مجلـه دانشگـاه علـوم پـــزشکـی اردبیـل

دوره دوازدهم، شماره دوم، تابستان ۱۳۹۱، صفحات ۲۰۴ الی ۲۱۲

ارزیابی سیتوکسیمب نشاندار با لوتسیم ۱۷۷ برای کاربردهای درمانی

کمال یاوری*[1]، محمد قنادی مراغه[1]

[1] گروه رادیوشیمی، پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای، تهران، ایران

*نویسنده مسئول. تلفن: ۰۲۱۸۲۰۶۴۳۵۶ فاکس:۰۲۱۸۸۲۱۱۱۶ پست الکترونیک: kyavari@aeoi.org.ir

چکیده

زمینه و هدف: آنتی‌بادی منوکلونال سیتوکسیمب به گیرنده فاکتور رشد اپیدرمال متصل می‌شود، بنابراین امکان ایجاد روش‌های تشخیصی و درمانی از طریق این گیرنده را فراهم می‌آورد. در این مطالعه قابلیت سیتوکسیمب جهت تولید یک رادیوداروی جدید مورد بررسی قرار گرفت و تست‌های کنترل کیفی آزمایشگاهی و حیوانی به عنوان گام اول در تولید رادیوداروی جدید انجام شدند.

روش کار: سیتوکسیمب با استفاده از اولترا فیلتر -۱۵ آمیکون دیالیز و تغلیظ گردید. پس از تخلیص، آنتی‌بادی از طریق شلاتور حلقوی دوکاره، DOTA-NHS، با لوتسیم ۱۷۷ (^{177}Lu) نشاندار و با استفاده از ستون PD10 تخلیص گردید. خلوص رادیوشیمیایی و پایداری فراورده در بافر و سرم خون انسان با استفاده از کروماتوگرافی لایه نازک مشخص شدند. ژل الکتروفورز احیایی SDS-PAGE برای تایید ساختار آنتی بادی نشاندار با ایزوتوپ استفاده شد. مطالعات اولیه توزیع بیولوژیکی در موش های نرمال جهت تعیین توزیع کمپلکس رادیوایمنوکونژوگه به مدت ۷۲ ساعت انجام شد.

یافته ها: خلوص رادیوشیمیایی کمپلکس۱ ± ۹۸٪ بود. پایداری در بافر فسفات و در سرم انسان ۹۶ ساعت پس از تولید به ترتیب ۲ ± ۹۶٪ و ٤±۷۸٪ بود. تمامی نمونه ها، کنترل ها و آنتی بادی نشاندار، در ژل الکتروفورز الگوی حرکتی مشابه نشان دادند. توزیع بیولوژیکی سیتوکسیمب-DOTA- ^{177}Lu در موش نرمال بررسی شد و بالاترین درصد رادیواکتیویته دوز تزریق شده در هر گرم بافت (ID/g٪) در خون (۱/۳±۱۳٪ در ۲٤ ساعت) و کبد (۱/۳±۹/۱٪ در ۲٤ ساعت) مشاهده گردید.

نتیجه گیری: نتایج ما نشان می دهد که DOTA– سیتوکسیمب می‌تواند ضمن حفظ ساختار خود، در پایداری قابل قبول با ^{177}Lu نشان دار شود. کمپلکس جدید می‌تواند برای ارزیابی بیشتر در حیوانات و احتمالا به عنوان رادیوداروی جدید جهت رادیوایمنوتراپی سرطان ها در انسان در نظر گرفته شود.

کلمات کلیدی: سیتوکسیمب؛ رادیوایمنوتراپی؛ ^{177}Lu؛ DOTA-NHS.

دریافت: ۹۰/٤/۱٤ **پذیرش:** ۹۰/۱۰/۲۵

مقدمه

درمان هدفمند از مهمترین روش‌های درمان سرطان است. گیرنده فاکتورهای رشد، دسته مهمی از هدف‌های درمانی را تشکیل می‌دهند. آنتی‌بادی منوکلونال سیتوکسیمب[1] به گیرنده فاکتور رشد اپی‌درمال (EGFR)[2] به عنوان گیرنده فاکتور رشد متصل می‌شود و بنابراین امکان ایجاد پروتکل‌های درمانی و تشخیصی علیه این گیرنده را فراهم می‌نماید. گیرنده فاکتور رشد اپیدرمال یک پلی پپتید ۱۷۰ کیلودالتون بوده و از اعضای خانواده تیروزین کینازها است که در پرولیفراسیون، تمایز و بقای سلولی نقش حیاتی دارند [۱]. در سلول‌های نرمال، به ویژه سلول‌های با منشاء اپی‌تلیال، میزان بیان EGFR در محدوده ٤۰۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰۰ گیرنده به ازای هر

