

· 论 著 ·

## 磁共振对比剂 Gd-DTPA-DG 的制备及动物实验研究\*

黄占文<sup>1</sup>, 张伟<sup>1</sup>, 陈跃<sup>1△</sup>, 蔡亮<sup>1</sup>, 曹丰<sup>1</sup>, 丁志凌<sup>1</sup>, 何菱<sup>2</sup>

(1. 泸州医学院附属医院核医学科, 四川 646000; 2. 四川大学华西药学院, 成都 610041)

**摘要:**目的 合成一种顺磁性脱氧葡萄糖类 MR 对比剂——二乙三胺五乙酸-脱氧葡萄糖钆盐(Gd-DTPA-DG), 并探讨其在荷瘤裸鼠体内肿瘤信号改变的规律。方法 首先合成 DTPA-DG, 再与氧化钆( $Gd_2O_3$ )整合, 制得 Gd-DTPA-DG。采用荷瘤裸鼠体内实验模型, 将裸鼠随机分成实验组( $n=10$ )与对照组( $n=10$ ), 前者尾静脉注射 Gd-DTPA-DG, 后者尾静脉注射含相同钆离子( $Gd^{3+}$ )浓度(0.1 mmol/kg)的 Gd-DTPA, 测量 SEWIWI 平扫及引入对比剂 30 s、2 min、5 min、10 min、20 min、30 min、45 min、1 h、2 h 后瘤体信号强度, 并计算对比度信噪比(CNR)。将右侧前肢肌肉组织信号变化作为参照物, 并进行统计分析。结果 Gd-DTPA-DG 比 Gd-DTPA 在肿瘤组织内表现为更强且更持久的强化。注射对比剂 30 s 后, 实验组裸鼠瘤体信号增加与扫描前差异无统计意义( $P=0.171$ ), 在 30 min 左右差异最大( $P<0.001$ ), 且持续时间长。对照组 5 min 前后差异最大( $P<0.001$ ), 但 2 h 时即与注射前差异无统计学意义( $P=0.28$ )。结论 Gd-DTPA-DG 可在肺癌模型活体内起到肿瘤强化作用, 是一种新型顺磁性钆类 MR 对比剂。

**关键词:** Gd-DTPA-DG; 顺磁性对比剂; 葡萄糖代谢; 肿瘤靶向性; 分子影像

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2010.21.008

中图分类号: R981.1; R445.2

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)21-2866-03

## Preparation and animal experimental study in MRI contrast agent Gd-DTPA-DG\*

HUANG Zhan-wen<sup>1</sup>, ZHANG Wei<sup>1</sup>, CHEN Yue<sup>1△</sup>, et al.

(1. Department of Nuclear Medicine, Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Sichuan 646000, China;

2. West China School of Pharmacy, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610041, China)

**Abstract:** **Objective** To synthesize a paramagnetic deoxy-glucose-type MR contrast agent diethylenetriamine pentaacetic acid-gadolinium salt deoxy-glucose (Gd-DTPA-DG) and to study the tumor signal intensity pattern in vivo MR imaging in tumor-bearing nude mice model. **Methods** After successfully synthesized diethylenetriamine pentaacetic acid glucosamine(DTPA-DG),  $Gd_2O_3$  was added to conjugate with it, and Gd-DTPA-DG, an MR contrast agent, was thus prepared. We conducted in vitro studies using nude mice with transplanted human adenocarcinoma of lung as experimental model. The mice were divided into study group ( $n=10$ ) and control group( $n=10$ ). The animals in the experimental group were injected with Gd-DTPA-DG via vena caudalis, whereas the routine Gd-DTPA was used in the control group at the same dosage of gadolinium with the same amount of 0.1 mmol/kg as the experimental group. The tumor signal intensities(SI) on T1W1 was measured at 30 s, 2 min, 5 min, 10 min, 20 min, 30 min, 45 min, 1 h, 2 h respectively after injection of contrast agents with SI of the anterior limb muscles on the same side as control. Then all of the results were statistically analyzed. The CNR (contrast to noise ratio) was calculated as well. **Results** Gd-DTPA-DG compared with Gd-DTPA in tumor tissue showed a stronger and more durable reinforced. Consequently, there was no statistically significant difference on the SI in the experimental group before and after injection of the specific contrast agents at 30 s( $P=0.171$ ). In comparison with the pre-contrast imaging, SI of tumor and muscles in the experimental group increased greatly at 30 min after injection of Gd-DTPA-DG with significant difference( $P<0.001$ ). In control group, there was statistically significant difference on SI before and after injection of Gd-DTPA at 5 min( $P<0.001$ ), and the contrast in the tumors almost entirely washed out at 2 h after injection of Gd-DTPA ( $P=0.28$ ). **Conclusion** Gd-DTPA-DG can produce a greatly signal intensity enhancement of the transplanted human adenocarcinoma of lung in nude mice. It will be a newly type of paramagnetic Gd(III) MR contrast agent.

