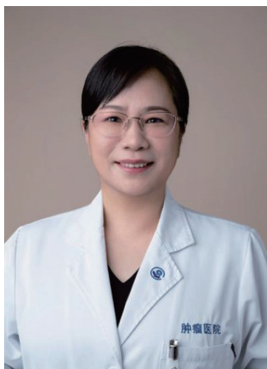




· 专家述评 ·



宋少莉，复旦大学附属肿瘤医院核医学科主任，上海市质子重离子医院核医学科主任，复旦大学附属肿瘤医院福建医院核医学科主任，复旦大学附属肿瘤医院厦门医院核医学科主任，上海分子影像探针工程技术研究中心主任。上海市领军人才，上海市优秀技术带头人，上海市最美女医师，上海市巾帼建功标兵，复旦大学“钟扬式”好老师。中华医学会核医学分会第十二届委员会肿瘤影像学组副组长，中国医师协会核医学医师分会委员兼诊疗一体化副组长，中国核学会核医学医师分会第十届理事会常务理事，上海市抗癌协会肿瘤核医学专委会主任委员，上海市核学会第十二届理事会副理事长，上海市核学会实验核医学与核药理学主任委员，上海市医学会第十届核医学分会副主任委员。担任《肿瘤影像学》副主编，《中华核医学与分子影像杂志》和《中国癌症杂志》常务编委，《European Journal of Nuclear Medicine》编委。主持国家自然科学基金（含重点）6项，专利23项，商业转化专利5项，在SCI收录期刊上发表论文120余篇。获2025年度上海市抗癌协会科技进步一等奖和2024年度上海市核学会科技奖（科普类）。

## EphA2靶向诊疗一体化核药的研究进展

刘新宇<sup>1</sup>，许晓平<sup>1, 2, 3, 4</sup>，宋少莉<sup>1, 2, 3, 4</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，上海 200032；
2. 复旦大学生物医学影像研究中心，上海 200032；
3. 上海分子影像探针工程技术研究中心，上海 200032；
4. 核物理与离子束应用教育部重点实验室，复旦大学，上海 200433

[摘要] 核医学分子影像技术 [正电子发射断层成像 (positron emission tomography, PET) 与单光子发射计算机断层成像 (single photon emission computed tomography, SPECT)] 凭借高灵敏度与功能成像优势，在肿瘤精准诊疗领域发挥着核心作用，其效能高度依赖于靶向分子探针的开发。肝配蛋白A型受体2 (ephrin type-A receptor 2, EphA2) 作为受体酪氨酸激酶家族关键成员，在多种恶性肿瘤中异常高表达，已成为重要靶点之一。靶向EphA2的药物历经多年发展，涵盖抗体、抑制剂、单体和多肽类药物，它们具有不同的药理学性质，在多种模型中展现出优异的诊断或治疗潜力。基于临床前研究的积极结果，部分药物已进入I期临床试验，虽呈现出初步的疗效，但仍面临药物的非特异性蓄积与肿瘤异质性等挑战。本文系统性述评靶向EphA2核医学分子探针的研发进展，分析未来靶向EphA2研究的优化方向和关注重点。

[关键词] 肝配蛋白A型受体2；受体酪氨酸激酶；正电子发射断层成像/单光子发射计算机断层成像；核医学分子影像探针；诊疗一体化

中图分类号：R445.6 文献标志码：A

DOI: 10.19732/j.cnki.2096-6210.2025.05.001

基金项目：无。

利益冲突：作者声明无利益冲突。

伦理批件：不需要。

知情同意：不需要。

引用本文：刘新宇，许晓平，宋少莉. EphA2靶向诊疗一体化核药的研究进展 [J]. 肿瘤影像学, 2025, 34(5): 433-443.

Funding: no.

Conflicts of interest: authors declare no conflicts of interest.

Ethical approval: not required.

Informed consent: not required.

Cite this article: LIU X Y, XU X P, SONG S L. Research advances in EphA2 targeted theranostic radiopharmaceuticals [J]. Oncoradiology, 2025, 34(5): 433-443.

Research advances in EphA2-targeted theranostic radiopharmaceuticals LIU Xinyu<sup>1</sup>, XU Xiaoping<sup>1, 2, 3, 4</sup>, SONG Shaoli<sup>1, 2, 3, 4</sup> (1. Department of Nuclear Medicine, Fudan University Shanghai Cancer Center, Department of Oncology, Shanghai Medical College, Fudan University, Shanghai 200032, China; 2. Center for Biomedical Imaging, Fudan University, Shanghai 200032, China; 3. Shanghai Engineering Research Center of Molecular Imaging Probes, Shanghai

200032, China; 4. Key Laboratory of Nuclear Physics and Ion-beam Application (MOE), Fudan University, Shanghai 200433, China)

Correspondence to: SONG Shaoli E-mail: shaoli-song@163.com

[ **Abstract** ] Nuclear medicine molecular imaging techniques [ Positron emission tomography (PET)/Single-photon emission computed tomography (SPECT) ] play a pivotal role in precision oncology diagnostics and therapeutics by leveraging high sensitivity and functional imaging capabilities, with their efficacy critically dependent on the development of targeted molecular probes. Ephrin type-A receptor 2 (EphA2), a key member of the receptor tyrosine kinase family, is aberrantly overexpressed in multiple malignancies and has emerged as a promising therapeutic target. Through years of development, EphA2-targeting drugs primarily encompass three categories: antibody-based drugs, small-molecule drugs, and bicyclic peptide drugs. These agents exhibit distinct pharmacological profiles and demonstrate excellent diagnostic or therapeutic potential across diverse models. Encouraged by positive preclinical results, several agents have advanced to Phase I clinical trials, showing preliminary efficacy while confronting challenges such as nonspecific accumulation and tumor heterogeneity. This review systematically summarized recent advances in EphA2-targeted nuclear molecular probes, analyzing optimization strategies and future research priorities for EphA2-targeted investigations.

