

文章编号: 1001-098X(2003)05-0198-03

## 肿瘤整合素 $\alpha_v\beta_3$ 受体显像的研究现状

李前伟

**摘要:** 整合素  $\alpha_v\beta_3$  受体在多种恶性肿瘤细胞表面有高水平的表达,尤其在恶性肿瘤组织新生血管内皮细胞膜,成熟血管内皮细胞和绝大多数正常器官系统则无表达或几乎不能被探及。含有 RGD(精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸)序列的小分子多肽是整合素  $\alpha_v\beta_3$  受体拮抗剂,对整合素  $\alpha_v\beta_3$  受体具有高度的选择性与亲和力,是一类具有潜在临床应用价值的肿瘤受体显像剂。

**关键词:** 整合素  $\alpha_v\beta_3$ ; 放射性核素受体显像; 肿瘤

中图分类号: R817.4 文献标识码: A

## The research status quo of tumor integrin $\alpha_v\beta_3$ receptor scintigraphy

Li Qian-wei

(Nuclear Medicine Center, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

**Abstract:** Integrin  $\alpha_v\beta_3$  receptor is not only expressed on cells surface of many malignant tumors with higher level, but expressed on the neovasculature endothelial cell membrane in malignant tumor tissue with extremely high density and has no expression or cannot be detected in mature vascular endothelial cell and most of the normal organic system. The small molecul cyclic peptides containing RGD motif is an effective antagonist for  $\alpha_v\beta_3$  receptor, which have height selectivity and affinity bind to  $\alpha_v\beta_3$  receptor and is one kind of potential tumor receptor imaging agent.

**Key words:** integrin  $\alpha_v\beta_3$ ; radionuclid receptor scintigraphy; tumor

受体显像是一种特异性强、敏感性高的分子核医学影像诊断技术,对肿瘤的定性、定位诊断价值日益受到临床的关注<sup>[1]</sup>。其中,生长抑素受体(somatostatin receptor, SMSR)显像剂 <sup>111</sup>In-Octroscan 已得到欧美国家正式批准应用于临床,并在肿瘤的早期诊断与鉴别诊断、临床分期与治疗方案制定等方面起到了重要的作用<sup>[2]</sup>。然而,由于并非所有的实体肿瘤细胞都表达 SMSR,故在肿瘤临床应用中受到了一定的限制。因此,寻找肿瘤组织共同、特异和过度表达的受体,筛选与合成受体的特异性配体,并实现保留配体结合活性

的放射性核素标记一直是肿瘤受体显像研究的热点。实验研究发现,整合素  $\alpha_v\beta_3$  受体是极有应用前景的肿瘤靶受体。

### 1 整合素

整合素(integrin)是一类由  $\alpha$  亚基和  $\beta$  亚基经非共价键连接而成的异二聚体跨膜糖蛋白粘附分子,包括较短的细胞质内羧基末端、跨膜段和较长的细胞外氨基末端,目前已知至少有 14 种  $\alpha$  亚基和 9 种  $\beta$  亚基,组成的整合素已达 20 余种亚型。 $\alpha$  亚基的分子质量为 120 000~180 000,含 7 个重复顺序(Asp-x-Asp-x-Asp-x-Gly-x-x-Asp),二价阳离子常与这一部位结合,是整合素发挥功能的基本条件,同时二价阳离子可影响整合素对其配体的亲和力及特异性; $\beta$  亚基的分子质量为 90 000~110 000,含 4 个富有半胱氨酸的片段,形成内部二硫键。细胞

收稿日期: 2002-12-17

基金项目: 重庆市科委攻关课题(2002-17-13)

作者简介: 李前伟(1963-),男,第三军医大学西南医院核医学中心(重庆,400038)医学博士,副教授,副主任医师,主要从事肿瘤分子核医学研究。

审校者: 四川大学华西医院核医学科 谭天秩

外区的 $\alpha$ 、 $\beta$ 亚基共同构成整合素受体,与特异性配体结合。在细胞内区, $\beta$ 链介导整合素与细胞骨架蛋白及其他细胞质成分的相互作用。整合素具有两种主要功能:①通过与相应配体结合介导细胞与基底膜、细胞与细胞的粘附,这是其主要作用;②作为细胞内外信息传递的桥梁,一方面细胞内的信号调节整合素与其配体的亲和力和活性状态,另一方面整合素与其配体结合后向细胞内传递信号,发挥生物学效应。

