

多靶分子影像学及其研究进展

唐刚华

(中山大学附属第一医院核医学科 PET-CT 中心 广州 510080)

摘要 多靶分子影像学是分子影像学极其重要的研究领域和发展方向。多靶分子影像学技术(多靶分子显像)包括多种显像剂-多靶分子显像、融合分子多靶显像、偶合分子多靶显像、多靶多功能分子显像。对多靶分子显像及其显像模式进行了较详尽阐述,尤其是对多靶正电子发射断层(PET)显像进行了较深入的探讨与研究。

关键词 单靶分子显像,多靶分子显像,多靶分子探针,杂交小分子显像,多模式分子显像,正电子发射断层(PET)

中图分类号 R817.4

靶点也称为受体(receptor),是指与疾病发生有因果关系或者参与疾病发展过程并在体内与其配合体(ligand)发生相互作用的功能性大分子,通常有受体(包括离子通道)、酶、抗原、核酸等靶分子。分子影像学的本质,就是利用标记配合体(标记探针或显像剂)在体内与靶点的特定部位发生选择性作用,形成标记复合物,从而诱发体内产生生理和生物化学调节效应,达到疾病诊断和治疗(或指导治疗)目的。

分子显像的必要条件是影像设备和显像剂,研发新型显像剂是分子影像学发展的重点。显像剂是用报告基团或示踪物(如核素、顺磁性物质、荧光素及微泡等)标记某化合物(配基)而形成的一类特殊药物。目前,分子影像学研究已深入到细胞和分子水平,更加强调显像剂作用靶标和“一病一靶”分子显像的研究,已发现许多单一靶点选择性的标记探针(如靶向 β 淀粉蛋白显像剂 ^{11}C -PIB^[1]),并在临床上表现出显著的诊疗效果。但是,随着分子影像学的深入研究,“一病一靶”分子显像也益显不足:单个单一靶点显像剂对肿瘤和心脑血管疾病的诊断效果并不理想,它们的联合应用或作用于多个靶标分子的“多靶点”标记探针方有利于疾病诊疗^[2]。本文对多靶分子显像作一综述和探讨。

1 多靶分子显像

1.1 单靶分子显像的缺陷

针对单病种组织细胞中某种特异性靶分子(即“一病一靶”)设计合成的特异性单靶分子显像剂,对某种疾病进行分子显像,即单靶分子显像,如靶向 β 淀粉蛋白显像、靶向多巴胺转运蛋白显像、靶向整

合素受体显像等,已在疾病的鉴别诊断和疗效监测方面发挥重要作用,极大地提高了疾病的诊疗水平。

但是,单靶分子显像在本质上存在不足。体内的生物反应常是多个分子参与、多种机制相互制衡的过程,单一靶点分子显像不能准确反映和描述复杂的生命现象。人类多数疾病并非均由单一基因或靶点导致,单一靶基因或靶分子异常变化导致的疾病仅占少数,如心脑血管疾病、糖尿病、恶性肿瘤和艾滋病等,它们的发病机制复杂,多有多基因相关性,临床上使用单靶分子显像效果并不理想。况且,显像剂靶标并非疾病所独有,多数具有多重生物功能,或与其他功能蛋白相互影响。

“一病一靶”的理论忽视了体内或细胞内生物大分子的相互影响,细胞内信号传导通路存在着网络系统,只对一种细胞靶分子进行显像,不能真实反映体内生物过程,导致疾病诊断出现假阳性或假阴性,或治疗效果不佳。特别是某些疾病组织细胞中表达的特异性靶分子水平较低,以特异DNA序列为靶点,一个细胞最多表达2个靶分子;以特异RNA序列为靶点,一个细胞表达50~1000个靶分子^[3]。这些靶点密度低,加上细胞膜和核膜的生物屏障作用,这些低密度靶分子显像就难以获得较高质量的图像,这也是基因(反义)显像难以获得突破性进展的主要原因之一。况且在理论上,现有单靶分子显像剂仍是多靶点显像剂,并无绝对作用于单一靶点的分子。所谓单靶分子显像剂,仅系其对某种疾病中某种靶分子的选择性大大高于其他靶分子而已。

1.2 多靶分子显像的概念及其优势

多靶点药物研发与临床应用为分子影像学提供了新思路。建立能准确反映和描述体内生物化学过

国家高科技计划(863计划)专题课题(2008AA02Z430),国家自然科学基金面上项目(30970856,中山大学百人计划引进人才科研启动基金项目((80000-3171313),广东省科技计划项目(2010B031600054),广州市科技计划重点项目(11S72060016)和国家自然科学基金对外交流与合作项目(81110308026)资助

第一作者:唐刚华,男,1966年生,1998年于中国协和医科大学获博士学位,教授,主要从事PET分子探针、细胞凋亡分子显像和多靶分子显像研究

收稿日期:2011-07-13,修回日期:2011-08-15

程中多个关键靶分子、多个主要信号通道活动的动态分子显像方法和计算模式,是分子影像学面临的巨大挑战。分子显像的重点将由单一的靶点分子的结构、数量、分布和功能显像,转向体内的生物分子网络的信号传递、相互作用的多个靶点分子显像。

