

- nate-assisted negative pressure cavitation extraction for the determination of phenolic compounds in pyrola by LC-MS/MS and the evaluation of its antioxidant activity [J]. Food Funct, 2015, 6 (10): 3323-3333.
- [7] 高改, 李二稳, 王梦瑶, 等. 基于 SREBPs 的泽泻活性成分及其降脂作用研究 [J]. 时珍国医国药, 2022, 33 (3): 521-526.
- [8] 颜培正, 孟庆岩, 常兴, 等. 《黄帝内经》“酒风”病因病机探析 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2017, 23 (2): 149-150, 155.
- [9] 谢治深, 黄小虹, 袁永, 等. 泽泻抑制脂多糖诱导的 RAW264.7 炎症及作用机制 [J]. 时珍国医国药, 2020, 31 (7): 1586-1590.
- [10] 陈琴华, 余飞, 王红梅, 等. 白术内酯 I、II、III 对炎症巨噬细胞细胞因子表达的影响 [J]. 中国药师, 2017, 20 (12): 2112-2116.
- [11] Chen Y, Yang W, Guo L, et al. Atractylodes lactone compounds inhibit platelet activation [J]. Platelets, 2017, 28 (2): 194-202.
- [12] 郭雨雅, 孙晓琦, 方晶, 等. 加味泽泻汤对 NAFLD 大鼠肝脏炎症信号通路相关蛋白表达的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23 (5): 90-94.
- [13] Matsushita T, Sasaki H, Takayama K, et al. The overexpression of SIRT1 inhibited osteoarthritic gene expression changes induced by interleukin-1 β in human chondrocytes [J]. J Orthop Res, 2013, 31 (4): 531-537.

• 基础研究 •

孕期 DEHP 暴露后子代雌鼠下丘脑 lncRNA 的差异性表达研究

福建省医学科学研究院 福建省医学测试重点实验室 (福州 350001) 余 真 郑圆圆¹ 黄族贵²

【摘要】 目的 探究孕期 DEHP 暴露对大鼠子代雌鼠下丘脑长链非编码 RNA (lncRNA) 表达的影响, 分析并预测 DEHP 影响子代下丘脑-垂体-性腺轴与能量代谢的机制。**方法** 大鼠孕 0~18 d 连续灌胃染毒, 子代雌鼠出生后立刻取下丘脑组织并提取总 RNA, 使用 illumina Hiseq 测序平台进行测序, 筛选出差异表达的 mRNA 和 lncRNA 进行 GO 与 KEGG 富集分析。利用实时荧光定量 PCR 检测技术验证染毒组与对照组的下丘脑细胞中差异表达的目的 lncRNA。**结果** 通过 RNA-seq 测序分析, 筛选到 108 条差异表达的 lncRNA 和 342 条差异表达的 mRNA。KEGG 分析显示差异表达的 lncRNA 主要富集在雌激素信号通路、Ras 信号通路信号转导和 PI3K-Akt 信号通路等通路。**结论** 孕期 DEHP 暴露后子代雌鼠下丘脑组织存在 lncRNA 及 mRNA 的差异表达, 且差异表达的 lncRNA 和 mRNA 功能分析结果显示产前 DEHP 暴露可能对子代雌鼠下丘脑的性腺激素和能量代谢过程有影响。

【关键词】 RNA-seq; 大鼠; DEHP; 长链非编码 RNA; 下丘脑

【中图分类号】 R114 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1002-2600(2023)06-0123-05

Differential expression of lncRNA in the hypothalamus of offspring female rats after DEHP uterus exposure

YU Zhen, ZHENG Yuanyuan, HUANG Zugui. Fujian Provincial Key Laboratory of Medical Analysis, Fujian Academy of Medical Sciences, Fuzhou, Fujian 350001, China

