

## ·综述·

## 表皮生长因子受体-酪氨酸激酶肿瘤分子显像剂的研究进展

周晓靓 王浩 施培基 刘鉴峰 孟爱民

**【摘要】** 目前治疗肿瘤最重要的分子靶向药物是以表皮生长因子受体(EGFR)为靶点的一类化合物,为了更好地实现靶向治疗效果,需要借助分子显像技术实现快速、定量地检测体内 EGFR 的分布及突变等情况。利用不同核素标记的分子探针实施 PET 或 SPECT 显像能够实现快速、无创地对患者进行遴选、疗效评价和监测 EGFR 靶向治疗,从而提高肿瘤治疗效果。该文介绍了 EGFR-酪氨酸激酶小分子显像剂及其最新的研究进展。

**【关键词】** 受体,表皮生长因子;正电子发射断层显像术;体层摄影术,发射型计算机,单光子;肿瘤分子显像剂

**The development of epidermal growth factor receptor molecular imaging in cancer** ZHOU Xiao-liang, WANG Hao, SHI Pei-ji, LIU Jian-feng, MENG Ai-min. Tianjin Key Laboratory of Molecular Nuclear Medicine, Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Science, Tianjin 300192, China  
Corresponding author: MENG Ai-min, Email: aiminmeng@irm-cams.ac.cn

**【Abstract】** In vivo epidermal growth factor receptor(EGFR)targeted therapy has great potential for cancer diagnosis and the evaluation of curative effects. Enhancement of EGFR-targeted therapy needs a reliable quantitative molecular imaging method which could enable monitoring of receptor drug binding and receptor occupancy in vivo, and identification of the mutation in EGFR. PET or SPECT is the most advanced molecular imaging technology of non-invasively selecting responders, predicting therapeutic outcome and monitoring EGFR-targeted treatment. This review analyzed the present situation and research progress of molecular imaging agents.

**【Key words】** Receptor, epithelial growth factor; Positron-emission tomography; Tomography, emission-computed, single-photon; Cancer molecular imaging agent

表皮生长因子受体(epithelial growth factor receptor, EGFR)属于转膜受体的人类 EGFR 家族,这一类受体具有酪氨酸激酶(tyrosine kinase, TK)活性,在细胞增殖、分化、迁移、凋亡和化疗耐药等方面都有作用。这些受体拥有一个近似的结构,即膜外配体结合区、短的疏水跨膜区和具有 TK 活性的膜内区<sup>[1]</sup>。当 EGFR 与其内源性配体如生长因子结合后,会形成配体-受体复合物的二聚体,随即受体在胞内 TK 区域自体磷酸化。自体磷酸化触发下游的信号转导通路。由于酪氨酸磷酸化过程是有丝分裂信号通过胞膜向核内转化的起始通路,受体 TK

的突变激活或过度表达都会导致细胞的恶性增殖,尤其是与人类肿瘤的发生、发展及恶性转移相关。所有头、颈部肿瘤都会伴随 EGFR 的过度表达,其次是胰腺癌、肾细胞癌、结肠癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌、膀胱癌、非小细胞肺癌(non-small-cell lung carcinoma, NSCLC)和恶性胶质瘤等<sup>[2]</sup>。在多种不同类别的上皮癌中也能观察到 EGFR 的高表达。EGFR 作为抗癌药研究的热门靶点,研究人员开发出了一些能够与受体特异性结合并抑制 TK 活性及其下游信号通路的新的靶向药物。然而临床研究表明,这类靶向药物并未达到预期的疗效,原因可能源于不同人群体内 EGFR 突变<sup>[3]</sup>。因此,利用分子影像学技术,研究 EGFR 的体内分子显像剂在靶向治疗前进行敏感人群遴选,对于提高药物临床疗效,避免过度治疗是非常有意义的。所以,对此类型分子显像剂的探索成为研究热点。

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2013.02.010

基金项目:中国医学科学院放射医学研究所发展基金(SF1305)

作者单位:300192 天津,中国医学科学院放射医学研究所,天津市分子核医学重点实验室

通信作者:孟爱民(aiminmeng@irm-cams.ac.cn)

