

·综述·

uPAR 放射性核素靶向显像研究进展

孙芳芳 张欣

116011, 大连医科大学附属第一医院核医学科

通信作者: 张欣, Email: zhhw2000@126.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2016.03.013

【摘要】 尿激酶型纤溶酶原激活物及其特异性受体(uPA/uPAR)系统是肿瘤侵袭、转移和血管生成的核心环节之一,且与肿瘤的不良预后密切相关。检测肿瘤组织中uPA/uPAR表达水平及其随病情的变化情况,对于肿瘤预后判断、治疗方案的选择与疗效评价意义重大。放射性核素分子靶向显像方法在靶向受体表达水平测定上具有独特的优势,近年来医学研究者使用多种放射性核素标记uPAR的特异性配体进行了动物显像研究,并于2015年首次用于人体显像。笔者就近年来uPAR放射性核素靶向显像的研究进展作一综述。

【关键词】 放射性核素显像;尿纤溶酶原激活物;靶向显像

基金项目:辽宁省自然科学基金 201302017

Research progress of uPAR-targeted nuclear imaging Sun Fangfang, Zhang Xin

Department of Nuclear Medicine, the First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116011, China

Corresponding author: Zhang Xin, Email: zhhw2000@126.com

【Abstract】 Urokinase plasminogen activator(uPA) and urokinase plasminogen activator receptor(uPAR) system play an important role in the process of cancer invasion, metastasis and angiogenesis, and it is closely associated with poor prognosis of tumors. Evaluate of uPAR expression level in the tumor cell is very significant for cancer prognosis, selection and assessment the therapy. Molecular targeted nuclear imaging has unique advantage in testing receptor expression, several research group labeled uPAR specially ligands with different radionuclides for imaging uPAR. The first human uPAR imaging has taken in 2015. This article reviewed the research progress of uPAR-targeted molecular nuclear imaging in recent years.

【Key words】 Radionuclide imaging; Urinary plasminogen activator; Targeted imaging

Fund program: Liaoning Province Natural Science Fund Project(2013023017)

近年来随着分子生物技术的飞速发展,医学研究者对肿瘤侵袭和转移的分子机制有了进一步的了解,其中尿激酶型纤溶酶原激活物(urokinase plasminogen activator, uPA)及其特异性受体(urokinase plasminogen activator receptor, uPAR)的表达备受关注^[1-3]。uPA/uPAR是基质降解酶系统的重要组成部分之一,肿瘤细胞分泌的uPA是纤溶酶形成的启动物,uPA与uPAR结合后被激活,通过蛋白水解及信号传导途径启动一系列反应,对肿瘤的侵袭和转移有明显的促进作用,还可通过上调凋亡抑制因子的表达,起到抑制肿瘤细胞凋亡的作用^[4-9]。uPA/uPAR在多种肿瘤组织中高表达,其表达不仅是肿瘤侵袭与转移的核心环节,还与肿瘤的恶性程度与

不良预后密切相关。以uPAR为靶向的治疗已成为肿瘤治疗新途径^[10-13],放射性核素靶向显像可提供肿瘤uPAR表达水平高低的信息。近年来,很多课题组对uPAR靶向显像进行了研究并发表了他们的研究成果,综述如下。

1 SPECT显像

uPA与uPAR有着很高的亲和性,有研究表明uPA与uPAR结合的结构为NH₂端生长因子样结构域(growth factor-like domain, GFD)的β折叠结构^[14-15]。Magdolen等^[16]合成了包含这一区域的部分氨基酸的肽链,并测试了其uPAR的亲和力,其中cyclo^{21,29}[D-Cys(21)Nle(23)Cys(29)]uPA、cyclo^{19,31}[D-Cys(19)]uPA两个

环状肽链与 uPAR 有较高的亲和力。Armstrong 等^[17]尝试通过在 cyclo^{19,31}[D-Cys⁽¹⁹⁾]_uPAmoduan 上连接一个可以直接与 ⁹⁹Tc^m 螯合的氨基酸,合成了 ⁹⁹Tc^m 标记的环状肽链,但是实验发现,其与 uPAR 的结合能力下降,只能达到 uPA 结合能力的 3% 左右,不适合进行 SPECT 显像研究。

uPAR 的拮抗剂 AE105 [D-Cha-F-s-r-Y-L-W-S) 是含有 9 个氨基酸的直线肽链,它与 uPAR 有很高的亲和力,Cha、F 和 W 3 个氨基酸在与 uPAR 的结合中起重要作用,将其中的 W 更换为 E 时,其与 uPAR 的结合能力显著下降,不再具有特异性结合能力,这种肽链称为 AE105_{mut}。AE120 [D-Cha-F-s-r-Y-L-W-S) 2-βA-K] 是含有双链 AE105 的多肽,与 uPAR 也有很高的亲和力,很多显像与治疗实验都是以 AE105 或其衍生物作为底物进行研究^[18-19],以 AE105_{mut} 作为阴性对照肽链。

