

细菌感染显像剂的研究进展

刘翠翠 顾月清*

(中国药科大学 生命科学与技术学院 江苏 南京 210009)

摘要: 细菌感染显像剂是利用一些示踪基团(如放射性核素及荧光染料)标记对细菌具有特异性识别作用的导向物,通过检测示踪信号定位细菌感染部位。到目前为止,针对细菌内的特异性位点(如细胞壁、酶、受体等)研制和开发了一系列细菌感染显像剂(包括核素标记的抗生素、噬菌体、抗菌肽、核苷及荧光染料标记的糖类等),这些显像剂能在细菌感染部位高度特异性聚集,有望应用于临床早期诊断细菌感染。本文对这些细菌感染显像剂的种类、浓集机制及研究现状进行了概述,并在此基础上,总结了理想细菌感染显像剂所应具有的特征,为进一步研究和开发新的细菌感染显像剂提供参考。

关键词: 细菌感染, 检测, 显像剂

Advances in research of imaging agents for bacterial infection

LIU Cui-Cui GU Yue-Qing*

(School of Life Science and Technology, China Pharmaceutical University, Nanjing, Jiangsu 210009, China)

Abstract: Imaging agents for bacterial infection are composed of some tracer groups including radionuclides and fluorescent dyes conjugated to some guides which specifically target bacteria. By detecting the tracer signals, bacterial infection sites can be positioned. So far, on the basis of the specific binding sites of bacteria (such as cell wall, enzyme and receptor), a lot of imaging agents are constructed for bacterial infection. These agents include radiolabelled antibiotics, bacteriophage, antimicrobial peptides, nucleosides and nucleoside analogs and fluorochrome labeled sugars. They are promising to detect clinical infection disease for their highly specifically accumulation in the infection sites, but not in the non-bacterial induced inflammation sites and normal tissues. Here we reviewed the types, imaging mechanisms and the latest progress of these imaging agents for bacterial infection. Based on this, characteristics of ideal imaging agents for bacterial infection are also summarized, and it can be useful for further study and development of new imaging agents.

Keywords: Bacterial infection, Detection, Imaging agent

炎症(Inflammation)是组织对物理、化学、免疫或微生物等各种损伤的一种复杂的病理生理反应,其中由细菌或其他微生物所引起的炎症称为感染(Infection)^[1],感染是由生物因子引起的,是产

生炎症的主要原因之一,我们熟知的许多疾病名称冠以“炎”字,但其中不少与“炎”相关的疾病并不属于感染。因此炎症与感染是两个不同的概念,不能混为一谈。

*通讯作者: Tel: 86-25-83271046; ✉: guyueqingsubmission@hotmail.com

收稿日期: 2013-07-03; 接受日期: 2013-08-28; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2013-09-02

据世界卫生组织统计,世界范围内 25% 的死亡是由细菌感染性疾病引起的^[2]。当前人们遇到炎症,在并不区分是细菌性炎症还是非细菌性的,就选用抗生素,这样不仅耽误了疾病的治疗,还诱导产生了大量的耐药细菌。针对这一大难题,各国科学家研制和开发了各种细菌感染显像剂,这些显像剂只在细菌感染部位高度特异性聚集,因此能够精确定位出细菌感染灶,对临床细菌感染的诊断具有巨大的应用价值。

目前在研究的细菌感染显像剂主要是利用核医学及光学方法进行显像定位^[3-4]。在临床上核医学显像是非常好的无创伤全身显像方法,通过放射性核素标记对细菌具有靶向性的物质,再结合单光子发射计算机断层成像术(Single-photon emission computed tomography, SPECT)和正电子发射断层成像术(Positron emission tomography, PET)追踪放射性信号。由于放射性核素的示踪特性,不仅可以定位全身各个部位的细菌感染灶,还可以测定细菌感染灶的数目。光学显像主要是通过荧光染料标记对细菌具有靶向性的物质构建光学探针,这些探针可在细菌感染部位高度聚集,通过检测荧光信号,确定细菌感染部位^[5]。本文综述了这些核医学和光学细菌感染显像剂的聚集机制和研究现状,为深入研究和开发新的细菌感染显像剂提供借鉴和参考。

1 核医学细菌感染显像剂

1.1 放射性核素标记的抗菌药物

肽聚糖是组成细菌细胞壁的特有成分,在细菌细胞壁合成过程中需要青霉素结合蛋白(Penicillin-binding protein, PBPs)发挥转肽酶活性,促进肽聚糖的交联。头孢菌素能竞争结合 PBPs,抑制肽聚糖交联,使细菌不能合成完整的细胞壁。

