

## • 实验研究 Experimental research •

## 微正电子发射断层扫描/CT 扫描对荷人胰腺癌裸鼠组织间近距离放射治疗的早期疗效评估

陆 健, 王忠敏, 陈克敏, 刘 玉, 郑云峰

**【摘要】 目的** 探讨氟-18 标记脱氧葡萄糖 ( $^{18}\text{F}$ -FDG) 微正电子发射型计算机断层扫描/CT 扫描 (Micro-PET/CT) 对  $^{125}\text{I}$  放射性粒子组织间植入治疗人胰腺癌裸鼠移植瘤模型的评估价值。 **方法** 将人胰腺癌 SW1990 细胞株接种于 18 只 BALB/C 裸鼠, 并将荷瘤裸鼠随机分为空白对照组、空载粒子组和  $^{125}\text{I}$  粒子植入组, 每组 6 只。分别于治疗前及治疗后 1 周行  $^{18}\text{F}$ -FDG Micro-PET/CT 检查, 计算最大标准摄取值 (SUV<sub>max</sub>)、平均标准摄取值 (SUV<sub>mean</sub>)。瘤体标本进行胸苷激酶 1 (TK1) 检测细胞增殖及末端脱氧核苷酸转移酶-生物素 dUTP 切口末端标记法 (TUNEL) 检测细胞凋亡。 **结果** 治疗前三组间 SUV<sub>max</sub> 和 SUV<sub>mean</sub> 值差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。治疗后 1 周,  $^{125}\text{I}$  粒子植入组 SUV<sub>max</sub> 和 SUV<sub>mean</sub> 分别为  $0.28 \pm 0.20$  和  $0.02 \pm 0.01$ , 明显低于空白对照组分别为  $(3.54 \pm 1.49)$  和  $(0.59 \pm 0.18)$  和空载粒子组 (分别为  $3.78 \pm 1.67$  和  $0.57 \pm 0.21$ ), 三组间 SUV<sub>max</sub> 和 SUV<sub>mean</sub> 值差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。  $^{125}\text{I}$  粒子植入组 TK1 阳性染色指数为  $37.86 \pm 1.71$ , 明显低于空白对照组 ( $64.01 \pm 1.48$ ) 和空载粒子组 ( $62.88 \pm 2.36$ ), 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ); 而  $^{125}\text{I}$  粒子植入组的凋亡指数为  $23.78 \pm 2.53$ , 明显高于空白对照组 ( $7.99 \pm 1.32$ ) 和空载粒子组 ( $8.36 \pm 1.60$ ), 差异亦有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。 SUV<sub>max</sub> 与 TK1 阳性染色指数呈正相关, 而与凋亡指数呈负相关。 **结论**  $^{18}\text{F}$ -FDG Micro-PET/CT 能有效监测胰腺癌近距离放射治疗的疗效, 是一个有效的评估手段。

**【关键词】** 胰腺癌; 近距离放射治疗; 氟-18 标记脱氧葡萄糖代谢; 微正电子发射计算机断层扫描  
中图分类号: R735.9 文献标志码: B 文章编号: 1008-794X(2012)-07-0574-04

**Micro-PET/CT scanning for evaluating early effect of interstitial brachytherapy in treating transplantation tumor of human pancreatic carcinoma in Balb/c-nu mice** LU Jian, WANG Zhong-min, CHEN Ke-min, LIU Yu, ZHENG Yun-feng. Department of Radiology, Ruijin Hospital Luwan Branch, School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200020, China

Corresponding author: WANG Zhong-min, E-mail: wzm0722@hotmail.com

**【Abstract】 Objective** To discuss the value of  $^{18}\text{F}$ -FDG Micro-positron emission tomography (PET)/computed tomography (CT) in assessing the early therapeutic effect of  $^{125}\text{I}$  interstitial brachytherapy on transplantation tumor of human pancreatic carcinoma in Balb/c-nu mice. **Methods** Xenograft models were established by subcutaneously injecting SW1990 human pancreatic cancer cell suspension into the immunodeficient Balb/c-nu mice. A total of 18 experimental mice were randomly and equally divided into three groups: control group ( $n = 6$ ), ghost seed implant group ( $n = 6$ ) and  $^{125}\text{I}$  seed implant group ( $n = 6$ ). Before treatment and one week after treatment,  $^{18}\text{F}$ -FDG Micro-PET/CT scanning was performed, and then maximum standardized uptake values (SUV<sub>max</sub>), mean standardized uptake values (SUV<sub>mean</sub>), tumor size and necrosis rate were measured. Cell proliferation and apoptosis were monitored in vivo by thymidine kinase 1 (TK1) immunostaining and DUTP-biotin nick end labeling (TUNEL) assay respectively. **Results** Before the treatment no statistically significant difference in SUV<sub>max</sub> and SUV<sub>mean</sub> values existed between each other of

