

· 实验研究 Experiment research ·

白细胞介素 2 葡聚糖微球并碘油栓塞治疗肝癌的动物实验

曾晓华 , 冯敢生 , 王颂章 , 金德勤 , 唐 瑛 , 丁进亚

【摘要】 目的 观察白细胞介素 2 (IL-2) 葡聚糖微球并碘油经肝动脉栓塞后、实验兔肝种植瘤灶的坏死程度及其免疫功能的改变。方法 20 只肝脏载瘤兔 , 经肝动脉注入 IL-2 葡聚糖微球并碘油栓塞 , 栓塞前、后取血测 IL-2 和 sIL-2R , 栓塞后 1 周处死实验兔取瘤灶 , 进行光、电镜病理学检查 , 并以空白葡聚糖微球并碘油栓塞行对比观察。结果 用药组术后 IL-2 血浓度明显升高 , sIL-2R 则明显下降 , 1 周后瘤结节完全坏死 , 假包膜形成。对照组术后 IL-2 血浓度回升 , sIL-2R 下降 , 瘤结节中心性部分坏死 , 无假包膜形成。结论 IL-2 葡聚糖微球组与空白葡聚糖微球组各观察指标的对比分析表明 , 前者在肿瘤坏死程度、免疫功能促进方面明显优于后者。

【关键词】 肝癌 ; 白细胞介素 ; 葡聚糖 ; 微球

中图分类号 : R73.36 文献标识码 : B 文章编号 : 1008-794X(2006)02-0093-04

Experimental treatment of the transplanted hepatoma in rabbit by hepatic arterial embolization using interleukin-2 dextran microsphere and iodized oil ZENG Xiao-hua , FENG Gan-sheng , WANG Song-zhang , JIN De-qin , TANG Ying , DING Jin-ya . Department of Radiology , Wuhan General Hospital , Guangzhou Commend , Wuhan 430070 , China

【Abstract】 Objective To observe the degree of necrosis in the transplanted hepatic tumor and the changes in immunity of the rabbits after hepatic arterial embolization using interleukin-2 (IL-2) dextran microsphere and ¹²⁵I iodized oil. Methods IL-2 dextran microsphere and iodized oil were infused into hepatic artery of 20 rabbits with transplanted hepatic tumor. Infusion of dextran microspheres and iodized oil were taken in another transplanted hepatic tumor group of rabbits as the control. The blood samples were acquired pre-and post-embolization to measure the changes of IL-2 and sIL-2R in both groups. The rabbits were killed one week after the performance to get tumor tissue for pathologic examination. The comparison between using IL-2 dextran microsphere and dextran microsphere was made through optic and electronic microscopy for pathologic analysis. Results Obvious increase of IL-2 and apparent decrease of sIL-2R in blood were demonstrated after the performance. The transplanted tumors mass underwent complete necrosis with false membranous capsule formation. In controlled group , slight increase of IL-2 and slight decrease of sIL-2R in blood were shown with partial central necrosis without false membranous capsule formation of the transplanted tumor. Conclusions The efficacy of the group IL-2 dextran microsphere was superior to group of arterial infusion of dextran microsphere in outcoming with tumor necrosis and strengthening the immunity of the rabbits. (J Intervent Radiol , 2006 , 15 : 93-96)

【Key words】 Liver tumor ; Interleukin ; Dextran ; Microsphere

经肝动脉灌注化疗并碘油栓塞治疗肝癌 (TACE) 已成为中、晚期肝癌有效的姑息治疗手段 , 其疗效已得到公认。但在临床实际工作中 , 人们亦逐渐认识到 TACE 的不足和无力 , 其中之一为 TACE

后癌灶坏死不彻底^[1]。这是因为中、晚期肝癌之癌灶大部由肝动脉供血 , 而其周边由门静脉供血 , TACE 可致癌灶大部或绝大部分发生坏死 , 但其周边仍有肿瘤细胞残存 , 成为肿瘤复发的根源。因此 , 如何控制 TACE 后的残存肿瘤细胞 , 尽可能减少、延缓复发成为 TACE 治疗肝癌所面临的一个棘手难题。本实验拟探讨机体主动免疫治疗、并同碘油栓塞治疗、彻底杀灭肝癌癌灶的可能性。

作者单位 : 430070 武汉 解放军广州军区武汉总医院放射科 (曾晓华、王颂章、金德勤、唐 瑛、丁进亚) ; 华中科技大学同济医学院附属协和医科放射科 (冯敢生)

通讯作者 : 曾晓华

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 白细胞介素- α IL-2)葡聚糖微球的制备 所用 IL-2 为重组人 IL-2(rhIL-2)临床成品药 ,白色粉剂 ,每支 10 万 U。葡聚糖微球(商品名 Sephadex G-50)为白色珠状微粒的成品微球 ,其粒径 20 ~ 80 μm 。预设用药组每只实验兔使用葡聚糖微球 25 mg ,载 IL-2 2 万 u。采用高碘酸氧化法 ,取葡聚糖微球 0.6 g ,溶于含 NaIO_4 0.1 mol/L 的醋酸盐缓冲液(pH 5.5)75 ml 中 4℃避光 24 h ,反复蒸馏水透析 ,浓缩 ,干燥得白色粉末状聚醛基葡聚糖(PAD)。将其加入 50 万 u IL-2 水溶液中 ,室温下振摇 3 h ,过滤收集 IL-2 葡聚糖微球 ,室温真空干燥 ,即制得 IL-2 葡聚糖耦合微球共 500 mg ,以每安瓿 25 mg 分装、备用。

