

· 实验研究 ·

光、磁成像法探测脑胶质瘤微环境脑组织间隙结构及脑组织间液引流的变化*

王 彤 任蒙蒙 徐陆正 赵燕荣 邹 晶 韩鸿宾**^① 袁 兰**

(北京大学药学院化学生物学系 北京大学医药卫生分析中心, 北京 100191)

【摘要】 目的 探讨脑胶质瘤微环境中组织间隙(extracellular space, ECS)的结构特征以及瘤内脑组织间液(interstitial fluid, ISF)引流的变化。**方法** 48 只 SD 大鼠随机分为丘脑对照组、丘脑肿瘤组、尾状核对照组、尾状核肿瘤组, 每组 12 只, 每组又分为光学示踪亚组和磁示踪亚组各 6 只。应用光、磁示踪法, 分别以 Alexa Flour 594 和钆喷酸葡胺(Gd-DTPA)作为示踪剂, 对 SD 大鼠的丘脑、尾状核区 C6 胶质瘤内 ECS 结构及 ISF 的扩散过程进行示踪分析, 并与相应对照组进行比较。应用 MRI 检测示踪剂在脑 ECS 中的扩散和分布, 计算获取 Gd-DTPA 在脑 ECS 内的有效扩散系数(D_{ECS})、清除速率(k')、迂曲度(λ)和半衰期($t_{1/2}$)等扩散参数。应用共聚焦显微镜对注射示踪剂 2 h 后的离体脑切片成像, 并分析得到扩散分布的最大面积。对同一脑区对照组与肿瘤组的光、磁示踪结果进行对比分析。**结果** 与丘脑对照组比较, 丘脑肿瘤组的 k' 显著增加 [$(7.27 \pm 1.08) \times 10^{-4} \text{ mm}^2/\text{s}$ vs. $(3.69 \pm 0.46) \times 10^{-4} \text{ mm}^2/\text{s}$, $t = 7.474$, $P = 0.000$], $t_{1/2}$ 显著缩短 [$(21.36 \pm 2.67) \text{ min}$ vs. $(53.86 \pm 3.18) \text{ min}$, $t = -19.165$, $P = 0.000$], D_{ECS} 显著减小 [$(2.27 \pm 0.22) \times 10^{-4} \text{ mm}^2/\text{s}$ vs. $(3.14 \pm 0.41) \times 10^{-4} \text{ mm}^2/\text{s}$, $t = -4.536$, $P = 0.001$], λ 显著增加 [$(2.11 \pm 0.10) \%$ vs. $(1.06 \pm 0.01) \%$, $t = 25.201$, $P = 0.000$]。与尾状核对照组比较, 尾状核肿瘤组的 k' 显著增加 [$(6.87 \pm 1.09) \times 10^{-4} \text{ mm}^2/\text{s}$ vs. $(3.25 \pm 0.31) \times 10^{-4} \text{ mm}^2/\text{s}$, $t = 7.867$, $P = 0.000$], $t_{1/2}$ 显著缩短 [$(23.77 \pm 7.31) \text{ min}$ vs. $(87.20 \pm 4.31) \text{ min}$, $t = -18.309$, $P = 0.000$], D_{ECS} 显著减小 [$(2.38 \pm 0.79) \times 10^{-4} \text{ mm}^2/\text{s}$ vs. $(3.35 \pm 0.12) \times 10^{-4} \text{ mm}^2/\text{s}$, $t = -2.986$, $P = 0.014$], λ 显著增加 [$(2.12 \pm 0.31) \%$ vs. $(1.73 \pm 0.03) \%$, $t = 3.067$, $P = 0.012$]。**结论** 丘脑和尾状核区胶质瘤内 ISF 的 k' 、 λ 显著增加, $t_{1/2}$ 、 D_{ECS} 显著减少。

【关键词】 脑胶质瘤; 组织间隙; 组织间液; 光学示踪法; 磁示踪法

文献标识: A 文章编号: 1009-6604(2020)01-0046-06

doi: 10.3969/j.issn.1009-6604.2020.01.012

Effect of Gliomas on Interstitial Fluid and Extracellular Space Detected by Optical and Magnetic Imaging Wang Tong, Reng Mengmeng, Xu Luzheng, et al. Department of Chemical Biology, Peking University School of Pharmaceutical Science, Beijing 100191, China

Corresponding author: Yuan Lan, E-mail: yuan_lan@bjmu.edu.cn; Han Hongbin, E-mail: hanhongbin@bjmu.edu.cn

