

⁸⁹Zr 标记抗人 PDPN 单抗 SZ168 用于黑色素瘤免疫 PET 显像的实验研究

刘雨¹ 孙晓慧¹ 刘思文¹ 吴江² 郎月¹ 吴锦昌¹ 喻岳超¹ 赵益明³ 王峰²

¹徐州医科大学第二附属医院核医学科, 徐州 221000; ²南京医科大学、南京市第一医院核医学科, 南京 210006; ³江苏省血液研究所、苏州大学附属第一医院血栓与止血研究室, 苏州 215008

通信作者: 喻岳超, Email: yyc7883@126.com; 赵益明, Email: zhaoyimingbox@163.com; 王峰, Email: fengwangcn@hotmail.com

【摘要】 目的 制备⁸⁹Zr 标记抗人平足蛋白(PDPN)单克隆抗体 SZ168, 评价其用于黑色素瘤免疫 PET 显像的可行性。**方法** 将 p-异硫氰酸苄基(SCN-Bn)-去铁胺(DFO)与 SZ168 单克隆抗体偶联, 再与⁸⁹Zr 螯合制备⁸⁹Zr-DFO-SZ168, 测其标记率、放化纯、体外稳定性等。构建黑色素瘤小鼠模型, 分别予实验组($n=3$)和对照组($n=3$)小鼠尾静脉注射⁸⁹Zr-DFO-SZ168 和⁸⁹Zr-DFO-免疫球蛋白(Ig)G 溶液 3.7 MBq, 实验组于注射后 12、24、48 和 72 h 行 microPET/CT 显像, 对照组则于注射后 48 h 行 microPET/CT 显像, 并使用 ROI 分析肿瘤及器官显像剂摄取。于注射后 7 d 处死小鼠, 分别评估⁸⁹Zr-DFO-SZ168 和⁸⁹Zr-DFO-IgG 离体生物分布。2 组间比较采用两独立样本 t 检验。**结果** ⁸⁹Zr-DFO-SZ168 溶液的 pH 值为 7.0 左右, 标记率>60%、过 PD10 柱后放化纯>95%, 体外放置 72 h 稳定性良好。⁸⁹Zr-DFO-SZ168 microPET/CT 系列显像示荷瘤小鼠移植肿瘤显影明显, 注射后 48 h 肿瘤显像剂聚集达峰值, 而⁸⁹Zr-DFO-IgG microPET/CT 显像肿瘤未见清晰显影。离体生物分布显示⁸⁹Zr-DFO-SZ168 主要在肿瘤、肝和骨中聚集, 肿瘤摄取值明显高于⁸⁹Zr-DFO-IgG[(29.36±7.29)每克组织百分注射剂量率(%ID/g)与(8.78±1.63)%ID/g; $t=4.77$, $P=0.009$]。免疫组织化学检测示肿瘤组织 PDPN 高表达。**结论** 成功制备可用于黑色素瘤特异性分子影像诊断的探针⁸⁹Zr-DFO-SZ168, 为黑色素瘤 PDPN 分子靶点免疫 PET 诊断及诊疗一体化研究奠定了基础。

【关键词】 抗体, 单克隆; 抗原, PDPN; 同位素标记; 锆-89; 正电子发射计算机断层显像技术; 黑色素瘤; 小鼠

基金项目: 国家自然科学基金(81873431); 徐州市科技项目(KC21174); 徐州市卫生健康委员会科技项目(XWKYHT20220123)

DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20240725-00273

Experimental study of ⁸⁹Zr-labeled anti-human PDPN monoclonal antibody SZ168 for immunoPET imaging of melanoma

Liu Yu¹, Sun Xiaohui¹, Liu Siwen¹, Wu Jiang², Lang Yue¹, Wu Jinchang¹, Yu Yuechao¹, Zhao Yiming³, Wang Feng²

¹Department of Nuclear Medicine, the Second Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou 221000, China; ²Department of Nuclear Medicine, Nanjing First Hospital, Nanjing Medical University, Nanjing 210006, China; ³Department of Thrombosis and Hemostasis, Jiangsu Institute of Hematology and the First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215008, China

