

## <sup>131</sup>I 碘肿瘤细胞核人鼠嵌合单抗肺癌内 直接注射后体内的生物学分布

李蓓蕾<sup>1</sup> 陈绍亮<sup>1Δ</sup> 徐兆强<sup>2</sup> 于力克<sup>3</sup> 李 田<sup>3</sup> 石洪成<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>复旦大学附属中山医院核医学科 上海 200032; <sup>2</sup>江苏省人民医院核医学科 江苏 南京 210029;

<sup>3</sup>南京市胸科医院呼吸内科 江苏 南京 210029)

**【摘要】** 目的 研究肺癌瘤内直接注射<sup>131</sup>I-chTNT 后患者体内分布状况。方法 经病理组织学确诊的原发性肺癌患者 11 例,根据 CT 定位,单次瘤内直接注射<sup>131</sup>I-chTNT 18.5~37 MBq/cm<sup>3</sup> 后,多时点测量血、尿放射性。应用 HPLC 法检测<sup>131</sup>I-chTNT 在体内的稳定性和代谢情况。采用连续显像法估算全身、各主要脏器和肿瘤的放射性,并转换为注射剂量百分率(%ID),以观察<sup>131</sup>I-chTNT 在体内的分布。结果 所有 11 例患者 HPLC 检测结果显示,注射后 24、48、72、96 h 内血清中<sup>131</sup>I-chTNT 均以原形存在,原形含量达 100%。经计算机拟合,血清药-时曲线符合静脉外给药二室模型, $T_{1/2\alpha}$  (0.89 ± 0.17)h,  $T_{1/2\beta}$  (86.88 ± 25.97)h。游离<sup>131</sup>I 是尿内<sup>131</sup>I-chTNT 的唯一代谢产物,264 h 累计尿排泄量为注射量的(58.37 ± 17.45)%。瘤内给药后 30 min,瘤内<sup>131</sup>I-chTNT 量为(51.05 ± 8.41)%ID,瘤/肺比值(T/N)高达(63.87 ± 25.71)。264 h 时瘤内<sup>131</sup>I-chTNT 残留(3.47 ± 3.27)%ID, T/N 为(9.61 ± 11.00)。全身主要器官中,放射性主要集中在肺、肝、心、肾、脾和甲状腺中。结论 <sup>131</sup>I-chTNT 瘤内直接注射后在瘤内停留时间较长,有利于肿瘤治疗。

**【关键词】** <sup>131</sup>I 碘肿瘤细胞核人鼠嵌合单抗; 肿瘤; 放射性核素显像; 生物分布; 放射免疫治疗

**【中图分类号】** R 73 **【文献标志码】** B

### Biodistribution of iodine-131-labeled chimeric monoclonal antibody in patients following intratumoral administration in advanced lung carcinoma

LI Bei-lei<sup>1</sup>, CHEN Shao-liang<sup>1Δ</sup>, XU Zhao-qiang<sup>2</sup>, YU Li-ke<sup>3</sup>, LI Tian<sup>3</sup>, SHI Hong-cheng<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Department of Nuclear Medicine, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China;

<sup>2</sup>Department of Nuclear Medicine, Jiangsu Provincial People's Hospital, Nanjing 210029,

Jiangsu Province, China; <sup>3</sup>Department of Respiratory Medicine, Nanjin Chest Hospital,

Nanjing 210029, Jiangsu Province, China)

**【Abstract】 Objective** To investigate the biodistribution of intratumoral administered <sup>131</sup>I-labeled human-mouse chimeric monoclonal antibody (chTNT) in patients with advanced lung carcinoma.

**Methods** Eleven patients enrolled had cytological and histological confirmed diagnoses of either stage III b or stage IV inoperable lung carcinoma. Intratumoral injection was directed by thoracic CT-guided catheter using a multi-holed needle. The dose for each patient was 18.5 – 37 MBq/cm<sup>3</sup> tumor mass. Blood samples were drawn at different time intervals for up to 13 days, and urine samples were collected for up to 11 days after injection for pharmacokinetic studies. *In vivo* stability was examined by HPLC by analyzing serum and urine, which were found to contain <sup>131</sup>I-chTNT. Whole body images were taken for quantitative organ and tumor biodistribution studies. **Results** In all 11 patients, <sup>131</sup>I-chTNT was the major component of the radiolabel in serum. Within 96 hours after administration, it was 100% stable. Plasma disappearance curves of <sup>131</sup>I-chTNT were best fit by a two-exponential model in all patients with  $T_{1/2\alpha}$  of (0.89 ± 0.17) h and  $T_{1/2\beta}$  of (86.88 ± 25.97)h. Free <sup>131</sup>I was the only metabolite of <sup>131</sup>I-chTNT that appeared in urine. A biodistribution study demonstrated excellent localization of the radioactivity in tumors. The accumulated radioactivity in urine at 264 h was (58.37

