论 著 文章编号:0253-3626(2008)12-1437-03

超声联合紫杉醇对卵巢癌细胞 HO-8910PM 的体外作用

刘 帅,杨 艳,于廷和
(重庆医科大学生物医学工程系医学超声工程研究所,重庆 400016)

【摘 要】目的:观察超声(Ultrasound,US)联合紫杉醇(Taxol)对高转移性人卵巢癌细胞 HO-8910PM 的体外抑制作用。方法:筛选 1 个对细胞抑制率约 10 %的超声剂量。观察此剂量时超声辐照与药物联合应用(6 μg/ml 或 18 μg/ml)对肿瘤细胞的抑制率。结果:紫杉醇浓度为 6 μg/ml 时 Taxol、Taxol+US 组细胞抑制率分别为 12.4%和 11.7%(P>0.05),浓度为 18 μg/ml 时抑制率分别为 27.8%和 42.0%(P<0.05)。结论:超声可增强紫杉醇对卵巢癌细胞的抑制效应,这种协同作用只有当药物浓度高于临界值时才存在。

【关键词】卵巢癌;超声;紫杉醇;协同效应
【中国图书分类法分类号】R737.31,R811.3 【文献标识码】A 【收稿日期】2008-03-13

The use of ultrasound to synergize the effect of taxol against human ovarian cancer cells HO-8910PM

LIU Shuai, et al
(*Institute of Ultrasound Engineering in Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To determine whether ultrasound could enhance the cytotoxicity of taxol against human ovarian cancer cells HO-8910PM, a cell line with highly metastatic potential. *Methods*: Cell-killing attributed to ultrasound was determined by tetrazolium assay, and then an insonation level with a slight cytotoxicity was singled out for investigating the synergism. Such a level of sonication was co-used with taxol to deactivate cancer cells. *Results*: Inhibition rates in groups Taxol and Taxol+US, were12.4% vs11.7% (P>0.05)when taxol was

作者介绍:刘 帅(1980-),男,医师,硕士,
研究方向:卵巢肿瘤治疗。
通讯作者:于廷和,男,研究员,E-mail: tingheyu@163.com。
基金项目:国家自然科学基金(30670550)和教育部新世纪优秀人才支持计划(NCET-05-0775)资助。

治疗后肌瘤的强化部分(即认为是肌瘤没有发生凝固性坏死的部分)在 T_1WI 上仍为术前的等、低信号,没有明显的高信号出现,T_2WI 也仍为术前的等、低或混杂信号,边界清楚,周边未见低信号带。但是强化程度低于术前。此部分肌瘤仍见强化表明血供未阻断,组织没有发生凝固性坏死。分析其原因可能是,术前肌瘤血供丰富,超声能量不易沉积,肌瘤生长部位不宜高能量治疗如靠近内膜面或者邻近重要脏器进入声通道等,或术中由于患者对疼痛反应强烈只能采用低功率治疗。

通过对本组资料 HIFU 治疗子宫肌瘤前、后 MRI 的影像学表现,可以初步总结出 HIFU 治疗后肌瘤发生了凝固性坏死部分的 MRI 平扫表现,探讨了一种无须使用造影即可较准确地判断坏死范围的方法。

在临床中,随着 HIFU 技术的普及,相应的也就需要有方便、有效、经济的检测手段来进行疗效评价。本文在临床中经过实践和总结,只需要通过平扫 MRI 也能较好地判断治疗后肌瘤的坏死范围,相对其他监测技术,具有准确、方便的优势,有较高的临床实用意义。

参 考 文 献

[1] Rowland I J, Rivens I, Chen L, et al. MRI study of hepatic tumours following highintensity focused ultrasound surgery[J]. Br J Radiol, 1997, 70(2): 144-153.
[2] Hiroyki U D, Kaori Togasbi, IKuo K, et al. Unusual appearances of uterine leiomyomas: MR Imaging findings and their histopathologic backgrounds[J]. Pelvic Imaging, 1999, 19(9): 131-145.
[3] 伍 烽,陈文直,白 晋,等.高强度聚焦超声对恶性实体肿瘤血管的破坏作用[J]. 中华实验外科杂志,2002,19(4):314-315.

(责任编辑:冉明会)

with a concentration of 6 μg/ml and were 27.8% vs 42.0%(P<0.05)when taxol was 18 μg/ml, respectively. Qualitative evaluation confirmed that there existed a synergism between taxol and ultrasound, while the content of taxol was 18 μg/ml. *Conclusion*: Ultrasound potentiated the cytotoxicity of taxol against ovarian cancer cells, and the synergism occurred only when the concentration of taxol was above the critical level.

