

Al¹⁸F 标记的新型环肽探针 Al¹⁸F-FAP-NOX 在肿瘤靶向分子影像中的研究

张梓奇 刘少玉 钟嘉伟 赵睿玥 熊爽 周美娟 符乙敏 钟惠贞 王欣璐

广州医科大学附属第一医院核医学科, 广州 510120

通信作者: 王欣璐, Email: 71lu@163.com

【摘要】 目的 制备新型成纤维细胞激活蛋白(FAP)环肽显像剂 Al¹⁸F-FAP-NOX, 评价其体内外性质, 探究其用于 FAP 表达阳性的肿瘤 PET/CT 显像的可行性。方法 进行 Al¹⁸F-FAP-NOX 手动标记合成。利用放射性高效液相色谱测定 Al¹⁸F-FAP-NOX 的体外稳定性, 并测定脂水分配系数 log *P*、行体外细胞摄取实验、293T-FAP 荷瘤裸鼠 microPET/CT 显像与生物分布, 初步评估 Al¹⁸F-FAP-NOX 在小鼠体内药代动力学性质和生物学效能。对 1 例肺癌患者(男, 65 岁)行 Al¹⁸F-FAP-NOX PET/CT 显像。结果 成功合成 Al¹⁸F-FAP-NOX, 产率为 (26.28±2.31)% (未经衰减校正, *n* = 4), 放化纯大于 95%。体外实验显示, Al¹⁸F-FAP-NOX 具有良好的稳定性和亲水性(log *P* = -3.02±0.08, *n* = 5)。在细胞实验中, HT1080-FAP 细胞摄取 Al¹⁸F-FAP-NOX 于 15 min 到达平台期[(7.31±0.53) 每百万细胞百分注射剂量率(%ID/mio cells)], 表现出较高的细胞摄取, 且摄取能被 1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1, 4, 7, 10-四乙酸(DOTA)-FAP-2286 明显抑制。293T-FAP 荷瘤裸鼠 microPET/CT 显像发现, Al¹⁸F-FAP-NOX 在 FAP 表达阳性的肿瘤组织中摄取增高[60 min: (12.47±1.66) 每克组织百分注射剂量率(%ID/g)], 而在 FAP 表达阴性的肿瘤中摄取未见增高。生物学分布结果与荷瘤裸鼠 microPET/CT 显像结果相似。人体试验显像示肺癌病灶 Al¹⁸F-FAP-NOX 摄取增高, SUV_{max} 约 5.5。结论 新型环肽探针 Al¹⁸F-FAP-NOX 具有良好的稳定性和亲水性, 动物实验及人体试验均显示其对肿瘤病灶具有靶向性, 是一种有应用前景的新型环肽 PET 显像剂。

【关键词】 肽类; 环; 同位素标记; 氟放射性同位素; 正电子发射断层显像术; 体层摄影术, X 线计算机; 肿瘤细胞, 培养的; 小鼠, 裸

基金项目: 国家自然科学基金(82001879); 国家工业和信息化部科研基金(CEIEC-2022-ZM02-0219); 广州市科技计划项目(2024A03J1080)

DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20240515-00170

Research of Al¹⁸F-labeled novel cyclic peptide probe Al¹⁸F-FAP-NOX in tumor-targeted molecular imaging

Zhang Ziqi, Liu Shaoyu, Zhong Jiawei, Zhao Ruiyue, Xiong Shuang, Zhou Meijuan, Fu Yimin, Zhong Huizhen, Wang Xinlu

Department of Nuclear Medicine, the First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510120, China

Corresponding author: Wang Xinlu, Email: 71lu@163.com

【Abstract】 Objective To develop a novel fibroblast activation protein (FAP) cyclic peptide imaging agent, Al¹⁸F-FAP-NOX, evaluate its *in vitro* and *in vivo* properties, and explore its feasibility of PET/CT imaging in tumors with FAP positive expression. **Methods** Al¹⁸F-FAP-NOX was manually synthesized. The *in vitro* stability of Al¹⁸F-FAP-NOX was determined using radio high performance liquid chromatography (HPLC). The lipid water partition coefficient log *P*, *in vitro* cell uptake experiments, microPET/CT imaging and biodistribution in 293T-FAP tumor-bearing mice were conducted to preliminarily evaluate the pharmacokinetics and biological efficacy of Al¹⁸F-FAP-NOX. Afterwards, a patient (male, 65 years old) with lung cancer underwent Al¹⁸F-FAP-NOX PET/CT imaging. **Results** Al¹⁸F-FAP-NOX was successfully synthesized with a yield of (26.28±2.31)% without attenuation correction (*n* = 4), and the radiochemical purity was more than 95%. Al¹⁸F-FAP-NOX exhibited good stability and hydrophilicity (log *P* = -3.02±0.08, *n* = 5). In cell assays, the uptake of Al¹⁸F-FAP-NOX in HT1080-FAP cells reached the plateau phase at 15 min ((7.31±0.53) percentage activity of injection dose per million cells (%ID/mio cells)), exhibiting high cellular uptake. The uptake of Al¹⁸F-FAP-NOX could be significantly inhibited by 1, 4, 7, 10-tetraazacyclododecane-1, 4, 7, 10-tetraacetic acid (DOTA)-FAP-2286. The microPET/CT results of 293T-FAP tumor-bearing mice *in vivo* showed that Al¹⁸F-FAP-NOX was highly uptaken in FAP-positive tumor tissues (60 min;

