

靶向 CD36 新型放射性示踪剂的研制及初步应用

周博 梁婷 张超 高峰

山东大学基础医学院实验核医学研究中心, 济南 250012

通信作者: 高峰, Email: rggaofeng@sdu.edu.cn

【摘要】 目的 设计并合成靶向 CD36 新型放射性示踪剂, 并对其稳定性、靶向性进行评估。**方法** 以 CD36 靶向抗血管生成肽 ABT-510 为活性骨架, 合成前体化合物 BQ01、BQ02 和 BQ03; 采用⁶⁸Ga 标记前体化合物, 制备新型示踪剂⁶⁸Ga-BQ01、⁶⁸Ga-BQ02 和⁶⁸Ga-BQ03, 并通过放射性高效液相色谱法测定其放化纯。对其放射化学和生物学特性进行系统评估, 包括体外稳定性、脂水分配系数、结合亲和力、药代动力学, 人胶质母细胞瘤 U87MG 荷瘤小鼠 microPET/CT 显像、生物学分布和磷屏自显影实验。采用单因素方差分析比较 3 种探针的肿瘤/肌肉比值(事后检验采用 Tukey 法)。**结果** ⁶⁸Ga-BQ01、⁶⁸Ga-BQ02 和⁶⁸Ga-BQ03 的放化纯均超过 95%, 在体外 PBS 和血清中均稳定性良好; 脂水分配系数 log *P* 分别为 -3.81 ± 0.08 、 -3.60 ± 0.03 和 -3.85 ± 0.03 , 均表现出亲水性; 体内血液清除半衰期分别为 (25.6 ± 0.3) 、 (38.2 ± 0.2) 和 (17.5 ± 0.2) min, 清除均较为迅速。⁶⁸Ga-BQ01、⁶⁸Ga-BQ02 和⁶⁸Ga-BQ03 对 U87MG 细胞具有较高的结合亲和力, 抑制常数 K_i 分别为 (4.30 ± 0.63) 、 (3.80 ± 0.24) 和 (2.61 ± 0.31) nmol/L。荷瘤小鼠 microPET/CT 显像示, ⁶⁸Ga-BQ01、⁶⁸Ga-BQ02 和⁶⁸Ga-BQ03 均在注射后 0.5 h 有明显的肿瘤摄取, SUV_{max} 分别为 0.68 ± 0.09 、 0.70 ± 0.09 和 0.89 ± 0.05 ; 生物学分布示肿瘤组织摄取分别为 (0.35 ± 0.09) 、 (0.53 ± 0.01) 和 (0.63 ± 0.06) 每克组织百分注射剂量率(%ID/g), ⁶⁸Ga-BQ03 的肿瘤/肌肉比值显著高于⁶⁸Ga-BQ01 和⁶⁸Ga-BQ02 ($F = 161.50$, 均 $P < 0.001$)。**结论** 3 种靶向 CD36 的放射性示踪剂稳定性好、亲和力强、肿瘤摄取高, 且⁶⁸Ga-BQ03 显像效果最好, 有望用于 CD36 阳性恶性肿瘤的精准诊断。

【关键词】 胶质母细胞瘤; 抗原, CD36; 同位素标记; 镓放射性同位素; 正电子发射断层显像术; 肿瘤细胞, 培养的; 小鼠

基金项目: 国家科技重大专项(2024ZD0525900)

DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20250421-00113

Development and preliminary application of novel radiotracers targeting CD36

Zhou Bo, Liang Ting, Zhang Chao, Gao Feng

Research Center for Experimental Nuclear Medicine, School of Basic Medical Sciences, Shandong University, Jinan 250012, China

Corresponding author: Gao Feng, Email: rggaofeng@sdu.edu.cn

【Abstract】 Objective To construct novel radiotracers targeting CD36 and evaluate their stabilities and targeting specificities. **Methods** ABT-510, an anti-angiogenic peptide that bound CD36, served as the active scaffold for the synthesis of precursor molecules BQ01, BQ02 and BQ03. These precursors were subsequently labeled with ⁶⁸Ga to yield the tracers ⁶⁸Ga-BQ01, ⁶⁸Ga-BQ02 and ⁶⁸Ga-BQ03, whose radiochemical purities were determined by radio-high-performance liquid chromatography. A systematic characteristics of the radiochemical and biological profiles were performed, including *in vitro* stability, lipid water partition coefficient (log *P*), target-binding affinity, pharmacokinetic behaviour, microPET/CT imaging on U87MG tumor bearing mice, biodistribution, and phosphor-screen autoradiography. The tumor/muscle ratios of three probes were compared by one-way analysis of variance (post-hoc tests with Tukey method). **Results** The radiochemical purities of ⁶⁸Ga-BQ01, ⁶⁸Ga-BQ02 and ⁶⁸Ga-BQ03 were all over 95%, and the radiotracers all remained stable in PBS and serum *in vitro*. The log *P* values of ⁶⁸Ga-BQ01, ⁶⁸Ga-BQ02 and ⁶⁸Ga-BQ03 were -3.81 ± 0.08 , -3.60 ± 0.03 and -3.85 ± 0.03 respectively, indicating hydrophilicity; and blood clearance half-lives *in vivo* were (25.6 ± 0.3) , (38.2 ± 0.2) and (17.5 ± 0.2) min respectively, demonstrating rapid elimination. ⁶⁸Ga-BQ01, ⁶⁸Ga-BQ02 and ⁶⁸Ga-BQ03 displayed high binding affinities toward U87MG cells, with inhibition constants (K_i) of (4.30 ± 0.63) , (3.80 ± 0.24) and (2.61 ± 0.31) nmol/L, respectively. MicroPET/CT demonstrated marked tumor accumulation of ⁶⁸Ga-BQ01, ⁶⁸Ga-BQ02 and ⁶⁸Ga-BQ03 at 0.5 h after administration in U87MG tumor bearing mice, with SUV_{max} of 0.68 ± 0.09 , 0.70 ± 0.09 and 0.89 ± 0.05 .

