

肝 ASGP 受体显像剂的研究进展

杨文江, 张现忠

(放射性药物教育部重点实验室, 北京师范大学 化学学院, 北京 100875)

摘要: 去唾液酸糖蛋白受体(ASGP 受体)显像剂对于肝脏疾病的早期诊断以及指导治疗和评价预后有重要的临床意义。本文介绍了 ASGP 受体显像剂的发展过程及国内外的研究进展, 并对其未来的发展方向做了展望。

关键词: ASGP 受体; 肝脏显像; 显像剂

中图分类号: R817; R735.7 文献标志码: A 文章编号: 1000-7512(2009)03-0177-010

Development of Hepatic ASGP Receptor Imaging Agents

YANG Wen-jiang, ZHANG Xian-zhong

(Key Laboratory of Radiopharmaceuticals,

Ministry of Education, College of Chemistry, Beijing Normal University, Beijing 100875, China)

Abstract: The recent development of imaging agents for ASGP receptor was reviewed, and the trend for developing ASGP receptor imaging agents was also discussed.

Key words: ASGP receptor; hepatic imaging; imaging agents

1968 年, Morell 等发现去唾液酸铜蓝蛋白(Asialoceruloplasmin)在血液中清除很快, 而铜蓝蛋白(Ceruloplasmin)在血液中可以存留较长时间。包括铜蓝蛋白在内, 许多血清蛋白均有糖链附着, 唾液酸(Sialic Acid)出现在糖链的末端, 去除唾液酸后暴露出倒数第二个糖基-半乳糖残基(Galactose Residue), 可以使血液中这些糖蛋白被肝脏快速清除。进一步研究发现, 肝实质细胞是清除这些蛋白的专一位点, 清除过程被肝表面的一个受体介导。该受体只位于哺乳动物肝细胞膜表面, 最初命名为肝结合蛋白(Hepatic Binding Protein, HBP), 后来改称去唾液

酸糖蛋白受体, 即 ASGP 受体^[1-3]。

除白蛋白外, 几乎所有血浆蛋白都为糖蛋白, 在被肝脏合成并释放到血液中时, 其糖链末端为唾液酸。唾液酸与其它糖基形成较弱的连接, 在血液中并不稳定, 容易被清除。若唾液酸部分被清除, 则标志着这个糖蛋白生命的结束。大部分血浆蛋白的半乳糖结构都位于末端的第二位上, 因此当末端的糖被酶解后, 以半乳糖结尾的糖蛋白就可以作为 ASGP 受体的作用底物。去唾液酸糖蛋白一旦在细胞表面与 ASGP 受体结合, 所形成的配体-受体复合物迅速内化, 约在 5 min 内进入前溶酶体囊泡, 此后由于 pH

收稿日期: 2009-04-07; 修回日期: 2009-05-19

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(20401004; 20871020); 北京市自然科学基金资助项目(2092018)

作者简介: 杨文江(1981—), 男, 河北石家庄人, 博士研究生, 无机化学专业

通信作者: 张现忠, 副教授, 主要从事放射性药物化学研究, E-mail: zhangxzh@bnu.edu.cn

的作用而解离,受体再循环到质膜,大部分配体经溶酶体酶的作用而被分解代谢,小部分配体则绕过溶酶体的降解而排入胆汁,或穿过细胞膜返回细胞表面仍与受体相结合。这个过程可以维持血浆糖蛋白的动态平衡^[4-5]。

ASGP 受体可以在一定程度上反映出有效肝细胞功能,在肝炎、肝硬化或肝癌等肝损伤性疾病发生时,其数量和活性均受到损害^[1-2]。在众多评价肝功能的手段中,肝脏显像方法发展迅速,特别是单光子发射型计算机断层扫描仪(Single Photon Emission Computer Tomography, SPECT),利用它对肝细胞摄取、代谢、排泄等功能过程进行动态观察,可获得肝细胞代谢的放射性-时间曲线,并对肝细胞功能进行定量分析,被认为是最有发展前途的肝功能评价方法之一^[4,6-7]。

1 ASGP 受体显像剂的进展

研究者最初尝试使用放射性核素直接标记天然去唾液酸糖蛋白类物质用于 ASGP 显像。包括¹³¹I-去唾液酸- α -酸性糖蛋白、¹³¹I-去唾液酸人绒毛膜促性腺激素、⁹⁹Tc^m-DTPA-去唾液酸- α -酸性糖蛋白^[8]等。但是,由于获取天然去唾液酸糖蛋白类物质原料时需要酶催化,而且加工处理困难,限制了其进一步应用。此后研究者尝试在大分子上引入含有半乳糖的基团从而得到人工合成的 ASGP 受体的配体。

1.1 ⁹⁹Tc^m 标记的 NGA

首先利用人血清白蛋白进行修饰。人血清白蛋白(HSA)是血液中的天然成分,有很长的生物半衰期,且含有 56 个赖氨酸残基易于进行修饰。1984 年 Vera 等^[9-10]通过化学合成方法将半乳糖结构与人血清白蛋白偶联得到新乳糖白蛋白(Galactosyl-neoglycoalbumin, NGA, 其化学结构示于图 1),并经⁹⁹Tc^m 标记后进行肝显像

研究。试验性给兔静脉注射⁹⁹Tc^m-NGA 后,放射性在肝脏快速聚集,注射后 12~15 min 肝脏中的放射性活度可达到注射剂量的 80%~90%。兔肝脏放射性-时间曲线与⁹⁹Tc^m-NGA 的剂量及亲和力有关。此结果证实,⁹⁹Tc^m-NGA 与 ASGP 受体的结合符合配体与受体的关系,可作为一种人工合成的 ASGP 受体显像剂。从小型到中型哺乳动物显像结果均表明,⁹⁹Tc^m-NGA 能够特异地被肝脏所摄取,无明显的心、肺、脾及骨髓的摄取,显像清晰度明显优于胶体显像,且主要通过胆道肠道排泄。