**Key words:** Gd-DTPA-DG; paramagnetic contrast agent; glucose metabolism; tumor targeting; molecular imaging

肿瘤是导致死亡的主要原因之一, 如何提高肿瘤检查的敏感性及特异性一直是分子影像学发展的重点<sup>[1-2]</sup>。分子影像就是致力于采用非侵袭性手段来鉴别正常细胞与非正常细胞在早期病理结构发生改变之前的特征性生物标志物的变化<sup>[3]</sup>。磁共振靶向对比剂不仅能够提高病变的诊断正确率, 还可以反映病变的某些生物学特征, 评价治疗效果, 临床应用前景广阔, 已成为分子影像学研究的热点。恶性肿瘤组织糖代谢增高, 常过量表达葡萄糖转运蛋白如 GLUT-1、GLUT-3 已经在

PET 上得到证实<sup>[4-5]</sup>。Chen 等<sup>[6]</sup>前期研究发现,  $^{99m}Tc$  标记二乙三胺五乙酸-脱氧葡萄糖(DTPA-DG)能够参与多种肿瘤细胞增殖, 反映细胞核活性, 并可用于早期探测肿瘤病灶及化疗效果评价; 钆离子( $Gd^{3+}$ )具有很强的顺磁作用, 在磁共振对比剂中应用最多, 若能钆离子同 DTPA-DG 螯合, 将会是一种很有发展潜力的脱氧葡萄糖类顺磁性 MR 对比剂<sup>[6]</sup>。本研究拟在合成 DTPA-DG 的基础上, 再与  $Gd_2O_3$  螯合, 制得 Gd-DTPA-DG, 建立荷瘤裸鼠模型对其信号强度及强化方式等特

\* 基金项目: 2009 年国家自然科学基金资助项目(30970858); 2009 年四川省高等学校科技创新重大培育项目(2009-07); 2008 年四川省医学重点学科建设项目(2008-17); 四川省杰出青年学科带头人基金资助项目(2008-46-386)。△ 通讯作者, 电话: (0830)3165720; E-mail: chenye5523@126.com。

征进行深入研究。

## 1 材料与与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 二乙三胺五乙酸(DTPA)**为美国 Sigma Aldrich(上海)公司产品,葡萄糖酸钠由四川成都科龙化工试剂厂生产,磷酸二氢钠和碳酸氢钠由广东汕头西陇化工厂生产,氨基葡萄糖盐酸盐由 EHSY 上海公司生产,乙酸酐由上海圣宇化工有限公司生产,吡啶由恒基化工有限公司生产,氧化钆( $Gd_2O_3$ )由从化市建丰稀土有限公司生产。以上试剂均为分析纯。二乙三胺五乙酸-脱氧葡萄糖(DTPA-DG)由四川大学华西药学院合成并纯化。人肺腺癌 A549 细胞株由四川大学华西医院人类疾病生物治疗教育部重点实验室培养。Gd-DTPA(马根维显)为先灵广州药业有限公司产品,规格 10 mL/5 mmol。Micromass GCT 型高分辨质谱仪为英国 Micromass 公司产品,Brucker AVANCE500 型核磁共振仪为德国 Brucker 公司产品,Intera Achieva 1.5T 超导型磁共振扫描仪为荷兰 Philips 公司产品。

