维普资讯 http://www.cqvip.com

重庆医科大学学报 1993年第18卷第3期

(12)
206—210

五价锝标记的二巯基丁二酸应用于肝脏肿瘤显象的实验研究

R 735.704

基础核医学教研室 李少林 顾学先 王鼎年 王小青

提 要 国内外尚无将99mT（V）—DMS应用于肝癌显象的报道。我们对其标记方法和条件加以改良，比较了在不同条件下得到的标记化合物在移植不同瘤种的小鼠体内的分布。结果证明可使瘤/肝比值提高到2.5～3.0左右。不仅适用于原发性肝癌也适用于肝内转移癌的显象。并进一步证明了pH在8.25～8.45之间时标记率最高。而且标记化合物的离解性在pH8.45时最显著，根据Horiuch等的报道该化合物的离解性与其亲肿瘤性呈正相关，因而提示pH8.45时得到的标记化合物具有较好的亲肿瘤性。并且显象时间以2—4小时为最好。经重庆肿瘤研究所应用于55例肝癌病人的阳性显象，阳性率达88.5%

关键词 二巯基丁二酸，放射性核素显象；肝脏肿瘤 肝肿瘤，成象，锝99

中图分类号 R817.4

五价锝标记的二巯基丁二酸（99mTc(V)—DMS）是一种多核螯合物，已被证明比目前使用的亲肿瘤显象剂67-Ga-Citrate具有更好的亲肿瘤作用。近来有不少报道评价了该药在甲状腺髓样癌，头颈部肿瘤及软组织肿瘤显象中的应用[2-5]。Watkinson等比较了99mTc(V)-DMS，67Ga-citrate，以及CT对头颈部肿瘤显象中的效果，认为各有其长处[6]。而且Hata等报道99mTc(V)—DMS在肝、肺等肿瘤显象中无效[4-5]，国内还见报道在荷Ehrlich癌小鼠中的瘤/肝比值仅为0.29[9]。这些报道均否定了99mTc(V)—DMS能用于肝脏肿瘤的显象。

但我们在研究工作中发现，该药在肝组织中分布较少。并且在一定的标记条件下可以得到较大的瘤/肝比值。因而在本实验中我们着重观察了各种标记条件及不同给药方法对瘤/肝比值的影响。

在99mTc(V)—DMS药盒的使用中，还存在重复性欠佳等问题。我们认为pH的变化可能是其重要原因之一，因而决定进一步探讨反应液pH(pH 8～9)对标记产物的可能的影响。横山等的文章指出[1]在高于pH8的碱性环境中，五价锝标记化合物可以有最高的标记率。出于临床使用的原因，而选择标记pH为8，但进一步的pH的微小改变引起的变化则未见报道。

材料和方法

标记方法采用横山等的方法改良而成[1]，即将1.09mg DMS和适量葡萄糖溶于2.0ml 0.1M $NaHCO_3$溶液中，再加入0.1ml99m-Tc(O_4^-)洗脱液(3.7～5.5×10^8Bq)，通$N_2$15分钟后，加入20μl $SnCl_2$盐酸溶液（$SnCl_2 \cdot 2H_2O$为2.0×10^{-7}mol，将$SnCl_2 \cdot 2H_2O$加入已通$N_2$15分钟的0.1NHCl溶液中制得），再通$N_2$15分钟即可使用。标记化合物鉴定采用硅胶板薄层层析法（TLC）（Merck，Silicagel）。分别用正丁醇/冰醋酸/H_2O=(3:2:3)和acetone两种展开剂。

维普资讯 http://www.cqvip.com

首先我们比较了标记化合物在不同瘤种的荷瘤小鼠体内瘤/肝比值的异同。将肝癌H-22和Ehrlich癌腹水细胞分别接种于昆明种小鼠右腿皮下后一周（长出的肿瘤重约0.5～1.0g）时，从尾静脉注入标记化合物，3小时后处死小鼠，取出脏器，称重后测放射性，求出标记化合物在荷瘤小鼠体内的各脏器的dose%/g组织并计算出瘤/血，瘤/肝比值，每种瘤种的数值以5只小鼠的平均值±1SD表示。

其次对不同配体浓度对瘤/肝比值的影响也进行了试验。改变标记时DMSA的浓度，分别以标记液中DMSA的浓度为9×10^{-3}M，3×10^{-3}M，3×10^{-4}M，3×10^{-5}M，其余条件不变进行标记，分别将标记物注入荷肝瘤H-22小鼠尾静脉后3小时，处死小鼠，测出各脏器的放射性（dose%/g组织），求出瘤/肝比值并比较其变化。每个浓度组的数值以5只小鼠的平均值±1SD表示。

