・基础研究・

靶向 CD30 单克隆抗体⁶⁴Cu-NOTA-CD30 的 淋巴瘤免疫 PET 显像研究

杨旭¹ 李翠翠¹ 刘俊¹ 张茗昱¹ 弓建华² 苗庆芳² 杨吉刚¹ ¹首都医科大学附属北京友谊医院核医学科,北京 100050;²中国医学科学院北京协和 医学院医药生物技术研究所肿瘤室,北京 100050 通信作者:杨吉刚, Email: yangjigang@ccmu.edu.cn

【摘要】 目的 制备靶向 CD30 单克隆抗体(简称单抗)⁶⁴Cu-1,4,7-三氮杂环壬烷-1,4,7-三乙 酸(NOTA)-CD30,无创性可视化评价淋巴瘤 CD30 的表达。方法 通过 Western blot 评价 5 种淋巴瘤 细胞株(Karpas299、Raji、Daudi、Ramos 和 U266)中 CD30 的表达水平。选择高和低表达 CD30 的细胞 株行流式细胞术评估抗 CD30 单抗特异性结合能力。取 NSG 小鼠 13 只构建 CD30 阳性和阴性皮下 荷瘤鼠模型。标记获得⁴⁴Cu-NOTA-CD30,以⁶⁴Cu-NOTA-免疫球蛋白(Ig)G为对照探针。经尾静脉注 射 2 种探针后 2、24 和 48 h 行 microPET 显像及生物分布分析。采用重复测量方差分析及 Bonferroni 法进行数据比较。结果 Karpas299 细胞呈 CD30 高表达, Raji 细胞呈 CD30 低表达。流式细胞术示 抗 CD30 单抗与 Karpas299 细胞特异性结合。⁶⁴ Cu-NOTA-CD30 与⁶⁴ Cu-NOTA-IgG 的放化纯均>95%。 在 microPET 显像中, Karpas299 肿瘤⁶⁴Cu-NOTA-CD30 摄取随时间延长逐渐升高, 2、24 和 48 h 分别为 (11.46±0.58)、(17.60±1.16)与(19.46±0.99)每克组织百分注射剂量率(%ID/g);48h时与本底对比 度良好,肿瘤与心(血液)比值为 2.20±0.22。48 h 时,⁶⁴Cu-NOTA-CD30 在 Karpas299 肿瘤的摄取高于 其在 Raji 肿瘤「(6.10±1.03)%ID/g]及⁶⁴Cu-NOTA-IgG 在 Karpas299 肿瘤的摄取「(5.12±0.89)%ID/g], 差异均有统计学意义(F=290.99,t值:19.65 和 22.25,均 P<0.001)。64 Cu-NOTA-CD30 与64 Cu-NOTA-IgG 在各组心、肝的摄取随时间延长逐渐降低。48 h 体外生物分布结果与活体 microPET 显像基本一 致。结论 ⁶⁴Cu-NOTA-CD30 能在活体水平无创性可视化评价淋巴瘤 CD30 的表达及分布情况,有望 应用于靶向 CD30 免疫治疗的受益群体筛选及疗效评价。

【关键词】 淋巴瘤;抗体,单克隆;抗原,CD30;同位素标记;铜放射性同位素;正电子发射断层 显像术;肿瘤细胞,培养的;小鼠

基金项目:国家自然科学基金(81771860)

DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20220131-00030

ImmunoPET studies of ⁶⁴Cu-labeled CD30 monoclonal antibody ⁶⁴Cu-NOTA-CD30 in lymphoma models

Yang Xu¹, Li Cuicui¹, Liu Jun¹, Zhang Mingyu¹, Gong Jianhua², Miao Qingfang², Yang Jigang¹ ¹Department of Nuclear Medicine, Beijing Friendship Hospital, Capital Medical University, Beijing 100050, China; ²Laboratory of Oncology, Institute of Medicinal Biotechnology, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China

