

E838 联合 ^{137}Cs 射线对淋巴瘤荷瘤小鼠的协同抑瘤作用

王月英,李德冠,刘 强,吴红英,王 勇,路 璐,孟爱民,王汝勤,张良安

Antitumor Effects of Combination Treatment of E838 with ^{137}Cs -ray for Mouse Lymphoma

WANG Yue-ying, LI De-guan, LIU Qiang, WU Hong-ying, WANG Yong, LU Lu, MENG Ai-min, WANG Ru-qin, ZHANG Liang-an

Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences, Tianjin Key Laboratory of Molecular Nuclear Medicine, Tianjin 300192, China

Corresponding Author: MENG Ai-min, E-mail: ai_min_meng@126.com

Abstract :Objective To investigate the tumor inhibitory effects of E838 and the combined antitumor effects of E838 and ^{137}Cs -ray irradiation. **Methods** IRM-2 mice transplanted with $2 \sim 3 \text{ mm}^3$ lymphoma (LM) tissue for 24h, were randomized into nine groups: control group, radiation group, high, middle, low E838 dose group, different dose E838 combined with radiation group and cyclophosphamide group. E838 group and combined group administered with same dose E838 daily for 7 days, cyclophosphamide group administered every other day 4 times. Combined group radiated with 1 Gy/day for 5 days after the mice were administered with E838 for 4 days. The size of LM tumor and the bone marrow cells of different group were measured. **Results** The mouse LM tumor inhibitory ratios of three E838 doses groups were $(44.14 \pm 15.96) \%$, $(70.74 \pm 11.17) \%$ and $(50.00 \pm 18.09) \%$ respectively. There was a significant difference between E838 groups and control group ($P < 0.001$). The level of bone marrow cells counting was markedly elevated. E838 combined with ^{137}Cs -ray could enhance tumor inhibitory effect, the tumor inhibitory ratios of three combined groups were $(65.43 \pm 2.13) \%$, $(77.13 \pm 6.38) \%$ and $(67.55 \pm 11.17) \%$, there were obviously increased compare with control and radiation group respectively ($P < 0.001$). **Conclusion** E838 has good tumor inhibitory effects on lymphoma transplanted mice tumor. The synergistic antitumor effects was found after the mice were treated with E838 and ^{137}Cs -ray irradiation, the bone marrow function recovery after irradiation was speed up when the mice were administered with E838 of some definite doses.

Key words: E838; Tumor inhibitory effects; IRM-2 mouse; ^{137}Cs -ray; Synergistic effects

摘 要:目的 本研究主要观察 E838 对小鼠移植性淋巴瘤的体内抑瘤效果及相关的生物学指标,探讨合用 ^{137}Cs 射线是否具有抑瘤增效作用。方法 取 $2 \sim 3 \text{ mm}^3$ 淋巴瘤瘤块接种于 IRM-2 小鼠腋下皮下, 24 h 后将荷瘤小鼠随机分为对照组、单放组、E838 低、中、高药物组及药物合用照射组、环磷酰胺组。药物组与药物合用照射组对应性腹腔注射相同剂量 E838,每日 1 次,连续 7 天,环磷酰胺隔日 1 次 $\times 4$ 。合用照射组于给药的第 4 天进行全身 1 Gy 照射,每日 1 次,连续 5 天。观察各组小鼠骨髓有核细胞数和肿瘤抑制率。结果 E838 3 个剂量对小鼠移植性淋巴瘤细胞的抑瘤率分别为 $(44.14 \pm 15.96) \%$ 、 $(70.74 \pm 11.17) \%$ 和 $(50.00 \pm 18.09) \%$,与对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.001$),骨髓有核细胞数与对照组相比则明显提高。E838 合用 ^{137}Cs 射线能提高抑瘤效果,抑瘤率分别为 $(65.43 \pm 2.13) \%$ 、 $(77.13 \pm 6.38) \%$ 和 $(67.55 \pm 11.17) \%$, ($P < 0.001$),对肿瘤的杀伤作用高于单放组和单药治疗组。结论 E838 对小鼠肿瘤细胞具有良好的抑制作用,E838 合用 ^{137}Cs 射线具有协同抑瘤作用,在适当剂量范围内可以促进荷瘤小鼠放疗后骨髓损伤修复。

