

- 8 纪小龙, 赵海路. 胃肠道平滑肌肿瘤的新认识. 华人消化杂志 1998;6:625-627
- 9 方向明, 于皆平, 罗和生. 大肠癌 hTERT 和 P16 表达与端粒酶活性的关系. 世界华人消化杂志 2002;10:12-14
- 10 杨仕明, 房殿春, 杨金亮, 罗元辉, 鲁荣, 刘为纹. hTERT 反义基因对胃癌细胞端粒酶及凋亡相关基因表达的影响. 世界华人消化杂志 2002;10:149-152
- 11 李贵新, 李国庆, 赵常在, 徐功立. 胃癌组织端粒酶 hTERT 与抑癌基因 P53 和 P16 表达的关系. 世界华人消化杂志 2002;10:591-593
- 12 于会生, 郑国升, 孙金珍, 邵群熬, 许迎霞, 刘红凌, 李华, 任冬霞, 李素敏, 黄明周. 食管癌前病变中端粒酶的检测及意义. 世界华人消化杂志 2003;11:342-343
- 13 Kim NW. Clinical implications of telomerase in cancer. *Eur J Cancer* 1997; 33:781-786
- 14 Dahse R, Fiedler W, Ernst G. Telomeres and telomerase: biological and clinical importance. *Clin Chem* 1997;43:708-714
- 15 Shay JW, Baccetti S. A survey of telomerase activity in human cancer. *Eur J Cancer* 1997;33:787-791
- 16 Zakian VA. Life and cancer without telomerase. *Cell* 1997;91:1-3
- 17 马晋平, 詹文华. 端粒、端粒酶与消化道肿瘤. 国外医学外科分册 1997;24:194-197
- 18 Nowak J, Januszkiewicz D, Lewandowski K, Nowicka-Kujawska K, Pernak M, Rembowska J, Nowak T, Wysocki J. Activity and expression of human telomerase in normal and malignant cells in gastric and colon cancer patients. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003;15:75-80
- 19 Usselmam B, Newbold M, Merris AG, Nwokolo CU. Telomerase activity and patient survival after surgery for gastric and oesophageal cancer. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001;13:903-908
- 20 Goytisolo FA, Samper E, Martin-Caballero J, Finnon P, Herrera E, Flores JM, Bouffler SD, Blasco MA. Short telomeres result in organismal hypersensitivity to ionizing radiation in mammals. *J Exp Med* 2000;192:1625-1636
- 21 Mandal M, Kumar R, Pouock RE. Bcl-2 modulates telomerase activity. *J Biol Chem* 1997;272:14183-14187
- 22 Milas M, Yu D, Sun D, Pouock RE. Telomerase activity of sarcoma cell lines and fibroblasts is independent of p53 status. *Clin Cancer Res* 1998;4:1573-1579
- 23 Oishi T, Kigawa J, Minagawa Y, Shimada M, Takahashi M, Terakawa N. Alteration of telomerase activity associated with development and extension of epithelial ovarian cancer. *Obstet Gynecol* 1998;91:568-571
- 24 Gavrieli Y, Sherman Y, Ben-Sasson SA. Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *J Cell Biol* 1992;119:493-501
- 25 Terada T, Nakanuma Y. Detection of apoptosis and expression of apoptosis-related proteins during human intrahepatic bile duct development. *Am J Pathol* 1995;146:67-74
- 26 全俊, 胡国龄, 范学工, 谭德明. 丙型肝炎病毒核心区蛋白和细胞凋亡对 HepG₂ 细胞周期的影响. 世界华人消化杂志 2003;11:350-352
- 27 刘海峰, 刘为纹, 房殿春, 高晋华, 王振华. 幽门螺杆菌诱导胃黏膜上皮细胞凋亡和增生与 p53 基因表达. 世界华人消化杂志 2001;9:1265-1268
- 28 潘传敬, 刘宽宇. 胃癌增生凋亡与调节基因的表达. 世界华人消化杂志 2003;11:526-530
- 29 王剑明, 邹倩, 邹生泉. 阻塞性黄疸大鼠肝组织 Bcl-2 及 Bax 的表达与细胞凋亡. 世界华人消化杂志 2001;9:911-914
- 30 袁荣文, 丁庆, 姜汉英, 覃修福, 邹生泉, 夏穗生. 胰腺癌 Bcl-2, p53 蛋白表达和细胞凋亡. 世界华人消化杂志 1999;7:851-854
- 31 Wright WE, Brasiskyte D, Piatyszek MA, Shay JW. Experimental elongation of telomeres extends the lifespan of immortal normal cell hybrids. *EMBO J* 1996;15: 1734-1741