多靶分子影像学技术或多靶分子显像(Multi-target molecular imaging, MMI),是对病变组织细胞中含有的多个靶分子进行显像的分子影像学技术^[2]。其技术基础为:(1)病变组织细胞中含有两种或两种以上的靶分子;(2)多靶分子显像剂;(3)显像仪。在显像仪已定的条件下,实现多靶分子显像的关键是针对病变组织细胞中的多靶分子,设计特异性多靶分子显像剂。多靶分子显像包括多种显像剂-多靶分子显像、融合分子多靶显像、偶合分子多靶显像和多靶多功能分子显像。

多种显像剂-多靶分子显像,是在体内同时或分次给予多种显像剂对多种靶分子进行显像,包括同时给药显像与分次给药显像。同时给药显像,方法简单,一次给药可实现对体内多种靶分子进行同时显像,但体内的显像剂可能会相互干扰;分次给药显像,并无显像剂在体内相互干扰,但操作麻烦,又不能对多种靶分子进行同时显像。严格而言,这种显像方式的显像剂不属于多靶分子显像剂范畴。

融合分子多靶显像,是在体内给予配体药效基团(配基)合一或药效基团(配基)交叉的显像剂对多种靶分子进行显像,是最简单的多靶分子显像方式,但该法所用的显像剂含有的各配基对靶分子选择性相差较大,可能会造成显像效果不够理想。

偶合分子多靶显像,是在体内给予偶合分子显像剂(多价分子显像剂或杂交分子显像剂),同时选择性地作用于多个靶点,对多个靶分子进行显像,包括多价分子显像和杂交分子显像。若偶合分子显像剂中连接的多个配基相同,即多价分子显像剂,用其对含有多价结合位点的靶分子进行显像,即多价分子显像。多价分子显像是偶合分子显像和杂交分子显像中最简单的形式,在分子显像中有重要作用,有的已用于临床^[4]。但是,若其多价结合位点靶分子的数量或密度较低,显像效果就不理想;而若针对病变组织中含有的多种靶分子研制杂交分子显像剂,对多个靶分子进行显像(即杂交分子显像),则可望显著提高结合力,是非常有前景的显像方法。

多靶多功能分子显像,是针对病变组织细胞中多种靶分子进行多模式分子显像或显像结合治疗(诊疗)的分子影像学技术,其研究较为热门,主要集中在纳米多功能分子诊疗显像和多靶多模式分子显像研究方面,但与其他多靶分子显像(单模式多靶分子显像)相比,该技术较为复杂。

MMI的提出,是基于“多靶点药物”概念^[5,6]、提高靶/非靶比值、以及降低毒副作用的总体目标,其本质是针对多种靶分子合理设计制备多靶分子显像剂(标记多靶点分子探针),实现对疾病组织细胞中多种靶分子的特异性显像。多靶分子显像剂可同时作用于疾病相关的多个靶点,与多个靶分子发生亲合结合作用,从而实现用某种多靶分子显像剂(如融合分子多靶显像剂、偶合分子多靶显像剂和多靶多功能分子显像剂)同时对多个靶标进行显像,以提高显像质量,降低毒副作用。多靶分子显像的优势为:

(1)与单靶分子显像比较。单靶点分子显像不能客观反映和描述复杂的生命现象,而多靶分子显像对多个靶点进行显像,能更准确地反映体内相互依赖、相互制约复杂的生物调节功能体系,可在一定程度上消除疾病诊断的假阳性或假阴性结果,提高疾病诊疗水平。其实,许多临床诊断分子影像检查项目(如葡萄糖代谢¹⁸F-FDG PET 检查)并非单靶分子显像,而是多靶分子显像,已在临床中得到证实。

(2)与单靶分子显像剂比较。多靶显像剂能有效调节整个细胞系统,其信号传导系统中各成员间的关系并不完全消除;多靶显像剂作用于疾病相关的多个靶分子,产生多种特异性结合生物活性,参与相互依赖、相互制约的多样性生物调节功能,能提高靶/非靶信号比、增加结合位点总数、提高安全性、减少毒副作用、提高肿瘤探测能力、改善分子显像效果。事实上,许多常用 PET 显像剂就是多靶分子显像剂,如¹⁸F-氟代脱氧葡萄糖(¹⁸F-FDG)^[2]、¹⁸F-氟代多巴(¹⁸FDOPA)^[7]和 [¹¹C]-甲基-L-蛋氨酸(MET)^[8]等。

(3)与多功能分子显像比较。将多种(≥ 2 ,下同)报告基团如核素、顺磁性物质、荧光素及微泡等标记某种配合体分子,或将报告基团、特异性配基和治疗剂药效基团等修饰到某种功能材料(如纳米粒)上,进行分子显像,均属于多功能分子显像。但多功能分子显像与多靶分子显像的本质区别,在于前者强调的是用某种单靶点多模式分子显像剂对病变组织实施多模式分子显像,或用某种诊疗多功能分子显像剂对病变组织同时实施治疗结合分子显像;而后者强调的是用多靶分子显像剂,对多靶分子进行特异性显像。

(4)与多模式分子显像比较。PET/CT 和 PET/MRI 等融合机型(杂交扫描仪)的应用与发展,实现了同机同时进行多模式多功能分子显像,极大地提高了疾病分子显像诊断的灵敏度和准确性。但这种多模式分子显像主要强调的是同机完成多模式显像,并未改善显像剂本身的体内药代动力学特性,未根本解决核医学分子显像所面临的关键性技术难点。这也正是多靶分子显像的优势所在。

