



实验动物准备对裸鼠移植瘤模型 microPET 显像的影响

周丽娜¹, 高凯², 李肖颖², 梁颖³, 张连峰², 吴宁^{1,3}

- (1. 中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院影像诊断科, 北京 100021;
2. 中国医学科学院北京协和医学院医学实验动物研究所, 卫生部人类疾病比较医学重点实验室, 北京 100021;
3. 中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院 PET-CT 中心, 100021)

【摘要】 目的 探讨实验动物准备条件对¹⁸F-FDG microPET 裸鼠移植瘤模型显像的影响, 以选择最佳的实验动物准备条件。方法 36 只人表皮样癌细胞 A431 裸鼠皮下移植瘤模型。随机分为 6 组(6 只/组); A 组: 无禁食、室温(20~22)℃、无麻醉(注射¹⁸F-FDG 后 60 min 清醒状态)、尾静脉注射¹⁸F-FDG; B 组: 禁食(6~8)h、加温(30~32)℃、麻醉(吸入 2% 异氟烷麻醉)、尾静脉注射¹⁸F-FDG; C 组: 无禁食、加温、麻醉、尾静脉注射¹⁸F-FDG; D 组: 禁食、室温、麻醉、尾静脉注射¹⁸F-FDG; E 组: 禁食、加温、无麻醉、尾静脉注射¹⁸F-FDG; F 组: 禁食、加温、麻醉、腹腔注射¹⁸F-FDG。注射¹⁸F-FDG 约 1 h 后, 行 microPET 显像, 测量皮下移植瘤、颈部肌肉、棕色脂肪、脑、肝脏、肾脏、心脏、哈氏腺最大每克组织摄取率(% ID/g_{max})。扫描前裸鼠均测血糖。结果 (1) B 组、C 组、F 组裸鼠的血糖水平与肿瘤摄取之间均呈直线负相关。(2) 棕色脂肪: A 组摄取最高(8.03 ± 1.29), B 组摄取降低 71.98% (P = 0.000)。颈部肌肉: A 组摄取最高(16.07 ± 5.20), B 组摄取降低最多达 81.84% (P = 0.000)。各组脑、心脏、肝脏、肾脏、哈氏腺摄取差异无统计学意义。(3) A 组皮下移植瘤/组织或器官的摄取率最低。B 组移植瘤/颈部肌肉, 移植瘤/肝脏, 移植瘤/棕色脂肪的摄取率较 A 组分别升高 6.50 倍、1.29 倍、4.76 倍(P 均 < 0.05), 肿瘤与组织或器官的图像对比度明显改善。(4) 第 1 次 microPET 显像, 尾静脉注射与腹腔注射皮下移植瘤摄取值差别无统计学意义(P = 0.364)。第 2 次 microPET 显像, 腹腔注射腹腔可见不同程度显像剂浓聚, 其他正常组织、器官及皮下移植瘤的摄取均减低。腹腔注射方式, 两次皮下移植瘤的摄取值差异有统计学意义(P = 0.025)。结论 实验动物准备明显影响¹⁸F-FDG 在裸鼠正常组织的分布及皮下移植瘤的摄取。禁食、加温、麻醉及尾静脉注射方式, 可以改善肿瘤对¹⁸F-FDG 的摄取, 保证图像有较好的稳定性及可重复性。

【关键词】 异种移植, 裸鼠; 氟脱氧葡萄糖; 正电子发射型断层摄影术, 小动物; 实验动物准备

【中图分类号】 R33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2014) 02-0057-06

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2014.002.013

Effects of animal preparation on the microPET imaging in nude mouse tumor xenografts

ZHOU Li-na¹, GAO Kai², LI Xiao-ying², LIANG Ying³, ZHANG Lian-feng², WU Ning^{1,3}

- (1. Department of Diagnostic Radiology, Cancer Hospital and Institute, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing, 100021, China; 2. Key Laboratory of Human Diseases Comparative Medicine, Ministry of Health; Institute of Laboratory Animal Science, Chinese Academy of Medical Sciences (CAMS) & Comparative Medicine Center, Peking Union Medical College (PUMC), Beijing 100021; 3. PET-CT Center, Cancer Hospital and Institute, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing, 100021)