【Abstract】 Objective To investigate the structural characteristics of extracellular space (ECS) in glioma microenvironment and the changes of intrastitial fluid (ISF) drainage with in gliomas. **Methods** A total of 48 SD rats were randomly divided into the following groups: thalamus control group, thalamus glioma group, caudate nucleus control group, and caudate nucleus glioma group, with each group consisted of 12 rats. Each group was further divided into optical-tracing subgroup ($n = 6$) and magnetic-tracing subgroup ($n = 6$). By using tracer-based optical and magnetic imaging methods, Alexa Flour 594 and Gd-DTPA were used as tracers to monitor the diffusion process of tracers in SD rats' ECS. Tracer-based MRI was used to visualize the diffusion processes of Gd-DTPA in brain ECS. The diffusion coefficient (D_{ECS}), clearance (k'), tortuosity (λ) and half-life ($t_{1/2}$) were measured. Confocal laser scan microscope (CLSM) was used to imaging the brain slices after 2 h injection of Alexa Flour 594. Las X software was used to analyze the maximum area of ISF diffusion area. The results of optical and magnetic imaging were compared between the control groups and glioma groups. **Results** As compared with the thalamus control group, the thalamus glioma group showed the following results: k' was significantly increased [$(7.27 \pm 1.08) \times 10^{-4} \text{ mm}^2/\text{s}$ vs. $(3.69 \pm 0.46) \times 10^{-4} \text{ mm}^2/\text{s}$, $t = 7.474$, $P = 0.000$], $t_{1/2}$ was

* 基金项目: 国家自然科学基金(91330103, 91630314); 国家杰出青年科学基金(61625102); 首都科技领军人才培养工程(Z181100006318003); 北京市科技计划项目(Z181100001518004)

** 通讯作者, E-mail: yuan_lan@bjmu.edu.cn(袁 兰); hanhongbin@bjmu.edu.cn(韩鸿宾)

① (北京大学第三医院放射科 北京市磁共振成像设备与技术重点实验室, 北京 100191)

significantly reduced $[(21.36 \pm 2.67) \text{ min vs. } (53.86 \pm 3.18) \text{ min}, t = -19.165, P = 0.000]$, D_{ECS} was significantly reduced $[(2.27 \pm 0.22) \times 10^{-4} \text{ mm}^2/\text{s vs. } (3.14 \pm 0.41) \times 10^{-4} \text{ mm}^2/\text{s}, t = -4.536, P = 0.001]$, and λ was significantly increased $[(2.11 \pm 0.10)\% \text{ vs. } (1.06 \pm 0.01)\%, t = 25.201, P = 0.000]$. As compared with the caudate nucleus control group, the caudate nucleus glioma group showed the following results: k' was increased significantly $[(6.87 \pm 1.09) \times 10^{-4} \text{ mm}^2/\text{s vs. } (3.25 \pm 0.31) \times 10^{-4} \text{ mm}^2/\text{s}, t = 7.867, P = 0.000]$, $t_{1/2}$ was significantly reduced $[(23.77 \pm 7.31) \text{ min vs. } (87.20 \pm 4.31) \text{ min}, t = -18.309, P = 0.000]$, D_{ECS} was significantly reduced $[(2.38 \pm 0.79) \times 10^{-4} \text{ mm}^2/\text{s vs. } (3.35 \pm 0.12) \times 10^{-4} \text{ mm}^2/\text{s}, t = -2.986, P = 0.014]$, and λ was significantly increased $[(2.12 \pm 0.31)\% \text{ vs. } (1.73 \pm 0.03)\%, t = 3.067, P = 0.012]$. **Conclusion** As compared with the control group, k' and λ of ISF in gliomas of thalamus and caudate nucleus increase significantly, and $t_{1/2}$ and D_{ECS} decrease significantly.

【Key Words】 Glioma; Extracellular space; Interstitial fluid; Tracer-based optical imaging; Tracer-based MRI

胶质瘤是中枢神经系统最常见的原发性肿瘤,复发率高,尤其是恶性胶质瘤^[1]。经脑间质途径给药是避开血脑屏障的微创脑病治疗新技术,也是化学疗法治疗脑胶质瘤的新途径。Bobo 等^[2]提出的对流增强给药方法 (convection enhancement delivery, CED) 已于 2009 年获美国食品和药物管理局 (FDA) 批准用于脑胶质瘤的临床研究。组织间隙 (extracellular space, ECS) 是相邻脑细胞之间不规则、腔隙性结构,其内充满组织间液 (interstitial fluid, ISF) 和细胞外基质 (extracellular matrix, ECM)^[3,4]。ISF 是神经元细胞和胶质细胞的直接生存环境,负责物质交流、细胞间通讯,同时也是神经系统药物发挥作用的场所^[5,6]。CED 将药物分子在连续正压力下经导管注入脑实质内,认为药物借助压力可以在脑实质广泛分布^[7]。然而, CED 仍然存在局限性:①注入药物的浓度及分布很难监测和控制;②给药模式对脑组织具有一定的机械性损害;③注入的药物容易出现反流,从而降低疗效。针对 CED 存在的问题,本课题组提出经间质治疗的新方法——简单扩散给药方法 (simple diffusion delivery, SDD) 并将其成功应用于实验研究,证实经脑间质给予小分子神经保护药物的简单扩散给药方法可以有效预防大脑神经元的缺血性损伤^[8]。但是,无论 CED 还是 SDD,经脑间质途径给药始终缺少一种监测药物在脑内分布的有效手段。探讨脑胶质瘤内部药物清除、瘤内 ECS 结构特征及其变化规律,对于脑胶质瘤微创治疗方法的应用具有指导意义。

