

前列腺癌分子探针 ^{68}Ga -DOTA-ANCP-PSMA 的初步评价

温 凯^{1,2}, 胡 骥^{1,2}, 邓雪松², 赵海龙², 罗田伟²,
陈孟毅², 许 林², 秦翔宇², 于菁菁², 崔海平^{1,2,*}

1. 中国原子能科学研究院, 北京 102413; 2. 原子高科股份有限公司, 北京 102413

摘要: 前列腺癌是男性最常见的恶性肿瘤, 前列腺癌总体的病死率达到 11%。前列腺特异性膜抗原(prostate specific membrane antigen, PSMA)是前列腺癌诊断的理想靶点, ^{68}Ga 标记的 PSMA 小分子抑制剂可用于前列腺癌诊断、分期和疗效评价, ^{68}Ga -PSMA 小分子抑制剂已成为国际研究的热点。为研发一种新型的具有较好体内性质的 ^{68}Ga 标记的 PSMA 小分子化合物, 以谷氨酸-脯-赖氨酸为核心、1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四羧酸(DOTA)为螯合剂, 设计了新型的 PSMA 小分子抑制剂 ^{68}Ga -DOTA-ANCP-PSMA, 前体化合物采用固相合成法合成, 再使用 ^{68}Ga 直接标记, 然后测定了标记物的体内外性质。在优化的标记条件下, 标记率可达 95%以上。纯化后的标记物在磷酸缓冲液体系下和血清蛋白体系下 2 h 的体外稳定性较好, 脂水分配系数为-1.42。生物分布研究显示: ^{68}Ga -DOTA-ANCP-PSMA 在血液清除较快, 主要通过肾脏代谢, 肝脏的放射性摄取较低, 在心脏、肺、脾等非靶器官中的放射性摄取均较低, 由于标记物主要通过尿液排泄, 膀胱显示出较高的摄取值, 在肿瘤部位也有明显摄取。在正电子发射断层扫描(PET)-计算机断层扫描(CT)的研究中, ^{68}Ga -DOTA-ANCP-PSMA 分子探针在肿瘤位置有清晰的影像, 显示出较好的灵敏度和特异性。该化合物体内外性质较好, 有较好的研究和开发前景。

关键词: PET-CT; 前列腺癌; PSMA; DOTA; ^{68}Ga

中图分类号: TL923; R817.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-9950(2020)04-0292-08

doi: 10.7538/hhx.2020.YX.2019029

Preliminary Evaluation of Prostate Cancer Molecular Probe ^{68}Ga -DOTA-ANCP-PSMA

WEN Kai^{1,2}, HU Ji^{1,2}, DENG Xue-song², ZHAO Hai-long², LUO Tian-wei²,
CHEN Meng-yi², XU Lin², QIN Xiang-yu², YU Jing-jing², CUI Hai-ping^{1,2,*}

1. China Institute of Atom Energy, P. O. Box 275(78), Beijing 102413, China;

2. HTA Co., Ltd., P. O. Box 275(78), Beijing 102413, China

Abstract: Prostate cancer is the most common malignant tumor in males with high mortality. The mortality rate is over 11%. Prostate specific membrane antigen(PSMA) is an ideal target for prostate cancer diagnosis. Using positron emitter ^{68}Ga labeled PSMA small mole-

收稿日期: 2019-03-12; **修订日期:** 2019-07-25

作者简介: 温 凯(1987—), 男, 山西榆次人, 博士研究生, 工程师, 放射性同位素技术专业, E-mail: wenkai@circ.com.cn

* **通信联系人:** 崔海平(1963—), 男, 山西侯马人, 博士生导师, 正高级工程师, 从事核技术应用研究, E-mail: cuihaiping@circ.com.cn

cule inhibitors for prostate cancer diagnosis, staging and efficacy evaluation has become a world-wide focus. In order to develop a new ⁶⁸Ga labeled PSMA probe with better properties both *in vitro* and *in vivo*, a novel PSMA small molecule inhibitor ⁶⁸Ga-DOTA-ANCP-PSMA was designed. The precursor compound was synthesized by peptide solid phase synthesis. ⁶⁸Ga was labeled to the PSMA probe directly. The labeled compound properties both *in vitro* and *in vivo* were measured. The purified labeled compound shows good stability *in vitro*. Radiochemical purity can be stable in PBS and BSA system for 2 hours. The octanol-water partition coefficient is -1.42. Biological distribution studies show fast blood clearance, low liver uptake, and renal metabolism. There are low uptake in non-target organs such as the heart, lung and spleen. Bladder shows a high uptake, because the labeled compound mainly excretes through urine. Tumor shows high uptake. In the PET-CT imaging study, ⁶⁸Ga-DOTA-ANCP-PSMA is clear imaging in tumor, also shows good sensitivity and specificity in PET-CT block study. This compound has good properties *in vitro* and *in vivo*. It may have good research and development prospect for prostate cancer diagnosis.

