

单克隆抗体的免疫学和药理学概念(续)

Zuckier LS et al

人Ig中, IgG的 $T_{1/2}$ 最长($T_{1/2}$ 平均值为21天), 其余依次为IgA(6天), IgM(5天), IgD(2.8天)和IgE(2.7天), 如表1所示。IgG₃的 $T_{1/2}$ 比IgG的其他亚型

短(7.1天), 而两个IgA亚型有相似的 $T_{1/2}$, 血管内IgG存活用³⁵S生物合成制备标记的Ig证实, 因此证明了放射性碘化 $T_{1/2}$ 方法学的准确性。

表1. 正常人放射性碘标记的Igs代谢

型/亚型	Spiegelberg		Waldmann等		
	$T_{1/2}$ (d)	FCR(%)	$T_{1/2}$ (d)	FCR(%)	IVF(%)
IgG ₁	23	7	21.2	8.0	51
IgG ₂	23	7	20.2	6.9	53
IgG ₃	16	17	7.1	16.8	64
IgG ₄	23	7	20.6	6.9	54
IgM	5	18	5.4	17.2	76
IgA ₁	6	25	NP		
IgA ₂	6		NP		
IgD	3	37	2.8	37	73
IgE	2	89	2.7	94	41

FCR: 部分分解代谢率, IVF: 血管内部分, NP: 没有进行亚型的特异测定。

Fahey和Sell用放射性碘化抗体整体计数和IgM免疫分析广泛研究了鼠的同源性Ig代谢, 其代谢率比人快得多, 虽然型和亚型之间明显地保持亲缘关系(表2)。近来,

表2. 不同方法测得小鼠中Ig $T_{1/2}$ (天)

型/亚型	分析方法				
	全身放射性碘	血清放射性碘	血清 ³⁵ S	血清*免疫学	血清*免疫学
IgM	1.3	0.71	3.3	2.1	
IgA	1.2	0.625	3.9	0.84**	
IgE				0.50	0.26
IgG ₁	4.0	5.0	8.2	7.1	10.1
IgG _{2a}	5.1		8.6	7.6	
IgG _{2b}	2.7		5.0	4.7	
IgG ₃			9.5	6.1	

*不同作者的结果 **可能是二聚体

Scheinberg和Strand用¹³¹I标记抗体和血清计数以及我们实验室用³⁵S生物合成的放射性标记单克隆抗体进行了类似的测定(图3)。其他一些研究者用免疫分析方法也达到了这个目的(表2)。值得注意的是, 碘

化和非碘化技术之间存在某些差异, 这些差异归因于许多因素, 包括碘化对抗体完整性的影响, 宿主年龄和种属的差异, 单克隆抗体的特异性等。

早期对同源的碘化人骨髓瘤蛋白质存活的研究表明: Ig各亚型的代谢率存在显著的个体差异和亚型分解代谢的异源性。Spiegelberg等人观察到人IgG各亚型的 $T_{1/2}$ 很短。Fahey和Sell's在小鼠中的研究资料也支持了亚型分解代谢的异源性概念。对比我们的经验, 不同的同源性鼠单克隆抗体的 $T_{1/2}$ 不变, Vieira和Rajewsky也得出同样的结论。此差别是否由于样品数量少和方法学因素尚不清楚, 基本的问题是在没有抗原靶的情况下, 可变区结构能否影响同源抗体分解代谢率。放射性标记抗体已经用于人的临床显像和治疗试验, 这些结果摘要列在表3。

