



· 论 著 ·

## $^{18}\text{F}$ -FAC PET/CT在体监测肾癌 脂肪酸代谢动态变化

孙玉云<sup>1,2</sup>, 张 健<sup>1,3</sup>, 郑莹莹<sup>1,2</sup>, 顾丙新<sup>1,2</sup>, 罗建民<sup>1,2</sup>,

张建平<sup>1,2</sup>, 徐俊彦<sup>1,2</sup>, 章英剑<sup>1,2</sup>, 王明伟<sup>1,2</sup>

1. 复旦大学附属肿瘤医院核医学科, 复旦大学上海医学院肿瘤学系, 复旦大学生物医学影像研究中心, 上海分子影像探针工程技术研究中心, 上海 200032;
2. 复旦大学核物理与离子束应用教育部重点实验室, 上海 200433;
3. 上海师范大学生命与环境科学学院, 上海 200234

**[摘要]** 背景与目的: 由于肾细胞癌脂肪酸代谢异常升高,  $^{11}\text{C}$ -乙酸 ( $^{11}\text{C}$ -acetate,  $^{11}\text{C}$ -AC) PET/CT显像已用于诊断肾细胞癌, 能弥补 $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT显像在肾癌诊断方面的不足。然而,  $^{11}\text{C}$ 的半衰期很短 ( $t_{1/2}=20.4\text{ min}$ ), 极大地限制了 $^{11}\text{C}$ -AC PET/CT显像在临床诊断中的广泛应用。本实验旨在研究肾癌摄取 $^{18}\text{F}$ -氟乙酸盐 ( $^{18}\text{F}$ -fluoroacetate,  $^{18}\text{F}$ -FAC) 与脂肪酸合成酶 (fatty acid synthase, FAS) 的相关性, 进而探讨 $^{18}\text{F}$ -FAC PET/CT分子影像是否能在体监测肾癌脂肪酸代谢的动态变化。方法: 50只ACHN肾癌荷瘤裸小鼠分为3组, 分别为 $^{18}\text{F}$ -FAC microPET/CT显像组 ( $n=6$ )、免疫组织化学组 ( $n=24$ ) 和生存期观察组 ( $n=20$ )。其中每组又分为2个亚组, 即实验组 (10 mg/kg, 依维莫司) 和对照组 (0.9%NaCl溶液), 连续处理14 d。在处理前 (第0天) 和处理后第5、10和15天行小动物 $^{18}\text{F}$ -FAC PET/CT显像, 定量分析肿瘤与对侧大腿肌肉每克组织放射性占注射量的百分比最大值 (the maximum of the percent injected dose per gram tissue, %ID/g<sub>max</sub>), 并计算靶本比 (T/M)。在上述相同时间点, 分别随机处死3只荷瘤裸鼠, 获取肿瘤组织, 进行FAS免疫组织化学染色, 并定量计算FAS表达水平。实验期间, 每隔1天测量并记录荷瘤鼠肿瘤体积大小, 观察荷瘤鼠死亡时间并绘制生存期曲线。结果: 根据 $^{18}\text{F}$ -FAC PET/CT显像和定量分析, 在第0、5、10和15天时实验组肾癌组织的 $^{18}\text{F}$ -FAC摄取值%ID/g<sub>max</sub>分别为 $8.087\pm 0.792$ 、 $9.708\pm 0.792$ 、 $10.285\pm 0.751$ 和 $10.859\pm 1.100$ , 对照组分别为 $8.425\pm 0.549$ 、 $10.560\pm 0.677$ 、 $12.325\pm 0.275$ 和 $13.450\pm 0.517$ , 均有动态增加的变化趋势, 但实验组明显低于对照组, 并且差异有统计学意义。 $^{18}\text{F}$ -FAC T/M和FAS表达也有类似的动态变化, 而且相关性分析发现,  $^{18}\text{F}$ -FAC摄取与FAS表达具有良好的正向相关性 ( $P<0.001$ )。肿瘤体积变化和生存期实验表明, 实验组肿瘤体积生长明显缓慢, 荷瘤鼠中位生存期明显延长 (35 d vs 23 d,  $P<0.01$ )。结论: 肾癌摄取 $^{18}\text{F}$ -FAC与FAS表达具有良好的相关性, 可以利用 $^{18}\text{F}$ -FAC PET/CT实现在体监测肾癌脂肪酸代谢的动态变化。

**[关键词]**  $^{18}\text{F}$ -乙酸; PET/CT; 脂肪酸合成酶; 肾细胞癌

DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2018.05.002

中图分类号: R737.11 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2018)05-0327-08

**Evaluating the change of fatty acid synthesis in renal cell carcinoma by  $^{18}\text{F}$ -FAC microPET/CT imaging** SUN Yuyun<sup>1,2</sup>, ZHANG Jian<sup>1,3</sup>, ZHENG Yingying<sup>1,2</sup>, GU Bingxin<sup>1,2</sup>, LUO Jianmin<sup>1,2</sup>, ZHANG Jianping<sup>1,2</sup>, XU Junyan<sup>1,2</sup>, ZHANG Yingjian<sup>1,2</sup>, WANG Mingwei<sup>1,2</sup> (1. Department of Nuclear Medicine, Fudan University Shanghai Cancer Center, Department of Oncology, Shanghai Medical College, Fudan University, Center for Molecular Imaging, Fudan University, Shanghai Engineering Research Center of Molecular Imaging Probes, Shanghai 200032, China; 2. Key Laboratory of Nuclear Physics and Ion-beam Application (MOE), Fudan University, Shanghai 200433, China; 3. College of Life and Environmental

