钆标记抗人肝癌单克隆抗体瘤内注射对荷瘤裸鼠的磁共振增强试验

许乙凯[1] 刘杏元[1] 张嘉宁[2] 俞志坚[3]

【摘要】 目的:探讨小剂量瘤内注射钆标记抗人肝癌单克隆抗体的磁共振增强效应。方法:应用 DTPA 环酐双向偶合剂制出 Gd-DTPA-McAds;实验组 4 只荷肝癌裸鼠直接瘤内注入 30μg 单克隆抗体量的 Gd-DTPA-McAds;对照组向瘤内注入 30μg 单克隆抗体的生理盐水(n= 2),12h 后行 T_1 加权像扫描。结果:实验组瘤内出现斑片状或不均匀强化,而对照组瘤体为均匀中等信号。结论:瘤内注射法能有效提高瘤靶内标记抗体的浓度,对改进 MR 免疫成像的敏感性有帮助。

【关键词】 肝癌 单克隆抗体 磁共振成象

Experimental study on the contrast enhancement of MRI after intratumoral injection of gadolinium labelled antibodies against human hepatocellular carcinoma in the nude mouce model Xu Yikai, Liu Xingyuan, Zhang Jianing, et al. Medical Imaging Center, Nanfang Hospital of the First Military Medical University, Guangzhong 510515

【**Abstract**】 **Purpose:** To evaluate the possibility of MR targeting enhancement with local injection of a small dose of Gd labelled antihuman hepatocellular carcinoma McAbs(Hab 18). **Methods:** Gd-DTPA was prepared by using CA-DTPA to conjugate both Hab 18 antibodies and Gd^{3+}. Of 6 nude mice bearing hepatocellular Carcinoma, 4 cases were injected intratumorally with Gd-DTPA-McAbs at a dose of 30μg labelled antibody per mouse, while 2 were injected intratumorally with 30μg Hab 18 antibodies in normal saline as the control group. MR scans were performed 12 hours after the injection in all animals. **Results**: On T_1 weighted images, there were patchy or unhomogeneous enhancements in nodular lesions of experimental group, while no enhancement were noticed in the control group. **Conclusion**: Intratumoral injection could effectively raise the tissue concentration of the labelled McAbs in the nodular target. Therefore, it is a valuable and simple way for improving the sensitivity of MR immunoimaging.

【**Key words**】 Hepatocellular carcinoma Monoclonal antibodies MRI

磁共振免疫成像(MR immunoimaging, 简称 MRII)是以单克隆抗体为载体,通过抗体与抗原(肿瘤组织)的特异性结合,将顺磁性元素导向肿瘤内,实现肿瘤的定向强化。这种方法有可能对肿瘤的早期定性和定量诊断有帮助。我们早期研究[1]及国外有关报道[2]均证实了 MRII 的可行性,但由于 MRII 的敏感性仍较差,制约其广泛应用。通常 MRII 使用的单克隆抗体量高达 1~ 2mg/只,相当于核素肿瘤放射免疫成像 (Radioimmune-Imaging, RII) 单克隆抗体使用量的 100~ 400 倍。按此标准,一个 50kg 体重的成年人要进行 MRII,至少需要的单克隆抗体量为 2500mg 以上,而市场上 1mg 高纯度单克隆抗体的价格近千元,且大剂量使用鼠源性单克隆抗体可能会导致免疫源性问题。可见,如何有效的提高 MRII 的检测敏感性,尽量减少标记抗体的使用,是 MRII 能否进入临床应用的关键。

提高 MRII 敏感性的基本途径,是寻找新的标记方法,使每分子单克隆抗体携带更多的 Gd^{3+},同时又保持高度的免疫活性,目前这方面研究进展不多。本文尝试瘤内直接注射小剂量钆标记抗人肝癌单克隆抗体(Gd-DTPA-McAbs),并观察其强化作用。

材料和方法

1. 单克隆抗体及标记

单克隆抗体 单克隆抗体 Hab18 系鼠源抗人肝癌单克隆抗体,为 IgG1 亚型,浓度 10mg/ml, – 20℃保存。

Gd-DTPA-McAbs 制备 DTPA 环酐为 Sigma 产品。用二步法进行标记:1mg HAb18(McAbs) 溶于 100μl 0.1M $NaHCO_3$(PH= 8.0) 溶液,再加入 25μl 46.6mmol/l 的 DTPA 环酐 DEMO 溶液,用 0.25mol/l NaOH 将 pH 调至 8.5,室温下反应 1h,移入透析袋内 4℃下用生理盐水透析 8h,换液 2 次。将上述液体移入试管内,加入

1 510515 广州第一军医大学南方医院影像中心
2 第一军医大学动物所
3 第一军医大学珠江医院放射科 MRI 室

© 1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

50μl 33mmol/l Gdcl3 液混匀, 室温下反应 2h, 再移至生理盐水中透析 24h, 换液 3 次。

Gd-DTPA-McAbs 抗体浓度测定 将上述液体稀释 4 倍, 国产 756mc 紫外线分光光度计测波长 280nm 吸光度, 按 $E_{280}^{1\%}$= 14 计算 Gd-DTPA-McAbs 中 IgG 量, 结果为 300μg/ml。

