

^{68}Ga 枸橼酸制备及炎症显像

王 玲 蔡 炯 朱朝晖 李 方

摘 要 目的 ^{67}Ga 枸橼酸被应用于感染和炎症的定位闪烁显像, 但因其核素半衰期长, 临床上应用逐渐减少, 而 ^{68}Ga 枸橼酸具有理想的半衰期。本研究将枸橼酸标记 ^{68}Ga , 探讨 ^{68}Ga 枸橼酸 PET 显像对细菌性感染检测的可行性。方法 直接将枸橼酸钠和 ^{68}Ga 混合, 室温放置 15min 完成标记。将标记产物用生理盐水稀释, 用薄层层析分析标记产物的放射性化学纯度。用 PET 观察 ^{68}Ga 枸橼酸在正常小鼠体内的生物分布变化。用金黄色葡萄球菌感染小鼠左腿腓肠肌, 4 天后尾静脉注射 ^{68}Ga 枸橼酸, 注射后不同时间显像观察 ^{68}Ga 枸橼酸在炎症模型小鼠体内的生物分布变化。结果 ^{68}Ga 枸橼酸的标记在 15min 内完成, 标记率达到 96% 以上, 不需要进一步纯化即可应用于 PET 显像。正常动物的 PET 显像表明, ^{68}Ga 枸橼酸主要分布于心脏, 通过膀胱排泄。炎症模型小鼠的研究表明, 随时间延长, ^{68}Ga 枸橼酸的放射性在细菌感染处摄取逐渐增高。结论 用一种简单方法制备成 ^{68}Ga 枸橼酸, 初步研究表明 ^{68}Ga 枸橼酸能够对小鼠金黄色葡萄球菌感染引起的炎症显像。

关键词 枸橼酸 ^{68}Ga PET 显像 感染 炎症

[中图分类号] R445.6 [文献标识码] A

^{68}Ga Citrate Preparation and Inflammation Imaging. Wang Ling, Cai Jiong, Zhu Zhaohui, Li Fang. Department of Nuclear Medicine, PUMC Hospital, PUMC & CAMS, Beijing 100730, China

Abstract Objective Although ^{67}Ga -citrate has been successfully used in scintigraphic imaging for locating infection and inflammation, the long physical half-life of ^{67}Ga limited the wide-spread application of this agent. In contrast, ^{68}Ga citrate has ideal physical half-life. Here we prepare ^{68}Ga citrate, and explore the possibility of detecting bacteria infection and inflammation with ^{68}Ga citrate. **Methods** Sodium citrate (0.1mol/L, 0.2ml) was added into newly eluted ^{68}Ga (370MBq, 0.6ml) with 0.05mol/L HCl from $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ and incubated at room temperature for 15min. The labeled product was diluted with saline and loaded on ITLC-SG strips to determine the radiochemical purity. An infection was induced in female ICR mice by injecting Staph A in the right thigh muscle. ^{68}Ga -Citrate (3.7 MBq/mouse) was injected intravenously and the PET images were acquired in normal mice and inflammation model mice at different time-points. **Results** ^{68}Ga -citrate was labeled with >96% yield and purity within 15min and can be used for PET imaging without further purification. In normal mice, ^{68}Ga -citrate visualized heart and excreted through bladder. ^{68}Ga -citrate uptake was increasingly higher at the infection lesion from 20min to 120min post injection. **Conclusion** ^{68}Ga -citrate was prepared in a simplified method. The preliminary data showed that ^{68}Ga -citrate was capable of detecting inflammation caused by Staph A infection in mice.

Key words Citrate; ^{68}Ga ; PET; Imaging; Infection; Inflammation

定位急性、亚急性和慢性感染与炎症对患者的治疗非常必要, 而核素显像是重要的炎症定位方法^[1]。 ^{67}Ga [镓]枸橼酸可以应用于感染和炎症的显像, 但由于 ^{67}Ga 枸橼酸半衰期长 (78h), 造成注射剂量不能太高; 同时, ^{67}Ga 的 γ 射线谱较宽, 为 (92 ~ 300) KeV, 降低了显像质量和分辨率, 增加了患者和工作人员的照射。相比之下, ^{68}Ga 是正电子核素, 可用于正电子发射断层显像 (positron emission tomography, PET), 从而获得较高分辨率的图像; ^{68}Ga 的半衰期 (68min) 比 ^{67}Ga 短, 可以给患者注射较高的剂量。 ^{68}Ga

