

文章编号: 0253-9950(2010)06-0362-07

$^{125}\text{I}/^{111}\text{In}$ 标记的抗 EGFR 单克隆抗体 Panitumumab 的制备及其在正常鼠体内的生物分布

刘 妍¹, 靳存敬¹, 杨素娟¹, 贾 兵¹, 王 凡¹, 刘昭飞^{1,2,*}

1. 北京大学 医学同位素研究中心, 北京 100191

2. 北京大学 基础医学院 放射医学教研室, 北京 100191

摘要: 用 ^{125}I 和 ^{111}In 标记人源化抗 EGFR 单克隆抗体 Panitumumab, 在体外用 EGFR 阳性细胞 UM-SCC-22B 测定 ^{125}I -Panitumumab 和 ^{111}In -DOTA-Panitumumab 的放射免疫活性分数, 并在正常小白鼠体内进行生物分布研究。研究表明, Panitumumab 的 ^{125}I 和 ^{111}In 标记均具有较高的标记率, 经 PD-10 纯化后放化纯均高于 98%。 ^{125}I 和 ^{111}In 标记的 Panitumumab 具有较高的体外免疫活性。生物分布实验数据显示, 实验中所有的时间点, ^{111}In -DOTA-Panitumumab 在肝脏和脾脏中的摄取均显著高于 ^{125}I 标记物, 说明不同核素标记对生物分子的体内外性质具有一定的影响。

关键词: 表皮生长因子(EGFR); Panitumumab; ^{111}In ; 肿瘤; 生物分布

中图分类号: R817 **文献标志码:** A

$^{125}\text{I}/^{111}\text{In}$ Labeled Anti-EGFR Monoclonal Antibody Panitumumab: Preparation and Biodistribution Evaluation in Normal Mice

LIU Yan¹, JIN Cun-jing¹, YANG Su-juan¹, JIA Bing¹,

WANG Fan¹, LIU Zhao-fei^{1,2,*}

1. Peking University Medical Isotopes Research Center, Beijing 100191, China;

2. Department of Radiation Medicine, School of Basic Medical Science, Peking University, Beijing 100191, China

Abstract: Panitumumab (also known as ABX-EGF or Vectibix), is the first fully human anti-epidermal growth factor receptor (EGFR) monoclonal antibody that was approved by the FDA. Here we labeled Panitumumab with both ^{125}I and ^{111}In , and the *in vitro* and *in vivo* behaviors of ^{125}I and ^{111}In labeled Panitumumab were compared. Panitumumab was conjugated with the chelator DOTA for ^{111}In labeling and ^{125}I -Panitumumab was prepared by Iodogen method. The *in vitro* radioimmunoreactive fractions of $^{125}\text{I}/^{111}\text{In}$ -Panitumumab were determined on UM-SCC-22B head and neck cancer cells (EGFR-positive). Their *in vivo* biodistribution properties in normal mice were determined. ^{125}I or ^{111}In labeled Panitumumab can be prepared with high yield and high radiochemical purity, and both the two radiotracers

收稿日期: 2009-10-21; 修订日期: 2010-03-22

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30640067, 30870728, 81000625); 北京大学医学部新教师科研启动基金项目(BMU20090453-123)

作者简介: 刘 妍(1984—), 女, 吉林敦化人, 硕士研究生, 放射医学专业

* 通讯联系人: 刘昭飞, 男, 博士, 讲师, liuzf@bjmu.edu.cn

possess excellent *in vitro* stability and high immunoreactivity. The uptake of ¹¹¹In labeled Panitumumab in liver and spleen is significantly higher than those of ¹²⁵I labeled Panitumumab as determined by biodistribution studies. Our data demonstrates that labeling with different radioisotopes may affect the *in vitro* and *in vivo* properties of biological molecules.

