

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2018.24.002

^{99m}Tc-3PRGD₂ 在放射性肺炎早期诊断中的研究*施乐¹, 张微¹, 高成成¹, 郭智瑞¹, 魏龙晓^{1△}, 杨志福², 王坤亮³

(1. 中国人民解放军空军军医大学附属唐都医院核医学科, 西安 710038; 2. 中国人民解放军空军军医大学西京医院药剂科, 西安 710032; 3. 中国人民解放军空军军医大学附属唐都医院放疗科, 西安 710038)

摘要:目的 探讨^{99m}Tc-3PRGD₂ 诊断早期放射性肺炎的影像学研究方法。方法 将 20 只雌性 SD 大鼠随机分为正常对照组、30 Gy 照射对照组, 每组各 10 只。照射后 0、10、20、30 d 时, 以 20% 乌拉坦腹腔麻醉动物, 行 CT 及 SPECT 扫描, 观察影像学变化; 并在照射后 30 d 时进行病理组织学检查。结果 受照射大鼠肺 CT 影像在 30 d 时显示放射性肺炎变化明显, SPECT 动态扫描图像显示不同组间在照射后 10 d 已出现非常明显的差异; 照射后 30 d 时病理组织学检查显示受照射大鼠肺组织改变明显。结论 ^{99m}Tc-3PRGD₂ 对于早期放射性肺炎的诊断具有潜在价值。

关键词: SPECT; ^{99m}Tc-3PRGD₂; CT; 放射性肺炎; 早期诊断

中图分类号: R818.8

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2018)24-3649-04

Research of ^{99m}Tc-3PRGD₂ in the early stage radioactive pneumonia*SHI Le¹, ZHANG Wei¹, GAO Chengcheng¹, GUO Zhirui¹,
WEI Longxiao^{1△}, YANG Zhifu², WANG Kunliang³

(1. Department of Nuclear Medicine, Tangdu Hospital Affiliated to the Chinese People's Liberation Army Force Military Medical University, Xi'an, Shaanxi 710038, China; 2. Department of Pharmacy, Xijing Hospital Affiliated to the Chinese People's Liberation Army Force Military Medical University, Xi'an, Shaanxi 710032, China; 3. Department of Radiotherapy, Tangdu Hospital Affiliated to the Chinese People's Liberation Army Force Military Medical University, Xi'an, Shaanxi 710038, China)

Abstract: Objective To explore the imaging diagnostic method of ^{99m}Tc-3PRGD₂ in the diagnosis of early radiation pneumonitis. **Methods** A total of 20 female SD rats were randomly divided into normal control group and 30 Gy irradiation group, with 10 in each group. At the first, 10th, 20th and 30th days after irradiation, 20% urethane anesthetized animals were scanned by CT and SPECT to observe the imaging changes, and 30 days after irradiation, pathological examination was performed. **Results** Radioactive pneumonia was evident on CT images of the lungs of irradiated rats at the 30th days. SPECT dynamic scanning images showed that there were significant differences between different groups on the 10th day after irradiation. Pathological histological examination at the 30th days after irradiation showed significant changes in the lungs of irradiated rats. **Conclusion** ^{99m}Tc-3PRGD₂ has potential value in the diagnosis of early radiation pneumonitis.

Key words: SPECT; ^{99m}Tc-3PRGD₂; CT; radioactive pneumonia; early diagnosis

放射性肺炎(RP)是继发于辐射损伤的肺组织炎性反应,是胸部放疗引起的严重的、甚至是致命的并发症之一。RP 的症状包括呼吸困难、干咳、呼吸急促、发热及肺功能改变^[1-2]。目前,临床上常用放疗治疗肿瘤,放疗的疗效较为理想,但其用于治疗肺癌、食管癌和乳腺癌等时,射线都会对肺造成不同程度的损伤。放疗在恶性肿瘤中有明显的剂量-效应学关系,即随着放疗剂量增加,局部区域的治疗效果相应升高^[3-5]。然而其剂量的增加也会造成对正常组织的毒

