

靶向血管紧张素转化酶 2 新型 PET 探针的制备及其肿瘤特异性分子显像

张倩^{1,2} 丁缙² 任亚楠¹ 文丽¹ 秦雪¹ 朱华^{1,2}

¹贵州大学医学院, 贵阳 550025; ²北京大学肿瘤医院暨北京市肿瘤防治研究所核医学科、国家药监局放射性药物研究与评价重点实验室、恶性肿瘤发病机制及转化研究教育部重点实验室、北京市核医学质量控制和改进中心 100142

通信作者: 朱华, Email: zhuhuananjing@163.com

【摘要】 目的 制备靶向血管紧张素转化酶 2 (ACE2) 的新型分子影像探针 ⁶⁸Ga-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸 (DOTA)-DX600, 并评价其在宫颈癌模型的 microPET/CT 显像效果。**方法** 对 DOTA-DX600 在 95 °C 下进行 ⁶⁸Ga 放射性标记, 并对该标记化合物进行质量控制、体外稳定性分析及脂水分分配系数 (log *P*) 测定。利用稳转的 ACE2 高表达宫颈癌细胞 (Hela) 构建荷瘤裸鼠模型, 利用 microPET/CT 显像探究 ⁶⁸Ga-DOTA-DX600 在正常昆明 (KM) 鼠和荷瘤裸鼠体内的分布及摄取情况, 通过勾画感兴趣区 (ROI) 的半定量分析, 获得主要脏器及肿瘤的最大标准摄取值 (SUV_{max})。**结果** ⁶⁸Ga-DOTA-DX600 的制备时间约为 20 min, 探针比活度为 (18.74±3.72)×10⁶ GBq/mol, 标记率为 82.3%, 纯化后的放化纯约为 99%。室温放置 2 h 后, 探针在生理盐水及质量分数 5% 人血清白蛋白 (HSA) 溶液中放化纯>96%; 脂水分分配系数 (log *P*) 为 -2.44±0.04 (*n*=3), 表明产品具有较好的亲水性。⁶⁸Ga-DOTA-DX600 在正常 KM 鼠血液中代谢较快, 主要分布于肾脏; 在荷瘤裸鼠体内具有较好的肿瘤靶向性, 注射后 30 和 60 min 时肿瘤部位 SUV_{max} 分别为 0.25±0.01 和 0.21±0.01, 且肿瘤摄取可被 DX600 抑制。**结论** ⁶⁸Ga-DOTA-DX600 标记方法简单、快速, 其对 ACE2 高表达肿瘤具有良好的靶向性, 具有应用于以 ACE2 为靶点研究的潜在价值。

【关键词】 血管紧张素转换酶 2; 同位素标记; 镓放射性同位素; 正电子发射断层显像术; 宫颈肿瘤; 小鼠

基金项目: 北京市百千万人才工程 (2019A38)

DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20210618-00199

Preparation and tumor-specific molecular imaging of a novel PET probe targeting angiotensin converting enzyme 2

Zhang Qian^{1,2}, Ding Jin², Ren Yanan¹, Wen Li¹, Qin Xue¹, Zhu Hua^{1,2}

¹Medical School of Guizhou University, Guiyang 550025, China; ²Key Laboratory of Carcinogenesis and Translational Research (Ministry of Education/Beijing), Key Laboratory for Research and Evaluation of Radiopharmaceuticals (National Medical Products Administration), Department of Nuclear Medicine, Peking University Cancer Hospital & Institute, Beijing Quality Control and Improvement Center for Nuclear Medicine, Beijing 100142, China

