

多巴胺转运体放射自显影对帕金森病的初研^①

胡笑克 胡平

(中山医科大学核医学教研室; 广州, 510089)

摘要 目的: 多巴胺转运体(DAT)是位于多巴胺神经元突触前膜的糖蛋白分子, 在多巴胺的回收中起着重要作用, 与帕金森病密切相关。为进行 β -CIT的核素显像检查打基础, 我们进行了本课题研究。方法: 用 ^{125}I - β -CIT作示踪剂, 进行大鼠脑DTA的放射自显影及时间放射性分布研究。结果: ^{125}I - β -CIT能成功地分布到大脑纹状体部位; 时间放射性分布图象显示纹状体部位与大脑颞叶皮质(靶/非靶)光密度比值的最高值出现在静脉注射示踪剂后20h左右。结论: β -CIT是一种有潜力的DAT显像剂, 其显像的最佳时间在注射后20h左右。这一实验结果为今后进行帕金森病 β -CIT的核素显像检查及其早期诊断打下良好的基础。

关键词 多巴胺转运体; 放射自显影术; 帕金森病/放射性核素显像

中图分类号 R 817.1

The Preliminary Study of Dopamine Transporter Autoradiography in Parkinson's Disease

Hu Xiaoke Hu ping

(Department of Nuclear Medicine, Sun Yat-sen University of Medical Science, Guangzhou, 510089)

Abstract Objective: Dopamine transporter (DAT) is a glycoprotein situated in the presynaptic membrane of Dopamine neuron. It plays a important role in re-uptake of the endogenous Dopamine, and closely relates to the Parkinson's disease. This experiment studied DAT distribution in the brain of rat. **Methods:** DAT and its Time-distribution in the brain of rat were studied by an autoradiographic method using ^{125}I - β -CIT as a tracer. **Results:** This experiment showed the ^{125}I - β -CIT can be effectively concentrated in the striatum. Time-distribution study demonstrated that the maximum striatum/cerebrum ratio is at 20 h after i. v. **Conclusions:** β -CIT is a potential imaging agent of Parkinson's disease, the best imaging time is about 20 h after i. v.. This experiment gives a good basis for ^{125}I - β -CIT image and the early diagnosis of Parkinson's disease.

Subject headings dopamine transporter; autoradiography; Parkinson's disease/radionuclide imaging

目前, 帕金森病(Parkinson's disease, PD)的诊断若主要依靠临床症状和体征, 尚难以对病人作出早期诊断^[1]。多巴胺转运体(dopamine transporters, DAT)是位于多巴胺神经元突触前膜的糖蛋白分子, 在多巴胺的回收过程中起着重要作用, 与PD的发病密切相关。根据国外的研究, 用放射性核素标记的(IR)-2- β -carbomethoxy-3- β -(4-iodophenyl) tropane (β -CIT)进行脑单光子发射计算机断层扫描(single-pho-

ton emission computer tomography, SPECT)可望成为理想的PD早期诊断方法。为给临床医生对PD病人应用SPECT方法作诊断打基础, 我们对大鼠脑DTA的放射自显影及时间放射性分布研究报告如下:

1 材料和方法

①. 国家自然科学基金资助课题, 基金号 39670229

1.1. 试剂与仪器

β -CIT 美国 RBI 公司产品; Na^{125}I 由北京原子能研究所生产; 示踪剂 ^{125}I - β -CIT, 由中国科学院广州分院测试分析研究所标记而成。氚片购自 Amersham 公司。IBAS 2.0 全自动图象分析仪德国 Kontron 公司生产。

1.2 方法

1.2.1 ^{125}I - β -CIT 的标记 采用 Iodogen 法, 标记产物的标记率为 84%, 放射性活度 740 GBq/L, 放射化学纯度 98%。

