

·论著·

血管内皮抑制素对¹²⁵I近距离照射裸鼠肺癌移植瘤的增敏效应研究

霍小东 王慧星 阎卫亮 焦玲 张文艺 郑广钧 王俊杰 于振涛 柴树德

300211, 天津医科大学第二医院胸外科(霍小东、阎卫亮、郑广钧、柴树德), 疼痛科(王慧星); 300192 天津, 中国医学科学院放射医学研究所, 天津市放射医学与分子核医学重点实验室(焦玲、张文艺); 100191, 北京大学第三医院肿瘤治疗中心放疗科(王俊杰); 300060, 天津医科大学附属肿瘤医院食管肿瘤科, 天津市肿瘤防治重点实验室(于振涛)

通信作者: 柴树德, Email: chaishude@126.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2016.05.006

【摘要】 目的 探讨重组人血管内皮抑制素对¹²⁵I粒子植入治疗裸鼠肺癌移植瘤模型的辐射增敏效应。方法 建立裸鼠移植瘤模型, 随机分成对照组(A组)、¹²⁵I植入组(B组)、重组人血管内皮抑制素组(C组)和¹²⁵I植入联合重组人血管内皮抑制素组(D组), 每组20只。移植瘤直径达2 cm时行¹²⁵I粒子植入, 处方剂量20 Gy, 采用治疗计划系统计算移植瘤的体积及接受剂量。按每只裸鼠每天给予20 mg/kg重组人血管内皮抑制素, 连续给药14 d, 观察并记录肿瘤生长的速度和瘤体体积的变化, 分别于第15、30天时处死裸鼠, 并通过免疫组化方法检测血管内皮生长因子(VEGF)的表达和微血管密度(MVD), 通过RT-PCR分别检测各组肿瘤组织中 $\alpha v\beta 3$ mRNA水平。结果 第15、30天时, D组的重量抑瘤率和体积抑瘤率与B、C组相比明显增加, 差异有统计学意义, B组和D组第30天时的重量抑瘤率和体积抑瘤率均较第15天时明显增加, 差异有统计学意义。免疫组化结果显示, 第15、30天时, D组与A、B、C组VEGF、MVD差异均有统计学意义, 其中, C组与A、B组VEGF、MVD差异有统计学意义, C组第30天时的VEGF表达水平和MVD较第15天时增加, 差异有统计学意义。RT-PCR结果显示, 第15、30天时, 与A组相比, B组 $\alpha v\beta 3$ mRNA的表达有所增加, 并随着时间的延长增加更明显, 差异有统计学意义, 而C组和D组 $\alpha v\beta 3$ mRNA的表达下降, 差异有统计学意义。结论 重组人血管内皮抑制素对肺癌移植瘤的近距离辐射增敏作用明确, VEGF、MVD、 $\alpha v\beta 3$ mRNA的表达变化是其重要机制。

【关键词】 内皮抑素类; 肺肿瘤; 辐射增敏药; 近距离放射疗法

基金项目: 天津市自然科学基金 15J0600840; 天津医科大学科学基金 2014-027

Sensitization effect of endostatin for ¹²⁵I brachytherapy on transplanted tumor in nude mice Huo Xiaodong, Wang Huixing, Yan Weiliang, Jiao Ling, Zhang Wenyi, Zheng Guangjun, Wang Junjie, Yu Zhen tao, Chai Shude

Department of Thoracic Surgery, the Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China (Huo XD, Yan WL, Zheng GJ, Chai SD); Pain Management Center, the Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China (Wang HX); Tianjin Key Laboratory of Radiation Medicine and Molecular Nuclear Medicine, Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences, Tianjin 300192, China (Jiao L, Zhang WY); Department of Radiation Oncology, Peking University Third Hospital, Beijing 100191, China (Wang JJ); Tianjin Key Laboratory of Cancer Prevention and Therapy, Department of Esophageal Oncology, Cancer Institute and Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300060, China (Yu ZT)

