缺陷,即在临床试验中不能无创、动态地获知转基因表达的部位、幅度和时间。因此,如何用体外的成像方法来监测转入基因的表达以及对活体基因表达进行评估,这是基因诊断和基因治疗大规模进入临床试验前必须解决的问题。新近在影像技术特别是核磁共振和 PET 技术的发展和突破,为上述问题的解决提供了广阔的前景<sup>[1-5]</sup>。下面就介绍分子影像学相关的概念及发展背景,并对它的研究现状进行综述。

## 分子影像学的发展背景

传统的成像技术如 MRI、CT、US 依赖于物质的(如弛豫率、质子密度、吸收及散射)和生理的(如血流)参数作为疾病检测的基础。分子成像不仅依靠这些,而且同时依赖光学成像技术,旨在寻找特殊的分子作为成像对比来源。与一般的临床影像比较,它探测疾病基础上的分子异常,而不是这些分子改变的最终结果的成像。即从生理、生化水平认识疾病,阐明病变组织生物过程的变化、病变细胞基因表达、代谢活性高低、病变细胞是否存活以及细胞内生物活动的状态等,为临床早期诊断、治疗和疾病的研究提供分子水平信息。分子影像就是以图像的形式从分子水平描绘正常及病变组织结构与功能变化信息的影像。新成像技术的发展需要多学科的合作,即生物学家、化学家、物理学家和影像科学家一起来发明新的对比剂、信号放大策略和成像技术。分子成像已成为影像医学下一个前沿工作,成像方法包括正电子发射断层成像(positron emission tomography, PET)、单光子发射断层成像(single photon emission computed tomography, SPECT)、MRI、CT 和光学成像,它们能够对活体基因表达进行评估。

## 基本原理、主要技术

显示分子信息的关键在于运用高特异性的成像专用探针、相应的放大技术和敏感高效的图像检出系统。与体外监测相比,体内成像的关键可能在于探针必须有生物活性、在体内无运载障碍。体内分子成像需要具备以下条件:高亲和力的探针以进行药物动力学分析;探针穿透生物转运障碍物,如血管、间质以及细胞膜的能力;使用化学或者生物扩增策略;敏感、快捷和高分辨力的成像系统。即合适的配体即分子探针、有效的组织和细胞内靶向技术、有效的放大技术以及高空间分辨力和高

敏感性的成像系统。目前常用的探针,按照其成像方法、底物及成像发生原理大致分三类:成像方法为光学的主要有绿色荧光蛋白、荧光素酶、蛋白酶等;成像形式为核素的主要有胸腺嘧啶脱氧核苷激酶及胞嘧啶脱氨酶等;成像方法为核磁共振的主要有转铁素受体、 $\beta$ -半乳糖苷酶和酪氨酸酶-黑素系统<sup>[1]</sup>。

目前应用最多的技术是 PET。报告基因表达 PET 显像必须具备两个基本要素:PET 报告基因和 PET 报告探针。PET 报告探针常用的标记正电子放射性核素为<sup>124</sup>I 和<sup>18</sup>F,其中以<sup>18</sup>F 最为常用。PET 报告探针的积聚直接依赖于 PET 报告基因的表达,其转录由启动子驱使,启动子将根据应用目的选择构建启动子或诱导启动子,构建启动子可用于 PET 报告基因的连续转录,诱导启动子用于控制转录水平,构建启动子或诱导启动子可以是外源性基因,也可以是内源性基因。报告基因表达 PET 显像必须将基因引入生物体内靶组织。如果 PET 报告基因在体内不转录,PET 报告探针将不会积聚;如果启动子导致 PET 报告基因在体内转录,PET 报告基因 mRNA 的翻译将引起蛋白质产物与 PET 报告探针发生作用,从而达到报告基因表达 PET 显像的目的<sup>[6,7]</sup>。

MRI 成像技术以其特有的高空间分辨力和高组织分辨力而成为目前分子影像常用的主要方法之一,与 PET 成像不同的是其报告基因表达是以含铁或钆的报告探针为显像剂,对报告基因表达进行显像定位。Pautler 和 Koret sky 用 Mn<sup>2+</sup> 为探针的磁共振成像对小鼠视觉和嗅觉的神经传导通路及嗅觉功能进行了研究<sup>[11]</sup>。Linden 等人用这种方法探讨了欧洲八哥发声控制系统的神经传导路径和功能<sup>[12]</sup>。

