DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.11.038

经验交流

文章编号:1000-5404(2003)11-1024-02

卵巢癌细胞株抗肿瘤药敏实验研究

The study of chemosensitivity on ovarian cancer cell line

栗群英[1],李广运[1],钱江龙[1],王庆旭[1],冯苏娟[2] ([1]成都军区总医院检验科,成都 610083;[2]解放军第324医院检验科,重庆 400042)

化疗是卵巢癌治疗的一种有效手段,但患者的个体差异和肿瘤细胞耐药性突变使不同患者化疗效果差异很大。肿瘤细胞体外药敏筛选实验,对避免肿瘤耐药具有重要的指导意义。但目前常用的MTT法药敏实验,许多单位往往采用单一药物浓度,且各家所用的药物浓度差别很大,甚至相差几个数量级[1~4]。我们以卵巢癌细胞株为研究对象,设计了不同药物的4个浓度梯度和不同药物配伍方案,以使结果更具临床参考性,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 细胞来源 HOC8

细胞株由军事医学科学院二所高级实验师隋建丽老师惠赠,本室传代。

1.2 化疗药物及浓度

顺铂(DDP,中国齐鲁制药厂);足叶乙甙(VP-16,江苏连云港);丝裂霉素(MMC,浙江海门);5-氟尿嘧啶(5-Fu,上海十二制药厂);长春新碱(VCR,杭州民生制药厂),均以生理盐水稀释,过滤除菌,分装-20 ℃冷冻保存。药物浓度按血浆峰值浓度计算[1],以10.00、1.0、0.1、0.01倍实验,见表1。药物配伍以A:DDP+VP-16联合;B:DDP+MMC联合;C:DDP+5-Fu联合进行实验,见表1。

表1 不同剂量组药物实验终浓度(μg/ml)

分组	血浆峰值浓度倍数	DDP	5-Fu	MMC	VP-16	VCR
1	10.00	120	2000	8	600	8
2	1.00	12	200	0.8	60	0.8
3	0.10	1.2	20	0.08	6	0.08
4	0.01	0.12	2	0.008	0.6	0.008

1.3 试剂和仪器

DMEM培养基(GLBCO BRL公司产品);小牛血清(华西生物医学研究所产品);二甲亚砜(DMSO,MERCK公司产品);MTT(Sigma公司产品);550型酶标仪(美国BIO-RAD公司);微量振荡器(江苏泰县)。

1.4 方法

将HOC8细胞培养在DMEM完全培养液中,取对数生长期细胞制成单细胞悬液,调整细胞浓度为1×10^5/ml,接种于实验组、对照组,每孔100μl,实验组分别加入不同浓度及不同配伍的化疗药物每孔10μl,对照组加入等量的D-Hanks液,每组设6个复孔,置37 ℃,5% CO_2,饱和湿度条件下培养48 h后,加入MTT(5 g/L)10 μl,继续培养4 h取出,轻翻去掉上清液,加入DMSO 100 μl/孔,振荡3 min,使甲臜化合物溶解,在酶标仪上测其A值,波长=570 nm。

1.5 判断标准

$$\text{相对抑制率}(\%)=\frac{\text{对照平均}A\text{值}-\text{实验平均}A\text{值}}{\text{对照平均}A\text{值}}\times 100\%,$$

相对抑制率≥50%为敏感。

1.6 统计学方法

数据经SPSS10.0软件进行统计处理,采用χ^2检验。

2 结果

2.1 不同化疗药物对HOC8细胞相对抑制率比较

在常规量(血浆峰值浓度)1倍时,敏感药物依次为VP-16、DDP、5-Fu,MMC对HOC8的抑制作用不明显,但加大剂量时有明显作用,而VP-16、DDP在常规量0.1倍已显敏感,但VCR即使加大常规量的10倍仍耐药(相对抑制率仅为18%)。

2.2 不同药物配伍对HOC8细胞的增值抑制率

在血浆峰值浓度时,配伍A抑制作用非常明显,抑制率为87.7%;其次为配伍C,抑制率为76.6%;配伍B较单一用药更为有效,抑制率为62%;药物对肿瘤细胞的抑制率随药物浓度的增加而增加($P<0.01$),见表2。

表2 不同药物配伍对HOC8细胞抑制率(%,$n=4$)

分组	血浆峰值浓度倍数	配伍		
		A	B	C
1	10.00	100	80.7	82.4
2	1.00	87.7	62.0	76.6
3	0.10	64.2	45.7	56.3
4	0.01	45.1	26.4	30.2

注:配伍A、B、C各组随药物浓度增加抑制率增加($P<0.01$)

3 讨论

化疗是卵巢癌综合治疗的主要措施之一。体外化疗药敏试验对提高化疗效果,减少用药盲目性,具有重要意义,但是,目前的肿瘤细胞体外药敏试验尚缺乏统一的规范,各家采用的药物浓度相差甚大,有时甚至相差几个数量级[2~5]。我们设计不同药物的4个不同浓度梯度以及不同配伍方案,观察药物的

