Chin J Oncol, May 1997, Vol 19, No.3

肿瘤坏死因子抗体和高聚金葡素对抗癌症恶病质的初步探讨

李同度　李从铸

摘要　目的　利用荷瘤动物模型初步探讨癌症恶病质发生机理，评估肿瘤坏死因子抗体(TNF-αAB)及高聚金葡素(BM828)治疗恶病质的疗效。**方法**　建立T739/LA795荷瘤小鼠恶病质模型，同时另组小鼠用TNF-α作诱导。用放射免疫分析方法测定各组小鼠血清TNF-α水平。用TNF-αAB和BM828治疗恶病质小鼠，观察各组小鼠摄食量及体重的变化。**结果**　小鼠荷瘤2周后其体重及摄食量明显下降，该组小鼠血清TNF-α水平显著高于非荷瘤组；TNF-α能诱导小鼠出现类似恶病质的表现。**结论**　TNF-α可能是癌症恶病质发生的主要细胞因子之一。TNF-αAB及BM828在一定程度上能缓减恶病质发展。

主题词　肿瘤坏死因子　恶病质　高聚金葡素　体重

Mechanism and treatment of cancer cachexia in tumor-bearing mice　*Li Tongdu, Li Congzhu. Bengbu Medical College, Hospital, Bengbu* 233004

Abstract Objective　To evaluate the role of TNF-αin the development of cancer cachexia, and the effects of TNF-αantibody and high agglutinated staphylococcin (BM828) in the treatment of experimental cancer cachexia. **Methods**　T739 mice bearing LA795 tumor were used as murine tumor cachexia model and also the T739 receiving TNF-α. The level of serum TNF-αwas assayed by TNF-α RIA in each group. Comparisons were made in the food intake and body weight of all the five groups including BM828 and TNF-αAB groups. **Results**　Two weeks after being inoculated with LA795, the tumor-bearing mice developed significant anorexia and weight loss. The level of serum TNF-αin tumor-bearing mice was significantly higher than that in the non-tumor bearing mice ($P < 0.01$). TNF-αadministration to mice resulted also in marked anorexia and weight loss as in cancer cachexia. **Conclusion**　The results suggested that the mechanism of cachexia be correlated with TNF-α BM828 and TNF-αAB have the potentiality of attenuating the development of cachexia in murine models.

Subject words　Tumor necrosis　Factor cachexia　Highly agglutinative staphylococcin　Body weight

癌症恶病质(cancer cachexia, CC)是当今姑息医学中尚未攻克的一个难点，大约50%以上的晚期癌症患者死于恶病质[1]。癌症恶病质是以食欲减退、体重下降、衰竭以及糖、脂和蛋白质代谢异常为特征的一种复杂综合征。人们对恶病质早有认识，但至今对其发生机制尚未完全了解，更无较完善的治疗手段。以前，人们认为营养障碍是恶病质的主要原因，但单纯的营养支持并不能有效地改善恶病质状况[2]。近年，国外学者研究发现，某些内源性细胞因子(如TNF-α、IL-1、IL-6等)介导了癌症恶病质的发生[3~7]，但对此仍存在争议。我们在国内首次通过建立荷瘤小鼠恶病质动物模型，初步探讨癌症恶病质的发生机制，同时观察TNF-α抗体(TNF-αAB)和高聚金葡素(BM828)的抗恶病质作用。

作者单位：233004 蚌埠医学院附属医院

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnk

材料与方法

1.药物:TNF-α,TNF-αAB 由北京邦定生物医学公司提供,BM 828由中美协合生物制品有限公司提供,TNF-αRIA 试剂盒由中国人民解放军总医院东亚免疫技术研究所提供。

2.动物及瘤株:T 739小鼠购自中国医学科学院中国协和医科大学肿瘤研究所,小鼠肺腺癌(LA 795)由天津肿瘤研究所提供。

3.小鼠恶病质模型建立:(1)肿瘤致恶病质模型:取新鲜瘤体剪碎、研磨和过滤,制成单细胞悬液,将悬液稀释成含 LA 795细胞6×10^6个/ml 的原液,取其0.1 ml 接种于小鼠右侧腹皮下。接种后约2周小鼠进入恶病质状态,体重明显下降,摄食量显著减少。(2)TNF-α致恶病质:将 TNF-α按2.5×10^6U/kg 注射小鼠腹腔内,连续3天,使其进入恶病质状态。

