

文章编号:1000-5404(2013)08-0769-05

论著

⁹⁹Tc^m-TP1093 的制备及其在健康动物体内的生物分布及动力学特点

任浩, 查林, 冯世斌, 唐波, 李前伟 (400038 重庆, 第三军医大学西南医院核医学科)

[摘要] 目的 制备标记率符合显像要求的⁹⁹Tc^m-TP1093, 探讨其在健康动物体内的生物分布及动力学特点。方法 化学合成 G(D)AGG-Aba-ATAQSAYG-NH₂ (TP1093); 氯化亚锡还原法⁹⁹Tc^m标记 TP1093, 纸层析测定标记率, 计算比活度; 体外稳定性实验、血清蛋白结合实验及脂/水分配实验鉴定⁹⁹Tc^m-TP1093 的理化性质; 研究标记多肽在健康家兔体内的示踪动力学和正常小鼠体内生物分布; 健康家兔⁹⁹Tc^m-TP1093 显像, 观察体内放射性动态分布变化, 利用感兴趣区 (region of interest, ROI) 技术分析重要组织器官的时间-放射曲线 (time-activity curve, TAC)。结果 ⁹⁹Tc^m-TP1093 的标记率为 (97.23 ± 0.87)%, 比活度为 (15.91 ± 0.62) TBq/mmol。标记多肽室温放置 4 h, 其放射化学纯度为 (93.34 ± 0.91)%。标记多肽与血清蛋白无明显结合, 脂/水分配系数 lg P = - (1.68 ± 0.09)。标记多肽在健康家兔体内的动力学过程符合权重为 1/c 的二室模型, t_{1/2α} 为 (2.689 ± 0.541) min, t_{1/2β} 为 (69.156 ± 20.342) min, 总清除率 (CL) 为 (5.029 ± 4.381) mL/kg。小鼠体内分布和健康家兔显像示: 血液放射性清除迅速, 软组织放射性消退快; 胃区呈放射性缺损, 甲状腺区未见异常放射性浓聚, 脑呈低放射性分布; 体内放射性主要经泌尿系统排泄, 少量通过肝胆系统分泌。结论 ⁹⁹Tc^m-TP1093 标记方法简便, 标记率与比活度高, 可制备成一步法冻干药盒, 具有良好的稳定性、体内生物分布及动力学性质。

[关键词] 肿瘤坏死因子受体; TP1093, 多肽; ⁹⁹Tc^m, 标记; 健康动物, 实验

[中图分类号] R914; R969.1; R981

[文献标志码] A

Preparation of ⁹⁹Tc^m-TP1093 and its bio-distribution and kinetic characteristics in healthy animals

Ren Hao, Zha Lin, Feng Shibin, Tang Bo, Li Qianwei (Department of Nuclear Medicine, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[Abstract] **Objective** To prepare ⁹⁹Tc^m-TP1093 for imaging with a high labeling rate, and to investigate its bio-distribution and kinetic characteristics in healthy animals. **Methods** G(D)AGG-Aba-ATAQSAYG-NH₂ (TP1093) was synthesized and radiolabeled by ⁹⁹Tc^m using stannous chloride as the reductive agent. The labeling rate and specific activity were determined using paper chromatography. The physicochemical properties of the radiolabeled peptides were determined by stability test *in vitro*, serum albumin binding test and oil-water distribution test, respectively. The tracer kinetics in healthy rabbits and bio-distribution of ⁹⁹Tc^m-TP1093 in normal mice were observed through caudal vein injection of the labeled peptides. The dynamic distribution of ⁹⁹Tc^m-TP1093 in organs of the rabbits was observed by SPECT imaging, and the time-activity curve (TAC) of the main organs was drawn using region of interest (ROI) technology. **Results** The labeling rate and specific activity of ⁹⁹Tc^m-TP1093 was (97.23 ± 0.87)% and 15.91 ± 0.62 TBq/mmol, respectively. The radiochemical purity of ⁹⁹Tc^m-TP1093 was (93.34 ± 0.91)% after placed at room temperature for 4 h. There was no significant combination between labeled peptide and serum albumin, and the oil-water partition coefficient was lg P = - (1.68 ± 0.09). The kinetics characteristics of the radiolabeled peptide in healthy rabbits was in accordance with a two-compartment model with a weight factor of 1/c, and the t_{1/2α}, t_{1/2β} and CL were 2.689 ± 0.541 min, 69.156 ± 20.342 min and 5.029 ± 4.381 mL/kg, respectively. The bio-distribution and SPECT imaging showed that the blood clearance of ⁹⁹Tc^m-TP1093 was rapid, the radioactivity faded rapidly in soft tissues, a radioactive defect area was observed in the stomach and thyroid, and a low radioactive area was observed in the brain. The radioactivity *in vivo* was excreted mainly through urinary system and slightly through gastrointestinal

