

帕金森病猴模型脑多巴胺转运体 SPECT 显像

陈玲¹, 胡平², 吴克宁², 黎锦如¹, 刘焯霖¹, 李春亿², 李伟明², 潘勇辉¹

(中山大学附属第一医院 1. 神经科, 2. 核医学科, 广东广州 510080)

摘要: 【目的】探讨脑多巴胺转运体 SPECT 显像在帕金森病诊断中的应用价值及吡贝地尔治疗对脑多巴胺转运体的影响。【方法】正常恒河猴经右侧颈总动脉注射(一次或多次)1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(MPTP)制备成偏侧帕金森病猴模型,术后5~6周给予吡贝地尔(泰舒达)治疗。定期行脑多巴胺转运体^{99m}Tc-TRODAT-1 SPECT 显像,测量两侧纹状体及小脑的放射性摄取计数,计算两侧纹状体的特异性放射性摄取比值(r)和不对称指数(AI)。【结果】正常猴两侧纹状体的 r 接近, $AI=5.28\sim 6.11$;右侧颈总动脉注射 MPTP 后的模型猴右侧纹状体的 r 降低及 AI 增大比非模型猴更明显。治疗组和非治疗组双侧纹状体的 r 同向变化,右侧改变更明显;治疗组的 AI 大部分升高;非治疗组的 AI 均降低。【结论】脑多巴胺转运体^{99m}Tc-TRODAT-1 SPECT 显像有助于帕金森病的早期诊断,吡贝地尔可能会引起猴脑多巴胺能神经元数量的改变。

关键词: 多巴胺转运体; 帕金森病/诊断; 帕金森病/治疗; TRODAT-1; 体层摄影术,发射型计算机,单光子; 吡贝地尔; 猕猴属

中图分类号: R742.5

文献标识码: A

文章编号: 1000-257X(2002)03-0183-04

The Dopamine Transporter SPECT Imaging in Hemiparkinsonian Monkeys' Brain CHEN Ling¹, HU Ping², WU Ke-ning², LI Jin-ru¹, LIU Zhuo-ling¹, LI Chun-yi², LI Wei-ming², PAN Yong-hui¹. (1. Department of Neurology, 2. Department of Nuclear Medicine, First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract: 【Objective】To investigate the application of dopamine transporter imaging by SPECT in the diagnosis of Parkinson disease and the anti-Parkinson disease effect of Piribedil on dopamine transporter. 【Methods】Eight rhesus monkeys were used for this study. They were all hemiparkinsonian models induced by unilateral infusion of MPTP into the right common carotid artery. Five or six weeks after final operation, they were divided into two groups, with and without administration of Piribedil (Trastal), named Piribedil group and non-Piribedil group. The dopamine transporter imaging by SPECT with ^{99m}Tc-TRODAT-1 were performed in regular intervals. The radioactivity uptake was measured in bilateral striatum and cerebellum. The ratio of specific radioactivity uptake [(ST-CB)/CB] and Asymmetry Index (AI) were figured. 【Results】The specific radioactivity uptake ratios of two striatum were nearly the same in normal monkeys. And AI ranged from 5.82 to 6.11 . After one or more times infusion of MPTP, the ratio of the right side reduced and AI rose more obviously in hemiparkinsonian monkeys than in non-hemiparkinsonian monkeys. The bilateral ratios changed toward the same trend in the two groups. It was apparent in the right side. AI elevated in most monkeys of the Piribedil group, and decreased in all monkeys of the non-Piribedil group. 【Conclusion】The dopamine transporter imaging by SPECT with ^{99m}Tc-TRODAT-1 is helpful for the diagnosis of Parkinson disease in early stage. Piribedil maybe interfere with the number of dopaminergic neurons.

