

^{18}F -FINH-Me 检测阿尔茨海默病模型鼠脑内 β -淀粉样斑块沉积

徐苗苗 马玉飞 郭俊 张琳琳 梁胜 王辉

上海交通大学医学院附属新华医院核医学科 200092

通信作者:王辉, Email: wanghuishanghai@hotmail.com

【摘要】 目的 制备新型 β -淀粉样蛋白 ($\text{A}\beta$) 显像剂(2-((2-6-[^{18}F]氟-5-(甲氨基)吡啶-2-基)苯并噻唑-6-基)硫代)乙醇(^{18}F -FINH-Me), 评价其生物学分布及其与 $\text{A}\beta$ 的亲合性。方法 使用 GE FN 自动化模块合成 ^{18}F -FINH-Me, 采用高效液相色谱(HPLC)对产品进行质量控制及稳定性检测。研究 ^{18}F -FINH-Me 在正常 C57BL/6 小鼠($n=25$)体内的生物学分布;对阿尔茨海默病(AD)模型鼠($n=5$)和与其年龄及背景匹配的正常 C57BL/6 小鼠($n=5$)进行 microPET/CT 显像。取小鼠脑组织进行 $\text{A}\beta$ 免疫组织化学染色;取 AD 患者(女, 69 岁)和健康志愿者(女, 66 岁)死后的人脑切片进行 ^{18}F -FINH-Me 放射自显影。结果 ^{18}F -FINH-Me 衰减校正后的产率为(53±4)%($n>20$);放射性纯度>98%($n>20$);比活度达 79.90~122.00 GBq/ μmol ($n=10$);室温下在磷酸盐缓冲液(PBS)中温育 4 h 无脱氟现象,稳定性好。生物学分布表明, ^{18}F -FINH-Me 主要经过肝肾排泄。MicroPET/CT 显像示 AD 小鼠脑内 ^{18}F -FINH-Me 有明显放射性摄取,注射后 1~2 min 达到峰值,且洗脱速度快(全脑标准摄取值;注射后 1 min 0.73±0.17,注射后 30 min 0.31±0.06)。免疫组织化学结果显示 AD 模型鼠脑内有丰富的 $\text{A}\beta$ 斑块沉积,而正常 C57BL/6 小鼠脑内无斑块沉积。放射性自显影结果表明 ^{18}F -FINH-Me 对 AD 患者脑内沉积的 $\text{A}\beta$ 斑块高标记,而在健康志愿者的脑切片中未出现特异性标记。结论 ^{18}F -FINH-Me 可能是一种有效检测脑内 $\text{A}\beta$ 斑块的 PET 显像剂。

【关键词】 阿尔茨海默病;淀粉样蛋白;苯并噻唑类;正电子发射断层显像术;小鼠

基金项目:国家自然科学基金(11775143,51703126);上海交通大学医工交叉项目(YG2017QN63)

DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20200109-00015

β -amyloid plaque deposition in the brain of Alzheimer's disease mouse model by ^{18}F -FINH-Me imaging

Xu Miaomiao, Ma Yufei, Guo Jun, Zhang Linlin, Liang Sheng, Wang Hui

Department of Nuclear Medicine, Xinhua Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200092, China

Corresponding author: Wang Hui, Email: wanghuishanghai@hotmail.com

【Abstract】 **Objective** To synthesize a new β -amyloid ($\text{A}\beta$) radioactive tracer (2-((2-6-[^{18}F] fluoro-5-(methylamino)pyridin-2-yl)benzothiazol-6-yl)thio)ethanol (^{18}F -FINH-Me), and evaluate its biological distribution and affinity to $\text{A}\beta$ plaques. **Methods** ^{18}F -FINH-Me was synthesized by GE FN automated module, and the quality control and stability of ^{18}F -FINH-Me were determined with high performance liquid chromatography (HPLC). The biodistribution of ^{18}F -FINH-Me was observed in normal C57BL/6 mice ($n=25$). MicroPET/CT imaging was performed in Alzheimer's disease (AD) model mice ($n=5$) and matched normal C57BL/6 mice ($n=5$). The brain tissues of mice were taken for $\text{A}\beta$ immunohistochemical staining. ^{18}F -FINH-Me autoradiography was performed in postmortem brain sections of one AD patient (female, 69 years old) and one healthy volunteer (female, 66 years old). **Results** The decay correction yield of ^{18}F -FINH-Me was (53±4)% ($n>20$) with the radioactive purity of more than 98% ($n>20$) and the specific activity of 79.90–122.00 GBq/ μmol ($n=10$). ^{18}F -FINH-Me was stable in phosphate buffered solution (PBS) after incubation for 4 h at room temperature. The biodistribution showed that ^{18}F -FINH-Me was mainly excreted through the liver and kidneys. MicroPET/CT imaging showed that ^{18}F -FINH-Me was obviously uptaken in the brain of AD mice. After injection for 1–2 min, the uptake of ^{18}F -FINH-Me reached the peak, and the elution speed was fast (whole brain standardized uptake value; 0.73±0.17 for 1 min, 0.31±0.06 for 30 min). The immunohistochemistry showed that there were abundant $\text{A}\beta$ plaques in the brain of AD model mice but not in the normal C57BL/6 mice brain. The autoradiographic results showed that ^{18}F -FINH-Me exhibited substantial plaque labeling in brain sections of one AD patient but not in the healthy volunteer. **Conclusion** ^{18}F -FINH-Me may be an effective PET agent for detecting $\text{A}\beta$ plaques in brain.