4.动物分组及处理:将实验小鼠随机分成5组(不接种肿瘤者2组,荷瘤小鼠分3组)。(1)空白对照组(NTB 组)。(2)TNF-α致恶病质组(TNF-α组):用于观察恶病质表现。(3)荷瘤恶病质对照组(CC 组):用于观察单纯荷瘤后恶病质表现,而不予药物治疗。(4)荷瘤恶病质 TNF-αAB 治疗组(TNF-αAB 组):按10 mg/kg TNF-αAB 小鼠腹腔注射1次。(5)荷瘤恶病质 BM 828治疗组(BM 828组):用 BM 828 200 U/次小鼠腹腔注射,每天1次,连续5天。NTB 组和 CC 组均给等量生理盐水腹腔注射做为对照。

5.小鼠血清 TNF-α测定:参照 TNF-α RIA 试剂盒说明书。

6.统计学方法:所得结果采用 t 检验、方差分析及 q 检验统计处理。

结　果

1.摄食量和体重的变化:小鼠于接种 LA 795后摄食量便出现下降趋势,接种2周后,摄食量比荷瘤前降低25.8%($P<0.05$)。经 BM 828和 TNF-αAB 治疗后与同期 CC 组比较,治疗组减轻了恶病质小鼠摄食量的下降,统计学差异有显著性($P<0.05$,表1,图1)。但与 NTB 组相比恢复还不太显著。将去除肿瘤后小鼠体重做组间差异比较,从表2和图2可以看出,CC 组与其余四组的体重下降差异有非常显著性($P<0.01$)。在 TNF-α组中,连续注射3天,体重明显下降,停药后体重逐渐回升。

2.血清中 TNF-α的变化:用放射免疫分析测定各组小鼠血清中TNF-α水平,结果表

表1　5组小鼠不同时期摄食量变化的比较($\bar{x}\pm s$,g·只$^{-1}$·2天$^{-1}$)

组　别	第7天	第14天	第21天	第28天
(1)NTB	8.60±0.18	8.48±0.33△	8.55±0.21△△	8.40±0.10△△
(2)CC	7.86±0.45	6.83±0.68*	3.95±1.63**	2.03±0.49**
(3)TNF-α	5.95±2.20*	8.28±0.30△	7.73±0.35△△	7.08±0.39△△
(4)BM 828	7.70±0.26	6.95±0.67*	4.83±0.91**	3.20±0.41**,△
(5)TNF-αAB	7.75±0.57	6.95±0.81*	5.03±0.61**	3.38±0.51**,△

*与(1)比较,$P<0.05$;**与(1)比较,$P<0.01$;△与(2)比较 $P<0.05$;△△与(2)比较,$P<0.01$

表2　5组小鼠不同时间的体重变化($\bar{x}\pm s$,g/只)

组　别	只数	第4天	第14天	第22天	第30天
(1)NTB	8	26.94±0.98	29.31±0.75△	29.81±0.96△△	30.31±0.65△△
(2)CC	8	26.50±1.41	27.76±1.72*	25.58±1.48**	19.65±0.58**
(3)TNF-α	8	23.50±1.32**	27.06±1.35**	28.69±1.00△△	29.19±1.33△△
(4)BM 828	8	27.40±1.04	28.23±1.51	28.27±1.41△△	25.30±1.56**,△△
(5)TNF-αAB	8	27.25±1.63	29.18±1.27	28.90±1.39△△	25.68±1.26**,△△