[ **Key words** ] Ephrin type-A receptor 2; Receptor tyrosine kinase; Positron emission tomography/Single-photon emission computed tomography; Nuclear medicine molecular imaging probe; Theranostics

在医学影像领域, 正电子发射断层成像 (positron emission tomography, PET) 与单光子发射计算机断层成像 (single photon emission computed tomography, SPECT) 作为先进的分子影像学技术, 通过注射放射性示踪剂并利用其在组织器官中的代谢分布差异, 实现对生物学过程的功能成像<sup>[1]</sup>。相较于传统解剖学影像技术, PET与SPECT能够从分子层面揭示疾病的发生发展机制, 在肿瘤、神经系统疾病及心血管疾病的诊断、治疗监测与预后评估中具有关键作用<sup>[2-3]</sup>。PET/SPECT技术的核心在于放射性示踪剂的开发, 其性能直接决定着成像质量及临床应用价值<sup>[4]</sup>。

肝配蛋白A型受体2 (ephrin type-A receptor 2, EphA2) 被视为一种具有良好应用前景的生物标志物<sup>[5-6]</sup>。作为受体酪氨酸激酶家族的重要成员, EphA2在正常组织中呈低表达, 而在前列腺癌<sup>[7]</sup>、肺癌<sup>[8]</sup>、卵巢癌<sup>[9]</sup>、乳腺癌<sup>[10]</sup>、胰腺腺癌<sup>[11]</sup>等多种恶性肿瘤中显著高表达, 其表达水平与肿瘤进展及患者预后不良密切相关<sup>[12]</sup>,

使其成为肿瘤分子靶向研究的重要靶点<sup>[13]</sup>。基于高亲和力的靶向配体, EphA2探针可特异性识别并结合肿瘤细胞表面高表达的EphA2受体蛋白<sup>[6]</sup>。利用PET/CT或SPECT/CT, 靶向探针可实现肿瘤病灶的精准定位, 连接治疗性核素, 还可杀伤肿瘤病灶, 是放射性核素诊疗一体化的重要策略<sup>[14]</sup>。

核素标记的靶向EphA2药物涵盖抗体、小分子和多肽等药物, 在荷瘤小鼠模型中, 多种药物已展现出优异的靶向性与成像效果。本述评旨在系统梳理靶向EphA2核医学药物的研发现状, 探讨其从精准诊断探针到诊疗一体化药物的演进历程, 并展望其未来的发展方向与应用前景。

## 1 抗体类EphA2靶向药物的开发与研究

抗体以其高特异性、易修饰性、潜在治疗价值及优异的肿瘤滞留性, 在靶向治疗中占据重要地位。近20年来, 靶向EphA2的抗体在核医学诊断成像与药物递送领域持续应用, 展现出良好的应用潜力 (表1)。

表1 靶向EphA2抗体类药物的开发与研究

Tab.1 Development and research of EphA2-targeting antibody-based agents

研究内容	应用	癌症类型	临床进展	研究起始时间
<sup>64</sup> Cu-DOTA-1C1	PET/CT	胶质母细胞瘤等	—	2007年
<sup>64</sup> Cu-NOTA-4B3	PET/CT	胶质母细胞瘤	—	2015年
DS-8895a	抗体治疗	胃癌、食管癌	临床1期 (终止)	2016年
<sup>89</sup> Zr-DS-8895a	PET/CT	乳腺癌、胰腺癌等	临床1期 (终止)	2016年
<sup>89</sup> Zr-1C1	PET/CT	前列腺癌	—	2017年
<sup>89</sup> Zr-3B10	PET/CT	前列腺癌	—	2017年
<sup>89</sup> Zr-2H7	PET/CT	前列腺癌	—	2017年
<sup>89</sup> Zr/ <sup>111</sup> In/ <sup>177</sup> Lu-230-1	PET/CT和SPECT/CT, 核素治疗	纤维肉瘤	—	2023年

### 1.1 早期探索：1C1抗体的奠基性研究

1C1是早期开发的人源化EphA2单克隆抗体(mAb)，也是首个应用于EphA2核医学成像的抗体探针<sup>[15-16]</sup>。陈小元研究团队<sup>[16]</sup>使用DOTA螯合剂修饰抗体并进行<sup>64</sup>Cu标记，成功制备了<sup>64</sup>Cu-DOTA-1C1。该探针能够同时识别小鼠和人源EphA2蛋白，在临床前研究中展现出良好的肿瘤摄取。体外实验证实，1C1及DOTA-1C1特异性结合EphA2阳性CT-26细胞，对EphA2阴性A375细胞结合甚微。PET和定量分析结果表明，在小鼠CT-26模型中，<sup>64</sup>Cu-DOTA-1C1注射后18 h肿瘤摄取达 $(25.1 \pm 2.5) \%ID/g$ 。人脑胶质瘤U87-MG和前列腺癌PC3模型亦观察到显著摄取，可被未标记的1C1竞争性阻断。蛋白质印迹法进一步验证，其肿瘤摄取与EphA2表达水平呈强线性相关，充分证明靶向特异性。该研究确立了“抗体-螯合剂-放射性核素”设计范式，为后续探针开发奠定了基础。然而，探针初始肝脏摄取较高，并长时间蓄积，需进一步优化以减少非靶向蓄积。

基于1C1抗体的优异体内表现，其抗体偶联药物(antibody-drug conjugate, ADC)MEDI-547的开发备受关注<sup>[17]</sup>。MEDI-547由1C1抗体偶联微管抑制剂MMAF组成，能被选择性内化进入EphA2阳性细胞并发挥细胞毒性，体内研究证实该药物能显著抑制肿瘤生长。尽管MEDI-547已进入I期临床试验，但因安全性问题(主要为出血和凝血)而提前终止<sup>[18]</sup>。研究分析认为，这些不良事件很可能与1C1的潜在毒性及正常组织非特异性摄取有关。尽管结果未达预期，MEDI-547的研发经验为后续靶向EphA2分子探针及治疗药物的体内递送和安全性评估提供了重要启示。

### 1.2 多样化开发：优化抗体特异性与成像性能

随着MEDI-547的研发失利，一些研究探讨了EphA2抗体的靶向特异性及体内性能。4B3是一种在野生型小鼠中产生的IgG2a单克隆抗体，能够特异性靶向人EphA2-Fc免疫原，显示出较高的亲和力，平衡解离常数Kd值为3.82 nmol/L，Puttick等<sup>[19]</sup>基于此开发了<sup>64</sup>Cu-NOTA-4B3，用于胶质母细胞瘤成像，研究显示，与NOTA螯合

剂偶联后，其亲和力几乎未受影响，在人脑胶质瘤U87-MG荷瘤小鼠模型中，<sup>64</sup>Cu-NOTA-4B3注射后6 h肿瘤摄取达 $(8.9 \pm 1.0) \%ID/g$ ，肿瘤与脑对比度显著高于<sup>18</sup>F-FDOPA PET ( $P < 0.01$ )和Gd增强的MRI，并能清晰勾勒肿瘤边界。另外，该研究通过IgG预处理阻断Fc受体，有效地降低<sup>64</sup>Cu-NOTA-4B3在肝脾的非特异性摄取，同时提高了肿瘤摄取值。这项研究初步解决了抗体的非特异性摄取问题，也为胶质母细胞瘤成像提供了精准工具。