性作用提高,放射性肺损伤则是具有代表性的一种毒性作用。研究者普遍认为,放射性肺损伤是多因素、多细胞参与的、复杂的动态反应过程,其发生与照射野、放射剂量、照射部位、治疗时是否使用化疗药物等有关^[6-7]。放射性肺损伤的发生势必影响进一步治疗,因此应综合评估患者情况,制订严格的放疗计划,治疗过程中应严密观察,预防 RP 发生,早诊断、早治疗,遏制其向肺纤维化发展尤为重要^[8-9]。已有研究证实,整合素 αvβ3 在放射性肺损伤肺细胞上呈明显

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81171364)。

作者简介:施乐,男,技师,主要从事靶向探针标记方面的研究。

△ 通信作者, E-mail: weilx3245@163.com。

高表达^[10],而三肽基团(RGD)可以与整合素 $\alpha v\beta 3$ 进行有效结合。为此,本研究通过建立大鼠急性放射性肺损伤所导致的 RP 模型,应用放射性核素标记的^{99m}Tc-3PRGD₂ 放射性分子探针示踪大鼠大剂量照射后,评估分子影像学技术进行早期诊断的可行性,从而建立一种新的诊断结合治疗 RP 及放射性肺纤维化(RPF)的模式,更好地造福于临床患者。

1 材料与方法

1.1 材料 选取 6~8 周龄健康雌性清洁大鼠 20 只,平均体重(246.5±37.2)g,由西安交通大学医学院动物中心提供;GE Discovery VCT64 PET/CT, Philips FORTE SPECT(中国人民解放军空军军医大学附属唐都医院核医学科);Varian 21 EX 6 mV 直线加速器(中国人民解放军空军军医大学附属唐都医院放疗科)。

1.2 方法

1.2.1 动物模型制备 将大鼠随机分出 10 只作为正常对照组,其余 10 只大鼠置于有机玻璃盒内,以 Varian 21 EX 6 mV 直线加速器单次全胸照射 30 Gy 作为照射对照组,靶源距 100 cm,剂量率 400 D/R。照射完毕给予动物标准饲料,自由进食和饮水。

1.2.2 ^{99m}Tc-HYNIC-TPPTS-Tricine-3PRGD₂ 制备 HYNIC-TPPTS-Tricine-3PRGD₂ 前体试剂盒内含有 5.0 mg trisodium Triphenylphosphine-3,3',3'-Trisulfonate, 6.5 mg tricine, 40.0 mg Mannitol, 35.0 mg disodium succinate hexahydrate, 11.3 mg succinic acid 20.0 μ g,加入新鲜淋洗的^{99m}TcO₄,置于沸水中水浴 20 min 取出,冷却待用。

1.2.3 ^{99m}Tc-HYNIC-TPPTS-Tricine-3PRGD₂ 的质控 将冷却的产物点样于 whatman 纸层析板以 90% 丙酮和 10% 去离子水作为展开剂展开,使用薄层色谱(TLC)测量产物放射化纯度。产率>90% 视为合格。

1.2.4 CT 影像学检查 大鼠 CT 检查图像参数设定:将大鼠腹腔麻醉后固定于纸板上,调整 CT 参数为 I:250 mA, U:80 kV, Pitch speed = 0.516 : 1.000 mm/Rot, 2.5 mm, DFOU:9.6 cm 对其进行扫描并以 2.5 mm 层厚在 GE AW5.1 操作系统下对其进行三维重建。

1.2.5 SPECT Whole-Body 静态扫描参数 矩阵 128×128。扫描时间为尾静脉注射^{99m}Tc-3PRGD₂ 后 30 min。

1.2.6 SPECT Whole-Body 动态扫描参数 矩阵 128×128,每帧为 2 min,总扫描时间为 270 min (4.5 h),尾静脉注射^{99m}Tc-3PRGD₂ 10 min 后开始进行数据采集。照射对照组选取 3 点同等面积(等矩阵)肺区,做出平均放射性计数曲线(MIM 6.1 系统), CURVEB(Curve of the Bilateral Pulmonary field)。

