

基于 IRDye800CW 靶向荧光探针的胶质母细胞瘤术中导航研究

徐丹丹¹ 张锐² 宋娟¹ 邱露¹ 杨旭生³ 陈宏伟⁴ 蒋昊翔¹

¹江南大学附属儿童医院(无锡市儿童医院)医学影像科,无锡 214023;²南京医科大学附属无锡人民医院神经外科,无锡 214023;³南京医科大学附属无锡人民医院临床研究中心,无锡 214023;⁴南京医科大学附属无锡人民医院医学影像科,无锡 214023

通信作者:陈宏伟, Email: chw6312@163.com; 蒋昊翔, Email: wyshzl@126.com

【摘要】 目的 制备靶向表皮生长因子受体(EGFR)的荧光探针西妥昔单抗(Cetuximab)-IRDye800CW,探讨其在胶质母细胞瘤(GBM)手术导航中的应用价值。方法 测定 Cetuximab-IRDye800CW 荧光性能;通过免疫印迹法(Western blot)验证 Cetuximab-IRDye800CW 与 GBM 细胞结合的特异性;通过酶联免疫吸附测定(ELISA)竞争结合法验证探针是否通过结合 EGFR 来实现肿瘤靶向性。将 GBM 裸鼠皮下模型按完全随机法分为实验组和对照组(各 3 只),分别注射荧光材料 Cetuximab-IRDye800CW 和 IRDye800CW,并于注射后 5 min、24 h、48 h、72 h 成像,比较 2 组肿瘤平均荧光强度(MFI)和肿瘤与周围背景的信噪比(TBR)差异。构建 GBM 裸鼠原位模型(6 只),行 MRI 及术中荧光导航,并与病理学分布对比。采用两独立样本 *t* 检验处理数据。结果 Cetuximab-IRDye800CW 的最大发射波长为 820 nm,可被近红外荧光成像设备接收。Western blot 证实 Cetuximab-IRDye800CW 仅与 GBM 细胞相结合。ELISA 竞争结合法证实 Cetuximab-IRDye800CW 通过与 EGFR 结合实现肿瘤靶向性。注射荧光材料后 5 min、24 h、48 h、72 h,实验组肿瘤 MFI 分别为 109.00±3.81、73.36±9.93、55.24±8.82、37.71±6.11,对照组肿瘤 MFI 分别为 91.32±4.17、42.91±5.39、25.08±6.05、8.33±1.00,实验组肿瘤 MFI 较高(*t* 值:4.36~9.40,*P* 值:0.011~0.049);注射后 24 h 及 48 h,实验组肿瘤 TBR 高于对照组(24 h,2.40±0.28 与 1.57±0.07,*t*=4.94,*P*=0.039;48 h,2.07±0.12 与 1.22±0.08,*t*=9.85,*P*=0.010)。MRI 证实 GBM 原位模型构建成功,在荧光设备导航下肿瘤可视化,HE 染色肿瘤病理学分布与荧光成像相符。结论 Cetuximab-IRDye800CW 具备荧光显像能力,在 GBM 术中导航中可识别肿瘤边界,具有潜在的临床应用价值。

【关键词】 胶质母细胞瘤;光学成像;荧光;受体;表皮生长因子;西妥昔单抗;吡啶类;小鼠;裸

基金项目: 无锡市卫生健康委员会科研项目(J202107);无锡市“太湖人才计划”高端人才(2020THRC-GD-CHW);南京医科大学科技发展基金(NMUB2020289)

DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20230518-00139

Intraoperative navigation of glioblastoma based on IRDye800CW-targeted fluorescent probe

Xu Dandan¹, Zhang Rui², Song Juan¹, Qiu Lu¹, Yang Xusheng³, Chen Hongwei⁴, Jiang Haoxiang¹

¹Department of Radiology, Affiliated Children's Hospital of Jiangnan University (Wuxi Children's Hospital), Wuxi 214023, China; ²Department of Neurosurgery, Wuxi People's Hospital of Nanjing Medical University, Wuxi 214023, China; ³Clinical Research Center, Wuxi People's Hospital of Nanjing Medical University, Wuxi 214023, China; ⁴Department of Radiology, Wuxi People's Hospital of Nanjing Medical University, Wuxi 214023, China

Corresponding authors: Chen Hongwei, Email: chu6312@163.com; Jiang Haoxiang, Email: wyshzl@126.com