[基金项目] 重大新药创制项目 [2009ZX09501-026]。

[作者简介] 周丽娜(1982-), 女, 博士, 影像医学与核医学。

[通讯作者] 吴宁(1960-), 女, 教授, 博士生导师, 分子影像与肿瘤影像诊断。

【Abstract】 Objective To investigate the effects of animal preparation on microPET imaging of tumor xenografts in nude mice and optimize the imaging protocol. **Methods** Thirty-six nude mice implanted with human epidermoid carcinoma A431 cells were randomly divided into 6 groups. Group A: no fasting, room temperature (20°C to 22°C), no anesthesia (leaving the animal awake for 60 min after the ¹⁸F-FDG injection), and ¹⁸F-FDG given by i. v. injection. Group B: Fasting (6 to 8 h), warming (30°C to 32°C), anesthesia (inhaling 2% isoflurane anesthesia), and ¹⁸F-FDG given by i. v. injection. Group C: No fasting, warming, anesthesia, and ¹⁸F-FDG given by i. v. injection. Group D: Fasting, room temperature, anesthesia, and ¹⁸F-FDG given by i. v. injection. Group E: Fasting, warming, no anesthesia, and FDG given by i. v. injection. Group F: Fasting, warming, anesthesia, and ¹⁸F-FDG was given by i. p. injection. Serum glucose level was measured before FDG injection. % ID/g_{max} of the subcutaneous tumor, neck muscle, brown adipose tissue, brain, liver, kidney, myocardium, harderian gland of the groups A to F were measured after scanning. **Results** (1) The tumor ¹⁸F-FDG uptake was significantly inversely correlated with glycemia in the groups B, C and F ($P < 0.05$). (2) The ¹⁸F-FDG uptakes in the brown adipose and muscle tissues in the group A were 8.03 ± 1.29 and 16.07 ± 5.20 , respectively. The ¹⁸F-FDG uptakes in the brown adipose and muscle tissues in the group B were decreased by 71.98% and 81.84%, respectively, than that in the group A ($P < 0.05$). The uptake in the cervical muscles was highest in the group A (16.07 ± 5.20), and lowest in the group B, being 81.84% lower than that of the group A ($P = 0.000$). The uptakes by brain, liver, kidney, myocardium and harderian gland were not significantly different among different groups. (3) The tumor-to-organ uptake ratio was lowest in the group A. The tumor-to-muscle, tumor-to-liver and tumor-to-brown fat uptake ratios were 6.5-fold, 1.29-fold and 4.76-fold increased, respectively, in the group B than that in the group A ($P < 0.05$ for all). Under the experimental conditions of group B, the image contrast of tumor and organs was improved. (4) No significant differences were found for tumor ¹⁸F-FDG uptake by different routes of injection in the first scanning ($P = 0.364$). After the second scanning, the ¹⁸F-FDG accumulation in the abdominal cavity by intraperitoneal injection led to a lower uptake of tumor and normal tissues. Significant differences were found for tumor ¹⁸F-FDG uptake by intraperitoneal injection between the first scanning and the second scanning ($P = 0.025$). **Conclusions** Animal preparation has significant effects on the ¹⁸F-FDG biodistribution in normal tissues and the uptake in subcutaneously transplanted tumors. Fasting, warming, anesthesia, intravenous injection can improve the imaging quality and reproducibility.

【Key words】 Xenograft, nude mouse; Fluorodeoxyglucose; Positron emission tomography, animal; Study conditions; Nude mice

¹⁸F-Fluorodeoxyglucose (¹⁸F-FDG, 以下简称 FDG) 是葡萄糖的类似物, 恶性肿瘤由于快速繁殖, 可以较正常组织摄取更多 FDG, 但是其摄取程度也受很多因素影响, 如血糖水平、基础代谢率等^[1]。为保证得到高质量、稳定性和重复性较好的图像, 临床 PET (positron emission tomography) 显像前患者准备已经有了比较公认的条件, 如禁食 6 h (测血糖低于 10 mmol/L), 静脉注射 FDG 安静状态下休息 1 h^[2]。

近年发展的小动物微型 PET (microPET) 在临床前人类肿瘤鼠类模型中的应用越来越广泛, 尤其小动物模型是进行比较医学研究的最新工具, 主要用于观察正常组织代谢、肿瘤模型的发展、转化及生物学特征, 早期评价各类抗肿瘤药物的有效性, 监测不同药物配伍、不同给药浓度的治疗效果等^[3-8]。鼠类的基础代谢率约为人类的 7 倍^[9], 合适的 microPET 显像前实验动物准备条件, 高质量的 microPET 图像是保证临床前活体研究结果可靠性

的关键。本实验主要探讨实验动物准备条件对 FDG microPET 裸鼠移植瘤模型显像的影响, 以选择最佳的实验动物准备条件。

1 材料和方法

1.1 材料

血糖仪 (美国强生稳步型 ONETOUCH SureStep L9262RB00490)。29G1/2 针头 1 mL 一次性使用胰岛素注射器 (insulin syringe, Becton Dickinson and Company)。

