



doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.03.021
http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.1005-6947.2015.03.021
Chinese Journal of General Surgery, 2015, 24(3):413-417.

· 文献综述 ·

微透析技术应用于胰腺研究的现状与展望

王丹¹, 刘春生², 周丁华³, 常子倩¹ 综述 李爱民³ 审校

(中国人民解放军第二炮兵总医院 1. 药剂科 2. 骨科 3. 肝胆外科, 北京 100088)

摘要

微透析技术(MD)是一种在不破坏机体内环境的前提下,对生物体细胞间液内源性或外源性物质进行连续取样和分析的微量生化取样技术。MD不仅可用于监测药物在内脏和肿瘤中的局部药代动力学,还可研究具有代谢产物与器官特异性的病理生理过程,并且有可能作为器官和肿瘤局部药物直接传递和评估工具。笔者就MD在胰腺研究相关应用作一概述,讨论其优势和局限性,并进行展望。

关键词

胰腺; 微透析技术; 综述文献
中图分类号: R657.5

Microdialysis applied in pancreas research: current status and future prospects

WANG Dan¹, LIU Chunsheng², ZHOU Dinghua³, CHANG Ziqian¹, LI Aimin³

(1. Department of Pharmacy 2. Department of Orthopaedics 3. Department of Hepatobiliary Surgery, the Second Artillery General Hospital, Beijing 100088, China)

ABSTRACT

Microdialysis (MD) is a biochemical micro-detection technique that can continuously sample and analyze the endogenous or exogenous substances in the intercellular fluid, with no impact on the internal environment of the organism. MD can be used to determine not only the local drug pharmacokinetics in internal organs or tumors but also the pathophysiological processes that have metabolic products or organ specificity, and even may be used as an approach for direct delivery and assessment of the local drug in organs and tumors. In this paper, the authors address the application of MD in dealing with pancreas-related research, and discuss its advantages and limitations, as well as the future prospects.

Key words

Pancreas; Microdialysis; Review
CLC number: R657.5

1 微透析技术概述

微透析技术(microdialysis, MD)是20世纪

70年代发展起来的一种在不破坏体内环境的前提下,对生物体细胞间液的内源性或外源性物质进行连续取样和分析的微量生化检测技术^[1]。微透析与普通透析原理相同,即可透过膜的物质顺着浓度梯度通过半透膜进行扩散,只是取样装置小巧,可以置入各种组织中。由于微透析技术具有对组织损伤小,可以最大程度获取代表机体生理或病理生理情况下的样本,真实地反映取样点目标化合

收稿日期: 2014-05-17; 修订日期: 2014-08-10。

作者简介: 王丹, 中国人民解放军第二炮兵总医院主管药师, 主要从事微透析技术临床应用方面的研究。

通信作者: 李爱民, Email: liaimin53@sina.com

物的浓度,而且能够多点同时取样,持续实时监测,与高效液相色谱仪(high performance liquid chromatography, HPLC)直接联机等优点,现已广泛应用于众多研究领域,特别是在局部药动学研究中具有其他方法难以取代的优势^[2-3]。虽然在胰腺研究领域的相关报道尚不多,但具有广阔的应用前景。

MD 与其他常规方法相比,如组织活检或正电子断层显像技术,它能动态监测生物体间质组织液中游离药物浓度。

采用 MD 研究内脏功能主要有以下 4 个方面。首先,在不同条件下研究生化物质变化,如能量代谢产物及兴奋性氨基酸等,可监测器官缺血及缺氧情况。其次,研究者阐释各器官特异性的生理或病理生理途径,如除能量代谢过程外,内脏中已鉴定的细胞因子级联反应及其相互作用。第三,不同药物在内脏各靶器官中的药物代谢动力学(pharmacokinetics, PK)和药物效应动力学(pharmacodynamics, PD)研究。最后,MD 已是评估特定器官或肿瘤的局部给药工具。

