维普资讯 http://www.cqvip.com

118-120

(3)

文章编号：0253-3626(2000)02-0118-03

中效原理在顺铂、足叶乙甙对人肺癌细胞株(PAa)相互作用中的应用

沈 宜，汤为学，段 红，唐 俐
（重庆医科大学基础医学院病理生理教研室 400016）

R979.1 R73-361

摘 要 **目的**：利用中效原理观察顺铂、足叶乙甙配伍在体外对人肺癌细胞株（PAa）的相互作用，判断联合用药的效果。**方法**：采用MTT法利用中效原理判断联合用药的效果。**结果**：两种药物单独应用时随药物剂量增加，其效应也增加，两种药物合用时产生协同作用，两种药物合用时的浓度比例及给药时间次序不同均会影响效应大小。**结论**：上述两种药物合用产生协同作用，合用时的效应大小与两种药物浓度比例及给时间次序有关。肺肿瘤细胞株

关键词 顺铂；足叶乙甙；联合应用；中效原理；合用指数；抗癌药物敏感性试验
中国图书分类法分类号：R979.1 **文献标识码**：A **收稿日期**：1999-12-28

The median-effect principle was used in the interaction between DDP,VP-16 on human lung cancer cell line(PAa)

SHEN Yi, et al
Department of Pathophsiology, College of Basic Medicine

Abstract **Objective:** The median-effect principle was used to evaluate the killing effects of DDP and VP-16 on human lung cancer cell line(PAa). **Methods:** The median-effect principle was used. **Results:** Killing effects of the individual drugs were enhanced as drag concentration increased. We also observed that the interacter of drugs was synergistic . The ratio of drug concentrations and the sequence of adminiatration were factors to influence the killing effects. **Conclusion** : The drug administration order and drug concentrations are significant factors that need to be considered in clinical practice.

Key Words Cisplatin; Etoposide; Anticancer grug combination; Median-effect principle; Combination index (CI); Anticancer drug sensitivity test

联合用药是肿瘤化疗的基本原则之一，联合化疗的最根本目的是为了获得协同作用，提高疗效，减少用药剂量，降低毒副反应，延缓耐药性产生。我们拟建立一种在体外能准确分析各抗癌药物之间的协同、相加、拮抗作用的定量分析法，为临床正确部署联合化疗方案提供参考。如何定量分析各种成分之间的协同、相加、拮抗作用是人们一直探索的课题。目前，应用方法有三种：webb分法，loewe等效曲线法，以及Chou-Talalay联合指数法。其中后者已成功地制成软件，在国外广泛应用[1~3]，但在国内鲜有报道[4]。我们采用MTT法利用Chou-Talalay联合指数法（中效原理）在体外观察顺铂（Cisplatin DDP）、足叶乙甙（Etoposide VP-16）配伍对人肺癌细胞株（PAa）的相互作用。

作者介绍：沈 宜（1963-11出生），女，讲师，硕士

1 材料与方法

1.1 细胞株 肺癌细胞株（PAa）由重庆医科大学第二医院呼吸内科薛亚梅教授赠送。细胞株培养在10%小牛血清RPMI1640（美国GIBCO）培养液中（内含0.1%青霉素、链霉素），并置37℃、5%CO_2培养箱内备用。

1.2 药物 DDP（云南省个旧市生物化学制药厂），VP-16(江苏恒瑞制药有限公司)使用时配制DDP为8.3，16.7，33.3，66.6，133.2 μmol/ml；VP-16为42.5，84.9，169.9，339.8，679.6 μmol/ml

1.3 剂量效应试验 用MTT法检测药物作用效应。先制成5×10^4/ml个细胞的细胞悬液加在96孔培养板内，每孔200 μl。实验设试剂对照和肿瘤细胞对照组，每种药物浓度重复3孔。

1.3.1 单用及两药合用时效应观察 将两种单药的五个不同浓度分别加在96孔板内，每孔加药量20 μl，两药合用时采用合用比例为1:1方案，每孔加药总量仍为20 μl（每种单药剂

