

· 基础研究 ·

$^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PSMA-33 的合成及其靶向前列腺癌实验研究

罗洁¹ 吴芝洋¹ 吴文雨¹ 吴江¹ 罗波² 徐雨彤³ 王峰¹¹南京医科大学附属南京医院、南京市第一医院核医学科, 南京 210006; ²中国药科大学新药安全评价研究中心, 南京 211198; ³南京中医药大学附属泰州市人民医院核医学科, 泰州 225300

通信作者: 王峰, Email: fengwangcn@hotmail.com

【摘要】 目的 构建靶向前列腺特异膜抗原 (PSMA) 的新型 SPECT 分子探针 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PSMA-33, 评价其理化性质、体内生物分布特点及靶向效能。**方法** 成组设计研究。手动标记 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PSMA-33, 测定其标记率、放化纯、体外稳定性及脂水分分配系数 ($\log P$); 通过细胞摄取和阻断实验评估其对 22RV1 细胞 (PSMA 阳性) 的亲性和靶向特异性; 考察 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PSMA-33 在正常 ICR 小鼠体内的生物分布; 建立人前列腺癌 22RV1 荷瘤裸鼠模型, 于注射探针后 1、2 h 行小动物 SPECT/CT 显像; 进行免疫组织化学检测, 验证肿瘤组织中 PSMA 表达水平。采用两独立样本 t 检验分析数据。**结果** $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PSMA-33 标记用时 30 min, 标记率为 $(98.5 \pm 0.7)\%$ ($n=3$), 放化纯 $>99\%$; 在 PBS 或胎牛血清 (FBS) 中 37°C 温育 6 h 后放化纯仍 $>98\%$, 体外稳定性较好; $\log P = -2.06 \pm 0.06$, 具有较强亲水性。 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PSMA-33 与 22RV1 细胞结合的半抑制浓度 (IC_{50}) 为 (3.53 ± 1.46) nmol/L; 60 min 时细胞的总摄取率为 (11.78 ± 0.65) 百分加入放射性剂量 (%AD), 经 2-(膦酰基甲基) 戊二酸 (2-PMPA) 特异性阻断后降低至 (6.33 ± 0.39) %AD ($t=16.65, P<0.001$)。正常 ICR 小鼠生物分布实验显示 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PSMA-33 在血液中清除迅速, 主要经肾脏代谢。荷瘤裸鼠 SPECT/CT 显像显示 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PSMA-33 明显浓聚于 PSMA 阳性肿瘤部位, 且滞留时间较长。免疫组织化学检测证实肿瘤组织中 PSMA 高表达。**结论** 成功制备 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PSMA-33, 其标记率高、稳定性好、生物学性质优越, 能特异性地靶向小鼠 PSMA 阳性肿瘤, 有望成为一种经济高效的新型前列腺癌诊断探针。

【关键词】 前列腺肿瘤; 前列腺特异膜抗原; 锝; 体层摄影术, 发射型计算机, 单光子; 体层摄影术, X 线计算机; 小鼠, 裸; PSMA-33

基金项目: 国家自然科学基金 (12405405、82272038)

DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20251122-00427

Synthesis of $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PSMA-33 and experimental study of targeting prostate cancer

Luo Jie¹, Wu Zhiyang¹, Wu Wenyu¹, Wu Jiang¹, Luo Bo², Xu Yutong³, Wang Feng¹¹Department of Nuclear Medicine, Nanjing First Hospital, Nanjing Medical University, Nanjing 210006, China; ²Center for New Drug Safety Evaluation and Research, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China; ³Department of Nuclear Medicine, Taizhou People's Hospital, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Taizhou 225300, China

Corresponding author: Wang Feng, Email: fengwangcn@hotmail.com

【Abstract】 Objective To develop a novel SPECT molecular probe $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -prostate specific membrane antigen (PSMA)-33 targeting PSMA, and evaluate its physicochemical properties, *in vivo* biodistribution, and targeting efficacy. **Methods** A grouped experimental design was adopted. $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PSMA-33 was manually labeled. The labeling yield, radiochemical purity (RCP), *in vitro* stability, and the lipid-water partition coefficient ($\log P$) of the probe were determined. Cellular uptake and blocking assays were performed to assess its affinity and targeting specificity toward 22RV1 cells (PSMA-positive). The biodistribution of $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PSMA-33 were investigated in normal ICR mice. 22RV1 tumor-bearing nude mouse models of human prostate cancer were established for small-animal SPECT/CT imaging at 1 and 2 h post-injection. Immunohistochemical staining was used to verify PSMA expression in tumor tissues. Data were analyzed using the independent-sample t test. **Results** The labeling process for $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PSMA-33 was completed within 30 min, achieving a labeling yield of $(98.5 \pm 0.7)\%$ ($n=3$) and the RCP $>99\%$. After incubation in PBS or fetal bovine serum (FBS) at 37°C for 6 h, the RCP remained $>98\%$, indicating good *in vitro* stability. The $\log P$ value was -2.06 ± 0.06 , reflecting strong hydrophilicity. The half maximal inhibitory concentration

