

## ·实验核医学·

## 放射性核素标记 RGD 多肽在整合素受体显像中的应用

陈素芸

【摘要】整合素受体  $\alpha_v\beta_3$  在新生血管及多种恶性肿瘤细胞表面有高水平的表达, 在肿瘤的生长、局部浸润和转移中, 特别是肿瘤诱导的血管生成中发挥重要作用。由于放射性核素标记的精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸 (RGD) 多肽能够与受体特异地识别结合, 因此目前被逐渐应用于肿瘤整合素表达水平的受体显像中。

【关键词】受体, 玻连蛋白; 肽类; 放射性核素显像; 精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸

【中图分类号】R817.4 【文献标识码】A 【文章编号】1673-4114(2007)03-0129-04

## Application of radiolabeled RGD peptides in imaging of integrin receptor

CHEN Su-yun

(Department of Nuclear Medicine, Shanghai Ruijin Hospital Affiliated Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200025, China)

【Abstract】Integrin  $\alpha_v\beta_3$  is highly expressed on activated endothelial cells during angiogenesis and solid tumor cells. It has been shown to play an essential role in the regulation of tumor growth, local invasiveness, metastatic potential, especially in angiogenesis. Radiolabeled peptides including the tripeptide sequence arginine-glycine-aspartic acid (single-letter code RGD), which can bind to the  $\alpha_v\beta_3$  integrin with high affinity and selectivity, have been developed for determination of  $\alpha_v\beta_3$  integrin expression.

【Key words】Receptor, vitronectin; Peptides; Radionuclide imaging; Arginine-glycine-aspartic acid

分子生物学与医学影像学交叉融合形成分子影像学, 具有无创性、灵敏度高、可定量等优点。自 20 世纪 80 年代识别序列精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸 (arginine-glycine-aspartic acid, RGD) 被发现能高特异性地与整合素  $\alpha_v\beta_3$  结合后, 已有多种分子影像学方法应用于整合素受体显像研究。放射性核素标记 RGD 序列的 PET 或 SPECT 成为整合素受体显像研究的热点。

## 1 整合素

整合素是一类异二聚体糖蛋白, 主要介导细胞与细胞外基质、细胞与细胞之间的黏附<sup>[1]</sup>,  $\alpha_v\beta_3$  作为其中最受瞩目的一类, 不仅在多种肿瘤细胞表面表达, 而且在新生血管内皮细胞膜也有高表达, 但在成熟血管内皮细胞和绝大多数正常器官系统中, 受体基本不表达或表达不能被探及<sup>[2]</sup>。

研究发现, 抑制  $\alpha_v\beta_3$  介导的细胞与细胞外基质间作用, 即  $\alpha_v\beta_3$  拮抗物能够诱导新生血管内皮

细胞及  $\alpha_v\beta_3$  受体阳性肿瘤细胞凋亡, 导致这类细胞的直接细胞毒作用<sup>[3]</sup>。而阻断肿瘤细胞上这类受体的表达能够减少局部浸润及远处扩散<sup>[4]</sup>。由于拮抗物治疗肿瘤的主要目的在于稳定病程及防止肿瘤转移, 目前常用的形态学影像如 CT 等在指导这类新型药物的用药上存在着很大的局限性。因此, 显像整合素  $\alpha_v\beta_3$  并定量此受体表达水平, 为个体化治疗及监测疗效创造了条件, 提示肿瘤患者预后, 成为整合素拮抗物进行肿瘤治疗的关键<sup>[5]</sup>。

## 2 RGD 多肽及其修饰后复合物的整合素受体显像

## 2.1 第一代 RGD 环状多肽

20 世纪 80 年代, Pierschbacher 等<sup>[6]</sup>在纤维结合素中发现了 RGD 细胞黏附序列。选取经实验证实对  $\alpha_v\beta_3$  受体具有高亲和力、高选择性的 RGD 环状五肽以酪氨酸替代环状多肽内苯丙氨酸, 并用 <sup>125</sup>I 标记酪氨酸, 然后分别从体内外对该标记多肽与肿瘤  $\alpha_v\beta_3$  受体的亲和性及选择性进行研究, 结果显示, 鼠黑色素瘤及骨肉瘤模型肿瘤组织对该标记多

