

· 综 述 ·

小动物活体体内光学成像技术的应用进展

李荫龙 张 栋

小动物活体体内光学成像(optical *in vivo* imaging, OI)技术是采用生物发光与荧光两种方式,利用高灵敏度的光学检测仪器直接检测动物活体体内的细胞活动和基因行为。利用该技术可以检测活体动物体内肿瘤的生长和转移、炎症的发生、特定基因的表达和药物作用效果等等^[1]。OI 相对于其它成像方式如计算机断层扫描(CT)、超声(US)、磁共振(MRI)、核素成像(PET/SPECT)而言更加侧重于功能成像^[2]。由于在活体水平能够连续动态的观测生物体内基因和细胞的活动,该技术在生命医药科学研究中发挥了重要的作用。

1 OI 简介

OI 主要采用生物发光(bioluminescence)和荧光(fluorescence)两种技术在活体体内进行不同的生物标记,通过光学成像系统可以动态连续的检测活体体内被标记分子的生物代谢发展过程,在生物医药领域具有广泛的研究应用^[3-5]。

荧光发光成像技术是将荧光物质或荧光物质标记的小分子物质如基因、细胞也可是小分子药物、抗体、纳米材料等导入到活体体内,通过小动物活体成像系统的激发光源激发荧光集团到达高能量状态,而后产生波长较激发光长的发射光,然后通过高灵敏度制冷 CCD 镜头探测到活体内的发射光。由于活体自身接收激发光后会产生一定的自发荧光,因此荧光成像具有一定的背景噪音。生物发光是利用荧光素酶报告基因在活体内表达产生的荧光蛋白与体外注射的荧光素底物发生化学反映而产生荧光,而后同样可经高灵敏度 CCD 镜头探测。荧光素酶基因可被插入多种基因的启动子,成为某种特定基因的报告基因,通过对荧光素酶基因表达的观测可监控某特定基因的表达^[6]。由于生物发光不需要外源激发光,因此信噪比远高于荧光发光。目前常用荧光素酶有海肾荧光素酶和萤火

虫荧光素酶,二者的作用底物和发光波长不同,后者所发的光更易透过组织,前者在体内的代谢比后者快,因此通常使用后者作为报告基因^[7]。

2 不同类型的标记探针在活体体内光学成像技术的应用

荧光发光与生物发光的实现需要由不同的光学探针来完成。一般来说探针是由被标记物(底物)和标记物组成,底物可以是蛋白、抗体、细胞、小分子药物等,标记物可以是荧光蛋白(GFP/RFP)、荧光染料 Dye 及无机量子点等等,下面分别进行阐述。

2.1 荧光发光标记 荧光探针根据其用途和实验目的具体来说可分为 3 类:非特异性探针、靶向性探针和可激活探针^[8]。

2.1.1 非特异性探针 非特异性探针不具有针对特定蛋白或分子的特定性或专一性,因此不会定向的追踪体内特定分子。吲哚菁绿(ICG)是一种非特异性探针,最早用来诊断活体肿瘤的生长^[9],是第一个也是迄今为止少有的被美国 FDA 批准的应用于临床检测肝功能的染料^[10],之后在心脏生理检查和眼科血管造影检查方面也有应用^[11, 12],另有临床证实 ICG 同加强 MRI 相比在乳腺疾病的诊断方面也是一种有效手段^[13]。ICG 是分子量为 775 g/mol 的小分子物质,其激发和发射波长分别为 780/800 nm 左右^[8]。ICG 在体内的半衰期很短,很快就从血管中清除进入肝细胞代谢。