(IC_{50}) of $^{99}Tc^m$ -PSMA-33 binding to 22RV1 cells was (3.53 ± 1.46) nmol/L. The total cellular uptake at 60 min was (11.78 ± 0.65) percentage of the added radioactivity dose (%AD), which was significantly reduced to (6.33 ± 0.39) %AD after specific blocking with 2-(phosphonomethyl)pentanedioic acid (2-PMPA) ($t = 16.65$, $P < 0.001$). Biodistribution in normal ICR mice showed rapid clearance from the blood, with renal excretion as the primary metabolic pathway. SPECT/CT imaging in tumor-bearing nude mice revealed significant accumulation and prolonged retention of $^{99}Tc^m$ -PSMA-33 in PSMA-positive tumor sites. Immunohistochemistry confirmed high PSMA expression in tumor tissues. **Conclusions** $^{99}Tc^m$ -PSMA-33 is successfully prepared with high labeling yield, excellent stability, and superior biological properties. It can specifically target PSMA-positive tumors in mice and shows promise as an economical and efficient novel SPECT probe for diagnosis of prostate cancer.

【Key words】 Prostatic neoplasms; Prostate-specific membrane antigen; Technetium; Tomography, emission-computed, single-photon; Tomography, X-ray computed; Mice, nude; PSMA-33

Fund program: National Natural Science Foundation of China (12405405, 82272038)

DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20251122-00427

前列腺癌是全球男性最常见的恶性肿瘤之一,发病率及死亡率持续攀升^[1-2]。该病早期症状隐匿,部分患者初诊时已进展至晚期,预后较差。现有治疗方法效果有限,疾病易进展为转移性去势抵抗性前列腺癌^[3-4]。实现早期精准诊断对改善预后至关重要^[5]。前列腺特异膜抗原(prostate specific membrane antigen, PSMA)是一种在前列腺癌细胞表面特异性高表达的Ⅱ型跨膜糖蛋白^[6],在超过90%的前列腺癌中呈过度表达,是理想的分子影像诊断与治疗靶点^[7]。

本研究引入一种结构创新的 PSMA 靶向配体 PSMA-33,构建 $^{99}Tc^m$ -PSMA-33 探针,并系统评价其理化性质、生物分布和药代动力学特征,以及对前列腺癌的诊断效能,验证其作为新型 SPECT 诊断探针的潜力。

材料与方法

1. 试剂与仪器。PSMA-33 由江苏恒瑞医药股份有限公司提供;RPMI 1640 培养基、胰蛋白酶、PBS 均购自南京凯基生物技术股份有限公司;胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)购自美国 GIBCO 公司;2-(膦酰基甲基)戊二酸[2-(phosphonomethyl)pentanedioic acid, 2-PMPA]购自美国 MCE 公司;BD 基质胶购自美国 Corning 公司;异氟烷购自深圳瑞沃德生命科技股份有限公司。主要仪器有高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)仪(日本岛津公司 LC-20AT 型)、Zorbax Rax-C18 柱(江苏汉邦科技股份有限公司)、 γ 计数器(美国 PerkinElmer 公司)、BS-110 型电子天平(德国 Sartorius 公司)和 U-SPECT/CT 仪(荷兰 MILabs BV 公司)。

2. 细胞株与实验动物。人前列腺癌 22RV1 细胞株(PSMA 阳性)由中国科学院干细胞库提供。雄性 ICR 小鼠 15 只,4~5 周龄,体质量(20 ± 2) g;雄

性 BALB/c 裸鼠 5 只,4~5 周龄,体质量(18 ± 2) g,均由常州卡文斯实验动物有限公司提供,许可证号码分别为 SCXK(沪)2018-0006 和 SCXK(苏)2016-0010。实验小鼠于无特殊病原体环境中饲养。

3. 荷瘤裸鼠模型建立。将对数生长期的 22RV1 细胞(5×10^6 个细胞/L)与 BD 基质胶按体积比 1:1 混合,接种于 BALB/c 裸鼠左侧前肢腋下($100 \mu\text{l}$ /只),至肿瘤最大径增至 0.5~0.8 cm 时用于实验。本研究动物实验经南京医科大学附属南京医院实验动物伦理委员会审批(审批号:DWSY-25134775)。