【Abstract】 Objective To prepare a fluorescent probe Cetuximab-IRDye800CW targeting epidermal growth factor receptor (EGFR) and investigate its application value in surgical navigation of glioblastoma (GBM). **Methods** The fluorescence properties of Cetuximab-IRDye800CW were determined by fluorescence spectrophotometer. The specificity of Cetuximab-IRDye800CW bound to GBM cells was verified by Western blot. The competitive binding method of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to prove whether the probe could achieve tumor targeting by binding to EGFR. Subcutaneous models of 6 nude mice of GBM were divided into experimental group (*n*=3; injected with Cetuximab-IRDye800CW) and control group (*n*=3; injected with IRDye800CW), and images were obtained at 5 min, 24 h, 48 h and 72 h after injection. Differences of mean fluorescence intensity (MFI) and tumor to background ratio (TBR) be-

tween experimental group and control group were compared. In situ models of GBM nude mice were established ($n=6$), and MRI and intraoperative navigation were conducted, which were compared with pathological distribution. Independent-sample t test was used to analyze the data. **Results** The maximum emission wavelength of Cetuximab-IRDye800CW was 820 nm, which could be received by near infrared fluorescence imaging equipment. Western blot showed that Cetuximab-IRDye800CW was only bound to GBM cells. The competitive binding of ELISA showed that Cetuximab-IRDye800CW could achieve tumor targeting by binding with EGFR. At 5 min, 24 h, 48 h and 72 h after injection of fluorescent materials, the MFI values of experimental group were 109.00 ± 3.81 , 73.36 ± 9.93 , 55.24 ± 8.82 , 37.71 ± 6.11 , which were higher than those of control group (91.32 ± 4.17 , 42.91 ± 5.39 , 25.08 ± 6.05 , 8.33 ± 1.00 ; t values: 4.36–9.40, P values: 0.011–0.049). The TBR of experimental group was higher than that of control group at 24 h and 48 h after injection (24 h: 2.40 ± 0.28 vs 1.57 ± 0.07 , $t=4.94$, $P=0.039$; 48 h: 2.07 ± 0.12 vs 1.22 ± 0.08 , $t=9.85$, $P=0.010$). GBM in situ model was successfully constructed and verified by MRI, and the tumor was visualized under the fluorescence device navigation. Pathological distribution of the tumor with HE staining was consistent with fluorescence imaging. **Conclusion** Cetuximab-IRDye800CW has fluorescence imaging capability and can identify tumor boundaries in intraoperative navigation of GBM, which has potential clinical application value.

【Key words】 Glioblastoma; Optical imaging; Fluorescence; Receptor, epidermal growth factor; Cetuximab; Indoles; Mice, nude

Fund program: Wuxi Health Commission Research Project (J202107); Wuxi Taihu Talent Program for High-end Talents (2020THRC-GD-CHW); Nanjing Medical University Science and Technology Development Fund (NMUB2020289)

DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20230518-00139

胶质母细胞瘤 (glioblastoma, GBM) 恶性程度很高,呈弥漫性浸润生长,与正常脑组织边界不清,手术是 GBM 患者最主要的治疗方法。与部分切除相比,完全切除或近全切除患者复发率显著降低,生存期明显延长^[1]。因此,清晰显示肿瘤边界、提高 GBM 切除率对临床工作具有重要价值。研究证实,术中 MRI、超声、神经导航及荧光导航可提高 GBM 切除率,但切除效果欠佳^[2-4]。分子荧光探针是国内外的研究热点,借助于探针合成技术将特异性抗体与荧光物质偶联,可以提高显影特异性,精确识别肿瘤边界^[5-6]。本研究将靶向表皮生长因子受体 (epidermal growth factor receptor, EGFR) 的西妥昔单抗克隆抗体 (Cetuximab) 与近红外荧光物质 IRDye800CW 结合,制备同时具有靶向和荧光成像性能的新型探针 Cetuximab-IRDye800CW,研究该探针对 GBM 的荧光成像能力,明确其是否可以实时定位肿瘤部位、识别肿瘤边界,现报道如下。

材料与amp;方法

一、实验材料与设备

1. 主要仪器与试剂材料。(1) 主要仪器。凝胶成像分析系统购自美国 Protein Simple 生命科学仪器制造公司;CO₂ 恒温培养箱购自中国香港力康生物医疗科技控股有限公司;低温离心机购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司;KB-800 智能脱色摇床购自海门市其林贝尔仪器制造有限公司;正置显微镜、正置荧光显微镜、荧光倒置显微镜购自日本 Olympus 有限公司;PerkinElmer LS-55 荧光分光光度计购自

