

磁感应热疗联合艾迪对 Daudi 细胞作用的研究

路晓光¹, 张晗², 赵小红², 谢青¹, 毛昀¹, 唐劲天², 李利亚¹

1. 北京中医药大学中日友好医院中西医结合肿瘤科, 北京 100029
2. 清华大学工程物理系, 北京 100084

摘要 为研究磁感应热疗联合艾迪注射液对人淋巴瘤 Daudi 细胞的作用, 首先进行磁性介质对 Daudi 细胞生物相容性的研究以及磁性介质升温性能的检测, 运用 CCK-8 法测出不同艾迪药物质量浓度对细胞增殖率的影响选出本实验工作浓度, 将对数生长期的人淋巴瘤细胞 Daudi 分别暴露于磁场、艾迪注射液、磁场与艾迪联合作用下, 采用流式细胞技术分析各组实验作用下对细胞凋亡、细胞周期的影响。结果表明: 本实验选用的不锈钢空心球具有良好的发热效率以及细胞相容性; 本研究选用 75 mg/mL 作为工作浓度; 磁感应热疗作用 Daudi 细胞后, 细胞存活率为 (78.48±0.95)%, 联合艾迪注射液治疗后, 细胞存活率为 (9.25±2.05)% ($P<0.01$); 磁感应热疗联合艾迪注射液能够增加细胞凋亡率, 而对细胞周期改变不明显。由此可知, 磁感应热疗磁性介质应用于淋巴瘤治疗在细胞水平是可行的; 磁感应热疗单独使用可以诱导 Daudi 细胞凋亡, 艾迪注射液与其联合应用时能表现出协同抗淋巴瘤细胞作用。

关键词 磁感应热疗; 艾迪注射液; 人淋巴瘤 Daudi 细胞; CCK-8; 流式细胞术; 凋亡; 细胞周期

恶性淋巴瘤是一组原发于淋巴结或者其他淋巴组织的恶性肿瘤。近年恶性淋巴瘤的发病率呈逐渐上升趋势, 应用传统的放疗、化疗、手术方法对恶性淋巴瘤进行治疗效果有限, 恶性淋巴瘤对化疗药物和生物靶向制剂的耐药性是造成死亡率增加的原因之一, 寻找新疗方法具有重大现实意义。

磁感应热疗技术是近年来发展的一种新型加温治疗恶性肿瘤的方法, 其原理是利用金属磁性物质感应交变磁场而升温的物理特性, 将其作为热介质引入到肿瘤组织, 在外加交变磁场的作用下升温并将热量传递给周围的肿瘤组织, 在不损伤正常细胞的情况下杀死肿瘤细胞^[1]。前期已有研究筛选了微米和纳米多种介质^[2], 确立了介质与蛋白质结合技术, 研制了交变磁场发生设备, 并且通过对脑胶质瘤^[3]、肝癌、乳腺癌等细胞和动物实验, 证明了其安全性和有效性, 并已经将磁感应热疗技术推向了临床试验^[4-5]。

艾迪注射液是从人参、黄芪、刺五加和斑蝥等传统中药中, 应用现代科学方法提纯精制而成的纯中药复方制剂, 是一种国家已批准的既调节增强免疫功能又抗肿瘤的中药。已有研究证明艾迪注射液联合热疗能够有效诱导肿瘤细胞凋亡^[6], 并且能提高晚期癌症患者的生存质量, 提高生存

率^[7]。但目前尚没有热疗联合艾迪治疗血液肿瘤的研究, 因此, 本研究结合磁感应热疗和药物治疗两种手段, 研究磁感应热疗联合艾迪注射液作用于人淋巴瘤 Daudi 细胞的细胞毒性及其协同作用, 并初步探讨其作用机制。本研究可为磁感应热疗应用于恶性淋巴瘤治疗提供可行性参考依据。

1 材料与方法

1.1 细胞和主要试剂

人淋巴瘤 Daudi 细胞株, 由北京中国医学科学院基础医学研究所提供; 艾迪注射液, 国药准字 Z52020236, 购自贵州益佰药业股份有限公司; CCK8 试剂盒购自日本同仁化学研究所; R/MINI-1640 培养基购自美国 Gibco 公司; 胎牛血清 (FBS) 购自美国 Hyclone 公司; Annexin V-FITC/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒和细胞 DNA 含量 (细胞周期) 即时检测试剂盒均购自南京凯基生物科技发展有限公司。