4. $^{99}Tc^m$ -PSMA-33 的制备。放射性标记示意图见图 1。分别称取三(羟甲基)甲基甘氨酸[tris(hydroxymethyl)methylglycine, Tricine]、三(3-磺酸钠基苯基)膦(triphenylphosphine-3,3',3"-trisulfonic acid trisodium salt, TPPTS)、丁二酸及丁二酸钠,用生理盐水配制成储备液。取各储备液,与前体 PSMA-33 及 $^{99}Tc^mO_4^-$ 洗液混合,避光,100℃下反应 30 min。加热结束后,将粗反应液缓慢加载到已平衡 C18 柱中,适量生理盐水冲洗 C18 柱,最后取适量乙醇淋洗 C18 柱,得到产物。标记率 = 产品放射性活度/(产品放射性活度 + 废液放射性活度 + C18 柱放射性活度) $\times 100\%$ 。

5. $^{99}Tc^m$ -PSMA-33 的质量控制及稳定性检测。产物放化纯采用 HPLC 法进行分析:流动相 A 为含体积分数 0.1%三氟乙酸的去离子水,流动相 B 为含体积分数 0.1%三氟乙酸的乙腈,15 min 内流动相 B 从 0~100%梯度洗脱,流速 1.0 ml/min,柱温为室温,紫外检测波长为 220 nm。取 100 μl 标记产物分别置于 400 μl PBS 体系或 FBS 体系中 37℃温育 2、4、6 h 后测放化纯,评估其体外稳定性。

6. 脂水分配系数(log P)测定。 $^{99}Tc^m$ -PSMA-33 分别加入含有相同体积(0.5 ml)正辛醇和水的 EP 管中,进行离心分层[25℃,1 000 r/min(离心半径

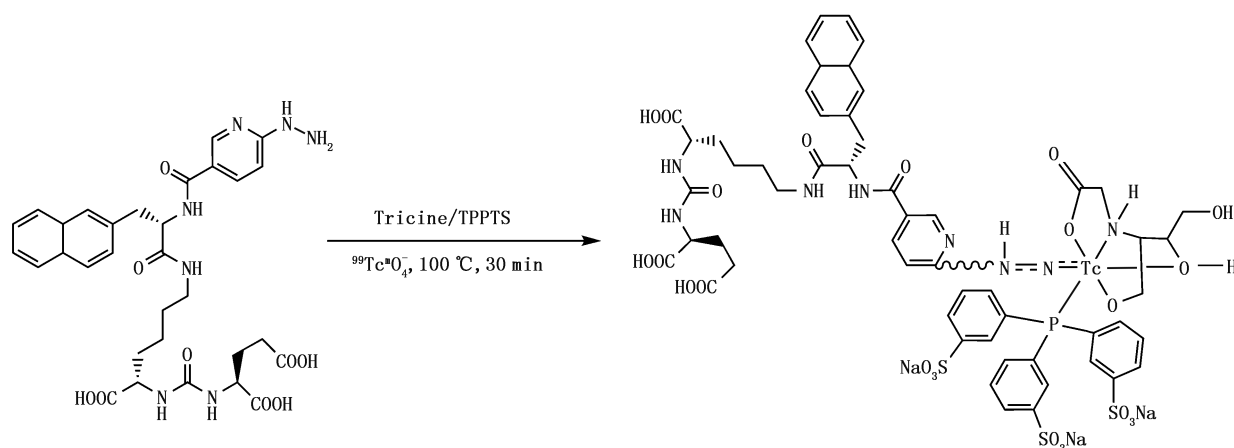


图1 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -前列腺特异膜抗原(PSMA)-33的放射性标记示意图 Tricine 为三(羟甲基)甲基甘氨酸,TPPTS 为三(3-磺酸钠苯基)膦

10 cm),离心 5 min]。分别取有机相和水相各 100 μl 于放免管中,在 γ 计数器中分别测量其放射性计数,由有机相和水相放射性计数的比值来计算 $\log P$ 。

7.细胞亲和力实验。将细胞按每孔 3×10^5 个接种于 24 孔板中,37 $^{\circ}\text{C}$ 温育培养 24 h 后,加入 7 组递增梯度浓度的 PSMA-33 溶液 ($2 \times 10^{-11} \sim 2 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$),温育 15 min 后,加入含等放射性剂量 (0.074 MBq) $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PSMA-33 的培养基,每组设 3 个复孔,37 $^{\circ}\text{C}$ 温育 2 h 后,用 γ 计数器测定每管放射性计数。