Corresponding author: Yang Jigang, Email: yangjigang@ccmu.edu.cn

[Abstract] Objective To develop the anti-CD30 monoclonal antibody ⁶⁴Cu-1, 4, 7-trizacyclononane-1, 4, 7-triacetic acid (NOTA)-CD30 and visualize CD30 expression in lymphoma non-invasively. **Methods** The CD30 expression levels of 5 cell lines (Karpas299, Raji, Daudi, Ramos, and U266) were assessed by Western blot. Cell lines with high and low CD30 expression were selected for flow cytometry to evaluate the specific binding affinity of anti-CD30 monoclonal antibody. Thirteen NSG mice were used to established CD30 positive and negative subcutaneous xenograft models. ⁶⁴Cu-NOTA-CD30 was obtained and ⁶⁴Cu-NOTAimmunoglobulin (Ig) G was used as the control. ImmunoPET imaging was performed 2, 24, and 48 h after the injection of ⁶⁴Cu-NOTA-CD30 or ⁶⁴Cu-NOTA-IgG. Finally, the biodistribution studies were conducted. Repeated-measures analysis of variance and Bonferroni test were conducted for comparison. **Results** Karpas299 showed the highest CD30 expression, while Raji showed the lowest. Flow cytometry showed specific binding affinity of the anti-CD30 monoclonal antibody to the Karpas299 cell line. The radiochemical purities of the probes were both higher than 95%. In microPET, the ⁶⁴Cu-NOTA-CD30 uptake of Karpas299 xenograft tumors increased over time, with (11.46±0.58), (17.60±1.16) and (19.46±0.99) percentage activity of injection dose per gram of tissue (%ID/g) at 2, 24 and 48 h respectively. The contrast to normal tissue was • 172 •

good at 48 h, with the tumor/heart (blood) ratio of 2.20 ± 0.22 . The uptake of ⁶⁴Cu-NOTA-CD30 in Karpas299 tumor at 48 h after injection was significantly higher than that in Raji tumor ((6.10 ± 1.03) %ID/g) and ⁶⁴Cu-NOTA-IgG in Karpas299 tumor ((5.12 ± 0.89) %ID/g; F = 290.99, t values: 19.65 and 22.25, all P < 0.001). The uptake of ⁶⁴Cu-NOTA-CD30 and the control probe in the heart and liver decreased over time in all groups. *Ex vivo* biodistribution at 48 h was mainly consistent with the results of microPET *in vivo*. **Conclusions** ⁶⁴Cu-NOTA-CD30 is able to visualize the expression level and distribution of CD30 non-invasively. It is promising to be applied for screening the beneficial groups and evaluating efficacy for CD30-targeted immunotherapy.

[Key words] Lymphoma; Antibodies, monoclonal; Antigens, CD30; Isotope labeling; Copper radioisotopes; Positron-emission tomography; Tumor cells, cultured; Mice

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81771860) DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20220131-00030

淋巴瘤是1组具有较高异质性的血液系统恶性 肿瘤,分为霍奇金淋巴瘤(Hodgkin's lymphoma, HL)与非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma, NHL)。2020年世界 NHL 新发人数约占所有肿瘤 新发人数的2.8%,死亡人数约占4.7%^[1]。CD30 抗 原是1种I型跨膜糖蛋白,可表达于经典 HL 和间 变性大细胞淋巴瘤。以CD30 为靶点的抗体偶联药 物维布妥昔单克隆抗体(brentuximab-vedotin, BV) 已被美国食品与药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准用于治疗复发难治性 CD30 阳性的 HL 和间变性大细胞淋巴瘤^[2-3]。但如 何精准筛选靶向 CD30 治疗的受益群体、提高治疗 反应率、及时进行疗效评估,仍待解决。

应用放射性核素标记 CD30 抗体进行免疫 PET 显像是无创定量显示 CD30 表达的有效手段,但目 前相关研究较少。本研究应用自主研发的抗 CD30 单克隆抗体(简称单抗)进行正电子放射性核素⁶⁴Cu (半衰期 12.7 h)的标记,制备靶向 CD30 分子探针, 对淋巴瘤荷瘤鼠 CD30 的表达水平进行无创性可视 化评价,现报道如下。

材料与方法

1.细胞株来源及细胞培养。细胞株 Karpas299 (人间变性大细胞淋巴瘤)购于北京博奥派克生物 科技有限公司, Raji与 Daudi(人 Burkitt's淋巴瘤)、 Ramos(人 B淋巴细胞瘤)、U266(人多发性骨髓瘤 细胞)由中国医学科学院北京协和医学院医药生物 技术研究所肿瘤室提供。细胞在 37 ℃、体积分数 5% CO₂条件下,用含体积分数 10%胎牛血清(fetal bovine serum, FBS;美国 Gibco 公司)和体积分数 1%青霉素/链霉素的 RPMI-1640 培养基(美国 Gibco 公司)进行培养。采用 Western blot 检测细胞 CD30 的表达水平。

