

# $^{68}\text{Ga}$ -citrate对软组织感染PET-CT显像 基因表达分子机制与验证

徐婷婷<sup>1,2,3</sup>, 江飞<sup>1,2,3</sup>, 傅文会<sup>1,2,3</sup>, 陈跃<sup>1,2,3</sup>

1.西南医科大学附属医院核医学科(泸州 646000); 2.核医学与分子影像四川省重点实验室(泸州 646000);  
3.四川省院士(专家)工作站(泸州 646000)

**【摘要】目的** 研究 $^{68}\text{Ga}$ -citrate对软组织感染电子发射计算机断层(PET-CT)显像分子机制相关基因*Tfrc*、*Trf*和*Tif*对感染应答的基因表达变化,探讨小鼠多药及毒性外排转运子1(multidrug and toxin extrusion 1, mMATE1)在小鼠软组织感染的 $^{68}\text{Ga}$ -citrate PET-CT显像中可能的作用。**方法** 用金黄色葡萄球菌感染小鼠形成脓肿,取不同时间点的脓肿组织,用荧光定量PCR(real-time PCR)鉴定*Tfrc*、*Trf*、*Tif*基因和mMATE1基因*Slc47a1*的相对表达量。用 $^{68}\text{Ga}$ 标记柠檬酸(citrate),阻断实验使用PET-CT技术研究mMATE1转运子在小鼠软组织感染 $^{68}\text{Ga}$ -citrate显像中的相关性。**结果** real-time PCR显示转铁蛋白TF基因*Tfrc*和乳铁蛋白TLF基因*Tif*在4 d时间点表达量最高,mMATE1转运子基因*Slc47a1*的表达类型与转铁蛋白受体TFRC基因*Tfrc*类似,在1 h左右达到峰值,随后逐渐降低,而 $\text{Na}^+$ 偶联的柠檬酸转运子NaCT的基因*SLC13A5*表达量在所有时间点未有明显变化。*Tf*、*Tif*、*Slc47a1*和*Tfrc*基因表达最高值与0 h时间点的表达量相比均有显著差异( $57.21 \pm 11.62$ 和 $7.53 \pm 1.74$ ,  $t = 35.38$ ;  $43.03 \pm 6.8$ 和 $6.26 \pm 1.32$ ,  $t = 12.05$ ;  $28.79 \pm 2.16$ 和 $8.21 \pm 1.23$ ,  $t = 8.22$ ;  $1\ 091.36 \pm 30.76$ 和 $290.84 \pm 10.62$ ,  $t = 52.08$ ;  $P < 0.01$ ),且*Slc47a1*基因表达最高值显著高于*SLC13A5*基因同时时间点的基因表达量( $28.79 \pm 2.16$ 和 $1.67 \pm 0.51$ ,  $t = 79.81$ ,  $P < 0.01$ )。PET-CT显示 $^{68}\text{Ga}$ -citrate或 $^{68}\text{GaCl}_3$ 尾静脉注射不同处理对小鼠左后腿相应部位 $^{68}\text{Ga}$ 聚集有显著影响( $F = 13.77$ ,  $P < 0.01$ ),其中炎症小鼠感染部位有明显 $^{68}\text{Ga}$ 聚集( $\text{SUV}_{\text{max}} = 3.87 \pm 0.32$ ),而对照未感染部位未见明显 $^{68}\text{Ga}$ 聚集( $\text{SUV}_{\text{max}} = 0.31 \pm 0.13$ ),差异有统计学意义( $t$ 检验,  $P < 0.01$ ),mMATE1阻断的感染小鼠感染部位对 $^{68}\text{Ga}$ 的摄取明显减少( $\text{SUV}_{\text{max}} = 1.62 \pm 1.03$ ),与未阻断感染小鼠比较差异有统计学意义( $t$ 检验,  $P < 0.05$ )。**结论** 从分子水平上证实*Tfrc*、*Trf*和*Tif*在感染处高表达,多药及毒素外排转运子mMATE1可能参与金黄色葡萄球菌诱导小鼠软组织感染的 $^{68}\text{Ga}$ -citrate PET-CT显像。

**【关键词】** 基因表达;  $^{68}\text{Ga}$ -citrate 感染; 正电子发射计算机断层显像; 多药及毒性化合物外排转运体1

**【中图分类号】** R817.1

**文献标志码** A

DOI: 10.3969/j.issn.2096-3351.2023.06.014

## Molecular mechanisms and validation of gene expression in $^{68}\text{Ga}$ -citrate PET-CT imaging of soft tissue infections

XU Tingting<sup>1,2,3</sup>, JIANG Fei<sup>1,2,3</sup>, FU Wenhui<sup>1,2,3</sup>, CHEN Yue<sup>1,2,3</sup>

1. Department of Nuclear Medicine, The Affiliated Hospital, Southwest Medical University, Luzhou 646000, China; 2. Nuclear Medicine and Molecular Imaging Key Laboratory of Sichuan Province, Luzhou 646000, China; 3. Academician (Expert) Workstation of Sichuan Province, Luzhou 646000, China

**【Abstract】 Objective** To investigate the changes in the gene expression of *Tfrc*、*Trf*、and *Tif* related to the molecular mechanism of  $^{68}\text{Ga}$ -citrate PET-CT imaging of soft tissue infections and explore the possible role of mMATE1 transporter in the  $^{68}\text{Ga}$ -citrate PET-CT imaging of soft tissue infections in mice. **Methods** Mice were infected with *Staphylococcus aureus* to develop abscesses, and the relative expression levels of *Tfrc*、*Trf*、*Tif* and *Slc47a1* genes were determined by real-time PCR at different time points.  $^{68}\text{Ga}$ -citrate was used for PET-CT imaging, and the blocking experiment was performed to investigate the correlation between mMATE1 transporter and  $^{68}\text{Ga}$ -citrate PET-CT imaging of mouse infections. **Results** Real-time PCR demonstrated that the expression of genes for transferrin *Tfrc* and lactoferrin *Tif* peaked at the time point of 4 days, and the expression pattern of transferrin receptor TFRC gene *Tfrc* was similar with that of *Slc47a1*, peaking at 1h time point and gradually decreasing with time. However, the gene expression of  $\text{Na}^+$  coupled citrate transporter NaCT almost kept unchanged at all time points. There were significant differences between the peak value of gene expression for genes *Trf*、*Tif*、*Slc47a1* and *Tfrc* and those at 0 time points ( $57.21 \pm 11.62$  and  $7.53 \pm 1.74$ ,  $t = 35.38$ ;  $43.03 \pm 6.8$  and  $6.26 \pm 1.32$ ,  $t = 12.05$ ;  $28.79 \pm 2.16$  and  $8.21 \pm 1.23$ ,  $t = 8.22$ ;  $1\ 091.36 \pm 30.76$  and  $290.84 \pm 10.62$ ,  $t = 52.08$ ;  $P < 0.01$ ). The highest value of *Slc47a1* gene expression was significantly higher than that of *SLC13A5* at the same time point ( $28.79 \pm 2.16$  and  $1.67 \pm 0.51$ ,  $t = 79.81$ ,  $P < 0.01$ ). PET-CT displayed that different treatments had significant influence on the  $^{68}\text{Ga}$  localization at the infected left hind legs af-