对于使瘤/肝比值达到最佳值的显象时间的确定，我们也进行了实验。将标记化合物注入荷肝癌H-22小鼠后，分别在给药后1，2，3和4小时处死小鼠，测定其组织分布，求出各时间组的瘤/肝和瘤/血比值（每组以5只小鼠的平均值±1SD表示）。

进而观察了pH的微小变化对标记的影响，以$NaHCO_3$—Na_2CO_3缓冲液作标记液，使标记反应液的pH分别为8.28，8.45，8.60，8.80进行标记。标记产物用硅胶板薄层层析法进行分析，测定各标记pH条件下得到的标记产物在TLC分析中的放射性，并以各峰放射性占总放射性的百分数来表示各峰的相对高度，对标记化合物离解性测定方法是：将标记化合物以原液，1/100、1/500稀释的各稀释液，在TLC展开中稀释度相同时，离解产物峰值高者为离解性大。

临床资料系采用单光子发射型计算机断层显象（SPECT，franee Sopha公司），对55例肝占位性病变病人进行了^{99m}Tc(Ⅴ)—DMS阳性显象。每一病人注射3.7～5.5×10^8Bq ^{99m}Tc（Ⅴ）—DMS后2～4h进行。55例病人中，31例是原发性肝细胞癌（其中2例系术后复发），4例系转移性肝癌，其余20例是肝良性病变。

结果与讨论

在荷瘤小鼠尾静脉注入标记化合物后3小时，各器官组织的放射性分布列于表1。两种瘤种的荷瘤小鼠中均分别显示出瘤组织的放射性分布远高于血和肝。在荷肝癌H-22小鼠和荷Ehrlich癌小鼠中，瘤/肝比值分别达到2.9和3.4，瘤/血比值分别达到3.1和2.4。而且，组织发生上不来源于肝组织的Ehrlich癌的瘤/肝比值还略高于肝癌H22。

Table 1. Radiobiodistribution in Hepatoma H 22-Bearing mice and Ehrlich carcinomabearing mice

	Blood	Tumor	Liver	Kidney	tumor/blood	tumor/liver
Hepatoma H22	0.059±0.019	0.18±0.08	0.06±0.01	0.6±0.02	3.05	2.9
Ehrlich tumor	0.07±0.02	0.18±0.01	0.05±0.01	0.6±0.1	2.40	3.4

% dose/g tissue

Mean±1SD for 5 animals per point

Table 2. Optima imaging time for excellent tumor/liver ratio

time after injection	blood	tumor	liver	kibney	Tu/Bl	Tu/li
1 hours	0.10±0.01	0.15±0.06	0.06±0.01	0.45±0.18	1.50	2.38
2 hours	0.11±0.04	0.21±0.04	0.06±0.01	0.69±0.11	1.90	3.13
3 hours	0.04±0.02	0.09±0.02	0.03±0.01	0.26±0.06	2.50	3.16
4 hours	0.03±0.01	0.06±0.03	0.02±0.01	0.04±0.05	2.61	3.00

% dose/g tissue

Mean±1SD for 5 animals per point

维普资讯 http://www.cqvip.com

Table 3. Effect of ligand concentration on tumor/liver ratio

DMS concentration	Blood	tumor	liver	kidney	tumor/blood	tumor/liver
9×10^{-3}M	0.06±0.02	0.07±0.01	0.04±0.01	0.46±0.05	1.16	1.79
3×10^{-3}M	0.22±0.09	0.46±0.12	0.18±0.04	1.70±0.3	2.09	2.56
3×10^{-3}M	0.75×0.11	0.71×0.15	3.20±0.40	5.90±1.40	0.94	0.22
3×10^{-3}M	0.12×0.002	0.09×0.02	2.50±0.33	0.71±0.15	0.71	0.034

% dose/g tissue
Mean ±1 *SD* for 5 animals per point

这些数据提示了99mTc(V)—DMS不仅可以用于原发性肝癌，也可应用于肝脏转移性恶性肿瘤的阳性显象。

配体DMSA浓度的变化对荷瘤小鼠瘤/肝比值的影响列于表3。从表中可以看出当DMSA浓度等于3×10^{-3}M时，瘤/肝比值达最大值。而当DMSA浓度小于3×10^{-3}M，就出现瘤/肝比值小于1，即肝脏的放射性分布反而大于瘤，浓度越小，变化就越明显。从荷瘤小鼠体内的分布倾向来看，这可能是在配体浓度极低的情况下，游离高锝酸根^{99}mTcO$_4^-$增多所致。但当DMSA浓度增至9×10^{-3}M时，瘤/肝比值也明显减少。从这些数据来看，适用于肝脏肿瘤显象的最适配体浓度以3×10^{-3}M为宜。

