

薏苡仁酯对人鼻咽癌细胞的放射增敏作用

胡笑克¹, 李 毓², 吴棣华², 胡祖光², 梁昌盛¹

(1. 中山医科大学核医学教研室, 广东 广州 510089; 2. 广东省中医研究所, 广东 广州 510405)

摘要: 【目的】探讨薏苡仁酯(CXL)对人鼻咽癌细胞 CNE-2Z 放射效应的影响。【方法】以⁶⁰Co 为放射源, 采用微量细胞克隆形成法检测 CNE-2Z 对 γ 射线的敏感性。【结果】CXL 使 CNE-2Z 的放射-存活曲线左移, D₀ 和 D_q 值下降。不同浓度的 CXL(10⁻⁷ ~ 10⁻⁶ mol/L) 使辐射剂量减少 7.45% ~ 17.31% (在 D₃₇ 水平), 其增敏比(SER): D₀ 比值 1.11 ~ 1.46, D_q 比值 1.02 ~ 1.11。【结论】CXL 能提高 CNE-2Z 的放射敏感性。

关键词: 鼻咽肿瘤/放射疗法; 薏苡仁/化学; 辐射增敏药

中图分类号: R730.23 文献标识码: A 文章编号: 1000-257X(2000)05-0334-03

The Sensitizing Enhancement Effect of Coixenolide on the Irradiation to Human Nasopharyngeal Carcinoma Cell CNE-2Z

HU Xiao-ke¹, LI Yu², WU Di-hua², HU Zu-guang², LIANG Chang-sheng²

(1. Department of Nuclear Medicine, Sun Yat-sen University of Medical Science, Guangzhou 510089, China;

2. Guangdong Provincial Institute of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

Abstract: 【Objective】To study the irradiation effect of coixenolide (CXL) to human nasopharyngeal carcinoma (NPC) cell line CNE-2Z. 【Methods】Microclony formation assay was used in determining susceptibility of CNE-2Z to γ -ray (⁶⁰Co). 【Results】CXL shifted the radiation dose-response curve to the left, with the decrease of D₀ and D_q values. When different doses (10⁻⁷ ~ 10⁻⁶ mol/L) of CXL were added to culture system, radiation doses reduced by 7.45% ~ 17.31% (at D₃₇ level), the sensitizing enhancement ratios (SER) were 1.11 ~ 1.46 and 1.02 ~ 1.11 at D₀ and D_q level respectively. 【Conclusions】CXL can increase the susceptibility of CNE-2Z to irradiation.

Key words: nasopharyngeal neoplasms/radiotherapy; coixenolide/chemistry; radiation-sensitizing agents

薏苡仁酯(coixenolide, CXL)是从中药薏苡仁提取的有效成分, 具有抗癌和免疫调节作用^[1]。我们在以前的工作中也观察到 CXL 能抑制人鼻咽癌(NPC)细胞的生长(另文发表)。然而, NPC 以放射治疗为主, 故值得研究 CXL 和射线的相互作用。

1 材料与方 法

1.1 细胞株

人 NPC 细胞株 CNE-2Z 为低分化鳞状细胞癌

(广东医学院建株)。

1.2 药品试剂

CXL 注射液(浙江康莱特药业股份有限公司提供, 批号 98060092-2)、RPMI-1640(Gibco)、小牛血清(本校免疫学教研室提供)。

1.3 γ 射线源

⁶⁰Co 治疗机(美国 ATC)。

1.4 方 法

采用微量细胞克隆形成法^[2]测定 CNE-2Z 的放射敏感性。

收稿日期: 1999-07-21

基金项目: 广东省自然科学基金(970839)、广东省中医药管理局(97266)资助课题

作者简介: 胡笑克(1963-), 女, 湖南衡阳人, 硕士, 讲师。

取对数生长期 CNE-2Z 细胞接种于 96 孔培养板内, 每孔 0.2 ml 细胞悬液, 含 200 个细胞, 培养基为 RPMI-1640, 含 15% (v/v) 的小牛血清。接种后置 CO₂ 培养箱中常规培养 72 h, 在倒置显微镜下(Olympus IMF-2)观察、记录细胞克隆数。克隆标准为 ≥8 个细胞组成的集落(轮廓清楚, 折光性强, 细胞形态一致)。

