DOI: 10.16016/j.1000-5404.1998.03.034


# 千斤藤素对喉癌细胞 Hep-2多药耐药性的研究

经验交流

# Modulation of mutidrug resistance of Hep-2 cells by cepharanthin

汪 建* 林代诚** 梁传余** (第三军医大学附属西南医院耳鼻咽喉科)重庆, 400038

提 要 目的: 研究千斤藤素(Cepharanthine, CEP)逆转多药耐药性的能力。方法: 用 MTT法检测药物敏感性,用流式细胞技术检测 p170蛋白的表达。结果: CEP能明显提高喉癌细胞株对平阳霉素(Pingyangcin, PYM)的敏感性,并能明显降低 p170蛋白的表达。结论: CEP可能通过抑制 p170膜外转运功能逆转 Hep-2细胞对 PYM的耐药,增强其敏感性。

头颈部恶性肿瘤对化疗不敏感[1],但术前和术后辅以化疗,对于减少肿瘤局部复发和转移是十分必要的。多药耐药性是肿瘤化疗失败的重要原因之一[2],当前逆转多药耐药性是国内外学者研究的重点。近期应用和研究最多的如环孢霉素 A异博定等耐药调节剂都有其自身的副作用而没能广泛应用于临床。因此,寻求高效、低毒的耐药调节剂是十分必要的。千斤藤素(Cepharanthine, CEP)是从传统中草药中提取出来的生物碱,具有低毒、升高白细胞、诱导肿瘤细胞分化[3]等作用,本实验研究了 CEP对喉癌细胞多药耐药性的关系。

## 1 材料和方法

### 1.1 细胞培养

低分化喉癌细胞(Hep-2)购自北京动物所),培养液为 RPMI1640内含 15%灭活小牛血清,细胞置 $CO_2$孵箱,37℃培养。

### 1.2 药物及试剂

千斤藤素(Cepharanthine, CEP),平阳霉素(Pingyangcin, PYM)浙江海门制药厂, MTT(Sigma)。

### 1.3 细胞增殖抑制试验

参见文献[3]取对数生长期 Hep-2细胞,接种于 96孔细胞培养板,细胞浓度为 $2\times10^5$/ml 每孔加入细胞液 100μl,诱导剂量的 CEP[3] 4μmol/L 100μl为对照组,实验组加入 100μl不同浓度的 PYM,每个条件均设4个重复孔, 37℃, 5% $CO_2$培养 72 h,中止培养前 4 h每孔加入 MTT 10μl,继续培养 4 h,在自动酶标仪上比色(波长 600 nm),测定光密度($D_\lambda$)值。药物对细胞增殖抑制率由下列公式计算:

$$\text{抑制率} = \frac{\text{对照孔 } D_\lambda - \text{实验孔 } D_\lambda}{\text{对照孔 } D_\lambda} \times 100\%$$

### 1.4 p170的检测

用流式细胞仪技术[4],表示单位为均道值。

### 1.5 统计学处理

实验数据在电子计算机上用 SPO软件进行统计学处理,结果以 $\bar{x}\pm s$表示, $t$检验。

## 2 结果

### 2.1 CEP PYM对 Hep-2细胞增殖抑制作用,见附表

附表 Hep-2细胞增殖抑制及 p170表达

| | $D_\lambda$值 | 抑制率 | p170 |
|---|---|---|---|
| 对照组 | 0.902±0.046 | 4.10 | 64±3.12 |
| CEP | 0.865±0.037 | 49.22 | 51±2.80*△ |
| PYM | 0.458±0.037* | 77.7 | 66±3.62 |
| CEP+PYM | 0.201±0.015*△ | | 50±4.10*△ |

*: $P<0.01$与对照组比较;△: $P<0.01$与 PYM组比较

诱导剂量 CEP对 Hep-2细胞抑制作用很小,单用 PYM对 Hep-2细胞的抑制作用约50%,而 CEP和 PYM合用细胞抑制率达 77.70%。可见 CEP能显著提高 PYM对 Hep-2细胞的抑制作用。

### 2.2 CEP PYM对 Hep-2细胞 p170蛋白表达的影响,见附表

Hep-2细胞加 PYM后 p170的表达无变化,但加入 CEP和 CEP+PYM后 p170的表达明显降低。

## 3 讨论

化疗药物已广泛用于各种恶性肿瘤的治疗,其效果尚不令人满意。由于肿瘤细胞对抗癌药物的耐药性常常限制了疗效的进一步提高。PYM在头颈部恶性肿瘤中应用较广,在 CEP诱导肿瘤细胞分化的实验中,我们发现 CEP加入 PYM后喉癌细胞对 PYM的敏感性大大增强,推测可能与细胞的耐药性有关,因此我们检测了 p170蛋白的表达。