【Key words】 Alzheimer disease; Amyloid; Benzothiazoles; Positron-emission tomography; Mice

Fund program: National Natural Science Foundation of China (11775143, 51703126); Shanghai Jiao Tong University Multidisciplinary Interdisciplinary Project (Medical Engineering) (YG2017QN63)
DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20200109-00015

当阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 患者出现临床症状时, 神经元已受到不可逆损害, 错过了潜在的修复时间, 因此 AD 的早期诊断和治疗对延缓病情发展至关重要^[1-4]。AD 的主要病理生理过程为 β -淀粉样蛋白 (β -amyloid, A β) 和磷酸化 tau 蛋白的沉积, 导致神经元损伤和脑功能损伤。A β 为 AD 提供了一个非常有用的诊断和疗效评估靶点, 针对 A β 的分子影像学检查可利用核素探针检测出 AD 患者全脑 A β 斑块沉积的范围与程度, 作为 AD 诊断以及疗效评估的有效手段^[5]。目前, 几种用于淀粉样蛋白显像的 PET 显像剂的有效性已经在 AD 患者中得到了验证, 如¹¹C-匹兹堡化合物 B (Pittsburgh compound B, PIB), 其使人脑中的 A β 斑块可视化成为可能^[6-7]。研究人员用¹¹C-PIB 纵向评估了 A β 在 AD 模型鼠和患者脑中的积累, PIB 显示了良好的初始脑摄取和与致密型 A β 斑块的高亲和力^[8-9]。然而 Schöll 等^[10] 的研究表明, 弥漫性斑块病变患者由于缺乏 A β 纤维, 皮质¹¹C-PIB PET 滞留水平较低, 导致¹¹C-PIB PET 扫描阴性, 且¹¹C 的半衰期过短 (20 min), 限制了¹¹C-PIB 的临床应用。因此, 一种不仅能识别致密性 A β 斑块, 还能识别弥漫性 A β 斑块, 且白质洗脱速度快的显像剂将具有重要的临床价值。本研究拟探索一种新型苯并噻唑类衍生物 (2-((2-6-[¹⁸F] 氟-5-(甲氨基) 吡啶-2-基) 苯并噻唑-6-基) 硫代) 乙醇 { (2-((2-6-[¹⁸F] fluoro-5-(methylamino) pyridin-2-yl) benzothiazol-6-yl) thio) ethanol, ¹⁸F-FINH-Me } 检测 A β 的效能。

材料与方法

1. 主要试剂与实验动物。A β_{42} 抗体购自美国 Abcam 公司; 乙腈 (色谱级)、乙醇 (色谱级) 购自美国 Sigma-Aldrich 公司; 质量分数 4% 多聚甲醛购自碧云天生物技术研究; ¹⁸F-FINH-Me 前体 { 叔丁基甲基 (2-硝基-6-(6-((2-((四氢-2H-吡喃-2-基) 氧基) 乙基) 硫代) 苯并 [D] 噻唑-2-基) 吡啶-3-基) 氨基甲酸酯 } 由上海如絮生物科技有限公司提供。人

