

การติดฉลากและการประเมินผลการใช้ แอนติ-ซีดี 20-ไอโอดีน-131

ทางพรีคลินิก เพื่อนำมาใช้รักษามะเร็งต่อมน้ำเหลือง

อุษา กัลลประวิทย์^{1*} ปรานอม คงเพชร² ทิพนันท์ งามประหยัด² สุภัทรพงศ์ นวลชื่น²

¹กลุ่มงานวิชาการ สำนักงานปรมาณูเพื่อสันติ 16 ถนนวิภาวดีรังสิต จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

²ศูนย์ไอโซโทปรังสี สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ 16 ถนนวิภาวดีรังสิต จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

บทคัดย่อ

ในการศึกษานี้แอนติ-ซีดี20ได้รับการพัฒนาเพื่อนำมาใช้ในการรักษาโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลืองโดยใช้วิธีไอโอดีนในการติดฉลากกับไอโอดีน-131 จากการศึกษาพบว่าเวลาในการบ่มปฏิกิริยาไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์การติดฉลาก สามารถติดฉลากได้ความจำเพาะทางรังสีสูงถึง 10 มิลลิคูรี/มิลลิกรัม ความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีมากกว่า 95 % นาน 6 ชม.เมื่อเก็บที่ 4 °C การหลุดออกของไอโอดีนมีเพียงเล็กน้อยเมื่อทดสอบกับซิสเตอีนและพลาสมาที่ 37 °C การศึกษาในสัตว์ทดลองพบว่าการสะสมที่ตับ ไตและลำไส้สูงแต่ต่ำกว่าที่ทรวงอกเมื่อเปรียบเทียบกับไอโอดีน-131-เอ็มไอบีจี การสะสมที่ทรวงอกยังคงต่ำหลังการฉีด 48 ชม.ยืนยันความเสถียรของสารติดฉลากในร่างกาย เนื่องจากผลการกระจายตัวของสารติดฉลากในสัตว์ทดลองเป็นที่น่าพอใจ จึงคาดว่าสารเภสัชรังสีนี้จะสามารถนำมาใช้ในการรักษาโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลืองได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำสำคัญ: ไอโอดีน-131-แอนติ-ซีดี20, โรคมะเร็งต่อมน้ำเหลือง, ไอโอดีน

Radiolabeling and Preclinical Evaluation of ¹³¹I-anti-CD20 for Non-Hodgkin's Lymphomas Therapy

Usha Kullaprawittaya^{1*}, Pranom Khongpetch², Tippanan Ngamprayad², Suphatphong Nuanchuen²

¹Technical Executive Group, Office of Atoms for Peace, Chatuchak, Bangkok, 10900, Thailand

²Radioisotope center, Thailand Institute of Nuclear Technology, Bangkok 10900, Thailand

ABSTRACT

In this study, a monoclonal anti-CD20 was developed for radioimmunotherapy of non-Hodgkin's B-cell lymphoma by reacting anti-CD20 with iodine-131 using iodogen procedure. It was found that radiochemical yield was > 95 % independently of incubation time and the antibody could be conjugated with iodine-131 up to 10 mCi/mg. The radiolabeled antibody exhibited excellent retention of immunoreactivity with radioincorporations >95% for 6 hr at 4 °C. In vitro stability tests showed minimal loss of iodine-131 from the conjugate in the presence of cysteine and in human serum at 37°C. Biodistribution study in normal ICR mice showed higher uptake by the liver, kidney and intestines but lower thyroid uptake compared to ¹³¹I-MIBG. Biodistribution studies confirmed the in vitro stability of ¹³¹I-anti-CD20. In particular, excellent in vivo retention of iodine-131 was demonstrated by lower thyroid accumulation over 48 hr. A favorable biological distribution of ¹³¹I-anti-CD20 suggests this radiopharmaceutical may be effectively used in the therapy of non-Hodgkin's lymphoma.

