

·实验核医学·

# 抗人肝癌 $^{188}\text{Re}$ -免疫磁性纳米微粒的生物学分布和肿瘤细胞抑制实验

冯彦林 谭家驹 梁生 孙静 温广华 吴校连 夏蛟云

**【摘要】目的** 探讨抗人肝癌  $^{188}\text{Re}$ -免疫(Hepama-1)磁性纳米微粒免疫学活性、体内生物学分布、肝靶向性及抑瘤作用。**方法** 对比  $^{188}\text{ReO}_4^-$ 、 $^{188}\text{Re}$ -Hepama-1、 $^{188}\text{Re}$ -磁性纳米微粒, 研究尾静脉注射  $^{188}\text{Re}$ -免疫磁性纳米微粒后 4h、24h 在昆明小鼠体内的分布情况; 在肝区外加磁场及无磁场状态下, 研究新西兰大白兔体内的肝靶向性; 采用溴化四甲基法, 研究 4 种  $^{188}\text{Re}$  标记物对肝癌细胞株 SMMC-7721 的抑制效果。**结果**  $^{188}\text{Re}$ -免疫磁性纳米微粒在肝内摄取量最大; 在磁区肝组织放射性较非磁区肝组织明显增加, 二者的放射性比值为 1.87; 对肝癌细胞株 SMMC-7721 半数抑制放射性活度仅为  $^{188}\text{ReO}_4^-$  的 1/4 左右。**结论**  $^{188}\text{Re}$ -磁性纳米微粒具有良好的磁感应性能、免疫活性及明显的肝靶向性。

**【关键词】** 铼; 肝肿瘤, 实验性; 磁性纳米微粒

**【中图分类号】** R817.4 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1673-4114(2007)06-0321-04

## Experimental study of the biological properties of $^{188}\text{Re}$ -Hepama-1 biologic superparamagnetic nanoparticles

FENG Yan-lin<sup>1,2</sup>, TAN Jia-jü<sup>2</sup>, LIANG Sheng<sup>3</sup>, SUN Jing<sup>2</sup>, WEN Guang-hua<sup>2</sup>, WU Xiao-lian<sup>2</sup>, XIA Jiao-yun<sup>3</sup>

(1. Department of Nuclear Medicine, Union Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China; 2. Department of Nuclear Medicine, Affiliated Foshan Hospital of Sun Yat-Sen University, The First People's Hospital of Foshan, Foshan 528000, China; 3. Shanghai Institute of Applied Physics, CAS, Shanghai 201800, China)

**【Abstract】 Objective** To investigate a new biologic-superparamagnetic nanoparticles' s characteristics of immunological activity, biological distributing in vivo, targeting and inhibiting tumoreffect. **Methods** The experimental group  $^{188}\text{Re}$ -Hepama-1-superparamagnetic nanoparticles, and control groups, including  $^{188}\text{ReO}_4^-$ ,  $^{188}\text{Re}$ -Hepama-1, and  $^{188}\text{Re}$ -superparamagnetic nanoparticles, were set up. The distributions were measured after injection 4 h and 24 h by caudal vein of Kuming mice. The magnetic targeting experiments in vivo were done with and without magnetic field in liver after injection in New Zealand rabbit. The inhibiting tumor effect on hepatic cancer cell lines SMMC-7721 of the above four  $^{188}\text{Re}$  labeled products were measured by mono nuclear cell direct cytotoxicity assay method. **Results** After injection 4 h and 24 h by vein, the liver taking was highest in group  $^{188}\text{Re}$ -Hepama-1-superparamagnetic nanoparticles. The radiative activity in liver in magnetism zoo was higher than in non magnetism zoo in  $^{188}\text{Re}$ -Hepama-1-superparamagnetic nanoparticles after applying magnetic field in left lobe of liver, and the ratio of in magnetism zoo to non magnetism zoo was 1.87. And the half effective inhibition radioactive concentrations ( $\text{IC}_{50}$ ) in  $^{188}\text{Re}$ -Hepama-1-superparamagnetic nanoparticles was one forth of  $^{188}\text{ReO}_4^-$ . **Conclusion**  $^{188}\text{Re}$ -Hepama-1-superparamagnetic nanoparticles showed its fine stability in intro, good immunological activity and significant liver target.