Corresponding author: Zhu Hua, Email: zhuhuananjing@163.com

【Abstract】 Objective To prepare a novel molecular imaging probe targeting angiotensin converting enzyme (ACE) 2 by using ⁶⁸Ga labeled with 1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetraacetic acid (DOTA)-DX600, then the probe was evaluated in cervical cancer model by microPET/CT imaging. **Methods** ⁶⁸Ga labeled DOTA-DX600 at 95 °C, and the quality control, stability *in vitro* and lipid-water partition coefficient (log *P*) were tested. Tumor-bearing mouse models were constructed using stably transfected ACE2 highly expressed cervical cancer cells (Hela). The distribution and uptake of ⁶⁸Ga-DOTA-DX600 in normal KM mice and tumor-bearing mice were determined by microPET/CT imaging, and the maximum standardized uptake value (SUV_{max}) of the main organs and tumors were obtained by semi-quantitative analysis of the region of interest (ROI). **Results** The preparation time of ⁶⁸Ga-DOTA-DX600 was about 20 min, the specific activity of the probe was (18.74±3.72)×10⁶ GBq/mol, the labeling rate was 82.3%, and the radiochemical purity was about 99% after purification. After placement in saline or 5% human serum albumin (HSA) solution at room temperature for 2 h, the radiochemical purity of the probe was more than 96%. The lipid-water partition coefficient (log *P*) was -2.44 ± 0.04 (*n*=3), which indicated as a good hydrophilicity. In nor-

mal KM mice, ^{68}Ga -DOTA-DX600 metabolized faster in the blood and mainly distributed in the kidneys. The probe showed good tumor targeting ability in the tumor-bearing mice and the SUV_{max} of the tumor were 0.25 ± 0.01 and 0.21 ± 0.01 at 30 min and 60 min after injection, respectively, and the tumor uptake was inhibited by DX600. **Conclusion** ^{68}Ga -DOTA-DX600 can be obtained conveniently and fast and shows a good targeting ability to tumors, which provide potential application value for researches on targeting ACE2.

【Key words】 Angiotensin-converting enzyme 2; Isotope labeling; Gallium radioisotopes; Positron-emission tomography; Uterine cervical neoplasms; Mice

Fund program: Beijing Millions of Talents Training Project (2019A38)

DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20210618-00199

血管紧张素转化酶(angiotensin converting enzyme, ACE)2 是 ACE 的同源物,二者均属于肾素-血管紧张素-醛固酮系统(renin-angiotensin-aldosterone system, RAAS)的重要组成部分^[1-2]。研究表明,ACE2 的上调表达可抑制多种肿瘤的生长^[3-4]。ACE2 的高表达给透明细胞肾细胞癌(clear cell renal cell carcinoma, ccRCC)患者带来更好的预后,且 ACE2 在体外和 ccRCC 临床前动物模型中均具有抑制肿瘤增殖的作用^[5]。因此,ACE2 有望成为肿瘤诊疗的一个新靶点。此前,多种 ACE2 的特异性肽类抑制剂被报道,而 DX600 具有最强的抑制作用^[6]。基于前期工作,本研究以 ACE2 特异性肽类抑制剂为前体,借助与其偶联的双功能螯合剂 1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸(1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetraacetic acid, DOTA)进行 ^{68}Ga 放射性标记,获得分子探针 ^{68}Ga -DOTA-DX600,并对其生物学评价和 microPET/CT 显像,初步探究其在肿瘤靶向诊疗中的应用前景。

材料与方法

1.试剂、仪器及动物。 ^{68}Ga 由 $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ 发生器(德国 Isotope Technologies Garching 公司)淋洗而得;DOTA-DX600 由上海强耀生物科技公司定制合成;乙腈(色谱级)、三氟乙酸(trifluoroacetic acid, TFA)均购自美国 Sigma 公司;异氰酸购自江苏恒丰强生物科技有限公司。Sep-Pak Light C18 纯化柱购自美国 Waters 公司;放射性活度计购自美国 Capintec 公司;自动 γ 计数器(2740 Wizard 2 型)购自芬兰 Wallac 公司;高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)仪(1260 型)购自美国 Agilent 公司;microPET/CT 购自平生医疗科技(昆山)有限公司。DMEM 培养基购自美国 Gibco 公司;胎牛血清购自以色列 Biological Industries 公司;宫颈癌 Hela-ACE2 细胞株由广州源井生物科技有限公司转染并提供。BALB/C 裸鼠(9 只,雌性,4 周龄,体质量 18~20 g)以及正常昆明(KM)小鼠(3 只,雌性,4 周龄,体质量 18~20 g)均购自北京维通利华实验动物技