2 多靶分子显像剂

多靶分子显像剂由作用于病变组织细胞中多个靶分子的多个相应配基整合而成的一种显像剂,亦称多靶分子探针。按药效基团整合程度以及结合方式,多靶分子显像剂可分为融合分子显像剂、偶合分子显像剂和多功能分子显像剂,多种显像剂-多靶显像中所使用的显像剂在本质上并非多靶分子显像剂。多靶分子显像剂由报告基团和多靶点配基构成,报告基团可采用直接或间接(标记中间体)标记多靶配基,可得各种多靶分子显像剂。用治疗核素标记多靶配基得到的多靶分子探针,也应属于多靶分子显像剂研究范畴。

2.1 融合分子多靶显像剂

靶向疾病组织细胞中多种靶分子的多个配基整合在一起,形成融合分子多靶显像剂,包括重叠型(配基高度整合合一)多靶显像剂和交叉型(配基整合交叉)多靶显像剂。融合分子多靶显像剂结构类似于简单分子化合物,但含有靶向多种靶分子的选择性配基,可同时与多种靶分子发生特异性结合作用。融合分子多靶显像剂中各配基间无需偶联基连接,而是直接整合,整合程度越高,结构越简单,且通常不会影响与间距较少的靶分子结合。但对于间距较大的靶分子,却不利于与融合分子多靶显像剂的有效结合。融合分子显像剂已用于临床和科研,并显示巨大的应用前景。

许多单分子多靶代谢或受体显像剂已广泛应用临床。 ^{18}F -FP-CIT 与多巴胺转运体和 5-羟色胺转运体均有较大亲和力^[9],可同时与这两种转运体作用。 ^{18}F -FDG 是应用最多的 PET 显像剂,是混合型显像剂,既属于代谢型显像剂,也属于融合分子多靶显像剂^[2],其作用的分子靶点有葡萄糖转运体(如 GLUT1)和己糖激酶。标记近红外(NIR)荧光基团的 2-脱氧葡萄糖类似物 2-[N-(7-硝基苯并-2-氧杂-1,3-二氮杂-4-基)氨基]-2-脱氧-D-葡萄糖(2-NBDG),可同时作用葡萄糖转运体和己糖激酶^[10],而用于肿瘤光学显像;由 ^{18}F -FDG 类似物与乏氧显像剂 ^{18}F -硝基咪唑丙醇类似物(^{18}F -FMISO)药效基团整合在一起的加合物,在乏氧组织中无摄取^[11],可能原因是两种显像剂的药效基团整合改变了 ^{18}F -FMISO 的生物活性。Gleevec (Imatinib, STI-571)是美国食品与药品管理局(FDA)批准上市的第一个酪氨酸激酶抑制剂,系苯胺喹唑啉类衍生物,对 BCR-ABL、血小板衍生长因子受体(PDGFR)和 c-Kit 的酪氨酸激酶有很强的选择性抑制作用,已用于治疗慢性骨髓非白血性白血病(CML)和胃肠道间质细胞瘤(GIST)。为研究其耐药性,已研制成[N- ^{11}C -甲

基]Imatinib^[12]。靶向 VEGFR-2/PDGFR 的 ^{18}F 标记双抑制剂(^{18}F -二芳基脲)^[13]和放射性核素标记抗 CEA 单链抗体-白蛋白融合蛋白质^[14]也是融合分子显像剂。我们最近研制的 ^{11}C -甲基-L-半胱氨酸(^{11}C -MCYS)^[15]也是属于靶向多种氨基酸转运蛋白(主要为 L 型)的新型氨基酸多靶显像剂。

2.2 偶合分子多靶显像剂

靶向疾病组织细胞中多种靶分子的多个配体药效基团(配基)被偶联基偶合,经报告基团修饰后可形成偶合分子多靶显像剂。以杂交双配基双靶显像剂为例,其一般结构为:[配基 1]-[偶联基-报告基团]-[配基 2],配基 1 和配基 2 分别为相应靶分子 1 和靶分子 2 的特异性配体药效基团(配基)。为不影响配基 1 和配基 2 的生物活性,报告基团(如 ^{18}F 、 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 、顺磁性物质、微泡等)通常标记在偶联基上,制成偶合双配基分子探针(显像剂)。偶联基和报告基团共同构成联结基,为决定药代动力学特性的基团(药代动力学基),偶联基长度以不影响配基 1 和配基 2 与靶标(组织细胞中靶分子 1 和靶分子 2)特异性亲合作用为宜。有时为简化标记过程,报告基团也可直接标记在配基上,这时应以不影响配基生物活性为佳。若配基 1 和配基 2 相同,可形成最简单的偶合分子显像剂,即多价分子显像剂。若配基 1 和配基 2 不同,则为杂交分子显像剂。偶合分子多靶显像剂有多价分子显像剂和杂交分子显像剂。

靶向疾病组织细胞中多价靶分子的多个相同或相类似配基被偶联基连接,经改造修饰可形成多价分子显像剂。多价靶分子相当于含有多个相同或相类似的亚靶分子,多价分子显像剂中各配基可与其相应亚靶分子发生特异性亲合作用,可增加显像剂与靶分子作用总结合位点,提高配基与靶分子的结合力。Mammen 等^[16]提出生物体系多价作用概念,已用于多价配体和抑制剂的研究。整合素 $\alpha v \beta 3$ 受体和含精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(RGD)蛋白质(如玻璃粘连蛋白、纤维连接蛋白、纤维蛋白原和核纤层蛋白)间的作用方式可能涉及多价结合位点,设计合成的多价环状 RGD 肽,可由整合素内吞作用途径,提高与整合素 $\alpha v \beta 3$ 受体亲和力,增强细胞摄取和靶向抑制功能^[17,18]。

