

文章编号: 1007-4627(2010)03-0346-05

^{188}Re 内照射肝癌 (H_{22}) 剂量与组织病理学评价*

董峰¹, 郭红云², 梅澍¹, 牛继国¹

(1 甘肃省肿瘤医院核医学科, 甘肃 兰州 730050

2 甘肃省医学科学院药理毒理研究中心, 甘肃 兰州 730050)

摘要: 对建立的肝癌 H_{22} 荷瘤小鼠实体瘤体局部注射 ^{188}Re 后, 采用 $\text{CRC}^{\text{R}}-15$ 型核素测量仪分别测定 1 和 24 h 瘤体内放射性计数, 计算 ^{188}Re 注入瘤体内 24 h 内照射吸收剂量以及放射性滞留率。 $^{188}\text{Re}-\text{S}$ 注射至肿瘤内后, 1 和 24 h 放射性药物滞留要高于单纯 ^{188}Re 注射液, $^{188}\text{Re}-\text{S}$ (0.1 mCi) 和 (0.2 mCi) 组 24 h 瘤体内照射剂量分别为 159.78 和 361.52 Gy。病理学检查结果: (1) 模型组, 瘤细胞生长旺盛, 肿瘤内新生微血管丰富; (2) 治疗组, 瘤组织生长受到不同程度的抑制, 瘤细胞生长稀疏, 微血管减少, 坏死区由瘤组织外周向中心渐进。电镜观察显示, $^{188}\text{Re}-\text{S}$ (0.1 mCi) 治疗组可见肿瘤组织细胞凋亡小体。将 $^{188}\text{Re}-\text{S}$ 置入小肝癌 H_{22} 荷瘤小鼠实体瘤局部, 在肿瘤局部形成高活度放射性聚集区, 起到靶向治疗肿瘤作用的同时, 可减少全身用量, 以降低毒副作用。

关键词: ^{188}Re ; 肝癌 H_{22} ; 抗肿瘤; 内照射剂量; 组织病理学

中图分类号: R817.9⁺¹

文献标识码: A

1 引言

利用某些放射性药物中标记核素的特殊物理性质, 对多种肿瘤实施内照射治疗, 这一独特的肿瘤治疗方法在临床中已日益受到人们的重视^[1]。近年来发展的各种局部放射性核素介入方法已成为临床治疗的主要手段之一^[2]。 ^{188}Re 是一种新型理想的治疗用放射性核素^[3-5]。本研究利用 ^{188}Re -硫胶体 (sulphur colloid) ($^{188}\text{Re}-\text{S}$) 对建立的小鼠移植性肝癌模型进行内照射, 使其肿瘤局部形成高活度放射性聚集区, 达到治疗肿瘤的目的。通过核素 ^{188}Re 抗肝癌 (H_{22}) 治疗, 对内照射剂量进行评价。

2 ^{188}Re 核素的理化性质^[6]和材料方法

$^{188}\text{W}-^{188}\text{Re}$ 发生器 (规格: 2.7×10^4 MBq) 和 $^{188}\text{Re}-\text{S}$ 标记药盒均由中国科学院上海应用物理研究所提供。

(1) 核性质^[7]

^{188}W : $T_{1/2} = 69.4$ d, ^{188}Re : $T_{1/2} = 16.98$ d。

^{188}Re : $E_{\beta 1}^{\text{max}} = 2.116$ MeV (79%),

$E_{\beta 2}^{\text{max}} = 1.965$ MeV (20%);

$E_{\gamma 1} = 0.155$ MeV (15, 2%);

$E_{\gamma 2} = 0.633$ MeV (1, 27%);

$E_{\gamma 3} = 0.478$ MeV (1, 06%)。

(2) $\text{Na}^{188}\text{ReO}_4$ 洗脱液

化学状态: 注射用生理盐水淋洗发生器所得的 $\text{Na}^{188}\text{ReO}_4$ 为无色澄明溶液, 其放射性核 ^{188}Re 的纯度大于 99.9%, 铅含量小于 $5 \mu\text{g}/\text{ml}$, pH 值 4—7。

(3) 质量控制

$\text{Na}^{188}\text{ReO}_4$ 由注射用生理盐水淋洗发生器得到。采用 $\text{CRC}^{\text{R}}-15\text{PET}$ 多种核素测量仪测量 ^{188}Re 放射性活度。每次使用前, 将注射用生理盐水淋洗发生器所得的 $\text{Na}^{188}\text{ReO}_4$ 用核素活度测量仪测量, 以保证 ^{188}Re 使用活度剂量的准确性。

