

# 整合素受体核素显像 诊断乳腺癌骨转移病灶的实验研究

赵 骏<sup>1</sup>, 邵国强<sup>2</sup>, 薛卫红<sup>1</sup>

(1. 江苏省常州市第二人民医院 核医学科, 江苏 常州, 213022;

2. 江苏省南京市第一医院 临床核医学中心, 江苏 南京, 210006)

**摘要:** 目的 探讨<sup>68</sup>镓-1, 4, 7, 10-四氮杂环十二烷-1, 4, 7, 10-四乙酸-(精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸)<sub>2</sub> (<sup>68</sup>Ga-DOTA-RGD<sub>2</sub>)正电子发射 microPET/CT 显像探测乳腺癌骨转移病灶的价值。方法 采用人乳腺癌骨转移细胞株(MDA-MB-231), 在左心室进行细胞悬液注射并构建裸鼠乳腺癌骨转移模型, 在其顶骨注射甲状旁腺激素(PTH)模拟溶骨型骨病变, 设为 RGD 组和 FDG 组, 每组 6 只, 分别行<sup>68</sup>Ga-DOTA-RGD<sub>2</sub> 和<sup>18</sup>F-NaFmicroPET/CT 显像, 进行病理学检查验证。结果 PTH 注射侧顶骨部位与周围正常顶骨<sup>68</sup>Ga-DOTA-RGD<sub>2</sub> 放射性摄取比值为(4.18 ± 0.57), 显著高于 FDG 组<sup>18</sup>F-NaFmicroPET/CT 显像(1.24 ± 0.28) ( $P < 0.05$ )。<sup>68</sup>Ga-DOTA-RGD<sub>2</sub>microPET 显像对骨转移病灶的检出率显著高于 microCT 显像( $P < 0.05$ )。结论 <sup>68</sup>Ga-DOTA-RGD<sub>2</sub> 整合素受体  $\alpha_v\beta_3$  显像可有效探测并定位乳腺癌骨转移病灶。

**关键词:** 溶骨型病变; 乳腺癌; 骨转移; 整合素

中图分类号: R 737.9 文献标志码: A 文章编号: 1672-2353(2017)15-101-03 DOI: 10.7619/jcmp.201715028

## Experimental study of integrin $\alpha_v\beta_3$ micro positron emission tomography (microPET)/CT imaging with <sup>68</sup>Ga-DOTA-RGD<sub>2</sub> in diagnosis of breast cancer osteolytic bone metastases

ZHAO Jun<sup>1</sup>, SHAO Guoqiang<sup>2</sup>, XUE Weihong<sup>1</sup>

(1. Department of Nuclear Medicine, Changzhou Second People's Hospital, Changzhou, Jiangsu, 213022;

2. Clinical Nuclear Medicine Center, Nanjing First Hospital, Nanjing, Jiangsu, 210006)

**ABSTRACT: Objective** To explore the value of integrin  $\alpha_v\beta_3$  micro positron emission tomography (microPET)/CT imaging with <sup>68</sup>Ga-DOTA-RGD<sub>2</sub> in diagnosis of breast cancer osteolytic bone metastases. **Methods** MDA-MB-231 was injected in left ventricle of hairless mice at the density of  $1.0 \times 10^7$ /mL. Animal model with parathyroid hormone (PTH)-induced osteolysis in the calvarium was established. Animals were randomly divided into RGD group ( $n = 10$ ) and FDG group ( $n = 10$ ), and were detected by <sup>68</sup>Ga-DOTA-RGD<sub>2</sub>microPET/CT and <sup>18</sup>F-NaFmicroPET/CT respectively. Animals were sacrificed and bone lesions were collected for pathological examination. **Results** Bone radiotracer uptake ratio of osteolytic lesion to normal calvarium (O/N) was (4.18 ± 0.570) by <sup>68</sup>Ga-DOTA-RGD<sub>2</sub>, which was significantly higher than (1.24 ± 0.28) in group FDG by <sup>18</sup>F-NaFmicroPET/CT imaging ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** <sup>68</sup>Ga-DOTA-RGD<sub>2</sub> integrin receptor  $\alpha_v\beta_3$  imaging can effectively detect breast cancer bone metastases and locate osteolytic lesions.

