

正电子核素 ^{89}Zr : 药物化学及其生物体内行为评价的研究新进展

陈文¹, 魏洪源¹, 刘宁², 罗顺忠¹

1. 中国工程物理研究院核物理与化学研究所, 四川 绵阳 621900;

2. 四川大学原子核科学技术研究所, 四川 成都 610065

摘要: ^{89}Zr 是近年来刚刚兴起的正电子核素,其半衰期长(78.4 h),特别适合标记抗体、纳米等具有较长生物半衰期的药物载体以及需长时间观测显像的载体。 ^{89}Zr 生产成本低,体内稳定性较好,能滞留在肿瘤细胞中,更重要的是 ^{89}Zr 在PET显像中分辨率高,因此 ^{89}Zr 在PET显像领域具有广阔的应用前景。本文从 ^{89}Zr 的生产和纯化、溶液配位化学以及与抗体的键连方法学等药物化学基本性质出发,再通过 ^{89}Zr 的生物分布、临床前及临床应用等生物体内行为评价,较为全面地综述正电子核素 ^{89}Zr 的最新研究进展。

关键词: ^{89}Zr ; PET; 抗体; 配位化学; 临床应用

中图分类号: TL364.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-9950(2018)01-0011-12

doi: 10.7538/hhx.2017.YX.2016074

Positron-Emitting Radionuclide ^{89}Zr : Medicinal Chemistry and *in Vivo* Biological Behavior Evaluation

CHEN Wen¹, WEI Hong-yuan¹, LIU Ning², LUO Shun-zhong¹

1. Institute of Nuclear Physics and Chemistry, China Academy of Engineering Physics, Mianyang 621900, China;

2. Institute of Nuclear Science and Technology, Sichuan University, Chengdu 610065, China

Abstract: Positron-emitting radionuclide ^{89}Zr is just emerging in recent years. It has a half-life of 78.4 h, and is especially suitable for labelling antibodies, or nanoparticles, and other carriers of long time observation. ^{89}Zr is cheap to produce, stable *in vivo*, and residualizes in tumors, and importantly has high resolution of PET images, therefore it will have wide application prospect in the field of PET imaging. This paper provides a comprehensive research progress of ^{89}Zr medicinal chemistry and *in vivo* biological behavior evaluation, including the production and purification of ^{89}Zr , the solution coordination chemistry of ^{89}Zr , new bioconjugation strategies, the preclinical imaging studies of ^{89}Zr -based agents, and the clinical applications of ^{89}Zr -labeled radiopharmaceuticals.

Key words: ^{89}Zr ; PET; antibodies; coordination chemistry; clinical application

收稿日期: 2016-08-12; 修订日期: 2016-12-13

作者简介: 陈文(1983—), 女, 福建福州人, 博士, 核燃料循环与材料专业, 主要从事放射性药物的合成及性质研究, E-mail: chenwen@caep.cn

网络出版时间: 2018-01-08; 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2045.TL.20180105.1502.004.html>

在过去的三十多年中,核医学影像技术在临床医学,特别是心脏病学、神经疾病学以及肿瘤学等领域的疾病诊断中发挥着重要的作用^[1-2]。正电子发射断层显像(positron emission tomography, PET)和单光子发射计算机断层显像(single-photon emission computed tomography, SPECT)能够提供关于组织的功能和生物化学信息,以弥补CT、MR等其他形态解剖成像技术对于病灶诊断的不足。近几年来,PET的发展非常迅速,主要归功于其灵敏度高(PET示踪剂的浓度只需约 $10^{-10} \sim 10^{-8}$ mol/L);分辨率高(约 $2 \sim 3$ mm),同时还可以进行定量检测^[3]。

^{89}Zr 是近年来刚刚兴起的一种用于PET显像的正电子核素。 ^{89}Zr 的半衰期是78.4 h,具有相对低的正电子能量(395.5 keV)。直到2010年以前, ^{89}Zr 用于PET药物研究一直处于低谷,每年发表的相关文章不到10篇。近年来, ^{89}Zr 用于抗体显像剂的研究报道日趋增多^[4-5]。抗体为基础的显像剂主要用于癌症诊断(表征、治疗计划、治疗跟踪),但抗体在体内的药代动力学相对较慢,一般需要几天时间才能到达靶向组织。因此,选择与抗体相似半衰期的核素来与其匹配十分重要。 ^{89}Zr 具备合适抗体的半衰期78.4 h,操作起来相对安全,生产成本较低,体内稳定性较好,能滞留在肿瘤细胞中,产生的正电子能量适合进行PET显像,分辨率好。除了抗体以外,其他具有较长药物代谢的载体,如纳米以及需长时间观测显像的载体均可以使用 ^{89}Zr 进行显像^[6]。

1 理化性能

1.1 衰变性质

^{89}Zr 的半衰期为78.4 h,先通过22.3%的正电子发射及76.6%的电子捕获衰变为中间核素 $^{89}\text{Y}^{\text{m}}$,接着 $^{89}\text{Y}^{\text{m}}$ 又立刻(15.6 s)衰变为稳定核素 ^{89}Y ,释放出909 keV伽码光子。由于 ^{89}Zr 衰变出的正电子,平动能相对低,仅为395.5 keV,因此其在成像时具有较高的分辨率。同时,释放出不同的909 keV伽码光子和正电子湮灭时产生的511 keV光子能量,不会干扰正电子的探测。但是, ^{89}Zr 衰变时释放出的高能 γ 射线(909 keV)需要一定的防护。

1.2 溶液化学性质

Zr在化学周期表中从属于IV副族。锆离子在溶液中呈+4价,具有相对较大的半径(0.84 Å,

1 Å=0.1 nm)。锆离子是“硬”离子,易与氧负离子配位,形成八配位结构。锆离子的溶液化学相对复杂^[7],其氧化态和氢氧化态在水中的溶解度均很低,氯化物、硫酸盐、草酸盐等的溶解性好。

^{89}Zr 在PET药物领域的应用主要归功于人们发现中文全称(desferrioxamine B, DFO B)可以和 $^{89}\text{Zr}^{4+}$ 形成稳定配合物^[8]。DFO是一种含铁细胞或细菌产生的天然铁螯合分子,能与 $^{89}\text{Zr}^{4+}$ 形成六齿配位,DFO结构中的三个羟胺酮提供6个氧原子与 $^{89}\text{Zr}^{4+}$ 配合,DFO的末端氨基能够键连生物活性分子,如抗体等。 ^{89}Zr -DFO在血清中稳定性好,培育24 h后仅检测到小于0.2%的游离Zr;延长培育时间至7 d后,游离的锆离子增加,但仍小于2%。因此,DFO是目前最常用的 $^{89}\text{Zr}^{4+}$ 的双官能团螯合剂^[9]。特别注意的是,游离的锆离子在动物体内主要浓集于骨,而骨髓是对放射性十分敏感的组织, $^{89}\text{Zr}^{4+}$ 过多的浓集于骨必然对骨髓组织造成损伤,因此,人们仍然在探索与 $^{89}\text{Zr}^{4+}$ 配位更加稳定的双官能团螯合剂(图1),以尽量降低脱锆离子的现象。

起初,人们尝试利用常用的放射性核素螯合剂乙二胺四乙酸(EDTA)、二乙基三胺五乙酸(DTPA)、1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四羧酸(DOTA)与 $^{89}\text{Zr}^{4+}$ 配位^[6]。从得到的晶体结构图分析,EDTA与DTPA分别与 Zr^{4+} 以1:1的形式构成八配位结构,其中EDTA的2个N原子、4个O原子以及2个游离水的O原子分别与Zr配位;而DTPA则是其4个N原子、4个O原子分别与 Zr^{4+} 配位。通过热力学参数分析,DTPA确实比EDTA要稳定,这说明有水分子参与 Zr^{4+} 配位,会造成配合物稳定性降低。遗憾的是,当人们用 $^{89}\text{Zr}^{4+}$ 标记DTPA或EDTA键连的抗体时,标记率小于0.1%,可见DTPA与 $^{89}\text{Zr}^{4+}$ 配位并不稳定,尽管 Zr^{4+} 与EDTA($K \approx 29$)和DTPA($K \approx 36$)的热力学稳定常数(K)都很高,但它们的动力学反应速率都很低,导致标记率非常低,可能原因是DTPA和EDTA中N原子参与 $^{89}\text{Zr}^{4+}$ 配位,而N原子并不是 $^{89}\text{Zr}^{4+}$ 的理想给电子体。

