

癌症恶病质与细胞因子的关系 及消炎痛干预的实验研究

徐建芳 周彩存 张海平 粟波 唐亮 成倍玲 秦萍 李爱武

【摘要】 目的 探讨癌症恶病质实验模型中细胞因子 IL-1、IL-6、TNF α 、IFN γ 水平的变化,观察常规剂量消炎痛对癌症恶病质的改善效果以及对小鼠生存时间的影响。方法 用 Lewis 肺癌细胞株接种纯种 C₅₇ 小鼠建立癌症恶病质的实验模型,检测小鼠在不同阶段血清 IL-1、IL-6、TNF α 、IFN γ 的水平及体重变化,同时观察每日腹腔内注射常规剂量消炎痛对癌症恶病质的治疗疗效。结果 癌症恶病质组小鼠血清 IL-1、IL-6、TNF α 的水平显著高于健康对照组 ($P < 0.05$),而体重明显低于健康对照组 ($P < 0.05$)。癌症恶病质小鼠中,消炎痛治疗组小鼠的体重明显高于生理盐水对照组且生存时间延长 ($P < 0.05$),而血清 IL-1、IL-6、TNF α 的水平显著低于生理盐水对照组 ($P < 0.05$)。血清 IFN γ 在癌症恶病质小鼠与健康对照组之间,在消炎痛治疗组与生理盐水对照组之间比较差异均无显著性 ($P > 0.05$)。结论 IL-1、IL-6、TNF α 可能参与癌症恶病质的发生发展,通过采用消炎痛积极干预,能明显降低血清 IL-1、IL-6、TNF α 的水平,改善恶病质,延长生存期。IFN γ 不参与癌症恶病质的发生发展。

【关键词】 血清 IL-1 IL-6 TNF α IFN γ 癌症恶病质 消炎痛

【中图分类号】 R734.2

Relationship of cytokine level with cancer cachexia and therapeutic effects of indomethacin for cancer cachexia

XU Jianfang, ZHOU Caicun, ZHANG Haiping, SU Bo, TANG Liang, CHENG Beiling, QIN Ping, LI Ai-wu. Department of Medical Oncology, Shanghai Pulmonary Hospital, Shanghai 200433, P. R. China

Corresponding author: XU Jianfang, E-mail: jifangxu@sh163.net

【Abstract】 **Objective** To investigate the relationship between cytokine level and cancer cachexia on murine model, and to observe the effects of regular dose of indomethacin on cancer cachexia and survival of mice. **Methods** C57 mice bearing Lewis lung carcinoma were used to establish murine cancer cachexia model. The serum cytokine levels (IL-1, IL-6, TNF α and IFN γ) and body weight of the mice were measured at different time points before and after treatment with daily intraperitoneal injection of either indomethacin (1 mg/kg) or saline. **Results** The mice in cancer cachexia group had significantly higher serum levels of IL-1, IL-6 and TNF α ($P < 0.05$) and lower body weight ($P < 0.05$) than those in healthy control group. Compared to saline treatment, indomethacin intervention apparently down-regulated the levels of IL-1, IL-6 and TNF α ($P < 0.05$), and remarkably prolonged the survival of mice ($P < 0.05$). No significant difference in IFN γ level was observed between cancer cachexia and healthy control groups ($P > 0.05$), as well as between indomethacin and saline groups ($P > 0.05$). **Conclusion** The results suggest that serum IL-1, IL-6 and TNF α are possibly associated with cancer cachexia, however, IFN γ seems to be irrelevant. Indomethacin may potentially ameliorate cancer cachexia through down-regulating levels of cytokines.

【Key words】 Serum IL-1 IL-6 TNF α IFN γ Cancer cachexia Indomethacin

癌症恶病质(cancer cachexia, CC)在晚期癌症患者发生率较高,是导致患者死亡的常见原因。恶病质是指癌症患者的体重下降、贫血、厌食、虚弱、衰竭及体内代谢异常等组成的一组综合征。研究表明多种细胞因子在恶病质发生发展过程中起重要的作用^[1]。

本实验建立癌症恶病质的动物模型,进一步探讨该模型中细胞因子 IL-1、IL-6、TNF α 、IFN γ 的水平及消炎痛干预癌症恶病质的效果。

1 材料与方法

1.1 细胞株及癌症恶病质动物模型的建立 Lewis 肺癌细胞株由上海医学工业研究院提供。于纯种 C₅₇

小鼠右上肢皮下处接种 Lewis 肺癌细胞 $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^8$, 接种第 20 天后, 小鼠明显消瘦, 去瘤体重减轻 20% 以上且出现厌食、虚弱、衰竭, 进入恶病质状态。

