

· 基础研究 ·

国产¹⁷⁷Lu 标记 PSMA-617 的制备及初步生物学评价

张心怡¹ 傅文会¹ 徐婷婷¹ 曾成润¹ 夏雨霄¹ 刘会攀¹

陈琳¹ 漆赤¹ 杨宇川² 魏洪源² 陈跃¹

¹西南医科大学附属医院核医学科、核医学与分子影像四川省重点实验室、四川省院士(专家)工作站,泸州 646000;²中国工程物理研究院核物理与化学研究所、核医学与分子影像四川省重点实验室,四川省绵阳市 621900

通信作者:陈跃, Email: chenyue5523@126.com

【摘要】目的 探索国产¹⁷⁷Lu-前列腺特异膜抗原(PSMA)-617的最佳标记条件,研究其生物分布、稳定性及安全性。**方法** 手动合成国产¹⁷⁷Lu-PSMA-617,确定最佳标记条件,检测其放化纯、体内外稳定性、脂水分配系数及血浆蛋白结合率;评价前列腺癌细胞 22RV1 对其的摄取率;设置进口¹⁷⁷Lu-PSMA-617对照组,研究 2 种标记物在正常小鼠体内的生物分布及其 SPECT/CT 显像特点;通过测定小鼠血常规等,评估药物安全性。**结果** 国产¹⁷⁷Lu-PSMA-617 在 pH 值 4.5、100 ℃恒温条件下反应 30 min 即可得到最佳标记结果,产物放化纯≥99%,72 h 内放化纯仍>95%,体内外稳定性好。在体外的血浆蛋白结合率为(35.3±5.3)% ,脂水分配系数为-2.27±0.06, 22RV1 细胞对国产¹⁷⁷Lu-PSMA-617 的特异性摄取率在 1 h 达最高[(7.58±0.84)%],略低于进口¹⁷⁷Lu-PSMA-617,但差异无统计学意义[(7.86±0.96)%; $t=-0.439$, $P>0.05$]。正常小鼠体内分布及显像表明,国产和进口¹⁷⁷Lu-PSMA-617 在血液清除速率相当,主要经肾排泄。两者毒性实验均未见明显不良反应,血常规、肝肾功能未见明显异常。**结论** 国产¹⁷⁷Lu-PSMA-617 质控合格,产物具有良好的生物学性能及安全性,在前列腺肿瘤的诊断中有潜在的应用价值。

【关键词】 前列腺肿瘤;前列腺特异膜抗原;二肽类;同位素标记;镥;放射性核素显像;小鼠

基金项目:核医学与分子影像四川省重点实验室建设基金(2018JPT0023);核医学创新转化平台(2019JDPT0004)

DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20200401-00135

Preparation and preliminary biological evaluation of domestic ¹⁷⁷Lu-PSMA-617

Zhang Xinyi¹, Fu Wenhui¹, Xu Tingting¹, Zeng Chengrun¹, Xia Yuxiao¹, Liu Huipan¹, Chen Lin¹, Qi Chi¹, Yang Yuchuan², Wei Hongyuan², Chen Yue¹

¹Department of Nuclear Medicine, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Nuclear Medicine and Molecular Imaging Key Laboratory of Sichuan Province, Academician (Expert) Workstation of Sichuan Province, Luzhou 646000, China; ²Institute of Nuclear Physics and Chemistry, China Academy of Engineering Physics, Nuclear Medicine and Molecular Imaging Key Laboratory of Sichuan Province, Mianyang 621900, China

Corresponding author: Chen Yue, Email: chenyue5523@126.com

【Abstract】Objective To synthesize ¹⁷⁷Lu-prostate-specific membrane antigen (PSMA)-617 with domestic ¹⁷⁷Lu (made in China), and explore its optimal labeling condition, biodistribution, stability, and safety. **Methods** ¹⁷⁷Lu-PSMA-617 was prepared with domestic ¹⁷⁷Lu by a manual method. The optimal labeling condition, radiochemical purity, stability (*in vivo* and *in vitro*), lipid-water partition coefficient, and plasma protein binding rate were determined. The uptake rate of ¹⁷⁷Lu-PSMA-617 was evaluated by using 22RV1 cells. Biodistribution and SPECT/CT imaging were performed on normal mice with imported ¹⁷⁷Lu-PSMA-617 as control group. The blood routine test was performed to evaluate the safety. **Results** The best labeling result of domestic ¹⁷⁷Lu-PSMA-617 can be obtained under the following conditions: pH=4.5, 100 ℃ for 30 min. And the radiochemical purity was ≥99%. The product was stable *in vivo* and *in vitro*, with the radiochemical purity >95% in 72 h. The plasma protein binding rate was (35.3±5.3)% , the lipid-water partition coefficient was -2.27±0.06, and the specific uptake rate of domestic ¹⁷⁷Lu-PSMA-617 by 22RV1 cells reached the highest in 1 h ((7.58±0.84)%), which was slightly lower than the imported ¹⁷⁷Lu-PSMA-617 ((7.86±0.96)%), but there was no significant difference between them ($t=-0.439$, $P>0.05$). The

distribution and SPECT/CT imaging of normal mice showed that domestic and imported ^{177}Lu -PSMA-617 in blood were cleared quite fast, and both of them were excreted mainly through the kidneys. No obvious adverse reactions were found in the toxicity test of domestic and imported ^{177}Lu -PSMA-617. There was no obvious abnormality in blood routine and liver and kidney metabolism. **Conclusion** The domestic ^{177}Lu -PSMA-617 has many advantages, such as qualified quality control, good biological properties and safety, which support its potential application value in diagnosis of prostatic neoplasms.