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2004 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 临床经验 •

不同消化道癌对化疗药物敏感性的应用研究

王崇树, 魏寿江, 赵国刚, 侯华芳

王崇树, 魏寿江, 赵国刚, 侯华芳, 川北医学院附属医院普外科
四川省南充市 637000
四川省卫生厅 2001 年 /2004 年度科学基金资助课题, No. 2001(41)
项目负责人: 王崇树, 637000, 四川省南充市, 川北医学院附属医院普外科.
chongs-wang@163.com
电话: 0817-2262082
收稿日期: 2003-06-05 接受日期: 2003-07-08

摘要

目的: 通过常见消化道癌对不同抗癌药物以及不同联合用药方案的敏感性作比较, 以期寻找各自的合理的化疗用药方案, 从而指导不同消化道癌的化疗.

方法: 通过肿瘤细胞体外药敏试验(即四甲基偶氮唑盐着色法. MTT), 对 97 例食管癌、116 例胃癌、34 例肝癌以及 169 例大肠癌新鲜标本进行化疗药物敏感性检测, 并对其结果作比较.

结果: 除对丝裂霉素(mitomycin C, MMC)、顺氯氨铂(cisplatin, DDP)、5- 氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU) 加 DDP 的敏感性无差异外($P > 0.05$), 对其余所有药物的敏感

性均有显著性差异($P < 0.01$), 其中, 食管癌、胃癌及大肠癌均对 5-FU 加羟基喜树碱(hydroxycamptothecine. HCPT. OPT)、5-FU 加 MMC 最敏感, 其敏感率分别为 79.4% 和 73.2%、78.4% 和 62.7%、60.4% 和 55.6%, 肝癌则对 5-FU 加 MMC 及 5-FU 加柔红霉素(aunorubicin, DNR)最敏感, 其敏感率分别为 70.5% 和 79.4%.

结论: 不同的消化道肿瘤对不同抗癌药物的敏感性存在差异, 且联合药物的敏感性优于单药.

王崇树, 魏寿江, 赵国刚, 侯华芳. 不同消化道癌对化疗药物敏感性的应用研究. 世界华人消化杂志 2004;12(4):997-999

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/997.asp>

0 引言

如何选择对某一种具体肿瘤有效的抗癌药物, 提高术后化疗效果, 并寻找用药规律, 一直是临床肿瘤化疗界关注的问题. 我们采用 MTT 法对 416 例不同消化道癌

进行体外原代细胞培养和药物持续作用法,检测其对化疗药物的敏感性,并进行比较,以期指导消化道肿瘤患者的临床化疗用药。

1 材料和方法

1.1 材料 消化道恶性肿瘤(均经病理学证实,且术前、术中未使用抗癌药物)416例,食管癌97例,男71例,女26例,年龄29-77岁;胃癌116例,男85例,女31例,年龄25-73岁;原发性肝细胞癌34例,男25例,女9例,年龄28-69岁;大肠癌169例,男97例,女72例,年龄20-79岁。CO₂细胞培养箱(美国 Forma Sientific 生产);96孔细胞培养板(丹麦 Nunc 公司生产);100 mL/L 小牛血清(购自杭州四季青公司);MTT(美国 Sigma 公司);二甲亚砜(dimethylsulfoxide, DMSO 购自重庆东风试剂厂);RPMI1640(美国 GIBCO 公司);5-FU(上海旭东海普药业公司);MMC(日本协和发酵工业株式会社),HCPT(湖北美尔雅美升药业有限公司提供);阿霉素(doxorubicin, 浙江海正药业股份有限公司);CDDP(山东齐鲁制药厂)。

1.2 方法 术中切除消化道恶性肿瘤后,自癌细胞生长旺盛的肿瘤边缘处切取约1.5 cm³瘤组织,放入适量的双抗液(含青霉素100 kU/mL、链霉素100 mg/L)中,常规修剪去除肿瘤周围坏死组织及非肿瘤组织,尔后剪碎肿瘤组织并用200目不锈钢滤网制成肿瘤单细胞悬液,离心后弃上清液(1 000 r/min, 10 min, 以下同),用含100 mL/L 小牛血清的RPMI1640液调整细胞浓度为 5×10^7 ~ 8×10^7 /L,种植于无菌96孔培养板上,每孔200 μ L(重庆医科大学学报,1992;17(2): 103)。癌细胞药敏试验设试剂对照(含100 mL/L 小牛血清的RPMI1640液各200 μ L 分别加入培养板第1列的8个平行孔,在结果判断时以排除试剂对实验的影响),肿瘤细胞阴性对照(未加抗癌药物的肿瘤单细胞悬液各200 μ L 分别加入培养板第2列的8个平行孔),各种抗癌药物试验组(每种药物

