短篇论著

文章编号:1000-5404(2012)02-0178-03

活化增视冲剂对PVR视网膜上PDGF及IL-6表达的影响

鹿 麓[1,2],郝延蕾[1,2],满晓飞[2],赵 东[3],李志红[1,2] (250012 济南,山东大学医学院[1];250013 济南,山东大学附属济南市中心医院:眼科[2],病理科[3])

[摘要] **目的** 研究活化增视冲剂对兔实验性增殖性玻璃体视网膜病变(proliferative vitreoretinopathy, PVR)模型视网膜中PDGF及IL-6表达的影响,探讨活化增视冲剂防治PVR的作用机制。**方法** 将45只新西兰大白兔采用随机数字表分为空白组5只10只眼,模型对照组、活化增视冲剂组各20只40只眼,通过兔眼玻璃体内注射同种异体巨噬细胞的方法建立PVR的动物模型,造模后第2天开始给药,空白组与模型对照组均予温生理盐水灌胃,5 ml/kg,2次/d。活化增视冲剂组,予活化增视冲剂灌胃0.75 g/(5 ml·kg)(含生药0.25 g/ml)灌胃,2次/d。每周用间接眼底镜检查玻璃体眼底,观察PVR的形成与发展情况,空白组于3、7、14、21、28 d时处死1只兔,余各组各处死4只兔,通过免疫组化检测兔视网膜PDGF及IL-6表达。**结果** 活化增视冲剂组在14、21、28 d时2级以上PVR的发生率均低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);对照组视网膜上PDGF与IL-6的表达在14 d时达到高峰,活化增视冲剂组在7 d时能够明显降低视网膜上PDGF与IL-6的表达,14 d以后下降平缓,视网膜上PDGF与IL-6在7、14、21、28 d时与对照组相比差异均有统计学意义($P<0.01$)。**结论** 活化增视冲剂能够在PVR的早期通过降低视网膜中PDGF及IL-6的表达,抑制增殖细胞过度增生,从而抑制PVR的发生发展。

[关键词] 增殖性玻璃体视网膜病变;活化增视冲剂;PDGF;IL-6
[中图法分类号] R285.5;R392.32;R774.1 [文献标志码] A

增殖性玻璃体视网膜病变(proliferative vitreoretinopathy, PVR)是一个细胞介导的病理过程。研究发现血小板源性生长因子(platelat derived growth factor, PDGF)在PVR的起始阶段可以促进RPE细胞的反分化及向肌样细胞分化[1]。IL-6是急性期反应的重要调节因子,能促进成纤维细胞增殖、透明质酸酶和前胶原的合成。Kon等[2]研究发现IL-6对于PVR发生是一种独立危险因素。活化增视冲剂[3]是我们制成的具有益气养血、活血化淤作用的中药制剂(济南市医院制剂批准文号:济卫药制FZ009-11 国家发明专利证书号:231127),在山东大学附属济南市中心医院眼科应用十余年具有较好的临床疗效。本研究观察活化增视冲剂对实验性PVR视网膜中PDGF和IL-6表达的影响,探讨其防治PVR的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

新西兰大白兔45只,由山东省畜牧站提供,雌雄不限,体质量2~2.5 kg,双眼正常,适应性喂养7 d。

1.2 药物及试剂

活化增视冲剂由熟地、当归、桃仁、红花、赤芍、川芎、黄芪、草甘等药物组成(山东大学附属济南市中心医院药剂科),PDGF及IL-6兔抗兔多克隆抗体(ReproCELL,日本),山羊抗兔二抗试剂盒(中杉,北京)。

1.3 实验性动物分组与PVR动物模型的建立

新西兰大白兔45只,模型建立前3 d氯霉素眼药水点眼,4次/d,抽取5只(10只眼)作空白对照,其余40只动物(80只眼),分为2组,即模型对照组和活化增视冲剂组,每组20只,采用玻璃体内注射巨噬细胞的方式建立动物模型[4]。动物模型建立后,每周间接眼底镜下观察动物玻璃体眼底变化。

造模后第2天开始给药,空白组与模型对照组均予温生理盐水灌胃,5 ml/kg,2次/d。活化增视冲剂组,予活化增视冲剂灌胃0.75 g/(5 ml·kg)(含生药0.25 g/ml,根据临床有效剂量,运用MeehRubner公式计算出兔的等效剂量),2次/d。

1.4 标本采集方法

空白组于造模给药后3、7、14、21、28 d时各处死1只兔子,对照组及活化增视冲剂组各处死4只兔子,行眼球摘除术,置于4%的戊二醛溶液中,4 ℃下固定7 d,石蜡包埋切片,进行免疫组化检测。