【Abstract】 Objective To investigate the effect of DEHP uterus exposure on the expression of lncRNA in the hypothalamus of offspring female rats, and to analyze and predict the mechanism by which DEHP affects the hypothalamic pituitary gonadal axis and energy metabolism in offspring. **Methods** Rats were exposed to DEHP continuously by gavage from 0 to 18 days since pregnant. The hypothalamic tissue of the offspring female rats was immediately taken after birth and total RNA was extracted. The Illumina Hiseq sequencing platform was used for sequencing, and differentially expressed mRNA and lncRNA were screened for GO and KEGG enrichment analysis. **Results** The results showed that 108 significantly differentially expressed lncRNA and 342 significantly differentially expressed mRNA were identified through RNA-seq sequencing analysis. KEGG analysis showed that differentially expressed lncRNA was mainly enriched in estrogen signaling pathway, Ras signaling pathway signal transduction, and PI3K-Akt signaling pathway. **Conclusion** There are differentially expressed lncRNA and mRNA in hypothalamic tissue of female offspring after DEHP exposure during pregnancy, and the functional analysis results of differentially expressed lncRNA and mRNA indicate that prenatal DEHP exposure may affect the gonadal hormone and energy metabolism process in hypothalamus of female offspring.

【Key words】 RNA-seq; rats; DEHP; lncRNA; hypothalamus

基金项目: 福建省卫生健康青年科研课题 (2021QNB002); 福建省卫生计生中青年骨干人才培养项目 (2018-ZQN-21); 福建省属公益类科研院所基本科研专项 (2019R1011-2)

1 福建省立医院干部特诊二科; 2 福建医科大学附属南平第一医院, 通信作者, Email: 361331701@qq.com

邻苯二甲酸酯是一组工业化学品, 主要用作聚氯乙烯的增塑剂。在各种邻苯二甲酸酯中, 邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯 [di (2-ethylhexyl) phthalate, DEHP] 最为常用, 是最广泛的环境污染物之一^[1-2]。DEHP 用于各种产品, 包括食品包装、建筑材料、地板、玩具、医疗器械和个人护理产品等。孕妇、儿童、新生儿等特殊人群可能接触 DEHP 的机会高于一般人群, 对 DEHP 的毒性作用也可能更为敏感^[3]。DEHP 能够穿过哺乳动物的胎盘屏障, 胎儿会不断暴露于这些化学物质中^[4]。目前, 胎儿期间 DEHP 的暴露对健康的影响尚不明确。

DEHP 具有拟雌激素和抗雄激素作用, 可干扰动物生殖系统的发育和功能^[5]。近年来, DEHP 的暴露对能量代谢的影响也逐步被证实。下丘脑是生殖和能量稳态的高级中枢。本研究主要利用 RNA-seq 技术建立染毒组与对照组子代雌鼠下丘脑 RNA 文库, 进而获得两组 mRNA 及 lncRNA 的转录本及特征、分布、性质等相关数据, 分析上述转录本的表达量, 获得差异表达显著的 mRNA 及 lncRNA, 并对差异表达 mRNA 及 lncRNA 的靶基因进行功能富集分析, 以期预测出孕期染毒后子代雌鼠下丘脑差异表达 mRNA 及 lncRNA 生物学过程与相关信号通路。

1 材料与方法

1.1 试验试剂 DEHP 和玉米油, 购自上海麦克林生化科技有限公司。DEHP 染毒溶液的配制: 分别取适量 DEHP, 用玉米油稀释至 50 mg/mL。

1.2 方法

1.2.1 实验动物分组及处理 SPF 级 SD 大鼠 [实验动物生产许可证号为 SCXK (沪) 2017-0005] 饲养于福建省医学科学研究院标准动物房 (12 h 昼夜交替, 环境温度 20~24 °C, 相对湿度约 55%), 自由饮水、摄食。大鼠维持料购自闽侯县吴氏实验动物有限公司。适应性饲养 1 周后, 按雌: 雄=2:1 合笼交配, 次日早上 8:00 左右检查阴道栓。若有阴道栓, 则为受孕, 此日为 G0。按体质量将获得的 16 只孕鼠随机分为溶剂对照组 (玉米油) 及 500 mg/kg DEHP 染毒组, 每组各 8 只。孕 0~18 d (G0-G18) 连续灌胃染毒, 每日 1 次。子代大鼠出生当天, 根据体质量腹腔注射相应体积的 10% 水合氯醛 (0.3 mL/100 g) 麻醉后, 迅速断头, 打开头骨, 取出下丘脑后迅速放入已经标记好的冻存管内, 放入液氮速冻后移至 -80 °C 冰箱保存。一部分冻存管及里面的标本送往晶能生物技术 (上海) 有限公司进行对照组 (n=3) 和染毒组 (n=3) 下丘脑 RNA-seq 测序; 另一部分用于下丘脑组织相关基因 mRNA 表达量的 RT-PCR 检测。