1.2 分组及治疗方法 将 60 只小鼠随机分成 4 组: 健康对照组 10 只 (HC); 肿瘤非治疗组 10 只 (TWT); 肿瘤生理盐水对照组 20 只 (TNST); 肿瘤消炎痛治疗组 20 只 (TIT)。接种后第 20 天处死 HC 组和 TWT 组小鼠作为对照, 同时 TIT 组和 TNST 组小鼠分别每天予以腹腔内注射消炎痛 1 mg/kg 和等量的生理盐水, 至第 30 天时处死 TIT 组和 TNST 组小鼠各 10 只, 余小鼠继续分别予以注射消炎痛和生理盐水, 剂量、注射次数不变, 观察生存时间。

1.3 小鼠的体重和瘤体测量 接种后每隔 2 天测定小鼠的体重并测量瘤体的长、宽、深三径。先测得处死小鼠肿瘤的三径, 称重量, 再测得存活小鼠瘤体的三径, 以此计算存活小鼠瘤体重量。去瘤体重即小鼠总体重减去瘤体重量。

1.4 小鼠血清标本的收集 接种后第 20 天、第 30 天分别摘除四组小鼠的眼球, 收集血液 (使用不含致热原和内毒素的试管), 静止 2 h 后, 经 1 000 r/min 离心 10 min 吸取血清, -30℃ 冰存储备用。

1.5 血清 IL-1、IL-6、TNF- α 、IFN- γ 测定 分别用 ELISA 试剂盒 (法国 DIACLONE 公司产品) 测定。取备用血清 100 μ l 于 37℃ 室温中孵育 3 h, 加入 IL-1、IL-6、TNF- α 、IFN- γ 酶结合物, 放置 30 min, 显色, 用酶标仪比色, 计算结果。

1.6 统计学方法 采用 *t* 检验、方差分析及 *q* 检验, 采用 Kaplan-Meier 曲线描述生存时间。

2 结果

2.1 小鼠瘤体重量变化 (表 1) 小鼠接种 Lewis 肺癌细胞后第 10、20 天, TWT、TNST 和 TIT 三组之间瘤体重量比较差异无显著性 ($P > 0.05$)。分别予以注射消炎痛以及等量的生理盐水后, 至接种后第 25、30 天 TNST 和 TIT 二组之间瘤体重量比较差异无显著性 ($P > 0.05$)。

2.2 小鼠去瘤体重变化 (表 2) 小鼠接种 Lewis 肺癌细胞后第 10、20 天, TWT、TNST 和 TIT 三组之间去瘤体重比较差异无显著性 ($P > 0.05$)。分别予以腹腔内注射消炎痛和等量的生理盐水, 至接种后第 25 天 TIT 和 TNST 二组之间去瘤体重比较差异无显著性 ($P > 0.05$), 至接种后第 30 天二组间比较差异具有显著性 ($P < 0.05$)。

表 1 三组小鼠瘤体重量变化 (g, $\bar{x} \pm s$)

Tab 1 The change of tumor weight in three groups (g, $\bar{x} \pm s$)

Group	After transplantation			
	D10	D20	D25	D30
TWT	2.21 \pm 0.57	4.30 \pm 0.22	-	-
TNST	2.08 \pm 0.29	4.65 \pm 1.33	5.53 \pm 0.64	6.29 \pm 0.60
TIT	2.16 \pm 0.22	4.45 \pm 0.71	5.37 \pm 0.32	6.10 \pm 0.21
<i>F/t</i> value	<i>F</i> = 0.36	<i>F</i> = 0.48	<i>t</i> = 0.72	<i>t</i> = 0.94
<i>P</i> value	> 0.05	> 0.05	> 0.05	> 0.05

表 2 三组小鼠去瘤体重变化 (g, $\bar{x} \pm s$)

Tab 2 The change of tumor-free body weight in three groups (g, $\bar{x} \pm s$)

Group	After transplantation			
	D10	D20	D25	D30
TWT	19.21 \pm 1.10	17.64 \pm 1.33	-	-
TNST	19.24 \pm 1.67	18.22 \pm 2.33	16.74 \pm 1.66	15.28 \pm 0.92
TIT	19.53 \pm 1.20	18.79 \pm 1.66	17.88 \pm 0.43	18.92 \pm 1.99
<i>F/t</i> value	<i>F</i> = 0.29	<i>F</i> = 1.28	<i>t</i> = 2.10	<i>t</i> = 6.18
<i>P</i> value	> 0.05	> 0.05	> 0.05	< 0.05