Corresponding author: Chai Shude, Email: chaishude@126.com

【Abstract】 Objective To investigate the radiation sensitization effect of endostatin on transplanted tumors in nude mice with ¹²⁵I radioactive seed. **Methods** Mice were randomly assigned to four groups

($n=20$): control group (group A), ^{125}I radioactive seed group (group B), endostatin group (group C), and ^{125}I radioactive seed combined with endostatin group (group D). When the diameter of the transplanted tumor was greater than 2 cm, ^{125}I radioactive particles were implanted. The prescription dose was 20 Gy. Treatment planning system was used to calculate the target area and size of tumors. Endostatin was injected intraperitoneally at 20 mg/kg once every day for 14 days, and the changes in tumor growth and size were observed. The animals were sacrificed at 15 and 30 days. The expression levels of vascular endothelial growth factor (VEGF) and microvessel density (MVD) in tumor tissues were detected by immunohistochemistry, whereas $\alpha\text{v}\beta 3$ mRNA levels were determined by RT-PCR. **Results** Compared with groups B and C, the tumor size, tumor weight, and tumor growth inhibitory rate of group D significantly increased at 15 and 30 days. The tumor size, tumor weight, and tumor growth inhibitory rate of groups B and D significantly increased at 30 days compared with those at 15 days. Immunohistochemical staining revealed that the expression levels of VEGF and MVD in group D were significantly different at 15 and 30 days compared with those in groups A, B, and C. The expression of VEGF and MVD in group C was significantly different at 15 and 30 days compared with that in groups A and B. VEGF and MVD in group C were significantly up-regulated at 30 days compared with those at 15 days. RT-PCR analysis demonstrated that the expression of $\alpha\text{v}\beta 3$ mRNA in group B obviously increased with time compared with that in group A. Compared with group A, $\alpha\text{v}\beta 3$ mRNA in group B was up-regulated, whereas $\alpha\text{v}\beta 3$ mRNA in groups C and D was significantly down-regulated. Compared with groups C and B, group D exhibited a statistically significant difference. **Conclusion** Endostatin is helpful to brachytherapy of lung tumor with radiosensitizing enhancement effects. Changes in VEGF, MVD, and $\alpha\text{v}\beta 3$ mRNA may be the rational treatment mechanism.

[Key words] Endostatins; Lung neoplasms; Radiation-sensitizing agents; Brachytherapy

Fund programs: National Natural Science Foundation of Tianjin (15JCYBJC28400); Science Foundation of Tianjin Medical University (2014KYQ27)

血管内皮抑制素与外放疗联合应用的基础研究已有报道, 内皮抑素对小鼠肺癌移植瘤、裸鼠人直结肠癌移植瘤以及对射线抗拒的移植瘤等均具有放射增敏作用^[1]。但在多数研究中, 血管内皮抑制素仅与外放疗联合, 对于联合 ^{125}I 低剂量率近距离放疗是否具有增敏作用尚缺少研究报道。重组人血管内皮抑制素作为一种血管内皮抑制素, 其联合 ^{125}I 低剂量率近距离照射是否对裸鼠肺癌移植瘤的辐射增敏有效果, 是本研究的意义所在。

1 材料与方法

1.1 细胞培养及裸鼠模型建立

细胞株采用 A549 肺癌细胞系, 由天津市肿瘤研究所公共实验室提供。培养液选取 RPMI1640, 加入 10% 胎牛血清、100 IU/mL 青霉素、100 mg/mL 链霉素, 置于 37℃、5%CO₂ 的孵育箱中培养。80 只雌性 BALB/c 裸鼠由天津市肿瘤研究所提供, 先在实验室饲养 1~2 d (空气层流室饲养, 室温为 26~28℃, 相对湿度 50%) 以适应室内环境, 肿瘤

