

新造影制剂 $[^{125}\text{I}]\text{TABAC}$ 在肝组织细胞内的自显影定位分布

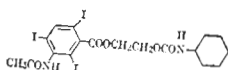
马远鸣 (上海第一医学院药理学系, 上海 200032)
药物研究所, 上海 200031) 罗梅初 童顺高

梅放 俞月桂 袁幸菊 (中国科学院上海
上海工业卫生研究所, 上海 200032)

提要 TABAC 混悬制剂是根据肝脏网状内皮系统吞噬外源性颗粒作用的原理而设计的新肝脏 X 线造影制剂, 本文用 $[^{125}\text{I}]\text{TABAC}$ 放射自显影法对大鼠肝组织进行细胞内药物定位分布研究. 1) 肝组织切片的自显影相上的银粒主要浓集在肝脏 Kupffer 细胞内及其周围, 从而直接确证上述“吞噬作用”的设计思想是成功的. 2) 给药后, 不同时相内 Kupffer 细胞含药阳性率的平均值与药物代谢动力学所测得的肝脏含药量-时间曲线的数据相比较, 两者相当符合. 提示自显影定位分布既显示静态情况, 又提供动态的讯息.

关键词 $[^{125}\text{I}]\text{TABAC}$ 混悬剂; 肝; 放射自显影; 枯否氏细胞.

作者根据“肝脏网状内皮系统吞噬外源性颗粒的作用”作为肝脏造影制剂的设计思想, 合成一系列新造影剂, 其中以 TABAC



的静注混悬剂, 毒性低, 显影效果佳. 临床试验图象清晰, 显影灵敏度较同位素扫描诊断为高. 1978 年进行大鼠体内药物代谢动力学研究, 表明 TABAC 颗粒能迅速浓集到肝脏, 间接地证实利用肝脏网状内皮系统吞噬作用, 设计肝脏造影制剂的设想是成功的⁽¹⁾, 但是尚缺直观的证据.

目前有关肝脏造影混悬剂在细胞内定位分布的报道不多⁽²⁻⁵⁾. 为了找寻上述“吞噬作用”的设计思想的直观证据, 本文用 $[^{125}\text{I}]\text{TABAC}$ 自显影法对大鼠肝脏组织进行细胞内药物定位分布试验.

试验方法

^{125}I 标记 TABAC 10 g TABAC 结晶溶于二甲基甲酰胺中, 加入 Na^{125}I 水溶液 (0.2 ml, 5 mCi) 于 80°C 进行 ^{125}I 交换标记反应. 待反应完毕, 经沉淀, 洗涤, 得晶体 $[^{125}\text{I}]\text{TABAC}$ 其 $R_f = 0.7$ 与标准 TABAC 样品相

同.

$[^{125}\text{I}]\text{TABAC}$ 混悬剂制备 将 $[^{125}\text{I}]\text{TABAC}$ 在含有 2% 豆磷脂的水溶液内经过超声波粉碎, 制备成粒径为 1 μm 左右的混悬剂.

大鼠放射自显影⁽⁶⁾ 大鼠 δ , 体重 99 \pm (SD) 6 g, 5 只一组, 分成小剂量 (250 mg/kg) 与大剂量 (1000 mg/kg) 各一批. 分别在 5 个不同间隔时间 iv $[^{125}\text{I}]\text{TABAC}$ 混悬液, 另外取 1 组大鼠 iv TABAC 混悬液, 作为对照. 在不同时相解剖取出肝脏, 用甲醛溶液固定 24 h, 经水冲洗后, 肝组织块进行冰冻切片, 片厚为 5—7 μm . 在暗室内将载玻片上组织切片涂一层薄的液体核-4 乳胶. 晾干, 放入暗盒内进行曝光后, 经显影、定影、染色、封固.

银粒计数法

1. 一定面积内银粒计数法 在一组大鼠内, 每只大鼠取 3 张切片, 400 倍光镜下, 每张切片上任意选取 5 个不同部位, 在目镜网状方格测微器总面积范围内分别计数黑色银粒数目, 求得总平均值, 作为每鼠切片的银粒平均值.