Key words: PET-CT; prostate cancer; PSMA; DOTA; ⁶⁸Ga

前列腺癌是最常见的恶性肿瘤之一,是男性癌症中发病率第二、死亡率第五的癌症^[1-3]。近年来国内前列腺癌发病率也呈显著升高趋势,2015年,前列腺癌新增患者6.03万人,因前列腺癌死亡2.66万人^[4]。前列腺特异性抗原(PSA)筛查可以为大部分患者提供早期诊断,但对于会出现高风险或转移灶的部分患者,导致无法给出准确的诊断^[5-6]。早期准确的诊断和分期对于选择有效的治疗至关重要。传统的成像方式如计算机断层扫描(CT)和核磁共振(MRI)存在一定的缺陷^[7],特别是在低前列腺特异抗原(PSA)水平下,漏诊和误诊率较高。使用正电子发射断层扫描(PET)对于诊断前列腺癌有非常好的前景,使用传统诊断试剂,如胆碱(¹¹C/¹⁸F-Choline)或氟脱氧葡萄糖(¹⁸F-FDG)进行正电子发射断层扫描对于中晚期前列腺癌的诊断有很好的效果,但对于早期前列腺癌及其转移性病灶的诊断仍存在一定的局限性。

前列腺特异性膜抗原(prostate specific membrane antigen,PSMA)是Ⅱ型跨膜糖蛋白,最早在人类前列腺癌细胞系LNCaP中发现^[8]。PSMA在前列腺癌细胞中显著升高,可以作为诊断和治疗的理想靶点。谷氨酸-脲-赖氨酸(Glu-Urea-Lys)是靶向PSMA的小分子抑制剂,尤其是含谷氨酸-脲-赖氨酸序列的小分子抑制剂,能高效、特异性地与PSMA结合。Glu-Urea-Lys有生物学活性稳定、体内循环半衰期短、组织渗透性好的特点,在前列腺癌分子影像学诊断方面具有更好的应用

价值^[9-10]。使用正电子核素⁶⁸Ga标记PSMA小分子抑制剂可以与前列腺癌细胞特异性结合,通过PET-CT显像对前列腺癌及其转移灶的诊断有重要意义,⁶⁸Ga-PSMA已成为国际研究的热点^[11-15]。

为了开发一种新型的具有较好体内、体外性质的⁶⁸Ga标记的PSMA小分子化合物,并适当提升标记物的亲脂性、延长肿瘤摄取时间^[16],选择1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四羧酸(DOTA)作为螯合剂。DOTA是⁶⁸Ga标记物应用最广泛的螯合剂,具有易于标记、稳定性好的特点。在已有的研究^[17]基础上,保持化合物核心结构不变,设计了以谷氨酸-脲-赖氨酸(Glu-Urea-Lys)为核心基团,以1-萘基丙氨酸、4-胺甲基环己甲酸、苯丙氨酸(Ala(Nap)-Cyh-Phe,以下简称ANCP)为侧链,以DOTA为螯合基团的新型PSMA小分子抑制剂DOTA-ANCP-PSMA,如图1所示。首先合成前体化合物,使用直接标记法进行⁶⁸Ga标记;对标记物的体内外性质开展评价,分别测定体外稳定性、脂水分配系数,开展正常小鼠和荷LNCaP肿瘤裸鼠的生物分布的实验,最后通过PET-CT显像测定其显像效果。

1 实验方法

1.1 材料和仪器

⁶⁸Ge-⁶⁸Ga发生器(740 MBq),德国ITM公司;盐酸、醋酸、醋酸钠,加拿大Alfa Aesar公司;4-羟乙基哌嗪乙磺酸(HEPES),纯度98%,美国Sigma Aldrich公司;无水乙醇,分析纯,国药化学

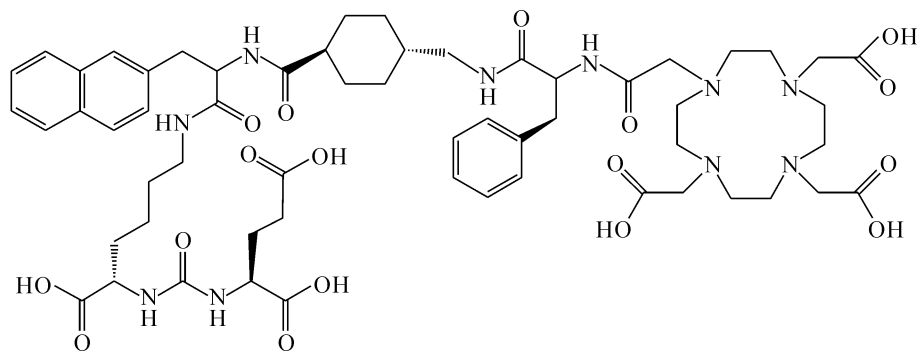


图1 PSMA-ANCP-DOTA 的分子结构

Fig.1 Structure of PSMA-ANCP-DOTA

试剂有限公司;乙醇,分析纯,纯度 95%,国药化学试剂有限公司;乙腈,色谱纯,德国 Merck;超纯水,德国 Millipore 纯水仪制造;Sep-Pak C-18 柱,美国 Waters 公司;异氟烷,纯度 99.998%,深圳市瑞沃德生命科技有限公司。

