

·综述·

放射性核素标记 HER2 亲和体分子探针精准诊疗的研究进展

邢宇 赵新明

050011 石家庄, 河北医科大学第四医院核医学科

通信作者: 赵新明, Email: xinm_zhao@163.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2016.02.011

【摘要】 人表皮生长因子受体 2(HER2)亲和体分子因具有对靶组织亲和力高、特异性强、分子量大、制备简单、生物动力学特征良好等特点,近年来在肿瘤分子影像方面的研究中显示出了较好的临床应用前景。放射性核素标记 HER2 亲和体分子探针不仅可以进行肿瘤受体显像及疗效评价,还可以用于靶向治疗。笔者就目前放射性核素标记 HER2 亲和体分子探针精准诊疗的研究进展作简要综述。

【关键词】 受体, 表皮生长因子; 放射性核素显像; 亲和体分子

基金项目: 国家自然科学基金(81571702)

Advances in radionuclide-labeled HER2 affibody molecular probes for precise diagnosis and treatment Xing Yu, Zhao Xinming

Department of Nuclear Medicine, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, China

Corresponding author: Zhao Xinming, Email: xinm_zhao@163.com

【Abstract】 Human epidermal growth factor receptor type 2(HER2) affibody molecules hold the advantage of high specificity and affinity, small size, simple synthesis, and excellent biological dynamics. It has been widely used in molecular imaging and treatment of tumor, with an eye towards clinical translation. The molecular probes of radionuclide-labeled HER2 affibody can not only be used in receptor imaging and response evaluation of tumor, but also in targeted therapy. This article reviewed the latest researches on radionuclide-labeled HER2 affibody.

【Key words】 Receptor, epidermal growth factor; Radionuclide imaging; Affibody molecules

Fund program: National Natural Science Foundation of China(81571702)

肿瘤受体显像及核素靶向治疗是利用放射性核素标记的配体与存在于肿瘤的特异性受体相结合的一种特异性强、灵敏度高的核医学分子诊疗技术,其在精准医学中发挥着越来越重要的作用。用放射性核素标记的分子探针进行显像,因其具有高灵敏度、高特异性、可定量及无创性检测等优势,已经成为在分子水平上进行活体内病变精准诊断和疗效评价的重要手段。

人表皮生长因子受体 2(human epidermal growth factor receptor type 2, HER2)在很多恶性肿瘤(如乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌)中高表达^[1], HER2 的表达与肿瘤的侵袭性有关^[2],在很大程度上决定了

患者的预后, HER2 阳性乳腺癌患者的中位生存期较短。对于 HER2 阳性肿瘤, HER2 靶向药物曲妥珠单抗(商品名:赫赛汀, Herceptin)可以明显延长肿瘤患者的生存时间^[3-4]。因此,准确筛选出 HER2 阳性肿瘤并对其进行靶向治疗意义重大。HER2 亲和体具有相对较小的分子量、较高的特异性及亲和力,放射性核素标记的 HER2 亲和体在体内的血液清除速率快、肿瘤摄取明显,在 HER2 高表达的肿瘤精准诊疗中具有良好的临床应用前景。本文将对放射性核素标记的 HER2 亲和体分子探针用于分子影像、治疗及疗效评价的研究进展进行综述。

1 HER2 与肿瘤

HER2(又称为 C-erbB-2 或 *neu*)是一种跨膜蛋白,为表皮生长因子受体的癌基因家族的成员之一,基因定位于染色体 17q21,具有酪氨酸激酶活性,其不但能激活 C-erbB-2 基因编码蛋白质诱导的酪氨酸激酶活性,还能与其他 HER 家族(HER1、HER3 和 HER4)形成异二聚体,具有放大其信号的作用,调控体系中酪氨酸激酶的异常表达。HER2 过表达可以促进细胞生长和增殖,抑制细胞凋亡,诱导新生血管生成,提高细胞运动能力,增强肿瘤的浸润转移等作用。有报道显示,25%~30%的乳腺癌组织高表达 HER2^[5],其也可在其他肿瘤,如卵巢癌、肺癌和口腔癌中过度表达。临床上病理结果 HER2 阳性的乳腺癌往往更具侵袭性,其发展快、预后差、容易转移和复发^[6]。HER2 是有别于肿瘤大小、淋巴结转移及激素受体外的乳腺癌的重要预后因子,是肿瘤复发和生存期长短的独立预后因子^[7]。