**基金项目:**核医学与分子影像四川省重点实验室开放课题(HYX19006);西南医科大学附属医院博士科研启动基金资助项目(19027);泸州市科技计划项目(2019-JYJ-57);西南医科大学校级科研项目(2021ZKQN066)

**通信作者:**江飞, E-mail: jfyfyc@swmu.edu.cn

**引用本文:**徐婷婷, 江飞, 蒋小琴, 等.  $^{68}\text{Ga}$ -citrate对软组织感染PET-CT显像基因表达分子机制与验证[J].西南医科大学学报, 2024, 47(1): 68-74. DOI: 10.3969/j.issn.2096-3351.2023.06.014

ter  $^{68}\text{Ga}$ -citrate or  $^{68}\text{GaCl}_3$  injection intravenously ( $F = 13.77, P < 0.01$ ).  $^{68}\text{Ga}$ -citrate apparently localized at infected sites ( $\text{SUV}_{\text{max}} = 3.87 \pm 0.32$ ) while the imaging agent rarely localized at sterile sites ( $\text{SUV}_{\text{max}} = 0.31 \pm 0.13$ ) and there was a significant difference between both ( $t$  test,  $P < 0.01$ ). For the case of mMATE1 blocked, the localization of imaging agent at the infected site after blocking was obviously reduced ( $\text{SUV}_{\text{max}} = 1.62 \pm 1.03$ ) and there was a significant difference comparing with the unblocked infected sites ( $t$  test,  $P < 0.05$ ). **Conclusion** *Tfrc*, *Trf* and *Tif* genes were highly expressed at the infected sites associated with  $^{68}\text{Ga}$ -citrate PET-CT imaging of soft tissue infections in mice caused by *Staphylococcus aureus*. The mMATE1 transporter may be involved in the  $^{68}\text{Ga}$ -citrate PET-CT imaging of soft tissue infections.

**【Key words】** Gene expression;  $^{68}\text{Ga}$ -citrate Infection; PET-CT imaging; mMATE1

感染病灶迅速准确的定性及定位诊断对感染患者的临床正确处置至关重要。放射性核素显像是实现感染病灶早期诊断的重要手段之一<sup>[1]</sup>。正电子核素  $^{68}\text{Ga}$  与 citrate 标记制成显像剂成功应用于各类疾病,包括各种感染的 PET-CT 显像<sup>[2-16]</sup>,但  $^{68}\text{Ga}$ -citrate 炎症显像机制并未完全清楚。在对软组织感染进行显像时,  $^{68}\text{Ga}$  在脓肿处摄取明显<sup>[17]</sup>,而有研究证实尾静脉注射  $^{68}\text{GaCl}_3$  后在软组织感染处几乎没有  $^{68}\text{Ga}$  摄取<sup>[18]</sup>,这说明了柠檬酸在  $^{68}\text{Ga}$ -citrate 显像的分子机制中可能发挥了一定的作用。本研究首次用荧光定量 PCR 调查感染小鼠  $^{68}\text{Ga}$ -citrate 炎症显像机制中相关转铁蛋白 TF 基因 *Trf*、转铁蛋白受体 TFRC 基因 *Tfrc* 和乳铁蛋白 TLF 基因 *Tif* 的表达,同时鉴定 mMATE1 转运子基因 *Slc47a1* 的表达,结合阻断实验和 PET-CT 显像,探讨  $^{68}\text{Ga}$ -citrate 感染显像的可能机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料、试剂和设备

$^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$  发生器购自德国 ITG (Isotope Technologies Garching GmbH) 公司。用 0.05 M 超纯 HCl 洗脱发生器获得  $^{68}\text{GaCl}_3$ 。胰蛋白胨大豆肉汤购自北京酷来博科技有限公司,胰蛋白胨大豆琼脂购自北京百奥莱博科技有限公司,2-(膦酰基甲基)戊二酸(2-PMPA),乙胺嘧啶和柠檬酸钠购自阿拉丁(上海)试剂有限公司,ITLC-SG 薄层层析纸购自 GE 公司;耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 ATCC43300 购自北纳创联生物科技有限公司;CRC-55tRxing 放射性核素活度计购自 Capintec 公司。

### 1.2 实验动物

7周 SPF 级 ICR 雄性小鼠 27 只,购自成都达硕实验动物有限公司。本实验经西南医科大学实验动物伦理委员会批准。

### 1.3 $^{68}\text{Ga}$ 标记柠檬酸与检测

先配制 0.1 M 的柠檬酸钠。用 4 mL 0.05 M HCl 淋洗  $^{68}\text{Ge}-^{68}\text{Ga}$  发生器,取中间 2 mL;按 1 mCi  $^{68}\text{Ga}$ : 100  $\mu\text{L}$  0.1 M 柠檬酸钠的比例混合反应液,加入无菌水至 500  $\mu\text{L}$ ,常温下反应 20 min;过除菌滤膜(Merck, vented Millex-GS, 0.22  $\mu\text{m}$ )。

纸层析 TLC 检测标记率。使用 ITLC-SG 为固定

相,标记产物点样后,以甲醇:1 M 醋酸钠(1:1, v/v) 为流动相鉴定标记产物的放射性化学纯度。

### 1.4 炎症小鼠模型的建立与取样

取活化后的金黄色葡萄球菌至新的 NB 肉汁培养基中,37  $^{\circ}\text{C}$  200 rpm 震荡培养过夜,再取培养后的金黄色葡萄球菌至新的 NB 中 37  $^{\circ}\text{C}$  200 rpm 震荡培养 2 h,用 PBS 缓冲液重悬至  $\text{OD}_{600} = 0.6$ 。取金黄色葡萄球菌  $5 \times 10^5$  cfu(菌落形成单位),用胰岛素注射至左腿腓肠肌处,注射后分别在 0、1、12 和 96 h 时间点用手术刀取注射处或感染处组织,液氮速冻,-80  $^{\circ}\text{C}$  保存备用。

### 1.5 RNA 提取、反转录成 cDNA、PCR 检测和实时荧光定量 PCR

用实时荧光定量 PCR 鉴定基因 *Trfc*、*Trf*、*Tif*、*Slc47a3* 和 *SLC3A5* 的表达。TFRC 是转铁蛋白受体,结合 Fe 的转铁蛋白 TF 会和转铁蛋白受体结合,通过细胞内化进入到细胞中<sup>[19]</sup>。 $^{68}\text{Ga}$ -citrate 通过尾静脉注射进入小鼠体内后,作为 Fe 的类似物  $^{68}\text{Ga}$  会和 TF 以及乳铁蛋白 TLF 结合<sup>[6,8-9]</sup>,多药及毒性化合物外排转运子 1 (multidrug and toxin extrusion1, MATE1) 可能参与转运柠檬酸的外排<sup>[19-20]</sup>,预计 TF 基因 *Trf*、TLF 基因 *Tif* 表达量会增高,因而转铁蛋白受体基因表达会增高,小鼠 mMATE1 基因 *Slc47a1* 表达量也会增高,NaCT 是  $\text{Na}^+$  耦联的柠檬酸内向转运子<sup>[20]</sup>,选用此转运子基因 *SLC13A5* 作为基因 *Slc47a1* 的阴性对照。