1.5 间接眼底镜下观察兔眼底

玻璃体视网膜增殖程度分级:0级:玻璃体内无增殖膜形成;1级:玻璃体内膜形成,无牵引;2级:视网膜前膜及局部牵引,无视网膜脱离(retinaldetachment, RD);3级:局部RD及髓线视网膜皱褶;4级:广泛RD(髓线脱离、视乳头周围RD);5级:全视网膜脱离,视网膜皱褶及裂孔。

1.6 统计学处理

采用SPSS 17.0统计软件,视网膜细胞内呈现棕黄色颗粒为阳性结果,在40倍视野下,每张切片随机选取5个视野,计数阳性细胞率,然后取其平均值,对PDGF及IL-6免疫组化染色结果进行分析,实验数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,各组间及组内均数比

[基金项目] 山东省自然科学基金(Y2007C129)
[通信作者] 李志红,E-mail:lizhihong1957827@163.com

较采用单因素的方差分析;PVR 发生率比较采用 χ^2 检验。

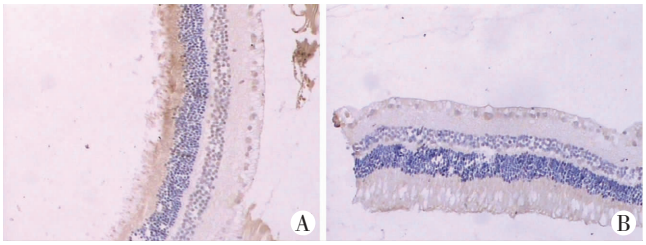
2　结果

2.1　间接眼底镜下兔眼底观察结果

活化增视冲剂组在 14 d 时 2 级以上 PVR 发生率为 12.5%(1/8),与对照组[75%(6/8)]相比具有统计学意义($P<0.05$),活化增视冲剂组在 21 d 与 28 d 时 2 级以上 PVR 发生率均为 25%(2/8),与对照组 100%(8/8)相比具有统计学意义($P<0.01$)。

2.2　各组视网膜中 PDGF 免疫组化染色

空白组仅神经节细胞层少量细胞呈弱阳性表达;模型对照组视网膜神经节细胞层可见明显的 PDGF 的强阳性表达,着色深呈棕褐色,内核层也可见少量细胞呈阳性表达;活化增视冲剂组视网膜上阳性细胞数较对照组减少,仅见视网膜神经节细胞层少量细胞呈弱阳性表达,着色较浅呈黄色。见图 1。



A:模型对照组;B:活化增视冲剂组

图 1　兔视网膜上 PDGF 免疫组织化学染色观察　(S-P ×40)

2.3　各组视网膜上 PDGF 表达的阳性细胞率比较

活化增视冲剂组与模型对照组在 7、14、21、28 d 时比较差异均有统计学意义($P<0.01$,表 1)。

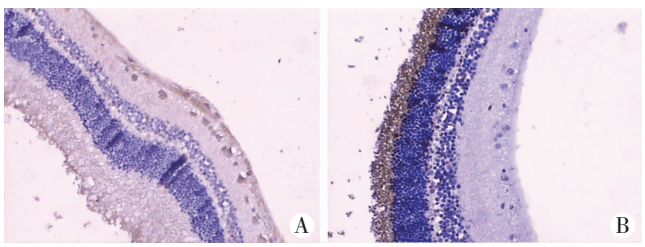
表 1　各组视网膜上 PDGF 阳性细胞率比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	3 d	7 d	14 d	21 d	28 d
对照组	4	36.00±5.96	42.40±5.77	52.00±2.12	47.00±2.35	46.00±1.30
活化组	4	32.00±2.92	23.80±2.78[a]	21.60±2.97[a]	20.00±2.24[a]	19.80±3.03[a]
空白组	1	5.40±2.07	7.20±2.17	6.40±2.29	7.60±3.36	7.00±2.92

a:$P<0.01$,与对照组比较

2.4　各组视网膜中 IL-6 免疫组化染色

正常组,仅视网膜神经节细胞层见少量细胞呈弱阳性表达;模型对照组视网膜神经节细胞层可见明显的 IL-6 阳性表达,内核层也可见少量细胞呈阳性表达;活化增视冲剂组仅见视网膜神经节细胞层少量细胞呈弱阳性表达。见图 2。



A:模型对照组;B:活化增视冲剂组

图 2　兔视网膜上 IL-6 免疫组织化学染色观察　(S-P ×40)

