

## CD45 单抗介导的淋巴瘤荷瘤裸鼠三步法预定位放免显像

李贵平\*, 汪 兵, 黄宝丹, 杜 丽, 池晓华, 黄 凯, 张 辉, 郑文莉  
(南方医科大学南方医院核医学科, 广东 广州 510515)

**摘要:**【目的】评价生物素化 CD45 单抗介导的  $^{99m}\text{Tc}$ -生物素在人 Raji 细胞移植瘤裸鼠模型中三步法预定位放免显像的价值。【方法】CD45 单抗及 DTPA-生物素的  $^{99m}\text{Tc}$  标记采用直接标记法。取人 Raji 细胞移植瘤裸鼠 18 只, 随机分为 2 组, 每组 9 只。实验组为三步法预定位放免显像组, 静注生物素化 CD45 单抗 100  $\mu\text{g}$ , 48 h 后静注亲和素 200  $\mu\text{g}$ , 再过 48 h 静注  $^{99m}\text{Tc}$ -生物素 7.4 MBq (20  $\mu\text{g}$ ); 对照组为  $^{99m}\text{Tc}$ -CD45 单抗放免显像组, 静注  $^{99m}\text{Tc}$ -CD45 单抗 100  $\mu\text{g}$ 。上述两组裸鼠分别于注药后 3、6、12 h 分别进行 SPECT 显像, 每个时间点各取 3 只裸鼠断颈处死后, 取脏器组织及肿瘤, 称重后在  $\gamma$  计数器中测量放射性计数, 经放射性衰变校正后计算各脏器的 %ID/g 及肿瘤/非肿瘤 (T/NT) 比值。【结果】平均每分子 CD45 单抗约结合 12 分子生物素, CD45 单抗及 DTPA-生物素的  $^{99m}\text{Tc}$  标记率分别 >70% 和 >80%。三步法给药后荷瘤裸鼠 SPECT 显像及生物分布示: 整个显像期间血池内放射性均较低, 肝脾见较多放射性浓聚; 注射标记物后 3-6 h, 肿瘤显影清晰, 并持续到 12 h; 注药后 3、6 和 12 h 肿瘤的 %ID/g 分别为  $1.73 \pm 0.22$ 、 $1.24 \pm 0.03$  和  $0.94 \pm 0.07$ ; 肿瘤/血液比值分别为 3.5、4.9 和 7.8; 肿瘤/肌肉比值分别为 8.2、8.9 和 10.4。而静注  $^{99m}\text{Tc}$ -CD45 单抗后则可见肝脾及肾脏明显放射性聚集, 12 h 血池内见较多放射性分布, 肿瘤部位见有少量放射性集聚, 12 h 肿瘤的 %ID/g 为  $0.89 \pm 0.13$ , 肿瘤/血液及肿瘤/肌肉的比值分别为 1.6 和 2.5。【结论】与  $^{99m}\text{Tc}$ -CD45 单抗相比较,  $^{99m}\text{Tc}$ -生物素三步法预定位放免显像明显改善肿瘤 T/NT 比值, 标记物注射后 3 h 即可使肿瘤显影。

**关键词:** 预定位技术; 亲和素-生物素系统; CD45 单抗; 放射性标记; 淋巴瘤

**中图分类号:** R817 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-3554(2014)01-0127-05

### Three-step Pretargeted Radioimmunoimaging in Nude Mice Bearing Human B Cell Lymphoma by CD45 Monoclonal Antibody

LI Gui-ping\*, WANG Bing, HUANG Bao-dan, DU Li, CHI Xiao-hua, HUANG Kai, ZHANG Hui, ZHENG Wen-li

(Department of Nuclear Medicine, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China)