2.抗 CD30 单抗结合能力的测定。选择高和低 表达 CD30 的细胞测定抗 CD30 单抗结合能力。抗 CD30 单抗是人鼠嵌合单抗,由中国医学科学院北京 协和医学院医药生物技术研究所肿瘤室提供^[4],取 自表达抗 CD30 单抗的中国仓鼠卵巢细胞(Chinese hamster ovary cell, CHO)的培养基,并经 Protein G 蛋白柱(美国 GE Healthcare 公司)纯化,其抗体可变 区的氨基酸序列与 BV 的抗体组分 AC-10 相同。以 抗 CD30 单抗为一抗,异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC)标记的山羊抗人免疫球蛋白 (immunoglobulin, Ig)G(北京金普来生物科技有限 公司)为二抗。设置非特异性 IgG、单独二抗和单独 细胞作为对照组。每管约1×10⁶ 个细胞,用流式细 胞仪(美国 BD Biosciences 公司)检测荧光强度,采 用 Flowjo 软件进行分析。

3. CD30 阳性和阴性皮下荷瘤鼠模型的构建。 雄性重度免疫缺陷 NSG 小鼠[13 只;5 周龄,体质量 (20±2)g]购于北京华阜康生物科技股份有限公司 [许可证号:SCXK(京)2014-0008],在中国医学科 学院医药生物技术研究所动物房无特殊病原体 (specific pathogen-free, SPF)级系统中饲养。将 PBS 重悬的1×10⁶个细胞(约100 μl)分别接种于每 只小鼠右下腹背侧皮下[CD30 阳性(9 只)或阴性细 胞株(4 只)]。隔天观察小鼠健康状况及肿瘤大小, 肿瘤生长至最大径约1 cm 时用于 microPET 显像。

4.抗 CD30 单抗的放射性核素⁶⁴ Cu 标记。将⁶⁴ Cu 通过螯合剂 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; 美国 Macrocyclics 公司)与抗 CD30 单抗标记获得⁶⁴ Cu-NOTA-CD30。⁶⁴ CuCl₂ 溶液购自北京原子高科股份有 限公司。先将抗 CD30 单抗与 NOTA 以物质的量比 1:20 在 NaHCO₃ 缓冲液(pH 值 9.0)中室温温育 2 h, 经 PD-10 柱(美国 GE Healthcare 公司)纯化后测定 蛋白质浓度。纯化后的 NOTA-CD30 与⁶⁴ CuCl₂ 在 NaAc 缓冲液(pH 值 4.5~5.5)中室温振荡反应 1 h。 反应结束后用 PD-10 柱纯化。以 0.01 mol/L 的乙 二胺四乙酸二钠作为展开剂,用放射薄层色谱法分 析测定放化纯。取非特异性 IgG 同法行⁶⁴Cu 标记作 为对照分子探针。

5. MicroPET 显像及生物分布。分别取4只 Karpas299及 Raji 荷瘤鼠经尾静脉注射⁶⁴ Cu-NOTA-CD30 后行 microPET 显像,注射剂量为5.4 MBq/只 (约200 μ l)。用体积分数2%异氟烷麻醉,于注射 后2、24 和48 h分别行 microPET 显像(比利时 Molecubes 公司 β -CUBE/PET, X-CUBE/CT),显像 时间10 min。PET 图像在后处理工作站进行衰减校 正并重建,应用 VivoQuant 2020 软件对图像进行分 析,勾画肿瘤、心(血液)、肝、肾 ROI 行半定量分析, 计算每克组织百分注射剂量率(percentage activity of injection dose per gram of tissue, %ID/g)。取5只 Karpas299 荷瘤鼠,以⁶⁴Cu-NOTA-IgG 为非特异对照 显像剂,同法显像。

显像结束后处死小鼠,获取肿瘤、心、肝、脾、肺、 肾、胃、肠、胰腺、膀胱、皮肤、骨骼、脑及血液,称质量 后用全自动γ计数器(美国 PerkinElmer 公司)测定 放射性计数,单位为%ID/g。

6.统计学处理。采用 IBM SPSS 26.0 软件及 GraphPad Prism 8 软件进行数据分析。符合正态分 布的定量资料以 *x*±*s* 表示,组内不同时间点比较采 用重复测量方差分析,多组间相同时间点比较采用 单因素方差分析,两两比较采用 Bonferroni 法,*P*< 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. CD30 表达水平及抗 CD30 抗体结合能力的 鉴定。Western blot 结果(图 1)显示,5 种细胞株中, Karpas299 细胞株的 CD30 表达明显高于另外 4 种。 流式细胞术结果提示,在与抗 CD30 单抗 4 ℃温育、 FITC 二抗标记后,Karpas299 细胞信号发生明显偏 移,而 Raji 细胞信号无偏移,提示抗 CD30 单抗可与 Karpas299 细胞表面 CD30 特异性结合。因此,选择 Karpas299 细胞株构建 CD30 高表达模型,Raji 细胞 株构建 CD30 低表达模型。



