

⁶⁷Ga 的放射毒理进展

苏州医学院放射毒理教研室 (苏州, 215007) 肖 东 综述 朱寿彭 审校

摘要: ⁶⁷Ga 是肿瘤显像应用广、效果好的放射性核素。本文探讨了 ⁶⁷Ga 的生物学分布、吸收机制和对机体的放射毒理损伤效应, 进而阐述了 ⁶⁷Ga 的放射毒理效应主要与 ⁶⁷Ga 发射的低能量电子有关。

关键词: ⁶⁷Ga 放射毒理 低能量电子

⁶⁷Ga 是目前肿瘤显像应用多、效果好的放射性核素, 但 ⁶⁷Ga 由肿瘤组织的摄取机制有待阐明。近年来, 人们对 ⁶⁷Ga 在肿瘤组织中的吸收、定位机制进行了较深入的研究, 并报道了 ⁶⁷Ga 的放射毒理效应及毒理机制。

1 ⁶⁷Ga 在体内的分布及吸收机制

⁶⁷Ga 是元素周期表中的第 III A 族元素。放射性核素 ⁶⁷Ga 通过电子俘获衰变, 物理半衰期为 78.3 小时, 不产生 β 射线。衰变时放射出四种能量不同的 γ 射线: 93keV (40%)、184keV (24%)、300keV (16%) 和 393keV (7%)。适合扫描的是前三种能量。⁶⁷Ga 也能发射极低能量的 Auger 电子 (Auger Eletrons, AE, 0.1~8.0 keV) 和低能量的转化电子 (Conversion Eletrons, CE, 80~90keV), 这些电子与细胞毒理效应有关^[1-2]。

静脉注射 (iv) ⁶⁷Ga-枸橼酸后, 血液中 90% 以上的 ⁶⁷Ga 与血浆蛋白包括转铁蛋白和肝球蛋白结合, 也与白蛋白或球蛋白形成松散结合。给荷人黑色素瘤裸鼠 iv ⁶⁷Ga-枸橼酸, 48 小时后处死动物, ⁶⁷Ga-枸橼酸的分布规律是: 肿瘤 (21.42%) > 肾 (10.3%) > 骨 (9.25%) > 肝 (9.01%) > 小肠 (4.54%) > 脾 (4.13%), 以肌肉分布最少, 为 0.51%。而 24 小时前给予 B₃/25 McAb (抗人 TFR McAb) 后, 肿瘤组织对 ⁶⁷Ga 的摄取下降 75% (5.12%), 但注射 96.5 McAb (anti-p97McAb) 对摄取无影响。其它组织摄入 ⁶⁷Ga 率同对照组无差异^[3]。给正常犬和

特发性淋巴肉瘤犬 iv Ga(NO₃)₃, 在第一个 48 小时后约 50% 的注射量从尿中排出。6~72 小时中, 在肝、肾、骨、骨髓和小肠的浆膜/组织的含量比高于皮质/组织之比, 但在脑和骨骼肌中, 皮质/组织含量比较高。正常犬和荷瘤犬的正常组织对 Ga(NO₃)₃ 的摄取、分布和蓄积无差异, 与所给剂量呈正相关^[4]。给人在 0.5~2.5 小时内静脉输注 Ga(NO₃)₃ 一次, t_{1/2α} 为 0.3~1.5 小时, t_{1/2β} 为 24.5~25.1 小时, 第一个 24 小时内尿镓排出量为 35%~71%^[5]。大鼠单剂量 ip (腹腔注射) Ga(NO₃)₃ 100mg/kg, t_{1/2α} 为 50~85 分钟, t_{1/2β} 为 24~36 小时; ip 前 0.5 小时给大鼠灌胃异山梨醇 5mg/kg, 在 24 小时内镓的血浆浓度、血浆清除率及尿镓排出量无显著差异, 但非利尿药组大鼠尿镓浓度是利尿药组的 1.5~2.5 倍^[4]。⁶⁷Ga-枸橼酸口服、皮下、肌注射时, 吸收都很差。

