

端粒酶抑制剂联合放疗对小鼠胃癌的作用研究

司君利¹, 亓玉琴¹, 陶相光¹, 朱菊人²

Effectsoftelomeraseinhibitorcombinedwith radiotherapyon gastriccancerinmice

SIJun -li,QIYu -qin,TAOXian g-guang,etal

Department of Gastroenterology, Qindao City Hospital, Qindao 271000, China

Abstract: Objective Toinvestigate thetreatmenteffectsof telomeraseinhibitorfor an animal tumorinvivo andtheradiosensitivevalueof telomeraseinhibitor. **Methods** ThetelomeraseinhibitorAZTandradiotherapy wereusedtotreat gastriccancers (SGC-7901) xenograftinBALB/cmice.Thetumorwasweeklymeasuredand telomeraseactivitywasexaminedbySemi-TRAPassay. **Results** Thetumorsizeofmiceincreased3.3timesin untreatedgroup.AZT,radiotherapyandAZTcombinedwithradiotherapyreducedtumorvolumeof23.7%、48.8%and86.9%.Therelativetelomeraseactivityinuntreatedgroupwas100,52.6inAZT,23.3inradiotherapy,and10.4inAZTcombinedwithradiotherapygroup. **Conclusion** BothAZTandradiotherapyareeffective totreatmurine gastriccancerthou ghdecreasingtelomeraseactivityandreducingtumor size.AZTcan increase theradiationsensitivityformurine gastriccancer.

Keywords: Gastricneoplasms;Telomerase;Inhibitor;Radiotherapy

摘要:目的 探讨端粒酶抑制剂对动物在体肿瘤的治疗作用及端粒酶抑制剂对放射治疗的增敏价值。方法 将 SGC-7901 胃癌细胞接种 BALB/c 小鼠,采用端粒酶抑制剂 AZT 联合放射治疗小鼠胃癌,观察其对肿瘤体积和肿瘤端粒酶活性的影响。结果 未治疗组小鼠肿瘤体积增加了 3.3 倍,而 AZT、放疗及 AZT 联合放疗组肿瘤体积分别缩小了 23.7%、48.8% 及 86.9%。肿瘤端粒酶活性检测,未治疗组、AZT、放疗及 AZT 联合放疗组的相对端粒酶活性分别为 100、52.6、23.3 及 10.4。结论 AZT、放疗均能使肿瘤体积缩小并降低端粒酶活性,且 AZT 能增加肿瘤的放射敏感性。

关键词: 胃癌;端粒酶;抑制剂;放射治疗

中图分类号:R753.2 文献标识码:A 文章编号:1000-8578(2003)01-0032-02

0 引言

端粒酶在几乎所有恶性肿瘤组织中都有强阳性表达,而在正常体细胞(除生殖细胞、表皮基底细胞和造血细胞)及良性肿瘤组织中则为阴性,对端粒酶活性的抑制已成为治疗恶性肿瘤的新途径^[1,2]。另一方面,端粒酶在染色体放射损伤愈合中起重要作用,即端粒酶通过合成端粒重复序列添加到断裂的染色体末端而使放射所致的染色体损伤修复^[3]。本研究通过端粒酶抑制剂叠氮胸苷(AZT)联合放射治疗端粒酶阳性小鼠胃癌,旨在探讨端粒酶抑制剂对动物体内肿瘤的治疗价值及对放射治疗的增敏作用。

1 材料和方法

1.1 材料 SGC-7901 胃癌细胞株购自山东省医学

科学院;RPMI-1640 培养基为 GIBCO 产品;逆转录酶抑制剂 AZT 购于法国 PharmacieFaceAL,Interce 公司;端粒酶半定量检测试剂盒购自山东大学;BALB/c 健康小鼠(重约 10~12g)购于山东大学动物室。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 SGC-7901 细胞以 1×10^5 /ml 密度接种在 RPMI-1640 培养基,置于 37℃,5%CO₂,饱和湿度下传代培养。