Key words: epidermal growth factor receptor (EGFR); Panitumumab; ¹¹¹In; tumor; biodistribution

EGFR(表皮生长因子受体, epidermal growth factor receptor)是具有配体依赖性和酪氨酸激酶活性的跨膜糖蛋白家族,它在多种人类肿瘤中均呈现高表达,如结直肠癌、乳腺癌和非小细胞肺癌等。EGFR对于调节肿瘤细胞的生长、生存、修复、新生血管生成、侵袭和转移等具有重要的作用^[1-2],因此它成为目前肿瘤分子靶向治疗的重要靶点。近些年来,人们一直致力于寻找能抑制EGFR表达或阻断EGFR信号传导的抗癌疗法,而开发可拮抗EGFR胞外配体结合区的单克隆抗体成为这其中的一个热点。这种靶向疗法降低了传统的细胞毒疗法对正常组织的毒性,并且靶向治疗与传统疗法联合使用可能产生协同作用^[3]。另外,目前用不同放射性核素标记的靶向EGFR抗体已经受到广泛关注,并用于肿瘤的SPECT和PET显像以及肿瘤治疗的研究^[4-6]。

Panitumumab(ABX-EGF)是第一个EGFR靶向的完全人源化单克隆抗体(IgG2亚型),由Abgenix和Amgen公司采用XenoMouse™技术从一组该类抗体中筛选获得。Panitumumab与EGFR具有高亲和性,与EGFR结合从而阻止其配体EGF和TGF- α (transforming growth factor- α ,转化生长因子 α)等与EGFR的结合,进而阻止下游信号的激活。2006年9月,Panitumumab被FDA批准,用于治疗常规化疗后转移的结直肠癌患者^[7-8]。Niu等^[9]首先用⁶⁴Cu标记Panitumumab用于高表达EGFR的肿瘤模型的PET显像,而其它核素标记的Panitumumab国内外尚无文献报道。在本研究中,采用¹²⁵I和¹¹¹In分别标记Panitumumab,在体外测定标记物的免疫活性,并对其在正常鼠体内的生物分布进行比较,其目的是评价不同的放射性核素标记对抗体内外性质的影响。

1 实验材料

1.1 主要试剂

¹¹¹InCl₃溶液和Na¹²⁵I溶液(无载体),美国

Perkin Elmer公司;完全人源化抗表皮生长因子受体(EGFR)单克隆抗体Panitumumab(Vectibix,帕尼单抗),美国斯坦福大学陈小元教授惠赠;快速薄层层析-硅胶纸(ITLC-SG),美国Gelman公司;PD-10脱盐柱(Sephadex G-25),美国GE公司;Iodogen(1,3,4,6-四氯3,6-二苯-甘脲),美国Sigma公司;双功能偶联剂DOTA,购自美国Macrocyclics公司;1-Ethyl-3-[3-(dimethylamino)-propyl] carbodiimide(EDC)及N-hydroxysulfonosuccinimide(SNHS),购自美国Sigma公司;DMEM(dulbecco's modified eagle medium)培养基和胰蛋白酶,美国GIBCO/BRL公司;胎牛血清,美国Hyclone公司;Tween-20,美国Sigma公司;其它常规化学试剂均为分析纯,北京试剂公司产品。

所用缓冲液、枪头、反应管等均经去离子处理,所有实验用水为去离子水(18.2 M Ω)。

1.2 仪器

CRC-15R放射性活度计,美国Capintec公司;1470-002全自动 γ 计数仪,美国Perkin Elmer公司;AR-2000放射性薄层扫描仪,美国Bioscan公司。

1.3 实验动物

BALB/c小白鼠,4~5周龄,雌性,约20g,由北京大学医学部实验动物中心提供。

2 实验方法

2.1 DOTA偶联Panitumumab

采用我们前期报道的方法将双功能偶联剂DOTA活化^[10]。简言之,DOTA(100 μ L,溶于0.1 mol/L NaOH)与EDC(100 μ L,溶于H₂O)和SNHS(100 μ L,溶于H₂O)按照n(DOTA):n(EDC):n(SNHS)=10:5:4的摩尔比混合,置4 $^{\circ}$ C反应30 min。将活化好的DOTA(DOTA-OSSu)与抗EGFR单克隆抗体Panitumumab以1:200的摩尔比混合,在0.1 mol/L NaHCO₃溶液(pH=9.0)中4 $^{\circ}$ C振荡反应过夜后,反应混合液用

PD-10 脱盐柱纯化。根据 DOTA-Panitumumab 及已知浓度的 Panitumumab 在 280 nm 波长处的吸光度值计算 DOTA-Panitumumab 的浓度。