DFO分子结构中含有三个羟胺酮结构,每个羟胺酮上的两个氧原子与 $^{89}\text{Zr}^{4+}$ 形成六配位,显然此六配位结构不符合一般锆离子八配位的稳定结构。目前仍没有Zr-DFO晶体结构数据及溶液化学性质数据,通过密度泛函理论(DFT)计算表明,溶液中的两个水分子与DFO一起与 Zr^{4+} 配

位形成八配位结构。一般认为此位置的水合配位是造成 Zr-DFO 热力学稳定性下降的根源,最终导致体内脱锆现象的发生。于是,尝试在 DFO 的结构上再引入一个羟胺酮结构,合成具有 4 个羟胺酮结构的 DFO*,使得 4 个羟胺酮的 8 个氧能完全包裹住 Zr⁴⁺,以提高其热力学稳定性^[10]。文献[10]将 DFO* 和 DFO 分别键连多肽[Nle¹⁴]BBS(7-14)后再标记⁸⁹Zr⁴⁺,得到⁸⁹Zr-DFO*-[Nle¹⁴]BBS(7-14)和⁸⁹Zr-DFO-[Nle¹⁴]BBS(7-14),通过与 DFO 竞争配位来检测两个标记物的稳定性,结果表明,⁸⁹Zr-DFO*-[Nle¹⁴]BBS(7-14)于 3 000 倍的 DFO 溶液中 24 h 后仍有 90% 的⁸⁹Zr-DFO*-[Nle¹⁴]BBS(7-14)保持完好。但是,合成得到的 DFO* 水溶性差,还需进一步改进。FSC 也是天然含铁细胞中分离出来的含有三个羟胺酮结构的环状化合物^[11],研究了⁸⁹Zr⁴⁺ 标记的 Fusarinine C(FSC)与 DFO 分别与 1 000 倍的 EDTA 竞争的稳定性,7 d 后的实验结果表明,环状结构的 FSC(保持 93.9%完好)相比链状的 DFO(保持 42.2%完好)有着更优的稳定性。

从以上结果可以看出,与⁸⁹Zr⁴⁺ 配位时,四个羟胺酮结构比三个羟胺酮结构更稳定,环状结构比链状结构更稳定。基于此,Guérard 等^[12]设计合成了一系列由四个羟胺酮结构组成的大环化合物,分别用 5、6、7 个碳链连接羟胺酮结构,形成不同大小的空穴,以选择更适合⁸⁹Zr⁴⁺ 的空间配位结构。溶液化学实验结果表明,随着碳链的增大,配体与⁸⁹Zr⁴⁺ 的配位能力增强。与 EDTA 的竞争配位研究表明,C7 环的稳定性优于 DFO,而 C5 环的稳定性不如 DFO。同时通过 DFT 研究说明,小环与⁸⁹Zr⁴⁺ 的配位能力受环张力的影响,而大环与⁸⁹Zr⁴⁺ 的配位能力则归功于大环效应和结构的柔性。

羟基吡啶酮和邻苯二酚结构常用于放射性核素(Pu、Am)促排剂的研制中。其中 Pu⁴⁺ 与 Zr⁴⁺ 具有类似的配位化学结构,都需要“硬”氧提供电子。于是,利用与 Pu⁴⁺ 具有较好配位能力的配体来研究 Zr⁴⁺,3,4,3-(LI-1,2-羟基吡啶酮)(HOPO)就是其中之一。HOPO 具备 4 个羟基吡啶酮结构,正好能够提供 8 个 O 原子与 Zr⁴⁺ 配位。小鼠体内代谢实验表明^[13],24 h 后⁸⁹Zr-HOPO 在骨中的放射性摄取((0.17±0.03)% ID/g)大于⁸⁹Zr-DFO 中的值((0.06±0.01)% ID/g)。但作者认为⁸⁹Zr-HOPO 在骨中的沉积不是⁸⁹Zr-HOPO 体内脱锆所导致的,因为⁸⁹Zr-HOPO 在骨

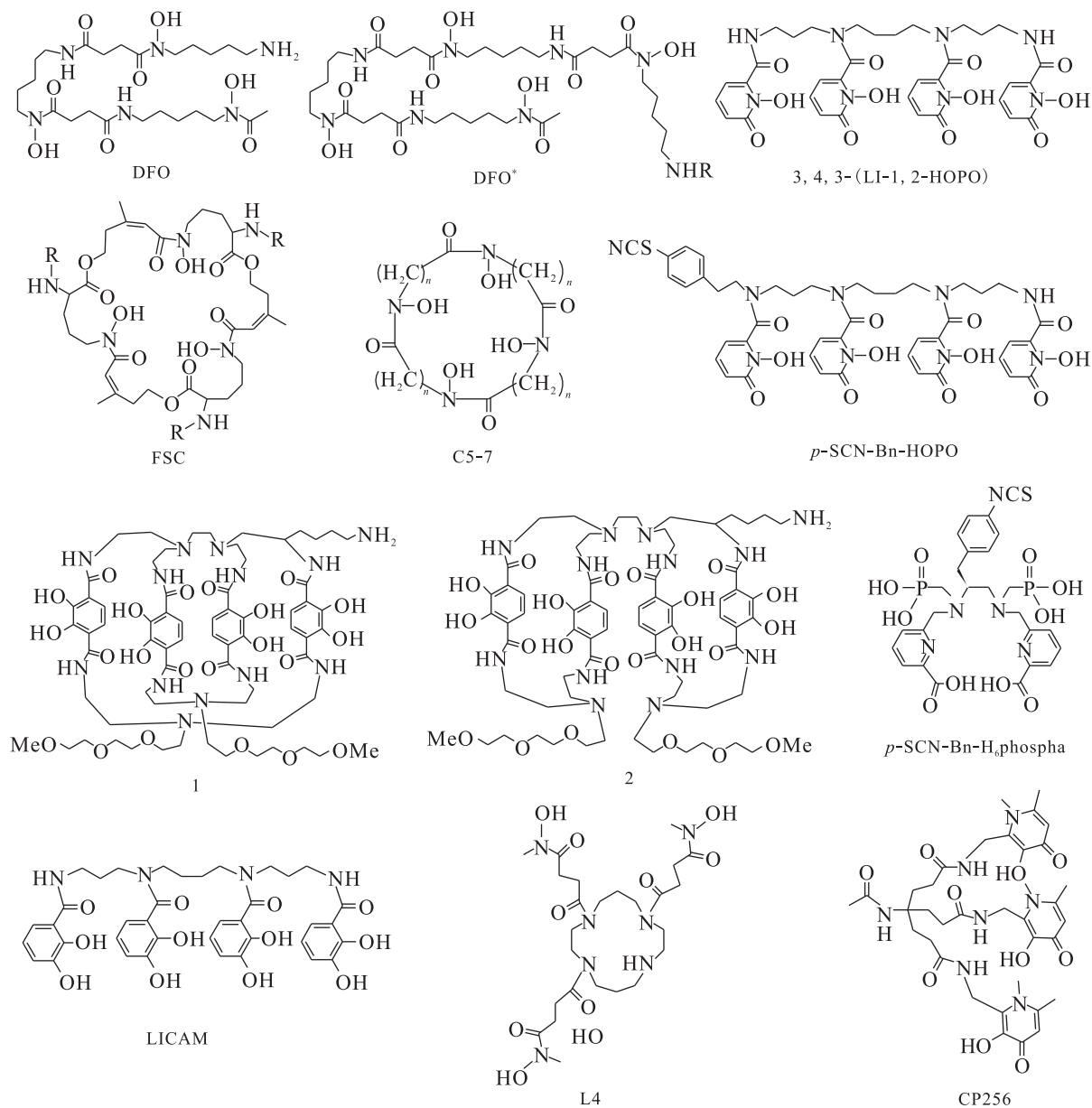
中的沉积量随着时间的增加而逐渐减少。可能是由于⁸⁹Zr-HOPO 在体内通过肝脏代谢的速度较慢,导致其在骨中的代谢也比较慢。另外,通过 DFT 模拟分析发现,连接链上比 HOPO 少一个碳原子的 3,3,3-(LI-1,2-羟基吡啶酮)与 Zr⁴⁺ 的配位稳定性更好,主要原因在于 3,3,3-(LI-1,2-羟基吡啶酮)能够与 Zr⁴⁺ 更紧密的配位,因此能量更低。最近,文献[14]在 HOPO 结构上引入 *p*-SCN-Bn 基团用于与单抗键连,并得到了 *p*-SCN-Bn-HOPO 与 Zr⁴⁺ 配位的单晶结构,这个单晶结构表明 Zr⁴⁺ 和 HOPO 的八个氧原子形成八配位的结构,与之前人们通过 DFT 模拟得到的数据相似^[13]。⁸⁹Zr⁴⁺ 标记的 *p*-SCN-Bn-HOPO-trastuzumab 和 *p*-SCN-Bn-DFO-trastuzumab 在荷 BT474 肿瘤小鼠体内的生物分布结果表明:两个标记物在肿瘤中的摄取量相似,336 h 后⁸⁹Zr-*p*-SCN-Bn-HOPO-trastuzumab(2.4% ID/g)在骨的放射性摄取小于⁸⁹Zr-*p*-SCN-Bn-DFO-trastuzumab(17.0% ID/g)在骨中的值。

