DOI: 10.16016/j.1000-5404.1998.05.010

顺铂联合γ射线对裸鼠卵巢癌腹腔播散的抑制作用

程 湘* 程天民 (第三军医大学预防医学系防原医学教研室、全军复合伤研究所)重庆,400038

提 要 目的:观察顺铂联合γ射线对卵巢癌腹腔播散的抑制作用。方法:采用裸鼠卵巢癌腹腔播散模型,用顺铂和γ射线照射进行治疗。结果:低剂量顺铂单独和联合γ射线可部分抑制、而高剂量顺铂联合γ射线可完全抑制卵巢癌的腹腔播散。结论:顺铂联合γ射线有协同抗卵巢癌的作用。

关键词 卵巢肿瘤/药物疗法;卵巢肿瘤/放射疗法;顺铂;裸鼠
中图法分类号 R737.31

放疗是卵巢癌综合治疗的一个方法,它对消灭手术后的残癌,或作为姑息性或预防性治疗均能达到一定效果,但亦有作者持相反观点,认为放疗对卵巢癌无明显疗效。越来越多的资料表明,放射联合化学药物对某些恶性肿瘤可收到协同治疗的效果。在肝癌、肺癌、子宫癌、肾癌、脑胶质瘤等方面已有报道[1,2],但对卵巢癌的治疗效果目前尚无肯定结论。本研究采用腹腔荷瘤裸鼠为模型,观察顺铂联合γ射线对卵巢癌腹腔播散的治疗效果,为临床治疗卵巢癌提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 细胞系 M951,人卵巢癌细胞系,为本室建立的亚系。

1.1.2 动物 Balb/c裸鼠 nu/nu,雌性,体重18~23 g,由第三军医大学实验动物中心和四川省抗菌素工业研究所提供。

1.1.3 治疗照射源 为本校预防医学系防原医学教研室的辐射^{60}Co源,照射量率为50.95~59.50 cGy/min。

1.2 实验方法

1.2.1 顺铂联合γ射线对卵巢癌腹腔播散的治疗作用

1.2.1.1 卵巢癌腹腔播散模型:M951细胞,调细胞浓度为5×10^6/0.2 ml,每只裸鼠腹腔接种0.2 ml,10 d后开始治疗。

1.2.1.2 动物分组:共分6组。①单放组:腹部外照射;②低化组:注射低剂量顺铂;③高化组:注射高剂量顺铂;④低化放组:低剂量顺铂注射联合腹部外照射;⑤高化放组:高剂量顺铂注射联合腹部外照射;⑥对照组:无任何治疗。

1.2.1.3 治疗方法:采用化疗与放疗交替治疗方案。

第1周:第1~3天腹腔注射顺铂,每日一次,低化组和低化放组的裸鼠每只注射0.3 ml共0.033 mg;高化组和高化放组的裸鼠每只注射0.3 ml共0.1 mg。

第2周:第1~3天用γ射线进行腹部外照射,每日一次,单放组、低化放组和高化放组每只裸鼠受照射剂量为2 Gy。

两种治疗交替一次为一阶段,共进行2个阶段。裸鼠受照射的辐照源为^{60}Coγ射线,总剂量为12 Gy/只。顺铂总量:低化组和低化放组为0.2 mg/只,高化组和高化放组为0.6 mg/只,均分次腹腔内注射。

1.2.1.4 照射方法:采用^{60}Co照射源,照射时保持动物清醒,用消毒固定板将动物固定,照射野包括整个腹盆部,头胸部和四肢用10 cm厚的铅砖屏蔽。照射时用无菌塑料袋密封固定板和荷瘤裸鼠。照射完毕立即将动物放回笼内喂养。

1.2.1.5 观察:动物接种癌细胞后,逐日观察裸鼠生长情况,每周测量腹围大小,记录死亡日期。治疗结束后3周末,动物颈脱臼处死,开腹观察肿瘤分布情况,尽可能取下全部肿瘤称重。

