

的多相性。在肿瘤包块中,McAb 无法均匀地穿透各种障碍与所有靶细胞结合,而且肿瘤内并非所有细胞均表达抗原。

3.3 肿瘤本身的血管分布、血流量及渗透性
肿瘤的血管多,血流量大,及/或血管通透性高,对标记 McAb 的摄取量大。另外,抗体片断的渗透性比完整抗体的渗透性强,疗效更佳^[9,10]。

RIT 与 RII 近年来发展迅速,但其难点主要是肿瘤对 McAb 的吸收量低(大部分报告不超过 1%注射剂量/克肿瘤组织)和人对鼠源性 McAb 产生的 HAMA 反应。基因工程、免疫化学、分子生物学等基础学科的发展,可能为这些问题的解决带来希望^[11,12]。

参 考 文 献

1 Geoffrey A et al. Immunol Rev,1992;129:57

- 2 Morrison S et al. Science,1985;229:1202
- 3 Reichmann L et al. Nature,1988;332:323
- 4 Mullinax RL et al. Proc Natl Acad Sci USA, 1990;87:8095
- 5 Nolan O et al. Int J Clin Lab Res,1992;22(1): 21
- 6 John E et al. J Nuci Med,1993;34:260
- 7 Barry W et al. Cancer Res,1990;50:970
- 8 Howard S et al. Cancer Res,1990;50:809
- 9 Jain RK et al. Cancer Metastasis Rev,1990;9: 253
- 10 Jain RK et al. Int J Radiat Biol,1991;60:85
- 11 Steven M et al. Cancer Res,1990;50:892
- 12 Goldenberg DM et al. CA Cancer J Clin,1994; 44(1):43

(收稿日期:1994-07-04)

从单克隆抗体到单链抗原结合蛋白 体外亲梗塞心肌显像的研究现状

上海市心血管病研究所(上海,200032) 邹立华 综述

陈灏珠 杨一峰 郑妙塔* 刘秀杰** 审校

摘 要:抗心肌肌凝蛋白单克隆抗体对心肌梗塞的诊断、判断梗塞范围、评估疗效及预后具有重要的实用价值。由于它的延迟显像及高肝区放射活性等,使其面临一些需要解决的问题。随着 DNA 重组技术的发展和渗透,已能通过抗体蛋白质工程改造抗体。单链抗原结合蛋白的初步研究为梗塞心肌的放射免疫显像开辟了新的视野。

关键词:心肌梗塞 放射免疫显像 抗肌凝蛋白单克隆抗体 单链抗原结合蛋白

心肌梗塞发生后,以目前常用的手段做出诊断多无困难,但要更细致了解心肌坏死的部位和范围、识别危险心肌、判断疗效和预后等,常规的检查并非能圆满回答这些问题,尤其是在伴有传导异常、无 Q 波梗塞、多次

梗塞、右室梗塞、溶栓及搭桥术的情况下常难以做出诊断。将放射性核素标记的抗体技术应用于心肌坏死的判断应归功于 Khaw 及其同事,早在 1976 年,他们的一系列研究证实了抗心肌肌凝蛋白抗体(AMA)经放射性碘

* 天津医科大学附二院(天津,300211)

** 中国医学科学院阜外医院(北京,100037)

标记在体内显像的可行性。1984年,该小组成功地得到了抗人心肌肌凝蛋白单克隆抗体(R11D10),因其对梗塞心肌的高度敏感性和特异性,故被用于梗塞心肌的诊断,从而跨入了临床应用的年代。

1 实验及临床研究

多数实验和临床研究是在AMI(急性心肌梗塞)急性期。Matsumori等^[1]发现,直到AMI后16天,即使是小面积梗塞正常心功能者,其90%(26/27例)的¹¹¹In-AMA显像持续阳性。也有在梗塞后150~270天梗塞仍可被检测的报道^[2]。影响受损区AMA结合的因素目前看法不一,多数实验表明,梗塞心肌的范围是决定AMA结合强度的变量,与其它变量如梗塞部位、梗塞区相关血管开放、侧支循环等无相关关系^[1-3]。AMI急性期后AMA仍被结合的机理不明,可能是损伤心肌肌凝蛋白呈持续性暴露,或抗体在炎性水肿组织中的非特异性蓄积,或是两者的综合因素。

一系列死亡前后临床与病理研究的结果表明,体外¹¹¹In-AMA放射性自显影与组织病理学提示的心肌坏死部位相关性极好^[4-6]。至于慢性持续¹¹¹In-AMA结合者预后常较差,可能反映了残余缺血,而ECG和CPK并不能反映这一问题。¹¹¹In-AMA的早期计数密度指数可预测溶栓后AMI患者的室壁运动改善状况^[7-9]。

由于认为AMA的结合不依赖血流,所以设想¹¹¹In-AMA与依赖血流的²⁰¹Tl或^{99m}Tc-MIBI做SPECT双核素显像,¹¹¹In-AMA图像重建参数可以从²⁰¹Tl灌注显像中确定。在显像完成时,两种同时所做的SPECT图像可以分离重建,相应的短轴或长轴切面可逐幅展开。由坏死心肌结合的¹¹¹In-AMA部位与由血流灌注占据的²⁰¹Tl可用这种技术得到评估。在AMI急性期,¹¹¹In-AMA和²⁰¹Tl的双核素静息SPECT显像可