带有邻苯二酚结构的大环 1 和 2^[15](图 1 中化合物 1 和 2)。与⁸⁹Zr⁴⁺ 配位时,1 稳定性优于 2,可能原因是 1 的结构更刚性,而 2 的结构灵活一些,易导致锆离子裸露出来,被其他配体取代,造成稳定性降低。⁸⁹Zr-1 能快速从血液中清除,但在肝和肾中的放射性摄取高于⁸⁹Zr-DFO。同时,药物代谢 3 d 后,⁸⁹Zr-1 在骨中的滞留量((0.078±0.014)% ID/g)与⁸⁹Zr-DFO 在骨中的值((0.074±0.022)% ID/g)相当。与 1 结构类似的大环采用 2,3-HOPO 代替邻苯二酚^[16],则与⁸⁹Zr⁴⁺ 的配位稳定性下降。另外,同具有邻苯二酚结构的 LICAM 以及具有 3,4-HOPO 结构的 CP256 与⁸⁹Zr⁴⁺ 的配位也不稳定^[17]。Zr 离子在体内是亲骨的,因此人们认为其与磷酸有着很强的配位能力,但 Price 等^[18]研究了带磷酸的配体 *p*-SCN-Bn-H₆phospa 与⁸⁹Zr⁴⁺ 的标记反应,反应 18 h 后标记物的标记率仍小于 12%。

2 生产制备方法

2.1 ⁸⁹Zr 的生产与纯化

⁸⁹Zr 主要利用核反应⁸⁹Y(p, n)⁸⁹Zr 或⁸⁹Y(d, 2n)⁸⁹Zr,通过加速器进行生产。⁸⁹Y 是商品化的,稳定并且具有 100% 的自然丰度,这为⁸⁹Zr 的生产提供了原料上的便利和经济。⁸⁹Zr 的提纯主要方法为溶剂萃取或阴/阳离子交换树脂。

图1 ^{89}Zr 的配体Fig.1 Chelates of ^{89}Zr

Link 等^[19]在 1986 年通过核反应 $^{89}\text{Y}(\text{p}, \text{n})$ ^{89}Zr 首次得到 ^{89}Zr 。该反应经过 13 MeV 质子轰击 ^{89}Y 箔后,采用双萃取的流程来分离提纯 ^{89}Zr 。首先利用 TTA(4,4,4-trifluoro-1-(2-thienyl)-1,3-butanedione)二甲苯溶液萃取靶材中的 Zr(IV),接着用 HNO_3/HF 溶剂将 Zr(IV)带入水相,最后通过阴离子交换,采用 1 mol/L HCl/0.01 mol/L 草酸盐洗脱得到 ^{89}Zr (产率 80%,纯度 99.99%)。Dejesus 等^[20]也发表了类似的合成方法。

另一种方法利用核反应 $^{89}\text{Y}(\text{d}, 2\text{n})^{89}\text{Zr}$,通过 16 MeV 氘源轰击 ^{89}Y 微球粉末^[21]。该法的分离

提纯和前一种不同,它是利用 Y 和 Zr 这两种核素在阴离子交换树脂中,随盐酸浓度的不同而分配系数不同实现分离。该方法的产率为 80%,纯化的方法与 Link 相比更为简便,但是在阴离子交换之前和之后产生的 YCl_3 的沉淀是一个待解决的问题。

Meijs 等^[22]采用核反应 $^{89}\text{Y}(\text{p}, \text{n})^{89}\text{Zr}$,14 MeV 质子束,将 ^{89}Y (300 μmol)喷镀在天然 Cu 薄膜做成靶件。该法可以在 2 h 内生产 8 140 MBq 的 ^{89}Zr 。照射后的靶件用 H_2O_2 将 Zr 氧化成四价,利用异羟肟酸树脂吸附 $^{89}\text{Zr}^{4+}$,从而实现与其他

杂质核素(⁸⁹Y、⁸⁸Y、⁶⁵Zn、⁴⁸V、⁵⁶Co等)的分离,再用草酸盐进行洗脱,最后得到1.0 mol/L草酸锆溶液,该溶液可直接进行标记反应。

2.2 ⁸⁹Zr螯合剂 DFO 与抗体的键连方法学

⁸⁹Zr螯合剂 DFO 与抗体的键连方法学的建立是为了实现将⁸⁹Zr螯合剂 DFO 与靶向基团(如抗体)相连接,同时又不影响靶向基团的生物性质。目前,人们主要发展了酰胺键连法、巯基键连法以及点击化学反应等方法(图2)。

早期,人们尝试用 N-succinimidyl-S-acetylthioacetate(SATA)和 succinimidyl 4-(N-maleimidomethyl) cyclohexane-1-carboxylate(SMCC)分别对 DFO 的氨基和抗体赖氨酸上的氨基进行修饰,然后键连得到琥珀酰亚胺-硫醚类结构产物^[23]。

后续实验发现该产物在生理 pH 条件下不稳定,巯基两端的键都易断裂,或含巯基端单抗形成自聚,或⁸⁹Zr-DFO-S-端键连到血清白蛋白上。

接着,人们发展了酰胺键连法,这个方法主要是对 DFO 氨基进行修饰,再与抗体的赖氨酸的氨基(不修饰)直接进行反应。由 Verel 等^[9]小组建立的 2,3,5,6-tetrafluorophenol(TFP)修饰 DFO 的方法目前最常用。这个方法主要由 5 步反应组成,首先由琥珀酸酐与 DFO 反应,为 DFO 引入羧酸基团,再用铁离子对 DFO 上的羟胺基团进行保护,然后键连 TFP 形成活性脂与抗体上的氨基反应,最后脱去铁离子得到产物。脱去铁离子这个步骤必需在 pH=4.3~4.5 的条件下进行,而这个 pH 值可能对抗体有害。如果不采用铁离子对 DFO