[Key words] Prostatic neoplasms; Prostate-specific membrane antigen; Dipeptides; Isotope labeling; Lutetium; Radionuclide imaging; Mice

Fund program: Nuclear Medicine and Molecular Imaging Key Laboratory Construction Fund of Sichuan Province (2018JPT0023); Nuclear Medicine Innovation Transformation Platform (2019JDPT0004)

DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20200401-00135

前列腺癌是男性最常见的恶性肿瘤,死亡率高。前列腺特异膜抗原(prostatic specific membrane antigen, PSMA)是一种Ⅱ型跨膜糖蛋白,且94%的氨基酸残基位于细胞表面,易于靶向;在超过90%的前列腺癌细胞上具有高表达^[1],在正常细胞中表达较少,被认为是诊断和治疗前列腺癌的重要靶标^[2]。

作为有希望的靶向治疗转移性前列腺癌药, ^{177}Lu -PSMA类药物受到广泛关注。 ^{177}Lu -PSMA-617是一种靶向PSMA的小分子,具有良好的性能,是前列腺癌放射性核素治疗中研究得最多的PSMA放射性配体^[3]。联合 ^{68}Ga -PSMA PET显像与 ^{177}Lu -PSMA核素治疗的一体化诊疗新模式正成为难治性前列腺癌精准诊疗的重要方向^[4-5]。

^{177}Lu 体内外稳定性好,半衰期为6.7 d,且发射的 β 射线射程短,引起骨髓抑制的风险较低, γ 光子适合于SPECT显像,且可大规模生产、比活度高^[6]。此外, ^{177}Lu -PSMA-617对前列腺癌诊断与常用的CT和骨显像相比,准确性更高,并且具有良好的肿瘤靶向性和快速的肾清除率,具备诊疗一体化的优势。

进口 ^{177}Lu -PSMA-617因成本较高、来源单一、核素供应受外界因素影响较大,难以满足日益增长的临床需求。为打破 ^{177}Lu 依赖进口的局面,亟需探索 ^{177}Lu 国产化的可行性。本研究探讨国产 ^{177}Lu 标记PSMA-617的可行性,并将国产标记物与进口 ^{177}Lu -PSMA-617进行比较,评估核素质量和生物性能,开拓国产 ^{177}Lu -PSMA-617在诊疗中的应用潜能,促进其基础与临床转化研究。

材料与方法

1. 实验材料。国产 $^{177}\text{LuCl}_3$ (中国工程物理研究院核物理与化学研究所),进口 $^{177}\text{LuCl}_3$ (德国ITG公司),PSMA-617(德国ABX公司);甲醛(北京Solarbio科技有限公司),正辛醇(分析纯,成都科隆化学品有限公司),甲醇(分析纯,天津致远化学试剂有限公司),

公司)。昆明小鼠(72只,雌雄各半),4~5周龄,体质量18~22 g,西南医科大学实验动物中心提供,实验动物生产许可证:SCXK(川)2018-17,实验动物使用许可证号:SYXK(川)2018-065,于无特殊病原体(specific-pathogen free, SPF)级环境中饲养。前列腺癌细胞株22RV1购自广州吉妮欧生物科技有限公司。

2. 主要实验仪器。SPECT/CT仪(美国GE公司,GE Infinia T4双探头),高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)柱(日本OSAKA SODA公司),恒温加热磁力搅拌器DF-101S型(郑州长城科工贸有限公司),放射性核素活度计CRC-25R型(北京恒益德科技有限公司),放免 γ 测量仪(北京华瑞森科技发展有限公司),电子天平BSA224S型[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司],高速离心机TGL-16B型(上海安亭科学仪器厂)。

3. ^{177}Lu -PSMA-617的制备。准备国产 $^{177}\text{LuCl}_3$ 原溶液(约 3.7×10^4 GBq/L)和PSMA溶液(1 g/L)备用。研究PSMA-617的化学量、 $^{177}\text{LuCl}_3$ 活性、pH值、温度和反应时间对国产 ^{177}Lu -PSMA-617放化纯的影响。确定好最佳标记条件后,取1个Eppendorf(EP)管依次加入80 μl 国产 $^{177}\text{LuCl}_3$ 原溶液,PSMA-617溶液(10 μg ,10 μl)和40 μl 乙酸钠(0.25 mol/L),混匀后置于100℃电热恒温器中加热30 min。取适量 ^{177}Lu -PSMA-617标准品加入超纯水稀释至37 GBq/L备用。进口 ^{177}Lu 采取同样的条件标记PSMA-617。

4. 质量控制。进行HPLC检测,采用AQ C18柱(5 μm , 4.6 mm×250 mm),以含体积分数0.1%三氟乙酸的超纯水(A),含体积分数0.1%三氟乙酸的乙腈(B)作为流动相,采用梯度洗脱(0~15 min:10%~90% B),柱温为室温,流速为1 ml/min,紫外检测器波长为254 nm。取15 μl 国产及进口 ^{177}Lu -PSMA-617的标准品溶液进行HPLC分析,计算所得产品的放化纯,目测其澄清度,测量pH值。