2.3 小鼠血清细胞因子水平的变化 TWT 组血清 IL-1、IL-6、TNF- α 显著高于 HC 组 ($P < 0.05$), 血清 IFN- γ 与 HC 组比较差异无显著性 ($P > 0.05$) (表 3)。分别予以腹腔内注射消炎痛和等量的生理盐水, 至接种后第 30 天 (消炎痛或生理盐水注射后第 10 天), TIT 组血清 IL-1、IL-6、TNF- α 水平明显低于 TNST 组, 二组间比较差异有显著性 ($P < 0.05$); 二组间血清 IFN- γ 水平比较差异无显著性 ($P > 0.05$) (表 4)。

表 3 接种后第 20 天 HC 组与 TWT 组小鼠血清细胞因子比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab 3 Comparison of serum cytokines in HC and TWT groups on the 20th day after transplantation ($\bar{x} \pm s$)

Group	IL-1 (ng/L)	IL-6 (ng/L)	TNF- α (ng/L)	IFN- γ (ng/L)
HC	17.56 \pm 2.30	12.20 \pm 2.44	3.91 \pm 1.76	2.60 \pm 1.26
TWT	30.80 \pm 4.80	24.10 \pm 3.04	12.80 \pm 2.15	3.60 \pm 2.01
<i>t</i> value	6.21	8.40	7.78	0.63
<i>P</i> value	< 0.05	< 0.05	< 0.05	> 0.05

表 4 接种后第 30 天 TNST 组和 TIT 组小鼠细胞因子比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab 4 Comparison of serum cytokines in TNST and TIT groups on the 30th day after transplantation ($\bar{x} \pm s$)

Group	IL-1 (ng/L)	IL-6 (ng/L)	TNF- α (ng/L)	IFN- γ (ng/L)
TNST	33.40 \pm 4.06	24.70 \pm 4.90	15.20 \pm 3.01	4.20 \pm 3.22
TIT	23.50 \pm 2.84	16.60 \pm 4.42	6.50 \pm 1.72	3.80 \pm 1.31
<i>t</i> value	6.32	3.87	7.93	0.86
<i>P</i> value	< 0.05	< 0.05	< 0.05	> 0.05

2.4 生存时间 TIT 组 10 只小鼠平均生存时间为 45.4 天(95%CI 为 41.3~49.5),与 TNST 组 10 只小鼠 38.6 天(95%CI 为 35.5~41.7)比较,差异具有显著性($P < 0.05$) (图 1)。

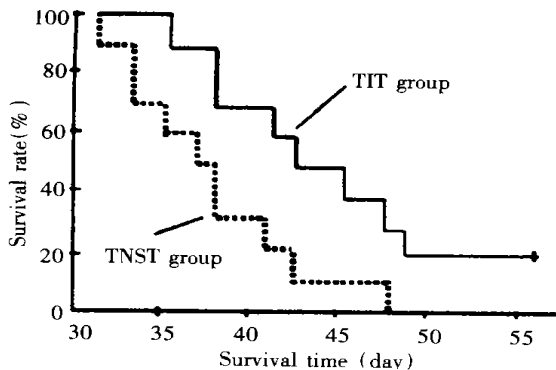


图 1 TIT 组与 TNST 组生存时间的比较

Fig 1 The Kaplan-Meier survival curves of TIT and TNST groups

3 讨论

根据 WHO 统计全球每年有 600 余万人死于各种癌症,2/3 以上的癌症患者在其病程中要经历恶病质的过程,有报告 50% 的晚期癌症患者主要死于恶病质。目前,恶病质的发病机制尚未完全明确。近来研究表明,肿瘤代谢产物及多种细胞因子参与了恶病质的发生发展^[2,3]。

