

用于恐惧记忆疾病诊断的新型 PET 示踪剂¹⁸F-SQKJ-2 开发与表征

何万里¹ 马晨昕² 曹星海¹ 陈俊威¹ 谷岩²

曹淑霞³ 王志强⁴ 毛迪龙¹ 和庆钢¹

¹浙江大学化学工程与生物工程学院, 杭州 310027; ²浙江大学医学院干细胞与再生医学研究中心, 杭州 310027; ³浙江大学医学院附属邵逸夫医院生物医学研究中心, 杭州 310016; ⁴温州医科大学附属第一医院核医学科, 温州 325000

通信作者: 和庆钢, Email: qghe@zju.edu.cn; 谷岩, Email: guyan2015@zju.edu.cn; 王志强, Email: wzqfine@163.com

【摘要】 目的 开发并验证一种靶向大麻素 1 型 (CB1) 受体的新型 PET 示踪剂 *N*-环己基-4-((2,4-二氯苯基)(4-(氟-¹⁸F)苯基)甲基)哌嗪-1-甲酰胺 (¹⁸F-SQKJ-2), 用于诊断与恐惧记忆相关的精神疾病。方法 采用亲核取代的放射性化学合成方法制备 ¹⁸F-SQKJ-2。行 CB1 受体阻断实验: 取 7 只 ICR 小鼠, 分为阻断组 (4 只) 与对照 1 组 (3 只), 阻断组予利莫那班阻断 CB1 受体, 对照 1 组不行阻断, 对比 2 组动物不同器官对 ¹⁸F-SQKJ-2 的摄取 [每克组织百分注射剂量率 (%ID/g)] 差异, 分析 ¹⁸F-SQKJ-2 对 CB1 受体的亲和力和特异性。通过动物组织匀浆研究 ¹⁸F-SQKJ-2 体外代谢稳定性, 取 10 只 C57 小鼠建立恐惧记忆小鼠模型 (恐惧组 6 只, 对照 2 组 4 只), 分析 2 组的僵立时间百分比; 通过 microPET 显像检测 ¹⁸F-SQKJ-2 脑内分布, 计算各脑区相对总脑摄取, 分析 2 组恐惧记忆相关脑区 CB1 受体相对总脑摄取的差异。采用两独立样本 *t* 检验和 Mann-Whitney *U* 检验分析数据。结果 成功合成 ¹⁸F-SQKJ-2, 放化纯 ≥ 98.0%, 校正放射化学产率 (12.3 ± 6.0)% (*n* = 4)。体外代谢稳定性实验显示, ¹⁸F-SQKJ-2 在肝脏、血液和脑中 60 min 内基本稳定。CB1 受体阻断实验示, 阻断组小鼠脑部 ¹⁸F-SQKJ-2 摄取较对照 1 组明显降低 [(0.95 ± 0.28) 与 (3.44 ± 1.16) %ID/g; *t* = -3.57, *P* = 0.023]。恐惧组小鼠的僵立时间百分比明显高于对照 2 组 [43.28% (39.46%, 52.93%) 与 2.74% (1.52%, 4.85%); *Z* = -2.45, *P* = 0.010]。¹⁸F-SQKJ-2 microPET 显像示恐惧组小鼠大脑皮质 ¹⁸F-SQKJ-2 的相对总脑摄取较对照 2 组明显增加 [(5.83 ± 0.47)% 与 (5.00 ± 0.52)%; *t* = 2.42, *P* = 0.046]。结论 成功制备 ¹⁸F-SQKJ-2, 其放化纯和代谢稳定性符合要求, 具有可视化、定量研究恐惧记忆的潜力。

【关键词】 记忆障碍; 恐惧; 受体; 大麻酚; CB1; 正电子发射断层显像术; 小鼠; ¹⁸F-SQKJ-2

基金项目: 国家自然科学基金 (32027802); 浙江省科技计划 (2024C03100, 2022C03071)

DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20241223-00443

Development and characterization of ¹⁸F-SQKJ-2: a novel PET tracer for the diagnosis of fear memory disorders

He Wanli¹, Ma Chenxin², Cao Xinghai¹, Chen Junwei¹, Gu Yan², Cao Shuxia³, Wang Zhiqiang⁴, Mao Dilong¹, He Qinggang¹

¹College of Chemical and Biological Engineering, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China; ²Research Center for Stem Cells and Regenerative Medicine, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China; ³Biomedical Research Center, Sir Run Run Shaw Hospital, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310016, China; ⁴Department of Nuclear Medicine, the First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou 325000, China

Corresponding authors: He Qinggang, Email: qghe@zju.edu.cn; Gu Yan, Email: guyan2015@zju.edu.cn; Wang Zhiqiang, Email: wzqfine@163.com