**KEY WORDS:** osteolytic lesion; breast carcinoma; bone metastasis; integrin

乳腺癌骨转移是晚期乳腺癌患者的最常见并发症, 可导致高血钙、顽固性疼痛、病理性骨折甚至截瘫等一系列不良事件<sup>[1]</sup>, 严重影响生活质

量, 增加死亡风险。放射性核素<sup>99</sup>Tcm-MDP 及氟化钠(<sup>18</sup>F-NaF)骨骼显像是目前常用的筛查、诊断乳腺癌患者骨转移的影像学方法, 相较于X摄片、

CT 等形态学手段,其具有早期、简便、一次成像扫描全身的优点,但其对单纯溶骨性病变探测灵敏度低。本研究采用新型核素显像药物<sup>68</sup>Ga-DOTA-RGD<sub>2</sub> 探测乳腺癌骨转移病灶,并与<sup>18</sup>F-NaF 及 CT 成像比较,探讨<sup>68</sup>Ga-DOTA-RGD<sub>2</sub> 对溶骨性骨病变的诊断价值,报告如下。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料及试剂

人乳腺癌(MDA-MB-231)、BALB/cnuun 裸鼠[雄性,鼠龄 4~5 周,(18±2)g]由南京凯基生物发展科技有限公司提供。<sup>68</sup>Ga-DOTA-RGD<sub>2</sub> 由南京市第一医院临床核医学中心制备和提供;<sup>18</sup>F-NaF 由上海原子科兴药业有限公司提供;甲状旁腺激素(PTH-34,以色列 ProSpec 公司);MicroPET/CT(Inveon,德国 Siemens 公司)。

### 1.2 细胞培养和单细胞悬液的制备

人乳腺癌骨高转移细胞株 MDA-MB-231,加入新鲜的 RPMI1640 培养基和 10% 新生牛血清,放入 37℃ 的 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养,待培养瓶中细胞 80%~90% 融合时,传代培养,选取状态和活性均较好的人乳腺癌骨高转移细胞株 MDA-MB-231,将贴壁细胞吹打成单细胞悬液,1 500 r/min 离心 6 min,磷酸盐缓冲液(PBS)调整细胞悬液浓度分别为 1.0×10<sup>7</sup>/mL,分装于 EP 管中待用。

### 1.3 动物模型制备

1.3.1 乳腺癌骨骼转移动物模型的构建:参照文献<sup>[2]</sup>,裸鼠左心室注射人乳腺癌细胞悬液(1×10<sup>7</sup>/L)共 0.1 mL,细胞注射后将裸鼠置于笼中并隔天称体质量,密切观察动物一般状态,待出现体质量降低、运动障碍等或细胞注射后 7 周注射甲状旁腺激素(PTH)。

1.3.2 注射 PTH 诱导溶骨性骨病变模型的构建:参照文献<sup>[3]</sup>方法,在裸鼠顶骨偏左侧部位皮下注射 PTH 10 μg/次,间隔 6 h 注射 1 次,连续 4 d。最后 1 次注射 PTH 后取 12 只裸鼠,随机数字表法分为 RGD 组和 FDG 组,每组 6 只,分别行<sup>68</sup>Ga-DOTA-RGD<sub>2</sub> 和<sup>18</sup>F-NaFmicroPET/CT 显像,显像后处死实验动物,取骨放射性浓聚部位进行病理学检查。

### 1.4 MicroPET/CT 显像

裸鼠尾静脉注射 0.1 mCi(3.7 MBq)<sup>68</sup>Ga-DOTA-RGD<sub>2</sub> 或<sup>18</sup>F-NaF,静态扫描数据采集顺序为在电压 80 kV、电流 500 μA 和曝光时间

1 100 ms 下扫描 CT 数据 10 min,然后采集 PET 数据 15 min。数据通过滤波反投影法重建冠状面、横断面、矢状面断层图像。基于 microPET/CT 融合图像,勾画感兴趣区(ROI)进行定量和半定量分析。