Sciences, Shanghai Normal University, Shanghai 200234, China)

Correspondence to: WANG Mingwei E-mail: wangmw@shca.org.cn

**[Abstract] Background and purpose:** Increased fatty acid biosynthesis is one of the main characteristics in renal cell carcinoma (RCC).  $^{11}\text{C}$ -acetate ( $^{11}\text{C}$ -AC) PET/CT imaging has been used to diagnose RCC. It can provide more diagnostic benefits than  $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT. However,  $^{11}\text{C}$ -AC PET/CT imaging has some limitations such as the short half-life of  $^{11}\text{C}$  ( $t_{1/2}=20.4$  min), which limits the widespread use of  $^{11}\text{C}$ -AC. The main purpose of our study was to investigate the relationship between the uptake of  $^{18}\text{F}$ -fluoroacetate ( $^{18}\text{F}$ -FAC) and the expression of fatty acid synthase (FAS) and whether  $^{18}\text{F}$ -FAC PET/CT imaging can evaluate the change of fatty acid biosynthesis in RCC. **Methods:** Fifty ACHN tumor-bearing mice were arbitrarily divided into three groups: mice for  $^{18}\text{F}$ -FAC microPET/CT imaging ( $n=6$ ), FAS immunohistochemical (IHC) staining ( $n=24$ ), and survival analysis ( $n=20$ ), respectively. Each group was divided into two subgroups: the everolimus treatment group (10 mg/kg) and the control group (saline), both groups were treated for 14 d.  $^{18}\text{F}$ -FAC microPET/CT was performed before treatment (day 0) and at day 5, 10 and 15 after treatment. The maximum of the percent injected dose per gram tissue (%ID/g<sub>max</sub>) of tumor and the ratio of the %ID/g<sub>max</sub> of the tumor to the %ID/g<sub>max</sub> of contralateral thigh muscle (T/M) were quantitatively calculated. Three tumor-bearing mice were randomly sacrificed to obtain tumor tissue and then to carry out FAS IHC staining. The expression of FAS was quantitatively calculated. Tumor sizes and survival were recorded every other day. **Results:** The uptake of  $^{18}\text{F}$ -FAC was  $8.087\pm 0.792$ ,  $9.708\pm 0.792$ ,  $10.285\pm 0.751$ , and  $10.859\pm 1.100$  at day 0, 5, 10, and 15 after treatment in everolimus group, and  $8.425\pm 0.549$ ,  $10.560\pm 0.677$ ,  $12.325\pm 0.275$  and  $13.450\pm 0.517$  in the control group, respectively. Moreover, the uptake of  $^{18}\text{F}$ -FAC in both groups increased. However, it was significantly lower in everolimus group than that in the control group. The change of  $^{18}\text{F}$ -FAC T/M and FAS expression were consistent with the uptake of  $^{18}\text{F}$ -FAC, and the correlation analysis showed that the  $^{18}\text{F}$ -FAC uptake was positively correlated with the FAS expression ( $P<0.001$ ). Finally, mice in everolimus group had smaller tumor volume and longer median survival time (35 d vs 23 d,  $P<0.01$ ) than the mice in control group. **Conclusion:** We successfully found a significant correlation between the uptake of  $^{18}\text{F}$ -FAC and the expression of FAS and we can monitor the changes of fatty acid synthesis in RCC by  $^{18}\text{F}$ -FAC PET/CT molecular imaging.

**[Key words]**  $^{18}\text{F}$ -fluoroacetate; PET/CT; Fatty acid synthase; Renal cell carcinoma

最新统计显示, 我国肾细胞癌 (renal cell carcinoma, RCC) 发病率位居泌尿系统肿瘤第3位, 高达6.8/10万<sup>[1]</sup>, 且和经济欠发达地区相比, 其发病率在经济发达地区明显较高<sup>[2]</sup>。 $^{18}\text{F}$ -FDG作为临床最常规和广泛使用的PET/CT显像剂, 其PET/CT显像诊断肾细胞癌的灵敏度仅有47%~60%, 可能是由于葡萄糖代谢并非肾癌的主要代谢方式。有研究提出, 肾细胞癌脂肪酸代谢异常增高, 并且以脂肪酸从头合成为主<sup>[3]</sup>。近来有研究报道<sup>[4-6]</sup>,  $^{11}\text{C}$ -乙酸 ( $^{11}\text{C}$ -acetate,  $^{11}\text{C}$ -AC) 作为一种小分子脂肪酸, 其PET/CT显像可用于诊断肾细胞癌, 能弥补 $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT显像在肾癌诊断方面的不足。然而, 由于 $^{11}\text{C}$ 半衰期很短 ( $t_{1/2}=20.4$  min), 极大地限制了 $^{11}\text{C}$ -AC PET/CT显像在临床中的广泛应用。因此, 近年来 $^{18}\text{F}$ 标记乙酸盐 ( $^{18}\text{F}$ -fluoroacetate,  $^{18}\text{F}$ -FAC) 的研究开始出现<sup>[7-8]</sup>。 $^{18}\text{F}$ -FAC作为 $^{11}\text{C}$ -AC类似物, 并且 $^{18}\text{F}$ 具