图 1 不同淋巴瘤细胞株 CD30 表达情况的 Western blot 分析 结果。可见 Karpas299 细胞 CD30 表达量最高

2.淋巴瘤荷瘤鼠 microPET 显像和定量分析。制备好的⁶⁴ Cu-NOTA-CD30 和⁶⁴ Cu-NOTA-IgG 放化纯均超过 95%。注射⁶⁴ Cu-NOTA-CD30 及⁶⁴ Cu-NOTA-IgG 后不同时间荷瘤鼠 microPET 图像见图 2。对于 Karpas299 荷瘤鼠,注射⁶⁴ Cu-NOTA-CD30 后 2 h,可见肿瘤摄取显像剂,且随时间延长摄取逐渐增高,48 h 后肿瘤显影较清晰;而注射⁶⁴ Cu-NOTA-CD30 的 Raji 荷瘤鼠及注射⁶⁴ Cu-NOTA-IgG 的 Karpas299 荷瘤鼠 的肿瘤显影浅淡,注射后 48 h 摄取仅接近肝本底。3 组荷瘤鼠除肿瘤摄取外,显像剂主要分布于心(血液)、肝,且随着时间延长显像剂摄取逐渐减低。

ROI分析示,注射⁶⁴Cu-NOTA-CD30后,Karpas299 肿瘤的显像剂摄取较高,且随时间延长逐渐增高,注 射后 2、24 和 48 h 显像剂摄取分别为(11.46 ± (0.58), (17.60 ± 1.16) 和 (19.46 ± 0.99) % ID/g(n =4),明显高于⁶⁴Cu-NOTA-CD30 在 Raji 荷瘤鼠和⁶⁴Cu-NOTA-IgG 在 Karpas299 荷瘤鼠的摄取,后两者在注 射后 48 h 的肿瘤摄取分别为(6.10±1.03) %ID/g(n= 4) 和(5.12±0.89) % ID/g(n=5)(F=290.99, t 值: 19.65、22.25,均 P<0.001)。24 h 时⁶⁴Cu-NOTA-IgG 在 Karpas299 荷瘤鼠肿瘤中出现较高的非特异性摄 取,为(7.11±1.09)%ID/g。在各组中,心(血液)、 肝、肾的显像剂摄取随时间延长逐渐减少。⁶⁴Cu-NOTA-CD30 在 Karpas299 荷瘤鼠的肿瘤/心(血液)比值和 肿瘤/肝比值在注射后 48 h 较高,分别为 2.20±0.22 和 3.14±0.25, 明显高于⁶⁴Cu-NOTA-CD30 在 Raji 荷 瘤鼠(0.73±0.17 与 0.83±0.21)和⁶⁴Cu-NOTA-IgG 在 Karpas299 荷瘤鼠(0.68±0.18 与 0.64±0.11)的对应 结果(F值:84.60、222.61,t值:10.86~19.54,均P< 0.001) 。

3.体外生物分布。注射后 48 h 体外生物分布结 果与活体 microPET 显像结果基本一致(表1)。⁶⁴Cu-NOTA-CD30 在 Karpas299 肿瘤的显像剂摄取为 (17.55±2.30)%ID/g(n=4),明显高于 Raji 肿瘤 [(3.35±0.54)%ID/g;n=3(1只死亡)],也明显高于 ⁶⁴Cu-NOTA-IgG 在 Karpas299 肿瘤[(5.72±0.40)%ID/g; n=5]的摄取(F=115.92,t值:13.47和12.77,均P< 0.001)。除肿瘤摄取之外,肝、脾的摄取也较高,提 示抗 CD30 单抗主要经肝代谢清除。

