

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.10.044

· 专论与综述 ·

EGFR 靶向的 PET/SPECT 分子成像研究进展*

孙莹莹^{1,2} 孙夕林^{1,2} 王 凯^{1,2} 李宏利³ 赵周社³ 申宝忠^{1,2,△}

(1 哈尔滨医科大学附属第四医院放射科 黑龙江 哈尔滨 150001;

2 黑龙江省高校分子影像重点实验室 黑龙江 哈尔滨 150001;

3 美国通用电气医疗集团(中国)北京 100176)

摘要:恶性肿瘤的发病率及死亡率逐年递增,分子靶向治疗为癌症治疗带来了新的革命,表皮生长因子受体(EGFR)在癌症发生、发展中发挥重要作用,针对 EGFR 的分子靶向治疗已成为近年研究热点。目前,已有多种 EGFR 分子靶向药物应用于临床,但总体有效率偏低。研究表明 EGFR 过表达和 / 或突变对治疗效果影响显著,因此治疗前准确评价肿瘤 EGFR 表达水平及突变状态显得尤为重要。分子成像能够实现活体细胞及分子水平生物学过程成像,并进行定性定量研究,使在体揭示 EGFR 表达状态成为可能。本文简述 EGFR 靶向分子成像的研究进展并对不同分子探针成像结果进行比较分析,对不同分子成像探针的功能进行评价,以期有益于 EGFR 靶向分子成像探针的研发及 EGFR 靶向分子成像研究。

关键词:表皮生长因子受体(EGFR);分子成像探针;SPECT/PET 成像

中图分类号:R814.42,R730 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)10-1980-07

Progress of EGFR-Targeted PET/SPECT Molecular Imaging*

SUN Ying-ying^{1,2}, SUN Xi-lin^{1,2}, WANG Kai^{1,2}, LI Hong-li³, ZHAO Zhou-she³, SHEN Bao-zhong^{1,2,△}

(1 Department of Radiology, Fourth Hospital Affiliated of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China;

2 Key Laboratory of colleges and Universities of Heilongjiang Province, Harbin, Heilongjiang, 150001, China;

3 Beijing, China)

ABSTRACT: The morbidity and mortality of cancer has been increasing year by year. Molecular targeted therapy has brought a new revolution for cancer therapy. Epidermal growth factor receptor (EGFR) plays an key role in the occurrence and development of carcinoma. So EGFR-targeted therapy has become hotspot in recent years. Currently, there are a variety of EGFR-targeted drugs used clinically, however, the overall efficiency is unsatisfied. Large scale of studies have shown that the overexpression and/or mutation of EGFR affected the efficiency significantly. Therefore, it seems to be particularly important that evaluate the expression level and/or mutation of EGFR in the tumor before treatment accurately. Molecular imaging can achieve the image of the biological processes in cellular and molecular level in vivo, and carry on qualitative and quantitative calculation, which makes it possible that reveal the expression level and/or mutation of EGFR in vivo. This article briefly introduce the progress of EGFR-targeted molecular imaging, and the imaging and function of different probes. Are compared and analysed, so that can benefit the development of molecular imaging probes and EGFR-targeted molecular imaging researchment.

Key words: Epidermal growth factor receptor (EGFR); Molecular probes; SPECT/PET

Chinese Library Classification(CLC): R814.42, R730 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)10-1980-07

我国全国肿瘤登记中心公布的《2012 肿瘤登记年报》数据显示,2009 年中国癌症发病率为 285.91 万,死亡率为 180.54/10 万,中国目前每年约有 312 万新发病例,每年癌症死亡人数约为 270 万^[1]。世界范围内癌症发病率及死亡率也在逐

年递增,预计到 2020 年确诊病例将达 2000 万^[2]。

癌症传统治疗方法包括手术、放疗和化疗,由于大多癌症发病隐匿,及现有诊断方法的局限性,诊断时多为中晚期,已失去手术治疗的最佳时机;放射治疗对晚期明显恶病质肿瘤患

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81130028,81101088);黑龙江省科技攻关资助项目(重大项目 GA12C302);

教育部高等学校博士学科点专项科研基金(博导类,201123071100203);中国博士后科学基金资助项目(2012M510095,2013T60388);

黑龙江省博士后基金资助项目(LBH-Z12199);黑龙江省教育厅科学技术研究项目(12521184);

哈尔滨医科大学伍连德青年科学基金(WLD-QN1119);哈尔滨医科大学附属第四医院杰出青年基金

作者简介:孙莹莹(1987-),女,硕士研究生,E-mail:sunny0513@163.com

△通讯作者:申宝忠(1961-),男,博士生导师,教授,主要研究方向:肿瘤及心血管分子成像

电话:0451-82576509,E-mail:shenbzh@vip.sina.com

(收稿日期:2013-10-11 接受日期:2013-10-30)

者、对射线不敏感的肿瘤患者及足量放疗后复发等肿瘤患者禁用;化疗是应用最为广泛的治疗方法,但是化疗特异性差,对正常组织同样有损伤,由于毒性和副反应过大限制了剂量的应用,导致治疗有效率偏低,而且不同化疗药物的交叉抵抗与肿瘤复发相关^[46]。面对日益严峻的形势,研究者们致力于对于癌症新型治疗方法的研究以求降低癌症死亡率。20世纪80年代晚期,随着分子生物学和生物化学等学科的发展,癌症分子靶向治疗方法问世,研究者们发现一系列在不同癌症发生发展中均起重要作用的基因,这些基因的过表达和/或突变对肿瘤的生物学性状及对治疗的反应有显著影响,并提出可以通过阻断这类基因以达到控制和治疗肿瘤的目的,即分子靶向治疗。

表皮生长因子受体(EGFR)在多种恶性肿瘤发生发展中均扮演有重要角色,在乳腺癌、肺癌、头颈鳞癌、胶质母细胞瘤、结肠癌、卵巢癌及前列腺癌等多种人类恶性肿瘤中均发现EGFR过表达和/或突变^[7]。EGFR是酪氨酸激酶受体家族的一员,当EGFR与配体结合激活,可以启动引起增殖、分化或修复的信号系统^[8]。很多实验都已证实了EGFR过表达与肿瘤生长、血管新生、侵袭、转移和凋亡抑制之间的相关性^[9]。临床实验也已证实EGFR过表达预示着肿瘤侵袭性增加、放化疗抵抗、预后较差和生存期较短^[10];另外,大量实验结果显示EGFR突变对化疗及靶向治疗的反应有明显影响^[11-16];加之,由于EGFR位于细胞表面,使之成为分子靶向治疗的理想靶点^[17]。