2.1.2 靶向性探针 靶向性探针一般是由荧光物质如荧光蛋白、荧光染料或无机物量子点与小分子物质如抗体、多肽、药物等共价结合而组成,在体内具有特定的分子靶向性^[14-16]。靶向性探针较多应用在肿瘤学研究当中,由于肿瘤的生长会大量的表达细胞膜内或膜外的特异受体,因此荧光标记的配体可以追踪到受体并显像^[17]。一种生长抑素类似物 OCT 和花青类染料结合成共价物后静脉注射小鼠体内,结果显示肿瘤处的荧光强度较正常组织高出 3 倍^[18, 19]。此外荧光标记的配体还包括蛙皮素^[20]、血管活性肠肽^[21]、转铁蛋白^[22, 23]、低密度脂蛋白^[24]、膜联蛋白 V^[25, 26] 等等。还有应用荧光染料标记羟基磷灰石,经静脉注射后观察活体内成骨细胞的活动^[27]。新型纳

作者单位:中国中医科学院针灸研究所 生物医学工程室(北京 100700)

通讯作者:张 栋, Tel:13671186200, E-mail: zhangd112233@sina.com

DOI: 10. 7661/CJIM. 2015. 01. 0118

米材料量子点标记较荧光染料标记方法更有优势,包括作为检测探针更加明亮,分辨率更高,不会短时间内淬灭具有长期稳定发光特性^[28]。

2.1.3 体内可激活探针 体内可激活探针注射活体后本身不发光,与活体内的特定的分子发生相互作用,构象改变之后可检测到发光^[29]。荧光素酶的两端通过连接肽连接上抑制其发光的蛋白构成可激活探针。当活体的生理病理状态发生变化导致特定分子表达增多,如组织蛋白酶 B 和 D、基质金属蛋白酶 2 或凝血酶等,特定分子与探针相互作用,切断了荧光素酶与抑制蛋白之间的连接肽,恢复了荧光素酶的活性,产生了活体内荧光信号^[30-32]。

2.2 生物发光报告集团 生物发光报告集团是将荧光素酶基因整合到细胞染色体 DNA 上以稳定表达荧光素酶,在氧及 ATP 存在的条件下与外源注射的荧光素底物发生化学反应产生荧光。荧光素酶基因可以被插入多种基因的启动子,成为某种特定基因的报告基因,通过监测报告基因的活动来实现监测转录因子与被插入的特定启动子相互作用的目的^[33]。

3 主要的体内生物学发生发展过程的应用

3.1 基质降解酶活性 基质降解酶对正常组织细胞的功能具有重要的作用,同时在肿瘤细胞的增值和转移过程中也起到了关键作用。由于细胞外基质的降解失去防御作用使得恶性细胞能够迁移。在肿瘤疾病中几种基质降解酶的表达都会上调。至少存在两条细胞外基质降解系统:尿激酶/纤溶酶原激活网络,半胱氨酸蛋白酶和基质金属蛋白酶激活系统^[34]。第一次使用活体成像显示基质降解酶的活性是由 Weissleder R 通过肿瘤移植小鼠实现的^[35],他通过将荧光素与存在组织蛋白酶 B 切割位点的高分子聚合物连接起来。当大量荧光素紧密连接在酶作用物周围的时候使得荧光发生淬灭,当组织蛋白酶 B 对酶作用物进行切割后,荧光素信号恢复,在肿瘤组织周围检测到荧光信号。此后一系列的荧光探针被合成应用,根据不同的基质降解酶分为可被 MMP-2 切割探针^[36]、MMP-7 切割探针^[37]、尿激酶型纤溶酶原激活物^[38]等等。

3.2 糖代谢 一种 2-脱氧葡萄糖的荧光衍生物 2-NBDG(475 nm/550 nm)在细胞间的传递是通过葡萄糖转运体/己糖激酶途径^[39],但由于具有较低的激发和发射波长限制了它的应用。在观测肿瘤移植小鼠的糖代谢过程中,Cheng Z 等^[40]使用 Cy5.5 标记的 D-氨基葡萄糖从而克服了 2-NBDG 的缺陷。Bloch S 等^[41]将一种近红外荧光染料 cypate 标记上