按照 RNeasy MicroKit 试剂盒(RNA 微量提取试剂盒, QIAGEN, Germany)提供的方法提取 RNA。使用 Nano Photometer 分光光度计(implencn, USA)测定 RNA 纯度和浓度,用变性琼脂糖凝胶电泳测定 RNA 的完整性。

使用强效 SYBR Green Cells-to-CT™ 试剂盒(ThermoFisher)反转录所取组织的 RNA,使用 1  $\mu\text{g}$  RNA 和 Oligo(dT) 反转录成 cDNA,对 cDNA 用 *acta $\alpha$*  基因进行检测,PCR 程序为 95  $^{\circ}\text{C}$  预变性 3 min;然后 95  $^{\circ}\text{C}$  1 min, 53  $^{\circ}\text{C}$  30 s, 72  $^{\circ}\text{C}$  30 s, 30 个循环;最后 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 5 min。引物为:F:ATCTTCCGCCTTAATACT,R:GCCTTCATACATCAAGTT。按照试剂盒提供的方法荧光定量 PCR 测定 *Slc47a1*、*Tfrc*、*Trf*、*SLC13A5* 和 *Tif* 基因的表达,以小鼠肌动蛋白基因 *acta $\alpha$*  为内参基因。荧光定量 PCR 程序为:93  $^{\circ}\text{C}$  预变性 2 min;然后 93  $^{\circ}\text{C}$  1 min, 55  $^{\circ}\text{C}$  1 min,

72 °C 1 min, 40个循环;最后 72 °C延伸 7 min。各基因引物为:

*Slc47a1*: F: AATTCGGCTGTCTCTCAC  
R: AAGATCCGTCATCATAATTTCTC  
*Tfrc*: F: AGGGAAATCAATGATCGTATTATG  
R: TGTCGGAAAGGAGACTCT  
*Trf*: F: GAGTACATGCAATCTGTC  
R: TTTAATGTTTGTGGAAAGTC  
*Tjf*: F: CTCCCAACAGCAAAGAGA  
R: CAACATTTCTGCCTTCT  
*SLC13A5*: F: TTGCCTACGGACACCTCAG  
R: AGGCTGGCAGGACAAGAA  
*Actaα*: F: GCCTTCATACATCAAGTT  
R: AGCCCTCATAGATAGGCACG

### 1.6 炎症模型和阻断实验小鼠的PET-CT显像

取金黄色葡萄球菌  $5 \times 10^5$  cfu 注射至ICR小鼠的左后腿处, 4 d后形成脓肿<sup>[17-18]</sup>。形成脓肿 1 d后, 尾静脉注射  $^{68}\text{Ga}$ -citrate 至炎症小鼠, 使用西门子 Inveon MM Gantry STDCT PETCT 60 min后行PET/CT显像; 采用相同方法, 以  $^{68}\text{GaCl}_3$  作为  $^{68}\text{Ga}$ -citrate 的对照, 将  $^{68}\text{GaCl}_3$  注射至炎症小鼠行PET/CT显像; 以正常小鼠作为炎症小鼠的对照, 将  $^{68}\text{Ga}$ -citrate 注射至正常小鼠行PET/CT显像。阻断实验中, mMATE1 阻断剂乙胺嘧啶溶于体积比为 90:5:5 的生理盐水、乙醇和 Tween80 溶液中, 通过尾静脉按每只炎症小鼠 20  $\mu\text{mol}/\text{kg}$  的量注入乙胺嘧啶, 1 d后注入  $^{68}\text{Ga}$ -citrate (15 MBq), 60 min后行PET/CT显像。用 mMATE1 非阻断剂 2-PMPA 作

为对照, 将 2-PMPA 溶于生理盐水中, 通过尾静脉按每只炎症小鼠 20  $\mu\text{mol}/\text{kg}$  的量注入 2-PMPA, 1 d后注入  $^{68}\text{Ga}$ -citrate (15 MBq), 60 min后行PET/CT显像。总共 5 组实验, 每组实验的小鼠数量为 3, 在同一天进行。使用西门子 Inveon Research Workplace 分析软件通过感兴趣区计算感染损伤部位、对照组织、心脏、膀胱的 SUV<sub>max</sub>。

### 1.7 统计学分析

使用 IBM SPSS 21.0 和 GraphPad Prism 8.0 进行数据分析。数据表示为均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ), 两个样本均数比较采用 *t* 检验, 多个样本均数比较采用单因素方差分析 (one-way ANOVA), 两两比较采用 LSD 法, *P* < 0.05 表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 $^{68}\text{Ga}$ 标记柠檬酸和放射化学纯度测定

用洗脱下来较高浓度的  $^{68}\text{Ga}$  (中间 2 mL) 标记柠檬酸, 室温下反应 20 min。以 ITLC-SG 为固定相, 甲醇: 醋酸钠 (1:1, v/v) 为流动相进行薄层层析分析测定放射化学纯度。结果表明柠檬酸的  $^{68}\text{Ga}$  的标记率达到 99%,  $^{68}\text{Ga}$ -citrate 在前沿 30 mm, 保留分数 (retention fraction) Rf = 1, 见图 1A, 而直接洗脱的  $^{68}\text{Ga}$  在前沿 10 mm, Rf 值为 0.3, 见图 1B。标记结果表明从  $^{68}\text{Ge} / ^{68}\text{Ga}$  发生器上直接洗脱下来的  $^{68}\text{Ga}$  在室温下就可以直接标记柠檬酸。放化纯和产率都比较高, 且只需过除菌滤膜, 无需进行其它处理。

### 2.2 小鼠感染组织的 RNA 提取与反转录

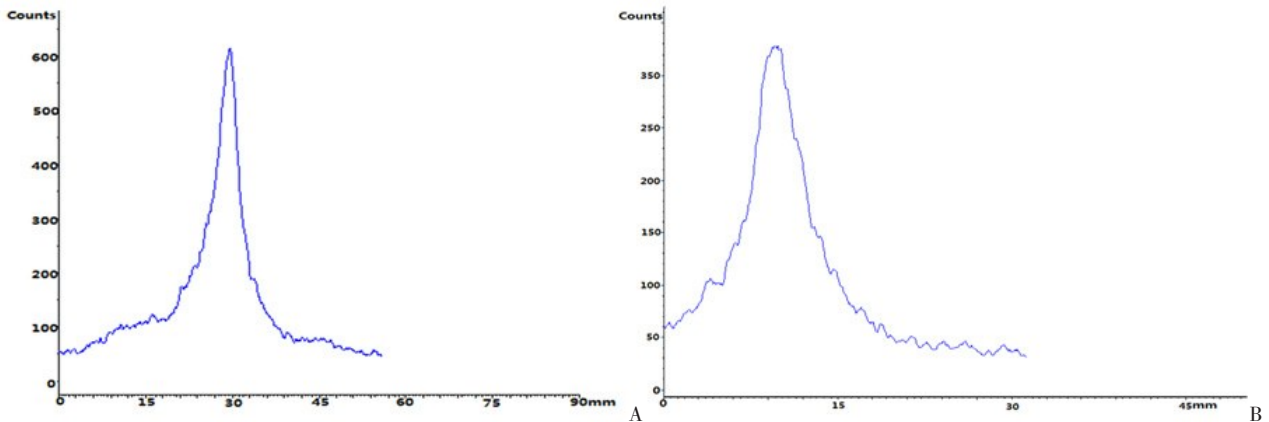


图 1  $^{68}\text{Ga}$ -citrate 放射化学纯度测定  
Figure 1 Radiochemical purity of  $^{68}\text{Ga}$ -citrate

