

· 基础研究 ·

亚高温热疗联合多西紫杉醇对人乳腺癌细胞增殖的影响

尤伟 于洋 吕峰 梁栋 李兆明 张斌

【摘要】 目的 观察亚高温热疗联合多西紫杉醇化疗是否具有协同抗肿瘤效应,并探讨其作用机制。**方法** 首先采用 MTT 法观察多西紫杉醇对人乳腺癌细胞株 MCF-7 细胞增殖的影响,并筛选出有效浓度。将体外培养的 MCF-7 细胞分为空白对照组、多西紫杉醇组及热疗 + 多西紫杉醇组,热疗 + 多西紫杉醇组又根据热疗温度(包括 39.0℃、39.5℃、40.0℃、40.5℃、41.0℃)不同细分为 5 个亚组。各组 MCF-7 细胞分别经相应干预后,利用流式细胞仪检测上述各组细胞凋亡情况以及对细胞生长周期的影响。采用 Western blotting 技术检测各组细胞丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)蛋白、凋亡基因 Bcl-2、Bax 蛋白、热休克蛋白 70(HSP-70)及多药耐药基因(MDR)产物 P 糖蛋白(P-gp)表达情况。**结果** 热疗联合多西紫杉醇干预可促进 MCF-7 细胞凋亡增加,如 41.0℃ 热疗 + 多西紫杉醇组凋亡率[(37.12 ± 6.73)%]显著高于多西紫杉醇组凋亡率[(19.16 ± 3.42)%];热疗联合多西紫杉醇干预可诱导 MCF-7 细胞生长周期停滞在 G₂/M 期,如 41.0℃ 热疗 + 多西紫杉醇组 G₂/M 期细胞比例[(38.18 ± 4.72)%]显著高于多西紫杉醇组[(26.63 ± 4.08)%]。热疗 + 多西紫杉醇组 MAPK 通路蛋白表达较多西紫杉醇组显著增强,Bcl-2 蛋白表达则明显降低,而 Bax 蛋白表达有轻微升高。热疗 + 多西紫杉醇组细胞热休克蛋白 70(HSP-70)、P-gp 蛋白表达均较多西紫杉醇组明显增强。**结论** 亚高温热疗联合多西紫杉醇干预能抑制人乳腺癌细胞增殖,诱导细胞凋亡,具有协同抗肿瘤效应,其治疗机制可能与激活细胞外调节蛋白激酶(ERK)、c-Jun 氨基末端激酶(JNK)、p38 蛋白有关,另外亚高温热疗联合多西紫杉醇干预能增强 MCF-7 细胞 HSP-70 及 P-gp 蛋白表达,这可能会导致肿瘤细胞化疗耐药性产生。

【关键词】 亚高温热疗; 多西紫杉醇; 人乳腺癌细胞株 MCF-7; 丝裂原活化蛋白激酶; 凋亡

Synergistic effects of taxotere combined with mild hyperthermia on human breast carcinoma cell line MCF-7

You Wei*, Yu Yang, Lyu Feng, Liang Dong, Li Zhaoming, Zhang Bin. *Department of Breast Surgery, Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou University, Zhengzhou 450003, China

【Abstract】 Objective To confirm whether taxotere combined with mild hyperthermia will have synergistic effects, and to explore their joint mechanism of action. **Methods** Firstly the effective concentration of taxotere was determined by using MTT method to observe the effect of docetaxel on proliferation of human breast cancer cell line MCF-7. Then three samples of in vitro cultured human breast carcinoma MCF-7 cells were prepared, termed the taxotere group, the taxotere plus mild hyperthermia group and the control group, and treated with effective concentration of taxotere exclusively or in combination with mild hyperthermia, or left without any special treatment. The taxotere plus mild hyperthermia group was subdivided into 5 subgroups according to the temperatures used (39.0℃, 39.5℃, 40.0℃, 40.5℃, 41.0℃) MTT assays were used to measure the proliferation and invasive capacity of the cells and their effective concentrations. Flow cytometry was used to detect cell apoptosis rates and any cell cycle changes in the control group. Western blotting was used to detect any changes in the expression of mitogen-activated protein kinases (MAPKs), Bcl-2/Bax, heat shock protein-70 (HSP-70) and P-gp. **Results** The taxotere with mild hyperthermia group demonstrated a significantly higher rate of apoptosis than that in the taxotere and control groups. There were also more cells in the G₂/M phase observed. Combining taxotere with mild hyperthermia was found after 24 h to have significantly increased p-ERK, p-JNK, p38, HSP-70 and P-gp protein levels and to have significantly decreased Bcl-2 protein expression in contrast with the other two groups. **Conclusions** Combining taxotere with mild hyperthermia showed synergistic effects in vitro. It seemed to be limiting the accumulation of MCF-7 cells in the G₂/M phase and activating the signal pathways of MAPKs while inhibiting the activation of Bcl-2/Bax signal pathways. Combining taxotere and mild hyperthermia can accelerate the expression of HSP70 and P-gp in MCF-7 cells. Hyperthermia might induce chemotherapy resistance.