移植时小鼠为 4~6 周龄, 体重为 15~20 g。饲料、垫料、笼具及饮水等物品均经高压蒸气灭菌, 并在无菌条件下更换。每只裸鼠皮下接种指数生长期 A549 细胞, 待细胞接种成功的移植瘤长径达 2 cm 时, 分离瘤组织, 用剪刀将组织块修剪成直径约 2 mm 的小块, 用 25 号接种针将其种植于 BALB/c 裸鼠前肢腋窝组织内, 整个肿瘤组织块的制备和种植均在无菌条件下进行。

1.2 瘤体大小的测量

记录皮下移植瘤的长径、短径, 按 $V(\text{mm}^3) = (D \times d^2) / 2$ 计算肿瘤体积 V , 其中, D 是肿瘤表面最长径, d 是肿瘤表面最短径。待裸鼠皮下种植的肿瘤组织块生长至肿瘤体积达 500 mm³ 后开始给药及植入粒子。将裸鼠随机分为 4 组: 对照组 (A 组)、 ^{125}I 植入组 (B 组)、重组人血管内皮抑制素组 (C 组)、 ^{125}I 植入联合重组人血管内皮抑制素组 (D 组), 每组 20 只。

1.3 植入粒子及给药

在无菌条件下, 实验人员穿铅衣, 戴护目镜、

铅手套,先将裸鼠固定,消毒裸鼠前肢腋下直径约1.5 cm范围的皮肤3遍。以远离选定点1 cm处为穿刺点刺入,植入针经皮下穿过直至消毒皮肤中心,拔出针芯,将粒子放入植入针,用针芯将粒子慢慢推入预定点。CT扫描确定植入部位是否准确,将CT图像输入治疗计划系统,计算剂量。粒子植入成功后,待裸鼠苏醒,送返动物饲养室继续饲养。根据前期预实验的结果,重组人血管内皮抑制素总的给药剂量为每只裸鼠每天20 mg/kg,质量浓度约为200(80~450) $\mu\text{g}/\text{mL}$ (0.9%生理盐水稀释),注射前1 h内,避光,在超净台内进行配制。通过裸鼠皮下进行注射,每日更换不同注射部位,连续注射14 d。

1.4 裸鼠移植瘤的瘤重及体积抑瘤率的测定

各组荷瘤裸鼠经不同处理后,于第15、30天各处死5只,经解剖分离并摘下瘤组织,测量其体积,并称重。肿瘤体积抑瘤率 $\left[\frac{\text{对照组平均体积}-\text{治疗组平均体积}}{\text{对照组平均体积}} \times 100\% \right]$;肿瘤重量抑瘤率 $\left[\frac{\text{对照组平均瘤重}-\text{治疗组平均瘤重}}{\text{对照组平均瘤重}} \times 100\% \right]$ 。

1.5 免疫组织化学法检测肿瘤组织中血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达和微血管密度(microvessel density, MVD)

各组荷瘤裸鼠经不同处理后,分别于第15、30天各处死5只,取瘤组织做组织切片,通过对移植瘤组织进行染色及免疫组化二步法来检测VEGF、MVD的表达情况。根据免疫组化结果,在400倍视野下选取具有代表性的区域,在每个选定区域中随机选取150~200个细胞,根据视野内的阳性细胞比例进行评分。当阳性细胞比例为 $\leq 5\%$ 、6%~25%、26%~50%、51%~75%、 $> 75\%$ 时,分别得到0分、1分、2分、3分、4分。根据显色程度为无色、浅黄色、棕黄色、棕褐色可分别得到0分、1分、2分、3分。以上两项得分相乘为该视野的总分。每张切片所得分是该切片选取的所有视野得分的均值。最后将切片的得分分为4个等级:0~1分表示阴性(-),2~4分为(+),5~8分为(++),9分以上为(+++)。