Corresponding authors: Yu Yuechao, Email: yyc7883@126.com; Zhao Yiming, Email: zhaoyimingbox@163.com; Wang Feng, Email: fengwangcn@hotmail.com

【Abstract】 Objective To prepare ⁸⁹Zr-labeled anti-human podoplanin (PDPN) monoclonal antibody SZ168 and evaluate its feasibility for melanoma immunoPET imaging. **Methods** ⁸⁹Zr-desferrioxamine (DFO)-SZ168 was prepared by conjugating p-isothiocyanatobenzyl (SCN-Bn)-DFO with SZ168 and chelating with ⁸⁹Zr. Quality control analyses were conducted, including labeling rate, radiochemical purity, and *in vitro* stability. Melanoma mouse models were created, with experimental group ($n=3$) and control group ($n=3$) receiving tail vein injections of ⁸⁹Zr-DFO-SZ168 and ⁸⁹Zr-DFO-immunoglobulin (Ig) G solutions (3.7 MBq) respectively. The experimental group underwent microPET/CT imaging at 12, 24, 48 and 72 h post-injection, while the control group underwent imaging at 48 h post-injection. Tumor and organ radioactivity uptake was analyzed using the ROI method. Mice were sacrificed at 7 d post-injection to assess the *ex vivo*

biodistribution of ^{89}Zr -DFO-SZ168 and ^{89}Zr -DFO-IgG. Independent-sample *t* test was used to analyze the data.

Results The pH value of the ^{89}Zr -DFO-SZ168 solution was approximately 7.0, with a labeling rate >60%, radiochemical purity >95% after PD10 column purification, and good stability after 72 h *in vitro*. Series microPET/CT imagings showed significant tumor visualization in tumor-bearing mice. Radioactivity uptake in tumors peaked at 48 h post-injection, while the tumor was not clearly detected by ^{89}Zr -DFO-IgG microPET/CT imaging. *Ex vivo* biodistribution indicated that ^{89}Zr -DFO-SZ168 mainly accumulated in tumors, liver, and bones, with tumor uptake significantly higher than that of ^{89}Zr -DFO-IgG ((29.36 ± 7.29) percentage activity of injection dose per gram of tissue (%ID/g) *vs* (8.78 ± 1.63) %ID/g; $t = 4.77$, $P = 0.009$). Immunohistochemistry of tumor specimens showed high expression of PDPN in tumor tissues. **Conclusions** The probe ^{89}Zr -DFO-SZ168 is successfully prepared, showing potential for specific molecular imaging diagnosis of melanoma. This lays a basis for developing PDPN molecular target-based immuno-PET diagnosis and integrated diagnosis and treatment for melanoma.

【Key words】 Antibody, monoclonal; Antigen, PDPN; Isotope labeling; Zirconium-89; Positron emission computed tomography; Malignant melanoma; Mouse

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81873431); Xuzhou Science and Technology Project (KC21174); Science and Technology Project of Xuzhou Municipal Health Commission (XWKYHT20220123)

DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20240725-00273

黑色素瘤是一种具有高度侵袭性的肿瘤,早期即可通过淋巴和血液迅速转移,故被称为“癌中之王”。尽管治疗手段多样,但其发病率和病死率仍在上升^[1-3],且预后改善有限^[4],因此迫切需要探索新的诊断和治疗方法。

现有的分子影像技术虽然广泛应用于癌症诊断,但在灵敏度和特异性方面存在不足,导致早期诊断和病变良恶性区分的准确性有限。同时,现有影像探针针对黑色素瘤缺乏特异性,且可能在体内产生高背景信号,影响诊断效果,限制了其在黑色素瘤中的应用。