**【Keywords】** Rhenium; Liverneoplasms, experimental; Superparamagnetic nanoparticles

本研究采用制备的针对原发性肝癌基因特异

结合的放射性标记的免疫磁性纳米微粒(即  $^{188}\text{Re}$ -Hepama-1-磁性纳米微粒), 即具有生物和磁性双导向的放射性免疫磁性纳米微粒, 探讨其体外稳定性、体内磁靶向性、体内生物学分布和对单层培养肿瘤细胞的抑制效应。

作者单位: 1. 430022 武汉, 华中科技大学同济医学院协和医院核医学科(冯彦林); 2. 528000 佛山, 中山大学附属佛山医院(暨佛山市第一人民医院核医学科)(冯彦林、谭家驹、孙静、温广华、吴校连); 3. 201800 上海, 上海应用物理研究所(梁生、夏蛟云)

通讯作者: 冯彦林(E-mail: fylin@fsyyy.com)

## 1 材料和方法

### 1.1 主要试剂和仪器

$^{188}\text{W}$ - $^{188}\text{Re}$  发生器: 中国科学院上海应用物理研究所放射性药物研究中心。昆明种小白鼠, 雄性, 18~20g, 由上海松江松连实验动物场提供。溴化四甲基唑: Sigma 公司。二甲亚砜: Sigma 公司。 $\gamma$  计数器: 上海日环一厂。FJ-391 A2 型活度计: 北京核仪器厂。

肝癌细胞株 SMMC-7721 细胞株: 由中国科学院上海生命科学研究院细胞库提供。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 MTT 溶液的配制

称取 25 mg 溴化四甲基唑, 放入小烧杯中, 加入 5 ml 磷酸缓冲液(0.01 mol/L, pH 7.4)在电磁力搅拌机上搅拌 30 min, 用 0.22  $\mu\text{m}$  微孔滤膜针头滤器除菌, 置于 4  $^{\circ}\text{C}$  保存备用。

#### 1.2.2 细胞培养

(1) 肝癌细胞株 SMMC-7721 用 Dulbecco 改良的 Eagle 培养基培养。

(2) 细胞复苏及细胞传代培养

(3) 细胞计数: 将消化后的单细胞悬液稀释 10 倍、20 倍、50 倍后置于血球计数板中计数, 细胞密度按如下公式计算: 细胞密度(细胞数/ml)=(4 大格细胞数之和/4) $\times 10^4 \times$  稀释倍数。

#### 1.2.3 $^{188}\text{Re}$ 标记物的制备

$^{188}\text{ReO}_4^-$ : 新鲜的、无载体的  $^{188}\text{ReO}_4^-$  由  $^{188}\text{W}$ - $^{188}\text{Re}$  发生器用生理盐水淋洗而得。

$^{188}\text{Re}$ -Hepama-1: 室温条件下, 在纯化的单抗 Hepama-1 溶液 ( $2.5 \times 10^{-5}$  ~  $5.0 \times 10^{-5}$  mol/L) 中加入 2.2~4.0 g/L 葡萄糖酸钠溶液、0.3 mol/L  $\text{SnCl}_2$  溶液和 0.2~1.0 ml 的  $^{188}\text{Re}$  淋洗液(185~370 MBq), 室温条件反应 2 h 而得到。

$^{188}\text{Re}$  标记磁性纳米微粒: 将组氨酸固载到氨基化磁性纳米微粒表面, 以  $\text{fac-}[\text{}^{188}\text{Re}(\text{CO})_3(\text{H}_2\text{O})_3]^+$  为放射性标记前体, 对磁性纳米微粒进行标记。

$^{188}\text{Re}$  标记免疫磁性纳米微粒( $^{188}\text{Re}$ -Hepama-1-磁性纳米微粒): 采用间接标记法<sup>[1]</sup>。

#### 1.2.4 体外稳定性及免疫活性测定

将  $^{188}\text{Re}$  标记的磁性纳米微粒和免疫磁性纳米微粒用蒸馏水洗涤 2 次, 然后加入 1 ml 小牛血清中, 37  $^{\circ}\text{C}$  振荡温育, 其间分别于 12 h 和 24 h 取

