

## · 新型放射性治疗药物 ·

# $^{177}\text{Lu}$ -液态金属 ROS 放疗增敏剂的合成 及对小鼠乳腺癌疗效的初步研究

严骏杰 宿晨 林剑涵 王辛宇 潘栋辉 徐宇平 王立振 陈重阳 杨敏

国家卫生健康委员会核医学重点实验室、江苏省分子核医学重点实验室、江苏省原子医学研究所,无锡 214063

通信作者:杨敏, Email: yangmin@jsinm.org

**【摘要】** **目的** 采用 $^{177}\text{Lu}$ 标记超支化聚合物(HG)修饰的液态金属纳米液滴(LMND)@HG,探索其在乳腺癌治疗中的放疗增敏效应。**方法** 使用超声破碎法制备 LMND@HG,再通过合金化作用进行 $^{177}\text{Lu}$ 标记,得到 $^{177}\text{Lu}$ -LMND@HG,检测其标记率、血浆稳定性和细胞毒性。构建小鼠乳腺癌移植瘤模型,瘤体注射 $^{177}\text{Lu}$ -LMND@HG进行肿瘤抑制实验,采用小动物活体光学成像系统观察肿瘤生长情况。使用免疫组织化学与免疫荧光实验对其抑瘤机制进行初步验证。采用单因素方差分析、重复测量方差分析、最小显著差异 *t* 检验分析数据。**结果** 成功采用 $^{177}\text{Lu}$ 标记 LMND@HG,标记率 95%以上,产物不需后续纯化,且 5 d 后血浆中放化纯仍>95%。细胞毒性实验显示 888 kBq (40 mg/L)  $^{177}\text{Lu}$ -LMND@HG 对 4T1 细胞具有明显的毒性,细胞存活率[(16.48±7.81)%]明显低于相同剂量 $^{177}\text{LuCl}_3$  [(85.77±8.87)%;  $F=77.81, t=11.73, P<0.001$ ]与 40 mg/L LMND@HG [(46.53±5.75)%;  $t=6.20, P<0.001$ ]处理后的细胞存活率。生物分布实验表明,瘤体注射后 5 d  $^{177}\text{Lu}$ -LMND@HG 仍主要分布于肿瘤组织。肿瘤抑制实验结果表明,1.48 MBq  $^{177}\text{Lu}$ -LMND@HG 较 $^{177}\text{LuCl}_3$  可明显抑制肿瘤生长[肿瘤体积:(222.66±97.70)与(789.13±245.04) mm<sup>3</sup>;  $F=18.55, t=4.29, P=0.005$ ]。小动物活体光学成像显示,1.48 MBq 与 3.70 MBq  $^{177}\text{Lu}$ -LMND@HG 均明显抑制肿瘤生长。免疫荧光与免疫组织化学实验表明 $^{177}\text{Lu}$ -LMND@HG 可造成双链 DNA 的断裂,同时通过抑制肿瘤细胞增殖能力与血管新生能力达到抑制肿瘤的效果。**结论** 本研究成功制备了一种新型的 $^{177}\text{Lu}$ -液态金属基活性氧(ROS)放疗增敏剂,制备方法高效便捷,产物稳定性高,在小鼠乳腺癌移植瘤模型中显示出明显的放疗增敏效果。

**【关键词】** 乳腺肿瘤;同位素标记;镥;放射疗法;活性氧;肿瘤细胞,培养的;小鼠,裸;光学成像  
基金项目:国家自然科学基金(22075114, 31971316);江苏省自然科学基金(BK20211034)

DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20240229-00078

## Synthesis of $^{177}\text{Lu}$ -labeled liquid metal-based ROS radiosensitizer and preliminary study of its therapeutic efficacy on breast cancer in mice

Yan Junjie, Su Chen, Lin Jianhan, Wang Xinyu, Pan Donghui, Xu Yuping, Wang Lizhen, Chen Chongyang, Yang Min

NHC Key Laboratory of Nuclear Medicine, Jiangsu Key Laboratory of Molecular Nuclear Medicine, Jiangsu Institute of Nuclear Medicine, Wuxi 214063, China

Corresponding author: Yang Min, Email: yangmin@jsinm.org

**【Abstract】** **Objective** To radiolabel hyperbranched polymer (HG)-modified liquid metal nanodroplet (LMND)@HG with  $^{177}\text{Lu}$ , and explore the radiotherapy sensitization effect on anti-breast cancer therapy. **Methods** The ultrasonication method was used to prepare LMND@HG, and then  $^{177}\text{LuCl}_3$  was mixed with LMND@HG to label  $^{177}\text{Lu}$  by alloying reactions. The labeling rate, plasma stability and cytotoxicity of  $^{177}\text{Lu}$ -LMND@HG were detected. Xenograft mouse model of breast cancer was constructed, and the tumor inhibition test was performed by an intratumoral injection. The tumor progression was monitored by *in vivo* imaging system. The mechanism of tumor inhibition was verified by immunohistochemistry and immunofluorescence assays. One-way analysis of variance, repeated measures analysis of variance, and the least significant difference *t* test were used to analyze the data. **Results**  $^{177}\text{Lu}$  was successfully labeled to LMND@HG with a high labeling efficiency >95%. The product did not require further purification and the plasma radiochemical purity was still higher than 95% after 5 d. The cytotoxicity test showed that a dose of 888 kBq (40 mg/L)  $^{177}\text{Lu}$ -LMND@HG had obvious toxicity to 4T1 cells, which was significantly lower than  $^{177}\text{LuCl}_3$  (cell viabilities: (16.48±7.81)% vs (85.77±8.87)%;  $F=77.81, t=11.73, P<0.001$ ) and LMND@HG ((46.53±5.75)%;  $t=6.20, P<0.001$ ). The biological distribution results showed that  $^{177}\text{Lu}$ -LMND@HG was mainly distributed in tumor tissue 5 d after intratumoral injection. The results of the tumor inhibition experiment