静注 ⁶⁷Ga-枸橼酸, 在正常肝脏内的分布几乎是均一的。但肿瘤细胞对 ⁶⁷Ga 的摄取, 普遍认为与 TFR (转铁蛋白受体) 有关^[1-3, 6-7]。⁶⁷Ga 与 TF (转铁蛋白) 结合后与 TFR 形成 ⁶⁷Ga-TF-TFR 复合物, 通过细胞摄粒作用被吸收到肿瘤细胞中, 然后在肿瘤细胞内浓集。单克隆抗体的研究为这一机制提供了可靠的证据。预先应用抗人 TFR McAb 可使荷人黑色素瘤裸鼠肿瘤组织对 ⁶⁷Ga 的摄取率明显下降^[3]。在培养的人白血病细胞 HL60 或人淋巴瘤 U-715 细胞中加入抗 TFR McAb 后, 可明显抑制细胞对 ⁶⁷Ga 的摄取^[2,7], 是由于单克隆抗体改变了肿瘤

细胞表面 TFR 的抗原性所致。细胞对⁶⁷Ga 的摄取是一个主动过程。在 U-715 细胞的研究中,人为地降低细胞的生存率到 20%,细胞对⁶⁷Ga 的摄取下降 50%,且细胞的生存率与其对⁶⁷Ga 的摄取率呈正相关。细胞对 TFR 的表达也依赖于细胞的存活^[2]。而 Chitambar 等^[7]认为:HL60 细胞对⁶⁷Ga 的摄取存在两种机制,即 TFR 依赖性和非依赖性机制,其中 TFR 依赖性途径是最重要的机制。在 TF 为 50μg/ml 时,U-715 细胞对⁶⁷Ga 的摄取达高峰,再增加 TF 则摄取率反而下降^[2]。Jonkhoff 等^[1]报道,U937 细胞在 TF 0~1μg/ml 时对⁶⁷Ga 的摄取恒定于 1.0%~1.5%;当 TF 增加到 10μg/ml,对⁶⁷Ga 的摄取稍有增加;但当 TF 升高到 100μg/ml,对⁶⁷Ga 的摄取率显著下降。认为是血浆中其它物质竞争 TFR 的结果^[1-2]。采用离体的大鼠肝细胞和肝脏灌注法发现,低浓度 TF(2~50μg/ml)对肝细胞摄入⁶⁷Ga 无影响,而较高浓度(500~1000μg/ml)却抑制⁶⁷Ga 的摄取^[8]。给予 asialo-TF,肝细胞摄入⁶⁷Ga 的能力明显增强,这可能是肝细胞摄入⁶⁷Ga 的新途径,其主要和半乳糖受体介导的摄粒作用有关^[9]。

通常认为,⁶⁷Ga 仅定位于肿瘤细胞类溶酶体结构内。运用电镜放射自显影技术发现,⁶⁷Ga 主要定位于变形性骨病的破骨细胞核内,有少量在胞浆内^[10]。而在 U-715 细胞中,⁶⁷Ga 定位于胞核和胞浆各占 50%^[2]。给大鼠静注⁶⁷Ga-枸橼酸,24 小时后处死大鼠,制备亚细胞悬液,液闪计数器测定放射性活度。发现⁶⁷Ga 的放射性活度在正常肝组织溶酶体中(55%)显著高于肝癌 AH109A(32%)和吉田肉瘤(18%),显示肝细胞组织中的溶酶体酶(如谷氨酸脱氢酶、胆碱氧化酶和葡萄糖-6-磷酸酶)活力和肝组织对⁶⁷Ga 的积累呈正相关。正常肝组织中溶酶体活力很强,对⁶⁷Ga 的积累起较大作用。癌变组织酶活力降低而作用减弱。吉田肉瘤细胞无肝细胞特点,其溶酶体对⁶⁷Ga 的积累作用不大^[11]。

2 ⁶⁷Ga 的放射毒理效应

一般认为,⁶⁷Ga 的 γ 射线用于放射显像对淋巴瘤细胞几乎无毒性,因为仅仅是在摄入量限值内的少量被组织吸收[低 LET(传能线密度)]。然而,⁶⁷Ga 可发射极低能量的 AE 和低能量的 CE,属高 LET 辐射,可对淋巴细胞产生毒性效应。另外,AE 定位于细胞内,可对 DNA 产生细胞毒性效应。