[1] Cetuximab (Erbitux)
[2] Epidermal Growth Factor Receptor

لطفا به این مقاله به شکل زیر ارجاع دهید:

Yavari K, Ghannadi M. Lutetium 177-Labeled Cetuximab Evaluation for Radioimmunotherapeutic Applications. J Ardabil Univ Med Sci. 2012; 12(2): 204-212. (Full Text in Persain)

www.SID.ir

سلول می‌باشد، در حالی که در سلول‌های سرطانی این میزان بیان ۲×۱۰^{۶} گیرنده به ازای هر سلول گزارش شده است [۲]. گیرنده در سرطان‌های پانکراس (۵۰-۳۰٪)، کولون (۷۷-۲۵٪)، سر و گردن (۱۰۰-۸۰٪)، ریه (۸۰-۴۰٪)، کلیه‌ها (۹۰-۵۰٪) و بسیاری از سرطان‌های دیگر بیان می‌شود. افزایش بیان EGFR با مهار آپوپتوز، پیشرفت چرخه سلول، رگ‌زایی، حرکت سلول و متاستاز همراه بوده و منجر به وخیم‌تر شدن فنوتیپ بدخیمی و پیش آگهی بد بیماری می‌شود [۵-۲]. به همین دلایل، EGFR یک هدف جذاب و مهم در درمان‌های هدفمند محسوب می‌شود. استراتژی‌های به کار رفته علیه این گیرنده شامل مولکول‌های کوچک مهارکننده تیروزین کینازها و آنتی‌بادی‌های منوکلونال بوده است [۹-۶]. یکی از رویکردهای جدید روش رادیوایمنوتراپی می‌باشد و سیتوکسیمب میدان مطالعاتی یک سری از روش‌های تصویربرداری و کنترل بیماری، بیان EGFR، و انتخاب بیمار برای انجام محاسبات دزیمتری در درمان‌های رادیوایمنوتراپی بوده است.

اگر چه رادیونوکلیدهای مختلفی پتانسیل استفاده در رادیوایمنوتراپی را دارند، ولی با در نظر گرفتن خواص فیزیکوشیمیایی، هزینه‌های جانبی، نیمه عمر، دسترسی و تولید آسان مشاهده می‌شود که در مقایسه با ایزوتوپ‌هایی مثل ید ۱۳۱ (^{۱۳۱}I) و ایتریوم ۹۰ (^{۹۰}Y)، ^{۱۷۷}Lu از خواص درمانی و تشخیصی بهتری برخوردار است.

Perk و همکارانش در سال ۲۰۰۸ سیتوکسیمب را با ایزوتوپ‌های ایتریوم ۹۰، زیرکونیم ۸۹ و لوتسیم ۱۷۷ نشاندار نموده و برخی خواص آنها را تحت یک سری شرایط مطالعه کردند [۷،۱۰،۱۱].

در این تحقیق لوتسیم-۱۷۷به عنوان رادیونوکلید جهت نشاندارسازی سیتوکسیمب انتخاب گردید و سعی بر این شد که با بهینه کردن شرایط و به کارگیری شلاتور دیگر، سیتوکسیمب به صورت یک رادیو ایمنوکونژوگه تولید و آزمایش‌های فیزیکوشیمیایی، کنترل کیفی در محیط آزمایشگاهی (In vitro) و داخل بدن حیوان (In vivo) به عنوان اولین قدم در تولید یک رادیوداروی جدید مورد ارزیابی قرار گیرد.

روش کار

تولید ^{۱۷۷}Lu: ^{۱۷۷}Lu در راکتور تحقیقاتی تهران (قلب رآکتور و بهترین موقعیت) با پرتودهی نوترونی (γ و n) اکسید لوتسیم ۱۷۶، $^{۱۷۶}Lu_۲O_۳$، (خریداری شده از کمپانی TRACE آمریکا با درصد خلوص شیمیایی بیشتر از ۹۹٪) تولید شد. پس از پرتودهی کپسول $^{۱۷۶}Lu_۲O_۳$ به مدت ۵ روز در جریان $۱۰^{۱۳}n/Cm^۲$ ×۳-٤، به مدت ۲ روز سرد شد و سپس در محلول ۰/۲ مولار HCl حل گردید.

تهیه آنتی بادی: محلول سیتوکسیمب (۲mg/mL) با استفاده از اولترافیلتر آمیکون (میلی پور، MWCO؛ ۳۰۰۰۰) شستشو شد. جهت نمک‌زدایی و تعویض بافر، محلول سه بار با بافر کونژوگه (بافر بیکربنات ۰/۲ میلی‌مول و pH=۹/۲) شستشو شد. غلظت نهایی آنتی بادی ۱۰mg/mL گردید.

