

微波消融联合5-氟尿嘧啶瘤内注射对小鼠结肠癌移植瘤的治疗

林海, 王云海

■背景资料

微波消融术(MA)是近几十年发展起来的微创技术, 广泛应用于各个学科。他不仅可以治疗丧失手术机会的肿瘤患者, 而且具有较手术治疗更能耐受脏器功能差、保存瘤外正常组织、避免全身化疗不良反应以及减少手术创伤和病死率、有效治疗转移肿瘤的优势, 在结肠癌及结肠癌肝转移的治疗中更是取得了显著成效, 然而MA后局部复发较为常见, 是造成治疗失败的重要原因。

林海, 王云海, 新疆医科大学第一附属医院 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000

林海, 中国人民解放军兰州军区乌鲁木齐总医院普外科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000

作者贡献分布: 本课题由林海设计; 实验由林海完成; 数据分析由林海完成; 王云海修改; 论文写作由林海完成; 王云海审校。

通讯作者: 王云海, 教授, 博士生导师, 830000, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市, 新疆医科大学第一附属医院胃肠外科。

ftcall777@yahoo.com.cn

收稿日期: 2011-05-12 修回日期: 2011-07-21

接受日期: 2011-08-01 在线出版日期: 2011-08-08

Therapeutic effect of microwave ablation combined with injection of 5-fluorouracil in mice bearing CT26 colon carcinoma xenografts

Hai Lin, Yun-Hai Wang

Hai Lin, Yun-Hai Wang, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Hai Lin, Department of General Surgery, Urumqi General Hospital of Lanzhou Military Region of Chinese PLA, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Correspondence to: Professor Yun-Hai Wang, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. ftcall777@yahoo.com.cn

Received: 2011-05-12 Revised: 2011-07-21

Accepted: 2011-08-01 Published online: 2011-08-08

Abstract

AIM: To evaluate the therapeutic effect of microwave ablation (MA) combined with injection of 5-fluorouracil (5-FU) in mice bearing CT26 colon carcinoma xenografts.

METHODS: Balb/c mice were subcutaneously inoculated with CT26 cells to establish a xenograft mouse model of colon carcinoma. Model mice were divided into four groups: PBS group, MA group, 5-FU group, and MA plus 5-FU group. After treatment, the changes in tumor volume were measured; tumor recurrence, mouse survival and living status were observed; and peripheral serum levels of TNF- α , IL-2, IL-12 and IFN- γ were determined by ELISA.

RESULTS: The life span of mice treated by MA, 5-FU injection, MA plus 5-FU was significantly longer than that of mice treated with PBS ($47 \text{ d} \pm 1.7 \text{ d}$, $36 \text{ d} \pm 2.1 \text{ d}$, $56 \text{ d} \pm 2.5 \text{ d}$ vs $33 \text{ d} \pm 1.4 \text{ d}$, all $P < 0.05$). Tumor size significantly decreased in the MA plus 5-FU group compared to the other three groups (all $P < 0.05$). Peripheral serum levels of TNF- α , IL-2, IL-12, and IFN- γ in the combination therapy group were significantly higher than those in the other three groups (180.3 ± 35.9 vs 62.8 ± 12.7 , 96.3 ± 25.1 , 136.9 ± 49.4 ; 72.5 ± 6.8 vs 20.6 ± 7.3 , 27.9 ± 10.5 , 46.4 ± 9.3 ; 302.3 ± 69.6 vs 123.4 ± 13.1 , 153.8 ± 35.4 , 278.9 ± 57.0 ; 68.4 ± 8.2 vs 29.9 ± 4.3 , 36.8 ± 4.6 , 59.1 ± 9.0 ; all $P < 0.01$).

CONCLUSION: MA combined with 5-FU injection can improve anti-tumor effect by strengthening immunological function and reducing local recurrences as compared to that of either treatment alone.

