

· 基础研究 ·

旋转磁场对大鼠放射性食管炎的防治作用

吴稚冰 马胜林 吴伟 冯建国 姜志明 楼中平

【摘要】 目的 观察旋转磁场对急性放射性食管炎模型大鼠的防治作用。**方法** 根据随机数字表法将 40 只雌性 Wistar 大鼠随机分为正常对照组(对照组)、辐射组、氨磷汀治疗组(氨磷汀组)、90 min 磁场治疗组(90 min 磁场组)和 120 min 磁场治疗组(120 min 磁场组)五组,每组 8 只。除对照组外,其余 4 组用 6 MV X 线直线加速器对大鼠食管上段 3 cm 单次照射 43 Gy 制作放射性食管炎模型。每组分别于照射后第 7 天和第 14 天两个时间点,各取 4 只大鼠进行活体观察和取材;取腹主动脉血检测血常规和细胞因子水平;取全长食管组织,常规石蜡包埋,切片,经 HE 染色,光镜下观察病理改变。**结果** 辐射组大鼠食管组织于照射后第 7 天出现放射性食管炎改变,食管黏膜上皮坏死脱落,黏膜下层充血、水肿,并伴有大量炎症细胞浸润;照射后第 14 天病理改变与第 7 天相似。氨磷汀组、90 min 磁场组和 120 min 磁场组大鼠食管组织放射性炎症反应较轻,且照射后第 14 天黏膜鳞状上皮有修复倾向,血常规检查发现白细胞和中性粒细胞数明显低于辐射组($P < 0.05$);而 90 min 磁场组和 120 min 磁场组大鼠血清肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1(IL-1)和白细胞介素-6(IL-6)均较辐射组低($P < 0.05$)。**结论** 旋转磁场和氨磷汀对大鼠放射性食管炎均有较好的防治作用,疗效相近;旋转磁场可抑制致炎因子的表达,减轻食管组织的急性放射性炎症反应。

【关键词】 放射性食管炎; 细胞因子; 旋转磁场; 氨磷汀

The effects of a rotating magnetic field in the prevention and treatment of irradiation-induced esophagitis

WU Zhi-bing*, MA Sheng-lin, WU Wei, FENG Jian-guo, JIANG Zhi-ming, LOU Zhong-ping. * Department of Radiation Oncology, The First People's Hospital of Hangzhou, Hangzhou 310006, China

【Abstract】 Objective To observe the effect of a rotating magnetic field in preventing and treating irradiation-induced esophagitis in rats. **Methods** Forty female Wistar rats were randomized into 5 groups: a non-irradiated control group, an irradiation group, an amifostine treatment group (amifostine group), a 90 min magnetic field treatment group (90 min magnetic group) and a 120 min magnetic field treatment group (120 min magnetic group), with 8 rats in each group. The esophaguses of all rats except those in the control group were exposed to a single irradiation with 6 MV X-rays from a linear accelerator at a dosage of 43 Gy. Four rats in each group were randomly chosen to be observed 1 and 2 weeks after the irradiation. Blood cytokines were detected in their arterial blood. Any pathological changes of the esophagus were observed with HE staining under a light microscope at the same time. **Results** Irradiation-induced esophagitis was observed in the irradiation group 7 days after irradiation, with obvious exfoliation and necrosis of the esophageal epithelium mucosae. The submucosa were hyperaemic and dropsical with abundant inflammatory cell infiltration. The pathological changes of the esophagus were similar at 7 and 14 days after irradiation. However, the irradiation-induced esophagitis of rats in the amifostine group, the 90 min magnetic group and the 120 min magnetic group were relatively slighter and the blood leucocytes and neutrophils in those 3 groups were significantly lower than those in the irradiation group, while a tendency toward repair of the mucosa of the esophagus was detected. Serum TNF- α , IL-1 and IL-6 in the 90 min magnetic group and 120 min magnetic group were significantly lower than those in the irradiation group. **Conclusions** Both a rotating magnetic field and amifostine can help prevent and treat irradiation-induced esophagitis. Their therapeutic efficacy is similar. Exposure to a rotating magnetic field could inhibit the expression of inflammatory factors, and thus lessen the inflammatory reaction of acute irradiation-induced esophagitis.