近年来,随着靶向治疗的飞速发展,肿瘤治疗跨入了一个新纪元。曲妥珠单抗是以 HER2 为靶点的重组人源化单克隆抗体,其可阻断乳腺癌患者 HER2 的信号传导,明显提高患者的生存率,改善患者的预后。大量研究表明,乳腺癌患者 HER2 的表达情况与肿瘤细胞对曲妥珠单抗治疗的敏感性密切相关^[8]。1998 年,美国食品与药品监督管理局即批准曲妥珠单抗用于 HER2 过度表达乳腺癌的二线和三线治疗。作为乳腺癌治疗领域的第一个分子靶向药物,曲妥珠单抗单药或与化疗药联合治疗 HER2 阳性乳腺癌不仅有效,而且疗效确切^[9]。原发乳腺癌 HER2 表达阳性的患者,其转移灶可出现 HER2 的过表达,因此适用于曲妥珠单抗的治疗。检测原发灶及转移灶 HER2 的表达情况是判断乳腺癌患者能否进行以 HER2 为靶点治疗的关键。

通过检测 HER2 的表达情况还可以对肿瘤进行预后评估及疗效预测。HER2 过表达的肿瘤其预后差,可以从曲妥珠单抗的治疗中最大获益,HER2 过表达患者接受芳香化酶抑制剂治疗的疗效优于三苯氧胺,接受蒽环类和紫杉类药物治疗的疗效优于经典化疗 CMF(环磷酰胺、甲氨蝶呤和 5-氟尿嘧啶)方案。因此,HER2 可作为乳腺癌生存预后的

重要指标、靶分子治疗干预的靶点以及抗肿瘤药物反应预测的标志之一。美国临床肿瘤协会指南中推荐,对每例乳腺癌患者在其最初确诊以及复发时,均应进行 HER2 表达的检测。

2 HER2 表达的检测

目前,肿瘤组织 HER2 的检测主要从 HER2 受体蛋白表达及基因扩增两个方面进行。其中,免疫组织化学法(immunohistochemical, IHC)是比较成熟的检测 HER2 受体蛋白过度表达的技术,可同时快速得到许多病理结果,读片也较为简单。基于基因扩增水平检测 HER2 的方法主要有两种,一种是荧光原位杂交技术,其操作和判读方法与 IHC 相似,同时可以进行组织学评估,与 IHC 检测结果的相关性高;另一种是显色原位杂交技术,该方法准确性高、重复性好,与疗效的相关性好,但由于需要置备荧光显微镜等设备,以及要求操作者具有非常丰富的经验,国内可做此项检测的单位较少。目前临床上检测 HER2 表达最常用的是 IHC,而病理活检是评价 HER2 表达的金标准。但是,在肿瘤的治疗过程中,HER2 表达状态会发生变化,而病理检查不能及时检查出,不能作为肿瘤靶向药物治疗疗效评价的常规检查;其次,不同转移部位癌灶其 HER2 表达不尽相同,甚至同一患者的原发肿瘤与远处转移灶 HER2 的表达情况也可不同,病理检查不能评估全身的转移情况,具有一定的片面性;再者,有些病灶体积较小或位置较深,故不是任何地方的肿瘤都可以取到组织。因此,临床上迫切需要一种在活体内对 HER2 进行实时的、无创的特异性分子影像学监测方法。

利用放射性示踪技术将放射性核素标记的分子影像探针引入体内,应用 SPECT 或 PET 等仪器在体表可检测不同时间放射性示踪剂在病灶或器官内的聚集情况,而病变组织摄取放射性示踪剂的量和速度与病灶的受体密度、血流量等密切相关。放射性核素分子受体显像是一种功能显像,不但可以反映病灶的位置和形态,最重要的是可以从分子水平反映病灶的功能状况。目前已有采用放射性核素标记曲妥珠单抗、HER2 亲和体等制备成分子探针,进行 HER2 分子显像,该分子探针具有特异性强、灵敏度高、无创性等特点,且可进行全身显像,在活体内可同时探测原发灶及转移灶 HER2 的表达情

