

肝素修饰¹²⁵I-尿激酶在小鼠体内的分布与潴留

王树岐 曹淑桂 程玉华* (吉林大学化学系, 长春 130023)

提要 用¹²⁵I示踪法对比研究了溴化氰活化肝素修饰尿激酶和天然尿激酶在小鼠体内的分布与潴留时间。修饰酶与天然酶一样, 主要分布于肝脏和肾脏, 在脾、肺、心脏中分布很少。修饰酶不仅完全保留了天然酶的活性, 而且明显地提高了在小鼠血液中的潴留率, 因此, 修饰酶在临床应用上可能疗效更高。

关键词 尿激酶; 肝素; 溴化氰; 组织分布; 碘放射性同位素

治疗血栓的特效药尿激酶, 由于不稳定和体内半衰期短等缺点, 使其应用受限。为了克服上述缺点, 我们用右旋糖酐及其磺酸酯⁽¹⁾、肝素⁽²⁾修饰尿激酶, 修饰酶完全保留了天然酶的活性, 在稳定性上优于天然酶。右旋糖酐^(1,3)及其磺酸酯⁽¹⁾修饰的尿激酶在小鼠血中的潴留率明显提高。本文用¹²⁵I示踪法对比研究溴化氰活化肝素修饰的尿激酶和天然酶在小鼠体内的分布及潴留率, 探索延长体内半衰期的机制。

材料与 方法

尿激酶 4.5万U/mg蛋白, 是分子量33 000和54 000的混合物, 吉林大学生物化学试验厂提供。

Na¹²⁵I 37 MBq/0.01 ml, 无载体, 含Na₂SO₃ 1 mg/ml, pH 8.0, 中国科学院原子能研究所生产。

Sephadex G-25和G-100 瑞典Pharmacia产品。

其它试剂均为AR。

放射性碘标记尿激酶的制备 按氯胺T法⁽⁴⁾标记尿激酶。反应液转移到Sephadex

G-25柱(1×20 cm)上, 用生理盐水洗脱, 1ml/10 min收集¹²⁵I-尿激酶(¹²⁵I-UK)部分。

将¹²⁵I-UK分为两份, 一份用于制备溴化氰活化肝素修饰的¹²⁵I-尿激酶(¹²⁵I-UK-Hep), 另一份用于动物实验作对照。

¹²⁵I-UK-Hep的制备 按文献⁽²⁾法。

小鼠实验 体重20±SD 1g, ♂。实验前2 d小鼠开始喂以含KI的水, 封闭甲状腺, 以防止甲状腺对放射性碘的特异性吸收。然后分为3组, 分别用Na¹²⁵I, ¹²⁵I-UK和¹²⁵I-UK-Hep处理。每个时间组用5鼠。尾静脉iv 12×10⁴ cpm/0.2 ml的¹²⁵I标记样品, 定时摘眼球取血, 解剖取心、肝、肾、肺、脾脏, 分别测定其放射性。测放射性用FH-454型自动定标器, FT-603井型γ闪烁探头。

结果与 讨论

尿激酶的¹²⁵I标记 尿激酶用氯胺T法标记¹²⁵I, 标记率达90%以上。用这种方法标记的尿激酶的溶纤活性没有下降⁽⁵⁾。标记后用Sephadex G-25凝胶过滤除去游离放射性碘。

两种尿激酶¹²⁵I标记物在小鼠血液中的变化 两种尿激酶¹²⁵I标记物, 在小鼠血中的变化如表1所示。天然尿激酶在血中的清除速率很快, 与文献的结果^(6,7)一致; 而用¹²⁵I-UK-Hep的潴留率比天然酶明显提高, p<0.05。从0至30 min的积分面积, 天然酶为406±48, 修饰酶为530±45, p<0.01。修饰酶较天然酶在血中有效作用时间延长了30.5%。

两种尿激酶¹²⁵I标记物在小鼠体内的动态变化 两种尿激酶样品(¹²⁵I-UK, ¹²⁵I-UK-Hep)经尾静脉注入后, 在各种器官中放射性变化如表1所示。天然尿激酶和修饰尿激酶通过

1984年1月23日收稿 1984年8月6日修回

* 白求恩医科大学冯延民、康熙雄、张培因, 吉林大学李逢春、张林衡、董庆发参加部分工作。

Tab 1. Radioactivities of ^{125}I -urokinase (UK) and ^{125}I -urokinase-heparin (UK-Hep) in mice ($\bar{x} \pm \text{SD}$, % amount of original injection) * $p > 0.05$, ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$