2. 标记物免疫活性试验

肝癌 QGY-7703 细胞和结肠癌 LST-174T 细胞分别悬浮于 1% DSA-PBS 液中, 每管细胞数为 2×10^6 个细胞/ml, 分别加入 1ml 上述 Gd-DTPA-McAbs, 37℃孵育 20min, 0.01M PBS 离心洗 4 遍, 除去未与癌细胞结合的 Gd-DTPA-McAbs, 最后加入 2ml 0.01M PBS, 制成悬液, 置 1.5T GE 公司 Signa MR 仪行 FSE 扫描, TR 200ms, TE 15ms 比较二管信号强度差别。

3. 裸鼠模型建立及增强试验

6 只 6 周龄裸鼠, 将 QGY-7703 肝癌细胞按 2×10^7/只注入裸鼠皮下, 肿瘤生长至 0.5~ 1.0cm 备用, 第一组 4 只, 向瘤内直接注入含抗体量为 30μg 的 Gd-DTPA-McAbs; 第二组有 2 只, 向瘤内注射溶有 30μg HAb18 的生理盐水 0.1ml 作阴性对照。分别于给药前、给药后 12h 行 T_1 加权扫描(FSE, TR 200ms, TE 15ms, 层厚 5mm)。

结 果

1. Gd-DTPA-McAbs 的免疫活性

肝癌细胞管与加入 Gd-DTPA-McAbs 结合, 信号强度升高(强度值 980): 而结肠癌管由于没有 Gd-DTPA-McAbs 结合, 信号强度较低, 强度值为 430。表示 Gd-DTPA-McAbs 仍具有良好的免疫活性。

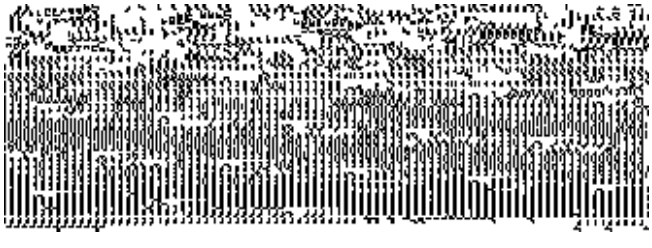

图 1 平扫 T_1 加权像上瘤结呈中等信号。

图 2 局部注射 Gd-DTPA-McAbs 后 12h, 相似切面上显示瘤体呈斑片状强化(箭头)。

2. 实验组

4 只裸鼠瘤结的信号强度均有升高, 表现为斑片状或不均匀强度(图 1、2), 而对照组瘤体仍为中等信号。

讨 论

MRII 借鉴于 RII 的技术思想, 且具有分辨率高和无电离辐射的潜在优势。因为只需少量核素就可被 SPECT 检测到, 而尽管顺磁性元素与单克隆抗体(生物大分子)结合后弛豫增强效应提高 26 倍[3], 但仍需要在较高浓度下, 才会产生肉眼可辩的 MR 信号变化。为了克服 MRII 的敏感性低这一问题, 往往需要使用大剂量的标记单克隆抗体。本文尝试改变给药途径, 即由静脉注射方式改为直接瘤内注射的方式, 单克隆抗体使用量(小鼠: 30μg/只)可降至接近 RII 水平(小鼠: 5~ 20μg/只), 并成功地观察到瘤体产生于 MR 信号改变。其原因主要为: 从静脉方式注入的 Gd-DTPA-McAbs 在体内经历了一个复杂的生物动态过程, 易受到抗原-抗体交叉反应及遇吞噬细胞吞噬等多种因素干扰, 因此, 从血循环最终到达瘤靶的单克隆抗体数量十分有限, 而局部瘤内注射方式逃避了上述复杂因素的干扰, 并且使标记抗体在最佳活性条件下(进入血循环的单克隆抗体活性会有一定的下降)直接与瘤组织接触并充分结合, 因而大大减少了单克隆抗体的使用剂量, 提高了 MRII 的敏感性。当然, 局部瘤内注射法不如静脉给药方式应用更加方便和广泛, 但在现代医学实践中, 借助影像定位技术, 已能对绝大多数实体瘤进行穿刺注射, 因此, 小剂量 Gd-DTPA-McAbs 瘤内注射进行 MR 免疫成像, 仍在一定的临床实用价值, 对肝癌的早期诊断将发挥积极作用。

参考文献

1 王劲武, 黄其鎏, 许乙凯, 等. Gd 标记抗人大肠癌单克隆抗体 CL-3 对裸鼠肿瘤模型 MRI 诊断的实验研究. 中华放射学杂志, 1998, 32(6): 419.

2 Matsumura A, Shibata Y, Nakagawa K, et al. MRI Contrast enhancement by Gd-DTPA-Monoclonal antibody in 9 L. glioma rats. Acta Neurochir, 1994, 60 (supp): 356.

3 Paajanen H, Peisto T, Hemmila I, et al. Proton Relaxation Enhancement of Albumin, Immunoglobulin G and Fibrinogen labelled With Gd-DTPA. Magnetic Resonance In Medicine, 1990, 13: 38.

(1998-08-26 收稿)

© 1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net