继<sup>64</sup>Cu-DOTA-1C1研究<sup>[16]</sup>后，陈小元团队<sup>[20]</sup>从Dyax抗体库筛选得到3B10和2H7，并制备相应<sup>89</sup>Zr标记抗体及ADC。系统评估显示，3B10和2H7对EphA2蛋白的亲和力远优于1C1，但细胞摄取和内化能力相对较弱( $P < 0.01$ )。PET结果显示，疏水性较低的<sup>89</sup>Zr-3B10肿瘤摄取略高于<sup>89</sup>Zr-1C1；疏水性最高、内化能力最差的<sup>89</sup>Zr-2H7在所有时间点肿瘤摄取最低( $P < 0.01$ )。此外，当<sup>89</sup>Zr-3B10和<sup>89</sup>Zr-1C1与药物偶联形成ADC后，其在肿瘤中的摄取显著降低，并且药物的代谢速率加快。该研究表明，单克隆抗体肿瘤摄取受内化、疏水及化学修饰等多种参数影响。体内因素复杂往往导致了体外结果难以准确预测药物的实际表征。ADC虽为有效的靶向递送策略，但其偶联显著改变mAb药代动力学参数包括分布、代谢，以及药理学特性，需单独体内评估。此外，该研究揭示了放射性核素标记策略可以探究药物偶联对肿瘤靶向的影响，这对抗体类药物的开发至关重要<sup>[20]</sup>。

### 1.3 临床转化：DS-8895a的诊疗探索

DS-8895a是一种去岩藻糖基化抗EphA2单克隆抗体，能识别EphA2细胞外近膜区域，并与细胞膜上全长和截短形式的EphA2结合。研究<sup>[21]</sup>显示，在EphA2阳性的人源乳腺癌MDA-MB-231细胞和胃癌SNU-16细胞异种移植小鼠模型中，DS-8895a能有效地抑制肿瘤生长，展现出良好治疗潜力。

为评估DS-8895a的临床潜力并指导用药，Burvenich等<sup>[22]</sup>开发了其伴随诊断探针<sup>89</sup>Zr-DS-8895a，通过PET和生物分布研究评估其特异性

及注射剂量。作为首个进入临床试验的EphA2靶向放射性示踪剂,<sup>89</sup>Zr-DS-8895a在临床前MDA-MB-231模型中展现出特异性肿瘤摄取和良好肿瘤滞留性,例如0.3 mg/kg剂量组在注射后的第9天,肿瘤摄取量仍维持在(20.82 ± 4.67)%ID/g。此外,研究表明提高抗体剂量可能导致EphA2受体饱和,初步将3 mg/kg确定为临床试验的潜在剂量范围。

DS-8895a的两项I期临床试验旨在评估其在晚期实体瘤患者中的安全性、药代动力学及抗肿瘤活性<sup>[23-24]</sup>。Shitara等<sup>[23]</sup>开展的I期临床试验纳入了37例晚期实体瘤患者,结果显示,每2周注射20 mg/kg的DS-8895a总体安全且耐受性良好,15例患者(9例胃癌,6例食管癌)中1例胃癌患者达部分缓解(PR),13例达疾病稳定(SD),疗效有限。

Gan等<sup>[24]</sup>在另一项针对晚期或转移性EphA2阳性癌症患者的I期研究中,对7例患者进行了<sup>89</sup>Zr-DS-8895a的PET以评估体内分布。该研究显示,DS-8895a耐受性良好,但疗效有限。值得注意的是,尽管<sup>89</sup>Zr-DS-8895a在正常组织中呈现正常代谢分布,但其肿瘤摄取量低于免疫组织化学显示的EphA2表达预期,这提示肿瘤异质性可能导致部分患者治疗效果不佳。虽然因疗效不佳,两项研究<sup>[23-24]</sup>提前终止,但DS-8895a的临床探索,尤其是<sup>89</sup>Zr-DS-8895a作为伴随诊断探针的应用,凸显了生物分布数据在药物开发中的关键作

用,为筛选适合EphA2靶向治疗的患者提供了重要的方法。

#### 1.4 诊疗一体化:单克隆抗体230-1的放射免疫治疗潜力

230-1是经BALB/c小鼠免疫产生的EphA2单克隆抗体,研究<sup>[25-26]</sup>将其分别与DTPA、DFO、NOTA螯合剂偶联,然后标记<sup>111</sup>In、<sup>89</sup>Zr和<sup>177</sup>Lu,用于核素成像和治疗。在HT-1080肉瘤模型中,<sup>89</sup>Zr-DFO-230-1的肿瘤摄取在注射后5 d内呈上升趋势,第5天最大标准摄取值(maximum standard uptake value, SUV<sub>max</sub>)达20.1 ± 6.42,显著高于正常组织,显示良好肿瘤滞留性。使用3 MBq或10 MBq的<sup>177</sup>Lu-NOTA-230-1治疗后,部分小鼠(6/18)实现完全缓解(CR),且未观察到明显的毒性,这归因于肿瘤吸收的高剂量(3 MBq组:51.7 Gy; 10 MBq组:172.4 Gy)。相比之下,非放射性标记的230-1治疗效果有限。该研究揭示了230-1在EphA2高表达肿瘤模型中进行放射免疫治疗的潜力,然而,抗体目前仅适用于小鼠模型,未来需人源化改造以验证临床应用价值。

## 2 靶向EphA2多肽及小分子药物的开发与研究

除抗体类药物外,靶向EphA2的小分子药物(包括线性肽、拮抗剂、单体)也取得了显著进展(表2)。小分子探针凭借组织穿透性良好、免疫原性低以及体内清除快速等优势,在核医学分子成像与核素治疗领域展现出巨大应用潜力<sup>[27]</sup>。

表2 靶向EphA2拮抗剂与多肽类药物的开发与研究

Tab. 2 Development and research of EphA2-targeting antagonists and peptide-based agents

研究内容	应用	癌症类型	临床进展	研究起始时间
<sup>18</sup> F-AFP-SWL	放射药理学研究	—	—	2014年
<sup>99m</sup> Tc-HYNIC-SWL	SPECT/CT	肺癌	—	2014年
<sup>64</sup> Cu-NOTA-E1	PET/CT	前列腺癌	—	2020年
<sup>125</sup> I-ETB	SPECT/CT	胶质母细胞瘤	—	2021年
<sup>68</sup> Ga/ <sup>125</sup> I-DOTA-YSA	PET/CT和SPECT/CT	乳腺癌(小鼠)	—	2022年
<sup>68</sup> Ga/ <sup>125</sup> I-DOTA-SD01	PET/CT和SPECT/CT	乳腺癌(小鼠)	—	2022年
<sup>99m</sup> Tc-HYNIC-PEG4-EPH-3	SPECT/CT	前列腺癌	—	2024年
<sup>68</sup> Ga-BCY6164	PET/CT	纤维肉瘤	—	2020年
BT5528	靶向递送MMAE偶联药物	卵巢癌,尿路上皮癌等	临床2期(进展)	2020年
[ <sup>18</sup> F] AIF-ETN	PET/CT	前列腺癌	—	2023年
<sup>68</sup> Ga/ <sup>111</sup> In/ <sup>177</sup> Lu-BCY18469	PET/CT和SPECT/CT,核素治疗	纤维肉瘤	—	2024年
<sup>68</sup> Ga-AJ201	PET/CT	胰腺癌	—	2025年
<sup>225</sup> Ac-AJ210	核素治疗	胰腺癌	—	2025年