注: A:  $^{68}\text{Ga}$ -citrate Rf = 1, 纯度为 98%; B: 游离  $^{68}\text{Ga}$  的 Rf = 0.3, 原点在 0 mm, 前沿在 30 mm, 固定相为 ITLC-SG, 流动相为甲醇: 1M 醋酸钠 = 1:1 (v:v)。

用金黄色葡萄球菌感染小鼠左后腿, 分别在 0、1、12 和 96 h 取样, 用 RNeasy MicroKit 试剂盒提取小鼠感染组织的 RNA, 分光光度计测得所提 RNA 的 OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 的比值均在 1.9 ~ 2.2 之间, OD<sub>260</sub>/OD<sub>230</sub> 的比值均

在 2.0 ~ 2.3 之间, 纯度较好, 符合要求。变性琼脂糖凝胶电泳检测完整度表明 RNA 3 个条带清晰可见, 18S 条带亮度约为 28S 条带的 1/2, 因而 RNA 完整度较好, 见图 2A。取 1  $\mu\text{g}$  RNA 反转录成 cDNA, 用 actin 肌动蛋白

基因 *actaα* 检测 cDNA, PCR 扩增的条带约为 296 bp, 结果符合预期, 因而 cDNA 可以用于下游的荧光定量 PCR 实验, 见图 2B。

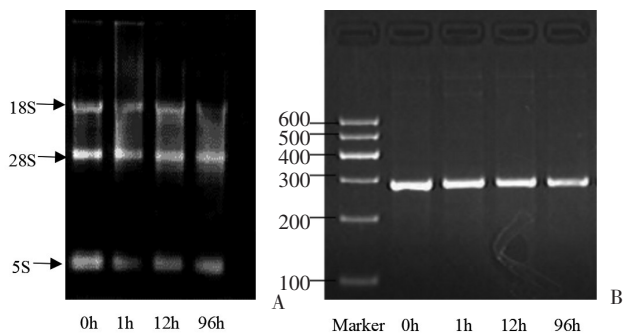


图2 RNA检测完整性和cDNA检测

Figure 2 RNA and cDNA test

注:A:RNA变性琼脂糖凝胶电泳;B:cDNA的PCR检测。

### 2.3 <sup>68</sup>Ga-citrate PET-CT 炎症显像机制相关基因的实时荧光定量PCR检测

用金黄色葡萄球菌注射小鼠, 在不同时间点取样(方法 1.4), 对<sup>68</sup>Ga-citrate PET-CT 炎症显像机制中相关基因 *Trf*、*Ttf*、*Tfrc* 和 mMATE1 转运子基因 *Slc47a1* 在

感染处的表达量用实时荧光定量PCR进行鉴定。*Tfrc* 基因在 1 h 时间点的表达量最高(1 091.36 ± 30.76), 该基因在 0 h 时间点表达量也很高(290.84 ± 10.62), 两者有极显著性差异( $t = 52.08; P < 0.01$ ), 见图 3A。其它预计表达量增加的 *Trf* 基因和 *Ttf* 基因在感染诱导的后期高表达, *Trf* 在感染诱导 96 h 时高表达(57.21 ± 11.62), 而 *Ttf* 在感染诱导的 12 h 即开始高表达(43.03 ± 6.8), 见图 3B, 表达量与各自的 0 h 小时时间点相比均有极显著性差异( $t = 35.35, t = 12.05, P < 0.01$ ), 与预期的也比较相符。而 mMATE1 基因 *Slc47a1* 的表达量在 1 h 时也增强(28.79 ± 2.16), 与 0 h 时间点表达量(8.21 ± 1.23)相比有极显著差异( $t = 8.22, P < 0.01$ ), 与 Na<sup>+</sup> 耦联的柠檬酸内向转运子 NaCT 基因表达量相比也有极显著的差异(1.67 ± 0.51,  $t = 8.22, P < 0.01$ ) (图 3B)。NaCT 基因 *SLC13A5* 在所有时间点都低表达, 受感染诱导的基因表达都有一个特点, 即转运子基因在感染诱导的初期表达, 而非转运子基因 *Trf* 和 *Ttf* 在感染后期诱导表达(图 3)。

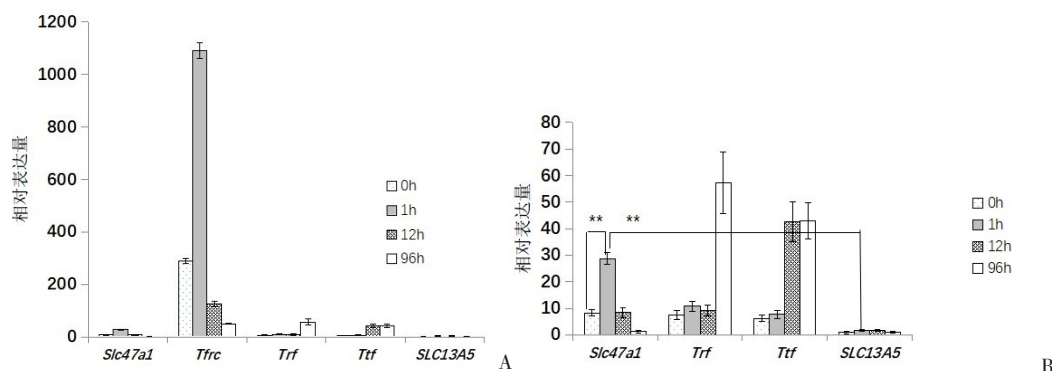


图3 荧光定量PCR鉴定<sup>68</sup>Ga-citrate炎症显像机制相关基因表达

Figure 3 Identification of related gene expression for <sup>68</sup>Ga-citrate inflammation imaging using real-time PCR

注:A:real-time PCR 鉴定 *Slc47a1*、*Tfrc*、*Trf*、*Ttf* 和 *SLC13A5* 基因的相对表达;B:去除 TFRC 后的相对基因表达, 内参基因为肌动蛋白基因 *actaα*, \*\*表示 *Slc47a1* 1 h 与 0 h 基因表达比较或者 *Slc47a1* 1 h 与同时时间点的 *SLC13A5* 表达比较,  $P < 0.01$ 。

