

· 综 述 ·

## 肝癌磁共振分子影像诊断的研究进展\*

顾 燕 综述, 曾 燕<sup>△</sup> 审校

(重庆医科大学附属第二医院放射科 400010)

关键词: 肝肿瘤; 磁共振成像; 分子探针

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.13.046

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2014)13-1649-03

原发性肝癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是消化系统常见的恶性肿瘤之一, 占恶性肿瘤病死率第 3 位, 发病隐匿、侵袭性强、恶性度高, 近 70% 肝癌患者确诊时已属中晚期, 因此, 早期诊断与治疗是提高治愈率及改善生存质量的关键。临床上肝癌的诊断主要依赖血清学和常规影像学检查, 对于中晚期典型的肝癌两者灵敏性和特异性均较高, 但是对于早期不典型肝癌的诊断具有一定的难度。目前, 最新的分子影像技术 (特别是磁共振分子影像) 在肝癌的早期诊断方面显示出潜在的研究价值和临床应用前景, 本文将对肝癌的磁共振分子影像诊断做一综述。

## 1 分子影像学

1999 年美国 Harvard 大学 Weissleder 等提出了分子影像学 (molecular imaging, MI) 的概念: 即在活体状态下, 从分子和细胞水平对生物体的病理生理变化进行定性和定量的检测。MI 技术有 4 个重要因素<sup>[1]</sup>: (1) 有效的高亲和性的分子探针 (molecular probe, MP); (2) MP 克服生物屏障 (血管壁、细胞膜) 的能力; (3) 化学剂生物放大机制; (4) 敏感的、快速的、高分辨率成像技术。

分子影像的关键在于 MP 的构建, MP 是指以特定方法 (共价或非共价键化学连接) 将亲和和组件 (能靶特异性结合的物质) 与信号组件 (能产生影像学信号的物质) 相结合而构成的一种复合物。

分子探针根据靶向的机制不同分为主动靶向和被动靶向。主动靶向是指 MP 通过亲和和组件介导位置特异性聚集; 被动靶向, 是指探针在体内的自然分布, 常见的被动靶向的机制是体内的内皮吞噬系统将探针吞噬, 进行被动显像。另外, 肿瘤的增强通透性和保留 (enhanced permeation and retention, EPR) 效应亦是肿瘤被动靶向分子成像的主要机制, 因为癌细胞比正常细胞分泌更多的血管通透因子, 造成肿瘤组织周围的血管通透性比正常细胞周围的血管通透性高, 加上癌组织的淋巴系统被破坏, 造成高分子化合物停留在肿瘤组织时间较长的显像, 成为大分子粒径, 尤其是纳米颗粒标记的探针被动聚集在肿瘤部分<sup>[2]</sup>。EPR 被动靶向的主要缺点为非癌组织的炎症区域亦可同样观察到高分子物质的聚集从而不能特异性的实现肿瘤的靶向<sup>[3]</sup>。因此, 在 EPR 效应的基础上实现主动靶向, 在肿瘤的特异性诊断中更具有价值。

借助 MP 的信号组件, 在核素显像、磁共振成像、光学成像、声学成像等设备下显像。不同的显像模式各具优缺点, 核素显像灵敏性、特异性高, 但空间分辨率低, 有辐射损害; 光学显像高敏感性、实时监测、无创性, 但穿透力弱, 不能检测深部

病变; 超声显像分辨率高、操作简单、使用灵活, 但主观依赖性强; 磁共振显像分辨率高、多序列成像、无辐射等特点, 已被临床用于检测肿瘤组织内代谢的变化等。随磁共振成像设备、技术迅速发展, 磁共振分子显像有望成为继放射性核素分子成像之后最先进入临床应用的分子成像技术。

## 2 肝癌磁共振分子影像诊断

肝癌磁共振分子影像诊断的关键在于肝癌特异性的 MP 的构建, 包括靶向肝癌的分子靶点、信号组件及连接的载体等。各种不同的成像方式各具优缺点, 而将多种成像方式融合在一起的多模态分子影像呈现出一种良好的发展前景, 体现了今后分子影像的一种发展趋势。