近年来,以EGFR为靶点的分子靶向药物研究广泛,发展迅速,已有多种药物经FDA批准应用于临床。然而,不加选择性的使用EGFR分子靶向药物总体有效率偏低,所以治疗前对EGFR表达水平及突变状态的评价显得尤为重要。传统EGFR表达水平和突变状态的检测方法主要包括:1)活检:活检准确性高,被视为“金标准”。但是该方法是一种有创的检查方法,并不适用于所有癌症患者,反复活检更是不可行,因此难以实时了解患者肿瘤EGFR表达水平与突变状态,不能合理制定及适时调整治疗方案;而且肿瘤具有异质性,活检样本是否能代表整体肿瘤的情况存有争议;加之,免疫组化(IHC)是文献中常用到的活检检测方法,但是不同实验室对IHC具体操作方法不同,甚至对于高表达和过表达的标准都不同,所以活检检测结果也缺乏统一性。2)血清学检测:血清学检查优势明显,简单、便捷、可重复性强。但同时血清学检测的敏感性较低^[18,19];而且单凭血清学不能确认病变位置,难以提供原发病灶可定量信息;另外,研究发现血清学检查的结果与病理学结果之间存在差异^[20];加之,血清学检测可检测到阳性结果的时间相对滞后,需肿瘤发展到一定程度才可检测到。传统检测方法存在一定缺陷,急需一种能够准确、实时、在体监测EGFR表达水平和突变状态的方法,以指导临床治疗。

分子成像可在活体上对细胞和分子水平生物学过程进行定性和定量研究,可将复杂的生物过程(如基因表达、信号传导、蛋白质之间相互作用等)变成直观的图像,可实现特异靶点的活体、实时、动态成像^[2],在EGFR早期、准确评价方面有着不可替代的优势。SPECT和PET成像灵敏度高,可以直接、准确的评价分子表达、可以无创显示特异性分子的表达和活性,在靶向分子成像研究中应用广泛,使活体EGFR表达水平及突变状态的分子成像成为可能,可为临床中实现分子靶向治疗优势

人群的筛选、实时治疗疗效的监测及癌症患者预后的预测等提供有力依据。

1 EGFR与抗肿瘤治疗

EGFR是一种跨膜糖蛋白,包括细胞外配体结合域,跨膜区和细胞内酪氨酸激酶结构域三部分。当EGFR与天然配体(如EGF)结合后,EGFR由单体结合形成二聚体,二聚形成后胞内酪氨酸激酶磷酸化,形成第二信使进而启动下游信号通路,促进细胞增殖、分化、活动、粘附和凋亡抑制^[21,22]。

研究者们发现在头颈小细胞癌、小细胞肺癌、食管癌、胶质瘤、胃癌、结肠癌、膀胱癌、胰腺癌、肾癌、乳腺癌、卵巢癌和前列腺癌等多种人类肿瘤中均有EGFR过表达或突变现象^[7],而且研究表明EGFR的表达水平和突变状态与头颈、卵巢、颈椎、膀胱和食管等多种肿瘤的预后相关^[23,24]。以上研究充分证明了EGFR在癌症发生发展以及治疗中的重要意义,所以近年来靶向EGFR的抗癌药物发展迅速,西妥昔单抗、吉非替尼、厄洛替尼和拉帕替尼等已应用于临床肿瘤患者的治疗,并取得了一定疗效^[25,26],但并不是所有肿瘤患者行分子靶向治疗均可得到很好疗效,研究表明治疗效果与EGFR表达水平和/或突变状态相关^[11-16],因此,对EGFR表达水平和突变状态的研究对临床恶性肿瘤的治疗意义重大。

2 靶向EGFR的PET/SPECT分子成像

2.1 以EGFR为靶点的分子成像探针

基于EGFR的结构和靶向治疗方式,目前靶向EGFR的PET/SPECT分子成像探针主要有两种:一是靶向EGFR细胞外配体结合域,以放射性核素标记天然配体或单克隆抗体;另一种是靶向EGFR细胞内酪氨酸激酶结构域,以放射性核素标记酪氨酸激酶抑制剂,目前应用最广泛的是唑啉类衍生物。

用于标记的放射性核素包括¹⁸F、¹¹C、¹²³I、¹²⁵I、⁶⁴Cu、¹¹¹In、⁸⁹Zr等。

2.2 EGFR表达水平分子成像

2.2.1 靶向EGFR细胞外配体结合域 表皮生长因子EGF是EGFR的天然配体,对EGFR有较高亲和性和特异性,有学者研究利用放射性核素标记EGF作为靶向EGFR细胞外配体结合域的分子成像探针,对EGFR进行靶向分子成像,Reilly RM等人^[28]用¹¹¹In标记的小分子蛋白EGF合成了靶向EGFR的分子成像探针¹¹¹In-DTPA-hEGF,实验结果表明乳腺癌细胞MDA-MB468对该探针有特异性摄取,但是,相比于¹¹¹In标记的单克隆抗体¹¹¹In-DTPA-MAb528探针,肿瘤/正常组织比较低。活体成像结果也证实¹¹¹In-DTPA-MAb528成像效果优于¹¹¹In-DTPA-hEGF(如图1),加之,注入大量EGF(>10ug/h)蛋白会导致强烈的生物效应,所以EGF不是成像的理想配体,放射性标记的单抗比基于多肽的hEGF更适于进行肿瘤分子成像。

之后,学者致力于研究放射性核素标记单克隆抗体作为探针,对EGFR进行靶向分子成像,并取得了一定成果。西妥昔单抗,一种人/鼠嵌合单抗,是第一个经FDA认证用于临床癌症治疗的EGFR抗体药物。Cai W等人^[29]首次利用⁶⁴Cu对西妥昔单抗进行了标记,构建了靶向EGFR胞外配体结合域的分子