【Key words】 Irradiation-induced esophagitis; Cytokines; Rotating magnetic fields; Amifostine

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2012.02.005

基金项目:浙江省科技厅重点资助项目(2006C23018)

作者单位:310006 杭州,杭州市第一人民医院放疗科(吴稚冰、马胜林);浙江省肿瘤医院病理科(吴伟);浙江省肿瘤医院肿瘤研究所(冯建国、姜志明);杭州康尔医药科技有限公司(楼中平)

放射治疗是胸部肿瘤综合治疗手段之一,而食管常不可避免地放射野累及。食管受到照射后,会出现局部黏膜充血水肿,表现为局部疼痛、吞咽困难,甚至不能进食,严重者出现溃疡、出血,临床上称之为放

射性食管炎。放射性食管损伤程度呈剂量依赖性增高,一般在放疗 1~2 周后出现,并持续到放疗结束后一段时间,不仅给患者造成生理和心理的损害,而且限制了放疗剂量和进程^[1],降低肿瘤治疗疗效。目前临床上主要采用氨磷汀、糖皮质激素和预防性抗生素等药物来防治放射性食管炎,但存在一定不良反应;体外细胞学研究^[2]发现,磁场能够抑制炎症的发生和发展,但通过动物实验来证明磁场具有预防和治疗放射性食管炎的作用尚鲜见报道。本实验主要研究旋转磁场对大鼠放射性食管炎的预防和治疗作用,旨在探讨其可能的作用机制,为进一步开展旋转磁场防治放射性食管炎的临床研究提供依据。

材料与方法

一、实验动物和材料

实验动物:Wistar 雌性大鼠 40 只,体重 180~220 g,由上海实验动物研究中心提供,饲养于 SPF 级大鼠饲养室。

药品:注射用氨磷汀(大连美罗药业有限公司,批号:53090102)。

试剂:大鼠肿瘤坏死因子 α (TNF- α) ELISA 试剂盒,大鼠白细胞介素 1 (IL-1) ELISA 试剂盒,大鼠白细胞介素 6 (IL-6) ELISA 试剂盒,均为博士德公司产品。

仪器:Sysmex SF-3000 型全自动血液分析仪由日本 Sysmex 公司生产。Primus KP-2 型直线加速器由德国西门子 (Siemens) 公司生产。KE2007001 型旋转式磁疗装置由杭州康尔医药科技有限公司生产(国际专利号 PCT/CN2007/000732),装置是由稀土钕铁硼制成的圆柱形磁体,磁极表面磁场强度为 0.6 T,配以调速旋转系统使磁体以 600 r/min 的速度旋转,旋转半径 40 cm,可在磁体上方形成半球形旋转磁场,在磁体上方 20 cm 的半球形区域内磁场强度为 0.4~0.6 T,可将大鼠放入其中进行暴磁。

二、分组及动物模型

在 X 线照射前 1 周将 40 只 Wistar 雌性大鼠根据随机数字表法进行随机分组,分为 5 组:正常对照组(对照组)、辐射组、氨磷汀治疗组(氨磷汀组)、旋转磁场 90 min 治疗组(90 min 磁场组)和旋转磁场 120 min 治疗组(120 min 磁场组)。每组 8 只大鼠。除对照组外,其余 4 组 Wistar 大鼠均进行放射性食管炎造模:将大鼠麻醉后用 6 MV X 线直线加速器进行单次胸部照射 43 Gy,照射范围为食管上段 3 cm,其余部位用铅块屏蔽,照距 100 cm,剂量率 230 cGy/min,每次 19 min,一天内完成。32 只大鼠全部造模成功。

氨磷汀组于照射前 30 min 进行氨磷汀 40 mg/kg 腹腔内注射,只注射一次。旋转磁场组大鼠放置于

KE2007001 型旋转式磁疗装置磁体上方 20 cm 的半球形区域内进行暴磁,磁场强度 0.4~0.6 T,转速 600 r/min,90 min 磁场组在照射后第 1 天开始每天暴磁 90 min,120 min 磁场组每天暴磁 120 min,直至处死。