枸橼酸最近成功应用于骨髓炎、椎间盘炎、腹腔内感染的诊断^[2-4]。文献^[2,5]报道的 ^{68}Ga 枸橼酸的制备比较复杂。本研究通过简单的方法制备 ^{68}Ga 枸橼酸, 并应用于实验动物模型研究 ^{68}Ga 枸橼酸对炎症的显像。

材料与方法

1. 材料: $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 发生器购自德国 ITG (Isotope Technologies Garching GmbH) 公司。用 0.05mol/L HCl 洗脱获得 ^{68}Ga 。枸橼酸钠购自广东台山新宁制药有限公司; ITLC-SG 薄层层析纸购自 GE 公司; Balb/c 裸鼠和 ICR 小鼠均购自北京华阜康生物技术有限公司。

2. 枸橼酸的 ^{68}Ga 标记: 先配制 0.1mol/L 的枸橼酸钠。取 0.1ml 枸橼酸钠, 加入 0.2ml 的 ^{68}Ga (37MBq), 室温放置 15min, 过 0.22 μm 滤膜, pH 值调节到 4.0。

作者单位: 100730 中国医学科学院北京协和医院核医学科

通讯作者: 蔡炯, 电子信箱: jiongcai@sina.com

3. ^{68}Ga 枸橼酸的放射性化学纯度测定:使用 ITLC-SG 为固定相,标记混合物点样后,以甲醇:冰醋酸(9:1, v/v)为流动相,或者以甲醇:1mol/L 醋酸钠(1:1, v/v)为流动相鉴定标记产物的放射性化学纯度。

4. 正常小鼠的 ^{68}Ga 枸橼酸的显像:Balb/c 裸鼠 3 只,分别在每只小鼠尾静脉注射 3.7MBq ^{68}Ga 枸橼酸,注射后用异氟烷吸入麻醉,置于小动物 PET 动物支架上,20、30、40、50、60min 分别显像,显像时间 10min。

5. 感染与炎症模型 ^{68}Ga 枸橼酸的显像:ICR 小鼠 2 只,腹腔内注射麻醉药麻醉,在小鼠的左腿腓肠肌内注射 5×10^5 cfu(菌落形成单位)金黄色葡萄球菌,4 天后形成脓肿。尾静脉注射 3.7MBq ^{68}Ga 枸橼酸,注射后 20、30、75、120min 分别显像。

结 果

1. 枸橼酸的 ^{68}Ga 标记和的放射性化学纯度测定:ITLC-SG 为固定相,甲醇:冰醋酸(9:1, v/v)为流动相的薄层层析分析显示:室温放置 15min,枸橼酸的 ^{68}Ga 的标记率达到 96%,保留分数(retention fraction) $R_f = 1$,见图 1A,而直接洗脱的 ^{68}Ga 的 $R_f = 0$,见图 1B。表明直接从 $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 发生器上洗脱下来的 ^{68}Ga 可以直接用于标记枸橼酸,而不用进行离子交换树脂的纯化的前处理。换用甲醇:醋酸钠(1:1, v/v)为流动相后, ^{68}Ga 枸橼酸的标记率为 99% ($R_f = 1$,图 2A),直接洗脱的 ^{68}Ga 峰窄($R_f = 0$,图 2B)。

