

· 实验研究 ·

化疗药物对胰腺癌细胞株 Aspc-1 和 Bxpc-3 生长抑制作用的研究

邹君杰 冯耀良 戴存才

【摘要】 目的 探讨不同化疗药物浓度、作用时间及联合用药对胰腺癌细胞株(Aspc-1 和 Bxpc-3)的生长抑制作用。方法 单独或联合使用不同浓度的 4 种化疗药物:5-氟尿嘧啶、丝裂霉素、顺铂和表柔比星(浓度分为 d1、d2、d3、d4),分别作用 24、48 和 72 h 后,用四唑盐比色法检测药物对两株细胞的生长抑制作用,并对计算出的每组细胞生长抑制率行 t 检验分析。结果 两细胞株的生长抑制率随着药物浓度的增加和作用时间的延长而显著上升($P < 0.05$),联合用药能显著提高药物对两细胞株的抑制作用($P < 0.05$)。结论 通过动脉灌注或保留导管持续灌注以提高化疗药物局部浓度和延长药物作用时间,以及联合用药能够改善胰腺癌的化疗效果。

【关键词】 胰腺肿瘤;四唑盐变色法;化学治疗

Study on growth inhibitory effect of chemotherapeutic drugs on the pancreatic cancer cell line-Aspc-1 and Bxpc-3 ZOU Jun-jie, PENG Yao-liang, DAI Chun-cai. Department of Interventional Radiology, The First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China

【Abstract】 Objective To study the growth inhibitory effect of chemotherapeutic drugs on the pancreatic cancer cell line Aspc-1 and Bxpc-3, and the relations to the varied concentration and exposure time of chemotherapeutic drugs administrated in single or in combination. Methods Four chemotherapeutic drugs included 5-fluorouracil (5-FU), epirubicin (E-ADM), mitomycin (MMC) or cisplatin (DDP) administrated in single or in combination and using varied concentration (d1, d2, d3 and d4) and exposure time (24, 28 and 72 hours); and then the growth inhibitory effect on the two cell lines. Results The growth inhibitory rate of two cell lines was increased, with the increment of drug concentration and/or the prolongation of exposure time ($P < 0.05$). The chemotherapeutic drugs administrated in combination could obviously increase the growth inhibitory effect on the two cell lines. than those with single application ($P < 0.05$). Conclusion The results indicated that increment of the local drug concentration and prolongation of the exposure time by intraarterial infusion or consecutive arterial infusion through the retained catheter, as well as the combined administration of the chemotherapeutic drugs, can improve the chemotherapeutic efficiency for pancreatic carcinoma.

【Key words】 Pancreatic carcinoma; MTT; Chemotherapy

胰腺癌是一种临床起病隐匿、发展迅速和预后不良的消化道恶性肿瘤,其 5 年生存率不到 5%。目前,化疗仍是胰腺癌辅助治疗的重要手段之一^[1]。特别是经动脉灌注化疗能在一定程度上提高患者生活质量,降低全身静脉化疗反应及延长生存期,但总体效果仍不十分满意。本文采用四唑盐比色法(MTT 比色法)研究不同化疗药物对胰腺癌细胞株 Aspc-1、Bxpc-3 的生长抑制作用,为临床胰

腺癌化疗提供理论指导。

材料与方法

一、细胞培养

胰腺癌细胞株 Aspc-1、Bxpc-3 购自中国医学科学院上海细胞研究所。该细胞株在含有 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 + Dulbecco's modified Eagle Medium (DMEM) 各半的培养基中(pH 7.2),并置于 37℃、100% 湿度和 5% CO₂ 孵育箱内培养。

二、药物、试剂及仪器

5-氟尿嘧啶(5-FU,南通制药总厂);表柔比星(E-ADM,法玛西亚有限公司);顺铂(DDP,齐鲁制

药厂);丝裂霉素(MMC 协和发酵工业株式会社);RPMI-1640、DMEM(GIBCOBRL 公司);胎牛血清(杭州四季清生物制品有限公司);四氮唑溴盐(MTT Sigma 公司);酶标仪(EL808);96 孔培养板(Orange scientific 公司);其余试剂均为国产分析纯制品。各化疗药物单独或联合用药均采用由高到低 4 种浓度(d1、d2、d3 和 d4),详见表 1、2。

表 1 单独用药时的药物浓度 (μg/ml)				
药物	d1	d2	d3	d4
5-FU	200	100	50	25
E-ADM	4	2	1	0.5
DDP	20	10	5	2.5
MMC	2	1	0.5	0.25

