文章编号:1000-5404(2010)24-2675-02

个案与短篇

麻疹减毒活疫苗联合顺铂抗卵巢癌细胞体外实验研究

刘　婷,孙丽君　(563000 贵州 遵义,遵义医学院附属医院妇产科)

【关键词】 麻疹减毒活疫苗;顺铂;卵巢癌细胞;细胞凋亡
【中图法分类号】 R737.31　【文献标志码】 B

卵巢癌是女性生殖器 3 大恶性肿瘤之一,治疗上多采用手术辅以化疗的综合治疗,但疗效欠佳[1]。近年来,生物治疗作为肿瘤治疗的一种新型模式日益受到重视。病毒治疗属于生物治疗中的一种。我们以体外原代培养的卵巢癌细胞为研究对象,探讨麻疹减毒活疫苗(MV)在体外对卵巢癌细胞的杀伤作用及联用顺铂(DDP)时两者是否产生协同效应。

1　材料与方法

1.1　卵巢癌细胞标本

取自 2007 年 3 月至 2007 年 10 月在本院手术治疗的 5 例未经化疗卵巢癌患者,均为病理检查确诊,属上皮性卵巢恶性肿瘤。

1.2　方法

1.2.1　卵巢癌细胞的培养　用含 20% 胎牛血清、青霉素 100 U/ml、链霉素 100 U/ml 的 RPMI1640 培养液,置于 37 ℃,5% CO_2 培养箱中培养。实验用细胞均处于对数生长期。

1.2.2　卵巢癌细胞的鉴定　进行细胞爬片后送本院病理科行 HE 染色及免疫组化表型 CK7 的测定。

1.2.3　MTT 法检测细胞增殖抑制情况　将细胞接种于 96 孔板中,培养 24 h,按实验设计加入药物干预,每组设 3 个复孔,并设对照组和空白组。单用 MV(北京晶美公司产品)时选取 1∶40、1∶30、1∶20、1∶10、1∶1 稀释倍数;联合用时选取:DDP(山东德药制药有限公司产品)浓度 0.6、3.0、15 μg/ml[2],MV 稀释倍数 1∶20、1∶10、1∶1,以上浓度依次组合;给药 72 h 后,每孔加入 MTT 液 20 μl,继续培养 4 h,弃去培养液,每孔加入 DMSO 150 μl,使结晶物充分溶解,酶联免疫检测仪在 570 nm 波长下检测每孔的光密度值[D(570)],相同药物设计组重复 3 板。计算抑制率[3]:细胞生长抑制率 = [1 - 实验组平均 D(570)]/对照组平均 D(570) × 100%;联用时计算 2 种干预因素的相互作用:q = E(AB)/[EA + (1 - EA) × EB],E(AB)为 2 种干预因素合用的抑制率,EA 和 EB 为各干预因素单用的抑制率,q > 1.15 表示 2 种干预因素作用协同,q = 0.85 ~ 1.15 表示 2 种干预因素作用相加,q < 0.85 表示 2 种干预因素相互拮抗[4]。

1.2.4　流式细胞仪测定细胞的凋亡率　将细胞接种于 24 孔板中,培养 24 h,按实验设计加入药物干扰,每组设 3 个复孔,并设对照组和空白组。DDP 浓度选取血药峰值浓度 3.0 μg/ml,MV 选取 1∶1、1∶10、1∶20 稀释倍数,合用时依次组合。给药后 24 h 收集细胞,采用 Annexin Ⅴ/PI 双染法,遵照 BD 试剂盒说明书方法进行标记,然后上流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

【通信作者】 孙丽君,电话:(0852)8608782,E-mail:shunlj666@yahoo.com.cn

1.3　统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,行单因素方差分析。

2　结果

2.1　卵巢癌细胞的鉴定及形态观察

在倒置显微镜下,可见癌细胞呈铺路石样紧密排列,形态不规则,可见核分裂象。HE 染色:细胞形态不规则,呈多角形,核增大且深染,可见多核巨细胞;免疫组化表型 CK7 的测定:卵巢癌细胞 CK7 阳性产物表达于细胞质,呈棕黄色。