**Abstract:** 【Objective】 To evaluate the value of three-step pretargeting radioimmuno imaging (RII) in nude mice bearing human B cell lymphoma by CD45 monoclonal antibody (mAb). 【Methods】 The radiolabeling of DTPA-biotin and CD45 mAb with  $^{99m}\text{Tc}$  was performed with direct method. 18 nude mice with implanted lymphoma by subcutaneous injection of Raji cells were randomly divided into two groups (9 per group). The first group was the three-step pretargeting RII in which first 100  $\mu\text{g}$  of the biotinylated CD45 mAb was injected, followed by 200  $\mu\text{g}$  avidin and finally received 7.4 MBq (20  $\mu\text{g}$ ) of the  $^{99m}\text{Tc}$ -biotin. Another group was the RII received 7.4 MBq (20  $\mu\text{g}$ ) of the  $^{99m}\text{Tc}$ -CD45 mAb. All nude mice were imaged at 3, 6, and 12 h post-injection, and then immediately sacrificed for biodistribution study. The tissue and organ samples were collected, weighed and counted. Uptake of radioactivity in the tumor and normal tissues and organs was expressed as %ID/g and the ratio of tumor to normal tissue. 【Results】 The labeling ratio of  $^{99m}\text{Tc}$ -biotin was over 80% and for  $^{99m}\text{Tc}$ -CD45 mAb over 70%. In group of three-step pretargeting it was showed that there were the some radioactivity depositing in liver and spleen and less radioactivity retention in blood during the whole imaging. However for transplant tumor the tumor was clearly imaged at 3-6 h post-injection. It was also observed that the accumulation of radioactivity in tumor increased as time, and even at 12 h the tumor still be clearly imaged. The %ID/g of tumor at 3, 6, 12 h post-injection was  $1.73 \pm$

收稿日期: 2013-04-09

基金项目: 广东省科技计划项目(2010B060900055); 广州市科技计划项目(2010GN-E00221)

作者简介: \* 通信作者, 李贵平, 主任医师, 医学博士, 博士后, 硕士生导师, 研究方向: 分子影像学及肿瘤核医学, E-mail: Ligp62@126.com

com

0.22,  $1.24 \pm 0.03$ , and  $0.94 \pm 0.07$ , respectively. And the ratios of tumor to blood reached 3.5, 4.9, and 7.8, respectively, while the ratios of tumor to muscle 8.2, 8.9 and 10.4, respectively. However, in group of  $^{99m}\text{Tc}$ -CD45 mAb the intensive radioactivity depositing in liver, spleen, kidney, blood and less radioactivity accumulation in tumor were observed. The %ID/g of tumor was  $0.89 \pm 0.13$  at 12 h, and the ratios of tumor to blood and tumor to muscle reached 1.6 and 2.5, respectively. 【Conclusions】 Compared to  $^{99m}\text{Tc}$ -CD45 mAb, three-step pretargeting RII have improved the ratio of tumor to normal tissue. Tumor could be clearly revealed at 3 hr post-injection.

**Key words:** pretargeting technique; avidin-biotin system; CD45 monoclonal antibody; radiolabeling; lymphoma

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2014, 35(1):127-131]

目前利用放射性核素标记单抗对恶性肿瘤的放免治疗已经显示出巨大的潜力和应用前景<sup>[1-3]</sup>, 尤其是近年来随着高亲和力和单抗的问世、放射性核素标记单抗技术的改进、放射性显像技术的发展以及预定位技术的应用等,使得单抗放免显像及放免治疗淋巴瘤取得了令人瞩目的成就<sup>[4-7]</sup>。CD45 是一种白细胞共同抗原,不存在于非造血组织中,90%以上的急性髓细胞白血病、急性淋巴细胞白血病及淋巴瘤细胞均表达该抗原,可作为急性白血病及淋巴瘤的治疗靶点<sup>[5-7]</sup>。本文以 CD45 单抗作为特异性靶向载体,根据三步法预定位技术的原理<sup>[4]</sup>,以生物素化 CD45 单抗先预定位于淋巴瘤,选用  $^{99m}\text{Tc}$ -生物素,利用亲和素可将循环中肿瘤未结合的生物素化抗体定向载带到肝脏,根据它们的趋向性,重现肿瘤部位的放射性浓聚,达到迅速降低本底,增大靶/非靶比值,现报道如下。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验材料及仪器

