

文章编号:1004-616X(2002)03-0200-02

短篇报道 ·

抗癌药物对细胞株增殖的影响及凋亡诱导作用

艾 军,何兰欣,梁索源,任金荣

(河北医科大学第四医院肿瘤所,河北 石家庄 050011)

【摘要】目的:了解抗癌药物对细胞株增长的影响及凋亡诱导作用。方法:药物与细胞株共同孵育不同时间后,应用四唑盐(MTT)比色法及流式细胞仪(FCM)分别测定细胞增长抑制率(CI)及细胞凋亡指数(APOI)。结果:抗癌药物组CI值及APOI值与对照组相比均有显著差异($P < 0.05$)。经相关分析得出,APOI与CI呈正相关($r = 0.42, P < 0.05$)。结论:7种抗癌药物均能明显抑制细胞株增长,并可诱导其发生凋亡。利用MTT法及FCM测定细胞CI和APOI,有利于化疗方案的设计,指导临床合理用药。

【关键词】抗肿瘤药;细胞凋亡;流式细胞术;MTT比色法

中图分类号:R735.2, R73-36

文献标识码:A

随着分子生物学技术的进展与应用,近年来一些研究表明,多种化疗药物可以诱导肿瘤细胞凋亡¹。本研究应用四唑盐(MTT)比色方法及流式细胞术(FCM)分析,探讨临床常用的7种抗癌药物对人胃癌BGC-823细胞增殖抑制和凋亡的诱导作用。

1 材料与方法

1.1 抗癌药物 为临床常用的7种抗癌药物,顺铂(DDP,山东齐鲁制药厂)、丝裂霉素(MMC,协和发酵工业株式会社)、5-氟尿嘧啶(5-Fu,上海旭东普药业有限公司)、足叶乙甙(VP-16,中国江苏连云港制药厂)、长春新碱(VCR,广州明兴制药厂)、阿霉素

(ADM,深圳万乐药业有限公司)、阿糖胞苷(Ara-c,北京医科大学实验厂)。抗癌药物浓度按照参考文献²配成所需浓度。

1.2 细胞增殖的检测 人胃癌BGC-823细胞株由北京市肿瘤研究所提供。参照Tada测定活细胞的改良MTT³法。每个浓度设4个复孔,计算其平均OD值。抗癌药物对肿瘤细胞增殖的抑制率以细胞毒指数(CI)表示。 $CI\% = (1 - \text{药物组 OD 值} / \text{对照组 OD 值}) \times 100\%$ 。

1.3 流式细胞仪分析 原位凋亡检测试剂盒由美国BOEHRINGER MANNHEIM公司提供,按照文献⁴提供的方法进行样品制备。采用美国BD公司

information J. *A Trends Guide*, 2000, 7:22~27.

16 Crawford ME, Cusick ME, Garreis J I. Databases and knowledge resources for proteomics research J. *A Trends Guide*, 2000, 7: 17~21.

17 Fenyo D. Identifying the proteome: software tools J. *Current Opinion Biotechnol*, 2001, 11:391~395.

18 鲁靖,余应年,谢海洋. N-甲基-N²-硝基-N²-亚硝基胍诱发的vero细胞JNK/SAPK通路的激活J. *中国病理生理杂志*, 2000, 16(6): 481-485.

19 冯朝晖,余应年,陈星若. 低浓度N-甲基-N²-硝基-N²-亚硝基胍对HeLa细胞DNA聚合酶及拓扑异构酶 mRNA表达水平

的影响J. *中国药理学与毒理学杂志*, 1999, 13(3):217~221.

20 Wang GL, Yu NY, Xie HY. low concentration N-methyl-N²-nitro-N²-nitrosoguanidineon activates DNA polymerase α expression via cyclic-AMP-protein kinase A-cAMP response element binding protein pathway J. *Mutat Res*, 2001, 478(1-2):177~184.

21 Hu WW, Yu YN, Chen XR, et al. Isolating the cDNA fragment inhibiting nontargeted mutagenesis in vero cell by antisense technology J. *Chinese Science Bulletin*, 1999, 44(6):533~537.

[22] 金静华,余应年,钱羽力. 反义阻断抑制非定标性突变相关基因后vero细胞蛋白质组的表达差异J. *生物化学与生物物理学报*, 2001, 33:696~702.

收稿日期:2001-10-26; 修订日期:2002-01-15

作者简介:艾 军(1957-),女,河北石家庄人,副教授,医学学士,研究方向:肿瘤免疫。

生产 FACS 420 型流式细胞仪检测,以凋亡指数 (APOI) 表示细胞凋亡情况。APOI = 凋亡细胞数 / 所测细胞总数 $\times 100\%$

1.4 统计学处理 数据应用四格表的确切概率及 q 检验

2 结果

2.1 抗癌药物对 BGC-823 细胞增殖的影响 各抗癌药物组 CI 值与对照组 CI 值间均有显著性差异 (P

< 0.05)。不同抗癌药物对 BGC-823 细胞增殖的抑制作用存在差异,其 CI 依次为 DDP 80.71%、VP-16 73.95%、5-Fu 72.09%、VCR 68.49%、VDM 65.33%、MMC 65.15%、Arc-a 55.56%。抗癌药物对细胞抑制作用随着药物作用时间的延长而逐渐增强(见表 1)。