ΔCorresponding author E-mail: chen.shaoliang@zs-hospital.sh.cn

$\pm 17.45\%$  of the injection dose. There was  $(51.05 \pm 8.41)\% \text{ID}^{131}\text{I-chTNT}$  in the tumor at 30 min after injection, and the tumor/lung (T/N) ratio was  $63.87 \pm 25.71$ . It remained  $(3.47 \pm 3.27)\% \text{ID}$  at 264 h, and the T/N ratio was  $9.61 \pm 11.00$ . Among the main target organs, accumulation of the radiolabeled antibody was mainly found in lungs, liver, heart, kidneys, spleen and thyroid.

**Conclusions** Pharmacokinetics of  $^{131}\text{I-chTNT}$  follows a two-exponential model. According to its long preservation in tumor tissue, intratumoral injection of  $^{131}\text{I-chTNT}$  is good for tumor therapy.

**【Key words】** chimeric monoclonal antibody (chTNT); tumor; radiation imaging; radioimmunotherapy

$^{131}\text{I}$  碘肿瘤细胞核人鼠嵌合单克隆抗体 ( $^{131}\text{I-chTNT}$ ) 不同于传统肿瘤细胞单克隆抗体, 后者只与特定肿瘤的细胞膜抗原特异性亲合, 而  $^{131}\text{I-chTNT}$  可以特异性亲和各种肿瘤坏死区的细胞核, 对多种实体瘤, 如肝癌、肺癌、脑癌、结肠癌、胆囊癌、胰腺癌、软组织肉瘤等进行有效治疗。陈仰纯等<sup>[1,2]</sup> 采用按体重  $(29.6 \pm 3.7) \text{MBq/kg}$  单次静脉注射给药治疗晚期肺癌, 发现注射  $^{131}\text{I-chTNT}$  后放射性主要积聚在肺、肝、肿瘤组织, 脑组织最少, 甲状腺内放射性多逐渐增多。肿瘤组织内放射性 24h 达峰值, T/NT(瘤/非瘤) 比值呈逐渐增大趋势, 多在 3~7 d 达最大值  $(1.25 \sim 3.73)$ 。肿瘤组织 24、72、168 h 的 ID 值分别为  $(2.8 \pm 2.0)\%$ 、 $(1.9 \pm 1.3)\%$  和  $(0.9 \pm 0.6)\%$ 。但是该单次静脉给药剂量难以满足姑息性抑制肿瘤生长的要求。笔者研究了肺癌瘤内直接注射  $^{131}\text{I-chTNT}$  的人体内生物学分布, 旨在为制定合理的临床治疗方案提供参考依据。

## 资料和方法

**研究对象** 2004年7、8月间, 选择经南京市胸科医院病理组织学确诊的原发性肺癌(Ⅲ~Ⅳ期)患者 11 例, 其中男 10 例, 女 1 例, 年龄 47~69  $(61.81 \pm 6.84)$  岁, 体重 41~75  $(60.91 \pm 10.71) \text{kg}$ , 其中腺癌 5 例, 鳞癌 4 例, 小细胞肺癌 1 例, 低分化癌 1 例, ⅢA 期 1 例, ⅢB 期 3 例, Ⅳ期 7 例。所有患者: (1) 不愿接受手术、放化疗等常规治疗; 或不宜手术、放疗、化疗; 或常规放化疗无效; 或治疗后再度复发。(2) 治疗前进行胸部 CT 检查明确有一个或多个可测的实体瘤病灶存在, 且被观察病灶 2 个月内未曾接受放疗。(3) Karnofsky 评分  $\geq 60$  分, ECOG 2 级, 无明显胸腹腔积液。(4) 4 周内未行化疗、放疗、放射性核素治疗, 没有使用 G-CSF、GM-CSF 或其它类似药物维持血像。(5) 白细胞总计数  $\geq 4.0 \times 10^9/\text{L}$ , 中性粒细胞计数  $\geq 2 \times 10^9/\text{L}$ , 血红蛋白  $\geq 80 \text{g/L}$ , 血小板  $\geq 80 \times 10^9/\text{L}$ , 肝肾功能、尿常规正常。(6) 未接触过鼠抗体或其他生物制剂, HAMA 试验阴性, 一个月内未参加过其它药物试验, 无过敏史。

