

Progresses of amide proton transfer imaging

ZHENG Yang, WANG Xiao-ming*

(Department of Radiology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, China)

[Abstract] Amide proton transfer (APT) imaging technology can assess the changes of protein level and pH within the cells through detection of the exchange rate between the proton of free water and the amide proton of free protein and polypeptide chains. This article reviewed the principle of APT technology and expected its clinical application on neonatal hypoxic-ischemic and other diseases.

[Key words] Magnetic resonance imaging; Amide proton transfer; Hypoxia-ischemia, brain

酰胺质子转移成像研究进展

郑 阳 综述, 王小明* 审校

(中国医科大学附属盛京医院放射科, 辽宁 沈阳 110004)

[摘 要] 酰胺质子转移(APT)成像技术通过探测游离蛋白质及多肽链上的酰胺质子与水中氢质子的交换速率, 评估细胞内蛋白质和酸碱度的变化。本文对 APT 技术原理进行综述, 并展望其在新生儿缺氧缺血性脑病及其他疾病中的临床应用价值。

[关键词] 磁共振成像; 酰胺质子转移; 缺血缺氧, 脑

[中图分类号] R445.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003-3289(2014)08-1256-04

酰胺质子转移(amide proton transfer, APT)是一种从细胞分子水平探测体内蛋白质、多肽浓度及酸碱度的成像方法, 可通过细胞内胞质中游离蛋白质及多肽质子与水中氢质子交换速率的变化^[1], 推断内环境酸碱度及蛋白质和多肽的浓度。本文综述 APT 技术原理并展望其用于检测新生儿缺氧缺血性脑病(hypoxic-ischemic encephalopathy, HIE)脑组织内环境的可行性。

1 APT 技术原理

1.1 APT 技术的基础 APT 技术是化学交换饱和和转移(chemical exchange saturation transfer, CEST)的分支^[2], CEST^[3-4]由磁化传递技术(magnetization transfer, MT)衍生而来。MT 利用偏执射频脉冲饱

和与蛋白质、大分子结合的水中的氢质子, 通过与周围自由水进行快速化学交换, 将与蛋白质、大分子结合的水中的氢质子的一部分能量传递给自由水, 使水部分饱和, 成像信号下降, 即结合水与自由水氢质子进行交换^[5]; CEST 则通过选择性标记内源性或外源性游离大分子中可交换的氢质子, 与自由水交换, 间接探测水信号, 获得组织内信息, 即大分子与自由水进行交换。人体内含有多重蛋白质和自由水, 这些蛋白质含有各种特殊基团, 如羟基、胺基、亚胺基、酰胺基等, 其所处化学环境不同导致主磁场中氢质子的进动频率不同, 利用选择性偏置射频脉冲饱和特定大分子中的氢质子, 在适当的温度和 pH 值下, 特定大分子中的饱和质子会与周围自由水质子进行弥散交换使一部分水质子达到饱和。APT 技术利用射频脉冲饱和游离蛋白质及多肽链上的酰胺质子, 通过采集自由水饱和前与饱和后信号的改变, 间接获得交换速率。

Zhou 等^[6]采集不同频率脉冲下水的信号, 获得一条曲线, 称为 Z 谱, 其两侧呈不对称峰图, 以水峰为中心, 距水峰+3.5 ppm 处为酰胺质子峰, 于+3.5 ppm

[基金项目] 国家自然科学基金(30570541、30770632、81271631)。

[作者简介] 郑阳(1987—), 女, 辽宁沈阳人, 在读硕士。研究方向: 中枢神经系统影像学。E-mail: jingshenbing0702@gmail.com

[通讯作者] 王小明, 中国医科大学附属盛京医院放射科, 110004。

E-mail: wangxm024@163.com

[收稿日期] 2014-04-16 **[修回日期]** 2014-06-09

处施加饱和脉冲后,该处水信号明显下降,提示酰胺质子饱和后,水信号下降,证明存在 APT 效应即酰胺质子与水的交换^[6],通过探测水的信号,即可间接得出体内环境的变化。

