

## 免疫显像探测血栓形成及栓塞症的现状

Philip D et al

当临床上有栓塞症的可疑征象时,诊断这种疾病所用方法的效果如何,要考虑两个因素:①血管内血栓形成证实了吗?是急性还是慢性?②栓塞的位置、范围确立了吗?与病人的临床症状相关吗?因此,理想的试验应能提供功能和形态学资料,其次是无创伤、易操作、无危险、病人无多大不适、诊断标准简单、灵敏度与特异性高、适于人体各部位检查,不受现行的抗凝血治疗的影响。

放射免疫显像是一种功能、形态兼顾的方法,自1960年以来,已有许多试剂用于实践,但尚无一种试剂能完全满足理想诊断试验的要求。单克隆抗体(McAb)则是一种有魅力的放射性血栓亲和物,它可以在血栓形成和消退的全过程结合到血栓中去。由于它对血栓的抗原具有高亲和性,因而增加了组织对示踪剂的摄取量,有可能作为探测血栓和栓塞症的诊断试剂(见表1)。

表1. 血栓和栓塞症免疫显像的McAb

抗血小板	抗纤维蛋白
糖蛋白Ⅱb/Ⅲa*	纤维蛋白Ⅰ末端氨基酸
7E3	64C5
50H.19	59D8
P256	T2G1s
B59.2	Y22
抗激活血小板因子	
α颗粒膜蛋白	
S12	
TSP	
TSP1.1	

### 抗血小板McAb

此类McAb有数种,有的能结合血小板,有的尚能阻止体内血小板的凝集并能加速冠状动脉血栓溶解。所有的抗糖蛋白(GP)Ⅱb

/ⅢaMcAb用<sup>131</sup>I、<sup>125</sup>I、<sup>111</sup>In标记;而Fab、F(ab')<sub>2</sub>用<sup>111</sup>In或<sup>99m</sup>Tc标记。

两篇报告描述了<sup>111</sup>In标记P256全抗体和其片段在20例病人中的应用结果。总的印象是体内标记优于体外标记,显像要在注射后24小时进行,此时血池放射性低。1例深静脉栓塞为假阴性。

### 抗激活血小板因子McAb

抗-GMP (granule membrane protein) 140McAb; α颗粒膜蛋白在调节血管损伤方面起很大作用,能在血管损伤处渗入血栓。<sup>99m</sup>Tc-F(ab')<sub>2</sub>曾用于动脉粥样硬化动物模型的研究,标记抗体浓集在动脉损伤处,且摄取抗体的数量与损伤的严重性呈正相关。

### 抗-TSP (Thrombospondin) McAb

TSP为激活血小板分泌于α颗粒中的分子量为400 000道尔顿的蛋白,它是维护血小板积聚的细胞外粘合的重要成份。<sup>131</sup>I-TSPMcAb注射后最佳的显像时间为2~6小时,靶和非靶的比例为1.5:1~3.4:1。

### 抗纤维蛋白McAb

有数种不同的McAb,它们与纤维蛋白原、纤维蛋白降解产物、白细胞或血管内皮细胞无交叉反应。IgG全抗体、Fab、F(ab')<sub>2</sub>片段都是用<sup>131</sup>I和<sup>111</sup>In标记,而F(ab')<sub>2</sub>用<sup>99m</sup>Tc标记。

1988年有三篇报告报道了<sup>111</sup>In-McAb和Fab的临床应用情况,共有68例,他们都接受过对比静脉造影。免疫显像的精确度优于对比造影。55例深静脉栓塞的病人有52例得到正确的验证,其灵敏度为86~100%。腿部静脉栓塞显像的成功率与解剖位置无关。在无肝素治疗的病人中,抗纤维蛋白显像与

\*原文为Ⅱb/Ⅲa,可能有误——编者

静脉造影符合率为100%。免疫显像也有好的特异性,12例静脉造影正常的患者,抗纤维蛋白抗体显像亦正常,1例造影可疑者,显像为阳性。未发现抗纤维蛋白抗体在对侧健康肢体的摄取。因导管而致的静脉炎和两例心包炎显像为阳性。