2 微透析技术与胰腺功能研究

胰腺 MD 研究目前仍较少且局限于动物实验,但研究内容广泛。在一项 PK 研究中,经胃腔在超声内镜引导下利用 19 G 穿刺针行比格犬胰腺穿刺,然后在胰腺组织中植入特制的 MD 探针^[4]。通常不会发生局部出血和积液,该方法可用于检测胰腺中 5-氟尿嘧啶的浓度,并且可检测某些血浆中含量很低或血浆中检测不到的指标。但结果发现 8 只比格犬中 2 只将探针植入胰腺软组织时探针发生断裂,这说明内脏 MD 实验可能存在风险,因此,体内应用前应慎重选择所用探针类型。

已有研究者^[5]在新药研发时将 MD 用于猪胰腺研究中。研究将重组胰蛋白酶抑制剂注入猪胰管中,MD 结果显示其在胰腺内其半衰期约 45 min。并且外分泌的胰蛋白酶原在胰腺中比腹膜下胰腺表面含量高。同一研究组^[6]在猪胰腺炎动物模型中评价了重组胰蛋白酶抑制剂的 3 种不同给药途径,即直接注射入胰管,注入胰腺相邻腹腔或通过静脉注射。结果显示采用直接注射入胰管方式时胰腺内胰蛋白酶抑制剂浓度最高,远高于静脉注射和腹

腔注入给药。重要的是胰管内给药后,患胰腺炎猪胰腺中胰蛋白酶抑制剂半衰期比健康猪胰腺中长 3~6 倍。该发现证明了管内抗蛋白酶疗法适于急性胰腺炎治疗,并且患病机体的病理生理学较正常人变化较大,因此揭示微透析用于患病机体中的 PK 研究意义重大。

MD 已结合其他方法比较仔猪轻度水肿性或严重坏死性胰腺炎的进展情况。在炎症反应早期阶段,白蛋白和蛋白质血管通透性增加仅发生于急性坏死性胰腺炎,而急性水肿性胰腺炎并不出现胰腺血管通透性增加急白蛋白等渗出,这一发现对急性胰腺炎病理生理研究至关重要^[7]。

MD 也对胰腺内分泌功能及血糖进行了相关研究。结果表明,大鼠胰腺直接注入催产素后,其胰岛素和胰高血糖素浓度也显著升高^[8]。有研究^[9]在非糖尿病及糖尿病大鼠肾包膜下方进行胰岛移植,一个月后采用 MD 评估移植胰岛的内环境。结果发现糖尿病动物移植胰岛局部胰岛素浓度显著低于血糖正常的动物。乳酸与丙酮酸高比值表明胰岛移植中葡萄糖厌氧代谢的增加。通过连续监测葡萄糖(CG M)判定胰岛素的自动输注可使糖尿病管理更容易,Freckmann 等^[10]研究胰岛素输注采用半闭环控制算法,并将其与直接输注进行比较。12 名受试者在自动化临床实验胰腺系统测试站(APS-TS)进行约 70 h 实验。接受胰岛素推荐剂量是基于微透析的 CGM 和糖尿病治疗参数。实验前半段,受试者自己管理糖尿病治疗,后半段,胰岛素推荐剂量由 APS-TS 提供。两个阶段的平均血糖分别为 114 mg/dl 和 125 mg/dl,达标(90~150 mg/dl)率大约分别为 46% 和 58%。前一阶段低血糖干预(碳水化合物口服)比后一阶段高 2 倍,因此使用微透析连续监测血糖从而判定胰岛素输注,可提高患者用药安全性。MD 还被用于体外研究离体狗胰腺中胰岛素和生长抑素通路^[11]。

一项新的胰腺组织液中游离左氧氟沙星药物浓度的 MD 研究发现,经静脉注射用药和经口服用药,两种方法均能达到预期的药物浓度水平,这进一步提示 MD 在胰腺血药浓度中研究的可行性和有效性^[12]。此外,MD 还用于研究猪模型的胰腺一过性缺血的病理生理变化,胰腺组织中的缺血损伤性指标要早于全身性指标如炎症因子等出现变化^[13]。