*与(1)比较,$P<0.05$;**与(1)比较,$P<0.01$;△与(2)比较,$P<0.05$;△△与(2)比较,$P<0.01$

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnk

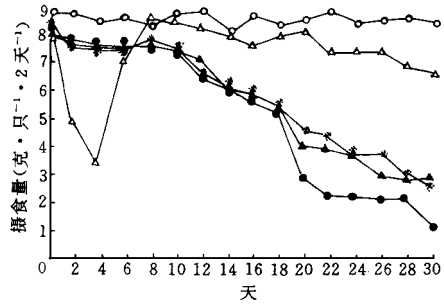


图1　5组小鼠平均摄食量改变的动态曲线

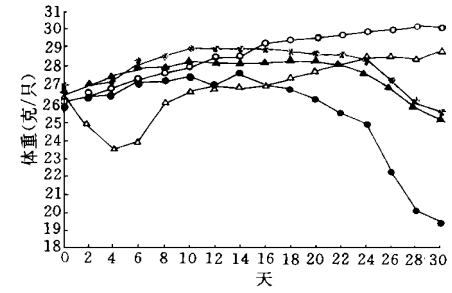


图2　5组小鼠平均体重变化的动态曲线

表3　5组小鼠血清 TNF-αRIA 结果($\bar{x}\pm s$, ng/ml)

组　别	只数	TNF-α
(1) NTB	8	1.214±0.204
(2) CC	8	2.466±0.822
(3) TNF-α	8	2.115±0.766
(4) BM828	8	1.435±0.414
(5) TNF-αAB	8	1.663±0.260

注:(1)与(2)比较,$P<0.01$;(1)与(3)比较,$P<0.05$;(2)与(4)比较,$P<0.01$;(2)与(5)比较,$P<0.05$

明,CC 组与 NTB 组和治疗组间差异有显著性(分别为 $P<0.05$, $P<0.01$,表3)。

3.肿瘤体积变化:从小鼠荷瘤后第8天开始隔日测量一次肿瘤长、宽、深。计算结果表明,CC 组肿瘤体积逐渐增大。荷瘤20天后,治疗组(TNF-αAB 组和 BM828组)的肿瘤体积均有不同程度的减小,与 CC 组间差异有显著性($P<0.05$或 $P<0.01$)。

4.生存时间:BM828组生存时间(32.25±3.58天)比 CC 组(27.63±3.62天)明显延长($P<0.05$),TNF-αAB 组为30.80±1.36天,居以上两组之间。

讨　论

1.小鼠癌症恶病质模型的建立:国外学者采用不同的动物建立了多种恶病质动物模型[8~10]。我们在参考国外文献的基础上,首次在国内建立了 T739小鼠癌症恶病质模型。根据文献标准,当荷瘤小鼠摄食量减少,体重下降至与正常对照组有统计学差异时,即进入恶病质期。我们的结果是 T739小鼠接种 LA795约2周后,进入恶病质期。这为恶病质的进一步研究建立了基础。

2.TNF-α在癌症恶病质中的作用:癌症恶病质的发生机制十分复杂。以往认为可能涉及的因素有:(1)恶性肿瘤的分解产物的毒性作用。(2)肿瘤通过多种途径使机体发生代谢改变,造成分解大于合成状态。(3)患者的厌食、疼痛、忧虑、失眠以及放、化疗的毒性作用等。最近国外研究表明,部分细胞因子如 TNF-α[3,4]、IL-1[5]、IL-6[6]等参与了癌症恶病质的发生、发展过程,而国内尚未见这类研究的报道。我们在研究中发现,当给正常小鼠注射 TNF-α3天后,小鼠明显进入恶病质状态,放射免疫测定荷瘤恶病质小鼠血清中 TNF-α水平明显高于正常小鼠,两组间差异有显著性($P<0.01$)。给恶病质荷瘤鼠注射 TNF-αAB 后,可见小鼠恶病质状况明显改善,从而表明 TNF-α可能是介导荷瘤小鼠恶病质发生的主要细胞因子之一。

3.BM828对恶病质小鼠的影响:已有实验研究和临床观察证实,BM828能明显提高机体免疫功能,抑制肿瘤生长及减轻放、化疗的毒性,但 BM828对恶病质的作用如何尚无研究报道。本实验结果表明,BM828治疗虽不能使恶病质小鼠摄食量和体重恢复到 NTB 组水平,但与 CC 组比较,确可显著减缓摄食量($P<0.05$)和体重($P<0.01$)的下降。同时亦能缩小

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnk

肿瘤体积，延长恶病质小鼠的生存时间。以上说明BM 828具有一定程度的抗恶病质效果，值得进一步探讨。

参 考 文 献

1 Lawson DH, Richmond A, Nixon DW. Cachexia. Annual Review of Nutrition, 1982, 2:277.

2 Chlebowski RT. Critical evaluation of the role of nutritional support with chemotherapy. Cancer, 1985, 55:268.

3 Oliff AD, Defeo-Jines M, Boyer D, et al. Tumors secreting human TNF/cachectin induce cachexia in mice. Cell, 1987, 50:555.