1.6 RT-PCR检测 $\alpha\text{v}\beta 3$ mRNA表达差异

在约100 mg组织中加入1 mL Trizol,匀浆器匀浆,直到看不到大块的组织,提取总RNA,逆转录成cDNA后进行RT-PCR反应。使用的引物由

上海生工生物工程技术有限公司合成, β -actin上游引物序列:5'-CACGATGGAGGGCCGGACTCATC-3',下游引物序列:5'-TAAAGACCTCTATGCCAACACAG-3',片段长度265 bp,退火温度58 $^{\circ}\text{C}$; $\alpha\text{v}\beta 3$ 上游引物序列:5'-GCTCATTGGCCTTGCTACTC-3',下游引物序列:5'-CCCGGTAGGTAGGTGATATTGGTG-3',片段长度167 bp,退火温度60 $^{\circ}\text{C}$ 。

1.7 统计学方法

肿瘤生长的平均相对体积、瘤重等计量资料采用均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)来表示。各组数据组间比较采用单因素方差分析。分析率的比较运用Fisher's确切检验或卡方检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组裸鼠移植瘤的重量及体积抑瘤率的比较

第30天时,D组的重量抑瘤率与B、C组相比明显增加,差异有统计学意义($\chi^2=12.9$ 、50.0, P 均 < 0.05),D组体积抑瘤率与B、C组相比明显增加,差异有统计学意义($\chi^2=13.7$ 、46.1, P 均 < 0.05);第30天时,D组的重量抑瘤率与B、C组相比明显增加,差异有统计学意义($\chi^2=10.8$ 、63.2, P 均 < 0.05),D组体积抑瘤率与B、C组相比明显增加,差异有统计学意义($\chi^2=9.1$ 、63.2, P 均 < 0.05);B组第30天时的重量抑瘤率和体积抑瘤率较第15天时明显增加,差异有统计学意义($\chi^2=7.3$ 、5.2, P 均 < 0.05);D组第30天时的重量抑瘤率和体积抑瘤率较第15天时明显增加,差异有统计学意义($\chi^2=4.3$ 、4.6, P 均 < 0.05);而C组第30天时的重量抑瘤率和体积抑瘤率较第15天时无明显变化,差异无统计学意义($\chi^2=2.3$ 、3.2, P 均 > 0.05)。详见表1。

2.2 粒子植入后瘤体接受剂量

粒子植入后用治疗计划系统进行粒子重建,导出剂量体积直方图验证靶区瘤体接受的覆盖90%靶体积时的剂量(D_{90})为 20.3 ± 2.2 Gy,被90%剂量覆盖的靶体积百分比(V_{90})为 $98.3\pm 8.2\%$,匹配周边剂量为20.1 Gy。覆盖90%靶体积时的剂量大于匹配周边剂量。

2.3 免疫组化检测移植瘤VEGF表达、MVD情况

免疫组化检测结果显示:第15天时,D组VEGF表达水平与A、B、C组比较差异有统计学

表1 不同处理方法组中裸鼠移植瘤的体积及重量抑制率(%)

Table 1 Volume, weight and growth inhibitory rate of the transplanted tumor in different treatment groups (%)

组别	只数	重量抑制率		体积抑制率	
		第15天	第30天	第15天	第30天
A组	5	-	-	-	-
B组	5	63.1	74.8	52.4	68.3
C组	5	36.5	38.6	29.5	30.8
D组	5	85.3	92.1	77.4	86.2