[通信作者] 李前伟, 电话: (023)68754212, E-mail: tmmuxny@yahoo.com.cn

[优先出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20130125.1504.012.html> (2013-01-25)

and hepatobiliary systems. **Conclusion** $^{99}\text{Tc}^m$ -TP1093 can be easily labeled with a high labeling rate and specific activity. $^{99}\text{Tc}^m$ -TP1093 can be prepared into a one-step lyophilized kit due to its good stability, bio-distribution *in vivo* and kinetic characteristics.

[**Key words**] tumor necrosis factor receptor; TP1093; peptide; technetium; labeling; healthy animal, test

Corresponding author: Li Qianwei, Tel:86-23-68754212, E-mail: tmmuxnyy@yahoo.com.cn

肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)是由单核细胞、巨噬细胞或淋巴细胞分泌产生的一种多功能细胞因子,通过与靶细胞膜表面 TNF 受体(TNFR)相互作用发挥其生物学功能。研究证实, TNFR 在包括恶性淋巴瘤、肝癌、结肠癌、乳腺癌、胰腺癌等多种恶性肿瘤细胞表面呈高水平表达^[1]; TNF 尤其是重组改构人 TNF(rmhTNF)在体内、外能够特异性杀伤肿瘤细胞,而对正常组织细胞则无明显的毒副作用,并已在国内外用于临床治疗肿瘤^[2-3]。因此, TNFR 是一潜在的肿瘤分子影像和生物治疗研究的理想靶分子。

Ala-Thr-Ala-Gln-Ser-Ala-Tyr-Gly (ATAQSAYG) 是通过噬菌体肽库展示技术筛选所获针对 TNFR1 胞外区的高选择性、高亲和力六肽 (Thr-Ala-Gln-Ser-Ala-Tyr) 的基础上,分别于氨基末端和羧基末端添加丙氨酸(Ala)与甘氨酸(Gly)残基,使其更好地模拟在该噬菌体外壳所表达的多肽构象;实验显示,ATAQSAYG 八肽能够有效抑制培养的 TNFR 阳性肿瘤细胞增殖^[4-5]。本研究拟通过化学修饰^[6],合成制备 G(D)AGG-Aba-ATAQSAYG-NH₂ (TP1093),利用其中的 G(D)AGG 四肽作为双功能螯合剂,实现对 ATAQSAYG 的 $^{99}\text{Tc}^m$ 间接标记,制备标记率符合显像要求的 $^{99}\text{Tc}^m$ -TP1093,探讨其在健康动物体内的生物分布及动力学特点,为进一步开展 TNFR 阳性肿瘤分子显像研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要仪器 MilleniumTM MPR SPECT 和 Entegra 工作站(GE 公司);GC-911 型 γ 免疫计数仪(中佳光电仪器公司);RM-905a 型活度计(中国剂量研究院);DHZ-C 型可调式恒温振荡仪(江苏太仓实验设备厂);CPA64 型电子天平(Sartorius 公司);SIGMA3K30 型高速离心机(Sigma 公司);微量移液器(吉尔森公司)。

1.1.2 主要试剂与材料 裂变型 ^{99}Mo - $^{99}\text{Tc}^m$ 发生器($\text{Na}^{99}\text{Tc}^m\text{O}_4$ 放射化学纯度 > 98%,北京原子高科股份有限公司); $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (Sigma 公司);氮气(纯度 > 99%,重庆朝阳气体有限公司);Sephadex G50(上海化学试剂厂);细胞冻存管(IMEC 公司),3MM 色谱层析纸(Whatman 公司);其他试剂为国产分析纯。