MRI 分子成像探针(magnetic resonance imaging molecular imaging probes)是影像医学在新世纪发展的方向之一。随着分子生物学、生物技术和基因工程(人类基因组/疾病基因组学)等专业的发展,必将深入影响医学科学的进程,也必将影响影像学诊治与基础研究。影像医学具有示踪技术与分子生物学相结合的优势,因此,发展分子成像探针是可行的,也有广阔的前景,分子成像探针应具备以下条件:①标记的分子与靶标的结合应有高度特异性;②分子量要小,容易穿过细胞膜到达靶标;③在成像期间,该化合物要保持稳定,以便得到清晰的图像;④对比剂从血液或非特异性组织的清除要快<sup>[1-5,13-19]</sup>。

MRI 系统现在可达到或接近显微镜的分辨力(几十个  $\mu\text{m}$  范围),可对小动物成像能够进行生理和分子标记物的分析。啮齿动物或啮齿动物的特殊器官 MR 成像通常是在窄孔径 MR 仪( $<20\text{cm}$ )进行,即微小 MR 仪,它拥有高的磁场和梯度场。它的信噪比和空间分辨力显著提高。场强在 7T 下,鼠脑的 MR 显微成像术(MR microscopy)的分辨力可达  $50\mu\text{m}\times 50\mu\text{m}\times 50\mu\text{m}$ ,鼠心脏的分辨力达  $120\mu\text{m}\times 120\mu\text{m}\times 1000\mu\text{m}$ 。另外,

作者单位:510515 广州,南方医科大学南方医院影像中心

作者简介:文戈(1967-),男,山东人,博士研究生,主治医师,主要从事 CT、MRI 诊断及分子影像方面的研究。

还有 MR 靶对比剂的应用,更拓宽了 MR 分子成像的领域。同样,MR 可对转基因表达后进行成像<sup>[20-24]</sup>。

## 研究现状

当前,分子影像主要研究领域为以下 4 个方面:①发展和快速筛选有生物协同作用的高亲和力配体;②改进对分子靶的传输并克服传输障碍;③设计新的信号放大方式;④开发新的成像和检测设备。

为使成像基因在靶标部位形成高水平表达,研究人员试用了多种方法。应用最多的是病毒载体,其最大优点是具有高感染效率,在细胞水平可以达到 100% 的感染率;其缺点是制作程序较复杂、携带基因有大小限制、有一定危险性,如腺病毒的免疫反应、逆转录病毒的重组可能等。常用载体的特性及评价如下:逆转录病毒优点是感染效率高,与宿主的基因组发生重组,目的基因能够稳定表达;缺点是插入性突变,危险性较大,只能感染分裂期细胞;腺病毒的优点是容易获取高滴度病毒,感染效率高;缺点是不能整合染色体,故外源基因只能瞬时表达,可引起局部组织的炎症和免疫反应,体内可复制,安全性值得注意。

应用 MRI 显示基因表达的一个主要进展是其高空间分辨力和基因表达期间能够吸取多个测量参数。因为 MRI 本身对标记检测不敏感,因此需要强有力的细胞扩增策略以使标记检测足够敏感,一般使用靶标和/或智能 MRI 对比增强剂与生物增强策略联用以解决这个问题。转铁素受体(transferrin receptor, TrR)蛋白与顺磁性物质,如单晶氧化铁微粒(monocrystalline iron oxide nanoparticles, MION)结合, MION 在细胞内蓄积的数量与 TrR 的数量成正比,通过基因操作使 TrR 在体内过表达,就可以通过 MRI 观察与 TrR 形成融合蛋白的靶基因在细胞的表达<sup>[25-36]</sup>。另外一个扩增基因信息进行 MR 成像的策略是酪氨酸酶-黑素系统<sup>[37]</sup>:在黑素生成过程中,酪氨酸酶催化两步基本反应,一是羟化酪氨酸形成多巴,二是多巴氧化形成多巴醌,后者经过环化和多聚化形成黑素,黑素具有较强的金属结合特性(特别是铁),黑色素肿瘤在 T<sub>1</sub> 加权的 MR 成像系统中显示一个增强的信号。顺磁性螯合剂在酶化水解过程中改变磁性,近来已被用来进行基因表达的成像:顺磁性的吡喃半乳糖苷/半乳糖苷酶注射入细胞后可以成像半乳糖苷酶的活性,通过测量酶调节的 R1 变化就可以显示半乳糖苷酶的活性。还有一个系统被称作酶联扩增的 MR 成像,氧化还原酶调节催化的顺磁性产物自发产生多聚化,多聚化的顺磁性物质比底物单体产生更加充分的弛豫效果,这主要是因为顺磁性分子杂排列比率的变化引起 MR 信号成倍的扩增<sup>[8-10]</sup>。Dahnke 和 Arbab 用 MRI 观察超顺磁性纳米颗粒 SPIO 标记的细胞,通过 T<sub>2</sub>WI 及 TM2\* WI 信号的变化来显示用 SPIO 标记的细胞的浓聚程度<sup>[38,39]</sup>。