注:表中, A组为对照组; B组为¹²⁵I植入组; C组为重组人血管内皮抑制素组; D组为¹²⁵I植入联合重组人血管内皮抑制素组。

意义($t=11.9$ 、 12.6 、 3.3 , P 均 <0.05), D组MVD与A、B、C组比较差异有统计学意义($t=48.8$ 、 31.2 、 4.4 , P 均 <0.05)。第30天时, D组VEGF表达水平与A、B、C组比较差异有统计学意义($t=10.5$ 、 9.5 、 3.1 , P 均 <0.05), D组MVD与A、B、C组比较差异有统计学意义($t=45.1$ 、 26.9 、 11.8 , P 均 <0.05)。其中, C组第15天时VEGF表达水平与A、B组比较差异有统计学意义($t=11.5$ 、 12.2 , P 均 <0.05), C组MVD与A、B组比较差异有统计学意义($t=39.1$ 、 25.8 , P 均 <0.05); C组第30天时VEGF表达水平与A、B组比较差异有统计学意义($t=7.0$ 、 6.2 , P 均 <0.05), C组MVD与A、B组比较差异有统计学意义($t=34.4$ 、 18.3 , P 均 <0.05); C组第30天时VEGF表达水平和MVD较第15天时增加, 且差异有统计学意义($t=3.8$ 、 4.3 , P 均 <0.05)。详见表2。

表2 不同处理方法组中裸鼠移植瘤的VEGF表达和MVD比较

Table 2 Expression of VEGF and MVD in different treatment groups

组别	只数	VEGF表达水平		MVD/个	
		第15天	第30天	第15天	第30天
A组	5	82.17±17.38	87.16±19.37	50±3.2	58±4.1
B组	5	87.33±18.35	83.56±20.45	43±4.3	38±3.7
C组	5	28.54±11.45	46.37±17.73	14±2.6	18±3.2
D组	5	23.46±13.38	30.17±14.78	11±1.6	14±1.5

注:表中, A组为对照组; B组为¹²⁵I植入组; C组为重组人血管内皮抑制素组; D组为¹²⁵I植入联合重组人血管内皮抑制素组; VEGF:血管内皮生长因子; MVD:微血管密度。

2.4 不同处理方法对移植瘤 $\alpha\text{v}\beta 3$ mRNA表达的影响

RT-PCR结果显示:第15、30天时,与A组

相比, B组 $\alpha\text{v}\beta 3$ mRNA的表达有所增加, 并随时间的延长增加更明显, 差异有统计学意义($t=6.6$ 、 15.4 , $P<0.05$), 而C组和D组 $\alpha\text{v}\beta 3$ mRNA的表达下降, 差异有统计学意义(C vs. A: $t=16.1$ 、 16.5 , P 均 <0.05 ; D vs. A: $t=9.4$ 、 12.9 , P 均 <0.05)。说明重组人血管内皮抑制素联合¹²⁵I粒子照射可以抑制肿瘤细胞内 $\alpha\text{v}\beta 3$ mRNA的表达, D组最明显(表3)。

表3 不同处理方法组中移植瘤 $\alpha\text{v}\beta 3$ mRNA的表达比较

Table 3 $\alpha\text{v}\beta 3$ mRNA expression of transplanted tumor in different treatment groups

组别	只数	$\alpha\text{v}\beta 3$ mRNA表达	
		第15天	第30天
A组	5	1.53±0.18	1.51±0.20
B组	5	2.12±0.36	2.67±0.27
C组	5	0.74±0.11	0.93±0.19
D组	5	0.48±0.21	0.61±0.24

注:表中, A组为对照组; B组为¹²⁵I植入组; C组为重组人血管内皮抑制素组; D组为¹²⁵I植入联合重组人血管内皮抑制素组。

3 讨论

肺癌是世界范围内常见的恶性肿瘤之一, 其病死率在恶性肿瘤中居前位^[2-3]。在我国, 肺癌也是病死率最高的肿瘤, 80%确诊时往往已属中晚期^[4], 失去了根治性手术切除的机会, 而只能采用放射治疗。放射性粒子植入治疗肿瘤是局部适形内放疗。国内外多位学者研究报道了经CT引导下¹²⁵I粒子植入治疗中晚期肺癌, 均取得了一定的疗效, 但对大多数恶性肿瘤患者的长期生存率并没有明显地提高, 主要原因是大多数肿瘤细胞对射线的敏感性较差或产生耐受^[5-6]。因此, 探求具有射线增敏作用的药物具有重要的意义。VEGF抑制剂在正常血管系统中广泛表达, 但对肿瘤新生血管的形成起着负性调节的作用, 同时对原始内皮细胞的分化、血管内皮细胞的增殖及肿瘤生长均有抑制作用。经过近40年的探索, 近年来已经有几十种新生血管抑制剂进入I、II、III期临床研究, 其中最引人注目的便是目前发现的最广谱的血管生成抑制剂——Endostatin。Endostatin能作用于VEGF的受体KDR/Flk-1, 阻止VEGF与内皮细胞结合, 直接阻断VEGF的作用^[7]。重组人血管内皮抑制素联合化疗治疗中晚期非小细胞肺癌已经在我国完成

