

文章编号: 1001-098X(2002)05-0220-03

## $^{188}\text{Re}$ 直接标记octreotide的方法学

章斌

**摘要:**  $^{188}\text{Re}$ 标记octreotide可用直接标记法或间接标记法。直接标记法包括预锡化法和分步还原法,分步还原法需先用还原剂还原octreotide,然后用 $\text{SnCl}_2$ 还原 $^{188}\text{ReO}_4^-$ 进行直接标记;预锡化法则直接以 $\text{SnCl}_2$ 还原octreotide和 $^{188}\text{ReO}_4^-$ ,打开octreotide分子内双硫键,使 $^{188}\text{Re}$ 直接标记octreotide。预锡化直接标记法简便快速,能够得到较高的放化纯度,无须进一步纯化,适合于制备药盒。

**关键词:** 奥曲肽;受体;生长抑素;  $^{188}\text{Re}$ ; 同位素标记

**中图分类号:** R817.4 **文献标识码:** A

## Investigations of directly labelling octreotide with $^{188}\text{Re}$

ZHANG Bin

(Department of Nuclear Medicine, First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou Jiangsu 215006, China)

**Abstract:** Octreotide can be labelled with  $^{188}\text{Re}$  by using the direct labelling approach and the bifunctional chelate approach. The direct labelling approach concludes pretinning procedure and two-step reduction method. By pretinning procedure, both octreotide and perrhenate are reduced by  $\text{SnCl}_2$ . Rhenium of a lower oxidation state is bound to octreotide directly. By two-step reduction method, octreotide and the perrhenate are reduced by different reduction agent respectively. The direct radiolabelling approaches allow very high radiochemical purity, high specific activity formulation, low radiocolloid formation and good in vitro stability, without the need for post-radiolabelling purification to eliminate the unbound free radioisotope. A kit could be developed which would merely require the mixing of perrhenate with the other reagents in a single vial.

**Key words:** octreotide; receptor; somatostatin;  $^{188}\text{Re}$ ; isotope labelling

选用合适的放射性核素对具有生理活性的肿瘤治疗药物进行标记是制备肿瘤放射性显像和治疗药物的重要途径。 $^{188}\text{Re}$ 发射适合治疗目的的 $\beta$ -射线( $E_{\text{max}} = 2.12\text{MeV}$ ),在组织内最大射程达12 mm,同时它也发射适合诊断目的的 $\gamma$ 射线( $E = 155\text{keV}$ ),其半衰期为16.9 h,可由 $^{188}\text{W}/^{188}\text{Re}$ 发生器淋洗得到,其母体 $^{188}\text{W}$ 半衰期为69.4 d。Octreotide为生长抑素的八肽衍生物,与原激素的生物化学性质相似,与神经内分泌肿瘤、肺癌、乳腺癌和淋巴瘤等多种肿瘤细胞膜高密度表达的生长抑素受体结合抑制肿瘤细胞生长,因此目前已作为肿瘤化疗药物广泛应用于

临床肿瘤治疗。

$^{188}\text{Re}$ 通过双功能螯合剂间接标记octreotide。由于竞争性水解反应,间接标记法所得最高放化纯度为70%~80%,标记反应后需纯化以清除未结合的放射性螯合物。 $^{188}\text{Re}$ 直接标记octreotide可用预锡化法和分步还原法。

### 1 直接标记octreotide原理

#### 1.1 预锡化法

生长抑素类似物与蛋白质分子中都含有双硫键,因此, $^{188}\text{Re}$ 标记octreotide可借鉴标记蛋白质的原理和方法<sup>[1]</sup>。采用预锡化法直接标记octreotide的机制尚未完全明确,可推论为以下三个步骤:(1) $\text{SnCl}_2$ 打开octreotide双硫键,并与其结合成复合物;(2) $^{188}\text{Re}$ 被 $\text{SnCl}_2$ 还原成合适的价态,与络合剂形成螯合物;(3)该螯合物连同 $^{188}\text{Re}$ 取代与octreotide

收稿日期: 2002-06-10

作者简介: 章斌(1972-),男,江苏苏州人,苏州大学附属第一医院核医学科(苏州,215006)硕士,主要从事肿瘤核医学研究。

审校者: ①苏州大学附属第一医院核医学科 吴翼伟

②苏州大学核医学院基础核医学教研室 范我

结合的Sn, 形成 $^{188}\text{Re}$ -octreotide。

## 1.2 分步还原法

分步还原法先用还原剂如: 2-ME(2-mercaptoethanol)、抗坏血酸、DDT(dithiothreitol)等还原octreotide分子内的双硫键产生巯基, 然后用不同的还原剂还原 $^{188}\text{ReO}_4^-$ , 使 $^{188}\text{Re}$ 直接标记到octreotide的合适位点。Melendez-Alafort L等<sup>[2]</sup>曾报道用2-ME还原生长抑素类似物, 用 $\text{SnCl}_2$ 还原 $^{188}\text{ReO}_4^-$ 进行直接标记。Thakur ML等<sup>[3]</sup>则用抗坏血酸还原octreotide分子内双硫键, 用连二亚硫酸钠( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ )还原 $^{99}\text{TcO}_4^-$ 进行直接标记。

