

动脉不稳定性斑块体内显像方法初探

王 蓓¹, 赵全明², 米宏志¹, 陆 遥¹, 柏 江¹, 赵健冬¹

(首都医科大学附属北京安贞医院 1. 核医学科, 2. 特需医疗科, 北京市 100029)

[关键词] 放射医学; 动脉粥样硬化; $^{99m}\text{TcO}_4^-$; 膜联蛋白; γ 照相; 动物模型; 兔

[摘要] 目的 用 $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 标记不同浓度的膜联蛋白, 行实验动物体内动脉粥样硬化斑块显像, 以探讨无创性诊断动脉不稳定性粥样硬化斑块显像方法的可行性。方法 雄性新西兰兔 8 只, 分为对照组($n=3$)和实验组($n=5$)。将实验组动物制造成动脉粥样硬化模型, 两组动物分别经耳缘静脉注射 ^{99m}Tc -膜联蛋白 200 Ci/g、30 Ci/g、16 Ci/g, 注射后 5 min、30 min、60 min 和 120 min, 行活体动物体内主动脉不稳定性粥样硬化斑块显像。结果 对照组注射各种浓度 ^{99m}Tc -膜联蛋白后 5 min 显像, 在主动脉部位见少量显像剂分布, 120 min 显像主动脉部位无显像剂分布。实验组注射 ^{99m}Tc -膜联蛋白后 5 min 主动脉部位均见显像剂分布, 120 min 显像见不同剂量组主动脉部放射性分布情况不同, 随着 ^{99m}Tc -膜联蛋白浓度增高, 局部索条状影像越清晰。结论 ^{99m}Tc -膜联蛋白显像技术作为无创性检测动脉不稳定性粥样硬化斑块的方法是可行的。

[中图分类号] R817

[文献标识码] A

Preliminary Study on Vivo Image of Aortic Atherosclerotic Unstable Plaque

WANG Qian¹, ZHAO Quan-Ming², MI Hong-Zhi¹, LU Yao¹, BAI Jiang¹, and ZHAO Jian-Dong¹

(1. Department of Nuclear Medicine, 2. Department of Special Medicine, Beijing Anzhen Hospital, Capital University of Medicine Science, Beijing 100029, China)

[KEY WORDS] Atherosclerosis; Technetium-99m; Annexin V; γ Camera; Animal model; Rabbit

[ABSTRACT] Aim To study the feasibility of noninvasive detection of atherosclerotic unstable lesions with technetium-99m radiolabeled (^{99m}Tc -annexinV) by the single photon emission computed tomography (SPECT). Methods Atherosclerotic

plaques animal models were produced in 5 rabbits by 15 weeks of cholesterol diet. Other 3 rabbits were fed on normal diet with out manipulation as contrast. All animals were injected ^{99m}Tc -annexin V 200 Ci/g, 30 Ci/g and 16 Ci/g respectively.

Atherosclerotic plaques images were performed by SPECT at 5, 30, 60, 120 minute points after injection. Results In the

control rabbits, little radiodistribution was found in aortic artery at 5th minute and clear away at 120th minute. The atherosclerotic plaque models can be seen explicit radiodistribution with varied inject doses at 5th minute. Furthermore, image agent was up taken higher with more radioactivity dosage at 120th minute. Conclusion ^{99m}Tc -annexin V SPECT could be an attractive

imaging method for the noninvasive detection of atherosclerotic plaques in vivo.

动脉粥样硬化不稳定性斑块的破裂和血栓形成是导致急性心肌梗死和缺血性脑卒中发生的主要原因。因此, 对动脉粥样硬化不稳定性斑块的早期诊断和早期干预治疗至关重要。国外有报道对动脉粥样硬化模型实验动物, 用 ^{99m}Tc 标记的膜联蛋白(^{99m}Tc -annexin V)进行活体动物动脉不稳定性斑块显像, 国内尚无报道。我们用 ^{99m}Tc -annexin V进行动脉粥样硬化模型动物体内显像研究, 旨在探讨无创性诊断动脉不稳定性粥样硬化斑块核医学显像技术的可行性。