术有限公司[许可证号:SYXK(京)2016-0011],于无特殊病原体级环境中饲养。

2. ^{68}Ga -DOTA-DX600 的放射性标记。注射器抽取 4 ml HCl (0.01 mol/L) 将 ^{68}Ga 液淋洗至装有 195 μl NaOAc (1 mol/L) 溶液的玻璃瓶中,向反应瓶中加入 10 μl 前体 DOTA-DX600 (5 mg/ml),在加热模块上反应(95 $^{\circ}\text{C}$, 15 min),反应期间准备纯化用 Sep-Pak Light C18 小柱,用 5 ml 无水乙醇和 10 ml 纯水充分活化小柱,反应结束后用 3 ml 纯水稀释产物并加到 C18 小柱上,而后用 5 ml 纯水冲洗出杂质,最后使用 0.6 ml 体积分数 80%乙醇收集产品,并加入适量生理盐水稀释备用。

3. ^{68}Ga -DOTA-DX600 的质量控制及分配系数测定。使用 HPLC 对标记产物进行标记率及放化纯的检测,分别取纯化前和纯化后产物各 10 μl 于 HPLC 进样瓶中,分析过程的流动相为含体积分数 0.1%TFA 的乙腈溶液以及含体积分数 0.1%TFA 的水溶液,流速为 1 ml/min。在 3 个 1.5 ml 的离心管中加入 400 μl 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液(phosphate buffered solution, PBS)和 500 μl 正辛醇(PBS 与正辛醇需提前 24 h 混合),再向 3 个离心管中分别加入 100 μl 纯化后的产品(3.7 MBq),室温离心(3 000 r/min,离心半径 6 cm)5 min 后,在各个离心管的上层和下层分别取 5 个样本(各 50 μl)进行计数,取平均值,并计算 ^{68}Ga -DOTA-DX600 在正辛醇和 PBS 中的放射性分布比值及脂水分配系数(log P)。

4. ^{68}Ga -DOTA-DX600 体外稳定性检测。分别在 1 ml 质量分数 5%人血清白蛋白(human serum albumin, HSA)以及生理盐水中加入 10 μl 纯化后的产物,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 温育 0.5、1 和 2 h,取 20 μl 样品于 HPLC 进样瓶中,进样活度为 0.074 MBq,流动相与质量控制一致,分析目标产物放射性活度峰面积与总放射性活度峰面积的比值,分析其体外稳定性。

5. MicroPET/CT 显像。正常 BALB/C 裸鼠于右上肢腋下接种稳转的宫颈癌 Hela-ACE2 细胞(10^6 个/0.1 ml),待肿瘤长至 0.7~1.0 cm 时进行实验。正常

KM 鼠以及荷瘤裸鼠均在尾静脉注射约 7.4 MBq/200 μ l 放射性药物。KM 鼠($n=3$)于注射后 30、60 和 120 min 进行显像,荷瘤裸鼠($n=3$)于注射后 30 和 60 min 进行显像,观察 ^{68}Ga -DOTA-DX600 在 2 种小鼠体内的放射性分布情况。封闭组($n=3$)除注射放射性药物外,还注射 100 μg DX600;脱氧葡萄糖(fluorodeoxyglucose, FDG)组($n=3$)作为阴性对照提前 6 h 禁食,尾静脉注射 FDG 7.4 MBq/200 μ l;封闭组与 FDG 组采集时间均为 60 min。显像前及显像过程中均使用体积分数 2% 异氟烷对小鼠进行麻醉。PET 单次扫描时间 900 s,图像使用 Avator 软件进行显示,对主要脏器进行感兴趣区(region of interest, ROI)勾画,记录勾画区域的最大标准摄取值(maximum standardized uptake value, SUV_{max}),并计算肿瘤组织与正常组织 SUV_{max} 比值(即靶/非靶比值)。

6. 统计学处理。使用 GraphPad Prism 5 以及 Origin 2019b 软件对数据进行处理,符合正态分布的定量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示。2 组间比较使用两独立样本 t 检验;多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用最小显著差异 t 检验。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

1. ^{68}Ga -DOTA-DX600 的标记及质量控制。 ^{68}Ga -DOTA-DX600 的制备时间约为 20 min,其产率为 $(82.57\pm 0.09)\%$,比活度为 $(18.74\pm 3.72)\times 10^6$ GBq/mol,标记率为 82.3%,经纯化后的放化纯约为 99%。