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2014.08.001

作者单位:450003 郑州,河南省人民医院暨郑州大学人民医院乳腺外科(尤伟、于洋、吕峰、梁栋、张斌);郑州大学附属第一医院肿瘤外科(李兆明)

【Key words】 Mild hyperthermia; Taxotere; Breast carcinoma; MCF-7 cells; Mitogen-activated protein kinases; Apoptosis

乳腺癌是欧美等国家女性最常见的恶性肿瘤之一,在我国约占女性恶性肿瘤的 7% ~ 10%,而且新发病例数量每年以 3% ~ 4% 的速度增加,在京、广、沪等地区乳腺癌已成为对女性身体健康最大的威胁。目前临床针对乳腺癌的治疗手段主要有手术切除和术后化疗、放疗、内分泌治疗及热疗等。相关研究表明,热疗(42 ~ 45 °C)可增强化疗药物的细胞毒性,与化疗联用具有协同抗肿瘤效应;对于低于 41 °C 的亚高温热化疗,临床通常认为其主要是通过调节机体免疫功能而发挥抗肿瘤作用,无法协同化疗药物杀伤肿瘤细胞,但临床上也有报道显示部分肿瘤患者在体温 39 °C 左右化疗时疗效尤为显著^[1]。基于上述背景,本实验主要观察亚高温热疗联合化疗对乳腺癌细胞是否具有协同杀伤作用,同时对其作用机制进行初步探讨。

材料与方法

一、实验材料

人乳腺癌细胞株 MCF-7 细胞购于武汉大学典型培养物保藏中心,多西紫杉醇注射液(20 mg/支)购于江苏恒瑞医药有限公司,高糖 DMEM (Dulbecco's modified eagle medium, DMEM)培养基、胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)均购于美国 Gibco 公司,四甲基偶氮唑盐(MTT)购于美国 Sigma 公司,甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)一抗、兔抗 p-ERK1/2、ERK1/2、p-JNK/SAPK、JNK/SAPK、p-p38 一抗、鼠抗 Bcl-2、Bax 一抗均购于美国 Santa Cruz Biotechnology 公司,ECL 发光试剂为美国 Millipore 公司产品,经异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC)荧光标记的二抗购于美国 DAKO 公司,FACSort 流式细胞仪由美国 Becton Dickson 公司生产。

二、MCF-7 细胞培养

将 MCF-7 细胞培养于含 10% 小牛血清的 DMEM 培养基中,同时将培养基置于 37 °C, 5% CO₂ 恒温孵育箱内,取处于对数生长期的 MCF-7 细胞用于后续实验。

三、多西紫杉醇有效杀伤浓度检测

收集处于对数生长期的 MCF-7 细胞,将其种植于 96 孔板中,每孔 100 μl,每孔约含 5000 个 MCF-7 细胞,将 96 孔板置于含 10% 新生牛血清的 DMEM 培养基(5% CO₂, 37 °C)中培养。待细胞贴壁后继续培养 24 h,然后将多西紫杉醇与含 10% 胎牛血清 DMEM 培养液混匀,参照倍比稀释法原则加入到 96 孔板中,初

筛多西紫杉醇浓度范围为 0.3 ~ 1000 μM;同时设立对照组,只加入含 10% 胎牛血清 DMEM 培养液继续置于 37 °C, 5% CO₂ 饱和湿度培养箱中培养 24 h;然后再加入 20 μl MTT 溶液(5 mg/ml),放回培养箱内继续培养 4 h;吸掉上清液后每孔加入 50 μl 二甲基亚砷,置摇床上低速振荡 20 min,促使结晶物充分溶解,最后采用酶联免疫检测仪测量各孔吸光度 A 值(490 nm)。上述实验步骤均重复操作 3 次。细胞抑制率(%) = (实验组 A 值 - 对照组 A 值) / 对照组 A 值 × 100%,计算多西紫杉醇对 MCF-7 细胞的抑制率,筛选当细胞抑制率为 50% 时所对应的多西紫杉醇浓度(本研究所得结果为 20 μM 并将其作为多西紫杉醇标准浓度用于后续细胞实验)。