1.2 ⁹⁹Tc^m 标记的 GSA

⁹⁹Tc^m 与 NGA 有一定比例的非特异性结合,且 NGA 中的白蛋白很难使⁹⁹Tc^m 稳定于还原态而不被再氧化形成放射性胶体,故其稳定性不够理想,此外,⁹⁹Tc^m-NGA 一步法药盒的保存期过短。1986 年 Kubota 等^[11-12]研究了⁹⁹Tc^m 标记 GSA(Diethylenetriamine Pentaacetic Acid-galactosyl-human Serum Albumin, 配体结构示于图 2),通过增加双功能连接剂 DTPA(二乙烯三胺五乙酸)增强了标记物的稳定性,减少了非特异性结合。此后对⁹⁹Tc^m-GSA 进行了大量研究^[1,11-14],结果均表明,⁹⁹Tc^m-GSA 和⁹⁹Tc^m-NGA 一样具有良好的趋肝性和受体介导结合特性,⁹⁹Tc^m-GSA 完全可以代替⁹⁹Tc^m-NGA 进行肝受体显像,并且使显像质量提高。⁹⁹Tc^m-GSA 不但能够评价肝脏的形态和功能,有助于肝病的早期诊断,而且在研究体内物质代谢、肝脏的生理学和病理生理学中也有重要价值^[13]。日本已批准⁹⁹Tc^m-GSA 注射剂作为肝脏诊断药物用于临床^[14],其商品名为 Asialoscinti。

⁹⁹Tc^m-NGA 和⁹⁹Tc^m-GSA 对肝脏功能的评价最初通过两个参数 LHL₁₅ 和 HH₁₅ 来反映。LHL₁₅ 称为受体指数(Receptor Index),为静脉注射后第 15 min 肝 ROI(Region of Interest, 感兴趣区)的放射性计数与肝 ROI 和心 ROI 放射性计数和的比值,即 $LHL_{15} = L_{15} / (L_{15} + H_{15})$;

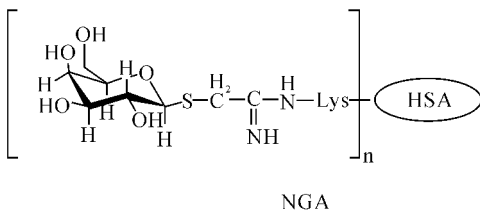


图 1 NGA 的结构

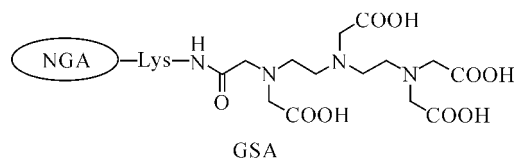


图 2 GSA 的结构

HH₁₅ 称为血液清除指数 (Blood Clearance Index), 为静脉注射后 15 min 与 3 min 心 ROI 的放射性计数比值, 即 $HH_{15} = H_{15} / H_3$ 。临床试验结果显示, 这两个参数在反映肝功能方面非常实用、可靠^[15]。除了上述两个参数外, 还有受体浓度、受体数量等参数^[16], 通过这些参数, 即可定量评价整体肝脏储备功能。日本学者将⁹⁹Tc^m-GSA 用于临床 SPECT 三维图像, 在每个肝脏横断面上划线模拟三维肝脏切除, 计算剩余(局部)肝功能占整体肝功能的比例, 并与代表整体肝功能的指标结合, 得出代表局部肝功能的指标, 用于预测手术风险^[17]。

目前国内四川大学华西医院、江苏省原子医学研究所等单位对 ASGP 受体显像剂⁹⁹Tc^m-NGA、⁹⁹Tc^m-GSA 已进行了一些研究^[18-23], 并进行了初步动物显像。本课题组与北京协和医院协作, 通过自主研发获得了无菌无热原的 GSA 冻干配套药盒^[24-25], 并通过改进药盒配方有效提高了药盒的稳定性与标记率, 标记率 > 95%, 且货架期 > 2 年, 关于药盒配方已申请国家发明专利保护(专利申请号: 200810057222. 1; 申请日: 2008-01-30)。该药盒使用简单、稳定性好, 目前正在临床试验阶段^[26]。

1.3 ¹³¹I, ¹²⁵I 标记的 NGA

文献报道,¹²⁵I 或¹³¹I 可通过氯胺 T 法对 NGA 进行直接标记, 也可通过 MIH (Maleimidoethyl 3-(tri-n-butylstannyl) Hippurate) 或 ATE (N-succinimidyl 3-(tri-n-butylstannyl) benzoate) 中间体间接标记。碘标记 NGA 化合物的结构示于图 3。¹³¹I, ¹²⁵I 标记的 NGA 与⁹⁹Tc^m-NGA 生物性能上存在一定差别。¹³¹I, ¹²⁵I-NGA 在肝脏中有较高的初始摄取和⁹⁹Tc^m-NGA 类似; 但在肝脏中的清除较快, 在血液和胃中有较高的浓集。实验结果表明, 由于¹³¹I, ¹²⁵I 是通过共价键与 NGA 中的酪氨酸结合, 不容易断开,¹³¹I, ¹²⁵I-NGA 在肝脏溶酶体中迅速代谢为¹³¹I, ¹²⁵I-Tyr (Tyr: 酪氨酸), 大部分被排出肝实质细胞, 因此其在 15 ~ 20 min 后迅速从肝脏中清除^[27-28]; 而⁹⁹Tc^m 与 NGA 主要以静电结合, 其在溶酶体中主要被代谢为⁹⁹Tc^mO₄⁻, 代谢产物一部分进入胆汁, 一部分滞留在肝实质细胞内, 因此⁹⁹Tc^m-NGA 有较好的肝脏滞留, 且其放射性代谢物不会返回血浆中影响其动力学性质^[27]。¹³¹I-ATE-NGA 和¹³¹I-MIH-NGA 与¹³¹I-NGA 生物

性能相近, 能够快速在肝脏中浓集。¹³¹I-MIH-NGA 在颈部和胃中的放射性摄取较低, 代谢分析的结果显示其代谢产物为¹³¹I-邻碘马尿酸, 代谢产物有较好的稳定性, 可迅速排入尿液中, 从而减少在生物体内脱碘的现象^[28]。另有文献^[29]报道, 在¹³¹I, ¹²⁵I 标记的 NGA 中加入 L-赖氨酸链, 如¹³¹I-L-HML-NGA, 其在动物体内的生物分布与代谢情况与¹³¹I-MIH-NGA 相似, 在血清中稳定, 放射性代谢产物为邻碘马尿酸形式, 可通过尿液迅速排出体外。而加入 1, 5 戊二胺或 D-赖氨酸链, 如¹²⁵I-MPH-NGA、¹²⁵I-D-HML-NGA, 其在肝脏中的放射性清除速率明显降低, 代谢分析显示其放射性代谢产物主要通过肠道排出体外, 表明其在溶酶体中的代谢产物主要以邻碘马尿酸外的其它形式存在, 具体存在形式尚未明确。