抗体片段

大多数效应功能是靠Ig分子的Fc部分结

表3. 人宿主完整抗体 $T_{1/2}$

抗体	来源	型/亚型	剂量(mg)	肿 瘤	标记	病人数*	初始 $T_{1/2}$ (时)	最终 $T_{1/2}$ (时)
抗癌胚抗原	山羊	血清	.1~.3	各种(+)	^{131}I	23		32.6 ± 5.1
抗癌胚抗原	狒狒	血清	.1~.3	各种(+)	^{131}I	7		69.4 ± 4.4
8.2	鼠	IgG_1	1	黑色素瘤(+)	^{131}I	5	$.83 \pm .13$	31 ± 5
763.74T	鼠	IgG_1	NS	各种(-)	^{131}I	8		$98, 105, 128 \text{ §}$
B72.3	鼠	IgG_1	.16~20	结肠瘤(+)	^{131}I	35		$65 \times$
HMFG1或2	鼠	IgG_1	.2~2	各种(+)	^{131}I	20		18
B6.2	鼠	IgG_1	.05~.1	乳腺癌(+)	^{131}I	4	$2.2 \pm .3$	$15.4 \pm .6$
			.5, .9			2	1.1, 5	20.8, 43
225.28S	鼠	IgG_{2a}	<.2	各种(-)	^{131}I	5		$118.2 \pm 44.2 \text{ §}$
791T/36	鼠	IgG_{2b}	.2	结肠瘤(+)	^{111}In	8	14.9	44.4 ± 7.2
			1.0			1		48
9.2.27	鼠	IgG_{2a}	1	黑色素瘤(+)	^{111}In	5	$2.1 \pm .6$	27 ± 8
			50			5	9.0 ± 2.8	60 ± 7
			100			2	8.9	78 ± 6
96.5	鼠	IgG_{2a}	1	黑色素瘤(+)	^{111}In	4		$27 \pm 9 \times$
			2			5		36 ± 3
			5			5		32 ± 3.4
			10			5		31 ± 4
			20			9		30 ± 6
ZME-018	鼠	IgG_{2a}	1.0	黑色素瘤(+)	^{111}In	2		$16.1 \pm .5$
			2.5			4		19.6 ± 1.9
			5.0			5		26.4 ± 5.2
			10.0			5		27.4 ± 7.2
			20.0			5		30.8 ± 12.9
			40.0			5		35.9 ± 7.7
ZME-018	鼠	IgG_{2a}	2.5	黑色素瘤(+)	^{111}In	4	$1.5 \pm .3$	17.8 ± 2.1
			5.0			5		24.5 ± 2.7
			10.0			5	3.3 ± 3.1	27.5 ± 4.9
			20.0			6		29.1 ± 5.0
			40.0			5		33.6 ± 3.7
791T/36	鼠	IgG_{2b}	1	结肠瘤(+)	^{111}In	4	11.0 ± 1.4	33.6 ± 5.5
YBB-190	人	IgM	2-11	乳腺癌(+)	^{111}In	3		非常迅速
YBM-209	人	IgM	1	乳腺癌(+)	^{111}In	1		32.5
					^{111}In	3		$32.4, 65.8, 77.9$
YBY-088	人	IgM	22	乳腺癌(+)	^{111}In	3		$18.4, 20.7, 32.2$

NS: 没有说明; (+)肿瘤上有靶抗原, (-)肿瘤上没有靶抗原

* 病例差异, 表示研究的病人的最终数目, 均值 \pm 标准差, \times : 不同剂量 $T_{1/2}$ 没有明显的变化 § 整体半减期(除此说明外, 数字代表血清半减期)

构,抗体的这个区也在异源宿主引起免疫性。用酶消化完整的抗体,不需要的部分被分离除去,而与抗原结合的部分仍保留(图1)。用木瓜蛋白酶和胰蛋白酶水解抗体,分别获得Fab和F(ab')₂片段。在前一种情况下,Fc片段也可产生,而后一种情况只生成较小的多肽。

同源性抗体片段在血管内的清除在动物和人都已研究清楚。Fc部分的代谢类似完整的Ig,具有较短的T_{1/2}和较高的分解代谢率。IgG的Fc片段也像完整的分子一样,大量给入Fc片段以后,增加了体内IgG的分解代谢率;同样,在IgG分解代谢增加的病人中,Fc片段迅速降低。Spiegelberg和Fishkin报告了一个在人体中有趣的发现,他们

观察到人IgG的所有四种亚型的Fc片段代谢率都相同,而且比Ig中完整的IgG₃分解的速度迅速。这表示Fc区不具有调节血管内代谢的信息,尽管这也反映了C_H1'区或枢纽区存在对Fc区构象变化的需要。

Fab片段迅速地从循环中清除,积累到肾中并在尿中出现,这与Fc片段不同。不象完整的Ig或Fc片段,此片段不增加IgG分解代谢率。同样,F(ab')₂片段也从内源性和异源性动物中迅速清除,但比Fab片段清除得慢些。在肿瘤抗原存在的情况下,F(ab')₂可能积累在肾脏中,在尿中有蛋白结合活性,这意味着标记的抗体或它的分解代谢碎片由肾脏排泄。表4给出了一些人给入放射性标记的鼠抗体片段的药代动力学结果。