在标记化合物注入荷肝瘤H-22小鼠尾静脉后分别在1，2，3，4小时处死小鼠并测量各脏器组织放射性，计算出瘤/肝，瘤/血比值列于表2。给药后1小时，瘤/肝比值即达到2.38，在2—4小时更高，已达3.0左右。而瘤/血比值也以2—4小时为最高。根据这些数据，我们认为肝脏肿瘤显象时间以给药后2—4小时为最佳。这与Watkinson et al报道的头颈部肿瘤显象的最适时间是一致的[7]。

pH在8～9之间的微小变化对标记质量的影响如图1及表4。在未稀释的原液中，标记产物的峰值($Rf=0.40\sim0.55$)在pH8.28最大，高于pH8.6后就急据减低。放射性胶体峰($Rf=0.0\sim0.2$)随着pH的增加而增高。这些变化说明了pH的微小增加都会使

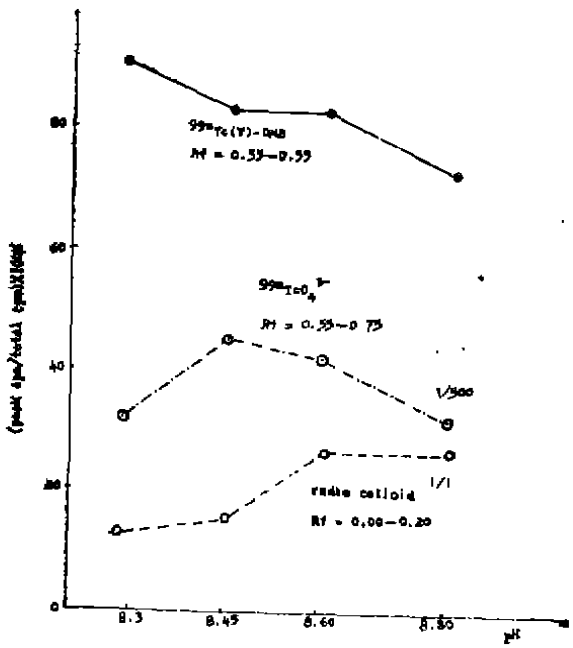


Fig 1. Effect of pH(8-9)on DMS labeling(TLCanalysis)

Sn^{2+}离子的水解增加，使放射性胶体增多，使标记率降低。另外从离解物99mTcO$_4^-$的峰值来看($Rf=0.55\sim0.75$)，经1/500稀释的标记液，在pH8.45条件下得到的标记化合物显示出了最高值，而pH高于8.6后则明显减少(表4)。据Horiuchi和Yomoda等人报道[8]，99mTc(V)—DMS的亲肿瘤性是与其离解性呈是有正相关关系的。因而在pH对标记反应的影响方面可以得出以下结论：(1)标记反应液pH在8.28～8.45范围内标记率最高，超过pH8.6则明显减低。(2)pH的微小增高都会引起Sn^{2+}的水解增加，使放射性胶体的产生增多。(3)

维普资讯 http://www.cqvip.com

Table 4. Effect of pH(8-9) on DMS labeling

pH	dilution degree	Relative counts of each peak 1 Rf 0.00—0.2	2 0.35—0.55	3 0.55—0.75
8.28	1/ 1	6.5	92.1	
	1/100	9.80	49.80	27.00
	1/500	8.11	49.40	32.10
8.45	1/ 1	15.50	83.50	
	1/100	11.50	50.20	27.00
	1/500	9.70	32.10	45.50
8.60	1/ 1	26.03	83.30	
	1/100	12.10	58.00	26.60
	1/500	10.10	31.00	42.60
8.80	1/ 1	26.03	73.30	
	1/100	15.10	57.10	22.10
	1/500	17.10	43.70	32.30

Rf 0.0—0.2: Radio colloid Rf 0.35—0.55: Tc(V)-DMS
Rf 0.55—0.75: TcO
Developing solvent: n—BuOH: AcOH: H_2O=3:2:3

标记化合物的离解性在 pH8.15最明显，提示该条件下的标记化合物具有较好的肿瘤亲和性。

55例病人的SPECT显象结果是35例肝脏恶性肿瘤病人中有31例阳性，阳性率为89.5%；而20例良性病变中有一例海绵状血管瘤患者显象结果呈假阳性，占55例病人中的1.8%。