讨 论

近年来,单抗等靶向治疗药物的出现为传统化 疗难治性和复发性淋巴瘤患者提供了新的有效治疗 手段。CD30表达于多种淋巴瘤表面,但在正常组织



图 2 淋巴瘤荷瘤鼠注射不同探针后不同时间的 microPET 显像图。注射⁶⁴Cu-1,4,7-三氮杂环壬烷-1,4,7-三乙酸(NOTA)-CD30 单克隆 抗体(⁶⁴Cu-NOTA-CD30)或⁶⁴Cu-NOTA-免疫球蛋白(Ig)G 后不同时间的 Karpas299 及 Raji 荷瘤鼠 microPET 图像可见 Karpas299 荷瘤鼠肿 瘤摄取⁶⁴Cu-NOTA-CD30 逐渐增高,48 h 时肿瘤显影较清晰;注射⁶⁴Cu-NOTA-CD30 的 Raji 荷瘤鼠及注射⁶⁴Cu-NOTA-IgG 的 Karpas299 荷瘤 鼠,肿瘤显影较淡;3 组小鼠心(血液)及肝可见显影,随时间延长逐渐减低;椭圆虚线示皮下移植肿瘤灶;%ID/g 为每克组织百分注射剂量率

探针	组别	血液	肿瘤	心	肝	脾	肺	肾	胃
⁶⁴ Cu-NOTA-CD30	Karpas299	8.24±1.70	17.55 ± 2.30	2.34 ± 0.62	8.19 ± 0.87	8.81 ± 0.56	2.52 ± 0.24	2.74 ± 0.82	1.19±0.06
	Raji	8.85 ± 0.70	3.35 ± 0.54	2.87 ± 0.23	9.56 ± 0.82	9.59 ± 2.18	3.25 ± 0.45	3.96 ± 0.54	2.14 ± 0.87
⁶⁴ Cu-NOTA-IgG	Karpas299	8.39 ± 0.99	5.72 ± 0.40	2.66 ± 0.27	8.89 ± 1.55	9.30 ± 1.97	3.03 ± 0.52	3.93 ± 0.94	1.92 ± 0.60
F 值		0.22	115.92	1.53	1.11	0.19	2.87	2.81	2.85
P值	<i>P</i> 值		< 0.001	0.268	0.372	0.826	0.108	0.113	0.110
探针	组别	肠道	胰腺	膀胱	肌肉	目	計骼	皮肤	脑
⁶⁴ Cu-NOTA-CD30	Karpas299	0.73±0.26	0.93 ± 0.21	2.77±0.99	0.62±0	0.28 2.48	±0.19 1	.84±0.52	0.23±0.12
	Raji	1.24 ± 0.35	1.11 ± 0.31	2.84±0.77	0.90±0	0.35 2.08	±0.29 2	.06±0.29	0.48 ± 0.15
⁶⁴ Cu-NOTA-IgG	Karpas299	1.13 ± 0.21	0.97 ± 0.21	3.37±0.44	0.94±0	0.14 2.44	±0.38 1	.95±0.27	0.44 ± 0.16
F 值		3.86	0.57	0.85	2.06	5 1	.69	0.29	3.25
P值		0.062	0.585	0.459	0.18	33 0	.239	0.757	0.087

表 1	不同显像探针注射后 48 h 在各组荷瘤鼠的体外生物分布($\%$ ID/g; $\bar{x}\pm s$)
-----	-------------------------------	-----------------------------

注:Karpas299、Raji 为不同的淋巴瘤细胞株;%ID/g 为每克组织百分注射剂量率,Ig 为免疫球蛋白,NOTA 为1,4,7-三氮杂环壬烷-1,4,7-三乙酸;3 组从上到下荷瘤鼠只数为4、3、5

表达有限,是较理想的肿瘤免疫治疗靶点。靶向 CD30的抗体偶联药物 BV 由 CD30 单抗 SGN-30 (AC-10)连接抗微管蛋白药物组成,可被 CD30 阳性 细胞特异性结合、内化,并发挥细胞杀伤作用。BV 靶向性高,安全性较好,已被美国 FDA 批准用于治 疗复发难治性 CD30 阳性的 HL 和间变性大细胞淋 巴瘤^[2-3],且在外周 T 细胞淋巴瘤、皮肤 T 细胞淋巴 瘤等的临床研究中显示出较高的治疗缓解率^[3,5-7]。

不同病理类型及不同个体淋巴瘤的 CD30 表达 水平各异,克拉屈滨的治疗可能会诱导肿瘤表达 CD30^[8],间变性大细胞淋巴瘤经 BV 治疗后可出现 CD30 去表达^[9]。病理活组织检查(简称活检)可确 定分子表型从而指导治疗,但肿瘤存在空间及时间 异质性,活检病理无法全面反映不同部位 CD30 的 表达,且无法对病灶进行多次连续的评估。另外, CD30 的表达水平还与淋巴瘤的预后相关。据报道, CD30 阳性的弥漫性大 B 细胞淋巴瘤预后较好^[10], 而皮肤 T 细胞淋巴瘤 CD30 的表达则提示大细胞转 化,恶性程度增高,预后较差^[11-12]。因此,在全身范 围内对肿瘤 CD30 的表达情况进行无创可视化评估 有助于筛选靶向 CD30 免疫治疗的受益群体,并可 监测治疗反应,有助于预测预后。

