

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.12.003

热疗联合奥沙利铂对 SW480 细胞增殖和凋亡的影响 *

于宏珠^{1,2} 肖咪³ 李倩² 李利亚⁴ 杨会霞⁵ 赵小红²

房晨² 李响² 王华² 唐劲天^{2Δ} 郝林^{1Δ}

(1 沈阳师范大学生命科学学院 辽宁 沈阳 110034; 2 清华大学工程物理系新医疗技术实验室 北京 100084;

3 华中科技大学协和江北医院 / 武汉蔡甸人民医院药剂科 湖北 武汉 430000;

4 中日友好医院中西医结合肿瘤科 北京 100029; 5 清华大学玉泉医院药剂科 北京 100049)

摘要 目的:观察奥沙利铂联合热疗对人结肠癌细胞 SW480 增殖及凋亡的影响,确定联合用药的效果,为临床方案提供参考。**方法:**采用 MTT(四唑盐)法检测热疗、奥沙利铂及联合用药对细胞增殖的影响;瑞士吉姆萨染色法观察细胞形态;流式细胞仪检测细胞凋亡和周期;Western blot 检测 Bax、Bcl-2 以及 Caspase8 蛋白表达量变化;qPCR 检测 Bax、Bcl-2 以及 Caspase8 mRNA 的积累。**结果:**热疗联合奥沙利铂可以显著抑制细胞增殖,与对照组相比,热疗组、化疗组、联合组细胞凋亡率分别为 16.2%、20.5%和 36.1%,具有显著性差异($P<0.01$);细胞学形态中,热疗组细胞发生皱缩,化疗组细胞膜破裂;化疗将细胞阻滞在 G2/M 期,热疗和联合组将细胞阻滞 S 期;Western blot 和 qPCR 显示 Bax/Bcl-2 比值上升,Caspase8 表达量增加,联合组三种蛋白的表达量均与对照组具有显著性差异($P<0.01$)。**结论:**热疗联合奥沙利铂可以显著促进细胞凋亡,提高治疗效果,为结肠癌的治疗提供参考。

关键词:结肠癌;热疗;奥沙利铂;细胞凋亡

中图分类号:R-33;R735.35 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2019)12-2214-06

Effect of Hyperthermia Combined with Oxaliplatin on the Proliferation and Apoptosis of SW480 Cells*

YU Hong-zhu^{1,2}, XIAO Mi³, LI Qian², LI Li-ya⁴, YANG Hui-xia⁵, ZHAO Xiao-hong², FANG Chen², LI Xiang²,

WANG Hua², TANG Jin-tian^{2Δ}, HAO Lin^{1Δ}

(1 College of Life Science, Shenyang Normal University, Shenyang, Liaoning, 110034, China;

2 Department of Engineering Physics, Institute of Medical physics, Tsinghua University, Beijing, 100084, China;

3 Pharmaceutical Preparation Section, Huazhong University of Science and Technology Union Jiangbei Hospital/Wuhan Caidian People's Hospital, Wuhan, Hubei, 430000, China;

4 Oncology of Integrative Medicine, China-Japan friendship Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing, 100029, China;

5 Pharmaceutical Preparation Section, Yuquan Hospital of Tsinghua University, Beijing, 100049, China)

ABSTRACT Objective: To observe the effect of oxaliplatin combined with hyperthermia on the proliferation and apoptosis of human colon cancer cell line SW480, to determine the effectiveness of the combination therapy and to provide regimen for clinical reference. **Methods:** MTT assay was used to examine the cell proliferation after treatment with hyperthermia and/or oxaliplatin, Giemsa staining for cell morphology, and flow cytometry for cell apoptosis and cycle. The changes of Bax, Bcl-2 and Caspase8 protein were analyzed by Western blot. The expressions of Bax, Bcl-2 and Caspase8 were detected by qPCR. **Results:** Hyperthermia combined with oxaliplatin could significantly inhibit cell proliferation. Compared with the control group, the apoptotic rates of hyperthermia group, chemotherapy group and combination group were 16.2%, 20.5% and 36.1%, respectively, with significant increase ($P<0.01$); In cytological morphology, cells in hyperthermia group shrank and cell membrane rupture in chemotherapy group; The cell cycles of chemotherapy group was arrested at G2/M while hyperthermia group and combination group induced cell cycle at the S phase; Western blot and qPCR showed that the ratio of Bax/Bcl-2 and expression of Caspase8 increased, and the expression of the three proteins in the combined group was significantly different from the control group ($P<0.01$). **Conclusions:** The treatment of hyperthermia combined with oxaliplatin can significantly promote apoptosis and improve treatment, providing a reference for the treatment of colon cancer.