在本研究中,我们将基于示踪技术的 MRI 成像法与光学成像法结合起来,对药物在胶质瘤内的扩散过程进行实时可视化和定量评估。以 Alexa Flour 594 和钆喷酸葡胺 (Gd-DTPA) 分别作为光、磁示踪剂,比较药物在对照组大鼠的丘脑区及尾状核区 ECS 内以及在 C6 胶质瘤大鼠位于丘脑区及尾状核区的脑胶质瘤内随 ISF 的分布及扩散参数的改变,以期对胶质瘤区 ECS 的改变以及瘤内脑 ISF 引流情况进行更深的了解,从而为 CED 给药治疗脑胶质瘤方案的制定提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料和仪器

磁共振对比剂 Gd-DTPA 购自德国 Bayer Schering Pharma AG; 荧光探针 Alexa Flour 594 购自美国 Life Technologies; 戊巴比妥钠 (25 g) 购自美国 Sigma-Aldrich; 多聚甲醛 (4%) 购自北京索莱宝科技有限公司; 转染试剂 Lipofectamin 2000 购自美国 Invitrogen; 二甲基亚砜、四甲基偶氮唑盐 (MTT) 试剂盒购于美国 Amersco。

激光扫描共聚焦显微镜 (TCS SP8 MP, Leica, 德国) 和流式细胞仪 (FACS, BD FACSCalibur, 美国) 由北京大学医药卫生分析中心提供; 3.0T 磁共振成像仪 (Magnetom Trio, 西门子公司, 德国) 由北京大学第三医院提供; 鼠脑立体定位仪和鼠脑模具购自深圳瑞沃德公司。

1.2 细胞系和实验动物^[9]

C6 胶质瘤细胞 (ATCC No. CCL 107), 置于含有 10% 胎牛血清、1% 青霉素/链霉素双抗的改良 Eagle 培养基 (DMEM) (高糖型) 中, 在 37 °C 5% CO₂ 条件下培养。

48 只雄性 SD 大鼠购于北京大学医学部动物实验科学部 [SYXK (京 2008 - 0021)], 体重 250 ~ 300 g。随机分为 4 组: 丘脑对照组、丘脑肿瘤组、尾状核对照组、尾状核肿瘤组, 每组 12 只。每组再随机分为光学示踪亚组及磁示踪亚组 ($n = 6$)。本实验严格遵守国家动物实验指南的要求, 并获得北京大学生物医学伦理委员会实验动物福利伦理分会审查批准 (批准文号: LA2018 - 306)。

1.3 C6 胶质瘤细胞的绿色荧光蛋白 (green fluorescent protein, GFP) 转染^[10]

C6 胶质瘤细胞接种在 25 mm² 培养瓶中至 70% ~ 80% 融合, 为获得稳定表达 GFP 的细胞, 以 Lipofectamine 2000 为转染试剂, pEGFP-G 为质粒载体。详细的实验步骤按照 Lipofectamine 2000 说明书操作。转染 48 h 后, 以 1:10 传代。用 800 μg/ml G418 分选 GFP 强阳性细胞, 抗 G418 荧光阳性克隆

出现在培养 4 周左右。流式分选法重复筛选荧光强度高的细胞。转染的细胞命名为 GFP-C6 细胞。

1.4 大鼠脑胶质瘤模型的制备^[9]

丘脑肿瘤组和尾状核肿瘤组 24 只 SD 大鼠腹腔注射戊巴比妥钠(50 mg/kg)麻醉,固定在鼠脑立体定位仪上,分别按照丘脑(前囟: -3.5, +3.0, -6.0 mm),尾状核(前囟: +1.0, +3.5, -6.0 mm)的立体坐标,在目标植入区上方颅骨上钻直径 1 mm 小孔。将 GFP-C6 细胞悬液 10 μ l(1×10^7 细胞)以汉密尔顿微量注射器以 1 μ l/min 的速度注入脑实质内,注射完毕后停针 5 min,缓慢拔针。抗生素消毒伤口,牙科水泥封闭颅孔,以原条件饲养接种肿瘤的大鼠。