8.细胞摄取与阻断实验。将细胞按每孔 3×10^5 个接种于 24 孔板,37 $^{\circ}\text{C}$ 温育培养 24 h。采取成组设计,将摄取组设 5、15、30、60、90 和 120 min 共 6 个时间点,阻断组设 60 min 1 个时间点,每组设 3 个复孔。阻断组每孔加入含 2-PMPA (PSMA 活性位点的高效特异性抑制剂;10 $\mu\text{mol/L}$) 的培养基 500 μl ,温育 30 min 后,每孔加入等放射性剂量 (0.074 MBq) 的 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PSMA-33 培养基。同时摄取组加入含等放射性剂量的 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PSMA-33 培养基,于相应时间点终止培养。采用 γ 计数器测定每管放射性计数,并计算细胞百分加入放射性剂量 (percentage of the added radioactivity dose, %AD): %AD = (实验组放射性计数-空白组放射性计数)/(标准管放射性计数-空白组放射性计数) $\times 100\%$ 。

9.正常 ICR 小鼠的生物分布。取健康雄性 ICR 小鼠 15 只,采取随机数字表法将其分为 5 组,每组 3 只,予尾静脉注射 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PSMA-33 (7.4~14.1 MBq),分别于注射后 5、30、60、120、240 min 脱颈处死小鼠,取血液、心、肝、脾、肺、肾、胃、大肠、小肠、胰腺、肌肉、骨和脑,测量其质量及放射性计数,计算每克组织百分注射剂量率 (percentage activity of injection

dose per gram of tissue, %ID/g)。

10.荷瘤裸鼠 SPECT/CT 显像。取肿瘤大小合适的荷瘤裸鼠,尾静脉注射 7.4~14.1 MBq $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PSMA-33,分别于注射后 1、2 h 用体积分数 2% 的异氟烷气体麻醉小鼠后行 SPECT/CT 显像,配置高灵敏度准直器 (54 针孔),能窗设 140.5 ($\pm 10\%$) keV,采集矩阵为 128 $\times$ 128,360 $^{\circ}$ 旋转采集 60 帧,30 s/帧。重建分辨率为 1.00 mm,灵敏度 $> 12\,500 \text{ 计数} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{MBq}^{-1}$,每个时间点采集 10 min。图像重建后,勾画肿瘤及主要组织器官 (心、肝、脾、肺、肾、肌肉、骨、脑、唾液腺) 的 ROI,计算 %ID/g。

11.免疫组织化学检查。将显像后的荷瘤裸鼠处死,分离肿瘤组织,于体积分数 4% 多聚甲醛中固定。对肿瘤石蜡切片按标准流程进行脱蜡、水化、抗原修复及内源性过氧化物酶封闭。随后以质量分数 1% 牛血清白蛋白 (bovine serum albumin, BSA) 封闭,依次温育 PSMA 一抗 (购自英国 Abcam 公司;1:200,4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜) 及辣根过氧化物酶 (horseradish peroxidase, HRP) 标记的二抗 (购自上海埃必威生物技术有限公司;1:500,室温 20 min),二氨基联苯胺 (diaminobenzidine, DAB) 显色,苏木素复染。

12.统计学分析。采用 GraphPad Prism 9.5 软件进行统计学分析,以 Origin 2024 软件进行稳定性绘图,符合正态分布的定量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组间比较行两独立样本 t 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义 (双侧检验)。

结 果

1. $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PSMA-33 的制备、质量控制及稳定性。标记产物为无色澄清溶液,标记用时 30 min,标记率为 $(98.5 \pm 0.7)\%$ ($n = 3$),产物放化纯 $> 99\%$,为保障

终产物的纯度与安全性,尽管标记率较高,本研究仍进行 C18 柱纯化步骤,以去除潜在的放射性及化学杂质。 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PSMA-33 分别在 PBS 和 FBS 体系中 37 ℃ 温育 2、4、6 h 后,标记物的放化纯仍>98%,提示体外稳定性较好。 $\log P=-2.06\pm 0.06$,提示亲水性较强。

2. 细胞实验结果。 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PSMA-33 与 22RV1 细胞结合的半抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC_{50})为 $(3.53\pm 1.46)\text{ nmol/L}$ (图 2)。22RV1 细胞对 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PSMA-33 的特异性摄取随时间延长不断增加,60 min 时细胞的总摄取率为 $(11.78\pm 0.65)\text{ \%AD}$ (图 3),加入阻断剂 2-PMPA 后摄取率降低至 $(6.33\pm 0.39)\text{ \%AD}$ ($t=16.65, P<0.001$)。