四、MCF-7 细胞凋亡率检测

收集处于对数生长期的 MCF-7 细胞,将其分为空白对照组(不给予任何处理)、多西紫杉醇组(给予浓度为 20 μM 多西紫杉醇干预)、热疗 + 多西紫杉醇组(给予热疗及多西紫杉醇干预),热疗 + 多西紫杉醇组又根据热疗温度不同,细分为 39.0 °C、39.5 °C、40.0 °C、40.5 °C、41.0 °C 共 5 个亚组,将其分别置于相应温度的恒温水浴箱内与多西紫杉醇(浓度为 20 μM)共同作用 2 h,继续培养 24 h 后收集细胞。各组细胞用 4 °C 磷酸盐缓冲液(phosphate buffered solution, PBS)清洗 2 次,再制成单细胞悬液;调整细胞浓度为 1 × 10⁶ 个/ml,取 100 μl 细胞悬液加入 5 μl Annexin V/FITC 和 10 μl PI 溶液混匀,室温避光孵育 15 min,再加入 400 μl PBS 液并采用流式细胞仪进行细胞凋亡检测。

五、MCF-7 细胞周期检测

MCF-7 细胞分组及处理同上,待处理完毕后各组细胞置于 37 °C、含 5% CO₂ 的培养箱中继续培养 24 h 后收集细胞,经预冷 PBS 液清洗 1 遍后,再以 80% 乙醇固定,于 -20 °C 环境下放置过夜。取各组固定细胞用 PBS 液冲洗 1 遍,在室温、避光环境下行 PI 染色至少 30 min 后上样,采用 Modfit 3 软件分析各组细胞生长周期情况。

六、MCF-7 细胞热休克因子、多药耐药基因产物 P 糖蛋白、丝裂原活化蛋白激酶及 Bcl-2、Bax 检测

MCF-7 细胞分组及处理同上,待处理完毕后采用蛋白裂解缓冲液(含氯化钠 150 mmol/L、NP-40 1%、去氧胆酸钠 1%、十二烷基磺酸钠 0.1%、正钒酸钠 1 mmol/L、苯甲磺酰氟 1 mmol/L)分别裂解各组细胞得到总蛋白;然后检测总蛋白浓度,以牛血清蛋白(bovine serum albumin, BSA)作为标准品。根据蛋白定量

试剂盒(美国 Bio-Rad 公司)手册绘制蛋白定量标准曲线,采用分光光度计检测 595 nm 处吸光度 A 值,并计算提取液中蛋白浓度。所有蛋白样品调至等浓度后上样,经 10% 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离后转移到 PVDF 膜上,封闭后加入一抗(工作浓度 1:1000),孵育后加入相应辣根过氧化物酶结合的二抗(工作浓度 1:5000)。采用 ECL 化学发光试剂盒检测杂交信号,分别检测样品中热休克蛋白 70(heat shock protein 70, HSP70)、多药耐药基因产物 P 糖蛋白(P glycoprotein, P-gp)、细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)1/2、c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun NH2-terminal kinase, JNK)、p38 及 Bcl-2/Bax 蛋白表达情况。

七、统计学分析

本研所得计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS 13.0 版统计学软件包进行数据分析,组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

结 果

一、多西紫杉醇干预对 MCF-7 细胞的抑制效应观察

本研究结果显示,多西紫杉醇干预能抑制体外培养的 MCF-7 细胞生长,随着多西紫杉醇浓度增高,其对 MCF-7 细胞增殖的抑制作用逐渐增强,呈现剂量依赖效应。经多西紫杉醇作用 24 h 后,发现其对 MCF-7 细胞的半数抑制浓度(inhibitory concentration 50, IC₅₀)为(19.94 ± 1.68) μM,故本研究后续实验选取 20 μM 作为多西紫杉醇标准浓度。多西紫杉醇与 MCF-7 细胞增殖的浓度-抑制率关系详见表 1。

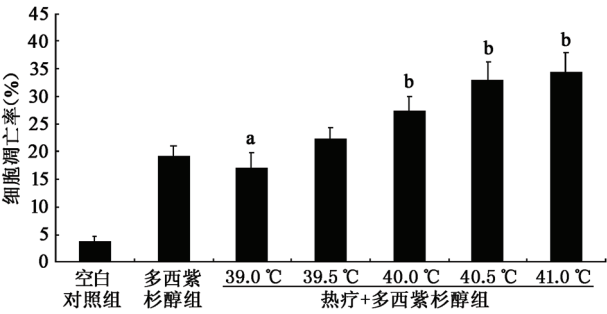
表 1 不同浓度多西紫杉醇对乳腺癌 MCF-7 细胞生长的抑制效应分析(% , $\bar{x} \pm s$)