1.2.2 放射自显影技术^[2] 选用本校实验动物中心提供的 SD 大鼠, 按 3.7 kBq/g 体重静脉注射 ^{125}I - β -CIT, 分别于注射后 1、4、8、16、20、24 h 断头处死动物, 每个时间点各做 5 只大鼠。动物处死后立即取出完整大脑冰冻, 在低温冰冻切片机上, -20°C 条件下制定冠状切片, 切片厚度为 20 μm 。将切片移入暗室, 用接触法将切片标本与氚片贴紧, 置

于含干燥剂的暗盒中, 4°C 条件下曝光 20 d, 经显影、定影处理后, 用计算机图象分析系统进行数据处理及图象分析。

1.3 统计学处理

实验结果采用配对 t 检验。

2 结果

每个时间点 5 只大鼠, 每只大鼠取 4 张相同部位的切片, 即每一时间点得到 20 张平行切片的放射自显影图象。用图象分析仪测量每一时间点的放射自显影像上纹状体部位(靶)及相对应的大脑颞叶皮质部位(非靶)的吸光度值(A), 同时测量每一图片的本底 A 值。每一时间点靶、非靶部位的 A 值(均为减去相应本底 A 后的平均值)及二者的比值(每一时间点的比值为 20 个平行的靶/非靶比值的均值)列于下表。

表 1 不同时间靶与非靶部位的 A 值及其比值

Table 1 The A of target, non target and the ratio of target A/ non-target A (A 值)

Time(t / h)	1	4	8	16	20	24
Target	0.301779	0.089304	0.087647	0.095128	0.069285	0.045477
Nontarge	0.156492	0.042005	0.034787	0.013835	0.005775	0.014919
Ratio	1.943489	2.181731	2.665174	6.974513	13.95208	8.749872

将同一时间点靶与非靶部位的吸光度值作配对 t 检验, 结果 6 个时间点靶与非靶部位的吸光度的差别均有显著性意义 ($P < 0.01$), 结合 6 个时间点靶与非靶的 A 比值均大于 1(见表)进行分析, 可以认为 6 个时间点靶部位的放射性均较非靶部位强。从比值看, 1 h 为 1.94; 以后逐渐增高, 20 h 达到最高, 为 13.95; 24 h 已下降至 8.74。其变化趋势可由图 1 看出。



图 1 A 比值随时间变化的曲线

Fig. 1 The curve of A ratio Chang with time

各时间点的放射自显影图象见图 2。1 h 见放射性均匀分布于整个大脑, 纹状体部位的放射性相对较强, 同时其周围非纹状体部位也有较强的放射性, 说明此时血中放射性的浓度较高。随后, 4 h 至 20 h, 纹状体部位放射性越来越强, 而周围非纹状体部位的放射性逐渐减弱, 说明随着时间的推移, 放射性示踪剂 ^{125}I - β -CIT 与纹状体的特异性结合逐渐升高, 而周围组织非特异性结合的示踪剂则随着血中放射性的清除而减少。20 h 的图象上, 非纹状体部位的影象及整个大脑的轮廓几乎消失, A 值接近本底, 相反纹状体部位的影象却达到最浓, A 比值也达最高。24 h 图象显示纹状体部位影象已经减弱, A 值下降。

从图 2 还可以看出左右两侧纹状体的图象对称, 测得两侧的 A 值也很接近, 经统计学处理左右两侧纹状体 A 值的差别无显著性意义 ($P > 0.05$), 说明正常情况下, 左右两侧纹状体的示踪剂是均匀分布的。



图2 不同时间大鼠脑 ^{125}I - β -CIT放射自显影象

Fig. 2 Time-distribution autoradiography of rat brain with ^{125}I - β -CIT as tracer

