

· 实验研究 ·

5-Fu 联合 HER 家族靶向药物对食管癌细胞增殖影响*

许双塔, 许建华, 郑正荣, 赵清泉

摘要:目的 观察常规化疗药物联合表皮生长因子受体(EGFR)靶向药物 C225 及人表皮生长因子受体-2(HER2)靶向药物 trastuzumab 对食管鳞状细胞癌细胞株 HE-2 增殖影响。方法 常规化疗药物 5-Fu 分别与 C225 及 trastuzumab 联合应用于食管鳞状细胞癌细胞株 HE-2, 采用噻唑蓝法以及流式细胞仪检测不同处理组的抗肿瘤效果。结果 5-Fu 联合 C225 作用 24、48 h 时, HE-2 细胞增殖抑制率分别为(45.29 ± 0.16)%、(70.63 ± 0.10)%, 明显高于 5-Fu 联合 trastuzumab 的细胞增殖抑制率(33.02 ± 0.19)%、(50.08 ± 0.20)%, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 5-Fu 联合 C225 作用 24、48 h 时, HE-2 细胞凋亡率分别为(15.47 ± 1.62)%、(26.89 ± 1.12)%; 明显高于 5-Fu 联合 trastuzumab 的细胞凋亡率(7.34 ± 0.88)%、(15.56 ± 0.97)%, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 EGFR 信号通路上的靶向治疗药物 C225 可以增加 5-Fu 抗食管鳞状细胞癌作用。

关键词: 5-Fu; Her 家族; 靶向治疗; 食管鳞状细胞癌

中图分类号: R 753.1 文献标志码: A 文章编号: 1001-0580(2014)02-0231-03 DOI: 10.11847/zgggws2014-30-02-33

Influence of 5-FU joint HER family targeted drugs on proliferation of esophageal squamous carcinoma cell

XU Shuang-ta, XU Jian-hua, ZHENG Zheng-rong, et al (Department of Oncology, Second Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou, Fujian Province 362000, China)

Abstract: Objective To observe the influence of conventional chemotherapy drugs combined with epidermal growth factor receptor (EGFR) targeted drug C225 and human epidermal growth factor receptor-2 (HER2) targeted drug trastuzumab on proliferation of squamous cell carcinoma of the esophagus HE-2 cell line. **Methods** Methyl thiazolyl tetrazolium bromide (MTT) assay and flow cytometry were applied to detect the effects of fluorouracil (5-FU) combined with C225 or 5-FU combined with trastuzumab on the proliferation of HE-2 cells. **Results** The *in vitro* experiments showed that after the treatments of 5-Fu combined with C225 for 24 hours and 48 hours, the inhibition rate of HE-2 cell proliferation was 45.29 ± 0.16 and 70.63 ± 0.10, significantly higher than those of 5-Fu combined with trastuzumab (33.02 ± 0.19 and 50.08 ± 0.20) ($P < 0.05$ for all). With the treatment of 5-Fu combined with C225 for 24 hours and 48 hours, the apoptosis rate of HE-2 cells was 15.47 ± 1.62% and 26.89 ± 1.12%, significantly higher than those of treatment of 5-FU combined with trastuzumab (7.34 ± 0.88% and 15.56 ± 0.97%) ($P < 0.05$ for all). **Conclusion** The targeted drug C225 combined with 5-FU for EGFR pathway shows a synergistic effect on inhibition of the proliferation in HE-2 cells and the signal pathway of EGFR could be as a target for the treatment of human esophageal carcinoma.

Key words: 5-FU; Her family; targeted therapy; squamous esophageal carcinoma

表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)所介导的信号转导通路与肿瘤的发生、发展关系密切,可引起多种下游反应。人们已经发现在非小细胞肺癌、乳腺癌、头颈部肿瘤、胃癌、结肠癌、前列腺癌、膀胱癌、肾癌、胰腺癌、卵巢癌等上皮性肿瘤中存在 EGFR 的表达或高表达。另外,在一些肿瘤中可以观察到 EGFR 突变。研究发现, trastuzumab 的抗肿瘤作用与人表皮生长因子受体-2(human epithelial growth factor receptor - 2, HER2)的表达密切相关, HER2 在乳腺癌、胃癌中研究较