1.2 实验动物

BALB/c- nu 裸鼠 36 只, 6~8 周龄, 体重 20 g~22 g, 由中国医学科学院北京协和医学院医学实验动物研究所提供, 合格证号: SCXK (京) 2001-0001。所有实验操作程序均经过实验动物研究所实验动物使用管理委员会批准 (批准号为 GC-09-2001)。

1.3 细胞培养

人表皮样癌细胞 A431 (由中国医学科学院北京

协和医学院医学实验动物研究所提供),用含 10% 胎牛血清,100 IU/mL 青霉素,100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 链霉素的 DMEM 培养基作为肿瘤细胞的培养液,于 5% CO_2 , 37 $^\circ\text{C}$ 细胞培养箱内常规培养,传代 1 周,待细胞长满瓶底。

1.4 裸鼠皮下移植瘤模型的建立

收集处于生长对数期的肿瘤细胞,用 DPBS 稀释至 2×10^7 cells/mL,使用 27G 针头 1 mL 注射器取 0.1 mL 单细胞悬液接种于裸鼠右侧肋部皮下,待肿瘤生长至 $150 \text{ mm}^3 \sim 200 \text{ mm}^3$ 。

1.5 实验动物分组

36 只裸鼠移植瘤模型随机分为 6 组(6 只/组),A 组:无禁食、室温、无麻醉、FDG 尾静脉注射(简称尾静脉注射);B 组:禁食、加温、麻醉、尾静脉注射;C 组:无禁食、加温、麻醉、尾静脉注射。D 组:禁食、室温、麻醉、尾静脉注射;E 组:禁食、加温、无麻醉、尾静脉注射;F 组:禁食、加温、麻醉、腹腔注射。

1.6 实验准备条件

1.6.1 饮食:禁食:裸鼠禁食不禁水(6~8)h。不禁食:裸鼠不禁食水。

1.6.2 血糖:测量血糖:注射前 10 min,尾静脉注射方式者剪趾测量血糖,腹腔注射方式者剪尾测量血糖。

1.6.3 温度:加温:实验开始前 30 min,裸鼠置于鼠盒内放置于棉垫之上,由加温灯加温,盒内温度计显示(30~32) $^\circ\text{C}$ 。扫描过程中将裸鼠置于 32 $^\circ\text{C}$ 恒温扫描板直到扫描结束。室温状态:实验全程不对裸鼠提供任何外在热源,均在室温(20~22) $^\circ\text{C}$ 进行。

1.6.4 麻醉情况:麻醉:即全程麻醉,全程 2% 异氟烷吸入麻醉状态下注射 FDG,静置 1 h 后,行 microPET 显像。无麻醉:指麻醉状态下注射 FDG 后停止吸入麻醉,动物清醒、呈自由活动状态等待 1 h 后扫描。

1.6.5 注射 FDG 方式:尾静脉注射:选择左或右侧尾部静脉中下 2/3~1/2 处,用酒精棉球擦拭小鼠尾巴,使血管扩张,使用 1 mL 注射器注射 FDG。推注过程,无阻力感,无渗出,尾部皮肤无发白肿胀。腹腔注射:右手持 1 mL 注射器,左手的小指和无名指抓住小鼠的尾巴,另外三个手指抓住小鼠的颈部,使小鼠的头部向下,进针时有轻微腹膜突破感。

1.7 仪器与显像药物

小动物 PET-CT (Inveon microPET-CT; Siemens Preclinical Solution USA, Inc.) 由中国医学科学院北京协和医学院医学实验动物研究所提供,FDG 由中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院 PET-CT 中心提供,放化纯度 >97%。

1.8 microPET 显像

(1) A~F 组行第一次 microPET-CT 显像。第二日 B、F 组行再次 microPET 显像。

(2) 图像采集及重建 注射 290 $\mu\text{Ci} \sim 320 \mu\text{Ci}$ FDG 后 60 min,医用胶带将小鼠俯卧位固定于扫描板(根据实验需要决定是否打开恒温装置,以及是否给予持续面罩吸入 2% 异氟烷麻醉),行 microPET 显像。用滤波反投影法(filtered back-projection)进行图像重建。

(3) 利用 IRW (Inveon Research WorkPlace, Siemens) 软件对图像进行分析,采用感兴趣区技术(region-of-interest, ROI) 测量颈部肌肉、棕色脂肪、皮下移植瘤、肝脏、肾脏、心肌、哈氏腺及肠道的最大每克组织摄取率(the percentage injected dose per gram, % ID/g, % ID/g = ROI 放射性活度/注射总放射性活度 $\times 100\%$)。(注:因临床患者个体体重差异较大,临床 PET 一般测量标准摄取值, the standardized uptake value, SUV = ROI 放射性活度/体重/注射总放射性活度 $\times 100\%$,而临床前实验动物个体差异不明显,文献推荐使用 % ID/g^[10])。