(4) 放化纯度

取适量的 ^{188}Re 洗脱液点于新华一号层析纸上, 以 0.9% NaCl 溶液为展开剂, 室温下按上行法展开 10 cm, $^{188}\text{ReO}_4^-$ 的 Rf 值为 0.65—0.85。

(5) 无菌及细菌内毒素检查

由于发生器使用期限较长, 按照中国药典规定

* 收稿日期: 2010-01-04; 修改日期: 2010-01-25

* 基金项目: 中国科学院西部之光人才培养计划项目; 甘肃省自然科学基金资助项目 (QS-041-C33-37)

作者简介: 董峰 (1957—), 男 (汉族), 湖北红安人, 主任医师, 从事临床核医学专业; E-mail: dfdongfeng@hotmail.com

方法每月定期检查 Na¹⁸⁸ReO₄ 淋洗液做无菌和细菌内毒素。如发现不合格,采用大量(100—200 ml)注射生理盐水淋洗发生器,直至收集的洗脱液无菌和细菌内毒素检查合格为止。

(6) ¹⁸⁸Re-S 标记

严格按照¹⁸⁸Re 硫混悬液药盒标准操作。

(7) 动物

昆明种小鼠,购自甘肃省医学科学研究院实验动物中心。小鼠体重(20±2)g,雌雄兼有。动物合格证号:SCXK(甘)2006-0010。

(8) 瘤株

小鼠肝癌 H₂₂,由中国科学院北京药物研究所购买。本所药理毒理实验中心传代保种。

(9) 肿瘤接种和分组

无菌条件下抽取小鼠腹水瘤液,用生理盐水稀释成 1×10⁷ cells/ml 的瘤细胞悬液,于每只小鼠右前肢皮下接种 0.2 ml。接种 7—8 d 时选瘤体生长良好、瘤体平均直径为 1.0—1.5 cm 的小鼠 50 只,随机分为 5 组,每组 10 只,见表 1。

表 1 分组及给药

组别	药物	放射性活度/mCi	注射药物体积/ml	平均体重/g	瘤体平均重量/g
A	模型对照组	生理盐水	0.2	20	1.24
B	¹⁸⁸ Re	0.1	0.2	20.5	1.15
C	¹⁸⁸ Re	0.2	0.2	20.8	1.20
D	¹⁸⁸ Re-S	0.1	0.2	20.7	1.21
E	¹⁸⁸ Re-S	0.2	0.2	20.9	1.26

(10) 给药

将 B, C, D 和 E 组小鼠瘤内中心分别注射 0.2 ml ¹⁸⁸Re 或 ¹⁸⁸Re-S 溶液;模型组注射等容积生理盐水。各组放射性活度见表 1。

1) 注射药后分 1—24 h 后,各组取 3 只小鼠取瘤称重,并分别测量每 g 瘤组织摄取放射性计数。计算¹⁸⁸Re 注入瘤体内 24 h 内照射吸收剂量。1 和 24 h 瘤体内放射性计数及放射性滞留率见表 2。剩余小鼠观察 14 d 后分别取小鼠瘤体进行病理学检测。

2) 瘤体内照射吸收剂量计算方法。本实验结果表明,瘤体内注入核素¹⁸⁸Re,瘤体组织内分布基本均

匀。根据公式^[7]:

$$D_{\beta} = 34.6(\sum \Delta_i)C_0 T_{\text{eff}}(\text{rad})。$$

此公式代表由于放射性核素¹⁸⁸Re 的核衰变和生物派出而全部消失所致的组织总 β 吸收剂量。D_β 为组织所接受到的 β 吸收剂量率,Δ_i 为放射性核素放出的第 i 种射线的平均吸收剂量常数,C₀ 为时间 t=0 时组织内 β 放射性核素的浓度(μCi/g),T_{eff} 为 β 放射性核素的有效半减期。

表 2 1 和 24 h 瘤体内放射性计数及放射性滞留率

时间/h	分组	放射性活度/mCi	瘤体放射性计数/(cpm/s)	24 h 瘤体内放射性滞留率(%)
1	空白组	生理盐水	543±5	—
	¹⁸⁸ Re	0.1	100885±318	100
	¹⁸⁸ Re	0.2	354972±376	100
	¹⁸⁸ Re-S	0.1	285764±663	100
	¹⁸⁸ Re-S	0.2	323894±646	100
24	空白组	生理盐水	536±5	—
	¹⁸⁸ Re	0.1	13086±12	12.97
	¹⁸⁸ Re	0.2	29724±31	11.19
	¹⁸⁸ Re-S	0.1	91379±16	31.97
	¹⁸⁸ Re-S	0.2	121995±142	37.66