Key words: ¹³¹I-anti-CD20, non-Hodgkin's lymphoma, Iodogen

บทนำ

มะเร็งต่อมน้ำเหลืองโดยทั่วไปแบ่งออกเป็น 2 ชนิดใหญ่ๆ คือ Hodgkin's disease (HD) และ Non-Hodgkin's lymphoma (NHL) NHL เป็นหนึ่งในมะเร็งที่แพร่กระจายรวดเร็วที่สุด การบำบัดรักษาตามมาตรฐานทั่วไปไม่สามารถรักษาให้หายขาดได้⁽⁴⁾ การตรวจที่สำคัญที่สุดคือ การตรวจชิ้นเนื้อเยื่อ ทำให้สามารถพยากรณ์โรคและแนวทางการรักษาที่เหมาะสมได้ เนื่องจาก มี signaling pathways มากมายเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนรูปแบบเซลล์ของเซลล์มะเร็ง จึงมีการคิดค้นพัฒนากลยุทธ์ในการรักษาโรคเหล่านี้ด้วยการปิดกั้นการทำงานของโมเลกุลเฉพาะที่ส่งสัญญาณ โดยเชื่อว่าการรักษาด้วยวิธีนี้จะให้ผลดีกว่าการรักษาแบบดั้งเดิมด้วยเคมีและรังสี รูปแบบการรักษาแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับการผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดีเฉพาะที่จะไปถอนฤทธิ์ของ growth factors หรือขัดขวางปฏิกิริยาการจับตัวของลิแกนด์และรีเซพเตอร์ หรือใช้รีเซพเตอร์โมโนโคลนอล หรือ growth factors ขนส่งสารพิษ เช่น ทอกซิน หรือ สารรังสี ไปยังเซลล์มะเร็งที่มีรีเซพเตอร์มากผิดปกติ วิธีนี้เป็นวิธีที่สะดวกเพื่อนำส่งสารเคมีที่ใช้ในการรักษาไปยังตำแหน่งของมะเร็งภายในเซลล์มะเร็งนั้น ประสิทธิภาพของการรักษาด้วยวิธีนี้ขึ้นอยู่กับความเฉพาะเจาะจงและความแตกต่างของรีเซพเตอร์บนเซลล์มะเร็งและเซลล์ปกติ⁽²⁾ การรักษาด้วยโมโนโคลนอลแอนติบอดี จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาได้เนื่องด้วยสามารถกำหนดเป้าหมายในการรักษาได้เฉพาะเจาะจงมากยิ่งขึ้น

มะเร็งต่อมน้ำเหลืองของบีเซลล์ (B-cell lymphoma) เป็นหนึ่งในเป้าหมายในกลุ่มแรกที่มีลักษณะพิเศษเฉพาะในการรักษาแบบ immunotherapy เนื่องจากบนผิวของ B-cell lymphoma จะมีรีเซพเตอร์ที่เรียกว่า CD20 อยู่มากมายบนผิวของมะเร็งต่อมน้ำเหลือง ซึ่งจะกระตุ้นให้ภูมิคุ้มกันเข้าโจมตีเซลล์มะเร็งและบางครั้งทำให้เซลล์มะเร็งทำลายตัวเอง การค้นพบนี้ทำให้การรักษามะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิด Non-Hodgkin's Lymphoma (NHL) ซึ่งเป็นมะเร็งชนิดที่รักษาได้ยากมากเป็นไปได้⁽³⁾

โดยใช้แนวคิดการติดฉลากแอนติบอดีซีดี-20 (anti-CD20) ด้วยสารรังสีชนิดบีตา เพื่อใช้ในการรักษาโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลืองชนิดนี้⁽¹⁾ เช่น การติดฉลากแอนติบอดีซีดี-20 ด้วยไอโอดีน-131 หรือ อิทเทรียม-90 (Y-90) ได้สารติดฉลาก ¹³¹I-anti-CD20 หรือที่รู้จักกันในชื่อ Bexxar และ ⁹⁰Y-anti-CD20 หรือที่รู้จักกันในชื่อ Zevalin ให้ผลในการรักษาเช่นเดียวกัน แต่เนื่องจาก I-131 ให้รังสีแกมมาด้วย จึงสามารถทำการถ่ายภาพเพื่อติดตามผลการรักษาได้ในคราวเดียวกัน ข้อเสียก็คือคนไข้จะต้องรอจนกว่าระดับรังสีในร่างกายลดลงในระดับที่ควบคุม ก่อนแพทย์จะอนุญาตให้กลับบ้านได้ ซึ่งจะเป็นปัญหาอุปสรรคหากโรงพยาบาลหรือศูนย์เวชศาสตร์นิวเคลียร์มีเตียงจำนวนจำกัด ข้อเสียอีกประการหนึ่งคือเมื่อฉีดเข้าร่างกาย I-131 มีแนวโน้มที่จะหลุดออกจากโมเลกุลของแอนติบอดี ทำให้ประสิทธิภาพในการทำลายเซลล์มะเร็งลดลงและไปเพิ่มการสะสมที่ต่อมไทรอยด์ ซึ่งสามารถลดให้น้อยลงได้ด้วยการให้สารป้องกันไทรอยด์กับคนไข้อย่างน้อย 24 ชม. ก่อนให้ยา⁽³⁾ อย่างไรก็ตาม

เนื่องจาก I-131 มีราคาถูกกว่า Y-90 มาก และสามารถผลิตได้เองภายในประเทศ ค่าใช้จ่ายในการผลิตจะไม่สูงมากเหมือนเช่น Zevalin ดังนั้นคาดว่าจะสามารถจำหน่ายให้แก่ผู้ใช้ได้ในราคาที่ถูกลงมาก โครงการวิจัยนี้จึงดำเนินการขึ้นเพื่อศึกษาวิจัยความเป็นไปได้ในการผลิตสารติดฉลากดังกล่าวและประเมินผลการใช้ทางฟิสิกส์คลินิกเพื่อประกอบการพิจารณาผลิตจำหน่ายเพื่อใช้ภายในประเทศต่อไป

