DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.18.032
第25卷第18期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 18
2003年9月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Sep. 2003

文章编号:1000-5404(2003)18-1667-03

论著

^{252}锎中子放疗对宫颈癌细胞凋亡的影响

郑秀惠,陈竹钦,李 力,梁培禾,罗 刚 (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所妇产科,重庆 400042)

提 要:目的 研究宫颈鳞癌患者^{252}锎中子照射前后肿瘤细胞凋亡的变化,初步探讨^{252}锎中子治疗宫颈癌的机制及临床意义。方法 采用TUNEL法检测20例宫颈鳞癌患者中子放疗前后的肿瘤细胞。结果 发现凋亡指数(AI)和肿瘤细胞凋亡阳性的患者分别由放疗前的(4.22%±4.14)%和35%(7/20)上升至放疗后的(34.64±24.36)%和85%(17/20)($P<0.01$),无论放疗前后,平均AI在各分期和各级间未见明显差别($P>0.05$),经随访,全部患者中仅1例IIIb期患者出现复发,再次给予放疗后控制良好。并发症主要为放射性直肠炎,发生率10%。结论 ^{252}锎中子照射后可引起肿瘤细胞较强的凋亡反应,诱导细胞凋亡在^{252}锎中子近距离照射治疗机制中具有重要意义。

关键词:放射治疗;中子;^{252}锎;凋亡;宫颈癌
中图法分类号:R737.33;R817.5 文献标识码:A

Effects of ^{252}Cf neutron radiation on the apoptosis of uterine cervical carcinoma cells

ZHENG Xiu-hui, CHEN Zhu-qin, LI Li, LIANG Pei-he, LUO Gang (Department of Obstetrics and Gynecology, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To investigate the changes of apoptosis of the cervical carcinoma cells before and after ^{252}Cf neutron brachytherapy and to explore the mechanism of ^{252}Cf neutron in brachytherapy and its clinical significance. Methods The apoptosis-positive rate and apoptotic indexes (AI) in 20 cases of cervical carcinoma were detected before and after ^{252}Cf neutron brachytherapy by TdT-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) assay. Results The mean AI and apoptosis-positive rate increased from (4.22±4.14)% and 35% to (34.64±24.36)% and 85% respectively after radiotherapy ($P<0.01$). No significant difference in mean AI was found in each stage or grade before and after radiotherapy ($P>0.05$). Conclusion Enhanced apoptotic response of tumor cells can be resulted from ^{252}Cf neutron radiation. Induction of tumor cell apoptosis may be the important mechanism of ^{252}Cf neutron brachytherapy.

Key words: radiotherapy; neutron; clifornium-252; apoptosis; cervical carcinoma

放疗是宫颈癌重要的治疗手段,但X、γ等常规射线放疗后患者生存率始终较低。中子射线属于高直线能量转换(Linear energy transfer, LET)射线,具有独特的放射生物学特性,如较高的相对生物效应、对细胞周期依赖性小、氧增强比值低、癌细胞受照射后潜在致死性损伤和亚致死性损伤难以修复等,成为有效改善宫颈癌患者生存率的希望所在,目前其主要应用形式为^{252}锎中子近距离照射。

近年研究表明细胞凋亡在放疗机制中具有重要意义,但这些研究多集中在X、γ等低LET射线[1],而^{252}锎中子射线目前尚未见报道。为此,本研究通过检测^{252}锎中子首次放疗前后宫颈癌细胞凋亡的变化,以期初步探讨^{252}锎中子治疗宫颈癌的机制,为更好地预测其放疗敏感性、制定个体化治疗方案和提高疗效提供理论和实验依据。

1 资料与方法

1.1 临床资料

1999年9月至2001年1月在我院行^{252}锎中子近距离后装置照射治疗的外生型宫颈鳞状细胞癌(均经病理学证实),并在此次治疗前未行手术及常规射线治疗的20例患者纳入本研究。患者年龄26~53岁,平均37.85岁,治疗前均行胸部X线摄片、腹部B超、盆腔CT或磁共振成像(MRI)、膀胱镜以及纤维结肠镜检查以确定病变范围并排除远处转移。按国际妇产科联盟(FIGO,1994年)标准进行分期,IIb期11例,IIIb期9例;按WHO分级I级4例,II级13例,III级3例。治疗前血红蛋白低于100 g/L者给予纠正,每例患者放疗前后进行自身对照,治疗后定期随访。