Gomes 等^[6]将得(^{99m}Tc)标记的头孢唑肟(Ceftizoxime)分别在正常鼠模型、大肠杆菌(*Escherichia coli*, *E. coli*)诱导败血症鼠模型、酵母聚糖诱导鼠炎症模型上进行了全身分布实验,发现^{99m}Tc-ceftizoxime 在败血症模型的脓肿部位显示出高摄取特性和高脓肿/背景分布比值,在脓肿部位

的摄取随时间增加,而在酵母聚糖诱导的炎症模型中,^{99m}Tc-ceftizoxime 则摄取很少。以上说明^{99m}Tc-ceftizoxime 能够在 *E. coli* 感染部位高度聚集,而在非细菌引起炎症部位不聚集,具有区分细菌感染和无菌炎症的特性。Motaleb 等^[7]将^{99m}Tc 标记头孢哌酮(Cefoperazone)在金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, *S. aureus*)感染小鼠模型上进行生物分布实验,发现 1 h 后,在小鼠腿部金黄色葡萄球菌感染部位有高摄取,并且与其他组织比较具有较高的分布比值。

除头孢类抗生素之外,研究者们还将研究范围扩展到喹诺酮类抗生素。环丙沙星(Ciprofloxacin)是氟喹诺酮类广谱抗菌药,可与细菌内 DNA 促旋酶结合,阻断 DNA 复制达到抗菌作用,是最早应用于临床的细菌感染显像剂^[8-10]。国际原子能机构对来自 8 个国家的 900 名病人进行了一次最大规模的临床试验^[4],结果显示,在细菌性脓肿和含感染细菌的组织病灶有高摄取,临床诊断敏感性是 88%,特异性为 82%,具有很高的阳性检出率,且与临床传统细菌检测方法结果相符。正常人的早期显像表明,其主要聚集于肾,肝和脾有较少摄取,骨、骨髓、肌肉、软组织和胃肠道无聚集,适合胸腹部成像。由于^{99m}Tc 标记环丙沙星(InfectonTM)良好的显像特性、安全性和有效性,也是到目前为止研究最多,且已应用到人体试验为数不多的细菌感染显像剂之一。目前,由 Draximage Inc.生产的^{99m}Tc-Ciprofloxacin (InfectonTM)已进入了临床期研究。

鉴于此,研究者们继续探索了其他喹诺酮类抗生素是否可用于细菌感染成像。Zhang S.等^[11]使用 [^{99m}Tc≡N]²⁺(^{99m}TcN)标记诺氟沙星二硫代氨基甲酸酯(Norfloxacin dithiocarbamate, NFXDTC),体外实验显示,^{99m}TcN-NFXDTC 与细菌具有很高的结合力;体内实验结合 SPECT 成像,对^{99m}TcN-NFXDTC 和^{99m}Tc-ciprofloxacin 在脓肿部位的摄取进行了比较,^{99m}TcN-NFXDTC 在脓肿部位显示出高摄取,并且具有较高的脓肿/背景分布

比值,但由于其肝肺代谢特征,并不适合于肝部和肺部细菌感染成像。

卡那霉素(Kanamycin)属氨基糖苷类抗生素,通过与30S核糖体结合从而致使mRNA密码误读。Roohi等^[12]对^{99m}Tc标记卡那霉素进行体内生物分布实验,得出^{99m}Tc-Kanamycin主要通过肾排泄,并且在30min后,*S. aureus*感染部位显示出高^{99m}Tc-Kanamycin摄取。

自20世纪以来,研究者们就一直致力于用核素标记抗菌药物检测细菌感染,到目前为止已涉及到头孢菌素类、氨基糖苷类、喹诺酮类等各种抗生素,并且有的已应用到临床细菌感染诊断中。这类显像剂应用了人类常用的抗生素分子,无毒且具有很好的组织相容性,抗生素用量低(只需示踪量),抗生素标记物不会产生治疗效果,具有很好的显像性。但需要指出的是,^{99m}Tc-Ciprofloxacin (InfectonTM)标记环丙沙星虽然目前研究最多,但其化学结构不确定,放射性化学产率低,纯化步骤复杂,并且制备过程需要加热,这些对临床制备也造成了困扰。此外,抗菌药物的摄取受诸多方面的影响,这些因素与其在细菌感染部位的定位成像紧密相关,从而影响其对细菌感染的显像诊断。核素标记抗菌药物在细菌感染部位的摄取机制尚不明确,还需进一步验证,并且通过该方法还有增加细菌耐药性的可能性,因此限制了标记抗菌药物的发展和在临床诊断中的应用。

1.2 放射性核素标记的噬菌体

噬菌体(Bacteriophage)是一种只对细菌具有天然特异性的病毒,通过与细菌表面的特异性受体结合,将病毒基因插入细菌,将细菌作为宿主进行增殖,并引起细菌裂解。早在1920年临床上就有使用噬菌体治疗细菌感染的案例,但后来逐渐被抗生素治疗所取代。大多数噬菌体侵染的细菌谱要比抗生素的抗菌谱窄,甚至有的可以特异到单一菌种,因此由于噬菌体的特异性和相对安全性,可研究用噬菌体定位细菌感染,将其发展为新型细菌感染显像剂。