showed that 1.48 MBq  $^{177}\text{Lu}$ -LMND@HG could significantly inhibit the tumor growth compared with the  $^{177}\text{LuCl}_3$  (tumor volume:  $(222.66 \pm 97.70)$  vs  $(789.13 \pm 245.04)$   $\text{mm}^3$ ;  $F = 18.55$ ,  $t = 4.29$ ,  $P = 0.005$ ). *In vivo* optical imaging of small animals showed that 1.48 MBq and 3.70 MBq  $^{177}\text{Lu}$ -LMND@HG both significantly inhibited the tumor growth. Immunofluorescence and immunohistochemical results showed that  $^{177}\text{Lu}$ -LMND@HG caused double-stranded DNA break, and suppressed the tumor growth by inhibiting cell proliferation and angiogenesis. **Conclusions** A novel  $^{177}\text{Lu}$ -liquid metal-based reactive oxygen species (ROS) radiation sensitizer is successfully prepared in this study. The preparation method is efficient and convenient, and the product has high stability.  $^{177}\text{Lu}$ -LMND@HG shows an obvious radiotherapy sensitization effect on breast tumor-bearing mice.

**【Key words】** Breast neoplasms; Isotope labeling; Lutetium; Radiotherapy; Reactive oxygen species; Tumor cells, cultured; Mice, nude; Optical imaging

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (22075114, 31971316); Natural Science Foundation of Jiangsu Province (BK20211034)

DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20240229-00078

$^{177}\text{Lu}$  是目前最常用于放射性治疗的金属核素<sup>[1]</sup>。放射性标记功能性纳米颗粒能克服乏氧微环境下的辐射抵抗,明显提高放射治疗效果<sup>[2-3]</sup>。但是,纳米颗粒的放射性标记通常需要化学偶联特定的螯合剂和连接剂,易对纳米材料的结构、性能和稳定性产生干扰<sup>[4]</sup>。液态金属(liquid metal, LM)重塑性优、可修饰性强、生物相容性良好,是一种新型生物医用材料<sup>[5]</sup>。尤其在细菌、细胞内,LM可代谢产生高浓度的  $\text{Ga}^{3+}$  离子和活性氧(reactive oxygen species, ROS),是一种潜在的生物响应性放疗增敏剂<sup>[6-7]</sup>。同时,LM可通过多种理化途径结合多种金属(单质或离子),构建多种合金及复合材料。 $^{177}\text{Lu}$  标记 LM 可通过合金化作用提供快速、高效、稳定的放射性标记<sup>[8]</sup>。通过标记 LM 基多功能纳米颗粒, $^{177}\text{Lu}$  可随纳米颗粒代谢,提高靶向性和稳定性,同时 LM 可产生 ROS 发挥放疗增敏作用。本研究利用水相 LM 纳米液滴(LM nanodroplet, LMND)“一锅法”结合 $^{177}\text{Lu}^{3+}$ ,高效制备新型 $^{177}\text{Lu}$  标记 LM 基 ROS 放疗增敏剂 [ $^{177}\text{Lu}$ -LMND@超支化聚合物(hyperbranched polymer, HG)],并在小鼠乳腺癌移植瘤模型上进行抗肿瘤研究,评价其放疗增敏效果。

## 材料与方 法

### 一、实验仪器与材料

1. 材料与仪器。镱钢共熔合金[阿法埃莎(中国)化学有限公司]; $^{177}\text{LuCl}_3$ (中国同辐股份有限公司);胎牛血清、1640 培养基(美国 Gibco 公司); $N,N'$ -亚甲基双丙烯酰胺( $N,N'$ -methylene bisacrylamide, MBA)、1-(2-氨基乙基)哌嗪[1-(2-aminoethyl) piperazine, AEPZ](美国 Sigma-Aldrich 公司);1H-吡啶-1-甲脒盐酸盐[梯希爱(上海)化成工业发展有限公司];其余试剂均购于国药集团化学试剂有限公司。快速薄层色谱(instant thin-layer chromatography,

iTLC)-SG 色谱纸(美国安捷伦科技有限公司);DNA 损伤检测试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司);细胞增殖核抗原 Ki-67 抗体、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)抗体[艾博抗(上海)贸易有限公司];水溶性聚苯乙烯(poly-styrene, PS)纳米粒子[中科雷鸣(北京)科技有限公司]。实验仪器:iTLC 扫描仪(美国 BioScan 公司);小动物活体成像系统(美国 PerkinElmer 公司);动态光散射仪(dynamic light scattering, DLS;英国马尔文仪器有限公司);透射电子显微镜(transmission electron microscope, TEM;美国 FEI 公司)。