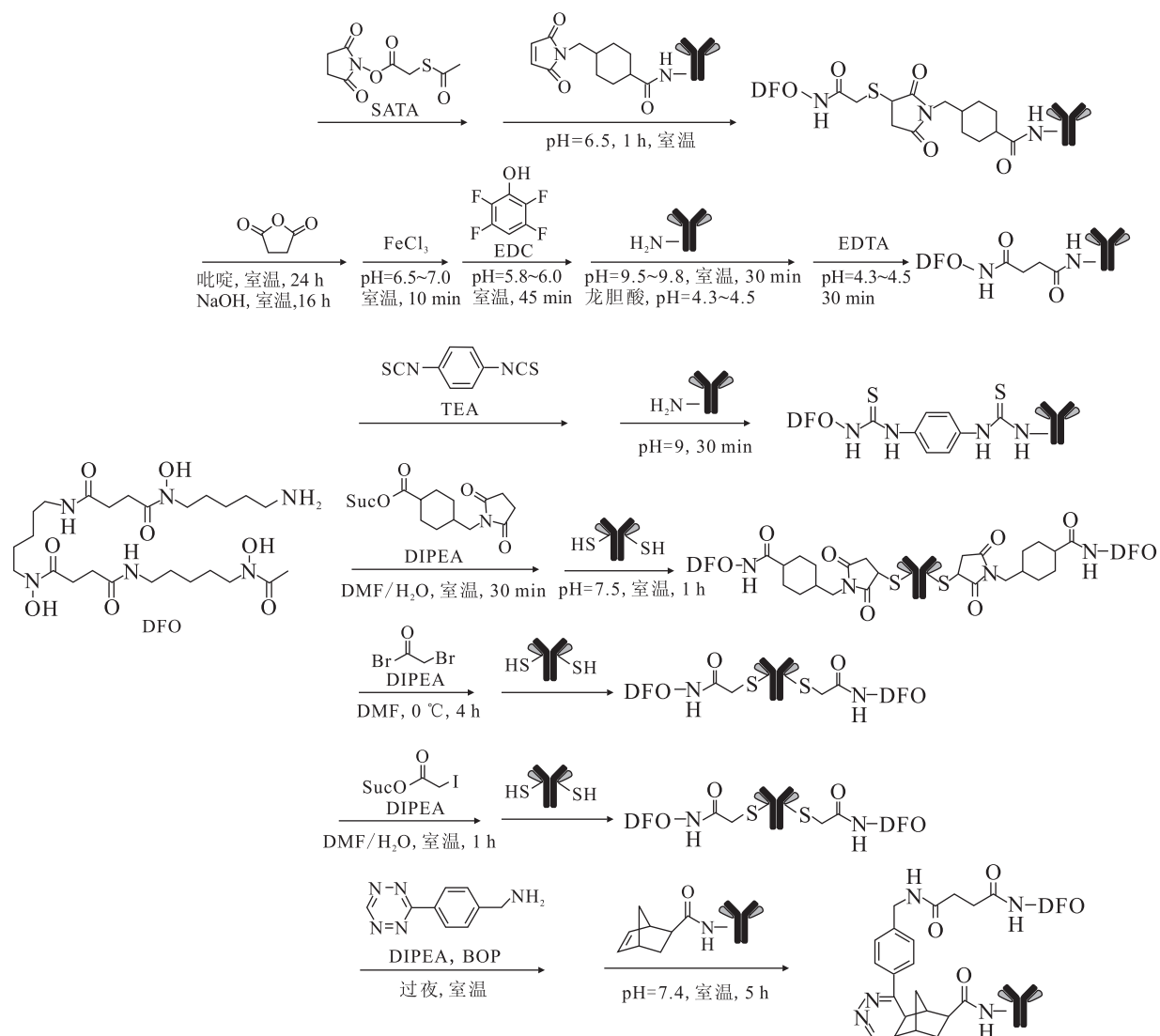


图2 ⁸⁹Zr螯合剂 DFO 与抗体的键连方法

Fig. 2 Bioconjugation strategies of ⁸⁹Zr chelating agent DFO and antibody

上的羟胺基团进行保护,而是先用 ^{89}Zr 标记 DFO,再键连 TFP,则得到的 ^{89}Zr -DFO 不能再与 TFP 形成酯,预测可能是由于 ^{89}Zr 还利用了琥珀酸末端酸根上的氧原子参与配位,导致酸根无法与 TFP 反应。

最近,Perk 小组^[24]发展了一种更为简便的键连方法。他们采用商品化的异硫氰酸衍生物 1,4-diisothiocyanatobenzene 分别与 DFO 的氨基和抗体上赖氨酸的氨基形成稳定的硫脲结构。但是,该反应前体 DFO-Bz-NCS 的水溶性不好。反应过程中,溶解在 DMSO 中的 DFO-Bz-NCS 需要在振荡的情况下加到单抗水溶液中,避免局部 DMSO 浓度过大,防止单个单抗上键连多个 DFO。单个单抗上以键连一个 DFO 为宜,键连多个 DFO 可能影响单抗的免疫活性。

由于基于赖氨酸的键连反应属于非特异性的将螯合剂键连到抗体上,这样螯合剂有可能键连到抗体上用于绑定抗原的位置,导致抗体生物活性下降。于是,发展了特异性的基于 engineered 抗体半胱氨酸上的巯基与 DFO 键连的方法^[25]。合成出了能与硫醇反应的 DFO 衍生物如 bromoacetamido-desferrioxamine (DFO-Bac)、iodoacetamido-desferrioxamine (DFO-Iac) 和 maleimidocyclohexyl-desferrioxamine (DFO-Chx-Mal),并成功地键连到抗体中非活性位点的半胱氨酸上。但模型实验结果表明:用半胱氨酸键连方法得到的抗体的免疫活性并不优于用赖氨酸键连方法得到的抗体。

最近,新型的点击化学反应又为锆的螯合剂和抗体键连提供了新的方法^[26]。一种点击化学反应是建立在 Diels-Alder 反应基础上,主要利用二烯衍生物(dienophile norbornene)和四嗪衍生物(3-(4-benzylamino)-1,2,4,5-tetrazine)分别与抗体和螯合剂键连后,通过发生 D-A 反应将两者键连起来。这种点击化学的优势在于能够建立一种模块化反应化学,即不论采用何种螯合剂与抗体,都可以通过这种方法得到键连产物,该方法不会受到螯合剂与抗体本身的化学反应性质所影响。另一种点击化学反应是基于 Staudinger 反应,利用叠氮化物和磷化物的反应将 DFO 和抗体键连起来,但该方法得到的产物体内生物相容性差。

3 临床前应用研究

3.1 生物分布

为了使 ^{89}Zr 能够作为示踪剂安全地应用于

PET 显像,非常有必要明确游离的 $^{89}\text{Zr}^{4+}$ 以及 ^{89}Zr -螯合剂在生物体内的分布与代谢情况^[27]。特别是对于亲骨的 ^{89}Zr ,其在骨中的摄取、分布及代谢情况十分重要。人体中的少量锆元素主要分布在脂肪、肝脏及膀胱,脑中还存在微量的锆元素。人体通过饮食摄入的锆元素主要通过肝胆代谢。锆元素在不同生物物种中的分布代谢不尽相同。以草酸锆为例,其在大鼠体内,80%~90%的草酸锆通过肾代谢从尿中排出;而在小鼠体内,只有 30%的草酸锆通过肾代谢从尿中排出;而早期的人体实验表明,草酸锆几乎都存在血液中(与血清蛋白结合),没有在尿中检测到草酸锆。锆合物的分子大小以及锆合物性质等,都会影响其在体内的分布及代谢,如化合物性质不确定的 ZrCl_4 ,其生物分布也不确定;而稳定的配合物 Zr-DFO ,则显示稳定的生物分布及代谢^[6]。总而言之,锆合物越稳定,化合物性质越明确,其生物分布及代谢越可靠。

3.2 多肽和蛋白质

至今, ^{89}Zr 用于多肽体内行为的研究甚少。主要原因是多肽的生物体内代谢比较快,一般采用半衰期较短的核素标记。但是,研究多肽多聚体时,由于多肽多聚体分子量大,生物半衰期长,就有必要采用长半衰期的 ^{89}Zr 进行标记。例如, Jacobson 等^[28]用 ^{89}Zr 标记 RGD 类多肽(c(RGDfK))单聚及二聚体研究其体内外行为,考察了 RGD 多肽单聚和二聚体四个化合物 $^{89}\text{Zr-Df-FK}$ 、 $^{89}\text{Zr-Df-FK-PEG}_3$ 、 $^{89}\text{Zr-Df-[FK]}_2$ 和 $^{89}\text{Zr-Df-[FK]}_2-3\text{PEG}_4$ 对表达 $\alpha_v\beta_3$ 肿瘤的亲和性。结果表明:二聚体比单聚体有着更强的肿瘤亲和能力, $^{89}\text{Zr-Df-[FK]}_2-3\text{PEG}_4$ 具有最佳肿瘤/非靶比值。尽管这样的多肽二聚体也可以用其他短半衰期的核素 ^{64}Cu 、 ^{68}Ga 进行标记,但对于更大的多肽多聚体而言, ^{89}Zr 会是一个不错的选择。蛋白质大分子也可以用 ^{89}Zr 标记来明确其体内行为。如用 ^{89}Zr 标记白蛋白,通过 EPR 效应,可以实现非特异性肿瘤靶向^[29]。 ^{89}Zr 标记铁传递蛋白用于脑部肿瘤显像^[30],结果显示肿瘤/脑组织比值高于采用 FDG 作示踪剂的肿瘤/脑组织比值,但是由于 ^{89}Zr -铁传递蛋白在肾、肝、骨的摄取都较高而限制了其应用^[31]。