多价理论已用于指导多肽蛋白质分子探针的研制。用双特异性抗体和放射性标记二价半抗原进行两步预定位显像^[19,20],或用顺磁性物质和微泡标记二价半抗原进行预定位 MRI 和超声(US)显像。 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 标记多价单抗 CC49 单链 Fv's($^{99\text{m}}\text{Tc}$ -[sc(Fv)₂]₂)用于放免定位显像^[21]。 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 、 ^{64}Cu 或 ^{18}F 标记多价环状 RGD 肽用于整合素 $\alpha v \beta 3$ 受体核医学显像^[17]。我们也用新型偶联基对称性 β -氨基谷氨酸链(beta-Glu)

连接两个RGD,制备了对称性二价肽显像剂 ^{18}F -FB-3-Glu-RGD2。这些多价肽分子显像剂与单靶分子显像剂相比,可增加结合位点总数、增强结合力和提高疾病探测能力,从而可提高分子显像效果^[17]。此外,尚有多聚肽(多聚RGD肽)光学显像剂的研究报道^[22]。近来,多价非多肽寡核苷酸小分子类显像剂的研制也有文献报道^[23,24],这是近年来多价分子显像取得的最大进展之一。

杂交多肽蛋白质类和抗体蛋白质类显像剂是杂交分子显像剂研究的热点领域。双靶受体诊疗剂 ^{111}In 或 ^{177}Lu 标记杂二聚肽(RGD- ^{111}In -DTPA-Tyr³-octreotate或RGD- ^{177}Lu -DTPA-Tyr³-octreotate)^[25],是研制最早的杂交多肽分子探针。 ^{123}I -mAb-穿膜肽(tat)和 ^{111}In -mIgG-tat^[26]核医学显像剂也有报道,但杂交分子PET显像剂研究最为深入。以整合素 $\alpha_v\beta_3$ 受体和胃泌素释放肽受体(GRPR)两种受体为靶分子,杂二聚肽PET显像剂RGD-(^{18}F -FB-Glu)-蛙皮素(BBN)^[27],是报道的第一个典型双靶杂交分子PET显像剂。对于RGD-(^{18}F -FB-Glu)-BBN,因半衰期合适,选用 ^{18}F 标记较实用。先用偶联基制备前体杂二聚肽,再用 ^{18}F 标记辅基(如最常用的 ^{18}F 标记辅基N-琥珀酰亚胺-4- ^{18}F -氟苯甲酸酯, ^{18}F -SFB)修饰前体杂二聚肽偶联基中的氨基,进而合成了 ^{18}F 标记杂二聚肽。

偶联基主要有不对称性谷氨酸链基(Glu)和聚乙烯乙二醇链基(PEG)^[17]。Glu偶联两种配基可形成结构非常相似的同分异构体,通常很难分离,因而制备的杂交分子显像剂为混合物。另外,Glu长度较短,杂二聚肽RGD-Glu-BBN空间位阻较大,会阻碍RGD和BBN同时与靶分子的结合,也会影响 ^{18}F -SFB与RGD-Glu-BBN中Glu氨基反应,造成 ^{18}F -FB-RGD-Glu-BBN放射化学产率较低。与Glu相比,PEG偶联基的特点是PEG链的长度可调,短链PEG偶联基为纯净物,一般不影响杂二聚肽与各自靶分子作用亲和力;而长链PEG偶联基为混合物,一般会减弱杂二聚肽与各靶分子作用亲和力。

改进的 ^{18}F 标记杂交分子 ^{18}F -FB-PEG3-Glu-RGD-BBN(纯净物),以及用新型对称性偶联基连接RGD和BBN的显像剂(^{18}F -FB-AEADP-BBN-RGD),均已研制成功^[28],这两种 ^{18}F 标记杂交分子放化产率较高,药代动力学特性也较好。Yan等^[29]用 ^{64}Cu 和 ^{68}Ga 标记了杂交分子BBN-RGD,获得同样显像效果。我们用新型对称性偶联基3-Glu(Glu同分异构体beta-谷氨酸链基)连接RGD和BBN,并用 ^{18}F 标记辅基N-琥珀酰亚胺-2-[^{18}F]氟代乙酸酯(^{18}F -SFA),制备了二价肽显像剂 ^{18}F -FA-3-Glu-RGD-BBN^[30]。由于 ^{18}F -SFA不稳定,且放化产率低,我们用 ^{18}F -SFB制备了 ^{18}F -FB-3-Glu-RGD-BBN。最近,一步法 ^{18}F 标记

多肽技术的成功应用^[31],可望实现用简单方法合成 ^{18}F 标记杂交多肽分子探针。此外,杂交双抗体全氟化碳微泡超声造影剂^[32]和杂交双抗体氧化铁微球MRI造影剂^[33]也有文献报道,但其应用远不如核医学显像发展迅速。