与氢质子波谱中定义不同,在 APT 研究中,定义 0 ppm 为水峰,距水峰 +3.5 ppm 为酰胺质子峰,定义 APT 为脉冲施加于水峰两侧距离水峰 3.5 ppm 水信号的差异对比,即:

$$\text{APT} = S_{-3.5 \text{ ppm}} / S_0 - S_{+3.5 \text{ ppm}} / S_0 \quad (1)$$

$S_{-3.5 \text{ ppm}}$ 为加入 -3.5 ppm 饱和脉冲的水信号强度, $S_{+3.5 \text{ ppm}}$ 为加入 +3.5 ppm 饱和脉冲的水信号强度, S_0 为未加饱和脉冲的水信号强度。

1.2 APT 技术探测细胞内蛋白浓度及 pH 值原理

蛋白质参与细胞内很多生理活动,探测细胞内的蛋白质情况对于了解细胞状态尤为重要。然而细胞内蛋白质的浓度较低^[7-8],而细胞内蛋白质的活动范围亦有限,常规 MR 探测细胞内蛋白质较为困难。APT 技术可通过选择性偏置射频脉冲标记细胞内游离蛋白质及多肽上的酰胺质子,使 MR 探测蛋白质成为可能。酰胺质子与水的交换速率应满足一定条件,速度太快则两者的共振峰过近,太慢则不足以有效饱和水,交换速率为 20~30 Hz 时适于进行 APT 探测^[9-11]。APT 利用射频脉冲饱和细胞内游离蛋白质及多肽链酰胺质子后,酰胺质子与水中的氢质子不断进行弥散交换,水中氢质子部分饱和,导致水成像信号下降,通过探测水信号的强度改变,得出交换速率^[6]。

$$\text{APTR} = K(\text{amide proton}) \times [1 - e \times (-R_{1W} t_{\text{sat}})] / 2[H_2O]R_{1W} \quad (2)$$

其中,(amide proton)为酰胺质子浓度; R_{1W} 为水自旋晶格弛豫速率; t_{sat} 为脉冲饱和时间; K 为基础交换速率;APTR 为酰胺质子转移率。

根据公式(2)控制 R_{1W} 、 t_{sat} 、 K 为定量时,APTR 与酰胺质子浓度呈正相关,再根据酰胺质子浓度,计算蛋白质浓度。

有研究^[12]通过³¹P 检测细胞内 pH 值证实 APT 技术获得的酰胺质子与水中氢质子交换速率与细胞内 pH 值相关。APT 效应与细胞内 pH 值的相关性受诸多因素影响^[6],如高碳酸血症时,APTR 可轻微下降,该改变通常较难探测。活体中 APT 效应对于 pH 值的依赖性较小,很可能是由于氨基与多肽在标记过程中丢失所致^[6]。测量交换速率时,活体组织中保持绝对的生理稳定性非常困难,而结合水与自由水亦存在一定交换效应,因此,很多数据需于离体状态下获得,

如假设蛋白质及水的含量不变,并忽略温度对交换速率的影响。Zhou 等^[6]研究表明,离体状态下温度差为 1℃~3℃对 APT 效应的影响可忽略;虽然蛋白质浓度可以影响交换速率,但在细胞功能异常如缺血缺氧的最初阶段,蛋白质浓度变化并不显著,其对交换速率的影响可以忽略^[6]。因此,APT 技术用于检测缺血缺氧情况下细胞内蛋白质浓度时,可近似地认为交换速率取决于体内 pH 值。

有研究^[10,12-13]发现 APT 信号强度和酰胺质子共振的线宽取决于二者氢交换速率,pH 值>5 时该交换由碱催化完成,通过交换速率,可计算组织细胞内的酸碱度,即:

$$K = K_{\text{base}}[\text{OH}^-] = K_{\text{base}} \times 10^{\text{pH} - \text{pK}_w} = 5.57 \times 10^{\text{pH} - 6.4} \quad (3)$$

其中, K_{base} 为碱催化的交换速率,取值为 $5.57 \times 10^9 / \text{s}^{-1}$;37℃下, pK_w 为 15.4。

Zhou 等^[6,14]将 APT 技术用于小鼠大脑中动脉闭塞模型,结果表明 MRI 中病变区 pH 值改变与组织学染色结果一致,缺血前后病变区 pH 值发生明显改变,而酰胺浓度无明显变化,pH 值每改变 0.5 个单位,交换速率变化 50%~70%,提示酰胺质子和水中的氢质子交换速率可评价 pH 值的变化。