the three groups. One week after the treatment the differences in SUV<sub>max</sub> and SUV<sub>mean</sub> values between each other of the three groups were statistically significant ( $P < 0.05$ ). In  $^{125}\text{I}$  seed implant group the SUV<sub>max</sub> and SUV<sub>mean</sub> values became significantly

基金项目: 上海市卫生局青年科研项目(2010Y010)

DOI: 10.3969/j.issn.1008-794X.2012.07.011

作者单位: 200020 上海交通大学医学院附属瑞金医院卢湾分院放射科(陆 健、王忠敏、陈克敏、郑云峰); 上海交通大学医学院附属第九人民医院放射科(刘 玉)

通信作者: 王忠敏 E-mail: wzm0722@hotmail.com

lower than those determined before the treatment, while in ghost seed implant group and control group the SUVmax and SUVmean values showed no obvious changes when compared to the values obtained before the treatment. Immunohistochemical analysis of the tumor tissues revealed that TK1 cell positive staining index of  $^{125}\text{I}$  seed implant group was  $(37.86 \pm 1.71)$ , which was significantly lower than that of control group  $(64.01 \pm 1.48)$  and that of ghost seed implant group  $(62.88 \pm 2.36)$ , and the differences were statistically significant ( $P < 0.01$ ). The index of apoptosis in  $^{125}\text{I}$  seed implant group was  $(23.78 \pm 2.53)$ , which was significantly higher than that of control group  $(7.99 \pm 1.32)$  and that of ghost seed implant group  $(8.36 \pm 1.60)$ , and the differences were statistically significant ( $P < 0.01$ ). A positive correlation existed between SUVmax value and TK1 cell positive staining index, while SUVmax value bore a negative relationship to the apoptosis index.

**Conclusion**  $^{18}\text{F}$ -FDG Micro-PET/CT scanning can effectively assess the early therapeutic effect of  $^{125}\text{I}$  interstitial brachytherapy on transplantation tumor of human pancreatic carcinoma in Balb/c - nu mice. (J Intervent Radiol, 2012, 21: 574-577)

**【Key words】** pancreatic carcinoma; brachytherapy;  $^{18}\text{F}$ Fluorine-fluorinedeoxyglucose; micro-positron emission tomography and computed tomography

正电子发射断层扫描 (positron emission tomography, PET) 作为一种生物医学研究技术和临床诊断的尖端技术, 被称为“活体生化显像”技术, 它利用核素标记物可以从体外无创、定量、动态地观察人体内的生理、生化变化, 洞察标记物在正常人或患者体内的活动。近年来, PET 开始应用于小动物, 可以展示高变异或有独特价值的动物生理生化信息<sup>[1]</sup>。PET 与 CT 相结合, 是功能影像与结构影像结合的技术。本研究拟通过氟-18 标记脱氧葡萄糖 ( $^{18}\text{F}$ -FDG) Micro-PET/CT 对  $^{125}\text{I}$  植入荷人胰腺癌裸鼠模型的疗效进行早期监测, 探讨 Micro-PET/CT 对胰腺癌近距离放射治疗的评估价值。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要材料及试剂

$^{125}\text{I}$  粒子直径约 0.8 mm, 长约 4.5 mm, 生物半衰期 59.6 d, 辐射 27.4 ~ 31.4 keV 的 X 射线及 35.5 keV 的  $\gamma$  射线, 半价层为 0.25 mm 铅, 由上海欣科医药有限公司提供。胸苷激酶 1 (TK1) 免疫组化检测试剂盒购自深圳华瑞同康生物科技有限公司。末端脱氧核苷酸转移酶-生物素 dUTP 切口末端标记法 (TUNEL) 试剂盒购自 Peomage 公司 (Madison, WI, USA)。