有较长的半衰期 ( $t_{1/2}=109.7$  min), 其PET/CT显像具有很大的应用前景。例如, 最新的一项研究显示,  $^{18}\text{F}$ -FAC PET/CT对低级别肾癌的检出率为82.6%, 显著高于 $^{18}\text{F}$ -FDG显像的8.7%<sup>[8]</sup>。然而, 截至到目前, 尚没有 $^{18}\text{F}$ -FAC PET/CT分子影像在体监测肾癌脂肪酸代谢动态变化的研究, 因而也不清楚肾细胞癌摄取 $^{18}\text{F}$ -FAC与脂肪酸代谢之间的关系。我们课题组的前期研究发现, 肾细胞癌摄取 $^{11}\text{C}$ -AC与脂肪酸合成酶 (fatty acid synthase, FAS) 有关<sup>[4]</sup>, 而FAS正是脂肪酸从头合成途径的关键酶之一。多项基础研究发现, PI3K/AKT/mTOR为FAS的上游调控因子之一<sup>[9-11]</sup>, 因此抑制该信号转导途径可以抑制FAS基因和蛋白的表达<sup>[12]</sup>。在本项研究中, 我们选用mTOR抑制剂依维莫司作为干预药物, 在药物处理前后的多个时间点, 开展肾癌模型鼠的纵向性在体 $^{18}\text{F}$ -FAC PET/CT显像, 对比观察肾癌 $^{18}\text{F}$ -FAC摄取和FAS表达的变化, 从而探讨肿

瘤<sup>18</sup>F-FAC摄取量与FAS表达量的相关性并研究<sup>18</sup>F-FAC PET/CT能否在体监测肾癌脂肪酸代谢变化。

## 1 材料和方法

### 1.1 主要实验试剂和仪器

<sup>18</sup>F-FAC由复旦大学附属肿瘤医院核医学科自制，合成方法见参考文献[13]。依维莫司购自大连美仑生物技术有限公司，于-20℃冰箱中保存，临用时取适量该药物溶于30%丙二醇（先溶解），再加入5%Tween 80及去离子水，使药物浓度为2 mg/mL。兔抗人FAS抗体购自英国Abcam公司，使用时按1:100配比。Inveon小动物PET/CT仪器为复旦大学附属肿瘤医院核医学科拥有。

### 1.2 肾癌细胞培养与肿瘤模型

将人肾透明细胞癌ACHN加入DMEM培养

基，在37℃、CO<sub>2</sub>体积分数为5%的培养箱中温育。取对数期生长的ACHN细胞，经胰酶消化后，加入10.0 mL PBS，以1 000 r/min，离心3次，每次5 min。重新加入PBS制成细胞悬液，等待接种。

50只BALB/c裸小鼠（6周龄，雌性）购买于上海斯莱克实验动物有限公司，于右侧大腿皮下接种1×10<sup>7</sup>个ACHN细胞，在SPF环境下饲养20~30 d成瘤，待肿瘤直径达到5 mm时开始进行实验。

### 1.3 实验设计

荷瘤鼠分为3组，分别为<sup>18</sup>F-FAC microPET/CT显像组（*n*=6）、免疫组织化学组（*n*=24）和生存期观察组（*n*=20）。其中每组又分为2个亚组，即实验组和对照组（图1），实验组每天给予依维莫司（10 mg/kg），连续给药14 d，对照组每天给予等体积的0.9%NaCl溶液。

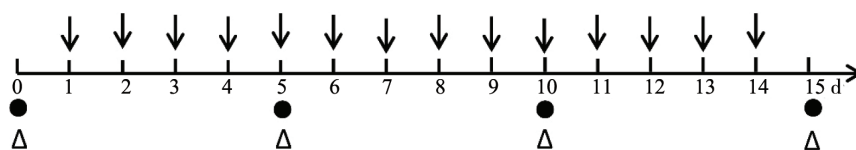


图1 <sup>18</sup>F-FAC microPET/CT显像组、免疫组织化学组和生存期观察组实验设计示意图

Fig 1 Experimental design for longitudinal <sup>18</sup>F-FAC microPET/CT imaging, immunohistochemistry staining and treatment protocols

↓: 10 mg/kg everolimus (treatment group) or saline (control group); ●: <sup>18</sup>F-FAC microPET/CT imaging; Δ: IHC staining of FAS

<sup>18</sup>F-FAC microPET/CT显像实验中，实验组和对照组各3只ACHN荷瘤鼠，分别在第0（干预前）天和干预后第5、10和15天行<sup>18</sup>F-FAC microPET/CT显像。免疫组织化学实验中，实验组和对照组各12只ACHN荷瘤鼠，分别在第0、5、10和15天随机处死3只荷瘤裸鼠，获取肿瘤组织，进行FAS免疫组织化学染色。生存期实验中，实验组和对照组各10只ACHN荷瘤鼠，每隔1 d测量、记录荷瘤鼠肿瘤直径，依据公式 $V=a \times b^2/2$ 计算肿瘤体积（长径记为*a*，短径记为*b*），同时观察荷瘤鼠死亡时间，记录、绘制生存期曲线。

### 1.4 <sup>18</sup>F-FAC microPET/CT显像

荷瘤鼠于第0、5、10和15天，经尾静脉注射7.3~9.2 MBq（200~250 μCi）<sup>18</sup>F-FAC，注射后2 h采集10 min静态PET图像和CT图像。利用仪器的工作软件Inveon Research Workshop，通过OSEM3D/MAP法重建，获得经过衰减校正后的PET/CT图像，在肿瘤部位及对侧大腿肌肉部位勾画感兴趣区（region of interest, ROI），测定每克组织放射性占注入量的百分比最大值（the maximum of the percent injected dose per gram tissue, %ID/g<sub>max</sub>），并计算出靶本比（T/M）。