用<sup>99m</sup>Tc-T<sub>2</sub>G<sub>1</sub>s片段对22例经对比静脉造影证实的深静脉栓塞病人进行研究;在注射后30~60分钟、2~6小时采集下肢骨盆图像,22例中有19例在显像前接受过肝素治疗,显像部位基本与静脉造影相一致。就部位而言,小腿19/19、膝部12/14、大腿7/9、骨盆1/1。上述资料提示,<sup>99m</sup>Tc-抗纤维蛋白F(ab')显像是一灵敏度高、速度快的探测深静脉栓塞的技术。

动物实验表明,抗血小板McAb显示肺栓塞等病时,不论应用肝素与否,其血栓与血的比例均较高。抗纤维蛋白抗体则受肝素的影响,用者比例低,不用者比例高。两者的廓清率随肝素化而加快。

McAb为开发利用放射性药物示踪提供了手段,且有良好的靶特异性。抗原决定簇可以小到5个特殊序列和构型的氨基酸链。止血、凝血和纤维蛋白溶解是个极其复杂的过程,血细胞和血清蛋白不同成份的相互作用及激活,使大量潜在性的抗原决定簇在血栓形成的过程中增加和发挥了作用。利用在体外能浓集于血栓上的抗体进行体内血栓检查不一定总能成功,因为抗体与非特异性受体的相互作用,将导致非靶组织的摄取。例如,某些McAb的Fc区段对网状内皮细胞的作用,使肝、脾、骨髓摄取增加,为此消耗了可与血栓结合的抗体,并使某些部位血栓显像受到限制。这个问题可以通过给予足够量的抗体饱和非特异性结合来解决。Fab、F(ab')、F(ab')<sub>2</sub>片段可用于减少非特异性结合的数量,因为大部分反应都与抗体的Fc有关。抗体片段血池廓清快,最重要的是抗体与靶结合的时间要短,本底要低。研究表

明,抗血小板和抗纤维蛋白McAb片段能提供类似的血栓/血的比例和较早显示血管内栓塞,且有免疫原性小和过敏反应少等优点。

在血栓形成和分解的整个阶段,选择产生血栓亲和的McAb的抗原决定簇可能是不实用的,但能在体内用多种抗体研究血栓的演变,根据血栓演变的阶段显示某些抗体探测血栓的精确度高,某些则低。

在血栓和栓塞症的急性期,血小板沉积最多,故在探测慢性实验性和自发性血栓时,用血小板直接抗体探测的敏感性降低。在血栓成熟和分解的过程中能持续少量地摄取血小板,因此用高亲和力抗血小板抗体和血池扣除技术对慢性血栓有可能保持适当的敏感性。肝素化能抑制血小板显像尚有争议,有人认为肝素治疗能造成抗血小板抗体显像的假阴性;有人则认为即使应用肝素仍有适度的检出率,而且血栓/血的比例,不论应用肝素与否,抗血小板抗体都高于抗纤维蛋白抗体。由于应用<sup>99m</sup>Tc F(ab')片段不必像<sup>99m</sup>Tc标记抗纤维蛋白McAb和F(ab')<sub>2</sub>片段那样要作24~48小时延迟显像。又认为在标记的过程中其亲和性和免疫反应不受影响,故<sup>99m</sup>TcF(ab')的绝对摄取量可与F(ab')<sub>2</sub>及全抗体相当。

抗血小板或抗纤维蛋白McAb对血管内血栓均无绝对特异性,如静脉内插管所致的内膜损伤和血管外血肿,抗血小板抗体显像均可能是阳性;血管或其周围炎症、心或心包炎,抗纤维蛋白抗体显像亦可能是阳性。随着对不同类型血管病变免疫显像的认识,将不断地改善诊断的准确性。Denardo证实静脉血栓和其它血栓性疾病不同型。Seabld等发现这些类型适于用<sup>111</sup>In标记血小板显像。而且,辨认和最终弄清这些出乎意料的征象对发展其它核医学亦起重要作用。