Key words: Colon cancer; Hyperthermia; Oxaliplatin; Apoptosis

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R735.35 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)12-2214-06

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81470308;31572213)

作者简介:于宏珠,硕士,研究方向:肿瘤热疗及抗肿瘤机制研究,E-mail: 1663973482@qq.com

Δ 通讯作者:唐劲天,教授,研究生导师,研究方向:肿瘤磁感应热疗,E-mail: tangjt@mail.tsinghua.edu.cn;

郝林,教授,研究生导师,研究方向:植物学,E-mail: haolinwj2001@163.com

(收稿日期:2019-01-10 接受日期:2019-01-31)

前言

结肠癌是常见的恶性肿瘤,具有较高的转移性和复发率。例如,2017年美国结肠癌发病率和死亡率位居癌症第三^[1],而结肠癌是我国第四大常见恶性肿瘤^[2]。近代肿瘤热疗起源于1866年Busch的一篇报导。当时,Busch发现一位肉瘤患者在感染丹毒并诱发身体产生高热反应后,肉瘤消失,患者生存下来^[3]。此后,多例关于肿瘤患者在引发高热后得以存活下来的报道相继发表,热疗成为继手术、放疗、化疗以及生物治疗(免疫治疗)之后的第五大肿瘤治疗方式^[4]。热疗是根据正常细胞和肿瘤细胞对热敏感性的差异,利用热量杀死肿瘤细胞,是一种对正常组织毒副作用较小的肿瘤治疗方式。热疗通常是将肿瘤区域升温到39~45℃,时间为30~60 min,以达到治疗肿瘤的目的^[5]。

奥沙利铂是肿瘤化疗的临床一线用药,作为第三代铂类药物,抗癌效果优于顺铂和卡铂,毒性相对较低^[6,7]。化疗是一种全身性的治疗手段,在杀伤癌细胞的过程会对正常细胞造成伤害,带来副作用^[8]。于是,在临床上热疗、化疗除单独作用外,常常会将二者结合使用,如热化疗灌注,以达到最佳的治愈目的。本研究以SW480细胞作为研究对象,观察热疗联合奥沙利铂对细胞增殖和凋亡的影响,旨在为热疗辅助化学药物治疗结肠癌提供理论依据。

1 实验材料与方法

1.1 材料及试剂

人结肠细胞株SW480购买于协和细胞库;DMEM基础培养基购买于赛默飞公司;胎牛血清购买于Biological industries公司;奥沙利铂购买于齐鲁制药有限公司;凋亡、周期检测试剂盒购买于南京碧云天公司;抗体购买于Abcam公司;引物由上海生物化工公司合成。

1.2 细胞活力测定

SW480细胞以 2×10^4 /mL密度接种于96孔培养板,每孔200 μ L(培养基内添加5%的胎牛血清),然后移至培养箱培养。完全贴壁后,用不同浓度(6.25、12.5、25、50、100 μ g/mL)的奥沙利铂处理细胞24 h。随后,将20 μ L MTT(5 mg/mL)溶液加入到96孔板,培养箱中培养4 h,弃去培养液用150 μ L DMSO处理,摇动5 min。酶标仪检测其吸光度(490 nm)。用OD490处理组/OD490对照细胞计算细胞活力。

1.3 热疗与奥沙利铂联合作用效果

热疗和奥沙利铂联合作用对SW480细胞的影响。SW480细胞以 1×10^5 /mL密度接种于24孔培养板,每孔1 mL,然后移至培养箱培养。完全贴壁后,分别用浓度6.25 μ g/mL的奥沙利铂和/或热疗(45℃、35 min)处理化疗组、热疗组及联合组细胞,处理后移至培养箱,24 h后加入MTT,继续培养4 h,弃去培养基加入DMSO,测定并计算细胞活力。

1.4 瑞士吉姆萨染色

取6孔板,每孔种入 10^5 /mL SW480细胞1 mL,过夜后进行热疗处理35 min。24 h后取出盖玻片,磷酸缓冲液冲洗2次,甲醇固定10 min,弃甲醇,加入Wright-Giemsa工作液,染色5 min,取出盖玻片,清洗,干燥,镜检。

1.5 细胞凋亡试验

将细胞按照上述方式进行处理,用PBS清洗细胞,不含EDTA的胰酶消化细胞,离心后PBS清洗,加入500 μ L binding buffer,5 μ L FITC混合,5 μ L PI混合,避光反应15 min,流式细胞仪美国(BD-LSRFortessa)检测。

1.6 细胞周期测定

收集细胞,冷70%乙醇在4℃下固定SW480细胞2 h,PBS洗涤三次,加入PI和RNAase工作液500 μ L,避光孵育30 min,流式细胞仪(美国BD-LSRFortessa)检测。

1.7 Western blot

收集细胞,在冰上用RIPA lysis缓冲液处理40 min,离心后收集蛋白液,碧云天BCA蛋白测定液检测样本的蛋白质浓度。每组各30 μ g总蛋白样品,采用12%SDS-PAGE分离蛋白,随后将其转移至硝酸纤维素(NC)膜上,使用含5%脱脂牛奶的PBST溶液室温封闭1 h,后在Bax、Bcl-2和Caspase8抗体中(稀释浓度1:1000)4℃孵育过夜。二抗(1:1000稀释)孵育时间为1 h。以 β -actin蛋白为内参进行分析。使用QUANT LAS 4000S化学发光成像系统。

