

· 综述与编译 ·

分子核医学——核医学的发展方向

华西医科大学附一院核医学科 匡安仁综述

北京协和医院核医学科 周 前审校

摘 要:分子生物学和基因工程技术在核医学领域的应用,形成了核医学的发展方向——分子核医学。分子核医学是从生理生化水平认识疾病,阐明病变组织代谢活性的高低和病变细胞是否存在可识别的特定标识物。利用基因工程技术将单克隆抗体的结构进行改造,使其与抗原结合的特异性和亲和力更理想,降低免疫原性,也可赋予抗体新的功能。只有这样生产出来的第二代或第三代单克隆抗体,才可能真正被应用于临床。用放射免疫显像、受体显像、代谢显像和血流灌注显像等方法综合研究,对肿瘤的诊断、分型、分期及预测是否转移有极大价值。利用受体显像方法研究细胞间的信息传递,定量测定体内神经介质的分泌量和受体密度的变化,正在将神经生化和人类思维及行为之间的联系逐步阐明。

传统的医学观念从孤立的器官和系统认识疾病,分子核医学则是从生理和生化的水平认识疾病。临床上发生明显的解剖和功能改变之前几周或几个月,分子核医学就能提供疾病变化的分子水平信息,帮助诊断、治疗和对疗效进行评价。例如,一患乳癌的妇女,核医学应确定肿瘤组织是否有生长激素抑制素受体(Somatostatin Receptor)或雌激素受体,据此确定治疗方案,还可进一步观察肿瘤对生长激素抑制素或雌激素类似物——Tamoxifen 治疗的反应,并对预后进行估计。分子核医学不再是器官定向(Organ-oriented)而是问题定向(Problem-oriented),是从生理生化的角度去阐明和解决问题。分子核医学要回答的问题是:病变组织代谢活性的高低,病变细胞是否存在可识别的特定的标识物^[1]。

对“分子核医学”(Molecular Nuclear Medicine)的项目,美国能源部(Department of Energy)1993年度拨款300万美元,资助

将分子生物学、基因工程技术和放射化学等学科的最新成果应用于核医学领域的研究,开发新型的作用于特定的分子水平部位的放射性探针,用于阐明生命现象的生理生化机制和疾病的发病机制,改进对疾病的诊断和治疗的方法^[1]。

1 从单克隆抗体到多肽片段——分子识别单位

近10年来,人们发展了各种各样的单克隆抗体(McAb),试图用于放射免疫显像、放射免疫治疗和体外放射免疫分析测定。由于McAb本身存在的许多缺点,使这方面研究的大部分工作仍停留于实验室阶段。例如,McAb与抗原结合的特异性过高或过低;用放射性核素标记后使McAb的免疫性和生物活性发生改变;分子量大,易导致产生抗体;在血液中清除慢,靶组织/本底组织之比值小,不能获得优良的显像图像,同时不能获得预期的治疗效果。Wagner预言,McAb要真

正进入临床应用,只有寄希望于利用基因工程技术生产的第二代或第三代 McAb⁽²⁾。

利用基因工程技术,针对上述缺点对 McAb 的结构进行改造,使之能被用于临床,如可使 McAb 与抗原结合的特异性和亲和力更加理想;可增强、降低或完全消除不变区的功能;也可赋予抗体新的功能。利用 DNA 重组和基因转染技术(Gene transfection),可生产出“设计抗体”(Designer antibody),包括嵌合的人类化抗体、单链、抗原结合蛋白、重链可变区蛋白和高可变区多肽分子⁽³⁾。

抗体的赖氨酸残基和重链的碳水化合物部分是放射性核素常结合的部位,酪氨酸残基是放射性碘结合部位,而^{99m}Tc 常与抗体表面的巯基结合。改变抗体结构,使上述结合部位暴露,易于标记。修饰抗体分子上的寡糖,使双功能螯合剂附着于抗体上,凡是金属性的放射性核素就容易标记上去^(4,5)。

将人类抗体的不变区与鼠类抗体的可变区结合,形成嵌合抗体,降低抗体的免疫原性或通过 CDR (complementarity determining region)移植,将鼠的高变区插入人类抗体分子中,可进一步降低抗体的免疫原性⁽⁶⁾。

经上述改造后,抗体的分子量仍然很大,免疫原性仍较强,血液中清除缓慢。抗体分子如仅包含重链可变区蛋白和轻链可变区蛋白,二者之间由多肽相连,这样既保留了抗体与抗原的结合能力,又因为没有 FC 片段,抗体的免疫原性也就明显降低。由于其分子量小,分子穿透力强,易于到达病变组织。另外,它在血中清除迅速,可获得更高的靶组织/本底组织放射性之比,有利于显像诊断和放射免疫治疗^(6,7)。

目前已能合成与特定 McAb 重链高变区氨基酸序列一样的多肽片段,由于这些多肽仅是原抗体分子的很小一部分,所以有最大的穿透能力,能到达体内大分子抗体所不能到达的部位,这就是高可变区多肽片段,又被称为分子识别单位。分子识别单位具有上述

