

· 基础研究 ·

# 经皮氩氦冷冻/微波消融序贯<sup>131</sup>I-chTNT 瘤内注射治疗 Lewis 肺癌的对照研究

彭黎明, 丁为民, 李许峰, 胡丽娟, 张积仁

(南方医科大学附属珠江医院肿瘤中心, 广州 510282)

**摘要:**目的 探讨经皮氩氦冷冻/微波消融序贯<sup>131</sup>I-肿瘤细胞核人鼠嵌合单克隆抗体(<sup>131</sup>I-chTNT)瘤内注射治疗 Lewis 肺癌的疗效。方法 建立 C57BL/6 小鼠 Lewis 瘤模型, 随机分成对照组、微波消融组、氩氦冷冻组(各 25 例)。分别在对照组的肿瘤中心、微波消融组的微波消融范围中心、氩氦冷冻组的氩氦冷冻范围中心注射<sup>131</sup>I-chTNT。测量给药后不同时间每克肿瘤组织的摄取率(%ID/g)、T/NT 及观察荷瘤小鼠显像情况。结果 微波消融组、氩氦冷冻组的 %ID/g、T/NT 高于对照组, 氩氦冷冻组的 %ID/g、T/NT 高于微波消融组( $P < 0.05$ ); 荷瘤小鼠活体核素显像示微波消融组、氩氦冷冻组的药物浓聚高于对照组, 且氩氦冷冻组的药物浓聚高于微波消融组。结论 氩氦冷冻、微波消融均可以促进<sup>131</sup>I-chTNT 在肿瘤内浓聚, 氩氦冷冻与微波消融序贯<sup>131</sup>I-chTNT 瘤内注射相比, 更有利于<sup>131</sup>I-chTNT 在小鼠肿瘤组织的浓聚。

**关键词:**癌, Lewis 肺; 氩; 氦; 冷冻疗法; 微波; 导管消融术; 肿瘤; 坏死; <sup>131</sup>I-肿瘤细胞核人鼠嵌合单克隆抗体

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.13.023

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)13-1302-03

## Control study on percutaneous argon-helium refrigeration and microwave ablation followed by intratumoral injection of <sup>131</sup>I-chTNT to treat Lewis lung cancer

Peng Liming, Ding Weiming, Li Xufeng, Hu Lijuan, Zhang Jiren

(Oncology Center, Zhujiang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong 510282, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the effects of percutaneously argon-helium refrigeration and microwave ablation followed by intratumoral injection of <sup>131</sup>I-chTNT to treat Lewis lung cancer. **Methods** C57BL/6 mice bearing Lewis carcinoma were randomly divided into the control group, the microwave ablation group and the argon-helium refrigeration group ( $n=25$ ). <sup>131</sup>I-chTNT was injected at the tumor center in the control group, the microwave ablation center in the microwave ablation group and the argon-helium refrigeration center in the argon-helium refrigeration group, respectively. Radioactivity uptake per gram of tumor tissue (% ID/g) and T/NT were measured at different times after administration and imaging of <sup>131</sup>I-chTNT was observed in tumor-bearing mouse. **Results** Radioactivity uptake per gram of tumor tissue (% ID/g) and T/NT were higher in the microwave ablation group and the argon-helium refrigeration group than the control group, % ID/g and T/NT were higher in the argon-helium refrigeration group than the microwave ablation group ( $P < 0.05$ ). The scintigraphy results showed higher tumor accumulation of <sup>131</sup>I-chTNT not only in the microwave ablation group and the argon-helium refrigeration group than the control group but also in the argon-helium refrigeration group than the microwave ablation group. **Conclusion** Argon-helium refrigeration and microwave ablation could accelerate accumulation of <sup>131</sup>I-chTNT in tumor. Comparing the argon-helium refrigeration with microwave ablation followed by intratumoral injection of <sup>131</sup>I-chTNT, the former is beneficial for uptaking <sup>131</sup>I-chTNT.