### 1.5 FAS免疫组织化学染色及分析

分别于第0、5、10和15天处死3只荷瘤鼠, 剥离获取肿瘤组织。然后, 将瘤块置于4%多聚甲醛中固定48 h, 常规石蜡包埋, 脱蜡, 抗原修复; 加入一抗(兔抗人FAS抗体, 1:100), 4 °C温育过夜; 再加入HRP-山羊抗兔/鼠通用二抗(DAKO)及DAB显色剂; 最后脱水封片, 并显微镜检, 图像采集分析( $\times 200$ )。FAS阳性率=阳性区域光密度值(integral optical density, IOD)/视野面积( $\text{mm}^2$ )。

### 1.6 统计学处理

采用SPSS 20.0统计软件分析处理数据。所有定量数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析, 组内比较采用独立 $t$ 检验。采用Kaplan-Meier法和log-rank检验比较ACHN荷瘤鼠生存差异,  $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 $^{18}\text{F}$ -FAC PET/CT显像在体监测肾癌脂肪酸代谢随时间的动态变化

图2A是实验组和对照组肾癌模型在第0(基线)、5、10和15天的静态 $^{18}\text{F}$ -FAC PET/CT图像, 图2B和2C是对应的肿瘤组织 $^{18}\text{F}$ -FAC摄取值%ID/

$g_{\text{max}}$ 及其与对侧肌肉摄取值的比值(T/M)随时间定量变化关系图。对照组肾癌摄取 $^{18}\text{F}$ -FAC随着时间明显升高, 第5、10和15天的%ID/ $g_{\text{max}}$ 分别为 $10.560\pm 0.677$ 、 $12.325\pm 0.275$ 和 $13.450\pm 0.517$ , 与基线值 $8.425\pm 0.549$ 相比差异均有统计学意义 [ $P<0.05$  (第5天),  $P<0.01$  (第10和15天), 图2A、B]。实验组肾癌组织摄取 $^{18}\text{F}$ -FAC也随时间不断增加, 但与对照组相比明显趋缓。第5、10和15天%ID/ $g_{\text{max}}$ 分别为 $9.708\pm 0.792$ 、 $10.285\pm 0.751$ 和 $10.859\pm 1.100$ , 与基线值 $8.087\pm 0.792$ 相比差异也均有统计学意义 ( $P$ 均 $<0.01$ )。进一步组间比较分析发现, 基线时两组肿瘤组织的 $^{18}\text{F}$ -FAC摄取值基本相当, 差异无统计学意义; 而在之后的时间点实验组摄取值均明显低于对照组, 差异有统计学意义 [ $P<0.01$  (第5天),  $P<0.05$  (第10和15天)]。本研究又采用T/M值分析肾癌的 $^{18}\text{F}$ -FAC摄取变化, 获得类似的结果, 即除基线值相当外, 实验组T/M均显著低于对照组, 且各时间点差异均有统计学意义 [ $P<0.01$  (第5和10天),  $P<0.001$  (第15天), 图2C]。 $^{18}\text{F}$ -FAC PET/CT显像实验结果说明, 肾癌摄取 $^{18}\text{F}$ -FAC随时间及干预处理呈动态变化, 且和对照组比较, 依维莫司的干预可以降低肾癌的脂肪酸代谢。

