

CD13 靶向分子探针在肿瘤新生血管显像与治疗中的研究进展

武明豪 张燕燕 曹琳 张雪宁 叶兆祥

天津医科大学肿瘤医院放射科、国家肿瘤临床医学研究中心、天津市肿瘤防治重点实验室、天津市恶性肿瘤临床医学研究中心 300060

通信作者:叶兆祥, Email: yezhaoxiang@163.com

【摘要】 肿瘤新生血管生成在癌症发生、发展和转移过程中起着重要作用。非侵入性定量和检测新生血管生成对于癌症的早期诊断以及预后评估十分重要。基于新生血管生成的分子特征,靶向分子显像在肿瘤新生血管显像与精准治疗中发挥关键作用。氨基肽酶 N (APN, 又称 CD13) 是一种在新生血管内皮细胞和部分肿瘤细胞中过量表达,而在正常组织血管中鲜有表达的多功能的膜结合外显肽酶,是新生血管显像和抗血管生成治疗的潜在靶点。通过系统分析近年来有关 CD13 分子靶向技术的研究,该文总结了基于 CD13 分子靶向显像及精准治疗的应用进展及发展趋势。

【关键词】 肿瘤;新生血管化,病理性;血管生成抑制剂;抗原,CD13;发展趋势

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2019.11.013

Research progress of CD13-targeted molecular probe in tumor neovascularization imaging and therapy

Wu Minghao, Zhang Yanyan, Cao Lin, Zhang Xuening, Ye Zhaoxiang

Department of Radiology, Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital, National Clinical Research Center for Cancer, Key Laboratory of Cancer Prevention and Therapy, Tianjin and Tianjin's Clinical Research Center for Cancer, Tianjin 300060, China

Corresponding author: Ye Zhaoxiang, Email: yezhaoxiang@163.com

【Abstract】 Tumor neovascularization plays an important role in the occurrence, development and metastasis of cancer. Non-invasive quantification and detection of tumor neovascularization is crucial for early diagnosis and prognosis assessment of cancer. Targeted molecular imaging has arisen in vascular targeting imaging and precise treatment based on the molecular characteristics of neovascularization. Aminopeptidase N (APN, or CD13) is a multifunctional membrane-bound exopeptidase that is overexpressed in neovascular endothelial cells and some tumor cells but rarely expressed in normal blood vessels, which makes it a potential target for tumor neovascularization imaging and anti-angiogenic therapy. This review summarizes the application progress and the future development trend of target molecular imaging and precise treatment based on CD13.

【Key words】 Neoplasms; Neovascularization, pathologic; Angiogenesis inhibitors; Antigens, CD13; Trends

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2019.11.013

血管生成在许多疾病病理过程中起着至关重要的作用,比如糖尿病、动脉粥样硬化以及肿瘤发生和进展。肿瘤诱导的新生血管生成是肿瘤从休眠状态向恶性转变的开始,并且是与肿瘤转移密切相关的关键事件^[1-2],是由生长因子、细胞受体、蛋白酶和黏附分子等介导的复杂的多步级联过程。评估肿瘤新生血管生成成为准确诊断肿瘤发生、鉴定肿瘤分期以及预测侵袭风险提供了新的途径。微血管密度(microvessel density, MVD)检测是一种评估血管生成的方法,研究已证实 MVD 与肿瘤转移率及患者生存时间相关^[2]。但是 MVD 并不能反映肿瘤新生血管的功能,且大部分肿瘤新生血管分布存在异质性,特定样本可能低估或高估血管生成;此外,MVD 检测属于侵入性方法,并且需要完整的组织样本^[3]。因此,开发非侵入性体内监测血管生成的技术十分必要。

分子影像可在活体状态下显示组织到分子水平的功能

结构信息^[4]。通过将纳米粒子与生物分子组成的分子探针引入体内,可对肿瘤进行非侵入性可视化探测;亦可同时携带治疗药物或功能分子(如化疗药物、放疗制剂、光热制剂及光敏剂等),达到诊疗一体化效果^[5-7]。基于“受体-配体特异性结合”的主动靶向设计理念,发展特异性识别肿瘤或肿瘤新生血管的探针,再将探针用于体内靶向肿瘤显像和治疗,可以有效提高早期微小肿瘤或微小转移灶的检出率和治疗效果^[8-9]。内皮细胞增殖是肿瘤血管生成的重要因素,血管生成因子受体、整合素 $\alpha_v\beta_3$ 、氨基肽酶 N (又称 CD13) 等蛋白多肽在实体瘤新生血管内皮细胞高表达,而在成熟的血管内皮细胞和正常组织器官中低表达,甚至不表达^[10-13]。其中,CD13 是一种膜结合的锌依赖性金属蛋白酶,在肿瘤侵袭和血管生成中起着关键作用^[14-15]。研究表明,含有天冬酰胺-甘氨酸-精氨酸(Asn-Gly-Arg, NGR)序列的多肽可特异性识别