CRC-55TW 活度计,美国 Capintec 公司;2470 全自动伽马计数器,美国 Perkin Elmer 公司;VORTEX3 螺旋振荡器,德国 IKA 公司;JHX-100 恒温加热器,上海净信实业发展有限公司;雷磁 PHS-3E pH 计,上海仪电科学仪器股份有限公司;ML303 电子天平,精度 0.001 g,德国 Mettler Toledo 公司;LC-20AT 高效液相色谱、BPD-20A HPLC 紫外检测器、CTO-10AS HPLC 柱温箱,日本岛津公司;Bioscan 色谱仪伽马计数器,德国 Eckert&Ziegler 公司;Iertsil ODS-SP C18 RP-HPLC 色谱柱,φ4.6 mm×250 mm,粒径 5 μm,日本岛津公司;Avance 400M 核磁共振仪,瑞士 Bruker 公司;3200Q TRAP 质谱仪,美国 ABSCIEX 公司;Iris PET-CT,法国 Inviscan 公司;动物麻醉机,法国 Minerve 公司。

昆明小鼠,6~8 周,23~25 g。裸鼠,SPF 级、4~6 周龄、体重(22±2) g,雄性。

肿瘤接种方法:将对数生长期的源前列腺癌细胞系用胰酶消化、离心、清洗 3 遍后,收集细胞,使用 1640 培养基重悬细胞,将细胞悬浊液浓度调

整为每毫升 5×10^6 个细胞。接种肿瘤细胞于裸鼠右侧腋窝皮下,每只接种 5×10^6 个细胞。正常条件饲养,待肿瘤直径达 1 cm 以上时处死,在无菌条件下剥离肿瘤,用生理盐水清洗数次,剔除坏死的组织,选择生长良好的肿瘤组织,切割成 3.4 mm 大小的肿瘤块,以特制的组织接种器将肿瘤组织移植到右侧腋窝皮下。肿瘤生长至直径 0.8~1.0 cm 时用于实验。

1.2 前体化合物的合成

前体化合物的合成按照已有的合成工艺路线^[17]开展,合成标记流程示于图 2。以 Fmoc-Lys(Dde)-Wang Resin(化合物 1)为起始原料,加入 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)浸泡,加入 3 倍体积的哌啶(Pip)质量分数为 20%的 DMF 溶液,用以脱除 Fmoc。抽干 20% Pip/DMF,DMF 洗涤 5 次。投入 N,N'-琥珀酰亚胺基碳酸酯(DSC)、N,N-二异丙基乙胺(DIPEA)和 4-二甲氨基吡啶(DMAP),反应 1 h。将 H-Glu(OtBu)-OtBu·HCl 加入至反应器中,加入适量 DMF,反应 1 h。用切割液 E 液(纯 TFA、茴香硫醚、水、苯酚、1,2-乙二硫醇)切割反应 1 h,使用茚三酮检测是否完全连接。加入 3 倍体积的 DMF 溶液(ω(水合肼)=2%),反应 30 min,脱去 1-(4,4-二甲基-2,6-二氧代环己基)乙基(Dde)保护基团,DMF 洗涤 5 次,获得化合物 2。

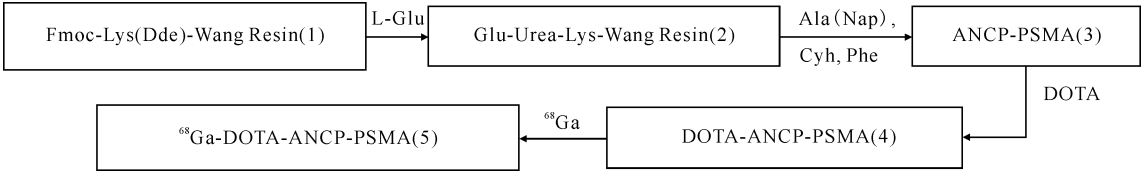


图2 ⁶⁸Ga-DOTA-ANCP-PSMA 的合成路线

Fig.2 Synthesis of ⁶⁸Ga-DOTA-ANCP-PSMA

依次连接 1-萘基丙氨酸、4-胺甲基环己甲酸、苯丙氨酸,加入氨基酸($n(\text{氨基酸}):n(\text{化合物 } 2)=3:1$)。加入侧链所需的氨基酸、化合物 2、苯并三氮唑- N,N,N',N' -四甲基异脲六氟磷酸盐(HBTU)、 N -甲基吗啡啉(NMM)。将合成产物转移至切割管中,加入 E 液,振荡切割反应 1 h,得到化合物 3。加入螯合剂 DOTA($n(\text{DOTA}):n(\text{化合物 } 3)=3:1$),加入适量 DMF,反应 1 h;将合成产物转移至切割管中,加入 E 液振荡切割反应 1 h。将切割液收集至离心管中,加入 6 倍体积的冰乙醚,低速离心机沉淀。将沉淀的粗品用乙醚洗三遍,通过半制备色谱柱纯化得到化合物 4,如图 2 所示。