肽有特异摄取,且该标记多肽血液清除快速,在观察期内骨肉瘤组织与血液比值为2.7~7.7,主要通过肝脏排泄;但其在肿瘤部位的快速洗脱、肠摄取及主要经肝胆道系统排泄限制了对肝脏与下腹部肿瘤病灶显像的临床应用。Van Hagen 等<sup>[7]</sup>将环(精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸-右旋酪氨酸-赖氨酸)[cyclo(Arg-Gly-Asp-D-Tyr-Lys), c(RGDyK)]与螯合剂二乙烯三胺五乙酸耦联后用  $^{111}\text{In}$  标记发现,该示踪物在肝脏的聚集大量减少,但肿瘤部位的聚集较低,肿瘤与正常组织的比值不够理想,同样限制了此复合物的应用。

## 2.2 糖基化 RGD 多肽的应用

糖的衍生物能够改进多肽的多种药理性质,如生物利用度、减少酶降解、增加稳定性及改善生理条件下药物溶解度等。糖基化的示踪物能降低肝脏摄取并增加肿瘤摄取,从而提高肿瘤/本底比值。Haubner 等<sup>[8]</sup>将 c(RGDyK)与糖氨酸(sugar amino acid, SAA)耦联,从而改善第一代环状多肽的体内代谢动力学。在上述相同的两类小鼠肿瘤模型中,与第一代标记肽  $^{125}\text{I}$ -c(RGDyK)相比,糖基化的衍生物  $^{125}\text{I}$ -c[RGDyK(SAA)]在不降低血液及肾清除率的同时减少了肝脏摄取,增加其在肿瘤部位的滞留,从而得到比较高的肿瘤/血液比值。糖基化的多肽与疏水的母体复合物相比在注射后早期即减少其向血管间隙的渗漏,形成长循环,增加肿瘤的靶向性并减少肝脏摄取,使放射性核素标记的 RGD 多肽在体内生物学分布及成像质量取得突破性进展。

Haubner 等<sup>[9]</sup>报道了另一种的糖基化多肽——环[精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸-右旋苯丙氨酸-赖氨酸]-糖氨酸[cyclo [-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Lys(sugar amino acid)], c[RGDfK(SAA)]]用 4-硝基苯基-2- $^{18}\text{F}$ -氟代丙酸盐标记该多肽,产生了首先用于 PET 的  $\alpha_v\beta_3$  受体显像剂  $^{18}\text{F}$ -c(RGDfK-SAA)。经体内外分析受体配体结合亲和性及特异性、小鼠肿瘤模型的 PET 及生物学分布的研究结果显示,  $^{18}\text{F}$ -c(RGDfK-SAA) 的血液清除快速,观察期间肿瘤有稳定的放射性浓聚,其主要经肾脏排泄,与肿瘤  $\alpha_v\beta_3$  受体特异性结合,肿瘤/血液比值为 27.5,肿瘤/肌肉比值为 10.2,同时有较低的本底分布。

Haubner 等<sup>[10]</sup>将  $\alpha_v\beta_3$  受体显像剂  $^{18}\text{F}$ -c(RGDfK-SAA)用于肿瘤患者的肿瘤新生血管 PET 显示,人体内相似的代谢动力学得到了高质量的影像。 $^{18}\text{F}$ -c

(RGDfK-SAA)动力学模型数据提示,该标记复合物与本底组织低度结合,能够有效应用于人体  $\alpha_v\beta_3$  受体显像。由于该示踪物主要经肾脏排泄,膀胱高度放射性浓聚使骨盆处出现“假象”而导致影像质量降低,这可以通过示踪剂给药的同时使用利尿剂来降低膀胱放射性浓聚<sup>[11]</sup>。

## 2.3 聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)化 RGD 多肽

PEG 因其出色的性能及广泛应用备受瞩目。多肽或蛋白质的 PEG 化能够减少网状内皮系统的吞噬,保护其免受蛋白水解酶的识别、降解,并且 PEG 化能够增加多肽的体积,从而减少肾脏滤过,改善生物学分布。因此,将标记多肽 PEG 化后能改善其体内代谢动力学,减少肝脏摄取,增加肿瘤部位的放射性浓聚,由于 PEG 分子质量为  $40\times 10^3\sim 50\times 10^3$ ,可延缓小分子物质的肾小球滤过作用,一般研究中所用 PEG 不会明显降低肾脏清除率。