美国珀金埃尔默仪器有限公司;动物用气体麻醉机购自美国 Dwyer 仪器仪表制造公司;3.0 T MRI 仪 (Magnetom Trio Tim) 购自德国 Siemens 公司;近红外荧光成像设备 (产品型号 DPM-1) 由北京数字精准医疗科技有限公司提供,激光波长 (785 ± 5) nm。(2) 试剂材料。GBM U87 细胞、人星形胶质 (human astrocytes, HA) 细胞由无锡市人民医院神经外科提供;动物用异氟烷、戊巴比妥钠购自深圳瑞沃德生物科技有限公司;DMEM 细胞培养液、胎牛血清、青霉素-链霉素溶液、胰酶购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司;钆喷酸葡胺注射液购自上海旭东海普药业有限公司。

2. 实验动物。实验用无特殊病原体 (specific-pathogen free, SPF) 级 BALB/c 裸鼠 (雄性, 30 只, 4~6 周龄, 体质量 16~20 g) 购于常州卡文斯实验动物有限公司 [许可证号: SCXK (苏) 2021-0013]。于无锡市人民医院实验动物中心 SPF 屏障系统中饲养小鼠和进行动物实验。所有动物实验遵循无锡市人民医院实验动物使用和管理规定。

二、实验方法

1. Cetuximab-IRDye800CW 的制备。探针 Cetuximab、IRDye800CW 均由中国科学院自动化研究所提供。将 100 μ l Cetuximab 和 3 mg IRDye800CW 分别溶于 100 μ l 二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO) 后,将两者混合,摇床缓慢温育 (25 $^{\circ}$ C, 12 h),结束后离心 (离心半径 12.7 cm, 800 r/min, 离心 5 min) 分离共轭物并分装,冻干机过夜后保存于 -20 $^{\circ}$ C 备用。

2. Cetuximab-IRDye800CW 和 IRDye800CW 的荧光性能表征。使用荧光分光光度计进行光谱测试。使用硼酸盐溶液分别稀释 Cetuximab-IRDye800CW 和 IRDye800CW,混匀后分别进行测定,激发波长 808 nm,狭缝宽度 4 nm。

3. 免疫印迹法 (Western blot) 实验。将 U87 细胞和 HA 细胞分别以 1.5×10^6 个的细胞数接种于培养皿中,待细胞生长至 90% 融合度时收集细胞,于 1×10^7 细胞中加入 1 ml 蛋白裂解液 (radio immunoprecipitation assay lysis buffer, RIPA lysis buffer),混匀冰上裂解 20 min,离心 (4°C , 离心半径 12.7 cm, 12 000 r/min, 离心 15 min) 后吸取收集上清至新的离心管中。采用二辛可酸 (bicinchoninic acid, BCA) 法测定蛋白质浓度,蛋白液加 5 \times 上样缓冲液 (总体积为蛋白质体积的 25%) 煮沸变性,每孔上样 20 μl ,经丙烯酰胺占总体积 10% 的十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶 (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE) 电泳后转移至聚偏二氟乙烯膜,用含质量分数 5% 脱脂奶粉的洗涤缓冲液 (tris buffered saline with Tween, TBST) 封闭 1 h,一抗 4°C 温育过夜;次日 TBST 洗涤 3 次,每次 10 min,加入二抗室温摇床温育 1 h, TBST 洗 3 次,每次 10 min,化学发光法显影并用凝胶成像仪拍照。

4. 酶联免疫吸附测定 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 竞争结合法。将 100 μl 细胞裂解液添加到 ELISA 板上的每个孔中, 4°C 下温育过夜、PBS 洗涤 3 次后,加入 250 μl 封闭液 (含质量分数 3% 牛血清白蛋白的 PBS) 封闭 2 h。用 PBS 再次洗涤后,将探针加入孔中,与细胞裂解物在 37°C 下反应 2 h。用 PBS 洗涤 3 次后,向每个孔中加入辣根过氧化物酶 (horseradish peroxidase, HRP) 标记的二抗 (终质量浓度为 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$), 反应 1 h。用 PBS 洗涤后,每孔加入 100 μl 3,3',5,5'-四甲基联苯胺 (3,3',5,5'-tetramethylbenzidine, TMB), 以获得 450 nm 波长处抗体-抗原相互作用的吸光度值。