1.3 ⁶⁸Ga 的放射性标记

取冷冻的 DOTA-ANCP-PSMA 制剂,用超纯水配制成 5 g/L 溶液。取 4 μL 溶液置于 EP 反应管中,向 DOTA-ANCP-PSMA 中加入 65 μL 1.0 mol/L 醋酸钠溶液。取 3.5 mL 0.05 mol/L HCl 溶液,淋洗⁶⁸Ge-⁶⁸Ga 发生器;取 1.0 mL 淋洗⁶⁸Ga 的 0.05 mol/L HCl 溶液(约 37~185 MBq),加入反应管,并置于 95 $^{\circ}\text{C}$ 的恒温加热器中,200 r/min 下反应 15 min。将反应溶液用 2 mL 注射器取出并用活度计测量总活度,注入到活化的 Sep-Pak C18 柱(预处理后)中,以 3.0 mL 纯水冲洗杂质;在 C18 柱上安装 0.22 μm 微孔滤膜,以 1.0 mL 95%乙醇溶液淋洗,收集到无菌真空瓶中。

1.4 体外稳定性研究

⁶⁸Ga-DOTA-ANCP-PSMA 的放射化学稳定性研究在磷酸缓冲液(PBS)和小牛血清(BSA)两种体系中开展。

PBS 法:置于 0.5 mL 的磷酸缓冲液($\text{pH}=7.4$)中,37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 30、60、90、120、150 min 后,采用 HPLC 测定其放射化学纯度,以测定其体外稳定性。

血清法:置于 0.5 mL 的小牛血清溶液($\text{pH}=7.0$)中,37 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 30、60、90、120、150 min 时,采用 HPLC 测定其放射化学纯度,以测定其体外稳定性。

1.5 脂水分配系数的测定

标记物通过 Sep-Pak C18 柱分离纯化得到,使用 95%乙醇洗脱。将获得的标记物通过干燥的氮气吹干,使用相同体积的(0.5 mL:0.5 mL)正辛醇和磷酸缓冲溶液($\text{pH}=7.4$)将得到的标记物溶于 1.5 mL EP 管(约 3.7 MBq)中。充分振

荡 5 min,在离心机中离心 5 min,转速为 2 000 r/min,静置分层。分别取有机相和水相各 100 μL 于 EP 管中,在井型 γ 探测器中分别测量其放射性计数,由有机相和水相的放射性计数率的比值来计算脂水分配系数 P :

$$P=\lg(N_o/N_w)$$

式中, N_o 和 N_w 分别为有机相和水相样品的放射性计数率, s^{-1} 。重复操作 3 次,取平均值为该标记物的脂水分配系数。

1.6 正常鼠的生物分布

取正常鼠 16 只,4 只一组,取 0.15 mL(1.11~1.85 MBq)的⁶⁸Ga-DOTA-ANCP-PSMA 通过尾静脉注射。在 15、30、60、90 min 时取血,断颈处死,处死后分别取心脏、肺、肝、脾、肾、胰腺、胃、小肠、大肠、膀胱、骨、肌肉等器官。将各器官进行称重,测放射性计数,计数通过标准液进行标准校正,经过计算得到每克组织的放射性摄取。

1.7 荷瘤裸鼠的生物分布

取荷瘤裸鼠 12 只,3 只一组,取 0.15 mL(1.11~1.85 MBq)的⁶⁸Ga-DOTA-ANCP-PSMA 通过尾静脉注射。在 5、15、30、60 min 时断颈处死,处死后分别取心脏、肺、肝、脾、肾、胰腺、胃、小肠、大肠、膀胱、骨、肌肉、肿瘤等器官,并进行取血。将各器官进行称重,测放射性计数,计数通过标准液进行标准校正,经过计算得到每克组织的放射性摄取。

1.8 PET-CT 显像

小型 PET 显像研究时,取 0.15 mL(1.85~3.7 MBq)的⁶⁸Ga-DOTA-ANCP-PSMA 通过尾静脉注射到荷瘤裸鼠中。异氟烷麻醉后的动物俯卧式固定在动物 PET 扫描仪上,从注射后 15 min 开始扫描 15 min 静态 PET-CT 影像;之后从注射后 60 min 开始扫描 15 min 静态 PET-CT 影像。

阻断显像实验,首先按照 2 mg/kg 给小鼠注射 2-(磷酰甲基)戊二酸(2-(phosphonomethyl)pentanedioic acid, 2-PMPA),每只约 50 μL 。2-PMPA 是高效选择性的谷氨酸羧肽酶 II 抑制剂,对 PSMA 具有较强的抑制作用。之后取 0.15 mL(1.85~3.7 MBq)⁶⁸Ga-DOTA-ANCP-PSMA,通过尾静脉注射到荷瘤裸鼠中。异氟烷麻醉后的动物俯卧式固定在小型 PET 扫描仪上,从注射后 15 min 开始 PET 扫描 15 min,CT 扫描 1 min;之后从注射后 60 min 开始扫描 15 min,CT 扫描 1 min,获得静态 PET-CT 影像。