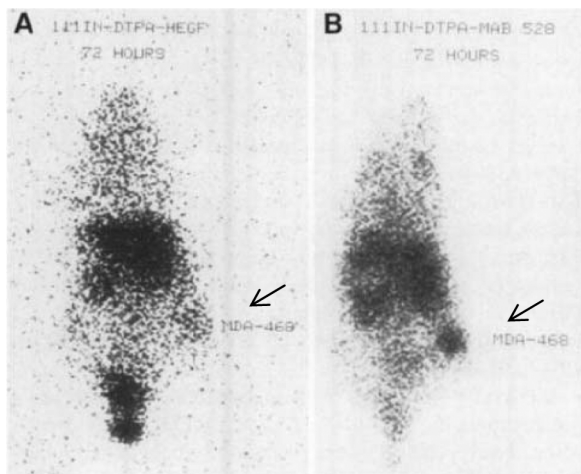


图1 A 为 MDA-MB468 荷瘤小鼠 ^{111}In -DTPA-hEGF 成像, B 为 MDA-MB468 荷瘤小鼠 ^{111}In -DTPA-MAb528 成像, 两者肿瘤区都有探针高摄取(箭头), 但是后者较前者图像更清晰^[28]

Fig.1 A: ^{111}In -DTPA-hEGF image of MDA-MB468 tumor-bearing mice, B: ^{111}In -DTPA-MAb528 image of MDA-MB468 tumor-bearing mice. probes both has high uptake (arrow) in tumor region, but the latter was clearer than the former^[28]

成像探针 ^{64}Cu -DOTA-cetuximab, 对 7 种肿瘤模型进行 PET 成像。结果显示 EGFR 过表达肿瘤对该探针的摄取随时间延长而增加, 而在 EGFR 低表达肿瘤中的摄取水平较低 ($<5\% \text{ID/g}$)。Kayvan Sadria 等人^[30]也利用 ^{64}Cu -DOTA-cetuximab 探针, 对乳腺癌 MDA-MB-468 肿瘤模型进行了靶向分子成像研究, 结果显示 ^{64}Cu -DOTA-cetuximab 对 EGFR 高表达的乳腺癌细胞 MDA-MB-468 有较高亲和性 ($K_d=0.4 \text{nmol/l}$)。竞争抑制试验结果证明 ^{64}Cu -DOTA-cetuximab 与 EGFR 特异性结合(加入过量未标记西妥昔单抗后, 肿瘤摄取明显下降: 从 $20.91 \pm 2.49\% \text{ID/g}$ 降至 $14.42 \pm 0.85\% \text{ID/g}$) ($P=0.00$)。在荷瘤小鼠活体显像中, 肿瘤显像清晰(如图 2), 肿瘤摄取有较高的肿瘤/肌肉比 (4h: 7.97 ± 1.78 ; 24h: 15.91 ± 6.04) 和合理的肿瘤/血液比 (4h: 0.5 ± 0.18 ; 24h: 2.12 ± 0.86)。Eiblmaier M 等人^[31]的研究也得到了相似的结果。

但是 Niu G 等人^[32]研究得到了不同的结论, 他们用 ^{64}Cu -DOTA-cetuximab 对 UM-SCC-22B 和 SCC1 肿瘤模型进行 PET 成像, 虽然 UM-SCC-22B 细胞的 EGFR 表达水平低于 SCC1 细胞, 但是 UM-SCC-22B 肿瘤模型对探针却有较高的摄取。Aerts HJ 等人^[33]利用 ^{89}Zr 标记西妥昔单抗构建探针 ^{89}Zr -cetuximab, 对不同 EGFR 表达水平肿瘤模型的 PET 显像结果也显示 ^{89}Zr -cetuximab 在 EGFR 过表达肿瘤中摄取, 但是肿瘤摄取与 EGFR 表达水平之间缺乏相关性。

利用放射性核素标记单克隆抗体作为分子成像探针, 对 EGFR 进行成像的研究中, 肿瘤对探针的摄取和肿瘤 EGFR 表达水平之间的相关性结果并不一致, 这种研究结果的差异可能是由于不同实验室使用的放射性核素、注射剂量、肿瘤模型以及定量 EGFR 表达方法的不同而所致, 仍需大量实验进一步研究证实。

放射性核素标记单克隆抗体对 EGFR 的靶向分子成像已经取得了一定成果, 但是该探针具有其局限性, 例如半衰期长, 渗透性差和鼠源性的免疫源性等, 限制了这类探针的临床转

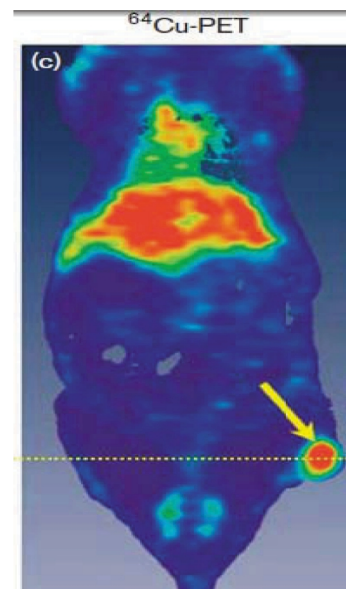


图2 ^{64}Cu -西妥昔单抗 PET 对乳腺癌 MDA-MB-368 荷瘤小鼠成像可清晰的显示肿瘤^[30]

Fig.2 ^{64}Cu -cetuximab PET image of breast cancer MDA-MB-368 tumor-bearing mice show the tumor clearly^[30]

化。通过实验, 研究者们认识到人(或人源性的)抗体碎片, 例如 Fab, 更适合用于分子成像研究。XU 等^[34]用 ^{125}I 标记抗体片段 Fab 合成了靶向 EGFR 的分子成像探针 ^{125}I -Fab, 研究其对不同 EGFR 表达水平肿瘤细胞的亲和性和特异性。 ^{125}I -Fab 对高表达 EGFR 的 A431 细胞和中表达 EGFR 的 U118 细胞的结合分别是阴性对照 NIH3T3 细胞的 3 倍和 2 倍。选择高表达 EGFR 的 A431 细胞, 中表达 EGFR 的 U118 细胞和低表达 EGFR 的 M14 细胞建立荷瘤小鼠模型, 活体 SPECT 成像结果显示: 注射探针 1h 后 A431 肿瘤区对 ^{125}I -Fab 有明显高摄取, U118 肿瘤区也清晰可见, M14 肿瘤 4h 仍没有特异性摄取, 定量分析也证实了该结果。实验证实 ^{125}I -Fab 不仅能够对高表达 EGFR 的肿瘤进行成像, 也能反应 EGFR 的表达水平, 这使得 ^{125}I -Fab 有望应用于临床, 实现 EGFR 靶向治疗优势人群的筛选。