1.8 qPCR

Trizol法提取细胞总RNA,Nanodrop检测RNA浓度。引物序列如表1,由上海生物工程有限公司合成。扩增条件:①预变性95℃30 sec;②PCR反应95℃5 sec、60℃30 sec进行40个循环;③95℃5 sec、65℃5 sec、95℃5 min。使用软件LightCycler96对数据进行分析。

表1 Bax、Bcl-2以及Caspase8序列
Table 1 Bax, Bcl-2 and Caspase8 sequences

	F (5'-3')	R (5'-3')
Bax	ACCAAGAAGCTGAGCGAGTGT	ACAAACATGGTCACGGTCTGC
Bcl-2	TTGTGGCCTTCTTTGAGTTCG	TACTGCTTTAGTGAACCTTTT
Caspase8	GGAAGTGTTCACAGGTT	TTCTTGCTTCCTTTGCGGAAT
β -actin	CTGTCCACCTTCCAGCAGATGT	CGCAACTAAGTCATAGTCCGC

1.9 统计学方法

使用SPSS 22.0软件进行统计学处理,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析各实验组与对照组是否具有显著性差异, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义, $P < 0.01$ 时,为差异有极显著性

意义。

2 结果

2.1 奥沙利铂浓度确定

MTT 法检测细胞活力,抑制率为 10%-20%的奥沙利铂浓度为亚细胞毒剂量浓度,图 1 结果所示奥沙利铂处理 SW480 细胞 24 h,细胞活力、抑制率分别为 83.3%和 16.7%。因此,选择 6.25 $\mu\text{g/mL}$ 的浓度进行后续实验。

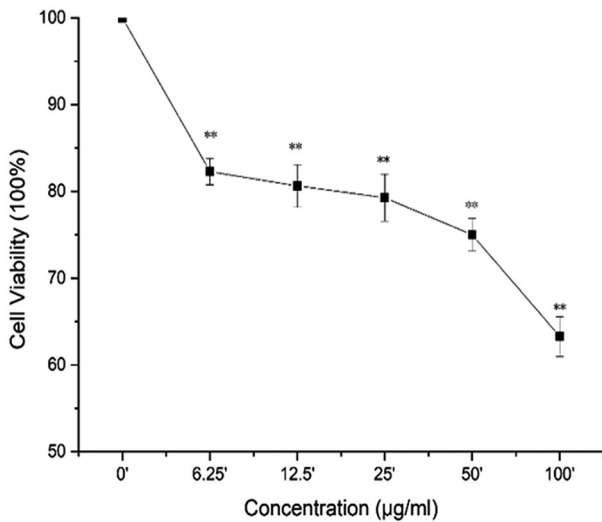


图 1 奥沙利铂处理 24 h 后 SW480 细胞活力($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig.1 The viability of SW480 cells after treatment for 24 h($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

与对照组(正常细胞组)相比 ** $P<0.01$;

**Statistically significant difference compared to the control($P<0.01$).

2.2 联合作用效果

以 MTT 法检测了热疗及奥沙利铂单独或结合使用对结肠癌 SW480 细胞的作用效果。通过表 1 可以看出奥沙利铂浓度为 6.25 $\mu\text{g/mL}$ 时,细胞抑制率为 16.2%;45 $^{\circ}\text{C}$ 水浴热疗 35 min,细胞抑制率为 20.5%,联合组细胞抑制率为 36.1%,其细胞活力均与对照组具有显著性差异($P<0.01$,如图 2 和表 2)。

2.3 细胞形态

通过对细胞形态学观察,正常细胞多边形贴壁生长,与正

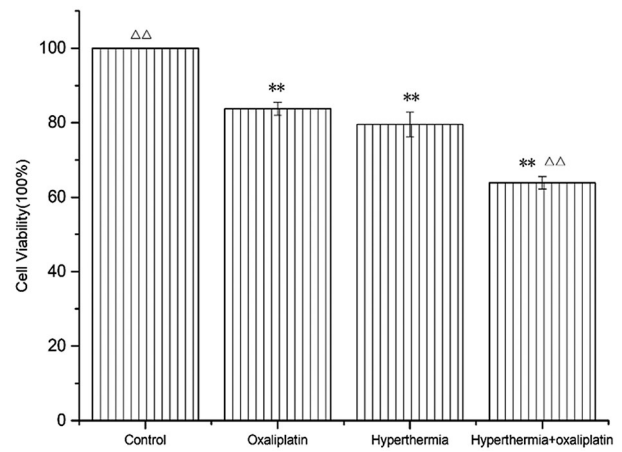


图 2 热疗、奥沙利铂及热疗 + 奥沙利铂联合处理后细胞活力($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig.2 Cell viability after treatment with hyperthermia, oxaliplatin and hyperthermia + oxaliplatin($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

与对照组相比 * $P<0.05$, ** $P<0.01$;与奥沙利铂组相比 $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$

* or **Statistically significant difference compared to the control

($P<0.05$ or $P<0.01$),

Δ or $\Delta\Delta$ Statistically significant difference compared to the oxaliplatin

($P<0.05$ or $P<0.01$)

