DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.05.011
第22卷第5期 第三军医大学学报 Vol. 22, No. 5
430 2000年5月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE May. 2000

论著

文章编号:1000-5404(2000)05-0430-03

^{131}I标记抗CEA单抗预防人结肠癌肝转移的实验研究

葛海燕,左国华,高明发 (第三军医大学附属新桥医院普通外科,重庆 400037)

提 要:目的 探索早期应用^{131}I标记抗CEA单抗预防结肠腺癌肝转移的可行性。方法 在建立人结肠腺癌裸鼠肝转移后,于15 min、10、20 d经尾静脉注射^{131}I标记抗CEA单抗;于放射免疫疗法后4周和裸鼠死亡时,检查肝转移癌的数目、大小、瘤重、组织学和生存期。结果 早期治疗组的肝转移癌数目、大小和瘤重均明显减小,瘤结节内有明显坏死,生存期延长。结论 早期应用^{131}I标记抗CEA单抗能有效地抑制肝转移癌的形成。

关键词:结肠癌;单克隆抗体;放射性同位素
中图法分类号:R735.35;R817.8 文献标识码:A

Study of prevention of liver metastasis of human colonic adenocarcinoma with ^{131}I-labelled anti-CEA monoclonal antibodies in nude mice

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

Abstract: Objective To study whether liver metastasis of colonic adenocarcinoma can be prevented with early administration of ^{131}I-labelled anti-CEA monoclonal antibodies (McAbs). Methods Nude mouse model of liver metastasis of colonic adenocarcinoma was established. ^{131}I-labelled anti-CEA McAbs were injected into nude mice 15 minutes, 10 days and 20 days after the animals were inflicted with liver metastasis of adenocarcinoma. 4 weeks later and when the the animals died, the number, size and weight of the hepatic metastatic lesions and the survival time of the animals were recorded and histopathological study of the metastatic foci was done. Results In the group with early administration of ^{131}I-labelled anti-CEA McAbs, the number, size and weight of the metastatic lesions in the liver were significantly decreased, obvious necrosis was found in the lesions and the survival time of the animals was prolonged. Conclusion ^{131}I-labelled anti-CEA McAbs can efficienctly inhibit formation of liver metastasis of human colonic adenocarcinoma.

Key words: colonic adenocarcinoma; monoclonal antibody; radioactive isotope

结、直肠癌并肝转移在临床上十分常见,而且治疗效果差。在根治性手术后,肝转移癌的发生率为40%~50%[1];而在结、直肠癌死亡者中,60%~70%存在肝转移[1],有的报道高达90%[2]。因此,努力提高结直肠癌合并肝转移的治疗效果,是一个十分重要的研究课题。近年来,国外许多作者进行了应用放射免疫疗法(Radioimmunotherapy, RAIT)治疗结肠癌肝转移的实验和临床Ⅰ/Ⅱ期研究,而类似的研究在国内还较少见。作者在建立人结肠腺癌裸鼠肝转移模型的基础上,早期应用^{131}I标记抗CEA单抗,较好地预防了肝转移癌的发生。现将结果报道如下。

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[3],4~6周龄的BALB/C nu/nu裸鼠(第三军医大学实验动物中心提供),雌雄兼用,在无致病菌(Specific-pathogen free, SPF)条件下的层流架中饲养。

1.2 抗CEA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

基金项目:全军留学回国人员基金资助项目
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:①结直肠癌肝转移的机制及其防治方法;②肠粘连的机制及其预防方法方面的研究,发表论文23篇。电话:(023)68755065
收稿日期:1999-10-05;修回日期:2000-03-10