2009 年 Liu 等^[20]合成了一种类似 AE120 的双链多肽 (AE120 analogue),通过在 C-端连接 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, DOTA) 螯合剂与 ¹¹¹In 结合。AE120 analogue 多肽分子在体外与 uPAR 的结合能力较 AE105 稍有下降。在荷人 MDA-MB-231 型乳腺癌裸鼠体内,¹¹¹In-AE120 analogue 注射 4 h 后,在肿瘤组织中的分布明显高于肌肉组织和血液,¹¹¹In-AE120 analogue_{mut} 并无此特异性摄取现象,但在肝、肾中的分布值远高于肿瘤组织,这将会影响其在实际中的应用。

⁹⁹Tc^m 是临床上最常用的放射性核素,笔者所在课题组曾在 2013 年尝试使用 ⁹⁹Tc^m 标记 AE105 制备更适用于临床应用的 uPAR 显像剂^[21],在 AE105 的 NH₂ 端连接聚乙二醇柔性分子和胍基尼古酰胺螯合剂,通过 Tricine 协同配体与 ⁹⁹Tc^m 螯合,用同样的方法标记阴性对照肽链 AE105_{mut},以高表达 uPAR 的 bxp-3 荷瘤裸鼠为模型测试了标记化合物的生物分布,结果发现,⁹⁹Tc^m-AE105 在肿瘤组织中的摄取率明显高于阴性对照化合物 ⁹⁹Tc^m-AE105_{mut},并且肿瘤组织的放射性摄取率与免疫组化测定的 uPAR 表达呈正相关;此外,还进行了 uPAR 的 SPECT 显像,显像剂注入体内 2 h 可隐约看到肿瘤组织显影,4、6 h 时肿瘤组织显影清晰 (T/NT 分别为 3.37±0.11 和 3.64±0.25),而对照组 ⁹⁹Tc^m-AE105_{mut})

始终无法从图像中清楚地看到肿瘤组织显影 (T/NT 分别为 1.36±0.18 和 1.28±0.20)。⁹⁹Tc^m-AE105 显像剂在血液、肝脏、肾脏中持续滞留,这不仅对图像质量造成一定影响,在临床应用中也会降低肿瘤病灶的检出率,作为 uPAR 靶向显像剂,还需要进一步改进和完善。

2010 年 Duriseti 等^[22]通过噬菌体展示技术得到了可以与 uPAR 结合的 3 种特异性抗体片段,分别命名为 2G10、1A8 和 3C6,它们与 uPAR 的结合能力与 uPA 相似。2014 年 Lebeau 等^[23]在研究抗药性乳腺癌细胞 uPAR 的表达时,使用 ¹¹¹In 标记 2G10、1A8 和 3C6 用于 uPAR 显像,其中 ¹¹¹In-2G10 在体内外均与 uPAR 有很好的亲和性,具有良好的生物学性能;给予 MCF-7 TamR (一种人乳腺癌细胞) 荷瘤小鼠尾静脉注射显像剂 24 h 后,显像剂开始在肿瘤组织中浓聚,72 h 时显像剂在肿瘤组织中的分布达到最大值,肿瘤与血液的放射性摄取率比值 (T/B) 达到了 12,肿瘤与肌肉放射性摄取率比值 (T/M) 更是高达 96,与以前的报道^[20]相比,显像剂在肝脏与肾组织中的摄取率有了显著降低;MDA-MB-231 DoxR 和 MDA-MB-231 TaxR (两种人乳腺癌细胞) 荷瘤小鼠体内生物分布数据与 MCF-7 TamR 荷瘤小鼠数据相似,而在不表达 uPAR 的 MCF-7 荷瘤小鼠体内,生物分布实验显示标记物与肿瘤组织没有特异性结合能力,肝脏、肺和血液中的放射性摄取率明显升高;SPECT 显像图像与生物分布数值相符合。