## 1 EGFR-TK 抑制剂(TK inhibitor, TKI)的个体化治疗

直接靶向受体胞外区域的单克隆抗体,以及胞内 TK 作用的小分子 TKI 是目前临床和(或)临床前批准的两类 EGFR 靶点药物。小分子 TKI 通过靶向 EGFR 催化区域结合到受体胞浆部分的 ATP 结合口袋区域内,阻止下游信号通路的触发。有研究表明,小分子 TKI 在临床治疗中,对 EGFR 基因突变者靶向治疗的有效率可以达到 70%~80%,而对无 EGFR 基因突变者的有效率不到 10%<sup>[4]</sup>;且不吸烟、腺癌患者突变率明显高于吸烟、非腺癌患者<sup>[5]</sup>。在所有 NSCLC 患者中,EGFR 基因的突变率约为 26%,在白种人中的突变率约为 10%~20%,亚洲人为 30%~40%,亚裔、女性、非吸烟、腺癌为 EGFR-TKI 治疗的优势人群,其突变率可达 60%;在 EGFR-TKI 治疗有效的患者中,EGFR 基因突变率可达 77%,而无效患者中仅为 7%<sup>[6]</sup>。还有研究表明,EGFR 基因突变丰度可以预测吉非替尼治疗晚期 NSCLC 的疗效。

EGFR 基因突变均位于胞内部分的 TK 结构域,目前报道的 EGFR 基因突变共有数百个<sup>[7]</sup>。突变集中在 EGFR 基因的 18~21 号外显子,其中外显子 19 和外显子 21 的突变率达 90%以上。19 号外显子上的突变占 45%,主要为缺失突变;21 号外显子突变多数为发生在 858 位的 L 突变为 R (L858R);而发生在外显子 18 和外显子 20 的突变却不到 10%。因此,EGFR 基因突变成为肺癌患者应用 TKI 有无疗效的关键因素。然而,对 EGFR 表达量以及突变情况的检测均涉及到肿瘤组织的活检,这并不适用于所有的肿瘤,因此,需要研究无创的方法对应用 TKI 类药物治疗的患者进行遴选。

## 2 EGFR 分子显像剂及其应用

分子显像是运用微量的放射性分子显像剂,通过 PET/SPECT 影像技术,来观察体内基因或蛋白的表达、受体或酶的亲和力、糖和氨基酸代谢等的变化。这一技术可以实现无创、实时、动态的分子水平的定量观察,与只能观察生物形态学变化的其他成像仪器(如 CT、X 射线、功能 MRI)相比,SPECT 和 PET 可以从早期分子水平的变化来更早期发现和诊断疾病、探索和研究这些变化对生物功

能的影响。理论上,与大分子蛋白质相比,相对分子质量小的化合物作为核医学显像剂更有优势。主要表现在放射性核素标记小分子探针相对简单易行,而且具有更合适的体内生物分布和清除率,不易引起免疫反应,同时可以通过结构修饰得到性能更优化的分子探针。EGFR 显像剂根据显像方式的不同可以分为 PET 显像剂(如 <sup>11</sup>C-厄洛替尼)和 SPECT 显像剂[如 <sup>125</sup>I-4-(3-溴苯氨基)-6,7-二甲氧喹唑啉(4-(3-iodoanilino)-6,7-diethoxyquinazoline, *m*-IPQ)],根据标记核素的不同又可以分为金属核素显像剂 [<sup>68</sup>Ga-谷氨酸多肽(glutamic acid polypeptide, GAP)-[6,7-dimethoxyethoxy]-quinolin-4-yl]-(3-ethynyl-phenyl)-amine(以下简称 YCU07)]和非金属核素显像剂(<sup>11</sup>C-*m*-IPQ)两类。