3. $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PSMA-33 在正常 ICR 小鼠体内的生物分布。 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PSMA-33 在血液中迅速清除,注射后 5 min 和 120 min 血液的摄取分别为 (16.54 ± 0.60) 和 $(2.67\pm 0.41)\text{ \%ID/g}$;其在肾脏的摄取在各个时间点最高,提示 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PSMA-33 主要通过肾脏排泄;肺部有少量摄取,其他组织器官的摄取均较低,并随血液的清除迅速降低(表 1)。

4. 荷瘤裸鼠 SPECT/CT 显像及免疫组织化学检查。 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PSMA-33 注射后 1 h 肿瘤摄取为 $(11.71\pm 1.43)\text{ \%ID/g}$,至 2 h 仍有较高显像剂浓聚[$(12.41\pm 3.93)\text{ \%ID/g}$;图 4]。肾脏对 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PSMA-33 的摄取迅速增加并排泄至膀胱;唾液腺的摄取较低[1 h: $(1.47\pm 0.04)\text{ \%ID/g}$; 2 h: $(0.97\pm 0.52)\text{ \%ID/g}$],其他主要组织器官未见明显摄取。免疫组织化学检测结果显示 22RV1 荷瘤裸鼠肿瘤组织表达丰富的 PSMA 蛋白(图 5)。

讨 论

目前,临床广泛使用的 PSMA 靶向 PET 探针主要基于 ^{18}F 或 ^{68}Ga 标记,如 ^{68}Ga -PSMA-11、 ^{68}Ga -PSMA-I&T、 ^{68}Ga -PSMA-617、 ^{18}F -PSMA-1007 等^[8-10]。然而,此类 PET 探针在临床推广中仍面临诸多限制: ^{68}Ga 半衰期较短(67.71 min)^[11]; ^{18}F 标记虽半衰期相对较长(约 109.77 min),但其制备依赖回旋加速器,设施投入与运营成本较高。 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 具有适宜的半衰期(6.02 h)、可标记多种显像药物及发射单一适宜能

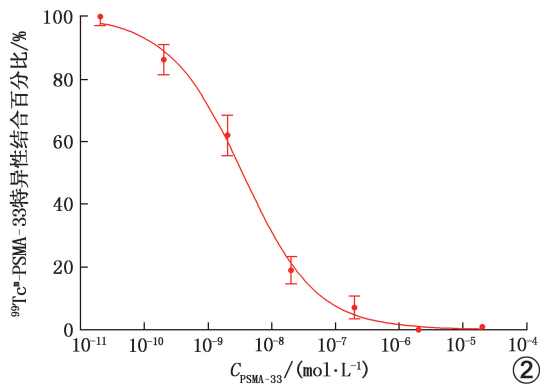


图 2 不同浓度的前列腺特异膜抗原(PSMA)-33 处理 22RV1 细胞后, $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PSMA-33 与 22RV1 细胞的竞争性结合曲线

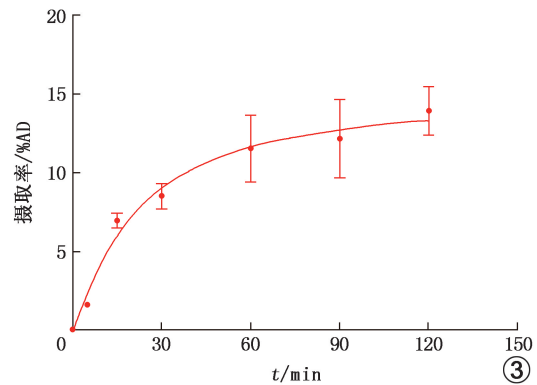


图 3 22RV1 细胞在不同时间点对 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PSMA-33 的摄取率情况

%AD 为百分加入放射性剂量

表 1 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PSMA-33 在正常 ICR 小鼠体内注射后不同时间点的生物分布($\text{\%ID/g}$; $\bar{x}\pm s$)