(12.47 ± 1.66) percentage activity of injection dose per gram of tissue (%ID/g), while the uptake was very low in FAP-negative tumors. The biodistribution results were similar to the microPET/CT imaging results of tumor-bearing mice. The human clinical imaging showed an abnormal increase in $Al^{18}F$ -FAP-NOX uptake (SUV_{max} 5.5) of the lung cancer lesions. **Conclusions** A novel cyclic peptide radiopharmaceutical, $Al^{18}F$ -FAP-NOX, demonstrates good stability and hydrophilicity. It can be quickly distributed to tumor tissue *in vivo*. The human clinical PET/CT imaging shows certain diagnostic ability of $Al^{18}F$ -FAP-NOX for lung cancer lesions. It is a promising cyclic peptide agent for PET imaging.

【Key words】 Peptides, cyclic; Isotope labeling; Fluorine radioisotopes; Positron-emission tomography; Tomography, X-ray computed; Tumor cells, cultured; Mice, nude

Fund program: National Natural Science Foundation of China (82001879); Research Fund of the Ministry of Industry and Information Technology of the People's Republic of China (CEIEC-2022-ZM02-0219); Guangzhou Science and Technology Program (2024A03J1080)

DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20240515-00170

成纤维细胞激活蛋白 (fibroblast activation protein, FAP) 特异性高表达于肿瘤组织中的癌相关成纤维细胞^[1-4]。FAP 抑制剂 (FAP inhibitor, FAPI) 能与 FAP 特异性结合, 有利于早期发现 FAP 表达阳性的病灶^[5]。

近年来, 基于 FAPI 开发了大量放射性分子探针^[6-9], 包括大分子 FAPI 和小分子 FAPI, 特别是新型小分子环肽 FAPI——FAP-2286。 ^{68}Ga -FAP-2286 能够与 FAP 特异性结合, 在恶性肿瘤淋巴结转移的病灶中摄取高于 ^{18}F -FDG, 且较小分子线性肽 FAPI 在肿瘤中滞留时间更长^[10-12]。然而, 与 ^{68}Ga -FAPI-46 相比, 其肝脏摄取较高, 药代动力学性质尚待优化^[10]。同时, ^{18}F (半衰期约 109.8 min, 96.7% β^+) 与 ^{68}Ga (半衰期约 68 min, 88.9% β^+) 相比, 具有较长的半衰期、更短的正电子范围和更高的正电子产率, 可以获得空间分辨率更好和对比度更高的诊断图像^[13]。另外, 使用回旋加速器可以大量生产 ^{18}F 标记的放射性药物, 满足临床诊断需求。

因此, 本研究设计合成了一种基于 FAP-2286 的新型 ^{18}F 标记放射性环肽显像剂 $Al^{18}F$ -FAP-NOX, 探索其体内外性质并进行临床 PET/CT 患者显像, 综合评估其作为肿瘤靶向显像剂的可行性。

材料与方 法

一、实验材料

1. 仪器。采用山东麦德盈华科技有限公司的 MadiLab PSA071 小动物 PET/CT 扫描仪, 工作站配备 PMOD 4.3 软件 (瑞士 PMOD 科技有限公司); 上海联影医疗科技股份有限公司的 uMI Panorama PET/CT 扫描仪; 美国 Thermo Fisher Scientific 公司的 Ultimate 3000 放射性高效液相色谱 (high performance liquid chromatography, HPLC) 仪; 德国 Eckert & Ziegler Medical 公司的 FC3600 放射性 HPLC 探测器; 芬兰 Hidex 公司的 Hidex AMG 自动 γ 放射性计数器; 美国

Thermo Fisher Scientific 公司的 Sorvall ST8R 台式离心机; 德国 Binder GmbH 公司的 CB-S170 二氧化碳培养箱。

2. 试剂。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)-FAP-NOX 购自江西南昌探真生物技术有限公司; PBS、胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) 均购自武汉普诺赛生命科技有限公司; DMEM 高糖培养基 (Gibco) 购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司; 无水乙醇 (99.5%)、无水乙酸钠 ($\geq 99.99\%$, metals basis)、乙腈 (色谱纯) 均购自上海麦克林生化科技股份有限公司。