2.1 肝癌磁共振分子影像探针的常见分子靶点 肝癌组织由实质和间质构成。MP 可以靶向正常肝实质、肝癌实质或间质组织。肿瘤细胞表面的特异性受体如甲胎蛋白 (AFP)、磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3 (GPC3) 可作为靶标特异性聚集 MP。肿瘤体积生长至 2~3 mm<sup>3</sup> 时, 肿瘤的生长因需依赖丰富的供血和其他营养物质, 伴随大量的新生血管生成, 可选择与肿瘤血管生成密切的高度表达受体而正常实质不表达的整合素  $\alpha\beta 3$ 、血管内皮生长因子受体 (VEGFR)、血管细胞黏附因子 (VCAM-1) 等分子作为靶标。

正常肝实质因其表面特异性表达唾液酸糖蛋白, 可特异性摄取阿拉伯半乳糖, 而肿瘤组织不表达唾液酸糖蛋白。Jia 等<sup>[4]</sup> 制备偶联阿拉伯半乳糖的磁共振纳米颗粒的 MP, 能明显降低正常肝实质的信号, 而肿瘤组织的信号呈相对高信号, 有利于发现小肝癌。靶向正常组织不足之处在于对发现的病灶不能进一步进行准确的定性。

肝癌细胞膜特异性表达的受体, 是 MP 构建常选择的一类受体。AFP 是肝细胞膜上特异性表达的糖蛋白, Huang 等<sup>[5]</sup> 构建了一种修饰 AFP 单抗的氧化铁纳米颗粒的 MP, 用于模型动物的肝癌特异性显像。GPC3 是一种肝癌特异性表达的膜性硫酸乙酰肝素糖蛋白, Hsu 等<sup>[6]</sup> 研究发现肝癌肿块小于 3 cm 时, GPC3 mRNA 的表达率显著高于血清中 AFP (43%,  $P < 0.01$ ) 和肝癌组织中 AFP mRNA (41%,  $P < 0.01$ ) 的表达率, GPC3 在肝癌表达特异、表达率高、敏感, 是肝细胞癌早期的敏感标志物。Nguyen 等<sup>[7]</sup> 研究表明当肝癌组织的直径大于 3 cm 和小于 3 cm 时, AFP 的特异性由 52% 下降至 25%。Li 等<sup>[8]</sup> 制备了一种靶向肝癌 GPC3 分子的磁共振纳米粒, 并实现了体外肝癌 HepG2 细胞特异性的磁共振显像。

$\alpha\beta 3$  在肝癌肿瘤组织血管内皮高度特异性表达, 而正常组织中不表达, 近年来  $\alpha\beta 3$  的特异性配体 RGD 肽被广泛用于

\* 基金项目: 重庆市卫生局医学科研计划重点基金资助项目 (2011-1-052)。 作者简介: 顾燕 (1988-), 在读硕士, 主要从事影像医学与核医学研究。 <sup>△</sup> 通讯作者, Tel: 13452122792; E-mail: 1294583212@qq.com。

MP 的构建来进行肝癌早期诊断<sup>[9]</sup>。Willmann 等<sup>[10]</sup>报道其制备的靶向肿瘤血管超声造影剂在体外可与高表达 VEGFR2 的小鼠血管肉瘤细胞特异性结合,在体内能够特异性增强小鼠移植瘤组织。

**2.2 肝癌磁共振分子影像探针的信号组件** 磁共振造影剂分为顺磁性、超顺磁性两类,又称 T1 和 T2 弛豫造影剂。

T1 弛豫造影剂是一种阳性造影剂,临床上应用广泛的是二乙三胺五醋酸钆(Gd-DTPA),但 Gd-DTPA 是一种结构非常稳定的化合物,难以与生物大分子螯合,不能作为靶向显像的载体<sup>[11]</sup>。可通过化学结合的方法将 Gd 离子通过螯合物结合在大分子物质上而实现显像。Rosenthal 等<sup>[12]</sup>研究将 Gd-DTPA 连接在抗体上靶向肿瘤,但由于抗体上承载的 Gd 离子过多而导致抗体的免疫原性锐减,不能高效的实现抗原抗体的特异性结合。Ao 等<sup>[13]</sup>研究构建了包裹 Gd-DTPA 的 PLGA 造影剂,观察到模型兔肝的增强。Ratzinger<sup>[14]</sup>等制备了一种 PLGA 表面修饰 Gd-DOTA 和 Gd-DTPA 的造影剂,弛豫率分别达到 17.5 mM-1. s-1 和 12.9 mM-1. s-1,为体内 T1 增强分子成像奠定了基础。