1.1.2 IL-2 葡聚糖微球的检测

1.1.2.1 IL-2 葡聚糖微球的基本特征 :显微镜下封存于安瓿中的冻干 IL-2 葡聚糖微球呈颗粒状 ,无粘连 ,粒径范围 20 ~ 40 μm ,原表面蜂窝样孔隙消失。分别混悬于生理盐水和造影剂后镜下观察 ,其分散性及流动性好 ,无粘连成堆现象 ,在 2 种液体中 ,微球悬浮及离散无差异。

1.1.2.2 IL-2 葡聚糖微球的吸水膨张实验结果 :光镜下 ,测定干燥载药微球 50 颗 ,求得其平均粒径。再将载药微球悬浮于生理盐水中 6 h ,再次测定 50 颗之平均粒径 ,通过比较干燥微球和吸水膨张微球之平均粒径 ,以公式^[2] : $E = (d_2 - d_1) / d_1 \times 100\%$ 求得其吸水膨张率(d_1 为干燥微球平均粒径 , d_2 为吸水膨张微球之平均粒径)。结果显示 IL-2 葡聚糖微球有较强的吸水性能 ,其吸水膨张率为 75% ,显示理想的吸水膨张效果 ,水溶性药物因而较易被吸附进入微球内部。

1.1.2.3 IL-2 葡聚糖微球的载药量测定结果 :取 25 mg 载药微球 ,依 IL-2 定量 EIA 试剂盒使用说明 ,采用双抗体夹心 ABC-ELISA 法 ,测定 25 mg 载药微球离心液之 IL-2 含量。25 mg 干燥载药微球、生理盐水洗脱离心液之 IL-2 总含量为 2 万 u ,符合设计设定。

1.1.2.4 载药微球体外释药实验结果 :以动态透析法进行体外释药实验。取 25 mg 载药微球 ,混悬于 10 ml 磷酸盐缓冲液(pH 7.4 ,0.1 mol/L)中 ,37℃恒温磁力搅拌(120 r/min) ,按 12 h、1、2、3、4、5 和 6 d 取样离心 15 min ,取上清液 15 μl ,亦采用双抗体夹心 ABC-ELISA 法 ,测定 IL-2 含量。其体外释药测定结果见表 1。

表 1 不同取样时间微球体外释药测定结果(pg/ml)

取样时间	测得值
12 h	8 500
24 h	9 800
2 d	12 000
3 d	15 000
4 d	15 500
5 d	16 000
6 d	15 200

1.1.2.5 实验兔肝动脉微球栓塞实验结果 4 只正常兔行 IL-2 葡聚糖微球肝动脉栓塞 ,1 周后 2 只成活。全麻下再次开腹观察 ,见肝周粘连 ,肝表面及肝切面散在黄色梗死灶。梗死灶光镜见肝组织完全坏死、呈无结构红染 ,其内散在小片状凝胶物。肝末梢动脉内见凝胶物堆集、堵塞 ,坏死灶内、灶周肝窦内及肝末梢动脉内均未见成形微球 ,未见侧支再通。载药组与空白组对比观察 ,两组间无明显差异。

1.1.3 Vx-2 兔肝癌模型的制备 40 只健康成年日本大耳兔 ,体重 2.5 ~ 3.0 kg。肿瘤瘤株为 Vx-2 磷状细胞癌 ,以兔股部肌肉内种植体形式、由华中科技大学同济医学院动物实验中心提供。以耳静脉注射戊巴比妥钠(30 mg/kg)将股肌内载瘤兔全麻 ,无菌术下切取部分瘤块 ,以生理盐水冲洗 ,修剪去除表面非瘤组织 ,以眼科剪将瘤块剪切成 2 ~ 3 mm^3 大小瘤粒 ,浸泡于生理盐水中备用。以耳静脉注射戊巴比妥钠(30 mg/kg)将实验兔全麻 ,仰置、固定于实验台上。上腹区去毛备皮 ,消毒铺巾 ,于剑突下切一长约 2 cm 之纵行切口 ,显露肝脏。将浸泡消毒、冲洗后的动脉穿刺针之针芯后抽 1 cm ,以眼科镊将 2 ~ 3 粒备用瘤粒塞入穿刺针口内 ,卡紧固定穿刺针之针芯 ,以免将瘤粒推出。直视下将穿刺针斜行穿入肝内约 1 cm 深 ,固定针套、推入针芯 ,将瘤粒直接推入肝实质内 ,拔针、以消毒棉签轻压肝表面穿刺针口 1 min ,待针口闭合、无血液流出或瘤粒溜出后关腹。种植 2 周后进行下一步实验。

1.2 实验方法

40 只载瘤兔 ,分用药组(IL-2 葡聚糖微球并超液化碘油栓塞组)和对照组(空白葡聚糖微球并超液化碘油栓塞组) ,每组 20 只。

1.2.1 载瘤兔全麻 ,仰置 ,四肢固定 ,抽取耳静脉血(1 ml \times 2) ,分别了解载瘤状态下 IL-2 及 sIL-2R 含量。腹部备皮、消毒 ,再次剑突下切口 ,显露肝门 ,探视种植灶 ,明确种植叶段、部位。

1.2.2 以微细穿刺针刺肝固有动脉 ,以 45% 复方泛影葡胺行肝固有动脉造影 ,明确瘤灶部位、血供 ,以 45% 复方泛影葡胺 2~4 ml 悬浮 25 mg IL-2 葡聚糖微球 ,间歇缓慢注入肝动脉内 ,再注入适量超液化碘油(0.5 ml 左右)栓塞肝动脉。拔管 ,压闭肝固有动脉止血 ,关腹。