D-氨基葡萄糖观测肿瘤模型小鼠的糖代谢,结果发现所有氨基葡萄糖的荧光衍生物均存在于肿瘤组织中,但仍旧未探明肿瘤组织的糖摄取是否是通过葡萄糖转运体/己糖激酶途径。

3.3 组织缺氧 当机体组织血供不足如在中风、梗死等疾病发生,或肿瘤的生长超出其血供范围时就会发生组织缺氧。当组织处于慢性缺氧时,细胞内的缺氧诱导因子 HIF-1 会被激活,而且一些特定的蛋白表达会上调。Serganova I 等^[42]将缺氧诱导因子 HIF-1 的启动子插入到绿色荧光蛋白 GFP 报告基因中,通过逆转录病毒载体转染到肿瘤细胞中,观测到肿瘤组织的直径大于 3 mm 时,HIF-1 的转录表达明显增加。尽管组织处于缺氧状态,但在生物发光时已足够来供荧光素酶的催化反应。在活体动物组织缺氧的定位,及对缺氧状态不同的治疗干预措施的评价方面活体光学成像具有明显优势^[43]。

3.4 血管生成 血管新生在肿瘤生长的过程当中十分重要。目前发现的有许多调控肿瘤血管新生的蛋白,包括血管内皮生长因子 VEGF、生长因子受体如 VEGFR、G 蛋白偶联受体、内源性血管新生调控蛋白和整联蛋白^[44]。整联蛋白在肿瘤组织血管内皮细胞上表现出高表达,因此可以作为活体成像的靶向物质,用来观测肿瘤组织的生长状态及不同药物对肿瘤治疗的效果评价。Hsu AR 等^[45]将整联蛋白的启动子插入到荧光素酶报告基因并转染到肿瘤细胞当中,观测肿瘤移植小鼠 46 天的生长情况,并成功测试了一种抗血管生成药物的效用。

3.5 细胞增殖与细胞凋亡 E2F1 是一种选择性的在增殖细胞中表达的蛋白,E2F 调控的转录会导致高水平的细胞增值效应^[46]。Uhrbom L 等^[46]通过构建 E2F1 转基因神经胶质瘤小鼠模型,通过观测荧光素酶的活性以监测胶质瘤细胞的增殖状况。还观测到对血小板源性生长因子受体具有抑制性作用的药物可以降低细胞增殖的水平,从而显示出较低的荧光信号。

细胞凋亡存在几种不同的通路,但共同的作用是能够使半胱氨酸蛋白酶 3 激活,从而使得细胞发生不可逆的凋亡改变。为了显示出半胱氨酸蛋白酶的激活,Laxman B 等^[47]构建了一个重组荧光素酶融合蛋白,其上具有半胱氨酸蛋白酶切割位点,经激活的半胱氨酸蛋白酶切割后可发出荧光信号,从而实现对细胞凋亡的监测。

3.6 血流灌注 许多研究报告指出非特异性染料 ICG 可以用来观测动物和人体的血流灌注,而且血

流灌注和血液成分的外渗还可以用荧光标记的白蛋白来检测^[48]。白蛋白包裹的纳米颗粒作为血管造影剂被用来观测小鼠鳞状细胞癌周围血管血流状态^[49],减少了纳米颗粒的光化学作用,更加有利于成像。ICG 在应用于临床之前可以观测脑脊液空间^[50]、估测肿瘤中的血液成分含量^[51]和量化外围组织的血流灌注^[52]。最近的一项临床应用是利用 ICG 来观测关节炎病人手部的微循环状况^[53]。

3.7 免疫反应及干细胞移植 用荧光素酶基因标记免疫细胞和干细胞可以实时、动态的观察被标记的细胞在体内的活动。被荧光素酶标记的免疫细胞如 T 细胞或 NK 细胞可以用来观测其对肿瘤细胞的识别、杀伤作用并评估放化疗的效果。将荧光素酶标记的造血干细胞移植入脾及骨髓,可以检测到这些造血干细胞的后代在动物体内的生长和活动情况^[54]。

