

¹³¹I 标记抗 CD20 单克隆抗体在荷瘤裸鼠体内的放射免疫显像

左 强, 张军一, 陈锦章, 罗荣城

Radioimmunoimaging of Anti-CD20 Monoclonal Antibody Labeled with ¹³¹I in Nude Mice Xenografted with Raji Cells Tumor in Vivo

ZUO Qiang, ZHANG Jun-yi, CHEN Jin-zhang, LUO Rong-cheng

Cancer Center, Nanfang Hospital, The Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

Corresponding Author: LUO Rong-cheng, E-mail: Lrc@nfhoc.com

Abstract **Objective** To exploit the radioimmunoimaging of iodine-131 labeled anti-CD20McAb with intratumor injection (IT) in nude mice xenografted with raji cells tumor. **Methods** Iodine-131 labeled anti-CD20McAb by iodogen method. The mice were imaged by SPECT and killed following on one, three, seven and fifteen day after injection. The injected dose/gram tissue (%ID/g) percentages of different organs, including tumor, blood, et al were measured by calibrator and calculated. Dosimetry of cumulate absorption in tumor was performed using MIRD formula. **Results** ¹³¹I anti-CD20McAb IT group showed clearer images in tumors than intraperitoneal injection (IP) and ¹³¹I IgG IT control groups. The %ID/g in tumor in ¹³¹I anti-CD20McAb IT group were 1.4~17 fold higher than that in IP group and 1.7~3.7 in IgG IT group, and the cumulate absorbed dose were 6.0~12.6 and 1.5~2.5 fold higher than the other two groups. **Conclusion** Tumor could have the highest absorbed radioactive drugs with intratumor injection of ¹³¹I anti-CD20McAb, which offered the experimental evidence for the next radioimmunotherapy.

Key words: Iodine-131; anti-CD20 monoclonal antibody; Non-Hodgkin's lymphoma (NHL); radioimmunoimaging

摘要:目的 探讨¹³¹I 标记抗 CD20 单克隆抗体在荷瘤裸鼠体内的放射免疫显像。方法 ¹³¹I 标记物的标记采用 IODO-GEN 碘化标记;注射标记物后第 1、3、7、15 天将荷瘤裸鼠 SPECT 显像后活杀,定标器测量并计算瘤、血等 12 种器官或组织的 %ID/g 值,根据 MIRD 委员会推荐的公式计算肿瘤累积吸收剂量。结果 ¹³¹I 标记抗 CD20 单克隆抗体瘤内注射组的 SPECT 显像结果优于腹腔注射组和¹³¹I IgG 瘤内注射组,该组肿瘤 %ID/g 值在给药后第 1、3 和 7 天分别为后两组的 1.4~17 倍和 1.7~3.7 倍,肿瘤累及吸收剂量在给药后第 3、7 和 15 天分别为后两组的 1.5~2.5 倍和 6.0~12.6 倍。结论 ¹³¹I 标记抗 CD20 单克隆抗体经瘤内途径给药可以使肿瘤获得最高的放射性药物摄取率,为下一步运用该途径进行放射免疫治疗提供了实验依据。

关键词:¹³¹I; 抗 CD20 单克隆抗体;非霍奇金淋巴瘤;放射免疫显像

中图分类号:R817.4; R733 文献标识码:A 文章编号:1000-8578(2007)07-0473-04

0 引言

¹³¹I 因来源方便、价格低廉、易于标记,因此成为应用最广泛的放射性核素,可同时用于治疗 and 显像。研究表明,CD20 抗原较特异地表达于 90%~95% 的 B 细胞淋巴瘤细胞表面^[1]。本实验对¹³¹I 标记抗 CD20 单克隆抗体的标记技术及其在荷人 Bur-

kitt's 淋巴瘤裸鼠体内的放射免疫显像进行了研究,现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料

抗 CD20 单克隆抗体由罗氏公司提供,鼠 IgG 为 SIGMA 公司产品,Na¹³¹I 溶液购自成都中核高通同位素公司,人 Burkitt's 淋巴瘤细胞系 Raji 细胞由上海细胞研究所提供。