تهیه کونژوگه سیتوکسیمب-DOTA-NHS: DOTA-NHS[1] (در نسبت مولی ۱۲۰) در ۰/۵ میلی‌لیتر بافر بیکربنات حل گردید. سیتوکسیمب (۵mg/۰/۵mL) در بافر بیکربنات به طور آهسته به محلول DOTA-NHS اضافه و به طور آرام به مدت ٢٤ ساعت در دمای اتاق مخلوط گردید. واکنش کونژوگه‌سازی با اضافه کردن بافر آمونیوم استات (۰/۲۵ میلی مول و pH= ۵/۵) و سپس سانترفیوژ به اتمام رسید. کونژوگه حاصل با استفاده از همین بافر در ستون اولترافیلتر- ۱۵، ۳ تا ۵ بار شستشو شد تا اینکه غلظت محلول فیلتر شده در بیوفتومتر در

[1] N-Succinimidyl-1,4,7,10-Tetraazacyclododecane-1,4,7,10-Tetra- Acetic acid

Archive of SID

www.SID.ir

طول موج ۲۸۰nm مساوی صفر گردید. ایمنوکونژوگه حاصل در ٤ درجه سانتی‌گراد ذخیره شد.

تعیین میانگین نسبت مولی شلاتور به آنتی بادی: جهت تعیین تعداد گروه‌های شلاتور به ازای هر آنتی بادی روش اسپکتروفتومتری پی پین به کار رفت. تعداد شلاتور به ازای هر آنتی بادی توسط تیتراسیون کمپلکس Cu (II)-Aresenazo مشخص گردید [۱۲].

نشاندار سازی با رادیوایزوتوپ: ^{177}Lu کلراید (۲-۳mCi) در حجم ۲۰-۱۰ میکرولیتر HCl ۰/۲ مولار به ۰/۵ میلی‌لیتر بافر آمونیوم استات اضافه شد، سپس کونژوگه سیتوکسیمب- DOTA-NHS (۱mg) به آن اضافه و به آرامی مخلوط گردید. کمپلکس در ٤۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت انکوبه گردید و در آخر EDTA (۱۰ میلی مول، و در نسبت حجمی ۱ به ۹ حجم نمونه) به کمپلکس اضافه کرده و به مدت ۱۵ دقیقه دیگر در بن ماری انکوبه گردید. کمپلکس سیتوکسیمب -DOTA - ^{177}Lu NHS حاصل در ستون‌های ژل فیلتراسیون PD_{10} توسط بافر PBS تخلیص شد.

آزمایشات کنترل کیفی

تولید و خلوص ^{177}Lu: خلوص رادیونوکلیدی ^{177}Lu با استفاده از اسپکتروفتومتر گاما HPGe[1] کنترل گردید.

خلوص رادیوشیمیایی: کارآرایی نشاندارسازی با استفاده از کروماتوگرافی لایه نازک (TLC)[2] با استفاده از نوارهای واتمن شماره ۱ و بافر DTPA[3] (۱۰ میلی مول) به عنوان حلال ارزیابی گردید (شکل ۱).

پایداری سیتوکسیمب نشاندار با ^{177}Lu: نمونه‌های ۱میلی‌لیتری از سرم خون تازه انسانی تهیه گردید. به هر کدام از نمونه‌ها ۱۰۰µg /۱۰۰µCi ^{177}Lu-DOTA-سیتوکسیمب اضافه کرده و در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. پایداری نمونه‌ها در ساعت‌های۰، ۲٤، ٤۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از انکوباسیون، با استفاده از TLC مشخص گردید. برای بررسی پایداری فراورده در شرایط ٤ درجه سانتی‌گراد، دمای اتاق و بافر فسفات روش مشابه با سرم به کار رفت.

بررسی ساختار فراورده رادیوایمنوکونژوگه: احتمال وقوع تغییرات ساختاری در سیتوکسیمب در اثر نشاندارسازی با ایزوتوپ با استفاده از SDS-PAGE بررسی گردید.

مطالعات توزیع بیولوژیکی: جهت بررسی توزیع بیولوژیکی نرمال فراورده، ۱۰۰µCi/۱۰۰µL از سیتوکسیمب-^{177}Lu-DOTA یا ^{177}LuCL$_3$ به موش‌های نرمال با وزن ۳۵g-۲۵ از طریق ورید دم تزریق گردید. موش‌ها در ساعت‌های ۰، ۲، ۲٤، ٤۸، و ۷۲ پس از تزریق، بی‌هوش شده و از آنها خونگیری به عمل آمد. سپس بافت‌های مختلف آنها جدا شده و درصد رادیواکتیویته دوز تزریق شده به ازای هر گرم بافت (ID/g%) با استفاده از سیستم HPGe اندازه گیری گردید.