วิธีการ

เทคโนโลยีหลักที่ใช้ในการวิจัยนี้คือนิวเคลียร์เทคโนโลยี(nuclear-based technology) การติดฉลากแอนติซีดี-20 ด้วยไอโอดีน-131หรือที่เรียกว่า Iodination โดยไอโอดोजีน (Iodogen) มีขั้นตอนดังต่อไปนี้

การติดฉลากแอนติซีดี-20 ด้วยไอโอดีน-131 (Radioconjugation of anti-CD20 with I-131)

1. การเตรียมหลอดเคลือบไอโอดोजีน (Preparation of iodogen coated tubes)

- ละลายไอโอดोजีน 3.2 มิลลิกรัม ในคลอโรฟอร์ม 3.2 มิลลิลิตร แบ่งใส่ในหลอดเอพเพนดรอฟท์ขนาด 1.5 มิลลิลิตรหลอดละ 200 ไมโครลิตร
- นำไปประเหยแห้งใต้สุญญากาศหลังจากนั้นเก็บรักษาไว้ในที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้งานต่อไป

2. การติดฉลากแอนติซีดี-20 ด้วยสารไอโซโทปรังสีไอโอดีน-131 (Radioiodination of anti-CD20)

- เติม 0.5 โมล ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.4 (60ไมโครลิตร) ลงในหลอดเคลือบไอโอดोजีนที่เตรียมไว้ข้างต้น ตามด้วยแอนติซีดี-20 (1 มิลลิกรัม, 100 ไมโครลิตร) และสารละลายไอโซโทปรังสีไอโอดีน-131 (1 มิลลิลิตร) บ่มปฏิกิริยาที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที
- หยุดปฏิกิริยาด้วยการดูดถ่ายสารละลายผสมดังกล่าวไปยังหลอดเอพเพนดรอฟท์ขนาด 1.5 มิลลิลิตรที่ไม่มีการเคลือบด้วยไมโครปิเปต ทำการควบคุมคุณภาพเพื่อหาเปอร์เซ็นต์การติดฉลากด้วยเทคนิค TLC (ITLC-SG ใน 0.9% NaCl)

ปริมาณรังสีของสารไอโอดีน-131 ที่เหมาะสมและเวลาในการบ่มปฏิกิริยา

(Optimum radioactivity and incubation time)

- ดำเนินการทดลองดังข้างต้นแต่ปรับเพิ่มความเข้มข้นรังสีเป็น 5, 10, 15, และ 20 มิลลิลิตร ควบคุมคุณภาพเพื่อหาเปอร์เซ็นต์การติดฉลาก นำค่าที่ได้มาเขียนกราฟระหว่างความเข้มข้นรังสี (activity) และเปอร์เซ็นต์การติดฉลาก (% labeling)

2. ดำเนินการทดลองดังข้างต้น แต่ปรับเปลี่ยนเวลาในการบ่มปฏิกิริยาจาก 0-120 นาทีที่ 4 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง ควบคุมคุณภาพเพื่อหาเปอร์เซ็นต์การติดฉลาก นำค่าที่ได้มาเขียนกราฟระหว่างเวลาในการบ่มปฏิกิริยา (incubation time, min) และเปอร์เซ็นต์การติดฉลาก (% labeling)

การศึกษาความคงตัวของสารติดฉลากภายนอกและภายในร่างกาย

(In vitro and in vivo stability of radioconjugated compound)

1. ความคงตัวภายนอกในร่างกาย (In vitro stability)

Cysteine Challenge

a) เตรียมสารติดฉลาก ^{131}I -anti-CD20 ความเข้มข้น 2.2 ไมโครโมล ใน 0.2 โมล ฟอสเฟตบัฟเฟอร์เซลินค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.2 (PBS, pH 7.2)

b) เตรียมสารละลายซิสเตอีนเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ใน 0.1 โมล ฟอสเฟตบัฟเฟอร์เซลินค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0

c) เตรียมสารละลายซิสเตอีนเจือจาง (1, 0.1, 0.01 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) จากสารละลายซิสเตอีนเข้มข้นที่เตรียมไว้ข้างต้น

d) นำสารละลายเจือจาง ^{131}I -anti-CD20 ที่เตรียมไว้ 90 ไมโครลิตร มาผสมกับสารละลายซิสเตอีนเจือจาง 12 ไมโครลิตร (อัตราส่วนซิสเตอีน : แอนติบอดี 500:1, 50:1 และ 5:1 ตามลำดับ) เก็บที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชม. ตรวจสอบความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีด้วย ITLC-SG ใน 0.9% NaCl นำค่าที่ได้มาเขียนกราฟระหว่าง % การแตกตัว (% dissociation) และอัตราส่วนระหว่างซิสเตอีน : แอนติบอดี (x:1)