淀粉样蛋白前蛋白 (APP^{swe})/人早老素-1 (PS1-dE9) 转基因小鼠 (简称 APP/PS1 小鼠) (22 月龄, 体质量 40~45 g, 共 5 只)、C57BL/6 小鼠 (雌性, 22 月龄, 体质量 21~25 g, 共 5 只; 6 周龄, 体质量 21~24 g, 共 25 只), 均购自江苏集萃药康生物科技有限公司, 生产许可证编号为 SCXK (苏) 2018-0008。所有小鼠均饲养在模式动物中心, 具有独立通风的笼盒, 温度 22~26°C, 湿度 40%~70%, 光照 12 h, 黑暗 12 h, 食物和水可以随时获得。本研究经新华医院动物伦理学实验委员会批准 (伦理编号: XHEC-F-2019-062)。

2. ¹⁸F-FINH-Me 的合成制备 (图 1)。由住友-10 加速器 (日本住友公司) 生产的 ¹⁸F 转移至 FN 多功能自动化合成模块 (美国 GE 公司), 经过除水干燥后置于反应管备用。将 1 ml 溶解了 3 mg 前体的二甲基甲酰胺 (*N,N*-dimethylformamide, DMF) 溶液加入反应管中, 加热至 120 °C, 反应 15 min; 将 200 μ l 三氟化硼和 1.8 ml 乙腈混合液加入反应管中, 40 °C 反应 5 min; 用 14 ml 水溶液 [含 1.0 ml 三氟乙酸 (trifluoroacetic acid, TFA)] 将反应液转移至高效液相色谱 (high performance liquid chromatography, HPLC) 仪 (美国 BioScan 公司) 进行分离纯化。HPLC 使用反向 C18 柱 (10 mm \times 250 mm, 10 μ m; 美国 Waters 公司); 流动相 A 为体积分数 0.1% TFA + H₂O, B 为体积分数 0.1% TFA + 乙腈; 流速 6 ml/min; 条件: 0~3 min 5% B, 3~10 min 5%~25% B, 10~25 min 25%~40% B, 25~35 min 40% B, 35~40 min 40%~90% B, 40~45 min 90% B。收集 20~21 min 组分, 转移至蒸馏瓶中, 在 180 °C 条件下蒸干。将 10 ml 生理盐水加入蒸馏瓶中, 使用氮气将液体转移并经过无菌滤膜 (0.22 μ m; 美国 Millipore 公司) 过滤后置于无菌西林瓶中备用。

3. ¹⁸F-FINH-Me 的质量控制及稳定性检测。产物放化纯、比活度采用 HPLC 法进行分析。流动相: 乙腈/H₂O (V/V) = 45/55; 流速: 1 ml/min; 紫外检测波长 350 nm。产物制备后室温放置, 分别于 0 和 30 min、1、2 和 4 h 时测定其放化纯, 观察产物在磷酸

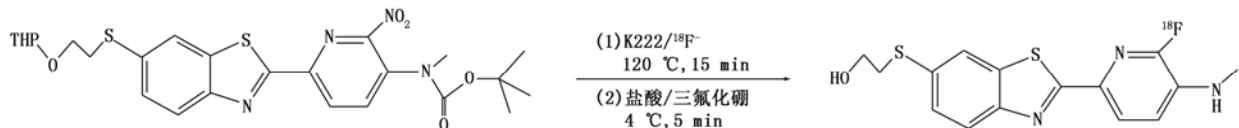


图 1 (2-((2-6-[¹⁸F] 氟-5-(甲氨基) 吡啶-2-基) 苯并噻唑-6-基) 硫代) 乙醇 (¹⁸F-FINH-Me) 合成示意图。K222 为穴醚, THP 为 2-四氢吡喃基

盐缓冲液 (phosphate buffered solution, PBS) 中温育 4 h 内的稳定性。

4. ^{18}F -FINH-Me 生物分布研究。C57BL/6 小鼠 (每组 5 只, 6 周龄) 尾缘静脉注射 150 μl 含 ^{18}F -FINH-Me (14.2~15.7 MBq) 的生理盐水。于 1、5、15、30 和 60 min 后脱颈处死小鼠, 取心、肝、脾、肾、骨骼肌 (股四头肌)、脑和骨 (股骨), 电子分析天平 (PTX-FA300; 福州普力斯特科学仪器有限公司) 称质量, γ 计数器 (SN-6105; 上海核所日环光电仪器有限公司) 测量放射性计数, 计算每克组织百分注射剂量率 (percentage activity of injection dose per gram of tissue, %ID/g)。