3 微透析技术与肿瘤研究

常规肿瘤实验中的血浆检测反映的是抗癌药物及其代谢物在血浆中的总浓度^[14]。然而,肿瘤化疗的临床疗效与肿瘤细胞靶点的游离药物浓度紧密相关,血药浓度无法代表肿瘤细胞靶点的游离药物浓度^[14-15]。因此,血浆检测数据无法准确有效的评价肿瘤化疗的临床疗效^[16]。

此外,若干扩散屏障的存在可能会使实体瘤中药物浓度大量减少^[15-18]。只有游离的抗癌药物可通过被动扩散或主动转运透过血管内皮层渗入肿瘤细胞,这可能与自身抵抗机制和临床疗效的差异性有关。由于MD可以测得肿瘤间质液中的游离药物浓度,因此该技术用于评估肿瘤局部PK和PD非常有效^[9]。MD是建立PK/PD模型的强有力工具,能更好地阐述肿瘤中药物暴露-反应关系。因此,使用MD可用于优化研究方法及筛选新型或已有的抗癌药物^[15-16]。

3.1 肿瘤生理学和治疗的新概念

肿瘤细胞外基质是大多数生长因子的生物活性部位,MD是测定肿瘤靶组织中生长因子的公认方法^[19]。

白细胞介素8(IL-8)与乳腺癌肿瘤血管生成、转移和预后不良有关,雌激素在乳腺癌变中至关重要。利用MD在绝经前后妇女正常乳腺组织、手术前乳腺癌组织、实验大鼠乳腺癌组织中研究雌激素对IL-8分泌的影响。结果发现在正常乳腺和激素依赖性乳腺癌中,IL-8水平和雌二醇有显著的相关性。抗IL-8抗体可抑制内皮细胞增殖和减少肿瘤血管生成^[20]。因此,IL-8可能是乳腺癌治疗中的一个有效治疗靶点。由于乳腺肿瘤微环境也可能有助于肿瘤的生长和侵袭,研究者^[21]结合MD和蛋白组学在乳腺癌的小鼠模型组和正常乳腺对照组中鉴定了400多种蛋白。结果显示骨桥蛋白在乳腺肿瘤中过度表达,可能会促进肿瘤细胞增殖和乳腺肿瘤发展。但在胰腺肿瘤研究中,尚未有类似报道。MD用于细胞因子研究的方法比较成熟^[22-24],应用MD研究胰腺癌组织中的细胞因子变化谱及其与侵袭转移的关系可能大有可为。

抗坏血酸作为抗氧化剂是一种必需营养素。然而在经胶质母细胞瘤异种移植的小鼠模型中的实时MD的研究结果显示静脉输入抗坏血酸,会选

择性地诱导肿瘤间质液中自由基和过氧化氢形成,而血液中没有变化。采用抗坏血酸治疗肿瘤可使胶质母细胞瘤、卵巢癌及胰腺癌肿瘤的增长率显著降低。抗坏血酸产生的过氧化氢依赖性细胞毒性选择性针对于癌细胞,而对正常细胞无影响,因此有利于癌症的治疗^[25-26]。

胰腺导管腺癌是一种恶性程度极高、治疗效果及预后极差的肿瘤,在西方国家总体5年生存率不超过5%^[27-28],根治性手术切除率仅为10%~15%^[29],且术后不久就会出现复发和转移。随着microRNA的发现及其研究进展,对胰腺癌早期诊断及治疗带来了新希望^[30-33]。应用MD研究胰腺癌组织中的microRNA调控产物的变化,可能是未来的研究方向之一。