平足蛋白(podoplanin, PDPN)在人和小鼠的黑色素瘤细胞膜上表达,抗 PDPN 单克隆抗体(简称单抗)SZ168 可特异性结合 PDPN,并抑制肿瘤转移^[5-6]。本研究旨在开发基于 PDPN 靶向的免疫 PET 影像技术:通过制备 ^{89}Zr 标记的 SZ168,评估其在荷瘤小鼠体内的分布,并通过 microPET/CT 验证其在黑色素瘤诊断中的潜力,为未来的诊疗一体化研究奠定基础。

材料与方法

1. 试剂与仪器。仪器: microPET/CT 仪(德国 Siemens 公司)、薄层色谱(thin-layer chromatography, TLC)扫描仪(美国 Bioscan 公司)、 γ 放射性探测器(美国 PerkinElmer 公司)、放射性核素活度仪(北京派特生物技术有限公司)。p-异硫氰酸苄基(isothiocyanatobenzyl, SCN-Bn)-去铁胺(desferrioxamine, DFO)购于上海毕得医药科技股份有限公司; ^{89}Zr 由中国同辐股份有限公司提供;抗人 PDPN 单抗 SZ168 由江苏省血液研究所惠赠。

2. 细胞株与实验动物。小鼠皮肤黑色素瘤细胞 B16F10 细胞购自江苏凯基生物技术股份有限公司;6 只 C57BL/6 小鼠购自杭州子源实验动物科技有限公司,4~6 周龄,雌性,体质量(20 ± 2) g。动物实验遵循南京市第一医院和国家有关实验动物管理和使用规定,动物实验许可证号:SYXK(苏)2021-0007。本项目实施得到徐州医科大学第二附属医院生物医学研究伦理委员会审批同意(伦理批件编号:XZK-WJTZY-AY-060/02.0)。

3. ^{89}Zr -DFO-SZ168 的制备与质量控制。将 p-SCN-Bn-DFO($30 \mu\text{g}$)加入到 SZ168(2 mg)溶液中,用 0.1 mol/L 碳酸钠溶液调节 pH 值至 9.0 左右,37 °C 摇晃反应 1 h 后,经 PD10 柱(瑞典 Cytiva 公司)纯化得到 DFO-SZ168 偶联物。向其中加入 ^{89}Zr 草酸溶液(63 MBq),调节 pH 值至 7.0,反应 1 h。反应结束后经 PD10 柱纯化后得到 ^{89}Zr -DFO-SZ168。用纸层析法测定 ^{89}Zr -DFO-SZ168 的标记率;以 20 mmol/L 柠檬酸钠缓冲液为展开剂,使用 TLC 扫描仪分析 ^{89}Zr -DFO-SZ168 放化纯及其在体外生理盐水和胎牛血清(fetal bovine serum, FBS;美国 Gibco 公司)中放置 72 h 后的放化纯稳定性。阴性对照组 ^{89}Zr -DFO-免疫球蛋白(immunoglobulin, Ig) G 的制备方法同 ^{89}Zr -DFO-SZ168。

4. 荷瘤小鼠 ^{89}Zr -DFO-SZ168 microPET/CT 显像及生物分布。用 PBS 重悬 B16F10 细胞,制备 B16F10 细胞悬液,浓度为 5×10^6 个/ml,将 100 μl 细胞悬液接种在小鼠右侧肩胛下方皮下以构建黑色素瘤小鼠模型,常规饲养一定时间至移植瘤最大径约 1 cm,用于体内 microPET/CT 显像实验。实验组和阴性对照组各取 3 只黑色素瘤模型小鼠,分别经尾