## 2 整合素 $\alpha_3\beta_1$ 受体与肿瘤

实验研究证实,整合素 $\alpha_3\beta_1$ 受体(以下简称 $\alpha_3\beta_1$ 受体)不仅在包括骨肉瘤、成神经细胞瘤、肺癌、乳腺癌、前列腺癌、膀胱癌、胶质母细胞瘤及浸润性黑色素瘤等多种肿瘤细胞表面有高表达,而且在肿瘤组织新生血管内皮细胞膜有强烈表达,但在成熟血管内皮细胞和绝大多数正常器官系统中, $\alpha_3\beta_1$ 受体表达缺乏或几乎不能被探及<sup>[3]</sup>。 $\alpha_3\beta_1$ 受体通过与细胞外基质蛋白(如玻基结合素等)的受体识别序列RGD(精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸)特异结合,介导肿瘤细胞粘附和移行,在肿瘤生长、局部浸润、转移,特别是肿瘤诱导的血管生成过程中发挥重要作用。上述研究结果为设计含有RGD序列的 $\alpha_3\beta_1$ 受体小分子拮抗肽、用作选择性肿瘤靶向显像剂和治疗制剂奠定了充分的理论基础。

## 3 肿瘤 $\alpha_3\beta_1$ 受体拮抗多肽

肿瘤新生血管内皮细胞属于遗传稳定的非恶性内皮细胞,其表面的 $\alpha_3\beta_1$ 受体不存在突变的可能,加之这些细胞表面直接与循环血液接触,更容易接近药物,因此是一种特别适合作为肿瘤治疗的靶。研究证实,肿瘤细胞对抗血管治疗的反应具有一种内在的扩增效应,据测定,除去一个血管内皮细胞能抑制100个肿瘤细胞的生长。大量实验研究证实,含RGD序列的小分子环形多肽具有强烈的选择性抑制肿瘤细胞粘附和转移的作用,并通过诱导肿瘤新生血管的凋亡,抑制荷瘤动物体内肿瘤的生长或体外培养肿瘤细胞的增殖<sup>[4]</sup>。对 $\alpha_3\beta_1$ 拮抗多肽的结构-效应关系研究发现,含有两个二硫键的环形RGD多肽对肿瘤新生血管内皮细胞的抑制效力最强,是含单一二硫键环形RGD

多肽的20倍,是线性RGD多肽的200倍<sup>[5]</sup>。目前,国外将含RGD序列的小分子多肽与非肽类的 $\alpha_3\beta_1$ 受体拮抗剂用于抗血管生成治疗,已开始对各种恶性肿瘤患者进行初期临床试验<sup>[6]</sup>。由于 $\alpha_3\beta_1$ 受体拮抗肽既能特异地与肿瘤新生血管内皮细胞结合,也能与 $\alpha_3\beta_1$ 受体阳性的肿瘤细胞结合,因此,这类拮抗肽在体内的T/NT(肿瘤/正常组织)比值能够充分满足肿瘤受体显像诊断的要求。

## 4 放射性 $\alpha_3\beta_1$ 受体配体及其体内生物学分布

Roland H等<sup>[7]</sup>选取经实验证实对 $\alpha_3\beta_1$ 受体具有高亲和力、高选择性的RGD环形五肽——c(RGDfV),将其中第4位上的苯丙氨酸(Phe)替换为酪氨酸(Tyr),然后采用Iodogen法进行碘(<sup>125</sup>I)标记,得到<sup>125</sup>I-c(RGDy(I)V)(简称<sup>125</sup>I-P2),并研究了该标记多肽在体内外与肿瘤 $\alpha_3\beta_1$ 受体的结合特性,结果显示:①c(RGDy(I)V)、c(RGDfV)抑制玻基结合素与 $\alpha_3\beta_1$ 受体结合的Q值分别为0.031与0.033,即引入酪氨酸和碘不影响<sup>125</sup>I-P2与 $\alpha_3\beta_1$ 受体结合的高亲和力及选择性;②<sup>125</sup>I-P2血液清除快速,在观察期内骨肉瘤组织与血液的T/NT比值为2.7~7.7,表明其属于 $\alpha_3\beta_1$ 受体依赖性的浓聚,该标记配体主要通过肝脏分泌;③<sup>125</sup>I-P2在荷瘤动物体内的放射自显影与上述结果一致,阴性对照标记肽<sup>125</sup>I-c(RADyV)在肿瘤组织则无特异浓聚。但是,该放射性标记配体主要经胆道系统排泄,限制了对肝脏与腹部肿瘤显像的临床应用。