小分子物质的一切优越性,是目前核医学利用基因工程技术和单克隆抗体生产技术发展放射性核素标记探针的最高境界,国外也刚起步。已生产的几种这类多肽,氨基酸残基为 16~31 个,而相应 McAb 的氨基酸残基约为 1 320 个;与 PAC1 的第三高变区氨基酸序列相似的多肽和人血小板上的糖蛋白 II b/III a 有高亲和力,这类多肽分子标上放射性核素后,可用于显像诊断和治疗,也可接上某些药物或毒物,用于治疗。已有作者报道了用^{99m}Tc 标记的多肽分子用于血栓显像研究。合成多肽用于肿瘤的诊断、治疗和分期,是国际核医学界研究的热点,也是核医学的发展方向^(3,6-9)。

2 肿瘤核医学

提供高灵敏度、高特异性的早期诊断肿瘤的方法,仍是核医学的最主要目标之一。

¹⁸F-FDG(脱氧葡萄糖)和²⁰¹Tl 作为亲肿瘤阳性显像剂,国外已作了大量研究工作,显示出了广阔的发展前景。²⁰¹Tl 是 K⁺ 的类似物,很多年以前²⁰¹Tl 就被作为优良的亲肿瘤显像剂,当时认为是因为肿瘤组织相对血流量增加。最近的大量研究已经证实,在代谢动力学、代谢过程对胰岛素的依赖性以及被肿瘤细胞摄取的机制等方面,²⁰¹Tl 与葡萄糖都相似。Haynie 比较了 FDG PET, CT/MRI, ²⁰¹Tl SPECT 对 56 例骨和软组织肿瘤患者诊断的准确性,²⁰¹Tl SPECT 最高。Maublant 等发现,培养的肿瘤细胞摄取²⁰¹Tl 随着细胞代谢活性的增加而增高。因此,²⁰¹Tl 能反应肿瘤细胞代谢的高低和生长速度的快慢⁽¹⁰⁾。

用多种亲肿瘤显像剂对肿瘤进行显像研究,也是国外近年发展起步的课题。用²⁰¹Tl 和¹³¹I-MIBG 两种显像剂对神经内分泌肿瘤的显像研究,在提高诊断的特异性和敏感性方面有较高价值,尤其是对嗜铬细胞瘤、神经母细胞瘤和甲状腺髓质细胞癌的诊断有特殊意义。²⁰¹Tl, ^{99m}Tc-MIBI, ¹²³I-MIBG, ¹¹¹In-

Octreotide, McAb 和 ^{18}F -FDG 等亲肿瘤显像剂的综合显像研究, 有利于对肿瘤分期、分型、诊断和鉴别诊断, 也可用于预测肿瘤转移几率的大小^[10]。

FDG 的代谢和局部血流量研究相结合, 可提供更多关于肿瘤的信息。Alder 等用 ^{18}F -FDG 显示病人腋淋巴结, 对乳腺癌进行分期。Bares 等发现, 在已有与没有发生转移的前列腺癌之间, 肿瘤细胞的增殖和分化程度没有明显差异, 唯一区别是前者葡萄糖的利用率明显高于后者, 由此提出了这样一个有趣的问题: 葡萄糖利用率的高低与肿瘤细胞是否转移之间有无必然的联系? CT 检查确定需手术治疗的纵膈淋巴结疾病的病人, 而 Knopp 用 ^{18}F -FDG 显像检查, 发现其中 40% 不适合手术治疗, 改用化疗获得良好的效果^[2,10]。

近几十年, 有 50 多种多肽信使(或介质)已被确定, 通过 X 光衍射阐明了它们的肽链结构。由于基因工程技术的发展, 已能大量生产这类多肽。生长激素抑制素是 70 年代中期分离出的一种多肽, 作用于细胞上特定的受体并抑制细胞分裂。用 ^{111}In 或 ^{123}I 标记的生长激素抑制素的衍生物 Octreotide, 其分子结构、水化程度和所带的电荷都使之易于与生长激素抑制素受体结合, 终止细胞的分裂。

Kwekkeboom 等用标记的 Octreotide 显像检查了 1 000 多例肿瘤病人, 包括神经内分泌肿瘤、乳腺癌、非何杰金氏病、何杰金氏病、肉芽肿和类肉芽病等, 显示了很高的诊断价值。被活化了的 T 淋巴细胞上有这类受体, 可用标记的 Octreotide 显像研究自身免疫疾病的活动期。用 ^{111}In -Octreotide 显像发现, 内分泌性突眼患者眼眶周围有 ^{111}In -Octreotide 浓聚, 而且被浓聚放射性的 高低与病变的活跃程度相符, 病变越活跃, 放射性浓聚越高。如病变处于活动期, 用免疫抑制治疗将取得良好效果^[2,10]。

很多作者一致评价, Octreotide 是一种

分子量很小的多肽, 穿透力强, 不导致抗体产生, 易于标记, 与生长激素抑制素受体有特异性的高亲和力, 并能持久与受体结合, 血中清除迅速, 靶组织与本底组织放射性之比高。