2.2 Panitumumab 及 DOTA-Panitumumab 的 ^{125}I 标记

将 15 μL Panitumumab (300 μg) 和 30 μL DOTA-Panitumumab (300 μg) 分别加至 2 个涂有 50 μg Iodogen 的小瓶中,再分别加入 135 μL 和 120 μL 的磷酸缓冲液 (0.2 mol/L, pH=7.4), 然后分别向瓶中加入 12 μL Na^{125}I 溶液 (约 25.6 MBq), 混合均匀室温反应 5 min 后, 吸出反应液以终止反应。反应混合物分别经 PD-10 脱盐柱纯化 (以 PBS 为流动相) 后备用。

2.3 ^{111}In -DOTA-Panitumumab 的制备

1.5 mL EP (Eppendorf) 管中分别加入 50 μL 的 0.2 mol/L 醋酸钠缓冲液 (pH=5.5)、200 μg DOTA-Panitumumab (20 μL) 以及 20 μL $^{111}\text{InCl}_3$ (约 111 MBq)。37 $^\circ\text{C}$ 振荡反应 1 h 后, 用 PD-10 柱纯化产物 ^{111}In -DOTA-Panitumumab, 以 PBS 为流动相。

2.4 质控方法

质控采用快速薄层层析法 (ITLC)。取 1 μL 标记产物点样于 ITLC-SG 板 (10 mm \times 100 mm), ^{125}I 标记物在 85% 甲醇的展开体系中上行展开, ^{111}In 标记物在 10 mmol/L EDTA 的展开体系中展开, 自然晾干后用放射性薄层扫描仪测量并计算标记率或放射化学纯度。

2.5 ^{111}In -DOTA-Panitumumab 和 ^{125}I -Panitumumab 的体外稳定性

取 100 μL 纯化后的 ^{111}In -DOTA-Panitumumab 和 ^{125}I -Panitumumab 分别置于生理盐水 (NS) 和胎牛血清 (FBS) 溶液中, 37 $^\circ\text{C}$ 振荡孵育。用 ITLC 监测不同时间点的放射化学纯度, 以评价标记物的体外稳定性。

2.6 细胞培养

UM-SCC-22B 人头颈癌细胞购自美国 ATCC, 培养于 $\varphi = 10\%$ 胎牛血清 (FBS) 的 DMEM 培养基中。细胞置于饱和湿度、37 $^\circ\text{C}$ 含 5% CO_2 的恒温培养箱中培养。UM-SCC-22B 细胞高表达表皮生长因子受体 (EGFR)^[11]。

2.7 ^{111}In -DOTA-Panitumumab 和 ^{125}I -Panitumumab 的放射免疫活性测定

取 6 个 EP 管分为总结合组和非特异性结合组,

每组 3 个平行样。每管均加入 500 μL 细胞悬液 (约 10^6 个细胞) 和 100 μL ^{111}In -DOTA-Panitumumab (约 167 Bq) 稀释液。然后在总结合组中每管加入 100 μL 1% BSA (溶于 PBS); 非特异性结合组中每管加入 100 μL 过量未标记 Panitumumab (约 100 μg , 溶于 1% BSA) 溶液。反应管混合均匀后, 置于 4 $^\circ\text{C}$ 层析柜中轻轻振荡反应过夜。结束后取出试管, 离心, 并用 PBS 反复洗涤 4~6 次。离心后经 γ 计数器测定每管细胞结合的放射性计数率 (min^{-1}), 计算放射免疫活性 (细胞结合量/加入总量)。

^{125}I -Panitumumab 的放射免疫活性测定步骤同上。

2.8 正常鼠体内生物分布

将 60 只 BALB/c 小白鼠随机分成 3 组, 每组 20 只。每组分别经尾静脉注射 185 kBq (100 μL 溶于生理盐水) ^{125}I -Panitumumab、DOTA-Panitumumab- ^{125}I 及 ^{111}In -DOTA-Panitumumab, 并于注射后 4 h、1 d、3 d、5 d 和 7 d 按组 (每组 4 只) 将实验小鼠处死, 取血及主要脏器, 称重并用 γ 计数器测量放射性计数, 经衰变校正后计算每克组织的百分注射剂量率 ($U_p, \% \text{ID/g}$)。