2. 细胞株与实验动物。小鼠乳腺癌细胞株 4T1-luc 购于上海酶研生物科技有限公司;雌性 BALB/c 裸鼠 35 只,4~6 周龄,体质量( $20 \pm 2$ )g,购于常州卡文斯实验动物有限公司,均在无特殊病原体(specific-pathogen free, SPF)环境饲养。所有动物实验经江苏省原子医学研究所伦理委员会批准(JSINM-2023-032),实验动物使用许可证号:SYXK(苏)2019-0025。

### 二、实验方法

1. LMND@HG 的制备。配体 HG 的合成参考文献[9]进行。过程简述如下:脲胺二盐酸盐(6.756 g, 30.0 mmol)和丙烯酰氯(6.336 g, 70.0 mmol)反应后得到白色粉末  $N,N'$ -双(丙烯酰)脲胺,与 MBA、AEPZ 通过迈克尔加成反应得到产物后,将 1H-吡啶-1-甲脒盐酸盐连接至产物的氨基得到超支化聚合物 HG,作为稳定 LMND 的配体。

将 5 mg 超支化聚合物 HG 溶于 12 ml 去离子水中,放置于 50 ml 离心管,后加入 80  $\mu\text{l}$  LM 原液,在冰浴中超声 12 min(超声条件:功率 500 W,频率 20 kHz,振幅 35%)。室温下将超声后的悬液以 1 000 r/min 离心 5 min(离心半径 5 cm),弃底部大颗粒沉淀,得到均一的超支化聚合物修饰的 LMND@HG 悬液。连续 7 d

测定其水合粒径与电势,观察 LMND@HG 的稳定性。

2.  $^{177}\text{Lu}$ -LMND@HG 的制备。取 7.40 MBq  $^{177}\text{LuCl}_3$  加入 50  $\mu\text{l}$  0.05 mol/L HCl 进行稀释处理调节 pH 值至 6,加入 200  $\mu\text{l}$  LMND@HG 于 37  $^\circ\text{C}$  反应 4 h。使用 0.1 mol/L 柠檬酸钠溶液作为展开剂,采用 iTLC 进行  $^{177}\text{Lu}$ -LMND@HG 的放射化学分析。

3.  $^{177}\text{Lu}$ -PS 的制备。将末端带有  $\text{NH}_2$  的 PS 与 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)-*N*-氯代丁二酰亚胺(*N*-chlorosuccinimide, NCS)在二甲基亚砷中反应过夜,超滤纯化后使用纯水重悬,在其中加入 7.40 MBq  $^{177}\text{LuCl}_3$ ,调节 pH 值至 6,于 65  $^\circ\text{C}$  反应 30 min。使用 0.1 mol/L 柠檬酸钠溶液作为展开剂,采用 iTLC 进行  $^{177}\text{Lu}$ -PS 的放射化学分析。

4. 体外稳定性研究。取 100  $\mu\text{l}$   $^{177}\text{Lu}$ -LMND@HG (7.40 MBq) 与 1 ml 血浆混合均匀,于 37  $^\circ\text{C}$  振荡温育,于特定的时间取出混合溶液,使用 0.1 mol/L 柠檬酸钠溶液作为展开剂行 iTLC 测定  $^{177}\text{Lu}$ -LMND@HG 的血浆稳定性。

5. 细胞杀伤实验。为了探索 LMND@HG 的放疗增敏效果,本研究通过噻唑蓝(thiazolyl blue tetrazolium bromide, MTT)实验进行细胞水平的毒性研究, $^{177}\text{Lu}$ -PS 作为对照组。将 4T1 细胞消化后使用培养基重悬,铺于 96 孔板中,于细胞培养箱中过夜培养。待细胞稳定贴壁后,除去原有培养基,分别加入 5 mg/L (111 kBq)、10 mg/L (222 kBq)、20 mg/L (444 kBq) 和 40 mg/L (888 kBq) 的  $^{177}\text{Lu}$ -LMND@HG, 对应相同剂量的  $^{177}\text{LuCl}_3$ 、 $^{177}\text{Lu}$ -PS 和相同质量浓度的 LMND@HG。温育 24 h 后,通过 MTT 细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒进行细胞毒性的测定。

6. 移植瘤模型的构建。于 37  $^\circ\text{C}$  体积分数 5%  $\text{CO}_2$  恒温培养箱培养 4T1 细胞,待细胞生长至对数生长期,使用常规细胞培养方法收集细胞悬液,将  $1 \times 10^6$  个细胞皮下接种于雌性 BALB/c 裸鼠右臀部,于 SPF 级动物房中正常饲养。肿瘤体积的计算方式为(长径 $\times$ 短径 $^2$ )/2,肿瘤体积达 100  $\text{mm}^3$  左右时作为治疗起点。