有3个平行孔),每孔加药量为20 μ L,终浓度为各抗癌药物血峰浓度的1/10。将培养板置于37 $^{\circ}$ C 100 mL/L CO₂及饱和湿度的细胞培养箱中培养68 h后,取出离心弃上清液,每孔加入不完全培养液200 μ L,MTT (5 g/L) 20 μ L,继续培养4 h,取出再离心弃上清液,每孔加DMSO 200 μ L,微量振荡器振荡5 min,在578 nm 波长自动酶标仪上进行比色、读数,测出每孔吸光度(A)值。药物对肿瘤细胞抑制率=[1-(药物孔平均A值/肿瘤细胞阴性对照孔平均A值)] \times 100%,大于70%为敏感,50-70%为中度敏感,小于50%为不敏感(耐药);中度敏感和敏感归为阳性,不敏感归为阴性,敏感率(%)则为阳性病例与该组总病例相除的百分率。

统计学处理 采用SAS统计软件对本组计数资料进行 χ^2 检验。

2 结果

本组4种不同的消化道癌除对DDP, MMC及5-FU加DDP的敏感性差异无统计学意义外($P > 0.05$),对其余所有药物的敏感性差异均有显著性统计学意义($P < 0.01$)。其中,食管癌、胃癌及大肠癌对单药组的敏感性均以HCPT和MMC为好,其敏感率分别为61.9%和57.7%、59.5%和53.4%、48.5%和51.0%,对联合药物组的敏感性均以5-FU加HCPT和5-FU加MMC为好,其敏感率分别为79.4%和73.2%、78.4%和62.7%、60.4%和55.6%;而肝癌对单药组的敏感性则以MMC和DNR为好,其敏感率分别为50.0%和55.9%,对联合药物组的敏感性则以5-FU加HCPT, 5-FU加MMC和5-FU加DNR为好,其敏感率分别为70.5%、79.4%、79.4%。(表1)。

3 讨论

消化道癌是人类最常见的恶性肿瘤^[1-5],在我国不同地区食管癌^[6]、胃癌^[7-8]、原发性肝癌^[9-10]、大肠癌^[11-12]的发病率尚在逐年增加,其死亡率仍居高不下;治疗原

表1 消化道癌416例对化疗药物的敏感性(n, %)

测试药物	食管癌(n=97)		胃癌(n=116)		肝癌(n=34)		大肠癌(n=169)		χ^2 值	P 值
	敏感数	敏感率	敏感数	敏感率	敏感数	敏感率	敏感数	敏感率		
5-FU	25	25.77	48	41.38	7	20.59	64	37.87	12.48	0.006
HCPT	60	61.86	69	59.48	11	32.35	82	48.52	16.67	0.001
DDP	39	40.21	32	27.59	13	38.24	58	34.32	4.06	0.255
MMC	56	57.73	62	53.45	17	50.00	86	50.89	1.31	0.728
DOX	15	15.46	26	22.41	16	47.06	40	23.67	14.13	0.003
DNR	24	24.74	46	39.66	19	55.88	51	30.18	15.82	0.001
5-FU+HCPT	77	79.38	91	78.45	24	70.59	102	60.36	16.71	0.001
5-FU+DDP	45	46.39	50	43.10	14	41.18	85	50.30	1.95	0.582
5-FU+MMC	71	73.20	72	62.07	27	79.41	94	55.62	13.98	0.003
5-FU+DOX	23	23.71	39	33.62	23	67.65	46	27.22	25.00	0.001
5-FU+DNR	31	31.96	57	49.14	27	79.41	79	46.75	23.37	0.001