1.2 仪器设备

磁感应热疗仪购自深圳市双平电源设备有限公司; Flutemp Control FOT-301 光纤测温装置购自西安和其光电科技有限公司; 多功能读数仪-酶标仪购自美国 Thermo Scientif-

收稿日期: 2017-04-28; 修回日期: 2017-09-18

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81570188, 81470308)

作者简介: 路晓光, 硕士研究生, 研究方向为磁感应联合药物治疗恶性肿瘤, 电子信箱: 447565772@qq.com; 李利亚 (通信作者), 教授, 研究方向为肿瘤内科学, 电子信箱: li.liya2007@163.com

引用格式: 路晓光, 张晗, 赵小红, 等. 磁感应热疗联合艾迪对 Daudi 细胞作用的研究[J]. 科技导报, 2017, 35(23): 52-57; doi: 10.3981/j.issn.1000-7857.2017.23.008

ic公司;BD FACSCalibur型流式细胞分析仪购自美国BD公司。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养

将人淋巴瘤 Daudi 细胞在含有 10%胎牛血清、青霉素(100 U/mL)、链霉素(100 mg/L)的 R/MINI-1640 培养基中悬浮生长,置于 37℃、5%CO₂的恒温培养箱中培养。每 1~2 天更换新鲜培养基,当细胞融合度达到 80%左右时进行传代。

1.3.2 生物相容性实验

1.3.2.1 空心球及浸提液的准备

分别称取适量的空心不锈钢球粉末放于 15 mL 离心管中,用超纯水清洗 3 遍,然后用分析级无水乙醇配制而成的 75%酒精溶液清洗 3 遍后,将离心管置于超净台中,紫外照射杀菌消毒 30 min,然后用 75%乙醇溶液浸泡过夜,第 2 天去除浸泡球的酒精,用无菌的 PBS 清洗 3 遍,一部分备用。另一部分加入相应比例的含 10%胎牛血清的 1640 培养基,使其质量浓度达到 25、50、75、100 mg/mL,用封口膜封口,将离心管置于 37℃恒温培养箱中浸提 24 h。

1.3.2.2 细胞相容性的检测

800 r/min 转速下离心 5 min,收集生长至对数生长期 Daudi 细胞,加入 1640 培养基吹打混匀使细胞重悬,进行细胞计数,调整细胞悬液的浓度为 5×10^4 个/mL,每孔 200 μ L 将细胞悬液接种于 96 孔板中,将 96 孔板放入恒温培养箱中,37℃、5%的 CO₂ 培养 24 h。离心弃去 96 孔板内的旧的培养基,4 组实验组的细胞每孔加入 200 μ L 相对应质量浓度的浸提液,而对照组 CO₂ 细胞每孔加入 200 μ L 新鲜的 1640 培养基,放入恒温培养箱中,37℃、5%的分别培养 24、48、72 h。细胞增殖率使用 CCK-8 法进行,连续检测 3 天。在 96 孔板的每孔加入 20 μ L CCK-8 工作液,在 37℃、5%CO₂ 的培养箱中避光孵育 2 h,在波长 450 nm 下使用酶标仪检测待测样品的吸光度值(OD 值),计算不同浓度空心球浸提液对细胞相对增殖率的影响。细胞相对增殖率=(实验组平均 OD 值/对照组平均 OD 值)×100%,细胞毒性分级如表 1 所示。

表 1 相对增殖率与毒性分级转换表

Table 1 Relative growth rate and toxicity grade conversion table

相对增殖率%	毒性分级	评价结果
≥100	0级	无细胞毒性
75~99	1级	无细胞毒性
50~74	2级	轻度细胞毒性
25~49	3级	中度细胞毒性
1~24	4级	中度细胞毒性
0	5级	重度细胞毒性

1.3.3 磁性介质升温性能的检测

用电子天平精密称量 50、60、70 mg 空心不锈钢球分别置于 25 mL EP 培养瓶中,加入 5 mL 含 10%胎牛血清的 1640 培

养基,在瓶盖处打小孔,插入测量温度的测温光纤,测温光线的头部探测器要插入空心不锈钢球的中心位置,将培养瓶置于 300 kHz,40 Gs 的交变磁场下,用测温软件记录下培养基温度随加热时间的变化,并做升温曲线图。