多西紫杉醇浓度(μM)	N	MCF-7 细胞抑制率(%)
0	5	-
0.49	5	5.19 ± 1.16
0.98	5	10.02 ± 0.49
1.95	5	14.09 ± 1.03
3.90	5	19.21 ± 1.09
7.81	5	26.03 ± 0.86
15.63	5	45.37 ± 1.69
31.25	5	57.33 ± 1.81
62.50	5	69.14 ± 1.69

二、热疗联合多西紫杉醇干预对 MCF-7 细胞凋亡的影响

通过倒置相差显微镜观察发现,MCF-7 凋亡细胞表现为细胞皱缩、变圆,体积变小,细胞轮廓明显,细胞

透亮度降低并逐渐变成棕黑色,部分细胞悬浮于培养液中。热疗联合多西紫杉醇处理可诱导 MCF-7 细胞凋亡增加,随着热疗温度增高,凋亡细胞比例逐渐增加,并以 41.0 ℃ 热疗时的细胞凋亡效果[凋亡率为(37.12 ± 6.73)%]尤为显著,较单独使用多西紫杉醇时的细胞凋亡率[(19.16 ± 3.42)%]显著增加,提示热疗联合多西紫杉醇干预在促进 MCF-7 细胞凋亡方面具有明显协同效应,具体情况见图 1。



注:与空白对照组比较,^a $P < 0.05$;与多西紫杉醇组比较,^b $P < 0.05$

图 1 热疗联合多西紫杉醇干预对人乳腺癌细胞株 MCF-7 细胞凋亡的影响

三、热疗联合多西紫杉醇干预对 MCF-7 细胞生长周期的影响

通过流式细胞仪检测发现,多西紫杉醇干预可使 MCF-7 细胞生长周期停滞在 G₂/M 期,热疗联合多西紫杉醇处理可促使 G₂ 期 MCF-7 细胞数量增加,并且还发现滞留于 G₂ 期的细胞比例随热疗温度上升而增高。进一步比较发现,40.0 ℃、40.5 ℃、41.0 ℃热疗联合多西紫杉醇干预对 MCF-7 细胞周期的阻滞作用明显强于单独使用多西紫杉醇干预,前者 G₂/M 期细胞比例均较后者显著增加,组间差异均具有统计学意义($P < 0.05$),表明热疗对多西紫杉醇具有一定促敏作用。具体数据见表 2。

表 2 热疗联合多西紫杉醇干预对 MCF-7 细胞生长周期的影响(% , $\bar{x} \pm s$)

组别	细胞生长周期		
	G ₀ /G ₁ 期	S 期	G ₂ /M 期
空白对照组	45.57 ± 2.09	45.60 ± 4.71	8.83 ± 2.14
多西紫杉醇组	35.66 ± 4.87	37.71 ± 5.22	26.63 ± 4.08
39.0 ℃ 热疗 + 多西紫杉醇组	37.69 ± 4.51	33.97 ± 4.60	28.34 ± 3.43
39.5 ℃ 热疗 + 多西紫杉醇组	41.99 ± 4.43	28.16 ± 5.05	29.85 ± 4.28
40.0 ℃ 热疗 + 多西紫杉醇组	40.39 ± 5.07	25.86 ± 5.31	33.75 ± 6.69 ^a
40.5 ℃ 热疗 + 多西紫杉醇组	41.03 ± 6.67	22.15 ± 3.37	36.82 ± 5.21 ^a
41.0 ℃ 热疗 + 多西紫杉醇组	39.04 ± 5.53	22.78 ± 4.28	38.18 ± 4.72 ^a

注:与多西紫杉醇组比较,^a $P < 0.05$

四、热疗联合多西紫杉醇干预对 MCF-7 细胞丝裂原活化蛋白激酶表达的影响

通过 Western blotting 检测发现,单独使用多西紫

杉醇能导致 MCF-7 细胞内丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK) p-ERK1/2、JNK、p-p38 蛋白表达增强;经热疗及多西紫杉醇联合干预后,发现 MCF-7 细胞内 p-ERK1/2、p-JNK、p-p38 蛋白表达均进一步增强,其中 p-ERK1/2、p-p38 蛋白表达在热疗温度为 40.0 ℃ 时达到峰值,而 p-JNK 蛋白表达则在热疗温度为 41.0 ℃ 时达到峰值,与其他亚组间差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。具体情况见图 2。