Biodistribution results showed the tumor uptakes of ^{68}Ga -BQ01, ^{68}Ga -BQ02 and ^{68}Ga -BQ03 were (0.35 ± 0.09), (0.53 ± 0.01) and (0.63 ± 0.06) percentage activity of injection dose per gram of tissue ($\% \text{ID/g}$), respectively. The tumor/muscle ratio of ^{68}Ga -BQ03 was significantly higher than that of ^{68}Ga -BQ01 or ^{68}Ga -BQ02 ($F = 161.50$, all $P < 0.001$). **Conclusions** Three CD36-targeted radiotracers demonstrate good stability, strong binding affinity, and high tumor uptake. Among them, ^{68}Ga -BQ03 shows the best imaging performance and holds promise for the precise diagnosis of CD36-positive malignant tumors.

【Key words】 Glioblastoma; Antigens, CD36; Isotope labeling; Gallium radioisotopes; Positron-emission tomography; Tumor cells, cultured; Mice

Fund program: National Science and Technology Major Project (2024ZD0525900)

DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20250421-00113

CD36 是一种跨膜糖蛋白,在脂质代谢、炎症反应等生理及病理过程中发挥关键作用,并通过介导脂肪酸摄取在肿瘤的生长与转移中发挥关键作用^[1]。临床研究表明,CD36 过表达可显著增强黑色素瘤、胶质母细胞瘤和乳腺癌等侵袭性恶性肿瘤的转移潜能^[2]。这些研究结果确立了 CD36 作为高度恶性肿瘤生物标志物及不良预后指标的重要地位。基于 CD36 的靶向治疗策略已进入临床前研究阶段并展现出良好抗肿瘤前景^[3],但现有检测技术难以实现对 CD36 表达的动态可视化监测,严重制约了其靶向治疗的临床转化进程。因此,亟需开发具备 CD36 靶向能力的 PET/CT 分子探针,实现其表达的非侵入性可视化显像,从而推动肿瘤的早期诊断、疗效监测与预后评估。本研究以抗血小板生成肽 ABT-510 的核心序列为活性骨架^[4],研制了 3 种新型 CD36 靶向放射性示踪剂 ^{68}Ga -BQ01、 ^{68}Ga -BQ02 和 ^{68}Ga -BQ03,并系统评估其放射化学和生物学特性,筛选出最优示踪剂用于 CD36 的精准成像与靶向治疗效果评价。

材料与方法

一、实验仪器与材料

1. 主要材料与仪器。本研究所用全部化学试剂均购自安徽泽升科技有限公司。本课题组设计了多肽化合物 BQ01、BQ02 及 BQ03 的结构,并委托南昌探真生物技术有限公司进行合成。高分辨质谱 (high-resolution mass spectrometry, HRMS) 系统购自德国 Bruker Daltonics 公司,UltiMate 型高效液相色谱 (high-performance liquid chromatography, HPLC) 仪购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司, γ 计数仪购自美国 PerkinElmer 公司,microPET/CT 仪购自匈牙利 Mediso 公司,磷屏成像系统购自日本 Cytiva 株式会社。

2. 细胞株和实验动物。人胶质母细胞瘤 U87MG 细胞株购自上海中乔新舟生物科技有限公司,于含体积分数 10% 胎牛血清和体积分数 1% 青

霉素-链霉素混合液的改良型 Eagle 培养基(购自于武汉赛维尔生物科技有限公司)中,在 37°C 、体积分数 5% CO_2 条件下常规培养。4~6 周龄、体质量 (20 ± 1) g 雌性 BALB/c 小鼠 ($n = 9$) 及重症联合免疫缺陷 (severe combined immunodeficiency, SCID) 小鼠 ($n = 36$) 购自北京贝优生物科技有限公司,均于无特定病原体环境中饲养。动物实验经山东大学动物伦理委员会批准 (ECSBMSSDU2024-2-313),实验动物使用许可证号为 SYXK(鲁)20230003。