1.1.3 实验动物 健康日本雄性大耳兔 12 只(4~5 月龄,体质量 1.7~2.3 kg)、健康昆明小鼠 35 只(4 周龄,体质量

18~22 g,雌雄各半),由第三军医大学实验动物中心提供。

1.2 方法

1.2.1 多肽合成及其与双功能螯合剂的偶联 ATAQSAYG 八肽委托上海强耀生物技术有限公司合成采用多肽合成仪常规固相法合成,羧基端酰胺化。合成过程中将多肽氨基末端与双功能螯合剂 G(D)AGG-Aba 进行偶联,得到 G(D)AGG-Aba-ATAQSAYG-NH₂(相对分子质量为 1 093,简称 TP1093,图 1)。偶联产物经 HPLC 纯化、质谱鉴定,化学纯度为 98.81%。

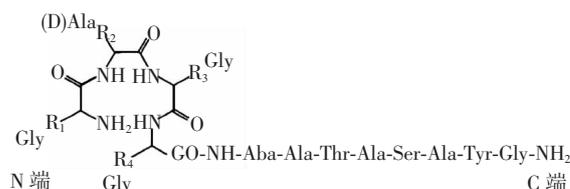


图 1 TP1093 结构示意图

1.2.2 $^{99}\text{Tc}^m$ 标记 TP1093 根据文献[7-8]的标记方法并作适当改进。细胞冻存管中分别加入双蒸水溶解的多肽 TP1093 (10 μL /10 μg)、200 mmol/L HCl 现溶解配制的 $\text{SnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (10 μL /15 μg)、67 mmol/L Na_3PO_4 150 μL 、新鲜淋洗的 $^{99}\text{Tc}^m$ 200 μL (148 MBq),总反应体积为 370 μL ,反应体系 pH 约为 10,充氮密封,室温震荡 30 min 完成反应;加入 64 mmol/L NaH_2PO_4 溶液将标记溶液 pH 调至中性 (pH 为 7.2 ± 0.1)。

1.2.3 测定标记率及计算比活度 纸层析法测定标记率。标记混合物经 3 MM 色谱纸层析,流动相为丙酮(展开剂 I)和 30% 氨水(v_v):乙醇(v_v):水(v_v) = 1:2:5(展开剂 II)。标记混合物在展开剂 I 系统中, $^{99}\text{Tc}^m$ -TP1093 与水解锝($^{99}\text{Tc}^m\text{O}_2 \cdot \text{XH}_2\text{O}$)的 R_f 为 0,未结合 $^{99}\text{Tc}^m$ 的 R_f 为 0.9~1.0;在展开剂 II 系统中标记多肽 R_f 为 0.8~0.9,未结合 $^{99}\text{Tc}^m$ 的 R_f 为 0.7~0.8,水解锝 R_f 为 0。分别按下式计算标记率与比活度:

标记率 = 展开剂 I 原点放射性计数率 - 展开剂 II 原点放射性计数率

比活度 (TBq/mmol) = $^{99}\text{Tc}^m$ 活度 (TBq) \times 标记率/TP1093 化学量 (mg)/化学纯度 \times TP1093 相对分子质量

1.2.4 理化性质的鉴定

1.2.4.1 体外稳定性实验 标记溶液室温下放置,分别于 1、2、4 h 进行 3 MM 色谱纸层析,计算各时相点的放射化学纯度 (radiochemical purity, RCP)。

1.2.4.2 血清蛋白结合实验 将 100 μL 标记多肽 (74 MBq) 与 100 μL 正常人血清混合,37 $^\circ\text{C}$ 水浴箱中温育 2 h。室温下,取 100 μL 行 Sephadex G50 柱层析,分部收集洗脱液并测定每管放射性,作出洗脱液时间-放射性曲线。取相同活度的标记溶液用 10 mmol/L 磷酸盐缓冲液 (pH 7.2~7.4) 稀释到 200 μL ,同上进行柱层析,设为对照。