Key Words: Microwave ablation; 5-fluorouracil; Colon carcinoma

Lin H, Wang YH. Therapeutic effect of microwave ablation combined with injection of 5-fluorouracil in mice bearing CT26 colon carcinoma xenografts. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(22): 2368-2371

摘要

目的: 研究微波消融(MA)联合5-氟尿嘧啶瘤内注射对小鼠移植性结肠癌的治疗作用。

方法: Balb/c小鼠皮下接种结肠癌CT26细胞建立肿瘤模型, 肿瘤分别给予瘤周注射PBS、MA、瘤周注射5-氟尿嘧啶和MA+瘤周注射5-氟尿嘧啶4种处理。测量各组肿瘤大小; 观察肿瘤复发情况、动物生存期及生活状态; ELISA法检测各组小鼠外周血TNF- α 、IL-2、IL-12和IFN- γ 的含量。

结果: 60 d生存期观察发现微波消融组 $47 \text{ d} \pm 1.7 \text{ d}$ 、5-氟尿嘧啶组 $36 \text{ d} \pm 2.1 \text{ d}$ 和微波消融联合5-氟尿嘧啶组 $56 \text{ d} \pm 2.5 \text{ d}$ 小鼠的生存期显著高于PBS组 $33 \text{ d} \pm 1.4 \text{ d}$; 微波消融联合5-

■同行评议者

姚登福, 教授, 南通大学附属医院
分子医学中心

氟尿嘧啶组肿瘤体积 $[(0.11 \pm 0.03) \text{ cm} \times \text{cm} \times \text{cm}]$ 较其他3组显著增大($P < 0.05$); 联合治疗组小鼠外周血中TNF- α 浓度(ng/L), IL-2浓度(ng/L), IL-12浓度(ng/L), IFN- γ 浓度(ng/L)显著高于其他3组(180.3 ± 35.9 vs 62.8 ± 12.7 , 96.3 ± 25.1 , 136.9 ± 49.4 ; 72.5 ± 6.8 vs 20.6 ± 7.3 , 27.9 ± 10.5 , 46.4 ± 9.3 ; 302.3 ± 69.6 vs 123.4 ± 13.1 , 153.8 ± 35.4 , 278.9 ± 57.0 ; 68.4 ± 8.2 vs 29.9 ± 4.3 , 36.8 ± 4.6 , 59.1 ± 9.0 , 均 $P < 0.01$).

结论: MA联合5-氟尿嘧啶瘤内注射可以减少结肠癌移植瘤局部复发, 提高治疗效果.

关键词: 微波消融; 5-氟尿嘧啶; 结肠癌

林海, 王云海. 微波消融联合5-氟尿嘧啶瘤内注射对小鼠结肠癌移植瘤的治疗. 世界华人消化杂志 2011; 19(22): 2368-2371

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2368.asp>

0 引言

微波消融术(microwave ablation, MA)是近几十年发展起来微创技术, 广泛应用于各个学科^[1-4]. 他不仅可以治疗丧失手术机会的肿瘤患者, 而且具有较手术治疗更能耐受脏器功能差、保存瘤外正常组织、避免全身化疗不良反应以及减少手术创伤和病死率、有效治疗转移肿瘤的优势, 在结肠癌及结肠癌肝转移的治疗中更是取得了显著成效, 然而MA后局部复发较为常见, 是造成治疗失败的重要原因^[5-9]. 据报道, MA联合阿霉素应用可以更有效的抑制肿瘤生长^[10]. 本实验采用MA联合5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)瘤内注射的治疗方案, 观察这种治疗方法在减少肿瘤复发, 改善生存期方面的疗效.

1 材料和方法

1.1 材料 5-FU注射液购自上海旭东海普药业有限公司; MTC-3C微波消融治疗仪为南京庆海微波电子研究所产品, 微波电极针直径为1.2 mm; Balb/C小鼠, 鼠龄4-6 wk, 体质量20-25 g, 雌雄各半, 购自中国人民解放军兰州军区乌鲁木齐总医院实验动物中心.

1.2 方法

1.2.1 分组与造模: 将在体外培养的指数生长期CT26细胞以 $1 \times 10^6/\text{mL}$ 浓度的单细胞悬液0.1 mL注射于Balb/c小鼠皮下, 建立小鼠结肠癌模型. 将小鼠随机分成瘤周注射PBS组、MA组、MA+5-FU组和5-FU组, 每组12只.