三、实验标本的收集处理

分别于照射后第 7 天和第 14 天两个时间点,每组各取 4 只大鼠活体取材。腹腔注射 2% 戊巴比妥钠 1.2 ml/kg 体重,将大鼠麻醉后,分别取 2 ml (抗凝) 和 3 ml 腹主动脉血于试管中用于检测血常规和血清中 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 等细胞因子的含量;处死大鼠后取全长食管组织经 10% 甲醛缓冲液固定,常规石蜡包埋,4 μ m 切片,HE 染色进行显微镜观察。

四、统计学分析

使用 SPSS 11.0 统计软件包进行统计分析处理。计量资料数值用 ($\bar{x} \pm s$) 表示,两组间比较用 t 检验,多组间比较用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

结 果

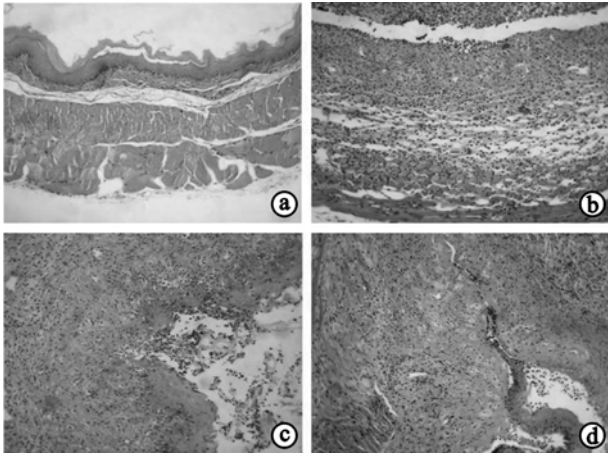
一、大鼠食管组织病理改变

对照组大鼠食管壁组织结构清晰完整,黏膜层、黏膜下层、肌层及外膜层均无病理损伤和炎症细胞浸润。辐射组大鼠照射后第 7 天,肉眼观察照射区黏膜红肿、粗糙,部分可见明显糜烂;显微镜下食管黏膜上皮大范围坏死脱落,黏膜下层充血、水肿,并伴有大量炎症细胞浸润,以中性粒细胞为主,肌层及外膜亦见炎症细胞浸润;照射后第 14 天食管黏膜上皮出现大面积坏死及全层剥脱,黏膜下层充血、水肿明显,炎症细胞浸润与照射后第 7 天相似,且肌层及外膜炎症细胞数目明显增多,损伤严重区域肌层肌纤维变性。90 min 磁场组照射后第 7 天与辐射组相比,黏膜上皮坏死脱落范围小,深度浅,黏膜下层充血、水肿程度较辐射组减轻,黏膜下层、肌层炎症细胞数目减少,并伴有数量不一的嗜酸性粒细胞;照射后第 14 天黏膜鳞状上皮有修复倾向,组织充血、水肿不明显,固有层、黏膜下层及肌层内纤维母细胞增生。120 min 磁场组和氨磷汀组食管组织病理学检查结果与 90 min 磁场组基本相同。照射后各组大鼠食管组织病理变化见图 1。

二、照射后各组大鼠血常规变化

各组大鼠血常规检查白细胞数均高于对照组 ($P < 0.05$),且以中性粒细胞增高为主 ($P < 0.05$);而辐射组白细胞和中性粒细胞数目明显高于各治疗组 ($P < 0.05$);氨磷汀组白细胞和中性粒细胞数目在大鼠照射后第 7 天显著高于 90 min 磁场组和 120 min 磁场组 ($P < 0.05$),但在照射后第 14 天 3 组间差异无统

计学意义($P>0.05$)。90 min 磁场组和 120 min 磁场组间差异无统计学意义($P>0.05$)。详见表 1。



注:a 为对照组第 7 天,示食管组织无明显病理变化;b 为辐射组第 7 天,示食管黏膜上皮坏死脱落,黏膜下层充血水肿,炎症细胞浸润;c 为 90 min 磁场组第 7 天,示食管黏膜上皮坏死脱落,黏膜下层充血水肿及炎症细胞浸润较辐射组减轻;d 为 90 min 磁场组第 14 天,示食管黏膜充血水肿较轻,固有层、黏膜下层及肌层内纤维母细胞增生