**Key words:** carcinoma, Lewis lung; argon; helium; cryotherapy; microwave; catheter ablation; neoplasms; necrosis; iodine-131-labeled mouse/human chimera monoclonal antibody

肿瘤坏死疗法(tumor necrosis treatment, TNT)是一种针对实体肿瘤的放射免疫治疗,其结合的位点是肿瘤细胞变性、坏死后暴露的组蛋白和 DNA<sup>[1]</sup>。<sup>131</sup>I-肿瘤细胞核人鼠嵌合单克隆抗体(iodine-131-labeled mouse/human chimera monoclonal antibody, <sup>131</sup>I-chTNT)是一种新型的放射免疫药物,但临床显示单独用药时疗效有限<sup>[2-3]</sup>。临床上物理消融包括热消融和冷消融,分别以微波消融和氩氦冷冻消融为代表。氩氦冷冻、微波消融可以增加肿瘤的坏死,理论上与<sup>131</sup>I-chTNT 联合可以增加其疗效。有报道微波消融序贯<sup>131</sup>I-chTNT 瘤内注射可以增加<sup>131</sup>I-chTNT 在肿瘤组织中的浓聚<sup>[4]</sup>。氩氦冷冻、微波消融序贯<sup>131</sup>I-chTNT 瘤内注射的差异尚未见报道,有待研究。因此,本实验拟观察氩氦冷冻、微波消融序贯<sup>131</sup>I-chTNT Lewis 肺癌瘤内注射后肿瘤经 2 种消融坏死与<sup>131</sup>I-chTNT 结合的差异,为临床联合应用提供理论依据。

### 1 材料与与方法

**1.1 试剂** DMEM 高糖培养基、胎牛血清购自美国 Hyclone

公司;<sup>131</sup>I-chTNT(规格 1850 MBq/5 mL, pH 7.2, 放射化学纯度 99.6%, 抗体特异性结合活性 66.4%)由上海美恩生物技术有限公司提供;PBS 液、胰酶、青霉素链霉素液(双抗)等。

**1.2 细胞株和动物** Lewis 肺癌细胞株购自中国科学院上海生命科学研究院;C57BL/6 小鼠 75 只, 4~6 周龄, 体质量 18~20 g, 购自南方医科大学实验动物中心(许可证编号 SCXK 粤 2006-0015), 无特定病原体条件下饲养。

**1.3 仪器** FORSEA MTC-3 微波消融治疗仪, 频率 2 450 MHz, 功率输出范围 0~100 W, 微波辐射芯线长 0.3 cm, 直径 1.2 mm; 美国 Endocare 公司氩氦刀, 直径 2 mm 插入式冷冻探头, 备针式测温; FT-608y 计数仪、Millennium 型单光子计算机发射断层显像仪、CO<sub>2</sub> 孵箱等。

**1.4 细胞培养** 将 Lewis 肺癌细胞株用含 10% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养液 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 条件下培养。

**1.5 小鼠 Lewis 肺癌模型的建立及分组** 将处于对数生长期的 Lewis 细胞, 用 PBS 液稀释成  $5 \times 10^6$ /mL, 按每只  $1 \times 10^6$ /

0.2 mL 接种于小鼠右侧后肢皮下<sup>[5]</sup>, 2 周左右, 肿瘤直径达 1.5 cm 时用于实验。治疗前 7 d, 在饮水中加入 1% 碘化钾溶液, 饮用至实验结束, 以封闭甲状腺对放射碘的摄取。建立 C57BL/6 小鼠 Lewis 瘤模型, 将荷瘤小鼠随机分为对照组、微波消融组、氩氦冷冻组(各 25 例)。对照组采用肿瘤中心<sup>131</sup>I-chTNT 瘤内注射, 18.5 MBq/0.05 mL。微波消融组小鼠腹腔内注射 10% 水合氯醛 0.5 mL/100 g 进行麻醉, 常规消毒; 将组织间肿瘤微波凝固治疗仪直径 1.2 mm 电极针, 插入小鼠肿瘤, 输出功率 30 W, 60 s 后拔出微波针, 使坏死范围在 1 cm; 5 d 后于肿瘤微波消融范围中心注射药物, 方法、剂量同对照组。氩氦冷冻组小鼠腹腔内注射 10% 水合氯醛 0.5 mL/100 g 进行麻醉, 常规消毒; 使用组织间肿瘤氩氦冷冻治疗仪, 将直径 2 mm 冷冻探头插入小鼠肿瘤, 温度降低至 -140 °C 冷冻 10 s, 复温至 0 °C, 一个循环, 使坏死范围在 1 cm。5 d 后于肿瘤氩氦冷冻范围中心注射药物, 方法、剂量同对照组。