我们在工作中还发现，$NaHCO_3$溶液的pH值会随着放置时间的增长而增高。0.1M $NaHCO_3$液放置1个月（2°～8℃）pH可达9.0以上。根据这一结果，$NaHCO_3$液必需新鲜配制。药盒使用中也应避免这种pH变化带来的影响。

99mTc(V)—DMS是一个很有发展前途的药物。但目前在世界上还未能广泛应用，我们认为下列问题是有待解决的：（1）标记物质量易受多种因素影响，药盒的重复性，稳定性有待进一步提高。（2）探索新的应用领域，使之在除了头颈部及软组织肿瘤之外，能广泛地应用于其他部位，特别是内脏及盆腔肿瘤等的显象。（3）亲肿瘤作用机制的进一步阐明。本文就是在这些目标下做的工作的一部份。

综上所述，实验研究及临床资料均证明了99mTc(V)--DMS可以作为一种有效的肝脏肿瘤阳性显象剂而应用于临床。

参 考 文 献

[1] Yokoyama A, et al. Int J Nucl med biol 1985; 12:273

[2] Ohta H, et al. Clin Nucl Med 1985; 10:13

[3] John C, et al. J Nucl Med 1989; 30: 174

[4] Ohta H, et al. Nucl Med Commun 1988; 9(2):105

[5] Ohta H, et al. J nucl Med 1988; 29(6):1130

[6] Watkison JC, et al. J Laryngol Otol 1990; 104(10):783

[7] Watkinson JC, et al. Nucl Med Commun 1989 Oct; 10(10):741

维普资讯 http://www.cqvip.com

[8] Holiuchi K, et al. Technetium in Chemistry and Nuclear Medicine. New York: Raven Press 1986; 155

[9] 谭天秩，等. 中华核医学杂志1990; 10(1): 43

(收稿日期 1993-05-29)

EXPERIMENTAL STUDIES OF PANTAVALENT TECHNETIUM-99M-DIMERCAPTOSUCCINIC ACID FOR THE IMAGING OF THE HEPATIC TUMOR

Li Suolin, et al

Dept. of Basic Nuclear Medicine

To test better tumor/liver ratio in tumor-bearing mice, the persent study was carried out in various conditions to clarify the applicability in the imaging of hepatic tumor. Various experimental conditions were tested by varying kinds of experimental tumor, concentration of the ligand, time post-injection, and pH (8-9). And then we applied the 99mTc(V)-DMSA to the SPECT imaging of 35 patients with hepatic carcinoma, and of those, there were 88.5% true positives. The results of this study demonstrated that 99mTc (V) -DMSA can be used as an effective imaging agent for hepatic cancer

KEY WORDS Dimercaptosuccinic acid; Radionuclide imaging; Biodistribution; Hepatic carcinoma

简 讯

国产冻干低pH静脉注射人血丙种球蛋白治疗新生儿败血症及呼吸道合胞病毒肺炎

重庆医科大学儿童医院场锡强、汪智鸿等应用国产冻干低PH静脉注射人血丙种球蛋白（卫生部成都生物制品研究所提供）治疗新生儿败血症120例，随机分为两组，在给予敏感抗生素治疗的同时，治疗组用静脉注射人血丙种球蛋白（IVIG）200～400mg/kg/次，对照组用新鲜血浆10ml/kg·次，间隔2～3天重复给药一次，结果表明IVIG对新生儿血渗透压，血pH值影响不大，对T、B细胞功能无明显影响，IgG亚类动态检测除IgG_3衰减较快，IgG_1、IgG_2、IgG_4可维持较高水平达10天。

治疗呼吸道合胞病毒肺炎40例，亦随机分为两组，在常规治疗的同时，治疗给予IVIG250～500mg/kg/次，对照组用血浆10ml/kg/次，用法同前，观察血清呼吸道合胞病毒特异性，IgG（RSV-SIgG）动态变化，并与20例2～3岁健康儿童及1000个成人供体混合血清中RSV-SIgG比较，结果治疗组RSV-SIgG滴度于病程14天时，高于对照组（$P<0.01$）、2～3岁健康儿童（$P<0.01$）及正常混合血清（$P<0.01$）。

两种疾病临床疗效观察表明，新生儿败血症治疗组与对照组，在第10天时血培养阴转率高，分别为94.4%及63%（$P<0.01$），治愈率高，分别为93.3%及68.3%（$P<0.01$），病死率低，分别为5%及20%（$P<0.05$）。呼吸道合胞病毒肺炎治疗组喘鸣时间缩短，提示IVIG对呼吸道合胞病毒感染有一定疗效。

（科研处 周永华）