(7) 能接受随访和相关检查, 预计生存期  $> 3$  个月。  
(8) 签署知情同意书。

**药物和主要仪器** 研究中所用  $^{131}\text{I-chTNT}$  由中美合资上海美恩生物技术有限公司提供, 放射性浓度  $370 \text{MBq/mL}$ , 放射化学纯度  $> 95\%$ , 免疫活性  $> 50\%$  结合率, 热源细菌内毒素一次注射量  $< 150 \text{EU/瓶}$ , pH 值  $6.5 \sim 7.5$ 。FJ-391A1 活度计(北京放射性仪表厂), GC-1200 型  $\gamma$  放射性免疫计数器(中国科技大学创新股份有限公司中佳分公司), E. CAM 双探头 SPECT 仪(Siemens Medical Solutions USA Inc.), Waters 510 高效液相色谱仪(GenTech Scientific, Inc., NJ, USA)。

### 研究方法

$^{131}\text{I-chTNT}$  注射液标准曲线图绘制 经活度计测得已稀释  $^{131}\text{I-chTNT}$  注射液 1 mL 的放射性活度为  $18.5 \text{MBq}$ 。取  $20 \mu\text{L}$  溶液后以 1:2、1:4、1:8、1:16、1:32、1:64、1:128 倍比稀释, 分别用  $\gamma$  计数器测量放射性计数, 再求出溶液放射性活度(kBq)与放射性计数率( $\text{s}^{-1}$ )的直线回归方程, 绘制标准曲线图。

**给药方法** 患者经碘过敏试验阴性, 治疗前 3 天起连续口服复方碘液 10 滴, 每日 3 次, 直至治疗结束后 7 d, 以封闭甲状腺。治疗前 0.5 h 静脉注射地塞米松 5 mg 以防止发热反应。在胸部 CT 引导下, 经皮肺穿刺, 选用多孔注射针按事先确定的角度及深度进针, 可根据 CT 扫描清晰显示针道及病灶, 在确定针已位于病灶内后, 适当调整角度多点层面注射, 使  $^{131}\text{I-chTNT}$  均匀注入瘤体内。注射剂量为  $18.5 \sim 37 \text{MBq/cm}^3$  肿瘤组织, 最大剂量不超过  $1850 \text{MBq}$ 。

**药代动力学研究** 采用配有高能准直器的 SPECT 仪在给药后 0.5、4、24、48、96、144、216 和 264 h 采集全身前位、后位图像, 能峰  $364 \text{keV}$ , 窗宽  $20\%$ , 矩阵  $1024 \times 256$ , 速度  $0.2 \text{m/s}$ ; 考虑到患者体内放射性衰减, 研究后期可适当减低扫描速度。

根据连续配对显像法估算器官的放射性活度。甲状腺在多数情况下仅在前位有影像, 故根据前位图像计算放射性活度。假设给药后第一采集时间点

(即 0.5 h)时<sup>131</sup>I-chTNT 未发生生物清除,图像数据处理时将 0.5 h 全身前位、后位总计数率经校正的几何平均值设定为 100%百分注射量(%ID)。

注射后 0.5、24、48、96、144、216、312 h 各时间点分别从给药对侧肘静脉抽取 2 mL 静脉血,抽取后 0.5 h 内经 4 000 r/min 离心 15 min,取上清液 500  $\mu$ L。其中 20  $\mu$ L 测量放射性,从标准曲线图中查出相应的放射性活度,绘制血清放射性-时间曲线。其余血清进行放射性成分分析。

给药后 11 d 内,每日收集所有患者 24 h 尿量,计量后留样 0.5 mL 测定放射性计数,由标准曲线图中换算出相应放射性活度,并换算为 %ID,绘制时间-放射性曲线。各时点尿样同样进行放射性成分分析。