1.2.7 病理组织学检查 动脉放血处死两组大鼠,迅速取肺投入 40 g/L 甲醛中固定,常规包埋,切片,进行 HE 染色,光学显微镜下观察。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理,所有计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组计量数据先进行正态检验和方差齐性检验,凡符合正态分布和方差齐性的数据,采用单因素方差分析(One-way ANOVA)。多组间两两比较采用 Dunnett-t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 动物一般情况 正常对照组动物无异常;照射对照组大鼠被照射后活动明显减少,精神萎靡,进食进水量明显减少,10 d 左右恢复。15~20 d 全胸照射野出现明显脱毛,至照射 30 d 时仍未恢复。

2.2 放射性探针^{99m}Tc-HYNIC-TPPTS-Tricine-3PRGD₂ 的制备 ^{99m}Tc-HYNIC-TPPTS-Tricine-3PRGD₂ 产物无色澄清,TLC 测定标记率均>95%,溶质迁移距离与流动相迁移距离比值=0.152±0.042,12 h 之内发生辐射反应比例<10%,见图 1。

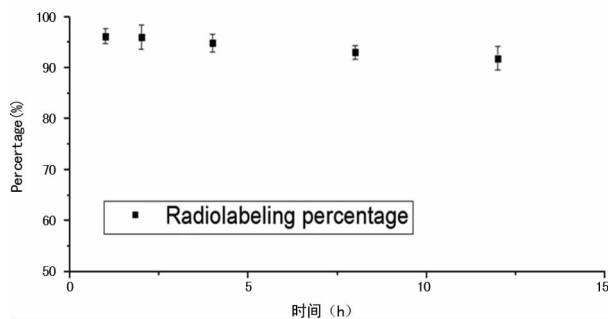
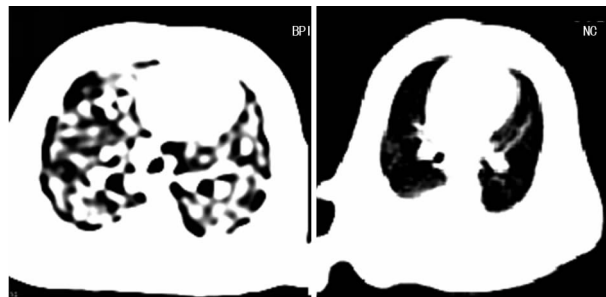


图 1 ^{99m}Tc-HYNIC-TPPTS-Tricine-3PRGD₂ 测定放射化纯度

2.3 CT 影像分析 见图 2。放射对照组在照射后 10 d 及 20 d 时 CT 图像相对于正常对照组未见明显区别,正常对照组在照射后 30 d 时无明显变化,照射对照组在照射后 30 d 时出现大面积毛玻璃影改变,边缘模糊不清,说明大鼠 RP 模型建立成功。