1.3.4 不同浓度的艾迪注射液抑制 Daudi 细胞的生长情况

本实验设实验组和对照组,实验组为 6.25、12.50、25.00、50.00、100.00 mg/mL 的艾迪注射液,对照组为未加药物即 0 mg/mL 的培养基,每一个药物质量浓度组设置 5 个复孔。取对数生长期的 Daudi 细胞,调整细胞浓度至 1.5×10^4 个/ μ m,每孔 100 μ L,接种于 96 孔板中,37℃、5% CO₂ 的培养箱中避光培养 24 h 后,换上含有上述艾迪注射液的药物培养基避光培养。培养 24 h 后,采用 CCK-8 法测定各组的 OD 值(方法同“1.3.2”),计算各组细胞相对增殖率。

1.3.5 流式细胞术检测 Daudi 细胞凋亡

将人淋巴瘤细胞 Daudi 分成 7 组:双阴对照组、单阳对照组(2 组),双阳对照组,磁感应组、艾迪组、磁感应与艾迪联合组。使用冰冻离心机(4℃,2000 r/min)离心 5 min 收集细胞沉淀。用预冷的无菌 PBS 溶液清洗细胞 2 遍,每次用冰冻离心机(2000 r/min,4℃)离心 5 min 收集细胞,确保最终收集细胞数目达到 $1 \times 10^5 \sim 5 \times 10^5$ 个。加入 500 μ L 的 Binding Buffer 悬浮细胞,吹打混匀使细胞重悬。分别加入 5 μ L Annexin V-FITC 染液和 5 μ L PI 染液,轻轻摇晃混匀。避光条件下、室温孵育 5~15 min,在 1 h 用流式细胞仪进行检测。

1.3.6 细胞周期检测

将人淋巴瘤细胞 Daudi 分成 4 组:对照组,磁感应组、艾迪组、磁感应与艾迪联合组,800 r/min 转速下离心 5 min,收集细胞。小心的吸除上清液,尽量避免细胞被吸走。加入预冷的 PBS 溶液清洗细胞 2 次(转速 2000 r/min,离心 5 min),轻轻弹击离心管的底部使细胞尽量分散,避免细胞抱团。加入 500 μ L 预冷的 70%酒精溶液,轻轻快速吹打细胞使其混匀,在 4℃冰箱固定过夜。800 r/min 转速下离心 5 min,使细胞沉淀,加入预冷的 PBS 溶液清洗细胞 2 次。加 100 μ L RNaseA37℃水浴 30 min,再加入 400 μ L PI 染色液,轻轻地吹打混匀使细胞重悬,在 4℃的培养箱中避光孵育 30 min,用流式细胞仪进行检测。

1.3.7 统计学分析

采用 SPSS22.0 软件进行数据统计,数据用“均数±标准差”表示,组间比较用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义, $P < 0.01$ 为极显著性差异;相容性以及增殖率实验图表使用 GraphPad Prism 软件分析作图。

2 结果与分析

2.1 生物相容性的检测

Daudi 细胞分别与 0、25、50、75、100 mg/mL 4 种质量浓度的不锈钢空心球培养基浸提液共孵育 24、48、72 h,CCK-8 法检测细胞的增殖率。结果如图 1、表 2 所示,随着浸提液浓度的增加以及共孵育时间的增长,细胞的相对增殖率会有所下

降,但是均在 75%以上,各组磁性介质均表现为 0 级或 1 级细胞毒性,按照细胞体外毒性检测的国家标准,可以判定不锈钢空心球的毒性较小,细胞相容性良好。

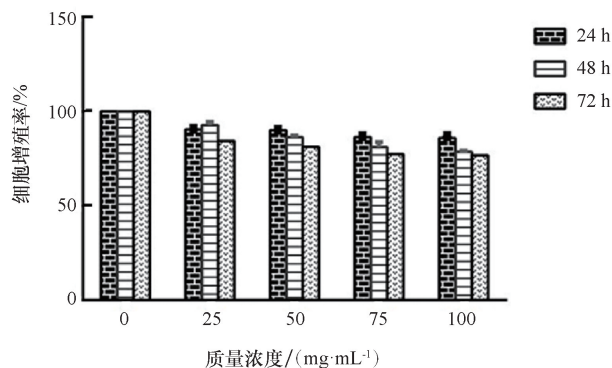


图 1 不同质量浓度空心球浸提液细胞毒性
Fig. 1 Cytotoxicities of hollow sphere extraction at different concentrations

表 2 不同质量浓度空心球浸提液细胞毒性
Table 2 Cytotoxicities of hollow sphere extraction at different concentrations