况,受到越来越多学者的关注。

3 HER2 亲和体的发展

1995 年 Nord 等^[10]首次提出小分子靶向结合蛋白,即亲和体,距今已有 20 年,亲和体分子现已被证实为一类极具前景的、用于开发不同分子靶向显像试剂或治疗药物的通用平台,且被广泛应用于疾病的诊断、治疗及生物技术等多种领域。亲和体分子蛋白骨架源于葡萄球菌 A 蛋白 IgG 结合域中的 Z 结合域,是由 58 个氨基酸残基构成的稳定的三螺旋结构,亲和体分子库可由螺旋 1 和 2 中的 13 个氨基酸残基随机组合而成^[11-13]。亲和体分子体积小,可以快速穿过生物学屏障,具有较好的生物动力学特征,结构稳定,较易合成,尤其是可与靶分子,如表皮生长因子受体、HER2、人血清白蛋白、TNF- α 等高亲和性、高特异性地结合,这些优点使得亲和体分子成为分子影像学研究的焦点。

HER2 亲和体分子最基本的氨基酸序列为 VDNKFNKEQQNAFYELHLPNLNNEQRNFIQSLKDDPS-QSANLLAEAKKLNDQAQPK,完全可以通过固相合成法合成,可明显降低合成的费用。第一代 HER2 亲和体分子主要为 Z_{HER2:4}^[14],其亲和力较低(50 nmol/L),很难应用于体内靶向显像。第二代 HER2 亲和体分子为 Z_{HER2:477} 和 Z_{HER2:342}^[15],通过对成熟的亲和体序列进行定点变异而筛选得到,亲和力提高了 3 个数量级。第三代 HER2 亲和体分子为对 Z_{HER2:342} 进行改进得到的 Z_{HER2:2395}^[16] 和 Z_{HER2:2891}^[17],具有更高的亲水性、热稳定性及更易于与 HER2 结合等优点,使体内优良靶向显像成为可能。各代 HER2 亲和体的氨基酸序列比较见表 1^[18]。

放射性核素标记 HER2 亲和体的方法分为直接标记与间接标记。直接标记是将放射性核素直接与 HER2 亲和体相连接,此方法标记率低,标记物不稳定。间接标记是利用螯合剂将放射性核素与 HER2 亲和体进行连接,此方法标记率高,标记物稳定。近年来,螯合剂的种类多种多样,而基于肽结构的螯合剂因其结构简单、易与生物物质合成、标记率高、无需纯化、易于制备等优点,已引起研究者的高度重视。早期的螯合剂如 MAG3(巯乙酰基三甘氨酸)等,因标记后的探针分子量较大,无法通过肾脏清除而只能通过肝胆分泌途径清除,但因肝胆分泌较慢,导致探针的血液清除较慢,显像本底高,从而导致图像的对比度较低,图像质量不高。进一步的研究将 HYNIC(联肼尼克酰胺)、DTPA、DOTA(1,4,7,10-四氮杂环十二烷基-1,4,7,10-四乙酸)、maESE-(巯基乙酰基-谷氨酰-丝氨酰-谷氨酰)和 maSKS-(巯基乙酰基-丝氨酰-赖氨酰-丝氨酰)作为螯合剂,使分子探针主要经肾脏清除,减少了经肝脏代谢的量,从而提高了图像质量,但肾内滞留明显^[19-21]。通过在 HER2 亲和体的 C 端或者 N 端进行肽螯合剂修饰,对构成的不同分子结构进行核素标记,体内和体外的研究表明,N 端的不同氨基酸序列肽结构螯合剂会影响肝脏摄取,而在 C 端时该影响不明显^[22]。当基于 N₃S 结构的螯合剂在 C 端时,血液循环中无明显游离锆,而当该螯合剂在 N 端时,放射性核素锆在血中易游离。当 AEN-在 N 端,同时基于 N₃S 结构的螯合剂 GGSC、GGSC、GGEC、GGKC-在 C 端时,HER2 特异性结合较好,血中清除较快,经肾脏排泄,并在肾中滞留较少。这些研究结果对制备优良的 HER2 分子核素探针并促进其临床转化具有重要的价值。

