

细菌显像剂 ^{18}F -FDS 的合成及动物显像应用研究

邢海群 朱文佳 蔡炯 张迎强 要少波 霍力 李方

摘要 目的 探讨细菌显像剂 2-脱氧-2-氟山梨醇($2\text{-deoxy-2-[}^{18}\text{F}\text{]-fluorosorbitol}$, ^{18}F -FDS)的合成过程、正常小鼠显像并计算内照射剂量,比较小鼠模型中大肠杆菌感染病灶及肿瘤病灶对 FDS 的摄取情况。**方法** ^{18}F -FDS 由氟多功能模块经“一锅法”由 PET 常用显像剂 2-氟-2-脱氧葡萄糖(^{18}F -fluorodeoxyglucose, ^{18}F -FDG)经 NaBH_4 还原制备;实验组感染小鼠及荷瘤鼠尾静脉注射 ^{18}F -FDS 后 60min 进行 microPET 显像,通过 Inveron Research 软件测量病灶靶/本底比值;对照组注射 ^{18}F -FDG,同样方法测量病灶靶/本底比值进行对照分析。**结果** ^{18}F -FDS 放化收率为 $80\% \pm 5\%$ ($n = 8$,未进行时间衰减校正),合成时间 25min,放化纯度 $>99\%$ 。正常小鼠尾静脉注射 ^{18}F -FDS 后 microPET 显像提示示踪剂从泌尿系统排泄;背景组织肺及脑内的非特异性放射性摄取较低;大肠杆菌感染小鼠 microPET 显像,感染灶有较高的感染灶/肌肉比值,荷瘤鼠显像示 ^{18}F -FDS 肿瘤组织靶/本底比值明显低于 ^{18}F -FDG。**结论** ^{18}F -FDS 放化合成方法操作简单,收率高,细菌感染灶有特异性摄取,在分辨感染和肿瘤上具有应用前景。

关键词 感染 ^{18}F -FDS 大肠杆菌 肿瘤 放化标记

中图分类号 R445.5

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.01.013

Radiosynthesis of Infection Tracer ^{18}F -FDS and Animal Imaging. Xing Haiqun, Zhu Wenjia, Cai Jiong, et al. Department of Nuclear Medicine, PUMC Hospital, PUMC&CAMS, Beijing 100710, China

Abstract Objective To synthesis ^{18}F -FDS from ^{18}F -FDG, calculate internal radiation dose in normal mice imaging, look for the difference of FDS accumulated in E. coli infection mouse model and in tumor lesions. **Methods** ^{18}F -FDS was synthesized on multi-functional synthesis module from ^{18}F -FDG with sodium borohydride reduction by ‘One-pot reaction’. In test group, ^{18}F -FDS was injected into infection mice model and tumor mice model via tail vein for microPET imaging after 60min. T/B values of ^{18}F -FDS were measured and analyzed by Inveron Research software. ^{18}F -FDG was injected into model mice in control group and T/B values were measured as describe above for comparison. **Results** It took 25 min to complete ^{18}F -FDS synthesis. The radiochemical yield and radiochemistry purity of ^{18}F -FDS was $80\% \pm 5\%$, and over 99% respectively. MicroPET imaging data with normal mouse suggested that ^{18}F -FDS was cleared from kidneys. The nonspecific uptake of ^{18}F -FDS in background tissue such as lung, brain was very low. MicroPET imaging data showed that E. coli infected loci in mouse model had high T/B ratio, while tumor lesions had much lower T/B ratio. **Conclusion** ^{18}F -FDS is easy to be prepared with high yield and can be used to trace bacteria infected loci specifically. It is a promising radiotracer for differentiated diagnosis of bacteria infection from tumor.

