

2-¹⁸F-氟丙酸在正常小鼠体内的生物学分布

党永红 蔡炯 王玲 李欣 李方

摘要 **目的** 研究正常动物体内的 2-¹⁸F-氟丙酸分布情况,为动物肿瘤显像提供参考和依据。**方法** C57BL/J 正常小鼠尾静脉注射(3.7~7.4)MBq 经辛醇-水分布系数测定的 2-¹⁸F-氟丙酸,注射后 45、120min 测量心、肝、脾、肺、肾、血液、大脑、肌肉、骨骼、膀胱、胃、十二指肠空肠、回肠、盲肠、结直肠的放射性计数,推算各器官组织的每克组织百分注射剂量(%ID/g)。并在同一时间点进行 microPET 显像。**结果** 尾静脉注射 2-¹⁸F-氟丙酸后 45min,放射性主要分布于盲肠和结直肠,高于血液、心脏、膀胱、肺、肝脏、脾、骨骼、十二指肠空肠、大脑、肾、肌肉、回肠、胃。120min 后,各脏器放射性分布下降,盲肠和结直肠摄取仍然较高。**结论** 尾静脉注射 2-¹⁸F-氟丙酸后其在盲肠的摄取较高,肾脏的摄取较低。

关键词 2-¹⁸F-氟丙酸 生物学分布 microPET 显像

中图分类号 R445.5

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.05.012

Biodistribution of 2-¹⁸F-fluoropropionic Acid in Normal Mice. Dang Yonghong, Cai Jiong, Wang Ling, et al. Department of Nuclear Medicine, PUMC Hospital, PUMC&CAMS, Beijing 100710, China

Abstract Objective Previously 2-¹⁸F-fluoropropionic acid was labelled successfully. In this paper the biodistribution of 2-¹⁸F-fluoropropionic acid was investigated in normal mice, which is the basis for tumor imaging studies. **Methods** (3.7~7.4)MBq of 2-¹⁸F-fluoropropionic acid was injected into C57BL/J normal mice *via* tail vein. The radioactivities of heart, liver, spleen, lung, kidneys, blood, brain, muscle, bone, urinary bladder, stomach, duodenojejunum, ileum, caecum and colorectum at 45min and 120min postinjection were counted. The percentage injection dose per gram (%ID/g) of them were deduced. At same time - points the microPET imaging of 2-¹⁸F-fluoropropionic acid in normal mice was performed. **Results** 2-¹⁸F-fluoropropionic acid was mainly distributed in caecum and colorectum at 45min after injection *via* tail vein. The %ID/g of caecum and colorectum was higher than those of blood, heart, urinary bladder, lung, liver, spleen, bone, duodenojejunum, brain, kidneys, muscle, ileum and stomach. At 120min post injection, the %ID/g of all organs reduced while those of caecum and colorectum were still high. **Conclusion** Between 45min and 120min post injection, the uptake of 2-¹⁸F-fluoropropionic acid in caecum was high while that of kidneys was low.

Key words 2-¹⁸F-fluoropropionic acid; Biodistribution; microPET; Imaging

肿瘤的早期诊断和治疗是当前医学研究的热点,特别是 PET、MRI、CT、超声等医学影像技术的发展和运用,给患者提供了众多诊断机会^[1]。其中, PET 是分子水平的显像,可以活体、三维、动态地观察肿瘤的发生、发展和转移^[2,3]。¹⁸F-FDG PET/CT 结合了分子显像和结构显像的优势,进一步提高了肿瘤的检出水平。葡萄糖分子类似物¹⁸F-FDG,由于可以追踪葡萄糖的代谢,成为肿瘤检测的“金分子”^[3~5]。但是,部分肿瘤患者因对¹⁸F-FDG 的检测不敏感出现假阴性而漏诊,另外有的良性疾病如感染和炎症因为高代谢出现假阳性也被误诊为肿瘤。导致临床对

PET 诊断的准确性怀疑,问题在于葡萄糖代谢的增高不是肿瘤的全部特征,可以通过标记其他分子如短链脂肪酸来弥补¹⁸F-FDG 的不足。笔者研究前期已成功将¹⁸F 标记于丙酸上(未发表),本研究进一步对正常小鼠体内的 2-¹⁸F-氟丙酸分布状况进行研究,为下一步的肿瘤显像提供参考和依据。