表4. 鼠抗体片段在人体中的T_{1/2}

抗 体	型/亚型片段	剂量(mg)	肿 瘤	标 记	病人数	初期T _{1/2} (h)*	最终T _{1/2} (h)*
8.2	IgG ₁ Fab	<2.0	黑色素瘤(+)	¹³¹ I	2		1.1±0.3
		5			6		1.9±0.6
		10			1		1.2
96.5	IgG _{2a} Fab	5	黑色素瘤(+)	¹³¹ I	3		1.7±0.2
		10			13		1.6±0.3
		20			2		1.9±0.3
791T/36	IgG _{2b} Fab	0.2	直肠癌(+)	¹³¹ I	3	4.8±1.2	18.7±3.
B6.2	IgG ₁ F(ab') ₂	0.1~0.3	乳腺癌(+)	¹³¹ I	4	1.8±1.0	31±5.7
19.9	IgG ₁ F(ab') ₂	1	各种(+)	¹¹¹ In	7	5.1±3.8	27±6.68
OC-125	IgG ₁ F(ab') ₂	1	各种(+)	¹¹¹ In	13		21±8.6
763.74T	IgG ₁ F(ab') ₂	NS	非黑色素瘤(-)	¹³¹ I	2		35.36 **
225.28S	IgG _{2a} F(ab') ₂	~0.1	非黑色素瘤(-)	¹³¹ I	3		36.36, 39 **
1083-17-1A	IgG _{2a} F(ab') ₂	0.15~0.38	直肠癌(+)	¹³¹ I	23	3.9	24.4

*均值±标准差, (+)肿瘤上有靶抗原, (-)肿瘤上没有靶抗原, **整体T_{1/2} (除此说明外, 数字代表血清半减期)

在肿瘤导向中, 免疫片段的分子量是决定毛细血管通透性的主要因素, 因此, 需改变抗体到达肿瘤抗原所在的组织间隙区的能力。另一方面, Fab和F(ab')₂的迅速排泄, 减少了通过毛细血管壁的抗体量, 降低肿瘤抗体绝对量, 并引起血液和组织内的水平降低, 这些竞争趋势限制了这些片段在免

疫显像和治疗中的潜在效益。

修饰抗体

为了改进药理特性, 努力开发免疫活性剂, 已用基因和生物化学的手段修饰Ig分子, 上面讨论的Fab和F(ab')₂片段代表了这种企图的早期工作。

(1) 体细胞突变

体细胞变异的单克隆抗体对放射免疫显像和治疗是有用的。已分离出高抗原结合的突变杂交瘤，它具有一个潜在有价值的抗体靶性质。此外，我们用稳定区部分消失的亚型转换和重链杂交研究了鼠单克隆抗体的性质。这些突变的抗体不仅作为显像剂和治疗

剂用，在阐明抗体代谢和控制的机制中也有不可估量的价值。

(2) 改变碳水化合物侧链

数批工作者研究改变碳水化合物侧链的Ig(表5)。碳水化合物侧链结构一般是末端的(从远端到近端)唾液酸、半乳糖、乙

表5、碳水化合物侧链改造对抗体存活的影响

抗 体	宿 主	处 理	最终除去的糖	T _{1/2}	分解代谢位点
人γ-球蛋白Fc	兔	神经氨酸酶	唾液酸	正常	
人Fc	兔	稀HCl	唾液酸	稍↓	
鼠(IgM, IgG ₁₋₃ , IgA)	鼠	神经氨酸酶	唾液酸	正常	
鼠IgG ₁	鼠	神经氨酸酶	唾液酸	↓ ↓	肝
		早期分离*	半乳糖	正常	肝
兔IgG	兔	神经氨酸酶	唾液酸	↓ ↓	肝
		β-半乳糖酶	半乳糖	正常	肝
鼠IgG _{2b}	鼠	N-乙酰葡萄糖酶	N-乙酰葡萄糖	↓	肾
		衣霉素*	碳水化合物链	正常	

*从粗膜部分分离。*加到细胞培养中。

酰胺基葡萄糖和甘露糖。Spiegelberg和Weigle用神经氨酸酶处理的人γ球蛋白和Fc片段在兔血管内的存活和T_{1/2}没有明显变化的研究结果，提出了它们在血管内的存活不需要完整的碳水化合物侧链。Yasmeen等人用稀盐酸处理人Fc片段，使80%的唾液酸和暴露的半乳糖被除去，处理的Ig从兔血清中清除只比完整Fc片段略快。近来Mattes证明，用神经氨酸酶处理同源鼠单克隆抗体的六种型及其亚型，未发现它们在血中的清除率有所加速，尽管血管内的胎球蛋白(与碳水化合物结合的无免疫性的蛋白质)在去掉唾液酸后迅速清除。Mattes没有排除鼠Ig具有抵制神经氨酸酶作用的可能性。Nose和Wegzell发现同源性碳水化合物缺乏的鼠IgG_{2b}抗体在衣霉素存在下合成能防止N端糖基化作用，在注射后30和90分钟后血循环贮留量类似于鼠的天然抗体。