Jonkhoff 等^[1]以人淋巴瘤 U937 细胞为对象研究了⁶⁷Ga 的放射毒理效应。U937 细胞与 0.37~1.48MBq/ml ⁶⁷Ga 共同孵育 3~6 天,检测细胞对⁶⁷Ga 的摄取、细胞计数、MTT 测定细胞的增殖力,CFU 测定细胞集落形成能力。孵育后 3~6 天,细胞计数下降 18%~22%,细胞活力降低,细胞增殖减少。于培养后不同时间检测 MTT,孵育 3 天抑制率为 23%和 36%;孵育 7 天抑制率为 51%和 53%。CFU 检测显示,孵育 3 天和 6 天的细胞簇、集落和集落形成单位均下降,经统计学检验有显著差异。根据细胞对⁶⁷Ga 的摄取及实验中影响 CFU-S 的量可得出每个细胞⁶⁷Ga 的均值为 7.4~9.25kBq, D₃₇ 为 12.95kBq。0.37~2.96MBq/ml ⁶⁷Ga 对 U937 细胞的形态学改变较轻。2.96MBq/ml ⁶⁷Ga 与 U937 细胞孵育 6 天后可见异常,主要为多数细胞出现二个或多个核,部分细胞为程序性死亡。在淋巴瘤 U-715 细胞中加入 3MBq/ml ⁶⁷Ga-枸橼酸,4 天后细胞生存率下降 45%,集落形成能力下降 91%。认为这种毒性非 Ga³⁺ 的毒性,因为 3MBq/ml 的⁶⁷Ga 仅等同于 2nmol/L 的浓度,而这种浓度不至于产生细胞毒性^[2,12]。Martin 等^[13]发现,⁶⁷Ga-DNA-Ligand 和⁶⁷Ga-枸橼酸可使 DNA 双链断裂,且前者的毒理效应更强。

Ga(NO₃)₃对细胞的生成及其 DNA 的毒理已有系列报道^[4,6,12,14-15]。在人 T 淋巴细胞 CCRF-CEM 中加入 Ga(NO₃)₃ 120~480μmol/L,24 小时后细胞生存抑制率为 50%~100%,而 120μmol/L 孵育 48~72 小时,培养细胞全部

死亡^[12]。TF-Ga 也能明显抑制 HL60 细胞的增殖^[14]。Ga(NO₃)₃ 对 R 细胞(镓耐受细胞)和 S 细胞(镓敏感细胞)的 IC₅₀ 分别为 2 295.8 和 79.6 μmol/L, 前者是后者的 29 倍。两种细胞的镓摄取和释放无差别, TFR 的表达一致, 故认为细胞对镓耐受的原因主要与细胞对 Fe³⁺ 的摄取有关^[6,15]。

对 Ga(NO₃)₃ 的急性毒性研究表明: 小鼠 iv 或 ip 的 LD₅₀ 是 41~55 和 80mg/kg; 大鼠 LD₅₀(iv) 46mg/kg、(ip) 67.5mg/kg、(sc, 皮下) 121mg/kg; 兔 LD₅₀(iv) 43mg/kg、(sc) 97mg/kg。给犬一次性静注 Ga(NO₃)₃, 致死剂量为 32mg/kg; 给猴连续 iv 5 天, 致死剂量为 10mg/kg, 0.32mg/kg 几乎无毒。iv 后动物常出现恶心、呕吐、过敏、肺水肿。实验中幸存的动物常可于 30~45 天完全恢复。主要脏器可产生毒理效应, 如肝 SGPT(血清谷丙转氨酶)上升、高脂血症、血清电解质异常、肌酐清除率下降、淋巴结肿胀、白细胞减少、血红蛋白下降。致死剂量组动物肝、肾细胞坏死。肿瘤患者连续输注 7 天, 可产生严重的恶心、呕吐等症状, 且和给入量高度相关^[4]。

