

$^{99}\text{Tc}^m$ -YDPC 在荷瘤裸鼠体内的分布与放射免疫显像

张春丽 刁理强 俞莉章 聂 韬

(北京医科大学第一医院核医学科, 100034)

摘要 Schwartz 直接还原法制备 $^{99}\text{Tc}^m$ -YDPC, 分别采用 Lindmo 法与 Scatchard 法测定标记抗体的体外免疫活性分数及亲和常数, 经尾静脉注射 $14.4 \text{ MBq } ^{99}\text{Tc}^m$ -YDPC 于荷瘤裸鼠, 22 h 后进行 γ 照相及体内放射性分布测定, 并用荷结肠癌裸鼠进行对照。研究结果显示: $^{99}\text{Tc}^m$ 对 YDPC 的标记率为 $41\% \sim 65\%$, $^{99}\text{Tc}^m$ -YDPC 的免疫活性分数为 58.1% , 对人前列腺癌细胞株 PC-3M 的亲和常数为 $7.71 \times 10^9 \text{ L/mol}$ 。静脉注射 $^{99}\text{Tc}^m$ -YDPC 于荷人前列腺癌裸鼠 22 h 后, 除血液与肺外, T/NT 均大于 2.00, 明显高于荷结肠癌裸鼠组。显像结果表明, 前列腺癌裸鼠肿瘤部位有明显放射性浓聚, 而荷结肠癌裸鼠肿瘤部位无放射性浓聚。表明 $^{99}\text{Tc}^m$ -YDPC 具有良好的体外免疫活性与体内定位性能, 放射性核素标记的 YDPC 有可能应用于前列腺转移癌的临床分期诊断与导向治疗。

关键词 前列腺癌 $^{99}\text{Tc}^m$ -YDPC 放射免疫显像

中图法分类号 R817 R730.45 R737.25

对前列腺癌的分期是选择临床治疗方法的关键, 但目前尚缺乏理想的前列腺癌分期诊断手段, 常规 CT、MRI 诊断只能显示大的转移灶, 对微小的淋巴结及骨骼转移灶则难以发现。应用放射免疫显像对前列腺癌盆腔淋巴结和骨骼等远处转移灶进行明确诊断具有重要意义。

有关前列腺癌放射免疫显像已有不少文献报道, 但早期所用的抗体大多是针对前列腺特异抗原(PSA)和酸性磷酸酶(PAP)的单克隆抗体。Bander 等认为它们对前列腺癌的放射免疫显像和导向治疗效果不理想^[1,2]。近年来, 人们致力于制备识别前列腺癌细胞表面抗原的单克隆抗体。刁理强^[3]等报道了抗前列腺分化抗原单克隆抗体 YDPC 对不同类型的肿瘤组织的免疫组化染色结果, 显示 YDPC 在正常前列腺上皮细胞、前列腺增生组织(BPH)和前列腺癌细胞皆有表达, 表明它所识别的抗原为一种前列腺细胞继续表达的分化抗原。YDPC 在肝、心、肺、淋巴结、胃、肠、骨骼肌等正常组织及乳癌、结肠癌、肉瘤、淋巴瘤、肝癌、肾癌等非前列腺肿瘤中免疫组化染色结果均呈阴性, 表明 YDPC 在前列腺转移癌的诊断及鉴别诊断中可能具有应用价值。本研究拟用 $^{99}\text{Tc}^m$ 标记抗前列腺分化抗原单克隆抗体 YDPC, 对标记抗体的体外免疫活性、在荷前列腺癌裸鼠中的体内分布及放射免疫显像进行研究。

张春丽:女, 38岁, 副研究员, 放射性药物化学专业

收稿日期:1998-12-14 修改稿收到日期:1999-06-10

1 材料与方法

1.1 材料

$^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{O}_4^-$ 淋洗液:由森科公司及中国原子能科学研究院同位素研究所提供;抗人前列腺癌细胞株 PC-3M 单克隆抗体 YDPC:由本院泌尿外科研究所制备;亚甲基二膦酸盐(MDP)药盒:上海红旗制药厂生产,含 5 mg MDP, 0.5 mg $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 2-巯基乙醇(2-ME);德国 Merck 公司进口;实验动物:Balb/C 裸鼠(本院动物研究所提供) 4 只,其中 2 只接种人前列腺癌 PC-3M 细胞(本院泌尿外科研究所提供),另 2 只接种结肠癌 Iovo 细胞株(T_3)(由本院外科研究室提供)。