Rusckowski等^[1,13]尝试使用^{99m}Tc标记M13噬菌体,选用*E. coli* strain 2537、*E. coli* strain 25922、*S. aureus* strain 29213作为测试菌,通过小鼠体外和体内实验评价^{99m}Tc标记M13噬菌体与细菌结合的亲和性大小。在3种测试菌中,M13噬菌体对*E. coli* 2537的结合亲和力最高,并且对活菌和死菌具有几乎相等的亲和性。动物实验也显示,其在细菌感染部位显示出高摄取特性和高的摄取/背景分布比值。体内生物分布实验显示,M13噬菌体在肝部和内脏聚集最多,在肺部迅速聚集,之后迅速降低。在胃部和内脏的聚集可能是由于噬菌体靶向体内内源性细菌产生。在肝、内脏及肺部的非特异性摄取,限制了其在这些部位的应用。

虽然^{99m}Tc标记噬菌体在体内外可以与细菌特异性结合,并显示出良好的成像特性,但如果将其进一步应用于人体,其安全性和有效性尚待进一步证实;并且由于噬菌体具有宿主特异性,也限制了其应用范围;Rusckowski等只证明了M13噬菌体能特异性结合3种细菌,至于是否能特异结合其他细菌及它们之间互相结合的程度,或者其他噬菌体是否也具M13噬菌体这样的显像特性也需进一步验证。

1.3 放射性核素标记的抗菌肽

抗菌肽(Antimicrobial peptide, AMPs)是动物先天性免疫的重要组成部分,由于富含疏水和碱性氨基酸(赖氨酸、精氨酸),所以多数抗菌肽都带正电荷。抗菌肽对细菌的靶向大都是通过其阳离子区域(带正电荷)与微生物细胞膜/细胞壁中带负电荷的磷壁酸/磷脂之间靠静电相互作用,而正常哺乳动物细胞负电荷脂质分布在细胞膜内侧,这就解释了在生理pH下阳离子抗菌肽与哺乳动物细胞结合弱的原因^[14]。

UBI 29-41是人类阳离子抗菌肽ubiquicidin第29-41个氨基酸片段(MW 1.69 kD),氨基酸序列是Thr-Gly-Arg-Ala-Lys-Arg-Arg-Met-Gln-Tyr-Asn-Arg-Arg,具有6个正电荷氨基酸(5Arg+1Lys)。Welling等^[15]首次用^{99m}Tc标记UBI 29-41诊断细菌感染,

动物实验显示其在细菌感染部位迅速聚集,而在无炎症部位没有聚集或聚集很低,指出 ^{99m}Tc -UBI 29-41 是一个敏感性和特异性都很高的检测细菌感染的工具,并且人体研究表明, ^{99m}Tc -UBI 29-41 静脉注射后无明显副作用。此外,各国科学家使用 ^{99m}Tc -UBI 29-41 进行了临床试验^[3],在不明原因的高热、骨髓炎、糖尿病足、假肢关节感染、脓毒性关节炎、菌血症等的诊断中, ^{99m}Tc -UBI 29-41 都得到了很成功的应用。在 198 个病人中进行了临床试验,诊断结果显示^[16], ^{99m}Tc -UBI 29-41 敏感性为 96.3%,特异性是 94.1%,准确性是 95.3%,阳性预测值是 95.1%。Assadi 等^[17]使用 ^{99m}Tc -UBI 29-41 诊断 55 例疑似患有足部骨髓炎的病人,诊断结果显示 37 名病人患有骨髓炎,18 名病人未患骨髓炎。通过骨扫描对诊断结果进行确证, ^{99m}Tc -UBI 29-41 诊断的灵敏性、特异性、准确性高达 100%。通过对 ^{99m}Tc 标记抗菌肽 ubiquicidin 及其人工合成肽段的一系列研究^[18-19],不管动物研究还是人体研究,都表明人工合成短肽 UBI 29-41 最有望成为理想的细菌感染显像剂。

短肽分子是机体内重要的一类生物活性物质,与蛋白质比较,具有分子质量小、制备容易、抗原性弱、毒副作用小等优点,在医药研究和临床上越来越受到重视。除 ^{99m}Tc -Ciprofloxacin (InfectonTM)外,在当前正在研究的所有细菌感染显像剂中,将 ^{99m}Tc -UBI 29-41 应用于临床细菌感染诊断的研究报道最多,对其安全性和有效性也得到了研究者和临床工作者的肯定,这意味着 ^{99m}Tc -UBI 29-41 是最具潜力的细菌感染显像剂,但 ^{99m}Tc -UBI 29-41 通过靶向细菌细胞壁表面负电荷检测细菌感染,机体内存在许多负电荷物质,这些负电荷物质是否会影响这类显像剂聚集到感染部位,这些因素还需进一步试验与验证,所以将其真正应用到临床细菌感染诊断还有很长一段路要走。