常细胞相比,经奥沙利铂处理后细胞的细胞膜发生溶解并破裂,细胞周围出现碎片,轮廓模糊;热疗处理后细胞发生明显皱缩,主要发生在胞质部分;热疗加化疗组兼有上述两种受损细胞形态(如图 3)。

2.4 细胞凋亡检测

流式细胞仪检测结果显示,热疗组、奥沙利铂组以及热疗 + 奥沙利铂组的凋亡率分别为 (21.73 $\pm$ 0.43)%、(11.83 $\pm$ 0.08)%、(28.92 $\pm$ 1.63),同单独处理组相比,热疗 + 奥沙利铂组细胞凋亡率明显增加,这与 MTT 实验结果相符($P<0.01$,如图 4)。

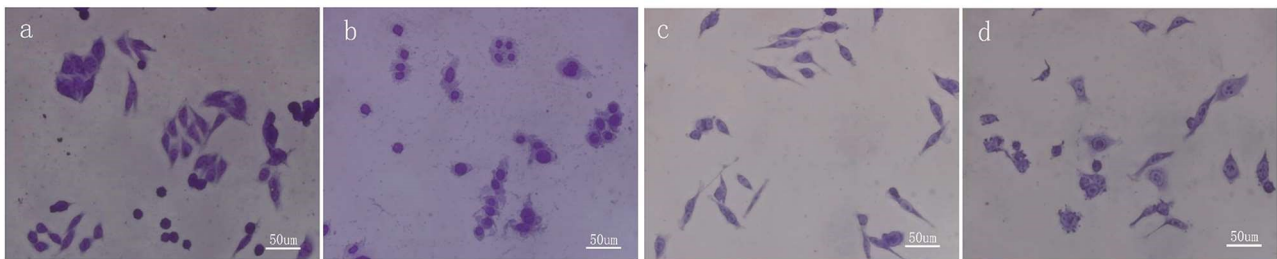


图 3 处理后 sw480 细胞形态 a.对照组 b.奥沙利铂化疗组 c.热疗组 d.热疗 + 奥沙利铂组

Fig.3 The morphology of SW480 cells a. control group b. oxaliplatin chemotherapy group c. hyperthermia Group d. hyperthermia + oxaliplatin group.

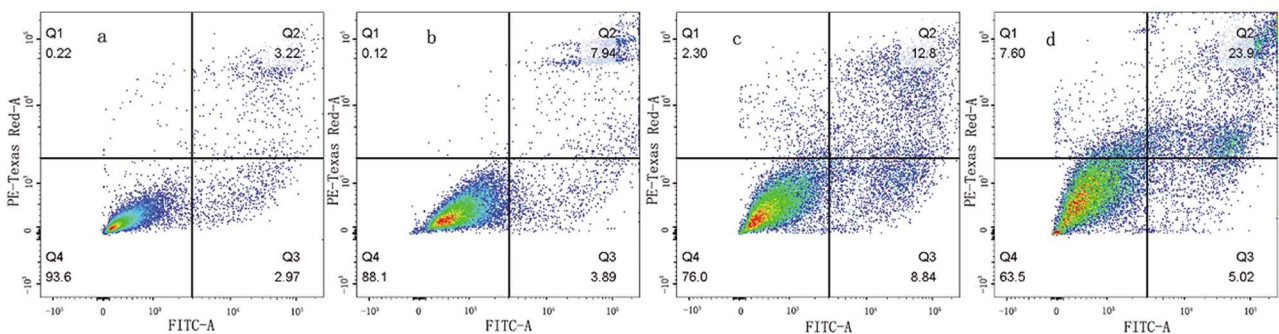


图 4 细胞凋亡 a.对照组 b.奥沙利铂化疗组 c.热疗组 d.热疗 + 奥沙利铂组($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig.4 Cell apoptosis a. control group b. oxaliplatin chemotherapy group c. hyperthermia Group d. hyperthermia + oxaliplatin group($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

表 2 不同处理对细胞凋亡率的影响

Table 2 The effectiveness of different treatment group on apoptosis rate

Groups	Cell proportions(%)				
	Living cells	Cells fragment	Early apoptotic cells	Late apoptotic cells	Early + Late apoptotic
Control	93.6± 0.50	0.22± 0.08	2.97± 0.25	3.22± 0.14	6.19± 0.38 ^{△△}
Oxaliplatin	88.1± 1.56	0.12± 1.70	3.89± 1.60	7.94± 0.78	11.83± 0.08**
Hyperthermia	76.0± 0.07	2.3± 0.32	8.84± 0.21	12.89± 0.22	21.73± 0.43**
Hyperthermia+ oxaliplatin	63.5± 2.13	7.6± 0.51	5.02± 1.86	23.9± 0.78	28.92± 1.63** ^{△△}

注:与对照组相比 * $P<0.05$, ** $P<0.01$;与奥沙利铂组相比 $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$ 。

Note: *or **Statistically significant difference compared to the control ($P<0.05$ or $P<0.01$); Δ or $\Delta\Delta$ Statistically significant difference compared to the oxaliplatin($P<0.05$ or $P<0.01$).

