

^{89}Zr 标记单克隆抗体药物的研究进展

肖展雄^{1,2,3}, 段 菲^{1,2,3}, 李洪玉^{1,2,3}

(1. 国家原子能机构核技术(放射性药物工程转化)研发中心, 北京 102413;

2. 中核集团放射性药物工程技术研究中心, 北京 102413;

3. 原子高科股份有限公司, 北京 102413)

摘要: 锆-89 (^{89}Zr) 是一种金属正电子核素, 具有较长的半衰期和适中的能量, 同时可以通过低能量回旋加速器得到高纯度的 ^{89}Zr , 适用于正电子发射计算机断层显像 (PET), 尤其成为大分子生物活性物质如抗体标记的核素理想选择。近年来, 依托于单克隆抗体药物的发展, ^{89}Zr 标记单抗药物的研究取得了显著进展, 目前已有部分药物进入临床 II 期、III 期阶段。在标记方法上, ^{89}Zr 最常用的螯合剂为去铁胺 (DFO), 已应用于临床, 但研究者们仍在不断探索更优的配体。在螯合剂与单抗偶联技术方面, 不同形式的 DFO 衍生物仍是主要研究对象。本文介绍了 ^{89}Zr 的标记方法、螯合剂偶联技术以及 ^{89}Zr 标记单抗类药物的研究进展, 并对该类药物所面临的问题与挑战, 以及未来发展前景进行分析和展望。

关键词: ^{89}Zr ; 单克隆抗体; 正电子发射断层显像 (PET)

中图分类号: TL92+3; R187.9

文献标志码: A

文章编号: 1000-7512(2025)02-0195-11

doi: 10.7538/tws.2024.youxian.093

The Research Progress of Monoclonal Antibody Labeled with ^{89}Zr

XIAO Zhanxiong^{1,2,3}, DUAN Fei^{1,2,3}, LI Hongyu^{1,2,3}

(1. Research and Development Center for Nuclear Technology (Radiopharmaceutical Engineering Transformation) of China Atomic Energy Authority, Beijing 102413, China;

2. Engineering and Technology Research Center for Radiopharmaceuticals of China National Nuclear Corporation, Beijing 102413, China;

3. HTA Co., Ltd., Beijing 102413, China)

Abstract: Zirconium-89 (^{89}Zr) is a metallic positron-emitting radionuclide. The relatively long half-life and moderate energy making ^{89}Zr especially suitable for the labeling of large biomolecules such as antibodies for radioimmuno-PET (positron emission tomography) imaging. In recent years, significant progress has been made in the research of ^{89}Zr -labeled monoclonal antibodies (mAbs), driven by the development of mAb therapies. Currently, some of these mAb drugs have entered clinical phases II and III. In the labeling methods of ^{89}Zr , deferoxamine B (DFO) is the most commonly used chelator and has been applied in clinical research. However, researchers are still continually exploring better ligands. In terms of chelator-mAb conjugation techniques, various forms of DFO derivatives remain the primary focus of research. In this article, ^{89}Zr labeling methods, chelator conjugation techniques, and advances in ^{89}Zr -mAbs were reviewed. The challenges, issues, and future trends of ^{89}Zr -mAbs has also been discussed and prospected.

Key words: ^{89}Zr ; monoclonal antibody; PET

正电子发射断层显像(PET)是目前核医学常用的一种诊断方法,具有灵敏度高、无创、可定量和可视化等特点。PET传统上使用短寿命放射性核素如碳 ^{11}C 、氮 ^{13}N 、氧 ^{15}O 和氟 ^{18}F 。氟 ^{18}F 代脱氧葡萄糖(^{18}F FDG)的出现,使得氟 ^{18}F 标记药物成为临床PET的主力^[1]。然而,随着靶向药的研究发展,一些新兴的放射性药物载体登上了舞台,如单克隆抗体(单抗)、抗体片段、核苷酸和纳米颗粒等,相比于小分子药物,这些载体的体内药代动力学较为缓慢。因此,与之适配的核素半衰期为十余小时到数天为宜,如一些金属正电子核素(^{64}Cu 、 ^{89}Zr 等)以及卤素正电子核素(^{124}I 等)。

^{89}Zr 具有较低的生产成本,其半衰期(78.41 h)与单抗或单抗片段的生物半衰期相匹配,可用于肿瘤的显像诊断、靶向治疗抗体的筛选及药物疗效评价等。自2006年 ^{89}Zr 首次应用于临床PET显像以来,已相继开展了多项 ^{89}Zr 标记单抗(^{89}Zr 单抗)的临床前及临床试验研究^[2],本研究旨在梳理 ^{89}Zr 的螯合剂及相关单抗药物的研究进展,并对其未来发展及挑战进行讨论和展望。

1 ^{89}Zr 的物理性质和制备

^{89}Zr 的衰变形式示于图1,其衰变发出正电子的平均能量仅为395.5 keV,不会干扰对正电子湮灭时产生的511 keV光子能量的探测,因此其在显像时具有较高的分辨率。但 ^{89}Zr 衰变时也会释放高能 γ 射线(909 keV),需注意防护。

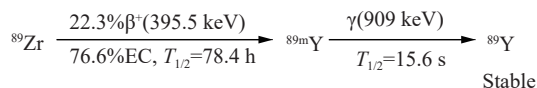


图1 ^{89}Zr 的衰变形式
Fig.1 The decay process of ^{89}Zr

目前 ^{89}Zr 主要通过核反应 $^{89}\text{Y}(\text{p}, \text{n})^{89}\text{Zr}$ 制备,钇 ^{89}Y 具有100%的天然丰度且已商品化,为 ^{89}Zr 的生产提供了原料上的便利。辐照后的 ^{89}Zr 采用羟胺树脂法或离子交换树脂法进行纯化^[2,3],通常以草酸锆或氯化锆溶液形式获得。 ^{89}Zr 的半衰期为78.41 h(3.3 d),临床上通常使用小于100 MBq的单剂量对患者进行诊断(^{18}F FDG推荐剂量为3.7 MBq/kg^[3])。

2 ^{89}Zr 标记单抗类药物

大量的研究结果表明, ^{89}Zr 标记单抗药物是一种极具应用前景的诊断药物,主要体现在以下方面: ^{89}Zr 具有较长的半衰期,能在较长时间内进行多次PET显像;可反映患者全身整体的药物代谢分布情况,并可显示远端转移的微小病灶或者淋巴结转移。但游离的 $^{89}\text{Zr}^{4+}$ 能结合血浆蛋白并在骨聚集,可能对骨髓造成损伤^[4]。

^{89}Zr 单抗药物主要由单克隆抗体、双功能螯合剂以及 ^{89}Zr 组成,整体分子的性能及其应用范围受多种不同因素的共同影响。本节从 ^{89}Zr 标记方法、以DFO为代表的螯合剂与抗体偶联方法,以及 ^{89}Zr 单抗药物应用情况进行介绍。

2.1 ^{89}Zr 标记方法

^{89}Zr 可与载体直接反应,通过与随机的螯合基团或亲电作用结合来进行放射性标记。更为常规的 ^{89}Zr 标记主要通过螯合剂实现,即 ^{89}Zr 与预先连接在载体上的双功能螯合基团形成配合物。目前应用于临床实验的 ^{89}Zr 单抗药物均通过螯合剂进行标记。

