

[文章编号] 1007-385X(2004)04-0239-05

抗 CEA 单抗- β -葡萄糖苷酶偶联物的制备及体外激活苦杏仁甙靶向杀伤 LoVo 细胞的实验研究

连彦军¹, 陈道达¹, 郑勇斌¹, 许天文¹, 柯茂林¹, 黄 韬¹, 沈关心²(1. 华中科技大学同济医学院附属协和医院普外科, 武汉 430022; 2. 华中科技大学同济医学院免疫学系, 武汉 430030)

[摘 要] 目的: 制备抗 CEA 单抗- β -葡萄糖苷酶偶联物, 检测其免疫反应性及酶活性, 并观察其体外激活苦杏仁甙前药对 LoVo 细胞的靶向杀伤效应。方法: 通过异型双功能交联剂 N-琥珀酰亚胺-间(N-马来酰亚胺基) 苯甲酸酯(MBS) 将抗 CEA 单克隆抗体与 β -葡萄糖苷酶交联, 制备抗 CEA 单抗- β -葡萄糖苷酶偶联物, ELISA 法检测偶联物的抗体亲和力及酶活性, MTT 法检测其对苦杏仁甙前药激活后对表达 CEA 的大肠癌细胞株 LoVo 和无 CEA 表达的乳腺癌细胞株 MCF-7 的杀伤作用。结果: 抗 CEA 单抗- β -葡萄糖苷酶偶联物既保持了与靶细胞的特异性免疫反应性又保持了酶活性, 体外能有效激活苦杏仁甙前药, 对 LoVo 细胞产生剂量依赖性靶向杀伤作用, 而对对照乳腺癌 MCF-7 细胞无明显的杀伤作用。结论: 抗 CEA 单抗- β -葡萄糖苷酶偶联物具有良好的体外结合大肠癌 LoVo 细胞的能力, 并能有效激活苦杏仁甙前药发挥对靶细胞的特异性杀伤作用, 该方法有可能进一步用于大肠癌的治疗。

[关键词] 免疫轭合物; 单克隆抗体; 苦杏仁甙; 前药; 大肠癌

[中图分类号] R735.3⁺4 [文献标识码] A

Preparation of Anti-CEA McAb- β -Glucosidase Conjugate and Its Killing Effect Against LoVo Cells in Combination with Amygdalin *in vitro*

LIAN Yan-jun¹, CHEN Dao-da¹, ZHENG Yong-bin¹, XU Tian-wen¹, KE Mao-lin¹, HUANG Tao¹, SHEN Guan-xin²(1. Department of General Surgery, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China; 2. Department of Immunology, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

[Abstract] **Objective:** To prepare anti-CEA monoclonal antibody- β -glucosidase conjugate(Anti-CEA McAb- β -glucosidase conjugate), evaluate its immunoreactivity and enzymatic activity, and study its killing effect against LoVo cells in combination with amygdalin *in vitro*. **Methods:** Anti-CEA monoclonal antibody- β -glucosidase conjugate was prepared to use heterobifunctional crosslinking reagent 3-maleimidobenzoic acid N-succinimidyl ester (MBS) conjugating β -glucosidase to a anti-CEA monoclonal antibody, the immunoreactivity and enzymatic activity of the conjugate was tested by ELISA method. The cytotoxicity to targeted cells and untargeted cells following specific activation of amygdalin by the conjugate was evaluated by MTT assay *in vitro*. **Results:** Anti-CEA McAb- β -glucosidase conjugate kept both immunoreactivity and enzymatic activity. Anti-CEA McAb- β -glucosidase conjugate could kill LoVo cells specifically and activate amygdalin to kill LoVo cells in a dose-dependent manner, but it had not the same effect against MCF-7 cells. **Conclusion:** Anti-CEA McAb- β -glucosidase conjugate has a good character for binding LoVo cells *in vitro* and can activate amygdalin prodrug to kill targeted cells specifically. This way might become a hopeful model of colorectal carcinoma immunotherapy.