## 2 标记条件的探讨

### 2.1 还原剂的选择及其用量

Hosono M等<sup>[4]</sup>报道, 采用预锡化法所得 $^{188}\text{Re}$ -octreotide的放化纯度达99%。在NCI-H69细胞体外实验中, 使用比活度为370 MBq的淋洗液,  $\text{SnCl}_2$ 与octreotide的比例(mol:mol)为4.25:1。Winnard P等<sup>[5]</sup>报道, 在 $^{188}\text{Re}$ 标记抗体实验中, 随着 $^{188}\text{ReO}_4^-$ 用量增加, 亚锡离子用量成正比增加; 要获得37 kBq/ $\mu\text{g}$ 的 $^{188}\text{Re}$ 标记抗体, 亚锡离子与抗体用量比值(mg/mg)不低于2.6~5.2。由于 $^{188}\text{ReO}_4^-$ 的电极电势较低而难以还原, 采取预锡化法时 $\text{SnCl}_2$ 的用量高于还原 $^{188}\text{ReO}_4^-$ 的用量有利于 $^{188}\text{ReO}_4^-$ 的还原, 但加大 $\text{SnCl}_2$ 用量易与反应体系中的铈形成Re-Sn胶体, 并可能破坏octreotide的活性<sup>[6]</sup>。

### 2.2 络合物的选择

葡萄糖酸钠、柠檬酸盐和酒石酸盐等是标记反应中常用的络合剂。Hosono M等<sup>[4]</sup>报道的预锡化法 $^{188}\text{Re}$ 标记octreotide以酒石酸盐为络合剂。Melendez-Alafort L等<sup>[2]</sup>用弱络合剂EHDP(ethane-1-hydroxy-1, 1-diphosphonic acid)为中介配体。Dadachova E等<sup>[1]</sup>报道, 以葡萄糖酸钠与柠檬酸盐作对比, 葡萄糖酸钠作络合剂所得放化纯度高。葡萄糖酸钠、EHDP等弱络合剂作为中介配体, 既可以与 $^{188}\text{Re}$ 保持弱的络合作用, 以保持 $^{188}\text{Re}$ 处于稳定低价态, 保证随后的取代反应得以顺利进行, 又起着稳定 $\text{Sn}^{2+}$ 的作用, 减少 $\text{Sn}^{2+}$ 的水解。

### 2.3 缓冲液及pH值的选择

Hosono M等<sup>[4]</sup>报道的预锡化法 $^{188}\text{Re}$ 标记octreotide使用20 mmol/L酒石酸钾钠和80 mmol/L邻苯二甲酸盐缓冲液, pH值为5.6。Dadachova E等<sup>[1]</sup>报道的 $^{188}\text{Re}$

直接标记抗体用0.15 mol/L乙酸钠缓冲液, pH值为4.2。

pH值应在4.0~5.5之间, 小于4.0影响生物学活性, 大于5.5则 $^{188}\text{Re}$ 易再氧化回到7价。pH值在4.5~5.0之间可防止形成不溶性锡和铈氧化物<sup>[7]</sup>。

### 2.4 反应温度

$^{188}\text{Re}$ 直接标记抗体的反应可在室温下进行<sup>[1,5]</sup>。Hosono M等<sup>[4]</sup>报道的预锡化法 $^{188}\text{Re}$ 标记octreotide置于沸水浴加热30 min。Melendez-Alafort L等<sup>[2]</sup>报道, 在室温22℃和37℃、92℃水浴进行对比, 92℃水浴反应所得放化纯度高。室温下标记多肽对其生物学特性影响较小。

### 2.5 淋洗液比活度

在NCI-H69细胞体外实验中, 使用比活度为370 MBq/mL的 $^{188}\text{ReO}_4^-$ 淋洗液<sup>[4]</sup>。Melendez-Alafort L等<sup>[2]</sup>在标记中用比活度为225 MBq/mL的 $^{188}\text{ReO}_4^-$ 淋洗液。

## 3 放化纯度的测定

以Whatman Paper No.1、Whatman Paper 3MM和ITLC-SG为固定相, 以生理盐水、丙酮或乙醇:浓氨水:水(2:1:5, v/v)为移动相测定 $^{188}\text{Re}$ 直接标记单克隆抗体的放化纯度,  $^{188}\text{Re}$ -单抗、 $^{188}\text{Re}$ 胶体在起点,  $^{188}\text{ReO}_4^-$ 移动至前方。以1%人血清白蛋白或牛血清白蛋白浸泡过的Whatman No.1层析纸或ITLC-SG为固定相, 以乙醇:浓氨水:水(2:1:5, v/v)为移动相测定 $^{188}\text{Re}$ 直接标记单克隆抗体的放化纯度: $^{188}\text{Re}$ 胶体在起点,  $^{188}\text{Re}$ -单抗移动至前方<sup>[7]</sup>。Hosono M等<sup>[4]</sup>报道, 以85%乙醇作为移动相, 用ITLC-SG层析纸为固定相来确定胶体的量, 标记的多肽移动至前方, 放射性胶体留在起点。

