

• 实验研究 •

磁性微粒协同外置磁场的抗肿瘤活性作用: 实验性研究

程新宝, 袁曙光, 阎东, 李玛琳

【摘要】 目的: 探讨磁性微粒(Fe_3O_4) 加外置磁场 对体外人肝癌细胞株(HLCL) 活性的作用。方法: 用四甲基偶氮唑蓝检测磁性微粒不同浓度含量的药物试剂, 外置和未置磁场下不同时间给药作用于 HLCL。结果: 磁性微粒外置磁场下对 HLCL 的增殖活性有明显的抑制作用。结论: 磁性微粒协同磁场可提高对 HLCL 的抑制作用。临床可作为优良的介入栓塞材料开发研究。

【关键词】 物理治疗技术; 肝肿瘤; 实验研究

【中图分类号】 R454. 1; R-33; R735. 7 【文献标识码】 A 【文章编号】 1000-0313(2004)06-0449-02

Anti-neoplasm activity of magnetic microspheres with an external magnetic field: an experimental research CHENG Xin-bao, YUAN Shu-guang, YAN Dong, et al. Department of Radiology, the Fifth People Hospital of Zhengzhou, Zhengzhou 450003, P. R. China

【Abstract】 Objective: To investigate anti-neoplasm activity of human liver cancer lines (HLCL) of magnetic microspheres (Fe_3O_4) in magnetic field. Methods: Curative effects on HLCL by using magnetic microspheres had been evaluated by MTT. Results: Magnetic microspheres in magnetic field had significantly inhibiting action on HLCL. Conclusion: Magnetic microspheres in vitro have good effects on HLCL. It may be a potential embolic agent in clinical research.

【Key words】 Physical therapy techniques; Liver neoplasms; Magnetic field; Experimental study

磁流体外置磁场对肿瘤细胞抑制的实验研究已有文献报道^[1], 但用不同浓度的磁性微粒对人肝癌细胞株(human liver cancer lines, HLCL) 及其外置磁场进行研究, 评价对肿瘤细胞增殖活性的影响, 尚不多见。我们通过磁性微粒协同外置磁场对 HLCL 抑制作用的实验研究, 为临床介入治疗提供实验依据。

材料与方法

自制磁性微粒(平均直径 4.68 μm , 圆形度 0.97)。磁场: 用直径 2 cm, 高 0.8 cm 的永久性磁铁石置于 96 孔加药板下(88 h) 作为外磁场。HLCL 由中国科学院上海药物研究所提供。

受试细胞悬液的配制: 取生长良好的 HLCL 一大瓶, 常规消化后计数:

细胞成活率 = $(36/37) \times 100\% = 97\%$
 $9 \times 10^4 \times 40\text{ml} = 3.6 \times 10^6$ 孔(浓度为 $9 \times 10^4/\text{ml}$)

取浓度为 $9 \times 10^4/\text{ml}$ 的细胞悬液 20 ml, 以每分钟 700 转离心 10 min 后, 配制成 45 ml 浓度为 $9 \times 10^4/\text{ml}$ 细胞悬液, 置于培养皿中待用。

受试样品的称量及配制: 生理盐水做稀释剂对磁性微粒样品进行稀释配制见表 1。

细胞的加入方案: 将 HLCL 细胞悬液置于一个玻

璃培养皿内, 用八道加样器将细胞加入 96 孔板中(15% 血清加 85% RPMI-1640 细胞培养液, 每孔 90 μl), 贴壁 24 h 后, 再加入各受试样品的各浓度(每孔 90 μl)。

表 1 受试样品的称量及配制

试液编号	溶质(μl)	稀释剂(μl)	浓度比
6	100	生理盐水 90	3/40
5	100	生理盐水 90	1/20
4	100	生理盐水 90	3/200
3	100	生理盐水 90	1/200
2	100	生理盐水 90	3/2000
1	100	生理盐水 90	1/2000

