

活性均无明显影响;当 SKF38393微量输入给横核后,脾细胞对 ConA和 LPS的反应能力减少,NK细胞活性不变;当 SKF38393微量输入给海马 CA1区后,脾细胞对 LPS的反应能力减少,而对 ConA的反应能力不变,NK细胞的活性不受影响。以上的各种反应可被系统地引入 SCH23990所阻止。从而,提示多巴胺有可能通过中枢多巴胺 D1样受体调节机体的免疫功能

5 结语

人外周血淋巴细胞不仅能表达多巴胺 D5受体,同时也可能表达多巴胺 D3和 D4受体。胸腺皮质中的单个细胞也能表达多巴胺 D5受体,并具有年龄依赖性关系。中枢神经系统中多巴胺 D1样受体可能介导外周细胞的免疫调节。外周血淋巴细胞多巴胺受体的表达是否与免疫调节有关,其多巴胺受体表达的数量是否与临床疾病的发生和发展密切相关等,尚需要进一步的探讨。

参 考 文 献

1 Nistico G et al. Neuroimmunomodulation,

1994; 1(3): 174-180

2 Gingrich JA et al. Annu Rev Neurosci, 1993; 16: 299-321

3 Chiara GD et al. TINS, 1994; 17(6): 228-233

4 Jankovic SM et al. Med Pregl, 1996; 49(7-8): 281-185

5 Ricci A et al. J Neurimmunol, 1994; 53(1): 1-7

6 Barili P et al. J Neuroimmunol, 1996; 71(1-2): 45-50

7 Nagai Y et al. Neurology, 1996; 46(3): 791-795

8 Ricci A et al. Clin Exp Hypertens, 1995; 17(8): 1157-1172

9 Barbanti P et al. Neurosci Lett, 1996; 207(2): 73-76

10 Vile JM et al. Biol Psychiatry, 1996; 40(9): 881-885

11 Soyka M et al. J Stud Alcohol, 1994; 55(4): 503-507

12 Ricci A et al. J Neuroimmunol, 1995; 58(2): 139-144

13 Bondy B et al. J Neuroimmunol, 1996; 71(1-2): 139-144

14 Ricci A et al. J Neuroimmunol, 1995; 56(2): 155-160

(收稿日期: 1997-07-24)

^{99m}Tc -MIBI检测肿瘤多耐药基因表达产物 P-gp的研究进展

上海第二医科大学附属新华医院核医学科(上海,200092) 邵虹 吴靖川

摘要: 肿瘤多耐药基因表达产物 P-gp是导致肿瘤化疗失败的主要因素。利用 ^{99m}Tc -MIBI可达到在体外诊断 P-gp表达水平的目的,肿瘤摄取 ^{99m}Tc -MIBI的量与其表达的 P-gp成反比关系。

关键词: 多耐药基因 P-gp ^{99m}Tc -MIBI 调节剂

导致肿瘤化学药物治疗失败的主要原因是肿瘤存在对药物的耐受性。现已证实,人类大多数肿瘤都有多耐药基因(multidrug resistance gene, MDR1)的过度表达。多耐药基因的表达产物 P糖蛋白(P-glycoprotein, P-

gp)在肿瘤的耐药机制中起着关键作用^[1],在肿瘤早期明确有 P-gp的高度表达。可在治疗方案中使用 P-gp的调节剂(Modulator),降低其在细胞内的含量,减弱肿瘤的耐药性,给肿瘤的化学治疗带来转机。

1 P-gp与耐药机制的关系

P-gp是一分子量为170ku(kD)的跨膜糖蛋白,其DNA序列由MDR1编码,这种蛋白质作为依赖能量(ATP)的流出泵,能有效地将阳离子、亲脂性的化合物及一些毒性物质转运至细胞外^[2],使得细胞内的化学物质浓度持续下降而失去对细胞的杀伤作用,最终使细胞对这些制剂产生耐受性。临床研究亦表明,MDR1的mRNA和P-gp水平的提高与多种肿瘤的化疗失败有关