5. 体外和体内稳定性实验。研究标记物在生理

盐水和人血清中的稳定性,分别取 1 ml 生理盐水和 1 ml 新鲜人血清,加入适量国产或进口¹⁷⁷Lu-PSMA-617,在常温和 37 ℃下再次温育。反应后 2、4、12、24、48 和 72 h 后用 HPLC 进行放化纯检测。在体内稳定性实验中,分别取 8 只正常小鼠(对应国产与进口药物各 4 只),尾静脉注射 18.5 MBq(0.5 ml)国产或进口¹⁷⁷Lu-PSMA-617,于注射后 5、15、30、60、120 和 180 min 经眼眶取血,所有血液样品以 3 000 r/min 室温离心 5 min(离心半径 10 cm),分离血浆和血细胞,同法离心后收集上清液并加入冰甲醇[V(甲醇):V(血浆)=1.5:1]混匀,再次同法离心后,用 HPLC 对上清液进行质量控制分析。

6. 血浆蛋白结合率(plasma-protein binding rate, PPB)。取 3 个 EP 管,每管中分别加入血浆 0.1 ml 和 20 μl(约 1 MBq)的国产或进口¹⁷⁷Lu-PSMA-617 溶液,在 37 ℃恒温器中温育 2 h 后各加入 1 ml 冰甲醇,混匀并室温离心 5 min(2 000 r/min, 离心半径 10 cm),收集上清液,重复 3 次,然后测量各管上清液和沉淀物的每分钟放射性计数,并计算 PPB,记录 3 管的均值。

7. 脂水分配系数(lipid-water partition coefficient, logP)。化合物的脂溶性及水溶性可以用标记物的 logP 评估。取 3 个 EP 管,各加入 0.5 ml 饱和正辛醇和 480 μl 的超纯水,然后分别加入 20 μl(约 1 MBq)的国产或进口¹⁷⁷Lu-PSMA-617 溶液,振荡均匀后室温离心(2 000 r/min, 5 min, 离心半径 10 cm),各管从脂层和水层分别取 100 μl,测量两相的每分钟放射性计数,并计算 logP,结果取均值。

8. ¹⁷⁷Lu-PSMA-617 细胞摄取实验。将前列腺癌细胞 22RV1 细胞复苏后,室温离心 5 min(离心半径 10 cm, 3 000 r/min)后弃去上清液,加入培养基制备细胞悬液,在体积分数 5% 的 CO₂,37 ℃恒温培养箱中培养。收集对数生长期的 22RV1 细胞,制成细胞悬液,以约 2×10⁵ 个/孔接种至 6 孔板中培养。实验组(国产¹⁷⁷Lu-PSMA-617)设 1、2、4 h 共 3 个时间点,每个时间点设 6 个复孔,对照组(进口¹⁷⁷Lu-PSMA-617)同样按此设置。连续培养 48 h 后,取出培养板,弃培养液,用磷酸盐缓冲液(phosphate buffered solution, PBS)清洗 2 次,加入 2.5 ml 无血清培养基。然后实验组和对照组每孔分别加入 0.37 MBq 的国产或进口¹⁷⁷Lu-PSMA-617,置 37 ℃恒温箱中继续温育。分别于相应时间点对吸取每孔培养液,PBS 冲洗 2 次,将培养液和冲洗液均收集于试管中标记为上清液。然后加入 1 mmol/L NaOH 100 μl 并收

集于新的试管中,再用适量 PBS 冲洗后,收集冲洗液标记为细胞液,测定每管的放射性计数。计算细胞摄取率[细胞液放射性计数/(细胞液放射性计数+上清液放射性计数)×100%]。

9. 正常小鼠体内分布。分别准备 40 只正常小鼠(对应国产与进口药物各 20 只),雌雄各半,按随机数字表法分为 5 组,每组 4 只,尾静脉注射国产或进口¹⁷⁷Lu-PSMA-617(3.7 MBq, 约 0.1 ml),于 1、4、24、48 h 和 6 d 后处死小鼠(n=4),取出各小鼠器官组织,称取质量并测定各组织的放射性计数,计算不同时间点每克组织百分注射剂量率(percentage activity of injection dose per gram of tissue, %ID/g)。

10. 正常小鼠显像。取正常小鼠 4 只,尾静脉注射 18.5 MBq(约 0.5 ml)的国产¹⁷⁷Lu-PSMA-617 溶液,俯卧位固定小鼠,分别于注射后 1、4、24 h,使用 GE Infinia T4 双探头 SPECT/CT 仪进行显像,针孔采集,扫描参数:主能峰 208 keV,副能峰 113 keV,矩阵:128×128,放大倍数 3.0,时间 10 min,放大倍数 3 倍。按以上步骤同时设置进口¹⁷⁷Lu-PSMA-617 对照组。

11. 毒性实验。取 16 只正常小鼠,雌雄各半,按随机数字表法分为 4 组,即正常对照组,低、中、高剂量的实验组,对照组尾静脉注射生理盐水,实验组分别经尾静脉注射 3.7 MBq(100 μl)、18.5 MBq(500 μl)、37.0 MBq(1 ml)国产¹⁷⁷Lu-PSMA-617 溶液,每周测量各组小鼠的体质量,监测小鼠的饮食、大小便等。于 4 周后处死小鼠,抽取血液送检血液分析,包括 WBC 计数、RBC 计数、PLT、Hb、肌酐及丙氨酸氨基转移酶,观察组织有无肉眼可见改变,取小鼠器官组织做病理检查。