7. 生物分布实验。为了更好地选择给药方式,通过尾静脉注射或瘤体注射  $^{177}\text{Lu}$ -LMND@HG 到裸鼠体内(每组 5 只),于 5 d 后进行解剖,取心、肝、脾、肺、肾、肿瘤、骨骼、关节和肌肉等脏器,使用精密天平测质量,后经  $\gamma$  计数器测定放射性计数,计算获得  $^{177}\text{Lu}$ -LMND@HG 在不同脏器中的每克组织百分注射剂量率(percentage activity of injection dose per

gram of tissue, %ID/g)。

8. 体内抗肿瘤研究。将 25 只 4T1 荷瘤鼠按随机数字表法分为 5 组(每组 5 只),分别为生理盐水对照组、1.48 MBq  $^{177}\text{LuCl}_3$  治疗组、3.70 MBq  $^{177}\text{LuCl}_3$  治疗组、1.48 MBq  $^{177}\text{Lu}$ -LMND@HG 治疗组、3.70 MBq  $^{177}\text{Lu}$ -LMND@HG 治疗组。通过瘤体单次注射的方式对荷瘤小鼠进行治疗,每隔 2 d 进行肿瘤体积的测量,绘制肿瘤生长曲线。

9. 小动物活体光学成像。本研究选用的细胞株为 4T1-luc,携带荧光素酶报告基因,可通过活体光学成像系统进行活体成像,分别于治疗后 0、3、6、8、10 d 进行活体成像。方法为裸鼠腹腔注射 15 g/L 的 *D*-荧光素钾盐 200  $\mu\text{l}$ ,注射后 15 min 进行活体成像,每组选择 3 只裸鼠。

10. 病理学实验。在治疗结束后,将裸鼠进行解剖,取其肿瘤、心、肝、脾、肺、肾等器官放于组织固定液中,随后进行脱水、透明、浸蜡和包埋制成组织蜡块,使用石蜡切片机切片,厚度为 5  $\mu\text{m}$ ,进行 HE 染色,使用 DNA 损伤检测试剂盒( $\gamma$ -H2AX 免疫荧光法)进行免疫荧光染色,使用 Ki-67、VEGF 抗体进行免疫组织化学实验。

11. 统计学处理。使用 Graphpad Prism 6 软件进行分析,符合正态分布或近似正态分布的定量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用单因素方差、重复测量方差分析及最小显著差异 *t* 检验进行数据分析, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

1. LMND@HG 的制备。经超声破碎法制得 LMND@HG, DLS 测试其水合粒径为(208.80 $\pm$ 7.17) nm,多分散指数为 0.113 $\pm$ 0.010, zeta 电势为(37.12 $\pm$ 0.99) mV。通过 TEM 证明 LMND@HG 呈片状(图 1A)。

2.  $^{177}\text{Lu}$ -LMND@HG 的制备及稳定性分析。采用 iTLC 证明本实验已成功制得  $^{177}\text{Lu}$ -LMND@HG, 结构示意图如图 1B 所示,标记率 95% 以上,不需要进一步纯化,且与血浆混合温育 5 d 后放化纯仍 > 95%, iTLC 结果表明未发生明显的脱镥反应。

3. 细胞毒性研究。结果显示 888 kBq (40 mg/L) 下  $^{177}\text{Lu}$ -LMND@HG、 $^{177}\text{LuCl}_3$ 、LMND@HG、 $^{177}\text{Lu}$ -PS 间细胞毒性的差异有统计学意义( $F = 77.81, P < 0.001$ ),其中  $^{177}\text{Lu}$ -LMND@HG 对 4T1 细胞具有明显的毒性,细胞存活率明显低于  $^{177}\text{LuCl}_3$  [(16.48 $\pm$ 7.81)% 与 (85.77 $\pm$ 8.87)%;  $t = 11.73, P < 0.001$ ] 与 LMND@HG [(46.53 $\pm$ 5.75)%;  $t = 6.20, P < 0.001$ ] 处理后的细胞存活

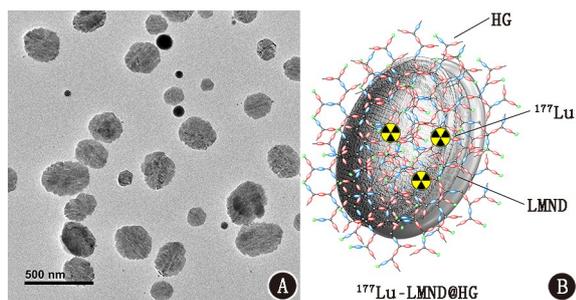


图 1 液态金属纳米液滴(LMND)@超支化聚合物(HG)的透射电子显微镜图像(A)及<sup>177</sup>Lu-LMND@HG 的结构示意图(B)

率,而<sup>177</sup>LuCl<sub>3</sub> 与<sup>177</sup>Lu-PS 的细胞毒性无明显差异 [(85.77±8.87)%与(73.95±4.32)%; *t* = 2.39, *P* = 0.054], 表明 LMND@HG 在细胞水平具有放疗增敏作用。

4. <sup>177</sup>Lu-LMND@HG 的生物分布研究。给药后 5 d,尾静脉注射组探针主要分布于脾 [(43.40±2.12) %ID/g] 与肝脏 [(1.41±0.63) %ID/g], 瘤体注射组探针主要分布于肿瘤组织 [(8.09±0.60) %ID/g]。因此,在后续体内抗肿瘤研究中选择瘤体注射的方式。

