

肺癌放射免疫显像的研究近况

北京协和医院核医学科 施绪保综述 王世真审

提 要: 肺癌是常见的恶性肿瘤,发病率和死亡率都有上升的趋势。尽管已从很多方面对肺癌的临床诊断进行过大量的研究,诸如CT、磁共振等新技术的推广应用,但没有提高其阳性诊断率。近几年来,用放射性核素标记单克隆抗体(McAb)进行放射免疫显像定性、定位诊断肺癌受到人们的极大关注。

一、单克隆抗体

根据病理学特征,肺癌分为4种类型:腺癌、鳞癌、大细胞癌、小细胞癌。现已制备出各类肺癌的McAb。

1. 抗肺腺癌McAb。Varki^[1]制备出三种抗肺腺癌McAb: KS1/4、KS1/9和KS1/17。KS1/4已在几个实验室应用,它不仅与肺腺癌发生反应,还能与肺鳞癌、小细胞癌、结肠癌、乳腺癌、胃癌等多种癌细胞结合;用放射性核素标记KS1/4注入载人人肺腺癌移植瘤裸鼠体内,肿瘤部位的放射性最高,瘤/血比值达4.8^[2]。

2. 抗肺鳞癌McAb。Brown^[3]制备的抗人肺鳞癌McAb与肺鳞癌有高度亲和反应,与其它类型的肺癌、正常组织以及部分其它肿瘤组织仅呈较弱的反应。Kasai^[4,5]也用人肺鳞癌细胞作为抗原,制备了三种McAb,其中一种仅与肺鳞癌和结肠癌结合,与别的癌细胞不反应;另外两种也仅与少数非肺癌肿瘤细胞有交叉反应,对肺癌的亲合性较高。作者认为,这三种McAb能识别肺癌细胞上不同的抗原决定簇。

3. 抗大细胞肺癌McAb。Mulshine^[6]用大细胞肺癌株免疫动物制备了两种抗人大细胞肺癌McAb。这两种抗体所结合的抗原主要存在于大细胞肺癌、肺腺癌、肺鳞癌以及部分黑色素瘤、成骨肉瘤中,在其它癌组织和正常组织中没有发现相关的抗原,

显示这两种McAb具有相对高的特异性。

4. 抗小细胞肺癌McAb。这类抗体较多。Cuttitta^[7]筛选出三种抗小细胞肺癌McAb,组织免疫化学结果表明,这些抗体检出的抗原主要存在于小细胞肺癌、肺腺癌、肺鳞癌,与其它多种癌细胞及正常细胞不发生反应。Rosen^[8]曾用21种抗小细胞癌McAb分析肿瘤相关抗原;Zimmer^[9]用其中一种抗体进行移植瘤定位,效果较好。在日本,Okabe^[10]制备出两种抗小细胞癌McAb,均能特异定位于肺癌移植瘤。

5. 其它肺癌相关抗原McAb。这类抗体主要有①癌胚抗原(CEA)McAb,CEA是近二十年来研究较多的肿瘤标识物,肺癌细胞能表达CEA,部分抗CEA McAb对肺癌有相对较高的特异性^[11];②抗 β_2 -微球蛋白McAb, Brenner^[12]以肺鳞癌细胞膜 β_2 -微球蛋白为抗原,制备的McAb能特异结合在肺鳞癌细胞上;③抗癌基因产物McAb,癌基因表达的蛋白质参与肺癌细胞分裂和分化过程,抗c-myc癌基因产物McAb对肺癌具有较高亲和力^[13];④抗上皮生长因子受体McAb,肺鳞癌上皮生长因子受体明显增加,其McAb能特异地定位于肺鳞癌^[14]。