1.2.3 术后 3、6 d 分别抽取耳静脉血样(1 ml×2) ,观察术后 IL-2 及 sIL-2R 之改变。观察实验兔精神、进食等改变。术后 6 d 行心脏穿刺、放血处死 ,开腹观察瘤灶大体表现 ,切下瘤灶所在肝叶送病理检查。

1.3 血清 IL-2 和 sIL-2R 测定

于肿瘤种植前、种植后 2 周及栓塞术后第 3、6 天抽取股静脉血 2 ml 分别行 IL-2 和 sIL-2R 血浓度检测。分别采用 IL-2 测定试剂盒和 sIL-2R 测定试剂盒检测 ,观察 IL-2 和 sIL-2R 血药浓度的动态改变。

2 结果

2.1 种植灶大体形态学观察及造影表现

V_x-2 瘤株肝内种植 2 周后、再次开腹 ,拟行肝动脉穿刺造影并 IL-2 葡聚糖微球(或空白葡聚糖微球)与碘油栓塞。开腹后先行肝脏大体观察 ,实验兔肝内肿瘤均种植成功 ,见肝内种植结节略突出于肝表面 ,质硬 ,呈浅白色 ,均未突破肝包膜 ,亦无邻近及腹腔内侵犯或种植。用药组 4 只(4/20)、对照组 5 只(5/20)实验兔肝动脉穿刺插管未成功 ,随即处死 ,切取种植灶观察 ,9 个瘤结节剖面最大径线为 8~12 mm ,平均为 10 mm ,其切面呈鱼肉状 ,境界清晰 ,瘤灶内无坏死。用药组 16 只(16/20)、对照组 15 只(15/20)实验兔肝动脉穿刺插管成功 ,肝动脉造影均见种植结节富血供表现 ,呈结节状肿瘤实质染色 ,其内可见点状浓染 ,其边缘欠清晰 ,肿瘤供血动脉支明显增粗。

2.2 实验兔栓塞术中及术后一般状况观察

用药组 20 只实验兔中 ,肝动脉穿刺插管未成功 4 只(4/20)、栓塞术中麻醉过量致死 2 只(2/16)、栓塞术后死于较大范围的肝梗死 2 只(2/14)、所取血样溶血较明显 2 只(2/12) ,故剩有效样本 10 只。对照组 20 只实验兔中 ,肝动脉穿刺插管未成功 5 只(5/20)、栓塞术中麻醉过量致死 1 只(1/15)、栓塞术后死于较大范围的肝梗死 3 只(3/14)、所取血样溶血较明显 3 只(3/11) ,剩有效样本 8 只 ,成功补做 2 只。故 2 组有效统计样本均为 10 只。实验兔术后 3 d 内拒食 ,少动 ,消瘦。第 4 天开始进食 ,术后 1 周

腹部切口愈合良好。

2.3 肝动脉栓塞后肝脏及瘤灶大体形态学表现

肝动脉栓塞 1 周后第 3 次开腹行肝脏及瘤结节大体观察 ,见肝脏散在梗死灶 ,种植结节突出明显减轻。切取瘤结节 ,用药组 12 只实验兔瘤灶正中剖面观察均见瘤结节完全坏死 ,呈灰白豆渣样 ,假包膜形成 ,与正常肝实质有清晰境界 ,坏死物与假包膜易剥离。对照组 11 只实验兔瘤灶正中剖面观察见瘤结节中心性坏死 ,坏死灶剖面最大径线为 4~6 mm ,平均为 5 mm ,坏死物呈灰白豆渣样 ,瘤灶周边仍见活体瘤组织 ,无假包膜形成。

2.4 显微镜病理观察

用药组光镜下见种植结节呈坏死无结构样表现 ,其内见散在碎片状微球分解物。坏死灶周围见假包膜之层状纤维细胞。灶周见淋巴细胞、浆细胞。电镜下见瘤细胞坏死 ,细胞器结构破坏。

对照组光镜下瘤结节中心呈坏死无结构样表现 ,而其周缘区仍见活体瘤组织。瘤灶中心取材电镜下见瘤细胞坏死 ,细胞器呈无结构状。瘤灶边缘取材电镜下仍见活体瘤细胞。

2.5 血中 IL-2 浓度的测定结果

用药组和对照组于正常状态下(V_x-2 瘤株肝内种植前)、种植后 2 周、肝动脉栓塞后第 3、6 天 IL-2 血浓度(均值 pg/ml)的结果见表 2。

表 2 两组肿瘤种植前后及栓塞前后血清 IL-2 测定(pg/ml)

组别	种植前	种植后 2 周	栓后 3 d	栓后 6 d
用药组	340 ± 10	183 ± 23	1726 ± 134	991 ± 45
对照组	330 ± 15	182 ± 25	580 ± 65	423 ± 37

结果显示 ,种植后 2 周 IL-2 血浓度均值较种植前均明显减低 ,种植前、后有显著性差异(*P* < 0.05) ,但两组间无差异。同栓塞术前比较 ,肝动脉栓塞后第 3、6 天 IL-2 血浓度均值两组均明显增高 ,但两组间有明显差异 ,用药组增高更甚。

2.6 血中 sIL-2R 浓度的测定结果

用药组和对照组于正常状态下(V_x-2 瘤株肝内种植前)、种植后 2 周、肝动脉栓塞后第 3、6 天 sIL-2R 血浓度(均值 pmol/ml)的结果见表 3。