1 材料与方法

1.1 实验动物及动脉粥样硬化模型建立

雄性新西兰大白兔 8 只, 体重 2.90 ± 0.67 kg, 随机分为实验组和对照组, 对照组 3 只, 实验组 5 只。实验组兔给予高脂饲料(内含 2% 的胆固醇)喂养, 2 周后行降主动脉球囊拉伤术, 术后继续给予含 2% 胆固醇的高脂饲料, 建立成动脉粥样硬化模型。对照组兔给予正常饲料。两组动物于喂养 15 周后分别行放射性核素主动脉斑块显像。

1.2 显像方法

显像剂 ^{99m}Tc -annexin V由中国原子能研究院同位素研究所提供, 浓度分别为: 16~200 Ci/g ($1 \mu\text{Ci}=37 \text{ kBq}$) 蛋白, 放射性标记率为 95%~99.6%。显像设备为日本东芝公司生产的 GCA7200A/UI 单光子发射型计算机断层显像仪。根据注射 ^{99m}Tc -annexin V量的不同分别将实验组和对照组(每组各 1 只)动

[收稿日期] 2006-12-05 [修回日期] 2007-07-30

[基金项目] 首都医科大学基础-科研合作基金 (2006JL42)

[作者简介] 王蓓, 主任医师, 主要研究方向为心肺血管核医学, E-mail 为 13801043425@vip.sina.com。赵全明, 博士, 主任医师, 主要研究方向为临床心血管医学, E-mail 为 zhaoqm123@sohu.com。米宏志, 主要研究方向为临床核医学, E-mail 为 mihongzhi@hotmail.com。

物分为3个剂量组,即:200 Ci/g组(实验兔1只)、30 Ci/g组(实验兔2只)和16 Ci/g组(实验兔2只)。显像方法:对各组兔分别通过耳缘静脉注射相应剂量的 ^{99m}Tc -annexin (A)于注射后5 min、30 min、60 min和120 min,取左侧卧位,利用 γ 照相机(SPECT)行活体主动脉不稳定性粥样硬化斑块体内显像,视野包括降主动脉全程,矩阵 256×256 ,采集计数 3×10^5 。

1.3 离体主动脉体外显像

体内显像后将实验动物处死,剥离并纵向剖开主动脉,行离体主动脉不稳定性粥样硬化斑块体外显像。

1.4 动脉片段放射性靶/非靶比值测定

将主动脉大致均匀分为若干等份,每份约1.5 cm长,利用井型全自动 γ 计数器,测定后归一化为每克动脉组织的放射性强度(cpm/g),将肉眼观察接近于正常的动脉片段作为非靶片段,数值定为1.0,其他动脉片段测定的放射性计数与其比较,计算出不同动脉片段放射性靶/非靶比值。

2 结果

2.1 体内显像结果

对照组动物分别注射 ^{99m}Tc -annexin (A)200 Ci/g、30 Ci/g及16 Ci/g后于第5 min行体内主动脉显像,主动脉走行部位隐约可见少量显像剂分布;注射30 min以后各时间段显像,主动脉走行部位没有明显放射性分布(图1A)。

实验组动物注射200 Ci/g剂量的 ^{99m}Tc -annexin (A)后,第5 min显像见主动脉走行部位有条索状放射性分布,30 min后各时间段显像主动脉部位放射性基本消失,类似对照组显像结果;注射30 Ci/g剂量的 ^{99m}Tc -annexin (A)后,第5 min显像见降主动脉走行部位有条索状放射性分布,60 min后主动脉中部见斑片状放射性分布增高灶,120 min时仍较清晰(图1B);注射16 Ci/g剂量的 ^{99m}Tc -annexin (A)后,第5 min显像见主动脉走行部位清晰的条索状放射性浓聚,且较实验兔30 Ci/g剂量组显示更清晰,持续至120 min时显像仍清晰可见,其内有斑点状放射性浓聚灶(图1C)。

2.2 离体主动脉显像结果

实验组动物活体显像结束后均被处死,进行离体主动脉显像(体外显像)。三个不同剂量组别的动物降主动脉粥样硬化斑块处均有明显放射性聚集,肉眼所见放射性聚集强度的高低与斑块严重程度有关,即斑块越严重,放射性浓聚越明显。放射性聚集

