

# 分子影像学在干细胞促心肌再生研究中的应用

张成英 吴红金

**【摘要】** 分子影像学能在活体状态下对生物体的细胞和分子水平的生物学过程进行成像、进而进行定性和定量研究。目前,磁共振分子成像、核医学成像和光学分子成像已成功应用于心肌再生的干细胞治疗研究,但每种成像技术都有各自的成像优势和不足。该文主要介绍三种成像手段在心肌再生研究领域中的应用概况及研究成果,便于研究者根据具体的研究目的选择合适的成像手段。

**【关键词】** 分子影像学;干细胞;心肌梗死

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2013.02.014

干细胞移植促进心肌细胞和血管的再生,弥补终末期心血管疾病有功能的心肌细胞的大量减少,恢复心脏功能。分子影像学技术能活体动态示踪干细胞在宿主体内的生存状态,成为再生医学中一种新型的干细胞研究工具。本文就近年来分子成像技术在心肌再生研究中的应用现状及研究结果作一综述,使该技术更好地服务于实验及临床研究。

## 1 分子影像学概述

分子影像学是指在活体状态下,应用影像学的方法对细胞和分子水平生物学过程进行定性和定量研究的一门学科。分子成像的基本原理是将分子探针引入活体细胞内,使分子探针与靶分子特异性结合,利用高精度的成像设备检测分子探针发出的信息,获得活体细胞和分子水平的生物学过程。分子影像学以无创或微创提供活体、实时、定量、可视化的分子信息,而受到广大医学科学工作者的普遍关注。目前磁共振(MR)分子成像、核医学成像及光学分子成像已应用于心肌再生医学研究中,不仅能动态无创监测移植细胞在受体中分布、存活、增殖和分化情况,而且能有效反映心脏的生理及病理变化,在细胞示踪和疗效评价方面取得了一些令人鼓舞的研究成果。

## 2 分子影像技术在心肌再生研究中的应用现状

MR 分子成像、核医学成像及光学分子成像有各自的成像优势和不足。

### 2.1 动物实验研究

分子成像技术已应用于多种活体动物模型的体内成像,包括小鼠、大鼠、猪等,而心肌梗死则最常被用于造模。

MR 成像空间分辨率高,可多次连续成像,能全面显示心脏的形态、结构和功能信息,主要用于心肌内干细胞注射靶位的确定、干细胞的动态示踪及心功能评价。氧化铁纳米粒子是用于细胞示踪的较理想磁共振对比剂,包括超顺磁性氧化铁颗粒(SPIO),超微顺磁氧化铁颗粒(USPIO)和微米级超顺磁性氧化铁颗粒(MPIO)。SPIO 是最常见的干细胞标记物,经冠状动脉内输注或心肌内注射 SPIO 标记的干细胞后 8~10 周,MR 仍可在梗死心肌中检测到标记细胞的存在<sup>[1,2]</sup>。由于 MR 灵敏度低及 SPIO 信号对比度相对不足,不能检测到经静脉注射的干细胞在受体心肌中的分布<sup>[3]</sup>。近年来新发现的 MPIO 具有较大的磁含量,能产生更强的信号对比。MPIO 标记的干细胞注射入大鼠梗死心肌后 16 周,心脏电影 MR 仍可检测到低回声信号<sup>[4]</sup>。另有研究者用 MPIO 成功示踪骨髓腔中的干细胞归巢至梗死心肌,为骨髓干细胞动员及归巢的动力学研究提供了新的技术方法<sup>[5]</sup>。铁纳米颗粒标记干细胞的优点为其半衰期较长,能连续较长时间追踪干细胞,且空间时间分辨率高,但随着细胞的分裂增殖铁颗粒被稀释,且标记细胞死后释放的铁颗粒被其他细胞吞噬影响干细胞示踪的准确<sup>[6]</sup>。MR 报告基因只能在活细胞中表达,与铁纳米颗粒相比具有较高的特异性和一定的灵敏度,其中铁蛋白报告基因已被证实可用于心肌再生研究中干细胞的活体示踪,示踪时间至少为 4 周,但目前还处于早期研究