3. 肿瘤细胞和模型。人肾上皮细胞株 293T (FAP 表达阴性) 购自武汉普诺赛生命科技有限公司。稳定表达人 FAP 抗原的 HT1080-FAP (人纤维肉瘤细胞株) 和 293T-FAP 细胞株 (均为 FAP 表达阳性细胞) 为南方医科大学南方医院胡孔珍副研究员赠送。上述细胞均使用含体积分数 10% FBS、100 kU/L 青霉素、100 mg/L 链霉素的 DMEM 高糖培养基, 在 37 °C、体积分数 5% CO_2 的培养箱中常规培养。所有动物研究和实验程序经广州医科大学实验动物伦理委员会批准 (伦理批号: 20230330)。

10 只 4~5 周龄无特定病原体 (specific pathogen free, SPF) 级 BALB/c 裸鼠 (雄性, 体质量 16~22 g) 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 在 25 °C 和 12 h 光照/12 h 暗循环的环境中饲养, 可自由食用水和鼠粮。实验动物使用许可证号: 粤广动实备 GZL0008 号。消化、离心处理处于对数生长期的 293T-FAP 或 293T 细胞, 用 PBS 配制成细胞悬液。取 0.1 ml (每只小鼠 5×10^6 个细胞) 细胞悬液, 注射到裸鼠右前肢腋窝皮下, 待肿瘤生长至 5~8 mm 时用于动物实验。

二、实验方法

1. $Al^{18}F$ -FAP-NOX 的制备及质量控制。将 1 mg

前体溶解在 1 ml *L*-抗坏血酸(0.125 mol/L)中备用。将 350 μ l 乙腈、250 μ l 0.2 mol/L 乙酸钠缓冲液(pH 值 4.0)、5.0 μ l 10.0 mmol/L $AlCl_3$ 和 100 μ l (100 μ g, 73 nmol)的前体 NOTA-FAP-NOX 均匀混合在 10 ml 反应管中,使用 0.3 ml 生理盐水淋洗液将 ^{18}F 从 QMA 柱淋洗至反应管。95 $^{\circ}C$ 加热 10 min,所得产品使用 5 ml 无菌注射用水(25 $^{\circ}C$)稀释,冷却后经 C18 柱进行固相萃取,取 10 ml 注射用水冲洗 C18 柱上残留的有机溶剂和其他杂质。最终产品经 1.5 ml 体积分数 50%乙醇洗脱,并经 0.22 μ m 无菌滤膜过滤后转移至产品瓶中,用生理盐水稀释产品(乙醇含量 < 10%),获得 $Al^{18}F$ -FAP-NOX。使用放射性 HPLC 测定其放化纯。对产品进行性状检查,测量 pH 值。

2. 体外稳定性。取 30 μ l 分离样品 $Al^{18}F$ -FAP-NOX(3.7 MBq)加入 500 μ l PBS 或 FBS 中。PBS 中稳定性的检测:置于室温条件下温育 1 h 和 2 h 后分别取样 25 μ l,进行 PBS 中 $Al^{18}F$ -FAP-NOX 的放射性 HPLC 监测;FBS 中稳定性的检测:通过放射性 HPLC 进行溶液的分离,以 30 s 为一周期,收集 18 min 内使用 HPLC 分离的溶液于不同的塑料管中,用 γ 计数器测量不同塑料管中的放射性计数,检测 FBS 中 $Al^{18}F$ -FAP-NOX 的稳定性。

3. 脂水分配系数。准备 5 支离心管,取 1.5 ml 水和 1.5 ml 正辛醇均匀混合于 5.0 ml 离心管内,再加入 $Al^{18}F$ -FAP-NOX 溶液(0.37 MBq, 50 μ l), 25 $^{\circ}C$ 下剧烈涡旋 5 min 并以 3 000 r/min 离心 3 min,离心半径为 144 mm。完全分层后,分别取 100 μ l 水相和 100 μ l 有机相,用 γ 计数器测量放射性计数,计算脂水分配系数 $\log P$ 。

4. 细胞实验。提前 24 h 将 HT1080-FAP 细胞(5×10^4 个细胞/孔)接种在 24 孔板中,实验前移除培养基并用 PBS 洗涤细胞 2 次,随后按照以下实验步骤进行操作。