1.4 放射性核素标记的核苷及其类似物

哺乳动物细胞的胸腺嘧啶激酶(Thymidine kinase, TK)特异性很强,只能使胸腺嘧啶核苷磷

酸化,而细菌和病毒(如单纯疱疹病毒 HSK1) TK 的特异性较差,能催化尿嘧啶、羟甲基无环鸟苷等多种核苷及类似物的磷酸化,使其滞留于病原菌体内,所以可利用微生物的胸腺嘧啶激酶作为靶点研制新型细菌感染显像剂。基于此,人们合成了多种放射性核素标记的核苷类似物。

1-(2-脱氧)-2-氟阿糖尿苷(FIAU)和 3-去氧-3'-氟胸苷(FLT)是一种胸腺嘧啶类似物,是内源性细菌 TK 的底物。Bettegowda 等^[20]使用 ^{125}I (^{125}I)标记 FIAU,检测细菌感染。将一系列的核苷类似物与 *E. coli* 共同孵育,结果显示 ^{125}I -FIAU 能抑制野生型大肠杆菌(WT *E. coli*)的生长,但对 TK 缺失 *E. coli* 没有影响,揭示出 WT *E. coli* 能够代谢 FIAU,并且通过序列对比,可看出多种病原菌的 TK 基因与 WT *E. coli* 具有高度的同源性,说明 TK 基因在原核生物中的高度保守性。Bettegowda 等^[20]使用 ^{125}I -FIAU 结合 SPECT/CT 技术在体检测 *E. coli*、粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*, *E. faecalis*)、*S. aureus*、表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*, *S. epidermidis*)、肺炎链球菌(*Staphylococcus pneumoniae*, *S. pneumoniae*)感染,检测极限能达到 2×10^6 CFU。

Jang 等^[21]使用 ^{125}I -FIAU 和 3-去氧-3'-F-氟胸苷(^{18}F FLT)作为鼠伤寒沙门杆菌感染的显像剂,SPECT 和 PET 成像结果显示, ^{125}I -FIAU 和 ^{18}F FLT 在细菌感染部位高聚集,并且感染部位的信号强度随着感染时间和感染数量的增加呈线性增长, ^{18}F FLT 在感染部位的摄取是 7.286 ± 2.405 ,在非感染部位的摄取是 0.519 ± 0.561 ;全身分布数据显示,4 h 时, ^{125}I -FIAU 感染部位与正常部位的摄取比是 2.98。通过体外实验,测定不同 TK 活性和 FIAU 与 FLT 的摄取,说明这二者的摄取与 TK 有紧密的联系。

需要指出的是, ^{125}I -FIAU 和 ^{18}F FLT 只可应用于具有 TK 基因的细菌。实验中只验证了 6 种不同的细菌,由于 TK 基因在不同细菌的高度保守性,对其他病原菌显像的可能性还需进一步验证;

^{125}I -FIAU 是一个很有潜能的细菌感染显像剂, 但是否还有其他核苷类似物比 FIAU 更容易插入细菌 DNA, 具有更优的显像特性, 还需进一步试验; 并且由于 *E. coli* 对 FIAU 的高敏感性, 核苷类似物不仅可以用来细菌感染成像, 还能进一步应用于细菌感染的治疗。 ^{125}I -FIAU 的检测极限是 2×10^6 CFU, 更低的细菌数量难以检测。

综上所述, 利用细菌内源性 TK 的活性, 可进行不同细菌感染的成像。利用微生物与人体细胞 TK 底物的差异, 可用于细菌感染显像研究, 目前已有应用于人体研究的报道。

1.5 ^{68}Ga 标记的转铁蛋白(Apo-transferrin)

微生物需要铁合成细胞代谢所需物质, 在人类和其它哺乳动物中, 血液中铁离子浓度很低 ($< 10^{-12}$ $\mu\text{mol/L}$)^[22], 不易被细菌利用。细胞外的铁与蛋白紧密结合, 如血清中的转铁蛋白和黏膜表面的乳铁蛋白, 而在细胞内, 铁多数结合于血红蛋白和铁蛋白中, 因此感染人体的细菌必需能从这些蛋白中争夺铁满足自身生长的需要。细菌表面存在的铁载体或转铁蛋白受体具有与哺乳动物竞争铁的能力^[23-24]。