生物素活化酯、DTPA-生物素、亲和素、HABA/亲和素试剂均由 SIGMA 公司提供;PD-10 层析柱由 GE 公司提供;抗人 CD45 单抗由生工生物工程(上海)有限公司提供; $^{99m}\text{TcO}_4^-$ 由广州市原子高科同位素医药有限公司提供;BD FACAC Canto II 型流式细胞仪由美国 BD 公司提供;紫外分光光度计由上海光谱仪器有限公司提供;SN-682 型放射免疫  $\gamma$  计数器由上海核福光电仪器有限公司提供;KDC-2044 低速冷冻离心机由科大中佳公司提供;SPECT/CT 显像仪为美国 GE 公司 Millennium VH 型双探头显像仪。

### 1.2 CD45 单抗的生物素化

按 CD45 单抗与生物素活化酯的摩尔比为 1:30 ~ 50 取样,生物素活化酯/DMSO 溶液滴加至 CD45 单抗的碳酸氢钠溶液中,室温放置 1 h,PD-

10 微量离心柱法纯化。采用间接 ELISA 法鉴定生物素活性;采用 HABA/亲和素试剂测定 CD45 单抗的生物素化程度。

### 1.3 标记方法和鉴定

1.3.1 CD45 单抗的  $^{99m}\text{Tc}$  标记 采用 2-巯基乙醇(2-ME)直接还原法,方法如下:取纯化的 CD45 单抗 0.5 mL(1 mg)用 PBS(0.05 mol/L, pH 7.4)溶液 0.5 mL 溶解,加入 2  $\mu\text{L}$  2-ME,充氮气后室温振荡放置 30 min,用 PD-10 层析柱离心纯化,然后加入 10 mmol/L 盐酸配制的  $\text{SnCl}_2$  溶液,再加入 370 MBq  $^{99m}\text{TcO}_4^-$ ,室温振荡反应 5 min,用 PD-10 层析柱离心纯化,收集反应液。纸层析法测定其标记率及放化纯度,固定相为新华 1 号滤纸,展开剂为 30%氨水:乙醇:水(1:2:5)和生理盐水。

1.3.2 DTPA-生物素的  $^{99m}\text{Tc}$  标记 取 DTPA-生物素溶液(浓度 1 g/L)0.5 mL,加入 10 mmol/L 盐酸配制的  $\text{SnCl}_2$  溶液,再加入 370 MBq  $^{99m}\text{TcO}_4^-$ ,室温下振摇均匀 30 min。纸层析法测定其标记率及放化纯度,固定相为新华 1 号滤纸,展开剂为丙酮和生理盐水。

### 1.4 淋巴瘤裸鼠动物模型的构建

人 B 细胞淋巴瘤细胞株 Raji 细胞由南方医科大学南方医院血液科提供,按照常规方法培养传代,采用流式细胞仪检测 Raji 细胞 CD45 抗原表达。取 4-6 周龄裸鼠(雌雄不限),质量 18-22 g,由广东省实验动物中心提供;收集对数期生长的的 Raji 淋巴瘤细胞并离心,生理盐水制成悬浮液( $>1 \times 10^8/\text{mL}$ ),每只裸鼠双侧臀部皮下注入 0.2 mL,在南方医科大学南方医院动物实验中心饲养,于隔离室恒温恒湿层流架(SPF 级)中,饲以灭菌水和饲料,待肿瘤长至 0.5-1  $\text{cm}^3$  时,用于体内分布和显像研究。

### 1.5 三步法预定放免显像

1.5.1 动物分组 取荷瘤裸鼠 18 只,随机分为 2 组,每组均为 9 只。①实验组:尾静脉注射 100  $\mu\text{g}$

生物素化 CD45 单抗, 48 h 后注射亲和素 200  $\mu\text{g}$ , 48 h 再注射  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -生物素 7.4 MBq (20  $\mu\text{g}$ )。②对照组: 尾静脉注射  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CD45 单抗 7.4 MBq (100  $\mu\text{g}$ )。

1.5.2 定位显像和体内生物分布 各组荷瘤裸鼠于注射放射性标记物后 1、3、6 和 12 h, 用 SPECT 仪进行  $\gamma$  显像, 显像结束后分别处死裸鼠, 收集血液和分离肿瘤及各脏器, 称重后在  $\gamma$  计数仪中测量放射性计数, 经放射性衰变校正后计算各脏器的每克组织的百分注射剂量率 (%ID/g) 及肿瘤/非肿瘤 (T/NT) 比值。