【Abstract】 Objective To develop and validate a novel PET tracer, *N*-cyclohexyl-4-((2,4-dichlorophenyl)(4-(fluoro-¹⁸F)phenyl)methyl)piperazine-1-carboxamide (¹⁸F-SQKJ-2), targeting cannabinoid type 1 (CB1) receptors for diagnosing psychiatric disorders associated with fear memory. **Methods** ¹⁸F-SQKJ-2 was prepared using a nucleophilic substitution radiochemical synthesis method. For the CB1 receptor blocking experiment, 7 ICR mice were divided into blocking group (*n* = 4; rimonabant for blocking treatment) and control group 1 (*n* = 3; no rimonabant blocking treatment). The affinity and specificity of ¹⁸F-SQKJ-2 for CB1 receptors were analyzed based on the differences in ¹⁸F-SQKJ-2 uptake (percentage injected

dose per gram of tissue, % ID/g) by various organs between two groups. The metabolic stability of ^{18}F -SQKJ-2 *in vitro* was studied using animal tissue homogenates. Ten C57 mice were used to establish fear memory mouse models (fear group, $n=6$; control group 2, $n=4$), and the percentage of freezing time was compared between 2 groups. MicroPET scans were used to detect the intracranial distribution of ^{18}F -SQKJ-2, and the relative uptake in each brain region compared to total brain uptake was calculated. Statistical analysis was conducted to compare the differences in CB1 receptor relative total brain uptake in fear-related brain regions between 2 groups. Independent-sample *t* test and Mann-Whitney *U* test were used to analyze the data. **Results** ^{18}F -SQKJ-2 was successfully synthesized with a radiochemical purity $\geq 98.0\%$ and a corrected radioactive yield of $(12.3\pm 6.0)\%$ ($n=4$). *In vitro* metabolic stability experiments showed that ^{18}F -SQKJ-2 was basically stable in the liver, blood, and brain within 60 min. The CB1 receptor blocking experiment demonstrated that the uptake of ^{18}F -SQKJ-2 in the brains of mice in blocking group was significantly lower than that in control group 1 ((0.95 ± 0.28) vs (3.44 ± 1.16) %ID/g; $t=-3.57$, $P=0.023$). The percentage of freezing time in fear group was significantly higher than that in control group 2 (43.28% (39.46% , 52.93%) vs 2.74% (1.52% , 4.85%); $Z=-2.45$, $P=0.010$). ^{18}F -SQKJ-2 microPET imaging showed that the uptake of ^{18}F -SQKJ-2 in the cerebral cortex of mice in fear group was significantly increased compared with that in control group 2 ($(5.83\pm 0.47)\%$ vs $(5.00\pm 0.52)\%$; $t=2.42$, $P=0.046$). **Conclusion** ^{18}F -SQKJ-2 is successfully prepared with acceptable radiochemical purity and metabolic stability, demonstrating potential for visualizing and quantifying fear memory.

【Key words】 Memory disorders; Fear; Receptor, cannabinoid, CB1; Positron-emission tomography; Mice; ^{18}F -SQKJ-2

Fund program: National Natural Science Foundation of China (32027802); Science and Technology Program of Zhejiang Province(2024C03100, 2022C03071)

DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20241223-00443

恐惧记忆是生物面对威胁时形成的一种持久记忆,能激活逃避或应对反应,是应对危险的重要机制^[1],但强烈或不当触发可能演变为病理性记忆,导致心理问题,如创伤后应激障碍等^[2-4]。过度的恐惧记忆还与焦虑、抑郁等心理问题密切相关^[5]。目前,诊断恐惧记忆疾病手段依赖行为学研究,存在定量能力差、特异性不强和灵敏度低等问题,难以满足临床诊断的需求^[6]。

PET 能够在分子水平精确检测神经元与脑组织中细微的生理变化,为恐惧记忆相关疾病的诊断提供了更多选择^[7]。大麻素 1 型 (cannabinoid type 1, CB1) 受体在神经系统广泛分布,在情绪记忆相关脑区(如前边缘杏仁核)中高表达。临床前和临床研究表明,内源性大麻素系统,特别是 CB1 受体,对消除杏仁核中的恐惧记忆至关重要,因此 CB1 受体是开发用于恐惧记忆研究的药物的理想靶点^[8]。为开发研究恐惧记忆的新型有效工具,研究者对 CB1 型反向激动剂进行优选,将优选分子作为先导化合物。既往研究报道,Tao Meng(6 h) 具有较好的亲和力和入脑能力^[8],本研究基于 Tao Meng(6 h) 开发新型 PET 示踪剂 *N*-环己基-4-((2,4-二氯苯基)(4-(氟- ^{18}F)苯基)甲基)哌嗪-1-甲酰胺 [*N*-cyclohexyl-4-((2,4-dichlorophenyl)(4-(fluoro- ^{18}F)phenyl)methyl)piperazine-1-carboxamide, ^{18}F -SQKJ-2], 拟将该药用于恐惧记忆相关疾病的诊断,实时无创监测脑内代谢变化,为临床诊断和治疗提供新的研究工具和研究方向。