Key words: dopamine transporter; Parkinson disease/diagnosis; Parkinson disease/therapy; TRODAT-1; tomography, emission computed single photon; piribedil; macaca

帕金森病是发生于老年的常见的中枢神经系统变性疾病,由于黑质多巴胺能神经元变性脱失使纹状体多巴胺含量降低而产生症状。近年来发病年龄有前移的趋势,不少中年人前来就诊,甚至还有散发青年患者。若能早期诊断此病,给予神经保护药延缓疾病的发展,将有利于患者的身心健康,并减轻家庭及社会的负担。

脑多巴胺转运体(dopamine transporter, DAT)

存在于黑质纹状体多巴胺能神经元末梢的突触前膜,它的多少反映了多巴胺能神经元的数目多少及功能高低。在帕金森病早期 DAT 已经减少,疾病后期减少更明显^[1]。TRODAT-1,即 2β [N,N'-双(2-巯乙基)乙撑二胺基]甲基,3 β -(4-氯苯基)托烷,是近年合成的能以^{99m}锝(^{99m}Tc)标记的 DAT 的配体,它的问世使临床可用常规单光子发射计算机体层摄影术(SPECT)显像早期诊断帕金森病成为可

收稿日期: 2001-12-17

基金项目: 国家自然科学基金资助课题(39670229)

作者简介: 陈玲(1968-),女,广东梅县人,博士生,主治医师。

能^{2]}, 还可监测病情、评价药物疗效。

1 材料和方法

1.1 偏侧帕金森病猴模型的制备与分组

健康恒河猴 8 只(华南濒危动物养殖场, 广州九佛), 3 雄 5 雌, 年龄 6~12 岁, 体质量 3.5~7 kg。8 只恒河猴均经右侧颈总动脉注射 1-甲基-4-苯基 1, 2, 3, 6-四氢吡啶(MPTP, RBI 公司产品, 北京宣武医院陈彪教授惠赠), 0.7~1.5 mg/kg, 第 1 次制备未成功则间隔 3~4 周进行下一次, 且剂量增加, 直到出现帕金森病症状为止。每次显像前肌注阿朴吗啡(apomorphine, Apo, Sigma 公司), 0.1 mg/kg。随机选取 4 只制备成功的帕金森病模型猴于末次术后 5~6 周给予吡贝地尔(Piribedil; 又名泰舒达, Trastal, 法国施维雅药厂提供)口服治疗, 每天 5 mg/kg, 磨成粉末掺于猴食团块中喂饲。治疗时间 103~220 d 不等。

1.2 ^{99m}Tc-TRODAT-1 的制备

TRODAT-1 冻干药盒由江苏无锡原子医学研究所卫生部核医学国家重点实验室制备。1 支 TRODAT-1 冻干品含 TRODAT-1 100 μg。将新鲜^{99m}TcO₄⁻淋洗液 3.7 GBq(体积小于 1 mL)注入冻干瓶中, 充分摇匀, 煮沸 30 min, 放置室温冷却。用方平^{3]}报道的方法进行放射化学纯度检测, 大于 90%。

1.3 DAT ^{99m}Tc-TRODAT-1 SPECT 显像

帕金森病猴于术后 1 周、2 周、3 周、4 周、3 月、5 月、7 月等时间点显像。显像前用氯胺酮(8 mg/kg)诱导麻醉, 继用戊巴比妥钠(30 mg/kg)维持麻醉。麻醉好后于内踝大隐静脉处注射 740 MBq ^{99m}Tc-TRODAT-1, 2.5~3.0 h 后行 SPECT 脑断层显像。采用胡平^{4]}报道的方法及条件显像。在横断面图像上选取含有清晰纹状体及小脑影像的层面 8~10 层, 应用计算机感兴趣区(region of interesting, ROI)技术, 在图像上分别勾画出左侧纹状体(striatum, ST)及小脑(cerebellum, CB), 右侧 ST 的 ROI 利用左侧 ST 的 ROI 镜像得到。由计算机自动得到各 ROI 内单位面积(cm²)的放射性计数 n 。取 8~10 层平均值, 分别得到左侧 ST、右侧 ST 及 CB 放射性计数的均值 n_{ST} 、 n_{CB} 。左(右)侧纹状体的特异性放射性摄取比值 $r = (n_{ST} - n_{CB}) / n_{CB}$, 两侧纹状体的 $AI = (r_{左} - r_{右}) \times 100 / [(r_{左} + r_{右}) / 2]$ 。