【Key words】 Ovarian cancer; Ultrasound; Taxol; Synergism

化疗仍是卵巢癌治疗的重要手段。紫杉醇是卵巢癌化疗的一线药物，毒副作用是限制其应用的主要原因之一。因此，有必要探讨提高疗效，并可同时降低副作用的治疗手段。基于对超声生物学效应的认识，发现其可增强药物效应[1]。本文以高转移性人卵巢癌细胞 HO-8910PM 为对象，探讨超声能否增强紫杉醇的抗肿瘤活性。

1 材料与方法

1.1 细胞

高转移人卵巢癌细胞 HO-8910PM(重庆医科大学医学超声工程研究所保存)以含 1%胎牛血清(MDgenics)的 RPMI 1640(Hyclone)培养基培养[2]。实验时以胰酶消化，制备单细胞悬液，调整细胞浓度为 1.0×10^6 个/ml。

1.2 超声辐照

超声波系统及辐照方法和我们以前的报道相同[3]。声强为 2.0 W/cm^2，频率 0.8 MHz。

1.3 超声剂量的筛选对细胞的作用

辐照时间分别为 0 s、10 s、20 s、30 s、40 s、50 s、60 s。辐照后以 MTT 法测定细胞活性[4]。根据生存率曲线，确定 1 个抑制率约 10%的超声剂量用于以下实验。

1.4 超声联合抗肿瘤药物对细胞的作用

根据预实验确定两个药物剂量，分别为 6 μg/ml 和 18 μg/ml。实验分为对照、US、Taxol 和 Taxol+US 4 组，细胞分别予以假照、超声、紫杉醇和紫杉醇联合超声处理。超声辐照在加入药物后给予[5]。处理后 3 h 离心去药，PBS 洗 2 次后加入 RPMI1640 培养基，继续培养 16 h，以 MTT 法测定细胞活性，计算抑制率。

$$抑制率(10\%)=\frac{1-处理组吸光度值}{对照组吸光度值}\times100\%$$

1.5 处理因素合用的效果判断

采用金氏公式判断[6]。

金氏公式：Q=Ea+b/(Ea+Eb-Ea.Eb)。公式中 Ea+b 为 A 因素和 B 因素合并用药的抑制率，Ea 和 Eb 分别为 A 因素和 B 因素单独应用的抑制率。Q 值为 0.85～1.15 时表示单纯相加；1.15～20 为协同；>20 为明显协同；0.85～0.55 为拮抗；<0.55 为明显拮抗。

1.6 统计处理

以统计软件 SPSS 13.0 行方差分析，并利用其中 LSD 及 SNK 方法进行两两比较，P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 超声对细胞的作用

随着辐照时间延长，增加细胞的生存率逐渐降低。但并没有发现明显的临界值，故确定 1 个对细胞损伤较小的剂量(10 s)用于以下实验，此剂量对细胞杀伤率约 10% (图 1)。

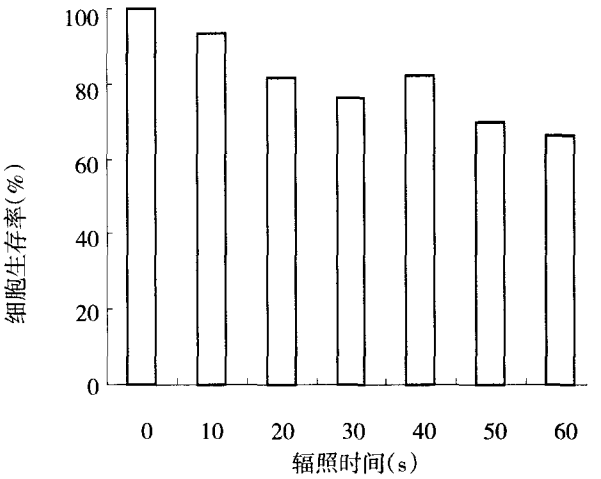


图 1 超声作用后细胞的生存率

2.2 联合作用对细胞的作用

紫杉醇浓度为 6 μg/ml 时，US、Taxol 和 Taxol+US 抑制率分别 7.1%、12.4%和 11.7%，未发现各组抑制率有显著差异(P>0.05)。

紫杉醇浓度为 18 μg/ml 时，US、Taxol 和Taxol+US 抑制率分别 10.8%、27.8%和 42.0%。US 组和对照组差异不显著(P>0.05)，Taxol+US 组高于 US 组及 Taxol 组(P<0.05，P<0.05)。

