

³²磷玻璃微球组织内照射对肿瘤细胞 凋亡影响的实验研究

汪永跃 王大章 郑光勇

摘要 目的:观察³²磷玻璃微球组织内植入对小鼠移植瘤肿瘤细胞凋亡的影响。方法:建立小鼠移植瘤 S180 动物模型,分别将剂量为 0、1.85、5.55、16.65 MBq/只的³²磷玻璃微球组织内植入实验小鼠进行放射治疗,第 15 天取标本检测细胞凋亡情况。结果:空白对照组及实验组的细胞凋亡指数分别为 0.39、0.41、0.59 和 0.95,其中内植入剂量为 5.55 MBq/只和 16.65 MBq/只的实验组较空白对照组明显增高(P<0.05)。结论:³²磷玻璃微球组织内植入使小鼠移植瘤 S180 的细胞凋亡活动增强,且随着剂量的增加,凋亡指数升高。

关键词 细胞凋亡 组织内照射 ³²磷玻璃微球

Impact of Interstitial Irradiation with ³²P Glass Microspheres on Cellular Apoptosis of Mice with the Solid Tumor S180

Wang Yongyue, Wang Dazhang, Zheng Guangyong

Department of Oral Maxillofacial Surgery,

College of Stomatology, West China University of Medical Sciences

Abstract

Objective: The aim of this study is to observe apoptotic changes of tumor cells in mice with the solid tumor S180 after interstitial irradiation with ³²P glass microspheres. **Methods:** Twenty mice with solid tumor S180 were divided into four groups. The control group was given normal saline. The experimental groups were given different doses of ³²P glass microspheres (50, 150, 450 uci per mouse) using interstitial implant. The terminal deoxynucleotidyl transferase mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) method was used to determine the apoptotic cells. **Results:** The mean values of the apoptotic indexes of these groups were respectively 0.39, 0.41, 0.59 and 0.95. The apoptotic indexes of the second and the third experimental groups were significantly higher than that of the control group (P<0.05). **Conclusion:** The interstitial irradiation with ³²P glass microspheres can enhance the activity of apoptotic cells of solid tumor S180, and the effect is dose-dependent.

Key words: interstitial irradiation apoptosis ³²P glass microspheres

在肿瘤放射治疗中,肿瘤细胞凋亡的作用越来越受到重视。许多研究证实外照射能诱导肿瘤细胞的凋亡¹。作者在以前的研究中证实³²磷玻璃微球组织内照射有肯定的抗肿瘤作用^{2,3}。为了进一步探讨细胞凋亡在肿瘤内照射治疗中所起的作用,本研究以小鼠移植瘤 S180 为模型,观察³²磷玻璃微球内植入后肿瘤细胞凋亡的情况,为更深入的基础研究及临床应用提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料

动物:ICR 种小鼠 20 只,18~20 g,雌性(四川省医学科学院实验动物中心);瘤株:小鼠 S180,腹水型(华西医科大学肿瘤研究所);药物:³²磷玻璃微球,颗粒大小 46~76μm,比活度 6.05×10³MBq/g(中国核动力院第一研究所)。

1.2 方法

1.2.1 动物模型的建立 选择腹腔接种 S180 瘤株 9 d 的 ICR 小鼠,颈椎脱臼处死,消毒后抽取腹水,制成 0×10⁷个/ml 细胞悬液,无菌条件下于实验小鼠右腋下注射 0.2ml 细胞悬液,4 d 后肿瘤直径约 0.5 cm 时,动物模型建立。

作者单位:610041 四川大学华西口腔医学院颌面外科学教研室

1.2.2 分组 接种后次日按体重随机分为空白对照组及 3 个实验组,每组 5 只小鼠。

1.2.3 实验处理 将配制的³²磷玻璃微球混悬液 0.25 ml 注射于 3 个实验组小鼠的肿瘤及瘤周组织,注射时保持一定的推注压力及速度,3 个实验组给予剂量分别为 1.85、5.55、16.65 MBq/只的³²磷玻璃微球,组间剂量比为 1:3。空白对照组则给予 0.9% 的生理盐水 0.25 ml。

1.2.4 指标检测 于第 15 天处死动物,取材,常规石蜡包埋、切片,TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling) 法染色检测肿瘤细胞凋亡情况。采用 Apop Tag in situ Apoptosis Detection Kit (Oncor 公司),切片消化、阻断后,加 TdT (terminal deoxynucleotidyl transferase) 反应液,³⁷ 孵育 2 h,终止反应后加地高辛过氧化物酶室温孵育 1 h,显色后用甲基绿复染⁴。显微镜目镜附测量视野 100 网格。随机选取肿瘤区域于高倍镜下计数,每切片计数 10 个视野。细胞凋亡指数(AI)为平均每个视野的凋亡细胞数⁵。