2.3 多靶多功能分子显像剂

多靶多功能分子显像剂可分为多靶诊疗分子显像剂和多靶多模式分子显像剂。针对病变组织细胞中多个靶分子,将其相应特异性诊断配基和靶向治疗配基整合连接,并标记报告基团,即形成多靶诊疗分子显像剂。目前,其热门研究领域是在功能纳米体(量子点、碳纳米管和磁性纳米粒等)上修饰多靶向特异性诊断配基和治疗配基,制成多靶诊疗剂。报道较多的是在磁性氧化铁纳米粒或量子点上修饰特异性RNA和多肽配体制成诊疗MRI(或光学)显像剂^[34-37]。多靶多模式分子显像剂,则是在多靶特异性配基(融合分子多靶配基和偶合分子多靶配基)上修饰多种不同报告基团,能进行多模式显像的显像剂。如(Gd-Lys-FITC)-反义多肽核酸-PEG-穿膜肽^[38]就是一种双靶向杂交双配体MRI和光学显像(OI)双功能显像剂。

3 多靶分子显像的应用前景

3.1 多种显像剂-多靶分子显像

多种显像剂-多靶分子显像(Multi-tracer multi-target molecular imaging, MTMI)有分次给药多靶显像和同时给药多靶显像。多种显像剂分次给药对多靶进行显像(分次给药多靶显像)已应用于临床,可明显提高诊断的准确率和灵敏度。 ^{18}F -FDG广泛应用于肿瘤早期诊断、转移性肿瘤探测和疗效监测,但也会出现一些假阳性和假阴性结果。 O -(2-[^{18}F]氟代乙基)-L-酪氨酸(^{18}F -FET)与 ^{18}F -FDG联合应用,有助于鉴别炎症和肿瘤。 ^{11}C -乙酸盐与 ^{18}F -FDG联合应用,可提高肝细胞瘤诊断的灵敏度和准确性。我们联合使用(^{11}C)-甲基-L-半胱氨酸(MCYS)和 ^{18}F -FDG监测胶质瘤治疗,发现 ^{18}F -FDG PET显示病灶处几乎无放射性摄取,而MCYS PET有高摄取,与病理检测肿瘤复发结果相符^[15]。由于多次给药较麻烦,有些研究者采用多种显像剂同时给药对多靶进行显像(同时给药多靶显像)。Lia等^[39]给正常猴和帕金森氏病(PD)猴模型同时注射 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -TRODAT-1(一种多巴胺转运蛋白显像剂)和 ^{123}I -ADAM(5-羟色胺转运蛋白显像剂),结果发现双示踪剂能区分纹状体多巴胺转运蛋白和5-羟色胺转运蛋白,为同时评估PD猴模型脑内多巴胺能系统和5-羟色胺能系统变化提供有用方法。Iagaru等^[40]

对恶性肿瘤病人同时注射 ^{18}F 和 ^{18}F -FDG 进行单次 PET/CT 显像,发现可同时对肿瘤病人进行骨代谢和葡萄糖代谢显像,可改善病人护理、减少检查费用。我们给荷瘤裸鼠同时注射 ^{18}F 和 ^{18}F -乙酸盐进行单次 PET/CT 显像,也得到类似结果。

3.2 融合分子多靶显像

融合分子多靶显像(Fusion-molecule multi-target imaging, FMMI)已用于动物和人体分子显像,临床诊断和治疗监测效果良好。 ^{18}F -FDG 已是常规检查项目的代谢显像剂,可与体内葡萄糖转运体(GLUT)和己糖激酶作用,被细胞膜中葡萄糖转运体识别后被转运至细胞内,在细胞己糖激酶作用下发生磷酸化生成 ^{18}F -FDG-6-磷酸盐。由于 ^{18}F -FDG 在 2 位上缺乏 OH 基, ^{18}F -FDG-6-磷酸盐不能进一步代谢磷酸化而滞留于细胞中。与正常细胞相比,肿瘤细胞一般表现出葡萄糖代谢增加、GLUT 上调和己糖激酶上调,则可根据病变组织细胞摄取 ^{18}F -FDG 代谢物状况进行 PET 显像。 ^{18}F -FDG PET 显像是 ^{18}F -FDG 与 GLUT 和己糖激酶作用的综合结果,已应用于各种肿瘤、心脑血管疾病的鉴别诊断和治疗监测的临床和科研显像^[2]。 ^{18}F -L-多巴(^{18}F -FDOPA)是多巴胺能神经递质单分子多靶显像剂,可作用于体内氨基酸转运体和多种酶,已应用于 PD 和神经内分泌肿瘤的鉴别诊断和疗效评估,也用于神经胶质瘤的 PET 显像,其缺点是不易制备^[7]。MCYS 是我国创制的第一个用于临床的多靶显像剂,在神经胶质瘤等的诊断和疗效评估方面可能优于 ^{18}F -FDG 和 MET,并有可能取代 MET^[15]。Yazakia 等^[14]报道的放射性核素标记融合蛋白分子探针,用于 SPECT 显像,有很好应用前景。

3.3 偶合分子多靶显像

偶合分子多靶显像(Coupling-molecule multi-target imaging, CMMI)有多价分子显像(MVT)和杂交分子显像(HMI)。前者已用于动物和人类疾病的诊断与治疗监测的分子显像研究,临床应用前景良好。标记多价单抗 CC49 单链进行放射免疫分子显像^[21]和标记多价环状 RGD 肽用于整合素 $\alpha v \beta 3$ 受体分子显像^[17],是多价分子显像的典型例子和重要发展方向,且主要是多价分子核医学显像。