二、实验方法

1. BQ01、BQ02、BQ03 化学合成及 ^{68}Ga 标记 (图 1)。以 Rink 酰胺型 4-甲基苯氨基二苯甲烷树脂 [Rink amide-methylbenzhydryla mine (MBHA) resin] 为起始树脂,Fmoc-氨基酸为原料,采用 N,N -二异丙基乙胺 (N,N -diisopropylethylamine, DIPEA)/苯并三氮唑- N,N,N',N' -四甲基脲六氟磷酸盐 (O-benzotriazole- N,N,N',N' -tetramethyl-uronium-hexafluorophosphate, HBTU)/1-羟基苯并三唑 (1-hydroxybenzotriazole, HOBT) 缩合体系固相法合成肌氨酸 (Sar)-甘氨酸 (Gly)-缬氨酸 (Val)-L-异亮氨酸 (Ile)-苏氨酸 (Thr)-正缬氨酸 (Nva)-Ile-精氨酸 (Arg)-脯氨酸 (Pro)-N-乙酰基酰胺 (BQ01)、Sar-Gly-Val-D-allo-Ile-Thr-Nva-D-allo-Ile-Arg-Pro-N-乙酰基酰胺 (BQ02)、Sar-Gly-Val-Ile-Thr-Nva-D-allo-Ile-Arg-Pro-N-乙酰基酰胺 (BQ03) 多肽序列。缩合反应时,以物质的量比计,Fmoc-氨基酸:DIPEA:HOBT:HBTU:Rink amide-MBHA resin = 3.5:7:4:4:1;将靶向 CD36 蛋白的多肽与二聚乙二醇 [(polyethylene glycol)₂, PEG₂] 缩合,再偶联 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),将多肽从树脂上裂解,利用 HPLC 进一步纯化,并通过 HRMS 进行表征鉴定。

用 4 ml 盐酸 (0.05 mol/L) 从 ^{68}Ge - ^{68}Ga 发生器 (购自于德国伊赫姆同位素技术慕尼黑股份公司) 中淋洗得到 $^{68}\text{GaCl}_3$ 洗脱液。将 3 nmol/L 前体化合物 (BQ01、BQ02、BQ03) 溶于 100 μl 乙酸钠缓冲液

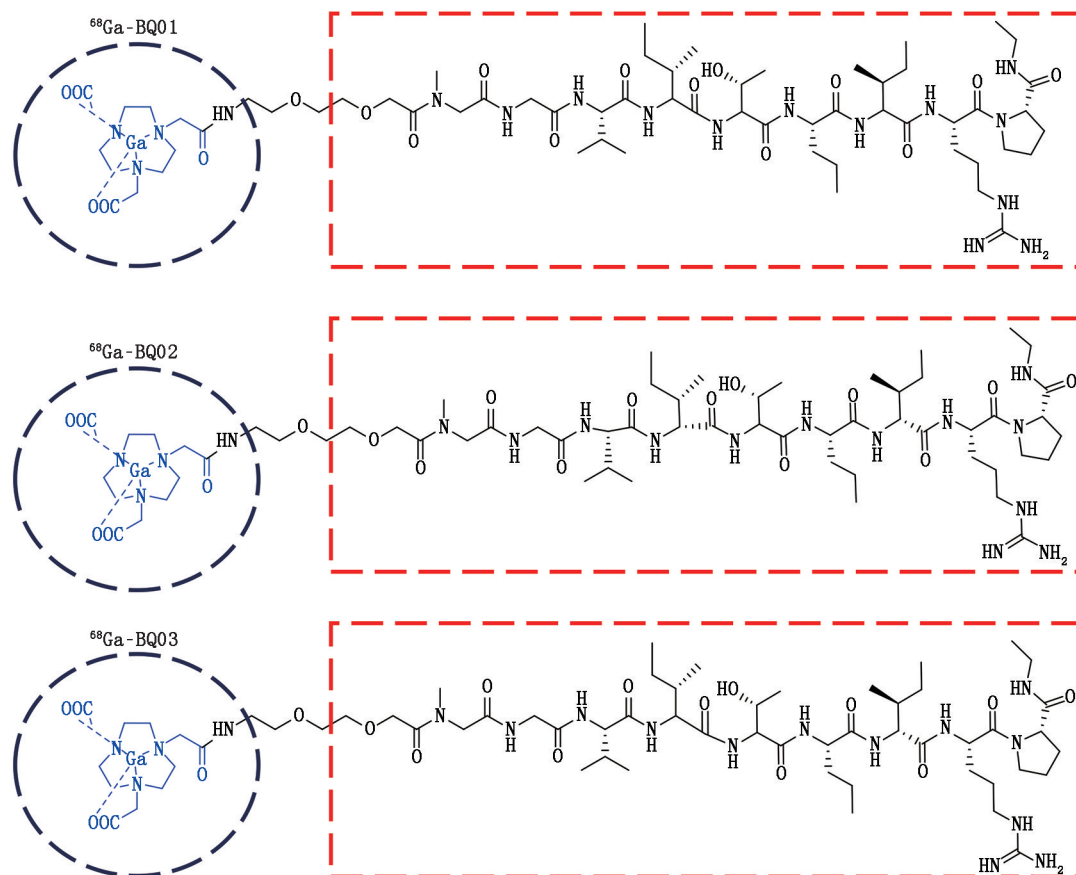


图1 ^{68}Ga -BQ01、 ^{68}Ga -BQ02 和 ^{68}Ga -BQ03 分子结构示意图。红色虚线框代表 CD36 靶向基团,蓝色虚线圆圈代表 1,4,7-三氮杂环壬烷-1,4,7-三乙酸 (NOTA) 螯合基团