2.9 数据分析

使用 Prism 4.0 软件对实验数据进行分析, $P \leq 0.05$ 为有显著性差异。

3 结果和讨论

3.1 标记物的制备与质控

标记物的标记率和放化纯结果列于表 1。Panitumumab 及 DOTA-Panitumumab 均具有较高的 ^{111}In 和 ^{125}I 标记率, 然而 ^{111}In 标记物的标记率 (88%) 明显低于 ^{125}I 标记物的标记率 (94%), 这可能是由于 ^{111}In 需要通过双功能螯合剂与抗体偶联, 所以它比 ^{125}I 更难标记到抗体上。经 PD-10 脱盐柱纯化后, ^{111}In 和 ^{125}I 标记的 Panitumumab 均具有高的放射化学纯度 ($>98\%$)。

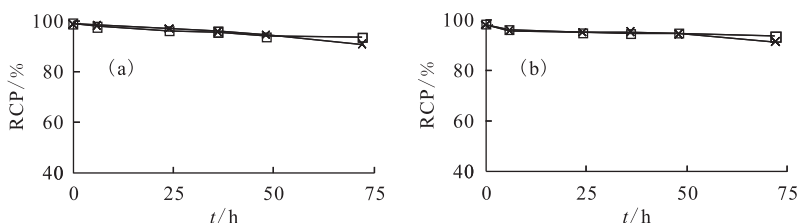
3.2 ^{111}In -DOTA-Panitumumab 和 ^{125}I -Panitumumab 的体外稳定性结果

通过对 ^{111}In -DOTA-Panitumumab 和 ^{125}I -Panitumumab 在生理盐水 (NS) 和胎牛血清 (FBS) 中的放射化学纯度监测 (图 1) 显示, 2 种标记物在体外均有很好的稳定性, 72 h 时, 在 2 种介质中的放化纯均大于 90%。

表 1 标记物的标记率和放化纯

Table 1 Labeling yield and radiochemical purity of radiolabeled Panitumumab

标记核素 (Labeling radionuclide)	标记率 (Labeling yield)		放化纯 (Radiochemical purity)	
	Panitumumab	DOTA-Panitumumab	Panitumumab	DOTA-Panitumumab
^{125}I	92%	94%	>98%	>98%
^{111}In		88%		>98%

图 1 ^{125}I -Panitumumab(a)和 ^{111}In -DOTA-Panitumumab(b)在生理盐水(NS)和胎牛血清(FBS)中的稳定性Fig. 1 *In vitro* stability of ^{125}I -Panitumumab(a) and ^{111}In -DOTA-Panitumumab(b) in saline (NS) and fetal bovine serum (FBS)

×——NS, □——FBS

3.3 ^{111}In -DOTA-Panitumumab 和 ^{125}I -Panitumumab 的放射免疫活性分数测定结果

^{111}In -DOTA-Panitumumab 和 ^{125}I -Panitumumab 的放射免疫活性分数分别为 $(58.32 \pm 4.84)\%$ 和 $(81.66 \pm 3.15)\%$ (图 2), 说明 2 种标记物均保持了良好的免疫活性。 ^{111}In -DOTA-Panitumumab 的放射免疫活性低于 ^{125}I -Panitumumab, 这可能是由于双功能螯合剂与抗体偶联过程对抗体活性有一定的影响。

3.4 ^{125}I -Panitumumab、DOTA-Panitumumab- ^{125}I 和 ^{111}In -DOTA-Panitumumab 在正常鼠内的生物分布

表 2—4 分别列出了 ^{125}I -Panitumumab、DOTA-Panitumumab- ^{125}I 和 ^{111}In -DOTA-Panitumumab 在 BALB/c 小白鼠体内的分布数据, 图 3 比较了这 3 种标记物在主要脏器及血液中的清除情况。