1.2.4.3 脂/水分配实验 参照文献[9]方法,室温下将 10 μL (74 MBq) $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -TP1093、400 μL PBS (100 mmol/L)、500 μL 辛醇混匀,12 000 r/min 离心 4 min,分别从有机相和水相溶液中移取 10 μL 和 100 μL 至试管中, γ 免疫计数器测定放射性计数 (cpm)。经体积校正后按下式计算脂/水分配系数 ($\lg P$)。 $\lg P = \lg(\text{有机相放射性计数}/\text{水相放射性计数})$ 。

1.2.5 示踪动力学实验 取家兔 9 只,经耳缘静脉各注射 200 μL (74 MBq) $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -TP1093,分别于 1.5、3、5、10、30、60、120、240、480 min 从对侧耳缘静脉采血、称重, γ 免疫计数器测量放射性计数 (cpm),经参考标准源校正后计算血液放射性浓度 (KBq/L)。应用代谢动力学软件 (DAS 3.1.0 版),对健康家兔体内平均血液放射性浓度-时间数据分别进行一、二、三室模型曲线拟合,以 $1/c$ 和 $1/c^2$ 作为权重系数 (c 为血液放射性浓度实测值) 对各时相点血液放射性浓度残差平方和作加权处理,以 F 检验、AIC 值、 R^2 值为依据,结合实测值与拟合不同室模型计算值间的比较及 TNFR 在正常体内的表达实际,对房室模型进行综合分析判断^[10]。

1.2.6 正常小鼠体内分布实验 30 只昆明小白鼠随机数字表法分 6 组,每组 5 只,每只经尾静脉注射 0.1 mL (740 kBq) $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -TP1093,分别于注射后 1、10、30、60、120、240 min 按组将实验小鼠断颈处死,取血及主要脏器组织,称重并测量其放射性计数 (cpm),经参考源校正后计算每克组织摄取放射性活度占注入放射性总活度的百分数 (ID%/g)。

1.2.7 健康家兔显像 将健康雄性大耳兔仰卧固定于木制实验台,置于 SPECT 探头下方,探头配备低能高分辨率准直器。显像参数设置:能峰 140 keV,窗宽 20%,矩阵 128 \times 128,放大系数 (Zoom) 1.33。经耳缘静脉注射 0.2 mL (74 MBq) $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -TP1093,立即以 1 帧/min 采集 60 min,并分别于 1.5、2.0、3.0、4 h 经时间衰减校正预置计时各采集图像 1 帧,定性观察体内放射性动态分布变化,并利用 ROI 技术分析重要组织器官的时间-放射曲线 (TAC)。

2 结果

2.1 标记率、比活度与理化性质

$^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -TP1093 的标记率为 $(97.23 \pm 0.87)\%$,比活度为 (15.91 ± 0.62) TBq/mmol,室温放置 4 h 后纯化率为 $(93.34 \pm 0.91)\%$ 。 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -TP1093 与人血清及 PBS 温育后,两者 Sephadex G50 柱层析洗脱液的 TAC 形状基本一致 (图 2),前者未见蛋白放射峰。标记多肽脂/水分配系数 $\lg P$ 为 $-(1.68 \pm 0.09)$ 。

2.2 健康家兔体内示踪动力学

$^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -TP1093 在健康大耳兔体内的动力学过程符合权重为

$1/c$ 的二室模型。经拟合得到血液放射性浓度-时间关系式为 $C_{(t)} = 998.365e^{0.182t} + 561.768e^{0.011t}$,式中 C 为血液放射性浓度 (KBq/L), t 为注射标记多肽后的时间 (min);家兔体内的示踪动力学参数见表 1。

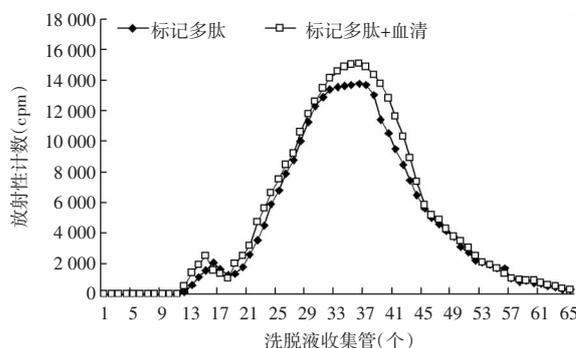


图2 Sephadex G50 柱层析 T-A 曲线

表1 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -TP1093 在健康大耳兔体内的示踪动力学参数 ($n=9, \bar{x} \pm s$)

