

# 磁感应治疗研究和临床试验

王旭飞<sup>1,2</sup>, 王晓文<sup>1</sup>, 赵凌云<sup>1</sup>, 张晓冬<sup>1</sup>, 高福平<sup>1</sup>, 夏启胜<sup>3</sup>, 耿传营<sup>3</sup>, 赵天德<sup>3</sup>, 唐劲天<sup>1</sup>

1. 清华大学工程物理系; 粒子技术与辐射成像教育部重点实验室, 北京 100081
2. 复旦大学现代物理研究所; 应用离子束物理教育部重点实验室, 上海 200433
3. 中日友好医院, 北京 100029

**摘要** 肿瘤磁感应加温治疗是近年来兴起的一项新型肿瘤治疗技术。该技术利用定位导入肿瘤靶区的磁性介质在交变磁场下的磁化损耗产热, 对恶性肿瘤实施磁介导加温治疗。研究表明, 肿瘤组织在交变磁场诱导的磁热效应下升温至 40~70℃时, 靶区沉积的热能作用可特异性杀死癌细胞, 抑制癌症复发和转移, 并可激发机体的抗癌免疫效应, 进一步增强治疗效果, 是一种简便易行、安全有效的肿瘤治疗方法。磁感应加温治疗在肿瘤治疗的特异性、靶向性等方面显现出其独特优势, 已引起了国内外肿瘤临床治疗界的极大兴趣。本文对实验室近年来开展的基于多种磁性介质的肿瘤磁感应热疗研究进行了综述, 主要包括磁感应治疗设备研制、热疗用磁性介质研发和磁热疗生物医学实验研究 3 个方面。在这些研究的基础上, 肿瘤磁感应热疗的临床前实验已经完成, 目前已经开展一期临床试验研究。

**关键词** 肿瘤; 磁感应热疗; 磁流体; 支架; 铁磁热籽

**中图分类号** R730.59

**文献标识码** A

**文章编号** 1000-7857(2010)16-0097-09

## Magnetic Induction Hyperthermia Treatments by Using Multiple Magnetic Materials

WANG Xufei<sup>1,2</sup>, WANG Xiaowen<sup>1</sup>, ZHAO Lingyun<sup>1</sup>, ZHANG Xiaodong<sup>1</sup>, GAO Fuping<sup>1</sup>, XIA Qisheng<sup>3</sup>, GENG Chuanying<sup>3</sup>, ZHAO Tiande<sup>3</sup>, TANG Jintian<sup>1</sup>

1. Department of Engineering Physics, Tsinghua University; Key Laboratory of Particle & Radiation Imaging, Ministry of Education, Beijing 100084, China
2. Institute of Modern Physics, Fudan University; Applied Ion Beam Physics Laboratory, Ministry of Education, Shanghai 200433, China
3. China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China

**Abstract** The induction heating of magnetic materials implanted into malignant tumors used for magnetic induction hyperthermia is an emerging cancer treatment technology in recent years. It is shown that when a tumor tissue is heated to 40~70℃, the deposited thermal energy has a specific killing effect to cancerous cells and also a preventive effect against tumor formation, recurrence and metastasis. Besides, the hyperthermia treatment can also induce an anticancer immunological function in patients' body, thus further improve the curative effect. With the excellent performance in accuracy of targeting and special treatment effect, the magnetic induction hyperthermia for cancer treatment is drawing more and more attention in clinical antitumor researches. In this paper, the research progress of magnetic induction hyperthermia by using multiple magnetic materials in the laboratory of novel medical technology in Department of Engineering Physics, Tsinghua University is reviewed, including relevant aspects of magnetic field facility developments, magnetic material researches and hyperthermia-related biomedical researches. Further studies of magnetic induction hyperthermia treatment are to be carried out for a

收稿日期: 2010-04-07; 修回日期: 2010-06-15

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(30170904, 30271465, 30571779); 国家高技术研究发展计划(863 计划)项目(2007AA021800); 国际原子能机构资助项目(IAEAE3.30.17); 北京市科委重大前期项目(H030230160130); 北京市科委项目(Z07000200540704)

作者简介: 王旭飞, 博士后, 研究方向为肿瘤磁感应热疗物理与工程, 电子信箱: xufei.wang@gmail.com; 唐劲天(通信作者, 中国科协所属全国学会个人会员登记号: S090800253M), 教授, 研究方向为与肿瘤和神经有关新型治疗设备、技术和制剂, 电子信箱: tangjt@mail.tsinghua.edu.cn

plan of Phase-I clinical trials.

**Keywords** tumor; magnetic induction hyperthermia; thermoseed; magnetic fluid; stent

## 0 引言

作为一项新兴的肿瘤治疗技术,近年来,肿瘤磁感应加热治疗引起了肿瘤治疗界的极大兴趣和关注,国内外多家实验室开展了相关研究,并已取得了相应进展<sup>[1-11]</sup>。该方法将特殊制备的磁性介质定位导入肿瘤靶区,在中频交变磁场下诱导磁性介质的磁化损耗产热,以之对肿瘤组织实施加热治疗(图1)。肿瘤细胞常处于缺氧环境,而正常组织细胞处于缺氧状态,在磁介质的高温刺激作用下,缺氧肿瘤细胞对热的承受力远不如正常细胞,易被高温杀伤。当肿瘤组织被靶区磁介质感应加热到40~70℃时,热效应将破坏肿瘤组织,致使肿瘤细胞凋亡、坏死,从而达到治疗目的<sup>[12-19]</sup>。然而从当前的研究进展来看,实现肿瘤磁感应加热治疗的临床应用,仍然有许多重要的科学技术问题亟待解决,主要涉及各类磁性介质的感应产热物理机制、磁感应热疗设备的相关工程技术、新型功能磁介质的研发以及磁热疗相关的生物医学等方面问题。清华大学工程物理系医疗新技术实验室近10年来一直致力于磁感应热疗相关研究,取得了较为显著的研究进展<sup>[20-28]</sup>。本文将对实验室的肿瘤磁感应热疗研究进行综述,主要包括中频交变磁场感应治疗设备的系统研制和相关物理问题研究、新型功能磁性热疗介质的研制、磁感应热疗生物效应和医学应用3个方面。

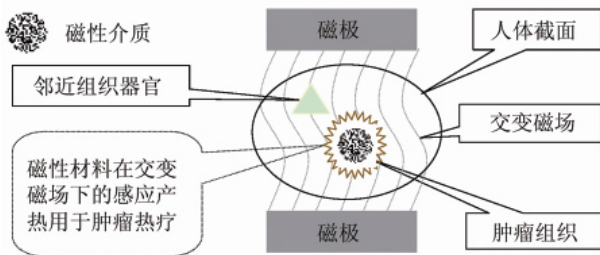


图1 肿瘤磁感应加热治疗原理

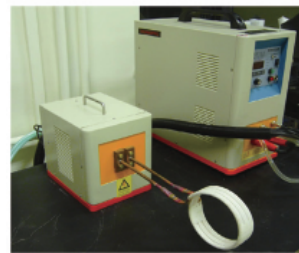
Fig. 1 Principle of magnetic induction hyperthermia treatment to cancer