根据生物分布数据, 在注射后 4 h, 3 种标记物 ^{111}In -DOTA-Panitumumab、 ^{125}I -Panitumumab 和 DOTA-Panitumumab- ^{125}I 在血液中的放射性摄取分别为 (46.65 ± 3.96) 、 (39.08 ± 1.16) 、 $(36.77 \pm 3.03)\%$ ID/g, 随着时间的延长, 3 种标记物在血液中迅速清除, 到注射后 168 h, 它们在血液中的放射性摄取分别降至 (3.63 ± 2.64) 、 (14.16 ± 1.00) 、 $(1.69 \pm 0.13)\%$ ID/g。3 种标记物在肾脏中的放射性摄取较低, 在肝脏和脾脏中的放射性摄取较高, 说明标记物主要是通过肝脏代谢的。3 种标记物在肝脏和脾脏中的放射性摄取差异最大 (图 2)。 ^{111}In -DOTA-Panitumumab 在实验过程中所有时间点的肝脏摄取都显著高于 DOTA-Panitumumab- ^{125}I 和 ^{125}I -Panitumumab ($P < 0.0001$)。这可能是由于 3 种标记物的代谢

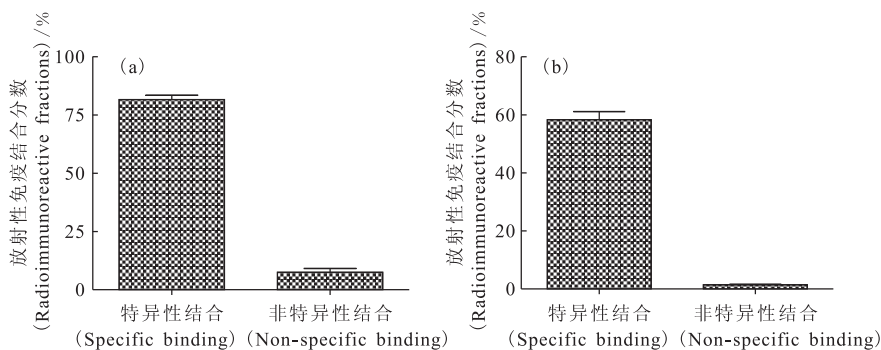
图 2 ^{125}I -Panitumumab(a)和 ^{111}In -DOTA-Panitumumab(b)的放射免疫活性分数Fig. 2 Radioimmunoassay fractions of ^{125}I -Panitumumab (a) and ^{111}In -DOTA-Panitumumab (b)

表 2 ^{125}I -Panitumumab 的正常鼠生物分布
Table 2 Biodistribution of ^{125}I -Panitumumab in normal mice

组织 (Tissues)	$U_p / (\% \text{ID} \cdot \text{g}^{-1})$				
	4 h	1 d	3 d	5 d	7 d
血 (Blood)	39.08±1.16	28.26±1.70	22.14±2.24	15.41±1.53	14.16±1.00
肝 (Liver)	6.25±0.77	4.04±0.53	3.12±0.67	1.94±0.26	2.29±0.58
脾 (Spleen)	4.64±0.38	3.15±0.38	2.40±0.41	1.92±0.21	1.69±0.28
肾 (Kidney)	8.46±0.30	5.69±0.17	3.31±0.74	2.96±0.31	3.04±0.15
胃 (Stomach)	3.84±0.48	3.34±0.39	3.03±0.69	2.32±0.17	1.88±0.09
肠 (Intestines)	7.11±1.07	5.40±0.57	5.47±0.74	3.77±0.61	3.22±0.33
心 (Heart)	7.50±0.12	5.04±0.59	3.90±0.80	2.62±0.30	2.36±0.27
肺 (Lung)	13.14±2.82	8.78±1.56	7.01±1.00	5.23±0.58	5.13±0.55
肌肉 (Muscle)	1.70±0.28	2.52±0.36	2.09±0.40	1.40±0.15	1.17±0.14
骨 (Bone)	3.43±0.89	2.28±0.59	1.65±0.27	1.16±0.20	0.92±0.11

注 (Note): $n=4$

表 3 DOTA-Panitumumab- ^{125}I 的正常鼠生物分布
Table 3 Biodistribution of DOTA-Panitumumab- ^{125}I in normal mice