模型参数	参数值
$t_{1/2\alpha}$ (min)	2.689 ± 0.541
$t_{1/2\beta}$ (min)	69.156 ± 20.342
$V1$ (mL/kg)	384.227 ± 163.546
CL (mL/min)	5.029 ± 4.381
$AUC(0-t)$ [KBq/(mL·min)]	$281402.877 \pm 114645.384$
$AUC(0-\infty)$ [KBq/(mL·min)]	285760.415 ± 13846.675
$K10$ (1/min)	0.007 ± 0.005
$K12$ (1/min)	0.198 ± 0.023
$K21$ (1/min)	0.213 ± 0.047

2.3 正常小鼠体内生物分布

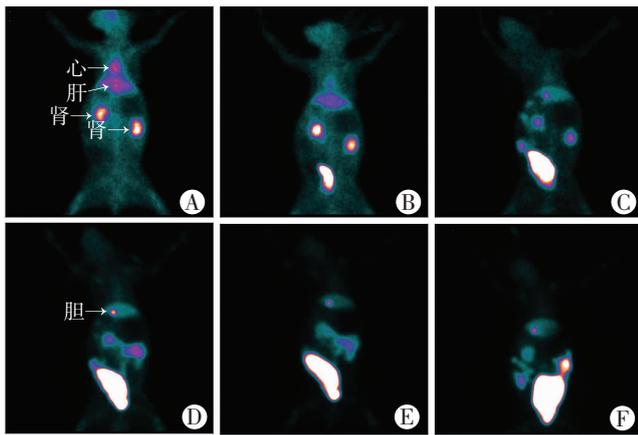
静脉注射 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -TP1093 后,血液放射性从 1 min 时的 (2.80 ± 0.33) ID%/g 降至 60 min 时的 (0.22 ± 0.21) ID%/g,下降 90%;1 min 时肾脏的放射活度最高为 (9.14 ± 1.19) ID%/g,60 min 时下降了 86%;30 min 肝脏放射性降低的同时,肠道放射活出现增加;心、肺和骨放射性分布随时间快速减少,30 min 后接近肌肉放射活性;脑呈持续低放射活性分布 (表 2)。

2.4 健康家兔显像

静脉注射 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -TP1093 显像示:1 min 双肾、心脏及肝脏显影最清楚,肾脏、肝脏影像随时间逐渐减弱;5 min 膀胱影清楚,并随时间明显增强;30 min 软组织与心脏影明显消退,胆囊显影,肠道可见少量放射分布;整个显像过程中胃区呈放射性缺损区,颈部未见异常放射性浓聚影,脑呈低放射本底影 (图 3)。注射标记多肽后 60 min 内动态影像的 ROI 分析显示,心脏、肾脏、肝脏及肌肉 T-A 曲线随时间逐渐减低 (图 4)。

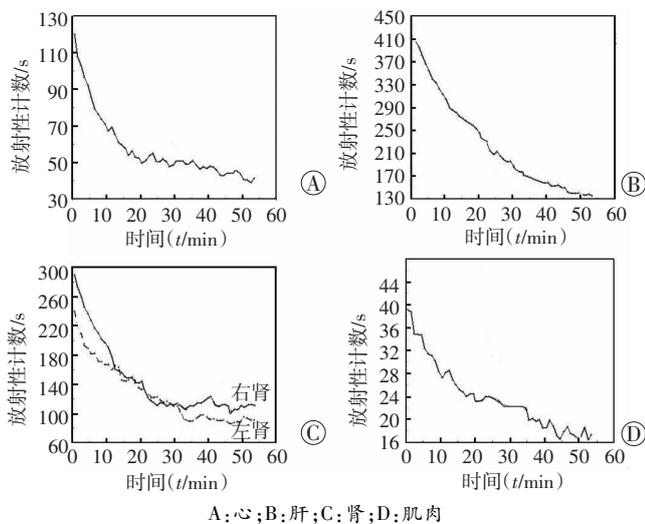
表2 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -TP1093 正常小鼠体内生物分布 (ID%/g, $\bar{x} \pm s$)