2 PET/CT 显像

Li 等^[24]于 2008 年首次尝试使用 ⁶⁴Cu 标记 AE105 多肽作为 uPAR 的显像剂,他们在肽链的氨基端链接 DOTA 螯合剂,并在体外测试了 DOTA-AE105 与 uPAR 的结合能力,结果显示,连接 DOTA 后,肽链与 uPAR 的结合能力稍有下降,microPET 显像结果显示,⁶⁴Cu-DOTA-AE105 在 U87MG 人胶质母细胞荷瘤小鼠体内,可特异性浓聚于肿瘤组织中;注射显像剂 1 h 后即可清晰地看到肿瘤组织显影,4.5 h 后达到一个平台期;而在相同条件下不表达 uPAR 的 MDA-MB-435 人乳腺荷瘤小鼠体显像图像中则没有发现肿瘤组织中显像剂的浓聚;阴性对照物 ⁶⁴Cu-DOTA-AE105_{mut} 及 uPA 抑制显像实验进一步证实了 ⁶⁴Cu-DOTA-AE105 的靶向性;免疫

组化测定的肿瘤细胞 uPAR 表达程度与 ^{64}Cu -DOTA-AE105 的摄取呈正相关。

Persson 等^[25]对 ^{64}Cu 标记 AE105 进行了深入研究, 研究对肿瘤组织对 ^{64}Cu -DOTA-AE105 的摄取与 uPAR 的表达相关性进行了定量分析, 并将 uPAR PET 显像与 ^{18}F -FDG 显像进行了对比, U87MG 人胶质母细胞瘤小鼠进行 ^{64}Cu -DOTA-AE105 microPET 显像, 处死后对肿瘤组织进行 uPAR 表达水平的酶联免疫吸附及免疫组化方法检测, 结果显示, microPET 显像中肿瘤组织的放射性摄取率与酶联免疫吸附测定及免疫组化检测方法中 uPAR 的表达水平具有相关性, 实验证实了 ^{64}Cu -DOTA-AE105 的 microPET 显像可以定量地提示 uPAR 的表达水平; 而 ^{18}F -FDG PET 显像显示, 在 uPAR 表达水平不同的肿瘤组织中, ^{18}F -FDG 的摄取并没有明显差异。实验中发现肝脏对显像剂具有很高的摄取率, 这对其在临床上的应用具有较大影响, ^{64}Cu 通过 DOTA 螯合剂标记的其他多肽显像剂在动物体内也有这种现象, 这是因为 ^{64}Cu -DOTA 在体内不稳定, ^{64}Cu 与肝脏中超氧化物歧化酶发生金属离子交换所致。

CB-TE2A 和 CB-TE2A-PA 是两种新型的螯合剂, 文献报道它们与 ^{64}Cu 的螯合物在体内的稳定性优于 ^{64}Cu -DOTA^[26]。Persson 等^[27]将这两种螯合剂连接在 AE105 氨基端, 用 ^{64}Cu 标记合成了新的 uPAR 显像剂, 体外亲和力和测试显示, CB-TE2A-AE105 和 CB-TE2A-PA-AE105 与 uPAR 的结合力和 DOTA-AE105 相当, ^{64}Cu -CB-TE2A-AE105 及 ^{64}Cu -CB-TE2A-PA-AE105 的体外稳定性远远优于 ^{64}Cu -DOTA-AE105, 这与之前文献报道结果一致; 对这 3 种显像剂的 PET 图像通过 ROI 技术方法进行分析, 注射显像剂 1 h 后, 3 种显像剂在肿瘤组织中的摄取率相似, 但肝脏对 ^{64}Cu -CB-TE2A-PA-AE105 的摄取率远低于另外两种。他们认为这是目前生物性能最佳的 uPAR PET/CT 显像剂, 具有高的肿瘤与血液的放射性摄取率比值, 且肝摄取率不高。螯合剂选择的改变改善了显像剂的生物学性质。

由于 ^{64}Cu 价格昂贵且不易得到, Persson 等^[28]还尝试使用可以由发生器装置得到的 ^{68}Ga 和常见的 ^{18}F 标记 AE105 多肽分子进行 uPAR 显像。 ^{68}Ga -NODAGA-AE105-NH₂ 和 ^{68}Ga -DOTA-AE105-NH₂ 两种标记物在体外稳定性良好, 且与 U87MG (一种恶性胶质瘤细胞) 在体外的亲和力高。microPET 显像

图像中见到显像剂在肿瘤组织中的特异性浓聚, 但较 ^{64}Cu -DOTA-AE105 肿瘤摄取率明显降低, 肿瘤/肾、肿瘤/肌肉值低, 作为 PET 显像剂仍需进一步改进。