质量浓度/ (mg·mL ⁻¹)	细胞增殖率/%		
	24 h	48 h	72 h
0	100	100	100
25	90.58±0.31	92.85±1.57	84.39±0.38
50	90.12±0.21	86.42±0.85	81.27±0.27
75	86.45±0.43	80.74±2.70	77.41±0.18
100	85.94±1.16	78.63±0.58	76.80±0.78

2.2 磁性介质升温性能的检测

50、60、70 mg 的不锈钢空心球在 300 kHz、40 Gs 的磁场下的升温曲线如图 2 所示,50 mg 的空心球在 5 mL 培养基中升温可达到 40℃,60 mg 的空心球升温可达到 43℃,70 mg 的空心球升温可达到 45℃,并且随着空心球浓度的升高,温度也相应的增高。研究表明 43℃ 是人体能够耐受且能对肿瘤组织产生热杀伤作用的温度,因此选取 60 mg 空心不锈钢球作为本实验的磁性介质。

2.3 不同浓度的艾迪注射液抑制 Daudi 细胞的生长情况

利用 CCK-8 测细胞相对增殖率的结果显示:以对照组不加入艾迪注射液组的细胞增殖率为 100%,当艾迪注射液的质量浓度为 6.25、12.50、25.00、50.00、100 mg/mL 时,Daudi 细胞的增值率分别为 (97.65±2.03)%、(95.71±2.62)%、(84.43±1.51)%、(81.38±0.43)%、(88.81±0.72)%。即一定浓度范围内,艾迪注射液在体外对 Daudi 细胞表现出较弱的增殖抑制作用,本研究选用 75 mg/mL 作为工作浓度(图 3)。

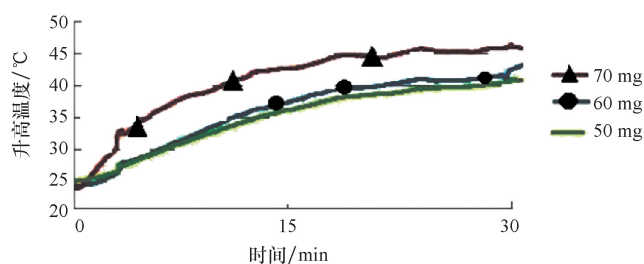


图 2 不同浓度空心球升温曲线图
Fig. 2 Temperature curves of hollow balls with different concentrations

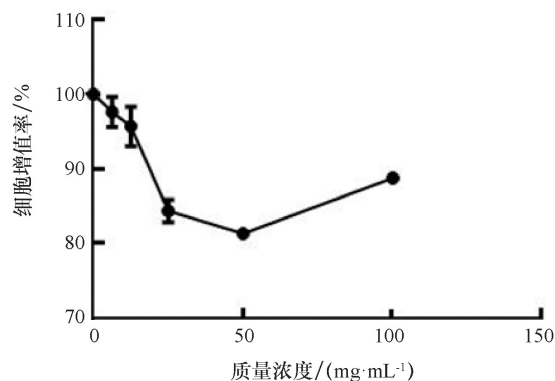


图 3 不同浓度艾迪对 Daudi 细胞增殖的影响
Fig. 3 Effects of different concentrations of Aidi on proliferation of Daudi cells

2.4 对 Daudi 细胞凋亡的影响

采用流式细胞仪用 AnnexinV-FITC/PI 法检测细胞的凋亡率,结果如图 4 所示,图 4 中左下方象限所圈为正常 Daudi 细胞,左上方象限所圈为细胞碎片,右上方象限所圈为早期凋亡的细胞,右下方象限所圈为晚期凋亡以及坏死的细胞,早期凋亡细胞和晚期凋亡细胞加一起是总的凋亡率。结果可以看出,单独磁感应刺激及艾迪注射液刺激均能促进 Daudi 细胞凋亡,与对照组相比有显著性差异;在磁感应热疗联合艾迪注射液作用后,人淋巴瘤 Daudi 细胞凋亡率明显增加,与其他 3 组相比有显著性差异,说明磁感应热疗能协同增敏艾迪注射液诱导 Daudi 细胞凋亡的作用(图 4、表 3)。

2.5 对 Daudi 细胞周期的影响

流式细胞仪分析结果显示,相对于对照组,磁感应治疗组 G₀/G₁ 期、G₂/M 期细胞增多,S 期细胞减少,说明磁感应热疗能改变 Daudi 细胞的周期,将 Daudi 细胞阻滞于 G₀/G₁ 期、G₂/M 期;艾迪治疗组 G₀/G₁ 期细胞明显减少,S 期细胞增多,说明艾迪注射液能够改变 Daudi 细胞的周期,将其阻断在 S 期;而联合组 G₀/G₁ 期细胞所占百分比减少,S 期和 G₂/M 期细胞所占百分比比较对照组没有差异,说明磁感应热疗联合艾迪注射液改变 Daudi 细胞周期的效果并没有磁感应热疗和艾迪单独作用明显(图 5、表 4)。