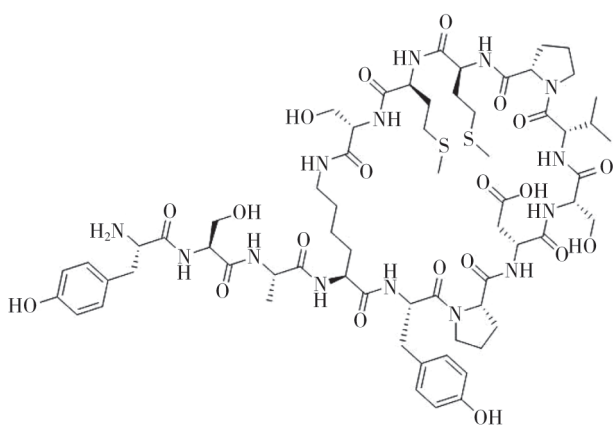


图2 环肽SD01的结构

Fig. 2 Chemical structure of cyclic peptide SD01

尽管YSA和SWL已用于EphA2阳性肿瘤成像,但其靶向特异性和正常组织分布仍有待改善。基于此,顾月清团队<sup>[33]</sup>融合了YSA和SWL的C端序列,设计并合成了靶向EphA2的3种肽(EPH-1~3)。并通过SPR实验筛选出亲和力最高的EPH-3(图3),Kd值为13.1 nmol/L。随后,该团队将经PEG4修饰的EPH-3与HYNIC偶联,再用<sup>99m</sup>Tc进行放射性标记,合成了<sup>99m</sup>Tc-HYNIC-PEG4-EPH-3。该探针具有优异亲水性和稳定性,生理盐水和胎牛血清中温育4 h后纯度仍>90%。体外实验证实其特异性结合高表达EphA2的PC3细胞,对EphA2表达较低的22RV1细胞结合较少。研究人员进而在7种肿瘤模型中对<sup>99m</sup>TcHYNIC-PEG4-EPH-3进行SPECT和生物分布研究。结果显示,该探针具有良好的靶向特异性,EphA2阳性肿瘤摄取显著高于除代谢器官外的其他正常组织和器官。在PC3模型中,其1 h肿瘤与血液(T/B)和肿瘤与肌肉(T/M)比值分别为 $6.5 \pm 0.3$ 和 $8.5 \pm 0.5$ ,优于既往基于单独YSA和SWL肽偶联设计的探针<sup>[29, 32]</sup>。这项研究通过融合YSA和SWL的C端序列,使得<sup>99m</sup>Tc-HYNIC-PEG4-EPH-3探针具有良好的亲和力、靶向特异性、稳定性及快速清除能力,在肿瘤诊断中展现出巨大潜力。

除基于YSA和SWL结构设计的探针外,可靶向EphA2的线性单体和拮抗剂也被应用于探针开发。研究<sup>[34-35]</sup>通过酵母表面展示文库筛选出对EphA2具有高亲和力的单体E1(Kd: 1.844 nmol/L),并

进一步设计合成了<sup>64</sup>Cu-NOTA-E1。研究<sup>[35]</sup>显示,该探针具有良好的肿瘤摄取和肿瘤滞留性,但体内生物分布显示其非靶器官(如心、肝、肾)的摄取过高,存在潜在放射毒性风险。研究<sup>[36-37]</sup>基于EphA2拮抗剂ALW-II-41-27设计并制备了<sup>125</sup>I-ETB(图4)。尽管该探针能特异性结合U87-MG细胞(IC<sub>50</sub>: 90.2 nmol/L  $\pm$  18.9 nmol/L),但在荷瘤小鼠模型中,其肿瘤摄取在4 h内最高为2.2% ID/g,显著低于肝、肾等器官,表现出明显的非特异性摄取和较长的体内滞留时间,限制了其进一步应用<sup>[37]</sup>。

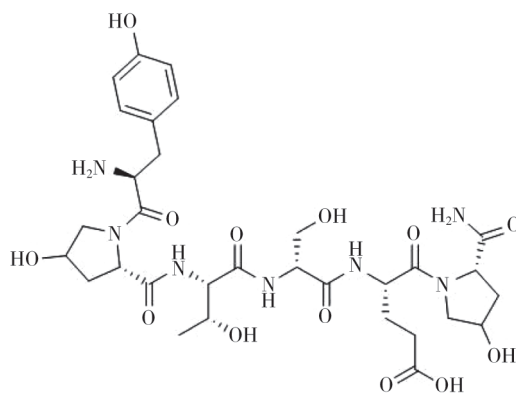
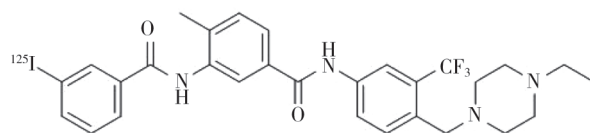


图3 线性分子肽EPH-3的结构

Fig. 3 Chemical structures of the linear peptide EPH-3

图4 基于小分子拮抗剂设计的放射性示踪剂<sup>125</sup>I-ETB的结构Fig. 4 Chemical structure of <sup>125</sup>I-ETB, a radiotracer derived from a small-molecule antagonist

## 2.2 靶向EphA2双环肽药物的诊疗研究

近年来,经Mudd等<sup>[38]</sup>通过噬菌体展示筛选得到的双环肽BCY6099(图5)逐渐被视为一种极具前景的EphA2靶向结构。双环肽是受熵约束、通过中心化学支架稳定为双环结构的短肽,通常包含约15个氨基酸残基。这种支架施加的约束将肽锁定在其生物活性构象中,从而实现与靶标的高亲和力结合<sup>[39]</sup>。相较于线性肽,双环结构提供更高的代谢稳定性,主要体现在其对蛋白酶解的抵抗性<sup>[40]</sup>。