1.2 抗体标记及标记物活性测定

抗 CD20 单克隆抗体和鼠 IgG 与¹³¹I 的标记均

收稿日期:2006-06-26;修回日期:2006-09-11

作者单位:510515 广州,南方医科大学南方医院肿瘤中心

通讯作者:罗荣城, E-mail: Lrc@nfhoc.com

作者简介:左强(1975-),男,硕士,主治医师,主要从事肿瘤综合治疗与放射免疫治疗的研究

采用 IODO-GEN 碘化标记,抗体重量(mg)与¹³¹I放射性强度(mci)比为 1:10,纸层析法测定标记物标记率和放化纯度,过量肿瘤细胞抗原结合法测量标记物免疫活性。

1.3 实验动物模型

BALB/C 裸鼠由南方医科大学动物实验研究所提供,将处于对数生长期的 Raji 细胞悬液,按 6~7 × 10⁶/只,接种于裸鼠右臀部皮下。

1.4 实验分组

按肿瘤体积大小将荷瘤裸鼠随机分为 4 大组,16 小组,4 只/小组。第 1 组瘤内注射¹³¹I F IgG,第 2 组瘤内注射¹³¹I 与抗 CD20 单抗混合液,第 3 组瘤内注射¹³¹I F anti-CD20 McAb,第 4 组腹腔注射¹³¹I F anti-CD20 McAb。

1.5 体内动态分布研究

按预定方案分别注入含有¹³¹I 标记物,注射后第 1、3、7、15 天 SPECT 显像后活杀,摘眼球取血,再取肿瘤、肝、脾、肾、心、肺、胃、大肠、小肠、对侧大腿肌肉及股骨等组织,电子天平称重,在定标器上测定各组织的放射性活度(cpm),计算各组织的比放射性活度(cpm/g)和 %ID/g 值(每克组织摄入注入量的百分数)。

$$\%ID/g = \frac{\text{组织的比放射性活度}(cpm/g)}{\text{注入标记物的放射性活度}(cpm)}$$

1.6 累积吸收剂量计算

根据标记抗体在荷瘤裸鼠体内的动态分布 %ID/g 值,按照 MIRD 委员会推荐的公式计算肿瘤组织累积吸收剂量^[2]。以注射后活杀时间为自变

量,%ID/g 值为因变量,对 4 组分别进行曲线拟合,建立曲线方程,运用积分的方法计算曲线下面积,相应值乘以 0.5 μCi (因注入量的 1% 为 0.5 μCi) 即得 A_h/m_k 值(μCi · h/g),代入下列公式计算累积剂量(Gy)。

$$D_k = A_h / m_k [\int_0^t \lambda_k e^{-\lambda_k t} dt + \int_0^t \lambda_h e^{-\lambda_h t} dt]$$

式中:D_k:靶器官 k 吸收剂量(rad);A_h:源器官累积活度(μCi · h);m_k:靶器官 k 的质量(g); ∫₀^t λ_k e^{-λ_kt} dt + ∫₀^t λ_h e^{-λ_ht} dt:给定放射性核素和器官下单位累积放射性活度在单位时间所致的吸收剂量,本实验¹³¹I 为 0.421 g · rad/μCi · h。

1.7 统计学方法

使用 SPSS 10.0 统计软件,采用方差分析。

2 结果

2.1 ¹³¹I 标记物的标记率、放化纯度及免疫活性标记物标记参数见表 1。

2.2 荷瘤裸鼠注入不同¹³¹I 标记物后肿瘤和各组织 %ID/g 值

¹³¹I F anti-CD20 McAb 瘤内注射后各时间点的肿瘤 %ID/g 值均显著高于腹腔注射组和¹³¹I F IgG 瘤内注射组,分别为后两组的 1.4~17 倍和 1.7~3.7 倍;各非瘤组织和器官的 %ID/g 值,除个别外(如第 15 天心)均小于后两组。¹³¹I F IgG 瘤内注射组肿瘤 %ID/g 值在第 1 天显著高于¹³¹I F anti-CD20 McAb 腹腔注射组(P < 0.05),但第 3 天开始已降至较低水平,与后者比较无显著性差异(P > 0.05),见表 2。¹³¹I

表 1 ¹³¹I 标记物标记参数

标记物	标记率 (%)	放化纯度 (%)	细胞结合率 (%)	比放射性活度	
				体积 [MBq(mCi)/ml]	重量 [MBq(mCi)/mg]
¹³¹ I F anti-CD20 cAb	72.4	95.2	28.5	170 (4.6)	244 (6.6)
¹³¹ I F IgG	64.0	95.9	6.37	48 (1.3)	323 (8.7)

