

肾包膜下移植法预测人脑胶质瘤化疗敏感性的初探

军事医学科学院附属医院脑外科 段 炼 徐温理

肿瘤科 鲍云华

〔摘要〕本文报告了人脑恶性胶质瘤在正常免疫小鼠肾包膜下异体移植的生长情况,未经化疗的脑胶质瘤4例37个异体移植,94.2%呈阳性生长,病理切片观察移植瘤生长旺盛与大体切片形态相同。在此基础上观察了3例脑胶质瘤对3种化疗药物的敏感性,结果表明1例耐药,2例敏感,3种化疗药物的敏感顺序为BCNU>Me-CCNU>CCNU与临床情况基本一致。同时注意到同一肿瘤对不同药物的反应及同一药物对不同肿瘤的效果均不相同。因此认为本实验可为临床化疗提供有益的参考。

关键词: 肾包膜下测定; 脑胶质瘤; 化疗敏感性

脑恶性胶质瘤的预后差,常规手术和放射治疗难以再提高疗效,为了选择敏感的化疗药物及重复化疗所产生的耐药性,我们采用Bogden^[1]肾包膜下移植法将人脑恶性胶质瘤移植到正常免疫小鼠肾包膜下,见移植瘤生长旺盛,在此基础上对3例人脑胶质瘤化疗前进行了药物敏感性试验并与临床治疗结果进行了分析比较,现报告如下。

材料和方法

一、标本来源:移植肿瘤标本均来自本科手术切除之恶性脑胶质瘤,手术切下肿瘤后立即在无菌条件下送往实验室,切成1mm³左右之立方块,放入含0.5%庆大霉素的生理盐水培养皿中备用,在1-2小时内将其植入小鼠肾包膜下。

二、动物来源:Balb/c纯系小白鼠(购自军事医学科学院动物中心)月龄3-5个月,体重25-30g,雌雄均可,但接受移植瘤动物的性别与供体一致。

三、方法:术前24小时以自制脱毛剂在小鼠左背侧脱除2cm²之鼠毛,术前12小时禁食,按75μg/g体重以硫贲妥钠腹腔注射麻醉,术野酒精消毒,切开1cm长的皮肤切口,拉出腹腔内脂肪,显露肾脏,然后移入手术显微镜下操作,以无齿显微镊轻轻提取肾包膜,将备好的肿瘤块吸入自制的套管针内送入肾包膜下,在装有测微尺的体视显微镜下测量移植瘤块的长径(L)和宽径(W),然后将肾脏送回腹腔,缝合腹膜及皮肤。第六天称重脱颈椎处死动物,同样方法测定肿瘤块的长和宽径,然后取出带瘤肾脏以10%福尔马林固定,石蜡包埋切片,H.E

染色行病理组织学检查。

四、化疗试验:按上述方法进行肿瘤异体移植,术后第一天随机分成对照组和用药组,各给药组按相同水平的剂量进行静脉注射或口服给药,以免药物直接接触移植瘤,所用药物剂量及给药途径见表1,药物的毒性以最终天体重与起始天体重之比(FBW/IBW)来表达,如果FBW/IBW小于0.8则认为毒性过大,FBW/IBW大于0.8认为无毒,药物可以耐受。

五、结果判定:根据最终天(F)与起始天(I)移植瘤体积的变化(ΔTS)按以下公式判定结果,
$$\Delta TS = \frac{1}{2}(L+W)/F - \frac{1}{2}(L+W)/I, \Delta TS > 0$$
为阳性生长,=0为零位生长,<0为负值生长。化疗试验的对照组移植瘤必须有少量生长, ΔTS 必须大于-0.50mu(100mu=1mm),否则实验无意义,用药组 ΔTS 小于-1.00mu被认为对化疗药物敏感^[2]。

六、临床治疗:根据实验结果选用敏感的化疗药物进行临床治疗,复查CT判定疗效,CT示肿瘤体积缩小50%以上认为化疗效果明显,观察时间必须在2个月以上^[2]。

表 1

药 名	缩 写	剂 量 (mg/kg)	途 径	FBW/IBW
卡氮芥	BCNU	32	静 脉	0.91
环己亚硝脲	CCNU	16	口 服	0.88
甲一环己亚硝脲	Me-CCNU	20	口 服	0.87

