

肿瘤放射免疫疗法研究进展

于晓明 樊飞跃

【摘要】 放射免疫治疗是将针对肿瘤特异抗原的单克隆抗体用核素标记后,对肿瘤细胞进行的靶向治疗。在非霍奇金淋巴瘤的临床治疗中,放射免疫治疗已经成为一种常规的治疗手段。在实体瘤中,因为核素标记的单克隆抗体的定位很有限,所以限制了该疗法的使用。虽然如此,放射性核素标记的抗体在治疗微小病灶中的应用前景看好。

【关键词】 放射免疫疗法;单克隆抗体;淋巴瘤;非霍奇金;结肠肿瘤

【中图分类号】 R817.5 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1673-4114(2006)02-0080-04

Recent developments in radioimmunotherapy of tumor

YU Xiao-ming, FAN Fei-yue

(Tianjin Key Laboratory of Molecular Nuclear Medicine, Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Science and Peking Union Medical College, Tianjin 300192, China)

【Abstract】 Radioimmunotherapy (RIT) is the therapy which targeted to tumor cells using radiolabeled monoclonal antibodies directed against tumor-associated antigens. It has been one of the standard treatment options for patients with non-Hodgkin's lymphoma (NHL). The inefficient localization of radiolabeled mAbs to the solid tumors has refrained RIT from being applied to those diseases. Still, small volume or minimal residual disease has been recognized as a potentially suitable target for radiolabeled antibodies. RIT appears promising for future cancer therapy.

【Key words】 Radioimmunotherapy; Monoantibody; Lymphoglycinemia, non-Hodgkin; Colonic neoplasms

疾病靶向治疗的概念可以追溯到 100 多年前德国学者 Ehrlich 的绝妙构想——“魔弹”(magic bullet)理论。在疾病的靶向治疗中,用作“弹头”的主要有:化疗药物、毒素和放射性核素。在这当中,放射性核素因其不需要进入细胞,并且对于不表达相应抗原或具有抗药性的肿瘤细胞也可具有杀伤作用而备受人们关注。

1 放射免疫治疗(radioimmunotherapy, RIT)的基本原理

RIT 是以单克隆抗体为载体,以放射性核素为弹头,通过抗体特异性结合表达肿瘤细胞相关抗原,将产生高能射线的放射性核素靶向到肿瘤细胞,实现对肿瘤的近距离内照射治疗。

RIT 要求携带放射性核素的单克隆抗体特异地结合到病灶部位,同时尽量减少对正常组织的损伤。与传统的放射治疗不同的是,传统放疗利用的是短

时间内大剂量的照射,其对正常细胞的杀伤作用也很强;而 RIT 是在较长的时间内持续照射,而且照射峰值也比传统的方法低得多,没有上述的缺点。暴露于 RIT 持续低剂量照射的细胞,其周期被阻滞在 G_2 期, G_2/M 期被认为是细胞周期中对辐射最敏感的时期,目前认为肿瘤细胞在该时期的积聚将有利于持续低剂量辐射的细胞毒性作用。而且,持续的照射可能会通过抑制 DNA 损伤修复而增强杀伤作用^[1]。

2 RIT 的影响因素

对 RIT 疗效影响最大的因素大致有三个:抗体、核素和螯合剂。

2.1 抗体

抗体可看作是将放射性核素运送到肿瘤部位的载体,抗体的选择将直接影响到放射性核素在体内的分布。抗体选择时主要应考虑以下几方面:抗体的大小(分子质量)、结构、免疫原性等。

目前使用的单克隆抗体绝大多数为 IgG 超家族,分子质量较大,约为 150×10^3 ,限制了其从血液中向

作者单位:300192 天津,中国医学科学院 中国协和医科大学放射医学研究所天津市分子核医学重点实验室
通讯作者:樊飞跃(E-mail: faithyan@yahoo.com)

肿瘤组织的扩散。而且, IgG 在血液中循环半衰期为 3~4d, 从血液中清除较慢, 导致肿瘤/非肿瘤(T/NT)摄取比值不高^[2]。不仅如此, RIT 中最初所使用的单克隆抗体都是鼠源性的, 在临床试验中, 人抗鼠抗体(human-anti-mouse-antibodies, HAMAs)的出现总是不可避免, 随后药物被过快从体内清除, 并且导致从第二次以后的给药无法有效到达肿瘤部位。