Human Plasma

นำสารติดฉลาก ^{131}I -anti-CD20 ที่มีปริมาณแอนติบอดี 12 ไมโครกรัม (low dose) และ 300 ไมโครกรัม (high dose) มาบ่มในพลาสมา 1 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ 4 องศาเซลเซียส ทดสอบความคงตัวที่เวลา 1 ชม. (Day 0), 24 ชม. (Day 1), และ 48 ชม. (Day 2) ด้วย ITLC-SG ดังข้างต้น และ HPLC (gel exclusion column) นำค่าที่ได้มาเขียนกราฟระหว่าง % dissociation และเวลาที่ใช้บ่มปฏิกิริยา

2. ความคงตัวภายในร่างกาย (In vivo stability)

การกระจายตัวในสัตว์ทดลอง (Biodistribution in animal)

การศึกษาความเสถียรของสารติดฉลากในร่างกายสามารถทำได้โดยทำการป้องกันไทรอยด์ด้วย Lugol's solution 24 ชม. ก่อนฉีดสารรังสี ดังนี้

เตรียม Lugol's solution โดยละลายไอโอดีน 5 กรัมในน้ำ 100 มิลลิลิตร ตามด้วยโพแตสเซียมไอโอไดด์ (KI) 10 กรัม กวนจนละลายหมด หยดสารละลายที่ได้ 2-3 หยดลงในขวดน้ำสำหรับให้หนูดื่มตลอด 24 ชม. ก่อนนำมาฉีดด้วย ^{131}I -anti-CD20 ดังนี้

เตรียมสารละลาย ^{131}I -anti-CD20 ความเข้มข้น 1 มิลลิวรี/มิลลิลิตร ก่อนฉีดเข้าทางเส้นเลือดดำของหางหนู (ICR mice) ขนาดน้ำหนัก 20-30 กรัม ความแรงรังสีตัวละ 100 ไมโครคูรี ฆ่าหนูโดยให้ดมอีเทอร์ที่เวลา 1, 4, 24, และ 48 ชม. หลังการฉีด ($n=3$) เก็บปัสสาวะ เลือด และอวัยวะสำคัญต่าง ๆ น้ำหนักและวัดความแรงรังสีเพื่อวิเคราะห์การสะสมของสารรังสีที่อวัยวะต่างๆ คำนวณ % injected dose และ % injected dose/g (%ID/g) เปรียบเทียบกับ ^{131}I -MIBG ซึ่งเป็นสารติดตามการไอโซโทปรังสี I-131 เช่นเดียวกัน

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ปริมาณรังสี I-131 และเวลาที่เหมาะสมในการบ่มปฏิกิริยา ^{131}I -anti-CD20

จากการศึกษาพบว่าโปรตีน 1 มิลลิกรัม สามารถติดฉลากกับ I-131 ได้ถึง 10 มิลลิวรี โดยที่เปอร์เซ็นต์การติดฉลากยังคงสูงถึง 100% (30 นาทีหลังการติดฉลาก, Fig. 1) และยังคงไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส นาน 2 ชม. ในขณะที่เมื่อเก็บสารติดฉลากที่อุณหภูมิห้องสารสามารถเสถียรอยู่ได้นานประมาณ 100 นาที ก่อนที่จะพบการหลุดออกของ I-131 จากโมเลกุลของแอนติบอดี (Fig. 2)

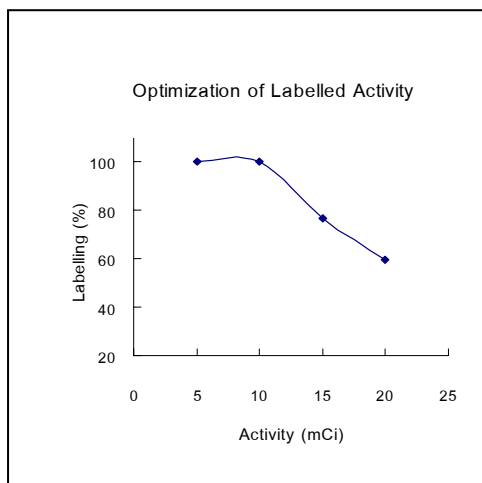


Fig. 1 Optimization of labeled activities

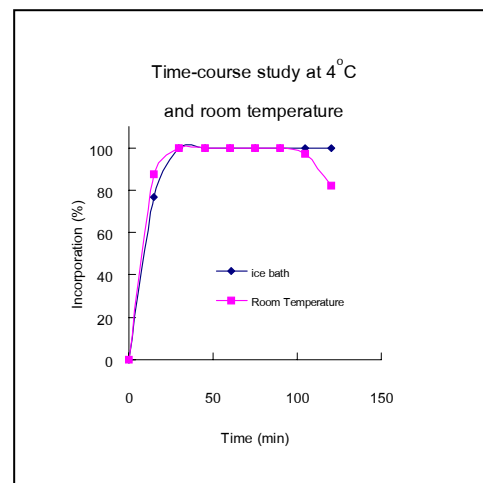
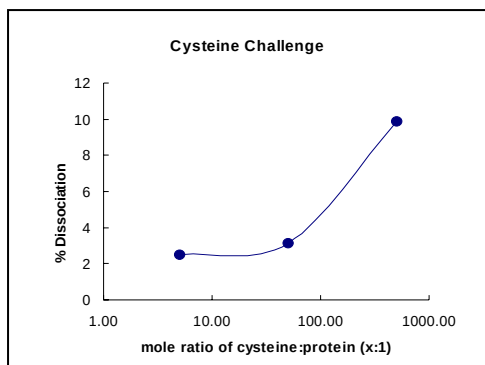