样, 经磁场分离后, 分别测定总放射性及上清液的放射性计数, 按照  $^{188}\text{Re}$ -磁性纳米微粒标记率测定方法测量放射性的保留率。

标记物免疫活性的测定用直线外推法, 通过对标记的单克隆抗体(Hepama-1)与靶细胞的结合试验, 测定标记抗体的免疫活性分数: 取 20  $\mu\text{l}$ (计数率约  $2 \times 10^6/\text{min}$ ) 标记抗体用磷酸盐缓冲液(0.02 mol/L, pH=7.4)稀释至 200  $\mu\text{l}$ 。各管中分别加入 60、50、40、30、20  $\mu\text{l}$  稀释后的抗体, 再向各管中加入  $2 \times 10^6$  个癌细胞, 温育 2 h, 其间每 15 min 振荡一次。离心后测总计数, 弃去上清液, 用 200  $\mu\text{l}$  含 1% 牛血清白蛋白的磷酸盐缓冲液(0.01 mol/L, pH=7.4)洗涤细胞两次, 测结合于细胞上的放射性计数。以总计数和沉淀细胞计数之比为纵坐标, 各管抗体浓度为横坐标作图, 纵坐标截距的倒数即为免疫活性分数。

#### 1.2.5 小鼠体内生物学分布

取昆明小鼠 80 只, 随机分为 4 组, 每组 20 只。各组分别于静脉注射  $3.7 \times 10^4$  Bq/100  $\mu\text{l}$  的  $^{188}\text{ReO}_4^-$ 、 $^{188}\text{Re}$ -Hepama-1、 $^{188}\text{Re}$ -磁性纳米微粒和  $^{188}\text{Re}$ -免疫磁性纳米微粒后 4 h 和 24 h 各处死动物 10 只。取肝、脾、肾、肺、胃、血液、脑、股骨和肌肉等脏器和组织, 称重并测量放射性计数, 计算每克脏器摄取的放射性剂量占注入放射性总剂量的百分比(%ID/g)。

#### 1.2.6 家兔体内磁靶向性实验

选用 40 只健康新西兰大白兔, 随机分为  $^{188}\text{ReO}_4^-$  组、 $^{188}\text{Re}$ -Hepama-1 组、 $^{188}\text{Re}$ -磁性纳米微粒组和  $^{188}\text{Re}$ -免疫磁性纳米微粒组, 每组 10 只, 用 5% 戊巴比妥钠按 4.0 ml/kg 麻醉后, 分别按约 962 MBq/kg 注射不同药物; 每一组内再随机分 2 组, 实验组(左外叶加磁场组)和对照组(左外叶不加磁场)。动物常规喂养 1 d, 实验组在左季肋部放置磁铁 30 min (磁场强度为 50 kOe), 然后解剖取肝组织, 称重并测定放射性计数。

#### 1.2.7 体外肝癌细胞抑制试验

采用溴化四甲基唑法测定对单层培养的肿瘤细胞的抑制效应。分 4 个实验组:  $^{188}\text{Re}$ -免疫磁性纳米微粒组、 $^{188}\text{Re}$ -Hepama-1 组、 $^{188}\text{Re}$ -磁性纳米微粒组、 $^{188}\text{ReO}_4^-$  组, 一个对照组: 生理盐水组。各组分别采用 37、185、370、555、740 kBq/ml 5 个放射性剂量级别。

取 200  $\mu\text{l}$  ( $\times 10^3$  个细胞/孔)接种于 96 孔板中,置于 37  $^{\circ}\text{C}$ 、5% $\text{CO}_2$  的培养箱中孵育 24 h,细胞贴壁后,分别加入各组样品,每组设 6 个平行孔,再孵育 48 h,弃培养液,每孔加入 20  $\mu\text{l}$  溴化四甲基唑溶液,继续孵育 4 h,吸去上层培养基后,每孔加入 50  $\mu\text{l}$  二甲亚砜,摇匀后室温放置 15 min,至颗粒溶解,在酶标仪上测定 492 nm 处的光密度。按下式计算相对抑制率,绘制剂量-效应曲线:

$$\text{相对抑制率} = \frac{\text{对照组光密度均值} - \text{实验组光密度均值}}{\text{对照组光密度均值}} \times 100\%$$