时间	血	心	肺	肝	肾	肠	肌肉	骨	脑
1 min	2.80 ± 0.30	1.35 ± 0.43	3.92 ± 0.80	2.29 ± 0.40	9.14 ± 1.19	0.64 ± 0.32	0.85 ± 0.16	1.27 ± 0.28	0.13 ± 0.06
10 min	0.72 ± 0.20	0.26 ± 0.22	0.86 ± 0.29	2.07 ± 1.00	3.04 ± 0.48	0.78 ± 0.45	0.23 ± 0.14	0.48 ± 0.21	0.04 ± 0.01
30 min	0.48 ± 0.30	0.12 ± 0.06	0.35 ± 0.07	1.22 ± 0.19	1.56 ± 0.23	4.27 ± 0.50	0.15 ± 0.05	0.33 ± 0.08	0.02 ± 0.01
60 min	0.22 ± 0.50	0.06 ± 0.01	0.21 ± 0.04	0.93 ± 0.14	1.20 ± 0.18	0.77 ± 0.36	0.06 ± 0.01	0.19 ± 0.06	0.01 ± 0.01
120 min	0.13 ± 0.02	0.06 ± 0.01	0.26 ± 0.10	1.25 ± 0.40	1.01 ± 0.15	0.91 ± 0.38	0.09 ± 0.03	0.26 ± 0.06	0.02 ± 0.01
240 min	0.08 ± 0.01	0.04 ± 0.01	0.13 ± 0.03	0.64 ± 0.13	0.80 ± 0.12	0.10 ± 0.05	0.03 ± 0.01	0.14 ± 0.04	0.01 ± 0.00



A: 注射后 1 min; B: 注射后 5 min; C: 注射后 30 min; D: 注射后 1 h;
E: 注射后 2 h; F: 注射后 4 h

图3 注射 ^{99m}Tc -TP1093 后不同时间健康家兔显像



A: 心; B: 肝; C: 肾; D: 肌肉

图4 ROI分析 ^{99m}Tc -TP1093 家兔显像主要组织器官时间-放射曲线

3 讨论

分子影像对疾病的诊断具有高度的特异性,是临床实施个体化分子治疗的基础和依据。核医学受体显像是分子影像的重要组成部分,是以放射性核素标记配体作为分子探针,利用放射性配体与靶细胞相应受体高特异性、高亲和力结合的特点,从体外探测并显示体内受体分布、密度和功能变化的无创性影像技术。自20世纪90年代应用于临床以来,该技术在肿瘤和神经疾病诊疗方面发挥了重要的作用,并展示出良好的应用前景^[9-10]。

寻找疾病特异、高水平表达的靶分子,制备与靶分子具有高选择性及高亲和力结合的分子探针,是分子影像研究的前沿和发展方向^[11]。研究证实, TNFR 在多种实体恶性肿瘤细胞表面呈高水平表达,为开展以 TNFR 为靶点的分子影像及治疗研究提供了理论依据。

通过噬菌体展示肽库技术筛选得到的 ATAQ-SAYG 八肽与可溶性 TNFR1 的结合具有高选择性及高亲和力,并能有效抑制 TNFR 表达阳性肿瘤细胞的生长^[4]。本研究通过化学修饰合成 G(D)AGG-Aba-ATAQSAYG-NH₂ (TP1093),应用 ^{99m}Tc 对 ATAQSAYG 进行间接标记,其中 G(D)AGG[Gly-(D)Ala-Gly-Gly, (D)A 为右旋丙氨酸]四肽作为双功能螯合剂, Aba (aminobutyric acid, γ 氨基丁酸)为双功能螯合剂与多肽间的连接结构,以减少 ^{99m}Tc 标记对多肽与靶分子结合的空间位阻。放射性核素 ^{99m}Tc 具有良好的核物理特性,可通过 ^{99}Mo - ^{99m}Tc 发生器产生,来源方便,价格低廉,被标记试剂可制备成一步法冻干药盒,便于临床推广应用。目前,核医学显像诊断用放射性药物中, ^{99m}Tc 标记的显像剂占 80%^[12], ^{99m}Tc 标记多肽具有直接法和间接法两种。直接法标记主要用于分子中含有二硫键的多肽,利用还原剂将二硫键还原形成巯基,提供作为与 ^{99m}Tc 螯合的基团,优点为无需对多肽进行结构修饰;缺点在于标记反应条件通常比较剧烈(需煮沸加热),可能因结构改变影响标记多肽与靶分子的结合活性从而失去应有的作用;此外,若分子中的二硫键是多肽与靶分子结合所需结构,同样不适用于直接法标记。间接法标记是首先在多肽分子中偶联一个能够与还原态 ^{99m}Tc 高亲和牢固结合的双功能螯合剂,通过 ^{99m}Tc 与双功能螯合剂的结合实现对多肽分子的标记,其优点在于能够最大限度地降低 ^{99m}Tc 标记对多肽与靶分子结合活性的影响,是最常用的方法。