表 3 两组肿瘤种植前后及栓塞前后血清 sIL-2R 测定(pmol/ml)

组别	种植前	种植后	栓后 3 d	栓后 6 d
用药组	2 733 ± 320	21 760 ± 2860	2 710 ± 225	2 170 ± 265
对照组	2 638 ± 312	20 380 ± 2780	3 220 ± 268	2 816 ± 275

结果显示 ,种植后 2 周 sIL-2R 血浓度均值较种

植前均明显增高,种植前、后有显著性差异($P < 0.01$),但两组间无显著差异。同栓塞术前比较,肝动脉栓塞后第 3 天、第 6 天 sIL-2R 血浓度均值两组均下降,但两组间有差异,用药组下降更甚。

3 讨论

3.1 IL-2 抗癌免疫促进作用已得以肯定^[3],已经有了 LAK/IL-2、TIL/IL-2 疗法、IL-2 全身用药和肿瘤局部用药方法,对肿瘤的消减有极大的生物治疗作用^[4-7]。原发性肝癌外科切除术后静脉注射 IL-2 能明显抑制复发。

3.2 已有报道对葡聚糖耦合制成表柔比星-羧甲基葡聚糖偶合物(EPR-CMD)、阿霉素-羧甲基化葡聚糖微球(ADM-CM-DMS)、丝裂霉素 C-葡聚糖微球(MMC-DMS)等进行了广泛的药理实验研究和临床试用探讨,取得较为理想的结果^[8-11]。

3.3 已有文献报道,Vx-2 瘤株接种于兔肝内可形成富血管性种植结节,其血供主要来源于肝动脉。虽然其病理形态学非肝细胞癌,但接种成功率高,成瘤时间短,其血供类型同于原发性小肝癌或转移性肝癌。因此,在肝癌动物实验研究中,仍常选择 Vx-2 瘤株制成移植性肝癌模型,进行肝癌介入治疗、抗癌药物的药动学和放射生物学等方面的临床前期试验^[12-15]。

3.4 本实验发现,IL-2 葡聚糖微球及碘油经肝动脉栓塞治疗兔种植性肝癌,可致种植结节完全坏死,可能为微球及碘油的栓塞作用和 IL-2 免疫促进作用的共同结果。空白葡聚糖微球及碘油经肝动脉栓塞治疗兔种植性肝癌,致种植结节中心性部分坏死,可能为微球及碘油的栓塞作用结果。两组各观察指标的对比分析表明,前者在肿瘤坏死程度、免疫功能促进方面明显优于后者。但是,碘油与 IL-2 并用是否弱化 IL-2 的免疫促进作用,IL-2 葡聚糖微球在肝内和瘤灶内的降解进程,在 IL-2 葡聚糖微球降解过程中,瘤灶内和外周血中 IL-2 浓度有无梯差,用药组和对照组瘤灶内、瘤灶周围免疫活性细胞的浸润有无质与量的差异等,这些问题均有待于后续实验进一步观察。

[参 考 文 献]

- [1] Kanematsu T, Furui J, Yanaga K, et al. A 16-year experience in performing hepatic resection in 303 patients with hepatocellular carcinoma[J]. Surgery, 2002, 131(1 suppl) :S153-158.
- [2] 张志荣,魏振平,王 莉,等.米托蒽醌肝动脉栓塞羧甲基淀粉微球的研究[J].药学报,1998,33:772-777.
- [3] 余传霖,叶天星,陆德源,等.现代医学免疫学[M].上海:上海医科大学出版社,1998.132-133.
- [4] 周华兰,倪惠文,李 凌,等.白介素 2 肝动脉灌注治疗Ⅱ、Ⅲ期原发性肝癌疗效分析[J].江西医学院学报,1996,36:37-39.
- [5] Lygidakis NJ, Sgourakis G, Dedemadi G, et al. Preoperative main portal branch transection combined with liver locoregional transarterial neo and adjuvant immunochemotherapy for patients with hepatocellular carcinoma[J]. Hepatogastroenterology, 2000, 47:1546-1554.
- [6] Takayama T, Sekine T, Makuuchi M, et al. Adoptive immunotherapy to lower postsurgical recurrence rates of hepatocellular carcinoma: a randomised trial[J]. Lancet, 2000, 356:802-807.
- [7] Palmieri G, Montella L, Milo M, et al. Ultra-low-dose interleukin-2 in unresectable hepatocellular carcinoma[J]. Am J Clin Oncol, 2002, 25:224-226.
- [8] 徐风华,蒋雪涛,杨全胜,等.葡聚糖-表柔比星偶合物的制备和性质研究[J].中国药学杂志,2000,35:455-457.
- [9] 王世德,谢敬霞,魏树礼,等.阿霉素羧甲基化葡聚糖微球实验研究[J].中华放射学杂志,1994,28:490-491.
- [10] 何素梅,孙貽春,魏树礼,等.阿霉素羧甲基葡聚糖微球犬肝动脉栓塞后阿霉素的体内过程[J].药学报,1993,28:859-863.
- [11] 李 选,谢敬霞,魏树礼,等.含丝裂霉素 C 葡聚糖微球肝动脉栓塞治疗肝脏恶性肿瘤(附 100 例报告 I)[J].中华放射学杂志,1991,25(增刊):4-7.
- [12] Okada M, Kudo S, Miyazaki O, et al. Antitumoral efficacy and pharmacokinetic properties of pirarubicin upon hepatic intra-arterial injection in the rabbit VX2 tumor model[J]. Br J Cancer, 1995, 71:518-524.
- [13] Mugitani T, Taniguchi H, Takada A, et al. TNP-470 inhibits collateralization to complement the anti-tumor effect of hepatic artery ligation[J]. Br J Cancer, 1998, 77:638-642.
- [14] Part F, Centarti M, Sibille E, et al. Extracorporeal high-intensity ultrasound for Vx-2 liver tumors in the rabbit[J]. Hepatology, 1995, 21:832-836.
- [15] 张洪新,王执民,曹 伟,等.兔 Vx-2 移植性肝癌模型的建立及其影像学表现[J].介入放射学杂志,2002,3:193-196.