روش آماری: روش آماری به کار رفته در این مطالعه One Way ANOVA و نرم افزار SPSS.13 بود. در تمامی آزمایش‌ها مقادیر $p<$ ۰/۰۵ به عنوان نتیجه یا تفاوت آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد و نتایج به صورت میانگین انحراف معیار بیان گردیده است.

یافته ها

تولید ^{177}Lu: رادیونوکلید ^{177}Lu با فعالیت ویژه ۳-۲ mCi/µg تولید شد و در بررسی خلوص رادیونوکلیدی آن به مدت چند روز با استفاده از سیستم آشکارساز HPGe، ناخالصی ثبت نگردید.

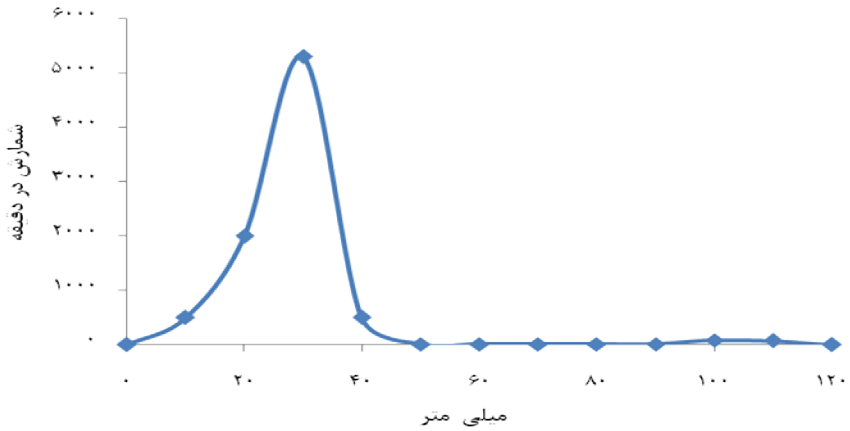
[1] High-Purity Germanium
[2] Thin Layer Chromatography
[3] Diethylenetriamine Penta-Acetic Acid

Archive of SID

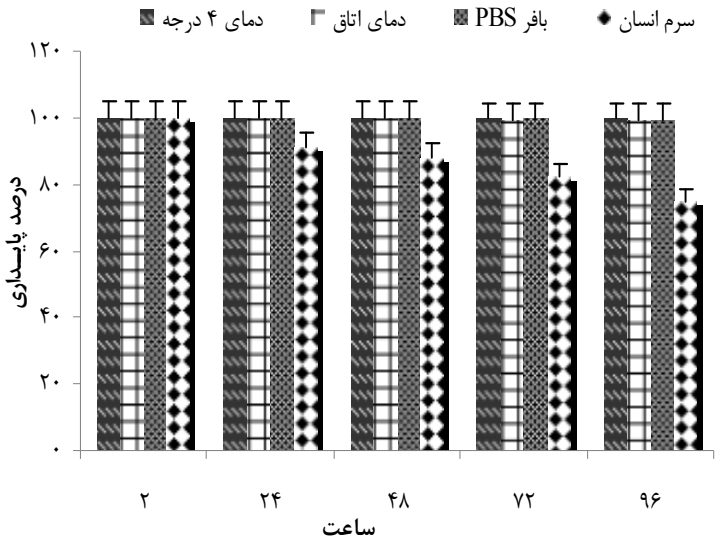
www.SID.ir

خلوص رادیوشیمیایی: خلوص رادیوشیمیایی به دست آمده در روش TLC نشان داد که بالاترین اکتیویته در قسمت پایین کاغذ قرار دارد (شکل۱). خلوص رادیوشیمیایی فراورده یک ساعت پس از انکوباسیون، ۱±۹۸٪ بدست آمد.

پایداری سیتوکسیمب-^{177}Lu-DOTA: نتایج فراورده تا ۹۶ ساعت پس از نشاندارسازی، بیش از ۹۷٪ پایداری داشت. پایداری فراورده در شرایط ذکر شده، تفاوت معنی‌داری نشان نداد ($p>0/05$). همچنین پایداری نمونه در سرم خیلی خوب بود. به طوری که تا ۷۲ ساعت پس از انکوباسیون تفاوت معنی‌داری در مقایسه با پایداری در دیگر شرایط



شکل ۱. خلوص رادیوشیمیایی فراورده با استفاده از کروماتوگرافی لایه نازک. شمارش ها از قطعات مختلف کاغذ ثبت شده است و بیشترین شمارش مربوط به سیتوکسیمب-^{177}Lu-DOTA در محل لکه گذاری می باشد.