组织或器官	5 min	30 min	60 min	120 min	240 min
心	12.81 $\pm$ 1.32	8.84 $\pm$ 1.07	8.96 $\pm$ 2.11	4.84 $\pm$ 1.06	3.20 $\pm$ 0.85
肝	10.66 $\pm$ 2.84	5.02 $\pm$ 1.12	6.52 $\pm$ 1.81	4.00 $\pm$ 1.06	2.91 $\pm$ 0.72
脾	8.08 $\pm$ 3.17	9.40 $\pm$ 4.23	8.14 $\pm$ 2.16	7.68 $\pm$ 0.50	4.56 $\pm$ 1.86
肺	16.82 $\pm$ 0.74	14.15 $\pm$ 1.26	15.09 $\pm$ 3.51	11.61 $\pm$ 2.55	8.01 $\pm$ 2.55
肾	113.74 $\pm$ 19.46	113.49 $\pm$ 12.96	128.10 $\pm$ 26.46	143.72 $\pm$ 16.48	127.09 $\pm$ 28.68
胃	8.42 $\pm$ 0.60	5.28 $\pm$ 0.52	4.69 $\pm$ 1.16	3.01 $\pm$ 0.69	2.11 $\pm$ 0.36
大肠	8.55 $\pm$ 0.56	9.95 $\pm$ 2.17	5.99 $\pm$ 2.83	5.36 $\pm$ 1.96	2.72 $\pm$ 0.48
小肠	7.68 $\pm$ 1.48	6.48 $\pm$ 1.09	5.71 $\pm$ 1.38	5.36 $\pm$ 1.36	2.96 $\pm$ 1.36
胰腺	8.76 $\pm$ 0.66	5.81 $\pm$ 1.19	6.70 $\pm$ 1.21	4.80 $\pm$ 1.00	2.57 $\pm$ 1.04
肌肉	8.42 $\pm$ 0.84	5.57 $\pm$ 1.24	5.83 $\pm$ 0.86	3.16 $\pm$ 0.81	2.21 $\pm$ 0.75
骨	10.86 $\pm$ 1.03	6.47 $\pm$ 1.19	5.80 $\pm$ 1.40	3.83 $\pm$ 0.72	2.13 $\pm$ 0.41
脑	0.53 $\pm$ 0.05	0.22 $\pm$ 0.03	0.20 $\pm$ 0.03	0.19 $\pm$ 0.10	0.13 $\pm$ 0.05
血液	16.54 $\pm$ 0.60	5.68 $\pm$ 0.85	5.36 $\pm$ 1.12	2.67 $\pm$ 0.41	1.56 $\pm$ 0.25

注:各时间点小鼠数均为 3 只;PSMA 为前列腺特异膜抗原,%ID/g 为每克组织百分注射剂量率

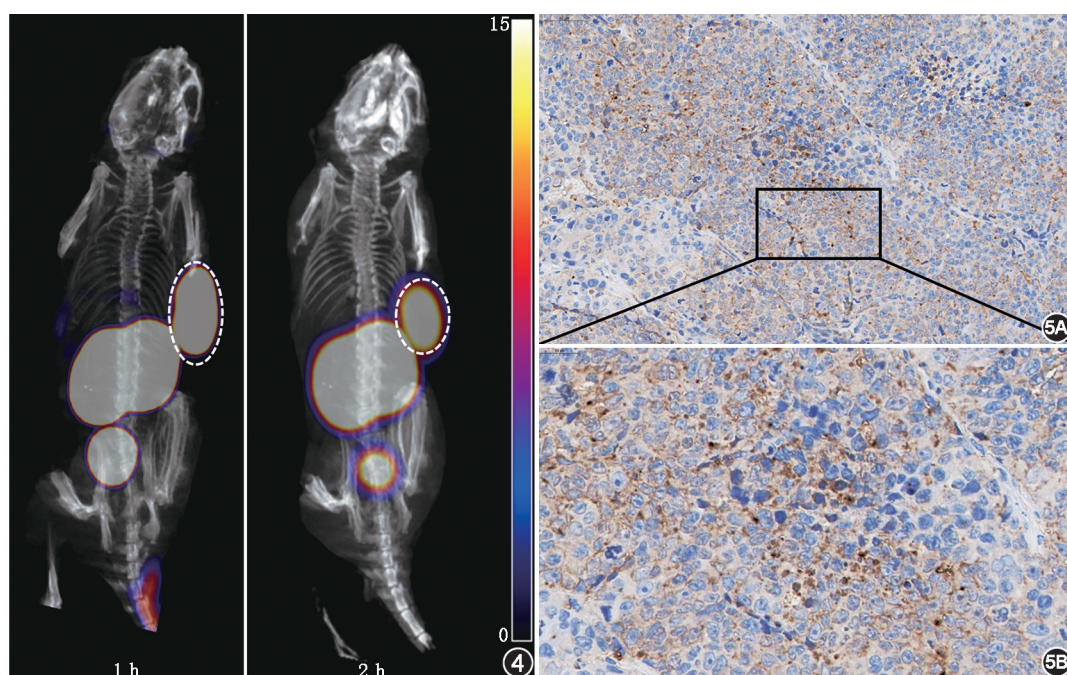


图4 22RV1 荷瘤裸鼠注射 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -前列腺特异膜抗原(PSMA)-33 后 1、2 h 的 SPECT/CT 显像图[虚线圈示肿瘤,色带单位为每克组织百分注射剂量率(%ID/g)] 可见注射后 1 h 肿瘤部位显像剂摄取明显,2 h 时摄取进一步增强,肿瘤显影清晰 图5 22RV1 荷瘤裸鼠肿瘤组织免疫组织化学检测结果[链霉亲和素-生物素-过氧化物酶复合物(SABC)法] 5A.低倍视野($\times 20$),黑框圈示阳性区域;5B.局部放大($\times 80$),可见 PSMA 蛋白表达