材料与方法

1. 试剂与材料:(1)2-溴丙酸乙酯(纯度>97%)、无水 K₂CO₃(纯度 99.995%)和异氟烷购自美国 Aldrich 公司;无水乙腈(99.9%, extra dry)购自比利时 Acros 公司;K222(纯度 98%)购自德国 ABX 公司;HPLC 乙腈(色谱纯)购自瑞士 Fisher 公司;正辛醇购自北京化学试剂公司;其余试剂均为国产分析纯。QMA(Sep-pak Light)购自美国 Waters 公司;色谱柱(Symmetry300™ C18, 5μm, 4.6mm×250mm, Waters), Alltima C18 250mm×10.0mm 10μm, Grace;除菌过滤器(Millex-GS 0.22μm)购自美国 Millipore 公司。(2)仪器:RDS111

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30500573,30670741)

作者单位:100730 中国医学科学院北京协和医院核医学科

通讯作者:蔡炯,电子邮箱:jiongcai@sina.com

型回旋加速器;美国 CTI 公司;PET-MF-2V-IT-I 型 ^{18}F 正电子药物合成模块;北京派特生物技术有限公司;高效液相色谱仪:配 515 型泵,美国 Waters 公司,486 型高效液相色谱紫外检测器;美国 Waters 公司,高效液相色谱放射性检测器;美国 Bio-Scan 公司,microPET;德国西门子公司,CRC-15R 型放射性活度计;美国 CAPINTEC 公司。(3)动物:C57BL/6J 小鼠,体重 20~24g,来源于北京华阜康生物技术有限公司。

2. 实验方法:(1) $2-^{18}\text{F}$ -氟丙酸的标记和鉴定: 2 -溴丙酸乙酯经 ^{18}F 离子亲核取代得到 $2-^{18}\text{F}$ 氟丙酸乙酯,水解后获得 $2-^{18}\text{F}$ -氟丙酸。通过 HPLC 测定放射化学纯度。(2) $2-^{18}\text{F}$ -氟丙酸脂水分分配系数的测定:在 4 种不同的 pH 值(6.4、7.0、7.4、8.4)下测量 $2-^{18}\text{F}$ -氟丙酸的正辛醇-水分布系数。分别取 pH 值为 6.4、7.0、7.4、8.4 的 0.1mol/L PBS10ml,加入 10ml 正辛醇混合得到 20ml 两相溶液,分别加入 20 μl $2-^{18}\text{F}$ -氟丙酸[(0.37~0.74)MBq],涡旋 1min,离心 5min。每层取 500 μl ,分别称重并测量放射性计数。推算正辛醇-水分布系数($\log_{10} P$): $\log_{10} P = \log_{10} (1\text{ml 正辛醇中的放射性计数} / 1\text{ml 水中的放射性计数})$ 。(3)正常小鼠体内生物分布:8 只 C57BL/J 正常小鼠尾静脉注射 200 μl 生理盐水稀释的(3.7~7.4)MBq 的 $2-^{18}\text{F}$ -氟丙酸,注射前后测量注射器放射性,精确计算注射活度。注射药物后 45、120min 分别脱臼处死 4 只动物,取心、肝、脾、肺、肾、血液、大脑、肌肉、骨骼、膀胱、十二指肠空肠、回肠、盲肠、结直肠,用电子天平称重、 γ 计数器测定各脏器的放射性计数,同时测定 1% 注射剂量放射性计数做为标准值。将放射性计数转化为 % ID/g。(4)正常小鼠体内显像:另取 4 只 C57BL/J 正常小鼠尾静脉注射(7.4~11.1)MBq 的 $2-^{18}\text{F}$ -氟丙酸,注射前后测量注射器放射性,精确计算注射活度。分别在注射药物后 45、120min 在 2% 异氟烷麻醉下(加 2L/min 氧气)用西门子 Inveron 专用小动物 PET 进行动物显像。能量窗口设定为(350~650)keV,符合时间设定为 3.432ns,采集时间设定为 5min。

结 果

1. $2-^{18}\text{F}$ -氟丙酸的标记: $2-^{18}\text{F}$ -氟丙酸的合成时间约为 35min,放射化学纯度>95%,放化收率为 60% $\pm$ 5%(经时间校正)。

2. $2-^{18}\text{F}$ -氟丙酸辛醇-水分布系数:pH 值为 6.4、7.0、7.4 和 8.4 条件下, $2-^{18}\text{F}$ -氟丙酸的 $\log P$ 分别是 -2.97、-3.27、-3.22、-3.00,表明在接近中性条件下, $2-^{18}\text{F}$ -氟丙酸是亲水的。

3. 正常小鼠体内生物分布:尾静脉注射 $2-^{18}\text{F}$ -氟丙酸后 45min,放射性主要分布于盲肠(8.73% $\pm$ 0.40% ID/g)和结直肠(7.17% $\pm$ 1.20% ID/g)、高于血液、心脏、膀胱、肺、肝脏、脾、骨骼、十二指肠空肠、大脑、肾、肌肉、回肠、胃。120min 后,各脏器放射性分布下降,盲肠(7.02% $\pm$ 1.14% ID/g)、结直肠(5.79% $\pm$ 1.27% ID/g)摄取仍然较高,其次是膀胱、