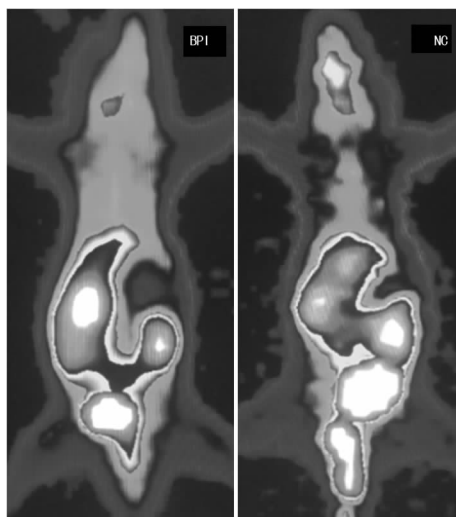


注: BPI 为放射对照组; NC 为正常对照组

图 2 CT 影像分析

2.4 SPECT 图像分析 SPECT Whole-Body 静态扫描结果:照射 10 d 注射^{99m}Tc-3PRGD₂ 后 30 min Whole-Body SPECT 静态扫描图像显示,大鼠在照射肺野内出现明显摄取增高,其中放射性计数(白色>红色>黄色>绿色>蓝色>黑色)相对于正常对照组肺野,在照射对照组中双侧肺均出现放射性计数增高(图 3)。10 d Post-irradiation BPI vs. 10 d Post-irra-

diation 正常对照组(受照后 10 d),照射后 10 d 注射^{99m}Tc-3PRGD₂ 后 30 min, Whole-Body SPECT 扫描结果显示,相对于正常对照组,照射对照组大鼠肺部放射性计数明显增高,差异有统计学意义($P < 0.01$)。



注:BPI 为照射对照组;NC 为正常对照组

图 3 SPECT 图像分析

表 1 两组照射不同天数肺单位矩阵平均放射性计数/肌肉范围矩阵平均放射性计数比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	0 d	10 d	20 d	30 d
正常对照组	10	2.354 ± 0.472	2.942 ± 0.683*	4.847 ± 0.822*	7.136 ± 0.642*
照射对照组	10	2.253 ± 0.511	2.421 ± 0.477	2.219 ± 0.312	2.368 ± 0.522

注:与照射对照比较,* $P < 0.01$

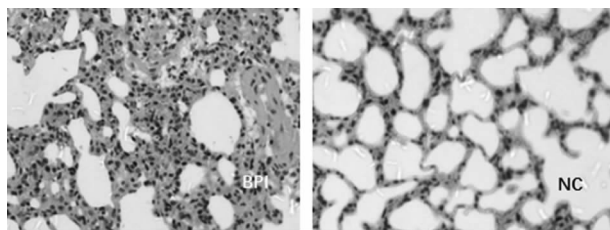


图 4 组织病理学图片

3 讨 论

RP 及 RPF 早期无损伤影像学诊断是影像学领域难点之一,但至今未找到一种广泛被临床接受的影像学早期诊断方法。轻度 RP 会自行消退,但重度 RP 将导致 RPF。临床上通常通过照射剂量预判给予患者糖皮质激素治疗,但糖皮质激素在防治 RP 和 RPF 过程中更多扮演的是消炎药物角色。大量文献报道,接受糖皮质激素治疗的患者会出现医源性骨质疏松和其他症状,并且在治疗结束停药后,约 30% 以上的患者会发生继发感染^[11-12]。所以早期对 RP 进行诊断和分级对预后非常重要。随着影像学的发展,医生把更多的目光从以前的静态看片转移到现在的动态看片,正因为这样,现在影像学的主流分析软件和分析方法都得到了大规模更新,比如 MIM 的 PET-EDGE

2.5 两组照射不同时间肺单位矩阵平均放射性计数/肌肉范围矩阵平均放射性计数比较 见表 1。对两组照射后 0 d 注射^{99m}Tc-3PRGD₂ 后 30 min Whole-Body SPECT 图形进行分析,提取矩阵放射性计数,显示不同组间双侧肺照射对照组肺野放射性平均计数从照射后 10 d 开始至照射后 30 d 出现非常明显的差异。

2.6 SPECT Whole-Body 静态扫描结果 照射对照组和正常对照组大鼠肺部放射性计数百分比曲线设初始扫描时肺放射初始计数为 100%,照射后 0 d ^{99m}Tc-3PRGD₂ 动态扫描图像显示,在照射对照组中,肺百分比放射性计数随扫描时间变化其曲线差异无统计学意义($P > 0.05$)。但从照射后 10 d 开始,不同组肺部摄取代谢曲线出现非常明显的差异,差异有统计学意义($P < 0.01$)。