实验共设 7 个不同照射剂量组, 每一照射剂量组又设单独照射(对照)组和 3 个不同剂量 CXL 的试验组。做放射实验时, 于接种细胞后 16 h 分别单次照射⁶⁰Co γ 射线 1、2、3、4、5、6、7 Gy, 继续培养 72 h, 计算克隆数并求存活分数(存活分数=已照射克隆数/未照射克隆数)。以存活分数的对数对放射剂量作图, 描绘剂量-存活曲线。3 个试验组在种植细胞的同时各加入 CXL10⁻⁷、10^{-6.5}、10⁻⁶ mol/L 后再照射(不洗脱药物), 以观察不同浓度的 CXL 对放射-存活曲线的影响(以不加药物的对照组的剂量-存活曲线作对照)。每组每个照射剂量点含 24 个复孔, 每块培养板恰好接种 1 个放射剂量点上的全部组别。同时另设 1 个非照射组(24 孔), 以计算存活分数。照射条件: 室温下, 整块培养板⁶⁰Co 照射, 视野略大于培养板面积(9 cm × 13 cm), 深度 1.4 cm, 钴源距细胞生长面 80 cm、离培养板面 78.6 cm, 照射的剂量率为 1.0 Gy/min。

为了观察加 CXL 的时间和顺序对放射效应的影响, 另设单纯放射组(C)、放射前加药组(T₁)、放射后加药组(T₂)。每组同样含 24 个复孔, T₁ 加 CXL10⁻⁶ mol/L, C、T₂ 加等容积培养液。孵育 16 h 后单次照射 3 Gy, 接着 T₂ 加同剂量 CXL, C、T₁ 仍予以培养液。

1.5 结果分析与统计学处理

采用多靶单击方程 $S = 1 - (1 - e^{-D/D_0})^N$ 分析放射剂量-存活曲线的有关参数。S 指存活分数, D 为(照射)剂量, D₀ 是量效曲线上直线部分 S 每下降 63% 所需的剂量, N 代表直线部分外延至 Y 轴的截距(称外推值), e 为自然对数的底。D₀ 反映细胞对射线的敏感性。本实验的量效曲线呈一带肩的指数曲线, 肩区的大小用 D_q 表示, 指准阈剂量, 与细胞的亚致死损伤修复有关。以上参数的计算方法见文献^[3,4]。增敏比(SER) = 对照组 D₀ 或 D_q / 试验组 D₀ 或 D_q。另外, 在 D₃₇ 水平求射线剂量减少率(DRR)。D₃₇ 指 S 由(照射前)100% 下降至 37% 时所需的放射剂量, 也即 $D_{37} = D_0 + D_q$ 。DRR

(%) = [1 - (试验组 D₃₇ / 对照组 D₃₇)] × 100%。显著性差别采用 t 或 F 检验, n 代表实验次数。所有试验均重复 6 次(n = 6)。

2 结 果

在本实验条件下, CNE-2Z 的克隆形成率为 (67.10 ± 15.33)% ($\bar{x} \pm s$, n = 6, 下同)。加入 CXL10⁻⁷、10^{-6.5} 和 10⁻⁶ mol/L 对 CNE-2Z 的增殖无影响, 克隆形成率分别为 (65.25 ± 15.43)%、(59.32 ± 12.60)% 和 (68.33 ± 16.65)% , 与对照组进行方差分析, F = 0.42 < 3.10, P > 0.05。

照射后 CNE-2Z 的集落形成受到抑制(存活分数下降), 与剂量成正相关。加入上述剂量的 CXL, 放射剂量-存活曲线左移(图 1), D₀ 和 D_q 值减少(表 1), SER、DRR 上升(表 2)。

放射前加入 CXL10⁻⁶ mol/L, 对 CNE-2Z 的克隆形成产生 46.37% ± 9.49% ($\bar{x} \pm s$, n = 6, 下

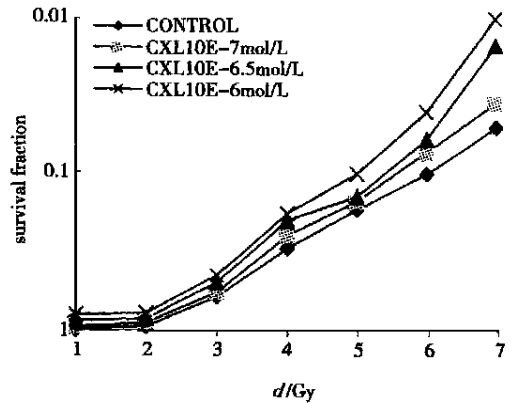


图 1 CXL 对放射存活曲线的影响

Fig. 1 The influence of CXL on radiation dose survival curve

表 1 CXL 对辐射量效曲线参数的影响

Table 1 The influence of CXL on radiation dose-survival curve ($\bar{x} \pm s$, n = 6)