Sharkey 等^[21]用 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 标记二价 HSG-半抗原多肽和多价双特异性抗体进行预定位 SPECT 显像研究,与 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 标记 CEA-特异性抗体单链 F(ab') 放射免疫显像相比,注射显像剂后 24 h,该预定位技术肿瘤/非肿瘤比值是该抗体单链放射免疫显像的 40 倍以上。 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ 、 ^{68}Ga 、 ^{64}Cu 或 ^{18}F 标记多价环状 RGD 肽(如二聚肽、四聚肽和八聚肽)用于整合素 $\alpha v \beta 3$ 受体核

医学显像,可明显提高靶/非靶比值,改善药代动力学特性,降低肾和肝脏放射性摄取^[17], ^{18}F -FP-PRGD2 已被美国 FDA 批准上临床试验^[4]。最近,二价小分子显像也取得较大发展,二(Zn^{2+} -2,2'-二吡啶甲基胺)(Zn^{2+} -DPA)类近红外荧光显像剂(含两个 DPA- Zn^{2+} 基,即二价小分子荧光显像剂)^[24]和 PET 显像剂 ^{18}F -DPA- Zn^{2+} ^[23] 研制成功,并用于含坏死细胞的肿瘤动物模型和抗肿瘤治疗肿瘤动物模型显像,发现死亡细胞可高度摄取显像剂,说明这些显像剂可用于抗肿瘤治疗评估。

杂交分子显像(HMI)是近年来分子影像学研究的热点。Bernard 等^[25]首先报道双靶向整合素 $\alpha v \beta 3$ 受体和生长抑素受体的杂交分子显像(RGD- ^{111}In (或 ^{177}Lu)-DTPA-Tyr³-octreotate)可显著提高显像或疗效。与单靶分子显像相比,可增加结合位点总数、增强结合力和提高肿瘤探测能力,从而改善分子显像效果。Liu 等^[41]以整合素 $\alpha v \beta 3$ 和 GRPR 两种受体为靶点,通过 Glu 偶联两种不同多肽 RGD 和 BBN,用 ^{18}F 、 ^{64}Cu 和 ^{68}Ga 分别标记了杂交分子 RGD-Glu-BBN,对肿瘤细胞中共存整合素 $\alpha v \beta 3$ 和 GRPR 两种受体的研究表明:与单靶分子显像(^{18}F -RGD 或 ^{18}F -BBN)相比,这些杂交多肽分子显像剂可增加结合位点总数、增强结合力和提高肿瘤探测能力,从而改善分子显像效果。Ferrante 等^[42]用双靶向粘附分子 P 选择素和血管细胞粘附分子-1 的微泡造影剂对动脉粥样硬化斑块进行超声分子显像,发现双靶向造影剂明显优于单靶向造影剂。

3.4 多靶多功能分子显像

多靶多功能分子显像(Multi-target multi-functional molecular imaging, MMMI)主要有多靶诊疗分子显像和多靶多模式分子显像。前者用多靶诊疗分子显像剂对疾病同时实施靶向治疗和疗效监测的分子影像学技术。Medarova 等^[34]在磁性氧化铁纳米粒表面上修饰 siRNA、近红外染料报告基团和转膜肽,制成双靶多功能诊疗分子探针(MN-NIRF-siRNA-MPAP),对肿瘤进行治疗时实施 MRI 和光学显像,这是首次对磁性纳米粒修饰 RNAi 同时进行双模式分子显像。Taratula 等^[35]在超磁性氧化铁纳米粒表面上修饰 siRNA 和促黄体释放激素肽,制成多靶多功能分子探针,可望在肿瘤治疗时实现 MRI 显像。Bagalkot 等^[36]在量子点表面上修饰适配子(Aptamer)和阿霉素,制成双靶向多功能分子探针,可望在肿瘤治疗时作光学显像。

多靶多模式分子显像用多靶向多模式(多功能)显像剂对多靶分子进行多模式显像。典型例子是制成多靶向双模式显像剂(Gd-Lys-FITC)-反义多肽核酸-PEG-穿膜肽^[38]或 MN-NIRF-siRNA-MPAP^[34],对

肿瘤细胞中靶分子 mRNA 进行 MRI 和光学双模式分子显像。该方法可能是在穿膜肽介导下实现肿瘤细胞中单靶点分子显像,也可能是对体内穿膜肽结合的靶点和疾病组织细胞中存在的靶分子进行的双靶分子显像,尽管作用机理不清楚,但都可大大提高靶/非靶比值。

4 展望

多靶点药物是药物研究的重要领域,已进入临床研究。多靶分子显像剂包括融合分子多靶显像剂、偶合分子多靶显像剂和多靶多功能分子显像剂。多靶分子显像剂是实现多靶分子显像的必要条件,多靶分子显像剂和多靶分子显像是分子影像学重要的组成部分和发展方向,目前已用于临床或临床前研究,在肿瘤多靶分子显像领域已显示出巨大应用前景,特别是多靶 PET 分子显像已取得巨大发展。但是,非多肽寡核苷酸杂交小分子类显像剂和多靶多功能纳米修饰非多肽寡核苷酸小分子类显像剂的研制,目前尚无文献报道,杂交小分子显像和多靶多功能小分子显像可望是多靶分子显像最前沿、最有前景的研究领域,不久的将来可望取得巨大进展。另外,多靶分子显像在心脑血管疾病以及其它疾病的诊疗方面也可望取得巨大发展。