静脉注射 ^{89}Zr -DFO-SZ168 和 ^{89}Zr -DFO-IgG 溶液 3.7 MBq, 实验组荷瘤小鼠于注射后 12、24、48 和 72 h 行 microPET/CT 显像, 阴性对照组荷瘤小鼠则于注射后 48 h 行 microPET/CT 显像。图像重建后, 勾画肿瘤区及各器官组织 ROI (包括肿瘤、心脏、肌肉、肝、肾和脾), 并计算其摄取值。7 d 后处死荷瘤小鼠, 解剖获取各器官或组织标本, 包括肿瘤、血、心、肝、脾、肺、肾、胃、肠、胰、肌肉、脑、骨等, 测质量后用 γ 计数仪测每分钟放射性计数, 经衰减校正后, 以每克组织百分注射剂量率 (percentage activity of injection dose per gram of tissue, %ID/g) 表示各器官组织放射性摄取量, 进行 ^{89}Zr -DFO-SZ168 在黑色素瘤小鼠体内的生物分布研究。另取肿瘤组织标本于质量分数 4% 多聚甲醛溶液中固定, 制作组织切片, 行 HE 染色和免疫组织化学染色。

5. 统计学处理。采用 GraphPad Prism 6 软件分析数据。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 检验比较 7 d 后 ^{89}Zr -DFO-SZ168 和 ^{89}Zr -DFO-IgG 的离体生物学分布。 $P < 0.05$ (双侧检验) 为差异有统计学意义。

结 果

1. ^{89}Zr -DFO-SZ168 的制备与质量控制。 ^{89}Zr -DFO-SZ168 的合成路线见图 1。将 DFO 与 SZ168 偶联后再与 ^{89}Zr 进行整合, 标记率大于 60%, 产品 pH 值为 7.0 左右, 比活度为 1.295×10^4 MBq/g, 纯化后产品为无色透明液体, 放化纯大于 95%。在体外生理盐水及 FBS 中放置 72 h 后的放化纯仍超过 90%, 表明 ^{89}Zr -DFO-SZ168 体外稳定性良好。

2. ^{89}Zr -DFO-SZ168 在荷瘤小鼠模型的 microPET/CT 显像及生物分布。C57BL/6 荷瘤小鼠注射 ^{89}Zr -DFO-SZ168 后 12、24、48 和 72 h microPET/CT 显像示瘤体显影明显, 注射后 12 h 肿瘤即开始显影, 48 h 肿瘤显像剂聚集达到高峰, 其他器官各时相摄取值均呈较低水平, 但其中肝脏和骨的摄取较其他器官高 (图 2)。 ^{89}Zr -DFO-IgG 注射后 48 h 阴性对照组荷瘤小鼠 microPET/CT 显像示肿瘤未能清晰显影 (图 2)。注射 7 d 后处死荷瘤小鼠, 生物分布实验示 ^{89}Zr -DFO-SZ168 主要聚集在肿瘤、肝和骨中, 肿瘤摄取值明显高于 ^{89}Zr -DFO-IgG ($t = 4.77$, $P = 0.009$; 表 1)。肿瘤标本切片病理结果 (图 3) 示黑色素瘤特异指标高表达, 包括 CD117、CyclinD1、Melan-A、P16; 瘤组织 PDPN 高表达 (SZ168 结合阳性), 与荷瘤小鼠移植肿瘤的免疫 PET 显像结果相符, 表明 ^{89}Zr -DFO-SZ168 在活体内黑色素瘤细胞膜 PDPN 分子靶点的靶向聚集。

讨 论

放射免疫 PET/CT 分子影像诊断, 是将针对肿瘤相关抗原的特异性抗体用正电子放射性核素标记后注入体内, 随血液流达肿瘤组织, 并与肿瘤的相关抗原结合, 从而使肿瘤组织局部放射性浓度超过正常组织, 基于此用体外 PET/CT 显像技术获得肿瘤的阳性显像图^[7]。这种显像方法把抗体的特异性与 PET/CT 的高灵敏度、高分辨率和定量分析的特点相结合。通常选择放射性物理半衰期和血清廓清半衰期与抗体相匹配的正电子放射性核素用于标记。 ^{89}Zr 通过电子俘获和正电子衰变生成稳定核素 ^{89}Y , 其物理半衰期为 78.41 h, 能够匹配具有相似生物半衰期