1.9 统计学分析

用 SPSS 16.0 软件进行分析,结果以平均值 \pm 标准差表示。双变量相关分析(Pearson correlation coefficients) 分析血糖值与肿瘤摄取值的相关性。对不同组肿瘤、组织及器官的 % ID/g_{max} 数据进行 *t* 检验或方差分析。 $P < 0.05$ 表示有统计学意义。

2 结果

2.1 实验动物血糖

禁食(6~8)h 后,裸鼠血糖水平(4.56 ± 0.89) mmol/L(24 只);无禁食裸鼠血糖水平(6.14 ± 1.03) mmol/L(12 只);各组血糖值分别为:A 组(无禁食、室温、无麻醉、尾静脉注射)血糖值(6.43 ± 1.01) mmol/L;B 组(禁食、加温、麻醉、尾静脉注射)血糖值(4.77 ± 0.78) mmol/L;C 组(无禁食、加温、麻醉、尾静脉注射)血糖值(5.85 ± 1.05) mmol/L;D 组(禁食、室温、麻醉、尾静脉注射)血糖值($5.15 \pm$

0.30) mmol/L; E 组(禁食、加温、无麻醉、尾静脉注射)血糖值(3.68 ± 1.01) mmol/L; F 组(禁食、加温、麻醉、腹腔注射)血糖值(4.67 ± 0.70) mmol/L。B 组裸鼠的血糖与肿瘤摄取(% ID/g_{max})之间呈直线负相关,有统计学意义($r = -0.869, P = 0.025$)。C 组、F 组裸鼠的血糖与肿瘤摄取(% ID/g_{max})之间呈直线负相关,有统计学意义(C 组: $r = -0.831, P = 0.040$; F 组: $r = -0.843, P = 0.035$)。A 组、D 组、E 组裸鼠的血糖与肿瘤摄取(% ID/g_{max})之间相关性无统计学意义(A 组: $r = -0.510, P = 0.301$; D 组: $r = 0.770, P = 0.073$; E 组: $r = -0.079, P = 0.881$)。

2.2 不同准备条件对 FDG 组织分布的影响

不同准备条件 FDG 在裸鼠移植瘤模型中分布的典型 microPET 表现(图 1, 见封三), 各组织 FDG 摄取值(表 1)。

2.2.1 棕色脂肪: A 组摄取最高(8.03 ± 1.29), 其它各组(B ~ E)摄取均低于 A 组, B 组降低 71.98%; C 组降低 60.52%; D 组降低 48.34%; E 组降低 44.39%。D 组和 E 组棕色脂肪摄取差异无统计学意义($P = 0.440$)。

2.2.2 颈部肌肉: A 组摄取最高(16.07 ± 5.20), 其它各组(B ~ E)摄取均低于 A 组, B 组降低

81.84%; C 组降低 79.57%; D 组降低 73.03%; E 组降低 39.52%。B 组较 E 组降低 69.98%。B 组、C 组及 D 组颈部肌肉摄取差异无统计学意义(B vs. C: $P = 0.796$; B vs. D: $P = 0.322$; C vs. D: $P = 0.461$); 其余各组颈部肌肉摄取差异均有统计学意义(A vs. B: $P = 0.000$; A vs. C: $P = 0.000$; A vs. D: $P = 0.000$; A vs. E: $P = 0.000$; B vs. E: $P = 0.000$; C vs. E: $P = 0.000$; D vs. E: $P = 0.001$)。

2.2.3 其他器官: 心脏、肾脏、哈氏腺摄取值波动范围比较大, 肝脏、脑摄取值相对比较稳定, 波动范围比较小(表 1)。

2.3 不同准备条件对皮下移植瘤摄取 FDG 的影响

2.3.1 肿瘤 FDG 摄取: 不同准备条件皮下移植瘤摄取 FDG 变化(表 1)。皮下肿瘤: A 组摄取最低(3.50 ± 0.58), B 组摄取升高 25.53%, C 组摄取升高 21.35%。

2.3.2 肿瘤/组织或器官的摄取率: 不同准备条件下, A 组皮下移植瘤/组织或器官的摄取率最低(表 2), 即肿瘤与组织或器官的图像对比度差。B 组移植瘤/颈部肌肉, 移植瘤/肝脏, 移植瘤/棕色脂肪的摄取率分别升高至 6.50 倍、1.29 倍、4.76 倍。

表 1 不同准备条件尾静脉注射裸鼠移植瘤模型各组织 FDG 摄取值

Tab. 1 FDG uptake of various tissues after intravenous injection under different conditions