表 2 联合用药时的药物浓度 (μg/ml)		
药物组合	d3	d4
5FU + E-ADM + DDP	50 + 1 + 5	25.0.5 + 2.5
5FU + E-ADM + MMC	50 + 1 + 0.5	25 + 0.5 + 0.25

三、化疗药物对胰腺癌细胞株的生长抑制作用
取每瓶 1×10⁵ 个指数生长期细胞接种于 50 ml 培养瓶,以无酚红 RPMI-1640 和 DMEM 各半的培养液 5 ml 培养 24 h 作同步化处理,消化 Aspc-1、

Bxpc-3 单层培养细胞配成细胞悬液,加入 96 孔板,每孔加 200 μl,约含 0.5×10⁴ 个细胞。培养 24 h 后,加入不同浓度的化疗药物,每个样本设为 10 个平行孔(n=10),以不加化疗药物为对照组。再分别培养 24、48 和 72 h 后,每孔内加入 MTT 溶液 20 μl,37℃恒温条件下继续培养 4 h。之后吸去孔内培养上清液。每孔内加入二甲基亚砷 200 μl,振荡 5~10 min,使结晶物质充分溶解。选择 490 nm 波长,在酶标仪上自动记录各孔的吸光值(对照组为 A,实验组为 A')。以下列公式计算出不同种类和浓度药物对 Aspc-1、Bxpc-3 细胞株的生长抑制率。
计算公式:抑制率=(A-A')/A

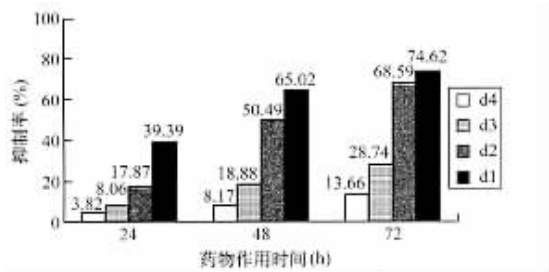
结 果

一、药物浓度和作用时间的影响

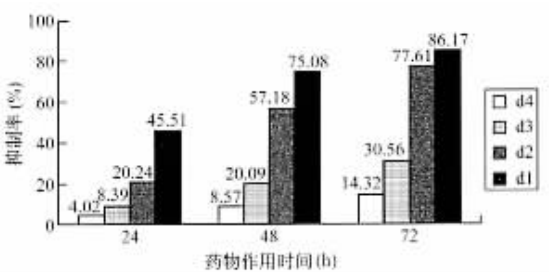
单独应用各种化疗药物时,其对两株细胞的生长抑制作用随药物浓度的增加而增强(P<0.05),也随作用时间的延长(24、48 和 72 h)而增强(P<0.05),见图 1、2。

二、联合用药的影响

联合应用化疗药物时,其对两株细胞的生长抑制作用较单独用药明显增强(P<0.05,图 3、4)。



图中 d4、d3、d2、d1 表示药物浓度
图 1 5-FU 对 Bxpc-3 细胞株的生长抑制作用



图中 d4、d3、d2、d1 表示药物浓度
图 2 5-FU 对 Aspc-1 细胞株的生长抑制作用

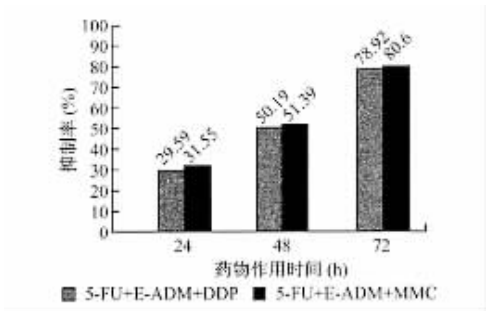


图 3 联合用药对 Bxpc-3 细胞株生长的抑制作用(d3)

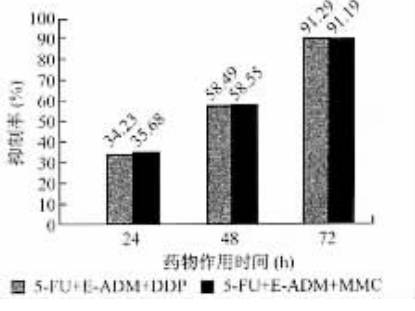


图 4 联合用药对 Aspc-1 细胞株生长的抑制作用(d3)