维普资讯 http://www.cqvip.com

量浓缩1倍，各加10μl），在37℃、5%CO_2湿箱中培养3天，测试结果。

1.3.2 两药合用时药物浓度比例关系 DDP的5个不同浓度分别与VP16的十分之一血峰浓度（169.9μmol/ml）合用；VP-16的5个不同浓度分别与DDP的十分之一血峰浓度（33.3μmol/ml）合用，在37℃、5%CO_2湿箱中培养3天，测试结果。

1.3.3 两药合用时时间先后次序依赖关系 试验设有同时给药、先给DDP24h后分别再给VP-16、或者先给VP-16 24h后分别再给DDP，在37℃、5%CO_2湿箱中培养3天，测试结果。以上实验均重复三次，取平均值计算。

1.4 结果判定 用自动酶标读数仪（Bio-Rad E2500型），测得OD值进行药物作用效应计算。药物作用效应=1-（测试组平均OD值/肿瘤细胞阴性对照组平均OD值）。根据中效方程式$fa/fu=(D/Dm)^m$，进行中效作图$y=\log fa/fu$，$x=\log D$，$y=bx+a$（fa为效应，fu为1-fa，D为药物浓度，Dm为中效剂量，即0.5效应时的药物浓度，m为斜率）计算出2种抗癌药单用及合用时各自的中效剂量（$\log Dm=-a/m$，$a=y-bx$），然后可计算出两药合用的各种效应的合用指数（CI）。$CI=(D)_1/(DX)_1+(D)_2/(DX)_2+\alpha(D)_1(D)_2/(DX)_1(DX)_2$，D1、D2为合用时产生X效应时两药各自所需浓度，$(DX)_1$、$(DX)_2$为两药单独使用时产生X效应时两药各自浓度。$\alpha=1$为两种相互非排斥性药物，$\alpha=0$为两种相互排斥性药物。CI < 1协同，CI=1相加，CI > 1拮抗。

2 结 果

2.1 单用及两药合用不同浓度的效应 将两种抗癌药物单用及两药合用时，随着药物浓度增加其效应增加，见表1。按中效方程式计算出单用时，中效浓度DDP为9.87μmol/ml，VP-16为33.53μmol/ml；合用时，中效浓度为4.22μmol/ml，两药各自所需浓度分别是DDP为0.96μmol/ml VP-16为3.47μmol/ml，并计算出两药合用时，在不同效应各自所需药物浓度之间相互作用的合用指数（CI）小于1，是协同关系，见图。

2.2 两药合用时药物浓度依赖关系 见表2

2.3 两药合用时用药时间先后次序依赖关系 见表3

3 讨 论

表1 两种抗癌药单用及两药合用不同浓度(μmol/ml)时的效应

DDP	VP-16	DDP+VP16
(8.3)0.4786	(42.5)0.6960	(8.3+42.5)0.8702
(16.7)0.5856	(84.9)0.7552	(16.7+84.9)0.9104
(33.3)0.7572	(169.9)0.8032	(33.3+169.9)0.9159
(66.6)0.8480	(339.8)0.9312	(66.6+339.8)0.9739
(133.2)0.9088	(679.6)0.9563	(133.2+679.6)0.9771

表2 药物不同剂量合用的效应（fa）及合用指数（CI）

DDP	VP-16	fa	CI	VP-16	DDP	fa	CI
μmol/ml				μmol/ml			
8.3	169.9	0.8916	1.0302	42.5	33.3	0.8407	0.8715
16.7	169.9	0.8980	1.0952	84.9	33.3	0.8544	1.1108
33.3	169.9	0.9024	1.1947	169.9	33.3	0.8595	1.7014
66.6	169.9	0.9120	1.3266	339.8	33.3	0.8747	2.6639
133.2	169.9	0.9904	0.1944	679.8	33.3	0.9237	3.1832