1.2.2 文库构建及转录组测序 采用 TRIzol 法提取子代雌鼠下丘脑总 RNA。采用去除核糖体 RNA 的方法共构建特异性文库并进行转录组测序 (转录组文库的构建和测序由上海晶能生物技术有限公司完成)。本实验采用 illumina Hiseq 测序平台的双端测序模式对多个样本进行高通量测序, 利用 Skewer 软件对测序数据从 3' 端动态去除和接头序列片段和低质量片段, 利用 FastQC 软件对预处理数据进行质量控制分析以及统计 Q20 和 Q30 的碱基比例。采用 BWA 软件将预处理数据依次比对于 rRNA 序列数据库。针对每个样本,

利用 STAR 软件将预处理序列与测序大鼠的参考基因组序列进行序列比对。从 Reads 比对到参考基因组的结果利用 StringTie 软件基于已知转录本在基因组上位置信息文件作为指导组装样本中的转录本, 过滤表达量等于 0 的转录本, 分别将所有样本的 StringTie 组装好的转录本进行再次组装。对 StringTie 组装的转录本进行一系列的筛选得到 lncRNA。

1.2.3 差异表达 mRNA 和 lncRNA 的筛选及功能分析 为进一步分析孕期 DEHP 暴露组和对照组下丘脑中差异表达 mRNA 和 lncRNA 的表达水平差异, 针对 mRNA 和 lncRNA 转录本, 转录本表达量计算采用 FPKM 计算度量指标 (FPKM-Fragments Per Kilobase of transcript per Million fragments mapped)。针对 mRNA 和 lncRNA 转录本, 利用 DESeq2 软件对不同样本组之间筛选差异表达的已知转录本, 针对无重复样本的实验设计, 利用 DESeq2 软件对不同样本组之间筛选差异表达的已知转录本, 满足 $|\log_2FC| \geq 1$ 和 $P \leq 0.05$ 差异表达范围筛选两组之间的差异转录本。

1.2.4 lncRNA 靶标基因分析 采用基于表达量相关性的共表达分析方法来预测 lncRNA 调控的反式靶标基因, 采用皮尔逊相关系数且满足 $R^2 \geq 0.90$ 来预测差异 lncRNA 与所有编码蛋白质 mRNA 的关系对。

1.2.5 差异表达 mRNA 及 lncRNA 靶基因功能富集分析 针对目的基因集 (mRNA 及 lncRNA) 进行基因本体 (Gene Ontology, GO) 功能富集分析和京都基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 通路富集分析。

1.2.6 实时定量 PCR 分析 从差异表达的 lncRNA 中选取 9 个基因进行实时定量 PCR 分析。每个样本设置 3 个技术重复, 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算基因和 lncRNA 的相对表达量。实验数据分析由美国 ABI 公司 StepOne Plus 分析软件完成。

1.3 统计分析 采用 SPSS 21.0 进行统计, 对所得的实验数据进行正态分布检验和方差齐性检验, lncRNA 在子代大鼠雌鼠染毒组与对照组中表达量的比较使用独立样本 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 染毒组与对照组 lncRNA 和 mRNA 差异性表达分析结果 染毒组和对照组子代雌鼠的下丘脑组织通过 illumina Hiseq 测序平台测序。在 $|\log_2FC| \geq 1$ 和 $P < 0.05$ 差异表达范围, 利用 DESeq 软件筛选出染毒组和对照组之间存在显著差异的 lncRNA 和 mRNA 转录本。染毒组与对照组相比, 有 108 条 lncRNA 表达显著差异, 其中表达下调的 lncRNA 48 条, 表达上调的 lncRNA 60 条, 无明显变化的 lncRNA 5 954 条; 有 342 条 mRNA 表达差异显著, 其中表达上调的有 196 条, 表达下调的有 146 条, 表达无明显变化的有 29 478 条。

