352-354

(7)

维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号：0253-3626(2000)04-0352-03

R735.205
R730.53

5-氟脲嘧啶及丝裂霉素对人胃癌细胞株SGc-7901的相互作用——利用中效原理体外观察

段　红[1]，张俊文[2]，汤为学[1]、沈　宜[1]、邓华瑜[1]，唐　俐[1]

（1.重庆医科大学基础医学院病理生理教研室　重庆　400016；2.重庆医科大学临床学院消化内科　重庆　400016）

摘　要：目的　体外观察5-氟脲嘧啶及丝裂霉素合用对人胃癌细胞株（SGc-7901）的相互作用。**方法**　采用MTT法利用中效原理判定两药合用的效果。**结果**　两种药单独应用时随着药物剂量增加，其效应也增加；两药大剂量（大于中效剂量）合用时是协同作用（CI<1），小剂量（小于中效剂量）合用时是拮抗作用（CI>1）；两药给药时间次序不同不会影响效应大小。**结论**　上述两种药合用大剂量是协同小剂量拮抗，且效应大小与给药时间次序无关。

关键词： 5-氟脲嘧啶；丝裂霉素；联合应用；中效原理；合用指数

中国图书分类法分类号： R979.14；R73　　**文献标识码：** A　　**收稿日期：** 2000-02-22

胃癌，药物治疗　5-Fu

The interaction between 5-fluorouracil and mitomycin C on human gastric carcinoma cell line (SGc-7901)

DUAN Hong, et al

（Department of Phathophysiology, College of Basic Medicine, Chongqing Medical University, 400016）

Abstract: **Objective**　To observe the killing effects of 5-FU and MMC on human gastric carcinoma cell line (SGc-7901). **Methods**　The median-effect principle was used. **Results**　Killing effects of the individual drugs were enhanced as drug concentration increased. The interaction of the two drugs was synergistic at higher concentration (CI<1) and the sequence of administration did not influence the killing effects. **Conclusion**　The interaction of the two drugs was synergistic at higher concentration (CI<1) and antagonistic at lower concentration. (CI>1).

Key Words: 5-fluorouracil; Mitomycin C; Anticancer drug combination; Median-effect principle; Combination index (CI)

肿瘤化疗作为全身性治疗的手段，它在治疗中具有手术和放疗不能替代的地位。而联合用药是化疗的基本原则，其目的是为了获取协同作用，即以最低剂量、最少毒副反应、多渠道、多环节抗肿瘤，提高疗效。目前对联合化疗药物的相互作用（协同、相加或拮抗）定量分析多用Chou-Talalay联合指数法（即中效原理）[1]。这在国外已广泛应用[1-4]，但国内报道较少。我们观察在体外用5-氟脲嘧啶(5-fluorouracil, 5-Fu)，丝裂霉素(mitomycin C, MMC)两种抗癌药物单用或合用时对人胃癌细胞株SGc-7901的相互作用，用中效方程式判断两种药物相互作用的效果。

1 材料与方法

1.1 细胞株

人胃癌细胞株（SGc-7901）由本室提供。用10%小牛血清RPMI1640（美国GIBCO）培养液（内含0.1%青霉素、链霉素）培养细胞，并置37℃、5%CO_2培养箱内孵育。

1.2 药物

5-Fu（天津市人民制药厂），MMC（日本东京都协和发酵工业株式会社）使用时配成 5-Fu 768.8 μmol/L，384.4 μmol/L，192.2 μmol/L，96 μmol/L，48 μmol/L；MMC 2.991 μmol/L，1.496 μmol/L，0.748 μmol/L，0.374 μmol/L，0.187 μmol/L五个浓度。

1.3 用MTT法[5]检测药物效应

将SGc-7901制成5×10^4个细胞/ml的悬液，每孔200 μl加入96孔培养板内。实验设各种药物试验组及肿瘤细胞阴性对照组，将两种单药的5个不同浓度分别加在96孔板内，每孔加药量20 μl，每个剂量3个平行孔，两药合用比例为1:1方案，每孔加药总量仍为20 μl（每种单药浓缩1倍各加10 μl）。在CO_2箱内培养3天，用自动酶标读数仪2550（美国伯乐公司）测定OD_{490}值。