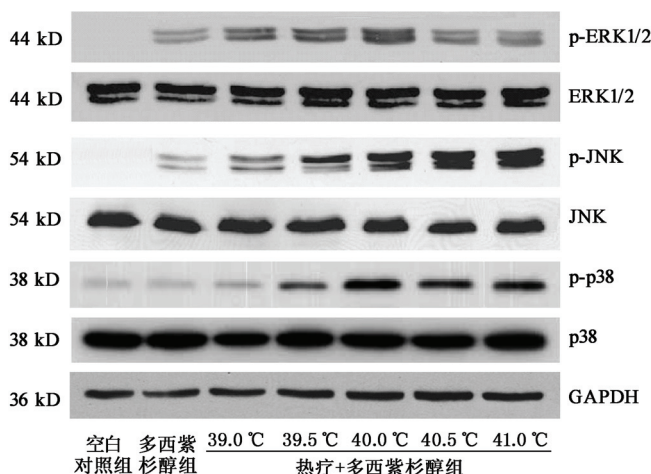


图 2 热疗联合多西紫杉醇干预对 MCF-7 细胞 MAPK 蛋白表达的影响

五、热疗联合多西紫杉醇干预对 MCF-7 细胞凋亡蛋白 Bcl-2 及 Bax 表达的影响

通过 Western blotting 检测发现,多西紫杉醇处理能促使 MCF-7 细胞凋亡蛋白 Bcl-2 表达降低;MCF-7 细胞经热疗及多西紫杉醇联合干预后,发现其细胞内 Bcl-2 表达较多西紫杉醇组进一步降低,组间差异具有统计学意义($P < 0.05$);另外不同热疗温度亚组 Bcl-2 表达组间差异亦具有统计学意义($P < 0.05$)。MCF-7 细胞经热疗及多西紫杉醇联合干预后,发现其 Bax 蛋白表达相对于空白对照组及多西紫杉醇组均有轻度增加,但组间差异均无统计学意义($P > 0.05$);另外不同热疗温度亚组 Bax 蛋白表达组间差异也无统计学意义($P > 0.05$)。具体情况见图 3。

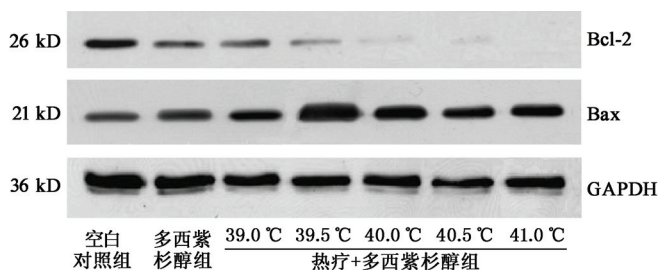


图 3 热疗联合多西紫杉醇干预对 MCF-7 细胞 Bcl-2 及 Bax 蛋白表达的影响

六、热疗联合多西紫杉醇干预对 MCF-7 细胞热休克因子及多药耐药基因(MDR)产物 P 糖蛋白(P-gp)表达的影响

通过 Western blotting 检测发现,多西紫杉醇可促使 MCF-7 细胞热休克蛋白(HSP-70)表达增强;经热疗联合多西紫杉醇干预后,发现 MCF-7 细胞内 HSP-70 表达较空白对照组及多西紫杉醇组明显增强,其组间差异均具有统计学意义($P < 0.05$),同时多药耐药(multidrug resistance, MDR)基因产物 P-gp 蛋白表达也相对于空白对照组及多西紫杉醇组有一定程度增加,组间差异亦具有统计学意义($P < 0.05$)。具体情况见图 4。