与这些研究相反，一些研究者报告了碳

水化合物侧链对抗体T_{1/2}有重要作用。Melchers发现，从同源鼠IgG₁碳水化合物中除去末端的唾液酸残基，结果加速了T_{1/2}(约为10到20分钟)。暴露的倒数第二位半乳糖残基的存在，加速了肝的摄取。另外几个糖蛋白也如此。末端为唾液酸或不完全的侧链中缺乏半乳糖与唾液酸的抗体清除接近正常的T_{1/2}(四天)。Winkelhake和Nicolson用酶学方法从兔IgG碳水化合物侧链中除去糖类物质，有类似的现象发生。除此而外，除去侧链倒数第三位N-乙酰葡萄糖胺残基，由于在肾脏积累的增加，血清中存活值居中。糖甙抗体在肾脏的定位和唾液酸抗体在肝脏的定位都被适当的未标记成分所抑制。

在异源性宿主的研究中，用神经氨酸酶处理的抗体没有观察到分解代谢加速。这使Arend和Webster认为，唾液酸葡萄糖蛋白与肝受体作用需要严格的同源性。以后用同源种属的研究结果并不支持这一假说。需要

进一步澄清实验结果之间的明显矛盾。暴露的末端半乳糖残基可能和抗体与肝半乳糖受体的结合有关。但如果半乳糖是隐藏在蛋白质的结构里或不被酶消化,上述结果就不能发生了。

(3) 化学连接和处理

复杂的血清蛋白质连接聚乙二醇(PEG)以后,增加了血清的 $T_{1/2}$,明显降低免疫活性。Suzuki等人测定了由于亲水性聚合物引入Ig后引起的物理化学和免疫性质改变。施(stoke's)半径和IgG表面活性明显增加,分子在加热或暴露内部而更稳定。重要的是未观察到IgG有任何重大的结构变化。随着PEG含量的增加,修饰IgG的抗原结合活性逐渐地降低,虽然比某些功能变化少些。Tomasi等人制备出PEG修饰的兔抗人血清白蛋白给小鼠腹腔注射,虽然鼠抗兔抗体对PEG修饰的抗体反应仅为对没有修饰分子的一小部分,但抗体亲和力明显降低。

Winkelhake研究了同源性鼠抗体,这抗体不是用氢化硼酸钠催化还原甲基化作用,就是用碳二亚胺增加甘氨酸与另外一些简单的脂肪族化合物的酰胺连接。不同化学量添加剂和化学反应物,没有改变其在血管内的存活或抗原结合能力。用过量的试剂修饰则可造成 $T_{1/2}$ 和配体结合的减少及肾、肝/脾对各自产物摄取的增加。

Mattes把不同数量的乳糖和半乳糖接到抗体上。连接大量苯氨乳糖使得鼠同源IgG迅速清除和抗体活性降低并发生结聚。连接氰甲基半乳糖的迅速清除取决于连接量,抗体活性不受影响。 ^{125}I 标记的半乳糖连接到单克隆的IgG₁上,注射5分钟以后,80%的放射性保留在肝中,而对照组肝中只有15%(很可能表示血库的活性)。血中的清除被去唾液酸的胎球蛋白抑制,说明IgG清除与肝葡萄糖受体有关。IgG₁和IgG_{2a}单克隆抗体的免疫活性不受影响,甚至在最大

连接量也如此。

内部二硫键对分解代谢的作用可通过 γ -球蛋白还原和烷基化来检查。Spiegelberg和Weigle发现,兔中这些分子的分解代谢稍有增加,Cohen和Mannik却观察到血清清除率不变化。

用基因和化学处理方法改变抗体生物学分布的尝试可能象征着为创建有效第二代抗体试剂迈出了第一步。但是大量资料仍有待于寻找。例如,同源变异的Ig可以代替抗原决定簇具有免疫性。化学变化,如:PEG的反复给药也可以引出一个免疫反应。