5. GBM 裸鼠皮下模型的构建及荧光成像。用含有体积分数 10% 胎牛血清和体积分数 1% 青霉素-链霉素的 DMEM 培养基培养 U87 细胞,将细胞置于 37°C 、体积分数 5% CO_2 、饱和湿度的培养箱中。待细胞铺满培养皿底部约 70% 且生长状态良好时,使用胰酶消化细胞,制成单细胞悬液,离心 (离心半径 12.7 cm, 800 r/min, 离心 5 min) 后吸弃上清,将细胞沉淀重悬为浓度 2×10^7 个/ml。采用异氟烷气体麻醉裸鼠并维持麻醉,向裸鼠左侧腋窝后外侧皮肤缓慢注

射细胞悬液 100 μl , 定期观察裸鼠成瘤状况。使用游标卡尺测量每只裸鼠瘤体数据,记录最长径与最短径,使用公式 ($V = \text{长} \times \text{宽} \times \text{宽} \times 0.5$) 计算瘤体体积,待瘤体生长至一定体积后 (最长径约 12 mm), 按完全随机法选择 6 只健康状态良好且瘤体体积接近的裸鼠,分为实验组和对照组 (每组各 3 只)。实验组注射 Cetuximab-IRDye800CW, 对照组注射 IRDye800CW, 均经尾静脉注射 100 μl , 质量浓度为 0.5 mg/ml。分别于注射后 5 min、24 h、48 h、72 h 通过荧光成像设备采集图像,采集参数:曝光 2 ms,增益 33,灰度起点 44,灰度终点 196。使用 Image J 软件对荧光图像进行分析,测得肿瘤 ROI 平均荧光强度 (mean fluorescence intensity, MFI), 计算肿瘤与周围背景的信噪比 (tumor to background ratio, TBR)。

6. GBM 裸鼠原位模型的构建及 MRI。按 GBM 皮下模型构建方法制备重悬浓度为 2×10^7 个/ml 的 GBM 细胞悬液,使用质量分数 1.5% 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉裸鼠,俯卧位固定后,剪皮,颅骨钻孔,吸有 5 μl GBM 细胞的微量注射器垂直入脑,进针深度 3.5 mm,注射前后退 0.5 mm,以 1 $\mu\text{l}/\text{min}$ 的速度缓慢注射细胞悬液,注射完毕后停留 5 min,待细胞悬液吸收后缓慢拔针,骨蜡封闭骨孔,消毒手术野,缝合头皮并用碘伏消毒。裸鼠返回笼中饲养,定期观察其生命体征变化。通过 MRI 观察颅内肿瘤生长情况,扫描序列为横断面 T_1 加权成像 (weighted imaging, WI)、 T_2 WI 及 T_1 WI 增强。其中, T_1 WI 序列: 重复时间 (repetition time, TR) 1 900 ms、回波时间 (echo time, TE) 57 ms、反转时间 (inversion time, TI) 816.3 ms, 翻转角度 120° 、层厚 1.5 mm、视野 50 mm \times 50 mm; T_2 WI 序列: TR 3 000 ms、TE 70 ms, 翻转角度 120° 、层厚 1.5 mm、视野 50 mm \times 50 mm。增强扫描时经尾静脉注射对比剂钆喷酸葡胺。

7. GBM 裸鼠原位模型的术中荧光导航。按完全随机法选择 6 只健康状态良好且瘤体体积接近的裸鼠,通过尾静脉注射 Cetuximab-IRDye800CW, 24 h 后取离体脑组织,利用近红外荧光成像设备对脑组织进行实时荧光显影,观察肿瘤显像效果。荧光图像采集参数:曝光 2 ms,增益 33,灰度起点 44,灰度终点 196。

8. 肿瘤组织 HE 染色。将 GBM 皮下模型肿瘤及 GBM 原位模型的离体脑组织固定于中性甲醛溶液中,不同浓度乙醇脱水后,石蜡包埋,组织切片 (5 μm)。按常规方法进行 HE 染色,观察肿瘤病理学分布及形态。

三、统计学处理

分别使用 IBM SPSS 18.0 和 Graphpad Prism 6.01 软件进行统计学分析和数据绘图。符合正态分布的定量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用两独立样本 *t* 检验分析 2 组数据间的差异。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. Cetuximab-IRDye800CW 和 IRDye800CW 的荧光性能表征。Cetuximab-IRDye800CW 和 IRDye800CW 具有荧光成像效能,最大发射波长均为 820 nm,处于近红外成像设备可接收范围(820~1 100 nm)。

2. Cetuximab-IRDye800CW 可通过结合 EGFR 特异性识别 GBM 细胞。Western blot 实验证实,GBM U87 细胞中 EGFR 的表达较 HA 细胞明显增多(图 1A);ELISA 竞争结合法证实,Cetuximab-IRDye800CW 对 GBM U87 细胞结合能力较 HA 细胞明显增强(图 1B)。