## 1 设备研制和物理机制

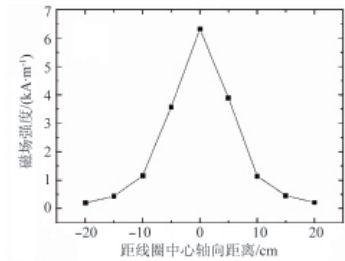
### 1.1 交变磁场实验设备

开展肿瘤磁感应加热治疗,需要频率适中的交变磁场作为磁介质感应产热的能量来源。研究人员借鉴了感应加热电源技术,以感应线圈作为交变磁场发生设备,设计开发了一系列实验中频交变磁场实验装置<sup>[2-30]</sup>。前期开发的台面型实验设备(图2(a)、(b))主要应用于磁性介质产热性测试和小动物(大鼠、小鼠、兔)的实验研究,但工作磁场空间局限,难以

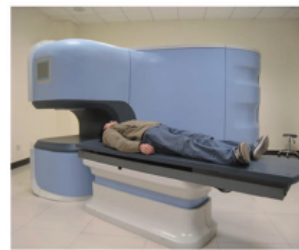
适用于大型实验动物。为开展大型动物实验,为临床试验研究积累相关经验,实验室在小型装置的研制基础上,进一步开发了第二代大动物实验样机。基于该样机提供的中频交变磁场平台,开展了更为丰富的肿瘤磁感应热疗相关物理、材料与生物医学问题研究,获得了较为丰富的研究积累。在此基础上,第一代临床型磁感应肿瘤治疗样机已于2007年研制成功,设备的磁场参数、稳定性、操作方式与安全性方面得到了全面优化(图2(c)、(d))。



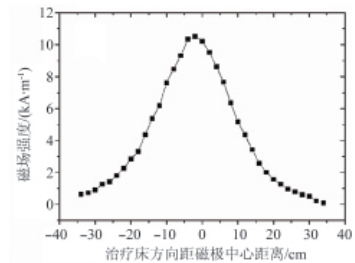
(a) 材料和小动物实验研究用台面型交变磁场设备  
(a) Table-top alternating magnetic field facility for small animal and material experiments



(b) 台面型磁场设备中的磁场强度分布  
(b) Magnetic field intensity distribution in the table-top facility



(c) 临床治疗样机  
(c) Prototype of the clinical facility for magnetic induction hyperthermia treatment



(d) 临床样机的磁场强度分布  
(d) Magnetic field intensity distribution in the clinical prototype facility

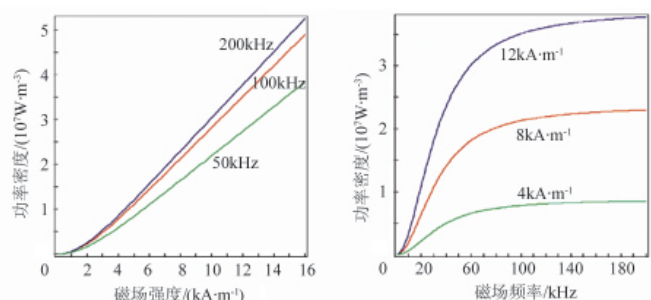
图2 交变磁场实验设备和临床治疗样机

Fig. 2 Table-top alternating magnetic field facility and clinical prototype facility

### 1.2 物理机制

磁感应热疗的物理机制涉及材料磁性、磁化损耗、热质传递和温度场分布等问题。作为磁热疗技术实施的基本依据,磁性介质感应产热机制是一个需要首先解决的物理问题。磁性纳米颗粒是肿瘤纳米靶向治疗、靶向药物输运以及热疗-药物联合靶向治疗最具潜力的载体,通常以载液中稳定分散的铁磁流体形式应用于肿瘤靶向热疗。本研究组对铁磁流体在中频交变磁场下的感应产热机制进行了研究。在低浓度单分散纳米磁颗粒体系模型下,磁流体中纳米颗粒在中频交变

磁场下的感应产热主要来自 Brownian-Néel 弛豫损耗<sup>[31-36]</sup>。以典型的  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  磁流体为例,计算结果表明<sup>[37]</sup>,感应产热功率和交变磁场强度 ( $H < 16\text{kA/m}$ ) 呈准线性关系(图 3(a)),而磁场频率 ( $f < 200\text{kHz}$ ) 呈准负指数曲线关系(图 3(b))。因此,提高交变磁场的强度和频率可以直接提高纳米磁流体的产热功率。然而,实际设备的磁场参数还受到工程技术和安全性因素限制。由计算结果可知,100kHz 频率附近的交变磁场较为适宜,而磁场强度取决于工程技术难度和安全因素的综合考虑。基于产热机制的研究结论,实验室研制的设备磁场参数为  $12\text{kA/m}$  左右,频率  $40\sim 300\text{kHz}$ 。除此之外,对磁性纳米颗粒体系感应产热的物性因素、宏观位形影响<sup>[37]</sup>、磁流体热能与质量传递和温度场演变等物理问题也进行了相关研究。



(a) 磁流体感应产热功率密度与磁场强度的关系

(a) Dependence of induction heating power on magnetic field intensity

(b) 磁流体感应产热功率密度与磁场频率的关系

(b) Dependence of induction heating power on magnetic field frequency

图 3 氧化铁纳米磁颗粒(直径 20nm)单分散磁流体在中频交变磁场下的感应发热功率密度

Fig. 3 Induction heating power of a mono dispersed magnetic fluid of magnetite nanoparticles in a mid-frequency magnetic field (20nm in diameter)

## 2 热疗用磁性介质

### 2.1 磁性纳米颗粒

在传统的肿瘤热疗中,提高肿瘤深部区域的温度以实现有效热疗,同时保证治疗区域温度的均匀性是提高热疗疗效的重要条件。肿瘤区域不充分或不均匀的加热往往使癌细胞不能被有效杀灭,从而导致肿瘤复发;另一方面,过度加热或非均匀加热也可能导致肿瘤周围正常组织受到热损伤。

利用磁性纳米颗粒作为肿瘤磁感应热疗介质,在导入肿瘤靶区后可实现更均匀的分布,并且具有高效的能量吸收产热效率<sup>[38-39]</sup>,因而可以有效地克服传统热疗中的如上问题,实现对肿瘤靶区的均匀加热,提高热疗效果。同时,表面修饰的磁性纳米颗粒还具有无毒性、更好的生物相容性、可注射导入及肿瘤靶区高灌注率等诸多优点。

纯质的氧化铁纳米颗粒体系通常存在易团聚的现象,这会对颗粒体系磁性及其热疗效果产生直接影响<sup>[39-40]</sup>。制备生物医学应用的纳米磁颗粒,需要对颗粒表面进行修饰以防止

团聚,并且颗粒表面的保护层还可以进一步进行功能化,连接目标分子或药物以实现纳米磁颗粒载体在靶向治疗中的应用<sup>[40]</sup>。

研究小组采用共沉淀法制备了氧化铁纳米颗粒,并分别进行了氨基硅烷和油酸钠修饰。图 4 为油酸钠修饰的氧化铁纳米颗粒电镜照片。对纳米颗粒理化性能综合表征结果显示,与未修饰的氧化铁颗粒相比,氨基硅烷和油酸钠修饰的氧化铁纳米颗粒具有更高的稳定性、良好的分散性和作为感应热疗介质的产热性能。本课题组利用油酸钠修饰的氧化铁纳米颗粒对体外肿瘤细胞系和荷瘤大鼠、小鼠进行了磁感应热疗实验。研究结果表明,表面偶联了肿瘤细胞特异性识别配体的氧化铁纳米颗粒,可以显著提高肿瘤细胞的颗粒内吞效率<sup>[41]</sup>,从而可以大大提高磁性纳米颗粒的感应热疗效果,并可显著增强颗粒载体所挂载药物的细胞毒性。

