DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.06.025
第23卷第6期 第三军医大学学报 Vol. 23, No. 6
680 2001年6月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jun. 2001

论著

文章编号:1000-5404(2000)01-0680-03

经门静脉注射^{131}I标记抗CEA单抗后对荷瘤鼠CEA水平影响的实验研究

葛海燕,左国华 (第三军医大学附属新桥医院普通外科,重庆 400037)

提 要:目的 研究经门静脉途径(脾脏)注射^{131}I标记抗CEA单抗后对荷瘤鼠血清、腹水和瘤组织中CEA水平的影响。方法 在接种结肠癌细胞悬液后10 min内,分别经脾脏和经尾静脉注射^{131}I标记抗CEA单抗,对照组注射^{131}I标记正常小鼠IgG。结果 经脾RAIT组荷瘤鼠血清、腹水和瘤组织中的CEA水平分别为(23.8±4.3)、(40.1±5.2)、(45.7±7.0) μg/L,对照组则为(44.1±4.7),(52.3±7.0),(67.0±9.2) μg/L,差异均有非常显著性($P<0.01$);经脾RAIT组荷瘤鼠血清CEA水平也低于经尾静脉RAIT组(29.7±4.8 μg/L),两组之间具有显著性差异($P<0.05$)。结论 经门静脉途径注射^{131}I标记抗CEA单抗较经尾静脉注射能更有效地降低荷瘤鼠血清中的CEA水平。

关键词:动物/裸鼠;结肠癌;肝肿瘤/继发性;放射免疫治疗;放射性核素
中图法分类号:R73-36;R730.55;R735.35 文献标识码:A

Experimental study on changes of CEA level in nude mice after radioimmunotherapy with ^{131}I-labeled anti-CEA McAb injected through portal vein

GE Hai-yan, ZUO Guo-hua (Department of General Surgery, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: **Objective** To study the changes of CEA level in serum, ascites and liver metastatic tumor after treated with ^{131}I-labeled anti-CEA McAb injected intrasplenically in nude mice. **Methods** Ten minutes after injection of colonic cancer cells into spleen, 300mCi ^{131}I-labeled anti-CEA McAb was injected through the splenic or the tail vein, respectively. 300mCi ^{131}I-labeled anti-IgG was injected through the tail vein in control group. **Results** Four weeks later, the levels of CEA in blood, ascites and metastatic tumor were 23.8±4.3, 40.1±5.2, 45.7±7.0 (μg/L) in intrasplenic RAIT group, and 44.1±4.7, 52.3±7.0, 67.0±9.2 (μg/L) in control group, respectively ($P<0.01$). The serum CEA level in intrasplenic RAIT group was less than that in intratail vein RAIT group ($P<0.05$). **Conclusion** Injection of ^{131}I-labeled anti-CEA McAb can lower the serum CEA level more obviously through the portal vein than through the tail vein.

Key words: animal/nude mice; colon cancer; liver tumor/secondary; radioimmunotherapy; radioactive isotope

应用放射免疫疗法(Radioimmunotherapy, RAIT)治疗结、直肠癌的肝转移,是近年来的热点研究课题之一。近年来国外许多学者进行了应用RAIT治疗结肠癌肝转移的实验和临床Ⅰ/Ⅱ期研究。在这些研究报道中,注射核素标记单抗的途径均为周边体静脉[1~3]。为了能最大限度地发挥核素标记单抗的抗癌效应,作者在建立人结肠腺癌裸鼠肝转移模型的基础上,进行了经门静脉途径注射^{131}I标记抗CEA单抗的实验研究,较好地预防了肝转移癌的发生。现将经门静脉途径注射^{131}I标记抗CEA单抗后对荷瘤鼠血液、腹水和瘤组织中CEA含量的变化报告如下。

1 材料与方法

1.1 人源性结肠癌裸鼠肝转移模型

按作者新近建立的方法进行[4]。

1.1.1 实验动物 4~6周龄的BALB/C nu/nu裸鼠30只(第三军医大学实验动物中心提供),雌雄兼用,体重17~25 g,在无致病菌(Specific-pathogen free, SPF)条件下的层流架中饲养。