1.2 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -YDPC 的制备

采用 Schwartz 法进行标记。100 μg YDPC 加入 5 μg 二巯基乙醇(2-ME), 30 $^\circ\text{C}$ 反应 30 min, 经 Sephadex G⁵⁰ 柱将还原抗体与 2-ME 分离, 用考马斯亮兰检测蛋白峰位; 还原抗体中加入 37~370 MBq $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}\text{O}_4^-$ 。

1.3 免疫活性测定

标记抗体免疫活性分数采用 Lindmo 方法测定^[4], 亲和常数采用 Scatchard 方法测定。

1.4 标记物在动物体内的分布与显像 HT]

尾静脉注射 0.1 mL 放射性浓度为 144 GBq/L 的 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -YDPC 于荷瘤裸鼠, 22 h 后将裸鼠固定后行 γ 照相, 显像后处死裸鼠, 取肿瘤(T) 和非肿瘤组织(NT), 称湿重, 测定其放射性分布并计算 T/NT。

2 结果

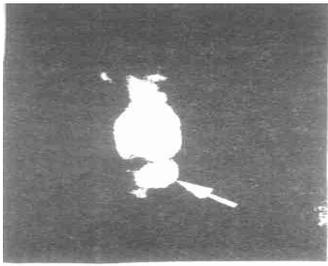
$^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -YDPC 标记率为 41%~65%, 放化纯度 > 95%。 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -YDPC 免疫活性分数为 58.1%, 对人前列腺癌细胞株 PC-3M 的亲合常数为 7.71×10^9 L/mol。

$^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -YDPC 在荷瘤裸鼠体内的分布列于表 1。从表 1 可以看出:除血液及肺外, 肿瘤与其它组织的 T/NT 均大于 2.00, 其中肿瘤与肌肉 T/NT 最高, 达 9.90, 表明 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -YDPC 能较好地浓聚于前列腺癌组织。荷结肠癌细胞裸鼠组肿瘤与所有组织的 T/NT 均 < 2.00。静脉注射 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -YDPC 22 h 后放射免疫显像结果示于图 1。由图 1 可知荷 PC-3M 细胞裸鼠肿瘤显像清晰, 荷结肠癌细胞裸鼠未见肿瘤显像。

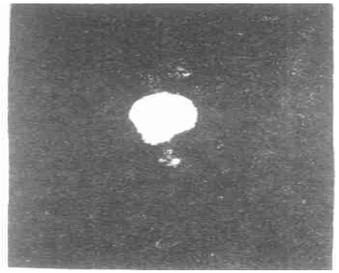
表 1 $^{99}\text{Tc}^{\text{m}}$ -YDPC 静脉注射于荷瘤裸鼠 22 h 后肿瘤与主要脏器的 T/NT($n=2$)

组 织	T/NT	
	荷人前列腺癌 PC-3M 裸鼠组	荷结肠癌细胞裸鼠组
血液	1.10	0.16
心脏	3.83	0.58
肝脏	2.10	0.90
肺脏	1.33	0.56
脾脏	4.22	1.38
膀胱壁	5.37	0.88
肌肉	9.90	0.96

3 讨 论



(a)



(b)

图1 荷瘤裸鼠 $^{99}\text{Tc}^m$ -YDPC 显像

(a) —— 荷人前列腺癌 PC-3M 细胞裸鼠(箭头所示部位为肿瘤); (b) —— 荷结肠癌 Lovo 细胞裸鼠

(1) Schwartz 直接标记法是 $^{99}\text{Tc}^m$ 标记单克隆抗体最常用的方法之一,它包括用还原剂如 2-ME、DTT 等将单克隆抗体的二硫键打开、通过中间配位体 MDP、PYP、GH 等与 $^{99}\text{Tc}^m$ 形成弱配位键再交换至还原抗体的巯基上等过程,具有标记方法简单、标记率高、配合物稳定性高等优点。本研究标记率偏低,为 41%~65%,可能与还原抗体浓度低有关。研究中所使用的单克隆抗体浓度为 0.5 g/L,用 2-ME 还原后经 Sephadex G⁵⁰ 分离纯化,分离柱吸附部分抗体,且淋洗后稀释至浓度为 0.17 g/L,抗体浓度进一步降低;对单克隆抗体进行浓缩有望提高标记率,但浓缩过程会造成抗体量较大的损失。