2.7 组织病理学图片 见图 4。病理学检查结果显示,相对于正常对照组,照射对照组肺组织出现明显的 RP 特征,照射对照组大鼠肺部肺泡腔内有大量中性粒细胞和巨噬细胞浸润,肺泡壁局部增厚,肺间隔不等(受照 30 d 时)。说明大鼠 RP 模型建立成功。

功能,GE 的 AW 工作站,都添加了此类新功能。

RGD 被证明能够与整合素 $\alpha v \beta 3$ 结合,可以标记 18F 等正电子核素,以及^{99m}Tc 等单光子核素,从而进行影像学检查,RGD 有巨大潜力成为一种临床制备较简单的常用放射性分子探针。近几年有报道证实,^{99m}Tc-3PRGD₂ 在肝纤维化中有潜在的早期诊断价值^[13],但其较高的放射性计数组织本底,用常规方法相对较难得到具有临床诊断价值的数值。本研究所使用的动态曲线法有潜力成为此类诊断性高组织本底放射性探针的一种新型方法。作者将进一步使用由不同剂量照射导致的不同分级 RP 及肺纤维化模型进行分析,期待找到不同程度病程与放射性探针摄取之间的关系。

参考文献

[1] MEHTA V. Radiation pneumonitis and pulmonary fibrosis in non-small-cell lung cancer: pulmonary function, prediction, and prevention[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2005,63(1):5-24.
 [2] SAVAGNER P. Epithelial-mesenchymal transitions: from cell plasticity to concept elasticity[J]. Curr Top Dev Biol, 2015,112(1):273-300.

失,在 MTB 耐 INH 分离株中,有 2%~10% 的分离株发生 katG 基因完全缺失,而且主要出现在高度耐 INH 菌株中,故 katG 基因缺失对 MTB 耐 INH 有较好的指导意义。在 MTB 耐 INH 分离株中,10%~35% 的分离株在 inhA 启动子区域发生突变,最常见的突变位点是 15 位^[8]。本研究中仅有 2 株耐药菌检出 15 位突变,原因可能是该基因耐药株不是云南省 HIV/MTB 人群中流行的优势耐药菌株,或者此基因变异率不高,但尚需扩大标本量进行验证。

综上所述,本研究阐明了云南省 HIV/MTB 感染者中 MTB 耐 RFP rpoB 基因的主要突变位点为 531 (TCG→TTG),耐 INH katG,inhA 基因的主要突变位点为 katG 基因 315 (AGC→ACC),其作为耐多药结核诊断的分子标记靶点有较好的临床应用价值。

参考文献

[1] 黄绍萍,卢水华,卢洪洲. 人类免疫缺陷病毒感染并发结核死亡病例的特点[J]. 医药导报,2010,29(3):295-297.

[2] 赵连爽,代娣,陈昕,等. 基因芯片在分枝杆菌菌种鉴定及结核耐药基因检测的诊断价值[J]. 检验医学与临床,2014,11(12):1595-1598.

[3] 李太生,卢洪洲,沈银忠,等. HIV 合并 MTB 感染诊治专家共识[J]. 中华临床感染病杂志,2017,10(2):81-89.

[4] 康丽菲,朱桂云,李秀武,等. 基因芯片技术检测 MTB 对利福平和异烟肼耐药性的研究[J]. 河北医药,2012,34(16):2412-2414.

[5] 柳正卫,黄玉,赵雁林. MTB 基因突变检测方法研究进展[J]. 中国防痨杂志,2013,35(9):748-751.

[6] 王印,朱迎春,周锐峰,等. HIV/AIDS 合并结核病患者 196 株 MTB 耐药分析[J]. 重庆医学,2017,46(9):1203-1205.

[7] 汪亚玲,祁燕伟,万荣,等. HIV/AIDS 合并结核感染患者中分枝杆菌检测技术比较和耐药表型研究[J]. 中华临床医师杂志,2012,6(8):2115-2119.