^{111}In -Octreotide 具有高分辨率、高对比度, 能获得高质量的显像影像, 可显示很小的肿瘤病灶。 ^{131}I -Octreotide 同时具有诊断、放疗和化疗三方面作用。对生长激素抑制素及其衍生物 Octreotide 的研究, 是核医学界近年来最大的突破之一, 也是最有发展前途的研究领域之一, 是分子生物学、基因工程技术、放射化学和核医学受体显像技术相结合的最成功的例子之一^[2,10]。可惜, 国内在这一方面的研究尚未跟上。

3 受体显像

利用放射性核素标记的受体配基, 以显像的方法研究细胞间的信息传递, 尤其是对神经系统神经介质与受体作用的研究, 已取得很大的进展, 正在将神经生化和人类思维及行为之间的联系逐步阐明^[2]。

Feistel 用 ^{123}I -Iomazenil 行苯二氮䓬受体显像来研究焦虑性疾病, 发现病人左侧海马和右侧颞叶的苯二氮䓬受体密度降低, 这是首次证实了苯二氮䓬受体密度变化与临床症状的联系^[10]。

用突触后多巴胺 D_2 受体显像剂 ^{123}I -IBZM 对特发性帕金森氏综合征(IPS)进行显像研究, Tatsch 发现了重要的生理机制: 药物所致的 IPS 病人, D_2 受体密度正常或增加, 这是用药物治疗获效的先决条件; IBZM 与基底节的结合是不对称的, 病侧明显低于对照侧; 左旋多巴治疗不影响 IBZM 与 D_2 受体的结合, 多巴胺受体激动剂治疗, 使 IBZM 的结合位点下降^[10]。

Dewey 等用受体显像方法阐明了神经系统中三种不同介质系统之间的相互联系。纹状体内的 γ -氨基丁酸(GABA)神经元分泌抑制性神经介质 GABA, GABA 能抑制黑质中

多巴胺神经元分泌多巴胺,给予药物(GVG)阻止了 GABA 代谢,使 GABA 浓度增高,进而抑制多巴胺的分泌 使多巴胺受体显像剂

^{11}C -raclopride 与多巴胺受体的结合增加。乙酰胆碱分泌增加使多巴胺神经元分泌多巴胺减少,乙酰胆碱受体显像剂 ^{11}C -benztropine 与乙酰胆碱受体的结合降低,而多巴胺受体显像剂与多巴胺受体的结合增加。这一研究充分说明了神经系统内各种介质系统之间的复杂关系,可用受体显像这一 技术进行探索。由于受体显像剂与相应的神经介质是竞争性地与受体结合,所以体外受体显像可定量测定体内神经介质的分泌量和受体密度的

变化^(2,10)。

参 考 文 献

- 1 Newslin. J Nucl Med,1993;34(2):15N
- 2 Wagner HN. J Nucl Med,1992;33(8):10N
- 3 Serafini AN. J Nucl Med,1993;34(3):533
- 4 Schlom J. JAMA, 1989;261(5):744
- 5 Goldenberg DM. Semin Nucl Med,1989;19(4):332
- 6 Mayforth RD. N Engl J Med,1990;323(3):173
- 7 Rodwell JD. Nature,1989;342(6245):99
- 8 Morrison SL. Hosp Pract,1989;15(1):65
- 9 Koppel GA. Bioconj Chem,1990;1(1):13
- 10 Henze E. J Nucl Med,1993;34(2):17N

非放射性标记免疫分析的若干动向

上海医科大学华山医院核医学科 黄 淳综述 林祥通 林 汉*审校

摘 要:介绍了各类非放射性免疫分析和免疫传感器的基本原理及国内外的研究现状。今后的发展重点将是 DNA 重组技术的利用,制备新的标记物和活化固相成分,获得更有效的分析方案,实现分析过程的全自动化。

放射免疫分析(RIA)的灵敏度高、特异性强,因此在医学研究、临床分析和其它领域内获得广泛应用,但也存在放射线危害、货架寿命有限、废物处理麻烦等缺点。于是,一些非放射性免疫分析技术问世,主要有酶免疫分析、化学发光免疫分析、荧光免疫分析和时间分辨荧光免疫分析等。它们的基本原理与 RIA 或 IRMA 相似,只是示踪信号和测量仪器不同,不仅克服了放射性核素的固有缺点,而且在灵敏度、特异性、稳定性等方面都可与 RIA 媲美,成为九十年代标记免疫学的发展重点。此外,免疫传感器也日益受到人们的重

视。现将这类技术的研究进展作简要综述。

1 酶免疫分析(EIA)

EIA 一词,从来无确定定义,本文指用酶作标记物测定抗原或抗体的方法,其浓度用酶活力大小反映,灵敏度可达 RIA 同等水平。目前文献报道的方法有以下几种。

均相法(Homogenous EIA):经典的方法是特异抗体在与酶标抗原结合的同时引起酶活性改变,酶活性的高低和参与竞争结合的待测抗原浓度呈剂量相关,这种方法叫做 EMIT (Enzyme Multiplied Immunoassay