分组 Groups	棕色脂肪 Brown fat	颈部肌肉 Neck muscle	脑 Brain	心脏 Heart	肾脏 Kidney	肝脏 Liver	肿瘤 Tumor	哈氏腺 Harderian gland
A 组 Group A	8.03 ± 1.29	16.07 ± 5.20	5.93 ± 0.59	18.92 ± 5.62	10.75 ± 9.49	3.40 ± 0.97	3.50 ± 0.58	16.50 ± 3.52
B 组 Group B	2.25 ± 0.39	2.92 ± 0.61	5.08 ± 0.73	23.60 ± 3.42	15.93 ± 11.40	3.35 ± 0.43	4.70 ± 0.30	19.35 ± 2.83
C 组 Group C	3.17 ± 0.44	3.28 ± 0.70	5.70 ± 0.30	29.20 ± 4.70	11.83 ± 2.67	3.15 ± 0.50	4.45 ± 0.39	20.48 ± 2.66
D 组 Group D	4.15 ± 0.61	4.33 ± 0.86	5.10 ± 0.89	29.38 ± 7.02	15.98 ± 7.40	3.52 ± 0.44	3.73 ± 0.67	18.42 ± 7.77
E 组 Group E	4.47 ± 0.60	9.72 ± 2.62	5.80 ± 0.41	22.57 ± 12.76	14.63 ± 12.08	3.82 ± 0.86	3.82 ± 0.87	18.88 ± 4.76

注: A 组: 无禁食室温无麻醉; B 组: 禁食加温麻醉; C 组: 无禁食加温麻醉; D 组: 禁食室温麻醉; E 组: 禁食加温无麻醉。

Note: Group A: No fasting, room temperature, no anesthesia; Group B: Fasting, warming, anesthesia; Group C: No fasting, warming, anesthesia; Group D: Fasting, room temperature, anesthesia; Group E: Fasting, warming, no anesthesia.

表 2 不同准备条件尾静脉注射皮下移植瘤/组织或器官 FDG 摄取比率

Tab. 2 Tumor-to-organ ratios of FDG uptake in the mice after intravenous injection under different conditions

肿瘤/器官 Tumor/organ	A 组 Group A	B 组 Group B	C 组 Group C	D 组 Group D	E 组 Group E
肿瘤/颈部肌肉 Tumor/neck muscle	0.26 ± 0.18	1.69 ± 0.45	1.42 ± 0.40	0.88 ± 0.19	0.40 ± 0.05
肿瘤/肝脏 Tumor/liver	1.09 ± 0.32	1.41 ± 0.12	1.44 ± 0.28	1.06 ± 0.13	1.03 ± 0.26
肿瘤/棕色脂肪 Tumor/brown fat	0.45 ± 0.11	2.14 ± 0.40	1.43 ± 0.23	0.90 ± 0.13	0.88 ± 0.25

注: A 组: 无禁食室温无麻醉; B 组: 禁食加温麻醉; C 组: 无禁食加温麻醉; D 组: 禁食室温麻醉; E 组: 禁食加温无麻醉。

Note: Group A: No fasting, room temperature, no anesthesia; Group B: Fasting, warming, anesthesia; Group C: No fasting, warming, anesthesia; Group D: Fasting, room temperature, anesthesia; Group E: Fasting, warming, no anesthesia.

表 3 不同注射方式裸鼠移植瘤模型各组织及移植瘤 FDG 摄取值
 Tab. 3 FDG uptake of the tumor and various tissues after intravenous or intraperitoneal injection

注射方法 Injection routes	棕色脂肪 Brown fat	颈部肌肉 Neck muscle	脑 Brain	心脏 Heart	肾脏 Kidney	肝脏 Liver	肿瘤 Tumor	哈氏腺 Harderian gland
尾静脉注射 i. v. injection	2.25 ± 0.39	2.92 ± 0.61	5.08 ± 0.73	23.60 ± 3.42	15.93 ± 11.40	3.35 ± 0.43	4.70 ± 0.30	19.35 ± 2.83
腹腔注射 i. p. injection	3.25 ± 0.74	3.37 ± 0.36	5.38 ± 1.11	21.70 ± 13.91	6.92 ± 1.62	3.40 ± 0.84	3.72 ± 0.44	18.82 ± 2.78

2.4 尾静脉注射及腹腔注射对不同组织及皮下移植瘤 FDG 摄取的影响

第一次 microPET 扫描,在同样准备条件(加温、禁食、麻醉),尾静脉注射及腹腔注射 60 min 后,测量不同组织与皮下移植瘤的 % ID/g_{max} (表 3),进行独立样本 *t* 检验分析:棕色脂肪 ($P = 0.221$)、颈部肌肉 ($P = 0.471$)、脑 ($P = 0.678$)、心脏 ($P = 0.121$)、肾脏 ($P = 0.070$)、肝脏 ($P = 0.100$)、皮下移植瘤 ($P = 0.364$) 及哈氏腺 ($P = 0.673$) 摄取差异无统计学意义。