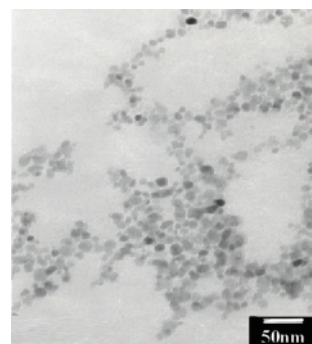


图 4 油酸钠包裹的氧化铁纳米颗粒透射电镜照片(200000x)

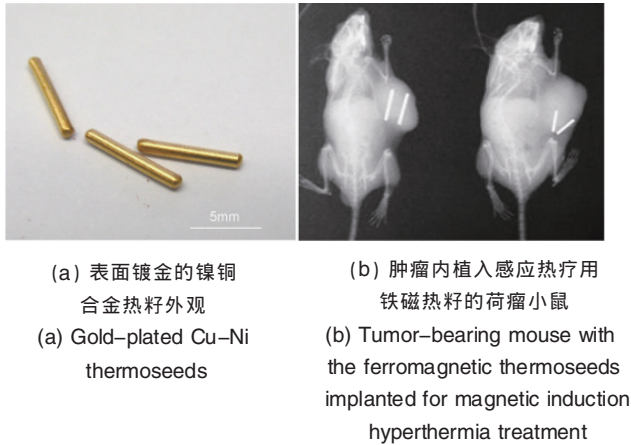
Fig. 4 Transmission electron microscopy image of sodium oleate coated magnetite nanoparticles (200000x)

### 2.2 铁磁热籽

由磁性合金材料制成的毫米级铁磁热籽(图 5(a))同样可以通过穿刺或手术植入方法(图 5(b))导入肿瘤实施磁感应热疗。在中频交变磁场下,铁磁热籽的感应产热主要来自材料的磁滞和涡流损耗。作为一种典型的磁感应热疗介质,铁磁热籽通常是由磁性金属和非磁性金属制成的合金材料,如 Ni-Cu、Fe-Pt、Pd-Co、Ni-Sr,或两种以上的金属。典型的热籽材料直径约 1mm、长 1~7cm。为改善材料的生物相容性,热籽表面还需包覆特殊保护层,它在交变磁场下的感应产热性能与其质量、尺度和方位相关<sup>[42]</sup>。利用铁磁热籽实施磁感应热疗,肿瘤组织可以被持续加热,并可在短时间内迅速升高到需要的治疗温度<sup>[43]</sup>。

对于肿瘤组织间植入的热籽磁感应热疗,还可以进一步利用铁磁材料在居里温度下的相变特性,实现感应产热的自动调控,从而实现自动控温的热疗过程<sup>[44]</sup>。其原理在于铁磁材料在其居里温度之下显示铁磁性。当感应产热使铁磁热籽升温到居里温度之上时,铁磁材料发生顺磁相变而失去磁性,从而失去磁滞损耗产热能力。热籽温度将在肿瘤靶区血流的散热作用下逐渐冷却。而当温度下降到居里温度之下,热籽

将恢复磁性,重新开始产热升温。在这个与铁磁-顺磁相变关联的产热机制调控下,可以实现铁磁热籽的自控温热疗过程,靶区温度将稳定在材料的居里温度附近。实现这一自控温热疗的关键在于合适的材料性能,其居里温度应处于治疗所需温度范围。



(a) 表面镀金的镍铜合金热籽外观  
(a) Gold-plated Cu-Ni thermoseeds  
(b) 肿瘤内植入感应热疗用铁磁热籽的荷瘤小鼠  
(b) Tumor-bearing mouse with the ferromagnetic thermoseeds implanted for magnetic induction hyperthermia treatment

图5 用于肿瘤植入的铁磁热籽磁感应热疗  
Fig. 5 Ferromagnetic thermoseeds for implanted treatment of magnetic induction hyperthermia

实验室与北京科技大学合作研制了磁感应热疗用铁磁热籽。材料为 Ni-Cu 合金,表面镀金处理,以保证其生物相容性,直径(0.8±0.02)mm,长度(6±0.1)mm。针对材料镀层、磁场参数、相对磁场取向方位和植入排列方式等因素,对热籽的感应产热性能进行了测评。研究表明,Ni-Cu 合金热籽表面的镀金保护层除了可以保证材料生物相容性外,镀金表层中涡流损耗的增强对热籽的产热性能也有一定提高。为验证表面镀金热籽在体内的产热能力,利用体外肌肉组织进行了热籽升温实验,结果表明<sup>[45]</sup>,热籽植入阵列所包围的肌肉组织可以被有效加热至 45~55℃(图 6),证明该材料产热性能可以胜任体内肿瘤的磁感应热疗应用。

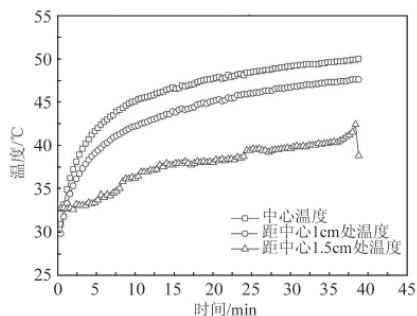


图6 铁磁热籽植入肌肉组织的体外磁感应升温实验(2×2 阵列,1cm 间距)

Fig. 6 *In vitro* measurement of the temperature increasing curves of Ni-Cu alloy thermoseeds implanted in muscle tissues (2×2 grid, 1cm spacing)

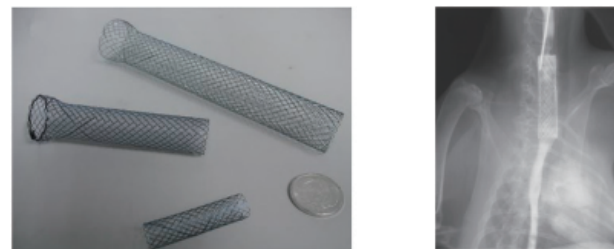
注:热籽居里温度 75℃,磁场强度 8.75kA/m,频率 100kHz。

Notes: The Curie temperature of the thermoseeds is 75℃, the magnetic field intensity 8.75kA/m, and the field frequency is 100kHz.