考虑到 ^{18}F 生物半衰期较放射性金属更短, 更适用于临床, Zheng Miao 等人^[35]用 ^{18}F 标记抗体片段, 制备了靶向 EGFR 细胞外配体结合域的分子成像探针 ^{18}F -FBEM-Cys- $\text{Z}_{\text{EGFR}1907}$, 研究不同 EGFR 表达水平的肿瘤模型对该探针的摄取, 结果表明 ^{18}F -FBEM-Cys- $\text{Z}_{\text{EGFR}1907}$ 可以反应肿瘤 EGFR 的表达水平, 这类亲和体类似物体积小, 可以更快的定位到靶点, 也能更快的从血液等非特异性部位清除, 可以在短时间内得到高对比度的图像, 相较于 ^{125}I -Fab 更具有临床转化潜能。

但是, 上述这些分子成像探针多是经由肝胆系统和泌尿系统排泄, 腹部有大量放射性摄取, 背景噪声偏高, 大大限制了其在腹部原发及转移肿瘤中的应用, 应用于临床尚需大量优化研究。

2.2.2 靶向 EGFR 胞内酪氨酸激酶结构域 在 20 世纪 90 年代中期, 双环状酪氨酸激酶抑制剂出现, 推动了新一代与 ATP 竞争的 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂(EGFR-TKI)的发展。他们的主要结构是苯胺基和苯胺喹唑啉类。经美国 FDA 认证的小分子酪氨酸激酶抑制剂有 12 种, 另有大量酪氨酸激酶抑制剂正处于临床前研究阶段。

现在分子成像研究多以喹唑啉类衍生物作为探针,已应用于临床或是进入临床试验阶段的 EGFR-TKI 都是喹唑啉类衍生物 ZD1839^[36,37]和 OSI774^[38]。其中效果最好的是喹唑啉衍生物 PD153035^[39,40],它具有对 EGFR 酪氨酸激酶很好的靶向性和很高的亲和性,但是在一些肿瘤细胞体外实验中表现出很大的细胞毒性,例如 A431 上皮细胞系。之后研究者们致力于发展新的肿瘤显像剂,用于 EGFR-TK 的 PET/SPECT 成像。

喹唑啉类衍生物吉非替尼于 2003 年经 FDA 认证用于临床。McKillop 等人^[41]利用 ^{14}C 对吉非替尼进行标记,构建了靶向 EGFR 胞内酪氨酸激酶结构域的分子探针 ^{14}C - gefitinib,研究表

明表达野生型 EGFR 的肿瘤对 ^{14}C - gefitinib 高摄取,注药 2h 后肿瘤 / 血清是 2.4,8h 后肿瘤 / 血清是 6.5,证实了 ^{14}C - 吉非替尼对 EGFR 成像的可行性。但 Su 等人^[42]的实验结果不同,他们利用 ^{18}F 对吉非替尼进行标记,构建了靶向 EGFR 的分子探针 ^{18}F -gefitinib,选择不同 EGFR 表达水平的肿瘤细胞建模,U87 (低表达 EGFR),U87-EGFR(高表达 EGFR),H3255(L858R 突变),H1975(L858R 突变合并 T790M 突变),PET/CT 成像结果显示,四种肿瘤细胞荷瘤小鼠均未发现肿瘤区有特异性的高摄取(如图 3),原因可能是由于肿瘤区积累过慢或排除过快。

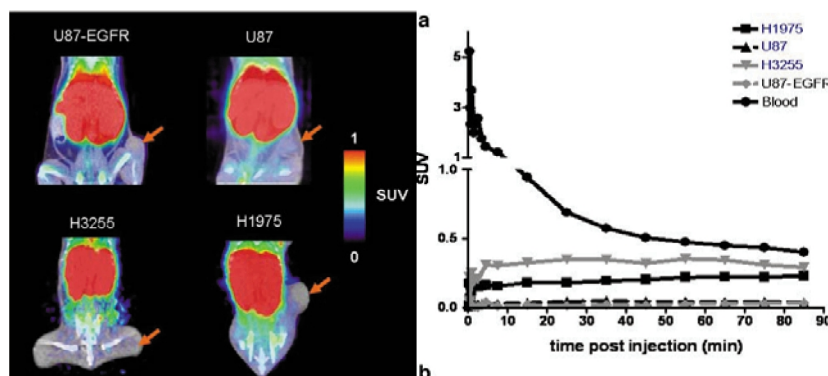


图 3 ^{18}F - 吉非替尼四种肿瘤细胞荷瘤小鼠 PET/CT 显像发现肿瘤区并没有发现特异性的高摄取^[42]

Fig.3 ^{18}F -gefitinib PET / CT image of four kinds of tumor-bearing mice show no specific uptake in tumor area^[42]

厄洛替尼也是一种经 FDA 认证的喹唑啉类衍生物。Ashfaq A. Memon 等人^[43]首次利用 ^{11}C 对厄洛替尼进行标记,构建了靶向 EGFR 胞内酪氨酸激酶结构域的分子成像探针

^{11}C - erlotinib,建立 HCC827 细胞(对厄洛替尼敏感)和 A549、NCI358 细胞(对厄洛替尼不敏感)荷瘤裸鼠模型,PET 扫描和生物分布实验结果显示, ^{11}C - erlotinib 在 HCC827 肿瘤模型中