2.1.1 直接标记 ^{89}Zr 可以直接标记脂质体或血清蛋白等载体。 ^{89}Zr 与脂质体的标记过程示于图2,例如脂质体的组成单元二硬脂酰磷脂酰胆碱(DSPC),其磷脂酰胆碱头与 $^{89}\text{Zr}^{4+}$ 具有亲和性,脂质体的双分子层结构可以将 $^{89}\text{Zr}^{4+}$ 包裹在亲水的内层^[5];蛋白质的直接标记则是通过 $^{89}\text{Zr}^{4+}$ 与蛋白质上各种螯合基团随机结合。直接标记得到的标记物不稳定,易发生 ^{89}Zr 的解离。

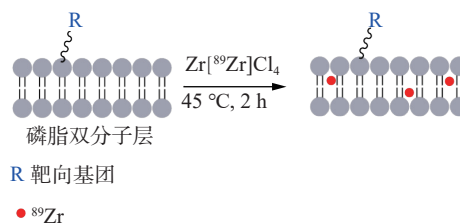


图2 ^{89}Zr 与脂质体的标记过程

Fig.2 The process of liposomes labeling with ^{89}Zr

2.1.2 通过螯合剂标记 常用的 ^{89}Zr 螯合剂有羟基吡啶酮(HOPO)、二乙稀三胺五乙酸(DTPA)、乙二胺四乙酸(EDTA)、1,4,7,10-四氮杂环十二烷-1,4,7,10-四乙酸(DOTA)、去铁胺(DFO)等。

已有多项研究对 DTPA 和 DOTA 类螯合剂进行性能评估与对比分析,结果表明,DTPA 偶联抗体的⁸⁹Zr 标记率小于 0.1%^[6],这可能是由于参与⁸⁹Zr 配位的 N 原子配位能力较差;⁸⁹Zr-DOTA 的体内外稳定性良好^[7],然而 DOTA 的标记需要较高的反应温度,考虑到单抗的热敏感性,DOTA

类螯合剂不太适用。

除了标记反应的难易程度,配合物的稳定性也是选择螯合剂的一个重要考量因素。

部分螯合剂的结构式示于图 3。目前,⁸⁹Zr 的螯合剂从结构上大致可分为羟胺酮、羟基吡啶酮和邻苯二酚类。

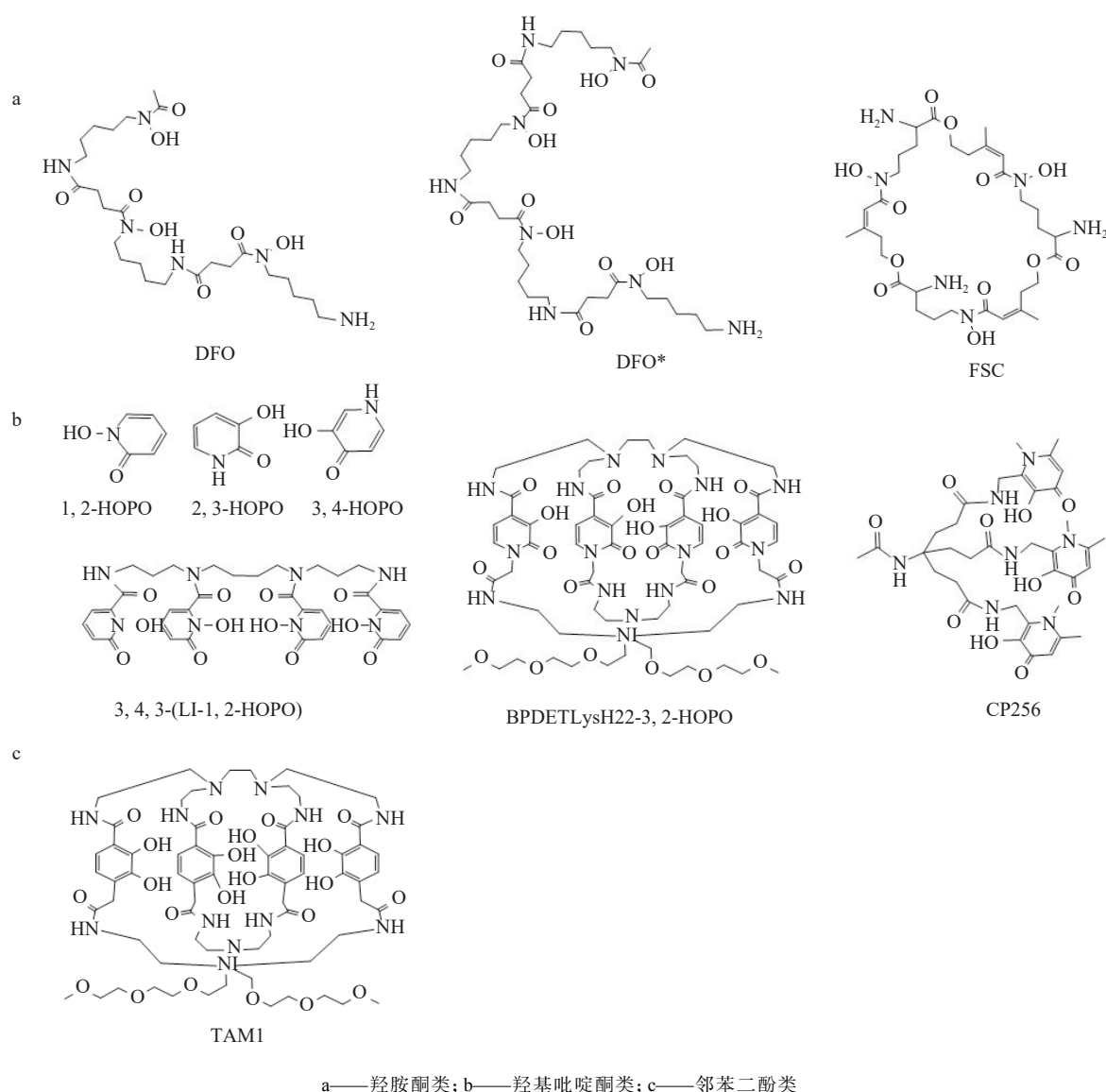


图 3 部分螯合剂的结构式

Fig.3 The structure of some chelators

1) 羟胺酮类螯合剂

羟胺酮类螯合剂包括去铁胺(DFO)、去铁胺衍生物(DFO*)、Fusarinine C(FSC)。

(1)DFO。DFO是最具代表性的⁸⁹Zr螯合剂,已应用于多种⁸⁹Zr单抗药物的临床试验中,其三个羟胺酮基团(或称异羟肟酸)用于螯合金属,末端的伯胺基则可用于结构修饰,并与生物

分子偶联。1992年,Meijs等^[8]对⁸⁹Zr-DFO的标记及其在人血清中的稳定性进行了研究,由此DFO逐渐成为最常用的⁸⁹Zr螯合剂。

羟胺酮结构是DFO分子与⁸⁹Zr螯合的关键,DFO分子上每个羟胺酮的两个氧原子可与⁸⁹Zr⁴⁺形成六配位结构,密度泛函理论(DFT)计算表明,溶液中的两个水分子和DFO一起参与

$^{89}\text{Zr}^{4+}$ 配位,形成八配位结构,但水合配位的 ^{89}Zr -DFO热力学稳定性不佳^[9]。因此,虽然DFO在临床试验中得到了广泛应用,但研究者们仍在探索更稳定的新型螯合剂。