材料与方法

一、实验材料

1. 实验动物。10 周龄雄性 ICR 小鼠 7 只, 体质量 32~38 g; 10 周龄雄性 C57 小鼠 10 只, 体质量 33~38 g; 10 周龄雄性 SD 大鼠 1 只, 体质量 370 g。实验用鼠均购自杭州医学院[许可证号 SYXK(浙)2022-0027], 于无特定病原体级环境饲养。本实验遵循国家和本院有关实验动物管理和使用的规定, 涉及动物实验的活动均经浙江大学实验动物福利伦理审查委员会审批(批准编号: ZJU20240914)。

2. 主要仪器。上海安亭科学仪器厂高速离心机 TDL-60B; 杭州吉蕊科技有限公司 OnePlatform[®] V3.1s 型放射性全自动合成仪; 美国 Phenomenex 公司半制备色谱柱 (Phenomenex Synergi Hydro-RP; 4 μm , 250 mm \times 10 mm); 放射性高效液相色谱 (high performance liquid chromatography, HPLC) 仪: 美国 Waters 科技有限公司 HPLC (Waters e2695+2489) 配德国 Eckert&Ziegler 放射及医药科技股份公司的 Flow-Count Pro 辐射检测器; 美国 Waters 科技有限公司的 Sep-Pak C18 色谱小柱; 美国 PerkinElmer 股份有限公司 WIZARD2 型 γ 计数仪; 上海净信实业发展有限公司 JXFSTPRP-24L 快速研磨仪; 富士胶片株式会社 (日本) FLA-7000 多元生物成像系统; 美国 Coulbourn Instruments 公司 ACT-100A 型条件性恐惧实验箱; 西班牙 Sedecal 医疗设备有限公司 Super-Argus 型 microPET/CT 仪。

3. 主要试剂。[^{18}O]H $_2$ O 购自江苏华益科技有限公司;无水乙腈购自美国 Sigma-Aldrich(上海)贸易有限公司;利莫那班购自河北沿程生物科技有限公司;异氟烷购自深圳市瑞沃德生命科技股份有限公司;PBS(pH 值 7.2)购自美国 Thermo Fisher 科技公司;无菌滤膜(Millex-LG, 0.20 μm)购自德国 Merck 集团。

二、实验方法

1. ^{18}F -SQKJ-2 的合成。采用放射性型全自动合成仪自动制备 ^{18}F -SQKJ-2,合成路线见图 1。先合成 ^{18}F -SQKJ-2 前体(即由化合物 1 生成化合物 10)。前体和 $^{18}\text{F}^-$ 在 1.5 ml 无水乙腈的密闭体系进行放射性合成,反应温度 100 $^{\circ}\text{C}$,反应时间 10 min。反应结束后,降温至 40 $^{\circ}\text{C}$ 。取 2 μl 样品,用乙腈稀释至 100 μl ,通过放射性 HPLC 分析溶液成分。使用半制备色谱分离产物。向含有纯化 ^{18}F -SQKJ-2 的馏分加入 40 ml 水稀释,用 Sep-Pak C18 色谱小柱捕获示踪剂产物,再用有机溶液(由 1 ml 乙醇、19 ml 10 mg/ml 抗坏血酸生理盐水溶液配制)淋洗,洗脱液过无菌滤膜至样品瓶中。

2. ^{18}F -SQKJ-2 的性能表征。为确认 ^{18}F -SQKJ-2 对 CB1 受体的亲和力和特异性靶向能力,行阻断实验。取 7 只 ICR 小鼠,采用随机数字表法分为阻断组(4 只)和对照 1 组(3 只)。阻断组小鼠每日每只予 0.2 ml 含 15 mg/ml 利莫那班的生理盐水,连续

14 d;对照 1 组小鼠每日每只予 0.2 ml 生理盐水,连续 14 d;予 2 组小鼠相同的饲料和水源,保持饲料和饮水充足。根据小鼠体质量经尾静脉注射 ^{18}F -SQKJ-2 (37 MBq/g),注射后 20 min 麻醉处死小鼠,经生理盐水灌注,取心脏、肝、脾、肺、肾和脑组织,使用多元生物成像系统行放射自显影检测。采用 γ 计数器记录放射性活度并测量放射性浓度,对给药时间进行衰减校正。