强度的高低与 ^{99m}Tc -annexin (A)标记浓度也有关,随着annexin (A)浓度的增加,显像剂聚集也越明显(图2)。显像后再进行普通数码相机离体主动脉照像,实验组动物的主动脉均有明显动脉粥样硬化斑块形成(图2),离体主动脉上的斑块分布与主动脉体内显像和离体显像所见放射性分布一致,即斑块部位有明显放射性分布。

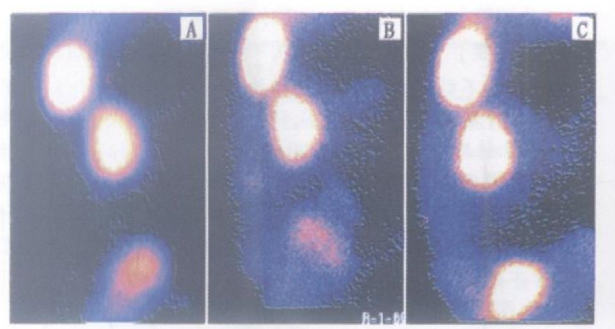


图1. 对照组与实验组兔体内主动脉显像图

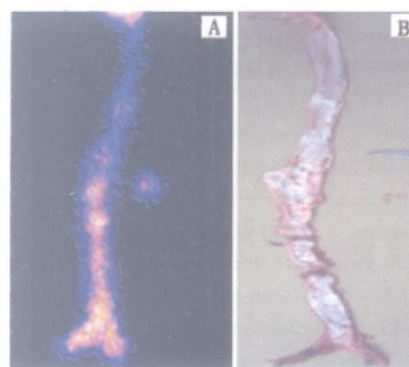


图2. 实验组兔离体主动脉显像及照相 A为主动脉显像,见主动脉粥样硬化斑块处有明显放射性聚集;B为主动脉照像,见主动脉上明显粥样硬化斑块形成,与离体主动脉显像所示放射性分布相对应。

2.3 动脉片段放射性靶/非靶比值测定

将肉眼观察接近于正常的动脉片段作为非靶区,其放射性靶与非靶比值归一化为1.0/g,所有肉眼观察有动脉粥样硬化斑块的动脉片段上测定的放射性计数,分别与非靶动脉片段上测定的放射性计数比较,测定出的放射性靶/非靶比值均大于1.0。每克动脉片段上放射性靶/非靶比值表明放射性强度与动脉硬化斑块的严重程度呈正相关,斑块越严重,局部放射性计数越高,放射性靶/非靶比值越大,最大达到2.80(表1)。

表 1. 放射性靶/非靶比值

动脉片	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
比值	1.24	1.28	1.00	1.30	2.16	1.36	2.42	1.38	1.25	1.19	2.80	2.46	1.55	2.02	1.26

3 讨论

近年我国高血压、冠心病和脑卒中的发病率呈逐年上升并有“年轻化”的趋势。缺血性心脑血管事件的发生与动脉粥样硬化导致的管腔狭窄程度并无显著相关性,而动脉粥样硬化不稳定性斑块破裂诱发血栓形成则是导致不稳定型心绞痛、急性心肌梗死和缺血性脑卒中的主要发生机制,是引发急性心脑血管事件的主要原因^[1]。

尽管斑块不稳定性的机制尚不明确,但研究提出,斑块中细胞死亡可能促使和加快斑块破裂^[2,3]。不稳定性斑块的病理学特征为大脂核(占斑块容积的 40%)、薄纤维帽(缺少平滑肌细胞和胶原)、纤维帽和外膜有炎性细胞浸润^[1]。脂质核心周围有大量巨噬细胞,巨噬细胞凋亡使坏死核心的体积增大从而增加了斑块的不稳定性^[4]。同时,纤维帽内平滑肌细胞凋亡可能导致一种纤维帽变薄的慢性过程^[5]。凋亡常发生于斑块的纤维帽和肩部的平滑肌细胞以及脂质核心内的巨噬细胞。