3. GBM 裸鼠皮下模型的荧光成像(图 2)。成功构建 GBM 裸鼠皮下模型,实验组肿瘤体积为(693.10±158.88) mm³,对照组肿瘤体积为(618.29±199.34) mm³,2 组裸鼠的肿瘤体积差异无统计学意义(*t* = 0.51, *P* = 0.638)。注射荧光材料后 5 min、24 h、48 h、72 h,实验组肿瘤 MFI 分别为 109.00±3.81、73.36±9.93、55.24±8.82、37.71±6.11,对照组肿瘤 MFI 分别为 91.32±4.17、42.91±5.39、25.08±6.05、8.33±1.00;实验组裸鼠肿瘤 5 min、24 h、48 h、72 h 的 MFI 高于对照组 MFI(*t* 值:4.36~9.40, *P* 值:0.011~0.049)。注射后 5 min、24 h、48 h、72 h,实验组肿瘤 TBR 分别为 0.73±0.12、2.40±0.28、2.07±0.12、2.07±0.19,对照组肿瘤 TBR 分别为 0.74±

0.06、1.57±0.07、1.22±0.08、1.41±0.92;实验组肿瘤 24 h 及 48 h 的 TBR 高于对照组(24 h:*t* = 4.94, *P* = 0.039;48 h:*t* = 9.85, *P* = 0.010)。

4. GBM 裸鼠原位模型的 MRI 及术中荧光导航。接种细胞 4 周后,MRI 示 GBM 原位模型构建成功(图 3)。肉眼观察离体裸鼠脑组织难以确定肿瘤位置(图 4A);而在荧光成像设备指导下,肿瘤部位及轮廓清晰可见(图 4B);HE 染色示肿瘤病理学分布与荧光显影相符(图 4C)。

讨 论

大部分 GBM 患者存在 EGFR 高表达^[7-8]。Cetuximab 作为特异性靶向 EGFR 的抗肿瘤药物^[4],可延长存在 EGFR 基因扩增的 GBM 患者生存期,提高生存质量^[9],其已被美国食品与药品监督管理局批准用于治疗头颈部恶性肿瘤^[10]。本研究选择的 IRDye800CW 荧光成像剂具有蛋白质结构稳定、生产工艺成熟等优点,其激发和发射波长类似于荧光物质吲哚菁绿(indocyanine green, ICG)^[4],借助临床现有血管造影设备即可展开应用,较 5-氨基酮戊酸(5-aminolevulinic acid, ALA)介导的荧光成像需借助特殊的荧光显微镜具有更大的便利^[11]。因此,本研究将 Cetuximab 与 IRDye800CW 偶联,制备成兼具特异靶向性与荧光显影性的靶向荧光探针 Cetuximab-IRDye800CW。

本研究连续采集 GBM 裸鼠皮下肿瘤荧光强度,注射荧光材料后 5 min、24 h、48 h、72 h, Cetuximab-IRDye800CW 组的 MFI 高于 IRDye800CW 组(*t* 值:4.36~9.40, *P* 值:0.011~0.049),表明 Cetuximab-IRDye800CW 在体内具有稳定性好、清除慢、组织摄

