

^{13}C 磁共振波谱成像研究现状及其在前列腺癌中的应用

姚贞久

【中图分类号】R737.25; R445.2 【文献标识码】A 【文章编号】1000-0313(2012)06-0677-03

^{13}C -MRS 的 ^{13}C 发生超极化的原理

低磁场中电子的极化 G 值远大于原子核(约为质子的 3 倍)。用与电子共振频率相同的射频脉冲照射组织可使组织内的电子发生极化,并且这种电子的极化状态也可以使临近的原子核也发生极化,即极化状态的传递。产生原子核极化的机理有两种:一种被称为实度效应(solid effect),原子核发生极化一步完成两次量子跃迁;另一种被称为热混合(thermal mixing),原子核发生极化要两步完成,每一步只进行一次量子跃迁。一般来说,热混合获得的微波能量比实度效应的小。这两种机理在原子核极化过程中可单独或同时起作用,但通常在电子共振频率接近和达到磁共振脉冲频率及电子自旋度高时,热混合在原子核极化过程中占主要作用。在调整极化过程中,由于原子核周围电子微磁场的影响,使得原子核的自旋发生了不断的变化,这种变化即使在不配对电子的含量极低的样本中也会出现^[1]。

实际应用中预极化的物质通常含有饱和化学基(如硝基或者三芳基等),溶解到瓶装的溶剂中并被放置于磁场内。对此溶剂进行冰冻处理,使其温度接近 1k,并对此溶剂进行射频脉冲激励。电子极化发生转移后,关闭射频脉冲,迅速的加热样本并且升高到液氮水平以上;最后迅速转移到 MRI 扫描仪上进行扫描。文献报道此种方法可以很好的保持原子核极化状态^[2]。通过这种动态核极化(dynamic nuclear polarization, DNP)可以使样本中大约 10%~20%的 ^{13}C 发生核极化。DNP 也可用于 15N 和 89Y 的核极化。

用于磁共振波谱成像的 ^{13}C 标记物的研究进展

^{13}C -MRSI(magnetic resonance spectroscopy imaging, MR-SI)可用于观察器官有机化合物的代谢主链,为重要生化代谢化合物的来源和结构提供有用的信息。另外,碳有一个大的化学位移范围(≈ 250 ppm,而 ^1H 的化学位移范围 ≈ 15 ppm),这提高了检测含碳代谢物的分辨力,这些代谢物用 ^1H -MRSI 是很难检测出来的。然而,临床上 ^{13}C -MRSI 由于其标记物 ^{13}C 的自然含量低(1.1%)和磁化率低(^{13}C 的 γ 值约为 ^1H 的 1/4),使其应用受到限制。

提高 ^{13}C -MRS 敏感性的方法主要有两种。一是利用质子去耦技术,此种方法可以明显提高 ^{13}C -MRSI 的信噪比^[3]。另一种方法就是将 ^{13}C 标记到底物,再注入活体中。自然界富含 ^{12}C (98.9%),用 ^{13}C 同位素取代 ^{12}C 作为代谢底物不会影响其化学反应,经过细胞、动物甚至人体试验显示 ^{13}C 标记底物及其含 ^{13}C 的代谢物能够在不受背景信号影响的情况下被检测出来。尽

管 ^{13}C -MRSI 的固有信噪比较低,但文献报道显示使用 ^{13}C -标记底物的 MRSI 在活体中的应用前景广阔^[4-7]。

实际应用中,常用的 ^{13}C -标记物主要有以下 3 种:

1. 超极化 ^{13}C -丙酮酸(Hyperpolarized ^{13}C -pyruvate, HP ^{13}C -pyruvate)

在用 ^{13}C -标记物研究代谢通路时,首先被使用的标记物就是 HP ^{13}C -pyruvate,其超极化过程是通过 DNP 技术实现的。之所以选择丙酮酸作为研究标记物,主要是由于它是 3 大主要代谢途径的共同中间代谢产物。在活体内由于细胞状态的不同,丙酮酸可以转化成乳酸(Lactate)、丙氨酸(Alanine)或碳酸酯等。例如,众所周知肿瘤细胞因其代谢与正常细胞不同,它将丙酮酸更多的转化成乳酸而不是丙氨酸。HP ^{13}C -pyruvate 不仅在代谢途径的生化研究上,近年来它在活体代谢及疾病的研究中也得到广泛的应用^[8-14]。