图 1 各组大鼠食管组织病理学改变(HE 染色, $\times 100$)

表 1 照射后不同时期大鼠血常规白细胞和中性粒细胞变化 ($\times 10^9/L, \bar{x} \pm s$)

组别	只数	白细胞	中性粒细胞
对照组			
第 7 天	4	2.98 ± 0.44	1.16 ± 0.17
第 14 天	4	3.21 ± 0.55	1.20 ± 0.16
辐射组			
第 7 天	4	7.49 ± 0.62^a	5.05 ± 0.52^a
第 14 天	4	12.61 ± 1.61^a	10.50 ± 1.41^a
氨磷汀组			
第 7 天	4	6.11 ± 0.39^{ab}	4.19 ± 0.59^{ab}
第 14 天	4	5.83 ± 0.45^{ab}	3.35 ± 0.30^{ab}
90 min 磁场组			
第 7 天	4	5.37 ± 0.57^{abc}	3.15 ± 0.44^{abc}
第 14 天	4	5.83 ± 0.61^{ab}	2.91 ± 0.34^{ab}
120 min 磁场组			
第 7 天	4	5.00 ± 0.40^{abc}	3.09 ± 0.35^{abc}
第 14 天	4	6.17 ± 0.68^{ab}	3.37 ± 0.77^{ab}

注:与对照组同时时间点比较,^a $P<0.05$;与辐射组同时时间点比较,^b $P<0.05$;与氨磷汀组同时时间点比较,^c $P<0.05$

三、照射后各组大鼠血清细胞因子变化
照射后第 7 天各组大鼠血清 TNF- α 浓度均高于对照组($P<0.05$),辐射组 TNF- α 浓度显著高于氨磷汀组、90 min 磁场组和 120 min 磁场组($P<0.05$),而 3 个治疗组之间差异无统计学意义($P>0.05$);照射后第 14 天仅辐射组 TNF- α 浓度高于对照组($P<0.05$),90 min 磁场组和 120 min 磁场组大鼠血清 TNF- α 浓度明显低于辐射组($P<0.05$),3 个治疗组之间差异无统

计学意义($P>0.05$)。

各组大鼠血清 IL-1 浓度在照射后第 7 天均显著高于对照组($P<0.05$),氨磷汀组、90 min 磁场组和 120 min 磁场组 IL-1 浓度间差异无统计学意义($P>0.05$),但均低于辐射组($P<0.05$);在照射后第 14 天时,仅辐射组和氨磷汀组血清 IL-1 浓度高于对照组($P<0.05$),90 min 磁场组和 120 min 磁场组与对照组间差异无统计学意义($P>0.05$),且较辐射组和氨磷汀组均低,差异有统计学意义($P<0.05$),而 90 min 磁场组和 120 min 磁场组间差异无统计学意义($P>0.05$)。

辐射组和氨磷汀组照射后第 7 天大鼠血清 IL-6 浓度高于对照组($P<0.05$),90 min 磁场组和 120 min 磁场组与对照组之间差异无统计学意义($P>0.05$),而辐射组血清 IL-6 浓度高于氨磷汀组、90 min 磁场组和 120 min 磁场组($P<0.05$),同时氨磷汀组 IL-6 浓度亦高于 90 min 磁场组和 120 min 磁场组($P<0.05$);在照射后第 14 天,仅辐射组大鼠血清 IL-6 浓度高于对照组($P<0.05$),其余 3 组与对照组间差异无统计学意义($P>0.05$),但比辐射组显著降低($P<0.05$),3 个治疗组之间差异无统计学意义($P>0.05$)。详见表 2。

表 2 照射后不同时期大鼠血清 TNF-a、IL-1、IL-6 的浓度 (pg/ml, ($\bar{x} \pm s$))