### 1.6 统计学分析

全部实验数据采用 SPSS 13.0 统计软件进行统计分析处理, 定量参数采用  $(\bar{x} \pm s)$  表示, 两样本比较采用独立样本  $t$  检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

### 2.1 标记化合物的质量控制

每分子 CD45 单抗约结合 12 分子生物素, 生物素化 CD45 单抗具有良好的亲和素结合活性及免疫活性。 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CD45 单抗标记率  $>70\%$ , 放化纯度  $>90\%$ 。 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -生物素标记率  $>80\%$ , 放化纯度  $>90\%$ 。

### 2.2 人 Raji 细胞 CD45 抗原表达

流式细胞仪检测人 Raji 细胞 CD45 抗原测定结果见图 1, 结果表明 Raji 细胞 CD45 抗原表达率为 78.5%。

### 2.3 三步法预定位荷瘤裸鼠体内分布

三步法预定位各时相各脏器的 %ID/g (表 1)。注药后 3 h、6 h 和 12 h 肿瘤的 %ID/g 分别为  $1.73 \pm 0.22$ 、 $1.24 \pm 0.03$  和  $0.94 \pm 0.07$ ; 肿瘤/血液 (T/B) 比值分别为 3.5、4.9 和 7.8; 肿瘤/肌肉 (T/M) 比值分别为 8.2、8.9 和 10.4。而  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CD45 单抗对照组, 在注药后 12 h 肿瘤的 %ID/g 为  $0.89 \pm 0.13$ , T/B 比值为 1.6, T/M 比值为 2.5。与  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CD45 单抗对照组比较, 三步法预定位组 12 h 的 T/B 比值明显高于前者, 差异有统计学意义 ( $t = 4.259$ ,  $P = 0.013$ )。

### 2.4 三步法预定位放免显像结果

三步法预定位组在注药后 1 h, 移植肿瘤隐约显影, 随着时间的延长, 肿瘤内放射性浓聚逐渐增

表 1 Raji 细胞移植瘤裸鼠三步法预定位体内生物分布  
Table 1 Biodistribution in nude mice bearing Raji cells at different time phase after administration with three-step pretargeting (%ID/g)

Organs	Time			
	1 h	3 h	6 h	12 h
Liver	$2.56 \pm 0.72$	$1.84 \pm 0.48$	$1.56 \pm 0.11$	$1.05 \pm 0.27$
Spleen	$1.68 \pm 0.58$	$1.02 \pm 0.35$	$0.89 \pm 0.25$	$0.59 \pm 0.14$
Kidney	$3.73 \pm 0.10$	$2.72 \pm 0.46$	$2.27 \pm 0.68$	$1.69 \pm 0.10$
Lung	$0.67 \pm 0.09$	$0.29 \pm 0.16$	$0.38 \pm 0.11$	$0.21 \pm 0.04$
Stomach	$0.53 \pm 0.19$	$0.29 \pm 0.20$	$0.33 \pm 0.04$	$0.14 \pm 0.95$
Intestine	$0.43 \pm 0.19$	$0.23 \pm 0.100$	$0.14 \pm 0.10$	$0.10 \pm 0.03$
Muscle	$0.36 \pm 0.11$	$0.21 \pm 0.13$	$0.14 \pm 0.06$	$0.09 \pm 0.02$
Bone	$0.33 \pm 0.13$	$0.17 \pm 0.10$	$0.14 \pm 0.02$	$0.08 \pm 0.03$
Blood	$0.89 \pm 0.26$	$0.49 \pm 0.22$	$0.25 \pm 0.14$	$0.12 \pm 0.03$
Tumor	$0.91 \pm 0.28$	$1.73 \pm 0.22$	$1.24 \pm 0.03$	$0.94 \pm 0.07$

多, 3-6 h 肿瘤显影清晰, 并持续到 12 h, 显像结果如图 2 所示。而  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CD45 单抗组在注药后, 可见肝脏、脾脏及肾脏内见明显放射性聚集, 12 h 血池内见较多放射性分布, 12 h 肿瘤部位见有少量放射性集聚 (图 3)。