### 1.2 肿瘤模型建立及分组

雄性 BALB/C 裸鼠 18 只, 4 ~ 6 周龄, 体重约 20 g, 由中国科学院上海动物实验中心提供。于裸鼠右下肢旁腹股沟区偏背侧接种  $1 \times 10^7/\text{ml}$  的人胰腺癌 SW1990 细胞株 0.4 ml, 4 ~ 6 周时移植瘤为 8 ~ 10 mm 时进行干预。将 18 只裸鼠随机分为  $^{125}\text{I}$  粒子植入组 (肿瘤内植入 1 粒  $18.5 \times 10^7 \text{ Bq}$  的  $^{125}\text{I}$

粒子)、空载粒子组 (肿瘤内植入 1 粒没有放射学活性的粒子) 和空白对照组, 每组 6 只。治疗时间为 1 周。

### 1.3 $^{18}\text{F}$ -FDG Micro-PET/CT 成像

采用 Inveon PET/CT 扫描仪 (Siemens Healthcare Co, DE) 于治疗前及治疗后 1 周分别进行显像。先行 CT 检查, 扫描参数为 80 kV, 0.5 mA, 曝光时间为 10 min。然后在相同体位进行 PET 检查, 通过尾静脉注射 7.4 MBq  $^{18}\text{F}$ -FDG, 显像剂注射后 1 h 进行延迟显像, 持续采集 20 min。采用 3D 模式采集图像。选取肿瘤最大的层面计算最大标准摄取值 (SUVmax) 和平均标准摄取值 (SUVmean)。

### 1.4 病理标本处理

切 1 小块取自距粒子 5 mm 处及附近标本, 迅速投入预先配好的 4% 甲醛固定液中固定, 石蜡包埋, 切片, 行免疫组化染色检查, 操作按试剂盒说明书进行。细胞核染成棕褐色或棕黄色为 TK1 阳性, 高倍镜 ( $\times 200$ ) 下计数阳性细胞个数及细胞总数, 每张切片数 5 个高倍镜视野。TK1 阳性染色指数 = 阳性细胞数/总细胞数  $\times 100\%$ 。TUNEL 法测定细胞凋亡, 凋亡细胞表现为棕黄色或棕褐色, 胞核染色, 凋亡指数 = 阳性细胞数/总细胞数  $\times 100\%$ 。

### 1.5 统计处理

采用 SPSS17.0 统计软件, 各组数据以  $(\bar{x} \pm s)$  表示, 采用单因素方差分析 (one-way ANOVA)、Student's  $t$  检验及 Pearson 相关分析。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 $^{18}\text{F}$ -FDG Micro-PET/CT 代谢监测

治疗前, 空白对照组、空载粒子组和  $^{125}\text{I}$  粒子植

入组间  $^{18}\text{F}$ -FDG SUV<sub>max</sub> 和 SUV<sub>mean</sub> 差异无统计学意义 ( $F = 0.076$  及  $0.26, P > 0.05$ ); 治疗后, 三组间  $^{18}\text{F}$ -FDG SUV<sub>max</sub> 和 SUV<sub>mean</sub> 差异有统计学意义 ( $F = 40.60$  及  $68.78, P < 0.01$ ),  $^{125}\text{I}$  粒子植入组明显低于其他两组 ( $P < 0.01$ ), 且较治疗前亦明显降低, 但空白对照组与空载粒子组间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 且较治疗前差异亦无统计学意义 ( $P > 0.05$ , 表 1)。治疗前后三组  $^{18}\text{F}$ -FDG Micro-PET/CT 图像见图 1、2。

表 1 治疗前后三组  $^{18}\text{F}$ -FDG SUV<sub>max</sub> 和 SUV<sub>mean</sub> 值比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	治疗前		治疗后	
	SUV <sub>max</sub>	SUV <sub>mean</sub>	SUV <sub>max</sub>	SUV <sub>mean</sub>
空白对照组 ( $n = 6$ )	$2.76 \pm 1.07$	$0.65 \pm 0.21$	$3.54 \pm 1.49$	$0.59 \pm 0.18$
空载粒子组 ( $n = 6$ )	$2.69 \pm 1.0$	$0.61 \pm 0.19$	$3.78 \pm 1.67$	$0.57 \pm 0.21$
$^{125}\text{I}$ 粒子植入组 ( $n = 6$ )	$2.62 \pm 0.95$	$0.60 \pm 0.20$	$0.28 \pm 0.20$	$0.02 \pm 0.01$