3. ^{18}F -SQKJ-2 的体外代谢稳定性研究。采用动物组织匀浆模拟生物体系的代谢环境,通过控制温育时间和温度,使用放射性 HPLC 对温育后溶液进行检测,分析示踪剂纯度变化以评估其代谢稳定性。(1)动物组织匀浆制备。①肝脏匀浆。选取 1 只健康的 SD 大鼠,在麻醉状态下迅速切除其肝脏,用生理盐水冲洗以去除血液残留。将肝脏放入预冷的 PBS 中,快速研磨为匀浆。将匀浆超声处理 10 min,再离心 10 min(离心半径 350 mm,转速 3 000 r/min)。取上清液备用,进一步离心 15 min(离心半径 350 mm,转速 3 000 r/min)。取澄清的上清液分装为 1 ml 的小份,-70 $^{\circ}\text{C}$ 下储存备用。②脑匀浆。麻醉 SD 大鼠后迅速取出脑组织,清洗去除血液残留。将剪碎的脑组织放入预冷的 PBS 中,后研磨成匀浆,离心 10 min(离心半径 350 mm,转速 3 000 r/min)以去除细胞碎片和杂质。取上清液作为脑匀浆,储存备用。③血液。在大鼠麻醉状态下,通过静脉穿刺

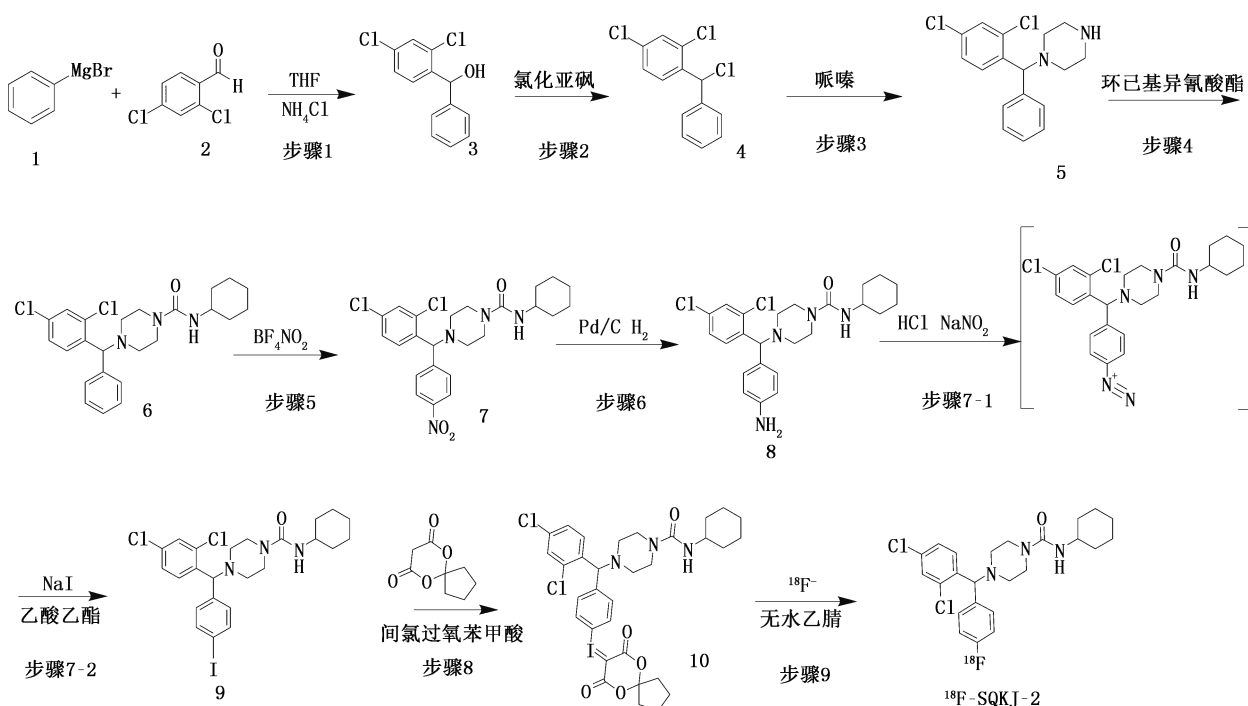


图 1 N-环己基-4-((2,4-二氯苯基)(4-(^{18}F)苯基)甲基)哌嗪-1-甲酰胺(^{18}F -SQKJ-2)的合成路线图

或尾静脉切割采集静脉血液。将血液置于无菌离心管中待其自然凝固。低速离心 10 min (离心半径 350 mm, 转速 1 500 r/min) 以分离, 并进行无菌过滤, 以去除其中的细菌和其他微生物。过滤后液体即为制备好的血液样本, 储存备用。

(2) 体外代谢实验。将 37 MBq ^{18}F -SQKJ-2 分别与肝脏匀浆、脑匀浆和血液混合。于混合后 0、15、30、60、120、180 min 分别取样, 取样后立即终止反应, 离心 10 min (离心半径 350 mm, 转速 3 000 r/min) 分离上清液。取适量上清液检测放射性 HPLC, 获得示踪剂纯化。