3 ⁶⁷Ga 的放射毒理机制

人们对 ⁶⁷Ga 的放射毒理效应认识较迟, ⁶⁷Ga 放射毒理机制仍在探索之中。综述近年研究结果, 认为主要与 ⁶⁷Ga 发射的低能量电子的损伤作用有关。而 TF、TFR 及其细胞内的酶体系和 Fe³⁺ 可能影响 ⁶⁷Ga 的放射毒理效应。

⁶⁷Ga 发射的低能量 AE 和 CE 属高 LET 辐射, 可能对淋巴细胞产生毒性作用, AE 在细胞内可直接损伤 DNA^[1-2,13]。实验中, 1.48 MBq/ml ⁶⁷Ga 与 U937 细胞孵育 6 天, 细胞数减少 22%, MTT 测定降低 63%, CFU 检测降低 72%; 2.96 MBq/ml ⁶⁷Ga 可使 CFU 下降大于 97%, 显示 ⁶⁷Ga 对集落形成细胞具有毒性效应, 并呈明显的量效关系。为了明确 ⁶⁷Ga 的放射毒理机制, 用等效剂量对比研究 ⁶⁷Ga-枸橼酸和 ⁹⁰Y-胶体的细胞毒性和剂量效应, 而 ⁹⁰Y 的

毒理机制是明确的。两者的 T_{1/2} 相近(⁶⁷Ga 为 78 小时, ⁹⁰Y 为 64 小时), 在 U937 细胞中分别加入 ⁶⁷Ga 和 ⁹⁰Y, 6 天后以 CFU 降低为指标进行评价, 发现 1.48 MBq/ml ⁶⁷Ga 等同于 92.5 kBq/ml ⁹⁰Y (抑制率分别为 64% 比 70%); 2.96 MBq ⁶⁷Ga 等同于 0.185 MBq/ml ⁹⁰Y (97% 比 98%)。 ⁶⁷Ga 等量毒理效应是 ⁹⁰Y 的 16 倍。然而细胞形态学发现二者有差异, 2.96 MBq/ml ⁶⁷Ga 对细胞损伤较轻, 而 0.185 MBq/ml ⁹⁰Y 时, 细胞死亡 80%, 这说明两者毒理机制可能不同, ⁶⁷Ga 可能延迟细胞死亡或对集落形成细胞的毒理效应更明显。从两个核素发射的射线来看, ⁹⁰Y 发射高能 β(2.27 MeV) 和 γ 射线; ⁶⁷Ga 除发射 γ 射线外, 还有低能量的 AE 和 CE, 但不发射 β 射线。⁹⁰Y 的累积剂量是 494 cGy, 初始剂量率为 5.0 cGy/h; ⁶⁷Ga 若包括 AE, 则累积剂量率为 1 584 cGy/h, 初始剂量率达 20.6 cGy/h, 远远超过了 ⁹⁰Y 的效应, 与实验结果不符。若除去 AE, 则累积剂量为 306 cGy, 初始剂量率为 2.9 cGy/h, 接近于等剂量的 ⁹⁰Y。这就意味着 ⁶⁷Ga 的放射毒理效应主要与 80 keV 的 CE 有关^[1]。⁶⁷Ga 对 U-715 细胞的毒性作用也证实了这一机制。CE 轨道大约 100 μm, 故 ⁶⁷Ga 可能对显微病灶有治疗意义, 而 ⁶⁷Ga 发射的 AE 可能象 ¹²⁵I-UdR 发射的 AE 一样, 主要引起 DNA 损伤^[2,13]。

肿瘤细胞摄取 ⁶⁷Ga 主要与 TF、TFR 有关, TFR 在 ⁶⁷Ga 掺入细胞中起了主要作用^[1-3,7]。⁶⁷Ga 先与 TF 形成 TF-⁶⁷Ga, 然后与 TFR 结合成复合物, 通过摄粒作用进入细胞。核糖核苷酸还原酶是 ⁶⁷Ga 的主要靶酶, 镓通过抑制核糖核苷酸还原酶, 减少腺苷进入 DNA, 降低细胞内脱氧核糖核酸, 主要是减少 dATP 和 dCTP 抑制 DNA 的合成和细胞的增殖^[12-14]。TF-Ga 主要通过减少核糖核苷酸还原酶的 M₂ 亚单位酪氨酸基的电子自旋共振光谱信号, 抑制细胞增殖^[12], 而 Fe³⁺ 可减轻镓的毒理效应。研究认为, 镓与 Fe³⁺ 一样, 通过 TF-TFR 途径进入细胞。Fe³⁺ 是细胞 DNA 合成的必需物质, 镓被摄入