## 展望

分子影像是近年才刚刚兴起的一门学科,许多技术还没有成熟,但其中也存在许多机遇。其中最重要的是开发新的探

针、新的成像技术;其次是建立小动物的成像技术,为动物实验打下基础;再者就是研究高效、低毒的转染技术,使外源性报告基因有效进入体内,并保持高的活性。相信不久的将来,分子影像学将在临床工作中发挥越来越重要的作用。

## 参考文献:

- [1] Weissleder R, Mahmood U. Molecular Imaging [J]. Radiology, 2001, 219(2): 316-333.
- [2] Alfke H, Stoppler H, Nocken F, et al. In Vitro MR Imaging of Regulated Gene Expression [J]. Radiology, 2003, 228(2): 488-492.
- [3] Moore A, Josephson L, Bhorade RM, et al. Human Transferrin Receptor Gene as a Marker Gene for MR Imaging [J]. Radiology, 2001, 221(1): 244-250.
- [4] 林日增, 张雪林. 分子影像学进展 [J]. 临床放射学杂志, 2003, 22(1): 77-79.
- [5] Weissleder R, Simonova M, Bogdanova A, et al. MR Imaging and Scintigraphy of Gene Expression Through Melanin Induction [J]. Radiology, 1997, 204(2): 425-429.
- [6] Green LA, Yap CS, Nguyen K, et al. Indirect Monitoring of Endogenous Gene Expression by Positron Emission Tomography (PET) Imaging of Reporter Gene Expression in Transgenic Mice [J]. Mol Imag Biol. 2002, 4(1): 71-81.
- [7] Chatziioannou AF. PET Scanners Dedicated to Molecular Imaging of Small Animal Models [J]. Mol Imag Biol. 2002, 4(1): 47-63.
- [8] Tempny CM, McNeil BJ. Advances in Biomedical Imaging [J]. JAMA, 2001, 285(5): 562-567.
- [9] Thrall JH. Molecular Imaging and Molecular Biology [J]. Acad Radiol, 2003, 10(11): 1213-1214.
- [10] Herschman HR. Molecular Imaging: Looking at Problems, Seeing Solutions [J]. Science, 2003, 24(10): 605-608.
- [11] Pautler RG, Koretsky AP. Tracing Odor Induced Activation in the Olfactory Bulbs of Mice Using Manganese Enhanced Magnetic Resonance Imaging [J]. Neuro Image. 2002, 16(2): 441-448.
- [12] Van Meir V, Verhoye M, Absil P, et al. Differential Effects of Testosterone on Neuronal Populations and their Connections in a Sensory Motor Brain Nucleus Controlling Song Production in Songbirds: A Manganese Enhanced Magnetic Resonance Imaging Study [J]. Neuro Image. 2004, 21(3): 914-923.
- [13] Luker GD, Piwnicka Worms D. Molecular Imaging in Vivo with PET and SPECT [J]. Acad Radiol, 2001, 18(4): 441-443.
- [14] Phelps ME. Inaugural Article: Positron Emission Tomography Provides Molecular Imaging of Biological Processes [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2001, 29(2): 92-96.
- [15] Nichol C, Kim EE. Molecular Imaging and Gene Therapy [J]. J Nucl Med, 2001, 42(10): 1368-1371.
- [16] Weissleder R, Moore A, Mahmood U, et al. In Vivo Magnetic Resonance Imaging of Transgene Expression. Nat Med, 2000, 31(6): 351-353.
- [17] Dremer C, Weissleder R. In vivo Imaging of Gene Expression: MR and Optical Technologies [J]. Acad Radiol, 2001, 23(8): 815-819.
- [18] Moore A, Josephson L, Bhorade RM, et al. Human Transferrin Re-