[Key words] immunoconjugate; monoclonal antibody; amygdalin; prodrug; colorectal neoplasm

* 化疗是当前治疗恶性肿瘤的重要手段之一, 如何增加化疗药物在肿瘤局部的浓度是提高疗效的关键, 也是当前研究的热点。抗体导向酶解前药治疗(anti-

[基金项目] 国家自然科学基金(30170921)

[作者简介] 连彦军(1969-), 男, 河北邢台人, 主治医师, 在读博士, 主要从事消化道肿瘤的研究
E-mail: lianalian@163.com

body-directed enzyme-prodrug therapy, ADEPT)可在增加靶细胞药物浓度的同时降低正常组织的药物浓度,减轻化疗引起毒副作用并提高疗效^[1];苦杏仁甙是苦杏仁的主要成分之一,在 β -葡萄糖苷酶的特异性作用下可转化为氰化物,国外八十年代已有将苦杏仁甙与 β -葡萄糖苷酶联合应用治疗肿瘤的实验研究,但因产生的氰化物缺乏靶向性,治疗效果并不理想。我们先前的研究表明,苦杏仁甙在 β -葡萄糖苷酶作用下对大肠癌 LoVo 细胞具有很强的体外杀伤作用,细胞毒作用比单用苦杏仁甙增加了近 40 倍,为此,我们以抗 CEA 单抗为靶向载体,通过化学交联的方法将 β -葡萄糖苷酶与抗 CEA 单克隆抗体连接制备抗 CEA 单抗- β -葡萄糖苷酶偶联物,并对其体外靶向人大肠癌 LoVo 细胞和杀伤 LoVo 细胞的作用进行探讨。

1 材料与方法

1.1 主要材料来源

苦杏仁甙、 β -葡萄糖苷酶(20 U/mg)、N-羧基琥珀酰亚胺-间(N-马来酰亚胺基)苯甲酸酯(MBS)、2-亚胺基四氢噻吩(2-IT)、邻硝基苯 β -D-吡喃半乳糖(ONPG)、N-己基顺丁烯二酰亚胺,均为 Sigma 公司产品;Sephadex G25, Sephacryl S300 为 Pharmacia 公司产品;抗人 CEA 单克隆抗体,为鼠源性,属 IgG 类,购自基因公司;抗人 AFP 单克隆抗体,为鼠源性,是以正辛酸沉淀法从 Balb/c 小鼠杂交瘤腹水中提取,并经离子交换层析法进一步纯化所得;四氮唑蓝(MTT)、辣根过氧化物酶标记的羊抗小鼠 IgG 抗体等均购自晶美公司;蛋白质分子量标准购自上海华舜生物工程有限公司;RPMI-1640 培养基, Gibco 公司产品;大肠癌细胞株 LoVo、乳腺癌细胞株 MCF-7,为本实验室保存。

1.2 细胞培养

大肠癌细胞株 LoVo 及乳腺癌细胞株 MCF-7 在 37℃、饱和湿度及 5% CO₂ 的细胞培养箱中进行,培养于含 10% 灭活胎牛血清的 RPMI-1640 培养基中,加 100 U/ml 青霉素、100 U/ml 链霉素,每 2~3 天换液 1 次,取对数生长期的细胞用于实验。

1.3 抗 CEA 单抗- β -葡萄糖苷酶偶联物的制备^[2-3]

取 β -葡萄糖苷酶 12.5 mg 溶解于 2 ml 浓度 0.05 mol/L 的 PB 缓冲液(pH 6.6, 含 1 mol/L 的 EDTA)中,为封闭自由巯基,加入 0.4 mg N-己基顺丁烯二酰亚胺,室温不断摇动下反应 1 h;将异型双功能交联剂 MBS 0.5 mg 于 0.5 ml 二甲基甲酰胺中溶解后,加入上述 β -葡萄糖苷酶溶液中,室温不断摇动下反应 1 h,反应物经 Sephadex G25 层析柱分离纯化, PB 缓冲液洗脱,收集第一峰,浓缩,即得到 β -葡萄糖苷酶-MBS。取