表 2 不同¹³¹I 标记物经不同途径注入后不同天数各器官或组织的 %ID/g 值

器官或组织	%ID/g 值										
	第 1 天			第 3 天			第 7 天			第 15 天	
	IgG	IT	IP	IgG	IT	IP	IgG	IT	IP	IT	IP
瘤	42.2	84.0	5.1	8.9	33.1	7.7	6.2	10.6	5.5	2.7	1.9
血	11.3	10.6	17.0	11.7	4.8	13.7	6.1	5.0	7.3	1.7	2.1
肌肉	1.6	0.8	1.7	0.9	0.5	1.7	0.5	0.5	0.6	1.0	0.2
心	2.4	2.6	3.5	1.9	1.2	3.3	1.1	1.1	1.4	0.4	0.5
肝	4.5	4.5	4.3	3.1	1.1	3.1	1.5	1.1	1.4	0.3	0.5
脾	4.3	4.1	4.3	3.8	0.9	3.2	2.3	1.3	1.7	0.4	0.5
肺	10.5	5.5	6.9	3.9	2.3	5.5	2.2	2.2	3.2	0.7	1.0
肾	3.8	3.3	4.5	2.8	1.2	3.6	1.3	1.3	2.0	0.4	0.6
胃	1.4	1.9	2.5	1.4	0.7	1.9	0.6	0.7	1.1	0.2	0.3
小肠	3.7	2.3	3.0	1.8	0.8	2.1	0.9	0.8	1.2	0.2	0.3
大肠	2.8	2.3	2.9	1.8	0.9	2.1	0.9	0.9	1.5	0.3	0.3
骨	3.3	1.4	2.2	1.5	0.6	2.3	0.7	0.6	0.9	0.2	0.3

注:IgG:¹³¹I F IgG 瘤内注射组;IT:¹³¹I F anti-CD20 McAb 瘤内注射组;IP:¹³¹I F anti-CD20 McAb 腹腔注射组

与抗 CD20 单抗混合液经瘤内注射后肿瘤 % ID/g 值在 24 小时内从注射即时的 192.4 下降至 0.6。

2.3 肿瘤累积吸收剂量

给药后不同时间肿瘤累积吸收剂量, ¹³¹I Fanti-CD20McAb 瘤内注射组均高于其他各组。其中给药后 3 天, 该组肿瘤累积吸收剂量分别为腹腔注射组和 ¹³¹I IgG 瘤内注射组的 12.6 和 2.1 倍; 给药后 7 天为 6.0 和 2.5 倍; 给药后 15 天为 7.0 和 1.5 倍, 见表 3。

表 3 各组给药后不同时间的累积吸收剂量

组别	累积吸收剂量 (Gy)		
	第 3 天	第 7 天	第 15 天
¹³¹ I IgG(IT)	5.15	5.65	13.99
¹³¹ I Fanti-CD20McAb(IT)	10.83	13.90	21.65
¹³¹ I Fanti-CD20McAb(IP)	0.86	2.32	3.09
¹³¹ I + anti-CD20McAb(IT)	0.07	0.10	0.46

2.4 放射免疫显像

给药后 1、3 和 7 天放射免疫显像, ¹³¹I Fanti-CD20McAb 瘤内注射组肿瘤影像清晰, 而腹腔注射组在整个过程中肿瘤影像均未显示; ¹³¹I IgG 瘤内注射组仅第 1 天肿瘤影像清晰, 第 3 天较模糊, 第 7 天基本未能显示; ¹³¹I + anti-CD20McAb 瘤内注射组在第 1 天已无任何影像显示, 见图 1。

3 讨论

多数临床研究结果表明, 放射免疫治疗采用传

统的静脉给药难以达到足够的肿瘤治疗剂量^[3,4]。采用肿瘤内直接注射标记单抗的方法是解决这一问题的有效途径之一。本实验旨在研究 ¹³¹I 标记的抗 CD20 单抗经瘤内注射后在荷瘤裸鼠体内的组织分布和放射免疫显像, 为下一步放射免疫治疗的实验研究奠定基础。