别肿瘤新生血管内皮细胞表面的 CD13 受体^[16],且 NGR 多肽检测新生血管的能力比靶向整合素的精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(Arg-Gly-Asp, RGD)多肽高 3 倍左右^[17]。基于 NGR 多肽的靶向显像探针被广泛应用于肿瘤新生血管评估和肿瘤恶性程度、转移风险预测,已成为近年来研究的热点。本文就 CD13 分子为靶点的纳米探针在肿瘤新生血管显像检测及评估方面的进展进行综述,重点关注不同成像模态中纳米探针的设计及其应用。

一、核素显像与其指导下的治疗

核素显像是通过将放射性核素引入体内,从分子水平反映生物体代谢与功能信息的方法,其检测灵敏度高,可发现解剖结构未出现明显变化前的隐匿性病灶,是最早应用于分子影像的一种影像学检查^[18-19]。

Ma 等^[20]将⁹⁹Tc^m 标记的 NGR 多肽成功用于体内肿瘤新生血管的 SPECT 显像,结果显示肿瘤部位探针浓聚,与背景信号分界清楚,且有较长的显像时间。Zhang 等^[21]合成的⁶⁸Ga 偶联 NGR 分子探针也证实可特异性靶向 CD13 受体,用于体内肿瘤新生血管 PET 显像。此后,为了增强放射性核素的稳定性,降低游离核素对显像效果的影响以及对人体的伤害, Kim 等^[22]研究出谷氨酸-半胱氨酸-甘氨酸(Glu-Cys-Gly, ECG),该药具有很强的放射性核素螯合能力。在此基础上, Kim 等^[23]又合成了一种同时具有靶向能力和螯合功能的新型双功能多肽——六肽 ECG-NGR,其既能特异性结合 CD13 受体又可以高效螯合核素,显示出良好的靶向显像效果。

虽然大多数基于 NGR 多肽的探针可与 CD13 受体结合靶向至肿瘤,但这类探针具有较低肿瘤摄取率和较弱药代动力学性质等缺点,限制了其在体内显像和治疗中的应用^[24]。配体多聚化已被证明是一种增强体内靶向能力、提高肿瘤摄取效率的有效方法,且对发展新型高效显像剂和实现精准靶向药物治疗具有积极意义^[25]。Chen 等^[26]利用⁶⁴Cu 分别标记单体和二聚体 NGR 多肽进行体内显像,实时 PET 显像结果显示,⁶⁴Cu 标记的二聚体 NGR 多肽在肿瘤部位的聚集量明显高于单体 NGR 多肽,表明二聚体 NGR 多肽相对于单体 NGR 多肽具有更强靶向 CD13 的能力。基于单体、二聚体以及四聚体 RGD 多肽靶向能力的研究推断^[27],可能是由于多聚体 NGR 多肽的多价效应,导致受体与配体的相互作用增强,从而提高了受体的识别能力。

NGR 多肽的结构对其靶向能力也会产生重要的影响。Arap 等^[17]报道了线性和环状结构的 NGR 多肽,其中环化的 NGR(cNGR)由 2 个半胱氨酸中的巯基所形成的二硫键构成,二硫键可以有效阻止多肽的氨基水解,增强对 CD13 受体的亲和性。有研究通过比较线形和 cNGR 多肽负载肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)的抗肿瘤活性,证明 cNGR 的靶向能力是线状 NGR 的 10 倍^[28]。近年来,基于 cNGR 的新型分子靶向探针得到广泛研究。宛楠等^[29]成功合成了⁶⁸Ga-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)-cNGR,并证明该探针具有优异的 CD13 靶向能力,可进行肿瘤新生血管靶向显像。Shao 等^[30]设计了一种新型的含有 cNGR 的多肽 G3-cNGR,通过偶联核素⁶⁸Ga 合成了可靶向 CD13 受体的核素探针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)-G3-cNGR,并证实其具有较强的肿瘤新生血管靶向显像能力。

有些核素(如¹³¹I,¹⁸⁸Re 等)兼具有治疗的功能,可使靶向显像与精准治疗有效地结合。王任飞等^[31]将¹³¹I 标记抗血管内皮生长因子受体(anti-vascular endothelial growth factor receptor, anti-VEGFR)2 制成具有靶向性的纳米载体,评价其对未分化甲状腺癌(anaplastic thyroid carcinoma, ATC)的抑瘤作用,SPECT/CT 显像示靶向组肿瘤内放射性分布明显强于非靶向组;生存曲线分析示靶向组的生存期明显高于非靶向组,说明¹³¹I 标记的 anti-VEGFR2 可抑制 ATC 生长,延长荷瘤裸鼠生存期,在 ATC 治疗和预后评估中有良好的效果。¹⁸⁸Re 兼具 SPECT 显像与核素内照射治疗作用,王涛等^[32]将¹⁸⁸Re 标记到 BaGdF₅-聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG)表面,合成为一种集 CT/MR/SPECT 多模态显像与核素治疗功能于一体的诊疗剂,其在体外对肝癌细胞增殖具有很好的抑制作用,经肝动脉介入给药后可见其在肝肿瘤部位聚集,说明该诊疗剂不仅可用于肿瘤 SPECT 显像,还有潜在的治疗作用,未来可将 NGR 等具有靶向性的多肽与其相连应用于体内的精准治疗。