6.25 mg 抗 CEA 单抗溶于 1 ml 浓度为 0.1 mol/L 的 Tris-HCl(pH 8.0)中,加入 2-IT 0.27 mg,室温下摇动下反应 1 h,反应物同样经 Sephadex G25 层析柱分离纯化, Tris-HCl(pH 8.0)洗脱,收集第一峰并适当浓缩后直接加入 β -葡萄糖苷酶-MBS 中,室温不断摇动下反应 1 h,反应物过 Sephacryl S300 层析柱, 0.01 mol/L 的 PBS(pH 7.4)洗脱,收集第一峰即得到纯化的抗 CEA 单抗- β -葡萄糖苷酶偶联物。

1.4 抗 CEA 单抗- β -葡萄糖苷酶偶联物的抗原结合活性检测

用间接 ELISA 法检测偶联物与靶细胞的结合反应,将对数生长的人大肠癌株 LoVo 和对照细胞人乳腺癌细胞株 MCF-7 分别调整至 2×10^5 /ml 接种于酶标板,每孔 100 μ l, 37℃, 5% CO₂ 培养箱培养 24 h,弃去培养液,以含 0.05% Tween-20 的 PBS(PBS-T)洗 1 次,加入 0.05% 的戊二醛,每孔 100 μ l, 4℃置 15 min 后弃去, PBS-T 洗涤 3 次,然后每孔加入 1% BSA 200 μ l, 4℃封闭过夜,将封闭好的酶标板再以 PBS-T 洗 1 遍,分别加入倍比稀释的抗 CEA 单抗- β -葡萄糖苷酶偶联物、抗 CEA 单抗,每孔 100 μ l, 37℃温育 1 h,弃去上清, PBS-T 洗涤 3 次,每孔加入辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠 IgG 二抗 200 μ l, 37℃反应 1 h,弃去二抗, PBS-T 洗涤 6 次,每孔加入邻苯二胺(OPD)底物反应液 200 μ l, 室温避光反应 10 min,以 2 mol/L 的硫酸终止反应,立即在酶标仪上检测 492 nm 吸光度。观察抗 CEA 单抗- β -葡萄糖苷酶偶联物、抗 CEA 单抗对靶细胞及非靶细胞的选择性结合。

1.5 抗 CEA 单抗- β -葡萄糖苷酶偶联物酶活性的检测

用 PBS 将 β -葡萄糖苷酶稀释成不同的浓度,分别取 100 μ l 加入 96 孔板,用醋酸钠缓冲液(pH 5.5)将 ONPG 配制成浓度为 40 mmol/L 的溶液,取 100 μ l 加入已含 β -葡萄糖苷酶的孔中,每孔设 3 个复孔, 37℃反应 10 min 后立即加入 50 μ l 0.2 mol/L 的碳酸氢钠溶液终止反应,酶标仪下检测 405 nm 处吸光度值,以酶浓度为横坐标,吸光度值为纵坐标绘制标准曲线。将制备偶联物用上述相同的 PBS 稀释后加入 ONPG 底物反应并测定 405 nm 处吸光度值,测得值插入标准曲线求出偶联物中酶的活性。

1.6 抗 CEA 单抗- β -葡萄糖苷酶偶联物苦杏仁甙前药系统体外对 LoVo 细胞的特异性杀伤作用

将对数生长的 LoVo 细胞接种于 96 孔板,每孔 2×10^4 , 37℃, 5% CO₂ 培养箱培养 12 h 待细胞贴壁后,分别加入下列成分,终浓度为 250 nmol/L:(1)抗 CEA 单抗- β -葡萄糖苷酶偶联物;(2)抗 CEA 单抗加 β -葡萄糖苷酶;(3)抗 CEA 单抗;(4)抗 AFP 单抗- β -葡萄糖苷酶。