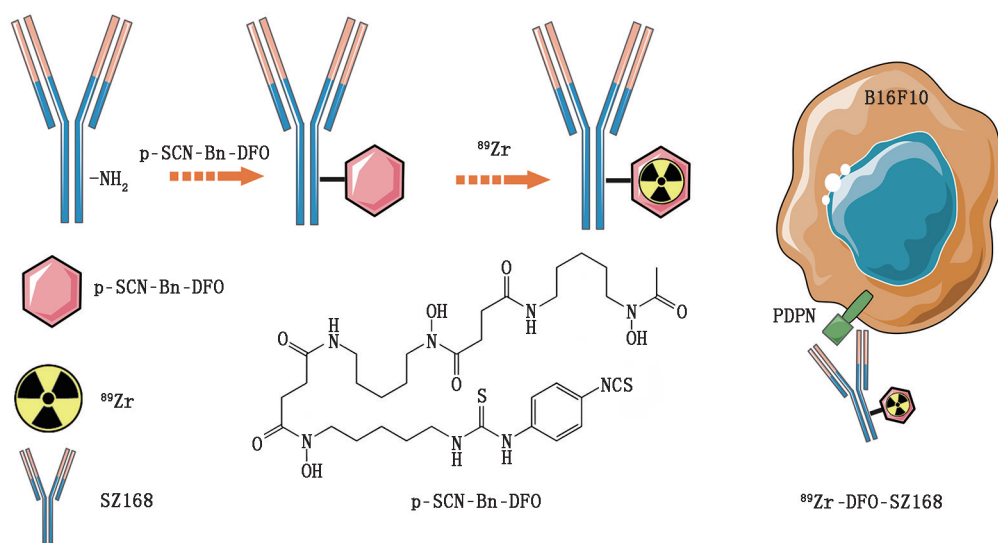


图 1 ^{89}Zr -去铁胺 (DFO)-SZ168 的合成路线图 (左) 及标记后抗体探针显像原理模式图 (右)。SCN-Bn 为异硫氰酸苄基, PDPN 为平足蛋白

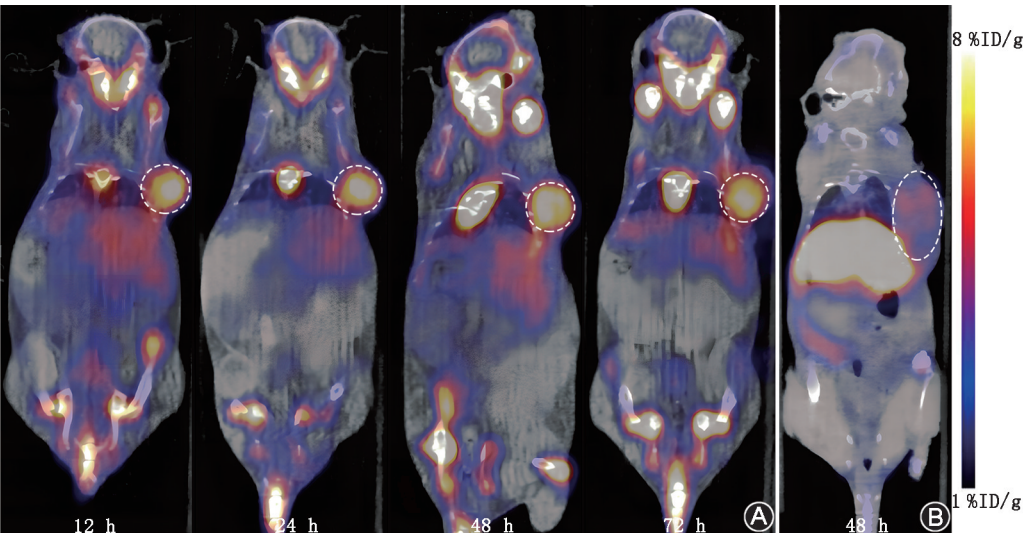


图2 荷瘤小鼠尾静脉注射⁸⁹Zr-去铁胺(DFO)-SZ168 或⁸⁹Zr-DFO-免疫球蛋白(Ig)G 后 microPET/CT 显像图(虚线圈示移植肿瘤;%ID/g 为每克组织百分注射剂量率)。A.注射⁸⁹Zr-DFO-SZ168 后 12 h 肿瘤即显影,48 h 肿瘤显像剂聚集达到高峰;B.注射⁸⁹Zr-DFO-IgG 后 48 h 肿瘤未能清晰显影