1.2.5 统计学处理 用方差分析处理对照组与实验组的细胞凋亡指数。

2 结 果

空白对照组及实验组的细胞凋亡指数分别为 0.39、0.41、0.59 和 0.95。方差分析显示第 2 和第 3 实验组 AI 值与空白对照组的 AI 值相比有显著性差异(表 1 及图 1)。

表 1 空白对照组及实验组细胞凋亡指数比较结果

组别	剂量 (MBq/只)	n	$\bar{x} \pm s$	P
空白对照组	0	5	0.39 ± 0.30	
实验 1 组	1.85	5	0.41 ± 0.45	>0.05
实验 2 组	5.55	5	0.59 ± 0.41	<0.05
实验 3 组	16.65	5	0.95 ± 0.38	<0.05

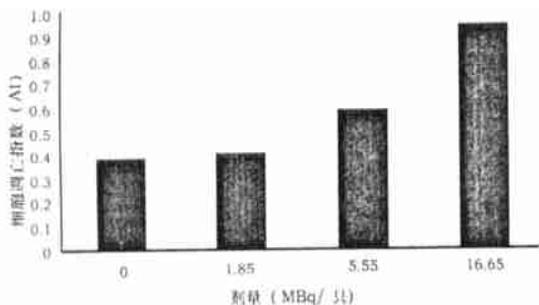


图 1 空白对照组及实验组的 AI 值

3 讨 论

放射治疗是肿瘤治疗的主要手段之一。目前关于组织内照射治疗对肿瘤细胞凋亡的影响的研究很少。³²磷玻璃微球组织内照射治疗肿瘤已被证

明有肯定的疗效。本研究结果显示 5.55 及 16.65 MBq/只实验组细胞凋亡值与空白对照组相比明显为高,有显著性差异 ($P < 0.05$),从趋势看,有剂量效应关系。

电离辐射杀伤细胞的原理主要是作用于细胞 DNA 和膜,使 DNA 分子结构改变,造成核苷酸及其组分破坏,还可导致细胞酶功能的失调及蛋白质的破坏,引起 DNA 复制、转录等过程受阻而致细胞死亡⁶。而细胞凋亡是一种特定形态和生化等改变的细胞死亡的过程,是通过细胞内固有的生理生化反应或某种酶的活化所导致的细胞死亡。与物理、化学因子或其它因素导致的细胞坏死不同。有研究证实,电离辐射可损伤 DNA,使肿瘤细胞的基因稳定性受到破坏,造成肿瘤细胞内的某些基因或酶损伤,导致细胞凋亡⁷,而且电离辐射诱发的细胞凋亡与细胞类型和辐射敏感性有关,凋亡细胞对放射线的感受性呈细胞周期依赖性。³²磷玻璃微球组织内植入为组织内持续性低 LET(传能线密度)照射,主要减低细胞的更新能力或增殖能力,产生异常蛋白质和功能异常的酶,导致细胞死亡。本结果提示,内照射可促进肿瘤细胞凋亡或加速肿瘤细胞凋亡,且随着剂量的增加,凋亡指数增高。

参考文献

- 1 Tauchi H, Sawada S. Analysis of mitotic cell death caused by radiation in mouse leukemia L5178 Y cells: apoptosis is the ultimate form of cell death following mitotic failure. *Int J Radiat Biol*, 1994, 65(3): 449 ~ 455
- 2 王大章,郑光勇,孙文豪,等. 动脉灌注磷³²P 玻璃微球治疗口腔癌的初步应用研究. *华西口腔医学杂志*, 1991, 9(2): 138 ~ 141
- 3 汪永跃,王大章,郑光勇,等. 磷³²P 玻璃微球抗肿瘤作用的实验研究. *华西口腔医学杂志*, 1996, 14(3): 231 ~ 232
- 4 Gavrieli Y, Sherman Y, Bensasson A. Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *J Cell Biol*, 1992, 119(3): 493 ~ 501
- 5 Aihara M, Scardino PT, Truong LD, et al. The frequency of apoptosis correlates with the prognosis of Gleason grade 3 adenocarcinoma of the prostate. *Cancer*, 1995, 75(2): 522 ~ 529
- 6 Myers DK. Time, dose and tumor volume in irradiation. *Adv Biol Med Phys*, 1970, (2): 209 ~ 212
- 7 姜泊主编. 细胞凋亡基础与临床. 北京:人民军医出版社, 1999: 6 ~ 9

(2000-11-27 收稿, 2001-03-10 修回)

(本文编辑 刘 怡)