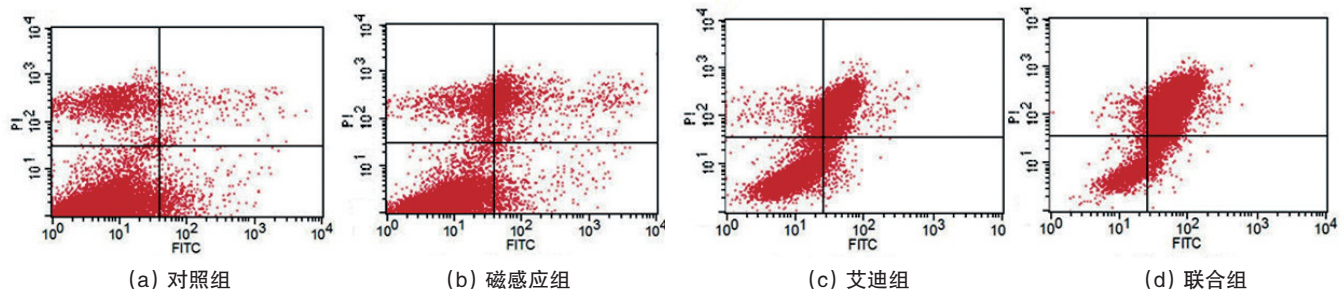


图4 磁感应热疗联合艾迪对Daudi细胞凋亡的影响

Fig. 4 Effects of magnetic-mediated hyperthermia combined with Addie on apoptosis of Daudi cells

表3 细胞凋亡率的检测
Table 3 Detection of apoptosis rate

组别	细胞所占比例(%)				
	活细胞	细胞碎片	早调细胞	晚调细胞	早调+晚调
正常组	85.60±1.47	8.47±0.89	3.39±0.17	1.57±0.36**	4.95±0.53***##
磁感应	78.48±0.95**	8.97±1.53	2.30±1.06	10.99±1.73**	13.29±1.07***##
艾迪组	53.76±1.85**	6.43±1.07	3.70±0.80	35.77±2.00**	39.50±2.80***##
联合组	9.25±2.05**	3.25±1.24**	6.80±2.00*	80.70±1.75**	87.40±3.17**

注:与正常组相比* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;最右列与联合组相比## $P < 0.01$ 。

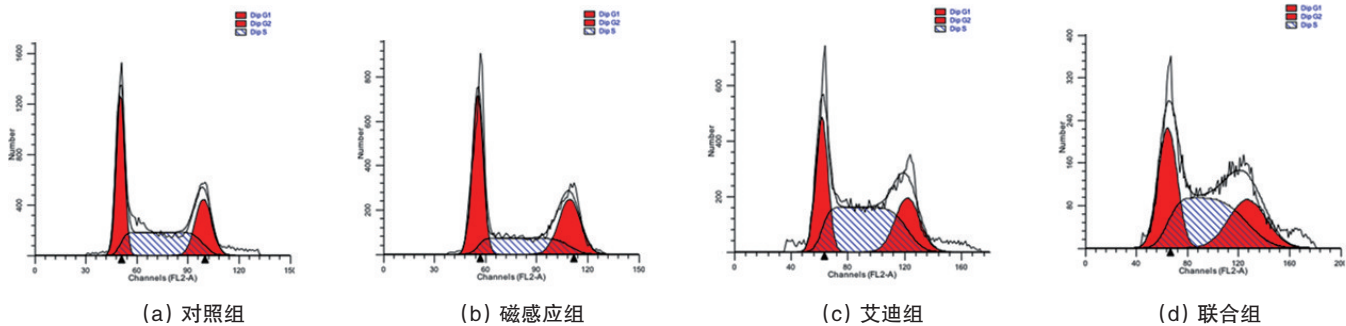


图5 细胞周期中各期细胞所占比例

Fig. 5 Cell cycle detection

表4 细胞周期中各期细胞所占比例
Table 4 Cell cycle detection

组别	细胞周期分布/%		
	G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M
对照组	36.43±1.41	40.17±2.02	23.40±1.22
磁感应热疗组	41.76±3.53*	30.03±7.81*	28.58±3.69*
艾迪组	27.00±1.82**	49.85±2.57*	23.00±1.73
联合组	31.41±0.70*	44.63±1.20	24.65±1.52