1.2.2 CD44含量检测 采用间接荧光法。

1.2.2.1 制备细胞悬液:肿瘤细胞调浓度为10^5/ml,取1 ml细胞悬液加入试管内。

1.2.2.2 加一抗:滴加抗CD44单抗(1∶50)100 μl,作用45 min后漂洗1次。

1.2.2.3 加二抗:滴加FITC标记的兔抗鼠抗体(1∶25),作用45 min后漂洗1次。

1.2.2.4 检测:加抗体稀释液1 ml混匀,5 h内在FACS-400型流式细胞仪上测定阳性细胞百分比。

1.2.3 顺铂和γ射线对M951细胞表达CD44的影响

1.2.3.1 细胞培养:对数生长期的M951细胞,调浓度为2×10^6/ml,接种5个培养瓶,每瓶加1 ml的细胞液,补加1 ml培养液。

1.2.3.2 加化疗药:第1瓶内加入顺铂(终浓度为0.5 μg/ml)。37℃ 5% CO$_2$孵箱内培养48 h。

1.2.3.3 照射:第2、3瓶细胞在接种24 h后,分别接受2 Gy和5 Gy的^{60}Coγ射线照射。继续培养48 h后,重复照射一次。

1.2.3.4 CD44含量检测:采用上述间接荧光法。

1.3 统计学处理

实验数据采用t检验进行统计学处理。

2 结果

2.1 顺铂联合γ射线对卵巢癌腹腔播散的影响

2.1.1 顺铂联合γ射线对腹腔荷瘤裸鼠腹围的影响 高化组荷瘤鼠在顺铂给药开始后3周末全部死亡,检查未见肿瘤形成。^{60}Coγ射线联合顺铂治疗后,对照组、单放组、高化放组荷瘤裸鼠的腹围变化情况见表1。动物腹腔接种卵巢癌M951细胞

* 程湘,女,34岁,主治医师,讲师,博士,现在附属新桥医院妇产科 重庆,400037

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

后,从第 3周开始,单放组和对照组荷瘤鼠的腹围逐渐增加,以对照组增加最快,但两组间差异不显著。低化组、低化放组和高化放组荷瘤裸鼠的腹围在观察期间无明显变化,差异亦不显著。

表 1 顺铂联合 γ 射线对荷瘤裸鼠腹围的影响 ($\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Effects of cisplatin combined with γ irridiation on the abdominal circumference of nude mice with ovarian cancer ($\bar{x}\pm s$)

Time after inoculation (*t*/week)	Abdominal circumference (*l*/cm)		
	Control	R	HCR
0	5.833± 0.153	5.867± 0.115	5.933± 0.153
1	5.867± 0.115	5.867± 0.115	5.900± 0.100
2	5.900± 0.100	5.900± 0.100	5.933± 0.153
3	5.967± 0.058	5.967± 0.058	5.933± 0.115
4	6.333± 0.306	6.000± 0.100	5.967± 0.115
5	6.769± 0.451	6.167± 0.158	5.967± 0.058*
6	7.233± 0.751	6.367± 0.115	5.900± 0.100*
7	7.667± 0.577	7.033± 0.252	6.100± 0.173*

R: γ irradiation group; HCR: high-dose cisplatin with γ irradiation group; *: $P < 0.05$ *vs* control and R

2.1.2 顺铂联合 γ 射线对荷瘤裸鼠腹腔肿瘤的影响 治疗结束后 3周末,可见到单放组荷瘤鼠腹腔肿瘤广泛种植,包括盆腔、肠系膜、肝周、脾肾周围、膈下等,与对照组肿瘤分布范围相似。低化组和低化放组荷瘤鼠亦有腹腔肿瘤发生,但分布范围不如对照组和单放组广泛。取下腹腔肿瘤称重,结果对照组、单放组、低化组、低化放组的腹腔肿瘤重量分别为 897± 103 mg、728± 135 mg、215± 77 mg、137± 55 mg,低化组和低化放组的肿瘤重量分别低于对照组和单放组 ($P < 0.01$),单放组的肿瘤重量与对照组差异不明显。高化放组荷瘤鼠在观察期间未见腹围增大,治疗结束后 3周末亦未见腹腔肿瘤形成,治疗效果良好。