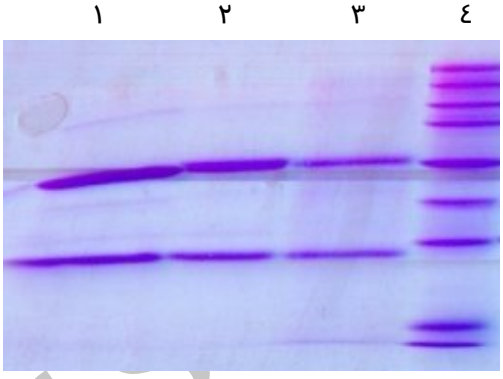
شکل ۲. پایداری In vitro سیتوکسیمب-^{177}Lu-DOTA پس از نگهداری در شرایط مختلف

پایداری آنتی‌بادی نشاندار شده با انکوباسیون نمونه در دمای اتاق، ٤ درجه سانتی گراد، و بافر فسفات در زمان‌های مختلف در شکل ۲ نشان داده شده است.

نشان نداد، هر چند که با گذشت زمان اندکی کاهش در پایداری آن مشاهده گردید ($p>0/05$).

www.SID.ir

آزمایش تایید ساختار سیتوکسیمب: نمونه‌ها توسط SDS-PAGE آنالیز شدند. همانطوری که در شکل ۳ دیده می‌شود کونژوگه کردن و نشاندار کردن سیتوکسیمب با ایزوتوپ تغییری در ساختار مولکول سیتوکسیمب ایجاد نکرده است (شکل ۳).

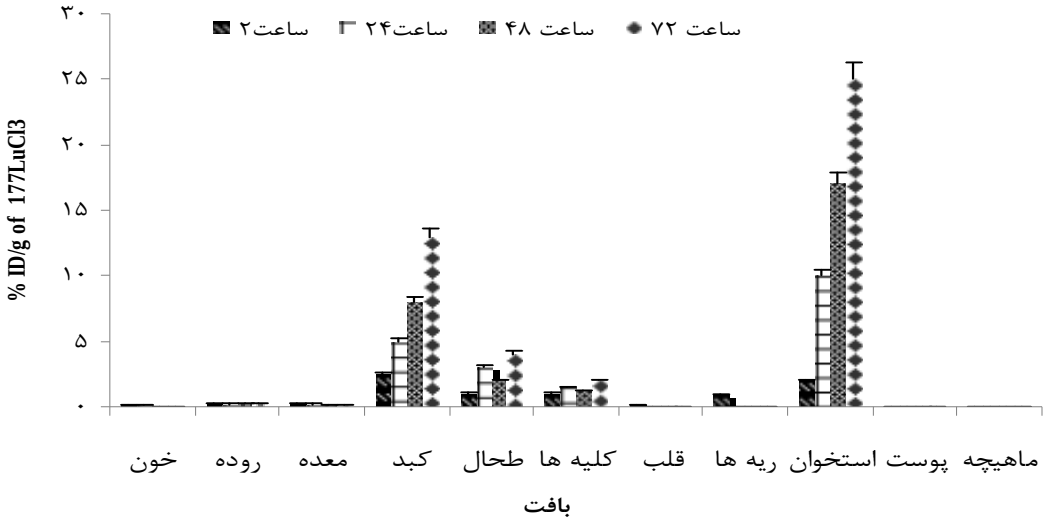


شکل ۳ . ژل الکتروفورز برای بررسی صحت ساختار سیتوکسیمب: ۱-سیتوکسیمب طبیعی ۲-کونژوگه سیتوکسیمب ۳- سیتوکسیمب ^{177}Lu-DOTA-NHS- ٤- سایز مارکر پروتئینی

مطالعات توزیع بیولوژیکی: توزیع سیتوکسیمب ^{177}Lu-DOTA-NHS- یا $^{177}LuCL_3$ در بافت‌های موش‌های نرمال مطالعه شد. در ساعت‌های مختلف پس از تزریق، از موش‌ها خونگیری به عمل آمد و سپس اندام‌های آنها تشریح گردیدند. شکل ٤ توزیع بیولوژیکی $^{177}LuCL_3$ را نشان می‌دهد. بالاترین درصد برداشت $^{177}LuCL$ در استخوان و کبد مشاهده گردید و ارگان‌های دیگر نسبت به آنها برداشت قابل ملاحظه‌ای نداشتند ($p< ۰/۰۵$). شکل ۵ توزیع بیولوژیکی فراورده سیتوکسیمب -NHS- ^{177}Lu-DOTA را نشان می‌دهد. بالاترین ID/g% فراورده در خون (۱/۳±۱۳/۲٪) و کبد (۱/۳±۹/۱٪) در ۲٤ ساعت پس از تزریق مشاهده گردید ($p< ۰/۰۵$) و در مقایسه با این ارگان‌ها، سایر بافت‌ها برداشت قابل ملاحظه‌ای نشان ندادند ($p> ۰/۰۵$).