表 1 各代 HER2 亲和体的氨基酸序列比较

Table 1 Comparison of amino acid sequences among different generations of human epidermal growth factor receptor type 2 affibody molecules

亲和体名称	氨基酸序列
Z _{HER2}	VDNKFNKEQQNAFYELHLPNLNNEQRNFIQSLKDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK
Z _{HER2:4}	VDNKFNKE LRQAYWEIQ ALPNLN WTQSR AFIRSLYDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK
Z _{HER2:477}	VDNKFNKE MRNAYWEIA LLPNLN VAQK RAFIRSLYDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK
Z _{HER2:342}	VDNKFNKE MRNAYWEIA LLPNLN NQQK RAFIRSLYDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK
Z _{HER2:2395}	AENKFNKE MRNAYWEIA LLPNLN TNQK RAFIRSLYDDPSQSANLLAEAKKLNDQAQPK
Z _{HER2:2891}	AEAKYAKE MRNAYWEIA LLPNLN TNQK RAFIRKLYDDPSQS SELLSE AKKLND SQ APK

注:表中,HER2:人表皮生长因子受体 2;Z_{HER2}表示 HER2 亲和体基本的氨基酸序列;红色字体标注的为与 HER2 亲和体基本氨基酸序列相比修改后的氨基酸残基。

4 放射性核素标记 HER2 亲和体的应用

目前,国内外利用放射性核素标记 HER2 亲和体制备分子探针的研究已显示出广阔的前景。一次全身显像不仅可以显示原发灶的病变,还可以显示转移灶 HER2 的表达情况。而且,该检测方法具有无创性、实时性及可重复性,可进行治疗过程中的疗效评价。放射性核素标记 HER2 亲和体制备的分子探针还具有靶向性,也可用于肿瘤的靶向治疗。总之,放射性核素标记 HER2 亲和体制备的各种分子探针在肿瘤的精准诊疗中的应用转化前景广阔。

4.1 核素标记 HER2 亲和体在 SPECT 中的应用

4.1.1 ^{111}In 标记 HER2 亲和体

^{111}In 是较早用于标记 HER2 亲和体的单光子放射性核素,其半衰期为 2.81 d,发射纯 γ 射线,是较理想的显像用放射性核素。Orlova 等^[23]应用 DOTA 作为螯合剂,对 $Z_{\text{HER2:342}}$ 进行 ^{111}In 标记,结果显示,显像剂可被 HER2 高表达的 SKOV-3 荷瘤裸鼠肿瘤组织明显摄取,表现出了较高的肿瘤靶向结合特性,分子探针通过肾脏泌尿系统排泄。目前, Sørensen 等^[24]应用 ^{111}In 标记的分子探针 ^{111}In -ABY-025 首次对乳腺癌转移患者进行显像,结果显示,注射平均有效剂量为 0.15 mSv/MBq 的分子探针是安全的,没有出现药物不良反应,注射后 2 h 肿瘤部位摄取较高,除肾脏外其他非靶器官均摄取较低,图像质量较高,进一步证明了分子探针与 HER2 高表达肿瘤组织的结合是受体特异性结合,有较好的临床应用前景。

4.1.2 $^{99\text{Tc}^{\text{m}}}$ 标记 HER2 亲和体

$^{99\text{Tc}^{\text{m}}}$ 因半衰期及能量均适中且易于获得,被广泛应用,是最为理想的显像用放射性核素,目前已有研究用多种螯合剂[如 MAG3、maEEE(巯基乙酰基-谷氨酰-谷氨酰-谷氨酰)、DOTA,尤其是基于半胱氨酸的 N_3S 肽结构螯合剂等]将 $^{99\text{Tc}^{\text{m}}}$ 与 HER2 亲和体连接起来,取得了较好的研究结果。Wällberg 等^[25]用 N_3S 肽结构-GGGC 作为螯合剂将 $^{99\text{Tc}^{\text{m}}}$ 与 $Z_{\text{HER2:V2}}$ 连接,该分子探针标记率高、特异性强,主要经肾脏排泄,几乎不经肝脏排泄,在非肿瘤组织内代谢速率快。国内赵新明团队已成功采用类似 N_4 结构的 4 个氨基酸[Gly-(D)Ala-Gly-Gly]作为螯合剂,对 HER2 亲和体 $Z_{\text{HER2:342}}$ 进行放射性核素 $^{99\text{Tc}^{\text{m}}}$ 标记,该分子探针标记方法简便、标记率高、体内外稳定