	D ₀ (d/Gy)	D _q (d/Gy)
Radiation(Control)	1.68 ± 0.34	2.11 ± 0.37
Radiation+ CXL(Test)		
(C/ mol·L ⁻¹)		
10 ⁻⁷	1.52 ± 0.29	1.98 ± 0.37
10 ^{-6.5}	1.30 ± 0.31	2.00 ± 0.34
10 ⁻⁶	1.15 ± 0.25	1.90 ± 0.35

表2 CXL的放射增敏作用

Table 2 The sensitizing enhancement effect of CXL ($\bar{x} \pm s, n=6$)

CXL ($C/mol \cdot L^{-1}$)	SER		DDR (%)
	Control D_0 /Test D_0	Control D_q /Test D_q	
10^{-7}	1.11±0.22	1.02±0.17	7.41±1.72
$10^{-6.5}$	1.29±0.31	1.00±0.23	12.70±2.58
10^{-6}	1.46±0.35	1.11±0.19	17.31±3.97

同)的抑制,照射后加同浓度CXL则为52.55%±12.68%,两组比较 $t=0.956 < 1.372, P > 0.2$ 。

3 讨论

鼻咽癌的治疗以放疗为主。近几十年来,鼻咽癌的放疗技术不断提高,但最好的5年生存率仍停留在30%~50%,放疗后的局部复发率亦高达30%~40%^[5]。复发主要与首程治疗后的残存肿瘤有关,这些细胞对射线不敏感或抗拒,故提高鼻咽癌对射线的敏感性具有重要的临床意义。

薏苡仁配合放疗治疗晚期鼻咽癌已取得较好的近期和远期效果^[6,7],提示该中药能提高鼻咽癌的辐射敏感性。薏苡仁的主要有效成分是CXL^[1]。在本实验条件下,低剂量的CXL(未产生细胞抑制作用)与 γ 射线配合,可使后者的量效曲线向左移, D_0 和 D_q 值减小。 D_0 下降,表示CNE-2Z对辐射的敏感性上升, D_q 降低,反映杀伤细胞的阈

剂量变小。故加入CXL $10^{-7} \sim 10^{-6} mol/L$,可使放射剂量减少7.41%~17.31%,从而产生明显的增敏作用,其SER也随剂量的增加而升高。至于CXL的放射增敏机理,是否与增加肿瘤细胞的氧耗量有关,以及在缺氧条件下,CXL对CNE-2Z的放射增敏作用等研究仍在进行中。另外,照射前后加CXL,两者的结果无差异,故临床应用薏苡仁或CXL时,不必受照射时间的限制。

(本实验放射部分在中山医科大学肿瘤医院完成)

参考文献:

- [1] 阴健. 中药现代研究与临床应用(III)[M]. 北京: 中医古籍出版社, 1995. 385~392.
- [2] 曹弃元, 李永强, 陈成钦, 等. 复方丹参、地龙、野木瓜对体外培养的人鼻咽癌细胞的放射增敏作用[J]. 癌症, 1993, 12(2): 131.
- [3] 吴祖泽. 造血细胞动力学概论[M]. 北京: 科学出版社, 1978. 397~403.
- [4] 糜福顺. 细胞存活曲线. 见: 谷铎之, 殷蔚佰, 刘泰福, 等主编. 肿瘤放射治疗学[M]. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1997. 232~237.
- [5] 闵庆华. 鼻咽癌研究进展[J]. 国外医学肿瘤学分册, 1993, 20(4): 214.
- [6] 李毓. 薏苡仁配合放疗治疗晚期鼻咽癌的初步观察[J]. 桂林医学院学报, 1997, 10(1): 24.
- [7] 李毓. 薏苡仁配合放疗治疗晚期鼻咽癌的远期疗效分析[J]. 华夏医学, 1998, 11(1): 10.

(编辑 关淡庄)

简讯

拜耳公司治胃痛新药——“达喜”

消化不良或胃病是近年来广东省常见病之一,有近20%的人经常感到胃痛、胃胀或恶心。

据专家介绍,拜耳公司生产的“达喜”(铝碳酸镁)能迅速缓解胃痛,效力直达胃部,服后与分泌过多的胃酸立即发生中和反应,在3~5min内缓解胃痛症状。每日2次,每次1片,嚼碎服用。

国内外许多医疗机构进行的大量临床研究都证实了拜耳“达喜”的有效性,它不仅能保持胃内pH值平衡,还确实能保护胃壁,并在需要的时候修复胃壁。同时,其有效成分铝碳酸镁不会进入人体的血液循环系统,从而保障了“达喜”的有效性和安全性。

(本刊)