Fig. 2 Effect of incubation temperature and time-course study

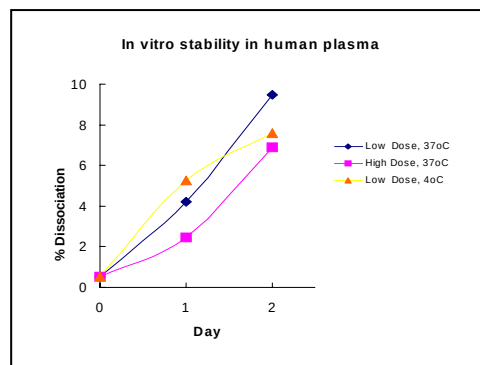
2. เสถียรภาพของสารติดฉลาก

เมื่อศึกษาต่อไปพบว่าสารติดฉลากจะมีเสถียรภาพสูงกว่าเมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส(ความบริสุทธิ์ทางเคมีรังสีสูงนาน 6 ชม.) ซึ่งเหมาะสมสำหรับการใช้งานทางคลินิก เมื่อตรวจสอบเสถียรภาพของสารติดฉลากในสถานะที่มีซิสเตอีนพบว่าสารติดฉลากจะมีการแตกตัวสูงเมื่อมีส่วนส่วนของซิสเตอีน: แอนติบอดีสูง (500:1) เท่านั้น (Fig. 3a) และพบว่ามีไอโอดีนหลุดออกจากโมเลกุลของแอนติบอดีไม่เกิน 5% หลังการบ่มในพลาสมานาน 24 ชม. ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ 4 องศาเซลเซียส การหลุดของไอโอดีนมีเพิ่มมากขึ้นเมื่อเก็บรักษาในสภาวะดังกล่าวถึง 48 ชม.แต่ยังคงน้อยกว่า 10% (Fig. 3b) แต่จากการตรวจสอบด้วย HPLC ไม่พบสารโมเลกุลทั้งขนาดเล็กและขนาดใหญ่เกิดขึ้นหลังการบ่ม 24 ชม. และ 48 ชม. เมื่อเปรียบเทียบกับในสถานะที่ไม่มีพลาสมา (Fig. 4) แสดงว่าสารติดฉลาก ^{131}I -anti-CD20 มีเสถียรสูงภายนอกในร่างกาย ดังนั้นจึงทำการฉีดสารติดฉลากดังกล่าวเข้าในสัตว์ทดลอง เพื่อศึกษาเสถียรภาพของสารติดฉลากภายในร่างกายต่อไป

เมื่อเปรียบเทียบการสะสมในอวัยวะต่างๆ ของสัตว์ทดลองกับ ^{131}I -MIBG หลังการ block ไทรอยด์ พบว่า ^{131}I -anti-CD20 มีการสะสมในอวัยวะสำคัญใกล้เคียงกับ ^{131}I -MIBG ยกเว้นที่ตับและไตซึ่งเป็นอวัยวะที่ทำหน้าที่สำคัญในการขจัดสารออกจากร่างกาย และมีการสะสมต่ำกว่าที่ไทรอยด์อย่างมีนัยสำคัญ หลังการฉีดตลอดช่วงเวลาการศึกษา มีการสะสมในเลือดสูงแต่ขจัดออกจากเลือดได้เร็วกว่า ^{131}I -MIBG (Table 1 และ 2, Fig. 5 และ 6)

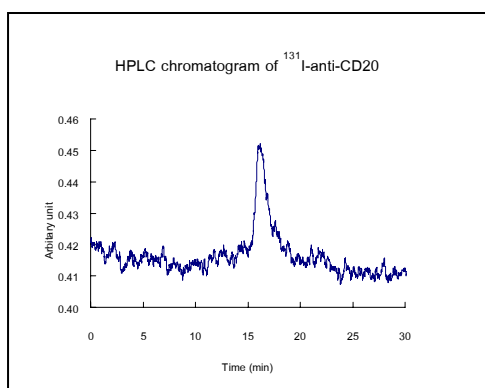


(a)

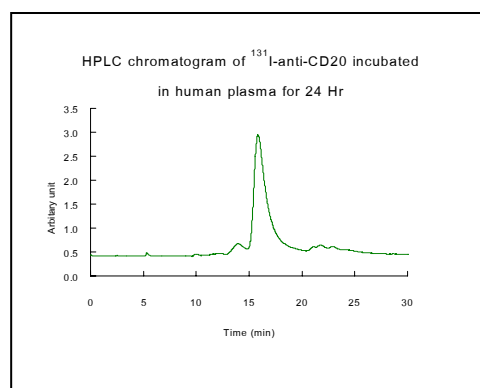


(b)

