

[ 文章编号 ] 1007-385X( 2005 )02-0108-04

## 放射性碘标抗膀胱癌免疫毒素生物分布与代谢研究

张春丽<sup>1</sup>, 俞莉章<sup>2</sup>, 赵 翀<sup>3</sup>, 谢蜀生<sup>3</sup>, 王荣福<sup>1</sup>( 1. 北京大学第一医院核医学科, 北京 100034; 2. 北京大学第一医院泌尿外科研究所; 3. 北京大学医学部免疫教研室, 北京 100034 )

[ 摘 要 ] 目的: 对偶联苦瓜毒素( MT )后<sup>131</sup>I-BDI-1 在荷瘤裸鼠体内分布与代谢性能变化进行研究, 探讨其应用于膀胱癌导向治疗的可能性。方法: MT 与 BDI-1 通过异型双功能交联剂 SPDP 进行偶联; BDI-1 与 BDI-1-MT 采用 ChT 法进行<sup>131</sup>I 标记; 两组荷人膀胱癌裸鼠分别经尾静脉注射<sup>131</sup>I-BDI-1-MT 与<sup>131</sup>I-BDI-1, 经 48 h, 72 h 及 120 h 后进行体内放射性分布测定与  $\gamma$  显像。计算肿瘤与各个脏器的摄取百分数( % ID/g )及与正常组织放射性之比( T/NT )。结果: 与<sup>131</sup>I-BDI-1 相比, <sup>131</sup>I-BDI-1-MT 在肿瘤中的摄取率未见明显降低, 但在多数正常组织中的摄取率显著低于<sup>131</sup>I-BDI-1, 其 T/NT 值明显高于<sup>131</sup>I-BDI-1; <sup>131</sup>I-BDI-1-MT  $\gamma$  影像中肿瘤与正常组织的对比度优于<sup>131</sup>I-BDI-1; <sup>131</sup>I-BDI-1-MT 与<sup>131</sup>I-BDI-1 在肿瘤中清除速率差异不大, 而<sup>131</sup>I-BDI-1-MT 在正常组织中( 尤其在血液中 )的清除速率高于<sup>131</sup>I-BDI-1。结论: <sup>131</sup>I-BDI-1-MT 有抗肿瘤活性, 可有效地靶向膀胱癌细胞。

[ 关键词 ] <sup>131</sup>I; 膀胱癌; 免疫毒素; 生物分布; 免疫治疗

[ 中图分类号 ] R817.5; R730.51 [ 文献标识码 ] A

## Characteristics in Biodistribution and Metabolism of <sup>131</sup>I Labeled Immunotoxin Against Human Bladder Carcinoma in Tumor-Bearing Nude Mice

ZHANG Chun-li<sup>1</sup>, YU Li-zhang<sup>2</sup>, ZHAO Chong<sup>3</sup>, XIE Shu-sheng<sup>3</sup>, WANG Rong-fu<sup>1</sup>( 1. Department of Nuclear Medicine, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China; 2. Institute of Surgical Urology, Peking University First Hospital, Beijing 100034; 3. Department of Immunology, Peking University Health Science Center, Beijing 100034, China )