5. 体内抗肿瘤研究。瘤体注射给药后,肿瘤生长曲线表明<sup>177</sup>LuCl<sub>3</sub> 治疗组与对照组相比具有一定的肿瘤抑制效果,但效果不明显。治疗后第 11 天,对照组、<sup>177</sup>LuCl<sub>3</sub> 治疗组、<sup>177</sup>Lu-LMND@HG 治疗组间肿瘤体积的差异有统计学意义 (*F* = 18.55, *P* < 0.001), 其中 1.48 MBq <sup>177</sup>Lu-LMND@HG 较相同剂量<sup>177</sup>LuCl<sub>3</sub> 可明显抑制肿瘤生长 [肿瘤体积: (222.66±97.70) 与 (789.13±245.04) mm<sup>3</sup>; *t* = 4.29, *P* = 0.005] (图 2)。活体光学成像同样证实了这一结果(图 3)。同时,HE 染色结果显示不同治疗组均未见明显脏器损伤,表明该纳米颗粒具有良好的生物安全性。

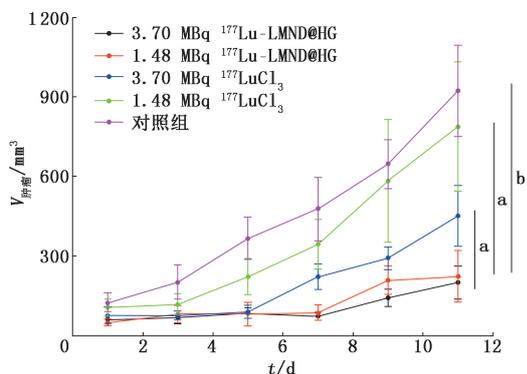


图 2 乳腺癌荷瘤裸鼠(每组 5 只)瘤体注射药物后肿瘤生长曲线。<sup>a</sup> *P* < 0.01, <sup>b</sup> *P* < 0.001

6. 抗肿瘤机制研究(图 4)。γ-H2AX 免疫荧光实验结果显示<sup>177</sup>Lu-LMND@HG 治疗组均出现绿色荧光,表明<sup>177</sup>Lu-LMND@HG 治疗组 DNA 发生双链

断裂。Ki-67 染色显示,<sup>177</sup>Lu-LMND@HG 给药明显降低了 4T1 肿瘤细胞的增殖,且肿瘤血管生成受到有效抑制,VEGF 表达下调。

### 讨 论

<sup>177</sup>Lu 是目前最常用于放疗的金属核素<sup>[10-11]</sup>。然而,单纯使用<sup>177</sup>Lu 治疗往往由于乏氧肿瘤微环境而疗效不佳,且对周围组织具有明显毒性及不良反应<sup>[12]</sup>。LM 在细菌、细胞内可代谢产生高浓度的 Ga<sup>3+</sup> 离子和 ROS,实现放疗增敏<sup>[5,7,13]</sup>。因此,本研究使用<sup>177</sup>Lu 对 LMND 进行放射性标记,采用瘤体注射的方式给药,成功抑制了肿瘤的生长,较相同剂量<sup>177</sup>LuCl<sub>3</sub> 治疗具有明显的放疗增敏效果。

不同给药方式对药物的体内治疗效果差异明显<sup>[14]</sup>。本研究通过生物分布实验探索了 2 种给药方式 5 d 后<sup>177</sup>Lu-LMND@HG 在不同器官中的分布情况,在尾静脉给药方式的 BALB/c 裸鼠中,脾具有最高的放射性摄取值,高达 (43.40±2.12) %ID/g,这是由于静脉注射纳米颗粒主要分布肝、脾,而持续照射使脾减小,质量减轻,计算得到的放射性摄取值过高<sup>[15]</sup>,表明游离<sup>177</sup>Lu<sup>3+</sup> 有较高的组织毒性。在后续实验设计中,应在设计时增加靶向基因,提高静脉给药时纳米颗粒在肿瘤部位的摄取<sup>[16]</sup>。瘤体给药的 BALB/c 裸鼠生物分布实验显示,<sup>177</sup>Lu-LMND@HG 在给药后 5 d 仍在肿瘤部位滞留。因此,在肿瘤抑制实验中,<sup>177</sup>Lu-LMND@HG 与等剂量<sup>177</sup>LuCl<sub>3</sub> 相比具有明显的肿瘤抑制作用。<sup>177</sup>LuCl<sub>3</sub> 疗效差的原因除缺少载体外,同时存在<sup>177</sup>Lu<sup>3+</sup> 外溢的问题,这不仅增加了组织毒性,同时降低了肿瘤部位的有效治疗剂量,进而影响治疗效果<sup>[3]</sup>。

近年来,大量无机金属纳米颗粒作为放疗增敏剂被广泛研究。这些纳米载体往往含有高原子序数元素,如金、钆、铋等,可吸收放射性核素产生的电离辐射,使辐射能在肿瘤内沉积从而增强治疗效果<sup>[17]</sup>。然而,高原子序数元素因在体内的长期滞留与毒性易引发安全风险,且连接放射性核素时往往需修饰螯合剂。因此,开发更具生物相容性的放疗增敏纳米制剂具有重要意义。LMND 具有良好的生物相容性,可通过合金化作用实现金属核素的高效稳定标记,并产生 ROS 实现放疗增敏<sup>[5,18]</sup>,是理想的放疗增敏纳米材料。在后续实验设计中,可使用具有化疗作用的配体修饰 LMND,实现放疗增敏-化疗协同治疗。