2 结果

2.1 偏侧帕金森病猴模型的行为症状

8 只猴均于末次术后 2~5 d 出现症状: 纳差, 萎靡, 淡漠; 弓背, 面朝下, 甚者俯卧; 动作缓慢且减少, 以患肢明显; 患侧上肢僵硬、下垂不扶笼, 患侧下肢屈曲不着地或少着地, 仅以健肢(右手及右脚)摄食、扶笼及着地; 少见肢体震颤。有的猴有自发左向右旋转。肌注 Apo 后, 7 只帕金森病模型猴出现右向左旋转, 转速 0.14~14.73 圈/min 不等; 1 只帕金森病模型猴无旋转, 表现为持续双手扶笼, 头向左看。上述症状于末次术后 10~30 d 达高峰。

2.2 帕金森病猴的治疗效果

治疗组 4 只帕金森病猴服吡贝地尔后 7~14 d 即可看到症状改善; 3 只帕金森病猴治疗 1 月后症状明显改善, 1 只帕金森病猴治疗 2 月后症状明显改善。有 2 只帕金森病猴有时于服药后 10 余 min 出现短暂的右向左旋转。非治疗组 4 只帕金森病猴症状高峰维持 1~3 月不等, 1 只 1 月, 2 只 2 月余, 1 只 3 月余, 以后症状渐减轻。

2.3 脑 DAT ^{99m}Tc-TRODAT-1 SPECT 显像

2.3.1 正常猴脑显像 8 只猴正常时两侧纹状体的特异性放射性摄取均匀、对称、浓集(图 1A), 双侧放射性摄取比 r 基本对称, $r_{左}$ 为 0.53~2.71, $r_{右}$ 为 0.53~2.85; 两侧纹状体 AI 为 -5.28~6.11(见表 1), 在 0 附近波动。

2.3.2 帕金森病猴脑显像 8 只猴分别经过 2~8 次手术制备成帕金森病猴模型, 均为末次术后才成为帕金森病模型。右侧颈总动脉注射 MPTP 而未成模型猴右侧纹状体的特异性放射性摄取减少(图 1B, 图左为猴脑右侧, 以下同), 右侧放射性摄取比 $r_{右}$ 降低, AI 增大。成为模型猴后(均选末次术后 8 d 的显像结果)右侧纹状体的特异性放射性摄取消失(图 1C), $r_{右}$ 明显降低, 左侧纹状体的特异性放射性摄取也减少, $r_{左}$ 有所下降, AI 显著增大(见表 1)。

2.3.3 治疗组与非治疗组帕金森病猴脑显像 治疗组经吡贝地尔治疗 103~220 d 与非治疗组帕金森病猴右侧纹状体的特异性放射性摄取仍未恢复(图 1D)。治疗组和非治疗组双侧纹状体的 r 同向变化, 右侧改变更明显; 各自与末次术后 8 d 的显像结果比较, 治疗组 4 只帕金森病猴双侧纹状体的特异性放射性摄取比值(r_L 与 r_R) 2 只增加、2 只降低, AI 3 只增加, 1 只明显降低。非治疗组 4 只帕

表 1 正常猴与模型猴脑 DAT SPECT 显像比较

Table 1 The comparison of the results of dopamine transporters SPECT imaging in brain between normal and hemiparkinsonian monkeys

Monkey	Normal monkey			Hemiparkinsonian monkey		
	r_L	r_R	AI	r_L	r_R	AI
1	0.64	0.61	6.11	0.50	0.01	195.75
2	1.52	1.51	0.09	0.76	0.42	56.69
3	2.71	2.85	-5.28	1.32	0.82	46.55
4	1.20	1.21	-0.54	0.43	0.17	87.60
5	0.94	0.92	2.10	0.82	0.30	93.08
6	1.03	1.02	1.02	0.15	0.02	158.19
7	0.53	0.53	0.87	0.83	0.03	185.19
8	0.58	0.59	-2.04	0.56	0.27	69.40