3.8 病毒和细菌感染 用荧光素酶标记病毒和细菌之后,可以观察病原体在动物体内的寄宿部位、增值变化、侵染过程和对外界治疗干预措施的反映情况^[55]。通过生物 OI 可以评价不同药物对病毒和细菌感染的治疗作用,筛选出最佳的治疗药物和最佳剂量。

3.9 药物体内作用 对于小分子药物可直接对其进行标记,观测其在活体内的分布及代谢状况。对于药物治疗作用的评价或者新型药物的研发、筛选可通过转基因动物模型的建立,通过检测转基因动物体内特异基因的表达活动从而间接反映出药物的治疗效果。许多针对肿瘤的药物治疗或基因治疗都采用了生物发光模式的肿瘤小鼠模型,Takeshita F 等^[56]通过生物发光成像评价了 RNAi 在小鼠肿瘤治疗中发挥的作用。

4 中医药研究应用

孙永等^[57]运用荧光染料 Cy7 标记姜黄素,并进行纯化,观测被标记的姜黄素在活体内组织分布情况,结果显示 Cy7 标记成功,纯度达到 90% 以上,注入体内后荧光立即分布全身,然后逐步向膀胱聚集,显现显著的肾排泄特点,30 min 左右基本富集于膀胱,解剖后观察到注药鼠心、肝、脾、肺、肾均有显著分布。结论提示此方法对于中药的药代动力学检测具有重要应用价值。张栋等^[58]运用小动物活体成像观测针刺对 Cy7 修饰的转铁蛋白 (Tf-Cy7) 和阿霉素 (Dox) 在裸鼠体内分布的影响,结果显示针刺可以改变 Tf-Cy7 和 Dox 在体内的分布情况,针刺改变了药物靶点的聚集。游敏玲等^[59]通过细胞转染及筛选构建了稳定表达 GFP 的肝癌细胞系,细胞注射入裸鼠形成异位肝癌模型,应用荧光成像技术在体观察柴芪益肝颗粒

(CG) 合紫杉醇 (Taxol) 对肿瘤的治疗作用。结果显示 CG 明显增强了 Taxol 对裸鼠异位肝癌生长的抑制作用。Kwong KK 等^[60]利用活体成像观察了刮痧对于血红素氧化酶 1 (HO-1) 转基因小鼠 HO-1 表达的影响,结果显示刮痧可以明显提高多脏器 HO-1 基因的表达,刮痧前后比较显示刮痧后 36 h 时 HO-1 的表达呈现最高峰,荧光强度最高。

OI 技术是使得传统的分子及细胞生物学技术由体外转移到体内研究的有效手段,从而可以连续动态的观测体内的小分子事件,避免了在不同时间点处死动物后体外检测的繁琐,提高了效率。OI 技术相对于其他成像手段如 CT、PET 及 MRI 检测灵敏度更高,操作简便。根据不同的研究目的,可以选择不同的体内荧光探针或应用荧光素酶报告基因,且随着 OI 技术的广泛应用,越来越多的具有发光强度高、稳定性好等优势荧光物质应运而生。在生物体主要的体内生理病理代谢如酶的激活、糖代谢、血管新生、细胞增殖与凋亡、组织缺氧、病毒或细菌感染、药物代谢等过程中均可连续实时的动态观测。目前该技术存在一些不足之处,荧光成像需要激发光的激发,因此会存在一定的背景噪音;生物体组织具有一定的光吸收和光散射作用,因此成像的深度有所限制,使得应用时多采用近红外标记探针;目前仅是二维成像,因此荧光强度为半定量,而且仅应用于小动物实验。今后 OI 技术与 PET、MRI 等互相补充或发展功能、结构兼顾的多功能、多模式的三维成像方法将极大的促进生物医学的发展。