1.4 ⁶⁷Ga, ⁶⁸Ga 标记的 NGA

Vera^[30]报道^[31]了在 NGA 分子上连接了去铁胺(deferoxamine, DF) 作为双功能连接剂, 制备得到可用于⁶⁷Ga, ⁶⁸Ga 标记的 DF-NGA, 其化学结构示于图 4。平均每个 NGA 分子上连接了 1. 1 个 DF 基团, 标记率 > 98%。在新西兰白兔体内的生物分布结果显示,⁶⁷Ga-DF-NGA 的分布情况与⁹⁹Tc^m-NGA 类似, 有较高的初始摄取, 在注射后 60 min 时仍有 42% ~ 58% 的放射性滞留在肝脏中, 主要代谢产物通过尿液和肠道排出体外。⁶⁸Ga 作为正电子核素可通过⁶⁸Ge-⁶⁸Ga 发生器得到, 有合适的半衰期(68 min), ⁶⁸Ga-DF-NGA 是目前唯一报道的可用于 PET 显像的 ASGP 受体显像剂。

1.5 ¹¹¹In 标记的 NGA

日本学者报道了采用不同双功能连接剂对 NGA 进行修饰, 并用¹¹¹In 进行标记。主要采用的双功能连接剂包括: DTPA、SCN-Bz-EDTA (1-(4-异硫氰酸酯基苯基) 乙二胺四乙酸, 1-(4-isothiocyanatobenzyl) Ethylenediaminetetraacetic Acid)、EMCS-Bz-EDTA (1-[P-(5-maleimidopentyl) Aminobenzyl] Ethylenediaminetetraacetic Acid), 相关配体结构示于图 5。小鼠体内的生物分布结果表明,¹¹¹In-EDTA-Bz-SCN-NGA 可以快速浓集于肝脏, 有较高的初始摄取和很好的滞留, 其在肝脏中的清除速度比¹¹¹In-DTPA-NGA 快, 但明显比¹³¹I-NGA 清除慢。代谢分析结果显示,¹¹¹In-EDTA-Bz-SCN-NGA 在

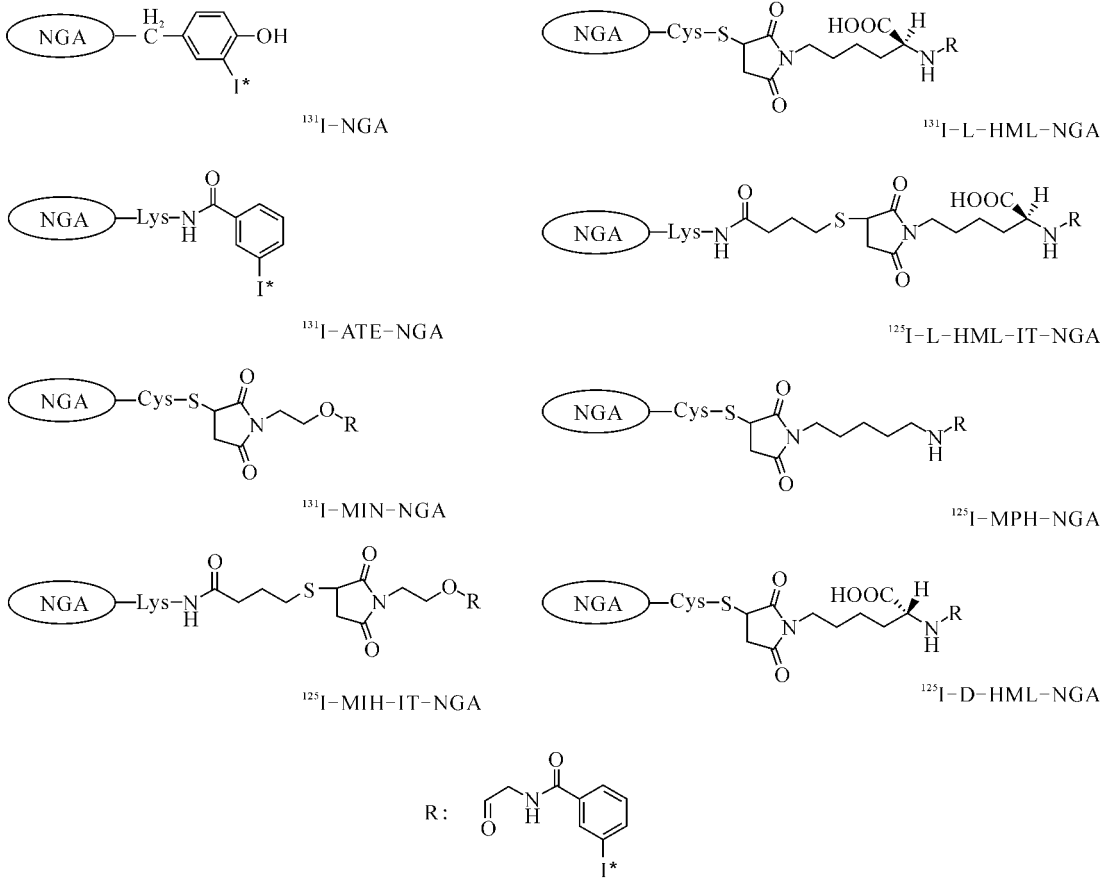


图 3 碘标记的 NGA 的结构

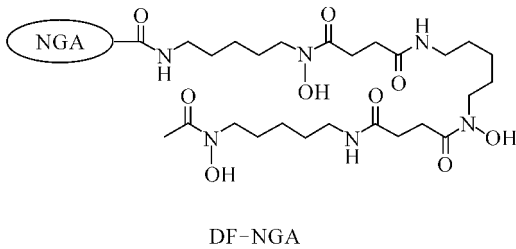


图 4 DF-NGA 的结构

注射后 1 h 通过肝脏全部代谢, 注射 24 h 后 80% 的放射性代谢物通过粪便排出, 主要代谢产物为 $^{111}\text{In-EDTA-Bz-SCN-Lys}$ (Lys: 赖氨酸)。 $^{111}\text{In-DTPA-NGA}$ 主要的代谢产物为 $^{111}\text{In-DT-PA-Lys}$ 。正是由于 $^{111}\text{In-DTPA-Lys}$ 能够滞留在溶酶体片段中, 导致了放射性能够在肝脏中较长时间滞留。 $^{111}\text{In-EDTA-Bz-EMCS-NGA}$ 在小鼠肝脏的清除速度明显快于 $^{111}\text{In-EDTA-Bz-SCN-NGA}$, $^{111}\text{In-EDTA-Bz-EMCS-NGA}$ 主要代谢产物为 $^{111}\text{In-EDTA-Bz-EMCS-Cys}$ (Cys: 半胱氨酸)