## 3 讨 论

1987 年 Hnatowich 等<sup>[3]</sup>把生物素-亲和素系统用于肿瘤的预定位技术中, 使放免显像有了快速发展。由于 1 个单抗分子可结合多个生物素分子, 而每个亲和素可结合 4 个生物素, 从而产生放大效应。生物素-亲和素系统 (avidin-biotin system, ABS) 被广泛应用的原因还在于生物素与亲和素二者具有高度特异的亲和性, 生物素与亲和素之间的亲和力至少是抗原抗体间的一万倍以上, 形成的复合物稳定, 且不易受外界干扰。另外, ABS 具有生物素和亲和素容易获取、反应模式多样化等特点, 在实验研究和临床应用中具有广泛的应用前景。目前基于 ABS 预定位技术已经应用于肿瘤的放免显像和治疗中, 并取得较满意的效果<sup>[4-7]</sup>。采用 ABS 三步法裸鼠显像结果表明: 2 h 肿瘤部位已见放射性浓聚, 4 h 显像清楚, T/NT 比值可达 2.5, 而直接法组和对照组 1-4 h 肿瘤部位均未见有明显的放射性浓聚; 然而, 该实验所得的 T/NT 比值不是很理想, 尚需对具体给药剂量、时间、方法和途径作进一步的研究<sup>[8]</sup>。为提高抗 CEA 单抗

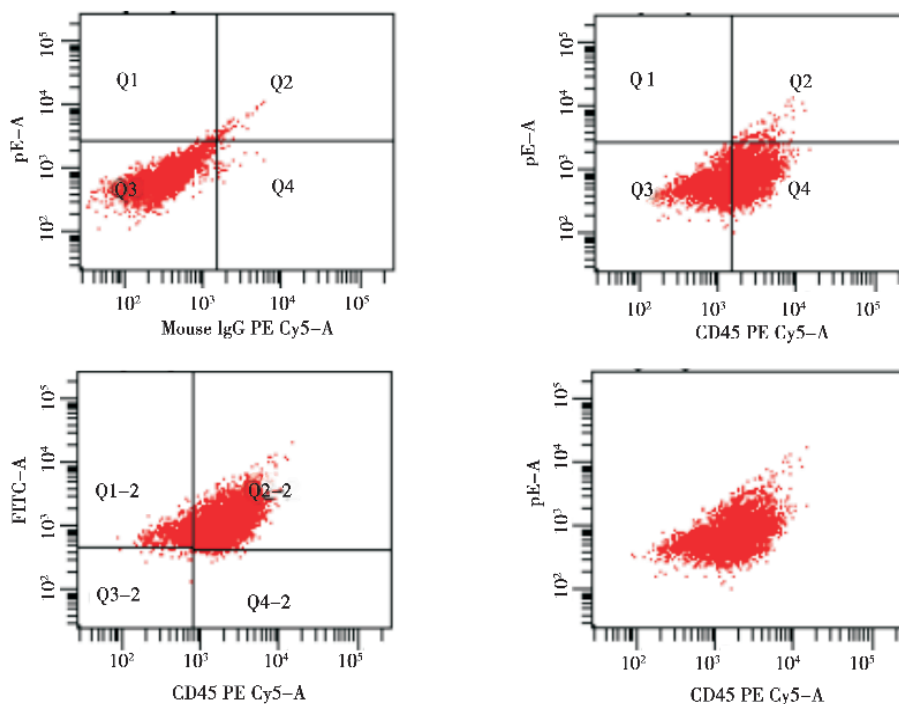


图 1 人 Raji 细胞 CD45 抗原表达率

Fig. 1 CD45 antigen expression in Raji cells detected by flow cytometry

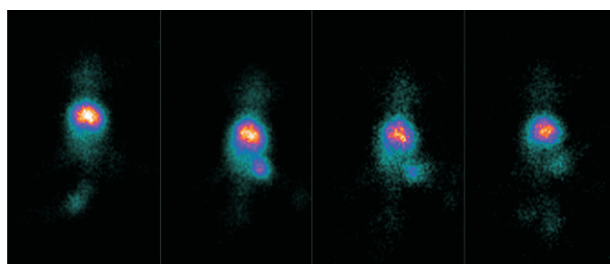
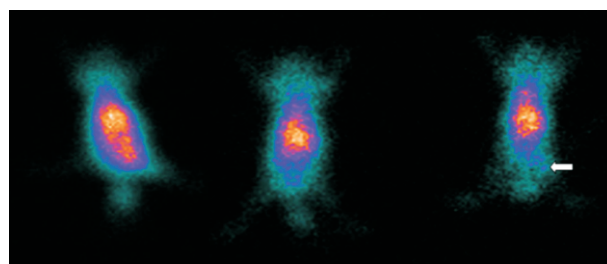