作者简介:郑秀惠(1972—),女,山东省淄博市人,硕士,主治医师,主要从事妇科肿瘤方面的研究。电话:(023)68757249

收稿日期:2002-10-22;修回日期:2002-12-05

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1.2 治疗

治疗采用 LINDEN-ZH1000 型^{252}锎中子后装治疗机进行，中子源为俄罗斯生产的^{252}锎源，平均能量 2.34 MeV，半衰期为 2 645 年，中子发射率为 $2.3\times10^{6}\cdot s^{-1}\cdot\mu g^{-1}$，治疗方案为首先进行中子腔内照射，宫旁 A 点，1 000～1 200 cGy/次，1 次/周，共 3～4 次，期间穿插 6MV－X 线直线加速器外照射。具体治疗方案见文献[2]。

1.3 TUNEL 测定细胞凋亡

分别于放疗前及首次中子放疗后 6 h 在宫颈同一部位取组织，置于 10%福尔马林液中固定 12 h，石蜡包埋，4～5 μm 厚连续切片，其中一张行 HE 染色，以核实病理诊断并根据形态特征观察凋亡细胞，其余以 TUNEL 法测定细胞凋亡。试剂盒购自德国 BM 公司，根据说明略做改良，简述如下：石蜡切片脱蜡、水化、消化，封闭内源性过氧化物酶，通透，用标有荧光素的 dUTP 在 TDT 酶的作用下标记 DNA 断点，随后用带有过氧化物酶的抗荧光素抗体再次标记，加底物 DAB 显色，苏木精复染。

TUNEL 法检测凋亡除核着色棕黄色或棕褐色外，结合形态学特征如：细胞体积缩小，核呈固缩、致密块状、碎点状或不规则者判为阳性。每张切片随机观察 10 个高倍视野(×400)，每个视野计数 100 个细胞，计算阳性细胞百分率(即凋亡标记指数，AI)，大于 5%为阳性，否则为阴性。

1.4 统计学分析

使用 Excel 2000 软件进行 t 检验、χ^2 检验。

2 结果

2.1 中子照射前后肿瘤细胞凋亡测定(TUNEL)

TUNEL 检测结果显示：平均 AI 和肿瘤细胞凋亡阳性的患者分别由放疗前的(4.22±4.14)%和 35%(7/20)上升至放疗后的(34.64±24.36)%和 85%(17/20)，二者均呈现显著性差异(P 均<0.01)。放疗前呈阴性的 13 例病人中放疗后 10 例转变为阳性，其平均 AI 由 1.78%升至 23.26%。放疗前呈阳性的 7 例病人放疗后平均 AI 亦有增加，由 8.76%上升至 55.77%。此外，经统计学计算，无论放疗前后，平均 AI 在各分期和各级间未见明显差别(P>0.05)，见表 1、2。

表 1 不同分级肿瘤放疗前后凋亡标记指数变化情况($\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Changes of apoptotic index of tumor cells of different grades before and after radiation($\bar{x}\pm s$)

Group	Before radiation	After radiation
Grade Ⅰ	6.00±5.81	50.40±32.74
Grade Ⅱ	4.38±3.90	35.07±21.39
Grade Ⅲ	1.17±0.67	11.77±1.14

表 2 不同分期肿瘤放疗前后凋亡标记指数变化情况($\bar{x}\pm s$)

Tab 2 Changes of apoptotic index of tumor cells at different stages before and after radiation($\bar{x}\pm s$)

Group	Before radiation	After radiation
Stage Ⅱb	4.95±4.78	38.34±23.03
Stage Ⅲb	3.32±3.25	30.12±26.54

2.2 预后随访

治疗结束 1 个月后开始随访，包括盆腔、B 超及阴道细胞学检查等，一般在半年内每 2～3 个月检查 1 次；1 年内 3～6 个月检查 1 次；2 年内半年检查 1 次，随访 10～26 个月(中位数 14.0 月)，全部患者中仅 1 例Ⅲb 期患者于放疗后 5 个月宫颈出现复发，再次给予放疗目前控制良好，其余患者未见复发征象。并发症主要为放射性直肠炎，发生率 10%。