2.5　兔 PVR 各组视网膜上 IL-6 表达的阳性细胞率比较

活化增视冲剂组与模型对照组在 7、14、21、28 d 时比较差异均有统计学意义($P<0.01$)。见表 2。

表 2　各组视网膜上 IL-6 的阳性细胞率比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	3 d	7 d	14 d	21 d	28 d
对照组	4	27.20±3.19	31.00±2.92	34.80±3.56	32.00±3.16	31.20±1.79
活化组	4	25.00±5.15	16.80±3.27[a]	15.00±2.24[a]	14.40±2.19[a]	14.80±1.64[a]
空白组	1	4.00±2.34	3.40±2.70	4.40±2.30	4.40±3.79	4.00±2.92

a:$P<0.01$,与对照组比较

3　讨论

现代中医认为 PVR 是眼科血症的晚期表现,因此其治疗原则应以补气养血、活血化瘀、软坚散结为主。活化增视冲剂由熟地、当归、桃仁、红花、赤芍、川芎、黄芪、甘草组成,具有补气活血,化瘀调血之功效。临床应用研究发现,活化增视冲剂能够改善视网膜及脉络膜的微循环,降低血管通透性,减少生长因子的来源,有效防治 PVR 的形成[3]。

研究证实 PVR 是眼内发生的过度损伤修复反应,经过了炎症期、增生期和瘢痕期,多种细胞因子和生长因子参与了这个过程[4]。巨噬细胞是一种终末细胞,不能转化和增生,故而巨噬细胞诱发的兔眼 PVR 模型中的眼内增殖细胞均来自宿主自身;同时此模型以炎症启动阶段为起点,不同于其他直接引入增殖细胞的 PVR 模型,因此我们采用兔眼内注射巨噬细胞建立动物模型。Ando 等[5]研究发现 PDGF 不但在 PVR 的起始阶段促进 RPE 细胞的反分化及向肌样细胞分化,而且还促进增生膜中胶原组织收缩,从而诱发 PVR 的产生。本研究发现对照组 PDGF 在视网膜上表达存在于 PVR 的全过程中,与对照组和活化组相比较各时间点均呈高表达,在 7 d 明显上调,而在 14 d 时达到高峰,提示 PDGF 在 PVR 的早期发挥重要作用。

IL-6 对介导多种细胞因子发挥炎症早期免疫反应有重要作用[6]。惠延年等[7]研究发现在 PVR 发展过程中,IL-6 分泌高峰发生在初期炎症反应所致的血眼屏障破坏后的 10~21 d,提示 IL-6 诱导的细胞增殖反应及有关免疫反应主要针对 PVR 初期。本研究发现 IL-6 在模型对照组中的强阳性表达主要位于神经节细胞层和内核层的神经胶质细胞中,说明 PVR 的形成和视网膜胶质细胞中 IL-6 的上调有关。本研究还发现,活化增视冲剂组在视网膜组织 PDGF 和 IL-6 的表达显著低于模型对照组,活化增视冲剂组两者的表达均在第 7 天时明显下调,14 d 时以后维持一个低水平,提示活化增视冲剂可能在 PVR 早期(7~14 d)通过下调 PDGF 和 IL-6 表达,减少其细胞的趋化作用,干扰了细胞增殖过程,从而减少 RPE 细胞、神经胶质细胞等的迁移与增殖,进而抑制 PVR 的形成和发展。活化增视

剂视冲剂明显降低实验性PVR的发生率,又显著降低视网膜的IL-6、PDGF的表达,从而充分证实具有化瘀调血作用的活化增视对于实验性PVR的良好疗效。

参考文献:

[1] Ando A, Ueda M, Uyama M, *et al*. Enhancement of dedifferentiation and myoid differentiation of retinal pigment epithelial cells by platelet derived growth factor[J]. Br J Ophthalmol, 2000, 84(11): 1306-1311.

[2] Kon C H, Occleston N L, Aylward G W, *et al*. Expression of vitreous cytokines in proliferative vitreoretinopathy: a prospective study[J]. Invest 0phthalmol Vis Sci, 1999, 40(3): 705-712.

[3] 郝延蕾, 满晓飞, 李志红, 等. 活化增视颗粒对实验性PVR中MCP-1和TGF-β2的影响[J]. 山东大学学报: 医学版,2011, 49(4): 61-64.

[4] Hui Y N, Sorgente N, Ryan S J. Posterior vitreous separation and retinal detachment induced by macrophages[J]. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 1987, 225(4): 279-284.