结 果

共计进行了4次82个人胶质瘤块异体移植试验,其中未行化疗的标本37个,35个呈阳性生长,(94.5%),基本无生长(零位生长)2例(5.4%)。图1,2为人脑胶质瘤在鼠肾包膜下移植后第六天的镜下表现(低倍 $\times 10$ 、高倍 $\times 40$),可见小鼠肾脏组织清晰,肾包膜下人脑胶质瘤已成活生长,与移植所用之胶质瘤大体病理切片(图3)比较,基本保持了原来的形态,仅移植块周围有少许炎细胞浸润。

图4为3例脑胶质瘤移植植物对3种化疗药物的反应图解,依图可见,各对照组移植植物 ΔTS 均 $>0.0mu$,即各组移植植物均呈阳性生长,例2和例3用药组 ΔTS 均为负值且 $<-1.00mu$,说明对3种化疗药物都敏感,敏感程度依次为 $BCNU > Me-CCNU > CCNU$,例1用药组 ΔTS 虽较对照组小,但 $>$

$-1.00mu$,因此认为对3种化疗药物均无明显反应。因为用同一种药物处理的所有肿瘤均用相同剂量,所以不同患者间的反应差异表达了个体肿瘤化疗药敏感性上的差异,而非剂量差异所致。应用BCNU、Me-CCNU及CCNU各组动物的末体重与初体重之比均大于0.8(见表一),即无明显毒性反应。临床治疗结果与试验相似,例1为左额顶复发性胶质母细胞瘤,术后10天予以重复放疗,肿瘤量达40Gy;同时行BCNU化疗,每日静脉点滴125mg,连续三日,一月后口服Me-CCNU 200mg,病情无好转,术后第65天死于肿瘤复发。例2为左额星形细胞瘤(Ⅱ级)术后第六天死于糖尿病昏迷未予化疗。例3为右额顶胶质母细胞瘤,术后第9天经股动脉插管致颈内动脉眼动脉以远注入BCNU 175mg,每月一次,共行3次,三月后复查CT肿瘤缩小50%以上,判定化疗有效[2]。

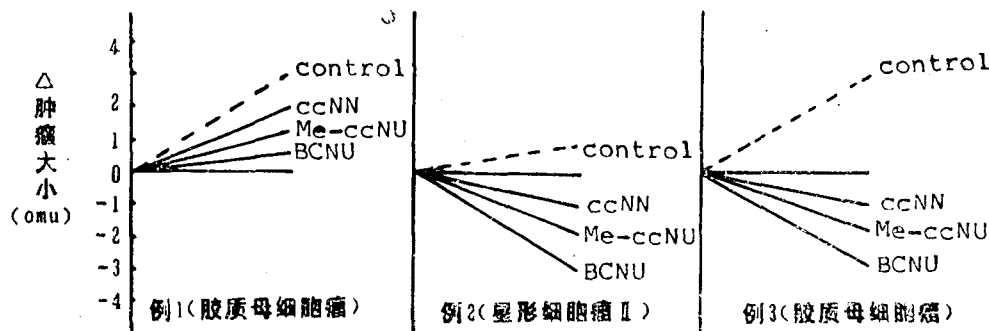


图4 3例胶质瘤对3种化疗药物的反应图解

讨 论

预测个体肿瘤化疗的敏感性,如同检测细菌的药敏试验一样,对提高肿瘤的治愈率,减轻毒副作用具有重要意义,近年来虽然建立了多种预测肿瘤化疗敏感性的方法,如人体肿瘤细胞克隆法及人体肿瘤裸鼠移植法等,但均因成功率低或实验条件的限制难以推广应用。而Bogden等人发明的肾包膜下种植法简便、经济、六天即可获得结果,不少学者应用此法对人乳腺癌、消化道癌等进行了药物敏感试验,并取得较了为可喜的成绩[1~4]。在此基础上,我们进行了人脑恶性胶质瘤正常免疫鼠肾包膜下移植试验,发现人脑胶质瘤移植植物在小鼠肾包膜下增殖旺盛,本组37个未行化疗的移植植物35个呈阳性生长(94.5%),零位生长2例(5.4%),说明人

脑恶性胶质瘤和其它肿瘤一样亦能在正常免疫鼠肾包膜下成活、增殖、生长,与浜田博文[5]和山田潔忠[6]观点一致。这是因为小鼠肾包膜下具有丰富的血管床,营养物质和药物均可自由渗透,同时肾脏又是免疫排斥反应迟发器官之一。加之小鼠肾包膜为一菲薄而透明的膜状物,借助带测微尺的体视显微镜可以直接而又清楚地测定移植物的体积,判定其体积大小的变化,因而它是异种或异体移植药敏试验的理想部位。