性好,无论是在细胞还是在动物体内均表现出高亲和力及特异性,并成功用于分子显像以评价靶向药物曲妥珠单抗的治疗疗效^[26-28]。目前,该团队采用 -Gly-Gly-Gly-Cys 作为螯合剂,用 $^{99\text{Tc}^{\text{m}}}$ 标记 $Z_{\text{HER2:2891}}$ 及 $Z_{\text{HER2:V2}}$,改进后的标记方法极其简便,探针分子的标记率高、体内外稳定性好,显像时只有肿瘤、肾脏及膀胱显影,没有肝脏显影,且可经肾脏快速排泄,在一定程度上降低了肾脏的毒性,研究结果显示出了 $^{99\text{Tc}^{\text{m}}}$ 标记 HER2 亲和体制备分子探针临床转化应用的广阔前景(结果尚未发表)。

4.2 正电子核素标记 HER2 亲和体在 PET 中的应用

4.2.1 ^{68}Ga 标记 HER2 亲和体

^{68}Ga 是常用的正电子放射性核素,已有研究将 HER2 亲和体与 DOTA 金属螯合剂结合,然后标记上 ^{68}Ga ,得到分子探针 ^{68}Ga -DOTA- $Z_{\text{HER2:2891}}$,并进行体内及体外研究,结果表明该分子探针对高表达 HER2 的 MDA-MB-361 细胞具有高特异性,并且体内分布及显像结果表明,放射性核素在 HER2 高表达肿瘤中聚集多,而在血液及非肿瘤组织中代谢较快^[29]。但由于 ^{68}Ga 成本较高,其在临床中的广泛应用受到限制。

4.2.2 ^{64}Cu 标记 HER2 亲和体

^{64}Cu 的半衰期为 12.7 h,是较为理想的放射性核素,但目前国内外用其进行标记 HER2 分子探针的研究不多。Cheng 等^[30]应用 DOTA 作为螯合剂将 ^{64}Cu 与 $Z_{\text{HER2:477}}$ 进行标记,制备出 ^{64}Cu -DOTA- $Z_{\text{HER2:477}}$,并应用 SKOV3 裸鼠模型进行体内分布研究及小动物 PET 显像,结果表明,该分子探针的肿瘤摄取率高、特异性强。该研究显示出了 ^{64}Cu 标记 HER2 亲和体具有较好的应用前景。

4.2.3 ^{18}F 标记 HER2 亲和体

^{18}F 是目前最常用的 PET 显像核素,用 ^{18}F 直接标记的小分子蛋白或者多肽一般不是很稳定,利用中间体进行间接标记是常用的连接方法,即先将 ^{18}F 与活性烷基基团结合合成标记中间体,再与目标基团结合。 ^{18}F -FDG 是目前临床上应用最广泛的一种 PET 显像剂,但 ^{18}F -FDG PET 显像特异性不高,易出现假阳性,同时并不是所有肿瘤细胞对 ^{18}F -FDG 都有摄取,可能出现假阴性。Kramer-Marek 等^[31]制备出 ^{18}F - $Z_{\text{HER2:342}}$,并与 ^{18}F -FDG 进行对比研究,结果表明,与 ^{18}F -FDG 相比, ^{18}F - $Z_{\text{HER2:342}}$ 对 HER2 高表达肿瘤组织更具特异性。这些研究结果