1.5 脑胶质瘤模型的检测及体积测定

胶质瘤种植第 10 天,用 MRI 对大鼠脑进行磁共振序列扫描(T1WI 和 T2WI)^[9]。丘脑区、尾状核区胶质瘤种植区域出现 T1WI 低信号,T2WI 高信号的团块异常信号表示胶质瘤建模成功。用 MRI 数据处理软件计算得到肿瘤体积。对光学示踪组的 12 只模型鼠脑切片同时进行共聚焦成像分析,观察是否得到有绿色荧光的肿瘤组织。

1.6 光学示踪法

以 Alexa Flour 594(10 mmol/L)作为光学示踪法的示踪剂,对 24 只光学示踪组的 SD 大鼠(丘脑对照组、丘脑肿瘤组、尾状核对照组、尾状核肿瘤组各 6 只)进行示踪分析。腹腔注射戊巴比妥钠(50 mg/kg)麻醉,T1 加权成像(3D T1WI MP-RAGE)序列进行 MRI 预扫描^[9]。大鼠暴露颅骨后固定在鼠脑立体定位仪上,根据肿瘤种植部位确定打药位点:丘脑肿瘤组及尾状核肿瘤组进针处为 MRI 预扫描的肿瘤中心区域。对照组根据《大鼠脑立体定位图谱》确定打药位点。按照上述丘脑、尾状核的立体坐标,以微量注射器吸取 Alexa Flour 594 2 μ l 以 0.2 μ l/min 的速率注射,停针 5 min 后缓慢拔针。注射 2 h 后,大鼠心脏灌流取脑^[11],以 4% 多聚甲醛固定脑组织。固定 12 h,鼠脑切片,在激光扫描共聚焦显微镜下观察 ISF 的扩散分布情况。

1.7 MRI 示踪法

Gd-DTPA 以 0.9% NaCl 溶液稀释至 10 mmol/L 作为磁示踪剂,对 24 只核磁示踪组的 SD 大鼠(丘脑对照组、丘脑肿瘤组、尾状核对照组、尾状核肿瘤组各 6 只)进行示踪分析。腹腔注射戊巴比妥钠(50 mg/kg)麻醉,T1 加权成像(3D T1WI MP-RAGE)序列进行 MRI 预扫描^[2],记作 T0,根据光学示踪法所述方法,按照上述丘脑、尾状核的立体坐标,以微量注射器吸取 Gd-DTPA 2 μ l 以 0.2 μ l/min 的速率注射。将大鼠置于 MRI 进行连续 3D T1WI

MP-RAGE 序列扫描(注射后 15、30、45、60、90、120、150、180、210 和 240 min),扫描期间维持大鼠麻醉状态。

1.8 数据处理分析

利用韩鸿宾等^[12]研发的脑 ECS 图像处理系统(NanoDetect Analyze System)完成 Gd-DTPA 在实验大鼠脑中扩散参数的测定。荧光示踪剂的扩散面积使用德国 Leica 公司 Las X 软件测定。统计学分析采用 SPSS20.0 软件完成。实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 描述,Gd-DTPA 在鼠脑内的扩散参数以及 Alexa Flour 594 在鼠脑内扩散面积的比较均采用独立样本 *t* 检验。 $P < 0.05$ 时认为结果具有显著性差异。

2 结果

2.1 C6 细胞 GFP 转染情况

C6 细胞进行 GFP 转染后,使用激光共聚焦显微镜下观察 GFP 的表达。在 488 nm 激光激发下,GFP-C6 细胞可以发出强烈的绿色荧光(图 1A)。传代培养 3 个月后,C6 胶质瘤细胞的荧光强度基本没有变化,冻存 6 个月以上的细胞,复苏后细胞存活良好,且荧光强度基本不变。

2.2 胶质瘤成像及 MRI 体积测定

GFP-C6 细胞种于 SD 大鼠脑内 10 天,鼠脑切片的荧光图像显示胶质瘤区呈现绿色荧光,浸润性生长,破坏了原有区域的纤维组织(图 1B)。从 MRI 的 T2 图像上可以观察到尾状核区、丘脑区胶质瘤的高信号(图 1C)。通过 MRI 数据处理软件测得丘脑区肿瘤体积(128.61 ± 2.04) mm³,尾状核区肿瘤体积(101.83 ± 2.72) mm³。

2.3 丘脑肿瘤组脑 ISF 引流的变化

Gd-DTPA 在丘脑对照组以及丘脑肿瘤组随时间扩散的 MRI 图像分别用矢状位、横轴位和冠状位表示(图 2A)。比较 Gd-DTPA 在丘脑对照组和丘脑肿瘤组的扩散参数,相较于丘脑对照组,丘脑肿瘤组的清除速率(k')、迂曲度(λ)显著增加,半衰期($t_{1/2}$)、有效扩散系数(D_{ECS})显著减小(表 1)。采用共聚焦显微镜采集丘脑对照组、丘脑肿瘤组的斜矢状位荧光图像(图 2B),结果显示,相较于丘脑对照组,丘脑肿瘤组的最大扩散面积显著增大。丘脑对照组及丘脑肿瘤组 D-mapping 图像更加直观地体现丘脑肿瘤组 D_{ECS} 减小(图 2C)。