采用 MTT 法对热籽的离体细胞毒性进行了测评,通过溶血试验对材料的血液毒性进行了测评。此外,通过向活体兔的肌肉组织中植入镀金 Ni-Cu 合金热籽,评价了其肌肉组织毒性。实验研究表明<sup>[46]</sup>,该材料具有很好的生物相容性。本课题组利用这种 Ni-Cu 合金热籽开展了一系列磁感应热疗的体内外实验,为开展一期临床试验提供了较充分的研究积累。

### 2.3 磁性热疗支架

除了磁性纳米颗粒和铁磁热籽的研制,研究小组还对医用管道支架在磁感应热疗中的可能应用进行了探索性研究(图 7)。针对“磁感应支架热疗”这一新概念,主要开展了两方面工作,一是利用金属支架对食道癌的感应热疗研究,另一个是利用冠脉支架的感应加温,研究其磁热效应对经皮冠脉成形术后再狭窄问题的治疗效果。



(a) 磁感应热疗用食管支架  
(a) Esophagus stents for induction hyperthermia treatment  
(b) 大鼠食管中植入合金支架的钡餐造影图像  
(b) Barium meal imaging of the alloy stents implanted in the esophagus of rat

图7 医用管道支架在磁感应热疗中的应用  
Fig. 7 Application of the medical stents in hyperthermia treatment

#### 2.3.1 食管癌热疗

当前对食管癌的治疗状况仍有很多问题,超过 65% 的患者无法完全治愈,只能采取姑息治疗手段<sup>[47]</sup>。研究表明,热疗对食管癌具有有效治疗作用,常规热疗对化学治疗的增敏效应可以使患者的 5 年生存率从 9% 提高到 26%<sup>[48]</sup>。很多晚期食管癌患者需要在食管病灶部位植入扩张支架,但是除此之外,并没有更多的有效手段。考虑到食管支架材料多为记忆合金,在交变磁场下具有感应产热的能力,因此可能用于磁感应热疗。本研究小组的实验研究证明了该方法的可行性。图 8 给出了研究组用于热疗实验的合金支架磁感应升温曲线。由图 8 可见,支架升温对磁场参数有明显依赖,可以通过调节磁场参数实现热疗过程的温度控制<sup>[49]</sup>。已有研究表明<sup>[50]</sup>,这种管道支架感应热疗的方法可以有效提高放射治疗的疗效,抑制局部肿瘤生长,改善患者的生存质量。

#### 2.3.2 经皮冠脉成形术后再狭窄的定位热疗

冠状动脉粥样硬化和心肌梗塞是导致中国居民死亡的主要死因。目前主流治疗方法是经皮冠脉成形术(Percutaneous Transluminal Coronary Angioplasty, PCTA),同时辅以冠脉支架植入以加强治疗效果。然而,在接受 PCTA 术后 3~6 个月内,

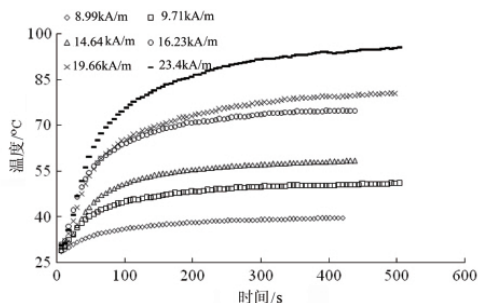


图 8 食管支架交变磁场下的感应升温性能 (频率 40kHz)  
Fig. 8 Induction heating curves of the medical stents in alternating magnetic field (40kHz)

30%~50%的患者会出现冠脉再狭窄的问题<sup>[51]</sup>。再狭窄问题成因复杂,包括血管在支架扩张后的弹性回缩,血管平滑肌细胞增生、迁移,增强细胞外基质的合成,血管壁重塑和血栓形成等。尽管发病机制复杂,血管再狭窄的最终特征表现为平滑肌细胞的增生和从血管中膜向内膜的迁移,这是 PCTA 术后再狭窄的主要发病机制<sup>[52]</sup>。研究表明,热效应可有效抑制血管内皮细胞的增生<sup>[53]</sup>。因此,利用中频交变磁场诱导冠脉支架的感应产热,可以有效抑制平滑肌增生,改善 PCTA 术后再狭窄问题,由此发展一种治疗冠脉再狭窄的新型方法。

### 3 生物医学研究

#### 3.1 磁感应热疗疗效实验

研究小组利用自制的油酸钠包裹的磁性纳米颗粒,开展了荷瘤动物磁感应热疗实验,取得了理想的治疗效果。实验将纳米磁流体直接注射到小鼠皮下肿瘤,并在 300kHz、8.75kA/m 磁场下实施感应加热治疗 30min。在治疗过程中对磁场参数实行精确调控,实时温度测量结果显示,肿瘤中心和表面的温度可稳定维持在有效热疗温度 50°C,而小鼠的直肠温度仅有轻微上升,稳定在 30~36°C,表明注入肿瘤的纳米磁流体颗粒在交变磁场下可以实现对肿瘤部位的特异性加热(图 9)<sup>[54]</sup>。

实验将荷瘤小鼠随机分为 5 组,即未接受治疗的空白对照组,单纯纳米磁流体注入组,单纯的交变磁场暴露组,46°C

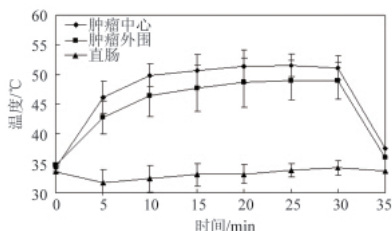


图 9 油酸钠修饰磁性纳米颗粒用于荷瘤大鼠磁感应热疗实验的升温情况(肿瘤中心、肿瘤周边、直肠)  
Fig. 9 Temperature curves of sodium oleate coated magnetite nanoparticles used for the magnetic induction hyperthermia treatment to tumor bearing rats (measured at the tumor centre, tumor periphery and rectum, respectively)

磁流体感应热疗组,50°C磁流体感应热疗组,如图 10。其中对照组小鼠(空白对照,单纯纳米磁流体注入,单纯交变磁场暴露)中移植的胰腺癌肿瘤迅速增大,而 46°C和 50°C磁流体感应加热治疗组的小鼠胰腺癌肿瘤则被显著抑制,甚至完全消失,且肿瘤周围正常组织未见明显损伤<sup>[54]</sup>。

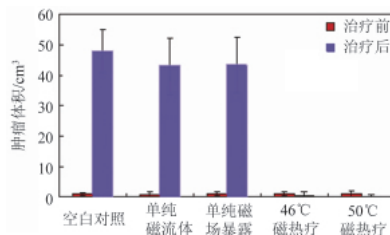


图 10 磁感应热疗的抗肿瘤效果  
Fig. 10 Anti-tumor effects of the magnetic induction hyperthermia treatment

#### 3.2 热疗激发抗肿瘤免疫

研究证明,局部热疗对免疫系统的刺激作用可激活机体的抗肿瘤免疫机制,从而可以诱发原位、远端乃至全身的抗肿瘤免疫效应<sup>[55]</sup>。例如将大鼠的神经胶质瘤 T-9 细胞( $1 \times 10^7$  个)经皮移植到 F344 大鼠的左股部位,在左股侧移植肿瘤后第 9 天,将同样份数的细胞( $1 \times 10^7$  个)经皮移植到右股一侧。在首次移植肿瘤后第 11 天,将磁性阳离子脂质体注射到左侧肿瘤,并实施交变磁场下的感应热疗,以 24h 间隔重复治疗 3 次。实验结果显示,在第 28 天时双侧的移植肿瘤均消失<sup>[55]</sup>。

热激发免疫响应可以增强肿瘤免疫监视和  $\alpha$  干扰素产生,通过其对多种细胞激素及其受体独特的调控机制,产生有效的抗肿瘤免疫效应<sup>[56]</sup>。

实验研究表明,经过热疗的动物在重新引入癌细胞时,机体免疫机制存在一种记忆效应,可以激发免疫系统获得更加适度的二次抗肿瘤免疫响应。从分子生物学的观点来看,热激发免疫机制主要来自 NK 细胞、巨噬细胞、T 细胞和树突状细胞在热效应下的激活<sup>[55-67]</sup>。