4. 恐惧记忆研究。采用恐惧实验箱模拟特定的恐惧情境, 触发和评估动物的恐惧反应和记忆能力。记录并分析实验动物的僵立时间百分比 (freezing), 用于评估动物在面临条件刺激时的恐惧程度。僵立时间百分比是指在实验过程中动物处于僵立状态的时间占总实验时间的百分比, 计算公式为: 僵立时间百分比 = (僵立时间/总实验时间) × 100%。通常僵立时间百分比越大, 动物对条件刺激的恐惧记忆越深刻。本研究中, 僵立时间百分比由恐惧实验箱动物行为学软件系统自动识别和计算。

取 10 只 C57 小鼠, 采用随机数字表法随机分为恐惧组 (6 只)、对照 2 组 (4 只)。实验分为 3 步。(1) 恐惧记忆训练。将恐惧组小鼠置于恐惧箱 (context A) 中适应 2 min, 予 30 s 800 Hz 80 dB 声音刺激, 在声音刺激结束前 2 s 内, 予 1 mA 电流刺激, 完成后, 间隔 30 s, 重复上述操作 2 次, 待小鼠在恐惧箱中休息 1 min 后将其放回饲养笼中。连续 3 d 重复以上操作。每日分析小鼠僵立时间百分比, 评估其恐惧记忆形成情况。对照 2 组不予电流刺激, 其他处理同恐惧组。(2) 恐惧记忆提取。利用设备记录僵立时间百分比数据, 将恐惧组小鼠放置于恐惧箱新环境中 (context B), 静置 3 min 不进行声音刺激, 而后予 3 min 声音刺激 (800 Hz, 80 dB), 随后放回饲养笼, 对照 2 组小鼠给予同样操作。分析小鼠分别在静置阶段和声音刺激阶段的僵立时间百分比, 评估其恐惧记忆的提取情况。(3) ^{18}F -SQKJ-2 microPET 显像。预麻醉 (体积分数 1%~2% 异氟烷、1.5 L/min O_2) 小鼠后, 根据体质量经尾静脉注射 ^{18}F -SQKJ-2 37 MBq/g, 注射后 20 min 行脑部 microPET/CT 显像, 记录脑区 CB1 受体的分布情况。为了减少操作和示踪剂衰变导致的体质量 SUV (SUV body weight, SUV_{bw}) 绝对数值的误差, 本研究采用相对总脑摄取评估示踪剂摄取的情况。相对总脑摄取为某

脑区 SUV_{bw} 与整个脑区摄取 SUV_{bw} 的相对百分比, 用于反映各脑区的示踪剂摄取在脑区分布的权重。

5. 统计学处理。采用 3D Slicer 5.6.2 软件处理放射性影像数据, 采用 GraphPad Prism 8.0 软件行统计学分析。符合正态分布的定量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 不符合正态分布的定量资料采用 $M(Q_1, Q_3)$ 表示。采用两独立样本 t 检验比较阻断组和对照 1 组对示踪剂的摄取 [每克组织百分注射剂量率 (percentage injected dose per gram of tissue, %ID/g)] 差异, 采用 Mann-Whitney U 检验比较恐惧组与对照 2 组的恐惧记忆提取数据 (僵立时间百分比) 差异。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义 (双侧检验)。

结 果

1. ^{18}F -SQKJ-2 的合成。经放射性 HPLC 确认, ^{18}F -SQKJ-2 成功合成。衰变校正后的放射化学产率 (radiochemical yield, RCY) 为 $(12.3 \pm 6.0)\%$ ($n = 4$), 最高 RCY 为 18.3%, 纯化率 $\geq 98.0\%$, 放射性活度 (149.0 ± 60.0) GBq/ μmol ($n = 4$), 满足放射性示踪剂医学研究的需求。

2. ^{18}F -SQKJ-2 的性能表征。放射自显影显示, 阻断组 4 只小鼠中有 3 只脑部 ^{18}F -SQKJ-2 影像强度低于对照 1 组, 这是由于其 CB1 受体被利莫那班阻断, ^{18}F -SQKJ-2 可结合的靶点减少, 从而使脑部靶向富集的示踪剂减少; 另 1 只阻断组小鼠脑部 ^{18}F -SQKJ-2 影像强度高于对照 1 组, 可能为个体差异所致。定量分析 (表 1) 示, 阻断组小鼠脑部 ^{18}F -SQKJ-2 摄取明显低于对照 1 组 ($t = -3.57, P = 0.023$), 与放射自显影一致, 提示 ^{18}F -SQKJ-2 对 CB1 受体具有靶向性和特异性结合的能力。阻断组与对照 1 组其他器官的 ^{18}F -SQKJ-2 摄取差异均无统计学意义 (t 值: $-0.47 \sim 1.32, P$ 值: $0.258 \sim 0.939$), 这是因为上述器官无明显 CB1 受体表达, 利莫那班与 ^{18}F -SQKJ-2 无靶向结合, 竞争性抑制效应较小。