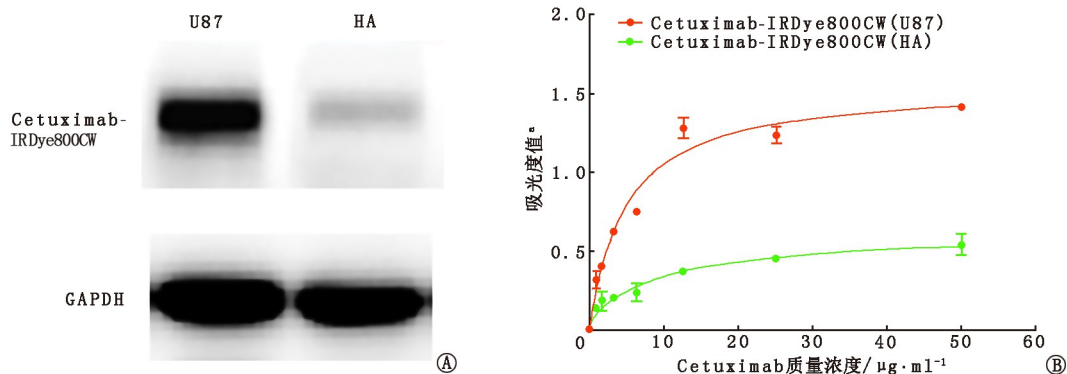


图 1 西妥昔单抗克隆抗体(Cetuximab)-IRDye800CW 通过结合表皮生长因子受体(EGFR)特异性识别胶质母细胞瘤(GBM)细胞(*n* = 3)的验证。A.抗体与 GBM U87 细胞和人星形胶质(HA)细胞的免疫印迹法(Western blot)实验结果,可见 U87 细胞中 EGFR 表达较 HA 细胞明显增多(GAPDH 为内参蛋白);B. Cetuximab-IRDye800CW 与 U87 和 HA 细胞反应时的饱和结合曲线,可见 Cetuximab-IRDye800CW 对 U87 细胞结合能力较 HA 细胞明显增强;^a 为 450 nm 波长处测定值

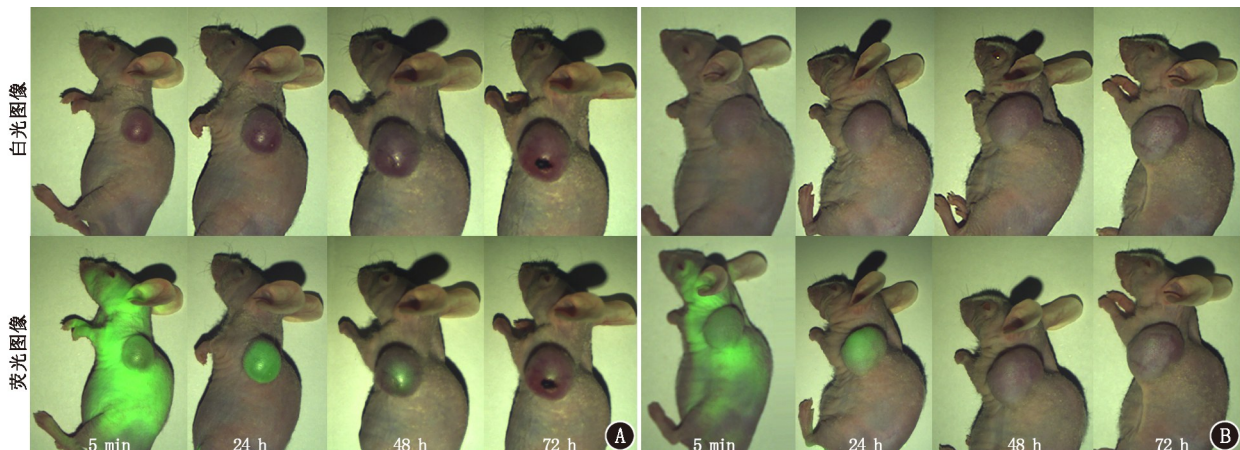


图 2 实验组和对照组的在不同时间点胶质母细胞瘤 (GBM) 裸鼠皮下肿瘤荧光成像图 ($n=3$)。实验组 (A) 和对照组 (B) 分别注射荧光材料西妥昔单抗 (Cetuximab)-IRDye800CW 和 IRDye800CW, 于注射荧光材料后 5 min、24 h、48 h、72 h 进行图像采集, 可见各时间点实验组肿瘤平均荧光强度 (MFI) 高于对照组; 注射后 24 h 及 48 h, 实验组肿瘤与周围背景的信噪比 (TBR) 高于对照组