(0.25 mol/L) 中,加入 400 μl $^{68}\text{GaCl}_3$ 洗脱液;然后 100 $^{\circ}\text{C}$ 加热 15 min,用放射性 HPLC 检测放化纯。

2.稳定性研究。将 100 μl ^{68}Ga -BQ01、 ^{68}Ga -BQ02 和 ^{68}Ga -BQ03 分别与等体积的 PBS 或血清于 37 $^{\circ}\text{C}$ 共温育 1 h。PBS 样品直接用放射性 HPLC 分析;血清样品加入 2 倍体积乙醇,充分涡旋混合后,在 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,以 10 000 r/min(离心半径 10 mm)离心 5 min,经 0.2 μm 聚醚砜针头过滤器(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)过滤后进行放射性 HPLC 分析^[5]。

3.脂水分配系数 $\log P$ 测定。将 5 μl 放射性示踪剂加入 495 μl 4-羟乙基哌嗪乙磺酸[4-(2-hydroxyethyl) piperazine-1-ethanesulfonic acid, HEPES; pH=7.4]缓冲液和 500 μl 正辛醇中,充分振荡混匀后在 4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,以 10 000 r/min(离心半径 10 mm)离心 5 min。分别取 200 μl 上层液体和 200 μl 下层液体,再次离心(条件同上)后各取 100 μl 上层液体和 100 μl 下层液体,用 γ 计数器测定其放射性计数。 $\log P = \log(\text{正辛醇相的放射性计数}/\text{HEPES 缓冲液相的放射性计数})$ 。

4.细胞摄取实验。以每孔 2×10^5 个 U87MG 细胞接种于 12 孔板中,培养 24 h 后,用 PBS 洗涤细胞

3 次后加入放射性示踪剂,分别温育 15、30、60、90、120 min。阻断组预先以未标记肽(200 nmol/L)对细胞进行抑制处理,1 h 后加入放射性示踪剂共温育。温育结束后去除培养基, PBS 洗 3 次后,再用 1 mol/L NaOH(400 μl)裂解细胞,用 γ 计数器测量放射性计数。实验重复 3 次。

5.竞争实验。使用 ^{125}I -抗 CD36 单克隆抗体作为标准配体以评估前体化合物对其结合的竞争抑制作用。采用 Iodogen 碘化法制备 ^{125}I -抗 CD36 单克隆抗体。以每孔 2×10^5 个 U87MG 细胞接种于 12 孔板中,每孔加入 200 μl 含有 ^{125}I -抗 CD36 单克隆抗体(10 nmol/L)无血清培养基,温育 1 h 后,每孔加入不同浓度的前体化合物($1 \times 10^{-12} \sim 1 \times 10^{-5}$ mol/L);随后再次温育 1 h,用冷的 PBS 洗 3 次后用 1 mol/L NaOH 溶液裂解细胞,并使用 γ 计数器测量放射性计数。使用 GraphPad Prism 5.0 计算抑制常数 K_i 。

6.动物模型的建立。将 U87MG 细胞以皮下注射方式接种至 SCID 小鼠右肩部,每只小鼠注射 5×10^6 个细胞。每周监测肿瘤生长情况,当肿瘤长径达到 10 mm 时,对荷瘤鼠进行影像学 and 生物分布研究。

7. 药代动力学研究。经尾静脉向 BALB/c 小鼠 ($n=9$) 注射放射性示踪剂 (3.7 ± 0.1) MBq ($100\ \mu\text{l}$)。随后在 1、3、5、10、15、30、60、90、120 min 采集血液样本,测质量并使用 γ 计数器测量放射性计数。通过 Drug and Statistics 软件拟合血液清除率曲线,获得血液清除半衰期 ($T_{1/2\beta}$)。

8. MicroPET/CT 显像。将 U87MG 荷瘤鼠简单随机分配为实验组 ($n=9$) 和阻断组 ($n=9$),实验组在气体麻醉条件下,经尾静脉注射 (7.4 ± 0.2) MBq 放射性示踪剂;阻断组则同时注射 $100\ \mu\text{g}$ 未标记肽与相同剂量的放射性示踪剂。分别在给药后 0.5 h 对其进行 microPET/CT 显像,重建后使用 InterView FUSION 3.0 软件对图像进行分析。

9. 生物学分布和磷屏自显影。在气体麻醉条件下,经尾静脉对 U87MG 荷瘤鼠 ($n=18$) 注射 $100\ \mu\text{l}$ 放射性示踪剂 [(3.7 ± 0.1) MBq]。注射 0.5 h 后处死小鼠,收集主要组织和器官测质量,并使用 γ 计数器测量放射性计数,计算每克组织百分注射剂量率 (percentage activity of injection dose per gram of tissue, %ID/g) 和肿瘤/肌肉比值。此外,取感兴趣的组织置于荧光屏上曝光 15 min,用磷屏自显影成像系统扫描图像,用 Image J 2.0 行图像分析。