为此, 人们分别制备了 IgG 的 Fab (分子质量为 40×10^3) 和 $F(ab')_2$ (分子质量为 100×10^3) 等片段。这些小分子明显增强了穿透性, 提高了 T/NT 比值, 但是却带来了肾毒性增加的危险^[3]。后来, 随着基因工程的进步, 出现了嵌合抗体、人源抗体, 却带来了亲和力偏低以及在机体内半衰期过长等问题。

2.2 核素

RIT 中核素的选择取决于其射线种类、在组织中的射程、半衰期以及机体排泄情况。 γ 粒子穿透力强, 多用于体外显像; β 粒子穿透力次之, 组织中射程达数十个细胞直径, 目前应用广泛; α 粒子穿透力弱, 组织中射程只有数个细胞, 仅适用于非实体瘤; 俄歇电子穿透力最弱, 仅有数个核苷酸的距离, 只有进入细胞核才能有效发挥细胞杀伤作用。但 α 粒子和俄歇电子的旁效应(bystander effect)很小。目前 RIT 中应用最为普遍的是 β 射线, 但 α 射线和俄歇电子也有应用。 ^{131}I 和 ^{90}Y 是应用最广泛的 β 源, ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{67}Cu 以及 ^{177}Lu 是最近数年考虑应用的 β 源。我们可以通过剂量估算决定选用哪种核素^[4, 5]。

另一个影响肿瘤受照剂量的重要因素是放射性核素标记的单克隆抗体进入肿瘤后的命运如何。大多数抗体(包括与肿瘤表面抗原结合的抗体)在内化后, 都在溶酶体中被降解。但实验证明, 与螯合剂-赖氨酸耦联的核素被溶酶体俘获, 而与螯合剂-酪氨酸耦联的核素被排出细胞^[5]。 ^{131}I 通常在单克隆抗体代谢后释放到组织里, 但如果抗原-抗体复合物被内化到细胞内, 就会出现“脱卤作用”, 导致其从抗体上脱落。 ^{90}Y 在抗体代谢后, 仍保留在组织中, 而且其辐射剂量有所增强(因为 residualizing radionuclide)。虽然如此, 也可能增加了正常组织的损伤。另外, ^{90}Y 可在骨骼中积聚, 造成骨骼损伤。

2.3 螯合剂

如 ^{131}I 一样的非金属核素可以通过共价键结合到单克隆抗体上, 通常是通过一个酪氨酸残基; 而金属核素则需要通过螯合剂耦联, 螯合剂通常连接在赖氨酸残基上。螯合剂与放射性核素的结合应当十

分紧密, 即使抗体被降解, 核素和螯合剂也应可以牢固地结合在一起, 直至排出体外。

虽然单克隆抗体是特异性的, 但耦联 4 个以下的螯合剂似乎并不会改变其免疫活性。最近发展的针对 ^{111}In 和 ^{90}Y 的环状螯合剂在体内稳定性比较高。研究发现, 二亚乙基三胺五乙酸(diethylenetriamine pentaacetic acid, MX-DTPA)和 1, 4, 7, 10-四杂环十二烷基四乙酸(tetraazacyclododecane-N, N', N'', N'''-tetraacetic, DOTA)两种螯合剂在与 ^{90}Y 耦联后用于动物实验时, DOTA 组的半致死剂量(LD_{50})高于 MX-DTPA 组, 而致死的原因都是由于骨髓毒性; 整体放射自显影显示, 当使用稳定性较差的 MX-DTPA 时, 骨髓中 ^{90}Y 摄取量较大^[6]。同样, Griffiths 等^[7]检验了耦联于抗 CD22 单克隆抗体(epratuzumab)的螯合剂, 每一种都标记了 ^{90}Y , 比较它们在正常和携带淋巴瘤的小鼠体内的降解情况: 在最初的数日, DTPA 螯合剂丢失了 3%~4% 的 ^{90}Y , 当用 DOTA 作为螯合剂时, 骨骼对 ^{90}Y 的摄取明显减少。

3 RIT 在肿瘤治疗方面的研究进展

3.1 非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma, NHL)

对 NHL 的单克隆抗体治疗始于 20 世纪 80 年代。到了 1997 年, 一种嵌合抗体——抗 CD20 单克隆抗体(Mabthera, 美罗华)商品化, 是第一个在肿瘤治疗中应用的单克隆抗体。在 2002 年和 2003 年, 两种核素标记的鼠源性抗 CD20 单克隆抗体(^{90}Y -ibritumomab tiuxetan, Zevalin 和 ^{131}I -tositumomab, Bexxar)通过了 FDA 的认证。但目前 RIT 在淋巴瘤的治疗方面大多数仍然是试验性质, 因为还没有制定出一个规范化的治疗方案。根据不同的单克隆抗体及放射性核素的应用, 对于 NHL 的 RIT 分成几个方面讨论。