**1.1.2 实验动物**为 3 周龄雄性 BalB/c 裸鼠 20 只,体质量(18±3)g,3 级,由四川大学实验动物中心提供。荷人肺腺癌 A549 裸鼠在四川大学实验动物中心完成。在 BalB/c 裸鼠左大腿皮下接种人肺腺癌 A549 细胞株,细胞用量 0.2 mL,约含瘤细胞  $1 \times 10^7$  个。接种后约 2 周,肿瘤直径长至约 1.0 cm 时用于实验。取 0.2 mL(约  $10^6$ )接种于每只裸鼠右上肢背部皮下,观察裸鼠接种情况,待接种瘤组织直径达到  $10\text{ cm}^3$  大小时开始进行 MR 成像研究。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 Gd-DTPA-DG 的制备

**1.2.1.1 DTPA 双酐的制备** 在 50 mL 烧瓶中,加入 7.8 g DTPA(0.02 mol),7.6 mL 乙酸酐(0.08 mol)和 10 mL(0.12 mmol)吡啶,65℃下反应 24 h。反应完毕将反应液冷却至室温,用布氏漏斗对反应液进行抽滤,用无水乙醚洗涤,真空干燥,得白色固体粉末 6.5 g(回收率为 92%)。

**1.2.1.2 DTPA-DG 的制备** 称取 DTPA 3.57 g(10 mmol)放入 150 mL 反应瓶中,加入 80 mL 干燥 DMSO,80℃下搅拌使 DTPA 双酐全部溶解。再向其中加水 0.18 mL(10 mmol),加完后 80℃搅拌 2 h,将反应液冷却至室温,向其中加入 2-氨基葡萄糖盐酸盐 2.13 g(10 mmol)和三乙胺 1.01 g(10 mmol),室温下反应 24 h。反应完毕后向反应液中加入 80 mL  $CH_2Cl_2$ ,析出白色沉淀,静止后倾去上清液。再向沉淀中加入  $CH_2Cl_2$ (50 mL×3),洗去残留的 DMSO,布氏漏斗抽滤,得到 DTPA-脱氧葡萄糖粗品。通过葡聚糖凝胶 G-15,薄层层析硅胶板为 HSGF254;柱层析硅胶平均粒径 75~150  $\mu\text{m}$  纯化产品得白色固体粉末 2.3 g(回收率为 41%)。高分辨质谱 HRMS(ESI) 计算结果, $C_{20}H_{34}N_4O_{14}$ ;  $[M+Na]^+$ , 577.196 40 检测结果; $m/z$  577.188 3。

**1.2.1.3 Gd-DTPA-DG 的制备** 称取 DTPA-脱氧葡萄糖 0.554 g(1 mmol)和  $Gd_2O_3$  0.363 g(1 mmol)加入 25 mL 烧瓶中,加入 8 mL 水,80℃下反应 6 h。待反应溶液 pH 值接近 7 时,停止反应,先滤去少量未反应的  $Gd_2O_3$ ,再向滤液中加入 25 mL 丙酮,析出白色沉淀。采用布氏漏斗进行抽滤,用丙酮和乙醚依次洗涤产品,真空干燥后得到 0.612 g 产品(回收率为 86%)。高分辨质谱 HRMS(ESI) 计算结果: $C_{20}H_{32}GdN_4O_{14}$ ;  $[M+H]^+$ , 710.115 1。检测结果; $m/z$  710.115 4。

