

放射性粒子植入、放疗对荷 VX₂ 瘤兔细胞因子水平的影响

刘治邦 尉继伟 计学理

【摘要】目的 探讨放射性粒子与放疗对机体细胞因子的影响。方法 健康雄性大白兔 60 只, 随机分为放射性粒子组、放疗组、对照组各 20 只, 移植 VX₂ 瘤株后 12 d, 对各实验组动物分别进行放射性粒子植入、X 射线外照射放疗, 对照组不治疗, 同时监测血清白细胞介素 2 (IL-2)、IL-6、IL-8、肿瘤坏死因子(TNF)、胰岛素样生长因子(IGF)水平的变化。结果 实验动物生存期较对照组延长 15 d 左右。血清 IL-2、IL-8 逐渐降低, 降低幅度对照组 > 放疗治疗组 > 放射性粒子组; IL-6、IGF 逐渐增高, 增高幅度对照组 > 放疗治疗组 > 放射性粒子组; TNF 逐渐增高, 放疗治疗组和放射性粒子组变化明显, 而对照组变化最小。结论 荷瘤兔的免疫功能呈低下状态, 放射性粒子和放疗对细胞因子影响不大, 而放射性粒子影响更小; 放射性粒子、放疗对 VX₂ 瘤兔治疗效果好。

【关键词】 近距离放射疗法; 放射疗法; 白细胞介素; 肿瘤坏死因子; 胰岛素样生长因子; 兔
【中图分类号】 R817.4 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1673-4114(2007)04-0251-04

Comparative study of the influence of radioactive seeds implantation and radiotherapy on cytokine of VX₂ tumor rabbits

LIU Zhi-bang, WEI Ji-wei, JI Xue-li

(Department of Radiate, The 7th Hospital of Datong, 037005, China)

【Abstract】 Objective To discuss the influence of radioactive seeds implantation and radiotherapy on VX₂ tumor cytokine. Methods 60 male New Zealand White rabbits were randomly divided into 3 groups, 20 for radioactive seeds implantation group, 20 for radiotherapy group, and 20 for control group. After 12 d the implantation with the VX₂ soft tumor, radioactive seeds implantation and radiotherapy were performed separately, the control group underwent no therapy. IL-2, IL-6, IL-8, TNF and IGF were measured. Results The survival periods of experimental group were 15 d longer than the control group. The concentration of IL-2, IL-8 in serum decreased gradually, the decreasing extent control>radiotherapy>radioactive seeds implantation; the concentration of IL-6, IGF raised gradually, rising extent control>radiotherapy>radioactive seeds implantation. Conclusions The immune system of rabbits with VX₂ tumor were suppressed, there is little influence of radioactive seeds implantation and radiotherapy on cytokine. Radioactive seeds implantation and radiotherapy are effective methods to treat VX₂ tumor.

【Key words】 Brachytherapy; Radiotherapy; Interleukin; Tumor necrosis factor; Insulin like growth factor; Rabbits

细胞因子研究涉及到多种学科, 目前已发展成为一个既有深奥的理论探索意义、又有极大的临床实际应用价值的研究领域。本研究初步探讨了放射性粒子植入与外照射放疗对细胞因子白细胞介素 2 (interleukin 2, IL-2)、IL-6、IL-8、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)、胰岛素样生长因子 (insulin-like growth factor, IGF) 的影响。

1 材料与方法

1.1 动物模型制作

荷 VX₂ 瘤新西兰兔 (中国医学科学院细胞中心提供), 断颈处死, 在无菌条件下取出肿瘤, 机械匀浆制备成单细胞悬液 (含 10⁸ 个细胞), 在 60 只健康雄性新西兰兔 [大同大学医学院动物饲养中心提供, 体质量 5 kg (5 kg±0.5 kg)] 的右后肢肌肉内 (肌肉血循环较皮下为好, 肿瘤易成活) 接种已制备的单细胞悬液 1 ml, 在接种后 12 d, 即制作

成荷 VX₂ 瘤实验兔。

1.2 治疗方法

制作成的 60 只荷 VX₂ 瘤兔待肿瘤直径为 3 cm 大小时 (接种后 12 d), 随机分为放射性粒子治疗组、外照射放疗组、对照组各 20 只, 分别进行放射性粒子植入和外照射放疗, 而对照组不进行任何治疗。

1.2.1 放射性粒子植入法

在严格的条件下, 通过三维计划系统准确设计出植入的 ¹⁰³Pd 粒子 (由中国原子能研究院提供) 的位置、数量^[1]。¹⁰³Pd 粒子直径 0.8 mm, 长 4.5 mm±0.3 mm, γ 射线的能量为 21~23 keV, 一般为每个肿瘤植入 3~4 枚 ¹⁰³Pd 粒子。

