

文章编号 : 0258-7025(2002)08-0763-03

光动力疗法对 Louis 肺癌鼠的杀伤 及免疫效应

罗荣辉¹, 陈香才¹, 刘婉华¹, 刁振琦¹, 张 丽²

(¹ 郑州大学医学院医用物理教研室, 河南郑州 450052; ² 河南省肿瘤医院放疗科, 河南郑州 450003)

提要 应用光动力疗法对 30 只接种 Louis 肺癌瘤株的昆明小鼠作杀伤实验研究。对实验组与对照组荷瘤鼠抑瘤曲线、抑瘤率及免疫学指标进行检测。结果表明, 两组肿瘤生长曲线存在明显差异 ($P < 0.05$)。两组肿瘤生长体积和肿瘤重量均存在明显差异 ($P < 0.01$)。实验组瘤体积抑制率为 52.94%, 瘤重量抑制率为 37.24%。各免疫指标与对照组差异有显著性。说明光动力疗法对肿瘤细胞具有杀伤和抑制生长作用, 并且对荷瘤小鼠的免疫功能有调节作用。

关键词 光动力疗法, 肺肿瘤, 免疫效应, 小鼠

中图分类号 R 73-33 文献标识码 A

Injurious and Immune Effect of Photodynamic Therapy on Mice Bearing Louis Lung Cancer

LUO Rong-hui¹, CHEN Xiang-cai¹, LIU Wan-hua¹, DIAO Zhen-qi¹, ZHANG Li²

(¹ Department of Medical Physics, Medical College of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052)
(² Department of Radiotherapy, Henan Tumour Hospital, Zhengzhou 450003)

Abstract The killing experiment via photodynamic therapy (PDT) was carried on 30 Kunming mice inoculated with Louis lung cancer. The tumor suppressing rates and curves were observed between the experimental group and control group. Significant differences in the tumor growth curve ($P < 0.05$), tumor mass and tumor volume existed between the two groups ($P < 0.01$). The tumor suppressing rates of tumor volume and mass were 52.94% and 37.24%, respectively, in the experimental group. The results revealed selective injurious effect and growth suppressing effect of photodynamic therapy (PDT) on tumor cells, it is suggested that PDT can regulate the immune function for the mice inoculated with Louis lung cancer. Photodynamic therapy (PDT) will be a available therapy for malignant tumors.

Key words photodynamic therapy (PDT), lungneoplasms, immune effect, mice

近年来, 光动力疗法对肿瘤杀伤作用的基础研究, 引起了人们的高度重视。为了进一步探讨光动力疗法对肿瘤的杀伤及免疫效应有关机理, 我们通过光动力疗法对实体瘤直接进行了实验研究, 为此选用新一代光敏剂苯并卟啉衍生物 (BPD), 在对接种 H22 肝癌小鼠研究的基础上^[1], 又对接种 Louis 肺癌小鼠进行了抑瘤率、抑瘤曲线及调节免疫功能

作用的实验研究, 旨在为临床应用提供新的信息。

1 材料和方法

1.1 实验设备和动物模型

采用波长为 632.8 nm, 功率为 10 mW 的 He-Ne 激光器。选用 30 只雄性昆明种小鼠, 鼠龄 10 ~ 12 周, 体质量 20 ~ 22 g, 接种肿瘤后随机分为对照组和

收稿日期 2001-12-14; 收到修改稿日期 2002-04-16

基金项目 河南省自然科学基金(994023100)资助项目。

作者简介 罗荣辉 (1965—), 男, 郑州大学医学院医用物理教研室副教授, 硕士, 主要从事光动力治疗恶性肿瘤的研究。E-mail: ao123@371.net

实验组, 每组 15 只。实验应用保种传代腹水型小鼠 Louis 肺癌株, 以灭菌生理盐水稀释至所需浓度, 每只小鼠于右后肢皮下接种 0.2 ml (内含瘤细胞 2×10^6 个), 接种后常温下正常饮食饲养。

