

DOI:10.3724/SP.J.1008.2013.01387

多西紫杉醇联合环巴胺抑制脑胶质瘤生长的实验研究

浦毅*, 喻永涛, 陈翔, 孙利华, 羊正祥

江苏省无锡市人民医院神经外科, 无锡 214023

[关键词] 多西紫杉醇; 环巴胺; 脑肿瘤; 神经胶质瘤

[中图分类号] R 739.4

[文献标志码] B

[文章编号] 0258-879X(2013)12-1387-03

Docetaxel combined with cyclopamine to inhibit glioma growth: an experimental study

PU Yi*, YU Yong-tao, CHEN Xiang, SUN Li-hua, YANG Zheng-xiang

Department of Neurosurgery, People's Hospital of Wuxi, Wuxi 214023, Jiangsu, China

[Key words] docetaxel; cyclopamine; brain neoplasms; glioma

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2013, 34(12):1387-1389]

原发性中枢神经系统肿瘤中,神经胶质瘤(多发生在脑部)是颅内最常见的恶性肿瘤,约占脑部恶性肿瘤的80%,且极易复发^[1]。因此,探讨合理的脑胶质瘤治疗方式以提高患者生存期一直是学者们努力的方向。多西紫杉醇(docetaxel)来源于红豆杉属太平紫杉,具有细胞毒性作用,被广泛用于乳腺癌、前列腺癌、卵巢癌、头颈部肿瘤和非小细胞肺癌的治疗^[2-4],对脑胶质瘤细胞也有抑制作用^[5-6]。环巴胺(cyclopamine)是从藜芦属植物内分离得到的一种异甾体类生物碱,属于 Hedgehog(Hh)通路抑制剂,可有效抑制肿瘤组织的生长并诱导肿瘤细胞凋亡^[7]。但其对正常组织有不良作用,且有潜在的致畸风险,因此,应用受到一定限制^[8-9]。本研究尝试将多西紫杉醇与环巴胺联合应用,初步观察两者体内外对脑胶质瘤生长的抑制效果。

1 材料和方法

1.1 主要材料 环巴胺(日本 Toronto 公司),MTT 试剂盒(Sigma 公司),多西紫杉醇(江苏恒瑞医药股份有限公司);其余试剂为分析纯。人源性脑胶质瘤细胞 U87 购自中国科学院上海细胞研究所,雄性成年裸鼠购自成都达硕实验动物公司。

1.2 细胞培养 将 U87 细胞置于含 100 mg/L 胎牛血清 DMEM 培养液中培养,培养条件为:5% CO₂,饱和湿度,温度 37℃。待细胞汇合度为 80%~90%时,用 2.5 mg/L 胰酶消化传代,取对数生长期细胞进行实验。

1.3 MTT 法检测细胞增殖抑制率 培养 U87 细胞并接种于 96 孔板中,当孔板中细胞完全贴壁且处于对数生长期时分别加入无菌过滤后的生理盐水、多西紫杉醇(12 μg/mL)、环巴胺(4 μmol/L)、多西紫杉醇(8 μg/mL)与环巴胺(2 μmol/L)混合液。将孔板移入 37℃ CO₂ 孵箱中培养 24、48 和 72 h 后取出,每孔加入 5 mg/mL MTT 溶液 20 μL,再放回孵箱中继续孵育 4 h,将孔板中液体倒出,每孔加入 200 μL DMSO,37℃ 避光振荡 15 min,用酶标仪在 490 nm 处测定各孔的光密度值(D)。

1.4 U87 脑胶质瘤荷瘤裸鼠模型的建立 用胰酶消化 U87 细胞,离心后将其悬浮于 DMEM 培养液中,计数调节细胞密度至 5×10⁷ 个/mL。取 4~6 周龄、体质量 20~25 g 的雄性裸鼠,将准备好的 U87 细胞悬液皮下接种于裸鼠背部,每只裸鼠接种 0.1 mL。接种后 1~2 周可见背部长出肿瘤块,证明接种成功。

1.5 两种药物对荷瘤裸鼠生长的影响 取接种成功的荷瘤裸鼠 48 只,随机分为 4 组(每组 12 只),即生理盐水、多西紫杉醇、环巴胺、多西紫杉醇+环巴胺组,各组每 3 d 分别腹腔内注射生理盐水(2 mL)、多西紫杉醇(10 mg/kg)、环巴胺(20 mg/kg)、多西紫杉醇(5 mg/kg)+环巴胺(10 mg/kg)。每组再分为两个亚组(n=6):(1)于接种肿瘤后第 18 天处死,完整剖瘤,称取瘤重并照相;(2)对各组其余荷瘤裸鼠,每天观察其活动度和饮食习惯,每 3 d 测量其体质量,直至其自

[收稿日期] 2013-09-03

[接受日期] 2013-11-05

[作者简介] 浦毅,主治医师。

* 通信作者(Corresponding author). Tel: 0510-82700775, E-mail: puyidr@163.com

然死亡。统计荷瘤裸鼠的中位生存期,绘制 Kaplan-Meier 生存曲线。

1.6 统计学处理 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SPSS 11.0 统计软件进行数据分析,多组间比较采用方差分析,两两比较采用 q 检验。检验水准(α)为 0.05。