镓标记的柠檬酸盐 (^{67}Ga -Citrate) 很早就被用作炎症部位的成像, 并一度成为放射性炎症显像的首要选择。Ga 的摄取机制很复杂^[25], 但目前被普遍接受的是如下理论: Ga 离子的生物活性与三价铁离子相似。血液中, Ga 与转铁蛋白(Transferrin, TF)牢固结合, 在炎症部位, 由于局部毛细血管通透性增加及 pH 下降, Ga 与转铁蛋白解离, 并从血管渗漏出, 与白细胞产生的乳铁蛋白或由微生物产生的低分子铁载体结合(在酸性环境下, 上述两种蛋白对 Ga 的亲合力较转铁蛋白高), 从而在炎症病灶部位形成高 Ga 浓度。

自 1971 年起, ^{67}Ga -Citrate 已广泛用于细菌感染/炎症的诊断, 但由于其物理半衰期较长 ($t_{1/2} = 78.3$ h), 在注射显像剂 48 h 或更长时间才能进行显像, 使受检者所受辐射剂量较高, 限制了其临床应用。研究者们认为这样长显像等待时间是由

体内 ^{67}Ga 转移到血浆转铁蛋白所致, 而 ^{68}Ga 半衰期 ($t_{1/2} = 68$ min) 较短, 研究者们推测直接用 ^{68}Ga 标记转铁蛋白, 可省去二者的转移结合, 缩短成像时间。

Kumar 等^[22]用 ^{68}Ga 标记的 apo-transferrin 进行细菌感染部位成像, 该显像剂在细菌感染部位高度聚集, 但在正常组织器官无聚集。实验结果显示, ^{68}Ga -apo-transferrin 复合物在注射后 20 min 就能在 *S. aureus* 感染部位检测到信号, 信号强度能够持续 4 h。但是单独的 $^{68}\text{GaCl}_3$ 并不具有显像细菌感染的功能。在实验中, Kumar 等还偶然发现 ^{68}Ga -apo-transferrin 复合物能够检测出 G⁻菌奇异变形杆菌(*Proteus mirabilis*, *P. mirabilis*)感染。

实验证实了 ^{68}Ga -apo-transferrin 检测细菌感染的可能性, 人体内转铁蛋白的总量是 240 $\mu\text{g/g}$, 实验中只给小鼠注射了很低的剂量(0.2 mg/rat), 不会引起任何机体的药理学效应。由于 ^{68}Ga 半衰期 ($t_{1/2} = 68$ min) 较短, 可能不适于做长期研究; 并且由于在正常肠道组织及骨造血区域有放射性沉积, 也使该显像的应用范围受限。除此之外, ^{68}Ga -apo-transferrin 检测 *P. Mirabilis* 只是实验中的偶然发现, 至于是否能检测更多的细菌, 尤其是厌氧细菌的检测, 还需进一步确证。Kumar 等对 ^{68}Ga -apo-transferrin 进行了初步的研究, 并且仅限于动物实验, 其进一步应用的可能性还需进一步的研究^[22]。

2 细菌感染的光学显像剂

细菌感染诊断研究的不断发展伴随着多种显像技术的引进, 其中光学显像技术也越来越成为研究热点。将细菌感染显像剂从核医学扩展到光学, 这是细菌感染诊断中的一大突破。近年来, 许多科研工作者利用荧光染料标记对细菌具有特异性识别的配体构建光学探针, 以下介绍了细菌感染光学诊断技术的研究进展及显像机理。

2.1 二甲基吡啶胺-锌配合物(Zinc(II) dipicolylamine, Zn-DPA)

原核生物和真核生物细胞膜最大的区别在于

脂质组分和拓扑学性质。哺乳动物细胞膜具有脂质双分子层,外层主要由电中性的两性离子组成,主要是磷脂酰胆碱(Phosphatidylcholine, PC)和鞘磷脂,而负电荷酸性磷脂隐匿在细胞膜内层。此外,哺乳动物细胞表面的胆固醇对细胞膜也具有稳定作用,保护细胞免受正电荷物质进攻。细菌外层具有细胞壁,其表面主要有4个带负电荷的位点:(1)脂质A,是G⁻菌脂多糖(Lipopolysacchride, LPS)的主要成分,位于G⁻的外膜结构上;(2)磷壁酸,存在于G⁺菌肽聚糖层中,包括膜磷壁酸和壁磷壁酸,延伸到细胞壁外;(3)磷脂酰甘油(Phosphatidylglycerol, PG)和(4)心磷脂(Cardiolipin, CL)。PG、CL都是阴离子磷脂,构成了细胞膜磷脂的绝大部分。除此之外,细菌细胞膜中不含胆固醇,以上几种因素,构成了靶向细菌的基础^[26-27]。

