

细胞移植的分子成像架起了从实验走向临床的桥梁

王维 容鹏飞

随着移植医学的飞速发展,器官移植技术已经逐步成熟,然而,由于供体的缺乏,严重制约了器官移植临床工作的开展。人们在寻找新的方法解决这个难题,细胞移植由于受供体短缺的限制较小,因此被认为是今后移植学发展的趋势。目前开展的细胞移植主要分为干细胞移植及体细胞移植。干细胞移植由于还存在许多不可调控因素,如移植后细胞的稳定分化等,因而,目前大都还处于临床前实验阶段。体细胞移植技术已经比较成熟,部分体细胞移植已经运用于临床,如胰岛细胞移植治疗 1 型糖尿病已取得了一定疗效,特别是近年来 Edmonton 方案的实施,大大改善了胰岛细胞移植的疗效,使人们看到了治愈 1 型糖尿病的希望。但对于细胞移植后细胞是否健康存活?移植后功能如何?以及在细胞分化过程中是否导致畸变、致癌等是细胞移植迫切需要解决的难点问题,也是制约细胞移植从实验走向临床的关键环节。要解决上述难题,需要实时地对以下项目进行检测:(1)移植后移植物的活体监测;(2)移植后的免疫排斥反应及非特异性炎症反应导致的细胞丢失;(3)移植细胞凋亡检测;(4)移植细胞基因检测;(5)细胞功能及代谢检测。由于目前组织学及外周血中代谢物及细胞因子等的检测往往存在检测滞后于临床的情况,而且,组织学检测为有创检查方法,不能做到在疾病的初期或临床前期对其进行实时检测。

Weissleder^[1]于 1999 年提出了分子影像学的概念,因其无创、可以反复对活体内与疾病发生相关的特异性靶向分子成像,这给细胞移植后对移植物的早期活体检测及早期干预提供了契机,这将大大提高细胞移植的临床疗效。分子影像对细胞移植的活体监测主要关注以下几方面内容。

一、细胞移植后移植物的监测

移植细胞群的数量及其在体内动态迁徙位点在

很大程度上决定了移植后的疗效,因此,对移植细胞的示踪是细胞移植首先需要解决的问题。

1. 需要安全的细胞标记技术:对移植细胞进行安全有效地细胞标记是研究细胞移植体内成像的基础^[2]。细胞标记分为细胞内标记及细胞外标记,一般而言,前者比后者稳定,可视性好,在体内成像时靶向对比剂不易被巨噬细胞吞噬,分子成像信号强。目前,常用的 MR 标记物超顺磁性氧化铁(SPIO)标记效率高,且安全、对细胞功能无影响,已经对体细胞及干细胞进行了成功地标记。Arbab 等^[3]将 SPIO 标记间充质细胞及人子宫颈癌传代细胞,结果显示 SPIO 对细胞活力、功能及细胞凋亡无影响。

2. 细胞移植后迁徙过程及体内定位的监测也关乎移植后的疗效:对于干细胞的体内动态迁徙过程及体细胞的体内位点及其定量检测是目前分子影像研究的热门课题。有学者将干细胞标记后进行体内示踪能精确地显示干细胞的迁徙途径^[4-5];Schneider 等^[6]将氟和^{99m}Tc 标记的格列本脲衍生物利用正电子发射计算机断层成像(PET)对胰岛细胞群成像;Tai 等^[7]利用聚左旋赖氨酸及电穿孔技术将 MR 阴性对比剂 SPIO 标记入胰岛细胞内进行 MR 扫描,结果显示标记 SPIO 胰岛细胞的量与 MR 信号间具有良好的相关性;Biancone 等^[8]运用 MR 阳性对比剂 GdHPDO3A 体外标记鼠与人的胰岛细胞进行肝包膜下及肾包膜下移植胰岛细胞,发现可以在定量地检测移植细胞。

3. 活体内未标记的移植细胞成像:这是细胞移植的关键环节之一,目前,对于体内移植细胞群的定量研究监测主要集中在利用移植细胞表面抗原与靶向对比剂携带的抗体结合及对移植细胞膜表面受体显像等方面。Moore 等^[9]利用 细胞特异性抗 IC2 单克隆抗体修饰放射性核素螯合剂的体内外研究发现,可以特异性靶向显示胰岛 细胞,这将为胰岛 细胞的体内检测提供可能。Simpson 等^[10]利用 2 型单胺囊泡转运体蛋白(type 2 vesicular

monoamine transporters, VMAT2) 受 型转染囊泡单胺转运蛋白体不但在中枢神经系统表达, 也在胰岛细胞表达的原理, 与 [^{11}C] 二氢丁苯那嗪 [^{11}C] DTBZ 配体结合, 利用 PET 检测, 可以对 VMAT2 受体进行定量研究, 达到对胰岛细胞进行定量监测的目的。