手术切除的肿瘤移植到小鼠肾包膜下保持了原肿瘤特异的形态、功能、生长能力及药物敏感性,将肾包膜下生长的移植瘤制成单细胞悬液,能在软琼脂中形成集落,将这些移植瘤重新植入裸鼠皮下,仍呈恶性生长,体积倍增时间与植入肾包膜前无统计学差异[7],这些特点正是肾包膜下移植法适宜于

肿瘤化疗敏感性预测的理论依据。

肿瘤移植物六天体积的变化可以反应出同一肿瘤对不同药物以及同一药物对不同肿瘤(包括同一组织类型和/或同一器官的不同肿瘤)的敏感性的差异。这种敏感性根据药物敏感性排列的顺序是可重复的,真阳性率达80%以上,真阴性率大于90%^[4]。从3例胶质瘤对3种抗癌药的敏感性来看,例1耐药、例2、例3对3种化疗药物均敏感,顺序为BCNU>Me-CCNU>CCNU,与临床观察情况基本一致,因此我们认为肾包膜下种植法能为脑胶质瘤的临床化疗提供有价值的依据。

脑胶质瘤的移植技术较其它肿瘤困难^[2],主要原因是不能正确辨认肿瘤组织,保证所取移植必须不是肿瘤坏死成分及正常脑组织是移植成功的关键。移植前将要进行移植的肿瘤块切一半行冰冻切片、H·E染色显微镜下观察有益于肿瘤成分的判断^[8]。此外胶质瘤的质地多较软,植入肾包膜下的动作要极为轻柔,最好在显微镜下操作,尽量避免损伤肾脏的结构,否则易致炎性反应,影响移植瘤的生长。

中枢神经系统有一独特的结构血脑屏障,影响药物的通过,而肾包膜下无类似的屏障结构,从而不影响实验结果与临床治疗的相关性,但我们可以选择实验中筛选出的敏感的较易通过血脑屏障的药物,增加肿瘤局部的药物浓度以及应用其它方法开放血脑屏障来提高临床疗效^[5,6]。

(本课题曾得到本院病理科李国民主任指导,特此致谢。)(本文图见封3)

参 考 文 献

1. Bogden A, et al. Chemotherapy responsiveness of human tumors as first transplant generation xenografts in the normal mouse: six day subrenal capsule assay. *Cancer Res*, 1981, 48: 10
2. Favre R, et al. 6-day subrenal capsule assay as a predictor of the response of advanced cancers to chemotherapy. *Eur J Cancer Clin Oncol*, 1986; 22: 1171
3. 侯子正,等. SRC(肾包膜下移植法)预测人体肿瘤化疗药物敏感性. *中国肿瘤临床*, 1987; 14: 59
4. 马云鹏,等. 小鼠肾囊移植法评价肿瘤化疗敏感性. *中国肿瘤临床*, 1987; 14: 246
5. 浜田博文,等. 人恶性神経膠腫に対する Renal Subcapsular Assay、の應用と化学療法. 1985; 12: 1513
6. 山田潔忠,等. Subrenal capsule assay 法による 脳腫瘍の制癌剤感受性試験. *癌と化学療法*, 1986; 13: 1241
7. Aamdal S, et al. Characteristics of human tumor xenografts transplanted under the renal capsule of immunocompetent mice. *Br J Cancer*, 1985, 51: 347.
8. Bennet JA, et al. Evaluation of growth and histology of human tumor xenografts implanted under the renal capsule of immunocompetent and immunodeficient mice. *Cancer Res*, 1985, 45: 4963.

湖北省抗癌协会化疗专业委员会成立

湖北省抗癌协会化疗专业委员会成立大会于1992年3月26日至27日在黄石市召开。来自湖北省58个医院及研究所的108位代表出席了会议。

近年来,湖北省肿瘤专业发展很快,地县级医院相继成立了肿瘤科,化疗专业人员队伍迅速扩大。为了提高专业水平,加强学术交流及相互协作,在湖北省抗癌协会的领导下,由湖北省肿瘤医院牵头,经过一年多的筹备工作,成立了湖北省抗癌协会化疗专业委员会。在会议期间进行了“癌症胸腹水的诊断及处理”,“癌症止痛”两个研讨会,到会代表并参加了“湖北省抗癌协会,肿瘤学会91年度国内外学术报告会”。