(2)DFO*。为增强 ^{89}Zr -DFO的热力学稳定性,可在DFO上再引入一个羟胺酮,合成具有4个羟胺酮的DFO*,使4个羟胺酮中的8个氧能完全包裹住 Zr^{4+} ,以提高其热力学稳定性。Patra等^[10]对DFO*的异硫氰酸酯衍生物(DFO*-NCS)进行了研究,通过DFT及稳定性实验验证了其配位优势。已有相关报道将DFO*应用于曲妥珠单抗(Trastuzumab)偶联、标记及动物实验,结果显示,相较于DFO,DFO*的体内稳定性更好、骨摄取更低,可降低对肿瘤骨转移的误诊^[11]。DFO*-NCS已实现商业化供应,是极具潜力的DFO替代螯合剂。

(3)FSC。FSC是天然含铁细胞中分离出来的含有三个羟胺酮的环状化合物,也被用于 ^{89}Zr 的标记,Zhai等合成了一系列FSC结构的衍生物并进行其 ^{89}Zr 标记物稳定性的研究,另外对 ^{89}Zr -FSC-多肽进行了PET显像和生物分布实验^[12]。结果显示,FSC具有较DFO更好的稳定性,是一种非常有前景的 ^{89}Zr 螯合剂。然而,目前FSC主要是通过真菌培养、提取得到,这在一定程度上限制了其商业化应用,其在体内的代谢过程及毒性也有待进一步研究。

2) 羟基吡啶酮类螯合剂

羟基吡啶酮(HOPO)是一类具有六元氮杂环的苯类似物,氮杂环中含有羰基和邻位羟基,分别为1-羟基-2-吡啶酮(1,2-HOPO),3-羟基-2-吡啶酮(2,3-HOPO)和3-羟基-4-吡啶酮(3,4-HOPO)三种形式。Lewis等^[13]提出了一种新的HOPO螯合剂(3,4,3-(LI-1,2-HOPO)),该螯合剂基于1,2-HOPO单元设计,将4个1,2-HOPO单元连接在一个长链四胺上,DFT计算显示 Zr^{4+} 可与3,4,3-(LI-1,2-HOPO)进行八配位;EDTA竞争性稳定性研究显示,即使在过量100倍的EDTA中于37℃下放置7天, ^{89}Zr -HOPO的放化纯度仍>99%,而 ^{89}Zr -DFO有明显的 ^{89}Zr 解离,证实了 ^{89}Zr -HOPO在稳定性方面的优势。在此基础上,开展了 ^{89}Zr -3,4,3-(LI-1,2-HOPO)-NCS-Trastuzumab和 ^{89}Zr -DFO-NCS-Trastuzumab的临床前研究,两者的免疫反应分数分别为(92.4±6.8)%和(88.6±2.1)%,

前者略高于后者,但并没有显著差异,动物模型的体内实验显示3,4,3-(LI-1,2-HOPO)-NCS-Trastuzumab的骨摄取更少、体内稳定性更佳^[14]。

此外,也有部分羟基吡啶酮类螯合剂基于2,3-HOPO和3,4-HOPO单元。尽管单元结构相似,螯合剂的体内外稳定性却有不同。Tinianow等^[15]对 ^{89}Zr 标记的2,3-HOPO单抗偶联物(^{89}Zr -1-NCS-Trastuzumab)进行了稳定性研究和生物评价,结果显示其在血清中不太稳定,PET显像效果与 ^{89}Zr -DFO-suc-N-Trastuzumab相似。Ma等^[16]报道了以3,4-HOPO为单元的CP256螯合剂,将CP256采用巯基法与抗体偶联,得到的 ^{89}Zr 标记物在小鼠体内的稳定性不佳,低于DFO标记物。

HOPO类螯合剂在 ^{68}Ga 标记药物方面有较多应用,已有临床研究的报道^[17]。而在 ^{89}Zr 标记方面,虽然3,4,3-(LI-1,2-HOPO)表现优于DFO,但其结构较为复杂,化合物的合成、设计也更具挑战性,不利于临床转化。HOPO类螯合剂的结构设计、合成方法还需进一步优化,以降低其合成难度。

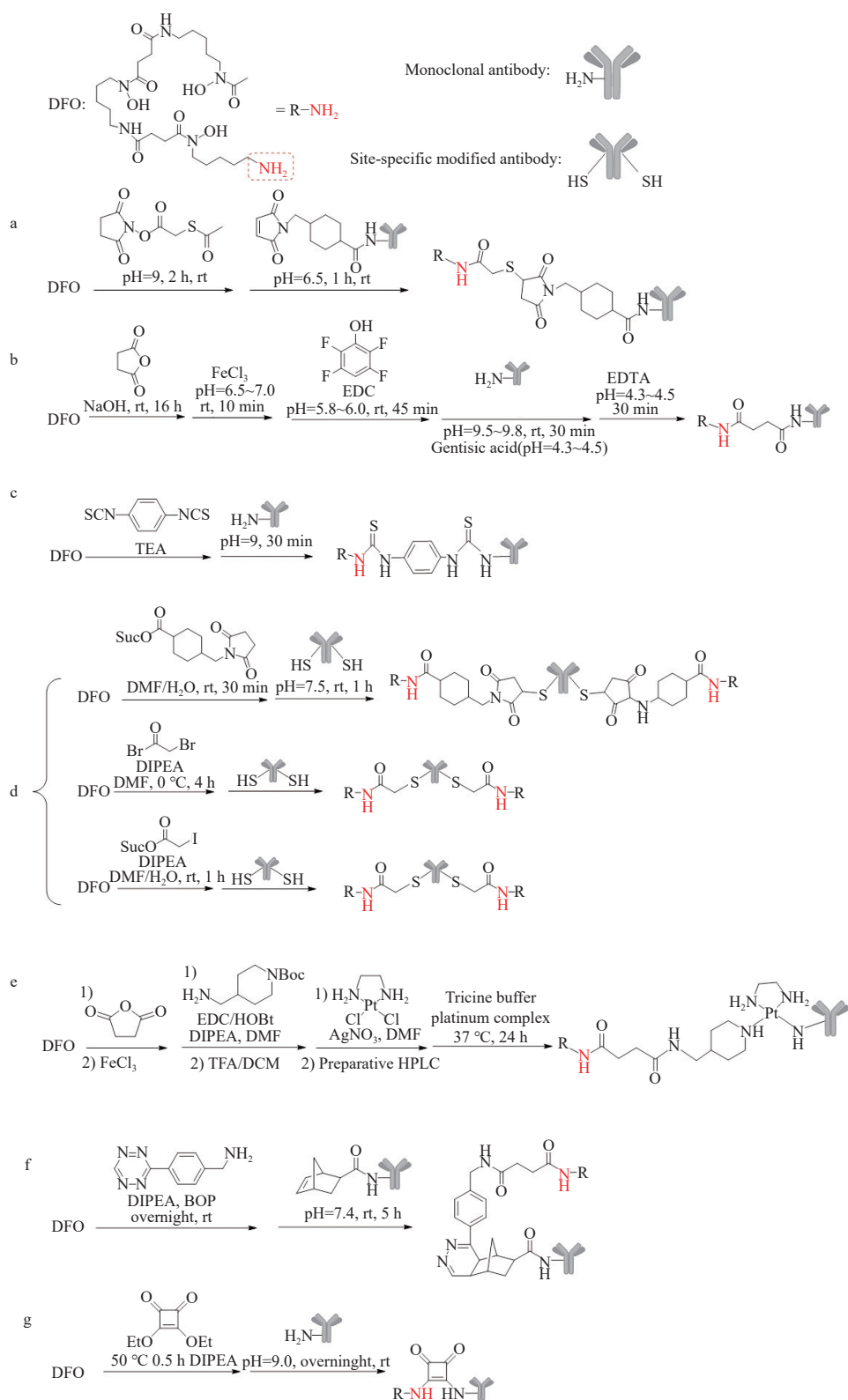
3) 邻苯二酚类螯合剂

邻苯二酚类基团因较好的螯合性能,常用于钪、铜、铅、铀等金属离子的促排研究。在2012年,Pandya等^[18]对邻苯二酚类螯合剂开展了 ^{89}Zr 标记研究,开发了TAM1、TAM2,并进行了正常鼠生物分布实验,结果显示,TAM1表现出与DFO相当的稳定性和相似的生物分布。目前尚未见该类螯合剂与生物大分子偶联的研究报道,其应用仍待进一步发掘。