3.3 纳米颗粒和微球

纳米颗粒和微球的生物半衰期较长,适合用 ^{89}Zr 进行标记,用于纳米颗粒和微球的生物体内

性质的研究。⁸⁹Zr标记的微球可以作为⁹⁰Y诊疗配对核素^[32],用于⁹⁰Y-微球治疗(selective internal radiation therapy(SIRT))之前评估并确定治疗计划和剂量。⁸⁹Zr-DFO-albumin nanocolloids用于检测淋巴结病变^[33],得到的实验数据甚至优于常用的⁹⁹Tc^m-albumin nanocolloids。⁸⁹Zr标记的纳米 dextran nanoparticles(DNPs)^[34],作为巨噬细胞探针,实验结果显示,DNPs能够特异性的浓集于巨噬细胞,表明此探针可用于检测肿瘤相关的巨噬细胞(TAMs)的诊断。⁸⁹Zr标记的碳纳米管(single wall carbon nanotubes(SWCNT))键连上生物活性物质(如 E4G10)后,具有特异性的肿瘤浓集,但其在肝和肾的浓集太高。⁸⁹Zr-liposomes 结合奥曲肽用于肿瘤显像^[35],同时键连钆离子实现 PET/MRI 双模块诊断系统,但是,⁸⁹Zr直接标记 liposomes 稳定性欠佳,96 h 后约 50% 的放射性核素释放出来。此外,⁸⁹Zr标记的 MSNs (mesoporous silica nanoparticles)也显示出了优良的体内稳定性^[36]。

3.4 抗体

在过去几年里,⁸⁹Zr 主要用于标记抗体,因为⁸⁹Zr的半衰期与抗体在体内的代谢时间类似。⁸⁹Zr标记抗体后注射进体内,经过几天再显像使得⁸⁹Zr-抗体能够最多地浓集于靶点位置。同时⁸⁹Zr-抗体一旦随着抗体-抗原进入肿瘤细胞,⁸⁹Zr便滞留在细胞内,而其它器官组织的⁸⁹Zr则随时间代谢清除掉,这样便能降低背景信号,得到分辨率高的⁸⁹Zr-PET 图像。

(1) ⁸⁹Zr标记常用单抗药物

早期,⁸⁹Zr常用于标记临床上常用的单抗治疗药物,如西妥昔单抗(cetuximab)、贝伐单抗(bevacizumab)、曲妥单抗(trastuzumab)等。这些单抗药物在许多恶性肿瘤中都有表达,并且其表达与肿瘤的恶性程度直接相关。目前,这些单抗药物在肿瘤中的特异性表达以及其药代动力学等研究仍存在不足之处。无损的定量检测这些抗体的表达可以为患者的治疗提供重要的数据及准确的评估疗效等。

Aerts 等^[37]研究了⁸⁹Zr标记的 cetuximab 在表达 EGFR 水平不同细胞系中的摄取情况。结果显示,在表达 EGFR 的肿瘤细胞系中,⁸⁹Zr-cetuximab 均有摄取,但是⁸⁹Zr-cetuximab 的摄取量与 EGFR 的表达水平没有相关性。Nagengast 小组^[38]利用⁸⁹Zr-bevacizumab 和 HSP90 抑制剂

NVP-AUY922 来监控卵巢癌。Oosting 等^[39]考察了转移性肾细胞癌病人采用 bevacizumab 治疗之前和期间的肿瘤对⁸⁹Zr-bevacizumab 的摄取情况。结果表明,肿瘤对⁸⁹Zr-bevacizumab 有很高的摄取,但采用 bevacizumab 治疗强烈降低了肿瘤摄取⁸⁹Zr-bevacizumab。在 2010 年,14 名乳腺癌患者参与了靶向 Her2 的⁸⁹Zr-trastuzumab 药物 PET 显像研究^[40]。结果显示,PET 显像结果在给药 4~5 d 后得到最好的分辨率,同时,已经接受过 trastuzumab 治疗的病人给药 10 mg 即可得到较好的分辨率,而没有接受过 trastuzumab 治疗的病人需给药 50 mg 以得到最优的分辨率。特别值得关注的⁸⁹Zr-trastuzumab 还可以诊断出脑部肿瘤的病灶。Börjesson 小组^[41]评估⁸⁹Zr-cmAbU36 用于检测表达 CD44v6 的脑颈部肿瘤的安全性和诊断效果。作者认为⁸⁹Zr-cmAbU36 安全,病人的所有肿瘤(包括大部分淋巴病变)都可被诊断。另外,对比¹⁸F-FDG和⁸⁹Zr-cmAbU36,发现两者的诊断效果类似。接着,该课题组还研究了⁸⁹Zr-cmAbU36 的注射剂量及可能的定量检测^[42],结果表明,⁸⁹Zr-cmAbU36 可以定量检测抗体的生物分布。⁸⁹Zr-DFO-J591 是靶向表达前列腺特异性膜抗原(PSMA)的放射性探针。前期的动物实验表明:⁸⁹Zr-DFO-J591 对肿瘤的靶向性非常好^[43],肿瘤摄取也很高,肿瘤与肌肉的比值大于 20。后期的临床实验对 10 个前列腺癌患者进行⁸⁹Zr-DFO-J591 PET 显像^[44],对 8 个病人的 12 个病灶进行了活组织切片检查,⁸⁹Zr-DFO-J591 能诊断出其中 11 个病灶。另外,Ulmert 小组^[45]发展了一种靶向游离前列腺特异性抗原(fPSA)的⁸⁹Zr-5A10 示踪剂,用于跟踪前列腺肿瘤内男性激素水平的变化,这种无损的监测 PSA 水平和变化在临床中有着重要意义。

(2) ⁸⁹Zr标记的新型分子探针

Affibody 分子被称为“人工抗体”,因为其与单抗性质类似,但具有相对分子质量小、选择性和亲和力高、结构稳定等优点而受到关注。Garousi 等^[46]研究了⁸⁹Zr标记的 affibody 分子 ZEGFR:2377 的靶向性(靶向 EGFR 受体),并与常用的靶向 EGFR 受体的单抗 cetuximab 进行比较。结果表明:24 h 后,⁸⁹Zr-DFO-ZEGFR:2377 和⁸⁹Zr-DFO-cetuximab 在肿瘤中的放射性摄取值相当((2.6±0.4)% ID/g),但⁸⁹Zr-DFO-ZEGFR:2377 的靶与非靶的摄取比值大于⁸⁹Zr-DFO-cetux-

imab。同时, ^{89}Zr -DFO-ZEGFR:2377 在组织中(除了肾)的清除速度也快于 ^{89}Zr -DFO-cetuximab。DF-BZ-JRF/ $\text{A}\beta\text{N}/25$ 是靶向抗 $\text{A}\beta$ (amyloid- β)的单克隆抗体($\text{A}\beta$ 在阿尔茨海默病(AD)患者脑中表达)。

Fissers 等^[47]用 ^{89}Zr 标记 DF-BZ-JRF/ $\text{A}\beta\text{N}/25$,标记率约 50%,通过结合试验证明了 ^{89}Zr -DF-BZ-JRF/ $\text{A}\beta\text{N}/25$ 与纳摩尔级别 $\text{A}\beta$ 的特异结合力,生物分布研究表明: ^{89}Zr -DF-BZ-JRF/ $\text{A}\beta\text{N}/25$ 能适度穿透血脑屏障,在其他器官中无明显浓集。ACKR3 受体过度表达于各种癌症,它在调节肿瘤微环境及肿瘤生长中发挥着积极作用,但目前还没有无损探测 ACKR3 表达的方法。Behnam 等^[48]设计合成了一种新的分子探针 ^{89}Zr 标记的 ACKR3-mAb,可以成功探测 ACKR3 在人类乳腺癌、肺癌及食管鳞状细胞癌中的表达。