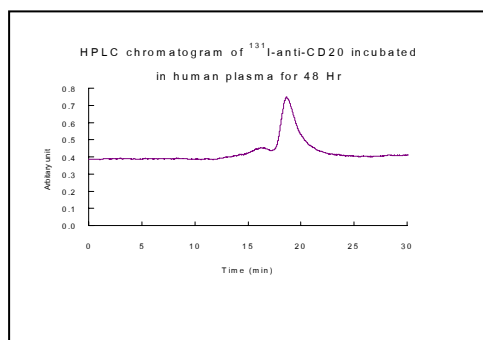
Fig. 3 Stability of ^{131}I -anti-CD20 in the presence of cysteine (a) and in human plasma (b)



(a)



(b)



(c)

Fig. 4 Chromatogram of radioconjugation ^{131}I -anti-CD20 without plasma (a) after incubation in human plasma for 24 hr (b) and 48 hr(c), respectively, neither shift to higher molecular weight of radioactive nor low molecular peak was detected from HPLC using Biosep-sec-s3000 column at flow rate of 0.6 ml/min

Table 1 Biodistribution of ^{131}I -anti-CD20 and ^{131}I -MIBG at 1 hr and 4 hr post injection with thyroid blocked.

Organ	%ID/g, 1 hr post injection (n=3)	
	^{131}I -anti-CD20	^{131}I -MIBG
Liver	4.59 $\pm$ 0.08	6.81 $\pm$ 0.78
Spleen	1.95 $\pm$ 0.60	5.00 $\pm$ 0.31
Kidney	2.64 $\pm$ 0.56	4.68 $\pm$ 0.55
Muscle	0.49 $\pm$ 0.07	1.33 $\pm$ 0.23
Bone	0.89 $\pm$ 0.28	1.73 $\pm$ 0.05
Lung	2.46 $\pm$ 0.41	8.09 $\pm$ 0.87
Heart	2.19 $\pm$ 0.81	11.51 $\pm$ 1.57
Blood	7.14 $\pm$ 2.51	1.91 $\pm$ 0.10
Urine	109.25 $\pm$ 85.03	121.82 $\pm$ 86.64
Stomach	8.42 $\pm$ 3.79	5.98 $\pm$ 1.20
Total GI	0.94 $\pm$ 0.11	1.86 $\pm$ 0.19
Thyroid	2.42 $\pm$ 1.32	8.00 $\pm$ 2.47

Organ	%ID/g, 4 hr post injection (n=3)	
	^{131}I -anti-CD20	^{131}I -MIBG
Liver	4.15 $\pm$ 0.31	3.44 $\pm$ 0.43
Spleen	1.23 $\pm$ 0.65	3.72 $\pm$ 0.81
Kidney	2.01 $\pm$ 0.14	2.40 $\pm$ 0.20
Muscle	0.21 $\pm$ 0.07	0.99 $\pm$ 0.16
Bone	0.61 $\pm$ 0.20	0.93 $\pm$ 0.18
Lung	2.03 $\pm$ 0.59	3.66 $\pm$ 0.31
Heart	1.69 $\pm$ 0.61	5.87 $\pm$ 0.44
Blood	5.19 $\pm$ 1.14	1.54 $\pm$ 0.23
Urine	107.10 $\pm$ 59.32	269.26 $\pm$ 223.57
Stomach	4.17 $\pm$ 1.66	5.27 $\pm$ 1.26
Total GI	0.85 $\pm$ 0.21	1.73 $\pm$ 0.14
Thyroid	4.45 $\pm$ 0.79	10.00 $\pm$ 0.80

Table 2 Biodistribution of ^{131}I -anti-CD20 and ^{131}I -MIBG at 24 hr and 48 hr post injection with thyroid blocked.

Organ	%ID/g, 24 hr post injection (n=3)	
	^{131}I -anti-CD20	^{131}I -MIBG
Liver	1.26 $\pm$ 0.42	1.10 $\pm$ 0.06
Spleen	0.53 $\pm$ 0.48	1.16 $\pm$ 0.25
Kidney	1.20 $\pm$ 0.34	0.81 $\pm$ 0.02
Muscle	0.21 $\pm$ 0.19	0.42 $\pm$ 0.06
Bone	0.18 $\pm$ 0.16	0.51 $\pm$ 0.11
Lung	1.78 $\pm$ 0.12	0.96 $\pm$ 0.12
Heart	1.25 $\pm$ 0.30	1.23 $\pm$ 0.15
Blood	3.22 $\pm$ 0.94	0.46 $\pm$ 0.05
Urine	13.49 $\pm$ 9.71	486.90 $\pm$ 323.26
Stomach	0.44 $\pm$ 0.38	8.29 $\pm$ 0.72
Total GI	0.34 $\pm$ 0.14	0.78 $\pm$ 0.14
Thyroid	2.76 $\pm$ 0.06	2.00 $\pm$ 0.20