参 考 文 献

- [1] Studwell AJ, Kotton DN. A shift from cell cultures to creatures: *in vivo* imaging of small animals in experimental regenerative medicine [J]. Mol Ther, 2011, 19(11): 1933-1941.
- [2] Filler A. The history, development and impact of computed imaging in neurological diagnosis and neurosurgery: CT, MRI, and DTI [J]. J Neurosurg, 2009, 7(1): 70-76.
- [3] Hildebrandt IJ, Iyer M, Wagner E, et al. Optical imaging of transferrin targeted PEI/DNA complexes in living subjects [J]. Gene Ther, 2003, 10(9): 758-764.
- [4] Mahmood U, Tung CH, Tang Y, et al. Feasibility of *in vivo* multichannel optical imaging of gene expression: experimental study in mice [J]. Radiology, 2002, 224(2): 446-451.
- [5] Zielinski R, Hassan M, Lyakhov I, et al. Affibody-

- Dylight conjugates for *in vivo* assessment of HER2 expression by near-infrared optical imaging [J]. PLoS One, 2012, 7(7): e41016.
- [6] Jenkins DE, Hornig YS, Oei Y, et al. Bioluminescent human breast cancer cell lines that permit rapid and sensitive *in vivo* detection of mammary tumors and multiple metastases in immune deficient mice[J]. Breast Cancer Res, 2005, 7(4): R444-R454.
- [7] Gil JS, Machado HB, Herschman HR. A method to rapidly and accurately compare the relative efficacies of non-invasive imaging reporter genes in a mouse model and its application to luciferase reporters[J]. Mol Imaging Biol, 2012, 14(4): 462–471.
- [8] Bremer C, Ntziachristos V, Weissleder R. Optical-based molecular imaging: contrast agents and potential medical applications[J]. Eur Radiol, 2003, 13(2): 231–243.
- [9] Licha K, Olbrich C. Optical imaging in drug discovery and diagnostic applications[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2005, 57(8): 1087–1108.
- [10] Branch RA, James JA, Read AE. The clearance of antipyrine and indocyanine green in normal subjects and in patients with chronic liver disease[J]. Clin Pharmacol Ther, 1976, 20(1): 81–89.
- [11] Benson RC, Kues HA. Fluorescence properties of indocyanine green as related to angiography [J]. Phys Med Biol, 1978, 23(1): 159–163.
- [12] Desmettre T, Devoisselle JM, Mordon S. Fluorescence properties and metabolic features of indocyanine green (ICG) as related to angiography [J]. Surv Ophthalmol, 2000, 45(1): 15–27.
- [13] Ntziachristos V, Yodh AG, Schnall M, et al. Concurrent MRI and diffuse optical tomography of breast after indocyanine green enhancement[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97(6): 2767–2772.
- [14] Reynolds JS, Troy TL, Mayer RH, et al. Imaging of spontaneous canine mammary tumors using fluorescent contrast agents[J]. Photochem Photobiol, 1999, 70(1): 87–94.
- [15] Hawrysz DJ, Sevic-Muraca EM. Developments toward diagnostic breast cancer imaging using near-infrared optical measurements and fluorescent contrast agents[J]. Neoplasia, 2000, 2(5): 388–417.
- [16] Frangioni JV. *In vivo* near-infrared fluorescence imaging[J]. Curr Opin Chem Biol, 2003, 7(5): 626–634.
- [17] Bornhop DJ, Contag CH, Licha K, et al. Advance in contrast agents, reporters, and detection[J]. J Biomed Opt, 2001, 6(2): 106–110.
- [18] Becker A, Hessenius C, Licha K, et al. Receptor-targeted optical imaging of tumors with near-infrared fluorescent ligands [J]. Nat Biotechnol, 2001, 19(4): 327–331.
- [19] Licha K, Hessenius C, Becker A, et al. Synthesis, characterization, and biological properties of cyanine-labeled somatostatin analogues as receptor-targeted fluorescent probes[J]. Bioconjug Chem, 2001, 12(1): 44–50.
- [20] Bugaj JE, Achilefu S, Dorshow RB, et al. Novel fluorescent contrast agents for optical imaging of *in vivo* tumors based on a receptor-targeted dye-peptide conjugate platform [J]. J Biomed Opt, 2001, 6(2): 122–133.
- [21] Bhargava S, Licha K, Knaute T, et al. A complete substitutional analysis of VIP for better tumor imaging properties [J]. J Mol Recognit, 2002, 15(3): 145–153.
- [22] Becker A, Riefke B, Ebert B, et al. Macromolecular contrast agents for optical imaging of tumors: comparison of indotricarbocyanine-labeled human serum albumin and transferrin [J]. Photochem Photobiol, 2000, 72(2): 234–241.
- [23] Hildebrandt IJ, Iyer M, Wagner E, et al. Optical imaging of transferrin targeted PEI/DNA complexes in living subjects [J]. Gene Ther, 2003, 10(9): 758–764.
- [24] Zheng G, Li H, Yang K, et al. Tricarbocyanine cholesteryl laurates labeled LDL: new near infrared fluorescent probes (NIRFs) for monitoring tumors and gene therapy of familial hypercholesterolemia[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2002, 12(11): 1485–1488.
- [25] Schellenberger EA, Bogdanov AJ, Petrovsky A, et al. Optical imaging of apoptosis as a biomarker of tumor response to chemotherapy [J]. Neoplasia, 2003, 5(3): 187–192.
- [26] Hu S, Chai W, Liu Z, et al. Near-infrared fluorescent zinc-dipicolylamine: a new molecular imaging probe to monitor the efficiency of chemotherapy [J]. J Central South Univ (Med Sci), 2011, 36(8): 760–764.
- [27] Zaheer A, Lenkinski RE, Mahmood A, et al. *In vivo* near-infrared fluorescence imaging of osteo-