2 APT 技术的应用

2.1 新生儿 HIE

新生儿脑部发育需氧量较大,脑部活动所需要的能量大部分来源于葡萄糖有氧代谢^[15]。脑细胞缺氧缺血时,糖有氧分解障碍,能量来源主要依靠糖酵解,糖酵解产生乳酸,可产生酸中毒,进一步导致糖代谢受抑,使 ATP 耗竭,反之加重细胞内酸中毒,造成恶性循环^[16]。正常状态下,体内 pH 值处于动态平衡中,新生儿 HIE 时,局部组织乳酸堆积,加之供氧不足,脑内缓冲能力下降,导致病变部位酸碱度失衡,pH 值超出正常波动范围,影响了组织内物质的代谢及交换。

有氧代谢障碍和随之产生的 pH 值改变是新生儿 HIE 进展的关键,及早诊断、确定病变范围及多角度展现病变具有重要意义,然而检测新生儿 HIE pH 值的改变及明确血流降低的确切部位仍为目前尚未解决的难题之一^[17]。理论上,APT 成像可用于 HIE,从公式(2)、(3)中可知影响酰胺质子与水的交换速率的因素包括酰胺质子浓度及交换速率^[18-19],而交换速率取决于 pH 值,急性缺氧缺血时,酰胺基浓度尚未发生明显改变,APT 效应则主要取决于交换速率,即取决于 pH 值。对常规 MR 检查尚未发现病灶的 HIE,APT 有望

给予早期诊断,这对早期治疗 HIE 非常重要,可避免由于氧化功能障碍及细胞膜的崩解导致的坏死范围进一步扩大,目前已有研究^[14]表明 APT 技术评估缺血后梗死范围较 DWI 与 PWI 更为准确。

2.2 其他疾病 目前可利用 APT 技术对脑肿瘤进行分级,但只限于高级别肿瘤^[20-21]。质子谱研究显示肿瘤级别增高,蛋白质含量增加^[2];脑肿瘤中,忽略细胞内外 pH 值的改变,肿瘤的 APT 效应可以近似认为由细胞质内蛋白质和多肽浓度升高导致,肿瘤级别越高,其内蛋白质水平越高,蛋白质浓度与 APT 效应呈正相关,因此 APT 效应越强^[21]。另外有研究^[2,21]报道 APT 诊断脑肿瘤范围时,其显示的肿瘤范围大于增强 T1WI,这可能由于肿瘤浸润部分 pH 值亦可发生改变,而增强 MRI 仅反映血脑屏障的破坏情况。

3 展望

高场强下 APT 研究,如 4.7T、9.4T 等还仅限于动物实验及模型,目前国内 3.0T 以下 APT 尚未用于临床^[2,6,14,22]。APT 技术应用于临床需优化脉冲频率、时间以及翻转角^[23-24]等,并提高对比度使其更适用于检测较小病灶;另外随射频激发脉冲功率增加,射频激发脉冲所负载的能量部分以热量形式释放出来,可被人体局部吸收,导致体温升高,因此,高场 MR 中,为不引起局部热损伤,还需选择合适的脉冲能量及脉冲时间。

综上所述,APT 利用 MR 从细胞分子水平探测细胞内蛋白质及 pH 值,对诊断新生儿 HIE 有潜在应用价值,对其他疾病的诊治亦可提供更详尽的信息。

[参考文献]

