

E838联合 γ 射线对小鼠肺腺癌 LA 795抑瘤作用的实验研究

王月英, 吴红英, 刘 强, 李德冠, 赵艳芝, 路 璐, 李 进, 王汝勤, 张良安, 穆传杰

中图分类号: R 817.1 文献标识码: A 文章编号: 1004-714X(2007)03-0257-02

【摘要】 目的 本研究对 E838在体内抑瘤效果及合用 ^{137}Cs γ 射线是否具有抑瘤增效作用进行探讨。方法 LA 795肿瘤组织用生理盐水稀释约 3.5×10^7 个瘤细胞。取细胞悬液 0.2 ml 只接种于小鼠腋部皮下, 24h后将荷瘤小鼠随机分为对照组、单放组、E838药物组 (5、7.5、10 mg/kg) 和药物合用照射组、环磷酰胺组。药物组与药物合用照射组给予相同剂量给药, 每日 1 次, 连续 7 d 环磷酰胺 (25 mg/kg) 隔日 1 次 $\times 4$ 药物合用照射组于给药的第 4 d 进行全身 1 Gy 照射, 每日 1 次, 连续 5 d 观察其抑瘤效果及相关的免疫学指标。结果 E838 三个剂量对小鼠 LA 795 的抑瘤率分别为 42.73%、70.91% 和 64.09%, 与对照组比较差异有显著性 ($P < 0.05$), 骨髓有核细胞数水平有所升高, 合用 ^{137}Cs γ 射线能提高抑瘤效果, 抑瘤率分别为 63.63%、75% 和 68.64% ($P < 0.05$), 对肿瘤的杀伤作用高于单放组和单药治疗组。结论 E838 对小鼠肿瘤细胞具有良好的抑制作用, 合用 γ 射线抑瘤疗效比 E838 更为明显, 但没有显著性差异。调节机体的免疫功能是 E838 抗肿瘤作用的机制之一。

【关键词】 E838 γ 射线; 抑瘤作用; 移植瘤 LA 795

The Inhibiting Effects of Combination Treatment of E838 With γ -ray for Mouse Tumor Cells LA 795 WANG Yue-ying, WU Hong-ying, LIU Qiang et al. Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College, Tianjin 300192, China.

【Abstract】 Objective To investigate if ionizing radiation could enhance tumor inhibiting effects in mouse. Methods 0.2 ml LA 795 cell suspension (3.5×10^7 cells/ml) were subcutaneously injected into flanks of IRM-2 mice, the inoculated mice were divided into 5 groups: control, treated with simple E838 with a dose of 5, 7.5 and 10 mg/kg daily for 7 days, treated with simple cytoxan with dose at 25 mg/kg (4 times), only irradiated with 1 Gy γ -ray and E838 combined with γ -ray group. Results The tumor inhibiting rate for the E838 treated group were 42.73%, 70.91% and 64.09% respectively, there were significant difference compared with the control group ($P < 0.05$). The tumor inhibiting rate for the combination group were 63.63%, 75% and 68.64% respectively ($P < 0.05$ compared with control group), but there were no significant difference between E838 groups and the combination groups. Conclusion These data suggest that E838 have significant inhibiting effects for inoculated tumor in mouse, the tumor inhibition rate of combination groups seems to be higher than that of E838 treatment groups, but with no significant difference.

【Key words】 E838 γ -ray Tumor Inhibiting Effects Grafting Tumor LA 795

恶性肿瘤是严重危害公众健康的常见病和多发病, 是人类最难对付的顽症之一。随着现代肿瘤免疫理论的发展, 人们致力于研究开发具有抗肿瘤作用, 同时又能调节机体免疫力, 增强机体自身抗肿瘤功能具有双重功效的药物, 是当今科学工作者研究的热门领域, 也是增敏剂的发展方向之一。E838 是一种新型辐射防护剂, 我们在以往进行的药效学实验已证实: E838 具有放射防护效价高^[1]、毒副作用小的特点, 它能提高机体的防御能力, 能显著提高受照射小鼠 30 d 存活率和保护指数^[2], 对小鼠宫颈癌等有明显抑制作用。为进一步扩大瘤谱, 应用 IRM-2 小鼠作为肿瘤模型, 对 LA 795 肿瘤细胞的抑瘤效果及合用 ^{137}Cs γ 射线是否具有抑瘤增效作用进行探讨。