2. 脂水分布系数($\log P$)。 ^{68}Ga -DOTA-DX600 在有机相和 PBS 中分配比为 $0.003\ 2\pm 0.000\ 38$ ($n=3$),脂水分配系数($\log P$)为 -2.44 ± 0.04 ($n=3$),结果显示 ^{68}Ga -DOTA-DX600 的亲水性较好。

3. ^{68}Ga -DOTA-DX600 的体外稳定性。 ^{68}Ga -DOTA-DX600 在生理盐水和质量分数 5% HSA 溶液中室温温育 2 h 后放化纯均大于 96%,表明其具有较好的体外稳定性。

4. ^{68}Ga -DOTA-DX600 在正常小鼠体内的生物分布。正常 KM 鼠的 microPET/CT 显像(图 1)示探针主要浓聚于肾脏和膀胱,表明该探针主要代谢途径为肾脏。生物分布结果(表 1)显示放射性活度在脑部和肌肉的摄取较低。

5. ^{68}Ga -DOTA-DX600 在荷瘤裸鼠体内的摄取。MicroPET/CT 显像(图 2)示 30 和 60 min 时放射性药物在肿瘤部位摄取较明显, SUV_{max} 分别为 0.25 ± 0.01 和 0.21 ± 0.02 ;此外,肾脏和膀胱有较高摄取,

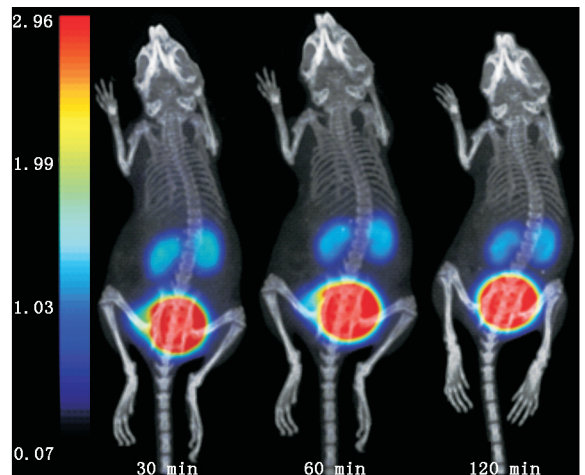


图 1 正常昆明(KM)小鼠注射 ^{68}Ga -1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸(DOTA)-DX600 后不同时间点 microPET/CT 显像图。结果示放射性主要浓聚在肾脏、膀胱

表 1 ^{68}Ga -DOTA-DX600 在正常昆明(KM)小鼠体内注射后不同时间的生物分布(SUV_{max} ; $\bar{x}\pm s$)

组织器官	30 min	60 min	120 min
脑	0.08 ± 0.02	0.06 ± 0.01	0.04 ± 0.02
心脏	0.33 ± 0.03	0.22 ± 0.02	0.12 ± 0.01
肺	0.23 ± 0.03	0.17 ± 0.01	0.14 ± 0.01
肝脏	0.39 ± 0.05	0.23 ± 0.03	0.20 ± 0.02
肾脏	1.47 ± 0.04	1.30 ± 0.03	1.26 ± 0.02
骨	0.24 ± 0.01	0.19 ± 0.01	0.15 ± 0.01
肌肉	0.13 ± 0.02	0.10 ± 0.01	0.09 ± 0.01

注:各时间点鼠数均为 3 只;DOTA 为 1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸, SUV_{max} 为最大标准摄取值

表明其代谢方式与正常小鼠一致。生物分布结果(表 2)显示,除肾脏外,放射性摄取最高的是肿瘤,其次是肝脏和心脏。抑制和阴性对照实验(图 3)显示,肿瘤摄取可被 DX600 抑制,且非封闭组的靶/非靶比值均明显大于封闭组和 FDG 组(表 3; F 值: $18.064\sim 943.732$, t 值: $3.739\sim 36.730$, 均 $P<0.05$)。