多,均具有较高的表达^[1], HER2 在食管癌中的表达率为 0~56%, 基因扩增率为 5%~35%, 其中食管腺癌的 HER2 表达率高于食管鳞状细胞癌^[2]。目前,在食管腺癌中,对于 HER2 表达以及 trastuzumab 应用已有研究^[3-4],而在食管鳞状细胞癌中研究较少。本研究拟探讨食管癌常见化疗药物氟尿嘧啶(flourouracil, 5-FU)与 HER 家族靶向药物的联合应用对食管鳞状癌细胞的生长和凋亡影响,结果报告如下。

* 基金项目:福建省教育厅科技项目(B类 JA08086);泉州市优秀人才培养专项经费(08A19);泉州市财政局、科技局技术与开发项目(2009Z16)

作者单位:福建医科大学附属第二医院肿瘤科,福建 泉州 362000

作者简介:许双塔(1972-),男,福建晋江人,副主任医师,硕士,研究方向:常见恶性肿瘤基础和临床。

数字出版日期:2014-1-22 14:29

数字出版网址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/21.1234.R.20140122.1429.018.html>

1 材料与方 法

1.1 主要试剂与仪器 食管鳞状细胞癌细胞株 HE-2(日本东京大学医学部),用含 10% 新生牛血清的 1 640 培养液培养,在 37 °C,5% CO² 恒湿培养箱培养。5-Fu、cetuximab(C225)、trastuzumab(福建医科大学附属第二医院中心药房)。噻唑蓝(methyl thiazolyl tetrazolium bromide,MTT)粉末和凋亡检测试剂盒(上海碧云天生物技术研究所)。YZB1580 流式细胞分析仪(贝克曼库尔特商贸中国有限公司)。

1.2 细胞活性测定 采用 MTT 法,将处于对数生长期、状态良好的 HE-2 细胞接种于 96 孔板内,每孔约 2 × 10³ 个细胞,培养 24 h,实验设对照组、5-Fu 组(100.0 μg/mL)、C225 组(400 mg/mL)、trastuzumab 组(20 mg/mL)、5-Fu + C225 组(5-Fu 100.0 μg/mL + C225 400 mg/mL)和 5-Fu + trastuzumab 组(5-Fu 100.0 μg/mL + trastuzumab 20 mg/mL),分别与培养 24、48 h 后,每孔加入终浓度为 200 mg/L 的 MTT 溶液,37°C 孵育 4 ~ 6 h 后,弃上清,每孔加入 150 μL 二甲基亚砷,溶解紫色结晶后,测定 570 nm 处吸光度(A)值。细胞增殖抑制率 = (1 - 处理组 A 值 / 对照组 A 值) × 100%。实验设 8 个复孔,重复 2 次。

1.3 细胞凋亡检测 选择生长状态良好且处于对数生长期的 HE-2 细胞,实验分组同 1.2,分别作用 24、48 h 后收集细胞,去掉上清,磷酸盐缓冲液清洗 1 次,再用含 75% 乙醇和 0.5 mmol/L 乙二胺四乙酸的磷酸盐缓冲液重悬细胞,4 °C 固定 30 min。离心弃上清,根据试剂盒说明书进行染色,流式细胞分析仪检测。

1.4 统计分析 采用 SPSS 17.0 进行统计分析,数据主要为计量资料,均行正态性检验。多组间比较采用单因素方差分析,两组间多重比较采用最小显著差法,检验水准为 α = 0.05。

2 结 果

2.1 5-Fu 联用靶向药物对 HE-2 细胞增殖影响(表 1) 5-Fu 联合不同靶向药物作用 HE-2 细胞 24、48 h 时,HE-2 细胞增殖抑制率差异有统计学意义($F = 373.01, P = 0.000$);与对照组比较,5-Fu 组及联合处理组 HE-2 细胞增殖抑制率明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);与 5-Fu 组比较,联合处理组 HE-2 细胞增殖抑制率明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 5-Fu 与不同靶向药物联用对 HE-2 细胞凋亡影响(表 2) 5-Fu 联合不同靶向药物作用 HE-2 细胞 24、48 h 时,HE-2 细胞凋亡率差异有统计学意义($F = 580.9、1380.67, P < 0.05$);与对照组比较,