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

COL-1[4], 测定放化纯度> 95%。

1.3　实验分组

将 32 只裸鼠随机分成 4 组, 每组 8 只。A. 早期治疗组: 在术后 15 min 内, 经尾静脉注射 300 μCi 的^{131}I-COL-1。B. 中期治疗组: 在术后第 10 天从尾静脉注射 300 μCi 的^{131}I-COL-1。C. 晚期治疗组: 在术后第 20 天从尾静脉注射 300 μCi 的^{131}I-COL-1。D. 对照组: 在术后第 10 天, 从荷瘤裸鼠的尾静脉注射 300 μCi 的^{131}I-NMIg。

每组动物均于 RAIT 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　大体观察　　在术后第 4 周, 每组随机抽出 5 只裸鼠, 剖腹探查, 测量肝表面癌结节的数目、大小及腹水等。探查后继续在 SPF 条件下喂养至死亡, 即行详细尸检, 从肝组织上逐一分离癌结节, 测量其大小(每一个癌结节测量 3 次, 取其均值)、数量和总重量。

1.4.2　组织学检查　　在剖腹探查及尸检后, 取癌结节, 经制片和 HE 染色后, 在光镜下观察肝转移癌的组织学改变。

1.4.3　荷瘤鼠生存期　　各组裸鼠均在 SPF 下喂养至死亡, 记录其生存期。

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　RAIT 对肝转移癌数目的影响

在 RAIT 后第 4 周时, A、B、C、D 各组裸鼠的癌结节数目如表 1 所示。早期治疗组的癌结节数明显少于对照组($P < 0.01$), 中期治疗组也少于对照组($P < 0.05$), 而晚期治疗组与对照组则差异不显著($P > 0.05$)。在裸鼠死亡时, 早期治疗组的癌结节数明显少于对照组($P < 0.01$), 而 B、C 两组则差异不显著($P > 0.05$)。以上结果表明, 在接种癌细胞后早期应用 RAIT, 能较好地抑制肝转移癌的形成; 开始 RAIT 的时间越早, 其抑制作用就越明显。

表 **1**　**RAIT** 对肝脏转移癌数目的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Tab 1　Changes of number of liver metastases after RAIT($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Groups(%)	4th week	Inhibition(%)	Death	Inhibition
Early RAIT	5.6±1.5 **	40.4	25.1±3.4 **	19.7
Middle RAIT	6.2±1.3 *	34.0	28.4±3.8	11.0
Late RAIT	8.2±1.3	10.9	30.1±2.7	
Control	9.4±1.9		30.5±3.3	

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$ *vs* control

$$\text{抑癌率} = \left(1 - \frac{\text{实验组肝转移癌灶平均数目}}{\text{对照组肝转移癌灶平均数目}}\right) \times 100\%$$

2.2　RAIT 对肝转移癌大小和瘤重的影响

在 RAIT 后第 4 周时, A、B、C 各组肝表面癌结节的大小分别为 1.9±0.23, 2.1±0.24, 2.4±0.20, 与对照组(2.7±0.18)比较, A、B 两组的差异均非常显著($P < 0.01$), C 组差异也显著($P < 0.05$)。

在荷瘤裸鼠死亡时, 各治疗组癌结节的平均直径仍小于对照组, 尤其是早、中期治疗组, 差异非常显著($P < 0.01$)。在瘤重方面, 早、中期治疗组分别为 1.23±0.12 和 1.44±0.10, 与对照组(1.58±0.07)相比, 差异非常显著($P < 0.01$), 而晚期治疗组(1.51±0.07)与对照组相比, 则差异不显著($P > 0.05$)。

2.3　组织学变化

对照组的肝转移癌细胞呈团块状分布, 细胞体积大, 核大不规则, 核仁明显, 间有小腔样结构, 癌组织无坏死性改变。而在 RAIT 治疗的各组中, 均可见癌结节的片状坏死, 尤以早期组为著。在 RAIT 后 4 周, 早期组的癌组织有大片状坏死, 组织结构不清, 伴有大量炎性细胞浸润, 部分癌结节边缘还存留少量癌组织。在裸鼠死亡时, 早期治疗组的癌结节内仍可见片状坏死, 但在部分坏死区内又可见小片状癌巢。而晚期治疗组癌结节内坏死区域较小。以上结果表明, RAIT 可以直接杀灭癌细胞, 并导致癌组织呈坏死性改变。