[ Abstract ] **Objective:** To investigate the possibility of radiolabelled immunotoxin BDI-1-MT used as bladder cancer guiding therapeutic agent, the biodistribution and metabolism of <sup>131</sup>I-BDI-1-MT in nude mice bearing human bladder carcinoma xenografts were studied. **Methods:** Monoclonal antibody BDI-1 was coupled with momordin ( MT ) by bifunctional agent SPDP. BDI-1 and BDI-1-MT were labeled with <sup>131</sup>I using ChT method. Nude mice with human bladder carcinoma BIU-87 xenografts were divided into two groups-<sup>131</sup>I-BDI-1-MT group ( 10 mice ) and <sup>131</sup>I-BDI-1 group ( 10 mice ). In one mouse for each group, 6.29 MBq <sup>131</sup>I BDI-1-MT or <sup>131</sup>I BDI-1 was intravenously injected and  $\gamma$  imaging was performed 48 h, 72 h and 120 h postinjection. In other nine mice for each group, 0.74 MBq <sup>131</sup>I-BDI-1-MT or <sup>131</sup>I-BDI-1 was injected and biodistribution was measured at 48 h, 72 h and 120 h postinjection respectively ( 3 mice at a time point ). The percent uptake dose per gram of tissues ( % ID/g ) and tumor over non-tumor radioactivity ratio ( T/NT ) were calculated. **Results:** There was no significantly decrease in tumor uptake of <sup>131</sup>I-BDI-1-MT comparing with <sup>131</sup>I-BDI-1. The uptake of <sup>131</sup>I-BDI-1-MT in most of normal tissues was lower than that of <sup>131</sup>I-BDI-1, so T/NT values of <sup>131</sup>I-BDI-1-MT were higher than that of <sup>131</sup>I-BDI-1. The kidney uptake of <sup>131</sup>I-BDI-1-MT was higher than that of <sup>131</sup>I-BDI-1. Tumor image could be seen 48 h postinjection for both <sup>131</sup>I-BDI-1-MT and <sup>131</sup>I-BDI-1 and got more clear with time lasted. But the image contrast of <sup>131</sup>I-BDI-1-MT was better than that of <sup>131</sup>I-BDI-1. There was no obvious difference in clearance rate of <sup>131</sup>I-BDI-1-MT and <sup>131</sup>I-BDI-1 in tumor. The clearance rate of <sup>131</sup>I-BDI-1-MT in normal tissues was significantly higher than that of <sup>131</sup>I-BDI-1 especially in blood. **Conclusion:** It demonstrated that <sup>131</sup>I-BDI-1-MT can effectively target to bladder cancer cells.

[ Key words ] <sup>131</sup>I; bladder neoplasms; immunotoxin; biodistribution; immunotherapy

膀胱癌在我国泌尿系恶性肿瘤中发病率占首位, 探讨对膀胱癌的治疗方法具有重要意义。我们曾对膀

[ 作者简介 ] 张春丽( 1961- ), 女, 河北省盐山县人, 研究员, 主要从事放射性药物和恶性肿瘤的导向诊断与治疗研究  
E-mail: ups1000@sina.com

膀胱癌放射免疫治疗及免疫毒素治疗进行了研究,表明放射性核素<sup>131</sup>I以及苦瓜毒素(MT)与抗膀胱癌单克隆抗体BDI-1偶联得到<sup>131</sup>I-BDI-1及免疫毒素BDI-1-MT皆可特异性地杀伤肿瘤细胞<sup>[1,2]</sup>。将两者偶联于同一单克隆抗体载体形成“双弹头”免疫偶联物可望产生互补与协同杀伤作用,更有效地治疗肿瘤。但在单克隆抗体BDI-1中引入分子量较大的植物毒蛋白MT后将有可能影响其生物体内分布与代谢性能,本文对引入MT后单克隆抗体BDI-1在荷人膀胱癌BIU-87裸鼠体内生物分布与代谢性能变化进行研究,以探讨放射性核素标记的BDI-1-MT应用于膀胱癌“双弹头”导向治疗的可能性。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

BDI-1与MT由北京大学医学部免疫室制备;人膀胱癌细胞系BIU-87由北京大学第一医院泌尿外科研究所免疫室建立;Balb/c裸鼠由北京大学医学部实验动物科学部提供。

### 1.2 裸鼠移植瘤模型

4~6周龄的Balb/c裸鼠,于右大腿根部接种膀胱癌BIU-87细胞,20d后肿瘤直径为0.5~1cm,用于实验。

### 1.3 BDI-1-MT的制备

MT与BDI-1通过异型双功能交联剂SPDP进行偶联,见文献[2]。

### 1.4 <sup>131</sup>I标记

BDI-1与BDI-1-MT的标记均采用ChT法<sup>[3]</sup>。标记

产品经Sephadex G50柱层析分离纯化;标记率与放化纯度采用纸层析法鉴定,展开剂为正丁醇:乙醇:0.5 mol/L氢氧化铵=5:1:2(体积比);最终产品的放化纯度≥95%,放射性比活度为1.06 MBq/μg(28.7 μCi/μg)。

### 1.5 荷瘤裸鼠生物分布与显像

将荷瘤裸鼠随机分为2组:<sup>131</sup>I-BDI-1-MT组与<sup>131</sup>I-BDI-1组,每组各10只。其中每组中各1只分别经尾静脉注射<sup>131</sup>I-BDI-1-MT或<sup>131</sup>I-BDI-1各6.29 MBq(170 μCi),48 h,72 h及120 h后进行γ显像。每组中另9只经尾静脉注射<sup>131</sup>I-BDI-1-MT或<sup>131</sup>I-BDI-1各0.74 MBq(20 μCi),分别于48 h,72 h及120 h每组各取3只处死,测定其体内放射性分布。计算肿瘤与各个脏器的摄取百分数(% ID/g)及肿瘤与正常组织放射性之比(T/NT)。