1 材料和方法

1.1 动物及瘤株 LA 795 肺腺癌细胞株由天津市药品检验所提供。IRM-2 小鼠是我所自己培育的近交系小鼠, 雌雄各半, 体重为 22~23 g, 饲料为清洁级全价鼠料, 由北京科奥协力饲料有限公司提供。

1.2 试剂 用注射茶油将 E838 配制成 5 mg/kg、7.5 mg/kg、10 mg/kg 三个不同剂量组。环磷酰胺 (CTX) 为上海华联制药剂量组有限公司产品, 批号 040805 用生理盐水配制成 25 mg/kg 剂量组。

1.3 照射 本所 ^{137}Cs γ 源 (加拿大产, CAMMA-CELL40), 照

射剂量为 1 Gy, 剂量率为 0.84 Gy/min。

1.4 荷瘤鼠模型的制备 LA 795 肿瘤组织用生理盐水稀释约 3.5×10^7 个瘤细胞。取细胞悬液 0.2 ml 只接种于小鼠腋部皮下, 24h后将荷瘤小鼠随机分为 10 组, 每组 10 只, 实验设对照组、单放组、E838 低、中、高药物治疗组、药物+照射组、阳性对照 (CTX) 组。药物组、药物+照射组给予给药, 每天 1 次, 0.2 ml/只, 连续给药 7 d 对照组注射茶油, CTX 隔日 1 次 $\times 4$ 药物+照射组于给药的第 4 d 进行全身 1 Gy 照射, 每日一次, 连续 5 d 隔日观察各组动物的肿瘤体积, 用游标卡尺测量肿瘤长径 a 和短径 b 根据公式 $V = \frac{1}{6} \pi a^2 b$ (a -长径, b -短径) 计算体积^[3]。并绘制肿瘤生长变化曲线。

1.5 检测指标 末次给药第 3 天处死动物, 称体质量, 解剖瘤块、胸腺、脾脏称质量, 计算抑瘤率、胸腺及脾脏指数, 并测定股骨有核细胞数。抑瘤率% = (对照组平均瘤质量 - 治疗组平均瘤质量) / 对照组平均瘤质量 $\times 100\%$; 脏器指数 = 脏器器官质量 / 体质量 $\times 1000$ 。

1.6 数据处理 数据统计结果用 $\bar{x} \pm SD$ 表示, 两组比较用 t 检验。

2 结果

2.1 肿瘤生长曲线 结果见图 1, E838 三个剂量组小鼠肿瘤体积明显均低于对照组。

2.2 E838 合并照射后各组肿瘤生长曲线 见图 2 从图中可以看出经过 E838 合并放疗后, 各组肿瘤生长均慢于对照组、放疗组。相对生长速率也减慢。

基金项目: 天津市自然科学基金项目 (043802411)