螯合剂是 ^{89}Zr 单抗药物的重要组成部分,螯合剂的选择需考虑标记反应难易程度和配合物稳定性这两个关键要素,但同时也要对从螯合剂结构复杂程度、抗体偶联反应的整体设计、生物毒性等多方面进行综合评价。在众多螯合剂中,DFO的反应效率和稳定性并非最优,但它具有结构简单、便于修饰和潜在毒性风险较低的优点。因此,现阶段 ^{89}Zr 单抗药物螯合剂仍以DFO为主,而DFO*则有望以更优越的综合性能替代DFO,成为 ^{89}Zr 单抗药物螯合剂的新选择。

2.2 DFO与单抗的偶联方法

对 ^{89}Zr 螯合剂与单抗的偶联研究基本上以DFO为研究对象开展,主要方法示于图4,包括马来酰亚胺-巯基偶联法(巯基法)、活性酯法、



a——巯基法; b——活性酯法; c——异硫氰酸酯法; d——定点修饰法; e——乙二胺铂法; f——点击化学; g——方酸二酯法

图 4 螯合剂与抗体偶联方法

Fig.4 The conjugation of chelators and antibodies

异硫氰酸酯法、定点修饰法、乙二胺铂法、点击化学和方酸二酯法等。

2.2.1 巯基法

巯基法为最早采用的偶联方法。该方法采用 N-琥珀酰亚胺-S-乙酰巯基乙

酸酯(SATA)和4-(N-马来酰亚胺基甲基)环己烷-1-羧酸琥珀酰亚胺酯(SMCC)分别对DFO的氨基和抗体赖氨酸上的氨基进行修饰,然后偶联得到琥珀酰亚胺-硫醚类产物,此方法比直接标记法的标记产物稳定性好,但其硫醚两端的键易发生断裂^[19-20]。

2.2.2 活性酯法 DFO与琥珀酸酐反应引入羧基,络合 Fe^{3+} 以保护异羟肟酸酯基团,随后被四氟苯酚(TFP)酯化形成Fe-N-琥珀酰-DFO-四氟苯酚酯(TFP-N-suc-DFO-Fe),再与抗体上赖氨酸上的氨基反应,最后脱去 Fe^{3+} ^[20]。通过该方法进行偶联的标记物如 ^{89}Zr -DFO-suc-N-Ibritumomab已开展临床研究^[21]。

2.2.3 异硫氰酸酯法 采用对苯二异硫氰酸酯与DFO中的氨基反应生成DFO-NCS,再与抗体上的赖氨酸上的氨基反应形成稳定的双硫脲结构。但中间体DFO-NCS的水溶性较差,需要溶解在DMSO中再与单抗水溶液反应^[22]。该方法操作简便、应用广泛,多个以DFO-NCS作为双功能螯合剂的 ^{89}Zr 标记物已进入临床试验研究,如 ^{89}Zr -Trastuzumab、 ^{89}Zr -Rituximab等^[23-24]。此外,DFO*也以该法进行抗体偶联并开展了临床前研究^[11]。

2.2.4 定点修饰法 首先在抗体中定点引入硫醇基团,然后再与DFO衍生物(如DFO-Chx-Mal、DFO-Bac或DFO-Iac)反应得到键连产物。此方法有效避免了双功能螯合剂与抗体活性结合位点上的氨基键连,可最大程度保留抗体的生物活性^[25]。

2.2.5 乙二胺铂法 通过用琥珀酸基团修饰DFO,随后添加哌啶配位基团,得到哌啶修饰的DFO-Fe,再用 AgNO_3 活化乙二胺/二氯化铂配合物($\text{PtCl}_2(\text{en})$)后与其反应。通过这种方式偶联的抗体标记物表现出较好的体内外稳定性^[26]。

2.2.6 点击化学 此方法基于Diels-Alder反应(D-A反应),利用二烯烃衍生物和四嗪衍生物分别与抗体和螯合剂连接后,再通过D-A反应将两者键连。但标记物在体内极易发生 ^{89}Zr 的解离^[27]。

2.2.7 方酸二酯法 该方法在DFO及DFO*上均进行了研究,即通过方酸二酯(Sq)的两个酯基分别与DFO(或DFO*)的氨基及单抗的氨基发生取代反应,连接DFO(或DFO*)和抗体。EDTA

挑战实验结果显示,DFO-Sq的 ^{89}Zr 标记物在pH为7.0的环境下稳定性优于 ^{89}Zr -DFO-NCS,但也有研究对连接单抗后的 ^{89}Zr -DFO-NCS-mAb和 ^{89}Zr -DFO-Sq-mAb进行了对比,认为两者的体内稳定性和模型动物PET显像效果没有明显差异^[11,28]。

DFO是单抗偶联研究的主要研究对象,这与其易于进行结构修饰和设计的特性密切相关。而在上述偶联方法中,异硫氰酸酯法(即DFO-NCS)因其操作简便、偶联效率高、后处理简单且已实现商业化供应的优势,已广泛应用于 ^{89}Zr 单抗药物的临床转化。

2.3 ^{89}Zr 标记单抗药物

^{89}Zr 单抗药物的适应症广泛,这取决于单抗的靶点类型和适应症。目前 ^{89}Zr 单抗临床研究较多或进展较快的靶点有HER2、PSMA、PD-1/PD-L1、CAIX等,此外还有部分靶点正在进行临床前研究。由于临床阶段的 ^{89}Zr 单抗药物大多将DFO-NCS作为双功能螯合剂,本节中直接表示为“ ^{89}Zr -单抗”的药物均采用DFO-NCS进行偶联。临床阶段的 ^{89}Zr 单抗药物列于表1。

2.3.1 ^{89}Zr -anti-HER2抗体 人类表皮生长因子-2(HER2)是人表皮生长因子受体家族(HER)家族的成员,在乳腺癌、卵巢癌和胃癌中过度表达。HER2是单抗类药物研究的热门靶点之一,已有多个单抗药物获FDA批准上市,对应的 ^{89}Zr 单抗药物研究也在快速推进,包括 ^{89}Zr -Trastuzumab、 ^{89}Zr -Pertuzumab、 ^{89}Zr -Trastuzumab-emtansine(^{89}Zr -TDM1)等。

^{89}Zr -Trastuzumab与 ^{89}Zr -TDM1用于HER2阳性的转移性乳腺癌患者显像,可辅助评估Trastuzumab或Trastuzumab-emtansine的疗效^[23,29-30]。此外,为提高显像效果,有研究对 ^{89}Zr -DFO*-NCS-TDM1进行了报道,其在初步的体内外实验中表现出更好的稳定性^[31]。