二、肺癌放射免疫显像的研究

自Goldenberg^[15]1978年用放射性核素标记抗体进行临床肿瘤定位显像以来,放射免疫显像这一技术已经历了十几年的发展。

在此期间,虽然肺癌显像也有报道,但病例数远不如消化道肿瘤、女性生殖系肿瘤和黑色素瘤多。影响肺癌显像的因素比较复杂,其主要原因是至今尚未发现专一性很强的肺癌相关抗原,也就不可能获得特异的McAb,对于肺癌放射免疫显像,目前仍在进行多方面的探索。回顾肺癌免疫显像的发展过程,大体可分为三个阶段:①抗肿瘤相关抗原的抗体的应用;②抗肺癌McAb裸鼠移植瘤显像;③抗肺癌McAb在临床显像方面的试用。

1. 抗肿瘤相关抗原的抗体在肺癌显像中的应用

在早期肿瘤放射免疫显像研究中,均采用抗肿瘤相关抗原的抗体,如抗CEA、抗AFP、抗HCG等,肺癌也不例外。如Goldenberg^[16]用CEA多克隆抗体对13例病人进行肺癌显像,17个肿瘤中有12个呈阳性显影,灵敏度达71%。DeLand和Goldenberg^[17]合作用抗AFP多克隆抗体对4例肺癌显像,6个肿瘤仅探测出2个(33%);抗HCG多克隆抗体也只能使4个瘤灶中的2个显像。Kim^[18]报道了较多例数的肺癌显像结果,在22例病人(20例原发性肺癌,1例类癌和1例大细胞肺癌)中,16例给予¹³¹I-CEA,结果22个瘤灶有16个显影;另6例用抗AFP和抗HCG显像,探查到5个瘤灶。

用放射性碘标记多克隆抗体虽然能探查肺癌,但来源受限。随着免疫化学技术的发展,人们借助肿瘤相关抗原的McAb或F(ab')₂片段进行肺癌放射免疫显像。

Riva^[19,20]是最先用抗CEA McAb进行临床肺癌定位显像。1986年,他采用¹³¹I-和¹¹¹In-抗CEA McAb对40例肺癌进行显像,所有肿瘤都有不同程度的显影;对于转移瘤也有较好的效果,7个骨转移瘤灶探查出4个,脑、肝、淋巴结和皮肤等部位的转移瘤也都被探查出来;另有30个未确诊的“热点”经病理证实23个是癌变。同期,他又

用¹¹¹In-和¹³¹I-F(ab')₂片段对41例肺癌患者和4例慢性肺疾病患者进行显像,31个原发瘤探查到27个(87%),30个转移瘤也有25个显像(83%);非肺癌患者无一例假阳性。

另一种用于临床肺癌定位显像的McAb是791T/36,用人骨肉瘤细胞免疫动物制备而成,已经对多种肿瘤进行过放射免疫显像,并获得了较好的效果。Perkins^[21]用791T/36对21例肺癌进行了定位显像诊断,其中8例给予¹³¹I-791T/36,3例是阳性结果(38%);13例给予¹¹¹In-791T/36,阳性显像者9例(69%),总阳性率为57%。

此外,在一组鳞状上皮癌放射免疫显像研究中,给病人注射¹¹¹In标记的抗上皮生长因子受体McAb后,用平面γ照相和SPECT断层技术进行检查,其中4例肺鳞癌有2例呈阳性显像^[14]。

抗c-myc癌基因产物McAb碘化后能特异定位于裸鼠移植瘤。鉴于这一特性,Chan^[13]用该抗体对20例肺癌患者进行了放射免疫显像检查,14例原发性肺癌有12例是阳性结果(86%);6例转移性肺癌不能显像。

已知的抗肿瘤相关抗原的抗体大多是较为广谱的肿瘤阳性显像剂,虽然能探测出相当一部分肺癌,但从理论上讲,特异性是不够理想的。因此,近年来人们将研究的重点集中在肺癌McAb,并看到了一些好的苗头。

2. 抗肺癌McAb裸鼠移植瘤显像

在载入肺癌移植瘤的裸鼠中,放射性核素标记的抗肺癌McAb能在肿瘤内浓聚,获得较高的T/NT比值和良好的显像效果。Dreyfuss^[22]用¹²⁵I标记抗小细胞肺癌McAb给人肺癌移植瘤定位,肿瘤组织摄取标记抗体量最多,是肌肉的30倍。Zimmer^[9]给载瘤裸鼠注射(400~800μCi)¹³¹I-McAb后2~4天观察到显像的肿瘤,而且肿瘤浓聚的放射性最高,达全身剂量的10.4%。日本