2.4 尾状核肿瘤组脑 ISF 引流的变化

Gd-DTPA 在尾状核对照组以及尾状核肿瘤组随时间扩散的 MRI 图像分别用矢状位、横轴位和冠状位表示(图 3A)。Gd-DTPA 表现为高信号。比较 Gd-DTPA 在尾状核对照组和尾状核肿瘤组的扩散参数,相较于尾状核对照组,尾状核肿瘤组 k' 、 λ 显

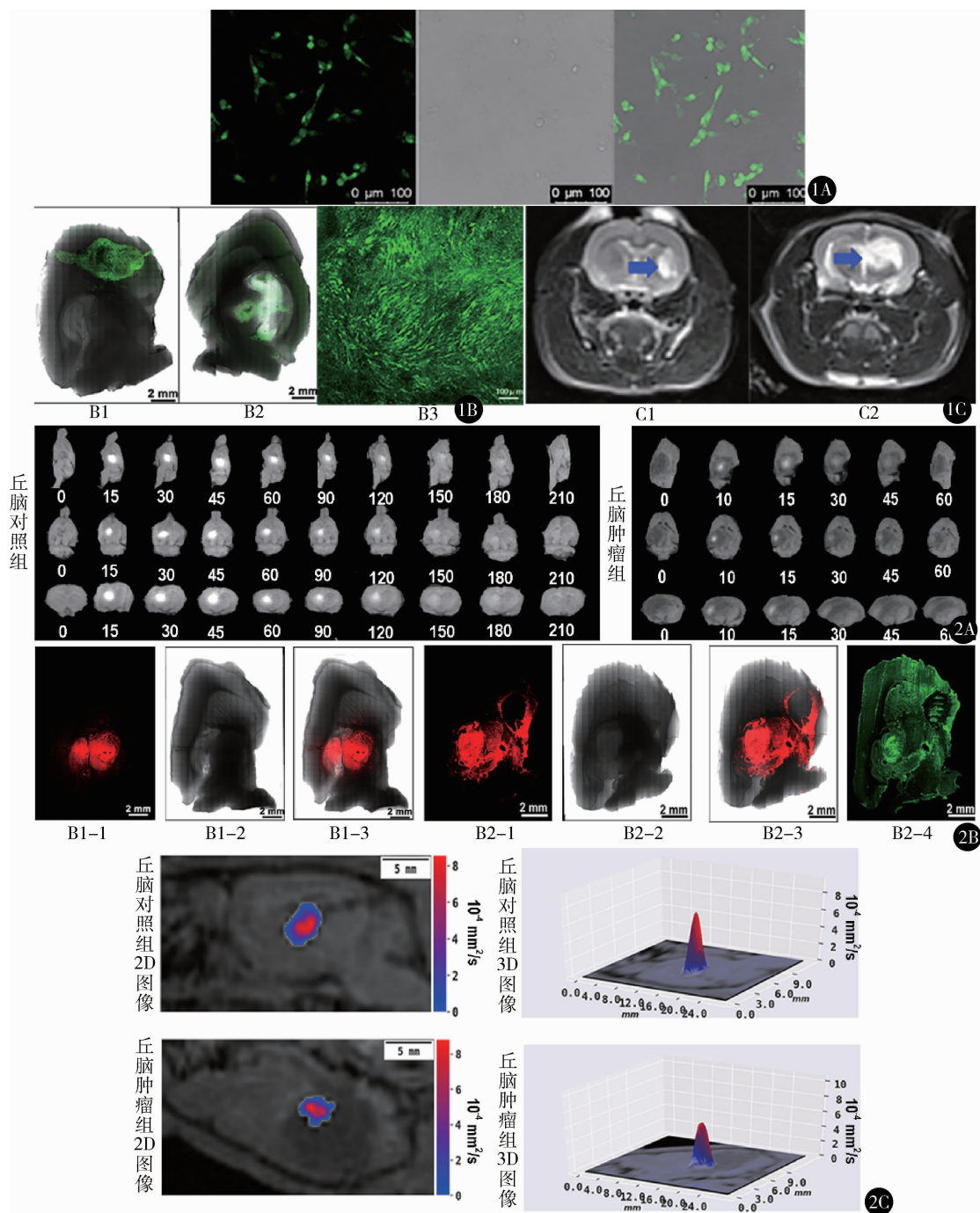


图 1 GFP-C6 细胞的荧光图像及鼠脑胶质瘤检测: A. 488 nm 激光下 GFP-C6 的荧光图像、光镜图像、荧光图像与光镜图像的叠加图; B. 尾状核区、丘脑区胶质瘤的荧光图像, 图中绿色部分代表胶质瘤, B1. 尾状核胶质瘤, B2. 丘脑区胶质瘤 (标尺, 2 mm), B3. 胶质瘤的高倍成像 (标尺, 100 μm); C. 胶质瘤的 MRI T2WI 序列成像, 图中高信号区代表胶质瘤, C1. 尾状核区胶质瘤, C2. 丘脑区胶质瘤 图 2 光、磁示踪剂在丘脑对照组和丘脑肿瘤组 ECS 中扩散分布图像及扩散参数: A. Gd-DTPA 在丘脑对照组及丘脑肿瘤组中随时间扩散的 MRI 矢状位、冠状位、横轴位图像; B. Alexa Flour 594 在丘脑对照组及丘脑肿瘤组中扩散 2 h 后的离体脑片图像, B1-1. 丘脑对照组 Alexa Flour 594 扩散的荧光图像, B1-2. 丘脑对照组脑切片的光镜图像, B1-3. 丘脑对照组荧光图像与光镜的叠加图像, B2-1. 丘脑肿瘤组 Alexa Flour 594 扩散的荧光图像, B2-2. 丘脑肿瘤组脑切片的光镜图像, B2-3. 丘脑肿瘤组荧光图像与光镜的叠加图像, B2-4. 丘脑肿瘤组的肿瘤图像; C. 丘脑对照组及丘脑肿瘤组的 D-mapping 图像, 分别用二维、三维图像表示示踪剂在矢状位图像中的 D_{ECS} 值分布, 红色代表 D_{ECS} 数值较大, 蓝色代表 D_{ECS} 数值较小