Ig分解代谢率的调节因子

企图控制单克隆抗体的药代动力学行为取决于对控制它们 $T_{1/2}$ 和生物学分布因素的理解。遗憾的是,有关的全部资料还是未知的,现有的资料也未必没有矛盾,或不易解释。

血管内 $T_{1/2}$ 的结构决定簇

Ig类型或亚型的特殊分解代谢率是由抗体分子的C区决定的。Fc片段的IgG样代谢曾用来证明C_{H2}和C_{H3}区与此相关(图1)。Spiegelberg和Fishkin发现,所有四种人IgG亚型的Fc片段有完全相同的代谢率,提出Fc区的外部结构是决定加速人IgG₃的分解代谢的区域。Yasmeen等人研究了从人IgG₁骨髓瘤蛋白得到的片段在兔中的清除:C_{H2}片段从兔的循环中被清除的 $T_{1/2}$ 类似完整的IgG和Fc片段(约70小时),而C_{H3}和Fab片段被清除的 $T_{1/2}$ 大约为15小时,从而得出一个C_{H2}区调节IgG清除率的结论。Arend和Webster在正常的和肾切除的大鼠中用两个变化的Fc片段比较C_{H3}区的清除,C_{H3}片段被迅速地清除。Fc(I)(相当于C_{H2}和C_{H3}区)在两组大鼠中缓慢清除。Fc(II)片段类似于Fc(I),但C_{H3}缺乏羧基末端,在肾切除的宿主中分解代谢缓慢,但能通过肾过滤。Arend和Webster提出分解代谢率受C_{H2}区域结构控制而滤过是

与分子的大小有关的结论。

我们的研究表明,在小鼠中同源的IgG_{2b}三个C区的任何一个缺失都会缩短T_{1/2}。另外,杂交的重链是IgG_{2b}的Fc区部分和IgG_{2a}部分C区区域,CH3区的组成是评定亚型特殊分解代谢率的因素。

我们的发现与以上讨论的那些研究者之间的不同,或许是由于动物种属和亚型的特殊差异引起的。另一个可能是假设的CH3区决定完整的Ig分子亚型特异分解代谢率。然而,抗体片段呈现出特殊的T_{1/2}不取决于亚型特异的决定簇。

虽然我们没有观察到Spiegelberg等人描述亚型之间分解代谢的彼此不同,认为是易变区调节T_{1/2},但这个差异的机制乃至它本身是否存在尚不清楚,并且在近来的研究中没有观察到。因为许多骨髓瘤蛋白能与自身的组份反应如DNA或磷脂,它们被迅速清除可能是由于抗原和抗体互相反应的结果。

在一系列探讨碳水化合物侧链和抗体T_{1/2}之间关系的研究中,没能确定二者有明显的联系(表5)。假定碳水化合物调节消除现象是在IgA以外的免疫球蛋白发生的。这些过程理论上涉及Ig的体内平衡。然而,除去末端糖的生理学机制还未被证明。

碳水化合物侧链更肯定的一个作用在于抗体抗原复合物的代谢。Nose和Wigzell用衣霉素处理杂交瘤细胞制备了N键碳水化合物侧链缺失的单克隆半抗原的鼠IgG_{2b}。没处理的抗体形成抗原抗体复合物迅速被清除,而与碳水化合物缺失的抗体形成的复合物血管的清除率推迟。Thornburg等人指出了血管内的迅速清除和IgG抗原复合物的肝摄取,被同时注入或预先注射半乳糖末端的葡萄糖蛋白完全抑制,确认了半乳糖受体系统在免疫清除中的作用。

血清Ig水平

人体Ig的不同类型呈现出血清浓度与分解代谢率之间的不同关系。IgA和IgM血清

浓度和分解代谢率是各自不相干的,类似于血清纤维蛋白和铜兰蛋白。IgD和IgE分解代谢率与血清浓度成反比,这可能是分解代谢途径中有一步易被饱和,象血清血红素结合蛋白和转铁蛋白一样。

有一独特的情况是IgG的分解代谢率与血浓度成正比,称为浓度-分解代谢现象。血清中IgG的水平越高(如炎症或骨髓瘤),分解代谢率也越快。反之,IgG水平低时(遗传型或获得型)分解代谢率减慢。IgG₁,IgG₂和IgG₃特异亚型的增加,结果这些亚型的分解代谢率都加快。