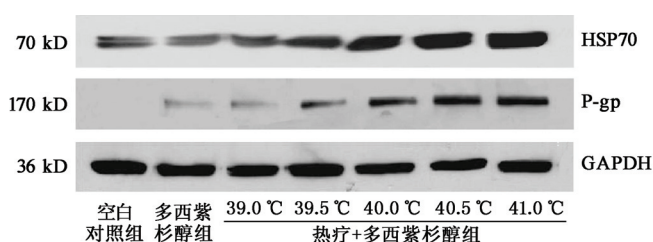


图 4 热疗联合多西紫杉醇干预对 MCF-7 细胞 HSP70、P-gp 蛋白表达的影响

讨 论

乳腺癌是威胁世界女性身体健康的第一大杀手,其发病率呈逐年上升趋势。随着医学研究不断深入,乳腺癌是全身性疾病的理念已被广大学者接受,其治疗重点从局限于乳腺组织逐渐转向全身,手术切除不再是唯一治疗方式,新的辅助治疗、放射治疗、内分泌治疗、分子靶向治疗、热疗等也成为治疗乳腺癌的重要手段。由于热疗具有毒副反应低,且与放疗、化疗联用具有协同作用,已逐渐引起临床高度关注,其治疗机制可能是通过升高局部或全身温度,增强机体免疫力,促敏化疗药物,加速肿瘤细胞凋亡,从而达到肿瘤治疗目的^[2,4]。

国内、外大部分研究认为,热疗发挥抗肿瘤效应的有效温度为 42 ~ 45 ℃^[5-8]。但由于人体温度限制及对治疗设备要求较高,42 ~ 45 ℃ 热疗在实际应用时受到一定限制;同时有临床实验表明,单纯热疗对杀伤肿瘤细胞具有一定局限性,其总体治疗效果不理想^[9],所以采用 39 ~ 41 ℃ 全身热疗与放疗、化疗联用治疗肿瘤患者可能更具有操作性^[10-14]。本研究结果显示,与单独使用多西紫杉醇比较,热疗联合多西紫杉醇干预可诱导人乳腺癌细胞株 MCF-7 细胞凋亡增加,表明热化疗具有协同抗肿瘤效应,而且随着热疗温度升高(至 41 ℃),发生凋亡的肿瘤细胞数量不断增多。另外,本研究还发现与单独使用多西紫

杉醇比较,热疗联合多西紫杉醇干预能促使 MCF-7 细胞处于 G_2/M 期的比例明显增加,表明热疗能协同多西紫杉醇诱导更多肿瘤细胞生长停滞于 G_2/M 期,从而达到抑制肿瘤细胞分裂及增殖目的,这与目前已知研究结果基本一致^[15]。

丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinases, MAPKs)能通过一系列信号转导途径,将细胞外刺激传递至细胞核内,是细胞内最重要的信号通路之一,在肿瘤发生、发展中具有重要作用。近年来相关研究发现,乳腺癌发病机制中也有 MAPK 蛋白参与,如哺乳动物细胞 MAPK 蛋白家族中有多个成员(包括 ERK、p38、JNK 等)均被证实与乳腺癌关系密切^[16]; MAPK 通路激活通常伴随 ERK、JNK 及 p38 通路激活^[17]。本实验发现 MCF-7 细胞经热疗及多西紫杉醇联合干预后,细胞内 p-ERK1/2、p-JNK 及 p-p38 蛋白表达均明显增强,其中 JNK、p38 通路活化介导的生物效应多与细胞凋亡有关^[18-20],这可能也是热疗联合多西紫杉醇促肿瘤细胞凋亡显著强于多西紫杉醇单独作用时的重要原因之一。同时本研究还观察到 p-ERK1/2、p-p38 蛋白表达在热疗温度超过 40.0 °C 时开始逐渐降低,其确切原因不明,可能与加热时间偏短有关。

相关研究表明,Bcl-2 基因在肿瘤细胞中高表达可促进肿瘤发生、发展,而 Bcl-2 基因表达下调或缺失则导致肿瘤生长受到抑制;同时有学者报道 Bcl-2 表达下调能增强 MCF-7 细胞对多西紫杉醇化疗的敏感性,该现象可能与 MCF-7 细胞雌激素受体表达有关^[21-22]。本研究发现 MCF-7 细胞经热疗及多西紫杉醇联合干预后,其 Bcl-2 蛋白表达较空白对照组及多西紫杉醇单独作用时均明显降低,提示热疗 + 多西紫杉醇组 MCF-7 细胞 Bcl-2 通路受到明显抑制,而 Bax 蛋白表达则轻度增高,有助于细胞凋亡、进而抑制肿瘤生长。上述结果提示热疗能显著增强 MCF-7 细胞对多西紫杉醇的敏感性,从而提高化疗疗效。

有文献指出,肿瘤细胞在热休克、缺氧、化疗药物等毒性作用下,其热休克元件(heat shock element, HSE)所介导的热休克蛋白(如 HSP70)表达增加;同时有学者研究发现,肿瘤多药耐药(MDR1)基因启动子上游也包含热休克因子成分^[23-24]。本研究观察到 MCF-7 细胞经热疗及多西紫杉醇联合干预后,其 HSP70 及 P-gp 表达均较单独使用多西紫杉醇时明显增高,提示热疗能促使 MCF-7 细胞 HSP70 表达增强,从而诱导 MDR/P-gp 表达,导致肿瘤细胞化疗耐药性产生。