注: 样品经稀释后在接触振荡器上振荡均匀成浊悬液。

测试方法: 改良 MTT 法^[2], 磁性微粒及其外置磁场与 HLCL 作用 72 h 后, 加入 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的 MTT(每孔 10 μl), 继续于 CO_2 培养箱中培养 4 h, 再将加入三联液(每孔 100 μl) 的培养板于 CO_2 培养箱中培养 12 h 后, 用酶标仪 570 nm、630 nm 的双波长测量 HLCL 的吸光度值。

抑制率 = $(1 - \frac{\text{加药浓度的实际吸光度值}}{\text{生理盐水实际吸光度值}}) \times 100\%$

统计学处理: 用 GWBASIC 回归软件计算各测试药的 IC_{50} 值(云南省天然药物药理重点实验室)。采用统计软件 PEMS 进行方差分析和秩和检验评价各测试药吸光度值抑制率。

结 果

磁性微粒及其外置磁场对 HLCL 细胞均有明显

作者单位: 450003 郑州, 第五人民医院放射科(程新宝); 651010 昆明, 昆明医学院附属第二医院放射科(袁曙光、阎东); 昆明医学院 药理实验室(李玛琳)
作者简介: 程新宝(1961-), 男, 河南焦作人, 硕士, 副主任医师, 主要从事介入放射治疗工作。

的抑制作用(表 2)。磁性微粒和磁性微粒外加磁场时的相关系数分别为 0.9476 和 -0.0777, IC_{50} 分别为 $1.3 \times 10^3 \mu\text{g/ml}$ 和 $2.74 \times 10^{-3} \mu\text{g/ml}$ 。

表 2 磁性微粒及其外置磁场对 HLCL 增殖活性作用

磁性微粒浓度 ($\mu\text{g/ml}$)	抑制率(%)	
	磁性微粒	磁性微粒外加磁场
2.4	16.1	8.3
7.2	16.7	1.6
24	15.3	2.5
72	15.5	0
240	16.0	3.3
720	79.4	0

注:磁性微粒浓度在 $720 \mu\text{g/ml}$ 时对 HLCL 增殖抑制明显增强

讨 论

研究证实磁场能使免疫细胞内酶活性增高, IL-1、IL-8 基因活化, 转录为 mRNA, 合成大量 IL-1、IL-8, 而且 IL-1、IL-8, 具有增强 T 细胞、B 细胞、K 细胞、NK 细胞、LAK 细胞活性作用^[3-5]。磁场还能使 DNA 合成降低, 影响生物膜的电场和离子流的活动, 改变生物膜的特性, 促进细胞凋亡, 抑制肿瘤生长。所以诱导肿瘤细胞凋亡已成为肿瘤治疗的新途径。

磁性微球制剂可在外界磁场作用下达到定位靶区, 能提高药效, 降低药物对正常组织的影响^[6, 7]。动物实验证实磁性微球试剂经导管直接注入血管内栓塞, 安全可靠无不良反应^[8]。程新宝等^[9]报道经动脉导管 Fe_3O_4 微粒(自制磁性微粒)栓塞 106 例肿瘤及血管性疾病临床应用研究得出, Fe_3O_4 微粒栓塞动脉血管介入治疗, 对人体无明显毒性反应、安全可靠, 是一种理想的永久性微粒栓塞剂。

本实验研究用改良 MTT 法检测磁性微粒及磁性微粒外置磁场时, 采用不同浓度的药物试剂, 不同时间给药对 HLCL 的作用, 磁性微粒抑制率随着给药浓度的增加而提高($r = 0.9476$, $P < 0.05$, 表 2), 尤其在 $720 \mu\text{g/ml}$ 时, 对 HLCL 增殖的抑制作用明显增高。有作者报道场强为 15 mT 的 50 Hz 高变磁场和 80 mT 的稳定磁场均能提高机体免疫功能, 对瘤组织的供血情况有明显抑制作用, 且磁场使肿瘤组织内形成丰富间质纤维, 肿瘤的坏死明显增多^[10]。本研究认为 96 孔板内磁性微粒零距离接触 HLCL, 且微小磁场群随着磁性微粒数量的增加(磁场强度增高、影响增大), 对 HLCL 抑制率亦随着提高, 尤其达到一定磁场强度时, 即有明显的抑制作用。不同药物浓度时磁性微粒外置磁场抑制率无统计学差异($r = -0.0777$, $P > 0.05$), 分析原因: ①是微粒大小、形态、规格不均匀, 难以均匀悬浮溶剂中, 从而影响实际加药浓度; ②为固定置于