10. 免疫组织化学检查。采用 EnVision 法对 U87MG 肿瘤组织切片进行免疫组织化学染色。石蜡包埋的 U87MG 肿瘤组织切片 ($5\ \mu\text{m}$) 经脱蜡、水化处理后,分别与 CD36 单克隆抗体 (美国巴傲得生物科技有限公司, BS66169M) 和对照免疫球蛋白 (immunoglobulin, Ig) G 温育。根据免疫反应评分 (immunoreactive score, IRS) 评估 CD36 表达水平, $\text{IRS} = \text{染色强度 (staining intensity, SI)} \times \text{阳性细胞百分比}$ 。

11. 统计学分析。数据分析使用 GraphPad Prism 9.0 软件进行。符合正态分布的定量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示。2 组间比较采用两独立样本 t 检验;多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 Tukey

法。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义 (双侧检验)。

结 果

1. 化学合成及 ^{68}Ga 标记。前体化合物均成功合成并通过 HRMS 进行确证,纯度均高于 98%。使用 $^{68}\text{GaCl}_3$ 进行放射性标记,成功制备得到 $^{68}\text{Ga-BQ01}$ 、 $^{68}\text{Ga-BQ02}$ 和 $^{68}\text{Ga-BQ03}$,其放化纯均超过 95%,放射性比活度分别为 (16.1 ± 0.8)、(16.7 ± 0.1) 和 (17.1 ± 0.2) GBq/ μmol 。

2. 稳定性、脂水分配系数和药代动力学结果。在 PBS 及血清中温育 1 h 后, $^{68}\text{Ga-BQ01}$ 、 $^{68}\text{Ga-BQ02}$ 和 $^{68}\text{Ga-BQ03}$ 的放化纯均保持在 90% 以上。Log P 分别为 -3.81 ± 0.08 、 -3.60 ± 0.03 和 -3.85 ± 0.03 ,均展示出较强的亲水性; $T_{1/2\beta}$ 分别为 (25.6 ± 0.3)、(38.2 ± 0.2) 和 (17.5 ± 0.2) min,血液清除均较为迅速;在系统暴露和清除参数方面,三者的 AUC 分别为 880.251、623.810 和 842.195,清除率分别为 0.021、0.030 和 0.022。综合分析结果可见,尽管 $^{68}\text{Ga-BQ02}$ 具有最长的血液半衰期,但其 AUC 最低且清除率最高,表明其在体内的整体暴露程度较低;相比之下, $^{68}\text{Ga-BQ01}$ 和 $^{68}\text{Ga-BQ03}$ 具有较高的 AUC 且清除较快,反映出较为理想的体内药代动力学平衡特性。

3. 细胞摄取及竞争实验 (图 2)。3 种放射性示踪剂在 U87MG 细胞中均表现出特异性摄取,并随着时间推移摄取逐渐增加,直到 60 min 趋于稳定。竞争实验结果显示, $^{68}\text{Ga-BQ01}$ 、 $^{68}\text{Ga-BQ02}$ 和 $^{68}\text{Ga-BQ03}$ 与 CD36 亲和力好, K_i 分别为 (4.30 ± 0.63)、(3.80 ± 0.24) 和 (2.61 ± 0.31) nmol/L。

4. 免疫组织化学检查结果 (图 3)。U87MG 荷瘤鼠肿瘤组织高表达 CD36,阳性细胞率为 6.25%,阳性细胞密度为 335 个细胞/ mm^2 ,平均吸光度为 0.048 7, IRS 为 1 分。而 IgG 组未见明显染色。

5. MicroPET/CT 显像 (图 4)。 $^{68}\text{Ga-BQ01}$ 、 $^{68}\text{Ga-BQ02}$ 和 $^{68}\text{Ga-BQ03}$ 均在注射后 0.5 h 有明显的肿瘤摄取, SUV_{max} 分别为 0.68 ± 0.09 、 0.70 ± 0.09 和 $0.89\pm$

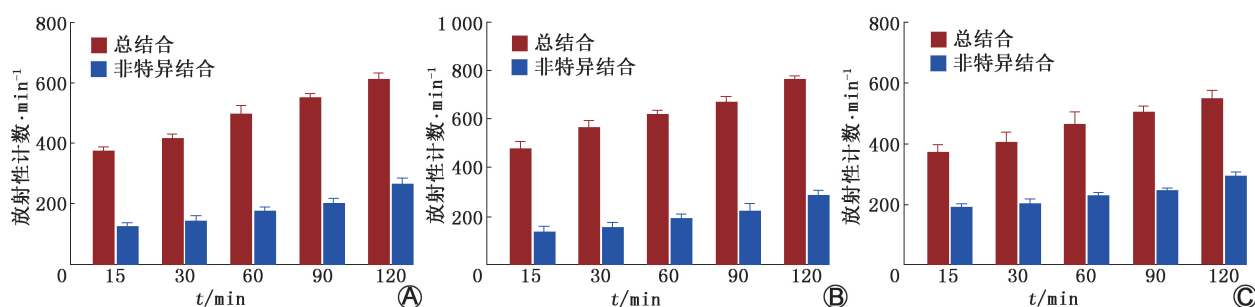


图 2 $^{68}\text{Ga-BQ01}$ (A)、 $^{68}\text{Ga-BQ02}$ (B) 和 $^{68}\text{Ga-BQ03}$ (C) 在不同时间点细胞摄取实验结果