研究小组对移植了黑色素瘤的小鼠进行热疗实验,肿瘤在热疗作用下被显著抑制,体积缩小。而对于同一小鼠体内未经热疗的肿瘤,体积也同样缩小(图 11)<sup>[68]</sup>。这种远端肿瘤抑制现象即来自热疗激发的抗肿瘤免疫效应。与此同时,这种对局部肿瘤选择性热疗的实验结果还显示荷瘤小鼠生存期也得到了明显延长。

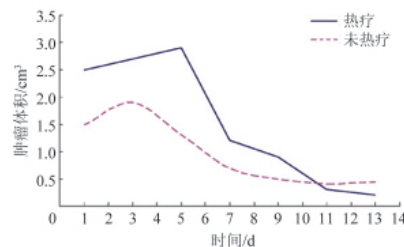


图 11 热疗对小鼠移植肿瘤的热消融作用  
Fig. 11 Thermal ablation effects of hyperthermia treatment to mouse-transplanted tumor

### 3.2.1 T 细胞活性增强

T 细胞即胸腺依赖淋巴细胞。胸腺是形成 T 细胞的主要器官。T 淋巴细胞在获得性免疫应答机制的调节中扮演着重要的角色,同时也是抗原特异性细胞毒性的一种重要的效应淋巴细胞。目前已发现的 T 细胞包括几种功能不同的亚群,按分化群抗原分类,包括 CD1~CD166,共计 180 个亚群,其中 CD4 和 CD8 在 T 细胞的激活和分化中起着重要作用。

研究表明<sup>[61,69-71]</sup>,对于许多恶性疾病而言,加热治疗可以延长 T 细胞的活性,还可以增强穿越内皮微静脉组织的淋巴细胞贩运。本研究组的热疗实验也表明<sup>[68]</sup>,经过加热治疗,荷瘤大鼠和小鼠外周血中的 T 细胞 CD4、CD8 有显著的增加(图 12)。

白介素-2(IL-2)是白细胞间介素的一种,作为一种免疫系统信号分子,在机体对微生物感染的天然响应以及非己和自身因素的区分中具有重要作用。IL-2 通过与其受体的结合发挥作用,其受体由决定免疫机制的淋巴细胞表达。研究组的实验表明,热疗可以增强 IL-2 在小鼠外周血中的聚集(图 13),由此可以解释荷瘤小鼠在热疗作用下肿瘤体积减小和生存期延长的实验结果。

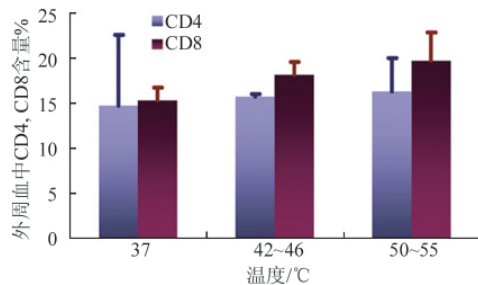


图 12 热疗导致大鼠外周血中的 T 淋巴细胞 CD4 和 CD8 增加

Fig. 12 Increase of the T-lymphocytes (T cells) CD4, CD8 in the peripheral blood of rats by hyperthermia treatment

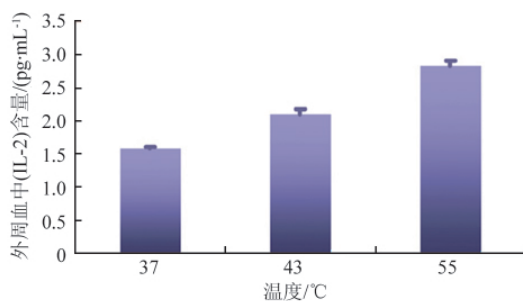


图 13 热疗导致小鼠外周血中 IL-2 浓度增加

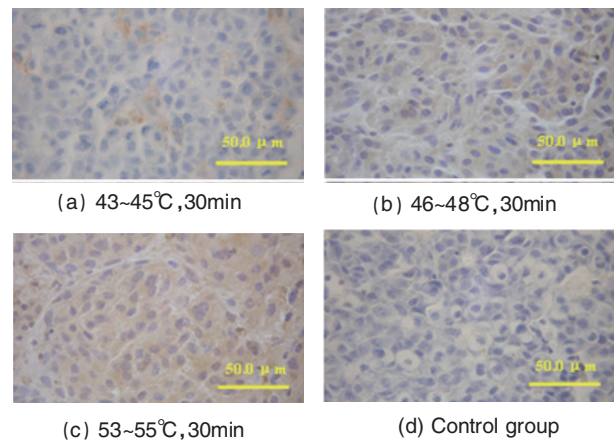
Fig. 13 Increase of the interleukin-2 in the peripheral blood of mice by hyperthermia treatment

### 3.2.2 热休克蛋白诱导表达

热休克蛋白 (Heat Shock Protein, HSP) 是一种细胞内蛋白,其功能在于限制蛋白团聚,促进蛋白质复性和伴侣蛋白等。热休克蛋白还可以激活 NK 细胞,增强细胞活素如 IL-1,

IL-2, IL-6, 肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 和干扰素 INF1<sup>[73-75]</sup>。在细胞的应激反应中,细胞内热休克蛋白水平的升高可以起到保护细胞的作用。热休克蛋白可以帮助肿瘤抗原和主要组织相容性复合体分子的结合,增强 T 细胞活性并激发特异性免疫响应。由此,抗原肽复合体和主要组织相容性复合体将在肿瘤细胞表面表达。热疗可有效刺激热休克蛋白,特别是淋巴组织热休克蛋白的表达。

免疫组化法研究发现,热疗前热休克蛋白 HSP70 在移植瘤表面的表达水平仅为 1%~2%,而在热疗后,该热休克蛋白的表达显著上升(图 14),表明热疗作用可以通过增强热休克蛋白的表达来提高免疫系统的抗肿瘤能力。



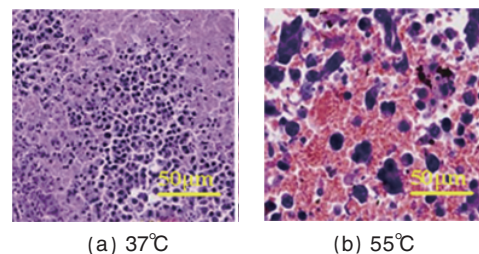
(a) 43~45°C, 30min (b) 46~48°C, 30min  
(c) 53~55°C, 30min (d) Control group

图 14 热效应增强小鼠移植瘤细胞中热休克蛋白的表达 (400×)

Fig. 14 Increase of the expression of heat shock protein in mouse-transplanted tumor by hyperthermia treatment (400×)

### 3.2.3 增强肿瘤细胞免疫原性

研究表明<sup>[75]</sup>,高温可增强肿瘤细胞的免疫原性,这就意味着抗原呈递的产热上调至少是热刺激作用下肿瘤细胞免疫原性增强的原因之一。热刺激效应还可以直接上调肿瘤细胞的肿瘤抗原表达,由此增加了肿瘤细胞被 T 细胞识别并杀死的概率。本研究组的实验研究也表明,热疗作用下细胞形貌发生了明显变化(图 15),这将对细胞的免疫原性产生影响。由此看来,肿瘤细胞免疫原性的加强可以解释热疗对抗肿瘤免疫响应的增强作用。



(a) 37°C (b) 55°C

图 15 热疗对移植瘤细胞形态的影响 (400×)

Fig. 15 Influence of hyperthermia treatment on the cytomorphology of transplanted tumor cells (400×)