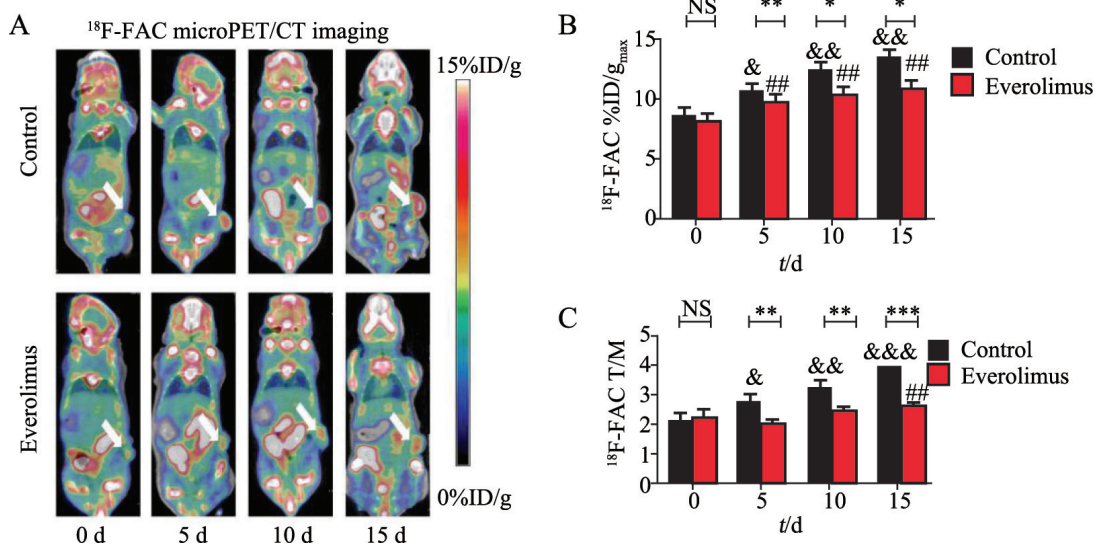


图2  $^{18}\text{F}$ -FAC小动物PET/CT显像及定量分析

Fig 2  $^{18}\text{F}$ -FAC microPET/CT imaging and the quantitative analysis

A:  $^{18}\text{F}$ -FAC microPET/CT images at different time points; B: Quantitative %ID/ $g_{\text{max}}$ ; C: %ID/ $g_{\text{max}}$  of T/M. The tumors were indicated by white arrows; NS: No significant difference; \*:  $P<0.05$ ; \*\*:  $P<0.01$ ; \*\*\*:  $P<0.001$ , used for between groups; &:  $P<0.05$ ; &&:  $P<0.01$ ; &&&:  $P<0.001$ , used for within control group, compared with day 0; #:  $P<0.05$ ; ##:  $P<0.01$ , used for within everolimus group, compared with day 0

## 2.2 肾癌FAS表达的变化

图3A为肾癌组织的FAS免疫组织化学染色图像，其阳性表现为棕色的细胞质染色，图3B为对应的FAS表达水平的定量计算。结果显示，对照组肾癌组织FAS表达水平随时间推移明显升高，第5、10和15天的IOD/mm<sup>2</sup>分别为0.073±0.003、0.117±0.002和0.213±0.017，与基线值0.032±0.003相比差异均有统计学意义（*P*均<0.001）。实验组肾癌组织FAS表达程度随时间推移也在不断增加，但与对照组相比明显趋缓，第5、10和15天IOD/mm<sup>2</sup>分别为0.037±0.001、0.074±0.001和0.106±0.012，与基线值0.032±0.000相比差异也均

有统计学意义 [*P*<0.01（第5天），*P*<0.001（第10天），*P*<0.05（第15天）]。进一步组间对比发现，基线时两组肿瘤组织的FAS的表达水平基本相当，差异无统计学意义；而在之后的时间点实验组FAS表达均明显低于对照组，然而第5天的差异无统计学意义，第10和15天的差异均有统计学意义（*P*均<0.05）。免疫组织化学实验结果显示，肾癌FAS表达水平随时间及干预处理呈动态变化，与上述<sup>18</sup>F-FAC变化趋势一致，且和对照组比较，依维莫司干预可降低肾癌的FAS表达程度。

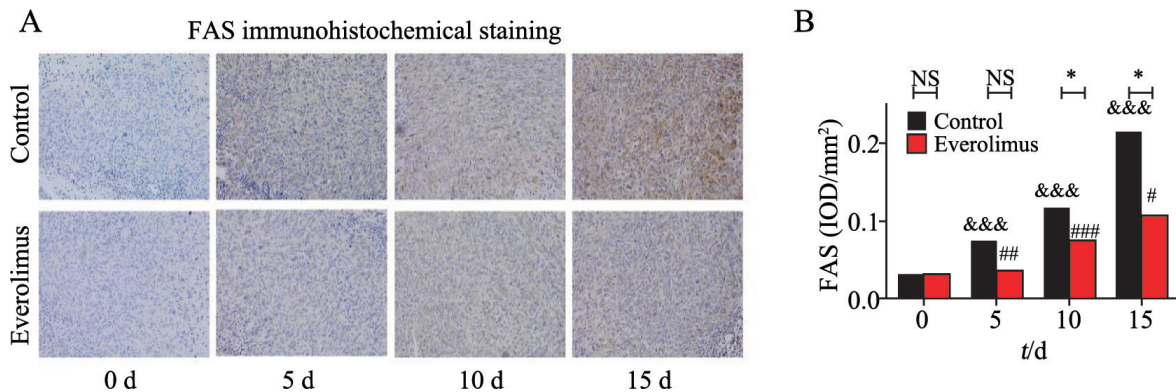


图3 FAS免疫组织化学染色及定量分析

Fig 3 IHC staining of FAS and the quantitative analysis

A: IHC staining of FAS of tumor tissues from different time points; B: Quantitative analysis of FAS expression. NS: No significant difference; \*: *P*<0.05, used for between groups; &&&: *P*<0.001, used for within control group, compared with day 0; #: *P*<0.05; ##: *P*<0.01; ###: *P*<0.001, used for everolimus group, compared with day 0

## 2.3 肾癌<sup>18</sup>F-FAC摄取与FAS表达的相关性

图4为肾癌<sup>18</sup>F-FAC摄取与FAS表达的相关性关系图。肾癌<sup>18</sup>F-FAC摄取（%ID/g<sub>max</sub>）（图4A）和T/M（图4B）均与FAS表达具有良好的正向相关性（*P*均<0.001）。该实验结果进一步说明，<sup>18</sup>F-FAC摄取与FAS表达具有一致的变化趋势，即FAS表达升高，<sup>18</sup>F-FAC摄取增加，反之亦然。

## 2.4 依维莫司处理明显抑制肿瘤体积增长和延长荷瘤鼠的生存期

我们进一步开展了肿瘤体积变化和生存期

实验，以观察依维莫司干预肾癌引起的抗肿瘤效应。实验组肿瘤生长缓慢，而对照组的肿瘤生长迅速，其肿瘤体积显著增大，并且两者的体积在第9天开始差异有统计学意义(图5A)。实验组荷瘤鼠的中位生存期为35 d，而对照组仅为23 d，差异有统计学意义（*P*<0.01，图5B）。该实验结果表明，依维莫司可抑制肾癌生长，延长ACHN荷瘤鼠中位生存期。

