

细胞凋亡超声成像早期评估肿瘤治疗反应的研究进展

赵 萍 段云友

摘 要 细胞凋亡在癌症治疗中具有重要作用,是杀死癌细胞的主要途径。监测细胞凋亡情况可以评价药物疗效,评估肿瘤对临床治疗的早期反应。细胞凋亡超声成像对临床了解肿瘤发展变化、指导个体化治疗、判断预后均有重要意义。本文就超声成像在细胞凋亡监测中的研究进展及在早期评估肿瘤治疗反应中的应用进行综述。

关键词 超声成像;细胞凋亡;肿瘤治疗;早期评估

[中图分类号]445.1

[文献标识码]A

Progress of ultrasonic imaging of apoptosis in early assessment of tumor response to therapy

ZHAO Ping, DUAN Yunyou

Department of Ultrasound Medicine, Tangdu Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710038, China

ABSTRACT Cell apoptosis plays an important role in cancer therapy and is the main mechanism to kill cancer cells. Assessment of apoptosis helps to estimate the efficacy of drugs and evaluate of tumor response to therapy in early stage. Ultrasonic imaging of apoptosis will greatly improve the ability of understanding the tumor development, guiding the individualized treatment and predicting the outcome. This paper mainly reviews the progress of ultrasonic imaging of apoptosis and application in early evaluation of tumor response to therapy.

KEY WORDS Ultrasonic imaging; Cell apoptosis; Oncotherapy; Early assessment

目前,癌症是威胁我国人民健康的主要公共问题,也是主要死亡原因。细胞凋亡在癌症治疗中具有重要作用,与癌症的发生发展密切相关^[1]。现有的手术、放疗、化疗、免疫疗法及靶向药物等治疗手段均是以激活细胞凋亡作为杀死癌细胞的主要途径^[2-4],表明实时监测细胞凋亡水平已成为早期评价肿瘤治疗反应的一项指标。影像学成像技术监测细胞凋亡水平有助于临床全面了解肿瘤发展情况,实时指导治疗方案,对预后效果的评估也具有重要意义。本文就超声成像在细胞凋亡监测中的研究进展及在早期评估肿瘤治疗反应中的应用进行综述。

一、高频超声在细胞凋亡中的应用

细胞凋亡的典型特征是细胞皱缩、质膜出泡、细胞器或核膜周围的染色质浓缩、DNA片段化等细胞结构与亚细胞结构的改变^[5]。既往有学者^[6-8]利用超声对组织结构的敏感性检测体内细胞凋亡,显示出良好的效果。Tadayon等^[9]应用高频超声(40~50 MHz)开展细胞死亡诊断研究发现,凋亡区超声反射信号强度最高可增加16倍。由于化疗引起的凋亡组织与周边结构

的声阻抗存在差异,Pasternak等^[10]以高频超声(频率>20 MHz)成像技术定性和定量评估癌细胞的死亡程度和死亡类型,进而评估化疗疗效。尽管以上研究极大地推进了超声成像对细胞凋亡的研究进展,但其使用的超声频率高于大多数临床设备使用频率。换能器频率越高,声波的穿透性就越低,这种超声信号的高度衰减,使穿透深度多为1~5 cm^[11],限制了临床对某些深部肿瘤病变的诊断。最重要的是,高频超声诊断仍基于解剖学水平,显示的是部分分子改变的终效应,并非治疗反应早期的分子水平事件,且缺乏特异性和敏感性,临床应用受限。

二、超声分子成像在细胞凋亡中的应用

超声分子成像是研究活体内具有重要作用的关键蛋白分子成像情况,具有无创、实时、便捷等优势^[12],其成像基础和先决条件是开发具有特异性高、敏感性强、靶向性好的超声分子探针^[13]。基于该原理,超声分子成像评价细胞凋亡的基础就是开发具有靶向凋亡细胞的特异性分子成像探针。以下对不同靶向分子探针在细胞凋亡中的应用进行综述。

基金项目:国家自然科学基金青年项目(81201136);唐都医院苗子人才资助基金(2019MZRC001)