1.1.2 细胞株 人结肠腺癌细胞株LS174T(中科院上海细胞生物所提供)常规在RPMI 1640培养液(含10%小牛血清,HEPES 15 mmol/L,青霉素100 U/ml,链霉素100 U/ml)中培养。当培养的细胞接近汇合成片时,用0.25%胰蛋白酶和0.02% EDTA消化,制备成单细胞悬液,测定细胞活力≥95%,调节细胞浓度为1×10^7/ml。

1.1.3 模型制作 手术按无菌术原则进行。1%戊巴比妥钠(35 mg/kg)腹腔内麻醉。左上腹纵行切口,进腹后游离脾脏并拉至切口外。用4#针穿刺脾组织,缓慢注入LS174T悬液0.2 ml。拔出针头后用95%酒精棉球压迫,轻揉3 min后,切除脾脏,关腹。术后裸鼠继续在SPF条件下饲养。

1.2 单克隆抗体的标记

1.2.1 鼠抗人CEA单抗(COL-1,美国ZYMED公司产品),Iodogen(美国Sigma公司产品),Na^{131}I(中国原子能研究所产品),正常小鼠IgG(NMIg,中科院上海细胞生物所提供)。

1.2.2 采用Iodogen固相法碘化标记鼠抗人CEA单抗COL-1[5],测定放化纯度>95%。

1.3 实验分组

将30只裸鼠随机分成3组,每组10只。A组早期经门静脉治疗组:在脾内注射癌细胞悬液后10 min内,从荷瘤裸鼠的脾实质内注射11.1×10^6 Bq的^{131}I-COL-1,轻揉注射部位5 min,然后切

基金项目:全军留学回国人员基金资助
作者简介:葛海燕(1958-),男,浙江省东阳市人,硕士,主任医师,教授,主要从事结直肠癌肝转移的机制与防治方面的研究,发表论文30篇。电话:(023)68755605
收稿日期:2000-07-24;修回日期:2000-12-28

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

除脾脏, 关腹。B 组早期经尾静脉治疗组: 在脾内注射癌细胞悬液后 10 min 内, 从荷瘤裸鼠的尾静脉注射 11.1×10^6 Bq 的^{131}I-COL-1。C 组 ^{131}I-NMIg 对照组: 在脾内注射癌细胞悬液后 10 min 内, 从荷瘤裸鼠的尾静脉注射 11.1×10^6 Bq 的^{131}I-NMIg。

每组动物均在放射免疫治疗前 4 d 在饮水中加入 1%碘化钾, 以封闭甲状腺对放射性碘的摄取。

1.4　观察指标

1.4.1　血清 CEA 水平测定　术后第 4 周用摘眼球法获取血液, 离心分离血清, 采用双抗体放射免疫分析法测定血清中 CEA 含量。

1.4.2　腹水 CEA 水平测定　在术后第 4 周剖腹探查时留取腹水, 参照血清测定法, 采用双抗体放射免疫分析法测定腹水中 CEA 含量。

1.4.3　瘤组织中 CEA 含量测定　各组分别取一定量的瘤组织, 称重; 在冰上切碎, 置于 4 ℃ 1 μmol/L Tris 缓冲液(pH 7.2)中。组织反复经超声粉碎、匀浆 6 次, 每次 30 s; 再加入 3 倍瘤组织体积的 2 μmol/L、pH 7.0 PBS, 混匀, 镜下观察细胞已破裂后, 4 ℃离心(4 000 r/min, 60 s), 留取上清, 癌组织 CEA 即在上清液中。参照血清测定法, 采用双抗体放射免疫分析法测定瘤组织中 CEA 含量。