针对HER2的 ^{89}Zr 单抗药物还有 ^{89}Zr -Pertuzumab与 ^{89}Zr -DFO-ss-Pertuzumab(定点修饰法偶联),两者均可与trastuzumab非竞争性结合HER2受体,定量评估HER2在体内的表达^[32],在前瞻性临床试验中,后者表现出更好的亲和性^[33]。

2.3.2 ^{89}Zr -anti-PSMA抗体 前列腺特异性膜抗原(PSMA)是一类II型跨膜糖蛋白,在前列腺癌组织中高度表达。已由FDA批准的靶向PSMA

表 1 临床阶段的⁸⁹Zr 单抗药物
Table 1 ⁸⁹Zr-labeled monoclonal antibodies in clinical stages

序号	名称	靶点	临床实验编号	适应症	阶段
1	⁸⁹ Zr-Trastuzumab	HER2	NCT02065609	乳腺癌	临床 I 期
2	⁸⁹ Zr-TDM1		NCT01565200	乳腺癌	临床 II 期
3	⁸⁹ Zr-ss-Pertuzumab		NCT04692831	HER2阳性恶性肿瘤	临床 I 期
4	⁸⁹ Zr-J591	PSMA	NCT01543659	转移性去势抵抗性前列腺癌	临床 I/II A 期
5	⁸⁹ Zr-IAB2M		NCT01923727	转移性前列腺癌	临床 I/II A 期
6	⁸⁹ Zr-DFO-N-suc-Pembrolizumab	PD-1	NCT03065764	非小细胞肺癌	临床 II 期
7	⁸⁹ Zr-crefmirlimab		NCT06534190; NCT06218069	非小细胞肺癌; 转移性实体瘤	临床 II 期
8	⁸⁹ Zr-Atezolizumab(在部分研究中代号为MPDL3280A)	PD-L1	NCT04006522; NCT05742269; NCT02453984	转移性三阴性乳腺癌; 局部晚期或转移性实体瘤。	临床 II 期
9	⁸⁹ Zr-Avelumab		NCT03514719	非小细胞肺癌	临床 I 期
10	⁸⁹ Zr-Durvalumab		NCT03829007	头颈癌	临床 I/II 期
11	⁸⁹ Zr-REGN3504	CD20	NCT03746704	晚期PD-L1阳性恶性肿瘤	临床 I 期
12	⁸⁹ Zr-KN035		NCT04977128; NCT03638804	实体瘤	未分期
13	⁸⁹ Zr-girentuximab	CA IX	NCT03849118	透明细胞肾细胞癌	临床 III 期
14	⁸⁹ Zr-Rituximab	CD20	NCT02251964	难治性间质性肺炎	临床 II 期
15	⁸⁹ Zr-DFO-suc-N-Ibritumomab		-	非霍奇金淋巴瘤	-
16	⁸⁹ Zr-RG7356	CD44	NCT01358903	CD44阳性晚期实体瘤	临床 I 期
17	⁸⁹ Zr-Panitumumab	EGFR	NCT05747625; NCT05183048	头颈部鳞状细胞癌	临床 I 期
18	⁸⁹ Zr-GSK2849330	HER3	NCT02345174	HER3阳性晚期实体瘤	临床 I 期
19	⁸⁹ Zr-Bevacizumab	VEGF	NCT05685836	症状性神经纤维瘤病2型	观察性临床试验
20	⁸⁹ Zr-Ipilimumab	CTLA-4	NCT03313323	黑色素瘤	临床 II 期

的单抗显像药物有 Proscint([¹¹¹In]-Capromab)。靶向 PSMA 的⁸⁹Zr 单抗药物有⁸⁹Zr-J591 和⁸⁹Zr-IAB2M。J591 是一种人源化单抗,⁸⁹Zr-J591 可定性和定量分析体内 PSMA 阳性或阴性的前列腺癌,并于 2015 年完成 I/II 期临床试验^[9,34]。IAB2M 是一种 80 kDa 的微抗体(minibody),由 J591 基因工程改造而来。⁸⁹Zr-IAB2M 在转移性前列腺癌、尿道癌等患者中已完成两项临床 I/II 期试验^[35-37],并在前列腺癌的诊断中表现出与⁶⁸Ga-PSMA-11(已上市的 PSMA PET 显像剂)相当的显像效果^[38]。

2.3.3 ⁸⁹Zr-anti-PD-1/PD-L1 抗体 随着 anti-PD-1/PD-L1 类单抗药物的蓬勃发展,对应的⁸⁹Zr 抗体药物也已有多个品种进入临床 I 期、II 期研究,其具体进展情况见表 1。靶向 PD-1 的⁸⁹Zr-DFO-N-suc-Pembrolizumab^[39](活性酯法偶联)、⁸⁹Zr-crefmirlimab^[39-40],以及靶向 PD-L1 的⁸⁹Zr-Atezolizumab^[41]、⁸⁹Zr-Avelumab^[42]、⁸⁹Zr-Durvalumab^[43]等已在临床前研究中表现出一定

潜力,但其临床有效性仍在评估中。

2.3.4 ⁸⁹Zr-anti-CAIX 抗体 碳酸酐酶 IX(CAIX) 是一种亚型跨膜蛋白,在许多乏氧恶性肿瘤包括透明细胞肾细胞癌中高度表达而在正常组织中几乎不表达,目前尚无已批准的 CAIX 单抗类药物。

Girentuximab(吉伦妥昔单抗)是一种靶向 CAIX 的嵌合单抗。2024 年 9 月,⁸⁹Zr-girentuximab 已完成一项临床 III 期试验,用于检测和表征透明细胞肾细胞癌,是目前临床研究进展最快的⁸⁹Zr 单抗药物。其在 284 名患者中平均灵敏度达 85.5%(95% CI 81.5~89.6),平均特异性达 87.0%(95% CI 81.0~93.1),可为临床诊断提供指导,且未观察到与药物相关的不良反应,具有良好的安全性^[44]。

2.3.5 其他⁸⁹Zr 标记单抗药物 CD20 和 CD44 同属免疫细胞表面分子,是相关肿瘤治疗的重要靶点。Rituximab 和 Ibritumomab 是两种已上市的靶向 CD20 的单抗药物。2023 年的一项临床 II 期试验表明,⁸⁹Zr-Rituximab 可用于预测难

治性间质性肺炎患者免疫疗法效果^[24]。而⁸⁹Zr-DFO-suc-N-Ibritumomab的初步临床研究结果显示其具有较¹¹¹In-Ibritumomab更好的显像效果^[21]。cU36是一种靶向CD44的嵌合单抗,⁸⁹Zr-DFO-N-suc-cU36在临床研究中用于检测头颈部鳞状细胞癌(HNSCC)移植瘤^[45],效果与¹⁸F-FDG相当;⁸⁹Zr-RG7356能够选择性地结合CD44阳性病灶,在一项2018年的临床I期试验中,该药物在评估RG7356单抗的特异性、靶向介导的摄取方面体现出了应用价值^[46-47]。

EGFR(或称为HER1)和HER3是HER家族成员,两者与恶性肿瘤生长、进展和不良预后相关。已有多款靶向EGFR的单抗类药物获得FDA批准,相应的⁸⁹Zr-anti-EGFR单抗药物有⁸⁹Zr-Cetuximab^[48]、⁸⁹Zr-Panitumumab^[49]、⁸⁹Zr-Nimotuzumab^[50]等。一项临床研究比较了⁸⁹Zr-Panitumumab与¹⁸F-FDG对头颈部鳞状细胞癌患者的诊断效果,证实其可以显著改善头颈部鳞状细胞癌患者的术前癌症分期^[51]。HER3目前尚未有单抗药物上市,⁸⁹Zr-GSK2849330(一种靶向HER3的全人源化单抗)的前瞻性临床试验结果显示,其可检测在不同剂量GSK2849330下HER3的受体饱和情况,从而为患者用药提供参考^[52]。

