

# 3H11 的<sup>123</sup>I 标记及其生物分布

秦红斌<sup>1</sup>, 尹 卫<sup>1</sup>, 高惠波<sup>1</sup>, 陈大明<sup>1</sup>, 杨 志<sup>2</sup>,  
祁本忠<sup>1</sup>, 金小海<sup>1</sup>, 白红升<sup>1</sup>, 张文辉<sup>1</sup>

(1. 原子高科股份有限公司, 北京 102413;

2. 北京大学临床肿瘤学院, 北京肿瘤医院暨北京市肿瘤防治研究所 核医学科, 北京 100036)

**摘要:** 采用 Iodogen 氧化法对胃癌单克隆抗体 3H11 进行了<sup>123</sup>I 标记, 用 PD-10 层析柱分离纯化标记物, 纸层析法测定标记物的标记率和放化纯度, 评价标记物的体外稳定性, 并观察了标记物在正常小鼠体内的生物分布。标记结果显示,<sup>123</sup>I-3H11 的优化标记条件为: Iodogen 10 μg、3H11 30 μg、Na<sup>123</sup>I 溶液 20 μL (13.3 MBq)、磷酸盐缓冲溶液 100 μL (pH 7.4、0.2 mol/L)、常温下反应 8 min,<sup>123</sup>I-3H11 标记率 70%~80%; 稳定性结果显示, 标记物在 4 ℃ 人血清中的体外稳定性较好, 放置 48 h 后放化纯度 > 92%; 正常昆明鼠体内生物学分布显示, 全抗 3H11 血液半清除时间为 12.25 ± 0.25 h, 胃组织有明显摄取。以上结果提示,<sup>123</sup>I-3H11 是一种很有前景的肿瘤放射免疫显像剂。

**关键词:** <sup>123</sup>I; 单克隆抗体 3H11; 标记; 生物分布

中图分类号: R817.9 文献标志码: A 文章编号: 1000-7512(2010)02-0076-05

## Labeling of 3H11 With <sup>123</sup>I and Its Biodistribution

QIN Hong-bin<sup>1</sup>, YIN Wei<sup>1</sup>, GAO Hui-bo<sup>1</sup>, CHEN Da-ming<sup>1</sup>,  
YANG Zhi<sup>2</sup>, QI Ben-zhong<sup>1</sup>, JIN Xiao-hai<sup>1</sup>, BAI Hong-sheng<sup>1</sup>, ZHANG Wen-hui<sup>1</sup>

(1. High Technology Atomic Co., LTD, Beijing 102413, China;

2. Beijing Department of Nuclear Medicine, Beijing Cancer Hospital,  
Peking University School of Oncology, Beijing 100036, China)

**Abstract:** 3H11 was labeled with <sup>123</sup>I by Iodogen method, and the labeling product were purified with PD-10 column. The labeling yield and the radiochemical purity of the product was determined by paper chromatography. The biodistribution of <sup>123</sup>I-3H11 in normal mice was carried out as well. The optimal experimental conditions of <sup>123</sup>I-3H11 was as follow: Iodogen 10 μg, 3H11 30 μg, Na<sup>123</sup>I solution 20 μL (13.3 MBq), PBS 100 μL (pH 7.4, 0.2 mol/L), the normal temperature for 8 min. The labeling yield of <sup>123</sup>I-3H11 was 70%-80%. After stored at 4 ℃ for 48 h in human serum, the radiochemical purity was more than 92%. The results of biodistribution showed that the clearance of radiolabeled antibody in

blood (half time,  $T_{1/2}$ ) was  $12.25 \pm 0.25$  h, and the radioactivity in the stomach was uptaken obviously. The above results indicated that <sup>123</sup>I-3H11 appears to show some potential as gastric cancer imaging diagnostic agent.