进行细胞摄取、抑制、内化和流出实验时,每孔添加 1 ml 含有 74 kBq $Al^{18}F$ -FAP-NOX 的无血清培养基。在 37 $^{\circ}C$ 条件下按照预设时间(5、15、30、60 和 120 min)进行实验,到达指定时间点后移除含放射性药物的培养基,用 PBS 洗涤细胞 2 次。对于抑制实验,放射性培养基中含有非放射性配体 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)-FAP-2286(3 μ mol/L)。对于内化实验,每孔加入 1 ml 甘氨酸-HCl(0.05 mol/L, pH = 2.8)溶

液,温育 10 min 后收集溶液。对于流出实验,细胞预温育 60 min 后,更换为不含放射性药物的基础培养基,按预设时间点实验并计算流出率。最终均用 1 mol/L NaOH 溶液裂解细胞,收集溶液中的细胞碎片,用 γ 计数器测量放射性计数。根据每百万细胞进行归一化计算,单位为每百万细胞百分注射剂量率(percentage activity of injection dose per million cells, %ID/mio cells),每个时间点重复 4 次。

5. MicroPET/CT 显像。取 293T-FAP 和 293T 荷瘤裸鼠各 4 只,予体积分数 2%异氟烷吸入麻醉,通过尾静脉注射 7.4 MBq $Al^{18}F$ -FAP-NOX,注射后立即对 293T-FAP 荷瘤裸鼠行 microPET 显像,动态连续采集 120 min;对 293T 荷瘤裸鼠在注射后 60 min 进行 10 min 静态 microPET 扫描;最终行 4.5 min CT 扫描。勾画肿瘤、心、肝、肌肉、骨骼和肾脏 ROI,计算每克组织百分注射剂量率(percentage activity of injection dose per gram of tissue, %ID/g)及肿瘤与非靶向器官摄取比值。

6. 生物分布。将接种 293T-FAP 肿瘤的 BALB/c 裸鼠分为正常摄取组和抑制组(每组 3 只),尾静脉注射 1.85 MBq $Al^{18}F$ -FAP-NOX;而抑制组注射 $Al^{18}F$ -FAP-NOX 的同时,加入 DOTA-FAP-2286(每只小鼠注射量为 50 μ g)作为抑制剂。在注射后 60 min 颈椎脱臼处死,分离器官并测量器放射性计数,衰减校正后,计算各组织 %ID/g。

7. 临床 PET/CT 显像。本研究纳入了 1 例 65 岁疑似右上肺肺癌的男性患者。纳入标准:新诊断的恶性肿瘤疑似患者,且能接受 PET 显像。显像经广州医科大学附属第一医院伦理委员会批准(伦理号:ES-2023-083-01),患者签署知情同意书。按体质量静脉注射 $Al^{18}F$ -FAP-NOX 3.70 MBq/kg 后,于第 60 分钟行全身 PET/CT 显像(PET:每个床位 1~2 min,共 4 个床位;CT:120 kV,自动管电流,旋转时间 0.5 s,层厚 3.75 mm,螺距 0.962 5),使用有序子集最大期望值迭代法和 128×128 图像矩阵重建 PET 数据。勾画肿瘤病灶 ROI,计算病灶 SUV_{max} 。

8. 统计学处理。使用 IBM SPSS 27.0 软件和 GraphPad Prism 9.0 进行统计分析。符合正态分布的定量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

结 果

1. $Al^{18}F$ -FAP-NOX 的制备及质量控制。经生理盐水稀释后的 $Al^{18}F$ -FAP-NOX 为无色透明溶液,体积为 5 ml, pH 值约为 6,乙醇含量在 10% 以下,没有

其他杂质残留, 未经过衰减校正的产率为 $(26.28 \pm 2.31)\%$ ($n=4$), 放化纯大于 95%, 比活度为 (44.19 ± 8.72) GBq/ μmol 。经 0.22 mm 医用滤膜过滤后检测样本为无菌、无热原产品, 符合放射性药物的质量要求。

2. Al^{18}F -FAP-NOX 的体外性质评价。在 PBS 和 FBS 中放置 2 h 后, 放化纯仍保持在 95% 以上, 表明 Al^{18}F -FAP-NOX 具有良好的体外稳定性。 Al^{18}F -FAP-NOX 的脂水分配系数 $\log P = -3.02 \pm 0.08$ ($n=5$), 表明其亲水性较好。

3. 细胞实验。如图 1A 所示, 15 min 时, HT1080-FAP 细胞对 Al^{18}F -FAP-NOX 的摄取量为 (7.31 ± 0.53) %ID/mio cells, 随后摄取量处于平台期, 且摄取能被 DOTA-FAP-2286 明显抑制, 表明 Al^{18}F -FAP-NOX 高度靶向 FAP。在细胞内化实验中(图 1B), 5 min 时, 药物内化率已经达到较高水平 $[(64.83 \pm 0.33)\%]$; 至 120 min 时, 内化率仍保持较高水平 $[(76.04 \pm 2.54)\%]$ 。在细胞流出实验中(图 1C), HT1080-FAP 细胞中滞留的 Al^{18}F -FAP-NOX 随着时间的推移而减少; 在 120 min 时, HT1080-FAP 细胞结合显像剂的比例约为 20% [细胞流出率: $(79.22 \pm 3.33)\%$]。