[8] 张贺秋,赵雁林. 现代结核病诊断技术[M]. 北京:人民卫生出版社,2013:27-29.

[9] ERGESHOV A, ANDREEVSKAYA S N, LARIONOVA E E, et al. The spectrum of mutations in genes associated with resistance to rifampicin, isoniazid, and fluoroquinolones in the clinical strains of *M. tuberculosis* reflects the transmissibility of mutant clones[J]. Mol Biol, 2017, 51(4):595-602.

[10] BURTSCHER D, VAN DEN BERGH R, TOKTOSUNOV U, et al. My favourite day is sunday: community perceptions of (drug-resistant) tuberculosis and ambulatory tuberculosis care in kara suu district, osh province, kyrgyzstan[J]. PLoS One, 2016, 11(3):e0152283.

[11] ISAKOVA J, SOVKHOZOVA N, VINNIKOV D, et al. Mutations of rpoB, katG, inhA and ahp genes in rifampicin and isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Kyrgyz Republic[J]. BMC Microbiol, 2018, 18(1):22-26.

(收稿日期:2018-05-27 修回日期:2018-09-04)

(上接第 3651 页)

[3] SAVAGNER P. The epithelial-mesenchymal transition (EMT) phenomenon[J]. Ann Oncol, 2010, 7(1):89-92.

[4] PIETROFESA R, TUROWSKI J, TYAGI S, et al. Radiation mitigating properties of the lignan component in flaxseed [J]. BMC Cancer, 2013, 13(1):179-185.

[5] BERMAN A T, TUROWSKI J, MICK R, et al. Dietary flaxseed in non-small cell lung cancer patients receiving chemoradiation[J]. J Pulm Respir Med, 2013, 3(4):154-159.

[6] FLECKENSTEIN K, GAUTER-FLECKENSTEIN B, JACKSON I L, et al. Using biological markers to predict risk of radiation injury[J]. Semin Radiat Oncol, 2007, 17(2):89-98.

[7] BAKKAL B H, GULTEKIN F A, GUVEN B, et al. Effect of ozone oxidative preconditioning in preventing early radiation-induced lung injury in rats[J]. Braz J Med Biol Res, 2013, 46(9):789-796.

[8] SPALEK M. Chronic radiation-induced dermatitis: challenges and solutions[J]. Clin Cosmet Investig Dermatol, 2016, 9(1):473-482.

[9] ROSENTHAL R A, FISH B, HILL R P, et al. Salen Mn complexes mitigate radiation injury in normal tissues[J]. Anticancer Agents Med Chem, 2011, 11(4):359-372.

[10] LUZINA I G, TODD N W, NACU N, et al. Regulation of pulmonary inflammation and fibrosis through expression of integrins $\alpha V\beta 3$ and $\alpha V\beta 5$ on pulmonary T lymphocytes [J]. Arthritis Rheum, 2009, 60(5):1530-1539.

[11] ZHOU Y, SHAO G, LIU S. Monitoring Breast Tumor Lung Metastasis by U-SPECT-II/CT with an Integrin $\alpha V\beta 3$ -Targeted Radiotracer ^{99m}Tc-3P-RGD(2) [J]. Theranostics, 2012, 2(6):577-588.

[12] ZHOU Y, KIM Y S, CHAKRABORTY S, et al. ^{99m}Tc-labeled cyclic RGD peptides for noninvasive monitoring of tumor integrin $\alpha V\beta 3$ expression[J]. Mol Imaging, 2011, 10(5):386-397.

[13] YU X, WU Y, LIU H, et al. Small-animal SPECT/CT of the progression and recovery of rat liver fibrosis by using an integrin $\alpha V\beta 3$ -targeting radiotracer [J]. Radiology, 2016, 279(2):502-512.

(收稿日期:2018-05-15 修回日期:2018-08-20)