**Key words:** <sup>123</sup>I; monoclonal antibody 3H11; labeling; biodistribution

<sup>123</sup>I 由于其优良的核素性质:发射 159 keV 的单能  $\gamma$  射线,适于 SPECT 显像;半衰期只有 13.2 h,可以降低对患者与工作人员的辐射损害<sup>[1]</sup>,而成为放射性药物研制中理想的核素之一。<sup>123</sup>I 系高能加速器生产核素,以前在国内应用受到一定限制,但随着高能加速器的市场化,<sup>123</sup>I 的获取更方便,使<sup>123</sup>I 系列药物逐渐成为当今前瞻性诊断药物研究的重要发展方向之一。单克隆抗体能识别特异抗原并与其结合,尤其能识别肿瘤抗原,单抗 3H11 与胃癌组织具有高阳性反应率、高选择性及高亲和力的特点,受到很多学者的广泛关注。

目前用于 3H11 标记的核素主要有<sup>125</sup>I、<sup>131</sup>I、<sup>211</sup>At、<sup>188</sup>Re、<sup>90</sup>Y 等,标记物主要用于胃癌显像或治疗评价<sup>[2-9]</sup>。国内用<sup>123</sup>I 标记单克隆抗体显像的报道很少,也没有用<sup>123</sup>I 标记胃癌抗克隆抗体 3H11 的报道。本研究拟以<sup>123</sup>I 作为显像核素标记单克隆抗体 3H11(McAb 3H11),并对<sup>123</sup>I-3H11 在正常鼠体内的生物分布进行观察,探讨该标记物作为诊断胃癌及胃癌转移灶显像剂的可能性。

## 1 主要实验材料

### 1.1 主要仪器

FT-603 井型  $\gamma$  闪烁探头-FH463A 智能定标仪:北京核仪器厂产品;AR2130 型电子天平:美国 OHAUS 公司产品;单道可调移液器:美国 Eppendorf 公司产品;PD-10 柱:瑞典 GE Healthcare 公司产品;Whatman No. 1 试纸:英国 Whatman 公司产品。

### 1.2 主要试剂

小鼠单克隆抗体 3H11:北京肿瘤研究所惠赠;牛血清白蛋白(Bovine Serum Albumin, BSA):北京博奥森生物技术有限公司产品;Na<sup>123</sup>I 溶液:放射性浓度为 665 GBq/L,原子高科股份有限公司产品。其余试剂均为分析纯,购自北京化学试剂公司。

### 1.3 实验动物

正常昆明小鼠:15 只,雌性,6~8 周龄,体重 18~22 g,SPF 级,购自北京维科利华公司。

## 2 实验方法

### 2.1 <sup>123</sup>I-3H11 标记

采用 Iodogen 法对 3H11 抗体进行<sup>123</sup>I 标记。在底部涂敷 10  $\mu$ g Iodogen 的塑料小管中加入 100  $\mu$ L 0.2 mol/L 磷酸盐缓冲溶液(PBS)、30  $\mu$ L 3H11(1 g/L 溶于 pH7.4 PBS 中)、20  $\mu$ L 约 13.3 MBq 的 Na<sup>123</sup>I,以 pH7.4 PBS 控制反应总体积为 150  $\mu$ L,室温下不间断匀速震荡反应 8 min。将液体取出终止反应,加入 100  $\mu$ L 0.01 mol/L PBS 荡洗反应管,并将洗涤液合并入反应液中。

### 2.2 标记率的测定

采用薄层分析法分析标记率。以 Whatman No. 1 试纸为支持体,用 V(甲醇):V(水) = 85:15 为展开剂。根据所得  $R_f$  计算标记率。

### 2.3 <sup>123</sup>I-3H11 的纯化

标记产物采用 PD-10 柱纯化,用 0.01 mol/L PBS(pH 7.4)淋洗。PD-10 柱流速要求 1 mL (20 滴)/min,每分钟接一管,测量各管放射性活度。采用 2.2 节测标记率的方法测<sup>123</sup>I-3H11 放化纯度。

### 2.4 <sup>123</sup>I-3H11 的体外稳定性

取 50  $\mu$ L 纯化后的标记物分别加入到 100  $\mu$ L 以下 3 种体系中:生理盐水、PBS (pH 7.4, 0.01 mol/L)、人血清。以下三种环境:4  $^{\circ}$ C、室温、水浴 37  $^{\circ}$ C 下贮存,分别于 2、24、48 h 取样,纸色层测定放化纯度,观察标记物的稳定性。

### 2.5 <sup>123</sup>I-3H11 在小鼠体内的生物学分布

选用雌性昆明小白鼠 15 只,随机分为 3 组,每组 5 只。经尾静脉注射 0.1 mL <sup>123</sup>I-3H11(约 1.11 MBq,比活度 40 GBq/g),于注射后 2、24、48 h 眼球取血,颈椎脱臼处死小鼠。取心、肝、脾、肺、肾、胃、肠、肌肉、骨、甲状腺等组织称重并测量其放射性计数。经衰变校正后,计算每克脏