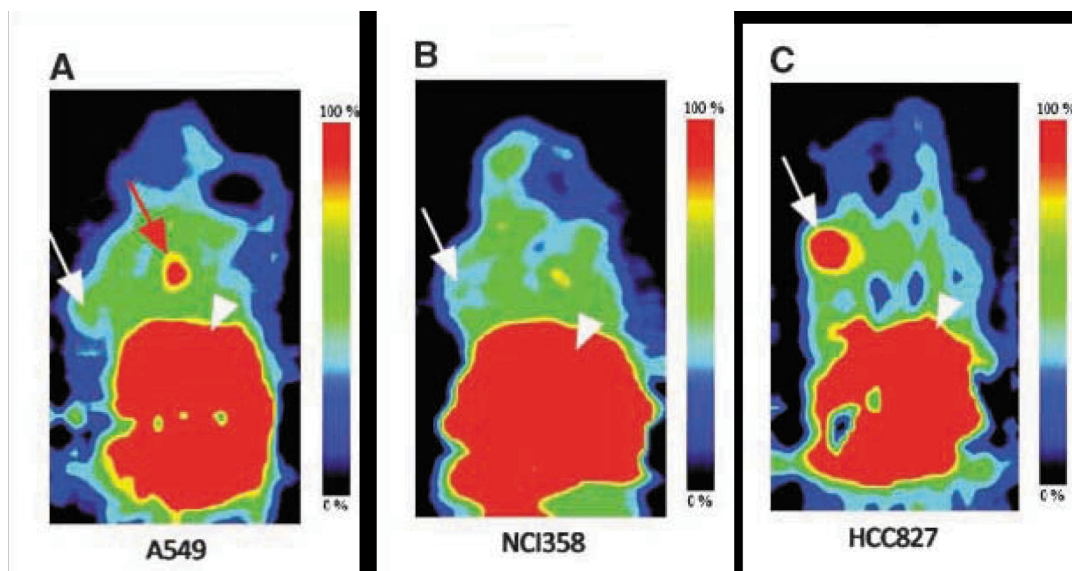


图 4 白色箭头显示为肿瘤病灶,HCC827 肿瘤模型有特异性的探针摄取,肿瘤显像清晰,A549 和 NCI358 肿瘤模型无特异性探针摄取^[43]

Fig.4 Tumor lesions(white arrow), HCC827 tumor models have specific probe uptake clearly, A549 and NCI358 tumor models have no specific probe uptake^[43]

摄取最高,持续时间最长,肿瘤与周围组织比最清晰,而 A549 和 NCI358 裸鼠模型则无特异性的摄取(如图 4)。预示着 ^{11}C -erlotinib 可用于临床用于对厄洛替尼治疗优势人群的筛选。

2011 年 Weber 等人^[44]首次将 ^{11}C - erlotinib 成像应用于临床非小细胞肺癌脑转移患者, ^{11}C - erlotinib PET 成像显示探针

在转移灶积聚,而周围脑实质无或轻度摄取,证实了 ^{11}C -erlotinib 可在厄洛替尼敏感的原发肿瘤和转移肿瘤中高积累。AA Memon^[45]等人对 13 例非小细胞肺癌患者厄洛替尼治疗前后行 ^{11}C -erlotinib PET/CT 扫描,并与 ^{18}F -FDG PET/CT 扫描结果进行对比,结果显示 ^{11}C - erlotinib PET/CT 不仅能够显示

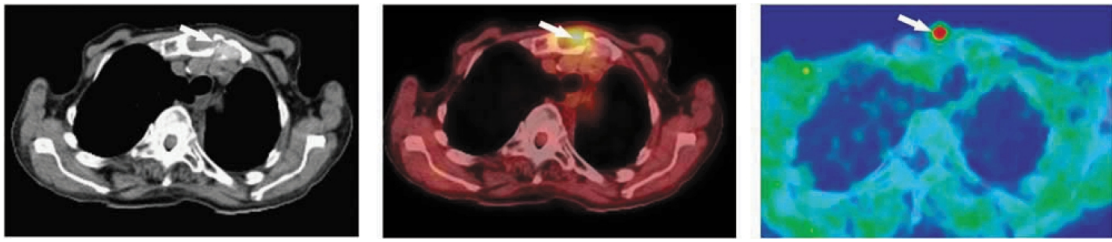


图 5 NSCLC 骨转移瘤, CT 图像显示胸骨及左侧肋骨固执破坏, 软组织肿块, 18F-FDG PET 图像显示病灶区域 18F-FDG 高摄取, 11C-erlotinib PET 图像显示病灶区域 11C-erlotinib 高摄取^[45]

Fig.5 Bone metastases(NSCLC), CT image shows the left side of the sternum and ribs stubborn destruction, soft tissue mass, 18F-FDG PET image shows regional 18F-FDG uptake, 11C-erlotinib PET image shows the 11C-erlotinib high uptake^[45]

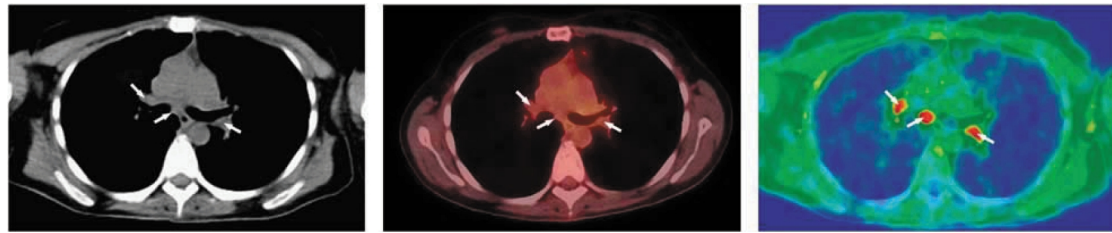


图 6 NSCLC 纵膈肺门淋巴结转移, CT 图像显示纵膈及肺门淋巴结略增大, 18F-FDG PET 图像显示无异常 18F-FDG 高摄取, 11C-erlotinib PET 图像显示纵膈及肺门 11C-erlotinib 高摄取^[45]

Fig.6 Hilar and mediastinal lymph node metastases(NSCLC), CT image shows mediastinal increased slightly and hilar lymph nodes, 18F-FDG PET images showed no abnormal 18F-FDG uptake, 11C-erlotinib PET image shows mediastinal and hilar 11C-erlotinib high uptake^[45]

¹⁸F-FDG PET/CT 能检出的肿瘤病灶和转移病灶(如图 5), 甚至可以检测出 ¹⁸F-FDG PET/CT 不能检出的淋巴结转移灶(如图 6)。可为临床中肿瘤的准确分期, 厄洛替尼治疗优势人群的筛选提供理论依据, 但是治疗前 11C-erlotinib 摄取量为多少时预示临床厄洛替尼治疗有效尚需大量临床实验证实。

利用放射性核素标记已投入临床的唑啉类药物进行分子成像有两个优势:(1) 这些经认证的药物已经过大量临床前和临床实验研究, 对 EGFR 有很好的亲和性和靶向性, 可缩短分子成像研究到临床转化的进程;(2) 可直观评价药物治疗效果, 为临床治疗方案的调整提供依据。而为了进一步优化分子探针的性能, 发展新型的分子靶向药物, 大量新的唑啉类衍生物分子探针正在临床前实验中。Masahiko Hirata 等^[46]用放射性碘标记 PHY(4-(3-碘苯基)-6,7-二甲氧基), 一种苯氧基衍生物, 构建了分子探针 ¹²⁵I-PYK, 证明其有很好的 EGFR-TK 成像特性。为了得到比 PHY 更好的成像探针, 在(PHY)6 号位点上加上不同侧链合成了不同的衍生物, 其中吗啉苯氧基衍生物 PYK 对 EGFR 的亲力和成像效果最好。利用 ¹²⁵I-PYK 探针到过表达 EGFR 的 A431 荷瘤小鼠的 SPECT 成像可得到清晰的肿瘤图像, 有明显的肿瘤摄取。注射探针 1h 后肿瘤区放射性摄取为 $4.37 \pm 0.65\% \text{ID/g}$, 而且, 持续时间长, 24h 后肿瘤区放射性摄取仍为 $1.53 \pm 0.15\% \text{ID/g}$ 。¹²⁵I-PYK 可以敏感的对高表达 EGFR 的肿瘤进行成像, 有望应用于临床评价肿瘤 EGFR 的表达水平, 可以实现对高表达 EGFR 肿瘤疗效明显的分子靶向药物优势人群的筛选提供依据, 提高肿瘤靶向治疗有效率。

2.3 靶向 EGFR 突变的分子成像

EGFR 表达水平与多种肿瘤预后相关, 但是少数肿瘤除外, 例如非小细胞肺癌, 因为突变更加重要, 临床资料显示某些 EGFR 突变类型的患者对 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂治疗效果优于野生型^[47-50]。但是目前临床中还没有对突变 EGFR 具有高

选择性、高敏感性的靶向分子探针。Hsin Hsien Yeha 等人^[51]利用 ¹⁸F 标记, 设计合成了特异性靶向 L858R 突变的分子成像探针 ¹⁸F-F-PEG6-IPQA, 并对其离体和在体性质进行了评价。实验选用 EGFR L858R 突变的 H3255 细胞、合并 L858R 和 T790M 突变的 H1975 细胞、野生型 EGFR 的 H441 和 PC14 细胞。离体细胞实验结果显示, 虽然 H3255 细胞中 EGFR 和磷酸化 EGFR 表达水平比 H441 细胞低 2 倍, 但是 H3255 细胞对 ¹⁸F-PEG6-IPQA 探针的摄取却比 H441 细胞高 10 倍, 说明或至少部分说明 H3255 细胞对该探针的高摄取是由于 L858R 突变所致。荷瘤小鼠 PET 成像结果显示, H3255 肿瘤模型的活性部分对 ¹⁸F-PEG6-IPQA 高摄取($3.01 \pm 0.84\% \text{ID/g}$)。 ¹⁸F-PEG6-IPQA 在 H441 肿瘤模型中积累较低 ($2.53 \pm 0.15\% \text{ID/g}$), 在 H1975 ($1.27 \pm 0.12\% \text{ID/g}$) 和 PC14 ($1.54 \pm 0.14\% \text{ID/g}$) 中积累更低。该数据表明 ¹⁸F-F-PEG6-IPQA 表现出对 L858R 突变较高的特异性和亲和性。Ashutosh Pal 等人^[52]的研究也证实了 ¹⁸F-PEG6-IPQA 对 H3255 细胞的亲和性比 H441 细胞高 10 倍, 这种探针的临床转化可以实现对 EGFR 突变肿瘤有明显疗效的分子靶向药物优势人群的筛选, 提高肿瘤靶向治疗的有效率。

现已有针对 EGFR 突变的靶向分子成像探针应用于临床, Idris Bahce 等人^[53]用 11C 标记厄洛替尼制备了 PET 分子成像探针 ¹¹C-erlotinib, 对 10 例 NSCLC 患者(其中 5 例 19 外显子缺失突变, 5 例没有突变)进行 ¹¹C-erlotinib PET/CT 扫描, 研究表明 EGFR 突变患者肿瘤 ¹¹C-erlotinib 的分布容积(volume of distribution)明显高于非突变组, 预示着可用于临床厄洛替尼治疗优势人群的筛选, 治疗效果的预测等。

3 展望

大量临床前及临床实验都已经证实了靶向 EGFR 分子成

像的可行性,不同新型分子成像探针的设计和构建使得 EGFR 表达和 / 或突变成像得以实现,但是,目前现有的靶向 EGFR 的分子成像探针在血液和周围组织中仍有较高的放射性摄取,注射对比剂后短时间内周围组织的放射性会影响探针对于肿瘤的成像;而且现有探针多是经由肝胆系统排泄,大大限制了其在腹部肿瘤中的应用。所以作者认为现有探针的优化应着重于三个方面:1)改进探针结构,进一步提高其与靶点的特异性结合能力,降低周围正常组织的非特异性摄取,提高肿瘤 - 背景信号比;2)减小探针体积,使其可以更快结合到靶点,更快从血液和非特异组织中清除,提高肿瘤 - 背景信号比;3)提高探针水溶性,降低腹部非特异性摄取,为腹部肿瘤的成像提供可能,但是,酪氨酸激酶和其他蛋白激酶抑制剂均是通过被动扩散通过细胞膜到达细胞内靶点的,所以药物又需要有足够的亲脂性可以通过细胞膜到达靶点,如何能够做到其中的平衡是关键要点。

分子靶向治疗是肿瘤治疗的方向和趋势,EGFR 靶向治疗是其中很重要的领域,然而目前靶向治疗的总体效果并不令人满意。EGFR 表达水平及突变状态对恶性肿瘤治疗效果影响显著,PET/SPECT 分子成像可实现对 EGFR 表达水平及突变状态在体、准确、动态评价,为临床筛选分子靶向治疗优势人群、评价治疗效果、预测预后提供可靠依据。大量高亲和性、高特异性探针的发展,使 EGFR 分子成像的临床转化成为可能。而且,若将成像放射性核素替换为有治疗作用的放射性核素,或将在实现肿瘤成像的同时实现局部放射治疗,真正实现诊疗一体化,必将为肿瘤治疗带来新的革命性进展。

参考文献(References)

- [1] 郝捷,陈万青. 中国肿瘤登记年报 012[M]. 军事医学科学出版社, 2012
- [2] Hao Jie, Chen Wanqing. Cancer Registration in China Report 012 [M]. Military Medical Science Press, 2012
- [3] 申宝忠. 走近分子影像学:发展的回顾与展望[J]. 中华放射学杂志, 2013, 47(z1)
- [4] Shen-Bao-zhong. Approached Molecular Imaging: Review and Prospect [J]. Chinese Journal of Radiology, 2013, 47 (z1)
- [5] Parkin D M, Bray F, Ferlay J, et al. Global cancer statistics, 2002[J]. CA: a cancer journal for clinicians, 2005, 55(2): 74-108
- [6] Ciardiello F. Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors as anticancer agents[J]. Drugs, 2000, 60(1): 25-32
- [7] Renhowe P A. Growth factor receptor kinases in cancer [J]. Annual Reports in Medicinal Chemistry, 2001, 36: 109-118
- [8] Rowinsky E K. The pursuit of optimal outcomes in cancer therapy in a new age of rationally designed target-based anticancer agents [J]. Drugs, 2000, 60(1): 1-14
- [9] Mendelsohn J, Baselga J. Status of epidermal growth factor receptor antagonists in the biology and treatment of cancer [J]. Journal of clinical oncology, 2003, 21(14): 2787-2799
- [10] Olayioye M A, Neve R M, Lane H A, et al. NEW EMBO MEMBERS'REVIEW: The ErbB signaling network: receptor heterodimerization in development and cancer [J]. The EMBO journal, 2000, 19(13): 3159
- [11] Cataldo V D, Gibbons D L, Pérez-Soler R, et al. Treatment of non-small-cell lung cancer with erlotinib or gefitinib [J]. New England Journal of Medicine, 2011, 364(10): 947-955
- [12] Ang K K, Berkey B A, Tu X, et al. Impact of epidermal growth factor receptor expression on survival and pattern of relapse in patients with advanced head and neck carcinoma [J]. Cancer research, 2002, 62 (24): 7350-7356
- [13] P.A. du Parcq, P. Jones, J. Nelson, et al. EGFR mutation in non-small cell lung cancer: one year of laboratory testing [J]. Lung Cancer, 2011, 71(Suppl 1):S3
- [14] Kosaka T, Yatabe Y, Endoh H, et al. Analysis of epidermal growth factor receptor gene mutation in patients with non-small cell lung cancer and acquired resistance to gefitinib[J]. Clinical Cancer Research, 2006, 12(19): 5764-5769
- [15] Yi H G, Kim H J, Kim Y J, et al. Epidermal growth factor receptor (EGFR) tyrosine kinase inhibitors (TKIs) are effective for leptomeningeal metastasis from non-small cell lung cancer patients with sensitive EGFR mutation or other predictive factors of good response for EGFR TKI[J]. Lung Cancer, 2009, 65(1): 80-84
- [16] Cohen V, Agulnik J S, Ang C, et al. Epidermal growth factor receptor mutations detected by denaturing high-performance liquid chromatography in nonsmall cell lung cancer [J]. Cancer, 2010, 116 (18): 4309-4317
- [17] Ondrej Fiala, Milos Pesek, Jindrich Finek, et al. EGFR mutations in patients with advanced NSCLC[J]. Lung Cancer, 2012, 77(Suppl 1): S30
- [18] Bria E, Milella M, Cuppone F, et al. Outcome of advanced NSCLC patients harboring sensitizing EGFR mutations randomized to EGFR tyrosine kinase inhibitors or chemotherapy as first-line treatment: a meta-analysis[J]. Annals of oncology, 2011, 22(10): 2277-2285
- [19] Reusch U, Sundaram M, Davol P A, et al. Anti-CD3 $\times$ anti-epidermal growth factor receptor (EGFR) bispecific antibody redirects T-cell cytolytic activity to EGFR-positive cancers in vitro and in an animal model[J]. Clinical cancer research, 2006, 12(1): 183-190
- [20] Schiller JH. Noninvasive monitoring of tumors[J]. The New England journal of medicine, 2008, 359(4):418-420
- [21] Goldstraw P, Ball D, Jett J R, et al. Non-small-cell lung cancer[J]. The Lancet, 2011, 378(9804): 1727-1740
- [22] Molina R, Filella X, Aue J M, et al. Tumor markers (CEA, CA 125, CYFRA 21-1, SCC and NSE) in patients with non-small cell lung cancer as an aid in histological diagnosis and prognosis [J]. Tumor biology, 2003, 24(4): 209-218
- [23] Downward J, Yarden Y, Mayes E, et al. Close similarity of epidermal growth factor receptor and v-erb-B oncogene protein sequences[J]. 1984
- [24] Ullrich A, Coussens L, Hayflick J S, et al. Human epidermal growth factor receptor cDNA sequence and aberrant expression of the amplified gene in A431 epidermoid carcinoma cells[J]. 1984
- [25] DiGiovanna MP, Stern DF, Edgerton SM, et al. Relationship of epidermal growth factor receptor expression to ErbB-2 signal-ing activity and prognosis in breast cancer patients [J]. J Clin Oncol. 2005, 23:1152-1160
- [26] Nicholson R I, Gee J M W, Harper M E. EGFR and cancer prognosis [J]. European Journal of Cancer, 2001, 37: 9-15

- [25] Burris HA 3rd. Dual kinase inhibition in the treatment of breast cancer: initial experience with the EGFR/ErbB-2 inhibitor lapatinib [J]. *Oncologist*, 2004, 9(suppl 3):10-15
- [26] Geyer C E, Forster J, Lindquist D, et al. Lapatinib plus capecitabine for HER2-positive advanced breast cancer [J]. *New England Journal of Medicine*, 2006, 355(26): 2733-2743
- [27] Jones H E, Goddard L, Gee J M W, et al. Insulin-like growth factor-I receptor signalling and acquired resistance to gefitinib (ZD1839; Iressa) in human breast and prostate cancer cells[J]. *Endocrine-related cancer*, 2004, 11(4): 793-814
- [28] Reilly R M, Kiarash R, Sandhu J, et al. A comparison of EGF and MAb 528 labeled with ¹¹¹In for imaging human breast cancer[J]. *Journal of nuclear medicine: official publication, Society of Nuclear Medicine*, 2000, 41(5): 903-911
- [29] Cai W, Chen K, He L, et al. Quantitative PET of EGFR expression in xenograft-bearing mice using ⁶⁴Cu-labeled cetuximab, a chimeric anti-EGFR monoclonal antibody [J]. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*, 2007, 34(6): 850-858
- [30] Sadri K, Ren Q, Zhang K, et al. PET imaging of EGFR expression in nude mice bearing MDA-MB-468, a human breast adenocarcinoma [J]. *Nuclear Medicine Communications*, 2011, 32(7): 563-569
- [31] Eiblmaier M, Meyer L A, Watson M A, et al. Correlating EGFR expression with receptor-binding properties and internalization of ⁶⁴Cu-DOTA-cetuximab in 5 cervical cancer cell lines[J]. *Journal of Nuclear Medicine*, 2008, 49(9): 1472-1479
- [32] Niu G, Sun X, Cao Q, et al. Cetuximab-based immunotherapy and radioimmunotherapy of head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Clinical Cancer Research*, 2010, 16(7): 2095-2105
- [33] 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]. *Journal of Nuclear Medicine*, 2009, 50(1): 123-131
- [34] Xu N, Cai G, Ye W, et al. Molecular imaging application of radioiodinated anti-EGFR human Fab to EGFR-overexpressing tumor xenografts[J]. *Anticancer research*, 2009, 29(10): 4005-4011
- [35] Miao Z, Ren G, Liu H, et al. PET of EGFR expression with an ¹⁸F-labeled antibody molecule [J]. *Journal of Nuclear Medicine*, 2012, 53(7): 1110-1118
- [36] Campos S M, Berlin S T, Parker L M, et al. Phase I trial of liposomal doxorubicin and ZD1839 in patients with refractory gynecological malignancies or metastatic breast cancer [J]. *International journal of clinical oncology*, 2010, 15(4): 390-398
- [37] Yuan H, Han Y, Bian W, et al. The effect of monoclonal antibody cetuximab (C225) in combination with tyrosine kinase inhibitor gefitinib (ZD1839) on colon cancer cell lines[J]. *Pathology-Journal of the RCPA*, 2012, 44(6): 547-551
- [38] Grünwald V, Hidalgo M. Development of The Epidermal Growth Factor Receptor Inhibitor Tarceva? (OSI-774) [M]//*New Trends in Cancer for the 21st Century*. Springer US, 2003: 235-246
- [39] Fry D W, Kraker A J, McMichael A, et al. A specific inhibitor of the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase [J]. *Science*, 1994, 265(5175): 1093-1095
- [40] Kunkel MW, Hook KE, Howard CT, et al. Inhibition of the epidermal growth factor receptor tyrosine kinase by PD153035 in human A431 tumors in athymic nude mice[J]. *Invest New Drugs*, 1996, 13:295-302
- [41] McKillop D, Partridge E A, Kemp J V, et al. Tumor penetration of gefitinib (Iressa), an epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor[J]. *Molecular cancer therapeutics*, 2005, 4(4): 641-649
- [42] Su H, Seimbille Y, Ferl G Z, et al. Evaluation of [¹⁸F] gefitinib as a molecular imaging probe for the assessment of the epidermal growth factor receptor status in malignant tumors [J]. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*, 2008, 35(6): 1089-1099
- [43] Memon A A, Jakobsen S, Dagnaes-Hansen F, et al. Positron emission tomography (PET) imaging with [¹¹C]-labeled erlotinib: a micro-PET study on mice with lung tumor xenografts [J]. *Cancer research*, 2009, 69(3): 873- 878
- [44] Weber B, Winterdahl M, Memon A, et al. Erlotinib accumulation in brain metastases from non-small cell lung cancer: visualization by positron emission tomography in a patient harboring a mutation in the epidermal growth factor receptor [J]. *Journal of Thoracic Oncology*, 2011, 6(7): 1287-1289
- [45] Memon A A, Weber B, Winterdahl M, et al. PET imaging of patients with non-small cell lung cancer employing an EGF receptor targeting drug as tracer[J]. *British journal of cancer*, 2011, 105(12): 1850-1855
- [46] Masahiko Hirata, Yasukazu Kanai, Sadahiro Naka, et al. A useful EGFR-TK ligand for tumor diagnosis with SPECT:development of radioiodinated 6-(3-morpholinopropoxy)-7-ethoxy-4-(30-iodophenoxy)quinazoline[J]. *Ann Nucl Med*, 2013, 27:431-443
- [47] Memon A A, Jakobsen S, Dagnaes-Hansen F, et al. Positron emission tomography (PET) imaging with [¹¹C]-labeled erlotinib: a micro-PET study on mice with lung tumor xenografts [J]. *Cancer research*, 2009, 69(3): 873-878
- [48] Yeh H H, Ogawa K, Balatoni J, et al. Molecular imaging of active mutant L858R EGF receptor (EGFR) kinase-expressing nonsmall cell lung carcinomas using PET/CT [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2011, 108(4): 1603-1608
- [49] Park J H, Lee S H, Keam B, et al. EGFR mutations as a predictive marker of cytotoxic chemotherapy [J]. *Lung Cancer*, 2012, 77(2): 433-437
- [50] Lee J K, Kim T M, Koh Y, et al. Differential sensitivities to tyrosine kinase inhibitors in NSCLC harboring EGFR mutation and ALK translocation[J]. *Lung Cancer*, 2012, 77(2): 460-463
- [51] Yeh H H, Ogawa K, Balatoni J, et al. Molecular imaging of active mutant L858R EGF receptor (EGFR) kinase-expressing nonsmall cell lung carcinomas using PET/CT [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2011, 108(4): 1603-1608
- [52] Pal A, Balatoni J A, Mukhopadhyay U, et al. Radiosynthesis and initial in vitro evaluation of [¹⁸F] F-PEG6-IPQA-a novel PET radio-tracer for imaging EGFR expression-activity in lung carcinomas[J]. *Molecular Imaging and Biology*, 2011, 13(5): 853-861
- [53] Bahce I, Smit E F, Lubberink M, et al. Development of [¹¹C] erlotinib positron emission tomography for in vivo evaluation of EGF receptor mutational status [J]. *Clinical Cancer Research*, 2013, 19(1): 183-193