

综述与编译

肿瘤放免显像中抗体的合理使用

中国协和医科大学 北京协和医院核医学科(北京, 100730) 杨子义^①综述 王世真审

摘要: 决定肿瘤放免显像质量的 T/N T 比值的高低, 不仅取决于抗体的亲肿瘤特性, 即特异性和亲和力, 而且受体内分布、代谢因素的影响。选用完整抗体、不同形式的片段、不同的注射途径及给药剂量, 使用冷抗体及混合单抗, 都可以改变标记抗体在机体内分布、代谢的过程。因此, 恰当的抗体使用方法, 可以减少标记抗体的非特异性结合, 提高肿瘤对标记抗体的摄取, 是提高 T/N T 比值的重要手段。

关键词: 肿瘤放免显像 抗体片段 给药方法

肿瘤放免显像 (RII) 是利用放射性核素标记抗体, 结合体外照像诊断肿瘤的技术。它的基础是标记抗体能选择性地浓聚于肿瘤部位, 并以肿瘤/非肿瘤 (T/N T) 比值定量地衡量这种亲肿瘤的特异性分布。T/N T 比值越高, 表明肿瘤组织比周围正常组织摄取了越多的标记抗体, 并由此得到清晰的肿瘤图像。因此, T/N T 比值决定了 RII 诊断方法的准确性。以抗体的亲和常数推算, 理论上, T/N T 比值可达 1 000^[1], 然而在人体肿瘤显像实践中, T/N T 通常只有 1.5~ 2.0, 最高也仅达 2~ 5 的水平^[2]。T/N T 比值的高低, 不仅取决于抗体的特性, 即抗体对肿瘤的特异性及亲和力, 而且还受抗体的体内分布、非特异性结合、代谢等因素的影响。由此可见, 抗体的合理使用, 对于提高 T/N T 比值, 改善显像质量有很大的作用。

1 抗体使用形式的选择

因抗体制备、体内代谢因素的影响, 目前应用最广泛的是鼠源性 IgG 型单抗。在 RII 研究起步的几年间, 人们全部采用完整抗体的形式, 自 Mach 等人^[3]首次报道将抗体用酶消化成抗体片段应用于 RII 以来, 越来越多的研究者采用了抗体片段形式。通过大量的实验比较表明, 抗体片段在体内的 T/N T 比值, 除肾脏外均明显高于完整抗体, 双价的

F(ab)[']₂ 尤为显著^[4,5]。T/N T 比值升高是因为片段特异性高及分布代谢快的特点所产生的结果。片段去掉了完整抗体的 Fc 段, 减少了与正常组织 Fc 受体的结合, 抗肿瘤特异性升高, 因分子较小而分布快于完整抗体, 静脉注射 IgG 后 24 小时内约 50% 进入组织间质, F(ab)[']₂ 要快 2.5 倍, Fab 快 4.5 倍, 因而片段易进入肿瘤组织内部^[6]。片段的代谢及排泄均较快, F(ab)[']₂ 在血中半衰期为 IgG 的 1/2~ 1/3, Fab 约为 1/6, 所以血中本底要低^[7]。

比较两种片段, 多数作者认为, 单价 Fab 片段不及 F(ab)[']₂ 好, 这可能与 Fab 的亲和力低, 排泄过快而致肿瘤摄取抗体量过少有关。IgG 消化成片段后, 每个 Fab 片段仅有一个抗原结合位点, 故与肿瘤结合能力的下降比 F(ab)[']₂ 更明显。Wahl 等^[5]的结果显示, 抗 CEA IgG F(ab)[']₂ 与 Fab 的每克肿瘤摄取量, 在注射后 24 小时分别为 3.0%、1.7% 与 0.22%, 可见 Fab 的降幅非常显著。但也有人认为 Fab 效果很好, Larson^[8]、Buchegger^[9]用 Fab 均获得满意的效果。这种分歧可能是抗体间的差异或抗原部位不同造成的, 如细胞内抗原可能使用 Fab 更好一些。

2 抗体的给药途径

RII 的临床应用, 绝大多数用静脉注射

^① 现工作单位: 军事医学科学院基础医学研究所

给药法。这种方法最为方便,但却存在许多问题。静脉注射的抗体在全身循环过程中,不可避免地全身正常组织非特异性结合及交叉反应结合,同时对全身造成辐射损伤。若改为局部给药法,如皮下淋巴途径、胸腹腔等腔内注射、支气管内给药,则上述不利因素要轻得多,并能达到静脉给药所达不到的效果。局部给药法一般具有肿瘤定位快、抗体用量少、T/N/T比值高、全身毒性小的优点。

淋巴转移是肿瘤转移的主要途径,淋巴途径给药的动物实验证明,有肿瘤转移的淋巴结内,抗体浓度要高于肿瘤抗原阴性淋巴结 50倍左右,高出远处脏器更多。有肿瘤转移的淋巴结可摄取注射抗体总量的 20%^[10]。人体应用也观察到,下肢皮下给药两天后,约 24%的放射性积聚在腹股沟、髂窝、主动脉淋巴结内^[11]。以上结果提示了此种给药方法用于肿瘤放免治疗(RIT)的优越性。皮下给药尤适合于 IgM 这样的大分子,因为此途径 IgM 与 IgG 吸收速度相近。因局部给药全身分布少,适宜于¹¹¹In 标记抗体的显像,以克服静脉注射后出现的肝脾本底过高的问题。

淋巴途径显像的特点是灵敏度高而特异性低,特异性低是其主要缺陷。Lotze等^[12]认为这可能是淋巴结中有捕获的肿瘤抗原所致。亦可能是交叉反应造成的假阳性。假阴性多见于转移灶晚期,因为淋巴管可能已被阻塞。

腔内给药法,可使腹腔内肿瘤的抗体摄取量高于静脉给药 2~3倍,特异性抗体高于非特异抗体 10倍。Carrisquillo等^[13]用腹腔注射(ip)检查 12例病人,认为该法对腹腔内表面及术后复发肿瘤的显像效果优于静脉注射(iv)。12例中仅 2例 iv 抗体(¹³¹I 标记)高于 ip 抗体(¹²⁵I 标记),原因是病灶部位较深,抗体不易渗入。因此,对部位不明的肿瘤,以 iv 加 ip 最好。腔内给药的最大问题是不易区分哪些是肿瘤摄取,哪些是正常组织非特异性结合,常用的辨别方法是将放射性存在较

久、持续不退者视为病灶。

3 抗体的用量

从文献报道中看到,临床 RII 抗体用量差异很大,从 0.1mg 到 100mg 不等^[14]。Mur-ray 等^[15]比较 1.0mg 到 20mg 五个抗体剂量组而标记相同活度核素时发现,不同剂量组对其他方法已查明的原发灶和转移灶检出率各不相同,1.0 2.5 5.0 10 和 20mg 标记抗体的病灶检出率分别为 24%、29%、60%、72% 和 74%。可见,5mg 以下检出率较低,大于 5mg 各组间无显著性差异。检出率的差异主要是小病灶,大于 5cm 的肿瘤各剂量组均为 100%。

观察不同剂量抗体的临床显像时发现,静脉注射小剂量抗体后,很快从血中消失,随剂量加大,血中浓度逐渐升高,大于 10mg 以后,升高就不明显了。由此推测,随抗体剂量增加,肿瘤检出率增高是肿瘤摄取抗体量增加的缘故。从抗体分布代谢曲线上可以看到,抗体剂量加大时,分布相(α 相) $T_{1/2}$ 明显增加,而消除相(β 相) $T_{1/2}$ 仅轻微延长,总 $T_{1/2}$ 无明显变化。因此,增加抗体剂量,有助于提高血中抗体浓度,增加肿瘤摄取量,而显像时间并未延迟。进一步研究表明,小剂量抗体在血中迅速降低的原因是正常组织摄取的结果,正常组织依其 Fc 受体及抗体的交叉反应与抗体结合,这种结合容量有限,易被饱和。对多数抗体而言,满足这种饱和一般需 5~20mg 抗体^[16]。因此要保持较高的血浓度而提高与肿瘤结合的量,抗体也应使用 5~20mg 为宜。局部给药时,抗体用量要远小于这个数值,如淋巴途径多在 0.5mg 左右,腹腔给药可用 1.0mg。Keenan 等^[17]比较了不同剂量抗体淋巴显像的效果,认为以 0.5mg 最佳,低于 0.5mg,距注射部位较远的淋巴结因抗体摄取不足而不显像;大于 0.5mg,吸收入血的标记抗体增多而增加了本底。

4 冷抗体的使用

标记抗体在正常组织的非特异性分布,是影响肿瘤显像的重要问题之一。其原因,一是正常组织 Fc 受体的结合与交叉反应,二是抗体在体内正常代谢因素,三是脱落抗原的广泛分布。非特异性分布较重的是单核巨噬细胞分布较多的肝、脾,而肝、脾、肠、肾又是抗体代谢的主要场所,这些脏器即使抗体浓度不很高,但它们的体积不小,可结合大量的抗体。

克服上述脏器浓聚标记抗体的方法是使用冷抗体(即非标记抗体)。实验研究及临床应用表明,冷抗体的使用,能明显减少标记抗体在肝脾的积聚,但对其他组织,如大肠的作用却不显著。冷抗体的这种作用,对肝内肿瘤的诊断大有裨益。

使用冷抗体会遇到下列几个问题:①冷抗体的用量。冷抗体的剂量似乎无常规可循, Lamiki 等^[18]使用抗 CEA(癌胚抗原)单抗时,满意剂量为 40mg,而用抗 PAP(前列腺酸性磷酸酶)单抗时,用至 80mg 才得到满意效果。其他抗体的用量,各家报告亦各不相同,要在实际工作中逐渐摸索;②冷抗体使用的时间。Murray^[19]认为,在注射标记抗体前 1~24 小时使用冷抗体,与同时使用冷抗体的阻断效果无差异;③使用无免疫活性抗体的阻断效果,比使用有免疫活性抗体要差一些。无关抗体阻断作用弱的现象,也验证了肝内存在肿瘤脱落抗原的观点;④冷抗体在减少肝、脾本底的同时,也部分地饱和了标记抗体的代谢途径,使血中本底又见升高,消退变慢,所以常需采取一些降低血中本底的措施,如双核素减影^[20]。

5 单抗的混合使用

单抗混合使用的想法源于对肿瘤异质性的认识。人体肿瘤是由抗原不尽相同的各种

瘤细胞亚群组成,而单抗仅能结合某一亚群细胞的一个抗原决定簇,单一使用某一单抗,可能因结合抗体量过低而不能显像。已有许多实验证明,无论体内体外,混合单抗均优于单一抗体的效果^[21-23]。混合的优越性在于:

①抗肿瘤谱增加。Durrant 等^[24]利用三种抗结肠癌单抗 C_{14} 、T/36 和 228 分别与 50 例病理标本进行荧光结合反应,阳性率分别是 88%、70% 和 80%, C_{14} 与 T/36 混合后为 92%, C_{14} 与 228 混合为 98%, 三株混合后达 98%~100%;②肿瘤摄取量增加。Fleshman 等^[25]的研究结果显示,单一抗体用量增加一倍,与肿瘤结合的量的增加不显著,而二种单抗等量混合时,肿瘤摄取量呈明显增加。在抗原结合位点远未饱和时,一种抗体用量增加不及单抗混合效果明显的现象,暂无确切的解释,可能是抗体首先与容易接近的抗原结合,也可能是单抗间有协同作用。

单抗混合使单位重量肿瘤的抗体摄取量 (ID/g) 及 T/N/T 比值增加,这对于提高显像质量和提高小病灶检出率有一定帮助。因为肿瘤的检出和显像质量与病灶总放射性剂量相关,所以在相同的 ID/g 情况下,体积大者更易成像。换言之,体积小者需要较高的 ID/g 才能被检出,而这正是单抗混合所能达到的效果。Fleshman 等^[25]在动物模型上观察到,0.13 克到 0.5 克的小肿瘤,单一抗体检出率为 0%~2%,混合后达 43%~76%。因此,有人建议,单抗混合应列为肿瘤显像的首选方案。但也有人认为,混合未必较单用优越, Matzku 等^[26]用三株抗黑色素瘤 HAM A 抗原不同决定簇的单抗(它们互不干扰与抗原的结合)进行体外测定,在低于抗原饱和浓度时,三株单抗混合并不增加与肿瘤细胞结合的量,人体显像也未证明比单用效果好。他们认为,在抗原位点未达饱和时,抗体混合与单用无显著性差异。

参 考 文 献

- 1 Larson SM et al. J Nucl Med, 1985; 26: 538
- 2 Herdin A et al. Int J Cancer, 1982; 30: 547
- 3 Mach JP et al. Oncodevel Biol Med, 1980; 1: 49
- 4 Colcher D et al. Cancer Res, 1983; 46: 736
- 5 Wahl RL et al. J Nucl Med, 1983; 24: 316
- 6 Holton OD et al. J Immunol, 1987; 139: 3041
- 7 Chatal JF et al. J Nucl Med, 1984; 25: 307
- 8 Larson SM et al. J Nucl Med, 1983; 24: 123
- 9 Buchegger J et al. J Exp Med, 1983; 158: 413
- 10 Weinstein JN et al. Cancer Invest, 1985; 3: 85
- 11 Keenan AM et al. N Eng J Med, 1987; 315: 673
- 12 Lotze MT et al. Ann Surg, 1986; 264: 223
- 13 Carrisquillo JA et al. Radiology, 1988; 167: 35
- 14 Keenan AM et al. Cancer Res, 1987; 47: 6093
- 15 Murray JL et al. J Nucl Med, 1987; 28: 25
- 16 DeNardo GL et al. J Nucl Med, 1985; 26: 67
- 17 Keenan AM. Semin Nucl Med, 1989; 19: 322
- 18 Lamiki L et al. Nucl Med Commun, 1988; 9: 1220
- 19 Murray JL et al. Cancer Res, 1988; 48: 4417
- 20 Goldenberg DM et al. Cancer Res, 1980; 40: 2984
- 21 Andrew SA et al. Cancer Res, 1990; 50: 5225
- 22 Connett JM et al. J Nucl Med, 1990; 31: 852
- 23 Muze DL et al. J Nucl Med, 1986; 27: 1739
- 24 Durrant LG et al. Br J Cancer, 1989; 60: 855
- 25 Fleshman JW et al. Nucl Med Biol, 1992; 19: 659
- 26 Matzku S et al. J Nucl Med, 1989; 30: 390

(收稿日期: 1996-03-05)

人体肿瘤因素对放免显像的影响

中国协和医科大学 北京协和医院核医学科(北京, 100730) 杨子义^①综述 王世真审

摘 要: 肿瘤放免显像的质量, 取决于肿瘤细胞结合标记抗体的量, 而人体肿瘤的生长状况, 是影响肿瘤对标记抗体摄取的重要因素之一。肿瘤方面的因素如肿瘤抗原表达量的高低、肿瘤抗原是否脱落进入血循环、病灶的大小与血供、肿瘤患者体内 HAMA 反应等, 都与抗体结合量有密切关系。提高病灶部位抗原的量, 改善肿瘤血供, 消除 HAMA 等不利因素, 可望提高显像质量。

关键词: 放射免疫显像 肿瘤抗原 HAMA

自 1978 年第一例病人肿瘤显像成功以来, 人们已在此领域积极探索了十余年, 这期间, 遇到了许多问题, 有些问题已取得了很大进展, 如单克隆抗体、嵌合抗体及单链小分子抗体的制备, 各种放射性核素的标记技术等, 而在人体肿瘤方面的许多难题仍悬而未解。对此, 按目前的认识水平, 只能通过降低那些不利因素的影响程度, 尽可能改善显像质量。本文就影响肿瘤对标记抗体的摄取和影响显像质量的几个因素进行探讨。

1 肿瘤抗原的表达

人类肿瘤是否存在特异性肿瘤抗原, 目前尚无统一看法。据动物实验得到的结果, 肿瘤抗原可分为三类: ①与胚胎组织有关的抗原, ②与病毒抗原有关的抗原, ③肿瘤特异性抗原。肿瘤标志物与肿瘤抗原不完全一样, 前者包括与肿瘤同存在的生物化学异常的一切化合物, 如 Bence-Jones 蛋白及细胞酶谱的改变^[1]。人类肿瘤抗原多为肿瘤相关抗原, 化学性质不均一, 多为糖蛋白与脂蛋白, 而且多

^① 现工作单位: 军事医学科学院基础医学研究所