酶偶联物(同抗 CEA 单抗- β -葡萄糖苷酶偶联物制备方法所得)。上述各药物浓度分别设 3 个复孔,继续孵育 2 h,然后以无血清 RPMI-1640 培养基洗 3 次,再加入苦杏仁甙,使其终浓度分别为 0.1 mmol/L, 0.5 mmol/L, 1.0 mmol/L, 5.0 mmol/L 及 10.0 mmol/L, 继续培养 24 h 后每孔加入 MTT 20 μ l(浓度 5 mg/ml), 孵育 4 h, 然后吸去上清液, 每孔加入 DMSO 150 μ l, 充分震荡 10 min, 放入酶标仪以 570 nm 为检测波长测定各孔吸光度值(A), 每种浓度的 3 个孔取平均值, 按下面公式计算细胞抑制率: 细胞抑制率(%) = $(1 - A_{\text{实验组}} / A_{\text{对照组}}) \times 100\%$, 求出细胞生长抑制 50% 时的苦杏仁甙浓度, 即 IC_{50} 值。

1.7 统计学分析

结果数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SAS 软件进行 *t* 检验。

2 结果

2.1 抗 CEA 单抗- β -葡萄糖苷酶偶联物的制备及分子量测定

N-琥珀酰亚胺-间(N-马来酰亚胺基)苯甲酸酯(MBS)是一种异型双功能交联剂, 这种交联剂具有两个不同的选择性反应基团, 其一是 N-羟基琥珀酰亚胺酯, 可专一地与蛋白质分子中的氨基结合, 而另一马来酰亚胺残基可与蛋白质中的巯基反应, 我们通过还原剂 2-亚胺基四氢噻吩(2-IT)与抗-CEA 单抗反应在抗体中引入了巯基, 使先与 β -葡萄糖苷酶的氨基结合了的 MBS 只能同巯基化的抗体结合, 这就避免了连接反应中抗体与抗体、酶与酶之间的自身聚合, 提高了交联反应的效率。通过非还原 SDS-PAGE 电泳检测显示, 抗-CEA 单抗- β -葡萄糖苷酶偶联物的纯度高, 分子量约 225 kD, 恰为抗体与 β -葡萄糖苷酶分子量之和, 因而推断偶联产物中抗体与酶的分子比为 1:1(图 1)。

2.2 抗 CEA 单抗- β -葡萄糖苷酶偶联物的抗原结合活性

通过 ELISA 法测定显示, 偶联物中的抗体仍保留了与 LoVo 细胞的结合能力, 但偶联后抗体的亲和力有所降低, 而非靶抗原细胞 MCF-7 无反应, 表明偶联物保留了与靶抗原的选择性结合活性(图 2)。

2.3 抗 CEA 单抗- β -葡萄糖苷酶偶联物的酶活性

通过 ELISA 方法, 以裸 β -葡萄糖苷酶为标准绘制标准曲线, 将制备的偶联物同裸 β -葡萄糖苷酶的活性(20 U/mg)相比, β -葡萄糖苷酶偶联后酶活性亦有所下降, 为 16.7 U/ml, 有 16.5% 的酶活性损失(图 3)。

2.4 抗 CEA 单抗- β -葡萄糖苷酶偶联物/苦杏仁甙前药系统体外对靶细胞的特异性杀伤作用

由图 4 可见, 将 LoVo 细胞分别经不同方法处理

后, 只有与抗 CEA 单抗- β -葡萄糖苷酶偶联物孵育的细胞显示强的细胞抑制作用, 且对苦杏仁甙呈剂量依赖性, 其 IC_{50} 为 1.04 mmol/L, 而分别与非偶联的抗 CEA 单抗加 β -葡萄糖苷酶、抗 AFP 单抗- β -葡萄糖苷酶偶联物、单纯抗 CEA 单抗共同孵育后, 对 LoVo 细胞无明显的杀伤作用, 前者与后三者间差异显著($P < 0.01$)。

图 1 抗 CEA 单抗及抗 CEA 单抗- β -葡萄糖苷酶偶联物用 7% 非还原性聚丙烯酰胺凝胶电泳结果
Fig. 1 Analysis of Anti-CEA McAb- β -glucosidase conjugate using 7% SDS-PAGE gel