1.2.2 MA+5-FU瘤内注射: 挑选肿瘤直径1.0 cm左右、形似圆球的小鼠时进行实验. 微波消融时, 10%水合氯醛麻醉后, 700 mL/L乙醇消毒, 在肿瘤旁皮肤做小切口, 沿肿瘤长轴插入微波电极针, 5 W \times 300 s. 联合治疗组小鼠在MA结束后0.5 h, 瘤周注射5 mg无菌5-FU, 分3点做瘤周注射. 5-FU组和PBS组分别行瘤周注射5 mg无菌5-FU和60 μL PBS, 分3点注射. 定期测量肿瘤大小, 在治疗后第21天处死部分小鼠, 取出瘤块测量肿瘤体积.

1.2.3 生存期及生活状态观察: 记录小鼠治疗前后进食、饮水、活动等生活状态, 并记录其死亡时间, 观察时间为60 d.

1.2.4 小鼠TNF- α 、IL-2、IL-12、IFN- γ 检测: 小鼠治疗后第21天, 眼眶取血, 1 500 r/min离心5 min, 取上清, 保存-20 $^{\circ}\text{C}$ 备用. 按说明书步骤进行实验.

统计学处理 所有数据采用SPSS14.0软件进行分析, 计量资料均采用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示. One-way ANOVA对各试验组计量资料进行多重比较, 两个独立样本采用 χ^2 检验比较. $P < 0.05$ 为有统计学差异.

2 结果

2.1 生存期 生存期计算从治疗后的第1天开始, 共观察60 d. MA+5-FU组的中位生存期为56 d \pm 2.5 d, MA组的中位生存期为47 d \pm 1.7 d, 两者无显著性差异($P > 0.05$), 比PBS组(33 d \pm 1.4 d)和5-FU组(36 d \pm 2.1 d)有显著延长(均 $P < 0.01$). 5-FU组中位生存期优于PBS组($P < 0.05$).

2.2 肿瘤体积抑瘤率 小鼠治疗后21 d, PBS组、5-FU组、MA组和MA+5-FU组($n = 6$)小鼠的平均肿瘤体积($\text{cm} \times \text{cm} \times \text{cm}$)分别是5.45、3.24、0.21和0.11. MA+5-FU组和MA组肿瘤体积均比PBS组和5-FU组显著缩小($P < 0.01$). 5-FU组肿瘤体积显著小于PBS组($P < 0.01$).

2.3 小鼠血清细胞因子检测 MA+5-FU组中小鼠血浆中TNF- α 浓度为(180.3 ± 35.9) ng/L , IL-2浓度为72.5 $\text{ng/L} \pm 6.8$ ng/L , IL-12浓度为302.3 $\text{ng/L} \pm 69.6$ ng/L , IFN- γ 浓度为68.4 $\text{ng/L} \pm 8.2$ ng/L , 显著高于其他3组, 其中MA组较PBS组和5-FU组高(均 $P < 0.01$, 表1).

3 讨论

近年来, 随着影像技术的进步及操作方法的改进, 微波消融在结肠癌的应用得到了很大的推

■相关报道

有报道称, MA联合全身化疗或经导管动脉化疗栓塞可以减少肝癌的复发率, 提高治愈率.

■应用要点

MA联合5-氟尿嘧啶瘤内注射可以减少结肠癌移植瘤局部复发, 提高治疗效果。

表 1 小鼠血清细胞因子变化 ($n = 6$, ng/L)

分组	TNF- α	IL-2	IL-12	IFN- γ
PBS组	62.8 \pm 12.7	20.6 \pm 7.3	123.4 \pm 13.1	29.9 \pm 4.3
5-FU组	96.3 \pm 25.1	27.9 \pm 10.5	153.8 \pm 35.4	36.8 \pm 4.6
MA组	136.9 \pm 49.4	46.4 \pm 9.3	278.9 \pm 57.0	59.1 \pm 9.0 ^{bd}
MA+5-FU组	180.3 \pm 35.9	72.5 \pm 6.8	302.3 \pm 69.6	68.4 \pm 8.2 ^{bd}

