DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.06.002
第24卷第6期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 6
2002年6月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jun. 2002

文章编号:1000-5404(2002)06-0631-03

论著

Iodogen法标记磁共振单克隆抗体靶向对比剂的实验研究

陈 伟[1],张绍祥[2], 崔义[1],李前伟[3],张广元[1],谢 兵[1] (第三军医大学:[1]附属西南医院放射科;[2]基础医学部解剖学教研室;[3]附属西南医院核医学科;重庆 400038)

提 要:目的 探讨Iodogen法^{131}I标记磁共振单克隆抗体靶向对比剂McAb-PMP的方法。方法 采用Iodogen法^{131}I标记McAb-PMP,并测定标记率、放化纯度、比活度和免疫活性,进行动物免疫显像;结果 标记率为89.7%,放化纯度为3.16 mCi/ml。经RM905活度计测定的比活度为89.6 μCi/μg。在注射^{131}I-McAb-PMP后,在结肠癌裸鼠动物模型显像时,24 h出现特异性聚集,48 h和168 h仍然保持聚集。结论 ^{131}I-McAb-PMP在Iodogen碘化标记后能较好地保持其免疫活性,特异性聚集在肿瘤部位,提示McAb-PMP能够应用于MR成像。

关键词:磁共振成像;单克隆抗体;对比剂
中图法分类号:R392.11;R445.2;R817 文献标识码:A

Experimental study of labelling monoclonal antibody targeted contrast by Iodogen method for MRI

CHEN Wei, ZHANG Shao-xiang, DING Shi-yi, LI Qian-wei, ZHANG Guang-yuan, XIE Bing (Department of Radiology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the feasibility of employing Iodogen method to label monoclonal antibody targeted contrast McAb-PMP with ^{131}I. Methods After McAb-PMP was ^{131}I labeled with by Iodogen method, labeled rate, purity of radiochemistry, specific activity and immune activation were determined repectively. Radioimmunoimaging was performed on colon cancer of BALB/c nude mice. Results The labeled rate was 89.7%, and the purity of radiochemistry was 3.16 mCi/ml. The specific activity was 89.6 μCi/μg determined with RM905. After the colon cancer mice were injected with ^{131}I-McAb-PMP, their emission CT scan appeared peculiar gathering of the contrast in 24 h after injection, which kept even in 48 h and 168 h. Conclusion ^{131}I-McAb-PMP keeps its immune activity after Iodogen labeling method, gathered at tumor position *in vivo*. This result indicates that McAb-PMP can be applied to MRI as contrast agent.

Key words: magnetic resonance imaging; monoclonal antibody; contrast

免疫靶向磁性纳米微粒作为一种新的MRI对比剂,药物在活体内分布及其发挥作用持续的时间,对判定此对比剂在活体使用时的作用极其重要。利用放射性核素标记各种抗肿瘤相关抗原的单克隆抗体,进行单克隆抗体体内生物学分布和放射免疫显像的研究已有较多的报道[1],利用抗原与相应的特异性抗体产生抗原-抗体复合物的免疫反应,将放射性核素标记过量的抗体后,标记抗体与显影的肿瘤表面的抗原产生免疫复合物,使标记的抗体在肿瘤处特异性浓集。通过放射性探测,确定抗体在活体内的生物学分布,判定抗体是否具有靶向性。对于免疫磁性纳米微粒在活体内生物学分布研究,文献报道多采用Gd和Fe的同位素,此方法存在制备微粒的开始阶段使用同位素,不便于操作。由于放射性核素标记各种抗肿瘤相关抗原的单克隆抗体技术比较成熟、方便和简单,本研究采用同位素^{131}I标记McAb-PMP,观测在结肠癌动物模型中靶向聚集的情况,以期为此对比剂生物学分布研究奠定基础。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39925022)
作者简介:陈 伟(1970-),男,四川省金堂县人,博士,主治医师,主要从事磁共振靶向对比剂研究,发表论文6篇。电话:(023)68754424
收稿日期:2002-03-15;修回日期:2002-05-14