### 1.2.8 统计学方法

采用 SPSS 13.0 软件,两组之间比较用配对  $t$  检验,多组之间比较用方差分析,组内之间比较用最小显著差别法。半数抑制放射性活度 ( $\text{IC}_{50}$ ) 值用 GWBASIC 回归软件进行计算和比较评价。

## 2 结果

### 2.1 $^{188}\text{Re}$ -免疫磁性纳米微粒免疫活性、体外稳定性

$^{188}\text{Re}$ -免疫磁性纳米微粒的标记率大于 82%,经细胞结合分析法测定是  $^{188}\text{Re}$ -Hepama-1 的 90%,说明在与磁性纳米微粒结合并经  $^{188}\text{Re}$  标记后,单抗的免疫活性仅下降 10%,制备出的  $^{188}\text{Re}$ -免疫磁性纳米微粒仍保留有较高的免疫活性。标记物在小牛血清中放置 48 h 后仍有 80%~85% 的放射性保留在磁性纳米微粒和免疫磁性纳米微粒上。

### 2.2 小鼠体内生物学分布

经小鼠静脉注射不同  $^{188}\text{Re}$  标记物后 4 h,  $^{188}\text{Re}$ -

Hepama-1 组、 $^{188}\text{Re}$ -磁性纳米微粒组和  $^{188}\text{Re}$ -免疫磁性纳米微粒组在肝内均有较多的摄取,明显高于  $^{188}\text{ReO}_4$  组 ( $P$  值均  $< 0.01$ ),其中  $^{188}\text{Re}$ -免疫磁性纳米微粒组肝内摄取量最大(见表 1)。

注射药物后 24 h,  $^{188}\text{Re}$ -免疫磁性纳米微粒组与  $^{188}\text{ReO}_4$  组、 $^{188}\text{Re}$ -Hepama-1 组和  $^{188}\text{Re}$ -磁性纳米微粒组之间的统计学差异均具有显著意义 ( $P$  值均  $< 0.01$ ),  $^{188}\text{Re}$ -免疫磁性纳米微粒组肝内摄取量仍然最大(见表 2)。

4 种不同  $^{188}\text{Re}$  标记物在体内能清除迅速,24 h 后在血液中的放射性分布明显较低,而且注射后 4 h 和 24 h 均在肾内集聚较多,可以初步认为其主要通过肾脏排泄。注射后 4 h,  $^{188}\text{Re}$ -免疫磁性纳米微粒组在肺内有较高的摄取,但注射后 24 h 迅速下降。

### 2.3 家兔体内磁靶向性实验

左肝外叶应用磁场 30 min 后,  $^{188}\text{Re}$ -免疫磁性纳米微粒的放射活性较非磁区肝组织的放射活性明显增加 ( $q=10.8, P=0.000$ );磁区肝组织与非磁区肝组织放射活性比值为 1.87;不论是否外加磁场,  $^{188}\text{Re}$ -免疫磁性纳米微粒肝区放射活性明显高于其他各组。 $^{188}\text{Re}$ -磁性纳米微粒磁区肝组织的放射活性较非磁区肝组织明显增加(见表 3)。

体外肝癌细胞抑制实验结果见表 4。

## 3 讨论

多年来,人们一直试图提高药物在肿瘤部位的

表 1 注射不同放射性药物后 4 h 昆明小鼠各脏器 %ID/g (n=10)

|   | 肝                   | 脾                 | 肾                   | 肺                   | 胃                 | 脑                 | 血液                  | 骨                 | 肌肉                |
|---|---------------------|-------------------|---------------------|---------------------|-------------------|-------------------|---------------------|-------------------|-------------------|
| A | 1.973 $\pm$ 0.757   | 1.089 $\pm$ 1.160 | 1.545 $\pm$ 0.091   | 0.534 $\pm$ 0.172   | 1.146 $\pm$ 0.803 | 0.013 $\pm$ 0.004 | 0.524 $\pm$ 0.113   | 0.096 $\pm$ 0.026 | 0.717 $\pm$ 1.213 |
| B | 2.373 $\pm$ 0.657*  | 0.234 $\pm$ 1.560 | 2.458 $\pm$ 0.201*  | 0.635 $\pm$ 0.271   | 0.918 $\pm$ 0.712 | 0.011 $\pm$ 0.006 | 0.679 $\pm$ 0.125   | 0.232 $\pm$ 0.024 | 0.257 $\pm$ 1.013 |
| C | 1.665 $\pm$ 0.124   | 0.146 $\pm$ 1.034 | 0.735 $\pm$ 0.251   | 0.217 $\pm$ 0.120   | 0.979 $\pm$ 0.124 | 0.027 $\pm$ 0.004 | 1.907 $\pm$ 0.370   | 0.167 $\pm$ 0.040 | 0.145 $\pm$ 0.057 |
| D | 2.918 $\pm$ 0.708** | 0.464 $\pm$ 0.251 | 6.985 $\pm$ 1.203** | 1.780 $\pm$ 1.356** | 0.342 $\pm$ 0.315 | 0.010 $\pm$ 0.053 | 4.615 $\pm$ 1.986** | 0.787 $\pm$ 0.258 | 0.244 $\pm$ 0.157 |