组织 (Tissues)	$U_p / (\% \text{ID} \cdot \text{g}^{-1})$				
	4 h	1 d	3 d	5 d	7 d
血 (Blood)	36.77±3.03	16.71±0.70	7.40±2.37	3.12±2.24	1.69±0.13
肝 (Liver)	10.99±1.34	2.89±0.33	1.31±0.15	0.67±0.28	0.38±0.05
脾 (Spleen)	7.32±0.67	2.73±0.65	1.18±0.27	0.41±0.22	0.30±0.06
肾 (Kidney)	8.57±1.49	3.56±0.25	1.43±0.33	0.69±0.39	0.37±0.04
胃 (Stomach)	6.50±0.69	2.24±0.06	1.12±0.26	0.60±0.31	0.30±0.01
肠 (Intestines)	7.70±3.14	3.18±0.19	1.65±0.57	0.73±0.45	0.38±0.05
心 (Heart)	5.90±1.08	2.64±0.36	1.21±0.32	0.51±0.33	0.29±0.02
肺 (Lung)	11.87±2.17	5.10±0.57	2.42±0.57	1.23±0.77	0.66±0.04
肌肉 (Muscle)	1.65±0.32	1.29±0.16	0.74±0.27	0.30±0.17	0.15±0.04
骨 (Bone)	3.33±0.48	1.26±0.20	0.65±0.18	0.29±0.14	0.19±0.03

注 (Note): $n=4$

表 4 ^{111}In -DOTA-Panitumumab 的正常鼠生物分布
Table 4 Biodistribution of ^{111}In -DOTA-Panitumumab in normal mice

组织 (Tissues)	$U_p / (\% \text{ID} \cdot \text{g}^{-1})$				
	4 h	1 d	3 d	5 d	7 d
血 (Blood)	46.65±3.96	23.07±3.22	12.24±2.70	7.99±0.49	3.63±2.64
肝 (Liver)	30.48±1.04	32.25±3.79	19.75±3.59	13.28±2.46	7.81±1.58
脾 (Spleen)	18.99±1.37	25.05±2.51	17.46±4.75	12.75±4.57	11.48±3.48
肾 (Kidney)	11.09±0.67	7.67±1.44	4.70±0.69	2.71±1.10	2.14±1.00
胃 (Stomach)	3.42±0.87	3.66±0.42	2.38±0.60	1.14±0.67	0.86±0.45
肠 (Intestines)	14.23±4.31	12.52±4.85	9.70±3.90	5.34±1.07	4.00±1.21
心 (Heart)	9.76±0.99	6.56±0.71	4.92±0.72	2.40±1.36	1.80±0.97
肺 (Lung)	9.35±1.14	7.92±1.40	5.71±1.59	3.02±1.81	1.86±1.05
肌肉 (Muscle)	1.57±0.24	2.37±0.58	1.63±1.00	0.64±0.38	0.46±0.24
骨 (Bone)	5.53±1.23	5.07±0.70	3.20±0.94	2.12±1.41	1.65±0.90