A: Anti-CEA McAb; B: Anti-CEA McAb- β -glucosidase conjugate; M: Marker

图 2 抗 CEA 单抗及抗 CEA 单抗- β -葡萄糖苷酶偶联物对人大肠癌 LoVo 细胞及乳腺癌 MCF-7 细胞的抗原结合活性
Fig. 2 Immunoreactivity of Anti-CEA McAb, Anti-CEA McAb- β -glucosidase conjugate against LoVo cells and MCF-7 cells

3 讨论

化疗是当前治疗恶性肿瘤的重要手段之一, 化疗过程中, 肿瘤组织必须达到一定的药物浓度才能有效杀伤肿瘤细胞, 加大药物剂量可以满足这一要求, 但与此同时化疗药物的毒副作用会增加, 因而如何增加化

疗药物的靶向性是化疗的关键。ADEPT 是提高药物靶向性的一种重要手段,该疗法依据抗体与抗原、酶与底物的双重选择特异性,先将制备的抗体-酶交联物注

性引起细胞呼吸抑制,致细胞死亡^[7];根据这一特性,有人将其用于膀胱癌及白血病治疗的研究,显示了良好的应用前景^[3,8]。但用于大肠癌的研究尚未见报道,我们在前期研究了苦杏仁甙被单纯 β-葡萄糖苷酶作用后对 LoVo 细胞影响的基础上,进一步成功制备了抗 CEA 单抗-β-葡萄糖苷酶偶联物,并研究了其体外靶向治疗大肠癌的可行性。

制备免疫偶联物通常通过化学交联的方法,目前多用异型双功能交联剂,如 SPDP[N-羟基琥珀酰亚胺基-3-(2-吡啶基二硫)-丙酸酯],MBS,SMBT(Sodium S-4-succinimidyl-oxycarbonyl-α-methyl benzyl thiosulfate), SMPT [4-succinimidyl-oxycarbonyl-α-methyl-α(2-pyridyl)dithio]toluene]等,该类交联剂可通过自身分子中的 2 个不同基团分别与 2 种被交联物结合,实现了交联反应的可控制进行,避免了被交联物的自身聚合和交叉反应,保证了产物的有效性。Searle 等^[9]研究发现,用不同的异型双功能交联剂制备羧肽酶 G2 与抗绒毛膜癌单抗(W14A)偶联物均能使产物保持有效的抗体及酶活性。国内李云春和布卡等^[10-11]分别用 SPDP 法制备了免疫毫微粒(粒),经检测能有效保持抗体的亲和力。我们用 MBS 通过化学交联法将抗 CEA 单克隆抗体与 β-葡萄糖苷酶偶联,制备了抗 CEA 单抗-β-葡萄糖苷酶偶联物,经 ELISA 实验证实偶联物既保持了与靶抗原的特异性结合力,又保持了其中酶的活性,说明偶联成功。

由于抗 CEA 单克隆抗体能与表达 CEA 的大肠癌细胞特异性结合,将抗 CEA 单抗-β-葡萄糖苷酶偶联物、抗 CEA 单抗、抗 AFP 单抗-β-葡萄糖苷酶偶联和抗 CEA 单抗加 β-葡萄糖苷酶物分别与 LoVo 细胞孵育并洗涤后,抗 CEA 单抗-β-葡萄糖苷酶偶联物与抗 CEA 单抗能特异性与 LoVo 细胞结合,在给予苦杏仁甙前药后,只有与抗 CEA 单抗-β-葡萄糖苷酶偶联物结合的细胞才能在其表面激活苦杏仁甙实现对肿瘤细胞的选择性杀伤,我们的实验结果证实了这一点。

本研究结果提示,通过异型双功能交联剂 MBS 制备的抗 CEA 单抗-β-葡萄糖苷酶偶联物能保持有效的抗原结合力和酶活性,体外具有良好的肿瘤靶向治疗作用,为进一步将抗 CEA 单抗-β-葡萄糖苷酶偶联物/苦杏仁甙系统用于大肠癌的全身治疗提供了实验基础;但是,其药代动力学、剂量、疗效、毒副作用值得进一步研究。

[参考文献]

[1] Jung M. Antibody directed enzyme prodrug therapy (ADEPT) and related approaches for anticancer therapy [J]. Mini Rev Med Chem, 2001, 1(4): 399-407.