2 结果与讨论

2.1 前体化合物的表征

化合物 DOTA-ANCP-PSMA 的质谱图示于图 3。由图 3 可知:593.4 处为 $(M-2H)/2$ 峰, 1 187.0 处为 $M-H$ 峰, 其实际分子量为 1 188.6, 根据质谱结构确证其结构正确。前体化合物 DOTA-ANCP-PSMA 的 HPLC 图谱示于图 4。由图 4 可知, DOTA-ANCP-PSMA 的纯度大于 95%。色谱的流动相:0.1% (体积分数, 下同) TFA 的水和含 0.1% TFA 的乙腈溶液, 0—13 min, 20%—55% 乙腈相; 13—15 min, 55% 乙腈相; 15—18 min, 55%—20% 乙腈相。

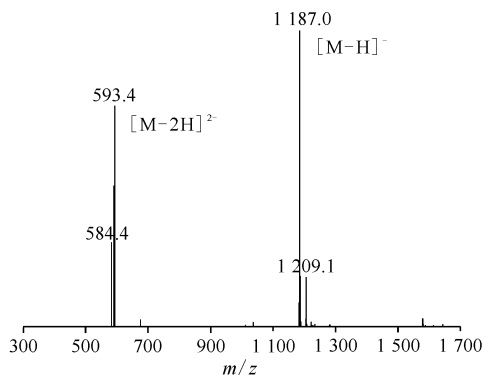


图 3 DOTA-ANCP-PSMA 的质谱图

Fig. 3 Mass spectrum of DOTA-ANCP-PSMA

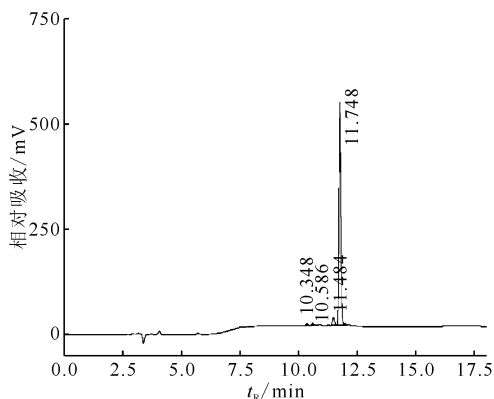


图 4 DOTA-ANCP-PSMA 的 HPLC 图谱

Fig. 4 HPLC chromatography of DOTA-ANCP-PSMA

2.2 ^{68}Ga 标记结果

纯化后 ^{68}Ga -DOTA-ANCP-PSMA 的 HPLC 图谱示于图 5。由图 5 可知, 纯化后的 ^{68}Ga -DOTA-ANCP-PSMA 在放射性检测器上显示的保留时间为 12.104 min。由图 4 可知, 前体化合

物的保留时间为 11.748 min。由于色谱仪的紫外检测器与放射性检测器为串联方式, 同一化合物的保留时间相差 0.3~0.4 min, 即放射性标记物的保留时间与前体化合物的保留时间一致。 ^{68}Ga -DOTA-ANCP-PSMA 的标记率大于 95%, 纯化后放射化学纯度可达 95.3%, 其中保留时间约 2.8 min 处为游离的 $^{68}\text{Ga}^{3+}$, 峰面积比为 1.4%, 约 11.8 min 处的杂质为前体化合物中的多肽杂质与 $^{68}\text{Ga}^{3+}$ 螯合形成的放射性杂质, 峰面积比为 3.3%。纯化后的产品收率为 75%~81% (衰变校正后)。

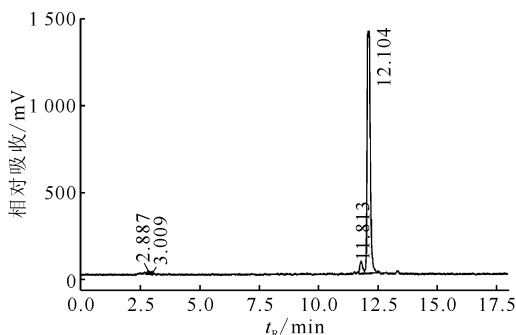


图 5 纯化后 ^{68}Ga -DOTA-ANCP-PSMA 的 HPLC 图谱

Fig. 5 HPLC chromatography of ^{68}Ga -DOTA-ANCP-PSMA

2.3 体外稳定性研究

对 PBS 和 BSA 体系中 ^{68}Ga -DOTA-ANCP-PSMA 的放射化学纯度进行了稳定性测试, 结果示于图 6。由图 6 可知: PBS 体系中, 从 30 min 开始至 150 min, ^{68}Ga -DOTA-ANCP-PSMA 的放射化学纯度略有降低, 但稳定性始终保持在 95% 以上, 说明其在 PBS 中的稳定性良好; 对于 BSA 体系, 从 30 min 开始, 放射化学纯度持续略微下降,

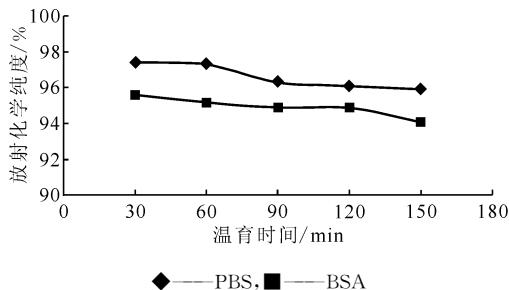


图 6 两个体系下 ^{68}Ga -DOTA-ANCP-PSMA 的放射化学稳定性

Fig. 6 Radiochemistry purity stability of ^{68}Ga -DOTA-ANCP-PSMA in two systems

至 90 min,已略低于 95%。这说明⁶⁸Ga-DOTA-ANCP-PSMA 在 BSA 中的稳定性比 PBS 条件下略差,也预示在生物体内的稳定性会有一定的降低,但在 90 min 维持在 95%左右,可以满足 PET 显像的需求。