3.1.1 ^{90}Y -ibritumomab

^{90}Y -ibritumomab 是第一个被 FDA 批准应用于临床的放射免疫制剂, 主要用于复发的淋巴瘤患者或对单独应用 Mabthera 疗效不佳的患者。在一个多中心实验中, 50 例 NHL 患者预先被给予未标记核素的 Mabthera, 随后给予 ^{90}Y -ibritumomab, 试验证明其总体有效率为 68%^[8]。在随后的 III 期临床试验中, 针对复发或顽固性低度恶性的滤泡型 CD20 阳性 NHL, Mabthera 联合 ^{90}Y -ibritumomab 的有效率达到了 80%, 而单纯 Mabthera 组的有效率仅为 53%, 完全缓解率在 RIT 组和 Mabthera 组分别为 30% 和 16%^[9]。 ^{90}Y -ibritumomab 目前已经在美国和欧盟批准使用。在美

国,使用该药物前首先要用 ^{111}In -britumomab 进行显像,对于抗体在体内代谢有问题的患者禁止使用;而在欧盟, ^{111}In -ibritumomab 显像并不被认为是必须的^[10]。

3.1.2 ^{131}I -tositumomab

在 2003 年 6 月, FDA 又批准将 ^{131}I -tositumomab 应用于化疗后复发的或对 Mabthera 耐受的 CD20 阳性的滤泡型 NHL 的治疗。在正式应用以前,人们进行了一系列试验。首先是旨在验证其与未标记核素的 tositumomab 的疗效和安全性的临床试验,结果显示两者的有效率分别为 55% 和 17%,而且 RIT 的完全缓解率为 33%,部分缓解率为 21%;而未标记的 tositumomab 的完全缓解率和部分缓解率均为 8%。多中心 II 期试验得到的数据为,47 例患者中, ^{131}I -tositumomab 的有效率为 57%,完全缓解率为 15%^[11]。该疗法的主要副作用为血液系统毒性,但可以耐受。

3.1.3 ^{90}Y -epratuzumab

^{90}Y -epratuzumab 是目前在 NHL 的 RIT 中惟一应用人源性单克隆抗体的制剂,避免了鼠源性抗 CD22 单克隆抗体的免疫原性。在临床试验中,先后试验了 ^{131}I 、 ^{90}Y 和 ^{186}Re 等核素,但一项研究表明, ^{90}Y -epratuzumab 比 ^{131}I -或 ^{186}Re -epratuzumab 等能更好地在体内降解,并且 ^{90}Y 在肿瘤部位有效剂量更高^[12]。综合考虑安全性和有效性后,在临床试验中 ^{90}Y 得到了广泛应用。

3.2 实体瘤

与 NHL 相比,用核素标记抗体治疗实体瘤方面成功的经验很少。一部分原因是实体瘤对于射线的敏感性普遍较低。除此以外,由于种种肿瘤相关因素的存在,导致核素标记抗体在实体瘤中的靶向性很差:①典型的抗体是一个大分子蛋白,本来就不易进入组织,当肿瘤的血管较少时,抗体进入肿瘤组织就很困难;②由于肿瘤组织的异源性抗原表达,导致大量异源性抗体的进入;③肿瘤组织中较高的组织间隙压力和较长的扩散距离。

核素标记抗体在实体瘤中的摄取效率很差,在大多数试验中,肿瘤组织吸收的辐射剂量不超过 1500 cGy。但是,肿瘤组织对放射免疫药物的吸收与其直径成反比,因此对于微小的残存肿瘤仍然可以应用 RIT。事实上,在动物实验中发现,RIT 对于微小的肿瘤比同等状况下的化疗更有效。

由于目前对于实体瘤的 RIT 绝大多数仍处于 I/II 期试验,患者的状况和 I/II 期试验的特点决定了目前对于疗效的评价十分困难。

临床上在评价一种肿瘤是否适用 RIT 时,主要考虑其抗原性和特异抗体对其有效性。目前临床上考虑应用 RIT 的恶性肿瘤主要是上皮组织的肿瘤,如结肠癌、卵巢癌和甲状腺癌等。最常标记的抗原是癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA),主要用于结肠癌和乳腺癌;肿瘤相关抗原-72 (tumor associated glycoprotein-72, TAG-72)主要用于结肠癌、卵巢癌和乳腺癌;黏蛋白-1(Mucin-1, MUC-1)主要用于卵巢癌和乳腺癌;G250 用于肾癌。而目前使用的核素仍然主要是 ^{131}I 或 ^{90}Y ,其他如 ^{186}Re 、 ^{188}Re 或 ^{177}Lu 也在试验中。