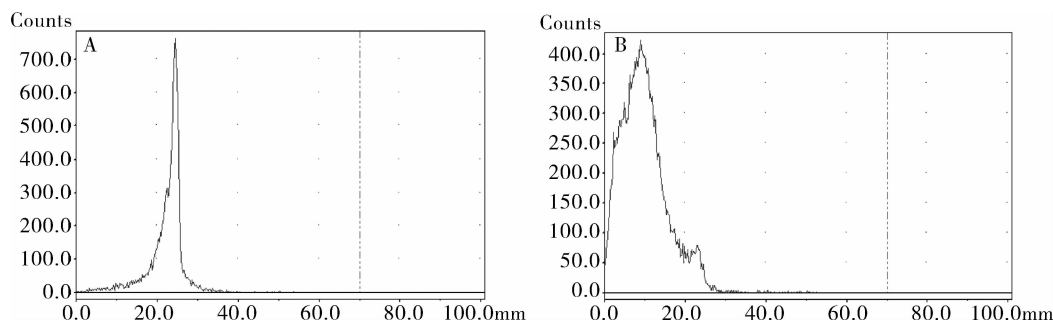


图 1 ^{68}Ga 枸橼酸的放射性化学纯度测定

A. ^{68}Ga 枸橼酸的 $R_f = 1$,纯度为 96%;B. 游离 ^{68}Ga 的 $R_f = 0$,原点在 0mm,前沿在 20mm;

ITLC-SG 为固定相,甲醇:冰醋酸(9:1, v/v)为流动相

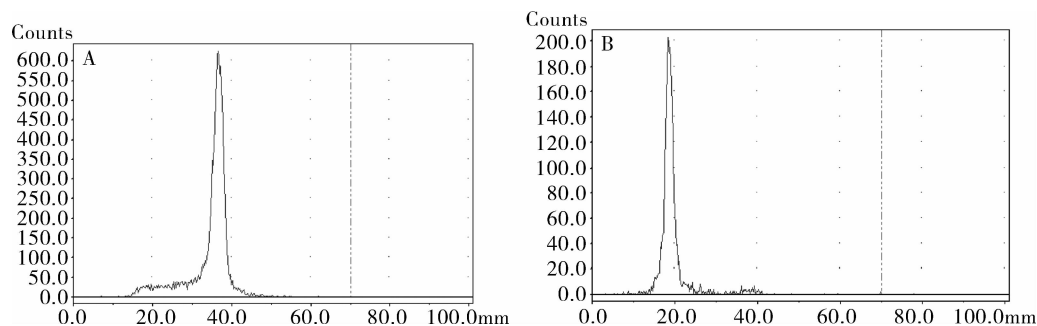


图 2 ^{68}Ga 枸橼酸的放射性化学纯度测定

A. ^{68}Ga 枸橼酸的 $R_f = 1$,纯度为 99%;B. 游离 ^{68}Ga 的 $R_f = 0$,原点在 20mm,前沿在 40mm;

ITLC-SG 为固定相,甲醇:醋酸钠(1:1, v/v)为流动相

2. ^{68}Ga 枸橼酸的正常动物显像:Balb/c 正常对照裸鼠尾静脉注射 3.7MBq ^{68}Ga 枸橼酸后,20、30、40、50、60min 显像,放射性在膀胱聚集最高,其次是心脏摄取较高,可见血管分支。腹腔中也有少量摄取,详见图 3。

3. 炎症模型 ^{68}Ga 枸橼酸的显像:小鼠的左腿腓肠肌内注射金黄色葡萄球菌 4 天后,尾静脉注射 3.7MBq ^{68}Ga 枸橼酸,注射后 20、30、75、120min 显像。

结果表明,细菌感染处随时间延长的放射性摄取逐渐增高,详见图 4,解剖后肉眼可见脓肿。

讨 论

^{67}Ga 枸橼酸是 1971 年发现并应用, ^{67}Ga 枸橼酸一般只用于肺部感染、不明原因发热和慢性骨髓炎的显像, ^{67}Ga 枸橼酸诊断出来的炎症需要和淋巴瘤、成骨细胞瘤进行鉴别,否则出现假阳性^[6-9]。临床实践中 ^{67}Ga 枸橼酸摄取的重要受体是转铁蛋白受体