阶段<sup>[7]</sup>。

与 MR 成像相比,放射性核素成像具有灵敏度高、可定量的优点,主要成像手段有单光子发射计算机断层成像(SPECT)和正电子发射断层成像(PET)。<sup>18</sup>F 标记的脱氧葡萄糖(<sup>18</sup>F-FDG)、<sup>111</sup>铟(<sup>111</sup>In)、<sup>99m</sup>锝(<sup>99m</sup>Tc)和<sup>201</sup>铊(<sup>201</sup>Tl)等为常见的用于干细胞标记的放射性核素,由于其半衰期较短,干细胞的放射性核素标记主要用于移植细胞在体内分布的短期定量研究,它可对移植早期心脏中聚集及向其他器官迁移的干细胞进行精确定量。诸多研究表明,经心肌内、冠状动脉和静脉 3 种路径移植的干细胞早期大量在肺中聚集并向肝、脾等其他器官迁移,而经心肌注射的干细胞在梗死心肌中的分布最多<sup>[8, 9]</sup>,且进一步证实心肌内注射的最佳时间点为心肌梗死后第 7 天<sup>[10]</sup>。核素标记的报告基因显像不受放射性核素衰变的影响,可以进行多次重复显像,能长时间动态观察植入的干细胞在体内的迁移、存活及增殖情况,常见的报告基因有钠/碘同向转运体(NIS)基因、单纯疱疹病毒胸苷激酶(HSV1-tk)及突变型单纯疱疹病毒 I 型胸苷激酶(sr39HSV1-tk)基因等。放射性核素报告基因显像技术与 MR 双重成像,既实现了植入的干细胞生存状态的长期动态监测,还可同时显示干细胞在心脏中分布的解剖学定位和心功能指标<sup>[11]</sup>。Perin 等<sup>[12]</sup>用 sr39HSV1-tk 基因转染骨髓间充质干细胞(MSCs),PET/CT 对注射入猪梗死心肌的 MSCs 示踪长达 5 个月,发现植入 33~35 d 后干细胞增殖达高峰,主要分布于心肌梗死部位并沿心脏淋巴管向主动脉周淋巴结和心肌淋巴结迁移,推测植入的 MSCs 可能向淋巴管内皮募集促进梗死心肌中淋巴系统功能的改善。

核医学显像还能实现心肌血流灌注显像和心肌代谢显像,进而对心肌细胞活性、心肌血流灌注、左室功能等进行精确测量。<sup>201</sup>Tl 及<sup>99m</sup>Tc-甲氧基异丁基异脒(<sup>99m</sup>Tc-MIBI)是心肌血流灌注显像常用的两种药物,代谢成像中常用的药物为<sup>18</sup>F-FDG。Mazo 等<sup>[13]</sup>发现 MSCs 与骨髓单核细胞(MNC)相比,能增加大鼠陈旧性梗死心肌对<sup>18</sup>F-FDG 的摄取,进而更好地降低梗死面积、减少瘢痕组织的形成及促进血运重建,表明对于陈旧性心肌梗死骨髓 MSCs 移植优于 MNC 移植。

光学分子成像具有敏感度高、操作简便、价格相对较低等优点,与其他成像模式相比更受研究者

的青睐,但光学分子成像穿透能力较差,为数毫米到数厘米,因此仅限于小动物模型的研究。由于生物体内组织的自发荧光现象影响荧光成像的特异性,目前生物发光成像较多地用于干细胞生存状态的长期动态监测。据文献报道该成像技术示踪时间长达 32 周<sup>[14]</sup>,萤火虫荧光素酶基因为最常用的报告基因。Li 等<sup>[15]</sup>利用生物发光技术发现移植后 48 h 内骨髓 MSCs 大量死亡,但移植细胞在陈旧性梗死心肌中的存活率高于急性梗死心肌。van der Bogt 等<sup>[16, 17]</sup>进一步比较了不同细胞类型在受体小鼠心脏中的存活情况,发现移植后的骨髓 MSCs、脂肪 MSC、骨成肌细胞及成纤维细胞在受体心脏中大量急性死亡,而骨髓 MNC 能较好存活。生物发光/MR 双重成像既实现了干细胞生存情况的长期追踪,又可显示心脏形态和功能信息<sup>[18]</sup>。Hung 等<sup>[19]</sup>用该技术研究发现,植入心脏的胚胎干细胞(ESCs)在正常心肌组织的存活率优于梗死区及梗死边缘区,但梗死边缘区干细胞注射更有利于心功能的改善。此外,融合报告基因(包括萤火虫荧光素酶基因、单体红荧光蛋白基因和 HSV1-tk)介导的多模式成像也被初步证实可用于干细胞的在体示踪<sup>[20]</sup>。