血管内皮生长因子(VEGF)在肿瘤的生长和转移过程中发挥着重要作用。目前已有多个单抗药物经FDA批准上市,对应开展研究的⁸⁹Zr-单抗有⁸⁹Zr-Bevacizumab和⁸⁹Zr-Ranibizumab。⁸⁹Zr-Bevacizumab临床试验针对症状性神经纤维瘤病2型患者,可用于肿瘤微环境中VEGF表达、抗血管生成响应、乳腺肿瘤诊断和治疗监测及预后评估等^[53-54]。

细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4(CTLA-4)是肿瘤免疫疗法的靶点之一。在对黑色素瘤的一项临床II期研究中,靶向CTLA-4的⁸⁹Zr-Ipilimumab可显示并量化Ipilimumab在肿瘤中的摄取^[55]。

部分尚处于临床前研究阶段的⁸⁹Zr单抗也展现了临床应用的潜力。如靶向VEGF的⁸⁹Zr-DFO-suc-N-Ranibizumab,可用于监测早期舒尼替尼(一种小分子靶向药物)的抗血管生成反应、或评估肿瘤对VEGF抑制剂的响应^[56];靶向IGF-1R(胰岛素样生长因子受体1)的⁸⁹Zr-

R1507有望用于三阴性乳腺癌患者诊断和靶向治疗评估^[57];靶向GPC-3(磷脂酰肌醇蛋白聚糖-3)的⁸⁹Zr-αGPC3和⁸⁹Zr-αGPC3-F(ab')₂可用于不同阶段肝细胞癌的显像及诊断^[58-60]。

3 挑战及前景

⁸⁹Zr和⁸⁹Zr标记单抗药物具有十分广阔的应用前景,但在临床实践上仍面临一些挑战。

首先,⁸⁹Zr半衰期较长、人体吸收剂量较高,¹⁸F-FDG的PET扫描吸收剂量约5 mSv,⁸⁹Zr标记物PET的吸收剂量可达到20~40 mSv^[61]。其次,在⁸⁹Zr的螯合剂方面,尚无优于DFO且应用研究较为充分成熟的双功能螯合剂,⁸⁹Zr-DFO类显像剂的稳定性有待提高。另外,抗体片段、纳米抗体、亲和体等生物载体技术的进步使得核素和载体的选择更多元化,这势必会压缩⁸⁹Zr单抗药物的应用空间。

目前,⁸⁹Zr单抗药物的临床研究开展情况与对应单抗类药物的临床应用情况高度相关。PD-1/PD-L1、HER2、VEGF、EGFR、CD20均是热门的肿瘤治疗靶点,且有多个单抗类的药物已上市,为⁸⁹Zr单抗药物提供了广阔的应用场景。如⁸⁹Zr-anti-PD-1/PD-L1抗体药物的临床研究开展最多、适应症范围最广,对应的Pembrolizumab、Atezolizumab、Avelumab、Durvalumab、KN05均为已上市的双抗药物。可见,以实现“精准医疗”为目标,单抗药物的应用还将继续带动⁸⁹Zr单抗药物未来的发展。

单抗的高特异性是⁸⁹Zr单抗药物发展的重要优势。目前¹⁸F-FDG是最常用的PET显像药物,应用广泛,但在某些方面如泌尿系统癌症中存在局限性^[62],易受个体炎症、感染等情况影响。单抗的高特异性可以降低⁸⁹Zr单抗药物在非靶器官的摄取,从而进行特定器官或组织内的肿瘤显像。已完成III期临床试验的⁸⁹Zr-girentuximab在对透明细胞肾细胞癌显像方面有望优于¹⁸F-FDG,成为第一个上市的⁸⁹Zr单抗药物。

现阶段⁸⁹Zr单抗药物几乎都处于临床II期或更早期的状态,且部分药物在与其他PET显像剂的比较研究中并未展现出明显优势,其临床有效性仍待进一步的实践和研究。研究者们正致力于开展多方面的探索与创新,以期克服

现有难题,推动 ^{89}Zr 单抗药物在临床中的实际应用。相信随着单抗药物在临床应用的不断拓展,新型双功能螯合剂的开发和商业化应用, ^{89}Zr 单抗药物将凭借其独特的优势,在临床诊断和治疗中发挥越来越重要的作用。

参考文献:

- [1] Petroni D, Menichetti L, Poli M. Historical and radiopharmaceutical relevance of [^{18}F]FDG[J]. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 2020, 323(3): 1017-1031.
- [2] Wuensche T E, Lyashchenko S, van Dongen G A M S, et al. Good practices for ^{89}Zr radiopharmaceutical production and quality control[J]. *EJNMMI Radiopharmacy and Chemistry*, 2024, 9(1): 40.
- [3] Tang Y, Li S, Yang Y Y, et al. A simple and convenient method for production of ^{89}Zr with high purity[J]. *Applied Radiation and Isotopes*, 2016, 118: 326-330.
- [4] 高华萍, 林禹, 谭辉, 等. 十分之一剂量 ^{18}F -FDG 全身 PET/CT 肿瘤显像可行性的临床研究[J]. *中华核医学与分子影像杂志*, 2023, 43(12): 707-712.
Gao Huaping, Lin Yu, Tan Hui, et al. Feasibility of one-tenth dose ^{18}F -FDG total-body PET/CT in patients with malignant tumors[J]. *Chinese Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 2023, 43(12): 707-712(in Chinese).
- [5] Fischer G, Seibold U, Schirmacher R, et al. ^{89}Zr , a radiometal nuclide with high potential for molecular imaging with PET: chemistry, applications and remaining challenges[J]. *Molecules*, 2013, 18(6): 6469-6490.
- [6] Abou D S, Thorek D L J, Ramos N N, et al. ^{89}Zr -labeled paramagnetic octreotide-liposomes for PET-MR imaging of cancer[J]. *Pharmaceutical Research*, 2013, 30(3): 878-888.
- [7] Perk L R, Visser O J, Stigter-van Walsum M, et al. Preparation and evaluation of ^{89}Zr -Zevalin for monitoring of ^{90}Y -Zevalin biodistribution with positron emission tomography[J]. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 2006, 33(11): 1337-1345.
- [8] Pandya D N, Bhatt N, Yuan H, et al. Zirconium tetraazamacrocyclic complexes display extraordinary stability and provide a new strategy for zirconium-89-based radiopharmaceutical development[J]. *Chem Sci*, 2017, 8(3): 2309-2314.
- [9] Meijs W, Herscheid J, Haisma H, et al. Evaluation of desferal as a bifunctional chelating agent for labeling antibodies with Zr-89[J]. *Int J Rad Appl Instrum A*, 1992, 43(12): 1443-1447.
- [10] Holland J P, Divilov V, Bander N H, et al. ^{89}Zr -DFO-
J591 for ImmunoPET of prostate-specific membrane antigen expression *in vivo*[J]. *Journal of Nuclear Medicine*, 2010, 51(8): 1293-1300.
- [11] Patra M, Bauman A, Mari C, et al. An octadentate bifunctional chelating agent for the development of stable zirconium-89 based molecular imaging probes[J]. *Chem Commun (Camb)*, 2014, 50(78): 11523-11525.
- [12] Chomet M, Schreurs M, Bolijn M J, et al. Head-to-head comparison of DFO* and DFO chelators: selection of the best candidate for clinical ^{89}Zr -immuno-PET[J]. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 2021, 48(3): 694-707.
- [13] Zhai C, Summer D, Rangger C, et al. Novel bifunctional cyclic chelator for ^{89}Zr labeling-radiolabeling and targeting properties of RGD conjugates[J]. *Molecular Pharmaceutics*, 2015, 12(6): 2142-2150.
- [14] Deri M A, Ponnala S, Zeglis B M, et al. Alternative chelator for ^{89}Zr radiopharmaceuticals: radiolabeling and evaluation of 3,4,3-(LI-1,2-HOPO)[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2014, 57(11): 4849-4860.
- [15] Deri M A, Ponnala S, Kozlowski P, et al. P-SCN-bn-HOPO: A superior bifunctional chelator for ^{89}Zr ImmunoPET[J]. *Bioconjugate Chemistry*, 2015, 26(12): 2579-2591.
- [16] N Tinianow J, Pandya D N, Pailloux S L, et al. Evaluation of a 3-hydroxypyridin-2-one (2,3-HOPO) based macrocyclic chelator for $^{89}\text{Zr}^{4+}$ and its use for ImmunoPET imaging of HER2 positive model of ovarian carcinoma in mice[J]. *Theranostics*, 2016, 6(4): 511-521.
- [17] Ma M T, Meszaros L K, Paterson B M, et al. Tripodal tris(hydroxypyridinone) ligands for immunoconjugate PET imaging with $^{89}\text{Zr}^{4+}$: comparison with desferrioxamine-B[J]. *Dalton Transactions*, 2015, 44(11): 4884-4900.
- [18] Kulkarni M, Hughes S, Mallia A, et al. The management impact of ^{68}Ga -tris(hydroxypyridinone) prostate-specific membrane antigen (^{68}Ga -THP-PSMA) PET-CT imaging for high-risk and biochemically recurrent prostate cancer[J]. *Neuropsychopharmacology*, 2020, 47(3): 674-686.
- [19] Pandya D N, Pailloux S, Tatum D, et al. Di-macrocyclic terephthalamide ligands as chelators for the PET radionuclide zirconium-89[J]. *Chem Commun (Camb)*, 2015, 51(12): 2301-2303.
- [20] Meijs W E, Haisma H J, Van der Schors R, et al. A facile method for the labeling of proteins with zirconium isotopes[J]. *Shoulder & Elbow*, 1996, 23(4): 439-448.
- [21] Verel I, Visser G W, Boellaard R, et al. ^{89}Zr immuno-PET: comprehensive procedures for the production of