3.2 MD作为将抗癌药物局部传递至肿瘤工具

化疗药物的全身毒性是临床治疗的主要问题,限制了化疗的有效性与实用性^[34]。人们已经开始寻找一些可增加肿瘤组织药物浓度,同时减少全身药物暴露和副作用的局部给药技术^[34-35]。设想将MD探针作为药物局部运载工具植入到肿瘤组织中,这将革新肿瘤治疗方案^[34]。研究者^[35]已开发精确数学模型来优化MD探针传递药物。MD技术在靶组织给药同时可监测治疗引起的化学变化^[36]。然而,MD局部化疗的成功应用须考虑肿瘤异质性、大小、耐药或肿瘤转移等因素。当前,MD局部化疗法还未能成为临床常规技术。

3.3 缺点

MD成功用于肿瘤的前提是其可对化疗药物及相关物质成功回收,回收率低是MD应用的主要限制因素,而探针的回收率通常受多种因素影响,不同的药物回收结果各异。初步实验显示多西紫杉醇回收率很低由于多西紫杉醇可与MD导管非特异性结合,大大影响了其回收率,因此研究者需对不同探针材料进行测试^[37]。所以,成功的回收试验设计及有效的质量控制是MD应用于肿瘤中必不可少的条件。

4 展 望

胰腺作为人体重要的代谢器官之一,对其代谢问题的研究仍有很多谜团尚待解决。MD对代谢器官的研究具有独特的技术优势。利用MD技术对

胰腺内外分泌功能的研究可能有助于发现糖尿病、慢性胰腺炎等患者的代谢异常问题及机制,为进一步临床应用奠定基础。

在神经外科中心,大脑组织 MD 监测已经成为临床常规操作程序,这提示 MD 对于其它器官可能也有临床应用可行性和优势。MD 对胰腺肾脏联合移植等手术期间监测器官缺血、再灌注损伤等可能有很大潜力。然而,为了证实 MD 在胰腺外科中的临床应用价值,还需进一步的研究和实践。

MD 在新药研发中无疑是非常有价值的工具。利用 MD 技术直接监测靶器官而非血浆的药代动力学,同时可量化药效。如何利用 MD 技术开发应用于胰腺的生物制剂等创新疗法,如监测生物制剂对于胰腺组织或胰腺肿瘤中的细胞因子的影响,是未来的一个发展方向。

利用 MD 进行局部给药具有避免或减轻化疗药物全身毒性反应的潜力。针对胰腺肿瘤的化疗具有副作用大,临床疗效相对较差的缺点,而利用 MD 进行胰腺肿瘤局部给药的研究将是一个令人兴奋和充满期待的领域。