Zn-DPA是一种二甲基吡啶胺-锌配合物,带有正电荷。Leevy等^[28]首次发现Zn-DPA配合物对富含阴离子脂质的细菌细胞膜具有很高的亲和性,在口腔唾液(富含细菌和上皮细胞)中,Zn-DPA配合物能够选择性结合细菌,而不结合上皮细胞。Leevy等^[26]将Zn-DPA与近红外荧光基团羰菁类(Carbocyanine)偶联在一起,构成光学探针PSVue[®]794,在鼠伤寒沙门氏杆菌和*S. aureus*感染动物模型上进行体内生物分布研究,发现探针在感染腿部显示出高摄取特效和高的感染/背景分布比率,但在λ-卡拉胶引起的炎症部位和对侧对照腿部没有摄取,显示出该类探针的一大优势,即能够区分出细菌感染和无菌炎症,使感染的诊断变得快速而准确。

White等^[29-30]又使用远红外菁类染料(Far-red cyanine dye)标记Zn-DPA构建分子探针PSVue643,通过荧光共振能量转移法(Förster resonance energy transfer assay)量化Zn-DPA对阴离子细菌细胞膜(使用脂质体模拟细菌细胞膜)的亲和性,发现Zn-DPA对PG(G⁺菌细胞膜主要成分)的结合常数是 $1.3 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$,对脂质A(G⁻菌的

主要成分)的结合常数是 $1.2 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ 。通过感染动物模型体内生物分布实验,同样证明Zn-DPA探针在感染部位具有很高的聚集。

通过大量Zn-DPA探针在感染和炎症部位的生物分布研究,看出Zn-DPA探针能够很好地区分细菌感染和非细菌性炎症,是一个很有潜力的特异性感染显像剂。但应用于临床,其安全性和有效性尚需进一步评价。需要指出的是,Zn-DPA与^{99m}Tc-UBI 29-41在细菌感染部位具有相同的富集机制,即通过靶向细菌细胞壁表面负电荷检测细菌感染,但机体内存在许多负电荷物质,这些负电荷物质对这类正电荷靶向显像剂聚集到感染部位是否会产生影响,这些因素还需进一步试验与验证。

2.2 寡糖标记物

麦芽六糖是细菌的主要糖源,大肠杆菌(*E. coli*)、肠球菌(*E. faecalis*)、金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)等对麦芽六糖的转运是通过细菌表面的特异性受体麦芽糖结合蛋白(Maltose-binding protein, MBPs)进行的^[31-33]。麦芽糖糊精属于麦芽六糖的一种,Ning等^[34]分别用荧光染料Perylene和IR786标记麦芽糖糊精,构建了两种小分子探针(Maltodextrin-based imaging probes, MDPs),即MDP-1和MDP-2。将MDPs与细菌、哺乳动物细胞共同孵育,在细菌内部可以检测到MDPs的荧光信号,但在哺乳动物细胞内没有荧光产生,说明MDPs可选择性结合并进入细菌内部。需要指出的是,在显像机理方面MDPs与以前的细菌感染显像剂有很大差别,以前的细菌感染显像剂作用在细菌细胞壁并不进入细菌内,而MDPs则通过细菌表面的受体进入细菌内部,并且细菌内MDPs浓度可达到毫摩尔浓度级别,具有很高的成像效率,这在细菌感染显像方面是一个很大的突破。通过体内代谢实验,发现在细菌感染部位能检测到MDPs荧光信号。此外,Ning等通过实验进一步证实了MDPs还能检测生物膜中的活菌,为与生物膜相关疾病的诊断提供了强有力的依据。该课题组还证实了MDPs还可以检测出更低的细菌浓度范围

(<10⁵ CFU), 而前述的 FIAU、Zn-DPA、抗菌肽 UBI 29-41 只能检测到 10⁷-10⁸ CFU。

MDPs 在诊断细菌感染方面具有很高的准确性和特异性, 在临床细菌感染诊断方面具有很大的应用潜力。MDPs 尚处于研究初级阶段, 但麦芽糖糊精是一种价廉易得的低聚糖分子, 低毒, 无免疫原型, 并且标记效率高, 有望发展成继 ^{99m}Tc-Ciprofloxacin (InfectonTM) 和 ^{99m}Tc-UBI 29-41 之后新一代的细菌感染显像剂, 但其安全性和有效性还需进一步验证。

3 结语与展望

近年来, 随着细菌感染显像剂研究的不断深入和扩展, 如何研制和开发理想的细菌感染显像剂逐渐成为研究热点。有学者认为理想的细菌感染显像剂应满足以下要求^[35]: (1) 感染部位特异性高摄取, 非感染部位聚集少; (2) 检测迅速, 背景清除快; (3) 无毒副作用, 无免疫反应; (4) 能够区分细菌性感染和无菌炎症。