Chen 等<sup>[12]</sup>用  $^{18}\text{F}$ -氟苯甲酰基-聚乙二醇-环(精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸-右旋酪氨酸-赖氨酸)[ $^{18}\text{F}$ -fluorobenzoyl-polyethylene glycol-c(RGDyK),  $^{18}\text{F}$ -FB-PEG-RGD]研究小鼠皮下人脑胶质细胞瘤细胞 U87MG 成胶质瘤的分布及体内代谢动力学,结果显示血液清除快速,在肿瘤部位的摄取高且快,微型 PET 及放射自显影显示肿瘤本底比较高( $5.0\pm 0.6$ ),较之未 PEG 化的 RGD 有更好的肿瘤浓集及代谢动力学。但 PEG 化的 RGD 二聚体与  $\alpha_v\beta_3$  受体结合的亲和力较低,减少了复合物的肿瘤摄取,这可能与 PEG 分子质量的大小及在多肽复合物表面的空间结构有关。

## 2.4 $^{64}\text{Cu}$ 标记的 RGD 多肽

放射性核素  $^{64}\text{Cu}$  由于其特性既可用于 PET 显像剂,又能够进行肿瘤靶向放射性核素治疗,近来用于标记 RGD 多肽受到关注。Chen 等<sup>[13]</sup>先将大环螯合剂 1,4,7,10-四氮杂环十二烷-N,N',N'',N'''-四乙酸(1,4,7,10-tetraazacyclododecane-N,N',N'',N'''-tetraacetic acid, DOTA)与 c(RGDyK)螯合,  $^{64}\text{Cu}$  标记该螯合物后显像结果显示,中度的肿瘤摄取在肝、肾脏滞留较多;之后又将 PEG 连接于 DOTA 和 RGD 多肽之间,与  $^{64}\text{Cu}$ -DOTA-c(RGDyK)相比,  $^{64}\text{Cu}$ -DOTA-PEG-c(RGDyK)明显改善了体内动力学,在不降低肿瘤靶向性的同时明显减少肝脏摄取,且 PEG 化的 RGD 多肽在早期肾脏有较高的浓聚,并可快速清除<sup>[14]</sup>。

将两个 RGD 环肽连接后形成二聚体 RGD 多

肽,如 E[c(RGDyK)]<sub>2</sub>,研究表明其与整合素有更高的结合力,其肿瘤摄取是单体 RGD 的 2 倍,并且肾脏清除迅速,血液清除及在肝脏积聚没有明显差异<sup>[15]</sup>。研究认为,当受体与 E[c(RGDyK)]<sub>2</sub> 结合能够显著增强邻近该受体 E[c(RGDyK)]<sub>2</sub> 的局部浓聚,加快受体结合,并减缓放射性标记的该多肽从整合素  $\alpha_v\beta_3$  受体结合状态下分离,使肿瘤部位摄取增加,示踪物滞留时间延长,因此由两个以上重复的 RGD 多肽装配而成的 RGD 多聚体可通过多价效应增加受体与配体之间的亲和力,并且在增加分子量后延长在体内的循环时间,降低肿瘤洗脱率。Chen 等<sup>[16]</sup>在原有的研究基础上将该二聚体 RGD 多肽 E [c (RGDyK)]<sub>2</sub> PEG 化后以相同的方法进行 <sup>64</sup>Cu 标记,得到 <sup>64</sup>Cu-DOTA-PEG-E[c(RGDyK)]<sub>2</sub>,研究显示其与 <sup>64</sup>Cu-DOTA-E[c(RGDyK)]<sub>2</sub> 有着相似的血浆清除率,但明显减少了肝脏摄取并增加肾脏排泄。在该实验中,对相同的鼠肺癌模型行 <sup>18</sup>F-氟脱氧葡萄糖 PET,结果显示只能辨认原发病灶,而转移病灶则被心机的放射性浓聚及过高的肺部本底所掩盖。

### 3 其他整合素受体显像方法

目前,还有对比增强的超声分子显像、MRI、近红外光谱技术等多种方法应用于整合素受体显像。超声分子显像是通过微泡靶向于肿瘤新生血管内皮上表达的  $\alpha_v\beta_3$  整合素以对肿瘤整合素状态进行显像,其优点在于可同时观察到肿瘤微血管血量及血流速度,能结合整合素表达水平与肿瘤血供进行分析<sup>[17]</sup>。Anderson 等<sup>[18]</sup>以  $\alpha_v\beta_3$  靶向的纳米颗粒进行 MRI 整合素显像。近红外荧光染料与环状 RGD 多肽结合物显影皮下接种的  $\alpha_v\beta_3$  阳性肿瘤也有多项报道。但是,大多数的研究仍致力于开发放射性核素标记的含 RGD 多肽的  $\alpha_v\beta_3$  拮抗物作为 SPECT、PET 显像剂<sup>[18]</sup>。