بحث

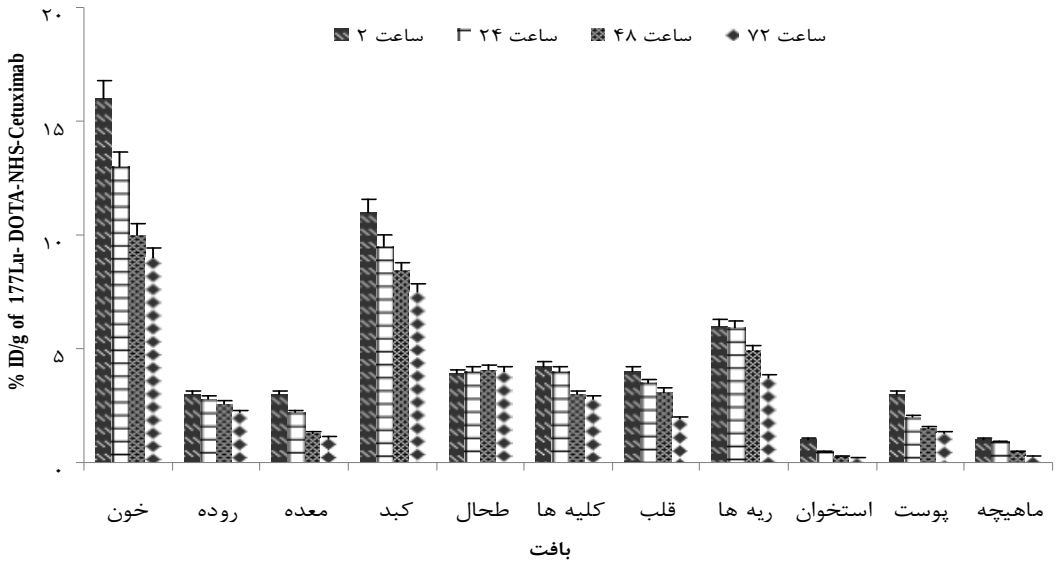
استفاده از آنتی‌بادی‌های منوکلونال علیه گیرنده فاکتورهای رشد موضوع تحقیق بسیاری از گروه‌ها بوده است. به علاوه، بسیاری از این آنتی بادی‌ها در درمان‌های بالینی استفاده می‌شوند که از جمله آنها استفاده از هرسپتین (آنتی-ErbB-2)، اربیتوکس و کتامیکس (آنتی EGFR) برای درمان بیماران با بیماری متاستاز پیشرفته، مورد تایید واقع شده است.



شکل ٤. توزیع بافتی $^{177}LuCl_3$ در موش نرمال. مقادیر به صورت میانگین درصد دز تزریق شده به ازای هر گرم بافت می باشد (%ID/g, n =۳)

www.SID.ir

بنابراین مدارک زیادی جهت استفاده بالقوه چنین آنتی‌بادی‌هایی به عنوان حامل‌های ایزوتوپی و



شکل ۵. توزیع بافتی سیتوکسیمب-^{177}Lu-DOTA در موش نرمال. مقادیر به صورت میانگین درصد دوز رادیواکتیویته تزریق شده به ازای هر گرم بافت می باشد(۳= n ,ID/g%)

توکسین وجود دارد [۹-۶].

در این مطالعه، برای اولین بار، یک رادیوداروی جدید طراحی و کنترل کیفی شد. رادیونوکلید در راکتور تحقیقاتی تولید و در بررسی توسط سیستم HPGe ناخالصی مشاهده نشد. جهت نشاندارسازی، ابتدا سیتوکسیمب تخلیص و دیالیز شده و با DOTA-NHS کونژوگه گردید. جهت بهینه کردن نشاندارسازی، محدوده وسیعی از نسبت‌های غلظت مولار آنتی بادی به شلاتور مورد مطالعه قرار گرفت. بر اساس روش پی‌پین [۱۲] مشخص شد مولکول آنتی بادی در یک نسبت مولی ۱:۱/۳ به طور محکم به شلاتور چسبیده است. این نسبت مولی به دست آمده و اتصال محکم شلاتور، می‌تواند دلیلی بر بهینه بودن شرایط نشاندارسازی از قبیل انتخاب بافر مناسب، تخلیص بهتر آنتی‌بادی، و انتخاب مناسب دما، زمان و دیگر عوامل مؤثر بر کونژوگه‌سازی و نشاندارسازی باشد.

کل نشاندارسازی سیتوکسیمب-DOTA-NHS-^{177}Lu در حدود ۱ ساعت طول کشید و خلوص رادیوشیمیایی فراورده ۱±۹۸٪ بود.