Key words Infection; ^{18}F -FDS; E. coli; Tumor; Radiolabeling

以大肠杆菌及肺炎克雷伯菌等肠杆菌科细菌为代表的革兰阴性菌在细菌感染中占有举足轻重的地位^[1,2]。由于近年来细菌耐药现象的加剧及免疫缺陷患者数量的增加,其造成的医疗负担预计将大幅上升^[3]。因此早期识别感染病灶并快速评估细菌耐药性可以进一步指导临床的诊断与治疗,改善患者预后。

山梨醇是肠杆菌科细菌所特有的代谢底物,而在

哺乳动物细胞及其他种类的细菌中,山梨醇并非主要的能量来源。利用这一特点,放射性氟标记的山梨醇类似物 ^{18}F -FDS(2-脱氧-2-氟山梨醇)可用于肠杆菌科细菌的特异性显像,国外已有研究者应用 ^{18}F -FDS 进行感染模型动物显像方面的研究,认为其可用于大肠杆菌引起的感染及无菌性炎症、肿瘤与感染灶的鉴别等方面^[4]。 ^{18}F -FDS 与 ^{18}F -FDG(2-脱氧-2-氟-D-葡萄糖)结构类似,可以对 ^{18}F -FDG 做一步还原反应获得,放化收率高,具有较好的临床转化潜力。

本研究拟利用 ^{18}F -FDS 进行正常小鼠体内生物学分布特点研究,通过动态显像的方法观察其在小鼠

基金项目:国家自然科学基金资助项目(面上项目)(81571712)

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:李方,电子信箱:jiongcai@sina.com

体内各脏器放射性分布随时间变化的规律,使用数学方法推导出放射性药物在体内的滞留和排出过程,计算内照射剂量,评价 ^{18}F -FDS在活体内代谢的过程和安全性^[5-7]。此外,还构建大肠杆菌感染小鼠模型及不同类型荷瘤鼠模型,为 ^{18}F -FDS在感染和抗生素治疗疗效检测中的应用及 ^{18}F -FDS在感染和肿瘤病灶的鉴别提供临床前研究基础。

材料与方法

1. 仪器与试剂:(1)氨基聚醚 Kryptofix 2.2.2 (K_{222}),无水乙腈 (MeCN, 99.9%),硼氢化钠 (美国 Sigma-Aldrich 公司)。Sep-Pak light QMA 柱, Sep-Pak plus C18 柱,中性 Al_2O_3 柱 (美国 Waters 公司)。QMA 柱的预处理是依次用 NaHCO_3 (8.4% 水溶液) 和水冲洗;C18 柱的预处理是依次用乙醇和水冲洗;中性 Al_2O_3 柱用水冲洗活化。(2)仪器: Cyclone RDS111 (德国 Siemens 公司),FDGN 和 PET-MF-2V-IT-I 型氟-18 多功能合成模块 (北京派特生物有限公司)。动物显像使用美国 Siemens Inveon MicroPET,其工作站配备 Inveon Acquisition Workplace 图像采集软件和 ASIPro VM 图像分析软件。动物麻醉使用美国 Summit 公司 AS-1-000-7 型异氟烷气体麻醉系统。研究中使用异氟烷吸入麻醉剂 (商品名活宁,上海雅培公司)。(3)动物:Balb/c 小鼠 (体重 18~22g)、Balb/c 裸鼠 (体重 16~18g)、C57 小黑鼠 (体重 18~20g) 购于北京维通利华实验动物技术有限公司。荷 b16f10 黑色素瘤 C57 小黑鼠购于中国医学科学院北京协和医学院动物所。