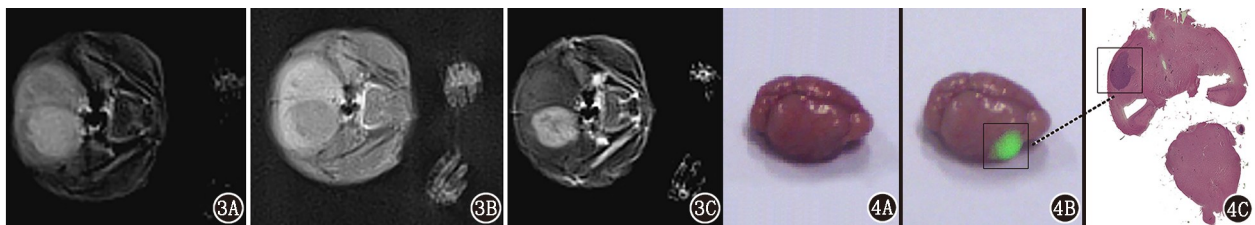


图 3 GBM U87 裸鼠原位模型的肿瘤 MRI ($n=6$) 图。3A. T_2 加权成像 (WI) 序列示肿瘤呈类圆形高信号影; 3B. T_1 WI 序列示肿瘤呈类圆形低信号影; 3C. T_1 WI 增强扫描序列示肿瘤呈明显强化。上述结果提示 GBM U87 裸鼠原位模型构建成功。图 4 GBM U87 裸鼠原位模型离体脑组织及其荧光导航成像 ($n=3$) 图。4A. 裸鼠离体脑组织白光图像; 4B. 裸鼠离体脑组织荧光图像彩色图; 4C. 裸鼠离体脑组织的病理 HE 染色 ($\times 100$) 图。可见 IRDye800CW 靶向荧光探针可实时定位肿瘤部位、识别肿瘤边界

取率高的优势, 即使在材料注射后 72 h, 仍有较好的荧光显影。相对而言, ICG 则存在光照易分解、水中稳定性差、血液半衰期短等不足^[12-13]。此外, 注射后 24 和 48 h, Cetuximab-IRDye800CW 组的 TBR 高于 IRDye800CW 组 (24 h: 2.40 ± 0.28 与 1.57 ± 0.07 ; 48 h: 2.07 ± 0.12 与 1.22 ± 0.08 ; t 值: 4.94 和 9.85, P 值: 0.039 和 0.010), 提示分子探针的特异性提高了 GBM 裸鼠肿瘤模型的肿瘤荧光成像能力, 从而提高了病灶 TBR。ICG 能发出波长约 820 nm 的荧光, 具有良好的组织穿透性, 可用于显影组织深部肿瘤^[14], 但较差的荧光强度和肿瘤组织结合特异性限制了其临床应用; 而 Cetuximab-IRDye800CW 在裸鼠 GBM 原位模型中可以清晰准确显示脑部肿瘤位置, 具有较好的肿瘤组织结合特异性。在荧光设备导航下, 正常脑组织仅显示出微弱的荧光或不显示荧光, 肿瘤区域表现为高亮荧光, 与病理学 HE 染色中细胞核富集区域轮廓相符, 从而实现分子层面的肿瘤边界界定, 指导术中病灶切除。

综上, 本研究构建了 1 种特异性靶向 EGFR 的荧光探针 Cetuximab-IRDye800CW, 在 GBM 术中荧

光导航中可清晰定位肿瘤, 识别肿瘤边界, 对 GBM 术中切除具有指导意义, 未来有望在 GBM 临床术中导航方面发挥重要作用。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明 徐丹丹: 研究实施、论文撰写; 张锐: 研究实施、数据采集; 宋娟、邱露、杨旭生: 数据采集、动物显像; 陈宏伟: 研究指导、经费支持; 蒋昊翔: 研究指导、论文修改

参考文献

- [1] 国家卫生健康委员会医政医管局. 脑胶质瘤诊疗规范 (2018 年版) [J]. 中华神经外科杂志, 2019, 35(3): 217-239. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-2346.2019.03.001. National Health Commission Medical Administration's Bureau. Guideline for diagnosis and treatment of brain glioma (2018 edition) [J]. Chin J Neurosurg, 2019, 35(3): 217-239. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-2346.2019.03.001.
- [2] Pino MA, Imperato A, Musca I, et al. New hope in brain glioma surgery: the role of intraoperative ultrasound. a review [J]. Brain Sci, 2018, 8(11): 202. DOI: 10.3390/brainsci8110202.
- [3] Picart T, Berhouma M, Dumot C, et al. Optimization of high-grade glioma resection using 5-ALA fluorescence-guided surgery: a literature review and practical recommendations from the neuro-oncology club of the French society of neurosurgery [J]. Neurochirurgie, 2019, 65(4): 164-177. DOI: 10.1016/j.neuchi.2019.04.005.