5. 小动物 PET/CT 显像。APP/PS1 小鼠 (5 只) 及 C57BL/6 小鼠 (5 只, 22 月龄), 每只注射 14.8~15.2 MBq ^{18}F -FINH-Me 或 150 μl 生理盐水后, 使用体积分数 2% 异氟醚麻醉, 即刻开始扫描, 在三维列表模式下, 使用 350~650 keV 的能量窗口收集 60 min 动态发射扫描, 采用 CT 模式进行衰减校正透射式扫描。MicroPET 购于德国 Siemens 公司, 使用工作站配备 Inveon Research Workplace 图像分析软件分析 PET 图像, 勾画全脑为感兴趣区 (region of interest, ROI), 计算标准摄取值 (standardized uptake value, SUV)。

6. 免疫组织化学检测。脱颈处死 APP/PS1 小鼠及其年龄匹配的 C57BL/6 小鼠 (各 5 只), 取其全脑进行石蜡包埋、切片和脱蜡。加入 1:1 000 稀释的 A β -42 抗体, 室温温育 2 h。PBS 洗涤后, 加入 1:200 稀释的二抗 (美国 KPL 公司), 室温温育 30 min。PBS 洗涤后加入二氨基联苯胺 (diaminobenzidine, DAB; 丹麦 DAKO 公司) 显色液, 苏木精 (上海茹创生物科技有限公司) 染色, 体积分数 0.1% 盐酸分化, 洗净、发蓝、切片脱水、乙醇干燥、二甲苯透明、中性胶封,

光学显微镜 (Eclipse CI, 日本 Nikon 公司) 下观察。

7. 放射自显影。取 1 例 69 岁女性 AD 患者、1 名 66 岁女性健康志愿者死后的冰冻脑切片 (均为尸解标本, 由美国国立卫生研究院蔡利生博士提供), 厚度 14 μm , 室温解冻 20 min, 风干后, 浸泡在质量分数 10% 中性甲醛溶液中 1 h, 二甲苯中脱脂 40 min。之后在 3 700 MBq/L ^{18}F -FINH-Me 溶液 (乙醇溶液加入 10 ml 生理盐水) 中室温下温育 25 min, 蒸馏水中浸泡 30 s, 乙醇中浸泡 15 min, 最后在蒸馏水中浸泡 30 s, 吹干后置于储能磷屏板上曝光 12~18 h。使用 BAS5000 磷成像仪 (日本 Fujifilm 公司), 以 25 μm 的分辨率获取数字放射自显影。本研究由新华医院伦理委员会批准 (伦理编号: XHEC-F-2019-120), 获得纳入者的广泛知情同意。

8. 统计学处理。采用 GraphPad Prism8.0 软件进行数据分析。符合正态分布的定量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 不符合正态分布的定量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示。采用两独立样本 t 检验进行组间比较, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. ^{18}F -FINH-Me 的制备、质控及稳定性。 ^{18}F -FINH-Me 衰变校正后的产率为 (53 \pm 4)% ($n>20$), 获得的产品放射性纯度 >98% ($n>20$), 比活度达到 79.90~122.00 GBq/ μmol ($n=10$)。室温下, 在 PBS (pH=7.4) 中温育 4 h 没有脱氟现象发生。

2. 体内生物分布 (表 1)。小鼠尾静脉注射 ^{18}F -FINH-Me 后, 药物迅速从循环中清除; 放射性摄取高峰出现在注射后 1 min, 血液的放射性摄取值为 14.10 \pm 0.81。各个时间点, ^{18}F -FINH-Me 在肝和肾摄取较多, 表示其主要经肝肾代谢; 骨的摄取量最少, 并且随着时间的推移保持稳定, 表明 ^{18}F -FINH-Me

表 1 ^{18}F -FINH-Me 注射后不同时间在正常小鼠体内的生物分布 [%ID/g; $\bar{x}\pm s$ 或 $M(P_{25}, P_{75})$]

器官	注射后不同时间的放射性摄取值				
	1 min	5 min	15 min	30 min	60 min
心脏	5.74 \pm 0.72	4.90 \pm 2.01	2.56 \pm 1.05	2.15 \pm 1.51	1.76 \pm 0.52
肝	13.23 \pm 1.07	11.23 \pm 0.93	7.36 \pm 1.21	4.53 \pm 0.60	2.97 \pm 0.43
脾脏	2.95(1.70, 3.97)	1.44(0.82, 3.25)	0.53(0.33, 3.13)	1.19(0.57, 2.16)	1.20 \pm 0.68
肺	4.24 \pm 0.91	4.03 \pm 1.03	3.41 \pm 1.11	2.14 \pm 0.21	1.85 \pm 0.41
肾	7.30 \pm 1.02	6.48 \pm 0.62	5.63 \pm 0.71	5.39 \pm 1.02	4.35 \pm 2.04
肌肉	1.03(0.53, 1.80)	0.79(0.46, 2.26)	0.35(0.13, 2.14)	0.56(0.37, 1.29)	0.59(0.27, 1.05)
骨骼	1.07(0.36, 3.46)	1.24(0.06, 3.10)	0.72(0.28, 2.24)	0.41(0.24, 1.93)	0.78(0.14, 1.29)
血液	14.10 \pm 0.81	11.59 \pm 1.33	5.46 \pm 1.16	3.40 \pm 0.30	1.42 \pm 0.33