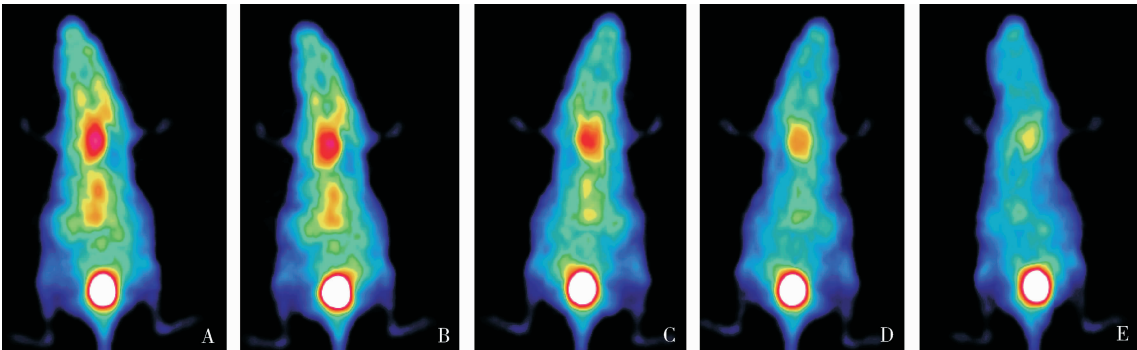


图3 ⁶⁸Ga 枸橼酸在 Balb/c 对照裸鼠显像
A. 20min; B. 30min; C. 40min; D. 50min; E. 60min

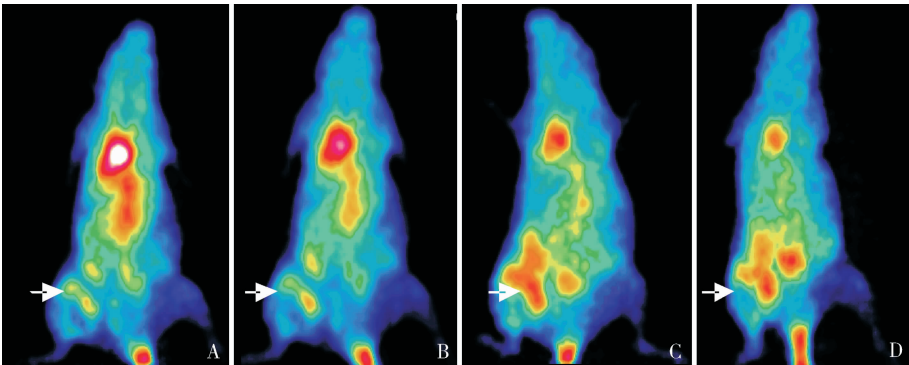


图4 ⁶⁸Ga 枸橼酸在金黄色葡萄球菌感染 4 天的 ICR 小鼠的显像
A ~ D 为注射 ⁶⁸Ga 枸橼酸后不同时间点; A. 20min; B. 30min; C. 75min; D. 120min。箭头所指为细菌注射位点

CD71,因为炎症局部的血管渗透性增加,做为铁类似物的⁶⁷Ga 结合形成的转铁蛋白/⁶⁷Ga 扩散进入炎症位点。如果白细胞和感染原出现,也因存在铁载体而摄取⁶⁷Ga。⁶⁸Ga 的能量为 2.92MeV,具有较高的分辨率和定量特征。每单位的有效剂量是 2.6×10^{-2} mSv/MBq,⁶⁷Ga 的每单位的有效剂量是 1.1×10^{-1} mSv/MBq。因此,从半衰期、辐射剂量和检测的敏感度等考虑,⁶⁸Ga 枸橼酸都要优于⁶⁷Ga 枸橼酸。本研究显示,金黄色葡萄球菌引起的感染能够被⁶⁸Ga 枸橼酸显示,最佳的显像时间是注射后 75 ~ 120min。虽然使用的实验动物不同,但新的⁶⁸Ga 标记方法获得的⁶⁸Ga 枸橼酸诊断感染的价值与 Kumar 等^[2]报道的⁶⁸Ga 的标记方法诊断感染的价值一致。推测⁶⁸Ga 枸橼酸进入血液循环系统后,在感染部位和细菌的铁载体相结合,分流并结合了一部分⁶⁸Ga 枸橼酸,并随血液⁶⁸Ga 枸橼酸从泌尿系统的排泄,背景降低,靶组织渐渐清晰。正常动物⁶⁸Ga 枸橼酸和只和血液中的转铁蛋白结合,因此心脏等主要的储血器官显示比较清楚。虽然本研究使用的是正常小鼠,但和 Kumar 等^[2]使用

正常大鼠的显像结果是相似的,放射性摄取主要在心脏等血池。炎症模型动物由于对⁶⁸Ga 枸橼酸有分流和结合,一定程度上延长了⁶⁸Ga 枸橼酸的生物半衰期,因此,笔者在实验中对炎症模型的显像时间点延长到 120min,而正常动物显像为 60min。60min 以后,除膀胱外,正常动物其余部分的放射性摄取都很低。

相关文献报道的⁶⁸Ga 前处理相对复杂,⁶⁸Ga 从发生器上经过稀 HCl 洗脱后需要上阳离子交换树脂 AG 50W - X8,用 80% 丙酮盐酸去除 Ti、Zn、Fe 和 Ge 等杂质,再经过 98% 丙酮盐酸洗脱纯化⁶⁸Ga。为了去除丙酮,还需要加热煮沸 1min^[2, 5]。本研究直接使用从发生器上经过稀 HCl 洗脱获得的⁶⁸Ga,直接进行反应,标记率很高。除发生器不同外,未见其他影响因素。文献报道使用的是 Cyclotron 产品,而本研究使用的是 ITG 产品。在质量控制方面,笔者使用了两种不同的流动相,固定相都是 ITLC - SG。甲醇:醋酸钠 (1:1, v/v) 比甲醇:冰醋酸 (9:1, v/v) 的峰形锐一些,可能与二者的酸度和离子浓度有一定关系。⁶⁸Ga 枸橼