讨 论

ACE2 基因全长 39.98 kb,位于 X 染色体的 Xp22 位置上,其编码的蛋白质为一种约 100 kDa 的 I 型细胞表面糖蛋白^[7]。ACE2 在多种疾病中有着潜在的作用机制,如严重急性呼吸综合征冠状病毒 2(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2)即通过与宿主呼吸道细胞 ACE2 结合,从而感染人体^[8]。与 SARS-CoV 类似, SARS-CoV-2 以更高的亲和力通过病毒表面 S 蛋白上的受体结合域与肺泡细胞上的 ACE2 结合,而后向宿主传递遗传物质并在宿主体内复制,导致其产生各类

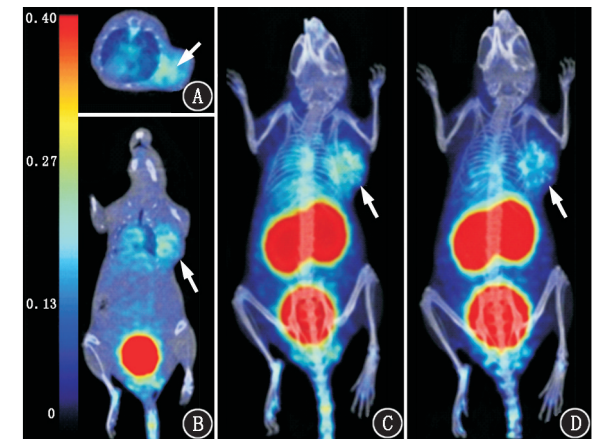


图2 宫颈癌 Hela-血管紧张素转化酶 2(ACE2) 荷瘤裸鼠⁶⁸Ga-1, 4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸 (DOTA)-DX600 microPET/CT 显像图(箭头示肿瘤)。A.注射后 30 min 横断面图;B.注射后 30 min 冠状面图;C.注射后 30 min 三维图;D.注射后 60 min 三维图

表2 ⁶⁸Ga-DOTA-DX600 在宫颈癌 Hela-ACE2 荷瘤裸鼠体内注射后不同时间的生物分布(SUV_{max}; $\bar{x} \pm s$)

组织器官	30 min	60 min
脑	0.04±0.01	0.03±0.01
心脏	0.19±0.01	0.17±0.01
肺	0.16±0.02	0.15±0.01
肝脏	0.23±0.02	0.20±0.01
肾脏	1.04±0.13	1.64±0.08
骨	0.10±0.01	0.07±0.01
肌肉	0.07±0.01	0.05±0.01
肿瘤	0.25±0.01	0.21±0.02

注:各时间点鼠数均为 3 只;ACE2 为血管紧张素转化酶 2, DOTA 为 1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸, SUV_{max} 为最大标准摄取值

病变^[9-11]。因此,对于 ACE2 的深入研究,将成为评估 SARS-CoV-2/ACE2 结合体对机体生理学影响的关键,也有助于找到更好的治疗和诊断新型冠状病毒的方法及工具^[12-13]。

除此之外,ACE2 在调节心血管功能和肾脏功能方面发挥重要作用^[14];还在急性淋巴细胞白血病、脑血管疾病、肾脏及胃肠道疾病中扮演着重要的角色^[15]。因此,ACE2 研究有着重要的临床价值,而目前以 ACE2 为靶点的分子探针的开发很少,如⁶⁸Ga-1,4,7-三氮杂环壬烷-1,4,7-三乙酸(1,4,7-triazacyclononane-1,4,7-triacetic acid, NOTA)-PEP、⁶⁸Ga/⁶⁴Cu-HZ20^[16-17]。随着 PET 的应用越来越广泛,以分子影像为指导的个体化治疗逐渐成为肿瘤个体化诊疗的重要方法^[18]。在众多的正电子核素中,⁶⁸Ga 的应用仅次于¹⁸F,其良好的半衰期(68 min)也能更好地降低相关放射性标记物在体内的辐射作用,因此本