表 1 注射⁸⁹Zr-DFO-SZ168 和⁸⁹Zr-DFO-IgG 后 7 d 荷瘤小鼠的离体生物分布比较(%ID/g; $\bar{x}\pm s$)

组别	血	心	肝	脾	肺	肾	胃
⁸⁹ Zr-DFO-SZ168	1.65±0.91	6.08±0.58	27.63±3.17	11.81±1.66	5.96±1.53	9.01±3.33	4.19±0.35
⁸⁹ Zr-DFO-IgG	1.62±0.81	6.31±1.36	18.46±5.06	12.49±1.39	6.18±3.23	8.23±4.24	3.66±0.93
<i>t</i> 值	0.04	-0.27	2.67	-0.55	-0.11	0.25	0.92
<i>P</i> 值	0.972	0.801	0.056	0.614	0.919	0.815	0.438

组别	肠	胰	肌肉	脑	肿瘤	骨
⁸⁹ Zr-DFO-SZ168	2.45±1.49	3.90±2.14	2.69±1.91	0.27±0.05	29.36±7.29	36.82±8.66
⁸⁹ Zr-DFO-IgG	1.66±0.52	3.20±1.80	1.93±0.87	0.46±0.22	8.78±1.63	20.89±4.00
<i>t</i> 值	0.87	0.43	0.63	-1.51	4.77	4.20
<i>P</i> 值	0.434	0.687	0.562	0.258	0.009	0.014

注:各组小鼠数均为 3 只;DFO 为去铁胺,Ig 为免疫球蛋白,%ID/g 为每克组织百分注射剂量率

抗体在体内的代谢过程,且⁸⁹Zr 还具有较低的正电子能量,正电子自由行程距离短,能够提供较高的 PET 显像空间分辨率,因此,单抗分子免疫 PET 多采用⁸⁹Zr 标记^[8]。⁸⁹Zr 标记抗体的过程是将⁸⁹Zr 与抗体进行连接,最常用的标记方法是间接标记,即通过螯合剂将⁸⁹Zr 标记到抗体上,目前唯一在临床使用的⁸⁹Zr 标记抗体螯合剂仍然是 DFO^[9]。本研究将 DFO 与单抗 SZ168 偶联后再与⁸⁹Zr 进行螯合,标记产物⁸⁹Zr-DFO-SZ168 通过 pH 值、放化纯、体外稳定性等质量控制检测,整个制备过程快速、简便。

PDPN 是一种相对分子质量为 38×10³ 的 I 型唾液酸跨膜糖蛋白,在多种肿瘤细胞膜上高表达,其中包括人和小鼠的黑色素瘤^[10]。迄今为止,PDPN 是血小板表面 C 型凝集素受体 2(C-type lectin-like receptor-2, CLEC-2)唯一的内源性配体,肿瘤细胞膜 PDPN 通过与血小板表面 CLEC-2 结合激活血小板活化和聚集,在肿瘤浸润和转移中发挥重要作

用^[11-13]。黑色素瘤细胞株 B16F10 高表达 PDPN,抗人 PDPN 单抗 SZ168 可特异性识别 PDPN,且呈浓度依赖性抑制 B16F10 细胞对血小板的诱导活化和聚集作用。因此,SZ168 具有分子靶向诊断和治疗 PDPN 阳性表达的黑色素瘤的潜力。