2.5 细胞周期检测

结果显示,与对照组相比,热疗组、奥沙利铂组以及热疗 +

奥沙利铂组的 G_0/G_1 比率下降, S 期和 G_2/M 比率上升, 说明三组处理可以阻滞细胞进入 G_0/G_1 期(如图 5)。

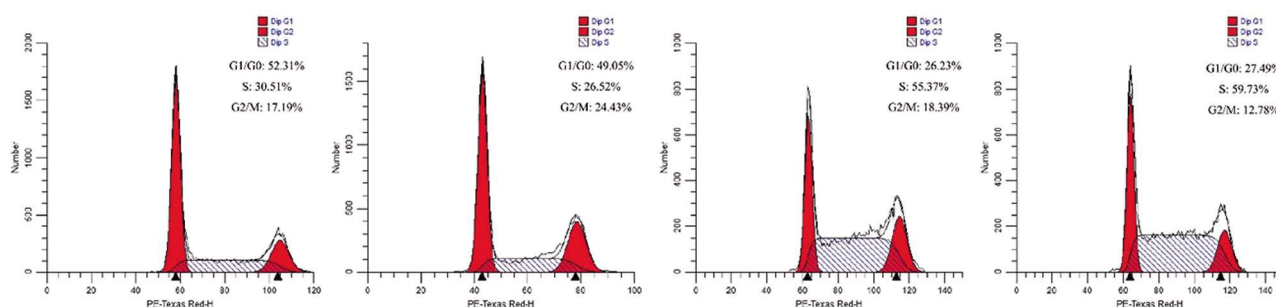


图 5 细胞周期 a.对照组 b.奥沙利铂化疗组 c.热疗组 d.热疗 + 奥沙利铂组($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig.5 Cell cycle a. control group b. oxaliplatin chemotherapy group c. hyperthermia Group d. hyperthermia + oxaliplatin group($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

2.6 Western blot

Western blot 结果显示,奥沙利铂、热疗、热疗 + 奥沙利铂处理后, Bax 蛋白表达量呈上升趋势,联合组同对照组相比,具

有显著性差异($P<0.01$)。处理组 Caspase8 的表达量有所增加,且均于对照组具有显著性差异($P<0.01$)。Bcl-2 表达量呈现下降趋势,均与对照组有所差异($P<0.01$, $P<0.05$,如图 6)。

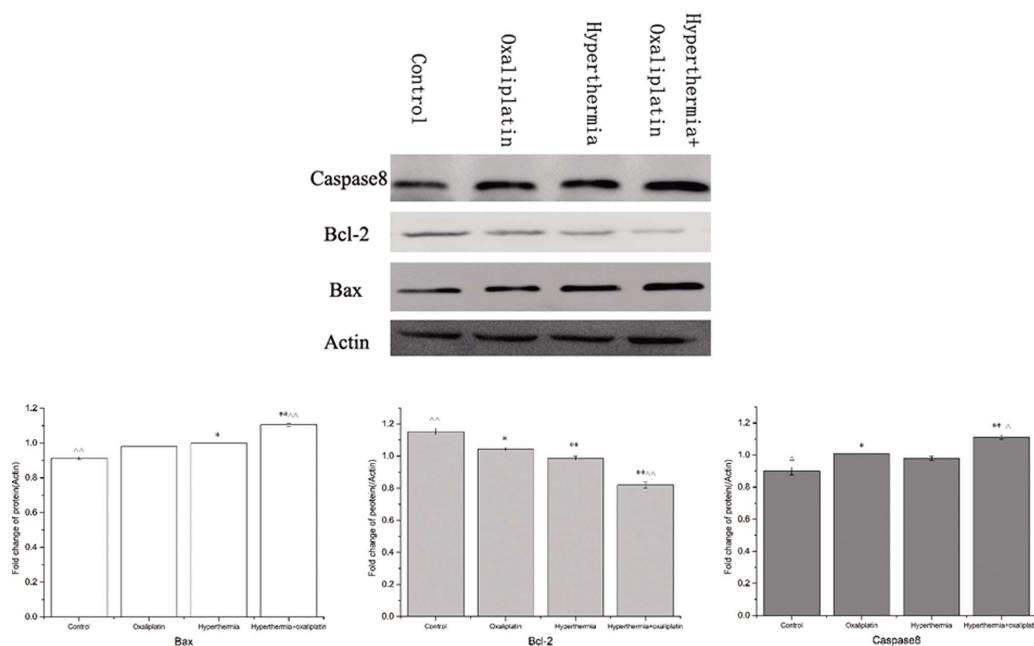


图 6 Bax, Bcl-2 和 Caspase8 蛋白含量变化($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Fig.6 The change of Bax, Bcl-2 and Caspase8 protein content($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

与对照组相比 * $P<0.05$, ** $P<0.01$;与奥沙利铂组相比 $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$

* or **Statistically significant difference compared to the normal control ($P<0.05$ or $P<0.01$),

Δ or $\Delta\Delta$ Statistically significant difference compared to the Oxaliplatin ($P<0.05$ or $P<0.01$).