最近,Wang 等<sup>[21]</sup>用生物发光成像监测了干细胞体内分化情况,该研究用 G/f-Luc 和 C/r-Luc 报告基因转染 MSCs,两种报告基因分别由内皮细胞和干细胞某特定受体激活,将转染后的 MSCs 注射至小鼠心肌梗死边缘区,生物发光技术检测发现移植后 48 h 干细胞分化为内皮细胞,但生物发光信号持续时间不足 50 d,而左室功能改善持续 6 个月以上,表明心功能的长期改善与干细胞的旁分泌机制有关。

## 2.2 临床研究

铁的过多摄入会引起中毒反应,以铁粒子作为对比剂 MR 分子成像还处于临床研究阶段。MR 报告基因成像目前还存在诸多问题尚未解决,也未能在临床上应用。光学分子成像穿透能力差,不能用于临床深部脏器(如心脏)成像,且分子探针作为外来抗原介导的免疫反应限制了人的体内成像<sup>[22]</sup>。

使用示踪量的放射性核素药物不会对人体产生毒副作用,已在临床用于干细胞示踪及心功能评价。如用<sup>18</sup>F-FDG 标记造血干细胞,发现冠状动脉输注的骨髓造血干细胞向梗死心肌的归巢率明显多于冠状动脉或静脉输注的骨髓 MNC<sup>[23]</sup>。用<sup>99m</sup>Tc-d,l-甲基丙二胺肟标记骨髓 MNC,发现急性

心肌梗死患者冠状动脉移植的干细胞向心肌的归巢率明显高于陈旧性心肌梗死患者<sup>[24]</sup>。梗死心肌<sup>99m</sup>Tc-MIBI 和<sup>18</sup>F-FDG 的摄取在 31%~50% 之间的患者,行干细胞治疗后心肌细胞活性和左室功能有明显改善,表明通过放射性核素成像还可以筛选出干细胞移植后最可能收益的患者<sup>[25]</sup>。报告基因介导的放射性核素成像技术目前已应用于基因治疗和细胞治疗中<sup>[26]</sup>,以后可能会应用于干细胞的在体示踪。

### 3 结语

分子影像学技术的发展为心肌再生的干细胞移植研究提供了一种动态无创的监测方法,在移植后干细胞的分布、存活、增殖及分化状况,最优的移植细胞类型、移植途径及时机的选择和疗效的评价等方面取得了一些初步研究成果。但目前的分子成像设备中,没有一种成像手段是完美的,MR 成像具有高空间分辨率,检测深度不受限制,适用于多种动物模型,但敏感性差;放射性核素成像敏感性相对高,但空间分辨率差;光学成像具有高灵敏度,但组织穿透性差,一般仅能用于小动物及临床浅表脏器成像。多模式成像可在一定程度上弥补单一成像模式的不足,成为分子影像学成像技术发展的重要趋势,在心脏的干细胞移植研究中具有更大的应用价值。在心肌再生研究中按要求选择合适的分子成像方法,同时加强该领域内交流与合作,开发出研究所需的分子成像探针,进一步完善干细胞治疗心血管病的基础和临床研究,促使这一治疗模式向临床应用的转化。