4. MicroPET/CT 显像(图 2)。FAP 表达阳性的 293T-FAP 荷瘤裸鼠的肿瘤摄取随时间增加逐渐升高, 于 60 min 到达平台期 [60 min: (12.47 ± 1.66) %ID/g; 120 min: (12.56 ± 1.47) %ID/g]; 在 FAP 表达阴性的 293T 荷瘤裸鼠体内, 肿瘤摄取较低, 注射后 60 min, 293T 肿瘤摄取为 (0.65 ± 0.57) %ID/g。结合细胞摄取和抑制实验, 进一步证实了 Al^{18}F -FAP-NOX 在体内的特异性。

观察到肾脏、膀胱中 Al^{18}F -FAP-NOX 的明显摄取, 30 min 后可以观察到肠道内有一定的摄取, 表明该显像剂主要通过泌尿途径排泄, 部分通过肝胆途径进行排泄。血液和正常器官清除显像剂后, 肿瘤与正常器官的比值均随时间增加而增加(图 2B)。其中, 在 30 min 时, 肿瘤/肌肉的摄取比值已达 14.88, 有利于 Al^{18}F -FAP-NOX 早期显示肿瘤病灶。

5. 生物分布。注射 Al^{18}F -FAP-NOX 后 60 min, 其在 293T-FAP 肿瘤中摄取高达 (14.59 ± 3.03) %ID/g, 而在正常器官中摄取值均较低, 最高为肾脏摄取 $[(2.37 \pm 0.76)$ %ID/g]。肿瘤/肌肉 = 65.24 ± 27.99 、肿瘤/肝脏 = 40.49 ± 15.00 、肿瘤/血液 = 28.84 ± 18.29 。在正常器官中肾脏的摄取值最高, 表明泌尿系统为

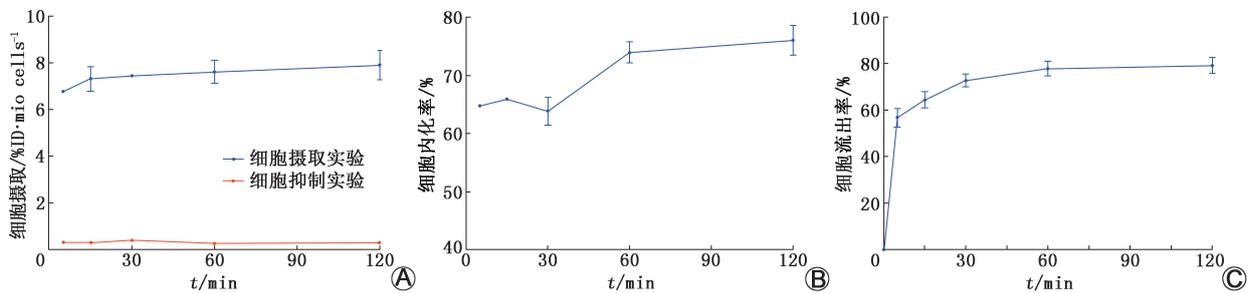


图 1 人纤维肉瘤细胞 HT1080-成纤维细胞激活蛋白(FAP)对 Al^{18}F -FAP-NOX 的摄取、内化和流出测定 ($n=4$)。A. 细胞的摄取和抑制实验; B. 细胞对 Al^{18}F -FAP-NOX 的内化测定; C. 细胞对 Al^{18}F -FAP-NOX 的流出测定。%ID · mio cells⁻¹ 为每百万细胞百分注射剂量率