所有血、尿样品经 0.22  $\mu$ m 滤膜过滤行放射纯分析。应用 Waters510 高压液相色谱仪,紫外检测波长 280 nm, $\gamma$  放射性检测器量程范围 10 K 或 100 K,甄别阈 0.5,时间常数 3.3,Bio-Sil<sup>TM</sup> SEC-250 凝胶过滤柱,流动相为 0.1 mol/L 磷酸钠盐缓冲液 (pH = 7.0),流量 0.8 mL/min。进样量 400  $\mu$ L。

**统计学处理** 计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用 PKAnalyst 软件拟合血清药-时曲线,应用 SPSS 10.0 软件处理。

## 结 果

**<sup>131</sup>I-chTNT 注射液标准曲线** 以倍比稀释样品放射性活度 kBq 与样品 cps 作直线回归,放射性活度 2.89~185 kBq 和 cps 呈现良好的线性关系,回归方程  $\text{kBq} = 0.002\ 513 \times \text{计数率}(\text{s}^{-1}) - 0.507\ 9$ ,  $r = 0.999\ 6$ 。

**<sup>131</sup>I-chTNT 瘤内注射后体内分布** 局部给药后,<sup>131</sup>I-chTNT 主要浓集在肿瘤内,肿瘤/非瘤组织 (T/NT)在 0.5 h 为(63.87  $\pm$  25.71),264 h 时降至 (9.61  $\pm$  11.00)。全身主要器官中放射性主要集中在肺、肝、心、肾、脾、甲状腺中(图 1,表 1)。甲状腺放射性逐渐增强,其中 1 例患者当天显影,2 例患者第 3 天显影,1 例第 5 天显影,3 例第 7 天显影,另 4 例未见明显显影。

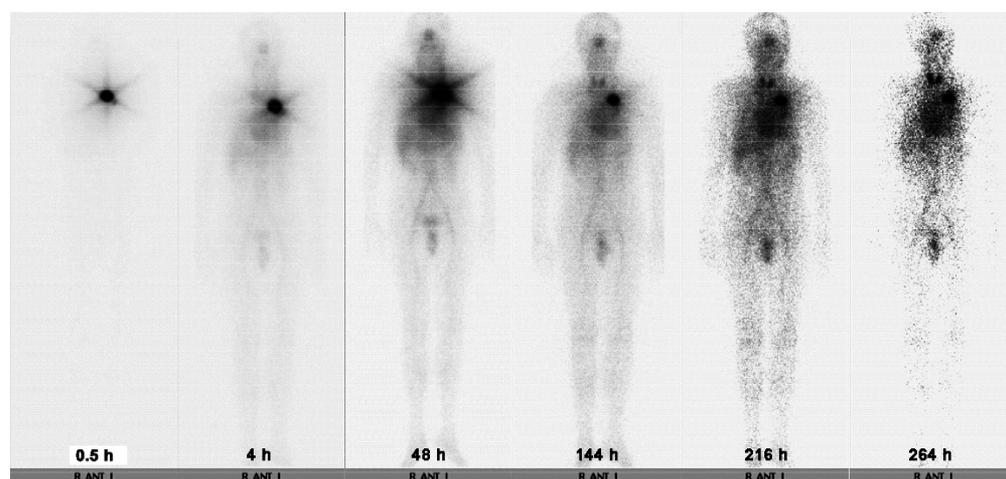


图 1 肿瘤局部给药后的全身影像(前位)

Fig 1 The anterior whole-body images at different time points after intratumoral injection of <sup>131</sup>I-chTNT

表 1 11 例患者瘤内注射<sup>131</sup>I-chTNT 后各时点主要器官内的放射性

Tab 1 Biological radioactivity distribution various organs at different time points after intratumoral injection of <sup>131</sup>I-chTNT