### 2.1 PET 显像剂

PET 是利用正电子放射性核素标记化合物为显像剂,常用的正电子核素包括 <sup>18</sup>F、<sup>11</sup>C、<sup>64</sup>Cu 等。PET 显像具有高灵敏度和合适的断层分辨率、标记药物半衰期短且不改变原药物的药理活性等显著优点。Memon 等<sup>[8]</sup>研究了 <sup>11</sup>C-厄洛替尼,细胞实验表明 <sup>11</sup>C-厄洛替尼的摄取与细胞表面 EGFR 表达量呈现正相关,荷瘤鼠显像结果也得到确证,即 <sup>11</sup>C-厄洛替尼在 A549、NCI358、HCC827 三种肿瘤模型中的摄取率(注射剂量百分比)分别为 1.6%、0.7%和 3.7%。Meng 等<sup>[9]</sup>将 *m*-IPQ 的 6 位用 <sup>11</sup>C 标记后,用于化疗耐受的 NSCLC 患者显像,21 例肿瘤患者服用厄洛替尼进行治疗,服用时间为 1~2 周,剂量为 150 mg/d,随后行 PET/CT 扫描,结果表明,21 例患者中,18 例患者死亡,平均生存率为 7.5 个月,其中患者对 <sup>11</sup>C-*m*-IPQ 的摄取率有显著性差异,最高者与最低者相差为 2.92 倍,但是生存率却并未表现出差异。这说明 <sup>11</sup>C-*m*-IPQ PET/CT 显像可用于快速评价有腺癌或鳞癌史的 NSCLC 患者是否对 EGFR-TKI 治疗敏感,但是并不能用于监测治疗效果。这也是目前唯一见于临床的报道。Theeraladanon 等<sup>[10]</sup>首次用 GAP 为配体将金属核素 <sup>68</sup>Ga 标记在喹啉衍生物 YCU07 上, PET 显像结果表明, <sup>68</sup>Ga-GAP-YCU07 能够在受体阳性肿瘤细胞中富集,注射后 30 min 和 90 min 时的摄取值分别为 1.5%±0.09%和 2.36%±0.036%,且肿瘤/肌肉摄取值高于阳性对照 <sup>18</sup>F-FDG。该研究为金属核素标记的 PET 显像剂提供了参考。

## 2.2 SPECT 显像剂

尽管 PET 的显像优势非常明显,但是行 PET 显像时需要回旋加速器等大型设备,因此该显像受到技术的限制。与之相比, SPECT 在核医学临床研究中往往更为普遍,常用的单光子核素包括: $^{99}\text{Tc}^m$ 、 $^{123}\text{I}$ 、 $^{125}\text{I}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ 、 $^{111}\text{In}$  等。Bourkoula 等<sup>[11]</sup>用  $^{99}\text{Tc}^m$  标记 6-氨基-4-[(3-溴代苯基)氨基]喹唑啉,利用  $\text{fac-}[^{99}\text{Tc}^m(\text{CO})_3]^+$  内核作为 N,N-二齿配体,标记率高达 90% 以上。该复合物的分析采用 Re 复合物作为参考,Re 复合物的制备采用  $\text{fac-}[\text{ReBr}_3(\text{CO})_3]^{2-}$  作为前体。体外实验表明,该两种复合物对抑制 A431 细胞(人表皮癌细胞)EGFR 磷酸化的半抑制浓度分别为:  $(17\pm 3.7)$  和  $(114\pm 23)$  nmol/L,结合方式为可逆性结合。对细胞的半抑制浓度分别为:  $(5.2\pm 1.1)$  和  $(2.0\pm 0.98)$   $\mu\text{mol/L}$ 。动物实验表明,铼复合物在血液中的清除快,软组织清除在注射后 1~15 min 主要通过肝胆系统清除。Hirata 等<sup>[12]</sup>用  $^{125}\text{I}$  标记 *m*-IPQ 的实验表明,  $^{125}\text{I}$ -*m*-IPQ 表现出较好的肿瘤富集以及 EGFR-TK 的特异性结合,且抑制 EGFR-TK 磷酸化的半抑制浓度为  $(50.5\pm 3.5)$  nmol/L。 $^{125}\text{I}$ -*m*-IPQ 在正常组织中清除较快且低保留,在肿瘤的分布与 EGFR-TK 表达呈现正相关,但脱碘导致胃肠道吸收增加,体内稳定性较低。Fozing 等<sup>[13]</sup>继续研究了体内稳定性较好的  $^{125}\text{I}$ -*m*-IPQ,人前列腺癌细胞 PC3 体外实验结果表明,标记物在细胞内富集途径与选择性 EGFR-TKI AG1418 类似。荷瘤鼠体内注射  $^{125}\text{I}$ -*m*-IPQ 6 h 后进行  $\gamma$  照相机显像,肿瘤组织显像随着周围组织代谢而逐渐清晰,尿液排泄的游离碘可忽略不计( $<2\%$ ),甲状腺组织也未见富集。

## 3 EGFR-TK 分子显像现状与发展方向

### 3.1 存在的主要问题

在已有的研究中,大部分显像剂的设计都是围绕苯胺喹唑啉衍生物展开的,如 *m*-IPQ、吉非替尼、ZD6474 和 ML01 等。标记核素包括: $^{14}\text{C}$ 、 $^{123}\text{I}$ 、 $^{18}\text{F}$  等和金属核素  $^{99}\text{Tc}^m$ 、 $^{68}\text{Ga}$  等。所有这些标记的可逆抑制剂中,  $^{14}\text{C}$ -*m*-IPQ 是唯一一个已经用于健康人群进行体内分布和放射剂量评价的化合物。大部分这类标记物在体外的效果较好,包括在纳摩尔水平的高亲和力、对 EGFR 而非其他 TK 的高选择性、稳定性以及与 EGFR 阳性细胞(人肺癌细胞