### 参 考 文 献

- [1] Kim YJ, Huh YM, Choe KO, et al. In vivo magnetic resonance imaging of injected mesenchymal stem cells in rat myocardial infarction; simultaneous cell tracking and left ventricular function measurement[J]. Int J Cardiovasc Imaging, 2009, 25(Suppl 1): 99-109.
- [2] Yang K, Xiang P, Zhang C, et al. Magnetic resonance evaluation of transplanted mesenchymal stem cells after myocardial infarction in swine[J]. Can J Cardiol, 2011, 27(6): 818-825.
- [3] Li Y, Yao Y, Sheng Z, et al. Dual-modal tracking of transplanted mesenchymal stem cells after myocardial infarction[J]. Int J Nanomedicine, 2011, 6: 815-823.
- [4] Carr CA, Stuckey DJ, Tan JJ, et al. Cardiosphere-derived cells improve function in the infarcted rat heart for at least 16 weeks - an MRI study[J]. PLoS One, 2011, 6(10): e25669.
- [5] Yang Y, Schumacher A, Liu J, et al. Monitoring bone marrow-originated mesenchymal stem cell traffic to myocardial infarction sites using magnetic resonance imaging[J]. Magn Reson Med, 2011, 65(5): 1430-1436.
- [6] Berman SC, Galporthawela C, Gilad AA, et al. Long-term MR cell tracking of neural stem cells grafted in immunocompetent versus immunodeficient mice reveals distinct differences in contrast between live and dead cells[J]. Magn Reson Med, 2011, 65(2): 564-574.
- [7] Campan M, Lionetti V, Aquaro GD, et al. Ferritin as a reporter gene for in vivo tracking of stem cells by 1.5-T cardiac MRI in a rat model of myocardial infarction[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2011, 300(6): H2238-H2250.
- [8] Hou D, Youssef EA, Brinton TJ, et al. Radiolabeled cell distribution after intramyocardial, intracoronary, and interstitial retrograde coronary venous delivery: implications for current clinical trials [J]. Circulation, 2005, 112(9 Suppl): I150-I156.
- [9] Qian H, Yang Y, Huang J, et al. Intracoronary delivery of autologous bone marrow mononuclear cells radiolabeled by 18F-fluoro-deoxy-glucose: tissue distribution and impact on post-infarct swine hearts[J]. J Cell Biochem, 2007, 102(1): 64-74.
- [10] Nakamuta JS, Danoviz ME, Marques FL, et al. Cell therapy attenuates cardiac dysfunction post myocardial infarction; effect of timing, routes of injection and a fibrin scaffold[J]. PLoS One, 2009, 4(6): e6005.
- [11] Higuchi T, Anton M, Dumler K, et al. Combined reporter gene PET and iron oxide MRI for monitoring survival and localization of transplanted cells in the rat heart[J]. J Nucl Med, 2009, 50(7): 1088-1094.
- [12] Perin EC, Tian M, Marini F C 3rd, et al. Imaging long-term fate of intramyocardially implanted mesenchymal stem cells in a porcine myocardial infarction model[J]. PLoS One, 2011, 6(9): e22949.
- [13] Mazo M, Gavira JJ, Abizanda G, et al. Transplantation of mesenchymal stem cells exerts a greater long-term effect than bone marrow mononuclear cells in a chronic myocardial infarction model in rat[J]. Cell Transplant, 2010, 19(3): 313-328.
- [14] Bai X, Yan Y, Coleman M, et al. Tracking long-term survival of intramyocardially delivered human adipose tissue-derived stem cells using bioluminescence imaging[J]. Mol Imaging Biol, 2011, 13(4): 633-645.
- [15] Li SH, Lai TY, Sun Z, et al. Tracking cardiac engraftment and distribution of implanted bone marrow cells: Comparing intra-aortic, intravenous, and intramyocardial delivery[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2009, 137(5): 1225-1233.
- [16] van der Bogt KE, Sheikh AY, Schrepfer S, et al. Comparison of different adult stem cell types for treatment of myocardial ischemia[J]. Circulation, 2008, 118(14 Suppl): S121-S129.
- [17] van der Bogt KE, Schrepfer S, Yu J, et al. Comparison of transplantation of adipose tissue- and bone marrow-derived