注: 每个时间点小鼠数量为 5 只; ^{18}F -FINH-Me 为 (2-((2-6- ^{18}F) 氟-5-(氨基) 吡啶-2-基) 苯并噻唑-6-基) 硫代) 乙醇, %ID/g 为每克组织百分注射剂量率

在体内没有脱氟。

3. MircoPET/CT 显像(图 2)。AD 模型鼠的体质量高于正常小鼠(46.63 ± 1.71)和(23.04 ± 1.13) g ($t = 25.606, P < 0.001$)。MircoPET/CT 显像示 AD 模型鼠脑部有明显的放射性摄取,且药物注射入体内后迅速进入脑组织,脑内显像剂在 1~2 min 达到峰值,清除较快,1、5、30 和 60 min 时全脑 SUV 分别为 0.73 ± 0.17 、 0.56 ± 0.08 、 0.31 ± 0.06 和 0.25 ± 0.09 ;而正常小鼠在 1 min 时脑内显像剂摄取达到峰值,1、5、30 和 60 min 时全脑 SUV 分别为 0.47 ± 0.12 、 0.29 ± 0.04 、 0.21 ± 0.05 和 0.20 ± 0.11 ,整个显像过程中没有发现脑部异常的放射性浓聚和滞留。AD 模型鼠各时间点全脑 SUV 高于正常小鼠(t 值: $3.643 \sim 6.700$,均 $P < 0.05$)。

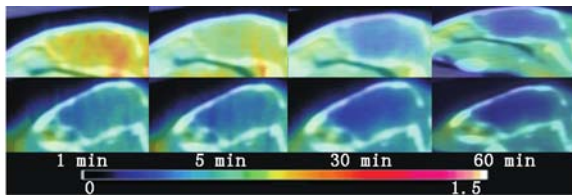


图 2 人淀粉样蛋白前蛋白(APP^{swe})/人早老素-1(PS1-dE9)转基因小鼠(APP/PS1 小鼠,阿尔茨海默病模型小鼠,上排)及 C57BL/6 小鼠(正常小鼠,下排)在不同时间点的 2-((2-6-[¹⁸F]氟-5-(甲氨基)吡啶-2-基)苯并噻唑-6-基)硫代)乙醇(¹⁸F-FINH-Me)mircoPET/CT 显像图。可见 APP/PS1 小鼠脑内有明显的放射性摄取,而 C57BL/6 小鼠脑部无异常的放射性浓聚

4. 小鼠脑内 A β 的免疫组织化学检测(图 3)。AD 模型鼠脑内可见丰富的 A β 斑块沉积,主要集中在皮质和海马,而正常 C57BL/6 小鼠脑内并未见到 A β 斑块沉积。

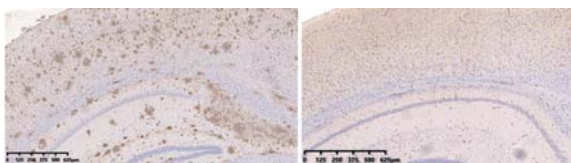


图 3 APP^{swe}/PS1-dE9 转基因小鼠(APP/PS1 小鼠,阿尔茨海默病模型鼠,左)及 C57BL/6 小鼠(正常小鼠,右)脑组织 β -淀粉样蛋白(A β)斑块的免疫组织化学检查图[二氨基联苯胺(DAB)显色 $\times 4$]。结果显示 APP/PS1 小鼠脑组织可见 A β 斑块沉积,C57BL/6 小鼠脑组织未见 A β 斑块