1.5　统计学处理

采用 Microsoft excel 97 软件中的单因素方差分析。

2　结果

2.1　肝转移癌模型与经门静脉途径注射^{131}I 标记抗 CEA 单抗对荷瘤裸鼠肝转移癌形成的影响

所有实验动物均有肝转移癌形成, 成功率达 100%。在 RAIT 后第 4 周时, 经门静脉治疗组的肝转移癌数目为(3.4±1.1)个, 抑癌率为 63.4%; 经尾静脉治疗组为(5.6±1.5)个, 抑癌率为 40.4%, 两组之间具有非常显著性差异($P<0.01$)。至裸鼠死亡时, 经门静脉治疗组的肝转移癌数目为(20.5±3.3)个, 抑癌率为 35.7%; 而经尾静脉治疗组则分别为(25.1±3.4)个和19.7%, 两组之间差异有显著性($P<0.05$)。

2.2　经门静脉途径注射^{131}I 标记抗 CEA 单抗对荷瘤裸鼠血清 CEA 水平的影响

在第 4 周时 A、B、C 各组裸鼠血清中 CEA 测定值分别为(23.8±4.3)、(29.7±4.8)和(44.1±4.7) μg/L, 经脾脏治疗组和经尾静脉治疗组的 CEA 水平均明显少于对照组, 具有非常显著性差异($P<0.01$); 而且, 经门静脉治疗组的 CEA 值也少于经尾静脉治疗组, 两者之间具有显著性差异($P<0.05$)。

2.3　经门静脉途径注射^{131}I 标记抗 CEA 单抗对荷瘤裸鼠腹水 CEA 水平的影响

A、B、C 各组腹水中 CEA 含量分别为(40.1±5.2)、(44.5±6.1)、(52.3±7.0) μg/L 与对照组比较, A、B 两组的差异均非常显著($P<0.01$)。虽然经脾脏治疗组的 CEA 值小于经尾静脉治疗组者, 但是在统计学上差异无显著性($P>0.05$)。

2.4　经门静脉途径注射^{131}I 标记抗 CEA 单抗对瘤组组织中 CEA 含量的影响

在 A、B、C 各组中, 瘤组织 CEA 含量分别为(45.7±7.0)、(48.9±5.6)、(67.0±9.2) μg/L, 经脾 RAIT 组和经尾静脉 RAIT 组的 CEA 水平均明显低于对照组, 差异有非常显著性($P<0.01$), 而经脾脏 RAIT 组与经尾静脉 RAIT 组之间差异无显著性($P>0.05$)。

3　讨论

结、直肠癌是严重威胁人类健康的常见恶性肿瘤之一, 而影响结、直肠癌治疗效果的主要因素之一是肝转移, 据统计, 在结、直肠癌根治性手术后, 异时性肝转移达 40%~50%[6]; 在结、直肠癌死亡患者的尸检中发现, 肝转移癌的发生率可高达 90%[7]。由于多数患者系多发性甚至于弥漫性肝转移, 使外科手术、放射治疗、介入治疗、化疗等传统治疗手段难以发挥作用。因此, 近年来国外一些作者开展了应用放射免疫方法治疗结、直肠癌肝脏转移的研究[1~3], 为临床上防治结、直肠癌并肝转移提供了新的手段。

在已往的研究报道中, 作者们均采用周边体静脉作为注射核素标记单抗的途径[1~3]。根据血液循环的理论, 从体静脉注入的药物, 需要经过体循环回流入肺, 在这过程中, 药物难免被稀释, 从而导致进入肝脏的核素标记单抗量的减少。作者推测, 如果将^{131}I 标记抗 CEA 单抗直接注射于门静脉(经脾脏), 注入的核素就首先经门静脉进入肝脏微循环, 这样可能会增加肝组织与单抗的接触浓度与时间, 从而增强 RAIT 预防肝脏转移癌形成的效果。