), 由于 NGA 在肝脏溶酶体中的分解代谢非常迅速, 放射性在肝脏中的滞留主要与其代谢产物的性质有关, 因此不同双功能连接剂标记的化合物, 在肝脏中的清除速度会有所不同^[32-33]。尽管主要代谢产物相同, $^{111}\text{In-EDTA-Bz-SCN-NGA}$ 和 $^{111}\text{In-EDTA-Bz-EMCS-NGA}$ 在大鼠肝脏中的清除速度明显低于在小鼠肝脏中的清除速度, 这种差异可能是由于代谢产物在不同种系肝实质细胞溶酶体中排除速率不同造成的^[34]。同样原因也可能造成放射性药物在临床和动物实验中肝脏清除的差异。

1.6 $^{99}\text{Tc}^m$ 标记的 HYNIC-NGA

HYNIC(6-胍基吡啶-3-甲酸)是一种常用的双功能连接剂, 其特点是与 $^{99}\text{Tc}^m$ 配位时为单齿配体, 需要一个三齿配体(如 tricine)作为共配体和一个单齿附属配体组成八面体, 因此可通过改变共配体对生物分子的药代动力学进行调节^[35]。该双功能连接剂常用于高比活度的蛋白质和多肽标记中, 且标记物均具有较好的体内稳

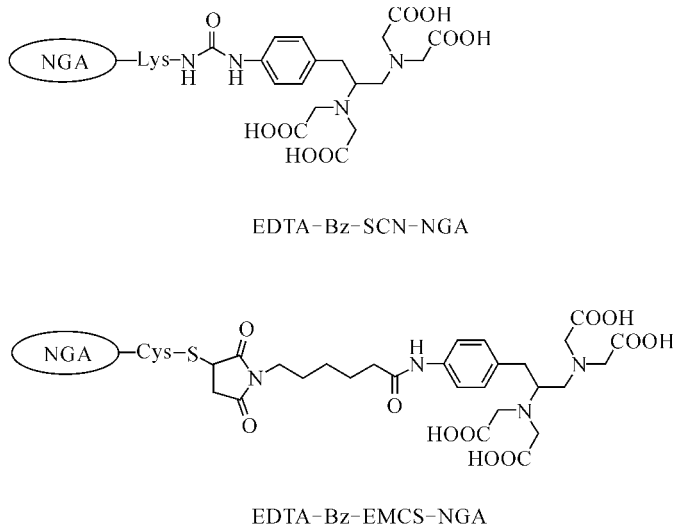


图 5 EDTA-Bz-SCN-NGA 和 EDTA-Bz-EMCS-NGA 的结构

定性。日本学者 Ono 等^[36]在 NGA 中引入 HYNIC,并在共配体 Tricine 存在下,进行⁹⁹Tc^m标记,得到了配合物⁹⁹Tc^m-(HYNIC-NGA)(tricine)₂(配体结构见图 6)。⁹⁹Tc^m-(HYNIC-NGA)(tricine)₂在小鼠的肝脏中有很好的初始摄取和滞留,注射 24 h 后肝脏仍有 38.77% ID/g。在其它非靶脏器中的放射性摄取很低,主要通过粪便和尿液排出体外。代谢分析结果显示,其在溶酶体中的代谢产物为⁹⁹Tc^m-(HYNIC-Lys)(tricine)₂。另外,在缺乏过量共配体及在溶酶体较低的 pH 环境下,代谢产物⁹⁹Tc^m-(HYNIC-Lys)(tricine)₂中的一个共配体分子 tricine 会解离下来,其剩余部分与细胞中其它蛋白结合,造成放射性在肝脏中的清除速度较慢。文献^[37]在 HYNIC-NGA 的标记中引入协同配体 3-苯甲酰吡啶 (BP) 得到⁹⁹Tc^m-(HYNIC-NGA)(tricine)(BP),小鼠体内分布结果显示,标记物有很好的肝脏摄取,与⁹⁹Tc^m-(HYNIC-NGA)(tricine)₂相比在肝脏中的清除速度较快。这是由于其代谢产物⁹⁹Tc^m-(HYNIC-Lys)(tricine)(BP)在细胞中保持稳定,不会与其它蛋白结合。进一步的研究^[38]表明,当采用不同的协同配体 3-苯甲酰吡啶 (BP)、3-乙酰基吡啶 (AP)、吡啶 (PY)、尼古丁酸 (NIC) 标记 HYNIC-NGA,得到配合物⁹⁹Tc^m-(HYNIC-NGA)(tricine)(BP)、⁹⁹Tc^m-(HYNIC-NGA)(tricine)(AP)、⁹⁹Tc^m-(HYNIC-NGA)(tricine)(PY)、⁹⁹Tc^m-(HYNIC-NGA)(tricine)(NIC),其代谢

产物⁹⁹Tc^m-(HYNIC-Lys)(tricine)(BP)、⁹⁹Tc^m-(HYNIC-Lys)(tricine)(AP)、⁹⁹Tc^m-(HYNIC-Lys)(tricine)(PY)、⁹⁹Tc^m-(HYNIC-Lys)(tricine)(NIC),酯水分配系数分别为-2.21、-2.37、-2.73 和 -2.93。其在肝脏中的清除速度依次增加。小鼠体内生物分布结果证明,放射性在肝脏中的清除速率与其代谢产物的脂溶性相关,代谢产物脂溶性越高,其在肝脏中的清除就越快^[38]。