2.7 qPCR

通过对 Bax、Bcl-2 以及 Caspase8 mRNA 的检测,发现与对照组相比 Bax 和 Caspase8 mRNA 增加、Bcl-2 的活性下降。

与对照组相比,处理组 Bax/Bcl-2 的比值增加,具有统计学意义 ($P<0.01$,如图 7)。

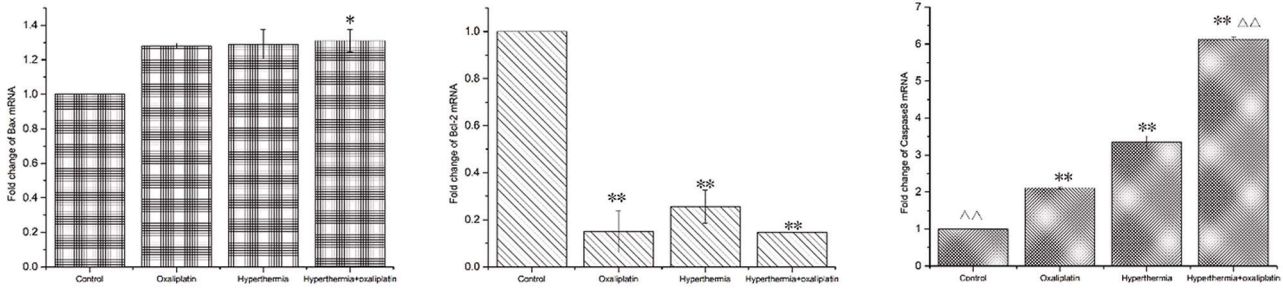


图 7 Bax、Bcl-2 以及 Caspase8 mRNA 表达

Fig.7 The mRNA expression of Bax, Bcl-2 and Caspase8

与对照组相比 * $P<0.05$, ** $P<0.01$;与奥沙利铂组相比 $^{\Delta}P<0.05$, $^{\Delta\Delta}P<0.01$

* or **Statistically significant difference compared to the normal control ($P<0.05$ or $P<0.01$),

$^{\Delta}$ or $^{\Delta\Delta}$ Statistically significant difference compared to the Oxaliplatin ($P<0.05$ or $P<0.01$).

3 讨论

热疗和化疗作为癌症治疗方式已有大量临床数据支持,均可对癌细胞起到杀伤作用。铂类药物是临床肿瘤治疗常用化疗药物,诱导细胞凋亡的原理是形成的铂化 DNA 化合物对 DNA 的修复及合成起抑制作用^[9,10]。与单一的化疗相比,辅以热疗可以显著促进细胞发生凋亡,提高治疗效果。目前,热化疗联合用药已广泛应用于宫颈癌、卵巢癌等癌症的临床治疗,并取得了较好的治疗效果。徐旭东等人采用亚高温联合奥沙利铂治疗结肠癌,其治疗效果及一年生存率均明显高于对照组^[11]。杨振杰等人联合应用热疗、阿霉素和 TRAIL 探究其对肝癌 HepG2 细胞的作用,发现联合应用的效果优于单纯化疗,热疗可以增加化疗药物的毒性,促进细胞凋亡^[12]。冯强等人,比较化疗药奥沙利铂、顺铂、氟尿嘧啶、阿霉素、丝裂霉素分别与热疗(37℃-45℃)联合对人胃癌细胞 BGC-823 细胞的作用效果,几种药物均对 BGC-823 细胞具有杀伤作用,并随温度升高和作用时间的延长而增强^[13]。临床上,热疗联合化疗已被应用于多种癌症,如肝癌、卵巢癌等。陈晓霞研究中,将 72 名患者随机分为对照组和观察组,对照组进行化疗治疗,观察组采取化疗结合深部热疗治疗方案,比较两组临床效果。研究发现,观察组肿瘤缓解率、腹水控制率、CA125 控制率均高于对照组($P<0.05$),对于复发性卵巢癌,深部热疗联合化疗治疗效果优于单一化疗,具有较高的临床参考意义^[14]。

细胞形态中,常温下,细胞膜呈现液晶相,热疗会破坏细胞膜,影响膜的流动性及通透性,物质运输受阻,细胞不能进行遗传物质的修复及合成,发生凋亡及坏死^[15]。Hildebrandt 等人探讨热疗会损伤细胞骨架,破坏细胞形态^[16]。细胞骨架维持细胞形态,保持细胞内部结构,参与细胞运动、物质运输、能量转换、信息传递、细胞分裂、基因表达、细胞分化等细胞功能。细胞形态变化原因是热刺激可破坏细胞内部细胞骨架,解聚增多,无法支撑细胞,致使细胞外形的变化,致使细胞外形的变化^[17]。奥沙利铂通过与 DNA 结合达到抑制肿瘤生长作用,推测奥沙利铂在结合在与 DNA 结合,抑制 DNA 修复过程中,破坏了膜蛋