### 1.5 统计学处理

采用 SPSS 13.0 统计软件包进行分析,统计数据以( $\bar{x} \pm s$ )表示,计量资料均数比较采用 *t* 检验,率的比较采用卡方检验,*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结 果

### 2.1 RDG 和 FDG 组裸鼠分别进行<sup>68</sup>Ga-DOTA-RGD<sub>2</sub> 和<sup>18</sup>F-NaFmicroPET/CT 显像

<sup>68</sup>Ga-DOTA-RGD<sub>2</sub>microPET/CT 融合影像见图 1。microCT 未见明显骨质破坏,病理检查[苏木素-伊红(HE)染色]结果证实 BP 组裸鼠颅骨溶骨性骨病变部位可见部分骨质破坏及破骨细胞增多存在。见图 2。

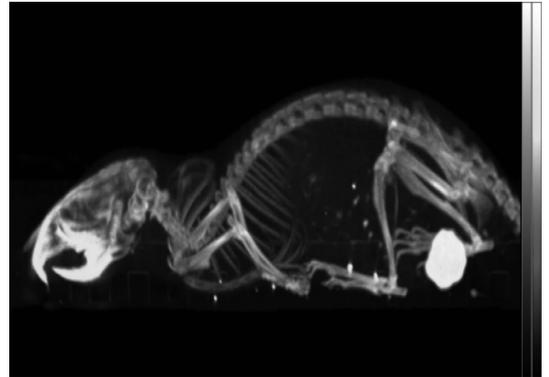


图 1 <sup>68</sup>Ga-DOTA-RGD<sub>2</sub>microPET/CT 显像 3D 图像

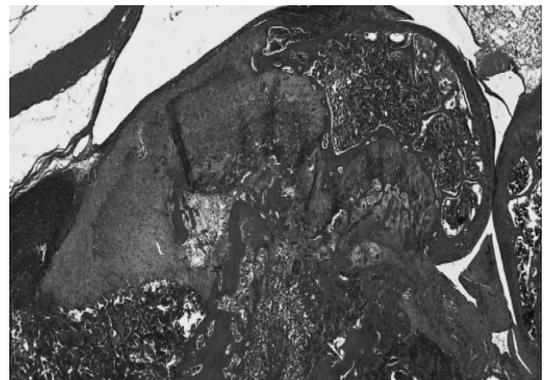


图 2 颅骨病灶部位病理 HE 染色 10 倍

### 2.2 顶骨部位放射性摄取比值

RDG 组 PTH 注射侧顶骨部位(溶骨型病灶)与周围正常顶骨<sup>68</sup>Ga-DOTA-RGD<sub>2</sub> 放射性摄取比

值为  $(4.18 \pm 0.57)$ , 高于 FDG 组  $^{18}\text{F-NaF}$  microPET/CT 显像  $(1.24 \pm 0.28)$ , 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

### 2.3 RGD 组裸鼠的骨转移病灶探测性能比较

microCT 发现可疑转移灶 1 个, 经病理证实的转移灶为 1 个, 检出率 16.6%;  $^{68}\text{Ga-DOTA-RGD}_2$  microPET 发现可疑转移灶 21 个, 经病理证实的转移灶为 16 个, 检出率为 100.0%。 $^{68}\text{Ga-DOTA-RGD}_2$  microPET 和 microCT 对骨转移病灶的检出率有显著差异 ( $P < 0.05$ )。

## 3 讨论

肿瘤骨转移是乳腺癌常见的并发症, 尸检表明 75% ~ 90% 乳腺癌患者有骨转移, 其中常见溶骨性骨病灶<sup>[4]</sup>, 因此相关骨转移尤其是溶骨型病灶的早期诊断和治疗具有重要意义。核医学方法是目前诊断骨转移的有效手段, 但  $^{99}\text{Tcm-MDP}$  和  $^{18}\text{F-NaF}$  核素骨骼显像均以成骨型或成骨溶骨混合型病灶为主, 而对单纯溶骨型病灶的诊断价值较低。研究<sup>[5-6]</sup> 发现放射性核素标记 RGD 多肽在乳腺癌内明显浓聚, 将其列为乳腺癌靶向显像的研究方向, 而异二聚体跨膜糖蛋白整合素  $\alpha_v\beta_3$  可在破骨细胞表面高水平表达。文献<sup>[3, 7]</sup> 表明整合素  $\alpha_v\beta_3$  受体作为骨转移部位破骨细胞、乳腺癌细胞等共同高表达受体, 因此可为乳腺癌溶骨性转移的放射性诊断提供良好靶点。二者优势互补后可以作为核素骨显像的优良载体, 发挥其对骨转移病灶尤其是溶骨型病灶的探测效能优势。