Organ	%ID/g, 48 hr post injection (n=3)	
	^{131}I -anti-CD20	^{131}I -MIBG
Liver	0.74 $\pm$ 0.11	0.46 $\pm$ 0.07
Spleen	0.07 $\pm$ 0.13	0.61 $\pm$ 0.18
Kidney	0.38 $\pm$ 0.11	0.52 $\pm$ 0.09
Muscle	0.00 $\pm$ 0.00	0.20 $\pm$ 0.06
Bone	0.12 $\pm$ 0.15	0.13 $\pm$ 0.11
Lung	0.56 $\pm$ 0.40	0.41 $\pm$ 0.23
Heart	0.37 $\pm$ 0.43	0.99 $\pm$ 0.06
Blood	2.10 $\pm$ 0.04	0.35 $\pm$ 0.13
Urine	20.94 $\pm$ 23.47	103.84 $\pm$ 45.97
Stomach	0.14 $\pm$ 0.05	2.57 $\pm$ 0.72
Total GI	0.17 $\pm$ 0.01	0.41 $\pm$ 0.04
Thyroid	5.75 $\pm$ 3.45	6.00 $\pm$ 3.42

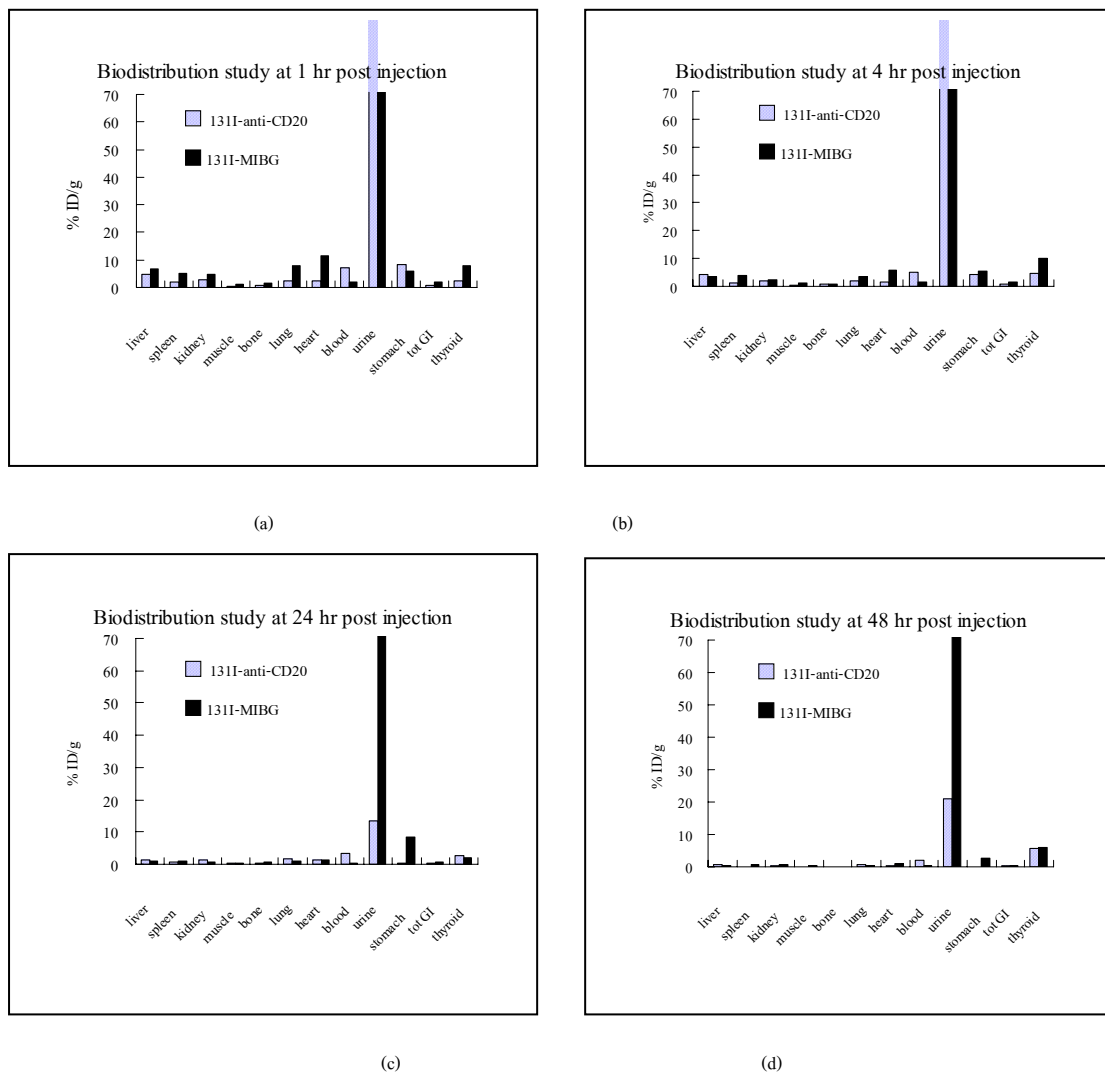


Fig. 5 Comparison of ¹³¹I-anti-CD20 and ¹³¹I-MIBG biodistribution in normal mice at 1, 4, 24, and 48 hr post injection (a, b, c, and d, respectively) with thyroid blockade