作者单位:710038 西安市,第四军医大学唐都医院超声医学科

通讯作者:段云友,Email:duanyy@fmmu.edu.cn

1. 靶向磷脂酰丝氨酸(PS)的分子探针: PS是细胞膜上的主要磷脂之一,占磷脂总含量的2%~10%^[14]。正常细胞中,PS位于细胞膜内侧,但在细胞凋亡发生早期,PS可从膜内侧翻转到膜表面,暴露于细胞外环境中。因此,PS是暴露于凋亡早期的生物标志物,靶向PS的分子探针已被广泛用于凋亡成像研究。Annexin V(AV,也称Annexin A5)作为一种磷脂结合蛋白,能以Ca²⁺依赖方式以纳米级亲和力与PS高度结合^[14]。Min等^[15]在普通微泡上连接Annexin A5对阿霉素诱导的兔心脏平滑肌细胞进行凋亡监测,结果表明该靶向造影剂能增强治疗早期凋亡的成像效果。Wei等^[16]以人源Her-2阳性乳腺癌接种后的鼠移植瘤为模型,将纳泡连接AV用于凋亡靶向成像,结果显示药物曲妥单抗的疗效良好。2018年,本课题组^[17]以AV为分子探针制备了一种靶向纳米级脂质纳泡AV-Nanobubbles(AV-NBs),用于评价肿瘤对治疗的反应,发现AV-NBs可特异性聚集于顺铂诱导的乳腺荷瘤裸鼠体内异位移植瘤细胞凋亡区,超声靶向分子成像显示凋亡区呈现明显高增强,且AV-NBs在靶区的滞留时间较普通纳泡和声诺维更长;该研究为无创、监测活体抗肿瘤反应,以及早期精准评价疗效提供了参考。Annexin V-128是AV的突变体,其N端包含更多结合位点。相较于AV,Annexin V-128在肾脏的代谢更快,对肾脏毒性作用更低,其N段结构域较AV更长;但二者谁更具优势尚不清楚^[14]。除以上蛋白和抗体类探针外,还有多肽类及小分子类探针也被用于不同成像模式中靶向PS的凋亡成像^[18]。

2. 靶向磷脂酰乙醇胺(PE)的分子探针: PE占细胞膜总磷脂的20%~40%,分布丰度较PS更高^[16]。与PS类似,PE外化到细胞表面是凋亡早期标志,可作为凋亡分子成像的理想靶点。有学者^[19]设计了一种具有靶向PE的分子成像探针,通过巨噬细胞凋亡显像来预测动脉粥样硬化斑块风险及易损性,显示出良好的前景。Duramycin是由19个氨基酸组成的低分子量多肽,对PE敏感性高,靶向结合能力强,在辐射/化疗诱导组织损伤、结直肠癌、乳腺癌及动脉粥样硬化等动物模型中已有研究^[20],其具有极强的靶向凋亡细胞能力,且对肾脏的毒副作用低。但Duramycin尚未被用于超声分子成像领域,具有一定的开发空间。

3. 靶向组蛋白(Histone) H1的分子探针: Histone H1是凋亡早期暴露于细胞表面的一种新的标志物^[14]。Lee等^[21]开发了一种高亲和力的Histone H1结合肽,命名为ATP_{H1},发现其在药物诱导的肿瘤凋亡监测中具有良好效果,且用量低于凋亡靶向肽-1(ApoPep-1)。ApoPep-1是由一种噬菌体展示技术鉴定而得,由6个氨基酸组成的短肽,分子量较小,以Ca²⁺非依赖方式靶向Histone H1,是一种理想的评价早期细胞凋亡的分子影像探针^[21]。研究^[22]表明,ApoPep-1对化疗诱导的肿瘤细胞凋亡检测较AV更敏感。本课题组以ApoPep-1为分子探针设计了一种新的靶向纳泡^[23],生物素化后的ApoPep-1分子量仅为982 Da,较前期使用的AV-NBs稳定性更好,在肿瘤组织内存留时间更长,极大地提高了靶向凋亡区的成像效果,为提高肿瘤治疗反应的评价能力提供了更多实验依据,表明ApoPep-1作为凋亡分子成像探针具有极大优势。

4. 靶向活化的Caspases-3/7的分子探针: Caspase是一组存在

于细胞质中的半胱氨酸蛋白酶,在凋亡的启动和执行中均具有关键作用^[24]。Caspases-3/7是两个重要的执行酶,二者的激活是凋亡成像的理想靶点。由于凋亡细胞膜是完整的,因此,靶向Caspase 3/7的分子探针必须具有细胞膜通透性,才能进入细胞内识别Caspase 3/7,这与靶向胞外凋亡标志物如PS、PE和Histone H1等不同^[14]。目前,已开发的靶向活化Caspases-3/7的探针如WC-II-89、WC-4-116、ICMT-11、ML-10、VAD-FMK、MICA-302、CP-18及C-SNAT等主要在PET中显示出凋亡监测能力^[15,17],其是否能用于超声分子成像领域,尚需今后进一步探索。