2 结果

2.1 联合用药抑制肿瘤细胞增殖 MTT 实验结果显示,多西紫杉醇和环巴胺均能抑制 U87 细胞增殖。当两者联合用药时,即便降低给药量,对脑胶质瘤细胞仍有明显的增殖抑制作用,且联合用药对肿瘤细胞的抑制能力大于单独用药。见图 1。

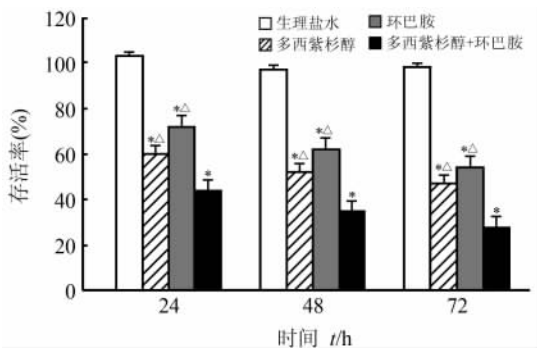


图 1 MTT 法检测 U87 细胞的存活率

* $P < 0.05$ 与生理盐水组比较; $\Delta P < 0.05$ 与多西紫杉醇+环巴胺组比较。 $n=3$, $\bar{x} \pm s$

2.2 联合用药延长荷瘤裸鼠中位生存期 联合用药对荷瘤裸鼠的治疗实验结果表明,生理盐水组、多西紫杉醇组、环巴胺组和联合给药组的中位生存期分别为 20、29、26 和 35 d。生存曲线见图 2。

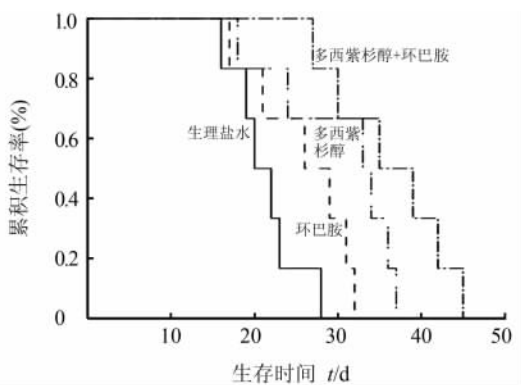


图 2 各给药组荷瘤裸鼠的 Kaplan-Meier 生存曲线

2.3 联合用药抑制裸鼠肿瘤生长 接种肿瘤后第 18 天处死小鼠,完整剖瘤,各组肿瘤生长情况见图 3。结果提示,各给药组均有不同程度的抗肿瘤作用,其中联合给药组抑瘤效果最佳。

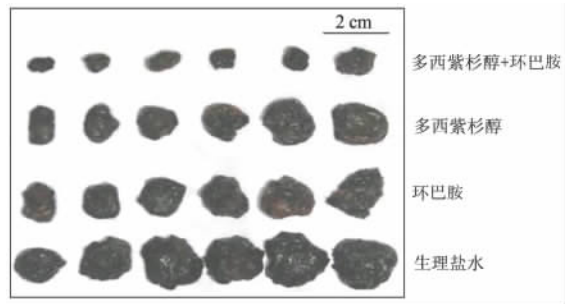


图 3 各给药组荷瘤裸鼠肿瘤大小

3 讨论

脑胶质瘤是一种高度恶性的颅内肿瘤,目前临床上主要采用手术切除、放射治疗、化疗等多种方法进行综合治疗。脑胶质瘤呈高度侵袭性生长,手术治疗往往不能将肿瘤组织完全切除,再加上脑胶质瘤存在不同程度的放化疗耐受,使其具有较高的复发率,因此,探讨脑胶质瘤的有效治疗显得尤为重要。

多西紫杉醇能作用于细胞骨架中的微管,后者作为细胞骨架的重要组成部分,参与了细胞形态维持、运动迁移等多种正常生命活动。多西紫杉醇通过破坏微管的组装从而影响细胞骨架、阻止细胞的迁移,进而抑制肿瘤细胞的增殖^[10]。环巴胺是一种有效的 Hh 通路抑制剂,已有研究表明,通过抑制 Hh 通路能够显著降低脑胶质瘤干细胞体外成球能力,阻止内皮细胞对肿瘤干细胞增殖的更新作用,最终抑制肿瘤细胞的增殖^[11]。

我们尝试将具有不同抗肿瘤机制的多西紫杉醇与环巴胺联合用于抗脑胶质瘤的实验研究,以探讨脑胶质瘤的合理治疗。本研究结果表明,无论是多西紫杉醇和环巴胺单独还是联合使用,均能显著抑制脑胶质瘤细胞增殖以及荷瘤裸鼠肿瘤的生长,延长荷瘤裸鼠生存期。多西紫杉醇和环巴胺联合使用,在降低各自给药量的情况下仍具有较好的肿瘤生长抑制作用,提示两药在临床联合应用时减少用量既可实现有效治疗,也可降低出现不良反应的风险。

4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参考文献]

[1] Goodenberger M L, Jenkins R B. Genetics of adult glioma[J]. Cancer Genet, 2012, 205: 613-621.