**1.2.2 Gd-DTPA-DG 荷瘤裸鼠 MRI 显像** 将 20 只荷人肺腺癌(A549)裸鼠随机分为实验组和对照组,实验组裸鼠给予

Gd-DTPA-DG(剂量 0.1 mmol/kg,注射剂量均为 0.2 mL),对照组给予等量的 Gd-DTPA。动物麻醉选择氯胺酮及咪达唑仑按 1:1 体积配置成的混合液 0.04 mL 肌肉麻醉,七氟烷吸入性麻醉药辅助麻醉。采用 Philips Intera 1.5T 超导型磁共振扫描仪,头颅线圈。平扫及增强序列选用 SE T1WI 横断位及冠状位扫描,扫描参数如下:重复时间(TR)为 400 ms,TE 为 9 ms,层距为 2 mm(矢状位)、1 mm(冠状位),层厚为 3 mm(矢状位)、2 mm(冠状位),视野为 14 mm×14 mm,矩阵为 256×160。行 T1WI 和 T1WI FS 扫描,FS 扫描采用兴趣区(region of interest ROI)法测量。测量 SE T1WI 平扫及增强后 30 s、2 min、5 min、10 min、15 min、20 min、25 min、30 min、45 min、1 h、2 h 图像内肿瘤的信号强度,观测注射前后 T1WI 上瘤体及各脏器组织间信号改变情况,了解 Gd-DTPA-DG 在体内各脏器组织及瘤体的强化规律。绘制信号强度-时间曲线,并计算肿瘤强化率及对比度信噪比(contrast noise ratio,CNR)。根据以下公式计算 CNR; $CNR = \frac{SIT - SIS}{SDnoise}$ ,SDnoise 表示本底噪音,为本底信号的标准差,SIT 为肿瘤的信号强度平均值,SIS 为肿瘤邻近肌肉组织的信号强度平均值。每个瘤体兴趣区域(ROI)值测定;在每只裸鼠瘤体上选择强化明显且均匀的 ROI,平扫及注射对比剂后每个时间点所选的兴趣区位置及大小尽量保持一致。采用 ROI 选取强化明显且均匀的不同区域,测其均值。

**1.3 统计学方法** 采用 SPSS13.0 统计软件,对实验组和对照组在注射对比剂后各时间点测定点的信号强度值、CNR 值与注射前分别进行统计学分析,计算结果采用方差分析。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 Gd-DTPA-DG 化学纯度及弛豫率测定** 所得化合物 DTPA-DG 及 Gd-DTPA-DG 均为白色固体粉末,化学纯度达 99.9%,室温下放置易潮解。密封放置 1 周以上化学性质均稳定。采用 Micromass GCT 型高分辨质谱仪及 Brucker AVANCE500 型核磁共振仪对其中化合物进行质谱及核磁数据进行分析。Gd-DTPA-DG 化学合成线路图见图 1。

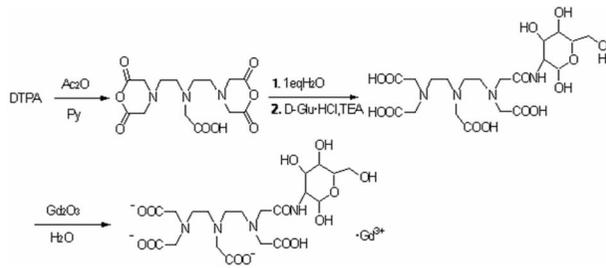


图 1 Gd-DTPA-DG 化学合成线路图

#### 2.2 Gd-DTPA-DG 裸鼠模型显像效果观察

**2.2.1 肿瘤组织强化表现** 实验组和对照组分别注射对比剂 Gd-DTPA-DG 和 Gd-DTPA 后,二者均可见对比强化,见图 2。对照组注射对比剂后立即强化,表现为整个瘤体的均匀强化,随着时间的延长,肿瘤组织信号不断增大,到第 5 分钟时信号达最高值( $CNR = 22.30 \pm 2.84, F = 88.01, P < 0.001$ ),此后信号强度开始下降,至 2 h 时下降为平扫水平( $CNR = 12.46 \pm 1.33, F = 1.36, P = 0.28$ )。实验组刚开始表现为瘤周边缘强化,强化不明显,2 min 时肿瘤组织信号与平扫时仍没有区别( $CNR = 9.04 \pm 2.36, F = 3.97, P = 0.057$ )。随着时间的延长,肿瘤强化逐渐增强且向中心扩展,至 30 min 时中心区域出现明显强化( $CNR = 30.82 \pm 2.24, F = 1084.32, P < 0.001$ ),其后对比剂增强效率逐渐减少,但是至 2 h 时仍有强化表现