显示, ^{18}F 标记 HER2 分子显像也将具有较好的临床应用和推广前景。

4.3 放射性核素标记 HER2 亲和体用于疗效评价

放射性核素标记 HER2 亲和体不仅可以用于显像, 找到 HER2 高表达的肿瘤并对其进行靶向药物治疗, 还可以对其治疗疗效进行评价。国内赵新明团队用类似 N_4 结构的 4 个氨基酸[Gly-(D)Ala-Gly-Gly]作为螯合剂将 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 与 $\text{Z}_{\text{HER2: 342}}$ 进行标记, 制备出分子探针 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{-Z}_{\text{HER2: 342}}$, 用于 HER2 高表达肿瘤应用靶向药物曲妥珠单抗治疗后的疗效评价, 研究显示该分子探针的显像 T/NT 值的下降与 HER2 蛋白表达水平的降低呈良好的正相关^[28]。该研究使在活体内无创、实时、全身性地进行肿瘤治疗疗效评价成为可能。未来这将在乳腺癌等 HER2 靶向治疗的预测及疗效评价中发挥重要作用。

4.4 放射性核素标记 HER2 亲和体用于治疗

将具有发射 β 射线的放射性核素或细胞毒性物质标记到 HER2 亲和体分子上可进行 HER2 高表达病灶的靶向治疗。现已有研究报道 ^{188}Re 标记 HER2 亲和体分子进行的肿瘤治疗^[32]。 ^{188}Re 是理想的治疗用放射性核素, 其半衰期为 16.7 h, 可以发射最大能量为 2.12 MeV 的 β 射线, ^{188}Re 发射的 β 射线能量适中, 组织内照射射程短, 最大组织射程为 11 mm, 95% 的 β 射线在 4 mm 范围内被吸收, 对周围组织损伤小, 特别适用于内照射治疗; ^{188}Re 同时还发射 0.155 MeV 的 γ 射线, 可用于显像, 并可进行核素的生物学分布、辐射剂量及药代动力学研究。Altai 等^[32]将 ^{188}Re 与 $\text{Z}_{\text{HER2: V2}}$ 进行标记, 用于 HER2 高表达肿瘤 SKOV3 的治疗, 研究结果表明, 在不超过肾脏和骨髓耐受剂量时, 药物可被肿瘤组织最大程度摄取。该研究结果表明, 利用 ^{188}Re 标记 HER2 亲和体制备分子探针进行 HER2 高表达肿瘤的核素靶向治疗是可行的。但这方面的研究仍有待进一步深入。

5 前景与展望

HER2 亲和体分子因其对 HER2 具有高亲和力、高特异性, 且分子量小、制备简单、生物动力学性能良好的特性, 近年来在肿瘤核素分子显像和治疗方面研究较为活跃。但目前国内对放射性核素标记的 HER2 亲和体分子探针的研究主要是在实验阶段, 国外已有应用于临床的研究报道。如何进一

步减少肾脏中放射性核素的聚集, 加速临床转化是目前最重要的课题。单光子和正电子核素标记 HER2 分子探针进行肿瘤特异性诊断、治疗及早期客观地评价靶向药物治疗疗效的临床转化应用具有广阔前景。对核素标记 HER2 亲和体的研究必将促进分子影像学及精准医学的快速发展。