参考文献

- [1] Höcht C, Opezzo JA, Taira CA. Microdialysis in drug discovery[J]. *Curr Drug Discov Technol*, 2004, 1(4):269-285.
- [2] Azeredo FJ, Dalla Costa T, Derendorf H. Role of microdialysis in pharmacokinetics and pharmacodynamics: current status and future directions[J]. *Clin Pharmacokinet*, 2014, 53(3):205-212.
- [3] Mariappan TT, Mandekar S, Marathe P. Insight into tissue unbound concentration: utility in drug discovery and development[J]. *Curr Drug Metab*, 2013, 14(3):324-340.
- [4] Kitano M, Sakamoto H, Das K, et al. EUS-guided in vivo microdialysis of the pancreas: a novel technique with potential diagnostic and therapeutic application[J]. *Gastrointest Endosc*, 2010, 71(1):176-179.
- [5] Jönsson P, Borgström A, Ohlsson K. Measurements of exocrine proteins in the pig pancreas using microdialysis[J]. *Gastroenterol Jpn*, 1992, 27(4):529-535.
- [6] Jönsson P, Ohlsson K. Intrapaneatic turnover of recombinant human pancreatic secretory trypsin inhibitor in experimental porcine pancreatitis[J]. *Scand J Clin Lab Invest*, 1995, 55(3):223-227.
- [7] Meriläinen S, Mäkelä J, Anttila V, et al. Acute edematous and necrotic pancreatitis in a porcine model[J]. *Scand J Gastroenterol*, 2008, 43(10):1259-1268.
- [8] Stock S, Fastbom J, Björkstrand E, et al. Effects of oxytocin on in vivo release of insulin and glucagon studied by microdialysis in the rat pancreas and autoradiographic evidence for [3H] oxytocin binding sites within the islets of Langerhans[J]. *Regul Pept*, 1990, 30(1):1-13.
- [9] Carlsson PO, Kiuru A, Nordin A, et al. Microdialysis measurements demonstrate a shift to nonoxidative glucose metabolism in rat pancreatic islets transplanted beneath the renal capsule[J]. *Surgery*, 2002, 132(3):487-494.
- [10] Freckmann G, Jendrike N, Pleus S, et al. Use of microdialysis-based continuous glucose monitoring to drive real-time semi-closed-loop insulin infusion[J]. *J Diabetes Sci Technol*, 2014, 8(6):1074-1080.
- [11] Nakagawa A, Samols E, Stagner JI. Exocrine interstitial insulin and somatostatin in the perfused dog pancreas[J]. *Am J Physiol*, 1993, 264(4 Pt 1):G728-G734.
- [12] Liu D, Xu S, Xiao H, et al. Quantitative determination of unbound levofloxacin by simultaneous microdialysis in rat pancreas after intravenous and oral doses[J]. *J Pharm Pharmacol*, 2014, 66(9):1215-1221.
- [13] Blind PJ, Kral J, Wang W, et al. Microdialysis in early detection of temporary pancreatic ischemia in a porcine model[J]. *Eur Surg Res*, 2012, 49(3/4):113-120.
- [14] Kitzen JJ, Verweij J, Wiemer EA, et al. The relevance of microdialysis for clinical oncology[J]. *Curr Clin Pharmacol*, 2006, 1(3):255-263.
- [15] Portnow J, Badie B, Liu X, et al. A pilot microdialysis study in brain tumor patients to assess changes in intracerebral cytokine levels after craniotomy and in response to treatment with a targeted anti-cancer agent[J]. *J Neurooncol*, 2014, 118(1):169-177.
- [16] Leifler KS, Svensson S, Abrahamsson A, et al. Inflammation induced by MMP-9 enhances tumor regression of experimental breast cancer[J]. *J Immunol*, 2013, 190(8):4420-4430.
- [17] Wei YH, Xu LZ, Shen Q, et al. Microdialysis: a technique for pharmacokinetic-pharmacodynamic studies of oncological drugs[J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2009, 10(6):631-640.
- [18] Brunner M, Müller M. Microdialysis: an in vivo approach for measuring drug delivery in oncology[J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2002, 58(4):227-234.
- [19] Dabrosin C. Microdialysis-an in vivo technique for studies of growth factors in breast cancer[J]. *Front Biosci*, 2005, 10:1329-1335.
- [20] Bendrik C, Dabrosin C. Estradiol increases IL-8 secretion of normal human breast tissue and breast cancer in vivo[J]. *J Immunol*, 2009, 182(1):371-378.
- [21] Xu BJ, Yan W, Jovanovic B, et al. Microdialysis combined with proteomics for protein identification in breast tumor microenvironment in vivo[J]. *Cancer Microenviron*, 2010, 4(1):61-71.