2 P-gp的分布部位

P-gp在大多数肿瘤中均有表达,如未经治疗的非小细胞肺癌、53%未经治疗的乳腺癌、恶性淋巴瘤、多发性骨髓瘤、神经母细胞瘤、软组织肉瘤等。除此之外亦存在于许多具有分泌与排泄功能的上皮细胞、人体血脑和血睾屏障中的毛细血管内皮、肾脏的近曲小管刷状缘、肝细胞的胆管表面、结肠粘膜、肾上腺皮质与髓质,而大血管的内皮细胞和心肌组织中则无此种蛋白质

3 P-gp识别的底物及与^{99m}Tc-MIBI的关系

P-gp能识别结构功能各异的天然产物和合成的化学制剂,包括含阳离子及亲脂性的化疗药物及一些毒性物质,如Vincaloids, anthracyclines, epipodophyllotoxins, taxol, antinomycin D等。^{99m}Tc-MIBI作为心肌灌注显像剂在10余年内得到了广泛应用,近来人们发现,这一亲脂性的阳离子放射性示踪剂虽然缺乏先前认为能被P-gp识别的重要结构部分,如氮原子、可滴定的质子以及苯基,但在培养的多耐药性的啮齿类动物细胞^[3-5]和人类肿瘤细胞^[3]以及高度表达重组人类MDR1的细胞^[6]中均发现能被P-gp识别。^{99m}Tc-MIBI与上述多种化学制剂类似,作为P-gp的底物能被转运至细胞外,使之在细胞内的浓度下降。于是学者们将^{99m}Tc-

MIBI能被人类多种肿瘤摄取与肿瘤表达P-gp联系起来,对两者之间的关系展开了深入的研究^[7-9]。在Cordobes等^[8]对乳腺癌细胞株的体外研究及Kostakoglu等^[10]对乳腺癌患者临床研究中均证实了肿瘤对^{99m}Tc-MIBI的摄取量与肿瘤细胞所含P-gp的量呈反比关系,表现在乳腺癌患者的^{99m}Tc-MIBI显像中,肿瘤的P-gp表达越高,肿瘤本底比值越小,P-gp表达越少,比值则升高。Cordobes等^[8]在对乳腺癌细胞株的体外研究中还进行了不同反应温度、不同反应时间及细胞外不同^{99m}Tc-MIBI浓度对细胞摄取^{99m}Tc-MIBI影响的研究,结果显示:在反应60分钟时细胞摄取^{99m}Tc-MIBI量达到平衡;在4°C时的摄取量要较37°C时低14倍;细胞外^{99m}Tc-MIBI浓度在0.3~10nm范围内时,摄取量与浓度呈正比关系

4 P-gp的调节剂

肿瘤细胞表达大量的P-gp导致其产生耐药性,影响了化学药物的疗效,使得肿瘤的药物治疗受阻不前。但人们从P-gp导致耐药性的机制中亦得到一定的启示:利用某些制剂来逆转P-gp的功能,即削弱P-gp对细胞毒制剂及或化疗药物的外运功能,使它们在细胞内聚集,达到杀死肿瘤细胞的浓度

这类能逆转P-gp功能的制剂称调节剂,共分六类,包括:①钙通道阻滞剂(如verapamil);②钙调蛋白拮抗剂;③非细胞毒性的anthracycline和Vincaloid类似物;④类固醇和激素类似物;⑤各类疏水的阳离子化合物;⑥环孢霉素(cyclosporin)它们所起作用的机理各异,部分可能是它们能与P-gp结合,竞争性地抑制了P-gp与化疗药物的结合部位,或结合后引起异构改变,从而抑制与其它药物的结合有关;其次,调节剂亦能改变P-gp附近的微环境,导致细胞膜结构的变化,进一步抑制药物的外运;另外,部分调节剂可通过抑制细胞蛋白的降解而改变溶酶体