2.2　MV 感染后细胞形态观察

MV 感染卵巢癌细胞 24 h 后,癌细胞收缩变圆,部分细胞相互融合;感染 72 h 后,部分细胞相互融合形成多核巨细胞,细胞内出现空泡,融合后的细胞周围呈空白区(图 1)。

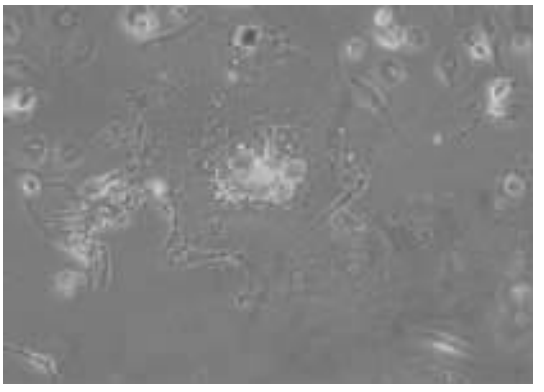


图 1　MV 感染卵巢癌细胞 72 h 后形态学观察
(倒置相差显微镜 ×10)

2.3　MTT 法检测结果

2.3.1　MV 对卵巢癌细胞增殖抑制的影响　单用 MV 作用于卵巢癌细胞 72 h 后,卵巢癌细胞的生长均受到不同程度的抑制。1∶40、1∶30、1∶20、1∶10、1∶1 的抑制率分别为(9.84 ± 1.06)%、(13.50 ± 2.01)%、(17.81 ± 1.80)%、(26.02 ± 3.15)%、(50.12 ± 3.59)%,其抑制率随着 MV 稀释度的降低而增高,在所给稀释度范围内存在良好的量效依赖关系。

2.3.2　DDP 与 MV 联用对卵巢癌细胞增殖抑制的影响　当两者联用时,与单用 DDP 或 MV 相比能显著抑制卵巢癌细胞的增殖(P < 0.05);在同一 DDP 浓度下,两者联用时的增殖抑制率随 MV 稀释倍数的降低而增加。当 DDP 浓度为 0.6 μg/ml 时,合用不同稀释度的 MV 显示出两者的协同作用(q > 1.15);当 DDP 浓度为 3.0 μg/ml 时,合用不同稀释度的 MV 在 4 个病例表现出协同作用,1 个病例仅表现出两者的相加作用(0.85 < q < 1.15);当 DDP 浓度为 15 μg/ml 时,合用不同稀释

度的MV在5个病例的卵巢癌细胞只表现出两者的相加作用。所有实验组的D(570)值分别与对照组比较均有统计学差异($P<0.05$)。

2.4 细胞凋亡检测

1∶1、1∶10、1∶20稀释度的MV单独作用卵巢癌细胞及对照组的凋亡率分别为(78.50±8.57)%、(73.8±10.82)%、(63.7±9.51)%、(29.47±7.51)%,随着MV稀释度的降低而升高;当DDP浓度为3.0 μg/ml时,合用不同稀释度的MV均可显著提高5例卵巢癌细胞的凋亡率($P<0.01$);但随着MV稀释度的降低,联合组间凋亡率改变无统计学意义($P>0.05$)。

3 讨论

本实验以原代培养的卵巢癌细胞为研究对象。最大的优点是组织细胞离体时间短,在一定程度上能反映体内状态,是一种较为理想的评价干扰因素效应的实验方法。在本实验中,当MV作用于卵巢癌细胞后出现典型的细胞病变。研究发现MV是通过其表面的血凝素H与细胞表面的CD46和SLAM结合[5]。CD46在许多肿瘤细胞如卵巢癌细胞表面过表达[6]。当MV感染细胞以后,在被感染细胞表面可表达MV编码的包装糖蛋白血凝素H和融合素蛋白F,它们通过与邻近细胞表面的CD46结合来介导被感染和(或)未被感染癌细胞间的融合,形成多核巨细胞,进而杀伤肿瘤细胞。