1.2.2 外照射放疗法

使用德国西门子 PRIMUS M 型高能直线加速器 6MV-X 射线照射, 采用源距离=100 cm 垂直照射, 射野靶区为瘤体边界外放 2~3 cm。瘤体深度以 1 cm 计, 分次量为 200 cGy, 根据百分深度剂量计算出机器跳数, 每 4 d 照射一次, 共 6 次, 总量为 1 200 cGy。照射时将实验动物头及四肢固定, 使其移动误差在 1 cm 内。

1.3 血清细胞因子测定

分别于移植前、治疗前、治疗后 1 周、治疗后 3 周、治疗后 4 周空腹状态下取外周静脉血, 分离血清, 用放射免疫分析法检测 IL-2、IL-6、IL-8、TNF、IGF。放免检测试剂盒由天津九鼎医学生物

有限公司提供, 使用上海原子核研究所日环仪器一厂 SN-695B 型智能放免 γ 测量仪, 测定均严格按照试剂盒说明书进行。

1.4 生存时间、肿瘤转移、死因情况分析

各组资料未统计动物的死亡率, 只计算实验动物的生存时间 (即生存期)。同时统计分析了各实验组治疗后肿瘤转移和死因。

1.5 统计方法

所得数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS11.0 软件进行统计学处理, 应用 *F* 检验和 *q* 检验。

2 结果

2.1 细胞因子水平的变化

各组实验兔治疗前后细胞因子变化的具体情况见表 1~表 5, 各组移植前和治疗前的数据经统计学处理, 无明显差异 (*P*>0.05)。

血清 IL-2、IL-8 水平逐渐降低, 其中对照组>放射治疗组>放射性粒子组, 降低幅度越大则生存时间越短。IL-6、IGF 水平逐渐增高, 增高幅度越大而生存时间越短。TNF 水平逐渐增高, 放射治疗组和放射性粒子组变化明显, 而对照组变化最小; 变化幅度大生存时间提高, 而变化幅度小则生存时间越短。

2.2 生存时间、肿瘤转移、死因情况

各组实验兔生存、转移、死亡情况的结果见表 6, 结果显示: 放射性粒子组、放疗组的生存期较

表 1 各组实验兔移植前及治疗前后 IL-2 变化情况 ($\bar{x} \pm s$, μg/L)

组别	移植前	治疗前	治疗后 1 周	治疗后 3 周	治疗后 4 周
放射性粒子组	142.66±28.75	108.99±4.04	91.91±2.68	86.06±3.83 ^Δ	85.03±4.01 ^Δ
放疗组	135.34±17.31	107.98±3.84	87.43±3.94	84.15±2.93 ^Δ	83.41±4.45 ^Δ
对照组	137.87±17.27	106.50±4.30	77.66±4.65	45.19±5.37 ^{**}	38.78±4.33 ^{**}

F (组内) =9.81, *P*<0.01; 与治疗前比较, ^{*}*q*≥6.01, *P*<0.01

F (组间) =10.92, *P*<0.01; 与对照组比较, ^Δ*q*≥3.48, *P*<0.05

注: 治疗后指进行放疗和放射性粒子植入时间, 对照组时间同时顺延

表 2 各组实验兔移植前及治疗前后 IL-6 变化情况 ($\bar{x} \pm s$, μg/L)

组别	移植前	治疗前	治疗后 1 周	治疗后 3 周	治疗后 4 周
放射性粒子组	2491.75±352.22	3622.35±331.35	3744.90±277.19 ^Δ	3938.05±337.22 ^Δ	4380.80±255.67 ^{ΔΔ}
放疗组	2550.85±247.44	3684.45±221.87	3722.05±197.96 ^Δ	4166.25±263.21 ^{ΔΔ}	4567.10±219.14 ^{ΔΔ}
对照组	2527.20±282.08	3620.00±258.83	5763.95±186.36 [*]	6381.45±249.70 ^{**}	6922.4±199.19 ^{**}

F (组内) =21.37, *P*<0.01; 与治疗前比较, ^{*}*q*=3.52, *P*<0.05; ^{**}*q*≥5.92, *P*<0.01

F (组间) =19.50, *P*<0.01; 与对照组比较, ^Δ*q*=3.61, *P*<0.05; ^{ΔΔ}*q*≥8.31, *P*<0.01

注: 治疗后指进行放疗和放射性粒子植入时间, 对照组时间同时顺延

表3 各组实验兔移植前及治疗前后 IL-8 变化情况 ($\bar{x} \pm s, \mu\text{g/L}$)