由于¹⁸⁸Re-β射线的能量为 2.12 MeV,γ射线的能量为 155 keV,在治疗中以 β 射线发挥治疗作用,因此主要计算 β 射线吸收剂量。因此

$$\sum \Delta_i = 1.2223(\text{g} \cdot \text{rad}/\mu\text{Ci} \cdot \text{h})。$$

(11) 其余小鼠于给药后 14 d,剖取肿瘤用 8% 甲醛固定,常规制片,进行病理组织学检查。同时取少量肿瘤组织用 2% 戊二醛固定,树脂包埋,超薄切片,柠檬酸铅染色,电子显微镜观察。

3 实验结果

3.1 吸收剂量

瘤体内¹⁸⁸Re 照射吸收剂量见表 3,根据瘤体内照射吸收剂量计算方法:每小时¹⁸⁸Re 内辐射的 β 吸收剂量×24 h 瘤体内放射性滞留率。

表 3 瘤体内照射吸收剂量($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	药物	平均体重 /g	瘤体平均重量 /g	小时放射性活度 / μCi	C_0 值 / $(\mu\text{Ci/g})$	24 h 瘤体局部内照射 吸收剂量/rad(%)	24 h 瘤体局部内照射 吸收剂量/Gy
A	对照组	20	1.24	—	—	—	—
B	^{188}Re	20.5	1.15	0.1×10^3	86.96	52590.78×12.97	68.21
C	^{188}Re	20.8	1.20	0.2×10^3	166.67	100797.02×11.19	112.79
D	$^{188}\text{Re-S}$	20.7	1.21	0.1×10^3	82.64	49978.19×31.97	159.78
E	$^{188}\text{Re-S}$	20.9	1.26	0.2×10^3	158.73	95995.14×37.66	361.52

3.2 HE 染色后光镜观察结果

(1) 模型组

瘤细胞生长旺盛, 细胞体积, 核染色深大小不一, 病理核分裂相比较多, 脂肪和横纹肌组织内有很多浸润生长的肿瘤细胞, 肿瘤内新生微血管丰富(见图 1 和图 2)。



图 1 模型组(HE $\times 100$)治疗后 7 d

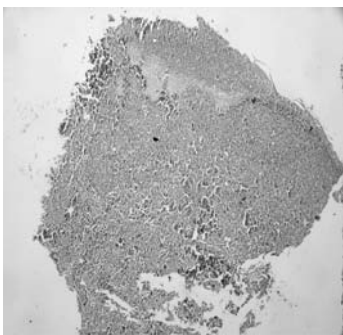


图 2 模型组(HE $\times 100$)治疗后 14 d

(2) 治疗组

瘤组织生长受到不同程度的抑制, 瘤细胞生长稀疏, 微血管减少, 坏死区由瘤组织外周向中心渐进。其内见脂肪组织, 瘤细胞巢及巢间有坏死, 瘤周围和间质内有许多淋巴细胞浸润(见图 3 和图 4)。