<sup>177</sup>Lu 在衰变时可发射低能 γ 射线,可用于 SPECT 显像,通过图像分析可观察被标记物在体内

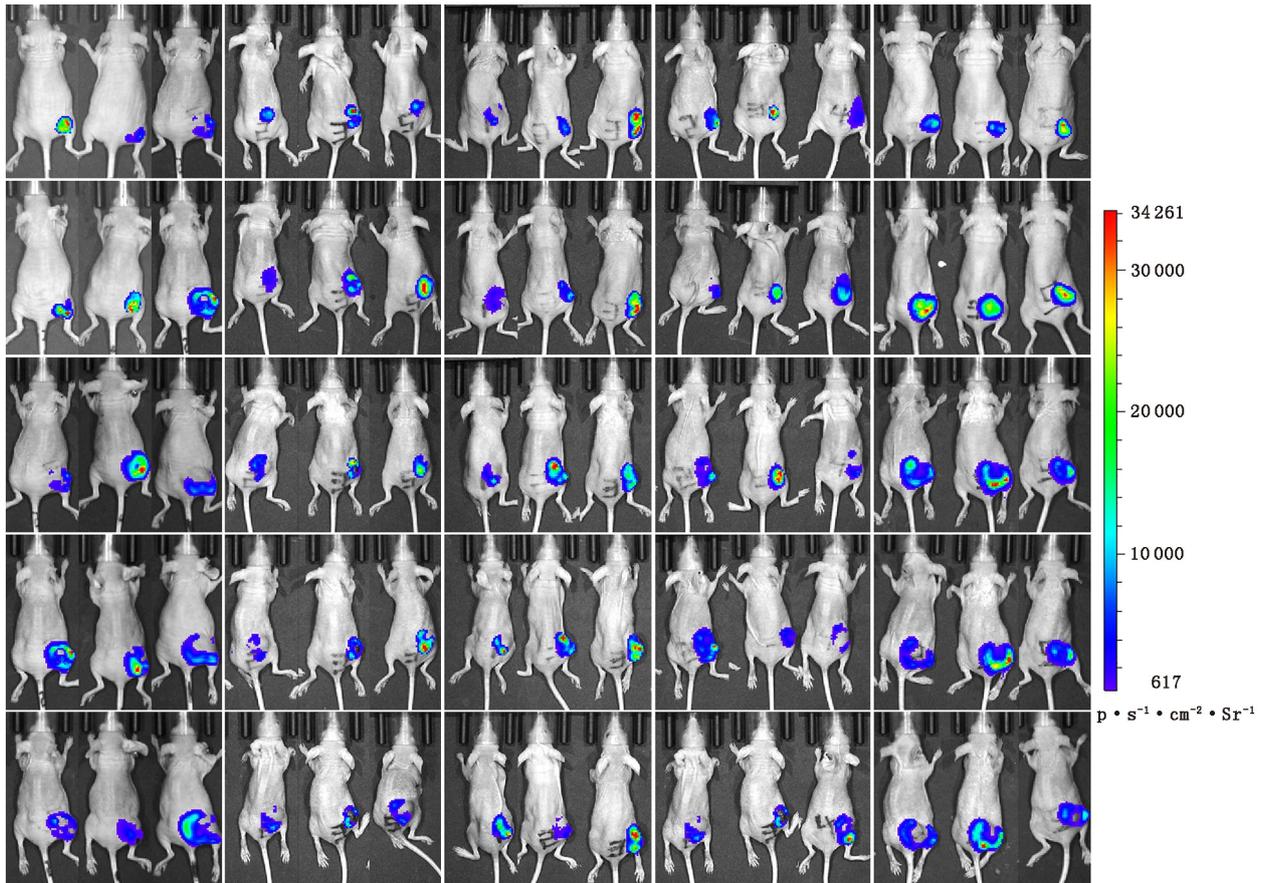


图 3 乳腺癌荷瘤裸鼠治疗第 0、3、6、8、10 d(从上到下)后小动物活体光学成像图[从左至右依次为对照组、3.70 MBq  $^{177}\text{Lu}$ -液态金属纳米液滴(LMND)@超支化聚合物(HG)治疗组、1.48 MBq  $^{177}\text{Lu}$ -LMND@HG 治疗组、3.70 MBq  $^{177}\text{LuCl}_3$  治疗组、1.48 MBq  $^{177}\text{LuCl}_3$  治疗组,每组 3 只荷瘤裸鼠]可见 1.48 MBq 与 3.70 MBq  $^{177}\text{Lu}$ -LMND@HG 治疗组肿瘤生长均明显被抑制