### 2.4 PET-CT 对 mMATE1 转运子功能的验证

为了对 mMATE1 转运子在感染中可能的功能进行验证, 按照方法 1.6 进行各处理组的 PET-CT 显像。如图 4 所示, 方差分析表明各处理方式对尾静脉注射<sup>68</sup>Ga-citrate 后<sup>68</sup>Ga 在小鼠左后腿相应部位的聚集有显著性影响( $F$ -检验,  $P < 0.01$ ), 见表 1, 在炎症小鼠中可见在左后腿注射部位有明显的<sup>68</sup>Ga 聚集(图 4A, 图 5, 表 1), 在正常小鼠相应部位未见明显的<sup>68</sup>Ga 聚集(图 4E, 图 5, 表 1), 二者差异具有统计学意义(表 1), 未注射的右腿也未见明显的<sup>68</sup>Ga 聚集(图 4E, 图 5, 表 1), 除了左后腿处理部位外, 炎症小鼠中<sup>68</sup>Ga 主要在膀胱聚集, 而正常小鼠中可见<sup>68</sup>Ga 主要在心脏和膀胱处聚集(图 4E, 表 1)。用 mMATE1 转运子抑制剂乙胺嘧啶阻断炎症小鼠 mMATE1 转运子后行 PET-CT 显像, 可以观察到<sup>68</sup>Ga 在注射部位聚集明显减少(图 4 B, 表 1), 与

未阻断炎症小鼠(图 4A)相比有显著性差异(图 4 B, 表 1), 且<sup>68</sup>Ga 在心脏部位聚集明显增多(图 4 A、4B, 表 1)。而用类似的方法, 用 PSMA 阻断剂 2-PMPA 处理感染小鼠, 行 PET-CT 显像未见<sup>68</sup>Ga 明显减少, 与乙胺嘧啶阻断相比有显著性差异, 与未阻断炎症小鼠相比没有显著性差异(图 4B、4C, 图 5, 表 1), 且二者在心脏和膀胱处的聚焦也没有显著性差异(图 4A、4C, 表 1)。用<sup>68</sup>GaCl<sub>3</sub> 尾静脉注射炎症小鼠在感染部位并未见明显的<sup>68</sup>Ga 聚集, <sup>68</sup>Ga 主要在心脏部位聚集(图 4D, 表 1), 所以可以判断炎症小鼠模型构建成功, <sup>68</sup>Ga-citrate 对金黄色葡萄球菌诱导的感染显像效果较好, GaCl<sub>3</sub> 对金黄色葡萄球菌诱导的感染显像效果较差, mMATE1 转运子对注射<sup>68</sup>Ga-citrate 显像剂后造成的<sup>68</sup>Ga 在感染部位的富集可能发挥了一定的作用。

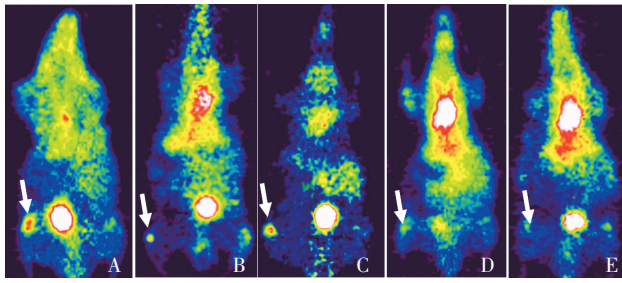
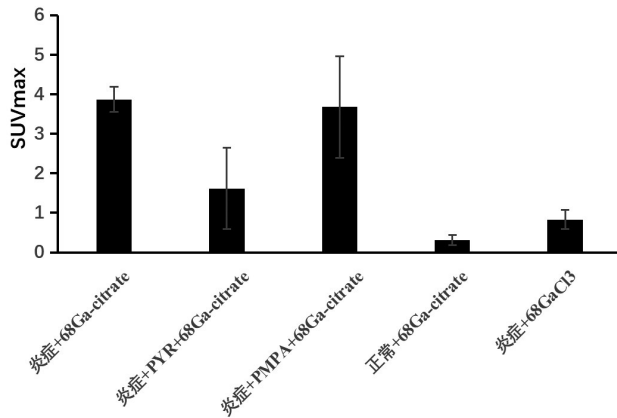


图4 炎症小鼠和正常小鼠的PET-CT显像

Figure 4 PET-CT imaging of healthy mice and inflamed mice

注:注射 $^{68}\text{Ga}$ 标记柠檬酸至炎症小鼠、炎症小鼠加乙胺嘧啶处理、炎症小鼠加2-PMPA处理和正常小鼠行PET-CT显像,用注射 $^{68}\text{GaCl}_3$ 至炎症小鼠行PET-CT显像作为对照(各组实验重复3次)。白色箭头所指部位为脓肿形成部位或对照部位。A:注射 $^{68}\text{Ga}$ -citrate至炎症小鼠行PET-CT显像;B:注射 $^{68}\text{Ga}$ -citrate至炎症小鼠加乙胺嘧啶处理行PET-CT显像;C:注射 $^{68}\text{Ga}$ -citrate至炎症小鼠加2-PMPA处理行PET-CT显像;D:注射 $^{68}\text{GaCl}_3$ 至炎症小鼠进行PET-CT显像;E:注射 $^{68}\text{Ga}$ -citrate至正常小鼠进行PET-CT显像。

图5 注射 $^{68}\text{Ga}$ -citrate或 $^{68}\text{GaCl}_3$ 至炎症小鼠或正常小鼠各处理组左后腿相应部位SUVmax值Figure 5 SUVmax value of left hind legs in respective treatment after injection of  $^{68}\text{Ga}$ -citrate or  $^{68}\text{GaCl}_3$  into inflammatory or normal mice表1 尾静脉注射 $^{68}\text{Ga}$ -citrate或 $^{68}\text{GaCl}_3$ 各处理小鼠相应部位的SUVmax( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )Table 1 SUVmax of corresponding parts or organs from multiple mice receiving  $^{68}\text{Ga}$ -citrate or  $^{68}\text{GaCl}_3$  ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

分组(SUVmax)	左腿炎症	正常右腿	心脏	膀胱
炎症小鼠+ $^{68}\text{Ga}$ -citrate	3.87 ± 0.32	0.36 ± 0.08	1.68 ± 0.89	9.28 ± 2.12
炎症小鼠+PYR+ $^{68}\text{Ga}$ -citrate	1.62 ± 1.03 <sup>a</sup>	0.22 ± 0.13	4.17 ± 1.27 <sup>a</sup>	6.49 ± 1.51 <sup>a</sup>
炎症小鼠+PMPA+ $^{68}\text{Ga}$ -citrate	3.68 ± 1.29 <sup>ab</sup>	0.31 ± 0.21	1.59 ± 0.96 <sup>abc</sup>	9.69 ± 1.25 <sup>ab</sup>
正常小鼠+ $^{68}\text{Ga}$ -citrate	0.31 ± 0.13 <sup>abc</sup>	0.29 ± 0.09	5.18 ± 1.12 <sup>a</sup>	8.16 ± 1.67 <sup>a</sup>
炎症小鼠+ $^{68}\text{GaCl}_3$	0.83 ± 0.24 <sup>abcd</sup>	0.28 ± 0.15	6.12 ± 0.94 <sup>abc</sup>	2.88 ± 0.86 <sup>ab</sup>
F	13.77	3.28	11.51	9.65
P	0.000	0.070	0.001	0.002