1.2.2 移植瘤的建立 常规收集培养细胞,以 RPMI-1640 培养液调整细胞浓度为 1×10^7 /ml,0.1% 台盼蓝染色计数活细胞,使之占细胞总数的 95% 以上。无菌条件下在每只 BALB/c 小鼠背部皮下接种 SGC-7901 细胞 300μl,接种后第 2 天出现直径约 3mm 的皮下肿块,以后肿块逐渐增大,至第 2 周时肿瘤增至 7×10mm 大小,供实验治疗用。

1.2.3 荷瘤鼠分组 12 只小鼠随机分为 4 组,每组 3 只,4 组小鼠随机编号为 A、B、C 及 D 组,A 为未治疗组,B 为单纯放疗组,C 为单纯 AZT 治疗组,D 为

收稿日期:2002-01-28;修回日期:2002-04-04

作者单位:1.266071 山东,青岛大学附属青岛市立医院消化科;2. 山东省立医院

AZT 加放疗组。

1.2.4 实验治疗方法 AZT:200mg/(kg·d), 每天分 2 次灌胃, 连用 2 周; 放疗: F34-1 深部 X 线治疗机, 180KV, 120mA, SSD=40cm, 0.5Cu+1.0mmAl 滤过, HVT=1.0mmCu, 每周照射 5 次, 每次 DT2Gy, 总剂量 10Gy, 肿瘤周围 2cm 用 2mm 厚铅屏蔽, 用药加放疗者, 每天放疗前 2h 给予首次灌胃。

1.2.5 端粒酶活性检测 采用半定量 TRAP-银染法, 步骤从略, 通过生物电泳图像分析系统判断相对端粒酶活性。

1.2.6 移植瘤体积测量 将细胞接种后, 连续观察肿瘤形成和生长, 每周量取瘤体最大直径(b)及横径(a)并按公式 $T=a^2b/2$ 计算肿瘤体积。

1.2.7 统计学分析 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 *t* 检验, χ^2 检验进行统计学分析。

2 结果

2.1 端粒酶抑制剂联合放疗对小鼠肿瘤体积的影响, 见表 1。

表 1 不同方法治疗后肿瘤体积变化(mm³)

组别	治疗前	治疗后(周)			
		1	2	3	4
A	1351 ±6.6	1745 ±5.4	2036 ±4.8	2833 ±4.3	3362 ±5.6
B	1363 ±4.9	1269 ±5.7	1256 ±4.4	1076 ±3.9	966 ±4.9
C	1286 ±5.9	1853 ±4.7	1666 ±3.9	1437 ±5.1	1244 ±5.5
D	1326 ±5.1	1115 ±5.9	85.6 ±5.2*	65.7 ±4.9*	58.8 ±4.8*

与对照组比较有显著性差异, $P^* < 0.05$

治疗前各组之间肿瘤体积无差别 ($P > 0.05$); A 组(对照组)肿瘤体积 4 周增大了 3.3 倍; 在治疗 1 周内, AZT 组肿瘤仍继续增大, 治疗第 2 周开始明显缩小, 即单纯应用端粒酶抑制剂 AZT 后, 肿瘤并非立即停止生长。至第 4 周肿瘤体积缩小了 23.7%; 单纯放疗在第 1 周肿瘤体积有所缩小, 第 2 周末照射时肿瘤体积缩小不明显, 第 4 周时肿瘤体积缩小 48.4%; AZT 加放疗组治疗效果最理想, 治疗 1、2 周肿瘤体积均缩小, 第 4 周时肿瘤体积缩小了 86.9%, 因此端粒酶抑制剂 AZT 及放疗均能缩小小鼠淋巴瘤体积, AZT 与放疗联合应用, 能增强放疗治疗的效果, 提示 AZT 有放射增敏作用。