图 2 荷人 Raji 细胞移植瘤裸鼠三步法预定位给药后不同时相移植瘤放免显像

Fig.2 Radioimmunoimaging of transplantation tumor in nude mice bearing Raji cells at different time phase after administration with three-step pretargeting

图 3 荷人 Raji 细胞移植瘤裸鼠静注  $^{99m}\text{Tc}$ -CD45 单抗后不同时相移植瘤放免显像Fig.3 Radioimmunoimaging of transplantation tumor in nude mice bearing Raji cells at different time phase after administration of  $^{99m}\text{Tc}$ -CD45 mAb

放免显像的诊断效果,应用二步法和三步法预定位于荷人结肠癌裸鼠,分别在注射放射性标记物后 2~120 h 进行体外  $\gamma$  显像和体内放射性分布测定,结果实验组比对照组肿瘤早期显影,且 T/NT 比值也以实验组为高<sup>[9]</sup>。目前,肿瘤预定位放免显像和治疗的研究国内主要限于实体肿瘤动物模型,有关预定位技术在血液系统恶性肿瘤放免显像和治疗中的应用未见国内有文献报道。基于以上原因,本研究课题探讨了三步法预定位技术在荷人淋巴瘤裸鼠模型中的放免显像应用,为进一步开展淋

巴瘤预定位放免治疗研究提供实验基础。

三步法预定位技术的优点在于单抗的生物素化方法成熟、简单可靠,所涉及的制剂制备简单,方法易于实施;并且在荷瘤动物模型和临床实验中获得良好的肿瘤预定位效果<sup>[10-11]</sup>。在国内,李贵平等<sup>[12]</sup>率先建立了  $^{153}\text{Sm}$  标记生物素的三步法预定位方法在荷人结肠癌移植瘤放免显像中应用,结果三步法有效地降低了血放射性水平, T/NT 比值增加。在本文中,作者又将三步法预定位技术引入到荷人淋巴瘤动物模型的放免显像中,首先注射生

物素化 CD45 抗体 100  $\mu\text{g}$ , 48 h 后注射亲和素 200  $\mu\text{g}$ , 再过 48 h 注射  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -DTPA-生物素 7.4 MBq (20  $\mu\text{g}$ ), 获得较为满意的生物分布结果及淋巴瘤定位显像效果。考虑到单抗在肿瘤内定位和从正常组织中清除相对缓慢, 往往需要在 24~48 h 才能在肿瘤部位达到最大聚集, 而此时血循环内的单抗尚未完全清除, 为此注射过量的亲和素, 其目的一方面在于使已定位在肿瘤细胞上的生物素化单抗结合亲和素, 另一方面又可与游离于血液中的肿瘤未结合的生物素化单抗形成复合物, 以加速其从血中被清除。与单独注射  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CD45 单抗比较, 本文研究结果表明在荷人淋巴瘤裸鼠模型三步法定位显像中, 除肾脏内有较高的放射性摄取量外, 血池本底放射性明显减低, 肿瘤的 T/NT 比值明显改善, 肿瘤定位显像的时间提前。

虽然三步法定位放免显像肿瘤部位早期即可见显影, 但肝、脾、肾非特异放射性聚集仍较多, 推测可能与血中生物素化抗体与亲和素及标记生物素形成复合物并在这些脏器内沉积有关。与  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CD45 单抗比较, 三步法定位技术的缺点是在特定时间内需多次注射, 预定位技术的应用增加了放免显像的复杂性; 此外, 有关预定位各组分的最佳剂量设计、时间间隔的选择、各组分的代谢速率以及亲和素(链霉亲和素)的免疫原性等问题仍有待进一步探索。尽管已经取得许多令人鼓舞的研究成果, 但是预定位放免治疗(PRIT)广泛用于临床仍面临严峻的挑战, PRIT 仍然是一项复杂的、需要多学科共同协作努力方有可能被普遍接受<sup>[13]</sup>。