(CNR=15.61±2.86,  $F=89.07$ ,  $P<0.001$ )。

**2.2.2 CNR 值及曲线分析** 分别测定实验组和对照组平扫及各延迟点注射对比剂后瘤体图像的信号强度 SIT 及前腿部肌肉信号强度 SIM 值, 计算 CNR 后, 将两样本进行组间及组内比较, 分别采用方差分析, 结果显示见表 1。两组间 CNR 曲线表现不一致, 对照组曲线表现为开始强化率高, 但维持时间短; 实验组刚开始曲线增高不明显, 但是随着时间的延长, 曲线逐渐增高, 至 30 min 左右达高峰, 且强化维持时间明显高于对照组, 见封 2 图 3。

表 1 两组组内及组间平扫及各延迟点注射对比剂后瘤体 SI 和 CNR 值比较 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=10$ )

时间	SI		CNR	
	Gd-DTPA-DG	Gd-DTPA	Gd-DTPA-DG	Gd-DTPA
平扫	836.36±64.94	819.14±101.09	7.57±1.39	9.58±2.17
30 s	1 116.00±99.81	1 167.00±83.39	9.58±2.15	12.46±1.79
2 min	1 130.21±109.88	1 335.42±120.89	9.04±2.36	13.02±1.57
5 min	1 145.5±74.34	1 579.28±132.13	13.67±1.60	22.30±2.84
10 min	1 387.16±84.30	1 411.28±62.33	18.92±1.81	19.96±1.34
20 min	1 654.00±61.93	1 313.00±83.93	25.71±1.33	19.41±0.54
30 min	1 854.14±103.92	1 400.28±94.14	30.82±2.24	21.73±2.41
45 min	1 684.78±80.16	1 214.57±157.89	26.41±1.72	17.63±2.41
1 h	1 430.71±140.50	1 084.42±90.20	21.17±3.02	15.30±1.22
2 h	1 195.57±132.75	923.28±115.20	15.61±2.86	12.46±1.33
<i>F</i>	28 152.89		11 113.67	
<i>P</i>	0.000		0.000	

### 3 讨论

磁共振成像是利用生物体不同组织在外磁场影响下产生不同的共振信号来成像。磁共振成像对比剂可缩短质子的弛豫时间, 间接地改变质子所产生的信号强度, 提高人体正常部位与患病部位的成像对比度, 更好地对器官的病变进行诊断<sup>[7]</sup>。磁共振显像是肿瘤非侵袭性检查重要诊断手段<sup>[8-9]</sup>。作为第 1 代磁共振顺磁性对比剂, Gd-DTPA 有效地提高了 MRI 的诊断水平。但 Gd-DTPA 是小分子离子型造影剂, 体内渗透压较高, 被迅速外渗到细胞外液体间隙, 在体内存留时间也较短, 易经肾脏代谢后迅速排除, 不具有组织或器官的选择性, 这些高浓度的钆类对比剂还不可避免地产生诸如肾系统纤维化 (NSF) 等毒性反应<sup>[10]</sup>。因此, 需要寻找一些靶向特定器官和身体区域或病变组织特异性聚集的对比剂<sup>[11]</sup>。