(3) ^{89}Zr 作为细胞迁移(cell trafficking)探针
细胞在体内的迁移时间较长,此前一直采用 ^{111}In -oxinate₃ 作为示踪剂。Charoenphun 等^[49]用 ^{89}Zr -oxinate₄ 标记小鼠骨髓瘤细胞,与 ^{111}In -oxinate₃ 比较两者作为细胞迁移(cell trafficking)探针的优劣。结果表明, ^{89}Zr 标记细胞的标记率和 ^{111}In 类似,但 ^{89}Zr 在细胞中的滞留时间长于 ^{111}In ,注射 7 d 后仍有 92%的 ^{89}Zr 标记在细胞上。无创定量的监测 T 细胞等免疫细胞是肿瘤免疫治疗的关键,Tavaré 等^[50]利用 ^{89}Zr 标记的抗体(^{89}Zr -malDFO-169 CDB)对细胞毒性(CD8^+)T 细胞进行 PET 示踪,实验证明 ^{89}Zr -malDFO-169 CDB 能够指示肿瘤中 CD8 表达的变化。

(4) ^{89}Zr 作为诊疗配对核素
 ^{89}Zr -immuno-PET 能够无损准确地探测肿瘤病灶,帮助放射性免疫治疗(radioimmunotherapy, RIT)准确评估给药剂量以及选择合适进行 RIT 治疗的病人,但其前提是 immuno-PET 中使用的药物必需和 RIT 中使用的药物具有相似的生物分布。

Perk 等^[51]研究了 ^{89}Zr -cetuximab 作为 immuno-PET 示踪剂,评估其与 RIT 药物 ^{88}Y -cetuximab(代替 ^{90}Y -cetuximab)和 ^{177}Lu -cetuximab 的生物分布情况。结果表明, ^{89}Zr -cetuximab 在大腿骨和胸骨的摄取比 ^{88}Y -cetuximab 和 ^{177}Lu -cetuximab 的值高 2.5 倍,而其他组织器官的生物分布类似。

Verel 等^[52]也对比了 ^{89}Zr 和 ^{88}Y 标记的抗体

在体内分布情况,结果表明: ^{89}Zr -N-sucDf-U36 和 ^{88}Y -p-SCN-Bz-DOTA-U36 的生物分布结果也相似,但 72 h 和 144 h 后,也显示出 ^{89}Zr -N-sucDf-U36 在大腿骨和胸骨的摄取高。

^{89}Zr 标记的 ibritumomab tiuxetan 用于预测和监控 ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan(Zevalin)在 B-细胞非霍奇金淋巴瘤患者体内的生物分布^[53],结果显示: ^{89}Zr -和 ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan 有着非常类似的生物分布,除了 ^{89}Zr -ibritumomab tiuxetan 在肝脏和骨骼摄取量略多于 ^{90}Y -ibritumomab tiuxetan。

Muyllé 等^[54]考察了 ^{89}Zr -rituximab 作为 ^{90}Y -rituximab 放射免疫治疗的示踪剂,结果表明:提前注射 rituximab 将影响 ^{89}Zr -rituximab 的靶向性,也意味着患者之前使用过含 rituximab 的治疗药物时,需重新审视和评估 ^{90}Y -rituximab 的放射免疫治疗。

(5) ^{89}Zr 与其他核素比较

目前研究较多的长半衰期的核素有 ^{111}In (2.8 d)和 ^{124}I (4.18 d)。与 ^{89}Zr 相比, ^{111}In -SPECT 显像对比于 ^{89}Zr -PET 显像分辨率低;而 ^{124}I 核素相当昂贵,其正电子能量比 ^{89}Zr 高很多,导致 ^{124}I -PET 分辨率相对低,并且 ^{124}I 于肿瘤细胞中内化后会释放出来,而 ^{89}Zr 则会滞留于肿瘤细胞内从而有利于提高靶与非靶的比值。但是,具体针对不同抗体采用何种核素还是需要通过体内分布实验进行比较^[55]。

Burvenich 等^[56]用 ^{111}In 、 ^{125}I 、 ^{89}Zr 分别标记抗体 DS-8895a,用 SPECT 和 PET 方法评估小鼠乳腺癌肿瘤模型中 EphA2 的表达。结果表明: ^{111}In -CHX-A"-DTPA-DS-8895a 和 ^{89}Zr -Df-Bz-NCS-DS-8895a 在表达 EphA2 的乳腺癌模型中的摄取情况类似,但随着时间的增长, ^{89}Zr -Df-Bz-NCS-DS-8895a 在肿瘤中的摄取量增多。而 ^{125}I -DS-8895a 在肿瘤中的摄取比较低,可能由于其在体内出现脱碘的情况,也可能是 ^{125}I 不是内化核素,进入肿瘤细胞后又游离出来,造成肿瘤中摄取不高。

Knowles 等^[57]利用微型抗体(minibodies) A11 作为靶向 PSCA 的生物活性分子,分别用 ^{124}I 和 ^{89}Zr 进行标记。通过体内分布实验表明, ^{89}Zr -A11 在表达 PSCA 的肿瘤中的放射性摄取为 $(9.33 \pm 0.87)\% \text{ID/g}$,高于 ^{124}I 的肿瘤摄取值 $((3.63 \pm 0.59)\% \text{ID/g})$ 。但是, ^{124}I 的成像分辨率高,因为 ^{124}I 在非靶组织的摄取低,从而靶与非

靶的比值高。

4 存在问题与对策

正电子核素⁸⁹Zr在PET显像中的发展十分迅速,特别是作为抗体药物的标记核素具有巨大的优势,从目前优异的实验结果可以预测⁸⁹Zr在PET显像中还有相当大的应用前景。近年来,⁸⁹Zr药物的临床试验项目也逐年增多,根据www.clinicaltrials.gov的数据,目前正在进行的⁸⁹Zr药物临床试验总共有41例。为了进一步拓展⁸⁹Zr的应用,还需完善以下四个方面的探索。

目前尚无优于DFO的⁸⁹Zr螯合剂,尽管将⁸⁹Zr应用于临床时发现人体内脱⁸⁹Zr离子的现象不显著,而DFO在小鼠体内仍存在脱⁸⁹Zr离子的现象。DFO与⁸⁹Zr离子的配位化学研究尚不充分,目前仍无晶体结构数据和溶液化学性质。因此,人们仍需探索与⁸⁹Zr离子稳定配位的配体的合成和评价,从而实现标记反应中快速络合动力学和热力学稳定性之间的平衡,减少体内铅离子的解离。设计⁸⁹Zr离子螯合剂时主要需考虑如下因素:(1)需要8个氧原子参与⁸⁹Zr离子配位,一般可以在羟胺酮、邻苯二酚、羟基吡啶酮等结构中选择;(2)配体需一定柔性,使得8个氧原子能够与⁸⁹Zr离子更紧密地结合;(3)改变氧原子周围的电子结构,以增加氧原子的给电子能力,更大程度地使得氧原子与⁸⁹Zr离子之间具有“共价键”性质;(4)相比于链状的结构,环状的结构与⁸⁹Zr离子的配位稳定性更高。

早期DFO和抗体键连的方法一般都是采用N-suc-DFO TFP的方法,但是步骤多并且复杂,其中脱去铁离子的反应必需在pH=4.3~4.5下进行,而这个pH值可能对单抗有害。新的键连方法中应用最广泛的是DFO-Bz-NCS方法,该法起始原料为商品化的SCN-Bz-NCS,反应步骤少,但得到的前体DFO-Bz-NCS水溶性差,与单抗键连时可能键连多个DFO而影响单抗的免疫活性。随着⁸⁹Zr-PET的广泛应用,仍然需要发展温和、模块化、专一性的DFO和抗体偶联的策略,如采用点击化学的方法进行模块化反应等。