T2 弛豫造影剂,纳米超顺磁性氧化铁(SPIO),是由网状内皮系统清除的造影剂,SPIO 磁化速度比顺磁性物质快,具有良好的可修饰性,经过表面连接抗体、肽、蛋白质、小分子等特异性靶向靶标,目前,以 SPIO 纳米颗粒为信号组件兼载体的分子探针构建的研究应用广泛。Li 等<sup>[15]</sup>制备了一种 RGD 肽修饰 SPIO 的纳米颗粒,有望成为检测肿瘤内血管生成的分子探针。SPIO 本质上是负性造影剂,易与肝硬化背景基础上的其他原因如出血、钙化、金属沉积等产生的低信号混淆。同时,高磁敏感性的超顺磁性造影剂对邻近正常肝实质的信号会产生干扰,导致图像模糊或病灶周围背景的破坏,这种局部失真称为磁敏感伪影或模糊效应,往往成为准确诊断病变状态的主要障碍<sup>[16]</sup>。

无论 T1 或 T2 造影剂,往往单独增强其正性或负性效应,Yang 等<sup>[17]</sup>研究构建了一种携 RGD 肽的磁共振 T1/T2 同时显像的纳米颗粒,并实现了高表达  $\alpha v\beta 3$  的肿瘤细胞的体内外 T1 和 T2 显像,同时实现 T1/T2 加权的显像可为肿瘤的诊断提供更为丰富的诊断信息。

**2.3 肝癌磁共振 MP 的常见载体** MP 的载体的大小、电位等可影响其在体内的生物分布及清除过程。肿瘤组织生长过程中形成大量结构不完善的新生血管,内皮间隙约为 380~780 nm,而正常的血管内皮间隙仅 7 nm 左右。载体要靶向细胞膜,就需穿过肿瘤血管内皮间隙到达血管外。除粒径外,纳米颗粒本身的化学特性也会影响其“隐蔽性”,有研究表明纳米颗粒表面带有正电荷易引起与细胞的非特异性结合,带有负电荷易与血浆蛋白吸附而导致更快的被网状内皮系统摄取<sup>[18]</sup>。纳米颗粒载体的类型主要由以下几类。

脂质体表面可连接亲和组件及信号组件等进行进一步修饰。Wang 等<sup>[19]</sup>通过研究成功制备了一种 CD44 抗体靶向肝癌的脂质体颗粒,并见肝癌肿瘤处特异性荧光显像。

高分子聚合物中的聚乙酸羟基酸共聚物(PLGA)的应用广泛,是一个无毒、生物相容好、可生物降解的载体。PLGA 可被不同的基团进行修饰,连接各种配体对靶标进行特异性的靶向,还可连接信号组件进行显像。Bicho 等<sup>[20]</sup>制备了一种 CD8 抗体修饰的 PLGA 纳米颗粒,实现了肿瘤的靶向治疗。

树状聚合物由高分子物质如聚酰胺、聚酯、聚醚、聚多肽等构建而成,树状物由一个引发核及径向连接的重复支化单

元组成,分支单元上具有丰富的基团,可以修饰性连接信号组件或亲和组件。Geraldo 等<sup>[21]</sup>制备了一种以 PAMAM 为载体叶酸修饰的 MP,有望实现肿瘤的靶向成像。

磁共振纳米颗粒是一种很具有前途的 MP 载体,其核心常为氧化铁的等超顺磁性物质,外周包被右旋糖苷等亲水性物质。Hsieh<sup>[22]</sup>等通过在氧化铁纳米颗粒表面修饰 VEGF 抗体实现结肠癌模型体内肿瘤显像。

**2.4 肝癌的多模态分子影像诊断** 多模态成像是指联合核素显像、磁共振成像、光学成像、超声成像等多种分子影像技术,相互取长补短的一种显像模式。多模态融合包括软件融合和硬件的融合,软件的融合是采用不同模式的系统分别采集图像,然后对图像进行后处理进行数据融合,硬件的融合是指在同一台机器上同时或间隔很短时间获取功能或解剖的图像。临床上应用的 SPECT/CT 和 PET/CT 均属多模态成像,而 PET/MRI 亦在研究当中。针对多模态成像,多模态分子成像探针的构建是关键,即在同一探针上连接多个模式的显像组件,实现不同显像模式包括核医学、磁共振、光学、超声等模式下的多重显像。