目前, ^{99m}Tc 间接法标记多肽使用的双功能螯合剂有含 N₂S₂、N₃S₁、N₄ 等的四配体结构,以及 HYNIC 等。其中含 N₂S₂、N₃S₁ 四配体的双功能螯合剂标记反应常需加热(80~100℃);而 HYNIC 标记反应则需加入其他共轭配体如 EDDA 或 tricine 等,反应温度同样需 100℃。本研究选用含 N₄ 四配体的 GA(D)GG 作为双功能螯合剂,标记方法简便,碱性条件(pH 10)室温下进行标记,将溶液 pH 调至中性后,产物 ^{99m}Tc -TP1093 标记率为(97.23±0.87)%,与文献[7]报道一致,为后续一步法冻干药盒的研究奠定了基础。本研究制备的 ^{99m}Tc -TP1093 比活度为(15.91±0.62)TBq/mmol,满足进行体内外受体研究的要求;室温放置 4 h 后放射化纯仍有(93.34±0.91)%,表明该标记多肽具有良好的体外稳定性。

理想的受体显像剂除与靶组织细胞高选择性、高亲和力结合外,还应符合静脉注射后体内分布迅速,体内稳定性好,不与血浆蛋白结合,主要通过泌尿系统快

速清除等要求,以满足短时间内显像获得高信/噪比图像。本研究制备的 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -TP1093 相对分子质量小,生物分布实验显示 10 min 的血液放射性活度仅为 1 min 时的 7.9%,5 min 健康家兔心脏影像显著消退,与示踪动力学的分布相半衰期($t_{1/2\alpha}$)为(2.689 ± 0.541) min 结果一致,表明该标记多肽体内分布迅速。健康家兔在 4 h 显像过程中,胃部始终呈放射性缺损区,甲状腺区呈软组织本底影,表明 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 与 TP1093 分子中的双功能螯合剂 GA(D)GG 络合牢固,无明显脱 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 表现,提示标记多肽具有良好的体内稳定性。

作为分子显像剂,血液放射性及软组织影像持续高水平可见于显像剂相对分子质量过大(如单克隆抗体全分子),或显像剂与血浆蛋白结合,致使 T/NT 比值降低,从而影响对病变组织探测的敏感性。本研究显示, $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -TP1093 与人血清温育后,柱层析洗脱液的 TAC 未见明显的蛋白放射峰,说明标记多肽在体内与血浆蛋白无明显结合,与生物分布和显像实验所见血液、心脏、肌肉、肺等组织器官放射性清除迅速的结果相吻合。

肿瘤分子显像剂的体内排泄途径也将影响其临床应用的范围。本研究制备的 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -TP1093 的脂水分配系数 $\lg P$ 为 $-(1.68 \pm 0.09)$,表明其具有明显的亲水性,在体内主要经泌尿系统排泄。正常小鼠生物分布和健康家兔显像结果显示,早期肾脏放射性分布(浓聚)最高最快,ROI 分析示 5 min 双肾和膀胱放射性占全身放射性的 45%;放射性经肾脏清除迅速,30 min 膀胱放射性占全身放射性的 58%;血液、心脏、肌肉、肺等放射性随时间逐渐降低。进一步证实该标记多肽主要经泌尿系统快速清除,有助于静脉注射后短时间内显像获得低血池本底影像。脑呈低放射性分布和本底影,说明该标记多肽不易透过血脑屏障,可用于评价血脑屏障的完整性。生物分布显示 30 min 肝脏放射性降低的同时,肠道放射活出现增加。显像早期肝显影,ROI 分析示 5 min 肝脏放射性占全身放射性的 8%,30 min 降至 4%,同时胆囊显影,肠道出现少量放射性浓聚。提示本标记多肽有及少部分经肝胆系统分泌,有可能对腹部病灶探测产生一定的影响,在实际应用中可通过采取延迟多次显像的方法加以克服。