表3 联合用药时间先后次序与效应的关系 *(n=3)*

药物(μmol/ml)		同时用药效应	DDP先用24h效应	VP-16先用24h效应
DDP+VP-16				
8.3	42.5	0.8702	0.8294	0.6945
16.7	84.9	0.9104	0.9305	0.7912
33.3	169.9	0.9159	0.9377	0.8770
66.6	339.8	0.9739	0.9645	0.8835
133.2	679.6	0.9771	0.9891	0.9181

维普资讯 http://www.cqvip.com

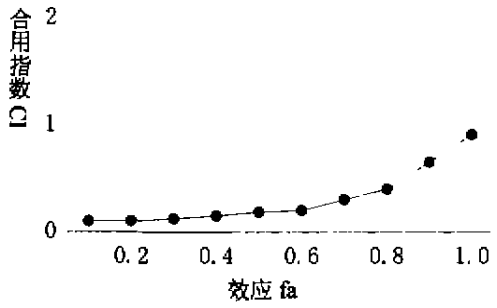


图　DDP与VP-16合用时效应与合用指数的关系

肺癌患者往往在确诊时三分之二的病人已存在远处转移，手术治愈的可能性极低，因此，化疗成为延长肺癌患者生成的重要方法之一。由于肿瘤患者年龄、性别、肿瘤组织类型、大小、临床分期、遗传因素等不同，对各种抗肿瘤药物的反应性也不同，且肺癌细胞易在体外培养，各种抗癌药物敏感性试验均能应用。为个体肺癌患者筛选出敏感的药物组成联合化疗方案或直接筛选出最敏感的联合用药方案，这对指导临床肺癌患者治疗，延长患者生命，具有非常重要的意义。

DDP为选择性抑制细胞中DNA的合成，能使DNA模板失活，从而使DNA聚合酶不能发挥催化作用。DDP与DNA碱基结合，可形成链内交叉连接或链间交叉连接，为一种细胞周期非特异性药物。VP-16对癌细胞S期末期及G_2期细胞有较强的杀伤作用，抑制细胞有丝分裂，为细胞周期特异性药物，使细胞停止于有丝分裂期。抗癌谱广，作用机制是抑制DNA拓扑异构酶II，间接诱导DNA断裂。这两种药物都是近年来广泛用于肺癌的药物，单用时在体外对人肺癌细胞有较好的抑制作用，也是当前联合化疗中常用的药物。我们实验结果中两药合用时的中效浓度及各自用量均比单用时中效浓度要小得多，只有其十分之一，这充分说明联合用药优点，只需小剂量而达到高效，使药物不良反应减少。

两种药物联合使用，必须考虑两者的先后次序。我们的实验发现先应用细胞周期非特异性药物（CCNSA）时的效应比先用细胞周期特异性药物（CCSA）时的效应大。这可能是因为首先应用细胞周期非特异性药物可大量杀伤肿瘤块中处于非增值期（G_0）的细胞数目，然后选用细胞周期特异性药物可提高疗效[5]。

从我们的实验结果可得知：在体外试验单药及联合用药情况，根据中效方程式，可准确定量分析各抗癌药物之间的协同、相加、拮抗用药，为个体肺癌患者筛选出最敏感的联合用药方案，为临床正确部署联合化疗方案提供可靠帮助。

参 考 文 献

[1] Chou TC, Talalay P. Quantitative analysis of dose-effects relationships:the combined effect of multiple drugs or enzyme inhibitiors[J]. Adv Enzyme Regul 1984,22:27~55

[2] Kohno N, Ohnuma T, Kaneko M,et al. Interactions of doxorubicin and cis-platin in seqamouns carcinoma cells in culture[J]. Br J Cancar 1988,58:330~334

[3] Hayley M. McDaid and Patrick G. Johnston Synergistic interaction between paclitaxel and 8-chloro-adenosine 3,5-monophosphate in human ovarian carcinoma cell lines[J]. Clinical Cancer Research 1999, 5：215~220

[4] 张胜本，张连阳，主编. 肿瘤化疗治疗敏感性与抗药性[M]. 四川科学技术出版社，1995；107~112。

[5] 徐昌文，吴善芳，孙　燕，主编. 肺癌[M]. 上海科学技术出版社，1993；174~176