作者单位: 中国医学科学院放射医学研究所, 天津 300192

作者简介: 王月英 (1957-), 女, 副研究员, 研究方向: 放射生物学、实验动物学。

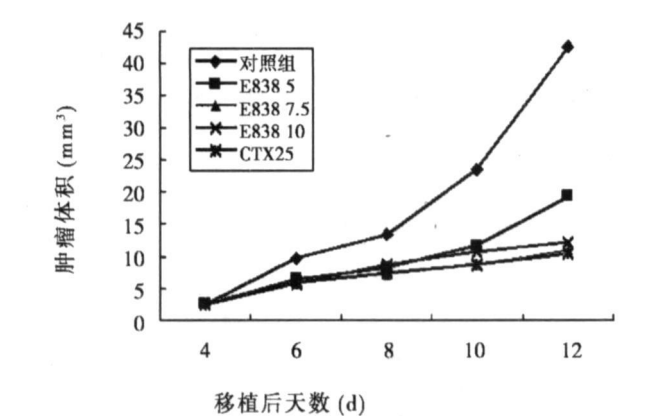


图 1 E₈₃₈ 对各组肿瘤生长曲线

2 3 E838 对 LA795 肿瘤细胞的生长抑制作用 结果见表 1 不同剂量的 E838 对肺腺癌细胞显示不同程度的抑制作用, 低、中、高剂量组对肿瘤的抑瘤率分别为 42.73%、70.91% 和 64.09%, 与对照组比较差异有显著性 ($P<0.05$)。环磷酰胺组抑瘤率为 67.73%。

表 1 E ₈₃₈ 对小鼠移植性肿瘤 LA795 的治疗结果					
组别	剂量 (mg/kg)	开始体重 (g)	结束体重 (g)	瘤重 (g)	抑瘤率 (%)
对照组		23.57±1.18	27.73±2.25	0.220±0.151	
E838 低剂量	5	23.78±1.11	26.85±1.77	0.126±0.030	42.73 ¹⁾
E838 中剂量	7.5	23.85±1.26	27.50±2.89	0.064±0.020	70.91 ¹⁾
E838 高剂量	10	23.42±1.66	27.22±2.54	0.071±0.035	64.09 ¹⁾
CTX	25	23.73±1.39	26.13±1.71	0.071±0.037	67.73 ¹⁾

注: 1) 与对照组相比, $P<0.05$

表 2 E ₈₃₈ + γ 射线对小鼠移植性肿瘤 LA795 的治疗结果					
组别	剂量 (mg/kg)	开始体重 (g)	结束体重 (g)	瘤重 (g)	抑瘤率 (%)
对照组		23.57±1.18	27.73±2.25	0.220±0.150	
单照射		23.58±1.41	25.28±1.95	0.140±0.060	37.27
低剂量+ γ 射线	5	23.78±1.64	26.02±1.64	0.080±0.040	63.63 ¹⁾
中剂量+ γ 射线	7.5	23.58±1.90	25.38±2.42	0.055±0.020	75.00 ^{1) 2)}
高剂量+ γ 射线	10	23.62±1.92	25.36±0.91	0.069±0.010	68.64 ^{1) 2)}

注: 1) 与对照组相比, $P<0.05$; 2) 与单照射组相比, $P<0.05$

2 5 E₈₃₈ 对 LA795 荷瘤小鼠免疫器官指数及 BMNC 的影响 结果见表 3 E838 三个不同浓度组小鼠的脾重指数高于对照组, 但无显著性差异。骨髓有核细胞的数量均高于对照组, 其中 7.5 10 mg/kg 剂量组于对照组比较差异有显著性意义 ($P<0.001$)。胸腺指数高于对照组且差异有显著性意义 ($P<0.001$)。胸腺指数高于 CTX 阳性对照组, 差异有显著性意义 ($P<0.01$)。

表 3 E ₈₃₈ 对荷瘤鼠免疫功能的影响				
组别	剂量 (mg/kg)	胸腺指数 (mg/g)	脾重指数 (mg/g)	BMNC($\times 10^6$) 股骨
对照组		1.38±0.18	7.62±1.46	14.35±3.22
低剂量	5	1.81±0.36 ^{2) 4)}	8.74±0.63	17.52±2.10 ¹⁾
中剂量	7.5	1.71±0.38 ^{2) 3)}	7.94±0.62	16.84±1.89 ¹⁾
高剂量	10	1.71±0.19 ^{2) 4)}	7.85±1.45	17.12±3.74
CTX	25	1.16±0.30	5.74±3.68	8.35±1.54