1 材料与方法

1.1 动物模型的建立

常规建立LS-174T结肠癌及QGY-7703肝癌细胞动物模型,待肿瘤包块生长到2.0 cm^{3}左右待用。

1.2 ^{131}I标记McAb-PMP靶向磁性纳米微粒[2]

应用Iodogen法碘化标记McAb-PMP磁性纳米微粒。CL-3标记的McAb-PMP纳米微粒蛋白含量为40 μg,Na^{131}I 7.05 mCi,SePhadex G-50层析柱上分离纯化标记产物,绘制洗脱曲线。标记产物的标记率、放射性浓度按下列公式计算:

标记率%=(蛋白峰各管放射性计数的总和)/(蛋白峰加游离峰放射性计数的总和)×100%

放射浓度=(投入的^{131}I-NaI总量×标记率)/(蛋白峰收集液总毫升数)

1.3 标记放化纯度的测定

采用纸色谱法测定放化纯度,取分离纯化后的标记产物(^{131}I-McAb-PMP) 5.0 μl,用正丁醇:醋酸:水=4∶1∶5的展开剂进行上行层析,将纸片按顺序分别置于FH463A自动定标器上测放射性计数,绘制纸片编号-记数曲线,并按下列公式计算放化纯度:

放化纯度(%)=(蛋白组分的放射性计数之和)/(各组分的放射性计数之和)×100%。

1.4 ^{131}I-McAb-PMP比活度的测定

蛋白峰收集液采用RM905放射性活度计测量标记产物的活度,根据投入的抗体的总化学量计算比活度,公式如下:

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

放射性比活度=(投入^{131}I 总量× 标记率)/ 投入 McAb 量

1.5 体外结合实验鉴定 ^{131}I-McAb-PMP 的免疫活性

培养的结肠癌细胞 LS-174T 和肝癌细胞 QGY-7703 用完全培养液制备成细胞悬液, 加入 6 培养板中的 3(1× 10^6 个细胞/ ml/ 孔)。每孔中加入 ^{131}I-McAb-PMP, 摇匀, 常规培养 12 h, 0.25% 胰蛋白酶消化 LS-174T 和 QGY-7703 细胞, 在 FH463A 自动定标器上测定每孔的总放射性。离心, 去上清液, 沉淀用 PBS 洗涤 3 次, 最后测定沉淀物放射性。按如下公式计算体外细胞结合率:

体外细胞结合率(%)=(沉淀部分放射性计数)/(总放射性计数)× 100%。

1.6 ^{131}I-McAb-PMP 显像实验

4 只结肠癌荷瘤裸鼠尾静脉注射放射性剂量为 0.5 μCi/ 只, 裸鼠在注射后 SPF 条件下继续饲养。注射后 24、96、168 h, 在 SPECT 显像(364 KV, 29% 窗宽)。每次显像前以 10% 乌来糖按 1.0 ml/ 100 g 体重腹腔麻醉, 裸鼠俯卧位显像。2 只肝癌荷瘤裸鼠肿瘤作为对照组, 经裸鼠尾静脉注射放射性剂量为 0.5 μCi/ 只, 按相同条件显像。

1.7 统计学处理

采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 ^{131}I-McAb-PMP 标记及鉴定

2.1.1 McAb-PMP 标记结果 Iodogen 法碘化 McAb-PMP, ^{131}I-McAb-PMP 蛋白峰出现在 3、4 管, 见图 1。游离峰出现在 9、10、11、12 管。纸层析如图 2, 根据公式计算标记率为 89.7%。经纸色谱法测定放化纯度 93.2%。蛋白峰收集液共 2.0ml, 其平均放射浓度为 3.16 mCi/ ml。经 RM905 活度计测定的比活度为 89.6 μCi/ μg。