- mesenchymal stem cells in the infarcted heart [J]. Transplantation, 2009, 87(5): 642-652.
- [18] Zhang H, Qiao H, Bakken A, et al. Utility of dual-modality bioluminescence and MRI in monitoring stem cell survival and impact on post myocardial infarct remodeling [J]. Acad Radiol, 2011, 18(1): 3-12.
- [19] Hung TC, Suzuki Y, Urashima T, et al. Multimodality evaluation of the viability of stem cells delivered into different zones of myocardial infarction[J]. Circ Cardiovasc Imaging, 2008, 1(1): 6-13.
- [20] Gyongyosi M, Blanco J, Marian T, et al. Serial noninvasive in vivo positron emission tomographic tracking of percutaneously intramyocardially injected autologous porcine mesenchymal stem cells modified for transgene reporter gene expression [J]. Circ Cardiovasc Imaging, 2008, 1(2): 94-103.
- [21] Wang J, Najjar A, Zhang S, et al. Molecular imaging of mesenchymal stem cell: mechanistic insight into cardiac repair after experimental myocardial infarction [J]. Circ Cardiovasc Imaging, 2012, 5(1): 94-101.
- [22] Jeon YH, Choi Y, Kang JH, et al. Immune response to firefly luciferase as a naked DNA[J]. Cancer Biol Ther, 2007, 6(5): 781-786.
- [23] Hofmann M, Wollert KC, Meyer GP, et al. Monitoring of bone marrow cell homing into the infarcted human myocardium[J]. Circulation, 2005, 111(17): 2198-2202.
- [24] Penicka M, Lang O, Widimsky P, et al. One-day kinetics of myocardial engraftment after intracoronary injection of bone marrow mononuclear cells in patients with acute and chronic myocardial infarction[J]. Heart, 2007, 93(7): 837-841.
- [25] Kaminek M, Meluzin J, Panovsky R, et al. Individual differences in the effectiveness of intracoronary bone marrow cell transplantation assessed by gated sestamibi SPECT/ FDG PET imaging[J]. J Nucl Cardiol, 2008, 15(3): 392-399.
- [26] Serganova I, Ponomarev V, Blasberg R. Human reporter genes: potential use in clinical studies[J]. Nucl Med Biol, 2007, 34(7): 791-807.

(收稿: 2012-11-28 修回: 2013-01-22)

(本文编辑: 金谷英)

## • 敬告读者 •

为适应我国信息化建设需要, 扩大作者学术交流渠道及影响, 本刊已加入《中国学术期刊(光盘版)》、《中国核心期刊(遴选)数据库》和《中文科技期刊数据库》, 并已被中国科学技术信息研究所收录为“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊)。如作者不同意将文章编入这些数据库, 请在投稿时声明, 我们将做适当处理。

稿件一经刊用, 将一次性支付作者著作权使用稿酬(包括印刷版、光盘版和信息网络传播权等各种传播方式的报酬), 并赠当期杂志 2 本。

欢迎广大心血管专业医生、研究生投稿, 本刊免收审稿费。

本刊编辑部

## 《国际心血管病杂志》征订启事

《国际心血管病杂志》(原名: 国外医学·心血管疾病分册)是中国科技论文统计源期刊、中国科技核心期刊、卫生系列高级职称评审核心期刊, 也是新闻出版总署打造的中国期刊方阵“双效”期刊、华东地区优秀期刊之一。办刊宗旨为: 执行党和国家的卫生工作政策, 贯彻理论与实践、普及与提高相结合的方针, 及时反映国内外心血管领域临床、科研、防治工作的重大进展, 促进国内外心血管领域学术交流, 服务于心血管专业的中高级临床、教学和科研工作者。

《国际心血管病杂志》为双月刊, 逢单月 25 日出版, 大 16 开本, 全国各地邮局订购, 邮发代号 4-188, 定价 9.00 元, 全年 54.00 元。编辑部常年接受个人邮购, 免收邮寄费。

地址: 200031, 上海市建国西路 602 号《国际心血管病杂志》编辑部

电话: 021-33262055 E-mail: xin\_xg@yahoo.com.cn