识别未梗塞(无¹¹¹In结合)、低灌注(²⁰¹Tl缺如)但能存活、有进一步危险的心肌细胞。双核素显像有以下几种情况^[10]:²⁰¹Tl缺损与¹¹¹In-AMA结合部位一致(匹配);²⁰¹Tl缺损伴无¹¹¹In-AMA结合或²⁰¹Tl缺损大于¹¹¹In-AMA结合(不匹配);²⁰¹Tl与¹¹¹In-AMA出现在同一节段(重叠)。匹配者无进一步缺血发作;不匹配者多有进一步缺血证据;重叠者代表了梗塞血管分布区的非穿壁梗塞或在Q波梗塞以外更广泛的非穿壁梗塞,可见于某些溶栓成功者,推测其心外膜已挽救,²⁰¹Tl接近静息时正常值而心外膜下梗塞心肌AMA很易经扩通的梗塞血管连接到梗塞的心肌细胞。对于识别有进一步缺血危险的存活心肌,静息双核素显像要优于²⁰¹Tl静息和再分布显像^[11]。

双核素SPECT研究对右室梗塞诊断非常有用^[12]。右心导联ST段抬高诊断右室梗塞敏感性高但特异性低。尸检证明,生前下壁MI(心肌梗塞)的患者50%有右室梗塞。此外,^{99m}Tc-MIBI/¹¹¹In-AMA SPECT显像表明,^{99m}Tc-MIBI可在AMI极早期注射,而显像可在病情稳定后采集,不影响干预治疗的及时实施。此法不仅可以估计正常与坏死心肌,而且可以判断“过渡心肌”即部分受损、部分存活的心肌^[13]。

2 AMA显像技术的改进

由于AMA-Fab-DTPA血液廓清速率较慢,靶/本底比值较高,使最佳显像时间推迟至给药后48小时,无助于急需确诊的病例;非靶器官肝脏的放射活性较高,干扰了正确诊断AMI,尤其是下壁梗塞,因此,许多学者试图从方法学上使该技术更趋完善。其一是通过计算机软件的帮助,经自动几何回归,灰度归一化校正血池本底,使血池校正6小时显像效果与24小时的显像效果相同^[14]。其二是改变抗体电荷。这是基于这样一种认识:抗体与抗原的结合主要是通过抗原特异性决

定簇,同时抗体(带阳电荷)也经静电引力与其他非靶器官细胞(带阴电荷)的结构结合,正是这种结合,干扰了AMA显像的清晰度。用DTPA与多聚赖氨酸共价连接,再经介导载体羧-琥珀酰亚胺与AMA-Fab共价偶联,使AMA携阴电荷。电荷的改变不影响抗体的免疫活性,但其肝、肾及正常心肌活性明显低于¹¹¹In-DTPA-AMA-Fab^[15]。其三是使用新的双功能螯合剂SCN-DTPA。SCN-DTPA与AMA-Fab的恒定区结合不影响抗体的结合位点,所以抗体活性不受影响。也许是减弱了¹¹¹In与转铁蛋白的交叉螯合,肝区活性降低,靶/本底比值提高,从而改善了梗塞心肌的显像质量^[16]。

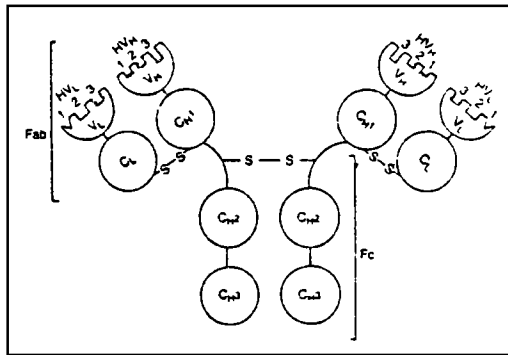


图1 抗体分子结构

象其它用于显像诊断及治疗的单克隆抗体一样,AMA还面临一些问题:①鼠源性单抗引起的过敏反应;②抗体在梗塞心肌定位的药物动力学与核素^{99m}Tc的物理半衰期不吻合;③由于技术上的限制,不能人为控制产生的抗体的类型及亚型,而这一特征常决定了单抗的生物学活性及用途;④一个满意的单抗细胞株的获得需要付出艰苦的劳动并耗费很长时间,使生产时间延长,降低了效益,这也是目前AMA尚未在我国国产化并用于临床的原因^[17];⑤现有的免疫学方法限制了

人型单抗的发展。DNA重组技术提供了人源性AMA的可能性。抗体的蛋白质工程,是以抗体分子精细结构-功能关系为基础,通过DNA重组技术改造抗体,改善现有抗体的结构与功能,或通过分子剪裁及残基置换,使现有抗体分子引入新的性能^[18]。现就单链抗原结合蛋白(sFv)作一简单介绍。