二、光学成像与其指导下的治疗

光学成像具有高灵敏度、多色成像能力、成像过程相对简单以及直接持续非侵入性观察等特点,且不会产生电离辐射,比较安全。常用的光学成像技术有荧光成像和生物发光成像,但组织中的强散射导致的低空间分辨率限制了这些技术的临床应用。活体内的血红蛋白、水和脂质等对波长范围大约在 650~900 nm 的近红外荧光的吸收系数最低,因此,近红外荧光可穿透更深层人体组织,易于探测来自深部组织的肿瘤新生血管所发出的荧光信号。近红外荧光成像(near infrared fluorescence imaging, NIFRI)的研究主要是针对各种特异性靶向探针的合成及其在不同疾病(如肿瘤、炎症反应、心血管疾病等)中的实验性应用研究,重点集中在疾病的早期诊断及疗效的动态监测,从分子水平为疾病的发生、发展、转归提供精确信息。因此,NIFRI 对肿瘤新生血管的评估具有重要意义。

1. 荧光染料介导的靶向光学成像。由于近红外染料具有较小的光损伤、较深的组织渗透及较弱的背景自发荧光等优点,基于近红外染料的分子探针得到广泛研究。von Wallbrunn 等^[33]合成染料 Cy5.5 标记的 NGR 探针,将其用于非侵入性肿瘤 CD13 受体的光学成像监测和定量分析,从而为体内肿瘤新生血管敏感评估提供了一种有效的策略。Li 等^[34]合成了 Cy5.5 标记的二聚体 NGR 多肽探针,通过 NIFRI 评估肿瘤新生血管 CD13 受体的表达情况,结果显示该分子探针可大量聚集在肿瘤新生血管的部位,不仅可以用于肿瘤新生血管显像,还可进行肿瘤新生血管 CD13 受体靶向治疗效果的监测。Buehler 等^[35]合成了荧光染料俄勒冈绿 488 修饰的 cNGR 荧光探针,将其应用于心肌的新生血管显像中,也取得了不错的显像效果。

Garde 等^[36]利用脂质体同时包裹荧光制剂与化疗药物合成功能化的 NGR 靶向探针,该纳米探针可被 CD13 阳性癌细胞特异性内吞,达到显像与治疗同步的效果。Ma 等^[37]合成了一种新型的血管内皮生长抑制剂(vascular endothelial

growth inhibitors, VEGI) 修饰的 NGR 多肽(NGR-VEGI), 对其进行 Cy5.5 标记, 构建了一种可同时进行靶向肿瘤 NIFRI 和治的多功能分子探针。该纳米探针可特异性靶向肿瘤新生血管, 通过荧光成像对其进行可视化定量分析, 同时 VEGI 被特异性传递到肿瘤新生血管部位, 实现成像诊断与定向治疗一体化。

2. 量子点介导的靶向光学成像。量子点是一种尺寸在 2~10 nm 范围的半导体纳米晶体, 通常是由半导体材料组成的核壳结构, 这种核壳结构保证了内层核金属发出的荧光不被淬灭, 从而增强其荧光量子产率。与传统有机染料相比, 量子点属于新型的无机近红外荧光标记材料, 其发射带窄, 吸收带宽, 不易淬灭和分解, 光稳定性强, 且量子产率及荧光密度相对较高, 这使其在长时间生命活动监测及活体示踪方面具有独特的应用优势。Smith 和 Giorgio^[38] 使用 NGR 修饰量子点制成多功能纳米探针, 并通过流式细胞术定量分析此多功能量子点与细胞靶向结合效果。Huang 等^[39] 将 NGR 多肽修饰至 CdSe/ZnS 量子点表面, 其可通过 NGR 介导的靶向转运机制越过血-脑屏障, 同时靶向肿瘤新生血管内皮细胞及肿瘤细胞, 到达脑部的肿瘤部位; 该研究还发现用于诊断所需的安全剂量远远小于其他报道的最小剂量, 促进了量子点在医学应用方面的临床转化。

三、CT 检查与其指导下的治疗

由于人体软组织密度差异不明显, CT 的分辨率较低, 难以清晰显示没有对比剂充盈的新生血管。目前临床常用的对比剂是碘化合物, 但是小分子碘对比剂可迅速从肾脏排出, 这使其应用受限。更重要的是, 相当数量的患者对碘对比剂过敏, 从而延迟了疾病的诊断。为解决以上问题, Dunne 等^[40] 首先将传统碘对比剂用磷脂包裹制成脂质体, 再连接 PEG 修饰的 NGR 多肽, 合成可特异性靶向肿瘤新生血管 CT 成像的纳米粒子探针——NGR-PEG-二硬脂酰基磷脂酰乙醇胺(distearoyl phosphoethanolamine, DSPE)。该纳米粒子探针通过将传统碘对比剂包裹进脂质体中, 使不良反应减少, 同时利用 NGR 靶向特异性增强探针在肿瘤部位的聚集。

