

¹⁸F-FDG PET/CT 技术监测雷公藤甲素对类风湿关节炎模型大鼠关节损伤的改善作用^Δ

冯悦^{1*}, 钟萌², 罗见春², 万胜利², 叶云², 陈跃¹(1. 西南医科大学附属医院核医学科, 四川泸州 646000; 2. 西南医科大学附属医院药学部, 四川泸州 646000)

中图分类号 R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)22-3059-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.22.08

摘要 目的: 建立监测雷公藤甲素对类风湿关节炎模型大鼠关节损伤改善作用的方法。方法: 将 18 只 SD 大鼠随机分为正常对照组(0.9%氯化钠溶液)、模型组(0.9%氯化钠溶液)、雷公藤甲素组(0.5 mg/kg), 每组 6 只。模型组和雷公藤甲素组大鼠尾根部皮下注射不完全弗氏佐剂-鸡Ⅱ型胶原蛋白(1:1, V/V) 0.1 mL 进行初次免疫, 7 d 后进行第二次免疫, 以建立类风湿关节炎模型。造模成功后各给药组大鼠均尾静脉注射相应药物, 正常对照组和模型组大鼠均给予等体积 0.9%氯化钠溶液, 每 2 d 1 次, 连续 30 d。分别于给药前(0 d)和给药 5、10、15、20、25、30 d 后称定大鼠体质量; 于给药前(0 d)和给药 3、6、9、12、15、18、21、24、27、30 d 后对大鼠进行关节炎指数评分; 于给药 6、18、30 d 后利用正电子发射计算机断层显像(PET)/计算机断层扫描(CT)系统扫描大鼠骨关节, 扫描 50 min 前大鼠尾静脉注射 500 μCi 的 ¹⁸F-氟代脱氧葡萄糖(¹⁸F-FDG), PET 显像采用滤波反投影图像重构算法; 采用 CT 扫描进行标准定位; 采用 Inveon Research Workplace 4.2 分析软件计算病变部位的最大标准摄取值(SUV)。结果: 与正常对照组比较, 给药 15~30 d 后, 模型组大鼠体质量均显著减轻; 给药 6~30 d 后, 模型组大鼠关节炎指数评分均显著升高; 给药 6、18、30 d 后, 模型组大鼠病变部位 SUV 均显著升高($P < 0.05$); 模型组大鼠关节炎病变逐渐加重, 并出现骨质破坏情况。与模型组比较, 给药 15~30 d 后, 雷公藤甲素组大鼠体质量均显著增加; 给药 21~30 d 后, 雷公藤甲素组大鼠关节炎指数评分显著降低; 给药 18、30 d 后, 雷公藤甲素组大鼠病变部位 SUV 均显著降低($P < 0.05$); 雷公藤甲素组大鼠关节炎病变逐渐减轻。结论: ¹⁸F-FDG PET/CT 技术能有效监测雷公藤甲素对类风湿关节炎模型大鼠关节损伤的改善作用。

关键词 雷公藤甲素; 类风湿关节炎; 大鼠; 正电子发射计算机断层显像; 计算机断层扫描; ¹⁸F-氟代脱氧葡萄糖; 最大标准摄取值

Improvement Effects of Triptolide on Joint Injury in Rheumatoid Arthritis Model Rats Monitored by ¹⁸F-FDG PET/CT Imaging