(收稿日期:2004-04-28)

白细胞介素2葡聚糖微球并碘油栓塞治疗肝癌的动物实验

作者：[曾晓华](#), [冯耿生](#), [王颂章](#), [金德勤](#), [唐瑛](#), [丁进亚](#), [ZENG Xiao-hua](#), [FENG Gan-sheng](#), [WANG Song-zhang](#), [JIN De-qin](#), [TANG Ying](#), [DING Jin-ya](#)

作者单位：[曾晓华](#), [王颂章](#), [金德勤](#), [唐瑛](#), [丁进亚](#), [ZENG Xiao-hua](#), [WANG Song-zhang](#), [JIN De-qin](#), [TANG Ying](#), [DING Jin-ya](#) (430070, 武汉解放军广州军区武汉总医院放射科), [冯耿生](#), [FENG Gan-sheng](#) (华中科技大学同济医学院附属协和医科放射科)

刊名：[介入放射学杂志](#) **ISTIC PKU**

英文刊名：[JOURNAL OF INTERVENTIONAL RADIOLOGY](#)

年, 卷(期): 2006, 15 (2)

被引用次数: 2次

参考文献(15条)

1. [Kanematsu T](#), [Furui J](#), [Yanaga K](#) [A 16-year experience in performing hepatic resection in 303 patients with hepatocellular carcinoma](#) 2002(z1)
2. [张志荣](#), [魏振平](#), [王莉](#) [米托蒽醌肝动脉栓塞羧甲基淀粉微球的研究](#) 1998
3. [余传霖](#), [叶天星](#), [陆德源](#) [现代医学免疫学](#) 1998
4. [周华兰](#), [倪惠文](#), [李凌](#) [白介素2肝动脉灌注治疗 II、III期原发性肝癌疗效分析](#) 1996
5. [Lygidakis NJ](#), [Sgourakis G](#), [Dedemadi G](#) [Preoperative main portal branch transection combined with liver locoregional transarterial neo and adjuvant immunochemotherapy for patients with hepatocellular carcinoma](#) 2000
6. [Takayama T](#), [Sekine T](#), [Makuuchi M](#) [Adoptive immunotherapy to lower postsurgical recurrence rates of hepatocellular carcinoma:a randomised trial](#) 2000
7. [Palmieri G](#), [Montella L](#), [Milo M](#) [Ultra-low-dose interleukin-2 in unresectable hepatocellular carcinoma](#) 2002
8. [徐风华](#), [蒋雪涛](#), [杨全胜](#) [葡聚糖-表柔比星偶合物的制备和性质研究](#)[期刊论文]-[中国药学杂志](#) 2000
9. [王世德](#), [谢敬霞](#), [魏树礼](#) [阿霉素羧甲基化葡聚糖微球实验研究](#) 1994
10. [何素梅](#), [孙贻春](#), [魏树礼](#) [阿霉素羧甲基葡聚糖微球犬肝动脉栓塞后阿霉素的体内过程](#) 1993
11. [李选](#), [谢敬霞](#), [魏树礼](#) [含丝裂霉素C葡聚糖微球肝动脉栓塞治疗肝脏恶性肿瘤\(附100例报告\)](#) 1991(zk)
12. [Okade M](#), [Kudo S](#), [Miyazaki O](#) [Antitumoral efficacy and pharmacokinetic properties of pirarubicin upon hepatic intro-arterial injection in the rabbit VX2 tumor model](#) 1995
13. [Mugitani T](#), [Taniguchi H](#), [Takada A](#) [TNP-470 inhibits collateralization to complement the anti-tumor effect of hepatic artery ligation](#) 1998
14. [Part F](#), [Centarti M](#), [Sibille E](#) [Extracorporeal high-intensity ultrasound for Vx-2 liver tumors in the rabbit](#) 1995
15. [张洪新](#), [王执民](#), [曹伟](#) [兔Vx-2移植性肝癌模型的建立及其影像学表现](#)[期刊论文]-[介入放射学杂志](#) 2002

相似文献(10条)

1. 期刊论文 [杨家和](#), [范瑞芳](#), [钱其军](#), [尤天庚](#), [薛惠斌](#), [苏长青](#), [曹惠芳](#), [吴孟超](#) [白细胞介素12及白细胞介素2对大鼠肝癌的联合基因治疗研究](#) -[中国肿瘤生物治疗杂志](#)2002, 9 (4)
目的:研究利用小鼠白细胞介素12(mIL-12)和人白细胞介素2(hIL-2)基因对大鼠肝癌进行联合基因治疗的可行性和疗效. 方法:构建携带mIL-12和hIL-2基因的逆转录病毒载体, 转染包装细胞后对实验性肝癌大鼠进行肝癌局部注射, 观察对肝癌细胞的生长抑制作用及其对大鼠的免疫功能变化、毒性反应. 结果:携带mIL-12/hIL-2基因的重组逆转录病毒在肿瘤内局部注射明显抑制了肝肿瘤的生长. 肝癌接种后第1, 3, 5, 7天治疗组大鼠35 d生存率分别为100%, 100%, 30%, 10%. IL-12+IL-2治疗组平均生存时间明显高于生理盐水对照组(P<0. 01)、逆转录病毒空载体对照组(P<0. 01)、IL-2治疗组(P<0. 01)和IL-12治疗组(P<0. 05). 治疗后肝癌组织中浸润的淋巴细胞明显增多. 结论:肝癌局部注射携带mIL-12和hIL-2基因的逆转录包装细胞株可明显抑制肝癌细胞的生长, 早期治疗优于晚期治疗.