2.4　RAIT 后荷瘤裸鼠生存期的变化

RAIT 后 A、B、C、D 各组裸鼠的生存期(天)分别为 46.9±5.1, 42.2±4.2, 38.4±3.9 和 36.9±4.5, 与对照组比较, 早期治疗组具有非常显著性差异($P < 0.01$), 中期组也有显著性差异($P < 0.05$), 而晚期组则差异无显著性($P > 0.05$)。提示在建立肝转移癌后早期开始 RAIT 治疗, 可以显著地提高荷瘤裸鼠的生存期; 反之, 则效果不佳。

3　讨论

放射免疫疗法(RAIT)为临床上防治结、直肠癌并肝转移提供了新的选择。RAIT 的优点有: ①免疫核素一旦和癌细胞结合, 不需内化过程, 可直接发挥杀伤效应; ②β 射线的有效射程可达几个癌细胞的直径, 对周围未结合上核素的癌细胞也有杀伤效应, 有利于克服癌细胞表面抗原表达不均一的异质性问题。随着研究的深入, RAIT 的不足之处也逐渐被认识, 其中之一是 RAIT 对已形成肿块的肝脏转移癌, 疗效并不理想[5]。Jain 等[6] 认为, 肝转移癌具有细胞间质压力高, 血供少的特点。因此, 当瘤体长到一定体积时, 标记抗体就难以到达肿瘤内部。另一些研究表明, 癌结节的大小与 RAIT 疗效密切相关, 瘤体越小, RAIT 效果越好[7~9]。

本结果表明, 开始 RAIT 治疗越早, 对肝转移癌大小、数量及瘤重的抑制就越明显, 能显著延长荷瘤裸鼠的生存率。如果开始过晚, 则失去其治疗意义。在病理学方面, 早期治疗组癌结节内有明显的坏死性改变, 仅癌灶周边存留少量癌组织; 而晚期组则坏死区较小、较少, 显示此时 RAIT 已不能大量杀伤癌细胞。

本研究观察到的另一个现象是, 随着 RAIT 后时间的延长, 已经坏死的癌组织内又会重新出现癌巢, 并最终导致宿主的死亡。这种复苏的癌巢, 推测来源于癌结节周边存活的少数癌细胞。由此可以看出, 应用

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

RAIT 治疗结、直肠癌并肝脏转移，单用一次攻击剂量是不够的。为了能持续有效地杀伤癌细胞，应该进行第二次或第三次的强化 RAIT 治疗，方能巩固其疗效。作者推测，应用 RAIT 来预防结、直肠癌根治性手术后发生肝转移的意义可能会大于治疗肝转移癌的作用。

参考文献：

[1] 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.
[2] Bengtsson G, Carlsson G, Hafstron Z, *et al*. Nature history of patient with untreated liver metastases from colorectal cancer[J]. Am J Surg, 1981, 141(5): 586—589.
[3] 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.
[4] 叶维新，陈 杞，孝延龄 主编. 实验核医学技术[M]. 长春：吉林科学技术出版社，1991. 34—57.
[5] Wong J Y C, Williams L E, Yamauchi D M, *et al*. Initial experience evaluating ^{99}Yttrium radiolabeled anti-carcinoembryonic antigen chimeric T84.66 in a phase I radioimmunotherapy trial[J]. Cancer Res, 1995, 55(23): 5 929—5 934.
[6] Jain R K, Baxter L T. Mechanisms of heterogeneous distribution of monoclonal antibodies and other macromolecules in tumor: significance of elevated interstitial pressure[J]. Cancer Res, 1988, 48(26): 7 022—7 032.
[7] O′Donoghue J A, Bardies M, Wheldon T E. Relationship between tumor size and curability for uniformly targeted therapy with Beta-emitting radionuclides[J]. J Nucl Med, 1995, 36(10): 1 902—1 909.
[8] Buchegger F, Pelegrin A, Delaloye B, *et al*. ^{131}I labeled F(ab′)$_2$ fragments are more efficient and less toxic than intact anti-CEA antibodies in radioimmunotherapy of large human colon carcinoma grafted in nude mice[J]. J Nucl Med, 1990, 31(6): 1 035—1 044.
[9] Vogel C A, Galmiche M C, Westermann P, *et al*. CEA expression, antibody localization and immunophotodetection of human colon cancer liver metastases in nude mice: a model for radioimmunotherapy[J]. Int J Cancer, 1996, 67(2): 295—302.