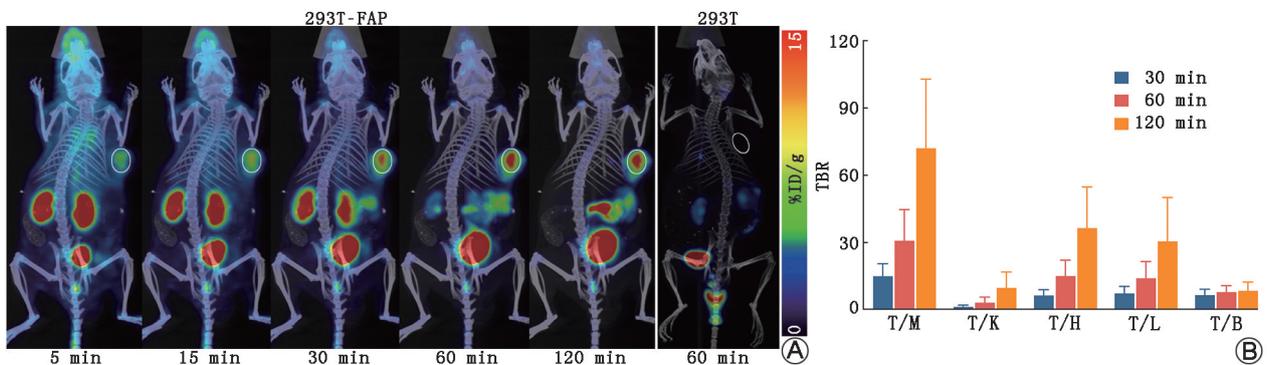


图 2 荷瘤裸鼠 Al^{18}F -FAP-NOX microPET/CT 显像结果。A. 293T-FAP 荷瘤裸鼠和 293T 荷瘤裸鼠 microPET/CT 显像图(白线框示肿瘤位置), 可见 293T-FAP 荷瘤裸鼠肿瘤摄取随时间延长而增加, 注射后 60 min 基本到达平台期, 药物主要通过肾脏及肝脏进行排泄, 而 293T 荷瘤裸鼠肿瘤部位未见明显药物摄取; B. 肿瘤与肌肉(T/M)、肾脏(T/K)、心脏(T/H)、肝脏(T/L)和骨骼(T/B)摄取比值 ($n=4$)。%ID/g 为每克组织百分注射剂量率, TBR 为肿瘤与非靶向器官摄取的比值

主要的排泄途径。药物在肿瘤中的摄取能够被 DOTA-FAP-2286 明显抑制,抑制后显像剂在肿瘤中的摄取量仅为 $(0.65 \pm 0.60) \% \text{ID/g}$ 。

6. 临床 PET/CT 显像。图 3 为 1 例 65 岁男性肺癌患者的 Al^{18}F -FAP-NOX PET/CT 显像图。在患者的右上肺见一显像剂摄取增高病灶, SUV_{max} 约 5.5, CT 上见一软组织密度结节影,分叶状,边界欠清,边缘可见毛刺及胸膜牵拉,密度不均。术后病理学检查证实为右上肺浸润性腺癌。

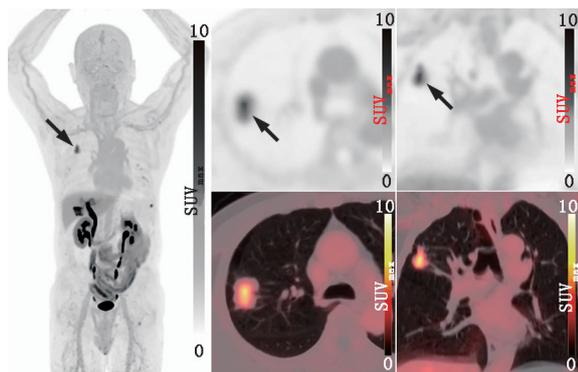


图 3 肺癌患者(男,65岁) Al^{18}F -成纤维细胞激活蛋白(FAP)-NOX PET/CT 显像图。全身最大密度投影、横断面、冠状位图像均显示右上肺上叶后基底段见一团块状高代谢病灶,大小 $3.0 \text{ cm} \times 2.2 \text{ cm} \times 2.7 \text{ cm}$, SUV_{max} 约 5.5。经手术切除,病理学检查结果为右上肺浸润性腺癌

讨 论

近年来,以 FAP 为靶点的一系列基于喹啉类小分子 FAPI 显像剂被相继开发。小分子 FAPI 相较于抗体或抗体片段能在 FAP 表达阳性的细胞中快速内化,在 FAP 高表达的肿瘤中显示出良好的成像能力,并且可迅速从泌尿系统排出。然而,小分子线性肽抑制剂的肿瘤滞留时间较短,限制了未来进一步诊疗一体化的发展。为解决因小分子抑制剂固有缺陷导致的应用限制,Zboralski 等^[11]研制出 FAP-2286,此种环肽类 FAPI 有效弥补了缺陷,并延长了放射性配体在肿瘤中的滞留时间。笔者所在课题组前期对 FAP-2286 进行相应修饰,成功合成 Al^{18}F 标记的新型 FAP 环肽 Al^{18}F -FAP-2286^[14]。然而,临床前和临床研究均表明 Al^{18}F -FAP-2286 肝胆系统生理性摄取较高,影响了胃肠道恶性肿瘤(例如结肠癌)的观察,对淋巴瘤淋巴结转移的检出率稍差。草酰基团的修饰可以影响环肽的整体亲水性,进而影响环肽药物在体内的生物分布,减少非靶向器官的摄取。草酰基团的存在会改变环肽的药代动力学,可能影响其血液清除率、分布情况和在体内的总