注:与对照组相比* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

3 讨论

随着生物医学技术的发展,恶性淋巴瘤患者的长期存活

率有所提高,但仍有近 1/3 的患者产生耐药、复发、转移的现象,成为恶性淋巴瘤患者死亡的主要原因,因此寻找新的治疗手段具有重大现实意义。热疗已经被广泛应用于肿瘤治疗领域,正常组织因为有良好的血运,在 40~42°C 时不会受到损伤,而肿瘤组织血管排列杂乱,散热不良,致使肿瘤局部温度达到 43~45°C 会受到损伤,短时间内死亡。细胞分裂周期中处于 S 期的细胞和肿瘤中心部位的那些因缺血缺氧、营养状态差的细胞常常成为化疗后复发的根源,而这些细胞对高热敏感;高热还能对肿瘤细胞 DNA、RNA 和蛋白质的合成产生抑制作用,因此高热能够抑制肿瘤细胞的增值和转移。多项研究表明高热能使细胞膜的流动性和通透性增强,便于化疗药物进入癌细胞内,增强了癌细胞对化疗药物的敏感性。此外高热还能刺激机体的免疫系统,提高免疫能力的同时起到抑制肿瘤扩散的效果^[8]。被誉为“靶向热疗技术”的磁感应

热疗技术是近年来发展的一种新型加温治疗恶性肿瘤的方法,是将磁性介质适形精确分布于肿瘤组织中,以此介质为基体耦联特异性靶向抗体,与肿瘤细胞的特异性靶点结合,在交变磁场作用下,使肿瘤组织内的磁性介质感应升温,从而实现靶向热疗,达到杀灭细胞或增敏药物的目的^[9]。Wang等^[10]研究发现磁感应热疗不仅能够抑制局部肿瘤生长,还能够对未处理侧的肿瘤产生生长抑制作用,实验表明磁感应热疗能够刺激含肉瘤的大鼠产生较强烈的内源性免疫反应,从而有效提高机体抗肿瘤作用。

艾迪注射液是临床正在使用的抗肿瘤中药制剂,用于原发性肝癌、肺癌、直肠癌、恶性淋巴瘤、妇科恶性肿瘤等,也可以作为癌症患者化疗的辅助用药,减少化疗的不良反应,提高患者的生存质量。处方以斑蝥破血消癥,攻毒蚀疮,引赤发泡为君药,发挥抗肿瘤的作用;以人参为臣药,辅助君药发挥抗肿瘤的作用以达到祛邪,同时扶助正气,刺五加、黄芪为佐使,辅助臣药,扶助正气,增强人体的抵抗力。Kim HS等^[11]研究发现斑蝥主含斑蝥素,可以阻滞细胞有丝分裂,影响*Bcl-2*(原癌基因)蛋白和磷酸酶的表达,从而抑制肿瘤生长;人参中的人参皂苷(Rg3、Rh2)能诱导*Bcl-2*、*caspace-3*等抑凋亡基因的表达,并能激活细胞周期蛋白激酶抑制剂,从而诱导细胞凋亡、抑制肿瘤细胞的增殖。徐洁等^[12]通过对艾迪注射液药理作用的研究发现黄芪总皂苷可以将细胞阻滞在S期和G₂/M期,抑制细胞周期蛋白表达;刺五加皂苷能降低血管内皮生长因子(VEGF)的mRNA与相关细胞蛋白的表达,抑制血管生成,影响肿瘤生长,刺五加多糖可以通过活化*Bcl-2*、调控*Bax*等基因,抑制肿瘤生长、诱导细胞凋亡。

实验选用的Daudi细胞来源于伯基特淋巴瘤(Burkitt淋巴瘤),属B淋巴细胞性的非霍奇金淋巴瘤,采用体外细胞实验的方式进行实验研究,属于理论性基础实验,能够为临床提供依据。本实验首先对磁感应热疗磁性介质进行了生物相容性试验以及升温性能检测,证明了不锈钢空心球具有良好的发热效率以及细胞相容性,磁感应热疗磁性介质应用于淋巴瘤治疗在细胞水平是可行的。