图 3 抗 CEA 单抗-β-葡萄糖苷酶偶联的酶活性
Fig. 3 Enzyme activity of Anti-CEA McAb-β-glucosidase conjugate

图 4 抗 CEA 单抗-β-葡萄糖苷酶偶联物苦杏仁甙前药系统体外对 LoVo 细胞的特异性杀伤作用
Fig. 4 Cytotoxicity of Anti-CEA McAb-β-glucosidase conjugate, Anti-CEA McAb-β-glucosidase, Anti-AFP McAb-β-glucosidase conjugate and Anti-CEA McAb to LoVo cells

入体内,利用抗体与肿瘤细胞表面抗原的特异性结合将酶定位于肿瘤靶位,然后再给予没有活性的(无毒的)前体药物,此时已结合在肿瘤细胞表面的酶特异性将前体药物转化为活性药物,从而实现对肿瘤的局部杀伤作用;同时,由于酶的高催化活性,少量酶可激活大量前药,使得肿瘤局部的药物浓度大大提高,这也解决了单纯药物与抗体相联载药量不足的问题。ADEPT 在肿瘤治疗中已有报道,部分已进入临床实验阶段^[4,6]。苦杏仁甙,是苦杏仁的提取物,它在 β-葡萄糖苷酶偶联的特异性作用下可转变为氢氰酸,氢氰酸能与细胞内的细胞色素氧化酶三价铁结合,抑制该酶的活

- [2] 洪孝庄, 孙曼霁, 主编. 蛋白质连接技术[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1993. 43-48.
- [3] Syrigos KN, Rowlinson Busza G, Epenetos AA. *In vitro* cytotoxicity following specific activation of amygdalin by beta-glucosidase conjugated to a bladder cancer-associated monoclonal antibody[J]. *Int J Cancer*, 1998, 78(6): 712-719.
- [4] Tietze LF, Herzig T, Fecher A, et al. Highly selective glycosylated prodrugs of cytostatic CC-1065 analogues for antibody-directed enzyme tumor therapy[J]. *Chembiochem*, 2001, 2(10): 758-765.
- [5] Monks NR, Blakey DC, East SJ, et al. DNA interstrand cross-linking and TP53 status as determinants of tumour cellsensitivity *in vitro* to the antibody-directed enzyme prodrug therapy ZD2767[J]. *Eur J Cancer*, 2002, 38(11): 1543-1552.
- [6] Francis RJ, Sharma SK, Springer C, et al. A phase I trial of antibody directed enzyme prodrug therapy (ADEPT) in patients with advanced colorectal carcinoma or other CEA producing tumours [J]. *Br J Cancer*, 2002, 87(6): 600-607.
- [7] 穆静. 苦杏仁甙的研究进展[J]. *中医药信息*, 2002, 19(3): 19-21.
- [8] Kwon HY, Hong SP, Hahn DH, et al. Apoptosis induction of *Persea* Semen extract in human promyelocytic leukemia (HL-60) cells[J]. *Arch Pharm Res*, 2003, 26(2): 157-161.
- [9] Searle F, Bier C, Buckley RG, et al. The potential of carboxypeptidase G2-antibody conjugates as anti-tumor agents. I Preparation of antihuman chorionic gonadotrophin- carboxypeptidase G2 and cytotoxicity of the conjugate against JAR choriocarcinoma cells *in vitro*[J]. *Br J Cancer*, 1986, 53(3): 377-384.
- [10] 李云春, 蔡美英, 王仲琼, 等. 单抗 F(ab')₂ 段导向抗肝癌阿霉素免疫毫微球的制备及其体外杀伤癌细胞作用[J]. *华西医科大学学报*, 2002, 33(1): 8-11.
- [11] 布卡, 盛洁, 谢蜀生, 等. 抗人膀胱癌免疫毫微球的制备及活性检测[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 1996, 16(1): 54.