1.2 方法

实验动物分 15 只小鼠于肿瘤接种后第 7 天, 肿瘤直径达 1.0 ± 0.1 cm 时, 开始行光动力治疗。将小鼠置于暗室, 在其尾静脉按 10 mg/kg 注射新一代光敏剂苯并卟啉生物(BPD), 待小鼠肿瘤充分吸收后将其固定在治疗架上, 用 He-Ne 激光照射后肢肿瘤部分, 功率密度为 35.4 mW/cm^2 , 共 120 min。而后两组在同等条件下饲养。光动力疗法后每天用游标卡尺测量对照组和实验组肿瘤长、短两直径, 计算瘤体积 $V = \pi/6[(A+B)/2]^2 \cdot A$ (A, B 分别为肿瘤长、短径), 取对照组每天平均瘤体积作肿瘤自然生长曲线, 取实验组每天平均瘤体积作肿瘤抑制曲线。并于接种后 22 天(光动力疗法后 15 天)将两组小鼠全部颈动脉处死, 称量肿瘤质量及测量体积, 计算肿瘤体积和质量抑瘤率。肿瘤体积抑瘤率 = (对照组瘤体积 - 实验组瘤体积) / 对照组瘤体积 $\times 100\%$ 。肿瘤质量抑瘤率 = (对照组瘤质量 - 实验组瘤质量) / 对照组瘤质量 $\times 100\%$ 。取标本进行免疫指标测定, 淋巴细胞转化率采用 $^3\text{H-TdR}$ 掺入法测 (/min) 值, 脾细胞 NK 活性及 LAK 活性和 T 淋巴细胞亚群分类分别采用 MTT 比色法和微量全血流式细胞仪技术 (FCM)。

然后进行统计学处理, 对照组和实验组结果均以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 肿瘤抑制曲线采用 t 检验。

2 结 果

2.1 对照组肿瘤生长曲线及实验组肿瘤抑制曲线

对照组肿瘤生长曲线及实验组肿瘤抑制曲线见图 1, 从图 1 可以看到两组肿瘤生长在光动力疗法后第 5 天开始出现差别, 实验组肿瘤生长受抑制, 随着小鼠荷瘤生存时间的延长, 两组肿瘤生长速度的差别逐渐增大。两组曲线间具有显著性差异 ($P < 0.05$)。

2.2 肿瘤体积抑制率及肿瘤质量抑制率

从表 1 可见光动力疗法后 15 天对照组及实验组肿瘤生长体积和肿瘤质量均存在明显差异 ($P < 0.01$)。肿瘤体积抑制率 = 52.94%, 肿瘤质量抑制率 = 37.24%。

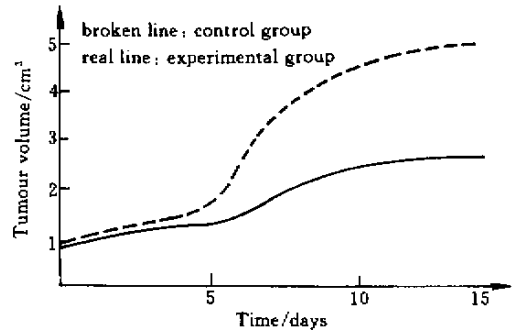


图 1 对照组肿瘤生长曲线及实验组肿瘤抑制曲线

Fig. 1 Tumour growth curve of control group and tumour restrain curve of experimental group

2.3 光动力疗法后的免疫效应

PDT 对 Louis 肺癌小鼠淋巴细胞转化有影响, 对照组与实验组的增殖率分别为 81% 和 33%, 两组胸腺和脾的淋巴转化率差异非常显著 ($P < 0.01$, $P < 0.02$) (表 2)。

表 1 两组荷瘤小鼠肿瘤体积及肿瘤质量的变化 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Change of tumour volume and mass in two groups

Group	Tumour volume/ cm^3	Tumour mass/g
Control group	5.318 ± 2.249	2.390 ± 0.840
Experimental group	$2.070 \pm 1.290^*$	$1.500 \pm 0.170^{**}$

注: * $P < 0.01$, ** $P < 0.01$

表 2 两组荷瘤小鼠的淋巴细胞转化 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Translation of lymphocyte in two groups

Group	Spontaneous multiplication of Thymus/ min^{-1}	Spontaneous multiplication of Spleen/ min^{-1}
Control group	5632.7 ± 3774.7	7926.4 ± 5451.4
Experimental group	10128.7 ± 3666.1	10620.4 ± 4442.6

表 3 两组荷瘤小鼠 T 淋巴细胞亚群分类变化 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Subgroup assort of T lymphocyte in two groups

Group	CD_3^+	CD_4^+	CD_8^+	$\text{CD}_4^+/\text{CD}_8^+$
Control group	64.34 ± 4.97	26.57 ± 4.25	37.14 ± 2.77	0.72 ± 0.16
Experimental group	77.38 ± 4.96	39.96 ± 4.57	34.38 ± 3.79	1.31 ± 0.33

表 4 两组荷瘤小鼠脾细胞 NK 活性及 LAK 活性 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 NK and LAK activity of Spleen cells in two groups