5-Fu 组及联合处理组 HE-2 细胞凋亡率明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);与 5-Fu 组比较,联合处理组 HE-2 细胞凋亡率明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 1 5-Fu 联用靶向药物对 HE-2 细胞增殖影响(% , $\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	不同作用时间 HE-2 细胞增殖抑制率(h)	
	24	48
对照组	0.00 ± 0.01	0.00 ± 0.01
C225 组	14.69 ± 0.05 ^a	25.74 ± 0.01 ^a
Trastuzumab 组	4.93 ± 0.07	7.63 ± 0.02 ^a
5-Fu 组	26.37 ± 0.11 ^a	53.14 ± 0.01 ^a
5-Fu + C225 组	45.29 ± 0.16 ^{ab}	70.63 ± 0.10 ^{ab}
5-Fu + Trastuzumab 组	33.02 ± 0.19 ^{ab}	50.08 ± 0.20 ^{ab}

注:与对照组比较,a $P < 0.05$,与 5-Fu 组比较,b $P < 0.05$ 。

表 2 5-Fu 与不同靶向药物联用对 HE-2 细胞凋亡影响(% , $\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	不同作用时间凋亡率(h)	
	24	48
对照组	1.35 ± 0.44	1.35 ± 0.44
C225 组	3.46 ± 0.58 ^a	6.70 ± 0.69 ^a
Trastuzumab 组	1.02 ± 0.26	1.78 ± 0.37
5-Fu 组	8.92 ± 0.88 ^a	18.73 ± 0.81 ^a
5-Fu + C225 组	15.47 ± 1.62 ^{ab}	26.89 ± 1.12 ^{ab}
5-Fu + Trastuzumab 组	0.34 ± 0.88 ^{ab}	15.56 ± 0.97 ^{ab}

注:与对照组比较,a $P < 0.05$,与 5-Fu 组比较,b $P < 0.05$ 。

3 讨 论

在全世界范围,食管癌的组织学类型分布极不均衡。在亚洲,食管鳞状细胞癌的发生率远高于西方国家^[5]。在美国、欧洲,食管癌鳞状细胞癌的发生率是处于不断的下降趋势,而食管的腺癌,尤其是胃食管交界处的肿瘤发生率逐年增高^[6-7]。在食管鳞状细胞癌的临床治疗方面,手术、化疗和放射治疗是食道癌的重要治疗手段。但由于食道癌生长迅速以及易转移特性,治疗失败率仍然较高,5 年生存率 < 30%^[8]。目前用于食道癌的化疗药物虽然取得一定效果,但远期效果仍不理想。以 5-fu 为基础的转移性食管鳞状细胞癌的化疗,其中位生存期 < 1 年,化疗的反应率仅仅为 25% ~ 45%;姑息治疗对于晚期食管鳞癌的作用也及其有限,所以有必要寻找新的治疗手段或药物。

本研究分析了 5-Fu 分别与 EGFR 信号通路靶向治疗药物 C225 和 HER2 靶向药物 trastuzumab 的联合应用对 HE-2 细胞的增殖和凋亡影响,结果显示,5-Fu 可以抑制 HE-2 细胞生长,呈剂量和时间依赖性^[9];C225 也可抑制 HE-2 细胞生长,并呈时间和剂量依赖性,但 trastuzumab 对 HE-2 细胞增殖影响较小;5-Fu 与 C225 联合可以升高对 HE-2 细胞的增殖抑制率,而 5-Fu 与 trastuzumab 联合应用效果

不明显;5-Fu 联合 C225 后,明显增加 HE-2 凋亡率,而 trastuzumab 联合作用效果不明显。提示,C225 与 5-Fu 的协同效应可能与 EGFR 的结构和功能相关,EGFR 属于 4 个密切相关的细胞膜受体 erbB 家族成员之一,它是一种跨膜糖蛋白,由胞外区、跨膜区及胞内区 3 部分组成。当配体(如细胞膜表皮生长因子受体、转化生长因子 α)与受体胞外域结合时,EGFR 开始活化,引起受体的二聚化,进而激活蛋白激酶,使酪氨酸磷酸化,导致细胞内的底物聚集和磷酸化,引起丝裂原激活的信号传导及其它的细胞内活化过程,对肿瘤生物学行为的许多方面产生影响,如促进细胞增殖、血管形成、侵袭和转移以及抑制凋亡等^[10-12]。本研究结果显示,单独使用 EGFR 信号通路靶向治疗药物对 HE-2 细胞的增殖虽具有一定的抑制作用,但效果不理想,而临床上应用较多的 5-Fu,因其毒副作用过强而出现各种问题^[13],而将 5-Fu 与 C225 联合应用,则可以在抑制肿瘤血管生成的同时,降低肿瘤细胞的活性,从而达到在不影响化疗效果的同时,降低 5-Fu 的毒副作用。