本研究用⁸⁹Zr 标记 SZ168,利用⁸⁹Zr-DFO-SZ168 进入体内后能与黑色素瘤细胞膜 PDPN 发生抗原-抗体靶向特异结合的特性,进行黑色素瘤小鼠模型的分子靶点免疫 microPET/CT 显像。显像结果示,肿瘤于注射⁸⁹Zr-DFO-SZ168 后 12 h 开始显影,48 h 达到高峰,肿瘤显影最为清晰,而⁸⁹Zr-DFO-IgG 注射后 48 h 却未见荷瘤小鼠肿瘤显影;注射后 7 d 荷瘤小鼠的离体生物学分布结果也示肿瘤标本高摄取⁸⁹Zr-DFO-SZ168,其摄取值明显高于⁸⁹Zr-DFO-IgG(*t* = 4.77, *P* = 0.009),均证实了⁸⁹Zr-DFO-SZ168 的 PDPN 分子靶向特异性免疫 PET 显像诊断特征。

本研究有一些不足之处,例如骨骼摄取较高,需

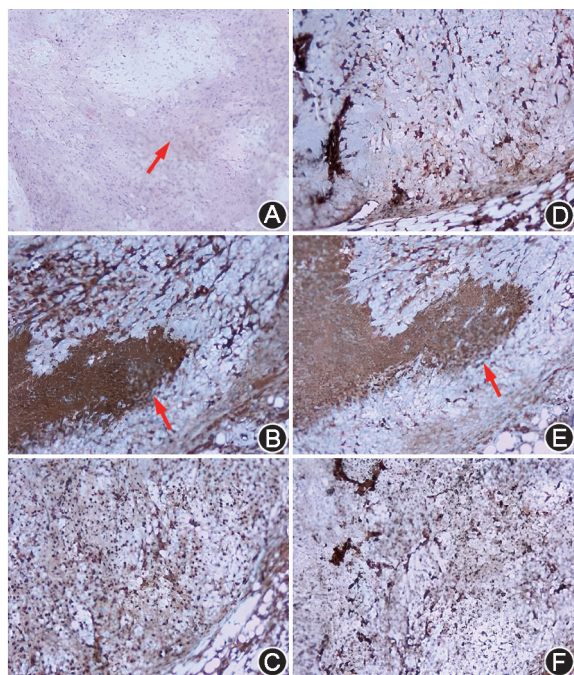


图3 荷瘤小鼠肿瘤组织病理结果。A. HE 染色(×100)图示真皮内上皮样黑色素瘤细胞呈片状生长,局部可见黑色素沉着(箭头示);B~F.免疫组织化学[链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶连接(SP)法(×100)]示 CD117 细胞质染色阳性(B;箭头示)、CyclinD1 细胞核染色阳性(C)、Melan-A 细胞质染色阳性(D)、P16 细胞核及细胞质染色阳性(E;箭头示),细胞核染色阳性,瘤组织平足蛋白(PDPN)高表达(SZ168 结合阳性;F)

要进一步研究探讨其原因; ^{89}Zr 标记 SZ168 的标记率略低,需要进一步探讨和改进标记反应条件,如温度、pH 值、缓冲体系选择等,提高标记率。

综上,本研究从对 ^{89}Zr -DFO-SZ168 抗体标记到显像进行了初步的实验研究,结果表明 PDPN 表达阳性的黑色素瘤小鼠模型 microPET/CT 显像阳性,为后续进一步探讨 ^{177}Lu 标记 SZ168 的诊疗一体化提供了依据。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明 刘雨:项目实施、数据分析、论文撰写;孙晓慧:图像处理、统计学分析、论文撰写;刘思文:数据采集;吴江:数据分析、技术支持;郎月:细胞培养、小鼠模型制作;吴锦昌:项目设计与修改、论文修改;喻岳超:项目设计、论文修改、经费支持;赵益明:抗体标记指导、技术支持;王峰:研究指导、技术支持

参 考 文 献

[1] Carr S, Smith C, Wernberg J. Epidemiology and risk factors of melanoma[J]. Surg Clin North Am, 2020, 100(1): 1-12. DOI: 10.1016/j.suc.2019.09.005.