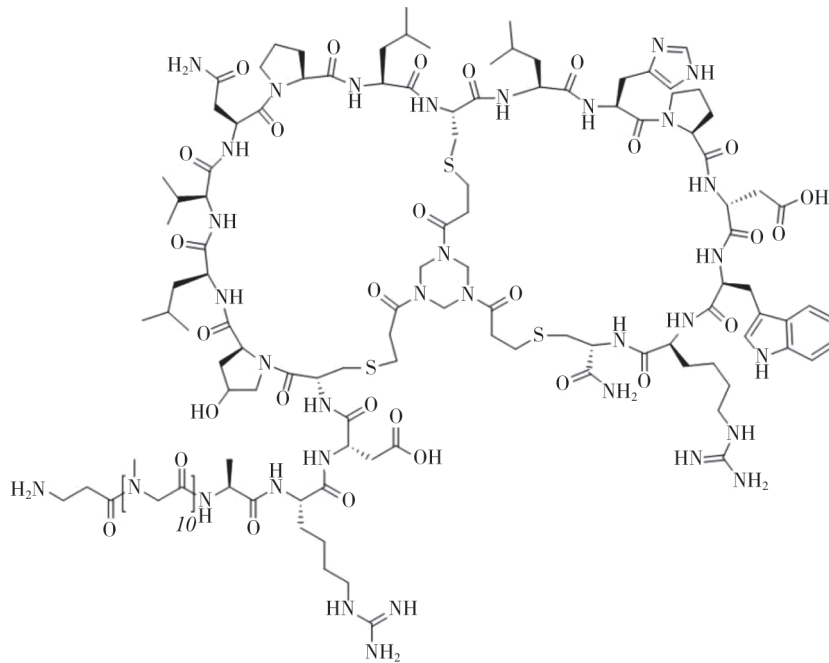


图5 双环肽BCY6099的结构

Fig. 5 Chemical structure of bicyclic peptide BCY6099

$^{68}\text{Ga}$ -BCY6164是双环肽BCY6099经DOTA偶联及 $^{68}\text{Ga}$ 标记合成的PET探针，其亲和力抑制常数 $K_i$ 为 $5.07\text{ nmol/L}$ <sup>[38]</sup>。在HT-1080荷瘤小鼠模型中，注射 $^{68}\text{Ga}$ -BCY6164的0.5 h后，肿瘤部位显示明显的放射性示踪剂摄取（ $12\% \text{ID/g} \pm 6.3\% \text{ID/g}$ ）；除主要代谢器官肾脏和膀胱外，正常器官与组织几乎不摄取<sup>[41]</sup>。其优异的体内分布特性使得双环肽配体被进一步应用于多种核素以及治疗药物向EphA2高表达肿瘤的递送。

BT5528是双环肽BCY6099与MMAE偶联形成的双环毒素偶联物（bicycle toxin conjugate, BTC），具有高亲和力 [ $K_d$ : ( $1.9 \pm 0.9$ )  $\text{nmol/L}$ ]<sup>[41]</sup>。其相对分子质量小（约4 000），血液清除半衰期短（0.4~0.7 h），能高效穿透肿瘤并长时间维持较高的有效载荷浓度，在肿瘤微环境中产生旁观者效应，同时该药物主要经肾脏快速排泄，可显著降低毒素的全身暴露，临床前研究证实了其优异的药代动力学特征。随后，BT5528进入首次人体I期临床研究<sup>[42]</sup>，结果显示其耐受性良好，未观察到先前EphA2靶向ADC药物存在的严重出血事件<sup>[18]</sup>，并在EphA2阳性肿瘤中展现出初步抗肿瘤活性，

支持进一步临床开发。BT5528的研究<sup>[42]</sup>证明，基于双环肽的EphA2靶向平台在肿瘤递送方面具有巨大潜力，为其后续作为核医学分子探针的开发奠定了坚实基础。

鉴于 $^{68}\text{Ga}$ -BCY6164和BT5528的良好表现，许多研究者进一步开发了靶向EphA2的放射性双环肽探针，用于多种恶性肿瘤的精准示踪及核素治疗。杨兴团队<sup>[43]</sup>选择去除BCY6099中的可切割连接子结构，设计并合成了双环肽ETN，进一步标记合成了 [ $^{18}\text{F}$ ] A1F-ETN探针（图6）。该探针能特异性结合前列腺特异性膜抗原（prostate-specific membrane antigen, PSMA）阴性的PC3细胞，而几乎不结合PSMA阳性的22RV1细胞，与临床应用的PSMA诊断探针形成互补。在PC3异种移植模型中， [ $^{18}\text{F}$ ] A1F-ETN特异性蓄积于肿瘤，1 h肿瘤摄取达（ $5.33 \pm 0.71$ ） $\% \text{ID/g}$ ，肿瘤与肌肉比值（T/M）高达 $21.29 \pm 6.55$ ，且安全性良好。

在先前研究的基础上，研究<sup>[40]</sup>进一步优化了BCY6099的分子结构，开发了靶向EphA2双环肽探针 $^{68}\text{Ga}$ -BCY18469（图7），并进行了 $^{177}\text{Lu}$ 和 $^{111}\text{In}$ 的标记和研究。体外实验显示，

BCY18469对人源和鼠源EphA2均具有高亲和力 [Kd: (1.93 ± 0.35) nmol/L vs (3.82 ± 0.56) nmol/L], 且特异性、稳定性良好。体内HT1080和PC-3异种移植模型的PET/MRI显示, 肿瘤部位对<sup>68</sup>Ga-BCY18469显示出清晰的特异性摄取。<sup>177</sup>Lu-BCY18469的生物分布研究进一步证实了PET/MRI结果: 1 h肿瘤摄取量高达(19.50 ± 3.50) %ID/g, 肿瘤摄取随时间

下降, 6 h降至(5.56 ± 1.24) %ID/g, 24 h降至(1.77 ± 0.51) %ID/g, 所有时间点非靶器官摄取均可忽略不计(≤1 %ID/g)。然而, 由于其经肾脏途径排泄, <sup>177</sup>Lu-BCY18469在肾脏中摄取持续较高, 24 h时高达(54.86 ± 17.12) %ID/g。综合来说, BCY18469具备作为EphA2靶向放射性诊疗剂的潜力, 但较高的肾脏摄取限制了其进一步的临床转化研究。

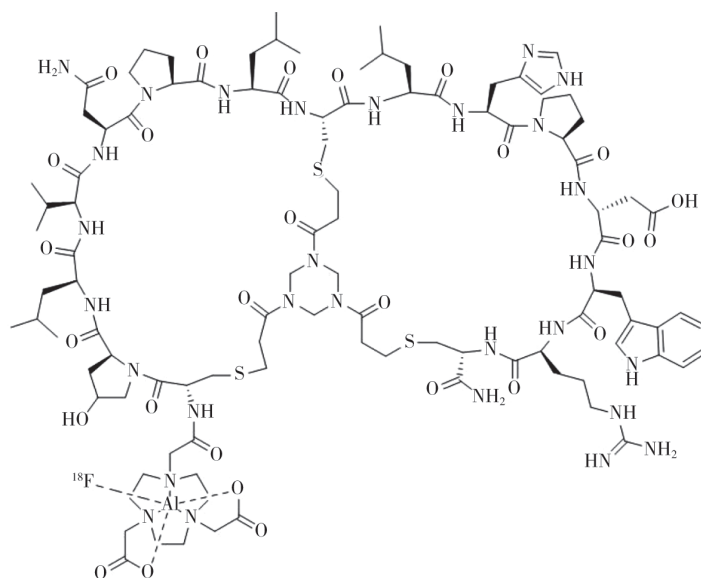


图6 双环肽药物 [<sup>18</sup>F] AIF-ETN的结构

Fig. 6 Chemical structure of bicyclic peptide-based agents [<sup>18</sup>F] AIF-ETN

