

7. Wajchenberg BL et al; J Nucl Med 19 : 900, 1978.
8. 林祥通等; 核技术 1 : 28, 1983.
9. Tower BB et al; Life Sci 21 : 959, 1977.
10. 林祥通等; 核技术 2 : 33, 1985.
11. Fraker PJ and Speck JC; Biochem Biophys Res Commu 80 : 849, 1978.
12. Wood WG et al; J Clin Chem Chin Biochem 19 : 1051, 1981.
13. Batler SR et al; Clin Chem 30 : 547, 1984.
14. Kleveland PM et al; Scand J Gastroenterol 20 : 569, 1985.
15. Markwell MAK and Fox CF; Biochem 17 : 4807, 1978.
16. 邓守真、林祥通; 原子能科学技术 21 (2) : 187, 1987.
17. Markweel MAK; Annal Biochem 125 : 427, 1982.
18. Lee DSC and Griffiths BW; J Immunol Methods 74 : 181, 1984.
19. 若林克己; 个别咨询, 1982.
20. Childs RL et al; J Nucl Med 26 : 293, 1985.
21. 李毕忠综述; 国外医学放射医学分册 3 : 163, 1986.
22. Schall RF and Tenoso HJ; Clin Chem 27 : 1157, 1981.

单克隆抗体与核医学

华西医科大学附一院核医学科 莫廷树综述

上海第六人民医院同位素室 马寄晓审

单克隆抗体是应用现代生物学技术, 通过杂交瘤细胞获得的有较高特异性的一种抗体。随着放射性标记技术和显象仪器的发展, 使单克隆抗体成为临床诊治疾病(特别是肿瘤的诊断)的一种最新的且最富有挑战性的诊治手段。本文就核医学中单克隆应用的有关问题综述于后。

一、有关单克隆抗体的一些基本知识

抗体或免疫球蛋白(Ig)是较高等动物的浆细胞对引入的大分子外来物质(抗原)所产生的一种反应物。当Ig与特异性抗原相结合时, 常导致产生抗原破坏或排斥的复合物的免疫反应。

同一种B淋巴细胞干的浆细胞族可产生不同的抗体。由被刺激的B淋巴细胞及其子体浆细胞的抗体被命名为多克隆抗体。如能取出单个B淋巴细胞或浆细胞并置于组织培养基中无性繁殖, 则可以用手工方式从中获取单一类型的抗体, 此即单克隆抗体。但正

常细胞产生的抗体不能在培养基中生存。

1975年, Kohler和Milstein等^[1]发现骨髓瘤细胞能产生大量相同的、但非特异性的免疫球蛋白, 而培养物中无限期生存的免疫球蛋白可以用重组密码的新技术加以改善, 以建立有用的免疫球蛋白产物即永生的克隆。

他们还发明一种以聚乙烯二醇为介质, 与鼠骨髓瘤细胞和羊红细胞免疫后的鼠新鲜脾脏的淋巴细胞相融合, 生成能产生大量代表瘤细胞系的持久性和单个脾B淋巴细胞遗传密码的“预先确定”的特异性抗体的杂交瘤细胞^[2]。这种杂交瘤细胞能选择性地生长在次黄嘌呤-氨基蝶呤-胸腺嘧啶(hypoxanthine-aminopterin-thymidine)介质中生长。但此介质却不能供养未融合的淋巴细胞和骨髓瘤细胞。此方法能得到具有单一抗原特异反应的纯免疫蛋白, 即单克隆抗体。

免疫球蛋白按其结构分为IgG, IgM, IgE, IgA及IgD等五类。IgG由两条长的

和两条短的氨基酸链组成，前者称重链（H链），后者称轻链（L链），各链通过二硫键连接成为完整的分子。二硫键的存在对IgG功能的发挥极为重要。

木瓜酶能在重链的二硫键的近氨基端水解IgG，并形成两个单价的能结合抗原的片断，即Fab和一个能结晶的片断，即Fc。胃蛋白酶能在二硫键的近羟基端水解IgG，其后只能获得一个能结合抗原的双价的片断， $F(ab')_2$ 。同一亚类的所有IgG的Fc片断相同，能致活免疫系统的不同成分，易引起过敏反应，用染色体断裂的方法可使其从抗体中移出^[3, 4]。

完整的IgG在肝和网状内皮系统中代谢，而Fab片断主要经肾清除^[4]。

Fab片断与细胞结合抗原的单价结合比完整IgG的双价结合要弱些。而 $F(ab')_2$ 既有双价结合的亲和力又没有Fc片断的免疫遗传性，因而优于完整的IgG和Fab片断^[5]。

抗体的合成受两套基因控制：配对V基因译码可变部份；配对C基因译码恒定部份。每个浆细胞根据细胞内若干套V基因和C基因中的一套综合抗体，这种配对的基因被命名为等位基因（Allele），它们在双细胞相似染色体的相应部位有相同的定位。这种配对的等位基因可能是不同的。不同的抗体可能来自同一细胞，但在抗体产物中只有一种等位基因是活动的。因此，每个淋巴细胞产生单一类型的抗体。杂交瘤细胞含有来自骨髓瘤细胞和脾细胞的染色体，即有两套异源的染色体，结果形成带有不同亲缘细胞的H链和L链的杂交抗体。从中，不难找出仅代表免疫鼠淋巴细胞的H链和L链的克隆抗体。

用人工方式获得有良好特性和特异性并有活力的杂交瘤是艰苦的，需经数百次融合细胞，并需用手工方式将其分离培养和验证是否能生成所选抗原的克隆抗体，还需算出

它的亲和常数。有用的单克隆抗体的亲和常数至少应达 10^8 L/Mole，目前，高达 10^{10} L/Mole的特异制剂已可达到^[6, 7]。

多数单克隆抗体是用啮齿动物或鼠得到的，人与人的杂交瘤单克隆抗体仍在研究中。人-抗鼠抗体（HAMA）是在注射能直接与人B淋巴细胞的结合位置相互作用的鼠抗体后生成的，这种抗体被称为抗个体基因型（antiidiotypic）。HAMA能受以后给予的鼠抗体干扰和引起过敏反应。用人单克隆抗体时可减少此可能性^[7, 8]。

二、放射性标记单克隆抗体的研制状况

放射性核素标记单克隆抗体的方法分两大类：

1. 放射性碘化法：用氯胺T或乳过氧化物酶时，可以在不降低抗体的抗原结合力的情况下共价结合碘原子。常用的三种碘放射性核素中，¹³¹I和¹²⁵I因其物理性质不理想而应用受限。¹²³I虽有良好的物理特性（良好的γ射线能量，不发射β射线， $T_{1/2} = 13\text{hr}$ ）适于显象、但因 $T_{1/2}$ 短而限制它只能短期应用，加之价格昂贵，不易获得等应用受限^[9, 10]。此外，研究表明，碘标记抗体在体内易受脱卤酶作用发生脱碘。由于血液及肿瘤组织中均存在脱卤酶，脱碘的结果可使已与肿瘤结合的标记抗体的碘释放，使肿瘤/血液比值下降，影响应用。

2. 金属离子螯合法：近年来，不少作者^[10~14]指出，金属离子螯合法标记的单克隆抗体不受脱卤酶作用。本方法是以DTPA或EDTA作为双功能螯合剂、用双功能螯合法进行单克隆抗体的放射性标记^[10, 11]。在化学结构上，双功能螯合物的同一分子内独立存在着金属螯合部位和与生理活性有关的结合部位。故其具有金属标记物的稳定性和抗体活性基团的抗原结合性。本法常用的核素有¹¹¹In，⁶⁷Ga和^{99m}Tc。研究表明，^{99m}Tc虽有良好的物理性质适合于显象，但用^{99m}Tc

-DTPA螯合抗体较困难,即使用 ^{+2}Sn 还原, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 标记抗体的最佳制剂也仅能保留最初的免疫反应性的30~40%^[14]。相反,Morrison等发现用 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 亚锡药盒标记不同的多克隆抗体和单克隆抗体,在很高的比活性时,亦不失免疫活性,并证明抗体标记药盒的稳定性在1年以上^[15]。但因 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 的半衰期短,不能作较长时期的观察。用 ^{67}Ga 的双功能螯合物的研究表明,它不损害抗体活性,并能得到稳定的 ^{67}Ga 标记抗体,但 ^{67}Ga 作显象并不优于 ^{111}In 。Fairweather等用DTPA螯合 ^{111}In 和抗体进行肿瘤定位观察得到良好的结果^[10,12]。

由于 ^{111}In 、 ^{67}Ga 以及 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 等金属离子的半衰期短,用于标记单克隆抗体时,常常采用先调好抗体-双功能螯合物的共价键,使用时,再加金属离子,以完成标记反应。

随着现代仪器的发展,还有提出用 ^{68}Ga 标记抗体作正电子发射断层检查的研究,以及用稳定元素镱和钆(Gd)进行磁共振显象的设想^[6]。

由于放射性标记可能改变抗体的生物活性,因而,常需测定放射性标记抗体保留最初抗原结合特异性的百分数作为质量控制指标^[19]。

三、放射性标记单克隆抗体的临床应用

获得清晰的病变影象和使病变组织获得大剂量的照射是临床应用中所希望达到的目的。为此,应用放射性单克隆抗体的关键是获得高的靶/本底比值。成功的显象至少需要2:1的靶/本底比值,更深、更小的损害需要5:1甚至更大的比值^[20]。目前,随着许多单克隆制剂的研制,肿瘤患者的肿瘤/组织比值可达7:1^[21],在鼠中可高达20:1^[23]。体内试验预测表明,理论上最大摄取比值可达100:1到1000:1^[7]。加之,标记抗体片断的清除比完整的IgG快,因而,能得到更佳影象和更优的治疗剂量^[4,5]。

Mach等^[24]最早将放射性CEA单克隆抗体用于临床研究。以后陆续有人进行类似研究,他们发现放射性标记的CEA单克隆抗体比多克隆抗体敏感^[25,26]。Moldofsky等用 ^{131}I 标记F(ab')₂片断显象检出了用XCT未能发现的腹膜后淋巴结内的转移性结肠癌^[27]。Fairweather等用 ^{131}I -抗胰岛素对三例胰岛细胞瘤患者进行胰腺显象,两例的病变部位可见放射性浓集影,经手术证实,浓集部位分别有2cm和1.5cm直径的瘤体,其中一例的肿瘤组织经放射性测定发现肿瘤/正常组织比值达22:1^[28]。Hnatowich等用 ^{111}In -鼠单克隆抗体(19-9)的F(ab')₂片断对包括结肠癌、胰腺瘤、卵巢瘤和小细胞癌在内的患者进行显象,发现12例证实肿瘤的患者中,8例为本法所证实^[11]。Koprowski等用结肠癌相关的单克隆抗体17-1A的F(ab')₂片断显象,发现24个结肠癌肝转移灶中的19个被检出(79%)^[10]。

Morrison等用抗-HCGF(ab')₂单克隆抗体片断显象检出了肺内的睾丸癌转移灶。用 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 抗HCG- β 抗体片断检出肺部的肿瘤,结果提示放射性标记的抗HCG抗体可以作为各种组织学来源的瘤肿定位检查的有力辅助手段^[15]。除肿瘤显象外,单克隆抗体还可用于其他疾病的诊断,如用抗心肌球蛋白抗体作梗塞心肌显象等^[29]。

放射性标记单克隆抗体在治疗方面的应用仍属研究阶段。Larson等用 ^{131}I -标记单克隆抗体P₉₇Fab片断治疗黑色素瘤的早期试验研究指出:达累积剂量500mCi的有效毒性剂量之前,一次给予200mCi的安全剂量,可使肿瘤照射剂量>10rad/mCi,骨髓剂量0.3rad/mCi^[4]。如能达到1000:1的最大靶/本底比值,推理肿瘤组织能得到100000rad量的高度集中照射,而骨髓剂量为100rad。此时出现的血小板减少症的表现,主要取决于循环血中标记抗体的放射性,而不是局部骨髓中标记抗体的放射性^[7]。除碘

标记外, ^{212}Bi 、 ^{67}Cu 、 ^{100}Pa (钷)、 ^{47}Sc 以及 ^{90}Y 等放射性核素也曾被提出用作放射治疗[6、14、16~18]。

四、展 望

单克隆抗体问世以来,对核医学领域带来的影响较大,特别是在肿瘤的诊治方面,应用放射性标记单克隆抗体进行导向诊断和治疗已引起核医学界广泛兴趣。经过十年的努力,在单克隆抗体的研制和应用方面虽然取得了较大进展,但也遇到不少问题。如许多因素能损害特异性抗原的定位作用,以至有过多的放射性本底贡献;放射性标记可能造成抗体的完整性破坏或影响Fab区域的抗原结合,以及在制备过程中带来的分子损害所产生的非特异性定位;与非靶的交叉反应能产生非选择性的抗体结合;Fc区域的相互作用以及抗原抗体复合物的沉淀物有助于非特异性摄取;不成功的灌注及靶组织内的抗原很差可能降低释放和阻止摄取;抗原抗体复合物的代谢对定位抗体命运的影响以及靶组织内抗原的不同表现,能导致假阴性显象或治疗不完全等[6]。研究表明,单克隆抗体在瘤体内达到高峰所需的时间较长(约4~5天), ^{131}I 虽能满足要求,但因碘的标记不牢固,在体内易脱碘,以及 γ 射线能量等问题,故不太适合现代仪器显象[6、10]。

上述大多数问题可以通过改善标记方法和纯化技术以及通过更好的筛选方法加以克服。碘的缺点,可以采取能量更适合于现代显象仪器的 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{111}In 等放射性核素进行标记来解决。

近年来的研究表明,联合应用不同的单克隆抗体比使用单一抗体制剂更好,因为它可以最大限度地扩大有效结合点的数目[31]。Goldenberg等[32]指出:混合抗体可以直接作用于同一抗原的不同决定簇,从而增加了抗体的聚集,以至能得到较好的肿瘤/非肿瘤比值,因此,达到提高分辨率的效果。即用