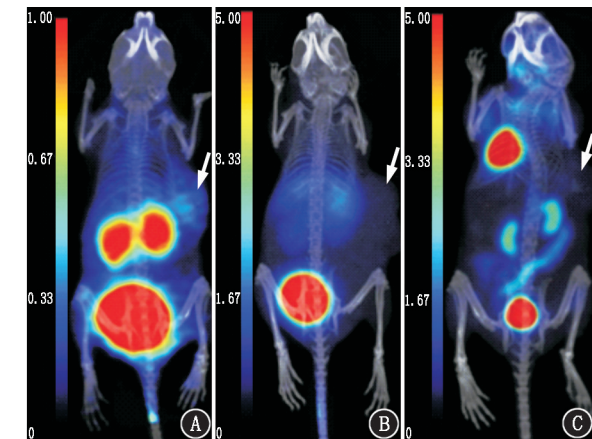


图3 宫颈癌 Hela-ACE2 荷瘤裸鼠 microPET/CT 显像图(箭头示肿瘤)。A.注射⁶⁸Ga-DOTA-DX600; B.注射⁶⁸Ga-DOTA-DX600+DX600; C.注射脱氧葡萄糖(FDG)

表3 注射不同显像剂 1 h 后宫颈癌 Hela-ACE2 荷瘤裸鼠主要组织器官靶/非靶比值的比较($\bar{x} \pm s$)

组织器官	⁶⁸ Ga-DOTA-DX600	⁶⁸ Ga-DOTA-DX600+DX600	FDG
脑	5.58±0.41	3.65±0.18	0.70±0.01
心脏	1.74±0.10	0.67±0.06	0.13±0.01
肺	2.32±0.09	0.98±0.05	1.42±0.06
肝	1.41±0.06	0.16±0.01	0.56±0.02
肌肉	5.85±0.68	1.79±0.08	1.28±0.06
骨骼	1.68±0.08	1.40±0.10	1.24±0.10

注:各时间点鼠数均为 3 只;靶/非靶比值指肿瘤与正常组织器官 SUV_{max} 比值;FDG 为脱氧葡萄糖

研究以⁶⁸Ga 对 ACE2 的小分子肽类抑制剂 DOTA-DX600 进行放射性标记并进行了临床前转化研究。本研究中,⁶⁸Ga-DOTA-DX600 在正常 KM 鼠体内的 microPET/CT 显像表明,放射性活度主要浓聚于 ACE2 表达较高的器官(肾脏)以及排泄器官(膀胱),反映该小分子探针在体内的代谢主要经由肾脏,符合小分子的分布以及代谢特征。⁶⁸Ga-DOTA-DX600 在荷瘤鼠体内的摄取情况显示,探针能够很好地指示肿瘤位置,在脑、肌肉等正常组织摄取较低,且在肿瘤的摄取可被 DX600 抑制,在主要器官的靶/非靶比值均高于抑制组和 FDG 组,表明该探针具有较好的靶向性和安全性。

综上,本研究制备了一种靶向 ACE2 的分子影像探针⁶⁸Ga-DOTA-DX600,其标记方法简单、快速,具有较好的体外稳定性,且在模型鼠肿瘤部位摄取明显;除此之外,探针在正常 KM 小鼠和荷瘤裸鼠的脑部均未发现高摄取,表明该药物无法通过血-脑屏障,探针具有较好的安全性。本研究初步探究了⁶⁸Ga-DOTA-DX600 的肿瘤特异性分子显像能力,有望为