FENG Yue¹, ZHONG Meng², LUO Jianchun², WAN Shengli², YE Yun², CHEN Yue¹ (1. Dept. of Nuclear Medicine, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Sichuan Luzhou 646000, China; 2. Dept. of Pharmacy, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Sichuan Luzhou 646000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish the method for detect the improvement effects of triptolide (TP) on joint injury in rheumatoid arthritis (RA) model rats. METHODS: Totally 18 SD rats were randomly divided into normal control group (0.9% Sodium chloride solution), model group (0.9% Sodium chloride solution) and TP group (0.5 mg/kg), with 6 rats in each group. Model group and TP group were given incomplete Freund adjuvant-chicken type II collagen (1:1, V/V) 0.1 mL subcutaneously via tail for initial immunity, and 7 d later given secondary immunity to established RA model. After modeling, they were given relevant medicine intravenously via tail vein; normal control group and model group were given constant volume of 0.9% Sodium chloride solution, every 2 d, for consecutive 30 d. Body weights of rats were weighed before medication, 5, 10, 15, 20, 25, 30 d after medication. Arthritis indexes of rats were scored before medication, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30 d after medication. Positron emission computed tomography (PET)/tomography (CT) were used to scan the joint of rats 6, 18, and 30 d after administration. ¹⁸F-FDG 500 μCi was injected into the tail vein 50 min before scanning. The filtered back projection image reconstruction algorithm was adopted for PET imaging. CT scanning was used for standard positioning. Inveon Research Workplace 4.2 analysis software was used to calculate the maximum standard uptake value (SUV) of lesions. RESULTS: Compared with normal control group, 15-30 d after medication, body weight of rats was decreased significantly in model group; 6-30 d after medication, arthritis index scores of rats were increased significantly; 6, 18, 30 d after medication, SUV of lesions in rats increased significantly ($P < 0.05$), and the severity of arthritis in rats was aggravated and bone destruction occurred. Compared with model group, 15-30 d after medication, body weight of rats increased significantly in TP group; 21-30 d after medication, arthritis index score of rats decreased significantly; 18, 30 d after medication, SUV of lesion decreased significantly ($P < 0.05$), and arthritis relieved gradually. CONCLUSIONS: ¹⁸F-FDG PET/CT imaging is an efficient method to monitor the improvement effect of TP on joint injury in RA model rats.

Δ 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No.81671721)

* 主管药师, 硕士。研究方向: 放射化学、中药药理学。电话: 0830-3165725。E-mail: fengyue200@163.com

KEYWORDS Triptolide; Rheumatoid arthritis; Rats; Positron emission computed tomography; Tomography; ¹⁸F-FDG; Maximum standard uptake value

类风湿关节炎是一种常见的慢性全身性自身免疫性疾病,若不及时治疗会导致患者关节损害和肢体残疾^[1]。临床上用于治疗类风湿关节炎的药物主要有非甾体抗炎药、糖皮质激素类药、慢作用抗风湿药及中药^[2]。近年来,中药抗类风湿关节炎的作用愈来愈受到人们的重视,雷公藤甲素是一种从中药雷公藤中提取出的环氧二萜内酯类化合物,具有抗炎及免疫抑制等作用^[3-4]。

PET/CT技术是近几年来迅速发展并获得广泛认同的医学影像诊断技术,是将正电子发射计算机断层显像(PET)技术和计算机断层扫描(CT)技术组合到同一设备;前者对功能、代谢和受体分布等显像具有优势,后者对解剖结构、形态和密度等显像具有优势,两者结合使得对病灶的定位诊断和定性诊断更加准确^[5]。¹⁸F-氟代脱氧葡萄糖(¹⁸F-FDG)是一种正电子放射性核素标记的葡萄糖类似物,可作为炎症诊断的显像剂。在炎症反应发生时,中性粒细胞、单核细胞、巨噬细胞等炎症细胞代谢活性增强,能量消耗相应增加,需要摄取大量葡萄糖。因此,可利用不同病变部位对葡萄糖的不同摄取量[即最大标准摄取值(SUV)]来诊断相关病变程度^[6-7]。

本研究以不完全弗氏佐剂-鸡Ⅱ型胶原蛋白建立大鼠类风湿关节炎模型^[8],采用PET/CT技术监测发炎关节对¹⁸F-FDG的摄取水平,以此反映雷公藤甲素对模型大鼠类风湿关节炎的改善作用,为雷公藤甲素用于临床治疗类风湿关节炎提供参考。

1 材料

1.1 仪器

Inveon小动物PET/CT活体影像系统(德国Siemens公司);VIP 3000型动物麻醉机(美国Matrx公司);AL 104-IC型电子分析天平(瑞士Mettler-Toledo公司)。

1.2 药品与试剂

雷公藤甲素对照品(大连美仑生物技术有限公司,批号:M120AS,纯度:99%);鸡Ⅱ型胶原蛋白(美国Chondrex公司,批号:160175);不完全弗氏佐剂(美国Sigma公司,批号:SLBM7415V);¹⁸F-FDG(西南医科大学附属医院核医学科自制,批号:20170505、20170517、20170529,放化纯度:99%);异氟烷(河北一品制药有限公司,批号:C002151204);冰醋酸为分析纯,水为纯化水。