3. ^{18}F -SQKJ-2 的体外代谢稳定性。(1) 肝脏匀浆。 ^{18}F -SQKJ-2 温育 0、15、30、60、120 和 180 min 后, 纯化率均未见明显变化, 表明 ^{18}F -SQKJ-2 在肝脏代谢条件下可保持稳定。(2) 脑匀浆。温育至 180 min, ^{18}F -SQKJ-2 纯化率未见明显变化。(3) 血液样本。温育至 30 min 纯化率未见明显变化, 表明 ^{18}F -SQKJ-2 于血液中能在 30 min 内保持稳定; 温育至 60 min 开始产生杂质, 温育至 180 min 时约 45% 的示踪剂降解为保留时间 4.3 min 的杂质, 但 ^{18}F -SQKJ-2 能在注射后 30 min 内到达脑部, 因此上述杂质不会对示踪剂实

表 1 ¹⁸F-SQKJ-2 在不同组别小鼠多个器官的摄取情况 (%ID/g; $\bar{x} \pm s$)

组别	只数	肝	肾	心	肺	脾	脑
阻断组	4	5.43±3.94	11.19±5.32	28.62±12.98	15.68±7.05	24.07±20.00	0.95±0.28
对照 1 组	3	6.58±2.43	13.19±4.90	16.47±3.03	15.27±3.68	28.29±15.78	3.44±1.16
<i>t</i> 值		-0.39	-0.47	1.32	0.08	-0.26	-3.57
<i>P</i> 值		0.719	0.663	0.258	0.939	0.806	0.023

注: ¹⁸F-SQKJ-2 为 *N*-环己基-4-((2,4-二氯苯基)(4-(氟-¹⁸F)苯基)甲基)哌嗪-1-甲酰胺, %ID/g 为每克组织百分注射剂量率

际应用造成明显影响。总体而言, ¹⁸F-SQKJ-2 代谢稳定性良好, 满足作为示踪剂的需求。

4. 恐惧记忆研究。(1) 恐惧记忆训练阶段。从图 2 可以看出, 随着训练时间的增加, 恐惧组小鼠的僵立时间百分比不断提升, 并高于对照 2 组, 而对照 2 组僵立时间百分比无明显变化。

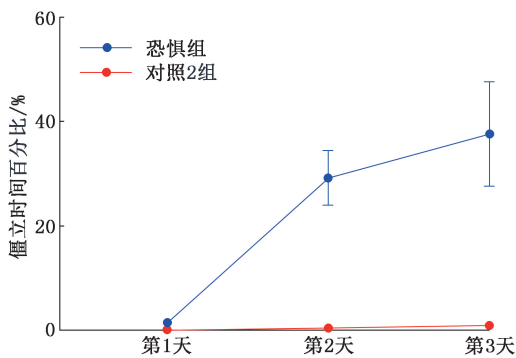


图 2 恐惧组小鼠(6 只)和对照 2 组小鼠(4 只)的恐惧记忆训练 3 d 僵立时间百分比的时间变化曲线。可见恐惧组小鼠的僵立时间百分比随训练时间延长明显增加, 且在第 2 天开始已明显高于对照 2 组, 对照 2 组小鼠僵立时间百分比随训练时间延长增加缓慢

(2) 恐惧记忆提取阶段。在新环境中的前 2 min, 在无声音刺激条件下, 恐惧组小鼠僵立时间百分比与对照 2 组差异较小[0.37%(0.00%, 9.32%)与 0.48%(0.48%, 4.15%); $Z=0.00, P=0.999$], 表明小鼠在未唤醒恐惧记忆时处于正常小鼠状态; 在后续的 3 min 中, 恐惧组小鼠仅接受声音刺激而不进行电流刺激, 僵立时间百分比明显高于对照 2 组[43.28%(39.46%, 52.93%)与 2.74%(1.52%, 4.85%); $Z=-2.45, P=0.010$], 表明声音能够唤醒小鼠的恐惧记忆。这进一步验证了恐惧组小鼠受到声音刺激的僵立时间百分比高于对照 2 组的表现源于大脑的深层记忆。

(3) 恐惧记忆模型鼠 microPET 显像(图 3)。¹⁸F-SQKJ-2 在小鼠脑区分布呈区域性差异, 在纹状体、大脑皮质、海马体和丘脑有较明显摄取, 与 CB1 受体在脑区的分布相符, 也验证了示踪剂的特异性结合能力。

