维普资讯 http://www.cqvip.com

259-261

(13)

第24卷 第3期 重庆医科大学学报 Vol.24 No.3
1999 ACTA UNIVERSITATIS SCIENTIAE MEDICINAE CHONGQING 1999

阿斯匹林对胃癌细胞株SGC－7901的体外细胞毒作用

R735.2
R971.1

临床学院消化内科 高 青* 唐承薇
重庆市急救中心 刘 兴

提 要 近年研究表明非甾体类抗炎药物对某些肿瘤具有抑制作用。本文采用噻唑蓝体外细胞毒试验(MTT)，观察阿斯匹林对人胃癌细胞株SGC－7901的生长抑制作用。结果表明：阿斯匹林对SGC－7901生长有明显的抑制作用，其抑制率与阿斯匹林浓度和作用时间呈正相关性(r分别为0.8873和0.8256，P值均小于0.001)。小剂量阿斯匹林联合5－Fu作用于SGC－7901，其生长抑制率有明显提高。结论：阿斯匹林具有抑制人胃癌细胞株SGC－7901生长的作用，与5－Fu联用效果更佳。

胃肿瘤 MTT

关键词 胃癌；阿斯匹林；噻唑蓝还原法
中图分类号 R735.2

阿斯匹林(ASA)作为非甾体类抗炎药物的代表，临床上长期用于对急、慢性风湿病等疾病的治疗。而近十余年的研究证实：ASA等非甾体类抗炎药(NSAIDs)对某些消化道肿瘤，特别是结肠癌，有降低其发病率的作用[1]，其对肿瘤的化学预防作用正受到关注。但目前尚不知ASA是否对胃癌也有抑制作用。本文采用噻唑蓝(MTT)体外细胞毒试验，观察ASA对胃癌细胞株SGC－7901生长的细胞毒作用，以了解ASA能否对胃癌的治疗有所帮助。

1 材料与方法

1.1 **药物和试剂** 阿斯匹林纯品为西南药业股份有限公司提供，RPMI－1640购自Sigma公司，MTT购自Fluk公司(用PBS配制为5mg/ml溶液，0.22μm滤膜过滤，以除菌和去除不溶物，分装，－25℃避光保存)，细胞溶解液参照边兴艳等[2]方法配制，细胞消化液用0.25%胰蛋白酶－0.02%EDTA·Na_2配制。

1.2 **细胞培养** 胃癌细胞株SGC－7901购自上海消化疾病研究所。SGC－7901培养在RPMI－1640培养液中，培养液含10%胎牛血清和青霉素100u/ml和链霉素100μg/ml，于37℃，5%CO_2孵箱内培养，取对数生长期细胞进行实验。

1.3 **方法** 参照Campling的方法[3]略加改进。将培养细胞吸弃上清培养液，加入细胞消化液3ml，放置5min后，吸弃消化液，用Hank's液洗二次，再用培养液将细胞调整到5×10^4/ml。在96孔培养板上接种细胞悬液100μl/孔(培养板用紫外线照射2h，光距30cm以内)。然后加入不同浓度的ASA20μl/孔，每一孔浓度设三个复孔，单用PRMI－1640培养基加细胞悬液作阴性对照和蒸馏水加培养基作空白对照。将培养板置37℃，5%CO_2的湿化孵箱中培养24h，吸取上清液50μl/孔，加MTT液50μl/孔，继续培养4h。吸弃上清液50μl/孔，加细胞溶解液100μl/孔，振荡5min，用酶联免疫测定仪(波长570nm)测定每一孔的光密度，空白调零，计算ASA对胃癌细胞的抑制率(IR)。

1.4 选择对胃癌细胞抑制率为50%的ASA浓度为半数有效浓度(EC_{50}即31.25mmol/L)。参照1.3方法，用ASA EC_{50}处理SGC－7901细胞8、12、18、24、48、72h，分别测定IR，以观察ASA作用时间与IR的关系。