利益冲突 本研究由署名作者按以下贡献声明独立开展, 不涉及任何利益冲突。

作者贡献声明 邢宇负责文献查阅、论文撰写; 赵新明负责综述命题提出、框架设计及论文审阅、修改。

参 考 文 献

- [1] Ramieri MT, Murari R, Botti C, et al. Detection of HER2 amplification using the SISH technique in breast, colon, prostate, lung and ovarian carcinoma[J]. *Anticancer Res*, 2010, 30(4): 1287-1292.
- [2] Carlsson J. Potential for clinical radionuclide-based imaging and therapy of common cancers expressing EGFR-family receptors[J]. *Tumour Biol*, 2012, 33(3): 653-659. DOI: 10.1007/s13277-011-0307-x.
- [3] Buzdar AU, Ibrahim NK, Francis D, et al. Significantly higher pathologic complete remission rate after neoadjuvant therapy with trastuzumab, paclitaxel, and epirubicin chemotherapy: results of a randomized trial in human epidermal growth factor receptor 2-positive operable breast cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23(16): 3676-3685. DOI: 10.1200/JCO.2005.07.032.
- [4] Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A, et al. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial[J]. *Lancet*, 2010, 376(9742): 687-697. DOI: 10.1016/S0140-6736(10)61121-X.
- [5] Hynes NE, Stern DF. The biology of erbB-2/neu/HER-2 and its role in cancer[J]. *Biochim Biophys Acta*, 1994, 1198(2/3): 165-184.
- [6] Dean-Colomb W, Esteva FJ. Her2-positive breast cancer: herceptin and beyond[J]. *Eur J Cancer*, 2008, 44(18): 2806-2812. DOI: 10.1016/j.ejca.2008.09.013.
- [7] Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, et al. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene[J]. *Science*, 1987, 235(4785): 177-182.
- [8] Shen K, Ma X, Zhu C, et al. Safety and Efficacy of Trastuzumab Emtrastine in Advanced Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Positive Breast Cancer: a Meta-analysis[J/OL]. *Sci Rep*, 2016, 6: 23262[2015-12-23]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4793192>. DOI: 10.1038/srep23262.
- [9] Bell R, Verma S, Untch M, et al. Maximizing clinical benefit with trastuzumab[J]. *Semin Oncol*, 2004, 31(5 Suppl 10): S35-44. DOI: 10.1053/j.seminoncol.2004.07.020.
- [10] Nord K, Nilsson J, Nilsson B, et al. A combinatorial library of an al-