کمپلکس سیتوکسیمب-^{177}Lu-DOTA-NHS در شرایط مختلف از جمله سرم انسانی پایدار بود و خلوص رادیوشیمیایی بالایی داشت. این پایداری ممکن است نشان دهنده این باشد که ایزوتوپ آزاد وجود ندارد و این نتیجه، ذخیره آن را مناسب می‌سازد.

جهت مطالعه توزیع بیولوژیکی، فراورده نهایی همراه با لوتسیم آزاد به موش‌ها تزریق شدند و به مدت ۲ الی ۷۲ ساعت توزیع و برداشت آنها در بافت‌های مختلف موش‌ها مقایسه گردید. نتایج نشان دادند که ^{177}LuCL$_3$ بیشتر در استخوان و کبد تجمع پیدا می‌کند که دلیل احتمالی این امر می‌تواند به ترتیب به خاطر مسیر تجمع و نفوذپذیری بالای آن در این اندام‌ها باشد. همچنین برداشت کبدی احتمالا به خاطر تجمع کاتیونی ^{177}Lu آزاد می‌باشد. اندام‌های دیگر برداشت واضحی نداشتند. در مقابل، مقدار زیادی از کمپلکس سیتوکسیمب-DOTA-NHS-

Archive

www.SID.ir

^{177}Lu در خون باقی ماند. پس از خون، کبد بالاترین ID/g% (۹/۱±۱/۳٪) را داشت. برداشت قابل ملاحظه توسط کبد احتمالا به خاطر مسیر دفعی سیتوکسیمب می باشد [۱۱،۱۲].

همان طوری که در شکل ۵ مشاهده می‌شود، برداشت فراورده در سایر بافت‌ها نسبت به کبد کمتر بوده و بیشترین میزان ID/g %، ۲٤ ساعت پس از تزریق دیده می‌شود که با گذشت زمان به تدریج کاهش می‌یابد. برداشت کم کمپلکس توسط استخوان نشان می‌دهد که کمپلکس پایدار می‌باشد؛ چرا که لوتسیم آزاد در استخوان تجمع می‌یابد.

همان‌طوری که پیشتر ذکر گردید سیتوکسیمب با ایزوتوپ‌های مختلف نشاندار شده است. تعدادی مطالعات مشابه در این زمینه وجود دارد. مطالعات انجام گرفته توسط Perk و همکاران برای نشاندارسازی سیتوکسیمب توسط ایتریوم-۹۰، زیرکونیوم -۸۹ نتایج تقریبا مشابهی را با نتایج مطالعه ما ارائه می‌نماید [۷،۱۰،۱۱].

از طرف دیگر مقایسه نتایج تحقیق ما با برخی مطالعات دیگر از جمله نتایج به دست آمده از مطالعه نشاندارسازی سیتوکسیمب با ایندیم کلراید ۱۱۱، نشان می‌دهد که فراورده ما از پایداری بیشتری برخوردار است که دلایل احتمالی این اختلاف می‌تواند بیهنه بودن شرایط کار و همچنین به کارگیری شلاتور DOTA-NSH در مطالعه ما به جای شلاتور DTPA در مطالعه مورد مقایسه باشد [۱۱].

در اکثر مطالعات (هم در مطالعه ما و هم در مطالعات مشابه انجام شده توسط دیگر محققان)، سیتوکسیمب توزیع بیولوژیکی بالایی را در خون نشان می‌دهد و فراورده رادیواکتیو از طریق مسیر کبدی متابولیزه می‌شود [۷،۱۰،۱۱].

نتیجه گیری

نشاندارسازی سیتوکسیمب به منظور تولید رادیوداروی هدفمند از طریق شلاتور DOTA-NHS با ^{177}Lu در ساختار آنتی‌بادی اثری نداشته و می‌توان از روش مورد مطالعه برای تولید رادیوداروهای دیگر بر اساس ایمنی استفاده کرد. این مطالعه قابلیت سیتوکسیمب را به عنوان کونژوگه رادیواکتیو مفید جهت استفاده در درمان و تشخیص طیف وسیعی از سرطان‌ها و دیگر ناهنجاری‌های دارای افزایش بیان EGFR نشان می‌دهد.

تشکر و قدردانی

بودجه این تحقیق از محل اعتبارات پژوهشی پژوهشگاه علوم وفنون هسته ای به طرح مصوب ۱۰-۸۹ مورخ ۸۹/۹/۱۶ تامین گردیده است و از بابت حمایت مالی از پژوهشگاه فوق تشکر وقدردانی می شود.