5. 人脑切片的放射自显影(图 4)。结果显示¹⁸F-FINH-Me 对 AD 患者脑内沉积 A β 斑块高标记,而在健康志愿者的脑切片中未出现特异性标记。

讨 论

A β 是 β -淀粉样前体蛋白(β -amyloid precursor

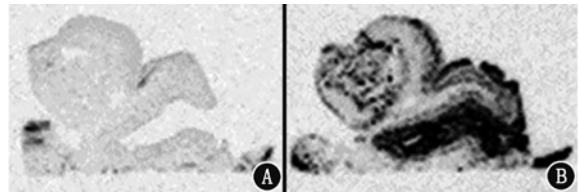


图 4 ¹⁸F-FINH-Me 标记的冷冻人脑组织切片放射自显影图($\times 2$)。A.健康志愿者(女,66 岁),未见特异性标记;B.阿尔茨海默病患者(女,69 岁),可见 A β 斑块高标记

protein, APP) 经过 β 和 γ 分泌酶的共同剪切作用形成。由于 γ 分泌酶剪切位点的不同,可以形成 A β_{1-42} 和 A β_{1-40} 。现在认为 A β_{1-42} 是形成老年斑的基本成分^[8]。随着 A β PET 显像剂的研制成功和定量分析方法的改进,PET 将为 AD 病因学研究以及诊断和治疗发挥更大作用。

本研究旨在评价一种新型的 A β 显像剂(¹⁸F-FINH-Me)针对 A β 的亲和性及其生物安全性等。本研究利用自动化合成模块,简化标记流程,可获得高比活度、高放化纯、高产率的¹⁸F-FINH-Me,该 A β 探针的理化性质满足临床用药的要求;体外 4 h 内仍保持高放化纯,无脱氟现象发生。体内生物分布结果显示,¹⁸F-FINH-Me 主要经肝肾代谢,骨的摄取始终没有明显增加,这表明¹⁸F-FINH-Me 在体内无脱氟,稳定性好,与既往报道的 A β 显像剂的代谢途径类似^[11-17]。

理想的 A β 显像剂应该具有一定的脂溶性,可穿过血-脑屏障,注射后可快速到达脑内特定部位,并且对 A β 斑块有特异性结合位点,选择性好,亲和力高,清除快。本研究中 AD 模型鼠——APP/PS1 小鼠中表达 PS1-dE9 和 APP^{swe} 融合蛋白,其中 PS1-dE9 突变是由该基因第九外显子缺失引起的,这可能导致早发性 AD^[18]。APP/PS1 小鼠在 9 月龄时,海马和皮质即有丰富的 A β 斑块沉积,随着年龄增长,脑内 A β 沉积也愈加丰富。AD 鼠的 PET 显像结果表明,¹⁸F-FINH-Me 可迅速进入大脑,在 1~2 min 内达到峰值,并以较快的速度清除,30 min 时脑内放射性明显减少,60 min 后基本与本底无异;而在整个过程中,C57BL/6 小鼠脑内的放射性摄取较少,这可能是由于本研究中所使用的 C57BL/6 小鼠平均体质量明显低于转基因鼠($t = 25.606, P < 0.001$),其大脑的血流量相对要低,所以实际进入脑中的显像剂少^[19],导致注射后 AD 模型鼠的脑组织放射性摄取明显高于 C57BL/6 小鼠(t 值: $3.643 \sim 6.700$,均 $P < 0.05$)。此外,PET/CT 显像后,实验鼠

经脱颈处死后,取脑组织进行免疫组织化学检测,结果表明 AD 模型鼠脑部有较多 A β 斑块沉积,而正常鼠没有发现明显异常,因此 ^{18}F -FINH-Me 可能与 AD 模型鼠脑内 A β 斑块特异性结合,导致 AD 模型鼠脑内显像剂的摄取量及滞留时间均高于 C57BL/6 小鼠。 ^{18}F -FINH-Me 具有良好的脑内洗脱速度,符合理想 A β 显像剂的要求。然而受 mircoPET/CT 分辨率的影响,难以判断显像剂沉积的具体区域。此外,有研究显示 19 月龄 APP/PS1 小鼠的小脑内已有 A β 斑块的沉积,所以对定量分析而言,小脑并不是理想的参考区域^[18]。