器的放射性摄取占总注射剂量的百分数(%ID/g)。

### 3 结果与讨论

#### 3.1 $^{123}\text{I}$ -3H11 标记条件的优化

**3.1.1  $\text{Na}^{123}\text{I}$  活度对标记率的影响** 2.1 节中,仅改变反应体系中  $\text{Na}^{123}\text{I}$  活度,观察其对  $^{123}\text{I}$ -3H11 标记率的影响,结果示于图 1。由图 1 可以看出,随  $\text{Na}^{123}\text{I}$  放射性浓度的增大,标记率呈下降趋势,2.3 MBq 时最大,为 92%;9.5 和 13.3 MBq 时,标记率约 80%。为保证所合成的  $^{123}\text{I}$ -3H11 能达到一定的比活度,参与反应的  $\text{Na}^{123}\text{I}$  放射性活度不应太小。本实验选用 13.3 MBq。

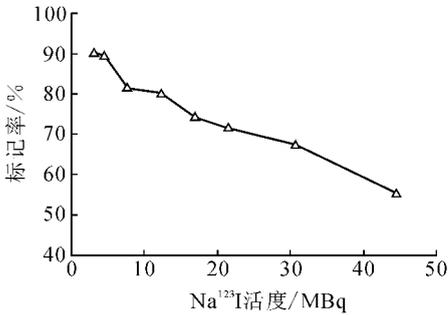


图 1 反应体系中  $\text{Na}^{123}\text{I}$  放射性浓度对标记率的影响

#### 3.1.2 氧化剂 Iodogen 用量对标记率的影响

仅改变 2.1 节中氧化剂用量,观察其对标记率的影响,结果示于图 2。图 2 表明,氧化剂 Iodogen 量小于  $10\ \mu\text{g}$  时,标记率随 Iodogen 量的增加而增大,但 Iodogen 用量太少,其氧化能力不够,不能使  $\text{I}^-$  被充分氧化成  $\text{I}^+$ ;而在 Iodogen 用量大于  $40\ \mu\text{g}$  后,标记率随 Iodogen 用量的增加而降低,这主要是由于 Iodogen 量太多,氧化能力过

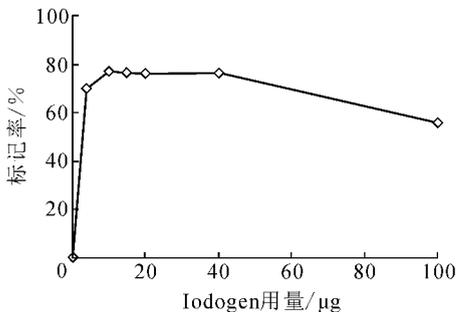


图 2 Iodogen 用量对标记率的影响

强,产生高价态的碘,导致标记率减小。因此,选择 Iodogen 用量为  $10\ \mu\text{g}$ 。

#### 3.1.3 缓冲溶液 pH 对标记率的影响

2.1 节中,改变缓冲溶液 pH,其它条件保持不变,观察 pH 对标记率的影响,结果示于图 3。由图 3 可知,pH 对标记率有一定的影响,缓冲溶液 pH 为 7.4~7.6 时标记率最高,约为 80%。因此,选择缓冲液的 pH 为 7.4。

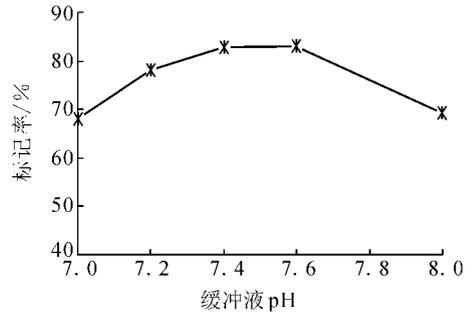


图 3 缓冲溶液 pH 对标记率的影响

#### 3.1.4 标记反应时间的选择

按 2.1 节方法制备  $^{123}\text{I}$ -3H11,在不同时间点测标记率,结果示于图 4。由图 4 可知,反应 5 min,标记率达到 72%;继续反应到 8 min 时,标记率达到 76%;此后随时间延长,标记率不再有明显变化。反应时间延长对标记率有一定的贡献,但会使单抗的活性降低。因此,选择标记时间 8 min。