免疫 PET 显像利用放射性核素标记特定单抗, 可无创显示全身肿瘤病灶特定抗原表达情况,并可 在治疗过程中进行动态监测,指导抗体免疫靶向治 疗,预测疗效^[13-15]。抗 CD20 单抗利妥昔单抗(rituximab)是最早应用于淋巴瘤治疗的单抗,同时也可 被放射性核素标记。Natarajan 等^[16-17]最早在动物模型 上研究了⁶⁴Cu-1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸(1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10tetraacetic acid. DOTA)-rituximab 及⁸⁹ Zr-去铁胺 (desferrioxamine, Df)-rituximab 对淋巴瘤的显像及 其生物分布。靶向 CD30 的抗体偶联药物 BV 在临 床应用以来, Rylova 等^[18]利用⁸⁹Zr标记 CD30 抗体 AC-10 在荷瘤鼠移植瘤模型上对 CD30 阳性淋巴瘤 进行了显像,CD30 阳性肿瘤的显像剂摄取明显高于 CD30 阴性肿瘤。Kang 等^[19]利用⁸⁹Zr-Df-BV 对肺癌 荷瘤鼠 CD30 的表达进行了无创性评估,发现肿瘤 摄取随着 CD30 表达量的增加而增加。相比于较长 半衰期(3.3 d)的⁸⁹Zr 和较短半衰期(60 min)的⁶⁸Ga, ⁶⁴Cu的半衰期适中(12.7 h),可标记的分子大小范 围较宽(从小分子多肽、抗体片段到全抗体),在与 抗体的生物半衰期匹配的同时,其更适用于行短期 显像。本研究中, CD30 阳性 Karpas299 荷瘤鼠肿 瘤⁶⁴Cu-NOTA-CD30 的摄取是 CD30 阴性 Raji 荷瘤 鼠肿瘤的3倍以上「(19.46±0.99)%ID/g与(6.10± 1.03) % ID/g]。注射后 48 h, 肿瘤/肝与肿瘤/心 (血液)的比值明显升高,分别为 2.20±0.22 和 3.14± 0.25,肿瘤显影最清晰。近期有研究报道,在⁶⁴Cu-NOTA-曲妥珠单抗(trastuzumab)靶向人表皮生长因 子受体-2阳性的乳腺癌移植瘤免疫 PET 显像中,肿 瘤于注射后 48 h 显影最清晰^[20],与本研究结果相似。

本研究中,CD30单抗除被肿瘤摄取外,主要滞 留于血液及被肝摄取,这可能是由于抗体相对分子 质量较大,主要通过肝进行代谢的缘故。烯二炔类 高效抗肿瘤抗生素力达霉素(lidamycin, LDM)可偶 联到抗 CD30 抗体构建抗体偶联药物 anti-CD30-LDM。其可被¹²³I标记,制备成¹²³I-anti-CD30-LDM 来观察其在体内的生物分布,结果示心(血液)、肝、 脾摄取较高,并逐渐减低^[21],与本研究一致。本研 究还发现,⁶⁴Cu-NOTA-IgG 在 Karpas299 荷瘤鼠肿瘤 中存在一定程度的非特异性摄取,在注射后 24 及 48 h 的显像中,摄取程度较高,分别为(7.11±1.09) 与(5.12±0.89)%ID/g,大致与肝一致。这可能与 肿瘤生长体积较大、血供较丰富有关。本研究使用 的非特异性 IgG 为人血清 IgG,在小鼠体内可能存 在较多非特异性的抗原抗体结合。

综上,⁶⁴Cu-NOTA-CD30 对 CD30 阳性淋巴瘤特 异性较高,主要经肝代谢。可视化 CD30 的表达有 助于指导临床更精准地进行靶向 CD30 治疗。未来 需进一步改进靶向 CD30 的 PET 分子探针,进一步 降低本底及非特异性摄取,并尝试将显像探针转化 为靶向治疗探针,为临床应用提供更加全面可靠的 信息。 利益冲突 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明 杨旭:实验操作、论文撰写、数据整理、统计分析;李翠翠: 研究指导、实验操作、论文修改;刘俊、张茗昱:实验操作;弓建华、苗 庆芳:实验指导、技术支持;杨吉刚:研究指导、经费支持