**1.6 荷瘤小鼠活体核素显像** 对照组、微波消融组、氩氦冷冻组分别取 5 只荷瘤小鼠。注射后 1、3、5、7 d 分别显像。图像采集参数: 高能平行孔准直器, 矩阵 256×256, 能峰 360 keV,

放大倍数为 1, 采集时间 4 min。采用 ROI 技术, 测量肿瘤组织(T)与对侧相应部位(NT)的放射性比值(T/NT)。

**1.7 小鼠肿瘤内药物分布情况** 对照组、微波消融组、氩氦冷冻组分别取 20 只荷瘤小鼠, 分别于注射后第 1、3、5、7 天各取 5 只小鼠断颈处死。取肿瘤组织称质量后用  $\gamma$  计数器测定放射性计数。计算每克组织的药物摄取率(%ID/g)。

**1.8 统计学处理** 应用 SPSS13.0 软件进行数据分析, 计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 完全随机设计资料用单向方差分析(One-way ANOVA), T/NT 放射性药物摄取比值的比较采用重复测量的方差分析, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结 果**

**2.1 荷瘤小鼠活体核素显像** 微波消融组和氩氦冷冻组均在给药后第 5 天时肿瘤部位放射性浓聚最高, 至第 7 天仍可见肿瘤显影。氩氦冷冻组与微波消融组比较, 前者肿瘤部位放射性浓聚高(图 1, 黑色部分为药物与坏死肿瘤组织结合部位)。

**2.2 T/NT 变化情况的比较** 见表 1。

**2.3 3 组小鼠肿瘤内药物分布比较** 见表 2。

表 1 各组小鼠给药后 T/NT 变化情况的比较( $\bar{x} \pm s$ )

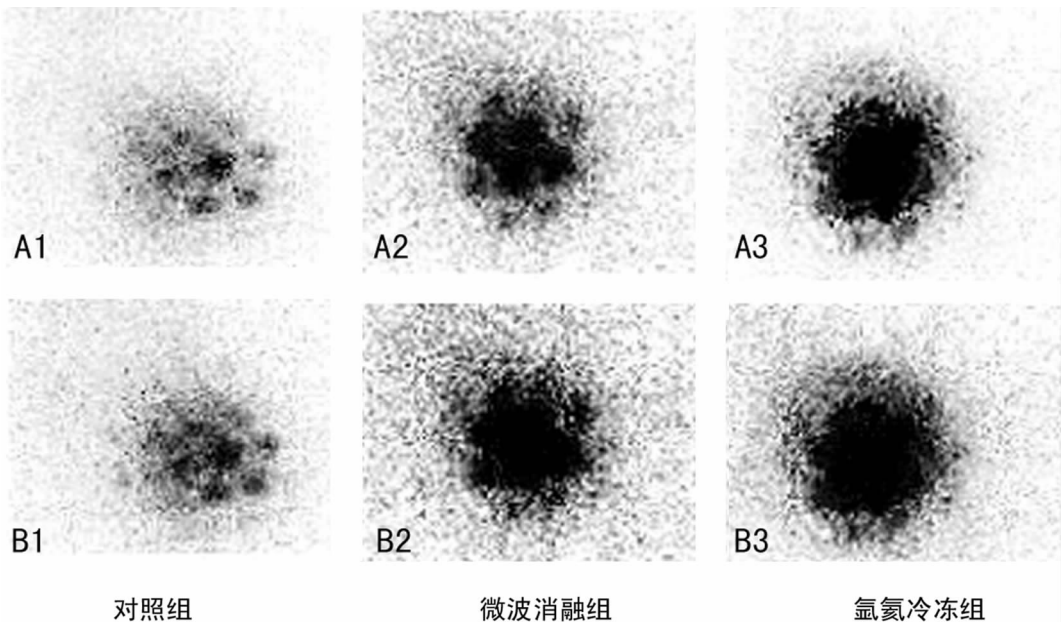
组别	1 d	3 d	5 d	7 d
对照组	10.21±6.14	15.03±6.09	19.97±2.89	15.89±4.67
微波消融组	30.18±5.48* $\Delta$	39.47±6.65* $\Delta$	50.34±5.89* $\Delta$	35.21±3.58* $\Delta$
氩氦冷冻组	49.87±5.11*	60.01±6.32*	69.98±3.45*	56.25±3.38*