为了提高湖北省的肿瘤化疗专业水平,委员们一致同意每年进行一次学术活动,加强各医院间的交流及科研合作,并讨论了国产阿霉素临床应用的协作问题。

肾包膜下移植法预测人脑胶质瘤化疗敏感性的初探

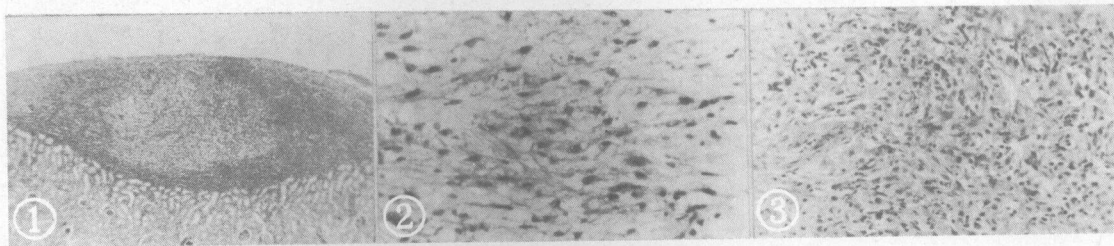


图1 脑胶质瘤在鼠包膜下生长六天的情况。
图2 图1中移植瘤的放大像
图3 肿瘤移植前的病理切片

假单胞菌苗 (PJV) 治疗恶性胸水疗效的评价

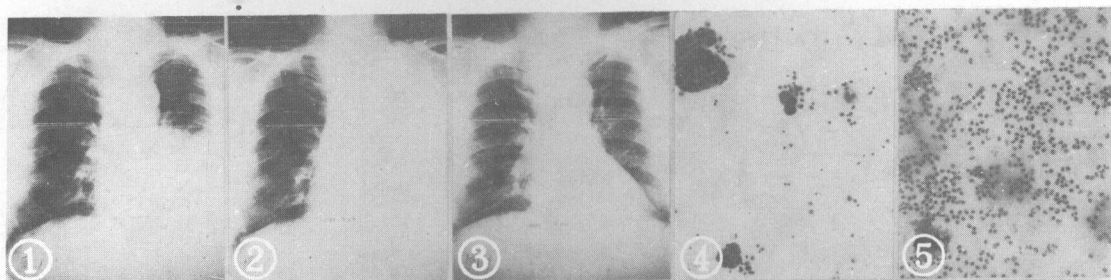


图1、2、3 均为后前位胸片。 图4、5 为恶性胸水细胞学像。
图1 左胸腔大量积液。
图2 胸水增长迅速，需靠胸穿每周两次抽液以缓解症状，图1胸片一月后胸水已充满左胸腔，左肺不张。
图3 确诊为左肺周围型腺癌伴癌性胸水用PJV治疗后，左胸腔积液消失，左肺张开。
图4 PJV治疗前恶性细胞成团。
图5 PJV治疗后两天大量白细胞（以中性分叶核为主），恶性细胞毁灭。

中间丝结蛋白的研制及其对肌源性肿瘤鉴别诊断的应用

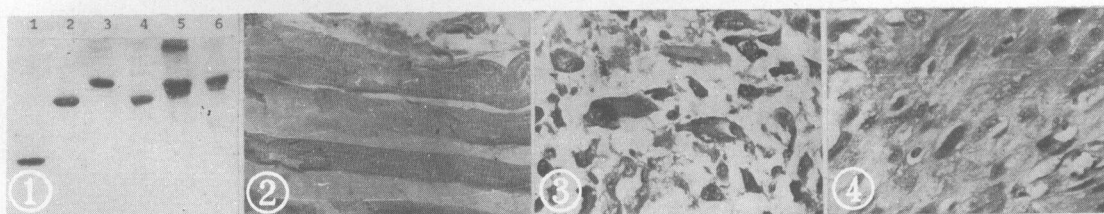


图1 SDS—PAGE, T 5~20%。1为细胞色素C(MW12,400); 2、4为卵清蛋白(MW48,000); 3为牛血清白蛋白(MW67,000), 均系进口分子量标准品; 5为尿素溶解物, 主要含有MW150,000和MW55,000两种组分; 6为乙酸溶解物, 仅含单一条带的MW55,000组分, 即为Desmin。
图2 正常横纹肌(上臂), Desmin主要标记在横纹肌的Z带, 使其横纹清晰可见。(PAP染色 ×400)
图3 多形性横纹肌肉瘤, 在瘤细胞中, Desmin普遍呈强阳性反应, 主要表现为胞浆型, 中央的瘤巨细胞胞浆中隐约可见横纹。(PAP染色 ×400)
图4 平滑肌肉瘤, 梭形瘤细胞的胞浆中 Desmin 呈强阳性反应, 使胞浆中可见细的肌丝状结构。(PAA染色 ×400)