人的这些关系在小鼠中也得到了证实,血清中IgG水平高,分解代谢增加,而IgA和IgM的水平增加则不起作用。IgG水平低时,分解代谢延长。在产生IgE或IgG₁的杂交瘤存在下,IgE清除率不变。过量的IgA不影响IgA的代谢。外源性的人γ-球蛋白使小鼠IgG(但不是IgA)分解代谢加快;人和鼠的IgG片段Fc(但不是Fab)也一样。豚鼠和兔γ-球蛋白得到同样的结果。而牛IgG仅部分有效。亚型特异性研究表明:鼠骨髓瘤模型中IgG₁、IgG_{2a}和IgG_{2b}水平的增加,提高了血清IgG_{2a}和IgG_{2b}分解代谢率。

与人和鼠中的这些发现相反,提高内源性或外源性豚鼠和人的IgG水平,不增加豚鼠宿主中内源性或外源性IgG的部分分解代谢率。

浓度分解代谢现象的存在不仅意味着它是分解代谢率的决定因素之一,还意味着有识别IgG和调节分解代谢的某种受体。1964年,Brambell提出了一个说明浓度代谢现象的模型:血浆蛋白质分子的恒定部分(包括IgG)从循环的蛋白库进入分解库,有一定数量的受体保护性地结合到IgG分子上,防止了IgG的降解。当血清IgG浓度升高时,受体达到饱和,导致了分解代谢的加快。Waldmann和Strober对Brambell的模型

及其修正模型提出评论。尽管Brambell模型对实验数据解释是令人感兴趣的,但迄今还没有直接证据来肯定或否定它。

代谢和全身因素

由于Ig的 $T_{1/2}$ 变化取决于研究动物的大小,曾经假设代谢率是抗体存活的主要因素。兔甲状腺机能低下时, γ -球蛋白的 $T_{1/2}$ 减少。大鼠中甲状腺功能的变化也与 γ -球蛋白的分解代谢率有关。当然,宿主的年龄也影响抗体的 $T_{1/2}$ 。

抗体分解代谢部位

这个题目早期是用Ig的分解代谢研究的,近期是用非天然状态样品和数学模拟研究的。早期的研究表明了放射性碘标记Ig的血清水平和尿中排出碘量之间的平行关系,指出了血清和分解代谢库之间的平行关系。可是准确的分解代谢部位仍然是不清楚的。Ig进入胃肠道的损失在这些蛋白质的正常代谢中被认为是次要的。肾脏对完整Ig分解代谢不多于15% (尽管在肾病人有所增加)。本-琼(Bence Jones)蛋白和正常L链都进行明显分解代谢。Fc片段不被肾代谢,Fab片段仅部分代谢。肝对Ig分解代谢起着重要作用。 125 I标记鼠片段及完整的抗体用于人的试验中。都经常看到放射性在肝和脾中的累积。

Covell等人用放射性碘化的鼠IgG₁及其F(ab')₂、Fab'片段,研究了它们在小鼠组织分布的药代动力学,以这些数据提出一个规范的生物学分布的数学模型,结果与以前的结论稍有抵触(甚至用相同的数据为基础)。完整抗体的清除分两段进行,最终计算 $T_{1/2}$ 为99小时。代谢最快的是肠(72.8%),其次是肝(20.5%)和脾(3.6%)。反之,Fab'从体中清除速度要快35倍,其分解代谢主要是肾(73.4%),其次是肠(22.9%)和脾(3.1%)。F(ab')₂居中,主要分解代谢仍是肾(50.3%)。需要进一步的实验和数学模拟解决这些相互抵触的结论。

用于显像和治疗的标记抗体

对放射性标记抗体有几个特性值得讨论。

抗体剂量

给药剂量对抗体的 $T_{1/2}$ 和生物学分布的影响不尽相同,其由许多因素决定,包括特异抗体-抗原系统,宿主的种属或许也和放射性标记核素有关。

从许多肿瘤系统的资料看,鼠抗体在人体中的生物学分布很大程度取决于抗体的剂量。这一现象是用碘和铟标记和未标记对许多抗原特异的抗体证明的(表3)。值得注意的是,除了非特异性内脏摄取相对降低,肿瘤摄取增加以外,有一个趋于延长血清 $T_{1/2}$ 的倾向。这已利用病人的数据进行数学模拟。剂量对肝活性的影响,随不同的肿瘤而不同,可能是血库总活性与肝总活性变化所致。一般说来,用提高抗体剂量检测病灶的可能性也被注意了。上述研究结果的假定机制是随着给药剂量的增加,抗体在肝和其它非特异性结合部位饱和度的增加,导致了血清清除率的降低和抗体对靶抗原最大的利用。96.5抗体的临床试验,在这些剂量范围内的生物学分布明显降低了,这与非特异性部位的饱和是一致的。然而,这一发现没有被ZME-018抗体所证实。