12. 统计学处理。采用 IBM SPSS 20.0 软件进行统计学分析,符合正态分布的定量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,对细胞摄取数据行配对 t 检验,各组小鼠的体质量比较采用重复测量方差分析, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

结 果

1. ¹⁷⁷Lu-PSMA-617 的制备和质量控制。取 10 μg PSMA-617,向其中加入 80 μl 国产¹⁷⁷LuCl₃原溶液,pH 值低于 3.5 时,标记率明显降低,使用 40 μl 乙酸钠(0.25 mol/L)调节 pH 值至 4.5,在 100 ℃恒温条件下反应 30 min 即可得到最佳标记结果。在此标记条件下,¹⁷⁷Lu-PSMA-617 的标记率大于 95%,¹⁷⁷Lu-PSMA-617 纯化后的 HPLC 分析显示,保留时间 10 min,

放化纯≥99%。C18 柱纯化验证:一旦有胶体生成,C18 柱产生放射性残留,且随着 pH 值的增加,C18 柱放射性残留也随之增加。反应 pH 值、反应时间、反应温度对标记率的影响见图 1。

2. 体内外稳定性。在不同的温度条件下,国产和进口¹⁷⁷Lu-PSMA-617 在生理盐水和人新鲜血清中的放化纯在 72 h 内可保持在 95%以上,两者体外稳定性较好,37 °C 的稳定性似乎比常温条件下更好,但各组总体的差异不大。将国产和进口¹⁷⁷Lu-PSMA-617 注射入小鼠体内,不同时间点采血发现标记物能够保持稳定,放化纯在 180 min 内可保持在 98%以上,未见明显分解代谢。

3. ¹⁷⁷Lu-PSMA-617 PPB 和 logP 测定。国产¹⁷⁷Lu-PSMA-617 在体外的 PPB 为(35.3±5.3)%,进口¹⁷⁷Lu-PSMA-617 为(41.6±10.0)%。经计算,国产¹⁷⁷Lu-PSMA-617 的 logP 为-2.27±0.06,进口¹⁷⁷Lu-PSMA-617 的 logP 为-0.76±0.13,表明国产和进口¹⁷⁷Lu-PSMA-617 的亲水性均较好。

4. 细胞摄取实验。如图 2 所示,随着时间增加,22RV1 细胞对国产和进口¹⁷⁷Lu-PSMA-617 的摄取率均降低。细胞培养 1 h 时,国产¹⁷⁷Lu-PSMA-617 摄取率达最高[(7.58±0.84)%],略低于进口¹⁷⁷Lu-PSMA-617 [(7.86±0.96)%],2 组差异无统计学意义($t=-0.439$, $P>0.05$)。

5. 小鼠体内分布。国产和进口¹⁷⁷Lu-PSMA-617 在正常小鼠的体内分布数据见表 1 和表 2,随着时间延长,各器官组织内标记物分布逐渐减低。国产¹⁷⁷Lu-PSMA-617 在血液清除迅速,主要从肾排泄。

6. 正常小鼠¹⁷⁷Lu-PSMA-617 显像。正常小鼠在注射国产和进口¹⁷⁷Lu-PSMA-617 后不同时间点显像图见图 3。图像质量较清晰,从图中可以看出,国产和进口¹⁷⁷Lu-PSMA-617 图像表现一致,小鼠肾和膀胱放射性浓聚明显,其他组织未见明显浓聚,表明¹⁷⁷Lu-PSMA-617 主要从肾和膀胱排泄。