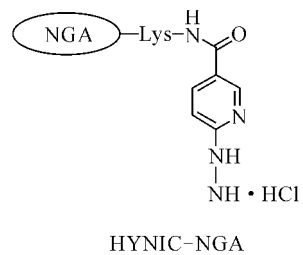


图 6 HYNIC-NGA 的结构

1.7 ⁹⁹Tc^m 标记的 LSA

NGA 是通过 2-亚氨基-2-甲氧基乙基-1-硫代-β-D-半乳吡喃糖苷与人血清白蛋白反应得到的,其合成步骤相对复杂;GSA 中引入了 DTPA 作为双功能连接剂,增强了与⁹⁹Tc^m的配位能力,但引入的 DTPA 会导致部分蛋白的变性、聚合、等电点下降。2004 年 Jeong 等^[39-40]通过还原氨化法将乳糖与人血清白蛋白以 Schiff 碱形式相连得到了新型的配体 LSA,其化学结构示于图 7。该配体合成简单,反应条件温和。所得

的 LSA 通过 β -巯基乙醇还原, 打开部分二硫键后用 $^{99}\text{Tc}^m$ 直接标记即可得到 $^{99}\text{Tc}^m$ -LSA。该方法有较高的标记率, 标记物的稳定性也较好。在小鼠体内的生物分布结果表明, $^{99}\text{Tc}^m$ -LSA 在肝脏中有较高的初始摄取和一定的保留, 注射后 10 min 在小鼠肝脏中的摄取接近 80% ID/g, 其它非靶器官摄取较低。大鼠体内的显像结果与小鼠生物分布结果相似, 在 30 min 时部分放射性浓集在腹腔的肠道中。对 LSA 进行荧光标记后, 在荧光显微镜下可以看到 LSA 进入肝实质细胞, 而在 Kupffer 细胞和内皮细胞中没有摄取, 证实了其摄取机制就是通过 ASGP 受体介导进入细胞的^[41]。代谢分析显示了 $^{99}\text{Tc}^m$ -LSA 通过粪便(50.0%)和尿液(44.4%)两个途径代谢出体外。LSA 通过打开二硫键进行标记, 在这个过程中会破坏蛋白质的结构, 可能会影响到其蛋白的活性, 进而影响其生物性能。

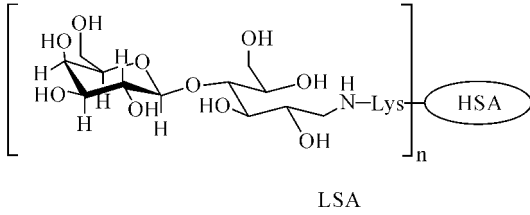


图 7 LSA 的结构

1.8 $^{99}\text{Tc}^m$ 标记的 GC

ASGP 受体显像剂多采用人血清白蛋白作为分子骨架, 在引入半乳糖残基及双功能连接剂后, 用放射性核素进行标记, 从而用于显像。在生物工程领域, 很多含有半乳糖或乳糖基团的聚合物被用于肝靶向药物的载体, 其中包括半乳糖修饰的壳聚糖 (Galactosylated Chitosan, GC)^[42], 与其它聚合物相比壳聚糖具有良好的生物相容性和生物降解性, 安全无毒。GC 的化学结构示于图 8。它采用水溶性的壳聚糖作为分子骨架, 通过乳糖与壳聚糖中的氨基反应引入半乳糖残基。2004 年 Kim 等采用 $^{99}\text{Tc}^m$ 对 GC 进行了标记, 由于直接标记的标记率较低, 他们将 GC 中的氨基甲基化得到 GMC, 其化学结构示于图 8。此化学结构增强了与 $^{99}\text{Tc}^m$ 的配位能力和水溶性。 $^{99}\text{Tc}^m$ -GMC 在小鼠肝脏中的摄取较低, 注射后 10 min 在肝脏中仅有 11.15% ID/g, 但其在肾脏中摄取较高, 即使在注射后 120 min 仍大于 19% ID/g, 这可能与水溶性壳聚糖自身的性质有关^[43]。2006 年 Kim 等^[44] 又用 HYNIC 作为双功能连接剂引入 GC, 并在共配体 Tricine 存在下进行 $^{99}\text{Tc}^m$ 标记, 得到 $^{99}\text{Tc}^m$ -HGC(图 8)。其在小鼠体内的分布及显像结果显示, $^{99}\text{Tc}^m$ -HGC 在肝脏中的摄取依然较低, 注