热疗对免疫调节的独特作用为肿瘤磁感应热疗的试验设计和临床应用提供了基础依据。研究小组目前正致力于临床试验前最佳治疗参数的获取和验证工作,目前开展和完成的多方面实验研究已逐步证实了磁感应热疗及其联合免疫治疗在临床肿瘤治疗上的良好应用前景。为了实现肿瘤磁感应热疗的临床应用,还有很多细节问题需要进一步深入研究,包括临床磁感应热疗相关技术的发展完善、临床前试验评价和治疗流程的设计等。

#### 4 临床试验

2010年2月2日至2010年3月12日,磁感应治疗技术在福建省肿瘤医院和湖南省肿瘤医院完成了前4例患者的临床试验,这项技术应用在全国范围尚属首次,开辟了中国肿瘤磁感应热疗的先河。患者在治疗前一天经过预先的摆位,确定穿刺植入热籽时的体位。手术实施当天,在患者摆位和卡具安装完成之后,首先进行肿瘤区域的CT扫描,使用TPS分析处理CT扫描后的文件,由医生勾画肿瘤靶区,之后确定热籽的位置和深度,完成植入计划。热籽植入后再次进行CT扫描以观察热籽真实的植入情况,利用TPS根据真实的热籽植入情况进行验证,以确定是否满足治疗的温度场需要,是否需要补植热籽。待植入全部完成后,患者接受磁感应加热治疗。4位患者的肿瘤部位和病情不尽相同,加热治疗的时间和所达到的温度也不相同。在治疗过程中,4位患者均能十分配合地接受治疗,无不能耐受的情况发生。治疗之后,加热局部和全身生命体征也未见异常。

#### 5 展望

基于目前取得的研究进展,为实现磁感应热疗在临床肿瘤治疗中的实际应用,还有一些关键问题需要进一步解决。在治疗设备的工程技术方面,中频交变磁场的精确测量是一个重要的要求。热疗过程的热剂量学定量评价仍然需要进一步深入研究。精确、实时、无损的靶区温度场测量技术对于提高热疗精确性以及优化治疗效果至关重要。此外,为实现治疗过程的计算机辅助分析与控制,还需要发展高效、精确的治疗计划系统。作为磁感应热疗的物理基础,不同类型和尺度的磁介质感应产热机制、生物传热以及磁性纳米介质在体内的传质过程等问题,还需要进一步研究。在磁性介质研制方面,提高材料的产热能力,实现治疗温度自动调控性能是一个重要方向。对于纳米尺度的磁性介质而言,增强材料磁性和功能化修饰,以实现纳米磁感应热疗和药物、基因联合治疗具有重要意义。与此同时,在磁性纳米载体的临床应用上,纳米材料毒理学的相关研究刚刚起步,还需要更深入地开展。在磁感应热疗相关的生物医学问题研究中,为获得最佳治疗效果,需要突破传统的40~45℃治疗温度,对更宽的治疗温区,特别是50~55℃温区开展热剂量学的扩展研究和应用。为获得并充分利用热疗激发的抗肿瘤免疫效应,还需要

对热激发免疫机制进行深入研究。针对这些任务,研究小组正在开展相应的基础研究和技术研发工作,并即将与合作医院共同开展磁感应肿瘤热疗的一期临床试验,包括磁感应治疗设备和治疗计划系统软件的优化;铁磁热籽产热性能、自动控温优化和生物相容性改善,用于纳米磁靶向热疗和联合药物靶向治疗的功能化纳米载体研制;磁感应热疗的临床前大动物实验;抗肿瘤免疫机制和磁性纳米材料毒理等方面的研究工作。

#### 参考文献 (References)

- [1] Jordan A, Scholz R, Wust P, *et al.* Endocytosis of dextran and silan-coated magnetite nanoparticles and the effect of intracellular hyperthermia on human mammary carcinoma cells *in vitro* [J]. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 1999, 194(4): 185-196.
- [2] Jordan A, Scholz R, Wust P, *et al.* Magnetic fluid hyperthermia (MFH): Cancer treatment with AC magnetic field induced excitation of biocompatible superparamagnetic nanoparticles [J]. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 1999, 201(7): 413-419.
- [3] Thiesen B, Jordan A. Clinical applications of magnetic nanoparticles for hyperthermia[J]. *International Journal of Hyperthermia*, 2008, 24(6): 467-474.
- [4] Jordan A, Maier-Hauff K. Magnetic nanoparticles for intracranial thermotherapy [J]. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 2007, 7(12): 4604-4606.
- [5] Johannsen M, Gneveckow U, Taymoorian K, *et al.* Thermal therapy of prostate cancer using magnetic nanoparticles[J]. *Actas Urológicas Españolas*, 2007, 31(6): 660-667.
- [6] Johannsen M, Gneveckow U, Taymoorian K, *et al.* Morbidity and quality of life during thermotherapy using magnetic nanoparticles in locally recurrent prostate cancer: Results of a prospective phase I trial [J]. *International Journal of Hyperthermia*, 2007, 23(3): 315-323.
- [7] Johannsen M, Gneveckow U, Eckelt L, *et al.* Clinical hyperthermia of prostate cancer using magnetic nanoparticles: presentation of a new interstitial technique [J]. *International Journal of Hyperthermia*, 2005, 21(7): 637-647.
- [8] Johannsen M, Thiesen B, Jordan A, *et al.* Magnetic fluid hyperthermia (MFH) reduces prostate cancer growth in the orthotopic Dunning R3327 rat model[J]. *Prostate*, 2005, 64(3): 283-292.
- [9] Hergt R, Hergel R, Hilger J, *et al.* Maghemite nanoparticles with very high AC-losses for application in RF-magnetic hyperthermia [J]. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 2004, 270(4): 345-357.
- [10] Hilger I, Kießling A, Romanus E, *et al.* Magnetic nanoparticles for selective detection and heating of magnetically labeled cells in culture: Preliminary investigation[J]. *Nanotechnology*, 2004, 15(8): 1027-1032.
- [11] Thiesen B, Jordan A. Clinical applications of magnetic nanoparticles for hyperthermia [J]. *International Journal of Hyperthermia*, 2008, 24(6): 467-474.
- [12] Valeria M, Elfriede N. Effects of thermal stress on tumor antigenicity and recognition by immune effector cells [J]. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 2006, 55: 312-319.
- [13] Valeria M, Bernhard F, Oksana H, *et al.* Melanoma-associated antigen tyrosinase but not Melan-A/MART-1 expression and presentation