本研究结果表明, 无论经门静脉还是经尾静脉 RAIT, 均可降低血清、腹水和瘤组织中的 CEA 含量, 说明 RAIT 可选择性地杀伤表达 CEA 的结肠癌细胞。另一方面, 经门静脉 RAIT 能较经尾静脉 RAIT 者更显著地抑制肝转移癌的形成, 并降低外周血中 CEA 水平, 而对腹水和癌组织中 CEA 水平的下降并不显著, 其机制有待进一步研究。CEA 作为一种粘附分子, 可能在细胞分化, 肿瘤发生与转移过程中起重要作用, 结肠癌表达 CEA 比正常细胞高 10~100 倍, 并且大量分泌到循环血液中, 有利于癌细胞转移[8]。Jessup 等[9]证明给予外源性 CEA 可增加结直肠癌细胞在肝内的停留, 促进其发生肝转移。因此, 在结、直肠癌根治性手术后, 经门静脉途径注射一定量的^{131}I 标记抗 CEA 单抗, 对预防肝转移癌的形成可能有一定作用。

参考文献:

[1] Vogel C A, Galmiche M C, Buchegger F. Radioimmunotherapy and radiotherapy of human colon cancer liver metastases in nude mice[J]. Cancer Res, 1997, 57(3): 447—453.

[2] Buchsbaum D, Khazaeli M B, Liu T, *et al*. Fractionated radioimmunotherapy of human colon carcinoma xenografts with ^{131}I-labeled monoclonal antibody CC49[J]. Cancer Res, 1995, 55(23): 5 881s—5 887s.

[3] Wong J Y, Williams L E, Yamauchi D M, *et al*. Initial experience evaluating 90yttrium-radiolabeled anti-carcinoembryonic antigen chimeric T84.66 in a phase I radioimmunotherapy trial[J]. Cancer Res, 1995, 55(23): 5 929s—5 934s.

[4] 左国华, 葛海燕. 人源性结肠腺癌裸鼠肝转移模型的建立[J]. 中华实验外科杂志, 1999, 16(4): 373.

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

[5] 叶维新, 陈 杞, 孝延龄 主编. 实验核医学技术[M]. 吉林: 吉林科学技术出版社, 1991. 34—57.
[6] Ekberg H, Tranberg K G, Andersben R, *et al*. Pattern of recurrence in liver resection for colorectal secondaries[J]. World J Surg, 1987, 11(4): 541—547.
[7] Bengstsson G, Carlsson G, Hafstrom I, *et al*. Nature history of patient with untreated liver metastases from colorectal cancer[J]. Ann Surg, 1981, 141(5): 586—589.
[8] Wagner H E, Toth C A, Steele G D, *et al*. Metastatic potential of human colon cancer cell lines: relationship to cellular differentiation and carcinoembryonic antigen production[J]. Clin Exp Metastasis, 1992, 10(1): 25—32.
[9] Jessup J M, Petric A T, Toth R, *et al*. Carcinoembryonic antigen: enhancement of liver colonisation through retention of human colorectal carcinoma cells[J]. Br J Cancer, 1993, 67(3): 464—470.

(编辑 王 红)

个案与短篇

文章编号: 1000-5404(2001)06-0682-01

ACD 液保存的库存血红细胞变形性的变化

Changes of RBC deformability in blood stored in ACD solution

王竹筠, 滕本秀 (第三军医大学附属新桥医院输血科, 重庆 400037)

存血红细胞(RBC)流变特性变化直接影响 RBC 质量及回输后的功能, 本研究观察了 56 例健康人库存血 3 周内 RBC 流变特性变化, 探讨了保存时间对红细胞变形性和聚集性的影响, 为临床应用提供依据。

1 材料与方法

健康体检合格献血员, 男 39 人, 女 17 人, 年龄 23～45 岁, 平均(34±7)岁, 血红蛋白在 115～142 g/L, 平均(128±12)g/L。全血 400 ml 放入含有 ACD 保养液袋中, 取新鲜血(采集后 1 h), 1、2 及 3 周 4 个时相点, 每次取血 5ml, 作血液流变学检测。使用 MOPEL R80 型电脑全自动血液流变学测定仪, 检测血球压积、RBC 聚集指数(AI)和刚性指数(IR)及全血高切粘度(切变率 200 s^{-1})、切变率分别为 10 s^{-1}(中切 1)及 3 s^{-1}(中切 2)时的粘度、低切粘度(1 s^{-1})。统计学处理使用 t 检验, 对两组均数进行显著性比较。