讨 论

手术切除是胰腺癌惟一的根治性治疗手段,但是手术切除率较低,术后平均生存时间仅为 15~19 个月,且根治性手术后约 20% 的患者可发生局部复发或肝转移^[2]。Poen 等^[3]报道术前放、化疗能降低肿瘤分期,提高手术切除率;术后化疗,特别是区域性灌注化疗,可明显提高患者的中位生存期、降低化疗药物的全身负反应^[4-8]。联合应用化疗药物能明显提高反应率,但目前尚无满意、统一的化疗方案^[9]。

一、药物作用时间与胰腺癌细胞株生长抑制率的关系

5-FU 是一种细胞周期时相特异性药物,主要对 S 期的细胞具有杀伤作用。单次用药仅能杀灭有限数目的肿瘤细胞,因为只有那些处于敏感时相的细胞被杀死,延长药物作用的时间可以显著增加细胞的杀灭,因为随作用时间的延长能使更多的细胞进入药物作用的敏感时相。理论上讲,只要所有的靶细胞通过一个完整的细胞周期,细胞内保持足够高的药物浓度,则所有的细胞都能被杀灭。E-ADM、DDP 和 MMC 都属于细胞周期时相非特异性药物,随着药物作用时间的延长,活化期的细胞可被逐渐杀灭,而且处于静止期(G_0)的细胞活化后进入细胞周期也可被药物杀灭。因此,随着药物作用时间的延长,胰腺癌细胞株 Aspc-1 和 Bxpc-3 的生长抑制率显著提高。

二、药物浓度与胰腺癌细胞株生长抑制的关系

根据药物量效反应曲线,大多数抗癌药物在一定范围内其细胞杀伤作用有浓度依赖性^[10]。对于细胞周期时相非特异性药物(如 E-ADM、DDP 和 MMC),由于其量效曲线陡直,所以其浓度越高,细胞毒性也就越大。因此,随着药物浓度的升高,胰腺癌细胞株 Aspc-1 和 Bxpc-3 的生长抑制率显著提高。本研究结果与所发表的 5-FU、E-ADM、DDP 和 MMC 对肝癌细胞株 SMMC₇₇₂₁、BEL₇₄₀₂^[11]及胃癌细胞株 BGC-823^[12]的抑制作用同药物作用的时间及浓度的关系的资料相同。

三、联合用药与胰腺癌细胞株抑制率的关系

联合用药抗肿瘤疗效优于单独用药的疗效的原因主要为:①可防止抗药细胞株的形成;②细胞周期时相非特异性药物与细胞周期时相特异性药物联合应用,对静止期和分裂期细胞都有杀灭作用;③联合应用作用于不同生化途径或同一途径的不同步骤的

化疗药物,可以起到互相增效的作用。文献报道^[13] 5-FU 分别与 E-ADM、MMC 联用时对大肠癌细胞的抑制作用大于单独用药。

本研究结果证实:①常用化疗药物 5-FU、E-ADM、MMC 和 DDP 对胰腺癌细胞株 Aspc-1 和 Bxpc-3 生长的抑制作用与其药物浓度及作用时间成正比相关;②联合用药较单一用药对胰腺癌的 2 个细胞株有更强的抑制作用。所以,在胰腺癌化疗中,采用区域化疗,特别是持续性局部灌注化疗,可提高局部药物浓度及延长药物作用时间而能改善疗效。如采用联合化疗方案,可进一步提高疗效。