无机纳米粒子作为对比剂在 CT 成像中具有广泛前景, 除了可使对比度增强之外, 还具有很长的血液循环时间和额外功能(比如金纳米粒子的放疗增敏作用)。贵金属(如 Au、Bi、Ag) 因其高的原子序数和 X 线吸收衰减系数有望成为下一代新型 CT 对比剂。Wu 等^[41] 对 cNGR 进行了半胱氨酸修饰, 使其末端游离出一个巯基, 并通过 Au—S 键一步将靶向肽连接到金纳米粒子表面, 用于靶向乳腺癌新生血管 CT 成像, 为临床评估乳腺癌恶性程度及转移风险提供新的方法。Shi 等^[42] 合成氧化石墨烯(graphene oxide, GO) 与贵金属银的复合物(GO-Ag), 通过 $\pi-\pi$ 键将化疗药物阿霉素(doxorubicin, DOX) 载到 GO 上, 然后对其进行 NGR 靶向修饰, 最终成功构建了诊疗一体化平台 GO@Ag-DOX-NGR。其中, 金属银可以在近红外激光诱导下控制药物的释放, 且可以吸收近红外光转化为热能, 产生光热治疗效果, 同时还可以进行 CT 成像, 该纳米平台可实现 CT 成像指导下的化疗-光热一体化治疗。

四、MRI 与其指导下的治疗

MRI 无创, 具有很高的软组织分辨率, 这对肿瘤新生血

管显像尤为重要。与 CT 相比, MRI 不使用任何电离辐射, 且具有多参数成像特点, 是一种更安全可靠成像模式^[43]。目前临床常用的对比剂是基于 Gd^{3+} 、 Mn^{2+} 和 Fe^{3+} 等顺磁性的金属复合物, 其拥有大量未配对的电子, 有平行自旋和自旋弛豫时间, 可以在合适的磁场中与质子旋进的频率相匹配。然而, 由于其灵敏度低, 肾毒性、神经毒性高以及体内代谢迅速等缺点, 限制了其在临床上的应用。因此, 研究一种新的长循环的低毒对比剂成为关注的重点。

1. 基于 Gd-复合物的靶向 T_1 成像与治疗。通过对传统 MRI 对比剂进行靶向修饰可有效克服其缺点。Dirksen 等^[44] 首次利用天然化学结扎法合成了 cNGR 功能化的 Gd III-二乙撑三胺五乙酸(diethylene triamine pentaacetic acid, DTPA) 复合物, 并应用于肿瘤新生血管显像。Langereis 等^[45] 采用一种替代的简便方法成功合成了 cNGR 功能化的 Gd III-DTPA 复合物, 该方法首先对 Gd III-DTPA 进行赖氨酸修饰, 然后对其进行异氰酸酯功能化, 最后通过酰胺反应与 cNGR 相连接, 这种合成方法可延伸到 Gd III-DTPA 的其他靶向肽修饰中。Yan 等^[46] 成功合成了一种 Gd III-DTPA 与 DOX 负载的靶向 CD13 的单壁碳纳米管(single-wall carbon nanotubes, SWNTs) 诊疗一体化探针——cNGR-SWCNTs/Gd-DTPA。该纳米探针可有效地聚集在肿瘤部位, 增强 MRI 效果; 此外, 该纳米探针负载的化疗药物 DOX 可特异性在肿瘤部位聚集, 实现在靶向显像指导下的精准药物输送, 监测化疗效果。为了进一步增强肿瘤新生血管靶向特异性, Yang 等^[47] 设计合成了基于 RGD 与 NGR 的双靶向 MRI 对比剂, 该纳米探针可同时特异性靶向肿瘤新生血管内皮细胞 CD13 和整合素 $\alpha_v\beta_3$ 受体, 提高受体与配体结合程度, 具有优异的肿瘤新生血管靶向显像能力。

2. 基于 Fe-复合物的 T_2 成像与治疗。 Fe_3O_4 纳米粒子可以产生磁化效应, 通过缩短 MRI 的 T_2 信号, 产生较强的阴性对比, 增强组织对比度, 是理想的 MRI 阴性对比剂。目前研究最多的 2 种为超小超顺磁性氧化铁(ultrasmall superparamagnetic iron oxide nanoparticles, USPIO) 与超顺磁性氧化铁(superparamagnetic iron oxide nanoparticles, SPION)。USPIO 的粒径更小, 可以减弱与血浆中蛋白的作用, 从而被快速排出体外。重要的是, USPIO 不易被网状内皮细胞系统吞噬, 更易通过毛细血管壁, 有效地进入实体瘤, 具有更加优异的 MRI 造影性能。但由于其不具有特异性, 导致显像背景信号较高, 效果不是很理想。Wolters 等^[48] 合成了 cNGR 标记的 USPIO 纳米粒子探针, 并将其用于肿瘤新生血管显像。吴琼雅等^[49] 构建了可特异性靶向肿瘤新生血管内皮细胞 CD13 和整合素 $\alpha_v\beta_3$ 受体的双靶向纳米探针——RGD/NGR-USPIO, 增加了靶向肿瘤新生血管的分子数量, 增强了与靶细胞的亲和力。