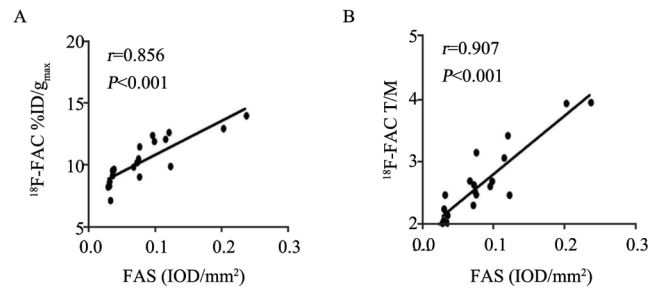


图4  $^{18}\text{F}$ -FAC摄取 [ % ID/g<sub>max</sub> (A), T/M (B) ] 和FAS表达的相关性

Fig 4 Correlation between  $^{18}\text{F}$ -FAC uptake [ % ID/g<sub>max</sub> (A), T/M (B) ] and FAS expression

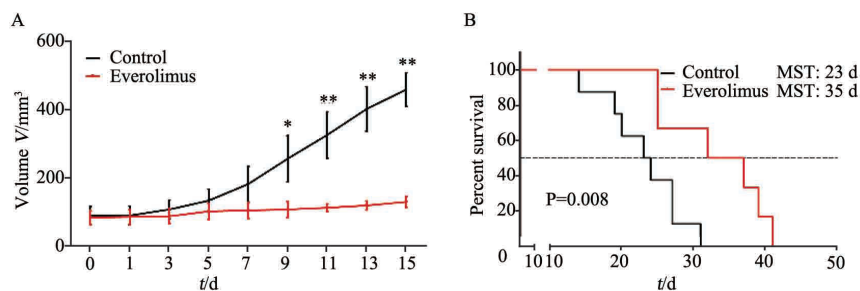


图5 依维莫司处理对肿瘤体积 (A) 和荷瘤鼠生存期 (B) 的影响

Fig 5 Effect of everolimus on tumor volume (A) and the survival (B) of ACHN tumor-bearing mice

MST: Median survival time

### 3 讨 论

核素 $^{11}\text{C}$ 和 $^{18}\text{F}$ 等标记的 $^{11}\text{C}$ -AC和 $^{18}\text{F}$ -FAC在肾癌PET/CT显像方面具有重要的作用。自1995年Shreve等<sup>[14]</sup>首次将 $^{11}\text{C}$ -AC用于肾脏肿瘤PET显像以来, $^{11}\text{C}$ -AC PET/CT在肾脏肿瘤的临床应用越来越多,认为其肾癌诊断的灵敏度明显高于 $^{18}\text{F}$ -FDG<sup>[15-17]</sup>。近年来,有研究显示, $^{18}\text{F}$ -FAC PET/CT对肾癌亦有较高的诊断效能<sup>[6]</sup>。然而,到目前为止,还未见到 $^{18}\text{F}$ -FAC PET/CT分子影像在体监测肾癌脂肪酸代谢的动态变化的报道,因而也不清楚肾癌摄取 $^{18}\text{F}$ -FAC与脂肪酸代谢及FAS之间的关系。

本实验首先选择mTOR抑制剂依维莫司作为干预药物,将肾癌模型分为实验组和对照组,在药物干预前后的不同时间点,开展纵向性在体 $^{18}\text{F}$ -FAC PET/CT显像和FAS免疫组织化学实验,以观察 $^{18}\text{F}$ -FAC摄取与FAS表达的动态变化。目

前,常见的有效抑制FAS表达的药物为苏氨酸和C75,然而,两者都会影响患者营养物质摄取,减轻体质量<sup>[18]</sup>,这些因素阻碍了它们的临床应用。另外,根据本课题组前期研究经验,抑制剂量的C75容易导致实验鼠死亡。依维莫司是一种mTOR抑制剂,临床上已用于肾癌的二线治疗,同时已有研究提出PI3K/AKT/mTOR是FAS上游通路<sup>[19]</sup>,可通过抑制mTOR从而抑制FAS基因及蛋白的表达,因此我们选择依维莫司作为建模干预药物。需要指出的是,为了确保实验结果不受干扰,我们设置了3个独立实验组,分别进行 $^{18}\text{F}$ -FAC显像实验、FAS免疫组织化学实验及生存期观察实验。鉴于荷CWR22乳腺癌小鼠的 $^{18}\text{F}$ -FAC PET/CT研究发现,在注射后2 h肿瘤与肌肉摄取的T/M比1 h高<sup>[20]</sup>,因此,我们选择注射 $^{18}\text{F}$ -FAC后2 h开展PET/CT显像。在体小动物microPET/CT显像结果表明,实验组肾癌 $^{18}\text{F}$ -FAC摄取明显低于对照组。相应的免疫组织化学结果发现,实验组肿瘤组织FAS表达也均显著低于对照组。Yan