参考文献

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249. DOI:10.3322/caac.21660.
- [2] Scott LJ. Brentuximab vedotin: a review in CD30-positive Hodgkin lymphoma[J]. Drugs, 2017, 77(4): 435-445. DOI: 10.1007/ s40265-017-0705-5.
- [3] Horwitz S, O'Connor OA, Pro B, et al. Brentuximab vedotin with chemotherapy for CD30-positive peripheral T-cell lymphoma (ECHELON-2): a global, double-blind, randomised, phase 3 trial [J]. Lancet, 2019, 393 (10168): 229-240. DOI: 10.1016/S0140-6736 (18) 32984-2.
- Wang R, Li L, Zhang S, et al. A novel enediyne-integrated antibody-drug conjugate shows promising antitumor efficacy against CD30⁺ lymphomas[J]. Mol Oncol, 2018, 12(3): 339-355. DOI: 10.1002/1878-0261.12166.
- [5] Ramchandren R, Advani RH, Ansell SM, et al. Brentuximab vedotin plus chemotherapy in North American subjects with newly diagnosed stage Ⅲ or Ⅳ Hodgkin lymphoma[J]. Clin Cancer Res, 2019, 25(6): 1718-1726. DOI: 10.1158/1078-0432. CCR-18-2435.
- [6] Voorhees TJ, Beaven AW. Therapeutic updates for relapsed and refractory classical Hodgkin lymphoma[J]. Cancers (Basel), 2020, 12(10): 2887. DOI:10.3390/cancers12102887.
- Shea L, Mehta-Shah N. Brentuximab vedotin in the treatment of peripheral T cell lymphoma and cutaneous T cell lymphoma [J]. Curr Hematol Malig Rep, 2020, 15(1): 9-19. DOI: 10.1007/ s11899-020-00561-w.
- [8] Braun T, Dechow A, Friedrich G, et al. Advanced pathogenetic concepts in T-cell prolymphocytic leukemia and their translational impact[J]. Front Oncol, 2021, 11: 775363. DOI:10.3389/fonc. 2021.775363.
- [9] Goyal A, Patel S, Goyal K, et al. Variable loss of CD30 expression by immunohistochemistry in recurrent cutaneous CD30⁺ lymphoid neoplasms treated with brentuximab vedotin [J]. J Cutan Pathol, 2019, 46(11): 823-829. DOI:10.1111/cup.13545.
- [10] Huo YJ, Xu PP, Fu D, et al. Molecular heterogeneity of CD30⁺ diffuse large B-cell lymphoma with prognostic significance and therapeutic implication[J]. Blood Cancer J, 2022, 12(3): 48. DOI: 10.1038/s41408-022-00644-2.
- [11] Pulitzer M, Myskowski PL, Horwitz SM, et al. Mycosis fungoides with large cell transformation: clinicopathological features and prognostic factors [J]. Pathology, 2014, 46(7): 610-616. DOI:10. 1097/PAT.000000000000166.
- [12] García-Díaz N, Piris MÁ, Ortiz-Romero PL, et al. Mycosis fungoides and Sézary syndrome: an integrative review of the pathophysiology, molecular drivers, and targeted therapy [J]. Cancers (Basel), 2021, 13(8): 1931. DOI:10.3390/cancers13081931.
- [13] 吴文雨, 俞飞, 张朋俊, 等.⁶⁸Ga-DOTA-NT-20.3 的制备及荷人 胰腺癌裸鼠 microPET/CT 显像[J]. 中华核医学与分子影像杂 志, 2022, 42(2): 104-106. DOI: 10.3760/cma.j. cn321828-

• 176 •

20201124-00425.

Wu WY, Yu F, Zhang PJ, et al. Preparation and microPET/CT imaging of ⁶⁸Ga-DOTA-NT-20.3 on the nude mice bearing human pancreas carcinoma[J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2022, 42 (2): 104-106. DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20201124-00425.

 [14] 石岱,曹庆辉,张颖颖,等.⁸⁹Zr标记 EGFR及HER2 抗体用于 胃黏液腺癌的 microPET 显像研究[J].中华核医学与分子影像 杂志,2021,41(10):597-601.DOI:10.3760/cma.j.en321828-20210701-00217.

Shi D, Cao QH, Zhang YY, et al. MicroPET imaging studies of ⁸⁹Zrlabeled EGFR and HER2 antibodies in gastric mucinous adenocarcinoma[J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2021, 41(10): 597-601. DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20210701-00217.