## 4 $^{188}\text{Re}$ 标记生长抑素类似物的受体活性分析

Winnard P Jr等<sup>[5]</sup>报道, 在 $^{188}\text{Re}$ 标记抗体实验中预锡化法与分步还原法进行对比, 结果表明标记物在小鼠体内和体外特性、全身清除率、2.5 h和24 h血液及重要脏器聚积率均与标记方法无关。Hosono M等<sup>[4]</sup>报道的MNCI-H69细胞体外结合实验表明,  $^{188}\text{Re}$ -octreotide与肿瘤细胞的结合率 =  $^{125}\text{I}$ -octreotide >  $^{111}\text{In}$ -DTPA-octreotide。

综上所述,  $^{188}\text{Re}$ 直接标记octreotide为制备生长抑素受体阳性肿瘤的核素显像剂及受体介导靶向放射性核素治疗药物提供了新的研究方向。

## 参考文献:

- [ 1 ] Dadachova E, Mirzadeh S. The role of tin in the direct labelling of proteins with rhenium-188 [J]. Nucl Med Biol, 1997, 24: 605-608.
- [ 2 ] Melendez-Alafort L, Ferro-Flores G, Arteaga-Murphy C, et al. Labelling peptides with rhenium-188 [J]. Inter J Pharm, 1999, 182: 165-172.
- [ 3 ] Thakur ML, Esbach J, Wilder S, et al. Technetium-99m-labelled somatostatin: preparation and preliminary evaluation [J]. J Labelled Comp Radiopharm, 1993, 32: 365-367.
- [ 4 ] Hosono M, Hosono MN, Haberberger T, et al. Localization of small-cell lung cancer xenografts with Iodine-125-, Iodine-111-, and Rhenium-188-somatostatin analogs [J]. Jpn J Cancer Res, 1996, 87: 995-1000.
- [ 5 ] Winnard P Jr, Virzi F, Fogarasi M, et al. Investigations of directly labelling antibodies with rhenium-188 [J]. Q J Nucl Med, 1996, 40: 151-160.
- [ 6 ] Vallabhajosula S, Moyer BR, Lister-James J, et al. Preclinical evaluation of technetium-99m-labelled somatostatin receptor-binding peptides [J]. J Nucl Med, 1996, 37: 1016-1022.
- [ 7 ] Iznaga-Escobar N. Direct radiolabeling of monoclonal antibodies with rhenium-188 for radioimmunotherapy of solid tumors-a review of radiolabelling characteristics, quality control and in vitro stability studies [J]. Appl Radiat and Isotope, 2001, 54: 399-406.

文章编号: 1001-098X(2002)05-0222-03

## 乳腺癌前哨淋巴结探查的研究进展

陈 璟, 吴 华

**摘要:** 乳腺癌前哨淋巴结 (sentinel lymph node, SLN) 是乳腺癌淋巴转移通道中最先经历的第一级淋巴结。通过乳腺癌SLN预测乳腺癌区域淋巴结转移状况, 为乳腺癌的准确分期和外科手术提供了重要的依据。根据示踪剂的不同, 有两种方法可以探查乳腺癌SLN, 其中使用放射性核素标记物作为示踪剂探查乳腺癌SLN是目前较具优势的方法, 且不同于传统的淋巴显像; 乳腺癌SLN探查的成功率受到诸多因素的影响, 其探查技术亦需进一步的研究来提高。

**关键词:** 乳腺癌; 前哨淋巴结; 放射性核素显像

**中图分类号:** R817.4      **文献标识码:** A

## Sentinel lymph node detection in breast cancer

CHEN Jing, WU Hua

(Department of Nuclear Medicine, Tongji Hospital, Huazhong University of Science and Technology, Hubei Wuhan 430030, China)

**Abstract:** The concept of sentinel lymph node (SLN) holds that the lymphatic effluent of a tumor drains initially to one or two lymph nodes before other nodes receive the tumoral drainage. It is a great advance in breast cancer surgery to predict regional nodal metastases by sentinel lymph node detection in breast cancer, which can give the more refined

收稿日期: 2001-09-28

**作者简介:** ①陈璟 (1973-), 女, 湖北沙市人, 华中科技大学同济医学院附属同济医院 (武汉, 430030) 核医学科主治医师, 博士研究生, 主要从事临床核医学研究。

②吴华 (1958-), 男, 湖北通山人, 华中科技大学同济医学院附属同济医院 (武汉, 430030) 核医学科主任医师, 教授, 博士生导师。