第二日 microPET 扫描尾静脉注射后,各组织及皮下移植瘤摄取均匀;腹腔注射后,腹腔可见显像剂明显浓聚,各组织及皮下移植瘤摄取均减低(图 2 见封三)。尾静脉注射皮下移植瘤摄取值为 (4.72 ± 0.35);腹腔注射皮下移植瘤摄取值为 (2.18 ± 0.33)。分别将两组皮下移植瘤摄取值与第一次扫描结果分别进行配对 *t* 检验,尾静脉注射方式,两次皮下移植瘤的摄取值差异无统计学意义 ($P = 0.695$);腹腔注射方式,两次皮下移植瘤的摄取值差异有统计学意义 ($P = 0.025$)。

3 讨论

FDG 是葡萄糖的类似物,可以和葡萄糖竞争细胞膜的转运体和磷酸化,血糖水平会影响 FDG 的组织分布和摄取^[11],也会影响肿瘤对 FDG 摄取。Aliaga 等^[10]研究 103 只 Balb/c 小鼠皮下移植乳腺癌模型的血糖与皮下肿瘤 FDG 摄取的关系,发现血糖与肿瘤 FDG 摄取值呈直线负相关 ($P > 0.02$),本研究 B 组(禁食、加温、麻醉、尾静脉注射)、C 组(无禁食、加温、麻醉、尾静脉注射)、F 组(禁食、加温、麻醉、第一次腹腔注射)裸鼠的血糖与肿瘤摄取 (% ID/g_{max}) 之间呈直线负相关,有统计学意义 (B 组: $r = -0.869, P = 0.025$; C 组: $r = -0.831, P = 0.040$; F 组: $r = -0.843, P = 0.035$)。A 组(无禁食、室温、无麻醉、尾静脉注射)、D 组(禁食、室温、麻醉、尾静脉注射)、E 组(禁食、加温、无麻醉、尾静脉注射)裸

鼠的血糖与肿瘤摄取 (% ID/g_{max}) 之间相关性无统计学意义 (A 组: $r = -0.510, P = 0.301$; D 组: $r = 0.770, P = 0.073$; E 组: $r = -0.079, P = 0.881$)。表明在其他条件(加温、麻醉)相同时,血糖与肿瘤 FDG 表现出直线负相关关系,而在其他条件(是否加温、有无麻醉)不同时,血糖与肿瘤 FDG 摄取没有表现出直线负相关关系,提示动物实验中,肿瘤 FDG 摄取受多种因素影响,血糖可能不是唯一影响肿瘤 FDG 摄取的因素,其他条件,例如是否加温、有无麻醉,均可能会影响肿瘤 FDG 摄取。

环境温度会影响人体棕色脂肪对 FDG 的摄取^[12]。室温的基础代谢率高于中心体温时的基础代谢率,鼠类的中心温度位于 30℃ ~ 34℃^[9],且裸鼠皮肤裸露无毛,而室温(21℃ ~ 22℃)明显低于鼠的中心体温,需通过激动棕色脂肪和肌肉产热以保持体温,均会增加棕色脂肪和肌肉对于 FDG 的摄取^[13]。本研究结果,室温条件下棕色脂肪摄取值为 (4.15 ± 0.61),颈部肌肉摄取值为 (4.33 ± 0.86);而加温后,棕色脂肪摄取值为 (2.25 ± 0.39),颈部肌肉摄取值为 (2.92 ± 0.61)。表明加温后棕色脂肪和颈部肌肉的 FDG 摄取均比室温条件降低,使图像本底摄取降低,改善了图像质量。

Lee 等^[14]报道甲苯噻嗪和氯胺酮麻醉会明显升高动物血糖。戊巴比妥钠需腹腔注射麻醉,抓捕过程会激惹动物的情绪,处于应激状态,使血糖升高、肌肉紧张,会明显增加肌肉对 FDG 的摄取^[15]。我们选用对裸鼠激惹较小的异氟烷呼吸麻醉^[16],且可以很好的控制麻醉时间,扫描结束后可以迅速恢复至清醒状态。本研究的经验认为注射 FDG 后等待 1 h 期间,若动物呈清醒、自由活动状态,裸鼠会因为外界环境的各种声响,处于惊恐、紧张的应激状态,增加肌肉的 FDG 摄取。注射 FDG 后全程麻醉状态,可以减少外界因素对动物的激惹,明显降低肌肉的摄取,尤其在禁食、加温、全程麻醉条件下,颈部肌肉摄取降低 81.84%,图像质量明显改善。全程麻醉时动物尿道括约肌处于收缩状态,可