(2) 由表 1 结合图 1 可知,静脉注射后 22 h, $^{99}\text{Tc}^m$ -YDPC 在血液及含血量较高的肺中仍有较高浓度,肿瘤与血液、肺的 T/NT 较低,表明 $^{99}\text{Tc}^m$ -YDPC 的血液清除速率较低。采用抗体片段进行显像有望降低血液本底,进一步提高影像质量。

由图 1 可知,单克隆抗体 YDPC 对人前列腺癌 PC-3M 细胞具有良好的体外亲和性能与体内定位性能,静脉注射后 22 h 其在肿瘤中的放射性浓度高于所有正常组织,表明放射性核素标记的 YDPC 在前列腺癌导向诊断与导向治疗方面具有潜在应用价值。采用抗体片段进行显像有望提高血液及正常组织中放射性清除速率,从而提高肿瘤与血液、肺等脏器的 T/NT。尽管免疫组化染色结果显示 YDPC 与 BPH 及正常前列腺上皮细胞皆具有强的染色反应,但在前列腺癌转移灶诊断中仍具有一定的应用价值;同时,由于前列腺不是人体重要的器官,因此在导向治疗中杀伤前列腺癌细胞时,即使同时损伤正常前列腺组织也可不限制其应用。本研究为 YDPC 应用于前列腺癌导向诊断与导向治疗奠定了基础。

参 考 文 献

- 1 Bander NH. Current Status of Monoclonal Antibodies for Imaging and Therapy of Prostate Cancer. *Semin Oncol*, 1994, 21(5) :607~612.
- 2 Neal CE, Meis LC. Correlative Imaging With Monoclonal Antibodies in Colorectal, Ovarian and Prostate Cancer. *Semin Nucl Med*, 1994, 24(4) :272~285.
- 3 斜理强, 俞莉章, 邢念增, 等. 抗前列腺分化抗原单克隆抗体 YDPC 的制备和鉴定. *中华泌尿外科杂志*, 1999, 待发表.
- 4 Lindmo T, Boven E, Cuttitta F, et al. Determination of the Immunoreactive Fraction of Radiolabeled Monoclonal Antibodies by Linear Extrapolation to Binding at Infinite Antigen Excess. *Journal of Immunological Methods*, 1984, 72(1) :77~89.

BIODISTRIBUTION AND RADIOIMMUNOIMAGING OF

⁹⁹Tc^m-YDPC IN NUDE MICE BEARING PROSTATE CARCINOMA

Zhang Chunli Dou Liqiang Yu Lizhang Nie Tao
(The First Hospital of Beijing Medical University, 100034)

Abstract ⁹⁹Tc^m-YDPC is prepared by Schwartz method. In vitro immunoreactive fraction and associate constant are measured by Lindmo's method and Scatchard method respectively. 14.4 MBq ⁹⁹Tc^m-YDPC is injected into nude mice bearing human PC-3M prostate cancer. The labeling yield of ⁹⁹Tc^m-YDPC is up to 41%~65%. The immunoreactive fraction and associate constant of ⁹⁹Tc^m-YDPC to prostate cancer cell line PC-3M is 58.1% and 7.71×10^9 L/mol respectively. The radioactivity ratio of tumor over non-tumor tissues(T/NT) is greater than 2.00 except that of tumor over blood and lung 22 h post injection and is higher than that of control group. The results indicate radioactivity concentration on tumor site in nude mice bearing prostate cancer but no radioactivity concentration on colon tumor. The investigation demonstrates that ⁹⁹Tc^m-YDPC has an excellent immunoreactivity and tumor locating property, and the radiolabeled YDPC may be useful for the diagnosis or therapy of prostate cancer.

Key words prostatic neoplasms ⁹⁹Tc^m-YDPC radioimmunoimaging