L_L : left; R : right; $r = (n_{ST} - n_{CB}) / n_{CB}$; $r_L = (n_{ST.L} - n_{CB}) / n_{CB}$; $r_R = (n_{ST.R} - n_{CB}) / n_{CB}$; $AI = (r_L - r_R) \times 100 / [(r_L + r_R) / 2]$

金森病猴两侧纹状体的特异性放射性摄取比值 (r_L 与 r_R) 2 只增加, 1 只稍降低, 1 只左侧稍降右侧稍升; AI 4 只均不同程度降低, 其中 2 只明显降低 (见表 1、表 2)。术后相同或相近天数的帕金森病猴, 治疗组中 3 只的 AI 比非治疗组高, 治疗组中 1 只的 AI 比非治疗组低 (见表 2)。

表 2 吡贝地尔治疗与非治疗组 PD 猴脑 DAT 显像结果

Table 2 The DAT imaging results of PD monkeys with or without administration of piribedil

Monkey	t_{op}/d	t_{pi}/d	r_L	r_R	AI
1	142	106	0.74	0.58	25.15
2	162	103	0.47	0.25	61.48
3	205	164	0.40	0.12	106.66
4	261	220	0.73	0.28	87.95
5	142		0.78	0.36	73.30
6	148		0.32	0.18	54.13
7	218		1.04	0.48	73.66
8	225		0.47	0.25	62.50

t_{op}/d : days after operation; t_{pi}/d : days of taking medicine (piribedil); monkey 1 ~ 4: piribedil group; Monkey 5 ~ 8: non-piribedil group

3 讨论

目前对帕金森病的诊断主要依据临床表现、症状对抗帕金森病药物的反应。帕金森病临床症状出现时脑多巴胺能神经元脱失已达 70% ~ 80%, 此时头颅 CT 及 MR 在病变部位并无特殊发现, 肌电图检查也不特异。所以能有一项辅助检查客观

地早期诊断帕金森病并监测病情发展是很有必要的。

3.1 DAT 的位置与功能

DAT 是位于中枢多巴胺能神经元突触前膜的一种膜蛋白, 主要集中在纹状体。其主要功能是将突触间隙多余的多巴胺再摄取回多巴胺能神经元内, 中止多巴胺对突触后膜多巴胺受体的刺激。同时 DAT 还是神经毒素 MPP^+ 进入多巴胺能神经元的转运蛋白。DAT 的多少间接反映了黑质纹状体通路多巴胺能神经元的数量及功能^[5]。DAT 的放射性配体进入体内与之特异性结合, 正常时纹状体有放射性配体的浓集, 双侧摄取对称^[6]; 起病后患侧脑 DAT 的数目减少, 放射性摄取减少, 两侧摄取不对称^[7]。

3.2 脑 DAT ^{99m}Tc-TRODAT-1 SPECT 显像可早期诊断帕金森病

TRODAT-1 是近年新研制出的一种托烷 (tropane) 类衍生物, 能与黑质纹状体多巴胺能神经元末梢突触前膜的脑 DAT 特异结合。它用 ^{99m}Tc 标记, ^{99m}Tc 是核医学检查中最常用的放射性同位素, 它价廉易得、标记方便, 具有适合 SPECT 显像的理想物理显像特性。