- ⁸⁹Zr-labeled monoclonal antibodies[J]. *Journal of Nuclear Medicine*, 2003, 44(8): 1271-1281.
- [22] Rizvi S N F, Visser O J, Vosjan M J W D, et al. Biodistribution, radiation dosimetry and scouting of ⁹⁰Y-ibritumomab tiuxetan therapy in patients with relapsed B-cell non-Hodgkin's lymphoma using ⁸⁹Zr-ibritumomab tiuxetan and PET[J]. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 2012, 39(3): 512-520.
- [23] Perk L R, Vosjan M J W D, Visser G W M, et al. P-Isothiocyanatobenzyl-desferrioxamine: a new bifunctional chelate for facile radiolabeling of monoclonal antibodies with zirconium-89 for immuno-PET imaging[J]. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 2010, 37(2): 250-259.
- [24] Dijkers E C, Oude Munnink T H, Kosterink J G, et al. Biodistribution of ⁸⁹Zr-trastuzumab and PET imaging of HER2-positive lesions in patients with metastatic breast cancer[J]. *Journal of Clinical Medicine*, 2010, 87(5): 586-592.
- [25] Adams H, van de Garde E M W, Vugts D J, et al. [⁸⁹Zr]-immuno-PET prediction of response to rituximab treatment in patients with therapy refractory interstitial pneumonitis: a phase 2 trial[J]. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 2023, 50(7): 1929-1939.
- [26] Tinianow J N, Gill H S, Ogasawara A, et al. Site-specifically ⁸⁹Zr-labeled monoclonal antibodies for ImmunoPET[J]. *Nuclear Medicine and Biology*, 2010, 37(3): 289-297.
- [27] Sijbrandi N J, Merkul E, Muns J A, et al. A novel platinum(II)-based bifunctional ADC linker benchmarked using ⁸⁹Zr-desferal and auristatin F-conjugated trastuzumab[J]. *Cancer Research*, 2017, 77(2): 257-267.
- [28] Zeglis B M, Mohindra P, Weissmann G I, et al. Modular strategy for the construction of radiometalated antibodies for positron emission tomography based on inverse electron demand Diels-Alder click chemistry[J]. *Bioconjugate Chemistry*, 2011, 22(10): 2048-2059.
- [29] Rudd S E, Roselt P, Cullinane C, et al. A desferrioxamine B squaramide ester for the incorporation of zirconium-89 into antibodies[J]. *Chemical Communications*, 2016, 52(80): 11889-11892.
- [30] Oude Munnink T H, Korte M A, Nagengast W B, et al. ⁸⁹Zr-trastuzumab PET visualises HER2 downregulation by the HSP90 inhibitor NVP-AUY922 in a human tumour xenograft[J]. *Eur J Cancer*, 2010, 46(3): 678-684.
- [31] Al-Saden N, Cai Z, Reilly R M. Tumor uptake and tumor/blood ratios for [⁸⁹Zr]Zr-DFO-trastuzumab-DM1 on microPET/CT images in NOD/SCID mice with human breast cancer xenografts are directly correlated with HER2 expression and response to trastuzumab-DM1[J]. *Nucl Med Biol*, 2018, 67: 43-51.
- [32] Cho H, Al-Saden N, Lam H, et al. A comparison of DFO and DFO* conjugated to trastuzumab-DM1 for complexing ⁸⁹Zr - *in vitro* stability and *in vivo* microPET/CT imaging studies in NOD/SCID mice with HER2-positive SK-OV-3 human ovarian cancer xenografts[J]. *Nucl Med Biol*, 2020, 84-85: 11-19.
- [33] Marquez B V, Ikotun O F, Zheleznyak A, et al. Evaluation of ⁸⁹Zr-pertuzumab in breast cancer xenografts[J]. *Molecular Pharmaceutics*, 2014, 11(11): 3988-3995.
- [34] Yeh R, O'Donoghue J A, Jayaprakasam V S, et al. First-in-human evaluation of site-specifically labeled ⁸⁹Zr-pertuzumab in patients with HER2-positive breast cancer[J]. *Journal of Nuclear Medicine*, 2024, 65(3): 386-393.
- [35] Pandit-Taskar N, O'Donoghue J A, Durack J C, et al. A phase I/II study for analytic validation of ⁸⁹Zr-J591 Immuno PET as a molecular imaging agent for metastatic prostate cancer[J]. *Clinical Cancer Research*, 2015, 21(23): 5277-5285.
- [36] Pandit-Taskar N, O'Donoghue J A, Ruan S, et al. First-in-human imaging with ⁸⁹Zr-df-IAB2M anti-PSMA minibody in patients with metastatic prostate cancer: Pharmacokinetics, biodistribution, dosimetry, and lesion uptake[J]. *J Nucl Med*, 2016, 57(12): 1858-1864.
- [37] Morris M J, Martinez D F, Durack J C, et al. A phase I/IIa trial of prostate specific membrane antigen (PSMA) positron emission tomography (PET) imaging with ⁸⁹Zr-Df-IAB2M in metastatic prostate cancer (PCa)[J]. *Journal of Clinical Oncology*, 2016, 34(S2): 287.
- [38] Joraku A, Hatano K, Kawai K, et al. Phase I/IIa PET imaging study with ⁸⁹Zirconium labeled anti-PSMA minibody for urological malignancies[J]. *Annals of Nuclear Medicine*, 2019, 33(2): 119-127.
- [39] Vlachostergios P J, Niaz M J, Thomas C, et al. Pilot study of the diagnostic utility of ⁸⁹Zr-df-IAB2M and ⁶⁸Ga-PSMA-11 PET imaging and multiparametric MRI in localized prostate cancer[J]. *The Prostate*, 2022, 82(4): 483-492.
- [40] Bensch F, van der Veen E L, Lub-de Hooge M N, et al. ⁸⁹Zr-atezolizumab imaging as a non-invasive approach to assess clinical response to PD-L1 blockade in cancer[J]. *Nature Medicine*, 2018, 24: 1852-1858.
- [41] Hao C, Ladbury C, Frankel P, et al. 725 Preliminary results of a prospective pilot study using CD8 ImmunoPET imaging to evaluate the immune response to