注 (Note): $n=4$

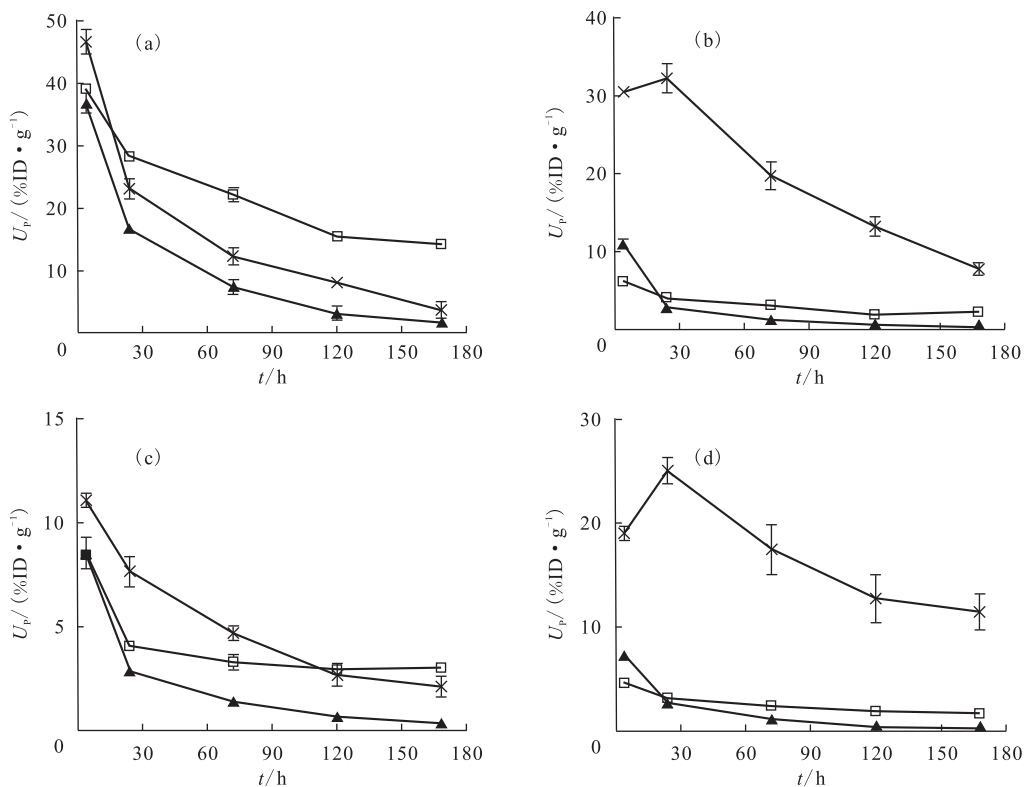


图 3 3 种标记物在血液(a)、肝脏(b)、肾脏(c)和脾脏(d)中的清除情况比较

Fig. 3 Comparison of blood (a), liver (b), kidney (c), and spleen (d) clearance of three tracers

□——¹²⁵I-Panitumumab, ▲——DOTA-Panitumumab-¹²⁵I, ×——¹¹¹In-DOTA-Panitumumab

产物在体内分布性质的不同造成的。标记物经肝脏代谢时,会进入肝细胞内的溶酶体,经过蛋白酶裂解后产生代谢产物^[12],这些代谢产物要通过简单扩散或者氨基酸转运子离开溶酶体腔。根据 Duncan 等^[13]推测,¹¹¹In-DOTA-Panitumumab 的代谢终产物大部分为 ¹¹¹In-DOTA-lysine (赖氨酸),由于溶酶体中不存在转运它的转运子,所以它难以离开肝细胞,从而造成了放射性在肝细胞中的滞留。而¹²⁵I 标记物的代谢产物在细胞质中易发生脱碘作用,游离碘很容易从细胞内溢出^[14]。在注射后 4 h, ¹²⁵I-Panitumumab 在肝脏中的摄取为 $(6.24 \pm 0.77) \% ID/g$,也显著低于 DOTA-Panitumumab-¹²⁵I $((10.99 \pm 1.34) \% ID/g, t=6.136, P=0.0009)$,说明了 DOTA 的连接本身也会增加肝脏的摄取。这可能是由于 DOTA-Panitumumab 的代谢产物具有阴离子性质,在 $pH=5.0$ 的溶酶体中难以进行简单扩散,所以连有 DOTA 的标记物在肝脏中更容易累积。另外,从生物分布数据中还可以看出,3 种标记物在肺中的摄取也较高,这可能是由于 EGFR 在正常的肺组织中也有少量的表达^[15]。

以上实验结果显示,¹²⁵I 标记简单,对标记物活性影响小,但¹²⁵I 标记物在体内容易脱碘,所以不能准确地反映出标记物在体内分布的情况。虽然¹¹¹In 标记对抗体活性影响比¹²⁵I 大,但仍然保持较好的免疫活性,并且¹¹¹In 标记物在体内性质稳定,更能体现出抗体在体内的分布情况。然而,¹¹¹In 标记物的最大缺点是在肝脏中摄取较高,滞留时间较长。因此在应用¹¹¹In 作为显像核素时,如何降低标记物在肝脏中的摄取还有待研究。

4 结 论

本研究中,Panitumumab 的¹²⁵I 和¹¹¹In 标记均具有较高的标记率,经 PD-10 纯化后放化纯均高于 98%。¹²⁵I 和¹¹¹In 标记的 Panitumumab 均具有较高的体外免疫活性,且¹²⁵I-Panitumumab 具有比¹¹¹In-DOTA-Panitumumab 更高的放射免疫活性分数。生物分布实验数据显示,在实验中所有的时间点,¹¹¹In-DOTA-Panitumumab 在肝脏和脾脏中的摄取均显著高于¹²⁵I 标记物,说明不同核素标记对生物分子的体内外性质具有一定的