3.2.1 结肠癌

在结肠癌治疗中人们试验应用的抗原:CEA、TGA-72、A33、结肠特异性抗原 P(colon specific antigen P, CSA-P)以及表皮细胞黏附分子(Ep-CAM)等。

由于 95% 的结肠癌表达 CEA,而正常组织中没有发现 CEA 的表达,所以该抗原是目前在结肠癌 RIT 中被考虑最多的抗原。人们首先试验了 ^{131}I 标记的鼠源性抗 CEA 单克隆抗体的 F(ab')_2 片段(^{131}I -NP4,也称为 IMM-4),但大多数患者在第二次用药时出现了 HAMAs。随后,人们研制了与 CEA 亲和力更强的人源性 IgG1 单克隆抗体 hMN14。Behr 等^[13]首次将 ^{131}I -hMN14 应用于完全切除术后六周的结肠癌肝转移的患者。结果,27 个月后接受 RIT 治疗的 9 例患者中只有 2 例发现有肿瘤复发。虽然试验样本很少,也没有对照统计,但在实体瘤的治疗方面,RIT 不失为一项极佳的辅助手段。另外,在试验中发现,5-氟尿嘧啶与放免药物的同时应用可以降低 HAMAs 的发生^[14]。

TAG-72 在 80% 的结肠癌中有表达,但在正常组织中表达较低。在结肠癌的 RIT 中试验的抗体主要有 B72.3、CC-49 等,但因使用的均为鼠源性抗体,在试验中患者几乎全都出现了 HAMAs。

值得一提的是,Meredith 等^[15]为了克服肿瘤抗原异质性的问题,同时采用了 ^{131}I 标记的 2 种分别针对 CEA 和 TAG-72 的单克隆抗体:鼠源性抗 CEA 单抗 COL-1 和 CC-49。在 RIT 前先采用干扰素 α 提高 2 种抗原的表达,实验中发现,双抗体 RIT 结合干扰素治疗与传统的单-抗体 RIT 相比,药物的肿瘤靶向性有所提高,而且肿瘤部位的受照剂量也有所增加(4~13 Gy),但仍不足以引起明显的效应。

3.2.2 卵巢癌

卵巢癌 RIT 中使用的抗体主要针对 MUC-1 和其他几种肿瘤相关糖蛋白(TAG-72 和 gp-38 等)。由于除了极晚期的卵巢癌,肿瘤均局限于腹腔,所以核

素标记的抗体通常利用腹腔注射给药。实际上在几个临床前试验及临床研究中发现,与静脉注射相比,腹腔注射导致肿瘤摄取更多的标记抗体^[16],但也有人对此结论存在疑问^[17]。

除此以外,在乳腺癌等肿瘤中,放射免疫疗法也进行了很多试验,但均没有能够常规应用到临床^[18]。

4 结论与展望

运用核素标记的抗体对肿瘤进行靶向治疗的观念已经提出 50 多年了,但 30 年前单克隆抗体的出现及一批肿瘤相关抗原的成功鉴定才使该领域的研究取得了长足的发展,并让人们认清了该疗法的复杂性和困难之处。

今天,该疗法已经成功应用于 NHL 的临床治疗。但是,对于实体性肿瘤的治疗却遇到了不小的困难,主要是由于核素标记的单克隆抗体在肿瘤组织中的摄取太低,甚至达不到杀伤肿瘤所需要的剂量。目前对实体瘤的少量临床 I/II 期试验采用了不同抗体、不同核素以及不同的辐射剂量,还是可以预见到 RIT 对实体瘤的应用前景。大多数患者存在较重的代谢性疾病,这对 RIT 十分不利,可导致核素标记抗体的辐射剂量达不到杀伤肿瘤的效果。虽然大多数患者的疾病在应用 RIT 后仍在进展,但还是有少数患者出现了部分缓解或先前进行性的病情出现短暂的稳定。

虽然目前大量的试验致力于增加治疗窗,但是对于实体瘤患者的选择才是决定成功率的最重要的因素。基于目前的努力和资料,今后应当在 RIT 的标准疗法上付出更多努力,建立一个该疗法的治疗模式。实体瘤中的微小病灶被认为是实体瘤中最适于应用 RIT,所以 RIT 在实体瘤治疗中更可能是作为一种辅助疗法,应用于原发瘤切除后但有较高转移风险的恶性肿瘤。