- blastic activity [J]. Nat Biotechnol, 2001, 19 (12): 1148 – 1154.
- [28] Sharma P, Brown S, Walter G, et al. Nanoparticles for bioimaging [J]. Adv Colloid Interface Sci, 2006, 123 – 126: 471 – 485.
- [29] Morimoto S. *In-vivo* imaging of tumors with protease activated near-infrared fluorescent probes [J]. Tanpakushitsu Kakusan Koso, 2007, 52 (13 Suppl): 1774 – 1775.
- [30] Ntziachristos V, Tung CH, Bremer C, et al. Fluorescence molecular tomography resolves protease activity *in vivo* [J]. Nat Med, 2002, 8 (7): 757 – 760.
- [31] Funovics M, Weissleder R, Tung CH. Protease sensors for bioimaging [J]. Anal Bioanal Chem, 2003, 377 (6): 956 – 963.
- [32] Jaffer FA, Tung CH, Gerszten RE, et al. *In vivo* imaging of thrombin activity in experimental thrombi with thrombin-sensitive near-infrared molecular probe [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2002, 22 (11): 1929 – 1935.
- [33] Burdette JE. *In vivo* imaging of molecular targets and their function in endocrinology [J]. J Mol Endocrinol, 2008, 40 (6): 253 – 261.
- [34] McIntyre JO, Matrisian LM. Molecular imaging of proteolytic activity in cancer [J]. J Cell Biochem, 2003, 90 (6): 1087 – 1097.
- [35] Weissleder R, Tung CH, Mahmood U, et al. *In vivo* imaging of tumors with protease-activated near-infrared fluorescent probes [J]. Nat Biotechnol, 1999, 17 (4): 375 – 378.
- [36] Bremer C, Bredow S, Mahmood U, et al. Optical imaging of matrix metalloproteinase-2 activity in tumors: feasibility study in a mouse model [J]. Radiology, 2001, 221 (2): 523 – 529.
- [37] McIntyre JO, Fingleton B, Wells KS, et al. Development of a novel fluorogenic proteolytic beacon for *in vivo* detection and imaging of tumour-associated matrix metalloproteinase-7 activity [J]. Biochem J, 2004, 377 (Pt 3): 617 – 628.
- [38] Law B, Curino A, Bugge TH, et al. Design, synthesis, and characterization of urokinase plasminogen-activator-sensitive near-infrared reporter [J]. Chem Biol, 2004, 11 (1): 99 – 106.
- [39] Oh KB, Matsuoka H. Rapid viability assessment of yeast cells using vital staining with 2-NBDG, a fluorescent derivative of glucose [J]. Int J Food Microbiol, 2002, 76 (1 – 2): 47 – 53.
- [40] Cheng Z, Levi J, Xiong Z, et al. Near-infrared fluorescent deoxyglucose analogue for tumor optical imaging in cell culture and living mice [J]. Bioconjug Chem, 2006, 17 (3): 662 – 669.
- [41] Ye Y, Bloch S, Achilefu S. Polyvalent carbocyanine molecular beacons for molecular recognitions [J]. J Am Chem Soc, 2004, 126 (25): 7740 – 7741.
- [42] Serganova I, Doubrovin M, Vider J, et al. Molecular imaging of temporal dynamics and spatial heterogeneity of hypoxia-inducible factor-1 signal transduction activity in tumors in living mice [J]. Cancer Res, 2004, 64 (17): 6101 – 6108.
- [43] Viola RJ, Provenzale JM, Li F, et al. *In vivo* bioluminescence imaging monitoring of hypoxia-inducible factor 1alpha, a promoter that protects cells, in response to chemotherapy [J]. AJR Am J Roentgenol, 2008, 191 (6): 1779 – 1784.
- [44] Cai W, Chen X. Multimodality molecular imaging of tumor angiogenesis [J]. J Nucl Med, 2008, 49 (Suppl 2): 113S-128S.
- [45] Hsu AR, Hou LC, Veeravagu A, et al. *In vivo* near-infrared fluorescence imaging of integrin alphavbeta3 in an orthotopic glioblastoma model [J]. Mol Imaging Biol, 2006, 8 (6): 315 – 323.
- [46] Uhrbom L, Nerio E, Holland EC. Dissecting tumor maintenance requirements using bioluminescence imaging of cell proliferation in a mouse glioma model [J]. Nat Med, 2004, 10 (11): 1257 – 1260.
- [47] Laxman B, Hall DE, Bhojani MS, et al. Noninvasive real-time imaging of apoptosis [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99 (26): 16551 – 16555.
- [48] Becker A, Riefke B, Ebert B, et al. Macromolecular contrast agents for optical imaging of tumors: comparison of indotricarbocyanine-labeled human serum albumin and transferrin [J]. Photochem Photobiol, 2000, 72 (2): 234 – 241.
- [49] Morgan NY, English S, Chen W, et al. Real time *in vivo* non-invasive optical imaging using near-infrared fluorescent quantum dots [J]. Acad Radiol, 2005, 12 (3): 313 – 323.
- [50] Shibata Y, Kruskal JB, Palmer MR. Imaging of cerebrospinal fluid space and movement of hydrocephalus mice using near infrared fluorescence [J]. Neurol Sci, 2007, 28 (2): 87 – 92.
- [51] Valentini G, D'Andrea C, Ferrari R, et al. *In vivo* measurement of vascular modulation in experimental tumors using a fluorescent contrast agent [J]. Photochem Photobiol, 2008, 84 (5): 1249 – 1256.