注: E838 与对照组相比, 1) $P<0.05$ 2) $P<0.001$ 与 CTX 组相比, 3) $P<0.01$, 4) $P<0.001$ 。

2 6 E₈₃₈+ γ 射线对 LA795 荷瘤小鼠免疫器官指数及 BMNC 的影响 结果见表 4 E₈₃₈ 三个不同浓度组小鼠的胸腺指数、脾重指数及骨髓有核细胞的数量与单照射组比较有所提高, 但差异无显著性。只有高剂量+ γ 射线剂量组的脾重指数与单照射组比较差异有显著性意义 ($P<0.001$)。

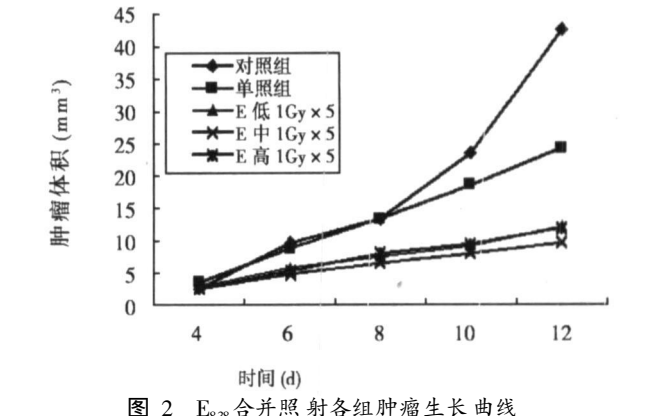


图 2 E₈₃₈ 合并照射各组肿瘤生长曲线

2 4 E838 合用 γ 射线对 LA795 肿瘤细胞的生长抑制作用 结果见表 2 E838 低、中、高剂量组对肿瘤的抑瘤率分别为 63.63%、75.00% 和 68.64%, 与对照组差异有显著性 ($P<0.05$), 7.5 mg/kg 和 10 mg/kg 剂量组与单照射组比较经统计学处理差异有显著性 ($P<0.05$)。E838 合用 γ 射线比单放组和单纯药物组的抑瘤效果更好。

瘤 LA 795 的治疗结果		
结束体重 (g)	瘤重 (g)	抑瘤率 (%)
27. 73±2 25	0 220±0. 151	
26. 85±1 77	0 126±0. 030	42. 73 ¹⁾
27. 50±2 89	0 064±0. 020	70. 91 ¹⁾
27. 22±2 54	0 071±0. 035	64. 09 ¹⁾
26. 13±1 71	0 071±0. 037	67. 73 ¹⁾

注: 1) 与对照组相比, $P<0.001$

性肿瘤 LA795 的治疗结果			
结束体重 (g)	瘤重 (g)	抑瘤率 (%)	
27. 73 ± 2 25	0 220 ± 0 150		
25. 28 ± 1 95	0 140 ± 0 060	37. 27	
26. 02 ± 1 64	0 080 ± 0 040	63. 63 ¹⁾	
25. 38 ± 2 42	0 055 ± 0 020	75. 00 ^{1) 2)}	
25. 36 ± 0 91	0 069 ± 0 010	68. 64 ^{1) 2)}	

表 4 E ₈₃₈ + γ 射线对荷瘤鼠免疫功能的影响				
组别	剂量 (mg/kg)	胸腺指数 (mg/g)	脾重指数 (mg/g)	BMNC (× 10 ⁶) 股骨
单照组		1 58 ± 0. 27	3. 05 ± 0. 53	10 85 ± 3. 91
低剂量 + γ 射线	5	1 65 ± 0. 28	3. 21 ± 0. 48	10 90 ± 4. 20
中剂量 + γ 射线	7. 5	1 64 ± 0. 42	3. 74 ± 1. 07	11 23 ± 1. 73
高剂量 + γ 射线	10	1 75 ± 0. 46	3. 97 ± 0. 36 ¹⁾	12 00 ± 1. 44