2. 超极化 ^{13}C -乳酸(Hyperpolarized ^{13}C -lactate, HP ^{13}C -lactate)

HP ^{13}C -lactate 常用来评估乳酸脱氢酶(LDH)的活性以及监测通过丙酮酸由乳酸向丙氨酸转化的次级代谢途径^[15]。

3. 超极化 $5\text{-}^{13}\text{C}$ -谷氨酰胺(Hyperpolarized $5\text{-}^{13}\text{C}$ -glutamine, HP $5\text{-}^{13}\text{C}$ -glutamine)

HP $5\text{-}^{13}\text{C}$ -glutamine 用于测量肝癌细胞(HCC)的谷氨酰胺的活性。实验研究显示 HP $5\text{-}^{13}\text{C}$ -glutamine 加入含有 HCC 细胞的微载体培养基中培育,26 s 后 ^{13}C -MRSI 中谷氨酰胺达峰值(181.9 ppm),但其峰值强度很低^[16],这可能与培养基中 HCC 细胞含量少和 ^{13}C -glutamine 极化率低(5%)有关。

^{13}C -MRSI 成像方法的研究进展

用于 MRI 检查的超极化 ^{13}C -标记物与传统 ^1H -MRI 检查的对比增强剂是不同的。事实上,磁共振对比增强剂通过改变周围环境中质子的弛豫时间来发挥作用,对比剂本身并不产生信号,而超极化 ^{13}C 标记物自身也产生磁共振信号。由于极化状态随时间衰减,所以必须调节脉冲序列,以便在极短的时间内产生磁共振图像。用于超极化物质的 MRI 脉冲序列一般使用小角度激发,以便产生较强的磁化作用,或者通过单次激发序列获得磁共振图像。最常见的序列是 RARE、EPI 及 true FISP^[17-18]。各种提高 ^{13}C -MRSI 的检测敏感性的技术研究成了研究热点,总体来说近年来被用于研究的脉冲序列主要有以下 3 种:

1. 小角度自旋双回波激励脉冲

Cunningham 等^[19]采用小角度自旋双回波激励脉冲及平面回波翻转读出系统进行活体三维 ^{13}C MRIS 数据收集,取得良好效果。Mark 等^[20]也采用此种序列进行转基因鼠前列腺癌模型的研究,两者的不同在于前者注射 HP ^{13}C -pyruvate 14 s 后采集数据,而后者注射后 35 s 采集数据。

2. 容积外抑制射频脉冲

容积外抑制 (outer volume suppression, OVS) 方案常用于活体 ^1H -MRI/MRS, OVS 在获取 MRI 图像之前进行一连串的射频脉冲以对兴趣区以外的组织进行饱和^[21-22]。通过选择饱和脉冲对兴趣区以外的组织和 ^{13}C -lactate、 ^{13}C -alanine 进行饱和, 以保证兴趣区内的 ^{13}C -lactate、 ^{13}C -Pyruvate、 ^{13}C -Alanine 等不受外来干扰^[23]。

3. 时控多带宽射频脉冲激励平面回波成像

此序列的优势是有效的利用了磁化作用及提高了信噪比^[19,24]。

^{13}C -MRS 对前列腺癌的动物模型初步研究

1. 前列腺代谢产物的研究

在过去的 10 年时间里, 大量的事实数据显示代谢标记物胆碱、肌醇酸盐及多胺在前列腺癌中的诊断价值很高, 用 ^1H -MRSI 检测这些代谢产物并结合常规解剖 MRI 图像明显提高对前列腺癌的定位, 包膜内生长、包膜外转移、良恶性鉴别等方面临床评估价值。