- [52] Kang Y, Choi M, Lee J, et al. Quantitative analysis of peripheral tissue perfusion using spatio-temporal molecular dynamics [J]. PLoS One, 2009, 4(1): e4275.
- [53] Meier R, Thurmle K, Moog P, et al. Detection of synovitis in the hands of patients with rheumatologic disorders: diagnostic performance of optical imaging in comparison with magnetic resonance imaging [J]. Arthritis Rheum, 2012, 64(8): 2489–2498.
- [54] Zhang C, Tan X, Tan L, et al. Labeling stem cells with a near-infrared fluorescent heptamethine dye for noninvasive optical tracking [J]. Cell Transplant, 2011, 20(5): 741–751.
- [55] Yu H, Liu ZT, Lu R, et al. Antiviral activity of recombinant cyanovirin-N against HSV-1 [J]. Virol Sin, 2010, 25(6): 432–439.
- [56] Takeshita F, Takahashi RU, Onodera J, et al. *In vivo* imaging of oligonucleotide delivery [J]. Methods Mol Biol, 2012, 872: 243–253.
- [57] 孙永, 王耘, 周静, 等. 利用活体成像技术检测姜黄素药物组织分布的方法探索 [J]. 南京中医药大学学报, 2011, 27(6): 539–541.
- [58] 张栋, 彭作富, 马惠敏, 等. 活体体内光学成像技术在针灸研究中的初步应用 [J]. 中国针灸, 2009, 29(12): 993–997.
- [59] 游敏玲, 罗满芳, 廖蔚茜, 等. 柴芪益肝颗粒联合紫杉醇抑制裸鼠肝癌生长的在体成像研究 [J]. 南方医科大学学报, 2012, 32(7): 1042–1045.
- [60] Kwong KK, Kloetzer L, Wong KK, et al. Bioluminescence imaging of heme oxygenase-1 upregulation in the Gua Sha procedure [J]. J Vis Exp, 2009. doi: 10.3791/1385.