Snellman 等^[19]使用 ^{11}C -PIB 对 7~9、12、15 以及 18~22 月龄的 3 种 AD 模型鼠:人淀粉样蛋白前蛋白 K670N/M671L-APP751(简称 APP23)、人淀粉样蛋白前蛋白 K670N/M671L-APP695(简称 Tg 2576)以及 APP/PS1 小鼠进行纵向显像研究,结果表明 ^{11}C -PIB 在 22 月龄的 APP23 小鼠脑内滞留明显增加,而在 22 月龄的 Tg2576 及 APP/PS1 小鼠脑内的滞留率未出现明显增加;3 种 AD 模型鼠脑内 A β 的免疫组织化学检测结果也大不相同,APP23 小鼠脑内的 A β 斑块大而致密,Tg2576 及 APP/PS1 小鼠脑内的斑块结构则较为松散,脑内出现弥散性 A β 斑块。Bacskaï 等^[17]使用多光子显微镜证明 PIB 进入 AD 模型鼠脑内与致密型斑块结合,而与弥漫性淀粉样蛋白不结合。所以转基因小鼠 A β 斑块的结构差异,或许导致了显像剂与其结合位点的不同,因此会表现出不同的结合力。尽管在本研究中,AD 患者死后脑切片的放射性自显影结果可证明 ^{18}F -FINH-Me 可与 AD 患者脑内 A β 斑块结合,但在动物实验中没有直接证明 ^{18}F -FINH-Me 可与 APP/PS1 小鼠脑内弥散性 A β 斑块结合,这是本研究的局限性,本课题组今后需要证明 ^{18}F -FINH-Me 是否能够鉴别由于缺乏 A β 纤维而导致的弥漫性病变,从而对 ^{11}C -PIB 的适用范围进行补充。

总之,本研究结果表明,通过自动化模块合成的 ^{18}F -FINH-Me 放化纯高,产率高且稳定;mircoPET/CT 显像示 ^{18}F -FINH-Me 在小鼠脑内洗脱速度快,并且可能会跟 AD 模型鼠脑内弥漫性病变结合;AD 患者脑切片的放射自显影结果表明 ^{18}F -FINH-Me 对 A β 具有较高的靶向性。因此, ^{18}F -FINH-Me 值得进行更深入的临床前研究,进一步验证 ^{18}F -FINH-Me 与 A β 结合的机制,为其临床应用提供更可靠的实验数据。

志谢 本研究得到上海如絮生物科技有限公司、美国国立卫生研究

院蔡利生博士的协助

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Scheltens P, Blennow K, Breteler MM, et al. Alzheimer's disease[J]. Lancet, 2016, 388(10043): 505-517. DOI:10.1016/S0140-6736(15)01124-1.
- [2] Frisoni GB, Boccardi M, Barkhof F, et al. Strategic roadmap for an early diagnosis of Alzheimer's disease based on biomarkers[J]. Lancet Neurol, 2017, 16(8): 661-676. DOI:10.1016/S1474-4422(17)30159-X.
- [3] Lancet T. Alzheimer's disease: expedition into the unknown[J]. Lancet, 2016, 388(10061): 2713. DOI:10.1016/S0140-6736(16)32457-6.
- [4] Pasinetti GM. Towards prevention and therapy of Alzheimer's disease[J]. Mol Aspects Med, 2015, 43-44: 1-2. DOI:10.1016/j.mam.2015.09.001.
- [5] Villemagne VL. Amyloid imaging: past, present and future perspectives[J]. Ageing Res Rev, 2016, 30: 95-106. DOI:10.1016/j.arr.2016.01.005.
- [6] Barthel H, Sabri O. Clinical use and utility of amyloid imaging[J]. J Nucl Med, 2017, 58(11): 1711-1717. DOI:10.2967/jnumed.116.185017.
- [7] Frey KA. Molecular imaging of extrapyramidal movement disorders [J]. Semin Nucl Med, 2017, 47(1): 18-30. DOI:10.1053/j.semmuclmed.2016.09.007.
- [8] Klunk WE, Lopresti BJ, Ikonovic MD, et al. Binding of the positron emission tomography tracer Pittsburgh compound-B reflects the amount of amyloid-beta in Alzheimer's disease brain but not in transgenic mouse brain[J]. J Neurosci, 2005, 25(46): 10598-10606. DOI:10.1523/JNEUROSCI.2990-05.2005.
- [9] Klunk WE, Mathis CA, Price JC, et al. Two-year follow-up of amyloid deposition in patients with Alzheimer's disease[J]. Brain, 2006, 129(Pt 11): 2805-2807. DOI:10.1093/brain/awl281.
- [10] Schöll M, Wall A, Thordardottir S, et al. Low PiB PET retention in presence of pathologic CSF biomarkers in Arctic APP mutation carriers[J]. Neurology, 2012, 79(3): 229-236. DOI:10.1212/WNL.0b013e31825f5df18.
- [11] Ji B, Chen CJ, Bando K, et al. Distinct binding of amyloid imaging ligands to unique amyloid- β deposited in the presubiculum of Alzheimer's disease[J]. J Neurochem, 2015, 135(5): 859-866. DOI:10.1111/jnc.13293.
- [12] Snellman A, Rokka J, López-Picón FR, et al. Applicability of [^{11}C] PIB micro-PET imaging for *in vivo* follow-up of anti-amyloid treatment effects in APP23 mouse model[J]. Neurobiol Aging, 2017, 57: 84-94. DOI:10.1016/j.neurobiolaging.2017.05.008.
- [13] Snellman A, Rokka J, Lopez-Picon FR, et al. Pharmacokinetics of [^{18}F]flutemetamol in wild-type rodents and its binding to beta amyloid deposits in a mouse model of Alzheimer's disease[J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2012, 39(11): 1784-1795. DOI:10.1007/s00259-012-2178-9.
- [14] Chen CJ, Bando K, Ashino H, et al. *In vivo* SPECT imaging of amyloid- β deposition with radioiodinated imidazo[1,2-a]pyridine derivative DRM106 in a mouse model of Alzheimer's disease[J]. J Nucl Med, 2015, 56(1): 120-126. DOI:10.2967/jnumed.114.146944.
- [15] Juréus A, Swahn BM, Sandell J, et al. Characterization of AZD4694,