A431、脑胶质瘤细胞 U87) 的特异性结合。然而,在临床前研究阶段,不同的动物肿瘤模型,如 SH-SY5Y(人类神经母细胞瘤细胞)、U87 和 A431 等都用于评价这些生物标记物的分布及小动物 PET 研究,结果表明大部分都不适合于分子显像<sup>[14]</sup>。主要问题在于:肿瘤部位低摄取(低瘤血比以及肿瘤与肌肉组织摄取比),非靶部位高摄取,如胃肠道系统和肝肾组织。而且,在使用过量非标 EGFR 抑制剂进行的阻断实验中,也并没有明确证据表明标记物与肿瘤有特异性结合。这些可逆抑制剂用于 EGFR 显像失败的原因可能为其增加的 Log P(亲脂性)、快速的血浆清除、快速的代谢、体内高水平的 ATP 竞争结合以及这类化合物不能正确地结合到未激活(未磷酸化)的受体上。

### 3.2 未来研究方向

为了提高小分子与受体的亲和力,研究人员开始研究非可逆性抑制剂,这一类化合物在苯胺喹唑啉母核的 6 位侧链与 ATP 结合口袋的 cys773 不可逆共价结合,对 EGFR-TK 的抑制活性更强。为了减少化合物在血液的快速清除和肿瘤部位的非特异性结合,在喹唑啉母核 7 位或苯胺不同位置引入功能基,如聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG),从而提高化合物的水溶性,降低亲脂性。有研究表明,用 6 位二甲基巴豆酰胺基作为取代物最理想,可避免与 cys773 的过度结合,并延长血液清除时间<sup>[15]</sup>。代表药物有 4-dimethylamino-but-2-enoic acid [4-(phenylamino)-quinazoline-6-yl]-amides(以下简称 ML04),经过  $^{18}\text{F}$  标记后得到的  $^{18}\text{F}$ -ML04<sup>[17]</sup>,拥有理想的瘤血比和肿瘤肌肉比,然而仍存在较高的非特异性结合;(E)-But-2-enedioic acid [4-(3-[ $^{124}\text{I}$ ]iodoanilino)-quinazolin-6-yl]-amide-morpholin(3-morpholin-4-yl-propyl)-amide(以下简称 morpholino-[ $^{124}\text{I}$ ]IPQA)<sup>[18]</sup>能够与体内活化的(磷酸化)ATP 结合位点非可逆性结合。PEG 化的 IPQA 标记后得到  $^{18}\text{F}$ -PEG6-IPQA<sup>[19]</sup>在 EGFR 表达量高的 H441 细胞(一种肺腺癌细胞)中的富集程度是 H3255(一种肺腺癌细胞)的 10 倍,而且这种结合能够被 100  $\mu\text{mol/L}$  的吉非替尼竞争性抑制,说明 7 位游离羟基 PEG 取代具有较好的水溶性和 log P,减少了肿瘤部位的非特异性结合。这些化合物的药代性质及不同 EGFR 阳性肿瘤细胞的特异性结合能力还在研究中。

#### 4 结语

为了筛选出 EGFR-TK 靶向药物的敏感患者,提高 EGFR-TK 的治疗效果,研究人员研发了很多的 EGFR 分子显像剂,这些显像剂在临床核医学的应用,能够快速、无创地评价不同肿瘤的 EGFR 表达水平,从而进行敏感患者的筛选和指导临床用药剂量。TK 可逆和非可逆抑制剂研究中, $^{11}\text{C}$ -厄洛替尼(可逆抑制剂)是目前唯一用于临床评级的检测受体外显子突变情况的化合物;但有实验表明,水溶性好、logP 低的非可逆抑制剂显像的结果会更为理想。为了得到更好的信噪比,显像时间应选择在注射后非靶部位清除后,因此长半衰期核素更为理想,如  $^{124}\text{I}$  (半衰期为 4.2 d)。为了避免内源性的 ATP 竞争性结合,那些选择性更好、能够与细胞膜上受体而不是 ATP 结合位点结合的新化合物将是未来的发展方向。