综上所述,本研究结果表明,亚高温热疗是临床治疗肿瘤的一种重要手段,该疗法在协同化疗药物、提高

药物细胞毒性杀伤力方面具有良好应用前景,但同时热疗可能导致肿瘤细胞对化疗药物耐受也是临床上不能忽视的问题之一,故如何选择合适温度的热疗协同化疗治疗肿瘤患者值得进一步深入探讨。

参 考 文 献

- [1] Yamada Y, Itoh Y, Aoki S, et al. Preliminary results of M-VAC chemotherapy combined with mild hyperthermia, a new therapeutic strategy for advanced or metastatic transitional cell carcinoma of the urothelium [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2009, 64(6): 1079-1083.
- [2] Mohamed F, Marchettini P, Stuart OA, et al. Thermal enhancement of new chemotherapeutic agents at moderate hyperthermia [J]. *Ann Surg Oncol*, 2003, 10(4): 463-468.
- [3] Klostergaard J, Leroux ME, Auzenne E, et al. Hyperthermia engages the intrinsic apoptotic pathway by enhancing upstream caspase activation to overcome apoptotic resistance in MCF-7 breast adenocarcinoma cells [J]. *J Cell Biochem*, 2006, 98(2): 356-369.
- [4] Peer AJ, Grimm MJ, Zynda ER, et al. Diverse immune mechanisms may contribute to the survival benefit seen in cancer patients receiving hyperthermia [J]. *Immunol Res*, 2010, 46(1): 137-154.
- [5] Rong Y, Mack P. Apoptosis induced by hyperthermia in Dunn osteosarcoma cell line in vitro [J]. *Int J Hyperthermia*, 2000, 16(1): 19-27.
- [6] Saga T, Sakahara H, Nakamoto Y, et al. Enhancement of the therapeutic outcome of radio-immunotherapy by combination with whole-body mild hyperthermia [J]. *Eur J Cancer*, 2001, 37(11): 1429-1434.
- [7] Sawaji Y, Sato T, Takeuchi A, et al. Anti-angiogenic action of hyperthermia by suppressing gene expression and production of tumour-derived vascular endothelial growth factor in vivo and in vitro [J]. *Br J Cancer*, 2002, 86(10): 1597-1603.
- [8] Kanaya Y, Doihara H, Shiroma K, et al. Effect of combined therapy with the antiestrogen agent toremifene and local hyperthermia on breast cancer cells implanted in nude mice [J]. *Surg Today*, 2008, 38(10): 911-920.
- [9] Robins HI, Longo W. Whole body hyperthermia: simple complexities [J]. *Intensive Care Med*, 1999, 25(9): 898-900.
- [10] Wendtner C, Abdel-Rahman S, Baumert J, et al. Treatment of primary, recurrent or inadequately resected high-risk soft-tissue sarcomas (STS) of adults: results of a phase II pilot study (RHT-95) of neoadjuvant chemotherapy combined with regional hyperthermia [J]. *Eur J Cancer*, 2001, 37(13): 1609-1616.
- [11] Hildebrandt B, Dräger J, Kerner T, et al. Whole-body hyperthermia in the scope of von Ardenne's systemic cancer multistep therapy (sCMT) combined with chemotherapy in patients with metastatic colorectal cancer: a phase I/II study [J]. *Int J Hyperthermia*, 2004, 20(3): 317-333.
- [12] Jones EL, Oleson JR, Prosnitz LR, et al. Randomized trial of hyperthermia and radiation for superficial tumors [J]. *J Clin Oncol*, 2005, 23(13): 3079-3085.
- [13] Issels RD, Schlemmer M, Lindner LH. The role of hyperthermia in combined treatment in the management of soft tissue sarcoma [J]. *Curr Oncol Rep*, 2006, 8(4): 305-309.
- [14] Takahashi I, Emi Y, Hasuda S, et al. Clinical application of hyperthermia combined with anticancer drugs for the treatment of solid tumors