剂量依赖现象不是普遍的,当碘化抗肿瘤结合葡萄糖糖蛋白(TAG)抗体引入结肠癌病人体内,剂量从0.28增加到19.2mg时不影响血浆清除率、生物学分布和肿瘤检测率。作者认为,这可能是缺乏抗体与正常组织的交叉反应,差别可能是由于碘化抗体独特代谢方式的结果。

奇怪的是剂量 $T_{1/2}$ 没有被鼠同源Ig证实,除了循环的抗原存在。在裸鼠黑色素瘤模型中,Wahl等人用碘化的特异和非特异抗体研究没有发现其生物学分布与给药剂量有什么关系,Halperin等人用BALB/c或裸鼠研究了铟标记的抗黑色素瘤抗体也没有得

出剂量与效应的关系。

为了阻滞非特异性Fc相互作用。企图改变抗体分布的另一技术是采用预先或同时注射未标记非特异性抗体,某些研究者试用亚型相匹配的非特异性抗体以求得到最大效应。Wahl等人用两种¹³¹I标记抗高分子量黑色素瘤抗原的抗体,在鼠肿瘤模型中,没有观察到同型未标记非特异的单克隆抗体的高剂量对生物学分布的影响。Carrasquillo等对皮肤T-细胞淋巴瘤患者在注射1mg特异的¹¹¹In-T101以前注射20mg未标记的非特异亚型匹配的抗体,由于非特异性抗体的给入,生物学分布和药代动力学没有变化。在不同的体系中,Carraquillo等人给两个病人1mg铟标记的9.2.27抗黑色素瘤抗体之前,给予7.5克人Ig,并没有检出生物学分布和血浆清除率的任何变化。

放射性示踪剂代谢

放射免疫显像和治疗的第二个问题是与抗体结合的放射性示踪剂或从Ig解离下来标记物的去向。这是重要的,因为提高靶与本底的放射性比值对肿瘤显像和治疗都极为关键。例如,在铟和碘标记的抗体给药后,放射性强度的分布不同,在血中的水平与两种抗体的存活是一致的。铟留在肿瘤和软组织,而碘却迅速代谢,并在尿中排出。因而,一般是铟在肿瘤与血的比值更优。这也反映出,片段给入后铟在全身有较多的保留和⁷⁵Se内标记的部分一样。碘标记的抗体,受到脱卤素作用,可能是上述现象的原因。

给入两种标记的抗体后的初期,放射性示踪物的生物学分布是一致的,但是几个小时后,碘和铟的分布就不同了。由于标记抗体分布的不同,结果降低了碘标记抗体对肿瘤检测的灵敏度。肝内病灶例外,因为肝对铟标记抗体非特异性集聚对结果的不利影响比碘标记的抗体损伤要大得多。这一作用在循环的抗原水平高的情况下更突出。

前不久,^{99m}Tc标记抗体的报告已出现,

其有限的药代动力学资料已发表,值得注意的是,非特异性的肾摄取可能在F(ab')₂显像中存在。

靶抗原的存在

许多早期Ig和近期单克隆抗体的生物学分布研究是在没有靶抗原存在下研究抗体的结果,近来的研究工作指出:抗原的存在可能有效地缩短了特异抗体在血清中的T_{1/2}。有交叉反应的抗原也可能有同样的现象。抗黑色素瘤抗体ZME-018的血清清除率男性比女性以及失去生育能力的男性快。近来对3种铟标记的抗乳腺癌病人IgM单克隆抗体的研究表明(表3),10例乳腺癌病人中有8例血清T_{1/2}是1或2天。这与先前用同源性多克隆人IgM(T_{1/2}大约5天)(表1)的结果不同,可能是由于交叉反应或肿瘤抗原的存在。

不同的抗体给药途径

为了增加标记的特异性抗体和抗体片段在潜在的肿瘤部位的量,企图使用直接将药投入到肿瘤区域(例如淋巴的或体腔的),对这些区域直接给药的药代动力学与静脉注射抗体有很大区别。