[2] Lyseng-Williamson K A, Fenton C. Docetaxel; a review

- of its use in metastatic breast cancer? [J]. *Drugs*, 2005, 65:2513-2531.
- [3] Clarke S J, Rivory L P (February 1999). Clinical pharmacokinetics of docetaxel [J]. *Clin Pharmacokinet*, 1999, 3:99-114.
- [4] Michael A, Syrigos K, Pandha H. Prostate cancer chemotherapy in the era of targeted therapy [J]. *Prostate Cancer Prostatic Dis*, 2009, 12:13-16.
- [5] Zhan C, Gu B, Xie C, Li J, Liu Y, Lu W. Cyclic RGD conjugated poly (ethylene glycol)-co-poly (lactic acid) micelle enhances paclitaxel anti-glioblastoma effect [J]. *J Control Release*, 2010, 143:136-142.
- [6] Muthu M S, Kulkarni S A, Xiong J, Feng S S. Vitamin E TPGS coated liposomes enhanced cellular uptake and cytotoxicity of docetaxel in brain cancer cells [J]. *Int J Pharm*, 2011, 421:332-340.
- [7] Kumar S K, Roy I, Anchoori R K, Fazli S, Maitra A, Beachy P A, et al. Targeted inhibition of hedgehog signaling by cyclopamine prodrugs for advanced prostate cancer [J]. *Bioorg Med Chem*, 2008, 16:2764-2768.
- [8] Mimeault M, Johansson S L, Henichart J P, Depreux P, Batra S K. Cytotoxic effects induced by docetaxel, gefitinib, and cyclopamine on side population and non-side population cell fractions from human invasive prostate cancer cells [J]. *Mol Cancer Ther*, 2010, 9:617-630.
- [9] Gao J, Khan A A, Shimokawa T, Zhan J, Strömblad S, Fang W, et al. A feedback regulation between Kindlin-2 and Gli1 in prostate cancer cells [J]. *FEBS Lett*, 2013, 587:631-638.
- [10] Huile G, Shuaiqi P, Zhi Y, Shijie C, Chen C, Xinguo J, et al. A cascade targeting strategy for brain neuroglial cells employing nanoparticles modified with angiopep-2 peptide and EGFP-EGF1 protein [J]. *Biomaterials*, 2011, 32:8669-8675.
- [11] 闫广宁, 杨浪. 内皮细胞通过 Hedgehog 通路促进胶质瘤干细胞自我更新 [J]. *第三军医大学学报*, 2013, 35:733-736.

[本文编辑] 贾泽军

· 消 息 ·

《中国肿瘤生物治疗杂志》2014 年征稿和征订启事

《中国肿瘤生物治疗杂志》是由中国免疫学会和中国抗癌协会联合主办的高级学术刊物,为中国精品科技期刊、RCCSE 中国权威学术期刊、中国中文核心期刊、中国科技论文统计源期刊、中国科学引文数据库源期刊、中国人民解放军优秀医学期刊,为同行专家评审期刊和开放获取(OA)期刊。本刊主要报道肿瘤生物治疗领域基础研究和临床应用的新成果、新理论、新技术和新经验,常设有述评、院士论坛、专家论坛、研究快报、青年学者论坛、基础研究、临床研究、转化医学、技术方法、短篇论著、学术争鸣、文献综述、个案报告等栏目,以从事肿瘤防治的中高级临床和科研工作者、医药院校师生及相关学科科技人员为读者对象。双月刊,每双月底 20 日出版,国内外公开发行。

本刊主编为中国医学科学院院长、中国免疫学会理事长曹雪涛院士,编委会由包括 12 名院士和 9 名外籍专家的众多名家大师组成。本刊已被美国《化学文摘》(CA)、俄罗斯《文摘杂志》(AJ)、荷兰《医学文摘》(EMbase)等国际著名检索系统收录。本刊在国内肿瘤学领域的学术地位和影响力名列前茅,在国际学术界的显示度日益广泛和增强。

本刊使用网络远程投稿、审稿系统和编校管理系统进行编辑出版工作,工作效率高,编校质量好,论文发表周期短。另设“快速发表通道”,将有较高创新性的论文以 2~3 个月的速度快速发表。

热忱欢迎广大肿瘤防治工作者通过本刊网站投稿系统、电子信箱踊跃投稿。

《中国肿瘤生物治疗杂志》每期定价 12.00 元,全年定价 72.00 元。邮发代号: 4-576,请通过邮局订阅。若错过,可从本刊编辑部补订,请将 72.00 元(优惠免邮资)寄编辑部,并注明详细通讯地址及邮政编码,编辑部负责将每期杂志准时寄给您。

联系地址:上海市翔殷路 800 号第二军医大学免疫楼《中国肿瘤生物治疗杂志》编辑部(邮编 200433)

联系人:韩丹

联系电话:021-55620605×22, 021-81871002×22

传真:021-81871007

<http://www.biother.org>

E-mail: cjcb@biother.org