三、展望

目前,基于超声分子成像评价细胞凋亡的研究尚处于早期研究阶段,相较于MRI、PET、单光子发射计算机断层成像等凋亡成像研究,靶向凋亡的超声分子探针还有极大的开发空间。细胞凋亡过程涉及多个生物标志物,筛选理想的超声分子探针仍具有挑战。未来,在发挥细胞凋亡不同生物标志物的特性和优势的基础上,开展大量基础研究工作,以充分发掘敏感性和特异性更高、对机体毒副作用更低的超声分子成像探针,将为细胞凋亡超声成像及肿瘤治疗反应的早期评估提供更多选择。

参考文献

- [1] Pistritto G, Trisciuglio D, Ceci C, et al. Apoptosis as anticancer mechanism: function and dysfunction of its modulators and targeted therapeutic strategies[J]. Aging, 2016, 8(4): 603-619.
- [2] Carneiro BA, El-Deiry WS. Targeting apoptosis in cancer therapy[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2020, 17(7): 395-417.
- [3] Galani V, Varouksi A, Papadatos SS, et al. The role of apoptosis defects in malignant mesothelioma pathogenesis with an impact on prognosis and treatment [J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2019, 84(2): 241-253.
- [4] Mortezaee K, Najafi M, Farhood B, et al. Modulation of apoptosis by melatonin for improving cancer treatment efficiency: an updated review[J]. Life Sci, 2019, 228(7): 228-241.
- [5] Hassan M, Watari H, AbuAlmaatya A, et al. Apoptosis and molecular targeting therapy in cancer [J]. Biomed Res Int, 2014, 2014(1): 150845.
- [6] Czarnota GJ. Ultrasound imaging of apoptosis in vivo: effects of subcellular nuclear structure and cell membrane morphology [J]. Ultrasound Med Biol, 2003, 29(5): 117.
- [7] Banihashemi B, Vlad R, Debeljevic B, et al. Ultrasound imaging of apoptosis in tumor response: novel preclinical monitoring of photodynamic therapy effects[J]. Cancer Res, 2008, 68(20): 8590-8596.
- [8] Vangestel C, Peeters M, Mees G, et al. In vivo imaging of apoptosis in oncology: an update[J]. Mol Imaging, 2011, 10(5): 340-358.
- [9] Tadayyon H, Gangeh MJ, Vlad R, et al. Ultrasound imaging of apoptosis: spectroscopic detection of DNA-damage effects in vivo[J]. Methods Mol Biol, 2017, 1644(2): 41-60.
- [10] Pasternak MM, Wirtzfeld LA, Kolios MC, et al. High-frequency ultrasound analysis of post-mitotic arrest cell death[J]. Oncoscience, 2016, 3(3-4): 109-121.
- [11] Vlad RM, Kolios MC, Czarnota GJ. Ultrasound imaging of apoptosis:

- spectroscopic detection of DNA-damage effects at high and low frequencies[J].Methods Mol Biol, 2011, 682(4): 165-187.
- [12] 王志刚. 多功能超声分子探针显像与增效高强度聚焦超声治疗[J]. 临床超声医学杂志, 2017, 19(9): 577-579.
- [13] 孙阳. 超声分子探针围绕精准医学的发展及展望[J]. 临床超声医学杂志, 2020, 22(1): 49-51.
- [14] Rybczynska AA, Boersma HH, de Jong S, et al. Avenues to molecular imaging of dying cells: focus on cancer [J]. Med Res Rev, 2018, 38(6): 1713-1768.
- [15] Min PK, Lim S, Kang SJ, et al. Targeted ultrasound imaging of apoptosis with Annexin A5 microbubbles in acute Doxorubicin-induced cardiotoxicity[J]. J Cardiovasc Ultrasound, 2010, 18(3): 91-97.
- [16] Wei X, Li Y, Zhang S, et al. Ultrasound targeted apoptosis imaging in monitoring early tumor response of trastuzumab in a murine tumor xenograft model of her-2-positive breast cancer (1.) [J]. Transl Oncol, 2014, 7(2): 284-291.
- [17] Zhou T, Cai WB, Yang HL, et al. Annexin V conjugated nanobubbles: a novel ultrasound contrast agent for in vivo assessment of the apoptotic response in cancer therapy [J]. J Control Release, 2018, 276(8): 113-124.
- [18] Zhang DJ, Jin QM, Jiang CH, et al. Imaging cell death: focus on early evaluation of tumor response to therapy [J]. Bioconjug Chem, 2020, 31(4): 1025-1051.
- [19] Tawakol A, Abohshem S, Zureigat H. Imaging apoptosis in atherosclerosis: from cell death, array of light [J]. J Am Coll Cardiol, 2020, 76(16): 1875-1877.
- [20] Chaudhry F, Kawai H, Johnson KW, et al. Molecular imaging of apoptosis in atherosclerosis by targeting cell membrane phospholipid asymmetry [J]. J Am Coll Cardiol, 2020, 76(16): 1862-1874.
- [21] Lee Y, Kim S, Kim D, et al. A histone H1-binding-aptamer-based apoptosis imaging probe for monitoring tumor responses to cancer therapy [J]. Medchemcomm, 2017, 8(2): 390-393.
- [22] Jung HK, Wang K, Jung MK, et al. In vivo near-infrared fluorescence imaging of apoptosis using histone H1-targeting peptide probe after anti-cancer treatment with cisplatin and cetuximab for early decision on tumor response [J]. PLoS One, 2014, 9(6): e100341.
- [23] 赵萍, 马晓菊, 杨恒丽, 等. 携 ApoPep-1 纳米微泡靶向成像评价活体内肿瘤凋亡的实验研究 [J]. 中国医学影像学杂志, 2020, 28(12): 901-906.
- [24] Li J, Yuan J. Caspases in apoptosis and beyond [J]. Oncogene, 2008, 27(48): 6194-6206.

(收稿日期: 2021-01-03)

· 病例报道 ·

Echocardiographic diagnosis of persistent truncus arteriosus in adult : a case report

超声心动图诊断成人永存动脉干 1 例

唐茂玲 唐晶 李玲 顾鹏

[中图法分类号] R540.45

[文献标识码] B

患者女, 39岁, 因进展期直肠癌来我院就诊。自诉既往外院诊断法洛四联症, 未治疗。现我院心电图检查: 窦性心律, 电轴右偏, 肢体导联低电压, 不完全性右束支阻滞。超声心动图检查: 心房正位, 心室右祥, 右房血液进入右室, 左房血液进入左室; 见单一动脉干连接于心室, 骑跨于室间隔上方, 收缩期可见左、右心室血流经半月瓣(三瓣)共同流入骑跨其上的动脉干; 肺动脉主干及左、右分支均显示不清, 主动脉弓及降主动脉向右后下方走行, 显示段未见明显异常分支(图1); ②动脉干瓣下的室间隔连续中断, 可探及双向分流血流信号, 左向右分流峰值流速4.7 m/s, 压差55 mm Hg (1 mm Hg=0.133 kPa), 右向左分流峰值流速2.3 m/s, 压差21 mm Hg; ③舒张期半月瓣见反流血流信号达二尖瓣腱索水平, 反流缩流颈宽约4 mm; 三尖瓣上可探及反流血流信号到达右房中部, 反流速度4.7 m/s, 跨瓣压差88 mm Hg。胸部CT示: 室间隔基底段局部缺损,

主动脉增粗并骑跨于左右心室, 右室壁增厚, 右位主动脉弓(图2)。胸部CTA示: 升主动脉、主动脉弓及降主动脉上段均增粗, 右侧颈总动脉及锁骨下动脉单独发出, 左侧颈总动脉、锁骨下动脉共干并增粗, 左下肺动脉源于增粗的共干动脉, 右肺动脉及左上肺动脉源于降主动脉(图3)。综合上述检查提示: ①永存动脉干Ⅲ型; ②右位主动脉弓。临床会诊建议: 复杂性先天性心脏病: 永存动脉干(失去手术根治机会), 心功能Ⅱ级。患者后行直肠癌根治手术, 术后恢复可。

讨论: 永存动脉干是一种少见的先天性心脏病, 由带有一组半月瓣的单一大动脉起源于心底部, 供应冠状动脉、肺动脉和周围动脉。该畸形是胎儿发育过程中原始动脉干分离失败的结果, 与染色体22q11缺失有关^[1]。永存动脉干通常分为4型^[2]: I型最常见, 肺动脉主干自共同动脉干发出, 分出左、右肺动脉;

(下转第460页)

作者单位: 637000 四川省南充市, 川北医学院(唐茂玲、唐晶); 川北医学院附属医院超声科(李玲、顾鹏)

通讯作者: 顾鹏, Email: Linda2621@sina.com