参考文献

- Nägren K, Halldin C, Rinne J O. Radiopharmaceuticals for positron emission tomography investigations of Alzheimer's disease[J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2010, 37(8):1575-1593
- 唐刚华, 张祥松. 多靶分子显像[J]. *中华核医学杂志*, 2010, 30(1): 68-70
TANG Ganghua, ZHANG Xiangsong. Multi-target molecular imaging[J]. *Chin J Nucl Med*, 2010, 30(1): 68-70
- Weissleder R, Mahmood U. Molecular Imaging[J]. *Radiology*, 2001, 219:316-333
- Liu S, Liu Z, Chen K. *et al.* ^{18}F -Labeled Galacto and PEGylated RGD dimers for PET imaging of $\alpha v \beta 3$ integrin expression[J]. *Mol Imaging Biol*, 2010, 12(5): 530-538
- Korcsmaros T, Szalay MS, Bode C, *et al.* How to design multi-target drugs: target search options in cellular networks[J]. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 2007, 2(1):1-10.
- Csermely P, Pongor S, Agoston V. The efficiency of multi-target drugs: the network approach might help drug design[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2005, 26(1): 178-182.
- Minn H, Kauhanen S, Seppanen M, *et al.* ^{18}F -FDOPA: A multiple-target molecule[J]. *J Nucl Med*, 2009, 50:1915-1918
- Jager P L, Vaalburg W, Pruim J, *et al.* Radiolabeled amino acids: Basic aspects and clinical applications in oncology[J]. *J Nucl Med*, 2001, 42:432-445
- Shih MC, Hoexter MQ, de Andrade LAF, *et al.* Parkinson's disease and dopamine transporter neuroimaging—a critical review[J]. *Sao Paulo Med J*, 2006, 124(3):168-75
- Cheng Z, Levi J, Xiong Z, *et al.* Near-infrared fluorescent deoxyglucose analogue for tumor optical imaging in cell culture and living mice[J]. *Bioconjugate Chem*, 2006, 17(5):662-669
- Patt M, Sorger D, Scheunemann M, *et al.* Adduct of 2- ^{18}F FDG and 2-nitroimidazole as a putative radiotracer for the detection of hypoxia with PET: synthesis, *in vitro*- and *in vivo*-characterization[J]. *Appl Radiat Isot*, 2002, 57(6):705-712
- Kil K E, Ding Y S, Lin K S, *et al.* Synthesis and positron emission tomography studies of carbon-11-labeled imatinib (Gleevec)[J]. *Nucl Med Biol*, 2007, 34(1): 153-163
- Ilovich O, Jacobson O, Aviv Y, *et al.* Formation of fluorine-18 labeled diaryl ureas—labeled VEGFR-2/PDGFR dual inhibitors as molecular imaging agents for angiogenesis[J]. *Bioorg Med Chem*, 2008, 16: 4242-4251
- Yazakia PJ, Kassaa T, Cheung C, *et al.* Biodistribution and tumor imaging of an anti-CEA single-chain antibody—albumin fusion protein[J]. *Nucl Med Biol*, 2008, 35: 151-158
- Deng H, Tang X, Tang G, *et al.* S- ^{11}C methyl-L-cysteine, ^{11}C MCYS: A new amino acid PET tracer for cancer imaging[J]. *J Nucl Med*, 2011, 52: 287-293
- Mammen M, Choi S K, Whitesides G M. Polyvalent interactions in biological systems: implications for design and use of multivalent ligands and inhibitors[J]. *Angew Chem Int Ed*, 1998, 37: 2754-2794
- Liu S. Radiolabeled multimeric cyclic RGD peptides as integrin $\alpha v \beta 3$ targeted radiotracers for tumor imaging[J]. *Mol Pharm*, 2006, 3(5): 472-487
- Boturn D, Coll J L, Garanger E, *et al.* Template assembled cyclopeptides as multimeric system for integrin targeting and endocytosis[J]. *J Am Chem Soc*, 2004, 126: 5730-5739
- Boerman OC, van Schaijk F G, Oyen WJG, *et al.* Pretargeted radioimmunotherapy of cancer: progress step by step[J]. *J Nucl Med*, 2003, 44(3):400-411.
- Chang CH, Sharkey RM, Rossi EA, *et al.* Molecular advances in pretargeting radioimmunotherapy with bispecific antibodies[J]. *Mol Cancer Ther*, 2002, 1: 553-563
- Sharkey R M, Cardillo T M, Rossi E A, *et al.* Signal amplification in molecular imaging by pretargeting a multivalent, bispecific antibody[J]. *Nat Med*, 2005, 11(11): 1250-1255.
- Ye Y, Bloch S, Xu B, *et al.* Design, synthesis, and evaluation of near infrared fluorescent multimeric RGD peptides for targeting tumors[J]. *J Med Chem*, 2006, 49(7): 2268-2275

