

一种用^{99m}Tc标记红细胞或白细胞的试剂盒

Proulx A et al

提 要:建立了一种预先锡化的^{99m}Tc体外标记红细胞的方法,所用试剂盒含龙胆酸稳定的氯化亚锡。此法较BNL法省时间,给病人重新注射的容量小,而临床结果相同。用同样的方法标记白细胞与用HMPAO标记的临床效果相同,故该试剂盒具有多种用途且成本低廉。

Brookhaven国立实验室(BNL)用^{99m}Tc在体外标记红细胞的方法已被广泛应用。最近,我们报道了改良的BNL法(Gerson等,1988年),其标记率提高,且不受病人状况及用药情况的影响。现在,我们再报道一种使用龙胆酸试剂盒的方法。

方 法

制备龙胆酸药盒

用通过氮气的蒸馏水制成含1 mg/ml龙胆酸,0.1 mg/ml酒石酸钠及0.04 mg/ml氯化亚锡的溶液。用0.1 mol/L的NaOH将溶液的pH调节至6.0,将溶液通过0.22 μm的微孔滤膜,抽滤入10 ml的无菌小瓶内,每瓶装0.5 ml,然后在瓶中充满氮气,冷冻贮存直至使用。

红细胞的标记

用肝素作抗凝剂,采全血2 ml,注入10 ml无菌试管中。把龙胆酸试剂盒中的全部内容物加入到上述试管中,孵育1分钟,然后加入0.5 ml 4.4% EDTA及5 ml生理盐水,1000g离心2分钟,把压紧的RBC 0.5 ml移入含有1000 MBq ^{99m}Tc的过锡酸盐小瓶中,孵育5分钟,取0.1 ml样本加入到2 ml盐水中,离心2分钟,测定上清液(游离部分)和红细胞沉淀(结合部分)的计数率,以计算标记率。室温放置24小时后,分析标记物在体外的稳定性。

用改良的BNL方法(Gerson等人,1988年)标记红细胞作为对照。

根据红细胞容量测定且血容量被判断为

正常的患者中所得的数据,计算两种方法标记的^{99m}Tc-RBC的体内回收率和稳定性。在重新注射40 MBq ^{99m}Tc-RBC后分别于10、20、30和60分钟时采样,用井型γ计数器测量1 ml样品,同时测量注入剂量经一定倍数稀释后的放射性,所有数据均经放射性衰变校正,每一个病人的血容量(V_{估计}, ml)均另按其身高、体重及性别从标准表上个别算出(Wennesland等人,1959年),然后按Atkins等人所述(1985年),对每一血样(在时间t, h)计算全血中注入放射性的回收率[R(t)]如下:

$$R(t) = C(t) V_{\text{估计}} / D \quad (1)$$

其中D是剂量(转换为每分钟脉冲数)。用最小二乘法将各数据点拟合为单指数方程,由此计算血池中^{99m}Tc-RBC的损失率,公式如下:

$$R(t) = R(0) \exp(-kt) \quad (2)$$

其中k(表示为h⁻¹)是由血池损失放射性的速率常数。

结 果

龙胆酸法的标记率较改良的BNL法稍低(见表1),体外标记物的稳定性也稍低,但这种差异没有临床意义,两法显像质量一样好。

两种方法标记的红细胞应用于病人时,血池内注入放射性的回收率实际上都是定量回收,二者之间没有差异(表2略)。在头1小时内血池放射性的减少是缓慢的,两种方法之间也没有显著性差异(t测验)。

表1 改良BNL法和龙胆酸法在试管内标记红细胞的比较

	改良BNL法	龙胆酸法
标记率(%)	99.3±0.4(50)	97.3±1.4(80)
稳定性(%)	97.9±0.7(8)	93.3±1.8(8)
需要时间(分钟)	30	10~15
最终体积(ml)	4	1

*每一个测定值均为 $\bar{x} \pm SD$, 括号内为测定数

讨 论

关于在体外用 ^{99m}Tc 标记RBC, 现行的BNL试剂盒法是15年来不断改进技术的结果(Srivastava和Chervu, 1984年; Gerson等, 1988年), 可是需操作30分钟, 还需几个5~15分钟的等待时间, 这就影响了工作效率, 而且0.1%次氯酸钠的使用要求用前即刻稀释, 并使最后注射的药量达4ml。

Mock和Wellmen于1984年创立了一种化学计量学方法, 该法使用的稳定的氯化亚锡溶液必须于临用前稀释。考虑到龙胆酸药盒可能是提供适量稳定亚锡离子的方便来源, 从而发展了一种兼有BNL法和Mock法的优点而将它们各自的缺点减少到最低度的技术。此法的基本原理是, 全血中的红细胞用0.02mg亚锡盐预先锡化, 此量足以避免24小时内未经洗脱的发生器所提供的过锡酸盐带来的问题。加入EDTA以螯合游离的细胞外亚锡离子, 加入盐水以降低红细胞压积, 这样离心时间就较短, 并可减少吸附在红细胞表面上的血浆, 接着把过锡酸盐加入到分离出的预先锡化的红细胞中, 孵育5分钟, 就足以在大部分病人中使标记率达到95%以上。

虽然这种新的龙胆酸法需要一次离心, 但是如Mock和Wellmen建议的那样, 先用盐水稀释血液, 所以只进行短短2分钟的离心。此外, 我们在以前已证明, 离心使病人的红细胞压积和药物的影响减少到最低度

(Gerson等, 1988年)。加入亚锡离子及过锡酸盐后的孵育时间分别为1和5分钟, 这样整个过程可于10~15分钟内完成, 比BNL法所需的30分钟快得多。此外, 重新注射的最后容量是1ml, 而不是BNL法的4ml, 这种更小的弹丸对于首次通过的研究很有价值。

从表1可看到, 龙胆酸法平均标记率为97.3%, 比改良的BNL法99.3%略低, 但与新的BNL Mallinckrodt试剂盒97.4%的结合率(Atkins等, 1989年)相同, 比最近报告的类似方法的结合率95.5%(Kelbaek等, 1989年)高, 然而这种差异在临床上并无意义, 我们使用两种方法(龙胆酸法和BNL法)都成功地进行静脉照相、胃肠出血研究、肝血池SPECT以及红细胞容量测定。 ^{99m}Tc -RBC在机体内的回收率和稳定性, 两种方法没有明显差异, 而且, 用同样的方法对Atkins等人于1985年报告的资料进行计算, 结果相近。

龙胆酸法的唯一缺点是需要离心一次。进行下述的修改, 离心可以省去, 其整个过程在一个容器内进行: 全血加入药盒必须孵育5分钟而不是1分钟, 随后相继加入0.5ml新鲜稀释的0.1%次氯酸钠、0.5ml 4.4% EDTA及1000MBq过锡酸盐, 孵育15~30分钟后, 5次测定结果表明标记率为96.3% ($\bar{x} \pm SD$)。这批血样本同时进行标准法(离心)测定, 所得结合率为96.7±0.8%, 两者无显著性差异(配对t检验)。

以前曾证明, 龙胆酸试剂盒是 ^{99m}Tc 标记白细胞的方便而廉价的方法, 结果与 ^{99m}Tc -HMPAO法相同(Ecclestone等, 1990年), 现在又证明同样的龙胆酸试剂盒也可用于体外标记红细胞, 且临床效果与现行方法相同, 因此, 它是多用途而廉价的药盒。

[Nucl Med Biol 1990, 17(5): 515~517 (英文)] 程丙武节译 邓敬兰校 夏宗勤审