2.2 差异表达的 trans-lncRNA 的功能富集分析 使用 GO 富集分析差异表达的 trans-lncRNA 的靶基因, 有 980 条 GO 条目存在显著差异, 其中与生物学过程 (biological process, BP) 有关的有 768 条; 与细胞组分 (cell components, CC) 有关的有 78 条; 与分子功能 (molecular function, MF) 有关的有 134 条。主要包括细胞成分的生物发生、PI3K 信号转导的调控和细胞对氧化应激的反应等。图 1 为排名前 20

的显著富集的条目。

通过对差异表达 trans-lncRNA 的靶基因进行 KEGG 富集分析, 如图 2 所示, 这些靶基因主要富集在 PI3K-Akt 信

号通路、谷氨酸能突触、丙酮酸代谢、Ras 信号通路、细胞衰老、酪氨酸代谢、内分泌抵抗等通路。

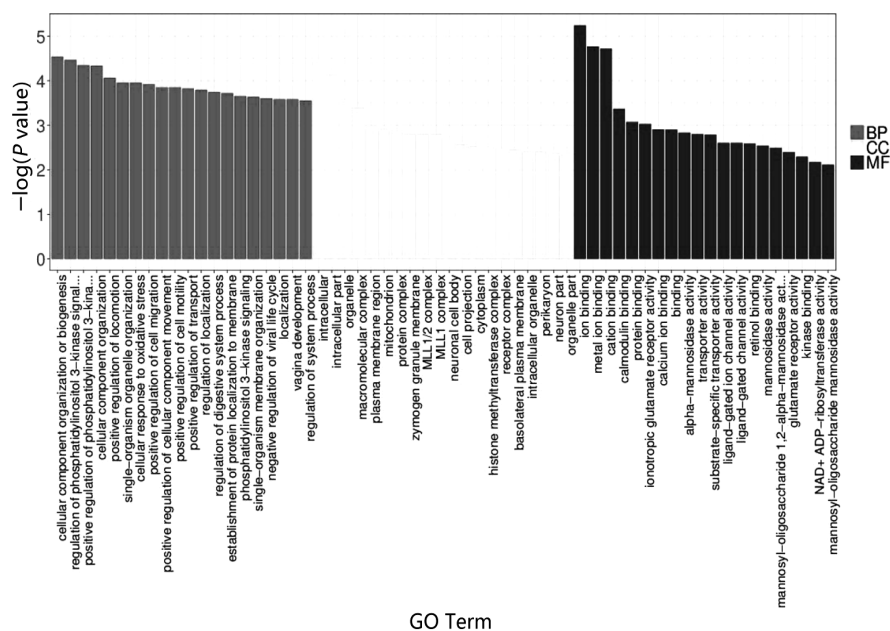


图 1 trans-lncRNA 的靶基因 GO 富集分析

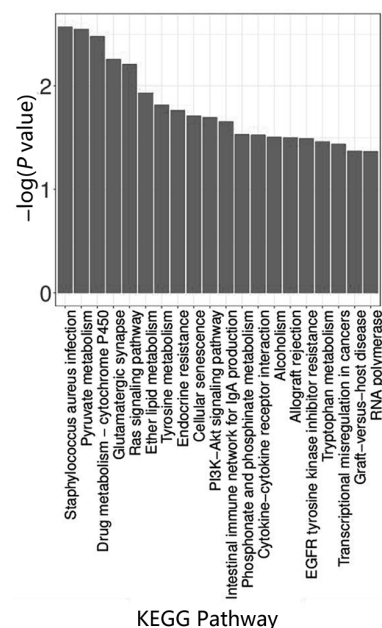


图 2 trans-lncRNA 的靶基因 KEGG 富集分析

2.3 差异表达的 mRNA 的功能富集分析 对差异表达的 mRNA 进行 GO 富集分析, 共有 806 条 GO term 存在显著差异, BP 有 577 条存在差异显著性; CC 有 72 条存在显著差异; MF 有 157 条差异显著。主要包括器官发育、细胞间连接、视黄酸受体活性和配体门控离子通道活性等。图 3 为