2. 实验方法:(1) ^{18}F -FDS 的放化合成: ^{18}F -FDG 的合成过程参考之前已发表的参考文献[6]中的方法,非衰减校正收率为 60%,放化纯度 $\geq 99\%$ 。具体过程为加速器轰出的 ^{18}F 离子被 QMA 柱捕获,随后用 $\text{K}_{222}/\text{K}_2\text{CO}_3$ 溶液将 ^{18}F 离子淋洗至反应瓶中,加热至 115℃ 干燥除水,再次加入无水乙腈共沸除水,加入前体三氟甘露糖的乙腈溶液,85℃ 亲核反应 8min,冷却反应管至室温后加入无菌注射用水 12ml 稀释挂 C18 柱,再次使用少量水清洗后向 C18 柱上加入 2 N NaOH 溶液室温反应 5min,随后用水将产物 ^{18}F -FDG 淋洗至带有无菌滤膜的产品瓶中即可。将 ^{18}F -FDG 溶液 (100mCi) 转至氟多功能合成模块的反应管中,在反应管中事先加入 NaBH_4 (10mg),充分混匀后加热至 45℃ 反应 15min,加入缓冲液中和反应液,将 pH 值调至 6.5~7.5 后将溶液转出经无菌滤膜过滤至产品瓶中。(2)感染鼠及荷瘤鼠制备:感

染小鼠模型:Balb/c 小鼠 ($n=5$) 于右前肢肌内注射 5×10^7 CFU 大肠杆菌,感染小鼠模型感染灶生长迅速,大肠杆菌注射后 7h,小鼠右前肢明显肿胀,行动不便,感染灶直径 0.5~1.0cm。肺癌小鼠模型:C57BL/6J 小鼠 ($n=5$) 于右后肢皮下注射 Lewis 肺癌细胞悬液 1×10^6 (0.1ml),4 天后病灶直径 0.5~1.0cm。胰腺癌小鼠模型:Balb/c 裸鼠 ($n=5$) 于右前肢皮下注射人源 T3M4 胰腺癌细胞悬液 5×10^6 (0.1ml)。荷瘤鼠模型为种植后 7 天,病灶直径 0.5~1.0cm,小鼠活动自如,毛色及饮食正常。(3)正常 C57BL/6J 小鼠 (5 只) MicroPET 动态显像研究:使用西门子 Inveon microPET 系统对小鼠进行动态采集,正常小鼠俯卧位固定于 microPET 检查床上,使用异氟烷吸入麻醉系统,尾静脉建立通道,注射 ^{18}F -FDS (3.7~7.4MBq, 0.2~0.3ml),同时启动采集程序。设定采集时间为每 3s 1 帧,采集 2min;每 30s 1 帧,采集 5min;每 1min 1 帧,采集 13min;每 5min 1 帧,采集 40min,共计 71 帧,60min。保持小鼠位置不变,继续于 90 和 120min 静态采集 10min。(4)感染鼠及荷瘤鼠模型 MicroPET 静态显像研究:感染小鼠模型建立后 7h,经尾静脉注射 ^{18}F -FDS (3.7~7.4MBq, 0.2~0.3ml) 60min 后,行 10min 静态显像。荷瘤 (黑色素瘤、肺癌及胰腺癌) 鼠模型建立后 7 天,经尾静脉注射 ^{18}F -FDG (3.7~7.4MBq, 0.2~0.3ml) 60min 后,行 10min 静态显像。次日,经尾静脉注射 ^{18}F -FDS (3.7~7.4MBq, 0.2~0.3ml) 60min 后,行 10min 静态显像。图像均经 OSEM 3D 重建,分别测量病灶和对侧肢体肌肉 % ID/g,计算靶/本底比值 (T/B 值)。(5)小鼠各脏器的放射性照射剂量:按照参考文献[8]计算。

结 果

1. ^{18}F -FDS 的自动化合成:本研究中使用 PET-MF-2V-IT-I 氟标记多功能合成模块,合成过程约 25min,以 ^{18}F -FDG 为原料,经过一步还原反应合成了 ^{18}F -FDS, PBS 水溶液淬灭和稀释,用 radio-TLC 检测其放化纯度,得到高化学和放化纯度 (99%) 产物 ^{18}F -FDS,展开剂条件为乙腈:水 = 80:20, R_f (FDG) = 0.6, R_f (FDS) = 0.4。以 ^{18}F -FDG 计 ^{18}F -FDS 的未衰减放化收率为 $80\% \pm 5\%$,比活度不小于 1000Ci/mmol。