⁸⁹Zr是长半衰期的核素,主要用于示踪具有较长生物代谢的分子。目前以标记抗体为主,近年来又发展了一些⁸⁹Zr标记的新型人工抗体(minibody, affibody等),其他⁸⁹Zr标记的靶向物质还比较少,因此发展其他适合Zr标记、药代动

力学合适的靶向物质以拓宽⁸⁹Zr的应用领域很有必要,特别是⁸⁹Zr-纳米领域的应用值得关注。临床上采用的纳米药物(如doxil、abraxane)在体内具有较长的生物代谢,目前仍无有效且无损实时的探测手段表征纳米药物在肿瘤中的浓集量。最近,Pérez-Medina等^[58]将⁸⁹Zr标记的脂质体(⁸⁹Zr-Nrep)用于探测纳米药物doxil在肿瘤中的摄取,结果表明⁸⁹Zr-Nrep和doxil在肿瘤中的摄取量成线性关系。

⁸⁹Zr剂量是临床应用中需注意的问题。⁸⁹Zr衰变时只有23%通过正电子发射,因此获得优质的PET显像效果需要的⁸⁹Zr剂量比较高。早期临床上使用的⁸⁹Zr平均活度为74 MBq(⁸⁹Zr剂量当量约为40 mSv),至2010年,随着新一代的PET/CT的研制,使用的剂量已降低一半,为37 MBq(⁸⁹Zr剂量当量约20 mSv)^[42]。太高的剂量可能限制⁸⁹Zr-PET的应用,尽管一部分医生认为为了得到更为精确的诊断结果而摄取较大的剂量可以接受。

参考文献:

- [1] Blower P J. A nuclear chocolate box: the periodic table of nuclear medicine[J]. Dalton Trans, 2015, 44(11): 4819-4844.
- [2] Ramogida C F, Orvig C. Tumour targeting with radiometals for diagnosis and therapy[J]. Chem Commun, 2013, 49(42): 4720-4739.
- [3] Wadas T J, Wong E H, Weisman G R, et al. Coordinating radiometals of copper, gallium, indium, yttrium, and zirconium for PET and SPECT imaging of disease[J]. Chem Rev, 2010, 110(5): 2858-2902.
- [4] Vugts D J, van Dongen G A. ⁸⁹Zr-labeled compounds for PET imaging guided personalized therapy[J]. Drug Discov Today Technol, 2011, 8(2-4): e53-e61.
- [5] van Dongen G M S, Huisman M C, Boellaard R, et al. ⁸⁹Zr-immuno-PET for imaging of long circulating drugs and disease targets: why, how and when to be applied[J]. J Nucl Med Mol Imaging, 2015, 59(1): 18-38.
- [6] Deri M, Zeglis B M, Francesconi L C, et al. PET imaging with ⁸⁹Zr: from radiochemistry to the clinic[J]. Nucl Med Biol, 2013, 40(1): 3-14.
- [7] Singhal A, Toth L M, Lin J S, et al. Zirconium(IV) tetramer/octamer hydrolysis equilibrium in aqueous

- hydrochloric acid solution[J]. *J Am Chem Soc*, 1996, 118(46): 11529-11534.
- [8] Meijs W E, Herscheid J D, Haisma H J, et al. Evaluation of desferal as a bifunctional chelating agent for labeling antibodies with Zr-89[J]. *Int J Radiat Appl*, 1992, 43(12): 1443-1447.
- [9] Verel I, Visser G W M, Boellaard R, et al. ⁸⁹Zr immuno-PET: comprehensive procedures for the production of ⁸⁹Zr-labeled monoclonal antibodies[J]. *J Nucl Med*, 2003, 44: 1271-1281.
- [10] Patra M, Bauman A, Mari C, et al. An octadentate bifunctional chelating agent for the development of stable zirconium-89 based molecular imaging probes[J]. *Chem Commun*, 2014, 50(78): 11523-11525.
- [11] Zhai C, Summer D, Rangger C, et al. Novel bifunctional cyclic chelator for (⁸⁹)Zr labeling-radiolabeling and targeting properties of RGD conjugates[J]. *Mol Pharm*, 2015, 12(6): 2142-2150.
- [12] Guérard F, Lee Y S, Brechbiel M W. Rational design, synthesis and evaluation of tetrahydroxamic acid chelators for stable complexation of zirconium (IV) [J]. *Chemistry*, 2014, 20(19): 5584-5591.
- [13] Price E W, Orvig C. Matching chelators to radio-metals for radiopharmaceuticals[J]. *Chem Soc Rev*, 2014, 43(1): 260-290.
- [14] Deri M, Ponnala S, Kozlowski P, et al. P-SCN-Bn-HOPO: a superior bifunctional chelator for ⁸⁹Zr immunoPET[J]. *Bioconjug Chem*, 2015, 26 (12): 2579-2591.
- [15] Pandya D N, Pailloux S, Tatum D, et al. Di-macrocylic terephthalamide ligands as chelators for the PET radionuclide zirconium-89[J]. *Chem Commun*, 2015, 51(12): 2301-2303.
- [16] Tinianow J N, Pandya D N, Pailloux S L, et al. Evaluation of a 3-hydroxypyridin-2-one (2, 3-HOPO) based macrocyclic chelator for ⁸⁹Zr⁴⁺ and its use for immunoPET imaging of HER2 positive model of ovarian carcinoma in mice[J]. *Theranostics*, 2016, 6(4): 511-521.
- [17] Ma M T, Meszaros L K, Paterson B M, et al. Tripodal tris(hydroxypyridinone) ligands for immuno-conjugate PET imaging with (⁸⁹)Zr(4+): comparison with desferrioxamine-B [J]. *Dalton Trans*, 2014, 44: 4884-4900.
- [18] Price E W, Zeglis B M, Lewis J S, et al. H6phospa-trastuzumab: bifunctional methylene-phosphonate-based chelator with ⁸⁹Zr, ¹¹¹In and ¹⁷⁷Lu[J]. *Dalton Trans*, 2014, 43(1): 119-131.
- [19] Link J M, Krohn K A, Eary J F, et al. ⁸⁹Zr for antibody labelling and positron tomography[J]. *J Labeled Compd Radiopharm*, 1986, 23 (10-12): 1297-1298.
- [20] Dejesus O T, Nickles R J. Production and purification of ⁸⁹Zr, a potential PET antibody label[J]. *Int J Rad Appl Instrum A*, 1990, 41(8): 789-790.
- [21] Sharma H L. Production of no-carrier-added zirconium-89 for positron emission tomography[J]. *Int J Rad Appl Instrum A*, 1991, 42(2): 199-201.
- [22] Meijs W E, Herscheid J D M, Haisma H J, et al. Production of highly pure no-carrier added ⁸⁹Zr for the labelling of antibodies with a positron emitter[J]. *Appl Radiat Isot*, 1994, 45(12): 1143-1147.
- [23] Meijs W E, Haisma H J, Klok R P, et al. Zirconium-labeled monoclonal antibodies and their distribution in tumor-bearing nude mice[J]. *J Nucl Med*, 1997, 38(1): 112-118.
- [24] Perk L R, Vosjan M J W D, Visser G W M, et al. P-isothiocyanatobenzyl-desferrioxamine: a new bifunctional chelate for facile radiolabeling of monoclonal antibodies with zirconium-89 for immuno-PET imaging[J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2010, 37(2): 250-259.
- [25] Tinianow J N, Gill H S, Ogasawara A, et al. Site-specifically ⁸⁹Zr-labeled monoclonal antibodies for immunoPET[J]. *Nucl Med Biol*, 2010, 37 (3): 289-297.
- [26] Zeglis B M, Mohindra P, Weissmann G I, et al. Modular strategy for the construction of radiometalated antibodies for positron emission tomography based on inverse electron demand diels-alder click chemistry[J]. *Bioconjug Chem*, 2011, 22 (10): 2048-2059.
- [27] Abou D S, Ku T, Smith-Jones P M. *In vivo* biodistribution and accumulation of ⁸⁹Zr in mice[J]. *Nucl Med Biol*, 2011, 38(5): 675-681.
- [28] Jacobson O, Zhu L, Niu G, et al. MicroPET imaging of integrin $\alpha_v\beta_3$ expressing tumors using ⁸⁹Zr-RGD peptides[J]. *Mol Imaging Biol*, 2011, 13(6): 1224-1233.
- [29] Heneweer C, Holland J P, Divilov V, et al. Magnitude of enhanced permeability and retention effect in tumors with different phenotypes: ⁸⁹Zr-albumin as a model system[J]. *J Nucl Med*, 2011, 52(4): 625-633.
- [30] Evans M J, Holland J P, Rice S L, et al. Imaging tumor burden in the brain with ⁸⁹Zr-transferrin[J].