血栓/血的比例是用来比较能与血栓亲和的McAb的实验结果并籍以选择有临床应

用前途的抗体的一个客观定量标准。经验告诉我们,只有当血块/血的比例大于4:1~5:1时,血栓性动脉斑才能成功地显示出来。然而必须记住,造成实验性血栓的特殊模型及分析血栓和血液放射性所选择的时相,对血块/血比例有显著的影响。迄今,仅少数实验在同样条件下用相仿的标记方法比较了不同的抗体。此外,没有一个实验性栓塞模型能确切地模拟出人深静脉栓塞或栓塞症。不同抗体的最终比较是探测自发性血栓和栓子的能力,只有经过严格控制的临床试用,才能确定出对人血栓具有特异性的免疫显像方法的可用性。

应用McAb探测血栓,尚处在发展的早

期阶段,这一技术对诊断和治疗血栓性疾病会有什么样的结局尚不清楚,但它所显示的可能性促进了今后的研究。可以想像,单一的McAb或数个不同的McAb的混合物,将提供一种快速、精确诊断血管内血栓的方法,不管其解剖位置、发展阶段、抗凝治疗等,McAb摄取的数量和分布将提供定量的资料,这对决定治疗方案、选择用药、评价治疗效果及预防等是有帮助的。理想的试剂应是能用 $^{99m}\text{Tc}$ 标记的药盒,静脉注射后1~2小时容许显像,不受抗凝治疗的影响、多次应用安全等。

[Semin Nucl Med 1989, 19(8):221~231(英文)张继和节译 蒋茂松校]

#### (上接第172页)

mol WR-1065磷酸缓冲盐母液至最终浓度为4 mmol,安瓶热封口后在37°C孵育60min。1 mL细胞悬液在室温中用 $^{60}\text{Co}$   $\gamma$ 线照射(剂量率为0.5Gy/min)。实验条件如下:a.用或不用WR-1065在空气中照射细胞;b.用或不用WR-1065在低氧下照射细胞;c.在空气中照射细胞后,立即或3h造成低氧和加或不加WR-1065。细胞分别处理后,用培养基稀释,Coulter细胞计数器计数。孵育7天后,以每个培养皿80~200个集落之间标明相应的细胞数来确定细胞的存活。在观察期内,每个实验点至少接种 $10^4$ 活细胞到培养瓶中以测定突变诱发。为了测定突变率,细胞在游离核苷 $\alpha$ -MEM-10培养基中(含5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的6-硫鸟嘌呤)培养7天,然后用0.5%美兰染色。

结果:体外培养用4 mmol浓度的WR-1065对V79细胞的存活无不良影响。用或不用WR-1065在低氧下照射的细胞( $D_0$ 值分别为 $7.94 \pm 0.44\text{Gy}$ 和

$5.61 \pm 0.07\text{Gy}$ )比用或不用WR-1065在空气中照射的细胞( $5.57 \pm 0.33\text{Gy}$ 和 $2.91 \pm 0.14\text{Gy}$ )有更大的辐射抗性,有辐射防护药时低氧细胞的辐射抗性是无辐射防护药时的1.4倍多。空气和WR-1065、急性低氧以及急性低氧和WR-1065等三种实验条件的细胞对辐射诱发突变作用显示相同的防护。相反,照后立即使细胞低氧未见防护作用,然而,当WR-1065存在时使细胞低氧,仍能明显减少突变率。照后3h使细胞低氧(不用WR-1065)时,对HPRT突变诱发很少或没有防护作用。WR-1065和急性低氧的受照细胞比单独低氧的受照细胞的突变率小1.5~2.2倍。

作者认为WR-1065的抗突变作用不仅能清除辐射诱发的氧自由基,而且还能调节代谢诱发自由基的清除和/或辐射诱发DNA损伤的化学修复的作用。

[何庆加摘 孙世镇 宋永良校]