2. 正常小鼠 microPET 显像:注射 ^{18}F -FDS 后,血池立即显影,并迅速分布至肝脏及肾脏等器官。示踪剂主要经肾脏排出,少部分可经肝胆系统排出。注

射¹⁸F-FDS 后约 1min,各脏器摄取均达到高峰,随时间延长,逐渐清除。注射后 60min,放射性分布基本趋于稳定,延长显像至 90 及 120min,小鼠体内放射性分布无明显变化(图 1)。采用 ASIPro VM 软件对动态图像进行半定量分析,在冠状面图像第 9~15 秒(4~5 帧),画小鼠肺及心脏 ROI;第 114~120 秒(39~40 帧),画小鼠肝脏及肠道 ROI;第 45~50 分钟(71 帧)画小鼠左肾、右前肢肌肉及脑 ROI。所有 ROI 均选择 3D 柱状计算放射性浓度(% ID/g)。得出各脏器时间-放射性分布曲线(图 2)。

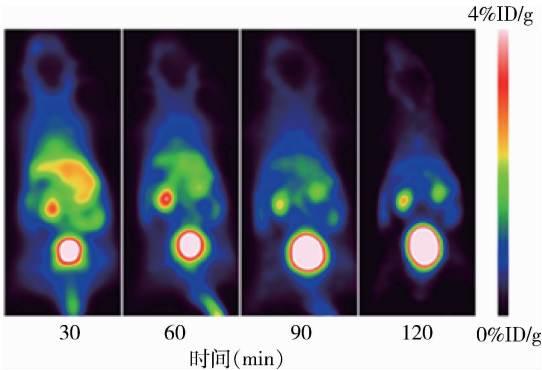


图 1 正常小鼠注射¹⁸F-FDS 后不同时间 microPET 图像(冠状断层图)

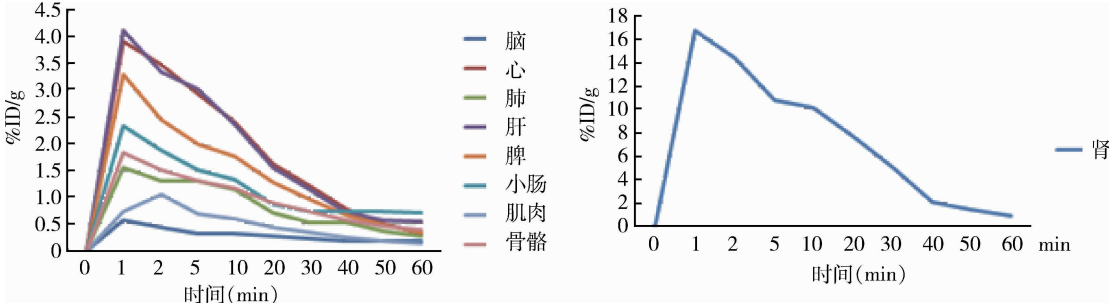


图 2 正常小鼠注射¹⁸F-FDS 60 min 内各脏器的时间-放射性曲线

3. ¹⁸F-FDS 的内照射剂量:使用 Prism 软件计算小鼠各器官时间-放射性分布曲线下面积,经 OLINDA 软件计算得到各脏器内照射剂量,小鼠脑、肺、肝、肾、脾、肠、肌肉、骨内照射剂量分别为 2.74E-04、1.78E-01、7.62E-02、5.78E-02、2.94E-01、8.82E-04、5.90E-04、1.93E-02mSv/MBq。

4. 大肠杆菌感染小鼠模型及肿瘤模型小鼠显像:大肠杆菌感染后小鼠显像可见,右前肢感染灶放射性摄取明显增高(1.2 % ID/g),与对侧前肢放射性摄取比值为 10.9(图 2,图 3A)。各类型荷瘤鼠¹⁸F-FDG 显像病灶 T/B 值(图 3)明显高于¹⁸F-FDS 显像(图 2,图 3B~D,表 1)。