[5] Ando A, Ueda M, Uyama M, *et al*. Enhancement of dedifferentiation and myoid differentiation of retinal pigment epithelial cells by platelet derived growth factor[J]. Br J Ophthalmol, 2000, 84(11): 1306-1311.

[6] Nagarajan G, Swami S K, Ghorui S K, *et al*. Cloning and phylogenetic analysis of Interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor-α (TNF-α) from Indian dromedaries (Camelus dromedarius)[J]. Comp Immunol Microbiol Infect Dis, 2011, 34(3): 291-298.

[7] 惠延年, 石一宁, 杨琨, 等. 巨噬细胞诱发的实验性PVR中玻璃体内四种早期炎源性细胞因子[J]. 临床眼科杂志, 2000, 8(4): 307-310.

(**收稿**:2011-08-24;**修回**:2011-10-10)

(编辑 张 维)

短篇论著

文章编号:1000-5404(2012)02-0180-03

CPT-11+DDP治疗局部晚期食管癌的临床观察

张孟伟,张伟杰,王留兴,薛 磊,王 楠 (450052 郑州,郑州大学第一附属医院肿瘤科)

[**摘要**] **目的** 评价伊立替康联合顺铂化疗对局部晚期食管癌患者的疗效及其毒副反应。**方法** 选取本科2008年6月至2010年11月收治的52例初治食管癌患者资料,病理证实为鳞状细胞癌或腺癌,无远处转移。伊立替康65 mg/m^{2}d1、8;顺铂25 mg/m^{2}d1、2、8、9;21 d为1周期,化疗期间常规积极对症支持治疗,每个患者完成至少2周期化疗后评价疗效。**结果** 52例均接受至少2周期的化疗,共完成186个周期的化疗。病例均可评价疗效及不良反应,完全缓解(CR)1例(1.9%),部分缓解(PR)21例(40.4%),有效率为42.3%;中位疾病进展时间5.8个月,中位生存时间为11.6个月。主要不良反应为粒细胞减少、腹泻、恶心、呕吐等,Ⅲ~Ⅳ级不良反应发生率较低。**结论** 伊立替康联合顺铂化疗对局部晚期食管癌效果较好,且患者对副反应的耐受良好。

[**关键词**] 伊立替康;局部晚期食管癌;不良反应

[**中图法分类号**] R730.53;R735.1 [**文献标志码**] A

食管癌是我国常见的恶性肿瘤之一,预后较差。早期食管癌可以手术切除,单纯切除的食管癌患者5年生存率约20%,常规放疗患者5年生存率为8%~10%[1-2]。对于一些不能手术切除的局部晚期食管癌患者主要采用化疗。传统化疗方案为5-FU+DDP,该方案有效率较低,为15%~25%。Muhr-Wilkenshoff等[3]在Ⅱ期临床研究中证实了CPT-11+DDP方案对食管癌的疗效,有效率为14%~22.2%。收集我科2008年6月至2010年11月应用CPT-11+DDP方案的初治晚期局部食管癌患者资料,观察其临床疗效及副反应。

1 资料与方法

1.1 研究对象

入组标准:治疗前均经上消化道造影、电子显微胃镜证实为食管癌,病理为鳞状细胞癌和腺癌;CT扫描双径测量至少为2 cm^2;Karnofsky评分≥80;预计生存期≥3个月;CT及MRI证实无远处转移;血常规、肝功能、肾功能、心电图无明显异常,无化疗禁忌;胸外科会诊后无手术指征;患者均签署化疗同意书。最终入组52例,均为初治患者,其中男性29例,女性23例,中位年龄58.4(37~78)岁;鳞癌29例,腺癌23例。

1.2 治疗方法

伊立替康(CPT-11,商品名艾力,江苏恒瑞制药厂)65 mg/m^2,静滴第1、8天,顺铂(DDP,商品名诺欣,江苏豪森制药厂)25 mg/m^2,静滴第1、2、8、9天;21 d 1个化疗周期,至少应用2个周期后评价疗效。在应用化疗药物前常规应用地塞米松、苯海拉明预防过敏,应用托烷司琼预防消化道反应,同时予以充分的支持治疗。在应用CPT-11前应用阿托品针0.25 mg皮下注射,预防胆碱能综合征,化疗后若出现延迟性腹泻予以洛哌丁胺口服;应用DDP时要大量水化,静脉输注液体量至少2 000 ml,同时也在DDP前后应用甘露醇150 ml利尿,保护肾脏。

1.3 疗效及毒副反应的评价标准

化疗的疗效根据WHO实体瘤疗效评价标准分为完全缓解

[**通信作者**] 王留兴,E-mail:wlx2246@yahoo.com.cn