五、多模态显像与其指导下的治疗

多模态显像是将单一显像方式融合, 综合不同的结构和功能信息来提高诊断准确性, 可规避单一显像模式的局限性, 近年来受到很大的关注。SPECT 或 PET 是一种高度灵敏和可定量的平移工具, 但分辨率有限(μm 级), 且不提供解剖信息; MRI 广泛用于区分软组织的微小变化, CT 空间分辨率高($<50 \mu m$), 两者适合解剖重建, 但对分子细节不敏

感;荧光成像则可以观察从全身宏观水平到细胞组织水平,再深入到基因分子水平的全范围显像,但受限于有限成像深度(<厘米级)。每种显像技术的内在限制可以通过多模态成像来克服,如 PET/CT、PET/MR 等。随着纳米技术的发展,多模态成像平台得到了迅速发展。Dirksen 等^[44]设计合成了一种基于荧光染料俄勒冈绿 488 和 Gd-DTPA 的荧光核磁双模态靶向探针,可同时对肿瘤新生血管进行光学与核磁成像,为灵敏检测新生血管提供了一种新的方法。Buehler 等^[35]合成了一种同时偶联俄勒冈绿 488 与量子点的 cNGR 的荧光探针,并应用于小鼠心脏新生血管显像。Oostendorp 等^[50]合成了一种 cNGR 和 Gd-DTPA 功能化的靶向磁性量子点 cNGR-pQDs,通过量化核磁成像来评估肿瘤新生血管,证实新生血管主要集中在肿瘤周围,并通过体外双光子激光扫描显微镜进行确认。之后,Oostendorp 等^[51]又进一步将该纳米粒子探针应用于急性心肌梗死后的新生血管显像中。此外,还有将超声与光学结合的研究^[52],均为弥补单一显像的不足提供解决思路与方法。

六、总结与展望

NGR 多肽连接具有诊疗一体的功能性纳米粒子,具有选择性肿瘤靶向、纳米粒子高渗透长滞留效应、无辐射损伤、多价效应亲和力和、增敏性和热转换性质等优点,使其成为肿瘤特异性递送对比剂与药物最广泛的平台,同时为临床提出了更多的治疗方法,如光热治疗、光动力治疗等,大大推动临床所需的影像指导下的精准治疗,为癌症早期诊断和精准治疗及预后开辟了一个有前景的领域。但其临床应用仍具有挑战性,目前为止只有 NGR-TNF 进入多期临床试验,对基于 NGR 多肽的癌症诊疗临床应用仍需付出很大的努力。