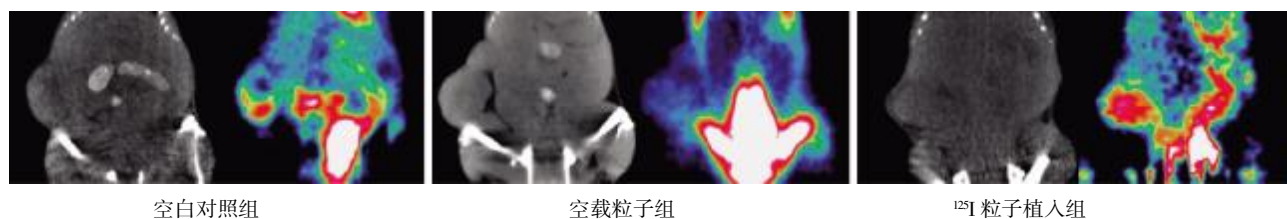


图 1 三组荷瘤裸鼠治疗前 1 周的  $^{18}\text{F}$ -FDG Micro-PET/CT 成像

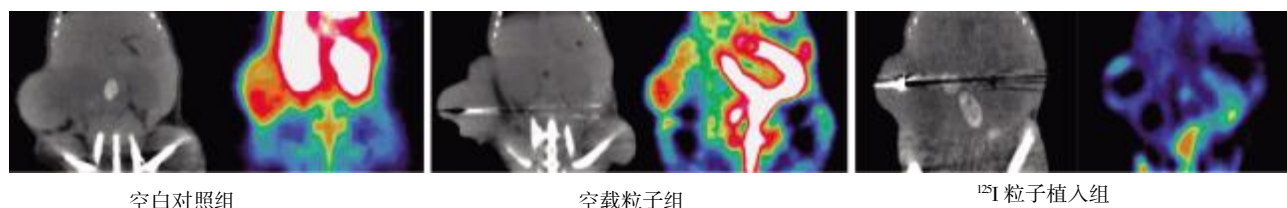


图 2 三组荷瘤裸鼠治疗后 1 周的  $^{18}\text{F}$ -FDG Micro-PET/CT 成像

表 2 三组细胞增殖及细胞凋亡检测比较 ( $n = 6$ )

组别	TK1 阳性染色指数(%)	TUNEL 凋亡指数(%)
空白对照组	$64.01 \pm 1.48$	$7.99 \pm 1.32$
空载粒子组	$62.88 \pm 2.36$	$8.36 \pm 1.60$
$^{125}\text{I}$ 粒子植入组	$37.86 \pm 1.71$	$23.78 \pm 2.53$

治疗后早期 FDG 摄取情况与细胞凋亡的相关性分析显示, SUV<sub>max</sub> 与凋亡指数呈负相关 ( $r = -0.70, P < 0.01$ )。

### 3 讨论

目前, 临床上常以 CT、MRI 等影像学手段通过实体肿瘤反应评估标准 (response evaluation criteria in solid tumors, RECIST) 来评估肿瘤治疗疗效, 然而这需要数周甚至数月才能表现出这种变化<sup>[2]</sup>。对于动物实验来说, 无创的分子影像学检查方法 PET 能

### 2.2 TK1 检测细胞增殖

空白对照组、空载粒子组和  $^{125}\text{I}$  粒子植入组间的 TK1 阳性染色指数差异有统计学意义 ( $F = 1061.17, P < 0.01$ ),  $^{125}\text{I}$  粒子植入组 TK1 阳性染色指数明显小于空白对照组和空载粒子组 ( $P < 0.01$ ), 但空白对照组和空载粒子组间差异无统计学意义 (表 2)。

治疗后早期 FDG 摄取情况与 TK1 的相关性分析显示, SUV<sub>max</sub> 与 TK1 阳性染色指数呈正相关 ( $r = 0.85, P < 0.01$ )。