排名前 20 位显著富集的条目。

对差异表达的 mRNA 进行 KEGG 富集分析, 如图 4 所示, 这些差异表达的 mRNA 主要富集在谷氨酸能突触、PPAR 信号通路、加压素调节的水吸收、年轻人的成熟期糖尿病和肌萎缩性侧索硬化症 (ALS) 等相关通路。

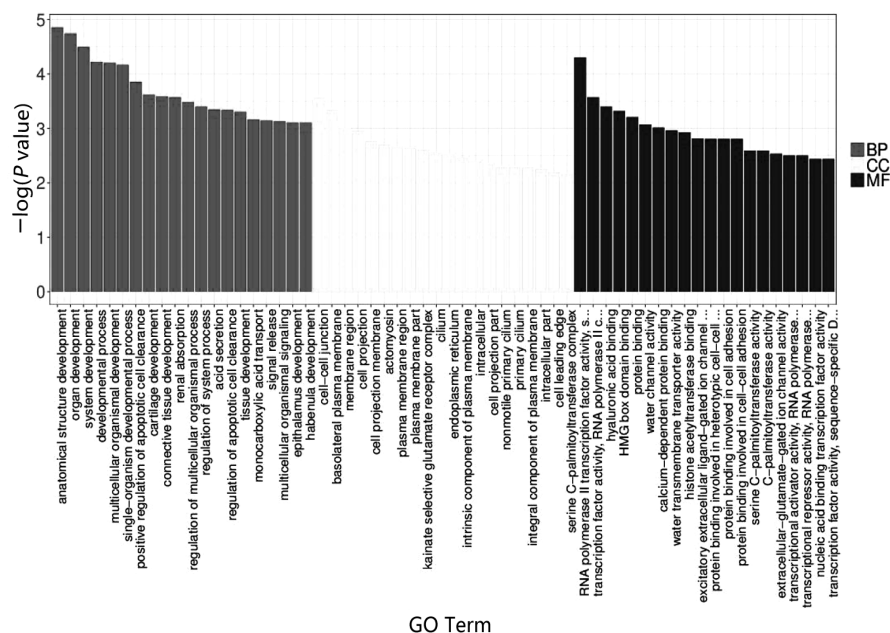


图 3 mRNA 的 GO 富集分析

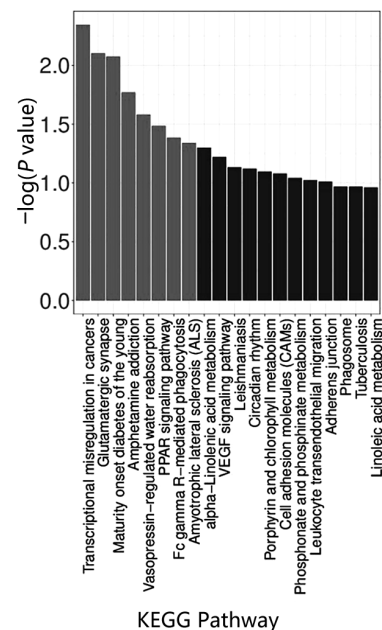


图 4 mRNA 的 KEGG 富集分析

2.4 差异表达 lncRNA 的实时定量 PCR 验证结果 从差异表达的 lncRNA 中选取 9 个基因进行实时定量 PCR 验证, 实时定量 PCR 结果表明 9 个 lncRNA 在实验组与染毒组中的表达均有差异性 (图 5), 且与二代测序结果所展现的上调、下调趋势一致 (表 1)。