注: 1. A:  $^{188}\text{ReO}_4$  组, B:  $^{188}\text{Re}$ -Hepama-1 组, C:  $^{188}\text{Re}$ -磁性纳米微粒组, D:  $^{188}\text{Re}$ -免疫磁性纳米微粒组。2. \*: 与 A 比较;  $q=6.12, P<0.005$ ; #: 与 B 比较;  $q=5.07, P=0.008$ ; §: 与 C 比较;  $q=7.35, P<0.001$ 。

表 2 注射不同放射性药物后 24 h 昆明小鼠各脏器 %ID/g (n=10)

|   | 肝                   | 脾                 | 肾                   | 肺                 | 胃                  | 脑                 | 血液                  | 骨                 | 肌肉                |
|---|---------------------|-------------------|---------------------|-------------------|--------------------|-------------------|---------------------|-------------------|-------------------|
| A | 0.614 $\pm$ 0.718   | 0.936 $\pm$ 1.074 | 0.255 $\pm$ 0.108   | 0.337 $\pm$ 0.322 | 0.076 $\pm$ 0.008  | 0.020 $\pm$ 0.004 | 0.053 $\pm$ 0.041   | 0.028 $\pm$ 0.012 | 0.020 $\pm$ 0.005 |
| B | 1.914 $\pm$ 0.657*  | 0.125 $\pm$ 1.004 | 1.255 $\pm$ 0.208*  | 0.437 $\pm$ 0.246 | 0.674 $\pm$ 0.108  | 0.010 $\pm$ 0.007 | 0.352 $\pm$ 0.056   | 0.134 $\pm$ 0.023 | 0.140 $\pm$ 0.065 |
| C | 1.041 $\pm$ 0.283*  | 0.141 $\pm$ 0.038 | 0.301 $\pm$ 0.126   | 0.099 $\pm$ 0.109 | 0.275 $\pm$ 0.188  | 0.024 $\pm$ 0.009 | 1.369 $\pm$ 0.435*  | 0.024 $\pm$ 0.006 | 0.031 $\pm$ 0.022 |
| D | 2.192 $\pm$ 1.322** | 0.261 $\pm$ 0.168 | 2.882 $\pm$ 1.382** | 0.190 $\pm$ 0.155 | 0.859 $\pm$ 0.833§ | 0.031 $\pm$ 0.011 | 3.151 $\pm$ 0.843** | 0.100 $\pm$ 0.079 | 0.072 $\pm$ 0.037 |

注: 1. A:  $^{188}\text{ReO}_4$  组, B:  $^{188}\text{Re}$ -Hepama-1 组, C:  $^{188}\text{Re}$ -磁纳米微粒组, D:  $^{188}\text{Re}$ -免疫磁性纳米微粒组。2. \*: 与 A 比较;  $q=8.05, P<0.001$ ; #: 与 B 比较;  $q=4.98, P=0.009$ ; §: 与 C 比较;  $q=6.84, P<0.005$ 。

表3 磁场状态下不同<sup>188</sup>Re标记物在兔肝内的分布(%ID/g, n=5)

|                                 | 不加磁场           | 加磁场            |
|---------------------------------|----------------|----------------|
| <sup>188</sup> ReO <sub>4</sub> | 0.514 ± 0.378  | 0.508 ± 0.309  |
| <sup>188</sup> Re-Hepama-1      | 1.323 ± 0.577  | 1.274 ± 0.698  |
| <sup>188</sup> Re-磁性纳米微粒        | 1.121 ± 0.297  | 2.163 ± 0.385  |
| <sup>188</sup> Re-免疫磁性纳米微粒      | 2.082 ± 1.046* | 3.892 ± 0.523* |