^b $P < 0.01$ vs PBS组; ^d $P < 0.01$ vs 5-FU组。

广^[11]。但是作为局部减瘤术, MA对肿瘤周围的亚临床病灶不能有效进行杀伤, 常常伴随部分局部复发率, 复发率高达20%-50%, 是造成肿瘤复发及进展重要原因^[12-14]。如何对消融区域的亚临床病灶进行有效杀伤, 是提高MA治疗恶性肿瘤疗效需要解决的重要问题。有报道称, MA联合全身化疗或经导管动脉化疗栓塞可以减少肝癌的复发率, 提高治愈率^[15,16]。但关于瘤内化学药物注射联合MA治疗结肠癌的研究较少。

本实验采用治疗消化系统肿瘤常用化学药物5-FU作为瘤内注射药物。5-FU为抗代谢类抗肿瘤药物, 通过抑制胸腺嘧啶核苷酸合成酶而抑制DNA的合成, 不仅可以全身用药, 而且可以在腔内及瘤内用药, 在包括结肠癌在内的多种恶性实体肿瘤的治疗中, 发挥重要作用。在实验中, 我们发现瘤内5-FU注射能显著减小肿瘤体积。但同MA相比, 单纯瘤内注射5-FU短期疗效稍差, 可能与MA可在短期内减少肿瘤体积有关。这同国内MA联合全身化疗的结果相类似^[17,18]。实验中发现, MA后, 局部注射化疗药物5-FU可以提高小鼠生存期、减少肿瘤负荷, 其可能的机制是对MA后残留的肿瘤组织的化学杀伤, 减少MA消融不彻底的病灶。

肿瘤内部抗肿瘤细胞因子对抑制肿瘤进展具有重要作用, IL-2、IL-12由活化的免疫细胞分泌, 是重要的抗肿瘤细胞因子, 同时可以促进NK细胞、T淋巴细胞产生IFN- γ 及TNF- α 等有效诱导因子, 均具有抗肿瘤免疫的作用。研究表明, 肿瘤内部TNF- α 、IL-2、IL-12及IFN- γ 的含量较低, 是造成肿瘤进展的重要因素^[19]。本实验证明, MA后, 瘤内注射化疗药物5-FU可以在3 wk后提高抗肿瘤细胞因子的含量。这表明MA联合瘤内注射5-FU可以改善肿瘤内部免疫状态。但不同作用机制的化疗药物对不同的肿瘤是否也具有类似的作用, 尚需要进一步研究。

4 参考文献

1 Wang ZL, Liang P, Dong BW, Yu XL, Yu de J. Prog-

nostic factors and recurrence of small hepatocellular carcinoma after hepatic resection or microwave ablation: a retrospective study. *J Gastrointest Surg* 2008; 12: 327-337

2 赖仁纯, 卢雅立, 黄婉, 许梅曦, 赖洁兰, 谢敬敦, 王旭东. Narcotrend在肝癌微波消融术中异丙酚-芬太尼全凭静脉麻醉深度监测的应用. *癌症* 2010; 29: 117-120

3 邓满泉, 麦海强, 麦伟源, 莫浩元, 黄晓明, 郭翔, 洪明晃. 内窥镜下微波固化术治疗鼻咽癌放疗后鼻咽腔内复发患者的疗效. *癌症* 2008; 27: 734-737

4 Inoue K, Yamasaki I, Fukata S, Iiyama T, Karashima T, Shuin T, Kurabayashi A, Ohtsuki Y, Hatta A. [Evaluation of the effects of microwave tissue coagulation, radiofrequency ablation or ultrasonically-activated scalpel on renal tissue as a minimally invasive therapy]. *Nihon Hinyokika Gakkai Zasshi* 2007; 98: 808-818

5 Hashimoto K, Sasaki Y, Yokoyama S, Naitou A, Hiraki M, Matsumoto S, Matsuyama J, Morita S, Morimoto T, Fukushima Y, Nishisho I, Nomura T, Takeda M. [Hepatectomy with microwave coagulation therapy for multiple liver metastases of rectal carcinoid—a case report]. *Gan To Kagaku Ryoho* 2009; 36: 2198-2200