量 γ 射线(140.5 keV, 占比 98.6%)等优势,与 ^{68}Ga 相比其标记物更易运输与调度,与 ^{18}F 相比则成本更低、更易获取^[12-13],因此 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 标记物可能是一种更经济的替代性选择。另外,全国核医学现状普查数据显示,SPECT/CT 的医疗机构配置率明显高于 PET/CT^[14],且其检查费用更低、核素也更易获取。

本研究成功制备了创新性 SPECT 探针 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PSMA-33,其分子设计实现了对经典骨架的突破性改造:以刚性芳香吡啶环取代 PSMA-617 中原有的环己烷。吡啶环的刚性平面芳香结构可增强与 PSMA 活性位点芳香氨基酸残基的 π - π 堆积相互作用,进而提升探针与靶点的亲和力;同时,吡啶环氮原子作为潜在额外配位点,有助于与 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 形成更稳定的螯合结构。 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PSMA-33 在体外 PBS 或 FBS 中温育 6 h 后放化纯仍 $>98\%$,稳定性良好;细胞水平 IC_{50} 为 (3.53 ± 1.46) nmol/L,与 PSMA-617 亲和力相当^[15-16];其摄取可被 2-PMPA 特异性阻断,提示 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PSMA-33 对 22RV1 细胞具有高特异性。生物分布结果显示其在正常 ICR 小鼠体内主要经过肾脏排泄,符合其亲水特性,有助于降低血液毒性。SPECT/CT 显像示该探针在肿瘤区域呈显像剂浓聚,其他主要组织器官均未见明显非特异性摄取。SPECT/CT 显像 ROI 半定量分析结果与生物分布数据在揭示探针的

分布模式与靶向特性上结论一致。值得关注的是,唾液腺区域的摄取维持在较低水平[1 h: (1.47 ± 0.04) %ID/g; 2 h: (0.97 ± 0.52) %ID/g],降低了 PSMA 靶向分子探针唾液腺组织的潜在毒性及不良反应风险^[17-18]。

本研究仍存在一定局限性。首先,采用的 100 $^{\circ}\text{C}$ 加热 30 min 的条件虽能确保临床前研究中的高效螯合,但对自动化合成及临床转化提出了挑战,未来需优化标记方案。其次,SPECT/CT 显像时间仅至注射后 2 h,未能提供更长时间的肿瘤滞留与清除数据。

总之,本研究合成的 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -PSMA-33 具有高标记率、良好的稳定性、亲和力及靶向特异性,且 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ /SPECT 平台兼具经济性与可及性优势,在前列腺癌诊断、术中淋巴结定位及疗效评估方面具有一定的临床应用潜力。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明 罗洁:研究实施、论文撰写;吴芝洋、吴文雨、吴江、罗波、徐雨彤:统计学分析;王峰:论文修改、经费支持、研究指导

参 考 文 献

- [1] Bergengren O, Pekala KR, Matsoukas K, et al. 2022 Update on prostate cancer epidemiology and risk factors—a systematic review [J]. Eur Urol, 2023, 84(2): 191-206. DOI: 10.1016/j.eururo.2023.04.021.