此外,每种显像方式均有其优势,但也有各自的不足。多模态显像综合互补了单一显像模式的优点,广泛应用于肿瘤早期诊断、发生发展、血管生成、浸润转移,同时可以进行精准治疗、疗效监测、预后判断等。然而,将不同的显像探针组装有可能降低其本身显像的能力;此外,所使用的分子探针的体内行为等生物相容性也是最大的问题。随着各个学科的交叉融合,有望开发出更先进的合成方法、更安全可靠的多模态功能性分子纳米诊疗平台。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Chiang AC, Massagué J. Molecular basis of metastasis [J]. N Engl J Med, 2008, 359(26): 2814-2823. DOI:10.1056/NEJMra0805239.
- [2] Weidner N, Semple JP, Welch WR, et al. Tumor angiogenesis and metastasis—correlation in invasive breast carcinoma [J]. N Engl J Med, 1991, 324(1): 1-8. DOI:10.1056/NEJM199101033240101.
- [3] Barrett T, Kobayashi H, Brechbiel M, et al. Macromolecular MRI contrast agents for imaging tumor angiogenesis [J]. Eur J Radiol, 2006, 60(3): 353-366. DOI:10.1016/j.ejrad.2006.06.025.
- [4] 滕皋军,王玉.分子影像学:精于诊疗谋求创新[J].中华核医学与分子影像杂志, 2016, 36(1): 10-11. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2016.01.004.
- [5] Yu Q, Liu Y, Cao C, et al. The use of pH-sensitive functional selenium nanoparticles shows enhanced *in vivo* VEGF-siRNA silencing and fluorescence imaging [J]. Nanoscale, 2014, 6(15): 9279-9292. DOI:10.1039/c4nr02423k.
- [6] Hoop M, Mushtaq F, Hurter C, et al. A smart multifunctional drug delivery nanoplatfor for targeting cancer cells [J]. Nanoscale, 2016, 8(25): 12723-12728. DOI:10.1039/c6nr02228f.
- [7] Weissleder R. Molecular imaging in cancer [J]. Science, 2006, 312(5777): 1168-1171. DOI:10.1126/science.1125949.
- [8] Li L, Di X, Wu M, et al. Targeting tumor highly-expressed LAT1 transporter with amino acid-modified nanoparticles: toward a novel active targeting strategy in breast cancer therapy [J]. Nanomedicine, 2017, 13(3): 987-998. DOI:10.1016/j.nano.2016.11.012.
- [9] Tang Z, Li D, Sun H, et al. Quantitative control of active targeting of nanocarriers to tumor cells through optimization of folate ligand density [J]. Biomaterials, 2014, 35(27): 8015-8027. DOI:10.1016/j.biomaterials.2014.05.091.
- [10] Liu Y, Chen Z, Liu C, et al. Gadolinium-loaded polymeric nanoparticles modified with Anti-VEGF as multifunctional MRI contrast agents for the diagnosis of liver cancer [J]. Biomaterials, 2011, 32(22): 5167-5176. DOI:10.1016/j.biomaterials.2011.03.077.
- [11] Willmann JK, Kimura RH, Deshpande N, et al. Targeted contrast-enhanced ultrasound imaging of tumor angiogenesis with contrast microbubbles conjugated to integrin-binding knottin peptides [J]. J Nucl Med, 2010, 51(3): 433-440. DOI:10.2967/jnumed.109.068007.
- [12] Ding F, Wu F, Tian Q, et al. A tumor-targeting drug delivery system based on cyclic NGR-modified, combretastatin A4-loaded, functionalized graphene oxide nanosheets [J]. RSC Advances, 2016, 6(72): 68134-68140. DOI:10.1039/c6ra12842d.
- [13] Zhu C, Zhu Q, Wu Z, et al. Isorhapontigenin induced cell growth inhibition and apoptosis by targeting EGFR-related pathways in prostate cancer [J]. J Cell Physiol, 2018, 233(2): 1104-1119. DOI:10.1002/jcp.25968.
- [14] Wickström M, Larsson R, Nygren P, et al. Aminopeptidase N (CD13) as a target for cancer chemotherapy [J]. Cancer Sci, 2011, 102(3): 501-508. DOI:10.1111/j.1349-7006.2010.01826.x.
- [15] Plate KH, Scholz A, Dumont DJ. Tumor angiogenesis and anti-angiogenic therapy in malignant gliomas revisited [J]. Acta Neuropathol, 2012, 124(6): 763-775. DOI:10.1007/s00401-012-1066-5.
- [16] Liu C, Liu T, Yu X, et al. A preliminary study on the interaction between Asn-Gly-Arg (NGR)-modified multifunctional nanoparticles and vascular epithelial cells [J]. Acta Pharm Sin B, 2017, 7(3): 361-372. DOI:10.1016/j.apsb.2017.02.003.
- [17] Arap W, Pasqualini R, Ruoslahti E. Cancer treatment by targeted drug delivery to tumor vasculature in a mouse model [J]. Science, 1998, 279(5349): 377-380. DOI:10.1126/science.279.5349.377.
- [18] Kubota K. From tumor biology to clinical PET: a review of positron emission tomography (PET) in oncology [J]. Ann Nucl Med, 2001, 15: 471-486.
- [19] 韩安勤,胡旭东,邢力刚.肿瘤血管生成的 PET 检测 [J].中华核医学与分子影像杂志, 2012, 32(6): 478-480. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2012.06.022.
- [20] Han AQ, Hu XD, Xing LG. PET imaging for evaluating tumor angiogenesis [J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2012, 32(6): 478-480. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2012.06.022.
- [20] Ma W, Wang Z, Yang W, et al. Biodistribution and SPECT imaging study of ^{99m}Tc labeling NGR peptide in nude mice bearing hu-