的功能,达到逆转MDR1的作用。在Cordobes^[8]的研究中证实,verapamil能显著提高P-gp表达的肿瘤细胞的^{99m}Tc-MIBI摄取量,而对低P-gp表达的细胞的摄取量则无明显影响。由于verapamil和cyclosporin往往在发挥逆转P-gp的作用前就出现毒性副作用,限制了它们的临床使用价值^[11]。近几年出现了第二代调节剂,如dexverapamil和SDZ PSC 833,后者是cyclosporin A和D的非免疫抑制类似物^[12],而作为P-gp的调节剂其效力较verapamil强10~20倍^[13]。

P-gp除了存在于肿瘤组织外,肝、肾中亦有一定的表达。Luker等^[1]对数例肿瘤患者在服用SDZ PSC 833前后的肝肾^{99m}Tc-MIBI显像进行了对比,结果显示,服药后肝肾对^{99m}Tc-MIBI的清除率(相对于心肌)较服药前明显减慢,即^{99m}Tc-MIBI在肝肾中滞留时间延长,反过来证明了在使用P-gp调节剂后,P-gp对^{99m}Tc-MIBI外运过程的减弱。

5 ^{99m}Tc-MIBI检测肿瘤P-gp含量的临床应用

^{99m}Tc-MIBI结构内不含游离的功能基团,因此在体内无明显的代谢活动,性质稳定,它主要由肝脏进行清除,分泌进入胆囊及肠道,使得腹部本底放射性较高,影响了腹腔、盆腔内病灶的检测,但如进行断层扫描可提高检出率。另外,在使用P-gp调节剂后,肝肾清除率减慢,^{99m}Tc-MIBI在这两种脏器内滞留时间延长,亦会影响肝肾内病灶的检出,但腹腔、盆腔外的肿瘤病灶检测则不会受此影响。

基于已知的^{99m}Tc-MIBI在器官内的药物动力学^[14]以及根据体外细胞洗脱力学在人体内的转换,目前肿瘤显像时间一般选择在注射^{99m}Tc-MIBI后的30分钟和60~90分钟^[1]。乳腺癌的检测则采用注射后45分钟及随后的2小时和4小时数点不同时相进行采集^[15],这样可以提高对快速和延迟洗脱两时

相的检出率,并能计算出外运速率常数。显像条件采用低能通用准直器(LEG),窗宽为20%,扫描速度为15cm/min。

虽然肿瘤对^{99m}Tc-MIBI的摄取量与其所含P-gp的量呈反比,但肿瘤摄取^{99m}Tc-MIBI亦受瘤体有无坏死成分、肿瘤组织的血流供应情况等因素的影响,因此当出现^{99m}Tc-MIBI摄取量与P-gp表达量不呈反比关系时,要考虑到以上因素。

6 P-gp的检测方法

P-gp是分子量为170ku的糖蛋白,可利用电泳、特异性抗原抗体结合(免疫组织化学法)、多聚酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)、流式细胞仪、Western Blot等方法来检测,它们的共同特点是均要对肿瘤组织进行采样,在体外进行定性或定量分析。免疫组织化学法即利用P-gp的单克隆抗体JSB-1与病理组织中的P-gp结合,最后根据显色深浅来判断肿瘤组织内的P-gp含量^[10],它能较直观地在肿瘤细胞上对P-gp的表达进行定位,判断肿瘤细胞的异质性。Western Blot法是先将细胞膜匀浆进行电泳,使不同分子量的成份分开,然后转膜,依次与兔抗小鼠的P-gp多克隆抗体及携带碱性磷酸酶的鼠抗兔抗体反应,最后通过显色剂显色,对细胞中的P-gp进行半定量分析^[6]。这些体外检测P-gp的方法受一些因素的影响,如PCR方法虽较敏感,但受采样时非肿瘤组织及非肿瘤细胞MDR1表达水平的影响,需要连续数次对病变组织进行活检以减少误差;而免疫组化和Western Blot法所使用的抗体与DNA探针的敏感性和特异性亦会影响检测结果。

本文介绍的^{99m}Tc-MIBI显像是一种利用核医学技术,达到在体内诊断P-gp存在及表达程度的新方法,并且在制定化疗方案及观察、评估疗效上均能发挥有效的作用,为临床提供重要的信息。