作者简介:栗群英(1957-),女,河南省淇县人,主管技师,主要从事细胞培养及肿瘤药敏方面的研究,发表论文10篇。电话:(028)86570451

收稿日期:2001-10-07;修回日期:2002-05-10

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

剂量效应关系和药物协同与拮抗作用，结果发现，在单一药物浓度时，如在血浆峰值浓度时，敏感药物依次为 VP-16、DDP、5-FU 和 MMC，其中 VP-16 和 DDP 敏感度最高，在血浆峰值浓度 0.1 倍时已显敏感，而 MMC 在血浆峰值浓度时抑制作用不明显，但在加大剂量后有明显的抑制作用，VCR 则完全耐药，即使药物浓度加大至血浆峰值浓度 10 倍时仍然耐药。由此我们认为，化疗药物对肿瘤细胞的敏感性，可以分为敏感、相对耐药和耐药 3 种类型：敏感药物在常规剂量时即有抗肿瘤作用；相对耐药的药物在高剂量时才有作用；绝对耐药即使加大剂量也无效。目前的肿瘤细胞体外药敏试验往往多采用单一药物浓度，而对药物的不同用药方式，临床用药的剂量变化，以及患者的个体差异因素考虑较少，这可能是体外药敏试验与临床实践有时有一定差异的主要因素。采用药物浓度梯度的方法观察化疗药物的剂量效应关系，则可以为临床用药提供更为准确的实验资料。临床用药有时采用静脉给药或局部给药的方法，肿瘤组织局部药物浓度较高，这时那些相对耐药的药物也会有一定的作用。

临床化疗用药往往多药联合，很少只用一种药物。而目前的化疗药物体外敏感实验，许多单位只观察单一药物的抗肿瘤作用，忽略了药物之间的协同与拮抗。本实验中，我们观察了不同药物的配伍情况，发现联合用药时以 DDP＋VP-16 对 HOC8 细胞增殖的抑制率最高，在血浆峰值浓度 1 倍时已非常敏感，10 倍时可达完全抑瘤效果；其次为 DDP＋5-Fu 联合；DDP＋MMC 联合用药时，其对肿瘤细胞的抑制率也明显提高。药物的协同作用，可能在与不同的化疗药物作用于肿瘤生长的不同环节。可见，选择适当的药物配伍对提高抗肿瘤药物疗效有一定的作用，这一配伍也可参考体外实验进行选择。

通过对化疗药物浓度梯度和药物配伍的初步研究，我们认为，由于体外实验的条件与体内情况有一定差异，所以在肿瘤体外药敏实验中，与单药分细法和单一药物浓度相比，采用浓度梯度和药物配伍方案，可以更好的判断肿瘤细胞对化疗药物的敏感性，从而为临床用药提供更好的实验资料。

关键词：卵巢癌细胞株；抗肿瘤药物；药敏实验
中图法分类号：R979.1 文献标识码：B

参考文献：

[1] 王威廉，唐东平，王 冰，等. 肿瘤病人白细胞，癌细胞 MTT 法体外抗癌药敏测定相关性探讨[J]. 肿瘤防治研究，1997，24(6)：334－336.
[2] Yamaue H，Tanimura H，Noguhi K，*et al*. Chemosensitivity testing of fresh human gastric cancer with highly purified tumour cells using the MTT assay[J]. Br J Cancer，1992，66(5)：794－796.
[3] 辛华雯，王润帮，杜光祖，等. MTT 法在胃癌体外药敏试验中的临床应用[J]. 临床内科杂志，1994，12(11)：40－41.
[4] 温汉平，孙华蕴，周殿之，等. 化疗药物体外药敏试验(MTT)分析法[J]. 中国肿瘤临床，1994，21(11)：816－817.
[5] 曹建国，廖瑞芳，陈剑雄，等. 人肺癌细胞药物敏感性的琼脂培养 MTT 测定[J]. 癌症，1995，14(3)：182－184.

（编辑 王 红）

文章编号：1000-5404(2003)11-1025-02

经验交流

腺性膀胱炎的诊断与治疗分析

Analysis of the diagnosis and treatment of cystitis glandularis

邓 宏，周 涌，崔晓会，唐化勇，唐锐先 （第四军医大学吉林军医学院附属医院泌尿外科，吉林 132013）

腺性膀胱炎是一种良性膀胱上皮化生性病变，具有特殊的病理发展过程和临床发病特点，由于腔内泌尿外科技术的普及，临床和病理医生对本病认识的逐渐提高，腺性膀胱炎已成为泌尿外科的常见病。我们回顾分析 1998 年 1 月至 2002 年 1 月收治的 29 例腺性膀胱炎的临床资料，在诊断和治疗方面进行总结分析。

1 材料与方法

1.1 病例

本组 29 例，男 19 例，女 10 例。年龄 25～56 岁，平均 42.8 岁。临床症状表现为尿频、尿急、尿痛 17 例，血尿 8 例，排尿困难 4 例。

29 例均行 B 超检查，发现膀胱内占位 10 例，其中 6 例表现为强回声结节，余 19 例未发现明显占位。7 例行静脉尿路造影术(Intravenous urography，IVU)检查，发现右肾积水 2 例。15 例行 CT 检查，8 例发现膀胱壁不规则增厚，4 例膀胱内有占位性病变，3 例未见明显异常。29 例均行膀胱镜检查，发现病变位于膀胱颈 9 例，三角区 11 例，三角区及颈部 5 例，三角区及输尿管周围 2 例，散在 2 例。

1.2 方法

术前常规应用抗生素治疗 1 周。29 例病人均在连续硬膜外麻醉下行经尿道电切加气化治疗，电切范围超过肉眼可见范围 2 cm，深度达浅肌层，或用滚动电极或球形电极反复气化，膀胱颈抬高者行膀胱颈电切术。尿道电切汽化后留置导尿 2～3

作者简介：邓 宏(1965－)，男，四川省成都市人，硕士，讲师，主要从事肾移植及泌尿外科疾病方面的研究。电话：(0432)4664323

收稿日期：2002-08-30；修回日期：2003-01-21

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net