以往的荷瘤裸鼠实验多采用静脉注射或腹腔注射给药, 两者标记抗体的动态分布基本一致^[5]。静脉或腹腔给药主要存在以下问题^[6,8]: 标记抗体进入血循环, 可被血液稀释, 被血中游离抗原中和; 标记抗体难以通过血管壁进入肿瘤组织; 标记抗体进入机体正常组织, 与其他组织形成非特异性结合。为了克服上述不利因素的影响, 我们采用了瘤内注射的给药途径, 与腹腔注射比较具有以下优点: (1) 局部给药减少了全身对标记抗体的暴露, 明显增加了标记抗体在肿瘤内的浓聚^[9-12]。本实验中, ¹³¹I Fanti-CD20McAb 经瘤内注射后肿瘤 % ID/g 值以注射即时最高, 72 小时内较快降至一定水平, 表明抗 CD20 单抗与瘤细胞的结合是在注射后短时间内完成的。实验中各时间点的肿瘤累积吸收剂量, 瘤内注射组高于腹腔注射组, 充分显示了这一给药途径对提高标记抗体浓聚于肿瘤的作用。(2) 瘤内注射可以将最高比放射性活度和免疫活性状态的标记抗体首先贡献给肿瘤, 因此能够获得抗体与肿瘤的最佳结合和对肿瘤细胞的最强杀伤力。本实验 ¹³¹I Fanti-CD20McAb 瘤内注射组瘤内 % ID/g 明显高于腹腔

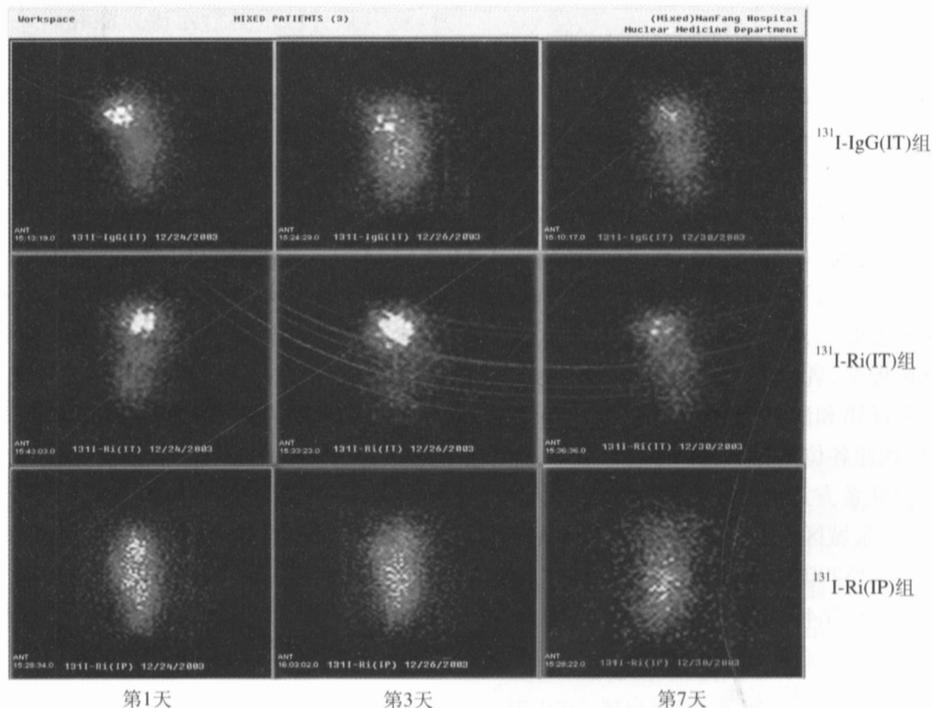


图 1 荷瘤裸鼠注入 ¹³¹I 标记物后体外放射免疫显像

注射组,而各非瘤组织和器官的 %ID/g 值均低于腹腔注射组,充分说明瘤内注射这一治疗途径在保证疗效的同时,由标记抗体非特异性分布带来的毒副作用亦会显著下降。

¹³¹I 的射线具有细胞杀伤作用,但以 ¹³¹I 和抗 CD20 单抗单纯混合进行瘤内注射,由于 ¹³¹I 不能特异性的定位于肿瘤组织,肿瘤 %ID/g 值在给药后 24 小时以内已降至 0.6,肿瘤累积吸收剂量极低,起不到杀瘤作用,这一点也充分说明了放射性核素标记抗体是肿瘤放射免疫治疗的中心环节。

总之,本实验结果显示, ¹³¹I anti-CD20McAb 经瘤内途径给药可以使肿瘤获得最高的放射性药物摄取率,为下一步放射免疫治疗的动物实验研究奠定了基础。

参考文献:

[1] Tedder TF, Engel P. CD20: a regulator of cell-cycle progression of B lymphocytes[J]. Immunol Today, 1994, 15(9): 450-454.