定量分析结果显示, 恐惧组小鼠大脑皮质 ¹⁸F-

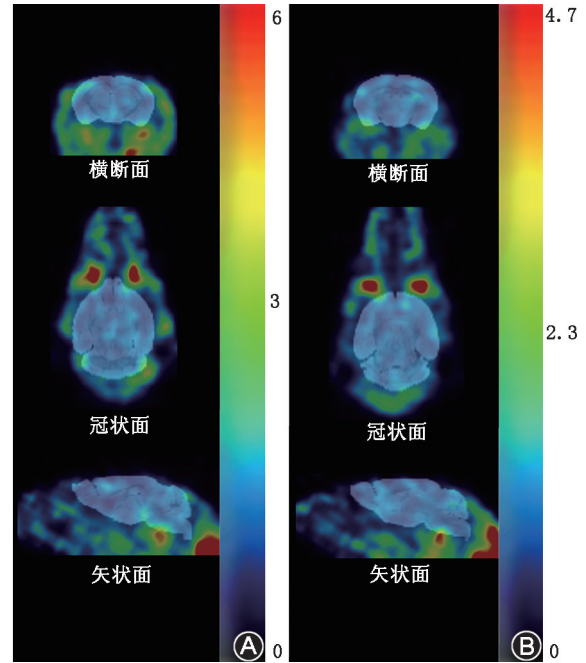


图 3 按体质量注射 *N*-环己基-4-((2,4-二氯苯基)(4-(氟-¹⁸F)苯基)甲基)哌嗪-1-甲酰胺(¹⁸F-SQKJ-2) 37 MBq/g 后 20 min 小鼠 microPET 显像图。A. 恐惧组小鼠大脑皮质有一定摄取; B. 对照 2 组小鼠大脑皮质的摄取较弱

SQKJ-2 的相对总脑摄取明显高于对照 2 组[(5.83±0.47)%与(5.00±0.52)%; $t=2.42, P=0.046$]; 2 组间其他脑区的相对总脑摄取差异均无统计学意义(t 值: 0.09~2.22, P 值: 0.062~0.933)。上述表明, ¹⁸F-SQKJ-2 可以定量反映因恐惧记忆导致的大脑皮质 CB1 受体的分布差异。

讨 论

前额叶皮质(prefrontal cortex, PFC)是大脑皮质的一部分, 与大脑皮质其他区域联系广泛^[9-10]。这些连接支持着情绪调节、恐惧反应和社交行为等功能的实现^[11-12]。根据 Choi 等^[8]关于 CB1 受体分布及恐惧记忆关联的研究, 恐惧记忆的程度(以僵立时间百分比计)与 CB1 受体呈正相关, 高恐惧和低恐惧小鼠 PFC 中恐惧记忆和 CB1 受体水平相关($r=0.382, P<0.05$), 而恐惧记忆与大麻素 II 型(cannabinoid type 2, CB2)受体无明显关联。

目前,在恐惧记忆的分子层面和可视化研究方面,可利用的有效手段相对较少,且缺乏定量手段。与既往研究相比,本研究探讨了恐惧记忆与 CB1 受体间的关联。本研究成功制备¹⁸F-SQKJ-2, 放化纯 $\geq 98.0\%$,校正放射性产率($12.3 \pm 6.0\%$),其在体外(如肝脏、血液和脑)60 min 内基本稳定。CB1 受体阻断实验证实,¹⁸F-SQKJ-2 对 CB1 受体具有靶向性和特异性;恐惧组小鼠僵立时间百分比明显大于对照 2 组;¹⁸F-SQKJ-2 microPET 显像示恐惧组小鼠大脑皮质¹⁸F-SQKJ-2 摄取较对照 2 组明显增加,提示通过¹⁸F-SQKJ-2 的相对总脑摄取可定量反映 CB1 受体的分布,可通过研究大脑皮质中 CB1 受体的差异来进行恐惧记忆相关疾病的诊断。总之,¹⁸F-SQKJ-2 的放化纯和代谢稳定性符合要求,具有可视化、定量研究恐惧记忆的潜力。

既往有研究聚焦于蛋白质 β 抑制因子和 *N*-甲基-*D*-天冬氨酸受体在记忆形成初期的关键作用^[13],本研究侧重于采用¹⁸F-SQKJ-2 研究恐惧记忆存在与否与 CB1 受体对¹⁸F-SQKJ-2 示踪剂相对总脑摄取差异的关联,后续还需建立不同强度的恐惧记忆小鼠模型,进一步定量分析恐惧记忆强度与 CB1 受体的关联,实现¹⁸F-SQKJ-2 对不同程度恐惧记忆疾病的诊断目的。另外,需扩大样本量,开展放射性代谢产物鉴定,采用非人灵长类动物验证实验等,以验证本研究结论,提高结果可靠性。

综上,本研究成功开发¹⁸F-SQKJ-2,其对 CB1 受体具有高亲和力,易于放射化学合成,生物代谢稳定,能从分子层面进行定量研究恐惧记忆相关疾病,这为恐惧记忆疾病的客观诊断提供了新型分子影像工具。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明 何万里:研究实施、论文撰写、图像采集、统计学分析;马晨昕、曹星海:研究实施、图像采集、统计学分析;陈俊威:研究实施;谷岩、曹淑霞、王志强、和庆钢:研究指导、论文修改;毛迪龙:图像采集