从我们的实验可以看出, 正常猴两侧纹状体的特异性放射性摄取对称且非常接近。注射 MPTP 而未成模型猴多次脑 DAT 显像, 两侧纹状体的特异性放射性摄取开始有差别。成为模型猴后 (均选末次术后 8 d 的显像结果) 右侧纹状体的特异性放射性摄取消失, 左侧也有不同程度地降低, 两侧有显著差别。这表明正常猴脑 DAT 双侧对称, 注射 MPTP 而未成模型时已有两侧脑 DAT 的减少及不对称, 右侧甚; 成为帕金森病模型后双侧脑 DAT 进一步减少, 右侧更明显, 两侧显著不对称, 且在早期 (术后 8 d) 即表现出来。另一方面, MPTP 不但引起注射侧脑 DAT 减少, 还会逐渐引起注射对侧脑 DAT 减少, 但程度不同; 即使注射对侧脑 DAT 已经减少, 它所对应的肢体并无明显的症状。这些都说明 ^{99m}Tc TRODAT-1 脑 DAT SPECT 显像可以用于帕金森病的早期诊断及诊断。Frost 等^[1] 用 ¹¹C-WIN35428 行脑 DAT PET 显像证明此法可用于检测帕金森病早期或症状前期多巴胺能神经元的脱失。Seibyl 等^[8] 用 ¹²³I-β-CIT 行脑 DAT SPECT 的研究表明纹状体放射性摄取的减少与症状的严重程度显著相关。我国刘振国等^[9] 的实验

研究及胡平等^[4]的临床研究也证明上述观点。

3.3 抗帕金森病药物对脑 DAT 的影响

抗 PD 药物对脑 DAT 会有什么影响? Dresel 等^[10]通过一次给药发现,左旋多巴可抑制^{99m}Tc TRODAT-1 与正常大鼠脑 DAT 的结合,剂量越大抑制越明显;而多巴胺受体激动剂阿朴吗啡及溴隐亭都未影响^{99m}Tc TRODAT-1 与脑 DAT 的结合。而临床长期、多次、小量给药又会产生怎样的结果呢?

我们用多巴胺受体激动剂中的一种吡贝地尔治疗帕金森病猴 103 ~ 220 d。治疗组及非治疗组猴症状都有改善,治疗组明显较快、较彻底,两组猴双侧纹状体的 *r* 同向变化,右侧改变更明显。与术后 8 d 相比,尽管治疗组帕金森病猴双侧纹状体 *r* 2 只升高、2 只降低,非治疗组 *r* 2 只升高、1 只降低、1 只左侧降右侧升;但是在治疗组 AI 3 只增加、1 只明显降低,在非治疗组 AI 4 只均不同程度降低,其中 2 只明显降低,但都未回复到正常时水平;而且术后治疗相同或相近天数的帕金森病猴的结果也很相似,治疗组中 3 只的 AI 比非治疗组高,1 只的 AI 比非治疗组低。说明两侧纹状体的特异性放射性摄取在非治疗组逐渐接近,而在吡贝地尔治疗组逐渐不同;也就是说非治疗组帕金森病猴双侧脑 DAT 的数量及功能逐渐接近,吡贝地尔治疗后两侧脑 DAT 的数量及功能逐渐不同。从另一个角度推出吡贝地尔可能会影响猴脑 DAT 的数量及功能,似乎起到中性或负面的作用。如果仅起中性作用,这与 Dresel 等^[10]的一次性大量给药结果一致,那么在今后行脑 DAT 显像时无需考虑用药因素。如果起负面作用,宜停吡贝地尔后再行脑 DAT 显像,但能否停药需结合临床,要停多久还需进一步研究。

上述结果来自 8 只帕金森病猴 142 ~ 261d 的实验,限于动物价格昂贵、各组数量较少及观察时间不够长等原因,还需要大量的动物及患者进行更长期和深入的研究。

3.4 展望

总之,脑 DAT 显像有助于帕金森病的早期诊断及诊断,长期吡贝地尔治疗可能会引起猴脑多巴胺能神经元数量的改变。脑 DAT ^{99m}Tc TRODAT-1 SPECT 显像适宜临床常规用于帕金森病的早期诊断,它将为帕金森病的病情监测、药物评价提供一客观、准确的方法。

(本文图 1A ~ D 见封 3 Fig. 1A ~ D Shown in inside back cover)

参考文献:

- [1] Frost J J, Rosier A J, Reich S G, *et al.* Position emission tomographic imaging of the dopamine transporter with ¹¹C-WIN35, 428 reveals marked declines in mild Parkinson's disease[J]. *Ann Neurol*, 1993, 34(3): 423.
- [2] Kung H F, Kim H J, Kung M P, *et al.* Imaging of dopamine transporters in human with technetium-99m TRODAT-1[J]. *Eur J Nucl Med*, 1996, 23(11): 1527.
- [3] 方平, 吴春英, 陈正平, 等. 多巴胺转运蛋白显像剂^{99m}Tc-TRODAT-1 的制备和动物实验[J]. *中华核医学杂志*, 1999, 19(3): 146.
- [4] 胡平, 陈玲, 张海琴, 等. ^{99m}Tc-TRODAT-1 人脑多巴胺转运体显像初步研究[J]. *中国神经精神疾病杂志*, 2000, 26(4): 196.
- [5] Tipton K F, Singer T P. Advances in our understanding of the mechanisms of the neurotoxicity of MPTP and related compounds[J]. *J Neurochem*, 1993, 61(4): 1191.
- [6] 胡笑克, 胡平. 多巴胺转运体放射自显影对帕金森病的初研[J]. *中山医科大学学报*, 1999, 20(1): 39.
- [7] Wenning G K, Donnemiller E, Granata R, *et al.* ¹²³I-β-CIT and ¹²³I-IBZM-SPECT Scanning in Levodopa Naive Parkinson's disease[J]. *Mov Dis*, 1998, 13(3): 438.
- [8] Seibyl J P, Marek K L, Quinlan D, *et al.* Decreased single photon emission computed tomographic [¹²³I] β-CIT striatal uptake correlates with symptom severity in Parkinson's disease[J]. *Ann Neurol*, 1995, 38(4): 589.
- [9] 刘振国, 陈生弟, 方平, 等. 帕金森病功能显像实验研究[J]. *中国神经精神疾病杂志*, 2000, 26(4): 199.
- [10] Dresel S H J, Kung M P, Plossl K, *et al.* Pharmacological effects of dopaminergic drugs on *in vivo* binding of [^{99m}Tc] TRODAT-1 to the central dopamine transporters in rats[J]. *Eur J Nucl Med*, 1998, 25(1): 31.

(编辑 刘清海)

《高级法医学》——最新法医学科研成果荟萃

伍新尧教授主编的《高级法医学》已由郑州大学出版社于 2002 年出版。该书共 23 章 80 万字, 内容覆盖法医病理学、法医临床学、法医物证学、法医毒理学、司法精神病鉴定、法医人类学, 并增加了法庭昆虫学。该书荟萃了近年国内外法医界的最新研究成果, 其中包括国家自然科学基金课题和高等学校与公安部门合作的课题。《高级法医学》选取了法医学中难度大、进展快、内容新的专题, 介绍了国内外法医学界实用的新技术、新理论。其中有些章节的内容是法医学本科专业毕业生, 甚至教师或基层法医工作者未曾接触, 但又必须了解、掌握和接受的新理论知识和技术。法医学专家吴家驹教授等认为这是“我国第一本为培养高层次法医学人才编写的大部头著作”, “是近年来法医界的一本好书。”

(蔡贵庆)

人 BLYS 基因克隆、表达和抗人 BLYS 单克隆抗体的制备 (正文见第 176 页)

Molecular Cloning, Expression of hBLYS and Preparation of Anti-hBLYS Monoclonal Antibody (Text in page 176)