了Ⅲ期临床试验并取得了可喜成果^[8]。

重组人血管内皮抑制素联合放疗处理 A549 肺癌细胞^[9]及移植瘤^[10-11]、Lewis 肺癌细胞移植瘤^[12]、H520 肺鳞癌细胞^[13]的相关研究均证实重组人血管内皮抑制素联合放疗与单纯放疗相比显著提高了对移植瘤及肿瘤细胞的生长抑制作用,具有放射增敏作用。本研究结果发现, D 组对肿瘤的抑制作用最强,较 A、B 和 C 组更加明显,而 VEGF 表达和 MVD 的变化为不同处理组抑制作用的差异提供了解释。

¹²⁵I 作为一种低剂量率辐射源,半衰期为 60.2 d。近距离治疗的剂量率是按治疗区内参考点单位时间 (h) 所受到的放射剂量来决定的。剂量率直接影响放射治疗时的生物效应。¹²⁵I 的剂量率为 7.72 cGy/h。研究发现在较低范围内的不同剂量率照射下,细胞的反应也会出现不同的结果,从而产生不一样的剂量率效应^[14]。本研究采用¹²⁵I 低剂量率照射, B 组和 D 组第 30 天时的重量抑瘤率和体积抑瘤率较第 15 天时均明显增加,且差异有统计学意义,说明随着照射时间的延长,肿瘤所接受的剂量增加,细胞死亡增多,重量及体积减小。但 D 组较 B 组第 15、30 天时的重量抑瘤率和体积抑瘤率增加,且差异有统计学意义。Jain^[15-16]提出了“肿瘤血管正常化”的概念,即抗血管生成药物将肿瘤血管系统重新组织,使其结构能重塑并接近正常,功能得到改善,氧合作用增强,组织间液的压力降低,可提高放疗对抗肿瘤的疗效。因此,考虑重组人血管内皮抑制素作为一种抗血管生成药物,能显著改善肿瘤血管缺氧状态,使“肿瘤血管正常化”,降低肿瘤细胞对射线的抵抗性。本研究中处方剂量选定 20 Gy 主要考虑更低剂量不一定能对移植瘤产生明确的抑制效果,而更高的剂量可能对肿瘤产生过强的抑制作用,进而掩盖重组人血管内皮抑制素的疗效,反而不利于实验观察。

整合素 $\alpha v\beta 3$ mRNA 在内皮细胞中过度表达,主要参与内皮细胞的增殖、迁移和存活,促进新生血管的生长。本研究显示 ¹²⁵I 植入组 $\alpha v\beta 3$ mRNA 表达增高, Abdollahi 等^[17]在 $\alpha v\beta 3$ mRNA 拮抗剂联合外放疗对人脐静脉内皮细胞的研究中发现,随着照射剂量的增加,内皮细胞 $\alpha v\beta 3$ mRNA 的表达升高,这表明整合素 $\alpha v\beta 3$ mRNA 对肿瘤微血管免受放射诱导的损伤起着保护作用。本研究显示重组人血管内皮抑制素联合低剂量率放疗抑制 $\alpha v\beta 3$

mRNA 的作用显著,其原因可能是在使用重组人血管内皮抑制素后肿瘤组织 $\alpha v\beta 3$ mRNA 表达降低,使肿瘤新生血管减少,改善了肿瘤组织缺氧;另外,低剂量率放疗增加了肿瘤组织 $\alpha v\beta 3$ mRNA 的表达,使肿瘤细胞对重组人血管内皮抑制素的抗 $\alpha v\beta 3$ 作用靶点增多,从而起到增敏作用。