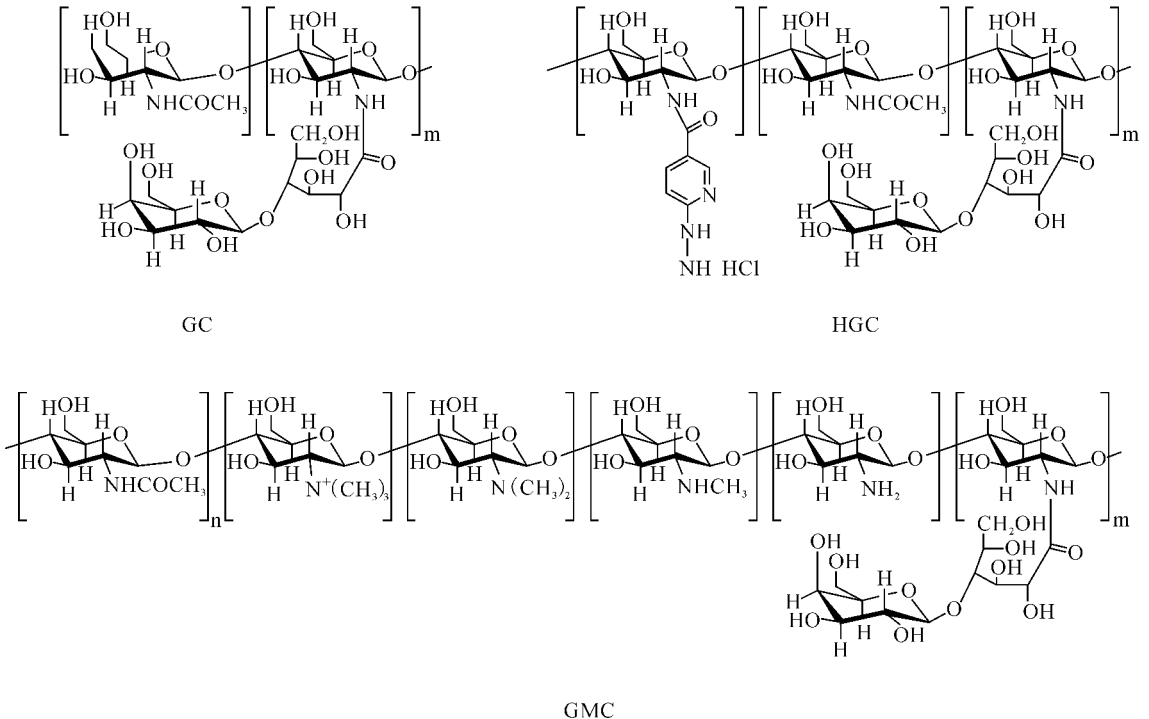


图 8 GC、GMC 和 HGC 的结构

射后 60 min 肝脏摄取为 16.11% ID/g,肾脏的摄取高于⁹⁹Tc^m-GMC;其肝脏的摄取可以通过注射过量的乳糖进行抑制,证明肝脏对⁹⁹Tc^m-GC的摄取具有特异性。其在血液、肾脏、脾等其它脏器的较高的放射性浓集必然会影响其对肝脏的显像,从而影响其在肝脏受体显像方面的应用。

2 ASGP 受体显像剂的展望

慢性肝炎、肝硬化以及肝癌是严重危害健康的一系列疾病,对于这些疾病的早期诊断并对其功能状态进行准确评价,是指导治疗和评价预后的有效依据,也对肝脏围术期具有重大意义(围术期是指从病人因需手术治疗住院时起,至出院时止的期限)。随着核医学影像技术的发展,特别是 ASGP 受体显像剂的出现,为肝脏功能的评估提供了一种无创、灵敏、准确的方法。几种已报道的 ASGP 受体显像剂在小鼠体内生物分布数据对比结果列于表 1。由表 1 中数据可见,⁹⁹Tc^m-GSA、⁹⁹Tc^m(HYNIC-NGA)(tricine)₂以及⁹⁹Tc^m-LSA 在肝中具有较高的初始摄取和较好的滞留,且在其它非靶组织中摄取较低,有利于减少放射性损伤和提高显像质量。考虑到⁹⁹Tc^m-GSA 与⁹⁹Tc^m-LSA 更易于通过简单可

靠的药盒法制备,而且⁹⁹Tc^m核素方便易得,因此可以认为在未来一段时间内能够用于临床 SPECT 显像的肝受体显像剂仍将以⁹⁹Tc^m-GSA 或⁹⁹Tc^m-LSA 为主。总结肝 ASGP 受体显像剂的发展可以看出,目前的 ASGP 显像剂主要是通过人血清白蛋白等大分子上引入含有半乳糖的基团以及用于放射性核素标记的双功能连接剂。从已有的 ASGP 受体显像剂中可以看出,ASGP 受体显像剂应主要包括以下特点。

(1)对 ASGP 受体有较好的亲和力。能够迅速被肝脏摄取,从血液中清除。在肝脏中只被肝实质细胞摄取,且仅通过 ASGP 受体介导进入肝实质细胞,不会通过其它途径进入;而在 Kupffer 细胞、内皮细胞等肝脏其它细胞中没有摄取。

(2)其在血液中有较好的稳定性,不与血液中的其它蛋白结合;与放射性核素的配位能力较强,在血液中不发生放射性核素脱落现象。

(3)其放射性代谢产物不会返回血浆中再次在肝脏中分布。由于 ASGP 受体显像剂在肝实质细胞摄取后迅速分解代谢,若其放射性代谢产物返回血浆后重新被肝脏摄取,会造成放射性在肝脏的再次分布,从而影响对肝脏功能的准确评估。

表 1 几种 ASGP 受体显像剂在小鼠体内的生物分布

%ID

药物	时间	不同组织或器官的放射性摄取							血液
		心脏	肝脏	肺	肾脏	脾脏	胃	肠	
⁹⁹ Tc ^m -NGA ^[23]	10 min	0.10±0.02	65.23±1.50	0.24±0.04	2.26±0.17	0.06±0.02	0.53±0.08	0.94±0.04	2.86±0.56
	60 min	0.06±0.01	44.22±2.77	0.21±0.06	1.43±0.24	0.05±0.01	1.65±0.44	17.71±5.12	1.43±0.20
⁹⁹ Tc ^m -GSA ^[26]	5 min	0.14±0.02	80.42±3.58	0.67±0.06	2.96±0.17	0.35±0.07	0.53±0.08		4.16±0.09
	30 min	0.12±0.03	68.88±1.13	0.44±0.05	2.86±0.08	0.49±0.09	1.29±0.59		2.32±0.15
¹³¹ I-MIH-NGA ^[28]	10 min	92.56±2.94		0.65±0.07	0.21±0.09	0.18±0.09	0.28±0.04	0.45±0.05	
	60 min	3.98±0.65		2.79±0.65	0.10±0.07	0.56±0.14	6.11±0.81	0.24±0.06	
¹¹¹ In-EDTA-Bz-SCN-NGA ^[31]	10 min	94.64±3.72		0.16±0.09	0.03±0.01		0.84±0.34	0.12±0.06	
	60 min	64.55±4.16		0.22±0.14	0.03±0.01		31.04±7.74	0.08±0.01	
⁹⁹ Tc ^m -(HYNIC-NGA)-(tricine) ₂ ^[36]	10 min	92.30±2.65		0.30±0.05	0.08±0.04	0.31±0.16	0.36±0.09	0.27±0.02	
	60 min	84.56±2.48		0.38±0.05	0.08±0.01	0.58±0.25	7.61±0.91	0.09±0.02	
⁹⁹ Tc ^m -LSA ^[41]	10 min	0.02 ± 0.00	95.08 ± 6.71	0.55 ± 0.17	0.79 ± 0.07	1.18 ± 0.39	0.07 ± 0.01	0.29 ± 0.04	0.60 ± 0.12
	60 min	0.04 ± 0.01	76.61 ± 5.87	0.20 ± 0.04	2.85 ± 0.55	1.46 ± 0.20	0.46 ± 0.04	26.13 ± 2.14	0.77 ± 0.03
⁹⁹ Tc ^m -GMC ^[43]	10 min	1.66±0.32	11.16±2.33	3.68±0.77	27.27±3.06	4.26±1.73	0.87±0.32	0.87±0.32	8.64±1.92
	60 min	0.69±0.09	14.02±6.08	1.86±1.43	21.99±5.11	4.27±1.06	0.67±0.45	1.64±1.63	1.77±0.71