肺、心脏、肝脏、血液、骨骼、十二指肠空肠、大脑、肾、肌肉、回肠和胃,见表 1。

表 1 C57BL/J 正常小鼠体内 $2-^{18}\text{F}$ -氟丙酸生物分布

% ID/g	45min	120min
心	5.66 $\pm$ 0.55	3.95 $\pm$ 0.18
肝	4.35 $\pm$ 0.49	3.66 $\pm$ 0.29
脾	4.34 $\pm$ 0.59	3.63 $\pm$ 0.11
肺	5.51 $\pm$ 0.98	4.24 $\pm$ 0.17
肾	3.88 $\pm$ 0.17	3.20 $\pm$ 0.12
胃	2.84 $\pm$ 1.02	2.90 $\pm$ 0.58
十二指肠空肠	4.22 $\pm$ 0.69	3.34 $\pm$ 0.47
回肠	3.56 $\pm$ 0.85	3.08 $\pm$ 0.44
盲肠	8.73 $\pm$ 0.40	7.02 $\pm$ 1.14
结直肠	7.17 $\pm$ 1.20	5.79 $\pm$ 1.27
骨骼	4.30 $\pm$ 1.27	3.52 $\pm$ 0.37
肌肉	4.01 $\pm$ 0.26	3.20 $\pm$ 0.39
膀胱	5.64 $\pm$ 1.28	4.94 $\pm$ 1.00
大脑	4.14 $\pm$ 0.26	3.24 $\pm$ 0.33
血液	5.78 $\pm$ 0.88	3.49 $\pm$ 0.10

4. 正常小鼠体内显像:注射 $2-^{18}\text{F}$ -氟丙酸后 45min 和 120min,放射性主要聚集于膀胱,肾脏的摄取不明显,表明药物主要通过泌尿系统排泄。在盲肠有明显摄取,肌肉、背部的棕色脂肪、骨骼摄取不明显,表明 $2-^{18}\text{F}$ -氟丙酸在体内没有出现明显的脱氟现象(图 1)。

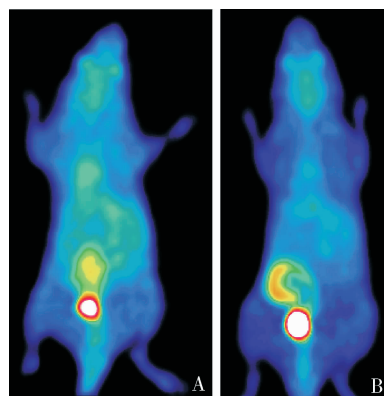


图 1 $2-^{18}\text{F}$ -氟丙酸正常小鼠体内显像

A. 尾静脉注射 $2-^{18}\text{F}$ -氟丙酸后 45min 最大投射图像;
B. 尾静脉注射 $2-^{18}\text{F}$ -氟丙酸后 120min 后最大投射图像

讨 论

^{18}F -FDG 可以显示体内葡萄糖代谢,正电子核素标记短链脂肪酸可以显示体内脂肪酸的代谢。对于肿瘤来说,如果葡萄糖代谢没有显著增高,并不能代表对脂肪酸的代谢没有增高。研究表明, ^{11}C -乙

酸可以比 ^{18}F -FDG 更加灵敏地监测到肺癌、肝细胞癌和前列腺癌^[6-9]。为此,新的分子显像剂的开发有可能对目前的 PET 检查产生颠覆性的影响。 ^{11}C -乙酸的缺陷在于放射性核素的半衰期短(20min),难以在没有医用回旋加速器的医院推广使用。 ^{18}F -氟乙酸虽然比 ^{11}C -乙酸的放射性核素半衰期长,但是体内脱氟造成显像背景高,难以得到很好的图像,在临床上使用受限^[10]。相比之下,2- ^{18}F -氟丙酸在体内不会脱氟,有可能检测到直径<6mm 的肿瘤,检测敏感度可能优于 ^{18}F -FDG^[11]。参考国外方法,笔者前期采用自动化合成模块合成了2- ^{18}F -氟丙酸,其合成时间短,放化收率比国外报道产率略高。由于使用的是临床常规的合成设备和纯化设备,具有很好的临床转化前景。2- ^{18}F -氟丙酸放射化学纯度高,HPLC 保留时间、亲水性和文献报道结果接近。毒理学研究表明,2.3mmol/kg 氟丙酸对动物没有急性毒性,而且丙酸钠、丙酸钾、丙酸钙被广泛用做食品添加剂^[12]。本研究中的动物没有出现急性或慢性毒性。提示 ^{18}F -氟丙酸有可能顺利进入临床前期研究。