著增加, $t_{1/2}$ 、 D_{ECS} 显著减小(表 1)。采用共聚焦显微镜采集尾状核对照组、尾状核肿瘤组的斜矢状位荧光图像(图 3B),结果显示,相较于尾状核对照组,尾

状核肿瘤组的最大扩散面积显著增大。尾状核对照组及尾状核肿瘤组 D-mapping 图像更加直观地体现尾状核肿瘤组 D_{ECS} 减小(图 3C)。

表 1 Gd-DTPA 在肿瘤组与对照组中扩散参数的比较 ($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	$D_{\text{ECS}} (\times 10^{-4} \text{ mm}^2/\text{s})$	$k' (\times 10^{-4} \text{ mm}^2/\text{s})$	$\lambda (\%)$	$t_{1/2} (\text{min})$	$S (\text{mm}^2)$
丘脑肿瘤组	2.27 ± 0.22	7.27 ± 1.08	2.11 ± 0.10	21.36 ± 2.67	31.51 ± 2.11
丘脑对照组	3.14 ± 0.41	3.69 ± 0.46	1.06 ± 0.01	53.86 ± 3.18	22.41 ± 3.50
t 值	-4.536	7.474	25.201	-19.165	5.452
P 值	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000
尾状核肿瘤组	2.38 ± 0.79	6.87 ± 1.09	2.12 ± 0.31	23.77 ± 7.31	27.93 ± 2.64
尾状核对照组	3.35 ± 0.12	3.25 ± 0.31	1.73 ± 0.03	87.20 ± 4.31	21.92 ± 4.49
t 值	-2.986	7.867	3.067	-18.309	2.827
P 值	0.014	0.000	0.012	0.000	0.018