2.2 顺铂和 γ 射线对卵巢癌细胞 CD44表达的影响 M951细胞的 CD44含量于未经任何处理的细胞为 58.66%;5 Gy照射后为 54.86%;2 Gy照射后为 63.94%;给顺铂后为 46.00%。

3 讨论

评价卵巢癌的放疗效果,一般都采用裸鼠皮下移植模型[3-5]。这种模型与卵巢癌常见的腹腔有癌广泛种植不同。我们采用的裸鼠腹腔肿瘤播散模型,直接模拟了人手术切除大块肿瘤后,癌细胞发生腹腔播散的过程,因而更接近患者的病况,有利于对卵巢癌治疗措施进行正确的评价。采用这一模型,我们观察到高化组荷瘤鼠在治疗开始第 3周末全部死亡,检查未见腹腔肿瘤形成,可能这时既抑制了肿瘤发生,又因毒副反应过重而导致动物死亡。而高剂量的顺铂联合 γ 射线(高化放组)治疗后,可达到完全抑制卵巢癌腹腔播散的目的,为临床开展顺铂联合辐射治疗卵巢癌提供了重要的实验依据。

随着对化疗和放疗分子生物学基础的深入研究,发现常用的化疗药物和放射治疗不仅可直接杀伤癌细胞,亦可影响癌细胞表面分子的表达和生物学功能。CD44是由单基因编码的糖蛋白家族,参与多种生物学功能,包括介导同型和异型细胞间的粘附、影响 T细胞成熟和激活、增强 NK细胞活性等[6,7]。Santin等[8]观察到 γ 射线能增加卵巢癌细胞表达 MHC-Ⅰ、MHC-Ⅱ、ICAM-1、CA-125和 Her2-neu等分子的表达量,认为射线可通过增加细胞表面分子的表达,来增加癌细胞的免疫原性,增强机体的免疫反应。有报道放射治疗后,肿瘤组织内淋巴细胞浸润增加,推测可能是癌细胞免疫原性增加的反映[9,10]。我们的研究发现,γ 射线 2 Gy照射后,M951细胞的 CD44含量有少量增加,是否在体内会引起免疫反应增强,或是增加了对化疗药物杀伤作用的敏感性,这些都是值得进一步研究的问题。

参考文献

1 Groen H J M, Sleijfer S, Meijer C, *et al*. Carboplatin and cisplatin-induced potentiation of moderate-dose radiation cytotoxicity in human lung cancer cell lines. Br J Cancer, 1995, 72(6): 1406

2 McClay E F, Albright K D, Jones J A, *et al*. Tamoxifen delays the development of resistance to cisplatin in human melanoma and ovarian cancer cell lines. Br J Cancer, 1994, 70(2): 449

3 Spanos W J, Day T, Jose B, *et al*. Use of P-32 in stage Ⅲ epithelial carcinoma of the ovary. Gynecol Oncol, 1994, 54(1): 35

4 Shpall E J, Jones R B, Bearman S I, *et al*. Future strategies for the treatment of advanced epithelial ovarian cancer using high-dose chemotherapy and autologous bone marrow support. Gynecol Oncol, 1994, 54(3): 357

5 Fu X, Hoffman R M. Human ovarian carcinoma metastatic models constructed in nude mice by orthotopic transplantation of histologically-intact patient specimens. Anticancer Res, 1993, 13(1): 283

6 Lokeshwar V B. Ankyrin-binding domain of CD44 (GP85) is required for the expression of hyaluronic acid-mediated adhesion function. J Cell Biol, 1994, 126(3): 1099

7 Rothman B L, Kennure N, Kelley K A, *et al*. Elevation of intracellular cAMP in human T lymphocytes by an anti-CD44 mAb. J Immunol, 1993, 151(12): 6036