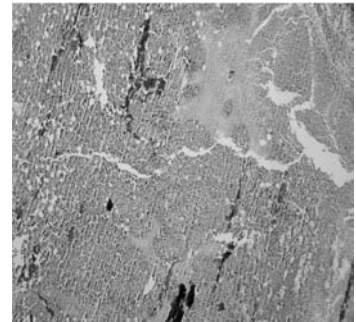


图 3 Re-S(HE $\times 100$)治疗后 7 d

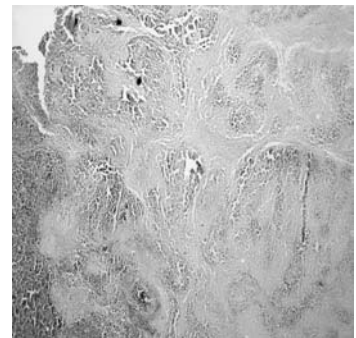


图 4 Re-S(HE $\times 100$)治疗后 14 d

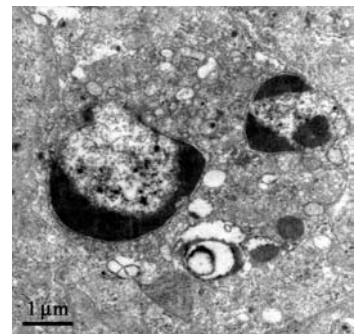


图 5 $^{188}\text{Re-S}(0.1 \text{ mCi})$

3.3 电镜观察结果

$^{188}\text{Re-S}(0.1 \text{ mCi})$ 小剂量组通过电镜扫描结果可

见肿瘤组织细胞凋亡小体，核染色质固缩凝结，形成高点子密度的斑块，呈新月形积聚在核膜周边(见图5和图6)。

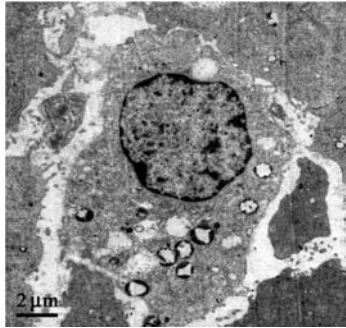


图6 $^{188}\text{Re-S}(0.1\text{ mCi})$

4 讨论与结论

通过 $^{188}\text{Re-S}$ 对 H_{22} 24 h ^{188}Re 瘤内照射，肿瘤组织中的放射性滞留率仍可达到30%以上(见表2)。当瘤内注射 $^{188}\text{Re-S}$ 放射性活度为0.2 mCi时，吸收剂量为361.52 Gy(见表3)。通过对病理组织学的观察，可见肿瘤组织生长受到抑制，瘤组织坏死区由外周向中心渐进。 ^{188}Re 发射的 β 射线能量适中，组织内照射射程短，最大组织射程1 mm，95%的 β 射线在4 mm范围内被吸收，对周围组织损伤小，适用于内照射治疗。

$^{188}\text{Re-S}$ 放射性活度为0.1 mCi时， $^{188}\text{Re-}\beta$ 射线内照射对小鼠肝癌 H_{22} 的细胞周期阻断能诱导 H_{22} 细胞凋亡。电镜扫描结果显示， $^{188}\text{Re-S}$ 导致的 H_{22} 细胞具有典型的细胞凋亡形态学特征。这表明， ^{188}Re 发射的 β 射线电离辐射能直接引起生物大分子的损伤，导致细胞凋亡，使癌肿组织遭到破坏，从而达到治疗肿瘤的目的。

将 $^{188}\text{Re-S}$ 置入肿瘤局部，可在肿瘤局部形成高活度放射性聚集区，起到靶向治疗肿瘤的效果，同时可减少全身用量，降低毒副作用。 ^{188}Re 同时发射的 γ 射线可用于显像。在治疗过程中，可以了解核素药物在体内的生物学分布情况，有效监控核素药物在肿瘤局部的滞留，便于临床上估算吸收剂量，进行药代动力学观察研究，在药效期内实时跟踪评价药物在病变部位的分布，以保证核素内照射过程中有效肿瘤辐照。

^{188}Re 是近年来推出的用于肿瘤治疗放射性核素

药物，半衰期为16.9 h，能发射最大能量2.12 MeV的 β^- 射线，其辐射作用一方面可直接引起生物大分子的损伤导致细胞凋亡，另一方面还可电离水分子，产生过氧化氢等氧自由基，间接加速细胞凋亡，利用 ^{188}Re 及其标记物进行肿瘤内照射治疗的机制正是基于此^[9]。国外学者研究结果表明， $^{188}\text{Re-S}$ 的颗粒度对肿瘤内的放射性滞留起了重要作用，放射性在肿瘤内2 d的保持率为90%，进而正常组织摄取的放射性很少，当肿瘤边缘，距离肿瘤中心0.5—0.6 cm的吸收剂量为507.6 Gy时，肿瘤抑瘤率可达到89%^[10]。随着 $^{188}\text{W-}^{188}\text{Re}$ 发生器的发展和扩大，新的 ^{188}Re 标记的放射性药物对一些肿瘤及肿瘤转移灶实施内照射治疗已取得了明显的疗效，且不会出现正常组织不可耐受、放射性损伤及毒副作用^[11]。因此放射性核素 ^{188}Re 可为肿瘤临床提供一种新的治疗方法和手段。

参考文献(References):