2. 期刊论文 [张火俊, 杨继金, 王卫星, 江旭, 毛燕君, 杨朝爱, 郭冀湘, Huo-jun ZHANG, Ji-jin YANG, Wei-xing WANG.](#)

[Xu JIANG, Yan-jun MAO, Chao-ai YANG, Ji-xiang GUO 金龙胶囊对行肝动脉栓塞化疗的肝癌患者血清白细胞介素2和可溶性白细胞介素2受体水平的影响 -中西医结合学报2008, 6\(9\)](#)

目的:观察并探讨金龙胶囊对行肝动脉栓塞化疗(transarterial chemoembolization, TACE)的肝癌患者血清细胞因子白细胞介素2(interleukin-2, IL-2)及可溶性白细胞介素2受体(soluble interleukin-2 receptor, sIL-2R)表达的影响。方法:48例肝癌患者随机分为两组:金龙胶囊联合TACE组(金龙胶囊组)和单纯TACE组(对照组),每组24人。金龙胶囊组患者在第1次行TACE后口服金龙胶囊2个月(4粒/次,3次/d),对照组患者单纯行TACE治疗,两组患者在间隔55~60 d后行第2次TACE。第1次TACE治疗前和第2次TACE治疗的第1、7、15天分别检测血清细胞因子IL-2及sIL-2R表达水平。结果:两组患者IL-2及sIL-2R在第1次TACE治疗前表达水平相当($P>0.05$),IL-2水平低于正常成人,sIL-2R水平则高于正常成人。第2次TACE治疗的第1、7、15天,金龙胶囊组IL-2表达水平较同期对照组明显升高($P<0.05$),sIL-2R表达水平则较对照组明显降低($P<0.05$)。结论:TACE辅助金龙胶囊口服可以改善肝癌患者血清IL-2及sIL-2R的表达异常,提高患者机体的免疫水平,起到较好的辅助治疗作用。

3. 学位论文 [高王军 重组腺病毒介导的白细胞介素23基因转染人肝癌hepG2细胞的实验研究 2009](#)

目的:肝癌是最常见的恶性肿瘤之一。手术、化疗、放疗效果均难令人满意,严重威胁人们的生存健康,迫切需要探索新的治疗方法。近几年来免疫治疗和基因治疗为肝肿瘤的治疗开辟了新的途径。利用细胞因子相关的多种方法治疗肿瘤逐渐成为热点。白细胞介素12(IL-12)已被证明在小鼠中能抑制原发性和转移性肝肿瘤,而作为IL-12同家族成员,新发现的细胞因子白细胞介素23(IL-23)对结肠癌、黑色素瘤、乳腺癌、食道癌、胰腺癌等都有较强的抑制作用,结果令人鼓舞,且毒性较IL-12低,为临床使用提供了更为安全的途径。目前,IL-23对肝癌的动物实验也取得了较为满意的疗效,但其在体外是否对肝癌细胞有直接毒性作用,以及是否诱导细胞凋亡还不清楚。本实验通过研究重组腺病毒介导的IL-23对人肝癌hepG2细胞的影响,进一步探索IL-23对人肝癌hepG2细胞的作用机理,为临床应用IL-23治疗肝癌提供理论依据。

方法:传代培养人肝癌hepG2细胞,用携带人IL-23和增强型绿色荧光蛋白基因(EGFP)的重组腺病毒(adv-EGFP-IL-23)分别以感染复数(MOI)10、50、100、200、500转染hepG2细胞,并设未转染hepG2细胞作对照,24小时后分别在荧光及倒置显微镜下观察细胞,并用流式细胞仪测转染效率,确定最佳感染复数(MOI)。然后以最佳MOI adv-EGFP-IL-23转染hepG2细胞,逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)检测IL-23(p19和p40亚基)mRNA的表达情况。MTT(噻唑蓝)比色法测定不同时间点(0、24、48、72小时)对照组、adv-EGFP组、adv-EGFP-IL-23转染组hepG2细胞增殖。PI(碘化丙啶)染色后流式细胞仪测不同时间点(24、48小时)各组细胞凋亡率。统计学处理:实验数据以均数±标准差表示,采用SPSS11.5软件包进行单因素方差分析,以 $P<0.05$ 表示统计学差异。

结果:adv-EGFP-IL-23可以高效的转染hepG2细胞,当MOI为100时,转染效率为 $91.63\pm4.83\%$,与MOI10($29.71\pm3.48\%$)、50($58.17\pm6.27\%$)组相比差异有统计学意义, $P<0.05$,而与MOI200($92.8\pm4.76\%$)、500($94.43\pm3.57\%$)组相比差异无统计学意义, $P>0.05$ 。倒置显微镜下见细胞贴壁生长良好。在adv-EGFP-IL-23转染hepG2细胞,RT-PCR可检测到IL-23(p19和p40)mRNA的表达。MTT法分别检测不同时间点(0、24、48、72小时)对照组、adv-EGFP组、adv-EGFP-IL-23