4 Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, et al. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. Pro Natl Acad Sci USA, 1995, 72:3666.

5 Strassmann G, Yoshihiro M, Richard C, et al. Mechanisms of experimental cancer cachexia. J Immunol, 1993, 50:2341.

6 Strassmann G, Fong M, Kenney TS, et al. Evidence for the involvement of IL-6 in experimental cancer cachexia. J Clin Invest, 1992, 89:1681.

7 Strassmann G, Jacob CO, Evans R, et al. Mechanisms of experimental cancer cachexia. J Immunol, 1992, 148:3674.

8 Sherry BA, Gelin J, Fong Y, et al. Anticachectin/TNF-α AB attenuate development of cachexia in tumor models. FASEB J, 1989,3:1956.

9 Beck SA, Tisdale MJ. Effect of Megestrol acetate on weight loss induced by tumor necrosis factor alpha and a cachexia-inducing tumour (MAC16) in NMRI mice. Br J Cancer, 1990,62:420.

10 Moley JF, Morrison SD, Norton JA. Insulin reversal of cancer cachexia in rats. Cancer Res, 1985, 45:4925.

(收稿:1996-07-17 修回:1996-12-02)

原发性胆囊非霍奇金淋巴瘤并结石一例

甄山林 罗彦英 张连郁

患者男，38岁。因右上腹痛1月余，近期加重而入院。疼痛常因进食油腻食物诱发，发作时向右后背放射。查体：患者一般情况良好，仅右上腹轻度压痛。B超示：胆囊大小为6.3 cm×2.8 cm，壁厚0.3 cm；腔内见多个强回声团伴声影，最大直径1.0 cm；余未见异常。术中胆囊周围及肝门部未见肿大结节，腹部脏器未见异常。术后患者恢复良好，1个月后辅以化疗。

病理检查：胆囊浆膜面光滑，粘膜面呈草绿色，细绒状，壁厚0.2 cm。胆囊体、底交界部囊壁局部增厚至0.5 cm，范围约1.2 cm×1.2 cm，略向腔内隆起，表面被覆的粘膜尚光滑、完整。该部切面呈灰白色，实性，较细腻。胆囊腔内见直径0.3～1.0 cm 棕色结石20余枚。镜检：大部分胆囊壁各层结构正常，仅见数量不等的炎细胞浸润。增厚部胆囊壁粘膜内、粘膜下、肌层及浆膜下见大量肿瘤细胞呈弥漫性浸润。瘤细胞与血管内皮细胞相当或稍大，可见核裂。瘤细胞密集，间质稀少，部分区域呈假滤泡样结构，少数粘膜上皮内亦可见瘤细胞浸润。免疫组化：LCA(+)，CD_{20}(+)，$CD_{45}RO$(-)，支持B细胞起源。病理诊断：(1)胆囊体、底交界部非霍奇金淋巴瘤(NHL)；B细胞起源；弥漫性大、小细胞混合型；累及胆囊壁全层，切端未见肿瘤。(2)胆囊多发性、混合性结石；慢性胆囊炎。

讨论 胆囊原发性淋巴瘤实属罕见，至1995年4月，国内仅见1例报道。本例患者查体周身浅表未见肿大淋巴结；B超检查除胆囊病变外，无异常发现；术中胆囊周围脏器亦未见肿瘤病灶。因此，本例确诊为胆囊原发性NHL当无争议。本病治疗应以手术为主，以行胆囊及相邻肝组织楔形切除，清扫肝门淋巴结为宜。因淋巴瘤对化疗较敏感，故术后辅以化疗，其预后一般好于胆囊癌。

(收稿:1996-06-11 修回:1996-09-04)

作者单位：300100 天津市南开医院病理科(甄山林、罗彦英)；天津市肿瘤医院病理科(张连郁)

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnk