

# 白细胞放射性核素的标记及其应用

中国医学科学院血液所 王海青综述 万景华 赵惠扬\*审

**提要:** 白细胞的标记技术近十年来有了较大改进, 可应用于造血细胞、白细胞的动力学测定, 对造血系统疾病及肿瘤的诊断、治疗和发病机制等研究具有一定意义。现已成功地作为脏器及组织的炎症显像检测。近几年制得抗白细胞单克隆抗体等作为特异标记细胞的新手段, 试用于动物或人体后表明更为方便和可靠。

自1940年用放射性核素 $^{32}\text{P}$ 标记血细胞以来, 研究者们就注意到血细胞标记物对临床疾病的诊断及健康检测的重要作用。至今, 放射性核素标记细胞方法及 $\gamma$ -闪烁显像技术的广泛应用, 有可能作为一种独特的检测手段, 测定正常和病理情况下造血细胞动力学的改变。现已形成了科学新分支“核血液学”, 对造血系统疾病及肿瘤的诊断、治疗和发病机制等研究具有一定意义[1]。

根据标记的位置及所标记的细胞或细胞成份的占有量, 白细胞标记可分成两大类。第一类为生物合成标记: 放射性标记物可参入细胞的成份, 如核苷酸、蛋白质等的合成。 $^3\text{H}$ -胸苷、 $^{14}\text{C}$ 或 $^{35}\text{S}$ -氨基酸等标记物就属此类。第二类为自身标记: 核素以不规则比例与循环的血细胞膜表面相结合; 此类标记可在体外、体内或用改良标记法完成。用于标记血细胞的理想核素需具备以下要求[2]: 第一, 标记血细胞作较长时间的分析测定时, 其标记物应仍稳定, 或者是标记率的减少为已知或呈定量变化; 第二, 此标记一般是均匀结合到所有不同龄期的细胞, 并不同程度地参入到血细胞的不同成份中; 第三, 核素的物理性质适宜于放射测量或显像; 第四, 辐射剂量必须不损害病人, 对细胞的生理功能没有明显的毒性。至今, 很少核素能全部符合这些条件。

## 一、粒细胞的标记及应用

中性粒细胞是血液中数量最多的白细胞, 由于粒细胞具有吞噬、杀菌和消化异物及调节炎症反应等重要功能, 因此, 粒细胞动力学的测定及临床诊断应用的研究早就令人注目。早年采用 $^3\text{H}$ -胸苷、 $^{51}\text{Cr}$ -铬酸钠及 $^{32}\text{P}$ -二异丙基氟磷酸(DFP)等标记物, 进行细胞周期及其它动力学参数的测定, 了解血细胞的增殖、成熟、分布和利用及临床上对某些血液病的诊断、治疗和预后判断等提供了重要资料[1~8]。这些核素存在着无法进行整体检测及测定方法太复杂等缺点。近临床依据中性粒细胞因趋化性易集中在损伤部位, 可选用适宜物理性质的 $\gamma$ -核素( $^{67}\text{Ga}$ 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 和 $^{111}\text{In}$ )标记白细胞, 作为新的特异诊断进行细胞动力学测定及局部组织的脓肿显像。1975年引入 $^{111}\text{In}$ -8-羟基喹啉标记白细胞后再注入体内, 由于标记细胞稳定, 现已成功地在胸腹部炎症[4~6]、活动性和非活动性肠炎、溃疡性结肠炎、胸腔细菌性感染及急性骨髓炎等定位显像[7~9], 其整体显像的检测可以弥补超声检查及CT诊断的不足, 如鉴别诊断急性胰腺炎等[10]。此外, 多形核嗜中性白细胞标记物试用于急性心肌梗塞或坏死组织的定位也有报导[2]。用标记白细胞来测定血细胞动力学参数, 对临床血液病的粒细胞增多及减少症, 急、慢性白血病的鉴别诊断及发病机理的研究有一定帮助[8]。另研究白细胞抗体对供者的标记中性细胞的作用[14], 当有此抗体存在

时,可降低标记细胞的回收率及半寿期。

$^{111}\text{In}$ 标记白细胞的优点是:1.若用芳庚酚酮(tropolone)或巯基吡啶N-氧化物(mercapto-pyridine-N-oxide)为螯合剂<sup>[11、12]</sup>, $^{111}\text{In}$ 可在血浆中标记白细胞,其标记率和显像效果皆优于8-羟基喹啉;2. $^{111}\text{In}$ 标记白细胞时,在体内洗脱量较 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 标记时低10倍,因而, $^{111}\text{In}$ 白细胞在脓肿/血的比值较 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 高3~4倍,显像效果更满意<sup>[13、14]</sup>。 $^{111}\text{In}$ 标记细胞的缺点为:1. $^{111}\text{In}$ 的费用较贵,不能在临床广泛使用;2. $^{111}\text{In}$ 白细胞的显像诊断时有假阴性的报告;其显像效果与分离后的白细胞的活性、含量和结构的完整性等有关<sup>[10]</sup>,也因病人的症状复杂性而异<sup>[4]</sup>;3.近来注意到 $^{111}\text{In}$ 核素较 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 毒性更大,严重影响标记后细胞的活性及应用。现用改良后的 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 标记白细胞的方法<sup>[14、15]</sup>,可克服 $^{111}\text{In}$ 的缺点,有可能部份代替 $^{111}\text{In}$ 的应用。

$^{99\text{m}}\text{Tc}$ 标记白细胞的一般方法:1.用还原态 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 标记白细胞<sup>[16、17]</sup>,取亚锡与焦磷酸盐或葡庚糖酸盐溶液先使 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 还原,然后直接与白细胞结合;2.脂溶性的8-羟基喹啉或水溶性的芳庚酚酮等先与 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 形成螯合物<sup>[18]</sup>,再与白细胞结合,用以上两种标记方法时,标记白细胞在体内的回收率及生存期较低,注入体内后放射性易脱落及细胞活性易受损害;3.用 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 硫酸胶体标记分离后的或全血中吞噬细胞,约有40%放射性与细胞结合<sup>[15]</sup>,缺点是若用非标记胶体温育标记细胞时,约有50%活性被洗脱,说明此方法只是核素与细胞进行非特异结合。现用改良的标记法:如 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -六甲基丙烯胺脲(HM-PAO)标记白细胞<sup>[14]</sup>,经狗和人体的脓肿显像表明:在18小时内与 $^{111}\text{In}$ 的结果相似。另用二羟基苯甲酸盐及酒石酸盐与氯化亚锡组成物先与 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 形成稳定的络合物,再与粒细胞结合,可以快速完成反应<sup>[15]</sup>。将此自身标记的粒细胞对15个急性腹脓肿病人进

行显像的测定表明:6人阳性,9人阴性,与其它诊断及手术处理的结果一致。其体内分布与 $^{111}\text{In}$ 粒细胞相近,注射后先进入肺部,3小时后完全清除;在肝、脾中停留时间较长,在24小时的活性近似3小时的活性。用此法标记的 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 粒细胞可试用于急性腹脓肿、血管周围组织及手术后感染的检测。缺点是 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 的半衰期较短,不利于24小时后的长时间显像用。此外,国内用 $^{125}\text{I}$ -脱氧尿苷标记人慢粒急变白血病细胞系( $\text{K}_{562}$ )作靶细胞,测定人外周血中天然杀伤(NK)细胞的活性,与 $^{51}\text{Cr}$ 核素相比,自然释放率低,结果准确可靠<sup>[19]</sup>。

## 二、淋巴细胞的标记及应用

现今的免疫学(包括细胞免疫学)是生物学及生物化学中最活跃的分支。放射性核素标记淋巴细胞除了用于动力学参数的测定外,更多的是应用于细胞免疫的研究。由于对淋巴细胞膜表面抗原及受体进行生化鉴定,有助于探索淋巴细胞膜的结构与免疫功能的关系。首先被应用的是 $^{35}\text{S}$ -蛋氨酸等<sup>[20]</sup>, $^{35}\text{S}$ -蛋氨酸可以同时标记细胞质蛋白和膜蛋白。近来报道用 $^3\text{H}$ <sup>[19]</sup>、 $^{125}\text{I}$ <sup>[20]</sup>、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 及 $^{111}\text{In}$ 等核素标记淋巴细胞。 $^{125}\text{I}$ 可标记具有酪氨酸结构的膜蛋白,用于检测膜表面的免疫球蛋白(Ig)分子,并可测定与标记淋巴细胞能特异结合的细胞膜抗原或单克隆抗体的分子量。 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 及 $^{111}\text{In}$ 标记淋巴细胞在临床上可用于淋巴细胞的流动、分布及动力学的测定,也有用于何杰金氏病及软组织瘤的显像诊断<sup>[2]</sup>。总之,需根据实验目的和膜蛋白的性质选择标记方法。

最近报告放射线对淋巴细胞的损害较其它有核细胞更为敏感<sup>[21、22]</sup>。现采用细胞增殖容量及染色体异常的变化作为细胞功能受损的指标。当 $^{111}\text{In}$ 的常用显像剂量为5.55 MBq/ $10^6$ 个淋巴细胞时,可使细胞的95%染色体发生断裂<sup>[21]</sup>,若用低于0.37 MBq/ $10^6$ 个

细胞的 $^{111}\text{In}$ 时,被标记的淋巴细胞中染色体出现断裂,标记后24~48小时细胞功能发生明显异常<sup>[22]</sup>。以上说明 $^{111}\text{In}$ 在低剂量时也会损害淋巴细胞的功能及影响其临床应用。另有人报道, $^{111}\text{In}$ 对细胞的毒性来自它的衰变产物Cd的化学毒性<sup>[21]</sup>,实验证明金属镉可使被标记的细胞的染色体发生断裂,也影响淋巴细胞的流动能力。为了减少辐射剂量对细胞的损害,建议用以下两种方法:一是引入更安全的放射性螯合物与细胞膜结合,减低对细胞核的损害;二是选取对细胞毒性低、半衰期及能量适宜的 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 $^{87}\text{Ru}$ 等核素标记淋巴细胞。如用剂量为 $8.95\text{MBq}/10^7$ 个淋巴细胞的 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 进行标记时,约有20%细胞的增殖量及染色体受到损害。若 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 的剂量小于 $21.46\text{MBq}/10^7$ 个淋巴细胞时,染色体的损伤相当于250keV X射线60cGy的剂量,而用 $^{111}\text{In}0.33\text{MBq}/10^7$ 个淋巴细胞标记时,对于染色体的剂量相当于2~2.5Gy。由此看来, $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 对细胞的辐射损伤明显低于 $^{111}\text{In}$ 。

### 三、特异性标记细胞

由上综述的 $^{111}\text{In}$ 脂溶性螯合物、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 改良标记法等虽能用于细胞的标记,然而,它们对不同类的细胞及细胞中各种成份的标记缺乏选择性,使核素与细胞的结合不稳定,核素对细胞有一定的毒性。今后应寻找特异标记细胞的试剂,降低核素对细胞的辐射剂量,更有利于临床使用。可考虑用以下的途径:一是努力寻找标记不同细胞的更佳条件,如试制新类型的螯合剂<sup>[23]</sup>:2-巯基吡啶N-氧化物的巯基物[Merc-(2-mercapto-pyridine N-oxide)]与 $^{111}\text{In}$ 螯合后,在血浆中标记细胞,经动物试验表明:在肺中清除快于非血浆中标记细胞,其显像的灵敏度和特异性类似8-羟基喹啉。另N-甲酰基-蛋氨酸-白氨酸-苯基-氨基丙氨酸(N-formyl-methionyl-leucyl-phenyl-alanine, FM-

LP),是嗜中性细胞的多肽合成物,它可先与 $^{111}\text{In}$ 螯合,后再与中性细胞温育,其标记率达60%,并可降低 $^{111}\text{In}$ 对细胞的损伤。二是应用单克隆抗体新技术,核素标记单克隆抗体后进入体内再与相应的细胞表面抗原进行特异结合。如McAfee<sup>[23]</sup>制得 $^{125}\text{I}$ -抗白细胞单克隆抗体,将其注入动物体内后表明:只与嗜中性白细胞具有特异结合力,而对单核细胞的结合力弱,缺点是 $^{125}\text{I}$ 在体内易脱落,有的建议用 $^{123}\text{I}$ 标记细胞更为适宜。近有报道<sup>[24]</sup>: $^{123}\text{I}$ 标记的抗粒细胞单克隆抗体在临床上试用,较 $^{111}\text{In}$ -白细胞使用时要方便、可靠。

放射性核素标记白细胞及其应用的小结

#### (一)标记白细胞

1. 标记用核素: $^3\text{H}$ 、 $^{14}\text{C}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、 $^{32}\text{P}$ 和 $^{125}\text{I}$ 等。标记白细胞应用在:(1)细胞动力学参数的测定;(2)急、慢性粒细胞白血病的鉴别诊断及发病机制研究;(3)检测人外周血杀伤细胞的功能。

2. 标记用核素: $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 $^{111}\text{In}$ 、 $^{67}\text{Ga}$ 、 $^{123}\text{I}$ 等。标记白细胞应用在:(1)炎症显像:急性肺、心、腹及肾炎等;急性呼吸困难症;骨髓炎、病毒性心肌炎等。(2)感染检测:内脏及其它组织移植。(3)梗塞与坏死的诊断:心、腹及脑等。

#### (二)标记淋巴细胞

1. 标记用的核素: $^{35}\text{S}$ (氨基酸)。应用于细胞膜蛋白的研究及动力学参数的测定。

2. 标记用的核素: $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 $^{111}\text{In}$ 及 $^{51}\text{Cr}$ 等。应用在:(1)细胞动力学参数及淋巴细胞流动、分布的测定。(2)炎症显像。