\*: 与<sup>188</sup>ReO<sub>4</sub>、<sup>188</sup>Re-Hepama-1、<sup>188</sup>Re-磁性纳米微粒组比较, *q*值分别为10.78、5.35、6.58, *P*值分别为0.000、0.006、0.002。  
#: 与<sup>188</sup>ReO<sub>4</sub>、<sup>188</sup>Re-Hepama-1、<sup>188</sup>Re-磁性纳米微粒组比较, *q*值分别为11.19、6.08、4.01, *P*值分别为0.000、0.004、0.009。

表4 不同放射性药物对体外培养肝癌细胞的半数抑制放射性活度(IC<sub>50</sub>)

|                                 | n | IC <sub>50</sub> (10 <sup>4</sup> Bq/L) |
|---------------------------------|---|---|
| <sup>188</sup> ReO <sub>4</sub> | 6 | 215.0                                   |
| <sup>188</sup> Re-Hepama-1      | 6 | 76.1                                    |
| <sup>188</sup> Re-磁性纳米微粒        | 6 | 169.0*                                  |
| <sup>188</sup> Re-免疫磁性纳米微粒      | 6 | 53.1*                                   |

\*: 与<sup>188</sup>ReO<sub>4</sub>、<sup>188</sup>Re-Hepama-1、<sup>188</sup>Re-磁性纳米微粒组比较, *q*值分别为10.78、4.59、8.46, *P*值为0.000、0.012、0.002。

浓度, 消除化疗药物对全身的毒副作用, 尽管已经作出了很多的努力, 但并不十分成功<sup>[2,3]</sup>。利用<sup>188</sup>Re标记免疫磁性纳米材料, 就是利用该药物的免疫靶向性、磁靶向性结合放射性药物的治疗作用和单克隆抗体的治疗作用, 从而提高肿瘤组织中的药物浓度, 最大限度地降低正常组织的药物浓度。

<sup>188</sup>Re直接标记Hepama-1不会影响单克隆抗体的免疫活性, 那么<sup>188</sup>Re标记磁性纳米材料与Hepama-1结合后是否会影响其免疫活性呢? 本实验发现, 免疫磁性纳米微粒的免疫活性较直接标记Hepama-1的免疫活性仅下降10%左右, 依然具有较强的免疫活性。分析其原因可能由于磁纳米颗粒与单克隆抗体的结合部位不是单克隆抗体的抗原特异性结合位点, 于是不会影响单克隆抗体的抗原特异性结合位点, 即Hepama-1保留了特异性免疫活性。

靶向给药希望把药物集中导向目的组织以增强药物的治疗效果, 减少药物对其他非靶组织的毒副作用, 而放射性免疫纳米药物是人们研究解决肝脏肿瘤治疗的有效途径之一<sup>[3,4]</sup>, 本研究制备的<sup>188</sup>Re-免疫磁性纳米微粒就是利用抗体的免疫靶向作用和磁靶向作用。在正常小鼠体内的组织分布研究表明, <sup>188</sup>Re-Hepama-1、<sup>188</sup>Re-磁性纳米微粒和<sup>188</sup>Re-免疫磁性纳米微粒在肝内均有较多的摄取, 明显高于<sup>188</sup>ReO<sub>4</sub>; <sup>188</sup>Re-Hepama-1在肝内放射活性明显高于

<sup>188</sup>ReO<sub>4</sub>和<sup>188</sup>Re-磁性纳米微粒, <sup>188</sup>Re-免疫磁性纳米微粒和<sup>188</sup>Re-Hepama-1均具有明显的肝靶向性, 即二者在肝中的分布增加而在其他非靶器官的分布减少。分析其原因, 可能是Hepama-1是一种对人肝癌细胞有高度选择性的单克隆抗体, 也是一种目前世界上少有的无内源性免疫球蛋白的单克隆抗体。<sup>188</sup>Re-免疫磁性纳米微粒和<sup>188</sup>Re-Hepama-1抵达肝脏后可较长时间停留, 特异性地富集于肿瘤局部, 发挥更理想的抗肿瘤效应。

