顺铂诱导细胞凋亡的研究

刘文哲 李金瀚 胡义德 钱桂生

【摘要】目的 探讨顺铂诱导肺癌细胞凋亡的规律、机制以及在肿瘤化疗中的作用。方法 应用形态学观察、琼脂糖凝胶电泳、原位断裂点的末端标记法和流式细胞仪分析技术,检测顺铂诱导细胞的凋亡作用。结果 顺铂诱导的细胞凋亡在持续存在并逐渐增强,呈时间依赖性;顺铂浓度分别为3 mg/L、7 mg/L、12 mg/L时均诱导了细胞凋亡,呈浓度依赖性。在顺铂作用下,细胞被阻滞于G1期。结论 诱导细胞凋亡可能是顺铂抗肿瘤作用的重要机制。

【关键词】顺铂 细胞 细胞凋亡

【中图分类号】R734.2 鲁979.1

Cisplatin-induced apoptosis in human lung adenocarcinoma cell line A549 LIU Wenzhe L Jinhua HU Yide QIAN Gaisheng. * Department of Oncology Guangdong 177 Hospital Guangzhou Guangdong 510317 P. R. China

Objective To elucidate the pattern and mechanism of cisplatin-induced apoptosis and its role in tumor chemotherapy. Methods Apoptosis induced by cisplatin in human lung adenocarcinoma cell line A549 was detected by cell morphology agarose gel electrophoresis DNA-end-labeling and flow cytometry analysis techniques. Results Cisplatin-induced apoptosis of A549 cells persisted and augmented gradually from 12 to 72 hours after treated with 3 mg/L cisplatin. All of A549 cells treated respectively with 3 mg/L and 7 mg/L cisplatin showed apoptosis. Apoptotic effects increased in a time-dependent pattern and a concentration-dependent pattern. A549 cells were blocked in G1 phase after treated with cisplatin.

Conclusion Induction of cell apoptosis may be an important mechanism of anti-tumor efficacy of cisplatin.

Key words A549 cell line Apoptosis Cisplatin

1

1.2

1.3

1.4

1.5

Nikon Coulter

1.2

1.3

1.4

1.5

www.lungca.org
反应混合液，滴加后于37.0℃孵育5～10min。

5%甲醇 fixation 漂洗; 再滴加连接过氧化物酶的抗荧光素抗体，温育5～10min；滴加二氨基联苯胺（DAB）和过氧化氢，见到棕黄色的阳性物后终止反应。苏木精复染，二甲苯透明，树脂封片。每组细胞接种3瓶，每瓶涂片7张，每张涂片随机取多个高倍视野，计数8～10个肿瘤细胞中阳性细胞所占的百分比即凋亡指数。计算平均值（M±SD），用Newman-Keuls法进行统计分析。

2 细胞周期分布测定

以流式细胞仪测定，激发波长为520nm，结果分析软件为Elite。标本的制作方法见参考文献8。

3 讨论

顺铂是最常使用的肿瘤化疗药物之一。以往的研究证实，顺铂为细胞周期非特异药物，它可与DNA形成链内和链间交叉联结，破坏DNA功能，阻止DNA再复制，导致细胞死亡。而近年的研究发现顺铂的抗肿瘤毒性与诱导细胞凋亡有关[7]。本研究的结果表明：DDP作用均可诱导37CL细胞凋亡，凋亡贯穿其作用全程，并呈时间依赖性；DDP作用均可诱导37CL细胞凋亡，呈浓度依赖性，这可以作为顺铂大剂量化疗的理论依据。由此可以证明，诱导肿瘤细胞凋亡是顺铂抗肿瘤作用的重要机理之一。如果静脉一次性快速给药（临床上正常的化疗剂量），最大血药浓度可达3%～7%，降至浓度后可在体内维持数天，而这一浓度恰好是我们所研究的体外作用浓度。顺铂在体内所引发的变化是否等同于在体外所引发的变化尚待进一步研究，这也是目前肿瘤治疗中令人关注的问题。

用流式细胞仪分析未凋亡细胞的细胞周期分布，结果表明：DDP作用后，G1期细胞比例由37%上升至51%，说明顺铂作用后细胞被阻滞于G1期，这是顺铂诱导细胞凋亡过程中的重要事件；而S期细胞比例从37%逐渐降至14%，说明S期的37CL细胞对顺铂诱导的细胞凋亡更敏感。研究抗肿瘤药作用的细胞周期时相可指导临床上联合化疗，我们可以先将细胞阻滞于某期，再应用对该期敏感的抗肿瘤药，可以最大限度地杀灭肿瘤细胞，提高化疗的效率。