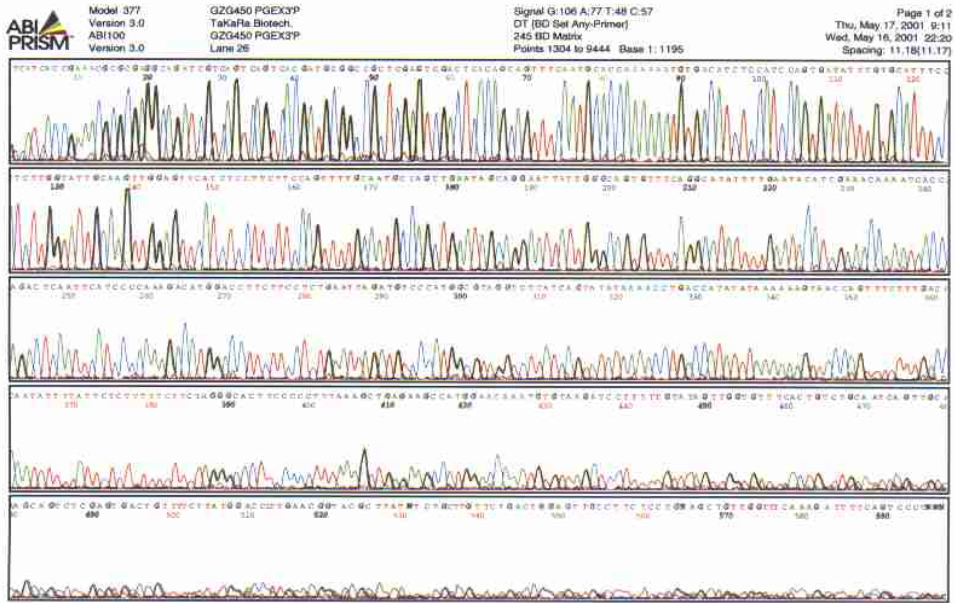


图 1 重组表达质粒 pGEX-4T-1/hBLYS 部分序列测定

Fig. 1 The partial Sequencing results of recombinant expression plasmid pGEX-4T-1/hBLYS

帕金森病猴模型脑多巴胺转运体 SPECT 显像 (正文见第 183 页)

The Dopamine Transporter SPECT Imaging in Hemiparkinsonian Monkeys' Brain (Text in page 183)

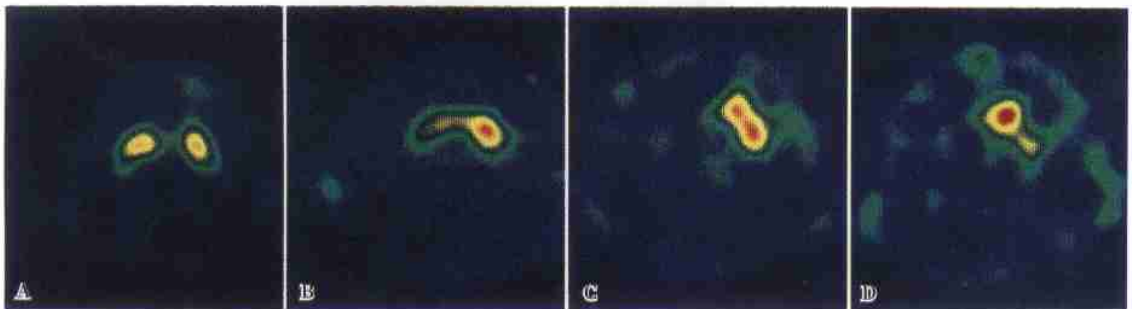


图 1 猴脑 DAT ^{99m}Tc-TRODAT-1 SPECT 显像

Fig. 1 Dopamine transporter SPECT imaging in monkey's brain with ^{99m}Tc-TRODAT-1

A: Showing symmetry and accumulation of the specific radioactivity uptake in bilateral striatum in the normal monkey's brain; B: Showing decrease of the specific radioactivity uptake in right striatum in the brain of MPTP-infusion monkey not being the hemiparkinsonian model; C: Showing lack of the specific radioactivity uptake in right striatum in the brain of MPTP-lesioned hemiparkinsonian monkey; D: After 2 months administration of piribedil, the specific radioactivity uptake didn't recover in bilateral striatum in the brain of hemiparkinsonian monkey comparing with that before treatment