2. Kupffer 细胞内药粒阳性率计数法 用上述相同方式选取样本, 在每张切片上任意数读 100 个 Kupffer 细胞, 计数其中药粒阳性的细胞数, 取总平均值. 列在表 1, 2 中. 最后观察各时间的组织切片, 显微摄影.

结果与讨论

$[^{125}\text{I}]\text{TABAC}$ 在肝组织内选择定位 从图片 (1A-F) 中发现肝组织切片的自显影相片上, 由于受 $[^{125}\text{I}]\text{TABAC}$ 的 EC 衰变中所产生的 Auger 电子的作用而出现显影银粒, 呈浓黑

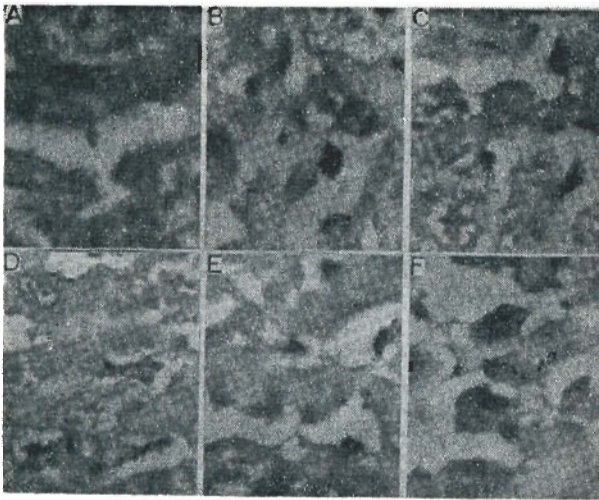


Fig 1. Autoradiography of liver in rats after iv $[^{125}\text{I}]$ TABAC (1000 mg/kg). A) After 25 s small amounts of Ag grains around Kupffer cells. B) After 30 min, a lot of Ag grains in and around Kupffer cells. C) After 1 h, a lot of Ag grains in and around Kupffer cells. D) After 6 h, less Ag grains in Kupffer cells. E) After 6 h, Ag grains were coagulated in anomalous forms.

色圆点，颗粒分明，粒径大多为 $0.7-1\ \mu\text{m}$ 。

观察不同给药时间的大量切片发现给药后 25 s 代表药物的银粒主要分布在 Kupffer 细胞内和血窦周围，数量很少，见图片 1 A。给药 30 min 后，银粒数目大大增加，它们主要集中在 Kupffer 细胞内部及血窦周围。见图片 1 B。给药后 1 h，银粒主要是大量集中在血窦附近的 Kupffer 细胞内外，见图片 1 C，但有少数切片还发现肝细胞内存在稀少的弥散性银粒，见图片 1 D。给药后 6 h，存留在 Kupffer 细胞内药粒的数量明显减少，见图片 1 E。给药 6 d 后，细胞内药粒更少，细胞内发现银粒凝结现象，见图片 1 F。

以上观察结果说明银粒主要浓集在肝脏 Kupffer 细胞内及其周围，呈现强烈的选择性定位，而肝细胞内除了少数切片发现稀疏弥散性银粒外，尚未发现肝细胞内有明显的浓集性银粒存在。显然，TABAC 混悬剂颗粒主要是被 Kupffer 细胞所吞噬，从而直接明确地证实上述“吞噬作用”作为肝脏造影制剂的设计思想

是成功的。正是由于“吞噬”与“释放”作用延长了造影剂在肝组织内的停留时间，增加蓄积浓度，有利于 X 线显影。同时亦证明使用国产核-4 乳胶，对 ^{125}I 自显影完全可以获得清晰银粒，满足细胞内药粒定位的要求。

作者还发现这种设想及其新剂型不仅可用于诊断性药物，而且亦适用于某些肝脏治疗性药物，如抗肝癌药喜树碱静注混悬剂^(1,7)。

细胞内银粒分布与药物代谢动力学数据的定量比较 银粒分布的定量计数结果列在表 1, 2 中。在表 1 中为使用两种不同剂量 (1000 mg/kg) 和 (250 mg/kg)，二者比值为 4。给药后 1 h，大剂量切片的细胞含药粒平均值与小剂量的切片中细胞含药粒平均值之比为 2.7, 3.1，而给药后 6 h 为 2.3, 2.9。这 4 个比值都较注入剂量的比值 4 为小，($P < 0.01$)。这可能由于药物进入体内以后，一般其消除速率为一级动力学，则大剂量的药物消除速率大于小剂量，结果出现大剂量与小剂量的切片中细胞含药粒之比就小于 4。这与药代动力学研究结果相符。

表 2 为 Kupffer 细胞含药的阳性率平均值与药代动力学中所测得的肝脏含药量-时间数据⁽¹⁾进行比较，从表中显示给药后不同时间

Table 1. Comparison between $[^{125}\text{I}]$ TABAC contents in liver and 2 doses: (1000 mg/kg)/(250 mg/kg) = 4. $N = 5$, $\bar{x} \pm \text{SD}$. P value compared with ratio 4, $P < 0.01$.