关键词: E838; 抗肿瘤; IRM-2 小鼠; 射线; 协同作用

中图分类号: Q691.5 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2008)10-0691-03

收稿日期: 2007-11-12; 修回日期: 2008-02-29

基金项目: 天津市自然科学基金重点项目(043802411)

作者单位: 300192 天津, 中国医学科学院放射医学研究所 天津市分子核医学重点实验室

通信作者: 孟爱民, E-mail: ai_min_meng@126.com

作者简介: 王月英(1957-), 女, 副研究员, 主要从事放射生物学、实验动物学研究

0 引言

恶性淋巴瘤属常见恶性肿瘤之一。治疗措施主要包括手术、放射治疗和化学治疗等,但在治疗的同时,也会给机体带来骨髓抑制、免疫功能损伤等副反应。E838 是一种新型辐射防护剂,以往的药效学实

验证实: E838 具有放射防护效价高^[1]、毒副作用小的特点(雌活性仅为炔雌醇的 1/10 000)^[2], 能显著提高受照射小鼠 30 天存活率和保护指数。本试验按照国家一类新药报批要求^[3], 利用 IRM-2 小鼠为肿瘤模型, 观察 E838 对淋巴瘤的抑瘤作用及联合¹³⁷Cs 射线能否提高抑瘤效果, 为临床综合治疗淋巴瘤提供参考。

1 材料和方法

1.1 实验材料

动物及瘤株, 由我所自己培育的 IRM-2 近交系小鼠, 雌雄兼用, 体重为 26~27 g。细胞株为 IRM-2 小鼠自发淋巴瘤, 饲料为清洁级全价鼠料, 由北京科奥协力饲料有限公司提供。

1.2 试剂配制

用注射茶油将 E838 配制成 5、7.5、10 mg/kg 剂量组。环磷酰胺(CTX)为上海华联制药有限公司产品, 批号 031018, 用生理盐水配制成 25 mg/kg 剂量组。

1.3 照射条件

本所¹³⁷Cs 照射源, 照射剂量为 1 Gy, 剂量率为 0.853 Gy/min。

1.4 方法

1.4.1 动物分组 选取 IRM-2 小鼠 99 只, 随机分为 9 组, 即对照组、单放组、CTX 组、E838 (低、中、高) 剂量组, E838 (低、中、高) + 照射组。取 2~3 mm³ 肿瘤组织接种在小鼠腹股沟部皮下。

1.4.2 给药方式 各药物组于接种后第 2 天, 腹腔注射给药, 0.2 ml/只, 连续 7 天, 对照组给予等体积茶油, CTX 隔日 1 次, 共 4 次, 药物 + 照射组于接种的第 4 天进行全身 1 Gy 照射, 1 次/日, 连续 5 天。

1.5 观察指标

1.5.1 每日称荷瘤小鼠体重, 测量肿瘤体积, 根据公式 $V = ab^2/2$ 计算体积^[4]。并绘制肿瘤生长变化曲线。

1.5.2 实验第 12 天时处死小鼠, 称瘤重, 计算抑瘤率。抑瘤率 % = (对照组平均瘤重 - 实验组平均瘤重) / 对照组平均瘤重 × 100 %。

1.5.3 骨髓有核细胞计数 取小鼠一侧股骨, 冲洗骨髓腔, 收集骨髓细胞制成悬液, 用台盼蓝鉴定细胞活性在 95 % 以上, 计数骨髓有核细胞数。

1.5.4 组织学观察 对肿瘤组织的石蜡切片做 HE 染色后, 进行组织学观察。

1.5.5 根据金氏公式评价协同效果^[5]。

1.5.6 统计学方法 所有数据结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用组间 *t* 检验。