本实验用不同浓度的艾迪注射液作用于Daudi细胞,利用CCK-8试剂检测各组细胞的吸光度值,结果显示在艾迪注射液6.25、12.50、25.00、50.00、100.00 mg/mL时,Daudi细胞的增值率为(97.65±2.03)%、(95.71±2.62)%、(84.43±1.51)%、(81.38±0.43)%、(88.81±0.72)%,结果可以看出随着药物浓度的增加细胞增殖率有所下降,但当药物浓度为100 mg/mL时增殖率反而上升。分析原因,考虑是由于实验用艾迪注射液生药浓度为每毫升含生药300 mg,限制了药物浓度设置,当药物浓度设置较大时,比如100 mg/mL时,培养基浓度已经较小,且艾迪注射液为浅棕色的澄明液体,由于CCK-8检测主要应用吸光度值,因此或许是药物颜色影响了CCK-8试剂检测结果。

细胞凋亡(apoptosis)是细胞对环境的生理性、病理性刺激信号,环境条件的变化或缓和性损伤产生的应答有序变化

的死亡过程。细胞周期(cell cycle)是经历G₁期、S期、G₂期、M期4个阶段并形成新的DNA及细胞分裂增殖的过程。细胞周期存在G₁/S和G₂/M期转换两个限制点,所以肿瘤治疗可以利用干扰肿瘤细胞的细胞周期,阻断细胞周期中DNA合成及细胞分裂就可以引起细胞凋亡。处理因素不同,不同的细胞株凋亡有其特异的细胞周期变化。

本实验中流式细胞检测结果显示磁感应热疗30 min后,细胞凋亡率为(13.29±1.07)%,单纯艾迪治疗组凋亡率为(39.50±2.80)%,与对照组相比凋亡率明显增加,表明磁感应热疗和艾迪注射液都可以通过诱导Daudi细胞凋亡来抑制细胞生长;而联合组总凋亡率为(87.40±3.17)%,远高于磁感应热疗和艾迪单独治疗组,表明磁感应热疗能够协同艾迪注射液促进Daudi细胞凋亡。周期检测显示磁感应热疗使G₀/G₁期、G₂/M期细胞增多,S期细胞减少,表明磁感应热疗能够改变Daudi细胞的细胞周期,使Daudi细胞增殖受阻于G₀/G₁期、G₂/M期,使周期延长,减少DNA复制而抑制细胞恶性增殖;艾迪组G₀/G₁期细胞明显减少,S期细胞增多,表明艾迪注射液能够将Daudi细胞增殖阻断在S期,从而减少细胞分裂,抑制Daudi细胞增殖;而联合组G₀/G₁期细胞所占百分比减少,S期和G₂/M期细胞所占百分比比较对照组没有差异,表明磁感应热疗联合艾迪注射液改变Daudi细胞周期的效果并没有单独磁感应热疗或单独艾迪作用明显。推测艾迪联合磁感应热疗主要是通过诱导细胞凋亡抑制Daudi细胞生长。

4 结论

磁感应热疗联合艾迪注射液,可显著诱导人淋巴瘤Daudi细胞的凋亡,效果与单独使用艾迪治疗有明显差异,表明磁感应热疗对艾迪注射液有协同增敏的效果,为淋巴瘤的治疗和淋巴瘤治疗药物的增敏提供了新的思路。诱导细胞凋亡和细胞周期阻滞可能是磁感应热疗、艾迪注射液抑制肿瘤生长的机制之一,是否还有其他的作用机制尚需进一步深入探讨。

参考文献(References)

- [1] Wu Z, Zhuo Z, Cai D, et al. An induction heating device using planar coil with high amplitude alternating magnetic fields for magnetic hyperthermia[J]. *Technol Health Care*, 2015, 23(Suppl 2): 203-209.
 - [2] Patil R M, Thorat N D, Shete P B, et al. In vitro, hyperthermia with improved colloidal stability and enhanced SAR of magnetic core/shell nanostructures[J]. *Materials Science & Engineering C Materials for Biological Applications*, 2016, 59: 702-709.
 - [3] Zhao L, Yang B, Wang Y, et al. Thermochemotherapy mediated by novel solar-planet structured magnetic nanocomposites for glioma treatment [J]. *Journal of Nanoscience & Nanotechnology*, 2012, 12(2): 1024-1031.
 - [4] 师颖瑞, 刘珈, 杨锐, 等. 磁感应热疗联合放疗治疗颈部淋巴结复发的临床观察[J]. *现代生物医学进展*, 2014, 14(1): 132-135.
- Shi Yingrui, Liu Jia, Yang Pei, et al. Clinical observation on the magnetic induction therapy combined with radiotherapy in the treatment of recurrent cervical lymph nodes[J]. *Progress in Modern*