## 2 结果

### 2.1 <sup>131</sup>I-BDI-1-MT在荷瘤裸鼠的体内生物分布与γ影像

<sup>131</sup>I-BDI-1-MT注射后48 h,72 h与120 h在肿瘤中的摄取率分别为3.20,3.35与2.89% ID/g;而<sup>131</sup>I-BDI-1注射后48 h,72 h与120 h在肿瘤中的摄取率分别为3.60,3.74与2.35% ID/g。可以看出:<sup>131</sup>I-BDI-1与<sup>131</sup>I-BDI-1-MT在肿瘤中的摄取均在静脉注射后72h达高峰,其最大肿瘤摄取率分别为3.74% ID/g与3.35% ID/g。与<sup>131</sup>I-BDI-1相比,<sup>131</sup>I-BDI-1-MT在肿瘤中的摄取率虽略有降低,但在多数正常组织中的摄取率显著低于<sup>131</sup>I-BDI-1,故其T/NT值明显高于<sup>131</sup>I-BDI-1(表1)。其在肾脏的摄取率高于<sup>131</sup>I-BDI-1。

表1 <sup>131</sup>I-BDI-1-MT与<sup>131</sup>I-BDI-1在注射后不同时间的T/NT  
Tab. 1 T/NT value of <sup>131</sup>I-BDI-1-MT and <sup>131</sup>I-BDI-1 at different time post injection

Tissues	48 h		72 h		120 h	
	<sup>131</sup> I-BDI-1-MT	<sup>131</sup> I-BDI-1	<sup>131</sup> I-BDI-1-MT	<sup>131</sup> I-BDI-1	<sup>131</sup> I-BDI-1-MT	<sup>131</sup> I-BDI-1
Blood	1.94	0.89	4.14	0.99	3.71	1.75
Heart	8.00	3.50	7.28	4.35	11.12	2.90
Lung	4.81	2.14	6.84	3.60	8.03	4.12
Liver	10.67	4.29	11.96	6.03	22.23	6.03
Stomach	3.17	8.18	4.65	5.05	4.74	5.88
Intestines	22.86	17.14	11.55	14.96	28.90	23.50
Kidney	3.40	5.81	4.53	5.50	4.52	6.91
Testicle	8.42	7.20	16.75	7.06	20.64	10.68
Muscle	20.00	8.37	19.71	7.33	24.08	6.03
Bone	10.67	4.74	11.17	13.36	6.28	16.79

荷瘤裸鼠  $\gamma$  影像可见两者在静脉注射后 48 h 均可显示肿瘤,随显像时间延长,本底逐渐降低,肿瘤显

示逐渐清晰。但在  $^{131}\text{I}$ -BDI-1-MT 影像中,肿瘤与正常组织的对比度优于  $^{131}\text{I}$ -BDI-1(图 1)。

图 1  $^{131}\text{I}$ -BDI-1-MT 与  $^{131}\text{I}$ -BDI-1 注射于荷瘤裸鼠后不同时间的  $\gamma$  影像

Fig. 1  $\gamma$  images of nude mice bearing human bladder cancer

A:  $^{131}\text{I}$ -BDI-1-MT; B:  $^{131}\text{I}$ -BDI-1

## 2.2 $^{131}\text{I}$ -BDI-1-MT 在荷瘤裸鼠体内代谢特征

$^{131}\text{I}$ -BDI-1-MT 与  $^{131}\text{I}$ -BDI-1 在肿瘤中清除速率差异不大,而  $^{131}\text{I}$ -BDI-1-MT 在除肾脏和胃之外的正常组织中的清除速率高于  $^{131}\text{I}$ -BDI-1,静脉注射 48 h 后  $^{131}\text{I}$ -

BDI-1-MT 在正常组中的存留率明显低于  $^{131}\text{I}$ -BDI-1,其 T/NT 值高于  $^{131}\text{I}$ -BDI-1(表 1),尤其在血液中静脉注射后 72 h 内的清除速率明显高于  $^{131}\text{I}$ -BDI-1(图 2)。

图 2  $^{131}\text{I}$ -BDI-1-MT 与  $^{131}\text{I}$ -BDI-1 在肿瘤、血液及肌肉中的清除曲线

Fig. 2 The clearance of  $^{131}\text{I}$ -BDI-1-MT and  $^{131}\text{I}$ -BDI-1 in tumor, blood and muscle