2.4 脂水分配系数结果

⁶⁸Ga-DOTA-ANCP-PSMA 的脂水分配系数为 $-1.42\pm0.02(n=3)$ 。与结构类似的标记物⁶⁸Ga-NOTA-ANCP-PSMA 的脂水分配系数 $-1.36^{[17]}$ 相比,亲脂性相似。与⁶⁸Ga-PSMA-617 脂水分配系数 $-2.00^{[12]}$ 相比,具有更高的亲脂性,符合结构设计的预期。

2.5 正常鼠生物分布结果

⁶⁸Ga-DOTA-ANCP-PSMA 在正常小鼠的生物分布结果列入表 1。由表 1 可知:在 15 min 内,血液中的放射性摄取达到最高值,血液清除较快;标记物主要通过肾脏代谢,在 15、30 min 时肾脏的放射性摄取达到 $(135.54\pm8.36)\%ID/g$ 、 $(61.11\pm5.29)\%ID/g$;肝脏的放射性摄取较低,15、30 min 时的放射性摄取仅有 $(2.10\pm0.20)\%ID/g$ 、 $(1.67\pm0.72)\%ID/g$,肾脏摄取达到肝脏的 20~50 倍,该化合物在体内代谢速度较快;在心脏、肺、脾、胰腺、胃、小肠、大肠中放射性摄取均较低,低于血液摄取;肌肉、骨等非靶组织等的摄取也较

低,可以保证肿瘤显像时的低背景水平。膀胱中有一定的摄取,这是由于标记物主要通过尿液排泄,膀胱显示出较高的摄取值。肾脏的高摄取符合 PSMA 小分子抑制剂亲水性好的特点。

2.6 荷瘤裸鼠生物分布结果

⁶⁸Ga-DOTA-ANCP-PSMA 在荷瘤裸鼠体内分布结果列入表 2。由表 2 可知:⁶⁸Ga-DOTA-ANCP-PSMA 在血液中清除较快,主要通过肾脏代谢,肝脏的放射性摄取较低,在心脏、肺、脾、胰腺、胃、小肠、大肠中放射性摄取均较低,远低于血液中的值;肌肉、骨等的放射性摄取也较低,代谢的速度与特点基本与正常小鼠的生物分布结果一致。在肿瘤中有较高的摄取,在 5、15、30 min 的放射性摄取值分别可达 (11.51 ± 1.12) 、 (6.13 ± 0.75) 、 $(2.30\pm0.06)\%ID/g$,随着时间变化,肿瘤的放射性摄取有一定下降,在 5 min 左右摄取达到最高值,之后逐渐开始降低。这些生物分布的特点符合⁶⁸Ga 半衰期短的特点,有利于在短时间内完成 PET-CT 扫描。

表 1 ⁶⁸Ga-DOTA-ANCP-PSMA 的正常小鼠生物分布
Table 1 Biodistribution of ⁶⁸Ga-DOTA-ANCP-PSMA in normal mice

组织或器官	每克组织百分注射剂量率/(%ID·g ⁻¹)			
	15 min	30 min	60 min	90 min
血	9.41±0.57	5.17±1.13	1.67±0.17	1.51±0.08
心	3.83±0.21	2.25±0.57	0.72±0.17	0.56±0.08
肺	4.86±0.68	3.35±0.59	1.20±0.37	0.97±0.18
肝	2.10±0.20	1.67±0.72	0.49±0.16	0.37±0.09
脾	4.56±1.66	2.55±0.81	1.03±0.37	1.00±0.28
肾	135.54±8.36	61.11±5.29	24.99±2.79	20.74±1.93
胰	4.00±2.05	2.97±0.68	1.01±0.19	1.13±0.54
胃	2.28±0.65	2.98±1.52	2.24±0.46	1.09±0.64
小肠	1.89±0.24	1.68±0.39	1.13±0.33	0.66±0.43
大肠	2.01±0.53	2.01±0.28	0.65±0.08	0.49±0.21
膀胱	5.09±1.88	3.72±1.48	2.64±0.57	2.28±0.86
骨	3.34±0.58	2.49±0.68	1.20±0.70	1.08±0.52
肌肉	2.66±0.39	2.42±0.27	0.41±0.22	0.74±0.54

注:n=4

表 2 ⁶⁸Ga-DOTA-ANCP-PSMA 的荷瘤裸鼠生物分布
Table 2 Biodistribution of ⁶⁸Ga-DOTA-ANCP-PSMA in nude mice bearing LNCaP