1.3 动物

清洁级成年SD大鼠,6~7周龄,雌雄不限,体质量180~200 g,由西南医科大学实验动物中心提供[动物生产合格证号:SCXK(川)2013-17]。标准条件饲养,自由进食、饮水,适宜温度、湿度,人工黑暗和光照交替。

2 方法

2.1 造模

在4℃下将鸡Ⅱ型胶原蛋白10 mg溶于5 mL 0.05 mmol/L乙酸溶液中,置于4℃贮藏,备用。取等体积不完全弗氏佐剂与上述鸡Ⅱ型胶原蛋白溶液进行充分混匀、乳化,制成混合乳液。在大鼠尾根部皮下注射上述混合乳液0.1 mL进行初次免疫,7 d后以同样的方法

进行第二次免疫,以建立类风湿关节炎模型^[9]。

2.2 分组与给药

随机选取6只未造模大鼠为正常对照组(等体积0.9%氯化钠溶液),另选取造模成功的12只大鼠随机分为模型组(等体积0.9%氯化钠溶液)、雷公藤甲素组(0.5 mg/kg)^[3-4],各6只。造模成功后各组大鼠尾静脉注射相应药物,每2 d 1次,连续30 d。

2.3 体质量称定

分别于给药前(0 d)和给药5、10、15、20、25、30 d后称定大鼠体质量。

2.4 关节炎指数评分

分别于给药前(0 d)和给药3、6、9、12、15、18、21、24、27、30 d后对大鼠左前足踝关节进行关节炎指数评分。采用4分制,评分标准:0分,关节无任何变化;1分,关节轻微肿胀;2分,关节中度肿胀;3分,关节严重肿胀;4分,关节严重肿胀并影响运动^[10]。由2名实验人员同时独立完成评分,然后取二者评分的平均值作为最终评分结果。

2.5 PET/CT显像

采用PET/CT活体影像系统扫描大鼠骨关节。分别在给药6、18、30 d后于大鼠尾静脉注射500 μCi ¹⁸F-FDG,于注射50 min后在异氟烷持续麻醉(动物麻醉机;1.5档,氧气流量:0.6 L/min)状态下行PET/CT扫描。PET显像采用滤波反投影图像重构算法(图像大小128×128,扫描600 s);采用CT扫描进行标准定位(扫描参数为80 kV,500 μA,扫描8 min);采用Inveon Research Workplace(IRW)4.2分析软件计算病变部位的SUV。

2.6 统计学方法

采用SPSS 19.0软件对数据进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间数据比较采用方差分析或LSD检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠体质量比较

给药15~30 d后,与正常对照组比较,模型组大鼠体质量均显著减轻,差异均有统计学意义($P < 0.05$);与模型组比较,雷公藤甲素组大鼠体质量均显著增加,差异均有统计学意义($P < 0.05$),详见表1。

3.2 各组大鼠关节炎指数评分比较

给药6~30 d后,与正常对照组比较,模型组大鼠关节炎指数评分均显著升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。给药21~30 d后,与模型组比较,雷公藤甲素组大鼠关节炎指数评分均显著降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$),详见表2。

3.3 各组大鼠PET/CT显像比较

给药6、18、30 d后,正常对照组大鼠骨关节PET显像未见¹⁸F-FDG异常浓聚;CT显像也未见骨关节骨质损伤病变。模型组大鼠骨关节PET显像可见¹⁸F-FDG浓

表1 各组大鼠体质量比较($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab 1 Comparison of body weight of rats among different groups($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	0 d	5 d	10 d	15 d	20 d	25 d	30 d
正常对照组	186.3±5.1	207.0±4.4	219.0±1.5	232.0±3.0	242.7±2.5	254.0±3.0	264.7±1.5
模型组	188.7±3.1	196.7±2.1	205.7±2.1	212.7±3.1*	220.7±2.1*	231.3±3.1*	240.0±3.6*
雷公藤甲素组	187.0±5.6	202.3±7.5	213.0±4.6	226.3±6.5 [#]	238.0±5.0 [#]	249.3±4.5 [#]	257.7±4.5 [#]