注:PYR:乙胺嘧啶;a表示与炎症小鼠+ $^{68}\text{Ga}$ -citrate组比较, $P < 0.05$ ;b表示与炎症小鼠+PYR+ $^{68}\text{Ga}$ -citrate组比较, $P < 0.05$ ;c表示与炎症小鼠+PMPA+ $^{68}\text{Ga}$ -citrate组比较, $P < 0.05$ ;d表示与正常小鼠+ $^{68}\text{Ga}$ -citrate组比较, $P < 0.05$ 。

### 3 讨论

#### 3.1 柠檬酸与 $^{68}\text{Ga}$ -citrate炎症显像机制可能的关系

柠檬酸是一种有机杀菌剂,可对引起干腐病的镰刀菌(*Fusarium sulphureum*)起到抑制作用<sup>[21]</sup>。细菌的生存都需要一个特定的pH,柠檬酸的酸性可以改变细胞内的pH值并影响细菌的正常代谢,同为三羧酸循环中的中间产物琥珀酸具有抑制金黄色葡萄球菌的能力,这暗示了柠檬酸可能也具有抑制金黄色葡萄球菌的能力。柠檬酸具有收缩、增固毛细血管,降低通透性,提高凝血功能及血小板数量的作用,可缩短凝血时间和出血时间,这些功能与炎症反应相反。高粱(*Sorghum bicolor*)在受到铝毒胁迫时,在外排机制中,可由转运子MATE分泌出柠檬酸以络合有毒的铝离子,阻止其进入细胞内从而避免植物根细胞遭受铝毒胁迫<sup>[22]</sup>。人类的hMATE1基因主要在肝和肾中表达,hMATE1是H<sup>+</sup>耦联的电中性转运子,定位在泌尿小管和胆汁小管的腔膜上,介导有毒有机阳离子转运进入尿和胆汁中。小鼠mMATE1基因*Slc47a1*除了在肾和肝上表达外,也在脑神经胶质细胞、毛细血管、胰腺管细胞和膀胱上皮等位置表达,表明mMATE1除了从机体中转运有毒有机阳离子之外,也可能涉及到多种生物学功能<sup>[20]</sup>。因而推测转运子MATE可能转运 $^{68}\text{Ga}$ -citrate,在 $^{68}\text{Ga}$ -citrate的感染显像中发挥了一定的作用。

#### 3.2 $^{68}\text{Ga}$ -citrate的标记及PET-CT显像

$^{68}\text{Ga}$ 的半衰期为68 min,能量为2.92 MeV,具有较高的能量和易定量的特征。 $^{68}\text{Ga}$ 每单位的剂量是 $2.6 \times 10^{-2}$  mSv/MBq,无论是在半衰期、辐射剂量、检测的灵敏度,还是在诊断疾病的广度和潜力上, $^{68}\text{Ga}$ -citrate都要优于 $^{67}\text{Ga}$ -citrate<sup>[3-16]</sup>。 $^{68}\text{Ga}$ 前处理比较繁杂,从 $^{68}\text{Ge}$ - $^{68}\text{Ga}$ 发生器上淋洗下来的 $^{68}\text{Ga}$ 的纯化需要阳离子交换树脂,80%丙酮盐酸去除金属杂质,98%丙酮盐酸纯化和加热煮沸。 $^{68}\text{Ga}$ 的半衰期比较短,其繁杂的纯化过程必然会降低 $^{68}\text{Ga}$ -citrate的产量,王玲等<sup>[17]</sup>用 $^{68}\text{Ga}$ 和柠檬酸钠直接反应,产物过滤膜调pH值至4,结果表明标记产物 $^{68}\text{Ga}$ -citrate能够很好的对金黄色葡萄球菌诱导的感染进行PET-CT显像,且不同时间点的PET-CT显像结果显示脓肿处于75 min摄取显像剂最多,不同时间点的正常Balb/c裸鼠显像结果显示 $^{68}\text{Ga}$ 在膀胱处摄取最多,心脏次之。而本研究中的标记方法也是采用直接标记法,且不用调节pH值,方法更加简单易行,标记产物同样能对金黄色葡萄球菌诱导的感染进行PET-CT显像(图4A)。柠檬酸是三羧酸类化合物,含有三个羧基,酸性较强,柠檬酸电离后的主要存在形式和pH值有关,pH值在7左右时,柠檬酸全部电离成citrate<sup>3-</sup>,容易与 $^{68}\text{Ga}^{3+}$ 形成配位键且不易解离。故本研

究中标记产物没有调节pH值,反应体系的pH值在6左右,恰好是柠檬酸易于络合 $^{68}\text{Ga}^{3+}$ 的酸碱度。

### 3.3 *Tfrc*、*Trf*、*Ttf*和*Slc471*基因在感染处的表达

临床上各炎症显像剂的显像机制已得到部分阐明<sup>[23]</sup>。 $^{67}\text{Ga}/^{68}\text{Ga}$ -citrate作为炎症病灶显像剂在临床应用已有几十年的历史,但其机制并未完全阐明,炎症病灶 $^{67}\text{Ga}/^{68}\text{Ga}$ -citrate显像剂摄取增高机制可能是多种机制的共同作用结果,除了血供增加、血管通透性增加、代谢增高、肿胀导致的病灶回流降低(淋巴及血液回流)之外,还包括转铁蛋白转运和白细胞富集导致的乳铁蛋白在炎症病灶处富集等。当pH值在7.4左右,转铁蛋白TF会与 $\text{Fe}^{3+}$ 结合形成 $\text{Fe-TF}$ 复合体, $\text{Fe-TF}$ 可靶向转铁蛋白受体TFRC,通过细胞内吞作用进入胞内,而在酸性条件下, $\text{Fe}^{3+}$ 会从 $\text{Fe-TF}$ 复合体上解离下来。TFRC在需要大量铁的癌细胞,破骨细胞,激活的淋巴细胞和有核红细胞上高表达。 $^{67}\text{Ga}$ 作为Fe的类似物,在血液中同样会和TF结合,通过TFRC介导的细胞内吞作用在各种实体瘤上富集<sup>[24]</sup>。但也有研究指出 $^{67}\text{Ga-TF}$ 是通过非特异性的结合在肿瘤细胞上富集,而非通过TFRC介导的细胞内吞作用<sup>[25]</sup>。 $^{68}\text{Ga}$ -citrate尾静脉注射炎症小鼠后, $^{68}\text{Ga}$ 会和转铁蛋白TF结合,到达炎症处,由于pH值降低, $^{68}\text{Ga-TF}$ 发生解离, $^{68}\text{Ga}$ 会和结合力更强的乳铁蛋白TLF结合<sup>[23,26-27]</sup>,乳铁蛋白也是转铁蛋白家族中的一员,所有的乳铁蛋白都有相同的铁结合位点,相较于TF,在更低的pH值条件下也能结合Fe。有研究指出 $^{67}\text{Ga}$ 在炎症处的富集是由于迁移到炎症处的白细胞释放的乳铁蛋白结合 $^{67}\text{Ga}$ 造成的<sup>[19]</sup>。故推测TF和TLF对应的基因在炎症处会高表达,而 $^{68}\text{Ga-TF}$ 复合体会结合到转铁蛋白受体TFRC上,进一步推测TFRC基因*Tfrc*在炎症处也会高表达,我们用荧光定量PCR技术鉴定这些基因的表达量,首次从分子水平上证实了这些基因受到感染诱导而高表达。且在上述所有基因中*Tfrc*基因在感染部位受促炎因子诱导表达量最高,且在0h时间点表达量也很高(图3A)这表明了转铁蛋白受体是持家基因,有重要的生物学功能,在感染形成的初期会被诱导大量表达,印证了在感染处转铁蛋白受体TFRC会和 $^{68}\text{Ga-TF}$ 结合,形成 $^{68}\text{Ga-citrate}$ 炎症显像分子机制之一。mMATE1基因*Slc47a1*受感染诱导在1h左右高表达,显著高于同时时间点的NaCT基因*SLC13A5*的表达,这暗示了mMATE1转运子可能参与炎症显像机制。转运子基因在感染初期被诱导,非转运子基因后期被诱导表达的可能原因是转运子随着感染的形成逐渐在感染部位先组装好,感染后期TF和TLF基因被诱导表达,与相应的转运子相互作用,以对感染做出应答。