0.05;阻断后 SUV_{max} 均显著降低 (0.20 ± 0.04 、 0.38 ± 0.01 和 0.27 ± 0.01 ; t 值: 18.98、18.98、21.14, 均 $P < 0.01$)。

6. 生物学分布 (表 1)。 ^{68}Ga -BQ01、 ^{68}Ga -BQ02 和 ^{68}Ga -BQ03 注射后 0.5 h, 肿瘤组织摄取分别为 (0.35 ± 0.09)、(0.53 ± 0.01)、(0.63 ± 0.06) %ID/g。三者均表现出较高的肾摄取, 而 ^{68}Ga -BQ02 的肝摄取明显。 ^{68}Ga -BQ03 的肿瘤/肌肉比值显著高于 ^{68}Ga -BQ01 和 ^{68}Ga -BQ02 ($F = 161.50$, 均 $P < 0.001$), 表明其具有更优的靶向显像能力。

7. 磷屏放射性自显影 (图 5)。 ^{68}Ga -BQ01、 ^{68}Ga -BQ02 和 ^{68}Ga -BQ03 注射后 0.5 h 的磷屏放射性自显影结果示, 各组织的摄取与生物学分布结果一致, 进一步验证了示踪剂在体内的分布特征。

讨 论

近年来, CD36 靶点在癌症研究领域备受关注。研究表明, 脂肪酸受体 CD36 的上调在肿瘤转移过程中发挥关键作用, 并可作为多种癌症的关键预后生物标志物, 为肿瘤诊疗提供重要参考^[6-8]。2005 年, Haviv 等^[4]开发了 ABT-510, 其在多个医学领域展现出广泛的应用潜力。在此基础上, Luo 等^[9]基于 ABT-510 研发了一种靶向 CD36 荧光探针, 尽管该探针在体外研究和浅表组织成像中表现出显著优势, 但其有限的组织穿透深度和相对较低的灵敏度限制了其在肿瘤诊断中的应用。而放射性示踪剂可以较好地解决上述问题^[10-11], 因此开发基于放射性示踪剂的新型肿瘤诊断方法, 以实现 CD36 阳性肿瘤的精准体内识别与评估, 具有重要的临床意义和研究价值。

表 1 ^{68}Ga -BQ01、 ^{68}Ga -BQ02 和 ^{68}Ga -BQ03

注射后 0.5 h 在 U87MG 荷瘤鼠中的生物分布 ($\bar{x} \pm s$; %ID/g)

组织	^{68}Ga -BQ01	^{68}Ga -BQ02	^{68}Ga -BQ03
血液	1.01 ± 0.01	1.53 ± 0.37	2.07 ± 0.46
肌肉	0.12 ± 0.07	0.21 ± 0.11	0.13 ± 0.06
骨	0.14 ± 0.08	0.23 ± 0.02	0.29 ± 0.01
肾	3.03 ± 0.71	8.49 ± 1.20	7.10 ± 1.54
脾	0.12 ± 0.08	0.12 ± 0.08	0.24 ± 0.11
肝	0.41 ± 0.14	2.14 ± 0.03	0.42 ± 0.15
肠道	0.47 ± 0.16	0.31 ± 0.07	0.25 ± 0.06
心	0.13 ± 0.09	0.25 ± 0.09	0.28 ± 0.08
肺	0.16 ± 0.04	0.53 ± 0.13	0.31 ± 0.10
胃	0.75 ± 0.38	0.22 ± 0.15	0.29 ± 0.13
肿瘤	0.35 ± 0.09	0.53 ± 0.01	0.63 ± 0.06
肿瘤/肌肉	2.63 ± 0.56	1.87 ± 0.20	6.68 ± 0.77

注: 各探针组小鼠数量均为 6 只; %ID/g 为每克组织百分注射剂量率

本研究共合成 3 种新型 CD36 靶向肽类示踪剂 BQ01、BQ02 和 BQ03, 其中 BQ01 保留原始 ABT-510 作为活性骨架, BQ02 将 ABT-510 中 2 个关键位置的 *L*-Ile 替换为 *D*-allo-Ile 进行结构修饰; BQ03 则选择性保留第 4 位的 *L*-Ile 并将第 7 位 *L*-Ile 替换为 *D*-allo-Ile, 以在保留原有活性骨架的基础上, 对肽链的“手型”构象进行调整, 从而提高受体结合率、增强体内稳定性并改善药代动力学特性, 并探讨不同位置立体化学异构的影响。此外, 通过在肽链末端引入 PEG₂ 增强其亲水性, 从而提高示踪剂水溶性并加速非靶器官代谢清除。