二、细胞移植后移植物与宿主相互作用的监测

1. 移植后的免疫排斥反应: 利用免疫排斥反应及炎症反应细胞特异性分子, 可以采用多种分子成像的方法在体实时检测免疫排斥反应, 它比现行的组织活检更能反映排斥反应初期的变化, 该研究已经取得了初步的进展。Garden 等^[11] 已经发现了一种快速标记免疫反应细胞的方法, 这为标记其他免疫排斥反应细胞提供了可能。动物实验证明, 此方法能够监测抗排斥反应的疗效, 及时调节免疫排斥反应方案, 对移植物及时、长期的监测必将改善移植细胞的存活能力^[12-13]。

2. 组织缺氧及非特异性炎症反应: 组织缺氧及非特异性炎症反应等非免疫因素也可能是导致细胞移植失败的原因^[13-14]。移植后血管再生是解决组织缺氧的最佳途径, 因此对于血管再生的监测十分重要。对于血管再生的及时监测可以帮助体内示踪再生血管的治疗^[15]。Ocak 等^[16] 的研究认为, 通过 PET 对受体显像可以对新生血管的发生进行成像, 对基因表达的监测更能准确、特异地识别新生血管, 特别是对于血管内皮细胞生长因子受体的靶向治疗与监测具有很大的临床实用价值。多种分子成像方法的应用, 能定量监测新生血管的数量, 但是由于血管内皮细胞表面受体数量有限, 在监测血管发生时, 大分子对比剂及纳米对比剂能扩增图像的信号, 可能更有优势^[17-18]。由于 PET 分辨率低, 将 MR 与其整合的图像将提供更多信号, 同时改善了成像的敏感性及特异性, Medarova 等^[19] 通过 PGC-GdDTPA-F 探针检测糖尿病微血管的变化, 认为可以对其进行半定量研究, 其病理改变与 MR 结果相符, 这为移植后再血管化的研究提供了想象空间。

3. 移植细胞基因检测: 报告基因可以定量检测基因治疗的效果, 实时检测细胞的复制和活化, 使用不同的报告基因可以准确地评估内源性分子事件, 并运用于临床检测及治疗^[20]。反义 PET 显像是利用正电子核素标记某一特定序列的反义寡脱氧核苷酸作为 PET 显像剂, 经体内核酸杂交与相应的靶 mRNA 结合, 通过 PET 显像, 显示基因异常表达组织, 反映目标 DNA 的转录情况。反义显像是一种内

源性基因表达显像, 显像难度较大。报告基因 PET 显像主要有酶报告基因 PET 显像和受体或转运蛋白, 目前研制较为成熟的有 型单纯疱疹病毒胸腺嘧啶脱氧核苷激酶报告基因和多巴胺 D2 受体 (D2R) 报告基因^[21]。Lu 等^[22-23] 的研究显示, 慢病毒重组体能监测胰岛细胞表达 PET 报告基因, 体内胰岛细胞的量与 PET 信号强度正相关, 通过该方法可以运用 PET 对胰岛移植进行长期而安全的体内监测。报告基因表达 PET 显像发展非常迅速, 已成为分子影像学发展的重要标志。MR 也已运用于报告基因成像, 但敏感性低^[24]。癌细胞中转铁蛋白受体过表达是一个很有潜力的分子影像标志物^[25], MR 敏感探针对于转铁蛋白的检测可以灵敏地检测细胞的癌变, 这为临床检测细胞移植是否癌变及畸变提供了可能。