### 3.4 mMATE1转运子可能参与对感染的应答

人类MATE1基因有两个成员*hMATE1*和*hMATE2*,

*hMATE1*主要在肝、肾和骨骼肌上表达,*hMATE2*主要在肾上表达。小鼠的mMATE1蛋白和人类的hMATE1蛋白序列相似性高达78.1%,表明了小鼠的mMATE1转运子和人类的hMATE1在表达部位和转运特性上都较为相似。mMATE1除了在肝和肾中高表达之外,一个显著的特点就是在导管和腔体的表皮细胞上高表达<sup>[20]</sup>。在有机阳离子被位于肾小管和肝细胞上的有机阳离子转运子(organic cation transporter, OCT)转运进细胞后,mMATE1转运子在糖蛋白的配合下将有机阳离子转运至体外,即mMATE1转运子转运有机阳离子是介导有机阳离子转运出细胞的最后一步<sup>[20]</sup>。本研究首次证实mMATE转运子基因*Slc47a3*受金黄色葡萄球菌感染诱导表达,阻断实验表明mMATE1转运子可能参与感染应答。mMATE1是 $\text{H}^+$ 偶联的反向转运子,感染处pH值降低,这可能为mMATE1转运 $^{68}\text{Ga-citrate}$ 或其它 $^{68}\text{Ga}$ 复合物至感染处提供驱动力。 $^{68}\text{GaCl}_3$ 尾静脉注射进炎症小鼠后,在感染部位 $^{68}\text{Ga}$ 聚集较少,主要积聚在心脏处,这可能说明了 $^{68}\text{GaCl}_3$ 不能作为mMATE1的底物而在感染处聚集。但是和 $^{68}\text{GaCl}_3$ 在未处理部位相比,SUVmax值却有明显差异(图4D,表1,t检验, $P < 0.05$ ),说明血管通透性增加的确是炎症显像机制之一。各处理组中, $^{68}\text{GaCl}_3$ 注射进炎症小鼠体内后主要在心脏中聚焦,而在膀胱中聚集比较少,动态显像也证实了这一点<sup>[18]</sup>,而 $^{68}\text{Ga-citrate}$ 注射进炎症小鼠或正常小鼠体内后在膀胱聚集比较多,说明mMATE1与 $^{68}\text{Ga-citrate}$ 注射进小鼠体内后 $^{68}\text{Ga}$ 在膀胱处聚焦可能有一定的关系。mMATE1在感染处早期被诱导表达后,推测在感染部位组装,具体的组装部位可能在围绕脓腔体壁的细胞膜上,为转运 $^{68}\text{Ga-citrate}$ 或其它有机阳离子做准备。本研究鉴定了SLC13转运子家族成员NaCT的基因*SLC13A5*的表达,与mMATE1不同,NaCT是 $\text{Na}^+$ 耦联的内向的柠檬酸转运子,对pH值敏感。鉴定结果表明NaCT转运子基因*SLC13A5*在任何时间点的表达量都维持在本底水平(图3),可能的原因:一是该转运子的驱动力是 $\text{Na}^+$ ,二是该转运子转运方向是向细胞内,与机体对感染的应答无关。这进一步验证了mMATE1转运子在炎症处可能的功能。阻断实验证实mMATE1被阻断,注射 $^{68}\text{Ga-citrate}$ 后,感染处仍然有相当量的 $^{68}\text{Ga}$ (表1,图5)摄取,这表明mMATE1转运子在感染处可能的功能是炎症显像多种机制之一。综上,我们得出mMATE1转运子在 $^{68}\text{Ga-citrate}$ 炎症显像机制中可能参与的功能是: $^{68}\text{Ga-citrate}$ 注射体内后,部分通过毛细血管内皮连接处渗漏进炎症组织,可能由有机阳离子转运子OCT将其转运至围绕在脓肿的腔体细胞内,再由mMATE1转运子将其转运至脓肿处,对脓肿起到抑制作用或其它生物学功能。

### 3.5 本研究的不足之处

本研究在为荧光定量PCR鉴定相关基因表达进行取样时,前期所设时间点较少,这可能捕捉不到mMATE1基因 *Slc47a1* 或TFRC基因 *Tfrc* 表达的最高值,相较于 *Tfrc*, *Slc47a1* 在前期的最大表达量较小可能与此有关系。另外,没有取每个时间点的未感染组织作为对照,而只用注射后0 h代替未感染组织,也可能有一定的误差。

### 4 结论

本研究首次用荧光定量PCR技术鉴定了与<sup>68</sup>Ga-citrate炎症显像机制密切相关的转铁蛋白受体TFRC基因 *Tfrc*、转铁蛋白TF基因 *Tf*和乳铁蛋白TLF基因 *Tlf* 在感染处的表达,证实了 *Tfrc*、*Tf*、*Tlf*在感染处高表达,多药及毒性化合物外排转运子mMATE1基因 *Slc47a1* 也受细菌感染诱导高表达。阻断实验使用PET-CT技术证实了mMATE1转运子在<sup>68</sup>Ga-citrate炎症显像中可能有一定的功能,即与有机阳离子转运子OCT配合,将<sup>68</sup>Ga-citrate转运至脓肿处行使相应的生物学功能。