参 考 文 献


- Ahlgren JD. Chemotherapy for pancreatic carcinoma. *Cancer*, 1996, 78(3 Suppl): 654-663.
- Hawes RH, Xiong Q, Waxman I, et al. A multispecialty approach to the diagnosis and management of pancreatic cancer. *Am J Gastroenterol* 2000, 95: 17-31.
- Poen JC, Ford JM, Niederhuber MD. Chemoradiotherapy in the management of localized tumors of the pancreas. *Ann Surg Oncol*, 1999, 6: 117-122.
- Klapdor R, Muller C, Seutter R, et al. Improvement of survival by efficacy orientated sequential polychemotherapy of exocrine pancreatic cancer. *Anticancer Res* 2000, 20: 5201-5207.
- Hans BG, Karl LH, Frank G. Adjuvant regional chemotherapy in advanced pancreatic cancer: results of a prospective study. *Hepato-Gastroenterology*, 1998, 45: 638-643.
- Lygidakis NJ, Berberabe AE, Spentzouris N, et al. A prospective randomized study using adjuvant locoregional chemoinmunotherapy in combination with surgery for pancreatic carcinoma. *Hepato-Gastroenterology*, 1998, 45: 638-643.
- Osamu I, Hiroaki O, Yo S, et al. Adjuvant therapies in extended pancreatectomy for ductal adenocarcinoma of the pancreas. *Hepato-Gastroenterology*, 1998, 45: 644-650.
- Hiroki Y, Masaji T, Hironobu O, et al. Locoregional chemotherapy for patients with pancreatic cancer intra-arterial adjuvant chemotherapy after pancreatectomy with portal vein resection. *Pancreas*, 25: 366-372.
- 廖泉, 赵玉沛. 胰腺癌化学药物治疗现状及其发展方向. *中华普通外科杂志* 2000, 15: 302-304.
- 李天晓, 主编. 恶性肿瘤介入治疗学. 河南: 河南医药出版社, 2000. 9-10.
- 姜圣亮, 谭江平, 石林祥, 等. MTT 法检测肝癌细胞化疗敏感性方法学探讨. *同济大学学报(医学版)* 2002, 23: 296-298.
- 艾军, 何兰欣, 梁索源, 等. 抗癌药物对体外胃癌细胞生长的抑制作用. *河北医科大学学报* 2002, 23: 19-21.
- 霍晓波, 鲍思蔚, 晏马成. 大肠癌细胞的联合用药体外药敏实验. *药学服务与研究* 2002, 2: 37-38.

(收稿日期 2003-04-25)

化疗药物对胰腺癌细胞株Aspc-1和Bxpc-3生长抑制作用的研究

作者：[邹君杰](#)，[冯耀良](#)，[戴存才](#)

作者单位：[邹君杰, 冯耀良 \(210029, 南京医科大学第一附属医院, 介入放射科\)](#)，[戴存才 \(210029, 南京医科大学第一附属医院普外科\)](#)

刊名：[介入放射学杂志](#)

英文刊名：[JOURNAL OF INTERVENTIONAL RADIOLOGY](#)

年，卷(期)：2004，13(2)

被引用次数：0次

参考文献(13条)

1.[Ahlgren JD](#) [Chemotherapy for pancreatic carcinoma](#) 1996(78)

2.[Hawes RH](#).[Xiong Q](#).[Waxman I](#) [A multispecialty approach to the diagnosis and management of pancreatic cancer](#) 2000

3.[Poen JC](#).[Ford JM](#).[Niederhuber MD](#) [Chemoradiotherapy in the management of localized tumors of the pancreas](#) 1999

4.[Klapdor R](#).[Muller C](#).[Seutter R](#) [Improvement of survival by efficacy orientated sequential polychemotherapy of exocrine pancreatic cancer](#) 2000

5.[Hans BG](#).[Karl LH](#).[Frank G](#) [Adjuvant regional chemotherapy in advanced pancreatic cancer:results of a prospective study](#) 1998

6.[Lygidakis NJ](#).[Berberabe AE](#).[Spentzouris N](#) [A prospective randomized study using adjuvant locoregional chemoimmunotherapy in combination with surgery for pancreatic carcinoma](#) 1998

7.[Osamu I](#).[Hiroaki O](#).[Yo S](#) [Adjuvant therapies in extended pancreatectomy for ductal adenocarcinoma of the pancreas](#) 1998

8.[Hiroki Y](#).[Masaji T](#).[Hironobu O](#) [Locoregional chemotherapy for patients with pancreatic cancer intra-arterial adjuvant chemotherapy after pancreatectomy with portal vein resection](#)

9.[廖泉](#).[赵玉沛](#) [胰腺癌化学药物治疗现状及其发展方向](#)[期刊论文]-[中华普通外科杂志](#) 2000(05)

10.[李天晓](#) [恶性肿瘤介入治疗学](#) 2000

11.[姜圣亮](#).[谭江平](#).[石林祥](#) [MTT法检测肝癌细胞化疗敏感性方法学探讨](#)[期刊论文]-[同济大学学报\(医学版\)](#) 2002(04)

12.[艾军](#).[何兰欣](#).[梁索源](#) [抗癌药物对体外胃癌细胞生长的抑制作用](#)[期刊论文]-[河北医科大学学报](#) 2002(01)

13.[翟晓波](#).[鲍思蔚](#).[晏马成](#) [大肠癌细胞的联合用药体外药敏试验](#)[期刊论文]-[药学服务与研究](#) 2002(01)

本文链接：http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_jrfsxzz200402025.aspx

授权使用：[qkxb11\(qkxb11\)](#)，授权号：[1227a8df-b4cc-4fd6-9199-9e2b009df0d7](#)

下载时间：2010年11月11日