Lee 等<sup>[23]</sup>研究构建了一种靶向正常肝实质唾液酸糖蛋白的放射性核素和磁共振 T2 显像双模式的纳米颗粒,实现了正常肝实质的放射性核素和磁共振的双重显像。James 等<sup>[24]</sup>研究构建一种携 GPC3 抗体的荧光、磁共振双模态的纳米颗粒,实现了 HepG2 细胞的体外近红外荧光显像和磁共振双模态显像。

### 3 展 望

总之,磁共振分子影像技术包括多模态显像在肝癌的早期诊断展示了良好的前景,但人体是一个复杂的系统,MP 在体内的循环及代谢的机制仍需要不懈的研究与探索,目前仍多局限在动物试验阶段。随着蛋白质组学及基因组学等多学科快速发展,肝癌的特异性标志物在不断的探索与发现中,为肝癌诊断的靶标选择提供了更多的选择。分子影像为肝癌的早期诊断带来了巨大的机遇与挑战,磁共振 MI 无疑会在肝癌的早期诊断做出巨大贡献。

### 参考文献:

- [1] Weissleder R, Mahmood U. Molecular imaging[J]. Radiology, 2001, 219(2): 316-333.
- [2] Brannon-Peppas L, Blanchette JO. Nanoparticle and targeted systems for cancer therapy[J]. Adv Drug Delivery Reviews, 2004, 56(11): 1649-590.
- [3] Garnett MC, Kallinteri P. Nanomedicines and nanotoxicology: some physiological principles[J]. Occupational Medicine, 2006, 56(5): 307-311.
- [4] Jia FG, Zhang XD, Xu YK, et al. Synthesis of Gal-BSA-SPIO and magnetic resonance imaging of ASG receptors in rabbits bearing liver VX2 tumor and human liver[J]. Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao, 2009, 29(2): 191-194.
- [5] Huang KW, Chieh JJ, Horng HE, et al. Characteristics of magnetic labeling on liver tumors with anti-alpha-fetoprotein-mediated Fe3O4 magnetic nanoparticles [J]. Int J Nanomedicine, 2012, 7: 2987-2996.
- [6] Hsu HC, Cheng W, Lai PL. Cloning and expression of a developmentally regulated transcript MXR7 in hepatocellular carcinoma: biological significance and tempo-