- [4] Acerbi F, Broggi M, Schebesch KM, et al. Fluorescein-guided surgery for resection of high-grade gliomas: a multicentric prospective phase II study (FLUOGLIO) [J]. Clin Cancer Res, 2018, 24(1): 52-61. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-17-1184.
- [5] Zhou Z, Lu ZR. Molecular imaging of the tumor microenvironment [J]. Adv Drug Deliv Rev, 2017, 113: 24-48. DOI:10.1016/j.ad-dr.2016.07.012.
- [6] 孟唤男,赵海涛,黄钢,等.葡萄糖调节蛋白 78 靶向分子探针⁶⁸Ga-DOTA-VAP 用于肿瘤特异性 microPET/CT 显像[J].中华核医学与分子影像杂志, 2022, 42(8): 482-486. DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20201209-00441.
- Meng HN, Zhao HT, Huang G, et al. ⁶⁸Ga-DOTA-VAP molecular probe targeted glucose-regulated protein 78 for specific microPET/CT imaging of tumors [J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2022, 42(8): 482-486. DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20201209-00441.
- [7] Brennan CW, Verhaak RG, McKenna A, et al. The somatic genomic landscape of glioblastoma [J]. Cell, 2013, 155(2): 462-477. DOI:10.1016/j.cell.2013.09.034.
- [8] Jawhari S, Ratinaud MH, Verdier M. Glioblastoma, hypoxia and autophagy: a survival-prone 'ménage-à-trois' [J]. Cell Death Dis, 2016, 7(10): e2434. DOI:10.1038/cddis.2016.318.
- [9] Fukai J, Nishio K, Itakura T, et al. Antitumor activity of cetuximab against malignant glioma cells overexpressing EGFR deletion mutant variant III [J]. Cancer Sci, 2008, 99(10): 2062-2069. DOI:10.1111/j.1349-7006.2008.00945.x.
- [10] Hasselbalch B, Lassen U, Poulsen HS, et al. Cetuximab insufficiently inhibits glioma cell growth due to persistent EGFR downstream signaling [J]. Cancer Invest, 2010, 28(8): 775-787. DOI:10.3109/07357907.2010.483506.
- [11] Goetz M, Wang TD. Molecular imaging in gastrointestinal endoscopy [J]. Gastroenterology, 2010, 138(3): 828-833.e1. DOI:10.1053/j.gastro.2010.01.009.
- [12] Schwake M, Stummer W, Suero Molina EJ, et al. Simultaneous fluorescein sodium and 5-ALA in fluorescence-guided glioma surgery [J]. Acta Neurochir (Wien), 2015, 157(5): 877-879. DOI:10.1007/s00701-015-2401-0.
- [13] Yaseen MA, Yu J, Jung B, et al. Biodistribution of encapsulated indocyanine green in healthy mice [J]. Mol Pharm, 2009, 6(5): 1321-1332. DOI:10.1021/mp800270t.
- [14] Yamamoto M, Orihashi K, Nishimori H, et al. Efficacy of intraoperative HyperEye Medical System angiography for coronary artery bypass grafting [J]. Surg Today, 2015, 45(8): 966-972. DOI:10.1007/s00595-014-1015-0.

(收稿日期:2023-05-18)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊对来稿中关于统计学处理的要求

关于统计学方法:

1.统计学符号:统计学符号按 GB/T 3358.1—2009《统计学词汇及符号》的有关规定,一律采用斜体排印。

2.资料的表达与描述:用 $\bar{x} \pm s$ 表达近似服从正态分布的定量资料,用 $M(Q_1, Q_3)$ 或 $M(IQR)$ 表达呈偏态分布的定量资料;用统计表时,要合理安排纵横标目,并将数据的含义表达清楚;用统计图时,所用统计图的类型应与资料性质相匹配,并使数轴上刻度值的标法符合数学原则;用相对数时,分母不宜小于 20,要注意区分百分率与百分比。

3.统计学分析方法的选择:对于定量资料,应根据所采用的设计类型、资料所具备的条件和分析目的,选用合适的统计学分析方法;对于定性资料,应根据所采用的设计类型、定性变量的性质和频数所具备的条件及分析目的,选用合适的统计学分析方法。对于回归分析,应结合专业知识和散布图,选用合适的回归类型;对具有重复实验数据检验回归分析资料,不应简单化处理;对于多因素、多指标资料,要在一元分析的基础上,尽可能运用多元统计分析方法,以便对因素之间的交互作用和多指标之间的内在联系做出全面、合理的解释和评价。

4.统计结果的解释和表达:当 $P < 0.05$ (或 $P < 0.01$) 时,应描述为对比组之间的差异有统计学意义,而不应描述为对比组之间具有显著性(或非常显著性)差异;应写明所用统计分析方法的具体名称、统计量和 P 的具体值(如: $t = 3.45$, $\chi^2 = 4.68$, $F = 6.79$ 等);统计量精确到小数点后 2 位, P 值精确到小数点后 3 位; P 值为 0.000 时应写为 $P < 0.001$ 而不写 $P = 0.000$ 。当涉及总体参数估计(如总体均数、总体率、RR 值、OR 值、HR 值等)时,在给出显著性检验结果(统计量、 P 值)的同时,给出 95% 置信区间。

本刊编辑部