东京大学Okabe^[10]筛选出两种抗小细胞肺癌McAb, ¹²⁵I标记后进行分布试验, 裸鼠移植瘤的放射性是心、肺、肝、脾、肾等正常器官的5倍以上, 给药后4天进行 γ 照相, 能获得清晰的肿瘤图像, 7天后更为明显。用片段F(ab')₂显像也能获得同样的效果^[23]。

3. 肺癌McAb在临床显像诊断方面的试用

虽然抗肺癌McAb在动物实验中有比较满意的显像效果, 但在临床应用中并不能总是获得良好的肺癌显像, 从而阻碍了肺癌放射免疫显像研究的进度。最近, Larson^[24]认为, 肺癌放射免疫显像未能广泛进行的主要原因是没有发现很好的McAb。从文献资料也可以看出, 动物移植瘤显像和临床肺癌显像之间存在相当大的差距。根据可查找的资料, 截至目前为止, 用抗肺癌McAb进行临床显像的文献只有2篇。较早的报道是Mathieu^[25]在1984年所做的工作, 他制备了抗人肺鳞癌McAb, 尽管在体外实验证明该抗体有较好的免疫活性, 但在体内不能使人肺癌显像, 不论是采用平面 γ 照相还是SPECT断层技术。

比较成功地进行了肺癌McAb免疫定位显像的研究者首推Dazord。在裸鼠移植瘤实验中, ¹³¹I标记的抗人肺鳞癌McAb P066静脉注射后行 γ 照相, 移植瘤显示清晰, 对照组的肿瘤不显示; 阳性显像动物的T/NT比值为2.2, 阴性对照组仅0.8, 显示McAb P066在体内保持了较高的特异性和良好的免疫活性^[26]。将P066进一步试用于临床肺癌放射免疫显像, 结果也很满意, 30例病人(29例鳞癌、1例腺癌)均由内窥镜活检和胸部X射线检查确诊。¹³¹I-McAb P066经静脉注射, 剂量为2 mCi (1.0 mg IgG), 给药后3、6、10天显像, 并采用^{99m}Tc胶体减影技术。在26个原发肺癌中, 有20个显像, 阳性率为77%; 另有7个复发性癌和3个

转移癌也全部显示(100%)。未显像的6个原发癌中, 有2个不能表达抗原, 2个肿瘤较小, 另2个是减影所致, 部分病例显像的精确度高于CT^[27]。Dazord的临床研究结果是鼓舞人心的, 它为广泛开展肺癌放射免疫显像提供了可行性依据。

三、改善肺癌放射免疫显像的新措施

近十年来, 已经从技术上对肿瘤放射免疫显像进行了很多的革新, 如多种McAb联合应用, F(ab')₂和Fab片段显像、¹¹¹In标记抗体、双核素减影、显像仪器更新换代等, 但没有取得根本性的突破。人们已经注意到, 影响放射免疫显像的主要原因仍是McAb, 并试图从这方面入手, 争取获得一些好的结果^[24]。

1. 筛选特异性高、性能稳定的 McAb

最近报道的抗肺癌McAb L6和P80对肺癌具有较高的特异性, 而且在体内很稳定, 人们希望它们能成为肺癌放射免疫显像的良好载体。

2. 应用嵌合抗体 (Chimeric antibody) 显像

在人体内, 肿瘤结合足够显像量的标记McAb需要较长时间, 对于慢动力学的标记抗体, 往往得不到良好的显像效果。有人设计出嵌合抗体, 即在抗体分子中, 一半抗肿瘤, 另一半抗小分子载体, 因此嵌合抗体具有双向特异性。显像分两步进行, 首先将未标记抗体注入体内, 经过一段时间, 肿瘤组织内浓聚有足量的抗体, 然后注入放射性标记的小分子载体, 几小时后, 标记物扩散到肿瘤组织间隙, 与肿瘤细胞上的嵌合抗体结合, 这样能在短时间内获得最大的T/NT比值。对于^{99m}Tc等短半衰期核素, 采用这种方法尤其有实用价值。