注: 1) 与对照组相比, $P<0.001$

3 讨论

放疗是肿瘤治疗中一项重要的手段, 但其对机体正常组织、特别是造血系统的损伤限制了实际应用价值。尽量减轻射线对造血细胞的损伤和加快造血损伤后的恢复是放射性造血损伤防治药物研究的两个重要方面。国内外学者经过多年的研究已筛选出一些辐射防护剂, 雌激素是研究较多的一类辐射防护剂。早在 1943 年就有学者发现雌激素不仅可延长放射损伤小鼠的生存天数, 还具有“升白”作用, 但由于对人体毒副作用大, 特别是对生殖系统的雌活性大大制约了其在临床上的应用^[4]。E838 药物在具有辐射防护作用的同时 (毒副作用又小), 又具有抑瘤及增效作用。从实验结果可以看出, 经 E838 治疗后, 三个不同浓度组小鼠的肿瘤生长速度均慢于对照组, 其瘤体截面积大小, 每组个体间差异较小, 瘤重明显小于对照

0.4mT工频磁场对 CHL细胞微丝装配的影响

褚克平, 蔡知音, 张玉焜, 夏若虹

中图分类号: R594.8 文献标识码: A 文章编号: 1004-714X(2007)03-0259-03

【摘要】 目的 探讨 0.4mT工频磁场对中国仓鼠肺成纤维细胞 (CHL) 微丝 (F-actin) 装配的影响及作用机制。方法 用免疫荧光染色法标记 F-actin, 激光共聚焦荧光显微镜观察 F-actin形态并拍照, 用 Western-blotting方法检测了与去垢剂不可溶的细胞骨架相连的表皮生长因子受体 (EGFR) 蛋白的含量。结果 0.4mT工频磁场辐照 CHL细胞 30min 导致细胞 F-actin 应力纤维减少, 在细胞周边出现丝状伪足, 磁场对 CHL细胞 F-actin 形态的影响与细胞经 50nmol/L 的表皮生长因子 (EGF) 作用 30min 类似, 且磁场和 EGF 都使与去垢剂不可溶的细胞骨架相连的 EGFR 增多。结论 0.4mT工频磁场辐照导致 CHL细胞 F-actin 装配发生变化, 磁场对 F-actin 的影响可能与磁场诱导表皮生长因子受体聚集, 并引起信号向下传递有关。

【关键词】 工频磁场; CHL细胞; F-actin; 应力纤维; 表皮生长因子受体

Effect of 0.4mT Power Frequency Magnetic Field on F-actin Assembly of CHL Cells CHU Ke-ping CAI Zhi-yin ZHANG Yu-kun et al. *Key Laboratory of Optical and Magnetic Resonance Spectroscopy East China Normal University Shanghai* 200062 China

【Abstract】 Objective To investigate the effect of 0.4mT power frequency magnetic field on the microfilament (F-actin) assembly of Chinese hamster lung (CHL) cells. **Methods** F-actin were marked with immunohistochemical method then observed under a confocal microscope. The content of EGFRs in the preparation of the detergent-insoluble cytoskeleton was measured with Western-blotting. **Results** The stress fibers of CHL cells decreased after exposure to 0.4mT power frequency magnetic field for 30min as well as after treatment with epidermal growth factor (EGF) of 50nM. Filopodia appeared at the periphery after exposure to magnetic field as well as treatment with EGF. The EGFR receptor mass associated with the detergent-insoluble cytoskeleton increased after exposure to magnetic field as well as treatment with EGF. **Conclusion** 0.4mT power frequency magnetic field induced assembly of F-actin in CHL cells. The change induced by magnetic field would be related to clustering of EGFR induced by magnetic field and passing the signal down.