Group	NK activity of Spleen cells	LAK activity of Spleen cells
Control group	$(11.0 \pm 2.8)\%$	$(10.8 \pm 1.7)\%$
Experimental group	$(25.9 \pm 2.2)\%$	$(22.7 \pm 2.6)\%$

PDT 治疗后实验组的 CD_4^+/CD_8^+ 值升高 ($P < 0.05$),由此可见,PDT 对 D_4^+ T 靶细胞有选择性作用(表 3)。

PDT 治疗后能提高荷瘤鼠脾细胞 NK 活性及 LAK 活性,实验组与对照组相比差异有显著性 ($P < 0.05$) (表 4)。

3 讨 论

本实验结果证明,光动力疗法对小鼠 Louis 肺癌组织细胞具有选择性杀伤作用。对照组肿瘤生长曲线及实验组肿瘤抑制曲线存在明显差异,在光动力疗法后第 5 天开始出现差别,实验组肿瘤生长受抑制。随着小鼠荷瘤生存时间的延长,两组肿瘤生长速度的差别逐渐增大。同时,免疫指标检测提示:PDT 可提高荷瘤小鼠的淋巴细胞转化率,提高 CD_4^+/CD_8^+ 的值,增强脾细胞 NK 活性及 LAK 活性。本实验进一步证实光动力疗法具有选择性杀伤和抑制肿瘤组织生长的作用,对荷瘤鼠也具有明确的免疫增强作用。

我们认为光动力疗法能杀伤肿瘤细胞的原因可能与下面因素有关:1)癌细胞对新一代光敏剂苯并卟啉衍生物(BPD)的亲性和,使癌细胞对光动力疗法的敏感性远高于正常细胞和组织;2)正常细胞与癌细胞有不同的吸光率,癌细胞的吸光率比正常细胞高,癌细胞的体积也比正常细胞大,可能使得癌细胞的吸光量较大,以致于能杀伤癌细胞的单态氧产量较高;3)癌细胞较正常细胞增殖旺盛,DNA 合成增多,当光剂量达到一定程度时,就可以使癌细胞的染色体断裂,DNA 合成受到抑制,细胞膜破裂,癌细

胞生长分裂受抑制或死亡;4)光动力疗法能影响癌细胞的分化合成,减弱肿瘤负荷的免疫抑制,增强机体免疫功能,促成坏死肿瘤组织释放某种物质形成抗原,刺激免疫反应,从而起到杀伤和抑制肿瘤生长的作用^[2~6]。对其细胞组织变异的观测及微观机制我们也进行了实验研究^[7]。本实验提示,PDT 对荷瘤小鼠具有直接杀伤和免疫调节双重效应,与传统的放疗相比有其独特的优点,实验结果为光动力疗法临床治疗恶性肿瘤提供了一些可靠的实验依据。

参 考 文 献

- 1 Luo Ronghui, Liu Wanhua, Diao Zhenqi *et al.*. Anti-tumor and immunomodulation effect of photodynamic therapy on mice bearing H22 hepatoma [J]. *Applied Laser (应用激光)*, 2001, **21**(3): 211 ~ 213 (in Chinese)
- 2 Luo Ronghui, Diao Zhenqi, Liu Wanhua *et al.*. Survival effect of photodynamic therapy on tumourbearing mice [J]. *Applied Laser (应用激光)*, 2001, **21**(5): 358 ~ 360 (in Chinese)
- 3 Li Junheng. Development on photodynamic therapy [J]. *Basic Medicine and Clinic (基础研究与临床)*, 1997, **17**(3): 167 ~ 170 (in Chinese)
- 4 T. Charles. PDT shows long-term efficacy for lung cancer [J]. *Biophotonics International*, 1997, **7**(8): 30 ~ 35
- 5 Eichler J. Liebetrueth. Temperature distribution for combined laser hyperthermia-photodynamic therapy in the esophagus [J]. *Medical Engineering and Physics*, 2000, **22**(4): 307 ~ 311
- 6 L. H. Young, M. A. Howard, L. K. Hu. Photodynamic therapy of pigmented choroidal melanomas using a liposomal preparation of benzoporphyrin derivative [J]. *Arch Ophthalmol*, 1996, **114**(2): 186 ~ 192
- 7 Luo Ronghui, Liu Wanhua, Luo Xianrun *et al.*. Effect of photodynamic therapy on the phenotype of tumor-infiltrating lymphocytes of tumor-bearing mice [J]. *Applied Laser (应用激光)*, 2002, **22**(1): 69 ~ 72 (in Chinese)