3 讨论

PD是慢性神经系统退行性病变,主要是中脑黑质和纹状体的神经介质多巴胺(dopamine DA)减少所致^[3]。当DA能神经元末梢受到刺激,而引起DA自突触前膜的囊泡内释放至突触间隙,并作用于突触后膜相应的DA受体(D1、D2受体)时,这些DA递质也随即向位于突触前膜的DA转运体(Dopamine Transportor DAT)发出将其运回突触前膜的信号。在失活过程中约四分之三的DA由DAT运回突触前膜,以待重新利用或进一步分解。DAT的变化要比受体的变化更为敏感、直接^[4]。DAT的功能活动、密度变化无疑是反映DA递质系统功能的重要指标。有关PD病人DA递质功能显像研究目前主要集中在突触后膜DA受体,突触后膜受体变化为内源性的,是DA递质量的改变所引起的继发改变(超敏或上调),DAT为突触前膜的蛋白质,在DA回收过程中起重要作用,可能是内源性DA递质减少的原因之一。因此DAT研究比DA受体研究更优越,PD病人脑DAT的变化对PD的早期诊断有重要意义。

利用SPECT进行PD早期诊断的研究,关键问题是要找到合适的示踪剂。目前国外研究得比较成功的DAT示踪剂是可卡因系列衍生物,如 β -CIT、 β -CIT-FP、 β -CIT-FE等。 ^{125}I - β -CIT-FP在纹状

体的高峰摄取时间出现在注射后3~4h,而纹状体对 ^{125}I - β -CIT的高峰摄取时间要大于8h,但 ^{125}I - β -CIT-FP对纹状体DAT的特异性结合低于 ^{125}I - β -CIT^[5]。我们的实验用自行标记的 ^{125}I - β -CIT作示踪剂,在大鼠脑内的放射自显影分布研究证明了该示踪剂能成功地分布到脑纹状体部位,注射示踪剂一定时间后能得到纹状体部位的清晰影象,证明 β -CIT是一种有潜力的DAT显像剂。同时,动态时相的发布研究(见图2),发现 ^{125}I - β -CIT在体内有一个由全脑分布(1h)到逐渐浓聚于纹状体(4→20h)部位再逐渐消退(20h以后)的过程。纹状体部位与相应的颞叶大脑皮质(靶/非靶)A比值的最高值(13.95)出现在注射示踪剂后20h,这一结论与文献报道相符^[6]。 ^{125}I - β -CIT在体内有一个随血流与血清素受体结合的过程,这属于非特异性结合,故1h的图象见整个脑切片的影象均较浓,随后与血清素受体非特异性结合的 ^{125}I - β -CIT逐渐随血流清除。纹状体部位 ^{125}I - β -CIT与DAT的结合属于特异性结合,结合量随着时间延长而增加,16~20h左右特异性结合达最高,20h靶/非靶的A比值达到最大。可以认为放射性核素标记的 β -CIT临床显像的最佳时间在20h左右。这一实验研究为我们进一步利用 ^{125}I - β -CIT进行SPECT显像,研究PD的病理病生变化和进行PD的早期诊断打下了良好的基础。

参 考 文 献

- 1 王新德. 帕金森病治疗进展. 脑与神经疾病杂志, 1998, 6(1): 1
- 2 刘鼎新. 放射自显影术. 见: 夏宗勤主编. 实验核医学与核药学. 上海: 同济大学出版社, 1989. 264~288
- 3 郭榕. 帕金森病脑受体显像的研究进展. 国外医学放射医学核医学分册, 1995, 19(3): 114
- 4 林岩松. 中枢多巴胺转运蛋白显像剂研究进展. 国外医学放射医学核医学分册, 1997, 21(1): 1
- 5 Seibyl J P, Wallace E, Smith E O, *et al.* Whole-body biodistribution, radiation absorbed dose and brain SPECT imaging with Iodine- β -CIT in healthy human subject. J Nucl Med, 1994, 35(5): 764
- 6 Asenbaum B S, Kornhuber A J, Hornykiewicz P S, *et al.* Quantification of the Dopaminergic nerve cell loss in Parkinson's disease with ^{123}I labeled β -CIT and SPECT. J Nucl Med, 1994, 35(5): 10

(1998-06-03 收稿 1998-07-16 修回)