

放射性标记脂质体在诊断显像中应用的技术和生物学问题

Caride VJ

提 要: 脂质体是由一个或多个脂质双层膜组成的人造生物降解微囊, 它是转运选择性药物和控制药物释放的适当载体。在诊断显像中, 它被用来携带放射性示踪剂、不透射线剂、顺磁化合物或作为声反射剂。本文介绍了脂质体的放射性标记及其在正常和异常组织中的生物学分布。

一、脂质体的放射性标记

脂质体可根据双层膜的大小和数量分为: 多层囊泡 (MLV), 小单层囊泡 (SUV) 和大单层囊泡 (LUV)。可在脂质体的水相或脂相标记脂质体, 也可进行二元或多元标记, 这在许多实验中已有成功的应用。在水合作用和囊泡自发形成过程中, 可将放射性示踪剂标记在水相区间。虽然这是个有效的方法, 但标记上的示踪剂却很有限, 这是由于多层囊泡的截获率 (截获示踪剂) 仅为 3~30%。假如用超声使脂质体减小到小单层囊泡的水平, 示踪剂将受到损失, 最后标记率不及 5%。

效率更高的标记方法是將放射性标记的疏水分子 (即 ^{111}In -8-羟基喹啉) 加到脂质混合物中, 然后再用含有螯合剂 (即次氨基乙酸, NTA) 的溶液进行水合。当脂质体形成时, 放射性元素被转送到水相, 并与螯合剂连接, 因为二者的亲和力很高。

这个方法的进一步改良是在脂质混合物中加入一种离子载体 (A23187)。制备脂质体时, 脂质被含有 NTA 的水溶液所水合, 接着与离子载体携带的 ^{111}In -氯化物一起保温, 它可穿过脂质双层进入水层而与 NTA 结合。

脂相的标记是在制备期间加入放射性疏水分子来进行。这类标记的标记率很高, 但它不适合临床应用, 因为临床上需要一种快速可靠的标记已成形囊泡的方法。Richar-

dson 等 (1977) 报道了用 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 和氯化亚锡标记已成形脂质囊泡的方法。他们报告用该法的标记率高达 90%。可是, 以后的研究又表明标记率不高, 且于体内、外实验中标记损失可观。用这个技术标记 SUV 的标记率一直较低, 也许是分子在 SUV 中包裹得太紧了。

Hnatowich 等 (1981) 在脂质双层内嵌入了一个与 DTPA 连接的长链烃。在脂质体形成后, 制剂与 ^{67}Ga 或 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 一起保温, 它们能与囊泡表面的 DTPA 以极高效率连接。

最好使用非常稳定的脂质囊泡, 这样在注射液中的游离示踪剂最少。通过在脂质混合物中加入胆固醇或以抗磷脂酶的脂质分子取代磷脂, 可使囊泡具有最小渗透性。

为脂质体制剂选择适当的放射性标记物时, 首先应以一定的研究目的、脂质体的物理和生化特性、以及为囊泡所截获或与囊泡结合的分子特性等来考虑。如果需要一元以上的标记, 就应该确定标记物的功能、在脂质体中的定位和它的性质。放射性同位素的物理性质、发射类型、发射能量和化学特性的选择要根据被标记的分子类型、现有的探测仪器、诊断和辐射的安全等问题来考虑。

在选择一个示踪剂以前, 应该很好地了解游离放射性示踪剂的生物学分布及其代谢。当要测定脂质体在组织中的最终定位时, 示踪剂应该始终与摄取脂质体部位的细胞结合。而且, 示踪剂从脂质体脱离后不应

有明显的再分布。在水相的第二示踪剂从脂质体作用的部位脱离,能提供脂质体成分分解离的证据,反映脂质体排除和破坏的程度。

由于脂质体能到达细胞浆,所以使用不能穿过细胞膜的水溶性分子(即菊粉、DT-PA、EDTA)往往很重要。脂质体矢量效应引起的这些分子的移位导致了它们生物学分布的改变,也可能是新陈代谢的改变,并从而对胞内成份产生特异作用。Rhaman等(1973)通过在实验动物上用EDTA转移细胞内的钆成功地证明了这一点。

二、脂质体的生物学分布

脂质体在到达靶组织或靶细胞以前面临着一系列障碍。在血管内,脂质囊泡可与各类蛋白质、调理因子、血细胞以及其它血浆成份相互作用。已知脂质体与高密度脂蛋白(HDL)相互作用后,由于脂质双层失去磷脂分子而导致膜的去稳定作用以及水溶性物质泄漏。Senior等(1983)利用正常及脂蛋白缺乏小鼠证明了脂质囊泡从血液的清除率直接与它的稳定性有关。

早期的观察显示,无论在体内和体外,脂质双层内加入胆固醇均可减少水溶性标记物的泄漏。最近,使用抗磷脂酶的脂类和不与HDL作用的脂类分子已获得了更高的稳定性,循环半衰期大于11h。脂质体大小的不同也影响其清除时间。小单层囊泡在循环中比大脂质体保持更长久。目前认为,高度稳定的脂质囊泡可作为研究其到达异常组织的方法之一。

为了到达靶位,囊泡必须离开血管区间并与适当的细胞作用。这一过程的完成,有赖于药物被封于微囊而阻止了运输中不必要的相互作用。

一旦靠近靶位,以下的一个或多个机制可能有助于药物的释放:①载体因一局部或外部信号而将药物释放在细胞外;②药物-载体复合物通过膜融合或胞咽作用进入细胞;③复合物留在细胞外、血管外间隙,并