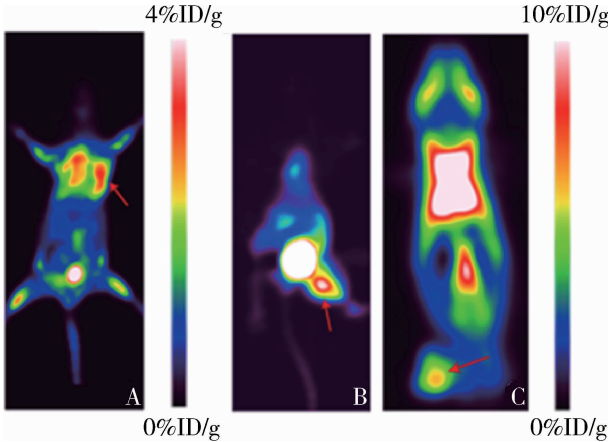


图 4 荷瘤鼠尾静脉注射¹⁸F-FDG 后 60min 后显影冠状断层图像

A. 胰腺癌鼠;B. 肺癌鼠;C. 黑色素瘤鼠

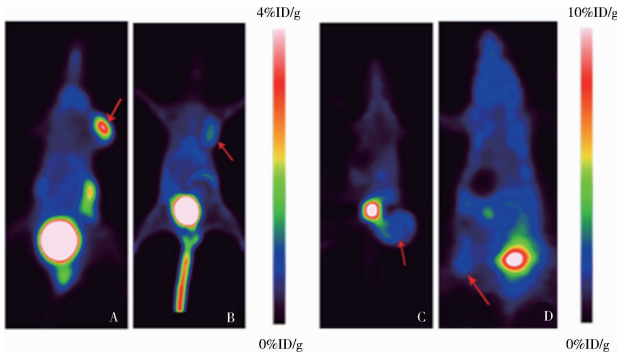


图 3 感染鼠及荷瘤鼠尾静脉注射¹⁸F-FDS 后 60min 显影冠状断层图像

A. 感染鼠;B. 胰腺癌鼠;C. 肺癌鼠;D. 黑色素瘤鼠

表 1 各类型荷瘤鼠病灶放射性摄取情况比较(T/B 值)		
荷瘤鼠	¹⁸ F-FDG 显像	¹⁸ F-FDS 显像
肺癌小鼠	10.23	4.39
黑色素瘤小鼠	7.85	2.59
胰腺癌小鼠	4.22	2.63

讨 论

本研究采用商品化的国产多功能氟标记模块,合成了¹⁸F-FDS,与文献比较,本方法在以下两个方面

作了改进:①电脑远程操控放化合成,操作简便;②合成效率高且稳定^[4]。由于采用多功能氟标记模块进行合成,避免合成过程中人工操作,可进行较大放射性活度的药物合成,满足临床需要。合成过程中存在的主要放射性损失是由于氧化铝柱对产品的部分吸附造成。

本研究小鼠尾静脉注射¹⁸F-FDS后,双肾及膀胱即有明显放射性浓聚,提示¹⁸F-FDS经肾脏排泄。动物显像及生物分布实验还发现,一小部分¹⁸F-FDS经肝胆系统进入肠道,早期小肠内可见少量放射性聚集,随时间延长逐渐向回肠末端及结肠移动,成为除泌尿系统及肝外放射性浓聚最高脏器。小鼠肠道内放射性分布是否由大肠杆菌引起,需进一步实验研究。放射性药物内照射剂量计算出动物各主要器官、组织内照射剂量均处于较低水平,提示¹⁸F-FDS可用于临床实验。