淋巴的

单克隆抗体的区域性给药的药代动力学反映常规淋巴闪烁显像(用惰性胶体)和免疫试剂特性的结合。

在动物模型中,Wahl等人指出,鼠类IgG_{2a}及其F(ab')₂皮下注射给药后,从注射区的清除率相似:当Fab片段比IgG_{2a}和F(ab')₂片段清除率快,而IgM居中。机械因素,如注射和移动位点,对清除率都有影响。

在不同动物和人中靶抗原存在下的研究表明,给入抗体的剂量也是清除率的重要因素。小剂量有效地结合到淋巴结,随着给药剂量的增加,近端结合点饱和,抗体在更远端淋巴结和循环系统中出现,在没有靶抗原的情况下,没有证明非特异结合饱和出现。

在非特异性抗体几种类型的比较研究中, ^{125}I -IgM 保留在淋巴结中,比 IgG₁ 和 IgG_{2a} 要多,表明了后者作为淋巴结的特异导向试剂将更有用。

腔内的

将鼠单克隆抗体 IgG₁ 成功地在胸膜、心包膜和腹膜的间隙给药是希望增加肿瘤区域的摄取和减少体内器官的摄取,在这些区域给入的抗体的生物 T_{1/2} 分别为 130, 100 和 30 小时。Epenetos 等人描述了晚期卵巢癌未经免疫过的病人中,腹腔注射 ^{125}I -标记的特异性抗体后,整体消除率 T_{1/2} 为 38 到 60 小时,同时,他们测定了特异的和不相关的抗体:在腹腔注射后,特异抗体在血管内的量减少了 50%。表明腹腔注射时,肿瘤优先储留靶抗体。

由于抗体从腹膜有效转移进入正常血库,腹腔经常用做体内分布研究的方便给药途径,标记抗体在全身迅速出现,所以腹腔注射限制了腔内定位治疗的特异性。Mattes

设想减少全身吸收抗体的影响,用半乳糖连接到抗体上,作区域注射,抗体进入体循环系统后迅速被分解代谢,因而降低了它的作用。根据我们所知,此法尚未用于临床。Wahl 等报道,先给大鼠静脉注射未标记的山羊多克隆抗鼠抗体,随后腹腔注入 ^{125}I 标记的鼠特异抗体,碘化抗体与血中的抗鼠抗体形成血管内免疫复合物,并迅速在肝内脱卤。

杂交瘤技术提供了许多有价值的血清学试剂,但仍没有在临床的诊断和治疗中发挥显著作用。需要进一步的改进,以便高亲和力的人单克隆抗体可以常规生产,也需要知道如何改造和利用现有的抗体(使其有益)。目前已能将人抗体接到细胞毒素或显像剂上,这将需要进一步探索人 Ig 药代动力学的性质,以便更有效地将其用于肿瘤和局部性疾病的显像和治疗中。

[Semin Nucl Med 1989, 19(3) 166~186 (英文)
李怀芬、牛惠生节译 王世真校]

(上接封四)

法测定 $^{99\text{m}}\text{TcO}_2$ (Rf: 0)、 $^{99\text{m}}\text{TcO}_4^-$ (Rf: 0.9~1.0) 以及 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 异腈络合物 (MEK: Rf: MMI 0.45, EMI: 0.8, 盐水: 0)。还用带放射性核素测定的 Waters 公司的 HPLC 系统检测了放射化学纯度。

心肌显像: 用亚胺酮 (10mg/kg) 麻醉 5 只雌獬獬, 并以 70ml/min 的速度输注含 0.5% 硫醇戊酮的盐水。给以 EMI 的剂量 185~259MBq, 在 61 分钟用低能通用准直器和线性数据处理系统的 SPECT 闪烁照相机获得前胸片, 感兴趣区延迟显像包括心、肝和肺, 得到每个兴趣区的象素清除曲线。计算心/肝和心/肺计数比。一周后用 MMI 重复同样的显像

过程。

结果: EMI 最初浓集于肺中, 20 分钟后胆囊显示高浓度, 40 分钟后肺中明显减少, 心肌摄取明显增加, 60 分钟后得到进一步改善。测定心、肝和肺清除 EMI 和 MMI 的时间-活度曲线表明: 心肌中放射性缓慢下降导致心/肺随时间延长而增高, EMI 和 MMI 的心/肝比分别为 1.52 和 1.11, 而心/肺比分别为 2.45 和 3.15, 表明 EMI 从肝中清除更好, 而 MMI 的肺清除更快。

总之, 獬獬实验中 EMI 比 MMI (MIBI) 更优。

[胡可摘 夏振民校]