7. ¹⁷⁷Lu-PSMA-617 急性毒性实验。各组小鼠均

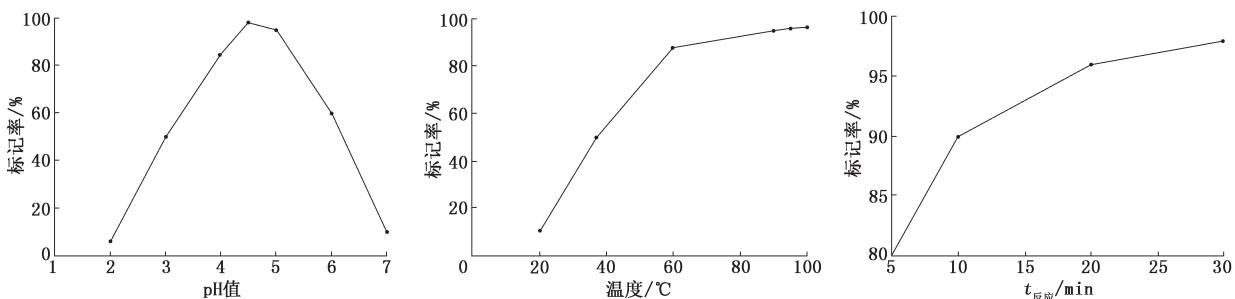


图 1 不同标记条件对国产¹⁷⁷Lu-前列腺特异膜抗原(PSMA)-617 标记率的影响

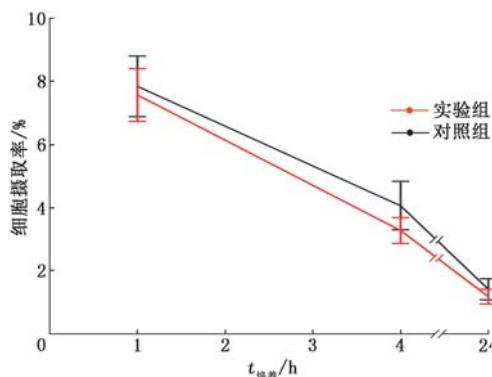


图 2 不同组别中 22RV1 细胞对¹⁷⁷Lu-PSMA-617 的摄取曲线。

实验组为国产¹⁷⁷Lu-PSMA-617,对照组为进口¹⁷⁷Lu-PSMA-617

未观察到明显不良反应。国产¹⁷⁷Lu-PSMA-617 各组小鼠体质量随着时间逐渐增加($F=233.179$, $P<0.01$)。组间比较,各组小鼠体质量差异无统计学意义($F=0.574$, $P>0.05$)。各组平均 WBC 计数、RBC 计数、PLT、Hb、肌酐及丙氨酸氨基转移酶浓度均在正常范围内。解剖后与正常对照组相比,各实验组小鼠的组织器官未见大小、形态、颜色、质地等肉眼上的改变。与正常对照组的病理切片进行比较,实验组(低、中、高剂量)小鼠各器官组织光学显微镜下细胞形态、大小、比例等无明显差异,均未出现明显的变性、坏死等病理组织改变,骨髓中各系比例未见失常(图 4)。

讨 论

¹⁷⁷Lu、¹³¹I、⁹⁰Y 均为用于放射性治疗的核素,但理化性质差异较大。¹³¹I 标记物体内血浆稳定性不佳,易发生脱碘效应^[7]; ⁹⁰Y 的半衰期仅 64 h,发射的 β 射线穿透性约为 12 mm,更适于体积较大的肿瘤;¹⁷⁷Lu-PSMA-617 体内外稳定性好,具有较长的半衰期,可释放 γ 射线,对早期诊断肿瘤、临床分期、指导治疗、探查复发和转移灶具有重要意义^[8],且¹⁷⁷Lu 与正电子核素⁶⁸Ga 具有类似的标记化学特性,往往可标记同一个药物前体,因而可制备诊疗一体化的

表 1 国产¹⁷⁷Lu-PSMA-617 在正常小鼠体内的生物分布 (%ID/g; $\bar{x} \pm s$)

器官或组织	注射后不同时间的生物分布				
	1 h	4 h	24 h	48 h	6 d
心	0.271±0.129	0.082±0.037	0.023±0.019	0.017±0.001	0.007±0.003
肝	0.136±0.014	0.085±0.013	0.057±0.003	0.043±0.001	0.033±0.007
脾	0.329±0.129	0.115±0.012	0.039±0.005	0.033±0.001	0.020±0.010
肺	0.544±0.154	0.339±0.334	0.064±0.011	0.038±0.004	0.034±0.012
肾	3.104±1.216	0.883±0.131	0.287±0.039	0.088±0.014	0.032±0.009
胃	0.144±0.049	0.135±0.028	0.035±0.015	0.022±0.005	0.012±0.001
肠	0.502±0.328	0.121±0.036	0.021±0.008	0.020±0.005	0.018±0.007
骨骼	0.463±0.271	0.330±0.190	0.255±0.051	0.290±0.134	0.324±0.035
肌肉	0.258±0.153	0.064±0.012	0.013±0.002	0.020±0.006	0.020±0.008
血液	0.552±0.114	0.122±0.016	0.011±0.008	0.010±0.001	0.004±0.001
脑	0.068±0.007	0.044±0.019	0.005±0.001	0.013±0.020	0.001±0.001
性腺	0.277±0.111	0.076±0.012	0.030±0.013	0.021±0.008	0.008±0.004
唾液腺	0.246±0.052	0.135±0.079	0.068±0.021	0.034±0.012	0.021±0.011

注: 每个时间点小鼠 4 只; %ID/g 为每克组织百分注射剂量率, PSMA 为前列腺特异膜抗原

表 2 进口¹⁷⁷Lu-PSMA-617 在正常小鼠体内的生物分布 (%ID/g; $\bar{x} \pm s$)

器官或组织	注射后不同时间的生物分布				
	1 h	4 h	24 h	48 h	6 d
心	0.116±0.011	0.045±0.006	0.025±0.009	0.018±0.003	0.014±0.004
肝	0.761±0.125	0.624±0.073	0.569±0.034	0.043±0.290	0.254±0.021
脾	1.607±0.441	1.774±0.601	1.569±0.810	1.196±0.448	0.626±0.187
肺	0.899±0.419	0.465±0.272	0.479±0.293	0.273±0.129	0.218±0.094
肾	11.03±6.738	0.802±0.199	0.323±0.079	0.160±0.041	0.108±0.008
胃	0.263±0.056	0.095±0.052	0.056±0.033	0.041±0.002	0.025±0.007
肠	0.218±0.048	0.082±0.058	0.027±0.009	0.019±0.006	0.013±0.007
骨骼	0.401±0.096	0.375±0.091	0.293±0.056	0.341±0.416	0.416±0.142
肌肉	0.194±0.034	0.046±0.016	0.011±0.003	0.021±0.008	0.007±0.004
血液	0.450±0.021	0.079±0.019	0.020±0.010	0.030±0.010	0.014±0.009
脑	0.024±0.006	0.007±0.001	0.002±0.001	0.003±0.001	0.002±0.001
性腺	0.179±0.079	0.059±0.043	0.011±0.003	0.019±0.008	0.014±0.003
唾液腺	0.157±0.040	0.063±0.036	0.027±0.007	0.021±0.009	0.014±0.006