- radiation therapy (ELIXR)[C]//Regular and Young Investigator Award Abstracts. [S. l.]: BMJ Publishing Group Ltd, 2023.
- [42] Massicano A V F, Song P N, Mansur A, et al. [^{89}Zr]-atezolizumab-PET imaging reveals longitudinal alterations in PD-L1 during therapy in TNBC preclinical models[J]. *Cancers*, 2023, 15(10): 2708.
- [43] Jagoda E M, Vaslatiy O, Basuli F, et al. Immuno-PET imaging of the programmed cell death-1 ligand (PD-L1) using a zirconium-89 labeled therapeutic antibody, avelumab[J]. *Mol Imaging*, 2019, 18: 1536012119829986.
- [44] Verhoeff S R, van de Donk P P, Aarntzen E H J G, et al. ^{89}Zr -DFO-durvalumab PET/CT before durvalumab treatment in patients with recurrent or metastatic head and neck cancer[J]. *Journal of Nuclear Medicine*, 2022, 63(10): 1523-1530.
- [45] Shuch B, Pantuck A J, Bernhard J C, et al. [^{89}Zr]-Zigrentuximab for PET-CT imaging of clear-cell renal cell carcinoma: a prospective, open-label, multicentre, phase 3 trial[J]. *The Lancet Oncology*, 2024, 25(10): 1277-1287.
- [46] Börjesson P K, Jauw Y W, Boellaard R, et al. Performance of immuno-positron emission tomography with zirconium-89-labeled chimeric monoclonal antibody U36 in the detection of lymph node metastases in head and neck cancer patients[J]. *Clinical Cancer Research*, 2006, 12(7): 2133-2140.
- [47] Vugts D J, Heuveling D A, Stigter-van Walsum M, et al. Preclinical evaluation of ^{89}Zr -labeled anti-CD44 monoclonal antibody RG7356 in mice and cynomolgus monkeys: Prelude to Phase I clinical studies[J]. *mAbs*, 2014, 6(2): 567-575.
- [48] Jauw Y W S, Huisman M C, Nayak T K, et al. Assessment of target-mediated uptake with immuno-PET: analysis of a phase I clinical trial with an anti-CD44 antibody[J]. *EJNMMI Research*, 2018, 8(1): 6.
- [49] Aerts H J, Dubois L, Perk L, et al. Disparity between *in vivo* EGFR expression and ^{89}Zr -labeled cetuximab uptake assessed with PET[J]. *Journal of Nuclear Medicine*, 2009, 50(1): 123-131.
- [50] Bhattacharyya S, Kurdziel K, Wei L, et al. Zirconium-89 labeled panitumumab: a potential immuno-PET probe for HER1-expressing carcinomas[J]. *Nuclear Medicine and Biology*, 2013, 40(4): 451-457.
- [51] Tang Y, Hu Y, Liu W, et al. A radiopharmaceutical [^{89}Zr]-DFO-nimotuzumab for immunoPET with epidermal growth factor receptor expression *in vivo*[J]. *Nuclear Medicine and Biology*, 2019, 70: 23-31.
- [52] Lee Y J, van den Berg N S, Duan H, et al. ^{89}Zr -panitumumab combined with ^{18}F -FDG PET improves detection and staging of head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Clinical Cancer Research*, 2022, 28(20): 4425-4434.
- [53] Menke-van der Houven van Oordt C W, McGeoch A, Bergstrom M, et al. Immuno-PET imaging to assess target engagement: experience from ^{89}Zr -anti-HER3 MAb (GSK2849330) in patients with solid tumors[J]. *Journal of Nuclear Medicine*, 2019, 60(7): 902-909.
- [54] Gaykema S B, Brouwers A H, Lub-de Hooij M N, et al. ^{89}Zr -bevacizumab PET imaging in primary breast cancer[J]. *J Nucl Med*, 2013, 54(7): 1014-1018.
- [55] van Asselt S J, Oosting S F, Brouwers A H, et al. Everolimus reduces ^{89}Zr -bevacizumab tumor uptake in patients with neuroendocrine tumors[J]. *Journal of Nuclear Medicine*, 2014, 55(7): 1087-1092.
- [56] Miedema I H, Zwezerijnen G J, van Dongen G A, et al. Abstract 1136: tumor uptake and biodistribution of ^{89}Zr -labeled ipilimumab in patients with metastatic melanoma during ipilimumab treatment[J]. *Cancer Research*, 2019, 79(S13): 1136.
- [57] Nagengast W B, Lub-de Hooij M N, Oosting S F, et al. VEGF-PET imaging is a noninvasive biomarker showing differential changes in the tumor during sunitinib treatment[J]. *Cancer Research*, 2011, 71(1): 143-153.
- [58] Heskamp S, van Laarhoven H W, Molkenboer-Kueneen J D, et al. ImmunoSPECT and immunoPET of IGF-1R expression with the radiolabeled antibody R1507 in a triple-negative breast cancer model[J]. *Journal of Nuclear Medicine*, 2010, 51(10): 1565-1572.
- [59] Park J O, Stephen Z, Sun C, et al. Glypican-3 targeting of liver cancer cells using multifunctional nanoparticles[J]. *Molecular Imaging*, 2011, 10(1): 69-77.
- [60] Sham J G, Kievit F M, Grierson J R, et al. Glypican-3-targeted ^{89}Zr PET imaging of hepatocellular carcinoma[J]. *J Nucl Med*, 2014, 55(5): 799-804.
- [61] Sham J G, Kievit F M, Grierson J R, et al. Glypican-3-targeting F(ab')_2 for ^{89}Zr PET of hepatocellular carcinoma[J]. *Journal of Nuclear Medicine*, 2014, 55(12): 2032-2037.
- [62] Yoon J K, Park B N, Ryu E K, et al. Current perspectives on ^{89}Zr -PET imaging[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(12): E4309.
- [63] Urso L, Bauckneht M, Albano D, et al. The evolution of PET imaging in renal, bladder, upper urinary tract urothelial, testicular and penile carcinoma - Today's impact, tomorrow's potential[J]. *Expert Review of Medical Devices*, 2024, 21(1-2): 55-72.