注:与正常对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$

Note: vs. normal control group,* $P<0.05$; vs. model group,[#] $P<0.05$

表2 各组大鼠关节炎指数评分比较($\bar{x} \pm s, n=6$)

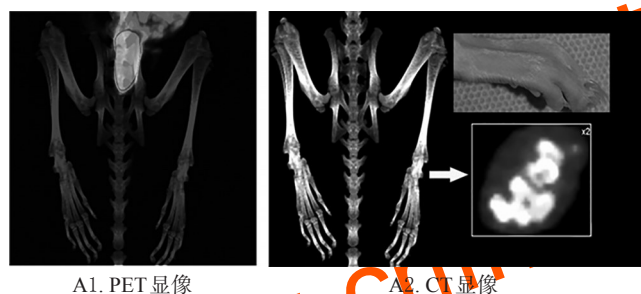
Tab 2 Comparison of arthritis index scores of rats among different groups($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	0 d	3 d	6 d	9 d	12 d	15 d	18 d	21 d	24 d	27 d	30 d
正常对照组	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
模型组	0	0	1.67±0.58*	2.67±0.58*	4*	4*	3.67±0.58*	4*	4*	4*	4*
雷公藤甲素组	0	0	2.33±0.58	2.67±0.58	3.33±0.58	3.67±0.58	3.33±0.58	2.33±0.58 [#]	1 [#]	0 [#]	0 [#]

注:与正常对照组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,[#] $P<0.05$

Note: vs. normal control group,* $P<0.05$; vs. model group,[#] $P<0.05$

聚,且随着时间延长浓聚增多;给药6 d后CT显像未见明显骨质破坏,给药18 d后可见轻微骨质破坏,给药30 d后可见骨质破坏加重。雷公藤甲素组大鼠给药6 d后骨关节PET显像可见¹⁸F-FDG浓聚,CT显像未见明显骨质破坏;给药18 d后PET显像可见浓聚程度略有减轻,CT显像可见轻微骨质破坏;给药30 d后PET显像未见¹⁸F-PDG异常浓聚,CT显像可见骨质破坏程度减轻,详见图1~图3。



A1. PET显像 A2. CT显像

图1 正常对照组大鼠骨关节PET/CT图

Fig 1 PET/CT images of bone and joint of rats in normal control group

3.4 各组大鼠病变部位SUV比较

给药6、18、30 d后,与正常对照组比较,模型组大鼠病变部位SUV均显著升高,差异均有统计学意义($P<0.05$);给药18、30 d后,与模型组比较,雷公藤甲素组大鼠病变部位SUV均显著降低,差异均有统计学意义($P<0.05$),详见表3。

4 讨论

类风湿性关节炎属于中医的“痹症”范畴,中医理论认为雷公藤味苦、有大毒,具有祛风除湿、活血通络、消肿止痛、改善血瘀等功效^[1]。有研究表明,雷公藤可抑制血管通透性增加和炎症细胞趋化,从而发挥抗炎作用^[2]。目前,临床对于风湿性疾病的常规影像学检查主要包括X射线、CT、磁共振成像和B超检查,但以上检查均以某一主要部位显像为主,而不能显示全身病变。PET/CT显像则是真正意义的全身显像,PET显像能够显示病变