(收稿: 2013-07-19 修回: 2014-09-17)

第二十三次全国中西医结合肝病学术会议在贵阳召开

第二十三次全国中西医结合肝病学术会议暨 2014 年全国中西医结合肝病研究进展继续教育学习班, 于 2014 年 8 月 26—30 日在贵阳召开。本次会议由全国中西医结合学会第八届肝病专业委员会主办, 由贵州省中西医结合学会、贵阳医学院附属医院、上海中医药大学附属曙光医院承办。《中国中西医结合杂志》、《中西医结合肝病杂志》、《国际肝病杂志》等并对本次大会相关内容进行了报道。

大会有来自全国 27 个省市自治区的 235 名代表出席, 共收到学术论文 156 篇, 大会交流 8 篇, 内容涉及病毒性肝炎、肝纤维化肝硬化、肝癌、重型肝炎、肝衰竭、脂肪肝、自身免疫性肝病等多种肝脏疾病的基础与临床的原创性研究进展。大会邀请我国著名肝病专家袁平戈、刘克州、程明亮教授, 名誉主任委员刘平、主任委员胡义扬、副主任委员王融冰、叶永安、邵凤珍以及贵州省内专家刘三都教授做了 10 场精彩的专题报告。邀请袁平戈、徐列明、吴亚云、施维群、林世德、潘晨、刘昌杰、刘成海等 8 位肝病专家分别就肝硬化及其并发症的中西医结合治疗、医学论文的撰写等 8 个主题给继续教育班授课。此外, 还进行了 3 场企业学术报告, 促进了学术发展与成果转化。

本次大会进行了换届选举。学会穆大伟秘书长出席会议, 主任委员胡义扬教授做了总结报告。中国中西医结合学会第八届肝病专业委员会连续 4 年组织召开了全国学术会议和继续教育学习班, 累计收到论文投稿 744 篇, 展示壁报 127 份。并于 2011 年以专题形式集中展示了我国“十一五”科技重大专项有关中西医结合防治慢性肝病重大专项的相关研究成果。共邀请了 45 位专家做不同主题的专题报告, 累计继续教育近千人次, 为推动中西医结合肝病事业的发展起到重要作用。会议选举产生了由上海中医药大学刘平教授任主任委员的第九届肝病专业委员会。选举北京地坛医院王融冰、复旦大学附属中山医院沈锡中、贵阳医学院附属医院吴亚云、浙江大学第一附属医院阮冰、天津市第一医院陆伟任副主任委员。并选举产生了胡义扬、叶永安等 18 位常委。刘平教授对学会及全体委员给予的信任表示感谢, 表示新一届肝病分会将一如既往地努力搭建良好的学术交流平台, 展现最新学术研究成果, 推动学术交流与创新。并致力于推动指南与专家共识修订。继续引领我国中西医结合肝病专业领域的发展方向, 促进我国肝病中西医结合防治事业的不断发展。

(张华供稿)