- dissociated during the heat shock response[J]. *International Immunology*, 2005, 17: 257–269.
- [14] Salamatus M, Stuartk C. Heat induced release of Hsp70 from prostate carcinoma cells involves both active secretion and passive release from necrotic cells [J]. *International Journal of Hyperthermia*, 2006, 22: 575–585.
- [15] Akira I, Fumiko M, Hiroyuki H, *et al.* Antitumor effects of combined therapy of recombinant heat shock protein 70 and hyperthermia using magnetic nanoparticles in an experimental subcutaneous murine melanoma[J]. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 2004, 53: 26–32.
- [16] Akira I, Masashige S, Hiroyuki H, *et al.* Augmentation of MHC class I antigen presentation via heat shock protein expression by hyperthermia [J]. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 2001, 50: 515–522.
- [17] Fagnoni F F, Zerbini A, Pelosi G, *et al.* Combination of radiofrequency ablation and immunotherapy[J]. *Frontiers in Bioscience*, 2008, 13: 369–381.
- [18] Zhou Q, Zhu X Q, Zhang J, *et al.* Changes in circulating immunosuppressive cytokine levels of cancer patients after high intensity focused ultrasound treatment [J]. *Ultrasound in Medicine and Biology*, 2008, 34: 81–87.
- [19] Wu F, Wang Z B, Cao Y D, *et al.* Expression of tumor antigens and heat shock protein 70 in breast cancer cells after high-intensity focused ultrasound ablation [J]. *Annals of Surgical Oncology*, 2006, 14: 1237–1242.
- [20] 夏启胜, 刘轩, 徐波, 等. 热籽感应加温对荷瘤小鼠治疗效果的实验研究[J]. 中国微创外科杂志, 2007, 7(11): 1031–1034.  
Xia Qisheng, Liu Xuan, Xu Bo, *et al.* *Chinese Journal of Minimally Invasive Surgery*, 2007, 7(11): 1031–1034.
- [21] 胡润磊, 刘轩, 徐波, 等. 磁流体热疗对小鼠 Lewis 肺癌治疗作用的实验研究[J]. 中国微创外科杂志, 2007, 7(11): 1043–1045.  
Hu Runlei, Liu Xuan, Xu Bo, *et al.* *Chinese Journal of Minimally Invasive Surgery*, 2007, 7(11): 1043–1045.
- [22] 胡润磊, 刘轩, 徐波, 等. 磁流体热疗对荷 Lewis 肺癌小鼠肿瘤细胞凋亡和周期的影响[J]. 中国微创外科杂志, 2007, 7(11): 1046–1048.  
Hu Runlei, Liu Xuan, Xu Bo, *et al.* *Chinese Journal of Minimally Invasive Surgery*, 2007, 7(11): 1046–1048.
- [23] 胡润磊, 刘轩, 徐波, 等. 肿瘤热疗用磁流体在体外的热效应研究[J]. 中国微创外科杂志, 2007, 7(11): 1049–1050.  
Hu Runlei, Liu Xuan, Xu Bo, *et al.* *Chinese Journal of Minimally Invasive Surgery*, 2007, 7(11): 1049–1050.
- [24] 刘轩, 徐波, 夏启胜, 等. 磁感应加温对兔耳 VX-2 肿瘤的杀伤效应 [J]. 中国微创外科杂志, 2007, 7(11): 1035–1037.  
Liu Xuan, Xu Bo, Xia Qisheng, *et al.* *Chinese Journal of Minimally Invasive Surgery*, 2007, 7(11): 1035–1037.
- [25] 夏启胜, 刘轩, 徐波, 等. 热籽感应加热对恶性黑色素瘤细胞的杀伤作用[J]. 中国微创外科杂志, 2007, 7(11): 1038–1042.  
Xia Qisheng, Liu Xuan, Xu Bo, *et al.* *Chinese Journal of Minimally Invasive Surgery*, 2007, 7(11): 1038–1042.
- [26] Li N, Yao H T, Xia Q S, *et al.* Progress on heating stent in treatment of patients with esophageal carcinoma[J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2008, 8(4): 734–736.
- [27] Guo Z D, Wang X W, Tang J T. Biocompatibility of magnetic materials in tumor hyperthermia [J]. *Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research*, 2008, 12(32): 6339–6342.
- [28] 刘伟学, 唐露新, 杨雄伟, 等. 嵌入式中频感应热疗设备监控系统[J]. 工业仪表与自动化装置, 2006(6): 59–61.  
Liu Weixue, Tang Luxin, Yang Xiongwei, *et al.* *Industrial Instrumentation & Automation*, 2006(6): 59–61.
- [29] Gneveckow U, Jordan A, Scholz R, *et al.* Description and characterization of the novel hyperthermia- and thermo ablation-system MFH 300F for clinical magnetic fluid hyperthermia[J]. *Medical Physics*, 2004, 31(6): 1444–1451.
- [30] 吴亚, 孙剑飞, 郭全忠, 等. 肿瘤热疗用交变磁场发生器的研制[J]. 东南大学学报: 自然科学版, 2004, 34(6): 794–796.  
Wu Ya, Sun Jianfei, Guo Quanzhong, *et al.* *Journal of Southeast University: Natural Science Edition*, 2004, 34 (6): 794–796.
- [31] Stratton J A. Electromagnetic theory[M]. New York: McGraw-Hill, 1941: 124.
- [32] Landau L D, Lifshitz E M. Electrodynamics of continuous media[M]. London: Pergamon, 1960.
- [33] 姜寿亭, 李卫. 凝聚态磁性物理[M]. 北京: 科学出版社, 2003.  
Jaing Shouting, Li Wei. *Condensed magnetic physics* [M]. Beijing: Science Press, 2003.
- [34] Morrish A H. The physical principles of magnetism[M]. New York: John Wiley & Sons, 1965.
- [35] Shliomis M. Magnetic fluids [J]. *Soviet Physics Uspekhi (Eng trans)*, 1974, 17(3): 153–169.
- [36] Rosensweig R E. Heating magnetic fluid with alternating magnetic field [J]. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 2002, 252 (11): 370–374.
- [37] Wang X F, Tang J T, Shi L Q. Induction heating of magnetic fluids for hyperthermia treatment [J]. *IEEE Transactions on Magnetics*, 2010, 46 (4): 1043–1051.
- [38] Ito A, Shinkai M, Honda H, *et al.* Medical application of functionalized magnetic nanoparticles [J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2005, 100(1): 1–11.
- [39] Kumar C. Nanomaterials for cancer therapy[M]. New York: Wiley-VCH, 2006.
- [40] Gupta A K, Gupta M. Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications [J]. *Biomaterials*, 2005, 26: 3995–4021.
- [41] Sonvico F, Momet S, Vasseur S, *et al.* Folate-Conjugated iron oxide nanoparticles for solid tumor targeting as potential specific magnetic hyperthermia mediators: Synthesis, physicochemical characterization, and *in vitro* experiments [J]. *Bioconjugate Chemistry*, 2005, 16: 1181–1188.
- [42] William J A, Brezovich I A. Usable frequencies in hyperthermia with thermal seeds [J]. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 1984, 31(1): 70–75.
- [43] Qi Y, Sun G, Chen J, *et al.* Study of magnetic inductive hyperthermia by ferroelectric thermoseed[J]. *Biomagnetism*, 2005, 5(1): 12–14.
- [44] Tang J. Progress of magnetic inductive hyperthermia new technology[C]. Apparatus and Instrument Academy of China Medical Treatment Instrument Branch, 2006 Annual Conference, 2006: 30–39.
- [45] 张晓冬, 朱丽艳, 郭振东, 等. 磁感应治疗用 Ni-Cu 合金铁磁热籽的磁热效应及 Au 镀层对发热效率的影响 [J]. 磁性材料及器件, 2009,