### 2.3 TUNEL 法测定细胞凋亡

空白对照组、空载粒子组和  $^{125}\text{I}$  粒子植入组间的 TUNEL 凋亡指数差异有统计学意义 ( $F = 404.87, P < 0.01$ )。  $^{125}\text{I}$  粒子植入组凋亡指数明显高于空白对照组和空载粒子组 ( $P < 0.01$ ), 但空白对照组和空载粒子组间差异无统计学意义 (表 2)。

通过生物学进程反映这种变化, 是一种新的定量检测手段。但将临床所用的 PET 用于动物研究, 因受空间分辨率等限制而使其显像效果欠佳, 无法满足动物显像研究的要求。而小动物 PET (Micro-PET) 是专为研究人类疾病的动物模型而设计<sup>[3-4]</sup>, 可在同一动物上进行连续纵向研究, 获得全部时点的整体数据, 可提供正电子核素标记药物在活体内的生物分布、药物代谢动力学等多方面的丰富信息, 有效帮助研究疾病的发病机制, 对疗效评估也有很大的价值。PET 与 CT 相结合, 使病灶的定性、定位准确率大大提高。 $^{18}\text{F}$ -FDG 是用于研究葡萄糖代谢的一种葡萄糖类似物正电子示踪剂, 能很好的用于反映肿瘤疗效<sup>[5]</sup>。在动物实验和临床研究中皆有用  $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT 进行疾病诊断、疗效评估的报道。Park 等<sup>[6]</sup>对人类多形性胶质母细胞瘤裸鼠移植模型以 Micro-PET/CT

作为肿瘤生长和疗效评估,发现 0.2-Gy 低剂量脉冲间歇式放射治疗比常规放射治疗对肿瘤有更好的抑制作用。Ong 等<sup>[7]</sup>建立免疫缺陷小鼠人肝细胞肝癌移植瘤模型,比较纳巴霉素、贝伐单抗、纳巴霉素/贝伐单抗联合治疗,通过 Micro-PET/CT 对 SUV<sub>max</sub> 的监测发现纳巴霉素/贝伐单抗联合用药能达到最好的抑制肿瘤血管生成的效果。

放射性粒子组织间植入治疗胰腺癌在临床上已有较多报道<sup>[8-10]</sup>,本实验利用 <sup>125</sup>I 粒子在衰变过程中发射的  $\gamma$  射线不断地对病变部位进行集中照射,对局部辐射敏感增殖期的肿瘤细胞产生足够的电离辐射生物效应,引起组织细胞损伤,达到有效抑制或破坏病变组织,表现为局部受到连续照射的细胞繁殖能力丧失、代谢紊乱、细胞衰老或死亡。

低剂量的电离辐射产生的活性氧能诱导细胞凋亡<sup>[11]</sup>,活性氧是通过破坏细胞的关键成分,如 DNA、蛋白质和脂质而最终导致细胞凋亡<sup>[12]</sup>。因此,细胞凋亡是 <sup>125</sup>I 粒子组织间植入治疗胰腺癌的一个主要机制。我们的研究发现,<sup>125</sup>I 粒子植入组的凋亡指数明显高于空白对照组和空载粒子组。经 <sup>18</sup>F-FDG Micro-PET/CT 的评估,<sup>125</sup>I 粒子植入后 1 周,SUV<sub>max</sub> 与肿瘤的凋亡指数呈负相关,说明可以通过 SUV<sub>max</sub> 间接监测肿瘤细胞坏死。TK1 是一种嘧啶补救途径的激酶,在 ATP 为供体和镁离子参与条件下,催化脱氧胸苷磷酸化为腺胸苷酸。TK1 与 DNA 的合成和细胞周期密切相关,在肿瘤细胞的 G<sub>1</sub>/S 期交界处开始升高,持续升高到 G<sub>2</sub> 或 M 期,能精确、灵敏地评估肿瘤细胞的增殖程度。检测 TK1 在细胞内的含量对于判别肿瘤的恶性程度、增殖速度有着重要的价值<sup>[13-15]</sup>。本研究结果显示,<sup>125</sup>I 粒子植入组的 TK1 阳性染色指数明显小于空白对照组和空载粒子组,说明 <sup>125</sup>I 粒子能影响肿瘤细胞的增殖。经 <sup>18</sup>F-FDG Micro-PET/CT 的评估,<sup>125</sup>I 粒子植入后 1 周 SUV<sub>max</sub> 与肿瘤的增殖呈负相关,说明可以通过 SUV<sub>max</sub> 间接监测肿瘤细胞的增殖程度。