3 种 ^{68}Ga 示踪剂均在温和条件下完成标记, 操作简便高效, 放化纯均超过 95%; 体外实验评估发现, 其均表现出较强的亲水性及快速的体内血液清除, 且在体外 PBS 和人血清中的稳定性良好。在竞

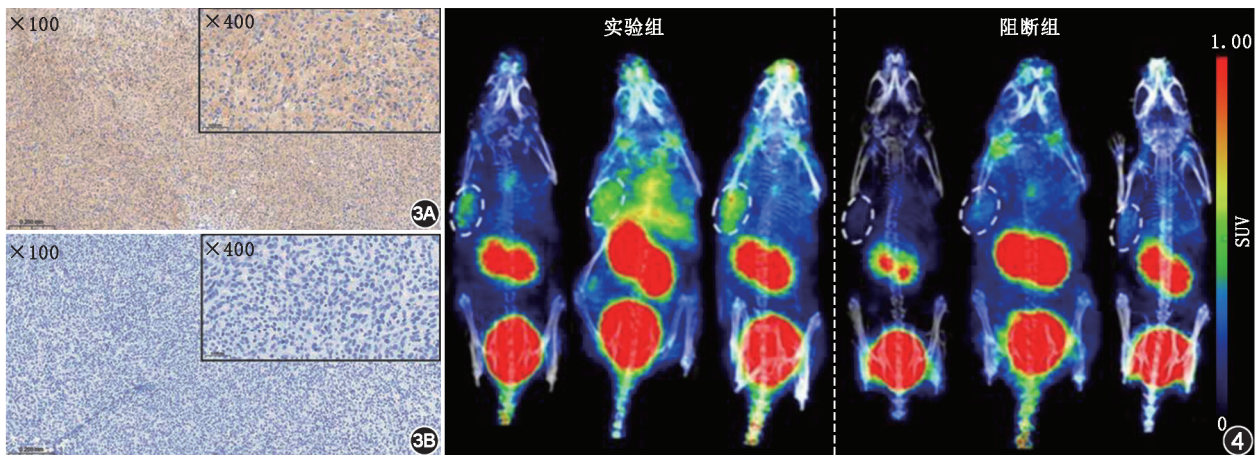


图 3 人胶质母细胞瘤 U87MG 荷瘤鼠肿瘤免疫组织化学检查结果图。3A. CD36 免疫组织化学检查结果 (EnVision 法 $\times 100$, $\times 400$); 3B. 免疫球蛋白 (Ig)G 免疫组织化学检查结果 (EnVision 法 $\times 100$, $\times 400$) 图 4 U87MG 荷瘤鼠尾静脉注射 ^{68}Ga -BQ01、 ^{68}Ga -BQ02 和 ^{68}Ga -BQ03 [从左到右: (7.4 ± 0.2) MBq] 后 0.5 h 的 microPET/CT 显像图 (圆圈示肿瘤)。阻断组为同时注射 100 μg 未标记肽与相同剂量的放射性示踪剂

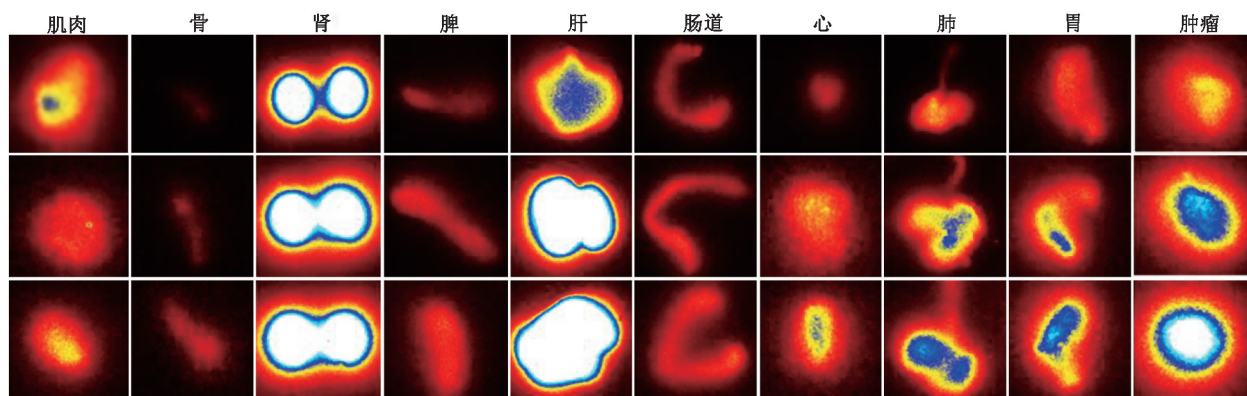


图5 人胶质母细胞瘤 U87MG 荷瘤鼠尾静脉注射 ^{68}Ga -BQ01、 ^{68}Ga -BQ02 和 ^{68}Ga -BQ03[(3.7 ± 0.1) MBq]后 0.5 h 各组织的磷屏放射性自显结果