6 董宝玮, 温朝阳, 梁萍, 于晓玲, 苏莉, 于德江, 夏红天. 微波消融与手术切除治疗原发性小肝癌对癌细胞播散入血的影响. *中华肿瘤杂志* 2006; 28: 39-42

7 Yang WZ, Jiang N, Huang N, Huang JY, Zheng QB, Shen Q. Combined therapy with transcatheter arterial chemoembolization and percutaneous microwave coagulation for small hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 748-752

8 Schramm W, Yang D, Wood BJ, Rattay F, Haemmerich D. Contribution of direct heating, thermal conduction and perfusion during radiofrequency and microwave ablation. *Open Biomed Eng J* 2007; 1: 47-52

9 Murakami K, Morikawa S, Naka S, Demura K, Sato K, Shiomi H, Kurumi Y, Inubushi T, Tani T. Correlation between high field MR images and histopathological findings of rat transplanted cancer immediately after partial microwave coagulation. *Magn Reson Med Sci* 2008; 7: 105-112

10 Dvorak J, Zoul Z, Melichar B, Petera J, Vesely P, Vosmik M, Dolezel M. Liposomal doxorubicin combined with regional hyperthermia: reducing systemic toxicity and improving locoregional efficacy in the treatment of solid tumors. *J Chemother* 2004; 16 Suppl 5: 34-36

11 Boutros C, Somasundar P, Garrean S, Saied A, Espat NJ. Microwave coagulation therapy for hepatic tumors: review of the literature and critical analysis. *Surg Oncol* 2010; 19: e22-e32

12 Iannitti DA, Martin RC, Simon CJ, Hope WW,

- Newcomb WL, McMasters KM, Dupuy D. Hepatic tumor ablation with clustered microwave antennae: the US Phase II trial. *HPB* (Oxford) 2007; 9: 120-124
- 13 Yin XY, Xie XY, Lu MD, Xu HX, Xu ZF, Kuang M, Liu GJ, Liang JY, Lau WY. Percutaneous thermal ablation of medium and large hepatocellular carcinoma: long-term outcome and prognostic factors. *Cancer* 2009; 115: 1914-1923
- 14 Tobinaga S, Nanashima A, Araki M, Hidaka S, Kunizaki M, Takeshita H, Sawai T, Yasutake T, Nagayasu T. [Evaluation of local coagulation therapy with hepatectomy for liver metastases]. *Gan To Kagaku Ryoho* 2009; 36: 2042-2044
- 15 Fahy BN, Jarnagin WR. Evolving techniques in the treatment of liver colorectal metastases: role of laparoscopy, radiofrequency ablation, microwave coagulation, hepatic arterial chemotherapy, indications and contraindications for resection, role of transplantation, and timing of chemotherapy. *Surg Clin North Am* 2006; 86: 1005-1022
- 16 Bang BW, Lee DH, Jeong S, Kim JM, Jeon YS, Lee JI, Lee JW, Kwon KS, Kim HG, Shin YW, Kim YS. Ischemic biliary stricture developed after repeated transcatheter arterial chemoembolization diagnosed by percutaneous transhepatic cholangioscopy in a patient with hepatocellular carcinoma. *Gastrointest Endosc* 2008; 68: 1224-1226
- 17 李秀忠, 张锦, 陈娟, 崔丽萍. 经电子支气管镜介导微波联合全身化疗治疗晚期肺癌的临床研究. *宁夏医学杂志* 2009; 1: 44-45
- 18 石寒冰, 张贵祥. 支气管镜下微波结合全身化疗治疗恶性气道狭窄疗效分析. *医学研究杂志* 2006; 35: 735-737
- 19 谢裕安. 树突状细胞与细胞因子诱导杀伤细胞治疗肿瘤研究进展. *中国肿瘤* 2005; 14: 663-666

■同行评价

本文反映了我国胃肠病学基础研究的水平, 提高治疗效果, 具有一定的借鉴意义。

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》参考文献要求

本刊讯 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上角注角码号. 如马连生^[1]报告……, 潘伯荣等^[2-5]认为……; PCR方法敏感性高^[6-7]. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献, 包括世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>)和World Journal of Gastroenterology(<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>). 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.