影响。虽然相对于易在体内脱碘的 ^{125}I 标记抗体, ^{111}In 标记物在体内较为稳定,但是如何降低 ^{111}In 标记物在肝脏中的摄取还有待研究。

参考文献:

- [1] Ciardiello F, Tortora G. A Novel Approach in the Treatment of Cancer: Targeting the Epidermal Growth Factor Receptor [J]. *Clin Cancer Res*, 2001, 7(10): 2 958-2 970.
- [2] 代梅,郭建辉. 靶向 EGFR 家族的抗肿瘤药物研究进展[J]. *生命科学*, 2009, 21(3): 412-417.
- [3] Zhu Z. Targeted Cancer Therapies Based on Antibodies Directed Against Epidermal Growth Factor Receptor: Status and Perspectives[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2007, 28(9): 1 476-1 493.
- [4] Ramos-Suzarte M, Rodriguez N, Oliva J P, et al. $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Labeled Antihuman Epidermal Growth Factor Receptor Antibody in Patients With Tumors of Epithelial Origin: Part III. Clinical Trials Safety and Diagnostic Efficacy[J]. *J Nucl Med*, 1999, 40(5): 768-775.
- [5] Schechter N R, Yang D J, Azhdarinia A, et al. Assessment of Epidermal Growth Factor Receptor With $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -Ethylenedicysteine-C225 Monoclonal Antibody[J]. *Anticancer Drugs*, 2003, 14(1): 49-56.
- [6] Dadparvar S, Krishna L, Miyamoto C, et al. Indium-111-Labeled Anti-EGFR-425 Scintigraphy in the Detection of Malignant Gliomas[J]. *Cancer*, 1994, 73(3 Suppl): 884-889.
- [7] Yang X D, Jia X C, Corvalan J R, et al. Development of ABX-EGF, a Fully Human Anti-EGF Receptor Monoclonal Antibody for Cancer Therapy[J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2001, 38(1): 17-23.
- [8] Cohenuram M, Saif M W. Panitumumab the First Fully Human Monoclonal Antibody: From the Bench to the Clinic[J]. *Anticancer Drugs*, 2007, 18(1): 7-15.
- [9] Niu G, Li Z, Xie J, et al. PET of EGFR Antibody Distribution in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma Models[J]. *J Nucl Med*, 2009, 50(7): 1 116-1 123.
- [10] Liu Z, Li Z B, Cao Q, et al. Small-Animal PET of Tumors With ^{64}Cu -Labeled RGD-Bombesin Heterodimer[J]. *J Nucl Med*, 2009, 50(7): 1 168-1 177.
- [11] Bier H, Hoffmann T, Haas I, et al. Anti-Epidermal Growth Factor Receptor Monoclonal Antibodies for the Induction of Antibody-Dependent Cell-Mediated Cytotoxicity Against Squamous Cell Carcinoma Lines of the Head and Neck[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 1998, 46(3): 167-173.
- [12] Bridges K, Harford J, Ashwell G, et al. Fate of Receptor and Ligand During Endocytosis of Asialoglycoproteins by Isolated Hepatocytes[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1982, 79(2): 350-354.
- [13] Duncan J R, Welch M J. Intracellular Metabolism of Indium-111-DTPA-Labeled Receptor Targeted Proteins[J]. *J Nucl Med*, 1993, 34(10): 1 728-1 738.
- [14] Koehrle J, Auf'Mkolk M, Rokos H, et al. Rat Liver Iodothyronine Monodeiodinase. Evaluation of the Iodothyronine Ligand-Binding Site[J]. *J Biol Chem*, 1986, 261(25): 11 613-11 622.
- [15] Dittadi R, Gion M, Pagan V, et al. Epidermal Growth Factor Receptor in Lung Malignancies. Comparison Between Cancer and Normal Tissue[J]. *Br J Cancer*, 1991, 64(4): 741-744.