作者采用一步法合成的  $^{68}\text{Ga-DOTA-RGD}_2$  多肽体外稳定性好, 在肝、肾等重要非靶器官的排泄迅速<sup>[8]</sup>, 满足了进一步研究利用的基本条件和辐射安全可靠。本研究中  $^{68}\text{Ga-DOTA-RGD}_2$  显像的顶骨(溶骨型病灶)/周围正常骨 ROI 比值显著高于  $^{18}\text{F-NaF}$  显像, 表明  $^{68}\text{Ga-DOTA-RGD}_2$  可以靶向聚集于骨转移病灶, 不仅可以准确定位溶骨型病变, 还可清晰地显示病灶范围, 弥补了既往核素骨显像方法的盲区。 $^{68}\text{Ga-DOTA-RGD}_2$  和 CT 显像

对于整体骨转移病灶的探测比较表明,  $^{68}\text{Ga-DOTA-RGD}_2$  对于骨转移病灶的探测效能均显著高于 CT。这是因为骨转移病灶的骨密度要降低 30% ~ 75%<sup>[2]</sup>, 才能在 X 摄片或 CT 上肉眼分辨, 而基于骨骼功能性变化的核素显像则可提前 3 ~ 6 月发现骨转移灶, 这对于患者的治疗决策具有重要价值。

综上所述,  $^{68}\text{Ga-DOTA-RGD}_2$  整合素受体  $\alpha_v\beta_3$  显像可有效探测并定位乳腺癌骨转移病灶, 尤其对于溶骨型病灶的探测效能优于  $^{18}\text{F-NaF}$  显像, 具有进一步研究价值。

### 参考文献

- [1] Coleman R B E. Clinical features of metastatic bone disease and risk of skeletal morbidity[J]. Clin Cancer Res, 2006, 12 (20Pt2): 6243S - 6249S.
- [2] 程旭锋, 刘胜, 杨顺芳. 放射性核素骨显像支持下建立乳腺癌骨转移裸鼠模型[J]. 中华实验外科杂志, 2011, 28 (9): 1588 - 1590.
- [3] Sprague J E, Kitaura H, Zou W, et al. Noninvasive imaging of osteoclasts in parathyroid hormone-induced osteolysis using a  $^{64}\text{Cu}$ -labeled rgd peptide[J]. J Nucl Med, 2007, 48(2): 311 - 318.
- [4] Hamaoka T, Madewell J E, Podoloff D A, et al. Bone imaging in metastatic breast cancer[J]. J Clin Oncol, 2004, 22(14): 2942 - 2953.
- [5] Shi J, Zhou Y, Chakraborty S, et al. Evaluation of In-Labeled Cyclic RGD Peptides: Effects of Peptide and Linker Multiplicity on Their Tumor Uptake, Excretion Kinetics and Metabolic Stability[J]. Theranostics, 2011, 1: 322 - 340.
- [6] Zhou Y, Kim Y S, Chakraborty S, et al.  $^{99\text{mTc}}$ -labeled cyclic RGD peptides for noninvasive monitoring of tumor integrin  $\alpha_v\beta_3$  expression[J]. Mol Imaging, 2011, 10(5): 386 - 397.
- [7] Zheleznyak A, Wadas T J, Sherman CD, et al. Integrin  $\alpha_v\beta_3$  as a PET imaging biomarker for osteoclast number in mouse models of negative and positive osteoclast regulation [J]. Mol Imaging Biol, 2012, 14(4): 500 - 508.
- [8] 邵国强, 赵有财, 崔璨. 整合素受体靶向显像诊断乳腺癌溶骨性转移[J]. 中华实验外科杂志, 2015, 32(5): 962 - 965.