3 讨论

由于辐射品质不同，中子诱导细胞凋亡的变化规律可能有所不同，中子诱导细胞凋亡明显高于 X 射线；国内有学者在体外实验中用快中子照射鼻咽癌及食管癌细胞，也发现中子可引起较强的凋亡反应，并认为中子杀伤肿瘤的机制可能也是主要通过凋亡途径来实现的，为此本研究对^{252}锎中子治疗宫颈癌的机制进行初步探讨。

我们通过 TUNEL 法检测了放疗前后宫颈鳞癌细胞凋亡的变化，并通过观察形态改变特征加以确认。发现未接受治疗的肿瘤本身即有一定程度的自发凋亡。文献报道证明自发凋亡的水平与肿瘤病理类型有关；治疗前肿瘤的自发凋亡可能是临床放疗反应有用的预测指标，但关于宫颈癌中自发凋亡与预后的关系尚无定论[3,4]。可以认为，对自发凋亡的研究是“进一步诱导增加凋亡，抑制增殖”这一肿瘤治疗策略的实验及理论的初步基础。

动物实验表明中子射线单剂量照射后 6 h 组织细胞凋亡达到高峰[5,6]，因此我们收集标本的时间为中子首次放疗后 6 h；实验显示放疗后细胞凋亡明显增加，表明^{252}Cf 中子射线具有较强的诱导细胞凋亡作用。此外，我们还通过放疗结束后对患者的近期随访观察到肿瘤消退明显，可以认为，^{252}锎中子照射诱导或加速了宫颈癌细胞发生凋亡，造成更多的肿瘤细胞丢失，从而使肿瘤发生消退。据文献[7]报道，放疗中肿瘤受射线照射后急性凋亡反应可能与肿瘤的放射敏感性等有关，且放射诱导的凋亡指数与疗效呈正相关。结合我们的实验结果，虽然目前尚缺少长期的临床观察，但有充分理由认为^{252}锎中子近距离照射是一种有前途的治疗手段。

实验还显示肿瘤病理分级越高，临床分期越晚，凋亡发生越少，但差异不具备统计学意义，这与 Tatsuya 等[8]报道一致。可见，^{252}锎中子射线对不同分期或分级的肿瘤作用差异不大，这恰恰是前述中子射线独特放射生物学效应的体现。

综上所述，^{252}锎近距离照射治疗是一种有前途的治疗手段，诱导肿瘤细胞凋亡在作用机制中具有重要意义，这与其独特的放射生物学效应有着不可分割的关系，相信随着我们临床资料、经验的积累以及分子放

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

射生物学研究的不断深入，必将能使治疗效果获得进一步提高。

参考文献：

[1] Hwang J H, Lim S C, Kim Y C, *et al*. Apoptosis and bcl-2 expression as predictors of survival in radiation-treated non-small-cell lung cancer[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2001, 50(1): 13—18.
[2] 罗 刚，郑成位，单锦露，等. ^{252}锎中子腔内后装治疗子宫颈癌的临床观察[J]. 中华妇产科杂志，2001, 36(12): 742—744.
[3] Levine E L, Davidson S E, Roberts S A, *et al*. Apoptosis as predictor of response to radiotherapy in cervical carcinoma[J]. Lancet, 1994, 344(8920): 472—478.
[4] Wheeler J A, Stephens L C, Torno C, *et al*. Astro reseach fellowship: apoptosis as a predictor of tumor response to radiation in stage Ⅰb cervical carcinoma[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 1995, 32(5): 1487—1493.
[5] Vral A, Cornelissen M, Thierens H, *et al*. Apoptosis induced by fast neutrons versus ^{60}Co -rays in human peripheral blood lymphocytes[J]. Int J Radiat Biol, 1998, 73(3): 289—295.
[6] Holl V, Coelho D, Weltin D, *et al*. Ex vivo determination of the effect of whole-body exposure to fast neutrons on murine spleen cell viability and apoptosis[J]. Radiat Res, 2000, 154(3): 301—306.
[7] Dewey W C, Ling C C, Meyn R E. Radiation-induced apoptosis: relevance to radiotherapy[J]. In J Radiat Oncol Biol Phys, 1995, 33(4): 781—796.
[8] Ohno T, NaKano T, Niibe Y, *et al*. Bax protein expression correlates with radiation-induced apoptosis in radiation therapy for cervical carcinoma[J]. Cancer, 1998, 83(1): 103—110.