3. 标记用的核素: $^{125}\text{I}$ 。应用于细胞膜蛋白及抗淋巴细胞单克隆抗体的生化特性的研究。

### 四、展 望

放射性核素标记细胞的发展趋势:一是

寻找特异性标记细胞及其成份的反应条件,以期得到在体内、外稳定,能保持生物活性及符合需要的标记细胞;另是选择能与血细胞特异结合的单克隆抗体进行放射性核素标记后,可与相应的细胞抗原产生特异性结合,便于体内、外检测。由于细胞免疫学及分子生物学等迅速发展,核素标记细胞的工作日趋深入,近已有用放射性核素标记细胞生长的增殖因子、抑制因子及细胞被激活后的产物如:白细胞介素1、2、3及干扰素 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 等,为进一步探索细胞膜的抗原、受体与功能的关系,研究细胞的增殖、分化和变异等规律有一定帮助。

### 参 考 文 献

1. 邓家栋主编:临床血液学 1985, p.542, p.585 上海科技出版社
2. Jane BA, et al; Semin Nucl Med 1984, 14(3):154-7, 208~226
3. 万景华:中华血液学杂志 1986, 7(5):312~5
4. Bianco JA, et al; J Nucl Med Allied Sci 1986, 30(2~3):165~172
5. Goodwin DA, et al; Clin Nucl Med 1983, 8:36~38
6. Derek B, et al; J Nucl Med 1986, 27(11):1782~3
7. Frederick LD, et al; J Nucl Med 1987, 28(5):820~4
8. Bianchi L, et al; J Nucl Med Allied Sci 1987, 31(2):201~5
9. Mastti TS, et al; J Nucl Med 1987, 28(5):820~4
10. Saha GB, et al; J Nucl Med 1987, 31(2):201~5
11. John RA, et al; J Nucl Med 1986, 27(3):345~352
12. Lynn H, et al; Eur J Nucl Med 1983, 7(7):234~6
13. Robin L, et al; J Nucl Med 1987, 28(2):223~8
14. McAfee JG, et al; Eur J Nucl Med 1987, 13:353~7
15. Schauwecker DS, et al; J Nucl Med 1984, 25(8):849~853
16. Sunderhagen E, et al; J Nucl Med 1986, 27(4):555~9
17. Linhart CN, et al; Br J Haematol 1983, 53(1):31~41
18. Thakur ML, et al; J Lab Compd Radiopharm 1986, 23(10~12):1219
19. 王球达等:上海免疫学杂志 1983, 4(5):272
20. B.米施尔等编著:细胞免疫学方法选编 1985, p.405 人民卫生出版社
21. Ten Berge RJM, et al; J Nucl Med 1983, 24(7):615~620
22. Merz T, et al; J Nucl Med 1986, 27(1):105~110
23. Thakur ML, et al; Nucl Med Biol 1986, 13(2):147~158
24. Seybood K, et al; Eur J Nucl Med 1988, 13(10):587~593

(上接封四)

予冲剂量硝酸甘油后的改善程度的预后价值,作者应用放射性核素心血管造影对31例心肌梗塞,左心室室壁瘤患者(男性29例,女性2例,平均年龄 $53 \pm 9$ 岁)进行了研究。

对所有患者,都作了详细的临床检查、动态心电图监测和心导管检查。

根据给予硝酸甘油后左心室非室壁瘤部位的局部射血分数的变化,将患者分为两组:至少2个节段的局部射血分数的增加大于5%者为A组,共22例,平均年龄 $52 \pm 10$ 岁;给药后无改善者为B组,共9例,平均年龄 $57 \pm 6$ 岁。

两组的心功能分级(NYHA),包括心律失常发生率,左心室舒张末压( $15.3 \pm 7.8$ mmHg;  $15.6 \pm 4.3$ mmHg)、肺动脉压( $16.6 \pm 4.3$ mmHg;  $17.7$

$\pm 5.3$ mmHg),心脏指数( $3.2 \pm 0.7$ L/(min·m<sup>2</sup>);  $3.0 \pm 0.3$ L/(min·m<sup>2</sup>))和病变血管数( $2.2 \pm 0.7$ ;  $2.2 \pm 0.8$ )无明显差别。16例A组患者 and 所有B组患者均作了室壁瘤切除和大隐静脉搭桥术。两组患者的心肺旁路时间、主动脉阻断时间、搭桥血管数无明显差别,总的早期死亡者8例,其中B组7例(77%),而A组只有1例。

作者对所有患者都进行了随访(6年2个月)。术后放射性核素心血管造影表明,A组患者心室底部功能与术前给予硝酸甘油后的心室功能相近,相反,B组患者的心室功能仍低下。

因此,放射性核素心血管造影可能是一项估价术后局部心室功能、室壁瘤切除术后患者预后的非常有用的方法。

【何作祥摘 刘秀杰校】