膜联蛋白(annexin)是一种生理性蛋白,参与膜转运及膜表面其他一系列依赖于钙调蛋白的活动,分布于心肌细胞、内皮细胞和成纤维细胞中。annexin 与凋亡的巨噬细胞和平滑肌细胞外在表达的磷脂酰丝氨酸有很高的亲和力,当细胞凋亡时 annexin 可与磷脂酰丝氨酸结合^[1,6]。同时,annexin 可以很方便地用放射性锝(^{99m}TcO₄⁻)进行标记。因此,放射标记的 annexin 已被应用于多种凋亡细胞的检测,并被用于急性心肌梗死和心脏移植等的凋亡显像^[2]。

用实验性高胆固醇血症兔做^{99m}Tc-annexin 显像发现,发生在巨噬细胞族的凋亡可以在兔的动脉斑块中得到标记确认^[2]。本研究中,我们应用放射标记的 annexin 作为显像剂,对实验性动脉粥样硬化斑块进行活体和离体显像,证实活体显像 annexin 与动脉粥样硬化斑块结合良好,动脉粥样硬化斑块严重的部位放射性增高,显影清晰;同时,动脉粥样硬化斑块显影的清晰程度也与^{99m}TcO₄⁻和 annexin 的标记浓度有关。离体动脉显像也显示动脉粥样硬化斑块部位有明显的放射性分布,且分布呈明显

的特异性,即:随着 annexin 浓度的增加,显像剂在动脉硬化斑块部位的聚集也越明显。动脉片段放射性靶/非靶比值测定也证实,动脉粥样硬化部位有明显的放射性分布,放射性靶/非靶比值明显增高,提示动脉粥样硬化部位细胞凋亡明显,annexin 结合较多。离体主动脉照像显示实验组动物的主动脉均有明显动脉粥样硬化斑块形成,动脉粥样硬化斑块的严重程度与主动脉体内显像和离体显像所见放射性分布情况呈正相关。我们的实验结果与国外文献报道一致^[2,6]。可见,将活体实验性动脉粥样硬化凋亡细胞作为靶组织,利用^{99m}Tc-annexin 体内显像技术无创性检测动脉不稳定性粥样硬化斑块的方法是可行的。

本研究主要是探索放射标记^{99m}Tc-annexin 用于动脉粥样硬化不稳定性斑块显像的剂量与实验方法学的可行性,样本量相对较少,尚不能对显像结果进行统计学分析。下一步我们要做的工作是确定^{99m}Tc-annexin 动脉粥样硬化不稳定性斑块显像的方法学,增大样本量,并对动脉粥样硬化不稳定性斑块进行病理学检测、免疫组织化学分析或电镜检测,对病变的不稳定性进行更好的定性或定量。

[参考文献]

- [1] 赵全明, 许金鹏, 王 蓓, 陈达明, 米宏志. ^{99m}Tc 标记的 annexin 检测不稳定动脉粥样硬化斑块的实验研究[J]. 中国医学影像技术, 2005, 21 (9): 1 349-352.
- [2] Kolodgie FD, Petrov A, Vimani R, Narula N, Verjans JW, Weber DK, et al. Targeting of apoptotic macrophages and experimental atheroma with radiolabeled annexin V-A technique with potential for noninvasive imaging of vulnerable plaque [J]. *Circulation*, 2003, 108 (25): 3 134-139.
- [3] Geng YJ, Henderson LE, Levesque EB, Muszynski M, Libby P. Fas is expressed in human atherosclerotic intima and promotes apoptosis of cytokine primed human vascular smooth muscle cells [J]. *Arterioscler Thromb Vase Biol*, 1997, 17 (10): 2 200-208.
- [4] Björkerud S, Björkerud B. Apoptosis is abundant in human atherosclerotic lesions, especially in inflammatory (macrophage and T cells), and may contribute to the accumulation of gruel and plaque instability [J]. *Am J Pathol*, 1996, 149 (2): 367-380.
- [5] Peter Libby, Paul M, Ridker, Attilio. Inflammation and atherosclerosis [J]. *Circulation*, 2002, 105 (9): 1 135-143.
- [6] O'Brien IE, Reutelingsperger CP, Holdaway KM. Annexin V and tunnel use in monitoring the progression of apoptosis in plants [J]. *Cytometry*, 1997, 29 (1): 28-33.

(此文编辑 许雪梅)