\*:  $P < 0.05$ , 与对照组比较;  $\Delta$ :  $P < 0.05$ , 与氩氦冷冻组比较。

表 2 3 组小鼠肿瘤组织药物摄取率比较(%ID/g,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	1 d	3 d	5 d	7 d
对照组	31.04±2.44	17.22±0.93	10.59±1.40	7.26±0.94
微波消融组	45.30±1.91* $\Delta$	31.52±1.53* $\Delta$	22.52±1.25* $\Delta$	17.12±0.84* $\Delta$
氩氦冷冻组	61.54±1.59*	46.36±1.59*	34.22±1.66*	25.34±1.07*

\*:  $P < 0.05$ , 与对照组比较;  $\Delta$ :  $P < 0.05$ , 与氩氦冷冻组比较。



A1~A3: 第 1 天; B1~B3: 第 5 天。

图 1 3 组第 1、5 天荷瘤小鼠活体核素显像

### 3 讨 论

TNT 治疗是美国南加州大学 Epstein 教授最早提出的,该疗法中的 TNT 抗体结合的靶点为变性、坏死的肿瘤细胞核抗原。肿瘤组织普遍的病理特征是变性、坏死,正常组织处于网状内皮系统的监控下,不存在坏死区域,因而 TNT 具有特异性和广泛性。<sup>131</sup>I-chTNT 是全球首个上市的实体瘤 RIT 药物,它由特异识别肿瘤的抗体和杀伤肿瘤的放射性核素构成,属于标准的放射免疫治疗药物。但是肿瘤组织的自发性坏死有限,增加肿瘤组织的坏死成为<sup>131</sup>I-chTNT 治疗的关键因素。

放、化疗,射频等方法可以增大肿瘤组织的变性、坏死,与<sup>131</sup>I-chTNT 联合应用临床疗效显著提高<sup>[6-10]</sup>,提示与其他方法联合可以提高它的疗效。而氩氦冷冻和微波消融都可以增加肿瘤组织的变性、坏死,无论哪种消融方法,在消融中心区是完全坏死组织,周边是一个过渡带,过渡带中含有大量坏死细胞,并且随时间发生变化。氩氦冷冻和微波消融与<sup>131</sup>I-chTNT 联合应用的疗效差异尚未见报道,为此,本研究设计实验对这 2 种消融与<sup>131</sup>I-chTNT 联合的疗效进行初步探讨。

从实验结果可以看出,氩氦冷冻序贯<sup>131</sup>I-chTNT 瘤内注射与微波消融序贯<sup>131</sup>I-chTNT 瘤内注射相比,更有利于<sup>131</sup>I-chTNT 在肿瘤组织内的浓聚,其机制可能是经皮微波固化治疗技术(percutaneous microwave coagulation therapy, PMCT)是 Seki 等最早在 1994 年用来治疗肝细胞肝癌,PMCT 利用微波的局部高热和肿瘤细胞不耐热的特点,通过针式电极在肿瘤内发射微波,极短时间内使局部温度达到 65~100 °C,肿瘤组织发生凝固性坏死,达到原位灭活的目的<sup>[11-12]</sup>。最高温度可超过 100 °C,肿瘤组织出现气化或炭化。变性、坏死可导致肿瘤细胞结构、功能发生多种形式的改变,包括细胞膜、核膜的通透性异常升高,膜结构完整性的丧失;染色体解聚,双链 DNA 解构,暴露出变性降解的单链 DNA 复合体<sup>[13-14]</sup>等。而<sup>131</sup>I-chTNT 结合的靶点是变性、坏死的肿瘤细胞核内的组蛋白及 DNA 单链复合体,微波消融时中心产生 100 °C 以上高温使肿瘤组织气化或炭化,使组蛋白和 DNA 复合体与<sup>131</sup>I-chTNT 结合位点难以保持稳定,部分分解;而氩氦冷冻是由于细胞内冰晶形成和冰晶的机械损伤、细胞脱水和皱缩改变蛋白质的理化性质,产生聚合作用、细胞电解质毒性浓缩和 pH 值改变、细胞膜脂蛋白成分变性等<sup>[15]</sup>,导致肿瘤组织发生凝固性坏死,也可产生细胞膜、核膜的通透性异常升高,蛋白质变性、DNA 单链暴露等<sup>[16]</sup>,不存在<sup>131</sup>I-chTNT 结合位点分解的问题,从而使肿瘤经氩氦冷冻后更有利于药物的结合。