健康家兔示踪动力学研究显示, $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -TP1093 在其体内的动力学过程符合权重为 $1/c$ 的二室模型。其中分布相半衰期($t_{1/2\alpha}$)为(2.689 ± 0.541) min,说明静脉注入的 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -TP1093 自血液循环迅速通过毛细血管内皮细胞间隙向组织液分布,有助于减少心脏与大血

管影对早期显像的干扰,体现了小分子多肽血液清除速度快的特点;消除相半衰期($t_{1/2\beta}$)为(69.156 ± 20.342) min,说明标记多肽自体内清除相对缓慢,确保其有足够的时间与靶组织细胞结合。

综上,本研究制备 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -TP1093 的方法简便,标记条件温和,标记率高(>95%),无需分离纯化可直接应用,易于制备成一步法标记冻干药盒;比活度满足体内外受体研究要求,体内分布与清除迅速,主要通过泌尿系统排泄;具有良好的稳定性和体内动力学性质。

参考文献:

- [1] 孟洁如,赵宁,颜真,等. 肿瘤细胞中两种 TNFR 的表达及新型 rhTNF 对肿瘤细胞生长的影响[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2002, 18(1): 10-12.
- [2] 陆琰君,曹纬,喻德洪. 肿瘤坏死因子在肿瘤研究和治疗领域中的新进展[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2002, 9(4): 297-299.
- [3] Nakamoto T, Inagawa H, Takagi K, et al. A new method antitumor therapy with a high dose of TNF perfusion for unresectable liver tumors [J]. *Anticancer Res*, 2005, 20(6A): 4087-4096.
- [4] 夏劲松,吴华,向艳. 肿瘤坏死因子受体短肽配体的筛选[J]. 中华核医学杂志, 2005, 25(1): 43-45.
- [5] Woiwode T F, Haggerty J E, Katz R, et al. Synthetic compound libraries displayed on the surface of encoded bacteriophage [J]. *Chem Biol*, 2003, 10(9): 847-858.
- [6] Pallela V R, Thakur M L, Chakder S, et al. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labeled vasoactive intestinal peptide receptor agonist: functional studies [J]. *J Nucl Med*, 1999, 40(2): 352-360.
- [7] Rao P S, Thakur M L, Pallela V, et al. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ labeled VIP analog: evaluation for imaging colorectal cancer [J]. *Nucl Med Biol*, 2001, 28(4): 445-450.
- [8] 查林,冯世斌,郑磊,等. 整合素 $\alpha\text{v}\beta 3$ 放射性配体 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -TP1326 的制备及其正常兔显像研究[J]. 第三军医大学学报, 2012, 34(3): 235-238.
- [9] Claringbold P G, Brayshaw P A, Price R A, et al. Phase II study of radiolabeled 177Lu-octreotate and capecitabine therapy of progressive disseminated neuroendocrine tumours [J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2011, 38(2): 302-311.
- [10] Sudmeyer M, Antke C, Zizek T, et al. Diagnostic accuracy of combined FP-CIT, IBZM, and MIBG scintigraphy in the differential diagnosis of degenerative parkinsonism: a multidimensional statistical approach [J]. *J Nucl Med*, 2011, 52(5): 733-740.
- [11] Laverman P, Sosabowski J K, Boerman O C, et al. Radiolabelled peptides for oncological diagnosis [J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2012, 39(Suppl 1): S78-S92.
- [12] Fani M, Maecke H R. Radiopharmaceutical development of radiolabelled peptides [J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2012, 39(Suppl 1): S11-S30.

(收稿:2012-11-12;修回:2012-12-30)

(编辑 汪勤俭)