近年来, 对比剂的研发与应用研究主要是对配体的改进, 而金属离子一般仍选择  $Gd^{3+}$ 。在对对比剂的配体骨架进行化学修饰时, 可引入各类基团, 提高对组织或器官的靶向性。Warburg 首次证明了肿瘤组织中葡萄糖代谢异常增高的事实。恶性肿瘤细胞基于高代谢量及无限增殖的特征, 比正常细胞的葡萄糖需求量增多, 这可能与肿瘤细胞膜上过量表达的葡萄糖转运蛋白有关, 特别是 Glut 1~4。其中 Glut 1 亚型几乎存在于所有肿瘤细胞系中, 且与肿瘤关系最为密切。Yang 等<sup>[12]</sup>首先提出用乙烯双半胱氨酸 (ethylenedi-cysteine, EC) 作为螯合剂用于  $^{99m}Tc$  标记葡萄糖, 即通过 EC 在  $^{99m}Tc$  和脱氧葡萄糖 (deoxyglucose, DG) 之间架桥, 在 EC 的两端分别连上  $^{99m}Tc$  和 DG, 得到了  $^{99m}Tc$  标记的 EC-DG, 这样就对葡萄糖进行了间接的  $^{99m}Tc$  标记。同时, 他们还对比 EC-DG 在细胞内的代谢途径进行了研究, 发现其与  $^{18}F$ -FDG 一样可以被细胞膜上的葡萄糖

转运体转运入细胞内, 并最终参与了细胞内的 DNA 合成过程。陈跃等<sup>[13-15]</sup>把 DTPA 上的 -COOH 同脱氧葡萄糖的氨基相连合成了 DTPA-DG。研究发现,  $^{99m}Tc$ -DTPA-DG 能够参与多种肿瘤细胞增殖, 反映细胞核活性, 并可用于早期探测肿瘤病灶及化疗效果评价。

用于 SPECT 或 PET 的放射性探针同样可以与  $Gd^{3+}$  螯合用于 MRI 显像。在用放射性  $^{99m}Tc$  研究 DTPA-DG 的基础上, 作者把  $Gd_2O_3$  同 DTPA-DG 螯合成 Gd-DTPA-DG, 合成 Gd-DTPA-DG, 一方面保留 DTPA-DG 的特性, 一方面通过螯合  $Gd^{3+}$  增强其顺磁性, 进而应用于 MR 显像中。把已在核素代谢显像中取得的优点引入核磁显像当中, 如果成功就可实现同一功能基团在两种影像模式上的对比观察显像。通过本次实验, 作者发现荷瘤裸鼠模型注射 Gd-DTPA-DG 后显像明显得到强化, 它比常规显像剂 (Gd-DTPA) 在瘤组织中滞留的时间更长, 有可能提供更多的肿瘤生物信息, 进而有助于早期发现肿瘤, 鉴别肿瘤良、恶性和评估肿瘤的治疗效果; Gd-DTPA-DG 与 DTPA-DG 结构相似, 有可能与 DTPA-DG 一样能够参与多种肿瘤细胞糖酵解反应, 反映肿瘤细胞增殖信息, 成为一种新型的 MR 分子影像对比剂。