本研究发现, ^{18}F -氟丙酸在盲肠的摄取较高,其确切机制并不清楚,推测和该部位微生物丰富、粗纤维分解、短链脂肪酸吸收利用有关。研究表明,丁酸和丙酸可以显著增加肠道的 Foxp3 阳性的 T 细胞的数量,从而对肠道的免疫功能进行调节^[13-15]。推测2- ^{18}F -氟丙酸除用于肿瘤显像外,还可以用于肠道免疫功能的监测。生物分布和显像研究表明:膀胱内有尿液时,2- ^{18}F -氟丙酸放射性聚集较高,表明该显像剂主要通过泌尿系统清除。2- ^{18}F -氟丙酸在肾脏的摄取并不高,这种生物分布使2- ^{18}F -氟丙酸对肾脏附近肿瘤的检测有可能好于 ^{18}F -FDG。

在本研究的基础上,今后可以选择 C57BL/J 接种 Lewis 肺癌、B16 和色素瘤等研究2- ^{18}F -氟丙酸对肿瘤的显像性能。在时间点的选择上,参考 ^{18}F 的半衰期,45~60min 显像为常规显像,120~150min 为延迟显像。延迟显像能更好地观测到肠道的摄取,但肿瘤摄取的规律还有待于进一步研究。

参考文献

- Debergh I, Vanhove C, Ceelen W. Innovation in cancer imaging[J]. Eur Surg Res, 2012, 48(3): 121-130
- Zhao X, Xiao J, Xing B, et al. Comparison of (68)Ga DOTATATE to 18F-FDG uptake is useful in the differentiation of residual or re-current pituitary adenoma from the remaining pituitary tissue after transsphenoidal adenomectomy[J]. Clin Nucl Med. 2014, 39(7): 605-608
- Zhang J, Chen H, Ma Y, et al. Characterizing IgG4-related disease with ^{18}F -FDG PET/CT: a prospective cohort study[J]. Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2014, 41(8): 1624-1634
- Fischer BM, Mortensen J, Hojgaard L. Positron emission tomography in the diagnosis and staging of lung cancer: a systematic, quantitative review[J]. Lancet Oncol, 2001, 2(11): 659-666
- Dwamena BA, Sonnad SS, Angobaldo JO, et al. Metastases from non small cell lung cancer: mediastinal staging in the 1990s - meta-analytic comparison of PET and CT[J]. Radiology, 1999, 213(2): 530-536
- Nomori H, Shibata H, Uno K, et al. 11C-Acetate can be used in place of 18F-fluorodeoxyglucose for positron emission tomography imaging of non-small cell lung cancer with higher sensitivity for well-differentiated adenocarcinoma[J]. J Thorac Oncol, 2008, 3(12): 1427-1432
- Huo L, Dang Y, Feng R, et al. Hepatocellular carcinoma in an accessory lobe of the liver revealed by 11C-acetate PET with a negative finding on FDG imaging[J]. Clin Nucl Med, 2012, 37(4): 393-395
- Haseebuddin M, Dehdashti F, Siegel BA, et al. 11C-acetate PET/CT before radical prostatectomy: nodal staging and treatment failure prediction[J]. J Nucl Med, 2013, 54(5): 699-706
- Vavere AL, Kridel SJ, Wheeler FB, et al. 1-11C-acetate as a PET radiopharmaceutical for imaging fatty acid synthase expression in prostate cancer[J]. J Nucl Med, 2008, 49(2): 327-334
- Ponde DE, Dence CS, Oyama N, et al. 18F-fluoroacetate: a potential acetate analog for prostate tumor imaging - in vivo evaluation of 18F-fluoroacetate versus 11C-acetate[J]. J Nucl Med, 2007, 48(3): 420-428
- Pillarsetty N, Punzalan B, Larson SM. 2-18F-Fluoropropionic acid as a PET imaging agent for prostate cancer[J]. J Nucl Med, 2009, 50(10): 1709-1714
- Lock EA, Gyte A, Sturges NC, et al. 2-Halopropionic acid induced cerebellar granule cell necrosis in the rat: in vivo and in vitro studies[J]. Neurotoxicology, 2001, 22(3): 363-374
- Furusawa Y, Obata Y, Fukuda S, et al. Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells[J]. Nature, 2013, 504(7480): 446-450
- Arpaia N, Rudensky AY. Microbial metabolites control gut inflammatory responses[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2014, 111(6): 2058-2059
- Chang PV, Hao L, Offermanns S, et al. The microbial metabolite butyrate regulates intestinal macrophage function via histone deacetylase inhibition[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2014, 111(6): 2247-2252

(收稿日期:2014-09-30)

(修回日期:2014-10-22)