A: Tumor; B: Blood; C: Muscle

## 3 讨论

目前,单克隆抗体与蓖麻毒素等偶联所构建的免疫毒素已应用于慢性淋巴细胞白血病、淋巴瘤、骨髓瘤、黑色素瘤、神经系统肿瘤等恶性肿瘤临床治疗<sup>[4-5]</sup>。在白血病、淋巴瘤治疗中取得了较好的疗效<sup>[6-9]</sup>,但对实体瘤的治疗效果尚不理想,其主要原因是大分子量的免疫毒素穿透能力差<sup>[10-11]</sup>。

放射性核素治疗由于存在“旁观者效应”,可杀伤其有效射程内不直接与其接触的肿瘤细胞,因此,有可能克服免疫毒素穿透能力差的限制,而用于实体瘤治疗。Schmidt 等<sup>[12]</sup>报道了免疫毒素 scFv (FRP5)-ETA 与电离辐射治疗共同应用对体外培养的卵巢癌细胞与荷卵巢癌裸鼠具有协同杀伤作用;Xu 等<sup>[13]</sup>报道免疫

毒素 TA1-RTA 与  $^{131}\text{I}$ -520C9 联合应用可较两者单独使用更有效抑制荷卵巢癌裸鼠肿瘤的生长,延长裸鼠生存期;吴英德<sup>[14]</sup>等亦报道放射性核素  $^{131}\text{I}$  与丝裂霉素同时偶联于抗 AFP 单克隆抗体所构建的“双弹头”免疫复合物可明显提高杀伤肿瘤细胞的威力。但“双弹头”免疫复合物体内治疗的协同作用尚未得到肯定。与单纯免疫毒素及放射免疫治疗相比,“双弹头”导向治疗具有以下优点:1. 放射性核素具有内照射作用, $^{131}\text{I}$  的  $\beta$  射线有效射程可达几十个癌细胞,不需内化过程,可杀伤肿瘤相关抗原阳性和阴性细胞。2. “双弹头”中的毒素可提高放射性核素辐射的敏感性,增强化疗、放疗的协同作用。苦瓜毒素为 I 型核糖体灭活蛋白,其对完整细胞毒性较弱,而对无细胞蛋白合成系统有较强的抑制作用,因此,BDI-1-MT 可望具有较高的

特异性肿瘤细胞杀伤活性与较低的毒性。

本研究结果显示,与 MT 偶联后 BDI-1 在肿瘤中摄取率无明显降低,其对大多数脏器 T/NT 值高于 BDI-1,表明<sup>131</sup>I-BDI-1-MT 仍保持良好的免疫活性与肿瘤导向能力。BDI-1 与 MT 偶联后在荷瘤裸鼠正常组织中的摄取与体内代谢性能具有明显改变,除肾脏和胃外,<sup>131</sup>I-BDI-1-MT 在正常组织中的摄取率明显低于<sup>131</sup>I-BDI,清除速率(尤其在血液中)明显高于<sup>131</sup>I-BDI-1,表明<sup>131</sup>I-BDI-1-MT 可改善应用<sup>131</sup>I-BDI-1 进行放射免疫治疗血液与正常组织放射性清除慢的不足,从而可降低正常组织所受的辐射剂量。此外,研究表明,<sup>131</sup>I-BDI-1-MT 主要经肾脏代谢,其肾脏摄取率高于<sup>131</sup>I-BDI-1,提示<sup>131</sup>I-BDI-1-MT 肾毒性高于<sup>131</sup>I-BDI-1;<sup>131</sup>I-BDI-1-MT 经肾脏排泄至膀胱,对膀胱肿瘤可有较高的辐射剂量,将有利于膀胱肿瘤的治疗,但对正常膀胱组织的辐射剂量也会增高。