以避免放射性尿液排出沾污腹部皮肤,引起图像伪影,保证实验顺利进行。

本实验发现,在无禁食、室温及无麻醉条件下肿瘤摄取值为 (3.50 ± 0.58) ,而禁食、加温、麻醉条件下皮下肿瘤摄取值为 (4.70 ± 0.30) ,摄取升高 25.53% ($P=0.001$)。在给予动物相应准备条件(禁食、加温、麻醉)比不给予任何准备条件(无禁食、室温及无麻醉),肿瘤摄取有明显变化,表明实验准备条件对于裸鼠移植瘤 FDG 摄取有明显影响,实验准备条件不充分,会直接导致实验结果的偏差。

因鼠尾静脉较细小,增加了尾静脉注射的难度,Fueger 等^[9]提出 FDG 腹腔注射 60 min 后肿瘤的摄取与尾静脉注射相当,本研究第一次 microPET 显像,尾静脉注射与腹腔注射皮下移植瘤 FDG 摄取值差别无统计学意义。但次日再次 microPET 显像,腹腔注射后腹腔可见不同程度显像剂浓聚,其他正常组织、器官分布及皮下移植瘤的摄取均减低,笔者认为腹腔重复注射,容易刺激动物腹膜,引起局部粘连包裹,影响 FDG 进一步吸收再分布。FDG 尾静脉注射较腹腔注射方式图像有可重复性及稳定性,可以真正实现同一动物模型多个不同时间点的活体观察,既减少实验动物的数量又保证实验结果的连续性及稳定性。

本实验表明,实验前动物准备条件对于 FDG 在裸鼠移植瘤模型体内正常组织、器官的分布、皮下移植瘤的摄取有明显影响。禁食、加温、全程吸入麻醉的准备和扫描辅助条件可以明显改善图像对比度。FDG 尾静脉注射方式优于 FDG 腹腔注射方式,能保证图像有较好的可重复性。

本实验探讨了可能影响裸鼠移植瘤 FDG 摄取的各种因素,并加以分析比较,为裸鼠移植瘤模型 microPET 显像提供了比较规范、可靠的实验准备条件,提出 FDG 尾静脉注射方式优于 FDG 腹腔注射方式,microPET 图像有更好的重复性和稳定性,可以真正实现同一动物模型多个不同时间点的活体观察;但本研究只探讨了实验准备条件对 FDG 在裸鼠移植瘤模型体内在正常组织、器官的分布、皮下移植瘤的摄取的影响,未涉及到其他类型的动物及动物模型,实验准备条件对不同类型动物的影响有无差异,有待于进一步研究。

(致谢:在此诚挚感谢清华大学医学院生物医学工程系张辉副教授,胡俊松硕士为本研究恒温板

设计制作所做的辛勤工作)

参考文献:

- [1] Cohade C. Altered biodistribution on FDG-PET with emphasis on brown fat and insulin effect [J]. *Semin Nucl Med*, 2010, 40(4):283-293.
- [2] Boellaard R, O'Doherty MJ, Weber WA, et al. FDG PET and PET/CT; EANM procedure guidelines for tumour PET imaging; version 1.0 [J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2010, 37(1):181-200.
- [3] Toyama H, Ichise M, Liow JS, et al. Absolute quantification of regional cerebral glucose utilization in mice by FDG small animal PET scanning and 2-14C-DG autoradiography [J]. *J Nucl Med*, 2004, 45(8):1398-1405.
- [4] Toyama H, Ichise M, Liow JS, et al. Evaluation of anesthesia effects on 18F FDG uptake in mouse brain and heart using small animal PET [J]. *Nucl Med Biol*, 2004, 31(2):251-256.
- [5] Lapointe D, Brasseur N, Cadorette J, et al. High-resolution PET imaging for in vivo monitoring of tumor response after photodynamic therapy in mice [J]. *J Nucl Med*, 1999, 40(5):876-882.
- [6] Spaepen K, Stroobants S, Dupont P, et al. [18F] FDG PET monitoring of tumour response to chemotherapy: does [18F] FDG uptake correlate with the viable tumour cell fraction? [J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2003, 30(5):682-688.
- [7] Kelloff GJ, Hoffman JM, Johnson B, et al. Progress and promise of FDG-PET imaging for cancer patient management and oncologic drug development [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(8):2785-2808.
- [8] Molthoff CFM, Klabbbers BM, Berkhof J, et al. Monitoring response to radiotherapy in human squamous cell cancer bearing nude mice: comparison of 2'-deoxy-2'-[18 F] fluoro-D-glucose (FDG) and 3'-[18 F] fluoro-3'-deoxythymidine (FLT) [J]. *Mol Imaging Biol*, 2007, 9(6):340-347.
- [9] Fueger BJ, Czernin J, Hildebrandt I, et al. Impact of animal handling on the results of FDG PET studies in mice [J]. *J Nucl Med*, 2006, 47(6):999-1006.
- [10] Aliaga A, Rousseau JA, Cadorette J, et al. A small animal positron emission tomography study of the effect of chemotherapy and hormonal therapy on the uptake of 2-deoxy-2-[F-18] fluoro-D-glucose in murine models of breast cancer [J]. *Mol Imaging Biol*, 2007, 9(3):144-150.
- [11] Roy FN, Beaulieu S, Boucher L, et al. Impact of intravenous insulin on FDG PET in diabetic cancer patients [J]. *J Nucl Med*, 2009, 50(2):178-183.
- [12] Hany TF, Gharehpapagh E, Kamel EM, et al. Brown adipose tissue: a factor to consider in symmetrical tracer uptake in the neck and upper chest region [J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2002, 29(10):1393-1398.