与¹⁸F-FDG PET显像相比,¹⁸F-FDS具有革兰阴性杆菌感染灶/本底比值较高、全身本底摄取较低的特点(图3);而肿瘤对¹⁸F-FDS的摄取明显低于感染病灶(图3、图4)。因此,¹⁸F-FDS对感染显像较¹⁸F-FDG特异,弥补了¹⁸F-FDG在细菌感染病灶的早期诊断方面存在不足^[9,10]。总之,本研究为¹⁸F-FDS PET显像的临床应用奠定了良好基础。

参考文献

1 Weinstein EA, Ordonez AA, DeMarco VP, *et al.* Imaging enterobacte-

- riaceae infection in vivo with ¹⁸F-fluorodeoxyorbitol positron emission tomography[J]. *Sci Transl Med*, 2014, 6(259): 259ra146
- Reed D, Kemmerly SA. Infection control and prevention: a review of hospital-acquired infections and the economic implications[J]. *Ochsner J*, 2009, 9(1): 27-31
- Roca I, Akova M, Baquero F, *et al.* The global threat of antimicrobial resistance: science for intervention[J]. *New Microbes New Infect*, 2015, 6: 22-29
- Li ZB, Wu Z, Cao Q, *et al.* The synthesis of ¹⁸F-FDS and its potential application in molecular imaging[J]. *Mol Imaging Biol*, 2008, 10(2): 92-98
- 刘芳, 陈英茂, 白净. 基于医学图像处理的放射性药物内照射剂量计算[J]. *北京生物医学工程*, 2007, 26(2): 120-123
- Tang GH, Tang XL, Wang MF, *et al.* High efficient automated synthesis of 2-[¹⁸F]fluoro-2-deoxy-d-glucose[J]. *Nucl Technol*, 2006, 29: 531-536
- 夏晓影, 贾蓓, 王群, 等. 肠杆菌科细菌3年耐药性监测[J]. *中国抗生素杂志*, 2012, 37(5): 392-396
- Wang X, Murthy N. Bacterial imaging comes of age[J]. *Sci Transl Med*, 2014, 6(259): 259fs43
- Wu C, Li F, Niu G, Chen X. PET imaging of inflammation biomarkers[J]. *Theranostics*, 2013, 3(7): 448-466
- Sasser TA, Van Avermaete AE, White A, *et al.* Bacterial infection probes and imaging strategies in clinical nuclear medicine and preclinical molecular imaging[J]. *Curr Top Med Chem*, 2013, 13(4): 479-487

(收稿日期: 2015-08-03)

(修回日期: 2015-09-06)

预防性应用他汀类药物对单纯冠脉旁路移植术后早期并发症的影响

周煜东 高长青 肖苍松 王 嵘 吴 扬 龚志云

摘 要 目的 研究术前预防性应用他汀类药物是否可以降低冠脉旁路移植术后早期并发症。**方法** 回顾性分析2013年6月~2014年8月中国人民解放军总医院心血管外科接受单纯体外循环下冠状动脉旁路移植术(CCABG)患者共199例;根据术前是否应用他汀类降脂药物将病例分为他汀类药物组99例(男性84例,女性15例)(至少术前7天开始服用他汀类药物:瑞舒伐他汀钙片10毫克/晚或阿托伐他汀钙片20毫克/晚);对照组100例(男性88例,女性12例)。观察术后30天内出现主要心脏相关不良事件(主要包括死亡、伴或不伴有病理性Q波的围术期心肌梗死、再次再血管化等)。**结果** 他汀类药物组术后早期发生并发症概率与对照组比较,差异无统计学意义($P>0.05$),两组均无围术期死亡及再次再血管化病例。两组术前及术后3天内肌钙蛋白T、CK-MB和C反应蛋白水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$);术前及术后3天内肌钙蛋白T、CK-MB

基金项目:国家自然科学基金资助项目(面上项目)(30971182)

作者单位:100853 北京,中国人民解放军总医院心血管外科

通讯作者:高长青,电子信箱:Gaochq301@hotmail.com