作者介绍：段　红（1966-　），女，讲师，硕士

维普资讯 http://www.cqvip.com

1.4 两药合用时间先后次序依赖关系

试验设计同时给药，先给5Fu 24h后再给MMC和先给MMC 24h后再给5-Fu。培养3天测定结果。

以上实验均重复3次，数据为三项均值。

1.5 结果判定方法

药物作用效应即抑制率(fa)=1-$\frac{试验组平均OD值}{对照组平均OD值}$根据中效方程式$fa/fu=(D/Dm)^m$，两边取对数后呈直线关系：Y=log fa/fu，X=logD，Y=mx+a（fa为效应，fu为1-fa，D为药物浓度，m为斜率，Dm为中效浓度（即0.5效应时的药物浓度），计算出两种抗癌药单用及合用时各自的中效浓度Dm（logDm=-a/m）；然后可计算出两药合用时在各种效应时的合用指数$CI=\frac{D1}{Dx1}+\frac{D2}{Dx2}+\alpha\frac{D1D2}{Dx1Dx2}$，$D_1$、$D_2$为合用时产生X效应时两药各自所需浓度，$D_{x1}$、$D_{x2}$为两药单独使用时产生X效应时两药各自浓度。$\alpha$=0为两种相互排斥性药物，$\alpha$=1为两种相互非排斥性药物。CI<1协同，CI=1相加，CI>1拮抗[6]。

表1 两种抗癌药单用及合用时不同浓度(μmol/L)时的效应(fa)

5-Fu	MMC	5-Fu+MMC
(768.8) 0.708	(2.991) 0.941	(768.8+2.991) 0.961
(384.4) 0.601	(1.496) 0.532	(384.4+1.496) 0.847
(192.2) 0.510	(0.748) 0.357	(192.2+0.748) 0.645
(96) 0.344	(0.374) 0.288	(96+0.374) 0.408
(48) 0.322	(0.187) 0.205	(48+0.187) 0.340

表2 两种抗癌药单用及合用时m、Dm、γ

	斜率(m)	中效浓度(Dm)	相关系数γ
5-Fu	0.662	196.32	0.984
MMC	1.428	0.776	0.950
5-Fu+MMC	1.244	103.36(102.9+0.413)	0.986

2 结 果

2.1 单用及两药合用不同浓度的效应，两种抗癌药单用及两药合用时随着药物浓度增加其效应也增加，见表1。按中效方程式计算出结果见表2。

再计算出两药合用在不同效应时的合用指数CI，进而判断两药在不同效应时各自所需药物浓度之间相互作用是协同、相加还是拮抗。5-Fu与MMC二药作用机理不同，α为0。结果见表3及图1。

以效应fa为横坐标，CI为纵坐标作量效曲线，见图1。

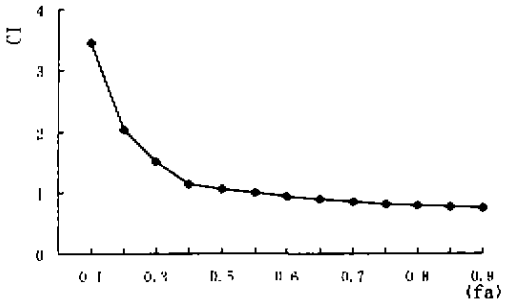


图1 5-Fu与MMC合用时的量效曲线

2.2 两药合用时用药时间先后次序依赖关系，见表4。将上述结果进行q检验，各组均数两两比较均无统计学差异（$P>0.05$）。

3 讨 论

5-Fu是一种抗代谢抗癌药物，它能抑制胸腺嘧啶核苷酸合成酶，从而阻断尿嘧啶脱氧核苷转变为胸腺嘧啶脱氧核苷而影响DNA与RNA的生物合成，对细胞增殖各期都有毒性作用，尤其是S期。MMC是一种烷化剂抗癌药，它的两个烷化中心可与DNA

表3 两种抗癌药物在不同效应时的合用指数

效应(fa)	0.90	0.85	0.80	0.75	0.70	0.65	0.60	0.55	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1
合用指数(CI)	0.756	0.767	0.787	0.815	0.852	0.890	0.942	0.990	1.052	1.15	1.51	2.04	3.47

表4 两药合用时用药时间先后次序依赖关系

药物(μmol/L)5-Fu+MMC		同时用药效应	5-Fu先用24h效应	5-Fu后用24h效应
768.8	2.991	0.934±0.063	0.868±0.097	0.870±0.052
384.4	1.496	0.851±0.097	0.782±0.074	0.769±0.051
19.2	0.748	0.647±0.059	0.641±0.024	0.568±0.072
96	0.374	0.407±0.141	0.502±0.025	0.447±0.089
48	0.187	0.341±0.098	0.432±0.018	0.382±0.119

维普资讯 http://www.cqvip.com

形成交叉连续，使细胞中DNA解聚，抑制DNA复制，还可引起DNA单链断裂。在低浓度时，使G1期细胞减少[7]。这两种抗癌药在体外合用后，它们对人胃癌细胞株（SGc-7901）效应增加，它们的中效浓度及各自用量均比单用药的要小，5-Fu为47.56%，MMC为46.78%。这充分说明联合用药优点只需小剂量而达到高效应，使药物不良反应减少。