我们用 Lewis 肺癌细胞株接种种种 C₅₇ 小鼠建立恶病质的动物模型,结果表明,随着小鼠肿瘤体积不断增大,小鼠明显消瘦,处于恶病质状态,血清 IL-1、IL-6、TNF- α 水平明显升高且显著高于健康对照组($P < 0.05$)。许多研究也同样显示,在一些恶病质模型当中 IL-1、IL-6、TNF- α 与恶病质的严重程度呈正相关。Darling 等^[4]的研究中,TNF- α 被认为是导致恶病质的一个重要因子,持续静脉注射 TNF- α 可引起实验动物厌食、体重减轻、蛋白质和脂肪的分解,TNF- α 是通过抑制脂蛋白酯酶(LPL)而起作用,用抗 TNF- α 抗体治疗,可明显提高 LPL 活性,改善恶病质。Tessitore 等^[5]发现肿瘤移植早期荷瘤鼠的胰岛素、甲状腺素下降,而 PGE₂、TNF- α 、IL-1 升高,故推测在恶病质的发生发展过程中,是一个多细胞因子体系在起作用。本研究也证实,IL-1、IL-6、TNF- α 三种细胞因子均随着小鼠的去瘤体重下降而升高,已经证实 TNF- α 能抑制 LPL 活性,由此推测 IL-1、IL-6 二种细胞因子也能抑制 LPL 活性,增加脂肪分解,降低蛋白质合成,从而导致小鼠体重减轻,出现恶病质。有报道,运用 IL-1 受体拮抗剂、抗 TNF- α 抗体均可抑制恶病质的进一步发

展^[6]。

本实验显示 IFN- γ 与癌症恶病质的形成无明显关系,与 Mori 等^[7]的报道相符。但也有报道 IFN- γ 能抑制 LPL 活性,增加脂肪分解,降低蛋白质合成,参与恶病质的形成。

目前对恶性肿瘤恶病质及体重减轻的治疗尚无特异性,除治疗恶性肿瘤外,主要药物有孕酮类、非甾体类解热镇痛药、胰岛素、同化激素等。消炎痛是环氧酶抑制剂,亦即前列腺素合成酶抑制剂,不仅具有抗炎解热镇痛和抗血小板聚集作用,能增加动物的体重及肝脏与肌肉的蛋白质含量,还能抗肿瘤增殖和诱导肿瘤细胞凋亡。本研究中,治疗组采用每日消炎痛 1 mg/kg 治疗,小鼠的去瘤体重明显增加,血清细胞因子 IL-1、IL-6、TNF- α 明显降低,与生理盐水对照组相比差异具有显著性,表明消炎痛能下调细胞因子 IL-1、IL-6、TNF- α 的水平。Lundholm 等^[8]报道,在动物实验和癌症恶病质患者,用消炎痛或强的松龙治疗能改善食欲,增加体重,使骨转移患者疼痛减轻,生活质量明显提高,生存时间延长。治疗组小鼠生存时间延长,但瘤体重量无明显变化,由此推测,消炎痛对抑制肿瘤生长并没有太大的作用。综上所述,消炎痛于动物实验中能抑制癌症恶病质的发生发展,延长生存时间,但用于临床患者,尚有待进一步研究。

参 考 文 献

- 1 Espat NJ, Moldawer LL, Copeland EM 3rd. Cytokine-mediated alterations in host metabolism prevent nutritional repletion in cachectic cancer patients. *J Surg Oncol*, 1995, 58(2): 77-82.
- 2 Strassmann G, Fong M, Kenney JS, et al. Evidence for the involvement of interleukin 6 in experimental cancer cachexia. *J Clin Invest*, 1992, 89(5): 1681-1684.
- 3 Strassmann G, Masui Y, Chizzonite R, et al. Mechanisms of experimental cancer cachexia. Local involvement of IL-1 in colon-26 tumor. *J Immunol*, 1993, 150(6): 2341-2345.
- 4 Darling G, Fraker DL, Jensen JC, et al. Cachectic effects of recombinant human tumor necrosis factor in rats. *Cancer Res*, 1990, 50(13): 4008-4013.
- 5 Tessitore L, Costelli P, Baccino FM. Humoral mediation for cachexia in tumour-bearing rats. *Br J Cancer*, 1993, 67(1): 15-23.
- 6 Yasumoto K, Mukaida N, Harada A, et al. Molecular analysis of the cytokine network involved in cachexia in colon 26 adenocarcinoma-bearing mice. *Cancer Res*, 1995, 55(4): 921-927.
- 7 Mori K, Fujimoto-Ouchi K, Ishikawa T, et al. Murine interleukin-12 prevents the development of cancer cachexia in a murine model. *Int J Cancer*, 1996, 67(6): 849-855.
- 8 Lundholm K, Gelin J, Hyltander A, et al. Anti-inflammatory treatment may prolong survival in undernourished patients with metastatic solid tumors. *Cancer Res*, 1994, 54(21): 5602-5606.

(收稿:2004-03-29 修回:2004-05-19)

(本文编辑 李蓓兰)