白和膜骨架的形成,从而导致细胞形态改变。

研究表明,肿瘤是一种因周期失控,细胞无限增殖的细胞周期性疾病^[18]。在肿瘤发生过程中,细胞周期会因启动、运行和终止异常,导致细胞增殖失控、凋亡减少,因此,阻滞细胞周期治疗是结肠癌治疗的重要参考^[19]。细胞周期中 G_1 期细胞合成 RNA 和蛋白质, S 期即 DNA 合成期,合成 DNA 和组蛋白, G_2 为生长期,为有丝分裂做准备^[20]。通过观察数据,热疗组、热疗 + 奥沙利铂组可通过影响 DNA 的合成,延长 S 期,将细胞阻滞在 S 期。Atallah 对人结肠癌细胞 Caco-2 和 HT29 进行 42℃ 热疗(1 h)并联合奥沙利铂,发现 G_1 期细胞减少, S 期细胞增多,细胞周期阻滞在 S 期。奥沙利铂可破坏细胞的有丝分裂, G_2/M 期细胞增多^[21]。马建秀等人研究发现奥沙利铂可以提高 SW620 的 G_2/M 期^[22]。Volland 等人以浓度为 1 $\mu\text{mol/L}$ 和 5 $\mu\text{mol/L}$ 的奥沙利铂处理 HCT-116 细胞,均会将细胞阻滞 G_2/M 期^[23]。细胞周期阻滞差异归因于细胞周期不同时期对两种处理的敏感性不同,奥沙利铂和热疗可以针对不同细胞周期进行阻滞,因此联合治疗方案的效果优于单纯化疗治疗效果。热疗及化疗通过对周期的调控,促进细胞凋亡,阻止肿瘤细胞无限增殖。

凋亡可由多条途径诱发, Bax 和 Bcl-2 分别为促凋亡蛋白和抑凋亡蛋白,参与线粒体依赖途径。Bax/Bcl-2 系统在细胞凋亡的调控中发挥重要作用, Bax 蛋白可与 Bcl-2 蛋白形成异二聚体,其比值决定细胞受到致病信号刺激后存活与否, Bax/Bcl-2 比值上升促进细胞凋亡^[24]。高琨等人比较了同步热放化疗组和同步放化疗组对宫颈癌组织 Bax 蛋白的表达量变化的影响,同步热放化疗组 Bax 蛋白表达率高于同步放化疗组^[25]。曹蕾等人开展了热疗联合同步放化疗(CRT)治疗中晚期宫颈癌凋亡相关蛋白表达关实验,随机将 80 例中晚期宫颈癌患者均分为对照组(化疗)和观察组(深部热疗联合化疗)。结果发现两组患者 Bcl-2/Bax 比值均低于治疗前,观察组 Bcl-2/Bax 比值显著低于对照组($P<0.05$),深部热疗联合化疗可通过促进 Bax 表达、下调 Bcl-2/Bax 比值,影响宫颈癌细胞增殖及凋亡,从而提高治疗中晚期宫颈癌的疗效^[26]。Caspase8 蛋白隶属于半胱氨酸-天冬氨酸蛋白酶家族,是一种起始 Caspase,通过对细胞凋亡信号的反

应,启动细胞自杀的 Caspase^[27]。死亡信号诱导复合体激活 Caspase8,促进细胞凋亡^[28]。方润娅等人将腹腔热灌注与顺铂联合作用于卵巢癌细胞系 SKOV-3,热化疗组 Caspase8 表达量明显高于对照组、单纯热化疗组^[29]。热疗、化疗以及热疗和化疗结合可以通过调节死亡受体途径和线粒体途径,促进细胞发生凋亡。

综上所述,热疗联合奥沙利铂可以显著提高人结肠癌 SW480 细胞的凋亡率,效果优于单纯化疗及热疗。热疗加化疗均可通过对 Bax、Bcl-2 以及 Caspase8 的调节,阻滞细胞周期,终止细胞不正常分裂增殖以及对细胞形态损伤,促进细胞凋亡。Mohamed 等报道热疗对化疗药物具有热增强效应,热化疗可减少化疗药物的浓度,降低化疗药物毒副作用^[30]。研究认为,热疗增效化疗疗效的原因主要有以下几点:①热疗可以破坏细胞的形态;②热疗破坏细胞 DNA 的复制;③热疗可以激发人体免疫系统,提高治疗效果;④热疗可以提高热休克蛋白的表达^[31];⑤热疗可以加速血液流动,增加了化疗药物的敏感性。本研究通过对热疗同奥沙利铂联合作用的研究,为肿瘤临床治疗提供参考。

参考文献(References)