参 考 文 献

1 Luker GD et al. J Nucl Med, 1997; 38 369
 2 Gottesrnan M M. Annu Rev Biochem, 1993; 62 385
 3 Pwnica-Worms D et al. Cancer Res, 1993; 53 1
 4 Balliger J et al. Nucl Med Commun, 1995; 16 253
 5 Pwnica-Worms D et al. Biochemistry, 1995; 34 12210
 6 Rao VV et al. J Nucl Med, 1994; 35 510
 7 Khalkhai I et al. J Nucl Med, 1993; 34 140

8 Cordobes MD et al. J Nucl Med, 1996; 37: 286
 9 Baldini N et al. N Engl J Med, 1995; 333: 1380
 10 Kostakoglu L et al. J Nucl Med, 1997; 388 1003
 11 Wilson W et al. J Clin Oncol, 1995; 13: 1995
 12 Watanabe T et al. Acta Oncol, 1995; 34 235
 13 Gaveriaux C. J Cell Pharmacol, 1991; 2 225
 14 Wackers FJ et al. J Nucl Med, 1989; 30 301
 15 Ciarmiello A et al. J Nucl Med, 1995; 36 (suppl): 129p

(收稿日期: 1998-04-13)

^{99m}Tc标记生长抑素类似物作为受体显像剂及其特性研究

华西医科大学附一院核医学科(成都, 610041) 武鸿文综述 管昌田审校

摘 要: 简述放射性碘 (¹²³I ¹²⁵I 和 ¹³¹I)、¹¹¹In和^{99m}Tc标记生长抑素类似物的方法及其优缺点, 重点叙述^{99m}Tc的标记方法(直接法、间接法和环状肽标记法)和^{99m}Tc标记生长抑素类似物有关特性研究及临床应用的进展。

关键词: ^{99m}Tc标记 生长抑素类似物 受体显像剂 特性研究

1 概 述

大多数神经内分泌肿瘤及其转移灶要比正常组织更多地表达生长抑素受体,因此通过放射性核素标记生长抑素肽作为配体,利用其与受体结合的特异性,可对有关肿瘤进行定性定位显像和靶向治疗。但是,天然生长抑素(十四肽)在体内酶降解迅速,不适合临床显像,于是许多研究者从众多的人工合成肽中筛选了几种体内酶降解缓慢的生长抑素类似物,并均已在临床和研究工作中得到应用。

目前,标记生长抑素类似物的方法很多,但主要有碘(¹³¹I ¹²⁵I 和 ¹²³I)、¹¹¹In ^{99m}Tc和¹⁸⁶Re标记等。由于肽链中的酪氨酸具有“嗜碘性”,即其苯环的 3 5位上的氢很容易被碘所取代,因此在碘标记时没有必要去保护肽链中的功能基团。然而,碘标记方法仍有一些缺点:①标记前必须在分子中引入 Tyr,标记后又必须经 HPLC纯化,清除未结合碘和

结合双碘的肽,很费时间;②¹²³I 通过肝胆胃肠道系统消除,不利于鉴别这一区域的肿瘤;③标记碘在体内很容易脱落,不稳定;④就放射性核素而言,¹³¹I 不适合临床显像,¹³¹I 由加速器生产,成本较高,费用昂贵,不易获得^[1,2]。

¹¹¹In标记产率高(> 95%),稳定性好,标记后肽的生物活性不受到破坏,标记过程简单,但标记前必须经过许多步反应制备 DTPA 偶联物,其中最重要,同时也是最困难的一步是选择性保护肽链活性中心以连接 DTPA 通常 DTPA会直接偶联到分子肽中赖氨酸残基的 ε-NH₂基团上,但是,octreotide的赖氨酸残基的位置正是分子肽的活性中心,因此必须选择性保护赖氨酸的 ε-NH₂,从而使 DTPA直接偶联到肽链末端氨基酸的 α-NH₂基团上。当然,¹¹¹In也是由加速器生产的,同样存在费用较高,不易获得的问题^[2]。

最近几年,研究者开始考虑用^{99m}Tc标记