组别	只数	TNF-a	IL-1	IL-6
对照组				
第 7 天	4	60.07 ± 8.42	37.62 ± 7.13	46.22 ± 5.31
第 14 天	4	59.69 ± 3.39	35.65 ± 9.42	46.49 ± 7.04
辐射组				
第 7 天	4	88.32 ± 9.21^a	101.36 ± 6.81^a	82.92 ± 4.87^a
第 14 天	4	69.18 ± 7.43^a	74.29 ± 13.35^a	72.44 ± 10.99^a
氨磷汀组				
第 7 天	4	76.47 ± 7.84^{ab}	90.96 ± 6.75^{ab}	66.08 ± 5.73^{ab}
第 14 天	4	61.64 ± 5.54	51.43 ± 3.84^{ab}	48.36 ± 8.02^b
90 min 磁场组				
第 7 天	4	73.71 ± 7.28^{ab}	89.16 ± 4.60^{ab}	54.03 ± 9.91^{bc}
第 14 天	4	59.69 ± 7.33^b	34.79 ± 4.76^{bc}	50.82 ± 9.33^b
120 min 磁场组				
第 7 天	4	75.26 ± 5.02^{ab}	91.68 ± 6.15^{ab}	55.72 ± 5.35^{bc}
第 14 天	4	60.24 ± 4.07^b	32.93 ± 7.51^{bc}	49.93 ± 8.87^b

注:与对照组同时时间点比较,^a $P<0.05$;与辐射组同时时间点比较,^b $P<0.05$;与氨磷汀组同时时间点比较,^c $P<0.05$

讨 论

胸部肿瘤患者接受放射治疗时产生的放射性食管炎会严重影响患者的进食,导致营养物质摄入不足,不仅降低患者的生活质量,而且影响治疗计划的实施。现代医学认为,电离辐射产生的大量自由基,可攻击细

胞的生物大分子,导致食管黏膜上皮细胞及血管内皮细胞损伤^[3]。内皮细胞受损后,造成巨噬细胞、中性粒细胞和血小板在血管壁的黏附、聚集,并释放多种致炎因子,其中 IL-1、IL-6 和 TNF- α 较为重要,共同参与黏膜急性放射性炎症反应的发生和发展^[4]。造成食管黏膜充血、水肿、糜烂,严重者可形成溃疡。磁场作为环境因子,其对生物体作用是多途径、多方位的综合效应^[5]。一般认为在旋转磁场作用下,组织细胞内部磁通量发生改变,产生感应电流,使细胞内分子与电子之间作用与传递发生改变,产生相应的生理变化^[6]。季百苗等^[7]研究发现旋转磁场(转速 600 r/min,磁场强度 0.6 T)对放射损伤小鼠骨髓造血功能具有明显的保护作用,能促进放射损伤后造血细胞和造血微环境的修复。

本研究观察发现,辐射组大鼠食管组织损伤重,黏膜上皮坏死脱落范围大,充血、水肿显著并伴有大量炎症细胞浸润,与文献报道一致^[8],血清 TNF- α 、IL-1 和 IL-6 浓度明显高于对照组,说明放射性食管炎动物模型的建立是成功的。氨磷汀是人工合成的有机硫化磷酸化合物,是目前较为认可的、能减轻胸部放疗患者放射性食管炎的药物^[9]。本实验采用氨磷汀作为标准对照进行研究,实验结果显示,氨磷汀组和旋转磁场组大鼠食管黏膜充血、水肿和炎症细胞浸润较单纯照射组明显减轻,黏膜上皮损伤较少,照射后第 14 天可见黏膜上皮有修复趋势;氨磷汀组、90 min 磁场组和 120 min 磁场组三治疗组之间大鼠食管组织病理改变相似,但旋转磁场组在大鼠照射后第 7 天时降低外周血白细胞和中性粒细胞的作用比氨磷汀组更为明显。TNF- α 主要由单核巨噬细胞和淋巴细胞产生,是体内细胞因子调节启动因子,它可改变血管内皮细胞的通透性,增加血管渗出,刺激中性粒细胞等炎症细胞的趋化反应。IL-1 由单核细胞合成和分泌,可作用于淋巴细胞、巨噬细胞和其它炎性细胞,促进炎症反应。IL-6 主要由血管内皮细胞、成纤维细胞和单核巨噬细胞等产生,其本身有强烈的致炎活性,同时可促进 B 细胞增殖分化,增强 NK 细胞及 CTL 细胞活性。本实验发现,旋转磁场和氨磷汀均能下调模型大鼠血清 TNF- α 、IL-1、IL-6 表达水平;旋转磁场和氨磷汀对血清 TNF- α 下调作用差异无统计学意义,但在照射后第 7 天旋转磁场组降低 IL-6 水平较氨磷汀组更为明显,照射后第 14 天其降低 IL-1 的作用比氨磷汀组显著($P < 0.05$)。由以上结果可以看出,旋转磁场和氨磷汀对大鼠放射性食管炎有较好的防治作用,疗效相近,但在作用机制