#### 3.1.5 反应体积对标记率的影响

改变 2.1 节中反应液的体积,观察其对标记率的影响,结果示于图 5。由图 5 可知,反应体积为 50、150、1 000  $\mu\text{L}$  时,标记率分别为 95.1%、89.3%、42.1%。该结果表明,碘化反应标记率与反应体积有关,增大反应体积,标记率呈下降趋势。这是由于反应体积小时,被氧化的  $^{123}\text{I}^-$  与单克隆抗体结合的概率大,标记率高。但反应体积小时

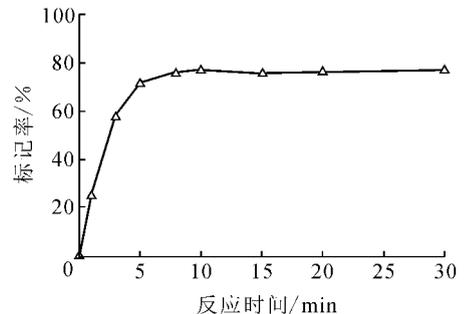


图 4 反应时间对标记率的影响

有一个缺点,即重现性差。原因可能是,每支反应管中涂层 Iodogen 位置有差异,反应液体积小,不能全部盖过涂层,使得每次反应中实际参加的氧化剂量不同,氧化的<sup>123</sup>I<sup>-</sup>的量也不同,导致标记率重现性差。但反应体积过大,使单克隆抗体的浓度被稀释,氧化后<sup>123</sup>I<sup>-</sup>与抗体的取代反应速率变小,标记率低。综合考虑后,选择反应体积为 150  $\mu\text{L}$ 。

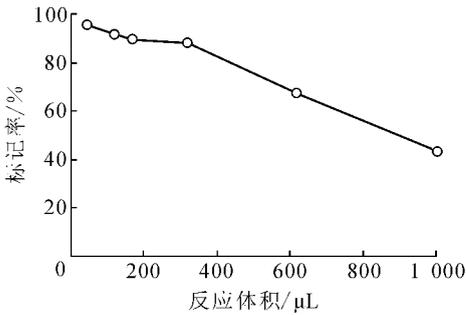


图 5 反应体积对标记率的影响

**3.1.6 反应温度对标记率的影响** 在 2.1 节方法中,改变反应温度,其它条件不变,观察反应温度对标记率的影响,结果示于图 6。从图 6 中可以看出,反应温度为 0  $^{\circ}\text{C}$  时,标记率为 70%;反应温度为 10~20  $^{\circ}\text{C}$  时,标记率为 73% $\pm$ 2%;反应温度升高到 30  $^{\circ}\text{C}$ ,标记率增加到 78%。温度较高易使单克隆抗体的活性下降,因此,选择标记反应在室温下进行。

### 3.2 最佳条件下的标记

根据上述条件实验,选择最佳标记条件为: Iodogen 10  $\mu\text{g}$ 、PBS 的 pH 7.4、单抗 3H11 30  $\mu\text{g}$ 、<sup>123</sup>I 活度 13.3 MBq、反应时间 8 min、室温、总反应体积 150  $\mu\text{L}$ 。在最佳条件下制备标记物,采用薄层层析法分析标记物,<sup>123</sup>I-3H11 的  $R_f$  为 0.0~0.1;游离碘的  $R_f$  为 0.7~0.9;标记

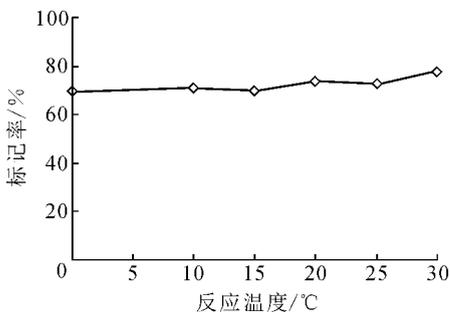


图 6 温度对标记率的影响

率 78.9%;PD-10 柱纯化后放化纯度为 96.4%。

### 3.3 <sup>123</sup>I-3H11 的体外稳定性

<sup>123</sup>I-3H11 在不同体系中、不同温度下的稳定性分别示于图 7 和图 8。由图 7 可以看出,标记物在人血清、生理盐水和 pH 7.4 的 PBS 三种体系中,4  $^{\circ}\text{C}$  下放置 48 h,标记物的放化纯度仍大于 92%,降低小于 5%,表明标记物在 4  $^{\circ}\text{C}$  环境下体外稳定性较好。从图 8 可以看出,同样在上述三种体系中,37  $^{\circ}\text{C}$  下放置 48 h,标记物的放化纯度小于 90%,降低大于 5%。这说明低温适宜此标记物的保存。