Time after iv	Dose (mg/kg)	Number of Ag grains	Ratio
1 h	1000	1037 ± 86	2.7 ± 0.6
	250	377 ± 50	
6 h	1000	349 ± 444	3.1 ± 0.8
	250	113 ± 16	
% of $[^{125}\text{I}]$ TABAC-positive Kupffer cells			
1 h	1000	44 ± 4.3	2.3 ± 0.4
	250	19 ± 1.1	
6 h	1000	29 ± 7	2.9 ± 0.9
	250	10 ± 1.7	

Table 2. The trend of [^{125}I]TABAC-positive Kupffer cells parallels to that of TABAC content (% of iv dose) in liver⁽¹⁾.

Time after iv	[^{125}I]TABAC-positive Kupffer cells	TABAC content in liver
15 s		8.0±0.8
25 s	6.4±0.5	
30 min	54±4.4	69±5.5
1 h	44±4.3	62±7.2
6 h	29±7.0	32±5.0

二者所对应的数据彼此相当接近, 出现摄取峰的时间亦相同, 在各个时相二者含量的升降趋势基本一致. 这是因为动力学中是测定整个肝脏总放射活性, 而自显影中测定 Kupffer 细胞含银的阳性率, 二者方法虽不相同. 但是, 由于肝小叶内到处分布着血窦, 而 Kupffer 细胞主要是分布在血窦内腔, 因而大量切片中 Kupffer 细胞含银阳性率的统计值大小与整个肝脏总放射量的多少基本上成正比关系. 结果使二者对应数据彼此趋向一致, 从而说明细胞

内药粒定位分布的研究, 既显示静态的情况, 又提供动态的讯息.

致谢 部分肝脏切片请上海第一医学院病理教研室钱元丁老师观察鉴定. 本文承蒙北京医学院生物物理教研室刘鼎新教授指正, 并承沈阳药学院顾学裘教授评阅.

参 考 文 献

- 1 马远鸣、梅 放、罗梅初、奚念朱、陈星荣. 药学报 1981 年 3 月; 16(3):218
- 2 Chaudhuri TK, Evans TC, Chaudhuri TK. *Radiology* 1973 Dec; 109(3):633
- 3 Hinkle GH, Born GS, Kessler WV, Shaw ST. *J Pharm Sci* 1978 Jun; 67(6):795
- 4 Koulisch S. *J Cell Biol* 1964 Oct; 23(1):39
- 5 Waddell WJ. *Annu Rev Pharmacol* 1973; 13: 153
- 6 Rogers AW ed. *Practical autoradiography*. 1st ed. Amersham: The Radiochemical Centre, 1979:22-56
- 7 上海药物研究所、上海医药工业研究院、上海第十制药厂、广西医学院附属医院. 科学通报 1977 年 12 月 15 日; 22(12):552

Acta Pharmacologica Sinica 1983 Mar; 4 (1) : 49—51

AUTORADIOGRAPHIC LOCALIZATION OF A NEW HEPATOGRAPHIC AGENT TABAC IN LIVER CELLS

MA Yuan-ming (Department of Pharmacy, Shanghai First Medical College, Shanghai 200032)

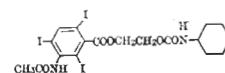
MEI Fang, YU Yue-gui, YUAN Xing-ju

(Shanghai Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031)

LUO Mei-chu, TONG Shun-gao (Institute of Industrial Hygiene, Shanghai 200032)

ABSTRACT The iv suspension of TABAC is a new hepatographic agent, designed by the authors, according to the phagocytosis of the reticulo-endothelial tissue. In this paper, we localized the distribution of suspension particles of [^{125}I]TABAC in rat liver by autoradiography. The silver grains produced by [^{125}I]TABAC were concentrated in and around Kupffer cells. This is a direct evidence to prove our design a successful one. The ratio of numbers of Ag

grains with 2 doses (3.1) was smaller than that of 2 initial doses (4). The values of [^{125}I]TABAC-positive Kupffer cells vs time (from 15 s to 6 d) coincided with that of TABAC content in liver vs time determined by a previous pharmacokinetic study.



KEY WORDS [^{125}I]TABAC suspension; liver; autoradiography; Kupffer cells