则仍是以手术为主的综合治疗,而化疗疗效并不甚理想.研究表明^[13-15],肿瘤细胞体外药敏试验结果与体内疗效的符合率高达80%以上,MTT试验结果为阴性者,用药不敏感(耐药),我们采用MTT法实验,结合近年临床消化道肿瘤常用的以5-FU, HCPT等为代表的6种抗癌药物及其各种组合方案,对我院近年收治的416例临床消化道癌实施肿瘤细胞体外药敏筛选,并将不同种类的消化道肿瘤对同一种药物或方案的敏感性差异进行比较,结果显示:本组4种不同的消化道肿瘤除对DDP, MMC及5-FU加DDP的敏感性无差异外($P>0.05$),对其余所有药物的敏感性均有显著性差异($P<0.01$);其中,食管癌、胃癌及大肠癌对单药组的敏感性均以HCPT和MMC为好,其敏感率分别为61.9%和57.7%, 59.5%和53.5%, 48.5%和51.0%,对联合药物组的敏感性均以5-FU加HCPT和5-FU加MMC为好,其敏感率分别为79.4%和73.0%, 78.5%和62.7%, 60.4%和55.6%,而肝癌对单药组的敏感性则以MMC和DNR为好,其敏感率分别为50.0%和55.9%,对联合药物组的敏感性则以5-FU加HCPT, 5-FU加MMC和5-FU加DNR为好,其敏感率分别为70.5%, 79.4%, 79.4%;本结果表明:不同的消化道肿瘤对同一种化疗药物或同一种化疗药物组合方案的敏感性存在差异,单药组间,食管癌及胃癌均以对HCPT的敏感性最好,肝癌以对DNR的敏感性最好,大肠癌以对MMC的敏感性最好;联合药物组间,食管癌、胃癌及大肠癌均以对5-FU加HCPT的敏感性最好,肝癌以对5-FU加MMC和5-FU加DNR的敏感性最好;联合药物组的敏感性均明显优于单药组的敏感性,表明对消化道肿瘤患者进行化疗时应尽量选择联合用药的方案;单一使用5-FU、DDP及DOX的敏感性均低,与唐亚辉 et al^[15]的结果差异较大,是否与实验操作方法、选择肿瘤细胞浓度甚至肿瘤患者的地区差异(肿瘤耐药性的个体差异)等因素有关尚不清楚,应引起临床

消化道肿瘤医师的重视;有3例食管癌、5例胃癌、2例肝癌及6例大肠癌对所有受试药物均不敏感(耐药),具体原因不清楚,尚待深入研究.

4 参考文献

- 1 Chen B, Zhang XY, Zhang XJ, Zhou P, Gu Y, Fan DM. Antisense to cyclin D1 reverses the transformed phenotype of human gastric cancer cells. *World J Gastroenterol* 1999;5:18-21
- 2 Cai Q, Lu HF, Sun MM, Du X, Fan YZ, Shi DR. Expression of CD44V3 and V6 proteins in human colorectal carcinoma and its relevance prognosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2000;8:1255-1258
- 3 Chen KN, Xu GW. Diagnosis and treatment of esophageal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2000;8:196-202
- 4 司遂海, 杨建民, 罗元辉, 房殿春, 周平. KAI1 正反义基因对 MHCC97-H 肝癌细胞 KAI1 蛋白表达的影响. *世界华人消化杂志* 2003;11:1341-1344
- 5 Zhang LL, Zhang ZS, Zhang YL, Guo W, Zhou DY. The background of growth in multiple primary colorectal cancers. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2001;9:450-452
- 6 毛友生, 赵晓航, 张德超, 汪良俊. 食管癌肿瘤标志物研究进展. *世界华人消化杂志* 2002;10:1321-1323
- 7 Cheng SD, Wu YL, Zhang YP, Qiao MM, Guo QS. Abnormal drug accumulation in multidrug resistant gastric carcinoma cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2001;9:131-134
- 8 房静远. 胃癌发生中后生修饰的异常. *世界华人消化杂志* 2002;10:749-752
- 9 Worman HJ, Lin F, Mamiya N, Mustacchia PJ. Molecular biology and the diagnosis and treatment of liver disease. *World J Gastroenterol* 1998;4:185-191
- 10 He XX, Wang JL. The current status and prospect in the gene therapy of liver cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 1998;6:158-159
- 11 Yi J, Wang ZW, Cang H, Chen YY, Zhao R, Yu BM, Tang XM. P16 gene methylation in colorectal cancers is associated with Duke, s staging. *World J Gastroenterol* 2001;7:722-725
- 12 Xiao B, Jing B, Zhang YL, Zhou DY, Zhang WD. Tumor growth inhibition effect of Hil-6 on colon cancer cells transfected with the target gene by retroviral vector. *World J Gastroenterol* 2000;6:89-92
- 13 李孟达, 李艳芳, 李俊东, 刘富元, 刘继红. 卵巢恶性肿瘤体外药物敏感试验及其临床意义. *癌症* 2000;19:1155-1157
- 14 龚昭, 辛华雯, 周新瑾. 运用 MTT 法测定胃癌体外对化疗药物的敏感性及其临床适用价值的评估. *中国综合临床* 1998;14:539-540
- 15 唐亚辉, 马葵, 韩居然, 袁淑雯, 王卉. MTT 药物敏感性实验在指导胃癌及原发肝癌化疗中的作用. *肿瘤防治研究* 2001;28:37-38