- Biomedicine, 2014, 14(1): 132-135.
- [5] 杨继军. 磁感应热疗治疗软组织肿瘤 16 例的护理[J]. 福建医药杂志, 2016, 38(2): 156-157.
Yang Jijun. Nursing care of 16 cases of soft tissue tumors treated by magnetic induction thermotherapy[J]. Fujian Medical Journal, 2016, 38(2): 156-157.
- [6] 杨红霞, 孙倩. 热疗联合艾迪注射液对动物接种肿瘤 U14 的影响研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2014, 23(12): 1267-1269.
Yang Hongxia, Sun Qian. Study on influence of hyperthermia combined with Aidi injection on cervical cancer U14 in mice[J]. Modern Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, 2014, 23(12): 1267-1269.
- [7] 潘金华. 艾迪注射液联合体外高频热疗治疗恶性肠梗阻临床研究[J]. 中医学报, 2012, 27(10): 1239-1240.
Pan Jinhua. Clinical research on Aidi injection combined with external high frequency thermotherapy for the treatment of malignant bowel obstruction[J]. China Journal Of Chinese Medicine, 2012, 27(10): 1239-1240.
- [8] Mantso T, Goussetis G, Franco R, et al. Effects of hyperthermia as a mitigation strategy in DNA damage-based cancer therapies[J]. Seminars in Cancer Biology, 2016(37/38): 96-105.
- [9] 路晓光, 李利亚. 淋巴瘤的新型物理治疗方法的研究进展[J]. 中日友好医院学报, 2017, 31(1): 47-49.
Lu Xiaoguang, Li Liya. Recent advances in new physical therapies for lymphoma[J]. Journal of China-Japan Friendship Hospital, 2017, 31(1): 47-49.
- [10] Wang H, Zhang L, Shi Y, et al. Abscopal antitumor immune effects of magnet-mediated hyperthermia at a high therapeutic temperature on Walker-256 carcinosarcomas in rats[J]. Oncology Letters, 2014, 7(3): 764.
- [11] Kim H S, Lee E H, Ko S R, et al. Effects of ginsenosides Rg3 and Rh2 on the proliferation of prostate cancer cells[J]. Archives of Pharmacal Research, 2004, 27(4): 429-435.
- [12] 徐洁, 居文政, 谈恒山. 艾迪注射液药理作用及临床应用研究概况[J]. 药学与临床研究, 2012, 20(1): 48-51.
Xu Jie, Ju Wenzheng, Tan Hengshan. General situation of pharmacological action and clinical application of Addie injection[J]. Pharmaceutical and Clinical Research, 2012, 20(1): 48-51.

Studies on effects of magnetic-mediated hyperthermia with Aidi injection on Daudi cells in vitro

LU Xiaoguang¹, ZHANG Han², ZHAO Xiaohong², XIE Qing¹, MAO Yun¹, TANG Jintian², LI Liya¹

1. Oncology of Integrative Medicine, China-Japan friendship Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China
2. Department of Engineering Physics, Tsinghua University, Beijing 100084, China

Abstract To investigate the effects of magnetic-mediated hyperthermia(MMH) in combination with Aidi injection on human lymphoma Daudi cells in vitro, the biocompatibility and temperature rising behavior of selected magnetic media are studied. Then cell proliferation in culture is studied in human lymphoma Daudi cell lines exposed to MMH and Aidi separately and in combination. The cell apoptosis and cycle of Daudi cells are analyzed by flow cytometry. Theoretical calculations indicate that the biocompatibility of MMH magnetic media is satisfactory. In vivo experiments it also generates heat effectively. The survival rate of Daudi cells exposed to MMH (300 kHz, 40 Gs, 30 min) is $(78.48 \pm 0.95)\%$, but significantly decreases to $(9.25 \pm 2.05)\%$ ($P < 0.01$) when being exposed to the combination of MMH and Aidi. MMH in combination with Aidi can promote Daudi cells apoptosis, but the change in cell cycle is not obvious. The MMH magnetic media is feasible to Daudi cells in vitro. MMH alone could induce apoptosis of Daudi cells and significantly enhance anti-tumor effect with Aidi injection.

Keywords magnetic-mediated hyperthermia; Aidi injection; human lymphoma Daudi cells; CCK-8; flow cytometer; apoptosis; cell cycle

(责任编辑 田恬)