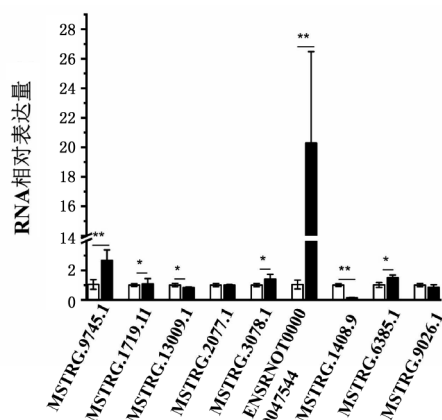


图 5 差异表达 lncRNA 的荧光定量 PCR 验证结果

表 1 实时定量 PCR 验证结果与二代测序结果

| 基因名称 | RT-PCR 结果 | 二代测序结果 |
|--------------------|-----------|--------|
| ENSRNOT00000047544 | 上调 | 上调 |
| MSTRG.6385.1 | 上调 | 上调 |
| MSTRG.1719.11 | 上调 | 上调 |
| MSTRG.2077.1 | 上调 | 上调 |
| MSTRG.9745.1 | 上调 | 上调 |
| MSTRG.3078.1 | 上调 | 上调 |
| MSTRG.13009.1 | 下调 | 下调 |
| MSTRG.9026.1 | 下调 | 下调 |
| MSTRG.1408.9 | 下调 | 下调 |

以上挑选出差异常表达的 lncRNA 基因, 经 KEGG 富集分析和 GO 富集分析, 显示 MSTRG.1719.11、ENSRNOT00000047544、MSTRG.1408.9、MSTRG.13009.1 主要参与了甲状腺信号通路, MSTRG.2077.1 参与 MAPK 信号通路, MSTRG.6385.1、MSTRG.9026.1 参与 PI3K 信号通路, MSTRG.3078.1 参与 mTOR 信号通路, MSTRG.9745.1 参与 AMPK 信号通路。通过文献检索发现, 上述信号通路可能参与能量代谢和性腺激素的调控。

3 讨论

本实验研究对妊娠 0~18 d 的大鼠使用 500 mg/(kg·d) 的 DEHP 灌胃染毒处理, 取子代雌鼠下丘脑组织利用 RNA-seq 测序技术, 测出两组差异表达的 lncRNA、mRNA, 并对其功能进行富集分析, 从而预测影响下丘脑-垂体-性腺轴及能量稳态的机制。大鼠妊娠第 14~19 天是下丘脑发育的关键时期 (下丘脑细胞迁移和靶向定位的时期)^[6], 本实验于大鼠妊娠 0~18 d 给予 DEHP 处理, 覆盖了下丘脑发育的关键时期。

通过对差异表达 lncRNA 的靶基因进行功能富集分析, 筛选出的目标 lncRNA ENSRNOT00000047544 和 lncRNA

MSTRG.6385.1 在染毒组的表达均高于对照组。目前, 这两个 lncRNA 均未曾有报道。lncRNA ENSRNOT00000047544 基因定位于大鼠的 2 号染色体上 Chromosome 2: 127,916,171-127,947,952 碱基位点之间, 全长 845 个碱基对。该 lncRNA 的靶基因 GO 富集分析结果显示: mRNA 处理、突触小泡、基因表达的昼夜调节、钙离子结合、活性氧代谢过程、氧化应激诱导早衰等 25 项显著富集, KEGG 富集分析结果提示: 甲状腺激素信号通路、催产素信号通路、cAMP 信号通路、ErbB 信号通路 4 项显著富集, 该基因的 GO 富集分析与 KEGG 富集分析结果提示与能量稳态及性腺轴调控有关。lncRNA MSTRG.6385.1 基因定位于大鼠 2 号染色体上 Chromosome 2: 10,439,867-10,440,112 碱基位点之间, 碱基长度为 253 bp, 该 lncRNA 的靶基因 GO 富集分析结果显示: 上皮细胞分化、肌肉收缩、细胞外基质结构成分、硒结合、对有机环状化合物的细胞反应、胞外小泡、地塞米松刺激的细胞反应等 7 项显著富集; KEGG 富集分析显示: 磷酸肌醇代谢、磷脂酰肌醇信号系统、PI3K-Akt 信号通路显著富集。KEGG 分析显示富集于 PI3K-Akt 信号通路, 前已述及该通路与能量代谢和生殖轴功能有关。