4. 细胞的凋亡、细胞功能及代谢检测: (1) 凋亡检测: 细胞移植后存活及发挥功能的一个关键环节是对细胞凋亡的检测, 各种分子影像技术在细胞凋亡事件中都具有有一定的使用价值^[26]。Murakami 等^[27] 将 ^{18}F 标记膜联蛋白 V 发现, 可以将其作为 PET 检测凋亡的试剂, 灵敏度高。Aloya 等^[28] 利用凋亡检测家族成员之一的荧光蛋白与氟原子 (NST-732), 能迅速在凋亡细胞内聚集, 已经用于淋巴瘤、缺血再灌注损伤及脑中风等疾病, PET 影像检查与病理结果显示具有良好的相关性。锚定蛋白 (annexin V) 是检测胰岛凋亡的早期标志物, Schellenberger 等^[29] 运用 MR 检测胰岛细胞的凋亡, 与经典的检测细胞凋亡的原位 (缺口) 末端标记法 (TUNEL 法) 染色结果相符。(2) 细胞功能及代谢检测: PET 是经典的检测代谢及功能的分子影像学方法, Kim 等^[30] 利用 ^{18}F -fluoro-3-hydroxymethylbutylguanine (^{18}F -FHBG) -PET 成像对肝脏内胰岛进行评估, 认为可以通过 PET 的信号强度反映移植后胰岛的分泌功能, PET 对胰岛移植后代谢变化的研究主要集中在 细胞特异性抗体、格列本脲等类似物等方面。

我国分子影像学的起步虽然较国际上稍晚, 但已经显示出蓬勃的发展势头。单分子成像时代即将来临, PET 与 MR 的发展为单分子成像提供了可能, 如 PET 与 MR 耦合制作其共用的探针, 大大提高了体内分子成像的质量, 已经开发出多种多功能探针。我们相信, 在全体影像界同行的共同努力下, 分子影像学的发展将为细胞移植从实验走向临床架起一座连通的桥梁。