D_{ECS} , 有效扩散系数; k' , 清除速率; λ , 迂曲度; $t_{1/2}$, 半衰期; S , 扩散面积

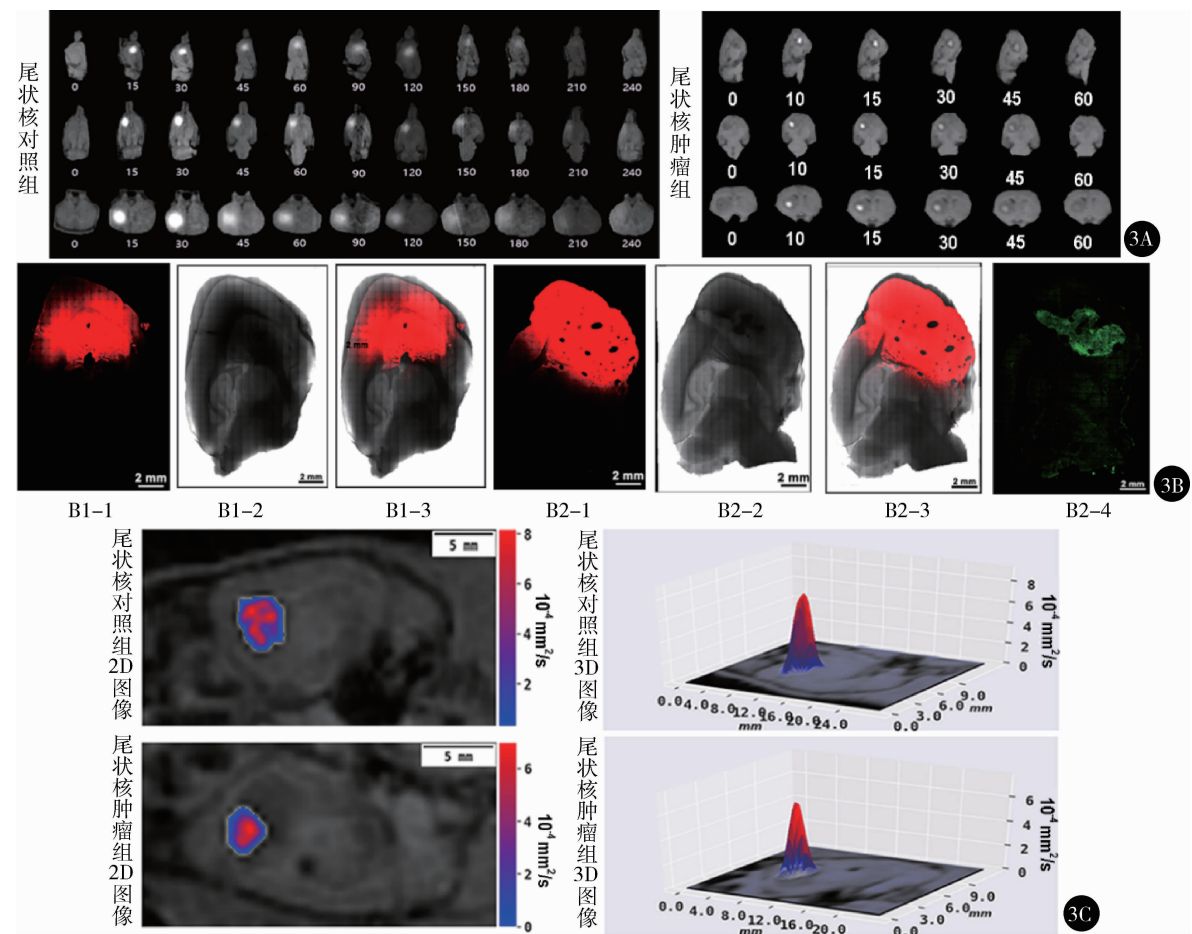


图 3 光、磁示踪剂在尾状核对照组和尾状核肿瘤组 ECS 中扩散分布图像及扩散参数: A. Gd-DTPA 在尾状核对照组及尾状核肿瘤组中随时间扩散的 MRI 矢状位、冠状位、横轴位图像; B. Alexa Fluor 594 在尾状核对照组及尾状核肿瘤组中扩散 2 h 后的离体脑片图像, B1-1. 尾状核对照组 Alexa Fluor 594 扩散的荧光图像, B1-2. 尾状核对照组脑切片的光镜图像, B1-3. 尾状核对照组荧光图像与光镜的叠加图像, B2-1. 尾状核肿瘤组 Alexa Fluor 594 扩散的荧光图像, B2-2. 尾状核肿瘤组脑切片的光镜图像, B2-3. 尾状核肿瘤组荧光图像与光镜的叠加图像, B2-4. 尾状核肿瘤组的肿瘤图像; C. 尾状核对照组及尾状核肿瘤组的 D-mapping 图像, 分别用二维、三维图像表示示踪剂在矢状位图像中的 D_{ECS} 值分布, 红色代表 D_{ECS} 数值较大, 蓝色代表 D_{ECS} 数值较小

3 讨论

MRI 和光学示踪法是国际上目前研究脑 ECS 常用的两种分析方法。MRI 是临床常用的非侵入性活体成像方法,其具有较高的软组织分辨率,但其具有空间分辨率低的内在局限性,有时无法精确显示示踪剂分布的范围。荧光成像是一种灵敏度高的成像方法,然而其组织穿透力较弱。因此,将 MRI 与荧光成像技术联合既能提供高分辨率的组织学信息,又能实现高灵敏的功能学显像,在脑胶质瘤成像与诊断上具有广阔的应用前景^[10]。本研究将这两种成像方法结合起来,共同评价其在丘脑、尾状核生长胶质瘤后脑 ISF 引流规律的变化。