### 4 存在问题及应用前景

上述靶向于肿瘤中  $\alpha_v\beta_3$  受体的放射性核素标记 RGD 多肽存在着局限性。在某些肿瘤中肿瘤细胞及新生血管内皮细胞均过度表达整合素  $\alpha_v\beta_3$ ,因此在动物模型中显像结果并不能定位是肿瘤细胞或新生血管;鼠 PET 往往只能分析静态的肿瘤/本底比值,无法定量分析肿瘤细胞及新生血管内皮细胞

表面的  $\alpha_v\beta_3$  受体表达密度,需要动态测定放射性标记的 RGD 多肽示踪物在体内的代谢动力学,并在体外以免疫组化及蛋白印迹法独立分析测定  $\alpha_v\beta_3$  受体表达情况及了解其相关性;慢性炎症过程中的新生血管也有  $\alpha_v\beta_3$  表达,在炎症损伤处 <sup>18</sup>F-c(RGDFK-SAA)显示了与恶性病变类似的示踪物聚集,导致两者在 PET 中难以区分。

目前,肿瘤  $\alpha_v\beta_3$  受体显像研究证明,放射性核素标记 RGD 多肽是具有潜在临床应用价值的肿瘤受体靶向显像剂,而且利用其配体受体高度亲和性及选择性可成功地将多种治疗物质导向于肿瘤,包括化疗药物、放射性核素和 cDNA 编码的抗血管生成基因等,为开展实体肿瘤受体靶向核素治疗研究奠定了基础。

### 参 考 文 献

- 1 Danen EH. Integrins: regulators of tissue function and cancer progression. *Curr Pharm Des*, 2005, 11(7): 881-891.
- 2 Folkman J. Addressing tumor blood vessels. *Nature Biotechnol*, 1997, 15(6): 510.
- 3 Kumar CC. Integrin  $\alpha_v\beta_3$  as a therapeutic target for blocking tumor-induced angiogenesis. *Curr Drug Targets*, 2003, 4(2): 123-131.
- 4 Teti A, Migliaccio S, Baron R. The role of alphavbeta3 integrin in the development of osteolytic bone metastases: a pharmacological target for alternative therapy?. *Calcif Tissue Int*, 2002, 71(4): 293-299.
- 5 Raguse JD, Cath HJ, Bier J, et al. Cilengitide (EMD121974) arrests the growth of a heavily pretreated highly vascularised head and neck tumour. *Oral Oncol*, 2004, 40(2): 228-230.
- 6 Plershehbach MD, Ruoslahti E. The cell attachment activity of fibronectin can be duplicated by small fragments of the molecule. *Nature*, 1984, 309: 30-33.
- 7 Van Hagen PM, Breeman WA, Bernard HF, et al. Evaluation of a radiolabeled cyclic DTPA-RGD analogue for tumor imaging and radionuclide therapy. *Int J Cancer*, 2000, 90(4): 186-198.
- 8 Haubner R, Wester HJ, Burkhart F, et al. Glycosylated RGD-containing peptides: tracer for tumor targeting and angiogenesis imaging with improved biokinetics. *J Nucl Med*, 2001, 42(2): 326-336.
- 9 Haubner R, Wester HJ, Weber WA, et al. Noninvasive imaging of alpha(v) beta3 integrin expression using <sup>18</sup>F-labeled RGD-containing glycopeptide and positron emission tomography. *Cancer Res*, 2001, 61(5): 1781-1785.
- 10 Haubner R, Weber WA, Beer AJ, et al. Noninvasive visualization of the activated  $\alpha_v\beta_3$  integrin in cancer patients by positron emission tomography and [<sup>18</sup>F]Galacto-RGD. *PLoS Med*, 2005, 2(3): e70.
- 11 Beer AJ, Haubner R, Goebel M, et al. Biodistribution and pharmacokinetics of the  $\alpha_v\beta_3$ -selective tracer <sup>18</sup>F-galacto-RGD in cancer patients. *J Nucl Med*, 2005, 46(8): 1333-1341.
- 12 Chen X, Park R, Hou Y, et al. MicroPET imaging of brain tumor angiogenesis with <sup>18</sup>F-labeled PEGylated RGD peptide. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2004, 31(8): 1081-1089.