参 考 文 献

- [1] Weissleder R. Molecular imaging: exploring the next frontier (Review) . Radiology, 1999, 212: 609-614.
- [2] Berney T, Toso C. Monitoring of the islet graft. Diabetes Metab, 2006; 32: 503-512.
- [3] Arbab AS, Bashaw LA, Miller BR, et al. Characterization of biophysical and metabolic properties of cells labeled with superparamagnetic iron oxide nanoparticles and transfection agent for cellular MR imaging. Radiology, 2003, 229: 838-846.
- [4] Bulte JW, Douglas T, Witwer B, et al. Magnetodendrimers allow endosomal magnetic labeling and in vivo tracking of stem cell. Nat Biotechnol, 2001, 19: 1141-1147.
- [5] Ben-Hur T, van Heeswijk RB, Einstein O, et al. Serial in vivo MR tracking of magnetically labeled neural spheres transplanted in chronic EAE mice. Magn Reson Med, 2007, 57: 164-171.
- [6] Schneider S, Feilen PJ, Schreckenberger M, et al. In vitro and in vivo evaluation of novel glibenclamide derivatives as imaging agents for the non-invasive assessment of the pancreatic islet cell mass in animals and humans. Exp Clin Endocrinol Diabetes, 2005, 113: 388-395.
- [7] Tai JH, Foster P, Rosales A, et al. Imaging islets labeled with magnetic nanoparticles at 1.5 Tesla. Diabetes, 2006, 55: 2931-2938.
- [8] Biancone L, Crich SG, Cantaluppi V, et al. Magnetic resonance imaging of gadolinium-labeled pancreatic islets for experimental transplantation. NMR Biomed, 2007, 20: 40-48.
- [9] Moore A, Bonner-Weir S, Weissleder R, et al. Noninvasive in vivo measurement of beta-cell mass in mouse model of diabetes. Diabetes, 2001, 50: 2231-2236.
- [10] Simpson NR, Souza F, Witkowski P, et al. Visualizing pancreatic beta-cell mass with [¹¹C]DTBZ. Nucl Med Biol, 2006, 33: 855-864.
- [11] Garden OA, Reynolds PR, Yates J, et al. A rapid method for labelling CD4 + T cells with ultrasmall paramagnetic iron oxide nanoparticles for magnetic resonance imaging that preserves proliferative, regulatory and migratory behaviour in vitro. J Immunol Methods, 2006, 314: 123-133.
- [12] Penno E, Johansson L, Ahlström H, et al. Ultrasmall iron oxide particle contrast agent and MRI can be used to monitor the effect of anti-rejection treatment. Transplantation, 2007, 84: 374-379.
- [13] Medarova Z, Evgenov NV, Dai G, et al. In vivo multimodal imaging of transplanted pancreatic islets. Nat Protoc, 2006, 1: 429-435.
- [14] Pittet MJ, Swirski FK, Reynolds F, et al. Labeling of immune cells for in vivo imaging using magnetofluorescent nanoparticles. Nat Protoc, 2006, 1: 73-79.
- [15] Choe YS, Lee KH. Targeted in vivo imaging of angiogenesis: present status and perspectives. Curr Pharm Des, 2007, 13: 17-31.
- [16] Ocak I, Baluk P, Barrett T, et al. The biologic basis of in vivo angiogenesis imaging. Front Biosci, 2007, 12: 3601-3616.
- [17] Cai W, Chen X. Multimodality imaging of vascular endothelial growth factor and vascular endothelial growth factor receptor expression. Front Biosci, 2007, 12: 4267-4279.
- [18] Cai W, Chen K, Mohamedali KA, et al. PET of vascular endothelial growth factor receptor expression. J Nucl Med, 2006, 47: 2048-2056.
- [19] Medarova Z, Castillo G, Dai G, et al. Non-invasive magnetic resonance imaging of microvascular changes in type 1 diabetes. Diabetes, In press 2007.
- [20] Serganova I, Blasberg R. Reporter gene imaging: potential impact on therapy. Nucl Med Biol, 2005; 32: 763-780.
- [21] Aung W, Okauchi T, Sato M, et al. In-vivo PET imaging of inducible D2R reporter transgene expression using [¹¹C] FLB 457 as reporter probe in living rats. Nucl Med Commun, 2005, 26: 259-268.
- [22] Lu Y, Dang H, Middleton B, et al. Noninvasive imaging of islet grafts using positron-emission tomography. Proc Natl Acad Sci U S A, 2006, 103: 11294-11299.
- [23] Lu Y, Dang H, Middleton B, et al. Long-term monitoring of transplanted islets using positron emission tomography. Mol Ther, 2006, 14: 851-856.
- [24] Gilad AA, Winnard PT Jr, van Zijl PC, et al. Developing MR reporter genes: promises and pitfalls. NMR Biomed, 2007, 20: 275-290.
- [25] Hagemann-Savellano D, Bos E, Blondet C, et al. The transferrin receptor: a potential molecular imaging marker for human cancer. Neoplasia, 2003, 5: 495-506.
- [26] Lahorte CM, Vanderheyden JL, Steinmetz N, et al. Apoptosis-detecting radioligands: current state of the art and future perspectives. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2004, 31: 887-919.
- [27] Murakami Y, Takamatsu H, Taki J, et al. ¹⁸F-labelled annexin V: a PET tracer for apoptosis imaging. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2004, 31: 469-474.
- [28] Aloya R, Shirvan A, Grimberg H, et al. Molecular imaging of cell death in vivo by a novel small molecule probe. Apoptosis, 2006, 11: 2089-3101.
- [29] Schellenberger EA, Bogdanov A Jr, Hagemann D, et al. Annexin V-CLIO: a nanoparticle for detecting apoptosis by MRI. Mol Imaging, 2002, 1: 102-107.
- [30] Kim SJ, Doudet DJ, Studenov AR, et al. Quantitative micro positron emission tomography (PET) imaging for the in vivo determination of pancreatic islet graft survival. Nat Med, 2006, 12: 1423-1428.

(收稿日期: 2007-11-10)

(本文编辑: 张晓冬)

· 书 讯 ·

《肝脏疾病 CT 与 MRI 诊断》出版

由北京大学深圳医院医学影像科王成林教授和上海复旦大学附属中山医院医学影像科周康荣教授等主编的《肝脏疾病 CT 与 MRI 诊断》已由人民卫生出版社出版发行。

本书共分 10 章, 内蕴三大特色: (1) 贴近临床, 病种齐全, 几乎囊括了肝脏所有的常见病、多发病、罕见病和少见病; (2) 资料完整, 注重诊断的客观依据, 尤其是病理和影像

学图片的完整性、代表性、连续性和真实性, 突出显示病变的效果; (3) 内容新颖, 全部资料均来源于著者的经验和积累, 采用统一的撰稿风格, 吸收和引用了国内外的最新研究成果。全书 70 多万字, 386 幅图片, 每本定价 108 元, 内容实用, 可供医学生、相关的临床和医学影像科医师参考, 全国各大书店均有出售。

(方玲 黄嵘)