8 Santin A D, Hiserodt J C, Fruehanf J, *et al*. Effects of irradiation on the expression of surface antigens in human

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

ovarian cancer. Gynecol Oncol, 1996, 60(4): 468
9 Hareyama M, Imai K, Kubo K, *et al*. Effects of radiation on the expression of carcinoembryonic antigen of human gastric adenocarcinoma cells. Cancer, 1991, 67(11): 2269
10 Hauser S H, Calorini L, Wazer D E, *et al*. Radiation-enhanced expression of major histocompatibility complex class I H-2Db in B16 melanoma cells. Cancer Res, 1993, 53(9): 1952

(收稿: 1998-01-09;修回: 1998-09-10)
(编辑 冷怀明)

Inhibitory effects of cisplatin in combination with γ-ray irradiation on abdominal dissemination of ovarian cancer in nude mice

Cheng Xiang, Cheng Tianmin (Department of Radioactive Medicine, Faculty of Preventive Medicine, Research Institute of Combined Injury PLA, Third Military Medical University, Chongqing, 400038)

Abstract Objective: To investigate the inhibitory effects of cisplatin in combination with γ-ray irradiation on the abdominal dissemination of ovarian cancer. Methods: After the model of the abdominal dissemination of ovarian cancer was established in nude mice, cisplatin in combination with γ-ray irradiation was employed to treat the disease. Results: The abdominal dissemination of ovarian cancer was partly inhibited by low-dose cisplatin in combination with γ-ray irradiation while completely inhibited by high-dose cisplatin in combination with γ-ray irradiation. Conclusion: Cisplatin in combination with γ-ray irradiation can exert synergistic effects of anti-ovarian cancer.

Key words ovarian cancer; radiotherapy/chemotherapy; cisplatin; nude mouse

猫、狗、兔视神经管及眼眶形态的比较研究

A comparative study on optic canal and orbital form of cat dog and rabbit

王 一* 刘 勇 周继红 许立军 (第三军医大学附属西南医院眼科) 重庆, 400038

间接视神经损伤是临床最常见的视神经损伤类型[1],建立相应的动物模型是目前眼科研究视神经损伤的迫切需要。为此,我们对猫、狗、兔三种动物的眼眶形态、视神经及视神经管进行了解解剖观察和测量,为建立间接视神经损伤动物模型提供依据。

1 材料与方法

成年猫、狗、兔各4只(8只眼),雌雄不限,用空气栓塞或过量麻药致死,立即去除头盖骨和脑组织,仔细解剖出视交叉、视神经管眶口及视神经,并测量和观察眼眶形态。

2 结果

2.1 视神经、视神经管的测量,见表1

2.2 眼眶形态结构

猫、狗没有完整的骨性眼眶,其眶窝后外侧缘为韧带,其下后附着肌肉组成眶窝之后外侧壁,下眶壁也由一组肌肉构成,狗眶内壁与颅底形成约85度夹角;而兔有完整的骨性眼眶,骨壁薄,其形态呈半球形,视神经孔位眶底稍偏后,两眼后眦的连线正好对应视神经孔。

表1 视神经、视神经管的测量(*l*/mm)

动物	视神经			视神经管
	全长	眶内段	颅内段	
猫	22.7± 1.5	17.7± 0.8	3.8± 0.8	1.0± 0.2
狗	41.2± 1.3	31.5± .15	5.1± 0.5	4.1± 0.6
兔	16.4± 1.2	11.4± 1.2	4.1± 0.4	0.8± 0.1
人	40~ 50	25~ 30	10	5~ 10

3 讨论

猫、兔没有视神经管,而是视神经骨孔,而狗有真正的视神经管。若仅从视神经管角度考虑,为观察视神经的管内段损伤机制及相应疗法的效果评价,制作动模型宜选用狗。然而从眼

(下转403页)

* 王 一 男, 36岁,副教授,硕士

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