综上所述,抗血管生成治疗的主要靶点是肿瘤血管,近距离放射治疗的主要靶点是肿瘤细胞。两者之间存在协同作用机制从而提高放射治疗的疗效^[18]。也有学者认为,放射治疗可诱导肿瘤组织中血管生长因子 VEGF 的表达,增加肿瘤血管内皮细胞的放射抵抗,刺激肿瘤血管生长;而抗血管药物可抑制 VEGF 的表达,同时抑制新生血管生成,从而预防或延迟了肿瘤的局部复发^[19]。本研究结果提示,重组人血管内皮抑制素对肺癌移植瘤的近距离辐射增敏作用明确, VEGF、MVD、 $\alpha v\beta 3$ mRNA 的表达变化是其重要机制,本研究为临床中应用重组人血管内皮抑制素联合 ¹²⁵I 粒子治疗非小细胞肺癌提供了理论依据。

利益冲突 本研究由署名作者按以下贡献声明独立开展,不涉及任何利益冲突。

作者贡献声明 霍小东负责研究命题的提出、设计及论文起草;王慧星、阎卫亮负责研究过程的实施;焦玲、张文艺、郑广钧负责数据的获取、提供与分析;王俊杰、于振涛负责研究命题的总体提出并进行监督工作;柴树德负责研究命题的提出、设计以及论文审核。

参 考 文 献

- [1] 杨林,王金万,汤仲明,等.重组人血管内皮抑制素 I 期临床研究[J].中国新药杂志,2004,13(6):548-553. DOI:10.3969/j.issn.1673-5552.2006.08.036.
Yang L, Wang JW, Tang ZM, et al. Human recombinant endostatin I period clinical research[J]. Chin J New Drugs, 2004, 13(6): 548-553.
- [2] Yang P, Allen MS, Aubry MC, et al. Clinical features of 5,628 primary lung cancer patients; experience at Mayo Clinic from 1997 to 2003[J]. Chest, 2005, 128(1): 452-462. DOI:10.1378/chest.128.1.452.
- [3] Goeckenjan G. Lung cancer-historical development, current status, future prospects[J]. Pneumologie, 2010, 64(9): 555-559. DOI:10.1055/s-0030-1255636.
- [4] Wang T, Nelson RA, Bogardus A, et al. Five-year lung cancer survival; which advanced stage nonsmall cell lung cancer patients attain long-term survival?[J]. Cancer, 2010, 116(6): 1518-1525. DOI:10.1002/cncr.24871.