等<sup>[19]</sup>采用另一种mTOR抑制剂雷帕霉素同样降低了乳腺癌细胞FAS蛋白表达,与该研究结果类似。

综合<sup>18</sup>F-FAC PET/CT显像和FAS免疫组织化学实验可见,肾癌摄取<sup>18</sup>F-FAC和FAS表达均随时间呈现出动态增加的变化趋势,而实验组的增加幅度明显小于对照组。Pflug等<sup>[21]</sup>通过对转基因前列腺癌小鼠模型的研究发现,随着小鼠周龄增加及疾病进展,FAS表达呈明显上升趋势。本实验也观察到对照组肿瘤FAS表达随时间推移不断上升。有研究表明,肿瘤负荷越高,FAS表达也越高<sup>[22-23]</sup>,因此,本实验中肾癌FAS表达水平随时间推移而升高的可能原因是肿瘤负荷在不断增加,脂肪酸代谢越来越旺盛。且第5天对照组肾癌FAS表达水平明显高于基线值(2.2倍),这与前期研究结果一致<sup>[24-25]</sup>。Furuta等<sup>[24]</sup>在乏氧和存在活性氧自由基环境中(模拟肿瘤微环境),培养乳腺癌细胞,FAS基因及蛋白表达明显上调。其中在氧自由基存在条件下,12 h后MDA-MB-157乳腺癌细胞FAS mRNA表达水平增加约3倍。Lee等<sup>[25]</sup>发现在乏氧环境下,24 h后UCB-hMSC干细胞FAS表达增加2倍。此外,依维莫司处理期间FAS表达仍然缓慢增加,可能原因是抑制FAS并非依维莫司的主要药理作用<sup>[26]</sup>,FAS表达也可能受其他多种因素调节,如乙酰转移酶P300<sup>[27]</sup>。进一步的相关性分析发现,肾癌组织<sup>18</sup>F-FAC摄取与FAS表达程度之间呈显著正相关。这些都说明两者具有一致的变化趋势,即FAS表达升高,<sup>18</sup>F-FAC摄取增加,反之亦然。

我们继续开展了肿瘤体积变化和生存期实验,以观察依维莫司处理肾癌引起的抗肿瘤效应。实验组肿瘤体积较对照组明显缩小,生存期则明显延长。由此可见,依维莫司既能降低肾癌脂肪酸代谢和FAS表达,又具有明显抑制肾癌生长的作用。

本实验室的前期研究已经评估了<sup>18</sup>F-FAC人体器官的内照射剂量<sup>[28]</sup>,结果显示,全身有效剂量低于国际辐射防护委员会(International Commission on Radiological Protection, ICRP)发

布的ICRP 118号报告<sup>[29]</sup>中关于个人每年最高有效剂量限值。其他研究也证明了<sup>18</sup>F-FAC的安全性,适合于人体显像<sup>[30]</sup>。由此可见,<sup>18</sup>F-FAC是安全有效的PET显像剂,其PET/CT显像在临床应用中将会有广阔的前景。

综上所述,我们开展了纵向性、多时间点的在体肾癌<sup>18</sup>F-FAC PET/CT分子影像学研究,发现了肾癌摄取<sup>18</sup>F-FAC的动态变化与FAS表达的变化趋势一致,并且二者具有良好的正向相关性。因此,本研究认为<sup>18</sup>F-FAC PET/CT显像可用于在体监测肾癌脂肪酸代谢动态变化,也有望用于靶向抗脂肪酸代谢药物的疗效评价。

#### [参 考 文 献]

- [1] CHEN W, ZHENG R, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- [2] 孙盼盼, 刘 莉, 平智广, 等. 不同地区癌症发病分布特征及聚类分析 [J]. 中国癌症杂志, 2016, 26(6): 499-507.
- [3] HORIGUCHI A, ASANO T, ASANO T, et al. Fatty acid synthase over expression is an indicator of tumor aggressiveness and poor prognosis in renal cell carcinoma [J]. J Urol, 2008, 180(3): 1137-1140.
- [4] 徐俊彦, 章英剑, 程竞仪, 等. <sup>11</sup>C-乙酸联合<sup>18</sup>F-FDG PET/CT显像在肾占位鉴别诊断中的应用价值 [J]. 肿瘤影像学, 2014, 23(2): 137-142.
- [5] 徐俊彦, 郑宇佳, 罗建民, 等. 肾癌摄取<sup>11</sup>C-乙酸的分子机制及相关研究 [J]. 肿瘤影像学, 2014(3): 200-204.
- [6] VAVERE A L, KRIDEL S J, WHEELER F B, et al. <sup>1-11</sup>C-acetate as a PET radiopharmaceutical for imaging fatty acid synthase expression in prostate cancer [J]. J Nucl Med, 2008, 49(2): 327-334.
- [7] 何婷婷, 王 卉, 徐白莹, 等. 不同侵袭转移特性肝癌模型的<sup>18</sup>F-FDG和<sup>2-18</sup>F-乙酸盐联合显像 [J]. 中国临床医学影像杂志, 2016, 27(4): 267-270.
- [8] 周 硕, 朱庆国, 叶烈夫, 等. <sup>18</sup>F-氟乙酸联合<sup>18</sup>F-FDG PET/CT显像在肾肿瘤鉴别诊断中的价值 [J]. 大连医科大学学报, 2016, 38(4): 340-343.
- [9] CARON A, RICHARD D, LAPLANTE M. The roles of mTOR complexes in lipid metabolism [J]. Annu Rev Nutr, 2015, 35(1): 321-348.
- [10] CORNU M, OPPLIGER W, ALBERT V, et al. Hepatic mTORC1 controls locomotor activity, body temperature, and lipid metabolism through FGF21 [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2014, 111(32): 11592-11599.
- [11] VAN DE SANDE T, DE SCHRIJVER E, HEYNS W, et al. Role of the phosphatidylinositol 3'-kinase/PTEN/Akt kinase pathway in the overexpression of fatty acid synthase in LNCaP prostate cancer cells [J]. Cancer Res, 2002, 62(3): 642-646.