本研究结果显示,丘脑肿瘤组及尾状核肿瘤组与其对照组相比,胶质瘤内部 ISF 的 k' 显著增加, $t_{1/2}$ 显著缩短。这可能是由于胶质瘤区瘤内压力高于正常脑,小分子示踪剂注入瘤内后在压力驱使下快速清除^[13]。丘脑区及尾状核区胶质瘤使 ISF 的 D_{ECS} 显著降低,同时丘脑及尾状核区胶质瘤的生长导致瘤内 ECS 的 λ 增加,这可能是由于肿瘤细胞生长迅速,细胞外基质成分增多,造成 ECS 结构和其内扩散的改变^[9]。Aibo 等^[14]的研究显示,神经纤维束除具有电传导的功能外,还具有引导 ISF 引流的作用。因此,脑胶质瘤的生长所引起的脑 ISF 引流改变,可能与肿瘤生长导致肿瘤区邻近纤维束的破坏有关。

在我们的前期研究中^[15],利用 MRI 观察胶质瘤内部的药物扩散与分布,观察到药物只局限于胶质瘤内部,并不向胶质瘤外扩散。本研究将光学成像方法与 MRI 成像方法结合起来共同分析胶质瘤内药物的扩散过程,结果显示微量的药物可以从瘤内扩散至瘤周正常组织,这对于脑胶质瘤的药物治疗非常重要。

本研究阐明脑 ISF 在胶质瘤内药物扩散分布的规律,结合实验室前期对于药物在胶质瘤周的扩散分布的研究^[9,15],对于经 ECS 给药治疗胶质瘤具有重要的指导意义。

参考文献

- Norden AD, Wen PY. Glioma therapy in adults. *Neurologist*, 2006, 12 (6): 279 - 292.

- Bobo RH, Laske DW, Akbasak A, et al. Convection-enhanced delivery of macromolecules in the brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1994, 91 (6): 2076 - 2080.
- Lei Y, Han H, Yuan F, et al. Bain interstitial system: anatomy, modeling, in vivo measurement, and application. *Prog Neurobiol*, 2017, 157: 230 - 246.
- Lv D, Li J, Li H, et al. Imaging and quantitative analysis of the interstitial space in the caudate nucleus in a rotenone-induced rat model of Parkinson's disease using tracer-based MRI. *Aging Dis*, 2017, 8 (1): 1 - 6.
- Cserr HF, Harling-Berg CJ, Knopf PM. Drainage of brain extracellular fluid into blood and deep cervical lymph and its immunological significance. *Brain Pathol*, 1992, 2 (4): 269 - 276.
- Agnati LF, Marcoli M, Leo G, et al. Homeostasis and the concept of 'interstitial fluids hierarchy': relevance of cerebrospinal fluid sodium concentrations and brain temperature control. *Mol Med*, 2017, 39: 487 - 497.
- Bidros DS, Liu JK, Vogelbaum MA. Future of convection-enhanced delivery in the treatment of brain tumors. *Future Oncol*, 2010, 6 (1): 117 - 125.
- Han H, Xia Z, Chen H, et al. Simple diffusion delivery via brain interstitial route for the treatment of cerebral ischemia. *Sci China Life Sci*, 2011, 54 (3): 235 - 239.
- Guan X, Wang W, Wang A, et al. Brain interstitial fluid drainage alterations in glioma-bearing rats. *Aging Dis*, 2018, 9 (2): 228 - 234.
- Li Xia, Zhang Xiang, Wu Jingwen, et al. Significance of the expression of green fluorescent protein on detection of glioma invasion in vivo. *中国癌症研究 (英文版)*, 2001, 13 (1): 39 - 43.
- 李昀倩, 盛 荟, 梁 磊, 等. 光磁双模态分子探针 Gd-D03A-EA-FITC 在脑组织间隙成像分析中的应用. *北京大学学报 (医学版)*, 2018, 50 (2): 25 - 29.
- Han H, Shi C, Fu Y, et al. A novel MRI tracer-based method for measuring water diffusion in the extracellular space of the rat brain. *IEEE J Biomed Health Inform*, 2014, 18 (3): 978 - 983.
- Ryuta S, Bringas JR, Mcknight TR, et al. Distribution of liposomes into brain and rat brain tumor models by convection-enhanced delivery monitored with magnetic resonance imaging. *Cancer Res*, 2004, 64 (7): 2572 - 2579.
- Aibo W, Rui W, Dehua C, et al. The drainage of interstitial fluid in the deep brain is controlled by the integrity of myelination. *Aging Dis*, 2019, 10 (5): 937 - 948.
- Li K, Han H, Zhu K, et al. Real-time magnetic resonance imaging visualization and quantitative assessment of diffusion in the cerebral extracellular space of C6 glioma-bearing rats. *Neurosci Lett*, 2013, 543 (24): 84 - 89.

(收稿日期: 2019 - 10 - 16)

(修回日期: 2019 - 12 - 09)

(责任编辑: 王惠群)