1.5 参照1.3方法，测定ASA与5－Fu联用对SGC－7901的IR，将5－Fu加入到不同浓度的ASA，以1.5倍EC_{50}为大剂量ASA即46.9mmol/L；0.5倍EC_{50}和0.25倍EC_{50}分别为小剂量和极小剂量的ASA即15.62mmol/L和7.81mmol/L，每一种浓度设12个平行孔，而5－Fu浓度均为10μg/ml。

1.6 统计分析所有资料经SAS统计软件处理，多样本均数比较采用Wilcoxon检验。

2 结果

2.1 ASA剂量对胃癌细胞SGC－7901生长抑制率的关系见图1。从图中可见随ASA剂量的增加，其对胃癌细胞抑制率也相应提高，二者呈良好的线性关系，其回归方程$y=0.286385+0.001989x$，$r=0.8873$，$P<0.001$。

* 男，1963－12出生，主治医师

维普资讯 http://www.cqvip.com

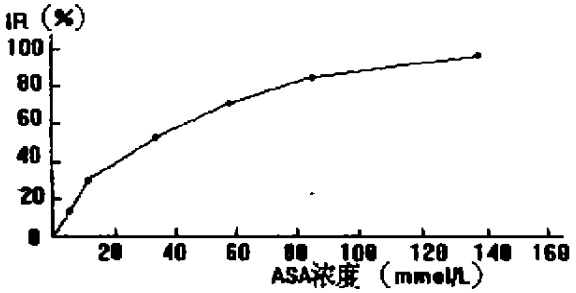


图1 ASA浓度与胃癌细胞抑制率(IR)的关系

2.2 ASA作用时间与胃癌细胞生长抑制率的关系见图2。从图中可见,随着ASA作用时间的延长,其抑制率也相应提高,二者呈良好的相关关系,回归方程y=0.117524+0.005318x,r=0.8256,$P<0.01$。

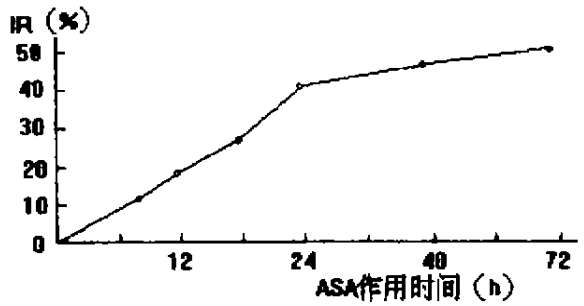


图2 ASA作用时间与胃癌细胞抑制率(IR)的关系

2.3 ASA与5－Fu的协同作用见附表,从表中可见,不同剂量ASA与5－Fu联用对胃癌细胞的IR均有不同程度的提高,但小剂量ASA尤为明显($P<0.01$)。小剂量的ASA＋5－Fu后,其IR与大剂量ASA＋5－Fu的IR之间无显著性差异($P>0.05$)。

3 讨论

本研究经MTT试验,证实了ASA对胃癌细胞株具有明显的抑制作用,其剂量和作用时间与抑制率呈正相关性。ASA对胃癌细胞株的生长抑制的作用机理尚不清楚。有研究[4]认为:ASA对食道癌、结肠癌的化学预防机制,可能是因为癌组织中前列腺素E_2(PGE_2)合成增高,高浓度的PGE_2可提高细胞内cAMP水平,不仅抑制抗体产生,而且抑制巨噬细胞、T细胞、自然杀伤细胞的活性及TNF、IL－1、IL－2等淋巴因子的产生,而有利于肿瘤细胞的生长。NSAIDs通过抑制环氧化酶使PGE_2水平降低,白三烯水平升高,促进细胞免疫监测及对肿瘤细胞的杀伤功能。Liang Qiao等[5]认为NSAIDs(包括ASA)能诱导癌细胞的凋亡,阻断癌细胞的增殖周期,可作为肿瘤治疗和预防性药物。