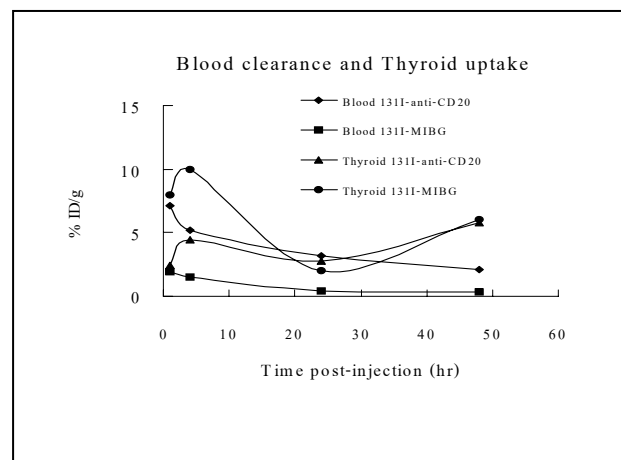


Fig. 6 Blood clearance and thyroid uptake of ¹³¹I-anti-CD20 compared to ¹³¹I-MIBG

สรุป

สามารถติดฉลากแอนติซีดี-20 กับสารรังสีไอโอดีน-131 ได้ผลมากกว่า 95 % ความเสถียรและความจำเพาะทางรังสี (specific activity) ของสารติดฉลากที่เตรียมได้ในขณะนี้คือ 10 มิลลิคูรี/มิลลิกรัม โดยที่สารติดฉลากสามารถงัดได้อย่างน้อย 6 ชม.เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ความเสถียรของ ^{131}I -anti-CD20 ทั้งภายนอกและภายในร่างกายสูงเป็นที่น่าพอใจ การหลุดออกของไอโอดีนจากโมเลกุลของแอนติบอดีซึ่งสามารถตรวจวัดได้จากการสะสมของสารกัมมันตรังสีที่ไทรอยด์ ^{131}I -anti-CD20 มีการหลุดออกของไอโอดีนต่ำกว่า ^{131}I -MIBG นอกจากนี้ยังพบว่าการสะสมของสารรังสีที่อวัยวะสำคัญต่ำกว่ามากเมื่อ block ไทรอยด์ก่อนการฉีดสารเภสัชรังสี การสะสมของ ^{131}I -anti-CD20 ที่ไทรอยด์วัดได้ 2.42%, 4.45%, 2.76%, และ 5.75% ที่ 1, 4, 24 และ 48 ชม.ตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่า ^{131}I -MIBG ในช่วงเวลาที่ศึกษา (8.00%, 10.00%, 2.00% และ 6.00%)

การศึกษาในครั้งนี้บรรลุตามวัตถุประสงค์ทุกประการ ได้สารเภสัชรังสีที่พร้อมใช้เพื่อประเมินผลทางคลินิกแล้ว 1 ผลิตภัณฑ์คือ ^{131}I -anti-CD20 โดยให้ block ไทรอยด์ 24 ชม. ก่อนการฉีดเพื่อลดผลข้างเคียงของสารเภสัชรังสีต่ออวัยวะสำคัญที่ไม่ใช่อวัยวะเป้าหมาย สำนักงานปรมาณูเพื่อสันติจะแจ้งไปยังหน่วยงานทางเวชศาสตร์นิวเคลียร์ที่เกี่ยวข้องและสนใจใช้ทราบเพื่อประเมินผลการใช้ทางคลินิกต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับเงินอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานปรมาณูเพื่อสันติและเงินอุดหนุนนักวิจัยใหม่จากสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ รหัสโครงการ F-313-145-210 ประจำปีงบประมาณ 2548

บรรณานุกรม

1. Belhocine, T, et al., 2002. Increased Uptake of the Apoptosis-imaging Agent 99mTc Recombinant Human Annexin V in Human Tumors after One Course of Chemotherapy as a Predictor of Tumor Response and Patient Prognosis. Clinical Cancer Research; 8: 2766-2774
2. Cancer Medicine, 2000, 6th Edition. BC Decker Inc.
3. Ken Garber, 2002. For Bexxar, FDA Meeting Offers Long-Awaited Chance at Approval. Journal of the National Cancer Institute, 94(23): 1738-1739.
4. Young JL, Ries LG, Silverberg E, et al., 1986. Cancer incidence, survival, and mortality for children younger than age 15 years. Cancer; 58: 598-602.