上述结果表明,<sup>131</sup>I-BDI-MT 有希望成为更有效的膀胱癌导向治疗药物。

#### [ 参 考 文 献 ]

- [ 1 ] 张春丽,俞莉章,赵 翀,等. <sup>131</sup>I-抗膀胱癌单克隆抗体对荷瘤裸鼠的放射免疫治疗研究[J]. 中华泌尿外科杂志, 1994, 15(1): 3-5.
- [ 2 ] 赵 翀,谢蜀生,龙振洲,等. 抗人膀胱癌免疫毒素的构建和体外肿瘤杀伤活性[J]. 中华肿瘤杂志, 1992, 14(2): 109-111.
- [ 3 ] 俞莉章,顾方六,韩铁山,等. 抗人膀胱癌单克隆抗体对载瘤裸鼠放射免疫显像的实验研究[J]. 中华泌尿外科杂志, 1991, 12(12): 83-85.
- [ 4 ] Schnell R, Staak O, Borchmann P, et al. A Phase I study with an anti-CD30 ricin A-chain immunotoxin ( Ki-4. dgA ) in patients with refractory CD30<sup>+</sup> Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphoma[ J ]. Clin Cancer Res, 2002, 8(6): 1779-1786.
- [ 5 ] Rustamzadeh E, Low WC, Vallera DA, et al. Immunotoxin therapy for CNS tumor[ J ]. J Neurooncol, 2003, 64(12): 101-116.
- [ 6 ] Campbell P, Marcus R. Monoclonal antibody therapy for lymphoma[ J ]. Blood Rev, 2003, 17(3): 143-152.
- [ 7 ] Kreitman RJ. Toxin-labeled monoclonal antibodies [ J ]. Curr Pharm Biotechnol, 2001, 2(4): 313-325.
- [ 8 ] Mavromatis B, Cheson BD. Monoclonal antibody therapy of chronic lymphocytic leukemia[ J ]. J Clin Oncol, 2003, 21(9): 1874-1881.
- [ 9 ] Frankel AE, Neville DM, Bugge TA, et al. Immunotoxin therapy of hematologic malignancies[ J ]. Semin Oncol, 2003, 30(4): 545-557.
- [ 10 ] Posey JA, Khazaeli MB, Bookman MA, et al. A phase I trial of the single-chain immunotoxin SGN-10 ( BR96 sFv-PE40 ) in patients with advanced solid tumors[ J ]. Clin Cancer Res, 2002, 8(10): 3092-3099.
- [ 11 ] Brinkmann U, Keppler-Hafkemeyer A, Hafkemeyer P. Recombinant immunotoxins for cancer therapy[ J ]. Exp Opin Biol Ther, 2001, 1(4): 693-702.
- [ 12 ] Schmidt M, McWatters A, White RA, et al. Synergistic interaction between an anti-p185HER-2 pseudomonas exotoxin fusion protein [ scFv( FRP5 )-ETA ] and ionizing radiation for inhibiting growth of ovarian cancer cells that overexpress HER-2[ J ]. Gynecol Oncol, 2001, 80(2): 145-155.
- [ 13 ] Xu F, Leadon SA, Yu Y, et al. Synergistic interaction between anti-p185HER-2 ricin A chain immunotoxins and radionuclide conjugates for inhibiting growth of ovarian and breast cancer cells that overexpress HER-2[ J ]. Clin Cancer Res, 2000, 6(8): 3334-3341.
- [ 14 ] 吴英德,周德南,甘友全,等. 肝癌<sup>131</sup>I-抗 AFP 抗体-MMC“双弹头”免疫导向治疗的研究[J]. 中国癌症杂志, 1997, 7(3): 184-188.

[ 收稿日期 ] 2004-12-05

[ 修回日期 ] 2005-03-27

[ 本文编辑 ] 韩 丹

## PET——肿瘤高峰研讨会征文通知

由浙江大学医学 PET 中心与《实用肿瘤杂志》编辑共同主办的正电子发射断层显像(PET)在肿瘤诊断方面的研究学术高峰论坛研讨会将于 2005 年 10 月中旬在杭州召开。会议将邀请国内外核医学 PET 专家介绍 PET 的最新进展和临床应用。

1. 征文内容: 有关 PET 在肿瘤早期诊断、转移灶探查、疗效评价和复发监测方面应用研究的新成果和新进展。
2. 征文要求: (1)论文未在国内外杂志上公开发表;(2)论文要求提供 4 000 字全文和 400 字的中、英文摘要各一份,并提供文稿软盘;(3)加盖单位公章或介绍信,并注明详细地址、邮编及联系电话。信封上请注明“征文”二字。

3. 截稿日期: 2005 年 6 月 30 日

4. 来稿地址和联系人:

地址: 杭州市解放军路 88 号浙江大学医学院附属第二医院《实用肿瘤杂志》编辑部

邮编: 310009; 联系人: 王 欣

电话: ( 0571 )87783654