下丘脑被认为是控制能量稳态和生殖功能的关键大脑区域^[7-8]。许多下丘脑核团都参与了这种调控过程, 包括弓形核 (ARC)、室旁核 (PVH)、下丘脑外侧 (LH) 和腹内侧核 (VMH)^[8-9]。生殖控制和青春期是由周围能量信号 (瘦素、胰岛素、脂联素等) 与下丘脑神经元之间的相互作用引发的, 孕期暴露环境内分泌干扰物后会改变生殖和能量稳态^[10-12]。本实验通过对孕期暴露 DEHP 子代雌鼠下丘脑 lncRNA、mRNA 的差异表达分析, 发现这些差异显著富集于能量代谢与下丘脑性腺生殖轴的信号通路及生物学功能。既往的研究证据表明妊娠期间 DEHP 暴露对 F1 代能量稳态和性腺轴的调控产生影响, 但具体影响机制不是很明确^[2,6]。下一阶段将基于本研究结果在细胞水平和动物水平上干扰 lncRNA ENSRNOT00000047544 与 lncRNA MSTRG.6385.1 的表达, 观察其调控的靶基因表达有无发生变化, 探究 lncRNA ENSRNOT00000047544 与 lncRNA MSTRG.6385.1 在 DEHP 致生殖损害和代谢异常中的作用。

参考文献

- [1] Piche C D, Sauvageau D, Vanlian M, et al. Effects of di-(2-ethylhexyl) phthalate and four of its metabolites on steroidogenesis in MA-10 cells [J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2012, 79: 108-115.
- [2] Schmidt J S, Schaedlich K, Fiandanese N, et al. Effects of di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP) on female fertility and adipogenesis in C3H/N mice [J]. Environ Health Perspect, 2012, 120 (8): 1123-1129.
- [3] Guo Y, Kannan K. Comparative assessment of human exposure to phthalate esters from house dust in China and the United States [J]. Environ Sci Technol, 2011, 45 (8): 3788-3794.
- [4] Shekhar S, Sood S, Showkat S, et al. Detection of phenolic endocrine disrupting chemicals (EDCs) from maternal blood plasma and amniotic fluid in Indian population [J]. Gen Comp Endocrinol, 2017, 241: 100-107.

- [5] Wassenaar P, Legler J. Systematic review and meta-analysis of early life exposure to di (2-ethylhexyl) phthalate and obesity related outcomes in rodents [J]. Chemosphere, 2017, 188: 174-181.
- [6] MacLusky N J, Naftolin F. Sexual differentiation of the central nervous system [J]. Science, 1981, 211 (4488): 1294-1302.
- [7] Cope E, Voy B H, Whitlock B K, et al. Beta-hydroxybutyrate infusion identifies acutely differentially expressed genes related to metabolism and reproduction in the hypothalamus and pituitary of castrated male sheep [J]. Physiol Genomics, 2018, 50 (6): 468-477.
- [8] Waterson M J, Horvath T L. Neuronal regulation of energy homeostasis: Beyond the hypothalamus and feeding [J]. Cell Metab, 2015, 22 (6): 962-970.
- [9] Mahboobifard F, Pourgholami M H, Jorjani M, et al. Estrogen as a key regulator of energy homeostasis and metabolic health [J]. Biomed Pharmacother, 2022, 156: 113808.
- [10] Nadal A, Quesada I, Tuduri E, et al. Endocrine-disrupting chemicals and the regulation of energy balance [J]. Nat Rev Endocrinol, 2017, 13 (9): 536-546.
- [11] Ahn C, Jeung E B. Endocrine-disrupting chemicals and disease endpoints [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24 (6): 5342-5360.
- [12] Papadimitriou A, Papadimitriou D T. Endocrine-disrupting chemicals and early puberty in girls [J]. Children (Basel), 2021, 8 (6): 492-501.