在本文综述的细菌感染显像剂中, 只有 ^{99m}Tc-UBI 29-41 和 ^{99m}Tc-Ciprofloxacin 已进入了人体试验研究阶段, 其他显像剂尚处于初级研究阶段。放射性核素标记的细菌感染显像剂, 制备过程复杂、耗时, 而且标记过程中还存在生物安全性问题, 因此研制具有良好生物学性能的显像剂将成为今后的发展方向。光学显像技术具有低辐射和高灵敏度等优点, 并可通过外源性显像剂增强其诊断的灵敏性和特异性, 增强组织对比, 促进快速选择性定位, 提供重要的组织病理学信息, 因此, 光学显像在细菌感染诊断方面的应用越来越广泛。随着光学显像技术的不断革新, 用于标记的分子不断被发现, 将促进细菌感染光学显像技术的发展和运用。

近年来, 由于短肽具有低毒、改善的药代动力学性质和对细菌感染的特异性, 放射性核素标记的抗菌肽及其人工合成相关肽成为研究最多, 同时也是最有希望应用于临床的细菌感染显像剂。但作为最新出现的 MDPs, 其应用配体-受体的特异性相互作用, 显像机理更加明确, 并且作为一种小分子

低聚糖, 其优越的成像性质及无毒特性, 很好的组织相容性, 使其发展空间更加广阔。

细菌感染显像剂从实验室走向临床应用将是一个漫长的过程。因此, 尽管现有的显像剂存在各种缺陷或不足, 但仍应利用好它们的优势, 为临床提供更多有价值的信息。在这一方面, 新成像设备 (如 SPECT/CT、PET/CT) 的应用无疑为感染显像带来了新的机遇。

随着人口老龄化、骨科及心血管人工植入物的增多、细胞毒性药物的广泛应用 (化疗、器官移植)、艾滋病 (AIDS) 患者及临床耐药细菌的增加, 使感染显像越来越受到临床重视。因此, 研制与开发安全、有效、特异的细菌感染显像剂变得日趋紧迫。

参考文献

- [1] Chianelli M, Boerman OC, Malviya G, et al. Receptor binding ligands to image infection[J]. *Current Pharmaceutical Design*, 2008, 14(31): 3316-3325.
- [2] Lowy FD. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*[J]. *Journal of Clinical Investigation*, 2003, 111(9): 1265-1273.
- [3] 付占立. 炎症显像剂的临床应用及研究进展[J]. *同位素*, 2010, 23(3): 186-192.
- [4] Guillermina FF, Blanca EOG, Alafort LM. Development of specific radiopharmaceuticals for infection imaging by targeting infectious microorganisms[J]. *Current Pharmaceutical Design*, 2012(18): 1098-1106.
- [5] 钱慧敏, 陈海燕, 王旻, 等. 近红外标记技术在生物医药领域的应用[J]. *药物生物技术*, 2006, 13(4): 306-309.
- [6] Gomes BV, Rabiller G, Iglesias F, et al. ^{99m}Tc-ceftizoxime scintigraphy in normal rats and abscess induced rats[J]. *Revista Española De Medicina Nuclear*, 2005, 24(5): 312.
- [7] Motaleb MA. Preparation of ^{99m}Tc-cefoperazone complex, a novel agent for detecting sites of infection[J]. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 2007, 272(1): 167-171.
- [8] Benitez A, Roca M, Martin CJ. Labeling of antibiotics for infection diagnosis[J]. *The Quarterly Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 2006, 50: 147-152.
- [9] Hall AV, Solanki KK, Vinjamuri S, et al. Evaluation of the efficacy of ^{99m}Tc-Infecton: a novel agent for detecting sites of infection[J]. *Journal of Clinical Pathology*, 1998, 51(3): 215-219.
- [10] Britton KE, Wareham DW, Das SS, et al. Imaging bacterial infection with ^{99m}Tc-ciprofloxacin (Infecton)[J]. *Journal of Clinical Pathology*, 2002, 55(11): 817-823.
- [11] Zhang S, Zhang W, Wang Y, et al. Synthesis and biodistribution of a novel ^{99m}TcN complex of norfloxacin dithiocarbamate as a potential agent for bacterial infection imaging[J]. *Bioconjugate Chemistry*, 2011, 22(3): 369-375.