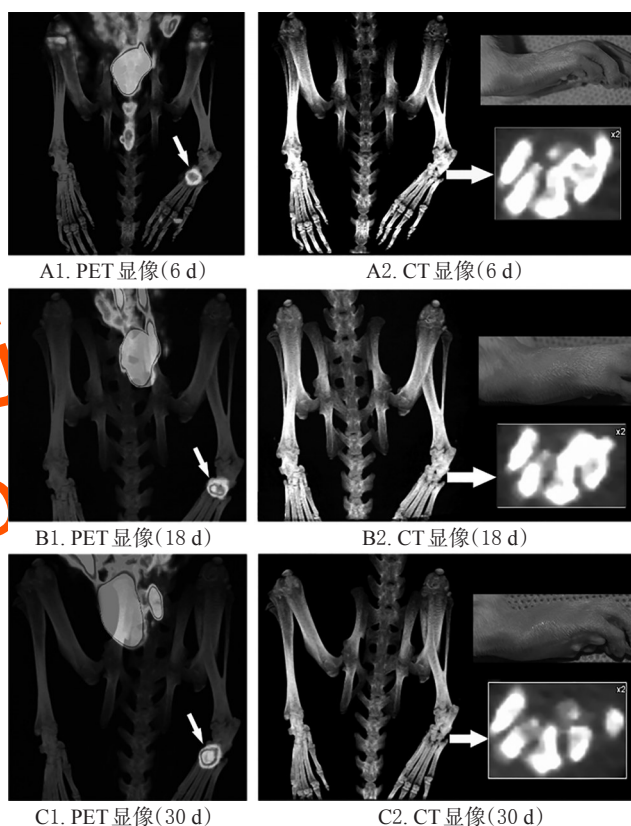


图2 模型组大鼠骨关节PET/CT图

Fig 2 PET/CT images of bone and joint of rats in model group

部位的代谢异常,CT显像能够准确显示病变位置。同时,本实验诊断显像剂为¹⁸F-FDG,在炎症反应发生时,可采用PET/CT技术观察骨关节病变部位对¹⁸F-FDG摄取的增加情况^[3]。

II型胶原蛋白大量存在于关节软骨中,当作为外源性抗原时可诱导机体产生II型胶原蛋白抗体,而该抗体与软骨结合可诱导T细胞和B细胞激活,从而产生关节炎性质的自身免疫反应。不完全弗氏佐剂不含有结核分枝杆菌成分,仅含矿物油,可协助II型胶原蛋白刺激

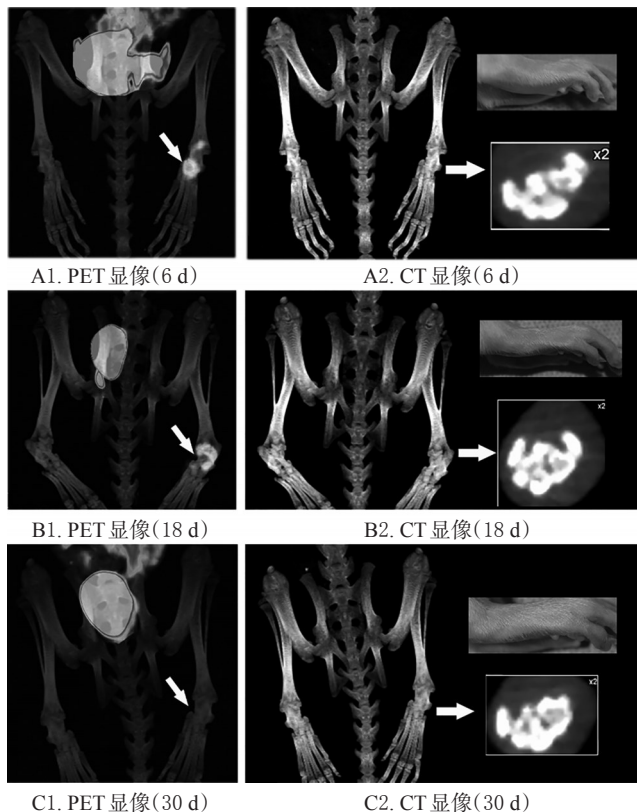


图3 雷公藤甲素组大鼠骨关节PET/CT图

Fig 3 PET/CT images of bone and joint of rats in triptolide group

表3 各组大鼠病变部位SUV比较($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Tab 3 Comparison of SUV of lesion in rats among different groups ($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	6 d	18 d	30 d
正常对照组	0.63 ± 0.03	0.60 ± 0.05	0.70 ± 0.04
模型组	1.44 ± 0.05*	1.86 ± 0.06*	2.47 ± 0.15*
雷公藤甲素组	1.52 ± 0.03	1.05 ± 0.06*	0.82 ± 0.03*