- J Nucl Med, 2013, 54(1): 90-95.
- [31] Doran M G, Carnazza K E, Steckler J M, et al. Applying ⁸⁹Zr-transferrin to study the pharmacology of inhibitors to BET bromodomain containing proteins[J]. Mol Pharm, 2016, 13(2): 683-688.
- [32] Avila-Rodriguez M, Selwyn R G, Hampel J, et al. Positron-emitting resin microspheres as surrogates of ⁹⁰Y SIR-spheres: a radiolabeling and stability study[J]. Nucl Med Biol, 2007, 34(5): 585-590.
- [33] Heuveling D, Visser G W M, Baclayon M, et al. ⁸⁹Zr-nanocolloidal albumin-based PET/CT lymphoscintigraphy for sentinel node detection in head and neck cancer: preclinical results[J]. J Nucl Med, 2011, 52(10): 1580-1584.
- [34] Keliher E J, Yoo J, Nahrendorf M, et al. ⁸⁹Zr-labeled dextran nanoparticles allow *in vivo* macrophage imaging[J]. Bioconjug Chem, 2011, 22(12): 2383-2389.
- [35] Abou D S, Thorek D L J, Ramos N N, et al. ⁸⁹Zr-labeled paramagnetic octreotide-liposomes for PET-MR imaging of cancer[J]. Pharm Res, 2013, 30(3): 878-888.
- [36] Miller L, Winter G, Baur B, et al. Synthesis, characterization, and biodistribution of multiple ⁸⁹Zr-labeled pore-expanded mesoporous silica nanoparticles for PET[J]. Nanoscale, 2014, 6(9): 4928-4935.
- [37] Aerts H J W L, Dubois L, Perk L, et al. Disparity between *in vivo* EGFR expression and ⁸⁹Zr-labeled cetuximab uptake assessed with PET[J]. J Nucl Med, 2009, 50(1): 123-131.
- [38] Oude Munnink T H, de Korte M, Nagengast W B, et al. ⁸⁹Zr-trastuzumab PET visualises HER2 downregulation by the HSP90 inhibitor NVP-AUY922 in a human tumour xenograft[J]. Eur J Cancer, 2010, 46(3): 678-684.
- [39] Oosting S F, Brouwers H, van Es S C, et al. ⁸⁹Zr-bevacizumab PET visualizes heterogeneous tracer accumulation in tumor lesions of renal cell carcinoma patients and differential effects of antiangiogenic treatment[J]. J Nucl Med, 2015, 56(1): 63-69.
- [40] Dijkers E C, Oude Munnink T H, Kosterink J G, et al. Biodistribution of ⁸⁹Zr-trastuzumab and PET imaging of HER2-positive lesions in patients with metastatic breast cancer[J]. Clin Pharmacol Ther, 2010, 87(5): 586-592.
- [41] Börjesson P K E, Jauw Y W S, Boellaard R, et al. Performance of immuno-positron emission tomography with zirconium-89-labeled chimeric monoclonal antibody U36 in the detection of lymph node metastases in head and neck cancer patients[J]. Clin Cancer Res, 2006, 12(7): 2133-2140.
- [42] Börjesson P K E, Jauw Y W S, de Bree R, et al. Radiation dosimetry of Zr-89-labeled chimeric monoclonal antibody U36 as used for immuno-PET in head and neck cancer patients[J]. J Nucl Med, 2009, 50(11): 1828-1836.
- [43] Holland J P, Divilov V, Bander N H, et al. ⁸⁹Zr-DFO-J591 for immunoPET of prostate-specific membrane antigen expression *in vivo* [J]. J Nucl Med, 2010, 51(8): 1293-1300.
- [44] Pandit-Taskar N, O'Donoghue J, Beylgeril V, et al. ⁸⁹Zr-huJ591 immuno-PET imaging in patients with advanced metastatic prostate cancer[J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2014, 41(11): 2093-2105.
- [45] Ulmert D, Evans M J, Holland J P, et al. Imaging androgen receptor signaling with a radiotracer targeting free prostate-specific antigen[J]. Cancer Discov, 2012, 2(4): 320-327.
- [46] Garousi J, Andersson K G, Mitran B, et al. PET imaging of epidermal growth factor receptor expression in tumours using ⁸⁹Zr-labelled ZEGFR: 2377 affibody molecules[J]. Int J Oncol, 2016, 48(4): 1325-1332.
- [47] Fissers J, Waldron A M, de Vijlder T, et al. Synthesis and evaluation of a Zr-89-labeled monoclonal antibody for immuno-PET imaging of amyloid- β deposition in the brain[J]. Mol Imaging Biol, 2016, 8: 598.
- [48] Behnam A B, Lisok A, Chatterjee S, et al. Targeted imaging of the atypical chemokine receptor 3 (ACKR3/CXCR7) in human cancer xenografts[J]. J Nucl Med, 2016, 57(6): 981-988.
- [49] Charoenphun P, Meszaros L K, Chuamsaamarkkee K, et al. [⁸⁹Zr]Oxinate4 for long-term *in vivo* cell tracking by positron emission tomography[J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2014, 42(2): 278-287.
- [50] Tavaré R, Escuin-Ordinas H, Mok S, et al. An effective immuno-PET imaging method to monitor CD8-dependent responses to immunotherapy[J]. Cancer Res, 2016, 76(1): 73-82.
- [51] Perk L R, Visser G W M, Vosjan M J W D, et al. (89)Zr as a PET surrogate radioisotope for scouting biodistribution of the therapeutic radiometals (90)Y and (177)Lu in tumor-bearing nude mice after coupling to the internalizing antibody cetuximab[J]. J

- Nucl Med, 2005, 46(11): 1898-1906.
- [52] Verel I, Visser G W M, Boellaard R, et al. Quantitative Zr-89 immuno-PET for *in vivo* scouting of Y-90-labeled monoclonal antibodies in xenograft-bearing nude mice[J]. J Nucl Med, 2003, 44(10): 1663-1670.
- [53] Perk L R, Visser O J, Stigter-Van Walsum M, et al. Preparation and evaluation of ⁸⁹Zr-Zevalin for monitoring of ⁹⁰Y-Zevalin biodistribution with positron emission tomography[J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2006, 33(11): 1337-1345.
- [54] Muylle K, Flamen P, Vugts D J, et al. Tumour targeting and radiation dose of radioimmunotherapy with ⁹⁰Y-rituximab in CD20+ B-cell lymphoma as predicted by ⁸⁹Zr-rituximab immuno-PET: impact of preloading with unlabelled rituximab[J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2015, 42(8): 1304-1314.
- [55] Nagengast W B, de Vries E G, Hospers G, et al. *In vivo* VEGF imaging with radiolabeled bevacizumab in a human ovarian tumor xenograft[J]. J Nucl Med, 2007, 48(8): 1313-1319.
- [56] Burvenich I J G, Parakh S, Gan H K, et al. Molecular imaging and quantitation of EphA2 expression in xenograft models with ⁸⁹Zr-DS-8895a[J]. J Nucl Med, 2016, 57(6): 978-980.
- [57] Knowles S M, Zettlitz K, Tavaré R, et al. Quantitative immunoPET of prostate cancer xenografts with ⁸⁹Zr- and ¹²⁴I-labeled anti-PSCA A11 minibody[J]. J Nucl Med, 2014, 55(3): 452-459.
- [58] Pérez-Medina C, Abdel-Atti D, Tang J, et al. Nanoreporter PET predicts the efficacy of anti-cancer nanotherapy[J]. Nat Commun, 2016, 7: 11838.