2 结果

2.1 E838 对移植肿瘤生长曲线的影响

E838 三个剂量组小鼠肿瘤体积明显均低于对照组, 中剂量组最为明显, 见图 1。

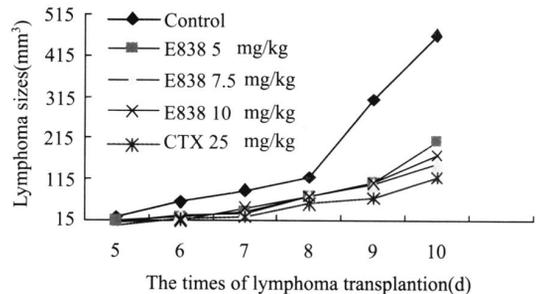


图 1 E838 对 LM 移植肿瘤生长曲线的影响

Fig 1 The effects of E838 on the LM tumor sizes

2.2 E838 与照射联合作用后肿瘤生长曲线的变化

E838 与放疗合用后, 各组肿瘤生长均慢于对照组和单放组, 相对生长速率也减慢, 中剂量组肿瘤生长速度明显慢于对照组和单放组, 见图 2。

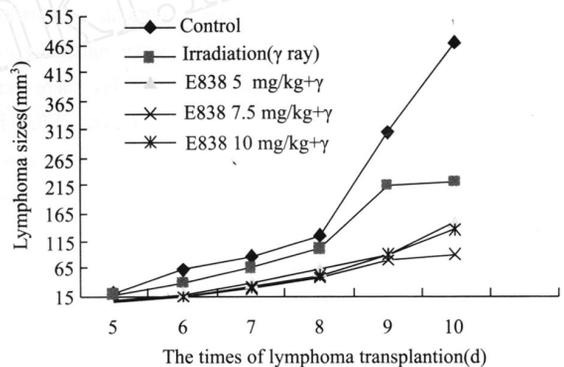


图 2 E838 与照射联合作用后肿瘤生长曲线的变化

Fig 2 The effects of E838 combined with irradiation on the LM tumor sizes

2.3 E838 药物对荷瘤小鼠的抑瘤作用

结果见表 1。E838 药物各组瘤重均低于对照组 ($P < 0.001$); E838 低、中、高剂量组的抑瘤率分别为 44.14 %、70.74 % 和 50.00 %, 与对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.001$), 各组的 BMNC 均高于对照组和 CTX 组, 与其比较差异有统计学意义 ($P < 0.001$)。

2.4 E838 合用 射线对荷瘤小鼠的协同效应

由表 2 可见, E838 小剂量组抑瘤率由 44.14 % 上升至 65.43 %, 中剂量组由 70.74 % 升至 77.13 %, 高剂量组抑瘤率由 50.00 % 升至 67.55 %, 以金氏公式计算, *q* 值分别为 1.03、0.95 和 1.00, 显示与射线合用有相加作用, 与对照组和单放组比较均有显

表 1 E838 对 IRM-2 小鼠淋巴瘤的抑制作用 ($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 The inhibitory effects of E838 on the IRM-2 with LM tumor ($\bar{x} \pm s$)

Groups	Number	Initiin weight (g)	Termination weight (g)	BMNC($\times 10^6$) /femur	Tumor weight (g)	Tumor inhibitory ratios(%)
Control	11	26.0 \pm 3.5	32.0 \pm 4.3	12.88 \pm 3.40	1.88 \pm 0.42	-
E838(5 mg/ kg)	11	26.1 \pm 3.1	32.2 \pm 3.2	15.53 \pm 4.04	1.05 \pm 0.30	44.14 \pm 15.96 **
E838(7.5 mg/ kg)	11	26.0 \pm 2.9	32.5 \pm 2.8	18.78 \pm 6.51 *	0.55 \pm 0.21	70.74 \pm 11.17 **
E838(10 mg/ kg)	11	26.7 \pm 2.9	34.3 \pm 4.2	16.80 \pm 4.17	0.94 \pm 0.34	50.00 \pm 18.09 **
CTX	11	27.6 \pm 2.9	30.5 \pm 3.4	8.35 \pm 1.54	0.48 \pm 0.16	74.47 \pm 8.51 **

Compared with control, * : $P < 0.05$, ** : $P < 0.001$; compared with CTX group, # : $P < 0.001$

表 2 E838 联合 射线对 IRM-2 小鼠淋巴瘤的抑制作用 ($\bar{x} \pm s$)

Tab 2 The inhibitory effects of E838 combined with irradiation on the IRM-2 with LM tumor ($\bar{x} \pm s$)