注:血液摄取单位为%ID/g

(4)在体内其它非靶器官摄取较低,特别是腹腔中的脏器,以减少对显像的影响;在体内有一定的清除速度,以减少不必要的放射性损伤。

目前 ASGP 受体显像剂在肝脏功能评价方面与传统检测手段(如 Child-Pugh 分级、血液检测、肝脏清除负荷试验等)相比能够更直接反应肝脏的功能。随着 SPECT 的普及和价格的降低,越来越被人们所接受。在日本,应用^{99m}Tc^m-GSA 的 SPECT 显像已经成为肝脏功能检查的常规手段,每年检查人数超过一万例^[13]。我国是肝炎疾病高发国,肝病人数约占全球肝病人数的 1/3,每年有数十万人死于与肝脏有关的疾病。目前国内缺乏临床可用的 ASGP 受体显像剂,急需研发拥有自主知识产权、安全、可靠的 ASGP 受体显像剂。本研究小组自行研制的 GSA 药盒已通过北京协和医院伦理委员会审查,目前在北京协和医院已经进行了数十例临床 SPECT 显像试验,结果显示药盒安全有效、图像十分清晰。

随着显像技术的发展,核医学 ASGP 显像与 CT 技术结合可在三维结构中随意测试某一区段的肝功能。该显像技术可以真实、数字化地反映肝脏功能,对肝硬化患者术前肝功能进行正确评估,帮助预测手术风险、制定治疗方案、降低肝脏手术的围手术期死亡率。这是其它检测手段无法达到的。应用正电子核素标记的 ASGP 受体显像剂进行 PET 显像,可获得更高的空间分辨率和更精确的图像。因此临床对正电子核素标记的 ASGP 受体显像剂的需求将会增加。目前已有报道的正电子核素标记的肝 ASGP 受体显像剂仅有⁶⁸Ga 标记的 DF-NGA,但⁶⁸Ga 有较高的 β 射线能量,会降低空间分辨率,并且会造成较多的辐射损伤^[30]。¹⁸F 具有良好的核素性质,有适宜的半衰期(110 min),是正电子显像剂常用的放射性核素,采用¹⁸F 标记的含有半乳糖结构的蛋白或其它聚合物可能是今后 ASGP 受体显像剂发展的趋势。

致谢:感谢刘伯里院士对本文认真审阅并提出宝贵的修改意见。

参考文献:

[1] Stadalnik RC, Vera DR. The evolution of ^{99m}Tc-NGA as a clinically useful receptor-binding radio-

pharmaceutical[J]. Nucl Med Biol, 2001, 28: 499-503.

- [2] Vera DR, Hoh CK, Stadalnik RC, et al. Radiopharmaceuticals for the study of liver and renal function [M]//Handbook of Radiopharmaceuticals. Chichester: John Wiley & Sons Ltd, 2003: 795-822.
- [3] 徐文,殷正丰. 去唾液酸糖蛋白受体介导的肝靶向性研究进展[J]. 第二军医大学学报, 2006, 27(9): 1 002-1 005.
- [4] 张涛,毛一雷. 肝去唾液酸糖蛋白受体显像:三维分段肝功能评估的前景[J]. 基础医学与临床, 2006, 26(5): 538-541.
- [5] 管昌田. ^{99m}Tc-NGA 肝受体显像[J]. 国外医学:放射医学核医学分册, 1990, 14(3): 127-129.
- [6] 毛一雷,张涛. 肝硬化患者术前肝功能评估方法的现状和进展[J]. 中国医学科学院学报, 2006, 28(4): 849-852.
- [7] 毛一雷,张涛,桑新亭,等. 应用单光子发射型计算机断层显像评价剩余肝功能的动物实验研究[J]. 中华外科杂志, 2007, 45(9): 609-611.
- [8] Galli G, Maini CL, Orlando P, et al. A radiopharmaceutical for the study of the liver: ^{99m}Tc-DTPA-asialo-orosomucoide I; Radiochemical and animal distribution studies[J]. J Nucl Med Allied Sci, 1988, 32: 110-116.
- [9] Vera DR, Krohn KA, Stadalnik RC, et al. Tc-99m-galactosyl neoglycoalbumin: in vivo characterization of receptor-mediated binding to hepatocytes[J]. Radiology, 1984, 151: 191-196.
- [10] Vera DR, Stadalnik RC, Krohn KA. Technetium-99m galactosyl-neoglycoalbumin: preparation and preclinical studies[J]. J Nucl Med, 1985, 26: 1 157-1 167.
- [11] Kubota Y, Kojima M, Hazama H, et al. A new liver function test using the asialoglycoprotein-receptor system on the liver cell membrane: I. Evaluation of liver imaging using the Tc-99m-neoglycoprotein [J]. Jpn J Nucl Med, 1986, 23: 899-905.
- [12] Kawa S, Hazama H, Kojima M, et al. A new liver function test using the asialoglycoprotein-receptor system on the liver cell membrane: II. Quantitative evaluation of labeled neoglycoprotein clearance[J]. Jpn J Nucl Med, 1986, 23: 907-916.
- [13] Kokudo N, Vera DR, Makuuchi M. Clinical Application of TcGSA[J]. Nucl Med Biol, 2003, 30: 845-849.