Micro-PET/CT 具有无创伤、可多次重复、快速成像、可在同一动物获得全部时间点的整体数据等优点,减少了不同实验动物之间的个体差异,用极少的动物获得全面的数据,而且能有效帮助 <sup>125</sup>I 放射性粒子组织间植入治疗胰腺癌的病理及免疫组化研究,探讨其抗肿瘤机制,对疗效能起到早期评估的作用。本组实验也存在一定的不足,诸如实验样本量较小,放射性粒子的治疗没有比较不同剂

量组间的差异等,这将在今后的研究中加以完善。

#### [参 考 文 献]

- [1] 王燕芳,刘力,魏龙,等. 小动物正电子断层扫描仪 (Micro-PET) 技术概述 [J]. 中国体视学与图像分析, 2005, 10: 174 - 175.
- [2] Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1)[J]. Eur J Cancer, 2009, 45: 228 - 247.
- [3] Chatziioannou AF. PET scanners dedicated to molecular imaging of small animal models[J]. Mol Imaging Biol, 2002, 4: 47 - 63.
- [4] Chatziioannou AF. Molecular imaging of small animals with dedicated PET tomographs[J]. Eur J Nucl Med, 2002, 29: 98 - 114.
- [5] Wahl RL, Jacene H, Kasamon Y, et al. From RECIST to PERCIST: evolving considerations for PET response criteria in solid tumors [J]. J Nucl Med, 2009, 50 (Suppl 1): 122S - 150S.
- [6] Park SS, Chunta JL, Robertson JM, et al. MicroPET/CT imaging of an orthotopic model of human glioblastoma multiforme and evaluation of pulsed low-dose irradiation [J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2011, 80: 885 - 892.
- [7] Ong LC, Song IC, Jin Y, et al. Effective inhibition of xenografts of hepatocellular carcinoma (HepG2) by rapamycin and bevacizumab in an intrahepatic model [J]. Mol Imaging Biol, 2009, 11: 334 - 342.
- [8] 王忠敏,黄钢,陈克敏,等. CT 引导下 <sup>125</sup>I 粒子放射性治疗胰腺癌的疗效观察 [J]. 介入放射学杂志, 2009, 18: 668 - 672.
- [9] 陆健,郑云峰,张欢,等. CT 引导下植入 <sup>125</sup>I 粒子治疗 19 例晚期胰腺癌的疗效观察 [J]. 介入放射学杂志, 2010, 19: 550 - 553.
- [10] Wang ZM, Liu Y, Lin FJ, et al. Clinical efficacy of CT-guided iodine-125 seed implantation therapy in patients with advanced pancreatic Cancer[J]. Eur Radiol, 2010, 20: 1786 - 1791.
- [11] Kim SY, Yang ES, Lee YS, et al. Sensitive to apoptosis gene protein regulates ionizing radiation - induced apoptosis [J]. Biochimie, 2011, 93: 269 - 276.
- [12] Pinthus JH, Bryskin I, Trachtenberg J, et al. Androgen induces adaptation to oxidative stress in prostate Cancer: implications for treatment with radiation therapy[J]. Neoplasia, 2007, 9: 68 - 80.
- [13] Mao Y, Wu J, Wang N, et al. A comparative study: immuno-histochemical detection of cytosolic thymidine kinase and proliferating cell nuclear antigen in breast Cancer [J]. Cancer Invest, 2002, 20: 922 - 931.
- [14] Luo P, Wang N, He E, et al. The proliferation marker thymidine kinase 1 level is high in normal kidney tubule cells compared to other normal and malignant renal cells [J]. Pathol Oncol Res, 2010, 16: 277 - 283.
- [15] Mao Y, Wu J, Skog S, et al. Expression of cell proliferating genes in patients with non-small cell lung Cancer by immunohistochemistry and cDNA profiling [J]. Oncol Rep, 2005, 13: 837 - 846.

(收稿日期:2012-02-28)

(本文编辑:侯虹鲁)