### 5 参考文献

- [1] 郑晨曦,袁耿彪. 正电子类炎症显像剂[J]. 科学咨询. 2018, 10:3.
- [2] JØDAL L, AFZELIUS P, ALSTRUP A K O, *et al.* Radiotracers for bone marrow infection imaging[J]. *Molecules*, 2021, 26(11): 3159.
- [3] WANG Z, CAI L, XU T T, *et al.* Comparative evaluation of <sup>68</sup>Ga-citrate PET/CT and <sup>18</sup>F-FDG PET/CT in the diagnosis of type II collagen-induced arthritis in rats[J]. *Contrast Media & Molecular Imaging*, 2019, 2019: 2353658.
- [4] WANG Z, HOU Y, CAI L, *et al.* The evaluation of <sup>68</sup>Ga-citrate PET/CT imaging for dihydroartemisinin in the treatment of rheumatoid arthritis[J]. *Molecular Imaging and Biology*, 2021, 23(1): 30-37.
- [5] ANKRAH A O, LAWAL I O, BOSHOMANE T M G, *et al.* 2019. Comparison of Fluorine (18)-fluorodeoxyglucose and Gallium (68)-citrate PET/CT in patients with tuberculosis[J]. *Nuklearmedizin*. *Nuclear Medicine*, 2019, 58(5): 371-378.
- [6] VORSTER M, MAES A, VAN DE WIELE C, *et al.* <sup>68</sup>Ga-citrate PET/CT in tuberculosis: a pilot study[J]. *Q J Nucl Med Mol Imaging*, 2019, 63(1): 48-55.
- [7] TETIKKURT C, SAYMAN H, DEDEOGLU S E, *et al.* Simultaneous use of FDG-18 and <sup>68</sup>Ga-citrate PET/CT for the differential diagnosis of sarcoidosis and malignant disease[J]. *Monaldi Archives for Chest Disease*, 2020, 90(3):469-472.
- [8] TETIKKURT C, YANARDAG H, SAYMAN B H, *et al.* Diagnostic utility of <sup>68</sup>Ga-citrate and <sup>18</sup>F-FDG PET/CT in sarcoidosis patients[J]. *Monaldi Archives for Chest Disease*, 2020, 90(4): 729-737.
- [9] UĞUR A, GÜLTEKİN A. Physiological animal imaging with <sup>68</sup>Ga-citrate[J]. *Current Radiopharmaceuticals*, 2021, 14(1): 51-56.
- [10] AZIZ G, OSMAN U, AYŞE U, *et al.* <sup>68</sup>Ga-citrate positron emission tomography/computed tomography findings in an experimental model of acute appendicitis in rabbits[J]. *Hellenic Journal of Nuclear Medicine*, 2020, 23(3):296-303.
- [11] MARUK A Y, RAGULIN V V, MITROFANOV I A, *et al.* Synthesis, complexation properties, and evaluation of new aminodiphosphonic acids as vector molecules for <sup>68</sup>Ga radiopharmaceuticals[J]. *Molecules*, 2021, 26(8): 2357.
- [12] ALI S K, AIT-MOHAND S, DUMULON-PERREAU V, *et al.* [<sup>68</sup>Ga]Ga-4HMSA a promising new PET tracer for imaging inflammation. *EJNMMI Research*. 2021, 11:114.
- [13] NOROOZBEIGI N, DABBAGH V R, PAKDIN PARIZI Z, *et al.* Malignant external otitis in a patient with diabetes mellitus[J]. *Clinical Nuclear Medicine*, 2022, 47(3): e287-e288.
- [14] XU T T, CHEN Y. Research progress of [<sup>68</sup>Ga]citrate PET's utility in infection and inflammation imaging: a review[J]. *Molecular Imaging and Biology*, 2020, 22(1): 22-32.
- [15] TSENG J R, CHANG Y H, YANG L Y, *et al.* Potential usefulness of <sup>68</sup>Ga-citrate PET/CT in detecting infected lower limb prostheses[J]. *EJNMMI Research*, 2019, 9:2.
- [16] LANKINEN P, NOPONEN T, AUTIO A, *et al.* A Comparative <sup>68</sup>Ga-Citrate and <sup>68</sup>Ga-Chloride PET/CT Imaging of Staphylococcus aureus Osteomyelitis in the Rat Tibia[J]. *Contrast Media & Molecular Imaging*. 2018, 2018:9892604.
- [17] 王玲,蔡炯,朱朝晖,等. <sup>68</sup>Ga枸橼酸制备及炎症显像[J]. *医学研究杂志*. 2014, 43(12):67-70.
- [18] KUMAR V, BODDETI D K, EVANS S G, *et al.* Potential use of <sup>68</sup>Ga-apo-transferrin as a PET imaging agent for detecting Staphylococcus aureus infection[J]. *Nuclear Medicine and Biology*, 2011, 38(3): 393-398.
- [19] OU A T, ZHANG J X, FANG Y F, *et al.* Disulfiram-loaded lactoferrin nanoparticles for treating inflammatory diseases[J]. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2021, 42(11): 1913-1920.
- [20] HIASA M, MATSUMOTO T, KOMATSU T, *et al.* 2006. Wide variety of locations for rodent MATE1, a transporter protein that mediates the final excretion step for toxic organic cations[J]. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 2006, 291(4): C678-C686.
- [21] 张庆春,李永才,毕阳,等. 柠檬酸处理对马铃薯干腐病的抑制作用及防御酶活性的影响[J]. *甘肃农业大学学报*, 2009, 44(3): 146-150.
- [22] MAGALHAES J V, LIU J P, GUIMARÃES C T, *et al.* A gene in the multidrug and toxic compound extrusion (MATE) family confers aluminum tolerance in sorghum[J]. *Nature Genetics*, 2007, 39(9): 1156-1161.
- [23] GOLDSMITH S J, VALLABHAJOSULA S. Clinically proven radiopharmaceuticals for infection imaging: mechanisms and applications[J]. *Seminars in Nuclear Medicine*, 2009, 39(1): 2-10.
- [24] IZQUIERDO-SÁNCHEZ V, MUÑIZ-HERNÁNDEZ S, VÁZQUEZ-BECERRA H, *et al.* Biodistribution and tumor uptake of <sup>67</sup>Ga-nimotuzumab in a malignant pleural mesothelioma xenograft[J]. *Molecules*, 2018, 23(12): 3138.
- [25] BEHR S C, VILLANUEVA-MEYER J E, LI Y, *et al.* Targeting iron metabolism in high-grade glioma with <sup>68</sup>Ga-citrate PET/MR[J]. *JCI Insight*, 2018, 3(21):e93999.
- [26] EL-MAOUCHE D, SADOWSKI S M, PAPADAKIS G Z, *et al.* <sup>68</sup>Ga-DOTATATE for tumor localization in tumor-induced osteomalacia[J]. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2016, 101(10): 3575-3581.
- [27] JIANG XQ, WANG MZ. Progress on Potential Radiopharmaceuticals-Gallium Complexes[J]. *Chemical Reagents*. 2014, 8:705-712.

(利益冲突:无)

(收稿日期:2022-08-19;修回日期:2023-06-25)