【Key words】 Power Frequency Magnetic Field; CHL Cell; F-actin; Stress Fiber; EGFR

人群流行病学调查的结果表明, 输电线工频磁场 (属于极低频磁场, ELF-MF) 暴露可能与白血病和乳腺癌等发病率增高有关^[1], 国际癌症研究机构 (IARC 2001) 和美国环境健康科

学研究所 (NIEHS 1998) 均把 ELF-MF 定义为人类的可疑致癌源。环境电磁辐射与肿瘤及癌症发生的关系及机制是目前环境健康研究工作中最主要的挑战之一。肿瘤及癌细胞的显著特征包括细胞增殖失控及细胞迁移性改变, 而细胞的这些生命活动都与细胞骨架密切相关。我们研究工频磁场刺激对细胞骨架的影响旨在探索 ELF-MF 与肿瘤、癌症发生的关系及机制。

F-actin 是细胞骨架的一种, 在细胞质中成束状平行排列 (应力纤维) 或疏散成网状。它是由肌动蛋白单体 (G-actin)

基金项目: 教育部留学回国人员基金资助项目

作者单位: 华东师范大学光谱学与波谱学教育部重点实验室, 上海 200062

作者简介: 褚克平 (1981~), 女, 山东省人, 在读硕士, 研究方向: 生物电磁学。

通讯作者: 夏若虹

组, 抑瘤率最高可达到 70.91%, 三个药物剂量组的抑瘤率经统计学处理与对照组比较差异有显著性 ($P < 0.05$), 表明 E838 能抑制 IRM-2 小鼠移植的 LA795 肺腺癌细胞株的增殖。机体的免疫功能与肿瘤的发生、发展有密切关系。机体的免疫功能状态是影响肿瘤治疗转归的重要因素, 由于胸腺是中枢淋巴器官, 为 T 细胞分化成熟的场所, 是机体抗肿瘤免疫的核心力量, 本试验中 E838 可提高免疫器官脾和胸腺的质量及骨髓有核细胞的数量, 胸腺指数高于对照组, 与对照组比较差异有显著性 ($P < 0.001$)。胸腺指数和骨髓有核细胞的数量也高于环磷酰胺, 说明 E838 有保护和恢复机体免疫功能的作用。E838 除了具有良好的抑瘤效果外, 合并放疗对 LA795 肿瘤细胞的抑瘤效果更好, E838 各组的肿瘤生长均慢于对照组、单放组和 E838 单药组。抑瘤率最高可达到 75.00%, 与对照组比较差异有显著性 ($P < 0.05$), 7.5mg/kg、10mg/kg 两个剂量组与单照组比较差异有显著性 ($P < 0.05$), 说明 E838 合并适当剂量的照射可增强其对肿瘤的抑制作用。E838 和辐射主要作用于细胞周期的 G2M 期, 使细胞有丝分裂受到抑制^[15]。随着对 E838 研究的不断深入, 新药理作用的发现, 尤其是体内抗肿瘤作用、免疫调节作用机制的进一步明确, 并能在肿瘤放疗中增加其疗

效, 有可能成为具有开发潜力的抗肿瘤药物。

参考文献:

- [1] 杨福军, 王汝勤, 赵云庭, 等. E838 对造血组织的放射防护作用 [J]. 中国肿瘤临床报, 1998, 23 (11): 832-833.
- [2] 王月英, 王汝勤, 赵忠萍. E838 对小鼠辐射防护作用的研究 [J]. 中华放射医学与防护杂志, 2005, 25 (1): 39-40.
- [3] WANUMA Y, CHEN FA, EGIMEZ NAKED et al. Antitumor immune response of human peripheral blood lymphocytes coengrafted with tumor into severe combined immunodeficient mice [J]. Cancer Res, 1997, 57 (14): 2937-2942.
- [4] 周永, 糜漫天, 杨镇洲. 三羟异黄酮对照射小鼠造血系统损伤的防护作用 [J]. 中华放射医学与防护杂志, 2005, 25 (1): 21-23.
- [5] 张宇光, 张辛茹, 闫玉军, 等. E838 在肿瘤放射治疗中应用的实验研究 [J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 1999, 17 (4): 204-208.

(收稿日期: 2007-04-09)