- man HepG2 hepatoma[J]. Biomed Res Int, 2014, 2014; 618096. DOI:10.1155/2014/618096.
- [21] Zhang J, Lu X, Wan N, et al. ^{68}Ga -DOTA-NGR as a novel molecular probe for APN-positive tumor imaging using MicroPET[J]. Nucl Med Biol, 2014, 41(3): 268-275. DOI:10.1016/j.nucmedbio.2013.12.008.
- [22] Kim DW, Kim WH, Kim MH, et al. Novel Tc-99m labeled ELR-containing 6-mer peptides for tumor imaging in epidermoid carcinoma xenografts model: a pilot study[J]. Ann Nucl Med, 2013, 27(10): 892-897. DOI:10.1007/s12149-013-0766-9.
- [23] Kim DW, Kim WH, Kim MH, et al. Synthesis and evaluation of novel Tc-99m labeled NGR-containing hexapeptides as tumor imaging agents[J]. J Labelled Comp Radiopharm, 2015, 58(2): 30-35. DOI:10.1002/jlcr.3260.
- [24] Wang RE, Niu Y, Wu H, et al. Development of NGR-based anti-cancer agents for targeted therapeutics and imaging[J]. Anticancer Agents Med Chem, 2012, 12(1): 76-86. DOI:10.2174/187152012798764714.
- [25] Wang RE, Niu Y, Wu H, et al. Development of NGR peptide-based agents for tumor imaging[J]. Am J Nucl Med Mol Imaging, 2011, 1(1): 36-46.
- [26] Chen K, Ma W, Li G, et al. Synthesis and evaluation of ^{64}Cu -labeled monomeric and dimeric NGR peptides for MicroPET imaging of CD13 receptor expression[J]. Mol Pharm, 2013, 10(1): 417-427. DOI:10.1021/mp3005676.
- [27] Dijkgraaf I, Yim CB, Franssen GM, et al. PET imaging of $\alpha_v\beta_3$ integrin expression in tumours with ^{68}Ga -labelled mono-, di- and tetrameric RGD peptides[J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2011, 38(1): 128-137. DOI:10.1007/s00259-010-1615-x.
- [28] Colombo G, Curmis F, De Mori GM, et al. Structure-activity relationships of linear and cyclic peptides containing the NGR tumor-homing motif[J]. J Biol Chem, 2002, 277(49): 47891-47897. DOI:10.1074/jbc.M207500200.
- [29] 宛楠, 张俊, 卢晓莉, 等. ^{68}Ga -DOTA-cNGR 的制备及对荷肺腺癌裸鼠的显像研究[J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2014, 34(3): 222-225. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2014.03.015. Wan N, Zhang J, Lu XL, et al. Preparation of ^{68}Ga -DOTA-cNGR and its application in imaging of the nude mice bearing human lung cancer[J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2014, 34(3): 222-225. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2014.03.015.
- [30] Shao Y, Liang W, Kang F, et al. ^{68}Ga -labeled cyclic NGR peptide for microPET imaging of CD13 receptor expression[J]. Molecules, 2014, 19(8): 11600-11612. DOI:10.3390/molecules190811600.
- [31] 王任飞, 张瑞国, 张月倩, 等. ^{131}I 标记抗 VEGFR2 靶向性纳米载体对未分化甲状腺癌的抑瘤作用[J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2018, 38(11): 716-720. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2018.11.002. Wang RF, Zhang RG, Zhang YQ, et al. Antitumor effect of ^{131}I -labeled anti-VEGFR2 targeted nanoparticles in anaplastic thyroid carcinoma mouse models[J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2018, 38(11): 716-720. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2018.11.002.
- [32] 王涛, 彭焯, 李潇, 等. ^{188}Re 标记纳米颗粒 BaGdF₅-PEG 抑制肝癌细胞增殖及兔模型 SPECT 显像[J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2018, 38(11): 721-725. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2018.11.003. Wang T, Peng Y, Li X, et al. Application of ^{188}Re -labeled BaGdF₅-PEG nanoparticles on the growth inhibition of hepatoma cells and the SPECT imaging in rabbit models[J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2018, 38(11): 721-725. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2018.11.003.
- [33] von Wallbrunn A, Waldeck J, Hölte C, et al. *In vivo* optical imaging of CD13/APN-expression in tumor xenografts[J]. J Biomed Opt, 2008, 13(1): 011007. DOI:10.1117/1.2839046.
- [34] Li G, Xing Y, Wang J, et al. Near-infrared fluorescence imaging of CD13 receptor expression using a novel Cy5.5-labeled dimeric NGR peptide[J]. Amino acids, 2014, 46(6): 1547-1556. DOI:10.1007/s00726-014-1727-x.
- [35] Buehler A, van Zandvoort MA, Stelt BJ, et al. cNGR: a novel homing sequence for CD13/APN targeted molecular imaging of murine cardiac angiogenesis *in vivo*[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2006, 26(12): 2681-2687. DOI:10.1161/01.ATV.0000245807.65714.0b.
- [36] Garde SV, Forté AJ, Ge M, et al. Binding and internalization of NGR-peptide-targeted liposomal doxorubicin (TVT-DOX) in CD13-expressing cells and its antitumor effects[J]. Anticancer Drugs, 2007, 18(10): 1189-1200. DOI:10.1097/CAD.0b013e3282a213ce.
- [37] Ma W, Li G, Wang J, et al. *In vivo* NIRF imaging-guided delivery of a novel NGR-VEGI fusion protein for targeting tumor vasculature[J]. Amino Acids, 2014, 46(12): 2721-2732. DOI:10.1007/s00726-014-1828-6.
- [38] Smith RA, Giorgio TD. Quantitative measurement of multifunctional quantum dot binding to cellular targets using flow cytometry[J]. Cytometry A, 2009, 75(5): 465-474. DOI:10.1002/cyto.a.20677.
- [39] Huang N, Cheng S, Zhang X, et al. Efficacy of NGR peptide-modified PEGylated quantum dots for crossing the blood-brain barrier and targeted fluorescence imaging of glioma and tumor vasculature[J]. Nanomedicine, 2017, 13(1): 83-93. DOI:10.1016/j.nano.2016.08.029.
- [40] Dunne M, Zheng J, Rosenblat J, et al. APN/CD13-targeting as a strategy to alter the tumor accumulation of liposomes[J]. J Control Release, 2011, 154(3): 298-305. DOI:10.1016/j.jconrel.2011.05.022.
- [41] Wu M, Zhang Y, Zhang Y, et al. Tumor angiogenesis targeting and imaging using gold nanoparticle probe with directly conjugated cyclic NGR[J]. RSC Advances, 2018, 8(3): 1706-1716. DOI:10.1039/c7ra10155d.
- [42] Shi J, Wang L, Zhang J, et al. A tumor-targeting near-infrared laser-triggered drug delivery system based on GO@Ag nanoparticles for chemo-photothermal therapy and X-ray imaging[J]. Biomaterials, 2014, 35(22): 5847-5861. DOI:10.1016/j.biomaterials.2014.03.042.
- [43] 滕皋军, 聂芳. 磁共振分子影像研究现状及展望[J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2012, 32(1): 5-6. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2012.01.003. Teng GJ, Nie F. Current status and future of MR-based molecular imaging[J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2012, 32(1): 5-6. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2012.01.003.
- [44] Dirksen A, Langereis S, de Waal BF, et al. Design and synthesis of a bimodal target-specific contrast agent for angiogenesis[J]. Org Lett, 2004, 6(26): 4857-4860. DOI:10.1021/ol048084u.
- [45] Langereis S, Dirksen A, de Waal B, et al. Solid-phase synthesis of a cyclic NGR-functionalized Gd(III)DTPA complex[J]. Eur J Org Chem, 2005, 2005(12): 2534-2538. DOI:10.1002/ejoc.200500045.
- [46] Yan C, Chen C, Hou L, et al. Single-walled carbon nanotube-loaded doxorubicin and Gd-DTPA for targeted drug delivery and mag-