• 基础研究 •

特异性靶向高转移骨肉瘤的长循环型 PET 探针的合成及显像

厦门大学附属第一医院核医学科 (厦门 361003) 李业森

【摘要】 目的 研究 ^{64}Cu Cu-DOTA-EB-TMTP1 对 143B 骨肉瘤荷瘤小鼠模型的诊断效果。方法 多肽 TMTP1 (NVVRQ) 对高转移性细胞有很好的靶向性, 本研究利用 ^{64}Cu 标记 DOTA-EB-TMTP1 合成 ^{64}Cu Cu-DOTA-EB-TMTP1, 然后对 143B 骨肉瘤肝癌荷瘤小鼠进行 microPET/CT 显像, 研究其对肿瘤的诊断效果。结果 ^{64}Cu Cu-DOTA-EB-TMTP1 的放射性标记产率为 $(87.3 \pm 5.2)\%$, 放化纯度大于 95.0% 。实验证明经过伊文思蓝 (Evans Blue) 修饰后的 TMTP1, 具有更高的肿瘤摄取和更长的血液半衰期, 8 h 肿瘤摄取值可达 $(6.50 \pm 0.88)\% \text{ ID/g}$ 。结论 对于骨肉瘤的诊断来说, ^{64}Cu Cu-DOTA-EB-TMTP1 可能是更好的 PET 探针, 更有利于肿瘤的诊疗一体化转化应用。

【关键词】 PET; 骨肉瘤; ^{64}Cu Cu-DOTA-EB-TMTP1; ^{64}Cu 标记

【中图分类号】 R814 **【文献标识码】** B **【文章编号】** 1002-2600(2023)06-0127-03

Synthesis and imaging of long-circulating PET probes specifically targeting highly metastatic osteosarcoma

LI Yesen. Department of Nuclear Medicine, the First Affiliated Hospital of Xiamen University, Xiamen, Fujian 361003, China

【Abstract】 **Objective** To assess the diagnostic effectiveness of ^{64}Cu Cu-DOTA-EB-TMTP1 in a mouse model of 143B osteosarcoma. **Methods** Polypeptide TMTP1 (NVVRQ) had good targeting effect on highly metastatic cells. ^{64}Cu Cu-DOTA-EB-TMTP1 was synthesized and subsequently used for microPET/CT imaging in a mouse model of 143B osteosarcoma to investigate its diagnostic performance. **Results** The radiolabeling yield of ^{64}Cu Cu-DOTA-EB-TMTP1 was $(87.3 \pm 5.2)\%$, and the radiochemical purity exceeded 95.0% . The results demonstrated that TMTP1, modified with Evans Blue, exhibited increased tumor uptake and a longer blood half-life. Tumor uptake values reached $(6.50 \pm 0.88)\% \text{ ID/g}$ at eight hours. **Conclusion** ^{64}Cu Cu-DOTA-EB-TMTP1 may represent a superior PET probe for the diagnosis of osteosarcoma, facilitating the integration of diagnosis and therapy for this condition.

【Key words】 PET; osteosarcoma; ^{64}Cu Cu-DOTA-EB-TMTP1; ^{64}Cu labelling

骨肉瘤是原发于骨的恶性肿瘤, 常发生于 20 岁以下的青少年或儿童, 大约有 80% 患者在诊断时就存在微转移, 其中只有 10%~20% 可被影像学检测到^[1]。多肽 TMTP1 (NVVRQ) 对高转移性细胞有很好的靶向性, 我们前期合成的 ^{18}F AIF-NOTA-G-TMTP1 可以诊断高转移性的肝癌。本研究对 TMTP1 进行改造, 利用伊文思蓝 (Evans Blue) 对其进行修饰, 通过 ^{64}Cu 对其进行标记, 研究其体内药动学性质。

1 对象与方法

1.1 动物与仪器 6 只 6~8 周龄 SPF 级别雄性 BALB/c 裸鼠, 购于厦门大学实验动物中心, 实验动物生产许可证号: SCXK (闽) 2018-0003, 实验动物质量合格证号: 44824700001115。小动物 microPET/CT (西门子 Inveon); CRC-25PET 放射性核素活度计 (美国 CAPINTEC, INC); 4.6 mm × 250 mm NUCLEOSIL 色谱柱 (德国 Macherey-Nagel); DionexUlti-Mate 3000 分析型高效液相色谱仪 (赛