- ceptor Gene as a Marker Gene for MR Imaging[J]. *Radiology*, 2001, 221(2): 241-244.
- [19] Shaharabany M, Abramovitch R, Kushnir T, et al. In Vivo Molecular Imaging of Met Tyrosine Kinase Growth Factor Receptor Activity in Normal Organs and Breast Tumors[J]. *Cancer Res*, 2001, 61(4): 487-493.
- [20] Hill Man BJ, Neiman HL. Translating Molecular Imaging Research into Radiologic Practice; Summary of the Proceedings of the American College of Radiology Colloquium[J]. *Radiology*, 2002, 222(1): 19-23.
- [21] Weissleder R, Mahmood U. Molecular Imaging[J]. *Radiology*, 2001, 219(3): 316-320.
- [22] Pomper MG. Molecular Imaging: an Overview[J]. *Acad Radiol*, 2001, 18(8): 114-121.
- [23] Weissleder R. Molecular Imaging: Exploring the Next Frontier[J]. *Radiology*, 1999, 219(5): 609-614.
- [24] Allport JR, Weissleder R. In Vivo Imaging of Gene and Cell Therapies[J]. *Exp Hematol*, 2001, 29(12): 1237-1243.
- [25] Kanevsky VY, Pozdnyakova LP, Katukov VY, et al. Isolation of the Transferrin Receptor from Human Placenta[J]. *Biochem Mol Biol Int*, 1997, 42(2): 309-316.
- [26] West AP, Bennett MJ, Sellers VM, et al. Comparison of the Interactions of Transferrin Receptor and Transferrin Receptor 2 with Transferrin and the Hereditary Hemochromatosis Protein HFE[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(49): 8135-8138.
- [27] Richardson DR, Ponka P. The Molecular Mechanisms of the Metabolism and Transport of Iron in Normal and Neoplastic Cells[J]. *Biochim Biophys Acta*, 1997, 133(1): 1-40.
- [28] Rouault T, Klausner R. Regulation of Iron Metabolism in Eukaryotes[J]. *Curr Top Cell Regul*, 1997, 35(1): 1-19.
- [29] Feelders RA, Kuiper-Kramer EP, van-Eijk HG. Structure, Function and Clinical Significance of Transferrin Receptors[J]. *Clin Chem Lab Med*, 1999, 37(1): 1-10.
- [30] Runnegar M, Wei X, Berndt N, et al. Transferrin Receptor Recycling in Rat Hepatocytes is Regulated by Protein Phosphatase 2A, Possibly Through Effects on Microtubule-dependent Transport[J]. *Hepatology*, 1997, 26(1): 176-185.
- [31] Lok CN, Loh TT. Regulation of Transferrin Function and Expression: Review and Update[J]. *Biol Signals Recept*, 1998, 7(3): 157-178.
- [32] Schalinske KL, Blemings KP, Steffen DW, et al. Iron Regulatory Protein 1 is Not Required for the Modulation of Ferritin and Transferrin receptor Expression by Iron in a Murine Pro-B Lymphocyte Cell Line[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94(20): 10681-10686.
- [33] Thomson AM, Rogers JT, Leedman PJ. Iron-regulatory Proteins, Iron-responsive Elements and Ferritin mRNA Translation[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 1999, 31(10): 1139-1152.
- [34] Kim S, Ponka P. Control of Transferrin Receptor Expression Via Nitric Oxide-mediated Modulation of Iron-regulatory Protein 2[J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(46): 3035-3042.
- [35] Bianchi L, Tacchini L, Cairo G. HIF-1-mediated Activation of Transferrin Receptor Gene Transcription by Iron Chelation[J]. *Nucleic Acids Res*, 1999, 27(21): 4223-4227.
- [36] Ryu SY, Jeong KS, Kang BN, et al. Modulation of Transferrin Synthesis, Transferrin Receptor Expression, iNOS Expression and NO Production in Mouse Macrophages by Cytokines, Either Alone or in Combination[J]. *Anticancer Res*, 2000, 20(5A): 3331-3338.
- [37] 元建鹏, 梁碧玲, 等. 酪氨酸酶基因在 HepG2 细胞表达的 MR 评价及其方法[J]. *癌症杂志*, 2003, 22(2): 156-159.
- [38] Ali SA, Lindsey BW, Parwana Ashari, et al. A Model of Lysosomal Metabolism of Dextran Coated superparamagnetic Iron Oxide (SPIO) Nanoparticles: Implications for Cellular Magnetic Resonance Imaging[J]. *NMR in Biomedicine*, 2005, 18(3): 383-389.
- [39] Dahnke H, Schaeffter T. Limits of Detection of SPIO at 3.0 T Using  $T_2^*$  Relaxometry[J]. *Magn Reson Med*, 2005, 53(9): 1202-1206.

(收稿日期: 2006-01-13 修回日期: 2006-04-14)

## 《活体形态学》出版

由巫北海教授总主编的《活体形态学》2006年5月已由科学出版社出版,各地书店发行。该书是作者们总结了四十余年对活体形态学众多课题的研究成果、广泛收集国内外有关资料、以现代医学影像学技术为观察手段编写而成的。它全面、系统地介绍了活体各系统器官、组织(甚至细胞分子)的形态结构、功能状态及物质代谢变化情况。其特点是:活体、实时、无创或微创。而非活体形态学所见与之有较大差别。活体形态学可作为临床各科检查和观察病人的必备基础知识。该书共分颅脑、面颈、胸心、腹盆(上、下)和脊柱脊髓与肌骨系统六卷,是一套方便、实用的工具书。

(秦将均)