2.1.2 ^{131}I-McAb-PMP 的免疫活性 ^{131}I-McAb-PMP 经体外细胞结合分析, ^{131}I-McAb-PMP 与 LS-174T 的体外结合率达 75.3%, 而与 QGY-7703 细胞不发生特异性体外结合, 其结合率仅 3.8%, 与前者相比有显著差异(P< 0.01)。

2.2 ^{131}I-McAb-PMP 显像实验

经荷瘤裸鼠尾静脉注射 ^{131}I-McAb-PMP 后, 分别于 24、48、96、168 h, SPECT 中显像。24 h 肿瘤组织已明显放射性浓集, 比周围组织明显高。通过同位素正位及侧位定标确定同位素聚集的部位为肿瘤部位, 大小与实际瘤体相符, 随着时间推延, 本底逐渐减退。48h、96 h 仍然保持浓集, 168 h 肿瘤影像清晰。对照组荷瘤裸鼠尾静脉注射 ^{131}I-McAb-PMP 后, 24 h 出现明显的放射性聚集, 经同位素定标确定同位素聚集在荷瘤裸鼠的颈部, 这由于未以 1% 的 KI 封闭荷瘤裸鼠甲状腺对放射性碘的摄取, 但是, 肿瘤部位未出现放射性的浓集, 提示 ^{131}I-McAb-PMP 不能与 QGY-7703 肝癌特异性结合, 见图 3、4。