综上所述,在瘤内注射<sup>131</sup>I-chTNT 前先给予微波消融和氩氦冷冻治疗,而后者更有利于药物在肿瘤组织内的浓聚。<sup>131</sup>I-chTNT 药物在肿瘤组织分布的增加会增强药物的疗效,为临床应用提供了理论依据。

#### 参考文献:

[1] Hornick JL, Sharifi J, Khawli LA, et al. A new chemically modified chimeric TNT-3 monodonal antibody directed against DNA for the radioimmunotherapy of solid tumors [J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 1998, 13(4): 255-268.

[2] Shapiro WR, Carpenter SP, Roberts K, et al. <sup>131</sup>I-chTNT-1/B mAb; tumor necrosis therapy for malignant astrocytic glioma [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2006, 6(5): 539-545.

[3] Street HH, Goris ML, Fisher GA, et al. Phase I study of <sup>131</sup>I-chimeric(ch) TNT-1/B monoclonal antibody for the treatment of advanced colon cancer [J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2006, 21(3): 243-256.

[4] 来庆华, 丁为民, 张积仁, 等. 微波消融对<sup>131</sup>I-chTNT 在荷 H22 肝癌小鼠体内分布的影响 [J]. *山东医药*, 2010, 50(18): 29-30.

[5] Yan L, De Dars LC. Effects of dietary fat on spontaneous metastasis of Lewis lung carcinoma in mice [J]. *Clin Exp Metastasis*, 2010, 27(8): 581-590.

[6] Chen S, Yu L, Jing C, et al. Pivotal study of iodine-131-labeled chimeric tumor necrosis treatment radioimmunotherapy in patients with advanced lung cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23(7): 1538-1547.

[7] Yu L, Ju DW, Chen W, et al. <sup>131</sup>I-chTNT radioimmunotherapy of 43 patients with advanced lung cancer [J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2006, 21(1): 5-14.

[8] Pan H, Han L, Chen W, et al. Targeting to tumor necrotic regions with biotinylated antibody and streptavidin modified liposomes [J]. *J Control Release*, 2008, 125(3): 228-235.

[9] 严红霞, 武钢, 程晶, 等. <sup>131</sup>I-chTNT 结合外照射治疗实体瘤的实验研究 [J]. *临床肿瘤学杂志*, 2007, 12(5): 325-331.

[10] 张明, 张春丽, 高献书, 等. 外照射联合<sup>131</sup>I-chTN 对小鼠 Lewis 瘤影响的研究 [J]. *中华放射医学与预防杂志*, 2008, 28(3): 255-257.

[11] 耿怀成, 王靖华, 陈龙邦, 等. 经皮穿刺微波凝固活体肺的实验研究 [J]. *医学研究生报*, 2006, 19(5): 414-419.

[12] 彭智勇, 时粉周. 微波在临床治疗上的应用进展 [J]. *海军医学杂志*, 2009, 30(2): 180-183.

[13] Liang P, Wang Y, Zhang D, et al. Ultrasound guided percutaneous microwave ablation for small renal cancer; initial experience [J]. *J Urol*, 2008, 180(3): 844-848.

[14] 项东英, 何文, 刘会昭, 等. 微波消融家犬肺组织的实验研究 [J]. *中国介入影像与治疗学*, 2009, 6(5): 402-405.

[15] Kollender Y, Meller I, Bickels J, et al. Role of adjuvant cryosurgery in intralesional treatment of sacral tumors [J]. *Cancer*, 2003, 97(11): 2830-2838.

[16] Jungraithmayr W, Burger D, Olschewski M, et al. Cryoablation of malignant liver tumors; results of a single center study [J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2005, 4(4): 554-560.

(收稿日期: 2011-12-13 修回日期: 2012-01-30)