^{18}F 是 PET 最常用的放射性核素, 它的生物学性质及半衰期都非常适合用于 PET 显像。Persson 等^[29]使用 ^{18}F -AIF 标记 DOTA-AE105 用于 uPAR 的显像。前列腺 PC-3 荷瘤小鼠静脉注射 ^{18}F -AIF-NOTA-AE105 [1, 4, 7-三乙酰唑胺环壬烷-1, 4, 7-三乙酸盐 1, 4, 7-triaza cyclononane-1, 4, 7-triacetic acid, NOTA)] 后行 PET 显像。通过 ROI 技术分析图像, 结果显示肿瘤组织有较高的放射性摄取率; 在竞争抑制实验中, 注射显像剂 1 h 后, 肿瘤组织的放射性摄取率从 $(4.22 \pm 0.13) \%$ 下降至 $(0.86 \pm 0.14) \%$, 证实了 ^{18}F -AIF-NOTA-AE105 的靶向特异性。体内分布实验显示, 显像剂在骨中也有分布, 与 ^{18}F -FDG 的骨摄取率相似 (1.5 h 时为 $2.49 \% \text{ID/g}$), 但并不影响其临床使用。

2014 年 Persson 等^[29-30]还在小鼠体内进行了 ^{64}Cu -DOTA-AE105 的放射性剂量学研究, 在此基础上, 2015 年他们首次进行了 ^{64}Cu -DOTA-AE105 人的体内实验^[31], 该实验纳入了 3 例乳腺癌患者、4 例前列腺癌患者和 3 例转移性膀胱癌患者, 注射剂量约为 204 MBq, 患者在注射显像剂前后各种体征及生化指标均无明显变化, ^{64}Cu -DOTA-AE105 安全性较好, 实验结果发现, 显像剂在体内的摄取率由高到低依次为膀胱>肝脏>肾脏>胰腺, 正常脑组织中无显像剂摄取; 药物代谢实验表明, 显像剂在体内被代谢成为一种亲脂性更强的化合物, 通过尿液排出体外, 3 h 内显像剂快速从体内清除, 24 h 时除肝脏及肠道有药物聚集外, 其他器官及肿瘤组织中的显像基本被清除干净。在该研究中, 除 1 例患者因为幽闭恐惧症只做了 1 h 的显像外, 其他 9 例患者分别在 1、3 和 24 h 显像, 注射显像剂 1 h 后肿瘤原发灶与淋巴转移灶均可清晰显像, 10 例患者的原发灶阳性率达到 100%, 1 例转移性膀胱癌患者肝脏上的转移病灶未被检出, 这可能与肝脏的高摄取率相关, 1 例乳腺癌患者的脑部在检测时发现轻微的显影, 后经 MRI 证实为脑内转移病灶。 ^{64}Cu -DOTA-AE105 在该研究中显示出了优秀的生物性能, 虽然肝脏摄取率高可能影响肝脏组织中病灶的检出, 但在注射 1 h 后即可清晰显影, 并不

影响 AE105 作为 uPAR 显像的靶向物在临床上的使用。

3 小结

uPAR 靶向显像研究目前仍处在初始阶段。虽然医学研究者已合成多种 uPAR 靶向显像剂,但都有着各自的不足,uPAR 显像进入临床实际应用仍有很长的路要走。

有研究表明,在人体内,肿瘤高表达 uPAR 的同时,体内 uPA 的浓度也显著增加,很大一部分 uPAR 可能已与 uPA 结合^[2],这对显像剂在肿瘤组织的摄取会有很大影响。选择与 uPA 结合位点不同的靶向分子结构,可能会提高肿瘤组织对显像剂的摄取,提高靶/本底比值。螯合剂的连接可能会改变多肽分子空间,而且螯合剂对标记化合物的稳定性有直接的影响,选用合适的螯合剂也会改善显像剂的性能。

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 孙芳芳负责搜集、整理文献,撰写论文;张欣负责审核论文。