- [1] Zhou J, Yan K, Zhu H. A simple model for understanding the origin of the amide proton transfer MRI signal in tissue. *Appl Magn Reson*, 2012, 42(3):393-402.
- [2] Zhou J, Lal B, Wilson DA, et al. Amide proton transfer (APT) contrast for imaging of brain tumors. *Magn Reson Med*, 2003, 50(6):1120-1126.
- [3] Van Zijl PC, Zhou J, Mori N, et al. Mechanism of magnetization transfer during on resonance water saturation: A new approach to detect mobile proteins, peptides, and lipids. *Magn Reson Med*, 2003, 49(3):440-449.
- [4] Van Zijl PC, Yadav NN. Chemical exchange saturation transfer (CEST): What is in a name and what isn't? *Magn Reson Med*, 2011, 65(4):927-948.
- [5] Henkelman RM, Stanisz GJ, Graham SJ. Magnetization transfer in MRI: A review. *NMR Biomed*, 2001, 14(2):57-64.
- [6] Zhou J, Payen J, Wilson DA, et al. Using the amide proton signals of intracellular proteins and peptides to detect pH effects in MRI. *Nat Med*, 2003, 9(8):1085-1090.
- [7] Kauppinen RA, Kokko H, Williams SR. Detection of mobile proteins by proton nuclear magnetic resonance spectroscopy in the guinea pig brain ex vivo and their partial purification. *Neurochem*, 1992, 58(3):967-974.
- [8] Mori S, Eleff SM, Pilatus U, et al. Proton NMR spectroscopy of solvent saturable resonance: A new approach to study pH effects in situ. *Magn Reson Med*, 1998, 40(1):36-42.
- [9] Zhou J, Wilson DA, Sun PZ, et al. Quantitative description of proton exchange processes between water and endogenous and exogenous agents for WEX, CEST, and APT experiments. *Magn Reson Med*, 2004, 51(5):945-952.
- [10] Jokivarsi KT, Grohn HI, Grohn OH, et al. Proton transfer ratio, lactate, and intracellular pH in acute cerebral ischemia. *Magn Reson Med*, 2007, 57(4):647-653.
- [11] Sun PZ, Benner T, Copen WA, Sorensen AG. Early experience of translating pH-weighted MRI to image human subjects at 3 Tesla. *Stroke*, 2010, 41(10 suppl):147-151.
- [12] Hapuarachchi T, Moroz T, Bainbridge A, et al. Modelling blood flow and metabolism in the piglet brain during hypoxia-ischaemia: Simulating pH changes. *Adv Exp Med Biol*, 2013, 798:331-337.
- [13] Englander SW, Downer NW, Teitelbaum H. Hydrogen exchange. *Annu Rev Biochem*, 1972, 41:903-924.
- [14] Sun PZ, Zhou J, van Zijl PC, et al. Detection of the ischemic penumbra using pH-weighted MRI. *Cereb Blood Flow Metab*, 2007, 27(6):1129-1136.
- [15] Amaral AI, Teixeira AP, Martens S, et al. Metabolic alteration induced by ischemia in primary cultures of astrocytes: Merging ¹³C-NMR spectroscopy and metabolic flux analysis. *Neurochem*, 2010, 113(3):735-748.
- [16] Wang H, Wang X, Guo Q. The correlation between DTI parameters and levels of AQP-4 in the early phases of cerebral edema after hypoxic-ischemic reperfusion injury in piglets. *Pediatr Radiol*, 2012, 42(8):992-999.
- [17] 伍彩云, 刘国瑞. 新生儿脑缺氧缺血半暗带的功能磁共振成像研究进展. *中国医学影像技术*, 2006, 22(7):1121-1124.
- [18] Sun PZ, Zhou J, Huang Judy, et al. Simplified quantitative description of amide proton transfer (APT) imaging during acute ischemia. *Magn Reson Med*, 2007, 57(2):405-410.
- [19] Sun PZ, Wang E, Cheung JS. Imaging acute ischemic tissue acidosis with pH-sensitive endogenous amide proton transfer (APT) MRI—correction of tissue relaxation and concomitant RF irradiation effects toward mapping quantitative cerebral tissue PH. *Neuroimage*, 2012, 60(1):1-6.
- [20] Zhao X, Wen Z, Zhang G, et al. Three-dimensional turbo-spin-echo amide proton transfer MR imaging at 3-tesla and its application to high-grade human brain tumors. *Mol Imaging Biol*, 2013, 15(1):114-122.