本实验发现低浓度的DDP联合MV对卵巢癌细胞可产生协同作用。这可能与MV和DDP的抗癌途径不一样,无交叉抵抗作用,从而对癌细胞施行"双重打击"有关。另本实验结果还发现:高浓度的DDP与MV联用时只表现出两者的相加作用,我们推测高浓度的DDP更加促进了卵巢癌细胞的凋亡,这可能导致MV对癌细胞的溶解杀伤减弱,从而导致了这种情况的发生。本实验仅为初步探索MV及MV联合DDP抗卵巢癌细胞的作用,MV价格低廉,对机体副作用小,若临床上能与化疗药物联用产生协同效应,可降低治疗费用和减少多种化疗药物联用时对机体产生的毒副作用。

参考文献:

[1] NIH consensus conference. Ovarian cancer. Screening, treatment, and follow-up. NIH Consensus Development Panel on Ovarian Cancer[J]. JAMA, 1995, 273(6):491-497.

[2] Bray M. The role of the type I interferon response in the resistance of mice to filovirus infection[J]. J Gen Virol, 2001, 82(Pt 6):1365-1373.

[3] Brenan J A, Mao L, Hruban R H, *et al*. Molecular assessment of histopathological staging in squamous-cell carcinoma of the head and neck [J]. N Engl J Med, 1995, 332(7):429-435.

[4] Chang F, Syrjanen S, Syrjanen K. Implications of the p53 tumor-suppressor gene in clinical oncology[J]. J Clin Oncol, 1995, 13(4):1009-1022.

[5] Ono N, Tatsuo H, Hidaka Y, *et al*. Measles viruses on throat swabs from measles patients use signaling lymphocytic activation molecule (CDw150) but not CD46 as a cellular receptor[J]. J Virol, 2001, 75(9):4399-4401.

[6] Balachandran S, Barber G N. Vesicular stomatitis virus (VSV) therapy of tumors[J]. IUBMB Life, 2000, 50(2):135-138.

(收稿:2010-07-20;修回:2010-09-25)

(编辑 王小宾)

个案与短篇

文章编号:1000-5404(2010)24-2676-02

巧用"护士工作站"长期医嘱执行时间栏减轻护士工作量的方法

胡晓灵[1],叶 容[1],罗 霞[2] (400037 重庆,第三军医大学新桥医院:全军肿瘤诊治研究所[1],护理部[2])

【关键词】 军字一号系统;护士工作站;长期医嘱;执行时间栏

【中图法分类号】 R47 【文献标志码】 B

军字一号系统[1]在我院已经运行近10年,从护士工作站处理电子医嘱及打印各类电子执行单已成为护士的日常工作。对于医嘱中频次、时间或医嘱执行有特殊要求的需转抄到各类执行单[2]上,在转抄时常会遇到患者、家属、工作人员的询问、入院等情况,不仅耽误时间,还可能抄错。为减轻护士工作量、使医嘱一目了然,执行更为准确,我们在处理特殊医嘱时进行了一些改进,报告如下。

1 资料与方法

在处理特殊执行时间或要求的长期医嘱时,我们对执行时间栏进行了一些改进:①对于2日1次的医嘱,在执行时间栏内时间后输入对应"单日"或"双日"。见表1序号1。跨月时根据情况调整。②对于药品名相同而生产厂家不同的药物,在执行时间栏内时间后输入对应厂家。见表1序号2。③对于3日1次的医嘱,如执行时间为5月6、9、12、15日…,可输入"6、9、12、15…",时间到了再修改。见表1序号3。如外周静脉置管(PICC)换药为3日1次,只需通过电脑医嘱便知道患者今天该不该换药,如果拔管,该不该收治疗、材料费等;而不必翻执行本,避免了错收、漏收费及询问相关人员的麻烦。④对于每周1次的医嘱,在执行时间栏内输入对应的星期几。见表1序号4。⑤对于有特殊要求的药物,如氟尿嘧啶注射液要求输4~6 h,可在执行时间栏内输入"4至6 h"。见表1序号5。⑥对于自备或处方药,在执行时间栏内标注"自备"或"不摆药"。见表1序号6。

2 结果

改进后方法与原方法打印出来的执行单在执行时间栏有

【通信作者】 叶 容,电话:(023)68774499