2 结果

AI 在保存 2 周前变化不显著, 第 3 周 AI 呈显著降低($P<0.01$)。IR 至第 2 周时显著上升($P<0.05$), 至第 3 周上升更为明显($P<0.01$)。高切粘度在第 3 周显著升高($P<0.05$), 而低切粘度下降($P<0.01$)。中切 1 和中切 2 粘度及血球压积在保存 3 周内变化无显著性差异, 见表 1。

表 1 库存血 RBC 及全血流变特性变化($\bar{x}\pm s$)

	高切粘度	中切 1 粘度	中切 2 粘度	低切粘度	红细胞压积	AI	IR
新鲜血	3.05±0.41	3.57±0.53	4.12±0.72	5.13±1.06	39.1±3.53	1.67±0.16	4.66±0.79
1 周	2.92±0.41	3.38±0.52	3.86±0.67	4.73±0.97	38.4±4.69	1.61±0.15	4.68±0.81
2 周	3.04±0.35	3.50±0.44	4.02±0.54	4.94±0.75	39.3±2.97	1.62±0.12	4.96±0.64 *
3 周	3.21±0.42 *	3.69±0.52	4.30±0.72	4.30±0.72 **	40.1±3.85	1.59±0.11 **	5.39±0.76 **

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$ 与新鲜血比较

3 讨论

在微循环中气体交换的速度受 RBC 的变形性、细胞膜的流动性及胞浆粘度的影响, 这些因素与 RBC 携氧能力密切相关[1,2], 当 RBC 变形性下降, 胞膜的硬度增加, RBC 通过毛细血管时易受破坏[2～4]。本实验观察到血球压积 3 周内无显著改变, 反映 RBC 大小及数目无明显变化, RBC 破坏很少。刚性指数随保存时间延长而增加, 反映 RBC 的硬度在逐渐增加。并且第 3 周高切粘度显著增加, 高切粘度主要受 RBC 变形性的影响, 高切粘度的增加也反映了 RBC 变形性的下降。造成变形性下降可能由于 RBC 离体后 ATP 逐渐消耗, RBC 内 ATP 含量降低所致。此外, 细胞膜粘弹性也是影响 RBC 变形性的重要因素, 随保存时间延长脂质特性变化, 影响膜的粘弹性[3,4]。保存至第 3 周时, RBC 聚集性显著下降, 受 RBC 聚集性影响的低切粘度在第 3 周也显著下降。RBC 聚集性变化可能与自身表面电荷变化和变形性有关。ACD 液保存的库存血, 在第 3 周聚集性和变形性均有显著变化, 所以, 从流变特性角度看, ACD 液保存的库存血在 2 周内使用更好。

关键词: ACD 液; 库存血; RBC 变形性
中图法分类号: R329.2 文献标识码: B

参考文献:

[1] 许 艳, 付晨薇, 马 波 等. 脑血栓患者血液流变及红细胞膜流动性改变的研究[J]. 中国血液流变学杂志, 1997, 7(1): 15—18.
[2] 阎淑枝, 萧家思, 李 敏, 等. FDP 对烧伤大鼠血液流变学特性的影响[J]. 中国病理生理杂志, 1998, 14(2): 210—211.
[3] Nelle M, Zilow E P, Bastert G, *et al*. Effects of red cell trasfusion on cardiac output and blood flow velocities in cerebral and gastrointestinal arteries in premature infants[J]. Arch Dis Child, 1994, 71(1): F45—F48.
[4] Nageswari K, Banerjee R, Gupte R V, *et al*. Hemorheological parameters for biocompatibility evaluation[J]. J Biomater Appl, 1998, 13(1): 74—78.

(编辑 谢义霞)

作者简介: 王竹筠(1964—), 女, 四川省青神县人, 主管技师, 主要从事血液保存方面的研究, 发表论文 11 篇。电话: (023) 68755295

收稿日期: 2000-09-13; 修回日期: 2001-01-05

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