（编辑 张大春）

文章编号：1000-5404(2003)18-1669-01

个案与短篇

阴道原发性横纹肌肉瘤 1 例

A case report of primary rhabdomyosarcoma in vagina

魏永长[1]，南克俊[1]，段英飞[2]，王 雯[3] （西安交通大学第一医院：[1] 肿瘤内科，[2] 病理科，[3] 放疗科，西安 710061）

1 病例报告

患者，21 岁，女。阴道肿块伴血性白带 6 个月，于 2001 年 8 月 15 日入院。患者 6 个月前无意中发现阴道口有核桃大肿块，有不适感，且白带呈粉红色，未重视。病情渐加重，阴道颗粒状胶质肿物迅速增大，排液伴出血量较多。既往身体健康，未婚，月经正常，无特殊病史及家族史。查体：一般状况良好，发育正常，心、肺、腹均未见异常。妇科检查：阴道口可见一个巨大葡萄状肿物脱出，约 12 cm× 8 cm× 4 cm，灰红色，质脆，表面有溃疡及出血，主要在后壁生长，前壁不平。宫颈光滑，宫体后位，正常大小，活动度良好。病理检查：肉眼所见组织表面灰红，切面灰白，质中。镜检：瘤细胞排列密集，胞浆深染，核偏向一侧，部分胞浆内可见横纹。病理诊断：阴道胚胎性横纹肌肉瘤。入院后予以体外放疗 8MV-X 30 Gy 及 15MV-X 20 Gy，腔内放疗 38 Gy/7 次，出院时肿瘤缩小 70 %。1 月后病情稳定，开始静脉滴注羟基喜树碱 4 mg，每日 1 次，连用 10 次后间歇 2 周，化疗 6 疗程；顺铂 60 mg 腹腔化疗，3 周 1 次，共 2 次。肿物逐渐缩小。随访 15 个月，患者身体状况良好，能适应一般体力劳动，妇检：瘤体消失。

2 讨论

横纹肌肉瘤（Rhabdomyosarcoma RMS）是儿童常见的恶性软组织肿瘤，原发部位在阴道较少见。本例患者 21 岁，发生阴道巨大横纹肌肉瘤，罕见。RMS 来源于间叶组织，瘤细胞似原始肌肉细胞，圆形或卵圆形，弥散分布于丰富的粘液间质中，有时可见分化较成熟的瘤性横纹肌细胞。RMS 胚胎型分为 2 类，一种为葡萄状亚型，另一种为梭形细胞亚型。葡萄状亚型是由多个质软的葡萄状肿物聚集而成，故又称葡萄状肉瘤，是胚胎性横纹肌肉瘤的一种变型。其恶性程度高，进展快，常侵犯阴道前壁，也可弥漫分布，与宫颈、宫体横纹肌肉瘤并存。本例为胚胎型葡萄状亚型，采用放疗加化疗后病情控制好，随访 1 年，疗效判定：CR。

以前认为胚胎型 RMS 对放疗中度敏感，放疗作为 RMS 的首选治疗及放疗后加化疗，可获得好的疗效。Little 等[1] 报道化疗是达到原位控制的关键，放疗新技术-适形调强有助于更安全的施加剂量。羟基喜树碱（Hydroxycamptothecin，OPT）主要作用于细胞周期 S 期，抑制 DNA 聚合酶α1 并引起 DNA 单链断裂，对癌细胞核分裂、核酸代谢和蛋白质合成有显著抑制作用，可选择性地抑制拓扑异构酶而干扰 DNA 的复制[2]。本病例应用 OPT 治疗后，患者症状迅速减轻，生活质量提高。因此，OPT 在妇科肿瘤治疗上的应用值得进一步探讨。

关键词：横纹肌肉瘤；羟基喜树碱
中图法分类号：R737.34 文献标识码：B

参考文献：

[1] Little D J, Ballo M T, Zagars G K, *et al*. Adult rhabdomyosarcoma: outcome following multimodality treatment[J]. Cancer, 2002, 95(2): 377—388.
[2] 徐丽婷，谢 华. 羟基喜树碱的药理作用及临床应用[J]. 医药导报，2002, 21(5): 302

（编辑 郭建秀）

作者简介：魏永长（1971— ），男，湖北省广水市人，硕士，医师，主要从事肿瘤综合治疗方面的研究，发表论文 8 篇。电话：（029）5274654，E-mail：alisantra0351@sina.com.cn

收稿日期：2002-10-14；修回日期：2003-01-23

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net