- 23 Tang G, Tang X, Deng H, *et al.* Radiosynthesis and preliminary evaluation of [^{18}F]DPA as a small-molecule apoptosis PET tracer[J]. *J Nucl Med*, 2010, **51** (Supplement 2):421
- 24 Smith B, Akers W J, Leevy W M, *et al.* Optical imaging of mammary and prostate tumors in living animals using a synthetic near infrared Zinc(II)-dipicolylamine probe for anionic cell surfaces[J]. *J Am Chem Soc*, 2010, **132**: 67–69
- 25 Bernard B, Capello A, van Hagen M, *et al.* Radiolabeled RGD-DTPA-Tyr3-octreotate for receptor-targeted radionuclide therapy[J]. *Cancer Biotherapy Radiopharm*. 2004, **19**(2): 173–180
- 26 Cornelissen B, McLarty K, Kersemans V, *et al.* Properties of [^{111}In]-labeled HIV-1 tat peptide radioimmunoconjugates in tumor-bearing mice following intravenous or intratumoral injection[J]. *Nucl Med Biol*, 2008, **35**: 101–110
- 27 Li Z B, Wu Z, Chen K, *et al.* ^{18}F -Labeled BBN-RGD heterodimer for prostate cancer imaging[J]. *J Nucl Med*, 2008, **49**: 453–461
- 28 Yan Y, Chen K, Yang M, *et al.* A new ^{18}F -labeled BBN-RGD peptide heterodimer with a symmetric linker for prostate cancer imaging[J]. *Amino Acids*, DOI 10.1007/s00726-010-0762-5
- 29 Yan Y, Chen X. Peptide heterodimers for molecular imaging[OL]. *Amino Acids*, DOI 10.1007/s00726-010-0546-y. Published online: 16 March 2010
- 30 Tang G, Tang X, Zhang X. Synthesis of ^{18}F -FA-BBN-3-Glu-RGD as a new targeted dual-receptor hybrid molecular imaging agent[J]. *J Nucl Med*, 2009, **50** (Supplement 2):260(Abstract)
- 31 McBride W J, Sharkey R M, Karacay H, *et al.* A novel method of ^{18}F radiolabeling for PET[J]. *J Nucl Med*, 2009, **50**:991–998
- 32 Willmann J K, Lutz A M, Paulmurugan R, *et al.* Dual-targeted contrast agent for US assessment of tumor angiogenesis in vivo. *Radiology*, 2008, **248**(3): 936–944
- 33 McAteer M A, Schneider J E, Ali Z A, *et al.* Magnetic resonance imaging of endothelial adhesion molecules in mouse atherosclerosis using dual-targeted microparticles of iron oxide[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2008, **28**:77–83
- 34 Medarova Z, Pham W, Farrar C, *et al.* *In vivo* imaging of siRNA delivery and silencing in tumors[J]. *Nat Med*, 2007, **13**(3):372–377
- 35 Taratula O, Garbuzenko O, Savla R, *et al.* Multifunctional nanomedicine platform for cancer specific delivery of siRNA by superparamagnetic iron oxide nanoparticles-dendrimer complexes[J]. *Current Drug Delivery*, 2011, **8**: 59–69
- 36 Bagalkot V, Zhang L, Levy-Nissenbaum E, *et al.* Quantum dot-aptamer conjugates for synchronous cancer imaging, therapy, and sensing of drug delivery based on bi-fluorescence resonance energy transfer[J]. *Nano Lett*, 2007, **7**(10): 3065–3070
- 37 Ho YP, Leong KW. Quantum dot-based theranostics[J]. *Nanoscale*, 2010, **2**: 60–68
- 38 Su W, Mishra R, Pfeuffer J, *et al.* Synthesis and cellular uptake of a MR contrast agent coupled to an antisense peptide nucleic acid-cell-penetrating peptide conjugate [J]. *Contrast Media Mol Imaging*, 2007, **2**:42–49
- 39 Lia IH, Huang WS, Yeh CB, *et al.* Dual-isotope single-photon emission computed tomography for dopamine and serotonin transporters in normal and parkinsonian monkey brains[J]. *Nucl Med Biol*, 2009, **36**: 605–611
- 40 Iagaru A, Mittra E, Yaghoubi SS, *et al.* Novel strategy for a cocktail ^{18}F -fluoride and ^{18}F -FDG PET/CT scan for evaluation of malignancy: Results of the pilot-phase study[J]. *J Nucl Med*, 2009, **50**: 501–505
- 41 Liu Z, Yan Y, Liu S, *et al.* ^{18}F , ^{64}Cu , and ^{68}Ga Labeled RGD-bombesin heterodimeric peptides for PET imaging of breast cancer[J]. *Bioconjugate Chem*. 2009, **20**: 1016–1025
- 42 Ferrante E A, Pickard J E, Rychak J, *et al.* Dual targeting improves microbubble contrast agent adhesion to VCAM-1 and P-selectin under flow[J]. *J Control Release*, 2009, **140**: 100–107

Multi-target molecular imaging and its progress in research and application

TANG Ganghua

(PET-CT Center, Department of Nuclear Medicine, The First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract Multi-target molecular imaging (MMI) is an important field of research in molecular imaging. It includes multi-tracer multi-target molecular imaging (MTMI), fusion-molecule multi-target imaging (FMMI), coupling-molecule multi-target imaging (CMMI), and multi-target multifunctional molecular imaging (MMMI). In this paper, imaging modes of MMI are reviewed, and potential applications of positron emission tomography MMI in near future are discussed.

Key words Single-target molecular imaging, Multi-target molecular imaging, Multi-target molecular probe, Coupling-small molecule imaging, Multi-modality molecular imaging, PET

CLC R817.4