- netic resonance imaging[J]. J Drug Target, 2017, 25(2): 163-171. DOI:10.1080/1061186X.2016.1221958.
- [47] Yang Y, Zhou J, Yu K. Design, synthesis, and *in vitro* evaluation of a binary targeting MRI contrast agent for imaging tumor cells[J]. Amino acids, 2014, 46(2): 449-457. DOI:10.1007/s00726-013-1638-2.
- [48] Wolters M, Oostendorp M, Coolen BF, et al. Efficacy of positive contrast imaging techniques for molecular MRI of tumor angiogenesis [J]. Contrast Media Mol Imaging, 2012, 7(2): 130-139. DOI: 10.1002/cmimi.471.
- [49] 吴琼雅, 史景云, 张颖, 等. 肿瘤双靶点 RGD10/NGR9 超顺磁性氧化铁的构建及其动物磁共振成像特点[J]. 中华肿瘤杂志, 2013, 35(11): 808-813. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3766.2013.11.003.
- Wu QY, Shi JY, Zhang J, et al. Construction of RGD10-NGR9 dual-targeting superparamagnetic iron oxide and its magnetic resonance imaging features in nude mice[J]. Chin J Oncol, 2013, 35(11): 808-813. DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-3766.2013.11.003.
- [50] Oostendorp M, Douma K, Hackeng TM, et al. Quantitative molecular magnetic resonance imaging of tumor angiogenesis using cNGR-labeled paramagnetic quantum dots [J]. Cancer Res, 2008, 68(18): 7676-7683. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-08-0689.
- [51] Oostendorp M, Douma K, Wagenaar A, et al. Molecular magnetic resonance imaging of myocardial angiogenesis after acute myocardial infarction [J]. Circulation, 2010, 121(6): 775-783. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.889451.
- [52] 邢占文, 柯亨特, 王金锐, 等. 基于聚合物微泡的超声/荧光双模态造影剂的制备及成像研究[J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2013, 33(1): 14-18. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2013.01.004.
- Xing ZW, Ke HT, Wang JR, et al. Fabrication and imaging study of ultrasound/fluorescence bi-modal contrast agent based on polymeric microbubbles[J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2013, 33(1): 14-18. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-2848.2013.01.004.

(收稿日期:2019-04-19)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

中华医学会杂志社对一稿两投问题处理的声明

为维护中华医学会系列杂志的声誉和广大读者的利益,现将中华医学会系列杂志对一稿两投和一稿两用问题的处理声明如下:

1.本声明中所涉及的文稿均指原始研究的报告或尽管 2 篇文稿在文字的表达和讨论的叙述上可能存在某些不同之处,但这些文稿的主要数据和图表是相同的。所指文稿不包括重要会议的纪要、疾病的诊断标准和防治指南、有关组织达成的共识性文件、新闻报道类文稿及在一种刊物发表过摘要或初步报道而将全文投向另一种期刊的文稿。上述各类文稿如作者要重复投稿,应向有关期刊编辑部做出说明。

2.如 1 篇文稿已以全文方式在某刊物发表,除非文种不同,否则不可再将该文投寄给他刊。

3.请作者所在单位在来稿介绍信中注明该文稿有无一稿两投问题。

4.凡来稿在接到编辑部回执后满 3 个月未接到退稿,则表明稿件仍在处理中,作者欲投他刊,应事先与该刊编辑部联系并申述理由。

5.编辑部认为文稿有一稿两投嫌疑时,应认真收集有关资料并仔细核实后再通知作者,同时立即进行退稿处理,在做出处理决定前请作者就此问题做出解释。期刊编辑部与作者双方意见发生分歧时,应由上级主管部门或有关权威机构进行最后仲裁。

6.一稿两用一经证实,期刊编辑部将择期在杂志中刊出其作者姓名和单位及撤销该论文的通告;对该作者作为第一作者所撰写的一切文稿,中华医学会系列杂志 2 年内将拒绝其发表;并就此事件向作者所在单位和该领域内的其他科技期刊进行通报。

中华医学会杂志社