- 13 Chen X, Park R, Tohme M, et al. MicroPET and autoradiographic imaging of breast cancer  $\alpha$  v  $\beta$ -integrin expression using  $^{18}\text{F}$ - and  $^{64}\text{Cu}$ -labeled RGD peptide. *Bioconj Chem*, 2004, 15(1): 41-49.
- 14 Chen X, Hou Y, Tohme M, et al. Pegylated Arg-Gly-Asp peptide:  $^{64}\text{Cu}$  labeling and PET imaging of brain tumor alphavbeta3-integrin expression. *J Nucl Med*, 2004, 45(10): 1776-1783.
- 15 Chen X, Liu S, Hou Y, et al. MicroPET imaging of breast cancer alpha v-integrin expression with  $^{64}\text{Cu}$ -labeled dimeric RGD peptides. *Mol Imaging Biol*, 2004, 6(5): 350-359.
- 16 Chen X, Sievers E, Hou Y, et al. Integrin  $\alpha$  v  $\beta$  3-targeted imaging of lungcancer. *Neoplasia*, 2005, 7(3): 271-279.
- 17 Dayton PA, Pearson D, Clark J, et al. Ultrasonic analysis of peptide- and antibody-targeted microbubble contrast agents for molecular imaging of  $\alpha$  v  $\beta$  3-expressing cells. *Mol Imaging*, 2004, 3(2): 125-134.
- 18 Anderson SA, Rader RK, Westlin WF, et al. Magnetic resonance contrast enhancement of neovasculature with  $\alpha$  v  $\beta$  3-targeted nanoparticles. *Magn Reson Med*, 2000, 44(3): 433-439.
- 19 Haubner R, Wester HJ. Radiolabeled tracers for imaging of tumor angiogenesis and evaluation of anti-angiogenic therapies. *Curr Pharm Des*, 2004, 10(13): 1439-1455.

(收稿日期: 2006-11-18)

## 糖尿病冠状动脉粥样硬化性心脏病的发病机制及核素心肌灌注显像的研究进展

赵倩 李娟

【摘要】糖尿病发病率不断升高, 心血管系统病变是其主要并发症, 冠状动脉疾病是导致糖尿病患者死亡的主要原因。负荷核素心肌灌注显像可早期诊断糖尿病患者中罹患心脏病者, 判断预后及进行危险度分层, 为早期防治糖尿病冠状动脉粥样硬化性心脏病提供依据, 从而提高糖尿病患者生活质量、降低糖尿病冠状动脉粥样硬化性心脏病死亡率。

【关键词】糖尿病; 冠状动脉疾病; 心肌; 放射性核素显像

【中图分类号】R817.4 【文献标识码】A 【文章编号】1673-4114(2007)03-0132-04

### The progress of research on myocardial perfusion imaging in diabetic coronary disease

ZHAO Qian, LI Juan

(Department of Nuclear Medicine, Affiliate Hospital of Ningxia Medical College, Yinchuan 750004, China)

【Abstract】The morbidity of diabetes mellitus is gradually increasing. It's most important complication is cardiovascular disease. The coronary disease is the main cause of death in patients with diabetes mellitus. The stress myocardial perfusion imaging help diagnose diabetic coronary disease and prognosis judgement and risk assessment. So it can improve the living standard of patients with diabetes mellitus, and decrease the mortality of diabetes mellitus.

【Key words】Diabetes mellitus; Coronary disease; Myocardium; Radionuclide imaging

糖尿病的最重要并发症是心血管系统病变。随着胰岛素的问世和抗生素的合理使用, 糖尿病酮症酸中毒、感染等并发症大为减少, 但糖尿病引起的微循环病变、心肌病变、动脉硬化等疾病已上升为主要并发症。Young 等<sup>[1]</sup>研究表明, 因糖尿病心脏病引起死亡的患者占糖尿病患者死亡率的 70%~80%, 冠状动脉疾病是导致糖尿病患者死亡的主要

原因。糖尿病患者心肌缺血通常无症状, 约 42% 的心肌梗死为无痛性, 因此发现时冠状动脉病变程度已经较为严重<sup>[2]</sup>。糖尿病并发冠状动脉粥样硬化性心脏病(简称冠心病)的患者较无糖尿病病史者预后更差, 且较非糖尿病人群更不易于进行有利的干预措施<sup>[3]</sup>。

### 1 糖尿病冠心病的特征及发病机制

糖尿病心脏病包括糖尿病心脏微血管病变、冠心病、心肌病变和心脏植物神经功能紊乱所致的心