参 考 文 献

- [1] Pavlov YG, Pavlova NV, Diekelmann S, et al. Fear memory in humans is consolidated over time independently of sleep[J]. *Cogn Affect Behav Neurosci*, 2023, 23(1): 100-113. DOI: 10.3758/s13415-022-01037-5.
- [2] Yan Y, Aierken A, Wang C, et al. Neuronal circuits associated with fear memory: potential therapeutic targets for posttraumatic stress disorder[J]. *Neuroscientist*, 2023, 29(3): 332-351. DOI: 10.1177/10738584211069977.
- [3] Kessler RC, Berglund P, Demler O, et al. Lifetime prevalence and age-of-onset distributions of DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication[J]. *Arch Gen Psychiatry*, 2005, 62(6): 593-602. DOI: 10.1001/archpsyc.62.6.593.
- [4] Kessler RC, McGonagle KA, Zhao S, et al. Lifetime and 12-month prevalence of DSM-III-R psychiatric disorders in the United States. Results from the National Comorbidity Survey[J]. *Arch Gen Psychiatry*, 1994, 51(1): 8-19. DOI: 10.1001/archpsyc.1994.03950010008002.
- [5] Wang SK, Feng M, Fang Y, et al. Psychological trauma, posttraumatic stress disorder and trauma-related depression: a mini-review[J]. *World J Psychiatry*, 2023, 13(6): 331-339. DOI: 10.5498/wjp.v13.i6.331.
- [6] Vaquero JJ, Kinahan P. Positron emission tomography: current challenges and opportunities for technological advances in clinical and preclinical imaging systems[J]. *Annu Rev Biomed Eng*, 2015, 17: 385-414. DOI: 10.1146/annurev-bioeng-071114-040723.
- [7] Kindt M. The surprising subtleties of changing fear memory: a challenge for translational science[J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2018, 373(1742): 20170033. DOI: 10.1098/rstb.2017.0033.
- [8] Choi K, Le T, McGuire J, et al. Expression pattern of the cannabinoid receptor genes in the frontal cortex of mood disorder patients and mice selectively bred for high and low fear[J]. *J Psychiatr Res*, 2012, 46(7): 882-889. DOI: 10.1016/j.jpsychires.2012.03.021.
- [9] 李媛,黄欢,徐睿,等.重性抑郁障碍和精神分裂症患者眼区情绪识别任务下近红外光谱脑功能成像比较研究[J].*中华行为医学与脑科学杂志*, 2024, 33(5): 393-399. DOI: 10.3760/cma.j.cn371468-20240116-00034.
Li Y, Huang H, Xu R, et al. The different prefrontal activation in major depressive disorder and schizophrenia under eye emotion discrimination task: a near-infrared spectroscopy study[J]. *Chin J Behav Med & Brain Sci*, 2024, 33(5): 393-399. DOI: 10.3760/cma.j.cn371468-20240116-00034.
- [10] 蒋承峰,吴平,葛璟洁,等.¹¹C-CFT PET 显像数据分析脑模板的建立及临床验证[J].*中华核医学与分子影像杂志*, 2023, 43(4): 216-220. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20211014-00354.
Jiang CF, Wu P, Ge JJ, et al. Establishment and clinical verification of brain template for analyzing ¹¹C-CFT PET imaging data[J]. *Chin J Nucl Med Mol Imaging*, 2023, 43(4): 216-220. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20211014-00354.
- [11] 黄干,张焱,王成,等.¹⁸F-PI-2620 PET 脑显像对不同认知障碍患者 tau 蛋白的辅助诊断价值及认知相关分析[J].*中华核医学与分子影像杂志*, 2024, 44(5): 273-278. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20240129-00042.
Huang G, Zhang Y, Wang C, et al. Significance of ¹⁸F-PI-2620 PET imaging for diagnosing tau protein deposition in patients with different cognitive disorders alongside cognitive correlation analysis[J]. *Chin J Nucl Med Mol Imaging*, 2024, 44(5): 273-278. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20240129-00042.
- [12] 姜东朗,管一暉.癌症治疗、创伤和脑损伤远期后遗症的临床和神经核医学显像[J].*中华核医学与分子影像杂志*, 2022, 42(5): 313-320. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20211229-00455.
Jiang DL, Guan YH. Long-term clinical and neuronuclear imaging sequelae of cancer therapy, trauma, and brain injury[J]. *Chin J Nucl Med Mol Imaging*, 2022, 42(5): 313-320. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20211229-00455.
- [13] Li Y, Li H, Liu X, et al. Regulation of amygdalar PKA by β -arrestin-2/phosphodiesterase-4 complex is critical for fear conditioning[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(51): 21918-21923. DOI: 10.1073/pnas.0906941106.

(收稿日期:2024-12-23)