[收稿日期] 2004-03-29

[修回日期] 2004-08-10

· 研究简报 ·

[文章编号] 1007-385X(2004)04-0243-01

胞必佳和顺铂联合腔内给药治疗肺癌胸腔积液的临床观察

柳星, 章惠新, 刘文衡, 伞宝君(辽宁省肿瘤医院内二科, 沈阳 110042)

本研究观察了胸腔内植入中心静脉导管与胞必佳(N-CWS)和顺铂(PDD)联合腔内给药治疗肺癌胸腔积液的疗效。病例为1999年1月至2003年12月收治的肺癌胸腔积液患者,共78例,男52例,女26例,年龄33~74岁。所有病例均经病理细胞学证实,胸水找到癌细胞。78例中肺腺癌53例,鳞癌19例,小细胞肺癌6例。右侧胸水51例,左侧23例,双侧4例。KPS评分 ≥ 30 分。将患者随机分成治疗组(PDD+N-CWS)和对照组(PDD),治疗组41例,男27例,女14例,年龄35~72岁。对照组37例,男25例,女12例,年龄33~74岁。两组患者年龄,性别无显著性差异($P > 0.05$),具有可比性。在B超定位下,选患侧或胸水较多侧腋后线或肩胛下角线液性暗区最宽处为穿刺点,胸腔内植入中心静脉导管10~15 cm,外留导管用3 mol/L 无菌薄贴固定。用肝素帽封管。每天引流量不超过2 000 ml,滴速易慢。尽可能将胸水排净,然后腔内注射胞必佳和顺铂。治疗组:生理盐水20 ml, PDD 40~60 mg, 胞必佳600~800 μg , DXM 10 mg, 每周1次,共2~4次;对照组:生理盐水20 ml, PDD 40~60 mg, DXM 10 mg, 每周1次,共2~4次。应用DXM可以避免或缓解局部注药后引起的胸痛及发热等副反应。注药后嘱患者充分变换体位,使药液均匀地与胸膜广泛接触。结果表明,治疗组和对照组有效率分别为85.4%和51.4%, $P <$

0.01。副反应主要表现为发热,胸痛及胃肠道反应。治疗组与对照组发热发生率分别为63.4%与16.2%,差异显著($P < 0.01$)。两组胸痛发生率分别是68.3%与35.1%,差异显著($P < 0.01$)。消化道反应分别是24.4%与21.6%,无显著差异($P > 0.05$)。对症治疗后好转,均可耐受。肺癌胸腔积液患者胸腔内置入中心静脉导管,引流彻底,操作简单,合并胸腔内给药胞必佳和顺铂,疗效好,副反应轻微。胸水局部治疗的疗效与胸水排尽与否有关:(1)恶性胸水含蛋白质,血细胞等高渗物质,排尽胸水可降低胸膜腔内胶体渗透压,减少胸水渗出;(2)排尽胸水可增加胞必佳和顺铂的药物浓度,从而更好地提高疗效;(3)排尽胸水可使肺组织完全复张,使脏壁两层胸膜充分接触,产生黏连,更好地控制胸水。我们应用胸腔内留置中心静脉导管,持续充分引流,达到更好的疗效,而且其操作简单,创伤小,不易造成胸膜损伤,胸水引流时患者可随意呼吸,甚至咳嗽,能方便地控制流量及流速,避免纵隔摆动,减轻反复穿刺的痛苦。

[关键词] 中心静脉导管; 胸腔内封闭式引流; 胞必佳; 顺铂; 肺癌胸腔积液

[中图分类号] R734.2

[文献标识码] D

[收稿日期] 2004-04-05

[修回日期] 2004-05-20