近年来, 生物代谢研究显示肿瘤组织中乳酸、丙胺酸的水平明显高于正常组织, 这与肿瘤细胞糖酵解和细胞膜生成增加相关^[25-26]。PET 研究也显示一些肿瘤组织对葡萄糖的摄取率很高, 而对葡萄糖的高摄取率直接与肿瘤的侵袭性呈正相关而与肿瘤预后呈负相关。大多数肿瘤对葡萄糖的高摄取必然导致乳酸等代谢产物生成增多^[27-28]。糖酵解增加为瘤细胞的生物合成提供更多的碳源和能量, 同时也造成了肿瘤周围的酸性环境, 而酸性环境被认为可以使肿瘤细胞更容易向周围侵犯^[25-26,29]。丙酮酸是三大代谢途经的共同中间代谢产物, 被肿瘤细胞摄取后也可以转化成乳酸、丙胺酸等代谢产物。因此, 通过检测丙酮酸、丙胺酸及乳酸可以对前列腺癌的诊断及鉴别诊断提供更多有益的信息。然而, ^1H -MRSI 需要抑制前列腺周围大量的脂肪信号, 使得 ^1H -MRS 很难检测到丙酮酸、丙胺酸及乳酸等代谢物。目前, 新的 Hyperpolarized ^{13}C -MRSI 技术可检测肿瘤组织中这些代谢变化^[30-32]。

2. ^{13}C -MRSI 对前列腺癌的诊断价值

Mark 等^[33]通过对转基因鼠前列腺癌模型 (transgenic adenocarcinoma of mouse prostate, TRAMP) 的研究显示 HP ^{13}C -pyruvate 在 12 s 内检测出 ^{13}C -pyruvate (173 ppm), 并在 24 s 时达到峰值, HP ^{1-13}C -lactate (185 ppm) 几乎在注射后即刻被检测到, 但在第一个 12 s 间期内水平较低, 随后乳酸迅速上升, 并在约 45 s 时达峰值, 乳酸下降较缓慢, 可长达 2 min。在 TRAMP 模型中也观察到了 $(1-^{13}\text{C})$ alamine (178.5 ppm), 但它的含量明显低于乳酸。在 TRAM 中还观察到了 Pyr-hydrate 峰。前列腺癌组织中的乳酸水平明显高于周围正常腺体, 因此, 乳酸水平在肿瘤定位和检出中具有潜在的敏感性。另外结合 TRUS 对前列腺中 ^{13}C -lactate 水平高的区域进行穿刺取材, 增加了活组织检查的敏感性和准确性。

3. ^{13}C -MRS 在前列腺癌分期和分级中的研究

在高、中、低分化肿块转基因前列腺癌组织中检测到 HP ^{13}C -lactate 水平与病理组织学的指数 (0.95) 呈正相关。由于肿瘤组织学变化决定肿瘤组织分级, 因此 HP ^{13}C -lactate 水平也与肿瘤的分级呈正相关, 说明 ^{13}C 乳酸水平的测定对肿瘤分级

具有重要的意义。

超极化 ^{13}C 丙氨酸水平在不同分级前列腺癌中的差异较小, 单独评价肿瘤分级意义不大, 但其变化趋势与超极化 ^{13}C -lactate 相同, 两者结合更有助于肿瘤分级判定的准确性。

总超极化碳 (total hyperpolarized carbon, THC) 水平与肿瘤组织摄取丙酮酸水平相关, 肿瘤级别越低, 肿瘤组织摄取丙酮酸越多, 转化成乳酸的概率也越高。因此, THC 水平与肿瘤分级也密切相关。

超极化 ^{13}C -pyruvate 水平在不同级别肿瘤中的差异不大。因此, 对肿瘤分级无意义。

展望

各种超极化 ^{13}C 标记物还未得到食品和药品管理局 (FDA) 的批准进入临床应用。因此, 目前还未开展人体前列腺癌超极化 ^{13}C -MRSI 的研究, 加速超极化 ^{13}C 标记物研发及进入临床应用, 以便进行人体 HP- ^{13}C -MRSI 研究将成为今后研究的重点。

参考文献:

- [1] Comment A, Brandt B, Uffmann K, et al. Design and performance of a DNP prepolarizer coupled to a rodent MRI scanner[J]. *Conc Magn Reson Part B*, 2007, 31B(4): 255-269.
- [2] Ardenkjaer-Larsen JH, Fridlund B, Gram A, et al. Increase in signal-to-noise ratio of more than 10000 times in liquid state NMR[J]. *Discov Med*, 2003, 3(19): 37-39.
- [3] John Kurhanewicz, Robert Bok, Sarah J, et al. Current and potential applications of clinical ^{13}C MR spectroscopy[J]. *J Nucl Med*, 2008, 49(3): 341-344.
- [4] de Graaf RA, Mason GF, Patel AB, et al. In vivo ^1H - ^{13}C -NMR spectroscopy of cerebral metabolism[J]. *NMR Biomed*, 2003, 16(6-7): 339-357.
- [5] Gruetter R, Adriany G, Choi IY, et al. Localized in vivo ^{13}C NMR spectroscopy of the brain[J]. *NMR Biomed*, 2003, 16(6-7): 313-338.
- [6] Ross B, Lin A, Harris K, et al. Clinical experience with ^{13}C MRS in vivo[J]. *NMR Biomed*, 2003, 16(6-7): 358-369.
- [7] Rothman DL, Behar KL, Hyder F, et al. In vivo NMR studies of the glutamate neurotransmitter flux and neuroenergetics; implications for brain function[J]. *Annu Rev Physiol*, 2003, 65(1): 401-427.
- [8] Golman K, Zandt R, Lerche M, et al. Metabolic imaging by hyperpolarized ^{13}C magnetic resonance imaging for in vivo tumor diagnosis[J]. *Cance Res*, 2006, 66(22): 10855-10860.
- [9] Chen AP, Albers MJ, Cunningham CH, et al. Hyperpolarized ^{13}C spectroscopic imaging of the TRAMP mouse at 3T-initial experience[J]. *Magn Res Med*, 2007, 58(6): 1099-1106.
- [10] Merritt ME, Harrison C, Storey C, et al. Hyperpolarized ^{13}C allows a direct measure of flux through a single enzyme-catalyzed step by NMR[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(50): 19773-19777.
- [11] Albers MJ, Bok R, Chen AP, et al. Hyperpolarized ^{13}C lactate, pyruvate and alanine; non-invasive biomarkers for prostate cancer detection and grading[J]. *Cancer Res*, 2008, 68(20): 8607-8615.
- [12] Nelson SJ, Vigneron D. DNP-Hyperpolarized ^{13}C magnetic resonance metabolic imaging for cancer application[J]. *Appl Magn*