组别	移植前	治疗前	治疗后1周	治疗后3周	治疗后4周
放射性粒子组	13.21±4.78	9.96±2.86	9.36±1.17 [△]	7.86±0.49 ^{△△}	6.61±0.21 ^{△△}
放疗组	12.56±3.38	10.12±3.30	8.34±0.95	6.46±0.49 [△]	4.61±0.64 ^{***△}
对照组	12.50±2.63	10.40±1.71	6.37±0.51 [*]	3.65±0.21 ^{**}	2.21±0.19 ^{**}

F (组内) =10.28, P<0.01; 与治疗前比较, *: q=3.54, P<0.05; **: q≥6.01; P<0.01

F (组间) =13.01, P<0.01; 与对照组比较, △: q≥3.49, P<0.05; △△: q≥5.69; P<0.01

注: 治疗后指进行放疗和放射性粒子植入时间, 对照组时间同时顺延

表4 各组实验兔移植前及治疗前后 IGF 变化情况 ($\bar{x} \pm s, \mu\text{g/L}$)

组别	移植前	治疗前	治疗后1周	治疗后3周	治疗后4周
放射性粒子组	98.40±23.53	222.01±100.75	287.37±51.62 [△]	354.03±108.6 ^{△△}	463.56±170.25 ^{△△}
放疗组	102.41±16.74	208.13±52.78	302.65±39.66 [△]	398.10±24.63 ^{△△}	516.51±28.30 ^{△△}
对照组	104.41±17.23	251.50±40.54	830.33±180.90 [*]	2045.59±318.35 ^{**}	2027.67±146.62 ^{**}

F (组内) =16.45, P<0.01; 与治疗前比较, *: q=3.60, P<0.05; **: q≥6.37; P<0.01

F (组间) =12.18, P<0.01; 与对照组比较, △: q≥3.57, P<0.05; △△: q≥7.24; P<0.01

注: 治疗后指进行放疗和放射性粒子植入时间, 对照组时间同时顺延

表5 各组实验兔移植前及治疗前后 TNF 变化情况 ($\bar{x} \pm s, \mu\text{g/L}$)

组别	移植前	治疗前	治疗后1周	治疗后3周	治疗后4周
放射性粒子组	4.54±0.89	5.60±1.01	17.99±1.40 ^{*△}	32.20±2.88 ^{**△△}	48.43±2.43 ^{**△△}
放疗组	4.45±0.50	6.39±0.80	18.79±1.82 ^{*△}	30.53±2.82 ^{**△△}	40.92±2.76 ^{**△△}
对照组	4.61±0.65	6.05±0.58	7.20±1.04	9.25±0.89	10.40±1.71

F (组内) =11.09, P<0.01; 与治疗前比较: *q=3.48, P<0.05; ** q≥6.93, P<0.01

F (组间) =10.98, P<0.01; 与对照组比较: △q≥3.50, P<0.05; △△ q≥5.68, P<0.01

注: 治疗后指进行放疗和放射性粒子植入时间, 对照组时间同时顺延

表6 各组实验兔生存、转移、死因情况

组别	生存时间 (d)	肺转移 (例)	肝转移 (例)	恶液质 (例)	局部破溃 (例)
放射性粒子组	66	1	0	1	20
放疗组	68	1	1	12	2
对照组	47-50	16	3	6	0

对照组延长 15 d 左右, 对照组发生肿瘤转移 19/20 例, 放射性粒子组肺转移 1/20 例, 没有肝转移; 放疗组肺转移和肝转移各为 1/20 例。

对照组的死因以肺转移、肝转移为主; 外照射放疗组以恶液质为主; 放射性粒子植入组以局部破溃为主。

3 讨论

VX₂ 瘤是常用实验室肿瘤之一, 它是 Shope 病毒诱发的乳头状瘤恶变后经兔传代而取得的实验性肿瘤, 常用于模拟人类恶性肿瘤进行实验研究的模型制作^[2,3]。我们选新西兰兔为实验动物, 种植 VX₂ 瘤株而进行实验研究。

关于细胞因子: 实验中发现 IL-2、IL-6、IL-8、TNF、IGF 等数据明显高于人类, 我们分析可能与物种不同有关、与不同的抗体针对同样细胞因子上的不同抗原表位有关、还与不同来源的细胞因子之间的抗原特异性差异有关^[4]。

IL-2 的抗肿瘤活性已被深刻研究, 由于肿瘤细胞本身可以分泌多种免疫抑制因子, 荷瘤机体 (尤其是晚期阶段) 的免疫功能多呈低下状态, 外源性给予 IL-2, 使肿瘤抗原能有效提呈并活化 T 细胞, 提高机体抗肿瘤特异性细胞免疫功能^[5]。IL-6 的生物学活性具有比较明显的双重性, 即一方面具有重要的生理意义, 另一方面则参与多种疾病的病理过程。IL-6 作为自分泌或旁分泌生长因子可以直接