3. 抗基因型抗体亲和层析提纯 McAb

已经证明, 抗基因型抗体的可变区结构与免疫原相似。用这种抗体亲和层析提纯抗

-抗基因型抗体,能改善抗体的免疫活性,排除无关IgG的干扰,提高T/NT比值。

参 考 文 献

1. Varki NM, et al: Cancer Res 1984, 44: 681
2. Shani J, et al: Nucl Med Biol 1986, 13: 379
3. Brown DT & Moore M: Br J Cancer 1982, 46: 794
4. Kasai M, et al: J Surg Res 1981, 30: 403
5. Kasai M, et al: Transplant Proc 1981, 13: 1942
6. Mulshine JL, et al: J Immunol 1983, 131: 497
7. Cuttitta F, et al: Proc Natl Acad Sci USA 1981, 78: 4591
8. Rosen ST, et al: Cancer Res 1984, 44: 2052
9. Zimmer AM, et al: Hybridoma 1985, 4: 1
10. Okabe T & Takaku F: Jpn J Clin Oncol 1986, 16: 243
11. Imai K, et al: J Immunol 1984, 132: 2992
12. Brenner BG, et al: Cancer Res 1982, 42: 3187
13. Chan SYT, et al: Br J Cancer 1986, 54: 761
14. Keeling F, et al: Nucl Med Commun 1986, 7: 307
15. Goldenberg DM, et al: N Engl J Med 1978, 298: 1384
16. Goldenberg DM, et al: Cancer Res 1980, 40: 2984
17. DeLand FH & Goldenberg DM: Semin Nucl Med 1985, 15: 2
18. Kim EE, et al: J Nucl Med 1980, 21: P54
19. Riva P, et al: J Nucl Med 1986, 27: 881
20. Riva P, et al: Br J Cancer 1986, 54: 538
21. Perkins AC, et al: Nucl Med Commun 1986, 7: 729
22. Dreyfuss AI, et al: Hybridoma 1988, 7: 1
23. Endo K, et al: J Natl Cancer Inst 1988, 80: 835
24. Larson SM, et al: Nucl Med Biol 1989, 16: VII
25. Mathieu A, et al: Behr Int Mitt 1984, 74: 72
26. Dazord L, et al: Cancer Immunol Immunother 1987, 24: 263
27. Dazord L, et al: Nucl Med Biol 1989, 16: 179

(上接第38页)

部位特异共轭连接

多数碘化方法或双功能整合剂的共轭结合是发生在抗体的氨基酸支链上,支链功能基团的衍生可能会使抗体的免疫学特性减少, Brown等发明了一种替代技术,利用抗体的碳水化合物部分作为整合的位点,这种结合是部位特异的,因为它局限在抗体的糖链上,这与其它方法产生的随机的结合是不同的。这种技术的主要优点是双功能整合剂是连接在羧化物上,而羧化物又通常位于抗体的Fc片断。因此,抗原结合部位所在的Fab片断的结构所受的干扰很小。这种衍生方法对抗体的免疫反应性没有影响,因而在体内的抗原结合特异性较其它方法要高,这些独特的方面使之非常有用。另外,可以结合大量的整合基团而不损害抗体的免疫学活性。

结 论

Larson等报道,如果平均每分子抗体中标记碘原子超过0.3个,就出现明显的免疫活性丧失。通常,碘化的程度越高、抗体的免疫活性损伤越严重。有时对酪氨酸的修饰也会减少蛋白质的活性。因此,任何标记好的抗体在用于临床以前,都应使用细胞结合分析来检查其免疫活性。

对一个特定的系统,没有一种方法是完美无缺的,不同的方法通过不同的途径作用于蛋白质。因此,选择一种简便且对蛋白质生物学活性损伤较小的方法是很重要的。

[Semin Nucl Med 1989, 19(8): 187~201

(英文)秦 凤节译 田嘉禾校]