注: 每个时间点小鼠 4 只

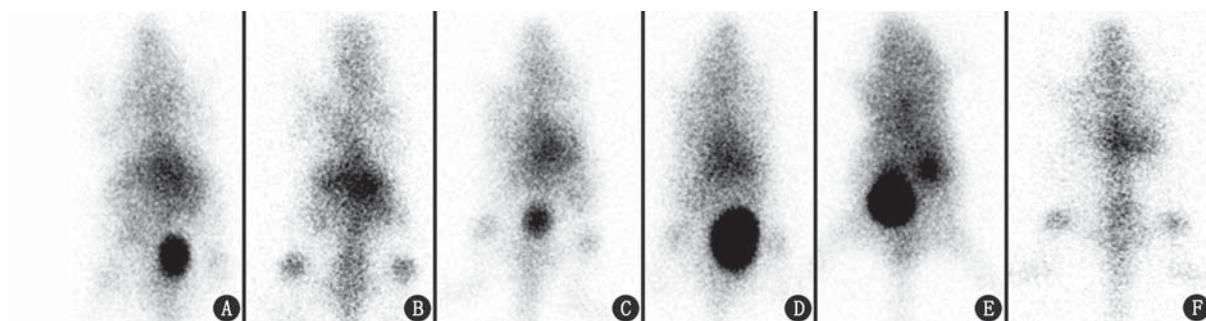


图 3 正常小鼠尾静脉注射 18.5 MBq 国产(A~C)或进口(D~F)¹⁷⁷Lu-前列腺特异膜抗原(PSMA)-617 溶液后 1 h(A, D)、4 h(B, E)、24 h(C, F)显像图。可见国产和进口¹⁷⁷Lu-PSMA-617 图像表现一致, 小鼠肾和膀胱放射性浓聚明显

放射性药物^[9]。

¹⁷⁷Lu-PSMA-617 是一种小分子肽, 血液清除快, 能够在肿瘤内高度滞留, 是理想的前列腺癌靶向诊疗药物^[10-12]。¹⁷⁷Lu-PSMA-617 除应用于去势抵抗性

前列腺癌的治疗^[13], 未来还可应用于多种肿瘤的诊疗。有研究者发现甲状腺癌中 PSMA 的摄取为难治性甲状腺癌治疗提供了机会^[14], ¹⁷⁷Lu-PSMA-617 可削弱乳腺癌细胞的活力和血管生成潜能^[15], 在肝转