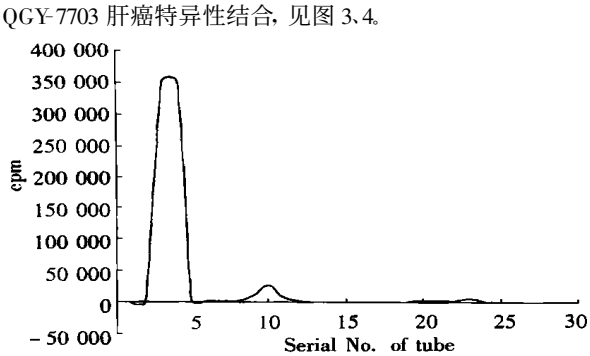


图 1 ^{131}I-McAb-PMP Sephadex G-50 洗脱曲线

Fig 1 Elution curve of ^{131}I-McAb-PMP with Sephadex G-50

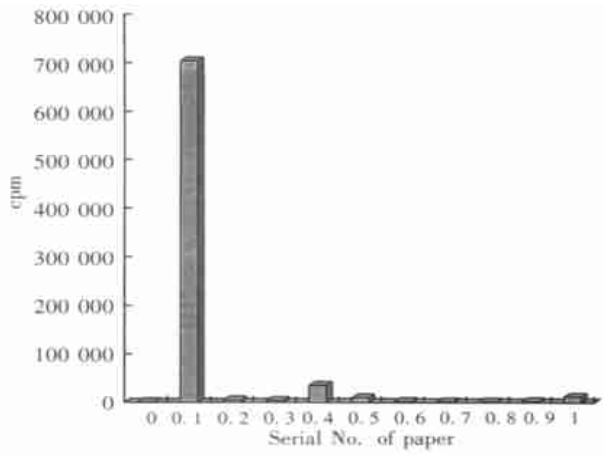


图 2 ^{131}I-McAb-PMP 纸层析

Fig 2 Chromatographic profile of ^{131}I-McAb-PMP

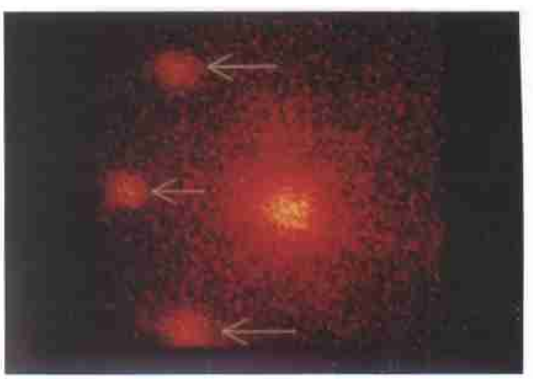


图 3 ECT 显像肿瘤正位定标

Fig 3 Emission CT scan showing tumor position

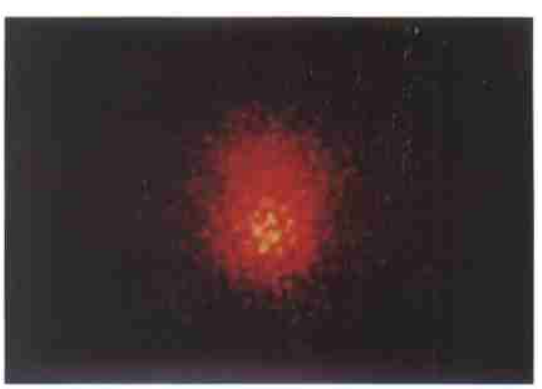


图 4 96 h 肿瘤显像, 同位素聚集在肿瘤部位

Fig 4 Emission CT scan showing isotope gathering at the tumor 96 h after injection

3 讨论

3.1 ^{131}I 标记 McAb-PMP[3~5]

有关单克隆抗体标记磁共振对比剂的体内分布的研究, 采用的方法是以钆相应的同位素 ^{153}Gd 进行实验, 此方法存在同位素昂贵, 抗体标记前就存在同位素

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

不利于操作的缺点。本研究采用核医学常用的蛋白质标记法,同位素相对便宜、标记方法简单,并且标记率高。鉴定蛋白质多肽的碘化标记反应产物的质量时,其放化纯度很重要。在蛋白质多肽的碘化标记反应过程中,由于分离纯化不完全或在储存过程中由于辐射自分解、光照、空气氧化、温度、pH 变化等都会产生放化杂质,因此在碘化标记的蛋白质多肽被应用于实验或临床前,必须对其放射线化学纯度进行测定,一般要求放化纯度在 95%以上,本研究应用纸色谱法测定标记的^{131}I-CL-3-SPIO 放化纯度在 95%以上,符合应用于实验的条件。本研究采用常用的 Iodogen 抗体同位素标记技术,成功地将^{131}I 标记到 McAb-PMP,为确定的生物分布提供了可靠的方法,这也证明在合成 McAb-PMP 时单克隆抗体酪氨酸残基未受封闭,在为后来研究磁共振免疫靶向对比剂生物学分布和免疫靶向性提供了新的方法。抗体在同位素标记技术中最重要的是保持抗体的生物和免疫学活性,否则无法将标记的抗体应用于下一步的实验或临床。在蛋白质、多肽的几种碘化标记法中 Iodogen 法的标记反应温和,碘化反应前将 Iodogen 涂抹在试管内侧表面形成一层 Iodogen 薄膜,蛋白质多肽的碘化标记反应在固相试管内侧表面进行氧化反应,因此降低了氧化反应中氧化剂对蛋白质多肽的损伤程度。本实验结果证实在合成靶向性磁性纳米微粒时,抗体参与反应的酪氨酸残基仍然暴露,未被封闭,并且 McAb-PMP 经碘化标记后基本保持了原有的免疫活性,与细胞内的 CEA 发生特异性的反应。体外结合实验结果显示^{131}I-McAb-PMP 与人结肠癌细胞 LS-174T 能特异性结合,其体外结合率明显高于^{131}I-McAb-PMP 与肝癌 QGY-7 703 细胞的结合率。总之,^{131}I-McAb-PMP 在 Iodogen 碘化标记后能较好地保持其免疫活性,特异性聚集在肿瘤部位,提示 McAb-PMP 能够应用于 MR 成像。

参考文献:

[1] 蔡文琴,王伯yi云. 实用免疫细胞化学与核酸分子杂交技术[M]. 成都:四川科学技术出版社,1994. 155—156.
[2] 程绍钧,余裕民. 检验核医学[M]. 重庆:重庆大学出版社,1999. 43—62.
[3] Mach J P, Buchegger F, Forni M, *et al*. Use of radiolabeled monoclonal antibo dyes for detection of human carcinomas by external photoscanning and tomoscintigraphy[J]. Immunol Today, 1981, 2(2): 239—249.
[4] Kornguth S E, Turski P A, Perman W H, *et al*. Magnetic resonance imaging of gadolinium-labeled monoclonal antibody polymers directed at human T lymphocytes implanted in canine brain[J]. J Neurosurg, 1987, 66(6): 898—906.
[5] Rosenthal S G, Willich H C, Ebert W, *et al*. The Demonstration of human tumors on nude mice using gadolinium-labelled monoclonal antibodies for magnetic resonance imaging[J]. Invest Radiol, 1993, 28(9): 789—793.

(编辑 郭建秀)

文章编号:1000-5404(2002)06-633-01

个案与短篇

腹部 CT 检查影像的伪影分析

Analysis on the image artifacts of abdominal CT scanning

周代全 (第三军医大学附属西南医院放射科,重庆 400038)

腹部 CT 检查中常见到各种原因所致的影像质量缺陷,除操作人员业务水平因素外,伪影是影响影像质量的一个重要因素,它导致影像形态失真、组织结构模糊和 CT 值不准确,给疾病的诊断造成困难。作者收集近两年我科 150 例有伪影的腹部 CT 图像,着重分析常见伪影的产生原因并探讨其处理方法。

呼吸运动所致的伪影:36 例,占本组 24%。扫描过程中由于被检体的运动,导致重建时射线数据位置的不确定而难以形成清晰的影像[1]。此类伪影主要表现为扫描层面中被检部位周边出现星芒状或不规则条索状高低密度混杂伪影,有时甚至表现为横穿整个扫描区域的带状低密度影。扫描前认真训练病人的呼吸方式,最好是嘱病人扫描时在平静呼吸下屏气,这样既可以消除呼吸伪影又可以使扫描层面连续,减少漏检。

胃肠蠕动所致的伪影:30 例,占本组 20%。此类伪影的形成机理与呼吸运动者相同。主要表现为源于胃壁和肠壁的多处星芒状短小的高低密度混杂伪影。此类伪影有时很难避免。在不影响图像质量的情况下尽量缩短扫描时间,或扫描前使用副交感神经阻滞剂抑制胃肠蠕动,可以减少此类伪影的发生。

胃肠腔内气体所致的伪影:25 例,占本组 16.7%。主要是由卷积算法的影响和/或射线衰减系数测量误差引起[1]。表现为胃肠壁与周围实质性脏器交界处的斑片状向实质性脏器延伸的低密度影,常见于肝左外叶与胃小弯交界处和胰头被十二指肠包绕处,如果同时有呼吸运动和胃肠蠕动存在则伪影更加明显。有时胃肠壁本身显示为沿壁分布的高密度条状影,似涂有一层钡剂。解决的方法是检查前 4 h 空腹、检查前 15 min 口服 2% 300~500 ml 阳性或阴性对比剂充盈胃肠道、常规使用副交感神经阻滞剂。阳性胃肠对比剂为泛影葡胺水溶液,阴性胃肠对比剂多为油/水乳化剂加入适量的甲基纤维和调味品。阳性对比剂配制使用方便,但其效果不如阴性对比剂。必要时采用伏卧位扫描改变胃内气体的位置,可以清楚地显示肝左外叶。

钡剂残留或口服阳性对比剂不当:10 例,占本组 6.7%。主要是由于射线硬化效应引起[1,2]。表现为源于钡剂的高密度放射状伪影,严重时覆盖整个层面,因此病人应于胃肠钡餐检查一周后再行 CT 检查。扫描前口服阳性对比剂浓度过高或时间过长对比剂浓缩也产生类似伪影;有时阳性对比剂服用量太少

(下转 639 页)

作者简介:周代全(1963—),男,四川省成都市人,硕士,副主任技师,主要从事腹部成像技术和影像质量管理研究,发表论文 14 篇。电话:(023)68754276

收稿日期:2002-03-15;修回日期:2002-05-19

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net