

· 研究原著 ·

文章编号 1000-2790(2006)06-0505-02

Vitamin D₃ 对裸鼠乳腺癌生长的影响

周 玮, 王加林, 赵亚平, 王 昱, 张 勇 (解放军第 82 医院内分泌科, 江苏 淮安 223001)

Effect of vitamin D₃ on growth of breast cancer in nude mouse xenograft models

ZHOU Wei, WANG Jia-Lin, ZHAO Ya-Ping, WANG Yu, ZHANG Yong

Department of Endocrinology, PLA 82nd Hospital, Huai'an 223001, China

【Abstract】 AIM: To study the effect of Vit D₃ on breast cancer in nude mouse xenograft models. **METHODS:** Each Balb/c nude mouse was injected subcutaneously with human breast cancer cell line MCF-7. Two thousand units of Vit D₃ was injected in mice thigh muscle every other day and mice were fed with tamoxifen (5 mg/kg) every day. Forty experimental mice were randomly divided into 4 groups: Vit D₃ group, the mixed group of Vit D₃ and tamoxifen, tamoxifen group and control group. After 4 weeks, the tumor volume was measured and serum calcium and phosphorus levels were assayed. Tumor cells were analyzed with flow cytometry to detect apoptosis and cell cycle. **RESULTS:** Serum calcium levels in Vit D₃ group were higher than those in control group (2.54 ± 0.05 vs 2.32 ± 0.09 mmol/L, *P* < 0.05), but phosphorus levels were lower (1.78 ± 0.13 vs 2.34 ± 0.06 mmol/L, *P* < 0.05). The apoptosis rate (%) of tumor cells in Vit D₃ group was higher than that of control group (31.5 ± 6.9 vs 7.8 ± 2.5, *P* < 0.05) and tumor cells were arrested in G₀/G₁ phase (50.0 ± 3.2 vs 34.2 ± 4.7, *P* < 0.05), especially in the mixed group treated with Vit D₃ and tamoxifen. **CONCLUSION:** Vit D₃ has some synergic effect with tamoxifen and can significantly induce apoptosis of breast cancer cells and arrest tumor cells in G₀/G₁ phase.

【Keywords】 cholecalciferol; breast neoplasms; apoptosis; cell cycle

【摘要】 目的: 探讨维生素 D₃ (Vit D₃) 对乳腺癌裸鼠移植模型的治疗作用。方法: 裸鼠皮下接种乳腺癌细胞 MCF-7, 建立乳腺癌移植模型。Balb/c 裸鼠共 40 只, 随机等分为 4 组: 对照组、Vit D₃ 组、三苯氧胺 (TAM) 组、Vit D₃ + TAM 组。Vit D₃ 2000 u, im, 隔日 1 次, 三苯氧胺每日 5 mg/kg, ig, 治疗 4

wk 后, 检测肿块大小、血清钙、磷水平, 并用流式细胞仪检测细胞凋亡和细胞周期。结果: Vit D₃ 治疗组血清钙水平高于对照组 (2.54 ± 0.05 vs 2.32 ± 0.09 mmol/L, *P* < 0.05), 血磷水平低于对照组 (1.78 ± 0.13 vs 2.34 ± 0.06 mmol/L, *P* < 0.05), Vit D₃ 使肿瘤细胞凋亡率 (%) 增加 (31.5 ± 6.9 vs 7.8 ± 2.5, *P* < 0.05) 并使细胞阻滞在 G₀/G₁ 期 (50.0 ± 3.2 vs 34.2 ± 4.7, *P* < 0.05), 与 TAM 有协同作用。结论: Vit D₃ 体内可明显诱导乳腺癌细胞凋亡并使细胞阻滞在 G₀/G₁ 期, 增强 TAM 抗肿瘤作用。

【关键词】 胆骨化醇 乳腺肿瘤 细胞凋亡 细胞周期

【中图分类号】 R737.9 **【文献标识码】** A

0 引言

近年来, 维生素 D (Vit D) 及其受体在国外肿瘤学领域倍受关注, Vit D 的类似物有望成为一种新型的抗癌药物, 我们探讨 Vit D₃ 对乳腺癌动物模型的治疗作用如下。

1 材料和方法

1.1 材料 雌性 Balb/c 裸鼠, 4~6 周龄, 体质量 16~18 g, 购于中科院北京动物中心, 在清洁动物房饲养。人乳腺癌细胞株 MCF-7, 雌激素受体阳性。2.5 g/L 胰酶消化、传代, 在含小牛血清的 RPMI 1640 培养基中培养。Vit D₃ 与三苯氧胺均购自 Sigma 公司。流式细胞仪为 Becton Dickinson 产品。

1.2 方法 取对数生长期的乳腺癌细胞株 MCF-7, 10⁶ 接种于裸鼠胸壁 4, 5 肋间皮下后 3 d 进行治疗。Balb/c 裸鼠共 40 只, 随机等分为 4 组: 对照组、Vit D₃ 组 (2000 u, im, 隔日 1 次)、三苯氧胺 (TAM, 5 mg/kg, ig, 每日 1 次) 组、Vit D₃ + TAM 组。Vit D₃ + TAM 组的 Vit D₃ 与 TAM 的用量同单用组, 对照组生理盐水 im, 共 4 wk 后从鼠眼球采血用于血钙磷的测定, 并取下肿块制成单细胞悬液, 碘化丙啶 (PI) 染色 30 min, 用流式细胞仪检测肿瘤细胞凋亡与细胞周期的改变。

统计学处理: 采用方差分析法分析数据, 并用 LSD-*t* 法对其进行两两比较, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