从两种抗癌药的量效曲线图可看出，当效应为0.55时，其CI为1，说明两种药在该效应时其相互作用为相加。两药大剂量（大于中效剂量）合用时是协同作用（CI<1），小剂量（小于中效剂量）合用时是拮抗作用（CI>1）。

两药给药时间次序不同不会影响两药的联合效应。因而合用时，无论先用哪种药，其效应无明显差异。

现代肿瘤化疗已迈入“个体化”化疗阶段，以取代以往盲目性化疗，因而可通过体外检测病人肿瘤细胞对抗肿瘤药物的敏感性，定量分析各种抗癌药间的相互作用及剂量，以指导临床医生合理联合用药，使化疗毒副作用进一步减少，有效率进一步提高。

参 考 文 献

[1] Chou TC, Talalay P. Quantitative analysis of dose-effects relationships: the combined effects of multiple drugs on enzyme inhibitors [M]. Adv. enzyme Regul. 1984; 22: 37-55.

[2] Howell SB, Hom D, Sanga R, et al. Comparison of the synergistic potentiation of etoposide, doxorubicin, and vinblastive cytotoxicity by dipyridamloe [J]. Cancer Res. 1989; 49: 3178-3183.

[3] Smith KS, Folz BA. Synergistic and additive combination of several antitumor drugs and other agents with the potent alkylating agent adozelesin [J] Cancer. Chemother. Pharmacol 1995; 35(6): 471-482.

[4] Hayley M, McDaid and Patrick G. Synergistic interaction between paclitaxel and 8-clloro-adenosine 3',5'-monophosphate in human ovavian carcinoma cell lines [J]. Clin. Cancer Res. 1999; 5: 215-220.

[5] 汤为学，骆云鹏，王瑞雪. 人实体瘤抗癌药物敏感试验MTT法的建立[J]. 重庆医科大学学报，1992;17(2):103-108.

[6] 张胜本，张连阳. 肿瘤化学治疗敏感性与抗药性[M]. 四川科学技术出版社，1995;108-112.

[7] 韩芍亭. 新编抗肿瘤药物手册[M]. 山东科学技术出版社，1994;348-349.

(上接第351页)

少。肿瘤的生长优势不但可以从肿瘤细胞强大的增殖力和低分化程度中获得，而且可以从肿瘤细胞凋亡受抑，生存期延长中获得[7]。这也可能是高分化HCC较低分化HCC生长缓慢，预后较好的原因之一。肝癌侵犯门静脉与肝内转移是其重要特征，表明肝癌侵袭能力强，预后差。本研究发现，浸润性与肝内转移HCC凋亡指数明显低于非浸润性与无转移HCC，提示浸润性和转移性HCC可能逃避了调控基因介导的细胞凋亡，凋亡相对不足而增殖旺盛，生长迅速，并易于浸润和转移。

总之，HCC组织中细胞凋亡与肿瘤的某些生物学特性关系密切，细胞凋亡受抑制可能在HCC浸润转移过程中起重要作用。由于化疗，放疗，免疫治疗等均可诱发肿瘤细胞凋亡，有助于打破凋亡和增殖之间的平衡。因此，凋亡在HCC治疗中的作用以及细胞凋亡的生物调控，是值得深入研究的课题。

参 考 文 献

[1] Zhao M, Zimmermann A. Apoptosis in human hepatocellular carcinoma and in liver cell dysplasia is correlated with p53 protein immunoreactivity[J]. J Clin pathol.1997;50:394-400.

[2] Gavrieli Y,Shermen Y,Ben-Sassoo SA. Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation[J]. J Cell Biol, 1992;119(4):493-501.

[3] Sgonc R, Wick G.Methods for the detection of apoptosis[J]. Int Arch Allergy Immunol, 1994;105:327-338.

[4] Gorczyca W,Gong J, Darzynkiewicz Z. Detection of DNA strand breaks in individual apoptotic cells by the in situ terminal deoxynucleotidyl transferase and nick traslation assays [J]. Cancer Res, 1993;53:1945-1949.

[5] Higaki K, Yano H, Kojiro M. Fas antigen expression and its relationship with apoptosis in human hepatocellular carcinoma and noncancerous tissues[J]. Am J Pathol.1996;149:429-437.

[6] Hino N, Higashi T, Nouso K, et al. Apoptosis and proliferation of human hepatocellular carcinoma[J].Liver,1996;16:123-129.

[7] Arends MJ, Mc Gregor AH, Toft NJ, et al. Susceptibility to apoptosis is differentially regulated by c-myc and mutated H-ras oncogenes and is associated with endonuclease availability[J]. Br J Cancer,1993;68(6):1127-1134.