- [22] Kirbs C, Kloft C. In vitro microdialysis recovery and delivery investigation of cytokines as prerequisite for potential biomarker profiling[J]. Eur J Pharm Sci, 2014, 57:48-59.
- [23] Zhong H, Han B, Tourkova IL, et al. Low-dose paclitaxel prior to intratumoral dendritic cell vaccine modulates intratumoral cytokine network and lung cancer growth[J]. Clin Cancer Res, 2007, 13(18 Pt 1):5455-5462.
- [24] Marcus HJ, Carpenter KL, Price SJ, et al. In vivo assessment of high-grade glioma biochemistry using microdialysis: a study of energy-related molecules, growth factors and cytokines[J]. J Neurooncol, 2010, 97(1):11-23.
- [25] Chen Q, Espey MG, Sun AY, et al. Pharmacologic doses of ascorbate act as a prooxidant and decrease growth of aggressive tumor xenografts in mice[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(32):11105-11109.
- [26] Parrow NL, Leshin JA, Levine M. Parenteral ascorbate as a cancer therapeutic: a reassessment based on pharmacokinetics[J]. Antioxid Redox Signal, 2013, 19(17):2141-2156.
- [27] Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2012, 62(1):10-29.
- [28] Chan SL, Chan ST, Chan EH, et al. Systemic treatment for inoperable pancreatic adenocarcinoma: review and update[J]. Chin J Cancer, 2014, 33(6):267-276.
- [29] Chua YJ, Zalcborg JR. Pancreatic cancer--is the wall crumbling?[J]. Ann Oncol, 2008, 19(7):1224-1230.
- [30] Zhao C, Zhang J, Zhang S, et al. Diagnostic and biological significance of microRNA-192 in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. Oncol Rep, 2013, 30(1):276-284.
- [31] 郑岩松, 谢荣臻, 石铮. MicroRNA在人胰腺癌中表达谱的初步研究[J]. 中国普通外科杂志, 2012, 21(3):312-316.
- [32] 于琦, 赵平, 马洁, 等. MicroRNA与胰腺癌关系的研究进展[J]. 中国普通外科杂志, 2013, 22(3):344-349.
- [33] 李衍训, 孙晋津. microRNA: 胰腺癌早期诊断的潜在标记物[J]. 中国普通外科杂志, 2014, 23(3):367-371.
- [34] Martins FC, de Oliveira CF. Chemotherapy and the future: microdialysis as a local administration technique[J]. Eur J Gynaecol Oncol, 2009, 30(1):5-8.
- [35] Martins FC, Santos JL, de Oliveira CF. Microdialysis: improving local chemotherapy in cancer using a mathematical model[J]. Front Biosci (Elite Ed), 2012, 4:401-409.
- [36] Goodman JC. Clinical microdialysis in neuro-oncology: principles and applications[J]. Chin J Cancer, 2011, 30(3):173-181.
- [37] Loos WJ, Zamboni WC, Engels FK, et al. Pitfalls of the application of microdialysis in clinical oncology: controversial findings with docetaxel[J]. J Pharm Biomed Anal, 2007, 45(2):288-294.

(本文编辑 宋涛)

本文引用格式: 王丹,刘春生,周丁华,等.微透析技术应用于胰腺研究的现状与展望[J]. 中国普通外科杂志, 2015, 24(3):413-417. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.03.021

Cite this article as: WANG D, LIU CS, ZHOU DH, et al. Microdialysis applied in pancreas research: current status and future prospects[J]. Chin J Gen Surg, 2015, 24(3):413-417. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2015.03.021

欢迎订阅《临床与病理杂志》

《临床与病理杂志》(原刊名《国际病理科学与临床杂志》《国外医学·生理、病理科学与临床分册》,2014年1月起启用现刊名)是由教育部主管、中南大学主办、国内外公开发行的国家级医学学术期刊(双月刊,刊号:CN 43-1521/R,ISSN 2095-6959)。大16开,双月28日出版。本刊在保持特色,介绍国外医学研究领域的最新动态、新技术、新经验的基础上,将以“临床与病理”为报道主旨,注重基础与临床相结合,侧重报道专业内基础对临床的指导性和综合实用性,以期服务于广大医学特别是临床医学工作者。本刊主要栏目有:“研究论著”“专家述评”“特色专栏”“临床病例讨论”“综述”等。

本刊已被“中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)”、美国《化学文摘》(CA)、中国知网(CNKI)等国内外多家重要数据库和检索系统收录。2008年被教育部科技司评为“中国高校特色科技期刊”,2010年,2012年连续两届被教育部科技司评为“中国高校优秀科技期刊”。

地址:湖南省长沙市湘雅路110号湘雅医学院50号信箱《临床与病理杂志》编辑部 邮政编码:410078

电话:0731-84805495, 84805496 传真:0731-84804351

Email: editor@lcbj.net

《临床与病理杂志》编辑部