### 参考文献:

- [1] Kennedy DC, Duguay DR, Tay LL, et al. SERS detection and boron delivery to cancer cells using carborane labelled nanoparticles[J]. Chem Commun (Camb), 2009, 28(44): 6750.
- [2] Wadas TJ, Deng H, Sprague JE, et al. Targeting the  $\alpha$ -v $\beta$ 3 integrin for small-animal PET/CT of osteolytic bone metastases[J]. J Nucl Med, 2009, 50(11): 1873.
- [3] Medarova Z, Rashkovetsky L, Pantazopoulos P. Multiparametric monitoring of tumor response to chemotherapy by noninvasive imaging[J]. Cancer Res, 2009, 69: 1182.
- [4] Trayner BJ, Grant TN, West FG, et al. Synthesis and characterization of 6-deoxy-6-fluoro-D-fructose as a potential compound for imaging breast cancer with PET [J]. Bioorg Med Chem, 2009, 17(15): 5488.
- [5] Marom EM, Aloia TA, Moore MB, et al. Correlation of FDG-PET imaging with Glut-1 and Glut-3 expression in early-stage non-small cell lung cancer [J]. Lung Cancer, 2001, 33(2-3): 99.
- [6] Chen Y, Huang ZW, He L, et al. Synthesis and evaluation of a technetium- $^{99m}$  labeled diethylenetriaminepentaacetate-deoxyglucose complex ( $^{99m}Tc$ )[-DTPA-DG] as a potential imaging modality for tumors [J]. Appl Radiat Isot, 2006, 64(3): 342.
- [7] Schmidt GP, Reiser MF, Baur-Melnyk A. Whole-body MRI for the staging and follow-up of patients with metastasis [J]. Eur J Radiol, 2009, 70(3): 393.
- [8] Tyszka JM, Fraser SE, Jacobs RE. Magnetic resonance microscopy: recent advances and applications [J]. Curr Opin Biotechnol, 2005, 16: 93.
- [9] Medarova Z, Rashkovetsky L, Pantazopoulos P. Multiparametric monitoring of tumor response to chemotherapy by noninvasive imaging [J]. Cancer Res, 2009, 69: 1182.
- [10] 赵景宏, 黄岚. 造影剂肾病及预防措施的研究进展 [J]. 重庆医学, 2007, 36(1): 87.

全可靠<sup>[5-20]</sup>。

研究小鼠接种 rHBs 疫苗产生细胞免疫反应,其意义在于:理论上,无论是人,还是小鼠,接种 rHBs 疫苗产生的免疫反应均受 MHC-I 限制,识别的 rHBs 疫苗的免疫表位点相似。HBV 慢性肝炎 T 淋巴细胞致病机制的小鼠模型,国外已构建成功,不论是感染表达 HBV 表面抗原的重组病毒的小鼠,还是感染 HBV 的人,均产生特异性、MHC-I 限制性细胞毒 T 淋巴细胞反应及辅助 T 淋巴细胞(helper T lymphocyte, HTL)介导的淋巴细胞增殖反应。对接种 rHBs 疫苗产生细胞免疫反应的研究,可能开发出针对 CTL、HTL 缺乏的免疫治疗方案,降低体内 HBV 含量,甚至清除 HBV,降低 HBV 慢性并发症(肝硬化、肝癌)的发生,研究治疗 HBV 感染的疫苗。

#### 参考文献:

[1] 陈小华,潘庆春. PTD-HBcAg 融合蛋白经树突状细胞诱导特异性 CTL 抑制 HBV 的体外研究[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2009,25(4):289.

[2] Vassilopoulos D, Rapti I, Nikolaou M, et al. Cellular immune responses in hepatitis B virus e antigen negative chronic hepatitis B[J]. J Viral Hepat,2008,15(11):817.

[3] Schumann A, Fiedler M, Dahmen U, et al. Cellular and humoral immune response to a third generation hepatitis B vaccine[J]. J Viral Hepat,2007,14(8):592.

[4] Desombere I, Willems A, Gijbels Y, et al. Partial delipidation improves the T-cell antigenicity of hepatitis B virus surface antigen[J]. J Virol,2006,80(7):3506.

[5] Barry M, Cooper C. Review of hepatitis B surface antigen-1018 ISS adjuvant-containing vaccine safety and efficacy [J]. Expert Opin Biol Ther,2007,7(11):1731.

[6] Cooper CL, Angel JB, Seguin I, et al. CPG 7909 adjuvant plus hepatitis B virus vaccination in HIV-infected adults achieves long-term seroprotection for up to 5 years[J]. Clin Infect Dis,2008,46(8):1310.

[7] Borges O, Silva M, de Sousa A, et al. Alginate coated chitosan nanoparticles are an effective subcutaneous adjuvant for hepatitis B surface antigen[J]. Int Immunopharmacol, 2008,8(13-14):1773.

[8] Liu X, Xu Q, Chen W, et al. Hepatitis B virus DNA-induced carcinogenesis of human normal liver cells by virtue of nonmethylated CpG DNA[J]. Oncol Rep,2009,21(4):941.