滞留时间。基于此,本研究通过对氮端进行水溶性更强的草酰基团修饰,研制出新型环肽药物 Al^{18}F -FAP-NOX,以期改善其药代动力学性质。

NOTA-FAP-NOX 以 NOTA 作为螯合基团,使得该药物可以用 ^{18}F 进行放射性标记。在优化的条件下, Al^{18}F -FAP-NOX 的标记产率和放化纯均较高。 Al^{18}F -FAP-NOX 在 PBS 和 FBS 中具有良好的稳定性,脂水分配系数 $\log P$ 低于 Al^{18}F -FAP-2286 (-3.02 ± 0.08 和 -2.55 ± 0.02),初步表明草酰基团的修饰使得该化合物亲水性更强^[14]。体外研究表明, Al^{18}F -FAP-NOX 在 FAP 表达阳性的 HT1080-FAP 细胞中表现出较高的细胞摄取和滞留,且在细胞抑制实验中, Al^{18}F -FAP-NOX 的细胞摄取可以明显被 DOTA-FAP-2286 抑制,这表明 Al^{18}F -FAP-NOX 具备与 FAP 高度特异性结合的能力。此外,本研究在 FAP 表达阳性的 293T-FAP 和 FAP 表达阴性的 293T 荷瘤裸鼠模型中进一步探究了 Al^{18}F -FAP-NOX 的显像特点,结果显示相较于 293T 荷瘤裸鼠模型,293T-FAP 荷瘤裸鼠体内肿瘤组织的 Al^{18}F -FAP-NOX 摄取更高,进一步验证了 Al^{18}F -FAP-NOX 的特异性。 Al^{18}F -FAP-2286 的 microPET/CT 显像示 60 min 时,293T-FAP 和 293T 荷瘤裸鼠的胆囊摄取比 Al^{18}F -FAP-NOX 更高,进一步验证了草酰基团修饰有助于提升环肽的亲水性^[14]。 Al^{18}F -FAP-NOX 的亲水性特征使得药物主要通过肾脏进行排泄,且在非靶器官和血液中清除速度快,肝胆排泄少,优化了环肽药物的药代动力学性质。肿瘤与肌肉等正常器官的摄取比值早期增高,且随着时间的延长而呈上升趋势,有助于早期快速识别肿瘤病灶。生物分布的结果更加准确确定了药物在肿瘤和主要器官的摄取情况,且抑制剂可以明显抑制 FAP 表达阳性荷瘤裸鼠的肿瘤摄取,生物分布的结果同样表明 Al^{18}F -FAP-NOX 对 FAP 表达阳性的肿瘤具有靶向性,进一步验证了其具有应用于 FAP 阳性肿瘤病灶临床显像的潜力。与此同时,临床 PET/CT 显像显示该新型环肽药物在肺癌病灶中代谢增高,对肺癌具有一定的诊断能力。

综上, Al^{18}F -FAP-NOX 合成简单,具备良好的稳定性和亲水性以及快速的肿瘤摄取,在 FAP 表达阳性的肿瘤模型中显示出良好的靶向性和特异性,临床 PET/CT 显像表现出对肺癌病灶一定的诊断能力,是一种有应用前景的新型环肽 PET 显像剂。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明 张梓奇:研究实施、论文撰写、统计学分析;刘少玉、王欣璐:研究指导、论文修改、经费支持;钟嘉伟、熊爽:研究实施、论