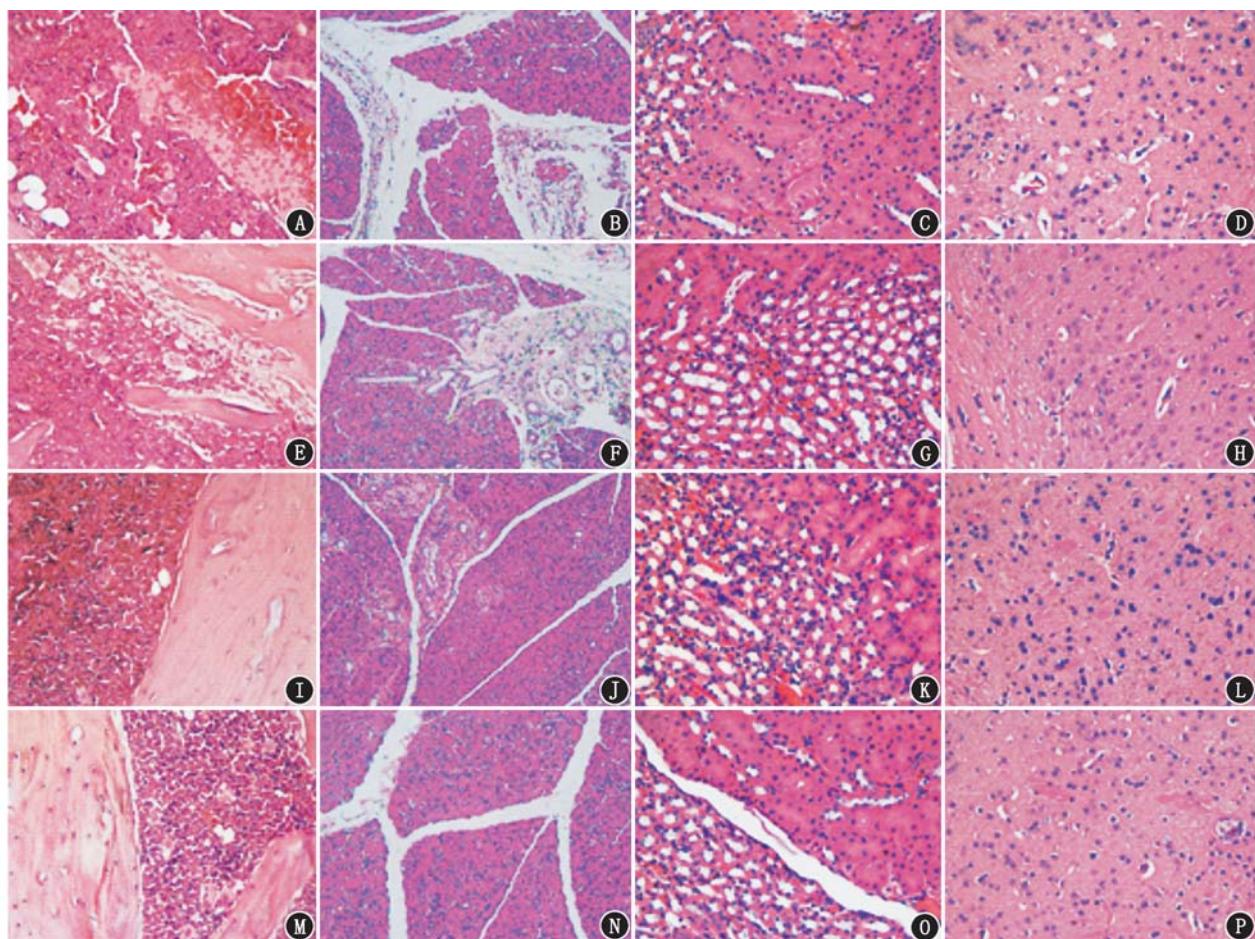


图 4 正常对照组(A~D)与实验组[低(E~H)、中(I~L)、高剂量(M~P)]小鼠各组织器官(A、E、I、M;骨;B、F、J、N;肝;C、G、K、O;肾;D、H、L、P;脑)的病理检查图(HE $\times 200$)。光学显微镜下细胞形态、大小、比例等无明显差异,均未出现明显的变性、坏死等病理组织改变

移的治疗中也有一定效果^[16]。未来国产¹⁷⁷Lu-PSMA-617 有用于多种恶性肿瘤的研究的潜能,因此本研究将雌、雄性正常小鼠均纳入研究。

本研究比较了国产和进口¹⁷⁷Lu 标记的 PSMA-617 的稳定性、脂水分布、生物分布、肿瘤细胞摄取及显像和毒性上的差异。结果显示,国产¹⁷⁷Lu 可成功标记 PSMA-617,标记过程简单高效,放化纯高。该反应受 pH 值影响较大,pH 值低于 3.5 时,标记率明显降低,而 pH 值大于 5 后,在 HPLC 中,游离¹⁷⁷Lu³⁺后面(保留时间约为 4 min)出现 1 个较宽的放射峰,推测可能 pH 值过大,碱性过强的体系中,部分¹⁷⁷Lu³⁺发生水解生成胶体。该推測在¹⁷⁷Lu-PSMA-617 的 C18 柱纯化中也得到验证:一旦有胶体生成,C18 柱上产生放射性残留,且随着 pH 值的增加,C18 柱放射性残留也随之增加。当反应体系 pH 值调至 4.5 时,其标记率最高可达 99%以上。加热可以明显加快反应速率,100 °C 条件下反应 10 min 标记率就能达到 90%以上,30 min 的标记率超过 99%。

目前国产¹⁷⁷Lu 在比活度、放射性核纯度等参数

上已与进口¹⁷⁷Lu 相当,放化纯达到 99%以上,且标记时间、温度、pH 值均与进口¹⁷⁷Lu 相当。本研究中的标记化合物具有良好的体内外稳定性,72 h 内在多个体系中仍可保持在 95%以上,进口和国产¹⁷⁷Lu 标记物稳定性较为一致,没有统计意义上的明显偏差。在体内也能够保持稳定,表明其可用于体内研究^[17]。国产¹⁷⁷Lu-PSMA-617 亲水性较强,脂溶性较差,因此不易透过血-脑屏障,脑组织不易受放射性核素的影响。细胞摄取实验表明该化合物有良好的肿瘤摄取。生物分布及正常小鼠显像提示其能迅速从血液中清除,主要经肾排泄,可减少其血液毒性。毒性实验中未观察到各组小鼠有呕吐腹泻等异常反应,组织病理结果提示正常及小鼠的血液分析等指标在正常范围内,初步结果表明国产¹⁷⁷Lu-PSMA-617 具有良好的安全性,可用于后续的实验研究。

综上,国产¹⁷⁷Lu-PSMA-617 标记简单易行,质控合格,标记率高;生物分布理想,大部分经肾排泄;血液清除快、稳定性好、毒性低,是较理想的 PSMA 靶向显像剂。相较于进口¹⁷⁷Lu-PSMA-617,国产¹⁷⁷Lu-