2.2 端粒酶抑制剂联合放疗对肿瘤端粒酶活性的影响

以阳性对照端粒酶活性为 100, 阴性对照为 0, 本实验结果显示, 未治疗肿瘤组、放疗组、AZT 组及 AZT 加放疗组的平均端粒酶活性分别为 100.0, 52.6, 23.3, 10.4, 见图 1。提示放疗、AZT 对肿瘤端粒酶活性均有抑制作用, 即同时应用 AZT 及放射治疗, 端粒酶抑制效果最明显, 但同时 AZT 与放疗有相加作用, 抑制效应顺序为 AZT 加放疗组 > AZT 组 > 放疗组。

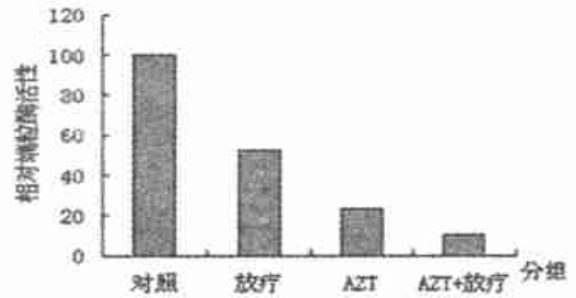


图 1 AZT 联合放疗对胃癌端粒酶活性的影响

3 讨论

端粒酶是一种逆转录酶, 研究表明逆转录酶抑制剂 AZT 可导致一些永生细胞中端粒缩短^[4]。本实验结果显示, AZT 能抑制小鼠移植性胃癌端粒酶活性, 并使肿瘤体积缩小。研究表明, 单次小剂量放射治疗诱导端粒酶表达, 而较大剂量照射则降低端粒酶活性^[5]。本实验采用较大剂量 (10Gy) 常规分割放疗, 结果使肿瘤组织的端粒酶活性明显降低, 与未治疗组肿瘤端粒酶活性有显著性差异 ($P < 0.05$)。推测放疗使肿瘤细胞阻滞于细胞周期的 G1 期, 而 S 期和 G2/M 期的细胞减少, 而此时端粒酶活性较低。

有研究报道, 端粒酶在染色体放射损伤愈合方面起重要作用, 端粒酶通过合成端粒重复序列添加到断裂的染色体末端, 从而起到修复 DNA 的作用。端粒酶与放射敏感性有关, 端粒酶活性高的肿瘤对放射更不敏感^[6]。本实验显示 AZT 与放疗联合应用对端粒酶活性的下降及肿瘤体积缩小均有相加作用 ($P < 0.05$), 提示 AZT 有放射增敏作用, 可提高肿瘤放疗的疗效。

参考文献:

- [1] Nakano K, Watne yE, McDou gall JK. Telomerase activity and expression of telomerase RNA component and telomerase catalytic subunit gene in cervical cancer [J]. *Am J Pathol*, 1998, 153 (3): 859-864.
- [2] Kim NW, Piat yszek MA, Prowse KR, et al. Specific association of human telomerase activity with immortal cells and cancer [J]. *Science*, 1994, 266 (5193): 2011-2015.
- [3] Hande MP, Lansdorp PM, Natara jan AT. Induction of telomerase activity by in vivo X-irradiation of mouse plenary testes and its possible role in chromosome healing [J]. *Mutat Res*, 1998, 404 (1-2): 205-214.
- [4] Strahl C, Blackburn EH. Effects of reverse transcriptase inhibitors on telomerase and telomerase activity in immortalized human cell lines [J]. *Mol Cell Biol*, 1996, 16 (1): 53-65.
- [5] Ogawa Y, Nishioka A, Hamada N, et al. Changes in telomerase activity of advanced cancers of oral cavity and oropharynx during radiation therapy: correlation with clinical outcome [J]. *Int J Mol Med*, 1998, 2 (4): 301-307.
- [6] Sawant SG, Gre goire V, Dhar S, et al. Telomerase activity as a measure for monitoring radiotherapy of tumor cells [J]. *FASEB J*, 1999, 13 (9): 1047-1054.

(安 凤校对)