细胞后可阻滞细胞对 Fe^{3+} 的利用,这是由于镓和铁竞争 TF-TFR 途径进入细胞^[14,16]。Kovar 等^[16]发现,降低 Fe^{3+} 浓度,镓对淋巴细胞的毒理效应明显增强。恢复 Fe^{3+} 浓度或调节细胞的摄 Fe^{3+} 能力,可逆转镓的细胞毒理效应^[2,4,16]。

参 考 文 献

- 1 Jonkhoff AR et al. Br J Cancer, 1993;67:693-700
- 2 Vanleeuwen-Stok AE et al. Int J Radial Biol, 1993; 64:749-759
- 3 Chan SM et al. J Nucl Med, 1987;28:1303-1307
- 4 Foster BJ et al. Cancer Treat Rep, 1986;70:1311-1319
- 5 Kelsen DP et al. Cancer, 1980;46:2009-2013

- 6 Chitambar CR et al. Cancer Res, 1990;50:4468-4472
- 7 Chitambar CR et al. Cancer Res, 1987 47:3929-3934
- 8 Scheffel U et al. J Nucl Med, 1984;25:1094-1100
- 9 Scheffel U et al. J Nucl Med, 1986;27:395-398
- 10 Mills BG et al. J Nucl Med, 1988;29:1083-1087
- 11 Li SL et al. Acta Pharmacol Sin, 1995;16:51-54
- 12 Hedley DW et al. Cancer Res, 1988;48:3014-3018
- 13 Martin RE et al. DNA damage by auger emitters. In DNA damage by auger emitters. Barerstock KF et al (eds), Taylor & Francis: Philadelphia, 1988, 63
- 14 Chitambar CR et al. Blood, 1988;72:1930-1936
- 15 Kovar J et al. Cancer Res, 1990;50:5727-5730

(收稿日期:1995-03-17)

放射毒理学学科教学体系的探讨

苏州医学院放射毒理教研室(苏州,215007) 朱寿彭 综述

摘要:放射毒理学学科是伴随着核能、核科学技术的发展而逐渐形成的一门内照射的新兴学科,其探讨对象是针对危害机体的放射性核素。本文就放射毒理学学科、教学体系的形成过程,国内外教学内容及教材的建设等作一探讨。

关键词:放射毒理学 学科教学体系

1 放射毒理学学科教学体系的形成过程

放射毒理学是一门内照射学科,其探讨对象是针对危害生物机体的各种状态和形式的放射性核素^[1],是放射医学领域中的重要组成部分。

在第二次世界大战期间,美、英、苏、德竞相开展核武器的研制。出于军事和政治上的目的,尤其是美国政府在第二次世界大战中,直接主持了有二十多亿美元经费、动员了十二万五千人参加的“曼哈顿”计划。在这一庞大的原子弹研制计划的同时,就考虑到在计划执行人人材培训的需要,先后设立了以培养和训练放射性核素毒理学为主要内容的“保健物理”培训班^[2]。

在50年代,由于前苏联人造卫星的上天,引起了美国的震惊。这对美国的教育制度产生了重大影响,从而也就推动了课程现代化的改革,尤其是在美国的 Lowell 大学的放射科学专业中,在进修教学大纲中就设置了针对重核裂变产物和核燃料的内照射核素对人体作用的放射毒理学课程^[3]。与此同时,在对从事放射性同位素生产和使用人员的在职培训计划中,也列入了放射毒理学的教学内容^[4]。

随后,在前苏联的高等医学院校中,也设置了选修“放射医学”课程的教学内容,其中“放射毒理学”作为一个重要的组成部分而包含在放射医学这门选修的医学课程中^[5],没有设立专门的放射毒理学课程。

在日本,和其他各国一样,到目前为止在高