通过特异或非特异结合与细胞膜连接;④药物从囊泡中渗出并扩散进入细胞内;⑤当脂质囊泡横穿靶器官时,药物可在血管区间内转运。

囊泡从血管内区间进入另外两个“区间”:一个代表渗出性组织,另一代表限制性组织,二者主要是根据脂质体进入血管外间隙的主要障碍(毛细血管壁)的解剖来区分的。

限制性组织具有连续的毛细血管,内皮细胞被紧密地连接而密封或由小孔穿过毛细血管。另外,这类毛细血管具有完整的基底膜。在这两种情况下,脂质囊泡完全或几乎完全不能进到血管外区间。与此相反,渗出性组织的毛细血管为有较大孔的窦状毛细血管,缺乏或有不完整的基底膜,它允许较大的分子结构在毛细血管腔外运动,并与吞噬细胞直接作用。

在渗出性组织中,脂质体从循环中排除占优势,70%以上的脂质体由肝、脾和骨髓摄取。摄取率由脂质体的成份、大小和注射总量来决定,但即使使用保证最低网状内皮清除的制剂,这些器官仍是主要的摄取部位。

其余的大部分组织属于限制性组织,它们只能保留注射剂量的一小部分。许多人在研究如何进入这些组织的方法,包括:选择给药途径、封闭RES、改变脂质体的成份,以及使脂质体连接上与特异细胞决定簇有亲和力的单克隆抗体和其它表面配体等。

RES在脂质体生物学分布中的显著地位已在实验动物上被反复地证明。我们早期的有关水相标记(^{99m}Tc -DTPA)和脂相标记(^{111}In -8-羟基喹啉)的MLV在小鼠生物学分布的研究表明,静脉注射脂质体后,两种示踪剂都立即被RES组织移去。但随着时间推迟, ^{99m}Tc -DTPA分子回到血流并从尿中排出,而 ^{111}In 则仍停留在一开始就有 ^{111}In 沉积的细胞内,可能与细胞内的铁蛋白结合。两种放射性示踪剂在整体内残留放射

性百分数的变化显示, RES始终保持一个恒定的和最大的部分。随着时间的推移, 限制性器官显示摄取的变化最小, 总是保持脂质体的边缘性沉积区。

总剂量和脂质体大小的变化可导致分布的改变。在服用放射性标记的脂质体以前, 注射大量的脂质体可引起肝外RES部位的大量摄取。但是, 对限制性组织的脂质体沉积却没有什么影响。

三、脂质体在异常组织中的吸收

疾病的病理生理学能改变限制条件, 促进载体在非RES组织中的积累。这一因素在以脂质体与实验动物的健康限制性组织的关系为重要研究目的的研究中被大大地忽略了。如果这个假设是成立的, 将使脂质囊泡在非正常组织中的选择性积累成为可能。这种吸收, 是不同过程引起结构改变的结果, 它不对某种疾病特异, 但对一种患病的组织特异。示踪剂在缺血、炎症和肿瘤组织中沉积的发现, 是一个普通的但却令人鼓舞的结果。

在24h实验性狗心肌梗塞中, 当示踪剂被截获于带阳电荷的多层囊泡[MLV(+)]时, 可看到缺血性组织中 ^{99m}Tc -DTPA的逐步累积, 但当截获于MLV(-)时则无这一现象。使用以 ^3H -胆固醇油酸脂标记脂相并含有 ^{99m}Tc -DTPA的MLV时, 出现 ^{99m}Tc -DTPA的逐步累积。当MLV(+)被用来作为水溶性标记物的载体时, 也可观察到这种累积。当MLV带负电荷时, 则无这类摄取。

MLV(-)的脂质标记的摄取同样依赖局部血流。因此, 在心脏缺血或梗死部位没有发现其摄取增加。用MLV(+)时, 在缺血区域放射性胆固醇油酸酯的沉积有少量增加。然而这种摄取明显比 ^{99m}Tc -DTPA的摄取要低。这提示两种示踪剂有解离, 可能是脂质

体在血流或在心肌局部分解的结果。由于缺血导致的酶和溶血脂质的局部释放以及坏死的其它产物, 都可能是脂质体失去稳定的主要原因。在肠缺血中也有类似的发现。

使用能长时间存在于循环中的SUV, 可见肿瘤摄取的脂质体增加。然而, 这种摄取可能不是特异的, 而是肿瘤组织不正常的循环、缺乏内皮结构或异常的新生血管等使肿瘤成为渗出性组织的结果。因此, 这是一个非特异现象, 由肿瘤血流的大小所决定。能较长时间循环的脂质体暴露在这些部位而有较多的渗出机会。

Ogihara-Umeda和Kojima(1988)已证明了较长循环时间和肿瘤摄取之间的直接关系。他们使用鞘磷脂SUV, 每克肿瘤可摄取总剂量的17.14%。相反, 若用不够稳定且循环时间短的卵磷脂SUV, 肿瘤摄取仅为4.25%/g。

最近, 在24个病例中已成功地把小囊泡(77nm)应用于探测人原发和转移性肿瘤, 灵敏度为85%。令人感兴趣的是, ^{111}In 标记脂质体在乳房、肾、胰腺和卵巢肿瘤中出现沉积, 而这些肿瘤用普通的肿瘤扫描剂是不能看到的。为了证实这些结果和确立脂质体在肿瘤定期追踪检查中的最后用法, 需要进行双盲法研究。这些作者估算的全身照射剂量为0.4~0.6cGy/mCi, 骨髓照射剂量为0.32~0.76cGy/mCi。

将显像剂包入脂质囊泡能成功地增加器官和病变的反差对比。脂质体是否能作为同时携带数种诊断试剂的一种多功能试剂, 尚未研究清楚。

[Nucl Med Biol 1990; 17(1): 35~39 (英文)]

朱锡霞节译 林 汉校