- spatial distribution[J]. *Cancer Res*, 1997, 57(22): 5179-5184.
- [7] Nguyen MH, Garcia RT, Simpson PW, et al. Racial differences in effectiveness of alpha-fetoprotein for diagnosis of hepatocellular carcinoma in hepatitis C virus cirrhosis[J]. *Hepatology*, 2002, 36(2): 410-417.
- [8] Li Y, Chen Z, Li F, Wang J, et al. Preparation and in vitro studies of MRI-specific superparamagnetic iron oxide anti-GPC3 probe for hepatocellular carcinoma [J]. *Int J Nanomedicine*, 2012, 7: 4593-4611.
- [9] Huo T, Du X, Zhang S. Gd-EDDA/HYNIC-RGD as an MR molecular probe imaging integrin  $\alpha\beta 3$  receptor-expressed tumor-MR molecular imaging of angiogenesis[J]. *Eur J Radiol*, 2010, 73(2): 420-427.
- [10] Willmann JK, Lutz AM, Paulmurugan R, et al. Dual targeted contrast agent for US assessment of tumor angiogenesis in vivo[J]. *Radiology*, 2008, 248(3): 936-944.
- [11] Matsuo M, Kanematsu M, Itoh k, et al. Detection of malignant hepatic tumors: comparison of gadolinium-and ferumoxide-enhanced MR imaging[J]. *AJR Am J Roentgen*, 2001, 177(3): 637-643.
- [12] Rosenthal SG, Willich HC, Ebert W, et al. The demonstration of human tumors on nude mice using gadolinium-labeled monoclonal antibodies for magnetic resonance imaging[J]. *Invest Radiol*, 1993, 28(9): 789-793.
- [13] Ao M, Wang Z, Ran H, et al. Gd-DTPA-loaded PLGA microbubbles as both ultrasound contrast agent and MRI contrast agent - a feasibility research[J]. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2010, 93(2): 551-556.
- [14] Gerda Ratzinger, Prashant Agrawal, Wilfried Körner, et al. Surface modification of PLGA nanospheres with Gd-DTPA and Gd-DOTA for high-relaxivity MRI contrast agents[J]. *Biomaterials*, 2010, 31(33): 8716-8723.
- [15] Li J, Zhang C, Yang K, et al. SPIO-RGD nanoparticles as a molecular targeting probe for imaging tumor angiogenesis using synchrotron radiation[J]. *J Synchrotron Radiat*, 2011, 18: 612-616.
- [16] Bulte JW, Krakchman DL. Iron oxide MR contrast agents for molecular and cellular imaging [J]. *NMR Biomed*, 2004, 17(7): 484-499.
- [17] Yang H, Zhuang Y, Sun Y, et al. Targeted dual-contrast T1- and T2-weighted magnetic resonance imaging of tumors using multifunctional gadolinium-labeled superparamagnetic iron oxide nanoparticles [J]. *Biomaterials*, 2011, 32(2): 4584-4593.
- [18] Berry CC. Progress in functionalization of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine[J]. *J Phys D Appl Phys*, 2009, 42: 224-231.
- [19] Lina Wang, Weijun Su, Ze Liu, et al. CD44 antibody-targeted liposomal nanoparticles for molecular imaging and therapy of hepatocellular carcinoma [J]. *Biomaterials*, 2012, 33(20): 5107-5114.
- [20] Bicho A, Peça IN, Roque AC, et al. Anti-CD8 conjugated nanoparticles to target mammalian cells expressing CD8 [J]. *Int J Pharm*, 2010, 399(1): 80-86.
- [21] Geraldo DA, Duran-Lara EF, Aguayo D, et al. Supramolecular complexes of quantum dots and a polyamidoamine (PAMAM)-folate derivative for molecular imaging of cancer cells[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2011, 400(2): 483-492.
- [22] Hsieh WJ, Liang CJ, Chieh JJ, et al. In vivo tumor targeting and imaging with anti-vascular endothelial growth factor antibody-conjugated dextran-coated iron oxide nanoparticles[J]. *Int J Nanomedicine*, 2012, 7: 2833-2842.
- [23] Lee CM, Jeong HJ, Kim EM, et al. Superparamagnetic iron oxide nanoparticles as a dual imaging probe for targeting hepatocytes in vivo[J]. *Magn Reson Med*, 2009, 62(6): 1440-1446.
- [24] Park JO, Stephen Z, Sun C, et al. Glypican-3 Targeting of liver cancer cells using multifunctional nanoparticles[J]. *Mol Imaging*, 2011, 10(1): 69-77.

(收稿日期: 2013-10-15 修回日期: 2014-01-28)

## · 综 述 ·

# 适配体在体外细胞检测中的应用\*

唐德平<sup>1</sup>, 张宇洁<sup>1</sup>综述, 毛爱红<sup>2△</sup>审校

(1. 兰州交通大学化学与生物工程学院, 兰州 730070; 2. 甘肃省医学科学研究院, 兰州 730050)

**关键词:** 适配体; 细胞检测; 流式细胞术; 微流体; 纳米粒子

doi: 10. 3969/j. issn. 1671-8348. 2014. 13. 047

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2014)13-1651-04

抗体广泛用于细胞检测, 其检测历史悠久, 技术成熟, 但抗体具有体内筛选周期长, 成本高; 对温度敏感, 易永久性变性, 对检测环境要求高等缺点, 限制了抗体的应用范围。适配体能

与靶分子专一并紧密结合, 是一种有前景的分子识别配基<sup>[1]</sup>。适配体作为分子识别配基, 与抗体相比具有独特的优势: 首先, 适配体通过体外筛选, 适用于非生理条件和(或)极端条件, 筛

\* 基金项目: 甘肃省中青年基金资助项目(1107RJYA033); 兰州交通大学青年基金资助项目(2013012)。 作者简介: 唐德平(1978-), 讲师, 硕士, 主要从事生物药物研究。 △ 通讯作者, E-mail: maoaih@aliyun.com。