* 汪 建,男, 37岁,主治医师,博士
** 华西医科大学附一院耳鼻咽喉科,成都, 610041

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

目前认为 p170蛋白的作用就象一个泵,依赖耗能过程将药物从细胞内泵出细胞外而产生耐药[6]。研究发现加入 PYM后 p170蛋白的表达增加,加入 CEP后能明显降低 Hep-2细胞 p170的表达,并显著提高 Hep-2细胞对 PYM的敏感性,说明 CEP具有逆转喉癌细胞 Hep-2多药耐药性的作用,其机制可能是通过降低 Hep-2细胞 p170的表达,导致其泵出药物功能下降,提高细胞对药物的积蓄能力而实现的。由于 CEP已经有大剂量用药的临床经验而未发现毒副作用的报道,因此我们认为 CEP有希望作为多药耐药性的逆转剂而应用于临床。

关键词 千斤藤素;平阳霉素;多药耐药

中图法分类号 R739.65

## 参考文献

1 Vogl S E, Lerner H, Kaplan B H *et al*. Failure of effective initial chemotherapy to modify the course of stage Ⅳ (MO) squamous cancer of the head and neck. Cancer, 1982, 50: 840

2 Sato W, Fukazawa N, Suzuki T *et al*. Circumvention of multidrug resistance by a newly synthesized quinoline derivative. Cancer Res, 1991; 5: 2420

3 汪 建,赵连三,林代诚等.千斤藤碱对头颈部恶性肿瘤细胞诱导分化的研究.中华耳鼻咽喉科杂志,1997; 32(2): 99

4 Marks D C, Bebov L, Davey M W *et al*. The MTT cell viablity assay for cytotoxicity testing in multidrug-resistant human leukemia cells. Leukemia Res, 1992; 10: 1165

5 左连富,周道安,齐凤英等.定量分析乳腺癌细胞 p53基因产物的表达.中华物理医学杂志,1994; 16: 78

6 Grogan T M, Spier C M, Slamas S E *et al*. P-glycoprotein expression in human plasma cells myeloma: correlation with prior chemotherapy. Blood, 1993; 81: 493

(收稿: 1998-01-06;修回: 1998-05-28)

(编辑 王 红)

# 10例冠状动脉内支架近期疗效的观察

# Short term effects of intracoronary stents in 10 patients with coronary heart disease

何国祥* 舒茂琴 宋治远 倪庭枢 司良毅 刘风秀** 徐绍萍 李晓** (第三军医大学附属西南医院心血管内科)重庆,400038

提 要 目的:总结冠状动脉内支架(支架)的临床应用结果以改进操作方法,提高疗效。方法:在常规经皮腔内冠状动脉成形术(PTCA)基础上经心导管技术植入支架。10例冠心病患者共植入 11个支架,其中 2例用于 PTCA并发的急性冠状动脉闭塞,8例系预防 PTCA术后再狭窄。结果:11个支架植入均获成功,无严重并发症。所有病人的心电图相关导联缺血性 ST-T改变和症状在术后均显著地改善。结论:植入支架是处理 PTCA术中急性冠状动脉闭塞非常有效和安全的方法,并可用于预防 PTCA后再狭窄。

自 Sigwart等[1]于 1987年首先成功地植入冠状动脉支架以来,其临床应用日益广泛,为经皮腔内冠状动脉成形术(PTCA)所致的急性冠状动脉闭塞和术后再狭窄的处理及预防提供了可靠的方法,受到广泛重视[2]。现报告 10例严重冠心病患者植入冠状动脉内支架的近期疗效。

## 1 资料与方法

### 1.1 临床资料

自 1995年 8月至 1996年 7月,10例严重冠心病患者接受冠状动脉内支架治疗。10例中,男 9例,女 1例。平均(57±10)岁(43岁~68岁)。双支冠状动脉病变 8例,单支病变 2例。按照 ACC/AHA PTCA专家组对冠状动脉病变的分型标准[3]分析,均为 B或 C型病变,平均狭窄程度(直径法)(89±10)%,TIMI血流分级:0级 3例,1级 6例,2级 1例(左前降支偏心性狭窄)。其中 2例系用于 PTCA术中发生急性冠状动脉闭塞的处理,另 8例为预防 PTCA术后再狭窄。

### 1.2 方法

1.2.1 术前准备 同 PTCA

1.2.2 术中操作 在常规 PTCA基础上进行,静脉注入肝素抗凝。冠状动脉造影后选用相应直径的球囊预扩张冠状动脉

* 何国祥,男,45岁,主任医师,教授

** 放射科

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