- [12] Roohi S, Mushtaq A, Jehangir M, et al. Synthesis, quality control and biodistribution of ^{99m}Tc -Kanamycin[J]. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, 2006, 267(3): 561-566.
- [13] Rusckowski M, Gupta S, Liu G, et al. Investigations of a ^{99m}Tc -labeled bacteriophage as a potential infection specific imaging agent[J]. Journal of Nuclear Medicine, 2004, 45: 1201-1208.
- [14] Zasloff M. Antimicrobial peptides of multicellular organisms[J]. Nature, 2002, 415(6870): 389-395.
- [15] Welling MM, Paulusma AA, Balter HS, et al. Technetium-99m labeled antimicrobial peptides discriminate between bacterial infections and sterile inflammations[J]. European Journal of Nuclear Medicine, 2000, 27(3): 292-301.
- [16] Sepúlveda MJ, de Murphy CA, Rojas-Bautista JC, et al. Specificity of ^{99m}Tc -UBI for detecting infection foci in patients with fever in study[J]. Nuclear Medicine Communications, 2010, 31(10): 889-895.
- [17] Assadi M, Vahdat K, Nabipour I, et al. Diagnostic value of ^{99m}Tc -ubiquicidin scintigraphy for osteomyelitis and comparisons with ^{99m}Tc -methylene diphosphonate scintigraphy and magnetic resonance imaging[J]. Nuclear Medicine Communications, 2011, 32(8): 716-723.
- [18] Sepúlveda MJ, de Murphy CA, Rojas-Bautista JC, et al. Specificity of ^{99m}Tc -UBI for detecting infection foci in patients with fever in study[J]. Nuclear Medicine Communications, 2010, 31(10): 889-895.
- [19] Dillmann AC, Cantu LR, Campa NH, et al. Application of the ubiquicidin 29-41 scan in the diagnosis of pyogenic vertebral osteomyelitis[J]. Acta Ortopedica Mexicana, 2011, 25(1): 27-31.
- [20] Bettgowda C, Foss CA, Cheong I, et al. Imaging bacterial infections with radiolabeled 1-(2-deoxy-2-fluoro- β -D-arabino-furanosyl)-5-iodouracil[J]. Proceedings of the National Academy of the Sciences of the United States of America, 2004, 4(102): 1145-1150.
- [21] Jang SJ, Lee YJ, Lim S, et al. Imaging of a localized bacterial infection with endogenous thymidine kinase using radioisotope-labeled nucleosides[J]. International Journal of Medical Microbiology, 2012, 302(2): 101-107.
- [22] Kumar V, Boddeti DK, Evans SG, et al. Potential use of ^{68}Ga -apo-transferrin as a PET imaging agent for detecting *Staphylococcus aureus* infection[J]. Nuclear Medicine and Biology, 2011, 38(3): 393-398.
- [23] 张莹, 张文莉, 陈小贝, 等. 细菌产铁载体的结构、功能及其研究进展[J]. 中国卫生检验杂志, 2012, 22(9): 2249-2251.
- [24] Modun B, Morrissey J, Williams P. The staphylococcal transferrin receptor: a glycolytic enzyme with novel functions[J]. Trends in Microbiology, 2000, 8(5): 231-237.
- [25] Kumar V, Boddeti DK. ^{68}Ga -Radiopharmaceuticals for PET Imaging of Infection and Inflammation[M]. Theranostics, Gallium-68, and Other Radionuclides. Berlin Heidelberg: Springer, 2013: 189-219.
- [26] Leevy WM, Gammon ST, Jiang H, et al. Optical imaging of bacterial infection in living mice using a fluorescent near-infrared molecular probe[J]. Journal of the American Chemical Society, 2006, 128(51): 16476-16477.
- [27] Leevy WM, Gammon ST, Johnson JR, et al. Noninvasive optical imaging of *Staphylococcus aureus* bacterial infection in living mice using a bis-dipicolylamine-zinc(II) affinity group conjugated to a near-infrared fluorophore[J]. Bioconjugate Chemistry, 2008(19): 686-692.
- [28] Leevy WM, Johnson JR, Lakshmi C, et al. Selective recognition of bacterial membranes by zinc (II)-coordination Complexes[J]. Chemical Communications, 2006(15): 1595-1597.
- [29] White AG, Leevy WM, Lee JJ, et al. Optical imaging of bacterial infection in living mice using deep-red fluorescent squaraine rotaxane probes[J]. Bioconjugate Chemistry, 2010, 21(7): 1297-1304.
- [30] White AG, Gray BD, Pak KY, et al. Deep-red fluorescent imaging probe for bacteria[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2012(22): 2833-2836.
- [31] Boos W, Shuman H. Maltose/maltodextrin system of *Escherichia coli*: transport, metabolism, and regulation [J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 1998, 62(1): 204-229.
- [32] Gopal S, Berg D, Hagen N, et al. Maltose and maltodextrin utilization by *Listeria monocytogenes* depend on an inducible ABC transporter which is repressed by glucose [J]. PLoS One, 2010, 5(4): e10349.
- [33] Medintz IL, Deschamps JR. Maltose-binding protein: a versatile platform for prototyping biosensing[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2006, 17(1): 17-27.
- [34] Ning XH, Lee SJ, Wang ZR, et al. Maltodextrin-based imaging probes detect bacteria *in vivo* with high sensitivity and specificity[J]. Nature Material, 2011(10): 602-607.
- [35] Walker RC, Jones-Jackson LB, Martin W, et al. New imaging tools for the diagnosis of infection[J]. Future Microbiology, 2007, 2(5): 527-554.