96 孔板下的磁场施加于每个加药孔的磁场强度不一所致。但是从表 2 可以看出, 磁性微粒外置磁场 $IC_{50} = 2.74 \times 10^{-3} (\mu\text{g/ml})$, 磁性微粒未置磁场 $IC_{50} = 1.3 \times 10^3 (\mu\text{g/ml})$, IC_{50} 明显前者好于后者。其作用机制可能是外置磁场对加药孔内的磁性微粒磁场群序列运动影响, 并协调迭加对 HLCL 集合作用引起的生物磁效应^[11]。本实验未做磁的热效应测试, 但是初步研究提示磁场对肿瘤细胞有抑制作用, 与文献报道一致^[12], 且磁性微粒外置磁场可增加其对 HLCL 抑制作用。关于磁性微粒外置磁场对肿瘤的抑制作用仍需更深入地研究探讨。

综上所述, 磁性微粒是一种理想的栓塞材料, 如果临床用磁性微粒或其高浓度化疗药物混悬液经动脉导管栓塞肿瘤血管, 不但具有栓塞、化疗双重抗肿瘤作用, 而且经导管施放靶区的磁性微粒, 通过外置磁场, 可增加其抗肿瘤作用, 对进一步提高临床疗效, 寻求多种方式综合治疗肿瘤, 减少化疗用药毒副反应具有重要临床研究价值。

参考文献:

- [1] 贾秀鹏, 张东升. 磁流体在肿瘤学治疗流域的应用进展[J]. 国外医学: 肿瘤学分册, 2002, 29(3): 187-190.
- [2] 周建军. 评价抗癌物质活性的改良 MTT 法[J]. 中国医药工业杂志, 1993, 24(4): 455-457.
- [3] 杜红文, 郭佑民, 董青, 等. 磁场对小鼠 S_{180} 肉瘤的抑制作用[J]. 中华理疗杂志, 1992, 15(2): 80.
- [4] 夏克勒, 孙晓东, 王玉苹, 等. 恒定磁场协同阿霉素诱导肝癌细胞凋亡的研究[J]. 中国病理生理杂志, 1998, 14(5): 484-487.
- [5] 高美华. 磁场对大鼠乳癌影响的实验观察[J]. 中华物理医学杂志, 1993, 15(2): 110-111.
- [6] Gupta PK, Hung CT. Comparative disposition of adriamycin delivered via magnetic albumin microspheres in presences and absence of magnetic field in rats[J]. Life Sci, 1990, 46(7): 471-479.
- [7] 吴传斌, 赵延乐, 何素梅, 等. 磁性明胶微球体内实验研究[J]. 药学报, 1993, 28(6): 464-465.
- [8] 林世寅, 万柏坤, 焦彦彦, 等. 铁磁性药物微球的定位栓塞物理模拟实验研究[J]. 中国医学物理杂志, 1996, 13(1): 6-9.
- [9] 程新宝, 袁曙光. 经动脉导管四氧化三铁微粒栓塞临床应用价值[J]. 实用放射学杂志, 2003, 19(7): 631-634.
- [10] 陈森, 丁翠兰, 许化溪, 等. 磁场对肿瘤影响的实验研究[J]. 肿瘤研究与临床, 1999, 11(3): 162-164.
- [11] 陶凯雄, 孙宏武, 陈道达, 等. 阿霉素磁性蛋白微球靶向治疗鼠种植性胃肿瘤[J]. 中华实验外科杂志, 2000, 17(1): 63-64.
- [12] Fitzsimmons RJ, Ryaby JT, Mohen S, et al. Combined magnetic fields increase insulin-like growth factor-2 in TE-85 human osteosarcoma bone cell cultures[J]. Endocrinology, 1995, 136(9): 3109-3106.

(收稿日期: 2003-09-10 修回日期: 2003-11-22)