[9] Xie Q, Shen HC, Jia NN, et al. Patients with chronic hepatitis B infection display deficiency of plasmacytoid dendritic cells with reduced expression of TLR9 [J]. Microbes Infect,2009,11(4):515.

[10] Vincent IE, Lucifora J, Durantel D, et al. Inhibitory effect of the combination of CpG-induced cytokines with lamivudine against hepatitis B virus replication in vitro [J]. Antivir Ther,2009,14(1):131.

[11] Xu Y, Hu Y, Shi B, et al. HBsAg inhibits TLR9-mediated activation and IFN-alpha production in plasmacytoid dendritic cells [J]. Mol Immunol,2009,46(13):2640.

[12] Ko E, Kim SJ, Joh JW, et al. CpG island hypermethylation of SOCS-1 gene is inversely associated with HBV infection in hepatocellular carcinoma [J]. Cancer Lett, 2008, 271(2):240.

[13] Shi L, Liu SR, Yi XR, et al. Cytotoxic T lymphocyte response to hepatitis B virus small surface antigen in BALB/c mice [J]. J First Mil Med Univ, 2003, 23(12): 1242.

[14] 丛中一,包木胜,万敏,等. 新型 CpG-ODN 增强乙型肝炎疫苗诱导 IgG<sub>2</sub>a 类抗体产生的实验研究 [J]. 中国免疫学杂志,2006,22(11):987.

[15] 杨光,杨亮. 新型 CpG-ODN 对乙型肝炎病毒复制的抑制作用 [J]. 中国免疫学杂志,2009,25(6):487.

[16] 韩堃,郑源强,韩新荣,等. 两种 CpG 寡核苷酸对乙型肝炎疫苗免疫小鼠淋巴细胞增殖的影响 [J]. 中国生物制品学杂志,2008,21(11):948.

[17] Dittmer U, Olbrich AR. Treatment of infectious diseases with immunostimulatory ligodeoxynucleotides containing CpG motifs [J]. Curr Opin Microbiol,2003,6(5):472.

[18] An H, Xu H, Yu Y, et al. Up-regulation of TLR9 gene expression by LPS in mouse macrophages via activation of NF-kappaB, ERK and p38 MAPK signal pathways [J]. Immunol Lett,2002,81(3):165.

[19] Takeshita F, Gursel I, Ishii KJ, et al. Signal transduction pathways mediated by the interaction of CpG-DNA with Toll-like receptor 9 [J]. Semin Immunol,2004,16(1):17.

[20] 张林波,陈清彬,刘香英,等. CpG-ODN 对卡介苗免疫效应的影响 [J]. 中国生物制品学杂志,2009,22(7):686.

(收稿日期:2010-01-31 修回日期:2010-04-01)

(上接第 2868 页)

[11] Glunde K, Bhujwala ZM. Will magnetic resonance imaging (MRI)-based contrast agents for molecular receptor imaging make their way into the clinic [J]. J Cell Mol Med,2008,12:187.

[12] Yang DJ, Kim CG, Schechter NR, et al. Imaging with <sup>99m</sup>Tc EC-DG targeted at the multifunctional glucose transport system: feasibility study with rodents [J]. Radiology,2003,226(2):465.

[13] Chen Y, Xiong Q, Yang X, et al. Noninvasive Scintigraph-

ic Detection of Tumor with <sup>99m</sup>Tc-DTPA-Deoxyglucose: An Experimental Study [J]. Cancer Biother Radiopharm, 2007,22(3):403.

[14] Liang J, Chen Y, Huang Z, et al. Early Chemotherapy Response Evaluation in Tumors by <sup>99m</sup>Tc-DTPA-DG [J]. Cancer Biother Radiopharm,2008,23(3):363.

[15] 陈跃,黄占文,何菱,等. <sup>99m</sup>Tc-DTPA-DG 的制备及其荷瘤裸鼠实验研究 [J]. 中华核医学杂志,2005,25(3):176.

(收稿日期:2010-03-18 修回日期:2010-06-09)