参 考 文 献

- [1] Dass K, Ahmad A, Azmi AS, et al. Evolving role of uPA/uPAR system in human cancers[J]. *Cancer Treat Rev*, 2008, 34(2): 122–136. DOI: 10.1016/j.ctrv.2007.10.005.
- [2] Noh H, Hong S, Huang S. Role of urokinase receptor in tumor progression and development[J]. *Theranostics*, 2013, 3(7): 487–495. DOI: 10.7150/thno.4218.
- [3] Dohn LH, Pappot H, Iversen BR, et al. uPAR expression pattern in patients with urothelial carcinoma of the Bladder—Possible clinical implications[J/OL]. *PLoS One*, 2015, 10(8): e0135824[2016–01–05]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26292086>. DOI: 10.1371/journal.pone.0135824.
- [4] Smith HW, Marshall CJ. Regulation of cell signalling by uPAR[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2010, 11(1): 23–36. DOI: 10.1038/nrm2821.
- [5] Yang J, Duh EJ, Caldwell RB, et al. Antipermeability function of PEDF involves blockade of the MAP kinase/GSK/beta-catenin signaling pathway and uPAR expression[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2010, 51(6): 3273–3280. DOI: 10.1167/iovs.08–2878.
- [6] Messaritou G, East L, Roghi C, et al. Membrane type-1 matrix metalloproteinase activity is regulated by the endocytic collagen receptor Endo180[J]. *J Cell Sci*, 2009, 122(Pt 22): 4042–4048. DOI: 10.1242/jcs.044305.
- [7] Czekay RP, Loskutov DJ. Plasminogen activator inhibitors regulate cell adhesion through a uPAR-dependent mechanism[J]. *J Cell Physiol*, 2009, 220(3): 655–663. DOI: 10.1002/jcp.21806.
- [8] Baldini E, Sorrenti S, D’Armiento E, et al. The urokinase plasminogen activating system in thyroid cancer: clinical implications[J]. *G Chir*, 2012, 33(10): 305–310.
- [9] Gonias SL, Hu J. Urokinase receptor and resistance to targeted anticancer agents[J/OL]. *Front Pharmacol*, 2015, 6: 154[2016–01–05]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4515545/>. DOI: 10.3389/fphar.2015.00154.
- [10] Nalla AK, Gorantla B, Gondi CS, et al. Targeting MMP-9, uPAR, and cathepsin B inhibits invasion, migration and activates apoptosis in prostate cancer cells[J]. *Cancer Gene Ther*, 2010, 17(9): 599–613. DOI: 10.1038/cgt.2010.16.
- [11] Chetty C, Lakka SS, Bhoopathi P, et al. Urokinase plasminogen activator receptor and/or matrix metalloproteinase-9 inhibition induces apoptosis signaling through lipid rafts in glioblastoma xenograft cells[J]. *Mol Cancer Ther*, 2010, 9(9): 2605–2617. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-10-0245.
- [12] O’halloran TV, Ahn R, Hankins P, et al. The many spaces of uPAR: delivery of theranostic agents and nanobins to multiple tumor compartments through a single target[J]. *Theranostics*, 2013, 3(7): 496–506. DOI: 10.7150/thno.4953.
- [13] Su SC, Lin CW, Yang WE, et al. The urokinase-type plasminogen activator(uPA) system as a biomarker and therapeutic target in human malignancies[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2015, 19(12): 1–16. DOI: 10.1517/14728222.2016.1113260.
- [14] Lin L, Gårdsvoll H, Huai Q, et al. Structure-based engineering of species selectivity in the interaction between urokinase and its receptor: implication for preclinical cancer therapy[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(14): 10982–10992. DOI: 10.1074/jbc.M109.093492.
- [15] Appella E, Robinson EA, Ullrich SJ, et al. The receptor-binding sequence of urokinase. A biological function for the growth-factor module of proteases[J]. *J Biol Chem*, 1987, 262(10): 4437–4440.
- [16] Magdolen V, Bürgle M, De Prada NA, et al. Cyclo19, 31[D-Cys19]-uPA19-31 is a potent competitive antagonist of the interaction of urokinase-type plasminogen activator with its receptor (CD87)[J]. *Biol Chem*, 2001, 382(8): 1197–1205. DOI: 10.1515/BC.2001.150.
- [17] Armstrong AF, Lemon JA, Czorny SK, et al. Evaluation of single amino acid chelate derivatives and regioselective radiolabelling of a cyclic peptide for the urokinase plasminogen activator receptor[J]. *Nucl Med Biol*, 2009, 36(8): 907–917. DOI: 10.1016/j.nucmed-bio.2009.07.001.
- [18] Ploug M, Østergaard S, Gårdsvoll H, et al. Peptide-derived antagonists of the urokinase receptor. affinity maturation by combinatorial chemistry, identification of functional epitopes, and inhibitory effect on cancer cell intravasation[J]. *Biochemistry*, 2001, 40(40): 12157–12168.
- [19] Kriegbaum MC, Persson M, Haldager L, et al. Rational targeting of the urokinase receptor(uPAR): development of antagonists and non-invasive imaging probes[J]. *Curr Drug Targets*, 2011, 12(12):