- [14] Torizuka K, Ha-Kawa SK, Ikekubo K, et al. Phase I clinical study on ^{99m}Tc -GSA, a new agent for functional imaging of the liver [J]. *Jpn J Nucl Med*, 1991, 28: 1 321-1 331.
- [15] Sasaki N, Shiomi S, Iwata Y, et al. Clinical usefulness of scintigraphy with ^{99m}Tc -galactosyl-human serum albumin for prognosis of cirrhosis of the liver[J]. *J Nucl Med*, 1999, 40: 1 652-1 656.
- [16] Vera DR, Stadalnik RC, Trudeau WL, et al. Measurement of receptor concentration and forward-binding rate constant via radiopharmacokinetic modeling of technetium-99m-galactosyl neoglycoalbumin[J]. *J Nucl Med*, 1991, 32: 1 169-1 176.
- [17] Shuke N, Okizaki A, Kino S, et al. Functional mapping of regional liver asialoglycoprotein receptor amount from single blood sample and SPECT [J]. *J Nucl Med*, 2003, 44: 475-482.
- [18] 庞其捷,杨麟,钟裕目,等. 半乳糖基新糖蛋白的制备及其对肝特异性受体结合试验的研究[J]. *华西医科大学学报*, 1991, 22(4): 368-371.
- [19] 管昌田,陈启,谭天秩. 肝受体显像剂 ^{99m}Tc -NGA 一步法冻干药盒的研制[J]. *华西医科大学学报*, 1993, 24(4): 429-432.
- [20] 管昌田,陈启,谭天秩. ^{99m}Tc -新半乳糖白蛋白体外受体介导结合特性的研究[J]. *华西医科大学学报*, 1994, 25(1): 22-25.
- [21] 李云春,管昌田,王全林. 肝受体显像剂 ^{99m}Tc -DT-PA-NGA 的研制[J]. *华西医科大学学报*, 1996, 27(1): 54-58.
- [22] 陶永辉,张荣军,胡名扬,等. 应用进行肝 ASGP 受体显像的实验研究[J]. *核技术*, 1999, 22(11): 663-667.
- [23] 张荣军,梁高林,万卫星,等. 肝 ASGP 受体显像剂的制备及显像研究[J]. *核技术*, 2000, 23(11): 780-785.
- [24] 毛一雷,董一女,杨文江,等. 肝细胞受体显像剂 $^{99}\text{Tc}^m$ -GSA 的制备及其药盒化 [J]. *同位素*, 2008, 21(2): 88-94.
- [25] 毛一雷,董一女,张现忠,等. ^{99m}Tc -DTPA-半乳糖人血清白蛋白在不同小鼠肝损伤模型中肝功能显像的应用 [J]. *中国医学科学院学报*, 2008, 30(4): 404-411.
- [26] 杨文江. ^{99m}Tc 标记的肝 ASGP 受体显像剂的制备及药盒化研究 [D]. 北京:北京师范大学硕士论文, 2008.
- [27] Gore S, Morris AI, Gilmore IT, et al. Differences in the Intracellular Processing of the Radiolabel Following the Uptake of Iodine-125- and Technetium-99m- Neogalactosyl Albumin by the Isolated Perfused Rat Liver[J]. *J Nucl Med*, 1991, 32: 506-512.
- [28] Arano Y, Wakisaka K, Ohmomo Y, et al. Maleimidoethyl 3-(tri-n-butylstannyl)hippurate: a useful radioiodination reagent for protein radiopharmaceuticals to enhance target selective radioactivity localization[J]. *J Med Chem*, 1994, 37: 2 609-2 618.
- [29] Wakisaka K, Arano Y, Uezono T, et al. A novel radioiodination reagent for protein radiopharmaceuticals with L-lysine as a plasma-stable metabolizable linkage to liberate m-iodohippuric acid after lysosomal proteolysis[J]. *J Med Chem*, 1997, 40: 2 643-2 652.
- [30] Vera DR. Gallium-Labeled Deferoxamine-galactosyl-neoglycoalbumin: a radiopharmaceutical for regional measurement of hepatic receptor biochemistry[J]. *J Nucl Med*, 1992, 33: 1 160-1 166.
- [31] Arano Y, Mukai T, Uezono T, et al. A biological method to evaluate bifunctional chelating agents to label antibodies with metallic radionuclides[J]. *J Nucl Med*, 1994, 35: 890-898.
- [32] Arano Y, Mukai T, Akizawa H, et al. Radiolabeled metabolites of proteins play a critical role in radioactivity elimination from the liver[J]. *Nucl Med Biol*, 1995, 22: 555-564.
- [33] Mukai T, Arano Y, Nishida K, et al. Pharmacokinetic models to evaluate radiolabeling reagents for protein radiopharmaceuticals[J]. *Nucl Med Biol*, 1998, 25: 31-36.
- [34] Mukai T, Arano Y, Nishida K, et al. Species difference in radioactivity elimination from liver parenchymal cells after injection of radiolabeled proteins[J]. *Nucl Med Biol*, 1999, 26: 281-289.
- [35] Liu S. 6-Hydrazinonicotinamide Derivatives as bifunctional coupling agents for ^{99m}Tc -labeling of small biomolecules[J]. *Top Curr Chem*, 2005, 252: 117-153.
- [36] Ono M, Arano Y, Uehara T, et al. Intracellular metabolic Fate of radioactivity after injection of technetium-99m-Labeled hydrazino nicotinamide derivatized proteins [J]. *Bioconjugate Chem*, 1999, 10: 386-394.
- [37] Ono M, Arano Y, Mukai T, et al. ^{99m}Tc -HYNIC-derivatized ternary ligand complexes for ^{99m}Tc -labeled polypeptides with low in vivo protein binding [J]. *Nucl Med Biol*, 2001, 28: 215-224.

- [38] Ono M, Arano Y, Mukai T, et al. Control of radioactivity pharmacokinetics of ^{99m}Tc -HYNIC-labeled polypeptides derivatized with ternary ligand complexes [J]. *Bioconjugate Chem*, 2002, 13: 491-501.
- [39] Jeong JM, Hong MK, Lee J, et al. ^{99m}Tc -neolactosylated human serum albumin for imaging the hepatic asialoglycoprotein receptor [J]. *Bioconjugate Chem*, 2004, 15: 850-855.
- [40] Jeong JM, Lee J. Disulfide-reduced neogalactosyl serum albumin and use of radiolabeled derivative thereof for liver imaging : WO, 2003027148 A1 [P]. 2003.
- [41] Kim S, Jeong JM, Hong MK, et al. Differential receptor targeting of liver cells using ^{99m}Tc -Neoglycosylated human serum albumins [J]. *Arch Pharm Res*, 2008, 31: 60-66.
- [42] Chung TW, Yang J, Akaike T, et al. Preparation of alginate/galactosylated chitosan scaffold for hepatocyte attachment [J]. *Biomaterials*, 2002, 23: 2 827-2 834.
- [43] Kim EM, Jeong HJ, Park IK, et al. Hepatocyte-targeted nuclear imaging using ^{99m}Tc -galactosylated chitosan; conjugation, targeting, and biodistribution[J]. *J Nucl Med*, 2005, 46: 141-145.
- [44] Kim EM, Jeong HJ, Kim SL, et al. Asialoglycoprotein-receptor-targeted hepatocyte imaging using ^{99m}Tc galactosylated chitosan[J]. *Nucl Med Biol*, 2006, 33: 529-534.