上可能存在差异。

氨磷汀进入机体后,被细胞膜上的碱性磷酸酶水解,其代谢产物 WR-1065 所含巯基具有清除组织中自由基的作用,减少活性自由基对黏膜上皮细胞和血管内皮细胞的损伤^[10],从而降低炎症反应;而旋转磁场抑制致炎细胞因子表达的机制尚不清楚,可能是通过产生感应电流影响带电物质的迁移,从而对细胞间信号传递物质产生影响^[11],抑制单核巨噬细胞、淋巴细胞等效应细胞的功能,下调 TNF- α 、IL-1、IL-6 表达,在致炎细胞因子级联反应的控制上产生积极的效应。旋转磁场对细胞间信号传导、免疫细胞功能及炎症因子基因转录和表达的影响有待深入研究。另外,本实验中 90 min 磁场组和 120 min 磁场组对大鼠放射性食管炎的作用差异无统计学意义,推测磁场强度和磁体转速是影响放射性食管炎的重要物理参数,因此有必要进一步研究和分析不同磁场强度、转速和作用时间对放射性食管炎的防治作用。

参 考 文 献

- [1] Türkölmez S, Atasever T, Akmansu M. Effects of radiation therapy on esophageal transit in patients with inner quadrant breast tumor. *Nucl Med Commun*, 2005, 26: 721-726.
- [2] 李飞,徐可为,王海昌,等. 恒磁场对脂多糖诱导内皮细胞与中性粒细胞黏附及细胞间黏附分子表达影响的研究. *解放军医学杂志*, 2006, 31: 250-251.
- [3] Djordjević VB. Free radicals in cell biology. *Int Rev Cytol*, 2004, 237: 57-89.
- [4] 刘月辉,刘建宇. 不同剂量辐射对豚鼠鼻黏膜结构的损伤及血清 IL-1、IL-6、TNF- α 含量变化. *中国辐射卫生*, 2008, 17: 274-277.
- [5] 张小云,罗振国,何晓阳,等. 从分子水平探索旋转恒定磁场对机体作用之机理. *中国科学(C 辑)*, 2001, 31: 275-282.
- [6] 吴稚冰,孔祥鸣,马胜林. 磁场在肿瘤治疗中的研究进展. *中华物理医学与康复杂志*, 2006, 28: 140-142.
- [7] 季百苗,宋国丽,张小云. 旋转磁场对放射损伤小鼠造血保护作用的研究. *中华物理医学与康复杂志*, 2006, 28: 446-449.
- [8] 沈莉,单保恩,张莉,等. 放射性食管炎动物模型的构建. *中华肿瘤防治杂志*, 2007, 14: 13-16.
- [9] Sasse AD, Clark LG, Sasse EC, et al. Amifostine reduces side effects and improves complete response rate during radiotherapy: results of a meta-analysis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2006, 64: 784-791.
- [10] 吴稚冰,马胜林. 细胞保护剂 Amifostine 的临床研究. *实用肿瘤杂志*, 2003, 18: 339-341.
- [11] 韩丽莎,王芳,韩利,等. 磁场对小鼠一氧化氮生成及生长发育的影响. *中华物理医学与康复杂志*, 2001, 23: 35-37.

(修回日期:2012-01-05)

(本文编辑:汪 玲)