[2] Albittar AA, Alhalabi O, Glitza Oliva IC. Immunotherapy for melanoma[J]. Adv Exp Med Biol, 2020, 1244: 51-68. DOI:10.1007/978-3-030-41008-7_3.

[3] Davis LE, Shalin SC, Tackett AJ. Current state of melanoma diagnosis and treatment[J]. Cancer Biol Ther, 2019, 20(11): 1366-1379. DOI:10.1080/15384047.2019.1640032.

[4] 严森林,赵颖海.恶性黑色素瘤的免疫治疗进展[J].海南医学, 2021, 32(3): 354-358. DOI:10.3969/j.issn.1003-6350.2021.03.023.

Yan SL, Zhao YH. Research progress in immunotherapy of malignant melanoma[J]. Hainan Med J, 2021, 32(3): 354-358. DOI: 10.3969/j.issn.1003-6350.2021.03.023.

[5] Xu M, Wang X, Pan Y, et al. Blocking podoplanin suppresses growth and pulmonary metastasis of human malignant melanoma [J]. BMC Cancer, 2019, 19(1): 599. DOI: 10.1186/s12885-019-5808-9.

[6] Zhao X, Pan Y, Ren W, et al. Plasma soluble podoplanin is a novel marker for the diagnosis of tumor occurrence and metastasis[J]. Cancer Sci, 2018, 109(2): 403-411. DOI:10.1111/cas.13475.

[7] Miedema I, Huisman MC, Zwezerijnen G, et al. ^{89}Zr -immuno-PET using the anti-LAG-3 tracer [^{89}Zr]Zr-BI 754111: demonstrating target specific binding in NSCLC and HNSCC[J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2023, 50(7): 2068-2080. DOI: 10.1007/s00259-023-06164-w.

[8] 王凤,郭晓轶,刘特立,等.固体靶 PET 核素 ^{89}Zr 的制备、质量控制和抗体标记[J].中华核医学与分子影像杂志, 2020, 40(5): 294-297. DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20191018-00226.

Wang F, Guo XY, Liu TL, et al. Production and purification of solid target PET nuclide ^{89}Zr and its antibody labeling[J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2020, 40(5): 294-297. DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20191018-00226.

[9] 赵海涛,李梁华,魏伟军,等. ^{89}Zr 标记达雷妥单克隆抗体用于多发性骨髓瘤显像诊断的临床前评价[J].中华核医学与分子影像杂志, 2022, 42(2): 68-73. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20211116-00404.

Zhao HT, Li LH, Wei WJ, et al. Preclinical evaluation of ^{89}Zr labeled Daratumumab for imaging diagnosis of multiple myeloma[J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2022, 42(2): 68-73. DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20211116-00404.

[10] 徐梦乔,赵益明.血小板新型活化受体 CLEC-2 和平足蛋白在肿瘤转移中的研究进展[J].肿瘤防治研究, 2017, 44(12): 840-844. DOI:10.3971/j.issn.1000-8578.2017.17.0397.

Xu MQ, Zhao YM. Research progress of new platelet receptor CLEC-2 and podoplanin in tumor metastasis[J]. Cancer Res Prevent Treat, 2017, 44(12): 840-844. DOI:10.3971/j.issn.1000-8578.2017.17.0397.

[11] Chandra Manivannan A, Bargeño MC, Devaraju V, et al. Curcumin-based inhibitors of thrombosis and cancer metastasis promoting factor CLEC 2 from traditional medicinal species *Curcuma longa* [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2022, 2022: 9344838. DOI:10.1155/2022/9344838.

[12] Takemoto A, Takagi S, Ukaji T, et al. Targeting podoplanin for the treatment of osteosarcoma[J]. Clin Cancer Res, 2022, 28(12): 2633-2645. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-21-4509.

[13] Sheng M, Sun R, Fu J, et al. The podoplanin-CLEC-2 interaction promotes platelet-mediated melanoma pulmonary metastasis [J]. BMC Cancer, 2024, 24(1): 399. DOI: 10.1186/s12885-024-12194-w.

(收稿日期:2024-07-25)