References

1- Salomon DS, Brandt R, Ciardiello F, Normanno N. Epidermal growth factor-related peptides and their receptors in human malignancies. Crit Rev Oncol Hematol. 1995 Jul; 19(3):183-232.
2- Harding J, Burtness B. Cetuximab: An epidermal growth factor receptor chemeric human-murine monoclonal antibody. Drugs Today. 2005 Feb; 41(2):107-127.
3- Kim ES, Khuri FR, Herbst RS. Epidermal growth factor receptor biology (imcc225). Curr Opin Oncol. 2001 Nov; 13:506-513.
4-Herbst RS, Shin DM. Monoclonal antibodies to target epidermal growth factor receptor-positive tumors: A new paradigm for cancer therapy. Cancer. 2002 Mar; 94:1593-1611.
5- Harari PM. Epidermal growth factor receptor inhibition strategies in oncology. Endocr Relat Cancer. 2004 Dec; 11(4):689-708.
6-Brenner TL, Adams VR. First MAb approved for treatment of metastatic breast cancer. J Am Pharm Assoc. 1999 Mar-Apr; 39(2): 236 -238.

Archive of SID

www.SID.ir

7- Milenic DE, Wong KJ, Baidoo KK, Ray GL, Garmestani K, Williams M, et al. Cetuximab: Pre-clinical evaluation of a monoclonal antibody targeting EGFR for radioimmunodiagnostic and radioimmunotherapeutic applications. Cancer Biother Radiopharm. 2008 Oct; 23(5): 619–631.
8- Goldenberg DM. Advancing role of radiolabeled antibodies in the therapy of cancer. Cancer Immunol Immunother. 2003 May; 52(5): 281- 296.
9- Rustamzadeh E, Low WC, Vallera DA, Hall WA. Immunotoxin therapy for CNS tumor. J Neurooncol. 2003 Aug-Sep; 64(1-2):101-16.
10- Rades D, Wolff C, Nadrowitz R, Breunig C, Schild SE, Baehre M, et al. Radioactive EGFR antibody cetuximab in multimodal cancer treatment: Stability and Synergistic effects with radiotherapy. Int J Radiation Oncolo Biol Phys. 2009 Nov; 75 (4): 1226-1231.
11- Perk LR, Visser GWM, Vosjan MJWD, Walsum MSL, Tijink BM, Leemans CR, et al. ^{89}Zr as a PET surrogate radioisotope for scouting biodistribution of the therapeutic radiometals 90Y and 177Lu in tumor-bearing nude mice after coupling to the internalizing antibody cetuximab. J Nucl Med. 2005 Nov; 46(11): 1898-1906.
12-Pippin CG, Parker TA, McMurry TJ, Brechbiel MW. Spectrophotometric method for the determination of a bifuctional DTPA ligand in DTPA-monoclonal antibody conjugates. Bioconjugates Chem. 1992 July; 3(4):342-345.

Archive of SID

www.SID.ir

Lutetium 177-Labeled Cetuximab Evaluation for Radioimmunotherapeutic Applications

Yavari K*[1]; Ghannadi M[1]

[1]Department of Radiochemistry, Nuclear Science and Technology Research Institute (NSTRI), Tehran, Iran.

* Corresponding Author. Tel:+982182064356 Fax: +982188221116 E-mail: kyavari@aeoi.org.ir

Received: 4 July 2011
Accepted: 15 January 2012

ABSTRACT

Background & Objectives: The monoclonal antibody cetuximab binds to EGFR and thus provides an opportunity to create both imaging and therapeutic modalities that target this receptor. The potential of cetuximab as a radioimmunoconjugate was investigated and quality control tests (in vitro and in vivo) were performed as a first step in the production of a new radiopharmaceutical.

Methods: Cetuximab solution was dialyzed and concentrated using an Amicon Ultra-15 filter. Purified antibody was labeled with lutetium-177 using the acyclic bifunctional chelator, DOTA-NHS, and radioimmunoconjugates were purified by PD10 columns. Radiochemical purity and stability in buffer and human blood serum were determined using thin layer chromatography. Integrity of the radiolabeled complex was checked by SDS-PAGE. Preliminary biodistribution studies in normal mice model performed to determine radioimmunoconjugates distribution up to 72h.

Results: The radiochemical purity of the complex was 98±1%. The stabilities in phosphate buffer and in human blood serum at 96 hours post-preparation were 96±2 % and 78±4%, respectively. All of the samples, controls and radiolabeled antibodies, showed a similar pattern of migration in the gel electrophoresis. Biodistribution of Lu^{177}-cetuximab was evaluated in normal mice and the highest ID/g% was observed in the blood (13.2±1.3% at 24 hours) and the liver (9.1±1.3% at 24 hours).

Conclusion: Our results show that DOTA-cituximab can be labeled with 177Lu. Lu177-cetuximab has sufficient stability and retains its integrity. The new complex could be considered for further evaluation in animals and possibly in humans as a new radiopharmaceutical for use in radioimmunotherapy of cancers.

Key words: Cetuximab; Radioimmunotherapy; ^{177}Lu; DOTA-NHS

Archive of SID

www.SID.ir