组织或器官	每克组织百分注射剂量率/(%ID·g ⁻¹)			
	5 min	15 min	30 min	60 min
血	19.34±3.75	8.69±2.17	3.84±1.85	1.78±1.01
心	8.00±1.92	3.72±0.26	1.28±0.18	0.81±0.35
肺	15.76±3.41	8.42±1.41	3.79±0.78	1.98±0.71
肝	5.42±1.28	2.26±0.21	0.99±0.22	0.55±0.02
脾	11.27±1.99	5.32±0.11	2.09±0.16	1.13±0.30
肾	132.02±12.55	61.91±4.31	22.59±3.35	14.02±3.42
胰	5.33±1.77	2.37±0.93	0.98±0.11	0.69±0.31
胃	6.41±1.22	2.90±0.17	1.49±0.21	1.34±0.85
小肠	4.69±0.47	3.04±0.58	1.66±0.35	2.14±0.25
大肠	5.01±0.87	2.80±0.58	0.96±0.35	0.79±0.25
膀胱	17.68±4.08	15.79±0.80	6.57±1.60	5.64±1.49
骨	5.47±1.15	2.71±0.06	1.16±0.18	0.85±0.10
肌肉	3.46±0.66	1.80±0.26	0.69±0.14	0.35±0.01
肿瘤	11.51±1.12	6.13±0.75	2.30±0.06	0.65±0.04

注:n=3

⁶⁸Ga-DOTA-ANCP-PSMA 的靶/非靶比列入表 3。由表 3 可知:瘤/血比在 15 min 时达到最

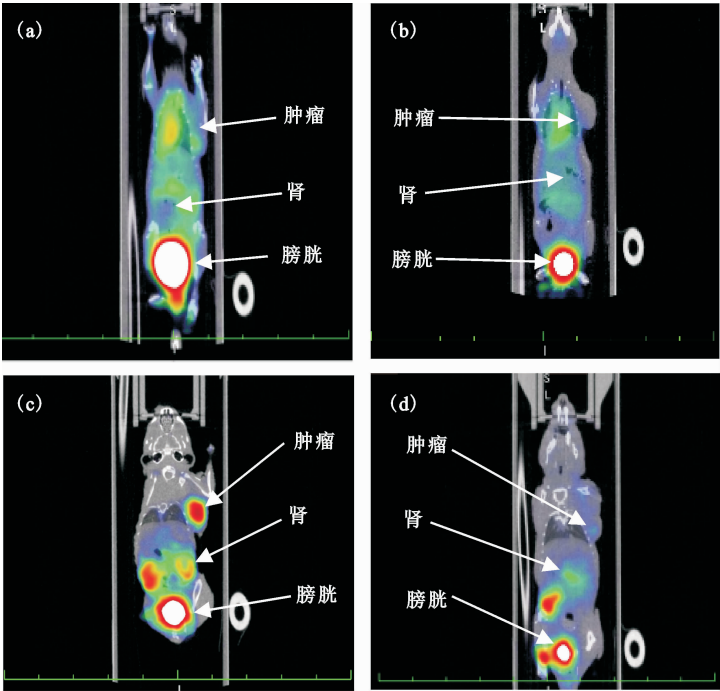
高,为 0.71;瘤/肌肉比和瘤/骨比均较高,15 min 时达到最高,分别达到 3.41 和 2.26,15 min 后随着时间延长而逐渐降低。

表 3 ^{68}Ga -DOTA-ANCP-PSMA 的靶/非靶比
Table 3 Target/non-target ratio
of ^{68}Ga -DOTA-ANCP-PSMA

靶/非靶	比值			
	5 min	15 min	30 min	60 min
瘤/血	0.60	0.71	0.60	0.37
瘤/肌肉	3.33	3.41	3.32	1.86
瘤/骨	2.10	2.26	1.99	0.76

2.7 PET-CT 显像结果

15 min 时, ^{68}Ga -DOTA-ANCP-PSMA 在荷 LNCaP 裸鼠上进行的 PET-CT 显像结果示于图 7。由图 7 可知:标记物在膀胱、肾脏有较高摄取,在肝、肺、脾脏等器官均有一定的摄取,与裸鼠的体内分布实验结果一致;在心脏位置摄取较高,这是由于该时相血药浓度较高,血液中的摄取导致在心脏位置的影像,显示高摄取;在肿瘤位置有明显的摄取。在阻断显像实验中,可以看到在肾脏、膀胱仍有较高摄取,在其它器官摄取较少,在肿瘤位置无摄取。该药物的特异性和灵敏度较好。



(a)、(c)——注射 1.85 MBq ^{68}Ga -DOTA-ANCP-PSMA; (b)、(d)——注射 1.85 MBq ^{68}Ga -DOTA-ANCP-PSMA 和抑制剂 0.05 mg 2-PMAP; (a)、(b)——注射 15 min 后显像; (c)、(d)——注射 60 min 后显像

图 7 ^{68}Ga -DOTA-ANCP-PSMA 在荷瘤裸鼠的 PET-CT 显像

Fig. 7 PET-CT imaging of ^{68}Ga -DOTA-ANCP-PSMA in nude mice bearing LNCaP after injection