从分子影像层面探究以 ACE2 为靶点的肿瘤临床研究带来新的启发和方向。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Ehlers MR, Riordan JF. Angiotensin-converting enzyme: zinc- and inhibitor-binding stoichiometries of the somatic and testis isozymes [J]. *Biochemistry*, 1991, 30(29): 7118-7126. DOI: 10.1021/bi00243a012.
- [2] Hubert C, Houot AM, Corvol P, et al. Structure of the angiotensin I-converting enzyme gene. Two alternate promoters correspond to evolutionary steps of a duplicated gene [J]. *J Biol Chem*, 1991, 266(23): 15377-15383.
- [3] Yu C, Tang W, Wang Y, et al. Downregulation of ACE2/Ang-(1-7)/Mas axis promotes breast cancer metastasis by enhancing store-operated calcium entry [J]. *Cancer Lett*, 2016, 376(2): 268-277. DOI: 10.1016/j.canlet.2016.04.006.
- [4] Zong H, Yin B, Zhou H, et al. Loss of angiotensin-converting enzyme 2 promotes growth of gallbladder cancer [J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(7): 5171-5177. DOI: 10.1007/s13277-015-3171-2.
- [5] Khanna P, Soh H J, Chen C H, et al. ACE2 abrogates tumor resistance to VEGFR inhibitors suggesting angiotensin-(1-7) as a therapy for clear cell renal cell carcinoma [J]. *Sci Transl Med*, 2021, 13(577): eabc0170. DOI: 10.1126/scitranslmed.abc0170.
- [6] Huang L, Sexton DJ, Skogerson K, et al. Novel peptide inhibitors of angiotensin-converting enzyme 2 [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(18): 15532-15540. DOI: 10.1074/jbc.M212934200.
- [7] Devaux CA, Rolain JM, Raoult D. ACE2 receptor polymorphism: susceptibility to SARS-CoV-2, hypertension, multi-organ failure, and COVID-19 disease outcome [J]. *J Microbiol Immunol Infect*, 2020, 53(3): 425-435. DOI: 10.1016/j.jmii.2020.04.015.
- [8] Chen Y, Guo Y, Pan Y, et al. Structure analysis of the receptor binding of 2019-nCoV [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, in press. DOI: 10.1016/j.bbrc.2020.02.071.
- [9] Wrapp D, Wang N, Corbett KS, et al. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation [J]. *Science*, 2020, 367(6483): 1260-1263. DOI: 10.1126/science.abb2507.
- [10] Li W, Moore MJ, Vasilieva N, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus [J]. *Nature*, 2003, 426(6965): 450-454. DOI: 10.1038/nature02145.
- [11] Zhao Y, Zhao Z, Wang Y, et al. Single-cell RNA expression profiling of ACE2, the receptor of SARS-CoV-2 [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2020, 202(5): 756-759. DOI: 10.1164/rccm.202001-0179LE.
- [12] Li Y, Zhou W, Yang L, et al. Physiological and pathological regulation of ACE2, the SARS-CoV-2 receptor [J]. *Pharmacol Res*, 2020, 157: 104833. DOI: 10.1016/j.phrs.2020.104833.
- [13] Kuba K, Imai Y, Ohto-Nakanishi T, et al. Trilogy of ACE2: a peptidase in the renin-angiotensin system, a SARS receptor, and a partner for amino acid transporters [J]. *Pharmacol Ther*, 2010, 128(1): 119-128. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2010.06.003.
- [14] Burrell LM, Johnston CI, Tikellis C, et al. ACE2, a new regulator of the renin-angiotensin system [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2004, 15(4): 166-169. DOI: 10.1016/j.tem.2004.03.001.
- [15] Hashimoto T, Perlot T, Rehman A, et al. ACE2 links amino acid malnutrition to microbial ecology and intestinal inflammation [J]. *Nature*, 2012, 487(7408): 477-481. DOI: 10.1038/nature11228.
- [16] Parker M, Blecha J, Rosenberg O, et al. Cyclic gallium-68 labeled peptides for specific detection of human angiotensin-converting enzyme 2 [J]. *J Nucl Med*, 2021, in press. DOI: 10.2967/jnumed.120.261768.
- [17] Zhu H, Zhang H, Zhou N, et al. Molecular PET/CT profiling of ACE2 expression *in vivo*: implications for infection and outcome from SARS-CoV-2 [J]. *Adv Sci (Weinh)*, 2021, 8(16): e2100965. DOI: 10.1002/adv.202100965.
- [18] 朱华, 张锦明, 刘菲, 等. ^{111}In -DTPA-Avastin 的制备与生物学评价 [J]. *中华核医学与分子影像杂志*, 2017, 37(1): 5-9. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2017.01.003.

Zhu H, Zhang JM, Liu F, et al. Preparation and bioevaluation of ^{111}In -DTPA-Avastin for non-invasive tumor targeted imaging [J]. *Chin J Nucl Med Mol Imaging*, 2017, 37(1): 5-9. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2017.01.003.

(收稿日期: 2021-06-18)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

关于投稿提供伦理委员会批准文件及受试对象知情同意书的通告

根据中华医学会杂志社的相关规定, 当论文的主体是以人为研究对象的试验时, 作者应该说明其遵循的程序是否符合负责人体试验的委员会(单位性的、地区性的或国家性的)所制定的伦理学标准, 并提供该委员会的批准文件(注明批准文件号)及受试对象的知情同意书。

本刊编辑部