[2] Dillman LT. Radionuclide decay schemes and nuclear parameters for use in radiation dose estimation[J]. J Nucl Med, 1969, 10(Suppl 2): 1-32.

[3] Patel S, Stein R, Ong GL, et al. Enhancement of tumor-to-nontumor localization ratios by hepatocyte-directed blood clearance of antibodies labeled with certain residualizing radiolabels[J]. J Nucl Med, 1999, 40(8): 1392-1401.

[4] Kinuya S, Li XF, Yokoyama K, et al. Intraperitoneal radio-

immunotherapy in treating peritoneal carcinomatosis of colon cancer in mice compared with systemic radioimmunotherapy[J]. Cancer Sci, 2003, 94(7): 650-654.

[5] Reddy LH, Murthy RS. Pharmacokinetics and biodistribution studies of Doxorubicin loaded poly(butyl cyanoacrylate) nanoparticles synthesized by two different techniques[J]. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub, 2004, 148(2): 161-166.

[6] 邓敬兰,李宝安. ¹³¹I-McAb 单克隆抗体对荷胃癌裸鼠放射免疫治疗的实验研究[J]. 中华核医学杂志, 1993, 13(3): 176-178.

[7] Wilder RB, DeNardo GL, DeNardo SJ. Radioimmunotherapy recent results and future direction[J]. J Clin Oncol, 1996, 14(4): 1383-1400.

[8] Zhang M, Yao Z, Saga T, et al. Improved intratumoral penetration of radiolabeled streptavidin in intraperitoneal tumors pretargeted with biotinylated antibody[J]. J Nucl Med, 1998, 39(1): 30-33.

[9] 罗荣城,李爱民,廖旺军,等. 核素标记不同性质单抗瘤内注射治疗大肠癌的研究[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2001, 8(4): 257-259.

[10] 杨惠兴,陈健,王永强,等. 荷人结肠癌裸鼠瘤内注射 Re-C50 放射免疫治疗实验研究[J]. 中华核医学杂志, 2001, 21(4): 212-213.

[11] 李仲宏,麦国丰,罗荣城,等. 瘤内注射核素标记混合抗体治疗肝癌的研究[J]. 第一军医大学学报, 2000, 20(4): 327-328.

[12] Hosono MN, Hosono M, Endo K, et al. Effect of hyperthermia on tumor uptake of radiolabeled anti-neural cell adhesion molecule antibody in small-cell lung cancer xenografts[J]. J Nucl Med, 1994, 35(3): 504-509.

[编辑:贺文;校对:周永红]

· 简讯 ·

2007 年中法放射学大会通知

为提高我国放射医师诊疗技术水平、加强与国际间的交流、促进我国放射研究领域更快、更好的发展,中国医师协会、中国医师协会放射医师分会、中国医科大学附属盛京医院、法国放射协会和欧洲肿瘤预防协会联合主办的“2007 中法放射学大会”定于 2007 年 11 月 9~13 日在上海召开。

大会已邀请到法国及欧洲各国三十余位、中国二十余位放射学专家作报告,并邀请欧洲各国 150 余位放射学学科带头人出席。大会内容有腹部/消化系统影像学、神经系统影像学、胸部/心血管系统影像学、骨骼/肌肉运动损伤影像学、乳腺影像学、泌尿生殖系统影像学、儿科影像学和介入影像学等。

大会语言为汉语和法语,会议期间全程配备同声传译设备。大会结束经考核合格将授予国家 I 类继续教育学分证书,欢迎各位同仁及医药企业出席。详情请登录大会官方网站 www.cfcr.net.cn。

大会组委会联系方式:中国医师协会事业发展部
 地址:北京市东城区东四西大街 46 号 邮编:100711
 电话:010-85115290 65264058
 传真:010-65237764 65279534
 电子邮件:wangtao@clinicenglish.net
 联系人:王 韬 原文浩