60 min 的显像结果显示, ^{68}Ga -DOTA-ANCP-PSMA 在荷瘤裸鼠体内主要分布在肾脏和膀胱,与动物分布实验结果一致,该化合物主要通过肾脏排泄。在其它非靶器官摄取较低,在肿瘤部位有较高摄取,可以清晰看到肿瘤的位置。在阻断实验中,荷瘤裸鼠体内的肿瘤摄取较低,其它器官摄取与非阻断模型一致。在该时相下,由于非靶器官和组织摄取降低,肿瘤摄取明显,适合在此时相进行 PET-CT 的显像诊断,具有较好的灵敏度

和代谢周期。

3 小 结

^{68}Ga 标记的 ^{68}Ga -DOTA-ANCP-PSMA 具有标记速率快、标记率高的特点,20 min 可完成标记与纯化,放射化学纯度大于 95%。标记物稳定性好,在 2 h 内放射化学纯度保持在 95% 左右,并且有较好的亲水性。 ^{68}Ga -DOTA-ANCP-PSMA 主要通过肾脏排泄,其它非靶器官的放射性摄取

均较低,在肿瘤中有一定的摄取。在 PET-CT 的诊断研究中,显示出较好的灵敏度和特异性,肿瘤位置影像清晰,除了肾脏和膀胱外,其它器官和组织的放射性摄取均较低。⁶⁸Ga-DOTA-ANCP-PSMA 在注射 15 min 后肿瘤已有较高的放射性摄取,但由于非靶器官的放射性摄取和血液浓度较高,影响 PET-CT 图像效果,选择在注射 60 min 后进行显像,可以获得清晰的影像。⁶⁸Ga-DOTA-ANCP-PSMA 具有较好的体内外性质,有望成为新型的前列腺癌特异性靶向诊断试剂。

参考文献:

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68: 394-424.
- [2] Siegel R L, Miller K D, Jemal A. Cancer statistics, 2019[J]. CA Cancer J Clin, 2019, 69: 7-34.
- [3] Chen W, Zheng R, Baade P D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66: 115-132.
- [4] 韩苏军,张思维,陈万青,等. 中国前列腺癌发病现状和流行趋势分析[J]. 临床肿瘤学杂志, 2013, 18(4):330-334.
- [5] Bartsch G, Horninger W, Klocker H, et al. Prostate cancer mortality after introduction of prostate-specific antigen mass screening in the Federal State of Tyrol Austria[J]. Urology, 2001, 58: 417-424.
- [6] Tosoian J, Gorin M, Ross A, et al. Oligometastatic prostate cancer: definitions, clinical outcomes, and treatment considerations[J]. Nat Rev Urol, 2017, 14: 15-25.
- [7] Toner L, Papa N, Perera M, et al. Multiparametric magnetic resonance imaging for prostate cancer: a comparative study including radical prostatectomy specimens[J]. World J Urol, 2017, 35: 935-941.
- [8] 唐庆来,姚茂银. 前列腺特异性膜抗原在前列腺癌诊治中的研究进展[J]. 中华男科学杂志, 2008, 14(1):79-82.
- [9] Maresca P, Hillier M, Femia J, et al. A series of halogenated heterodimeric inhibitors of prostate specific membrane antigen(PSMA) as radiolabeled probes for targeting prostate cancer[J]. J Med Chem, 2009, 52(2): 347-357.
- [10] 胡四龙,许晓平,章英剑. 以核素标记前列腺特异性膜抗原小分子抑制剂为探针的前列腺癌分子影像研究进展[J]. 肿瘤影像学, 2015, 24(3):161-167.
- [11] Eder M, Schafer M, Bauder-Wust U, et al. ⁶⁸Ga-complex lipophilicity and the targeting property of a urea-based PSMA inhibitor for PET imaging[J]. Bioconj Chem, 2012, 23: 688-697.
- [12] Weineisen M, Simecek J, Schottelius M, et al. Synthesis and preclinical evaluation of DOTAGA conjugated PSMA ligands for functional imaging and endoradiotherapy of prostate cancer[J]. EJNMMI Res, 2014, 4: 63-78.
- [13] Benesová M, Schäfer M, Bauder-Wüst U, et al. Pre-clinical evaluation of a tailor-made DOTA-conjugated PSMA inhibitor with optimized linker moiety for imaging and endoradiotherapy of prostate cancer[J]. J Nucl Med, 2015, 56: 914-920.
- [14] Afshar-Oromieh A, Zechmann M, Malcher A, et al. Comparison of PET imaging with a Ga-68-labelled PSMA ligand and F-18-choline-based PET/CT for the diagnosis of recurrent prostate cancer[J]. Eur J Nucl Med Mol, 2014, 41(1): 11-20.
- [15] Demirkol O, Acar O, Ucar B, et al. Prostate specific membrane antigen-based imaging in prostate cancer: impact on clinical decision making process[J]. Prostate, 2015, 75(7): 748-757.
- [16] Wirtz M, Schmidt A, Schottelius M, et al. Synthesis and *in vitro* and *in vivo* evaluation of urea-based PSMA inhibitors with increased lipophilicity[J]. EJNMMI Res, 2018, 8: 84-95.
- [17] 温凯,胡骥,邓雪松,等. ⁶⁸Ga-NOTA-ANCP-PSMA 的制备与初步评价[J]. 核化学与放射化学, 2019, 41(6):585-592.