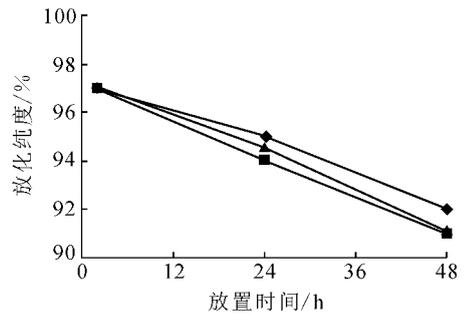


图 7 <sup>123</sup>I-3H11 在 3 种介质中 4  $^{\circ}\text{C}$  贮存时的体外稳定性

◆——人血清;■——生理盐水;▲——pH 7.4 的 PBS

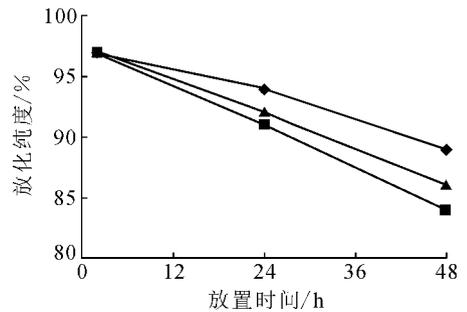


图 8 <sup>123</sup>I-3H11 在 3 种介质中 37  $^{\circ}\text{C}$  贮存时的体外稳定性

◆——人血清;■——生理盐水;▲——pH 7.4 的 PBS

### 3.4 正常鼠体内的生物学分布

<sup>123</sup>I-3H11 在昆明小鼠体内的血液清除时间曲线示于图 9,主要脏器的放射性摄取率列于表 1。由图 9 可以看出,<sup>123</sup>I-3H11 血液清除较快,半清除时间为 12.25 $\pm$ 0.25 h。由表 1 数据可以看出,<sup>123</sup>I-3H11 注入初期,血液的初始摄取较高,但清除较快;标记物主要通过肝、肾排泄;<sup>123</sup>I 有亲甲状腺的性质。<sup>123</sup>I<sup>-</sup> 从<sup>123</sup>I 标记物脱落的结果必然导致<sup>123</sup>I<sup>-</sup> 在甲状腺富聚。实验数据表

明,甲状腺中放射性摄取较其它组织偏高,说明 $^{123}\text{I}$ -3H11 在体内有脱碘现象,脱落的 $^{123}\text{I}^-$ 在动物体内广泛分布。文献[10]报道 24 h 后 $^{123}\text{I}^-$ 大部分经尿排泄,剩下的主要定位于甲状腺,所以游离 $^{123}\text{I}^-$ 不会影响模型动物显像。胃组织中有明显的浓聚,这一结果与文献[11]报道的 $^{131}\text{I}$ -3H11 动物实验数据一致。由于胃组织中有一定的靶细胞 BGC823,全抗 3H11 进入动物体内,与靶细胞结合,一旦与肿瘤细胞结合,抗体即可停留在肿瘤组织内,而其他组织内的抗体或肿瘤组织内的无关蛋白则很快排泄,这样可降低本底,有利于模型动物显像研究。全抗 3H11 相对分子质量较大,在体内的动力学速度较慢,药物在组织浓集的时间较长,一般大于 24 h,而 $^{123}\text{I}$ 半衰期与全抗 3H11 的代谢时间不相匹配。考虑可采用 $^{123}\text{I}$ 标记 3H11 Fab 片段做进一步研究。