参 考 文 献

- 1 Press OW. Physics for practitioners: the use of radiolabeled monoclonal antibodies in B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Semin Hematol*, 2000, 37 (4 Suppl 7): 2-8.
- 2 Rennett HJ, Makarewicz J, Oyen WJ, et al. The effect of molecular weight on nonspecific accumulation of (99m)Tc-labeled proteins in inflammatory foci. *Nucl Med Biol*, 2001, 28(4): 401-408.
- 3 Goldenberg DM. Targeted therapy of cancer with radiolabeled antibodies. *J Nucl Med*, 2002, 43(5): 693-713.
- 4 Cardillo TM, Ying Z, Gold DV. Therapeutic advantage of (90)yttrium-versus (131)iodine-labeled PAM4 antibody in experimental pancreatic cancer. *Clin Cancer Res*, 2001, 7(10): 3186-3192.
- 5 Koppe MJ, Bleichrodt RP, Soede AC, et al. Biodistribution and therapeutic efficacy of (125/131)I-, (186)Re-, (88/90)Y-, or (177)Lu-labeled monoclonal antibody MN-14 to carcinoembryonic antigen in mice with small peritoneal metastases of colorectal origin. *J Nucl Med*, 2004, 45(7): 1224-1232.
- 6 DeNardo GL, Kroger LA, DeNardo SJ, et al. Comparative toxicity studies of yttrium-90 MX-DTPA and 2-IT-BAD conjugated monoclonal antibody (BrE-3). *Cancer*, 1994, 73 (3 suppl): 1012-1022.
- 7 Griffiths GL, Govindan SV, Sharkey RM, et al. ⁹⁰Y-DOTA-hLL2: An agent for radioimmunotherapy of non-Hodgkin's lymphoma. *J Nucl Med*, 2003, 44 (1): 77-84.
- 8 Witzig TE, White CA, Wiseman GA, et al. Phase I/II trial of IDEC-Y2B8 radioimmunotherapy for treatment of relapsed or refractory CD20(+)B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol*, 1999, 17(12): 3793-3803.
- 9 Witzig TE, Gordon LI, Cabanillas F, et al. Randomized controlled trial of yttrium-90-labeled ibritumomab tiuxetan radioimmunotherapy versus rituximab immunotherapy for patients with relapsed or refractory low-grade, follicular, or transformed B cell non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol*, 2002, 20(10): 2453-2463.
- 10 Postema EJ. Dosimetry and radioimmunotherapy of non-Hodgkin's lymphoma. *J Nucl Med*, 2004, 45(12): 2126-2127.
- 11 Davis TA, Kaminski MS, Leonard JP, et al. The radioisotope contribute significantly to the activity of radioimmunotherapy. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(23): 7792-7798.
- 12 Postema EJ, Frielink C, Oyen WJ, et al. Biodistribution of ¹³¹I-, ¹⁸⁶Re-, ¹⁷⁷Lu-, and ⁹⁰Y-labeled hLL2(Epratuzumab) in nude mice with CD22-positive lymphoma. *Cancer Biother Radiopharm*, 2003, 18(4): 523-533.
- 13 Behr TM, Liersch T, Greiner-Beichert L, et al. Radioimmunotherapy of small-volume disease of metastatic colorectal cancer. *Cancer*, 2002, 94(4 suppl): 1373-1381.
- 14 Wong JY, Shibata S, Williams LE, et al. A Phase I trial of ⁹⁰Y-anti-carcinoembryonic antigen chimeric T84.66 radioimmunotherapy with 5-fluorouracil in patients with metastatic colorectal cancer. *Clin Cancer Res*, 2003, 9(16 Pt 1): 5842-5852.
- 15 Meredith RF, Khazaeli MB, Plott WE, et al. Phase II study of dual ¹³¹I-labeled monoclonal antibody therapy with interferon in patients with metastatic colorectal cancer. *Clin Cancer Res*, 1996, 2 (11): 1811-1818.
- 16 Koppe MJ, Soede AC, Pels W, et al. Experimental radioimmunotherapy of small peritoneal metastases of colorectal origin. *Int J Cancer*, 2003, 106(6): 965-972.
- 17 Zanten-Przybysz I, Molthoff CF, Roos JC, et al. Influence of the route of administration on targeting of ovarian cancer with the chimeric monoclonal antibody MOv18: i.v. vs. i.p. *Int J Cancer*, 2001, 92(1): 106-114.
- 18 DeNardo SJ. Radioimmunodetection and therapy of breast cancer. *Semin Nucl Med*, 2005, 35(2): 143-151.

(收稿日期: 2006-01-05)