- [1] Yin Ruizhi, Yu Jufeng, Wang Yongxian. Nuclear Techniques, 2005, **239**(5): 347 (in Chinese).
(尹瑞祉, 于俊峰, 汪勇先. 核技术, 2005, **239**(5): 347.)
- [2] Yan Lvnan, Li Li, Chen Xiaoli. Chinese Journal of Surgery, 1996, **34**(9): 526(in Chinese).
(严律南, 李立, 陈晓理. 中华外科杂志, 1996. **34**(9): 526.)
- [3] Yu Jufeng, Yin Ruizhi, Min Xiaofeng, et al. Isotope, 1999, **12**(2): 74(in Chinese).
(于俊峰, 尹瑞祉, 闵小峰, 等. 同位素, 1999, **12**(2): 74.)
- [4] Yin Ruizhi, Min Xiaofeng, Wang Yongxian, Nuclear Techniques, 2000, **23**(5): 347(in Chinese).
(尹瑞祉, 闵小峰, 汪勇先. 核技术, 2000, **23**(5): 347.)
- [5] Zhao Yanling, Chen Yue. Medical Review, 2006, **12**(14): 879 (in Chinese).
(赵燕凌, 陈跃. 医学综述, 2006, **12**(14): 879.)
- [6] Commission of Science, Technology and Industry for National Defense(COSTIND). National Nuclear Trade Standard EJ/T 1163-2002 for $^{188}\text{W-}^{188}\text{Re}$ Chromatographic Generator(in Chinese).
(国防科学技术工业委员会. 中华人民共和国核行业标准 EJ/T 1163-2002 $^{188}\text{W-}^{188}\text{Re}$ 色层发生器.)
- [7] International Commission on Radiological Protection (ICRP) Publication 53. Beijing: Atomic Energy Press, 1991(in Chinese).
(国际放射防护委员会第53号出版物. 北京: 原子能出版社, 1991.)
- [8] Qing Minxiu, Diao Guoping. Interventional Nuclear Medicine. Tianjin: Tianjin Science and Technology Press, 1997, 11—14(in Chinese).

- (秦明秀, 刁国平主编. 临床介入核医学. 天津: 天津科学技术出版社, 1997, 11—14.)
- [9] Knapp Jr. *Cancer Biother Radiopharm*, 1998, **13**(5): 337.
- [10] Sun Sun. *Radiology Nuclear Medicine fascicle—Foreign Medical*, 2003, **27**(4): 151(in Chinese).
- (孙逊. 放射医学核医学分册——国外医学, 2003, **27**(4): 151.)
- [11] Shi Lehua, Zhang Zhifeng, Zhuang Daoling. *Chinese Journal of surgery*, 2002, **40**(11): 814(in Chinese).
- (施乐华, 张志峰, 庄道玲, 等. 中华外科杂志, 2002, **40**(11): 814.)

Investigation on Radiation Dose and Histopathological Evaluation of ^{188}Re inner Irradiation in Mouse Transplanted Tumor H_{22} *

DONG Feng^{1,1)}, GUO Hong-yun², MEI Shu¹, NIU Ji-guo¹

(1 *Nuclear Medicine Department of Gansu Academy of Medicine, Lanzhou 730050, China;*

2 Center of Pharmacology and Toxicology of Gansu Academy of Medicine, Lanzhou 730050, China)

Abstract: The retention of the radioactive nuclide ^{188}Re in tumor was measured in 1h and 24 h after injection of ^{188}Re and $^{188}\text{Re-S}$, respectively. The results indicate that the radionuclide remained in the tumor injected $^{188}\text{Re-S}$ was higher than that in the tumor of injected ^{188}Re . Pathology test results show that in the model group one can find obviously the rapid growth of tumor cells and rich tumor angiogenesis; in the treatment groups the tumor growth is constrained in different degrees, micro-vascular was less and the necrosis area was spreading from the periphery to the center of the tumor. Scanning the samples of the tumors treated by 0.1 mCi $^{188}\text{Re-S}$ injection by using SEM shows there is a lot of apoptotic bodies of tumor cells. The injection of $^{188}\text{Re-S}$ into the tumor can be an effective target treatment source for therapy to decrease the radiation dosage in whole body and to reduce the toxicity side effects.

Key words: ^{188}Re ; hepatocellular carcinoma; anti-tumor; internal radiation dose; histopathology

* **Received date:** 4 Jan. 2010; **Revised date:** 25 Jan. 2010

* **Foundation item:** Westen Light Talents Training Program of Chinese Academy of Sciences; Natural Science Foundation of Gansu Province (QS-041-C33-37)

1) E-mail: dfdonfeng@hotmail.com