转染组hepG2细胞增殖,见三组细胞均生长良好,生长曲线基本重合,未见明显抑制,差异无统计学意义, $P>0.05$ 。流式细胞仪分析不同时间点(24、48小时)各组细胞凋亡率,差异无统计学意义, $P>0.05$ 。

结论:携带IL-23基因的重组腺病毒可以高效转染人肝癌HepG2细胞,并在细胞内表达IL-23(p19和p40)mRNA。adv-EGFP-IL-23,adv-EGFP转染组以及对对照组hepG2细胞生长率,凋亡率比较均无统计学差异,反映IL-23自身可能对hepG2细胞并无直接毒性作用,体外转染如果不经免疫细胞介导则不影响细胞的凋亡及生长。这与文献报道的IL-23体外转染不影响结肠癌及乳腺癌等其它肿瘤细胞生长的结果相同,也间接证明IL-23的抗肿瘤作用主要是经免疫细胞介导的,主要靠激活TH1反应和CTL起作用。

4. 期刊论文 [胡书群, 周虎, 裴冬生, 陆梁, 张光毅 小鼠白细胞介素-18抗肝癌作用的初步研究 -徐州医学院学报](#)

2005, 25(5)

目的研究小鼠白细胞介素-18(mIL-18)对H22肝癌的作用。方法以 1×105 和 1×106 H22肝癌细胞腹腔注射昆明小鼠构建小鼠H22肝癌腹水瘤模型。在接种H22细胞后的1、4、8天,每天用 $10\mu\text{g}$ mIL-18腹腔注射荷瘤小鼠,连续注射5天;或者在接种后1天,分别用 $5\mu\text{g}$ 、 $10\mu\text{g}$ 和 $20\mu\text{g}$ 不同剂量的mIL-18腹腔注射小鼠。mIL-18作用后存活的小鼠,再次腹腔注射 1×105 H22肝癌细胞。结果构建得到小鼠H22肝癌腹水瘤模型。在接种 1×105 H22肝癌细胞后1、4天注射mIL-18的小鼠比对照组小鼠的存活率显著升高($P<0.05$),存活小鼠能抵抗再次接种的H22肝癌细胞的攻击。结论mIL-18对小鼠H22肝癌具有显著抑制作用,mIL-18作用后存活的小鼠具有对H22肝癌细胞的免疫记忆性。

5. 期刊论文 [吕品, 单桂秋, 王毅超, LU Pin, CHAN Gui-qiu, WANG Yi-chao 血清中白细胞介素6和白细胞介素8水平在](#)

[肝病检测中的临床应用 -西南国防医药2007, 17\(6\)](#)

目的:血清中IL-6和IL-8的含量是临床检验中的重要指标,本实验主要对肝癌患者血清的IL-6和IL-8的水平进行了统计分析,为进一步临床监测提供依据。方法:对86份肝癌患者血清进行检测,同时收集30份正常血清和35份肝硬化患者血清作为对照比较。结果:肝癌患者血清中IL-6水平 $[(0.197\pm0.041)\text{ng/ml}]$ 显著高于对照组(正常组的 0.159 ± 0.038 ;肝硬化组 0.185 ± 0.026);肝癌患者血清中IL-8水平 $[(0.463\pm0.127)\text{ng/ml}]$,显著高于对照组(正常组的 0.354 ± 0.113 ;肝硬化组 0.386 ± 0.102)。结论:血清中IL-6、IL-8水平可以作为肝癌的临床监测指标。

6. 期刊论文 [黎培员, 林菊生, 冯作化, 陈洪涛, 马昕, 宋东坡, 田德安 聚乙烯吡咯烷酮介导的白细胞介素-12基因治疗](#)

[小鼠肝癌微小病灶的实验研究 -中华消化杂志2004, 24\(4\)](#)

目的探讨白细胞介素(IL)-12基因注射对小鼠肝癌微小病灶的治疗作用。方法IL-12质粒转染BHK-21细胞,ELISA检测上清中IL-12的分泌,并用此上清刺激脾细胞,MTT检测其增殖。18只Balb/c小鼠腹部肌肉内接种H22细胞后分为3组分别注射聚乙烯吡咯烷酮(PVP)/生理盐水(NS)、PVP/NS作溶剂的pcDNA3.1质粒和IL2质粒观察肿瘤的形成;ELISA检测血清中IL-12的含量,切片观察肿瘤浸润淋巴细胞,并用免疫组化和TUNEL显示肿瘤血管密度和肿瘤细胞的凋亡。结果IL-12因子可以分泌到胞外,促进脾淋巴细胞的增殖(15.2%)。与对照组相比,治疗组血清IL-12水平上升,瘤内淋巴细胞大量浸润,血管减少,肿瘤细胞凋亡,肝癌微小病灶生长受抑,抑制率高达85.7%。结论PVP介导的IL-12基因重复注射对小鼠肝癌微小病灶具有很好的治疗效果。

7. 学位论文 [葛宁灵 免疫基因治疗防治肝癌的实验研究 2001](#)

在该系列实验中,我们评价了具有潜在治疗作用的IL-2和B7-1基因单独或共同转染对激活机体抗癌免疫的影响。该实验提示联合B7-1和IL-2基因转染的瘤苗对预防肝癌的转移复发有潜在的治疗意义;采用mIL-12基因修饰的免疫效应细胞直接瘤内注射的过继性免疫治疗方法可能成为治疗癌症的新方法。

8. 期刊论文 [张一心, 徐青, 咸华, 汪晓莺, 陈易人 白细胞介素12诱导肝癌肿瘤浸润淋巴细胞的临床应用 -南通医学院学报2004, 24\(4\)](#)