从实验中可以发现, <sup>188</sup>Re-免疫磁性纳米微粒和<sup>188</sup>Re-磁性纳米微粒在脾和肺的放射活性较高。肺的放射活性增高的部分原因是纳米微粒经过血液循环后, 经右心房进入肺, 造成部分纳米微粒在肺内滞留。脾脏的放射活性增高主要是由于脾系吞噬细胞丰富的器官, 其内的网状内皮细胞具有较强吞噬作用, 在纳米微粒通过这些器官时会有非特异性的摄取。

磁性载体纳米微粒作为药物治疗恶性肿瘤, 除具有一般的纳米粒子的优点外, 还可以在磁场作用下, 使载体靶向作用进一步提高<sup>[5]</sup>。<sup>188</sup>Re-免疫磁性纳米微粒是一种非常独特的药物载体, 其平均直径在100 nm左右。Gupta<sup>[6]</sup>和Widder等<sup>[7]</sup>的实验证实, 纳米微粒在给药后10 min即被内皮细胞吞噬, 30 min时便可在血管外间隙见到, 24 h时则大部分纳米微粒被肿瘤细胞吞噬。本实验结果表明, 左外叶应用磁场30 min后, <sup>188</sup>Re-免疫磁性纳米微粒的放射活性较非磁区肝组织的放射活性明显增加, 磁区肝组织与非磁区肝组织的放射活性比值为1.87, 说明<sup>188</sup>Re-免疫磁性纳米微粒在磁场的作用下具有良好的靶向性。

通过对体外细胞培养的SMMC-7721细胞的抑制实验, 发现含有单抗Hepama-1的实验组(<sup>188</sup>Re-免疫磁性纳米微粒组和<sup>188</sup>Re-Hepama组)对肿瘤细胞的抑制率明显高于不含有单抗Hepama-1的<sup>188</sup>Re-磁性纳米微粒组和<sup>188</sup>ReO<sub>4</sub>组, 前二者的半数抑制放射性活度基本上比后二者少2倍左右, 其中<sup>188</sup>Re-免疫磁性纳米微粒组的半数抑制放射性活度仅为<sup>188</sup>ReO<sub>4</sub>组的1/4左右, 其原因主要是由于单抗Hepama-1对SMMC-7721细胞有特异性结合作用, 从而发挥其免疫治疗作用, 所以对肿瘤细胞的抑制明显高于单纯射线组。

(下转第328页)



分子, 抗原性强, 人、鼠种属差异大, 从而导致 TSH 结构差异, 抗原性不同, 因此使用人用 TSH 试剂盒时, 测得大鼠 TSH 低于人类正常参考值。

给予稳定性碘干预的大鼠甲状腺损伤较其他两组严重, 表现为 TSH 值升高和每高倍镜视野下甲状腺细胞计数增加更明显, 这与国外报道<sup>[1,4,5]</sup>暴露于 <sup>131</sup>I 前后给予稳定性碘均能保护甲状腺细胞免受射线损伤的结论及公认的甲亢患者服用 <sup>131</sup>I 后进食富碘食物影响疗效的观点不一致, 其原因可能有两点: ①国外给予稳定性碘时间早, 且剂量大, 即患者暴露于 <sup>131</sup>I 后立即给予稳定性碘, 影响了甲状腺 24h 吸 <sup>131</sup>I 率, 而本实验中给予大鼠稳定性碘的时间相对较晚, 剂量也较小; ②甲亢患者甲状腺转运碘的速度较正常者大大加快, 因此接受 <sup>131</sup>I 治疗的患者进食富碘食物后会加快甲状腺内 <sup>131</sup>I 代谢, 缩短有效半衰期, 从而降低疗效, 而本实验中大鼠甲状腺功能正常, 合成分泌甲状腺素的功能稳定, 给予 <sup>131</sup>I 后再给予稳定性碘不会加快 <sup>131</sup>I 从甲状腺排除, 而是贮存在甲状腺内, 因此结果可能不同。