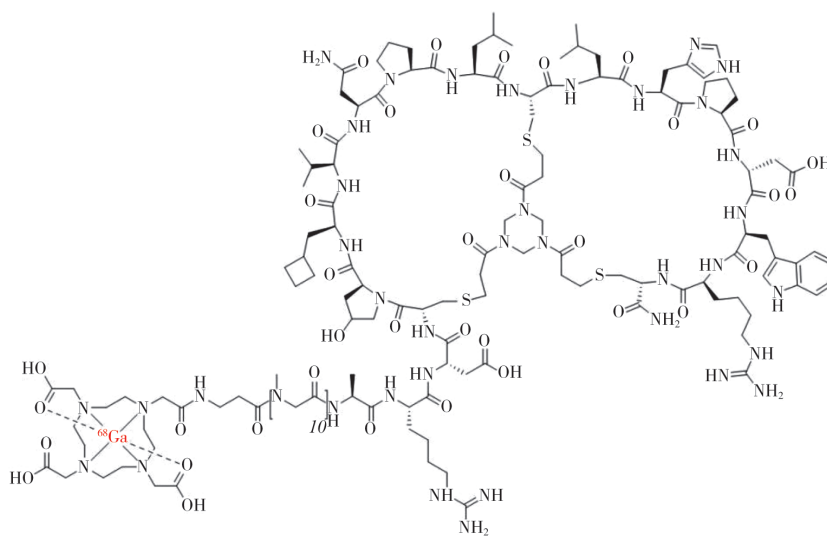


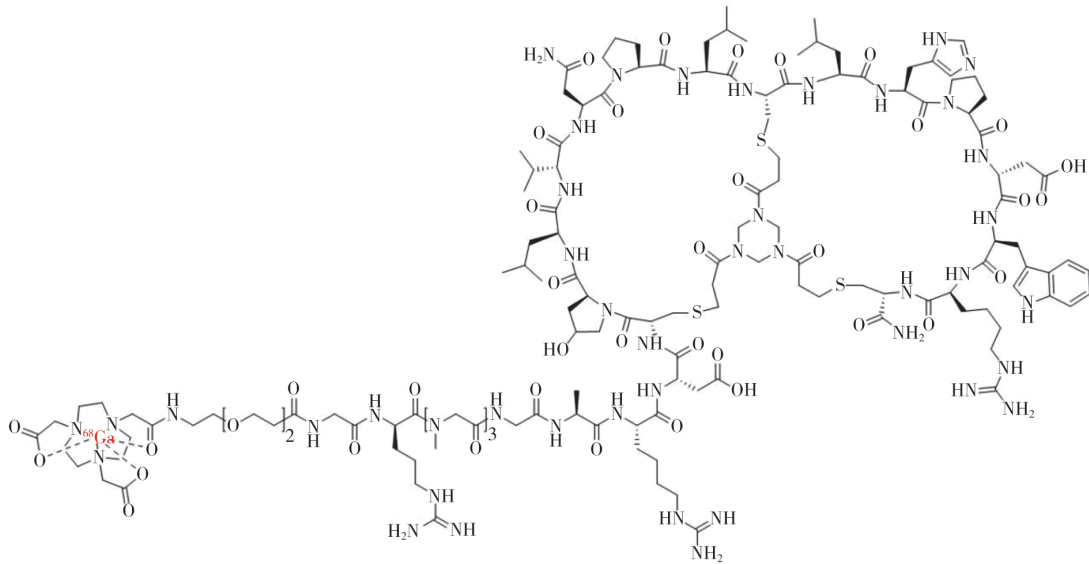
图7 双环肽药物<sup>68</sup>Ga-BCY18469的结构

Fig.7 Chemical structure of bicyclic peptide-based agents <sup>68</sup>Ga-BCY18469

在靶向EphA2双环肽的诊疗研究方面，Sharma等<sup>[14]</sup>引入了一种可被肾细胞刷状缘膜酶酶促加工的可裂解氨基酸接头，合成了NOTA偶联的双环肽AJ201和DOTA偶联的双环肽AJ210，分别进行了<sup>68</sup>Ga和<sup>225</sup>Ac标记（图8）。体外研究表明，这些肽能特异性结合表达EphA2的胰腺导管腺癌（pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC）细胞，并快速内化。在原位Panc1肿瘤模型中，注射<sup>68</sup>Ga-AJ201后60 min采集的PET/MRI图像显示，肿瘤中示踪剂摄取显著，而正常组织积累很少；放射性示踪剂从血液和肌肉中快速清

除，使60 min时的肿瘤与血液比值（ $9.9 \pm 1.1$ ）和肿瘤与肌肉比值（ $25.8 \pm 6.7$ ）均达到较高水平。<sup>225</sup>Ac-AJ210的体外研究<sup>[14]</sup>显示其对PDAC细胞具有剂量依赖性细胞毒性（ $IC_{50}$ : 11.84 kBq/mL）；在KPC肿瘤模型中，该探针能显著抑制肿瘤生长（ $P < 0.001$ ），且不良反应较轻。该研究证实，EphA2是PDAC中极具前景的放射治疗靶点。然而，尽管引入了可裂解的氨基酸接头，在注射放射性示踪剂的60~120 min内，肾脏摄取并未显著减少，肾脏长时间的放射性积累仍是双环肽探针亟待解决的问题，需进一步研究与优化。

A



B

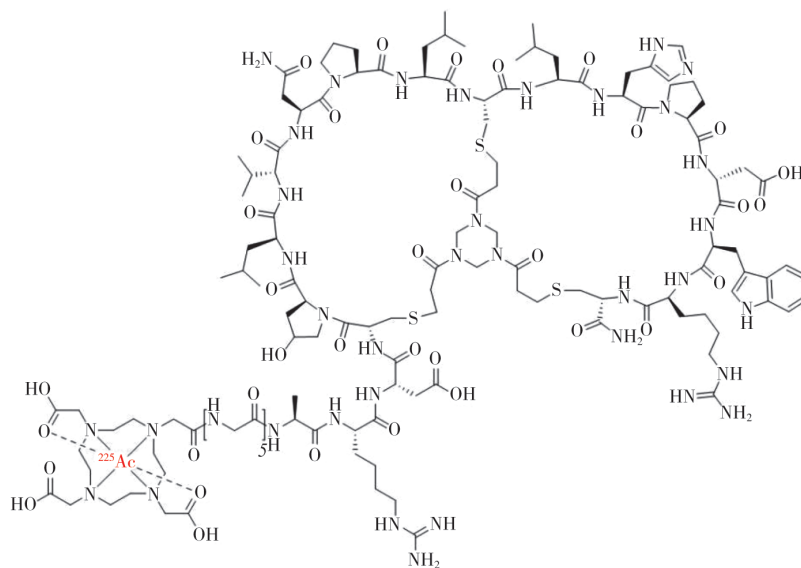


图8 双环肽药物<sup>68</sup>Ga-AJ201 (A)和<sup>225</sup>Ac-AJ210 (B)的结构

Fig. 8 Chemical structure of bicyclic peptide-based agents <sup>68</sup>Ga-AJ201 (A) and <sup>225</sup>Ac-AJ210 (B)