Organ	Time (h)							
	0.5	4	24	48	96	144	216	264
Whole-body	100.00 $\pm$ 0.00	98.76 $\pm$ 1.18	87.49 $\pm$ 8.61	76.28 $\pm$ 8.53	62.65 $\pm$ 8.90	46.90 $\pm$ 7.10	35.09 $\pm$ 8.70	25.10 $\pm$ 8.82
Tumor	51.05 $\pm$ 8.41	45.69 $\pm$ 8.42	26.19 $\pm$ 8.45	18.44 $\pm$ 9.12	11.73 $\pm$ 8.53	7.32 $\pm$ 6.37	4.03 $\pm$ 3.55	3.47 $\pm$ 3.27
Lung	5.48 $\pm$ 2.58	5.39 $\pm$ 2.39	4.18 $\pm$ 2.44	3.31 $\pm$ 2.35	2.57 $\pm$ 2.10	1.88 $\pm$ 1.61	1.28 $\pm$ 1.31	1.08 $\pm$ 1.14
Liver	4.17 $\pm$ 2.10	4.07 $\pm$ 1.84	3.34 $\pm$ 1.46	2.60 $\pm$ 1.47	1.88 $\pm$ 1.34	1.35 $\pm$ 1.02	0.84 $\pm$ 0.75	0.67 $\pm$ 0.61
Heart	1.29 $\pm$ 0.96	1.26 $\pm$ 0.87	0.98 $\pm$ 0.82	0.84 $\pm$ 0.77	0.59 $\pm$ 0.61	0.41 $\pm$ 0.45	0.24 $\pm$ 0.32	0.20 $\pm$ 0.25
Kidney	1.11 $\pm$ 0.50	1.09 $\pm$ 0.45	1.00 $\pm$ 0.40	0.76 $\pm$ 0.47	0.55 $\pm$ 0.42	0.39 $\pm$ 0.31	0.25 $\pm$ 0.25	0.21 $\pm$ 0.20
Spleen	1.04 $\pm$ 0.52	1.02 $\pm$ 0.34	0.96 $\pm$ 0.45	0.58 $\pm$ 0.31	0.43 $\pm$ 0.30	0.32 $\pm$ 0.23	0.22 $\pm$ 0.20	0.17 $\pm$ 0.16
Thyroid	0.09 $\pm$ 0.02	0.09 $\pm$ 0.03	0.10 $\pm$ 0.05	0.12 $\pm$ 0.10	0.12 $\pm$ 0.11	0.15 $\pm$ 0.11	0.14 $\pm$ 0.09	0.12 $\pm$ 0.09

**$^{131}\text{I}$ -chTNT 瘤内注射后血清、尿液时间-放射性曲线** 经 PkAnalyst 软件拟合,  $^{131}\text{I}$ -chTNT 瘤内注射血清时间-放射性曲线符合静脉外给药一室模型(图 2)。  $^{131}\text{I}$ -chTNT 有明显的吸收过程, 吸收相  $T_{1/2ka}$  为  $(0.89 \pm 0.17)\text{h}$ ,  $T_{1/2\beta}$  为  $(86.88 \pm 25.97)\text{h}$ 。给药后各时点尿液放射性排泄百分率结果见图 3A。264 h 累积有  $(58.37 \pm 17.45)\%$  经尿液排泄(图 3B)。

**血样/尿样 HPLC 放射化学纯度分析** 高压液相凝胶过滤色谱法分析血清中  $^{131}\text{I}$ -chTNT 占放射性成分百分比, 其中 6、24、48、72、96 h 血清中放射性成分 100% 为  $^{131}\text{I}$ -chTNT, 144 h 因为  $^{131}\text{I}$  衰变和仪器灵敏度所限, 未检出。经 24、48 h 尿样分析, 尿中放射性物质 100% 源于游离  $^{131}\text{I}$ 。

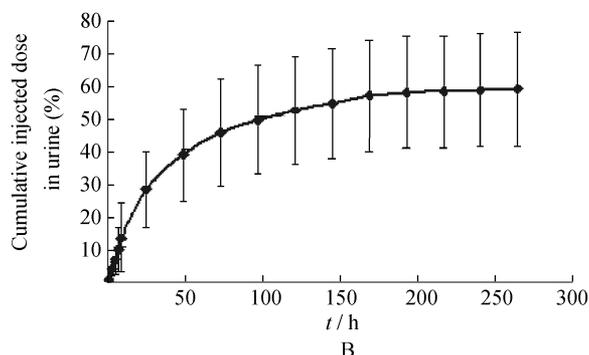
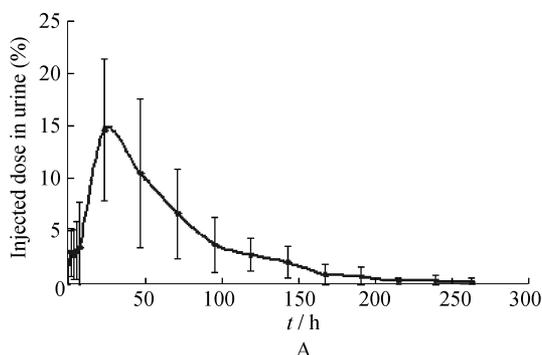