- [ 12 ] LIU D D, HAN C C, WAN H F, et al. Effects of inhibiting PI3K-Akt-mTOR pathway on lipid metabolism homeostasis in goose primary hepatocytes [ J ] . *Animal*, 2016, 10(8): 1319-1327.
- [ 13 ] 张勇平, 章英剑, 王明伟, 等. 利用Explora FDG4模块进行 $^{18}\text{F}$ -氟乙酸盐自动化合成 [ J ] . *中华核医学与分子影像杂志*, 2009, 29(3): 185-188.
- [ 14 ] SHREVE P, CHIAO P C, HUMES H D, et al. Carbon-11-acetate PET imaging in renal disease [ J ] . *J Nucl Med*, 1995, 36(9): 1595-1601.
- [ 15 ] OYAMA N, ITO H, TAKAHARA N, et al. Diagnosis of complex renal cystic masses and solid renal lesions using PET imaging: comparison of  $^{11}\text{C}$ -acetate and  $^{18}\text{F}$ -FDG PET imaging [ J ] . *Clin Nucl Med*, 2014, 39(3): e208-e214.
- [ 16 ] HO C L, CHEN S, HO K M, et al. Dual-tracer PET/CT in renal angiomyolipoma and subtypes of renal cell carcinoma [ J ] . *Clin Nucl Med*, 2012, 37(11): 1075-1082.
- [ 17 ] OYAMA N, OKAZAWA H, KUSUKAWA N, et al.  $^{11}\text{C}$ -acetate PET imaging for renal cell carcinoma [ J ] . *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2009, 36(3): 422-427.
- [ 18 ] MENENDEZ J A, VELLON L, MEHMI I, et al. Inhibition of fatty acid synthase (FAS) suppresses HER2/neu (erbB-2) oncogene overexpression in cancer cells [ J ] . *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101(29): 10715-10720.
- [ 19 ] YAN C, WEI H, MINJUAN Z, et al. The mTOR inhibitor rapamycin synergizes with a fatty acid synthase inhibitor to induce cytotoxicity in ER/HER2-positive breast cancer cells [ J ] . *PLoS One*, 2014, 9(5): e97697.
- [ 20 ] PONDE D E, DENCE C S, OYAMA N, et al.  $^{18}\text{F}$ -fluoroacetate: a potential acetate analog for prostate tumor imaging-*in vivo* evaluation of  $^{18}\text{F}$ -fluoroacetate versus  $^{11}\text{C}$ -acetate [ J ] . *J Nucl Med*, 2007, 48(3): 420-428.
- [ 21 ] PFLUG B R, PECHER S M, BRINK A W, et al. Increased fatty acid synthase expression and activity during progression of prostate cancer in the TRAMP model [ J ] . *Prostate*, 2003, 57(3): 245-254.
- [ 22 ] MIGITA T, RUIZ S, FORNARI A, et al. Fatty acid synthase: a metabolic enzyme and candidate oncogene in prostate cancer [ J ] . *J Natl Cancer Inst*, 2009, 101(7): 519-532.
- [ 23 ] VAZQUEZ-MARTIN A, COLOMER R, BRUNET J, et al. Overexpression of fatty acid synthase gene activates HER1/HER2 tyrosine kinase receptors in human breast epithelial cells [ J ] . *Cell Prolif*, 2008, 41(1): 59-85.
- [ 24 ] FURUTA E, PAI S K, ZHAN R, et al. Fatty acid synthase gene is up-regulated by hypoxia via activation of Akt and sterol regulatory element binding protein-1 [ J ] . *Cancer Res*, 2008, 68(4): 1003-1011.
- [ 25 ] LEE H J, RRU J M, JUNG Y H, et al. Novel pathway for hypoxia-induced proliferation and migration in human mesenchymal stem cells: involvement of HIF-1 $\alpha$ , FASN, and mTORC1 [ J ] . *Stem Cells*, 2015, 33(7): 2182-2195.
- [ 26 ] 马建辉. 肾癌细胞mTOR信号通路异常与依维莫司作用机制 [ J ] . *中华泌尿外科杂志*, 2013, 34(3): 229-231.
- [ 27 ] 刚晓坤. 乙酰转移酶p300对脂肪酸合成的调控机制及其在前列腺癌中的作用 [ D ] . 吉林大学, 2015.
- [ 28 ] ZHANG J P, ZHANG Y J, XU J Y, et al. Radiation dosimetry estimates of  $^{18}\text{F}$ -fluoroacetate based on biodistribution data of rats [ J ] . *Appl Radiat Isot*, 2012, 70(1): 332-335.
- [ 29 ] STEWART F A, AKLEYEV A V, HAUER-JENSEN M, et al. ICRP publication 118: ICRP statement on tissue reactions and early and late effects of radiation in normal tissues and organs-threshold doses for tissue reactions in a radiation protection context [ J ] . *Ann Icrp*, 2012, 41(1-2): 1-322.
- [ 30 ] NISHII R, TONG W, WENDT R R, et al. Pharmacokinetics, metabolism, biodistribution, radiation dosimetry, and toxicology of  $^{18}\text{F}$ -fluoroacetate ( $^{18}\text{F}$ -FACE) in non-human primates [ J ] . *Mol Imaging Biol*, 2012, 14(2): 213-224.

( 收稿日期: 2018-01-12 修回日期: 2018-04-11 )