注:与正常对照组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,* $P < 0.05$

Note: vs. normal control group, * $P < 0.05$; vs. model group, * $P < 0.05$

机体产生免疫应答^[14]。因此,本研究应用不完全弗氏佐剂和鸡Ⅱ型胶原蛋白诱导大鼠类风湿关节炎模型形成,7d后为确保造模成功率进行第二次免疫。

本研究结果显示,与正常对照组比较,给药15~30d后,模型组大鼠体质量均显著减轻;给药6~30d后,模型组大鼠关节炎指数评分均显著升高;给药6、18、30d后,模型组大鼠病变部位SUV均显著升高,差异均有统计学意义;模型组大鼠关节炎病变逐渐加重,出现骨质破坏情况。与模型组比较,给药15~30d后,雷公藤甲素组大鼠体质量均显著增加;给药21~30d后,雷公藤甲素组大鼠关节炎指数评分均显著降低;给药18、30d后,雷公藤甲素组大鼠病变部位SUV均显著降低,差异均有统计学意义;雷公藤甲素组大鼠关节炎病变逐渐减轻。由此可见,雷公藤甲素对类风湿关节炎模型大鼠的关节损伤具有一定的保护作用。

综上所述,¹⁸F-FDG PET/CT技术能有效监测雷公藤甲素对类风湿关节炎模型大鼠关节损伤的改善作用。

参考文献

- [1] 陈树强,叶真,刘晖,等.多普勒超声与超声造影评价类风湿性关节炎模型滑膜病变[J].中国医学影像技术,2016,32(11):1639-1643.
- [2] DIETZEL F,BOETTGER MK,DAHLKE K,et al. Assessment of rat antigen-induced arthritis and its suppression during glucocorticoid therapy by use of hemicyanine dye probes with different molecular weight in near-infrared fluorescence optical imaging[J]. *Invest Radiol*, 2013, 48(10):729-737.
- [3] CHEN G,HAO B,JU D,et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic study of triptolide-loaded liposome hydrogel patch under microneedles on rats with collagen-induced arthritis[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2015, 5(6):569-576.
- [4] ZHOU GS,HU Z,FANG HT,et al. Biologic activity of triptolide in t(8;21) acute myeloid leukemia cells[J]. *Leukemia Res*, 2011, 35(2):214-218.
- [5] LAWRENCE J,ROHREN E,PROVENZALE J. PET/CT today and tomorrow in veterinary cancer diagnosis and monitoring: fundamentals, early results and future perspectives[J]. *Vet Comp Oncol*, 2010, 8(3):163-187.
- [6] GEEST TVD,METSELAAR JM,GERRITS D,et al. ¹⁸F-FDG PET/CT imaging to monitor the therapeutic effect of liposome-encapsulated prednisolone in experimental rheumatoid arthritis[J]. *J Control Release*, 2015, 209(16):20-26.
- [7] CHAUDHARI AJ,BOWEN SL,BURKETT GW,et al. High-resolution ¹⁸F-FDG PET with MRI for monitoring response to treatment in rheumatoid arthritis[J]. *Eur J Nucl Med Mol I*, 2010, 37(5):1047-1047.
- [8] MCNAMEE K,WILLIAMS R,SEED M. Animal models of rheumatoid arthritis: how informative are they? [J]. *Eur J Pharmacol*, 2015, 759:278-286.
- [9] XU H,WANG J,WANG C,et al. Therapeutic effects of micheliolide on a murine model of rheumatoid arthritis [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11(1):489-493.
- [10] SHAHI MM,RASHIDI MR,MAHBOOH S,et al. Protective effect of soy protein on collagen-induced arthritis in rat[J]. *Rheumatol Int*, 2012, 32(8):2407-14.
- [11] 魏志萍,洪芬芳,杨树龙. 中药治疗类风湿关节炎的研究进展[J]. *中华中医药杂志*, 2017, 32(12):5477-5481.
- [12] 韩菁婕,柳芳,张相林,等. 雷公藤主要活性成分的结构修饰及药理活性研究进展[J]. *中国药房*, 2016, 27(4):560-562.
- [13] YAO R,LECOMTE R,CRAWFORD ES. Small-animal PET: what is it, and why do we need it? [J]. *J Nucl Med Technol*, 2012, 40(3):157-165.
- [14] BRAND DD,LATHAM KA,ROSLONIEC EF. Collagen-induced arthritis[J]. *Nature Protocols*, 2007, 2(5):1269-1275.

(收稿日期:2018-01-09 修回日期:2018-02-28)

(编辑:张静)