酸标记成功,将有利于临床的相关研究,除了金黄色葡萄球菌感染外,其他一些感染如结核杆菌感染也有可能通过⁶⁸Ga 枸橼酸进行显像。

参考文献

- 1 El - Maghraby TA, Moustafa HM, Pauwels EK. Nuclear medicine methods for evaluation of skeletal infection among other diagnostic modalities[J]. Q J Nucl Med Mol Imaging, 2006, 50(3): 167 - 192
- 2 Kumar V, Boddeti DK, Evans SG, Angelides S. (68)Ga - Citrate - PET for diagnostic imaging of infection in rats and for intra - abdominal infection in a patient[J]. Curr Radiopharm, 2012, 5(1): 71 - 75
- 3 Nanni C, Errani C, Boriani L, et al. 68Ga - citrate PET/CT for evaluating patients with infections of the bone: preliminary results[J]. J Nucl Med, 2010, 51(12): 1932 - 1936
- 4 Mäkinen TJ, Lankinen P, Pöyhönen T, et al. Comparison of 18F - FDG and 68Ga PET imaging in the assessment of experimental osteomyelitis due to Staphylococcus aureus[J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2005, 32(11): 1259 - 1268

- 5 Rizzello A, Di Piero D, Lodi F, et al. Synthesis and quality control of 68Ga citrate for routine clinical PET[J]. Nucl Med Commun, 2009, 30(7): 542 - 545
- 6 Lavender JP, Lowe J, Barker JR, et al. Gallium 67 citrate scanning in neoplastic and inflammatory lesions[J]. Br J Radiol, 1971, 44: 361 - 366
- 7 Ito Y, Okuyama S, Awano T, et al. Diagnostic evaluation of Ga - 67 scanning of lung cancer and other diseases[J]. Radiology, 1971, 101: 355 - 362
- 8 Bombardieri E, Aktolun C, Baum RP, et al. 67Ga scintigraphy: procedure guidelines for tumour imaging[J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2003, 30: 125 - 131
- 9 Tsan MF. Mechanism of gallium - 67 accumulation in inflammatory lesions[J]. J Nucl Med, 1985, 26: 88 - 92

(收稿日期:2014 - 06 - 08)

(修回日期:2014 - 06 - 12)

低剂量他汀联合依折麦布与高剂量他汀对老年高血脂患者降脂效果 Meta 分析

张 宁 李芳芳 唐其柱 杨 政

摘 要 **目的** 客观评价低剂量他汀联合依折麦布组与高剂量他汀组对高血脂患者降脂效果。**方法** 计算机检索 Cochrane 图书馆、PubMed、Web of Science、万方数据库、中国学术期刊网(CNKI)、中国生物医学文献数据库(CBM)从建库至2014年1月收录的低剂量他汀联合依折麦布与高剂量他汀对老年高血脂患者的临床随机对照试验(randomized controlled trial, RCT),并对纳入的中英文文献采用 RevMan5.2 软件进行 Meta 分析。**结果** 共纳入6个RCT, 355 患者纳入研究, 其中低剂量他汀联合依折麦布组有176 例, 高剂量他汀组有179 例。Meta 分析显示低剂量他汀联合依折麦布治疗组降低 LDL - C 的效果较高剂量他汀组更佳(WMD = -7.09, 95% CI: -13.65 ~ -0.53, $P=0.03$), 差异有统计学意义。两治疗组对高密度脂蛋白胆固醇(WMD = -0.85, 95% CI: -2.10 ~ 0.40, $P=0.18$), 总胆固醇(WMD = -4.62, 95% CI: -10.80 ~ 1.57, $P=0.14$), 甘油三酯(WMD = -2.42, 95% CI: -8.25 ~ 3.41, $P=0.42$)的治疗效果相当, 都可有效降低血脂。**结论** 低剂量他汀联合依折麦布组降低 LDL - C 的效果较高剂量他汀组更显著, 两治疗组对总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL - C)治疗效果相当, 没有明显差异。

关键词 他汀 依折麦布 老年 高血脂 Meta 分析

[中图分类号] R3 [文献标识码] A

Lowering Lipid Efficacy of Low - dose Statin and Ezetimibe Compared to High - dose Statin Alone in the Treatment of Geriatric Hypercholesterolemia Patients: a Meta - analysis. Zhang Ning, Li Fangfang, Tang Qizhu, Yang Zheng. Department of Cardiology, Renmin Hospital of Wuhan University, Hubei 430060, China

Abstract Objective To evaluate the lowering lipid efficacy between low - dose statin/ezetimibe group and high - dose statin group in treatment of geriatric patients with hypercholesterolemia. **Methods** Randomized controlled trials (RCTs) regarding to the patients with in hypercholesterolemia treatment of ezetimibe and statin were retrieved in PubMed, EMBASE and Cochrane Central Register of Controlled

作者单位:430060 武汉大学人民医院心内科

通讯作者:唐其柱, 电子邮箱:qztang@whu.edu.cn