此后,有学者报道了放射性核素<sup>111</sup>In和/或<sup>99m</sup>Tc标记包括DTPA(二乙三胺五乙酸)RGD类似物、含2个RGD序列的十二肽、环形RGDfK多肽类似物及含RGD序列的多肽-葡聚糖共轭物等在内的多种 $\alpha_3\beta_1$ 受体拮抗剂<sup>[8,9]</sup>。资料显示,这些标记配体从血液中清除迅速,由于在拮抗剂中引入了DTPA、DOTA(1,4,7,10-四氮杂-N,N',N'',N'''-四乙酸环十二烷)、HYNIC(三羟甲基甘氨酸)及葡聚糖等基团,一方面有利于金属放射性核素的标记,使部分标记配体的放射化学产率>90%,个别可达99%;另一方面引入有上述基团的RGD多肽主要从肾脏排泄,能加速组织本底放射性的降低,提高显像图像质量,显著扩大了这类标记配体的临床应用范围和价值。另外,所有标记化合物均在体内、外显示与肿瘤特异性结合,且在荷瘤动物

体内的 T/NT 比值为 4.0~43.0。

Roland H 等<sup>[10]</sup>在总结以往研究的基础上,在环形(-RGD-D-FK-)五肽中引入一个 SSA(血清样淀粉蛋白 A) 基因,得到了环形-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Lys-(SAA)-,简称 Galacto-RGD。引入 SSA 后,一方面改进了 RGD 类似物的药物动力学,使其亲水性增加,同时明显降低肝脏的摄取;另一方面有利于实现 <sup>18</sup>F 的标记,从而产生了第一个用于 PET 的  $\alpha_3\beta_3$  受体显像剂—<sup>18</sup>F-Galacto-RGD。体内、外受体介导结合特性、生物学分布及肿瘤鼠模型 PET 显像研究显示,<sup>18</sup>F-Galacto-RGD 的血液清除同样快速,主要经肾脏排泄,绝大部分器官(特别是血液和肌肉)仅有低水平的放射性分布,而在观察期间  $\alpha_3\beta_3$  阳性肿瘤有稳定的核素浓聚;注射后 120 min,肿瘤/血液比值为 27.5,肿瘤/肌肉比值为 10.2,表明该标记配体与肿瘤  $\alpha_3\beta_3$  受体特异性结合。作者认为,<sup>18</sup>F-Galacto-RGD 适用于非侵入性确定肿瘤  $\alpha_3\beta_3$  受体表达的状态及对抗肿瘤血管生成治疗的监测。

综上所述,含 RGD 序列的小分子肽多是肿瘤  $\alpha_3\beta_3$  受体强有力的拮抗剂,向多肽中引入不同的功能基团进行一定修饰,并用放射性核素 <sup>125</sup>I、<sup>99</sup>Tc<sup>m</sup>、<sup>111</sup>In 或 <sup>18</sup>F 标记,由于未改变这类多肽的空间结构,因此并不影响标记配体在体内、外与  $\alpha_3\beta_3$  受体结合的亲和力与选择性。这类多肽不仅是具有潜在临床应用价值的肿瘤受体靶向显像剂,而且为进一步开展实体肿瘤受体靶向核素治疗研究奠定了坚实的基础。