本研究结果表明,不同剂量的ASA与5－Fu联用作用于胃癌细胞,具有不同的效果。小剂量(小于50% EC_{50})ASA与5－Fu联用,二者抑制胃癌细胞株的协同作用尤为明显,($P<0.01$)。提示应用小剂量的ASA有可能减少5－Fu的用量亦能达到原剂量的化疗效果,可以较大程度地利用5－Fu的抗癌作用而不增加其副作用,同时也避免了大剂量使用ASA所带来的副作用。ASA与5－Fu协同机理可能与ASA具有免疫促进作用,通过多种途径抑制肿瘤细胞生长,5－Fu为细胞DNA合成的抑制药,

表1 ASA联合5－Fu对胃癌细胞抑制率的关系

组别	例数	IR1	IR2(－5－Fu)	IR2－IR1
Ⅰ 大剂ASA	12	53.92±3.58	57.74±2.80	3.08±2.2
Ⅱ 小剂量ASA	12	39.32±3.19	55.11±4.94**	15.79±4.6***
Ⅲ 极小剂量ASA	12	32.20±2.70	40.02±4.27*	8.60 ±3.2

注:* 与Ⅰ、Ⅱ组比较$P<0.01$; ** 与Ⅰ组比较$P>0.05$;
*** 与Ⅰ、Ⅲ组比较$P<0.01$.

维普资讯 http://www.cqvip.com

二者作用途径不同有关。

由于ASA等非甾体类抗炎药物可导致的急、慢性胃粘膜损害,故ASA的临床使用范围受到一定限制。近年研究[6]发现:动物与人的胃粘膜在开始接触ASA时易遭受损伤,随着应用ASA时间的延长,胃粘膜增加对该药的耐受性和适应性,胃粘膜的损伤反而减轻,但这种粘膜适应性的发生机制尚不清楚。Roderick[7]认为:小剂量ASA可减少所有消化道症状及消化道出血的发生率,这为临床上扩大ASA的使用范围提供一定依据。由于目前ASA对癌症的化学预防及治疗的剂量意见尚不一致,因而对选择既能有效抑制肿瘤细胞,又能将其胃粘膜损伤降低到最小程度的ASA剂量,尚需进一步的探讨。

总之,ASA能有效抑制胃癌细胞株SGC-7901的生长,与5-Fu联合应用呈现出良好的抑制胃癌细胞株生长的协同作用,加上价格便宜等优点,可使这一老药得到新用,但其作用机理及体内恰当剂量尚需进一步研究。

(致谢:本文的实验研究得到病生教研室大力帮助)

参考文献

1.MuscatJE,et al.Cancer 1994;74:1847
2. 边兴艳,等. 临床检验杂志 1998;1:34
3.CamplingBG ,et al.Br J Cancer 1991;63:15
4.MackT , et al.Journal of the National Cancer Institute 1997,15 : 1152
5.Liang Qiao, et al.Biochemical Pharmacology 1998;55 : 53
6. KonturekJW . et al.Gut1994, 35 :1197
7. RoderickPJ ,et al.Br J Clin Pharmacol 1993;35:219

(收稿日期 1998-11-17)

The cytotoxic effect of aspirin on human gastric cancer cell lines SGC-7901 in vitro

Gao Qing, et al
Department of gastroenterology ,college of clinical medicine

The inhibitory effects of aspirin on the growth of human gastric cancer cell lines SGC-7901were studied by using MTT assay in vitro. The results showed that the growth of SGC-7901 was greatly inhibited by 31.25mmol/L aspirin. The inhibitory rates for growth of SGC-7901 were positively correlated with the concentration ($r=0.8873$) and duration ($r=0.8256$) of aspirin in the media . The combination of aspirin in low concentration with 5-Fluororacil (5-Fu) showed a synergistic inhibitory effect on the growth of SGC-7901. Inconclusion ,aspirin inhibited the growth of human gastric cancer cell lines SGC-7901 and had better inhibitory effects when combined with 5-Fu .

KEY WORD Gastric cancer; Aspirin; MTT