#### 参考文献

- [1] Dancey G, Begent RH, Meyer T. Imaging in targeted delivery of therapy to cancer [J]. *Targ Oncol*, 2009, 4 (3): 201-217.
- [2] Salouti M, Babaei MH, Rajabi H, et al. Preparation and biological evaluation of  $^{177}\text{Lu}$  conjugated PR81 for radioimmunotherapy of breast cancer [J]. *Nucl Med Biol*, 2011, 38(6): 849-855.
- [3] Hnatowich DJ, Virzi F, Rusekowsky M. Investigations of avidin and biotin for imaging applications [J]. *J Nucl Med*, 1987, 28(8): 1294-1302.
- [4] Pagel JM, Hedin N, Drouet L, et al. Eradication of disseminated leukemia in a syngeneic murine leukemia model using pretargeted anti-CD45 radioimmunotherapy [J]. *Blood*, 2008, 111(4): 2261-2268.
- [5] Green DJ, Pagel JM, Nemecek ER, et al. Pretargeting CD45 enhances the selective delivery of radiation to hemolymphoid tissues in nonhuman primates [J]. *Blood*, 2009, 114(6): 1226-1235.
- [6] Glatting I G, Muller M, Koop B, et al. Anti-CD45 monoclonal antibody YAM1568: a promising radioimmunoconjugate for targeted therapy of acute leukemia [J]. *J Nucl Med*, 2006, 47(8): 1335-1341.
- [7] Goldenberg DM, Chang CH, Rossi EA, et al. Pretargeted molecular imaging and radioimmunotherapy [J]. *Theranostics*, 2012, 2(5): 523-540.
- [8] 沈胜德, 钟高仁, 陈捷, 等. 抗人小细胞肺癌单抗 2F7 (ab')<sub>2</sub> 的  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  放射免疫预定位显像初步研究 [J]. *上海医学影像杂志*, 2001, 10(1): 11-12.  
Shen SD, Zhong GR, Chen J, et al. Preliminary study of pretargeting radioimmunomaging for anti-SCLC McAb 2F7 (ab')<sub>2</sub> radiolabeling with  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  [J]. *Shanghai Medical Imaging*, 2001, 10(1): 11-12.
- [9] 孙建中, 朱承谟, 管樑, 等. 生物素-亲和素预定位技术在抗 CEA 单抗放免显像中的实验研究 [J]. *中华核医学杂志*, 1996, 16(2): 81-84.  
Sun JZ, Zhu CG, Guan L, et al. Experimental study of biotin-avidin pretargeting technique for anti-CEA McAb radioimmunomaging [J]. *Chin J Nucl Med*, 1996, 16 (2): 81-84.
- [10] Chinol M, Paganelli G, Sudati F. Biodistribution in tumour-bearing mice of two  $^{90\text{Y}}$ -labelled biotins using three-step tumour targeting [J]. *Nucl Med Commun*, 1997, 18(2): 176-182.
- [11] Li GP, Zhang H, Zhu CM, et al. Avidin-biotin system pretargeting radioimmunomaging and radioimmunotherapy and its application in mouse model of human colon carcinoma [J]. *World J Gastroenterol*, 2005, 11 (40): 6288-6294.
- [12] 李贵平, 朱承谟, 冯国伟, 等. 亲和素-生物素系统  $^{153}\text{Sm}$  标记物在抗 CEA 单抗预定位放免显像中的实验研究 [J]. *中华核医学杂志*, 2000, 20(3): 120-123.  
Li GP, Zhu CG, Feng G, et al. Avidin-biotin system radiolabelling with  $^{153}\text{Sm}$  and its experimental study in pretargeting radioimmunomaging with anti-CEA McAb [J]. *Chin Nucl Med*, 2000, 20(3): 120-123.
- [13] Walter RB, Press OW, Pagel JM. Pretargeted radioimmunotherapy for hematologic and other malignancies [J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2010, 25(2): 125-142.