#### 参 考 文 献

- [1] Herbst RS, Heymach JV, Lippman SM. Lung cancer. *N Engl J Med*, 2008, 359(13): 1367-1380.
- [2] Herbst RS, Fukuoka M, Baselga J. Gefitinib—a novel targeted approach to treating cancer. *Nat Rev Cancer*, 2004, 4(12): 956-965.
- [3] Shepherd FA, Rodrigues PJ, Ciuleanu T, et al. Erlotinib in previously treated non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*, 2005, 353(2): 123-132.
- [4] Rizvi NA, Rusch V, Pao W, et al. Molecular characteristics predict clinical outcomes: prospective trial correlating response to the EGFR tyrosine kinase inhibitor gefitinib with the presence of sensitizing mutations in the tyrosine binding domain of the EGFR gene. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(10): 3500-3506.
- [5] Sawyers CL. The cancer biomarker problem. *Nature*, 2008, 452(7187): 548-552.
- [6] Zhou Q, Zhang XC, Chen ZH, et al. Relative abundance of EGFR mutations predicts benefit from gefitinib treatment for advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*, 2011, 29(24): 3316-3321.
- [7] Sharma SV, Bell DW, Settleman J, et al. Epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *Nat Rev Cancer*, 2007, 7(3): 169-181.
- [8] Memon AA, Jakobsen S, Dagnaes-Hansen F, et al. Positron emission tomography (PET) imaging with [ $^{11}\text{C}$ ]-labeled erlotinib: a micro-PET study on mice with lung tumor xenografts. *Cancer Res*, 2009, 69(3): 873-878.
- [9] Meng X, Loo BW Jr, Ma L, et al. Molecular imaging with  $^{11}\text{C}$ -PD153035 PET/CT predicts survival in non-small cell lung cancer treated with EGFR-TKI: a pilot study. *J Nucl Med*, 2011, 52(10): 1573-1579.
- [10] Theerlathanon C, Takahashi N, Shiina M, et al. Rational approach to the synthesis, evaluation, and  $^{68}\text{Ga}$  labeling of a novel 4-anilinoquinoline epidermal growth factor receptor inhibitor as a new imaging agent that selectively targets the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase. *Cancer Biother Radiopharm*, 2010, 25(4): 479-485.
- [11] Bourkoulou A, Paravatou-Petsotas M, Papadopoulos A, et al. Synthesis and characterization of rhenium and technetium-99m tricarbonyl complexes bearing the 4-[3-bromophenyl] quinazoline moiety as a biomarker for EGFR-TK imaging. *Eur J Med Chem*, 2009, 44(10): 4021-4027.
- [12] Hirata M, Kanai Y, Naka S, et al. Evaluation of radioiodinated quinazoline derivative as a new ligand for EGF receptor tyrosine kinase activity using SPECT. *Ann Nucl Med*, 2011, 25(2): 117-124.
- [13] Fozing T, Scheuer C, Samnick S. Synthesis and initial tumor affinity testing of iodine-123 labelled EGFR-affine agents as potential imaging probes for hormone-refractory prostate cancer. *Eur J Med Chem*, 2010, 45(9): 3780-3786.
- [14] Mishani E, Hagooley A. Strategies for molecular imaging of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase in cancer. *J Nucl Med*, 2009, 50(8): 1199-1202.
- [15] Pantaleo MA, Mishani E, Nanni C, et al. Evaluation of modified PEG-anilinoquinazoline derivatives as potential agents for EGFR imaging in cancer by small animal PET. *Mol Imaging Biol*, 2010, 12(6): 616-625.
- [16] Mishani E, Abourbeh G, Eiblmaier M, et al. Imaging of EGFR and EGFR tyrosine kinase overexpression in tumors by nuclear medicine modalities. *Curr Pharm Des*, 2008, 14(28): 2983-2998.
- [17] Gelovani JG. Molecular imaging of epidermal growth factor receptor expression-activity at the kinase level in tumors with positron emission tomography. *Cancer Metastasis Rev*, 2008, 27(4): 645-653.
- [18] Pal A, Balatoni JA, Mukhopadhyay U, et al. Radiosynthesis and initial in vitro evaluation of [ $^{18}\text{F}$ ]-PEG6-IPQA—a novel PET radiotracer for imaging EGFR expression-activity in lung carcinomas. *Mol Imaging Biol*, 2011, 13(5): 853-861.

(收稿日期: 2012-11-12)