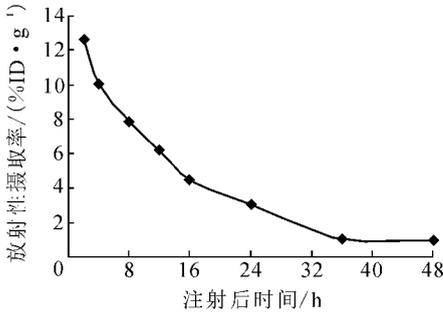


图 9  $^{123}\text{I}$ -3H11 在正常昆明小鼠中的血液清除曲线

表 1  $^{123}\text{I}$ -3H11 在正常昆明小鼠体内的生物分布( $\bar{x}+s$ ,  $n=5$ )

| 组织或器官 | 不同时间的放射性摄取率/(%ID·g <sup>-1</sup> ) |           |           |
|-------|------------------------------------|-----------|-----------|
|       | 2 h                                | 24 h      | 48 h      |
| 血     | 12.64±1.45                         | 3.57±1.05 | 0.98±0.43 |
| 甲状腺   | 4.95±2.31                          | 9.34±4.79 | 3.09±2.13 |
| 肝     | 7.23±2.31                          | 2.97±1.01 | 0.68±0.32 |
| 肾     | 6.98±2.35                          | 2.01±1.03 | 0.76±0.37 |
| 肺     | 4.96±1.43                          | 1.25±0.67 | 0.57±0.21 |
| 胃     | 4.72±0.98                          | 2.11±0.57 | 1.05±0.32 |
| 脾     | 4.41±1.32                          | 2.41±0.87 | 0.78±0.31 |
| 心     | 3.39±1.04                          | 1.05±0.56 | 0.69±0.21 |
| 肠     | 2.89±0.68                          | 1.05±0.34 | 0.88±0.11 |
| 骨     | 1.51±0.98                          | 1.13±0.64 | 0.72±0.21 |
| 肉     | 0.99±0.12                          | 0.73±0.13 | 0.59±0.09 |

## 4 结 论

$^{123}\text{I}$ -3H11 的放化纯度高,低温下体外稳定性较好;正常昆明小鼠体内分布实验表明,标记物血液清除较快,主要通过肝、肾代谢,胃组织对标记物有表达。因此, $^{123}\text{I}$ -3H11 是值得进一步研究的标记物,有望成为胃癌 SPECT 临床显像剂。

### 参考文献:

- [1] 邓新荣,刘飞,罗志福. $^{123}\text{I}$ 放射性药物简介[J].中华核医学杂志,2007,27:189-190.
- [2] 王川,王怡,苏向前,等. $^{125}\text{I}$ 标记抗胃癌单克隆抗体 3H11 在胃癌放射免疫导向手术中的应用[J].中华外科杂志,2000,38:507-509.
- [3] 王川,王怡,苏向前,等. $^{125}\text{I}$ 标记单克隆抗体 3H11 在胃癌放射免疫导向手术中的应用的初步研究[J].外科理论与实践,2000,5:163-166.
- [4] 吕大鹏,徐光炜,张梅颖,等. $^{131}\text{I}$ -3H11 腹腔给药对 Wistar 大鼠肠道吻合口愈合影响的实验研究[J].实用肿瘤杂志,2003,18:299-301.
- [5] 刘宁,张叔渊,金建南,等. $^{211}\text{At}$ 标记单克隆抗体 3H11 的高效液相色谱分析[J].色谱,1995,13:424-426.
- [6] 张叔渊,金建南,刘宁,等. $^{211}\text{At}$ 标记单克隆抗体 3H11 及其 Fab 片段对人胃癌细胞免疫结合和杀伤效应的研究[J].四川大学学报:自然科学版,1997,34:807-812.
- [7] 杨志,林保和,韩燕,等. $^{188}\text{Re}$ 标记胃癌单克隆抗体 3H11 的研究[C]//第七届全国放射药物与标记化合物学术会议论文摘要汇编.北京:中国核学会同位素分会,1998:76.
- [8] 刘文彬,李玉,张汉文. $^{188}\text{Re}$ 标记单克隆抗体 3H11 的条件研究及其在荷瘤鼠体内的生物分布[J].同位素,1999,12:208-211.
- [9] 张锦明,林琼芳,金小海,等. $^{90}\text{Y}$ 标记单克隆抗体 3H11[J].中华核医学杂志,1993,3:173-175.
- [10] 王吉欣,卢玉楷,主编.放射性药物学[M].北京:原子能出版社,1995:218.
- [11] 张梅颖,朱家瑞,许小宝,等. $^{131}\text{I}$ 标记胃癌单克隆抗体 3G9 及 F(ab')<sub>2</sub> 片段和 3H11 在荷人胃癌移植瘤裸鼠体内分布的研究[J].中华核医学杂志,1989,9:154-157.