Time (min)	Blood		Spleen		Heart		Lung	
	UK	UK-Hep	UK	UK-Hep	UK	UK-Hep	UK	UK-Hep
1	34.0 \pm 5.6	45.3 \pm 0.8***	0.52 \pm 0.08	0.51 \pm 0.11	1.1 \pm 0.48	1.0 \pm 0.31	2.0 \pm 0.36	1.6 \pm 0.50
3	20.0 \pm 1.3	28.7 \pm 4.0***	0.48 \pm 0.12	0.35 \pm 0.13	0.51 \pm 0.14	0.45 \pm 0.03	1.48 \pm 0.21	1.20 \pm 0.14
10	10.0 \pm 1.9	13.0 \pm 1.8**	0.44 \pm 0.06	0.40 \pm 0.21	0.59 \pm 0.16	0.40 \pm 0.20	1.25 \pm 0.34	1.10 \pm 0.12
30	8.0 \pm 1.1	10.7 \pm 0.22***	0.49 \pm 0.08	0.36 \pm 0.19	0.36 \pm 0.13	0.36 \pm 0.12	0.90 \pm 0.14	0.91 \pm 0.12
50	8.7 \pm 0.8	8.7 \pm 0.68*	0.37 \pm 0.07	0.37 \pm 0.03	0.37 \pm 0.11	0.37 \pm 0.10	1.55 \pm 0.34	1.00 \pm 0.30
180	4.0 \pm 1.1	3.6 \pm 0.58*	0.17 \pm 0.09	0.13 \pm 0.10	0.17 \pm 0.06	0.03 \pm 0.13	0.69 \pm 0.10	0.26 \pm 0.10

血液循环主要进入肝脏和肾脏(图1),而在脾、心和肺中放射性分布极少。在肝和肾脏中,它们很快达到最大值,以后放射性开始下降,3h后残存无几。这些都表明修饰尿激酶同天然酶一样,在体内没有蓄积现象,有利于临床应用。

溴化氰活化肝素修饰的尿激酶在肝脏中的分布高于天然酶,而且作用时间也长(图1),从0到50min的积分面积,天然酶是476,修饰酶是601,修饰酶在肝脏中的分布较天然酶增加26.3%,可能是修饰酶含有共价结合的多糖——肝素,容易被肝组织定向吸收所致。

在肾脏中的分布,修饰尿激酶低于天然酶(图1),从0到50min的积分面积,天然酶

是491,修饰酶是399,修饰酶在肾脏中的分布较天然酶减少18.8%,这是由于修饰酶的分子量较天然酶大得多,不易透过肾小球滤过膜⁽¹⁾。肾脏是尿激酶的主要排泄器官,修饰酶经肾脏排泄较天然酶慢,可能是修饰酶在血中作用时间较长的主要原因。

前文⁽²⁾证明溴化氰活化肝素修饰的尿激酶完全保存了天然酶的溶纤活性,本文证明修饰尿激酶在小鼠血中的滞留率明显地较天然酶高,延长了尿激酶在体内的有效作用时间,因此可以估计溴化氰活化肝素修饰的尿激酶在临床应用上,将有更高的疗效。

参 考 文 献

- 1 程玉华、金凤鸾、张林衡,等。吉林大学自然科学学报 1983, (1):91
- 2 曹淑桂、程玉华。同上 1984, (1):122
- 3 伊贺善郎。日本特許公報 昭 54:113488
- 4 Greenwood FC, Hunter WM. *Biochem J* 1963, 89:114
- 5 Tajima H, Ishiguro J, Nonaka R, Kurita M, Tanaka S, Ogawa N. *Chem Pharm Bull* 1974, 22:727
- 6 Back N, Ambrus JL, Mink Jb. *Circ Res* 1961, 9:1208
- 7 Woodard WT, Day ED, Silver D. *Surgery* 1970, 68:692

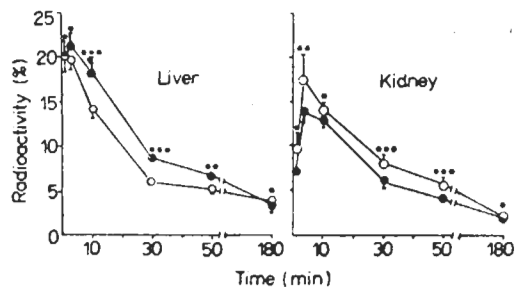


Fig 1. Radioactivities of ^{125}I -urokinase in liver and kidney. \circ --- \circ UK, \bullet --- \bullet UK-Hep. * $p > 0.05$, ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$.

DISTRIBUTION AND RETENTION OF ^{125}I -UROKINASE MODIFIED BY HEPARIN IN MICE

WANG Shu-qi, CAO Shu-gui, CHENG Yu-hua

(Dept Chemistry, Jilin Univ, Chang-chun 130023)

ABSTRACT The radioactivity of ^{125}I -urokinases which was either native or modified by heparin activated with bromine cyanide increased rapidly in liver and kidney, but without accumulation. Only traces were found in heart, lungs and spleen. The content of native ^{125}I -urokinase was higher in kidney, but lower in liver than that of the modified ^{125}I -urokinase.

Hence the urokinase modified by heparin not only possessed the same characteristics as the native one for fibrinolysis, but also prolonged the retention of urokinase in blood.

KEY WORDS urokinase; heparin; bromine cyanide; tissue distribution; iodine radioisotopes