文撰写;赵睿明:统计学分析;周美娟、符乙敏、钟惠贞:患者管理

参 考 文 献

- [1] Mori Y, Dendl K, Cardinale J, et al. FAPI PET: fibroblast activation protein inhibitor use in oncologic and nononcologic disease[J]. *Radiology*, 2023, 306(2): e220749. DOI: 10.1148/radiol.220749.
- [2] Privé BM, Boussihmad MA, Timmermans B, et al. Fibroblast activation protein-targeted radionuclide therapy: background, opportunities, and challenges of first (pre)clinical studies[J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2023, 50(7): 1906-1918. DOI: 10.1007/s00259-023-06144-0.
- [3] Chen X, Song E. Turning foes to friends: targeting cancer-associated fibroblasts[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2019, 18(2): 99-115. DOI: 10.1038/s41573-018-0004-1.
- [4] 邢海群, 石希敏, 董诚岩, 等. ^{68}Ga 标记成纤维细胞活化蛋白抑制剂的临床前实验及初步临床转化研究[J]. *中华核医学与分子影像杂志*, 2020, 40(8): 480-485. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20191101-00249.
- Xing HQ, Shi XM, Dong CY, et al. Preclinical and clinical translation research of ^{68}Ga -labeled fibroblast activation protein inhibitor for PET imaging[J]. *Chin J Nucl Med Mol Imaging*, 2020, 40(8): 480-485. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20191101-00249.
- [5] 谈健伶, 兰晓莉, 张永学. 放射性核素标记的成纤维细胞活化蛋白靶向分子探针的研究进展[J]. *中华核医学与分子影像杂志*, 2021, 41(3): 180-184. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20200310-00094.
- Tan JL, Lan XL, Zhang YX. Research progress of radionuclide labeled fibroblast activation protein targeted molecular probes[J]. *Chin J Nucl Med Mol Imaging*, 2021, 41(3): 180-184. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20200310-00094.
- [6] 兰晓莉. FAPI: 构建核医学肿瘤诊疗一体化的新篇章[J]. *中华核医学与分子影像杂志*, 2023, 43(6): 321-324. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20230503-00118.
- Lan XL. FAPI will build a new chapter for radiotheranostics in oncology[J]. *Chin J Nucl Med Mol Imaging*, 2023, 43(6): 321-324. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20230503-00118.
- [7] 赵亮, 陈健豪, 逢一臻, 等. 靶向成纤维细胞活化蛋白四聚体放射性探针的构建及其在荷瘤裸鼠中的诊疗一体化研究[J]. *中华核医学与分子影像杂志*, 2023, 43(6): 343-348. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20230221-00042.
- Zhao L, Chen JH, Pang YZ, et al. Development of radiolabeled tetramer that targeting fibroblast activation protein and theranostic research in tumor xenografts[J]. *Chin J Nucl Med Mol Imaging*, 2023, 43(6): 343-348. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20230221-00042.
- [8] 傅丽兰, 谢飞, 董烨, 等. ^{18}F -FAPI-42 PET/CT 显像胃癌原发灶 SUV_{max} 与患者临床病理特征的关系[J]. *中华核医学与分子影像杂志*, 2023, 43(6): 331-336. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20230314-00058.
- Fu LL, Xie F, Dong Y, et al. Relationship between the SUV_{max} of primary lesion on ^{18}F -FAPI-42 PET/CT imaging and the clinicopathological characteristics of patients with gastric cancer[J]. *Chin J Nucl Med Mol Imaging*, 2023, 43(6): 331-336. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20230314-00058.
- [9] 晁芳芳, 谢新立, 张彦梅, 等. Al^{18}F -NOTA-FAPI-04 和 ^{18}F -FDG PET/CT 显像在初诊胃癌患者中的应用比较[J]. *中华核医学与分子影像杂志*, 2024, 44(4): 225-229. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20230411-00101.
- Chao FF, Xie XL, Zhang YM, et al. Comparison of Al^{18}F -NOTA-FAPI-04 and ^{18}F -FDG PET/CT in evaluating patients with initial gastric cancer[J]. *Chin J Nucl Med Mol Imaging*, 2024, 44(4): 225-229. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20230411-00101.
- [10] Pang Y, Zhao L, Meng T, et al. PET imaging of fibroblast activation protein in various types of cancer using ^{68}Ga -FAP-2286: comparison with ^{18}F -FDG and ^{68}Ga -FAPI-46 in a single-center, prospective study[J]. *J Nucl Med*, 2023, 64(3): 386-394. DOI: 10.2967/jnumed.122.264544.
- [11] Zboralski D, Hoehne A, Bredenbeck A, et al. Preclinical evaluation of FAP-2286 for fibroblast activation protein targeted radionuclide imaging and therapy[J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2022, 49(11): 3651-3667. DOI: 10.1007/s00259-022-05842-5.
- [12] Baum RP, Schuchardt C, Singh A, et al. Feasibility, biodistribution, and preliminary dosimetry in peptide-targeted radionuclide therapy of diverse adenocarcinomas using ^{177}Lu -FAP-2286: first-in-humans results[J]. *J Nucl Med*, 2022, 63(3): 415-423. DOI: 10.2967/jnumed.120.259192.
- [13] Giesel FL, Adeberg S, Syed M, et al. FAPI-74 PET/CT using either ^{18}F -AIF or cold-kit ^{68}Ga labeling: biodistribution, radiation dosimetry, and tumor delineation in lung cancer patients[J]. *J Nucl Med*, 2021, 62(2): 201-207. DOI: 10.2967/jnumed.120.245084.
- [14] Liu L, Zhong J, Zhang Z, et al. Preclinical study and first-in-human imaging of [^{18}F] FAP-2286, and comparison with 2-[^{18}F] FDG PET/CT in various cancer patients[J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2024, 51(7): 2012-2022. DOI: 10.1007/s00259-024-06626-9.

(收稿日期:2024-05-15)