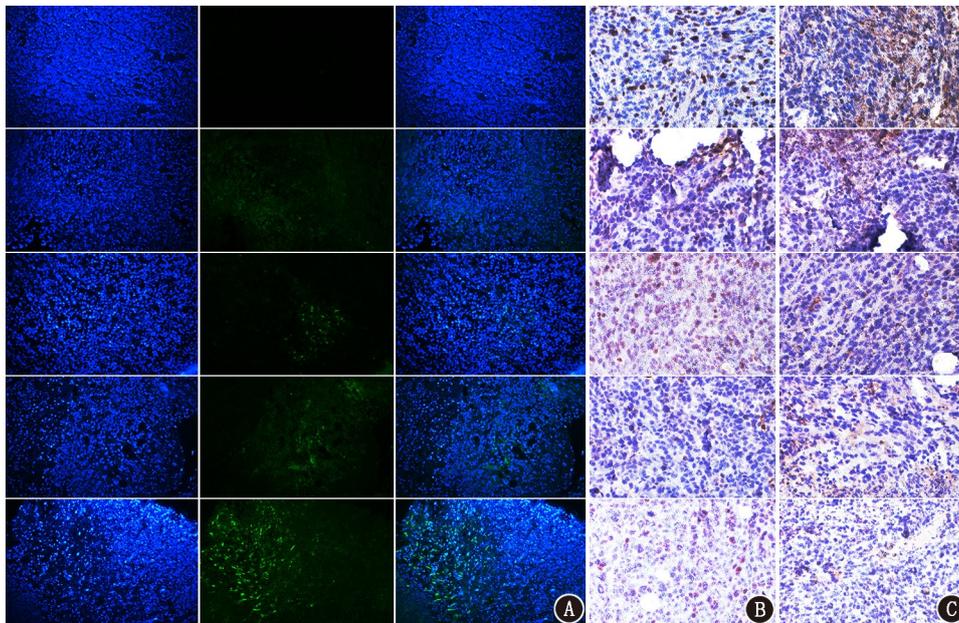


图 4 乳腺癌荷瘤裸鼠肿瘤组织的  $\gamma$ -H2AX 免疫荧光染色图(A,  $\times 200$ )及细胞增殖核抗原 Ki-67(B)、血管内皮生长因子(VEGF;C)免疫组织化学检查图[抗生物素蛋白-生物素-过氧化物酶复合物(ABC)法  $\times 400$ ]。自上而下依次为对照组、1.48 MBq  $^{177}\text{LuCl}_3$  治疗组、3.70 MBq  $^{177}\text{LuCl}_3$  治疗组、1.48 MBq  $^{177}\text{Lu}$ -LMND@HG 治疗组、3.70 MBq  $^{177}\text{Lu}$ -LMND@HG 治疗组。可见  $^{177}\text{Lu}$ -LMND@HG 治疗组出现绿色荧光,表明肿瘤组织中出现 DNA 双链断裂,且肿瘤组织中 Ki-67 与 VEGF 表达下降

的靶向性、分布、代谢及排泄行为<sup>[19-20]</sup>。本研究后续实验将补充通过 SPECT 显像技术观察纳米颗粒在体内分布情况。同时,<sup>177</sup>Lu 的长半衰期特性为活体示踪 LMND 的药代和长期毒性监测提供了便利,以期推动 LM 基纳米药物和(或)助剂的临床转化<sup>[21]</sup>。

综上,本研究成功制备了<sup>177</sup>Lu-LMND@HG,制备方法高效便捷,产物稳定性高、在小鼠乳腺癌移植瘤模型中显示出明显的放疗增敏效果,对后续<sup>177</sup>Lu 活体示踪 LMND 具有指导意义。