- Res, 2008, 34(3-4):533-544.
- [13] Day SE, Kettunen MI, Gallagher FA, et al. Detecting tumor response to treatment using Hyperpolarized ^{13}C magneti resonance imaging and spectroscopy[J]. Nat Med, 2007, 13(11):1382-1387.
- [14] Merritt ME, Harrison C, Storey C, et al. Inhibition of carbohydrate oxidation during the first minute of reperfusion after brief ischemia; NMR detection of Hyperpolarized $^{13}\text{CO}_2$ and $\text{H}^{13}\text{CO}_3^-$ [J]. Magn Res Med, 2008, 60(5):1029-1036.
- [15] Chen AP, Kurhan, Bok R, et al. Feasibility of using hyperpolarized $1-^{13}\text{C}$ lactate as a substrate for in vivo metabolic ^{13}C MRSI studies[J]. Magn Res Imaging, 2008, 26(6):721-726.
- [16] Gallagher FA, Kettunen MI, Day SE, et al. ^{13}C MR spectroscopy measuremengts of glutaminase activity in human hepatocellular carcinoma cells using heperpolarized ^{13}C -labeled glutamine[J]. Magn Res Med, 2008, 60(2):253-257.
- [17] Mansson S, Johnsson E, Magnusson P, et al. ^{13}C imaging-a new diagnostic platform[J]. Eur Radiol, 2006, 16(1):57-67.
- [18] Viale A, Reineril F, Santelia D, et al. Hyperpolarized agents for advanced MRI investigations[J]. Q J Nucl Med Mol Imaging, 2009, 53(6):604-617.
- [19] Cunningham CH, Chen AP, Albers MJ, et al. Double spin-echo sequence for rapid spectroscopic imaging of hyperpolarized ^{13}C [J]. J Magn Reson, 2007, 187(2):357-362.
- [20] Mark J. Albers, Robert Bok, Albert P, et al. Hyperpolarized ^{13}C lactate, pyruvate and alanine; noninvasive biomarkers for prostate cancer detection and grading[J]. Cancer Res, 2008, 68(20):8607-8615.
- [21] Le Roux P, Gilles RJ, McKinnon GC, et al. Optimized outer volume suppression for single-shot fast spin-echo cardiac imaging[J]. J Magn Reson Imaging, 1998, 8(5):1022-1032.
- [22] Tran TK, Vigneron DB, Sailasuta N, et al. Very selective suppression pulses for clinical MRSI studies of brain and prostate cancer[J]. Magn Reson Med, 2000, 43(1):23-33.
- [23] Albert P, Chena, Kevin Leungb, et al. Design of spectral-spatial outer volume suppression RF pulses for tissue specific metabolic characterization with hyperpolarized ^{13}C pyruvate[J]. J Magn Reson, 2009, 200(2):344-348.
- [24] Peder EZ, Larson, Robert Bok, et al. Investigation of tumor hyperpolarized $1-^{13}\text{C}$ -pyruvate dynamics using time-resolved multi-band RF excitation echo-planar MRSI[J]. Magn Reson Med, 2010, 63(3):582-591.
- [25] Gatenby RA, Gillies RJ. Why do cancers have high aerobic glycolysis? [J]. Nat Rev Cancer, 2004, 4(11):891-899.
- [26] Costello LC, Franklin RB. "Why do tumor cells glycolyse?": from glycolysis through citrate to lipogenesis[J]. Mol Cell Biochem, 2005, 280(1-2):1-8.
- [27] Warburg O, Wind F, Negelein E. Uber den stoffwechsel von tumouren im Korper[J]. Klin Woch, 1926, 5(23):829-832.
- [28] Warburg O. On the origin of cancer cells[J]. Science, 1956, 123(3193):309-314.
- [29] Gatenby RA, Gawlinski ET, Gmitro AF, et al. Acid-mediated tumor invasion; a multidisciplinary study[J]. Cancer Res, 2006, 66(10):5216-5223.
- [30] Ardenkjaer-Larsen JH, Fridlund B, Gram A, et al. Increase in signal-to-noise ratio of more than 10,000 times in liquid state NMR[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100(5):10158-10163.
- [31] Kohler SJ, Yen Y, Wolber J, et al. In vivo ^{13}C carbon metabolic imaging at 3T with hyperpolarized ^{13}C -1-pyruvate[J]. Magn Reson Med, 2007, 58(1):65-69.
- [32] Chen AP, Albers MJ, Cunningham CH, et al. Hyperpolarized ^{13}C spectroscopic imaging of the TRAMP mouse at 3T-initial experience[J]. Magn Reson Med, 2007, 58(6):1099-1106.
- [33] Mark J, Albers, Robert Bok, et al. Hyperpolarized ^{13}C lactate, pyruvate and alanine; noninvasive biomarkers for prostate cancer detection and grading[J]. Cancer Res, 2008, 68(20):8607-8615.

(收稿日期:2010-07-21 修回日期:2011-03-07)

第 12 届东方脑血管病介入治疗大会(OCIN 2012)会议通知

由全军脑血管病研究所、第二军医大学长海医院临床神经医学中心举办的第 12 届东方脑血管病介入治疗大会(12th Oriental Conference of Interventional Neuroradiology, OCIN 2012)将于 2012 年 10 月 26~28 日在上海隆重召开。

随着与世界颅内支架大会(ICS)及东亚神经介入治疗大会(EACoN)的共同举行,OCIN 品牌的国际化特色更加鲜明,已成为神经介入学界国际精品会议之一。今年,OCIN 将继续秉承“沟通·交流·规范·创新”的宗旨,以“促进学术交流、加强学科合作”为目标,发扬“追求更高、更精、更细”的传统,传播各种脑血管疾病规范化治疗方法、神经介入器械合理使用及其最新研发成果、神经影像以及神经基础科学研究进展,更有手术现场转播,现场点评,直击手术实况。

欢迎神经外科医师、神经内科医师、神经放射学医师、神经介入医师以及从事神经介入相关工作的人员,共同分享、共同见证、共同推动神经介入事业新的发展!

联系人:杨鹏飞、刘红亮

联系地址:上海市长海路 168 号长海医院神经外科

电子邮箱:ocin2012@163.com

联系电话:021-31161800