- [2] 中华医学会核医学分会, 中国医师协会核医学医师分会. 前列腺癌 PSMA PET 显像临床应用中国专家共识(2025 版)[J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2025, 45(6): 364-371. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20250223-00050. Chinese Society of Nuclear Medicine, Chinese Association of Nuclear Medicine Physicians. Chinese expert consensus on the clinical application of PSMA PET imaging for prostate cancer (2025 edition)[J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2025, 45(6): 364-371. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20250223-00050.
- [3] Sun R, Yan B, Li H, et al. Androgen receptor variants confer castration resistance in prostate cancer by counteracting antiandrogen-induced derroptosis[J]. Cancer Res, 2023, 83(19): 3192-3204. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-23-0285.
- [4] Wasim S, Lee SY, Kim J. Complexities of prostate cancer[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(22): 14257. DOI: 10.3390/ijms232214257.
- [5] Uemura M, Watabe T, Hoshi S, et al. The current status of prostate cancer treatment and PSMA theranostics[J]. Ther Adv Med Oncol, 2023, 15: 17588359231182293. DOI: 10.1177/17588359231182293.
- [6] 任亚楠, 刘特立, 朱华, 等. 新型靶向 PSMA PET 探针链接链的效应研究[J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2023, 43(4): 211-215. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20230130-00022. Ren YN, Liu TL, Zhu H, et al. Effect of the linker in novel targeted PSMA PET probes[J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2023, 43(4): 211-215. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20230130-00022.
- [7] Brunello S, Salvatore N, Carpanese D, et al. A review on the current state and future perspectives of [^{99m}Tc]Tc-housed PSMA-i in prostate cancer[J]. Molecules, 2022, 27(9): 2617. DOI: 10.3390/molecules27092617.
- [8] Cheng L, Yang T, Zhang J, et al. The application of radiolabeled targeted molecular probes for the diagnosis and treatment of prostate cancer[J]. Korean J Radiol, 2023, 24(6): 574-589. DOI: 10.3348/kjr.2022.1002.
- [9] 陈翹楚, 王—宁, 周翔, 等. ^{68}Ga -PSMA-11 PET/CT 在前列腺癌根治术后生化复发患者中的检出率及病灶分布特征分析[J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2024, 44(9): 528-532. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20240627-00231. Chen QC, Wang YN, Zhou X, et al. Detection rate of ^{68}Ga -PSMA-11 PET/CT and distribution characteristics of lesions in patients with biochemical recurrence after radical prostatectomy for prostate cancer[J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2024, 44(9): 528-532. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20240627-00231.
- [10] 罗量, 王睿妍, 高俊刚, 等. ^{18}F -PSMA-1007 PET/CT 在 mpMRI PI-RADS 1~3 分的前列腺癌诊断中的应用价值[J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2025, 45(10): 595-599. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20240929-00335. Luo L, Wang RY, Gao JG, et al. Diagnostic value of ^{18}F -PSMA-1007 PET/CT in patients with PI-RADS 1-3 prostate cancer lesions on multi-parametric MRI[J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2025, 45(10): 595-599. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20240929-00335.
- [11] Nelson BJB, Andersson JD, Wuest F, et al. Good practices for ^{68}Ga radiopharmaceutical production[J]. EJNMMI Radiopharm Chem, 2022, 7(1): 27. DOI: 10.1186/s41181-022-00180-1.
- [12] Duatti A. Review on ^{99m}Tc radiopharmaceuticals with emphasis on new advancements[J]. Nucl Med Biol, 2021, 92: 202-216. DOI: 10.1016/j.nucmedbio.2020.05.005.
- [13] 赵尊, 武新宇, 李博, 等. ^{99m}Tc -HYNIC-PSMA SPECT/CT 在前列腺癌生化复发中的临床价值[J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2024, 44(4): 230-234. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20230621-00182. Zhao Z, Wu XY, Li B, et al. Clinical value of ^{99m}Tc -HYNIC-PSMA SPECT/CT biochemical recurrence of prostate cancer[J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2024, 44(4): 230-234. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20230621-00182.
- [14] 中华医学会核医学分会. 2024 年全国核医学现状普查结果简报[J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2024, 44(10): 617-618. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20240920-00327. Chinese Society of Nuclear Medicine. A brief report on the results of the national survey of nuclear medicine in 2024[J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2024, 44(10): 617-618. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20240920-00327.
- [15] Ruigrok EAM, van Vliet N, Dalm SU, et al. Extensive preclinical evaluation of lutetium-177-labeled PSMA-specific tracers for prostate cancer radionuclide therapy[J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2021, 48(5): 1339-1350. DOI: 10.1007/s00259-020-05057-6.
- [16] Benešová M, Schäfer M, Bauder-Wüst U, et al. Preclinical evaluation of a tailor-made DOTA-conjugated PSMA inhibitor with optimized linker moiety for imaging and endoradiotherapy of prostate cancer[J]. J Nucl Med, 2015, 56(6): 914-920. DOI: 10.2967/jnumed.114.147413.
- [17] 傅文会, 徐婷婷, 刘会攀, 等. $^{225}\text{Ac}/^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617 治疗前列腺癌继发唾液腺损伤及保护的研究进展[J]. 中华核医学与分子影像杂志, 2022, 42(10): 628-632. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20210409-00105. Fu WH, Xu TT, Liu HP, et al. Research progress of salivary glands injury secondary to $^{225}\text{Ac}/^{177}\text{Lu}$ -PSMA-617 in the treatment of prostate cancer and its protection[J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2022, 42(10): 628-632. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20210409-00105.
- [18] Muniz M, Loprinzi CL, Orme JJ, et al. Salivary toxicity from PSMA-targeted radiopharmaceuticals: what we have learned and where we are going[J]. Cancer Treat Rev, 2024, 127: 102748. DOI: 10.1016/j.ctrv.2024.102748.

(收稿日期: 2025-11-22)