- [J]. Surgery, 2002, 131 (1): S78-84.
- [15] Lv F, Yu Y, Zhang B, et al. Inhibitory effects of mild hyperthermia plus docetaxel therapy on ER(+/ -) breast cancer cells and action mechanisms[J]. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci, 2013, 33 (6): 870-876.
- [16] Whyte J, Bergin O, Bianchi A, et al. Key signalling nodes in mammary gland development and cancer. Mitogen-activated protein kinase signalling in experimental models of breast cancer progression and in mammary gland development[J]. Breast Cancer Res, 2009, 11 (5): 209.
- [17] Qi M, Elion EA. MAP kinase pathways[J]. J Cell Sci, 2005, 118 (16): 3569-3572.
- [18] Li W, Whaley CD, Mondino A, et al. Blocked signal transduction to the ERK and JNK protein kinases in anergic CD4 + T cells[J]. Science, 1996, 271 (5253): 1272-1276.
- [19] Taro M, Ingela T, Majlis B, et al. p38 MAP kinase negatively regulates endothelial cell survival, proliferation, and differentiation in FGF-2-stimulated angiogenesis[J]. J Cell Biol, 2002, 156 (1): 149-160.
- [20] Ketam S, John F, Brion N, et al. Inhibition of p38 mitogen activated protein kinase increases lipopolysaccharide induced inhibition of apoptosis in neutrophils by activating extracellular signal-regulated kinase[J]. Surgery, 2001, 130 (2): 242-248.
- [21] Bhalla KN. Microtubule-targeted anticancer agents and apoptosis[J]. Oncogene, 2003, 22 (56): 9075-9086.
- [22] Tabuchi Y, Matsuoka J, Gunduz M, et al. Resistance to paclitaxel therapy is related with Bcl-2 expression through an estrogen receptor mediated pathway in breast cancer[J]. Int J Oncol, 2009, 34 (2): 313-319.
- [23] Vilaboa NE, Galan A, Troyano A, et al. Regulation of multidrug resistance 1 (MDR 1)/P-glycoprotein gene expression and activity by heat-shock transcription factor 1 (HSF1) [J]. J Biol Chem, 2000, 275 (32): 24970-24976.
- [24] Kim SH, Yeo GS, Lim YS, et al. Suppression of multidrug resistance via inhibition of heat shock factor by quercetin in MDR cells[J]. Exp Mol Med, 1998, 30 (2): 87-92.

(修回日期:2014-06-20)

(本文编辑:易 浩)

· 特稿 ·

沉痛悼念高良恕主任

王兴林



高良恕主任, 曾任解放军总医院理疗科主任, 主任医师, 硕士研究生导师, 因病医治无效, 于 2014 年 7 月 8 日 10 点 40 分在北京逝世, 享年 87 岁。

高良恕主任是我国德高望重的理疗学与康复医学专家, 他热爱理疗与康复事业, 克己奉公, 不断进取, 全身心投入学科建设, 无私奉献了自己毕生的精力。他于 20 世纪 50 年代创建的解放军总医院理疗科, 是全军乃至全国最早的硕士研究生培养单位之一。他在事业上一丝不苟、勤勤恳恳、精益求精、无私奉献, 在科技上努力拼搏、不断创新。他发明的脉冲式低压紫外线治疗机, 在消炎、骨质疏松、抗佝偻病、止痛、促进伤口愈合等方面具有重要的治疗作用, 该项技术在全国多家医疗单位中得到了广泛应用, 获得了良好的社会及经济效益, 于 1984 年获得国家科技进步三等奖。他热爱医学, 呕心沥血, 曾获总后勤部卫生部科技进步三等奖 3 项, 军队科技发明奖 1

项, 在工作中积极鼓励年轻人开拓进取, 将获得的科技奖励基金全部无私捐献给科室, 为医疗与科研事业的发展奠定了良好的学风, 为广大同行、同事及学生树立了崇高的道德典范。

高良恕主任于 1944 年 1 月入伍, 1945 年 5 月入党, 是一位拥有 70 年党龄的优秀共产党员, 曾被中华人民共和国中央军事委员会授予独立功勋荣誉章。他长期担任解放军总医院理疗科主任, 任劳任怨, 奋力拼搏, 努力创新, 为我国理疗学与康复医学事业的建设与发展做出了卓越贡献。

高良恕主任的离去, 使我们失去了一位深受爱戴的师长, 是我国理疗学与康复医学界的一个重大损失。高良恕主任虽然离开了我们, 但是他为之奋斗终生的事业还在继续, 他的创新思想及精神激励着我们年轻一代茁壮成长。让我们以高良恕主任为榜样, 化悲痛为力量, 努力工作, 不断创新, 为我国理疗学与康复医学事业的发展做出应有的贡献。

高良恕主任永垂不朽!

(收稿日期:2014-07-30)

(本文编辑:凌 琛)