(下转第 69 页)

- 展 [J]. 天津医药, 2013 (9):935-936.
- [7] Akhmetshina A, Palumbo K, Dees C, et al. Activation of canonical Wnt signalling is required for TGF- β -mediated fibrosis [J]. *Nature Commun*, 2012 March 13, 3:375.
- [8] Szapiel SV, Elson NA, Fulmer JD, et al. Bleomycin-induced interstitial pulmonary disease in the nude, athymic mouse [J]. *Am Rev Resp Dis*, 1979, 120(4):893-899.
- [9] 刘涛, 宋良文. 肺纤维化发生的分子机制和早期防治研究进展 [J]. *军事医学科学院院刊*, 2003, 27(4):312-316.
- [10] 靳慧斌, 李智伟. 转化生长因子- β /Smad 信号通路及其在肝纤维化中的作用研究进展 [J]. *山西医药杂志*, 2009, 38(1):37-40.
- [11] Logan CY, Nusse R. The Wnt signaling pathway in development and disease [J]. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2004, 20:781-810.
- [12] Chilosi M, Poletti V, Zamò A, et al. Aberrant Wnt/ β -catenin pathway activation in idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Am J Pathol*, 2003, 162(5):1495-1502.
- [13] 饶翠, 林山力, 文欢, 等. 经典转化生长因子 β /Smad 信号和 Wnt/ β -catenin 信号间的相互作用. *浙江大学学报医学版*, 2013, 42(5):591-596.
- [14] Cook BD, Ferrari G, Pintucci G, et al. TGF- β 1 induces rearrangement of LK-1 VE-cadherin- β catenin complex at the adherens junction through VEGF mediated signaling [J]. *J Cell Biochem*, 2008, 105(6):1367-1373.
- [15] Labbé E, Letamendia A, Attisano L. Association of Smads with lymphoid enhancer binding factor 1/T cell-specific factor mediates cooperative signaling by the transforming growth factor- β and wnt pathways [J]. *Proc Nat Acad Sci*, 2000, 97(15):8358-8363.
- [16] 高建, 刘干, 李俊. 肺成纤维细胞在肺纤维化进程中的作用 [J]. *中国药理学通报*, 2010, 26(9):1125-1128.
- [17] Attisano L, Labbe E. TGF β and Wnt pathway cross-talk [J]. *Cancer and Metastasis Reviews*, 2004, 23(1-2):53-61.

[修回日期] 2013-12-12

(上接第 62 页)

- [13] Saito M, Okamatsu-Ogura Y, Matsushita M, et al. High incidence of metabolically active brown adipose tissue in healthy adult humans [J]. *Diabetes*, 2009, 58(7):1526-1531.
- [14] Lee KH, Ko BH, Paik JY, et al. Effects of anesthetic agents and fasting duration on FDG biodistribution and insulin levels in tumor-bearing mice [J]. *J Nucl Med*, 2005, 46(9):1531-1536.
- [15] Yeung HWD, Grewal RK, Gonen M, et al. Patterns of FDG uptake in adipose tissue and muscle: a potential source of false-positives for PET [J]. *J Nucl Med*, 2003, 44(11):1789-1796.
- [16] Woo SK, Lee TS, Kim KM, et al. Anesthesia condition for FDG imaging of lung metastasis tumors using small animal PET [J]. *Nucl Med Biol*, 2008, 35(1):143-150.

[修回日期] 2013-12-05