特异决定簇单克隆抗体的不同混合制剂能更有效地诊断和治疗肿瘤。这种抗体的混合剂可以称为“多克隆抗体工程”(engineered polyclonal antibody)。显然,这种多克隆工程的发展对肿瘤的探测和抗体的导向治疗将做出更大贡献。

用杂交瘤的方法可以获得恒定的制剂用于药物动力学研究,但其关键是必须设计适合的抗体,更多地了解抗原的结构和功能,这样才能有助于靶的选择,以达到成功地诊断和治疗。

单克隆抗体的出现活跃了核医学领域的工作,但尚有大量的工作有待深入进行,如单克隆抗体治疗癌肿才刚开始,尚未进入临床应用阶段,更多的肿瘤单克隆抗体制剂有待开发,除肿瘤以外的其他针对分离的抗原如心肌肌球蛋白[29],外来抗原如微生物[33]以及作为定位检查的各种正常抗原[34]等的单克隆抗体分子水平制剂的研究亦应进一步发展。

总之,随着单克隆抗体技术、遗传工程技术、抗体纯化和标记技术以及显象仪器等的发展,具有高度特异性和识别特异性标记能力的单克隆抗体的出现,将使放射探查逐步成为一种经典的检查方法。结合更加适合显象的放射性标记单克隆抗体的出现以及SPECT等现代显象仪器的应用,对肿瘤的早期诊断、精确定位以及放射性单克隆抗体治疗肿瘤的应用等,将对人类征服肿瘤做出巨大贡献。随着单克隆抗体的易于选择和组织交叉匹配的进行和日趋变得广泛有效,对分子水平的精确放射性定位将提供无穷的大量应用,可以想象随着生物学方法的进一步发展,将为核医学提供更多的用于研究和诊治疾病的新的放射性药物。

参 考 文 献

1. Kohler G et al. Nature 256:494, 1975.
2. Milstein C. Sci Am 243:66, 1980.

3. Moldofsky PJ et al; Radiology 149:549, 1983.
4. Larson SM et al; J Clin Invest 72: 2101, 1983.
5. Wahl RL et al; J Nucl Med 24:316, 1983.
6. Keenan AM et al; J Nucl Med 26:531, 1985.
7. Larson SM et al; Cancer Invest 2:363, 1984.
8. Shoerfeld Y et al; N Engl J Med 311: 1019, 1984.
9. Epenetos AA et al; Lancet 2:999, 1982.
10. 金茂雄: 国外医学放射医学分册 2: 112, 1985.
11. Hnatowich DJ et al; J Nucl Med 26: 849, 1985.
12. Fairweather DS et al; Br Med J 287: 167, 1983.
13. Bunn PA et al; Lancet 2:1219, 1984.
14. Cole W et al; J Nucl Med 24:30, 1983 (abstr).
15. Morrison RT et al; Int J Nucl Med Biol 11:184, 1984.
16. Fawwaz RA et al; J Nucl Med 25:769, 1984.
17. Scheinberg DA et al; Science 215: 1511, 1982.
18. Doherty PW; J Nucl Med 25:111, 1984 (abstr).
19. Lindmo T et al; J Immunol Methods 72 :77, 1984.
20. Rockoff SD et al; Cancer Res 40:3054, 1980.
21. Larson SM et al; J Nucl Med 24:123, 1983.
22. Keenan AM et al; J Nucl Med 25: 1197, 1984.
23. Khaw BA et al; J Nucl Med 25:592, 1984.
24. Mach JP et al; Immunol Today 2:239, 1981.
25. Goldenberg DM et al; N Engl J Med 289 :1384, 1978.
26. Sfakiankis GN et al; J Nucl Med 23: 840, 1983.
27. Moldofsky PJ et al; N Engl J Med 311: 106, 1984.
28. Fairweather DS et al; Lancet 2:660, 1982.
29. Khaw BA et al; Hybridoma 3:11, 1984.
30. Larson SM et al; J Nucl Med 26:538, 1985.
31. Chatal JF et al; J Nucl Med 25:307, 1984.
32. Goldenberg DM; J Nucl Med 24:360, 1983.
33. Engleberg NC et al; N Engl J Med 311 :892, 1984.
34. East IJ et al; Science 225:938, 1984.

单克隆抗体在核医学中的应用

河北医学院第二医院同位素科 杨新毅 高友恭综述

天津医学院附一院同位素室 卢倜章 审

单克隆抗体 (Monoclonal antibody McAb) 自 1975年由Köhler和Milstein^[1]首次报道以来,虽仅十余年的历史,但研究十分活跃,发展非常迅速。一方面对某些疑难疾

病的诊断开辟了新的途径,另一方面对某些疾病的传统治疗也将作出重要贡献。本文仅就McAb (Monoclonal antibody)的有关知识及其在核医学中的应用概况做一简述。