**利益冲突** 所有作者声明无利益冲突

**作者贡献声明** 严俊杰:研究设计与指导、研究实施、论文撰写;宿晨:研究实施、论文撰写;林剑涵:研究实施、数据采集;王辛宇、潘栋辉、王立振、徐宇平、陈重阳:技术支持;杨敏:研究指导、经费支持

### 参 考 文 献

- [1] Tauber R, Knorr K, Retz M, et al. Safety and efficacy of [<sup>177</sup>Lu]-PSMA-I&T radioligand therapy in octogenarians with metastatic castration-resistant prostate cancer: report on 80 patients over the age of 80 years[J]. *J Nucl Med*, 2023, 64(8): 1244-1251. DOI: 10.2967/jnumed.122.265259.
- [2] Liang R, Li F, Chen X, et al. Multimodal imaging-guided strategy for developing <sup>177</sup>Lu-labeled metal-organic framework nanomedicine with potential in cancer therapy[J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2023, 15(39): 45713-45724. DOI:10.1021/acsami.3c11098.
- [3] Pei P, Shen W, Zhang Y, et al. Radioactive nano-oxygen generator enhance anti-tumor radio-immunotherapy by regulating tumor microenvironment and reducing proliferation [J]. *Biomaterials*, 2022, 280: 121326. DOI:10.1016/j.biomaterials.2021.121326.
- [4] Li L, Jaraquemada-Peláez MG, Kuo HT, et al. Functionally versatile and highly stable chelator for <sup>111</sup>In and <sup>177</sup>Lu: proof-of-principle prostate-specific membrane antigen targeting[J]. *Bioconjugate Chem*, 2019, 30(5): 1539-1553. DOI:10.1021/acs.bioconjchem.9b00225.
- [5] Yan J, Lu Y, Chen G, et al. Advances in liquid metals for biomedical applications[J]. *Chem Soc Rev*, 2018, 47(8): 2518-2533. DOI:10.1039/C7CS00309A.
- [6] Li L, Chang H, Yong N, et al. Superior antibacterial activity of gallium based liquid metals due to Ga<sup>3+</sup> induced intracellular ROS generation[J]. *J Mater Chem B*, 2021, 9(1): 85-93. DOI:10.1039/d0tb00174k.
- [7] Yan J, Wang J, Wang X, et al. Activating tumor-selective liquid metal nanomedicine through galvanic replacement[J]. *Adv Mater*, 2024, 36(5): 2307817. DOI:10.1002/adma.202307817.
- [8] Yan J, Su C, Lou K, et al. Constructing liquid metal/metal-organic framework nanohybrids with strong sonochemical energy storage performance for enhanced pollutants removal[J]. *J Hazard Mater*, 2023, 452: 131285. DOI:10.1016/j.jhazmat.2023.131285.
- [9] Xiong J, Yan J, Li C, et al. Injectable liquid metal nanoflake hydrogel as a local therapeutic for enhanced postsurgical suppression of tumor recurrence[J]. *Chem Eng J*, 2021, 416: 129092. DOI: 10.1016/j.cej.2021.129092.
- [10] 张朋俊,张露露,卜婷,等. <sup>177</sup>Lu 标记的放射性药物制备方法的比较及初步临床应用[J]. *中华核医学与分子影像杂志*, 2022, 42(10): 597-601. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20210201-00021.
- Zhang PJ, Zhang LL, Bu T, et al. Comparison of preparation for <sup>177</sup>Lu-labeled radiopharmaceutical and its preliminary clinical application[J]. *Chin J Nucl Med Mol Imaging*, 2022, 42(10): 597-601. DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20210201-00021.
- [11] 马温惠,汪静.前列腺癌治疗: <sup>177</sup>Lu-PSMA-617 的注意事项、观点和局限性[J]. *中华核医学与分子影像杂志*, 2023, 43(4): 252-256. DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20221012-00306.
- Ma WH, Wang J. Prostate cancer treatment: <sup>177</sup>Lu-PSMA-617 considerations, concepts, and limitations[J]. *Chin J Nucl Med Mol Imaging*, 2023, 43(4): 252-256. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20221012-00306.
- [12] George SC, Samuel E. Developments in <sup>177</sup>Lu-based radiopharmaceutical therapy and dosimetry [J]. *Front Chem*, 2023, 11: 1218670. DOI:10.3389/fchem.2023.1218670.
- [13] Liu Z, Tan X, Huang Y, et al. Microwave absorption-based magnetic liquid metal nano-missiles for thermodynamic/immunological cascade hepatoma therapy[J]. *Chem Eng J*, 2023, 471: 144688. DOI:10.1016/j.cej.2023.144688.
- [14] Martins DA, Mazibuko N, Zelaya F, et al. Effects of route of administration on oxytocin-induced changes in regional cerebral blood flow in humans[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 1160. DOI:10.1038/s41467-020-14845-5.
- [15] Kumar M, Kulkarni P, Liu S, et al. Nanoparticle biodistribution coefficients: a quantitative approach for understanding the tissue distribution of nanoparticles [J]. *Adv Drug Deliver Rev*, 2023, 194: 114708. DOI:10.1016/j.addr.2023.114708.
- [16] 王立振,徐宇平,潘栋辉,等. <sup>68</sup>Ga 标记 HER2 亲和体显像剂的 microPET 显像及生物分布[J]. *中华核医学与分子影像杂志*, 2020, 40(9): 538-544. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20191011-00221.
- Wang LZ, Xu YP, Pan DH, et al. MicroPET and biodistribution of <sup>68</sup>Ga-labeled human epidermal growth factor receptor 2 binding affibody imaging probe[J]. *Chin J Nucl Med Mol Imaging*, 2020, 40(9): 538-544. DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20191011-00221.
- [17] Song G, Cheng L, Chao Y, et al. Emerging nanotechnology and advanced materials for cancer radiation therapy [J]. *Adv Mater*, 2017, 29(32): 1700996. DOI:10.1002/adma.201700996.
- [18] Lu X, Song Y, Huang Z. Multi-functional EGaIn-ZrO<sub>2</sub> composite-spheres with photo-thermal & photodynamic therapies and enhanced radiotherapy and chemodynamic therapy on liver cancer[J]. *J Photochem Photobiol A*, 2023, 443: 114837. DOI: 10.1016/j.jphotochem.2023.114837.
- [19] Tran-Gia J, Lassmann M. Characterization of noise and resolution for quantitative <sup>177</sup>Lu SPECT/CT with xSPECT quant [J]. *J Nucl Med*, 2019, 60(1): 50-59. DOI:10.2967/jnumed.118.211094.
- [20] 王砚墨,王雪梅. SPECT 定量技术临床研究新进展[J]. *中华核医学与分子影像杂志*, 2021, 41(5): 309-312. DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20200519-00201.
- Wang YM, Wang XM. New progress in clinical research of SPECT quantitative techniques[J]. *Chin J Nucl Med Mol Imaging*, 2021, 41(5): 309-312. DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20200519-00201.
- [21] Barakat A, Santoro L, Vivien M, et al. Clinical pharmacokinetics of radiopharmaceuticals from SPECT/CT image acquisition by contouring in patients with gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors; Lu-177 DOTATATE (Lutathera®) case[J]. *Eur J Drug Metab Ph*, 2023, 48(4): 329-339. DOI: 10.1007/s13318-023-00829-5.

(收稿日期:2024-02-29)