参考文献

- [1] Jelovac D, Wolff AC. The adjuvant treatment of HER2-positive breast cancer[J]. *Curr Treat Options Oncol*, 2012, 13(2): 230-239.
[2] Thompson SK, Sullivan TR, Davies R, et al. Her-2/neu gene

- amplification in esophageal adenocarcinoma and its influence on survival [J]. *Ann Surg Oncol*, 2011, 18(7): 2010-2018.
[3] Zhan N, Dong WG, Tang YF, et al. Analysis of HER2 gene amplification and protein expression in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Med Oncol*, 2012, 29(2): 933-940.
[4] 吴建谊,石宏顺,吴智勇,等. HER2 表达与食管癌患者生存期的关系[J]. *癌变·畸变·突变*, 2010, 22(2): 86-90.
[5] Kleihues P, Louis DN, Scheithauer BW, et al. The WHO classification of tumors of the nervous system [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2002, 61(3): 215-225.
[6] Kaifi JT, Gusani NJ, Jiang Y, et al. Multidisciplinary management of early and locally advanced esophageal cancer [J]. *J Clin Gastroenterol*, 2011, 45(5): 391-399.
[7] 王丽梅,丁树荣,石晶,等. 食管癌患者 C 型行为特征分析 [J]. *中国公共卫生*, 2012, 28(9): 1150-1152.
[8] Liu J, Chen L. Current status and progress in gastric cancer with liver metastasis [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2011, 124(3): 445-456.
[9] Patel SH, Kooby DA. Gastric adenocarcinoma surgery and adjuvant therapy [J]. *Surg Clin North Am*, 2011, 91(5): 1039-1077.
[10] 郭跃辉,高丰厚,时婧,等. 表皮生长因子受体-细胞外信号调节激酶信号通路下调肺癌细胞中微小 RNA145 的表达 [J]. *中华肿瘤杂志*, 2013, 35(3): 187-192.
[11] 顾勇. C-erbB-2 和 EGFR 及 nm23-H1 在膀胱癌中的表达及临床意义 [J]. *临床医药实践*, 2011, 20(5): 333-336.
[12] 张永胜,徐龙江,李峰,等. 胰腺癌组织中 EGFR 和 CD31 的表达及其临床意义 [J]. *临床与实验病理学杂志*, 2011, 27(10): 1117-1119.
[13] 刘芙蓉,张成宏,高建,等. 西咪替丁增强 5-氟脲嘧啶对人胃癌细胞的生长抑制作用 [J]. *中国医科大学学报*, 2010, 39(12): 1121-1123.

收稿日期:2013-08-19

(解学魁编辑 张翠校对)

· 公共卫生论坛 ·

吉林省食品安全风险监测预警系统构建

肖宛凝,刘娅,刘羽欣

关键词:食品安全;风险监测;预警;系统构建

中图分类号:R 155 文献标志码:A 文章编号:1001-0580(2014)02-0233-02 DOI:10.11847/zgggws2014-30-02-34

吉林省为中国粮食和畜牧业大省,在食品行业中占有重要地位,建立标准化的吉林省食品安全风险监测预警系统,已显得非常重要。本文以吉林省食品安全检测、监测数据为研究对象,初步构建吉林省食品安全风险监测预警系统框架,为食品安全监管和研究提供数据支持和基础保障。

1 系统概述

该系统由“预警信息管理子系统”、“预警分析子系统”、“预警反应子系统”三大部分组成。预警信息管理子系统主要管理预警条件和已通报的警情

信息及预警对象信息,重点应保证信息的实时性。预警分析子系统主要是实现对新检测的食品的信息加于分析,得出该食品安全与否的结果,以供预警反应子系统使用。预警反应子系统主要是将预警分析子系统所得的警情信息向公众和相关执法部门人员通报,以尽早采取措施,将损失降到最低^[1-3]。

2 系统内容

2.1 预警信息管理子系统 该子系统是吉林省食品安全风险监测预警系统的基础依据源,输入端是监管部门搜集到的各个监测点上报的监测数据,输

作者单位:吉林大学公共卫生学院营养与食品卫生教研室,吉林 长春 130021

作者简介:肖宛凝(1988-),女,吉林白城人,硕士在读,研究方向:营养与食品卫生、食品安全。

通讯作者:刘娅, E-mail: liuyaya@jlu.edu.cn

数字出版日期:2014-2-7 10:52

数字出版网址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/21.1234.R.20140207.1052.003.html>