PSMA-617 减少了进口¹⁷⁷Lu 长时间运输不便,降低了使用成本,可更好地利用和发展国内¹⁷⁷Lu 核素资源,从而促进国产¹⁷⁷Lu 在肿瘤核素治疗方面的应用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] 卜婷,张川,臧士明,等.¹⁷⁷Lu-PSMA-617 治疗转移性前列腺癌的安全性和疗效[J].中华核医学与分子影像杂志, 2019, 39(2): 81-85. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2019.02.005.
- Bu T, Zhang C, Zang SM, et al. Safety and efficacy of ¹⁷⁷Lu-PSMA-617 therapy in metastatic castration-resistant prostate cancer [J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2019, 39(2): 81-85. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2019.02.005.
- [2] Diao W, Cai H, Chen L, et al. Recent advances in prostate-specific membrane antigen-based radiopharmaceuticals [J]. Curr Top Med Chem, 2019, 19(1): 33-56. DOI: 10.2174/1568026619666-190201100739.
- [3] Iravani A, Violet J, Azad A, et al. Lutetium-177 prostate-specific membrane antigen (PSMA) theranostics: practical nuances and intricacies [J]. Prostate Cancer Prostatic Dis, 2020, 23(1): 38-52. DOI: 10.1038/s41391-019-0174-x.
- [4] Kratochwil C, Haberkorn U, Giesel FL. Radionuclide therapy of metastatic prostate cancer [J]. Semin Nucl Med, 2019, 49(4): 313-325. DOI: 10.1053/j.semnuclmed.2019.02.003.
- [5] 汪静.⁶⁸Ga/¹⁷⁷Lu-PSMA 在前列腺癌靶向诊疗中的作用[J].中华核医学与分子影像杂志, 2019, 39(2): 65-66. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2019.02.001.
- Wang J. Role of ⁶⁸Ga/¹⁷⁷Lu-PSMA in theranostic of prostate cancer [J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2019, 39(2): 65-66. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2019.02.001.
- [6] 王静楠,臧洁,李方,等.靶向前列腺特异性膜抗原的核医学精准诊疗进展[J].现代仪器与医疗, 2018, 24(6): 1-7. DOI: 10.11876/mimt201806001.
- Wang JN, Zang J, Li F, et al. Precise diagnosis and therapy in nuclear medicine targeting prostate-specific membrane antigen [J]. Modern Instruments & Medical Treatment, 2018, 24(6): 1-7. DOI: 10.11876/mimt201806001.
- [7] Zechmann CM, Afshar-Oromieh A, Armor T, et al. Radiation dosimetry and first therapy results with a ¹²⁴I/¹³¹I-labeled small molecule (MIP-1095) targeting PSMA for prostate cancer therapy [J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2014, 41(7): 1280-1292. DOI: 10.1007/s00259-014-2713-y.
- [8] 刘会攀,陈跃.放射性核素诊治神经内分泌肿瘤的应用进展[J].中华核医学与分子影像杂志, 2019, 39(9): 564-567. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2019.09.015.
- Liu HP, Chen Y. Application progress of radionuclide imaging and therapy in neuroendocrine tumors [J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2019, 39(9): 564-567. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2019.09.015.
- 2848.2019.09.015.
- [9] 陈利星,邹思娟,朱小华.放射性核素标记前列腺特异性膜抗原小分子抑制剂靶向前列腺癌的显像与治疗[J].中华核医学与分子影像杂志, 2018, 38(1): 53-58. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2018.01.014.
- Chen LX, Zou SJ, Zhu XH. Targeted imaging and therapy of prostate cancer by radionuclide labeled small molecule inhibitors of prostate specific membrane antigen [J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2018, 38(1): 53-58. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2018.01.014.
- [10] Michel RB, Andrews PM, Rosario AV, et al. ¹⁷⁷Lu-antibody conjugates for single-cell kill of B-lymphoma cells *in vitro* and for therapy of micrometastases *in vivo* [J]. Nucl Med Biol, 2005, 32(3): 269-278. DOI: 10.1016/j.nucmedbio.2005.01.003.
- [11] Abbas IA. Studies on ¹⁷⁷Lu-labeled methylene diphosphonate as potential bone-seeking radiopharmaceutical for bone pain palliation [J]. Nucl Med Biol, 2011, 38(3): 417-425. DOI: 10.1016/j.nucmedbio.2010.09.013.
- [12] Burki TK. ¹⁷⁷Lu-Dotatacept for midgut neuroendocrine tumours [J]. Lancet Oncol, 2017, 18(2): e74. DOI: 10.1016/S1470-2045(17)30042-6.
- [13] Rahbar K, Bode A, Weckesser M, et al. Radioligand therapy with ¹⁷⁷Lu-PSMA-617 as a novel therapeutic option in patients with metastatic castration resistant prostate cancer [J]. Clin Nucl Med, 2016, 41(7): 522-528. DOI: 10.1097/RNU.0000000000001240.
- [14] de Vries LH, Lodewijk L, Braat A, et al. ⁶⁸Ga-PSMA PET/CT in radioactive iodine-refractory differentiated thyroid cancer and first treatment results with ¹⁷⁷Lu-PSMA-617 [J]. EJNMMI Res, 2020, 10(1): 18. DOI: 10.1186/s13550-020-0610-x.
- [15] Morgenroth A, Tinkir E, Vogg A, et al. Targeting of prostate-specific membrane antigen for radio-ligand therapy of triple-negative breast cancer [J]. Breast Cancer Res, 2019, 21(1): 116. DOI: 10.1186/s13058-019-1205-1.
- [16] Seifert R, Kessel K, Boegemann M, et al. Additional local therapy for liver metastases in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer receiving systemic PSMA-targeted therapy [J]. J Nucl Med, 2020, 61(5): 723-728. DOI: 10.2967/jnumed.119.233429.
- [17] 富凯丽,赵亮,郭志德,等.¹⁷⁷Lu-EB-RGD 分子探针的构建及其在非小细胞肺癌 PDX 模型中的显像与治疗研究[J].中华核医学与分子影像杂志, 2020, 40(4): 231-237. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20190626-00118.
- Fu KL, Zhao L, Guo ZD, et al. Development of ¹⁷⁷Lu-EB-RGD molecular probe and its imaging and therapy in the patient-derived xenografts of non-small cell lung cancer [J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2020, 40(4): 231-237. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20190626-00118.

(收稿日期:2020-04-01)