### 3 总结与展望

靶向EphA2的核医学分子探针研究经过近20年发展,从早期抗体和线性小分子的靶向探索到双环肽诊疗研究,不断向核素示踪与诊疗一体化方向推进,展现出巨大的潜力。抗体、小分子和双环肽类药物基于各自不同的药理学特性,适用于不同应用场景。抗体类药物通常具有良好的肿瘤滞留性,携带放射性治疗核素后可对病灶产生长效杀伤作用,这是小分子和双环肽难以实现的,但非特异性摄取的长期辐射危害是其在治疗应用中的主要限制;小分子药物改善了抗体类药物的药代动力学特性,其相对分子质量很小,血液清除快且肿瘤穿透性更佳,更适用于核素成像,但肿瘤摄取量低是其主要局限;双环肽药物为EphA2靶向核医学探针开发带来突破性进展,这类相对分子质量适中(3 000~4 000)、结构稳定的短肽,兼具抗体的高亲和力与小分子快速清除的优势。以<sup>68</sup>Ga-BCY6164和[<sup>18</sup>F]AlF-ETN为代表的双环肽,在多种EphA2高表达肿瘤模型中展现出优异的快速肿瘤蓄积与非靶组织清除能力,显著提升肿瘤与背景的对比值,实现了更早、更清晰的诊断。治疗方面,双环肽<sup>225</sup>Ac-AJ210能显著抑制荷瘤小鼠的肿瘤生长,但肾脏的长期放射性积累限制了双环肽药物的其进一步应用。未来需针对各类药物的不足进一步优化设计。

随着研究的深入,部分EphA2靶向药物已进入临床试验,但总体疗效有限。研究<sup>[24]</sup>指出,肿瘤中EphA2表达的异质性仍是值得关注的问题;由于目前尚无理想方法反映肿瘤对EphA2靶向药物的摄取能力,亟需开发高质量的靶向EphA2核医学分子探针进行临床研究,从而填补这一空白。总的来说,EphA2靶向探针有望在肿瘤精准诊断、治疗选择和疗效评估中发挥革命性作用,为多种恶性肿瘤的诊治提供新的策略。

#### 第一作者:

刘新宇 (ORCID: 0009-0006-8329-8632), 硕士研究生在读。

#### 通信作者:

宋少莉 (ORCID: 0000-0003-2544-7522), 博士, 主任医师, 教授, 复旦大学附属肿瘤医院核医学科主任, 上海市质子重离子

医院核医学科主任, 复旦大学附属肿瘤医院福建医院核医学科主任, E-mail: shaoli-song@163.com。

#### 作者贡献声明:

刘新宇: 完成系统性文献调研、筛选与整理, 明确研究现状与空白; 起草论文全文初稿, 负责核心章节撰写与逻辑梳理。许晓平: 协助完善综述框架与文献筛选标准, 参与核心观点讨论; 参与论文关键章节修订, 协助审核内容准确度。宋少莉: 提出综述核心研究主题与分析视角, 主导设计论文整体框架与逻辑结构; 审核论文内容的学术严谨性, 负责论文最终版本修订与定稿审核。

### [参 考 文 献]

- COLEMAN R E. Single photon emission computed tomography and positron emission tomography in cancer imaging [J]. *Cancer*, 1991, 67(4 Suppl): 1261-1270.
- DOBRUCKI L W, SINUSAS A J. PET and SPECT in cardiovascular molecular imaging [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2010, 7(1): 38-47.
- SCHWENCK J, SONANINI D, COTTON J M, et al. Advances in PET imaging of cancer [J]. *Nat Rev Cancer*, 2023, 23(7): 474-490.
- CRİŞAN G, MOLDOVEAN-CIOROIANU N S, TIMARU D G, et al. Radiopharmaceuticals for PET and SPECT imaging: a literature review over the last decade [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(9): 5023.
- TORACCHIO L, CARRABOTTA M, MANCARELLA C, et al. EphA2 in cancer: molecular complexity and therapeutic opportunities [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(22): 12191.
- XIAO T, XIAO Y H, WANG W X, et al. Targeting EphA2 in cancer [J]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1): 114.
- KUROSE H, UEDA K, KONDO R, et al. Elevated expression of EPHA2 is associated with poor prognosis after radical prostatectomy in prostate cancer [J]. *Anticancer Res*, 2019, 39(11): 6249-6257.
- AMATO K R, WANG S, TAN L, et al. EPHA2 blockade overcomes acquired resistance to EGFR kinase inhibitors in lung cancer [J]. *Cancer Res*, 2016, 76(2): 305-318.
- LIN Y G, HAN L Y, KAMAT A A, et al. EphA2 overexpression is associated with angiogenesis in ovarian cancer [J]. *Cancer*, 2007, 109(2): 332-340.
- YOUNGBLOOD V M, KIM L C, EDWARDS D N, et al. The ephrin-A1/EPHA2 signaling axis regulates glutamine metabolism in HER2-positive breast cancer [J]. *Cancer Res*, 2016, 76(7): 1825-1836.
- MUDALI S V, FU B J, LAKKUR S S, et al. Patterns of EphA2 protein expression in primary and metastatic pancreatic carcinoma and correlation with genetic status [J]. *Clin Exp Metastasis*, 2006, 23(7/8): 357-365.
- PASQUALE E B. Eph receptors and ephrins in cancer progression [J]. *Nat Rev Cancer*, 2024, 24(1): 5-27.
- TANDON M, VEMULA S V, MITTAL S K. Emerging strategies for EphA2 receptor targeting for cancer therapeutics [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2011, 15(1): 31-51.