作用于癌细胞,调节肿瘤生长,也以可通过影响宿主环境,如诱导急性期反应、恶病质和新生血管生成等而间接促进肿瘤的细胞的生长。实验中发现,血清中 IL-6 水平逐渐增高,且增高幅度越大则生存时间越短,与文献报道相近。IL-8 结构复杂,其生物学功能具多重性。有学者发现 IL-8 具有抗肿瘤作用^[6],其抗肿瘤作用机制可能是由嗜中性粒细胞聚集趋化因子而介导。肿瘤患者体内注射 IL-8 后,IL-8 将肿瘤浸润淋巴细胞吸引到肿瘤部位,使肿瘤部位聚集增加,增加了在体内的抑瘤效果,而我们在实验中发现 IL-8 在血清中的含量逐渐降低,也支持 IL-8 有抗肿瘤的功能。

TNF 是一个炎性细胞因子,通过直接的细胞毒性导致细胞凋亡,发挥抗肿瘤活性;促进肿瘤组织中静脉血栓形成,导致肿瘤坏死;激活免疫活性细胞,引起细胞因子如 IL-1、IL-6 和 IL-8 以及细胞表面黏附分子的表达增加,进一步聚集免疫活性细胞,加强肿瘤的破坏。但是,脓毒症性休克和血小板减少等副作用是限制其临床应用的主要因素,全身性投入后没有发现明显的抗肿瘤作用^[7]。实验中发现,TNF 水平在放射治疗组和放射性粒子植入组变化明显,升高幅度大者生存期提高。IGF-1 的促有丝分裂作用与肿瘤生长的关系在本实验得到进一步证明,对照组 IGF 的变化明显,故存活时间就短。

关于放射性粒子植入:放射治疗的基本目标是最大限度地释放剂量给肿瘤,而最小限度给正常组织。放射性粒子植入是达到这一目标的最好方法,几乎无全身反应。目前,国内多用 ¹²⁵I 进行研究或治疗,国外则使用 ¹⁰⁹Pd 较多。肿瘤的倍增时间越短则说明生长越快,临床上对细胞潜在倍增时间为 5~30 d 的肿瘤,¹⁰⁹Pd 对生长快的肿瘤(倍增时间 < 10 d),特别是倍增时间 < 5 d 者非常有效,而对倍增时间 ≥ 15 d 者疗效差;¹²⁵I 对生长慢的肿瘤(倍

增时间 > 10 d) 更有效,而对倍增时间 < 5 d 者疗效差。我们认为:对直径小于 5 cm 的肿瘤用放射性粒子植入治疗效果较好;疗效与粒子分布是否合理、均匀有关;同时我们也发现放射性粒子植入治疗的局部破溃发生率高,所以放射性粒子不适合用于治疗表浅的肿瘤。

关于放射治疗:文献报道,哺乳动物细胞暴露于 X 射线后可产生或抑制一些能制造特殊蛋白的基因,一般认为这是一种细胞对放疗的特异性反应,它通过延迟细胞周期进程,以使细胞能在细胞复制或分裂它的 DNA 之前得以修复它的放射损伤,并增强这种修复的速度和准确性。一些放射诱导产生的细胞因子可能是在照射后促进细胞存活,我们在实验中发现,TNF 水平在 X 射线照射后能够增加 10 倍。

参 考 文 献

- 1 王俊杰,唐劲天,黎功.放射性粒子近距离治疗肿瘤.北京:北京医科大学出版社,2001.123-133.
- 2 吴安乐,颜志平,周康荣,等.兔 VX2 瘤转移性肺癌动物模型的建立和生物学特性研究.中华放射学杂志,2003,37(2):166-170.
- 3 邵国良,周康荣,王建华,等.介入治疗实验研究中兔 VX2 瘤肝癌模型制作的改进和 CT 评价.临床放射学杂志,2000,19(10):653-654.
- 4 孙卫民,王惠琴.细胞因子研究方法学.北京:人民卫生出版社,2000.21-23.
- 5 陈杰,曹泽毅,张平等.IL-2 淋巴间隙给药对宫颈癌荷瘤机体特异性 T 细胞免疫功能的影响.华西医学杂志,2004,19(2):216-218.
- 6 Hirose K, Hakozaiki M, Nyunoya Y, et al. Che2 mokine gene transfection into tumor cells reduced tumorigenicity in nude mice in association with neutrophilic infiltration. Br J Cancer, 1995, 72(3):708-714.
- 7 单保恩.肿瘤的细胞因子和细胞因子基因治疗.临床荟萃,2003,18(22):1319-1320.

(收稿日期:2006-12-13)