- [15] 张迪,陈虞梅,赵海涛,等.免疫 PET 显像在肿瘤诊疗中的研究 进展[J].中华核医学与分子影像杂志,2022,42(2):113-117.
 DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20200608-00225.
 Zhang D, Chen YM, Zhao HT, et al. Recent advancement of clinical immunoPET imaging in tumor diagnosis and therapy[J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2022, 42(2): 113-117. DOI:10.3760/ cma.j.cn321828-20200608-00225.
- [16] Natarajan A, Habte F, Gambhir SS. Development of a novel longlived immunoPET tracer for monitoring lymphoma therapy in a humanized transgenic mouse model[J]. Bioconjug Chem, 2012, 23

(6): 1221-1229. DOI:10.1021/bc300039r.

- [17] Natarajan A, Gowrishankar G, Nielsen CH, et al. Positron emission tomography of ⁶⁴Cu-DOTA-rituximab in a transgenic mouse model expressing human CD20 for clinical translation to image NHL
 [J]. Mol Imaging Biol, 2012, 14(5): 608-616. DOI:10.1007/s11307-011-0537-8.
- [18] Rylova SN, Del Pozzo L, Klingeberg C, et al. Immuno-PET imaging of CD30-positive lymphoma using ⁸⁹Zr-desferrioxamine-labeled CD30-specific AC-10 antibody [J]. J Nucl Med, 2016, 57(1): 96-102. DOI:10.2967/jnumed.115.162735.
- [19] Kang L, Jiang D, Ehlerding EB, et al. Noninvasive trafficking of brentuximab vedotin and PET imaging of CD30 in lung cancer murine models[J]. Mol Pharm, 2018, 15(4): 1627-1634. DOI:10. 1021/acs.molpharmaceut.7b01168.
- [20] Woo SK, Jang SJ, Seo MJ, et al. Development of ⁶⁴Cu-NOTA-trastuzumab for HER2 targeting: a radiopharmaceutical with improved pharmacokinetics for human studies [J]. J Nucl Med, 2019, 60 (1): 26-33. DOI:10.2967/jnumed.118.210294.
- [21] Gong J, Guo F, Cheng W, et al. Preliminary biological evaluation of ¹²³I-labelled anti-CD30-LDM in CD30-positive lymphomas murine models[J]. Artif Cells Nanomed Biotechnol, 2020, 48(1): 408-414. DOI:10.1080/21691401.2019.1709857.

(收稿日期:2022-01-31)

・读者・作者・编者・

中华医学会系列杂志论文作者署名规范

为尊重作者的署名权,弘扬科学道德和学术诚信精神,中华医学会系列杂志论文作者署名应遵守以下规范。

一、作者署名

中华医学会系列杂志论文作者姓名在题名下按序排列,排序应在投稿前由全体作者共同讨论确定,投稿后不应再作改动,确需改动时必须出示单位证明以及所有作者亲笔签名的署名无异议书面证明。

作者应同时具备以下 4 项条件:(1)参与选题和设计,或参与资料的分析与解释者;(2)撰写论文或对其学术内容的重要 方面进行关键修改者;(3)对最终要发表的论文版本进行全面的审阅和把关者;(4)同意对论文的所有方面负责,保证对涉及 研究工作的任何部分的准确性和科研诚信的问题进行恰当的调查,并及时解决者。仅参与获得资金或收集资料者不能列为 作者,仅对科研小组进行一般管理者也不宜列为作者。

二、通信作者

每篇论文均需确定一位能对该论文全面负责的通信作者。通信作者应在投稿时确定,如在来稿中未特殊标明,则视第一作者为通信作者。集体署名的论文应将对该文负责的关键人物列为通信作者。规范的多中心或多学科临床随机对照研究,如主要责任者确实超过一位的,可酌情增加通信作者。无论包含几位作者,均需标注通信作者,并注明其 Email 地址。

三、同等贡献作者

不建议著录同等贡献作者,需确定论文的主要责任者。确需著录同等贡献作者时,可在作者单位项后另起一行著录"××和××对本文有同等贡献",英文为"×× and ×× are contributed equally to the article"。英文摘要中如同等贡献者为第一作者且属不同单位,均需著录其单位。同一单位同一科室作者不宜著录同等贡献。作者申请著录同等贡献时需提供全部作者的贡献声明,期刊编辑委员会进行核查,必要时可将作者贡献声明刊登在论文结尾处。

中华医学会杂志社