如图所示,抗体分子由两条重链和两条轻链组成,每条链由可变区(V)和恒定区(C)组成。V区是抗原识别结合部分,经氨基酸序列分析表明,它存在两类可变区序列:高变区序列和框架序列(Framework sequences),其中,高变区序列中有六个高变区,V_H和V_L中各三个,形成抗体的抗原结合部位,因而也称互补决定区。框架序列的功能是形成和稳定V区的立体构象。单链抗原结合蛋白的设计基于这样一种推测:分子的相互作用与框架结构有关,V_L及V_H经肽链连接片段连接,形成稳定的折叠构象(见图2)。Fv片段是能与抗原结合的抗体最小片段,由V_H和V_L组成,其分子量小(为Fab片段的一半),免疫原性弱,无C区,能较快进入靶位。然而,从完整抗体分子的消化方法中难以得到Fv片段。利用DNA重组技术则可较容易地构建和表达Fv,即先从R11D10杂交瘤细胞中得到mRNA,构建互补DNA(cDNA),把编码AMA V_H和V_L的DNA用适当的寡核苷酸连接起来,在色氨酸启动子控制下,用15个氨基酸先导序列组装到载体大肠杆菌中作为融合蛋白进行表达,得到了一条由肽链连接片段连接的两个V区多肽链sFv-sFv中的连接片段增加了sFv两个V区的稳定性,对连接片段的长度、氨基酸种类、氨基酸顺序是有一定要求的^[20,21]。AMA的sFv首先由



图2 单链抗原结合蛋白

Nedelman 完成^[22]。

现有的结果显示,^{99m}Tc-sFv-RP-1 在体内、体外与¹¹¹In-AMA-Fab-DTPA 具有类似的免疫活性,血中廓清速率前者较后者快 4~5 倍。虽然廓清速率增加,但作为抗体的最基本特征,它象 AMA 的 Fab 片段一样,保留着与暴露的肌凝蛋白结合的高度特异性和敏感性。另外发现,先前限制 AMA 对心肌梗塞早期诊断的主要问题不是由于梗塞部位的抗体结合太少而是由于清除缓慢造成的。sFv 相对快的廓清是因为它较小的分子,并非标记本身。

3 展 望

放射性核素标记的 AMA 对梗塞心肌的诊断具有高度敏感性和特异性,¹¹¹In-AMA 与心肌灌注显像剂的双核素 SPECT 显像在预测梗塞后病人进一步的缺血事件方面具有独到之处,AMA 显像技术的改进使它更易为人们接受。包括 sFv 在内的蛋白质工程抗体尚处于实验研究阶段,其显像优点包括:对病变部位定位迅速,血中廓清速率快,能合成具有特异生物学分布的放射性标记类似物,并能用显像特性好的短半衰期放射性核素,从而为临床应用开辟了广阔前景。

参 考 文 献

- 1 Matsumori A et al. Am Heart J,1990;120:1026
- 2 Bhattacharya S et al. Am Heart J,1991;122:

1583-1587

- 3 Ouzan J et al. Int J Cardiol,1993;40:257-263
- 4 Senior R et al. Am Heart J,1991;122(3 pt 1): 857-859
- 5 Jain D et al. J Nucl Med,1990;31:231-233
- 6 Hendel RC et al. J Nucl Med,1990;31:1851-1853
- 7 Merhi Y et al. Cardiovasc Res,1993;27:1504-1509
- 8 Yamada T et al. J Nucl Med,1992;33:1501-1508
- 9 Vlie BV et al. Am J Cardiol,1989;64:167-171
- 10 Johnson LL et al. Circulation,1990;81:37-45
- 11 Schwaiger M et al. J Am Coll Cardiol,1986;8: 800-808
- 12 Antunes ML et al. Am J Cardiol,1992;70:426-431
- 13 Morguet AJ et al. J Nucl Med,1992;33:223-228
- 14 Liehn JC et al. Nucl Med Commun,1992;13: 454-460
- 15 Khaw BA et al. J Nucl Med,1991;32:1742
- 16 Khaw BA et al. J Nucl Med,1990;31:211-217
- 17 林 汉等. 中华核医学杂志,第二届全国心脏学术会议论文摘要,p32
- 18 Serafini AN. J Nucl Med,1993;34:533-536
- 19 Mayforth RD and Quintans J. N Engl J Med, 1990;323:173-178
- 20 Bird RE et al. Science,1988;242:423-426
- 21 Riwchmann L et al. J Mol Biol,1992;224:913
- 22 Nedelman MA et al. J Nucl Med,1993;34:234

(收稿日期:1994-03-07)

β₂-微球蛋白评价肾功能

南京铁道医学院附院核医学科(南京,210009)杜明华 综述
华西医科大学附一院核医学科(成都,610041)谭天秩 审

摘 要:β_{2m} 几乎完全被肾小球滤过,且 99.9%又被肾小管重吸收,它能同时反映肾小球、肾小管功能。因此,它在评价肾小球功能,尤其是肾小管功能以及肾移植、上下尿路感染时均有重要价值。

关键词:β₂-微球蛋白 放射免疫测定 肾小球滤过率 肾小管功能 肾移植