- 1711–1728.
- [20] Liu D, Overbey D, Watkinson L, et al. Synthesis and characterization of an ^{111}In -labeled peptide for the in vivo localization of human cancers expressing the urokinase-type plasminogen activator receptor (uPAR)[J]. *Bioconjug Chem*, 2009, 20(5): 888–894. DOI: 10.1021/bc800433y.
- [21] 孙芳芳, 冯洪波, 杨春, 等. $^{99\text{Tc}}$ -AE105 的制备及荷胰腺癌裸鼠显像研究[J]. *中华核医学与分子影像杂志*, 2013, 33(6): 483–488. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2013.06.019.
- Sun FF, Feng HB, Yang C, et al. Synthesis of $^{99\text{Tc}}$ -HYNIC-AE105 and its application for imaging urokinase plasminogen activator receptors in human pancreatic cancer xenografts by gamma imaging[J]. *Chin J Nucl Med Mol Imaging*, 2013, 33(6): 483–488.
- [22] Duriseti S, Goetz DH, Hostetter DR, et al. Antagonistic anti-urokinase plasminogen activator receptor (uPAR) antibodies significantly inhibit uPAR-mediated cellular signaling and migration[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(35): 26878–26888. DOI: 10.1074/jbc.M109.077677.
- [23] Lebeau AM, Sevillano N, King ML, et al. Imaging the urokinase plasminogen activator receptor in preclinical breast cancer models of acquired drug resistance[J]. *Theranostics*, 2014, 4(3): 267–279. DOI: 10.7150/thno.7323.
- [24] Li ZB, Niu G, Wang H, et al. Imaging of urokinase-type plasminogen activator receptor expression using a ^{64}Cu -labeled linear peptide antagonist by microPET[J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(15): 4758–4766. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-4434.
- [25] Persson M, Madsen J, Østergaard S, et al. Quantitative PET of human urokinase-type plasminogen activator receptor with ^{64}Cu -DOTA-AE105: implications for visualizing cancer invasion[J]. *J Nucl Med*, 2012, 53(1): 138–145. DOI: 10.2967/jnumed.110.083386.
- [26] Boswell CA, Regino CA, Baidoo KE, et al. Synthesis of a cross-bridged cyclam derivative for peptide conjugation and ^{64}Cu radiolabeling[J]. *Bioconjug Chem*, 2008, 19(7): 1476–1484. DOI: 10.1021/bc800039e.
- [27] Persson M, Hosseini M, Madsen J, et al. Improved PET imaging of uPAR expression using new ^{64}Cu -labeled cross-bridged peptide ligands: comparative in vitro and in vivo studies[J]. *Theranostics*, 2013, 3(9): 618–632. DOI: 10.7150/thno.6810.
- [28] Persson M, Madsen J, Østergaard S, et al. ^{68}Ga -labeling and in vivo evaluation of a uPAR binding DOTA- and NODAGA-conjugated peptide for PET imaging of invasive cancers[J]. *Nucl Med Biol*, 2012, 39(4): 560–569. DOI: 10.1016/j.nuclmedbio.2011.10.011.
- [29] Persson M, Liu H, Madsen J, et al. First ^{18}F -labeled ligand for PET imaging of uPAR: in vivo studies in human prostate cancer xenografts[J]. *Nucl Med Biol*, 2013, 40(5): 618–624. DOI: 10.1016/j.nuclmedbio.2013.03.001.
- [30] Persson M, El Ali HH, Binderup T, et al. Dosimetry of ^{64}Cu -DOTA-AE105, a PET tracer for uPAR imaging[J]. *Nucl Med Biol*, 2014, 41(3): 290–295. DOI: 10.1016/j.nuclmedbio.2013.12.007.
- [31] Persson M, Skovgaard D, Brandt-Larsen M, et al. First-in-human uPAR PET: Imaging of Cancer Aggressiveness[J]. *Theranostics*, 2015, 5(12): 1303–1316. DOI: 10.7150/thno.12956.
- [32] Dass K, Ahmad A, Azmi AS, et al. Evolving role of uPA/uPAR system in human cancers[J]. *Cancer Treat Rev*, 2008, 34(2): 122–136.

(收稿日期: 2016-01-11)