争实验中, ^{68}Ga -BQ03 具有更强的 CD36 特异结合能力。MicroPET/CT 显像及生物分布结果表明,3 种探针在肿瘤组织中均呈现特异性摄取,并主要经肾途径进行代谢,其中 ^{68}Ga -BQ03 注射后 0.5 h,肿瘤摄取最明显,并具有较好的肿瘤/肌肉比值,且在除肾外的其他组织和器官中摄取水平较低。在阻断组中,3 种探针的肿瘤摄取均明显降低,进一步表明其对 CD36 的靶向特异性。值得注意的是,尽管 ^{68}Ga -BQ02 表现出较高的亲水性并主要经肾途径进行代谢,但其在肝中仍显示出明显摄取,其原因有待进一步深入研究。此外,3 种探针的血液清除较为迅速,后续可通过引入白蛋白结合剂策略,延长其血液循环时间和肿瘤滞留时间,优化其药代动力学性质。

综上所述,本研究开发并评估了 3 种新型 ^{68}Ga 标记的靶向 CD36 放射性示踪剂。其中, ^{68}Ga -BQ03 展现出良好的体内稳定性、靶向能力以及成像对比度和理想的药代动力学特性,这些优势使其在临床转化中具有广阔前景,尤其适用于 CD36 靶点相关疾病的动态无创成像。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

志谢 感谢山东大学高等医学研究院的仪器支持

作者贡献声明 周博:研究设计、论文撰写、数据分析;梁婷、张超:研究指导、数据整理、论文撰写;高峰:研究指导、论文审阅、经费支持

参 考 文 献

- [1] Feng WW, Zuppe HT, Kurokawa M. The role of CD36 in cancer progression and its value as a therapeutic target[J]. Cells, 2023, 12(12): 1605. DOI:10.3390/cells12121605.
- [2] Wang H, Franco F, Tsui YC, et al. CD36-mediated metabolic adaptation supports regulatory T cell survival and function in tumors[J]. Nat Immunol, 2020, 21(3): 298-308. DOI: 10.1038/s41590-019-0589-5.
- [3] Wang J, Li Y. CD36 tango in cancer: signaling pathways and functions[J]. Theranostics, 2019, 9(17): 4893-4908. DOI:10.7150/thno.36037.
- [4] Haviv F, Bradley MF, Kalvin DM, et al. Thrombospondin-1 mimetic peptide inhibitors of angiogenesis and tumor growth: design, synthesis, and optimization of pharmacokinetics and biological activities[J]. J Med Chem, 2005, 48(8): 2838-2846. DOI: 10.1021/jm0401560.
- [5] Gao F, Sihver W, Jurischka C, et al. Radiopharmaceutical characterization of ^{64}Cu -labeled α -MSH analogs for potential use in imaging of malignant melanoma[J]. Amino Acids, 2016, 48(3): 833-847. DOI:10.1007/s00726-015-2131-x.
- [6] Fang Y, Shen ZY, Zhan YZ, et al. CD36 inhibits β -catenin/c-myc-mediated glycolysis through ubiquitination of GPC4 to repress colorectal tumorigenesis[J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 3981. DOI:10.1038/s41467-019-11662-3.
- [7] Gyamfi J, Yeo JH, Kwon D, et al. Interaction between CD36 and FABP4 modulates adipocyte-induced fatty acid import and metabolism in breast cancer[J]. NPJ Breast Cancer, 2021, 7(1): 129. DOI:10.1038/s41523-021-00324-7.
- [8] Jiang M, Wu N, Xu B, et al. Fatty acid-induced CD36 expression via O-GlcNAcylation drives gastric cancer metastasis[J]. Theranostics, 2019, 9(18): 5359-5373. DOI:10.7150/thno.34024.
- [9] Luo P, Zhou K, Li G, et al. Preclinical evaluation of CD36-targeting antiangiogenic peptide ABT-510 for near-infrared fluorescence molecular imaging of colorectal cancer[J]. Anal Chem, 2023, 95(18): 7344-7353. DOI:10.1021/acs.analchem.3c00580.
- [10] 杨蕊,朱锐颖,宿晨,等. ^{68}Ga -NOTA-CD44 多肽的制备及其靶向 CD44⁺三阴性乳腺癌干细胞的研究[J].中华核医学与分子影像杂志, 2025, 45(5): 294-299. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20240429-00148.
- [11] 朱怡蓉,孔维唯,尤嘉熙,等.新型分子探针 ^{89}Zr -DFO-G4C2 监测 PD-1 表达水平的临床前研究[J].中华核医学与分子影像杂志, 2024, 44(10): 603-608. DOI: 10.3760/cma.j.cn321828-20231019-00078.

Zhu YR, Kong WW, You JX, et al. Preclinical study of a novel molecular probe ^{89}Zr DFO-G4C2 for monitoring PD-1 expression levels[J]. Chin J Nucl Med Mol Imaging, 2024, 44(10): 603-608. DOI:10.3760/cma.j.cn321828-20231019-00078.

(收稿日期:2025-04-21)