收稿日期 2005-06-06; 接受日期 2005-08-30

作者简介: 周 玮, 主治医师。Tel: (0517) 3766422 Email: zhuangzh

@fmmu.edu.cn

2 结果

2.1 Vit D₃ 对肿瘤大小的影响 小鼠接种后饮食正常,活动自如,3wk后形体逐渐消瘦,4wk后取下肿块作比较,Vit D₃组(142.9 ± 46.2)mm, Vit D₃ + TAM组(144.5 ± 64.9)mm, TAM组(138.4 ± 72.5)mm与对照组(160.0 ± 58.4)mm相比无显著性差异($P > 0.05$)。Vit D₃治疗组、Vit D₃ + TAM组及单纯的TAM组之间也无显著性差异($P > 0.05$)。

2.2 Vit D₃ 对血钙磷的影响 Vit D₃组与Vit D₃ + TAM组的血清钙水平明显高于另外2组,血清磷水平则低于对照组与TAM治疗组(表1)。

表1 Vit D₃与TAM对裸鼠乳腺癌动物模型血清钙磷,细胞周期与凋亡的影响

组别	血清钙 (mmol/L)	血清磷 (mmol/L)	G ₀ /G ₁ (%)	凋亡 (%)
对照	2.32 ± 0.09	2.34 ± 0.06	34.2 ± 4.7	7.8 ± 2.5
TAM	2.33 ± 0.10	2.27 ± 0.13	48.9 ± 4.1 ^a	29.3 ± 4.8 ^a
Vit D ₃	2.54 ± 0.05 ^{ac}	1.78 ± 0.13 ^{ac}	50.0 ± 3.2 ^a	31.5 ± 6.9 ^a
Vit D ₃ + TAM	2.49 ± 0.06 ^{ac}	1.80 ± 0.05 ^{ac}	52.4 ± 8.1 ^a	41.7 ± 5.3 ^{acd}

^a $P < 0.05$ vs 对照; ^c $P < 0.05$ vs TAM; ^d $P < 0.05$ vs Vit D₃。

2.3 细胞周期和细胞凋亡 Vit D₃与TAM皆可使乳腺癌细胞阻滞于G₀/G₁期,可明显诱导细胞的凋亡,Vit D₃与TAM合用其诱导凋亡作用更明显,其凋亡率明显高于对照组,二者之间有协同作用(表1)。

3 讨论

Vit D₃和Vit D受体(VDR)为乳腺癌的内分泌治疗带来新的曙光^[1],约80%的乳腺癌表达VDR,Vit D₃和抗雌激素药续贯或联用可克服乳腺癌细胞对抗

雌激素治疗的耐药性^[2],还可抑制乳腺癌细胞内的信号传导,使肿瘤细胞的增殖受抑制^[3-5]。Vit D₃对乳腺癌细胞的作用主要通过VDR而发挥作用。VDR首先和9cis维甲酸的受体(RXR)结合形成二聚体,然后再影响乳腺细胞的核受体的功能。这方面的研究已经成为乳腺癌内分泌治疗的热点问题之一,特别是在雌激素受体阴性的乳腺癌治疗方面,希望通过对VDR和RXR的研究后能有所突破^[6]。我们发现,Vit D₃对乳腺癌的治疗主要通过诱导乳腺癌细胞凋亡而实现,因此其细胞毒作用弱于化疗药如阿霉素等,为乳腺癌综合治疗提供了一个有前途的治疗选择。

【参考文献】

- [1] Vanchieri C. Studies shedding light on vitamin D and cancer [J]. J Natl Cancer Inst, 2004, 96(10): 735-736.
- [2] Christensen GL, Jepsen JS, Fog CK, et al. Sequential versus combined treatment of human breast cancer cells with antiestrogens and the vitamin D analogue EB1089 and evaluation of predictive markers for vitamin D treatment [J]. Breast Cancer Res Treat, 2004, 85(1): 53-63.
- [3] Li F, Ling X, Huang H, et al. Differential regulation of survivin expression and apoptosis by vitamin D3 compounds in two isogenic MCF-7 breast cancer cell sublines [J]. Oncogene, 2005, 24(8): 1385-1395.
- [4] Rossi AM, Capiati DA, Picotto G, et al. MAPK inhibition by 1 α -25(OH)₂-vitamin D3 in breast cancer cells. Evidence on the participation of the VDR and Src [J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2004, 89-90(1-5): 287-290.
- [5] Capiati DA, Rossi AM, Picotto G, et al. Inhibition of serum-stimulated mitogen activated protein kinase by 1 α , 25(OH)₂-vitamin D3 in MCF-7 breast cancer cells [J]. J Cell Biochem, 2004, 93(2): 384-397.
- [6] Conde I, Paniagua R, Fraile B, et al. Expression of vitamin D3 receptor and retinoid receptors in human breast cancer: Identification of potential heterodimeric receptors [J]. Int J Oncol, 2004, 25(4): 1183-1191.

编辑 潘伯荣

欢迎投稿 欢迎订阅

《第四军医大学学报》是国内外公开征稿和发行的高级综合性医学学术期刊,曾荣获首届国家期刊奖,第二届国家期刊奖提名奖和百种中国杰出学术期刊,是中国各大检索系统源期刊,《中文核心期刊要目总览》收入期刊,美国化学文摘(CA)和俄罗斯文摘杂志(AJ)源期刊。本刊主要刊载基础医学、临床医学、预防医学、军事医学、口腔医学、航空航天医学、中医中药学、生物医学工程学方面的研究原著、研究快报、经验交流、病例报告、综述和述评等各类学术性中文文稿。

地址 (710033)西安市长乐西路169号

电话 (029)84774674, 84773456, 84773804, 84773814

传真 (029)84774499

http://journal.fmmu.edu.cn

Email: edjfmumu@fmmu.edu.cn