（编辑 薛国文）

经验与短篇

文章编号：1000-5404(2000)05-0432-01

B 超普通探头引导下经皮肝穿刺多电极射频治疗肝肿瘤

Percutomeous（transhepatic）treatment of liver tmmors by expandable RF needle electrode directed by B-ultrasound

陈 敏，黄小兰，马宽生，董家鸿 （第三军医大学附属西南医院肝胆外科中心，重庆 400038）

我院从 1999 年 6～9 月，应用肝肿瘤多电极射频（Radio-frequency，RF）系统，在 B 超普通探头引导下治疗肝肿瘤 67 例，报告如下。

1 临床资料

1.1 一般资料

本组 67 例，男性 56 例，女性 11 例，平均年龄 47 岁（20～74 岁）。原发性肝癌 57 例，继发性肝癌 10 例。57 例原发性肝癌中，52 例行手术及肝穿刺活检证实，5 例为临床诊断。结、直肠癌术后肝转移 5 例，肺癌术后肝转移 2 例，胃癌、卵巢癌、前列腺癌术后肝转移各 1 例。肿瘤大小及部位：67 例中，肝肿瘤病灶共 95 个，小于 3 cm 19 个，3～5 cm 19 个，5～10 cm 41 个，大于 10 cm 16 个，肿瘤位于右肝叶 72 个，左肝叶 18 个，左右肝叶交界处 5 个。

作者简介：陈 敏（1962—），女，四川省崇州市人，主管技师，主要从事 B 超和内窥镜的诊断和治疗方面的研究，发表论文 8 篇。电话：（023）68754128

收稿日期：1999-10-27；修回日期：2000-03-21

1.2 治疗方法

以 Aloka SSD-630 型 B 超仪，3.5 MHz 普通探头引导，应用肝肿瘤多电极 RF 系统，3.5 cm 多电极针，插入病灶后打开呈伞形的 10 个电极。用 2% 利多卡因局部麻醉患者皮肤穿刺部位至肝包膜，切开穿刺点皮肤 0.3～0.5 cm，在 B 超普通探头的后侧方或正中稍前方，用直径 3.5 cm 的多电极针平行或垂直穿入肿瘤距底部 1.5～2.0 cm，张开多电极，接导线行 RF 治疗。单次 RF 治疗，RF 功率从 20 W 渐升至 90 W。小于 3 cm 的肿瘤，经皮经肝单一穿刺点 RF 治疗 2 次；3～5 cm 的肿瘤，经皮单一穿刺点，经肝 2 个穿刺点，RF 治疗 3～4 次；大于 5 cm 的肿瘤，根据病灶部位，结合 B 超影像，经皮、经肝数个穿刺点，RF 治疗 4～6 次。

1.3 并发症

本组共 5 例（7.5%）发生并发症，结肠延迟性穿孔 1 例，经手术治疗后痊愈出院。血胸 2 例，皮肤电极烫伤 2 例，对症处理后痊愈。

2 结果

95 个病灶共行肝穿刺 108 例，RF 治疗 219 次，治疗后多数

（下转 435 页）

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