目的:对IL-12+IL-2培养的肝癌肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)与IL-2诱导的TIL作对照研究观察TIL的特异性杀伤力、增殖能力、细胞因子的改变及临床疗效。方法:将手术切除的原发性肝癌进行体外分离,分别用含IL-2的培养液和含IL-12+IL-2的培养液培养,诱导TIL的生长。培养10~14天测定细胞杀伤率、细胞因子和增殖能力,待细胞扩增达 $108\sim9\times10^8$ 1时进行回输,随访观察临床疗效。结果:(1)IL-12+IL-2组TIL对自体肝癌细胞的细胞杀伤率比IL-2组明显增高($P<0.01$);(2)IL-12+IL-2组TIL比IL-2组扩增能力明显增强($P<0.05$);(3)IL-12+IL-2组较IL-2组细胞因子 γ 干扰素(IFN- γ)和肿瘤坏死因子 α (TNF- α)水平明显增高($P<0.05$);(4)TIL回输后IL-12+IL-2组与IL-2组CD3 $^{+}$ 、CD4 $^{+}$ 、CD8 $^{+}$ 均升高,以CD3 $^{+}$ 、CD8 $^{+}$ 升高为主。与输注前比较差异均有显著性。IL-12+IL-2组与IL-2组间比较,前者CD3 $^{+}$ 、CD8 $^{+}$ 、CD56 $^{+}$ 上明显高于后者,差异显著($P<0.05$)。患者的临床症状改善明显。(6)IL-12+IL-2组1年、3年、5年生存率与IL-2组TIL回输肝癌患者对比差异均显著且复发率降低。结论:[HTSS]白介素12诱导肝癌TIL可明显增强TIL细胞的特异性细胞毒作用且增殖能力明显增强。IL-12+IL-2诱导的肝癌肿瘤浸润淋巴细胞可提高肝癌患者机体免疫功能,延长生存期,降低复发率。

9. 期刊论文 [杨家和, 范瑞芳, 钱其军, 尤天庚, 薛惠斌, 苏长青, 曹惠芳, 吴孟超 脾内转染白细胞介素12与白细胞介素](#)

2融合基因治疗肝癌的实验研究 -中华医学杂志2003, 83 (9)

目的观察脾内直接注射携带白细胞介素12与白细胞介素2融合基因的逆转录病毒包装细胞株对肝癌细胞的生长抑制作用. 方法构建携带小鼠白细胞介素12(mIL-12)和人白细胞介素2(hIL-2)融合基因的逆转录病毒载体GCIL12EIL2PN, 转染包装细胞PA317, 于不同时间对接种肝癌大鼠模型进行脾内注射(1×107细胞/只)治疗, 观察对肝癌细胞的生长抑制作用及其对大鼠的免疫功能变化、毒性反应. 结果IL-12-IL-2融合基因治疗组中, 肝癌细胞株CBRH3接种大鼠肝脏后第1、3、5、7天进行治疗的大鼠平均生存时间分别为53.3 d±3.7 d、49.3 d±4.2 d、31.0 d±2.1 d及24.3 d±1.4 d, IL-2基因治疗组分别为25.0 d±2.5 d、23.5 d±2.0 d、18.3 d±2.4 d及12.0 d±1.8 d(P<0.001), IL-12基因治疗组分别为39.0 d±4.8 d、32.0 d±3.9 d、23.0 d±2.5 d及19.4 d±2.1 d(P<0.001). 第1天和第3天治疗组长期待存活率(≥60 d)为30%, 治疗后2个月血清mIL-12及hIL-2仍维持在较高水平. 治疗后肝癌组织中浸润的淋巴细胞明显增多. 结论脾内直接注射携带mIL-12和hIL-2融合基因的逆转录包装细胞株可明显抑制肝癌细胞的生长, 早期治疗优于晚期治疗.

10. 学位论文 薛惠斌 逆转录病毒载体介导的肝癌基因治疗的初步实验研究 1999

该研究应用携带有对肿瘤有一定疗效的目的基因如细胞因子IL-2、IL-12, 共刺激因子B7、HSV-TK、抑癌基因P53、细胞凋亡关键基因ICE等的逆转录病毒包装细胞株对大鼠腹腔肝癌模型进行治疗, 系统比较了各个目的基因对肝癌的治疗效果. 研究人员的研究发现, IL-12可能是一种对肝癌具有特殊疗效的目的基因. 在常见的肿瘤基因治疗目的基因中, IL-12是一个对肝癌疗效较为突出的治疗基因. IL-12融合基因不仅提高了IL-12的蛋白表达量, 而且使它对肝癌的治疗效果也更为显著. 更有意义的是, 联合IL-2治疗肝癌, 疗效比单个基因更为突出. 同时, 研究人员的实验也证明, 将逆转录病毒的包装细胞株注入脾脏治疗肝癌是一条安全有效的途径.

引证文献(2条)

- 1. 欧阳墉 经导管动脉灌注术和栓塞术在我国的发展历程及其现状[期刊论文]-介入放射学杂志 2008(12)
- 2. 吴少平. 卢武胜. 徐大伟. 郑志勇 经肝动脉灌注131I-HAb18F(ab')2治疗肝癌合并门静脉癌栓疗效分析[期刊论文]-介入放射学杂志 2007(8)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_jrfjsxzz200602010.aspx
授权使用: qkxb11(qkxb11), 授权号: db0b43e0-3aa2-4c61-b514-9e1f0000727d

下载时间: 2010年10月30日