图 3  $^{131}\text{I}$ -chTNT 局部注射治疗后各时点排泄百分率(A)和 264 h 尿液累积放射性排泄量(B)

Fig 3 ID-time curve of activity in urine (A) intratumoral administration and the mean cumulative total measured urinary excretion at 264 h (B)

## 讨 论

比较先前陈仰纯等<sup>[1]</sup>的静脉给药研究结果, 瘤内直接注射  $^{131}\text{I}$ -chTNT 使肿瘤局部药物浓度高, T/NT 达到 63.87(23.69~109.36), 是 2 倍剂量下静脉给药浓度(T/NT 最高 3.73)的数十倍乃至上百倍。血清药物浓度和各器官组织内放射性药物积聚量均明显低于静脉给药者, 这意味着瘤内给药引起的全身毒副作用将明显低于静脉给药。静脉给药后  $^{131}\text{I}$ -chTNT 血清清除  $\beta$  相半排期为  $(61.7 \pm 21.2)\text{h}$ , 而局部给药后的  $^{131}\text{I}$ -chTNT 血清清除速度较慢,  $\beta$  相半排期为  $(86.88 \pm 25.97)\text{h}$ , 这也说明局部给药后  $^{131}\text{I}$ -chTNT 有效停留在肿瘤内<sup>[3]</sup>。

经 HPLC 分析, 96 h 时血清中  $^{131}\text{I}$ -chTNT 放射性成分的百分比仍保持在 100%, 提示  $^{131}\text{I}$ -chTNT 在体内稳定性佳。由于其属于生物大分子, 不能通过正常的肾基底膜, 因此尿液中 100% 是  $^{131}\text{I}$ -chTNT 在体内代谢产物之一的游离  $^{131}\text{I}$ 。

从生物分布看, 瘤内注射肿瘤部位积存的标记

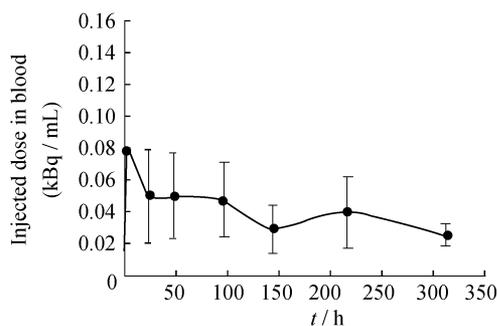


图 2  $^{131}\text{I}$ -chTNT 局部注射治疗后血清时间-放射性曲线 ( $\bar{x} \pm s, n=11$ )

Fig 2 Effect of intratumoral injection on the circulation kinetics of  $^{131}\text{I}$ -chTNT ( $\bar{x} \pm s, n=11$ )

抗体量较多。除外物理衰变, 注射后瘤内放射性的主要去向是进入血循环分布到全身。本次研究中, 瘤内注射  $^{131}\text{I}$ -chTNT 后 0.5 h 内排出量即达 49% 左右。究其原因, 首先考虑与肿瘤组织中坏死成分的多少有关。肿瘤内坏死成分越多,  $^{131}\text{I}$ -chTNT 结合率越高。陈仰纯等<sup>[3]</sup>的单次静脉给药试验组中, 1 例左上肺低分化鳞癌累及左侧胸壁患者, 病灶直径约 7 cm, 伴有大的厚壁空洞, 其 24、72 和 168 h 的 T/NT 比值分别为 3.20、3.73 和 3.40, 为组中最高。有研究者将射频消融用于  $^{131}\text{I}$ -chTNT 前对肿瘤病灶进行消融治疗, 可以增加  $^{131}\text{I}$ -chTNT 的作用范围, 提高疗效<sup>[4]</sup>。严红霞等<sup>[5]</sup>比较单用  $^{131}\text{I}$ -chTNT 与  $^{131}\text{I}$ -chTNT 结合外照射对荷瘤肺癌动物模型肿瘤生长影响的差异, 发现  $^{131}\text{I}$ -chTNT 结合外照射治疗实体瘤, 在给药前行 20 Gy 的外照射组其肿瘤中 24 h 放射活度比、肿瘤放射活度比、平均累积吸收剂量、累积吸收总量高, 有助于提高治疗效果。其次, 与肿瘤的血管形成有关。虽然  $^{131}\text{I}$ -chTNT 属于生物大分子(分子量 55 kDa), 难以通

(下转第 489 页)