- [1] Attarabeen O F, Sambamoorthi U, Larkin K T, et al. Colon Cancer Worry in Appalachia [J]. Journal of Community Health, 2018, 43(1): 79-88
- [2] Gu Meng-jia, Huang Qiu-chi, Bao Cheng-zhen, et al. Attributable causes of colorectal cancer in China [J]. BMC Cancer, 2018, 18(1): 2-9
- [3] 邵汎帆,黄健清,莫志文.实用肿瘤生物学[M].广东:羊城晚报出版社,2011
- [4] 肖绍文.中国肿瘤热疗临床应用指南(2017.V1.1)[J].中华放射肿瘤学杂志,2017,26(4): 369-375
- [5] 唐劲天.肿瘤热疗生物学[M].北京:人民卫生出版社,2010
- [6] 胡广银,江瑾.黄芪桂枝五物汤加减治疗奥沙利铂神经毒性观察[J].现代中西医结合杂志,2010,19(11): 1350-1351
- [7] 姚智东,吴洪斌.奥沙利铂的安全性评价[J].中国新药杂志,2003,12(7): 567-569
- [8] 伊志萍,温亚娟.恶性肿瘤病人术后化疗的护理体会[J].中外健康文摘,2008,5(19): 64-64
- [9] 安琳,苏慎勇,杨卫东,等.热疗联合奥沙利铂对胃癌细胞增殖,凋亡的影响[J].中国地方病防治杂志,2017,32(1): 87
- [10] Michael S B, Hendrik E, Heuser M, et al. Oxaliplatin pharmacokinetics on hemodialysis in a patient with diffuse large B cell lymphoma [J]. Annals of Hematology, 2016, 95(4): 1-2
- [11] 徐旭东,高雪梅,杨仁荣,等.区域亚高温联合奥沙利铂方案治疗晚期直肠癌[J].实用肿瘤杂志,2006,21(5): 446-448
- [12] 杨振杰,李文超,杨景,等.热疗联合阿霉素和 TRAIL 对肝癌 HepG2 细胞凋亡的影响[J].现代肿瘤学,2018,26(8): 1179-1183
- [13] 冯强,田海梅,李艳芬,等.奥沙利铂联合热疗体外抑制胃癌的初步研究[J].中国肿瘤临床与康复,2011,18(2): 117-119
- [14] 陈晓霞.深部热疗与化疗联合治疗复发性卵巢癌的临床效果研究[J].中国实用医药,2018,13(3): 96-97
- [15] 庞瑞.注射用微米级钴合金微球用于肿瘤的磁感应热疗[D].北京:北京中医药大学,2014
- [16] Hildebrandt B, Wust P, Ahlers, et al. The cellular and molecular basis of hyperthermia[J]. Critical Reviews in Oncology/Hematology, 2002, 43(1): 33-56
- [17] 周鸣杰.热刺激条件下血管内皮细胞的形态变化及凋亡研究[D].上海:上海交通大学,2009
- [18] 邵义如,朱尤庆,刘敏.二氢青蒿素对结肠癌细胞系 SW480 增殖凋亡的影响[J].武汉大学学报(医学版),2008,29(3): 319-323
- [19] 刘文波.奥沙利铂对不同转移潜能的人结肠癌细胞株增殖和凋亡的影响[D].兰州:兰州大学,2016
- [20] 裴旭东,叶启发,肖建生.缺血预处理对大鼠肝移植缺血再灌注损伤后 CyclinD1 和 CyclinE 表达的影响[J].中国医学工程,2006,14(1): 30-34
- [21] Atallah D, Marsaud V, Radanyi C, et al. Thermal enhancement of oxaliplatin-induced inhibition of cell proliferation and cell cycle progression in human carcinoma cell lines [J]. International Journal of Hyperthermia, 2004, 20(4): 405-419
- [22] 马建秀,汤小玲,马艳庆,等.苦参碱联合奥沙利铂对人结肠癌 SW620 细胞增殖,凋亡 p53 蛋白表达的影响[J].保健医学研究与实践,2018,15(1): 49-54
- [23] Voland C, Bord A, Pé Leraux A, et al. Repression of cell cycle-related proteins by oxaliplatin but not cisplatin in human colon cancer cells[J]. Molecular Cancer Therapeutics, 2006, 5(9): 2149-2157
- [24] 黄运生.柴胡疏肝汤对戊四氮致痫鼠脑电及癫痫相关调控因子的影响[D].广州:第一军医大学,2005
- [25] 高琨,方绳权,张彩红,等.同步热放化疗对宫颈癌组织 Bax、Bcl-2、P53 蛋白表达的影响 [J]. 南方医科大学学报,2009,29(12): 2537-2539
- [26] 曹蕾,陈鑫,加静,等.深部热疗联合同步放化疗治疗中晚期宫颈癌的疗效及机制研究[J].广西医科大学学报,2017,34(7): 1051-1054
- [27] 王健,贾永森,赵喜庆,等.热疗降低胶质瘤侵袭性作用过程中 caspase8 改变的实验研究[J].神经解剖学杂志,2014,30(2): 197-200
- [28] 虎佳飞,何永文.热诱导肿瘤细胞凋亡的机制研究进展[J].昆明医科大学学报,2017,38(5): 133-138
- [29] 方润娅,蔡隆梅,崔书中,等.腹腔热灌注与顺铂联用增加人卵巢癌细胞系凋亡[J].基础医学与临床,2017,37(7): 923-928
- [30] Mohamed F, Marchettini P, Stuart O A, et al. Thermal Enhancement of New Chemotherapeutic Agents at Moderate Hyperthermia [J]. Annals of Surgical Oncology, 2003, 10(4): 463-468
- [31] 闫向勇,刘文超.热疗在肿瘤治疗中的研究进展[J].世界中西医结合杂志,2014,9(2): 213-216