## 5 肿瘤 $\alpha_3\beta_3$ 受体显像研究现状及应用前景

目前,肿瘤  $\alpha_3\beta_3$  受体显像研究绝大部分仍处于实验研究阶段,仅 Sivolapenko GB 等<sup>[11]</sup>于 1998 年报道,将 <sup>99</sup>Tc<sup>m</sup> 标记的含两个 RGD 序列的线性十肽用于对转移性黑色素瘤病人的显像,所得图像虽然显示了肿瘤的特异性结合,但肺和腹部存在持续高水平放射性,无疑将严重干扰对这些部位肿瘤的诊断价值,且文献中缺乏对该标记多肽在体内、外与  $\alpha_3\beta_3$  受体亲和力及选择性的研究资料。

筛选和寻找亲和力更高的  $\alpha_3\beta_3$  受体的配体——含 RGD 序列的小分子多肽,并对其进行适当的化学修饰,实现 <sup>99</sup>Tc<sup>m</sup>、<sup>111</sup>In、<sup>186</sup>Re 等放射性核素的标记,是目前肿瘤分子核医学中  $\alpha_3\beta_3$  受体应

用研究的主要内容。实现  $\alpha_3\beta_3$  受体配体一步法标记药盒的制备,并向临床推广应用,是本研究领域的发展方向。

$\alpha_3\beta_3$  受体显像具有如下的应用前景:①能客观地预测肿瘤对  $\alpha_3\beta_3$  受体拮抗剂(抗肿瘤血管生成)治疗的有效性,特别有助于患者治疗方案的选择;②对抗肿瘤血管生成药物的药理研究有重要的指导作用;③可对实体肿瘤提供高敏感性和高特异性的定性、定位诊断,明显优于肿瘤放射免疫显像,理论上敏感性高于生长抑素受体和血管活性肠肽受体显像。

## 参考文献:

- [1] Behr TM, Gotthardt M, Barth A, et al. Imaging tumors with peptide-based radioligands [J]. Q J Nucl Med, 2001, 45(2): 189-200.
- [2] Janson ET, Westlin JE, Ohrvall U, et al. Nuclear localization of <sup>111</sup>In after intravenous injection of [<sup>111</sup>In-DTPA-D-Phe1]-octreotide in patients with neuroendocrine tumors [J]. J Nucl Med, 2000, 41(9): 1514-1518.
- [3] Folkman J. Addressing tumor blood vessels [J]. Nature Biotechnol, 1997, 15(6): 510.
- [4] Buerkle MA, Pahernik SA, Sutter A, et al. Inhibition of the alpha-v integrins with a cyclic RGD peptide impairs angiogenesis, growth and metastasis of solid tumours in vivo [J]. Br J Cancer, 2002, 86(5): 788-795.
- [5] Koivunen E, Wang B, Ruoslahti E. Phage libraries displaying cyclic peptides with different ring sizes: ligand specificities of the RGD-directed integrins [J]. Biotechnol N Y, 1995, 13(3): 265-270.
- [6] Brower V. Tumor angiogenesis—new drugs on the block [J]. Nat Biotechnol, 1999, 17: 963-968.
- [7] Roland H, Hans JW, Ute R, et al. Radiolabeled  $\alpha_3\beta_3$  integrin antagonists: A new class of tracers for tumor targeting [J]. J Nucl Med, 1999, 40: 1061-1071.
- [8] Su ZF, Liu G, Gupta S, et al. In vitro and in vivo evaluation of a Technetium-99m-labeled cyclic RGD peptide as a specific marker of alpha (V)beta (3) integrin for tumor imaging [J]. Bioconjug Chem, 2002, 13(3): 561-570.
- [9] Bock M, Bruchertseifer F, Haubner R, et al. <sup>99</sup>Tc<sup>m</sup>, <sup>186</sup>Re- and <sup>90</sup>Y-labeled  $\alpha_3\beta_3$  antagonists: promising tracer for tumor induced angiogenesis [J]. J Nucl Med, 2000, 41(5, suppl): 41.
- [10] Roland H, Hans JW, Wolfgang A, et al. Noninvasive imaging of  $\alpha_3\beta_3$  integrin expression using <sup>18</sup>F-labeled RGD-containing glycopeptide and positron emission tomography [J]. Cancer Res, 2001, 61: 1781-1785.
- [11] Sivolapenko GB, skarlos D, Pectasides D, et al. Imaging of metastatic melanoma utilising a technetium-99m-labelled RGD-containing synthetic peptide [J]. Eur J Nucl Med, 1998, 25: 1383-1389.