- [21] Zhou J, Blakeley JO, Hua J, et al. A practical data acquisition method for human brain tumor amide proton transfer (APT) imaging. *Magn Reson Med*, 2008, 60(4):842-849.
- [22] Kintner DB, Anderson MK, Fitzpatrick JH, et al. ³¹P-MRS-based determination of brain intracellular and interstitial pH: Its application to in vivo H⁺ compartmentation and cellular regulation during hypoxic-ischemic conditions. *Neurochem Res*, 2000, 25(9-10):1385-1396.
- [23] Zhou J, Payen J, van Zijl PC. The interaction between magnetization transfer and blood-oxygen level-dependent effects. *Magn Reson Med*, 2005, 53(2):356-366.
- [24] Sun PZ, van Zijl PC, Zhou J. Optimization of the irradiation power in chemical exchange dependent saturation transfer experiments. *Magn Reson*, 2005, 175(2):193-200.

Huge benign neurilemmoma of uterine broad ligament: Case report 子宫阔韧带巨大良性神经鞘瘤 1 例

李永华, 李彦, 杨光, 董国庆, 冯海涛
(涿州市医院影像科, 河北涿州 072750)

[Key words] Broad ligament; Neurilemmoma [关键词] 阔韧带; 神经鞘瘤
[中图分类号] R737.3; R445 [文献标识码] B [文章编号] 1003-3289(2014)08-1259-01



图 1 子宫阔韧带巨大良性神经鞘瘤 A. CT 平扫; B. CT 增强扫描动脉期; C. 病理图(HE, ×100)

患者女, 61 岁, 主因“左下腹隐痛伴排便困难 1 年余”入院。查体: 左下腹轻压痛, 无反跳痛及肌紧张, 移动性浊音(-)。专科检查: 宫颈举痛(+), 于阴道内侧 1 cm 处可触及一中等硬度实性肿物, 约 10 cm × 10 cm, 边界不清, 未见宫颈正常形态。肿瘤标志物检查未见异常。CT: 平扫(图 1A)见子宫左后方一囊实性肿块, 约 13.9 cm × 13.2 cm × 9.6 cm, 边界清楚, 包膜完整, 部分分叶, 与子宫颈部及左侧子宫阔韧带关系密切, 膀胱受压右移, 直肠受压右移, 病灶与膀胱及直肠结构脂肪间隙清晰; 增强扫描动脉期(图 1B)病灶内见多条迂曲的滋养血管, 病灶实性部分明显强化, 并可见无强化的囊变坏死区, 静脉期病灶实性部分持续强化。CT 诊断: 盆腔囊实性占位, 考虑子宫颈部浆膜下肌瘤囊性变可能。完善相关检查后行盆腔肿物切除术。术中于左侧阔韧带见一约 18 cm × 15 cm × 15 cm 的椭圆形实性

肿物, 质软, 与宫颈关系密切; 切开左侧阔韧带后叶暴露瘤体后钝性分离并完整剥离瘤体; 术后切开瘤体, 其内可见分隔, 部分色黄, 呈豆渣样改变, 质地稍脆, 部分液化, 内见淡粉色清亮液体。病理检查(图 1C): 肿瘤细胞排列紧密呈栅栏状, 交叉束状排列, 瘤细胞核为杆状形, 两端钝圆, 有小核仁, 无核分裂。免疫组化: S-100(+++), SMA(-), CD68(泡沫细胞+++), EMA(-)。病理诊断: (左侧阔韧带)良性神经鞘瘤。

讨论 神经鞘瘤是一种起源于神经纤维膜雪-旺细胞的肿瘤, 多为良性, 偶见恶性者。腹膜后神经鞘瘤多发生于脊柱旁或骶骨前, 临床症状及影像表现很不典型, 术前诊断困难, 确诊有赖于病理学检查。本例发生于左侧子宫阔韧带, 病灶包膜完整, 与周围脏器脂肪间隙清晰, 周围组织、器官明显受压移位, 患者排便困难症状系因肿瘤压迫直肠所致。盆腔圆形或卵圆形肿块, 有蒂伸入骶内, 是盆腔神经鞘瘤 MRI、CT 的典型表现, 有助于与骨源性肿瘤、转移瘤相鉴别。发生于子宫阔韧带的神经鞘瘤还应与阔韧带肌瘤及原发于阔韧带肉瘤相鉴别。良性神经鞘瘤临床以手术切除为主, 本例肿瘤切除术后随访半年未见复发。

[作者简介] 李永华(1977—), 男, 河北涿州人, 本科, 主治医师。

E-mail: liyonghua128@163.com

[收稿日期] 2014-02-10 [修回日期] 2014-05-22