- [14] SHARMA A K, GUPTA K, MISHRA A, et al. EphA2-targeted alpha-particle theranostics for enhancing PDAC treatment [J]. *Theranostics*, 2025, 15(10): 4229–4246.
- [15] JACKSON D, GOOYA J, MAO S L, et al. A human antibody–drug conjugate targeting EphA2 inhibits tumor growth in vivo [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(22): 9367–9374.
- [16] CAI W B, EBRAHIMNEJAD A, CHEN K, et al. Quantitative radioimmunoPET imaging of EphA2 in tumor-bearing mice [J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2007, 34(12): 2024–2036.
- [17] LEE J W, STONE R L, LEE S J, et al. EphA2 targeted chemotherapy using an antibody drug conjugate in endometrial carcinoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(9): 2562–2570.
- [18] ANNUNZIATA C M, KOHN E C, LORUSSO P, et al. Phase I, open-label study of MEDI-547 in patients with relapsed or refractory solid tumors [J]. *Invest New Drugs*, 2013, 31(1): 77–84.
- [19] PUTTICK S, STRINGER B W, DAY B W, et al. EphA2 as a diagnostic imaging target in glioblastoma: a positron emission tomography/magnetic resonance imaging study [J]. *Mol Imaging*, 2015, 14: 385–399.
- [20] JACOBSON O, LI Q, CHEN H J, et al. PET-guided evaluation and optimization of internalized antibody–drug conjugates targeting erythropoietin-producing hepatoma A2 receptor [J]. *J Nucl Med*, 2017, 58(11): 1838–1844.
- [21] HASEGAWA J, SUE M, YAMATO M, et al. Novel anti-EPHA2 antibody, DS-8895a for cancer treatment [J]. *Cancer Biol Ther*, 2016, 17(11): 1158–1167.
- [22] BURVENICH I J C, PARAKH S, GAN H K, et al. Molecular imaging and quantitation of EphA2 expression in xenograft models with <sup>89</sup>Zr-DS-8895a [J]. *J Nucl Med*, 2016, 57(6): 974–980.
- [23] SHITARA K, SATOH T, IWASA S, et al. Safety, tolerability, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of the afucosylated, humanized anti-EPHA2 antibody DS-8895a: a first-in-human phase I dose escalation and dose expansion study in patients with advanced solid tumors [J]. *J Immunother Cancer*, 2019, 7(1): 219.
- [24] GAN H K, PARAKH S, LEE F T, et al. A phase 1 safety and bioimaging trial of antibody DS-8895a against EphA2 in patients with advanced or metastatic EphA2 positive cancers [J]. *Invest New Drugs*, 2022, 40(4): 747–755.
- [25] FURUKAWA T, KIMURA H, SASAKI M, et al. Novel [<sup>111</sup>In] In-BnDTPA-EphA2-230-1 antibody for single-photon emission computed tomography imaging tracer targeting of EphA2 [J]. *ACS Omega*, 2023, 8(7): 7030–7035.
- [26] WATABE T, IWASAWA T, KIMURA H, et al. Theranostics using <sup>89</sup>Zr/<sup>177</sup>Lu-labeled antibody targeting erythropoietin-producing hepatocellular A2 (EphA2) [J]. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2025, 52(8): 2887–2897.
- [27] CHEN K, CHEN X Y. Design and development of molecular imaging probes [J]. *Curr Top Med Chem*, 2010, 10(12): 1227–1236.
- [28] KOOLPE M, DAIL M, PASQUALE E B. An ephrin mimetic peptide that selectively targets the EphA2 receptor [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(49): 46974–46979.
- [29] PRETZE M, MOSCH B, BERGMANN R, et al. Radiofluorination and first radiopharmacological characterization of a SWLAY peptide-based ligand targeting EphA2 [J]. *J Labelled Comp Radiopharm*, 2014, 57(11): 660–665.
- [30] LIU Y, LAN X L, WU T, et al. <sup>99m</sup>Tc-labeled SWL specific peptide for targeting EphA2 receptor [J]. *Nucl Med Biol*, 2014, 41(6): 450–456.
- [31] QU B, HAN Y M, LIANG T, et al. Evaluation of a novel EphA2 targeting peptide for triple negative breast cancer based on radionuclide molecular imaging [J]. *Arab J Chem*, 2022, 15(11): 104211.
- [32] QU B, LI X J, MA Y Z, et al. <sup>68</sup>Ga labeled EphA2-targeted cyclic peptide: a novel positron imaging tracer for triple-negative breast cancer? [J]. *Dalton Trans*, 2024, 53(18): 7946–7952.
- [33] WANG L, ZHANG H, HUANG W J, et al. Development of a novel EphA2-targeting radioligand for SPECT imaging in different tumor models [J]. *Eur J Med Chem*, 2024, 265: 116105.
- [34] PARK S H, PARK S, KIM D Y, et al. Isolation and characterization of a monobody with a fibronectin domain III scaffold that specifically binds EphA2 [J]. *PLoS One*, 2015, 10(7): e0132976.
- [35] PYO A, YOU S H, KIM H S, et al. Production of <sup>64</sup>Cu-labeled monobody for imaging of human EphA2-expressing tumors [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2020, 30(14): 127262.
- [36] ZENG L, LI K X, WEI H, et al. A novel EphA2 inhibitor exerts beneficial effects in PI-3BS in vivo and in vitro models via Nrf2 and NF-κB signaling pathways [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 272.
- [37] FURUKAWA T, KIMURA H, TORIMOTO H, et al. A putative single-photon emission CT imaging tracer for erythropoietin-producing hepatocellular A2 receptor [J]. *ACS Med Chem Lett*, 2021, 12(8): 1238–1244.
- [38] MUDD G E, BROWN A, CHEN L H, et al. Identification and optimization of EphA2-selective bicycles for the delivery of cytotoxic payloads [J]. *J Med Chem*, 2020, 63(8): 4107–4116.
- [39] SCHMIDT M M, WITTRUP K D. A modeling analysis of the effects of molecular size and binding affinity on tumor targeting [J]. *Mol Cancer Ther*, 2009, 8(10): 2861–2871.
- [40] EL FAKIRI M, REGUPATHY A R, UHLMANN L, et al. Development and preclinical characterization of a novel radiotheranostic EphA2-targeting bicyclic peptide [J]. *Theranostics*, 2024, 14(12): 4701–4712.
- [41] BENNETT G, BROWN A, MUDD G, et al. MMAE delivery using the bicycle toxin conjugate BT5528 [J]. *Mol Cancer Ther*, 2020, 19(7): 1385–1394.
- [42] BASHIR B, WANG J S, FALCHOOK G, et al. Results from first-in-human phase I dose-escalation study of a novel bicycle toxin conjugate targeting EphA2 (BT5528) in patients with advanced solid tumors [J]. *J Clin Oncol*, 2024, 42(29): 3443–3452.
- [43] GAN Q Q, CUI K, CAO Q, et al. Development of a <sup>18</sup>F-labeled bicyclic peptide targeting EphA2 for molecular imaging of PSMA-negative prostate cancer [J]. *J Med Chem*, 2023, 66(21): 14623–14632.