- pha-helical bacterial receptor domain[J]. *Protein Eng*, 1995, 8(6): 601–608. DOI: 10.1093/protein/8.6.601.
- [11] Miao Z, Levi J, Cheng Z. Protein scaffold-based molecular probes for cancer molecular imaging[J]. *Amino Acids*, 2011, 41(5): 1037–1047. DOI: 10.1007/s00726-010-0503-9.
- [12] Nilsson FY, Tolmachev V. Affibody molecules: new protein domains for molecular imaging and targeted tumor therapy[J]. *Curr Opin Drug Discov Devel*, 2007, 10(2): 167–175.
- [13] Orlova A, Feldwisch J, Abrahmsén L, et al. Update: affibody molecules for molecular imaging and therapy for cancer[J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2007, 22(5): 573–584. DOI: 10.1089/cbr.2006.004-U.
- [14] Wikman M, Steffen AC, Gunneriusson E, et al. Selection and characterization of HER2/neu-binding affibody ligands[J]. *Protein Eng Des Sel*, 2004, 17(5): 455–462. DOI: 10.1093/protein/gzh053.
- [15] Orlova A, Magnusson M, Eriksson TL, et al. Tumor imaging using a picomolar affinity HER2 binding affibody molecule[J]. *Cancer Res*, 2006, 66(8): 4339–4348. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-3521.
- [16] Ahlgren S, Orlova A, Rosik D, et al. Evaluation of maleimide derivative of DOTA for site-specific labeling of recombinant affibody molecules[J]. *Bioconjug Chem*, 2008, 19(1): 235–243. DOI: 10.1021/bc700307y.
- [17] Feldwisch J, Tolmachev V, Lendel C, et al. Design of an optimized scaffold for affibody molecules[J]. *J Mol Biol*, 2010, 398(2): 232–247. DOI: 10.1016/j.jmb.2010.03.002.
- [18] Löfblom J, Feldwisch J, Tolmachev V, et al. Affibody molecules: engineered proteins for therapeutic, diagnostic and biotechnological applications[J]. *FEBS Lett*, 2010, 584(12): 2670–2680. DOI: 10.1016/j.febslet.2010.04.014.
- [19] Luo TY, Cheng PC, Chiang PF, et al. ^{188}Re -HYNIC-trastuzumab enhances the effect of apoptosis induced by trastuzumab in HER2-overexpressing breast cancer cells[J]. *Ann Nucl Med*, 2015, 29(1): 52–62. DOI: 10.1007/s12149-014-0908-8.
- [20] Tolmachev V, Wällberg H, Andersson K, et al. The influence of Bz-DOTA and CHX-A"-DTPA on the biodistribution of ABD-fused anti-HER2 Affibody molecules: implications for $^{111\text{m}}\text{In}$ -mediated targeting therapy[J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2009, 36(9): 1460–1468. DOI: 10.1007/s00259-009-1134-9.
- [21] Tran TA, Ekblad T, Orlova A, et al. Effects of lysine-containing mercaptoacetyl-based chelators on the biodistribution of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labeled anti-HER2 Affibody molecules[J]. *Bioconjug Chem*, 2008, 19(12): 2568–2576. DOI: 10.1021/bc800244b.
- [22] Ahlgren S, Wällberg H, Tran TA, et al. Targeting of HER2-expressing tumors with a site-specifically $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labeled recombinant affibody molecule, $\text{Z}_{\text{HER2}2395}$, with C-terminally engineered cysteine[J]. *J Nucl Med*, 2009, 50(5): 781–789. DOI: 10.2967/jnumed.108.056929.
- [23] Orlova A, Tolmachev V, Pehrson R, et al. Synthetic affibody molecules: a novel class of affinity ligands for molecular imaging of HER2-expressing malignant tumors[J]. *Cancer Res*, 2007, 67(5): 2178–2186. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-2887.
- [24] Sörensen J, Sandberg D, Sandström M, et al. First-in-human molecular imaging of HER2 expression in breast cancer metastases using the ^{111}In -ABY-025 affibody molecule[J]. *J Nucl Med*, 2014, 55(5): 730–735. DOI: 10.2967/jnumed.113.131243.
- [25] Wällberg H, Orlova A, Altai M, et al. Molecular design and optimization of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labeled recombinant affibody molecules improves their biodistribution and imaging properties[J]. *J Nucl Med*, 2011, 52(3): 461–469. DOI: 10.2967/jnumed.110.083592.
- [26] Zhang JM, Zhao XM, Wang SJ, et al. Evaluation of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -peptide- $\text{Z}_{\text{HER2}342}$ Affibody[®] molecule for in vivo molecular imaging[J/OL]. *Br J Radiol*, 2014, 87(133): 20130484[2015-12-23]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3898972>. DOI: 10.1259/bjr.20130484.
- [27] 张敬勉, 赵新明, 王士杰, 等. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 标记人表皮生长因子受体 2 小分子靶向结合蛋白的制备及体外结合特性[J]. *中华核医学与分子影像杂志*, 2014, 34(3): 208–212. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2014.03.012.
- Zhang JM, Zhao XM, Wang SJ, et al. Preparation and characterization of $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labeled human epidermal growth factor type 2 affibody molecule in vitro[J]. *Chin J Nucl Med Mol Imaging*, 2014, 34(3): 208–212.
- [28] Zhang J, Zhao X, Wang S, et al. Monitoring therapeutic response of human ovarian cancer to trastuzumab by SPECT imaging with $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -peptide- $\text{Z}_{\text{HER2}342}$ [J]. *Nucl Med Biol*, 2015, 42(6): 541–546. DOI: 10.1016/j.nucmedbio.2015.02.002.
- [29] Kramer-Marek G, Shenoy N, Seidel J, et al. ^{68}Ga -DOTA-affibody molecule for in vivo assessment of HER2/neu expression with PET[J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2011, 38(11): 1967–1976. DOI: 10.1007/s00259-011-1810-4.
- [30] Cheng Z, De Jesus OP, Kramer DJ, et al. ^{64}Cu -labeled affibody molecules for imaging of HER2 expressing tumors[J]. *Mol Imaging Biol*, 2010, 12(3): 316–324. DOI: 10.1007/s11307-009-0256-6.
- [31] Kramer-Marek G, Bernardo M, Kiesewetter DO, et al. PET of HER2-positive pulmonary metastases with ^{18}F - $\text{Z}_{\text{HER2}342}$ affibody in a murine model of breast cancer: comparison with ^{18}F -FDG[J]. *J Nucl Med*, 2012, 53(6): 939–946. DOI: 10.2967/jnumed.111.100354.
- [32] Altai M, Wällberg H, Honarvar H, et al. ^{188}Re - $\text{Z}_{\text{HER2}12}$, a promising affibody-based targeting agent against HER2-expressing tumors: preclinical assessment[J]. *J Nucl Med*, 2014, 55(11): 1842–1848. DOI: 10.2967/jnumed.114.140194.

(收稿日期: 2015-12-23)