- [5] 张福君, 李传行, 吴沛宏, 等. ^{125}I 粒子组织间植入治疗局部晚期肺癌的对比研究. 中华医学杂志, 2007, 87(46): 3272-3275. DOI:10.3760/j.issn:0376-2491.2007.46.009.
Zhang FJ, Li CX, Wu PH, et al. CT guided radioactive ^{125}I seed implantation in treating localized advanced pulmonary carcinoma[J]. Natl Med J China, 2007, 87(46): 3272-3275.
- [6] 霍小东, 郑广钧, 柴树德, 等. CT 引导下 ^{125}I 放射性粒子植入治疗 III 期非小细胞肺癌疗效分析[J]. 中华放射医学与防护杂志, 2012, 32(2): 199-203. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-5098.2012.02.023.
Huo XD, Zheng GJ, Chai SD, et al. Clinical efficacy of CT-guided ^{125}I radioactive seeds implantation for stage III of non-small cell lung cancer[J]. Chin J Radiol Med Prot, 2012, 32(2): 199-203.
- [7] Kim YM, Hwang S, Kim YM, et al. Endostatin blocks vascular endothelial growth factor-mediated signaling via direct interaction with KDR/Flk-1[J]. J Biol Chem, 2002, 277(31): 27872-27879. DOI:10.1074/jbc.M202771200.
- [8] 王金万, 孙燕, 刘永煜, 等. 重组人血管内皮抑素联合 NP 方案治疗晚期 NSCLC 随机、双盲、对照、多中心 III 期临床研究[J]. 中国肺癌杂志, 2005, 8(4): 283-290.
Wang JW, Sun Y, Liu YY, et al. Results of randomized, multicenter, double-blind phase III trial of rh-endostatin(YH-16) in treatment of advanced non-small cell lung cancer patients[J]. Chin J Lung Cancer, 2005, 8(4): 283-290.
- [9] Zhang L, Ge W, Hu K, et al. Endostar down-regulates HIF-1 and VEGF expression and enhances the radioresponse to human lung adenocarcinoma cancer cells[J]. Mol Biol Rep, 2012, 39(1): 89-95. DOI:10.1007/s11033-011-0713-6.
- [10] Wen QL, Meng MB, Yang B, et al. Endostar, a recombined humanized endostatin, enhances the radioresponse for human nasopharyngeal carcinoma and human lung adenocarcinoma xenografts in mice[J]. Cancer Sci, 2009, 100(8): 1510-1519. DOI:10.1111/j.1349-7006.2009.01193.x.
- [11] Jiang XD, Dai P, Wu J, et al. Inhibitory effect of radiotherapy combined with weekly endostatin on the human pulmonary adenocarcinoma A549 xenografts in nude mice[J]. Lung Cancer, 2011, 72(2): 165-171. DOI:10.1016/j.lungcan.2010.09.003.
- [12] Meng MB, Jiang XD, Deng L, et al. Enhanced radioresponse with a novel endostatin protein via tumor vasculature remodeling: experimental and clinical evidence[J]. Radiother Oncol, 2013, 106(1): 130-137. DOI:10.1016/j.radonc.2012.10.022.
- [13] You ZY, Zhao Y, Liu F, et al. The radiosensitization effects of Endostar on human lung squamous cancer cells H-520[J/OL]. Cancer Cell Int, 2010, 10: 17[2016-04-14]. http://www.cancerci.com/content/10/1/17. DOI:10.1186/1475-2867-10-17.
- [14] Sugihara T, Magae J, Wadhwa R, et al. Dose and dose-rate effects of low-dose ionizing radiation on activation of Trp53 in immortalized murine cells[J]. Radiat Res, 2004, 162(3): 296-307.
- [15] Jain RK. Normalization of tumor vasculature; an emerging concept in antiangiogenic therapy[J]. Science, 2005, 307(576): 58-62. DOI:10.1126/science.1104819.
- [16] Jain RK. Normalizing tumor microenvironment to treat cancer: bench to bedside to biomarkers[J]. J Clin Oncol, 2013, 31(17): 2205-2218. DOI:10.1200/JCO.2012.46.3653.
- [17] Abdollahi A, Griggs DW, Zieher H, et al. Inhibition of $\alpha\text{v}\beta 3$ integrin survival signaling enhances antiangiogenic and antitumor effects of radiotherapy[J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(17): 6270-6279. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-04-1223.
- [18] Peng F, Xu Z, Wang J, et al. Recombinant human endostatin normalizes tumor vasculature and enhances radiation response in xenografted human nasopharyngeal carcinoma models[J/OL]. PLoS One, 2012, 7(4): e34646[2016-04-14]. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3322143. DOI:10.1371/journal.pone.0034646.
- [19] Liu J, Zhang Y, Sun P, et al. Enhanced therapeutic efficacy of adenovirus-mediated interleukin-24 gene therapy combined with ionizing radiotherapy for nasopharyngeal carcinoma[J]. Oncol Rep, 2013, 30(3): 1165-1174. DOI:10.3892/or.2013.2550.

(收稿日期: 2016-04-14)