Groups	Number	BMNC($\times 10^6$) /femur	Tumor weight (g)	Tumor inhibitory ratios(%)	Q value
Control	11	12.88 \pm 3.40	1.88 \pm 0.42		
Irradiation(ray)	11	15.13 \pm 3.43	1.23 \pm 0.31 *	34.57 \pm 16.49 *	
E838(5mg/ kg) + ray	11	19.07 \pm 2.34 **	0.65 \pm 0.04 **#	65.43 \pm 2.13 **#	1.03
E838(7.5mg/ kg) + ray	11	22.98 \pm 4.25 **	0.43 \pm 0.12 **#	77.13 \pm 6.38 **#	0.95
E838(10mg/ kg) + ray	11	19.50 \pm 2.49 **	0.61 \pm 0.21 **#	67.55 \pm 11.17 **#	1.00

Compared with control, * : $P < 0.05$, ** : $P < 0.001$; compared with irradiation group, # : $P < 0.001$

著性差异,各组的 BMNC 均高于对照组和单放组 ($P < 0.001$)。

2.5 移植瘤组织病理学观察

镜下移植瘤细胞形状不规则,大小不一,各组内均可见组织坏死区,对照组可见部分坏死的组织,中剂量组可见多发性的组织坏死,但分布不是很均匀。中剂量 + 照射组,可见明显的坏死区,坏死的组织面积增大。

3 讨论

恶性淋巴瘤的病因之一是与患者免疫功能低下有关^[6]。而放化疗进一步抑制了已经降低的免疫功能。化疗药物可损害患者的免疫系统,导致免疫功能缺陷或下降引起骨髓抑制,本实验的阳性对照药 CTX 也证实了这一点。放疗的主要副作用是骨髓抑制、局部损伤、疲劳、食欲下降等。所以肿瘤的放化疗难点之一就是如何避免射线及化疗药物对正常组织的损伤,减少放化疗后机体免疫系统的严重抑制^[7]。

本实验结果显示,E838 在一定剂量范围内,能明显抑制 IRM-2 荷瘤小鼠淋巴瘤的生长,肿瘤生长速度明显减慢,瘤重明显减轻,从给药剂量来看,中剂量的抑瘤效果最好,其抑制率达到 70.74%。在抑瘤的同时,各剂量组 BMNC 的数量均高于对照组和 CTX 组。各组小鼠的体重有所增加,而 CTX 组小鼠体重明显减轻。说明 E838 除对肿瘤细胞的生长

有抑制作用外,还有强壮身体的作用。这也体现了 E838 治疗肿瘤毒副作用小于化疗药的优势之一。当 E838 与 射线合用时可增强抑瘤效果,其抑瘤率高于单放组和单独药物组以及 CTX 组。抑瘤率分别为 65.43%、77.13% 和 67.55%,抑瘤效果呈相加作用,各组 BMNC 的数量均高于对照组和单放组,E838 拮抗辐射对机体和造血功能的损伤。从而提示 E838 与放疗联合应用,对进一步提高肿瘤的治愈率和生存质量具有十分重要的指导意义。

参考文献:

- [1] 张宇光,张辛茹,闫玉军,等. E838 在肿瘤放射治疗中应用的实验研究[J]. 辐射研究与辐射工艺学报,1999,17(4):204-208.
- [2] 王月英,王汝勤,赵忠萍,等. E838 对小鼠辐射防护作用的观察[J]. 中华放射医学与防护杂志,2005,24(1):39-40.
- [3] 中华人民共和国卫生部药政局. 新药临床前研究指导原则汇编.(药学、药理学、毒理学)[C]. 1993,137.
- [4] Iwanuma Y, Chen FA, Egilmez Naked, et al. Antitumor immune response of human peripheral blood lymphocytes coengrafted with tumor into severe combined immunodeficient mice[J]. Cancer Res,1997,15,57(14):2937-2942.
- [5] 李秀娟,刘福英,毛宇湘,等. 复肝春 6 号对荷 H22 小鼠抑瘤作用的实验研究[J]. 中国比较医学杂志,2006,16(2):107-110.
- [6] 王文武,欧阳学农,张露. 迈普新联合化疗治疗恶性淋巴瘤的临床研究[J]. 肿瘤防治研究,2006,33(2):85.
- [7] 于洪升,费从合,沈方臻,等. 低剂量辐射联合环磷酰胺对肿瘤细胞凋亡、细胞周期以及骨髓增殖的影响的治疗研究[J]. 中华放射医学与防护杂志,2004,24(2):117-119.

[编辑:周永红;编辑:安 凤]