2.2 FCM 检测结果 经 7 种抗癌药物处理后的 BGC-823 细胞 APOI 值与对照组相比有显著差异 (P < 0.05)。抗癌药物对细胞 APOI 的影响见表 1。

表 1. 不同作用时间对细胞株增殖及凋亡的影响 ($\bar{x} \pm s$)

药物	浓度 / $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$	CI			APOI		
		24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
DDP	25	68.75 \pm 3.12	72.88 \pm 5.15	80.71 \pm 7.24 *	28.08 \pm 3.12	51.33 \pm 5.16 #	68.15 \pm 6.74 # #
MMC	10	53.12 \pm 5.02	62.43 \pm 2.10	65.15 \pm 3.48 *	17.11 \pm 1.04	41.26 \pm 3.24 #	30.67 \pm 2.24 #
5-Fu	100	53.12 \pm 5.02	70.91 \pm 4.27 *	72.09 \pm 3.87 *	18.04 \pm 2.50	34.28 \pm 3.25 #	56.32 \pm 4.56 #
VP-16	100	63.91 \pm 8.16	67.27 \pm 2.71	73.95 \pm 9.51 *	23.10 \pm 0.81	62.87 \pm 3.54 #	50.44 \pm 4.41 #
VCR	25	49.34 \pm 7.72	60.45 \pm 4.51 *	68.49 \pm 6.20 *	32.36 \pm 3.76	64.23 \pm 7.45 #	78.27 \pm 5.58 # #
VDM	10	51.36 \pm 5.35	57.11 \pm 7.45	65.33 \pm 8.25 *	20.89 \pm 0.76	51.53 \pm 1.12 #	42.70 \pm 3.36 #
Ara-c	100	31.32 \pm 5.78	48.28 \pm 8.13 *	55.56 \pm 4.46 *	15.21 \pm 2.10	32.06 \pm 1.42 #	47.32 \pm 2.05 #
对照组		0.00	0.00	0.00	5.71 \pm 0.46	10.82 \pm 1.78 #	18.06 \pm 1.62 #

各组与对照组相比 $P < 0.05$, * 与 24 h 相比 CI $P < 0.05$, # 与 24h 比较 APOI $P < 0.05$, # # 与 48 h 比较 $P < 0.05$, 每个浓度设 4 个复孔,取 6 次试验的均值。

2.3 APOI 与 CI 的相关性分析 抗癌药物作用后 BGC-823 细胞的 APOI 与 CI 之间呈正相关 ($r = 0.42$, $P < 0.05$)

3 讨论

人们发现化疗实际上是通过诱导肿瘤细胞凋亡而发挥抗癌作用的⁵。目前已知多种抗癌药物均可引起肿瘤细胞凋亡。凋亡是不同作用机制的抗癌药物殊途同归的作用结果。本实验利用 FCM 和 MTT 方法测得 7 种抗癌药物均能有效抑制 BGC-823 细胞生长及明显诱导其凋亡,与对照组相比,CI 及 APOI 明显升高 ($P < 0.05$)。不同的抗癌药物对 BGC-823 细胞的 CI 及 APOI 的影响不同,而且与作用时间有关。细胞的 APOI,24 h 与 48 h、72 h 相比有显著差异 ($P < 0.05$);48 h 与 72 h 相比除 VCR、DDP 有明显差异外 ($P < 0.05$),其余 5 种药物无明显差异 ($P > 0.05$)。DDP、Ara-c、5-Fu、VCR 的 APOI 随药物时间延长而增加,72 h 最高,MMC、VP-16、ADM 的 APOI 以 48 h 最高。从细胞的 CI 看,24 h 与 48 h 两组比较,5-Fu、VCR、Arc-a 3 种药物有显著性差异 ($P < 0.$

05),其他 4 种药物相比无显著性差异 ($P > 0.05$)。7 种抗癌药物 48 h 与 72 h 两组间比较,无显著性差异 ($P > 0.05$)。而 24 h 与 72 h 两组比较均有显著性差异 ($P < 0.05$)。而且,细胞增殖抑制越明显,细胞凋亡指数越高,APOI 与 CI 之间呈正相关。

研究表明,7 种抗癌药物不仅对 BGC-823 细胞增殖有明显抑制作用,并且可以诱导其细胞凋亡。利用 MTT 法、FCM 检测细胞增长抑制率及凋亡指数有助于化疗方案的设计并指导临床合理用药。

参考文献:

- 1 邢同海,鼓志海,裘国强. 细胞凋亡检测用于肿瘤细胞株对化疗敏感性的研究 J. 肿瘤,2001 21(1):20~21.
- 2 张鲁榕,孔宪涛,谢映华,等. 白血病化疗药物体外敏感试验的临床应用 J. 中华血液学杂志,1990,11(3):141~143.
- 3 Tada H,Shiho O,Kutoshima K,et al. An Improved colorimetric assay for interleukin-2 J. Immunol Meth, 1986, 93:157~160.
- 4 左连富,齐凤英,张祥宏,等. 流式细胞术与生物医学 M. 第 1 版. 沈阳:辽宁科学出版社,1996. 68~77.
- 5 Hug H. Fas-mediated apoptosis in tumor formation and defense J. Biol Chem, 1997, 378(12):1405~1412.