- a novel fluorinated A β plaque neuroimaging PET radioligand[J]. J Neurochem, 2010, 114(3): 784-794. DOI:10.1111/j.1471-4159.2010.06812.x.
- [16] Choi SR, Golding G, Zhuang Z, et al. Preclinical properties of ¹⁸F-AV-45: a PET agent for Abeta plaques in the brain[J]. J Nucl Med, 2009, 50(11): 1887-1894. DOI: 10.2967/jnumed.109.065284.
- [17] Baacskaï BJ, Hickey GA, Skoch J, et al. Four-dimensional multiphoton imaging of brain entry, amyloid binding, and clearance of an amyloid-beta ligand in transgenic mice[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2003, 100(21): 12462-12467. DOI: 10.1073/pnas.2034101100.
- [18] Jankowsky JL, Fadale DJ, Anderson J, et al. Mutant presenilins specifically elevate the levels of the 42 residue beta-amyloid peptide *in vivo*: evidence for augmentation of a 42-specific gamma secretase[J]. Hum Mol Genet, 2004, 13(2): 159-170. DOI:10.1093/hmg/ddh019.
- [19] Snellman A, López-Picón FR, Rokka J, et al. Longitudinal amyloid imaging in mouse brain with ¹¹C-PIB: comparison of APP23, Tg2576, and APPswe-PS1dE9 mouse models of Alzheimer disease[J]. J Nucl Med, 2013, 54(8): 1434-1441. DOI: 10.2967/jnumed.112.110163.

(收稿日期:2020-01-09)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

关于论著文稿中中、英文摘要的书写要求

根据 GB 6447-86 的定义,文摘是以提供文献内容梗概为目的,不加评价和解释,简明确切地记述文献重要内容的短文。摘要应具有自明性和独立性,并拥有与一次文献同等量的主要信息。即不阅读全文就能获得必要的信息。它的详简程度取决于文献的内容,通常中文文摘以不超过 400 字为宜。应以第三人称的语气书写。不要使用“本人”、“作者”、“我们”等作为陈述的主语。

摘要的内容应包括四个要素,即目的、方法、结果、结论。(1)目的:指研究的前提和缘起,即为为什么要作此项研究,可以有简单的背景材料。(2)方法:指研究所用的原理、对象、观察和实验的具体方法等。(3)结果:指研究的结果、效果、数据等,着重反映创新性的、切实可行的成果,包括本组研究中的重要数据。(4)结论:指对结果进行综合分析,逻辑推理得出的判断。有的可指出实用价值和推广价值;如有特殊例外的发现或难以解决的问题,可以提出留待今后深入探讨。英文摘要的内容与中文摘要的内容要求大体一致。

英文摘要要求做到语法正确,用词准确,与中文摘要对应,方法、结果可略详于中文摘要。必要时,作者在投稿前请英文书写水平高的人员帮助修改。英文文题后列出全部作者及其单位、科室(包括城市、邮编)的英文规范表达。要求使用 A4 纸打印,行间距为 2 行,纸边距两边各留 2~3 cm。

敬请广大读者、作者周知,并遵照此要求投稿。

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