- 40(5): 15–20.  
Zhang Xiaodong, Zhu Liyan, Guo Zhendong, *et al.* *Journal of Magnetic Materials and Devices*, 2009, 40(5): 15–20.
- [46] 谢小雪, 高福平, 白雪, 等. 磁感应热疗用镍-铜热籽对 L-929 细胞及兔肌肉组织的影响[J]. *中国微创外科杂志*, 2009, 9(6): 481–486.  
Xie Xiaoxue, Gao Fuping, Bai Xue, *et al.* *Chinese Journal of Minimally Invasive Surgery*, 2009, 9(6): 481–486.
- [47] Freudenberg S, Bay S R F, Khouri C A, *et al.* Local application of hyperthermia in the esophagus with a heatable malleable thermoplastic stent[J]. *European Surgical Research*, 2006, 38: 42–47.
- [48] Nagashima K, Takagi R, Hoshina H, *et al.* Effect of local hyperthermia on metastases in oral squamous cell carcinoma[J]. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 2002, 31: 84–89.
- [49] 王锐, 赵凌云, 刘继光, 等. 交变磁场诱导冠状动脉支架的升温[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2010, 14(22): 4036–4040.  
Wang Rui, Zhao Lingyun, Liu Jiguang, *et al.* *Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research*, 2010, 14(22): 4036–4040.
- [50] Skiyama S, Kawasaki S, Kodera Y, *et al.* A new method of thermo-chemotherapy using a stent for patients with esophageal cancer [J]. *Surgery Today*, 2006, 36: 19–24.
- [51] Popma J J, Califf R M, Topol E J. Clinical Trails of restenosis after coronary angioplasty[J]. *Circulation*, 1991, 84: 1426–1436.
- [52] Feng S S, Zeng W T, Lim Y T, *et al.* Vitamin E TPGS-emulsified poly (lactic-co-glycolic acid) nanoparticles for cardiovascular restenosis treatment[J]. *Nanomedicine*, 2007, 2(3): 333–344.
- [53] Koji O, Sadatoshi B, Shuichi H, *et al.* Hyperthermia at 43°C for 2h inhibits the proliferation of vascular smooth muscle cells, but not endothelial cells[J]. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 2002, 34: 1205–1215.
- [54] 王露方, 董坚, 欧阳伟炜, 等. 磁流体热疗对小鼠胰腺癌治疗作用的研究[J]. *中国肿瘤临床*, 2009, 36(22): 1304–1306.  
Wang Lufang, Dong Jian, Ouyang Weiwei, *et al.* *Chinese Journal of Clinical Oncology*, 2009, 36(22): 1304–1306.
- [55] Ito A, Honda H, Kobayashi T. Cancer immunotherapy based on intracellular hyperthermia using magnetite nanoparticles: A novel concept of "heat-controlled necrosis" with heat shock protein expression [J]. *Cancer Immunology Immunotherapy*, 2006, 55 (3): 320–328.
- [56] Brassard D L, Grace M J, Bordens R W. Interferon- $\alpha$  as an immunotherapeutic protein [J]. *Journal of Leukocyte Biology*, 2002, 71 (4): 565–581.
- [57] Kawai N, Ito A, Nakahara Y, *et al.* Anticancer effect of hyperthermia on prostate cancer mediated by magnetite cationic liposomes and immune-response induction in transplanted syngeneic rats [J]. *Prostate*, 2005, 64 (4): 373–381.
- [58] Shah A, Unger E, Bain M D, *et al.* Cytokine and adhesion molecule expression in primary human endothelial cells stimulated with fever-range hyperthermia [J]. *International Journal of Hyperthermia*, 2002, 18 (6): 534–551.
- [59] Gnant M F, Turner E M, Alexander H R, Jr. Effects of hyperthermia and tumor necrosis factor on inflammatory cytokine secretion and procoagulant activity in endothelial cells[J]. *Cytokine*, 2000, 12(4): 339–347.
- [60] Wisniewski T T, Hunsler J, Neureiter D, *et al.* Activation of tumor-specific T lymphocytes by radio-frequency ablation of the vx2 hepatoma in rabbits[J]. *Cancer Research*, 2003, 63(10): 6496–6500.
- [61] Atanackovic D, Pollok K, Faltz C, *et al.* Patients with solid tumors treated with high-temperature whole body hyperthermia show a redistribution of naive/memory T-cell subtypes [J]. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 2006, 290(3): R585–R594.
- [62] Manjili M H, Wang X Y, Park J, *et al.* Cancer immunotherapy: Stress proteins and hyperthermia [J]. *International Journal of Hyperthermia*, 2002, 18(6): 506–520.
- [63] Frank P, van Arndt O, William H M. Hyperthermia-induced proteasome inhibition and loss of androgen receptor expression in human prostate cancer cells[J]. *Cancer Research*, 2005, 65(11): 4836–4843.
- [64] Barnes W. The anatomy of the immune system[EB/OL]. [2009-03-14] [http://www.resorttohealth.com.au/uploaded/files/client\\_added/The%20Anatomy%20of%20the%20Immune%20System.pdf](http://www.resorttohealth.com.au/uploaded/files/client_added/The%20Anatomy%20of%20the%20Immune%20System.pdf).
- [65] Zhang H G, Mehta K, Cohen P, *et al.* Hyperthermia on immune regulation: A temperature's story[J]. *Cancer Letters*, 2008, 271(2): 191–204.
- [66] Mukhopadhyaya A, Mendecki J, Dong X, *et al.* Localized hyperthermia combined with intratumoral dendritic cells induces systemic antitumor immunity[J]. *Cancer Research*, 2007, 67(16): 7798–7806.
- [67] Dieing A, Ahlers O, Hildebrandt B, *et al.* The effect of induced hyperthermia on the immune system [J]. *Progress in Brain Research*, 2007, 162: 137–152.
- [68] 张莹莹, 张威, 耿传营, 等. 不同热剂量局部热疗对小鼠黑色素瘤的疗效及其抗肿瘤免疫激发作用的比较研究 [J]. *中国微创外科杂志*, 2009, 9(3): 250–253.  
Zhang Yingying, Zhang Wei, Geng Chuanying, *et al.* *Chinese Journal of Minimally Invasive Surgery*, 2009, 9(3): 250–253.
- [69] Cippitelli M, Fionda C, Bona D Di, *et al.* Hyperthermia enhances CD95-ligand gene expression in T lymphocytes [J]. *J Immunol*, 2005, 174(1): 223–232.
- [70] Todck S, Meleher A, Hardwick N, *et al.* Heat shock protein 70 induced during tumor cell killing induces Th1 cytokines and targets immature dendritic cell precursors to enhance antigen up take [J]. *J Immunol*, 1999, 163(3): 1398–1408.
- [71] Somersan S, Larsgon M, Fontencau F, *et al.* Primary tumortissue lysates are enriched in heat shock protein and induce the maturation of human dendritic cell[J]. *J Immunol*, 2001, 167(9): 4884–4852.
- [72] Calderwood S K, Theriault J R, Gong J. How is the immune response affected by hyperthermia and heat shock proteins [J]. *International Journal of Hyperthermia*, 2005, 21(8): 713–716.
- [73] Chan T, Chen Z, Hao S, *et al.* Enhanced T-cell immunity induced by dendritic cells with phagocytosis of heat shock protein 70 gene-transfected tumor cells in early phase of apoptosis [J]. *Cancer Gene Therapy*, 2007, 14(4): 409–420.
- [74] Guo W, Fang B. Enhancing anti-cancer virotherapy with heat-shock protein-mediated immune response [J]. *Cancer Biology and Therapy*, 2008, 7(2): 196–197.
- [75] Menoret A, Patty Y, Burg C, *et al.* Co-segregation of tumor immunogenicity with expression of inducible but not constitutive hsp70 in rat colony carcinomas[J]. *Immunology*, 1995, 155(2): 740–747.

(责任编辑 李慧政)