临床上, 甲亢患者 <sup>131</sup>I 治疗后 3 个月仍有许多

患者发生甲减, 甲状腺功能要到 6 至 12 个月才趋于稳定。本实验时间相对较短, 因此优甲乐和稳定性碘的最终干预效果, 即对晚发甲减的影响尚不能肯定, 需要进一步延长实验时间、加大样本数量才能确切阐明甲状腺素和稳定性碘对 <sup>131</sup>I 治疗的影响。

#### 参 考 文 献

- 1 Verger P, Aurengo A, Geoffroy B, et al. Iodine kinetics and effectiveness of stable iodine prophylaxis after intake of radioactive iodine: a review. *Thyroid*, 2001, 11(4): 353-360.
- 2 熊玲静, 梁昌华. 甲亢 <sup>131</sup>I 治疗后早发甲低的相关因素分析. *中华核医学杂志*, 2002, 22(6): 354-355.
- 3 魏泓. *实验动物学*. 第一版. 成都: 四川科学技术出版社, 1998.163.
- 4 Takamura N, Nakamura Y, Ishigaki K, et al. Thyroid blockade during a radiation emergency in iodine-rich areas: effect of stable-iodine dosage. *Radiat Res*, 2004, 45(2): 201-204.
- 5 Le Guen B, Hemidy PY, Garcier Y, et al. French approach for the iodine tablets in the vicinity of nuclear power plants. *Health Phys*, 2002, 83(2): 293-300.

(收稿日期: 2007-04-20)

(上接第 324 页)

另外发现, <sup>188</sup>Re-免疫磁性纳米微粒对肿瘤细胞的抑制率也明显高于 <sup>188</sup>Re-Hepama-1, 其 ID<sub>50</sub> 仅为 <sup>188</sup>Re-Hepama-1 的 2/3 左右; 而 <sup>188</sup>Re-磁性纳米微粒对肿瘤细胞的抑制率也高于 <sup>188</sup>ReO<sub>4</sub> 组。分析上述原因, 可能是因为纳米颗粒对肿瘤细胞也具有一定的杀伤作用, 与纳米颗粒的一些特性有关。国内已有报道证实, 纳米颗粒具有直接杀伤肿瘤细胞的作用<sup>[8]</sup>, 纳米颗粒选择性地聚集于肿瘤组织可提高抗肿瘤效果。

本研究结果为免疫靶向性磁性纳米放射微粒的临床开发研究奠定了基础。

#### 参 考 文 献

- 1 冯彦林, 谭家驹, 梁生, 等. [<sup>188</sup>Re(CO)<sub>3</sub>(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>]<sup>+</sup>间接标记免疫磁性纳米微粒的实验研究. *国际放射医学核医学杂志*, 2007, 31(4): 205-208.
- 2 常津. 具有复合靶向抗癌功能的纳米高分子材料-阿霉素免疫磁

性毫微粒的制备及体外试验. *中国生物医学工程学报*, 1996, 15(2): 97-101.

- 3 李贵平. 肿瘤放免显像和治疗中的人抗鼠抗体的研究进展. *放射免疫学杂志*, 1998, 11(8): 188-191.
- 4 Gupta AK, Berry C, Gupta M, et al. Receptor-mediated targeting of magnetic nanoparticles using insulin as a surface ligand to prevent endocytosis. *IEEE Trans Nanobioscience*, 2003, 2(4): 255-261.
- 5 Egouffe E, Liautard J, Gaillard JP, et al. Human anti-mouse antibody response to the injection of murine monoclonal antibodies against IL-6. *Clin Exp Immunol*, 1994, 98(2): 323-329.
- 6 Gupta PK, Hung CT, Rao NS. Ultrastructural disposition of adriamycin associated magnetite albumin microspheres in rats. *J Pharm Sci*. 1989, 78(4): 290-294.
- 7 Widder KJ, Matino PA, Morris RM, et al. Selective targeting of magnetic albumin microspheres to the Yoshida Sarcoma; Ultrastructural evaluation of microsphere disposition. *Eur J Cancer Clin Oncol*, 1983, 19(1): 141-147.
- 8 温广华, 邓候富, 邵文增, 等. <sup>153</sup>Sm-EDTMP-纳米羟基磷灰石的生物学性能. *中华核医学杂志*, 2005, 25(2): 116-118.

(收稿日期: 2007-03-13)