根据金氏公式，与 US 组和 Taxol 组比较，Taxol+US 组 Q 值为 1.18，表明二者存在协同效应。

3 讨 论

卵巢癌是死亡率最高的妇科恶性肿瘤,5 年存活率一般低于 30%。近年来随着诊断技术的提高以及治疗方案的完善,临床缓解率有所提高。化疗仍是卵巢癌治疗的重要方法,联合紫杉醇和铂类的化疗方案,特别是在结合静脉和腹腔的联合应用紫杉醇和顺铂的情况下可明显延长患者的存活时间,但同时副作用也加剧[7]。超声作为一种物理因子可以增强多种化疗药物在体内或体外的抗肿瘤作用,目前越来越受到研究者的重视,在增加疗效的同时减少副作用,这一直是研究者所希望的[1]。本研究即是通过研究用更小量的紫杉醇联合低强度超声在体外对卵巢癌细胞的损伤效应,以期望寻找一种提高疗效并降低毒性的用药方法。

在单独应用超声时,细胞的存活率随着超声作用时间的增加出现逐渐减小的趋势。本实验所用的超声剂量为 10 s,对细胞的抑制效应较弱,有利于判断其对其他治疗的增效作用。

本研究发现,联合超声和紫杉醇,小剂量(6 μg/ml)时无明显增强作用。但在药物剂量加大(18 μg/ml)时 Q 值为 1.18,说明此时二者存在明显的协同作用。此结果提示超声的增效作用只有当抗肿瘤药物达到一定剂量时才存在。虽然本研究发现超声与紫杉醇之间有协同效应,但 Q 值仅为 1.18,因此这种增效强度是不够满意的。考虑到体内、体外的差异性,体内效应通常比体外降低,有必要进行进一步探讨,提高 Q 值,以增加该方法在体内能发挥作用的可能性。

超声增强紫杉醇的原因可能有:(1) 超声作用后细胞对其他因子的敏感性增加[8];(2)超声作用后细胞膜结构的破坏使得药物更容易进入细胞[1]。

本研究发现超声对紫杉醇细胞毒作用的增效应仅当药物浓度达到一定值时才存在,进一步证实了我们以前的推论,超声用于药物增效时存在组织和药物差异性[1]。

参 考 文 献

[1] Yu T,Li S,Zhao J,et al. Ultrasound:a chemotherapy sensitizer [J]. Technol Cancer Res Treat,2006,5(1):51-60.

[2] Shenhua X,Lijuan Q,Hanzhou N,et al. Establishment of a highly metastatic human ovarian cancer cell line (HO-8910PM) and its characterization[J]. J Exp Clin Cancer Res,1999,18(2):233-239.

[3] Yu T,Bai J,Hu K,et al. The effect of free radical scavenger and antioxidant on the increase in intracellular adriamycin accumulation induced by ultrasound[J]. Ultrason Sonochem,2003,10(1):33-35.

[4] Alley M C,Monks A,Monks A,et al. Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay[J]. Cancer Res,1988,48(3):589-601.

[5] Yu T,Wang Z,Jiang S.Potentiation of cytotoxicity of adriamycin on human ovarian carcinoma cell line 3AO by low-level ultrasound[J]. Ultrasonics,2001,39(4):307-309.

[6] 戴体俊.合并用药的定量分析[J]. 中国药理学通报,1998,14(5):479-480.

[7] Armstrong D K,Bundy B,Wenzel L,et al.Gynecologic Oncology Group.Intraperitoneal cisplatin and paclitaxel in ovarian cancer[J].N Engl J Med,2006,354(1):34-43.

[8] Yu T,Xiong Z,Chen S,et al. The use of models in "target" theory to evaluate the survival curves of human ovarian carcinoma cell line exposure to adriamycin combined with ultrasound[J]. Ultrason Sonochem,2005,12(5):345-348.

(责任编辑:关蕴良)

参考文献中英文作者名的著录方法

医学期刊的论文中,引用英文文献的比例很高,但有不少作者将英、美人的姓名搞错,以至用光盘核对时出现错姓、错名或姓名全错。英、美人姓名的习惯写法是:名 - 名 - 姓,"名"可以有 1 个、2 个或 3 个,但"姓"只有 1 个。因此,从书籍或期刊中的姓名转录到文献时,要将次序调整为姓 - 名 - 名。姓是不可以简写的;"名"可以缩写,用第一个字母大写,不用缩写点。数据库在著录作者姓名时,已经调整为姓 - 名 - 名,可照录。

例如:John Quincy Public 写为 Public J Q。

本刊编辑部